



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN BIOPROCESOS

**ALIMENTO FUNCIONAL: AGENTES
CO-MICROENCAPSULANTES EN LA
CONSERVACIÓN DE QUERCETINA 3-D-
GALACTOSIDE-BACILLUS CLAUSII**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

PRESENTA:

L. N. Héctor Alfonso Enciso Huerta

DIRECTOR DE TESIS:
DRA. María Zenaida Saavedra Leos

CO-DIRECTOR DE TESIS:
DR. Miguel Ángel Ruiz Cabrera

DRA. Claudia Álvarez Salas



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN BIOPROCESOS

**ALIMENTO FUNCIONAL: AGENTES
CO-MICROENCAPSULANTES EN LA
CONSERVACIÓN DE QUERCETINA 3-D-
GALACTOSIDE-BACILLUS CLAUSII**

TESIS UE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

PRESENTA:

L. N. Héctor Alfonso Enciso Huerta

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. María Zenaida Saavedra Leos

CO-DIRECTOR DE TESIS:

DR. Miguel Ángel Ruiz Cabrera

SINODALES:

PRESIDENTE:

DRA. María Zenaida Saavedra Leos

SECRETARIO:

DR. Miguel Ángel Ruiz Cabrera

VOCAL:

DRA. Claudia Álvarez Salas

San Luis Potosí, S.L.P.
Julio 11, 2022

**Comité Académico del Posgrado
En Ciencias en bioprocesos
Facultad de Ciencias Químicas / UASLP
Presente._**

Por medio de la presente comunicamos que la tesis llevada a cabo por el alumno de Maestría L.N. Héctor Alfonso Enciso Huerta, titulada “Alimento funcional: agentes co-microencapsulantes en la conservación de quercetina 3-D-Galactoside-*Bacillus calusii*”, ha sido concluida y aprobada por el comité tutorial para dar inicio a los trámites correspondientes para su titulación, la cual tendrá lugar el próximo día **12 de agosto** a las **12:00** hrs. en el Auditorio Chico (G203), de la Facultad.

ATENTAMENTE

Dra. María Zenaida Saavedra Leos
Directora de Tesis

Dr. Miguel Ángel Ruiz Cabrera
Co-Director

Dra. Claudia Álvarez Salas
Asesora

Proyecto realizado en:

Laboratorio de ingeniería de alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas de la
Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Con financiamiento de:

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), mediante el proyecto
No. 784106.

El programa de Maestría en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma
de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad
(PNPC) del CONACYT, registro 000588, en el Nivel Maestría (Consolidado).

Número de registro de la beca otorgada por CONACYT: 784106

CVU:1077957



Alimento funcional: agentes co-microencapsulantes en la conservación de
quercetina 3-d-galactoside-bacillus clausii por Héctor Alfonso Enciso Huerta se
distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-
SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

A mi comité tutorial, la Dra. María Zenaida Saavedra Leos, el Dr. Miguel Ángel Ruiz Cabrera y la Dra. Claudia Álvarez Salas, por permitirme formar parte de este proyecto, por la paciencia y dedicación con la que realizaron su trabajo y me brindaron su apoyo durante estos dos años.

Agradezco de igual manera al Dr. Fidel Martínez Gutierrez y a la Dra. Avelina Franco Vega, por compartir sus conocimientos y experiencia para enriquecer este trabajo, así como al personal de los laboratorios de ingeniería de alimentos y de microbiología clínica, por la amabilidad con la que me recibieron

Contenido

Abstract	1
Abstract traducido al español	2
Resumen	3
Introducción	3
Objetivos	6
Materiales y métodos	6
1.1 Materiales.....	6
1.2 Preparación de liofilizados.....	7
1.3 Determinación de la viabilidad.....	7
1.4 Actividad antioxidante (AA).....	8
Resultados y discusión	10
Conclusiones	13
Bibliografía	14
Reseña del artículo: Evaluation of two active system encapsulants matrices with quercetin and Bacillus clausii for functional foods	16
ANEXO: MANUSCRITO ENVIADO	17

Abstract

Currently, the demand for functional foods has been increasing in the public interest to improve their life expectations and general health. Food matrices containing probiotic microorganisms and active compounds encapsulated into carrier agents are essential in this context. Encapsulation by the lyophilization method is widely used because oxidation reactions affecting physicochemical and nutritional food properties are usually avoided. Encapsulated functional ingredients such as quercetin and *Bacillus clausii* using two carrier agents' matrices performed in I [inulin (I); lactose (L) and maltodextrin (MX)] and II [(Arabic (A), Guar (G) and Xanthan (X) Rubbers)] are presented in this work. A D-optimal procedure involving 59 experiments was designed to evaluate each matrix's yield, viability, and antioxidant activity (AA). Matrix I (33.3 I; 33.3 L; 33.3 MX) and matrix II (33.3 A; 33.3 G; 33.3 X) exhibited the best yield.

Keywords: functional, food, Inulin, Lactose

Abstract traducido al español

Actualmente, la demanda de alimentos funcionales ha aumentado gracias al interés del público por incrementar su expectativa de vida y mejorar su salud en general. En este contexto, son esenciales las matrices alimentarias que contengan microorganismos probióticos y compuestos activos encapsulados dentro de agentes acarreadores. La encapsulación por el método de liofilización es ampliamente utilizada debido a que usualmente se evitan las reacciones de oxidación que afectan las propiedades fisicoquímicas y nutricionales de los alimentos. En este trabajo, se presentan ingredientes funcionales encapsulados como la quercetina y el *Bacillus clausii*, con la utilización de dos matrices de agentes acarreadores formadas por: I (inulina (I); lactosa (L) y maltodextrina (MX)) y II (goma arábica (A); goma guar (G) y goma xantana (X)). Mediante un diseño D-optimal, se condujeron 59 experimentos en los que se evaluó el rendimiento, viabilidad y actividad antioxidante (AA). La matriz I (1/3 I; 1/3 L; 1/3 MX) y la matriz II (1/3 A; 1/3 G; 1/3 X), exhibieron el mejor rendimiento.

Palabras clave: funcional, alimento, inulina, lactosa

Resumen

Evaluation of two active system encapsulants matrices with quercetin and 3 Bacillus clausii for functional lyophilized foods preparation

Introducción

Según el Codex alimentario (Commission, 2007) un alimento es toda sustancia elaborada, semielaborada o en bruto, que se destina al consumo humano (CXS 1-1985) que tiene un aporte nutricional. En los últimos años, derivado de la pandemia mundial del virus SARS-CoV-2 (COVID-19) la Organización Mundial de la salud (OMS) indicó consumir alimentos saludables, ya que, si bien no puede prevenir ni curar la enfermedad, es fundamental para el buen funcionamiento del sistema inmunológico y se reduce considerablemente la probabilidad de aparición de otras enfermedades como obesidad, diabetes, enfermedades cardíacas y algunos tipos de cáncer. Por lo anterior se considera que la alimentación juega un papel preponderante en la prevención de estas afecciones que tienen un impacto a nivel de salud pública. Aunado a lo anterior, un “alimento funcional”, se define según la guía (European society for clinical nutrition and metabolism) ESPEN como un alimento fortificado con ingredientes, nutrientes o componentes adicionales, con la intención de manifestar beneficios específicos para la salud. Debido a lo anterior la producción de alimentos funcionales, se ha convertido en la última década en una de las industrias biotecnológicas de alimentos más importantes, dada la creciente demanda por parte de los consumidores al buscar alargar su expectativa de vida y mejorar su salud en general, debido a la concientización sobre la prevención de enfermedades como la diabetes, el cáncer y el alzheimer. (Sarao & Arora, 2017). Comúnmente, los antioxidantes son compuestos presentes dentro de los alimentos funcionales, estos son agregados a los productos solos o en combinación con otros compuestos que permitan un sinergismo, como el que ocurre entre la vitamina C al regenerar al radical tocoferilo de la vitamina E tras su oxidación. (Addor, 2017). Los antioxidantes se añaden a los alimentos con la intención de obtener diferentes beneficios como el de suprimir la oxidación lipídica para aumentar la vida de anaquel de los productos, así como el reducir las concentraciones de radicales

libres dentro del organismo, mejorando la salud del consumidor, (Ciriminna et al., 2017). La quercetina es un antioxidante flavonoide, encontrado en manzanas, uvas, frijoles, brócoli, cebollas rojas, tomates, semillas oleaginosas, flores, hojas de té y en el Ginko biloba. La ingesta diaria en la dieta de quercetina es de entre 10 y 16 mg al día, sin embargo la concentración recomendada de quercetina en un suplemento debe ser de 1g por día (Khan et al., 2020). Entre los mecanismos por los cuales la quercetina ejerce un efecto benéfico contra las enfermedades, se encuentran: En el asma alérgica, la quercetina inhibe la expresión del gen MUC5AC en las células NCI-H292, lo cual repercute a nivel ciliar en la mucosa nasal humana, siendo un agente antisecretor, inhibiendo la secreción mucosa de las células epiteliales, mientras mantiene un movimiento ciliar normal. (Jafarinia et al., 2020). Marunaka et al. (2017) demostraron que la ingesta oral de entre 150 a 730 mg/día durante cuatro semanas de quercetina, tiene un efecto antihipertensivo, reduciendo la presión sistólica y diastólica en pacientes en la primera etapa de la hipertensión. Por otra parte, se ha observado que en pacientes con síndrome metabólico, la ingesta de 150 mg/día de quercetina durante cinco semanas, reduce significativamente la presión sistólica. Un estudio in vitro, elaborado Reyes-Farias & Carrasco-Pozo. (2019) indicó que la quercetina ha funcionado como agente antiviral contra el VIH, inhibiendo enzimas como la integrasa, la proteasa y la transcriptasa inversa, reduciendo significativamente la replicación del virus del VIH. Otro tipo de compuestos activos en los alimentos funcionales son los probióticos, estos confieren beneficios a la salud, mediante diferentes mecanismos como la producción de enzimas biliares, ácidos orgánicos, hormonas de saciedad, la modulación del sistema inmune mediante el aumento en la respuesta de los anticuerpos, la competencia por sustratos contra organismos patógenos y la interacción con la microbiota. (Sanders et al., 2019). *Bacillus clausii* es una bacteria aeróbica, gram-positiva utilizada como probiótico, tiene la capacidad de formar esporas y colonizar el intestino, (Paparo et al., 2020). *B. clausii* también es resistente a factores como el calor, el pH gástrico y los antibióticos, puede tolerar medios alcalinos, sus condiciones óptimas de crecimiento son a 40°C y a un pH de 9,0. (De Castro et al., 2019). Autores como De Castro et al. (2019). han reportado la utilización del *B. clausii* durante 7 días, para el tratamiento de la diarrea aguda

infantil, viral y asociada al uso de antibióticos, donde se logró una reducción en el tiempo de la enfermedad, los síntomas gastrointestinales y la frecuencia de evacuaciones. Recientemente en 2020, (Plomer et al., 2020), utilizaron al *B. clausii* para aminorar los efectos adversos del tratamiento para eliminar a la *Helicobacter pylori*, en donde por lo general se administran antibióticos que causan náusea, inflamación, vómito y diarreas, haciendo que se opte por terminar la administración del medicamento, dando como resultado el riesgo de hacer que el tratamiento falle y la *Helicobacter pylori* cree resistencia a los antibióticos.

Con la finalidad de mantener la actividad antioxidante y viabilidad de los productos probióticos se utilizan técnicas de microencapsulación, de cualquier ingrediente activo que se busque añadir a un alimento, son protegidos de factores ambientales como el calor, el oxígeno y la humedad. (Zuidam & Nedović, 2010). Entre las técnicas de secado más empleadas para la producción de alimentos probióticos, se encuentran el secado por aspersión y la liofilización, este último permite preservar no sólo las cualidades nutricionales de los alimentos, sino también sus aromas y sabores, además de poder ser rehidratados tras el proceso, gracias a la porosidad del producto final. (Muñoz-López et al., 2018). La liofilización es ampliamente utilizada en la industria de alimentos, debido a que, a diferencia de los procesos de secado con calor, esta no cataliza reacciones de oxidación que afectan las propiedades fisicoquímicas y nutricionales de los alimentos. (Caballero et al., 2017). El secado por liofilización utiliza la sublimación y puede ser utilizado para la encapsulación de aromas, esencias, fármacos y cualquier material termosensible en general. Tomando en consideración la importancia de los antioxidantes y probióticos en la salud, en esta investigación se planteó obtener un ingrediente funcional que contenga *B. clausii* y quercetina microencapsulado por liofilización.

Objetivos

Objetivo general

- Elaborar y caracterizar un ingrediente funcional microencapsulado de *B. clausii*/quercetina mediante liofilización.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de inulina, lactosa y maltodextrina, sobre el rendimiento, la viabilidad de *B. clausii* y la actividad antioxidante de la quercetina.
- Evaluar el efecto de la goma arábica, xantana y guar sobre el rendimiento, la viabilidad de *B. clausii* y la actividad antioxidante de la quercetina.
- Evaluar el efecto sinérgico de agentes acarreadores y gomas sobre el rendimiento, la viabilidad de *B. clausii* y la actividad antioxidante de la quercetina.

Materiales y métodos

1.1 Materiales

Maltodextrina (MX) comercial de almidón de maíz de INGREDION México (Guadalajara, México). Con equivalentes de dextrosa (DE) de 10, peso molecular de 1625 g/mol y un grado de polimerización (DP) de 2-16 unidades de glucosa. Inulina (IN) obtenida de INGREDION Mexico (Guadalajara, Mexico). α -Lactosa monohidratada (L), ($L\alpha \cdot H_2O$, pureza $\geq 99,9$ %) adquirida de Sigma Aldrich Chemical Co., Metanol, (MeOH, pureza $\geq 99,8$) de J.T. Baker. Gomas Arábica (A), Guar (G) y Xantana (X) de INGREDION México (Guadalajara, México). Cepas de (*B. clausii*) en solución de sinuberase fue obtenido de Sanofi-Aventis México, S.A. de C.V. (Coyoacán, Ciudad de México, México). Quercetina 3-D-Galactósido (pureza $\geq 99\%$) adquirida de Química Farmacéutica Esteroidal S.A de C.V., (Tláhuac, Ciudad de México, México). Agar tripticasa de soya adquirido de Dickinson de México S.A de C.V. (Ciudad de México, México) y 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) grado analítico de Sigma–Aldrich Chemical Co

1.2 Preparación de liofilizados

Con base al diseño de experimentos, se prepararon 100g de muestras p/p, con 10 g de la matriz I elaborada con I, L y MX y 1g de matriz II formada por A, G y X. Cada fracción de masa para la matriz I y II fue establecida de acuerdo con el diseño de experimentos. Los componentes de cada matriz se pasaron por un tamiz de 1mm y se añadieron 87 g de agua desionizada, seguida de agitación magnética a 35°C por 5 minutos.

Se añadió 1g de quercetina y 1g de solución de *B. clausii* a la mezcla para obtener un volumen final de la solución de 100g (p/p). Las muestras fueron almacenadas en oscuridad a -80 °C. El proceso de microencapsulación se llevó a cabo por sublimación en un liofilizador (IIShinbiobase® Modelo TFD8501, Gyeonggi-do, Corea del sur) con una presión de vacío de 5 mTorr a -65 °C por aproximadamente 120h.

1.3 Determinación de la viabilidad

Se determinó la viabilidad de *B. clausii* antes y después del proceso de encapsulación, suspendiendo 1g de micropartículas obtenidas en 9 ml de solución salina (NaCl, 0.9% p/v). Con la finalidad de romper las microcápsulas, la suspensión se agitó durante 10 minutos en un vortex y calentado a baño maría por 10 minutos a 50 °C. Las células viables se analizaron de acuerdo con el método descrito por (Miles et al., 1938). Brevemente, se realizaron diluciones desde 1x10⁻³ a 1x10⁻⁹ en solución salina y se sembraron en agar tripticasa de soya, posteriormente se incubaron a 35 °C por 24 h. La evaluación se realizó por triplicado y se reporta como unidades formadoras de colonia por gramo (CFU/g), usando la ecuación 1

$$\frac{UFC}{g} = \left[\frac{N^{\circ} \text{ de colonias en caja} * \text{factor de dilución}}{mL \text{ de muestra sembrada}} \right] (1)$$

1.4 Actividad antioxidante (AA)

La actividad antioxidante de la quercetina se determinó mediante el método descrito por (Brand-Williams et al., 1995). Brevemente, 1.7 mL de solución alcohólica de DPPH (0,1 mmol DPPH/L) se mezcló con 1.7 mL de suspensión del microencapsulado, donde las concentraciones del microencapsulado fueron de 2.5, 5 y 15 µg/mL. La mezcla se dejó en oscuridad por 30 minutos y se midió la absorbancia a 537 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis Evolution 220 (Thermo Scientific, Waltham, MA. USA). El porcentaje de actividad antioxidante se calculó usando la ecuación 2:

$$\text{Actividad antioxidante}(\%DPPH) = \frac{A_0 - A_{30}}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

Donde A_0 representa la absorbancia de la solución blanco (DPPH y etanol sin microencapsulado), A_{30} representa la absorbancia de la solución de DPPH y etanol con microcápsulas después de 30 minutos. La actividad antioxidante se determinó por triplicado para cada muestra.

1.5 Diseño de experimentos y análisis estadístico

Se evaluaron dos mezclas independientes: Matriz I, consistía en inulina (IN), lactosa (L) y maltodextrina (MX), mientras que la Matriz II consistía en las gomas Arábica (A), guar (G) y xantana (X). Los niveles superior e inferior de estas variables estuvieron entre 0 y 100 (%p), y la suma de componentes en cada mezcla fue de 100% para cada prueba. Las variables de respuesta fueron rendimiento (%), Bc (Log₁₀ CFU/g), y actividad antioxidante (con DPPH a concentraciones de 5, 10, y 30 µg/g)). De esta manera, un diseño de experimentos combinado con dos matrices para un modelo especial cúbico x especial cúbico, fue seleccionado para evaluar el efecto de cada factor sobre las variables de respuesta. La tabla 1 muestra los resultados de 59 ensayos realizados en el laboratorio en orden aleatorio.

Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA), para cada variable de respuesta (Rendimiento, Bc y actividad antioxidante), usado el software Design-Expert® versión 12 (versión de prueba) a un nivel de significancia de 0.05. El modelo Scheffe analizado, especial cúbico x especial cúbico se muestra en la ecuación 3:

$$Y = (\alpha_1 A + \alpha_2 B + \alpha_3 C + \alpha_4 AB + \alpha_5 AC + \alpha_6 BC + \alpha_7 ABC) \times (\kappa_1 D + \kappa_2 E + \kappa_3 F + \kappa_4 DE + \kappa_5 DF + \kappa_6 EF + \kappa_7 DEF) \quad (3)$$

Que es una forma expandida que da como resultado 49 parámetros ajustables.

Tabla 1. Diseño experimental de dos matrices para un modelo especial cúbico x especial cúbico.

No	Run	Matrix I			Matrix II		
		IN	L	MX	A	G	X
1	44	100.0	0.0	0.0	0.0	50.0	50.0
2	15	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	0.0
3	51	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0
4	3	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0
5	20	0.0	100.0	0.0	50.0	50.0	0.0
6	57	0.0	100.0	0.0	50.0	0.0	50.0
7	48	0.0	100.0	0.0	0.0	50.0	50.0
8	32	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0
9	35	0.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
10	41	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
11	11	0.0	0.0	100.0	50.0	50.0	0.0
12	18	0.0	0.0	100.0	50.0	0.0	50.0
13	39	0.0	0.0	100.0	0.0	50.0	50.0
14	25	50.0	50.0	0.0	100.0	0.0	0.0
15	43	50.0	50.0	0.0	0.0	100.0	0.0
16	47	50.0	50.0	0.0	0.0	0.0	100.0
17	8	50.0	50.0	0.0	50.0	50.0	0.0
18	40	50.0	50.0	0.0	50.0	0.0	50.0
19	27	50.0	50.0	0.0	0.0	50.0	50.0
20	19	50.0	0.0	50.0	100.0	0.0	0.0
21	1	50.0	0.0	50.0	0.0	100.0	0.0
22	23	50.0	0.0	50.0	0.0	0.0	100.0
23	7	50.0	0.0	50.0	50.0	50.0	0.0
24	34	50.0	0.0	50.0	50.0	0.0	50.0
25	55	50.0	0.0	50.0	0.0	50.0	50.0
26	45	0.0	50.0	50.0	100.0	0.0	0.0
27	37	0.0	50.0	50.0	0.0	100.0	0.0

28	2	0.0	50.0	50.0	0.0	0.0	100.0
29	30	0.0	50.0	50.0	50.0	50.0	0.0
30	54	0.0	50.0	50.0	50.0	0.0	50.0
31	58	0.0	50.0	50.0	0.0	50.0	50.0
32	16	33.3	33.3	33.3	33.3	33.3	33.3
33	5	100.0	0.0	0.0	33.3	33.3	33.3
34	56	0.0	100.0	0.0	33.3	33.3	33.3
35	24	0.0	0.0	100.0	33.3	33.3	33.3
36	6	50.0	50.0	0.0	33.3	33.3	33.3
37	28	50.0	0.0	50.0	33.3	33.3	33.3
38	29	0.0	50.0	50.0	33.3	33.3	33.3
39	31	33.3	33.3	33.3	100.0	0.0	0.0
40	38	33.3	33.3	33.3	0.0	100.0	0.0
41	26	33.3	33.3	33.3	0.0	0.0	100.0
42	14	33.3	33.3	33.3	50.0	50.0	0.0
43	33	33.3	33.3	33.3	50.0	0.0	50.0
44	42	33.3	33.3	33.3	0.0	50.0	50.0
45	52	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
46	36	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0
47	53	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
48	59	100.0	0.0	0.0	50.0	50.0	0.0
49	13	100.0	0.0	0.0	50.0	0.0	50.0
50	22	66.7	16.7	16.7	66.7	16.7	16.7
51	12	66.7	16.7	16.7	16.7	66.7	16.7
52	17	66.7	16.7	16.7	16.7	16.7	66.7
53	4	16.7	66.7	16.7	66.7	16.7	16.7
54	50	16.7	66.7	16.7	16.7	66.7	16.7
55	21	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
56	10	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0	0.0
57	46	0.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0
58	9	0.0	0.0	100.0	50.0	0.0	50.0
59	49	0.0	0.0	100.0	0.0	50.0	50.0

Resultados y discusión

En este trabajo se evaluaron dos diferentes matrices de encapsulado para dos sistemas activos (antioxidante y microorganismo), para obtener un alimento

funcional por liofilización. En la matriz I formada por IN, L y MX, se obtuvo un rendimiento de 93.7% cuando IN está presente en un 66.71%, como ocurre en el experimento 54 (66.7IN; 16.7L; 16.7MX) y 87.6% cuando la IN está al 100% como es el caso del experimento 49 (100IN; 0L; 0MX). La matriz II que contiene gomas Arábica (A), Guar (G), y Xantana (X), muestra un mejor rendimiento, correspondiente al 88.08% cuando las gomas A; G, y X están presentes en la misma proporción, por ejemplo en el experimento 32 (33.3A; 33.3G; 33.3X). Los resultados con respecto al rendimiento contribuyen a una amplia gama de respuestas, por ejemplo: I) el mayor rendimiento se obtiene cuando el agente acarreador en la matriz I se utiliza IN cercano a 100 y de la matriz II en una relación igual de A; G; X., II) El menor rendimiento al utilizar MX a 100 y de la matriz II al utilizar G a 100, III) Como utilizar estos encapsulantes matriz I (IN; L; MX) y la matriz II (A; G; X).

La viabilidad de *B. clausii* se midió mediante el método de unidades formadoras de colonia por gramo (CFU/g). Los experimentos del 1 al 59 presentaron una disminución a 9.3 a 9.9 log₁₀ CFU/g, en comparación con el control 11.30 log₁₀ CFU/g. p. ej. para el experimento 40, con una proporción de 33.3IN; 33.3L; 33.3MX, se determinó una viabilidad de 9.85 log₁₀ CFU/g. Sin embargo se observó la viabilidad más alta de *B. clausii*, 9.8 log₁₀ CFU/g cuando se utilizó lactosa cerca de la unidad, como ocurre en el experimento 34 (0IN; 100L; 0MX). Al combinar 50 L; 50 MX, la viabilidad de *B. clausii*, fue de 9.37 log₁₀ CFU/g, correspondiente al experimento 27 (0 IN; 50 L; 50 MX). En la matriz I cuando los agentes acarreadores están presentes en la misma proporción, como ocurre en el experimento 32 (33.3IN; 33.3L; 33.3MX), la viabilidad fue de 9.75 log₁₀ CFU/g. Los resultados demuestran que el usar más de un agente acarreador mejora la supervivencia de *B. clausii*. Cabe mencionar que todas las muestras presentadas en este diseño de experimentos de tres componentes Scheffe especial cúbico x especial cúbico, sobrepasan el valor mínimo en viabilidad de 6.0 log₁₀ UFC/g recomendado por la FAO/OMS (2002) para ser considerado probiótico. Para la matriz II se encontró la viabilidad más alta de *B. clausii* en dos condiciones, al utilizar la unidad de G y al emplear una mezcla de G y X, por ejemplo en el experimento 31 con una composición de 0 A; 50G; 50X y el experimento 3 (0A; 100G; 0X). Los resultados

obtenidos, permiten indicar que: I) La viabilidad más alta se obtienen cuando los agentes acarreadores utilizados en la matriz I son L y/o mezcla de IN, L y MX en una relación igual y en la matriz II al utilizar G cerca de la unidad y/o G y X en la misma proporción. II) La viabilidad más baja se observa al utilizar L y MX en proporciones iguales en la matriz I y X cercana a la unidad en la matriz II III) Qué combinación de los agentes acarreadores y gomas permite una mejor preservación de la viabilidad, IV) se obtuvo un alimento funcional ya que el valor mínimo de viabilidad 6.0 log₁₀ UFC/g recomendado por la FAO/OMS (2002) para ser considerado probiótico se determinó por arriba de este valor en todos los estándares de esta investigación.

Se determinó la capacidad antioxidante por la inhibición del radical 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) a concentraciones de 5, 10 y 30 µg/ml (muestra), para la matriz I formada por IN, L y MX. La mayor AA se determinó cuando el agente acarreador está cerca a la unidad de inulina y corresponde al experimento 33 (100IN; 0L; 0MX) presenta una AA de 56.05 a una concentración de 5 µg/ml, de 58.75 para 10 µg/ml y 84.35 con 30 µg/ml. Sin embargo, cuando la matriz está compuesta por 50 IN; 50 L, que corresponde al experimento 15 (50IN;50L;0MX), la AA fue de 52.88 (5 µg/ml); 57.95 (10 µg/ml) y 81.51 (30 µg/ml). Las muestras que presentaron menos AA fueron las que están cerca a la unidad de MX, con una actividad 38.58 a 5 µg/ml; 43.27 a 10µg/ml y 63.1 para 30µg/ml. Para la matriz II compuesta por G; X; A, en la concentración de 5, 10 y 30µg/ml los resultados más favorables se obtienen al utilizar las G y X en proporciones iguales y sin presencia de A, por ejemplo, para el experimento 49 (0 A; 50 G; 50 X). Sin embargo, al estar presente la A cerca a la unidad la AA es menor por ejemplo para el experimento 20 (100 A; 0 G; 0 X) que corresponde a una AA 48.36 (5 µg/ml); 52.06(10 µg/ml) y 81.93(30 µg/ml). Los resultados obtenidos permiten identificar: I) Qué combinación de los agentes acarreadores y gomas permite un mayor porcentaje de actividad antioxidante, II) La actividad antioxidante más alta se obtienen cuando el agente acarreador utilizado en la matriz I es la inulina y en la matriz II G y X en la misma proporción para las concentraciones de 5 y 10 µg/ml, III) La actividad antioxidante más baja se observa al utilizar únicamente maltodextrina en la matriz I y G cercana a la unidad en la

matriz II. Este último aporte científico coincide con resultados reportados por los investigadores

Conclusiones

Se preparó un ingrediente funcional formado por *B. clausii* y quercetina para dos matrices: Matriz I formada por I; L; MX y la matriz II formada por A; G; X mediante un diseño de experimentos D-optimal. Con respecto al rendimiento, al utilizar los tres componentes en una proporción igual tanto para la matriz I como para la matriz II se obtuvo el mayor rendimiento (88.08%), para el experimento 32 (1/3 I; 1/3 L; 1/3 MX) y (1/3 A; 1/3 G; 1/3 X). Para la matriz I se observa la viabilidad más alta 9.8 log₁₀ CFU/g al usar lactosa cerca a la unidad, correspondiente al experimento 34 (0IN; 100L; 0MX). La AA más alta cuando se usa la inulina cerca a la unidad, correspondiente al experimento 33 (100IN; 0L; 0MX), presentando una AA de 56.05 a una concentración de 5 µg/ml, 8.75 a 10 µg/ml y 84.35 con 30 µg/ml. Para la matriz II se presentó la viabilidad más alta en dos casos, al usar G cerca de la unidad y al emplear mezclas de G y X. por ejemplo en el experimento 31 con 9.9 log₁₀ CFU/g (0 A; 50G; 50X) y el experimento 3 con 9.8 log₁₀ CFU/g (0A; 100G; 0X). La AA más alta se obtuvo al utilizar G y X en proporciones iguales, correspondiendo al experimento 49 (0 A; 50 G; 50 X). con AA de 54.85 a una concentración de 5 µg/ml, 55.44 a 10 µg/ml y 67.09 con 30 µg/ml. El sinergismo entre las dos matrices ocurre al usar la proporción más alta de I y G, correspondiendo al experimento 46, con un rendimiento de 86.5%, viabilidad de 9.52 log₁₀ UFC/g y una AA de 54.85 a una concentración de 5 µg/ml, 55.44 a 10 µg/ml y 67.09 con 30 µg/ml. Cabe mencionar que todas las muestras sobrepasan el valor mínimo en viabilidad de 6.0 log₁₀ UFC/g recomendado por la FAO/OMS (2002) para ser considerado probiótico y contribuyen a la ingesta diaria de 10-16 mg/día de quercetina y en el caso de las muestras con inulina, a la ingesta de 10-20 g/día de este carbohidrato para obtener beneficios a la salud y de 25-38g de fibra por día

Bibliografía

- Addor, F. A. S. (2017). Antioxidants in dermatology. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 92(3), 356–362. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20175697>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Caballero, B. L., Márquez, C. J., & Betancur, M. I. (2017). Efecto de la liofilización sobre las características físico-químicas del ají rocoto (*Capsicum pubescens* R&P) con o sin semilla. *Bioagro*, 29(3), 225–234.
- Ciriminna, R., Meneguzzo, F., Delisi, R., & Pagliaro, M. (2017). Olive Biophenols as New Antioxidant Additives in Food and Beverage. *ChemistrySelect*, 2(4), 1360–1365. <https://doi.org/10.1002/slct.201601900>
- Commission, J. F. C. A. (2007). *Codex alimentarius : cereals, pulses, legumes and vegetable proteins*. First edition. Rome : World Health Organization : Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2007. <https://search.library.wisc.edu/catalog/9910070210502121>
- De Castro, J. A. A., Guno, M. J. V. R., & Perez, M. O. (2019). *Bacillus clausii* as adjunctive treatment for acute community-acquired diarrhea among Filipino children: A large-scale, multicenter, open-label study (CODDLE). *Tropical Diseases, Travel Medicine and Vaccines*, 5(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s40794-019-0089-5>
- Jafarinia, M., Sadat Hosseini, M., Kasiri, N., Fazel, N., Fathi, F., Ganjalikhani Hakemi, M., & Eskandari, N. (2020). Quercetin with the potential effect on allergic diseases. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*, 16(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13223-020-00434-0>
- Khan, H., Ullah, H., Aschner, M., Cheang, W. S., & Akkol, E. K. (2020). Neuroprotective effects of quercetin in alzheimer's disease. *Biomolecules*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/biom10010059>
- Marunaka, Y., Marunaka, R., Sun, H., Yamamoto, T., Kanamura, N., Inui, T., & Taruno, A. (2017). Actions of quercetin, a polyphenol, on blood pressure.

- Molecules*, 22(2), 5–8. <https://doi.org/10.3390/molecules22020209>
- Miles, A. A., Misra, S. S., & Irwin, J. O. (1938). The estimation of the bactericidal power of the blood. *The Journal of Hygiene*, 38(6), 732–749. <https://doi.org/10.1017/s002217240001158x>
- Muñoz-López, C., Urrea-García, G. R., Jiménez-Fernández, M., Rodríguez-Jiménez, G. del C., & Luna-Solano, G. (2018). Efecto de las condiciones de liofilización en propiedades fisicoquímicas, contenido de pectina y capacidad de rehidratación de rodajas de ciruela (*Spondias purpurea* L.). *Agrociencia*, 52(1), 1–13.
- Paparo, L., Tripodi, L., Bruno, C., Pisapia, L., Damiano, C., Pastore, L., & Berni Canani, R. (2020). Protective action of *Bacillus clausii* probiotic strains in an in vitro model of Rotavirus infection. *Scientific Reports*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69533-7>
- Plomer, M., Perez, M., & Greifenberg, D. M. (2020). Effect of *Bacillus clausii* Capsules in Reducing Adverse Effects Associated with *Helicobacter pylori* Eradication Therapy: A Randomized, Double-Blind, Controlled Trial. *Infectious Diseases and Therapy*, 9(4), 867–878. <https://doi.org/10.1007/s40121-020-00333-2>
- Reyes-Farias, M., & Carrasco-Pozo, C. (2019). The anti-cancer effect of quercetin: Molecular implications in cancer metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(13), 1–19. <https://doi.org/10.3390/ijms20123177>
- Sanders, M. E., Merenstein, D. J., Reid, G., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2019). Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 16(10), 605–616. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0173-3>
- Sarao, L. K., & Arora, M. (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 344–371. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.887055>
- Zuidam, N. J., & Nedović, V. A. (2010). Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing. *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*, May, 1–400. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0>

Reseña del artículo: Evaluation of two active system encapsulants matrices with quercetin and Bacillus clausii for functional foods

El artículo correspondiente a este trabajo fue enviado para su publicación a una revista científica indexada (ANEXO)

ANEXO: MANUSCRITO ENVIADO

31/7/22, 15:13

Correo: HECTOR ALFONSO ENCISO HUERTA - Outlook

Confirm co-authorship of submission to Carbohydrate Polymers

em.carbpol.0.7cd6dd.1fd08c80@editorialmanager.com <em.carbpol.0.7cd6dd.1fd08c80@editorialmanager.com>
en nombre de
Carbohydrate Polymers <em@editorialmanager.com>

Vie 22/07/2022 22:20

Para: HECTOR ALFONSO ENCISO HUERTA <A171051@alumnos.uaslp.mx>

This is an automated message.

Journal: Carbohydrate Polymers

Title: Evaluation of two active system encapsulants matrices with quercetin and Bacillus clausii for functional foods

Corresponding Author: Dr. María Zenaida Saavedra Leos

Co-Authors: Héctor Alfonso Enciso-Huerta; Miguel Ángel Ruiz-Cabrera; Laura Araceli Lopez-Martinez; Raúl Gonzalez-Carcia; Fidel Martinez-Gutierrez

Manuscript Number:

Dear Héctor Alfonso Enciso-Huerta,

The corresponding author Dr. María Zenaida Saavedra Leos has listed you as a contributing author of the following submission via Elsevier's online submission system for Carbohydrate Polymers.

Submission Title: Evaluation of two active system encapsulants matrices with quercetin and Bacillus clausii for functional foods

Elsevier asks all authors to verify their co-authorship by confirming agreement to publish this article if it is accepted for publication.

Please read the following statement and confirm your agreement by clicking on this link: <https://www.editorialmanager.com/carbpol/l.asp?i=1496974&l=GBLH08O4>

I irrevocably authorize and grant my full consent to the corresponding author of the manuscript to: (1) enter into an exclusive publishing agreement with Elsevier on my behalf (or, if the article is to be published under a CC BY license, a non-exclusive publishing agreement), in the relevant form set out at www.elsevier.com/copyright; and (2) unless I am a US government employee, to transfer my copyright or grant an exclusive license of rights (or for CC BY articles a non-exclusive license of rights) to Elsevier as part of that publishing agreement, effective on acceptance of the article for publication. If the article is a work made for hire, I am authorized to confirm this on behalf of my employer. I agree that the copyright status selected by the corresponding author for the article if it is accepted for publication shall apply and that this agreement is subject to the governing law of the country in which the journal owner is located.

<https://outlook.office.com/mail/deeplink?Print>

1/2

If you did not co-author this submission, please contact the corresponding author directly at zenaida.saavedra@uaslp.mx.

Thank you,
Carbohydrate Polymers

More information and support

FAQ: What is copyright co-author verification?

https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28460/supporthub/publishing/

You will find information relevant for you as an author on Elsevier's Author Hub: <https://www.elsevier.com/authors>

FAQ: How can I reset a forgotten password?

https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28452/supporthub/publishing/

For further assistance, please visit our customer service site: <https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/>

Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about Editorial Manager via interactive tutorials. You can also talk 24/7 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/carbpol/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.