

Extraction and characterization of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck fructans

Extracción y caracterización de fructanos de *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck

César I. Godínez-Hernández^{1,2*}; Juan R. Aguirre-Rivera²; Bertha I. Juárez-Flores²; María D. Ortiz-Pérez³; Jaime Becerra-Jiménez².

¹Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP), Programas Multidisciplinarios de Posgrados en Ciencias Ambientales. Av. Manuel Nava 201, 2º piso Zona Universitaria. C. P. 78210. San Luis Potosí, S. L. P. México.

²UASLP, Instituto de Investigación de Zonas Desérticas. Altair 200, col. Del Llano. C. P. 78377. San Luis Potosí, S. L. P. México. Correo-e: navingod@hotmail.com

Tel.: (52) (444) 8 42 23 59 (*Autor para correspondencia).

³UASLP, Facultad de Medicina. Av. Venustiano Carranza 2405, Zona Universitaria. C. P. 78210. San Luis Potosí, S. L. P. México.

Abstract

Fructans are fructose polymers with major applications in the industry of functional food. Even though fructans from *Agave angustifolia* spp. *tequilana* are already being industrially produced and are beginning to gain some demand in the USA, for their extraction pineapple or the heart of the maguey (stem and leaf bases) with different stages of ripeness is still used, which affects the quality and results in more expensive production processes. This work describes an alternative method for the extraction of fructans from *Agave salmiana* stems, resulting in simpler processes and facilitates a natural or organic collection. The absolute and relative yields of the fructan concentrate (FC) refer both to the stem and to the head of the maguey, as well as their quality through the high performance liquid chromatographic analysis (HPLC). The yield of FC (95 % DM dry material) from fresh stems was 21 % and almost 80 % from dry stems. The humidity free FC is comprised of about 80 % fructans and the rest by trisaccharides (around 9.5 %), ashes (5 %), sucrose (1 %) and sapogenins (0.85 %); glucose and fructose quantities were not detectable (< 0.002 %).

Keywords: Maguey mezcalero potosino, alternative use of maguey, physical ripeness of the maguey plant, yield and quality of the extract.

Resumen

Los fructanos son polímeros de fructosa con grandes aplicaciones en la industria de alimentos funcionales. Aunque los fructanos de *Agave angustifolia* spp. *tequilana* ya se producen industrialmente y comienzan a tener demanda en EE. UU., para su extracción se sigue utilizando la cabeza o piña de maguey (tallo y bases foliares) con madurez variable, lo cual repercute en la calidad y en procesos que encarecen la producción. En este trabajo se describe un método alternativo para la extracción de fructanos de tallos de *Agave salmiana*, el cual es más simple y facilita la obtención de manera natural u orgánica. Se evaluaron los rendimientos absoluto y relativo del concentrado de fructanos (CF), referidos tanto al tallo como a la cabeza de maguey, así como su calidad mediante el análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). El rendimiento de CF (95 % MS de materia seca) del tallo fresco fue de 21 % y casi 80 % del tallo seco. El CF libre de humedad está compuesto por cerca de 80 % de fructanos y el resto por trisacáridos (cerca de 9.5 %), cenizas (5 %), sacarosa (1 %) y sapogeninas (0.85 %); cantidades de glucosa y fructosa no fueron detectables (< 0.002 %).

Palabras clave: Maguey mezcalero potosino, uso alternativo de maguey, madurez fisiológica de maguey, rendimiento y calidad de extracto.

Introduction

Fructans are reserve polysaccharides that some plants synthesize from sucrose and fructose molecules (Banguela & Hernández, 2006). Fructans of vegetable origin have from a lower degree of polymerization (DP, ≤ 200 fructose molecules) than those of microbial origin; and more complex structures (Olvera, Castillo, & López-Munguía, 2007) and differ from one another due to their structure and GP (López, Mancilla-Margalli & Mendoza-Díaz, 2003; Chalmers et al., 2005; Mancilla-Margalli & López, 2006; Waleckx, Gschaedler, Colonna-Ceccaldi & Monsan, 2008).

Fructans have been present in the human diet for thousands of years, through the consumption of vegetable organs where polysaccharides are stored as reserve substances (Leach, 2007; Leach & Sobolik, 2010). Presently, the fructans with greatest importance worldwide are inulin and oligofructoside. The latter is obtained from the partial enzymatic hydrolysis of the inulin extracted from the chicory root (*Cichorium intybus* L.) (Coussement, 1999). The innocuousness of inulin and oligofructoside for their use in the elaboration of food has been listed within substances denominated “Generally Recognized as Safe” (GRAS) in the USA and as “food ingredients and not additives” in the European Union (Coussement, 1999).

There is a growing demand for commercial fructans as ingredients of processed food for daily consumption (Kays & Nottingham, 2007). In addition, fructans are used as textural and consistency enhancer ingredients for food products, replacing starch and grease, thus reducing the energetic content of the food (Franck, 2002). Fructans pass intact through the digestive tract without any caloric intake in the blood (Niness, 1999); in addition, they have prebiotic properties, as they constitute the specific substrate for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* bacteria genus of the colon, which produce changes that benefit the health of the host (Gibson & Roberfroid, 1995). Thus, the consumption of fructans improves the performance of the digestive tract, prevents constipation, helps with the absorption of some minerals such as calcium and reduces the risk of cardiovascular diseases, diabetes and colon cancer (Greg, 2009).

In Mexico, inulin was first imported in 2000 (13.3 t) (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2001), and in 2011 3,338.24 t were already registered (INEGI, 2012). At the same time, in 2001 24.5 t of inulin and in 2011 1,123.07 t were exported. Imports and exports remain registered as inulin, but it is deduced that the imported inulin comes from chicory and the exportations are maguey fructans, mainly from *Agave angustifolia* Haw. spp. *tequilana* Valenzuela-Zapata & Nabhan, incorrectly denominated “*Agave inulin*”.

Introducción

Los fructanos son polisacáridos de reserva que algunas plantas sintetizan a partir de sacarosa y moléculas de fructosa (Banguela & Hernández, 2006). Los fructanos de origen vegetal presentan menor grado de polimerización (GP, ≤ 200 moléculas de fructosa) que los de origen microbiano y estructuras más complejas (Olvera, Castillo, & López-Munguía, 2007), y se diferencian entre sí por su estructura y GP (López, Mancilla-Margalli, & Mendoza-Díaz, 2003; Chalmers et al., 2005; Mancilla-Margalli, & López, 2006; Waleckx, Gschaedler, Colonna-Ceccaldi, & Monsan, 2008).

Los fructanos han estado presentes en la alimentación humana por miles de años, a través del consumo de órganos vegetales donde dichos polisacáridos se almacenan como sustancias de reserva (Leach, 2007; Leach & Sobolik, 2010). Actualmente, los fructanos de mayor importancia comercial a nivel mundial son la inulina y la oligofructosa. Esta última se obtiene de la hidrólisis enzimática parcial de la inulina extraída de la raíz de achicoria (*Cichorium intybus* L.) (Coussement, 1999). La inocuidad de la inulina y la oligofructosa para su uso en la elaboración de alimentos se ha catalogado dentro de las denominadas “sustancias generalmente reconocidas como inocuas” (GRAS, por sus siglas en inglés) en EE. UU., y como “ingredientes alimentarios y no como aditivos” en la Unión Europea (Coussement, 1999).

Existe demanda creciente de fructanos comerciales como ingredientes de alimentos procesados de consumo diario catalogados como funcionales (Kays & Nottingham, 2007). Además, los fructanos se utilizan como ingredientes mejoradores de textura y consistencia de productos alimentarios, en sustitución de almidón y grasa, con lo cual, a la vez, se reduce el contenido energético del alimento (Franck, 2002). Los fructanos pasan por el tracto digestivo intactos sin aporte calórico a la sangre (Niness, 1999); además tienen propiedades prebióticas, pues constituyen el sustrato específico para bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* del colon, las cuales producen cambios que favorecen la salud del hospedero (Gibson & Roberfroid, 1995). Así, el consumo de fructanos mejora el funcionamiento del tracto digestivo, favorece la regulación de la glucosa y el perfil lipídico en la sangre, evita el estreñimiento, ayuda a la absorción de algunos minerales como el calcio y reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares, diabetes y cáncer de colon (Greg, 2009).

En México, la inulina se comenzó a importar en el año 2000 (13.3 t) (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2001) y ya en 2011 se registraron 3,338.24 t (INEGI, 2012). A la vez, en 2001 se exportaron 24.5 t de inulina y 1,123.07 t en 2011. Las importaciones y

The first evidence of the presence of fructose polysaccharides in the *Agave* species was provided by Sánchez-Marroquín and Hope (1953). Then, López et al. (2003) established the molecular structure of the fructans of maguey for tequila and found the presence of branched structures and a higher level of polymerization than those of chicory. This triggered a series of works about the properties, extraction processes, variation and biological evaluation of the reserve compounds of the *Agave* species, particularly of the maguey for tequila (López, Huazano-García, García-Pérez, & García-Vieyra, 2014). In the maguey plants, the chronological age or the size are less useful than the physiological ripeness in order to recognize their maximum accumulation of reserve substances (fructans), and at the same time, their lower content of saponins (Aguirre, Charcas, & Flores, 2001). The start of the flowering stalk (quiote) marks the end of the formation of leaves and the beginning of the depolymerization of the fructans, or, the consumption of the reserve substances in the formation and sustenance of the reproductive organs (Aguirre et al., 2001). It is fundamental to acknowledge the vegetative to reproductive change, known as quiotillo stage in the highlands of San Luis Potosí, for the rational use of the maguey (Aguirre et al., 2001). Another very important factor for the quality of the fructans is if the entire head of the maguey is used (comprised by the stem and the bases of the leaves) as raw material, instead of only the stem, the organ of the plant where the reserve substances are accumulated (Michel-Cuello, Juárez-Flores, Aguirre-Rivera, & Pinos-Rodríguez, 2008). When the entire head is processed as has been the appropriate procedure for other purposes, it requires more complex and expensive operations to eliminate other existing compounds at the base of the leaves.

According to Mora-López, Reyes-Agüero, Flores-Flores, Peña-Valdivia, and Aguirre-Rivera (2011), *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck is the maguey specie with the broadest distributions in the Mexican highlands. More specifically in the semi-arid regions of the highlands of San Luis Potosí, this maguey is an abundant underused spontaneous resource, a natural attribute that increase its value (Aguirre et al., 2001) and can be easily added to products, such as fructans. Some recent works about *A. salmiana* have been focused on enzymatic hydrolysis (Michel-Cuello et al., 2012), cleansing of monosaccharides (Moreno, 2013), drying of the fructans extracts, as well as functional evaluation *in vitro* (Moreno-Vilet et al., 2014) and in an animal model (Dávila-Céspedes et al., 2014). However, fructans extraction has yet to be simplified and standardized, as well as the characterization of the final product. Based on the foregoing, the objective of this work was to evaluate the yield and the quality of the fructans concentrate from ripe stems of *A. salmiana*, extracted in the simplest and most natural manner.

exportaciones quedaron registradas como inulina, pero se deduce que la inulina importada es de achicoria y la exportada son fructanos de maguey, principalmente de *Agave angustifolia* Haw. spp. *tequilana* Valenzuela-Zapata & Nabhan, mal denominados “inulina de *Agave*”.

Las primeras evidencias de la presencia de polisacáridos de fructosa en especies de *Agave* las aportaron Sánchez-Marroquín y Hope (1953). Luego, López et al. (2003) establecieron la estructura molecular de los fructanos del maguey tequilero y encontraron que presentan estructuras ramificadas y mayor grado de polimerización que los de achicoria. Esto desencadenó una serie de trabajos sobre las propiedades, procesos de extracción, variación y evaluación biológica de los compuestos de reserva de las especies de *Agave*, particularmente del maguey tequilero (López, Huazano-García, García-Pérez, & García-Vieyra, 2014). En los magueyes, la edad cronológica o el tamaño son menos útiles que la madurez fisiológica para reconocer su máxima acumulación de sustancias de reserva (fructanos) y, a la vez, su menor contenido de saponinas (Aguirre, Charcas, & Flores, 2001). El inicio del escapo floral (quiote) marca el final de la formación de hojas (pencas) y el comienzo de la despolimerización de los fructanos; es decir, el consumo de las sustancias de reserva en la formación y sostenimiento de los órganos reproductores (Aguirre et al., 2001). Así, para el aprovechamiento racional del maguey es fundamental reconocer el cambio de estado vegetativo a reproductor, a lo cual se le denomina maguey quiotillo en el altiplano potosino (Aguirre et al., 2001). Otro factor muy importante para la calidad de los fructanos es si se utiliza la cabeza entera o piña del maguey (conformada por el tallo y las bases de las pencas) como materia prima, en vez de solamente el tallo, órgano de la planta donde se acumulan las sustancias de reserva (Michel-Cuello, Juárez-Flores, Aguirre-Rivera, & Pinos-Rodríguez, 2008). Al procesarse la cabeza entera, como ha sido lo adecuado para otros propósitos, se requieren operaciones más complejas y costosas para eliminar otros compuestos existentes en la base de la pencas.

De acuerdo con Mora-López, Reyes-Agüero, Flores-Flores, Peña-Valdivia, y Aguirre-Rivera (2011), *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck es la especie de maguey con más amplia distribución en el altiplano mexicano. En particular, en las regiones semiáridas del altiplano potosino, este maguey es un recurso espontáneo abundante y subutilizado, y a sus productos, como los fructanos, se les pueden añadir fácilmente atributos naturales que incrementen su valor (Aguirre et al., 2001). Algunos trabajos recientes sobre fructanos de *A. salmiana* se han enfocado en investigar su hidrólisis enzimática (Michel-Cuello et al., 2012), depuración de monosacáridos (Moreno, 2013), secado del extracto de fructanos, así como su evaluación funcional *in vitro* (Moreno-Vilet et al., 2014) y en un modelo animal (Dávila-Céspedes et al.,

Materials and methods

The extraction process was done based on the high water solubility of the fructans, which allows the collection of a natural extract as it does not require chemical processes and reactions to be separated. Temperatures lower than 55 °C were applied during the entire process to avoid thermal hydrolysis.

Biological material

In the paddock used for the collection of maguey at the Miguel Hidalgo Ejido (Charcas, San Luis Potosí), to supply to the Laguna Seca mezcal factory, five maguey heads were selected, all different sizes but with physiological ripeness features. The heads were taken to the factory yards and were weighed (Básculas Nuevo León D13, Mexico); each one was divided into stem and leaf bases and the parts were weighed separately. Subsequently in the laboratory, each stem was divided into three similar parts to weigh (Tecnocor PPN-30, Mexico) and process them individually on the same day of their collection. At the same time, a sample of the stalk bases was taken (10 % of the weight of the head) to determine the content of dry matter, with the objective of referring the yield of the fructan concentrate based on the fresh and dry weight of the head of the maguey, the present form of use.

Fructans concentrate (FC) extraction

One third of the stem was used to estimate the content of dry matter. The second third was subjected to a juice extractor (International EX-S, Mexico) to separate the liquid extract considered the primary juice and the solid residue or bagasse. The juice was filtrated with two muslin filters, the pH was measured with a potentiometer (Hanna Instruments H198127, Italy) and the soluble solids (°Bx) with a digital refractometer (Reichter AR200, USA). The primary juice was stabilized with the same amount of distilled water in a water bath at 53 ± 2 °C for 60 min as the aqueous extract decomposes quickly, even after one day in refrigeration, as it also happens with the raw extract of chicory (Van Arkel et al., 2014). Immediately, the primary juice was placed in airtight containers and was frozen at -15 °C (Torrey CHTC25, USA). The bagasse of the primary juice was squeezed in a stainless steel gadget designed for the extraction of juices at a constant pressure of 14 kg·cm⁻² through a 30 t hydraulic press (Urrea 2471, Spain). The juice recovered from the bagasse was designated as secondary juice, and much like the primary juice, it was filtered and its pH and °Bx were measured; it was stabilized and then frozen. Subsequently, the pressed bagasse was rehydrated with a volume of distilled water equal to the obtained juice (primary juice + secondary

2014). Sin embargo, aún falta simplificar y estandarizar su extracción, y caracterizar el producto final. Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento y calidad del concentrado de fructanos de tallos de plantas maduras de *A. salmiana*, extraído de la forma más simple y natural posible.

Materiales y métodos

El proceso de extracción se basó en la alta solubilidad de los fructanos en agua, lo cual permite obtener un extracto natural, ya que no requiere de procesos y reacciones químicas para separarlos. En todo el proceso se aplicaron temperaturas menores de 55 °C para evitar hidrólisis térmica.

Material biológico

En el potrero de recolecta de maguey del ejido Miguel Hidalgo (Charcas, San Luis Potosí), que abastece a la fábrica de mezcal Laguna Seca, se seleccionaron cinco cabezas de maguey de diferente tamaño pero con los rasgos de madurez fisiológica. Las cabezas se llevaron a los patios de la fábrica y se pesaron (Básculas Nuevo León D13, México); cada una se seccionó en tallo y bases de pencas y se pesaron las partes por separado. Posteriormente, en el laboratorio, cada tallo se dividió en tres partes similares para pesarlas (Tecnocor PPN-30, México) y procesarlas de manera individual el mismo día de su recolecta. A la vez, se tomó una muestra de bases de pencas (10 % del peso de la piña), para determinar su contenido de materia seca, con el propósito de referir el rendimiento del concentrado de fructanos con base en el peso fresco y seco de la piña o cabeza de maguey, la forma actual de aprovechamiento.

Extracción del concentrado de fructanos (CF)

Un tercio del tallo se utilizó para estimar el contenido de materia seca. El segundo tercio se sometió a la acción de un extractor de jugos (International EX-S, México) para separar el extracto líquido considerado como jugo primario y el residuo sólido o bagazo. El jugo se filtró con dos coladeras de muselina, se midió el pH con un potenciómetro (Hanna Instruments H198127, Italia) y los sólidos solubles (°Bx) con un refractómetro digital (Reichert AR200, EE. UU.). Este jugo primario se estabilizó con una misma cantidad de agua destilada en baño María a 53 ± 2 °C por 60 min, pues el extracto acuoso se descompone rápidamente, incluso después de un día en refrigeración, como también sucede con el extracto crudo de achicoria (Van Arkel et al., 2014). Inmediatamente, el jugo primario se colocó en recipientes herméticos y se congeló a -15 °C (Torrey CHTC25, EE. UU.). El bagazo del jugo primario se exprimió en un dispositivo de acero inoxidable diseñado para la extracción de jugos a una presión constante de

juice) and it was stabilized in a water bath; then it was pressed and the generated extract was processed as the previous two, designating this the tertiary juice. It was previously established that the rehydrated and squeezed bagasse more than twice contributed very little (2 %) to the total extract. Due to the lack of equipment for vacuum drying of large samples, a partial evaporation of the primary, secondary and tertiary juices, separately, was done in a cooking and vacuum impregnation equipment (J. P. Selecta Gastrovac, Barcelona, Spain) for the desiccation of the extracts. The original characteristics of the equipment prevented the complete dehydration of the extracts; it was therefore necessary to change the original cap of methacrylate for a flat, stainless steel cap with a vapor exit on the center and a sealed shirt, to introduce a thermometer in the vaporization area. Furthermore, an external condenser was adapted between the exit of vapors and the vacuum line. All juices were partially evaporated, independently, at 75 % of the total vacuum and 42 ± 1 °C, until obtaining 20 % of the original volume or until the extract had a dense consistency of approximately 50 °Bx. The resulting condensation rate was 100 mL of water per 10 min. Subsequently, the concentrated juices were poured in silicone molds (for baking) with a minimum thickness for drying (approximately 95 % DM) in a forced air oven (Shel-Lab FX-14, USA) at 53 ± 2 °C, which lasted around 35 h. The dry extract was removed from the molds and remained in scale shapes, which were grinded in a mortar, sieved, weighed and stored in air tight containers.

The remaining third of the stem was subjected to extraction just as the last one, but the thawed juices were centrifuged at 4,000 rpm (Damon PR-6000, USA) to be decanted and dry the supernatant and the sediment separately, as it was observed that the thawed juices left a white sediment at the bottom of the containers which could facilitate the cleansing of the extract. In order to evaluate the quality of the fructans, an homogenous mix was done with the concentrates obtained from the primary, secondary and tertiary juices of the second third of the stem, a sample was taken and it was fully dried in a forced air oven at 35 ± 2 °C at a constant weight. The humidity free sample was placed in containers and stored in a desiccator until further analysis. The aforementioned procedure was also followed for the samples of concentrates of the supernatant and sediment derived from the last third of the stem.

Evaluation of the relative and absolute fructan yield

The relative and absolute fructan yield was calculated based on the recorded weights (Ohaus 5120, USA) of the fresh and dry matter, both from the stem and the entire head.

14 kg·cm⁻² por medio de una prensa hidráulica de 30 t (Urrea 2471, España). El jugo recuperado del bagazo se denominó jugo secundario y, al igual que el primario, se filtró, se midió pH y °Bx, se estabilizó y se congeló. Posteriormente, el bagazo prensado se rehidrató con un volumen de agua destilada igual al jugo obtenido (jugo primario + jugo secundario) y se estabilizó en baño María; luego se prensó y el extracto generado se procesó como los dos anteriores, al cual se denominó jugo terciario. Previamente se estableció que el bagazo rehidratado y exprimido más de dos veces aportaba muy poco (2 %) al extracto total. Debido a la falta de equipo de secado al vacío para muestras grandes, en un equipo de cocción e impregnación en vacío (J. P. Selecta Gastrovac, Barcelona, España) se hizo una evaporación parcial de los jugos primario, secundario y terciario, por separado, para la desecación de los extractos. Las características originales del equipo impidieron llevar los extractos a sequedad total, por lo que fue necesario cambiar la tapa original de metacrilato por una tapa plana de acero inoxidable con una salida de vapores al centro y una camisa sellada, para introducir un termómetro al área de vaporización; además, se adaptó un condensador externo entre la salida de vapores y la línea de vacío. Todos los jugos se evaporaron parcialmente, de manera independiente, a 75 % del vacío total y 42 ± 1 °C, hasta obtener 20 % del volumen original o hasta que el extracto tomara una consistencia densa de aproximadamente 50 °Bx; la tasa de condensación resultante fue de 100 mL de agua por 10 min. Posteriormente, los jugos concentrados se vertieron en moldes de silicón (para hornear) con espesor mínimo para llevarlos a sequedad (aproximadamente 95 % de materia seca [MS]) en un horno de aire forzado (Shel-Lab FX-14, EE. UU.) a 53 ± 2 °C, lo cual tardó en promedio 35 h. El extracto seco se retiró de los moldes y quedó en forma de escamas, las cuales se molieron en mortero, tamizaron, pesaron y almacenaron en recipientes herméticos.

El tercio de tallo restante se sometió a extracción como el anterior, pero los jugos descongelados se centrifugaron a 4,000 rpm (Damon PR-6000, EE. UU.) para decantarlos y desecar el sobrenadante y el sedimento por separado, pues se observó que los jugos al descongelarse presentaban un sedimento blanco en el fondo de los recipientes, lo cual podría facilitar la depuración del extracto. Para evaluar la calidad de los fructanos se hizo una mezcla homogénea con los concentrados obtenidos de los jugos primario, secundario y terciario del segundo tercio del tallo, se tomó una muestra y se secó totalmente en un horno de aire forzado a 35 ± 2 °C hasta peso constante. La muestra libre de humedad se colocó en recipientes y se almacenaron en un desecador hasta su análisis. El procedimiento anterior también se siguió en las muestras de concentrados del sobrenadante y sedimento derivados del último tercio del tallo.

Stem humidity content

A sample of 100 g of the third of each stem was weighed (Ohaus 5120, USA) and dried at a constant weight in a forced air oven at 80 ± 2 °C (Shel-Lab FX-14, EE. UU.), to estimate the humidity content. Each measurement was done in triplicate.

Total ash content of the fructan extract

The total ashes were obtained through the burning of the samples. For this, 5 g of the humidity free fructans were weighed (Sartorius BP221S, Germany), which were also calcined in a muffle (Lindberg 51844, Mexico) at 550 °C for 2 h. The sample was cooled and placed in a desiccator and weighed in an analytical balance (Sartorius BP221S, Germany). The percentage of total ashes was obtained through the difference of weights in regards to the initial weight. Each measurement was done in triplicate.

Quantification of sapogenins of the fructan concentrate

The extraction of sapogenins was based on the methodology described by Zamora et al. (2010). For this, 30 mg of sample were subjected to acid hydrolysis and were gauged in a 10 mL volumetric flask. Total of 2 mL of that solution and 2 mL of H_2SO_4 (2 N) were put in a test tube. The mix was heated at 110 °C for 1.5 h in a dry bath (Labnet International Inc. D1200, USA). After the tubes reached room temperature, an extraction with 5 mL of ethyl acetate was done. The tubes were agitated in a vortex (Barnstead Thermolyne M37615, Iowa, USA), submerged in an ultrasonic bath (Bransonic 1510R-MT, Danbury, USA) for 1 min, and the organic cape was separated in another test tube. The sapogenins were quantified according to the method described by Baccou, Lambert, and Sauvaire (1977), using a standard curve 2.5, 5, 10, 15 and 20 $\mu g \cdot mL^{-1}$ of diosgenin (Sigma-Aldrich, USA). The absorption readings were done at a wave longitude of 430 nm in a spectrophotometer (HP-Agilent Technologies 8453, Germany).

Quantification of carbohydrates through high performance liquid chromatography (HPLC)

The carbohydrates present in the extracts were quantified according to the method described by Zuleta and Sabucetti (2001). Unlike the high performance anion exchange chromatography with amperometric pulse detector (HPAEC-PAD), the method used does not manage to separate individually the components with more than five degree of polymerization, but it can separate mono, bi, tri, and tetrasaccharides so that fructans with a polymerization level higher than five are integrated into one area. For this case, the standard used as reference was inulin (Sigma-

Evaluación del rendimiento relativo y absoluto de fructanos

El rendimiento absoluto y relativo de fructanos se calculó con base en los pesos registrados (Ohaus 5120, EE. UU.) de la materia fresca y materia seca, tanto del tallo como de la cabeza completa.

Contenido de humedad del tallo

Una muestra de 100 g del tercio de cada tallo se pesó (Ohaus 5120, USA) y se secó hasta peso constante en un horno de aire forzado a 80 ± 2 °C (Shel-Lab FX-14, EE. UU.), para estimar el contenido de humedad; cada medición se hizo por triplicado.

Contenido de cenizas totales del extracto de fructanos

Las cenizas totales se obtuvieron mediante la calcinación de las muestras. Para ello se pesaron 5 g (Sartorius BP221S, Alemania) del concentrado de fructanos libre de humedad, mismo que se calcinó en una mufla (Lindberg 51844, México) a 550 °C por 2 h. La muestra se enfrió, se colocó en un desecador y se pesó en una balanza analítica (Sartorius BP221S, Alemania). El porcentaje de cenizas totales se obtuvo por diferencia de pesos respecto al peso inicial; cada medición se realizó por triplicado.

Cuantificación de sapogeninas del concentrado de fructanos

La extracción de sapogeninas se basó en la metodología descrita por Zamora et al. (2010), para lo cual se hizo una hidrólisis ácida de 30 mg de muestra y se aforó en un matraz volumétrico de 10 mL. En un tubo de ensayo se tomaron 2 mL de la solución y 2 mL de H_2SO_4 (2 N); la mezcla se calentó a 110 °C por 1.5 h en un baño seco (Labnet Internantional Inc. D1200, EE. UU.). Luego de que los tubos alcanzaron la temperatura ambiente se hizo una extracción con 5 mL de acetato de etilo. Los tubos se agitaron en un vortex (Barnstead Thermolyne M37615, Iowa, EE. UU.), se sumergieron en un baño de ultrasonido (Bransonic 1510R-MT, Danbury, EE. UU.) por 1 minuto y se separó la capa orgánica en otro tubo de ensayo. Las sapogeninas se cuantificaron con el método descrito por Baccou, Lambert, y Sauvaire (1977), para lo cual se utilizó una curva estándar de 2.5, 5, 10, 15 y 20 $\mu g \cdot mL^{-1}$ de diosgenina (Sigma-Aldrich, EE.UU.). Las lecturas de absorbancia se hicieron a 430 nm de longitud de onda en un espectrofotómetro (HP-Agilent Technologies 8453, Alemania).

Cuantificación de carbohidratos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Los carbohidratos presentes en los extractos se cuantificaron de acuerdo con el método descrito

Aldrich, USA). This method has been used for the analysis of fructooligosaccharides and inulin in alimentary products, for being practical and fast (Van Loo, Coussement, De Leenheer, & Hoebregs, 1995). Consequently, a chromatograph (HP-Agilent Technologies 1100 series, Germany) with a deaerator, quaternary bomb, thermal compartment and a refractive index detector was used in reverse. An ion exchange column was used on a stationary phase (HP-Animex 78-C [7.8 mm d. i. x 300 mm] Bio Rad, USA). As part of the mobile phase, HPLC grade water (Fermont, México) was used with a flux of 0.5 mL·min⁻¹. The temperature of the column was 75 °C and that of the detector was 50 °C with an operation time per sample of 20 min. The samples were adjusted to a pH of 7 before their injection. Carbohydrates were identified based on the comparison of the retention times with the corresponding reference standards: inulin, sucrose, glucose, fructose (Sigma-Aldrich, USA), nystose and 1-Kestose (Wako Laboratory Chemicals, Japan), all with a purity higher than 98 % (Figure 1). A lineal calibration curve for each reference standard was constructed for the quantification of carbohydrates ($r \geq 0.994$) and its linearity constant (slope) was determined. The quantification limit for fructose and glucose (carbohydrates found in a lower proportion

por Zuleta y Sambucetti (2001). A diferencia de la cromatografía de intercambio iónico de alta resolución con detector de pulsos amperométricos (HPAEC-PAD, por sus siglas en inglés), el método usado no logra separar los componentes con más de cinco grados de polimerización de manera individual, pero sí los mono, di, tri y tetrasacáridos, por lo cual, los fructanos con grado de polimerización mayor de cinco se integraron en una sola área. Para este caso, el estándar usado como referente fue inulina (Sigma-Aldrich, EE. UU.). Este método se ha utilizado para el análisis de fructooligosacáridos e inulina en productos alimentarios por ser práctico y rápido (Van Loo, Coussement, De Leenheer, & Hoebregs, 1995). En consecuencia se usó en fase reversa, un cromatógrafo (HP-Agilent Technologies serie 1100, Alemania) compuesto por un desgasificador, bomba cuaternaria, compartimiento térmico de columna y detector de índice de refracción. Como fase estacionaria se utilizó una columna de intercambio iónico (HP-Animex 78-C [7.8 mm d. i. x 300 mm] Bio Rad, EE. UU.). Como fase móvil se utilizó agua grado HPLC (Fermont, México) con un flujo de 0.5 mL·min⁻¹. La temperatura de la columna fue de 75 °C y la del detector de 50 °C con un tiempo de operación por muestra de 20 min. Las muestras se ajustaron a pH 7 antes de su inyección. Los carbohidratos se identificaron

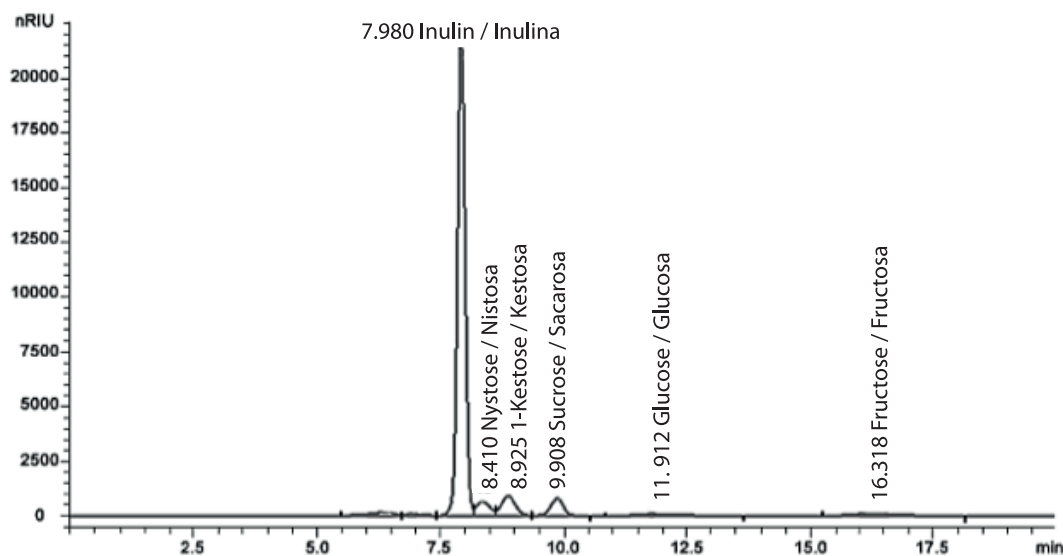


Figure 1. Separation and identification of sugars from the fructan concentrate of *Agave salmiana* with external standards by HPLC.

Figura 1. Separación e identificación de azúcares del concentrado de fructanos de *Agave salmiana* con estándares externos por HPLC.

in the samples) was 0.02 mg·mL⁻¹ and 0.07 mg·mL⁻¹, respectively.

Statistical analysis

The data derived from the extraction process and from the composition of the fructan concentrate were represented with the medium value and corresponding standard deviation.

Results and discussion

Extraction of fructans

With the extraction method based on simple operations and processes, such as the use of a juice extractor and an hydraulic press, it was possible to obtain the primary juice with around 55 % of the total removable fructans (FC), secondary juice (recovered from the pressed bagasse) with 32 % and tertiary juice (from the washings and pressing of the bagasse) with 12 % of the possible total fructans (Table 1). A second washing of the bagasse only allowed for the addition of 2 % of the total concentrate of fructans, which was considered unfeasible, having to evaporate water volumes similar to the previous juices.

By using only the stem of the plant as raw material, it was not necessary to resort to filtration equipment (resins of ionic exchange, activated carbon, nanofiltration, etc.) and expensive processes to divide the pollutants that were present in the bases of the leaves (saponins, chlorophylls, waxes), as well as bi, tri and tetrasaccharides going through polymerization to be stored in the stem. The use of warm water as a solvent was enough to complement the extraction, as with the procurement process of inulin from the chicory stem (Niness, 1999),

con base en la comparación de los tiempos de retención con los correspondientes a los estándares de referencia: inulina, sacarosa, glucosa, fructosa (Sigma-Aldrich, EE. UU.), nistosa y 1-kestosa (Wako Laboratory Chemicals, Japón), todos con pureza mayor de 98 % (Figura 1). Para la cuantificación de carbohidratos se construyó una curva de calibración lineal por cada estándar de referencia ($r \geq 0.994$) y se determinó su constante de linealidad (pendiente). El límite de cuantificación para fructosa y glucosa (carbohidratos encontrados en menor proporción en las muestras) fue de 0.02 mg·mL⁻¹ y 0.07 mg·mL⁻¹, respectivamente.

Análisis estadístico

Los datos derivados del proceso de extracción y de la composición del concentrado de fructanos se representaron con su valor medio y desviación estándar respectiva.

Resultados y discusión

Extracción de fructanos

Con el método de extracción a base de operaciones y procesos simples, como es el uso de un extractor de jugos y una prensa hidráulica, se pudo obtener jugo primario con cerca de 55 % de los fructanos (CF) totales extraíbles, jugo secundario (recuperado del bagazo prensado) con 32 % y jugo terciario (del lavado y prensado del bagazo) con 12 % de los fructanos totales posibles (Cuadro 1). Un segundo lavado del bagazo solo permitió añadir 2 % al concentrado total de fructanos, lo cual se consideró inviable, al tener que evaporar volúmenes de agua similares a los de los jugos anteriores.

Table 1. Fructan concentrate (FC) obtained (%) from each stage of the extraction method used, from the stems of *Agave salmiana*.

Cuadro 1. Concentrado de fructanos (CF) obtenido (%) en cada etapa del método de extracción utilizado, a partir de tallos de *Agave salmiana*.

Extraction stage / Etapa de extracción	Repetition / Repetición					Media ± SD / Media ± DE
	1	2	3	4	5	
FC of the primary juice (juice from the extractor) / CF del jugo primario (jugo del extractor)	58.72	58.19	53.75	51.74	55.03	55.49 ± 2.96
FC of the secondary juice (pressed bagasse) / CF del jugo secundario (bagazo prensado)	33.49	30.00	35.26	30.27	32.29	32.26 ± 2.21
FC of the tertiary juice (washed and pressed bagasse) / CF del jugo terciario (bagazo lavado y prensado)	8.79	11.81	10.99	16.99	12.68	12.25 ± 3.02
	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	

SD: Standard deviation
DE: Desviación estándar

as well as being the most adequate in order to obtain a food product as natural as possible.

The pH of the primary, secondary and tertiary juices varied between 5.6 and 5.8; this slightly acid pH was higher than the one typically found in the foliar fluids of *Agave* species due to their type of metabolism (acid metabolism of the crassulaceae) (Medrano & Flexas, 2008). The pH plays an important role in the enzymatic reactions that happen on a cellular level in the plant, which continue during and after the extraction process, if they are not inhibited. In some works (Gupta, Kaur, & Kaur, 2003), the natural acidity has been neutralized with NaOH in order to inhibit the enzymatic activity; however in this study, in order to avoid chemical treatments, enzymatic deactivation was used with distilled water (which at the same time dissolves the fructans) at 55 °C for 60 min and the juices were frozen. These operations were critical as the probability of the enzymatic reactions continuity was very high (Van Arkel et al., 2014), even under refrigeration. Thus, the importance of extraction, stabilization and freezing of the juices on the same day of the collection of the maguey head.

The concentration of soluble solids of the primary and secondary juices of the stem varied between 25.0 and 28.8 °Bx, much higher values than 11.7 °Bx found in the raw juice of the entire head of *A. salmiana* (Moreno, 2013). This is due to the fact that with most fructans and dry matter content are found in the stem (Aguirre et al., 2001; Michel-Cuello et al., 2008), and when processing the entire head a dilution effect happens with the highest humidity of the stalk bases. The tertiary juice presented between 5.4 and 7.2 °Bx which mainly corresponds to remaining fructans, recovered with the washing and pressing of the bagasse.

The average estimated time to dry 12 L of juice (primary, secondary and tertiary) obtained from the stem of a 57.6 kg head, until reaching 95 % DM was 55 h. This time was much shorter than the average 480 h (20 days) required by Franco (2012) for the same purpose with only one air forced oven.

Absolute and relative yield of the fructan concentrate

As shown in Table 2, the stem of a maguey or head of 57.6 kg (less than 10 % of the total weight) yields an average of 1.05 kg of fructans with 95 % of dry matter. In addition, the leaf bases of this head could be used as fodder or to produce mezcal; thus, this yield allows us to assess the alternative use of the head of the maguey and its parts as raw materials.

From the fresh stem of an average head of maguey mezcalero (57.6 kg), an average yield of FC (95 % DM) of

Al utilizar únicamente el tallo de la planta como materia prima fue innecesario recurrir a equipos de filtración (resinas de intercambio iónico, carbón activado, nanofiltración, etc.) y procesos costosos para separar los contaminantes presentes en las bases de las pencas (saponinas, clorofilas, ceras), así como los di, tri y tetrasacáridos en vías de polimerización para ser almacenados en el tallo. El uso de agua caliente como solvente fue suficiente para complementar la extracción, al igual que en el proceso de obtención de inulina de la raíz de achicoria (Niness, 1999), y resulta lo más adecuado para obtener un producto alimentario lo más natural posible.

El pH de los jugos primario, secundario y terciario osciló entre 5.6 y 5.8; este pH ligeramente ácido fue mayor que el encontrado típicamente en los fluidos foliares de especies de *Agave*, por su tipo de metabolismo (metabolismo ácido de las crasuláceas) (Medrano & Flexas, 2008). El pH tiene un papel importante en las reacciones enzimáticas que ocurren a nivel celular en la planta, las cuales continúan durante y después del proceso de extracción, si no son inhibidas. En algunos trabajos se ha neutralizado la acidez natural con NaOH para inhibir la actividad enzimática (Gupta, Kaur, & Kaur, 2003); sin embargo, en este estudio, para evitar tratamientos químicos se recurrió a la inactivación enzimática con agua destilada (que a la vez disuelve los fructanos) a 55 °C por 60 min y a la congelación de los jugos. Estas operaciones fueron críticas, pues la posibilidad de que las reacciones enzimáticas continúen es muy alta (Van Arkel et al., 2014), aún bajo refrigeración. De ahí la importancia de la extracción, estabilización y congelación de los jugos el mismo día de la recolección de la piña de maguey.

La concentración de sólidos solubles de los jugos primario y secundario del tallo oscilaron entre 25.0 y 28.8 °Bx, valores mucho mayores que los 11.7 °Bx encontrados en el jugo crudo de la piña completa de *A. salmiana* (Moreno, 2013). Esto se debe a que el mayor contenido de fructanos y materia seca se encuentra en el tallo (Aguirre et al., 2001; Michel-Cuello et al., 2008), y al procesar la piña completa ocurre un efecto de dilución con la mayor humedad de las bases de las pencas. El jugo terciario tuvo de 5.4 a 7.2 °Bx, lo cual corresponde principalmente a los fructanos remanentes, recuperados con el lavado y prensado del bagazo.

El tiempo promedio estimado para desecar 12 L de jugo (primario, secundario y terciario) obtenido del tallo de una cabeza de 57.6 kg, hasta alcanzar 95 % MS, fue de 55 h. Este tiempo fue mucho menor que las 480 h (20 días) promedio requeridas por Franco (2012) para el mismo propósito, con solo un horno de aire forzado.

21 % was obtained, and regarding the dry weight of the stem, the yield was almost 80 %; both values are similar to the inulin content based on the fresh weight (15 to 20 %) and dry weight (70 to 80 %) of the chicory roots (Franck, 2002; Gupta et al., 2003). Table 3 compares the contents of fructans of *A. salmiana* and other species. The lower fructan yield (around 60 %) based on the dry weight of the head, documented by Mancilla-Margalli and López (2006) for sotol (specie of the *Dasyliirion* genus) and different types of maguey, is expected when using the entire head as raw material, with all

Rendimiento absoluto y relativo de concentrado de fructanos

Como se muestra en el Cuadro 2, el tallo de una piña o cabeza de maguey de 57.6 kg (menos de 10 % del peso total) rinde en promedio 1.05 kg de fructanos con 95 % de materia seca. Además, las bases de las pencas de esta cabeza pueden utilizarse como forraje o para producir mezcal; así, dicho rendimiento permite valorar el uso alternativo de la cabeza de maguey y sus partes como materia prima.

Table 2. Absolute and relative yield of the fructan concentrate (FC) from the *Agave salmiana* stem.

Cuadro 2. Rendimiento absoluto y relativo de concentrado de fructanos (CF) del tallo de *Agave salmiana*.

Variables	Repetition / Repetición					Media ± SD / Media ± DE
	1	2	3	4	5	
Weight of the fresh head (kg) / Peso de la piña fresca (kg)	44.50	43.50	58.50	88.00	53.50	57.60 ± 18.11
Weight of the dry head (kg) / Peso de la piña seca (kg)	7.65	8.11	10.70	16.02	9.40	10.38 ± 3.37
Weight of the fresh stem (kg) / Peso del tallo fresco (kg)	3.00	3.00	5.50	9.14	4.25	4.98 ± 2.55
Weight of the dry stem (kg) / Peso del tallo seco (kg)	0.72	0.69	1.69	2.75	1.12	1.39 ± 0.85
Proportion of the stem in regards to the head (%) / Proporción del tallo respecto de la piña (%)	6.74	6.90	9.40	10.39	7.94	8.27 ± 1.59
FC (95 % DM, kg) / CF (95 % MS, kg)	0.63	0.64	1.10	1.96	0.93	1.05 ± 0.55
FC yield based on the fresh weight of the stem (%) / Rendimiento de CF con base en el peso fresco del tallo (%)	21.00	21.30	20.00	21.44	21.88	21.12 ± 0.70
FC yield based on the dry weight of the stem (%) / Rendimiento de CF con base en el peso seco del tallo (%)	81.82	83.12	80.88	75.10	76.23	79.43 ± 3.55
FC yield based on the fresh weight of the head (%) / Rendimiento de CF con base en el peso fresco de la cabeza (%)	1.42	1.47	1.88	2.23	1.74	1.75 ± 0.33
FC yield based on the dry weight of the head (%) / Rendimiento de CF con base en el peso seco de la cabeza (%)	8.24	7.89	10.28	12.23	9.89	9.71 ± 1.75
Dry bagasse of the stem (%) / Bagazo seco del tallo (%)	0.14	0.13	0.26	0.65	0.29	0.29 ± 0.21
Dry bagasse based on the fresh weight of the stem (%) / Bagazo seco con base en el peso fresco del tallo (%)	4.67	4.33	4.73	7.11	6.82	5.53 ± 1.32
Dry bagasse based on the dry weight of the stem (%) / Bagazo seco con base en el peso seco del tallo (%)	19.44	18.84	15.35	23.64	25.89	20.64 ± 4.15

SD: Standard Deviation

DE: Desviación estándar

MS: Materia seca

DM: Dry material

Table 3. Relative content of fructans in *Agave salmiana* and other species.
Cuadro 3. Contenido relativo de fructanos en *Agave salmiana* y otras especies.

Species /Especie	Processed part /Parte procesada	Fresh base (%) /Base fresca (%)	Source /Fuente	Dry base (%) /Base seca (%)	Source /Fuente
Jerusalem artichoke /Pataca (<i>Helianthus tuberosus</i> L.)	Tuber / Tubérculo	16-20	Franck (2009)	-	-
Chicory /Achicoria (<i>Cichorium intybus</i> L.)	Root /Raíz	15-20	Franck (2009)	70	Franck (2009)
Chicory /Achicoria (<i>Cichorium intybus</i> L.)	Root /Raíz	15-29	Gupta et al. (2003)	70-80	Gupta et al. (2003)
Magüey tequilero (<i>Agave angustifolia</i> Haw. spp. <i>tequilana</i> Valenzuela-Zapata & Nabhan)	Head / Cabeza	-	-	60	López and Mancilla-Margalli (2007)
Magüey mezcalero (<i>Agave salmiana</i> Otto ex Salm-Dyck)	Stem / Tallo	20.4 - 21.8	Current study / Presente estudio	75.8- 82.9	Current study / Presente estudio

the aforementioned inconvenient events, in regards to the complexity of processes and quality of the extracted fructans.

Quality of the fructan concentrate

Table 4 presents the evaluation results of the mean quality of the FC (at a constant weight); that is to say, the relative content of extracted fructans from the stem of a ripe *A. salmiana* plant. As previously mentioned, an inulin standard was used as reference, as the equipment and the method prevent a higher resolution for fructans with a polymerization greater than level 5; therefore, the term inulin of this methodology truly corresponds to the magüey fructans (agavinas, according to López et al., 2014). It was found that the concentrate of the full extract of the second third of the stem has 78.31 % magüey fructans with more than five levels of polymerization, and that the glucose and fructose contents were not detectable (< 0.02 %). The composition of the fructan concentrate of the supernatant of the last third of the stem was similar to the composition of the full concentrate of the second third, even in its full recovery (95.03 %); both also presented a whitish appearance. In contrast, the composition of FC of the sediment of the last third of the stem was different even in its appearance, as it presented a dark brown coloration, greater total ash and saponin contents and a lower recovery percentage (79.31 %), maybe because it has unidentified or non-quantified components with

Del tallo fresco de una cabeza promedio de magüey mezcalero (57.6 kg) se obtuvo un rendimiento promedio de CF (95 % MS) de 21 %, y con respecto al peso seco del tallo, el rendimiento fue de casi 80 %; ambos valores son similares al contenido de inulina con base en el peso fresco (15 a 20 %) y seco (70 a 80 %) de las raíces de achicoria (Franck, 2002; Gupta et al., 2003). El Cuadro 3 compara el contenido de fructanos de *A. salmiana* y otras especies. El menor rendimiento de fructanos con base en el peso seco de la cabeza, documentado por Mancilla-Margalli y López (2006) para sotol (especie del género *Dasyllirion*) y diferentes tipos de magüeyes, de cerca de 60 %, es de esperarse, al utilizar las cabezas enteras como materia prima, con todos los inconvenientes ya señalados, referentes a la complejidad de procesos y calidad de los fructanos extraídos.

Calidad del concentrado de fructanos

El Cuadro 4 presenta los resultados de la evaluación de la calidad media del CF (llevado a peso constante); es decir, el contenido relativo de fructanos extraídos del tallo de una planta madura de *A. salmiana*. Como se mencionó anteriormente, se usó un estándar de inulina como referente, ya que el equipo y el método impide una mayor resolución para fructanos con grado de polimerización mayor a cinco; por ello, el término inulina de esta metodología en realidad corresponde a los fructanos de magüey (agavinas, según López et al., 2014). Se encontró que el concentrado del extracto íntegro del segundo tercio del tallo tiene

Table 4. Quality of the fructan concentrate (FC) of *Agave salmiana* (humidity free).
Cuadro 4. Calidad del concentrado de fructanos (CF) de *Agave salmiana* (libre de humedad).

Components/Componentes	FC of the full extract (mg·g ⁻¹)/ CF del extracto íntegro (mg·g ⁻¹)	FC of the centrifuged extract (mg·g ⁻¹)/ CF del extracto centrifugado (mg·g ⁻¹)	
		Supernatant/ Sobrenadante	Sediment/Sedimento
Inulin (maguey fructans)/ Inulina (fructanos de maguey)	783.10 ± 58.05	778.1 ± 62.43	641.1 ± 100.80
Nystose/Nistosa	72.46 ± 19.39	78.80 ± 20.59	56.32 ± 15.47
1-Kestose	22.36 ± 8.66	21.14 ± 9.93	7.00 ± 3.76
Sucrose/Sacarosa	12.24 ± 6.86	17.80 ± 12.21	4.43 ± 8.37
Glucose/Glucosa	ND	ND	ND
Fructose/Fructosa	ND	ND	ND
Sapogenins/Sapogeninas	8.42 ± 0.66	8.34 ± 0.60	11.12 ± 1.64
Ashes/Cenizas	48.68 ± 8.4	46.09 ± 6.64	76.03 ± 6.27
Recovery (%)/Recuperación (%)	94.73	95.03	79.31

ND = Not detectable (< 0.002 %)

ND = No detectable (< 0.002 %)

this methodology. Regarding the weight of the total extract, the proportion of the sediment is only 5.6 %, so centrifugation could be a viable practice to more adequately purify maguey fructans.

Conclusions

The use of stems as raw material allows the implementation of simple and natural procedures for the extraction of maguey fructans. Through the pressing and washing of bagasse, the volume of FC obtained with an extractor can almost be duplicated. The yield of FC was 21 % of the fresh weight of the stem of a ripe maguey and around 80 % of the dry weight of the stem. The concentrate of maguey fructans, humidity free, presented a purity close to 80 % (fructans with more than five grades of polymerization). The alternative or complementary use of maguey mezcalero for the extraction of fructans, with a simple and natural extraction process, could stimulate the appreciation and use of the wild maguey plants, and at the same time, the rural development of the region.

Acknowledgements

This work was completed with support from the Fondo de Apoyo a la Investigación - UASLP (C14-FAI-04-61.61).

78.31 % de fructanos de maguey con más de cinco grados de polimerización, y que los contenidos de glucosa y fructosa no fueron detectables (< 0.02 %). La composición del concentrado de fructanos del sobrenadante del tercer tercio de tallo fue similar a la composición del concentrado íntegro del segundo tercio, incluso en su recuperación total (95.03 %), y ambos presentaron también aspecto blanquecino. En cambio, la composición del CF del sedimento del tercer tercio de tallo fue diferente hasta en su aspecto, ya que presentó coloración castaña oscura, contenidos de cenizas totales y sapogeninas mayores y menor porcentaje de recuperación (79.31 %), quizá porque contiene compuestos no identificados ni cuantificados con esta metodología. Con respecto al peso del extracto total, la proporción del sedimento es de sólo 5.6 %, por lo que la centrifugación puede ser una práctica viable para depurar un poco más los fructanos de maguey.

Conclusiones

El uso de los tallos como materia prima permite aplicar procedimientos simples y naturales para la extracción de fructanos de maguey. Con el prensado y lavado del bagazo se puede casi duplicar el volumen de CF obtenidos con un extractor. El rendimiento de CF fue de 21 % del peso fresco del tallo de un maguey maduro

CIGH would like to thank the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología for the scholarship (289510) for doctorate studies.

End of English version

References / Referencias

- Aguirre, R. J. R., Charcas, S. H., & Flores, F. J. L. (2001). *El maguey mezcalero potosino*. México: Universidad Autónoma de San Luis Potosí-Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología.
- Baccou, J. C., Lambert, F., & Sauvaire, Y. (1977). Spectrophotometric method for the determination of total steroidal sapogenin. *The Analyst*, 102, 448–465. doi: 10.1039/AN9770200458
- Banguela, A., & Hernández, L. (2006). Fructans: from natural sources to transgenic plants. *Biología Aplicada*, 23(3), 202–210. Obtenido de <http://132.248.9.34/hevila/Biologiaaplicada/2006/vol23/no3/2.pdf>
- Chalmers, J., Lidgett, A., Cummings, N., Cao, Y., Foster, J., & Spangenberg, G. (2005). Molecular genetics of fructan metabolism in perennial ryegrass. *Plant Biotechnology Journal*, 3, 459–474. doi: 10.1111/j.1467-7652.2005.00148.x
- Coussement, A. P. A. (1999). Inulin and oligofructosa: Safe intakes and legal status. *The Journal of Nutrition*, 129(7), 1412S–1417S. Obtenido de <http://jn.nutrition.org/content/129/7/1412S.full.pdf+html>
- Dávila-Céspedes, A., Juárez-Flores, B. I., Pinos-Rodríguez, J. M., Aguirre-Rivera, J. R., Oros-Ovalled, A. C., Loyola-Martínez, E. D., & Andrade-Zaldívar, H. (2014). Protective effect of *Agave salmiana* fructans in azoxymethane-induced colon cancer in Wistar rats. *Natural Products Communications*, 9 (10), 1503–1506.
- Franck, A. (2002). Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 2, 287–291. doi: 10.1079/BJN/2002550
- Franck, A. (2009). Inulin and oligofructose. In S. Jardine (Ed.), *Prebiotics and probiotics* (pp. 3–30). United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- Franco, A. B. P. (2012). *Método de extracción de fructanos de maguey (Agave salmiana Otto ex Salm-Dyck)*. Tesis de maestría, Programa Multidisciplinario de Posgrados en Ciencias Ambientales, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.
- Gibson, G. R., & Roberfroid, M. (1995). Dietary modulation of the human colonic microflora: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401–1412. Obtenido de <http://jn.nutrition.org/content/125/6/1401.full.pdf>
- Greg, K. (2009). Inulin-type prebiotics: A review (Part 2). *Alternative Medicine Review*, 14(1), 36–55. Obtenido de <http://www.altmedrev.com/publications/14/1/36.pdf>
- Gupta, A. K., Kaur, N., & Kaur, N. (2003). Preparation of inulin from chicory roots. *Journal of Scientific & Industrial*

y cerca de 80 % del peso seco del tallo. El concentrado de fructanos de maguey, libre de humedad, presentó una pureza cercana a 80 % (fructanos con más de cinco grados de polimerización). El uso alternativo o complementario del maguey mezcalero para la extracción de fructanos, con un proceso de extracción simple y natural, puede estimular el aprecio y aprovechamiento de las magueyerías silvestres, y a su vez, el desarrollo rural de la región.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con el Fondo de Apoyo a la Investigación - UASLP (C14-FAI-04-61.61). CIGH agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca (289510) para estudios de doctorado.

Fin de versión en español

- Research*, 62, 916–920. Obtenido de <http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/26337/1/JJSIR%2062%289%29%20916-920.pdf>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (2001). *Anuario estadístico de comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos*. Obtenido de http://inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/continuas/economicas/exterior/2000/MP_00_1.pdf
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2012). *Anuario estadístico de comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos*. Obtenido de http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/pais/aeum/2011/Aeum11_1.pdf
- Kays, S. J., & Nottingham, S. F. (2007). *Biology and chemistry of Jerusalem artichoke*. Boca Raton, Florida, USA: CRC.
- Leach, J. D. (2007). Prebiotics in ancient diets. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 4(1), 1–8. doi: 10.1616/1476-2137.14801
- Leach, J. D., & Sobolik, K. D. (2010). High dietary intake of prebiotic inulin-type fructans in the prehistoric Chihuahuan Desert. *British Journal of Nutrition*, 103, 1558–1561. doi: 10.1017/S0007114510000966
- López, M. G., Mancilla-Margalli, N. A., & Mendoza-Díaz, G. (2003). Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7835–7840. doi: 10.1021/jf030383v
- López, M. G., Huazano-García, A., García-Pérez, M. C., & García-Vieyra, M. I. (2014). *Agave fiber structure complexity and its impact on health*. In N. Benkeblia (Ed.), *Polysaccharides: Natural fibers in food and nutrition* (pp. 45–74). Boca Raton, Florida, USA: CRC Press.
- Mancilla-Margalli, N., & López, M. G. (2006). Water-soluble carbohydrates and fructan structure patterns from *Agave* and *Dasyliirion* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7832–7839. doi: 10.1021/jf060354v
- Medrano, H., & Flexas, J. (2008). Fotorrespiración y mecanismos

- de concentración del dióxido de carbono. En J. Azcon B., & M. Talon (Eds.), *Fisiología vegetal* (pp. 227–246). Madrid, España: Interamericana McGraw Hill.
- Michel-Cuello, C., Juárez-Flores, B. I., Aguirre-Rivera, J. R., & Pinos-Rodríguez, J. M. (2008). Quantitative characterization of non-structural carbohydrates of mezcal *Agave* (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5753–5760. doi: 10.1021/jf800158p
- Michel-Cuello, C., Ortiz-Cerda, I., Moreno-Vilet, L., Grajales-Lagunes, A., Moscota-Santillán, M., Bonnín, J., ... Ruíz-Cabrera, M. (2012). Study of enzymatic hydrolysis of fructans from *Agave salmiana* characterization and kinetic assessment. *The Scientific World Journal*, 863432. doi: 10.1100/2012/863432
- Mora-López, J. L., Reyes-Agüero, J. A., Flores-Flores, J. L., Peña-Valdivia, C. B., & Aguirre-Rivera, J. R. (2011). Variación morfológica y humanización de la sección Salmianae del género *Agave*. *Agrociencia*, 45, 465–477. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30219802006>
- Moreno, V. L. (2013). *Obtención de un producto con alto contenido de fructanos a partir de Agave salmiana y su evaluación biológica*. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México.
- Moreno-Vilet, L., García-Hernández, M. H., Delgado-Portales, R. E., Corral-Fernández, N. E., Cortez-Espinoza, N., Ruíz-Cabrera, M. A., & Portales-Pérez, D. P. (2014). *In vitro* assessment of *Agave* fructans (*Agave salmiana*) as prebiotics and immune system activators. *International Journal of Biological Macromolecules*, 63, 181–187. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.10.039
- Niness, K. R. (1999). Inulin and oligofructosa: What are they? *The Journal of Nutrition*, 129(7), 1402S–1406S. Obtenido de <http://jn.nutrition.org/content/129/7/1402S.full.pdf+html>
- Olvera, C., Castillo, E., & López-Munguía, A. (2007). Fructosiltransferasas, fructanas y fructosa. *Biotecnología*, 14, 327–345. Obtenido de http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/libro_25_aniv/capitulo_29.pdf
- Sánchez-Marroquín, A., & Hope, P. (1953). Fermentation and chemical composition studies of some species of *Agave* juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1, 246–249. doi: 10.1021/jf60003a007
- Van Arkel, J., Stévenier, R., Hakkert, J. C., Bouwmeester, H. J., Koops, A. J., & Van Der Meer, I. M. (2014). Fructan biosynthesis regulation and the production of tailor-made fructan in plants. In N. Benkeblia (Ed.), *Polysaccharides: Natural fibers in food and nutrition* (pp.1–29). Boca Raton, Florida, USA: CRC.
- Van Loo, J., Coussement, P., De Leenheer L., & Hoebregs H. (1995). On the presence of inulin and oligofructosa as natural ingredients in the wester diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(6), 525–552. doi: 10.1080/10408399509527714
- Waleckx, E., Gschaedler, A., Colonna-Ceccaldi, B., & Monsan, P. (2008). Hydrolysis of fructans from *Agave tequilana* Weber var. *azul* during the cooking step in a traditional tequila elaborations process. *Food Chemistry*, 108, 40–48. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.10.028
- Zamora, P. C., Juárez, F. B. I., Aguirre, R. J. R., Ortiz, P. M. D., Godínez, H. C. I., & Álvarez, F. G. (2010). Variación de la concentración de azúcares y saponinas durante la cocción del maguey mezcalero potosino. *e-Gnosis*, 8(7), 1–11. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=73013006007>
- Zuleta, A., & Sambucetti, M. E. (2001). Inulina determination for food labeling. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4570–4572. doi: 10.1021/jf010505o