

XXXII Encuentro Nacional y 1^{er} Congreso Internacional AMIDIQ

3 al 6 de Mayo de 2011, Riviera Maya, Quintana Roo

CARACTERIZACIÓN ESPECTRAL DE FRUCTANOS DE *Agave tequilana* Weber var. Azul

J.E. Urias-Silvas¹, L.G. Oropeza-Ceja², J. Cervantes-Martínez^{1*}

¹Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ),
Guadalajara, Jalisco, 44270 México.

²Instituto Tecnológico de Jiquilpan, Michoacán, 59510 México.
jurias@ciatej.net.mx; *cervantes@ciatej.net.mx

Resumen

Los fructanos son polímeros de fructosa generalmente unidos a una molécula de glucosa terminal y se ha reportado que poseen numerosas propiedades funcionales y nutraceuticas. Las especies vegetales que contienen fructanos se encuentran distribuidas en algunas familias de mono- y di-cotiledóneas tales como Liliaceae, Amaryllidaceae, Gramineae, Compositae y Agavaceae, existiendo diferencias estructurales entre dichas familias de plantas. Dentro de la familia Agavaceae se encuentra el *Agave tequilana* Weber var. azul, el cual presenta una mezcla compleja de fructanos con enlaces $\beta(2-1)$ principalmente, pero también enlaces del tipo $\beta(2-6)$, con ramificaciones y con glucosa terminal o interna. El esparcimiento de Raman es una técnica espectroscópica que permite analizar la interacción de luz y materia, sus principales ventajas son que se puede obtener un análisis en tiempo real, en forma no destructiva, tanto en muestras sólidas como líquidas. El objetivo del presente trabajo fue utilizar la espectroscopia Raman para caracterizar fructanos de *A. tequilana*. Se utilizaron muestras fraccionadas en base a su grado de polimerización, a partir de las cuales se obtuvieron los espectros Raman utilizando un Espectrofotómetro QE65000 (Oceanoptics, Inc.), con una fuente de excitación a 532nm y una potencia de salida de 250mW, se utilizó una fibra óptica bifurcada. Los espectros Raman obtenidos mostraron bandas características correspondientes a las vibraciones de C-O-C en 349cm⁻¹, C-C-C en 468cm⁻¹, C-C-O en la región 687-699cm⁻¹, C-O-H en 1071cm⁻¹, -CH en la región 2960-2968cm⁻¹ y -OH en la región 3218-3246cm⁻¹. Los resultados espectrales mostraron información característica de tipo estructural tanto para el estándar lineal como para los fructanos ramificados.

INTRODUCCIÓN

Los fructanos son polímeros de fructosa generalmente unidos a una molécula de glucosa terminal y se ha reportado que poseen numerosas propiedades funcionales y nutraceuticas. La importancia de los fructanos radica entonces, en que pueden utilizarse como ingrediente alimenticio bajos en calorías y funcionar como edulcorantes o como sustituto de grasas; sin restarle mérito a su efecto prebiótico, donde han mostrado, como una consecuencia directa del consumo de estos carbohidratos, efectos positivos en la salud, como mayor absorción de minerales, inhibición en el desarrollo de cáncer de colon y disminución de triglicéridos y colesterol en la sangre (Mancilla-Margalli y López, 2006; Vijn y Smeekens, 1999).

Los fructanos aislados de plantas tienen una amplia variedad de aplicaciones. En el caso de los fructanos de bajo DP, muestran un sabor dulce, mientras que los de alto DP forman emulsiones con una textura tipo grasa y sabor neutro, por lo que hay gran interés por parte de la industria de los alimentos en usar estos carbohidratos como ingredientes alimenticios bajos en calorías y/o como ingredientes nutraceuticos (Frank, 2002; Vijn y Smeekens, 1999).

La estructura de los fructanos parece ser dependiente de la especie, tal como lo reportaron Bonnet y col. (1997) quienes propusieron la elucidación de la estructura de fructanos como un marcador taxonómico potencial de Poaceae. En el caso de las especies de *Agave* ha sido reportada más de una estructura para los fructanos. Sánchez-Marroquín y Hope (1953) y Bathia y Nandra (1979) reportaron a los fructanos tipo inulina como los principales carbohidratos de reserva en *A. tequilana* y *A. americana*, respectivamente. Por otro lado, López y col. (2003) reportaron la estructura molecular para los fructanos de *A. tequilana* var. azul, la cual consiste de una

XXXII Encuentro Nacional y 1^{er} Congreso Internacional AMIDIQ

3 al 6 de Mayo de 2011, Riviera Maya, Quintana Roo

mezcla compleja de fructooligosacáridos presentando principalmente enlaces $\beta(2-1)$, pero también observaron enlaces del tipo $\beta(2-6)$, con ramificaciones y con glucosa terminal o interna.

El efecto Raman es el fenómeno de un cambio de frecuencia de la luz cuando es esparcida por moléculas poliatómicas. Actualmente se usa como una herramienta no destructiva y en tiempo real para el análisis e identificación de muestras, así como también para obtener información espectral de cualquier compuesto (Graselli y Snavely, 1980; Bruno, 2009).

Dada la diversidad de estructuras que presentan los fructanos y su importancia en cuanto a aplicaciones en la industria de los alimentos se refiere, en el presente trabajo se propone utilizar la técnica de espectroscopia Raman con la finalidad de caracterizar fructanos de agave de manera rápida y no destructiva.

OBJETIVO

Caracterizar espectralmente fructanos totales, de DP alto, medio y bajo de *Agave tequilana* Weber var. azul usando espectroscopia Raman.

METODOLOGÍA

Materiales y Métodos

Para la caracterización espectral de fructanos se utilizó espectroscopia Raman. Para obtener los espectros se utilizó un Espectrofotómetro QE65000 (Ocean optics, Inc) y como fuente de excitación se usó un diodo laser con una longitud de onda de 532nm (verde) y una potencia de salida de 250mW. Las muestras líquidas de fructanos de *A. tequilana* se colocaron en viales transparentes a una distancia de 7mm de la punta principal de la fibra óptica, se usó el software Spectra Suite para registrar dichos espectros.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron los espectros característicos en la región de 300 a 1700 cm^{-1} de muestras líquidas de fructanos totales de *A. tequilana* (FLA), fructanos de DP alto (F1), medio (F2) y bajo (F3), además de los espectros de los estándares de glucosa (G), fructosa (F), sacarosa (S) y fructanos comerciales de achicoria (FCA). En la región de 300 a 1700 cm^{-1} , las vibraciones características de los carbohidratos son: $-\text{CH}_2-$, $-\text{C}(6)-\text{OH}$, $\text{C}-\text{O}$, $-\text{O}-\text{H}$, $\text{C}-\text{C}-\text{H}$, $\text{C}-\text{C}$, $\text{C}-\text{C}-\text{O}$, $\text{C}-\text{C}-\text{C}$ y $\text{C}-\text{O}-\text{C}$; y en la región 2700 a 3700 cm^{-1} se encuentran $-\text{OH}$ y $\text{C}-\text{H}$.

Región 300 a 1700 cm^{-1} . Los fructanos de *A. tequilana* (FLA) mostraron bandas características en dichas vibraciones: $-\text{CH}_2-$ en 1462 cm^{-1} , $\text{C}(6)-\text{OH}$ en 1240-1275 cm^{-1} , $\text{C}-\text{O}$ en 1121 cm^{-1} , $\text{C}-\text{O}-\text{H}$ en 1071 cm^{-1} , $\text{C}-\text{C}$ en 875 cm^{-1} , $\text{C}-\text{C}-\text{O}$ en 687 cm^{-1} , $\text{C}-\text{C}-\text{C}$ en 468 cm^{-1} y $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ en 349 cm^{-1} (Fig. 1). En todas las muestras de fructanos (F1, F2 y F3) fue notoria la vibración de $\text{C}-\text{O}-\text{H}$; la región donde aparece es muy corta y siempre se detectó intensidad entre 1071 y 1069 cm^{-1} . En el caso de la vibración $\text{C}-\text{C}-\text{H}$, sólo se encontró en las muestras de fructanos fraccionados por DP en 925 cm^{-1} , en esta banda Mathlouthi (1980) se refiere a la forma furanosa en la que se encuentra la estructura, mientras que los fructanos totales no presentaron esa vibración característica; la vibración $\text{C}-\text{C}$ varió entre las muestras de fructanos debido a que la forma furanosa se encuentra en la banda 875 cm^{-1} y la forma piranosa en 825 y 838 cm^{-1} . La vibración $\text{C}-\text{C}-\text{O}$ en fructanos de DP alto, medio y bajo se encontró en la banda 699 cm^{-1} . En cuanto a la vibración $\text{C}-\text{C}-\text{C}$, en la forma furanosa aparece en 468 cm^{-1} y $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ en 349 cm^{-1} (Fig.1). El espectro de los fructanos comerciales de achicoria (FCA) fue diferente al espectro de los fructanos de *A. tequilana* aunque presentó dos vibraciones en común con las demás muestras ($\text{C}-\text{C}-\text{C}$ en 468 cm^{-1} y $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ en 349 cm^{-1}), dicha diferencia puede ser atribuida a que las cadenas lineales de los fructanos de achicoria tienen enlaces $\beta(2-1)$ mientras que los fructanos de *A. tequilana* además de tener $\beta(2-1)$ tienen $\beta(2-6)$.

XXXII Encuentro Nacional y 1^{er} Congreso Internacional AMIDIQ

3 al 6 de Mayo de 2011, Riviera Maya, Quintana Roo

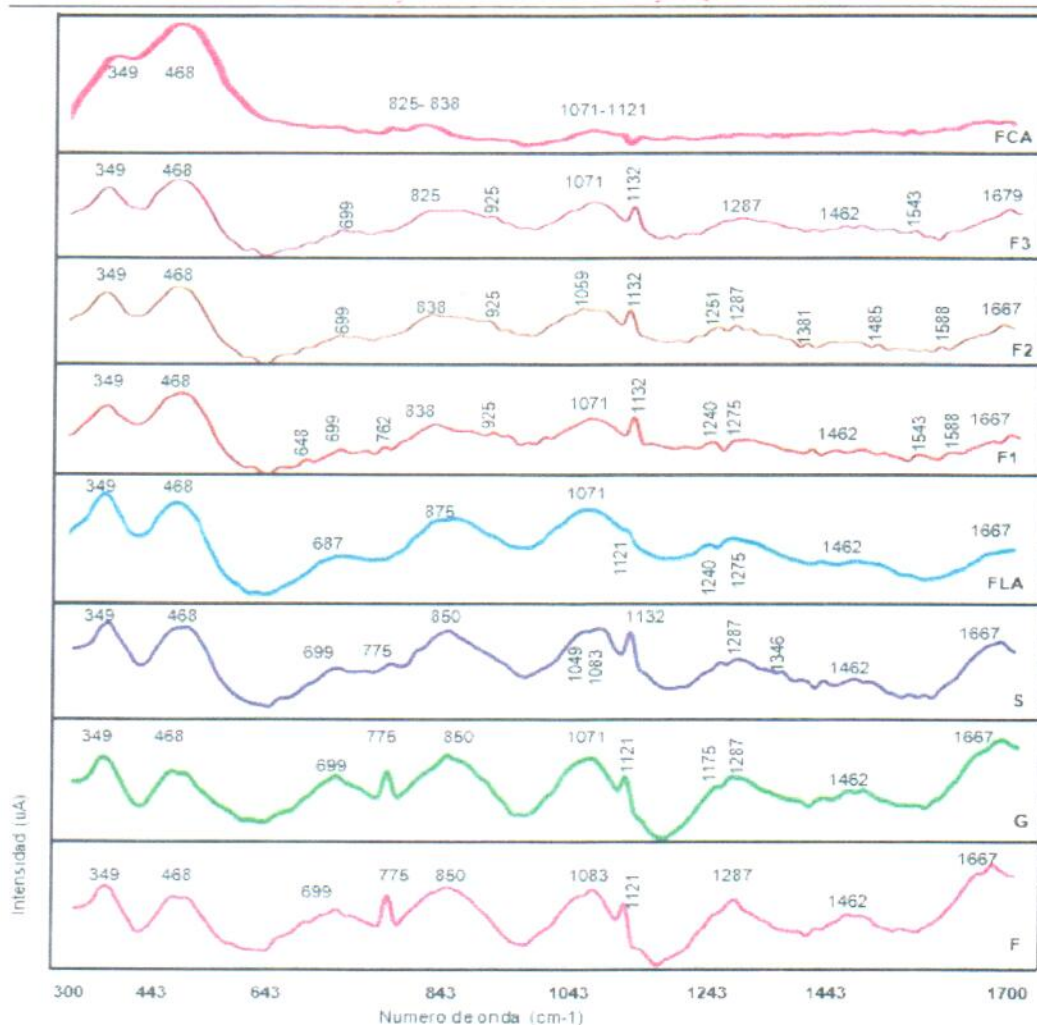


Figura 1. Espectros Raman de fructanos en la región 300-1700cm⁻¹. Bandas características de los fructanos totales (FLA), fructanos fraccionados por DP (F1, F2 y F3), incluyendo un estándar de fructanos comerciales de achicoria (FCA), los estándares de glucosa, fructosa y sacarosa.

Región 2700 a 3700cm⁻¹. Las vibraciones de estiramiento C-H en carbohidratos se presentan en la región de 2800-3050cm⁻¹ (Tu, 1982). Todas las muestras de fructanos *A. tequilana* (FLA, F1, F2 y F3) (Fig. 2 y 3) presentaron un ligero esparcimiento en las bandas 2960cm⁻¹, 2963cm⁻¹ y 2968cm⁻¹. Las vibraciones -OH también se presentaron en dichas muestras en 3246cm⁻¹, 3228cm⁻¹ y 3218cm⁻¹.

XXXII Encuentro Nacional y 1^{er} Congreso Internacional AMIDIQ

3 al 6 de Mayo de 2011, Riviera Maya, Quintana Roo

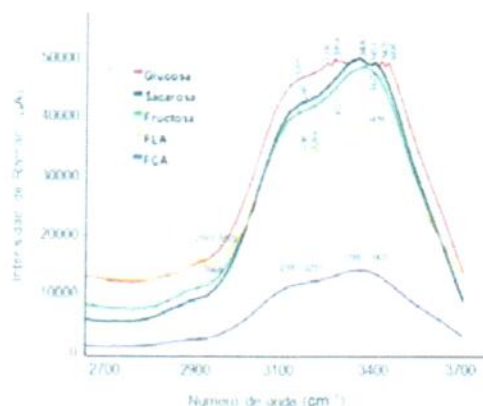


Figura 2. Espectros Raman característicos en la región de 2700-3700cm⁻¹. Fructanos de *A. tequilana* totales (FLA); fructanos comerciales de achicoria (FCA).

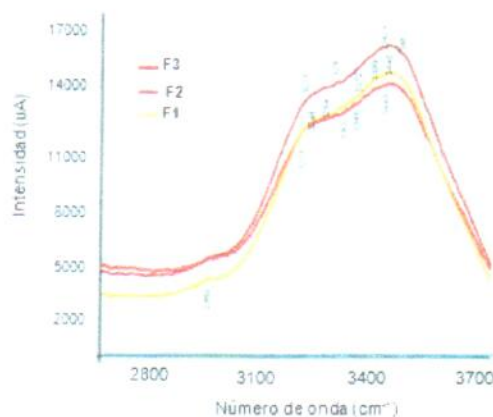


Figura 3. Espectros característicos Raman en la región de 2700-3700cm⁻¹. Fructanos de DP alto (F1), DP medio (F2) y DP bajo (F3).

CONCLUSIONES

La espectroscopia Raman demostró ser una herramienta útil en la caracterización de fructanos sin necesidad de preparar las muestras. Los espectros Raman mostraron diferencias entre los fructanos *A. tequilana* y los fructanos de achicoria en las regiones 300 a 1700cm⁻¹ y 2300 a 3700cm⁻¹. Los espectros de los fructanos de *A. tequilana* de DP alto, medio y bajo se lograron caracterizar, aunque comparten bandas similares, no son iguales a los fructanos totales de *A. tequilana*. Los resultados espectrales mostraron información característica de tipo estructural, lo cual concuerda con lo reportado por Batsoulis y col. (2005).

XXXII Encuentro Nacional y 1^{er} Congreso Internacional AMIDIQ

3 al 6 de Mayo de 2011, Riviera Maya, Quintana Roo

REFERENCIAS

1. Bathia, I. S. y Nandra, K. S. 1979. Studies on fructosyl transferase from *Agave americana*. *Phytochemistry*, (18) 923-927.
2. Batsoulis, A. N.; Siatis, N. G.; Kimbaris, A. C; Alissandrakis, E. K.; Pappas, C. S.; Tarantilis, P. A.; Harizanis, P. C. y Polissiou, M. G. (2005). FT-Raman Spectroscopic Simultaneous Determination of Fructose and Glucose in Honey. *J. Agric. Food Chem.* (53) 207-212.
3. Bonnett, G. D., Sims, I. M., Simpson, R. J. y Cairns, A. J. 1997. Structural diversity of fructan in relation to the taxonomy of the Poaceae. *New Phytol.*, (136) 11-17.
4. Bruno R. (2009). Resonance Raman spectroscopy, Springer Science Business Media B.V., (101) 147-155.
5. Frank, A. 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose. *Brit. J. Nutr.*, (87) 287-291.
6. Grasselli J. G. y Snavely M. K. (1980). Applications of Raman Spectroscopy. *Physics Reports (Review Section of Physics Letters)* (65) 231-344.
7. López M. G.; Mancilla-Margalli N. A. y Mendoza-Díaz G. (2003). Molecular Structures of Fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul. *J. Agric. Food Chem.* (51) 7835-7840.
8. Mancilla-Margalli, N. A. y López, M. G. (2006). Water-soluble carbohydrates and fructan structure patterns from *Agave* and *Dasylicirion* species. *J. Agric. Food Chem.*, (54), 7832-7839.
9. Mathlouthi M. (1980). Laser-Raman Spectra of d-fructose in aqueous solution, *Carboh. Res.* (78) 225-233.
10. Sánchez-Marroquín, A. y Hope, P. (1953). Agave juice: Fermentation and chemical composition studies of some species. *J. Agric. Food Chem.*, (1) 246-249.
11. Tu A. T. (1982). Raman Spectroscopy in Biology: Principles and Applications, First Edition. 235-255. Ed. A Wiley-Interscience Publication, United States of America.
12. Vijn, I. y Smeekens, S. (1999). Fructan: more than a reserve carbohydrate? *Plant Physiol.*, (120), 351-359.

[Índice](#)