

CONTRIBUCION A LA BIOQUIMICA DEL AGAVE

Por A. MADINAVEITIA Y F. OROZCO D.,
del Instituto de Química de la Universidad Nacional de México.
Colaboración especial para el Instituto de Biología.

El maguey presenta en su desarrollo una serie de anomalías curiosas que seguramente van acompañadas por transformaciones bioquímicas interesantes. Es una planta cuya vida dura un período variable, aproximadamente de ocho años en las plantas cultivadas; después de este tiempo florece y muere. Es extraordinario el desarrollo de su bohordo floral, el "quiote", y la rapidez con que crece; en poco más de dos meses se forma un órgano que pesa de 100 a 150 kgs. para el maguey manso (*Agave atrovirens* Karw.), que tiene casi la consistencia de un tronco de árbol; pocos casos se conocen de un crecimiento tan rápido, con la particularidad de que aquí se puede obtener, en la cantidad que se desee, la savia que lo provoca.

Guiados por estas observaciones hemos emprendido el estudio químico de esta planta que tanta importancia tiene y ha tenido en la economía de México. Los datos adjuntos no significan más que los primeros resultados obtenidos en este estudio.

Nos ha interesado en primer lugar conocer los cambios químicos que sufren los zumos de la planta durante su desarrollo. Hemos efectuado este estudio principalmente en las pencas del *A. atrovirens* que se cultiva en los llanos de Apam. Obtenemos los zumos con toda facilidad, sin más que raspar la penca con un rallador y exprimir la masa resultante, tomando la precaución de trabajar con guantes de goma para evitar la irritación intensa que produce en la piel. En los zumos hemos estudiado hasta ahora principalmente los hidratos de carbono, puesto que son los materiales que van a intervenir en la formación de la celulosa del quiote y los que especialmente tienen interés en el aguamiel. En el zumo defecado, valoramos por el método de Bertrand la cantidad de azúcares antes y después de la inversión.

La penca de la planta joven contiene poco azúcar y éste es casi todo azúcar reductor. Conforme la planta va creciendo y se acerca el momento de la floración, la cantidad de azúcar del zumo va aumentando, comenzando a dominar la sacarosa sobre el azúcar reductor; finalmente, en la hoja totalmente madura la cantidad de sacarosa es muy grande y no contiene más que una pequeña cantidad de azúcar reductor.

Depende, naturalmente, la concentración de azúcar en el zumo de la cantidad de agua que reciba la planta por la raíz; estará más concentrado cuando se desarrolle en terreno seco que cuando se riegue.

	Azúcar reductor	Azúcar total
A atrovirens de 5 años, de Apam	10.2%	14.5 %
„ „ igual edad, regado, Chapultepec.	7.8 „	9.1 „
„ „ momento de caparlo, Apam	21.6 „	69.6 „
„ „ maduro „	20.0 „	98. „

Hemos tratado de averiguar un poco más cómo están repartidos los azúcares en la planta. El análisis del zumo de las pencas interiores que están aún blancas porque no les ha dado la luz, acusa una cantidad de azúcar de un orden semejante al de aquellas en que se está efectuando la fotosíntesis. La penca blanca del maguey, cuya penca verde contenía 69.6 % de azúcares totales, contiene 50 %. También hemos estudiado el reparto entre el extremo y la base de la hoja; se encuentra prácticamente la misma cantidad de azúcar. La que contenía en la base 20 % de reductores y 98 % de total, contiene 15 % de reductores y 85 % de total en el extremo.

El azúcar producida por fotosíntesis se va almacenando en forma de azúcar cristizable en todas las partes de la planta, se trata de verdaderas "Zuckerblätter" como las denomina Pringsheim. Para cerciorarnos de que la planta carece de polisacáridos de reserva, hemos hidrolizado la pulpa de penca hirviéndola 2 horas con HCl al 2 %. La cantidad de azúcares reductores en el líquido es prácticamente la misma que antes de la hidrólisis.

Como vemos, las hojas del maguey van madurando, acumulando hidratos de carbono hasta el momento en que florece. Si la planta se castra cortando la yema central de la que se va a desarrollar el quíote,

esta maduración, puede llevarse aún más allá, aumentando la cantidad de azúcares. Es este fenómeno, que puede verse en el cuadro anterior, el que se utiliza en la obtención del aguamiel y en la producción del mezcal. El maguey manso capado se deja madurar unos 8 meses, el maguey de mezcal (*A. rigida*) hasta un año.

Después de este tiempo se pone la planta en producción, se le abre en el centro del tallo un cajete al que va a fluir el aguamiel, el líquido azucarado que sirve para la producción del pulque. Su estudio nos ha interesado de un modo especial: porque no se podrá conocer nunca bien la fermentación del pulque sin saber la composición del líquido que fermenta, y sobre todo porque representa indudablemente la savia destinada a entretener el rápido desarrollo del quiote.

El primer problema que se nos presenta es el de conocer cuáles son los azúcares que tiene en disolución, que, naturalmente, serán los mismos del zumo de penea.

Mucho se ha discutido sobre la constitución del azúcar de maguey. Michaud (1) en 1892 pretendió que se trataba de un azúcar especial al que llamó agavosa; ya en 1895 Stone (2) demostró que se trataba de sacarosa. La discusión se ha pretendido reanudar recientemente, alegando diferencias en el punto de fusión y en la facilidad de fermentación.

El problema parece estar resuelto en México con mucha anterioridad a la publicación de Michaud. En 1858 Pontes y Chousal obtuvieron industrialmente muestras de azúcar de maguey con caracteres idénticos al azúcar de caña. En 1874 dice Río de la Loza que el azúcar de agave desvía el plano de la luz polarizada hacia la derecha lo mismo que la sacarosa (3).

Para cerciorarnos, hemos hecho nuestro estudio sobre muestras de aguamiel de *A. atrovirens* procedente de la Hacienda de Espejel en Apam. En el producto defecado por acetato de plomo se determina poder rotatorio, poder reductor por el método de Bertrand y cantidad de aldosas por el método de Willstatter; repitiendo las determinaciones después de hidrólisis con ácido clorhídrico, según Clerget. Los resultados son:

	Antes inversión	Después inversión
Azúcar reductor	3.6 %	98 % ₆
Aldosas	1.9 "	47 "
α_{D}^{25} en 200 mm.	+ 10.45°	- 3.5°

(1) Michaud and Tristan. Amer. Chem. Journ. 14. 548.

(2) Stone and Lotz. Amer. Chem. Journ. 17. 368.

(3) Francisco Guerrero. El vino de maguey (tesis) México, 1874.

La cantidad de sacarosa calculada de la inversión con ácidos es algo superior a la obtenida por reducción: 102.6 %o, contra 94.4 %o.

Más concordantes son los resultados obtenidos efectuando la inversión con invertasa de levadura de cerveza según el método de Hudson. Operando con un concentrado de aguamiel se encuentra:

	Antes inversión	Después inversión
Azúcar reductor	37%o	235 %o
$\alpha_{\text{D}}^{25^\circ}$ en 200 mm.	+ 22.5°	- 7°

Se calcula por inversión 207 %o, por reducción 198 %o, de sacarosa.

En el aguamiel no se encuentra galactosa, no hay producción de ácido místico por oxidación con ácido nítrico. Ni se encuentran más que indicios de pentosas.

Del líquido, lo mismo antes que después de la hidrólisis, no se obtiene con fenilhidracina más que cristales muy bien formados de la ceazona común a la glucosa y la levulosa.

Un azúcar no reductor, que da por hidrólisis cantidades iguales de aldosa y cetosa, dando ambas glucosazona; que da a la inversión el mismo valor que el azúcar de caña; parece que debe ser sacarosa.

Además de la sacarosa y el azúcar invertido hemos encontrado en el aguamiel otros productos de interés.

Por adición de alcohol precipita un polisacárido amorfo al que se ha denominado goma pero cuya constitución, como veremos, no corresponde a esta denominación. Es soluble en el agua, pero totalmente insoluble en alcohol de 70°.

Lo obtenemos directamente del aguamiel, o mejor del producto de concentrarla en el vacío, añadiéndole dos volúmenes de alcohol de 96°. Naturalmente que en estas condiciones arrastrará materias albuminoideas, sales y azúcares adsorbidos. Lo purificamos disolviéndolo en agua y tratándolo durante la noche con invertasa para desdoblar la sacarosa; se añade después potasa para poner el líquido a 60 % en este producto y se calienta 2 horas en baño de maría. El líquido pardea por destrucción de los azúcares. Se diluye con agua y precipita con dos volúmenes de alcohol de 96° repitiendo la disolución en agua y precipitación por alcohol.

Se presenta en forma de un producto amorfo casi incoloro. De sabor mucilaginoso. Soluble en el agua dando una disolución ligeramente opalescente. La disolución no dá coloración con la de yodo

en yoduro potásico. No reduce el licor de Fehling; si está un poco concentrada precipita con él una sal de cobre.

No da ácido múceo por oxidación con ácido nítrico, ni furfural por acción de ácido clorhídrico concentrado.

La hidrólisis total es bastante difícil, hay que hervir dos horas con HCl al 2% para lograrla. No se obtiene más que glucosa, como prueba el que con fenilhidracina no se produzca más que glucosazona en el líquido de hidrólisis y que el poder rotatorio y el valor reductor por el método de Bertrand den la misma cantidad de glucosa.

Se trata por lo tanto de una glucosana. Hemos querido averiguar si está constituida por moléculas de glucosa α como la fécula, o glucosa β como la celulosa. Los aparatos ópticos de que disponemos no nos permiten polarizar la disolución acuosa opalina. Felizmente hemos podido medir el poder rotatorio de los productos intermedios de hidrólisis; puesto que en cuanto ésta comienza, el líquido se aclara totalmente. Encontramos que el poder rotatorio específico va bajando de $+105^{\circ}$ a $+90^{\circ}$ y $+56^{\circ}$ hirviendo 45 minutos, 1 hora 30 minutos y 2 horas con HCl al 3%.

Se trata seguramente de una textrana. Nos ocupamos ahora del estudio de su hidrólisis parcial, de gran interés por ser esta sustancia la productora de la viscosidad del pulque, en el transecurso de euya fermentación se hidroliza en parte, puesto que no suele contener más que una cuarta parte del mucílago del aguamiel. (1).

Señalaremos de paso que hemos encontrado en el maguey una goma verdadera; es la goma de excreción que se produce en la superficie de las hojas como reacción a la picadura de los insectos. Por hidrólisis da pentosa y galactosa, contiene muchas cenizas en cal. Su análisis da 20.3 % pentosanas, 42.1 % galactana, 2.2 % cenizas, 1.46 % cal.

Además de los azúcares cristalizables y la dextrana, hemos encontrado manita en el aguamiel. Se obtiene con facilidad concentrando los líquidos hidroalcohólicos en los que ha precipitado la dextrana. Se ve aparecer en muchos casos los cristales de manita en un jarabe que dificulta aislarlos, esto se facilita haciendo fermentar los azúcares con levadura de cerveza exenta de manita, después de haber diluido el líquido. El filtrado se concentra casi a seco y se extrae la manita con alcohol hirviendo, del que se separa cristalina cuando se enfría. Funde a 165° , no produce depresión en el punto

(1) Es esta dextrana la causante de los desacuerdos entre los resultados obtenidos por reducción y por polarimetría en la valoración de la sacarosa del aguamiel.

de fusión mezclada con manita pura. La hemos caracterizado por su derivado tribenzálico que funde a 207° .

La cantidad de manita es muy variable de unos aguamieles a otros. Es curioso el ver cómo en los estudios recientes del aguamiel no se hace mención de este polialcohol. En el excelente trabajo de Lobato (1) en 1884 lo señala de un modo indirecto diciendo que "se ven aguamieles que contienen mucha inosita (azúcar insípido)".

Daremos a continuación los resultados de algunos análisis; los datos están en gramos por litro.

Agua- miel	Saca- rosa	Az inver- tido	Goma	Manita	Residuo seco	Cenizas	Alcalinidad Cenizas en Na ₂ O	P ₂ O ₅
I	104.5	2.62	7.6					
II	105.0	5.1	10.8	2.0	128.8	4.7	0.82	0.36
III	105.1	16.0	8.5		147.0	3.8	0.52	0.30
IV	25	44	0.75					

Las muestras I, II y III corresponden a aguamieles de la Hacienda de Espejel, de Apam, procedentes de magueyes mansos bien cultivados, capados a tiempo y dejados madurar ocho a diez meses antes de ponerlos en raspa.

No siempre se procede con este cuidado; a veces, cuando el campesino tiene necesidad de hacer producir luego a la planta, la capa demasiado pronto y no la deja madurar el tiempo necesario. Así la muestra IV procede de un maguey de penea larga (**A. Lehmani**) puesto en producción a los 20 días de capado y que llevaba 16 días en raspa. Se ve desde luego que su contenido en azúcares es completamente distinto del de una planta normal. No solamente contiene una cantidad total menor, sino que la cantidad de azúcar invertido es muy grande, hasta el punto que desvía hacia la izquierda el plano de la luz polarizada.

Es interesante hacer notar también que solamente los aguamieles maduros contienen goma en cantidad importante, la muestra IV tiene una décima parte de la cantidad corriente. Esto hace que por fermentación den pulques sin viscosidad. El que el bebedor busque en el pulque que tenga cuerpo, tiene su razón de ser, pues solamente los aguamieles de plantas maduras dan pulques viscosos; desgracia-

(1) Lobato. Estudio de los productos del maguey mexicano. México, 1884

damente ahora en muchos casos dan viscosidad a los pulques que no la tienen, por adición de otras gomas.

La producción de la sacarosa y la goma en la hoja del maguey se puede interpretar como reacciones de defensa de la planta contra la acumulación en sus zumos de azúcar cristalizable. Comienza la planta joven a almacenar monosas para el futuro desarrollo del quíote, sube con ello el tono osmótico y para que no suba tanto las transforma en parte en sacarosa. Pero ésta sigue aún aumentando por la supermaduración conseguida artificialmente con la castración y entonces sintetiza la planta un polisacárido. Se ve esto bien comparando los puntos de congelación de los zumos de las pencas; para una peca en el momento de castrar la planta (fin de la maduración fisiológica) $\Delta = 0.48^\circ$; a los 10 meses después, cuando se pone en explotación $\Delta = 0.95^\circ$.

Al estudiar el mecanismo de la secreción del aguamiel, nos hemos encontrado con que este líquido tiene una concentración en azúcares muy semejante al zumo de las pencas de la planta que lo produce.

	Azúcar reductor	Azúcar total
Aguamiel.....	3.6‰	98.0‰
Peca que lo produce.....	2.6 „	105 „
Aguamiel.....	16 „	106 „
Peca que lo produce.....	20 „	98 „
Peca de la base.....	10 „	64 „

El Prof. Villagrán (1) que ha estudiado el trazado de los vasos por los que circula la savia en esta planta, encuentra que hay unos que conducen desde la raíz a la hoja y otros que van desde ésta hasta la yema central, indudablemente destinados a acarrear los materiales que van a servir para el desarrollo del quíote.

Al perforar el cajete se cortan estos vasos que se cruzan en el centro del tallo, quedando las hojas superiores incomunicadas con la raíz y comunicadas con la cavidad donde vierten su savia. Por esto es su concentración en azúcares semejante a la del aguamiel y mayor que la de las hojas inferiores que reciben aún agua de la raíz. Es un hecho conocido y que se utiliza prácticamente, que un maguey

(1) Estos Anales.

da casi la misma cantidad de aguamiel que cuando está en el campo si se le arranca separándolo de la raíz y se le coloca sobre un piso seco.

También el estudio de los componentes inorgánicos nos ha dado datos interesantes sobre la vida de esta planta. Veamos en primer lugar el análisis de tres pencas de maguey manso:

	Humedad	Sólidos a 100°	Azúcares totales	Cenizas	P ₂ O ₅	Alcalinidad Cenizas en CaC ₂ O ₄
Penca en castración.....	91 07	8.93	2.35	0 42		
Penca en producción.....	82.20	17.80	9.8	0.59	0.023	1 08
Aguamiel correspondiente.....	85.3	14.70	10 5	0.38	0 030	0.13
Penca agotada.....	93 52	6.48	0 51	0.58		

Los datos están en tanto por ciento de material fresco.

La primera penca corresponde a un maguey en el momento de caparlo. La segunda es una penca en producción, incomunicada con la raíz; a continuación el aguamiel que produce. La tercera es una de las pencas que quedan vivas cuando la planta está ya agotada: son hojas de la base, en comunicación con la raíz, que quedan vegetando durante algún tiempo sobre el terreno; se emplean como alimento del ganado en esta región seca.

Vemos lo rica en agua que es la hoja del maguey a pesar de la consistencia que le dan sus fibras. La cantidad de cenizas parece aumentar durante el período de supermaduración, pero hay que tener en cuenta que se trata de una penca incomunicada con la raíz, cuyos zumos se están concentrando.

Para los azúcares ya hemos visto que la concentración en el aguamiel y en la penca que lo produce son sensiblemente iguales. También los fosfatos se encuentran en concentraciones del mismo orden, si acaso un poco aumentados en el aguamiel. La forma en que el ácido fosfórico existe en este líquido es un problema de cuya solución nos ocupamos actualmente. El aguamiel mana perfectamente transparente y en estas condiciones se puede recoger en las mañanas frías. Su reacción es débilmente alcalina a la fenolftaleína, y a pesar de tener calcio y ácido fosfórico no precipita el fosfato cálcico. Si se calienta a hervir se hace opalino y aumenta notablemente su alcalinidad. Un efecto análogo se consigue calentándolo suavemente en el vacío, pierde gases (CO₂ ?), se hace más alcalino y precipita algo,

tal vez fosfato cálcico. Es posible que la nata irisada que se forma en la superficie del aguamiel estéril esté constituida por cristales de fosfato cálcico.

Es natural que un líquido destinado a producir una transformación abundante de hidratos de carbono en el desarrollo del quiote contenga mucho ácido fosfórico. A su presencia en una forma especial o a la existencia de mucha auxina habrá que atribuir la facilidad sorprendente con que se desarrollan los microorganismos en este líquido. Es un problema cuyo estudio emprendemos.

Tiene además interés el conocer la riqueza en fósforo del aguamiel, por lo que la planta esquilma el terreno en que se cultiva. Admitiendo que un maguey produce 250 litros de aguamiel con una riqueza en P_2O_5 de 0.30 %, solamente en este concepto perderá la tierra 75 gr. de P_2O_5 por planta.

La alcalinidad de las cenizas, interesante en estos materiales de reacción neutra, nos da una medida de la cantidad de ácidos orgánicos. No conocemos aún todos estos ácidos, y calculamos la alcalinidad en oxalato cálcico como si toda ella proviniera de la transformación de esta sal en carbonato. El Prof. Villagrán (1) ha encontrado una cantidad grande de cristales de oxalato en la penca. La cantidad de ácidos orgánicos es mucho mayor en la penca que en el aguamiel; cosa perfectamente comprensible, pues mientras que la hoja está llena de cristales, el aguamiel mana transparente.

Hemos tratado de seguir las transformaciones que acompañan al desarrollo del quiote; desgraciadamente es muy difícil el proporcionarse uno de maguey manso, ya que ponen mucho cuidado en las plantaciones de no dejarlo desarrollar puesto que sería una planta perdida. El estudio lo hemos efectuado sobre uno de **A. Lehmani** casi totalmente desarrollado; los resultados obtenidos expresados en tantos por ciento son:

Humedad	Residuo a 100°	Celulosa	Cenizas	P_2O_5	Alcalinidad cenizas en $Ca C_2 O_4$
83.4	16.59	5.22	0.62	0.05	0.71

Si admitimos que representa la composición media de estos órganos, vemos en primer lugar que contienen mucho menos agua que las hojas, dato que ya se aprecia por su mayor densidad y consistencia. La alcalinidad de las cenizas vuelve a crecer, sin llegar a la de

(1). Véase estos Anales.

la penca; se vuelven a ver cristales de oxalato cálcico. Hay que tener en cuenta que el bohordo verdadero se encuentra envuelto por una capa de hojas atrofiadas.

La cantidad de fósforo en las cenizas es algo mayor que en el aguamiel. Si el quiote se engendra por este líquido hay que admitir que en su desarrollo se produce pérdida de agua por evaporación. Un quiote de maguey manso pesa de 100 a 150 Kgr. y la planta produce 200 a 250 litros de aguamiel.

Los aguamieles de **A. Lehmani** que hemos tenido ocasión de analizar, contienen alrededor de 7 % de azúcar; son productos de planta no supermadurada, sino próxima a la castración. El quiote contiene 5.22 % de celulosa determinada por el método de Kürschner y Hoffer. Se ve por lo tanto que buena parte del azúcar se transforma en celulosa durante su desarrollo.

RESUME

L'étude des sucs des feuilles d'agave (**A. atrovirens**, **A. Lehmani**, **A. rigida**) prouve que la plante accumule dans ses tissus les réserves qui doivent servir au développement de son énorme organe floral, sous forme de sucrose et sucre interverti.

Dans la plante jeune la quantité de sucres est petite et c'est surtout les réducteurs qui dominent. Quand elle est mûre, pour fleurir, les sucres augmentent beaucoup avec prépondérance du sucrose. C'est d'une façon artificielle qu'on la force à continuer ce proces de mûrissage par destruction du bouton central et avec lui la possibilité de développement de l'organe floral. La concentration des sucres augmente d'avantage et un polisaccharidé apparait comme réaction contre l'augmentation du tone osmotique.

C'est à cette augmentation du sucre par suite du surmûrissage qu'on a recours dans la production du vin d'agave (pulque) et de l'eau de vie (mezcal).

On creuse à la partie supérieure de la tige de l' **A. atrovirens** une cavité où s'écoule l'aguamiel, le liquide suré qu'on fait fermenter ensuite. Par cette opération on isole les feuilles supérieures de la racine par destruction des vaisseaux qui les communiquaient à travers la tige, et elles versent dans la cavité les réserves qu'elles avaient accumulé. La concentration des sucres dans l'aguamiel est sensiblement la même que dans les sucs de la feuille qui le produit. On y trouve en plus de sucrose et un peu de sucre interverti, une dextrane, et de la manite.

Destinée par la plante au developement de l'organe floral, pendant lequel il y a une grande prolifération cellulaire avec transformation rapide des sucres cristalisables en cellulose, cette sève est un liquide où les microorganismes se developent abondamment. Elle contient assez d'acide phosphorique et quoi qu'on y trouve en même temps de la chaux, elle coule parfaitement limpide malgré sa réaction faiblement alcaline.
