



## **Propiedades químicas, estructurales y funcionales de la lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.)**

Juan E. Carmona<sup>1</sup>

Thelma K. Morales-Martínez<sup>1</sup>

Solange I. Mussatto<sup>2</sup>

David Castillo-Quiroz<sup>3</sup>

Leopoldo J. Ríos-González<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. México.

<sup>2</sup> Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability, Technical University of Denmark, Kemitorvet, Building 220, 2800, Kongens Lyngby, Denmark.

<sup>3</sup> Campo Experimental Saltillo, CIRNE, INIFAP. México.

\* Autor por correspondencia, email: leopoldo.rios@uadec.edu.mx

**Resumen:**

*Agave lechuguilla* es un recurso forestal no maderable de las zonas áridas y semiáridas del noreste de México; por el área de distribución que ocupa, resulta interesante evaluar el potencial de esta materia prima para aplicaciones biotecnológicas como la producción de biocombustibles de segunda generación y productos químicos con alto valor agregado en beneficio de los productores del área rural. El objetivo del presente trabajo fue evaluar las propiedades químicas, estructurales y funcionales de la biomasa de *A. lechuguilla*, que permitan determinar su potencial para la obtención de antioxidantes como productos de alto valor agregado. El estudio del material por Espectrometría Infrarroja por Transformadas de Fourier (FTIR) y por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) confirmaron las características comunes de los compuestos lignocelulósicos de este tipo de materiales. De acuerdo a la caracterización química, los principales componentes fueron los compuestos extractivos (45.34 %), seguidos de los azúcares estructurales: celulosa y hemicelulosa (34.87 %) y lignina total de 7.32 %. Se evaluó el efecto de diferentes solventes (metanol, etanol y acetona) con NaOH en la obtención de extractos antioxidantes. Todos los extractos mostraron actividad antioxidante (ensayos DPPH, FRAP y CAT), con una mejor afinidad para su extracción y preservación con la acetona (89.75 % por DPPH; 1.60 mM Fe(II) g<sup>-1</sup> de biomasa por FRAP y 1.75 mg  $\alpha$ -tocoferol g<sup>-1</sup> de biomasa por CAT). Los resultados revelan el potencial de *A. lechuguilla* para la extracción de antioxidantes como productos de interés en la industria farmacéutica y alimentaria.

**Palabras clave:** *Agave lechuguilla* Torr., antioxidantes, características estructurales, composición química, propiedades funcionales.

Fecha de recepción/ Reception date: 10 de abril de 2017.

Fecha de aceptación/ Acceptance date: 6 de mayo de 2017.

## Introducción

Diferentes especies de agave han mostrado, *in vitro* e *in vivo*, actividad antimicrobiana y antifúngica (García *et al.*, 1999; Sánchez *et al.*, 2005; Verástegui *et al.*, 2008; De Rodríguez *et al.*, 2011), antiinflamatoria (Peana *et al.*, 1997; García *et al.*, 2000), antioxidante (Singh *et al.*, 2003; Ben Hamissa *et al.*, 2012), molusquicida (Brackenbury y Appleton, 1997; Abdel-Gawad *et al.*, 1999), antidiabética (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005) y actividad citotóxica contra algunas líneas de célula cancerígena (Yokosuka y Mimaki, 2009; Man *et al.*, 2010; Podolak *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011). Estas propiedades son atribuidas a ciertos fitoquímicos como saponinas, sapogeninas, compuestos fenólicos y fructanos. Además de las propiedades benéficas citadas, las saponinas de diferentes plantas son antiparasitarias, antivirales, cicatrizantes de heridas, antioxidantes, antiulcerogénicas, inmunomoduladores, hepatoprotectoras, neuroprotectoras, antimutagénicas, antiespasmódicas, hipolipemiantes y con actividades hipocolesterolémicas (Sparg *et al.*, 2004).

Adicionalmente, la hidrólisis de fructanos podría ser una fuente de oligosacáridos prebióticos (Ávila-Fernández *et al.*, 2011) y monosacáridos como glucosa y fructosa. Debido a que los fructanos son la principal reserva de carbohidratos solubles en agua de los agaves, su contenido representa el principal componente de varias especies (35 % a 70 % base peso seco) y dado que su hidrólisis libera de 80 % a 86 % de fructosa y de 10 % a 15 % de glucosa, son usados para la producción de jarabes, la cual es una de las aplicaciones más recientes de estas plantas (Escamilla-Treviño, 2012).

A pesar de que las hojas frescas representan alrededor de 25 % de la planta (base húmeda), ese material no se utiliza (Iñiguez-Covarrubias *et al.*, 2001), ya que su contenido de azúcares no estructurales es inferior, comparado con la parte central

del individuo, conocida tradicionalmente como cabeza o piña; sin embargo, es factible usar las hojas para la extracción de fibras, papel o la producción de biocombustibles, como el etanol (Idarraga *et al.*, 1999; Narvaéz-Zapata y Sánchez-Teyer, 2009; de Paula *et al.*, 2012).

La lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr., Asparagaceae) (Tropicos, 2017) es un recurso forestal no maderable, es un taxa nativo de las zonas áridas y semiáridas del sur de los Estados Unidos de América y del noreste de México (Castillo *et al.*, 2011). Su área de distribución nacional cubre una superficie aproximada de 20 millones de hectáreas, comprende los estados de Coahuila, Chihuahua, Nuevo León, Durango, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas (Castillo *et al.*, 2011).

*A. lechuguilla* aporta importantes beneficios socioeconómicos a los pobladores del área rural, ya que la extracción de su fibra ha constituido una actividad de subsistencia familiar por más de 70 años y representa empleos directos (Castillo *et al.*, 2013); además de, las ventajas que significa la comercialización de la materia prima que de ella se obtiene (Castillo *et al.*, 2011), cuya transformación origina diversos productos, como cepillos para uso industrial y doméstico, entre otros; su mercado fundamental es el internacional, de tal manera que 93 % de su producción se exporta, principalmente a los Estados Unidos de América, los Países Bajos, Suiza y Honduras (Castillo *et al.*, 2011), naciones donde México es el único exportador.

Tradicionalmente, la fibra de lechuguilla se obtiene del cogollo, al cual lo integran las hojas más tiernas de la planta, agrupadas en su porción central (Castillo *et al.*, 2005; Narcia *et al.*, 2012); esta fibra tiene menor lignificación, en comparación con la de las hojas laterales. En la actualidad, su aprovechamiento en el campo está relacionado con altos índices de marginación, por ello es necesario buscar nuevas alternativas a la extracción de fibra, como la obtención de productos químicos con valor agregado y que sería una oportunidad de mejoramiento de la calidad de vida de los pobladores de las zonas áridas y semiáridas, donde se desarrolla esta especie.

Dada la escasa información sobre su aprovechamiento para aplicaciones biotecnológicas (Hernández *et al.*, 2005; Almaraz-Abarca *et al.*, 2013), el objetivo de la presente investigación fue evaluar las propiedades químicas, estructurales y funcionales de la biomasa de *Agave lechuguilla* que permitan determinar su potencial para la extracción de antioxidantes, como productos químicos de alto valor agregado.

## **Material y Métodos**

### **Recolección de la materia prima y preparación de muestras**

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SEMARNAT-1996 que limita el aprovechamiento del cogollo de *Agave lechuguilla* Torr., la recolección de las muestras de las poblaciones naturales se llevó a cabo durante el mes de marzo en el ejido Paredón del municipio Ramos Arizpe, Coahuila, México (25°55'47" N 101°55'47" O), ubicado a una altitud de 728 m, con 33 °C de temperatura media anual, y 269 mm de precipitación media anual. Su clima corresponde a muy seco o árido, con invierno fresco (García, 1973), su tipo de vegetación es un matorral desértico rosetófilo (Marroquín *et al.*, 1981).

Las muestras recolectadas se lavaron con agua de grifo para eliminar tierra e impurezas. Una vez secas, se recortaron manualmente a una dimensión de aproximadamente 1- 2 cm<sup>2</sup>, y colocaron en un horno de convección *Koleff-KL10* hasta alcanzar una humedad <10 % (p/p). Las muestras deshidratadas fueron molidas en un molino de corte *Retsch-SM100* a un tamaño de partícula promedio de 2 mm. La muestra obtenida se homogenizó y almacenó en contenedores de plástico, a temperatura ambiente.

## **Determinación de la composición química**

La determinación de extractivos se realizó de acuerdo a Sluiter *et al.* (2008), con agua ultrapura y etanol absoluto como disolventes en dos etapas secuenciales. La de celulosa, hemicelulosa y lignina se hizo con base en los procedimientos del Laboratorio Nacional de Energías Renovables (Sluiter *et al.*, 2012), con una modificación (Mussatto *et al.*, 2011): 500 mg del material se hidrolizó con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 72 % (p/p), durante 7 minutos a 50 °C. Subsecuentemente, el hidrolizado se diluyó a 4 % (p/p) con agua destilada. Una segunda hidrólisis se efectuó autoclavando la mezcla de reacción, a 121 °C durante 1 h; la solución resultante se filtró a través de filtros de 0.2- $\mu$ m, y la fracción líquida fue analizada por HPLC para la determinación de glucosa (celulosa), arabinosa, manosa, galactosa y xilosa (hemicelulosa), de acuerdo a Mussatto y Roberto (2006).

El contenido de lignina ácido soluble (libre de cenizas), se calculó según lo descrito por Mussatto y Roberto (2006). La fracción sólida recuperada después de la filtración se considera lignina ácido insoluble. El valor de lignina total se obtuvo de la suma de lignina insoluble y soluble.

El contenido de cenizas se estimó por incineración de las muestras a 550 °C, durante 4 h (Horwitz y Latimer, 2005).

## **Potencial antioxidante**

Los extractos de *A. lechuguilla* (licores) se obtuvieron utilizando 2 gramos (base seca) de muestra con 40 mL de cada disolvente: 1) metanol, 2) etanol y 3) acetona al 60 % (v/v) para los tres casos. Cada tratamiento se llevó a cabo a un intervalo de temperatura de 60 a 65 °C, durante 90 min con agitación magnética. El

control, consistió en la misma cantidad de muestra sometida a tratamiento con 40 mL de NaOH al 2 %, en una autoclave a 120 °C por 90 min. Después de este tiempo, los cuatro extractos se separaron por centrifugación a 2 500 rpm durante 20 min y fueron filtrados a través de filtros de 0.22 µm.

La capacidad antioxidante de los extractos se determinó por dos métodos espectrofotométricos: el ensayo de radical libre estable (DPPH) y el ensayo de poder reductor (FRAP), fueron adaptados para una microplaca de 96 orificios (Martins *et al.*, 2012). La capacidad antioxidante total (CAT) se evaluó mediante el método descrito por Prieto *et al.* (1999).

### **Caracterización estructural**

Los espectros FTIR se registraron con el espectrómetro FTIR (Agilent, Cary 630, EE.UU.); los FTIR en el modo de banda de absorción en el intervalo de 650-4 000  $\text{cm}^{-1}$ , con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  y 32 exploraciones. Consecutivamente, los espectros FTIR resultantes se analizaron, normalizaron y se representaron en el *software Origin* (OriginLab®, 2016).

### **Morfología superficial**

Las partículas de *A. lechuguilla* se observaron mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), con un microscopio con cañón de emisión de campo de fuente de electrones de ultra alta resolución (Nova 200 Nano SEM, FEI Company). Previo a los análisis, las muestras se cubrieron con una película delgada (35 nm) de Au-Pd (80-20 % en peso). Las imágenes se obtuvieron aplicando una tensión de aceleración de 10 kV, con aumentos de 200 y 2 000.

## **Análisis**

Todos los experimentos se hicieron por triplicado y los valores registrados representan la media de cada tratamiento, con su desviación estándar correspondiente.

## **Resultados y Discusión**

### **Grupos Químicos y Disposición de Vinculación de los Componentes**

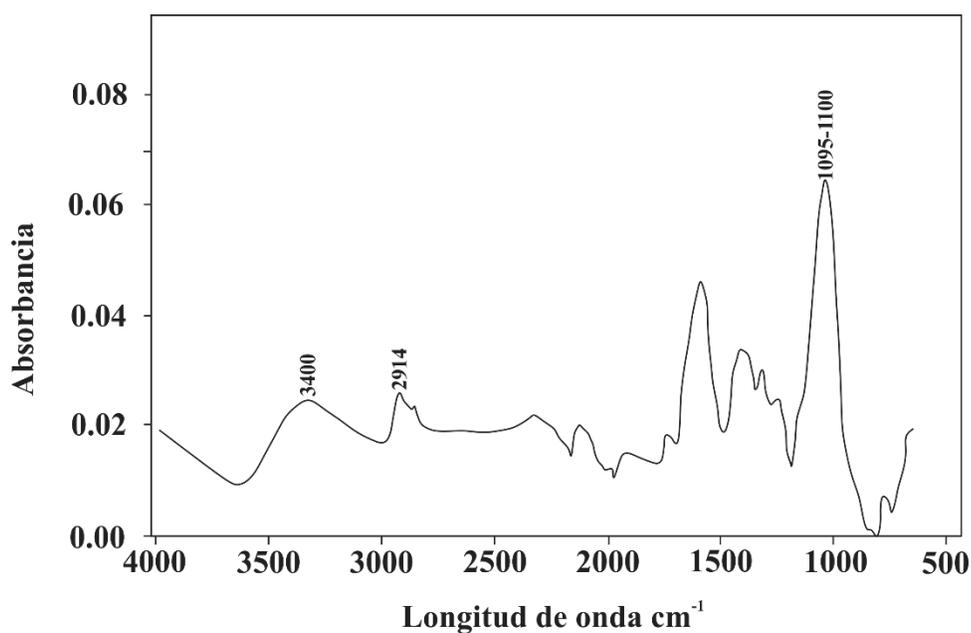
Los análisis FTIR confirmaron que los cogollos de *A. lechuguilla* tienen bandas de absorción típicas de materiales lignocelulósicos; aunque sus magnitudes difieren (Adel *et al.*, 2010).

Dada su naturaleza compleja, sus espectros FTIR suelen estar separados en dos secciones principales; -OH y -CH que se extienden en la región de 3 800-2 700  $\text{cm}^{-1}$ , y la región de huella digital que se asigna a las vibraciones de estiramiento de diferentes grupos de componentes de estos materiales lignocelulósicos a 1 800-800  $\text{cm}^{-1}$  (Poletto *et al.*, 2012).

El pico amplio entre 3400  $\text{cm}^{-1}$  se relaciona con el grupo hidroxilo de la vibración de estiramiento de O-H. Las señales entre 2 920  $\text{cm}^{-1}$  y 2 850  $\text{cm}^{-1}$  se observan, comúnmente, en muestras de biomasa lignocelulósica y corresponden a grupos metil y metileno (-CH<sub>3</sub> y -CH<sub>4</sub>), respectivamente; sin embargo, para muestras *A. lechuguilla* esas señales aparecieron en 2 914  $\text{cm}^{-1}$ , lo cual es atribuible al mayor contenido extractivo de esta materia prima, ya que algunos compuestos en

extractivos orgánicos, como ésteres metílicos de ácidos grasos y ésteres metílicos de ácido fenólico, contienen grupos metil y metileno (Poletto *et al.*, 2012).

Las señales registradas en  $1\ 735\ \text{cm}^{-1}$ ,  $1\ 375\ \text{cm}^{-1}$ ,  $1\ 240\ \text{cm}^{-1}$ ,  $1\ 165\ \text{cm}^{-1}$  y  $1\ 060\ \text{cm}^{-1}$  son características del estiramiento y torsión de diferentes grupos de carbohidratos. Para las bandas de *A. lechuguilla* atribuibles al estiramiento simétrico y asimétrico del C-O-C en enlaces glucosídicos, se presentaron a  $1\ 100\ \text{cm}^{-1}$  y  $1\ 095\ \text{cm}^{-1}$  y corresponden a los enlaces  $\beta$ -1,4-glicosídicos que unen unidades de la glucosa en celulosa y hemicelulosa (Figura 1).

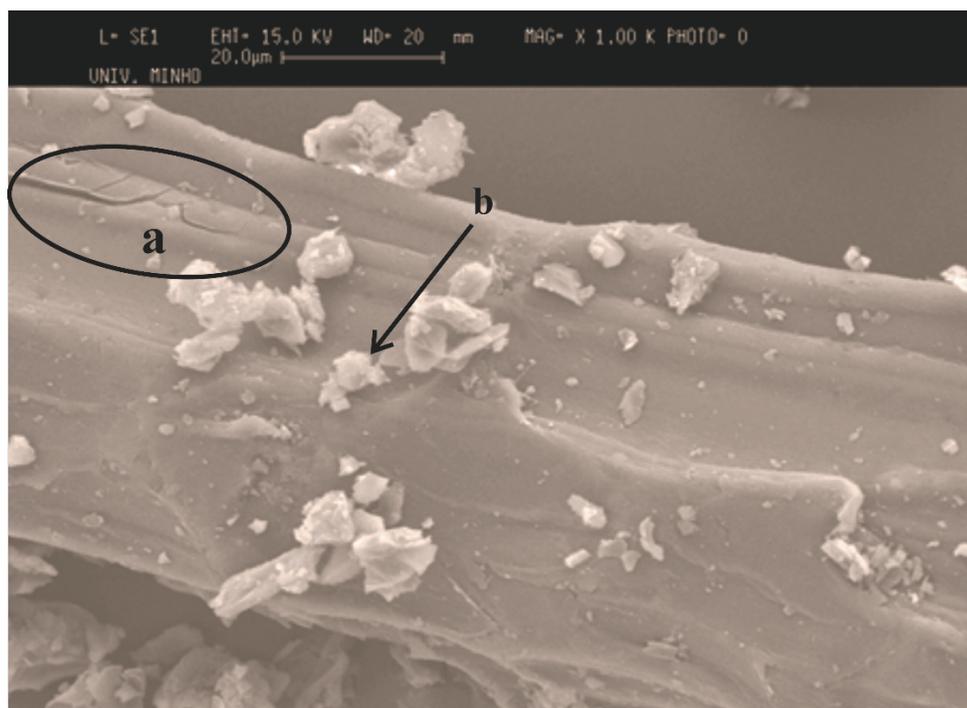


**Figura 1.** Espectro FTIR del cogollo de *Agave lechuguilla* Torr.

## Morfología superficial

Las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido revelaron una estructura rígida en *A. lechuguilla* (Figura 2). Las pequeñas fracturas observadas pueden atribuirse al proceso de la molienda (Figura 2a), y las pequeñas formas

cristalinas (Figura 2b) serían pequeños cristales de oxalato de calcio, comúnmente, presentes en este tipo de biomasa (Pérez-Pimienta *et al.*, 2016).



a) Fracturas de las fibras; b) Formas cristalinas presentes en el material.

**Figura 2.** Micrografías por microscopía electrónica de barrido (SEM) de hojas molidas de *Agave lechuguilla* Torr.

### Composición química

Después de la eliminación de los compuestos extractivos, el material perdió 45.34 % de su peso original, que corresponde a componentes no estructurales como la sacarosa, nitrato/nitritos, proteína, ceniza, clorofila y compuestos grasos propios de la planta (Sluiter *et al.*, 2012).

La humedad relativa del material, posterior al proceso de secado, fue de 4.33 %. La fracción de celulosa se calculó con base en la glucosa detectada por HPLC

(0.55 g L<sup>-1</sup>), la hemicelulosa se determinó a partir de la concentración de xilosa (0.22 g L<sup>-1</sup>), galactosa (0.18 g L<sup>-1</sup>), arabinosa (0.068 g L<sup>-1</sup>) y manosa (0.08 g L<sup>-1</sup>). El contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina total (base seca) en las muestras fueron de 17.72 %, 17.15 y 7.32 %, respectivamente (Cuadro 1).

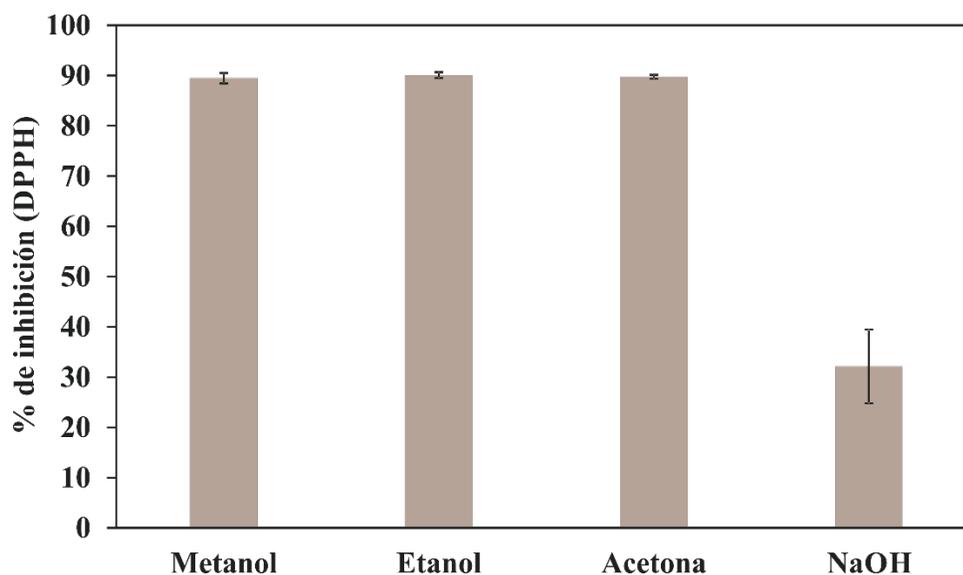
**Cuadro 1.** Composición química de *Agave lechuguilla* Torr.

<b>Componente Químico</b>	<b>Composición (% base seca)</b>
Celulosa	17.72 ± 0.68
Hemicelulosa	17.15 ± 0.91
Lignina soluble	3.64 ± 0.34
Lignina insoluble	3.68 ± 0.21
Cenizas	12.45 ± 0.88
Extractivos	45.34 ± 1.2

### **Potencial antioxidante**

El potencial antioxidante de *A. lechuguilla* se evaluó utilizando tres de los métodos más comunes de ensayo (DPPH, FRAP y CAT). El DPPH ha sido ampliamente utilizado como un parámetro rápido, confiable y reproducible para medir la capacidad antioxidante *in vitro* de compuestos puros, así como extractos de plantas (Burda y Oleszek, 2001; Ara y Nur, 2009). Los resultados del ensayo DPPH se presentan en la Figura 3; los valores se proporcionan en términos de % de inhibición por DPPH. Se evidencia que los tratamientos con soluciones de metanol, etanol y acetona fueron del orden de 89.47 %, 90.09 % y 89.75 %, respectivamente.

respectivamente; mientras que, el licor proveniente del tratamiento con NaOH tuvo un valor de DPPH bajo (32.148 %) (Figura 3).

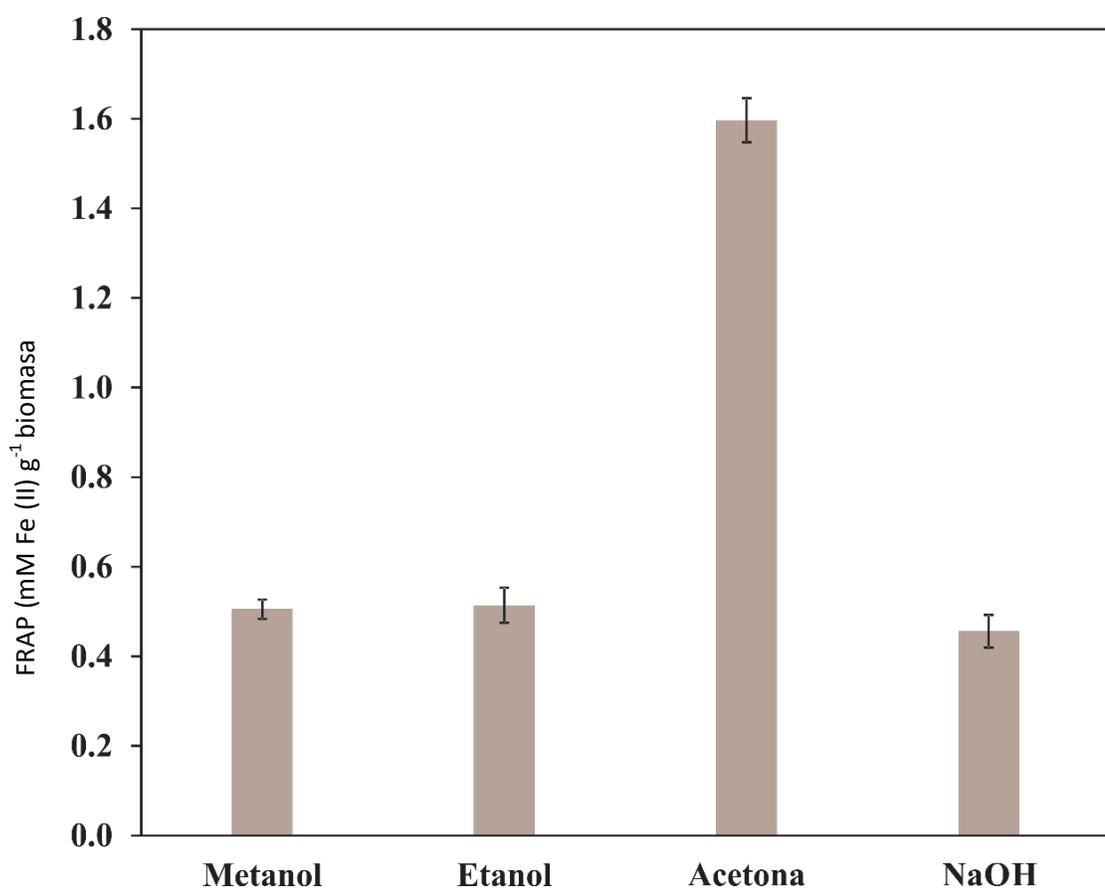


**Figura 3.** Porcentaje de inhibición por reactivo DPPH de diferentes extractos de *Agave lechuguilla* Torr.

Los resultados obtenidos expresados en  $\text{mM Fe(II) g}^{-1}$  biomasa (base seca) fueron de 0.51, 0.51, 1.6 y 0.46, respectivamente, para los extractos obtenidos mediante los tratamientos con metanol, etanol, acetona y NaOH respectivamente.

A pesar de que las soluciones que se utilizaron en los tratamientos son mezclas binarias agua-solvente, no todas presentan las mismas características fisicoquímicas, ya que la polaridad propia de cada solvente (o mezcla de ellos) tiene una relación directa con la cantidad y calidad de compuestos antioxidantes que pueden ser extraídos por el mismo (Aliyu *et al.*, 2012). El orden de jerarquía en cuanto a polaridad para este trabajo es Acetona > Metanol > Etanol. Lo anterior se relaciona con la concentración de antioxidantes detectada por el método FRAP en los licores resultantes de las extracciones con solventes, ya que la concentración mayor resultó con el método con acetona ( $1.60 \text{ mM Fe(II) g}^{-1}$  de biomasa), y los

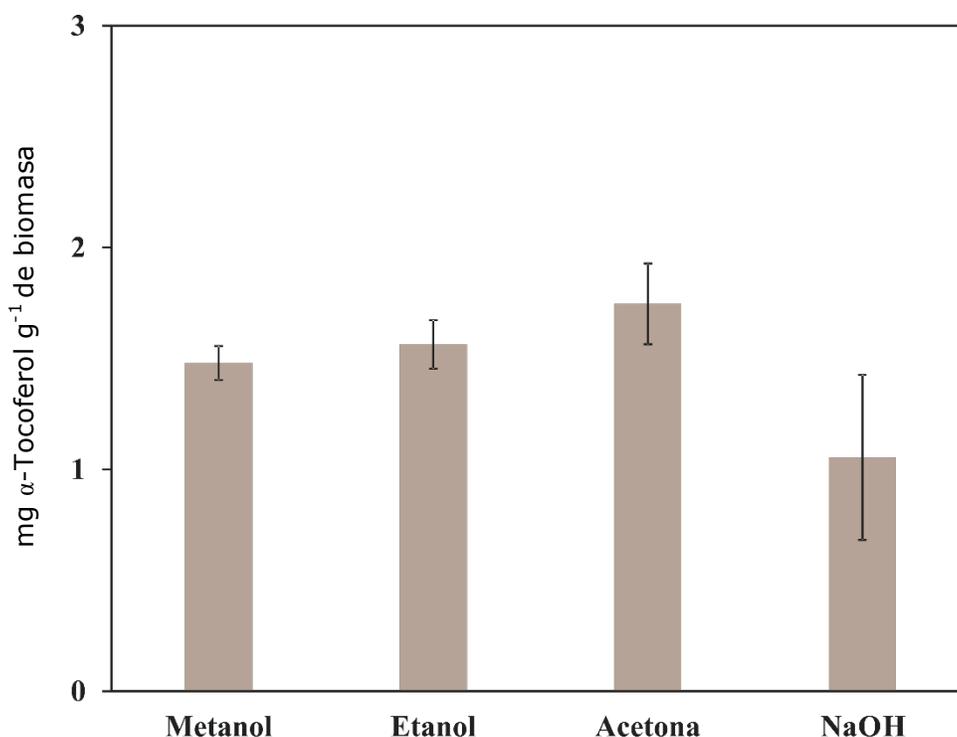
valores de los licores obtenidos con metanol y etanol fueron de  $0.51 \text{ mM Fe(II) g}^{-1}$  de biomasa, ambos presentan una polaridad muy similar. Por último, el valor de  $0.46 \text{ mM Fe(II) g}^{-1}$  de biomasa en el tratamiento con NaOH, responde, no obstante, a no usar ningún solvente para su extracción, la interacción de la temperatura utilizada y el agua presente en la solución lograron extraer una fracción de compuestos antioxidantes.



**Figura 4.** Capacidad antioxidante de diferentes extractos de *Agave lechuguilla* Torr. detectados por el método FRAP.

En la Figura 5 se muestra los resultados de la capacidad antioxidante total medida por el método del fosfomolibdeno, el cual se basa en la reducción de Mo (IV) a Mo (V) por el extracto, con la subsecuente formación del complejo fostato verdoso/Mo

(V) a pH ácido. Dicho modelo evalúa tanto la capacidad antioxidante de compuestos hidrosolubles como liposolubles, de ahí su nombre de capacidad antioxidante total (Aliyu *et al.*, 2012). Los registros indican que existe una relación entre el método de extracción y el solvente utilizado en la concentración de agentes antioxidantes en el licor resultante; es decir, que la extracción por el método con acetona concentró 1.75 mg de compuestos antioxidantes equivalentes a la  $\alpha$ -tocoferol, capaces de reducir el compuesto oxidante en la matriz de reacción.



**Figura 5.** Capacidad antioxidante de diferentes extractos de *Agave lechuguilla* Torr. detectados por el método Antioxidante Total.

Cada uno de los métodos aplicados evalúa el potencial antioxidante de una muestra biológica de diferentes maneras, y cada uno de ellos se basa en diversas reacciones. A pesar de que el ensayo de DPPH mostró poca diferencia en las tres diferentes

extracciones, existe una correlación entre los resultados de la capacidad antioxidante total y los ensayos de FRAP, en los que el extracto de acetona registró valores más altos comparados con los extractos de metanol y etanol. Esto significaría que, en las mismas condiciones, los compuestos antioxidantes de *A. lechuguilla* detectados tienen más afinidad con la acetona. Además, las condiciones de temperatura de las extracciones fueron favorables para la acetona, cuyo punto de ebullición es más bajo que el del metanol y el etanol; de tal manera que se generan mayores presiones de vapor en los recipientes, lo que conduce a mayores tasas de extracción gas-sólido.

El tratamiento con NaOH presentó, en general, valores de capacidad antioxidante más bajos, que el resto de las muestras. La diferencia para las muestras tratadas con solventes y la muestra con NaOH es atribuible a que el tiempo de operación fue superior, ya que en la literatura se cita que la extracción de este tipo de compuestos depende no solo la temperatura, si no del tiempo de contacto de las muestras herbáceas con el solvente (Ben Hamissa *et al.*, 2012); pese que para el tratamiento con NaOH, la temperatura y el tiempo de operación total del proceso fue mayor que los tratamientos con solventes, las reacciones en las que participan los antioxidantes extraídos de plantas son dependientes del pH, ya que el transporte de electrones está limitado en un ambiente saturado de  $-OH$ ; es decir, altamente oxidado, el cual tiende a degradar los compuestos fenólicos y a generar sustancias altamente oxidantes, debido a la deslignificación; es por ello que el licor resultante tendrá una capacidad antioxidante menor (Yokoyama *et al.*, 2007; Aliakbarian *et al.*, 2009).



## **Conclusiones**

La biomasa de *A. lechuguilla* presenta una composición característica de materiales herbáceos, los cuales contienen una menor cantidad de carbohidratos estructurales en comparación con muestras maderables. La biomasa contiene una cantidad de compuestos extractivos importante (>45 %), lo cual resulta de que la lechuguilla crece en condiciones áridas y de poca precipitación; por lo tanto, requiere de mecanismos de preservación en los que intervienen, de alguna manera, materiales como los compuestos antioxidantes o las grasas. Los licores resultantes de las extracciones con solventes presentan una cantidad considerable de compuestos antioxidantes, contenidos precisamente en la fracción de extractivos, lo cual abre nuevas posibilidades de estudio para este recurso forestal no maderable.

A pesar de que el tratamiento alcalino disminuye la capacidad antioxidante en los licores, este proceso de extracción de compuestos de alto valor agregado se puede acoplar al sistema de producción de biocombustibles como etanol de segunda generación (2G) y ajustarse a un modelo de biorrefinería. Sin embargo, para su aplicación se requieren de estudios más detallados y una evaluación de factibilidad técnico-económica.

## **Agradecimientos**

Los autores agradecen a la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Sagarpa) y al Conacyt por el apoyo financiero otorgado.

## **Conflicto de Intereses**

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## **Contribución por Autor**

Juan E. Carmona: colaboración en cada una de las etapas del trabajo de investigación, desde el acondicionamiento, caracterización de la materia prima, extracción y determinación de antioxidantes en licores; Thelma K. Morales-Martínez: colaboración en la etapa de acondicionamiento y caracterización química de la materia prima por los métodos del Laboratorio Nacional de Energías Renovables (NREL) y análisis por FTIR; Solange I. Mussatto: asesoría y análisis de resultados obtenidos de la etapa de extracción y cuantificación de actividad antioxidante, de acuerdo a los métodos utilizados; David Castillo-Quiroz: colaboración en la colecta, pretratamiento y caracterización de la materia prima, análisis de resultados y escritura del manuscrito; Leopoldo J. Ríos-González: asesoría y análisis de cada una de las etapas del trabajo de investigación y escritura del manuscrito.



## Referencias

- Abdel-Gawad, M. M., M. M. El-Sayed and E. S. Abdel-Hameed. 1999. Molluscicidal steroidal saponins and lipid content of *Agave decipiens*. *Fitoterapia* 70: 371-381.
- Adel, A. M., Z. H. A. El-Wahab, A. A. Ibrahim and M. T. Al-Shemy. 2010. Characterization of microcrystalline cellulose prepared from lignocellulosic materials. Part I. Acid catalyzed hydrolysis. *Bioresource Technology* 101:4446-4455.
- Aliakbarian, B., F. Dehghani and P. Perego. 2009. The effect of citric acid on the phenolic contents of olive oil. *Food Chemistry* 116: 617-623.
- Aliyu, A., M. Ibrahim, H. Ibrahim, A. Musa, A. Lawal, J. A. Oshanimi, M. Usman, I. E. Abdulkadir, A. O. Oyewale and J. Amupitan. 2012. Free radical scavenging and total antioxidant capacity of methanol extract of *Ethulia conyzoides* growing in Nigeria. *Romanian Biotechnological Letters* 17: 7458-7465.
- Almaraz-Abarca, N., M. D. S. González-Elizondo, M. D. G. Campos, Z. E. Ávila-Sevilla, E., A. Delgado-Alvarado and J. A. Ávila-Reyes. 2013. Variability of the foliar phenol profiles of the *Agave victoriae-reginae* complex (Agavaceae). *Botanical Sciences* 91: 295-306.
- Andrade-Cetto, A. and M. Heinrich. 2005. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 99: 325-348.
- Ara, N. and H. Nur. 2009. *In vitro* antioxidant activity of methanolic leaves and flowers extracts of *Lippia alba*. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences* 4:107-110.
- Ávila-Fernández, Á., N. Galicia-Lagunas, M. E. Rodríguez-Alegría, C. Olvera and A. López-Munguía. 2011. Production of functional oligosaccharides through limited acid hydrolysis of agave fructans. *Food Chemistry* 129: 380-386.

- Ben Hamissa, A. M., M. Seffen, B. Aliakbarian, A. A. Casazza, P. Perego and A. Converti. 2012. Phenolics extraction from *Agave americana* (L.) leaves using high-temperature, high-pressure reactor. *Food and Bioproducts Processing* 90: 17-21.
- Brackenbury, T. D. and C. C. Appleton. 1997. A comprehensive evaluation of *Agave attenuata*, a candidate plant molluscicide in South Africa. *Acta Tropica* 68: 201-213.
- Burda, S. and W. Oleszek. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 2774-2779.
- Castillo, Q. D., R. C. A. Berlanga y P. A. Cano. 2005. Recolección, extracción y uso de la fibra de lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.) en el estado de Coahuila. CIR Noreste Centro. INIFAP. Publicación Especial Núm. 6. Saltillo, Coah., México. 13 p.
- Castillo, Q. D., A. O. Mares y G. E. E. Villavicencio. 2011. Lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.) planta suculenta de importancia económica y social de las zonas áridas y semiáridas de México. *Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas* 8: 6-9.
- Castillo, Q. D., R. J. T. Sáenz, V. M. Narcia y R. J. A. Vázquez. 2013. Propiedades físico-mecánicas de la fibra de *Agave lechuguilla* Torr. de cinco procedencias bajo plantaciones. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 4: 78-91.
- Chen, P. Y., C. H. Chen, C. C. Kuo, T. H. Lee, Y. H. Kuo and C. K. Lee. 2011. Cytotoxic steroidal saponins from *Agave sisalana*. *Planta Médica* 77: 929-933.
- De Paula, M., T. Lacerda, M. Zambon and E. Frollini. 2012. Adding value to the Brazilian sisal: acid hydrolysis of its pulp seeking production of sugars and materials. *Cellulose* 19: 975-992.
- De Rodríguez, D. J., R. R. García, F. D. H. Castillo, C. N. A. González, A. S. Galindo, J. A. V. Quintanilla and L. E. M. Zuccolotto. 2011. *In vitro* antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahuan Desert plants against postharvest fruit fungi. *Industrial Crops and Products* 34: 960-966.

Escamilla-Treviño, L. 2012. Potential of plants from the genus *Agave* as bioenergy crops. *BioEnergy Research* 5: 1-9.

García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, Segunda Edición. Instituto de Geografía. UNAM. 146 p.

García, M. D., A. M. Quílez, M. T. Sáenz, M. E. Martínez-Domínguez and R. de la Puerta. 2000. Anti-inflammatory activity of *Agave intermixta* Trel. and *Cissus sicyoides* L., species used in the Caribbean traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 71: 395-400.

García, M. D., M. T. Saenz, R. Puerta, A. Quilez and M. A. Fernandez. 1999. Antibacterial activity of *Agave intermixta* and *Cissus sicyoides*. *Fitoterapia* 70: 71-73.

Hernández S., R., E. C. Lugo C., L. Díaz J. and S. Villanueva. 2005. Extraction and indirect quantification of saponins from the *Agave lechuguilla* Torrey. *e-Gnosis* 3: 1-9.

Horwitz, W. and G. W. J. Latimer. 2005. Official methods of analysis of 729AOAC International. 18<sup>th</sup> ed. 730AOAC International. Gaithersburg, MD, USA. <http://www.eoma.aoc.org/> (20 de agosto de 2016).

Idarraga, G., J. Ramos, V. Zuñiga, S. Turgut and Y. Raymond. 1999. Pulp and paper from blue agave wastes from Tequila production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 4450-4455.

Iñiguez-Covarrubias, G., R. Díaz-Teres, R. Sanjuan-Dueñas, J. Anzaldo-Hernández and R. Rowell. 2001. Utilization of by-products from the tequila industry. Part 2: Potential value of *Agave tequilana* Weber *azul* leaves. *Bioresource Technology* 77: 101-108.

Man, S., W. Gao, Y. Zhang, L. Huang and C. Liu. 2010. Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. *Fitoterapia* 81: 703-714.

Martins, S., C. N. Aguilar, J. A. Teixeira and S. I. Mussatto. 2012. Bioactive compounds (phytoestrogens) recovery from *Larrea tridentata* leaves by solvents extraction. *Separation and Purification Technology* 88: 163-167.

Marroquín F., J. S., G. Borja L., R. Velásquez C. y J. A. De la Cruz C. 1981. Estudio ecológico dasonómico de las zonas áridas del norte de México. 2ª Edición. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Publicación Especial Núm. 2. México, D. F., México. 166 p.

Meneses, N. G., S. Martins, J. A. Teixeira and S. I. Mussatto. 2013. Influence of extraction solvents on the recovery of antioxidant phenolic compounds from brewer's spent grains. *Separation and Purification Technology* 108: 152-158.

Mussatto, S. I. and I. C. Roberto. 2006. Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 81: 268-274.

Mussatto, S. I., L. M. Carneiro, J. P. Silva, I. C. Roberto and J. A. Teixeira. 2011. A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers* 83: 368-374.

Narcia V., M., D. Castillo Q., J. A. Vázquez R. y C. A. Berlanga R. 2012. Turno técnico de la lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.) en el noreste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 3(9): 81-88.

Narváez-Zapata, J. A. and L. F. Sánchez-Teyer. 2009. Agaves as raw material: recent technologies and applications. *Recent Patents Biotechnology* 3: 185-191.

OriginLab®. 2016. Origin. Ver. 9.0. Origin Lab Corporation. MA, USA. n/p.

Peana, A. T., M. D. Moretti, V. Manconi, G. Desole and P. Pippia. 1997. Anti-inflammatory activity of aqueous extracts and steroidal sapogenins of *Agave americana*. *Planta Medica* 63: 199-202.

Pérez-Pimienta, J. A., H. M. Poggi-Varaldo, T. Ponce-Noyola, A. C. Ramos-Valdivia, J. A. Chávez-Carvayar, V. Stavila and B. A. Simmons. 2016. Fractional pretreatment

of raw and calcium oxalate-extracted agave bagasse using ionic liquid and alkaline hydrogen peroxide. *Biomass and Bioenergy* 91: 48-55.

Podolak, I., A. Galanty and D. Sobolewska. 2010. Saponins as cytotoxic agents: a review. *Phytochemistry Reviews* 9: 425-474.

Poletto, M., A. J. Zattera and R. Santana. 2012. Structural differences between wood species: Evidence from chemical composition, FTIR spectroscopy, and thermogravimetric analysis. *Journal of Applied Polymer Science* 126: 337-344.

Prieto, P., M. Pineda and M. Aguilar. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269: 337-341.

Sánchez, E., N. Heredia and S. García. 2005. Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of Agave species. *International Journal of Food Microbiology* 98: 271-279.

Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat). 1996. "Norma Oficial Mexicana NOM-008- SEMARNAT-1996. Procedimientos, criterios y especificaciones para realizar el aprovechamiento, transporte y almacenamiento de cogollos.

[http://www.semarnat.gob.mx/leyesy normas/Normas%20Oficiales%20Mexicanas%20vigentes/NOM\\_08\\_REC NAT.pdf](http://www.semarnat.gob.mx/leyesy normas/Normas%20Oficiales%20Mexicanas%20vigentes/NOM_08_REC NAT.pdf) (20 de agosto 2016).

Singh, B., T. K. Bhat and B. Singh. 2003. Potential therapeutic applications of some antinutritional plant secondary metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 5579-5597.

Sluiter, A., B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton and D. Crocker. 2012. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP), National Renewable Energy Laboratory. Tech. Report. NREL/TP-510-42618. Golden, CO, USA. 15 p.

Sluiter, A., R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter and D. Templeton. 2008. Determination of extractives in biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory. Tech. Report. TP-510-42619. Golden, CO, USA. 12 P.

Sparg, S. G., M. E. Light and J. van Staden. 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology* 94: 219-243.

Tropicos, 2017. Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org> (21 de agosto 2016).

Verástegui, Á., J. Verde, S. García, N. Heredia, A. Oranday and C. Rivas. 2008. Species of *Agave* with antimicrobial activity against selected pathogenic bacteria and fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24: 1249-1252.

Yokosuka, A. and Y. Mimaki. 2009. Steroidal saponins from the whole plants of *Agave utahensis* and their cytotoxic activity. *Phytochemistry* 70: 807-815.

Yokoyama, T., Y. Matsumoto and G. Meshitsuka. 2007. Detailed examination of the degradation of phenol derivatives under oxygen delignification conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 1301-1307.