

CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE *Agave shrevei* Gentry

Phytochemical characterization of Agave shrevei Gentry

Eli Amanda Delgado-Alvarado

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Instituto Politécnico Nacional. Unidad Durango, Sigma 119, Durango, México.

José Antonio Ávila-Reyes

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Instituto Politécnico Nacional. Unidad Durango, Sigma 119, Durango, México.

*Autor para correspondencia: jaavre@yahoo.com.mx

Rene Torres-Ricario

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Instituto Politécnico Nacional. Unidad Durango, Sigma 119, Durango, México.

Nestor Naranjo-Jiménez

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Instituto Politécnico Nacional. Unidad Durango, Sigma 119, Durango, México.

Ana Isabel Chaidez-Ayala

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Instituto Politécnico Nacional. Unidad Durango, Sigma 119, Durango, México.

Norma Almaraz-Abarca

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Instituto Politécnico Nacional. Unidad Durango, Sigma 119, Durango, México.

Resumen

En este trabajo se describe y cuantifica la presencia de alcaloides totales, fenoles totales, flavonoides y taninos en muestras de hojas de *Agave shrevei*, planta usada tradicionalmente para fabricar bebidas destiladas en los estados de Durango, Chihuahua y Sonora, como parte de un proyecto de conocimiento integral del género *Agave* que permitan elaborar estrategias de uso y conservación de estos recursos vegetales. Para lo anterior se aplicaron técnicas de extracción alcohólica y cuantificación por espectroscopia de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos, y una primera caracterización por HPLC-DAD. La información fitoquímica generada demuestra el potencial uso farmacológico y alimenticio de los compuestos presentes en *A. shrevei*.

Palabras clave: *Agave shrevei*, fenoles, flavonoides.

Abstract

The current paper describes and quantifies the presence of total alkaloids, total phenolics, flavonoids and tannins in samples of *Agave shrevei* leaves, a plant traditionally used to produce distilled beverages in Durango, Chihuahua and Sonora, Mexico, as a part of a project on the integral knowledge of *Agave* that allows the development of strategies for the use and conservation of these plant resources. Quantifications of alkaloids, total phenolics, flavonoids and tannins were carried out by spectroscopic methods, and the phenolic profile was obtained from HPLC-DAD. The phytochemical information generated revealed the pharmacological and nutritional potential use of *A. shrevei*.

Keywords: *Agave shrevei*, phenolics, flavonoids.

Introducción

El género *Agave* comprende alrededor de 166 a 200 especies, de acuerdo a los criterios de Good-Ávila et al. (2006) y de García-Mendoza (2002), respectivamente. En México crecen alrededor de 125 especies (Good-Ávila et al., 2006), por lo que el país es considerado centro de origen y evolución de esta planta (Granados, 1999).

Los pobladores de lo que se ha llamado Mesoamérica y Aridoamérica, desde su llegada a esta región y hasta la actualidad, han hecho uso de los agaves para cubrir sus necesidades de alimento (bebida, comida y condimentos), material de construcción y medicamentos, además de obtención de fibras (tejido y vestuario), herramientas y enseres domésticos, objetos de ornato, uso agrícola, religioso y elaboración de papel para códices (Granados, 1999; Colunga-GarcíaMarín y Zizumbo-Villarreal, 2007), aprovechamiento que ha tenido gran influencia en el desarrollo cultural de los pueblos mesoamericanos y refleja la capacidad del hombre para aprovechar los elementos que conforman su ambiente para satisfacer sus necesidades (Granados, 1999).

Este ejemplo de aprovechamiento casi integral de los agaves, en mucho se debe a su composición fitoquímica y, junto con otras muchas plantas en el mundo, constituyen la mayor fuente de fármacos usados en la medicina (Da Cunha y Roque, 2005), por lo que los estudios de caracterización fitoquímica de las plantas se han vuelto una constante para profundizar en su conocimiento, en la búsqueda de aprovechamientos alternos y en la preservación del recurso.

Almaraz et al. (2013) reportó una serie de estudios sobre la composición fenólica de alrededor de 12 especies de *Agave*, en una tendencia que se ha ampliado como una forma de conocer más sobre las características de esta planta.

Actualmente, el crecimiento de la industria mezcalera y tequilera han creado la necesidad de conocer en forma integral las especies de agaves que son utilizadas principalmente para la producción de esas bebidas (Almaraz et al., 2009), actividad económica que, por su volumen de producción, genera una mayor exigencia de conocer y utilizar las especies adecuadas para garantizar la regularidad en las propiedades del producto, además de cumplir con una serie de lineamientos y características que constituyen la Denominación de Origen del Mezcal (DOM).

Este concepto que busca la regulación de esta industria, ha creado un problema de exclusión de regiones y especies de *Agave* que ahora no pueden usarse y comercializarse de la misma forma que las especies consideradas para que el mezcal sea un producto homogéneo en cuanto a componentes y mecanismos de producción. Colunga-García Marín et al. (2007) reporta que en 24 entidades de la República Mexicana se han registrado 42 especies, 7 subespecies y 7 variedades de *Agave* usadas en la producción de mezcal mientras que la Denominación de Origen del Mezcal solo reconoce 5 taxa en solo siete estados de México, lo que relega del aprovechamiento y estrategias de conservación a 37 taxa fuera del área de denominación y 31 dentro del área de los siete estados considerados en la DOM. Esto crea una desigualdad

ecológica entre las poblaciones de las diferentes especies de *Agave* no consideradas en la denominación de origen ya que su aprovechamiento seguirá dándose a partir de plantas silvestres y, en lo económico y social, un diferencial entre los habitantes de estas regiones.

Esta situación ocasionada por una convención comercial, podría mitigarse a partir de dos probables estrategias: a) la generación de otras bebidas o productos comestibles de los agaves excluidos de la DOM, y b) la ampliación del número de especies de *Agave* consideradas en la DOM. En ambos casos se debe trabajar en el conocimiento integral de estas plantas desde el punto de vista biológico, agronómico, ecológico y cultural (Colunga-García Marín et al., 2007).

Con este propósito, este trabajo describe el contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos del tejido foliar de *Agave shrevei*, planta que se usa para producir mezcal en Durango y para producir bacanora en Sonora (Colunga-García Marín et al., 2007, Frisby et al., 2018) y cuyo aprovechamiento no está reconocido en la NOM-EM-007-SCFI-2000, Bebidas alcohólicas-Mezcal-Especificaciones.

Materiales y métodos

Colecta y preparación de material vegetal

Las muestras fueron obtenidas del material colectado por personal del Herbario CIIDIR, previo depósito del material en su colección (número de voucher:---). El material consistió en hojas de individuos adultos, colocadas en secador botánico durante una semana para deshidratarlas.

Preparación de Extractos.

El material seco (5g) se molió y maceró en etanol al 80% por 24 horas a temperatura ambiente; posteriormente se colocó por una hora en sonicador y se centrifugó por 5 minutos a 5000 rpm. El extracto se llevó a sequedad y se determinó el rendimiento.

Determinación de fenoles totales, flavonoides y taninos

Se realizaron de acuerdo a lo reportado por Ávila -Reyes et al. (2018) y Monreal-García et al. (2019).

Los cálculos para estimar la concentración de Fenoles Totales se hicieron a partir de una curva estándar de Ácido Gálico ($y=3.3908x + 0.2505$ y $R= 0.9934$) y se reportan como miligramos Equivalentes de Ácido Gálico por gramo de Tejido Seco (mg EAG/gTS).

Los cálculos para estimar la concentración de Flavonoides se hicieron a partir de una curva estándar de Quercetina ($y=11.124x + 0.0805$ y $R= 0.9957$) y se reportan como miligramos Equivalentes de Quercetina por gramo de Tejido Seco (mgEQ/gTS).

Los cálculos para estimar la concentración de Taninos Condensados se hicieron a partir de una curva estándar de Epicatequina ($y=0.1208x + 0.006$ y $R= 0.9978$) y se reportan como miligramos Equivalentes de Epicatequina por gramo de Tejido Seco (mgEp/gTS).

Determinación de Alcaloides

La preparación de los extractos se realizó a partir de 4 gr de muestra, y el de extracción de alcaloides fue de acuerdo a lo reportado por Zamora-Natera, et al (2008). La estimación de alcaloides se realizó como lo menciona Fadhi, et al (2007).

Los cálculos para estimar la concentración de Alcaloides se hicieron a partir de una curva estándar de Atropina ($y = 0.236x - 0.0207$ y R de 0.977) y se reportan como microgramos Equivalentes de Atropina por gramo de Tejido Seco ($\mu\text{g EA/gr TS}$).

Análisis en HPLC/DAD

Los extractos obtenidos se filtraron y se inyectaron en HPLC Perkin Elmer Serie 200 con un detector de Arreglo de Diodos Serie 200, se usó una columna C-18 fase inversa y las condiciones del análisis fueron las reportadas por Campos y Markham (2007). Se usaron estándares de referencia.

Capacidad antioxidante

Se evaluará el poder de secuestro de los radicales ABTS, DPPH y radical superóxido.

Se evaluará la capacidad de captura de radicales DPPH, de acuerdo al método reportado por Zhang et al., (2011), midiendo la reducción del radical DPPH a 517 nm, se emplearán estándares de referencia. Se evaluará también la captación del radical ABTS empleando la metodología de Seedeve et al., (2017), usando estándares de referencia. Los resultados serán expresados como % de inhibición en la formación de cationes del radical ABTS. El secuestro del radical superóxido se evaluará de acuerdo con lo reportado por Seedeve et al., (2017), lectura a 560nm, empleando ácido L ascórbico y BHA como estándares.

Resultados y discusión

En general, los resultados obtenidos demuestran que la presencia y concentración de fenoles, taninos, flavonoides y alcaloides, coinciden con lo reportado en la literatura del tema. Algunas diferencias que pueden detectarse se explican por las características de las técnicas usadas o por el material a partir del cual se obtuvieron los extractos a cuantificar

En la Cuadro 1 se reportan los rendimientos de fenoles totales, flavonoides totales y taninos a partir de las muestras foliares de *Agave shrevei*, principales metabolitos en los que radican las características terapéuticas de estas plantas (Almaraz et al., 2013).

La concentración de fenoles totales registrada en el mismo Cuadro, si lo comparamos con las concentraciones reportadas para otras plantas (Jiménez-Zamora et al., 2016), es adecuada para considerar su extracción y tratamiento para su probable uso, en un estudio de costo beneficio.

Con respecto a los flavonoides y taninos, ambos metabolitos considerados como los principales compuestos responsables de funciones terapéuticas y en la alimentación humana y de animales, sus concentraciones son similares a lo reportado en otros trabajos (Barriada-Bernal et al., 2014).

En el mismo Cuadro se reporta el contenido total de alcaloi-

des, cuya presencia no es significativa si se compara con las concentraciones encontradas en otras especies vegetales, por ejemplo, lo registrado por Zamora-Natera et al. (2018), que reporta 27.1 mg por gramo de *Lupinus mexicanus*, aunque las cantidades medidas en las muestras de este trabajo son similares a las reportadas por Ahumada-Santos et al. (2013) para agaves presentes en Sinaloa, México.

En la Figura 1 se reporta la información estructural de 4 derivados de canferol, un derivado de quercetina y una flavona, identificados en el cromatograma resultante del análisis hecho en el HPLC-DAD. Estos datos concuerdan con los tipos de compuestos reportados para otras especies como *Agave americana*, *A. barbadensis*, *A. sisalana*, *A. attenuata* y *A. tequilana*, en revisión hecha por Almaraz et al. (2013), y los compuestos enlistados para *A. durangensis* por Barriada et al. (2014). Los compuestos más abundantes son los derivados de canferol y de quercetina, ambos se encuentran entre los compuestos fenólicos más comunes en las plantas.

Cuadro 1. Caracterización química in vitro de *Agave shrevei*

Contenido Fenoles totales (mg EAG/g TS)	3.7528 ± 0.1763
Contenido Flavonoides totales (mg EQ/g TS)	2.6390 ± 0.2333
Contenido Taninos condensados ($\mu\text{g EEP/g TS}$)	0.2614 ± 0.0125
Contenido Alcaloides totales ($\mu\text{g EA/g TS}$)	45.233 ± 2.802
Capacidad bloqueadora de DPPH* (mg/mL)	12.544 ± 0.549

Los valores representan la media y desviación estándar (n=3).

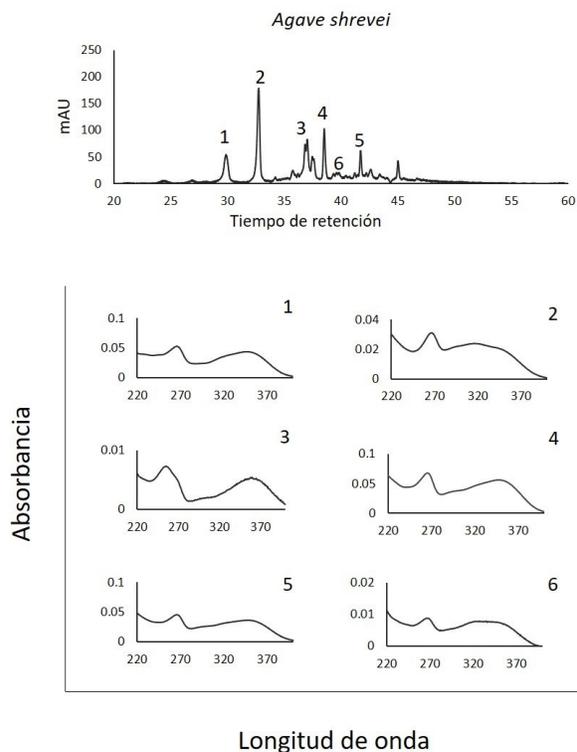


Figura 1. Análisis en HPLC-DAD. Cromatograma y compuestos fenólicos [1] derivado 7-O- glicósido de canferol (TR: 29.82); 2) flavona (TR: 32.732); 3) quercetina aglicona (TR: 36.362); 4) canferol 3 -O- glicósido (TR: 38.536); 5) derivado glicósido de canferol (TR: 39.597); 6) derivado glicósido de canferol (TR: 41.721)] presentes en el extracto foliar de *Agave shrevei*. Longitud de onda en nm.

Conclusiones

Los metabolitos detectados en este trabajo implican una aproximación a las características de *Agave shrevei*, que permiten ubicar esta planta como una posible adición a las especies de Agave ya enlistadas en la NOM-EM-007-SCFI-2000, Bebidas alcohólicas-Mezcal-Especificaciones, además de demostrar que los metabolitos y sus concentraciones tiene posibilidades de ser tenidos en cuenta en las áreas de la medicina y la alimentación. Además de las capacidades ya conocidas con amplitud, también se han reportado que las preparaciones de extractos líquidos de hojas de agaves poseen propiedades antibacteriales, nematocidas e insecticidas, lo que amplía las posibilidades de transformación y utilización de estas plantas.

Es evidente que el potencial de los agaves aún es un campo en el que muchos compuestos y propiedades quedan por describir y descubrir, por lo que la elaboración de más estudios es el camino para el conocimiento integral de las plantas del género *Agave*.

Literatura citada

- Ahumada-Santos, Y. P., Montes-Ávila, J., Uribe-Beltrán, M. J., Díaz-Camacho, S. P., López-Angulo, G., Vega-Aviña, R., López-Valenzuela, J. A., Heredia, J. B., Delgado-Vargas, F. 2013. Chemical characterization, antioxidant and antibacterial activities of six Agave species from Sinaloa, México. *Industrial Crops and Products*. 49: 143-149.
- Almaraz-Abarca N., E. A. Delgado-Alvarado, J. A. Ávila-Reyes, J. N. Uribe-Soto, L. S. González-Valdez. 2013. The phenols of the genus *Agave* (Agavaceae). *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*. 4:9-16.
- Ávila-Reyes, J. A., Almaraz-Abarca, N., Chaidez-Ayala, A. I., Ramírez-Noya, D., Delgado-Alvarado, E. I., Torres-Ricario, R., Naranjo-Jiménez, N., Alanis-Bañuelos, R. E. 2018. Foliar phenolic compounds of ten wild species of Verbenacea as antioxidants and specific chemomarkers. *Braz J Biol*, 78 (1): 98-107
- Barriada-Bernal L. G., N. Almaraz-Abarca, E. A. Delgado-Alvarado, T. Gallardo-Velázquez, J. A. Ávila-Reyes, M. I. Torres-Morán, M. S. González-Elizondo, Y. Herrera-Arrieta. 2014. Flavonoid composition and antioxidant capacity of the edible flowers of *Agave durangensis* (Agavaceae). *CYTA-Journal of Food*. 12:105-114.
- Campos, M. da G., Markham, K.R. 2007. Structure information from HPLC and on-line measured absorption spectra: flavones, flavonols and phenolic acids. *Imprensa da Universidade de Coimbra*.
- Colunga-GarcíaMarín P., D. Zizumbo-Villarreal. 2007. El tequila y otros mezcales del centro-occidente de México: domesticación, diversidad y conservación de germoplasma. In: *En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves*. Editores: Patricia Colunga-García Marín, Alfonso Larqué Saavedra, Luis E. Eguiarte y Daniel Zizumbo-Villarreal. CICY-CONACYT-CONA-
- CYT-CONABIO-SEMARNAT-INE. México, pp 113-132.
- Colunga-GarcíaMarín P., D. Zizumbo-Villarreal, J. Martínez-Torres. 2007. Tradiciones en el aprovechamiento de los agaves mexicanos: una aportación a la protección legal y conservación de su diversidad biológica y cultural. In: *En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves*. Editores: Patricia Colunga-García Marín, Alfonso Larqué Saavedra, Luis E. Eguiarte y Daniel Zizumbo-Villarreal. CICY-CONACYT-CONABIO-SEMARNAT-INE. México, pp 229-248
- Da Cunha A. P. y O. R. Roque. 2005. A farmacognosia nos estudos farmacéuticos. In: A. P. Da Cunha, Ed. *Farmacognosia e fitoquímica*, Fundação Calouste Gulbenkain, Lisboa. Portugal.
- Fadhil, S., Reza, M.H., Rouhollah, G., Reza, V.R.M. 2007. Spectrophotometric determination of total alkaloids in *Peganum harmala L.* using bromocresol green. *Research Journal of Phytochemistry*, 1(2): 79-82.
- Frisby Morales, A., A. Córdova Yáñez, F. A. Medina Ortíz. 2018: Diversificación en el uso del agave del bacanora: oportunidad económica para Sonora. In: *Impacto socio-ambiental, territorios sostenibles y desarrollo regional desde el turismo*. Universidad Nacional Autónoma de México y Asociación Mexicana de Ciencias para el Desarrollo Regional A.C, Coeditores, México. ISBN UNAM: 978-607-30-0971-3, ISBN AMECIDER: 978-607-8632-02-2
- García-Mendoza A. 2002. Distribution of the genus *Agave* (Agavaceae) and its endemic species in Mexico. *Cactus and Succulent Journal*. 74:177-187.
- Good-Ávila, S. V., V. Souza, B. S. Gaut, L. E. Eguiarte. 2006. Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae). *Proc. Natl. Acad. USA.*, 103:9124-9129.
- Granados Sánchez D. 1999. Los agaves en México. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- Monreal-García, H. M., Almaraz-Abarca, N., Ávila-Reyes, J. A., Torres-Ricario, R., González-Elizondo, M. S., Herrera-Arrieta, Y., Gutiérrez-Velázquez, M. V. 2019. Phytochemical variation among populations of *Fouquieria splendens* (Fouquieriaceae). *Botanical Sciences*, 97 (3): 398-412.
- Zamora-Natera, F. García-López, P., Ruíz-López, M., Salcedo-Pérez, E. 2008. Composición de alcaloides en semillas de *Lupinus mexicanus* (fabaceae) y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo. *Agrociencia*, 42(2).