

Secondary metabolites, quality indicators and organoleptic characteristics of stems meal from *Agave fourcroydes* (Henequen)

Metabolitos secundarios, indicadores de calidad y características organolépticas de la harina de tallos de *Agave fourcroydes* (Henequén)

Maidelys Iser¹, M. Valdivié², Liam Figueredo³, Ester Nuñez³, D. Más⁴ and Y. Martínez^{5*}

¹Universidad de Granma, Carretera de Manzanillo, km 17½. Bayamo, Granma, Cuba.

²Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

³Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Bayamo, Granma, C.P 85100.

⁴Laboratorio de Nutrición Animal, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro 76230, México

⁵Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Valle de Yegua, San Antonio de Oriente 96, Honduras.

*Email: ymartinez@zamorano.edu

To determine the secondary metabolites, quality indicators and organoleptic characteristics of stems meal from *Agave fourcroydes* (Henequen) grown in Cuba, five henequen stems, of approximately nine years old, were collected. The meal was stored for six months. The following analyzes were performed in triplicate: phytochemical screening, pH, refractive index, density, acidity, water soluble solids, appearance, dissolution capacity, pulverization degree, color, odor, taste and homogeneous capacity. In the ether extract, coumarins predominated and in the ethanolic extract, the flavonoids and anthocyanidins. In the aqueous extract, alkaloids, saponins, flavonoids, mucilages and reducing carbohydrates had little presence. This plant material has a slightly acidic pH (5.18), 1.33 refractive index, 0.31 g/mL of apparent density, 0.76 % acidity and 1.50 °Brix of water soluble solids. The organoleptic characteristics of stems meal from *A. fourcroydes* showed good physical appearance, partial dissolution capacity, good pulverization, light beige color, pleasant odor, slightly sweet taste and good homogeneity. According to the obtained results, the stems meal from *Agave fourcroydes* could be used as a nutraceutical product in the farm animals diets.

Key words: *henequen, phytochemical compound, physicochemical characteristic, nutraceutical*

Modern animal production is characterized by its great productive intensity, which implies that animals are subjected to different stress situations, which cause imbalance in the intestinal microbiota, the development of pathogenic microorganisms, immunosuppression, as well as the inefficient food conversion, high mortality and decrease in zootechnical response (Huang *et al.* 2018). For the previous reasons, antibiotics have been used for decades as animal growth promoting additives. However, its indiscriminate use causes residual effects on foods, microbial resistance, damage to the gastrointestinal biota, among others (Eng *et al.* 2015).

Since 2006, in the European Union and in other countries of the world, the use of sub-therapeutic antibiotics was prohibited (Ronquillo and Hernández 2017). The scientific community and the livestock

Para determinar los metabolitos secundarios, indicadores de calidad y características organolépticas de la harina de tallos de *Agave fourcroydes* (Henequén) cultivado en Cuba, se recolectaron cinco tallos de henequén, de aproximadamente nueve años. La harina se almacenó durante seis meses. Se realizaron por triplicado los análisis siguientes: tamizaje fitoquímico, pH, índice de refracción, densidad, acidez, sólidos solubles en agua, aspecto, capacidad de disolución, grado de pulverización, color, olor, sabor y capacidad homogénea. En el extracto etéreo, predominaron las coumarinas y en el etanólico, los flavonoides y antocianidinas. En el extracto acuoso, los alcaloides, saponinas, flavonoides, mucílagos y carbohidratos reductores tuvieron poca presencia. Este material vegetal tiene un pH ligeramente ácido (5.18), 1.33 de índice de refracción, 0.31 g/mL de densidad aparente, 0.76 % de acidez y 1.50 °Brix de sólidos solubles en agua. Las características organolépticas de la harina de tallos de *A. fourcroydes* revelaron buen aspecto físico, capacidad de disolución parcial, buena pulverización, color beige claro, olor agradable, sabor ligeramente dulce y buena homogeneidad. Según los resultados obtenidos, la harina de tallos del *Agave fourcroydes* se podría probar como un producto nutracéutico en las dietas de los animales de granja.

Palabras clave: *henequén, compuesto fitoquímico, característica fisicoquímica, nutracéutico*

La producción animal moderna se caracteriza por su gran intensidad productiva, lo que implica que los animales estén sometidos a diferentes situaciones de estrés, que provocan el desbalance en la microbiota intestinal, el desarrollo de microorganismos patógenos, la inmunosupresión, así como la ineficiente conversión de los alimentos, alta mortalidad y disminución de la respuesta zootécnica (Huang *et al.* 2018). Por las razones anteriores, los antibióticos se han utilizado durante décadas como aditivos promotores del crecimiento animal. Sin embargo, su uso indiscriminado provoca efectos residuales en los alimentos, resistencia microbiana, daños en la biota gastrointestinal, entre otros (Eng *et al.* 2015).

A partir del 2006, en la Unión Europea y en otros países del mundo, se prohibió el uso de antibióticos sub-terapéuticos (Ronquillo y Hernández 2017). La

industry study and introduce new safe and harmless additives to improve animals productivity, such as nutraceutical products (Liu *et al.* 2016). The American Veterinary Council of Nutraceuticals shows that they are products that contain, in an integral, purified or extracted way, compounds necessary for a correct biological development (Telrandhe *et al.* 2012).

Among the sources with great potential for obtaining nutraceutical additives, there are plants belonging to the Agave genus. Its chemical composition varies according to edaphoclimatic conditions, soil characteristics, among other factors (García *et al.* 2010). Generally, it is considered that these plants, due to their high concentration of fructans and other chemical substances, have medicinal properties and model the intestinal microflora and immunity, which causes beneficial effects for the production and health of the host (Adhikari and Kim 2017). Its use in the diet, in small concentrations, could improve the biological and health indicators in animals (Iser *et al.* 2016a and Valdovinos *et al.* 2019).

Nowadays, nutraceuticals are one of the most studied products from the physical-chemical point of view, especially to comply with international laws, since they must provide temporary stability, reproducibility, quality, safety and efficacy (Spanish Nutraceutical Society 2015). Previous results reported on the chemical-physical composition of stems meal from *A. fourcroydes* (SMAF) (Iser *et al.* 2016b). However, there was not information on the phytochemical compounds and the quality and sensory indicators of this natural product. The objective of this study was to determine the secondary metabolites, quality indicators and organoleptic characteristics of the stems meal from *Agave fourcroydes* (Henequen) grown in Cuba.

Materials and Methods

Sample preparation. Five henequen stems (*A. fourcroydes* Lem.) were collected in the early hours of the morning, according to the diagonals method, in the field of the enterprise “Eladio Hernández León”, Matanzas province, Cuba. The average age of these plants was nine years, without inflorescence. This area is characterized by a subtropical climate, Lithosol soil (García-Curbelo *et al.* 2015) and temperature between 23 and 28 °C (data from Estación Meteorológica “Indio Hatuey”).

The stems of *A. fourcroydes* had an average weight of 6.39 kg (\pm 0.32). The outer parts of their bark were stripped with a traditional machete and chopped. The samples were spread on an aluminum tray. Subsequently, they were washed three times with distilled water to remove the greatest amount of impurities.

The drying was carried out first naturally for three days, at room temperature. Then, to obtain a homogeneous drying, they were dried artificially with the

comunidad científica y la industria del sector ganadero estudian e introducen nuevos aditivos seguros e inocuos para mejorar la productividad de los animales, como los productos nutraceuticos (Liu *et al.* 2016). El Consejo Americano Veterinario de Nutracéutica señala que son productos que contienen, de forma integral, purificada o extraída, compuestos necesarios para un correcto desarrollo biológico (Telrandhe *et al.* 2012).

Entre las fuentes con grandes potencialidades para la obtención de los aditivos nutraceuticos, se encuentran las plantas pertenecientes al género Agave. Su composición química varía según las condiciones edafoclimáticas, características de los suelos, entre otros factores (García *et al.* 2010). Generalmente, se considera que estas plantas, por su alta concentración de fructanos y otras sustancias químicas, poseen propiedades medicinales y modelan la microflora intestinal y la inmunidad, lo que provoca efectos beneficiosos para la producción y salud del huésped (Adhikari y Kim 2017). Su uso en la dieta, en pequeñas concentraciones, podría mejorar los indicadores biológicos y de salud en los animales (Iser *et al.* 2016a y Valdovinos *et al.* 2019).

En la actualidad, los nutraceuticos son uno de los productos más estudiados desde el punto de vista fisico-químico, sobre todo para cumplir con las legislaciones internacionales, ya que deben aportar estabilidad temporal, reproducibilidad, calidad, seguridad y eficacia (Sociedad Española de Nutracéutica 2015). Resultados previos informaron sobre la composición química-física de la harina de tallos del *Agave fourcroydes* (HTAF) (Iser *et al.* 2016b). Sin embargo, no se encontró información sobre los compuestos fitoquímicos y los indicadores de calidad y sensoriales de este producto natural. El objetivo de este trabajo fue determinar los metabolitos secundarios, indicadores de calidad y características organolépticas de la harina de tallos de *Agave fourcroydes* (Henequén) cultivado en Cuba.

Materiales y Métodos

Preparación de la muestra. Se recolectaron cinco tallos de henequén (*A. fourcroydes* Lem.) en las primeras horas de la mañana, según el método de las diagonales, en el campo de la empresa “Eladio Hernández León”, provincia de Matanzas, Cuba. La edad promedio de estas plantas era de nueve años, sin inflorescencia. Esta zona se caracteriza por un clima subtropical, suelo Lithosol (García-Curbelo *et al.* 2015) y temperatura entre 23 y 28 °C (datos de la Estación Meteorológica “Indio Hatuey”).

Los tallos de *A. fourcroydes* tuvieron un peso promedio de 6.39 kg (\pm 0.32). Todos se despojaron de las partes externas de la corteza con un machete tradicional y se trocearon. Las muestras se extendieron en una bandeja de aluminio. Posteriormente, se lavaron tres veces con agua destilada para eliminar la mayor cantidad de impurezas.

El secado se efectuó primeramente de forma natural durante tres días, a temperatura ambiente. Luego, para obtener un secado homogéneo, se secaron de

help of an oven (WSU 400, Germany), at a temperature of 60 °C for 72 h. The samples were milled with a 1 mm diameter sieve, in a hammer mill (Culatte typs MFC), until the final product was obtained, which was stored for six months at room temperature, in fully sealed plastic bags (Mas *et al.* 2018).

Phytochemical screening. Phytochemical screening was determined according to Payo (2001) methodology. To achieve the highest depletion of the sample, successive extractions with solvents of increasing polarity were performed. A total of 10 g of sample were weighed on an analytical balance (BS 2202S Sartorius, China) and 50 mL of petroleum ether was added. After 48 h, the extract was filtered. To the remainder, 50 mL of 70 % ethanol was added to obtain the alcoholic extract and the same was done. 50 mL of distilled water was added and the extraction was performed in an analogous way.

Ultrasound (Ultrasonic Cleaner SB-3200 DTD, China) was applied at 40 °C, with a frequency of 40 KHz for two hours, recommended time for optimal extraction (Torres *et al.* 2014). Secondary metabolites were determined in each extract which, due to their solubility, could be extracted in these solvents.

In the ether extract the tests Mayer (alkaloids), Baljet (coumarins) and Sudan III (fatty acids) were performed. In the ethanolic, Liebermann-Burchard (triterpenes or steroids), foam (saponins), ninhydrin (free amino acids), Mayer (alkaloids), Baljet (coumarins), Fehling (reducing carbohydrates), ferric chloride (phenols and/or tannins), Borntrager (quinones), Shinoda (flavonoids), resins, anthocyanidins were determined, as well as bitter and astringent principles.

In the aqueous extract, the Foam (saponins), Shinoda (flavonoids), Fehling (reducing sugars), Ferric chloride (phenols and/or tannins), Mayer and Wagner (alkaloids), Borntrager (quinones) tests were analyzed. Those of mucilages and bitter and astringent principles were also developed. As a measurement criterion, the crossing system was used to specify the qualification of secondary metabolites.

Quality indicators. In the aqueous extract, the pH was determined in a pH- meter (HANNA 211, Portugal), as described in NC-86-01 (1981). The refractive index was calculated according to WHO Pharm 92.559 (1992) using a refractometer at 20 °C (ABBE WYA-2S, China). The apparent density was determined in a densimeter at 20 °C (TGL 0-12792, Germany) (NC 119: 2001). To specify the acidity, the procedure was according to NC-71: 2000 (2000) and for soluble solids (ABBE WYA-2S, China), in accordance with NC-2173: 2001 (2001).

The phytochemical screening and quality tests of the SMAF were performed in triplicate in the Laboratorio de Productos Naturales belonging to the Centro de Estudio de Química Aplicada, Granma University, Cuba.

Organoleptic characteristics. In addition, in the

forma artificial con la ayuda de una estufa (WSU 400, Alemania), a temperatura de 60 °C durante 72 h. Las muestras se molieron con tamiz de 1 mm de diámetro, en un molino de martillo (Culatte typs MFC), hasta obtener el producto final, que se almacenó durante seis meses a temperatura ambiente, en bolsas de plástico totalmente herméticas (Más *et al.* 2018).

Tamizaje fitoquímico. El tamizaje fitoquímico se determinó según la metodología de Payo (2001). Para lograr el mayor agotamiento de la muestra, se realizaron extracciones sucesivas con solventes de polaridad creciente. Se pesaron 10 g de muestra en una balanza analítica (BS 2202S Sartorius, China) y se adicionaron 50 mL de éter de petróleo. Transcurridas 48 h, se procedió a la filtración del extracto. Al remanente se le adicionaron 50 mL de etanol al 70 % para la obtención del extracto alcohólico y se procedió de igual forma. Se agregaron 50 mL de agua destilada y se realizó la extracción de forma análoga.

Se aplicó ultrasonido (Ultrasonic Cleaner SB-3200 DTD, China) a 40 °C, con frecuencia de 40 KHz durante dos horas, tiempo recomendado para una extracción óptima (Torres *et al.* 2014). Se determinaron en cada extracto los metabolitos secundarios que, por su solubilidad, se podían extraer en estos solventes.

En el extracto etéreo se hicieron los ensayos Mayer (alcaloides), Baljet (coumarinas) y Sudan III (ácidos grasos). En el etanólico, se determinaron el Liebermann-Burchard (triterpenos o esteroides), espuma (saponinas), ninhidrina (aminoácidos libres), Mayer (alcaloides), Baljet (coumarinas), Fehling (carbohidratos reductores), cloruro férrico (fenoles y/o taninos), Borntrager (quinonas), Shinoda (flavonoides), resinas, antocianidinas, así como los principios amargos y astringentes.

En el extracto acuoso, se analizaron los ensayos Espuma (saponinas), Shinoda (flavonoides), Fehling (azúcares reductores), Cloruro férrico (fenoles y/o taninos), Mayer y Wagner (alcaloides), Borntrager (quinonas). También se desarrollaron los de mucilagos y principios amargos y astringentes. Como criterio de medida, se utilizó el sistema de cruces para especificar la cualificación de los metabolitos secundarios.

Indicadores de calidad. En el extracto acuoso, se determinó el pH en un pH-metro (HANNA 211, Portugal), según lo descrito en la NC-86-01 (1981). El índice de refracción se calculó según WHO Pharm 92.559 (1992) mediante un refractómetro a 20 °C (ABBE WYA-2S, China). La densidad aparente se determinó en un densímetro a 20 °C (TGL 0-12792, Alemania) (NC 119:2001). Para precisar la acidez, se procedió según la NC-71:2000 (2000) y para los sólidos solubles (ABBE WYA-2S, China), de acuerdo con la NC-2173:2001 (2001).

El tamizaje fitoquímico y las pruebas de calidad de HTAF se realizaron por triplicado en el Laboratorio de Productos Naturales, perteneciente al Centro de Estudio de Química Aplicada, Universidad de Granma, Granma, Cuba.

Características organolépticas. Además, en la

SMAF was examined the appearance, dissolution capacity, pulverization degree, color, odor, taste and homogeneous capacity, according to the Mendoza and Calvo (2010) methodology.

The organoleptic characteristics of the SMAF were determined in triplicate in the Laboratorio de Química Sanitaria de los Alimentos del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) Granma, Cuba.

Statistical analysis. The data of the SMAF quality indicators were processed using the descriptive statistics module. The mean, standard deviation (SD) and coefficient of variation (CV) were determined. The statistical software SPSS, version 17.0 (2012) was used.

Results and Discussion

The phytochemical screening of SMAF qualified a great variety of secondary metabolites. The ether extract showed coumarins (++) and fatty acids, but not alkaloids (table 1). In both extracts (aqueous and ethanolic), there were not bitter and astringent principles. However, saponins, reducing sugars, alkaloids and flavonoids were detected. The latter had an abundant presence (++) in the aqueous extract. Also the ethanolic extract revealed anthocyanidins (++) , coumarins, free amino acids and phenols and/or tannins, without triterpenes or steroids, quinones and resins. In addition, mucilages were identified in the aqueous extract, without phenols or tannins.

Secondary metabolites are natural non-fibrous substances, generated as a defense mechanism against the attack of molds, bacteria, insects and birds, or in some cases, products of plant metabolism under stress conditions (Zandalinas *et al.* 2017). Phytochemical studies with *Agave spp.* qualified various beneficial secondary metabolites in leaves, stems and roots. In the *Agave americana* and *Agave barbadensis*, new flavonoid molecules were identified (Tinto *et al.* 2005) and in the *Agave tequilana* there were flavonoids and phenolic oxyhydrils, without the presence of saponins (Flores and Borredon 2013).

Several types of steroidal saponins were also found in the *Agave fourcroydes*, *Agave macroacantha* and *Agave sisalana* (Hamissa *et al.* 2010), while in the *Agave intermixa* there was a high presence of polyphenolic compounds (García *et al.* 1999). In other products rich in fructans, such as yacon (*Smallanthus sonchifolius*) root, mainly reducing carbohydrates and alkaloids were discovered (de Andrade *et al.* 2017).

In the scientific literature of animal science, secondary metabolites are considered anti-nutritional factors because they exert effects contrary to what is considered an optimal nutrition of animals, especially due to the decrease in digestive metabolism (Savón *et al.* 2007). However, it has been shown that these secondary metabolites, in small concentrations in diets, improve

HTAF se examinó el aspecto, capacidad de disolución, grado de pulverización, color, olor, sabor y capacidad homogénea, de acuerdo con la metodología de Mendoza y Calvo (2010).

Las características organolépticas de la HTAF se determinaron por triplicado en el Laboratorio de Química Sanitaria de los Alimentos del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) de Granma, Cuba.

Análisis estadístico. Los datos de los indicadores de calidad de HTAF se procesaron mediante el módulo de estadística descriptiva. Se determinó la media, desviación estándar (DE) y coeficiente de variación (CV). Se usó el software estadístico SPSS, versión 17.0 (2012).

Resultados y Discusión

El tamizaje fitoquímico de la HTAF cualificó gran variedad de metabolitos secundarios. El extracto etéreo mostró coumarinas (++) y ácidos grasos, no así alcaloides (tabla 1). En ambos extractos (acuoso y etanólico), no se encontraron principios amargos y astringentes. Sin embargo, se detectaron saponinas, azúcares reductores, alcaloides y flavonoides. Este último tuvo presencia abundante (++) en el extracto acuoso. También el extracto etanólico reveló antocianidinas (++) , coumarinas, aminoácidos libres y fenoles y/o taninos, sin presencia de triterpenos o esteroides, quinonas y resinas. Además, en el extracto acuoso se identificaron mucilagos, sin fenoles ni taninos.

Los metabolitos secundarios son sustancias naturales no fibrosas, generadas como un mecanismo de defensa ante el ataque de mohos, bacterias, insectos y pájaros, o en algunos casos, productos del metabolismo de las plantas sometidas a condiciones de estrés (Zandalinas *et al.* 2017). Estudios fitoquímicos con *Agave spp.* cualificaron diversos metabolitos secundarios benéficos en hojas, tallos y raíces. En el *Agave americana* y *Agave barbadensis*, se identificaron nuevas moléculas de flavonoides (Tinto *et al.* 2005) y en el *Agave tequilana* se encontraron flavonoides y oxhidrilos fenólicos, sin presencia de saponinas (Flores y Borredon 2013).

También se encontraron varios tipos de saponinas esteroidales en el *Agave fourcroydes*, *Agave macroacantha* y *Agave sisalana* (Hamissa *et al.* 2010), mientras que en el *Agave intermixa* hubo alta presencia de compuestos polifenólicos (García *et al.* 1999). En otros productos ricos en fructanos, como la raíz del yacón (*Smallanthus sonchifolius*), se descubrieron, principalmente, carbohidratos reductores y alcaloides (de Andrade *et al.* 2017).

En la literatura científica de ciencia animal, los metabolitos secundarios se consideran factores antinutricionales porque ejercen efectos contrarios a lo que se considera una nutrición óptima de los animales, sobre todo por la disminución del metabolismo digestivo (Savón *et al.* 2007). Sin embargo, se ha demostrado que estos metabolitos secundarios, en pequeñas

Table 1. Phytochemical screening of ether, ethanolic and aqueous extracts of the stems meal from *Agave fourcroydes*

Metabolites	Extracts		
	ether	ethanolic	aqueous
Fatty acids	+		
Alkaloids (Mayer)	-	+	+
Alkaloids (Wagner)			+
Coumarins	++	+	
Saponins		+	+
Flavonoids		++	+
Anthocyanidins		++	
Triterpenes or esterooids		-	
Mucilage			+
Reducing carbohydrates		+	+
Quinones		-	
Resins		-	
Free amino acids		+	
Phenols and/or tannins		+	-
Bitter and asrigent principles		-	-

Legend: (-) absence; (+) little presence; (++) abundant presence; control no analysis

nutrient digestibility, immune stability, as well as competitive exclusion of microorganisms and intestinal health (Aroche *et al.* 2018).

Flavonoids (++) detected by phytochemical screening in SMAF (table 1) constitute polyphenolic compounds that, when they are in small concentrations in diets, are beneficial for their antioxidant effect (free radical capture RH*), anti-inflammatory, antiviral and antiallergic, in addition to influencing on the oxidation of LDL and in the regulation of cell growth (Wang *et al.* 2018). The anthocyanidins, identified in the SMAF, are water-soluble pigments that are stored in the vacuoles of plant cells. They are in all the organs of the plant and have positive effects on inflammatory states (innate immunity), related to their antioxidant and stimulating capacity of the immune system. The presence of these pigments increases lymphocyte proliferation and cytokine secretion (interleukin II) by the activated lymphocytes (Camacho *et al.* 2016).

In addition, other secondary metabolites found in SMAF, such as coumarins and reducing carbohydrates, constitute potent anticoagulants and bactericides against strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* (Escalona *et al.* 2016). The saponins detected, which are glycosides, widely distributed in plants, have antimicrobial and hypocholesterolemic effects (del Hierro *et al.* 2018). There was not reaction for bitter and astringent principles, although these properties have been related to the stimulation of gastric and bile juices. An excess causes a decrease in voluntary intake and decreases the productive behavior of animals (Han *et al.* 2018).

concentraciones en las dietas, mejoran la digestibilidad de los nutrientes, la estabilidad inmunológica, así como la exclusión competitiva de microorganismos y la salud intestinal (Aroche *et al.* 2018).

Los flavonoides (++) detectados por tamizaje fitoquímico en la HTAF (tabla 1) constituyen compuestos polifenólicos que, cuando se encuentran en pequeñas concentraciones en las dietas, resultan benéficos por su efecto antioxidante (atrapadora de los radicales libres RH*), antiinflamatorio, antiviral y antialérgico, además de incidir en la oxidación de las LDL y en la regulación del crecimiento celular (Wang *et al.* 2018). Las antocianidinas, identificadas en el HTAF, son pigmentos hidrosolubles que se almacenan en las vacuolas de las células vegetales. Se encuentran en todos los órganos de la planta y poseen efectos positivos en estados inflamatorios (inmunidad innata), relacionados con su capacidad antioxidante y estimuladora del sistema inmune. La presencia de estos pigmentos incrementa la proliferación de linfocitos y la secreción de citocininas (interleucina II) por los linfocitos activados (Camacho *et al.* 2016).

Además, otros metabolitos secundarios encontrados en HTAF, como las coumarinas y carbohidratos reductores, constituyen potentes anticoagulantes y bactericidas contra cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Escalona *et al.* 2016). Las saponinas detectadas, que son glicósidos, distribuidas ampliamente en las plantas, poseen efectos antimicrobiano e hipocolesterolemico (del Hierro *et al.* 2018). No se encontró reacción para los principios amargos y astringentes, aunque estas propiedades se han relacionado con la estimulación de los jugos gástricos y biliares. Un exceso provoca disminución del consumo

The presence of tannins in the SMAF could be beneficial for its antidiarrheal effects and for its performance as growth promoters in farm animals (Martínez *et al.* 2013). This polyphenolic metabolite has anti-inflammatory, vasoconstrictor, antioxidant, antibacterial and hypocholesterolemic properties (inhibits cholesterol absorption and expels it through faeces). However, excess tannins can limit the absorption of some nutrients, such as iron and proteins, as well as cause adverse intestinal processes (Pathak *et al.* 2016). Studies with *Agave tequilana* meal and SMAF as nutraceutical additives in pigs and birds diets positively modified the animal response (Iser *et al.* 2016a, Iser *et al.* 2016c and Chávez *et al.* 2019).

The quality indicators are mainly determined in the phytopharmaceuticals for humans (Shukla *et al.* 2018). However, although these analyzes are not common in animal foods, their evaluation is considered important. One of the international guidelines of nutraceuticals is the strict control of the quality of these products (Sociedad Española de Nutracéutica 2015), which certifies the high level of safety for their use as an additive in animal feeding.

As table 2 shows, the average pH of SMAF was approximately 5.18. This shows a certain inclination towards acidic compounds, which is due to a close relation with acidity. Madrigal and Sangronis (2007) found similar results when evaluating inulin and oligofructose (5 to 7), with slightly acidic values important for the stabilization and preservation of the product (Martínez *et al.* 2012).

voluntario y disminuye el comportamiento productivo de los animales (Han *et al.* 2018).

La presencia de taninos en la HTAF podría ser beneficiosa por sus efectos antidiarreicos y por su desempeño como promotores de crecimiento en animales de granja (Martínez *et al.* 2013). Este metabolito polifenólico posee propiedades antiinflamatorias, vasoconstrictoras, antioxidantes, antibacterianas e hipocolesterolémicas (inhibe la absorción del colesterol y lo expulsa a través de las heces). Sin embargo, los taninos en exceso pueden limitar la absorción de algunos nutrientes, como hierro y proteínas, así como provocar procesos intestinales adversos (Pathak *et al.* 2016). Estudios con la harina de *Agave de tequilana* y HTAF como aditivos nutraceuticos en las dietas de cerdos y aves, modificó positivamente la respuesta animal (Iser *et al.* 2016a, Iser *et al.* 2016c y Chávez *et al.* 2019).

Los indicadores de calidad se determinan, principalmente, en los fitofármacos destinados a los humanos (Shukla *et al.* 2018). Sin embargo, aunque no son comunes estos análisis en alimentos para animales, se considera importante su evaluación. Una de las directrices internacionales de los nutraceuticos es el control estricto de la calidad de estos productos (Sociedad Española de Nutracéutica 2015), lo que certifica el elevado nivel de seguridad para su empleo como aditivo en la alimentación animal.

Como muestra la tabla 2, el pH promedio de HTAF fue de 5.18, aproximadamente. Esto demuestra cierta inclinación hacia compuestos ácidos, lo que obedece a la estrecha relación con la acidez. Madrigal y Sangronis (2007) encontraron resultados similares al evaluar la

Table 2. Quality indicators of the stems meal from *Agave fourcroydes*

Indicators	Mean (n=3)	SD (\pm)	CV (%)
pH	5.18	0.020	0.386
Acidity (%)	0.76	0.010	1.315
Refractive index	1.33	0.006	0.451
Apparent density (g/mL)	0.31	0.005	1.612
Water soluble solids (°Brix)	1.50	0.021	1.400

SD: standard deviation; CV: coefficient of variation

The refractive index and density constitute quick and simple tests to verify the purity degree and the percentage of solute dissolved in a given solution, as a critical control point (Shin *et al.* 2018). The refractive index showed an average value of 1.33, similar to other medicinal plants, such as the leaves of *Anacardium occidentale* (1.34) and *Morinda citrifolia* (1.35). This analysis in medicinal plants has been related to the greater presence of phytochemical compounds. In this regard, Torrenegra *et al.* (2015) indicated that a refractive index higher than 1.00 in essential oils of *Minthostachys mollis* is associated with secondary metabolites such as benzenic, aromatic and oxygenated terpenes. There were no reports that

inulina y la oligofructosa (5 a 7), con valores ligeramente ácidos importantes para la estabilización y conservación del producto (Martínez *et al.* 2012).

El índice de refracción y la densidad constituyen pruebas rápidas y simples para verificar el grado de pureza y el porcentaje de soluto disuelto en una determinada solución, como punto crítico de control (Shin *et al.* 2018). El índice de refracción mostró valor promedio de 1.33, similar a otras plantas medicinales, como las hojas de *Anacardium occidentale* (1.34) y *Morinda citrifolia* (1.35). Este análisis en plantas medicinales se ha relacionado a la mayor presencia de compuestos fitoquímicos. Al respecto, Torrenegra *et al.* (2015) indicaron que un índice de refracción mayor de 1.00 en aceites esenciales de *Minthostachys mollis* está asociado

refer this quality parameter in the *Agave spp.*, so this result is considered as a first for the proposed nutraceutical additive.

The low density of SMAF is related to the presentation of the product as meal, with high percent of dry matter (95.24 %) (Iser *et al.* 2016b). The apparent density showed similar levels to those reported by Handreck *et al.* (2002), who recommend density up to 0.6 g/mL. Sánchez *et al.* (2015) reported inferior results to this study, when evaluating different agricultural substrates from *A. tequilana*. A similar response is reported in other organic substrates such as coconut fiber, rice husk and cane bagasse, with 0.077, 0.099 and 0.065 g/mL, respectively (Pire and Pereira 2003). However, the inulin extracted from Achicoria (1.35 g/mL) and Dhalia (1.19 g/mL) have higher apparent density (Campos *et al.* 2013). This indicator is directly related to the packing volume, which tends to be inversely proportional. In addition, generally, products derived from medicinal plants, such as aqueous extracts, fluids and tinctures, have a higher refractive index 1.00 (Rodríguez *et al.* 2012).

In relation to the soluble solids in the SMAF, there was a concentration of water-soluble active ingredients similar to *Morinda citrifolia* (1.57), which is convenient for direct use in diets and/or as phytopharmaceuticals. According to Koteswara *et al.* (2016), in products with low soluble solids content and high humidity values, the proliferation of pathogens is encouraged. Specifically, SMAF has high dry matter content (95.24 %) (Iser *et al.* 2016b) and beneficial water-soluble secondary metabolites, such as alkaloids, saponins, flavonoids, mucilages and reducing carbohydrates (table 1). This can positively influence on the quality of SMAF, as a future nutraceutical additive.

Table 3 shows that the organoleptic characteristics of the steams meal from *Agave fourcroydes*, stored for six months, is among the normal parameters for foods suitable for intake. A homogeneous powder was found, of good physical appearance and pleasant odor, without apparent presence of lumps. According to das Chagas *et al.* (2015), the lump is a distinctive feature of mycotoxin-contaminated products, which causes significant organoleptic changes.

The partial dilution and the moderately sweet taste of the product (SMAF) may be determined by the presence of fructans (oligofructose) and fructose (Iser *et al.* 2016b). Madrigal and Sangronis (2007) found that oligofructose has a moderately sweet taste and higher dilution than inulin, with a neutral taste. Also, Silos *et al.* (2011) reported that aguamiel from *A. tequilana* showed a sweet and pleasant taste.

In the SMAF there was a light beige color. According to Flores and Borredon (2013), the color depends on the characteristics of the product, these authors found

a metabolitos secundarios como terpenos bencénicos, aromáticos y oxigenados. No se encontraron reportes que refieran este indicador de calidad en los *Agave spp.*, por lo que este resultado se considera como primicia para el aditivo nutracéutico propuesto.

La baja densidad de HTAF está relacionada con la presentación del producto en forma de harina, con alto por ciento de materia seca (95.24 %) (Iser *et al.* 2016b). La densidad aparente mostró tenores similares a los informados por Handreck *et al.* (2002), quienes recomiendan densidad hasta 0.6 g/mL. Sánchez *et al.* (2015) informaron resultados inferiores a este estudio, al evaluar diferentes sustratos agrícolas a partir de *A. tequilana*. Una respuesta similar se informa en otros sustratos orgánicos como la fibra de coco, cascarilla de arroz y bagazo de caña, con 0.077, 0.099 y 0.065 g/mL, respectivamente (Pire y Pereira 2003). Sin embargo, la inulina extraída de la Achicoria (1.35 g/mL) y Dhalia (1.19 g/mL) presentan mayor densidad aparente (Campos *et al.* 2013). Este indicador está relacionado directamente con el volumen de empaqueo, lo que tiende a ser inversamente proporcional. Además, por lo general, productos derivados de las plantas medicinales, como extractos acuosos, fluidos y tinturas, tienen un índice de refracción mayor 1.00 (Rodríguez *et al.* 2012).

En relación con los sólidos solubles en la HTAF, hubo concentración de principios activos solubles en agua similar a la *Morinda citrifolia* (1.57), lo que es conveniente para su uso directo en las dietas y/o como fitofármacos. Según Koteswara *et al.* (2016), en los productos con bajos contenidos de sólidos solubles y altos valores de humedad, se propicia la proliferación de patógenos. Específicamente, la HTAF tiene alto contenido de materia seca (95.24%) (Iser *et al.* 2016b) y metabolitos secundarios benéficos solubles en agua, como alcaloides, saponinas, flavonoides, mucílago y carbohidratos reductores (tabla 1). Esto puede influir positivamente en la calidad de la HTAF, como futuro aditivo nutracéutico.

La tabla 3 muestra que las características organolépticas de la harina de tallos de *Agave fourcroydes*, almacenada por seis meses, se encuentra entre los indicadores normales para los alimentos aptos para el consumo. Se encontró un polvo homogéneo, de buen estado físico y olor agradable, sin presencia aparente de grumos. Según das Chagas *et al.* (2015), el grumo es una característica distintiva de los productos contaminados con micotoxinas, lo que provoca cambios organolépticos significativos.

La dilución parcial y el sabor moderadamente dulce del producto (HTAF) puede estar determinado por la presencia de fructanos (oligofructosa) y fructosa (Iser *et al.* 2016b). Madrigal y Sangronis (2007) encontraron que la oligofructosa tiene sabor moderadamente dulce y mayor dilución que la inulina, de sabor neutro. También, Silos *et al.* (2011) informaron que el aguamiel a partir del *A. tequilana* mostró sabor dulce y agradable.

En la HTAF se encontró un color beige claro. Según Flores y Borredon (2013), el color depende de las características propias del producto, estos autores

Table 3. Organoleptic characteristics of the stems meal from *Agave fourcroydes*

Indicators	Stems meal from <i>Agave fourcroydes</i> ¹
Appearance	Good physical appearance (powder)
Dissolution capacity	It partially dissolves
Pulverization degree	Good pulverization
Color	Light beige
Odor	Nice characteristic of the product
Taste	Moderately sweet
Homogeneous capacity	Homogeneous powder

¹Professional experts from the Departamento de Química Analítica del Centro Provincial de Higiene y Epidemiología, Granma province, Cuba were used

a brown color in the dried *Agave* bagasse of *salmiana* species. In general, fructans have a color between white and pale yellow (Madrigal and Sangronis 2007); perhaps other plant nutrients could determine the color of the proposed product.

Conclusions

In the ether, ethanolic and aqueous extracts of SMAF, flavonoids, tannins, coumarins, anthocyanidins, reducing sugars and saponins predominated. This natural product could be used as a nutraceutical in the farm animals diets, due to the results of pH, acidity, refractive index, soluble solids, apparent density and organoleptic characteristics.

Acknowledgments

The collaboration of managers and technicians of the Laboratorio de Productos Naturales, from the Centro de Estudio de Química Aplicada, belonging to the Universidad de Granma, Cuba, for the development of this research is appreciated.

encontraron una coloración café en el bagazo de *Agave* seco de la especie *salmiana*. Por lo general, los fructanos poseen color entre blanco y amarillo pálido (Madrigal y Sangronis 2007), quizás otros nutrientes de la planta podrían determinar el color del producto propuesto.

Conclusiones

En los extractos etéreo, etanólico y acuoso de la HTAF, predominaron los flavonoides, taninos, coumarinas, antocianidinas, azúcares reductores y saponinas. Este producto natural se podría usar como nutraceutico en las dietas de los animales de granja, debido a los resultados de pH, acidez, índice de refracción, sólidos solubles, densidad aparente y características organolépticas.

Agradecimientos

Se agradece la colaboración de directivos y técnicos del Laboratorio de Productos Naturales, del Centro de Estudio de Química Aplicada, perteneciente a la Universidad de Granma, en Cuba, para el desarrollo de esta investigación.

References

- Adhikari, P.A., & Kim, W.K. 2017. "Overview of Prebiotics and Probiotics: Focus on Performance, Gut Health and Immunity – A Review". *Annals of Animal Science*, 17(4): 949–966, ISSN: 2300-8733, DOI: 10.1515/aoas-2016-0092
- Aroche, R., Martínez, Y., Ruan, Z., Guan, G., Waititu, S., Nyachoti, C.M., Más, D. & Lan, S. 2018. "Dietary inclusion of a mixed powder of medicinal plant leaves enhances the feed efficiency and immune function in broiler chickens". *Journal of Chemistry*, 2018: 1–6, ISSN: 2090-9063, DOI: 10.1155/2018/4073068
- Camacho, O., Melgarejo, S., de la Rosa, C., Puertas, M.A. & Rojano, B. 2016. "Correlación del contenido de fenoles y antocianinas con la capacidad antioxidante *Syzygium cumini* (L.) Skeels,(jambolan)". *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(1): 63–70, ISSN: 1028-4796
- Campos, M.E.F., Cotrina, L. & Guzmán, B.R. 2013. "Extracción y caracterización de la inulina presente en los tubérculos de la *Dahlia spp.*". *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*, 16(31): 81-85, ISSN: 1682-3087
- Chavez, I., Sanchez, D., Galindo, J., Ayala, M.A., Duifhuis, T. & Ly, J. 2019. "Efecto de oligofruktosa de agave en dietas de gallinas ponedoras en la producción de huevos". *Revista MVZ Córdoba*, 24(1): 7108–7112, ISSN: 1909-0544, DOI: 10.21897/rmvz.1522
- das Chagas, F., Keller, K.M., Costa, A.P.R., Pereira, M.M.G., Ramirez, M.L. & Muratori, M.C.S. 2015. "*Fusarium verticillioides* and its fumonisin production potential in maize meal". *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 10(4): 553–557, ISSN: 1981-1160, DOI: 10.5039/agraria.v10i4a4023
- de Andrade, E.F., Carpiné, D., Dagostin, J.L.A., Barison, A., Rüdiger, A.L., de Muñiz, G.I.B. & Masson, M.L. 2017. "Identification and antimicrobial activity of the sesquiterpene lactone mixture extracted from *Smilax sonchifolius* dried leaves". *European Food Research and Technology*, 243(12): 2155–2161, ISSN: 1438-2377, DOI: 10.1007/s00217-017-2918-y
- del Hierro, J.N., Herrera, T., Fornari, T., Reglero, G. & Martin, D. 2018. "The gastrointestinal behavior of saponins and its

- significance for their bioavailability and bioactivities". *Journal of Functional Foods*, 40: 484–497, ISSN: 1756-4646, DOI: 10.1016/j.jff.2017.11.032
- Eng, S.K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N.S., Ser, H.L., Chan, K.G. & Lee, L.H. 2015. "Salmonella: a review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance". *Frontiers in Life Science*, 8(3): 284–293, ISSN: 2155-3769, DOI: 10.1080/21553769.2015.1051243
- Escalona, A., Betancourt, C. & Martínez, A. 2016. Intoxicación por micotoxinas. In: *Toxicología Veterinaria*. 1st Ed. Editorial Gráficas del Caribe, Córdoba, Colombia, p.156. ISBN: 978-958-46-8073-0
- Flores, M. & Borredon, E. 2013. Estudio de la caracterización físico-química del *Agave salmiana* para su evaluación integral. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2:48. ISSN: 0968-0896
- García, E.J., Méndez, S. de J. & Talavera, D. 2010. "El género *Agave spp.* en México: principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica". *Revista Salud Pública y Nutrición*, 5: 109–129, ISSN: 1870-0160
- García, M.D., Saenz, M.T., Puerta, R., Quilez, A. & Fernandez, M.A. 1999. "Antibacterial activity of *Agave intermixta* and *Cissus sicyoides*". *Fitoterapia*, 70(1): 71–73, ISSN: 0367-326X, DOI: 10.1016/S0367-326X(98)00009-4
- García-Curbelo, Y., López, M.G., Bocourt, R., Collado, E., Albelo, N. & Nuñez, O. 2015. "Caracterización estructural de los fructanos de *Agave fourcroydes* (Lem.) con potencialidades como prebiótico". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 49(1): 75–80, ISSN: 2079-3480
- Hamissa, A.M. Ben, Lodi, A., Seffen, M., Finocchio, E., Botter, R. & Converti, A. 2010. "Sorption of Cd (II) and Pb (II) from aqueous solutions onto *Agave americana* fibers". *Chemical Engineering Journal*, 159(1–3): 67–74, ISSN: 1385-8947, DOI: 10.1016/j.cej.2010.02.036
- Han, X., Jiang, H., Han, L., Xiong, X., He, Y., Fu, C., Xu, R., Zhang, D., Lin, J. & Yang, M. 2018. "A novel quantified bitterness evaluation model for traditional Chinese herbs based on an animal ethology principle". *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 8(2): 209–217, ISSN: 2211-3835, DOI: 10.1016/j.apsb.2017.08.001
- Handreck, K.A., Black, N.D. & Black, N. 2002. *Growing media for ornamental plants and turf*. Ed. New South Wales University, Kensington, Australia. p.542, ISBN: 0868407968
- Huang, Q., Liu, X., Zhao, G., Hu, T. & Wang, Y. 2018. "Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production". *Animal Nutrition*, 4(2): 137–150, ISSN: 2405-6545, DOI: 10.1016/j.aninu.2017.09.004
- Iser, M., Martínez, Y., Ni, H., Jiang, H., Valdivié Navarro, M., Wu, X., Al-Dhabi, N.A., Rosales, M., Duraipandiyar, V. & Fang, J. 2016a. "The effects of *Agave fourcroydes* powder as a dietary supplement on growth performance, gut morphology, concentration of IgG, and hematology parameters in broiler rabbits". *BioMed Research International*, 2016: 1–7, ISSN: 2314-6133, DOI: 10.1155/2016/3414319
- Iser, M., Martínez, Y., Valdivié, M., Sánchez, D. & Jiménez, C. 2016b. "Caracterización físico-química de la harina de tallos de *Agave fourcroydes* Lem (Henequén)". *Revista Electrónica de Veterinaria*, 17(10): 1–14, ISSN: 1695-7504
- Iser, M., Martínez, Y., Valdivié, M., Sánchez, D. & Cortés, M.R. 2016c. "Comportamiento productivo y características de la canal de conejos alimentados con harina de *Agave tequilana*". *Revista Electrónica de Veterinaria*, 17(10): 1–12, ISSN: 1695-7504
- Koteswara Rao, V., Aruna, B., Rafiyuddin, M., Narasimha Rao, K., Girisham, S. & Reddy, S.M. 2016. "Effect of relative humidity on biodeterioration of poultry feed and ochratoxin A production by *Penicillium* species". *Cogent Food & Agriculture*, 2(1): 1-9, ISSN: 2331-1932, DOI: 10.1080/23311932.2016.1207397
- Liu, G., Aguilar, Y.M., Zhang, L., Ren, W., Chen, S., Guan, G., Xiong, X., Liao, P., Li, T. & Huang, R. 2016. "Dietary supplementation with sanguinarine enhances serum metabolites and antibodies in growing pigs". *Journal of Animal Science*, 94: 75–78, ISSN: 0021-8812, DOI: 10.2527/jas.2015-9719
- Madrigal, L. & Sangronis, E. 2007. "La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales". *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57(4): 387–396, ISSN: 0004-0622
- Martínez, Y., Martínez, O., Liu, G., Ren, W., Rodríguez, R., Fonseca, Y., Olmo, C., Iser, M., Aroche, R., Valdivié, M. & Nyachoti, C.M. 2013. "Effect of dietary supplementation with *Anacardium occidentale* on growth performance and immune and visceral organ weights in replacement laying pullets". *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11(3&4): 1352–1357, ISSN: 1459-0263, DOI: 10.1234/4.2013.4855
- Martínez Aguilar, Y., Soto Rodríguez, F., Almeida Saavedra, M., Hermosilla Espinosa, R. & Martínez Yero, O. 2012. "Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L. (marañón)". *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(4): 320–329, ISSN: 1028-4796
- Más, D., Martínez, Y., Bullaín, M., Betancur, C. & Ruiz, C. 2018. "Secondary metabolites and *in vitro* antimicrobial activity of roots of Cuban *Argemone mexicana* Linn". *World Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 4(6): 46–51, ISSN: 2455-3301
- Mendoza, E. & Calvo, M. de la C. 2010. *Bromatología: composición y propiedades de los alimentos*. 1st Ed. Ed. McGraw-Hill Interamericana, Mexico D.F., Mexico, ISBN: 6071503795
- NC 119:2001. 2001. Leche. Determinación de la densidad. Norma Cubana. La Habana, Cuba
- NC 71:2000. 2000. Leche. Determinación de acidez. Norma Cubana. La Habana, Cuba
- NC 86-01. 1981. Métodos de análisis de pastas alimenticias y derivados del trigo. Norma Cubana. La Habana, Cuba
- NC ISO 2173. 2001. Determinación del Contenido de Sólidos Solubles. Código Refractométrico del Cátsup. Norma Cubana. La Habana, Cuba
- Pathak, A.K., Dutta, N., Banerjee, P.S., Goswami, T.K. & Sharma, K. 2016. "Effect of condensed tannins supplementation through leaf meal mixture on voluntary feed intake, immune response and worm burden in *Haemonchus contortus* infected sheep". *Journal of Parasitic Diseases*, 40(1): 100–105, ISSN: 0971-7196, DOI: 10.1007/s12639-014-0455-1

- Payo Hill, A., Dominicis, M.E., Mayor, J., Oquendo, M. & Sarduy, R. 2001. "Tamizaje fitoquímico preliminar de especies del género *Croton* L.". *Revista Cubana de Farmacia*, 35(3): 203–206, ISSN: 0034-7515
- Pire, R. & Pereira, A. 2003. "Propiedades físicas de componentes de sustratos de uso común en la horticultura del estado Lara, Venezuela. Propuesta metodológica". *Bioagro*, 15(1): 55–64, ISSN: 1316-3361
- Rodríguez, J., Rosés, R.P., Escalona, J.C., Prada, A.L. & Sierra, G. 2012. "Standardization of the quality control parameters of the *Tamarindus indica* L. soft extract". *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(1): 108–114, ISSN: 1028-4796
- Ronquillo, M.G. & Hernandez, J.C.A. 2017. "Antibiotic and synthetic growth promoters in animal diets: review of impact and analytical methods". *Food Control*, 72: 255–267, ISSN: 0956-7135, DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.03.001
- Savón, L., Scull, I., Orta, M. & Martínez, M. 2007. "Harinas de follajes integrales de tres leguminosas tropicales para la alimentación avícola. Composición química, propiedades físicas y tamizaje fitoquímico". *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 41(4): 359–361, ISSN: 0034-7485
- Shin, H.J., Choi, S.W. & Ok, G. 2018. "Qualitative identification of food materials by complex refractive index mapping in the terahertz range". *Food Chemistry*, 245: 282–288, ISSN: 0308-8146, DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.10.056
- Shukla, S., Ojha, S.K., Mishra, G.K., Gupta, S. & Roy, T.V.G. 2018. "A review of comparative pharmacognostic and phytochemical study of drugs mentioned as Rasna:(*Pluchea lanceolata* (DC.) Oliv. & Hiern versus *Alpinia galanga* (L.) Willd.)". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(3): 2410–2416, ISSN: 2278-4136
- Silos, H., Tovar, C.L., González, N., Méndez, S.J. & Rossel, D. 2010. "Estudio integral del maguey (*Agave salmiana*): propagación y valor nutricional". *Revista de Salud Pública y Nutrición. Edición Especial*, (5): 75–82, ISSN: 1870-0160
- Sociedad Española de Nutrécutica. 2015. Conceptos y definiciones de los productos nutrécuticos Available: <http://www.nutraceuticamedica.org/definicion.htm> [Consulted: December, 2018]
- SPSS. 2012. Statistical Package for Social Sciences (SPSS), version 17.0. Electronic version available on compact disc. Chicago, Illinois, USA
- Telrandhe, U.B., Kurmi, R., Uplanchiwar, V., Mansoori, M.H., Raj, V. J. & Jain, K. 2012. "Nutraceuticals-A phenomenal resource in modern medicine". *International Journal of Universal Pharmacy and Life Sciences*, 2(1): 179–195, ISSN: 2319-8141
- Tinto, W.F., Simmons-Boyce, J.L., McLean, S. & Reynolds, W.F. 2005. "Constituents of *Agave americana* and *Agave barbadensis*". *Fitoterapia*, 76(6): 594–597, ISSN: 0367-326X
- Torrenegra, M., Granados, C., Osorio, M. & León, G. 2015. "Method comparison of hydrodistillation microwave radiation-assisted (MWHDR) front hydrodistillation (HD) in the extraction of essential oil of *Minthostachys mollis*". *Información Tecnológica*, 26(1): 117–122, ISSN: 0718-0764, DOI: 10.4067/S0718-07642015000100013
- Torres, E., Guillén, Z., Hermsilla, R., Arias, Q., Vogel, C. & Almeida Saavedra, M. 2014. "Empleo de ultrasonido en la extracción de curcumina a partir de su fuente natural". *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(1): 14–20, ISSN: 1028-4796
- Wang, T., Li, Q. & Bi, K. 2018. "Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate". *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(1): 12–23, ISSN: 1818-0876, DOI: 10.1016/j.ajps.2017.08.004
- WHO (World Health Organization). 1998. *Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials*. Ed. World Health Organization, Geneva, Switzerland. 115 p., ISBN: 9789241545105
- Zandalinas, S.I., Sales, C., Beltrán, J., Gómez, A. & Arbona, V. 2017. "Activation of secondary metabolism in citrus plants is associated to sensitivity to combined drought and high temperatures". *Frontiers in Plant Science*, 7: 1–17, ISSN: 1664-462X, DOI: 10.3389/fpls.2016.01954

Received: July 19, 2019

Accepted: December 8, 2019