

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

ANÁLISIS BROMATOLÓGICO Y ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO DE Yucca schidigera EN UN SOLVENTE EUTÉCTICO Y SU EFECTO CONTRA BACTERIAS PATÓGENAS

Por:

Ana Cristina Hernández Cruz

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

Hermosillo, Sonora Octubre, 2023

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Ana Cristina Hernández Cruz, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.

Dr. Luis Quihui Cota Director de Tesis

Dr. Jaime Lizardi Mendoza Integrante del comité de tesis

M.C. Gloria Guadalupe Morales Figueroa Integrante del comité de tesis

> Dr. Marco Antonio López Mata Integrante del comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "Análisis Bromatológico y Antioxidante del Extracto de *Yucca schidigera* en un Solvente Eutéctico y su Efecto Contra Bacterias Patógenas" es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Ana Cristina Hernández Cruz, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C. Coordinación de Programas Académicos

Dra. Graciela Caire Juvera Directora General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías por el apoyo financiero durante el posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., (CIAD) por permitirme formarme en su gran institución.

Muchas gracias al director de esta tesis, el Dr. Luis Quihui Cota por aceptarme en su excelente equipo de trabajo, confiar en mí, enseñarme, asesorarme y dirigirme para realizar un proyecto de investigación.

Al comité de tesis, el Dr. Jaime Lizardi Mendoza, muchas gracias por sus enseñanzas y por responder siempre a mis dudas, además de facilitarme el Laboratorio de Biopolímeros. Gracias a la M.C. Gloria Guadalupe Morales Figueroa por sus correcciones y comentarios para mejora de esta tesis. Asimismo, al Dr. Marco Antonio López Mata por sus acertados comentarios y consejos para esta investigación. Muchas gracias a la M.C. Guadalupe Johanna Góngora Chi por guiarme y enseñarme a trabajar en el área de laboratorio, y porque siempre estuvo atenta para ayudarme. Además de la M.C. Karla Guadalupe Martínez Robinson y M.C. Alma Rosa Toledo Guillen por facilitarme el equipo de laboratorio y aclarar mis dudas. A la Dra. Maricarmen Thalía Recillas Mota por su apoyo y resolver mis dudas en los experimentos de la tesis.

Muchas gracias al Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala y a su equipo de trabajo el Dr. Melvin Roberto Tapia Rodríguez, Daniela Othón y Marcela Flores por apoyarme y guiarme en los experimentos en su Laboratorio de Antioxidantes. A la Q.B. Mónica Alejandra Villegas Ochoa por su valioso apoyo en los análisis para esta tesis, le agradezco mucho su amabilidad y sus consejos. Igualmente, agradezco a Salma Enríquez por su apoyo y tiempo en los ensayos de antioxidantes.

A la M.C. Rosalba Pérez Morales y a la Dra. Susana María Scheuren Acevedo por el apoyo en la parte de Microbiología de esta tesis. A mi equipo de trabajo del Laboratorio de Nutrición-Infección por su compañerismo y ayuda en la realización de este proyecto. A el M.C. Javier Nicolás González González y a el M.C. Ildefonso Guerrero Encinas, muchas gracias por ayudarme en todo momento. A mis compañeras de equipo de trabajo Cris, Lina y Alondra por hacer más ameno la estancia en el CIAD.

Le agradezco a Dios Todopoderoso por permitirme cumplir otro sueño más, fortalecerme siempre y

darme la sabiduría e inteligencia para poder terminar esta investigación. A mi amado esposo Gerardo por apoyarme siempre, estar conmigo y animarme a seguir cumpliendo sueños juntos. A mis amados padres Humberto y Ana Lorena y a mi querido hermano Omar por estar siempre al pendiente de mi a pesar de la distancia y emocionarse conmigo por este gran proyecto.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de tesis y le doy toda la gloria principalmente a Dios, que me ayudó y permitió cumplir esta gran meta y por estar siempre al cuidado de mí. A mi amado esposo, mis queridos padres y hermano, les dedicó este sueño por siempre acompañarme y ser mi apoyo incondicional. Ustedes son quienes me inspiran a esforzarme por ser una mejor persona y a superarme cada día.

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	
CONTENIDO	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE CUADROS	
LISTA DE ECUACIONES	
RESUMEN	
ABSTRACT	13
1. INTRODUCCIÓN	14
2. ANTECEDENTES	16
2.1. Infecciones Bacterianas Adquiridas por el Consumo de Agua y Alimentos	
Contaminados	16
2.1.1. Bacterias Implicadas en Enfermedades Infecciosas Transmitidas por Agua y Alimentos Contaminados	17
2.1.2. Alteraciones Nutricionales y Complicaciones por Infecciones Intestinales	1/
Bacterianas	18
2.1.3. Tratamientos Alternativos.	
2.2. Solventes	20
2.2.1. Riesgos y Limitaciones con el Uso de Solventes	21
2.2.2. Solventes Eutécticos Profundos	
2.2.3. Características Fisicoquímicas de los Solventes Eutécticos	
2.2.4. Extracción de Compuestos Bioactivos con Solventes Eutécticos	
2.3. Yucca schidigera (Y. schidigera)	
2.3.1. Saponinas	
2.3.2. Propiedades Antioxidantes de <i>Y. schidigera</i>	
2.3.3. Propiedades Antimicrobianas de <i>Y. schidigera</i>	
2.3.4. Mecanismo Antibacteriano de Saponinas	31
3. HIPÓTESIS	33
4. OBJETIVOS	34
4.1. Objetivo General	
4.2. Objetivos Específicos	
5. MATERIALES Y MÉTODOS	35
5.1. Extracto de <i>Y. schidigera</i>	
5.1.1. Materia Prima	
5.1.2. Preparación de Solvente Eutéctico y Extracción de Y. schidigera	35

CONTENIDO (continuación)

5.2. Análisis Bromatológico y Cuantificación de Saponinas	36
5.2.1 Humedad	
5.2.2. Cenizas	36
5.2.3. Azúcares	37
5.2.4. Proteínas	37
5.2.5. Grasas	38
5.2.6. Saponinas	38
5.2.7. Capacidad Emulsificante	39
5.2.8. Propiedad Espumante	39
5.3. Capacidad Antioxidante	40
5.3.1. Contenido de Fenoles y Flavonoides Totales	
5.3.2. Capacidad Antioxidante por Inhibición del Radical DPPH	41
5.3.3. Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox (TEAC)	41
5.3.4. Capacidad por Reducción del Hierro Férrico (FRAP)	42
5.3.5. Capacidad de Absorción del Radical Oxígeno (ORAC)	42
5.4. Evaluación Antibacteriana	
5.4.1. Ensayo Microbiológico in vitro	
5.4.2. Concentración Mínima Inhibitoria y Bactericida	
5.5. Análisis Estadístico	44
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
6.1. Composición del Extracto de Y. schidigera en el Solvente Eutéctico	45
6.1.1. Análisis Bromatológico y Cuantificación de Saponinas	45
6.1.2. Propiedades Funcionales del Extracto con Saponinas	
6.1.3. Contenido de Fenoles y Flavonoides	47
6.1.4. Concentración y Capacidad Antioxidante	49
6.1.5. Ensayo Microbiológico	51
7. CONCLUSIÓN	54
8. RECOMENDACIONES	55
9. REFERENCIAS	56

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Campo de plantación comercial de Y. schidigera	26
2. Concentración antioxidante por el radical DPPH del extracto de Y. schidigera	
en solvente eutéctico.	51

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Bacterias transmitidas por el consumo de alimentos y agua contaminados	.18
2. Análisis bromatológico y composición del extracto de <i>Y. schidigera</i> en solvente eutéctico.	.46
3. Propiedades de saponinas del extracto de Y. schidigera en solvente eutéctico	.47
4. Valores de capacidad antioxidante del extracto de <i>Y. schidigera</i> en solvente eutéctico.	.51
5. Valores de concentración mínima inhibitoria y mínima bactericida del extracto de <i>Y. schidigera</i> en solvente eutéctico y el solvente puro	.53

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación	Página
1. Ecuación para porcentaje de humedad	.36
2. Ecuación para porcentaje de cenizas	.37
3. Ecuación para capacidad emulsificante	39
4. Ecuación para propiedad espumante	.40
5. Ecuación para porcentaje de inhibición para determinar capacidad antioxidante	41

RESUMEN

El tratamiento de infecciones por bacterias transmitidas a través de agua y alimentos contaminados, está perdiendo eficacia. La resistencia bacteriana a los antibióticos ha aumentado, y la necesidad de buscar alternativas es un desafío. Algunas plantas medicinales tienen propiedades antimicrobianas y pueden ser opción para tratar infecciones, ya que se han identificado metabolitos secundarios (fenoles, flavonoides, saponinas) con actividad antimicrobiana. El proceso efectivo de extracción de estos compuestos requiere del uso de solventes orgánicos. Sin embargo, estos solventes son contaminantes para el ambiente. Los solventes eutécticos como cloruro de colina y ácido láctico han sido probados para extracción de compuestos vegetales con ventaja de ser biodegradables con el ambiente. El objetivo de este trabajo fue analizar la composición bromatológica, antioxidante y antibacteriana del extracto de Yucca schidigera en un solvente eutéctico contra Escherichia coli, Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus y Listeria monocytogenes. Se preparó un solvente eutéctico con cloruro de colina y ácido láctico, y se procedió con extracción del material seco del tallo de Y. schidigera. El extracto con solvente fue sometido a un análisis bromatológico. Se determinaron cenizas, humedad, azúcares, grasas, proteínas y saponinas, utilizando técnicas de la AOAC, resonancia magnética nuclear y espectrofotometría. Se determinó la concentración de antioxidantes, fenoles y flavonoides por espectrofotometría. La actividad antibacteriana se evaluó por la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB). El extracto con solvente estuvo constituido por 7.00 % de humedad, 0.05 % de cenizas, 0.95 % de azúcares, 0.03 % de proteínas y 0.093 % de saponinas. Las propiedades emulsificantes y espumantes de las saponinas fueron de 45.0 % y 108.0 %. El contenido de fenoles y flavonoides fue de 11.50 µg AG/mg y 3.80 µg EQ/mg. Se obtuvo un IC₅₀ de 4.36 mg/mL del extracto con solvente para inhibir el radical DPPH. La actividad antioxidante por DPPH, TEAC, FRAP y ORAC fue de 4.33 µg TE/mg, 14.58 μg TE/mg, 832.95 μg TE/mg y 32147.33 μg TE/g. El extracto con solvente presentó CMIs de 0.4 %, 0.9 %, 0.4 %, y 0.38% contra E. coli, S. Typhimurium, S. aureus y L. monocytogenes. Igualmente, se obtuvieron CMBs de 0.5 %, 1.0 %, 0.7 %, y 0.58 % contra las mismas bacterias. En conclusión, el extracto de Y. schidigera con solvente demostró tener propiedades antioxidantes y actividad antibacteriana sinérgica (solvente eutéctico con extracto de Y. schidigera) contra bacterias patógenas.

Palabras clave: Yucca schidigera, Solventes Eutécticos, Antioxidantes, Antimicrobianos.

ABSTRACT

The treatment of foodborne and waterborne bacterial infections is losing effectiveness. Bacterial resistance to antibiotics has increased, and the search for alternatives has become a challenge. Some medicinal plants have antimicrobial properties and they can be an option to treat these infections, since secondary metabolites (phenols, flavonoids, saponins) from plants with antimicrobial activity have been identified. The effective extraction process of these compounds requires the use of organic solvents. However, these solvents end up becoming pollutants for the environment. Eutectic solvents such as choline chloride and lactic acid have been tested for the extraction of plant compounds with the advantage of being biodegradable with the environment. This work was aimed to analyze the bromatological, antioxidant, and antibacterial composition of Yucca schidigera extract in a eutectic solvent against Escherichia coli, Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus, and Listeria monocytogenes. An eutectic solvent was prepared with choline chloride and lactic acid, and the dried material from the Y. schidigera stem was extracted. The extract in the solvent was submitted to a bromatological analysis. Ashes, moisture, sugars, fats, proteins, and saponins were determined using AOAC techniques, nuclear magnetic resonance, and spectrophotometry. The concentration of phenols and flavonoids was determined by spectrophotometry. The antibacterial activity was evaluated by means of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). The extract in the solvent had 7.00 % moisture, 0.05 % ash, 0.95 % sugar, 0.03 % protein, and 0.093 % saponin. The emulsifying and foaming properties values of the saponins were 45.0 % and 108.0 %. The content of phenols and flavonoids was 11.50 µg GAE/mg and 3.80 µg QE/mg. An IC50 of 4.36 mg/mL of extract with the solvent to inhibit the DPPH radical was calculated. The antioxidant activity values by DPPH, TEAC, FRAP, and ORAC was 4.33 µg TE/mg, 14.58 µg TE/mg, 832.95 µg TE/mg, and 32147.33 µg TE/g. The solvent extract MICs were 0.4 %, 0.9 %, 0.4 %, and 0.38 % against E. coli, S. Typhimurium, S. aureus, and L. monocytogenes. Likewise, the MBCs were 0.5%, 1.0 %, 0.7 %, and 0.58 % against the same bacteria. In conclusion, the extract of Y. schidigera with eutectic solvent was shown to have antioxidant properties and synergistic antibacterial activity (eutectic solvent plus Y. schidigera) against pathogenic bacteria.

Key words: Yucca schidigera, Eutectic Solvents, Antioxidants, Antimicrobials.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas son un problema de salud pública mundial. Estas infecciones pueden asociarse a bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, entre otras. La vía de transmisión de estos patógenos ocurre por el consumo de agua o alimentos contaminados (Farhadi y Ovchinnikov, 2018). Los síntomas más comunes son la presencia de diarrea, vómito, dolores abdominales, y si la infección no se atiende apropiadamente, puede ser fatal en casos severos (Tickell *et al.*, 2020). Otras complicaciones observadas, son las alteraciones en el estado nutricional en infantes y adultos. Estas se manifiestan particularmente con una talla baja para la edad en la población infantil y un mayor riesgo de desnutrición en adultos y niños (Walson y Berkley, 2018; Farhadi y Ovchinnikov, 2018).

Generalmente, para tratar las infecciones bacterianas, la primera opción son los antibióticos, pero desafortunadamente existe una alta resistencia bacteriana a los mismos, lo que limita su acción. Además, se han observado efectos secundarios relacionado con el consumo de estos medicamentos (Doron y Gorbach, 2008). Sin embargo, la resistencia bacteriana a los antibióticos va en aumento en los últimos años y por lo que, existe la necesidad de utilizar nuevas alternativas para combatir estas infecciones, las cuales representan un fuerte desafío para los sistemas de salud. Por lo tanto, una de estas alternativas sería el uso de metabolitos secundarios obtenidos de las plantas con propiedades antimicrobianas (Rajeev *et al.*, 2021).

Los extractos obtenidos de las plantas han sido utilizados en la medicina tradicional de manera ancestral debido a que han demostrado propiedades antimicrobianas, antivirales y antiinflamatorias. En específico, el extracto de la planta *Yucca schidigera* ha sido reconocida por su contenido significativo en saponinas, compuestos fenólicos y antioxidantes (Zúñiga-Serrano *et al.*, 2022). La extracción tradicional de estos metabolitos requiere de solventes orgánicos como etanol, butanol, solventes acuosos, y solventes halogenados, como cloroformo. Sin embargo, estos solventes suelen ser contaminantes para el medio ambiente.

El avance de la tecnología ha conducido al desarrollo de nuevos solventes derivados de recursos renovables para diversos usos, y uno de ellos incluye la preparación de material funcional o extracciones de compuestos de las partes de las plantas (Prasad y Sharma, 2019). Los nuevos sistemas de solventes eutécticos verdes utilizados para la extracción de componentes de las plantas, son

promisorios en la actualidad, ya que pueden ser considerados como inocuos para el medio ambiente. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue analizar la composición bromatológica, antioxidante y antibacteriana del extracto de *Yucca schidigera* obtenido con solvente eutéctico.

2. ANTECEDENTES

2.1. Infecciones Bacterianas Adquiridas por el Consumo de Agua y Alimentos Contaminados

Las condiciones climáticas impactan en la incidencia y transmisión de enfermedades infecciosas transmitidas por agua y alimentos contaminados. La temperatura alta, precipitación, fenómenos meteorológicos y la disponibilidad limitada del agua potable son factores que aumentan el riesgo a padecer enfermedades de tipo bacteriana (Wallace *et al.*, 2014). La Organización Mundial de la Salud estimaba en el año 2012, que 12.6 millones de muertes fueron atribuidas a la contaminación ambiental a nivel global (Prüss-Ustün *et al.*, 2016).

Estas infecciones se desarrollan cuando las bacterias ingresan al tracto intestinal por vía oral, luego invaden las células del hospedero o liberan toxinas que pueden iniciar los síntomas como náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal, que podrían también ocasionar la muerte en sujetos vulnerables (Acheson, 2009; Doron y Gorbach, 2008). Los principales grupos de riesgo a padecer enfermedades infecciosas bacterianas son los niños, adultos mayores y las personas inmunocomprometidas. Los patógenos más comunes que se involucran en dichas afecciones son los géneros *Salmonella, Shigella, Escherichia, Vibrio, Campylobacter y Yersinia* (Hernández-Cortez *et al.*, 2011).

Las infecciones bacterianas impactan la salud de los individuos y, además, generan daños relacionados con el sistema económico, productivo y de distribución de los alimentos (Sockett, 2014; Rohr *et al.*, 2019). Por lo anterior, es importante prevenir y reducir el riesgo de padecer infecciones bacterianas. Para ello, es necesario crear las condiciones para tener acceso al agua potable y buenas prácticas de higiene en los alimentos (Shrestha *et al.*, 2020). Aunado a esto, se añade la preocupación de la emergencia de salud pública por la resistencia a antibióticos debido a que un grupo importante de bacterias patógenas ya requieren de nuevos esquemas de tratamiento y con mayor eficacia (Peterson y Kaur, 2018).

2.1.1. Bacterias Implicadas en Enfermedades Infecciosas Transmitidas por Agua y Alimentos Contaminados

Las bacterias que comúnmente se encuentran en los alimentos y agua contaminados pueden ser Grampositivas o Gram-negativas. Dentro de las Gram-positivas se incluye al *Staphylococcus aureus*, que se caracteriza por tener la forma de células esféricas, inmóviles, no formadora de esporas y es anaerobio facultativo. Su principal característica es su resistencia al calor (Götz *et al.*, 2006). Otras bacterias patógenas involucradas son la *Listeria monocytogenes*. *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., y *Clostridium botulinum*, que pueden crecer a temperaturas menores de 10 °C. Se ha reportado que *L. monocytogenes* es la tercera cepa más común en causar la muerte a humanos debido al consumo de alimentos contaminados por esta bacteria (Bacon y Sofos, 2003; Urban-Chmiel *et al.*, 2022). Otra particularidad de las bacterias Gram-positivas es su capa gruesa de peptidoglicano, proteínas y una pared de polisacáridos. Además, pueden tener la capacidad de secretar toxinas que suelen contaminar los alimentos y una vez ingeridas, pueden comprometer el funcionamiento de ciertos tejidos.

Por otro lado, entre las bacterias Gram-negativas se incluyen a *Escherichia coli, Klebsiella* sp., *Salmonella* sp., y *Shigella* sp. Otras cepas comprenden a *Pseudomonas* sp., *Vibrio cholerae, Yersinia enterocolitica* y *Campylobacter*, que se caracterizan por contener una membrana exterior delgada de peptidoglicano, lipopolisacáridos y una membrana interior citoplasmática (Berkley, 2021; Bhunia, 2018).

En el Cuadro 1 se muestran las bacterias comúnmente encontradas en alimentos y agua contaminados. *E. coli* es la bacteria que se encuentra con mayor frecuencia en agua contaminada. Incluso, la cepa de *E. coli* es utilizada como indicador de contaminación por bacterias fecales tanto en la industria alimentaria como en el agua destinada para consumo humano (Castro-Rosas *et al.*, 2012). Con relación a la *Salmonella* sp., esta es una de las bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos o por agua contaminados que son indicativo de la presencia de contaminación con heces fecales humanas. En este mismo sentido, algunas cepas de género *Salmonella* son responsables del desarrollo de la fiebre tifoidea (*S. typhi*) y paratifoidea (*S. paratyphi*) (Acheson, 2009). Se ha observado que *E. coli* y *Salmonella* sp., tienen la capacidad de desarrollarse en temperaturas extremas, lo cual tiene un impacto negativo en el agua contaminada por estas bacterias (Ünver Alçay y Sağlam, 2022).

Cuadro 1. Bacterias transmitidas por el consumo de alimentos y agua contaminados.

Bacterias	Compuestos contaminados	Síntomas
Escherichia coli O157:H7	Agua contaminada, carne mal cocinada, quesos, leche no pasteurizada, frutas y verduras crudas contaminadas.	Diarrea severa, calambres abdominales, vómito y fiebre.
Listeria monocytogenes	Productos lácteos sin pasteurizar, carnes y ensaladas.	Fiebre, dolor muscular y síntomas gastrointestinales.
Salmonella sp.	Huevo crudo, pollo, carne y leche sin pasteurizar.	Diarrea, fiebre y calambres abdominales.
Staphylococcus aureus	Leche, cremas, mayonesas, quesos contaminados, productos cárnicos y pescado.	Náuseas, calambres abdominales, diarrea y vómito.

Adaptado de USDA, 2022; Gallo et al., 2020.

2.1.2. Alteraciones Nutricionales y Complicaciones por Infecciones Intestinales Bacterianas

Las infecciones intestinales ocasionadas por bacterias pueden conducir a una desnutrición en un individuo. Durante una patología infecciosa, independiente de su grado de severidad, se suele observar una reducción en la ingesta de alimentos y un incremento en la pérdida de nutrientes (Bhutta, 2006). La invasión por patógenos bacterianos intestinales también puede acompañarse de pérdida de peso, disminución energética y detrimento en el estado inmune. Además, las infecciones intestinales también pueden producir alteraciones en la mucosa intestinal y detrimento en el crecimiento y en el desarrollo infantil (Katona y Katona-Apte, 2008). También se puede acompañar de una excesiva excreción de nitrógeno llevando a un balance nitrogenado negativo, aumentando el riesgo a complicaciones y afectaciones en la absorción de proteínas y grasas (Rajeev *et al.*, 2021).

En los niños desnutridos las infecciones intestinales suelen ser una causa común de muerte, por lo tanto, el llevar a cabo un tratamiento y atención oportuna es clave para prevenir situaciones que compliquen el estatus de la salud de los infantes (Krawinkel, 2012). La población con mayor riesgo a presentar un significativo deterioro en el estado nutricional debido a la presencia de infecciones intestinales son los niños en etapa de crecimiento (Scrimshaw, 2003). En 2018, un estudio

multicéntrico realizado en 7 países: Bangladesh, India, Nepal, Brasil, Perú, Sudáfrica y Tanzania, reportó los efectos de infecciones por enteropatógenos y el estado nutricional. La muestra evaluada fue de 1469 niños de 2 a 5 años, y se observó un bajo crecimiento lineal asociado a infecciones subclínicas. Los patógenos identificados incluyeron a los protozoarios como *Giardia intestinalis* y bacterias de las especies *Shigella* sp., *Escherichia coli* enteroagregativa, *Escherichia coli* enteropatógena y *Campylobacter* sp. (Rogawski *et al.*, 2018). Podemos concretar que la relación que existe entre las enfermedades infecciosas intestinales, estado de nutrición, y la contaminación ambiental impactan significativamente la salud pública, porque deriva en altas tasas de morbilidad y mortalidad en la población pediátrica y adulta (Berkley, 2021; Rocklöv *et al.*, 2021).

2.1.3. Tratamientos Alternativos

El descubrimiento y uso de antibióticos llevó a una reducción en la mortalidad y morbilidad asociadas a las enfermedades infecciosas. Sin embargo, su uso y manejo inapropiados han conducido al problema emergente de resistencia antimicrobiana. Este desafío es ahora una preocupación para la salud pública y conduce a pérdidas económicas e incremento en las tasas de morbilidad poblacional con posible aumento en las tasas de mortalidad.

Staphylococcus aureus, Salmonella sp., y Escherichia coli son algunas de las bacterias patógenas que han presentado una mayor resistencia hacia los antibióticos. El tratar las infecciones ocasionadas por estas cepas resistentes, se ha vuelto un reto y esto obliga a la búsqueda de nuevas alternativas para tratar estas enfermedades infecciosas (El-Saadony et al., 2022). Se prevé que para en el año 2050, la tasa mundial de mortalidad sea alrededor de 10 millones de personas debido a infecciones por estas bacterias resistentes (Kraker et al., 2016; Davies y Davies, 2010).

Entre los diferentes mecanismos propuestos que explican la resistencia bacteriana a los antibióticos se incluyen la liberación de enzimas por las bacterias que modifican la estructura del antibiótico. Otro mecanismo es el secuestro de antibióticos que se relaciona con la función de las proteínas ligadas a estos y que previene que el medicamento se libere. Asimismo, la disminución de la permeabilidad de la pared celular se relaciona con cambios en el diámetro de las porinas que bloquean el ingreso del antibiótico. Además, hay un rápido eflujo que excretan el antibiótico a mayor velocidad hacia el

exterior de la célula sin que se alcance la acción bactericida (Moreno *et al.*, 2009; Peterson y Kaur, 2018).

La resistencia a los antibióticos ha estimulado el interés por explorar y usar plantas con propiedades medicinales. El utilizar plantas con fines medicinales no es algo nuevo, incluso alrededor del 25 - 50 % de los medicamentos que son fabricados en la industria farmacéutica provienen de las plantas. Asimismo, se ha mostrado a través de la historia que las plantas pueden ser altamente efectivas para el tratamiento de infecciones (Mohammed *et al.*, 2012). Los extractos de las plantas con propiedades antimicrobianas contienen compuestos que pueden servir como alternativa para modificar la conducta de resistencia de ciertos agentes bacterianos (Gupta y Birdi, 2017). Entre ellos se incluyen a los fenoles, polifenoles y alcaloides que son metabolitos secundarios, relacionados con el sistema de defensa de las plantas. Otro grupo importante de metabolitos que son obtenidos de las plantas son las saponinas, a las cuales se le ha reconocido una importante actividad antibacteriana (Sakagami *et al.*, 2012).

2.2. Solventes

Los solventes se usan comúnmente para proveer una o más fases líquidas en reacciones y procesos químicos, además, de disolver o diluir sustancias. Otras de sus funciones son la regulación de temperatura, la modulación de reacciones exotérmicas o endotérmicas y la purificación de componentes por recristalización o extracciones (Pollet *et al.*, 2014). Aunque hay un gran número de solventes disponibles en la naturaleza, muchos son fabricados por el hombre y podrían convertirse en contaminantes para el medio ambiente con potencial daño a la salud.

Actualmente, la clasificación de los solventes es realizado en base a sus propiedades fisicoquímicas que incluyen su volatilidad, cantidad de agua y solubilidad en lípidos. Otra clasificación es realizada en base a su polaridad, donde los solventes polares son caracterizados por contener un polo positivo y uno negativo. Estos a su vez se subdividen en polares próticos que tienen un enlace N-H u O-H, un ejemplo de este último es el agua, y los polares apróticos que no contienen estos enlaces, como la acetona. Por otro lado, los solventes apolares no contienen polo positivo ni negativo como el benceno (Morales-Vite, 2013). Los solventes orgánicos más comúnmente utilizados en la industria química

son aquellos que se incluyen en los grupos de alcoholes como butanol, etanol e isopropanol. En los grupos de cetonas se incluyen a las acetonas, y en los grupos halogenados al cloroformo, en las amidas a la dimetilforamida, en los éteres el éter dietílico, y finalmente aquellos grupos con sulfuros (Schliemann *et al.*, 2020).

La elección de los solventes para la utilización en casos de extracción es de gran importancia, ya que se seleccionan en base a su solubilidad, polaridad, clasificación y seguridad. Aquellos solventes con una polaridad cercana al soluto serán más afines. Los alcoholes son considerados como el solvente universal para extracción de compuestos bioactivos (Zhang *et al.*, 2018). Sin embargo, en los últimos años, con el propósito de mantener una salud global y considerando su relación con el medio ambiente, se ha desarrollado la química verde para prevenir la contaminación, con lo cual se pretende remplazar el uso de solventes tóxicos por solventes que sean compatibles con el ambiente y la salud de la población (Horváth, 2008; Clarke *et al.*, 2018).

2.2.1. Riesgos y Limitaciones con el Uso de Solventes

Los problemas de salud derivados de la exposición a solventes orgánicos pueden ser de tipo agudo o de largo plazo. Este tipo de solventes suelen ser muy tóxicos, volátiles e inflamables y pueden ocasionar efectos acumulativos, dependiendo de la dosis, ruta y fuente del solvente. Algunos de los daños asociados a estos compuestos son carcinogénesis, teratogénesis, neurotoxicidad y hepatotoxicidad. Además, la mayoría de los solventes orgánicos se absorben a través de la piel y pulmones en diferentes grados que dependen de su concentración, tiempo, duración y frecuencia de la exposición al solvente. La exposición a dosis alta de solvente puede llevar a un envenenamiento agudo, mientras que dosis bajas por periodos prolongados inducen un daño crónico (Schliemann *et al.*, 2020; Reichardt, 2003).

Así mismo, los solventes orgánicos tienen algunas limitantes que resaltan durante su uso como la baja extractabilidad, tiempo de consumo, alto gasto de energía, y gran volumen, lo que eleva considerablemente el costo de su utilización (Suresh *et al.*, 2022). Otros riesgos potenciales asociados con el uso de solventes son los daños que pueden ocasionar al ambiente, así como al suelo y al agua. El benceno y los hexanos son ejemplos de solventes tóxicos que contaminan el medio ambiente (Joshi y Adhikari, 2019), por lo que surge la necesidad de usar solventes que no dañen el entorno y por ende

la salud (Cvetanović, 2019; Dwamena, 2019). Algunas alternativas novedosas como el uso de solventes verdes han surgido y requieren de evidencia que demuestren su eficiencia y eficacia en la extracción de compuestos, así como, un bajo costo de su utilización.

2.2.2. Solventes Eutécticos Profundos

Los solventes eutécticos profundos [Deep Eutectic Solvents (DES)] son solventes verdes de la nueva generación cuyo uso ha aumentado actualmente por sus diversos beneficios y ventajas (Saini *et al.*, 2021). Entre sus ventajas se encuentran sus características biocompatibles, biodegradables y amigables con el medio ambiente. El otro tipo de DES son aquellos clasificados como disolventes eutécticos de origen natural (DEN), los cuales están presentes en las células vegetales y en el organismo humano. Estos solventes se usan durante la extracción y fabricación de productos naturales que se emplean para el tratamiento y manejo de medicamentos, alimentos o cosméticos (Suresh *et al.*, 2022).

La fabricación de los DES se basa en el comportamiento eutéctico de varios compuestos, los cuales son una subclase de líquidos iónicos, por contener iones. Los DES consisten en mezclar dos o más compuestos, donde uno de ellos actúa como aceptor de puentes de hidrógeno como la sal de amonio y otro como donador de puentes de hidrógeno como ácidos o aminas (Smith *et al.*, 2014). La mezcla resultante genera una fase liquida a temperaturas por debajo de 100° C (Prasad y Sharma, 2019). Los compuestos utilizados como aceptores de puente de hidrogeno en los DES incluyen al acetato de colina, cloruro de colina, betaina, y alanina. Por otro lado, entre los compuestos donadores de hidrógeno se encuentran la urea, glicerol, acetamida, ácido láctico, ácido málico y ácido levulínico; considerados como metabolitos primarios (Dai *et al.*, 2013a). Inicialmente, las mezclas de DESR incluían cloruro de colina (aceptor de hidrógeno) mezclado con compuestos donadores de hidrógeno como la urea, glicerol, etilenglicol y ácido cítrico (Mota-Morales *et al.*, 2018; El Achkar *et al.*, 2021). Con base a sus características, los solventes eutécticos son biológicamente seguros y considerados como tecnología verde innovadora para la obtención de extractos naturales. Además, estos solventes pudieran aplicarse en diferentes áreas de investigación como la farmacéutica, médica, química, física e ingeniería (Saini *et al.*, 2021; Zuo *et al.*, 2023).

2.2.3. Características Fisicoquímicas de los Solventes Eutécticos

Uno de los atributos de estos solventes es la mezcla de ácidos y bases, lo cual hace que contengan aniones y cationes, a diferencia de otros solventes como los líquidos iónicos (Smith *et al.*, 2014). Otras características de los DES es que pueden no ser tóxicos dependiendo de sus compuestos, son de fácil preparación, biodegradables, renovables y no inflamables. Además, tienen polaridad alta lo que les confiere una buena solubilidad en medio acuso (Ling y Hadinoto, 2022; Choi *et al.*, 2011). Las propiedades fisicoquímicas de los DES pueden variar dependiendo de las características de cada solvente como lo son el punto de congelación, pH, viscosidad, densidad y baja conductividad. El punto de congelación de los DES es menor que el de otros compuestos químicos y se relaciona con la interacción que hay entre sus puentes de hidrógeno, su estructura natural y la molaridad.

La acidez y la basicidad dependerá de los compuestos mezclados para realizar los DES. Asimismo, el pH se verá afectado tanto por la temperatura como por los componentes del solvente eutéctico (Skulcova *et al.*, 2018). La alta viscosidad de los DES está relacionada a la presencia de puentes de hidrógeno, además esta propiedad se ve modificada por la naturaleza de los componentes del solvente (tipo de sales, proporción molar, temperatura, contenido de agua) (Zainal-Abidin *et al.*, 2017). Otra característica fundamental de los DES, es que su densidad es mayor que el agua y al igual que la viscosidad, tienden a tener un comportamiento dependiente de la temperatura. Es decir, disminuyen cuando aumenta la temperatura (Zhang, *et al.*, 2012; Ibrahim *et al.*, 2019). Del mismo modo, la conductividad molar de estos compuestos aumenta con la temperatura (Quin *et al.*, 2020). Otro elemento de los DES es que tienden a tener carácter higroscópico y pueden absorber humedad. Esta absorción aumenta con el número de grupos hidrofílicos en el DES (El Achkar *et al.*, 2021; Zuo *et al.*, 2023).

Conocer las propiedades fisicoquímicas de los solventes contribuye a diseñar solventes eutécticos más adecuados para su aplicación, y esto podría ser de beneficio en procesos reales de la industria (Mitar *et al.*, 2019).

2.2.4. Extracción de Compuestos Bioactivos con Solventes Eutécticos

Las plantas son la fuente más importante para la obtención de metabolitos primarios (aminoácidos, ácidos nucleicos, carbohidratos, lípidos) y secundarios (saponinas, flavonoides, fenoles, terpenos, taninos) (Anaya y Cruz-Ortega, 2001; Yue et al., 2020). En los últimos años, la investigación hacia la extracción y obtención de estos compuestos y su relación con sus propiedades biológicas ha llevado a los científicos a explorar más de cerca estas propiedades (Saini et al., 2021). Los DES presentan una alta solubilidad en agua y características de grado alimenticio, lo que les confiere ser ideales para la extracción de compuestos bioactivos, los cuales pueden ser utilizados para el desarrollo de formulaciones de nutraceúticos o cosméticos (Suresh et al., 2022). Debido a las desventajas asociadas a las técnicas de extracción tradicionales relacionadas a la seguridad y el entorno ambiental, las industrias están en un periodo de transición en el que se requiere de un mayor cuidado del medio ambiente. Además, de una adecuada sustentabilidad que demanda el uso de DES en la manufactura. Una de las ventajas de los DES, es que no contienen residuos orgánicos de solventes tóxicos y no requieren de una purificación compleja. Esto conlleva a que la extracción con DES sea más eficiente, segura, sencilla y económicamente aceptable (Tang et al., 2015; Cvetanović, 2019). Rodríguez et al., (2021) usaron DES mezclando cloruro de colina y xilitol en diferentes proporciones molares; 1:1,1:3,1:4 y 1:7 para la extracción de compuestos fenólicos de aceite de oliva virgen. Ellos reportaron una mayor cantidad de compuestos fenólicos de 555. 36 mg/kg en la proporción molar de 1:1, 422.04 mg/kg en la proporción de 1:3, 428.04 mg/kg y 400.68 mg/kg en la de 1:4 y 1:7 respectivamente. Este estudio se comparó con diferentes condiciones de extracción según la proporción molar, temperatura y tiempo (Rodríguez-Juan et al., 2021). En otro estudio se utilizaron distintos tipos de DES mezclando cloruro de colina con etilenglicol, glicerol, ácido láctico, ácido málico, ácido malónico, ácido oxálico y urea, para la extracción de compuestos fenólicos de la planta Sapodilla (Saha y Chakraborty, 2021). Donde reportaron que la mezcla de cloruro de colina con ácido oxálico fue más efectiva para la extracción de compuestos fenólicos (17.881 mg EAG/g) al compararlo con los otros tipos de DES. Por otro lado, Yang et al., (2021), utilizaron 21 tipos de DES para la extracción de saponinas de la planta Dioscorea Nipponica. Los solventes fueron realizados con base de cloruro de colina, betaína y L-prolina mezclados con etilenglicol, glicerol, ácido málico, ácido láctico, ácido malónico, ácido cítrico, acetamida, urea, n-metilurea, xilitol, glicerol, y sorbitol. Ellos publicaron que con la proporción de 1:1 de cloruro de colina y ácido malónico, se obtenía el mayor rendimiento de extracción comparado con las otras mezclas de DES.

2.3. Yucca schidigera (Y. schidigera)

Las plantas que pertenecen al género de Yucca se engloban entre 40-50 especies que se caracterizan por contener numerosas hojas y flores de color blanco, y una de estas es la Y. schidigera (también conocida como Mojave Yucca). Esta especie es originaria de Baja California en México y el desierto de Mojave en el suroeste de Estados Unidos de América. La Y. schidigera (Figura 1) pertenece a la familia Agavaceae y tiene un crecimiento característico en climas de temperatura alta y baja precipitación pluvial (Gucker, 2006; Szabó y Gerzson, 2011; Patel, 2012). Esta planta por sus propiedades medicinales ha sido usada en la medicina tradicional principalmente por grupos étnicos para "curar" enfermedades (Cheeke et al., 2006). Se ha evidenciado que la Y. schidigera posee propiedades antimicrobianas, antiprotozoarios, antioxidantes e inmunomoduladores. Por lo que, su uso también se ha extendido en la "cura" de cierto padecimiento en los animales (Liu et al., 2021, Zúñiga-Serrano et al., 2022). Además, los extractos de esta planta se han utilizado como aditivos alimentarios para el ganado con el propósito de reducir la excreción de amonio (Sastre et al., 2017; Suzuki et al., 2020). Por otro lado, hallazgos recientes han indicado que Y. schidigera tiene propiedades que podrían prevenir enfermedades neurodegenerativas debido a sus compuestos fenólicos (Pecio et al., 2022). Pecio et al., (2022) estudiaron los efectos in vitro e in vivo de la suplementación de fracciones y compuestos fenólicos de la corteza de Y. schidigera en 100 peces cebra inducidos a déficit de memoria por escopolamina (fármaco anticolinérgico). En los análisis in vitro evaluaron la enzima 15-lipooxigenasa que está relacionada al estrés oxidativo, inflamación y neurodegeneración (Hu y Ma, 2018). Se observó que la suplementación con Y. schidigera y fenoles inhibieron la capacidad de esta enzima, comparado con la vitamina C. En el análisis in vivo se observó que los peces suplementados con Y. schidigera en dosis de 1 µg/mL, 3 µg/mL, y 4 µg/mL, mostraron mejoría en la memoria y en los efectos ansiolíticos. Los efectos de los fenoles en este estudio podrían explicarse debido al bloqueo de los mecanismos enzimáticos que controlan las reacciones redox, por bloqueo de substrato (ácido linoleico) al sitio activo, o por modificación de la estructura de la enzima.

Los análisis realizados a los extractos de *Y. schidigera* demuestran que contienen diversos compuestos bioactivos como polifenoles, resveratrol, polisacáridos y saponinas, siendo este último el compuesto predominante. Pero el contenido de estos compuestos bioactivos en la planta de la *Y. schidigera* son afectados por diversos factores que están directamente relacionados con el área de cultivo y el clima donde es cultivada. La distribución comercial de productos derivados de esta planta se encuentra aprobada por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) y tiene la denominación de Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS, por sus siglas en inglés). Debido a los beneficios que han mostrado los productos comerciales obtenidos de la *Y. schidigera*, aún se exploran otros beneficios que puede seguir ofreciendo esta planta (Patel, 2012).



Figura 1. Campo de plantación comercial de Y. schidigera.

Fuente: Agroin Baja Agro International, 2023.

2.3.1. Saponinas

Las saponinas son metabolitos secundarios derivados que se encuentran comúnmente en hojas, raíces y flores de las plantas. Estos compuestos por su naturaleza polar son conocidos como detergentes (Wina, 2012). Las saponinas son producidas por las plantas como sistema de defensa contra los

microorganismos patógenos, además tiene la función de fungir como una barrera química contra las bacterias (Zaynab *et al.*, 2021). A través del tiempo, las saponinas han sido utilizadas en la medicina tradicional y herbolaria, debido a sus propiedades químicas, físicas y biológicas. (Juang y Liang, 2020; Nguyen *et al.*,2020). Dentro de las propiedades químicas y biológicas se encuentra su acción como surfactantes por lo que ha sido utilizada para elaborar soluciones espumantes y emulsificantes (Góngora-Chi *et al.*, 2022).

La estructura química de las saponinas consta de dos partes que les confieren sus propiedades anfifílicas. Una parte aglicona (sapogenina), que es una estructura hidrofóbica y la otra una glicona que es hidrofílica la cual consta de cadenas glucídicas (Güçlü-Üstündağ y Mazza, 2007; Juang y Liang, 2020). Las saponinas de tipo triterpenoidal (C30) tienen esqueletos de ursano, lupano, oleanano pentacíclico y damarano tetracíclico. Las saponinas esteroidales (C27), tienen esqueletos de colestano tetracíclico, espirostano hexacíclico, furostano pentacíclico y cardenolido. La sapogenina incluye a la parte no glucosídica de la saponina también denominada aglicona. Las sapogeninas también pueden clasificarse con base al número de residuos de azúcar como monodesmosídico, bidesmosídico y polidesmosídico con uno, dos y tres residuos de azúcar, respectivamente. Además, entre los azúcares que contienen las saponinas se encuentran la glucosa, galactosa, ácido glucorónico, arabinosa, xilosa, y ramnosa (Francis *et al.*, 2002).

Las saponinas triterpenoidales se encuentran en diversas plantas, principalmente en las plantas dicotiledóneas, así como en sus semillas y flores. Otra fuente de estas saponinas son las leguminosas como soya, frijoles y chicharos. Por otra parte, las saponinas esteroidales están presentes en plantas de las familias *Agavaceae*, *Alliaceae*, *Asparagaceae*, *Dioscoreaceae*. Además, también se pueden encontrar en los espárragos, en las plantas de *Yucca* y ginseng (Güçlü-Üstündağ y Mazza, 2007).

Debido a su diversidad química, las saponinas esteroidales pueden ser aplicadas en materiales de producción industrial, como por ejemplo en hormonas esteroidales, fármacos antiinflamatorios y esteroides neuroactivos. Una de las principales fuentes comerciales de saponinas esteroidales es *Y. schidigera* (Piacente *et al.*, 2005; Qu *et al.*, 2018) y su contenido puede depender de los procesos genéticos, ambiente y manejo agronómico que afecta el crecimiento de la planta.

Un estudio llevado a cabo en el Estado de Sonora, se cuantificó la concentración de saponinas en *Yucca baccata* y se reportó una mayor concentración de estas en el tallo con 17.22 mg/mL, comparado con otras partes de la planta (León-Trujillo, 2012).

Las saponinas se pueden extraer utilizando solventes convencionales como el agua, metanol, etanol

y butanol, siendo este el último, el que ha demostrado ser el más efectivo en el rendimiento (Kregiel *et al*, 2017). Sin embargo, en los últimos años se ha implementado el uso de DEN en la extracción de saponinas y, aparentemente, estos parecen ser más prometedores y seguros de usar, comparado con los solventes convencionales.

Un estudio investigó la efectividad de un solvente eutéctico de ácido láctico para la extracción de saponinas de tallos de la planta *Trillium govanium* y se concluyó que los DES eran más efectivos que los solventes hidroetanólicos (Suresh *et al.*, 2022). Sin embargo, no existen reportes en la literatura que describan los efectos o alteraciones que estos solventes puedan inducir sobre las propiedades antimicrobianas de los extractos de esta planta. Actualmente, los estudios publicados que usan DES para la extracción de saponinas de diferentes plantas son muy limitados. Igualmente, se requiere comparar entre las CMI y CMB estimados a partir de extractos con saponinas obtenidos con DES y solventes orgánicos para obtener más información sobre la efectividad de estos.

2.3.2. Propiedades Antioxidantes de Y. schidigera

Los efectos biológicos de los productos de la Y. schidigera no solamente se deben al contenido de las saponinas, sino también a otros compuestos químicos que contiene y que pueden actuar como antioxidantes. Se sabe ampliamente que los antioxidantes naturales están distribuidos en plantas y alimentos: siendo los fenoles, flavonoides, carotenoides, alcaloides, esteroides y pigmentos naturales como la clorofila, los principales compuestos antioxidantes (Zuo et al., 2023). La principal función biológica de los antioxidantes es neutralizar los radicales libres, por inhibición de reacciones de oxidación (Vuolo et al., 2019). Estos mecanismos incluyen la transferencia de hidrógeno o electrones, y la quelación de metales (Santos-Sánchez et al., 2019). También los compuestos antioxidantes tienen antinflamatorios, efectos biológicos, tales como antibacterianos, anti-aterosclerosis anticancerígenos (Ping Xu et al., 2017).

Previamente, se ha descrito a través de diferentes investigaciones el perfil fenólico de la *Y. schidigera* y se ha encontrado que estos compuestos se encuentran principalmente en la corteza del tronco. Se han aislado polifenoles como estilbenos (capacidad antiinflamatoria), a los fenólicos como el resveratrol (*trans*-3,4',5-trihidroxiestilbeno), el *trans*-3,3',5,5'-tetrahidroxi-4'-metoxiestilbeno (Y1),

y moléculas denominadas yucaoles. Los yucaoles se clasifican en los tipos A, B, C, D y E y se caracterizan por una espiroestructura no convencional, posiblemente derivada del esqueleto de flavonoides (Balestrieri et al., 2006). Estos hallazgos muestran el potencial que la planta tiene como fuente rica de antioxidantes. Además, estos compuestos pueden reducir la peroxidación lipídica, el estrés oxidativo, e inhibir radicales libres (Oleszek, 2001; Olas et al., 2003; Piacente et al., 2005). Liu et al. (2021) suplementaron con Y. schidigera a 40 terneros de leche y condujo a un aumento en la enzima glutatión peroxidasa. En otro estudio, se suplementó con la misma planta a 360 codornices y se registró un aumento en la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa y catalasa (Alagawany et al., 2018). Sun et al. (2019), suplementaron con extracto de saponinas de Y. schidigera a 128 pollos de engorde y se observó un aumento significativo de peso corporal. Estos resultados han sugerido un incremento de la capacidad antioxidante en el intestino delgado de los pollos, asociado a la suplementación del extracto como aditivo. En otro estudio la suplementación dietaria 450 peces con dos concentraciones de Y. schidigera de 200 mg/kg y 400 mg/kg y un grupo control, también se asoció con un aumento de la capacidad antioxidante. La capacidad antioxidante de tejido intestinal en el grupo control fue 0.83 U/mg de proteína (prot), mientras que en aquellos con las dietas de 200 mg/kg y 400 mg/kg de Y. schidigera fue de 1.40 y 2.80 U/mgprot respectivamente. Estos resultados fueron acompañados de una disminución de la concentración de malondialdehído (biomarcador de estrés oxidativo) en las dietas suplementadas. Se reportó un valor de 1.70 nmol/mgprot en el grupo control, y de 0.61 nmol/mgprot y 0.86 nmol/mgprot en las dietas de 200 mg/kg y 400 mg/kg, respectivamente (Wang et al., 2020).

Morales-Figueroa *et al.*, (2022), realizaron un estudio con extracto de *Yucca baccata* y evaluaron la actividad antioxidante usando como solventes butanol y agua. El extracto butanólico de *Y. baccata* presentó mayor cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides con 29.5 mg EAGmg⁻¹ y 69.92 mg EQmg⁻¹ comparado con el solvente acuoso con 5.58 mg EAGmg⁻¹ y 1.65 mg EQmg⁻¹, respectivamente. Por otro lado, el extracto con butanol presentó mayor capacidad antioxidante, con 29.18 μg ETmg⁻¹, 121.8 μg ETmg⁻¹, 33.41 μg ETmg⁻¹ y 156.84 μg ETmg⁻¹ a través de las técnicas de DPPH, TEAC, FRAP y ORAC, respectivamente. Por el contrario, las capacidades antioxidantes del extracto acuoso de *Y. baccata* evaluado por DPPH, TEAC, FRAP y ORAC fueron de 5.94 μg ETmg⁻¹, 29.3 μg ETmg⁻¹, 8.78 μg ETmg⁻¹, y 48.72 μg ETmg⁻¹, respectivamente.

2.3.3. Propiedades Antimicrobianas de Y. schidigera

Entre los mecanismos antibacterianos que pueden explicar las propiedades antimicrobianas de los metabolitos secundarios de las plantas destacan la inhibición de enzimas, deprivación de substratos y prevención de colonización de bacterias (Zúñiga-Serrano et al., 2022). La actividad antibacteriana de los extractos de la Yucca dependerá del tipo y contenido de saponinas esteroidales (Suzuki et al., 2020). Existen diversos estudios que han demostrado la actividad antibacteriana de los extractos de Y. schidigera como ya se ha descrito antes (Killen et al., 1998; Matusiak et al., 2016). En un estudio in vitro, se investigó la actividad antifúngica de extractos ricos en saponinas (preparados comercialmente) provenientes de varias plantas entre ella Y. schidigera. La concentración mínima inhibitoria del extracto fue de 0.3 masa/volumen (m/v) vs el hongo A. solani; 1.2 (m/v) vs P. ultimum; 2.0 (m/v) vs F. oxysporum; 1.5 (m/v) vs V. dahliae y <0.1 (m/v) vs C. coccodes. Ese mismo estudio, reportó una inhibición de crecimiento de hongos con diámetros hasta del 50% (Chapagain et al., 2007). Ponce-Acosta (2022), realizó un estudio con micropartículas compuestas de quitosano y extractos butanólicos de la planta Yucca baccata. Se observó actividad significativa contra Escherichia coli (Gram negativa), Salmonella typhi (Gram negativa), Staphylococcus aureus (Gram positiva) y Listeria monocytogenes (Gram positiva). Salmonella typhi fue la bacteria que mostró mayor sensibilidad al extracto con una CMI y CMB de 0.2 g/mL y 0.3 g/mL, respectivamente. Por otro lado, Listeria monocytogenes fue la que mostró menor sensibilidad con una CMI y CMB de 0.4 g/mL y de 0.5 g/mL, respectivamente.

Khan *et al.*, (2018), investigaron la actividad antimicrobiana de un extracto etanólico con saponinas a partir de semillas del té verde, contra *Escherichia coli, Streptococcus aureus* y seis serovariedades de *Salmonella*. Los resultados mostraron que las fracciones de saponinas presentaban efectos antibacterianos *in vitro* a una CMI de 0.20 mg/mL. El experimento *in vivo* se realizó por 5 semanas con 3 grupos en tratamiento, cada uno de ellos con 5 pollos: control, infectados y tratados. El grupo tratado tuvo una reducción (sin reporte de cifras) en el crecimiento de bacterias patógenas como *S. pullorum, S. enteritidis, S. cholera, S. gallinarum, S. typhimurium* y *E. coli*. Morales-Figueroa *et al.*, (2022), investigaron la actividad antibacteriana de la *Yucca baccata* contra diferentes cepas de bacterias Gram positivas y Gram negativas, y a su vez compararon los resultados microbiológicos entre los solventes butanólico y acuoso. Se estimó una CMI y una CMB de 80 mgmL⁻¹ y 100 mgmL⁻¹

¹ del extracto butanólico contra las bacterias ensayadas, pero no fue posible estimarlas con el extracto acuoso.

Matusiak *et al.*, (2016), trabajaron con el extracto acuoso de *Y. schidigera* en concentraciones de 3.0 % y reportaron zonas de inhibición de 1.5 ± 0.5 para *E. coli* y *L. monocytogenes*. También, observaron una reducción de bacterias aeróbicas de 5.10 x 10¹⁰ UFC (unidades formadoras de colonias) a 4.93 x 10⁹ UFC después de ser expuestas al extracto acuoso de *Y. schidigera*. Otro estudio combinó isoeugenol con extracto acuoso de *Y. schidigera* en una concentración de 0.5 % (p/v) para medir su efecto sobre el crecimiento de bacterias en jugo de piña. Se estimó una CMI de 0.5 μL mL⁻¹ contra *E. coli* y *S. entérica*, y de 0.2 μL mL⁻¹ contra *L. monocytogenes*. La CMB para *E. coli* y *S. entérica* fue de 0.6 μL mL⁻¹ y de 0.4 μL mL⁻¹ contra *L. monocytogenes* (Thomas-Popo *et al.*, 2019).

2.3.4. Mecanismo Antibacteriano de Saponinas

Los mecanismos que se han propuesto para explicar las propiedades antibacterianas de las saponinas contenida en los extractos de las plantas parecen incluir su interferencia con la síntesis de proteínas, replicación de ADN y metabolismo celular bacteriano (Oleszek y Oleszek, 2020; Ray *et al.*, 2013). Las proteínas y los ácidos nucleicos son componentes claves en el desarrollo de las bacterias. La detección de estos compuestos al exterior de la célula confirma que las saponinas pueden inducir pérdida de la integridad de la membrana celular bacteriana, lo que resulta en el colapso celular (Ahmed *et al.*, 2020; Dong *et al.*, 2020).

Aparentemente, a mayor concentración de saponinas en los extractos, mayor es la propiedad antibacteriana de los mismos. Asimismo, se ha observado que los compuestos fenólicos, fitoquímicos encontrados en matrices de origen vegetal tienen una alta actividad antibacteriana (Álvarez-Parilla *et al.*, 2012). Diferentes estudios han reportado actividades de extractos con saponinas mayores para las bacterias Gram-positivas que para las Gram-negativas. Las bacterias Gram-positivas presentan una sola membrana constituidas por peptidoglucano que al parecer al contacto con saponinas parecen volverse más permeables. Por otra parte, las bacterias Gram-negativas tienen una resistencia intrínseca al extracto, debido a las barreras externas de la membrana que está constituida por lipopolisacáridos, fosfolípidos y proteínas (Montoya Villafañe, 2008; Dong *et al.*, 2020). Los análisis

de espectroscopia UV-Visible han sugerido que las saponinas dañan a la membrana mediante la formación de poros (Ray *et al.*, 2013) y en base a estos hallazgos, se ha hipotetizado que los efectos de las saponinas sobre las bacterias son similares a aquellos de los antibióticos del grupo de las cefalosporinas (Dong *et al.*, 2020).

Por otro lado, los compuestos bioactivos como los fenoles y flavonoides también contenidos en los extractos pudieran tener efectos antimicrobianos. En el caso de los fenoles esta acción puede relacionarse con la remoción de lipopolisacáridos, aumentando la permeabilidad de la membrana celular (Nourbakhsh *et al.*, 2021). Los mecanismos antimicrobianos propuestos para los flavonoides parecen incluir la afectación de la fluidez de las membranas celulares de las bacterias, inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos y de las toxinas bacterianas. Estos procesos parecen afectar la capacidad de las bacterias para formar biopelículas (Ulrih *et al.*, 2010; Górniak *et al.*, 2019).

3. HIPÓTESIS

El extracto de *Y. schidigera* en un solvente eutéctico tiene capacidad antioxidante y propiedad antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Evaluar las propiedades antioxidantes y antibacterianas de un extracto de *Yucca schidigera* en un solvente eutéctico contra *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*.

4.2. Objetivos Específicos

- 1. Obtener un extracto de Yucca schidigera utilizando un solvente eutéctico.
- 2. Analizar la composición bromatológica del extracto de *Yucca schidigera* en un solvente eutéctico.
- 3. Cuantificar la concentración de saponinas del extracto de *Yucca schidigera* en un solvente eutéctico.
- 4. Evaluar la capacidad antioxidante del extracto de Yucca schidigera en un solvente eutéctico.
- 5. Analizar las propiedades antibacterianas de un extracto con saponinas de *Yucca schidigera* en un solvente eutéctico contra *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Extracto de Y. schidigera

5.1.1. Materia Prima

La muestra de *Yucca schidigera* se obtuvo de la empresa AGROIN Bajo Agro Internacional 2022, ubicada en Ensenada, Baja California, México. Esta se obtuvo de la pulverización de los tallos y corteza de la planta.

5.1.2. Preparación de Solvente Eutéctico y Extracción de Y. schidigera

El solvente eutéctico se elaboró de acuerdo con los métodos descritos por Suresh *et al.*, (2022). Se pesó cloruro de colina al 99% y ácido láctico al 85% (Sigma Aldrich, USA) en una proporción molar de 1:1. Esta mezcla se calentó en una placa con agitación magnética constante (Thermolyne-Cimarec). Se empleó un rango de temperatura de 80 a 100 °C por 30 min hasta obtener un líquido transparente. Una vez obtenido el solvente, se procedió con la extracción de *Y. schidigera* usando una proporción de 1:20 (p/v). Se pesaron 6 g de polvo de *Y. schidigera* y se colocaron en 120 mL del solvente eutéctico preparado (coloración cristalina). La mezcla se sometió a 60 °C durante 24 h y se agitó en intervalos de 1 h durante las primeras 5 h. Finalmente, la mezcla se transfirió a tubos Falcon y se centrifugaron (Hermle Z 300, 2004) a 5500 rpm durante 15 min, hasta obtener el extracto con una coloración café oscuro y de consistencia viscosa.

5.2. Análisis Bromatológico y Cuantificación de Saponinas

5.2.1 Humedad

Para el análisis de humedad, se siguieron los métodos oficiales de la AOAC (2000). Los crisoles fueron enumerados y secados a 100°C durante 24 h y se colocaron en el desecador con silica gel por 30 min. Cada crisol fue pesado sin muestra y posteriormente se añadió 1 g de la muestra del extracto de *Y. schidigera* en el solvente eutéctico (EYSSE) y se registró el peso. Los crisoles con la muestra fueron colocados en una estufa de vacío (V0914C, ThermoFisher, USA) y se sometieron a 100 °C por 24 h. Después se colocaron en un desecador por 30 min y se registraron de nuevo los pesos para calcular el porcentaje de humedad (Ecuación 1). Se realizaron 3 mediciones por muestra.

Humedad (%) =
$$\frac{(P-P1)}{P2}x$$
 100 (1)

Donde:

P = Peso constante del recipiente con la muestra húmeda (g).

P1 = Peso constante del recipiente con la muestra seca (g).

P2 = Peso de la muestra (g).

5.2.2. Cenizas

Para la determinación de cenizas, se siguieron los métodos oficiales de la AOAC (2000). Los crisoles fueron colocados en una estufa a temperatura de 100°C durante 24 h, posteriormente se pesaron a peso seco, y se agregó un 1 g del EYSSE. Se colocaron los crisoles con la muestra en una mufla (modelo 30400, Thermolyne, USA) a 600 °C por 5 h. Después, los crisoles se pasaron a un desecador por 45 min, se pesaron y se registró el peso para calcular el porcentaje de cenizas (Ecuación 2). Las muestras fueron analizadas por triplicado.

Cenizas (%) =
$$\frac{(P-P1)}{(P2-P1)}x$$
 100 (2)

Donde:

P = Peso constante del crisol con la muestra calcinada (g).

P1 = Peso constante del crisol (g).

P2 = Peso constante del crisol con la muestra (g).

5.2.3. Azúcares

Para determinar la cantidad de azúcares del extracto, se empleó la técnica descrita por Dubois *et al.* (1956). Para realizar la curva de calibración, se pesaron 0.01 g de glucosa pura (Sigma, USA) y se diluyeron en 50 mL de agua destilada Milli-Q. Esta mezcla fue pasada a tubos de 50 mL y se prepararon concentraciones de 10, 25, 50, 75 y 100 μg/mL. En tubos de 15 mL, se añadieron 2 mL de cada concentración, 1 mL de fenol (Sigma, Brasil) al 5% y 5 mL de ácido sulfúrico al 98.5% (Fermont, México). En el caso de la muestra, se aforaron 2.86 mL del EYSSE en 10 mL de agua Milli-Q. Durante el análisis se incluyó una muestra blanco y un testigo conteniendo agua Milli-Q y solvente eutéctico, respectivamente. Las muestras se estabilizaron a temperatura ambiente y posteriormente fueron analizadas por triplicado en un espectrofotómetro UV Thermo Scientific (Genesys 10 uv scannig, USA) a una longitud de onda de 490 nm. A partir de la curva de calibración obtenida, se calculó la concentración de azúcares en el extracto.

5.2.4. Proteínas

Se empleó la técnica de Bradford (1976) para cuantificar la cantidad de proteínas en el extracto de *Y*. *Schidigera*. El reactivo de Bradford (Sigma, USA) fue dejado a temperatura ambiente y se pesaron 0.01 g de albúmina al 99 % (Sigma, Alemania) para realizar una curva de calibración. Se diluyó albúmina en 25 mL de agua destilada, y se mezcló hasta homogenizar. Esta mezcla se agregó a tubos de 15 mL y se prepararon soluciones en concentraciones de 10, 25, 50, 75 y 100 μg/mL. A cada tubo

se le añadió 1 mL de agente de Bradford, 950 µL de agua destilada y 50 µL del extracto de *Y. schidigera* en el solvente eutéctico. Durante el análisis, se incluyó una muestra blanco y un testigo (contenido de agua Milli-Q y solvente eutéctico, respectivamente). Se dejaron reposar las muestras por 45 min y se analizaron en un espectrofotómetro UV Thermo Scientific (Genesys 10 uv scannig, USA) a 593 nm. La concentración de proteínas en el extracto fue calculada mediante la curva de calibración realizada. Cada muestra fue analizada por triplicado.

5.2.5. Grasas

Para la determinación de grasas se utilizó la técnica de la AOAC (2000). Se pesaron 1.0054 g de la muestra del EYSSE y se pasaron a un tubo de ensayo, el cual se colocó en una estufa de vacío a una temperatura de 100 °C por 24 h. Una vez que la muestra estaba seca, se introdujo a un analizador de resonancia magnética de campo bajo (Bruker Minispec MQ-20) para medir los tiempos de relajación de protones a través de pulsos de 20 Hertz por 3 segundos, cada 15 minutos para la cuantificación de grasa en porcentaje. Cada muestra se analizó por triplicado.

5.2.6. Saponinas

Para la cuantificación de saponinas, se siguió la técnica de Baccou *et al.*, (1977). Se pesaron 0.01 g de diosgenina, se colocó en un matraz, y se aforó a 25 mL con metanol puro, para obtener una concentración de 400 μg/mL. Con la solución de diosgenina (Sigma, EE.UU. 2022), se prepararon diluciones en tubos de 15 mL para obtener concentraciones de 10, 50, 100 y 200 μg/mL. Se prepararon dos soluciones: solución A de *p*-anisaldehído (Sigma, India) al 0.5 % (v/v) y solución B de ácido sulfúrico al 50 % (Fermont, México) (v/v) ambas con acetato de etilo. Para realizar la curva de calibración se agregaron a un tubo, 100 μL de cada concentración preparada anteriormente de diosgenina, 2 mL de acetato de etilo y 1 mL de cada una de las diluciones A y B. Para el análisis de la muestra de saponinas se añadieron 100 μL del extracto de *Y. schidigera*, mientras que la muestra blanco contenía 100 μL de metanol. A ambas muestras se añadieron 1 mL de solución A, 1 mL de

solución B, y 2 mL de acetato de etilo.

Las muestras fueron homogenizadas en un vortex durante 1 min. Se calentaron en un baño a 60 °C por 20 min y se pasaron a un baño con agua y hielo, donde permanecieron por otros 15 min para detener la reacción. Las muestras se analizaron por triplicado en un espectrofotómetro (datos del espectro) a una longitud de onda de 430 nm. Se preparó una curva de calibración con los datos obtenidos del estándar de diosgenina con la cual se calculó la concentración de saponinas en el extracto.

5.2.7. Capacidad Emulsificante

Para determinar la capacidad emulsificante de las saponinas se siguió la técnica de Schreiner *et al.*, (2021), con ligeras modificaciones. Se preparó la muestra de trabajo y un blanco (solvente eutéctico). Estas soluciones estaban a una concentración de 10 %, con 1 gramo de muestra y 10 mL de agua Milli-Q. Para el análisis se agregaron a tubos cónicos 2 mL de la muestra y 2 mL de aceite de soya y después de 24 h se midió la capacidad emulsificante (Ecuación 3). Cada muestra fue analizada por triplicado.

Capacidad emulsificante =
$$\frac{Altura de la capa emulsificante}{Altura total} x 100$$
 (3)

5.2.8. Propiedad Espumante

La propiedad espumante de las saponinas fue analizada con base a las técnicas de Basu *et al.*, (2015) y Schreiner *et al.*, (2021) con ciertas modificaciones. Se prepararon soluciones de la muestra y del blanco a concentraciones de 10 %, con 1 gramo de muestra y 10 mL de agua Milli-Q. Se agregaron 3 mL de cada solución a tubos cónicos y fueron llevadas a un vortex durante 10 minutos. Finalmente, la propiedad espumante fue calculada (Ecuación 3). Cada muestra fue analizada por triplicado.

$$Propiedad \ espumante = \frac{Altura \ total \ de \ la \ muestra \ espumada}{Altura \ inicial \ (antes \ de \ espumar)} x \ 100 \tag{4}$$

5.3. Capacidad Antioxidante

5.3.1. Contenido de Fenoles y Flavonoides Totales

Para determinar el contenido de fenoles totales se realizó una mezcla de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 7.5 % con una solución de Folin Ciocalteau (1:10 v/v) con base al método modificado de Tapia-Rodríguez *et al.*, (2021) y Singleton y Rossi, (1965). Ambas mezclas se diluyeron en 10 mL y 18 mL de agua destilada respectivamente. Se prepararon soluciones con diferentes concentraciones de ácido gálico (0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10 y 0.12 mg/mL) para realizar una curva de calibración (Tapia-Rodríguez *et al.*, 2021). Se prepararon cinco réplicas de cada muestra y se añadieron a una microplaca que contenía 75 μg/L de solución de Folin, 60 μg/L de carbonato de sodio y 15 μL de extracto, solvente eutéctico y metanol como blanco respectivamente. Esta mezcla se dejó reposar en la oscuridad por 35-45 min. Posteriormente, se leyó la absorbancia de cada mezcla en un lector de microplacas a 765 nm (Bassarello *et al.*, 2007).

Para determinar el contenido de flavonoides totales se utilizó el método de Zhishen *et al.*, (1999), con ligeras modificaciones. Se mezcló nitrato de sodio (NaNO₂) al 5%, cloruro de aluminio (A1C1₃) al 10% e hidróxido de sodio (NaOH) 1M en 10 mL de agua destilada. Se prepararon concentraciones de quercetina (de 0.1, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06 y 0.07 mg/mL) para realizar la curva de calibración (Tapia-Rodríguez *et al.*, 2021). Cinco réplicas de 100 μL de extracto, solvente eutéctico y metanol fueron mezclados con 430 μL de nitrato de sodio, se dejaron en reposó durante 5 min y se añadieron 30 μL de cloruro de aluminio y se reposó durante 1 min, después se agregaron 440 μL de hidróxido de sodio. Se tomaron 150 μL de esta mezcla y se leyó su absorbancia en un lector de microplacas (FLUOstar omega-BMG LABTECH Inc., USA) a 496 nm. Para determinar el contenido de fenoles y flavonoides se incluyeron una muestra blanco (metanol) y una testigo (solvente eutéctico).

5.3.2. Capacidad Antioxidante por Inhibición del Radical DPPH

Para esta determinación se usó el método de inhibición del radical 2,2-difenil-1-1picrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich, Alemania). El radical se preparó el día del análisis. Se pesaron 2.5 mg de DPPH y se añadieron 100 mL de metanol, disolución que fue ajustada a una absorbancia de 0.7. Cinco réplicas de 10 μL de cada extracto y muestra blanco (metanol) y testigo (solvente eutéctico) fueron colocadas en microplacas de 96 pocillos. Se agregaron 290 μL de DPPH, y posteriormente se llevaron a la oscuridad por 30 min. La absorbancia fue leída a 515 nm en un lector de microplacas (FLUOstar omega-BMG LABTECH Inc., USA) (Tapia-Rodríguez *et al.*, 2021; Halvorsen *et al.*, 2002). Finalmente, el porcentaje de inhibición del radical DPPH fue calculado como (Ecuación 5).

% de inhibición =
$$\frac{Absorbancia\ testigo-Absorbancia\ de la\ muestra}{Absorbancia\ testigo} x\ 100$$
 (5)

5.3.3. Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox (TEAC)

La capacidad antioxidante del equivalente trolox se determinó utilizando [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)] (ABTS). El radical se preparó con 19.3 mg de ABTS y 5 mL de agua destilada. Se agregaron 37.8 mg de persulfato de potasio (K₂S₂O₈) a 1 mL de agua destilada y 88 μL de esta mezcla fueron añadidos a la solución de ABTS. Esta mezcla se dejó reposar en la obscuridad en un periodo de 12-16 h. El radical ABTS fue ajustado a una absorbancia de 0.7 a una longitud de onda de 754 nm. Se prepararon soluciones en concentraciones de trolox (de 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 mg/mL) para construir una curva de calibración expresadas en mg de equivalentes trolox por mg del EYSSE. Se analizaron 5 réplicas de cada muestra en microplacas usando 10 μL de EYSSE, 10 μL de metanol como blanco, y 10 μL de solvente eutéctico como testigo. Además, se añadieron 290 μL de la solución de ABTS y se dejaron reposar por 6 min en la oscuridad. Las muestras fueron leídas a una absorbancia de 754 nm en un lector de microplacas (Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2018) y posteriormente se determinó el porcentaje de inhibición del radical ABTS de cada muestra (Ecuación 5).

5.3.4. Capacidad por Reducción del Hierro Férrico (FRAP)

El ensayo FRAP se realizó con base a lo recomendado por Benzie y Strain, 1996; Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2018, con ligeras modificaciones. Se preparó un buffer de acetato de sodio (300 mM, pH 3.60) y se mezcló con ácido acético y agua destilada. Posteriormente en otro tubo se añadieron 40 mmol/L de HCl en 83 μL de agua destilada que se mezclaron con 10 mM de TPTZ (2,4,6-Tri (2-piridil)-s-(triazina). Además, se preparó otra solución con 20 mM de cloruro férrico (FeCl₃) diluido en 10 mL de agua destilada. Finalmente, se mezclaron 5 mL de acetato de sodio, 0.5 mL de TPTZ y 0.5 mL de cloruro férrico para realizar el FRAP. Se prepararon soluciones con diferentes concentraciones de trolox (de 0.01 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08 y 0.9 mg/mL) para realizar una curva de calibración con la cual se determinaron los equivalentes trolox por mg de extracto. Para el análisis se colocaron cuatro réplicas del EYSSE con 20 μL cada una y se incluyeron una muestra blanco (metanol) y una testigo (solvente eutéctico). Posteriormente, se agregaron a las microplacas 280 μL de la solución FRAP, se dejó reposar por 30 min en la oscuridad y se leyó la absorbancia a 590 nm en un lector de microplacas (Quintero-Cabello *et al.*, 2021).

5.3.5. Capacidad de Absorción del Radical Oxígeno (ORAC)

La capacidad antioxidante por ORAC fue determinada a través de la inhibición de la fluorescencia (Cao *et al.*, 1993), por los radicales peroxil, generados por el AAPH [2, 2'-azobis (2-amidinopropano) dihidrocloruro]. En cada pozo de la microplaca se añadieron 150 μL de 10 mM de fluoresceína, 25 μL de trolox como estándar (0.02, 0.04, 0.06, 0.08 y 0.1 μM), 25 μL de buffer de fosfato (75 mM, pH 7.4), 25 μL de metanol como blanco, 25 μL de extracto y 25 μL de solvente eutéctico como testigo. La reacción se inició añadiendo AAPH (240 mM) y las muestras se incubaron a 37 °C por 30 min. La reducción de la fluorescencia fue leída cada 90 segundos por un tiempo de 1.5 h, usando una longitud de onda de excitación de 485 nm y una longitud de onda de emisión de 520 nm en un lector de microplacas. Los resultados fueron expresados en mg de unidades trolox por g de cada extracto. Cada muestra fue diluida 20 veces y fue el resultado se obtuvo mediante 5 réplicas (Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2018).

5.4. Evaluación Antibacteriana

5.4.1. Ensayo Microbiológico in vitro

Para el análisis microbiológico se utilizaron las cepas ATCC (American Type Culture Collection, por sus siglas en inglés) de *E. coli* O157:H7, *S.* Typhimurium 14028, *S. aureus* 25923 y *L. monocytogenes* 7644, proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación y Desarrollo A.C. Estas se conservaron en agar soya tripticasa como medio de enriquecimiento (TSA; Becton Dickinson, Sparks, MD).

Las cepas se reactivaron tomando un inóculo, que se colocaron en tubos de 5 mL con caldo Mueller-Hinton (MH), se agitaron y se incubaron (Thermo Scientific Heratherm 66L, EE. UU) a 37 ° C por 22 h (± 2). Los inóculos de cada cepa fueron ajustados con la escala de Mc Farland a 1.5 x 10⁸ UFC/mL. Las bacterias fueron aisladas usando la técnica de siembra por estría para realizar las pruebas bacterianas correspondientes después de su incubación. (National Committee for Clinical Laboratory, 1999).

5.4.2. Concentración Mínima Inhibitoria y Bactericida

Las concentraciones mínimas inhibitorias y mínimas bactericidas del extracto fueron estimadas mediante el método de microdilución en caldo en microplacas de 96 pocillos (Fluostar Omega, BMG Labtech, Cary,NC, USA, 2014). Se añadieron 5 μL del inóculo de la bacteria ajustada a distintas concentraciones (de 0.4 a 1.5 %) con el extracto de *Y. schidigera* en el solvente eutéctico y del solvente eutéctico puro y se incubaron por 22 h ± (2 h) a 37 °C. Posteriormente, se tomaron 20 μL de cada concentración de las muestras inoculadas y se sembraron en placas Petri con agar MH y fueron incubadas por 22 h (± 2) a 37 °C. La concentración más baja que inhibió el crecimiento de bacterias al 90 % se consideró como CMI (Velázquez et al., 2007). La CMB se determinó con aquella concentración del extracto de saponinas que inhibió el 99 % o más del total de bacterias (Ramírez y

Castaño, 2009). Cada ensayo se realizó por triplicado y se estimó la media de unidades formadoras de colonias (UFC). En ambas pruebas se utilizó kanamicina (1 mg/mL) como control positivo, y 20 µL de caldo de cultivo MH inoculado con cepas bacterianas como control negativo.

5.5. Análisis Estadístico

Se realizó la exploración de datos de manera descriptiva para el análisis estadístico y se estimaron utilizando las medias ± desviación estándar. Los resultados evaluados incluyeron el análisis bromatológico, cuantificación y propiedades de saponinas, capacidad antioxidante y UFC para el ensayo microbiológico. El análisis de datos fue realizado a través del programa estadístico NCSS versión 2021.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Composición del Extracto de Y. schidigera en el Solvente Eutéctico

6.1.1. Análisis Bromatológico y Cuantificación de Saponinas

Se preparó una mezcla que estuvo compuesta por el 5% de extracto de *Y. schidigera* y un 95 % de solvente eutéctico. El perfil del análisis bromatológico del extracto de *Y. schidigera* (Cuadro 2) en el solvente eutéctico mostró una cantidad de 4.5 % de cenizas, 2.7 % de proteínas y un contenido de 84.6 % de azúcares correspondientes a el peso seco estimado de la muestra. Es importante destacar que la muestra del polvo de *Y. schidigera* analizada incluye la corteza y el tallo. Además, nuestro extracto fue analizado con el solvente eutéctico incluido y no se ha registrado evidencia de un análisis de una muestra como tal.

La empresa proveedora (Baja Agro International Agroin, 2022) de la muestra en polvo de la *Y. schidigera* reportó un 8.2 % de humedad, 2.0 % de proteína, 11 % de cenizas y 42.5 % de carbohidratos de la misma muestra analizada en este estudio. Sin embargo, no reportan las técnicas utilizadas con las que realizaron esas determinaciones, lo que dificulta la comparación de ambos resultados. Dos Reis *et al* (2016) también analizaron la composición química de una muestra seca del tronco molido de *Y. schidigera* y obtuvieron una humedad de 4.22 %, proteína de 4.61 %, y carbohidratos (incluyendo saponinas) de 59.61 %. Sotelo *et al.*, (2007) analizaron una muestra de flores de *Yucca filifera* y reportaron 88.1 mg/100 g, 9.7 mg/100 g, y 25.9 mg/100 g de peso seco de humedad, cenizas y proteínas respectivamente, utilizando las técnicas de la AOAC. Los autores enfatizaban que la cantidad de grasa en *Y. filifera* era muy baja, un resultado similar a lo reportado en este estudio donde la grasa no pudo ser detectada por resonancia magnética nuclear.

En este estudio, se observó una concentración de saponinas de 8.3 % del peso seco estimado de la muestra (Cuadro 2). Aunque debemos de remarcar que la determinación se realizó en el extracto de *Y. schidigera* con el solvente eutéctico. El rendimiento de extracción con estos tipos solventes puede variar en función de los materiales utilizados en la mezcla y de la proporción molar (Van Osch *et al.*,

2019). En contraste con nuestros resultados, León-Trujillo (2012), reportó 13.82 % de saponinas en el extracto butanólico del tallo seco de *Y. baccata*. Por otro lado, Morales-Figueroa *et al.*, (2022) estimaron concentraciones de saponinas de 30 % y 1.81 % en los extractos butanólico y acuoso de la misma especie de *Yucca baccata*, respectivamente. Por otra parte, Oleszek *et al.*, (2001), reportaron una concentración de saponinas de 10 % a partir del tallo de materia seca de *Y. schidigera* en solvente acuoso-metanólico, mientras Dos Reis *et al.*, (2016) reportaban 8.5 % de saponinas en muestra de polvo de tallos secos de *Y. schidigera*. Entre los autores que han usado solventes eutécticos, podemos mencionar a Tang *et al.*, (2021) quienes analizaron una muestra de *Camellia oleiferia* con solvente eutéctico (*L*-prolina, glicerol y sacarosa) y agua destilada y reportaron un 23.22 % de saponinas. La diferencia de lo reportado por Tang *et al.*, (2021) y nuestro estudio, fue el tipo de solvente eutéctico utilizado, y en nuestro caso no se agregó agua. Bakirtzi *et al.*, (2016) concluyeron que la eficiencia de extracción de compuestos bioactivos con solventes eutécticos estaba relacionada con la polaridad del solvente eutéctico, el cual está ligado a la capacidad de solubilizar componentes naturales en una mezcla.

Cuadro 2. Análisis bromatológico y composición del extracto de *Y. schidigera* en solvente eutéctico.

Parámetro	Extracto de <i>Y. schidigera</i> en el solvente eutéctico*
Humedad (%)	7.00 ± 0.3
Cenizas (%)	0.05 ± 0.01
Azúcares (%)	0.95 ± 0.04
Proteínas (%)	0.03 ± 0.001
Grasas (%)	ND
Saponinas (%)	0.093 ± 0.01
Fenoles totales (µg AG/mg)	11.50 ± 0.90
Flavonoides totales (µg EQ/mg)	3.80 ± 0.13

^{*}Media ± desviación estándar, ND: no detectado, AG: ácido gálico, EQ: equivalentes de quercetina.

Cuadro 3. Propiedades de saponinas del extracto de *Y. schidigera* en solvente eutéctico.

Indicador	Porcentaje*
Capacidad emulsificante	45.00 ± 0.87
Propiedad Espumante	108.00 ± 2.81

^{*}Media ± desviación estándar.

6.1.2. Propiedades Funcionales del Extracto con Saponinas

En los resultados de las propiedades funcionales de las saponinas se obtuvo un índice espumante de 108.00 %, mientras que el índice emulsificante fue de 45.00 % del extracto de *Y. schidigera* con el solvente eutéctico (Cuadro 3). Esto parece estar relacionado con las características funcionales de saponinas presentes en el extracto de *Y. schidigera* con el solvente eutéctico, aún cuando la concentración del extracto en la mezcla sea baja. Es importante resaltar, que la cantidad de saponinas es proporcional a la cantidad de espuma formada y a la capacidad emulsificante (Taco *et al.*, 2021; Schreiner *et al.*, 2021). Además, la formación de espuma en las soluciones con contenido saponinas dependerá de otras propiedades de estas mismas, como la viscosidad y la densidad (Santini *et al.*, 2019). Schreiner *et al.*, (2021), realizaron un estudio evaluando la capacidad emulsificante y espumante de distintos extractos hidroetanólicos que contenían desde 20 hasta un 90 % de saponinas. Para *Trigonella foenum-graecum* obtuvieron una capacidad espumante de 122.1 % y un índice de emulsificación de 47.5 % del extracto con el solvente utilizado. Estos resultados son similares a los de nuestra muestra, sin embargo, los solventes utilizados para la extracción de saponinas fueron distintos (solvente eutéctico vs solventes hidroetanólicos).

6.1.3. Contenido de Fenoles y Flavonoides

El extracto de *Y. schidigera* en el solvente eutéctico presentó un contenido total de fenoles y flavonoides de $11.50 \pm 0.90 \,\mu g$ AG/mg y $3.80 \pm 0.13 \,\mu g$ EQ/mg respectivamente (Cuadro 2). Los

compuestos fenólicos y flavonoides contenidos en la planta de *Y. schidigera* se encuentran específicamente en la corteza. Nuestra muestra analizada incluyó material de corteza y de tallo, lo cual podría explicar la alta concentración de estos compuestos en la misma, además de incluir el solvente eutéctico en la mezcla. Es importante destacar, que en la actualidad la investigación sobre el contenido de fenoles y flavonoides del extracto de *Y. schidigera* en solvente eutéctico es limitada, y no hay comparación directa con otros estudios similares.

Por otro parte, Morales-Figueroa *et al.*, (2022), reportaron una concentración de fenoles de 5.58 ± 0.65 µg AG/mg y 29.5 ± 1.16 µg AG/mg en los extractos acuoso y butanólico del tallo sin corteza de *Y. baccata*, respectivamente. Igualmente, estos autores reportaron concentraciones de flavonoides de 1650 y 6992 µg EG/mg en los mismos extractos. Se debe considerar que las concentraciones de estos compuestos en nuestra muestra se reportan en la mezcla extracto-solvente eutéctico, mientras que en el estudio referido se reportaron en peso seco del polvo resultante después de remover el agua y butanol.

Sobia *et al.*, (2013) analizaron los extractos de hojas de *Y. aloifolia* en metanol y butanol y reportaron un contenido de fenoles con 158 ± 0.61 mg AG/100 g y 17.4 ± 0.31 mg AG/100 g en peso seco. Asimismo, estos autores reportaron un contenido de flavonoides en el extracto metanólico y butanólico de 331 ± 0.8 CE/100 g y 66.1 mg ± 0.26 CE/100 g en peso seco. Por otra parte, Gupta *et al.* (2015) analizaron los extractos de tipo etanólico, 50 % etanólico-acuoso, y acuoso de *Y. gloriosa*, y reportaron un contenido total de fenoles de 186.6 mg AG/g, 141.4 mg AG/g y 90.80 mg AG/g, respectivamente. También reportaron el contenido total de flavonoides en equivalentes de rutina (ER) de 32.4 mg de ER/g, 28.7 mg de ER/g, y 20.2 mg de ER/g en los mismos extractos. Con base a lo anterior, la cantidad obtenida de fenoles y flavonoides en nuestra muestra fueron distintos a los reportados por otros autores. Definitivamente concluimos que uno de los principales factores que influenciaron en nuestros resultados, derivó del análisis de la mezcla del extracto *Y. Schidigera* con el solvente eutéctico.

Jurić *et al.*, (2021) realizaron una extracción de flavonoides totales a partir de *Mentha piperita* en diferentes solventes eutécticos y reportaron una menor extracción con la mezcla de cloruro de colina y ácido cítrico (2.27 ±0.26 mg/ EQ/ g de peso seco de muestra). En ese estudio se agregó agua (30%) a la extracción con solventes eutécticos, para reducir la viscosidad de la muestra la cual dificulta el análisis de esta. Además, se ha observado que el aumento de la cantidad de agua en estos solventes eutécticos aumenta el rendimiento de extracción de estos compuestos bioactivos porque en la mezcla

puede haber otros compuestos que tengan mayor afinidad por el agua que hacia el mismo solvente eutéctico (Zainal-Abidin *et al.*, 2017). En nuestro estudio no se agregó agua, razón por la que podría atribuirse la diferencia en el contenido de flavonoides del estudio con relación a lo reportado por Jurić *et al.* (2021).

La extracción de nuestro extracto de *Y. schidigera* en el solvente eutéctico proporcionó una mayor cantidad de fenoles en comparación con los extractos acuosos de otros géneros de *Yucca*. Esto pudiera deberse a que los solventes eutécticos tienen mayor afinidad por los fenoles en comparación con los solventes acuosos. Lo cual, podría atribuirse a las interacciones de puentes de hidrógeno que se forman entre las moléculas de los solventes eutécticos y los compuestos fenólicos (Bakirtzi *et al.*, 2016; Dai *et al.*, 2013b).

6.1.4. Concentración y Capacidad Antioxidante

Se estimó un coeficiente de inhibición de DPPH del 50% (IC₅₀) a una concentración de 4.36 mg/mL del extracto con el solvente eutéctico (Figura 1). Sin embargo, no podemos comparar nuestros resultados relacionados con la concentración y las capacidades antioxidantes con otros datos en la evidencia, ya que no se han encontrado estudios similares al nuestro. Por su parte, Griss et al., (2020) obtuvieron un IC₅₀ de 4.28 mg/mL de un extracto acuoso de Y. schidigera. La concentración obtenida en nuestro estudio se asemeja a la obtenida por Griss et al., (2020), a pesar de las diferencias de nuestra mezcla, relacionado a el extracto-solvente analizado y los métodos de extracción utilizados. Jin et al., (2006) reportaron una IC₅₀ del radical DPPH del extracto metanólico de Y. smallina de 0.5 mg/mL. Igualmente, Gupta et al., (2015) estimaron una IC₅₀ de 0.06 mg/mL de un extracto etanólico a partir de Y. gloriosa. Por otro lado, Sobia et al., (2013) obtuvieron una IC₅₀ de 10 mg/mL para un extracto metanólico de Y. alofoia. Por otro lado, Jurić et al., (2021) también reportaron una IC₅₀ de 0.88 mg/ mL de una mezcla extracto-solvente eutéctico (cloruro de colina y ácido cítrico) a partir de Mentha piperita. Estos resultados presentados contrastan con los nuestros, considerando también a las diferentes especies de Yucca analizado, tipos de solventes utilizados, y condiciones de análisis. Por otro lado, el extracto con el solvente eutéctico tuvo una capacidad antioxidante de $4.33 \pm 1.10 \,\mu g$ TE/mg, $14.58 \pm 1.10 \,\mu g$ TE/mg, $832.95 \pm 00 \,\mu g$ TE/ mg y $32147.33 \pm 662.86 \,\mu g$ TE/g determinados

por DPPH, TEAC, FRAP y ORAC, respectivamente (Cuadro 4). Las diferencias entre los resultados de las técnicas de DPPH vs TEAC podría ser debido a que el radical DPHH mide compuestos poco polares, mientras que TEAC evalúa compuestos hidrofílicos y lipofílicos (Mercado-Mercado *et al.*, 2013). En cuanto a la prueba FRAP se evalúan reacciones de transferencia de electrones y ORAC se basa en reacciones de transferencia de hidrógenos. En nuestro extracto, se obtuvieron mayores capacidades por FRAP y ORAC. En el caso de FRAP el resultado podría estar asociado a la cantidad de compuestos fenólicos que hay en el extracto (Rodríguez-Bonilla *et al.*, 2017) mientras que en ORAC, a sistemas biológicos utilizando el radical peroxilo, el tiempo, y su grado de inhibición (Prior, 2015).

Morales-Figueroa *et al.*, (2022), reportaron capacidades antioxidantes del extracto acuoso de *Y. baccata* de $5.94 \pm 1.38 \,\mu g$ TE/mg, $29.3 \pm 4.4 \,\mu g$ TE/mg, $8.78 \pm 0.54 \,\mu g$ TE/mg y $48.72 \pm 1.15 \,\mu g$ TE/mg determinador por DPPH, TEAC, FRAP y ORAC, respectivamente. Igual, los mismos autores reportaron capacidades de $29.15 \pm 4 \,\mu g$ TE/mg, $121.8 \pm 7.14 \,\mu g$ TE/mg, $33.41 \pm 0.11 \,\mu g$ TE/mg y $156.84 \pm 5.78 \,\mu g$ TE/mg por DPHH, TEAC, FRAP y ORAC para el extracto butanólico de la misma planta. Por otro lado, Bassarello *et al.*, (2007) reportaron una capacidad antioxidante del extracto metanólico de la *Yucca gloriosa* de $5.78 \pm 0.10 \,m M$ determinado por TEAC. Finalmente, Jurić *et al.*, (2021) reportaron una capacidad de $34.26 \pm 1.51 \,m g$ equivalentes de ácido ascórbico /g de peso seco usando FRAP en un extracto de *Mentha piperita* en solvente eutéctico.

La capacidad antioxidante de una misma variedad o de diferentes tipos de plantas, puede variar debido a la técnica de extracción utilizada, tipo de solvente, y a la afinidad que tengan los compuestos antioxidantes de las matrices vegetales a los solventes (Pisoschi *et al.*, 2016).

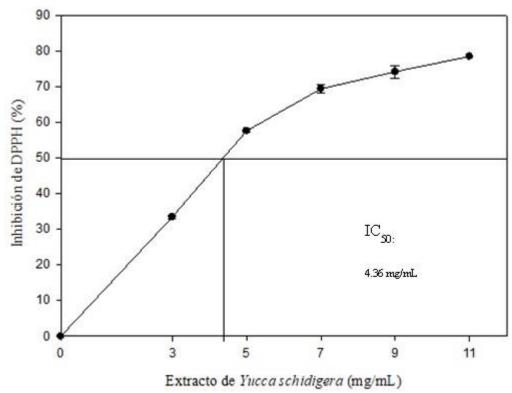


Figura 2. Concentración antioxidante por el radical DPPH del extracto de *Y. schidigera* en solvente eutéctico.

Cuadro 4. Valores de capacidad antioxidante del extracto de Y. schidigera en solvente eutéctico.

	DPPH* µg TE/mg	TEAC * µg TE/mg	FRAP* µg TE/mg	ORAC* μg TE/g
Extracto de	4.33 ± 1.10	14.58 ± 2.17	832.95 ± 0.0	32147.33 ± 662.90
Y. schidigera				
con solvente eutéction	20			

^{*}Media ± desviación estándar, DPPH: radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, TEAC: capacidad antioxidante equivalente al trolox, FRAP: poder antioxidante reductor del hierro, ORAC: capacidad de absorción del radical oxígeno, TE: equivalentes trolox.

6.1.5. Ensayo Microbiológico

Se evaluó la actividad antibacteriana del extracto de *Y. schidigera* en el solvente eutéctico y del solvente eutéctico puro en bacterias Gram negativas y Gram positivas (Cuadro 5), a través de las concentraciones mínimas inhibitorias y mínimas bactericidas. Las cepas que tendieron a ser más

sensibles al extracto con el solvente fueron *E. coli*, *S. aureus* y *L. monocytogenes* con CMI's de 0.4 %, 0.4% y 0.38 % y CMB's de 0.5 %, 0.7%, y 0.58%, respectivamente. La bacteria que tendió a ser más resistente al extracto fue *S.* Typhimurium con una CMI de 0.9% y CMB de 1.0%. En cuanto al solvente eutéctico puro, las cepas que tendieron a ser más sensibles fueron *S. aureus* y *L. monocytogenes* con CMI's y CMB's de 0.4 %, 0.38 % y de 0.5 % y 0.62 % respectivamente. Por otro lado, las cepas que tendieron a ser más resistentes al solvente puro fueron *E. coli* y *S.* Typhimurium con CMI's y CMB's de 1.1 %, 0.6 % y de 1.5 % y 1.5%. Se encontró que las CMI's del extracto de *Y. schidigera* y del solvente eutéctico de manera independiente eran las mismas contra *S. aureus*, la cual tampoco cambió cuando la bacteria estuvo expuesta a la mezcla de ambos componentes, resultado que no pudimos explicar.

Las cepas Gram-positivas tienen una membrana externa en su pared celular de peptidoglicano, mientras que las Gram-negativas contienen una capa delgada de peptidoglicano y una membrana externa con lipopolisacáridos y lipoproteínas (Bailey, 2020). Estas diferencias en la composición y estructura de las cepas, se podría contribuir a la mayor sensibilidad de las bacterias Gram-positivas hacia los extractos de plantas (Jurić et al., 2021; Morales-Figueroa et al., 2022). Sin embargo, contrario a esto, nosotros observamos que para E. coli (Gram-negativa) se obtuvieron valores bajos de CMI y CMB del extracto con el solvente eutéctico, lo cual puede atribuirse a la actividad de los donadores de hidrógeno del solvente eutéctico (ácido láctico), que desnaturalizan a las proteínas, desencadenando reacciones enzimáticas lo que conduce al colapso celular (Domínguez de María y Maugeri, 2011; Hayyan et al., 2013; Zhao et al., 2015). Asimismo, se ha observado que los ácidos orgánicos son tóxicos a ciertas cepas específicas de E. coli (Warnecke et al., 2005). Las sales de amonio utilizadas (cloruro de colina) pueden tener una interacción e interrupción con la membrana plasmática y la pared celular de la bacteria (Wen et al., 2015). Sumado a estos posibles mecanismos, los metabolitos secundarios del extracto de Yucca podrían potenciar el efecto antimicrobiano contra esta cepa.

Es importante resaltar que el solvente eutéctico utilizado contiene ácido láctico, el cual tiene también actividad antibacteriana relacionado a su bajo pH (Jurić *et al.*, 2021) y que el cloruro de colina puede ser capaz de alterar las paredes celulares de las bacterias (Wen *et al.*, 2015; Ventura *et al.*, 2014). También observamos que la mayor parte de las CMB obtenidas tendieron a ser menores con el extracto de *Y. schidigera* en el solvente eutéctico lo que nos indicaría que la combinación de estos componentes tiene un efecto antibacteriano sinérgico (Cheeke *et al.*, 2006; Chapagain *et al.*, 2007).

Jurić et al., (2021) evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto de *Mentha piperita* en distintos solventes eutécticos. Observaron que con la combinación de cloruro de colina, ácido cítrico y agua se obtenían las CMI´s más bajas. Para *Pseudomonas aeruginosa* y *S. aureus* se estimaron CMI´s de 0.39 % y de 0.78 % del extracto de *Mentha piperita* con el solvente eutéctico y del solvente puro contra *E. coli* y *Salmonella entérica*, respectivamente. Estos resultados son similares a los obtenidos en este estudio para la cepa de *S. aureus* y *L. monocytogenes*, pero usando un solvente eutéctico diferente (cloruro de colina y ácido cítrico).

Aunque se obtuvieron concentraciones menores de CMI y CMB del extracto con el solvente para la cepa de *E. coli* y de CMB para *S.* Typhimurium se ha sugerido separar el solvente eutéctico del extracto para aislar la actividad del último. Así, podríamos aislar solo la actividad del extracto de la planta procesada con un solvente eutéctico.

Cuadro 5. Valores de concentración mínima inhibitoria y mínima bactericida del extracto de *Y. schidigera* en un solvente eutéctico y el solvente puro.

	Extracto de <i>Y. schidigera</i> en solvente eutéctico		Solvente eutéctico puro (1:1 proporción)	
Bacterias	CMI (%)	CMB (%)	CMI (%)	CMB (%)
Escherichia coli O157:H7	0.4	0.5	1.1	1.5
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	0.9	1	0.6	1.5
Staphylococcus aureus ATCC 25923	0.4	0.7	0.4	0.5
Listeria Monocytogenes ATCC 7644	0.38	0.58	0.38	0.62

ATCC: American Type Culture Collection, CC: Cloruro de colina, AL: Ácido láctico, Proporción molar 1:1.

7. CONCLUSIÓN

Se analizó la composición bromatológica del extracto de *Y. schidigera* en un solvente eutéctico y se logró cuantificar la cantidad de saponinas, fenoles y flavonoides totales en el mismo. Se observaron las propiedades emulsificantes y espumantes del extracto de *Y. schidigera* en el solvente, lo que demostró el contenido de saponinas en el mismo. El extracto de *Y. schidigera* en el solvente eutéctico demostró tener propiedades antioxidantes. Por otro lado, los componentes presentes tanto en el extracto como en el solvente presentaron actividad antibacteriana sinérgica contra *E. coli, Salmonella* Typhimurium y *L. monocytogenes*. Sin embargo, no se observó efecto sinérgico contra la cepa de *S. aureus* en el extracto con el solvente. Se ha logrado cumplir con la hipótesis y los objetivos propuestos de esta investigación, donde confirmamos que el extracto de *Y. schidigera* con el solvente eutéctico, tiene capacidad antioxidante y propiedad antibacteriana. La utilización del solvente eutéctico (cloruro de colina y ácido láctico) para la extracción de la planta de la *Y. schidigera* demostró tener capacidad de extraer compuestos bioactivos. Se propone seguir

realizando estudios adicionales para seguir analizando los efectos que tendría el extracto de la planta

aislado del solvente eutéctico con el cual sería procesado y determinar el rendimiento de extracción.

8. RECOMENDACIONES

Es recomendable realizar estudios comparativos de extracción de compuestos bioactivos de plantas con propiedades antimicrobianas utilizando solventes tradicionales y solventes eutécticos. Esto permitirá determinar cuál de estos métodos de extracción es más efectivo. Además, es necesario separar el solvente eutéctico del extracto mediante técnicas de resinas y columnas por cromatografía, para obtener información sobre la capacidad antimicrobiana de los extractos extraídos con solventes eutécticos, así como su eficiencia de extracción y poder compararlos con los solventes orgánicos.

9. REFERENCIAS

- Acheson D.W.K. Food and waterborne illnesses. 2009. Encyclopedia of Microbiology. 365-381 pp.
- Agroin Baja Agro International. (2023). México. Recuperado de: https://www.yucca.com.mx/
- Ahmed S., Khan A.A., Yadav P., Akhtar J., Akram U. y Shamim L.F. 2020. Gokhru (*Tribulus terrestris* Linn): pharmacological actions and therapeutic applications: a review. International Journal of Herbal Medicine. 8 (4): 25-29.
- Alagawany M., El-Hack M. E., Farag M. R., Elnesr S.S., El-Kholy M.S., Saadeldin I.M. y Swelum A.A. 2018. Dietary supplementation of *Yucca schidigera* extracts enhances productive and reproductive performances, blood profile, immune function, and antioxidants status in laying Japanese quails exposed to lead in the diet. Poultry Science. 97 (9): 3126-3137.
- Álvarez-Parrilla E., González-Aguilar G. A., De la Rosa L. A., Ayala-Zavala J.F. 2012. Antioxidantes en alimentos y salud. Clave editorial. México. 155-160 pp.
- Anaya A.L. y Cruz-Ortega R. 2001. Relaciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de su aplicación. En: A. Anaya, F. Espinosa-García y R. Cruz-Ortega (eds.). La aleopatía: algunos estudios de caso y posibles aplicaciones. Plaza y Valdés, México, 33-62 pp.
- Association of official analytical chemists (AOAC). 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17 th ed.; AOAC International: Gaithersburg, MD, USA.
- Baccou J.C., Lambert F. y Sauvaire Y. 1977. Spectrophotometric method for the determination of total steroidal sapogenin. Analyst. 102 (1215): 458-465.
- Bacon R.T. y Sofos J. N. 2003. Characteristics of biological hazards in foods. In: Schmidt R, Rodrick G. (ed.). Food Safety Handbook. New Jersey. John Wiley & Sons, Inc. 157-195.
- Bailey R. (2020). Gram Positive vs. Gram Negative Bacteria. New York, EU. ThoughtCo. Recuperado de: https://www.thoughtco.com/gram-positive-gram-negative-bacteria-4174239
- Bakirtzi C., Triantafyllidou K. y Makris D.P. 2016. Novel lactic acid-based natural deep eutectic solvents: efficiency in the ultrasound-assisted extraction of antioxidants polyphenols from common native Greek medicinal plants. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants. 3 (3): 120-127.
- Balestrieri C., Felice F., Piacente S., Pizza C., Montoro P., Oleszek W., Visciano V. y Balestrieri M.L. 2006. Relative effects of phenolics constituents from *Yucca schidigera* Roezl. bark on Kaposi's sarcoma cell proliferation, migration, and PAF synthesis. Biochemical Pharmacology. 71 (10): 1479-1487.
- Bassarello C., Bifulco G., Montoro P., Skhirtladze A., Benidze M., Kemertelidze E., Pizza C. y Piacente S. 2007. *Yucca gloriosa*: a phenolic derivatives with strong antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55 (16): 6636-6642.
- Basu A., Basu S., Bandyopadhyay S. y Chowdhury R. 2015. Optimization of evaporative extraction of natural emulsifier cum surfactant from *Sapindus mukorossi*-characterization and cost analysis. Industrial Crops and Products. 77: 920-931.

- Benzie I.F. y Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power". Analytical Biochemistry. 239 (1): 70-76.
- Berkley J.A. 2021. Bacterial infections and nutrition: a primer. En: A. Bendich y C. Bales (eds.). Nutrition and Infectious Diseases. Springer Nature Switzerland, USA, 113-127 pp.
- Bhunia A.K. 2018. Foodborne microbial pathogens. Springer. Second edition. New York. 365 pp.
- Bhutta Z.A. 2006. Effect of infections and environmental factor on growth and nutritional status in developing countries. Journal of Pediatric Gastroenterology Nutrition. 43 (3): 13-21.
- Bradford M. M.1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-254.
- Cao G., Alessio H.M. y Cutler R.G. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. 1993. Free Radical Biology & Medicine. 14 (3): 303-311.
- Castro-Rosas J, Cerna-Cortés J.F., Méndez-Reyes E., Lopez-Hernandez D., Gómez-Aldapa C. A., Estrada-Garcia T. 2012. Presence of faecal coliforms, *Escherichia coli* and diarrheagenic *E. coli* pathotypes in ready-to-eat salads, from an area where crops are irrigated with untreated sewage water. International Journal of Food Microbiology. 156 (2): 176-180.
- Chapagain B.P., Wiesman Z. y Tsror L. 2007. *In vitro* study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. Industrial Crops and Products. 26 (2): 109-115.
- Cheeke P., Piacente S. y Oleszek W. 2006. Anti-inflammatory and anti-arthritic effects of yucca schidigera: a review. Journal of Inflammation. 3: 6.
- Choi Y.H., Spronsen J.V. Dai Y., Verberne M., Hollmann F., Arend I.W.C.E., Witkamp G.J. y Verpoorte R. 2011. Are natural deep eutectic solvent the missing link in understanding cellular metabolism and physiology? Plant Physiology. 156(4): 1701-1705.
- Clarke C.J., Tu W., Levers O., Bröhl A. y Hallett J.P. 2018. Green and sustainable solvents in chemicals processes. Chemical Reviews. 118 (2): 747-800.
- Cvetanović A. 2019. Extractions without organic solvents: advantages and disadvantages. Chemistry Africa. 2 (3): 343-349.
- Dai Y. Witkamp G.J., Verpoorte R. y Choi Y.H. 2013b. Natural deep eutectic solvents as a new extraction media for phenolic metabolites in *Carthamus tinctorius* L. Analytica Chemistry. 85 (13): 6272-6278.
- Dai Y. Spronsen J.V. Witkamp G.J., Verpoorte R. y Choi Y.H. 2013a. Natural deep eutectic solvents as a new potential media for green technology. Analytica Chimica Acta. 766: 61-68.
- Davies J., y Davies D. 2010. Origins and evolution of antibiotic resistance. American Society for Microbiology. 74 (3): 417-433.
- Domínguez de María P. y Maugeri Z. 2011. Ionic liquids in biotransformations: from proof-of-concept to emerging deep-eutectic-solvents. Current Opinion in Chemical Biology. 15 (2): 220-225.
- Dong S., Yang X., Zhao L., Zhang F., Hou Z. y Xue P. 2020. Antibacterial activity and mechanism of actions saponins from *Chenopodium quinoa* wild. Husks against foodborne pathogenic bacteria. Industrial Crops & Products. 149: 112350.

- Doron S. y Gorbach S.L. 2008. Bacterial infections: overview. International Encyclopedia of Public Health. 273-282.
- Dos Reis J.S., Zangerônimo M.G., Ogoshi R.C.S., França J., Costa A.C., Almeida T.N., Dos Santos J.P.F, Pires C.P., Chizzotti A.F., Leite C.A.L. y Saad F.M.O.B. 2016. Inclusion of *Yucca schidigera* extract in diet with different protein levels for dogs. Animal Science Journal. 87: (8): 1019-1027.
- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K. Rebers P.A. y Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry. 26 (3): 350-356.
- Dwamena A.K. 2019. Recent advances in hydrophobic deep eutectic solvents for extraction. 6 (1): 9.
- El Achkar T., Greige-Gerges H. y Fourmentin S. 2021. Basic and properties of deep eutectic solvents: a review. Environmental Chemistry Letters. 19 (29): 3397-3408.
- El-Saadony M.T., Yang T., Imam M.S., Alghamdi S., Salem H.M., Korma S.A., Soliman S.M., Abb El-Mageed T. A., Selim S., Al Jaouni S.K., Mahmmod Y., El-Wafai N.A., Zaghloul R.A., Abd El-Hack M.E., Khafaga A.F., El-Tarabily K. A. y Saad A.M. 2022. Medicinal plants as alternative antimicrobial agents to combating the multi-drug resistant human pathogens: a comprehensive review. Frontiers in Microbiology. 13: 998425.
- Farhadi S. y Ovchinnikov R.S. 2018. The relationship between nutrition and infectious diseases: a review. Biomedical and Biotechnology Research Journal. 2 (3): 168-72.
- Fernández M.A., Boiteux J., Espino M., Gómez F.J.V. y Silva M.F. 2018. Natural deep eutectic solvents mediated extractions: the way forward for sustainable analytical developments. Analytica Chimical Acta. 1039: 1-10.
- Food Safety and Inspection Service U.S. Department of Agriculture (USDA). 2022. USA. Foodborne illness and disease. Recuperado de: https://www.fsis.usda.gov/food-safety/foodborne-illness-and-disease.
- Francis G., Kerem Z., Makkar H.P.S. y Becker K. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. British Journal of Nutrition. 88 (6): 587-605.
- Gallo M., Ferrara L., Calogero A., Montesano D. y Naviglio D. 2020. Relationships between food and diseases: what to know to ensure safety. Food Research International. 137: 109414.
- Góngora-Chi G.J., Lizardi-Mendoza J., López-Franco Y.L., López-Mata M.A. y Quihui-Cota L. 2022. Métodos de extracción, funcionalidad y bioactividad de saponinas de *Yucca*: una revisión. Biotecnia. 25 (1): 147-155.
- Górniak I., Bartoszewski R. y Króliczewski K. 2019. Comprensive review of antimicrobial activities of plants flavonoids. Phytochemistry Reviews. 18: 241-272.
- Götz F., Bannerman T. y Schleifer K.H. 2006. The Genera *Staphylococcus* and *Macrococcus*. The Prokaryotes. 4: 5-75.
- Griss L.G., Galli G.M., Marcon H.J., Baumel E.A., Souza C.F., Baldissera M.D., Vedovatto M., Sumny E.H., Kempka A.P. y Da Silva A.S. 2020. Effects of yucca extract and organic chromium on growth performance and health of lactating lambs. Small Ruminant Research. 191 (6): 106172.
- Gucker C.L. 2006. Yucca schidigera. In fire effects information system; U.S. Department of

- agriculture, forest service, rocky mountain research station, fire sciences laboratory (producer): Missoula, MT, USA. Recuperado de: https://www.fs.usda.gov/database/feis/plants/shrub/yucsch/all.html#introductory.
- Güçlü-Üstündağ O. y Mazza G. 2007. Saponins: properties, applications and processing. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 43 (3): 231-258.
- Gupta P. D y Birdi T.J. 2017. Development of botanicals to combat antibiotic resistance. Journal of Ayurveda and Integrative Medicine. 8 (4): 266-275.
- Gupta S., Nataraj S.K.M., Raju R.S., Mulukutla S., Ambore N. y Gupta R. 2015. Peritoneal mast cell stabilization and free radical scavenging activity of *Yucca gloriosa* L. Journal of Young Pharmacists. 7 (4): 470-479.
- Halvorsen B.L., Holte K., Myhrstad M.C., Barikmo I., Hvattum E., Remberg S.F., Wold A.B., Haffner K., Baugerød H., Andersen L.F., Moskaug J.Ø. Jacobs D.R. y Blomhoff R. 2002. A systematic screening of total antioxidant in dietary plants. American Society for Nutritional Sciences. 132 (3): 461-71.
- Hayyan M., Hashim M.A., Al-Saadi M.A., Hayyan A., AlNashef I.M. y Mirghani M.E.S. 2013. Assessment of cytotoxicity and toxicity for phosphonium-based deep eutectic solvents. Chemosphere. 93 (2): 455-459.
- Hernández-Cortez C., Aguilera-Arreola M.G. y Castro-Escarpulli G. 2011. Situación de las enfermedades en México. Enfermedades Infecciosas y Microbiología. 31 (4): 137-151.
- Horváth I.T. 2008. Solvents from nature. Green Chemistry. 10 (10): 1013-1120.
- Hu C. y Ma S. 2018. Recent development of lipoxygenase inhibitors as anti-inflammatory agents. Medicinal Chemistry Communications. 9: 212-225.
- Ibrahim R.K., Hayyan M., AlSaadi M.A., Ibrahim S., Hayyan A. y Hashim M.A. 2019. Physical properties of ethylene glycol-based deep eutectic solvents. Journal of Molecular Liquids. 276: 794-800.
- Jin Y.L., Jung W.J., Kuk J.H., Kim J.B., Kim K.Y. y Park R.D. 2006. Antifungal and antioxidative activities of *Yucca smallina* Fern. Journal of Applied Biological Chemistry. 49(4): 165-170.
- Joshi D.R. y Adhikari N. 2019. An overview on common organic solvents and their toxicity. Journal of Pharmaceutical Research International. 28 (3): 1-18.
- Juang Y.P., y Liang P.H. 2020. Biological and pharmacological effects of synthetic saponins. Molecules. 25 (21): 4974.
- Jurić T., Mićić N., Potkonjak A., Milanov D., Dodić J., Trivunović Z., Popović B.M. 2021. The evaluation of phenolic content, in vitro antioxidant and antibacterial activity of *Mentha piperita* extracts obtained by natural deep eutectic solvents. Food Chemistry. 362: 130226.
- Katona P. y Katona-Apte J. 2008. The Interaction between nutrition and infection. Clinical Infectious Diseases. 46 (10): 1582-1588.
- Khan M.I., Ahhmed A., Shin J.H., Baek J.S., Kim M.Y. y Kim J.D. 2018. Green tea seed isolated saponins exerts antibacterial effect various strain of gram positive and gran negative bacteria, a comprehensive study *in vitro* and *in vivo*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 1-12.

- Killen G.F., Madigan C.A., Connolly C.R., Walsh G.A., Clark C., Hynes M.J., Timmins B.F., James P. y Headon D.R. y Power R.F. 1998. Antimicrobial saponins of *Yucca schidigera* and the implications of their invitro properties for their in vivo impact. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46: 3178-3186.
- Kraker M.E.A., Stewardson A.J. y Harbarth S. 2016. Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050?. PLOS Medicine. 13 (11): e1002184.
- Krawinkel M.B. 2012. Interaction of nutrition and infections globally: and overview. Annals of Nutrition and Metabolism. 61(1): 39-45.
- Kregiel D., Berlowska J., Witonska I., Antolak H., Proestos C., Babic M., Babic L. y Zhang B. 2017. Saponin-based, biological active surfactants from plants. En: R. Najjar (ed.). Application and characterization of surfactants. InTech. Croatia. 184-205 pp.
- León-Trujillo R. (2012). Actividad antiparasitaria del extracto de saponinas de *Yucca baccata* del desierto Sonorense empleando jerbos (*Meriones unguiculatus*) infectados con *Giardia lamblia*. (Tesis de maestría). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Hermosillo, Sonora, México.
- Ling J.K.U. y Hadinoto K. 2022. Deep eutectic solvent as green solvent in extraction of biological macromolecules: a review. International Journal of Molecular Sciences. 23 (6): 3381.
- Liu W.H., La Teng Zhu La A., Evans A.C.O., Gao S.T., Yu Z.T., Ma L. y Bu D.P. 2021. Supplementation with *Yucca schidigera* improves antioxidant capability and immune function and decreases fecal score of daily calves before weaning. Journal of Dairy Science. 104 (4): 4317-4325.
- Matusiak K., Oleksy M., Borowsky S., Nowak A., Korczyński M., Dobrzański Z. y Gutarowska B. 2016. The use of *Yucca schidigera* and microbial preparation for poultry manure deodorization and hygienization. Journal of Environmental Managment. 170: 50-89.
- Mercado-Mercado G., Rosa Carrillo L., Wall-Medrano A., López Díaz J.A. y Álvarez-Padilla E. 2013. Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de especies típicas consumidas en México. Nutrición Hospitalaria. 28 (1): 363-46.
- Mitar A., Panić M., Kardum J.P., Halambek J., Sander A., Kučan K.Z., Redovniković I.R. y Radošević K. 2019. Physicochemical properties, citotoxicity, and antioxidative activity of natural deep eutectic solvents containing organic acid. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly. 33 (1): 1-18.
- Mohammed R., Hossan S., Khatun A., Seraj S. y Jahan R. 2012. Medicinal plants used by various tribes of Bangladesh for treatment of Malaria. Malaria Research and Treatment. 2012: 1-5.
- Montoya Villafañe H.H. 2008. Microbiología básica para el área de la salud y afines. Universidad de Antioquia. Segunda edición. Medellín, Colombia. 255 pp.
- Morales-Figueroa G.G., Pereo-Vega G.D., Reyna-Murrieta M.E., Pérez-Morales R., López-Mata M.A., Sánchez-Escalante J., Tapia-Rodriguez M.R., Ayala-Zavala J.F., Juárez J. y Quihui-Cota L. 2022. Antibacterial and antioxidant properties of extracts of *Yucca Baccata*, a plant of Northwestern Mexico, against phatogenic bacteria. Hindawi Biomed Research International. 1-8
- Morales-Vite X. (2013). Los disolventes en la química verde. [Tesis de pregrado]. Instituto

- Politécnico Nacional. México, D.F.
- Moreno C.M., González R.E. y Beltrán C. 2009. Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. Revista de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello. 69 (2): 185-192.
- Mota-Morales J.D., Sánchez-Leija R.J., Carranza A., Pojman J.A., Monte F. y Luna-Bárcenas G. 2018. Free radical polymerizations of and in deep eutectic solvents: green synthesis of functional materials. Progress in Polymer Science. 78: 139-153.
- National Committee for Clinical Laboratory (NCCCLS). 1999. Methodology for the serum bactericidal test; approved guideline. 19 (17); M21-A.
- Nguyen L.T., Fărcaș A.C., Socaci S.A., Tofană M., Diaconeasa Z.M, Pop O.L. y Salanță L.C. 2020. An overview of saponins- a bioactive group. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Clui-Napoca Food and Science and Technology. 77 (1): 25-36.
- Nourbakhsh F., Loffalizadeh M., Badpeyma M., Shakeri A. y Soheili V. 2021. From plants to antimicrobials: natural product against bacterial membranes. Phytotherapy Research. 36(1): 33-52.
- Olas B., Wachowicz B., Stochmal A. y Oleszek W. 2003. Inhibition of oxidative stress in blood platelets by different phenolics from *Yucca schidigera* Roezl. Bark. Nutrition. 19 (7-8): 633-640.
- Oleszek M. y Oleszek W. 2020. Saponins in foods. In: Xiao J, et al. (ed.). *Handbook of Dietary Phytochemicals*. Singapure. Springer Nature. p.17-19.
- Oleszek W. 2001. Antioxidant properties of *Yucca schidigera* products. En: W. Pfannhauser, G. Fenwick y S. Khokhar (eds.). Biologically-active Phytochemicals in Food, Analysis, Metabolism, Bioavailability and Function. The Royal Society Chemistry. United Kingdom. 304-306 pp.
- Patel S. 2012. Yucca: a medicinally significant genus with manifold therapeutics attributes. Natural Products and Bioprospecting. 2 (6): 231-234.
- Pecio Ł., Kozachok S., Brinza I., Boiangiu R.S., Hritcu L., Mircea C., Burlec A.F., Cioanca O., Hancianu M., Wronikowska-Denysiuk O., Skalicka-Woźniak K. y Oleszek W. 2022. Neuroprotective effect of *Yucca schidigera* Roezl ex Ortgies bark phenolics fractions, yuccaol B and gloriosaol A on scopolamine-induced memory deficits in zebrafish. Molecules. 27 (12): 3692.
- Peterson E. y Kaur P. 2018. Antibiotic resistance mechanism in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotics producers, environmental bacterial, and clinical pathogens. Frontiers in Microbiology. 9: 2928.
- Piacente S., Pizza C. y Oleszek W. 2005. Saponins and phenolics of *Yucca schidigera* a roezl: chemistry and bioactivity. Phytochemistry Reviews. 4: 177-190.
- Ping Xu D.P., Li Y., Meng X., Zhou T., Zhou Y., Zheng J., Zhang J.J. y Lin H.B. 2017. Natural antioxidants in foods and medicinal plants: extraction, assessment and resources. International Journal of Molecular Sciences.18 (1): 96.
- Pisoschi A.M., Pop A., Cimpeanu C. y Predoi G. 2016. Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products: a review. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2016:

- 9130976.
- Pollet P., Davey E.A. y Ureña-Benavides E.E., Eckert C.A., Liotta C.L. 2014. Solvents for sustainable chemical processes. Green Chemistry. 16 (16): 1034-1055.
- Ponce-Acosta C.N. (2022). Caracterización y actividad antibacteriana de micropartículas compuestas de quitosano y extracto con saponinas de *Yucca baccata*. (Tesis de maestría). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora, México.
- Prasad K. y Sharma M. 2019. Green solvents for the dissolution and processing of biopolymers. Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry. 18: 72-78.
- Prior R. L. 2015. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): new horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits. Journal of Functional Foods. 18: 797-810.
- Prüss-Ustün A., Wolf J., Corvalán C., Bos R. y Neira M. 2016. Preventing disease through healthy environments. A global assessment of the burden of disease from environmental risks. World Health Organization. Vivien Stone. Switzerland.15 pp.
- Qu L., Wang J., Ruan J., Yao X., Huang P., Wang Y., Yu H., Han L., Zhang Y. y Wang T. 2018. Spirostane-type saponins obtained from *Yucca schidigera*. Molecules. 23 (1): 167.
- Quin H., Hu X., Wang J., Cheng H., Chen L. y Qi Z. 2020. Overview of acidic deep eutectic solvents on synthesis, properties and applications. Green Energy & Environment. 5 (1): 8-21.
- Quintero-Cabello K.P., Palafox-Rivera P., Lugo-Flores M.A., Gaitán-Hernández R., González-Aguilar G.A., Silva-Espinoza B.A., Tortoledo-Ortiz O., Ayala-Zavala J.F., Monribot-Villanueva J.L. y Guerrero-Analco J.A. 2021. Contribution bioactive compounds to the antioxidant capacity of the edible Mushroom *Neolentinus lepideus*. Chemistry & Biodiversity. 18 (7): e2100085.
- Rajeev K., Keshamma E., y Patil S. 2021. Importance of nutrition in infectious diseases. In: L. Hiremath, S. Patil y T. Pramod (eds.). Bioactives Molecules Against Infectious Disease: Current Concepts & Updates. Innovation infoebooks. India. 01-09 pp.
- Ramírez L. E. y Castaño D.M. 2009. Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Scientia Et Technica. 15 (42): 263-268.
- Ray A., Bharali P. y Konwar B.K. 2013. Mode of antibacterial activity of eclalbasaponin isolated from *Eclipted alba*. Applied Biochemistry and Biotechnology. 171 (8): 2003-2019.
- Reichardt C. 2003. Solvents and solvent effects in organic chemistry. Wiley-VCH. Tercera edición. Alemania. 500 pp.
- Rocklöv J., Ahml C., Scott M.E. y Humphries D.L. 2021. Climate change pathways and potencial future risk to nutrition and infection. En: A Bendich y C. Bales (eds.). Nutrition and Infectious Diseases. Springer Nature Switzerland. USA. 429-457 pp.
- Rodríguez-Bonilla P., Gandía-Herrero F., Matencio A., García-Carmona F. y López-Nicolás J.M. 2017. Comparative study of the antioxidant capacity of four stilbenes using ORAC, ABTS⁺, and FRAP techniques. Food Analytical Methods.10 (9): 2994-3000.
- Rodríguez-Juan E., Rodríguez-Romero C., Fernández-Bolaños J., Florido M.C. y Garcia-Borrego A. 2021. Phenolic compounds from virgin olive oil obtained by natural deep eutectic solvent (NADES): effect of the extraction and recovery conditions. Journal of Food Science and

- Technology. 58 (2): 552-561.
- Rogawski E.T., Liu J., Platts-Mills J.A., Kabir F., Lertsethtakarn P., Siguas M., Khan S.S., Praharaj I., Murei A., Nshama R., Mujaga B., Havt A, Maciel I., McMurry T.L., Operario D.J., Taniuchi M., Gratz J., Stroup S.E., Roberts J.H., Kalam A., Aziz F., Qureshi S., Islam M.O., Sakpaisal P., Silapong S., Yori P.P., Rajendiran R., Benny B., McGrath M., Seidman J.C., Lang D., Gottlieb M., Guerrant R.L., Lima A.A., Leite J.P., Samie A., Bessong P.O., Page N., Bodhidatta L., Mason C., Shrestha S., Kiwelu I., Mduma E.R., Iqbal N.T., Bhutta Z.A., Ahmed T., Haque R., Kang G., Kosek M.N. y Houpt E.R. 2018. Use of quantitative molecular diagnostic methods to investigate the effect of enteropathogen infections on linear growth in children in low-resource settings: longitudinal analysis of results from the MAL-ED cohort study. The Lancet. 6 (12): e1319-e1328.
- Rohr J.R., Barret C.B., Civitello D.J., Craft M.E., Delius B., DeLeo G.A., Hudson P.J., Jouanard N., Nguyen K.H., Ostfeld R.S., Remais J.V., Riveau G., Sokolow S.H. y Tilman D. 2019. Emerging human infectious diseases and the links to global food production. Nature Sustainability. 2 (6): 445-456.
- Saha S. y Chakraborty R. 2021. Effect of deep eutectic solvent's characteristics on extraction and bioactivity of polyphenols from *Sapodilla pulp*. Chemicals papers. 75 (2): 691-702.
- Saini R., Kumar S., Sharma A., Kumar V., Sharma R., Janghu S. y Suthar P. 2021. Deep eutectic solvents: the new generation sustainable and safe extraction systems for bioactive compounds in agri food sector: an update. Journal Food Processing and Preservation. 00: e16250.
- Sakagami H., Kushida T., Makino T., Hatano T., Shirataki Y., Matsuta T., Matsuo Y. y Mimaki Y. 2012. Functional analysis of natural polyphenols and saponins as alternative medicines. In: A. Bhattacharya (eds.). Functional Analysis of Natural Polyphenols and Saponins as Alternative Medicine. IntechOpen. Croacia. 288 pp.
- Santini E., Jarek E., Ravera F., Liggieri L., Warszynski P. y Krzan M. 2019. Surface properties and foamability of saponin and saponin chitosan system. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 181: 198-206.
- Santos-Sánchez N.F., Salas-Coronado R., Villanueva-Cañongo C. y Hernández-Carlos B. 2019. Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. En: E. Shalaby (ed). Antioxidants. IntechOpen, London, 23-50 pp.
- Sastre F., Ferreira F. y Pedreschi F. 2017. A systematic approach for the chromatographic fractionation and purification of major steroid saponins in commercial extracts of *Yucca schidigera Roezl*. Journal of Chromatography Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences. 1046: 235-242.
- Schliemann S., Boman A. y Wahlber J. 2020. Organic solvents. En: S. John, J. Johansen y T. Rustemeyer (eds.). Third edition. Springer Nature Switzerland. Switzerland. 953-957 pp.
- Schreiner T.B., Colucci G., Santamaria-Echart A., Fernandes I.P., Dias M.M., Pinho S. y Barreiro M.F. 2021. Evaluation of saponin-rich extracts as natural alternative emulsifiers: a comparative study with pure Quillaja Bark saponin. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 623: 126748.
- Scrimshaw N.M. 2003. Historical concepts of interactions, synergism and antagonism between nutrition and infection. American Society for Nutritional Sciences. 133 (1): 316S-321S.

- Shrestha A., Six J., Dahal D., Marks S. y Meierhofer R. 2020. Association of nutrition, water, sanitation and hygiene practices with children's nutritional status, intestinal parasitic infections and diarrhoea in rural Nepal: a cross-sectional study. BMC Public Health. 20: 1241.
- Singleton V.L. y Rossi J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture. (16): 144-158.
- Skulcova A., Russ A., Jablonsky M. y Sima J. 2018. The pH behavior of seventeen deep eutectic solvents. Bioresources. 13 (3): 5042-5051.
- Smith E.L., Abbot A.P. y Ryder K.S. 2014. Deep eutectic solvents (DESs) and their applications. Chemical Reviews. 114 (21): 11060-11082.
- Sobia A., Zubair M., Rasool N., Mansha A., Anjum F., Iqbal M., Mushtaq M. y Shahid M. 2013. Antioxidant, antibacterial, antifungal activities and phytochemical analysis of dagger (*Yucca aloifolia*) leaves extracts. Journal of Medicianl Plants Research. 7(6): 243-249.
- Sockett P. 2014. Prevalence of foodborne diseases in North America. Encyclopedia of Food Safety. 1: 276-286.
- Sotelo A. y López-García S. 2007. Content of nutrients and antinutrient in edible flower of wild plants in Mexico. Plant Foods for Human Nutrition. 62 (3): 133-138.
- Sun D., Jin X., Camerlink I., Tong M., Su J., Zhao F., Yan S. y Shi B. 2019. Effects of *Yucca schidigera* extract on growth performance and antioxidative function of small intestine in broilers. Animal Physiology and Animal Nutrition. 103 (3): 738-746.
- Suresh P.S., Singh P.P., Anmol, Kapoor S., Padwad Y.S. y Sharma U. 2022. Lactic acid-based Deep eutectic solvent: and efficient green media for the selective extraction of steroidal saponins from *Trillium govanianum*. Separation and Purification Technology. 294: 121105.
- Suzuki R., Ohno H., Murakami T. y Shirataki Y. 2020. Improving quality control of yucca extracts used as a food aditives by screening antimicrobial activity using NMR metabolomics. Journal of Natural Medicines. 74 (1): 306-310.
- Szabó K. y Gerzson L. 2011. Evaluation of the Winter-hardy Yucca taxa among extreme conditions in landscape application. First international conference "Horticulture and landscape architecture in Transylvania". Agriculture and Environment Supplement. 3: 122-131.
- Taco V., Savarino P., Benali S., Villacrés E., Razquez J.M., Gerbaux P., Duez P. y Natchtergael A. 2021. Deep eutectic solvents for the extraction and stabilization of Ecuadorian quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) saponins. Journal of Cleaner Production. 363: 132609.
- Tang B., Zhang H. y Row K.H. 2015. Application of deep eutectic solvents in the extraction and separation of target compounds from various samples. Journal of Separation Science. 38 (6): 1053-1064.
- Tang Y., He X., Sun J., Liu G., Li C., Li L., Sheng J., Zhou Z., Xin M., Ling D., Yi P., Zheng F., Li J., Li Z., Yang T., Tang J. y Chen X. 2021. Comprehensive evaluation on tailor-made deep eutectic solvents (DESs) in extracting tea saponins from seed pomace of *Camellia oleifera* Abel. Food Chemistry. 342: 128243.
- Tapia-Rodríguez M.R., Bernal-Mercado T.A., Palomares-Navarro J.J., Sugich-Miranda R., Enciso-Martinez Y., Cruz-Valenzuela M.R., De Siqueria Oliveira L., Ayala-Zavala F. y Ayala-Zavala J.F. 2021. Citric acid and CaCl₂ extended the shelf life, maintained antioxidant capacity, and

- improved sensory attributes of fresh-cut kiwifruit. Journal of Horticulture and Postharvest research. 4: 67-80.
- Thomas-Popo E., Mendonca A., Dickson J., Shaw A., Coleman S., Daraba A., Jackson-Davis A. y Woods F. 2019. Isoeugenol significantly inactivates *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica*, and *Listeria monocytogenes* in refrigerated tyndallized pineapple juice with added *Yucca schidigera* extract. Food control. 106: 106727.
- Tickell K.D., Sharmin R., Deichsel E.L., Lamberti L.M., Walson J.L., Faruque A.S., Pavlinac P.B., Kotloff K.L. y Christi M.J. 2020. The effect of acute malnutrition on enteric pathogens, moderate-to-severe-diarrhoea, and associated mortality in the global enteric multicenter study cohort: a post-hoc analysis. The Lancet. 8 (2): e215-e224.
- Ulrih N. P., Ota A., Šentjurc M., Kure S. y Abram V. 2010. Flavonoids and cell membrane fluidity. Food Chemistry. 121 (1): 78-84.
- Ünver Alçay A. y Sağlam A. 2022. Climate change, foodborne infection and food poisoning. En: M. Yildirim, G. Çamoğlu, A. Akçal. Climate change in agriculture. Holistence Publications, Turquía, 223-247 pp.
- Urban-Chmiel R., Marek A., Stępień-Pyśniak D., Wieczorek K., Dec M., Nowaczek A. y Osek J. 2022. Antibiotic resistance in bacteria-A review. Antibiotics. 11 (8): 1079.
- Van Osch D.J.P., Dietz C.H.J.T., Van Spronsen J., Kroon M.C., Galluci F., Van Sint Annaland M.V. y Tuinier R. 2019. A search for natural hydrophobic deep eutectic solvents based on natural components. ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 7 (3): 2933-2942.
- Velázquez C., Navarro M., Acosta A., Angulo A., Domínguez Z., Robles R., Robles-Zepeda R., Lugo E., Goycoolea F.M., Velázquez E.F., Astiazaran H. y Hernández J. 2007. Antibacterial and free-radical scavenging activities of Sonora propolis. Journal of Applied Microbiology. 103 (5): 1747-1756.
- Velderrain-Rodríguez G.R., Torres-Moreno H., Villegas-Ochoa M.A., Ayala-Zavala J.F., Robles-Zepeda R.E., Wall-Medrano A. y González-Aguilar G.A. 2018. Gallic acid content and an antioxidant mechanism are responsible for the antiproliferative activity of 'Ataulfo' mango peel on LS180 cells. Molecules. 23 (3): 695.
- Ventura S.P.M., Silva F.A.E., Gonçalves A.M.M., Pereira J.L., Gonçalves F. y Coutinho J.A.P. 2014. Ecotoxity analysis of cholinium-based ionic liquids to *Vibrio fischeri* marine bacteria. Ecotoxicology and Environmental Safety. 102: 48-54.
- Vuolo M.M., Lima V.S., y Maróstica-Junior M. R. 2019. Phenolic compounds: structure, classification, and antioxidant power. En: M.R. Segura-Campos (ed). Bioactive Compounds. Woodhead Publishing, USA, 33-50 pp.
- Wallace S., Corinne J., Dickin S. y Metcalfe C.D. 2014. Global Environmental Change. En: B. Freedman (ed.). Waterborne and foodborne diseases, climate change impacts on health. Elsevier. Canada. 615-622 pp.
- Walson J.L. y Berkley J.A. 2018. The impact of malnutrition on childhood infections. Current Opinion in Infectious Diseases. 31 (3): 231-236.
- Wang L., Wu D., Fan Z., Li H., Zhang Y. Xu Q., Wang G. y Zhu Z. 2020. Effect of *Yucca schidigera* extract on the growth perfomance. Intestinal antioxidant status, immune response, and tight

- junctions of mirror carp (Cyprinus carpio). Fish and Shellfish Immunology. 103: 211-219.
- Warnecke T. y Gill R.T. 2005. Organic acid toxicity, and production in Escherichia coli biorefining applications. Microbial Cell Factories. 4 (1): 25.
- Wen Q., Chen J.X., Tang Y.L, Wang J. y Yang Z. 2015. Assessing the toxicity and biodegradability of deep eutectic solvents. Chemosphere. 132: 63-69.
- Wina E. 2012. Saponins: effects on rumen microbial ecosystem and metabolism in the rumen. En: A.K. Patra (ed.). Dietary Phytochemicals and Microbes. Springer. India. 311-350 pp.
- Yang G.Y., Song J.N., Chang Y.Q., Wang L., Zheng Y.G., Zhang D. y Guo L. 2021. Natural deep eutectic solvents for the extraction of bioactive steroidal saponins from Dioscoreae Nipponicae Rhizoma. Molecules. 26 (7): 2079.
- Yue Y., Huang Q., Fu Y. y Chang J. 2020. A quick selection of natural deep eutectic solvents for the extractions of chlorogenic acid from herba artemisiae scopariae. The Royal Society of Chemistry. 10: 23403-23409.
- Zainal-Abidin M.H., Hayyan M., Hayyan A. y Jayakumar N.S. 2017. New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvents: a review. Analytica Chimica Acta. 979: 1-23.
- Zaynab M., Sharif Y., Abbas S., Afzal M.Z., Qasim M., Khalofah A., Ansari M.J., Khan K.A., Tao L. y Li S. 2021. Saponin toxicity as key player in plant defense pathogens. Toxicon. 193: 21-27.
- Zhang Q., De Oliveira Vigier K., Royer S. y Jérôme F. 2012. Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. Chemical Society Reviews. 41: 7108-7146.
- Zhang Q.W., Lin L.G. y Ye W.C. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. Chinese Medicine. 13 (20): 1-26.
- Zhao B.Y., Xu P., Yang F.X., Wu H., Zong M.H. y Lou W.Y. 2015. Biocompatible deep eutectic solvents based on Choline chloride: characterization and application to the extraction of rutin from *Sophora japonica*. ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 3 (11): 2745-2755.
- Zhishen J., Mengcheng T. y Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effect on superoxide radicals. Food Chemistry. 64 (4): 555-559.
- Zúñiga-Serrano A., Barrios-García H.B., Anderson R.C., Hume M.E., Ruiz-Albarrán M., Bautista-Martínez Y., Sánchez-Guerra N.A., Vázquez-Villanueva J., Infante-Rodríguez F. y Salinas-Chavira J. 2022. Antimicrobial and digestive effects of *Yucca schidigera* extracts related to production and environment implications of ruminant and non-ruminant animals: a review. Agriculture. 12 (8): 1198.
- Zuo J., Geng S., Kong Y., Ma P., Fan Z., Zhang Y. y Dong A. 2023. Current progress in natural deep eutectic solvents for the extraction of active components from plants. Critical Reviews in Analytical Chemistry. 53 (1): 177-198.