



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA**

**ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO PARA LA
PRODUCCIÓN ARTESANAL DE JARABE DE AGUAMIEL
HIDALGUENSE**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA:
ISRAEL PÉREZ VARGAS**

**DIRECTORES:
DR. LUIS GUILLERMO GONZÁLEZ OLIVARES
DRA. LORENA MORENO VILET**



Mineral de la Reforma, Hgo., a 30 de noviembre de 2020

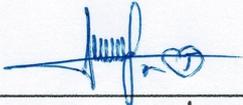
Número de control: ICBI-D/2466/2020
Asunto: Autorización de impresión.

M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

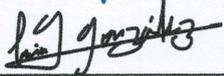
Por este medio le comunico que el Jurado asignado al Pasante de la Licenciatura en Química de Alimentos Israel Pérez Vargas, quien presenta el trabajo de titulación "Estandarización del proceso para la producción artesanal de jarabe de aguamiel hidalguense" después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación firman de conformidad los integrantes del Jurado:

PRESIDENTE: Dra. Judith Jaimez Ordaz



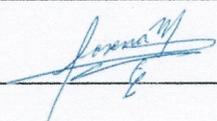
PRIMER VOCAL: Dr. Luis Guillermo González Olivares



SECRETARIO: Dra. Araceli Castañeda Ovando



SUPLENTE: Dra. Lorena Moreno Vilet



Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

Atentamente
 "Amor, Orden y Progreso"




Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval
 Director del ICBI

Escaneado con CamScanner

OAAS/SEPC



Ciudad del Conocimiento
 Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5 Colonia Carboneras,
 Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184
 Teléfono: +52 (771) 71 720 00 ext. 2231 Fax 2109
 direccion_icbi@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx



Este trabajo de investigación fue realizado como parte del proyecto de Ciencia Básica 2014 con clave 241333 intitulado “Estudio del mecanismo bioquímico de la biotransformación de selenio inorgánico en seleno-proteínas por bacterias ácido lácticas termófilas”

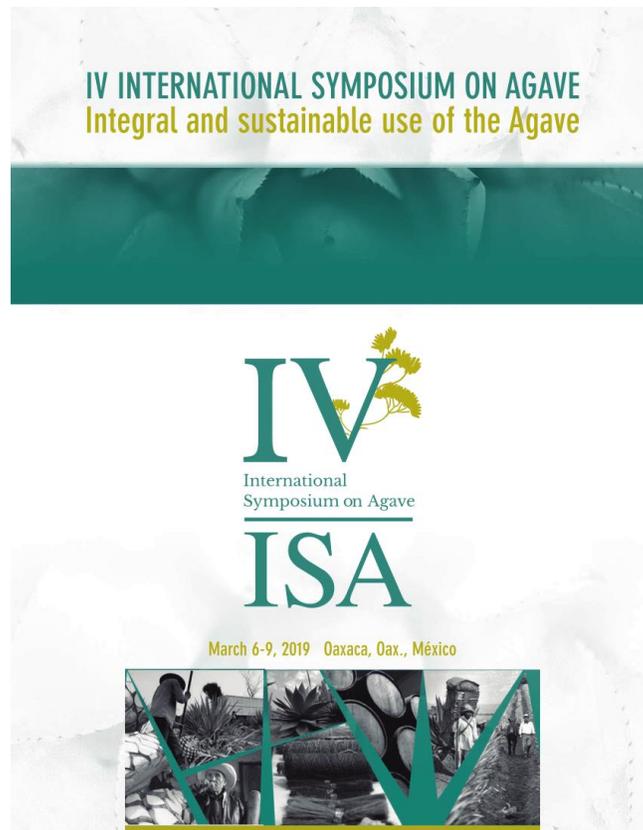
Este trabajo se realizó en el laboratorio de Biotecnología 1 del Área Académica de Química, perteneciente al Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.

Parte de los resultados obtenidos en este trabajo se presentaron en los siguientes eventos científicos:

8th Food Science, Biotechnology & Safety Congress, llevado a cabo en Puerto Vallarta, Jalisco, México (Noviembre, 2018).



IV International Symposium of Agave, llevado a cabo en Oaxaca, Oaxaca, México (Marzo, 2019).



Parte de los resultados obtenidos en este trabajo se publicaron en un capítulo de libro en Integral and Sustainable Use of Agave (2019).

Moreno-Vilet, L., González-Olivares, L.G., Pérez-Vargas, I., Camacho-Ruiz, R.M., Villanueva-Rodríguez, S.J. Physicochemical characterization and carbohydrate profile of maguey syrup and aguamiel from the state of Hidalgo. En Integral and Sustainable use of Agave, CIATEJ 2019, ISBN: 978-607-8734-03-00



Biological effects of Agave fructans and other by-products

Physicochemical characterization and carbohydrate profile of maguey syrup and aguamiel from the state of Hidalgo.

Moreno-Vilet, L.^{1 *}, González-Olivares, LG.², Pérez-Vargas, I.², Camacho-Ruiz, RM.³, Andrade-González I.⁴ and Villanueva-Rodríguez, SJ.^{3 *}

ABSTRACT

In the state of Hidalgo, maguey syrup is produced by hand, obtained by aguamiel (AM) concentration of different agave species from the upper mezquital region, therefore the quality and composition of the syrup depends directly on the quality of the AM used. AM is the sap that contains the bud of the plants commonly known as magueyes; belonging to the family of the agaves. The collection is done every 12 h after scraping the stem of the agave, and the production lasts from 4 to 6 months. The main component of AM are carbohydrates, although the presence of amino acid, ascorbic acid and iron has also been reported. Differences in AM composition are still not clear, have been proposed as main factor: the region, agave species, weather, among other. In this work it was studied the physicochemical characterization and carbohydrate profile of maguey syrup from two zones (Zempoala and Cardonal) of the state of Hidalgo and AM from different agaves of Zempoala, Hidalgo. The pH was the physicochemical parameter with higher variations. The color of the AM is greatly obscured by the concentration process at high temperatures until the syrup is obtained at 70 °Brix. Large variations were found in carbohydrate profile, especially in simple sugars (glucose, fructose and sucrose) of AM and syrups evaluated.

Key words: Aguamiel, syrup, maguey, carbohydrates, Hidalgo.



Latin 2018 Food

8th Food Science, Biotechnology & Safety Congress MEXICAN ASSOCIATION OF FOOD SCIENCE

Food

for Health
2018



AWARDS THE PRESENT CERTIFICATE TO:

Pérez-Vargas, I., Castañeda-Ovando, A., González-Olivares, L.G.

IN RECOGNITION FOR THEIR PARTICIPATION AS

AUTHORS OF THE WORK: Physicochemical characterization of mead from different varieties of maguey from the State of Hidalgo for later use in the production of a commercial syrup (POSTER)

DR. GUSTAVO FIDEL GUTIÉRREZ LÓPEZ
PRESIDENT OF THE AMECA
DIRECTING COUNCIL 2017-2019

DR. NICOLÁS OSCAR SOTO CRUZ
VICE PRESIDENT OF THE AMECA
DIRECTING COUNCIL PRESIDENT OF
THE ORGANIZING DIRECTING
COMMITTEE

DRA. LILIA ARELY PRADO BARRAGÁN
SECRETARY OF THE DIRECTING
COUNCIL PRESIDENT OF THE
SCIENTIFIC COMMITTEE

DR. SANTOS GARCÍA
PRESIDENT OF FOOD FOR HEALTH

Puerto Vallarta, Jalisco, México, 14-16 November 2018

IV INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF AGAVE

Integral and Sustainable Use of Agave

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a:

**L. Moreno Vilet, L.G. González Olivares, I. Pérez Vargas,
R.M. Camacho Ruíz, S.J. Villanueva Rodríguez**

Por su participación con el tema **Physicochemical characterization and carbohydrate profile of maguey honey and aguamiel from Hidalgo State**, en modalidad oral.

Oaxaca, Oax. México 6-9 de marzo 2019.



Dr. Inocencio Higuera Ciapara
Director General CIATEJ



Dra. Antonia Gutiérrez Mora
Presidenta del Comité Organizador

AGRADECIMIENTOS

*“**U** todo lo que hagan, de palabra o de obra, háganlo en el nombre del Señor Jesús, dando gracias a Dios el Padre por medio de él”.*

Colosenses 3:17

A Dios, por todos los favores que me ha dado y entregado. Gracias por estar siempre presente en todos los momentos de mi vida, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizaje, experiencias y sobre todo felicidad.

A mis padres Braulia e Inocencio por ser los pilares fundamentales de mi vida y ser las personas que más amo. Gracias por todo su esfuerzo de años de trabajo en bienestar mío.

Al Dr. Luis Guillermo González Olivares por la paciencia, dedicación y apoyo a los estudiantes, especialmente a mi durante toda mi vida universitaria y por no dejarme solo y tomar la batuta de este proyecto. Gracias por permitirme vivir nuevas experiencias durante el desarrollo de este trabajo, todo esto en bienestar siempre de sus alumnos.

A la Dra. Lorena Moreno Vilet por la dedicación y apoyo que ha brindado a este trabajo y por la dirección que ha facilitado a las mismas. Gracias por la confianza ofrecida desde el primer momento.

A las doctoras, Chely, Eli y Judith por el apoyo brindado a lo largo de toda la carrera universitaria, por su tiempo, atención en asesorías, consejos y por los conocimientos que me transmitieron. Gracias por su amistad.

A los productores de San Gabriel Azteca, Joaquina (†), Valentin, Clemente, Tomás, Ignacio, Julio, Cirilo, Lorenzo, Paz y Jorge, porque siempre demostraron que no importa la situación o circunstancia para salir adelante ya que con esfuerzo, dedicación y trabajo se cumplen los proyectos y se consiguen grandes cosas en la vida. Gracias por creer en ustedes, en el campo y en la ciencia.

A mis amigos de laboratorio y de la carrera, especialmente para Arely, David y Emma quienes siempre me brindaron su apoyo, compañía y conocimiento. Gracias por todos los momentos tan inolvidables que compartimos durante todo este tiempo.

Al CONACYT por el apoyo a los estudiantes en el desarrollo y fortalecimiento de la ciencia.

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por haberme brindado cada espacio, aula y laboratorio durante toda mi vida universitaria.

A todos, muchas gracias.

1 Índice General

I.Índice de tablas.....	2
II. Índice de figuras	3
1INTRODUCCIÓN.....	4
2ANTECEDENTES	6
2.1 Generalidades del aguamiel.....	6
2.1.1 Composición fisicoquímica del aguamiel	8
2.2 Compuestos bioactivos del aguamiel	9
2.3 Beneficios del consumo de aguamiel.....	13
2.4 Usos tecnológicos del aguamiel	16
2.5 Calidad nutrifuncional del jarabe de aguamiel.....	18
2.6 Situación actual en la producción del jarabe de aguamiel	20
3JUSTIFICACIÓN	24
4OBJETIVOS	25
4.1 Objetivo general	25
4.2 Objetivos específicos	25
5METODOLOGÍA	26
5.1 Muestreo.....	26
5.2 Caracterización fisicoquímica del aguamiel	26
5.2.1 Parámetros físicos	27
5.2.2 Parámetros químicos	27
5.2.3 Distribución de tamaños de los fructanos en aguamiel y jarabe de aguamiel por HPLC.....	31
5.3 Diseño experimental Plackett-Burman	31
5.4 Proceso de elaboración del jarabe de aguamiel	32
5.5 Caracterización fisicoquímica del jarabe de aguamiel	34
5.6 Evaluación sensorial del jarabe de aguamiel	34
5.7 Análisis estadístico de los resultados.....	35
6RESULTADOS Y DISCUSIONES	36
6.1 Caracterización del aguamiel.....	36
6.2 Optimización del proceso de fabricación de jarabe de aguamiel	42
6.3 Análisis sensorial.....	52
7CONCLUSIONES.....	56
8REFERENCIAS.....	57
9ANEXOS.....	64
9.1 Soluciones.....	64
9.1.1 Preparación de reactivos para la determinación de carbohidratos totales ..	64
9.1.2 Preparación de reactivos para la determinación de azúcares reductores	64

I. Índice de tablas

Tabla 1. Principales estados de la República Mexicana donde se encuentran subgéneros de agave.	7
Tabla 2. Composición química y características fisicoquímicas del aguamiel proveniente de diferentes especies de agave	9
Tabla 3. Concentraciones de glucosa utilizadas para la elaboración de la curva patrón para la determinación de azúcares reductores	28
Tabla 4. Concentraciones de glucosa utilizadas para la elaboración de la curva patrón para la determinación de azúcares totales.....	30
Tabla 5. Matriz del diseño experimental para la elaboración de jarabe de aguamiel.	32
Tabla 6. Muestras de aguamiel recolectadas de acuerdo a la variedad de maguey.....	36
Tabla 7. Caracterización fisicoquímica de las muestras de aguamiel.....	37
Tabla 8. Perfil de carbohidratos de savia de agave (aguamiel) analizados por HPLC-SEC.....	40
Tabla 9. Resultados del diseño de experimentos para la caracterización fisicoquímica de los jarabes de aguamiel.....	45
Tabla 10. Composición de carbohidratos en % base seca, determinado por HPLC-SEC en muestras de jarabe de aguamiel.	46
Tabla 11. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo (Ec.1) para cada variable de respuesta.....	47
Tabla 12. Análisis por HPLC-SEC en muestras de aguamiel y jarabe de aguamiel.....	54

II. Índice de figuras

Fig. 1. Maguey pulquero de la localidad de San Gabriel Azteca, Zempoala, Hidalgo	6
Fig. 2. Estructura de fructanos (A) tipo inulina, (B) reacomodo a tipo inulina, (C) tipo levano y (D) tipo graminano. La molécula de sacarosa está rodeada de líneas punteadas y los números en un círculo negro corresponden a los enlaces glucosídicos entre los diferentes monosacáridos. (Ortíz-Basurto, 2008).....	10
Fig. 3. Estructura química de saponinas reportadas de Agave (Sidana et al, 2016).....	12
Fig. 4. Proceso de fabricación artesanal de jarabe de aguamiel (Muñiz-Márquez et al., 2013).	21
Fig. 5. Proceso industrial del jarabe de agave (Willems y Low, 2012).....	22
Fig. 6. Curva estándar de glucosa para determinación de azúcares reductores.	29
Fig. 7. Curva estándar de glucosa para determinación de azúcares totales.	30
Fig. 8. Diagrama de flujo de la elaboración experimental de jarabe de aguamiel.....	33
Fig. 9. Fichas de cata utilizadas en la prueba de preferencia por ordenamiento de los jarabes de aguamiel elaborados experimentalmente.	35
Fig. 10. Concentración de azúcar en aguamiel de diferentes agaves.	42
Fig. 11. Jarabes de agave elaborados durante el estudio.....	44
Fig. 12. Superficie de respuesta para los parámetros L(a) y b*(b), que fueron los dos parámetros que son afectados significativamente por los factores de estudio (pH y temperatura)...	48
Fig. 13. Gráficas de superficie de respuesta del efecto de pH y temperatura de proceso sobre la concentración de sacarosa (a) y glucosa + fructosa (b).....	51
Fig. 14. Resultados de la prueba de ordenamiento por preferencia para el atributo de color.....	52
Fig. 15. Resultados de la prueba de ordenamiento por preferencia para el atributo de sabor.....	53
Fig. 16. Jarabes de agave seleccionados por los productores de San Gabriel Azteca.....	54

Introducción



1 INTRODUCCIÓN

Las tendencias mundiales de la alimentación en los últimos años indican un interés por parte de los consumidores hacia ciertos alimentos que además del valor nutritivo se encuentren fortificados, enriquecidos o con una funcionalidad fisiológica. Esto con la finalidad de que a través de la alimentación se prevenga o reduzca el riesgo de enfermedades (Alvídrez-Morales et al., 2002; Vásquez, 2009).

Muchos de los alimentos tradicionales mexicanos consumidos desde tiempos prehispánicos, se ha adjudicado un valor bioactivo. El maguey, endémico de América, pero que en México ocupa más del 75% del territorio nacional es un ejemplo de ello (García-Mendoza, 2007).

El aguamiel, que es la savia del maguey, es utilizado exclusivamente en la elaboración de pulque, bebida alcohólica nutritiva que se consume cada vez menos por falta de propaganda y por la amplia variedad de bebidas como el tequila, la cerveza, el brandy y el vino, que tienen un mayor consumo, diversificación y publicidad (Flores et al., 2006). Sin embargo, los esfuerzos por diversificar el uso del aguamiel han derivado en la producción de jarabe de aguamiel.

A este producto, se le han atribuido funciones prebióticas y antioxidantes, debido a los diferentes glúcidos que contiene (Sánchez et al., 2016; Valadez et al., 2012). Además, este producto es rico en minerales y vitaminas, y contiene la mayoría de los aminoácidos esenciales (Silos-Espino et al., 2007; Ramírez & Yáñez, 2014).

En el Estado de Hidalgo, la producción del jarabe de aguamiel es artesanal con la consecuente falta de estandarización del proceso, dificultando su comercialización. Lo anterior debido, entre otras causas, a las variaciones en la calidad tanto sensorial como fisicoquímica del producto. Es por ello que en este proyecto se pretende caracterizar fisicoquímicamente el aguamiel y el jarabe de aguamiel producido en San Miguel Azteca, comunidad ubicada en Zempoala, Hidalgo así como estandarizar el proceso de producción artesanal del jarabe. Los resultados obtenidos contribuirán al incremento en la distribución y comercialización del jarabe de aguamiel al

homogenizar su calidad final beneficiando con ello a los productores de la región de estudio.

Antecedentes



2 ANTECEDENTES

2.1 Generalidades del aguamiel

El aguamiel o jugo de agave, es la savia de color amarillento y de olor herbáceo que se obtiene al hacer la capación del maguey maduro (edad aproximada de 8 a 10 años). El proceso consiste en el corte de las hojas tiernas centrales antes del desarrollo del escapo central (conocido como quiote), posteriormente se raspa el centro del maguey, seguido del corte de las hojas para formar una cavidad de 20-30 cm de profundidad la cual servirá para el almacenamiento de aproximadamente 1,500 L de aguamiel durante un período de 3-5 meses que son exudados del tejido del tallo del maguey (Alanís & González, 2011; Tovar et al., 2008; Aguilar-González, 2013).

Debido al proceso de obtención, los nutrientes del maguey o agave se transfieren al aguamiel en el momento de ser obtenido. Adicionalmente existe una hidrólisis espontánea de los carbohidratos por microorganismos nativos de la planta (Vicente-Magueyal et al., 2020)



Fig. 1. Maguey pulquero de la localidad de San Gabriel Azteca, Zempoala, Hidalgo

A pesar de que en México existen más de 200 especies de agave, solo algunos son utilizados para la extracción de aguamiel. Un ejemplo es el maguey pulquero o manso (*Agave salmiana*) (Espíndola-Sotres, et al., 2018), el cual es una planta de hojas en roseta, gruesas y carnosas, dispuestas sobre un tallo corto cuya piña inferior no sobresale de la tierra (Fig. 1) (Aguilar-González et al., 2013).

El agave pertenece a la familia *Agavaceae* y de esta se pueden obtener diversos subproductos tales como el mezcal, el tequila, jarabes fructosados, aguamiel, pulque, bagazos los cuales se utilizan como fibra dietética o para la elaboración de artesanías típicas mexicanas (López & Mancilla, 2007). Algunos estados donde se tiene la mayor producción de agave de diferentes especies, se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Principales estados de la República Mexicana donde se encuentran subgéneros de agave.

Subgénero	Especie	Zona geográfica	Principales estados
Agave	<i>A. salmiana</i>	Sierra Madre Oriental	Baja California
	<i>A. atrovirens</i>	Sierra Madre Occidental	Durango
	<i>A. angustifolia</i>	Tierras altas del sur	Sonora
	<i>A. tequilana</i>	Sierra madre del sur	Chihuahua Coahuila Tamaulipas Guanajuato Querétaro Jalisco
Littaea	<i>A. celsii albicans</i>	Centro y Este de México	Hidalgo
	<i>A. xilonacantha</i>		Querétaro
	<i>A. difformis</i>		Puebla
	<i>A. striata</i>		Sonora Durango

Fuente: Picazo et al., 2019

2.1.1 Composición fisicoquímica del aguamiel

El aguamiel es un líquido incoloro a ámbar rico en azúcares tales como fructosa (32%), glucosa (26%) y sacarosa (8%) (Villarreal-Morales et al., 2019). Sin embargo la composición fisicoquímica, en general, depende del origen, de factores medio ambientales y sobre todo del método de almacenamiento. Según los resultados obtenidos por Ortiz-Basurto y colaboradores (2008) reportaron una concentración de 88.5 % de humedad en aguamiel proveniente de *Agave mapisiaga*. En la materia seca de este producto hubo 75 % de azúcares y 10 % de fructo-oligosacáridos. De estos, el 32.4% fue de fructosa, 26.5 % de glucosa y 8.8 % de sacarosa. Además, se calculó una concentración de 3 % de proteínas, 3 % de minerales y 0.3 % de aminoácidos libres con la presencia de todos los aminoácidos esenciales excepto metionina.

Sin embargo, Romero-López y colaboradores (2015) reportaron en la caracterización de los compuestos presentes en aguamiel una concentración de 89.61 % de humedad, 3.50 % de proteína, 3.10 % de cenizas, 61.31 % azúcares reductores totales en materia seca, de los cuales 32.63 % fue fructosa y 28.68 % glucosa, mientras que el contenido de fructooligosacáridos fue 15.51 %. Se encontró un contenido de saponinas de 1.17 g/100 g muestra, las cuales tienen actividad anti-inflamatoria. También se encontraron un total de nueve aminoácidos esenciales y ocho no esenciales, de los 20 necesarios para la salud.

Más recientemente estudios realizados por Maturano-Ramírez y colaboradores (2019) han demostrado que el tiempo de recolección tiene un efecto directo sobre dos factores importantes, la concentración de azúcares totales y en específico en el perfil de carbohidratos y en la concentración de proteína que puede descender hasta en un 50 %. La concentración de sacarosa y fructo-oligosacáridos disminuye en el tiempo mientras la de monosacáridos aumenta, comprobando la hidrólisis de oligosacáridos para liberar principalmente glucosa y fructosa. En la tabla 2 se puede observar la variabilidad en la composición fisicoquímica del aguamiel.

Tabla 2. Composición química y características fisicoquímicas del aguamiel procedente de diferentes especies de agave

Parámetro	<i>Agave mapisaga</i>	<i>Agave atrovirens</i>	<i>Agave salmiana</i>
pH	4.50	6.29	4.63
°Brix	-	11.10	75.53*
Fructosa (%)	3.73	3.63	5.22
Sacarosa (%)	1.01	1.43	4.69
Glucosa (%)	3.05	3.18	3.48
FOS (%)	1.17	1.72	-
Proteínas (%)	0.35	0.39	0.97

* Valor obtenido del aguamiel concentrado (Guzmán-Pedraza et al, 2018).

Algunas investigaciones mencionan que el aguamiel contiene también gomas, proteínas y minerales, con una concentración de proteínas similar a la de la leche. Así mismo contiene una microbiota autóctona conformada por bacterias probióticas como ácido lácticas, levaduras y bacterias productoras de exopolisacaridos. Esto lo hace una bebida funcional por sus propiedades prebióticas y compuestos de alto valor bioactivo (Sánchez, 2017).

2.2 Compuestos bioactivos del aguamiel

Además de los compuestos comunes del aguamiel se han identificado compuestos químicos que tienen efectos biológicos diversos como los fructanos y las saponinas.

Fructanos. Estos compuestos son cadenas poliméricas de unidades de fructosa. Los fructanos derivados de vegetales tienen diferentes estructuras y longitudes. Estos van de tres a pocos cientos de unidades con una gran variedad de enlaces y residuos fucosil. Aquellos que alcanzan de 2 a 10 unidades de fructosa son los comúnmente llamados fructo-oligosacáridos (Ulloa et al., 2010). En el aguamiel se han reportado fructanos tipo agavinas principalmente en *A. atrovirens*. Sin embargo, los reportes remontan a los años 50's y 70's sin determinar la estructura específica de ellos. Es hasta 2008 que Ortiz-Basurto reportó las diferentes estructuras posibles de estos compuestos del aguamiel (Fig. 2).

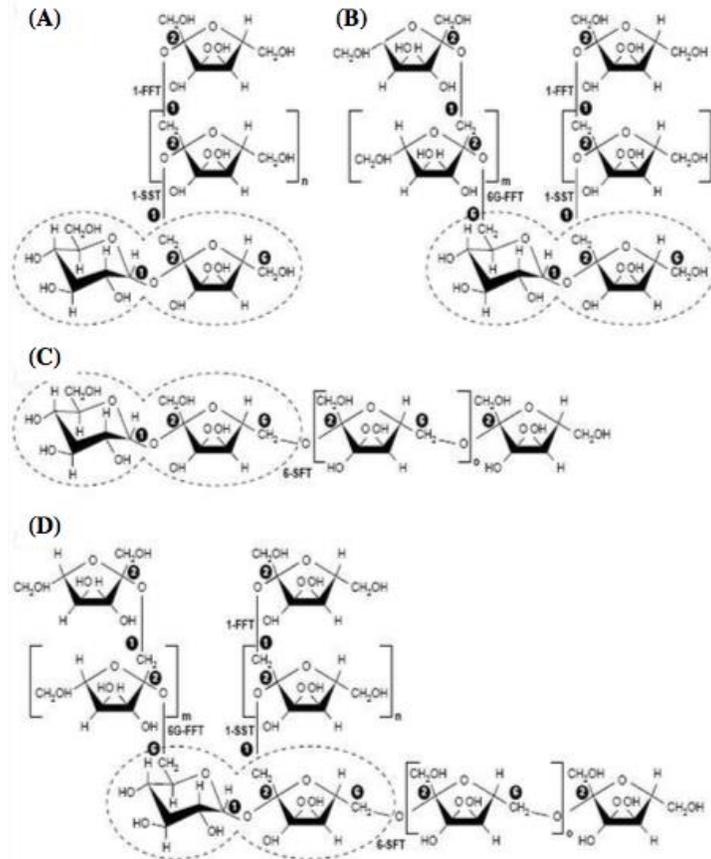


Fig. 2. Estructura de fructanos (A) tipo inulina, (B) reacomodo a tipo inulina, (C) tipo levano y (D) tipo gaminano. La molécula de sacarosa está rodeada de líneas punteadas y los números en un círculo negro corresponden a los enlaces glucosídicos entre los diferentes monosacáridos. (Ortíz-Basurto, 2008)

Las plantas de *Agave* tienen fructanos que son parte de los compuestos principales producidos durante la fotosíntesis. Estos compuestos son almacenados y después usados por las mismas plantas como fuente de energía y como osmo-protector durante los periodos de estrés por frío y por sequía (Moreno-Vilet et al., 2010). Pero, los fructanos han llamado la atención debido a sus posibles aplicaciones en la industria como ingrediente de alimentos funcionales (Guzmán-Pedraza & Contreras-Esquivel, 2018). Además, debido a la importancia de estos compuestos, se han implementado métodos biotecnológicos para la producción de fructanos por vía enzimática (Olvera y López Munguía, 2014).

Dentro de las propiedades bioactivas más importantes de los fructanos se encuentra su poder prebiótico (Ulloa et al, 2010) aunque se han presentado estudios donde se prueba su actividad en la proliferación de microbiota intestinal benéfica (Vandeputte et al., 2017). Adicionalmente, Ritsema y Smeekens (2003) reportaron la capacidad quelante de los fructanos provocando una absorción total de minerales como calcio y magnesio. En este sentido se ha probado la eficiencia de los fructanos en la mejora de absorción del hierro y adicional a ello se sabe que este poder quelante tiene un efecto en la capacidad antioxidante de estas moléculas, probada a través de estudios clínicos (Carrillo-López et al., 2016).

Saponinas. Una molécula de saponina esta típicamente compuesta de una aglicona con una unidad hidrofóbica (saponina) y una unidad hidrofílica que siempre es un azúcar (glicona). Los restos de azúcar presentes en el aguamiel derivados del *Agave* de procedencia incluyen β -D-glucopiranosil, β -D-galactopiranosil, β -D-xilanopiranosil y restos de L-ramnopiranosil. En base a los núcleos de saponinas presentes, las saponinas del aguamiel pueden ser ampliamente clasificadas como espirostanol glicósidos y furostanol glicósidos. Dependiendo del número de carbohidratos enlazados, pueden ser clasificados también como mono-, di-, tri-, penta- o hexa-glicósidos. Si el carbohidrato está presente solamente en una posición de la saponina, la saponina es llamada monodesmosídica, la cual es la más común y la que tiene una unidad de carbohidrato en el C-3 de la aglicona (Sidana et al., 2016). Las estructuras más comunes se encuentran en la figura 3.

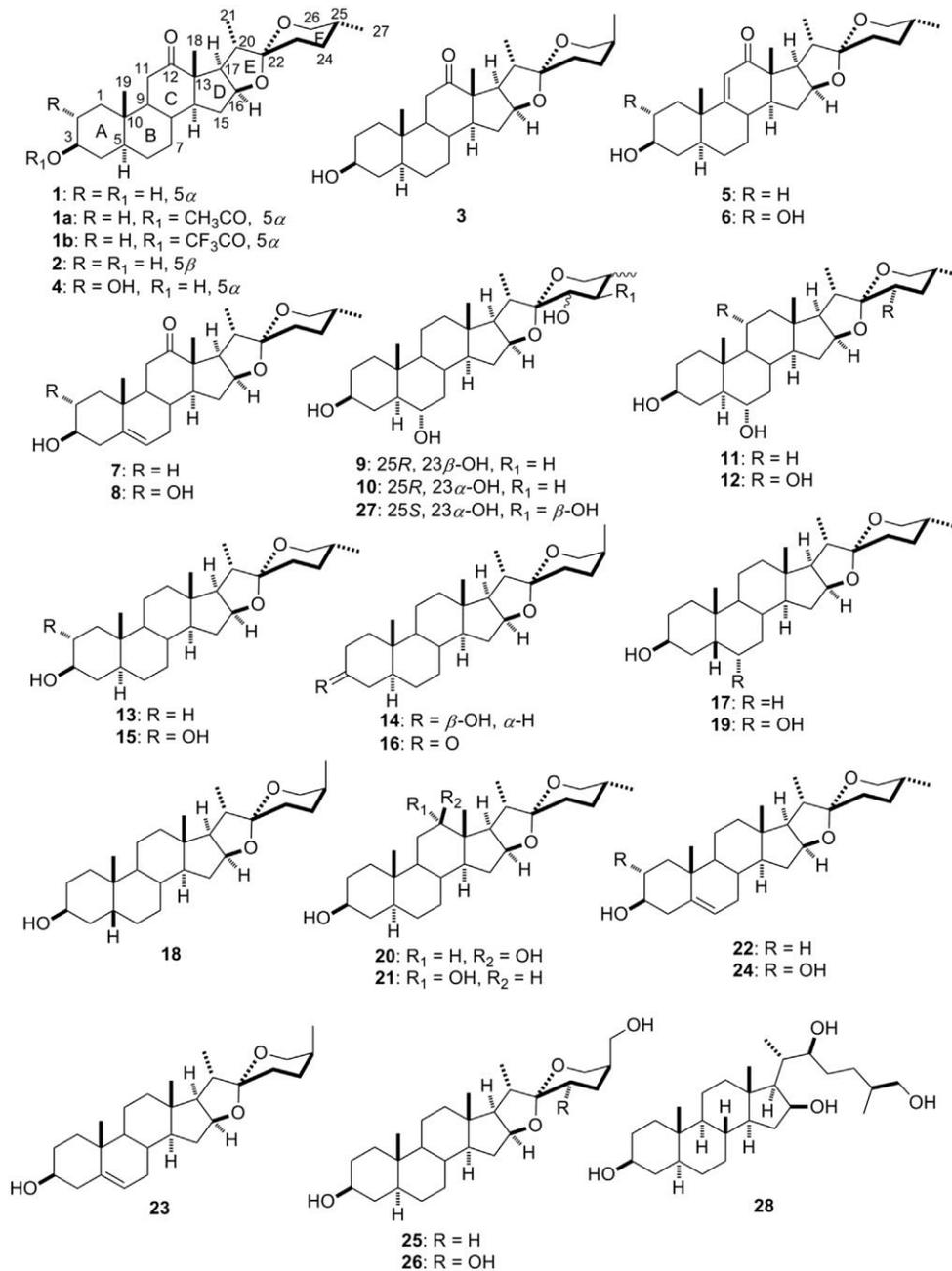


Fig.3. Estructura química de saponinas reportadas de *Agave* (Sidana et al, 2016)

En un estudio realizado por Leal-Díaz et al., (2016), reportaron la incidencia de las saponinas derivadas de un concentrado de aguamiel procedente de *Agave salmiana*, sobre varios factores metabólicos asociados a enfermedades crónico-degenerativas. Dentro de estas enfermedades se encuentran la obesidad, enfermedades coronarias y esteatosis hepática. Adicionalmente, estos mismos autores reportaron la capacidad de las saponinas en cambios importantes en la

concentración de *Akkermansia muciniphila* la cual se ha considerado una bacteria probiótica de cuarta generación y cuya baja concentración en el microbiota intestinal es un biomarcador de riesgo de diabetes.

Sin embargo, Sidana et al., (2016) han apuntado una serie de beneficios que este tipo de sustancias podrían ejercer entre los que destacan su actividad anticancerígena, actividad hemolítica, actividad gastro-protectora y actividad antimicrobiana entre otras. Es por ello que se han generado estudios para aumentar el contenido de saponinas en *Agave salmiana* a través de técnicas de micropropagación, lo que permite un aumento significativo en este tipo de compuestos que después del capado se transmiten al aguamiel (Puente-Garza et al., 2017)

2.3 Beneficios del consumo de aguamiel

Por tradición, al aguamiel se le atribuyen ciertos beneficios a la salud, por ejemplo, el tratamiento de dolores de cabeza, pecho o estómago; en el tratamiento de diarrea, anorexia, astenia (debilidad o fatiga general), para combatir infecciones urinarias, como diurético; para incrementar la producción de leche materna durante la lactancia; en el control de la anemia; también para mejorar la digestión y promover la absorción de nutrientes.

A pesar de que el aguamiel es utilizado en comunidades donde no hay posibilidad de consumir agua potable y donde hay un escaso consumo de proteínas animales o vegetales, también se hace para subsanar el déficit de algunos nutrientes. El aguamiel provee de energía, carbohidratos, proteínas, vitaminas y aminoácidos esenciales (triptófano y lisina) los cuales no se suministran en la dieta mexicana basada en maíz (Escalante et al., 2016; Giles-Gómez et al., 2016). La mayoría de los beneficios que asociados eran de creencia popular y esto ha provocado cada vez más la investigación de los beneficios del aguamiel (Escalante, 2017).

El aguamiel igual que el pulque son productos con beneficios a la salud reportados (Escalante et al., 2012). Entre los beneficios del consumo de aguamiel se tienen uso contra insuficiencia aguda y crónica de riñón, vejiga y uretra (Sánchez et al., 2016). Además, es usado también para aliviar la tos y el resfriado y controlar la anemia.

Este líquido ayuda a estimular la absorción de calcio en la postmenopausia, incremento en la absorción de hierro en los niños, ayudar en la prevención del cáncer de colon y disminuir el índice glucémico siempre y cuando se haga un consumo moderado (Valadez et al., 2012). Adicionalmente, se sabe que el consumo de aguamiel en cantidades cercanas a 850 mL de aguamiel provee los requerimientos humanos diarios de Fe y Zn (Silos-Espino et al., 2007)

Estudios han demostrado que el aguamiel contiene bajas cantidades de fibra bruta (0.57%), proteína cruda (0.69%) pero un alto contenido de extracto libre de nitrógeno (98.1%) correspondiente a carbohidratos altamente digestibles (Escalante et al., 2016) y parte de estos corresponde a fructooligosacáridos (polímeros cortos del azúcar fructosa, parecidos a la inulina que es ampliamente utilizada como prebiótico), los cuales favorecen la supervivencia de bacterias probióticas en el intestino grueso (Escalante, 2017).

Los efectos benéficos del aguamiel también se han estudiado en la reducción de los niveles de colesterol sérico en sujetos hipercolesterolémicos en los que los niveles de glucosa no se ven afectados. Estos resultados fueron los primeros reportados para el aguamiel como un nutracéutico aplicado en un estudio clínico con humanos (Carrillo-López et al., 2015).

La actividad antioxidante del aguamiel ha sido estudiada y reportada por Romero-López et al., (2015). Estos autores encontraron mayor actividad antioxidante en el aguamiel que en bebidas comunes como jugo de naranja y nopal. Sin embargo, la capacidad antioxidante observada es menor que en el café o en el vino. Adicionalmente, se cree que esta actividad antioxidante tiene una relación directa

con el contenido de carbohidratos hidrolizados debido a que esta actividad es menor en un 50% que cuando se encuentra fermentada durante la producción de pulque.

Por otro lado, el contenido de fructo-oligosacáridos (FOS) en el aguamiel tiene impacto sobre la fermentación de estos carbohidratos en el colon por microorganismos del tracto gastrointestinal, los cuales producen ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que están implicados directamente en la reducción de la concentración tanto de lípidos como de glucosa en la sangre. Adicionalmente, se ha reportado el descenso en la incidencia de lesiones gástricas (gastritis). Stoddart y colaboradores (2008) reportaron que los AGCC son receptores de ciertas sustancias implicadas en la regulación de los niveles de lípidos y glucosa.

La riqueza en carbohidratos dentro del aguamiel, tiene potencial uso en la presencia de fructanos (Valdéz et al., 2012). Este tipo de azúcares, en especial los fructo-oligosacáridos, han ganado terreno en el campo de los aditivos debido a sus múltiples efectos benéficos a la salud que aislados son usados en la industria de alimentos como prebióticos. Estos compuestos usados en la tecnología del bioprocesamiento de alimentos constituyen una serie de oligosacáridos homólogos derivados de sacarosa, los cuales están representados por la 1-kestosa, nistosa y la 1F- β -fructanofuranosil-fructosa, en la cual dos, tres y cuatro unidades de fructosil son ligadas a través de enlaces β -2,1 y β -2-6, formando estructuras ramificadas denominadas agavinas.

Los FOS modifican la microbiota intestinal de tal manera que las actividades metabólicas se transforman en acción benéfica dentro del sistema humano. Este tipo de carbohidratos tiene un efecto prebiótico lo cual incluye la regulación de la motilidad intestinal, la activación del sistema inmune, el incremento en la producción de ácido butírico y otros de cadena corta, incrementa la absorción de minerales tales como calcio y magnesio e inhibe las lesiones precursoras de adenomas y carcinomas.

Es así que, los prebióticos reducen potencialmente algunos factores de riesgo envueltos en las causas de enfermedades colorrectales y reducen el riesgo de

enfermedades tales como enfermedades cardiovasculares, cáncer de colon y obesidad (Slavin, 2013).

2.4 Usos tecnológicos del aguamiel

El aguamiel es un producto relativamente económico y debido a sus características fisicoquímicas (contenido de carbohidratos) es utilizado para la producción de bebidas fermentadas como el pulque. Sin embargo, los esfuerzos tecnológicos se centran en la diversificación en su uso. Entre los usos recientemente estudiados están agregarlo como un ingrediente en productos lácteos fermentados para incidir en la sobrevivencia de probióticos y elevar su actividad proteolítica de los cultivos iniciadores (Jaimez-Ordaz et al., 2019; Ramírez-Godínez, 2020). Finalmente, de manera artesanal se ha tratado de dar un valor agregado a esta bebida a través de la elaboración de jarabe de aguamiel, el cual es un producto muy aceptado en comunidades locales.

Pulque. Este producto proviene de la fermentación del aguamiel de ciertas variedades de *Agave* con una graduación final de alcohol que va desde 4 a 6%. Tiene un alto contenido de proteínas y por su contenido de carbohidratos el sabor ácido es equilibrado. Adicionalmente, este producto es una matriz de bacterias ácido lácticas probióticas (Matías-Luis, et al. 2019). La preparación del pulque es muy similar en las distintas comunidades productoras, con diferencias que inciden en el sabor y en los perfiles sensoriales. Pero en general, el objetivo es generar perfiles organolépticos específicos como puntos de acidez por fermentación, los cuales son adquiridos principalmente por la producción de ácido láctico metabolizado por bacterias ácido lácticas principalmente (Álvarez- Ríos et al., 2020).

El primer paso en la preparación del pulque es el raspado del maguey para extraer la savia (aguamiel) y una porción, alrededor de 2 litros, es usada para fermentar el resto del aguamiel (alrededor de 10 litros) de manera natural con los microorganismos provenientes del maguey. Este primer fermento es utilizado como el inóculo que servirá para la fermentación, no controlada, del aguamiel en un paso posterior. Al final de la fermentación el pulque es dejado en barricas plásticas para su consumo (Escalante et al., 2016).

La diversidad microbiana y los cambios en la microbiota a través de la fermentación es lo que provoca los perfiles sensoriales del pulque. En principio la producción de ácido láctico es llevado a cabo por bacterias ácido lácticas principalmente lactobacilos. Después la desviación de la ruta bioquímica hace que microorganismos heterofermentativos como las levaduras realicen la producción de alcohol. Los exopolisacáridos son producidos por *Leuconostoc* ssp y el ácido acético por *Acetobacter* y *Gluconobacter* (Escalante et al., 2004).

A pesar de ser una bebida fermentada tradicional en México, este producto ha perdido su presencia dentro de las bebidas alcohólicas comerciales. La falta de tecnificación ha significado su producción solamente local. Aunque se han realizado esfuerzos para hacer una distribución masiva del producto, esto ha tenido poco éxito toda vez que el cultivo iniciador presenta muchas variaciones que son dependientes del lugar de origen (Escalante et al., 2016). Aun así, el pulque se ha considerado como un nutracéutico debido a la concentración tan alta de microorganismos probióticos y que confieren un beneficio al sistema inmune y al mejoramiento de la microbiota intestinal (Álvarez-Ríos et al., 2020).

Jarabe de aguamiel. El jarabe de aguamiel, comúnmente conocido como miel de maguey es un producto que se ha creado para diversificar el uso industrial de la savia de maguey. El principal efecto que sufre el aguamiel es la hidrólisis de los carbohidratos por evaporación de agua con la consecuente concentración de carbohidratos (Olvera-Carranza et al. 2015). Debido al origen del aguamiel, el proceso de concentración permite no solo la concentración de azúcares, sino también de minerales y aminoácidos (García-Aguirre et al., 2009). A diferencia del jarabe de aguamiel, el jarabe de agave surgió a partir de la diversificación de usos del *A. tequilana*, el cual es el producto de la hidrólisis acida o térmica de los fructanos presentes en el jugo de agave crudo extraído de la piña y su posterior concentración hasta 80°Brix. Este producto es definido en la NOM-003-SAGARPA-2016 como “...sustancia dulce natural producida por hidrólisis de los fructanos provenientes de la planta del agave”. Se estima que el jarabe de agave tiene el doble de poder

edulcorante que el azúcar común gracias a su composición, principalmente fructosa y dextrosa o glucosa.

Aunque ambos productos tienen el mismo origen (agave o maguey), su proceso de producción, composición y características sensoriales son completamente diferentes. Por un lado, el jarabe de agave está compuesto de un 60-75% de fructosa, 3-12% de glucosa, <5% fructanos y <1% de sacarosa; mientras que la composición del jarabe de aguamiel varía entre 20-58% de sacarosa, 5-23% fructosa, 4-18% glucosa, 4-10% de fructanos y 3-4% de proteínas. Por lo anterior, ha sido remarcado que las propiedades y aplicaciones del jarabe de agave, no deberían generalizarse para la miel de maguey o jarabe de aguamiel; en su lugar, los beneficios a declarar deberían enfocarse en la presencia de los compuestos como fructanos, aminoácidos específicos, antioxidantes, minerales y saponinas, cuya funcionalidad ha sido demostrada de forma individual (Moreno-Vilet & Leyva-Trinidad, 2020).

Debido a las creencias, a la poca industrialización del proceso y a los costos que implica realizar procesos biotecnológicos; el proceso de jarabe de aguamiel, sigue siendo artesanal. El uso de maderas y desechos orgánicos como restos de maguey, son usados para proveer la energía necesaria para la concentración que generalmente se realiza en cazos de cobre. Por ello las características fisicoquímicas del aguamiel son poco controladas y las especies *A. atrovirens* y *A. salmiana* son las especies principales de donde se obtiene la materia prima para la fabricación del jarabe.

2.5 Calidad nutrifuncional del jarabe de aguamiel

La calidad nutrifuncional del jarabe está relacionada directamente con la composición del aguamiel, de la cual se ha reportado efectos benéficos de su consumo debido a su buena calidad nutricional, ya que además de contener azúcares simples, contiene fructanos, proteínas, aminoácidos libres, minerales y vitamina C en concentraciones cercanas a las reportadas para jugo de cítricos, entre otros componentes. Dentro de los compuestos bioactivos presentes en el aguamiel

se ha reportado la presencia de polifenoles totales en concentraciones de 215 – 500 mg EAG L⁻¹ y flavonoides 0.110- 6.692 mg EQ L⁻¹; los cuales son fitoquímicos que se encuentran en los alimentos de origen vegetal, con diversos efectos benéficos para la salud, principalmente propiedades antioxidantes y terapéuticas (Chew et al., 2011). Se ha reportado que el aguamiel presenta una actividad antioxidante promedio de $1109.21 \pm 560.97 \mu\text{M Eq Trolox} / \text{L}$, la cual es menor en comparación con bebidas comerciales de café y jugo de uva, pero el doble de actividad antioxidante con respecto al pulque y más del triple que el jugo de naranja con nopal (Hernández-Ramos, 2014).

En lo que respecta al jarabe de aguamiel, lo que se busca es mantener estos nutrimentos y compuestos bioactivos durante el proceso térmico de elaboración, favoreciendo, en el mejor de los casos, el aumento de todos los compuestos por el proceso de concentración. En el jarabe de aguamiel de 70-75°Brix se han reportado como compuestos principales de 20-58% de sacarosa, 5-23% fructosa, 4-18% glucosa, 4-10% de fructanos y 3-4% de proteínas (Moreno-Vilet y Leyva-Trinidad, 2020). También se ha reportado la presencia de elementos minerales, los cuales son necesarios en varias funciones vitales del cuerpo humano, como hierro (3.2-10.19 mg/100 g), magnesio (71.24 – 88.9 mg/100g), potasio (921.98-1113.05 mg/100 g), calcio (31.27-43.88 mg/100g) y sodio (70.26-123.34 mg/100g). Dicha concentración se cree depende en gran parte del exceso o deficiencia de minerales en el suelo de cultivo que repercute en la composición de la savia o aguamiel y por lo tanto del jarabe de aguamiel (Hernández-Ramos, 2014).

El contenido de compuestos bioactivos, también ha sido analizado en jarabes de aguamiel, reportando concentraciones de polifenoles totales entre 146-593 mg EAG/100 g, de flavonoides entre 0.57-1.49 mg EQ/100 g y vitamina C entre 0-197 mg EAA/100 g, en muestras de jarabe de aguamiel obtenido por tres métodos (convencional, liofilizado y evaporación a presión reducida) reportado por Hernández-Ramos en el 2014. Donde concluye que el método convencional permitió obtener miel de maguey o jarabe de aguamiel con el doble de actividad antioxidante, respecto al aguamiel y a los otros métodos de elaboración de miel de maguey. Una

miel de maguey más oscura presenta mayor actividad antioxidante asociada a la formación de melanoidinas y al contenido de compuestos fenólicos. La actividad antioxidante reportada para jarabes de aguamiel es de 245-1122 μM Eq Trolox/ 100 g), la cual es mayor en comparación con la miel de abeja (130-460 μM Eq. Trolox / Kg) debido a la presencia de mayor contenido de compuestos antioxidantes como vitamina C y compuestos fenólicos (Hernández-Ramos, 2014).

Finalmente, también se ha reportado contenido de saponinas en los jarabes de aguamiel (224,2 a 434,7 equivalentes de protodioscina / gramo de peso seco) (Santos-Zea y col. 2016), de las cuales se ha reportado el efecto directo sobre la reducción de colesterol LDL, reducción de peso y al mismo tiempo en la reducción de niveles de glucosa y de resistencia a la insulina (Leal-Díaz et al., 2016).

2.6 Situación actual en la producción del jarabe de aguamiel

El jarabe de aguamiel es una mezcla color ámbar, de sabor dulce, utilizado como endulzante de origen natural, elaborado a partir de aguamiel extraído del maguey, con un poder endulzante mayor al 30 % que el azúcar comercial (López, 2013; Almaguer, 2007). Otros autores definen la miel de agave como un carbohidrato simple, color ámbar, con apariencia viscosa igual a la miel de abeja (Vásquez, 2009).

Según la Norma Técnica Estatal NTE-SAGEH-001/2006, define a la miel de aguamiel como un endulzante y golosina que es el resultante de la ebullición del aguamiel durante 5 a 6 horas hasta llegar a un espesor adecuado. El proceso para la fabricación de aguamiel es aún artesanal e implica el uso de muchas horas de concentración de líquido por evaporación de agua. A pesar de que el proceso no resulta complicado, la poca estandarización provoca diferencias sustanciales en el producto final. En la Fig. 4 se observa el proceso artesanal de jarabe de aguamiel reportado por Muñiz-Márquez et al., (2013).

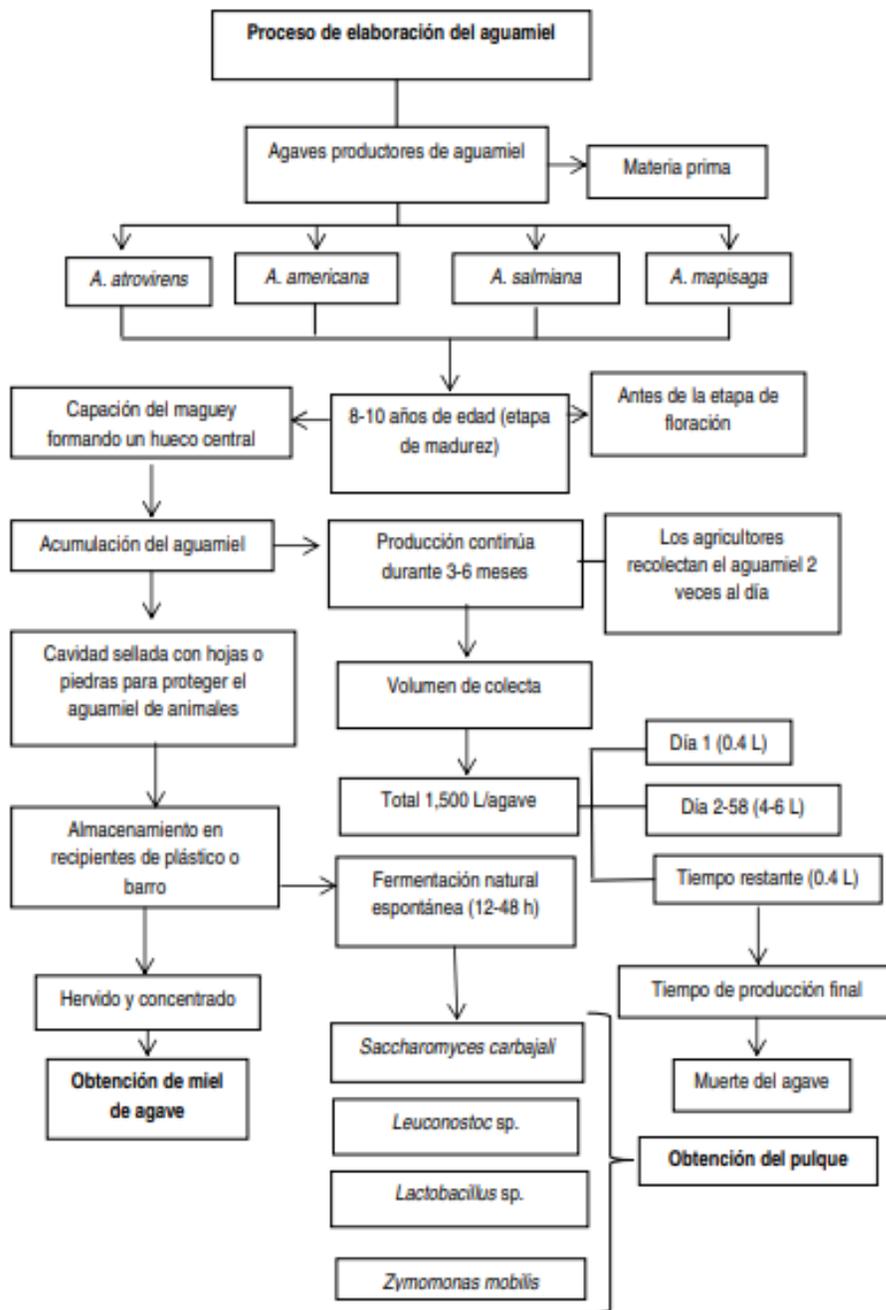


Fig. 4. Proceso de fabricación artesanal de jarabe de aguamiel (Muñiz-Márquez et al., 2013).

Actualmente se han hecho muchos esfuerzos para incentivar la manufactura industrializada de este tipo de productos. A pesar de que el jarabe de aguamiel tiene ventajas nutrifuncionales y características tecnológicas similares del jarabe de agave, el jarabe de aguamiel no cuenta con la tecnificación que se ha logrado en jarabes de

agave. Sin embargo, el proceso industrial del jarabe de aguamiel podría estar ligado en un futuro al ya reportado para el de agave (Fig. 5).

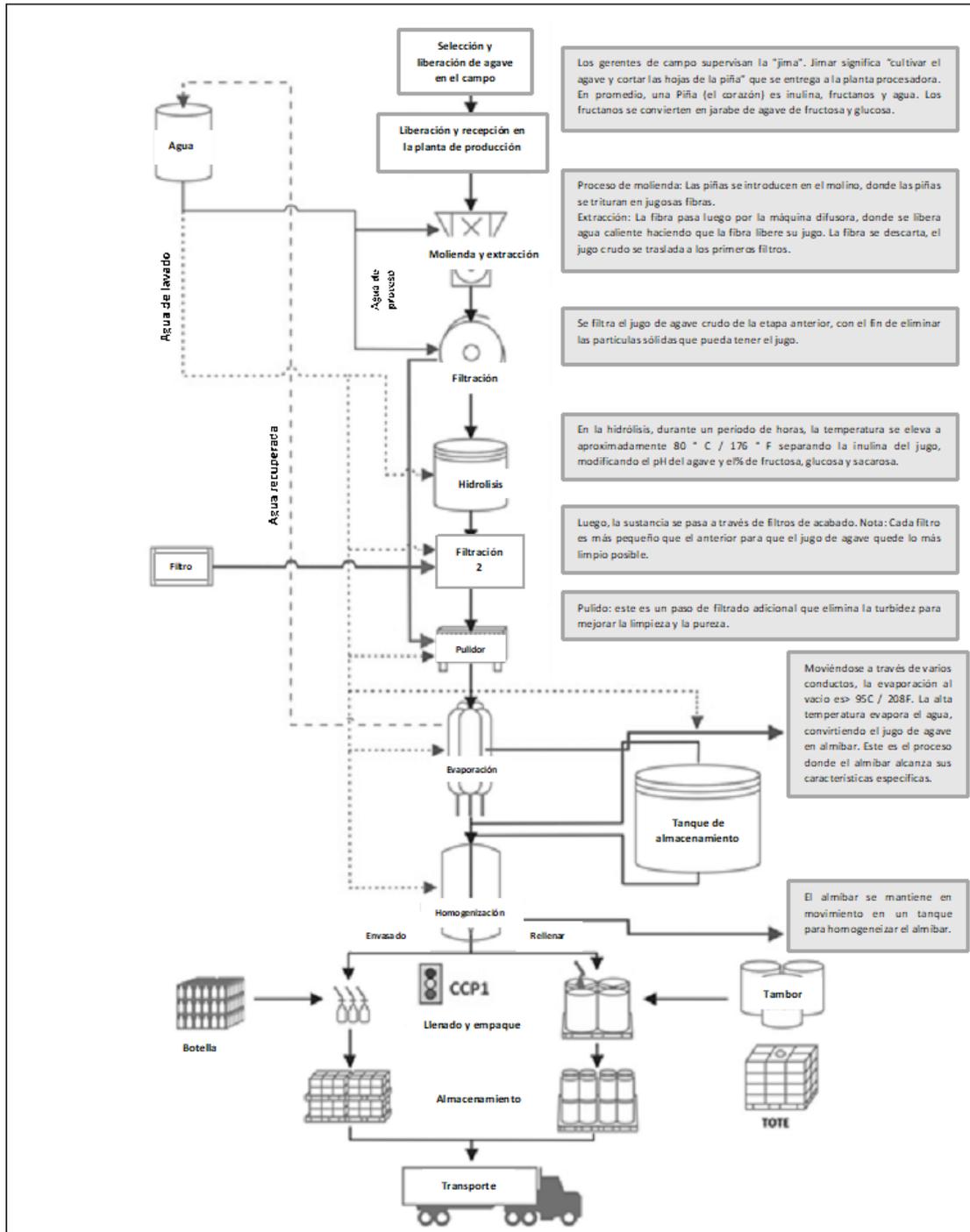


Fig.5. Proceso industrial del jarabe de agave (Willems y Low, 2012)

Es así que para iniciar con el proceso de industrialización, es necesario estandarizar primero el proceso artesanal de tal manera que el producto final no tenga variaciones de color, sabor y composición fisicoquímica. Los retos que la industria de alimentos tiene en la transformación tecnológica de productos artesanales se centran en la estandarización.

Justificación



3 JUSTIFICACIÓN

En la actualidad existe un creciente interés en alimentos que ayuden a prevenir enfermedades y otorguen beneficios para la salud. El aguamiel es un producto alimenticio con numerosas propiedades nutricionales, pero con una vida útil muy corta debido a su rápida fermentación. Se utiliza casi exclusivamente para la elaboración de pulque. Es por ello que, para los productores de maguey, pulque y aguamiel, surge la necesidad de diversificar su uso como materia prima en la elaboración de un producto con propiedades benéficas para la salud, pero con una vida de anaquel más prolongada que permita extender su distribución y comercialización.

Para los productores de la comunidad de San Gabriel Azteca, ubicada en el estado de Hidalgo, la elaboración de jarabe de aguamiel es una opción para la producción de un alimento que beneficie al consumidor. Este producto es rico en fructanos de agave y oligofructosa, los cuales contribuyen en la regulación de la cantidad de glucosa en la sangre, evitando su acumulación. Sin embargo, en la comunidad mencionada, la elaboración de este producto sigue siendo artesanal y la materia prima se obtiene de magueyes de distintas especies. La falta de caracterización de la materia prima y la falta de control en el proceso deriva en la producción de lotes de jarabe de agave con diferente calidad. En el presente trabajo se realizó la estandarización del proceso artesanal con la final de contribuir con una mayor distribución y comercialización del jarabe de agave elaborado por productores de la comunidad de estudio.

Objetivos



4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Estandarizar la elaboración de jarabe de aguamiel a partir de aguamiel hidalguense mediante la identificación y control de algunos parámetros de proceso con la finalidad de obtener un producto de calidad fisicoquímica y sensorial homogénea.

4.2 Objetivos específicos

- Caracterizar fisicoquímicamente las muestras de aguamiel proveniente de la comunidad de estudio a través de técnicas analíticas oficiales para determinar diferencias entre variedades.
- Determinar diferencias en el contenido de carbohidratos de las muestras de aguamiel bajo estudio a través de cromatografía líquida de alta resolución
- Realizar pruebas de proceso de elaboración de jarabe de agave con aguamiel a través de la aplicación del diseño multifactorial para determinar los parámetros de operación estándar.
- Seleccionar las variables de proceso más apropiadas para la elaboración de jarabe de aguamiel a través de la preferencia mostrada por los productores hacia atributos de sabor y color de los jarabes producidos bajo condiciones estandarizadas.
- Analizar el perfil de carbohidratos del jarabe de aguamiel a través de un estudio por HPLC para evaluar los cambios composicionales del aguamiel en el procesamiento.

Metodología



5 METODOLOGÍA

5.1 Muestreo

El área de muestreo se ubica en la comunidad de San Gabriel Azteca, municipio de Zempoala, Estado de Hidalgo. Está situado aproximadamente a 84.4 Km de la capital de la República Mexicana. Sus coordenadas geográficas son 19° 54' 56" latitud norte y 98° 40' 12" longitud oeste, a una altura de 2560 metros sobre el nivel del mar. Las muestras de aguamiel se obtuvieron durante el periodo diciembre 2017 a mayo 2018.

Las muestras de aguamiel se obtuvieron del raspado de cada uno de los diferentes magueyes utilizados por 3 productores para elaborar el jarabe de aguamiel. El raspado se realizó aproximadamente a las 6 de la mañana por parte de uno de los productores. El aguamiel obtenido de cada maguey se almacenó en 3 frascos de vidrio de 125 mL de capacidad en condiciones asépticas para su posterior caracterización fisicoquímica. Las muestras se mantuvieron en refrigeración durante su transporte para evitar la producción de alcohol debido a la fermentación de la flora nativa. Subsecuentemente, las muestras de aguamiel se pasteurizaron en autoclave a 90°C por 10 minutos en frascos estériles.

Con la finalidad de establecer los parámetros de control en el diseño, se caracterizó fisicoquímicamente una muestra de jarabe de aguamiel comercializado en la comunidad. Finalmente, para realizar los estudios de optimización del proceso, se recolectó aguamiel específicamente de pH's 5, 6 y 7, tomando una muestra de aproximadamente un litro y transportándolos en refrigeración. Dichas muestras se utilizaron para la elaboración del jarabe de aguamiel bajo condiciones controladas en la planta piloto del Área Académica de Química de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

5.2 Caracterización fisicoquímica del aguamiel

Para la caracterización del aguamiel, se realizaron análisis físicos, químicos y determinación e identificación del contenido de azúcares por medio de HPLC.

5.2.1 Parámetros físicos

5.2.1.1 Determinación de color

Se llevó a cabo por medio de un colorímetro (MiniScan, Hunter-Lab). Su funcionamiento se basa en comparar los parámetros de la muestra a evaluar con un estándar. Para la medición del color de las muestras se utilizó la escala CIELAB $L^*a^*b^*$.

5.2.1.2 Determinación de viscosidad

Se realizó mediante un viscosímetro digital, tomando aproximadamente 250 mL de muestra sumergiendo la aguja hasta la marca indicada. La medición de la viscosidad se efectuó con las agujas No. 02 a 100 rpm a una temperatura de 19°C.

5.2.2 Parámetros químicos

5.2.2.1 Determinación de pH

La medición de pH se realizó mediante el procedimiento descrito en la Norma Mexicana NMX-F-317-S-1978. Para ello, se tomó una porción de la muestra y se mezcló cuidadosamente hasta su homogeneización. Posteriormente, las lecturas de pH se tomaron directamente en un potenciómetro calibrado.

5.2.2.2 Determinación de sólidos solubles totales (°Brix)

La determinación de °Brix se llevó a cabo mediante el método descrito en la norma mexicana NMX-F-103-1982, colocando 3 gotas de aguamiel en un refractómetro digital (Reichert, modelo AR200) limpio y calibrado con agua previamente. El porcentaje de sólidos solubles totales se determinó a 20°C.

5.2.2.3 Determinación de azúcares reductores

El análisis de la concentración de azúcares reductores se realizó por el método del ácido dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959) con algunas modificaciones. Un método en el cual por disolución alcalina el azúcar se hidroliza produciendo un compuesto que reduce a un grupo nitro del DNS para dar el producto monoamino correspondiente (Nielsen, 1998).

Se construyó una curva patrón a partir de una solución de glucosa de 1 g/L. Las concentraciones utilizadas en la preparación de la curva se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Concentraciones de glucosa utilizadas para la elaboración de la curva patrón para la determinación de azúcares reductores (Miller, 1959)

Matraz	Solución de glucosa (mL)	Reactivo de DNS (mL)	Concentración (mg/L)
0	0	3	0
1	0.2	3	20
2	0.4	3	40
3	0.6	3	60
4	0.8	3	80
5	1.0	3	100

Para la preparación de las diluciones, a cada matraz aforado de 10 mL, se le adicionaron 3 mL del reactivo DNS y se agitaron en vórtex. Posteriormente, se colocaron en un baño de agua a 100°C por 5 minutos y se completó el volumen con agua destilada. Los matraces se dejaron en reposo 15 minutos para después leer la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro (GENESYS 10-VIS). En la figura 6 se muestra la curva de calibración realizada para la determinación de azúcares reductores.

Posteriormente, se determinó la concentración de azúcares reductores de las muestras. Para ello, se mezclaron 0.2 mL de cada muestra con 3 mL de reactivo DNS, después se le realizó el mismo tratamiento que a los estándares, teniendo como blanco reactivo de Fehling B. La determinación se realizó por triplicado. A partir de la curva estándar (Fig. 6) se interpolaron las absorbancias determinadas en las muestras y se cuantificaron los azúcares reductores tomando en cuenta el factor de dilución.

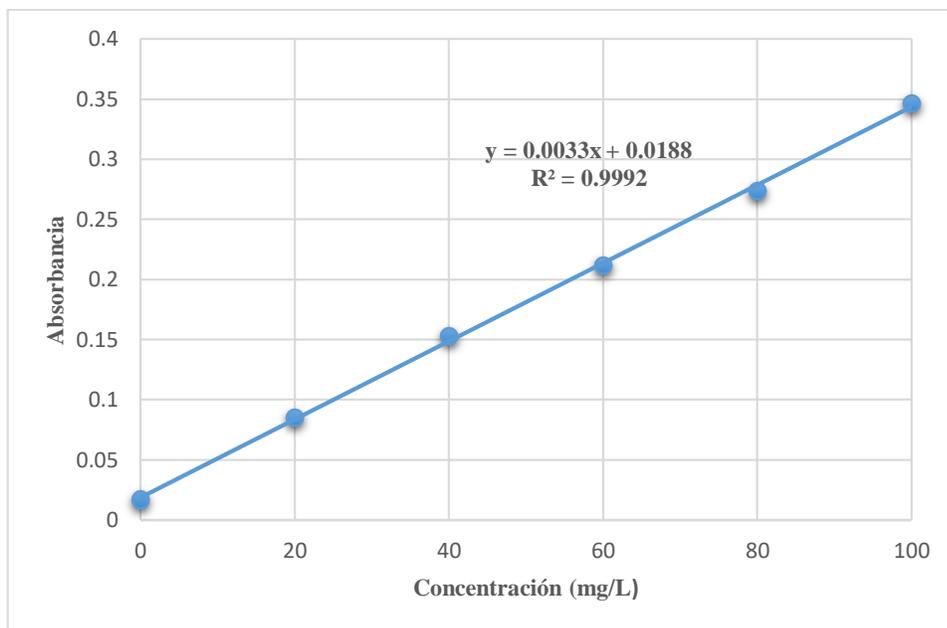


Fig. 6. Curva estándar de glucosa para determinación de azúcares reductores.

5.2.2.4 Determinación de azúcares totales

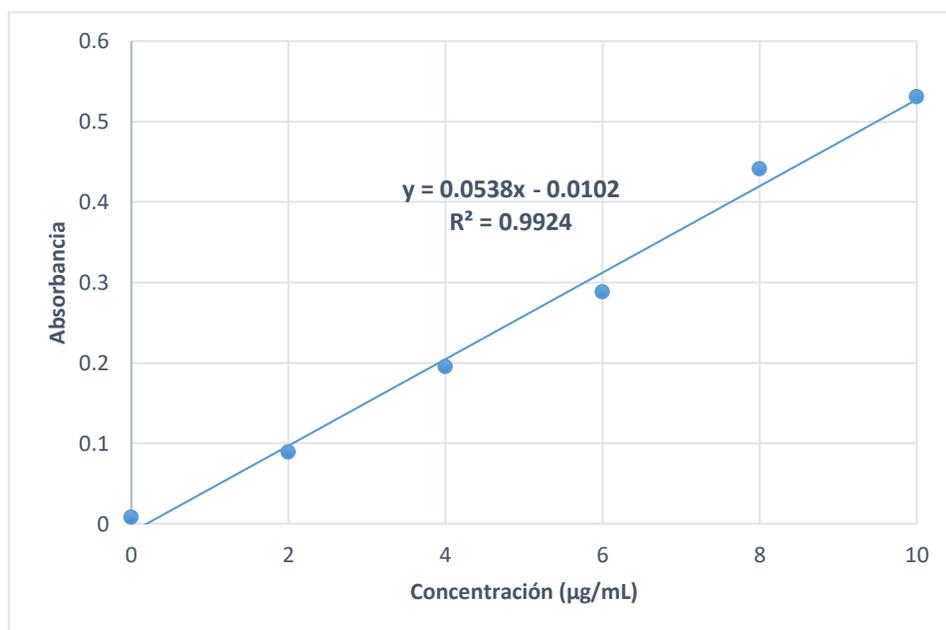
El análisis de la concentración de los azúcares totales, se llevó a cabo por el método de Dubois et al. (1956) el cual se basa en la deshidratación de azúcares con ácido sulfúrico concentrado formando furfurales o alguno de sus derivados. Estos compuestos a su vez, se condensan con fenoles presentes en la mezcla de reacción para dar compuestos de color naranja amarillento cuya intensidad se mide espectrofotométricamente.

Se construyó una curva estándar a partir de una solución de glucosa de 100 $\mu\text{g/mL}$. Los mililitros de solución patrón de glucosa (Tabla 4) se colocaron en matraces aforados etiquetados como 0, 1, 2, 3, 4, 5. A cada uno de los matraces con las soluciones estándar se les adicionó 1 mL de una solución de fenol al 5 % (p/v). Inmediatamente se agregaron, cuidadosamente, 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se mezcló perfectamente y los matraces se dejaron reposar por 10 minutos.

Tabla 4. Concentraciones de glucosa utilizadas para la elaboración de la curva patrón para la determinación de azúcares totales (Dubois et al., 1956)

Matraz	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Solución de glucosa (μL)	Fenol al 5 % (mL)	Ácido sulfúrico (mL)
0	0	0	1	5
1	2	200	1	5
2	4	400	1	5
3	6	600	1	5
4	8	800	1	5
5	10	1000	1	5

La preparación de las diluciones se realizó en matraces aforándolos a 10 mL. Se leyó la absorbancia de las soluciones a 490 nm. A partir de esta curva se interpolaron las absorbancias determinadas en las muestras y se determinó la concentración de azúcar tomando en cuenta el factor de dilución. En la Figura 7 se muestra la curva de calibración realizada para la determinación de azúcares totales.

**Fig. 7.** Curva estándar de glucosa para determinación de azúcares totales.

Para la determinación de azúcares totales en las muestras, se mezclaron 0.1 mL de la muestra con 1 mL de una solución de fenol al 5 % (p/v) y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, después se le realizó el mismo tratamiento que a los estándares, teniendo como blanco un sistema con los reactivos y agua desionizada. La lectura se realizó a 490 nm en celdas de cuarzo con un espectrofotómetro (GENESYS 10-VIS). La determinación se realizó por triplicado.

5.2.3 Distribución de tamaños de los fructanos en aguamiel y jarabe de aguamiel por HPLC.

El análisis de fructanos en las muestras de aguamiel y jarabe de aguamiel se realizó de acuerdo al método propuesto por Moreno-Vilet y col. (2017). Se utilizó un equipo de HPLC (Agilent Technologies 1260 Infinity) compuesto por automuestreador, desgasificador, bomba cuaternaria, compartimiento térmico de la columna y detector de índice de refracción. Como fase estacionaria, se utilizó una columna de exclusión de tamaño con guarda-columna (Ultrahydrogel DP, 7.8 x 300 mm, Waters) mientras que la fase móvil utilizada fue agua grado HPLC a un flujo de 0.36 mL/min. El volumen de muestra inyectada fue de 20 μ L (con el inyector completamente lleno). La temperatura de la columna se mantuvo a 61.7°C. La curva de calibración se construyó utilizando dextranos de distinto peso molecular (Sigma-Aldrich).

5.3 Diseño experimental Plackett-Burman

Se realizó un diseño de Plackett-Burman. Las variables consideradas para la estandarización del proceso de producción del jarabe de aguamiel fueron el pH y la temperatura con tres niveles para cada variable. El parámetro de salida fue la concentración de sólidos solubles totales, la cual fue de 70 °Bx. En la Tabla 5 se presenta la matriz del diseño experimental.

Tabla 5. Matriz del diseño experimental para la elaboración de jarabe de aguamiel

Orden estándar	Orden de ejecución	pH	T (°C)
1	6	7	70
2	9	7	90
3	2	5	90
4	14	7	70
5	11	7	90
6	3	7	90
7	12	5	90
8	15	5	70
9	8	5	70
10	7	7	70
11	4	5	90
12	5	5	70
13	1	6	80
14	13	6	80
15	10	6	80

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza ANOVA utilizando el software de análisis de datos estadísticos Addinsoft 2020, (XLSTAT, New York, USA). Se utilizó el método de regresión lineal múltiple para ajustar los datos (95% de confianza) y evaluar el efecto principal de los factores del diseño sobre cada variable de respuesta.

$$y = \beta_0 + \beta_1 pH + \beta_2 T + \beta_3 pH^2 + \beta_4 T^2 + \beta_5 pH * T \quad \text{Ec. 1}$$

La ecuación 1 (Ec. 1), representa el modelo cuadrático utilizado, donde y representa cada variable de respuesta, pH el nivel de pH al que se ajustó el aguamiel (5, 6 o 7) y T es la temperatura de concentración del jarabe (70, 80 o 90°C). Desde β_0 a β_5 son los coeficientes de regresión del modelo.

5.4 Proceso de elaboración del jarabe de aguamiel

Para la elaboración del jarabe se tomaron en cuenta los experimentos aleatorizados del diseño experimental empleado. Se eligieron tres muestras de aguamiel con pH inferior a 5, superior a 7 y entre 6 y 7. Las muestras de aguamiel se filtraron de inmediato usando una manta de cielo y se envasaron en recipientes asépticos, transportándose en refrigeración (a través de una hielera). Una vez en el laboratorio, las muestras se fraccionaron en porciones de 100 mL y se pasteurizaron

en autoclave a 90°C por 10 minutos. Después de la pasteurización, los envases conteniendo las muestras se congelaron para su uso posterior.



Fig. 8. Diagrama de flujo de la elaboración experimental de jarabe de aguamiel.

Para alcanzar el pH de cada experimento, las muestras de aguamiel se mezclaron a un volumen de 150 mL para evitar el uso de ácidos o álcalis, simulando el método de producción del jarabe de aguamiel, libre de aditivos, empleado en la comunidad de estudio. Después de haber alcanzado el pH, el aguamiel mezclado se calentó en una paila de cobre sobre una parrilla de calentamiento, a la temperatura

correspondiente para evaporar el agua y concentrar hasta 70°Bx. El proceso se puede observar en el siguiente diagrama de flujo (Fig. 8).

5.5 Caracterización fisicoquímica del jarabe de aguamiel

Para la caracterización fisicoquímica del jarabe de aguamiel obtenido se determinaron azúcares totales y reductores, además del color, siguiendo la metodología descrita anteriormente para la determinación de dichos parámetros en las muestras de aguamiel.

5.6 Evaluación sensorial del jarabe de aguamiel

Para la selección del jarabe de aguamiel considerado como el mejor en cuanto a características sensoriales como sabor y color se realizó una prueba de preferencia por ordenamiento a todos los jarabes obtenidos en el diseño experimental. El panel de evaluación estuvo conformado por cinco representantes de los productores de jarabe de aguamiel de la comunidad de estudio, expertos conocedores del producto ya que lo producen y consumen constantemente. Para evitar la influencia recíproca de los atributos evaluados, las muestras de jarabe de aguamiel se evaluaron en dos sesiones. En la primera sesión se evaluó el sabor y en una segunda sesión el color.

Para la realización de la prueba, se sirvieron 5 mL de cada muestra de jarabe de aguamiel elaborado en vasos de plástico de 50 mL de capacidad codificados con números aleatorios de tres dígitos. Las muestras se sirvieron a temperatura ambiente. Con la finalidad de limpiar paladar entre cada muestra, a cada juez se le proporcionó agua purificada a temperatura ambiente y una galleta. La prueba se realizó en las cabinas individuales del laboratorio de análisis sensorial del Área Académica de Química de la UAEH. Las fichas de cata utilizadas se muestran en la figura 9

<div style="text-align: center;">  <p>UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO Proyecto: Estandarización de proceso de producción de miel de agave de aguamiel originario del estado de Hidalgo</p> </div> <p>NOMBRE: _____ FECHA: _____</p> <p>Frente a usted se encuentran once muestras de miel de aguamiel. Pruebe cada una de ellas de izquierda a derecha. Evalúe el SABOR y escriba en la columna el código de cada muestra según su preferencia, siendo 11 (la de mayor agrado) y 1 (la de menor agrado).</p> <p>Nota: recuerde tomar agua entre cada muestra.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. _____ 2. _____ 3. _____ 4. _____ 5. _____ 6. _____ 7. _____ 8. _____ 9. _____ 10. _____ 11. _____ <p>COMENTARIOS: _____ _____</p> <p style="text-align: center;">GRACIAS</p>	<div style="text-align: center;">  <p>UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO Proyecto: Estandarización de proceso de producción de miel de agave de aguamiel originario del estado de Hidalgo</p> </div> <p>NOMBRE: _____ FECHA: _____</p> <p>Frente a usted se encuentran once muestras de miel de aguamiel, observe cada una de ellas de izquierda a derecha.</p> <p>Evalúe el COLOR y de acuerdo a su preferencia ordene del 11 (siendo la de mayor agrado) al 1 (la de menor agrado) cada una de las muestras de miel.</p> <table style="margin: 10px auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px;"></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; font-size: 8px;">812</td> <td style="text-align: center; font-size: 8px;">442</td> <td style="text-align: center; font-size: 8px;">280</td> <td style="text-align: center; font-size: 8px;">929</td> <td style="text-align: center; font-size: 8px;">778</td> <td style="text-align: center; font-size: 8px;">218</td> <td style="text-align: center; font-size: 8px;">486</td> <td style="text-align: center; font-size: 8px;">353</td> <td style="text-align: center; font-size: 8px;">114</td> <td style="text-align: center; font-size: 8px;">841</td> <td style="text-align: center; font-size: 8px;">212</td> </tr> </table> <p>COMENTARIOS: _____ _____ _____</p> <p style="text-align: center;">GRACIAS</p>												812	442	280	929	778	218	486	353	114	841	212
812	442	280	929	778	218	486	353	114	841	212													

Fig. 9. Fichas de cata utilizadas en la prueba de preferencia por ordenamiento de los jarabes de aguamiel elaborados experimentalmente.

5.7 Análisis estadístico de los resultados

Los datos obtenidos en los experimentos realizados se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) aplicando una comparación múltiple de Tuckey con un nivel de significancia $p < 0.05$.

Resultados y

Discusiones



6 RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1 Caracterización del aguamiel

En esta etapa se realizó la determinación de los parámetros de interés en las muestras de aguamiel obtenidas de la comunidad de estudio. Se recolectó un total de 20 muestras de aguamiel, pertenecientes a 4 variedades de maguey. La distribución de muestras por variedad se presenta en la tabla 6 y los resultados de la caracterización fisicoquímica se presentan en la tabla 7.

Tabla 6. Muestras de aguamiel recolectadas de acuerdo a la variedad de maguey

Identificación de muestras recolectadas	Variedad de maguey
1-15	Manso (<i>Agave salmiana</i>)
16-18	Penca larga (<i>Agave salmiana</i>)
19	Ayoteco (<i>Agave salmiana</i>)
20	Cimarrón (<i>Agave salmiana</i> subsp. <i>crassispina</i>)

Tabla 7. Caracterización fisicoquímica de las muestras de aguamiel

MUESTRA	°BRIX	PH	AZÚCARES REDUCTORES (G/L)	AZÚCARES TOTALES (G/L)	COLOR			VISCOSIDAD (CP)	
					L*	a*	b*	Aguja No.2	Aguja No.3
1	14.10 ± 0.05 ^e	4.93 ± 0 ^l	0.16 ± 0.01 ^g	1.48 ± 0.04 ^d	33.53 ± 0.04 ⁿ	8.41 ± 0.08 ^a	29.88 ± 0.34 ^a	16.40 ± 0 ^p	14.00 ± 0
2	12.20 ± 0 ^j	7.68 ± 0 ^a	0.05 ± 0 ^k	1.95 ± 0.01 ^b	44.12 ± 0.02 ^b	1.24 ± 0.05 ^{ghi}	11.96 ± 0.06 ⁱ	13.60 ± 0 ^{hi}	11.00 ± 0
3	15.70 ± 0.09 ^b	6.49 ± 0.01 ^g	0.12 ± 0 ^h	3.96 ± 0.03 ^a	40.81 ± 0.02 ⁱ	1.91 ± 0.05 ^d	12.80 ± 0.36 ^{efg}	16.00 ± 0 ^{bc}	13.00 ± 0
4	12.70 ± 0.09 ^g	5.48 ± 0 ^k	0.92 ± 0.01 ^a	3.91 ± 0.02 ^a	42.60 ± 0.04 ^e	1.66 ± 0.01 ^e	12.39 ± 0.06 ^{ghi}	14.80 ± 0 ^{ef}	12.00 ± 0
5	10.10 ± 0 ^m	7.13 ± 0 ^d	0.03 ± 0 ^{lm}	1.10 ± 0.01 ^g	43.14 ± 0.10 ^d	1.65 ± 0.04 ^e	12.56 ± 0.13 ^{gh}	12.80 ± 0 ^l	11.00 ± 0
6	14.60 ± 0.17 ^d	7.18 ± 0 ^c	0.08 ± 0 ^l	1.30 ± 0 ^f	43.61 ± 0.06 ^c	2.63 ± 0.02 ^c	19.51 ± 0.03 ^b	15.60 ± 0 ^{cd}	12.00 ± 0
7	15.30 ± 0.08 ^c	4.20 ± 0 ^q	0.50 ± 0.01 ^b	0.86 ± 0 ^j	40.55 ± 0.03 ^j	0.36 ± 0.05 ^j	4.78 ± 0.04 ^m	18.80 ± 0 ^a	15.00 ± 0
8	13.40 ± 0 ^f	6.94 ± 0 ^f	0.32 ± 0 ^e	1.32 ± 0 ^f	41.30 ± 0.06 ^g	2.88 ± 0.05 ^b	17.16 ± 0.05 ^c	15.60 ± 0 ^{cd}	13.00 ± 0
9	12.30 ± 0 ^{hi}	4.62 ± 0 ⁿ	0.43 ± 0 ^c	0.78 ± 0.02 ^k	43.04 ± 0.02 ^d	1.76 ± 0.07 ^{de}	13.31 ± 0.12 ^e	14.40 ± 0 ^g	13.00 ± 0
10	13.60 ± 0.14 ^f	7.38 ± 0 ^b	0.03 ± 0 ^{kl}	1.63 ± 0.02 ^c	48.68 ± 0.07 ^a	1.56 ± 0.08 ^{ef}	14.57 ± 0.14 ^d	14.00 ± 0 ^{gh}	11.00 ± 0
11	17.30 ± 0.05 ^a	4.30 ± 0 ^p	0.52 ± 0 ⁿ	3.96 ± 0.02 ⁱ	40.31 ± 0 ^k	-0.20 ± 0.05 ^k	2.49 ± 0.03 ^o	16.30 ± 0.47 ^b	18.40 ± 0
12	17.40 ± 0 ^a	4.38 ± 0 ^o	1.75 ± 0.03 ^{mn}	2.85 ± 0 ^l	43.01 ± 0.01 ^d	1.13 ± 0.04 ^{hi}	13.10 ± 0.10 ^{ef}	16.00 ± 0 ^{bc}	17.60 ± 0
13	13.70 ± 0.09 ^f	4.29 ± 0.01 ^p	0.48 ± 0 ⁿ	2.73 ± 0 ^l	41.05 ± 0.02 ^h	0.53 ± 0.04 ^j	3.81 ± 0.07 ⁿ	15.00 ± 0 ^e	18.40 ± 0
14	11.10 ± 0 ^l	4.30 ± 0 ^p	1.08 ± 0.04 ⁿ	1.09 ± 0 ^{gh}	38.75 ± 0.01 ^m	0.41 ± 0.08 ^j	9.14 ± 0.05 ^{kl}	13.30 ± 0.47 ^{ij}	16.00 ± 0
15	12.60 ± 0.05 ^{gh}	4.20 ± 0 ^q	0.10 ± 0 ⁿ	1.40 ± 0 ^e	40.98 ± 0.04 ^{hi}	1.23 ± 0.02 ^{ghi}	8.69 ± 0.04 ^l	16.00 ± 0 ^{bc}	16.00 ± 0
16	11.90 ± 0.08 ^j	5.52 ± 0 ⁱ	0.37 ± 0.01 ^d	1.03 ± 0.01 ^{hi}	41.87 ± 0.12 ^f	1.41 ± 0.03 ^{fg}	13.30 ± 0.06 ^e	14.80 ± 0 ^e	13.00 ± 0
17	13.50 ± 0.08 ^f	5.87 ± 0 ^j	0.16 ± 0 ^g	1.49 ± 0.02 ^d	43.18 ± 0.07 ^d	1.33 ± 0.06 ^{gh}	10.17 ± 0.12 ^j	15.20 ± 0 ^{de}	12.00 ± 0
18	14.70 ± 0.05 ^d	4.78 ± 0 ^m	0.26 ± 0 ^f	1.15 ± 0.01 ^g	39.16 ± 0.03 ^l	1.09 ± 0.06 ⁱ	9.39 ± 0.08 ^k	16.00 ± 0 ^{bc}	14.00 ± 0
19	11.50 ± 0 ^k	7.04 ± 0 ^e	0.09 ± 0 ^l	0.84 ± 0.03 ^k	38.55 ± 0.02 ^m	2.45 ± 0.10 ^c	14.20 ± 0.33 ^d	14.40 ± 0 ^g	11.00 ± 0
20	15.80 ± 0.09 ^b	6.17 ± 0 ^h	0.17 ± 0 ^g	1.32 ± 0.01 ^f	40.40 ± 0.14 ^{ijk}	1.66 ± 0.03 ^e	12.22 ± 0.07 ^{hi}	15.60 ± 0 ^{cd}	13.00 ± 0

Para el caso de los sólidos solubles totales, se obtuvieron valores que van de 10.1 a 17.4 °Brix. Este rango tan amplio posiblemente se debe a la ubicación donde se encuentra el maguey de procedencia de la muestra, puesto que en aguamieles obtenidos de magueyes ubicados en zonas montañosas se obtuvo una mayor cantidad de sólidos solubles en comparación con aquellos originados de magueyes de zonas planas. De igual manera esto fue fundamentado de acuerdo a las observaciones realizadas por los productores de San Gabriel Azteca. En la actualidad no existen estudios al respecto.

Contrastando estos valores con los descritos por la norma mexicana NMX-V-022-1972 en la que se mencionan dos clasificaciones; la primera con valores de 13 a 17 °Brix (tipo 1) y segunda con valores menores de 7 °Brix (tipo 2), el aguamiel de la comunidad de estudio podría clasificarse dentro del tipo 1. Además, otros autores mencionan valores de 11 °Brix (Tapia, 2016), 15.3 °Brix (Flores et al., 2006) para el *Agave salmiana* y de 9 °Brix (Vásquez, 2009), este último referencia que el valor obtenido pudo deberse a las condiciones climatológicas del lugar.

Respecto al pH se obtuvieron valores que van de los 4.20 a los 7.68, algunos de los cuales se encuentran fuera de los dos rangos que menciona la norma mexicana NMX-V-022-1972 de 6.6 a 7.5 y de valores inferiores de 4.5. Los valores obtenidos están relacionados con la conservación del aguamiel después de su obtención. Según los productores de San Gabriel Aztecas, “Es importante obtener el aguamiel en las primeras horas del día debido a que el pH disminuye durante el transcurso del día ocasionando una fermentación por la presencia de la flora nativa del aguamiel, si esto ocurre el aguamiel no puede ser utilizado para la elaboración de jarabe y se destina para la producción de pulque”.

Algunos valores de pH reportados para aguamiel son de 4.8 (Flores et al., 2006), 6.3 (Muñiz-Márquez et al., 2013;), 6.23 (Ramírez, 2010) para el *Agave salmiana*. Otros autores como Vásquez (2009) mencionan haber obtenido un pH de 4.30 debido a la temporada estacional de la obtención del aguamiel. Este autor realizó el análisis en primavera y menciona que si el aguamiel es obtenido en

invierno el valor es cercano a la neutralidad. Así mismo, menciona que este valor depende del tipo de variedad de maguey utilizado para la obtención del aguamiel.

Respecto al contenido de azúcares reductores y totales se obtuvieron concentraciones que van de 0.03 a 1.75 g/L y de 0.78 a 3.96 g/L, respectivamente. Estos valores fueron muy variables dentro de las mismas variedades de maguey. Sin embargo, al comparar los resultados con los valores establecidos en la norma mexicana NMX-V-022-1972 con un rango de 0.02 a 0.03 g/L (tipo 1) e inferiores a 0.03 g/L (tipo 2) en azúcares reductores y de 0.8 a 1.2 g/L para azúcares totales (tipo 1) y menores de 0.6 g/L (tipo 2), algunos están dentro de los rangos y algunos otros se encuentran por encima de los límites superiores. Esto nuevamente debe ser por el tipo de suelo y localización del maguey, sin embargo, no hay estudios reportados.

Adicionalmente, Aguilar-González (2013) reportó valores de 1.63 g/L de azúcares reductores en el maguey manso, siendo este valor similar a las concentraciones obtenidas. Otros autores reportan valores de 2.8 g/L y 3.2 g/L para azúcares totales (Ramírez, 2010; Flores et al., 2006), ambos reportados para el *Agave salmiana*. Sin embargo, según nuestro estudio, existe una variación en las concentraciones de azúcares sin importar la variedad del maguey.

Con respecto a la medición de color, las variables L^* (Luminosidad, de 0 negro a 100 blanco), a^* (cromaticidad, de rojo (+) a verde (-)) y b^* (cromaticidad, de amarillo (+) a azul (-)), fueron de 33.53 a 48.68, de -0.2 a 8.41 y de 2.49 a 29.88, respectivamente. Los valores obtenidos son comparables a los valores con obtenidos por Vásquez (2009) los cuales fueron de L^* 39.14, a^* 0.18 y b^* -2.12 indicando un color blanco tenue similar al obtenido en los aguamieles de San Gabriel Azteca. En otro estudio, Espíndola-Sotres y colaboradores (2018) reportan valores de L^* 19.14 a 21.11, a^* 12.29 a 18.33 y de b^* 3.44 a 7.80. De igual forma valores similares fueron reportados por Mena-Barrientos (2013) L^* 37, a^* 1.6 y b^* - 1.0, este autor menciona que existe un cambio en el color cuando el aguamiel es pasteurizado o esterilizado disminuyendo los valores de cada parámetro volviéndose opaco L^* 36.5, a^* 0.99 y b^* -0.2. Las muestras obtenidas de la localidad de San Gabriel Azteca fueron únicamente medidas después de haber pasado por el proceso de pasteurización.

La viscosidad en las muestras a 19°C según la aguja del No.2 fue de 12.8 a 18.8 cP en cambio con la aguja del No. 3 fueron de 11.0 a 18.4 cP, en comparación con la viscosidad del agua la cual es de 1.0020 cP a 20°C podemos notar que el aguamiel tiene mayor viscosidad y esto se debe a la presencia de sólidos solubles que afectan su viscosidad. A medida que aumenta el contenido de sólidos solubles es mayor la viscosidad en una muestra. Ramírez (2010) reportó un valor de 32.01 cP siendo superior al obtenido posiblemente esto debido a una medición a una temperatura diferente a los 19°C. o a la diferencia en la concentración de sólidos.

Con los datos obtenidos, se observa que en los parámetros físicos (color y viscosidad) y en los químicos (pH, °Brix y azúcares reductores y totales) existe diferencias significativas. Estas son ocasionadas posiblemente por la época del año, la forma y tiempo de raspar y la ubicación del maguey. Esta variabilidad existe en cada maguey sin importar que sean de la misma variedad, además esto también soportado según lo observado por los productores de San Gabriel Azteca, municipio de Zempoala.

La Tabla 8 muestra los rangos de porcentajes obtenidos para el perfil de carbohidratos en base seca obtenidos del análisis HPLC-SEC. La cantidad de fructanos varió entre 1.24% hasta 20.15%, la sacarosa varió de 12.4 a 98.69% y los monosacáridos (glucosa y fructosa) variaron de 0% a 80.59%.

Tabla 8. Perfil de carbohidratos de savia de agave (aguamiel) analizados por HPLC-SEC.

Aguamiel	Fructanos (% b.s)	Sacarosa (% b.s.)	G + F (% b.s)
Manso	1.24-20.15	15.37-98.69	0.0-80.06
Penca Larga	4.49-10.14	8.81-63.55	30.64-81.05
Ayoteco	8.36	12.47	79.17
Ayoteco + Cimarrón	6.83	12.59	80.59

G + F: suma de glucosa y fructosa, **b.s.** base seca

La mayor variación de concentración se encontró en azúcares simples (glucosa, fructosa y sacarosa); sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas entre los grupos debido a la variabilidad de las muestras. Por otro lado, el contenido de fructanos, especialmente de FOS, es importante porque está asociado a las propiedades prebióticas beneficiosas que estimulan el crecimiento selectivo de bacterias probióticas en la microbiota de los consumidores. Para mantener un alto contenido de estos polisacáridos en el jarabe, es aconsejable procesarlo rápidamente o utilizar una técnica de calentamiento o pasteurización para inactivar las enzimas responsables del proceso de hidrólisis.

En el caso de azúcares como glucosa, fructosa y sacarosa, representan hasta el 90% de los carbohidratos en aguamiel y jarabe. De esos azúcares, el componente principal de los jarabes de *A. salmiana* fue la sacarosa de acuerdo con los informes de Mellado-Mojica y López (2015), por otro lado, para aguamiel o jarabe de *A. tequilana* o *A. mapisaga*, los perfiles informan un mayor concentración de fructosa, seguida de glucosa y una muy baja concentración de sacarosa (Ortíz-Basurto et al., 2008; Mellado-Mojica y López, 2015).

Se han reportado diferentes perfiles de carbohidratos en jarabes de diferentes especies de agave; sin embargo, en este trabajo se encontraron muestras con diferentes perfiles de glucosa, fructosa y sacarosa en la misma especie, pero de diferentes variedades. En la Figura 10 se muestran las concentraciones de azúcar de las muestras de aguamiel. Se observan diferencias entre los aguamieles de las tres variedades de maguey. Sin embargo, para identificar una relación entre variedad y concentración de azúcares, se necesitan estudios más específicos enfocados en evaluar los perfiles de azúcares.

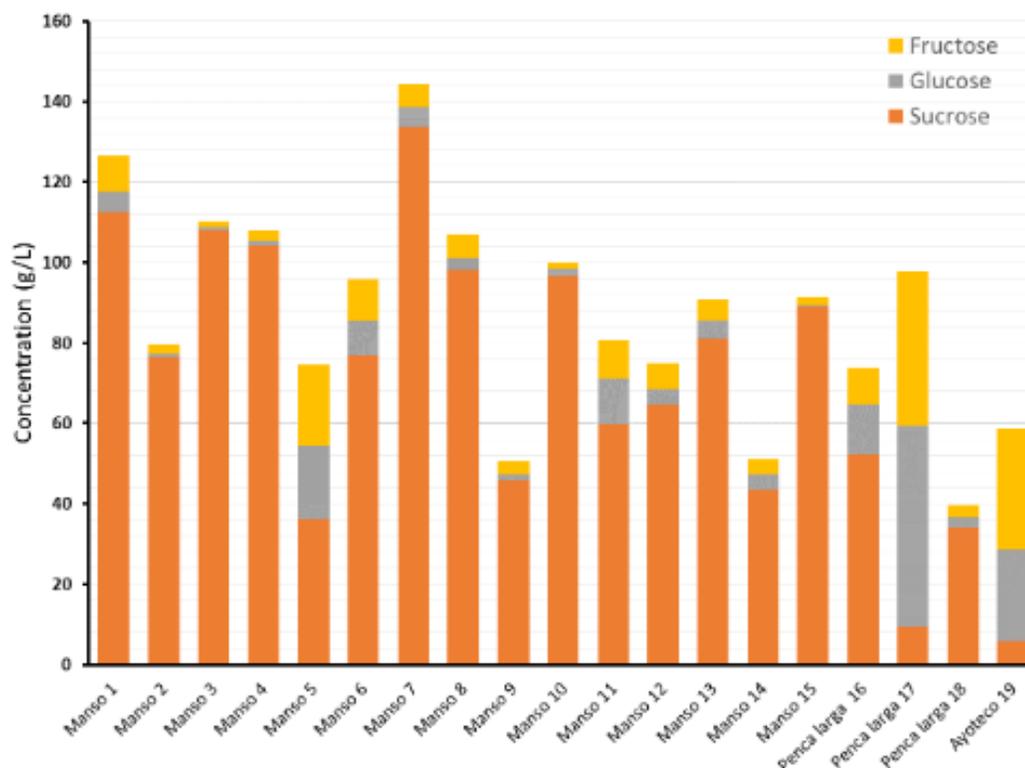


Fig. 10. Concentración de azúcar en aguamiel de diferentes agaves.

6.2 Optimización del proceso de fabricación de jarabe de aguamiel

Tener un proceso estandarizado del proceso de producción de jarabe de aguamiel fue la principal necesidad de los productores de la localidad estudiada. Por la amplia variabilidad de las muestras se consideró utilizar el aguamiel sin considerar el tipo de variedad. Tomando en cuenta las variables analizadas anteriormente, se determinó realizar un diseño de experimentos en la cual se consideraron factores que los productores pudieran controlar y sin adicionar ningún aditivo durante el proceso. Esto con la finalidad de producir aguamiel con características comerciales que lo pudieran clasificar como un producto orgánico.

Los factores a controlar fueron el pH y la temperatura, considerando un valor inferior, central y superior para ambas variables (pH 5, 6 y 7; temperatura de 70, 80 y 90°C). Para llegar al pH determinado se realizaron mezclas de aguamieles.

El término del proceso de producción de jarabe concluyó cuando se alcanzaron 70°Brix, parámetro determinado por la medición de tres muestras comerciales de los productores de San Gabriel Azteca, las cuales tuvieron 72.9, 71.7 y 69.4 °Brix, valor similar al que reportó Espíndola-Sotres y colaboradores (2018) (70.33 °Brix). El tiempo del proceso de elaboración no fue considerado dentro de la matriz experimental, pero se observó un tiempo aproximado de 5 a 6 horas para un volumen de un litro de aguamiel. Los productos resultantes del diseño experimental se les determinaron parámetros de color, azúcares totales y azúcares reductores. Los resultados obtenidos se presentan en las tablas 9 y 10; mientras que las imágenes de los jarabes obtenidos en la figura 11.

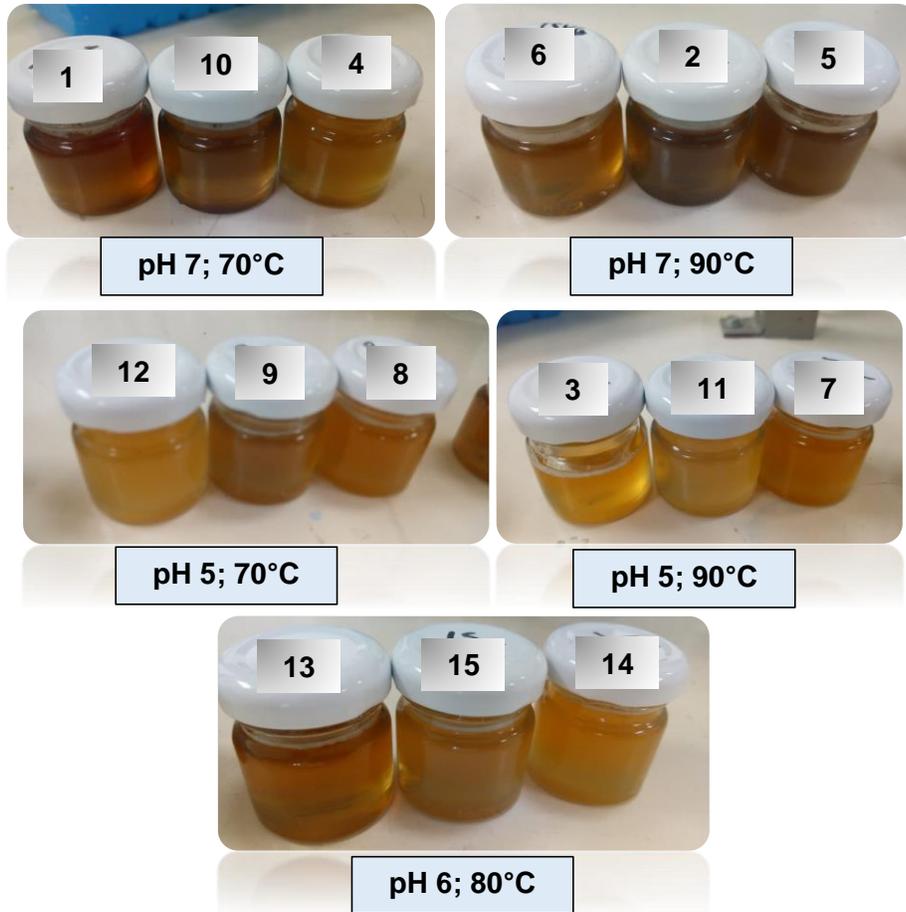


Fig. 11. Jarabes de agave elaborados durante el estudio.

Tabla 9. Resultados del diseño de experimentos para la caracterización fisicoquímica de los jarabes de aguamiel

Orden estándar	Orden de ejecución	pH	T (°C)	COLOR			Azúcares Totales (g/L)	Azúcares Reductores (g/L)
				L*	a*	b*		
1	6	7	70	18.29 ± 0.34	8.51 ± 0.47	8.66 ± 0.34	2.60 ± 0.01	0.20 ± 0
2	9	7	90	20.97 ± 0.03	7.88 ± 0.17	12.60 ± 0.28	2.27 ± 0.01	0.23 ± 0
3	2	5	90	32.91 ± 0.04	12.85 ± 0.07	33.97 ± 0.02	2.44 ± 0	0.85 ± 0
4	14	7	70	21.68 ± 0.28	10.26 ± 0.09	17.42 ± 0.49	3.26 ± 0.01	0.14 ± 0
5	11	7	90	19.50 ± 0.59	6.87 ± 0.31	10.37 ± 0.48	1.83 ± 0	0.19 ± 0
6	3	7	90	24.24 ± 0.33	6.47 ± 0.46	14.07 ± 0.63	1.79 ± 0.01	0.19 ± 0
7	12	5	90	26.21 ± 0.08	13.01 ± 0.11	21.08 ± 0.09	2.35 ± 0.02	1.16 ± 0
8	15	5	70	25.54 ± 0.14	13.32 ± 0.28	19.59 ± 0.16	2.09 ± 0	0.84 ± 0
9	8	5	70	23.96 ± 0.05	14.82 ± 0.06	23.39 ± 0.11	1.86 ± 0.01	0.98 ± 0
10	7	7	70	19.36 ± 0.53	8.85 ± 0.36	11.18 ± 0.37	2.20 ± 0	0.58 ± 0
11	4	5	90	26.38 ± 0.04	13.99 ± 0.02	29.46 ± 0.32	1.92 ± 0	1.49 ± 0
12	5	5	70	25.69 ± 0.17	10.14 ± 0.13	21.41 ± 0.09	2.23 ± 0	1.36 ± 0
13	1	6	80	25.52 ± 0.11	17.25 ± 0.14	24.32 ± 0.67	1.83 ± 0	1.11 ± 0
14	13	6	80	30.06 ± 0.30	13.94 ± 0.45	22.29 ± 0.30	1.97 ± 0.01	1.13 ± 0
15	10	6	80	29.99 ± 0.12	17.15 ± 0.17	29.56 ± 0.53	1.97 ± 0	1.16 ± 0

Con respecto a los azúcares totales y reductores se tuvieron concentraciones que van de 1.79 a 3.26 g/L y de 0.14 a 1.49 g/L respectivamente. En la medición de color, las variables L* (Luminosidad), a* (cromaticidad de verde a rojo) y b* (cromaticidad de azul a verde), fueron de 18.29 a 32.91, de 6.47 a 17.25 y de 8.66 a 33.97 respectivamente. Todos los valores obtenidos fueron similares a los ya obtenidos durante la caracterización fisicoquímica de los aguamieles.

Tabla 10. Composición de carbohidratos en % base seca, determinado por HPLC-SEC en muestras de jarabe de aguamiel

Tratamiento	Muestra	Fructanos	Sacarosa	Monosacáridos
		%	%	%
pH 7; 70 °C	1	4.96	93.96	1.07
	4	3.47	96.53	0.00
	10	5.22	94.78	0.00
pH 7; 90 °C	2	5.47	94.53	0.00
	5	4.78	95.22	0.00
	6	4.01	95.99	0.00
pH 5; 90 °C	3	11.70	63.20	25.09
	7	5.73	70.82	23.45
	11	6.01	67.58	26.42
pH 5; 70 °C	8	5.05	76.10	18.84
	9	5.49	72.44	22.06
	12	6.17	67.44	26.40
pH 6; 80 °C	13	4.49	80.64	14.86
	14	4.31	82.06	13.63
	15	4.58	82.44	12.98

La Tabla 11 muestra los resultados del análisis de varianza ANOVA para el modelo de la ecuación 1 para las variables de pH y temperatura.

Tabla 11. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo (Ec.1) para cada variable de respuesta

Variable	Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	p
Color L	Modelo	5	189.655	37.931	5.473	0.014
	Error	9	62.373	6.930		
	Total	14	252.028			
Color a	Modelo	5	152.266	30.453	0.603	0.743
	Error	9	22.103	2.456		
	Total	14	174.369			
Color b	Modelo	5	642.007	128.401	6.855	0.007
	Error	9	168.568	18.730		
	Total	14	810.575			
Azucares totales	Modelo	5	1.159	0.232	2.202	0.143
	Error	9	0.947	0.105		
	Total	14	2.106			
Fructanos	Modelo	5	21.851	4.37	1.496	0.282
	Error	9	26.294	2.922		
	Total	14	48.146			
Sacarosa	Modelo	5	1997.380	399.476	49.013	< 0.0001
	Error	9	73.354	8.150		
	Total	14	2070.734			
Glucosa+Fructosa	Modelo	5	1679.734	335.947	84.535	< 0.0001
	Error	9	35.767	3.974		
	Total	14	1715.501			

Valores en Negrita, indican efecto significativo a un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$).

- **Color**

En la medición de color, las variables L* (Luminosidad), a* (cromaticidad de rojo a verde) y b* (cromaticidad de amarillo a azul), fueron de 18.29 a 32.91, de 6.47 a 17.25 y de 8.66 a 33.97 respectivamente como se indica en la Tabla 9. De los cuales el parámetro L y b* mostraron efecto significativo de los factores de acuerdo con los siguientes modelos de las ecuaciones Ec 2 a la Ec 4:

$$\text{Color } L = 28.52 - 3.054 \text{ pH} + 1.307 T - 4.795 \text{pH}^2 - 0.41 \text{ pH} \times T \quad (R^2 = 0.753)$$

Ec. 2

$$\text{Color } a = 16.112 - 2.442 \text{ pH} - 0.402 T - 5.532 \text{pH}^2 - 0.664 \text{ pH} \times T \quad (R^2 = 0.873) \quad \text{Ec. 3}$$

$$\text{Color } b = 25.39 - 6.217 \text{ pH} + 1.657 T - 6.789 \text{pH}^2 - 1.696 \text{ pH} \times T \quad (R^2 = 0.792) \quad \text{Ec. 4}$$

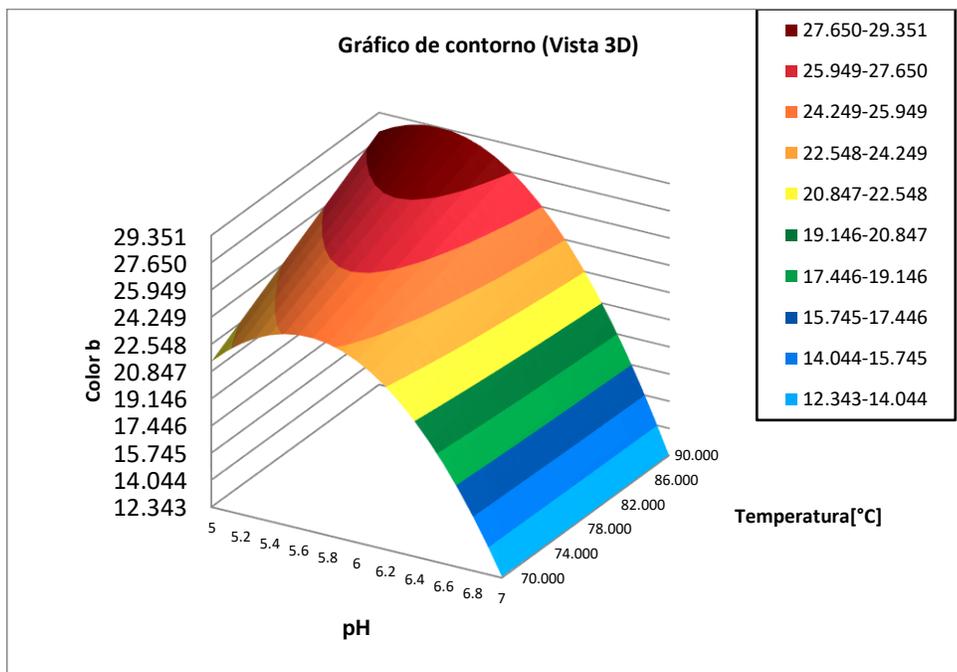
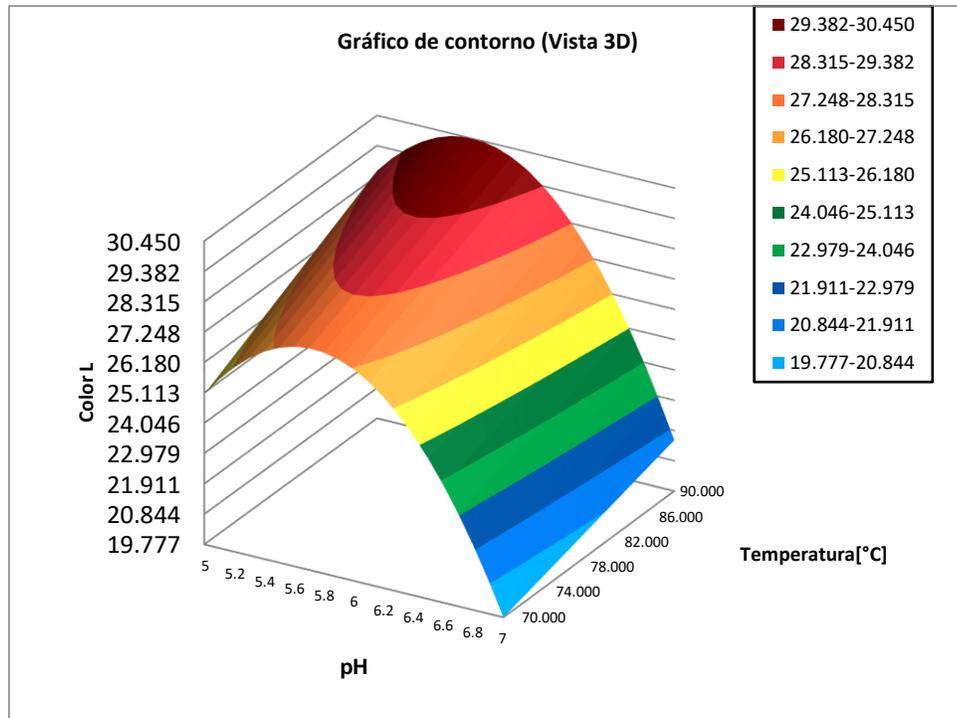


Fig. 12. Superficie de respuesta para los parámetros L (a) y b* (b), que fueron los dos parámetros que son afectados significativamente por los factores de estudio (pH y temperatura)

La figura 12, ilustra los modelos de superficie de respuesta para los parámetros L (a) y b* (b), que fueron los dos parámetros que son afectados significativamente por los factores de estudio (pH y temperatura, ver Tabla 11). Los cuales presentan comportamientos similares, donde el efecto principal se observa en el pH del aguamiel, mostrando un máximo en el punto central equivalente a pH 6. Lo anterior se traduce en un color con mayor luminosidad cercano a 30% y color con tonalidad más amarilla a pH de 6 y temperaturas altas. Este efecto también es visible en los colores de los jarabes mostrados en la figura 11, por ejemplo se muestran los jarabes a pH 7 de color ámbar más oscuro, mientras que los jarabes de pH 5 y 6 son de color más claro, por otro lado también se observa que jarabes al mismo pH de 7 procesados a distintas temperaturas (70 y 90°C), no muestran cambios en color muy visibles; por lo tanto el color de los jarabes de aguamiel depende más del pH y no de la temperatura de proceso.

- **Azúcares Totales**

Con respecto a los azúcares totales y reductores se tuvieron concentraciones que van de 1.79 a 3.26 g/L y de 0.14 a 1.49 g/L respectivamente. De acuerdo a al análisis de varianza ANOVA este parámetro, no presento efecto significativo. Es decir, que la concentración de azúcares totales no se modifica por el pH o temperatura de proceso, lo cual resulta congruente, ya que la concentración final se definió fijando el valor de 70°Brix para parar el proceso.

- **Fructanos**

El contenido de fructanos varió de 3.47% a 11.7% del total de carbohidratos, correspondiente a 2.42 – 8.2g de fructanos/100g de jarabe; dicho rango está dentro de los reportados para los jarabes de aguamiel o mieles de maguey (4-10%). De acuerdo al análisis de varianza ANOVA este parámetro, no presento efecto significativo, es decir, que la concentración de fructanos no depende del pH o temperatura de proceso, sino que dependen de la concentración inicial encontrada en los aguamieles, la cual puedes ser muy variable. Si se comparan los valores de fructanos encontrados en el aguamiel en base seca, son semejantes a los

encontrados en el jarabe, por lo que se podría inferir que en su mayoría los fructanos se mantienen y resisten el proceso de concentración, sin embargo, debería hacerse un monitoreo cuantificando la concentración de fructanos, antes y después del proceso para poder afirmarlo.

- **Concentración de azúcares simples: Sacarosa y Glucosa+Fructosa**

La concentración de azúcares simple fue variable, siendo la sacarosa el carbohidrato principal en todos los jarabes y su concentración varió en un rango de 63.2 - 96.53% del total de carbohidratos en base seca. La suma de glucosa y sacarosa varió en un rango de 0-26.42% del total de carbohidratos. Según el estudio reportado Maturano-Ramirez y colaboradores (2019), la flora microbiana nativa del aguamiel afecta la composición de carbohidratos durante la acumulación del aguamiel en la misma planta, donde la mayor concentración de sacarosa se encuentra en las primeras horas después del raspado y disminuye conforme pasa el tiempo hasta llegar a 12 h donde la concentración fructosa aumenta como consecuencia de la hidrólisis de la sacarosa; por otro lado, la concentración de FOS no se ve afectada significativamente. Lo anterior, coincide con los resultados encontrados en este estudio donde una alta concentración de sacarosa es indicativo de la recolección de aguamiel fresco. Con respecto al análisis del diseño de experimentos, podemos ver en la tabla 11, que la concentración tanto de sacarosa como de G+F son significativamente afectadas por las variables del proceso de temperatura y pH ($p < 0.0001$). La figura 13 presenta los gráficos de superficie de respuesta para la concentración de sacarosa (a) y G+F (b) en función del pH y temperatura utilizados, donde claramente se puede observar que al nivel bajo de pH=5, se encuentran las menores concentraciones de sacarosa y a su vez las mayores concentraciones de monosacáridos (G+F), por lo cual, los pH bajos del medio favorecen la hidrólisis parcial de la sacarosa durante el proceso de concentración del aguamiel. Por otro lado, el efecto de la temperatura fue menos marcado, mostrando una ligera tendencia de mayor hidrólisis de sacarosa a temperaturas mas altas de 90°C, sin embargo, este efecto no fue significativo.

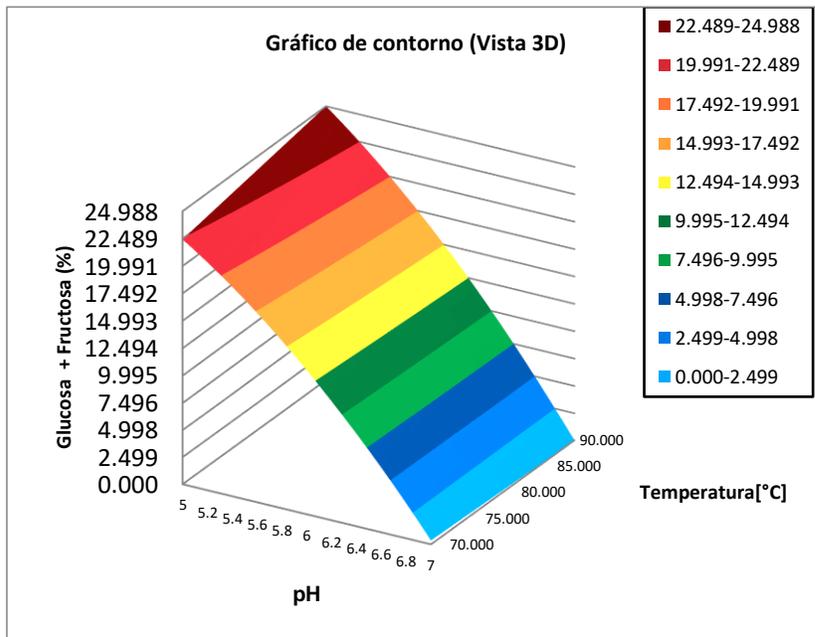
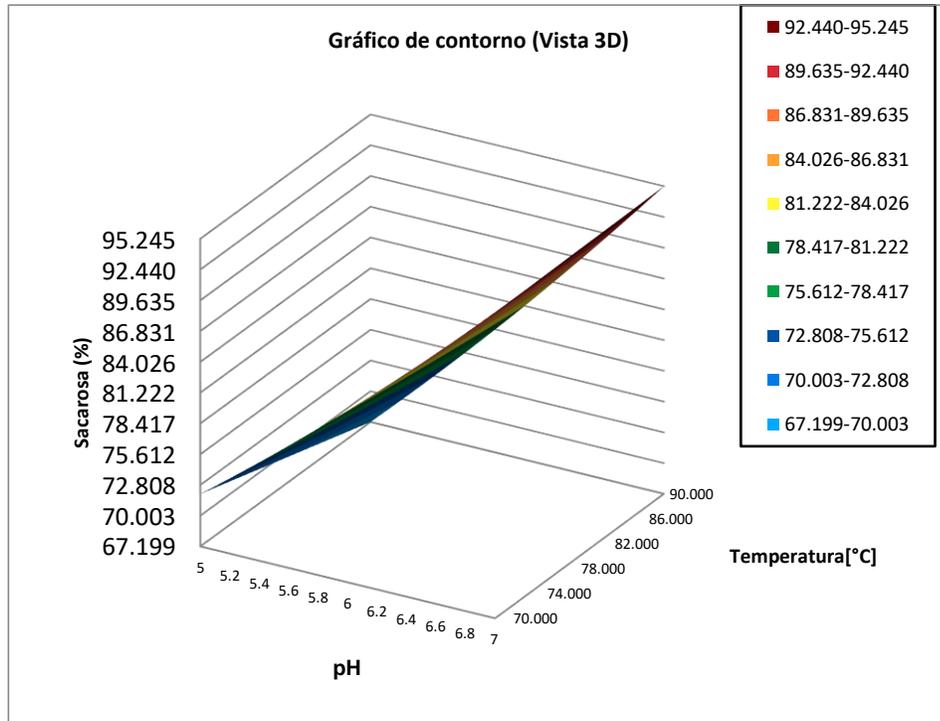


Fig. 13. Graficas de superficie de respuesta del efecto del pH y temperatura de proceso sobre la concentración de sacarosa (a) y glucosa + fructosa (b).

A continuación, se muestran las ecuaciones (Ec 5 y Ec. 6) del modelo para cada variable obtenidos del análisis de regresión, mostrando el efecto positivo del pH para

la concentración de sacarosa y negativo para G+F; cabe mencionar que los ajustes al modelo son elevados, con coeficientes de correlación mayores a $R^2= 0.96$.

$$sacarosa = 81.714 + 12.786 pH - 1.161 T + 0.668pH^2 + 1.237 pH \times T \quad (R^2= 0.965) \quad Ec. 5$$

$$G + F = 13.824 - 11.766 pH + 0.549 T - 1.878pH^2 - 0.728 pH \times T \quad (R^2= 0.979) \quad Ec. 6$$

6.3 Análisis sensorial

Obtenidas las mieles del diseño experimental se procedió a realizar una prueba sensorial con cinco de los productores, fueron denominados como un panel experto no entrenado debido a que están inmersos principalmente en la elaboración y consumo constante de la miel.

En la evaluación del color (Fig. 14), los productores determinaron con mayor preferencia los tratamientos de pH 7 a 90°C con un color más oscuro y por el contrario los menos preferidos fueron los de colores amarillos del tratamiento de pH 6 a 80°C. Este atributo se vio influenciado en los productores debido a que están acostumbrados a obtener colores oscuros por la falta de control en la temperatura dejando trascurrir por mayor tiempo provocando mayor caramelización. Las muestras 6, 2 y 5 corresponden al tratamiento de pH 7, 90°C; 10 y 4 pH 7, 70°C; 11 y 7 pH 5, 90°C; 9 y 8 pH 5, 70°C y 15 y 14 pH 6, 80°C.

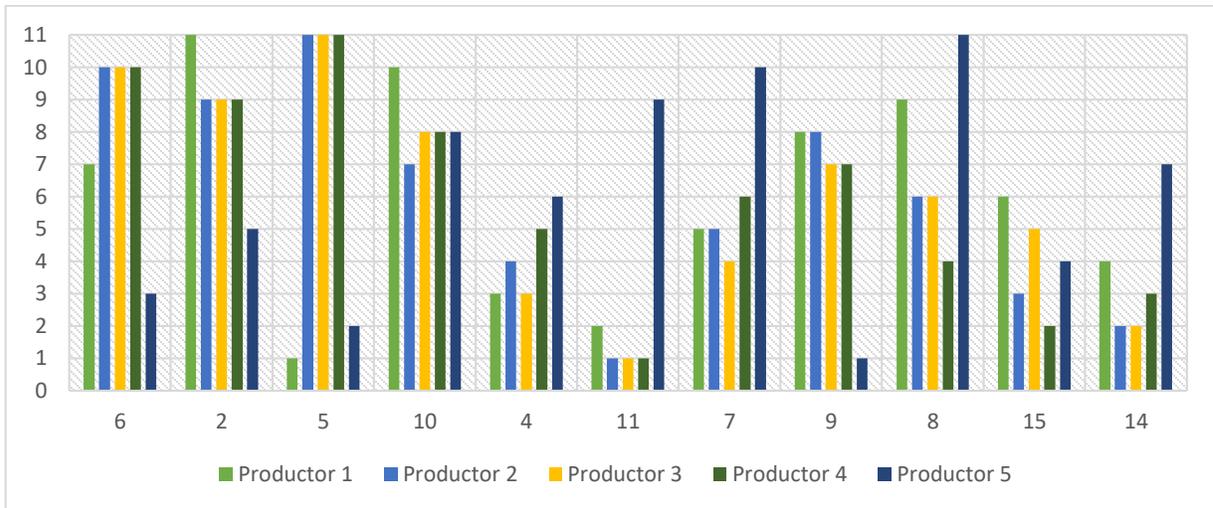


Fig. 14. Resultados de la prueba de ordenamiento por preferencia para el atributo de color

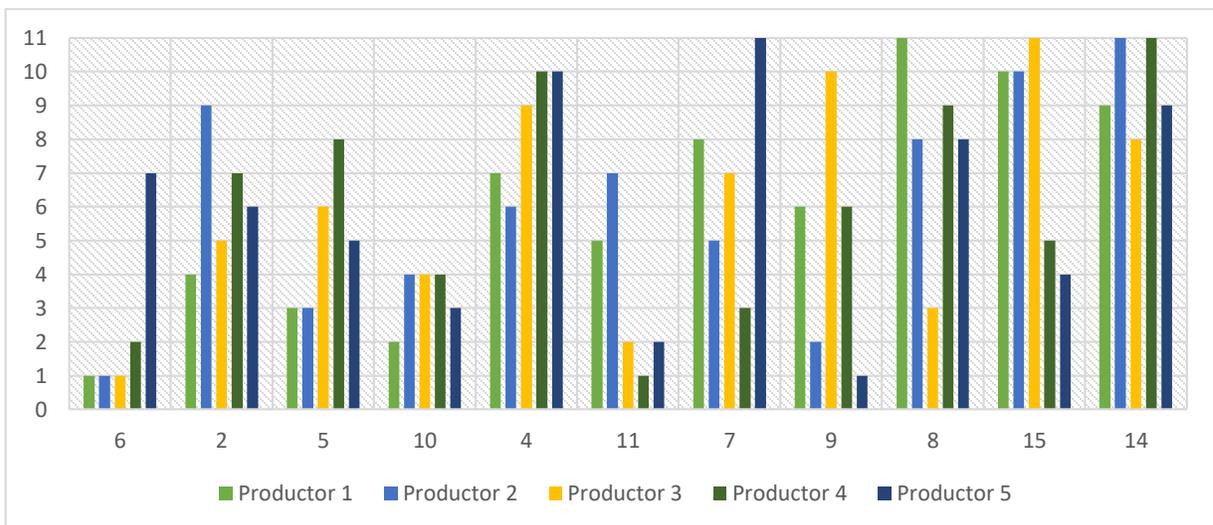


Fig. 15. Resultados de la prueba de ordenamiento por preferencia para el atributo de sabor.

Por otro lado, para el atributo de sabor (Fig.15) en las muestras 6, 2 y 5 corresponden al tratamiento de pH 7, 90°C; 10 y 4 pH 7, 70°C; 11 y 7 pH 5, 90°C; 9 y 8 pH 5, 70°C y 15 y 14 pH 6, 80°C. Los productores prefirieron el tratamiento de pH 6 a 80 °C, el cual fue el que menos preferencia tuvo en el parámetro de color. En conclusión, el tratamiento con mayor preferencia en sabor fue el que menos preferencia tuvo en el parámetro de color.

Se seleccionaron dos jarabes (Fig.16), ambos fueron los que tuvieron mayor preferencia en cada atributo, sin embargo, en el transcurso del almacenamiento de los jarabes se observó una formación de cristales en los productos que fueron elaborados a una temperatura de 90 °C. Como resultado de tal fenómeno se determinó seleccionar el jarabe con el tratamiento de pH de 6 y temperatura de 80°C (A), el cual no presentó formación de cristales y se seleccionó como tratamiento estandarizado para la elaboración del jarabe de agave.

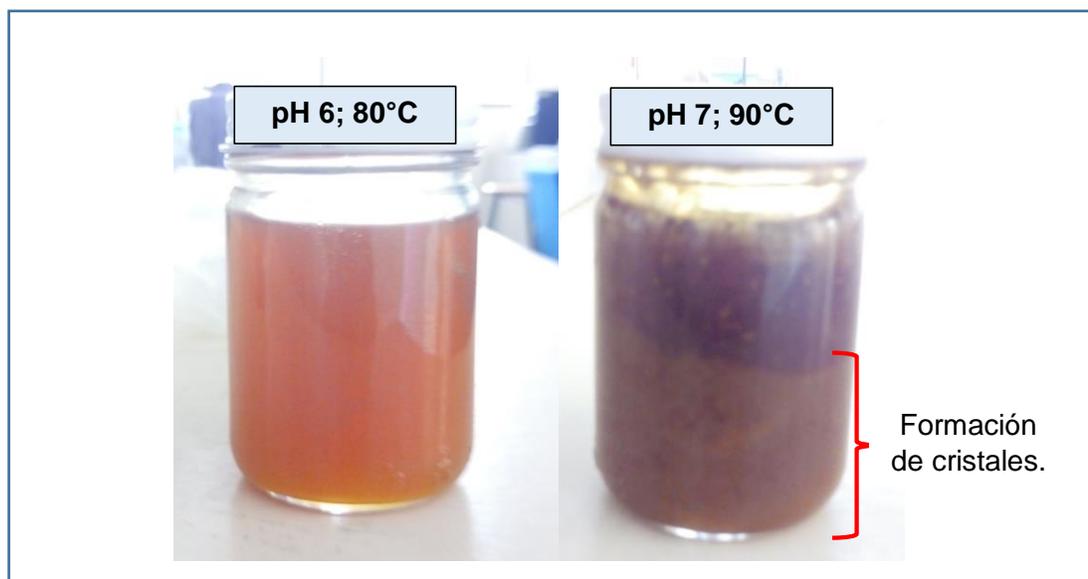


Fig. 16. Jarabes de agave seleccionados por los productores de San Gabriel Azteca.

Se realizó un estudio de perfil de carbohidratos a una muestra comercial obtenida del Cardonal, con la finalidad de realizar una comparación, además también se realizó el análisis al jarabe elaborado a pH de 7 a 90 °C (B) para ver el comportamiento de las muestras. En la tabla 12 se puede observar diferencias en las concentraciones de sacarosa y G + F en los jarabes debido a la región de donde provienen. Los jarabes de Zempoala (jarabe A y B) presentan una alta concentración de sacarosa de acuerdo con la mayoría de las muestras de aguamiel de la misma

región y los jarabes del Cardonal (muestra comercial) presentan una mayor concentración de glucosa y fructosa.

Tabla 12. Análisis por HPLC-SEC en muestras de aguamiel y jarabe de aguamiel.

Muestra	Fructanos (%)	Sacarosa (%)	Monosáridos (%)
Aguamiel A	4.84	78.82	16.34
Aguamiel B	4.55	90.74	4.72
Jarabe de aguamiel A	5.01	78.94	16.05
Jarabe de aguamiel B	4.26	92.12	3.62
Jarabe de aguamiel cardonal	13.25	28.46	58.29

Hay una diferencia muy marcada en cuanto a la concentración de sacarosa. Willems y Low (2012) analizaron 19 jarabes de aguamiel de Nayarit y Jalisco. Ellos encontraron que el 93 % de los carbohidratos en el producto corresponden a la suma de las concentraciones de glucosa y fructosa. Encontraron que la concentración de sacarosa no rebasaba el 13% en algunas muestras y no fue detectable por HPLC en 6 de las muestras analizadas. Sin embargo, Muñiz-Márquez (2015) analizaron jarabes de agave de Coahuila y ellos detectaron que el calentamiento del aguamiel a temperaturas de pasteurización provoca el incremento en la concentración de sacarosa en estos productos. Determinaron hasta un aumento de 5 veces más con respecto a jarabes elaborados con aguamiel no pasteurizado. Con estos resultados reportados y comparándolos con los obtenidos, encontramos que la composición de los jarabes de aguamiel son dependientes no solamente del origen de del maguey sino también de las condiciones de proceso utilizadas para su producción, impactando de manera directa en sus propiedades fisicoquímicas y nutricionales.

Conclusiones



7 CONCLUSIONES

La caracterización fisicoquímica del aguamiel no es dependiente de la variedad de magüey. Además, la sacarosa es el carbohidrato con mayor presencia.

El parámetro de proceso con mayor efecto sobre las propiedades fisicoquímicas del jarabe de aguamiel es el pH, afectando principalmente el color y la composición de carbohidratos como sacarosa y glucosa + fructosa. Sin embargo, además del pH la temperatura tiene un efecto directo sobre la cristalización y el aumento de azúcares reductores.

Es posible lograr una estandarización del proceso de elaboración de jarabe de agave a través del control de la temperatura y pH, pero de acuerdo al panel de expertos el mejor color y el mejor sabor del jarabe de aguamiel, no están relacionados con el proceso de optimización. Es así que se necesitan análisis sensoriales más profundos para encontrar el jarabe que realmente cumpla con los estándares de comercialización identificando la población objetivo de consumo.

Referencias



8 REFERENCIAS

- Aguilar-González, C., Muñiz-Márquez, D., Rodríguez-Jasso, R., Rodríguez-Herrera, R., & Contreras-Esquivel, J. (2013). *Producción Artesanal del Aguamiel: Una Bebida Tradicional Mexicana*. Revista Científica De La Universidad Autónoma De Coahuila, 5(10), 12-19.
- Alanís, G. & González, M. (2011). *Formas de uso de los magueyes (Agave spp.) en Nuevo León, México*. RESPYN. 5: 287-299.
- Almaguer, G. (2007). *Estudio etnofarmacológico de las diferentes especies endémicas de agave en la medicina tradicional del Estado de Hidalgo* (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Álvarez-Ríos, G.D., Figueredo-Urbina, C.J. & Casas, A. (2020). Physical, chemical, and microbiological characteristics of pulque: management of a fermented beverage in Michoacán, Mexico. *Foods*. 9, 361, doi:10.3390/foods9030361
- Alvídrez-Morales, A., González-Martínez, B., & Jiménez-Salas, Z. (2002). *Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales*. Revista Salud Pública Y Nutrición, 3(3).
- Carrillo-López, A., Silos-Espino, H., Flores-Benítez, S., Espinoza-Sánchez, E.A., Ornelas-Tavares, J.R., Flores-Chávez, L., Tovar-Robles, C., Méndez-Gallegos, J. & Rossel-Kipping, D. (2016). Some Evidences on Effect of Intake Aguamiel (*Agave sap*). *Sustainable Agriculture Research*. 5(1), 49-55
- Chew, Y.L.; Ling Chan, E. W.; Ling Tan, P.; Yan Lim, Y.; Stanlas, J.; Kheng Goh, J. 2011. Assessment of phytochemical content, polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of Leguminosae medicinal plants in Peninsular Malaysia. *Complementary and Alternative Medicine* 11:10.
- Dubois, M., Gillies, K., Hamilton, J., Rebers, P. & Smith, F. (1956). *Colorimetric method for the determination of sugar and related substances*. Analytical Chemistry, 28(3)

- Escalante, A. (2017). *¿Probióticos en el pulque?* Biotecnología En Movimiento, 26-28.
- Escalante, A., Giles-Gómez, M., Flores, G., Acuña, V., Moreno-Terrazas, R., López-Munguía, A., & Lappe-Oliveras, P. (2012). *Pulque Fermentation*. Handbook Of Plant-Based Fermented Food And Beverage Technology, Second Edition, 691-706
- Escalante, A., López, D., Velázquez, J., Giles-Gómez, M., Bolívar, F., & López-Munguía, A. (2016). Pulque, a Traditional Mexican Alcoholic Fermented Beverage: Historical, Microbiological, and Technical Aspects. *Frontiers In Microbiology*, 7, 1-18
- Espíndola-Sotres, V., Trejo-Márquez, M., Lira-Vargas, A., & Ramírez-Ortíz, M. (2018). Estandarización del proceso de elaboración de jarabe a partir de aguamiel. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 3, 515-521.
- Flores, A., Coyotl, J., Hernández, M., Velásquez, L., & Hernández, A. (2006). *Gestión de calidad de una miel obtenida a partir de aguamiel de maguey pulquero (Agave salmiana)*. Colegio Mexicano de Ingenieros Bioquímicos, A. C.
- García-Aguirre, M., Sáenz-Álvaro, V.A., Rodríguez-Soto, M.A., Vicente-Magueyal, F.J., Botello-Álvarez, E., Jiménez-Islas, H., Cárdenas-Manríquez, M., Rico-Martínez, R. & Navarrete-Bolaños, J.L. (2009). Strategy for biotechnological process design applied to the enzymatic hydrolysis of agave fructo-oligosaccharides to obtain fructose-rich syrups. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57, 10205-10210
- García-Mendoza, A. (2007). *Los agaves de México*. Ciencias, (87), 14-23.
- Giles-Gómez, M., Sandoval, J., Matus, V., Campos, I., Bolívar, F., & Escalante, A. (2016). In vitro and in vivo probiotic assessment of *Leuconostoc mesenteroides* P45 isolated from pulque, a Mexican traditional alcoholic beverage. *Springerplus*, 5(1), 1-10

- Guzmán-Pedraza, R. & Contreras-Esquivel, J., 2018. Aguamiel y su fermentación: Ciencia más allá de la tradición. *Mexican Journal of Biotechnology*, (3), pp.1-22.
- Hernández-Ramos, L, 2014. Valor nutracéutico y nutricional de aguamiel y miel de maguey obtenida por tres métodos de deshidratación. Tesis de maestría. Posgrado en Ciencia y Tecnología de alimentos. Universidad Autónoma de Chapingo
- Jaimez-Ordaz, J., Martínez-Ramírez, X., Cruz-Guerrero, A.E., Contreras-López, E., Ayala-Niño, A., Castro-Rosas, J., & González-Olivares, L.G. (2019). Survival and proteolytic capacity of probiotics in a fermented milk enriched with agave juice and stored in refrigeration. *Food Science and Technology*. 39(1), 188-194.
- Leal-Díaz, A.M., Santos-Zea, L., Martínez-Escobedo, H.C., Guajardo-Flores, D., Gutiérrez-Urbe, J.A., & Serna-Saldivar, S.O. (2015). Effect of Agave americana and Agave salmiana Ripeness on Saponin Content from Aguamiel (Agave Sap). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63, 3924–3930
- López, L. (2013). *Elaboración, control y evaluación de la actividad antidiabética de la miel de agave (Agave americana L.)* (Tesis de licenciatura). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- López, M. & Mancilla, N. (2007). *The nature of fructooligosaccharides in Agave plants*. Recent Advances in Fructooligosaccharides Research. 2: 47-67.
- Matías-Luis, G., Peña-Caballero, V., Reyna-González, W., Domínguez-Díaz, L.R. & Martínez-Hernández, J.J. (2019). Valor nutricional y medicinal del pulque. *Journal of Negative and No Positive Results*. 4(12), 1291-1303
- Maturano-Ramírez N.; Olvera C. López-Munguía, A. (2019) Agave sap (aguamiel) characterization at different production times from three agave species from Huitzilac, Morelos. Trabajo en modalidad cartel. Congreso Nacional de la SMBB.

- Mellado-Mojica E., López M.G. 2015. Identification, classification, and discrimination of agave syrups from natural sweeteners by infrared spectroscopy and HPAEC-PAD. *Food Chemistry*.167, 349–357
- Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 31, 426-428
- Moreno-Vilet, L., Michel-Cuello, C., Mota-Santillán, A., González-Chávez, M.M., A. Grajales-Lagunes, A. & Ruiz-Cabrera, M.A. (2010). Obtention of a powder with high fructan content from *Agave salmiana* en Innovations in Food Science and Food Biotechnology in Developing Countries. Asociación Mexicana de Ciencia de Alimentos. México
- Moreno-Vilet L, Leyva-Trinidad D.A. 2020. La miel de maguey: un producto artesanal con potencial para impulsar el cultivo de una planta ancestral. *TECNOAGAVE* 66, 4-8
- Muñiz-Márquez, D., Rodríguez-Jasso, R., Rodríguez-Herrera, R., Contreras-Esquivel, J. and Aguilar-González, C. (2013). Producción artesanal del aguamiel: Una bebida tradicional mexicana. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, (5), 12-19
- Nielsen, S. (1998). *Food Analysis*. 2nd Edition. Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen Publishers, Inc. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5>
- Olvera-Carranza, C., Ávila-Fernandez, A., Bustillo-Armendáriz G.R. & López-Munguía, A. (2015) Processing of Fructans and Oligosaccharides from Agave Plants, Editor(s): Victor Preedy, *Processing and Impact on Active Components in Food*, Academic Press, Pages 121-129,
- Olvera, C. & López-Munguía, A. (2014). Agroindustrial synthesis of fructans from sucrose en Biotechnology: Beyond Borders. CINVESTAV, Irapuato, México
- Ortíz-Basurto, RI, Pourcelly G, Doco T, Williams P, Dornier M, Belleville MP. 2008. *Analysis of the Main Components of the Aguamiel Produced by the Maguey-*

- Pulquero (Agave mapisaga) throughout the Harvest Period. Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 3682–3687.
- Puente-Garza, C.A., García-Lara, S. & Gutiérrez-Urbe, J.A. (2017). Enhancement of saponins and flavonols by micropropagation of *Agave salmiana*. *Industrial Crops and Products*. 105, 225-230
- Ramírez, A. (2010). Evaluación del efecto prebiótico del aguamiel de maguey (*Agave salmiana*) en *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional.
- Ramírez-Godíez, J., Gutiérrez-Rodríguez, J.F., Contreras-López, E., Rodríguez-serrano, G.M., Castañeda-Ovando, A., Jaimez-Ordaz, J. & González-Olivares, L.G. (en prensa). Agave juice improves survival and proteolytic activity of *Lactobacillus rhamnosus* GG during ripening of semi-ripened Mexican cheese. *Food Science and Technology. Campinas*
- Ramírez, L. & Yáñez, A. (2014). *Comercialización de una nueva bebida probiótica de agave entre la población urbana y la población rural. México*. European Scientific Journal, 10(31), 1857 – 788.
- Ritsema, T. & Smeekens, S.C.M. (2003). Engineering fructan metabolism in plant. *Journal of Plant Physiology*. 160(7), 811-820
- Romero-López, M., Osorio-Díaz, P., Flores-Morales, A., Robledo, N., & Mora-Escobedo, R. (2015). *Hemical composition, antioxidant capacity and prebiotic effect of aguamiel (agave atrovirens) during in vitro fermentation*. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 14(2), 281-292
- Sánchez, F. (2017). *Tecnología para conservar el aguamiel*. Agencia informativa del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Retrieved 28 February 2018, from <http://www.conacytprensa.mx/index.php/tecnologia/biotecnologia/15881-tecnologia-conservar-aguamiel>

- Sánchez, V., Concha, V., Prieto, L., & Carranza, J. (2016). *Encapsulación del jarabe de agave*. *Investigación Y Desarrollo En Ciencia Y Tecnología De Alimentos*, 1(1), 600-605.
- Santos-Zea L, Leal-Díaz A.M., Jacobo-Velázquez D.A., Rodríguez-Rodríguez J., García-Lara S., Gutiérrez-Urbe J.A. 2016. Characterization of concentrated agave saps and storage effects on browning, antioxidant capacity and amino acid content. *Journal of Food Composition and Analysis* 45,113–120.
- Sidana, J., Singh, B. & Sharma, O.P. (2016). Saponins of *Agave*: Chemistry and bioactivity. *Phytochemistry*. 130, 22-46
- Silos-Espino, G., González-Cortés, N., Carrillo-López, A., Guevaralara, F., Valverde-González, M., & Paredes-López, O. (2007). *Chemical composition and in vitro propagation of Agave salmiana 'Gentry'*. *The Journal Of Horticultural Science And Biotechnology*, 82(3), 355-359.
- Slavin, J. (2013). Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417-1435
- Stoddart, L. A., Smith, N. J. and Milligan G. (2008). Free fatty acid receptors FFA1, -2, and -3: pharmacology and pathophysiological functions. *Pharmacological Reviews* 60, 405-417
- Tapia, O. (2016). *Estandarización de condiciones de producción de pulque a partir de savia Agave salmiana* (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Tovar, L., Olivos, M. & Gutiérrez, M. (2008). *Pulque, an alcoholic drink from rural Mexico, contains phytase. Its in vitro effects on corn tortilla*. *Plant Food Hum Nutr.* 63, 189-194.
- Ulloa, J.A., Espinosa-Andrews, H.E., Cruz-Rodríguez, G.K., Rosas-Ulloa, P., Ulloa-Rangel, Ramírez-Ramírez, J.C. (2010). Los fructanos y su papel en la promoción de la salud. *Revista Fuente*. 5, 57-62

- Vadeputte, D., Falony, G., Vieira-Silva, S., Wang, J., Sailer, M., Theis, S., Verbeke, K. & Raes, J. (2017). Prebiotic inulin-type fructans induce specific changes in the human gut microbiota. *Gut Microbiota*. 66, 1968-1974
- Valadez-Blanco, R., Bravo-Villa, G., Santos-Sánchez, N., Velasco-Almendarez, S., & Montville, T. (2012). *The Artisanal Production of Pulque, a Traditional Beverage of the Mexican Highlands*. Probiotics And Antimicrobial Proteins, 4(2), 140-144.
- Vásquez, A. (2009). *Evaluación de dos procesos para la obtención de miel del Agave atrovirens karw* (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro".
- Vicente-Magueyal, F.J., Bautista-Méndez, A., Villanueva-Tierrablanca, H.D., García-Ruíz, J.L., Jiménez-Islas, H. & Navarrete-Bolaños, J.L. (2020). Novel process to obtain agave sap (aguamiel) by directed enzymatic T hydrolysis of agave juice fructans. *LWT - Food Science and Technology*. 127: 109387
- Villarreal-Morales, S.L., Enríquez-Salazar, M.I., Michel-Michel, M.R., Flores-Gallegos, F.G., Montañez-Saens, J., Aguilar, C.N. & Rodríguez-Herrera, R. (2019) Metagenomic Microbial Diversity in Aguamiel from Two Agave Species During 4-Year Seasons. *Food Biotechnology*, 33:1, 1-16, DOI: 10.1080/08905436.2018.1547200
- Willems, J.L. & Low, N.H. (2012). Major carbohydrate, polyol, and oligosaccharide profiles of agave syrup. application of this data to authenticity analysis. *Journal of agricultural and food chemistry*. 60, 8745-8754

Anexas



9 ANEXOS

9.1 Soluciones

9.1.1 Preparación de reactivos para la determinación de carbohidratos totales

9.1.1.1 Solución patrón de glucosa

Se preparó una solución de glucosa con una concentración de 100 µg/mL, para lo cual se disolvieron 10 mg de glucosa en agua destilada y se aforó a un volumen de 100 mL con agua destilada.

9.1.1.2 Solución de fenol al 5% (p/v)

Se disolvieron 2.5 g de fenol aforando a 50 mL con agua destilada.

9.1.2 Preparación de reactivos para la determinación de azúcares reductores

9.1.2.1 Solución patrón de glucosa

Se preparó una solución de glucosa con una concentración de 1 g/L, para lo cual se disolvió 0.1 g de glucosa y se aforó a 100 mL con agua destilada.

9.1.2.2 Solución de ácido dinitrosalicílico (DNS)

Se preparó una solución de ácido 3,5 dinitrosalicílico, para lo cual se pesó 1 g de este ácido y se aforó en 100 mL con reactivo de Fehling B, posteriormente se filtró.