

## Capacidad antioxidante, fenoles totales y análisis microbiológico del Aguamiel.

L. I. Ramírez-Cuellar\*, C. Alfaro-Rodríguez; L.G. Ramos-Muñoz, V. N. Hernández - Castañeda  
J. Carranza-Concha

1 Universidad Autónoma de Zacatecas, Programa Académico de Nutrición. Autor para correspondencia:  
[lore.25.90\\_duque@hotmail.com](mailto:lore.25.90_duque@hotmail.com)

### RESUMEN:

El aguamiel es una clase de zumo de color ambarino, de olor y sabor dulce característico se obtiene a partir de tres clases de plantas pertenecientes a la familia de *Agavaceae*. En México se usan estos agaves desde épocas precolombinas con distintos propósitos ya sea en la industria farmacéutica, de la construcción, la textil así como la alimenticia (producción de aguamiel y pulque). Debido a sus propiedades nutrimentales y fisicoquímicas se le han atribuido efectos positivos como alimento funcional, cobrando importancia además por su biodisponibilidad de minerales, por optimizar el metabolismo de lípidos y de hidratos de carbono. Además presenta propiedades prebióticas, antitumorales y antimicrobianas. En el presente trabajo de investigación se determinó la capacidad antioxidante, los fenoles, así como los coliformes totales, fecales y la presencia de *Escherichia coli* en aguamiel. Se encontraron valores de 15.8 a 18.3 mg de TEAC/100g con el método DPPH y de 8.5 a 10.7 mg de TEAC/100g con el método ABTS+.

**Palabras clave:** Aguamiel, Antioxidantes, Polifenoles, Coliformes fecales.

### ABSTRACT:

Aguamiel is a kind of amber juice with a distinctive smell and sweet flavor. It is obtained from three kinds of plants belonging to the family of *Agavaceae*. In Mexico, these agaves have been used since pre Columbian times for different purposes, whether in the pharmaceutical, construction, textile or food industries (Aguamiel and pulque production). Due to their nutritional and physicochemical properties, it has been attributed positive effects as a functional food, being also important for its bioavailability of minerals, for optimizing the metabolism of lipids and carbohydrates. It also has prebiotic, antitumor and antimicrobial properties. In the present research the antioxidant capacity, total phenolics, as well as total coliforms, fecal coliforms and the presence of *Escherichia coli* were analyzed. Values of 15.8 to 18.3 mg of TEAC / 100g were found with the DPPH method, and from 8.5 to 10.7 mg of TEAC / 100g with the ABTS + method.

## INTRODUCCIÓN

El aguamiel (hidromiel) es una clase de zumo de color ambarino, de olor y sabor dulce característicos; se trata de una bebida ácida o ligeramente alcalina que se obtiene a partir de tres clases de plantas pertenecientes a la familia de *Agavaceae*, específicamente de tres plantas: *A. Salmiana*, *A. Mapisaga*, *A. Atrovirens* (Granados, 1993.), que se desarrollan en condiciones climáticas extremas del continente Americano; distribuyéndose desde el sur de Canadá, a lo largo de México, en Centroamérica y el norte de Sudamérica e islas del Caribe (García, 1995). En México se usan estos agaves desde épocas precolombinas con distintos propósitos ya sea en la industria farmacéutica, de la construcción, la textil así como la alimenticia (producción de aguamiel y pulque). El Aguamiel se obtiene de plantas de 8 a 10 años de edad las cuales están en etapas de floración, en el cual se cortan las hojas del maguey formando un hueco central en el cual se estará cocentrando el aguamiel el cual se recolecta dos veces al día. El proceso de maduración dura de 3 a 6 meses aproximadamente obteniéndose un rendimiento promedio de 2 a 4 litros por día de aguamiel durante ese periodo de tiempo (Muñiz, 2013). Una vez que se obtuvo el aguamiel durante este periodo el agave muere (Muñiz, 2013)

El aguamiel es rico en carbohidratos, en algunas vitaminas (en pequeñas cantidades), algunos aminoácidos y fructanos como la inulina. Debido a sus propiedades nutrimentales y fisicoquímicas se le han atribuido efectos positivos como alimento prebiótico, cobrando importancia además por su biodisponibilidad de minerales, por su fortalecimiento de los mecanismos de defensa, por la regulación del apetito, el mejoramiento del metabolismo de lípidos, colesterol y de la glucosa así como la prevención de la osteoporosis, arterosclerosis asociada a las dislipidemias, obesidad, anemia, diabetes mellitus tipo II y cáncer de colón (Urías, 2007; Swiatkiwicz, 2012; Cieslik, 2009; Velázquez, 2014). Por todo lo anterior, , en el presente estudio se pretende determinar la capacidad antioxidante y el contenido fenólico total así como la calidad microbiológica del aguamiel.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra de aguamiel se obtuvo con un comerciante del centro de la ciudad de Zacatecas, en las primeras horas del día (8:30 am) con la finalidad de obtener una muestra fresca. Las muestras se tomaron con diferencia de 1 semana, dando en total tres muestras y determinando en cada una de ellas el pH, los °Brix, la acidez total, los fenoles totales, la actividad antioxidante (método ABTS•+ y DPPH), la determinación de coliformes totales y fécales, así como la presencia de *E. Coli*.

Para la determinación del pH se utilizó un potenciómetro (Denver instrument Ultrabasic). La muestra se trituró en un recipiente y posteriormente se introdujo el electrodo previamente calibrado en el recipiente con la muestra y se agitó continuamente hasta conseguir una medida constante. La determinación se realizó por triplicado.

La determinación de la acidez total se efectuó de acuerdo con el método 942.15 de la AOAC (1997). Los resultados se expresaron en mg del ácido mayoritario, en este caso de ácido láctico (AL), en 100g de muestra. Los análisis se realizaron por triplicado.

La determinación de los sólidos solubles (°Brix) se realizó mediante la medida del índice de refracción de las muestras. Para ello se utilizó un refractómetro (General tools and instruments, RHB-32/ATC). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

La extracción para la cuantificación de los fenoles totales y la actividad antioxidante se llevó a cabo mediante una adaptación del método descrito por Tomás-Barberán et al. (2001). La determinación de los fenoles totales se llevó a cabo mediante el método de Li et al., (2006), que modifica el método de Folin-Ciocalteu. Se tomaron 250µl de extracto y se llevaron a un aforado de 25 ml. Después se agregaron 15 ml de H<sub>2</sub>O desionizada, se añadieron 1,25 ml del reactivo Folin-Ciocalteu, se agitó la muestra y se dejó reposar durante 5-8 minutos. A continuación se agregaron 3,75ml de carbonato de sodio al 7,5% y finalmente se enrasó con agua desionizada dejándose reposar durante 2 horas. Las medidas espectrofotométricas se realizaron a 765nm.

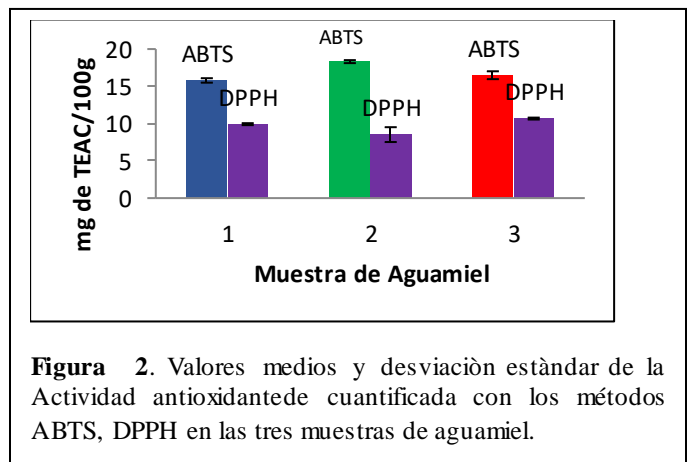
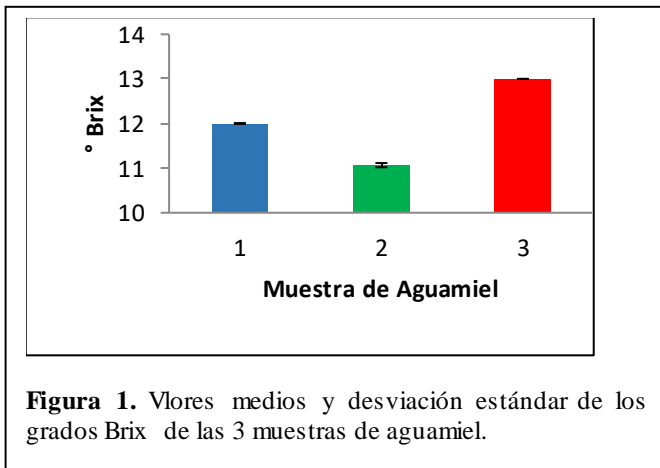
La actividad antioxidante se cuantificó mediante una modificación de la técnica espectrofotométrica desarrollada del ABTS+, empleado por Re et al. (1999). Para la lectura de las muestras, se tomó 100µl de extracto y se le agregaron 900µl de ABTS midiéndose la absorbancia a 734nm. El antioxidante sintético Trolox se tomó como referencia y se midió bajo las mismas condiciones. Además del método ABTS la capacidad antioxidante se cuantificó mediante el método DPPH (Brand- Williams et al., 1995). A 100 microlitros de extracto se le agregó 1mL de patrón DPPH. La actividad antioxidante se evaluó a 515 nm pasados 2.5 minutos los resultados fueron expresados como miligramos de trolox en 100g de muestra. Para determinar si existían diferencias significativas entre las muestras de aguamiel, se realizó el análisis de la varianza ( $P < 0,05$ ). Los resultados fueron expresados en equivalentes Trolox (TEAC) en 100 g de muestra.

La calidad microbiológica se evaluó mediante la determinación de microorganismos coliformes totales (CT) por el método del Número más Probable (NMP) (NOM-127-SSA1-1994), los coliformes fecales (CF) por el método del número más probable (NMP) y la presencia de *Escherichia coli*, que se realiza a partir de los tubos positivos de caldo EC, los cuales se siembran por agotamiento en medios selectivos y diferenciales (Agar Mac Conkey, Agar eosina azul de metileno) y posteriormente realizando las pruebas bioquímicas básicas (IMViC) a las colonias típicas. Todos los análisis así como la extracción de los compuestos fenólicos y antioxidantes se realizaron por triplicado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los grados Brix es una unidad de medida el cual se define como cociente total de sacarosa disuelta en un líquido. Una solución de 25 °Brix tiene 25 g de azúcar (sacarosa) por 100 g de líquido o, dicho de otro modo, hay 25 g de sacarosa y 75 g de agua en los 100 g de la solución.

En la figura se muestran los resultados de grados Brix, donde se observa un valor mínimo de  $11.067 \pm 0.047$  y máximo de  $13. \pm 0.2$ . Comparándolo con datos de la bibliografía los resultados son muy similares a los obtenidos por Flores (2004) ya que obtuvieron en tres variedades de maguey grados Brix de 11.44, 11.01 y 12.67 respectivamente. De esta forma el aguamiel obtenido en Tlaxcala con respecto a la de Zacatecas tienen grados Brix muy similares.



El ANOVA mostró diferencias estadísticamente significativas esto puede ser debido a que durante el proceso de colecta del aguamiel, descrito anteriormente en material y métodos, el aguamiel puede perder agua durante el proceso ya que la vaporización de este fluido varía día tras día por lo tanto la concentración de los azúcares puede aumentarse en función este factor (Kazuyoshi, 1993).

En cuanto a la actividad antioxidante, se observaron diferencias en los valores en función del método empleado. Mediante el método del DPPH+ se encontraron valores de 15.8 mg de TEAC/100g para la muestra 1 de aguamiel, 18.3 mg de TEAC/100g para la muestra 2 y 16.5 mg de TEAC/100g para la muestra 3. En cambio con el método ABTS se obtuvieron valores de 9.9 mg de TEAC/100g para la muestra 1 de aguamiel, 8.5 mg de TEAC/100g para la muestra 2 y 10.7 mg de TEAC/100g para la muestra 3.

Respecto a la acidez titulable, esta fue reportada como % de ácido láctico, por ser el ácido orgánico mayoritario en el aguamiel, aportado por la fermentación espontánea. Los valores de acidez variaron desde 19.1 mg AT/100g hasta 36.6 mg AT/100g. Estos valores estuvieron en relación directa con respecto al pH, a menor pH el porcentaje de acidez fue más elevado. Estos concuerdan con los resultados reportados por Campos-Mendiola (2002).

La acidez del aguamiel varía en función de factores como el tiempo desde la recolección del aguamiel hasta su medición, ya que aumenta debido a la fermentación producida por *Lactobacillus brevis* presente de manera natural en el aguamiel.

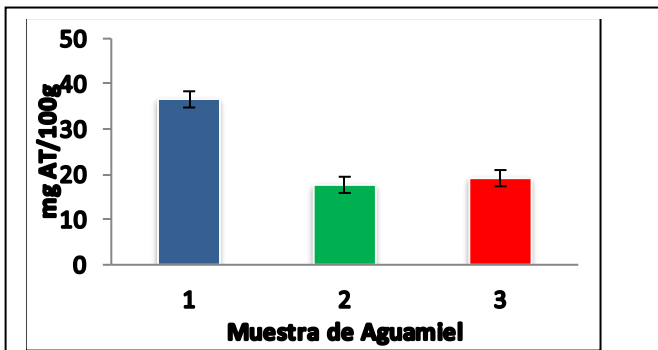


Figura 3. Acidez titulable de las muestras de aguamiel.

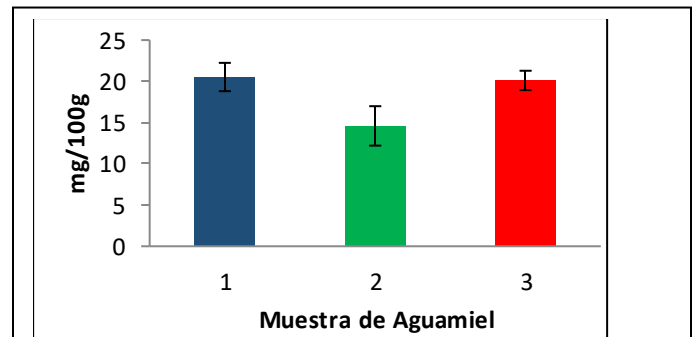


Figura 4. Valores medios y desviación estándar de fenoles totales de las muestras de aguamiel.

Los compuestos fenólicos son aquellos que se caracterizan por tener el grupo funcional fenólico y estos compuestos son de vital importancia ya que inhiben la oxidación de lipoproteínas de baja densidad disminuyendo la probabilidad de adquirir enfermedades cardiacas. En los resultados de la medición de compuestos fenólicos el análisis de la varianza arrojó diferencias significativas, siendo la muestra 2 diferente con valores de 14.5950 mg/100g ± 1.7170, en comparación de la muestra 1 y 3 cuyos valores obtenidos fueron de 20.5238 mg/100g ± 2.3902 y 20.1077 mg/100g ± 1.174.

En cuanto al análisis microbiológico (Tabla 1), las muestras de aguamiel carecen de coliformes fecales así como de *E. coli* por lo que el aguamiel se ajusta a la *NOM-127-SSA1-1994* en estos parametros, garantizando que su consumo no representa riesgo para la salud. Además se identificó al *Lactobacillus brevis* (1x10<sup>8</sup> UFC), báculo que se encuentra de manera natural en el aguamiel considerado como prebiótico.

	Tabla I. Crecimiento bacteriano de Coliformes totales, Coliformes fecales y Escherichia coli.			Valor de referencia permitido
UFC/mL	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	<i>NOM-127-SSA1-1994</i>
coliformes fecales	0	0	0	0
coliformes totales	55.333±3.21	35.666±3.21	43.33±1.53	<100
<i>E. coli</i>	0	0	0	0

## BIBLIOGRAFÍA

- Brand-Williams, W. M. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Sci. Technol.*, 22:25-3.
- Cani P., N. A. (2007). Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*, 50, 2374-2383.
- Cieslik E., T. K. (2009). Effect of inulin-type fructans on body weight gain and selected parameters at calcium hypoalimentation in rats. *Polish journal of food and nutrition science*, 59(2), 163-169.
- de Vust, L., & Vandamme, E. (1994). Nisin, a lantibiotic produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*: properties, biosynthesis, fermentation and applications. En L. de Vust, & E. J. Vandamme, *Bacteriocins of lactic acid bacteria* (págs. 152-159). Londres: Blackie Academic and Professional.
- Dewulf E., C. P. (2013). Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women. *GUT*, 62, 1112–1121.
- García M., D. R. (2014). Agave Fructans: Their Effect on Mineral Absorption and Bone Mineral Content. *Journal of medicinal food*, 17(11), 1-9.
- Granados S., D. (1993.). Los agaves en México. *Universidad Autónoma de Chapingo*.
- Kolida S., G. G. (2007). Prebiotic Capacity of Inulin-Type Fructans. *The journal of nutrition*, 07, 2503-2506.
- Lecerf JM., D. F. (2012). Xylo-oligosaccharide (XOS) in combination with inulin modulates both the intestinal environment and immune status in healthy subjects, while XOS alone only shows prebiotic properties. *British Journal of nutrition*(108), 1847-1858.
- Madrigal L., S. E. (2007). la inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Archivos latinoamericanos de la nutrición*, 57(4), 387-396.
- Kazyupshi O., S. H., (1993) Production of High Concentrations of Ethanol from Inulin by Simultaneous Saccharification and Fermentation Using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*, *Applied and environmental microbiology*. 729-733
- Martín, A., Serrano, S., Santos, A., Marquina, D., & Vázquez, C. (2010). Bioluminiscencia bacteriana. *Reduca*, 3(5), 75-86.
- Muñiz D, R. R. (2013). Producción Artesanal del Aguamiel: Una Bebida Tradicional Mexicana. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 5(10), 12-19.
- Reid, F., Ahmed, K., Waites, W., & Stewart, G. (1990). The rapid detection of antimicrobials using bioluminescent lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol*, 88.
- Swiatkiwicz S., A.-W. A. (2012). Prebiotic fructans and organic acids as feed additives improving mineral availability. *World's poultry science journal*, 68, 269-273.
- Tomás-Barberán, F. M.-P. (2001). HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. 49. *J.Agric. and Food Chem.*, 4798-4760.
- Ulloa J., E. H. (2007). Los fructanos y su papel en la promoción de la salud. *Revista Fuente Año 2*, 5(2), 57-61.
- Uriás J., C. P. (2007). Physiological effects of dietary fructans extracted from Agave tequilana Gto. and *Dasyliirion* spp. *British Journal of nutrition*, 13(7), 2-7.
- Velázquez J., G. R. (2014). Prebiotic Potential of Agave *angustifolia* Haw Fructans with Different Degrees of Polymerization. *Molecules*, 19, 12660-12675.