Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C

CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DE MICROPARTÍCULAS COMPUESTAS DE EXTRACTO DE *Yucca baccata* Y QUITOSANO EXPUESTAS A DIFERENTES PH EN UNA SIMULACIÓN GASTROINTESTINAL

Por:

Lina Isabel Briceño Verduzco

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

Hermosillo, Sonora Diciembre, 2024

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Lina Isabel Briceño Verduzco, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado deMaestra en Ciencias.

Dr. Luis Quihui Cota
Director de Tesis

Dr. Jaime Lizardi Mendoza
Integrante del comité de tesis

Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar
Integrante del comité de tesis

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

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "Caracterización y Evaluación Antibacteriana de Micropartículas Compuestas de Extracto de *Y baccata* y Quitosano Expuestas a Diferentes pH de una Simulación Gastrointestinal" 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 Lina Isabel Briceño Verduzco, 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

CIAD

Dra. Graciela Caire Juvera
Directora General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo financiero proporcionado durante los dos años de posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo AC (CIAD) por permitirme realizar este posgrado que me brindó nuevas experiencias.

A mi comité de tesis Dr. Luis Quihui Cota, M.C. Gloria Guadalupe Morales Figueroa, Dr. Jaime Lizardi Mendoza, Dr. Marco Antonio López Mata y Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar.

A la Mtra. Karla Guadalupe Martínez Robinson, por su invaluable apoyo técnico, por sus sabias enseñanzas, su paciencia y por su constante apoyo. Siempre estaré profundamente agradecida con usted y agradezco a Dios por haberme permitido conocerla.

Al M.C. Ildefonso Guerrero Encinas, por su valioso apoyo técnico, por su constante guía en el laboratorio y por tomarse el tiempo de resolver todas mis dudas.

A la maestra Mónica Villegas y Melvín Tapia por su asesoría durante el desarrollo de mi trabajo.

A mis compañeros de laboratorio: Alondra Juaz, Cristian Tonopomea, Nicolás González y Pablo Balbastro por su apoyo y por tomarse el tiempo de resolver dudas a todo momento.

DEDICATORIA

A Dios por darme fuerzas y salud en los momentos que más lo necesitaba para seguir adelante.

A mis padres, Jorge Briceño y Lina Verduzco, cuyo amor incondicional y apoyo constante me han permitido salir adelante en cada etapa de mi vida, siempre enseñandome a ser resiliente ante las adversidades, y a luchar por mis sueños y, sobre todo, por nunca decirme que no puedo; gracias por todos sus esfuerzos.

A mis hermanos, Lizette, Jorge y Luis, quienes siempre han sido excelentes como hermanos.

Al amor de mi vida, José Serrano, cuyo amor incondicional y apoyo me inspiran cada día a ser una mejor persona y a seguir luchando por mis sueños.

CONTENIDO

APROBACIÓN.....2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL.....3
AGRADECIMIENTOS.....4
DEDICATORIA.....5
RESUMEN.....10
ABSTRACT.....11
1. INTRODUCCIÓN.....12
2. ANTECENDENTES.....13
2.1 Persistencia y Resistencia Bacteriana.....13
2.1.1 Agentes Bacterianos Protagonistas y Estrategia de Tratamiento.....14
2.1.2. Agentes Antimicrobianos.....17
2.2. Tratamientos con Extractos de Plantas.....18
2.2.1. *Yucca baccata*.....20
2.2.2. Propiedades Antibacterianas del Extracto de *Y. baccata*.....21
2.3. Funcionalidad de las Saponinas.....21
2.4. Quitosano y sus Propiedades.....22
2.4.1. Actividad Antibacteriana del Quitosano.....23
2.4.2. Micropartículas de Quitosano.....24
2.5. Estructura y Fisiología del Tracto Gastrointestinal.....25
2.5.1. ¿Qué es la Simulación Gastrointestinal?.....26
2.5.2. Uso de Micropartículas para Simular la Liberación de Componentes Activos en el Tracto Gastrointestinal.....27
3. HIPÓTESIS.....28
4. OBJETIVOS.....29
4.1. Objetivo General.....29
4.2. Objetivos Particulares.....29
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....30
5.1. Recolección de Materiales.....30
5.2. Obtención de Extracto Butanólico de *Y. baccata*.....30
5.2.1. Cuantificación de Saponinas del Tallo de *Y. baccata*.....31
5.3. Elaboración de Micropartículas de Quitosano y Compuestas de *Y. baccata*/Quitosano.....31
5.3.1. Caracterización de Micropartículas por FTIR y Microscopia.....32
5.5. Cultivo de Cepas Bacterianas.....34
5.5.1. Determinación de Concentración Mínima inhibitoria y Bactericida.....34
5.6. Exposición a Diferentes pH por Simulación Gástrica.....35
5.7. Análisis Estadístico.....35
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....36

CONTENIDO (continuación)

6.1. Rendimiento de Extracción y Cuantificación de Saponinas....36
6.2. Morfología y Descripción del Tamaño de las Micropartículas....36
6.3. Análisis por Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR)....38
6.4. Cuantificación de Saponinas de las MPC y Eficiencia de Asociación....39
6.5. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Mínima Bactericida (CMB)....40
6.6. Exposición Bacteriana a Tratamientos Sometidos a Diferentes pH de Simulación Gastrointestinal....41

7. CONCLUSIÓN....48

8. RECOMENDACIONES....49

9. REFERENCIAS....50

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Curva Estándar de Diosgenina para la Cuantificación de Saponinas del Extracto Butanólico del Tallo de *Y. baccata*……..……	31
2	Curva Estándar de Diosgenina para la Cuantificación de Saponinas en las MPC y para la Medición de la Eficiencia de Asociación…….…….....	33
3	Micropartículas de Quitosano (MPQ) y Micropartículas de compuestas de Extracto de *Yucca baccata*/Quitosano (MPC) Mediante Microscopía con Objetivo 4X……..	37
4	Distribución del Diámetro de Micropartículas de Quitosano y Micropartículas Compuestas de Extracto de *Yucca baccata*/quitosano…….....	38
5	FTIR de las Micropartículas Compuestas de Extracto de *Yucca baccata*/Quitosano.	39
6	Comportamiento del Crecimiento de *S. aureus* Expuesta a Diferentes Tratamientos Sometidos Previamente a Cambios de pH Simulando las Condiciones Gastrointestinal (3.0 y 7.0)……..……	42
7	Comportamiento del Crecimiento de la Bacteria *S.* Typhimurium Expuesta a Diferentes Tratamientos Sometidos Previamente a Cambios de pH Simulando las Condiciones Gastrointestinal (3.0 y 7.0)…….…….……...	43
8	Comportamiento del Crecimiento de *L. monocytogenes* Expuesta a Diferentes Tratamientos Sometidos Previamente a Cambios de pH Simulando las Condiciones Gastrointestinales (3.0 y 7.0)…….……	44
9	Comportamiento del Crecimiento de *S. aureus* Expuesta a Diferentes Tratamientos Sometidos Previamente a Cambios de pH Simulando las Condiciones Gastrointestinales (3.0 y 7.0).……...……..……	45

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Frecuencia Acumulada de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del Aparato Digestivo en México Hasta la Semana 13 del Año 2023…….……..	16
2	Mecanismos de Resistencia Bacteriana y Agentes Antimicrobianos……..…….	18
3	Reporte de Micropartículas de Quitosano Cargadas con Diferentes Matrices Expuestas a Simulación Gastrointestinal …….....	25
4	Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida de EYB, MPQ y MPC Contra Bacterias Patógenas…….....	40

RESUMEN

La resistencia bacteriana a los antibióticos reduce su eficacia terapeútica, lo que ha generado un grave problema de salud pública. Como alternativa de tratamiento, se investigan diferentes extractos de plantas entre ellos el de *Y. baccata* que ha demostrado tener propiedades antibacterianas. Por otra parte, los métodos de encapsulación basados en polisacáridos se han venido utilizando para estabilizar, controlar la liberar, y mejorar las propiedades antimicrobianas de extractos de diferentes plantas. Uno de los polisacáridos más empleados con este propósito es el quitosano (QS). El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antibacteriana de las micropartículas compuestas de extracto de *Y. baccata* (EYB) y QS antes y después de ser sometidas a diferentes pHs simulando condiciones gastrointestinales contra *E. coli*, S. Typhimurium, *L. monocytogenes* y *S. aureus*. Inicialmente, se realizó la cuantificación de saponinas EYB utilizando un método espectrofotométrico. Luego, las micropartículas de quitosano (MPQ) y compuestas (MPC) fueron elaboradas por goteo controlado y baño recirculado. Su caracterización se realizó mediante FTIR y microscopía óptica, así como la eficiencia de asociación. Las propiedades antibacterianas se evaluaron estimando las concentraciones mínima inhibitoria y mínima bactericida. La simulación gastrointestinal se evaluó a diferentes pH. Los resultados mostraron que el rendimiento de extracción butanólica de *Yucca* fue de 2.42%. Su contenido de saponinas totales fue de 24.58%. Las MPQ y MPC exhibieron morfologías esférica (70%) y semiesférica (30%), con diámetros promedios de 388.5 ± 100.7 μm y 285.5 ± 70.9 μm, respectivamente. Las MPC contenían 0.04% de saponinas totales con una eficiencia de asociación del 22.73 %. EYB mostró una buena actividad frente a las bacterias evaluadas, aunque *E. coli* presentó mayor resistencia (CMI=120 mg/mL). No se obtuvieron CMB para MPQ contra *S.* Typhimurium *y L. monocytogenes*. *S. aureus* y *L. monocytogene*s (CMI=700 mg/mL) fueron menos sensibles a MPC. Durante el ensayo de simulación, las MPQ y EYB mostraron actividad significativa contra las bacterias analizadas. Las MPC no mostraron actividad antibacteriana. Se requiere información adicional sobre la eficiencia de encapsulación del EYB con QS, y el comportamiento de las MPC bajo condiciones de simulación gastrointestinal lo cual conducirá a la elaboración de formulaciones QS-EYB más precisas capaces de mantener su integridad estructural bajo condiciones del entorno gastrointestinal y actuar con mayor eficacia.

Palabras clave: *Y. baccata*, quitosano, actividad antibacteriana, pH gastrointestinal

ABSTRACT

Bacterial resistance reduces the effectiveness of antibiotics, which represents a serious public health problem. Different plant extracts are being investigated as an alternative treatment, including *Y. baccata*, which has been shown to have antibacterial properties. On the other hand, the encapsulation technique has been used to stabilize, control the release, and improve the antimicrobial properties of extracts from different plants. One of the most used biopolymers for this purpose is chitosan. The objective of this work was to evaluate the antibacterial activity of microparticles composed of *Y. baccata* extract and chitosan before and after being subjected to different pH simulating gastrointestinal conditions against *E. coli*, *S.* Typhimurium, *L. monocytogenes* and *S. aureus*. Quantification of EYB saponins was performed using a spectrophotometric method. Chitosan (MPQ) and composite microparticles (MPC) were prepared using a controlled drip and recirculated bath. FTIR and optical microscopy performed their characterization. The association efficiency was determined by the method of Kiafar. The antibacterial properties were evaluated by estimating the minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations. The gastrointestinal simulation was carried out under different pH conditions. The butanolic extraction yield of *Yucca* was 2.42% (EYB). Its total saponin content was 24.58%. MPQ and MPC exhibited spherical (70%) and hemispherical (30%) morphologies, with average diameters of 388.523 ± 100.769 μm and 285.523 ± 70.921 μm, respectively. MPC contained 0.04% total saponins with an association efficiency between 22.73%. EYB showed good activity against the tested bacteria, although *E. coli* showed higher resistance (MIC=120 mg/mL). No MICs were obtained for MPQ against *S.* Typhimurium and *L. monocytogenes*. *S. aureus* and *L. monocytogenes* (MIC=700 mg/mL) were less sensitive to MPC. MPQ and EYB showed significant activity against the tested bacteria during the simulation test. MPCs did not show antibacterial activity. Additional information is required on the encapsulation efficiency of EYB with chitosan and the behavior of MPCs under gastrointestinal simulation conditions, which will lead to the development of more precise chitosan-EYB formulations capable of maintaining their structural integrity under gastrointestinal environment conditions and acting more effectively.

Keywords: *Y. baccata*, chitosan, antibacterial activity, gastrointestinal pH

1. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial existen microorganismos patógenos resistentes a los antibióticos que son de gran preocupación para la salud humana. Algunos de los patógenos más comúnmente reportados son *E. coli*, *Salmonella spp*, *S.aureus*, *H. pylori, S. pneumoniae* y *K. pneumoniae*. Desde la introducción de los antibióticos, la incidencia de las enfermedades infecciosas había sido controlada. Sin embargo, en los últimos años la resistencia de bacterias hacia estos fármacos se ha convertido en un grave problema de salud pública (OPS, 2021).

Los antibióticos se emplean para tratar infecciones bacterianas, representando uno de los mayores avances médicos. Sin embargo, se están volviendo ineficaces, debido a su uso inapropiado e indiscriminado. Esta problemática ha evolucionado gravemente, ya que ha provocado un aumento en la morbilidad y mortalidad asociada a bacterias en todo el mundo (OMS, 2020; Qasim *et al*., 2020). Se ha estimado que los patógenos resistentes a los antibióticos provocan alrededor de 10 millones de muertes y una reducción del 2,5% del producto interno anual bruto para 2050 (Qasim *et al*., 2020). Es por ello, que se buscan nuevas alternativas para tratar a las infecciones bacterianas, y una de ellas es el uso de extractos obtenidos de las plantas, debido a que algunos fitocomponentes presentan propiedades antimicrobianas, antioxidantes, anticancerígenas. Se ha reportado que, el uso de MPQ y extracto de *Yucca*, podrían coadyuvar en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias patógenas (Matica *et al* ., 2019; Benito *et al* ., 2023;). La encapsulación de compuestos bioactivos se ha vuelto una práctica común en la industria, ya que se ha utilizado para mejorar su transporte, biodisponibilidad y liberación en el sitio blanco de manera controlada (Gali *et al*., 2023). Sin embargo, pocos estudios han explorado la actividad antimicrobiana de fitocompuestos sometidos a condiciones de simulación gastrointestinal. Por lo tanto, es fundamental comprender en qué medida las micropartículas compuestas de *Y. baccata*-quitosano (MPC) pueden conservar su funcionalidad después de ser sometidas a condiciones de pH gastrointestinal. Esta evaluación ofrecerá una forma rápida y económica de explorar diferentes escenarios lo cual ofrece un paso esencial hacia su posible uso en seres humanos (Li y Kong., 2022).

2. ANTECEDENTES

2.1. Persistencia y Resistencia Bacteriana

En el campo de la salud, existen dos fenómenos de gran preocupación para el sector salud: la resistencia y la persistencia bacteriana. Ambos fenómenos plantean un desafío significativo en el tratamiento de las infecciones bacterianas. Es esencial tener en cuenta que la resistencia y la persistencia son dos fenómenos distintos, con diferentes mecanismos en su aparición (Suclupe y Aguilar, 2020).

La persistencia, es un fenómeno en el que existe una variación fenotípica no heredada que se presenta en genes específicos y que se activan en respuesta al estrés ambiental, que le permite adaptarse y sobrevivir. Estas cepas persistentes no son susceptibles a la concentración mínima inhibitoria (concentración más baja de un antibiótico que inhibe el crecimiento de una cepa bacteriana originalmente sensible) y permanecen latentes, sin ser afectadas por la concentración de antibióticos, lo que conlleva a un tratamiento ineficaz (Suclupe y Aguilar, 2020).

La resistencia bacteriana ocurre cuando las bacterias evolucionan para evadir el efecto del antibiótico a través de diferentes mecánismos. Esto implica alteraciones diana, cambios genéticos heredados, mecanismos enzimáticos, así como, cambios en su estructura y funcionalidad. Estas células son una variante transitoria de una población genéticamente homogénea no mutante, la cual puede sobrevivir a la exposición del antibiótico, generando latencia celular, derivada de la variación fenotípica silvestre. Estas se originan después del tratamiento con antibióticos por un cambio fenotípico sensible a tolerante y reversible, porque al momento de volver a desarrollarse en un medio no estresante, mostrarán el mismo patrón de sensibilidad que la población original (Suclupe y Aguilar, 2020).

Los diferentes mecanismos de acción que la bacteria emplea para contrarrestar los efectos de los antibióticos pueden ser: modificación en la producción enzimática que alteran o inactivan los antibióticos, el bombeo activo mediante el cual las bacterias expulsan los antibióticos de la célula; la alteración del blanco, donde las bacterias pueden modificar las subunidades ribosómicas a las que se unen los antibióticos, disminuyendo su eficacia de adherencia y, las barreras físicas, que dificultan la entrada de los antibióticos a la célula bacteriana. Cada mecanismo es específico para

cada antibiótico y cada bacteria (Peterson y Kaur, 2018).

En 2019 se reportaba que las bacterias resistentes habían causado alrededor de 1.27 millones de muertes a nivel global. Actualmente se considera como uno de los mayores desafíos por atender y resolver por parte de los sistemas de salud pública del mundo, ya que afecta a personas en cualquier etapa de la vida (Antimicrobial Resistance Collaborators, 2022). Cuando el uso de antibióticos en una población es elevado, las bacterias pueden causar un aumento en la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los mismos (Suclupe y Aguilar, 2020). La causa principal de este problema, es la prescripción excesiva de antibióticos por personal sanitario y como consecuencia, esto termina en la combinación de varios antibióticos para atacar las infecciones (Tahmasbi *et al*., 2021).

2.1.1. Agentes Bacterianos Protagonistas y Estrategia de Tratamiento

De acuerdo a un reporte por Ikuta y colaboradores en 2019, se estimaba que aproximadamente se presentaban 13.7 millones de fallecimientos a nivel global debido a infecciones bacterianas, y se calculó que los patógenos bacterianos responsables del 30.9% de las defunciones eran *Staphylococcus aureus (S.aureus), Escherichia coli (E.coli), Streptococcus pneumoniae* (*S pneumoniae*), *Klebsiella pneumoniae (K. pneumoniae)* y *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*).

Aunque las bacterias pueden ocasionar todos tipo de infecciones, nos enfocaremos en este estudio a las infecciones gastrointestinales que afectan principalmente al estómago e intestino. Si bien es cierto, la mayoría de las infecciones gastrointestinales no son graves y se resuelven sin tratamiento (autolimitan). Esto no es así, para las poblaciones vulnerables (niños, ancianos, personas con sistema inmunitario comprometido), que no tienen la capacidad de resolver estas infecciones, por lo que, en estos grupos poblacionales se presenta una alta prevalencia de mortalidad y morbilidad. Las bacterias, hongos, virus y parásitos pueden infectar el sistema gastrointestinal, y debido que los síntomas son similares, su diferenciación o diagnóstico es complicado. La mayoría de las infecciones gastrointestinales bacterianas son causadas principalmente por bacterias: *Bacillus cereus* (*B. cereus*), *Campylobacter sp., Salmonella sp., S. aureus* y *E. coli* que generalmente son adquiridas a través de alimentos contaminados (Burd *et al*., 2016). En el contexto de las bacterias

resistentes a los antibióticos, es importante resaltar la presencia de cuatro bacterias específicas: *E. coli*, *Salmonella* Typhimurium (*S.* Typhimurium), *Listeria monocytogenes (L. monocytogenes)* y *S. aureus*, que son de relevancia clínica. Además, son responsables de brotes y enfermedades graves, lo que enfatiza la necesidad de comprender mejor sus características y comportamiento (Hérnandez, 2010,OMS, 2018, 2022).

La bacteria *E. coli* (gram negativa) se aloja normalmente en el intestino de los humanos y animales, y ciertas cepas son patógenas. La principal cepa patógena es *E. coli* O157:H7 que es productora de toxina shiga. Su vía de transmisión es principalmente a través de alimentos contaminados como comida cruda, inadecuadamente cocinada, contaminación fecal de agua, y de persona a persona por vía oral-fecal. Esta bacteria puede crecer a temperaturas que oscilan de 7°C a 50°C, siendo 37°C la óptima, con un pH de 4.4 destruyéndose a temperatura superior a los 70°C o más (OMS, 2018; Rani *et al.,* 2021). La dosis de infección es de 10 a 100 células, y la sintomatología se presenta a los 3 o 4 días de infección y dentro de su sintomatología, incluye vómitos, diarrea, fiebre y calambres estomacales (Rani *et al.,* 2021).

Salmonella sp. es un microorganismo Gram-negativo, aerobio, no formador de esporas, que engloba alrededor de 2500 serotipos diferentes. Es transmitida principalmente a través de alimentos y agua contaminada, y puede causar síntomas como fiebre, dolor abdominal, náuseas, vómitos y heces sanguinolentas (en casos graves la muerte). Su temperatura de crecimiento óptimo es de 35 a 37°C, a un pH de 6.5 a 7.5. El riesgo de contraer *Salmonella* sp. es mayor para las personas sin acceso a agua potable y saneamiento adecuado, siendo los niños la población más vulnerable. Los síntomas de la salmonelosis aparecen entre 6 y 72 horas después de la ingestión de la matriz ambiental contaminada. El tratamiento general consiste en rehidratación y reposición de electrólitos evitando el uso de antibióticos (Hérnandez, 2010; OMS, 2022).

La enfermedad causada por la bacteria *L. monocytogenes* es la listeriosis. Las personas con más riesgo son las embarazadas, adulto mayor y aquellos con sistema inmunodeficiente. La bacteria es ubicua en la naturaleza y puede contaminar alimentos, y es capaz de sobrevivir y multiplicarse en refrigeradores (temperatura óptima 3°C). La etapa temprana de tratamiento con antibióticos es crucial. Para prevenir esta enfermedad, es importante la manipulación segura de los alimentos y el mantenimiento de una buena higiene (Hérnandez, 2010; OMS, 2018).

Las infecciones por *S. aureus* son un problema de salud a nivel global debido a la resistencia que presentan a los antibióticos. Estas infecciones suelen originarse con una colonización asintomática,

siendo las narinas, piel y intestinos los sitios más comunes de colonización. La entrada de esta bacteria al organismo ocurre cuando se produce una ruptura en la capa protectora epitelial, diseminandose en el sistema. La infección por *S. aureus* depende de su capacidad de evadir las defensas del hospedero. Esta bacteria no es tan común en las intoxicaciones alimentarias como lo son *E. coli* y *Salmonella* sp. (Cheung *et al*., 2021).

Existen medidas de prevención para las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), las cuales incluyen un buen manejo higiénico de los alimentos desde la cosecha, elaboración, fabricación y preparación. Esta estrategia incluye mantener una adecuada limpieza, separar los alimentos cocidos de los crudos, cocinar adecuadamente los alimentos, mantener la comida a temperaturas seguras y usar agua potable. A pesar de estas recomendaciones, las intoxicaciones alimentarias aún ocurren con frecuencia y llevan a la necesidad de usar una combinación de antibióticos lo que preocupa a la salud pública (OMS, 2018).

El Cuadro 1 muestra las frecuencias acumuladas por salmonelosis y las enfermedades infecciosas intestinales, hasta el mes de abril del año 2023 por el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Secretaría de Salud.

Cuadro 1. Frecuencia Acumulada de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del Aparato Digestivo en México Hasta la Semana 13 del Año 2023

Salmonelosis		Infecciones intestinales por otros organismos y las mal definidas CIE-10[a] A04, A08-A09		Enfermedades infecciosas intestinales CIE-10[a] A01-A03, A04, A05, A06.0-A06.3, A06.9, A07.0-A07.2, A07.9, A08-A09
Frecuencia acumulada		Frecuencia acumulada		Frecuencia acumulada
M	F	M	F	Ambos sexos
4201	7312	401681	478034	946,540

Femenino (F), Masculino (M) (SINAVE, 2023; OPS, 2003).CIE-10[a] : clasificación internacional de enfermedades décima edición; A : enfermedades infecciosas y parasitarias.

La resistencia a los antibióticos es un problema que requiere de un enfoque multisectorial. Es por ello que la OMS recomienda la elaboración de programas y políticas, así como de investigaciones que conduzcan al mantenimiento y mejora de la salud pública. Actualmente, la búsqueda de nuevos coadyuvantes antibacterianos sigue en curso, con un enfoque particular en los extractos de plantas

(OMS., 2021).

2.1.2. Agentes Antimicrobianos

Los agentes antimicrobianos, que incluyen antibióticos, antivirales, antifúngicos y antiparasitarios, se utilizan para prevenir o tratar infecciones al eliminar microorganismos o inhibir su crecimiento (Di Martino, 2022). Pero los microorganismos tienen una serie de mecanismos que le permiten generar la resistencia a los antibióticos, algunos de estos mecanismos se presentan en el cuadro 2, así como los agente antimicrobianos.

Cuadro 2. Mecanismos de Resistencia Bacteriana y Agentes Antimicrobianos

Mecanismo de resistencia bacteriana	Definición	Agente antimicrobiano	Bacterias asociadas	Autores
Inactivación antibioticos	La molécula de antibiótico activa se hace inactiva por enzimas producidas por las células bacterianas resistentes.	*β-lactam* de penicilina cefaloporina y carbapenem	*E. coli*, *k. pneumoniae* y *Enterobacter* sp.	Pulingam *et al*; 2022
Flujo activo de drogas	La bacteria limita la penetración de los antibióticos a través de la disminución de la permeabilidad celular	Cefaloporinas		Pulingam *et al*; 2022
Activación de la bomba de flujo	Proteínas en la membrana de la bacteria y transporta nutrientes y expulsa compuesto tóxicos del entorno celular	Quinolonas Fluoroquinolonas Aminoglucósido Fosfomicina Sulfonamidas β-lactámicos Glicopéptidos Lipopéptidos Aminoglucósidos Tetraciclinas Macrolides Lincosamidas	*E. coli*	Poirel *et al.*, 2018 Pulingam *et al.*, 2022
Limitación de la absorción de la droga	La estructura y las funciones de la capa lipopolisacáridos en las bacterias Gram-negativas proporcionan una barrera a ciertos tipos de moléculas. Formación de biopéliculas por las bacterias	B-lactamos Glicopétidos Vancomicina	*Mycoplasma Staphylococcus aureus*	Reygaert WC (2018)
Modificación del objeto droga	Por degradación del medicamento o por transferencia de un grupo químico al medicamento.	β-lactamas, tetraciclina, aminoglucósi... cloranfenicol estreptogramin... fluoroquinolonas	*Staphylococcus aureus* *Enterococcus faecalis* *Enterococcus faecium* *E. coli*	Reygaert WC. 2018

2.2. Tratamientos con Extractos de Plantas

A lo largo de la historia, el ser humano ha utilizado extractos de plantas como medicina tradicional. Una planta con propósitos medicinales, es aquella que contiene sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos, o ser precursores de la semisíntesis quimiofarmacéutica. La OMS estimó que existen alrededor de 20,000 variedades de especies de plantas, utilizadas con fines terapéuticos. Cabe mencionar que uno de los principales problemas en torno a la seguridad, es la regulación del nivel de micotoxinas presentes en las preparaciones a base de hierbas. Las micotoxinas (sustancias

tóxicas producidas por cierto tipo de hongos) pueden entrar en contacto con el cuerpo humano, a través de la ingestión, inhalación o absorción cutánea, pudiendo derivar en enfermedades e incluso la muerte (Proestos, 2020).

La naturaleza siempre será una fuente inagotable de nutrientes beneficiosos para la salud humana mientras la protejamos. En sus inicios se utilizaron las plantas como preparados herbales, y ahora se utilizan como moléculas aisladas o extractos caracterizados fisicoquímicamente (Les *et al.*,2021). El uso de extractos de plantas ha captado la atención de la industria alimentaria y farmacéutica debido a los compuestos bioactivos que pudiera contener. Estos pueden tener una gran diversidad de aplicaciones biológicas, entre las que se encuentran las actividades antimicrobianas y antioxidantes. Otras actividades se han asociado con sus capacidades antioxidantes, anticarcinogénico, antiinflamatorios y antimicrobianos (Kennedy y Wightman, 2011; Proestos, 2020). Por lo anterior, pueden ser empleados en la industria alimentaria y farmacéutica, por su sostenibilidad y como una alternativa a los problemas que ocasionan los compuestos sintéticos y tóxicos.

El proceso de extracción de plantas medicinales, consiste en separar el compuesto activo de la materia vegetal o sus metabolitos secundarios mediante un solvente adecuado y un método estándar (Abubakar y Haque, 2020). La medicina herbolaria está ganando popularidad debido a su origen natural y a la menor probabilidad de causar efectos secundarios en comparación con los medicamentos sintéticos. Se han realizado estudios *in vitro* e *in vivo*, con el propósito de reducir los riesgos a la salud humana y utilizarlos como alternativas en el campo holístico. Las plantas medicinales se extraen y procesan para el consumo directo como medicina herbolaria, o tradicional, o se preparan con fines experimentales. Sus compuestos pueden encontrarse tanto en la planta en su totalidad como en partes específicas de la misma, y administrarse como infusiones o preparados medicinales (Abubakar y Haque, 2020).

Existe una amplia variedad de extractos de plantas con potencial terapéutico y preventivo contra infecciones bacterianas patógenas (Abdul *et al*., 2017). No obstante, se requieren investigaciones adicionales en este ámbito, para comprender los mecanismos de acción involucrados y evaluar su seguridad en los ámbitos clínico y alimentario. Además, debe analizarse la combinación de extractos de diferentes plantas, y su aplicación como nano o micropartículas, lo cual les confiere propiedades únicas. Es crucial seguir evaluando las posibles interacciones cuando el extracto natural entrar en contacto con el cuerpo humano, u otros medicamentos, así como establecer las

dosis específicas, lo cual contribuiría en ampliar la base de evidencia científica y fomentar futuras investigaciones.

En la actualidad, se han llevado a cabo numerosas investigaciones sobre los efectos antimicrobianos y antioxidantes de extractos herbales. Algunos extractos vegetales como la cebolla, ajo, menta, tomillo, roble, *Aloe vera* y jengibre han sido ampliamente estudiados en cuanto a su capacidad antioxidante y han mostrado actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* y *P. multocida* (Abdul *et al* ., 2017).

Para optimizar las propiedades de los compuestos bioactivos derivado de los extractos de plantas, se ha recurrido al uso de biopolímeros naturales como la pectina o QS. En la industria alimentaria, la encapsulación de vitaminas, aceites esenciales, y polifenoles, es una práctica común, ya que se utilizan para mejorar las caracteristicas físicoquímicas, e incluso sus propiedades antimicrobianas, así como su estabilidad tanto en condiciones intrínsecas y extrínsecas. Mediante un proceso adecuado de encapsulación, es posible controlar la liberación del compuesto activo, optimizando sus propiedades de tamaño y forma. Esta técnica puede favorecer la estabilidad, biodisponibilidad y compatibilidad de estos compuestos en el cuerpo humano. (Gali *et al*., 2023)

2.2.1. *Yucca baccata*

El género botánico conocido como *Yucca*, tiene alrededor de 50 especies con potentes propiedades medicinales, y algunas de las más comúnmente distribuidas en México son *Y. schidigera*, *Y. baccata*, *Y. elata* y *Y. elephantipes* (Góngora-Chi *et al*., 2022). La especie *Y. baccata* posee diversos nombres científicos según la región, entre ellos: *Banana yucca*, *Datil yucca*, *Fleshy-fruited yucca* y *Blue yucca*. Es endémica del suroeste de Estados Unidos y noroeste de México. El color de sus flores es blanco y florece en abril a julio. Es una planta acaulescente o caulescente con tallos aéreos o subterráneos de hasta 3 m de altura, con hojas gruesas y rizadas. Crece en suelos secos, rocosos y arenosos, luz solar, tolerancia alta al $CaCO_3$, y requiere poca agua (Niethammer, 1999; Lady Bird Johnson Wildflower center, 2022), este tipo de *Yucca* se encuentra especialmente en la zona alta del Estado de Sonora (Clark, 1893).

2.2.2. Propiedades Antibacterianas del Extracto de *Y. baccata*

La planta Y. baccata posee una gran importancia etnobotánica para los nativos americanos, quienes la utilizaban como laxante y sedante, así como remedio para el dolor articular, sangrado, inflamación de la próstata, dolores comunes, quemaduras, dolores de cabeza y asma. Además, presenta propiedades antibióticas y hemolíticas, y es capaz de formar espumas estables en soluciones (Patel, 2012; Padmavathi, 2013; Góngora-Chi *et al*., 2022). La especie *Y. baccata*, ha sido objeto de investigación debido a sus altas concentraciones de saponinas, así como su capacidad antioxidante y capacidad antibacteriana (Morales-Figueroa *et al*., 2022). Sin embargo, aún se requiere comprender cómo estas propiedades podrían interactuar en un organismo vivo.

El extracto de *Yucca* contienen compuestos bioactivos, como saponinas esteroidales y polifenoles (taninos, alcaloides y terpenoides), que se han asociado con propiedades antimicrobianas (Quihui-Cota *et al*., 2014; Benito *et al*., 2023). En particular, el extracto butanólico de *Y. baccata* ha demostrado una notable actividad antibacteriana, con una concentración total de saponinas del 30 % (Morales-Figueroa *et al*., 2022; Góngora-Chi *et al*., 2022). Para las bacterias Gram-negativas como la *E. coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhi*, se ha reportado una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 100 mg/mL y una concentración mínima bactericida (CMB) de 120 mg/mL. En el caso de las bacterias Gram-positivas como *S. aureus*, se han observado una CMI de 80 mg/mL y una CMB de 100 mg/mL (Morales-Figueroa *et al*, 2022).

2.3. Funcionalidad de las Saponinas

La saponina conocida como asparágosido C es un tipo de saponina que se encuentra en la planta *Y. baccata*, este compuesto está presente en las hojas y raíces de la planta (Vega-Mazahua, 2020). Estos metabolitos secundarios son sintetizados por las plantas, como respuesta a situaciones de estrés biológico. Estos compuestos se pueden encontrar en distintas partes de la planta, como raíz, tallo, hojas, semillas y corteza. Las saponinas poseen una naturaleza anfipática, con regiones hidrofílicas e hidrofóbicas, lo que les confiere ser estabilizantes y emulsionantes, con gran

aplicación en la industria (Qasim *et al*., 2020; Góngora-Chi *et al*., 2022; Luo *et al*., 2022;)

La palabra saponina nace del latín “sapo” que significa jabón y hace alusión a la capacidad que tiene este compuesto de generar espuma en solución. Estos metabolitos secundarios tienen una aglicona unida a una o más cadenas de azúcar mediante un enlace éter o éster, confiriéndoles propiedades anfifílicas. Dependiendo de su estructura química, algunas saponinas pueden ejercer efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos, anticancerígenas e inmunomoduladores y se han utilizado en medicina tradicional como la herbolaria (Vincken *et al* ., 2007; Juang y Liang, 2020).

La mayoría de las plantas contienen saponinas que contribuyen a la propia defensa de la planta. Las plantas de la subfamilia *Agavaceae* son fuente de saponinas esteroidales y triterpenoides, y sapogeninas. Algunas llegan a tener actividad biológica, hemolítica, antiinflamatoria y antimicrobiana. Las especies del género *Yucca* son ricas en saponinas y tienen mayor concentración en sus tallos, hojas y rizomas. Se ha reportado que el extracto del tallo de *Y. baccata* tienen actividad antimicrobiana y antioxidante y contiene alrededor de 20 al 30% de saponinas totales (Góngora-Chi *et al*., 2022; Gutiérrez-García *et al*., 2021).

Las saponinas presentes en los géneros de *Yucca*, podrían ser empleadas en la creación de nutracéuticos con propiedades antibacterianas. Sin embargo, se requiere de un análisis más detallado de los extractos de estas plantas (Góngora-Chi *et al*., 2022).

2.4. Quitosano y sus Propiedades

El QS es un polisacárido que se obtiene por la desacetilación de la quitina usando hidróxido de sodio (NaOH) a temperatura elevada o enzimáticamente. La quitina se encuentra en la naturaleza, principalmente en los exoesqueletos de crustáceos, insectos y arácnidos (Antunes *et al*., 2016; Romanazzi *et al*., 2018). La quitina es el segundo polímero más abundante en la naturaleza (el primero es la celulosa). Se considera un polímero no tóxico y biológicamente compatible. Una de sus principales características es que es insoluble en agua y ciertos disolventes orgánicos. Químicamente tiene cadenas de N-acetilglucosamina unidas con enlaces β-glicosídicos en la posición 1,4. Su forma más estable es la α, aunque tiene otras dos variedades polimórficas (β y γ) (Sotelo-Boyás *et al*., 2015; Piekarska *et al*., 2023).

Los principales parámetros que influyen en las características del QS son el peso molecular, la polidispersión y el grado de acetilación (GA), los cuales dependen de las condiciones de reacción durante su elaboración. El peso molecular del QS afecta significativamente sus propiedades. Este puede clasificarse según su masa molecular en: bajo peso molecular (<100 kDa), peso molecular medio (100 - 1000 kDa) y alto peso molecular (>1000 kDa). La morfología y estructura interna del QS pueden dar lugar a diferentes formas de producto, como microesferas y micropartículas (Lopretti *et al*., 2011; Hellmers, 2013; Ardean *et al*., 2021). En cuanto al GA, se ha observado una mejor respuesta en cuanto la actividad antibacteriana con un GA que exhibe un 7.5% que uno de (15% Ardean *et al*., 2021).

2.4.1. Actividad Antibacteriana del Quitosano

Existen numerosos factores que influyen en la actividad antibacteriana del QS, como el pH, el peso molecular, el grado de desacetilación, la concentración de QS, la temperatura y el tipo de microorganismos. La actividad antibacteriana del QS varía entre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas debido a las diferencias en la estructura de sus membranas celulares. En las bacterias Gram-negativas, el QS interactúa con las estructuras aniónicas en su superficie, como los lipopolisacáridos y las lipoproteínas, afectando su integridad. En contraste, en las bacterias Gram-positivas la estructura de la pared celular incluye una capa gruesa de peptidoglicano y ácido teicoico. La estructura principal del ácido teicoico está altamente cargada negativamente debido a sus grupos fosfato, lo que facilita la formación de interacciones electrostáticas con compuestos antibacterianos catiónicos del QS ($NH3^{+}$) (Li y Zhuang ., 2020; Guarnieri *et al*., 2022). Estas interacciones hacen que las bacterias Gram-positivas sean más vulnerables a los efectos del QS. Además, se ha observado que un mayor grado de desacetilación del QS no solo incrementa su solubilidad en medios ácidos, sino que también potencia su actividad antibacteriana (Li y Zhuang, 2020).

El QS aumenta su efecto inhibitorio en las bacterias a medida que su peso molecular se incrementa, y su eficacia se ve favorecida en condiciones de pH ácido. La literatura documenta que el QS tiene propiedades antibacterianas contra *E. coli*, *S.* Typhimurium *S. aureus* y *L. monocytogenes* , siendo

más efectivo contra bacterias Gram-positivas que contra Gram-negativas (Sotelo-Boyás *et al*., 2015; Li y Zhuang, 2020). En particular, cuando el peso molecular del QS es inferior a 300 kDa, su efecto antibacteriano mejora contra *S. aureus*, pero disminuye frente a *E. coli*. Además, concentraciones de QS superiores a 200 ppm pueden, en algunos casos, promover el crecimiento de *E. coli* (Lizardi-Mendoza *et al*., 2016; Li y Zhuang, 2020). El grado de desacetilación también influye significativamente en la actividad antibacteriana del QS. A medida que aumenta el grado de desacetilación, la carga positiva del QS se intensifica después de la protonación de los grupos amino, potenciando así su efecto antibacteriano. Se ha observado que un grado de desacetilación del 81.56% resulta en una mayor actividad antibacteriana contra *E. coli*, *L. monocytogenes* y *S. aureus* que cuando presenta un grado de desacetilación del 62.71% (Li y Zhuang ., 2020).

2.4.2. Micropartículas de Quitosano

La mayoría de los componentes de los extractos de plantas son volátiles, sensibles a la luz y la temperatura, lo que puede reducir su eficacia. Por otro lado, el QS se ha investigado en forma de micropartículas para encapsulación de extractos de plantas. Esta técnica resulta efectiva para proteger los componentes activos, minimizando el daño causado por la exposición a factores ambientales (Antunes *et al.*, 2021). Se ha reportado que las MPQ tienen la capacidad de actuar como vehículo para encapsular compuestos bioactivos, liberándolas principalmente en el intestino. Esta estrategia puede conferir mayor estabilidad y viabilidad de los compuestos bioactivos (Morales-Olán *et al*., 2021; Siles-Sánchez *et al* ., 2022;). El QS puede ser una opción óptima para la encapsulación del extracto de *Y. baccata*, por su naturaleza biodegradable, su baja toxicidad (Nakorn, 2008; Zhang *et al*., 2018; Handayani, 2018). Son pocos los estudios publicados que reportan el efecto que pueden tener las condiciones de simulación gástrica sobre las propiedades de las MPQ como matriz encapsulante. El cuadro 3, muestra ejemplos de esos reportes.

Cuadro 3. Reporte de Micropartículas de Quitosano Cargadas con Diferentes Matrices Expuestas a Simulación Gastrointestinal

Micropartículas de quitosano	Uso	Liberación	Autores
Cargadas de extracto de oleoresina de jengibre rojo	Suplemento antioxidante	Intestino delgado	Mulia *et al.*, 2019
Alginato y QS encapsulando nanopartículas de proteínas terapéuticas	Micropartículas gastroprotectoras	Intestino delgado y colón	Ling *et al.*, 2019
Cargadas de acetogeninas extraídas de las hojas de *Annona muricata L*	Terapia de contra el cáncer	Intestino delgado y colón	Krisanti *et al.*, 2021

La encapsulación permite atrapar gotitas de líquido o partículas sólidas en matrices de partículas. Su función está diseñada para evitar el deterioro de las propiedades fisicoquímicas del compuesto bioactivo, así como evitar daños no deseados e interacciones prematuras con otros compuestos en el medio circundante (Zhang *et al*., 2018).

2.5. Estructura y Fisiología del Tracto Gastrointestinal

Es importante conocer la fisiología del tubo digestivo humano para comprender el funcionamiento y la eficacia que podrían tener las MPC como agente antimicrobiano en el tracto gastrointestinal. El tubo digestivo está conformado por la boca y faringe, esófago, estómago, intestino delgado, colon, recto y ano. Además, cuentan con órganos accesorios como las glándulas salivales, el páncreas, el hígado y la vesícula biliar (Koeppen y Stanton, 2018; Costanzo, 2018). Su función principal es permitir el paso de nutrientes y agua hacia el torrente sanguíneo (Koeppen y Stanton, 2018).

El proceso de digestión inicia en la boca, donde el alimento ingerido se mezcla con enzimas de saliva para crear el bolo. El bolo alimenticio pasa del esófago al estómago gracias a las contracciones peristálticas (Schulze, 2006; Marieb, 2008). Durante este proceso, los alimentos se descomponen en nutrientes que el organismo utiliza para obtener las funciones vitales de la célula. La velocidad del vaciamiento del estómago cambia según el tipo de alimento, siendo más rápido para los hidratos de carbono y más lento para los lípidos y proteínas. El tiempo de permanencia de

los alimentos, es aproximadamente de 1 a 4 horas, y la velocidad de evacuación y vaciamiento están controlados por los receptores del estómago (Segarra, 2006).

Dentro del proceso digestivo, el hígado y el páncreas secretan enzimas hidrolíticas y sales biliares que ayudan a la descomposición de los nutrientes. Estos órganos son necesarios para la descomposición de los alimentos y la posterior absorción de los nutrientes (Lucas *et al*., 2018).

En la boca, la saliva está compuesta de 98% agua, sustancias inorgánicas y orgánicas. Hay diversos electrolitos como Na^{+}, K^{+}, CL^{-} y HCO^{3-}. Dentro de los compuestos orgánicos está la amilasa (Ptialina) la cual degrada polisacáridos (almidón y glucógeno) y su acción persiste en el estómago hasta que se inactiva por el descenso del pH (Mataix, 2015; Fox, 2014).

En el estómago, las secreciones gástricas tienen componentes inorgánicos, siendo el ácido clorhídrico (HCL) el predominante, junto con los electrolitos diversos como K^{+}, Na^{+}, $Mg^{++,}$ fosfato (PO_4^{3-}) y sulfato ($SO4^{=}$). El HCL desempeña diferentes funciones cruciales: ayuda a activar el pepsinógeno para convertirlo en pepsina (más activa en condiciones ácidas), genera un pH muy ácido (<2), ejerce acción bactericida y contribuye a desnaturalizar las proteínas de los alimentos junto con la pepsina (la pepsina no tiene ningún efecto sobre carbohidratos y grasas). En el estómago existe una capa adherente de moco gástrico que contiene bicarbonato alcalino (HCO3) para proteger el revestimiento del estómago (Mataix, 2015; Fox, 2014).

En el intestino delgado se lleva a cabo la digestión completa de las moléculas de los alimentos. Casi todos los productos de la digestión son absorbidos en el intestino delgado gracias a las microvellosidades que aumentan la superficie de absorción y mejora la digestión. La absorción de carbohidratos, lípidos, aminoácidos, calcio y hierro ocurre en el duodeno y el yeyuno. Las sales biliares, vitamina B_{12}, agua y electrólitos se absorben de manera primaria en el íleon (Fox, 2014).

2.5.1. ¿Qué es la Simulación Gastrointestinal?

El estándar de oro para estudios de digestión simulada es la digestión *in v*itro ya que proporciona una representación más precisa o cercana al proceso digestivo humano (Cheng *et al* ., 2020). Para comprender cómo se comportan las MPC en el tracto gastrointestinal, es necesario contar con una herramienta capaz de imitar el comportamiento fisicoquímico y fisiológico del cuerpo humano

(Bellesi, 2016). Existen diversos modelos de digestión *in vitro* que permiten investigar el comportamiento digestivo de los alimentos o productos farmacéuticos, sin estar sujetos a restricciones éticas como ocurre en los modelos *in vivo* (Brodkorb *et al*., 2019; Li y Kong., 2022;). Estas técnicas son empleadas en diversos campos, como la nutrición, química y farmacología. Los modelos de digestión *in vitro* resultan útiles para predecir algunos resultados de la digestión *in vivo.* (Lucas *et al*., 2018; Brodkorb *et al*., 2019), porque pueden reproducir condiciones controladas, y facilitan el muestreo y su reproducibilidad. No obstante, tiene limitaciones para reproducir ciertos eventos de digestión *in vivo* (Minekus *et al*., 2014).

Los diversos modelos de digestión *in vitro,* dinámicos o estáticos, están diseñados para simular la complejidad del tracto gastrointestinal. Estos modelos suelen incluir la fase oral, gástrica e intestinal, teniendo en cuenta una variedad de factores como la presencia de enzimas digestivas, pH, tiempos de digestión y concentraciones (Brodkorb *et al*., 2019). Los modelos estáticos han sido empleados para investigar aspectos como la digestibilidad y bioaccesibilidad de macronutrientes, micronutrientes, productos farmacéuticos y micotoxinas (Minekus *et al*., 2014).

2.5.2. Uso de Micropartículas para Simular la Liberación de Componentes Activos en el Tracto Gastrointestinal

Las MPQ es una estrategia eficaz como medio para transportar, y estabilizar componentes activos, como el extracto de *Y. baccata*. (Pulido, 2010; Lopretti *et al*., 2011; Vanden, 2016; Guan, 2019). Se han encontrado investigaciones, en donde las propiedades de liberación controlada con MPQ y compuestos activos han mostrado una mejoras en su biodisponibilidad intestinal. Esto puede deberse a que el QS es capaz de interactuar con la mucosa intestinal y puede aumentar la absorción de ciertos nutrientes y fármacos (Guan, 2019). Cuando se utiliza el QS como vehículo de transporte para un componente activo, ya sea en forma de micro o nanopartículas, tiene un impacto significativo en la liberación, interacción y biodisponibilidad del componente, así como en su eficacia y duración (Lopretti *et al*., 2011; Vanden, 2016;). Al replicar estas condiciones en un modelo de simulación gastrointestinal, es posible obtener información más precisa acerca de los efectos que podrían presentarse en la actividad antimicrobiana de los componentes activos de las MPC sobre ciertas bacterias patógenas.

3. HIPÓTESIS

Las micropartículas compuestas de extracto de *Y. baccata* y quitosano, sometidas a pH de simulación gastrointestinal tiene actividad antibacteriana.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Evaluar la actividad antibacteriana de las micropartículas compuestas de extracto de *Y. baccata* y quitosano después de ser sometidas a diferentes pH de una simulación gastrointestinal contra *E. coli*, *S.* Typhimurium, *L. monocytogenes* y *S. aureus.*

4.2. Objetivos Particulares

1. Elaborar y caracterizar fisicoquímicamente las micropartículas compuestas de extracto del tallo de *Y. baccata* y quitosano.
2. Determinar la actividad antibacteriana de las micropartículas compuestas de extracto del tallo de *Y. baccata* y quitosano antes y después de ser sometidas a diferentes pH simulando condiciones gastrointestinales contra *E. coli*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* y *S. aureus.*

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Recolección de Materiales

La planta *Y. baccata* fue recolectada en primavera, a 20 km del municipio de Cananea, Sonora. Se obtuvieron 8 tallos de 70 cm de longitud, cortados en discos de 5 cm. Posteriormente se molió y se almacenó a temperatura ambiente, y en la oscuridad para evitar posible daño en su actividad. El QS tuvo un peso molecular (PM) de 437,500 Da y grado de acetilación (GA) de 20% y fué proporcionado por el laboratorio de biopolímeros de las instalaciones del Centro de Investigación y Desarrollo de Alimentos A.C. (CIAD).

5.2. Obtención de Extracto Butanólico de *Y. baccata*

Para obtener el extracto butanólico de *Y. baccata* (EYB) se pesó en una balanza Ohaus (Scout Pro SP601) 33 g de harina de *Y. baccata* y se mezcló con 1 litro de agua destilada. Esta mezcla se puso en agitación constante durante 24 h. Posteriormente, se centrifugó en un equipo Unico (PowerSpin MX Centrifuge, México) a 1450 g de fuerza centrífuga relativa (RCF), durante 10 min. Para asegurar la pureza de la muestra, se llevó a cabo un proceso de filtrado para remover cualquier residuo no disuelto. Una vez completada la etapa de filtración, la mezcla resultante se combinó con una cantidad igual de butanol (800 mL), y se sometió a agitación durante 24 h. Posteriormente, se dejó reposando dos semanas para la separación de fases. Transcurrido el tiempo, se procedió a decantar la muestra para separar la fase butanólica de la fase acuosa. Luego, se utilizó un rotaevaporador Buchi (B-491, Buchi Laboratories, Suiza) para remover el solvente. La muestra resultante se evaporó a una temperatura de 50 a 60 °C. Posteriormente, se recolectó y se transfirió a una estufa para eliminar cualquier residuo de butanol. Finalmente, la muestra fue congelada y liofilizada, almacenándose a temperatura ambiente (Ponce-Acosta, 2022).

5.2.1. Cuantificación de Saponinas del Tallo de *Y. baccata*

Para la cuantificación de las saponinas en el EYB, se siguió el método colorimétrico descrito por León-Roqué (2019). Las soluciones de trabajo fueron preparadas en 30 mL de etanol y 30 mg de diosgenina. Se mezclaron 50 µL de la muestra con 50 µL de vanilina (8% m/v) y posteriormente se adicionaron 400 µL de ácido sulfúrico (72% m/v). Las muestras fueron incubadas durante 10 min a 60°C, agitadas a 300 rpm, y colocadas en un baño de hielo por 15 min para detener la reacción. La mezcla fue leída a 450 nm (BIO-RAD imark Microplate Reader) usando una curva estándar de diosgenina (93% de pureza) para determinar la concentración de saponinas esteroidales (Figura 1).

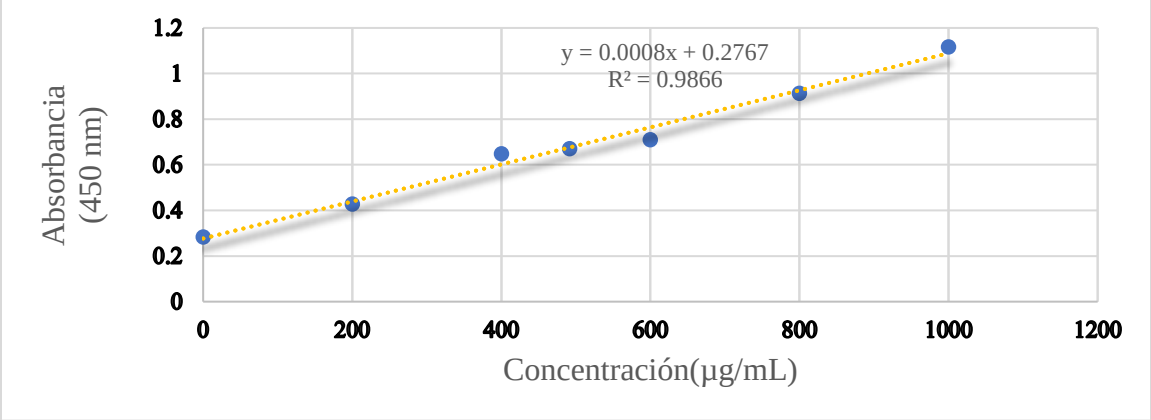


Figura 1. Curva Estándar de Diosgenina para la Cuantificación de Saponinas del Extracto Butanólico del Tallo de *Y. baccata.*

5.3. Elaboración de Micropartículas de Quitosano y Compuestas de *Y. baccata*/Quitosano

Para la elaboración de MPQ y MPC, se emplearon dos soluciones. La primera solución consistió en QS al 2% (m/v) disuelto en 200 ml de ácido acético (0.2 M). La segunda solución se componía de QS al 2% (m/v) disuelta en 100 mL de ácido acético (0.2 M), y 100 mL de extracto del tallo *Y. baccata* al 1.5% (m/v) en agua bidestilada. La preparación de la segunda solución consistió en

calentarla a 50°C por 1 h, y centrifugarla a 6000 rpm durante 15 min. Una vez obtenidas las soluciones, se usó el método de goteo controlado y baño recirculado para la elaboración de las MPQ y MPC. Este método estuvo conformado por una bomba de vacío para producir micropartículas y una bomba de jeringa Razel (R99-EJ, EE.UU.) para la eyección de la solución a10 kPa/cm^2 y controlar el tamaño y forma de las micropartículas. Una vez elaboradas las MPQ y las MPC, se dejaron reposar en una solución de TPP durante 30 min para completar el proceso de gelificación iónica. Después se procedió a recuperarlas mediante múltiples lavados con agua bidestilada, hasta obtener un pH neutro (≈7), y se almacenaron a 4°C en agua destilada hasta su uso (Ponce-Acosta, 2022) .

5.3.1. Caracterización de Micropartículas por FTIR y Microscopia

Para la caracterización de las MPQ y MPC, se emplearon diferentes métodos y equipos. Se utilizó un microscopio óptico de luz invertida AmScope (XSB-1a, China) con un objetivo de 4X, acoplado a una computadora que ejecutó el sotfware toupView 3.7. Este sistema permitió analizar el tamaño y forma de las micropartículas. Asimismo, se utilizó espectroscopía infrarroja transformada de Fourier FTIR Nicolet (iS50 FT-IR Thermo scientific, EE. UU) para detectar la frecuencia de resonancia de las moléculas presentes en las MPC (Acuña-Gallardo., 2019).

5.4. Cuantificación de Saponinas de las MPC y Eficiencia de Asosiación

La cuantificación de saponinas en las MPC se realizó utilizando el método descrito por Baccou y colaboradores (1977). Se prepararon 25 mL de las soluciones de p-anisaldehído al 0.5% (v/v) y ácido sulfúrico al 50% (v/v), ambas aforadas con metanol. Además, se preparó una solución con 4 mg de diosgenina (al 93%) aforada en 10 mL de metanol. Se realizaron diluciones de la solución de diosgenina en tubos de ensayo de 15 mL, a diferentes concentraciones de 25, 50, 100, 200, 300 y 400 µg/mL, las cuales fueron utilizadas para obtener la curva estándar. Se tomó una muestra de

100 µL de cada solución y se añadieron 1 g de MPC. Después se les añadió 1 mL de cada una de las soluciones de p-anisaldehído y ácido sulfúrico y 2 mL de acetato de etilo. Cada ensayo fue realizado por triplicado. Todas las soluciones fueron homogenizadas durante 1 min en vórtex (FOUR E´S Scientific) se realizó un embalaje a la gradilla donde se encontraban los tubos y luego se calentaron a 60°C en baño María por 20 min. Posteriormente, se trasladaron a un baño de hielo durante 10 min para detener la reacción. Las muestras fueron leídas (Thermo scientific Genesys 10 UV) a una longitud de onda de 430 nm. En la figura 2 se muestra la curva estándar de diosgenina para la cuantificación de saponinas en las MPC.

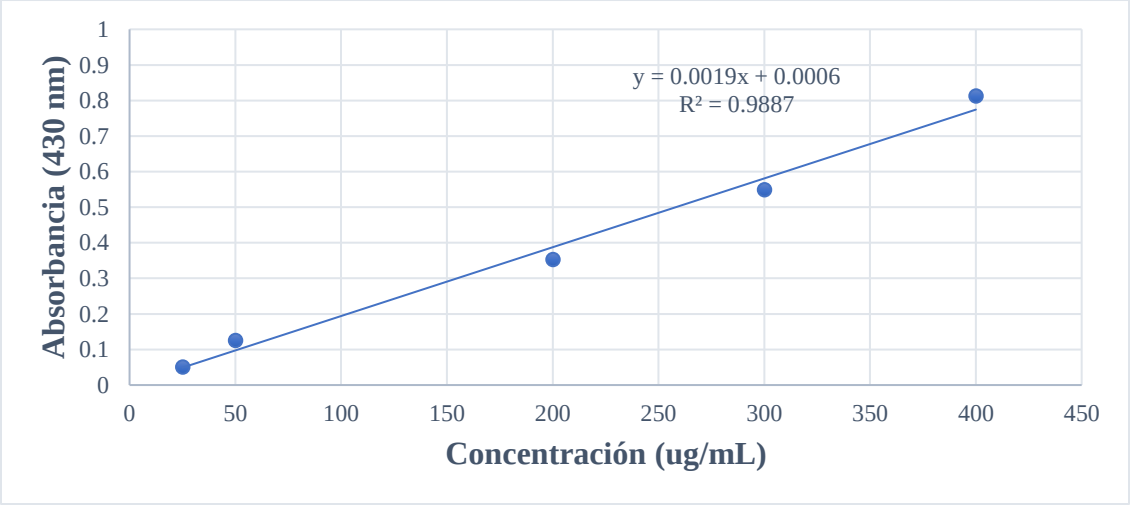


Figura 2. Curva Estándar de Diosgenina para la Cuantificación de Saponinas en las MPC y para la Medición de la Eficiencia de Asociación

La fórmula para la eficiencia de asociación por Kiafar y Colaboradores 2016:

$$\text{Eficiencia de asosiación (EE\%)} = \frac{\text{Total de saponinas} - \text{pérdida de saponinas}}{\text{Total de saponinas}} \text{x } 100$$

5.5. Cultivo de Cepas Bacterianas

Para llevar a cabo el análisis microbiológico, se emplearon las cepas ATCC específicas de las siguientes bacterias: *E. coli* 25922, *L. monocytogenes 19115, S.* Typhimurium 14028 y *S. aureus 6538P,* proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología Molecular del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Durante su reactivación, se tomó el inóculo de cada una de las bacterias colocándose en diferentes tubos (5mL) en caldo Mueller-Hinton (MH), y se incubaron durante 24 h a 37°C. Las concentraciones de cada una de las cepas bacterianas fueron ajustadas a 1.5 x 10^8 UFC/mL en la escala de Mc Farland 0.5 (1,5 x) siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards (CLSI, 2020).

5.5.1. Determinación de Concentración Mínima Inhibitoria y Bactericida

La determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) del EYB, MPQ, y MPC, se llevó a cabo mediante el método de microdilución en caldo. Se emplearon distintas concentraciones para el EYB (60, 80, 90, 120 y 140 mg/mL) y para MPQ y las MPC (0.2, 0.3, 0.4, 0.5. 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 g/mL) incubándose a 37°C durante 24 h. En cada prueba se incluyó como control positivo kanamicina (1 mg/mL), y como control negativo el caldo inoculado con su respectiva cepa bacteriana. Los tratamientos fueron EYB, MPQ y las MPC contra cada cepa bacteriana respectiva. Igualmente, el caldo MH fue usado como control de no contaminación. Se tomaron 20 µL de cada muestra y se sembró en agar MH (cada prueba fue realizada por triplicado). Se consideró como CMI a la concentración más baja la cual empezó a inhibir parcialmente el crecimiento bacteriano, y la CMB a la concentración que se observó que inhibió el inóculo bacteriano inicial (Ramírez y Castaño, 2009).

5.6. Exposición a Diferentes pH por Simulación Gástrica

Las micropartículas fueron expuestas a cambios de pH por simulación gástrica lo cual incluyó la fases gástrica e intestinal del proceso digestivo. Se evaluaron los tres tratamientos por MPC, MPQ y EYB en agua destilada. Cada una de las cepas bacterianas fue usada como control negativo *E. coli*, *S.* Typhimurium, *L. monocytogenes* y *S. aureus* (cada cepa ajustada según la escala McFarland). Como control positivo, se empleó kanamicina a una concentración de 1 mg/mL, ajustada a diferentes pH mediante un potenciómetro (Denver Instrument UB-10, EE.UU). Cada tratamiento fue probado de manera independiente. En la fase gástrica, el tratamiento y control fueron expuestos a pH 3.0 (ajustado con HCL al 1 M) , a temperatura de 37°C, y agitación constante durante 2 horas. Posteriormente, en la fase intestinal, el pH fue ajustado (potenciometro Denver Instrument ub-10 EE.UU).a 7.0 ($NaHCO_3$ 1M) y se procedió a añadir la bacteria correspondiente y se mantuvo en agitación durante 2 horas (Salazar-López *et al* ., 2018). Durante la fase intestinal se recolectaron muestras de 100 µL cada 30 min hasta completar las 2 horas. Cada muestra se diluyó hasta obtener una concentración de 1×10^4 y 1×10^5 células bacterianas y se sembraron en Agar Mueller Hinton para realizar un conteo de colonias a las 18 horas (American Society for Microbiology, 2016).

5.7. Análisis Estadístico

Se utilizó estadística descriptiva para calcular la media y la desviación estándar de las características de las MPQ y MPC. Se realizó un ANOVA y pruebas post hoc (Tukey-Kramer) para comparar entre tratamientos sometidos previamente a distintos pHs simulando condiciones gastrointestinales contra el control positivo. Los datos fueron tratados con logaritmo inverso y analizados en el programa Prism versión 2024, con un nivel de significancia a $p < 0.05$.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Rendimiento de Extracción y Cuantificación de Saponinas

Los resultados obtenidos revelaron un rendimiento de 2.42% de extracto butanólico de *Y. baccata* y un contenido total de 24.58% de saponinas. En otros estudios en los que se ha empleado la misma especie de planta y el mismo solvente se ha reportado un rendimiento de 3.84% y un contenido total de saponinas de 24.22% (Ponce-Acosta, 2022; Morales-Figueroa *et al*., 2022). Según Malpica-Acosta (2024) los métodos de extracción de fitoquímicos convencionales presentan bajo rendimiento y largos tiempos en el proceso de obtención, lo cual se refleja en los resultados obtenidos que se han reportado con el extracto butanólico de *Yucca baccata* (EYB).

6.2. Morfología y Descripción del Tamaño de las Micropartículas

En la Figura 3 se observa a las MPQ y MPC, las cuales presentan una morfología esférica (70%) y semiesférica (30%). Las irregularidades de forma y tamaño podrían atribuirse al método de elaboración de micropartículas, el tiempo de gelificación, la concentración del agente reticulante y la relación molar entre agente encapsulante y compuesto encapsulado (Xool-Herrera, 2023; Samrot *et al*., 2016).

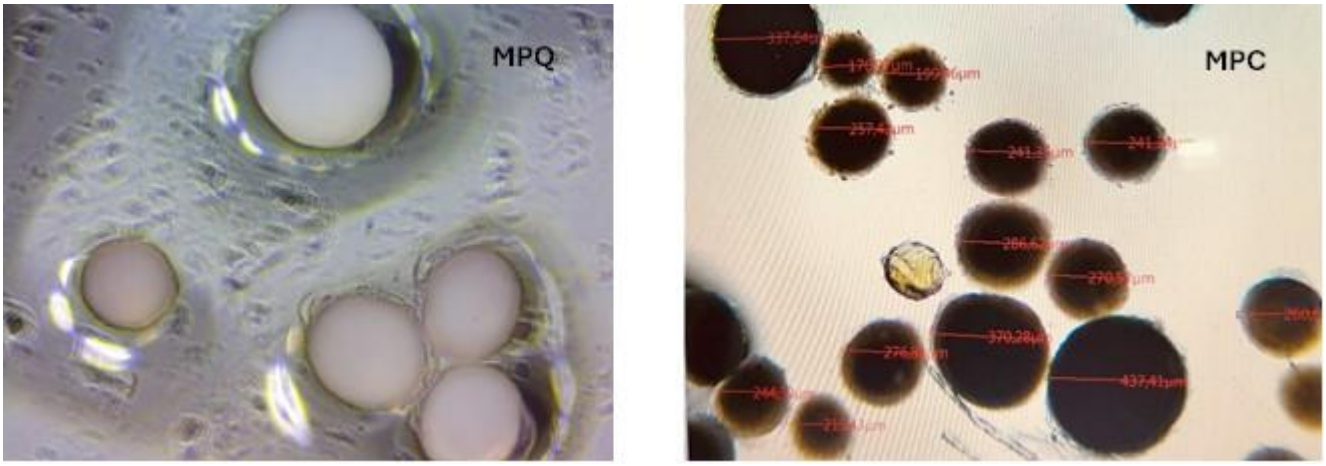


Figura 3. Micropartículas de Quitosano (MPQ) y Micropartículas de Compuestas de Extracto de *Yucca baccata*/Quitosano (MPC) Mediante Microscopía con Objetivo 4X

Las MPQ presentaron un diámetro promedio de 388.5 ± 100.7 (μm), mientras que para las MPC fue de 285.5 ± 70.9 (μm) ($p<0.001$). En la Figura 4, se muestra un histograma de frecuencia con la distribución del tamaño del diámetro de las MPQ y las MPC. Se observó que la mayoría de las MPQ presentan un diámetro de 400 a 499 μm (37.2%) y las MPC un diámetro de 200 a 299 μm (64.22%). Las características de las MPQ obtenidas en este estudio (388.5 ± 100.7 μm) fueron muy similares a las reportadas por Ponce-Acosta y Acuña Gallardo (265.5 ± 96.3 μm y 453.7 ± 150.4 μm) mientras que el promedio de las MPC (285.5 ± 70.9 μm) fue menor a las reportadas por Ponce-Acosta y Acuña Gallardo (453.7 ± 150.7 μm y 408.8 ± 156.3 μm) (Ponce-Acosta., 2022; Acuña-Gallardo., 2019) quienes usaron la misma especie de planta. Esta diferencia de tamaños podría ser atribuida a las técnicas empleadas, y a las condiciones utilizadas (diseño del sistema, velocidad de agitación, viscosidad del QS, concentración del polímero, concentración del extracto), en la producción de las micropartículas (Elsayed., 2020).

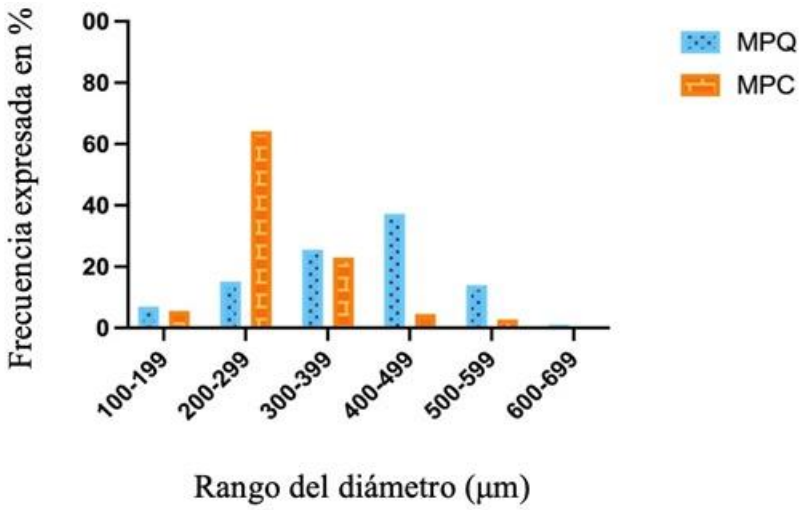
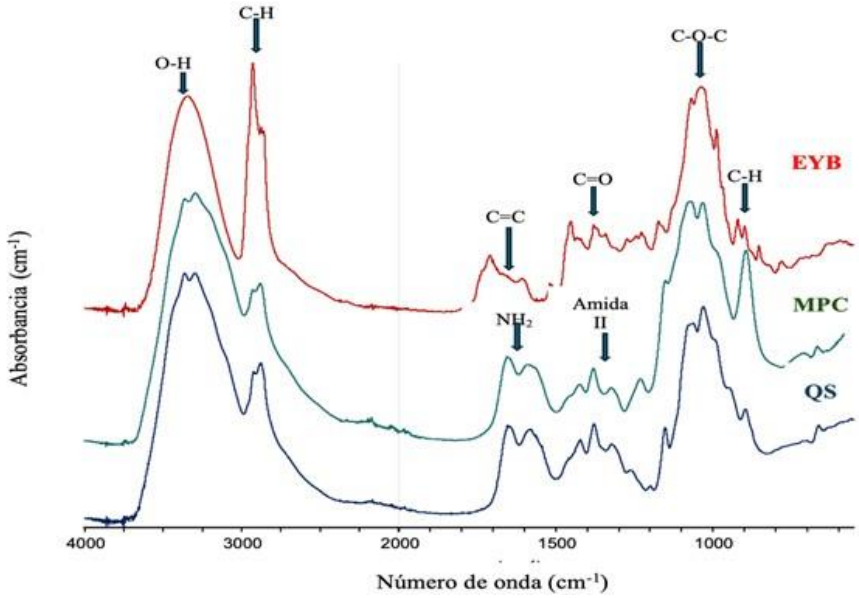


Figura 4. Distribución del Diámetro de Micropartículas de Quitosano y Micropartículas Compuestas de Extracto de *Yucca baccata*/Quitosano.
MPQ: micropartículas de quitosano; MPC: micropartículas compuestas de extracto de *Yucca baccata*/quitosano.

6.3. Análisis por Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR)

Se utilizó una técnica de reflectancia total atenuada (ATR) para obtener los espectros FTIR de los EYB, MPQ y MPC (Figura 5). El espectro de EYB tiene una banda de absorción amplia centrada en 3400 cm^{-1}, que se asignó a la vibración de estiramiento de los grupos -OH. Además, las bandas centradas en 2916 cm^{-1}, 1750 cm^{-1}, 1650 cm^{-1} y 1040 cm^{-1} se asignaron a los grupos -CH2-, C=O, -C=C- y -CO-, respectivamente (Sahoo *et al*., 2011). Los espectros QS también mostraron la banda de absorción de –OH (~3300 cm^{-1}), junto con bandas relacionadas con las vibraciones de enlace de los grupos acetoamida (1650 cm^{-1}) y amida (1580 y 1318 cm^{-1}), la banda de flexión de CH_2 a 1425 cm^{-1}, la deformación por vibración simétrica de -CH_3 a 1380 cm^{-1}; y la "zona de huella digital" (1100-1000 cm-1) característica de los carbohidratos. Las MPC fueron comparables a los del espectro MPQ, con un par de bandas (a 900 y 1215 cm^{-1}) asociadas con vibraciones de enlace del TPP (Silvestro *et al*., 2020). El espectro de MPC no mostró modificación de bandas, lo que indicó la ausencia de cambios químicos durante la formación de partículas (Sahoo *et al*., 2011).



EYB:extracto butanólico de *Y. baccata*; MPQ: micropartículas de quitosano; MPC: micropartículas compuestas.

Figura 5. FTIR de EYB, MPQ y MPC

6.4. Cuantificación de Saponinas de las MPC y Eficiencia de Asociación

La solución utilizada para la elaboración de las MPC contenía solo un 0.75% de EYB y 1% QS. Es importante señalar que el extracto libre contenía 24% de saponinas totales. Sin embargo, se encontró que 100 g de MPC contenían solo 0.04% de saponinas totales. Esto reflejó una baja significativa en el contenido de saponinas tras el proceso de encapsulación, por lo que la eficiencia de asociación estimada entre EYB y QS en las MPC fue del 22.73%. Wang y colaboradores (2024) elaboraron microcápsulas de QS con extracto de *Ambrosia artemisiifolia* y reportaron una buena eficiencia de encapsulación del 88,48%. Estudios previos, Acuña-Gallardo (2019) y Ponce-Acosta (2022) también reportaron una buena eficiencia de asociación del 83.37% y 86.70%, respectivamente. Estos dos últimos estudios observaron que el baño de gelificación había adquirido una coloración ligeramente café. Este fenómeno también se presentó en este trabajo, lo que sugirió que una parte del extracto se había perdido (≈ 77.27%) del total del extracto en la solución reticulante durante el proceso de gelificación. La baja eficiencia de asociación reportada en este estudio, podría ser atribuida a las bajas concentraciones de EYB (0.75%) y de QS (1%) contenidos en las MPC, y a la presencia de otros factores como la concentración del agente reticulante (TPP

2%) y el tiempo de gelificación (30 min). Ko y colaboradores (2002), Elsayed (2020) y Molares y colaboradores (2021) , reportaron que entre los factores que pueden influenciar la eficiencia de asociación durante un proceso de encapsulación se incluyen la matriz de QS (el peso del polímero y grado de acetilación), la concentración del material encapsulado (EYB), la concentración de la solución del agente reticulante, afinidad del extracto y el polímero, la velocidad en el proceso de fabricación, y el tiempo de gelificación.

6.5. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Mínima Bactericida (CMB)

Los resultados del ensayo antibacteriano se muestran en el Cuadro 4. Cada una de las bacterias presentaron comportamientos diferentes o similares al exponerlos contra los tratamientos de EYB, MPQ y MPC. La bacteria que mostró mayor resistencia a EYB fue *E. coli* con una CMI de 120 mg/mL, mientras que las de mayor sensibilidad fueron *S.* Typhimurium, *S. aureus y L. monocytogenes*, con CMI's de 60 mg/mL, 60 mg/mL y 60 mg/mL, respectivamente. S. Typhimurium mostró menor sensibilidad a las MPQ y *L.monocytogenes y S. aureus* a las MPC.

Cuadro 4. Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida de EYB, MPQ y MPC Contra las Bacterias Patógenas Analizadas en este Estudio.

Bacteria	CMI (mg/mL)			CMB (mg/mL)		
	EYB	MPQ	MPC	EYB	MPQ	MPC
S. Typhimurium ATCC 14028	60	700	200	80	NE	300
E. coli ATCC 25922	120	600	200	140	700	500
S. aureus ATCC 25923	60	400	700	80	700	700
L. monocytogenes ATCC 7644	60	600	700	100	NE	800

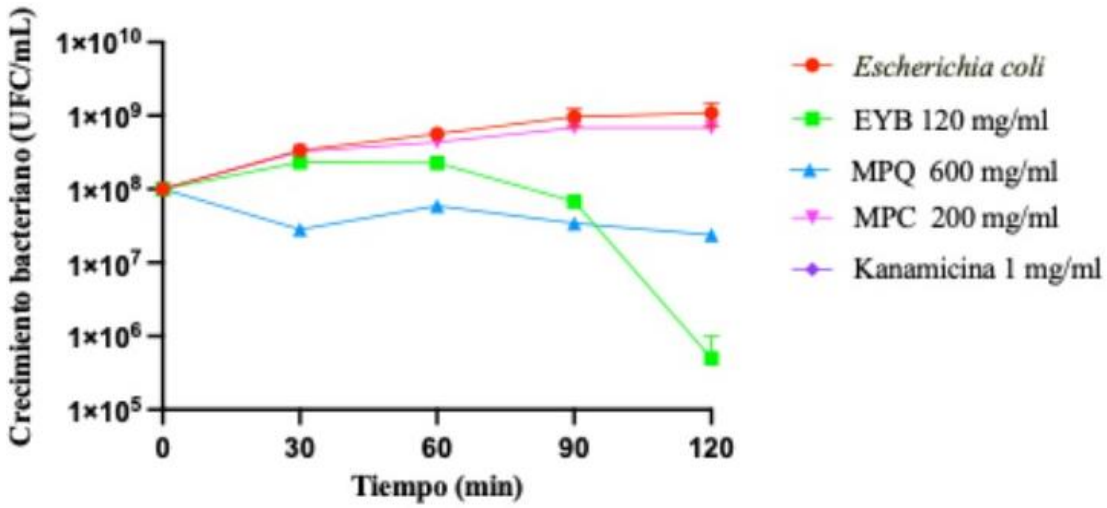
EYB: extracto butanólico de *Y. baccata*; MPQ: micropartículas de quitosano; MPC: micropartículas compuestas; CMI: concentración mínima inhibitoria; CMB: concentración mínima bactericida; ATCC: American Type Culture Collection; NE: no encontrado.

Morales-Figueroa y colaboradores (2018) evaluaron las propiedad antibacteriana del extracto butanólico de *Yucca baccata (*EYB). Ellos reportaron valores de CMI y CMB de 80 mg/mL y 100

mg/mL para *S. aureus*, y de 100 mg/mL y 120 mg/mL para *E. coli* ATCC 25922, respectivamente. En comparación, en este estudio los valores de CMI y CMB para *S. aureus* tendieron a ser menores, pero se observó lo contrario para *E. coli*. Por otra parte, Ponce-Acosta (2022) reportó que las CMI y CMB de MPQ de peso molecular de 290,000 Da y un grado de acetilación del 25% fueron de 200 mg/mL y 400 mg/mL para *S.* Typhimurium ATCC 14028, de 300 mg/mL y 400 mg/mL para *E. coli* O157:H7, de 300 mg/mL y 500 mg/mL para *S. aureus* (ATCC 25923) y de 500 mg/mL y 600 mg/mL para *L. monocytogenes* (ATCC 7644), respectivamente. En comparación, en este estudio las CMI y CMB para *S.* Typhimurium, *E. coli*, *S. aureus*, y *L. monocytogenes* tendieron a ser mayores que los reportados por Ponce-Acosta (2022), e incluso no se obtuvieron valores de CMB para *S.* Typhimurium y *L. monocytogenes.* Esto quizá pueda estar relacionado con el peso molecular y grado de acetilación (GA) del QS usado para elaborarlas, el cual fue de 437,500 Da y GA de 20%. Ponce-Acosta también reportó que las CMI y CMB de MPC de la misma especie de planta fueron de 200 mg/mL y 300 mg/mL, para *S.* Typhimurium (ATCC 14028), de 300 mg/mL y 400 mg/mL para *E. coli* O157:H7 , de 300 mg/mL y 400 mg/mL para *S. aureus* (ATCC 25923), y de 400 mg/mL y 500 mg/mL para *L. monocytogenes* ATCC 7644, respectivamente. En este estudio se obtuvieron los mismos valores de CMI y CMB de MPC para *S.* Typhimurium, pero un valor más bajo de CMI (200 mg/mL) y más alto de CMB (500 mg/mL) para *E. coli*. Sin embargo, estos valores tendieron a ser más altos (CMIs de 700 mg/mL y 700 mg/mL; y CMBs de 700 mg/mL y 800 mg/mL) y para *S. aureus* y *L. monocytogenes*. Estas diferencias en las actividades podrían ser el resultado del método usado para elaborar micropartículas, a las concentraciones de QS y EYB presentes en las MPC, eficiencia de encapsulación, el tamaño y conformación de las micropartículas, la concentración de la solución de QS y extracto, el peso molecular, sensibilidad de la bacteria, el pH del medio (Ardean *et al*., 2021).

6.6. Exposición Bacteriana a Tratamientos Sometidos a Diferentes pH de Simulación Gastrointestinal

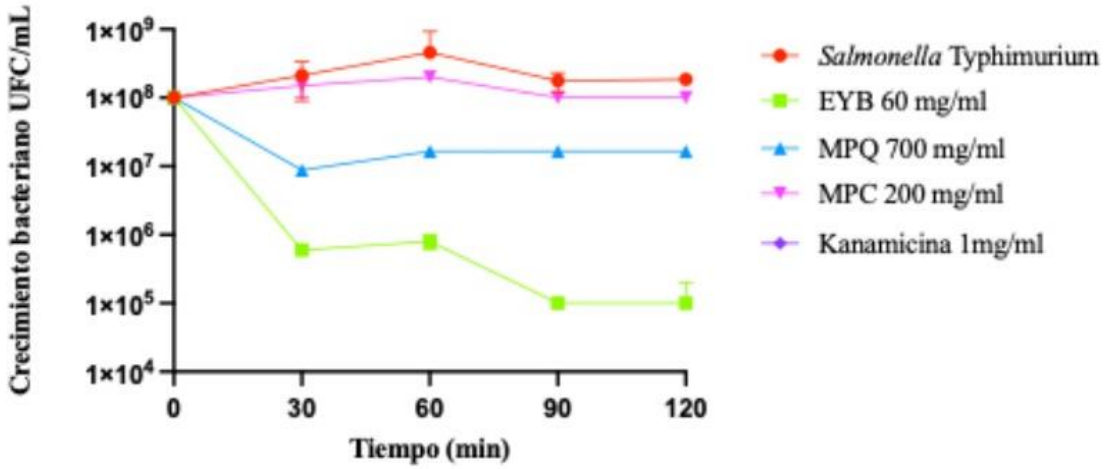
En las figuras 6, 7, 8 y 9 se muestran los resultados del crecimiento bacteriano de cada cepa que fue expuesta a los tratamientos por EYB, MPQ y MPC sometidos a distintos pH simulando a aquellos del tracto gastrointestinal.



UFC: Unidades Formadoras de Colonias
EYB: Extracto butanólico de *Yucca baccata*
MPQ: Micropartículas de quitosano
MPC: Micropartículas compuestas

Figura 6. Comportamiento del Crecimiento de *E coli* Expuesta a Diferentes Tratamientos Sometidos Previamente a Cambios de pH Simulando las Condiciones Gastrointestinal (3.0 y 7.0).

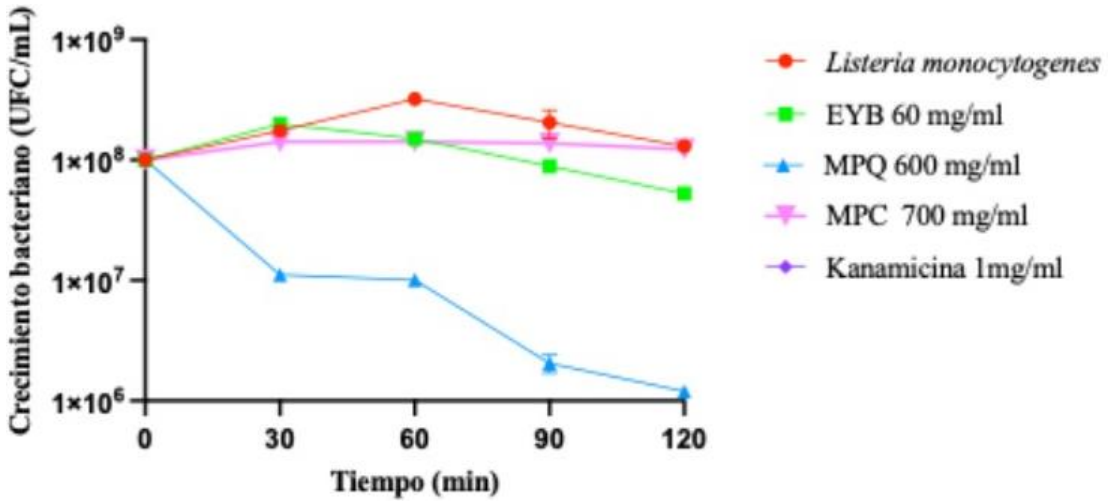
En la Figura 6, se observó una reducción significativa ($p < 0.05$) en el crecimiento de la bacteria Gram-negativa *E. coli* frente a EYB a partir de los 30 minutos. Por otra parte, el crecimiento de esta bacteria también se redujo desde el momento de exponerse a MPQ, mostrando una tendencia de disminución gradual con el tiempo lo que reflejó una lenta actividad de esta micropartícula en comparación con EYB. En contraste, MPC parece no presentar actividad antibacteriana debido a que la bacteria siempre presentó una tendencia gradual de crecimiento.



UFC: Unidades Formadoras de Colonias
EYB: Extracto butanólico de *Yucca baccata*
MPQ: Micropartículas de quitosano
MPC: Micropartículas compuestas

Figura 7. Comportamiento del Crecimiento de la Bacteria *S.* Typhimurium Expuesta a Diferentes Tratamientos Sometidos Previamente a Cambios de pH Simulando las Condiciones Gastrointestinal (3.0 y 7.0).

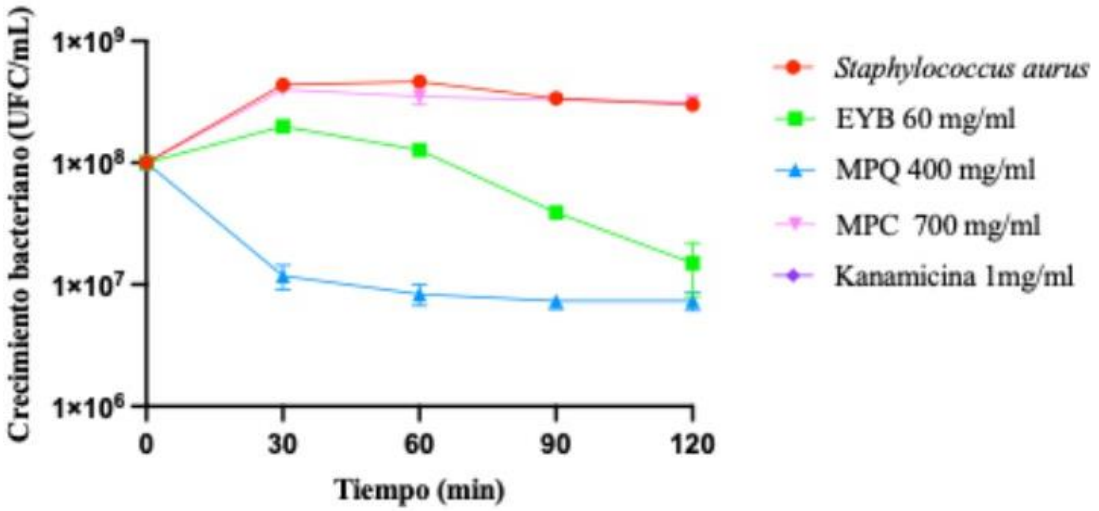
En la Figura 7, se observó como EYB reduce significativamente ($p < 0.05$) el crecimiento de la bacteria Gram-negativa *S.* Typhimurium a través del tiempo, desde el momento de exposición. MPQ también redujo el crecimiento de la bacteria al tiempo de exposición, pero a partir del minuto 30 se observó una reducción gradual y constante y pareció tener una actividad más lenta que la de EYB. Sin embargo, el tratamiento con MPC no mostró actividad antibacteriana.



UFC: Unidades Formadoras de Colonias
EYB: Extracto butanólico de *Yucca baccata*
MPQ: Micropartículas de quitosano
MPC: Micropartículas compuestas

Figura 8. Comportamiento del Crecimiento de *L. monocytogenes* Expuesta a Diferentes Tratamientos Sometidos Previamente a Cambios de pH Simulando las Condiciones Gastrointestinal (3.0 y 7.0).

En la Figura 8, se observa como MPQ reduce significativamente ($P < 0.05$) el crecimiento de la bacteria Gram-negativa *L. monocytogenes* desde el tiempo de exposición. Por otro lado, y desde un inicio EYB presentó una actividad aparentemente más lenta que MPQ, aunque redujo significativamente el crecimiento bacteriano a partir del minuto 30 ($P < 0.05$), el cuál continuó disminuyendo de manera gradual y constante a través del tiempo. Finalmente, las MPC parecen haber perdido actividad antibacteriana.



UFC: Unidades Formadoras de Colonias
EYB: Extracto butanólico de *Yucca baccata*
MPQ: Micropartículas de quitosano
MPC: Micropartículas compuestas

Figura 9. Comportamiento del Crecimiento de *S. aureus* Expuesta a Diferentes Tratamientos Sometidos Previamente a Cambios de pH Simulando las Condiciones Gastrointestinal (3.0 y 7.0).

En la Figura 9 se observa como MPQ reduce significativamente ($P < 0.05$) el crecimiento de la bacteria Gram-positiva *S. aureus* desde el momento de exposición. También EYB redujo el crecimiento de la bacteria a partir del minuto 30, la cual siguió reduciéndose considerablemente a través del tiempo, aunque su actividad al inicio fue aparentemente más lenta que la de MPQ. Igual que en el resto de las bacterias, las MPC no tuvieron actividad antibacteriana.

Morales-Figueroa y colaboradores (2022), reportaron la buena actividad de EYB contra bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) y Gram-negativas (*E. coli*, *Pseudomona aeruginosa*, y *S. typhi*), aunque al final los autores concluyeron que las bacterias Gram-positivas fueron más sensibles a EYB. Durante este ensayo, EYB presentó actividad similar con ambos tipos de bacterias. Las bacterias Gram-positivas tienen una pared celular externa rica en peptidoglicano, mientras que las bacterias Gram-negativas tienen una capa externa en su pared celular pobre en peptidoglicano, pero con predominio de lipopolisacáridos y lipoproteínas (Bailey., 2024). Se ha planteado la hipótesis de que estas variaciones pueden explicar las diferentes sensibilidades entre las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas a diversos extractos de plantas. Se ha propuesto que las saponinas pudieran formar complejos de colesterol-saponina produciendo lisis celular (Baumann *et al*., 2000). Sin embargo, el mecanismo de inhibición celular por las saponinas sigue

sin aclararse.

Con respecto a la actividad de MPQ, Ardean y colaboradores (2021) reportaron que el pH del medio circundante es un factor que afecta la actividad antibacteriana del QS. Si el pH está por debajo de pKa (constante de disociación ácida) el QS tiende a tener mayor efecto antibacteriano, debido a que las moléculas de QS se protonan. Por lo tanto, el pH 3.0 incrementa las cargas positivas (NH_3^+) en las MPQ. Se ha determinado que las membranas externas de las Gram-negativas contienen predominantemente lipopolisacáridos (LPS) la cual es una molécula cargada negativamente. La carga positiva del grupo amino protonado del QS interactúa con las moléculas de carga negativa en la superficie de las células bacterianas aumentando su permeabilidad, y la filtración de componentes celulares, conduciendo a su muerte. Esto explicaría el por qué el QS podría tener mayor actividad antimicrobiana sobre las bacterias Gram-negativas (Aldapa-Vega *et al*., 2016; Li y Zhuang., 2020). Sin embargo, cuando el QS se expuso a un pH de 7.0, este tiende a desprotonarse (NH_2), pero, aun así, en nuestro ensayo se observa que QS mantiene su actividad antibacteriana. Por otro lado, y de acuerdo a las gráficas, se observó que las bacterias Gram-positivas (*S. aureus* y *L. monocytogenes*) presentaron aparentemente mayor sensibilidad a MPQ que las bacterias Gram-negativas (*E. coli* y *S.* Typhimurium). Hallazgos similares fueron reportados por Fernandez-Saiz *et al*., (2009), que reportaron una CMI de 40 mg/mL de película de QS contra la bacteria Gram-positiva *S. aureus*, pero no encontraron una CMI para la bacteria Gram-negativa *Salmonella* sp. usando inóculos de 1×10^5 UFC/mL. Los autores concluyeron que la pared celular de las bacterias Gram-positivas está compuesta no sólo por una capa gruesa de peptidoglicano, sino además del polímero ácido teicoico cuya cadena principal contiene una alta concentración de fosfatos cargados negativamente que interactúan electrostáticamente con compuestos antibacterianos catiónicos como QS, lo que lleva a que las bacterias Gram-positivas sean más permeables y sensibles que las bacterias Gram-negativas (Li *et al*., 2020; Fernández-Saiz *et al*., 2009)

Por otro lado, MPC no presentó actividad antimicrobiana. Se reconoce que las condiciones estructurales del QS, su peso molecular, grado de desacetilación, fuente original, la forma derivada, y la concentración de la matriz encapsulante de QS (1%) y el compuesto encapsulado de EYB (0.75%) influyen significativamente en su actividad antimicrobiana (Yu *et al*., 2015)

Con respecto a esta última característica, Tantala y colaboradores (2022) y Morales-Figueroa y colaboradores (2022) reportaron que la concentración de QS o EYB es un factor determinante en

las actividades antimicrobianas de ambos. Cuando el QS tiene una concentración más alta, hay más moléculas de QS disponibles que interaccionan con las células microbianas (Alqahtani *et al*., 2020) Liu y colaboradores (2006) reportaron que diferentes variedades de QS con diferentes pesos moleculares reducían significativamente el crecimiento de *E. coli* a valores superiores de 200 ppm, pero este efecto se atenuaba a concentraciones menores de 200 ppm. Los autores concluyeron que el QS a altas concentraciones podía aglutinar y matar bacterias, pero a bajas concentraciones se observaba todo lo contrario. Igualmente, Osorno-Sánchez *et al*., (2024) observaban que mientras mayores eran las concentraciones de extractos etanólicos de *Artemisa ludoviciana, Brickellia veronicifolia*, *Hesperozygis marifolia*, *Poliomintha longiflora* y *Schinus molle* (3200, 1600, 800, 400, 200, y 100µg/mL menores eran los rangos de inhibición (9.0-26.0 mm) de crecimiento de *Vibrio cholerae.* También, Quiroz-Lobo *et al*., 2021 reportaron mayor actividad antifúngica del extracto metanólico del organismo marino *Holothuria prínceps* a mayores concentraciones (25-2,250 ppm) contra la cepa de referencia de *Candida albicans* y los aislados clínicos de *Candida albicans* (muestra de sangre) y *Candida krusei* (muestra de catéter). Sin embargo, es importante señalar que la concentración de cualquier extracto, incluyendo la de QS pueden provocar citotoxicidad en las células hospederas, por lo que la determinación de una concentración óptima es crucial para alcanzar no solo la máxima actividad antimicrobiana esperada sino también garantizar la seguridad en la célula hospedera (Alqahtani *et al*., 2020)

7. CONCLUSIÓN

Se obtuvo un rendimiento de EYB del 2.42% y un contenido total de saponinas del 24.58%. Las MPQ y MPC exhibieron morfología esférica (70%) y semiesférica (30%), con diámetros promedio de 388.5 ± 100.7 μm y 285.5 ± 70.9 μm, respectivamente. El contenido total de saponinas en 100g de MPC fue de 0.04%, lo que refleja una disminución significativa en su concentración en comparación con el extracto libre (EYB) (24%). La eficiencia de asociación entre el EYB y QS MPC fué del 22.73%. *S.* Typhimurium y *S. aureus* fueron las bacterias más sensibles a EYB mientras que *E. coli* mostraba mayor resistencia. Igualmente, *S.* Typhimurium y *E. coli* mostraron menor sensibilidad a las partículas de MPQ, y *S. aureus y L. monocytogenes* a las MPC. Sin embargo, *S.* Typhimurium y *E. coli* fueron más sensibles a las MPC. EYB presentó mayor actividad que MPQ y MPC. Después de que los tratamientos fueron sometidos a diferentes pH simulando condiciones gastrointestinales, EYB y MPQ, mostraron buena actividad antibacteriana en general independiente del tipo de cepa bacteriana probada, mientras que las MPC no mostraron actividad. Estos resultados sugieren que EYB y MPQ tienen un efecto prometedor como agentes antibacterianos, con potencial aplicación en la práctica clínica. Sin embargo, la combinación quitosano-EYB mostró baja actividad antibacterial antes y después de haber sido sometida a diferentes pHs simulando condiciones gastrointestinales.

8. RECOMENDACIONES

Es fundamental llevar a cabo investigaciones adicionales, donde los tratamientos no solo sean sometidos a variaciones de pH que simulen las condiciones gastrointestinales, sino que también se incluyan el tiempo de exposición y adición de enzimas gastrointestinales para comprender mejor su actividad antimicrobiana en condiciones biólogicas. También es recomendable optimizar las condiciones de elaboración de las MPC y encapsulación del EYB, evaluando diferentes variables como concentración y velocidad del proceso. Debido a que las MPC no mostraron actividad antibacteriana comparable a las de MPQ y EYB después de ser sometidas a diferentes pH simulando condiciones gastrointestinales, es necesario explorar el uso de otros biopolímeros naturales (carragenina, alginato), que puedan potenciar la actividad de EYB.

9. REFERENCIAS

Abdul Qadir M., Shahzadi S.K., Bashir A., Munir A., Shahzad S. 2017. Evaluation of Phenolic Compounds and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Some Common Herbs. International Journal of Analytical Chemistry. 2017 (3475738): 1-6.

Abubakar A. y Haque M. 2020. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. 12(1):1-10.

Acuña-Gallardo, C. 2019. Efecto de las micropartículas compuestas por quitosano y extracto con saponinas de *Y. baccata* para su potencial uso en la reducción de la carga bacteriana del agua (Tesis de maestría). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Sonora, México.

Aldapa-Vega G., Pastelín-Palacios R., Isibasi A., Moreno-Eutimio M.A., López-Macías C. 2016. Modulación de la respuesta inmune por los lipopolisacáridos bacterianos. Rev. Alergia Mex. 63(3):293–302.

Alqahtani F, Aleanizy F, El Tahir E, Alhabib H, Alsaif R, Shazly G, AlQahtani H, Alsarra I, Mahdavi J. 2020. Antibacterial Activity of Chitosan Nanoparticles Against Pathogenic *N. gonorrhoea*. Int J Nanomedicine.15:7877-7887.

American Society for Microbiology. (2016). *Serial dilution protocols*. Washington, DC: American Society for Microbiology. Recuperado de https://asm.org/protocols/serial-dilution-protocols

Antimicrobial Resistance Collaborators. 2022. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. Lancet. 399(10325):629–655.

Antunes J., Gonçalves R., & Barbosa M. 2016. Chitosan/poly (γ-glutamic acid) polyelectrolyte complexes: From self-assembly to application in biomolecules delivery and regenerative medicine. *Research and Reviews in Materials Science* 4.

Antunes J.C., Domingues J.M., Miranda C.S., Silva A.F.G., Homem N.C., Amorim M.T.P., y Felgueiras H.P. 2021. Bioactivity of Chitosan-Based Particles Loaded with Plant-Derived Extracts for Biomedical Applications: Emphasis on Antimicrobial Fiber-Based Systems. Marine Drugs 19(7):359.

Ardean C., Davidescu C.M., Nemeş N.S., Negrea A., Ciopec M., Duteanu N., Negrea P., Duda-Seiman D., Musta V. 2021. Factors Influencing the Antibacterial Activity of Chitosan and Chitosan Modified by Functionalization. Int J Mol Sci 22(14):7449

Baccou J.C., Lambert F. y Sauvaire Y. 1997. Spectrophotometric method for the determination of total steroidal sapogenin. Analyst. 102 (1215): 458-465.

Bailey, R. (2024). Gram-Positive vs. Gram-Negative Bacteria: The Difference Between Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria*. ThoughtCo. New York, EU: Dotdash Meredith. Recuperado de https://www.thoughtco.com/gram-positive-gram-negative-bacteria-4174239

Baumann E., Stoya G., Völkner A., Richter W., Lemke C. y Linss W. 2000. Hemolysis of human erythrocytes with saponin affects the membrane structure. Acta Histochemica. 102(1):21–35.

Bellesi F.A. 2016. Comportamiento de interfases y emulsiones submicrónicas estabilizadas por biopolímeros en simulaciones de procesos de digestión gastroduodenal in vitro (Tesis doctoral). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Benito P., Ligorio D., Bellón J., Yenush L., y Mulet J. 2023. Use of *Yucca* (*Yucca schidigera*) Extracts as Biostimulants to Promote Germination and Early Vigor and as Natural Fungicides. *Plants* 12(2):274.

Brodkorb A., Egger L., Alminger M., *et al*. 2019. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols* 14:991–1014.

Burd E.M., y Hinrichs B.H. 2016. *Molecular Pathology in Clinical Practice*. Springer. 2ª ed. New York. 989 pp.

Cheng L., Wenwen Y., Peng W., y Xiao D.C. 2020. Current *in vitro* digestion systems for understanding food digestion in human upper gastrointestinal tract. *Trends in Food Science & Technology* 96:114-126.

Cheung Y.C.G., Bae J.S., y Otto M. 2021. Patogenicidad y virulencia de *Staphylococcus aureus*. *Virulencia* 12(1):547-569.

Clark J., y Coville F. 1893. *Botany of the Death Valley Expedition: Report on the Botany of the Expedition Sent Out in 1891 by the U.S. Department of Agriculture to Make a Biological Survey of the Region of Death Valley, California*. U.S. Government Printing Office. Washington, D.C. 388 pp.

CLSI. 2020. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (30th ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA. 294 pp

Costanzo L. 2018. *Fisiología*. Elsevier Health Sciences. España. 624 pp.

Di Martino P. 2022. Agentes antimicrobianos y ecología microbiana. AIMS Microbiol. 8(1):1-4.

Elsayed M.M.A. 2020. Controlled release alginate-chitosan microspheres of tolmetin sodium prepared by internal gelation technique and characterized by response surface modeling. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 56:1-13

Fernandez-Saiz P., Lagaron J.M. y Ocio M. 2009. Optimization of the biocide properties of chitosan for its application in the design of active films of interest in the food area. Food Hydrocolloids. 23(3):913–921.

Fox S.I. 2014. *Fisiología Humana* (13ª ed.). McGraw Hill. Nueva York. 832 pp.

Gali, L., Pirozzi, A., y Donsì, F. 2023. Biopolymer- and Lipid-Based Carriers for the Delivery of Plant-Based Ingredients. *Pharmaceutics*, *15*(3), 927.

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. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* XXV(1):147-155.

Guan G., Abul Kalam Azad M., Lin Y., Kim S.W., Tian Y., Liu G., y Wang H. 2019. Biological effects and applications of chitosan and chitooligosaccharides. *Frontiers in Physiology* 10:516.

Guarnieri A., Triunfo M., Scieuzo C., *et al*. 2022. Antimicrobial properties of chitosan from different developmental stages of the bioconverter insect *Hermetia illucens*. Sci. Rep.

12:8084.

Gutiérrez-García G.J., Quintana-Romero L.A., Morales-Figueroa G.G., Esparza-Romero J., Pérez-Morales R., López-Mata M.A., Juárez J., Sánchez-Escalante J.J., Peralta E., Quihui-Cota L., y Soto-Valdez H. 2021. Effect of *Y. baccata* butanolic extract on the shelf life of chicken and development of an antimicrobial packaging for beef. *Food Control* 127:108142.

Handayani M., Khoerunnisa I., Cakrawati D., y Sulastri A. 2018. Microencapsulation of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel extract using maltodextrin. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 288(1):1-8.

Hellmers F., Jansch M., Schwendy S., y Gopferich A. 2013. Characterization and in vitro cytotoxicity of doxorubicin-loaded gamma-polyglutamic acid-chitosan composite nanoparticles. *Biochemical Engineering Journal* 75:72–78.

Hernández M.S. 2010. *Tratado de nutrición*. Médica Panamericana. 2ª Edición. España. 3412 pp.

Ikuta K.S., C. H., Blanton L., Hopkins K., Hansen C., Alkema G., Arinze N., y Burnham G. 201922. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet* 400(10369):2221–2248

Juang Y. y Liang P. 2020. Biological and pharmacological effects of synthetic saponins. *Biomolecules* 10(11):1457.

Kennedy D.O. y Wightman E.L. 2011. Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. *Adv. Nutr.* 2(1):32–50.

Kiafar, F., Siahi Shadbad, M. R., Y Valizadeh, H. 2016. Filgrastim (G-CSF) loaded liposomes: mathematical modeling and optimization of encapsulation efficiency and particle size. *BioImpacts : BI*, *6*(4), 195–201.

Ko J.A., Park H.J., Hwang S.J., Park J.B. y Lee J.S. 2002. Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery. Int. J. Pharm. 249:165–174.

Koeppen, B., & Stanton, B. 2018. *Berne y Levy. Fisiología*. Elsevier Health Sciences. 7ª ed. España. 804 pp.

Krisanti E., Fauzia F. y Mulia K. 2021. Chitosan microparticles for in vitro release of acetogenins extracted from *Annona muricata* L. leaves. *AIP Conference Proceedings* 2370:020011.

Lady Bird Johnson Wildflower Center. (2022). *Yucca rostrata*. Austin, TX: Lady Bird Johnson Wildflower Center. Recuperado de https://www.wildflower.org/gallery/result.php?id_image=85406

León-Roque, N., Aguilar-Tuesta, S., Quispe-Neyra, J., Mamani-Navarro, W., Alfaro-Cruz, S. y Condezo-Hoyos, L. (2019). A green analytical assay for the quantitation of the total saponins in quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) based on macro lens-coupled smartphone. Talanta, 204, 576–585.

Les F., Cásedas G. y López V. 2021. Bioactivity of medicinal plants and extracts. *Biology* 10(7):634

Li J., Zhao L., Wu Y. y Rajoka M.S.R. 2019. Insights on the ultra high antibacterial activity of positionally substituted 2'-O-hydroxypropyl trimethyl ammonium chloride chitosan: A joint interaction of -NH2 and -N+(CH3)3 with bacterial cell wall. Colloids Surf. B: Biointerfaces. 173:429–436.

Li J., Zhuang S. 2020. Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: Current state and perspectives. Eur. Polym. J. 138:109984

Li Y. y Kong F. 2022. Simulating human gastrointestinal motility in dynamic in vitro models. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 21:3804–3833.

Ling K., Wu H., Neish A.S. y Champion J.A. 2019. Alginate/chitosan microparticles for gastric passage and intestinal release of therapeutic protein nanoparticles. *J. Control. Release* 295:174–186.

Liu, N., Chen, X., Park, H.J., Liu, C., Liu, C.S., Meng, X., & Yu, L. 2006. Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of Escherichia coli. *Carbohydrate Polymers, 64*, 60-65.

Lizardi-Mendoza J., Argüelles-Monal W.M., Goycoolea-Valencia F.M. 2016. Chemical Characteristics and Functional Properties of Chitosan. En: Bautista-Baños S., Romanazzi G., Jiménez-Aparicio A. (eds.). Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities. Academic Press, San Diego, 3-31 pp.

Lopretti M., Barreiro F., Fernandes I., Damboriarena A., Ottati C., y Olivera A. 2011. Microencapsulación de compuestos de actividad biológica. INNOTEC 2:19–23

Lucas R., Viuda M., Pérez J. y Fernández J. 2018. In vitro digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. Food Res. Int. 107:423-436.

Luo J., Chen W., Qu H., Liu Y., Luo C., Ji J., Shu D.M. y Wang J. 2022. Dietary supplementation with yucca alleviates heat stress in growing broilers exposed to high ambient temperatures. Front. Vet. Sci. 9:850715.

Malpica-Acosta S.B., Acosta-Osorio A.A., Benedito-Fort J.J. y Castillo-Zamudio R.I. 2024. Efecto de tres métodos de extracción en el rendimiento, actividad antioxidante, fenoles totales y estabilidad de extractos de hojas de Plectranthus amboinicus. CienciaUAT 18(2):91-106.

Marieb, E. N. 2008. Anatomía y fisiología humana*. 7ª ed. Pearson Educación. España. 848 pp.*

Mataix, J. 2015. Tratado de nutrición y alimentación. 1ª ed. Editorial Océano/Ergon. España. 1200 pp.

Matica A., Aachmann S., Tøndervik A., Sletta H. y Ostafe V. 2019. Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action. *Int. J. Mol. Sci.* 20(23):5889.

Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., & Brodkorb, A. 2014. A standardized static in vitro digestion method suitable for food - an international consensus. *Food & Function*. 5(6):1113–1124.

Morales-Figueroa G.G., Pereo-Vega G.D., Reyna-Murrieta M.E., Pérez-Morales R., López-Mata M.A., Sánchez-Escalante J.J., Tapia-Rodriguez M.R., Ayala-Zavala J.F., Juárez J. y Quihui-Cota L. 2022. Antibacterial and antioxidant properties of extracts of *Y. baccata* , a plant of northwestern Mexico, against pathogenic bacteria. *BioMed Research International* 2022:9158836.

Morales-Olán G., Luna-Suárez S., Figueroa-Cárdenas J.D., Corea M., y Rojas-López M. 2021. Synthesis and characterization of chitosan particles loaded with antioxidants extracted from chia (*Salvia hispanica L.*) seeds. Int. J. Anal. Chem. 2021:5540543.

Mulia K., Risqi U.Y., Pane I.F. y Krisanti E.A. 2019. Property of formulation, characterization, and release of antioxidant supplement capsule with chitosan microspheres loaded with red ginger oleoresin extract. J. Phys. Conf. Ser. 1198(6):062008.

Nakorn P. N. 2008. Chitin nanowhisker and chitosan nanoparticles in protein immobilization for biosensor applications. *J. Metall. Mater. Miner.* 18(2):73–77.

Niethammer, C. 1999. *American Indian Cooking: Recipes from the Southwest*. University of Nebraska Press. Primera edición. Lincoln. 191 pp.

OMS (2022). Brote multinacional de S. Typhimurium vinculado a productos de chocolate – Europa y Estados Unidos de América. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. Recuperado de **https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON369**

OMS. (2018). *Escherichia coli*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. Recuperado de https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli

OMS. (2018). Listeriosis. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. Recuperado de **https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis**

OMS. (2021). Resistencia a los antimicrobianos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. Recuperado de **https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance**

OPS (2003). *Clasificación estadística internacional de enfermedades y problemas relacionados con la salud. Décima revisión. Volumen 2. Manual de instrucciones.* Washington, D.C.: OPS.

OPS (2021). Patógenos multirresistentes: ¿Cuáles son prioritarios para la OMS? [Comunicado de prensa]. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud. Recuperado de https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-patogenos-multirresistentes-que-son-prioritarios-para-oms

Osorno-Sánchez, K. M., Reyes-Silva, J. A. y Martínez-Hernández, S. 2024. Actividad antibacteriana de cinco especies de plantas medicinales contra *Vibrio cholerae*. Publicación Semestral Pädi. 0(0):1-8.

Padmavathi M. 2013. Chronic disease management with nutraceuticals. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention* 2(4):01–11.

Patel S. 2012. *Yucca*: A medicinally significant genus with manifold therapeutic attributes. *Natural Product Bioprospecting* 2:231–234.

Peterson, E. y Kaur, P. 2018. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Relationships Between Resistance Determinants of Antibiotic Producers, Environmental Bacteria, and Clinical Pathogens. *Frontiers in microbiology*, *9*, 2928.

Piekarska K., Sikora M., Owczarek M., Jóźwik J. y Wiśniewska M. 2023. Chitin and Chitosan as Polymers of the Future—Obtaining, Modification, Life Cycle Assessment and Main Directions of Application. *Polymers* 15(4):793.

Poirel L., Madec J.Y., Lupo A., Schink A.K., Kieffer N., Nordmann P. y Schwarz S. 2018. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum* 6(4)

Proestos C. 2020. The Benefits of Plant Extracts for Human Health. *Foods (Basel, Switzerland)* 9(11):1653.

Pulido A. y Beristain C. 2010. Encapsulación de ácido ascórbico mediante secado por aspersión,

utilizando quitosano como material de pared. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 9(2):189–195.

Pulingam T., Parumasivam T., Gazzali A.M., Sulaiman A.M., Chee J.Y., Lakshmanan M., Chin C.F., y Sudesh K. 2022. Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 170:106103.

Qasim M., Islam W., Ashraf H.J., Ali I. y Wang L. 2020. *Saponins in insect pest control*. En J.M. Merillon y K. Ramawat (Eds.), *Co-evolution of secondary metabolites*. Springer. Primera edición. Cham. 628 pp. (Capítulo 39: pp. 559–578).

Quihui-Cota L., León-Trujillo R., Astiazarán-García H., Esparza-Romero J., Robles M.D.R., Robles-Zepeda R.E., Canett R. y Sánchez-Escalante J. 2014. Marked antigiardial activity of *Y. baccata* extracts: A potential natural alternative for treating protozoan infections. *BioMed Research International* 2014:823492

Quiroz-Lobo, Y., Santafé-Patiño, G., & Quirós-Rodríguez, J. 2021. Caracterización de los ácidos grasos y actividad antimicrobiana del extracto en metanol de Holothuria princeps (Holothuriida: Holothuriidae). Revista de Biología Tropical, 69(1), 36-44.

Ramirez L.S. y Marin Castaño D. 2009. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica* 15(42):263–268.

Rani A., Ravindran V.B., Surapaneni A., Mantri N. y Ball A.S. 2021. Review: Trends in point-of-care diagnosis for *Escherichia coli* O157 in food and water. *International Journal of Food Microbiology* 349:109233.

Reygaert W.C. 2018. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*4(3):482–501.

Romanazzi G., Feliziani E. y Sivakumar D. 2018**.** Chitosan, a biopolymer with triple action on postharvest decay of fruit and vegetables: Eliciting, antimicrobial and film-forming properties. *Frontiers in Microbiology* 9:2745

Sahoo S., Chakraborti C.K., Mishra S.C., Naik S., Nanda U.N. 2011. FTIR and raman spectroscopy as a tool for analyzing sustained release hydrogel of ciprofloxacin/carbopol polymer. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 7:268-277.

Salazar-López N.J., González-Aguilar G.A., Rouzaud-Sández O. *et al.* 2018. Bioaccessibility of hydroxycinnamic acids and antioxidant capacity from sorghum bran thermally processed during simulated in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Food Science and Technology* 55:2021–2030

Samrot A.V., Akanksha, Jahnavi T., *et al*. 2016. Chelators influenced synthesis of chitosan–carboxymethyl cellulose microparticles for controlled drug delivery. Appl Nanosci. 6(2):1219–1231.

Schulze K. 2006. Imaging and modeling of digestion in the stomach and the duodenum. *Neurogastroenterology & Motility* 18(3):172–183

Segarra E. 2006. *Fisiología de los aparatos y sistemas*. Universidad de Cuenca. Primera edición. Cuenca. 455 pp.

Siles-Sánchez M.d.l.N., Jaime L., Villalva M. y Santoyo S. 2022. Encapsulation of marjoram phenolic compounds using chitosan to improve its colon delivery. *Foods* 11(22):3657.

Silvestro, I., Francolini, I., Di Lisio, V., Martinelli, A., Pietrelli, L., Scotto d'Abusco, A., Scoppio, A., Piozzi, A., 2020. Preparation and Characterization of TPP-Chitosan Crosslinked Scaffolds for Tissue Engineering. Materials (Basel) 13, 3577.

Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. 2023. *Boletín epidemiológico, número 14, volumen 40, semana 14, del 2 al 8 de abril del 2023*. Secretaría de Salud. Primera edición. Ciudad de México. 80 pp.

Sotelo-Boyás M.E., Valverde-Aguilar G., Plascencia-Jatomea M., Correa-Pacheco Z.N., Jiménez-Aparicio A., Solorza-Feria J., Barrera-Necha L. y Bautista-Baños S. 2015. Characterization of chitosan nanoparticles added with essential oils: In vitro effect on *Pectobacterium carotovorum*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14(3):589–599.

Suclupe D. y Aguilar F. 2020. Persistencia bacteriana: Un fenotipo celular de importancia clínica en infecciones crónicas y recurrentes. *Horizonte Médico* 20(1):77–87.

Tahmasbi S., Revell M. y Tahmasebi N. 2021. Herbal medication to enhance or modular viral infections. *Nursing Clinics of North America* 56(1):79–89.

Tantala J., Rachtanapun P., Rachtanapun C. 2021. Synergistic antimicrobial activities of Thai household essential oils in chitosan film. Polymers. 13:1519.

Vanden, N. (2016). *Evaluación de la actividad de compuestos bioactivos microencapsulados en quitosano en modelos de inflamación intestinal* (tesis doctoral). Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Químicas, Córdoba.

Vega-Mazahua, M. (2020). *Aislamiento y caracterización espectroscópica de saponinas de hojas y raíz de Y. baccata y determinación de su actividad antiproliferativa sobre las líneas celulares HeLa y M12.C3.F6* (Tesis de maestría). Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.

Vincken J., Heng L., de Groot A. y Gruppen H. 2007. Saponins, classification, and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry* 68:275–297.

Wang, Q., Sun, X., Wang, R., Aslam, R., Zhao, J., Sun, Y., Yan, Z., & Li, X. 2024. Development of pH-sensitive chitosan/plant extract microcapsules: Enhanced corrosion protection for carbon steel in HCl solution. *International Journal of Biological Macromolecules, 282*(6), 137461.

Xool-Herrera, M.A 2023. Obtención y caracterización de microesferas híbridas de polímeros biodegradables nanoreforzadas con paligorskita como estrategia para la liberación controlada de fertilizante de N y K (Tesis de maestría). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Yucatán, México

Yu J., Zhang L., Ren P., Zhong T., Li Z., Wang Z., Li J., Liu X., Zhao K. y Zhang W. 2015. Enterovirus 71 mediates cell cycle arrest in S phase through nonstructural protein 3D. Cell Cycle. 14:425–436.

Zhang J., Rosenberg Y. y Rosenberg M. 2018. Microencapsulation properties of wall systems consisting of WHPI and carbohydrates. *AIMS Agriculture and Food* 3(1):66–84.