



**Universidad Autónoma Agraria
“Antonio Narro”**

División de Ciencia Animal

Efecto de la Desodorización y Pasteurización
Sobre el Perfil de Aminoácidos en el Aguamiel
del Maguey Pulquero (*Agave atrovirens karw*)

Por:

MARCO POLO SÁNCHEZ MALDONADO

T E S I S

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2008

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Efecto de la Desodorización y Pasteurización Sobre el Perfil de Aminoácidos en el
Aguamiel del Maguey Pulquero (*Agave atrovirens karw*)

POR
MARCO POLO SÁNCHEZ MALDONADO

TESIS
QUE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

APROBADA POR:



MC. MARÍA HERNÁNDEZ GONZÁLEZ
PRESIDENTE



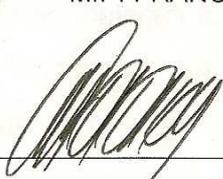
DR. ALFONSO REYES LÓPEZ

Sinodal



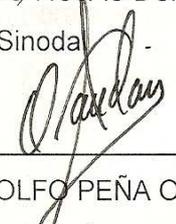
M.P. FRANCISCO HERNÁNDEZ CENTENO

Sinodal



MC. ALFONSO ROJAS DUARTE

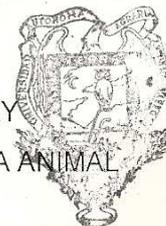
Sinodal



ING. JOSÉ RODOLFO PEÑA ORANDAY

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Universidad Autónoma Agraria
"ANTONIO NARRO"



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
COORDINACION DE
CIENCIA ANIMAL

Diciembre de 2008

MENSAJE

En algún momento de mi vida escuche estas palabras alentadoras de un profesor de preparatoria que admiro mucho, el era un ex sacerdote profesor de filosofía y dijo, que si alguno de todos lo presentes entendía este mensaje se sentiría satisfecho, lo cual yo les digo si alguno de aquellos que lean este mensaje les sirve también me sentiré satisfecho, hay cosas en la vida que no te llegan rápidamente pero si las buscas de seguro te llegaran.

“ES PARA USTED”

Si cree ser ganador, de seguro ganará, si da un paso adelante, de seguro triunfará.

Si cree en su corazón que un propósito le espera, podrá entonces comenzar. Anhele ayudar al prójimo en toda necesidad.

Que pensamientos de fe reemplacen todas las dudas. Que las palabras de aliento no le permitan fallar. Si andando tropieza y cae, levántese con altura, pues solo usted determina todo el curso a navegar.

A usted se le ha dado el poder para ver lo que cuesta ser un hombre de verdad. Si su pensamiento es puro, se sentirá usted seguro. Y si usted así lo quiere, usted sabrá que si puede.

AGRADECIMENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (MI ALMA TERRA MATER) por darme la oportunidad y cobijo para realizar mis estudios de licenciatura.

Al Departamento de Nutrición y Alimentos principalmente a los profesores de la **Carrera de Ingeniería en Ciencia y Tecnología de Alimentos**, por la enseñanza.

A todos mis maestros que día a día con paciencia pusieron un grano de arena para terminar esta construcción.

A la MC. Mildred I. M. Flores Verástegui. Persona quien ayudo al seguimiento de esta tesis, y que colaboró con la elaboración de una nueva técnica para el estudio de este proyecto.

A la MC. María Hernández González (mi asesora), por su amistad, confianza y apoyo incondicional brindado en esta investigación y por darme la oportunidad de trabajar y aprender bajo su asesoría.

Al Dr. Alfonso Reye López (asesor) por su disponibilidad, amabilidad y apoyo brindado en el proceso de esta investigación.

A la profesora MC. Xochitl por todo su apoyo, amistad durante toda mi carrera y en el proceso de esta investigación y a su esposo **Oscar Noé**

A la profesora Elizabeth por el apoyo incondicional, en el problema de mi habla y tratarme como su paciente sin nada a cambio.

Al M.P. Francisco Hernández Centeno por todo su apoyo, amistad en el proceso de mi tesis.

A T.L.Q. Lupita y Al T.L.Q. Carlos Alberto Arévalo Sanmiguel (Carlitos) por el apoyo y colaboración en el proceso de laboratorio

DEDICATORIAS

A DIOS y a la virgencita de Guadalupe por darme la vida y por guiarme hacia el camino de la sabiduría, por estar siempre presente en los momentos más difíciles de mi vida, por darme salud y esperanza en la cuesta más difícil.

A mis Padres por darme los valores que me dieron y por obligarme a ir a la escuela cuando era niño, por apoyarme en las buenas y en las malas por entender mi forma de ser.

A mi Hermana para que sea mejor que yo en todos los aspectos.

A mis Abuelos maternos Victorio (+) que nunca supe como le hicieron para sobre salir sin ir a la escuela y ser uno de los mejores productores de la región de maíz y sorgo y a mi abuelita Felicitas que no le da miedo nada, la persona que mas admiro en mi vida y una de las que mas me quiere y quiero.

A mis Abuelos paternos que sea como sea han podido sobresalir en la vida aunque no e pasado mucho tiempo con ellos son personas amables.

A mis Familiares a cada uno de ellos tíos(as), primos(as), sobrinos(as) que han servido de alguna manera en mi vida que me ayudaron a estar en estos momentos aquí. Enrique (san chave), Gustavo (Jona), Carlos (Ramón), Luis Demetrio, Joel Flores, Dr. Demetrio, Ángel Garcés, Inés, Itzel, Ivone, Fabiola, Lulia, Martín, Angelina, Jennifer, Serafina, Columba, Domingo, Tulia Silvia, Cesar, Fausto, Amado, Margarito, Tino, Petra, Mary, Mario Sánchez, entre otros muchos de la familia Maldonado y de la familia Sánchez.

A mis Amigos a todos aquellos que se quedaron en el camino pero siempre me apoyaron y a los que siempre están conmigo de alguna manera: Florentino (Mor.), Erick (Mor.), Crispin (Mor.), Gustavo (Mor.), Melquíades (Mor.), Miguel (Mor.), Catonga (Mor), Arturo (Mex), Rosita (Gto.), Gamaliel (Ver.), Brenda(Coah.), Sara (Zac.), Chucho (Ver.), Vicente (Mor.), Guillermo (Tlax),Perla (Gto), Betsy (Tab), Enoc (Chis),Luis Alberto(Panamá), Nuyen(Hgo), Breznet (Pue), Emanuel (Camp), Roberto (Tab),Gaspar (Qro), entre otros mas en mi vida.

A personas que me ayudaron en esta tesis. Sra. Eva, Chachita, MC. Laurita, a todos los alumnos de narro del estado de Morelos, que en mi periodo de presidencia siempre se portaron bien conmigo.

ÍNDICE GENERAL

MENSAJE.....	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
DEDICATORIAS.....	V
ÍNDICE GENERAL.....	VII
ÍNDICE DE CUADROS	X
ÍNDICE DE FIGURAS	X
RESUMEN.....	XI
CAPÍTULO 1	1
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO 2	3
OBJETIVOS	3
2.1. OBJETIVO GENERAL:.....	3
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
2.3. HIPÓTESIS.....	3
CAPÍTULO 3.....	4
JUSTIFICACIÓN.....	4
CAPÍTULO 4.....	5
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1. ORIGEN DEL MAGUEY	5
4.1.2. Distribución geográfica.....	6
4.1.2.1. Distribución a nivel nacional.	6
4.1.2.2. Distribución a nivel estatal	7
4.1.3. Reproducción	7
4.1.3.1. Poda.....	8
4.1.4. Descripción botánica	8
4.1.4.1. Taxonomía	8
4.1.4.2. Requerimientos ambientales	9
4.2. AGUAMIEL.....	9
4.2.1. Obtención del aguamiel.....	10
4.2.1.2. Estudios bacteriológicos del aguamiel.....	11
4.2.1.3. Composición química del agua miel.	11
4.2.2. Pulque	12
4.2.2.1. Propiedades nutrimentales del pulque	13
Nitrógeno proteico	14
4.3. CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS.....	15
4.3.1. Pasteurización.....	15
4.3.1.1. Proceso (HTST)	16
4.3.1.2. Proceso (UHT)	16

4.4. LAS PROTEÍNAS.....	16
4.4.1. Aminoácidos.....	17
4.4.1.1. Clasificación.....	18
4.4.1.2. Según su obtención.....	18
4.4.1.3. Aminoácidos no proteicos.....	19
4.4.1.4. Aminoácidos codificados en el genoma.....	20
4.5.1. Aplicaciones en cromatografía de papel.....	20
4.5.2. Análisis cuantitativo y cualitativo.....	23
4.6 CARBÓN ACTIVADO.....	23
4.6.1. ¿Que es el carbón activado?.....	23
4.6.2. Primeros usos del carbón activo.....	24
4.6.3. Uso médico.....	25
4.6.4. Filtros para aire y gas comprimido.....	25
4.6.5. Producción de carbones activados.....	25
4.6.5.1. Materiales de partida.....	25
4.6.6. Activación del carbón.....	25
4.6.7. Capacidad de absorción del carbón.....	27
CAPITULO 5.....	28
MATERIALES Y METODOS.....	28
5.1. LOCALIZACIÓN DEL SITIO EXPERIMENTAL.....	28
5.1.1. Características del sitio experimental.....	28
5.1.2. Procedencia de muestras de aguamiel.....	28
ETAPA 1:.....	28
5.2. DESODORIZACIÓN DEL AGUAMIEL.....	28
5.2.1. Tratamientos.....	29
ETAPA 2:.....	30
5.3. DETERMINAR AMINOÁCIDOS.....	30
5.3.1. Muestra directa.....	30
5.3.2. Digestión de la muestra.....	30
5.3.3. Cromatografía en capa fina.....	30
5.3.3.1 Factor de resolución.....	31
5.3.4. Espectrofotometría.....	31
5.3.4.1. Preparación de muestra.....	31
5.3.4.2. Medición de absorbancia.....	31
5.3.5. Curvas de calibración estándar.....	32
CAPÍTULO 6.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	34
ETAPA 1:.....	34
6.1. DESODORIZACIÓN CON CARBÓN.....	34
ETAPA 2:.....	34
6.2. FACTOR DE REACCIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS OBTENIDOS.....	34
6.2.1. Concentración de aminoácidos.....	36
6.2.2. Interpretación de concentración de aminoácidos.....	38
6.2.2.1. Concentración de aminoácidos en mayor tiempo.....	40
CAPÍTULO 7.....	44
CONCLUSIONES.....	44
CAPITULO 8.....	45
RECOMENDACIONES.....	45
CAPITULO 9.....	46
ANEXOS.....	46
9.1. LOCALIZACIÓN.....	46
9.1.1 Orografía.....	47
9.1.2 Hidrografía.....	47
9.1.3 Clima.....	47
9.1.4 Flora.....	47
9.1.5 Fauna.....	48

9.3 PREPARACIÓN DEL REACTIVO NINHIDRINA.....	49
CAPITULO 10.....	50
LITERATURA CITADA.....	50
LITERATURA CITADA EN INTERNET.....	53

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL AGUAMIEL.....	12
CUADRO 2. EL VALOR NUTRIMENTAL DEL PULQUE.....	13
CUADRO 3. ESTUDIO DE PROPIEDADES DEL PULQUE.....	14
CUADRO 4. COMPARACIÓN DE AGUAMIEL Y EL PULQUE.....	14
CUADRO 5. PREPARACIÓN DE TUBOS PARA LA CALIBRACIÓN.....	32
CUADRO 6. FACTOR DE REACCIÓN DE 9 AMINOÁCIDOS PRESENTES.....	35
CUADRO 7. CONCENTRACIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS.....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. PARTES QUE COMPONEN AL MAGUEY.....	9
FIGURA 2. ESTRUCTURA BÁSICA DE UN AMINOÁCIDO.....	17
FIGURA 3. TRAZOS EN UN PAPEL WHATMAN.....	21
FIGURA 4. TANQUE DE CROMATOGRAFÍA.....	22
FIGURA 5. AMINOÁCIDOS Y RF.....	22
FIGURA 6. ALGUNOS TIPOS DE CARBONO ACTIVADO.....	26
FIGURA 7. FOTO DE LAS 3 FASES DE UNA CROMATOGRAFÍA.....	32
FIGURA 8. ESPECTROFOTÓMETRO Y TUBOS PREPARADOS.....	33
FIGURA 9. AMINOÁCIDOS OBTENIDOS DE DERECHA A IZQUIERDA DE ARRIBA HACIA ABAJO. (PHE.,LEU.,VAL.,TIR.,TRIP.,HIS.,LYS.,MET. Y ARG.).....	35
FIGURA 10. PRESENCIA DE AMINOÁCIDOS A 0 HORAS.....	38
FIGURA 11. PROCESO DE PASTERIZACIÓN.....	39
FIGURA 12. CONCENTRACIÓN DE AMINOÁCIDOS EN LAS MUESTRAS DIGERIDAS O NO DIGERIDAS.....	40
FIGURA 13. PRESENCIA DE AMINOÁCIDOS EN TODO EL PROCESO.....	41
FIGURA 14. PRESENCIA DE AMINOÁCIDOS A DIFERENTE TIEMPO.....	41
FIGURA 15. PRESENCIA DE AMINOÁCIDOS EN TODO EL PROCESO PASTERIZADO Y SIN PASTERIZAR.....	42
FIGURA 16. MUESTRAS DIGERIDAS Y NO DIGERIDAS EN TODO EL PROCESO.....	43
FIGURA 17. LOCALIZACIÓN DE SAN ANTONIO DE LAS ALAZANAS.....	46
FIGURA 18. AGAVE ATROVIRENS KARW.....	48
FIGURA 19. CAVIDAD PARA OBTENCIÓN DE AGUAMIEL.....	48
FIGURA 20. EXTRACCIÓN DEL AGUAMIEL (TLACHIQUERO).....	49

RESUMEN

El maguey es de las plantas más antiguas de los Estados Unidos Mexicanos a partir del cual se pueden obtener numerosos productos como: agua, vino, aceite, vinagre, miel, arrope e hilo, aguja, entre otras cosas más. Estas cosas las utilizaban los mayas, antigua cultura que daba tributo a los dioses con el pulque. En la actualidad esas cosas están desapareciendo; el aguamiel y el tequila son los principales productos que se obtienen del maguey, el primero se remonta a una de las tradiciones más antiguas, que con el paso del tiempo ha ido disminuyendo, a pesar de ser una fuente rica de aminoácidos. El presente es continuación de un trabajo en el cual se realizó una pasteurización al aguamiel, lo que tuvo como resultado un olor desagradable, por lo que para el consumo humano requiere tanto de una desodorización así como de la demostración del producto. Para este estudio se utilizó el aguamiel de maguey (*Agave atrovirens karw*) y un tratamiento con carbón activado, ya que comúnmente este carbón se utiliza para la eliminación de malos olores en aguas negras y aguas purificadas. Se obtuvieron varias muestras: sin tratar, pasteurizadas, pasteurizadas con carbón y sin pasteurizar con carbón. El objetivo fue determinar cuál de los tratamientos es el más favorable en fusión a la eliminación de olores desagradables y presencia del mejor perfil de aminoácidos para el consumo humano. La determinación del perfil de aminoácidos, se realizó por medio de una cromatografía en papel en capa fina con ayuda de aminoácidos estándar y un espectrofotómetro, adaptando una nueva técnica para la identificación y cuantificación de aminoácidos. En los primeros resultados se encontró que para las muestras sin pasteurizar y digeridas la concentración de aminoácidos fue mayor. Al término de las 27 horas de la desodorización a través del filtro de carbón activado, muestras pasteurizadas mantuvieron mayor concentración de aminoácidos y las muestras no pasteurizadas se vieron afectadas disminuyendo su concentración al final del experimento. Los aminoácidos presentes en este trabajo fueron: valina, leucina, lisina, histidina, fenilalanina, triptófano, tirosina, metionina y arginina, los cuales se encontraron a diferentes concentraciones.

Palabras Clave: Aguamiel, desodorización, aminoácidos, cromatografía y carbón.

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

La palabra maguey está vinculada con la voz Mayahuel o Mayahuel, divinidad femenina asociada con la planta misma y con la embriaguez. Una de las plantas más antiguas de los Estados Unidos Mexicanos es el maguey particularmente el agave *atrovirens* sorprendiendo a los nuevos colonizadores de la Antigua España ellos suelen escribir milagros mismo de esta planta de entre los cuales obtenían agua, vino, aceite, vinagre, miel, arrope e hilo, aguja, y otras cien cosas más. Las hojas anchas y gruesas, el cabo de ellas es una punta aguda y recia, que sirve para prender o asir como alfileres, o para coser, y ésta es la aguja, sacan de la hoja cierta hebra e hilo. El tronco, que es grueso, cuando está tierno se corta y queda una concavidad grande, donde sube la sustancia de la raíz. “Es un licor que se bebe como agua, es fresco y dulce; este mismo, cocido, se hace como vino, dejándolo acedar se vuelve vinagre; terminándolo más al fuego es como miel; y a medio cocer, sirve de arrope, de un sabor agradable. (Ramírez y Gentry, 1982).

El pulque se ha representado en relieves tallados en piedra por los nativos de México desde el año 200 DC. El origen del pulque es desconocido, pero debido que tiene una función primordial en la religión prehispánica, muchas leyendas explican sus orígenes. De acuerdo las historias indígenas Toltecas, durante el reinado de Tecpancaltzin, un noble llamado Papantzin descubrió cómo extraer el aguamiel de la planta de maguey; y a las personas que fabricaron el pulque se les denominó como “*tlachiquero*” (del náhuatl "rasguño") ya que tallaban las pencas de maguey para extraer su fino líquido. El aguamiel es la savia que contiene el cogollo uno de los líquidos más sagrados para los antiguas indígenas, que solo los grandes dioses lo podían beber. Con el tiempo, y debido al mal olor y la fermentación rápida que tiene este líquido, ha sido desplazado por la cerveza, vinos y licores (Anexo 9.2; Figura 9)(García, 1994).

El aguamiel es una fuente para la exportación a niveles internacionales, hay muchas variedades de maguey pulquero, pero a todas sus variedades se le realizan estudios, para llevarles un cambio tecnológico a la gente, se necesita promover y realizarles estudios a las variedades de maguey. (Flores y col., 1996).

Para promover el aguamiel entre las personas, se debe tener un avance científico en el cual este producto requiere una mayor vida de anaquel y un olor agradable para el consumidor. Debido a esto, el siguiente trabajo de investigación se llevo acabo una desodorización en el aguamiel mediante carbón activado que paso por diversas fases de tiempo y una cromatografía en papel, para valorar el perfil de aminoácidos y de esta forma obtener un producto de mayor vida de anaquel, con el mismo contenido energético característico del aguamiel. (Desrosier, 1987).

CAPITULO 2

OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL:

- Obtener una bebida de sabor y aroma agradable a partir del aguamiel manteniendo al máximo sus propiedades nutrimentales.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desodorizar el aguamiel.
- Valorar su perfil de aminoácidos constitutivos
- Obtener un producto terminado apto para la comercialización.

2.3. HIPÓTESIS:

Es posible la eliminación de olores y sabores desagradables del aguamiel mediante un proceso físico de desodorización conservando sus valores nutrimentales para la comercialización.

CAPÍTULO 3

JUSTIFICACIÓN

La importancia de la especie como alimento está muy bien documentada en las crónicas, sobre todo para México. Hernán Cortés escribe en su segunda carta (1524) dirigida al Emperador, que en el mercado de Tlatelolco se vendía miel de unas plantas que llaman en las otras y estas (islas) maguey, que es muy mejor que el arrope, de estas plantas hacen azúcar y vino, que asimismo venden. (Sahagún, 1578).

La miel que venden es espesa y dulce; cuando pasa por la garganta se siente como si tomaras chocolate espeso, su apariencia es tenue (que parece agua). El aguamiel de agave es un líquido dulce, de sabor agradable, inestable, que si la temperatura es muy alta, debe ser procesado en el día para evitar la fermentación, según algunos autores señalan que 100 gr. contienen 5,30 gr. de extracto no nitrogenado y 0,4 % de proteínas, cantidad esta última que aunque parece baja, la variedad de aminoácidos esenciales que contiene es sorprendente tales como: lisina, triptófano, histidina, fenilalanina, leucina, tiroxina, metionina, valina y arginina. Contiene vitaminas del complejo B, niacina (0.4 a 0.5mg), tiamina y riboflavina, y entre 7 y 11 mg de vitamina C (el jugo de naranja fresco contiene entre 15 y 55 mg por 100 gr.), además de hierro, calcio y fósforo (Gentry, 1998).

Con el fin de seguir conservando la cantidad de minerales y vitaminas que contiene el aguamiel, se inició este trabajo de investigación que consiste en la eliminación de un olor desagradable, que no es aceptada por los consumidores y conservando los componentes nutrimentales del producto. De esta manera se obtendría un producto de mejor calidad, aceptación por parte del consumidor (Desrosier, 1987).

CAPÍTULO 4 REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Origen del Maguey

La palabra maguey es de origen taíno. En náhuatl es metl, nombre vinculado con la voz mayauetl o mayahuel, divinidad femenina asociada con la planta de agave y con la embriaguez. Una tradición la relaciona con Quetzalcóatl: el dios le pide que lo acompañe al mundo y al estar en la tierra ambos se convierten en un árbol de dos ramas, lo que sugiere una fusión plena de las dos divinidades. La abuela de Mayahuel llegó al lugar con las tztzimime, entidades temibles de los aires. Se acercaron al árbol, cortaron la rama que correspondía precisamente a Mayahuel y la comieron. Cuando Quetzalcóatl recobró su forma, recogió los restos de Mayahuel y los enterró: de ellos surgió el metl, el maguey. “Sahagún refiere una versión más “Mayahuel es el nombre de la primera mujer que perforó los magueyes para extraer el aguamiel, base del pulque”. “Alva Ixtlixóchitl agrega otra: “a Quetzalcóatl se le conoció como Ce Acatl Topiltzin, último rey de Tula; en esta versión es hijo de Tecpancaltzin, cuya mujer fue Xóchitl, considerada también la descubridora del pulque” (Sahagún, 1956).

Que una figura tan relevante como el dios Quetzalcóatl estuviera en la antigüedad ligado en varios sentidos al maguey, a las divinidades femeninas relacionadas con la planta y al consumo del pulque, revela el largo periplo del *Agave atrovirens karw* (anexo 9.2, figura 8) en las culturas mesoamericanas. Sahagún consignó la tradición según la cual Quetzalcóatl reinaba sabiamente en Tula, practicando penitencias mediante la punción de ciertas regiones de su cuerpo con púas de maguey. Otros sacerdotes y dioses llegaron a Tula y lograron embriagarlo con pulque, para así desterrarlo. “Francisco Javier Clavijero: el reinado de Quetzalcóatl en Tula concluyó porque Tezcatlipoca lo embriagó con pulque”. En los relatos de Cuauhtitlán, los "demonios" que atacan a Quetzalcóatl cuando reinaba en Tula fueron Tezcatlipoca, Ihuimécatl y Toltécatl. El tercer engaño al que lo sometieron fue un banquete donde bebió

las vasijas de pulque. Ya embriagado, lo persuadieron a que invitara a su hermana Quetzalpétatl, dedicada como él a la penitencia. Ella habitaba en el cerro de Nonohualca y acudió a la invitación; confiada por hallarse junto a su hermano, se embriagó también con cinco jícaras del mismo licor (Macedo, 1950).

El consumo del pulque formó parte de rituales y ceremonias muy extendidas en nuestros antiguos pueblos que se vinculaban con otros órdenes sagrados como el juego de pelota y las ceremonias de curación. La voz pulque proviene del náhuatl *polihqui*, "descompuesto", "echado a perder", pero en náhuatl se le sigue llamando *octli*, nombre genérico para "vino" o bebida embriagante. A menudo se le llama con las voces *neutle* o *neutli*, derivados del náhuatl *necuhtli*, "miel". En ocasiones se le ha designado con otra voz náhuatl: *tlachique*, sustantivo plural que se aplicaba a oficiales encargados de raspar el maguey y preparar el pulque que se ofrecía durante las ceremonias religiosas; como tales oficiales eran nobles o grandes personajes, a menudo se les llamaba *tecutlachique*. El diccionario de la lengua náhuatl de Rémi Simeón registra la voz *tlachiquilizpan* como el "tiempo", "estación" o "época del año" en que se extrae el aguamiel y, asimismo, enlista la voz *tlachiquiliztli* como "raedura", "acción de raspar" una cosa (Cortes, 2000).

4.1.2. Distribución geográfica

4.1.2.1. Distribución a nivel nacional.

Dentro de los estados que producen pulque se encuentra Hidalgo siendo el productor de agua miel más importante en la República Mexicana posteriormente, se tiene producción en Tlaxcala, Estado de México y Puebla, produciendo pero en menor cantidad: San Luis Potosí, Oaxaca, Guanajuato y Zacatecas (INEGI, 2004).

La producción más fuerte de pulque se tiene en el estado de Hidalgo con el 70 % de la producción nacional teniendo un promedio de 112 mil litros por mes, después sigue el estado de Tlaxcala en promedio produce y consume 35 mil litros por mes, y el Estado de México con aproximadamente 17 mil litros por mes, sin embargo no se tienen los datos exactos de la producción, debido a

que no existen en la actualidad estudios del cultivo, debido a que se está perdiendo el uso del mismo (INEGI, 2004).

4.1.2.2. Distribución a nivel estatal

Como se mencionó anteriormente, el cultivo del agave se está perdiendo, sin embargo existen familias que dependen de la producción del pulque, en el Estado de Puebla se tienen las siguientes zonas la Sierra Norte, La Sierra Negra, Valle de Tehuacan y parte de la Mixteca.

De los municipios productores de pulque se tienen: Zacatlán, Ixtacamaxtitlan, Aquixtla, Tecamachalco, Tehuacan, Zapotitlan Salinas, Caltepec, Nicolás Bravo, Coxcatlán, San Antonio Cañada, San Gabriel Chilac, Tepanco de López, Zoquitlán (INEGI,2004).

Saltillo, Coahuila, los mil 500 campesinos de los 35 ejidos de la Región Sureste del municipio de Saltillo sembraron 10 mil hectáreas de maguey, con las cuales esperan producir más de 25 mil litros de aguamiel diariamente. La Luz, Rincón Colorado, Provenir de Tacubaya, El Moral, El Clavel, Palma Gorda, José María Morelos, Rincón de los Pastore, entre otros son muy buenos productores de aguamiel (Ruiz, 23 junio 2007).

4.1.3. Reproducción

Son dos formas en que puede propagarse el maguey de pulque:

1. Por semilla
2. Por retoño, renuevos o mecuates

La primera forma ha quedado en desuso y en la actualidad nadie lo practica debido a que es más tardada la obtención de la planta y a que se obtienen variedades diversas de la especie originados por la fecundación de la semilla con polen de otras plantas y no es posible propagar lo que realmente se desea y se prefiere ya sea por su mayor producción de aguamiel por la calidad de esta por el rápido desarrollo de la planta, etc. (Macedo, 1950).

Plantación con alta densidad de población para terrenos con 50 % de pendiente. En estas condiciones el terreno solo se usa para cultivar maguey, por lo que la densidad de población es alto, se recomienda bordear y después trazar la plantación se sugiere dimensiones en el diseño o marco real de (4*4) y rectangular (4*3) esto depende al tamaño de terreno pueden ser metros o hectáreas. Estos diseños permiten llevar a cabo las labores culturales y aun con maquinaria en los primeros años, para terrenos con 50 y 75 % de pendiente es estas condiciones el diseño de la plantación será para evitar la erosión causada por el escurrimiento superficial forzosamente. Para llevar a cabo esta practica se forma la base de trazo de la plantación con el teorema de Pitágoras y se marca con cal un triangulo de 3.4 y 5 por lado. La plantación se realiza enterrando la planta a unos 10 cm. Arriba del tronco sobre el costado del bordo o sobre la cepa apisonando para que no lo derribe el aire o los animales (Macedo, 1950).

4.1.3.1. Poda

Dos o tres meses después de que ha enraizado se procede a quitar las pencas o despuntar, quitando las partes secas de las pencas estas practica se realiza cada dos años quitando las pencas viejas o parcialmente secas de la base y así sucesivamente hasta llegar al punto de la producción(Macedo,1950)

4.1.4. Descripción botánica

El *Agave atrovirens karw*, mejor conocido como maguey pulquero, presenta las siguientes características:

4.1.4.1. Taxonomía

Nombre científico, *Agave Atrovirens*, *Agave salmiana*, *Agave mapisaga*, *Agave americana*. Los Nombre comunes mas conocidos son: Maguey manso, maguey pulquero y maguey cenizo; el origen es nativo de México, este arbusto tiene una forma biológica común que alcanza los 3 metros de altura, las hojas a la mitad de su longitud son mas delgadas y mas anchas que su base, contiene hojas perennifolio (siempre mantiene el follaje), flores de noviembre a abril y

frutos cuando tiene de 12 a 20 años dependiendo la zona tiene una distribución en México que es Asociación vegetal. Bosque de *Pinus – Quercus*, matorral rosetófilo, matorral xerófilo entidades donde mayor mente se localiza: Hidalgo, Tlaxcala, Estado de México y Puebla. En al figura 1 se muestran algunas partes de la anatomía del agave (Sánchez, 1989).

ANATOMIA DEL AGAVE

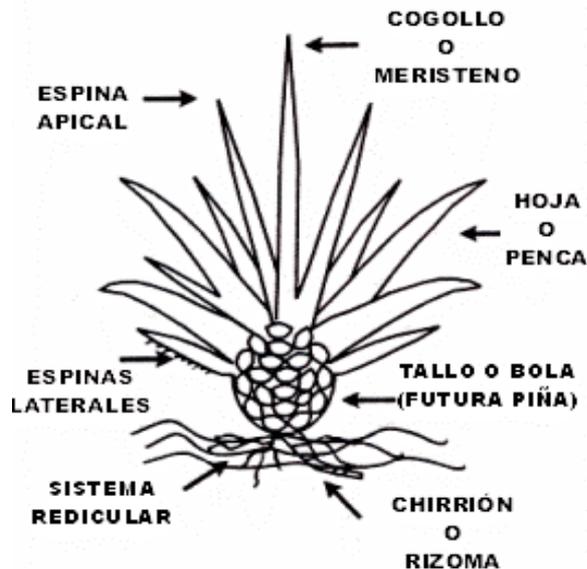


Figura 1. Partes que componen al maguey.

4.1.4.2. Requerimientos ambientales

El maguey subsiste y prospera en precipitaciones medias anuales desde 200 a 600 mm; Iluminación la mayoría de los agaves del desierto necesitan la luz solar, si no existe se convierten en plantas etioladas. Los magueyes pulqueros del centro de México requieren iluminación porque no toleran la sombra; Temperaturas necesaria, toleran temperaturas muy bajas, incluso nevadas (Granados, 1993).

4.2. Aguamiel

En México se llama aguamiel al líquido que se extrae de distintas variedades de maguey como: *Agave mapisaga*, *Agave atrovirens* y *Agave salmiana*, entre otras mas, y que al fermentar produce una bebida tradicional llamada pulque. (Macedo, 1950)

4.2.1. Obtención del aguamiel

Cuando la planta llega a su madurez, comienza a engrosarse el meristemo floral, anunciando la formación del vástago florífero. Esto ocurre según los informantes, en un tiempo que va de cinco a siete años, lo que parece condicionado por la calidad del terreno y a las condiciones climáticas. Los campesinos están atentos a este desarrollo y así prontamente actúan.

El operador o el tlachiquero se coloca de frente a la planta, haciéndose un camino, despejando las hojas que están rodeando la mata, para lo cual las corta a unos 30 o 40 cm. del suelo, de manera que le permitan acercarse sin herirse. Continúa extendiendo y aproximándose a las hojas centrales, más tiernas e inmediatas al ápice vegetativo. (Anexo 9.2, Figura 20) Una vez alcanzado el centro, corta el meristemo y con una barreta hace una cavidad en el centro de la planta, en la que se acumulará la savia. La protegen cubriéndola con una piedra, un pedazo de penca de la planta, un tarro u otro a fin de conservar la humedad del depósito e impedir que los animales domésticos, abejas insectos o pájaros, sean atraídos y vengán a libarse en el líquido. Son grandes, cava o agujerea, que se excavan en forma redonda, y se raspa muy bien alrededor para que mane el aguamiel. (Flores, 1996).

Diariamente se retira la savia producida por la planta, que es llamada "aguamiel", después de lo cual se raspa el fondo de la cavidad para evitar la cicatrización. Se utiliza para esto un objeto áspero y con bordes afilados (como una cuchara, un tenedor, un raspador) adelgazando algunos milímetros el parénquima y profundizando la cavidad (Flores, 1578).

La recolección la hacen mujeres, niños o el hombre en ese orden reconociendo el labor de la mujer, quienes premunidos de un tarro, tacita o jarro van retirando el líquido que acumulan y trasladan preferentemente en calabazas o en recipientes metálicos (Anexo 9.2; Figura 10). Algunas personas lo retiran hasta 3 veces por día si hace mucho calor, aunque lo más corriente es sacarlo por la mañana y la tarde; otros indicaron que sólo lo recolectan una vez al día (Granados, 1993).

Las cantidades de producción diaria son muy variadas. Mientras algunos informantes señalan 2 a 4 litros durante un día, otros indicaron 8 litros y hasta

20 litros, cantidad ésta última que parece exagerada. También es imprecisa la información relacionada con el largo del período de producción que puede ir de 3 a 4 meses según algunos, hasta los ocho meses en Perú (ASERCA, 2000).

Para México un rendimiento diario es de 4 a 5 litros y un período de recolección de 4 a 5 meses. Citando a diversos autores registra una producción que puede ir desde 200 hasta más de 500 litros de aguamiel por pié, lo que resulta coherente porque aplicando los parámetros máximos de recolección diaria (5 litros) y de periodo de recolección (150 días) la producción podría alcanzar un máximo de 750 litros. La Enciclopedia Agraria Italiana (1952-1988) indica que una planta de *Agave atrovirens* puede producir hasta 2000 litros de aguamiel, o sea más de un quintal de azúcar (equivalente a un rendimiento de 5 %) en terrenos áridos donde no se puede cultivar otra especie, haciendo notar la importancia económica que la producción puede revestir para la zonas donde crece. Cabe notar que si bien una producción de 2000 litros por pié puede ser exagerado, el rendimiento coincide con los niveles de azúcares indicados más arriba (ASERCA, 2000).

4.2.1.2. Estudios bacteriológicos del aguamiel

“La importancia que presenta la bacteria *Streptococcus corrosus* se debe a que influye probablemente en la producción de la goma y que aumenta la viscosidad del aguamiel, siendo esta viscosidad un factor que determina la “calidad superior” de esta bebida. Otra bacteria que aparece es el *Leuconostoc* que a medida que baja gradualmente el pH de 7.45 estas suelen aumentar, cuando mas tarde el aguamiel se hace mas ácido el *Leuconostoc* desaparece por completo. El aguamiel contiene pocas levaduras y muchas bacterias las bacterias existen en número de 800 mil a 1 500 000 por mm³ y las levaduras en proporción de 3 mil a 6 mil por mm³ (Loyola, 1956).

4.2.1.3. Composición química del agua miel.

Existen componentes y características que los investigadores coinciden como son: densidad, acidez, glucosa, sacarosa, gomas, albuminoides, extracto y cenizas cuadro 1.

Cuadro 1. Composición química del aguamiel

Característica y componentes	A	B	C	D
Densidad	1.049	1.044	1.049	1.049
Acidez %	0.068	0.069	0.069	0.068
Glucosa %	0.012	0.605	0.012	0.012
Sacarosa %	9.450	9.180	11.150	9.450
Gomas %	0.600	1.430	0.580	1.450
Albuminoides %	0.806	0.456	0.810	0.456
Extracto %	18.990	12.180	18.950	18.990
Cenizas %	0.430	0.250	0.450	0.450

Fuente: (Loyola, 1956).

A: Secretaria de Industria y fomento; B: Montón Gómez, María; C: Fernández Tagle, Guadalupe; D: Rodríguez R, Luisa.

A medida que avanza la madurez, aumenta el contenido de almidón y azúcares, mejorando el sabor. En México la operación que permite obtener el aguamiel se realiza en los meses de primavera y verano, cuando florece el maguey y hay buen tiempo, ya que en periodo de lluvias se reduce el contenido de azúcares, mientras en verano se concentra (ASERCA, 2000).

4.2.2. Pulque

Es una bebida alcohólica que se fabrica a partir del jugo fermentado del maguey, especialmente el maguey pulquero (*Agave salmiana* o *Agave atrovirens karw*). Es una bebida ancestral mexicana; su consumo aún prevalece entre las comunidades rurales y, en menor medida, en las ciudades. Se obtiene de la fermentación de los jugos conocidos como aguamiel concentrados en el corazón de la planta, antes de que salga la flor del maguey (quiote), ya que la flor puede usar todos los nutrientes y no podría ser posible obtener aguamiel. Esta se ahueca en el centro y el jugo que sale se retira diariamente, por un lapso cercano a dos meses; cuando es fermentado (normalmente por levaduras salvajes, aunque industrialmente se emplea la levadura de cerveza *Saccharomyces cerevisiae*), este jugo está inmediatamente listo para ser bebido (Nieto, 1901).

4.2.2.1. Propiedades nutrimentales del pulque

El pulque es una bebida fermentada no destilada que se obtiene del aguamiel del agave pulquero. El valor nutrimental del pulque se presenta en la Cuadro 2 por la SDR de Puebla.

Cuadro 2. El valor nutrimental del pulque.

Nutrimento	Unidad	Cantidad (100 g)
	Elementos principales	
Energía	KCAL/KJ	47/197
Humedad	%	97.70
Hidratos de carbono	G	6.10
Proteínas	G	0.40
Alcohol	G	3.00
	AC. GRASOS	
Saturados	G	0.00
Monoinsaturados	G	0.00
poliinsaturados	G	0.00
	MINERALES	
Calcio	Mg.	11.00
Fósforo	Mg.	34.00
Cu		
Hierro	Mg.	0.70
	VITAMINAS	
Ac. Ascórbico	Mg.	5.00
Tiamina	Mg.	0.02
Riboflavina	Mg.	0.03
Niacina	Mg.	0.40
Parte comestible	%	100

Fuente: Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de Puebla, 2007

En cuanto a la cuestión química, otro autor realizó el siguiente estudio del pulque: agua, sales minerales, nitrógeno no proteico, prótidos totales, nitrógeno de aminoácidos, glúcidos, glicéridos, alcohol etílico, nitrógeno de aminoácidos fenolicos, gomas y materias resinosas; esto se muestra en la Cuadro 3.

Cuadro 3. Estudio de propiedades del pulque.

Propiedades	%
Agua	94.000
Sales minerales	0.320
Nitrógeno proteico	0.028
Prótidos totales	0.174
Nitrógeno de aminoácidos	0.011
Glúcidos	0.500
Glicéridos	-----
Alcohol etílico	3.680
Nitrógeno de aminoácidos fenolicos	0.018
Gomas y materias resinosas	0.910

Fuente: Nieto, 1901

Como se observa, el aguamiel y el pulque, aunque es un producto que proviene del mismo sitio, son muy diferentes debido a las fases que pasa una y otra, en las siguientes características se observó diferencia e igualdad en algunas como: proteína, ceniza, calcio, fósforo, fierro, tiamina, piridoxina, riboflavina y se presentan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Comparación de aguamiel y el pulque

Propiedades	Aguamiel	Pulque
Proteína % Mg.	0.3	0.44
Ceniza % Mg.	0.4	0.20
Calcio %Mg.	20.00	10.00
Fósforo %Mg.	9.00	10.00
Fierro %Mg.	-	0.70
Tiamina % Mg.	0.02	0.02
Piridoxina % Mg.	-	-
Riboflavina % Mg.	0.04	0.03
Niacina % Mg.	0.40	0.30
Vitamina C % Mg.	6.70	6.20

Fuente: Llaguno, 1995.

4.3. Conservación de alimentos

Es el conjunto de procedimientos y recursos para preparar y envasar los productos alimenticios, con el fin de guardarlos y consumirlos mucho tiempo después, señalando que algunos alimentos requieren de alguna técnica de conservación para mantenerse en buen estado por un tiempo determinado. Las carnes, las leches y sus derivados, las frutas y los vegetales requieren de la técnica de congelación que consiste en almacenar los alimentos a temperaturas que varían de cero centígrados a cuatro, esta temperatura no destruye a los microorganismos, pero impiden su reproducción. El objetivo de la conservación de los alimentos es evitar que sean atacados por microorganismos que originan la descomposición, y así poder almacenarlo por más tiempo; otros requieren otro tipo de conservación como desecación o deshidratación, concentrado de azúcares, encurtidos, aditivos químicos, pasteurización, salación o aditivo de sal, entre otros muchos más (Rodríguez, 2005).

4.3.1. Pasteurización

La pasteurización es el proceso térmico realizado a líquidos (generalmente alimentos) con el objeto de reducir los agentes patógenos que puedan contener, tales como bacterias, protozoos, mohos y levaduras, etc. El proceso de calentamiento recibe el nombre de su descubridor, el científico-químico francés Louis Pasteur (1822-1895). Uno de los objetivos del tratamiento térmico es la esterilización parcial de los alimentos líquidos, alterando lo menos posible la estructura física, los componentes químicos y las propiedades organolépticas de estos. Tras la operación de pasteurización, los productos tratados se enfrían rápidamente y se sellan herméticamente con fines de seguridad alimentaria (Reaves, 1977).

Existen tres tipos de procesos bien diferenciados: pasteurización a altas temperaturas durante un breve periodo de tiempo (HTST: High Temperature/Short Time), el proceso a ultra-altas temperaturas (UHT - igualmente de Ultra-High Temperature) y LTLT Baja temperatura en largo tiempo (Burton, 1988).

4.3.1.1. Proceso (HTST)

Este método es el empleado en los líquidos a granel, como la leche, los zumos de fruta, la cerveza, etc. un intercambiador de calor las temperaturas son 62 a 72 °C por un intervalo de 30 min y enfría a 10 °C o 63 a 68 °C por un tubular. Este método es el más aplicado por la industria alimenticia a gran escala, ya que permite realizar la pasteurización de grandes cantidades de alimento en relativamente poco tiempo (Burton, 1988).

4.3.1.2. Proceso (UHT)

El proceso UHT es de flujo continuo y mantiene la leche a una temperatura superior más alta que la empleada en el proceso HTST, y puede rondar los 138 °C durante un período de al menos dos segundos. Debido a este periodo de exposición, aunque breve, se produce una mínima degradación del alimento. La leche cuando se etiqueta como "pasteurizada" generalmente se ha tratado con el proceso HTST, mientras que para la leche etiquetada como "ultra pasteurizada" o simplemente "UHT", se debe entender que ha sido tratada por el método UHT (Burton, 1988).

4.4. Las proteínas

Las proteínas son moléculas de enorme tamaño; pertenecen a la categoría de macromoléculas; son polímeros, es decir, están constituidas por gran número de unidades estructurales simples repetitivas (monómeros). Debido a su gran tamaño, cuando estas moléculas se dispersan en un disolvente adecuado, forman siempre dispersiones coloidales, con características que las distinguen de las soluciones de moléculas más pequeñas. Las proteínas ocupan un lugar de máxima importancia entre las (moléculas), constituyentes de los seres vivos (biomoléculas). Prácticamente, todos los procesos biológicos dependen de la presencia y/o actividad de este tipo de sustancias. Bastan algunos ejemplos para dar idea de la variedad y trascendencia de funciones a ellas asignadas. Son proteínas casi todas las enzimas, catalizadores de reacciones químicas en organismos vivos; muchas hormonas, reguladores de actividades celulares; la hemoglobina y otras moléculas con funciones de transporte en la sangre; los anticuerpos,

encargados de acciones de defensa natural contra infecciones o agentes extraños (Toporek, 1984).

4.4.1. Aminoácidos

Un aminoácido es una molécula que contiene un grupo carboxilo (-COO) y un grupo amino (-NH₂) libres. Los aminoácidos pueden representarse en general por NH₂-CHR-COOH, siendo R un radical o cadena lateral característica de cada uno. Estos grupos R son muy variados químicamente, y son los que otorgan a cada aminoácido sus características químicas propias.

La unión de varios aminoácidos es lo que permite formar una proteína. Existen aproximadamente 20 aminoácidos distintos componiendo las proteínas. La unión química entre aminoácidos en las proteínas se produce mediante un enlace peptídico. Ésta reacción ocurre de manera natural en los ribosomas, tanto del retículo endoplasmático como del citosol (Mertz, 1971).

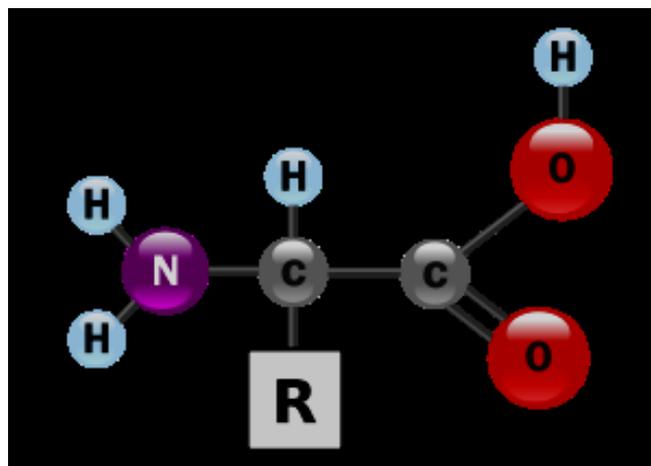


Figura 2. Estructura básica de un aminoácido.

4.4.1.1. Clasificación

Existen muchas formas de clasificar los aminoácidos, las dos formas que se presentan a continuación son las más comunes. Según las propiedades de su cadena (Toporek, 1984)

- Neutros polares, hidrófilos o (polares): Serina (Ser), Treonina (Thr), Cisteína (Cys), Asparagina (Asn), Tirosina (Tyr) y Glutamina (Gln).

- Neutros no polares, apolares o hidrófobos: Glicina (Gly), Alanina (Ala), Valina (Val), Leucina (Leu), Isoleucina (Ile), Metionina (Met), Prolina (Pro), Fenilalanina (Phe) y Triptófano (Trp).
- Con carga negativa, o ácidos: Ácido aspártico (Asp) y Ácido glutámico (Glu).
- Con carga positiva, o básicos: Lisina (Lys), Arginina (Arg) e Histidina (His).
- Aromáticos: Fenilalanina (Phe), Tirosina (Tyr) y Triptofano (Trp)

4.4.1.2. Según su obtención

A los aminoácidos que necesitan ser ingeridos por el cuerpo para obtenerlos se les llama esenciales, la carencia de estos aminoácidos en la dieta limita el desarrollo del organismo, ya que no es posible reponer las células de los tejidos que mueren o crear tejidos nuevos, en el caso del crecimiento (Lehninger, 1976,).

- Valina (Val) *Función:* Estimula el crecimiento y reparación de los tejidos
- Leucina (Leu) *Función:* Junto con la L-Isoleucina y la Hormona del Crecimiento
- Isoleucina (Ile) *Función:* Junto con la L-Leucina y la Hormona del Crecimiento
- Fenilalanina (Phe) *Función:* Interviene en la producción del Colágeno en piel.
- Metionina (Met) *Función:* Colabora en la síntesis de proteínas
- Treonina (Thr) *Función:* sus funciones generales de desintoxicación
- Lisina (Lys) *Función:* el crecimiento, reparación de tejidos, anticuerpos del sistema inmunológico y síntesis de hormonas
- Triptófano (Trp) *Función:* Está implicado en el crecimiento y en la producción hormonal

Aminoácidos esenciales para un niño son dos:

- Histidina (His) *Función:* En combinación con la hormona de crecimiento
- Arginina (Arg) *Función:* Producción en la hormona del crecimiento

A los aminoácidos que pueden ser sintetizados por el cuerpo se les conoce como No Esenciales y son:

- Alanina (Ala)
- Prolina (Pro)
- Glicina (Gly)
- Serina (Ser)
- Cisteína (Cys)
- Asparagina (Asn)
- Glutamina (Gln)
- Tirosina (Tyr)
- Ácido aspártico (Asp)
- Ácido glutámico (Glu)

Los datos actuales, en cuanto a número de aminoácidos (aa) y de enzimas de ARNt sintetetasas, contradicen hasta el momento, puesto que se ha comprobado que existen 22aa distintos que intervienen en la composición de las cadenas polipeptídicas y que las enzimas ARNt sintetetasas que no son siempre exclusivas para cada aa. El aa número 21 es la selenocisteína que aparece en eucariota y procariontes y el número 22 la pirrolisina, que aparece solo en procariontes (Toporek, 1984).

4.4.1.3. Aminoácidos no proteicos

Hay aminoácidos que no se consideran proteicos y aparecen en algunas proteínas. Son derivados de otros aminoácidos, es decir, se incorporan a la proteína como uno de los aminoácidos proteicos y, después de haber sido formada la proteína, se modifican químicamente; por ejemplo, la hidroxiprolina. Algunos aminoácidos no proteicos se utilizan como neurotransmisores, vitaminas, etc. Por ejemplo, la beta-alanina o la biotina (Lehninger, 1976).

4.4.1.4. Aminoácidos codificados en el genoma

Los aminoácidos que están codificados en el genoma de la mayoría de los seres vivos son 20: Sin embargo, hay algunas pocas excepciones. En algunos seres vivos el código genético tiene pequeñas modificaciones y puede codificar otros aminoácidos. Por ejemplo: selenocisteína y pirrolisina (Mathews, 2002).

4.5. Cromatografía

La cromatografía se engloba dentro de las llamadas técnicas de separación y permite el análisis de mezclas complejas de compuestos muy estrechamente relacionados químicamente. Son varias las modalidades usadas y se clasifican según la fase móvil (de gases, líquida) y por el tipo de soporte (columna, capa fina, papel) usados.

La separación se lleva a cabo según la distinta interacción que presenta cada uno de los componentes de una muestra respecto a dos fases: una estacionaria y otra móvil que fluye sobre ella. Esta interacción puede ser de varios tipos que a su vez dan lugar a distintas subclases de cromatografía: de absorción, de reparto, de cambio iónico, de afinidad, etc. La fase estacionaria es la celulosa del papel y la móvil una mezcla de disolventes orgánicos y agua. La celulosa retiene una cierta cantidad de agua entrelazada entre sus fibras y puede dar lugar a un mecanismo de reparto de los componentes de una muestra aplicados sobre ella cuando se hace fluir un disolvente de polaridad distinta de la del agua. (Wharton 1972).

4.5.1. Aplicaciones en cromatografía de papel

Trazando a 1,5 cm. del borde inferior de la tira de papel Whatman una línea con lápiz y sobre ella se marcan 3 puntos a 1,5, 3,0 y 4,5 cm, escribiendo debajo de cada uno de ellos 1, M y 2, tal como se indica en la figura. Hay que evitar poner los dedos en la parte central del papel ya que al final saldrían nuestras huellas dactilares. Dado que M sería la muestra x que queremos obtener en este proceso observando el siguiente esquema.

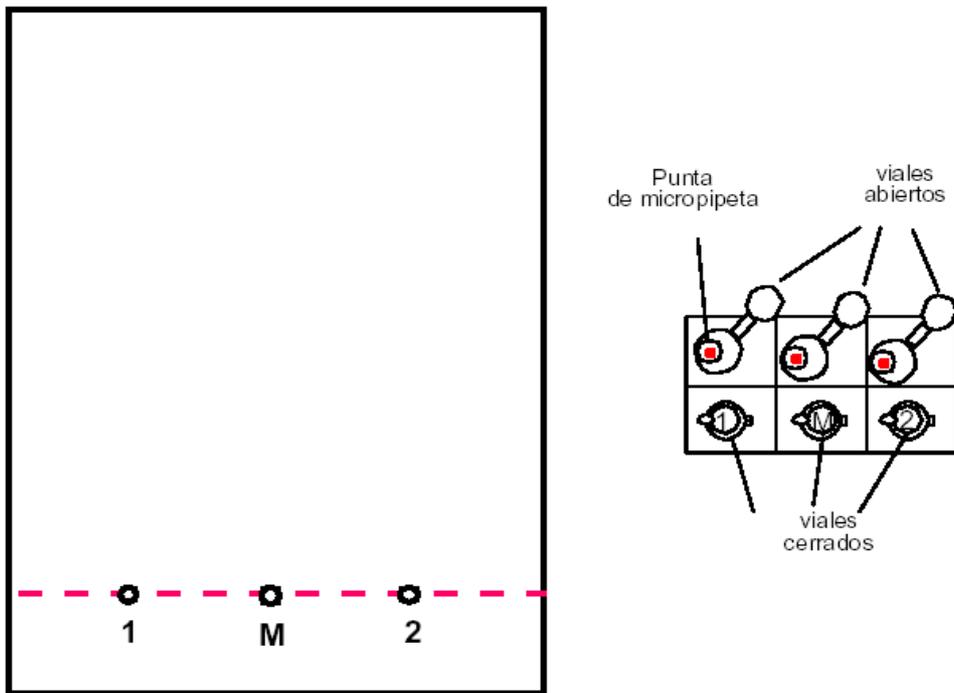


Figura 3. Trazos en un papel Whatman.

Aplicar sobre cada uno de los puntos, con la punta de micro pipeta, cada una de las respectivas soluciones de forma que se forme una mancha de unos 5 mm. de diámetro. La solución 1 contiene una mezcla patrón de lisina, prolina y fenilalanina. La solución M es la muestra cuyo contenido en aminoácidos pretendemos determinar y la solución 2 es un patrón que contiene ácido glutámico, valina y leucina. Se introduce el papel en el tanque de forma que el líquido no moje la línea y cerramos la tapa para que la atmósfera se sature del vapor de la fase móvil. Se deja al menos 30 minutos para que se desarrolle el proceso. Se sacan las tiras antes que el disolvente moje la pinza de sujeción y se marca el punto alcanzado por la fase móvil. Se secan en corriente de aire caliente hasta que no se aprecie olor a butanol. Se rocía con la solución de ninhidrina y se seca para que tenga lugar el desarrollo de color. (Wharton, 1972)

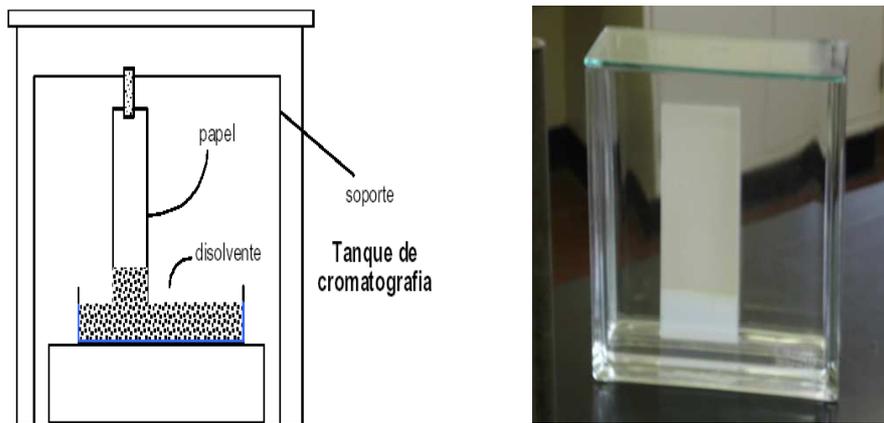


Figura 4. Tanque de cromatografía.

Se mide la distancia desde la línea de aplicación de las muestras hasta cada mancha y se calculan los valores del factor de resolución (R_f) para cada aminoácido. La posición del aminoácido se revela con ninhidrina, apareciendo una mancha de coloración azul-violeta. La ninhidrina reacciona con los aminoácidos formando las manchas coloreadas según la reacción. (Wharton 1972)

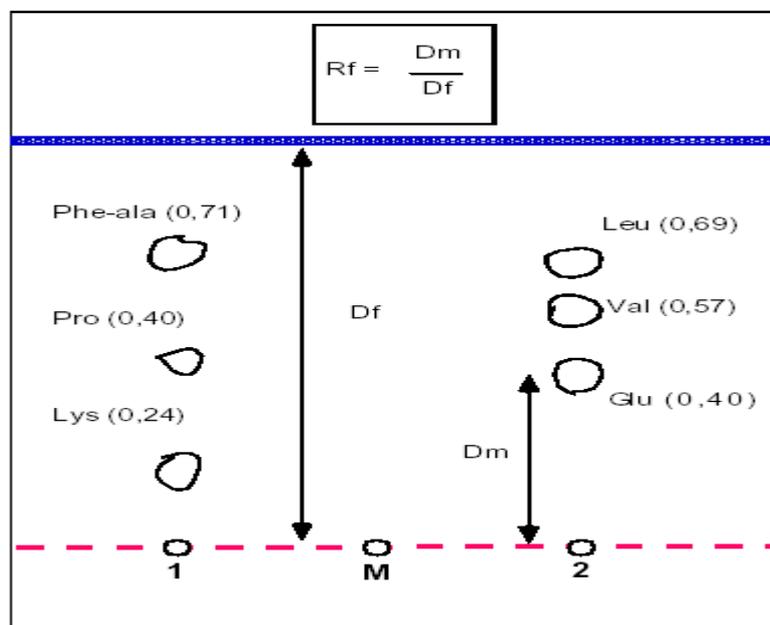


Figura 5. Aminoácidos y R_f .

En el papel, luego de la reacción con ninhidrina calentándolo en la estufa a 80 a 100 °C, se observaron varios colores, rosado, amarillo, rosa violeta y azul-violeta. Para cada gota de la fracción, se observaron varios puntos en el

papel. Sacando el factor de reacción (R_f) de cada aminoácido presente en el papel y con esto obtendremos el R_f de la muestra M (Merck, 1975)

4.5.2. Análisis cuantitativo y cualitativo

Esta técnica modificada por Wang y Larkins podemos cuantificar los aminoácidos presentes, para lo cual primero se toman 100 microlitros de la muestra del de trabajo y colocarlo en un tubo de de 1.5 ml para microcentrifuga, que contenga 250 microlitros de reactivo de ninhidrina seguido de un baño María por 20 minutos, tomando una alícuota de 200 microlitros y colocarlos en un plato ELISA realizando diluciones seriadas en las paredes adyacentes conteniendo agua, luego se debe leer la absorbancia a 590 nm utilizando una regresión para calcular la absorbancia de la muestra original. La pendiente de la relación entre la absorbancia a 590 nm (A_{590}) y el peso de la muestra es utilizada para calcular el contenido relativo de FAA en la muestra. (Wang y Larkins. 2001).

Para realizar un análisis cualitativo se deben filtrar los aminoácidos extraídos a través de un cartucho de fase reversa C18 para remover proteína soluble. Sacar una alícuota de 500 microlitros el residuo es resuspendido en 50 microlitros de agua estéril bidestilada para el análisis de aminoácidos después separa los aminoácidos por cromatografía de intercambio iónico utilizando buffer de citrato par incrementar la fuerza iónica, los aminoácidos son detectados con ninhidrina y la reacción es monitoreada con un colorímetro a 570 nm. Para aminoácidos primario y a 440 nm para aminoácidos secundarios (Wang y Larkins. 2001).

4.6 CARBON ACTIVADO

4.6.1. ¿Que es el carbón activado?

Es un término general que denomina a toda una gama de productos derivados de materiales carbonosos. Es un material que tiene un área superficial excepcionalmente alta, medida por absorción de Nitrógeno, y se caracteriza por una cantidad grande de microporos (poros menores que 2 nanómetros). El proceso de activación actúa eficientemente al mejorar y aumentar el área superficial (Dickson, 1976).

El carbón activado se utiliza en la extracción de metales (Vrg. oro), la purificación del agua (tanto para la potabilización a nivel público como doméstico), en medicina, para el tratamiento de aguas residuales, en máscaras anti-gas, en filtros de purificación y en controladores de emisiones de automóviles, entre otros muchos usos (Dickson, 1976).

Generalmente se produce por dos métodos diferentes:

- Activación química
- Activación del vapor

El carbón activado puede tener un área superficial mayor de 500 m²/g, siendo fácilmente alcanzables valores de 1000 m²/g. Algunos carbones activados pueden alcanzar valores superiores a los 2500 m²/g. A modo de comparación, una cancha de tenis tiene cerca de 260 m² (Metelf, 1998).

4.6.2. Primeros usos del carbón activo

Los primeros usos de estos primitivos carbones activos, generalmente preparados a partir de madera carbonizada (carbón vegetal), parecen haber tenido aplicaciones médicas. Así, en Tebas (Grecia) se halló un papiro que data del año 1550 a.C. en el que se describe el uso de carbón vegetal como adsorbente para determinadas prácticas médicas. Con posterioridad, en el año 400 a.C., Hipócrates recomienda filtrar el agua con carbón vegetal para eliminar malos olores y sabores y para prevenir enfermedades. En relación al tratamiento del agua con carbón activo, se sabe que ya 450 años a.C. en los barcos fenicios se almacenaba el agua para beber en barriles con la madera parcialmente carbonizada por su cara interna. Esta práctica se continuó hasta el siglo XVIII como medio para prolongar el suministro de agua en los viajes transoceánicos. Sin embargo, la primera aplicación documentada del uso de carbón activo en fase gas no tiene lugar hasta el año 1793, cuando el Dr. D.M. Kehl utiliza el carbón vegetal para mitigar los olores emanados por la gangrena. El mismo doctor también recomienda filtrar el agua con carbón vegetal. La primera aplicación industrial del carbón activo tubo lugar en 1794, en Inglaterra, utilizándose como agente decolorizante en la industria del azúcar (anónimo 1, 30 marzo 2008).

4.6.3. Uso médico

El carbón activado es utilizado para tratar envenenamientos y sobredosis por ingestión oral. Previene la absorción del veneno en el estómago. La dosificación típica para un adulto es de 25-50 g. Las dosis pediátricas son 12-25 g. El uso incorrecto de este producto puede producir broncoaspiración (ingreso a los pulmones) y puede dar lugar a un desenlace fatal si no es controlado. Para el uso fuera del hospital, se presenta en comprimidos de 1 g, o en tubos o botellas plásticas, comúnmente de 12,5 ó 25 g, premezclados con agua. Tiene nombres comerciales como InstaChar, SuperChar, Actidose y Liqui-Socarra, pero por lo general se le llama simplemente carbón activado (anónimo 1, 30 marzo 2008)

4.6.4. Filtros para aire y gas comprimido

Los filtros con carbón activado se utilizan generalmente en la purificación de aire y de gases para quitar vapores de aceite, olores y otros hidrocarburos del aire y de gases comprimidos. Los diseños más comunes utilizan filtros de una o de dos etapas, donde el carbón activado se introduce como medio filtrante. (anónimo 1, 30 marzo 2008)

4.6.5. Producción de carbones activados

4.6.5.1. Materiales de partida

Prácticamente cualquier material orgánico con proporciones relativamente altas de carbono es susceptible de ser transformado en carbón activado. Los carbones activados obtenidos industrialmente pueden provenir de madera y residuos forestales u otros tipos de biomasa, turba, lignito y otros carbones minerales, así como de diferentes polímeros y fibras naturales o sintéticas (Metealf, 1998).

4.6.6. Activación del carbón

La activación con H_3PO_4 implica las siguientes etapas: (i) molienda y clasificación del material de partida, (ii) mezcla del precursor con H_3PO_4 (reciclado y fresco), (iii) tratamiento térmico en atmósfera inerte entre 100 y 200

°C., manteniendo la temperatura aproximadamente 1h, seguido de un nuevo tratamiento térmico hasta 400 – 500 °C., manteniendo esta temperatura en torno a 1h, (iv) lavado, secado y clasificación del carbón activado, y reciclado del H_3PO_4 , la figura 6 muestra las diferentes fases de un carbón activado. (Anónimo 1, 30 marzo 2008).

Los carbones activados, pueden presentar elevadas superficies específicas, del orden de 1000 m²/g e incluso llegar a los 3000 m²/g. Los elevados valores de superficie específica se deben en gran medida a la porosidad que presentan los materiales carbonosos, siendo los microporos los que mayor contribución tienen en la superficie específica (adisol, 30 de marzo 1998).



Figura 6. Algunos tipos de carbono activado.

4.6.7. Capacidad de absorción del carbón

Se pueden estimar mediante una isoterma la cual demuestra el agotamiento del carbón y el agotamiento de absorción para las aguas residuales donde la formula es la siguiente $(x/m) = x_r/mc = Q(c_i - (c_r/2))^{tr/mc}$ Se puede asumir como valor de la capacidad de absorción de agotamiento un valor aproximado entre el 25 y el 50 % de la capacidad de absorción teórica la mayoría del carbón se utiliza para quitar el olor a aguas residuales o purificadoras de agua (Jack, 1968).

5.1. Localización del sitio experimental

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Post-cosecha perteneciente al departamento de Horticultura y laboratorio de alimentos, localizado en el área del bajío de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro con latitud norte de 25° 22' y longitud oeste de 101° 00', a una altura sobre el nivel del mar de 1730 metros (Hernández, 1999).

5.1.1. Características del sitio experimental

El clima que predomina en el lugar es seco, con verano cálido y lluvias en verano con temperaturas extremas. La temperatura media es de 17.8 grados centígrados y precipitación de 490 mm anuales (Hernández, 1999).

5.1.2. Procedencia de muestras de aguamiel

La muestra de aguamiel utilizada en esta investigación fue adquirida en San Antonio de las Alazanas, localidad situada en el Municipio de Arteaga en el Estado de Coahuila de Zaragoza (anexo 9.1).

Etapas 1:

5.2. Desodorización del aguamiel

El método a utilizar en la desodorización del aguamiel con una pasterización previa, este método fue realizado previamente por Ramos (2004), el problema que menciona por Ramos es el mal olor, para lo cual se realizó una fase, utilizada por las purificadoras de agua, el siguiente paso será valorar el perfil de aminoácidos presente después de los tratamientos realizados, mediante una cromatografía en papel, para posteriormente envasarlo para el mercado.

Se adquirieron 3 litros de aguamiel del ejido de San Antonio de las Alazanas, los cuales se colocaron en frascos de 500 ml y se metió en una olla

a temperatura constante de 70 °C durante 30 min. Se le agregó benzoato de sodio 0.5 por litro de aguamiel y se dejó en reposo a temperatura ambiente.

Se agregaron 1.5 litros de aguamiel a un tubo de PVC el cual ya estaba acondicionado de la siguiente forma: un tubo de 30 cm de altura y 10 cm de diámetro, se colocaron coplees para tapar uno de los extremos del tubo usando pegamento PVC, se realizaron perforaciones a 10 cm de distancia entre una y otra se colocaron 2 pivotes con silicón que sirvieron como portadores de muestra previamente sellados con hule, de esta manera se toman muestras, después se colocaron 180 gr de carbón activado.

El aguamiel ya pasteurizado se vertió en el tubo ya antes preparado 1.5 lts de aguamiel y se dejaron en reposo y utilizando la técnica del “umbral”, prueba ideada por Charles Spaulding en 1931. Cada 9 horas se tomaron muestras hasta llegar a 27 horas, las cuales se mantuvieron frescas en un refrigerador mientras se utilizaban, colocando las siguientes descripciones a cada tratamiento.

5.2.1. Tratamientos

ASP Aguamiel sin pasteurizar

AP= aguamiel pasteurizada

9ASP1= aguamiel sin pasteurizada con carbón toma 1: 9hrs.

9AP2= aguamiel pasteurizada con carbón toma 2: 9 hrs.

18ASP1= aguamiel sin pasteurizada con carbón toma 1:18 hrs.

18AP2= aguamiel pasteurizada con carbón toma 2: 18 hrs.

27ASP1= aguamiel sin pasteurizada con carbón toma 1: 27 hrs.

27AP2= aguamiel pasteurizada con carbón toma 2: 27 hrs.

Etapa 2:

5.3. Determinación de aminoácidos

A continuación se describe la técnica adaptada por: MC. Mildred I. M. Flores Verástegui, C. Marco Polo Sánchez Maldonado y MC. María Hernández González

5.3.1. Muestra directa

La determinación del perfil de aminoácidos se realizó mediante una técnica de cromatografía en papel en capa fina, las muestras fueron evaluadas de dos formas, directamente y posterior a una digestión la muestra directa se trató tomando 20 µl de la muestra directamente con una micro pipeta para ser corrida en cromatografía de capa fina y posteriormente pasar al espectrofotómetro y obtener los datos que serán comparados con la curva estándar de aminoácidos.

5.3.2. Digestión de la muestra

Tomar la muestra a digerir y agregar 1 ml de la mezcla ácido clorhídrico: acetona, mantener en reposo y proceder a su centrifugación durante 15 minutos y secar. Disolver el residuo seco en agua destilada, adicionarle una muestra de éter y volver a evaporar, para la final disolución de la muestra en agua destilada del cual se tomaron 20 µl con los cuales se realizara la corrida cromatografica.

5.3.3. Cromatografía en capa fina

Se preparó el papel para la cromatografía y la mezcla de solventes conformado por n-butanol y acetona y una más de ácido acético y agua destilada, los cuales son colocados dentro del tanque cromatografico.

Sujetar el papel filtro ya preparado en una placa de vidrio. Colocar 20 µl de la muestra en el centro de la línea trazada sobre el papel. Colocar la placa

de vidrio dentro del tanque cromatográfico y taparlo, dejar reposar hasta que la mezcla de solvente humedezca por completo el papel. Sacar la placa de vidrio y quitar el papel, dejar secar completamente y asperjarlo con una solución de ninhidrina al 1%, dejar secar hasta la aparición de manchas de color rosa-violeta, el procedimiento se llevo a cabo cuidando de no contaminar a las muestras.

5.3.3.1 Factor de resolución.

Calcular el factor de resolución (R_f) de cada una de las manchas obtenidas, medir el largo de la mancha y marcar el centro de la misma, medir de la línea base hacia el centro de la mancha y dividir este dato entre el frente del eluyente.

5.3.4. Espectrofotometría

5.3.4.1. Preparación de muestra

Recortar en pequeños pedacitos cada una de las manchas obtenidas mediante cromatografía en capa fina y colocarlos en un tubo de ensaye conteniendo alcohol isopropilico. Agitar y dejar reposar por 1 hora.

5.3.4.2. Medición de absorbancia.

Vertir la solución coloreada en una celdilla para espectrofotómetro y leer a 570 nm utilizando como blanco isopropanol y ninhidrina.



Figura 7. Foto de las 3 fases de una cromatografía.

5.3.5. Curvas de calibración estándar

Preparar una solución madre al 1 % de cada uno de los aminoácidos en alcohol isopropílico al 30%, colocar en una gradilla 11 tubos de ensaye y preparar conforme al cuadro 5.

Cuadro 5. Preparación de tubos para la calibración

No. de tubo	(μ l) solución madre al 1 %	(μ l) isopropanol al 30%	(ml) ninhidrina
1	0	1000	1
2	10	990	1
3	20	980	1
4	30	970	1
5	40	960	1
6	50	950	1
7	60	940	1
8	70	930	1
9	80	920	1
10	90	910	1
11	100	900	1

Agitar cada uno de los tubos ya preparados y dejar reposar por una hora, verter la solución en una celdilla para espectrofotometría y leer la absorbancia a 570 nm.



Figura 8. Espectrofotómetro y tubos preparados

Etapa 1:

6.1. Desodorización con carbón

En esta etapa se colocaron las muestras por carbón activado pasteurizado y sin pasteurizar, este proceso de pasteurización se utilizó para tener una mayor vida de anaquel del aguamiel y el carbón para desodorizar el aguamiel. A las 9 horas después de a ser pasado por el carbón se eliminó por completo el olor concentrado que tenía, esto se analizó por medio del olfato comparando una muestra anterior a las nueve horas que sería la muestra antes de someterla al carbón activado, la siguientes muestras presentaron el mismo patrón de desodorización, el carbón funcionó, de acuerdo a la técnica del “umbral” (Charles Spaulding, 1931).

Etapa 2:

6.2. Factor de reacción de los aminoácidos obtenidos

Utilizando una técnica de cromatografía en papel modificada en base a lo propuesta por Warng y Larkins (2001), Merck (1975), Chechetkin (1984), entre otras mas. Las diferencia entre una y otra son en el factor de reacción debido a que en el trabajo se utilizo un papel más grande de 20* 20 cm. Lo cual lleva que las manchas lleguen a subir un nivel más alto, debido también al tiempo que se dejaba en la solución que era de 2 a 3 horas para empapar todo el papel. La altura sobre el nivel de mar donde se llevaron acabo los experimentos y humedad también son un factor importante, Jesús V. Jorrín Novo, Ma. Nieves Abril Díaz, José A. Bárcena Ruiz del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, estos autores utilizaron silica gel para realizar sus cromatogramas dándole las mismas coloraciones, aplicando la ninhidrina para revelar los cromatogramas. Según la literatura, la metionina y valina tiene un Rf similar de 0.59, estos estudios fueron realizado en Estado Unidos Americanos, mientras que en este trabajo dio un Rf. de 0.335, en la metionina y valina, la diferencia puede encontrarse es en el material que se utilizó.

En la siguiente grafica se presenta los 9 aminoácidos obtenidos por el método de cromatografía en capa fina, en los cuales se observa el factor de reacción de cada aminoácido obtenido, se puede observar claramente que para la valina y la metionina su Rf son similares, mientras que para la leucina su factor de reacción es uno de los mas elevados en comparación a la arginina, que es uno de los mas bajos.

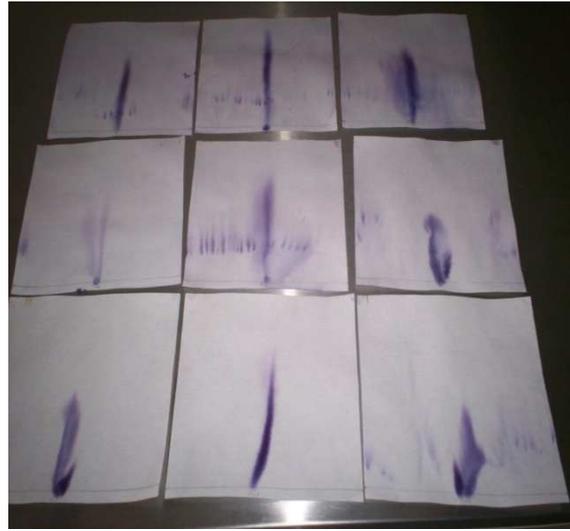


Figura 9. Aminoácidos obtenidos de derecha a izquierda de arriba hacia abajo. (phe.,leu.,val.,tir.,trip.,his.,lys.,met. y arg.).

Cuadro 6. Factor de reacción de 9 aminoácidos presentes.

aminoácidos	Factor de reacción (Rf)
Arginina	0.2075
Fenilalanina	0.356
Histidina	0.215
Leucina	0.4325
Lisina	0.2225
Metionina	0.335
Tirosina	0.27
Triptofano	0.355
Valina	0.335

6.2.1. Concentración de aminoácidos

La concentración de los aminoácidos en el aguamiel varia en las diferentes etapas del proceso, donde se encontró mayor concentración de aminoácidos fue en la primera etapa o proceso 0 horas, aguamiel pura sin procesar, los factores que influenciaron mucho en al perdida de aminoácidos fueron el calor o al tiempo, la concentración de aminoácidos se perdió debido a la fermentación o a la pasteurización según la muestra, ambas perdieron aminoácidos con el paso del tiempo.

Un estudio hecho en Hidalgo y Tlaxcala de la escuela Nacional de Ciencia Biológica, departamento de alimentos, demuestra que en la variedad *Agave manzano*, contiene los siguiente aminoácidos: Aspártico 13%, glutámico 9%, serina 6%, arginina 3%, glicina 8%, lisina 7%, Valina 5%,Triptofano 3%, Metionina 4%,tirosina 4% y histidina 7 %, mientras en este experimento los aminoácidos encontrados en el *Agave atrovirens karw* fueron 9: histidina, metionina, arginina, valina, tirosina, triptofano, fenilalanina, lisina y leucina.

Mientras en una investigación chilena sobre el *Agave americana* realizado en Perú, señala que en 100 gr se encontró 4% de proteína, de la cual se identificaron los siguientes aminoácidos (sin señalar las cantidades): lisina, triptofano, histidina, fenilalanina, leucina, tirosina, metionina, valina y arginina.

En la siguiente tabla se muestra las diferentes concentraciones en gramos por litro de los diferentes aminoácidos, así como en qué proceso están estos aminoácidos presentes. En la tabla se presenta el mayor significado en los gramos de cada aminoácido que se encuentran en la columna 4 y 6 respectivamente, que posteriormente fueron analizados por medio de un programa. En la primera muestra digerida y sin procesar se observa que es donde se encontró más aminoácidos presentes, los cuales fueron: fenilalanina, leucina, valina y triptófano.

Cuadro 7. Concentración de los aminoácidos.

muestra digerida		570nm			
sin procesar	aminoácido	absorbancia	(g/l)	aminoácido	(g/l)
1	fenilalanina	0.096	0.2531	triptofano	0.1034
1	fenilalanina	0.095	0.2498	triptofano	0.1021
2	leucina	0.123	0.0753		
2	leucina	0.124	0.0756		
3	valina	0.094	0.102		
3	valina	0.089	0.1005		
Pasteurizada					
1	tirosina	0.039	0.2069		
1	tirosina	0.043	0.2386		
3	fenilalanina	0.073	0.176		
3	fenilalanina	0.061	0.1358		
9hrs pasteurizada					
1	tirosina	0.031	0.1435		
1	tirosina	0.034	0.1673		
3	tirosina	0.052	0.31		
3	tirosina	0.058	0.3576		
9hrs sin pasteurizar					
1	histidina	0.023	0.0373		
1	histidina	0.024	0.0383		
2	arginina	0.042	0.0424		
2	arginina	0.041	0.0418		
18 hrs pasteurizada					
1	lisina	0.029	0.0571		
1	lisina	0.022	0.0545		
18 hrs sin pasteurizar					
2	metionina	0.056	0.0592	valina	0.0806
2	metionina	0.058	0.0598	valina	0.0818
3	triptofano	0.122	0.139		
3	triptofano	0.154	0.1827		
27hrs pasteurizadas					
1	tirosina	0.035	0.1752		
1	tirosina	0.037	0.1911		
2	tirosina	0.078	0.5162		
2	tirosina	0.076	0.5003		
3	leucina	0.185	0.0962		
3	leucina	0.208	0.1039		
27hrs sin pasteurizar					
2	metionina	0.144	0.0837	valina	0.1337
2	metionina	0.143	0.08351	valina	0.1331
3	leucina	0.123	0.0753		
3	leucina	0.183	0.0955		

Cuadro 7. Concentración de los aminoácidos (continuación...)

muestra directa		570nm			
sin procesar	aminoácido	absorbancia	(g/l)	aminoácido	(g/l)
1	arginina	0.071	0.0585		
1	arginina	0.077	0.0618		
pasteurizada					
1	lisina	0.157	0.1059		
1	lisina	0.162	0.1078		
9hrs pasteurizada					
1	arginina	0.061	0.053		
1	arginina	0.063	0.0541		
18hrs sin pasteurizar					
1	histidina	0.037	0.0521		
1	histidina	0.026	0.0404		
27hrs sin pasteurizar					
1	histidina	0.053	0.0691		
1	histidina	0.044	0.0595		
2	metionina	0.097	0.0707		
2	metionina	0.093	0.0695		

6.2.2. Interpretación de concentración de aminoácidos

En las siguientes graficas se muestran las diferencias de aminoácidos, tiempo, tratamientos y muestra, que difieren unas de otras en diferentes fases o tiempo, describiendo las líneas de cada uno. Estos datos son interpretados mediante la ayuda del el programa JMP 5.0.1 utilizando los datos obtenidos. Y el tratamiento estadístico Student's y Tukey dándonos resultados iguales.

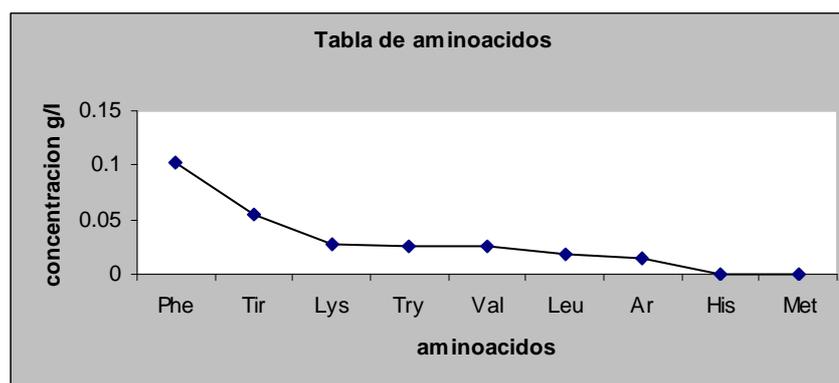


Figura 10. Presencia de aminoácidos a 0 horas.

En esta figura muestra que la fenilalanina es uno de los aminoácidos mas frecuentes en el procedimiento de 0 horas, disminuye drásticamente al pasar la tirosina y lisina, mientras que el triptofano la valina, leucina y arginina tienen un decremento casi similar, mientras la histidina y metionina se mantienen en ceros lo cual dice que no se pudo encontrar nada de estas dos

ultimas en esta fase. Mientras en la publicación de Chile (Pardo, 2005) investigación hecha en Perú tiene 4 grs de proteína de los cuales tiene 9 aminoácidos, si dividimos lo aminoácidos entre 4 grs tiene cada aminoácido una cada aminoácido una cantidad de 0.44 gr, aproximadamente.

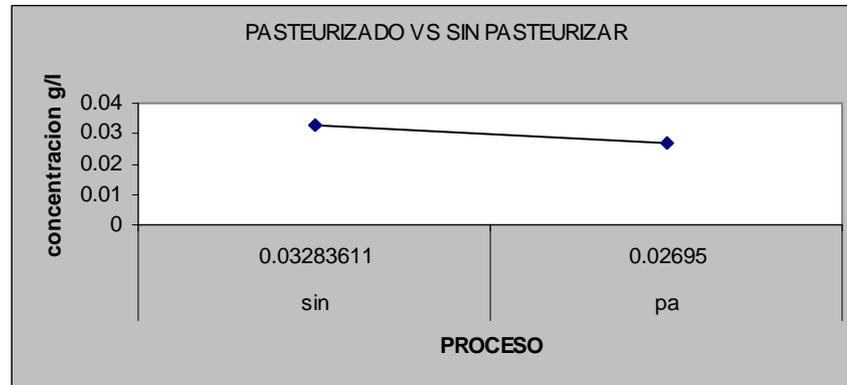


Figura 11. Proceso de pasterización.

Como se puede ver a las 0 horas, se muestras pasteurizadas Vs muestras no pasteurizadas, la cual la muestra sin pasteurizar muestra a tener una tendencia mas arriba que la pasteurizada eso quiere decir que se obtuvo mas aminoácidos en la muestras sin pasteurizar, con esto se muestra que es conveniente en el proceso 0 horas, utilizar las muestras sin pasteurizar para obtener mayor cantidad de aminoácidos. En la muestra pasteurizada por el calentamiento un factor importante para la perdida de aminoácidos, se observa una pequeña diferencia entre una y otro proceso, la diferencia entre una y otra es aproximadamente de 0.01 que, aunque es una cantidad pequeña, en grandes cantidades puede transformarse en una gran perdida de aminoácidos. El proceso de pasteurización es un proceso donde pueden degradarse varios aminoácidos por el calentamiento llevándolos a la desnaturalización de proteína, la probabilidad de desnaturalizar las cadenas de aminoácidos es muy alta, según Desrosier, 1987 en una pasteurización de la leche es recomendable para que no tenga mucha perdida de minerales, aunque la proteína es muy sensible al calor.

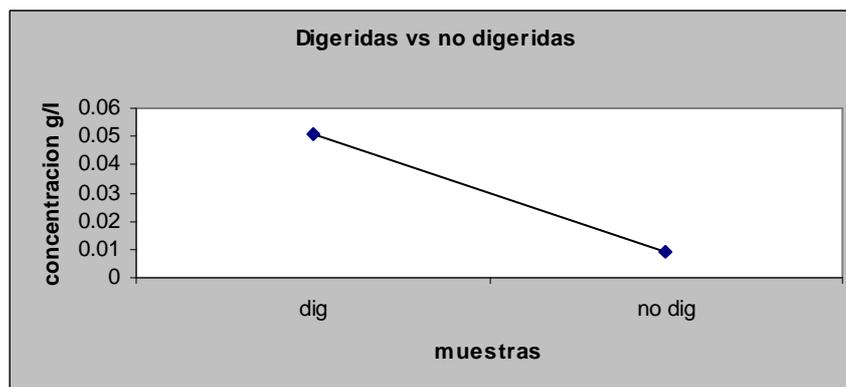


Figura 12. Concentración de aminoácidos en las Muestras Digeridas o no Digeridas.

Para la comparación de muestras digeridas Vs no digeridas, se observa en la figura 12 que la muestra digeridas tienden a estar mas arriba lo cual muestra que se encontró mas aminoácidos en la muestras digeridas que en las que no se digirió la muestra, pero eso no quiere decir que en la muestra no digerida no contenga los aminoácidos, lo que ocurre en la muestra directa los aminoácidos se compactaron formando una mancha mas prolongada que en las muestras digeridas, las cuales se pudieron dividir muy bien para cada aminoácido que contienen, aunque la mejor manera de obtener los aminoácidos es digiriendo, es más conveniente separarlos y obtenerlos mas claros; la diferencia seria de 0.050 Vs 0.0092, los cual como se puede ver en estas cantidades la diferencia entre una y otra es de 0.0408.

6.2.2.1. Concentración de aminoácidos en mayor tiempo

En esta fase se le coloco a los aminoácidos un nuevo dato que es el tiempo en las muestras de 0, 9, 18 y 27 horas, para ver la formación de aminoácidos en fases como tiempo, muestras digeridas o no digeridas, la pasteurización y obtener mayores resultados y funcionamientos de las curvas, pudiendo observar las diferencias entre una y otra.

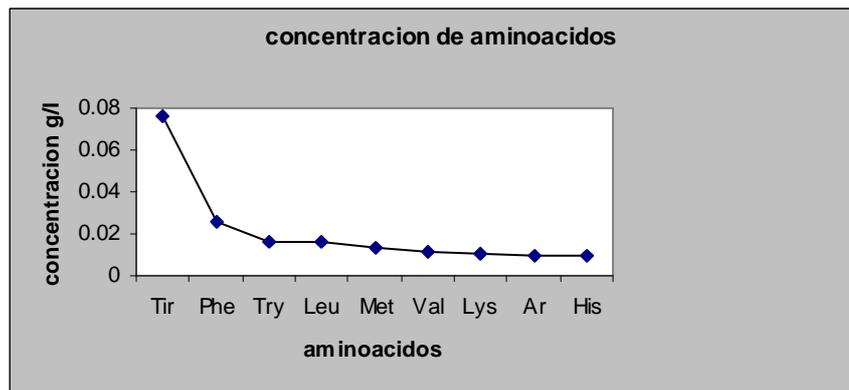


Figura 13. Presencia de aminoácidos en todo el proceso.

En la figura 13 se pueden ver los 9 aminoácidos. Comparándola con la figura 10, en esta todos los aminoácidos se presentan, la tirosina pasa del segundo lugar al primer lugar cambiándose con la fenilalanina, recordando que aquí se presentan mas muestras con diferente horas 0,9,18 y 27 horas, en el tiempo trascurrido se puede ver que hay mayor presencia de tirosina; la metionina también hay cambio de posición de estar en el ultimo lugar aparecen en el quinto, los demás aminoácidos solo varían un poco a comparación de los tres ya antes mencionados.

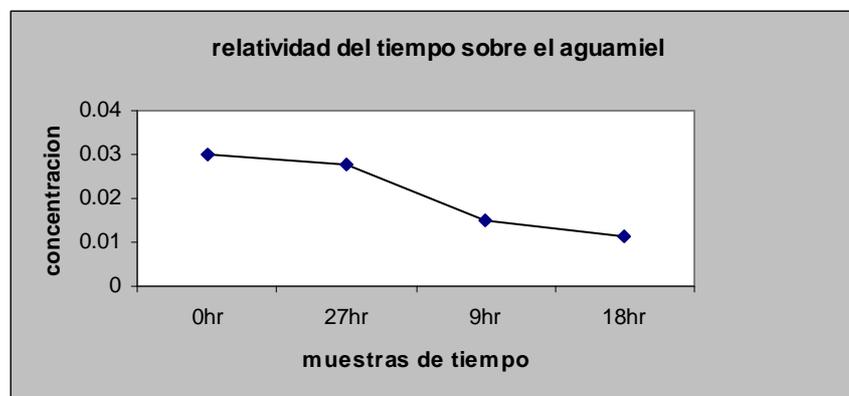


Figura 14. Presencia de aminoácidos a diferente tiempo.

En esta figura 14 se muestran los cuatro tiempos ya comentados que son 0, 9, 18 y 27, en el cual se muestra con mayor concentración de aminoácidos en primer lugar las 0 horas y en segundo lugar las 27 horas, en tercer lugar las 9 horas y en el ultimo lugar las 18 horas, como se explico en la figura 9, que la presencia de aminoácidos a las 0 horas se debía a que una de las muestras no paso por el proceso de pasteurización, en esa muestra se observan todos los aminoácidos presentes en el aguamiel con una cantidad mayor a las demás muestras, en las siguientes horas disminuyeron los

aminoácidos por la presencia de fermentación. La situación del segundo lugar de las 27 horas se debe a la unión de varias cadenas de aminoácidos cortadas formando nuevas cadenas de aminoácidos.

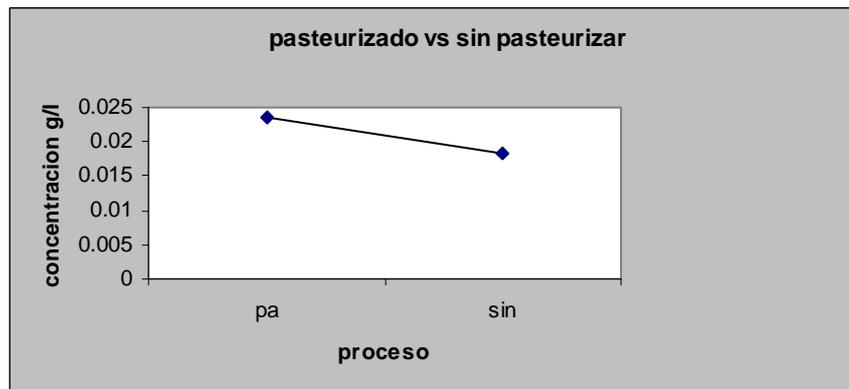


Figura 15. Presencia de aminoácidos en todo el proceso pasteurizado y sin pasteurizar.

En la figura 15 de pasteurizado, a diferencia de la figura 11, la muestra pasteurizada tiende a estar mas arriba que la muestra sin pasteurización, a este cambio se le atribuye el tiempo y el calor que se aplico en la pasterización en la primera fase, se eliminaron algunos enlaces de aminoácidos la cuales después se conectaron formando nuevos aminoácidos. Aquí hay dos teorías: si el aguamiel es procesado y pasterizado es conveniente tenerlo en carbón activado por un prolongado tiempo y si solo se pretende modificar el olor seria mantenerlo en el carbono por un periodo corto para que tenga mas presencia de aminoácidos, Desrosier (1987) explica la conservación de la leche, en este caso ocurrió algo similar en una conservación de aguamiel debido a que no se han obtenido datos de una pasteurización de aguamiel de cualquier variedad, la comparación con la leche que es el producto mas común para pasteurizar, en el caso de la leche se le agregan proteína después del proceso pero desnaturaliza gran parte de sus aminoácidos que contiene al momento del proceso, aunque las cantidades de aminoácidos que se obtienen después de un pasteurizado se mantienen constantes hasta la descomposición del producto.

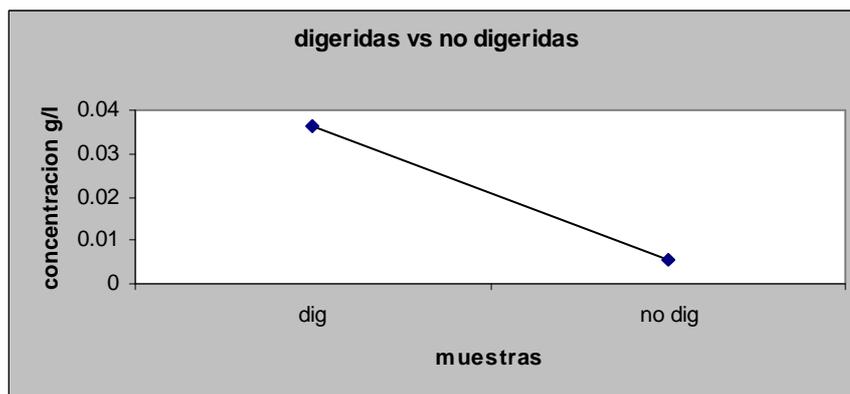


Figura 16. Muestras digeridas y no digeridas en todo el proceso.

En la figura 16 se muestra que al igual que la figura 12 que la muestra que mayor dominio tiene es la muestras digeridas, todo el proceso de las muestras digeridas como son pasteurizadas digeridas, y en la presencia del tiempo con las muestras digeridas sobresalen los aminoácidos con mayor presencia que en las muestras no digeridas, como se explica en la figura 12 el patrón de la manchas tiende a dividirse mas en las muestras digeridas y por lo consiguiente se pudo tomar mas factores de reacción, y se pudo observar mejor las distintas manchas sobre el papel separándose una de la otra. Lo cual llevo a mayores repeticiones de RF y mayor presencia de diferentes aminoácidos. En la muestra digerida se muestra 0.036 y de la muestra no digerida 0.0055 la diferencia entre una y otra muestra es de 0.0305

CAPÍTULO 7

CONCLUSIONES

La desodorización en el aguamiel se logro obtener a las 9 horas fue el mejor tiempo para desodorizarla por completo utilizando la técnica del umbral.

La técnica de cromatografía de papel fue modificada dando valores diferentes en los factores de reacción, aunque tiene una misma constante de valor para obtener los aminoácidos por medio de esta nueva técnica, el valor en muestras digeridas tuvo una mayor presencia de aminoácidos.

En la concentración de aminoácidos el aguamiel contiene 9 aminoácidos, los aminoácidos con mayor presencia son: fenilalanina y tirosina, aunque las concentraciones son pequeñas es uno de los productos con un valor nutrimental alto, en el proceso se ve que el aguamiel sin pasteurizar contiene mayor cantidad de aminoácidos en comparación con una muestra pasteurizada debido a que el calentamiento de la pasteurización pudo degradar algunos aminoácidos.

Al final del proceso se ve que la concentración de aminoácidos es mayor en la pasteurizada. Como se de tuvo la fermentación no se desdoblaron rápido los aminoácidos obtenido después de la pasteurización, mientras en la no pasteurizada tiende a fermentar y convertirse en pulque, la fermentación eliminaría los aminoácidos que se obtuvieron al principio, disminuyendo su concentración de aminoácidos drásticamente.

Los aminoácidos obtenidos en todo el proceso fueron 9 que son: fenilalanina, leucina, tirosina, lisina, valina, triptófano, histidina, metionina y arginina, todos en cantidades pequeñas y en diferentes etapas.

CAPITULO 8

RECOMENDACIONES

El tubo que se utilizo en esta practica fue diseñado para cantidades pequeñas, si esta metodología quiere llevarse acabo a grandes escalas se tendrá que realizar un envase con mayor volumen como los que utilizan las purificadoras de agua. El procedimiento seria el mismo o utilizando cartuchos de carbón activado para después no filtrar el carbón.

Utilizando el carbón en polvo se puede dividir por capas, esterilizando arena como filtro para que no pasen las partículas.

La técnica fue realizada en papel de 20*20, el cual pude ser modificado; eso modificara el tiempo de residencia en el tanque cromatográfico con la solución. Se recomienda que la muestra sea digerida.

En el pliego de papel filtro debe ser manipulado con guantes o de lo contrario las huellas dactilares aparecerán en el momento de asperjar la ninhidrina

9.1. Localización

El municipio se localiza al sureste del estado de Coahuila, en las coordenadas 101°50'24" longitud oeste y 25°25'58" latitud norte, a una altura de 1,660 metros sobre el nivel del mar. Se localiza a una distancia aproximada de 18 kilómetros de la capital del estado.

Limita al norte con el municipio de Ramos Arizpe; al sur con el estado de Nuevo León y al oeste con el municipio de Saltillo. Por su cercanía con Ramos Arizpe y Saltillo, el municipio forma parte de una zona conurbana de gran importancia en el estado.

Arteaga se encuentra dividida en un total de 366 localidades, entre las cuales se pueden localizar 26 comunidades ejidales, 8 congregaciones, 13 colonias populares y un gran número de fraccionamientos campestres y pequeñas propiedades

San Antonio de las Alazanas está a 2180 metros de altitud, latitud norte 25°15' y 25°19' longitud oeste 100°28' y 100°36' , tiene 2235 habitantes(INGI, 2000).



Figura 17. Localización de San Antonio de las Alazanas.

9.1.1 Orografía

(INEGI, 2000) Al este del municipio se localiza la sierra de San Antonio, se encuentran en el sureste las sierras de los Lirios, las de Huachichil, de las Vigas y de la Nieve; éstas sierras en su conjunto reciben el nombre de sierra de Arteaga y forman parte de la Sierra Madre Oriental, la cual a lo largo del estado presenta grandes elevaciones, valles y cañones.

9.1.2 Hidrografía

Por ser una región montañosa, cuenta con infinidad de arroyos en las cañadas de éstas montañas en donde nacen los grandes y pequeños manantiales; aunque es pobre en recursos acuíferos.

9.1.3 Clima

El clima en el municipio es de tipo semi-seco – semi-cálido, con ligeras variaciones según la altitud; el noreste y sureste se encuentra dentro del subgrupo de climas semi - fríos; la temperatura media anual es de 12°C a 16°C; la precipitación media anual se encuentra en el rango de los 400 a 500 milímetros con régimen de lluvias en los meses de mayo, junio, julio, noviembre y enero.

9.1.4 Flora

La vegetación bastante variada, consta de pino, cedro, encino, oyamel, lechuguilla, álamo, abeto, tejocote, pinabete, alamillo, sauz, palma, biznaga, maguey, pingüica, capulín, pirul, nopal, membrillo, manzano, durazno, chabacano, nogal, orégano, menta, laurel, hierbanís, rosa de castilla, gordolobo, hierba de San Nicolás, manzanilla, suelda y romero.

9.1.5 Fauna

La fauna está formada por coyote, zorrillo, tejón, conejo, liebre, ardilla, tlacuache, ardillón, venado, zorro, topo, oso, leoncillo, entre otros muchos mas.

9.2 Fotografías del maguey en diferentes fases



Figura 18. *Agave atrovirens* karw.



Figura 19. Cavity para obtención de aguamiel.



Figura 20. Extracción del aguamiel (Tlachiadero).

9.3 Preparación del reactivo ninhidrina

1 gr. de ninhidrina

98 ml de etanol

2 ml de ácido acético

CAPITULO 10

LITERATURA CITADA

- Burton**, H. (1988). UHT processing of milk and milk products". London: Elsevier Applied Science. p.
- C.K. Mathews**, K.E Van Holde y K.G. Ahren 2002., Bioquímica (3ª ed.), Addison Wesley – Pearson Education,
- Cortes M.**, D. R. 2000. Plan de negocios para la producción y comercialización de miel de maguey. Tesis licenciatura UAAAN Buenavista, Saltillo Coahuila, México.
- Chávez** Díaz Juan Gabriel. Uso de hormonas enraizadora en maguey agave atrovirens. Tesis de la uaaan nivel licenciatura p.
- Chávez** 1975. El agua subterránea y los pozos. p. 215
- Desrosier** Norma W 1987. Conservación de alimentos editorial Continental S.A de C.V. p. 49-52
- Dickson** T.R. 1976. Introducción a la Química. p 370
- F. Gonzalez-Pellisso**, L. Rejano Navarro, and F. González-Cancho(1982). *The Pasteurization of Olives Sevillan Style*, Grasas y Aceites pp. 33, 201-207.
- Flores**, M., A., Olvera, H., M. E. y Martín, C., S. 1996. Obtención de una miel a partir de aguamiel producido por tres especies de *Agave spp* que se cultivan en el estado de Tlaxcala y su evaluación físico-química en su composición. XXVII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Monterrey N. L. México.
- García**, M, A. 1994. Colección Nacional de Agaváceae. Primer Simposio Internacional Sobre Agaváceas. Instituto de biología Universidad Nacional Autónoma de México.
- González** Guerrero Sergio 1994. Valor de dos especies de maguey agave salmania y agave atrovirens karw. Forraje utilizado en las zonas áridas del norte de México en relación a sus características. Tesis de la uaaan. Nivel licenciatura
- Granados**, S.A. de C.V. 1993 "Los agaves en México" Universidad Autónoma de Chiapingo, Edo. de México, pp. 9,10,12,31.
- Gentry** Howard S. 1998. *Agaves of Continental North América*. The University of Arizona Press. EEUU

Hayes P.R., Microbiología e higiene de los alimentos, Ed. Acribia S.A., Zaragoza, España, 1993 p.

Hernández Ch., J.L. 1999. Aplicaciones de bioreguladores bajo el sistema de hidroponía en la raíz del cultivo de tomate Tesis. Licenciatura UAAAN. Buenavista Saltillo Coahuila México. p. 31

Hicks Gomes J.J. 2000. Bioquímica editorial McGraw-Hill p. 50

Jack M. Verrey 1968. Aguas y su calidad y tratamiento. p. 243-259

James, N. Warner. 1989 *“Principios de la tecnología de lácteos”*

Leninhger, 2000 *“Principios de bioquímica”*, Omega, Barcelona,

Lehninger, Albert L. 1976, Bioquímica. Edición Omega S.A. p 35-40

Loyola, M.E. 1956 *“La industrialización del pulque. Banco de México S.A. Departamento de Investigación Industrial*

Llaguno M., C 1995. *Produccion y envasado de zumos y bebidas de frutas sin ga. Ed. Acribia, S.A. Ashurst, P. R. (ed.) Zaragoza, Esapaña. p. 301-304.*

M. Toporek. Bioquímica, 3er edición p. 215

Macedo, E. M. 1950 *“Manual de magueyeros” Bartolomé trucco México D.F. pp.80-90.*

Martines Cabrera Jose Luis: Valor nutricional de especie de maguey salmania en el sur del estado de Coahuila. Tesis de la uaaan nivel licenciatura p.

Merck, 1975. Hidrólisis de proteína y determinación de aminoácidos por cromatografía de capa fina.

Mertz, Edwin T. 1971. Bioquímica Edición Limusa S. A. p 57-60

Matealf y Eddy. 1998 *“Ingeniería en aguas Residuales (tratamiento vertido y reutilización) volumen 1 (tercera edición) pp. 359-369*

Menendez Diaz J. Angel, I. Martín-Gullon. activated carbon surfaces in environmental remediation. Chapter 1. Types of carbon adsorbents and their production p.

Munguía López. 1999 *“biotecnología alimentaría”*.edición trillas

Nieto Roaro, Daniel1901. *“Contribución al estudio bacteriológico del aguamiel y el pulque”*.

Ramírez Pompa y Gentry. 1982. El maguey: árbol de las maravilla. Editado por el Museo Nacional de Culturas Populares. México, D. F.

Ramos Zablah Claudia Margarita 2004. Método de conservación para retardar la fermentación del aguamiel. tesis de la uaaan nivel licenciatura

- Raymond** Chang. Lian College.1984 Química séptima edición pp. 845, 959 y 982
- Reaves**, P. M. 1977. El ganado lechero y las industrias lácteas en la granjas Limusa. Mexico p. 405-472
- Rivera** Miranda Maria Teresa. Depreciación ruminal in Vitro y calidad nutricional del maguey mezcalero potosino. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Rodríguez** Sotres, Rogelio. La estructura de las proteínas.
- Sánchez**, L. A. (1989): *Oaxaca Tierra de Maguey y Mezcal*. Instituto Tecnológico de Oaxaca. Oaxaca, México.
- Sahún**, Bernardino. 1956. *Historia General de las Cosas de Nueva España*. Tomo III. Edición de Ángel Ma. Garibay K. Editorial Porrúa, S.A. México D.F.
- Skoog**, Douglas A. y Leary, James J. (1994), *Analysis Instrumental*, Madrid: McGraw-Hill. 84-481-0191-X. CHEMICAL ANALYSIS
- Slabaugh** W.H.1976. Química general. Editorial Limusa S.A. p 411
- V. Chechetkin e I. Voroliaskin** (1984) Practicas de bioquímica del ganado y aves de corral.
- W.A. Bones**. 1918 “El carbón y sus aplicaciones científicas”
- Wang y Larkins** 2001.Contenido relativo de aminoácidos libres (FAA) método de ninhidrina modificado.
- William K.** Stephenson. Introducción a la bioquímica editorial Limusa capitulo 9
- William J. R.** 1996 “*Water treatment and purifièntiòn*” pp. 220-222.
- Wharton**. David. EXPERIMENTS AND METHODS IN BIOCHEMISTRY. 1ed. The MacMillan Co. Estados Unidos (1972) 350p.p

X. LITERATURA CITADA EN INTERNET

Adisol, “carbón activado”, 30 de marzo del 2008
<http://www.adisol.com.ec/boletines/Boletin-clasificacion.pdf>

Alicia Vega Vargas. Manejo y producción del maguey. Monografía de la uaaan.

Anónimo 1: “Carbón activado” Wikipedia: 23:36, 30 mar 2008.
http://es.wikipedia.org/wiki/Carb%C3%B3n_activado

Anónimo 2: Wikipedia “Cromatografo de gases” el 21:58, 3 abr 2008.
http://es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ADa_de_gases

Dr. De Sucre Antonio José. Principios de Anatomía y Fisiología Universidad Nacional Experimental Politécnica Ciudad Guayana Venezuela.
<http://html.rincondelvago.com/aminoacidos-esenciales.html>

Ruiz Antonio, 23-Julio-2007 (09:25 a.m.)”Producción de aguamiel en Coahuila” la pagina electrónica donde se encuentra es
http://www.vanguardia.com.mx/diario/noticia/saltillo/coahuila/ven_en_el_maguey_futuro_halagueno/16112

Revista Claridades Agropecuarias, *agave americano (ASERCA, 2000)* se encuentra en: www.chlorischile.cl/agavepardo/Agavetexto.htm
<http://www.uaaan.mx/public/forestan/nota3.htm>

Rodríguez Reinoso FFrancisco. Universidad de Alicante en España.
<http://wwwprof.uniandes.edu.co/~infquimi/revista01/id65.htm>

Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de Puebla, lo encuentra en
<http://www.sdr.gob.mx/beta1/contenidos/CadenasAgropecuarias/docs/802148.235.138.1321-08-2007magueypulquero%20medicinal.pdf> Correo electrónico: cadenasproductivas@sdr.gob.mx

Flores Morales Areli y otros. evaluación fisicoquímica del aguamiel de tres variedades de maguey pulquero (*Agave spp*).
<http://www.eventosfcqujed.org/memorias2008/Documentos%20PDF/A058.pdf>

Pardo Briceño Oriana.2005 el agave americana (agave americana l.):uso alimentario en el Perú. <http://www.chlorischile.cl/agavepardo/Agavetexto.htm>