

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por Espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

Por:

ROSALINDA VARA RANGEL

T E S I S

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Junio de 2008

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTOS**

Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey (*Agave salmiana*) Pulquero
por Espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

Por:

ROSALINDA VARA RANGEL

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

El trabajo presentado ha sido dirigido por el siguiente comité:

Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

Director

Dr. Juan Carlos Contreras Esquivel

Co-Director

M.C. María Hernández González

Asesor

ING. JOSÉ RODOLFO PEÑA ORANDAY

Coordinador de la División de Ciencia Animal

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Junio de 2008

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTOS**

Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey (*Agave salmiana*) Pulquero
por Espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

Por:

ROSALINDA VARA RANGEL

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

En virtud de haber cumplido íntegramente los requisitos de la comisión de Tesis y Monografías:

El trabajo presentado ha sido evaluado por el siguiente comité:

Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez _____
Presidente

Dr. Juan Carlos Contreras Esquivel _____
Sinodal

M.C. María Hernández González _____
Sinodal

cDr. Antonio Aguilera Carbó _____
Sinodal

ING. JOSÉ RODOLFO PEÑA ORANDAY

Coordinador de la División de Ciencia Animal

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Junio de 2008

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la oportunidad de vivir este momento.

A mis Padres por haberme apoyado a lo largo de mis estudios. Gracias por haberme brindado esta segunda Oportunidad.

A mi esposo por su paciencia, apoyo y comprensión a lo largo de estos meses para poder terminar este trabajo. Gracias Luis.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por haberme permitido formar parte de ella y culminar con esta etapa de mi formación profesional.

A los maestros de la Universidad Antonio Narro que a lo largo de la carrera me brindaron su apoyo y compartieron sus conocimientos para llevar a cabo mi formación profesional.

A mis asesores por dedicarme su tiempo y su apoyo. MC María Hernández y cDr. Antonio Carbó

Al Departamento de Investigación en Alimentos (DIA) de la Facultad de Ciencias Químicas de la UA de C. por permitirme usar sus instalaciones para realizar el presente trabajo de tesis.

Coyotefoods Biopolymer and Biotechnology S de R L mi (CBB), por las facilidades otorgadas para la elaboración de este trabajo de tesis.

Al Dr. Juan Carlos Contreras Esquivel, por permitirme participar en uno de sus proyectos y brindarme su tiempo y paciencia.

A la Dra. Ana Veronica Charles Rodríguez por valioso apoyo en la realización de este trabajo, por brindarme su tiempo, paciencia y ayuda, sin ti este trabajo no se hubiera realizado. Muchas gracias vero.

Este trabajo de Investigación Forma parte del Proyecto cooperación internacional "Extracción y caracterización de polisacáridos marinos y terrestres por tecnologías emergentes (Referencia: J110..341/2005)apoyado por : Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)- National Science Fundation (NSF).

DEDICATORIAS

A mis padres Rogelio Vara y Carmen Rangel, por darme la vida, y siempre enseñarme el camino correcto.

A ti papá q me enseñaste que las cosas se consiguen a base de esfuerzos. Y a ti mamá porque nunca perdiste la fe en mi, y siempre me impulsaste a seguir adelante, este trabajo es tuyo, te lo debía desde hace mucho tiempo.

A mis abuelos Anita, Angelita, Abdón (+) y Raymundo (+) gracias por todo su cariño.

A ti que desde hace tanto tiempo has estado a mi lado incondicionalmente, por ser mi amigo y confidente, Cada día agradezco a Dios el haberte conocido, gracias por la familia que me has regalado, y por ser mi esposo. Te amo Luis

A mis hijas Ariadna y Frida Landín Vara, por ser la luz q ilumina nuestro camino, por ser la razón de cada día ser mejor, porque con su cariño y sus travesuras me recuerdan cada día lo bello q es la vida, Espero nunca fallarles, las quiero mucho chaparras.

A mis hermanos José Vara y Cesar Vara, por ser siempre mis cómplices, los admiro, y respeto.

A mi cuñada Martha, gracias por tu amistad, a mis sobrinos Christopher Vara que con tu sonrisa contagias a cualquiera y a bebe Vara que esperamos tu llegada con mucho cariño.

A mis hermanas, Juanita Herrera y Mónica Nava gracias por todos estos años de su amistad sincera estoy muy orgullosa de ustedes.

A la Familia Landín Rico, gracias por permitirme formar parte de ella. Muy especialmente a mi cuñadita Berenice, te deseo lo mejor del mundo.

A mis amigos y compañeros de escuela, gracias por compartir momentos de su vida conmigo: Laura Walle, Leonardo Alvarado, Hugo González, Carlos Hernández, Jorge Trejo, Daniel Ortiz, Gladys, Emilio Ochoa, Juan Buenrostro, Romeo Rojas, Hiram Sotogarcía y Olga Reboloso.

A mi tía Mary Carmen Vara q siempre fue un ejemplo a seguir, muchas gracias por su amistad.

A Vero Charles por ayudarme y dedicarme todo tu tiempo, en verdad muchas gracias vero, te deseo lo mejor en la vida, eres una gran amiga. Te quiero mucho.

INDICE

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
Antecedentes.....	2
Justificación.....	2
Hipótesis.....	3
Objetivo General	3
Objetivos Especifico.....	3
 REVISION DE LITERATURA	
CAPÍTULO 1	
1. MAGUEY.....	4
1.1 Clasificación.....	5
1.2 Localización Geográfica.....	5
1.3 Usos.....	6
CAPÍTULO 2	
2. PARED CELULAR VEGETAL.....	11
2.1 Composición Química.....	11
2.1.1 Celulosa.....	11

2.1.2	Hemicelulosa y Xilanos.....	13
2.1.3	Lignina.....	13
2.1.4	Proteínas.....	14
2.1.5	Sustancias Pécicas.....	14
2.1.5.1	Ramnogalacturonano I.....	16
2.1.5.2	Ramnogalacturonano II.....	16
2.1.5.3	Arabinanos.	17
2.1.5.4	Galactanos.....	17
2.1.5.5	Arabinogalactanos.....	17
2.1.5.6	Homogalacturonano.....	18

CAPÍTULO 3

3.	PECTINAS.....	19
3.1	Tipos de Pectinas.....	21
3.1.1	Pectinas de Alto Metoxilo.....	21
3.1.2	Pectinas de Bajo Metoxilo.....	21
3.1.3	Pectinas de Bajo Metoxilo Aminadas	22
3.2	Extracción de Sustancias Pécicas.....	22
3.2.1	Métodos Químicos.....	22
3.2.2	Métodos Enzimáticos.....	23
3.2.3	Métodos físicos.....	24

CAPÍTULO 4

4. CARACTERIZACIÓN DE LAS PEREDES CELULARES	24
4.1 Espectro electromagnético.....	24
4.1.1 Espectroscopia de Infrarrojo.....	25
4.2 T.G.A.....	26
4.3 D.T.A.....	26
MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	32
CONCLUSIONES.....	49
RECOMENDACIONES.....	50
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	51

Í

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Esquema representativo de la diosa Mayahuel	8
Figura 2. Estructura química de la celulosa	12
Figura 3. Estructura química de las pectinas.....	15
Figura 4. Espectro a diferentes longitudes de onda	25
Figura 5. Fotografía de piña de maguey y regiones consideradas para la preparación de paredes celulares vegetales	28
Figura 6. Efecto de la región de corte de piña de agave sobre la extracción de polisacárido péctico	35
Figura 7. Fibra celular de piña de agave despectinizada por autoclave	36
Figura 8. Espectro de color de muestra de <i>A. salmiana</i>	38
Figura 9. Análisis de regiones (A, B, C,)	42
Figura 10. Comparación espectroscópica de polisacáridos pécticos de <i>Agave salmiana</i> (línea negra) y <i>Opuntia ficus indica</i> (línea roja) mediante análisis de infrarrojo por transformadas de Fourier	44
Figura 11. Comparación espectroscópica de pectinas de referencia con diferentes grados de esterificación metílica (A: 0%, B: 30%, C: 60%, D: 90%) y polisacárido péctico de <i>Agave salmiana</i> (E) mediante análisis de infrarrojo por transformadas de Fourier	45

Figura 12. Análisis térmico-gravimétrico de materiales obtenidos de paredes celulares de piña de agave de la región B. (FT: fibra tratada por autoclave, PP: polisacárido péctico extraído por autoclave, F: fibra celular no tratada)..... 47

Figura 13. Análisis térmico diferencial de materiales obtenidos de paredes celulares de piña de agave de la región B. (FT: fibra tratada por autoclave, PP: polisacárido péctico extraído por autoclave, F: fibra celular no tratada)..... 48

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Contenido de sustancias pécticas en vegetales y tejidos vegetales.....	20
Tabla 2. Rendimiento de las 3 secciones de la piña de <i>A. salmiana</i>	33
Tabla 3. Determinación de color en paredes celulares secadas con etanol antes de su análisis	34
Tabla 4. Comparación de color de muestras de paredes celulares de piña de agave de regiones de corte	37



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

RESUMEN

El maguey pulquero *Agave salmiana* de la región de Coahuila es utilizado principalmente para la extracción de aguamiel y fermentado es conocido como pulque. El pulque es conocida desde tiempos prehispánicos, y tiene alto valor nutritivo. La producción promedio del aguamiel es de 3 a 5 meses, y se da cuando el maguey pulquero alcanza la madurez (entre 8 y 12 años) con un rendimiento de pulque de hasta 500 a 1000 litros. Los usos del *Agave salmiana* son limitados, sin embargo, es una planta que no necesita requerimientos especiales para su crecimiento ya que crece en climas áridos y semi-áridos y no necesita de cuidados especiales; en la literatura no existe suficiente información sobre su composición y estructura química; por esta razón surge la necesidad de estudiarlos y caracterizarlos fisicoquímicamente con la finalidad de darle un aprovechamiento integral a esta especie y proponer nuevas alternativas de uso.

Por tal motivo, en este trabajo se propuso la caracterización fisicoquímica de las paredes celulares y polisacáridos pécticos de la piña de *Agave salmiana* de la región de Coahuila, mediante espectroscopia de infrarrojo por transformadas de Fourier (FT-IR).

Un método físico (autoclavado) y uno enzimático (preparados comerciales), FTIR, DTA, TGA, color y humedad fueron empleados para la caracterización de las paredes vegetales de la piña de *A. salmiana*.

El componente principal de la piña de *Agave salmiana* son las sustancias pécticas con un 33% y 92% de agua; por lo que representa una nueva fuente alternativa de obtención de polisacáridos pécticos de bajo metoxilo.



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

Taxonómicamente el género *Agave* se ubica en la familia Agaváceas. En el continente Americano se reportan aproximadamente 310 especies, de las cuales en México existen 272; por esto se considera a este país como centro de origen del género (Granados-Sánchez, 1999). El maguey pulquero, *Agave salmiana*, es una especie de gran importancia en el estado de Coahuila desde el punto de vista ecológico e industrial. El raspado de la piña de *A. salmiana* es una práctica común en la extracción del jugo de aguamiel. El uso de la piña de este maguey en el estado de Coahuila es limitado.

Justificación

En Coahuila, el maguey pulquero (*A. salmiana*) es utilizado en la producción de aguamiel y pulque. Sin embargo, el desarrollo de nuevos productos es necesario para el aprovechamiento integral de la piña de *A. salmiana*. Por tal motivo, el presente trabajo aborda una estrategia de preparación de paredes celulares de piña de *A. salmiana* y su caracterización físico-química para encontrar nuevas posibilidades de aprovechamiento de este material.



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

Hipótesis

Es posible la caracterización de la piña de *Agave salmiana* mediante la técnica de espectroscopía de Infrarrojo por transformadas de Fourier.

Objetivo General

Preparar y caracterizar paredes celulares de piña de maguey (*Agave salmiana*) del estado de Coahuila e identificar su estructura química mediante espectroscopía de infrarrojo por transformadas de Fourier.

Objetivos Específicos

- ❖ Preparar y caracterizar físico- químicamente las paredes celulares de *Agave salmiana*.
- ❖ Extraer los polisacáridos pécticos a partir de paredes celulares de *Agave salmiana*.



REVISIÓN DE LITERATURA

Capítulo I

1. Maguey

El maguey manso o máäxo, maguey verde o hok' uada, maguey palmilla y xa'mni, en español y otomí respectivamente, es una de las especies con más usos en México. Pertenece a la familia Agavaceae, sus hojas anchas, fuertes, carnosas, de color verde con largos ápices acuminados y sigmoideos, de tallo corto y macizo en forma de roseta, y su tamaño varía de 1.50 m a 3.40 m de altura y hasta 5 m de diámetro. Sus flores son carnosas de tépalos estrechos, dimorfos, doblados hacia el interior. Es una planta que crece en terrenos planos y montañosos, desde suelos profundos a superficiales (García- Mendoza, 1992).

En 1753, Linneo designa con el nombre genérico de *Agave* a este tipo de plantas. La palabra proviene de una raíz griega que significa "admirable" y describe no solo su rara apariencia si no también su gran longevidad y floración (García-Mendoza, 1992).

La relación hombre-maguey tiene miles de años, su domesticación aparentemente ha iniciado hace más de 3,500 años. Es cultivado por las culturas de Tula, Tulancingo y Teotihuacan, en donde se han encontrado raspadores de piedra usados para la obtención de aguamiel. Los grupos nómadas al irse convirtiendo en sedentarios, fueron conociendo y aprovechando las propiedades de estas plantas, seleccionando especies y variedades que cumplieran con sus necesidades (Grenty, 1982).



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

El Agave es una planta que se encuentra comúnmente en lugares semiáridos y duros, de escasa lluvia, poca humedad, intensa luz, con temperaturas que oscilan entre 15 y 25°C, a una altura de 1,700 a 2400 metros sobre el nivel del mar.

Se reproducen de dos maneras, una forma es cortar sus flores y quitar los tépalos, ya que en cada una de ellas se forma un hijuelo. Y la otra es a partir de un rizoma que sale de la base de la planta que al estar al ras del suelo y bajo los rayos del sol, crece una yema que da origen a un hijuelo. Aunque sus rizomas pueden originar plantas nuevas, la planta puede crecer también a partir de semillas, bulbos o raíces subterráneas (García- Mendoza, 1992)

1.2 Clasificación

Taxonómicamente es una especie con gran variedad en sus formas morfológicas, se reconocen tres variedades y una subespecie: *A. salmiana salmiana*, *A. salmiana angustifolia*, *A. salmiana ferox* y *A. salmiana ssp crassispina*.

1.3 Localización Geográfica

Todas las especies del género *Agave* son nativas del suroeste de México, América Central, y las Islas Canarias (Saluson, 2000). Alrededor del 75% de estas especies viven en México y el 74% de ellas son endémicas de este país (García, 1995; Martínez-Palacios *et al.*, 1999). Gran diversidad de estos agaves se encuentran en la meseta central de México.



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

El *Agave salmiana* es una especie que se considera endémica de México central y existen formas salvajes o cultivadas; tienen tolerancia de ambientes más limitados comparados con las diferentes especies de agaves. Se ubica principalmente en alturas de 1230 a 2460 metros sobre el nivel del mar; su resistencia a la lluvia varía entre unos 360 a 1000 mm anuales (Gentry, 1982). En poblaciones de San Luis Potosí e Hidalgo, así como en zonas semi-áridas crecen junto con *Acacia* y *Opuntia* en comunidades denominadas *Acacia-Opuntia-Agave*. Las formas cultivadas se distribuyen principalmente en las zonas áridas y semiáridas del centro de México, desde Coahuila hasta Oaxaca. En Zacatecas la especie mas abundante es *Agave salmiana* (García-Mendoza, 1992)

La literatura menciona la aplicación de tratamientos de bajas temperaturas (congelación) y altas concentraciones de CO₂ en *Agave salmiana*, *Opuntia ficus indica* y *Stenocereus queretaroensis* para conocer la resistencia a cambios climáticos y conocer la adaptación de estas especies para seguir siendo cultivadas; encontrando la alta rentabilidad de las mismas (Nobel, 1996).

1.4 Usos

Entre los usos del maguey se encuentran la elaboración de bebidas alcohólicas, ya sean fermentadas (aguamiel y pulque) o destiladas (mezcal o tequila).

El *Agave salmiana* tiene un aprovechamiento integral ya que se ha reportado que tiene diferentes aplicaciones de sus partes. El principal producto del cual deriva su nombre genérico a nivel popular “maguey pulquero” es el



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

pulque, el cual es un fermento de la savia de sus hojas o aguamiel (García-Mendoza, 1992).

A nivel genético las agaveceas tienen 30 cromosomas, 5 largos y 25 pequeños. Un rosetón puede tener de 20 a 200 hojas dependiendo de la especie. Esta estructura sirve como protección de la planta contra animales herbívoros (Kolendo 2000).

El maguey manso y los agaves pulqueros en general tardan de 8 a 12 años para florecer, que es la edad ideal para realizar la extracción de aguamiel, el cual se extrae del área donde nace el cogollo y la yema vegetativa, antes de la floración. Estas dos partes se cortan y posteriormente por medio del raspado o desgaste de esta zona se forma una cavidad en el centro, hacia la cual escurre la savia dulce de las hojas o aguamiel. Cada planta produce entre 500 a 1000 litros de aguamiel en su vida productiva, el cual dura solo unos cuantos meses (Kolendo, 2000).

El aguamiel al fermentarse se convierte en pulque y se considera como la bebida más antigua y de más tradición que aún en la actualidad se sigue produciendo. El pulque fue usado por los sacerdotes prehispánicos en ceremonias y ritos, se reconoce en los códices por su presencia en una jícara con espuma, la cual se encuentra presente en una de las manos de la diosa del maguey o Mayahuel (Figura 1) (Gentry, 1982).



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*



Figura 1. Esquema representativo de la diosa Mayahuel

El aguamiel es dulce y de color amarillo, a veces incoloro, al guardarse se fermenta (agria), tomando un color azul claro; al adquirir estas características es cuando se le llama pulque. Dependiendo el grado de fermentación se obtiene el pulque dulce, mediano y fuerte; el primero es el aguamiel sacado del maguey, mezclado con un poco de asiento; el fuerte, es el fermentado de un día anterior, el cual adquiere un sabor agrio; y el mediano, es una combinación del pulque dulce y fuerte.

Para la producción del pulque es necesario que la planta se encuentre en etapa de maduración ya que es cuando la planta incrementa el contenido de carbohidratos, además de que las bacterias existentes como *Zymomonas mobilis* y *Lactobacillus*, así como la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, intervienen en la fermentación; este proceso consiste en transformar la glucosa en alcohol y bióxido de carbono, produciendo a su vez ácido láctico; algunas más, del genero *Leuconostoc* producen dextrinas.

El pulque es considerado una bebida blanca, viscosa que presenta de 3 a 6 porciento de alcohol. Tiene como propiedades nutricionales a los azúcares, aminoácidos esenciales, y vitaminas del complejo B complementando los requerimientos nutricionales de la población; ayuda a balancear la dieta casi



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

nula de carne del pueblo indígena en pobreza en este país (García- Mendoza, 1992).

El pulque ha sido por mucho tiempo una bebida popular y parte importante de la cultura en el centro de México. El aguamiel también se toma como bebida refrescante, atole y se produce miel, la cual se consume como endulzante y golosina.

Las propiedades curativas del pulque y/o aguamiel son muchas, presentando gran diversidad de preparaciones y maneras de ser aplicados. Las hojas de *A. salmiana* son muy usadas para la barbacoa o asado de cordero en horno tradicional o subterráneo, de donde obtienen su aroma y sabor característico.

De las hojas vivas se saca la cutícula y la capa subyacente de las células epidérmicas para hacer una hoja transparente con la cual se envuelve el alimento. Esta envoltura da un sabor suave a un delicioso platillo llamado mixiote. El quiote y las flores tiernas son comestibles; el primero, es cocido en hornos subterráneos y los “capullos de flor” se cocen o fríen y son empleados como alimentos. Este maguey es parasitado por una mariposa: *Aegiale hesperiaris*, cuya larva es un gusano blanco el cual se asa y combina con chile, este platillo es considerado una delicia mexicana, exótica y muy cara. El quiote o inflorescencia sirve como estructura de la construcción de casas y gallineros entre otros usos. Toda la planta es común encontrarla como cerca viva o setos para separar predios, con el fin de evitar intrusos, para control de erosión y formación de terrazas en terrenos inclinados; además es usado como forraje para el ganado lechero confinado y en el agostadero. Su bella simetría permite que se utilice como plantas de ornato (Gentry 1982).



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

También tiene uso en la fabricación de fibras para elaboración de cordones, redes, bolsas, cestas, tapetes, ropa, mandiles, calzado, brochas para pintar, hilo para pesca entre otros (Grenty, 1982).

El Mezcal es una bebida alcohólica obtenida por fermentación y destilación de jugos extraídos de varias especies de Agave, que se pueden encontrar en diferentes regiones de México (Cámara de Comercio 1994). El proceso de producción de Mezcal comprende 5 fases: cocción, molienda, fermentación, destilación y envejecimiento (Mancillas, 2002). Algunas especies de Agave usadas en la elaboración de bebidas destiladas contienen compuestos que pueden inhibir el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*, como lo son las saponinas, causando algunas veces disminución en la eficiencia de fermentación (Arellano *et al.* 2000). Las saponinas son metabolitos secundarios que se les ha vinculado con la defensa contra hongos patógenos (Ito *et al.* 2000); además de presentar actividades antibacteriales (Chattopadhyay *et al.* 2000) y antilevaduremicas (Miyakoshi *et al.* 2000).

La tomatinasa, una enzima obtenida de *Fusarium* fue clonada en *Sacharomyces* para incrementar la producción de saponinas y etanol durante el proceso de fermentación para la elaboración de bebidas alcohólicas mediante el uso de *Agave salmiana* y *Agave tequilana* Weber (Cira, 2008).



Capítulo II

2. Pared Celular Vegetal

La pared celular de los vegetales es una estructura que recubre a las células, se encuentra exterior al plasmolema y tanto su composición como sus propiedades se adaptan constantemente al crecimiento, y a las variaciones medioambientales. Las paredes celulares de una planta aseguran la protección contra patógenos y a la vez determinan su forma. Las paredes vegetales están formadas por dos capas: la pared secundaria interna esta compuesta principalmente de fibras de celulosa y hemicelulosa, y la pared primaria más externa, formada también por fibras embebidas en sustancias pécticas y proteínas. Las paredes primarias de dos células contiguas se hallan unidas por la laminilla media, estructura cementante (Waldron, *et al.*, 2003).

2.1 Composición Química

Los componentes más significativos fisiológicamente estudiados son: la: celulosa (20-38%), hemicelulosa (4-11%), lignina (2-8%) y sustancias pécticas (20-38%) los cuales varían en dependencia de la especie, cosecha, lugar de cultivo y otros (Bárbara, *et al.*, 1995).

2.11 Celulosa

Polisacárido comúnmente encontrado en paredes celulares vegetales, y representa el componente mayoritario, es un polímero lineal de residuos de



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

glucosa unidos por enlaces β -(1-4) formado por mas de 12,000 monómeros (Figura 2). La celulosa es una estructura ordenada en forma de fibras y tiene como función principal dar rigidez a la pared celular. Se encuentra en plantas, algas y bacterias (Waldron, *et al.*, 2003).

La celulosa es el polisacárido ampliamente estudiado por el método de espectroscopia de infrarrojo (Aspinall, 1983).

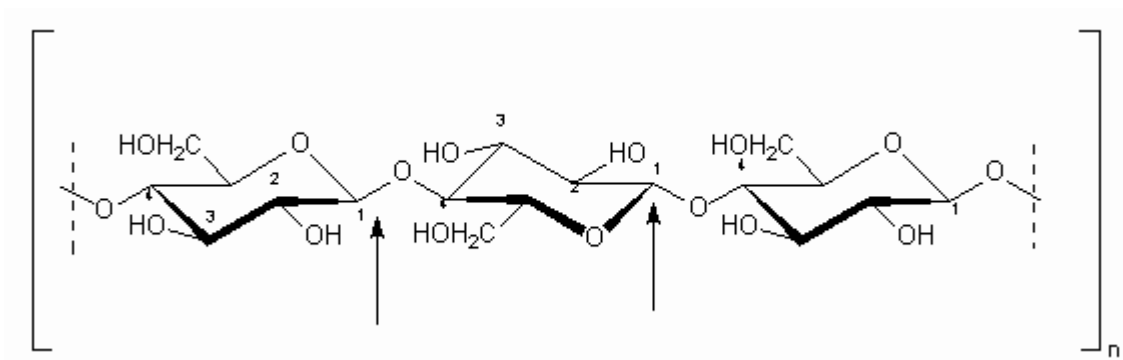


Figura 2. Estructura química de la celulosa.

En la molécula de celulosa cada unidad de glucosa contiene tres grupos hidroxilos libres en los átomos de carbono 2, 3 y 6 respectivamente. En esta molécula existen dos grupos terminales que difieren entre sí, uno es reductor debido al enlace hemiacetal intramolecular C₁ el otro no es reductor C₄ (Aguilar-González *et al.*, 1999).

La celulosa de *Agave lechugilla* ha sido caracterizada mediante la espectroscopia FT-IR, DSC y SEM (Cruz *et al.*, 2000); al *Agave sisilana* se ha detectado la presencia de celulosa y polisacáridos no celulolíticos por FT-IR (Stewart *et al.*, 1997).



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

Estudios de FT-IR realizados sobre el parénquima de diferentes paredes celulares empleando celulasas, demuestran que éste se encuentra formado por lípidos, sustancias pécticas y hemicelulosa (Morikawa, *et al.* 1978).

2.1.2 Hemicelulosa y Xilanos

Polímero de 150 a 200 unidades de xilosa unidos por enlaces $\beta(1-4)$, también contiene ácidos urónicos, probablemente acetilados (Aguilar, 1999). Es el segundo en abundancia en tejidos vegetales con una estructura más heterogénea. Su principal constituyente descrito en cereales y maderas duras (hardwoods) es el xilano, que consiste en un esqueleto de residuos de xilosa unidos por enlaces $\beta(1-4)$ que pueden estar sustituidos con diferentes azúcares (neutros y ácidos) como L-arabinosa, D-galactosa o ácido D-glucurónico (Renovato-Nuñez, 2005).

Estos residuos pueden estar esterificados con grupos acetilo feruloílo o *p*-cumaroílo. Una segunda estructura de hemicelulosa, descrita tanto en maderas blandas (softwoods) como duras, es el galactomanano compuesto por residuos de glucosa y manosa unidos por enlaces $\beta(1-4)$ con residuos laterales de galactosa (Waldron, *et al.*, 2003).

2.1.3 Lignina

Polímero insoluble de alto peso molecular de los alcoholes cumarílicos, coniferílico, sinapílico; contiene 100 o más unidades aromáticas altas en grupos metoxilos que penetran en la pared celular, produciendo engrosamiento secundario y actúan como un relleno hidrofóbico; forman ligaduras covalentes



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

con los carbohidratos de la pared (Aguilar-González, 1999). Stewart *et al.* (1997) caracterizó el *Agave sisilana* y detectó la presencia de lignina y polisacáridos no celulolíticos.

2.1.4 Proteínas

En la pared celular se encuentran proteínas ricas en hidroxiprolina, básicamente son varios ésteres glicosídicos y bases de Schiff unidas a polisacáridos; puentes de quelatos de hidroxiquinona con lignina (Aguilar-González *et al.*, 1999).

2.1.5 Sustancias Pécicas

Las sustancias pécticas son mezclas complejas de polisacáridos que constituyen una tercera parte de la pared celular de los vegetales. Se localiza principalmente en la matriz de la pared primaria y en la laminilla media de las plantas superiores, conformando el 34% de material de la pared celular (Aguilar, 1999); es por lo tanto, uno de los compuestos más importantes. Contribuye con muchas de las funciones de la pared celular, son responsables en buena medida de la firmeza y textura de los frutos, transporte iónico, retención de agua y mecanismos de defensa contra infecciones por plantas patógenas (Basic, *et al.*, 1988).

Las sustancias pécticas se encuentran ampliamente distribuidas en los vegetales (Stevens 1984; Siddiqui, 1990).



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

El principal constituyente de los polisacáridos pécticos es el Ácido D-galacturónico unido en cadenas por medio de enlaces glucosídicos (1-4) (Figura 3). Dependiendo del origen botánico y el proceso de extracción los grupos carboxílicos están parcialmente esterificados con metanol y en ciertas pectinas los grupos hidroxilo están parcialmente acetilados. Azúcares neutros, como la ramnosa, arabinosa, galactosa, xilosa y glucosa, también están presentes usualmente en proporciones de 5-10% del peso de ácido galacturónico. Estos se unen como cadenas laterales de elevada ramificación (arabinana y galactana, como parte de la cadena central (ramnosa) o como polisacáridos contaminantes (glucanas y xiloglucanas) (Rolin, 1993). Dependiendo del grado de esterificación (GE, expresado convencionalmente en porcentaje del contenido total de ácidos urónicos), las pectinas forman geles en un medio ácido y alta concentración de azúcar (pectinas de alto GE >50%), o por interacción con cationes divalentes, particularmente Ca^{2+} (pectina de bajo GE <50%). Las pencas de nopal excretan un mucílago sin capacidad de gelificación que han sido descrito como una pectina, cuyas propiedades fisicoquímicas y reológicas en solución se han estudiado ampliamente (Valdez Peña, 2006).

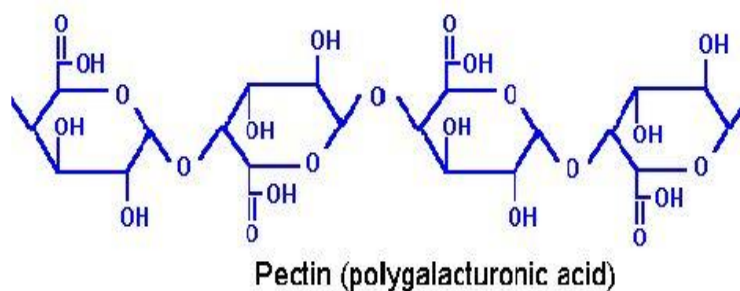


Figura 3. Estructura química de la pectina



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

La naturaleza de la pectina y la cantidad de la misma tiene una gran influencia sobre la textura de frutas y vegetales tanto en crecimiento, maduración y almacenamiento y también afecta el procesamiento de frutas y vegetales (Kravtchenko, *et al.*, 1992).

2.1.5.1 Ramnogalacturonano I

Constituye el 7% de la pared celular, es la región de pectina cuyo grado de polimerización es de 2000; unidos por enlace $\alpha(1-4)$ y cuya secuencia de unidades de ácido galacturónico con residuos ramnosidos y poseen azúcares neutros adyacentes a la cadena (Aguilar, 1999).

2.1.5.2 Ramnogalacturonano II

Forma el 3 % de la pared celular primaria y constituye una región pequeña de los polisacáridos pécticos formada de 25-50 residuos glicosilos y por polisacáridos que raramente se observan en otros polímeros, por ejemplo: 2-o-metil-D-xilosa y D-apiosa. El ramnogalacturonano II contiene como residuos terminales el ácido galacturónico, D-galactosa, L-arabinosa, L-ramnosa, 2-o-metil-L-mucosa, y el 2-o-metil-D-xilosa (Aguilar, 1999).

Existen pocos trabajos relacionados con la caracterización de las pectinas de Agave. Sin embargo Stewart, en 1997 aisló polisacáridos pécticos tipo Rhamnogalacturonano II. El estudio fue realizado por análisis de cromatografía de permeación en gel.



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

2.1.5.3 Arabinanos

Forman el 9% de la pared celular primaria de plantas dicotiledóneas y están conformados por regiones de cadenas ramificadas en enlaces $\alpha(1-5)$, que muestran diferentes grados de polimerización, dependiendo del vegetal. Contienen ligaduras con residuos diversos que involucran enlaces (1-5), (3-5), (2-5) y (2,3-5) (Aguilar, 1999).

2.1.5.4 Galactanos

Junto con los arabinogalactanos, representa aproximadamente el 9% de la pared celular, contiene enlaces $\beta(1-4)$ y $\alpha(1-6)$ entre los monómeros de ácido galacturónico. Además presenta regiones de galactosilos ligados por enlaces $\alpha(1-6)$ (Aguilar, 1999).

2.1.5.5 Arabinogalactanos

Están formados por unidades de galactosa y arabinosa enlazados por ligaduras $\beta(1-3)$ y $\beta(1-6)$; también se presenta como un constituyente de sustancias pécticas (Aguilar, 1999).



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

2.1.5.6 Homogalacturonano

Porción de polisacárido péctico que forma el 6% de la pared celular, contiene regiones ramificadas de residuos galacturanosilos α (1-4); se encuentran ligada a rhamnogalacturonano también se considera dentro de los homogalacturonanos a las regiones de pectinas estables a la hidrólisis de endopoligalacturonasas.



Capítulo III

3. Pectina

La pectina es un complejo heterogéneo de polisacáridos presentes en las paredes celulares vegetales teniendo un importante papel en la fisiología vegetal. Su composición varía dependiendo de la fuente y las condiciones aplicadas durante su extracción.

La pectina fue descubierta en 1790 cuando Vauquelin encontró primeramente una sustancia soluble en los zumos de fruta. El científico francés Braconnot continuó el trabajo de Vauquelin, y encontró que se trataba de “una sustancia ampliamente disponible de plantas vivas ya que tenía propiedades gelificantes cuando se le añadía ácido a su solución. La llamo “Pectina Ácida” del griego “pectos” que significa sólido, coagulado

La pectina fue definida por Kertesz en 1951, como los ácidos pectínicos solubles en agua de grado de mutilación variado que son capaces de formar geles con azúcar y ácido bajo condiciones determinadas. Esta definición abarca la gelificación con calcio de los ácidos pectínicos, definidos por Kertesz como los ácidos poligacturónicos coloidales, aislados de plantas ya que contenían una cierta proporción de grupos metil-éster. De ahí que el término pectina se usa colectivamente para incluir ácido péctico, la forma de pectina completamente desesterificada (Valdez-Peña, 2003).

Se ha reportado en la literatura que la composición de la pectina es variable. El contenido de pectina en cáscaras de limón es de alrededor del 30% respecto a su peso seco; en cáscaras de naranja el contenido de pectina es del 15-20% y las cáscaras de manzana contienen aproximadamente 10%. Incluso dentro de una misma fuente de origen, la composición de las sustancias pécticas no es



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (Agave salmiana) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

constante. Como es el caso de los frutos de manzana inmaduros, la protopectina se encuentra en mayor proporción, dando al fruto su turgencia y dureza. Conforme va madurando, las enzimas pectinasas endógenas presentes van solubilizando a la protopectina en pectina soluble, haciendo el fruto más suave (Delgado, 2002).

Las pectinas son polisacáridos extraídos de plantas que se utilizan comúnmente en la industria alimentaria como gelificantes y estabilizadores (Be Millar, 1986; Thakur, 1997; Van Buren, 1991).

La cantidad de pectina es diferente dependiendo de la materia prima de donde se obtenga (Tabal 1).

Tabla1.- Contenido de sustancias pécticas en vegetales y tejidos vegetales

Origen	Contenido de Pectina (%)
Papa	2.5
Zanahoria	10.0
Tomate	3.0
Bagazo de Manzana	17.5
Girasol	25.0
Corteza de limón	32.0
Pulpa de limón	25.0
Melocotón	7.5

Fuente: (Rodríguez-Jasso, 2003)



3.1 Tipos de Pectinas

Las pectinas se clasifican dependiendo de su capacidad para gelificar, las pectinas comerciales se dividen en pectinas de alto metoxilo (PAM), pectinas de bajo metoxilo (PBM) y pectinas de bajo metoxilo aminadas (PBMA) (Renovato-Nuñez, 2005).

3.1.1 Pectinas de Alto Metoxilo

Estas pectinas generalmente contienen más del 50% (55 al 80%) de sus grupos carboxilo esterificados con metanol. Requieren bajos pH (2 a 3.5) y grandes cantidades de azúcar (60-65%); con estas pectinas se pueden formar geles, jaleas, conservas y mermeladas (Renovato-Nuñez, 2005).

3.1.2 Pectinas de Bajo Metoxilo

Pectinas de bajo Metoxilo (PBM). Son pectinas que poseen menos del 50% (18 al 45%) de unidades de ácido poligalacturónico metil esterificado. Estas pectinas pueden formar geles con o sin azúcar en presencia de cationes divalentes como el calcio, por lo que se recomienda su uso en productos con bajo contenido de azúcar (Delgado, 2003). En la literatura se menciona que el análisis de espectroscopia de infrarrojo FT-IR se ha utilizado para la caracterización estructural, grado de esterificación y propiedades gelificantes de pectina de Krueo Ma Noy (*Cissampelos pareira*), donde el grado de esterificación de esta pectina es de 41.7 y 33.7%, es decir, que dichas pectinas son de bajo metoxilo (Singthong, *et al* 2006).



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

3.1.3 Pectinas de Bajo Metoxilo Aminadas

Son pectinas de bajo Metoxilo, que han sido desmetoxiladas con amoniaco en lugar de ácido. Durante la desmetoxilación, parte de los grupos ésteres han sido reemplazados por lo grupos amida, los cuales modifican las propiedades gelificantes en comparación con las pectinas desmetoxiladas con ácido. Requieren iones calcio para gelificar en menores cantidades que las PBM (Delgado, 2003).

3.2 Extracción de Sustancias Pécticas

La extracción de pectinas se puede llevar a cabo con diversos propósitos: a) analítico, b) industrial, c) nutricional. Así como por diversos métodos: físicos (autoclavado, extrusión y microondas), químicos (ácido fuertes, débiles y álcalis) y biológicos (microbiológico y enzimático), estos métodos pueden ser empleados por separado o combinados (Rodríguez-Jasso, 2003).

3.2.1 Métodos Químicos

Este método es el más utilizado industrialmente para la extracción de pectina. El agente de extracción de pectina es seleccionado de acuerdo a las características fisicoquímicas de la materia prima. Por ejemplo, la extracción de pectina de bajo grupo metoxilo puede llevarse a cabo con el uso de agentes quelantes (hexametáfosfato de sodio) de iones divalentes como el calcio y el magnesio. Por otro lado los ácidos fuertes y débiles son utilizados en materias primas con alto grado de metoxilación y unidas covalentemente a hemicelulosa (Contreras-Esquivel *et al.*, 2006).



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

3.2.2 Métodos Enzimáticos

Los métodos biológicos pueden ser subdivididos como fermentativos y enzimáticos (Contreras-Esquivel *et al.*, 2006). La extracción enzimática de pectinas se utiliza como herramienta analítica, aunque de los dos métodos biológicos es el que tiene grandes perspectivas de aplicación en la industria.

3.2.3 Métodos Físicos

Los trabajos de extracción de pectina realizados por el medio de extrusión muestran que cantidades apreciables de pectinas pueden ser extraídas utilizando agua. El proceso de autoclavado ha sido escasamente estudiado en la extracción de pectina debido a que a nivel industrial son usados principalmente los procesos continuos a pesar de existir tecnología de autoclavado a nivel industrial (Contreras-Esquivel *et al.*, 2006).



Capítulo IV

4. Caracterización de las Paredes Celulares Vegetales FTIR

4.1 Espectro electromagnético

La energía puede presentarse como onda o bien, como corpúsculo o fotón. Un fotón puede manifestarse con diferentes energías lo que constituye el espectro electromagnético.

A su vez, el espectro electromagnético ha sido dividido arbitrariamente por los científicos, según un criterio instrumental. Por ejemplo, de mayor a menor energía están:

Luego, toda la radiación electromagnética está relacionada con la energía de los fotones, a través de su frecuencia o longitud de onda. La materia absorbe o emite esta radiación cuánticamente, es decir, usa estos paquetes de energía para pasar desde un estado basal a otro excitado o viceversa. La igualdad matemática que describe esta relación es:

$$\epsilon = hv$$



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

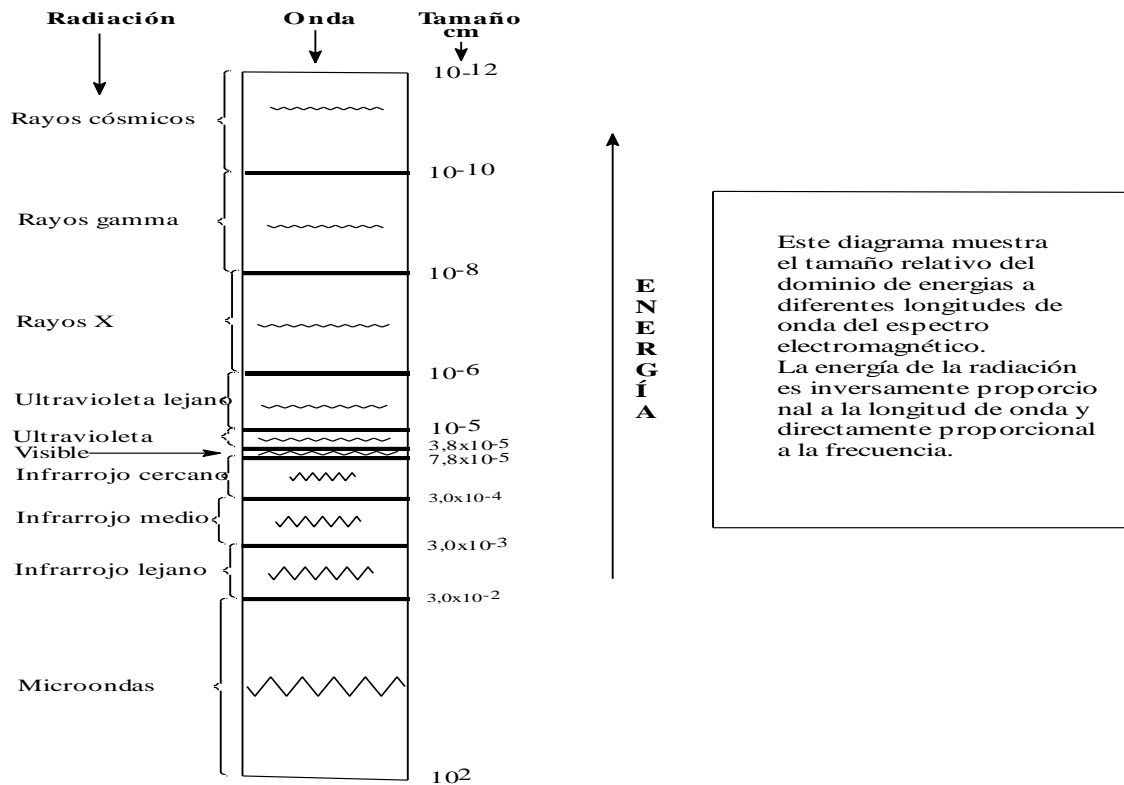


Figura 4. Espectro a diferentes longitudes de onda.

4.1.1 FTIR

La espectroscopia de infrarrojo FT-IR es una importante herramienta de investigación a fin de elucidar la estructura, propiedades físicas y las interacciones de los hidratos de carbono. Proporciona una nueva interpretación experimental para el estudio de los hidratos de carbono, los cuales incluyen una amplia gama de estudios de hidratos de polisacáridos en diferentes estados físicos, desde el estado sólido cristalino de solución acuosa, y técnicas especiales, que amplían el marco experimental para el muro en estudios de materiales vegetales, y determinación cuantitativa (Kacyrakova *et al* 2001).



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

Cerna, *et al.* (2003) utilizó la espectroscopia de infrarrojo para caracterizar polisacáridos, como almidón, glucomananos y carragenina de aditivos alimenticios, mencionando que el FT-IR es una herramienta útil para las identificación de las longitudes de onda específicas para la absorción de diferentes componentes como glucosa, manosa, sacarosa, fructosa, arabinosa, así de polisacáridos pécticos.

4.3 TGA

El análisis termogravimétrico se basa en la medida de la variación de la masa de una muestra cuando es sometida a un programa de temperatura en una atmósfera controlada, donde la variación de masa puede ser una pérdida de masa o ganancia de masa. Este análisis se reporta en la literatura que se ha empleado en diferentes caracterizaciones de paredes celulares celulares de diversos vegetales como jícama, manzana, mango (Contreras-Esquivel *et al.*, 2006), limón y naranja (Renovato-Nuñez, 2001).

4.2 DTA

En el análisis térmico diferencial (DTA) mide la diferencia de temperatura entre la muestra y un material de referencia (térmica, física y químicamente inerte) en función del tiempo o de la temperatura cuando dicha muestra se somete a un programa de temperatura en una atmósfera controlada. Es una técnica cualitativa que indica la temperatura a la cual tiene lugar un cambio energético si el proceso es endotérmico o exotérmico. Sin embargo con un adecuado calibrado es posible convertirla en semi-cuantitativa y obtener información de calor involucrado.

Esta técnica ha sido ampliamente utilizada para caracterizar pectinas de limón y naranja (Renovato-Núñez, 2005), quitosán (Charles-Rodríguez, 2008), quitina, fucoïdanes (Flores, 2006), etc.



MATERIALES Y METODOS

1. Reactivos y biológicos

Se emplearon pectinas cítricas con grados de esterificación metílica de 0, 30, 60 y 90% (Sigma-Aldrich de México). El ramnogalacturonano de soya fue adquirido en Megazyme (Irlanda). El polisacárido péctico de cáscara de nopal fue proporcionado por Coyotefoods Biopolymer and Biotechnology S.R.L.mi (Saltillo, Coahuila, México). El alcohol etílico fue adquirido en Jalmex (San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México).

2. Recolección de piña de maguey

Se recolectó una piña de maguey (*A. salmiana*) de un peso de 30.07 Kg en el rancho “La Casa de Paja” Agua Nueva, Municipio de Saltillo, Coahuila, México. La piña fue lavada con agua potable hasta quedar libre de tierra y posteriormente lavada con agua destilada. La piña de agave fue seccionada en tres partes (Figura 5). Una vez considerados los cortes, la piña fue serruchada manualmente con una segueta (Marval, Monterrey, Nuevo León, México) para obtener los cortes de mayor tamaño. Los cortes de menor tamaño fueron obtenidos mediante el empleo de un serrucho eléctrico (Braun de México, México).



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

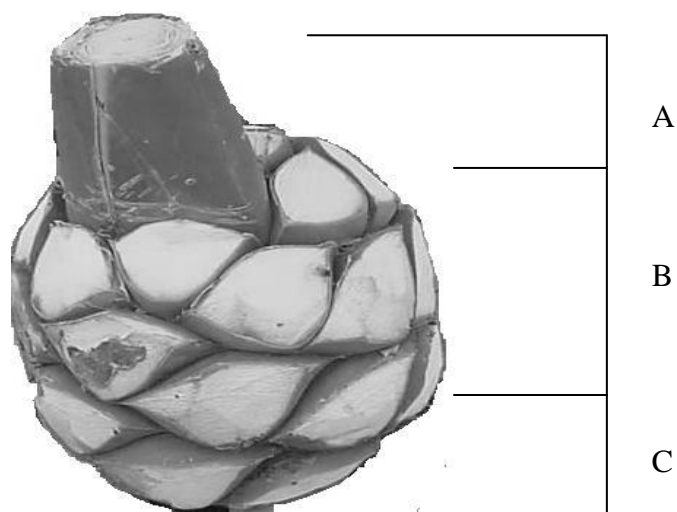


Figura 5. Fotografía de piña de maguey y regiones consideradas para la preparación de paredes celulares vegetales.

3. Preparación de paredes celulares

Al terminar de cortar en su totalidad la piña de maguey, las tres partes obtenidas fueron pesadas por separado, y cortadas en cubos de 3 cm³. El material ya cortado, fue escaldado a 105 °C por 10 min. Los materiales escaldados y cortados se sumergieron con 2 volúmenes de etanol y se dejó reposar 24 h. Al transcurrir las 24 h se filtraron las muestras para eliminar el etanol y se colocaron las muestras en 2 volúmenes de acetona. Por otra parte, el etanol obtenido de la filtración se dejó reposar para permitir así la separación mediante sedimentación de un contenido blancuzco presente.



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

Después de separarlo, se secó y analizó por espectroscopia Infrarroja por transformadas de Fourier. Las muestras que se dejaron en acetona por un periodo de tiempo de 24 h para posteriormente filtrarlas. Se colocaron las muestras en parrillas para secarlas en estufa a 40° C hasta obtener un peso constante. Ya secas las muestras y por separado, cada una de las partes de la piña, (centro exterior superior y exterior inferior) se procedió a triturarlas con ayuda de un molino. (Molino pulvex 100 mini S.A. de C.V., México) y almacenarlas bajo condiciones adecuadas para su análisis posterior.

3.1 Tamizado

El material insoluble obtenido del secado con solventes, se molió y se tamizó por separado, para determinar el porcentaje de tamaño de partícula obtenido. El análisis se realizó por triplicado y se usaron cantidades de 200 g, en el caso del centro de la piña, se realizó por duplicado, ya que la cantidad de la muestra obtenida fue de 350 g. Los tamices utilizados fueron: tamiz 10 (2000 micras), tamiz 30 (600 micras), tamiz 50 (297 micras), tamiz 80 (180 micras), tamiz 100 (150 micras), tamiz 120 (125 micras).

4. Extracción de polisacáridos solubles en hexametáfosfato de sodio

Se utilizaron 10 g de polvo (fibra de piña de agave) más 350 ml de hexametáfosfato (HMP) al 1 % (p/v), el proceso de extracción de polisacáridos se llevó a cabo mediante la técnica propuesta por Rodríguez-Jasso (2003). En vasos de precipitado de 500 ml se colocaron 10 g de muestra A, B, C disolviéndolas en HMP al 1%. Se taparon con papel aluminio y fueron autoclavadas a 121 °C por 10 min (2 atm). Se filtraron con tela muselina



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

midiendo el volumen y pH obtenido. Finalmente se secaron por intercambio con solventes empleando etanol en una relación 2:1 p/v y manteniéndolas a 4°C por 12 h. Se peso 10 g de pared celular, se agrego 350ml de hexametafosfato al 1%, se disolvió y tapó con papel aluminio, las muestras se autoclavaron por 10 minutos a una temperatura de 121°C. La parte despectinizada se lavó con 100 ml de agua y finalmente secadas mediante intercambio con solventes empleando etanol en relación 2:1 (p/v). Las muestras se secaron a 40°C, hasta peso constante, para ser pulverizadas y almacenadas para su uso posterior. Todos los análisis se realizaron por triplicado. Se siguió la técnica propuesta por (Contreras-Esquivel, *et al.*, 2006).

5. Caracterización físico-química de las paredes vegetales

5.1 Análisis Termogravimétrico (TGA):

Se utilizaron las muestras A, B y C, en polvo para este análisis. Se empleó un TGA Shimadzu Thermogravimetric Analyzer, (Software TA-60WS Acquisition Status), a una temperatura de 600°C aumentando 2°C/min., en crisoles de aluminio y colocando la muestra sobre alúmina siguiendo la técnica propuesta por Renovato-Nuñez en el 2005.

5.2 Análisis térmico diferencial (DTA):

Para el análisis Térmico Diferencial se empleó un Shimadzu Diferencial Thermal Analyzer (DTA-50, Software TA-60WS Acquisition Status). Para este análisis se utilizaron 2-10 mg de cada una de las muestras pesadas sobre crisoles de aluminio (Renovato-Nuñez J. 2005).



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

5.3 Espectroscopía Infrarroja:

La espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR) se llevó a cabo mediante el empleo de un instrumento Perkin – Elmer equipado con un atenuador de reflexión simple de puerta de oro atenuado por un accesorio refractante total (ATR) colocando en el compartimiento de la muestra con una resolución de 1 cm^{-1} . Se realizó un barrido de 500 a 4000 cm^{-1} . Todos los espectros fueron normalizados y fue corregida la línea base con un software IR Perkin – Elmer. Se utilizaron muestras con tamaño de partícula homogéneo para este análisis.



RESULTADOS Y DISCUSIONES

La piña de maguey se seccionó en tres partes, tomando en cuenta las características físicas que presentaba (textura, color, dureza, forma). La región A correspondió al segmento superior a partir de 5 cm arriba de la región central (B). La región (C) es la parte inferior de la piña a partir de 5 cm debajo del área central.

En el caso de los dos extremos tanto superior como inferior, (la región A y C) la textura era áspera y difícil de triturar. En el caso de la región B, por lo contrario, fue muy suave y no se dificultó el corte, por lo que la molienda fue rápida, mientras que parte media, presentaba una raíz central baja extremadamente dura, la cual fue descartada para análisis posteriores.

1. Preparación de paredes celulares

Una vez que las partes de la piña fueron escaldadas y tratadas con etanol, se observó que el etanol de cada parte de la piña de agave, presentó características diferentes en cuanto al color visual (color amarillo) y al sedimento (color blanco). En la región B o centro presentaba partículas pequeñas, y en la parte exterior eran similares en cuanto al tamaño mediano, pero el color del etanol era un tono amarillo más intenso; lo cual nos indica la extracción de mayor cantidad de pigmentos en las diversas secciones de la piña.



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (Agave salmiana) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

2. Rendimiento de las secciones de la piña de *Agave salmiana*

La Tabla 2 nos muestra los rendimientos obtenidos en base húmeda, después de escaldar y base seca de la piña de *Agave salmiana*. Podemos observar que el 92% de la piña de *Agave salmiana* es agua; reportes en la literatura mencionan que este tipo de paredes vegetales tienen un alto contenido de agua como el *Aloe barbadensis* con un 98% (Charles-Rodríguez, 2008), *Opuntia ficus indica* con un 91% (Terrazas, 2006).

Tabla 2. Rendimientos de las 3 secciones de la piña de *A. salmiana*

Descripción	Antes de	Después de	Base seca (g)
	Escaldar (Base húmeda) (g)	escaldar (Base húmeda) (g)	
Centro	6875.2 *	3882.2 ** 2194.2	399.5
Exterior Superior	9271.1	8221.5	785.5
Exterior Inferior	9190.1	8090.5	805.1
Residuos	657.2		
Raíz	1969.7		402

*Pesada con raíz central Baja, ** Pesada sin raíz central baja.



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (Agave salmiana) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

3. Extracción de polisacáridos pécticos de paredes celulares de piña de agave

La Tabla 3 muestra los colores obtenidos al disolver la fibra con el HMP, indicando que la sección A es donde se encuentran la mayor cantidad de pigmentos.

Tabla 3. Determinación de color en paredes celulares secadas con etanol

Corte	Código	Color de la fibra
Exterior superior	A	beige-verde seco
Centro	B	blanco
Exterior inferior	C	beige-melón tenue

En cada sección de la piña se obtuvieron diferentes porcentajes de polisacáridos pécticos, como lo indica la Figura 6, donde podemos observar que los rendimientos obtenidos de la extracción de pectina no muestran diferencias significativas entre las secciones, demostrando que el contenido de pectina es independiente a las tres fracciones de la piña de agave.



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

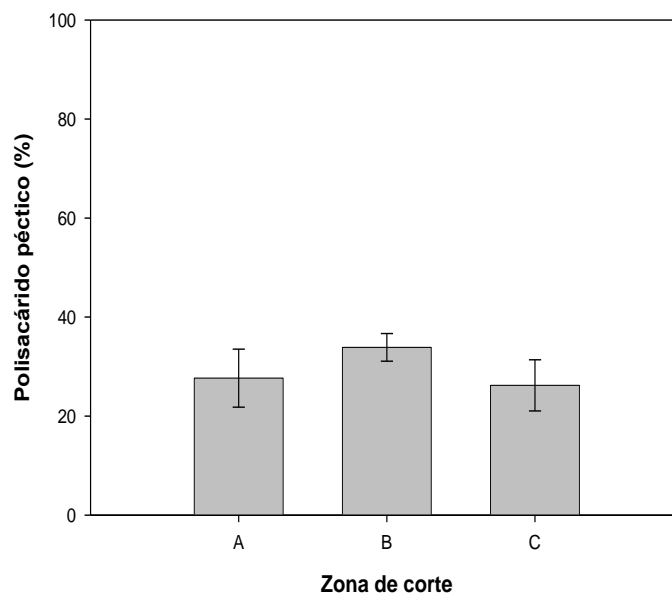


Figura 6. Efecto de la región de corte de piña de agave sobre la extracción de polisacárido péctico

En la Figura 6 se muestran los rendimientos correspondientes a la extracción de polisacáridos pécticos empleando hexametáfosfato de sodio al 1% (p/v). Donde se observa que en cada sección de la piña existen diferentes porcentajes de polisacáridos pécticos, pero la variación entre cada una de las secciones no es estadísticamente significativa, encontrándose en un rango de 26-33%; por lo que el contenido de pectina es independiente de las características físicas de la piña de agave.



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

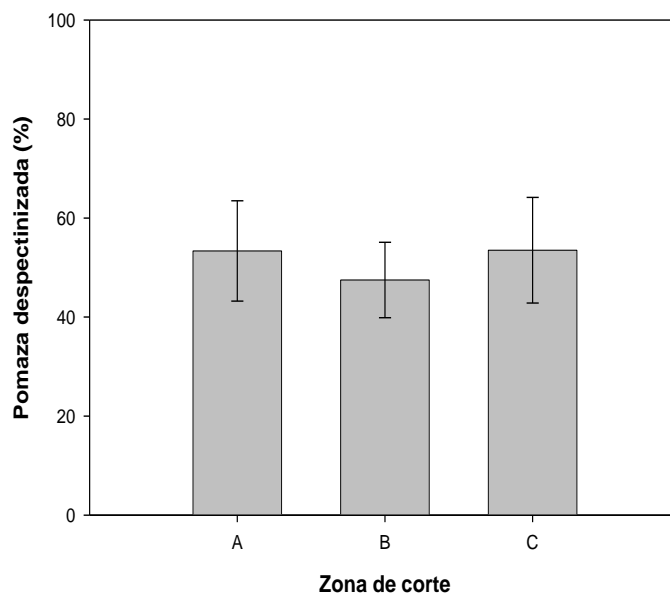


Figura 7. Fibra celular de piña de agave despectinizada por autoclave

La variación del rendimiento de la pomaza despectinizada no es significativo al igual que en los rendimientos de extracción de pectina. El porcentaje de obtención de pomaza despectinizada se encuentra en un rango de 47%-53% (Figura 7).

4. Caracterización fisicoquímica de paredes celulares de *Agave salmiana*

4.1 Color

En la Tabla 4 se presentan los resultados correspondientes al color de las paredes celulares obtenidas de la piña de agave. En escala L, a, b la muestra B presenta mayor luminosidad. En esta tabla se indican que el color no



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

varía entre las diferentes muestras, lo que nos permite ver que la despigmentación con etanol se realizó de manera semejante en las tres regiones. Estos resultados a su vez nos indican que tiene alta luminosidad ya que los valores de L fueron de 83.54, 84.68, 88.12, para las secciones A, B, y C respectivamente; esto nos demuestra que las muestras son muy claras y es de gran importancia para un uso posterior en la industrias tanto alimentaria como farmacéutica, ya que el color que presenta el producto final influye en la atracción visual del consumidor y los colores claros siempre son mas atractivos (Figura 8).

Tabla 4. Comparación de color de muestras de paredes celulares de piña de agave de regiones de corte

Muestra	Color		
	L	a	b
A	84.68	- 0.32	8.83
B	88.12	- 0.10	10.53
C	83.54	0.65	9.17



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

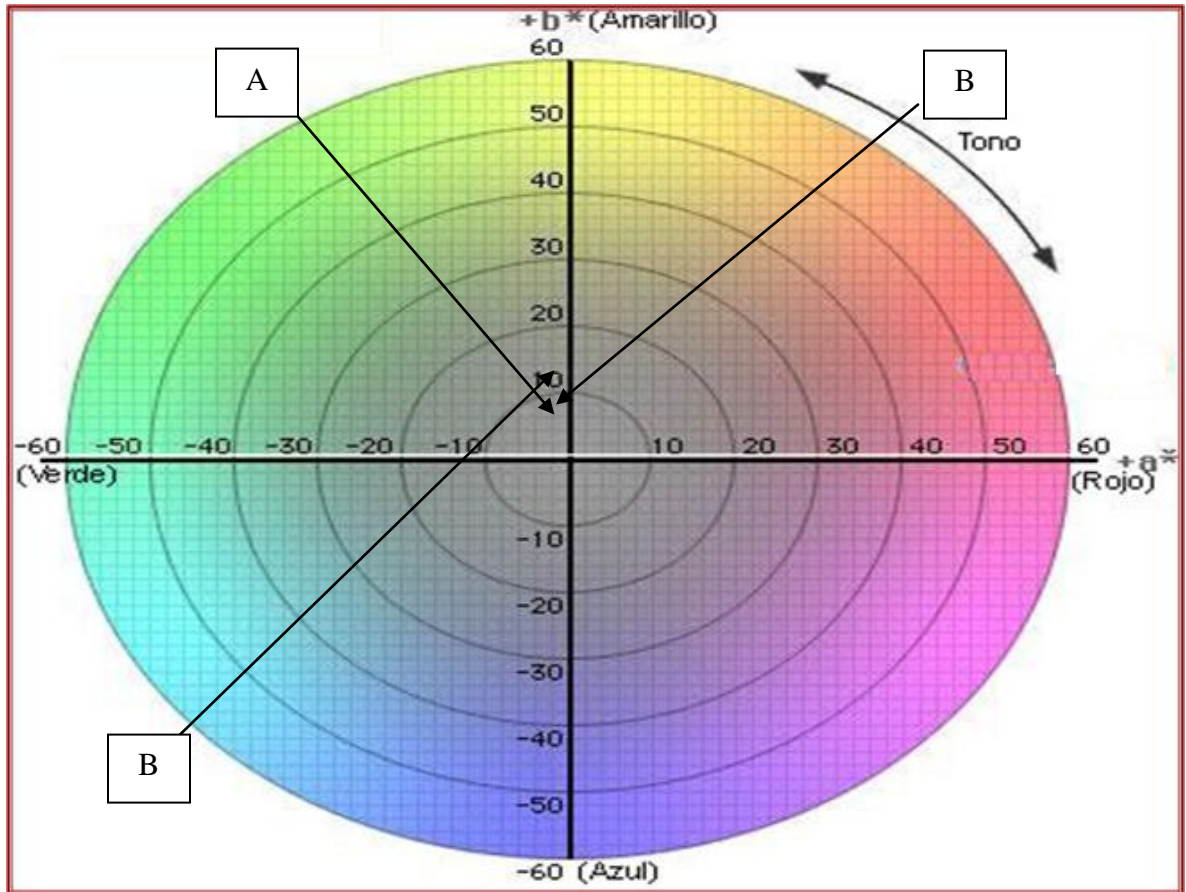


Figura 8. Espectro de color de muestra de *A. salmiana*



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (Agave salmiana) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

Charles-Rodríguez (2008) reporta el análisis de color a polisacáridos pécticos del *Aloe vera* donde las tendencias de color de las muestra son de gris a blanco y la importancia de estas características para sus aplicaciones posteriores. Las pectinas de *Agave salmiana* presentan alta luminosidad, por lo que podemos decir que pueden ser muy bien aceptadas en diferentes áreas de la industria como es la alimentaria.

4.2 FTIR por transformadas de Fourier

El FTIR característico para pectinas muestra las siguientes regiones: la banda de O-H ($3100-3600\text{ cm}^{-1}$) en la cual la absorción se debe al enlace del hidrógeno del ácido poligalcturónico; la banda C-H ($2800-3000\text{ cm}^{-1}$) que incluye CH, CH₂, CH₃; así como la región de los $1200-1800\text{ cm}^{-1}$ que incluye a los grupos carboxílicos; sin embargo, la región de los grupos químicos más importantes se encuentra en el rango de $1000-2000\text{ cm}^{-1}$ ya que proporciona información estructural del polímero, para poderlo comparar con diferentes tipos de pectinas (Contreras-Esquivel, *et al.* 2005).

En la Figura 9 podemos observar los resultados obtenidos del análisis de FT-IR por transformadas de Fourier de la fibra sin tratar, fibra tratada con hexametáfosfato de sodio y polisacáridos péctico. Los resultados nos revelan que en el rango de $1200\text{ a }2400\text{ cm}^{-1}$ se conoce como “fingerprint” para los polisacáridos. Podemos observar que en el rango de los $1650\text{ a }1750\text{ cm}^{-1}$ se encuentran los grupos carbonilos libres. El área de $3200\text{ a }3500\text{ cm}^{-1}$ se encuentran los grupos OH, los cuales no son de importancia relevante, y lo podemos manejar solo como zona de confirmación; en el caso de la fibra sin tratar se encuentra celulosa presente y por esta razón encontramos una elevación en este rango, en la fibra tratada, este pico disminuye, puesto que nuestra muestra ya fue tratada con hexametáfosfato de sodio (lo que indica que



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

tu solvente extractor es eficiente para sustancias pécticas) y para el caso de los polisacáridos pécticos, este mismo pico disminuye considerablemente, lo que indica que se trata de pectinas de bajo metoxilo.

Charles-Rodríguez (2008) logró caracterizar mediante FTIR por transformadas de Fourier a los polisacáridos del *Aloe barbadensis* mostrando que los principales componentes son pectinas y mananos; el grado de metoxilación depende directamente del método y procesamiento empleado para su obtención, así como su almacenamiento ya que enzimas endógenas propias de la planta se activan desesterificando las pectinas; sin embargo, las pectinas obtenidas y caracterizadas del *Agave salmiana* son de bajo metoxilo. Renovado-Nuñez caracterizó pomaza de limón y naranja encontrando diferencias en el grado de esterificación de las pectinas obtenidas de cada una de ellas, observando en sus espectros de infrarrojo que ambas muestras presentan la presencia de grupos carboxilo metoxilados en la zona de 1750 cm^{-1} y el grupo carboxilato en la zona de 1650 cm^{-1} . El área correspondiente a grupos carboxilo metoxilados presentó picos en ambas muestras, no obstante la muestra secada por solventes registra un pico más alto que la muestra secada por estufa. Constenla, *et al* (2000), estudiaron el efecto de la temperatura sobre la pectina de pomaza de manzana y refiere que la temperatura de secado afecta el grado de metoxilación de la pectina extraída. Sin embargo estos picos indican que se trata de pomazas con un grado de metoxilación alto ya que las pomazas de bajo metoxilo no registran picos en esta zona (1750 cm^{-1}). En la muestra de piña de *Agave salmiana* podemos corroborar que las pectinas presentes son de bajo metoxilo. Contreras Esquivel *et al* (2006) propuso nuevas alternativas para la extracción de pectinas basándose en el tipo de enlace que presenten las enzimas y hace mención que las pectinas unidas covalentemente es mejor tratarlas con ácido cítrico, y en el caso de las pectinas de enlaces iónicos una alternativa nueva es el tratarlas con hexametáfosfato de



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

sodio, al 1%; logrando extraer y caracterizar pomazas de tejocote, mango jícama, nopal y limón. Este método fue empleado para la obtención de las pectinas *Agave salmiana* obteniendo hasta un 34%, lo cual demuestra que el uso del HMF es una alternativa para la mayor obtención de pectinas.



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

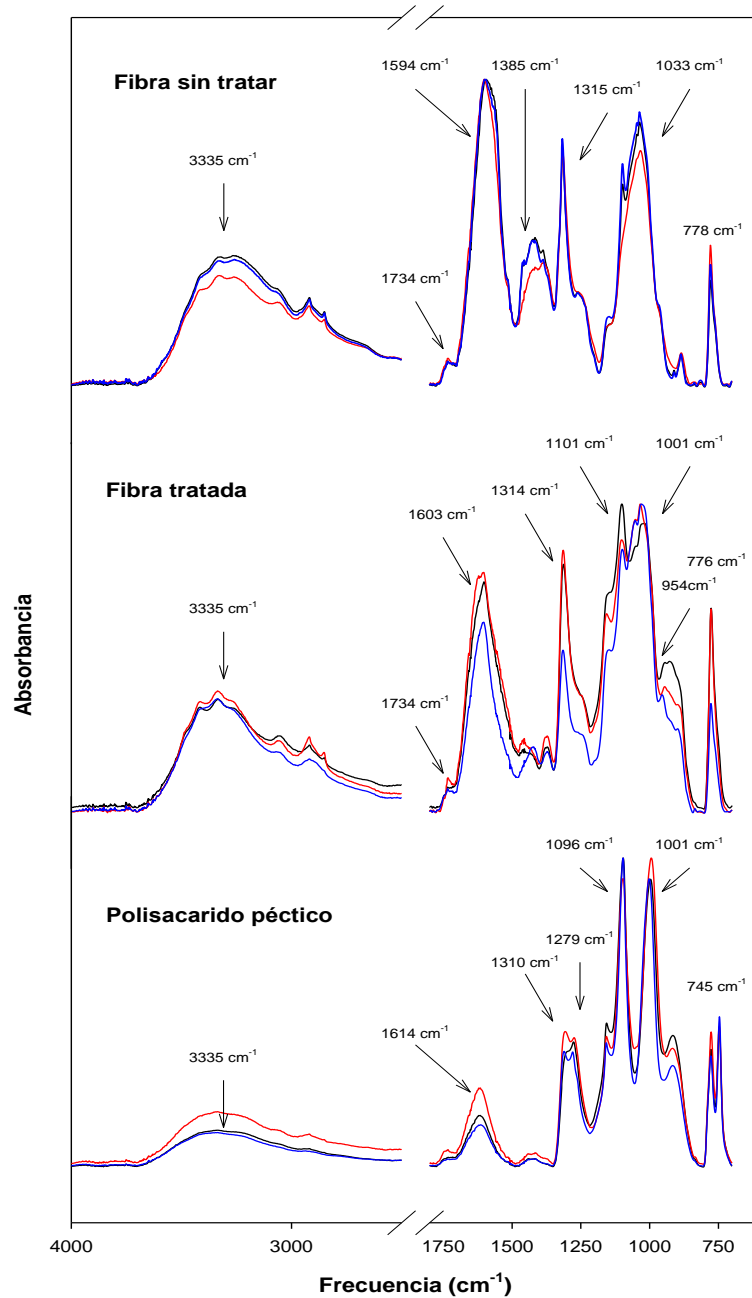


Figura 9. Análisis de regiones (A, B, C)

A: color negro, B: color rojo; C: color azul.



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

La inulina es un polisacárido de la pared celular que se encuentra dentro de la célula y no fue posible obtenerlo ya que usamos etanol y la pared celular no nos permitió la salida de la inulina lo único que nos permitió fue la liberación de saponinas.

La Figura 10 muestra un esquema comparativo del espectro de FTIR de polisacáridos pécticos de la piña de agave y el de *Opuntia ficus indica*, donde podemos observar la gran semejanza entre ambas muestras. Los resultados obtenidos nos demuestran que existe una gran similitud cuanto a los grupos funcionales que los conforman, podemos ver la semejanza que se presenta a las diferentes longitudes de onda, mostrando diferencia en el grado de esterificación de las muestras, donde se demuestra que los compuestos pécticos de la piña de agave son de bajo metoxilo.



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

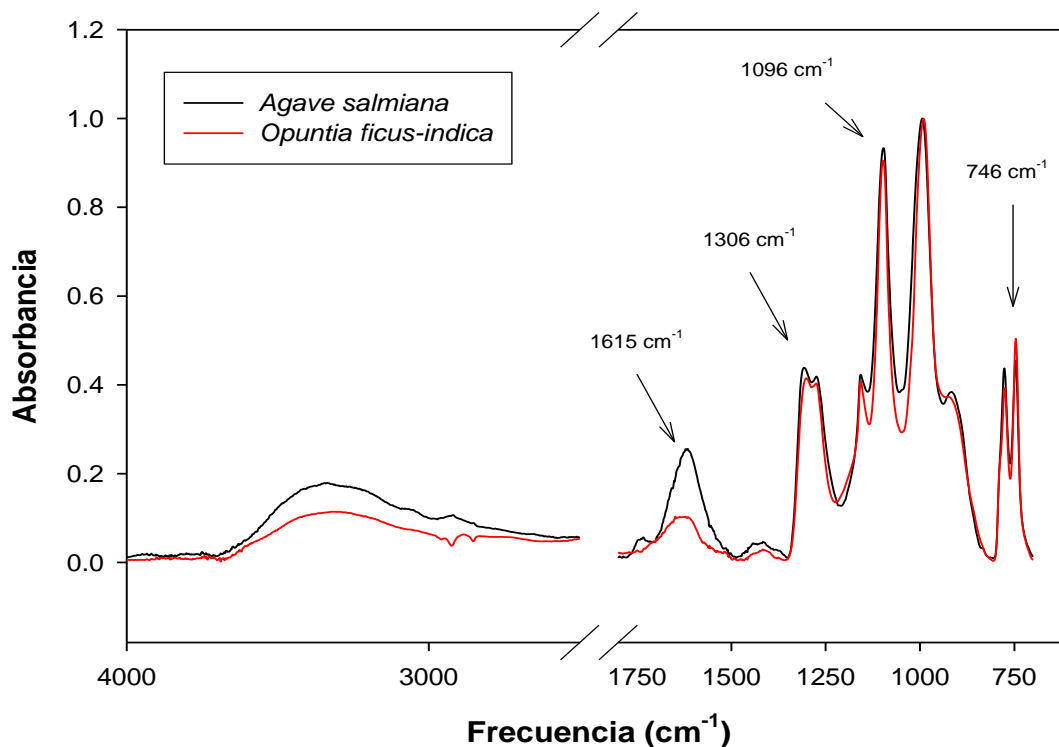


Figura 10. Comparación espectroscópica de polisacáridos pécticos de *Agave salmiana* (línea negra) y *Opuntia ficus indica* (línea roja) mediante análisis de infrarrojo por transformadas de Fourier.

En la Figura 11, se muestra un FTIR de pectinas estándares de alto, mediano y bajo metoxilo, (30%, 60%, 90%). La comparación de los picos de absorción de la piña de agave con las pectinas de diferente grado de esterificación, revelan que los compuestos pécticos de la piña de agave tienen gran similitud con la pectina comercial de 60% de grado de esterificación. Para poder confirmar dicha similitud es necesario realizar análisis de comparación más específicos, como lo es resonancia magnética nuclear (NMR), métodos químicos para cuantificar el grado de esterificación, o bien obtener el área bajo la curva del FTIR para cuantificar el grado de metoxilación, etc.



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maquey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

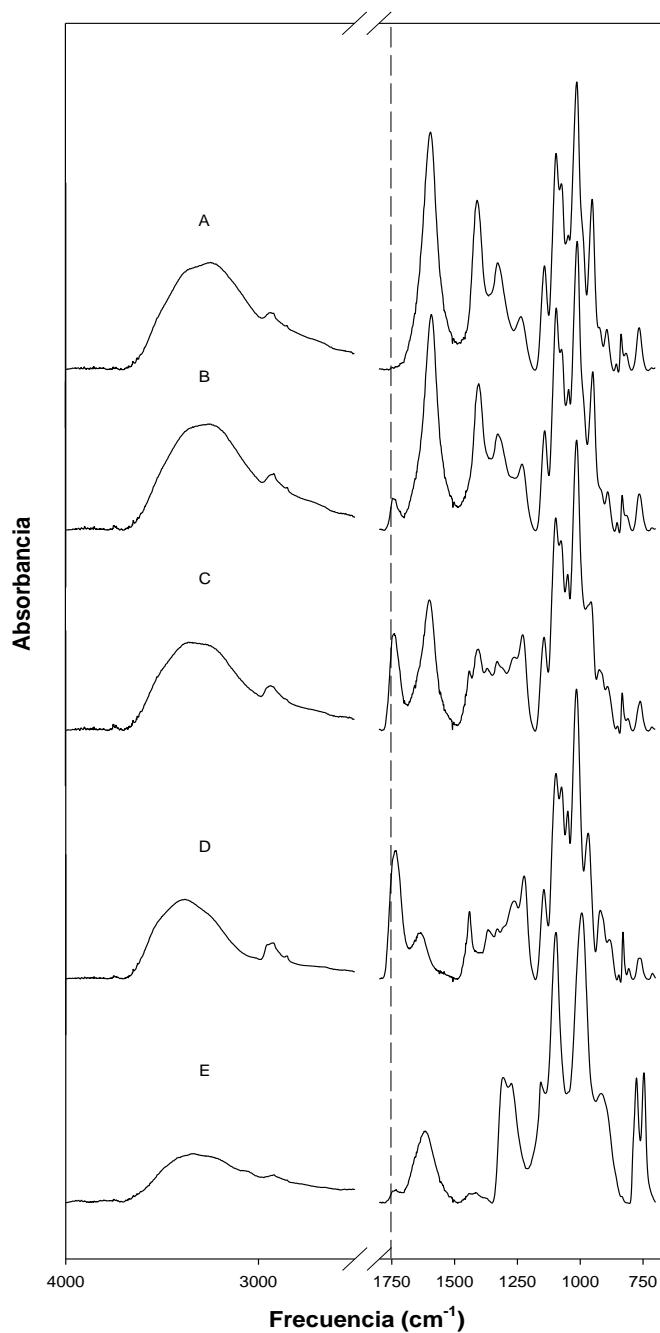


Figura 11. Comparación espectroscópica de pectinas de referencia con diferentes grados de esterificación metílica (A: 0%, B: 30%, C: 60%, D: 90%) y polisacárido péctico de *Agave salmiana* (E) mediante análisis de infrarrojo por transformadas de Fourier.



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

En la literatura se mencionan comparaciones entre análisis de espectroscopia de pectinas de referencia con diferentes grados de esterificación, encontrando que las pectinas de mango y jícama son de bajo metoxilo, mientras que las pectinas de limón y nopal son de alto metoxilo (Contreras-Esquivel *et al.*, 2006).

TGA de paredes celulares de piña de *A. salmiana*

Los análisis térmicos realizados a la materia prima demuestran que la piña de agave es un biopolímero termoestable, ya que tiene su máxima degradación a los 500 °C (Figura 12). Se pudo observar una primera pérdida o disminución a los 55 °C la cual se puede atribuir a restos de sustancias volátiles o agua absorbida (humedad); luego se observa una segunda caída a los 160 °C, la cual se puede atribuir al agua de deshidratación; se observa una tercera pérdida a los 260 °C debido a que la fibra de piña de agave comienza a descarbonizarse; y por último una caída marcada a los 360 °C la cual se atribuye a la descomposición del material. Godeck, *et al* (2001) reportan que pectinas altamente metoxiladas fueron modificadas químicamente y mecánicamente y analizadas mediante métodos térmicos (TGA) observando que entre los 20-150 °C se da la pérdida de humedad, entre los 190-270 °C se presenta la degradación de la pectina y por ultimo entre los 250-350 °C se lleva a cabo la degradación de la celulosa. Así mismo en la literatura se reportan análisis térmicos de materiales de paredes celulares de plantas altamente esterificados, donde la pérdida de peso significativa empieza a los 200 °C y culmina a los 400°C con una pérdida de peso del 80%; mientras que los materiales de estas paredes celulares pero de de bajo metoxilo empieza su desintegración a los 200 °C, y a los 400 °C sólo pierde el 70% de peso. Godeck *et al*, 2001)



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

La Figura 13 muestra el análisis de DTA para fibra de piña de agave donde se puede observar las reacciones endotérmicas y exotérmicas generadas al aplicar voltaje. Todos los cambios son debidos a la descomposición o volatilización de los componentes de la muestra; las primeras 2 etapas son endotérmicas (picos descendentes) mientras que las 2 finales son exotérmicas (picos ascendentes).

Podemos apreciar que los polisacáridos pécticos obtenidos de nuestros análisis son muy estables ante altas temperaturas, lo cual es de suma importancia para su uso en la industria.

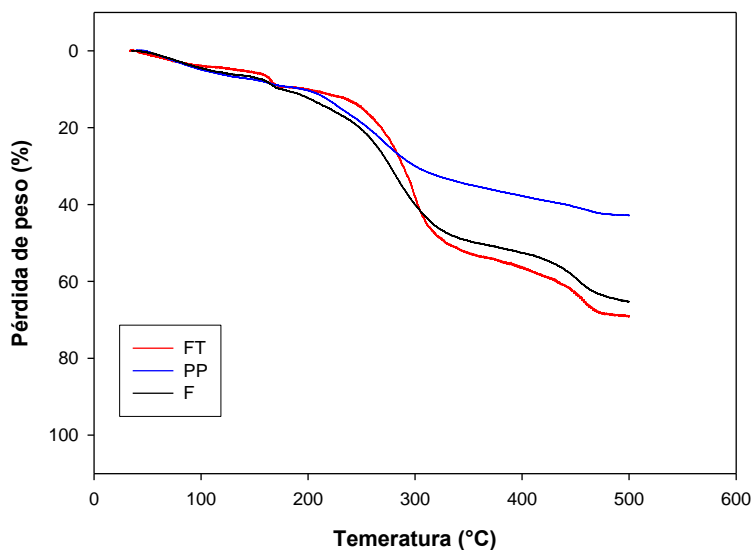


Figura 12. Análisis térmico-gravimétrico de materiales obtenidos de paredes celulares de piña de agave de la región B. (FT: fibra tratada por autoclave, PP: polisacárido péctico extraído por autoclave, F: fibra celular no tratada).



*Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (*Agave salmiana*) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier*

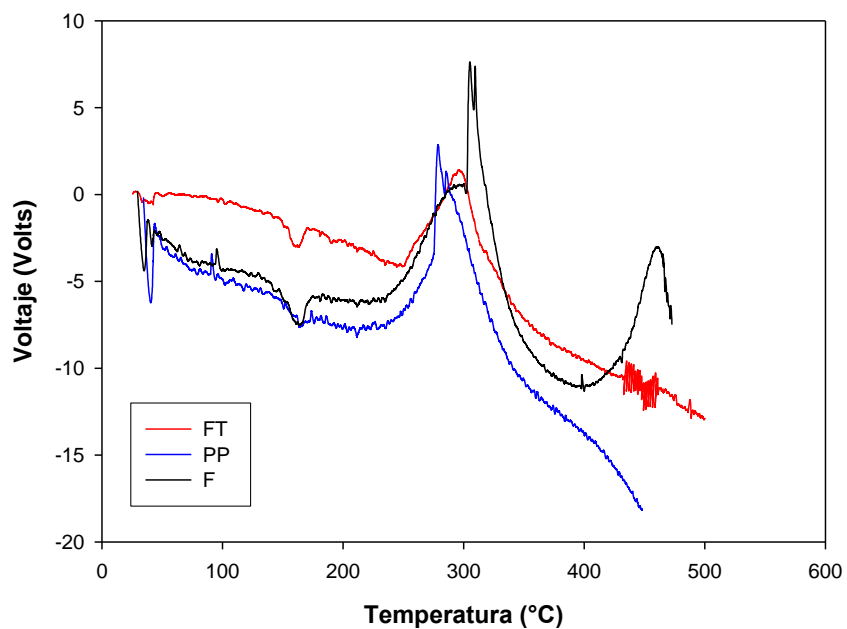


Figura 13. Análisis térmico diferencial de materiales obtenidos de paredes celulares de piña de agave de la región B. (FT: fibra tratada por autoclave, PP: polisacárido péctico extraído por autoclave, F: fibra celular no tratada).



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (Agave salmiana) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

CONCLUSIONES

1. En el presente trabajo se logró caracterizar las paredes celulares de la piña de *Agave salmiana* por análisis de FT-IR.
2. El FTIR es una herramienta útil para la caracterización de polisacáridos pécticos ya que nos proporciona información de los grupos funcionales que conforman las estructuras químicas de los polisacáridos de las paredes celulares de *A. salmiana*.
3. Se propuso una nueva fuente de obtención de pectina de una especie que no se explota lo suficiente en el Estado de Coahuila; obteniendo un 34% de polisacárido péctico de bajo grado de esterificación.
4. Los análisis térmicos demuestran que los polisacáridos de *Agave salmiana* son termoestables hasta temperaturas de 400°C.



RECOMENDACIONES

En este trabajo pudimos ver que la piña de *Agave salmiana* es una especie que se encuentra en México y tiene muchos usos pero en el estado de Coahuila no se aprovecha en su totalidad, y nosotros proponemos que para usos futuros de la piña de agave como fuente de extracción de pectinas, se tenga un manejo controlado de la explotación de estas plantas, y que se manejen cultivos de las mismas para evitar así una posible sobreexplotación de esta especie a su vez proponemos que se lleven a cabo nuevamente los análisis realizados en el presente trabajo, pero con una Piña de *Agave salmiana* pero q ya haya pasado su estado de maduración, par ver si los resultados son igualmente satisfactorios ya así no interrumpir su principal uso que es la extracción de aguamiel, pulque y después de un proceso de destilación mezcal. Así se lograría un aprovechamiento total de dicha especie.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abisaí García, Mendoza 1992, Con sabor a Maguey, Guía de la colección nacional de Agavaceas y Nolináceas del jardín botánico del instituto de biología.
2. Arellano PM, HerreraLE, Pinal ZL, Nuñez VL, (2000). Asistencia técnica a las empresas IPIÑA y Laguna seca, San Luis Potosí. Centro de investigación y Asistencia en la Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, México.
3. Aspinall, G.O. (1983). The polysaccharides, molecular biology, vol. 2. New York: Academic Press.
4. Be Miller, J.N. (1986). An introduction to pectins: structure and properties. In M.L Fhisman, & J. J. Jen (Eds), Chemistry and function of pectins (pp. 2-12). ACS Symposium series 310, Washington, DC: ACS.
5. Borroto, B. José A. Larrauriy Anabel Cribeiro. Influencia del tamaño de partículas sobre la capacidad de retención de agua de la fibra obtenida a partir de cítricos y piña. Alimentaria, diciembre 1995.
6. Camara Mexicana de Comercio y la Industria , Regulaciones : NOM-070-SCFI-1994, Especificaciones Mexicanas de Bebidas Alcohólicas-Mezcal, Diario Oficial de la federación , Noviembre 28, 1994
7. Cerna, M., Barros, A. S., Nunez, A., Rocha, S.M., Delgadillo, I. Copíková, J. , Coimba, M.A. (2003). Use of FT-IR spectroscopy as a tool for the análisis of polisaccharide food additives. Carbohydrate Polymers 51, 383-389.



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (Agave salmiana) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

8. Charles-Rodríguez, A.V. (2007). Caracterización de musílago de *Aloe barbadensis* para su aplicación médica. 13 Congreso Nacional de Biotecnología Bioingeniería en Morelia Michoacán.
9. Charles-Rodríguez, A.V. (2007). Producción de mucilago de *Aloe barbadensis* a escala semi preparativa para su aplicación farmacéutica.
10. Cira, L.A.; Gonzalez, G.A.; Torres, J.C ; Pelayo, C. ; Gutierrez, M. ; Ramirez, J. (2008) Heterologous expression of Fusarium oxysporum tomatinase in Saccharomices cereviseae increases its resistance to saponins and improves ethanol production during the fermentation of *Agave tequilana* Weber var. azul and *Agave salmiana* must. Antonie Van Leeuwenhoek(2008) 93:259-266
11. Constenla, D.; Ponce, G.; and Lozano, J. E. (2002). Effect of pomace drying on Apple pectin. Lebensm.-Wiss. U.-Tecnol. 35: 216-221.
12. Contreras-Esquivel, J.C.; Hours, R.A.; Aguilar, C.N.; Reyes-Vega, M.L.; Romero, J. (1997). Microbial and enzymatic extraction of pectin. A review. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 47:208-216.
13. Contreras-Esquivel, J.C.; Montañez-Sáenz, J.C.; Charles-Rodríguez, A.V.; Renovato-Núñez, J. (2005). Characterization of pectin Novel Source.
14. Cruz, R.A; A.M. Mendoza; M, C. Vieira. (2000). Studies on grafting of cellulosic materials isolated from *Agave lechuguilla* and *fourcroydes*. Die Angewandte Makromolekulare Chemie.273(1): 86-90
15. De León Rodríguez, A.; Escalante Minakata, P.; Barba de la Rosa, Ana P.; Blaschek, HAns P.(2007). Optimization of fermentation conditions for the production of the mezcal from *Agave salmiana* using response surface methodology. Chemical Engeniering and Precessing 47 (2008) 76-82.



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (Agave salmiana) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

16. Delgado, F. (2002). Obtención in situ de pectina cruda de bajo métoxilo de bagazo de manzana por pectinesterasa fúngica. Tesis de Maestría, UACH.
17. Doesburg, J.J. Pectin substances in preserves fruits and vegetables. (I.B.V.T. Eds) Wagenienger. 1965.
18. Garcia, M.A., 1995 Riqueza y endemismo de la familia Agavacea en México. In: linares, E, Dávila, P., Chians, FR., Bye, R., Elias, y. T. (Eds.), Conservación de plantas en peligro de extinción: diferentes enfoques. Universidad Nacional Autónoma de México, México, pp.51-75.
19. García-Mendoza, A. (1998). Con sabor a maguey. Guía de la colección nacional de agavaceas y nolináceas del jardín botánico del instituto de Biología. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México. pp: 1-114.
20. Gentry, H. S.; 1982, Agaves of Continental North America. Ed. The University of Arizona Press, Arizona, EUA.
21. Godeck (2001) Thermal analysis of chemically and mechanically modified pectins. Food Hydrocolloids. Volume 21, Issue 7 October 2007, 1101-1112.
22. Gómez-Pompa, A., 1963. El género Agave. Cactaceas y Suculentas Mexicanas 8, 3-28.
23. Hoff, J.E.; Castro, M.D.J. Agr Food Chem 1969, 17, 1328 -1331.
24. Ito S, Takahara H, Kawaguchi T, Tanaka S, Kameya-Iwaki M (2002) Post transcriptional silencing of the tomatinase gene in *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici*. J Phytopathol 150:474-480
25. Kacuráková, M.; R. H. Wilson (2001). Developments in mid-infrared FT-IR spectroscopy of selected carbohydrates. Carbohydrate polymers 44 (2001) 291-303.



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (Agave salmiana) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

26. Kertesz, Z.I. The Pectin substances, Interscience Publishers Inc. New York, U.S.A.1951.
27. Kolendo, J., (2000), The Agave, a plant and its history. Ed. Philippe Faveon, Inglaterra.
28. Kravtchenko, T.P.; Voragen, A.G. J.; Pilnik, W. (1992). Analytical comparison of three industrial pectin preparations. Carbohydrate polymers, 18:17-25.
29. Liang, C.Y. and R.H. Machessault: infrared spectra of crystalline polysaccharides I. Hydrogen bonds in native cellulose. J polym Sci. 37: 385-395 (1959).
30. Liang, C.Y. and R.H. Machessault: infrared spectra of crystalline polysaccharides II natives celluloses in the region from 640 to 1700 cm-1 ibid .39: 269-278 (1959)
31. Loescher, W. and D.J. Nevins: Auxins-induced changes in Avena cell wall composition. Plant Physiol. 50:556-563 (1972).
32. Mancillas Margalli, N.A. ; López, M.G.; Generation of Maillard compounds from inulin during the termal processing of Agave Tequilana Weber Var azul , J Agric. Food Chem. 50 (2002) 806-812.
33. Martínez Salvador, M.; R.Valdez-Cepeda, H.R .Arias, L.F. Beltrán-Morales, B. Murillo Amador; E Troyo- Diéguez; A Ortega-Rubio (2004). Distribution and density of maguey plants in the arid Zacatecas Plateau, México Journal of Arid Enviroments 61 (2005) 525-534
34. Martinez-Palacios, A., Eguiarte, L.E., Furtner. G: R., 1999 Genetic Diversity of the endangered endemic Agave victoriae-reginae (Agavaceae) in the Chihuahua Desert. American Journal of Botany 86 (8), 1093-1098.



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (Agave salmiana) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

35. Morikawa, H., Hayashi, R., Senda, M. (1978). Infrared análisis of pea stem cell walls and oriented structure of matrix polysaccharides in them. *Plants and cell physiol.* 19(7): 1151-1159 (1978).
36. Morikawa, H., K. Tanizawa and M Senda: Infrared spectra of Nitella cell walls and orientation of carboxylate ions in the walls. *Agric. Biol. Chem.* 38: 343-348 (1974).
37. Nobel- Park (1996). Responses of some North American CAM plants to freezing temperatures and doubled CO₂ concentrations: implications of global climate change for extending cultivation. *Journal of arid Enviroments* 34: 187-196.
38. Osbourn A. (1996). Saponins and plant defense-a soap history. *Trends Plant Sci* 1: 4-9
39. Pilnik W., Voragen, A.G.J. *Adv Plant Cell Biochem. Biotechnd.* 1992,1,219-270.
40. Pilnik, W.; Voragen, A.G.J. Pectin Substances and other uronides in the biochemistry of fruits and their products. Vol 1 A.C Hulmc (eds). Academic Press, London. 1970.
41. Renovato Nuñez, J. (2005) Caracterización Físico-Química de pomazas Citricas y su Impacto en la Industria de la Pectina. UAdeC. Tesis de Licenciatura.
42. Rolin. C. In pectins and Their manipulation. Editors: Seymour, G. B.; Knox, J.P., Eds.; Blackwell Publishing Ltd: Oxford, UK, 2002; pp 222-241
43. Saluson, L.A., 2000. Pollination biology of two Chiropterophilous agaves in Arizona. *American Journal of Botany* 87 (6), 825-836.
44. Sanula, J., Kogan G., Kacuráková, M.; & Machová, E. (1999). *Microbial*
45. Siddiqui, I.R.J. *Agric. Food Chem.* 1990, 38, 70-74
46. Siddiqui, I.R.J. *Agric. Food Chem.* 1990, 38, 70-74.



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (Agave salmiana) por espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

47. Singthong, J., Cui, S. W., Nigsanond, S. Goff, H.D., (2004). Structural characterization, degree of esterification and some gelling proprieties of Krueo Ma Noy (Cissampelos pareira) pectin. Carbohydrate polymers 58 (2004) 391-400.
48. Stephen, A.M, M Kaplan, G.L Taylor, E.C. leisegang (1996) Aplicación de gas –liquid chromatography to the structural investigation of polysaccharides: The structures of the gums of virgilia oroboides and of *Agave americana*.
49. Stevens B.J.H.; Selvendran, R. R., Carbohydr. Res 1984, 128,321-226.
50. Stevens, B.J.H. ,Selvendran, R.R., Carbohydr. Res. !984, 128,321-226.
51. Stewart Derek, Anisio Azzini, Anne T. Hall and Ian M. Morrison (1997) Sisal fibres and their constituent non-cellulosic polymers. Industrial crops and product. 6:1, 17-26 UNAM. Ed SIGSA, México D.F.
52. Terrazas Flores, J.J. Obtención y caracterización Fisicoquímica de Fibra Dietética de Cascara de Tuna (opuntia ficus indica) UA de C. Tesis Maestría.
53. Thakur, B., SSingh, R.K. & Handa, A. K. (1997). Chemistry and use of pectins- a review. Critical review in Food Sciences and Nutrition, 37. 47-73.
54. Valdez Peña, A.U. (2006). Modelo de predicción y extracción de Pectina de Jicama por proceso Termoquímico. UA de C Tesis de Licenciatura.
55. Van Buren, J.P. Function of pectin in plant tissue structure and firmness in the chemistry and technology of pectin. R.H. Walter (ed) Academic press N.T. 1991, pp1-22.



Caracterización Estructural de Paredes Celulares de Piña de Maguey Pulquero (Agave salmiana) por espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier

- 56.** Van Burner, J. P (1991) Function of pectin in plant tissue structure and firmness. In R. H. Walter (Ed). The chemistry and Technology of pectin (pp. 1-22). San Diego: Academic Press.
- 57.** Voragen, A. G. S; Pilnik, W.; Thibault, J.F.; Axelos, M.A.V.; Renard, C.M.G.C. Pectins. In Stephen, A. M. (ed). Food polysaccharides and their applications. Cap 10. Merceel Dekker, N.Y. 1995 pp 287339
- 58.** Waldron, K.W., Parker, M.L.; Smith, A.C. (2003). Plant Cell Walls and Food Quality. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2:101-107.