



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

DIVISION CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO SALAMANCA
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS

ESTUDIO COMPUTACIONAL DE LA IMPORTANCIA DE *BIG16BP* EN EL
TRANSPORTE/ABSORCION DE AZUCARES PREBIOTICOS Y
COMPUESTOS BIOACTIVOS EN *BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS*

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:
INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

Alondra Velázquez Ledezma

Asesores:

Dr. Erik Díaz Cervantes

Dr. Vicente Rodríguez González



DIVISION DE CIENCIAS DE LA VIDA.

DIRECCION.

Oficio: DICIVA/0010/2023.

Asunto: Autorización de Modalidad de Titulación.

C.

ALONDRA VELÁZQUEZ LEDEZMA,
LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS,
P R E S E N T E.

Por medio de la presente y una vez revisado que ha cumplido íntegramente el plan de estudios del Programa Académico y, con base en el Artículo 3 del *Reglamento de las Modalidades para la Obtención del Grado de Licenciatura y Procedimiento para la Obtención del mismo* y Artículo 72 del Reglamento Académico de la Normatividad de la Universidad de Guanajuato, me permito indicarle que doy mi autorización para que inicie el proceso de titulación por la *modalidad de Trabajo de Tesis*.

Sin otro asunto y enviándole un cordial saludo, se despide.

A T E N T A M E N T E

“LA VERDAD OS HARA LIBRES”

Irapuato, Gto., 17 de Enero de 2023.

EL DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA


DR. ROGELIO COSTILLA SALAZAR.



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
División de Ciencias de la Vida
Ex-Hacienda el Copal Irapuato, Gto.

- DIRECCION -

C.c.p. Consecutivo.

CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

Ex Hacienda El Copal, Km 9 Carretera Irapuato-Silao:
C.P.36824 A.P. 311, Irapuato, Gto., México.
Tel. y Fax: 462 624 18 89.



C.
DR. ROGELIO COSTILLA SALAZAR,
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO – SALAMANCA,
P R E S E N T E.

En relación al trabajo de titulación de la C. **ALONDRA VELÁZQUEZ LEDEZMA**, nos permitimos comunicar a Usted que el trabajo de Tesis: "**ESTUDIO COMPUTACIONAL DE LA IMPORTANCIA DE BIG16BP EN EL TRANSPORTE/ABSORCIÓN DE AZUCARES PREBIOTICOS Y COMPUESTOS BIOACTIVOS EN BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS**", que fue desarrollado bajo la Dirección del Dr. Erik Díaz Cervantes, Profesor de la División de Ciencias de la Vida, y la Co-Dirección del Dr. Vicente Rodríguez González, ha sido terminado. El escrito fue revisado por la Dra. Ma. Del Rosario Abraham Juárez y de la Ing. Andrea Josefina Rico Domínguez, profesoras de la División de Ciencias de la Vida, se ha autorizado la impresión y empastado del mismo.

Así mismo nos permitimos proponer la integración del Jurado a los señores:

DRA. MA. DEL ROSARIO ABRAHAM JUÁREZ
ING. ANDREA JOSEFINA RICO DOMINGUEZ
DR. ERIK DÍAZ CERVANTES

PRESIDENTE
SECRETARIO
VOCAL

A T E N T A M E N T E
Irapuato, Gto., 10 de Enero de 2023.


DR. ERIK DÍAZ CERVANTES
DIRECTOR

REVISOR



DRA. MA. DEL ROSARIO ABRAHAM JUÁREZ

REVISOR



ING. ANDREA JOSEFINA RICO DOMINGUEZ.

CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

Ex Hacienda El Copal, Km 9 Carretera Irapuato-Silao:
C.P.36824 A.P. 311, Irapuato, Gto., México.
Tel. y Fax: 462 624 18 89.

TIERRA BLANCA, GUANAJUATO A 18 DE ENERO DE 2024

M. en I. HERIBERTO GUITIERREZ MARTIN
COORDINADOR DE ASUNTOS ESCOLARES
P R E S E N T E;

Por medio de la presente se otorga la autorización para proceder a los tramites de impresión, empastado, de tesis y titulación al alumno(a) **Alondra Velázquez Ledezma** del **Programa Ingeniería en Alimentos** y que cuyo número de **NUA** es: **171049** del cual soy director. El título es:

ESTUDIO COMPUTACIONAL DE LA IMPORTANCIA DE *BIG16BP* EN EL TRANSPORTE/ABSORCION DE AZUCARES PREBIOTICOS Y COMPUESTOS BIOACTIVOS EN *BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS*

Hago constar que he revisado dicho trabajo y eh tenido comunicación con los sinodales asignados para la revisión de la tesis, por lo que no hay impedimento alguno, para fijar la fecha para el examen de titulación.

ATENTAMENTE



Dr. Erik Díaz Cervantes
DIRECTOR DE TESIS
VOCAL



Dra. Ma. Del Rosario Abraham Juárez
PRESIDENTE



Ing. Andrea Rico Domínguez
SECRETARIA

Indice

Jurado asignado.....	4
Agradecimientos.....	5
Resumen.....	6
Abstract.....	6
Índice de tablas.....	7
Índice de figuras.....	8
Abreviatura.....	9
Capítulo I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	10
1. Prebióticos	10
1.1 Bifidobacterium animalis subsp. lactis.....	11
1.1.1 Usos en industria de alimentos (prebióticos).....	13
2. BIG16BP (Importancia en el transporte de nutrientes).....	14
3. Frútanos.....	15
3.1 Frútanos del agave.....	15
3.2 Uso industrial de frútanos.....	17
4. Otras moléculas de interés.....	17
4.1. Carboximetilcelulosa.....	17
4.2 Arbutina.....	18
5. Estudios in silico.....	19
Capítulo II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	20
2.1 Hipótesis.....	20
2.2 Objetivo general.....	20
2.2.3 Objetivos específicos.....	20
Capítulo III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21

3.1	Estudio computacional.....	21
3.1.1	Selección y preparación de ligandos.....	21
3.1.2	Selección y preparación de blancos.....	21
3.1.3	Docking.....	22
Capítulo IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		23
4.1	Docking de ligandos de interés con BIG16BP.....	23
4.1.1	Energías totales y Eficiencia del Ligando (EL).....	23
4.1.2	Interacciones de enlace de hidrógeno y electrostáticas.....	24
Capítulo V. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....		26
5.1	Conclusiones.....	26
5.2	Perspectivas	26
Capítulo VI. REFERENCIAS.....		27
Capítulo VII. APÉNDICES.....		31
7.1	Apéndice A: Trabajos presentados en congresos.....	31

Jurado asignado

Estudio computacional de la importancia de B1G16BP en el transporte/absorción de azúcares prebióticos y compuestos bioactivos en *Bifidobacterium animalis*

Presidenta

Dra. María del Rosario Abraham Juárez

Secretaria

Ing. Andrea Josefina Rico Domínguez

Vocal

Dr. Erik Díaz Cervantes

Agradecimientos

LACAMBION, CINUG

Primeramente, a dios por guiarme a elegir esta carrera y permitirme culminar mis estudios profesionales hoy me permite sonreír ante este logro y poder compartirlo con mis seres queridos.

A mis padres Ignacio y Evangelina por su gran esfuerzo cada día para que yo pudiera realizar mis estudios profesionales, gracias papa por tu trabajo y tu esfuerzo que me ayudaron a llegar lejos, gracias mama por tu esfuerzo que me ayudo a lograr cada meta que tuve durante mi carrera.

A mis hermanos German y Bernardo, gracias por darme mis alas, por su acompañamiento esfuerzo, sacrificio y apoyo, por confiar en mí y ayudarme a realizar cada meta y cada sueño que tengo, por ser ese soporte y darme la confianza para seguir adelante por estar pendiente de mí durante esta etapa.

Agradezco también a mi director de tesis Dr. Erik Diaz Cervantes por ser un gran profesor, por brindarme su apoyo y confianza en todo momento para desarrollo de esta tesis, por motivarme y apoyarme en cada proyecto y ser un gran soporte para todos sus alumnos, muchas gracias Dr. Erik sin su apoyo muy posiblemente no hubiera realizado trabajo de tesis, pero usted siempre nos inculco la importancia de realizar una investigación motivándonos a buscar la excelencia.

A mi profesora la ing. Andrea Rico gracias por su motivación en todo momento y brindarnos su conocimiento para nuestra formación profesional, y por enseñarnos las áreas de oportunidad que nos ofrece esta carrera.

A mi casa de estudios la Universidad de Guanajuato, por haberme aceptado y ser parte de su colmena, por los amigos que hice durante mi estancia en esta casa de estudios

A la vida por las oportunidades en las que puedo desarrollarme profesionalmente con esta carrera que elegí.

A mis mejores amigas de la prepa, muchas gracias, Aylin y Abi, por seguir conservando esta amistad, estoy orgullosa de ver que nuestros sueños se estén cumpliendo y de haber compartido tanto con ustedes.

A mis padrinos Consuelo y Pedro muchas gracias por estar presentes en esta etapa importante de mi vida y ser parte de ella.

A mi pequeño Matías (Chayito) que durante los primeros años de mi carrera estuve cuidando desde bebe y me motivo a ser una mejor tia, y que cada fin de semana que regresaba de clases siempre estaba esperándome para pasar tiempo conmigo.

A mis sobrinos Ángel y Emiliano que siempre le gustaba que le platicara sobre temas de mi carrera, espero nunca se pierda ese interés por el aprendizaje y les haga llegar muy lejos.

A mi abuelito Velázquez que desde el cielo siempre me acompaña en cada etapa de mi vida.

A mi abuelito Dolores que dios te permitió acompañarme en mi graduación, gracias por hacer ese día especial para mí, hoy no pudiste estar presente en mi titulación, se que desde el cielo me acompañas.

Resumen

Se evaluaron las interacciones moleculares de una proteína presente en *Bifidobacterium* con una serie de fructanos presentes en el agave (Neocestosa, cestosa, bifurcosa), un aditivo utilizado en industria de alimentos (CMC), así como con un bioactivo presente en la pingüica (arbutina). Los resultados muestran que las moléculas estudiadas presentan el siguiente orden de interacción favorable con *BIG16BP*: Arbutina > Neocestosa > 1-cestosa > Bifurcosa > CMC, siendo las interacciones estéricas determinantes en la interacción final blanco-ligando. Se concluye que es posible proponer a los fructanos del agave, así como a la arbutina como posibles probióticos, que presentan una interacción favorable con la proteína *BIG16BP*, la cuál está involucrada en el metabolismo de azúcares de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, pudiendo aportar a un mejor desarrollo de este prebiótico, generando así las bases para posteriormente formular un alimento funcional basado en azúcares del agave y de la pingüica.

Abstract

The molecular interaction between the protein presents in *Bifidobacterium* and a family of agave fructans (Neocestose, cestose, and bifurcosa), an additive used in the food industry (CMC), as well as a bioactive present in pingüica (arbutin). The results show that the studied molecules present the following order of favorable interaction with *BIG16BP*: Arbutin > Neocestose > 1-cestose > Bifurcosa > CMC, being the steric interactions the determinant energy in the final ligand-target interaction. Furthermore, this work concludes that it is possible to propose the agave fructans, as well as the arbutin, as a potential probiotic, which presents favorable interactions with *BIG16BP*, which is involved in the metabolism of sugars in *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, promoting a better development of this prebiotic. We can generate the base to formulate a functional food based on agave and pingüica sugars with the above results.

Índice de tablas

	Nombre	Pagina
Tabla 1	xxxxxx	1
Tabla 2	xxxx	1

Índice de figuras

	Nombre	Pagina
Figura 1	xxxxxx	1
Figura 2	xxxx	1

Abreviaturas

	Significado	Pagina
cm	centímetros	
ppm	Partes por millón	
°C	Grados Celsius	

Estudio computacional de la importancia de *BIG16BP* en el transporte/absorción de azúcares prebióticos y compuestos bioactivos en *Bifidobacterium animalis*

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

1. Prebióticos

En las últimas décadas el estudio científico sobre los prebióticos ha incrementado un gran interés en distintos ámbitos de investigación, se han desarrollado diferentes productos elaborados con ingredientes prebióticos a los cuales se les define como alimentos funcionales, asimismo el consumo de estos tipos de alimentos ha generado una mayor demanda gracias al acercamiento y el acceso a la información sobre las propiedades benéficas de estos alimentos, haciendo que el consumidor sea cada vez más consciente sobre la alimentación.

Los primeros estudios sobre probióticos datan de los años 80, en los cuales científicos japoneses demostraron que ciertos oligosacáridos no digeribles eran fermentados de manera selectiva por bifidobacterias, teniendo así mismo la capacidad de estimular su crecimiento, todo esto mediante la utilización de cultivos *in vitro* donde se utilizaron heces fecales como inóculos, Gibson y Roberfroid confirmaron los resultados de estas investigaciones, posteriormente definieron por primera vez al término prebiótico lo siguiente: “es un ingrediente alimentario no digerible que afecta beneficiosamente al hospedados al estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de uno o un limitado número de especies bacterianas en el colon, y que por lo tanto mejora la salud,”(Corzo et al., 2015) años más adelante Gibson y col revisaron el concepto y definieron nuevamente los prebióticos como “ingredientes que al ser fermentados selectivamente dan lugar a cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota intestinal confiriendo beneficios tanto para la salud como para el bienestar del individuo”.

Posteriormente la definición fue evolucionando (Corzo et al., 2015), en 2010 Roberfroid y col, validaron y aplicaron el concepto de prebiótico indicando que son “ingredientes que producen una estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad (es) de uno o de un limitado número de géneros/especies de microorganismos en la microbiota intestinal confiriendo beneficios para la salud del hospedador,” (Enríquez, 2016).

Por otra parte diversos organismos internacionales como la Food and Agriculture Organization (FAO,) y la International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) también definieron este concepto como “ingredientes alimentarios que al ser fermentados selectivamente producen cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota gastrointestinal confiriendo beneficios en la salud del individuo” así mismo la World Gastroenterology Organisation (WGO) definió a los prebióticos como “sustancias de la dieta (fundamentalmente polisacáridos no amiláceos y oligosacáridos no digeribles por enzimas

humanas) que nutren a grupos seleccionados de microorganismos que habitan en el intestino favoreciendo el crecimiento de bacterias beneficiosas sobre las nocivas”(Davani-Davari et al., 2019).

En términos generales los prebióticos son sustancias de la dieta que fundamentalmente consisten en polisacáridos y oligosacáridos (no almidón). Dichos prebióticos, no pueden ser digeridos por el cuerpo humano o huésped, pero benefician la salud del individuo gracias a su influencia positiva sobre la microbiota intestinal, la cual estimula las funciones protectoras del sistema digestivo. Son también conocidos como bioterapéuticos, bioprotectores o bioprofilácticos y se utilizan para prevenir las infecciones entéricas y gastrointestinales (Bodke & Jogdand, 2022). En otras palabras, la administración o el uso de prebióticos influye en el ambiente intestinal, dominado por trillones de microorganismos comensales, para beneficiar la salud humana (Das, Pradhan, Chakrabarti, Mondal, & Ghosh, 2022).

Los prebióticos también se pueden definir como oligosacáridos con diferente grado de polimerización, los cuales no son digeribles por el humano, pero fermentables por microorganismos, modulando el crecimiento y actividad de poblaciones microbianas específicas, como los probióticos, las cuales pueden beneficiar las funciones intestinales (Song, Kim, & Paik, 2023). Los más usados son: los galactooligosacáridos (GOS) y los fructooligosacáridos (Silva, Mendonça, Paiva, Souza, & Peixoto, 2023). Dentro de éstos últimos destacan los fructanos, que son carbohidratos de reserva de diversas plantas, y están formados por unidades fructofuranosil con enlaces tipo β principalmente, están presentes de manera natural en algunos alimentos, pueden tener efecto protector ante infecciones intestinales, como diarreas, o afectaciones provocadas por tratamientos con antibióticos, debido a sus propiedades, eso puede ser al bloqueo de los lugares en donde se adhieren los microorganismos patógenos o las toxinas de estos mismos en las células epiteliales, también a que la población las especies de lactobacilos y bifidobacterias incrementa de manera positiva.

Con el fin de ejercer sus propiedades funcionales, los probióticos necesitan llegar disponibles al sitio activo. La viabilidad y actividad de los probióticos en los productos es un pre-requisito para obtener los beneficios en la salud. Sin embargo, algunos cultivos no viables pueden ejercer ciertas propiedades funcionales como la inmunomodulación. Estudios previos hablan sobre el desenvolvimiento de las proteínas implicadas entre el huésped y la bien estudiada *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, presentes en el proteoma extracelular del medio de cultivo.

1.1 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*

Hablando del microorganismo de interés, el estado del arte acerca de las proteínas presentes en *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* enuncia que 31 de ellas realizan funciones fisiológicas de membrana, las cuales son importantes desde el punto de vista de las interacciones blanco-ligando, la captación y el transporte de compuestos en las células de dichos microorganismos. A su vez, el estudio de interacciones entre polisacáridos y proteínas de esta bacteria, está poco estudiado y no se describe a detalle el tipo de interacción, la superficie protéica, ni interacciones

con prebióticos de ciertas proteínas de membrana; siendo el estudio de BIG16BP, proteína asociada a la súper-familia de proteínas encargadas del transporte transmembranal (ATP-binding cassette), de los únicos y más recientes que se han realizado, pero cuyo enfoque va a la unión de dicha proteína con oligosacáridos a-(1-6) (Ejby et al., 2016), no estando reportada la interacción de dicho blanco, presente en la bacteria de interés, con fructanos o compuestos con enlaces b-(1,2) y b-(2,6), que son enlaces presentes en los fructanos.

Bifidobacterium animalis subsp. *lactis* (BB-12®) es la bifidobacteria probiótica más documentada del mundo, ha sido descrita en aproximadamente 300 publicaciones científicas, se ha probado en ensayos clínicos que incluyeron sujetos desde bebés prematuros hasta ancianos, durante más de 25 años, diversos estudios. BB-12® ha demostrado su efecto beneficioso para la salud tanto en la salud gastrointestinal como en el sistema inmunitario.

El cuerpo humano contiene aproximadamente 10 billones de células, cada una de las cuales codifica aproximadamente 23.000 genes. Sin embargo, somos superados en número por nuestro microbioma: las bacterias que viven sobre y dentro de nosotros, este microbioma está formado por más de 500 especies diferentes y representa alrededor de 100 billones de células que codifican 3,3 millones de genes diferentes, el microbioma desempeña un papel importante en la salud humana, mediante interacciones internas con el cuerpo humano. Al conjunto de microorganismos que habitan dentro de nuestro intestino se les define como microbiota gastrointestinal, específicamente esta microbiota desempeña un papel fundamentalmente importante en la salud humana, colonizan nuestro organismo desde el vientre materno, entre la diversidad de microorganismos que conforman la microbiota destaca *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, las cuales fueron descubiertas y aisladas por primera vez de las heces de un bebe amamantado en el año de 1899 (Jungersen et al., 2014).

Bifidobacterium es un género de bacterias gram positivas, no formadoras de esporas, no móviles y son productoras de ácido láctico, anaeróbicas, constituyentes comunes de la microbiota autóctona en el intestino humano, es una bacteria con forma de bastón y catalasa negativa, en 1983 fue depositada en el banco de cultivos celulares de Chr. Hansen (Jungersen et al., 2014). En el momento en que fue aislada, se consideraba que *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, pertenecía a la especie *Bifidobacterium bifidum*. tiempo más adelante mediante la utilización de técnicas modernas de clasificación molecular reclasificadas *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* como *Bifidobacterium animalis* y posteriormente a una nueva especie *Bifidobacterium lactis*. Posteriormente tiempo después fue demostrado que *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* no cumplía con los criterios para una especie y, en cambio, se incluyó en *Bifidobacterium animalis* como subespecie. Por lo tanto, hoy en día, se clasifica como *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Uusitupa et al., 2020)

Las características que posee este microorganismo han sido de gran interés dentro de la investigación científica, mediante diversos estudios realizados se ha demostrado resultados positivos hacia la salud y la salud intestinal humana, debido a que su principal locación hospedera es el intestino, es importante conocer que este se debe encontrar en óptimas condiciones para que la microbiota benéfica pueda desarrollarse de una manera adecuada y así proporcionar los beneficios positivos a la salud del hospedador. Los probióticos tienen tres

principales mecanismos, la mejora de la función de barrera y el sistema inmunológico y la inhibición de patógenos, esta última se lleva a cabo y se facilita mediante ciertos mecanismos que incluyen: producción de sustancias inhibitoras (ácidos orgánicos, H₂O₂, bacteriocinas); competencia de nutrientes; eliminación/degradación de toxinas; competencia por los sitios de adherencia (mucosidad, células receptores); coagregación y modulación de la virulencia; e inducción de respuestas inmunitarias del huésped. Los jugos gástricos también juegan un papel importante en el sistema inmunológico, capaz de matar y controlar la exposición gastrointestinal a muchos patógenos, pero este mecanismo de defensa también puede afectar a la microbiota positiva, desactivando los microorganismos benéficos, diversos estudios han demostrado que *Bifidobacterium animalis* subsp, muestra una alta tolerancia al ácido gástrico y la bilis en comparación con otras bifidobacterias. pueden sobrevivir al ácido gástrico y la bilis después del consumo por parte de los humanos. Estas propiedades mejoran el potencial de BB-12® (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*) para proporcionar un beneficio para la salud al anfitrión (Veiga et al., 2010). Otra estudio respecto a esta cepa demuestra que tiene la capacidad de producir zonas inhibitorias de microorganismos patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, entre otros (Jungersen et al., 2014), las cuales son bacterias patógenas que provocan enfermedades al ser humano principalmente por la ingesta de alimentos que no son inocuos. El paso por el tracto gastrointestinal incluye un trayecto complejo para los probióticos vivos, debido a las condiciones que presenta el ácido gástrico duro y ácido, las sales biliares del intestino delgado presentan el siguiente desafío. BB-12® contiene el gen que codifica para la sal biliar hidrolasa, una importante enzima para hacer frente a las elevadas concentraciones de sales biliares que se encuentran en el intestino delgado. esta enzima se encuentra presente en BB-12® en todo momento, al tener tal enzima lista proporcionará una ventaja para la célula ya que permite una respuesta rápida a altas concentraciones de sales biliares y por lo tanto facilita el paso viable del intestino delgado al intestino grueso. Estas características nos indican que BB-12®, tiene una alta resistencia de supervivencia en estas condiciones referente a otras cepas probióticas.

1.1.1 Usos en industria alimentaria (prebióticos)

Actualmente los consumidores están siendo más consciente sobre su nutrición, los alimentos que consumen y sobre todo los beneficios que obtienen de los alimentos así mismo los efectos negativos, debido a las diversas enfermedades asociadas a una mala alimentación así como los malos hábitos de esta misma, han sido pie para el desarrollo de diversas investigaciones así mismo el desarrollo de nuevas opciones de consumo de alimentos, dando origen a los alimentos funcionales los cuales inicialmente formaban parte de una estrategia para mejorar la calidad de vida especialmente para la población anciana (Das et al., 2022). Academia Nacional de Ciencia de los Estados Unidos ha definido los alimentos funcionales como “cualquier alimento o ingrediente alimenticio modificado, que pueda proporcionar un beneficio a la salud” , la industria de alimentos ha revolucionado en la manera de producir estos alimentos y cada vez más vemos en el mercado alimentos funcionales, una de las aplicaciones más conocidas de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* en la industria alimentaria es en la elaboración de leches

acidificadas o como agentes aislados y adicionados a fórmulas o en bases oleosas o acuosas, otros usos como fórmulas, suplementos dietéticos y productos lácteos fermentados. Esta cepa es tecnológicamente muy adecuado, expresando actividad de fermentación, alta aerotolerancia, buena estabilidad, además de no tener efectos adversos sobre el sabor, la apariencia o la sensación en la boca del alimento (Davani-Davari et al., 2019).

2. BIG16BP

En términos de blancos biológicos de *Bifidobacterium*, estudios recientes computacionales mostraron las interacciones entre tres fructanos (1-cestosa, bifurcosa y neocestosa) que se encuentran en el agave y la proteína de transporte BG16BP, expresada en *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis*, en este estudio se observó que la proteína BIG16BP puede desempeñarse en el transporte y captación de fructanos como son la 1-cestosa, la bifurcosa y la neocestosa, siendo esta un primer blanco biológico en el metabolismo de este tipo de polisacáridos. La carboximetil celulosa debido a su estructura similar a los fructanos se estudio con el mismo método para revisar si podía fungir como prebiótico, al interactuar con dicha proteína, como resultado sus fuerzas de interacción fueron menores.

BG16BP es un mediador de oligosacáridos en *Bifidobacterium*, la cual está asociado al un transportador de ATP y en estudios experimentales se ha podido demostrar que dicha proteína puede ser un potencial blanco para promover un mejor metabolismo de oligosacáridos en este microorganismo (Ejby et al., 2016).

Las proteínas, cuya función se desarrolla de manera extracelular, son por lo general proteínas de unión de soluto para oligosacáridos, aminoácidos y manganeso; proteínas que metabolizan la pared celular y 18 proteínas que han sido descritas para interactuar con células epiteliales hospederas humanas o proteínas de matriz extracelular. Estos descubrimientos sugieren el papel clave de las proteínas en la colonización del aparato gastrointestinal, la adherencia a los tejidos del anfitrión, o la inmunomodulación del sistema inmune del anfitrión. La identificación de proteínas predichas para participar en tales interacciones, puede allanar el camino hacia estudios enfocados en la comprensión del modo de acción de las bacterias probióticas, desde el punto de vista de las interacciones proteicas blanco-ligando (Fei et al., 2023).

Por otro lado, un estudio realizado para caracterizar el sistema proteolítico de BB-12, enfocado en la identificación y caracterización de una endopeptidasa intracelular, llevó a cabo cultivos celulares en un medio rico en péptidos (MRS) y en un medio a base de leche con un contenido de péptidos bajo, utilizando sustratos cromógenos. En dicho estudio, se encontró que la actividad proteolítica se llevaba a cabo sólo gracias a las aminopeptidas intracelulares y la actividad más alta fue medida en las células que habían crecido en el medio a base de leche. No se detectaron actividades de proteinasa o endopeptidasa con sustratos cromógenos específicos en *B. animalis* subsp. *lactis*. Por lo tanto, estas actividades se ensayaron con proteínas lácteas: caseínas y proteínas de suero (Mei et al., 2023).

Finalmente, se tienen reportes de estudios realizados en b-(1,6)-galactosidasa, presente en *B. animalis* subsp. *lactis*, que indican su adecuada interacción con azúcares complejos (Viborg et al., 2014).

3. Fructanos

Desde miles de años los fructanos han estado presentes en la alimentación humana, a través del consumo de vegetales en donde estos compuestos se almacenan como sustancias de reserva, en especies variadas los fructanos constituyen polisacáridos derivados de la molécula de la sacarosa, siendo esta un disacárido de fructosa y una glucosa terminal, estas moléculas se pueden clasificar por sus estructuras diferentes (lineales, ramificados, y cíclicos), tienen distintas longitudes de cadena, enlaces y diferente grado de polimerización (Peshev & Van den Ende, 2014). De igual manera, los fructanos son carbohidratos no reductores formados de unidades fructosil presentando generalmente en su estructura, una molécula de glucosa terminal. Sin embargo, el sistema digestivo de humanos no posee enzimas capaces de hidrolizar este tipo de carbohidratos, llegando así al colon y sirviendo de sustrato para las bacterias colónicas, considerándose entonces como un prebiótico (Vijn & Smeekens, 1999). Se encuentran solamente en el 15% de las plantas, entre los principales órdenes de estas mismas que presentan este tipo de compuestos se encuentran las Asterales, Asparagales, Poales entre otros, los cuales son almacenados en hojas, tallos o raíces, los fructanos también son producidos por algas bacterias y hongos. Los fructanos fueron aislados por primera vez en 1804, a partir de un extracto de *Inula helenium* por el científico alemán Rose (López-Castejón, Bengoechea, Espinosa, & Carrera, 2019).

Los fructanos se encuentran en vacuolas y son solubles, otra función importante de los fructanos además de ser un carbohidrato de reserva, es que su función natural está asociada con la regulación de absorción y retención de agua, y con el crecimiento al generar una mayor resistencia y tolerancia a las bajas temperaturas (Kaur & Gupta, 2002).

3.1 Fructanos del agave

Los fructanos se clasifican de acuerdo con las unidades estructurales de las cuales están conformados por ejemplo:

Inulina: Son oligopolímeros de D-fructosas que están unidas por los enlaces $\beta(2\rightarrow1)$, con una molécula de D-glucosa terminal. La inulina está presente en especies de la familia Asteraceae, en plantas puede contener hasta un 10% de mono y disacáridos, principalmente fructosa y sacarosa, así como una serie de polisacáridos entre los cuales los fructooligosacáridos representan hasta el 30 %, Mudannayake y colaboradores (Mudannayake, Jayasena, Wimalasiri, Ranadheera, & Ajlouni, 2022) describieron a la inulina como una mezcla de oligómeros y polímeros, cuyo grado de polimerización llega a alcanzar hasta 70 unidades de fructosa más una glucosa terminal.

Levanos: estos son producidos por monocotiledoneas, cuentan con una estructura lineal presentando uniones de glucosa y fructosa a β (2 \rightarrow 6) o incluso β (2 \rightarrow 1) fructofuranosil y una molécula de glucosa terminal.

Inulina neoserie: cadenas lineales de fructosas con unión mediante enlaces β (2 \rightarrow 1) en los carbonos 1 y 6 de la glucosa de una molécula de sacarosa; se encuentran principalmente en *Allium cepa* (Alliaceae) y *Asparagus officinalis* (Liliaceae) (Godínez-Hernández, Aguirre-Rivera, Juárez-Flores, Ortiz-Pérez, & Becerra-Jiménez, 2015)

Agavinas: poseen enlaces tanto β (2 \rightarrow 1) como β (2 \rightarrow 6) fructofuranosil y una molécula de glucosa interna, son sintetizados por varias especies de agave.

Las primeras evidencias de estos compuestos presentes en especies de Agaves fueron aportadas por Marroquin y Hope (1953), posteriormente establecieron la estructura molecular de los fructanos del agave tequilero (Quiñones-Muñoz, Villanueva-Rodríguez, & Torruco-Uco, 2022), en sus investigaciones encontraron que dichos compuestos presentan estructuras ramificadas y mayor grado de polimerización que los de achicoria, estos resultados iniciaron un gran interés y la realización de trabajos de investigación sobre las propiedades, métodos de extracción, entre otras cosas En muchas especies vegetales los fructanos permiten la tolerancia al frío, a la sequía y condiciones de estrés (Wang, Yu, Zhang, Jiang, & Mu, 2015). Actualmente se están realizando estudios a profundidad por la gran importancia económica que tiene en México, debido a la fuente natural en donde se encuentran que es el agave, México es el país el cual cuenta con la mayor parte de especies de agaves que existen y estas plantas y debido al interés mencionado son la principal fuente de extracción de inulina.

Las moléculas de fructanos, como 1-cestosa, bifurcosa y neocestosa (Vijn & Smeekens, 1999). ver Figura 1, poseen una configuración ramificada a diferencia de la configuración lineal de la inulina comercial (siendo también es un fructano, pero derivado de achicoria), lo que les podría otorgar diferentes propiedades y aplicaciones tecnológicas. Varios estudios han sido desarrollados, encontrando un efecto favorable de distintos prebióticos sobre bacterias probióticas, como *Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus* spp. con GOS (Castro et al., 2016). También existen reportes de fructanos, como la inulina, que sugieren que dicho polímero puede ser una buena opción para aumentar beneficios a la salud, aportados por algunas cepas de *Streptococcus* spp. y *Lactobacillus* spp (Allgeyer, Miller, & Lee, 2010).

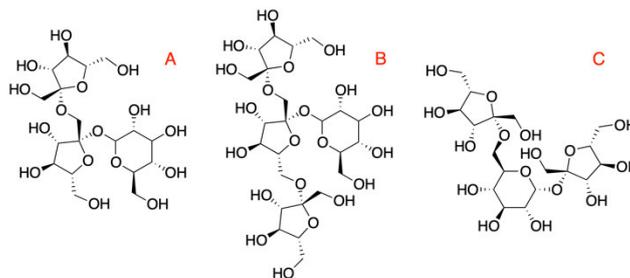


Figura 1. Principales fructanos encontrados en el agave A) 1-cestosa, B) bifurcosa, C) neocestosa.

No obstante, la caracterización fisicoquímica, estudios y aplicaciones realizados respecto a los fructanos, son muy escasas, pese a sus reconocidos beneficios que durante el proceso de fermentación de dichos compuestos promueve la biosíntesis de ácidos grasos de cadena corta y ácido láctico, de los cuales, los primeros estimulan el crecimiento de las células de la mucosa colorrectal, retardan la atrofia de la mucosa y disminuyen el riesgo de transformación maligna del colon.

3.2 Uso industrial de fructanos

Por sus diversas propiedades son utilizados, además, en la industria alimentaria como ingredientes bajos en calorías, edulcorantes o sustitutos de grasas (Gibson et al. 1995), existe una gran demanda de fructanos comerciales como ingredientes en los alimentos funcionales, entre otras funciones los fructanos mejoran la textura y consistencia de productos alimenticios, los cuales reducen el contenido calórico de los alimentos.

Un ejemplo de su uso en la industria de alimentos es el uso como sustituto de grasa y azúcar en panificación utilizando harinas libres de gluten, en este estudio se demostró su potencial, dando como resultado de manera positiva muchas ventajas tecnológicas, y aceptación sensorial y nutrimentales, complementando un alimento que está dirigido principalmente a personas con problemas celíacos (Davidson & Bridges, 1987).

Entre las propiedades benéficas para la salud que han sido atribuidas a los prebióticos destacan la promoción de la microbiota intestinal deseable, refuerzo de las funciones inmunológicas, ayuda a la absorción de minerales como el calcio, mejora el metabolismo de las grasas y de la reacción glicémica, así como la prevención de enfermedades cardiovasculares y diabetes (Molfetta et al., 2022).

4. Otras moléculas de interés

En el presente estudio se requiere conocer más a fondo generalidades y propiedades de ciertas moléculas de interés y comparación con los fructanos del agave. Tal es el caso de la carboximetilcelulosa y la arbutina.

4.1 Carboximetilcelulosa

Otra molécula importante para el presente estudio es la carboximetilcelulosa (CMC), producida por modificación química de la celulosa, específicamente introduciendo grupos acetato en su estructura, confiriendo solubilidad de esta en agua. Dicha molécula, al presentar una estructura poliscárida similar a los prebióticos seleccionados en este trabajo, puede interferir en la interacción proteína-prebiótico y al ser ampliamente utilizado en la industria de alimentos, por

su transparencia, viscosidad y tolerancia a medios ácidos en varios productos, es fácil encontrarla en lácteos congelados, pasteles, pastas, dulces, bebidas de frutas, leches saborizadas, bebidas en polvo, entre otros (Jia, Liu, & Zhang, 2016).

Polímero aniónico que es soluble en agua. Este éter celulósico es producido a través de reaccionar álcali celulosa con monocloroacetato de sodio bajo estrictas condiciones de proceso. En la reacción se obtienen subproductos como el cloruro de sodio y glicolato de sodio, estas sales son posteriormente removidas obteniendo la carboximetilcelulosa de sodio altamente purificada. La alta capacidad de hinchamiento se puede alcanzar y controlar por medio de diferentes formas de insolubilidad del polímero, las cuales pueden ser por adición de un agente entrecruzante, tratamiento térmico o conversión del estado iónico. La conversión de algunos grupos hidroxilo de la celulosa en sustituyentes hidrofóbicos atenúa el enlace por puente de hidrógeno, disminuyendo la cristalinidad e incrementando la solubilidad en agua (Akhlaq & Uroos, 2023).

Fue utilizada durante la primera guerra mundial, se usó como un sustituto potencial de la gelatina, pero, surgieron problemas técnicos y los costos de manufactura complicaron la comercialización del producto en aquella época. Tiempo después se descubrió que la CMC mejoraba el lavado al usar detergentes que la contuviera, evitando la redeposición de la suciedad en la ropa. Más adelante al llegar la Segunda Guerra Mundial, los materiales que eran usados comúnmente para hacer limpiadores naturales de ropa, fueron utilizados con fines bélicos, dando inicio a una mayor utilización y auge de las gomas solubles en agua, renovándose así el interés en la fabricación de CMC (Akhlaq & Uroos, 2023).

Principalmente se utiliza como estabilizante, espesante proporcionando cuerpo a diferentes productos alimenticios como jugos, cremas de licor,

El primer uso de la CMC en la industria alimenticia fue en los helados, debido a la escasez de gelatina después de la Segunda Guerra Mundial. Para mediados de 1950, la CMC fue establecida como un estabilizador de helados. Posteriormente de aquella fecha la su utilización de la CMC además de alimentos, ha tenido una diversa aplicación en productos farmacéuticos, cosméticos, cementos, adhesivos y textiles. La carboximetilcelulosa (CMC) o sodio O-(carboximetilcelulosa) es un derivado muy importante de la celulosa y es muy conocido por sus propiedades superabsorbentes. Las múltiples aplicaciones de la NaCMC en los diferentes sectores de la industria alimenticia hacen de este producto un elemento casi indispensable, es producida en grandes cantidades, en grados comerciales crudos sin ningún refinamiento para emplearlo en detergentes, fluidos de perforación y en la industria papelera. En grados de pureza más altos se emplea como aditivo alimenticio.

4.2 Arbutina

La arbutina (4-hidroxifenil- β -D-glucopiranosido), es un glicósido de la p-hidroquinona, aislado por primera vez a partir de fuentes naturales e identificado en 1881 por Schiff y Michael en 1982 (Saeedi, Khezri, Seyed Zakaryaei, & Mohammadamini, 2021). Este compuesto, se encuentra presente en las hojas y frutos de la pingüica, *Arctostaphy pungens* (Quevedo-Robles,

Vilchis-Nestor, & Luque, 2023). Cuando es ingerida la arbutina, se absorbe en el tracto gastrointestinal y es hidrolizado por la flora intestinal para liberar el aglucón, hidroquinona (Searle, Al-Niaimi, & Ali, 2021). Sus ésteres de glucuronato y sulfato se excretan en la orina (McGregor, 2007).

5. Estudios *in silico*

Los estudios computacionales a lo largo del presente milenio han tomado fuerza, derivado del desarrollo tecnológico de ordenadores con mayor poder de cálculo y del interés de los investigadores en generar resultados economizando los costos y tiempos que implican la experimentación empírica. Es por ello que en el presente trabajo se plantea evaluar la interacción entre la proteína transmembranal BIG16BP y algunos azúcares complejos de diversas especies, como fructanos (1-cestosa, bifurcosa y neocestosa) y arbutina; con la finalidad de evaluar, de manera computacional, cuál de ellos presenta la mejor interacción, así como los modos de unión prebiótico-BIG16BP, para de esta manera saber que prebiótico puede introducirse más sencillo a *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, metabolizándose posteriormente, favoreciendo el crecimiento bacteriano y proponiendo dicha proteína como primer blanco biológico de la ruta de captación, transporte y posterior metabolismo de este tipo de azúcares complejas. A su vez, se utilizará como sustrato competitivo la CMC, por estar presente en diversas formulaciones de alimentos, comparándolo con las moléculas antes mencionadas: arbutina estando presente en un alimento utilizado en la medicina tradicional poco estudiado.

Esto se plantea realizarse a partir de los acoplamientos moleculares *in silico*, los cuales son una herramienta importante para elucidar propiedades bioquímica de moléculas bioactivas, calculando energía de enlazamiento, empleando un algoritmo computacional para encontrar como se unirá una molécula (bioactivo) con una biomolécula blanco (Young, 2009). La manera de realizar los acoplamientos moleculares *in silico* es teniendo conocimiento del receptor (Diana biológica) y de la estructura cristalizada de dicho blanco biológico con un ligando específico, haciendo de esta manera un escaneo en la superficie del receptor, obteniendo así la “pose” de menor energía de enlazamiento, que pueda adquirir el ligando en dicha superficie de la diana biológica (Asiamah, Obiri, Tamekloe, Armah, & Borquaye, 2023).

CAPÍTULO II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

Una selección de moléculas bioactivas presentes en plantas de clima semi-árido (agave, y pingüica), tienen la capacidad de interactuar con la proteína de membrana *BIG16BP*, presente en *B. animalis* subsp. *lactis* relacionando dicha interacción con una perspectiva de las mismas como prebióticos.

2.2 Objetivo general:

Entender a nivel molecular las interacciones entre la proteína de membrana *BIG16BP* presente en *B. animalis* subsp. *lactis* y diferentes azúcares prebióticos, y distintos compuestos seleccionados (Carboximetilcelulosa, arbutina, fructanos) a partir de métodos basados en la química teórica y computacional, con la finalidad de tener una perspectiva hacia el uso de las moléculas estudiadas como prebióticos.

2.2.1 Objetivos específicos

- Modelar un conjunto de fructanos del agave (Neocestosa, 1-cestosa y Bifurcosa), la arbutina y la CMC.
- Optimizar las moléculas antes mencionadas, con métodos basados en el estado del arte de la química teórica y computacional
- Seleccionar, descargar y corregir un blanco biológico de *B. animalis* subsp. *lactis*, en este caso la proteína de membrana *BIG16BP*.
- Realizar acoplamiento molecular *in silico* del blanco y los ligandos modelados.

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Estudio computacional

El presente trabajo fue realizado a partir de técnicas basadas en el estado del arte de la química teórica computacional, empleando para ello la infraestructura disponible en el Laboratorio de Caracterización Molecular de Biosistemas y Nanocompuestos (LACAMBION), específicamente haciendo uso de la computadora de alto rendimiento denominada “La Biznaga”(García-Tejada, Aguilera-Granja, Albino-Flores, Bazán-Jiménez, & Diaz-Cervantes, 2022).

3.1.1 Selección y preparación de ligandos

La carboximetilcelulosa, así como los compuestos bioactivos de arbutina y fructanos seleccionados fueron considerados como ligandos de *BIG16BP*, siendo previamente modelados de manera finita (**Figura 1, Figura 2 Figura3**), capeando los extremos de las moléculas con protones, para evitar valencias libres.

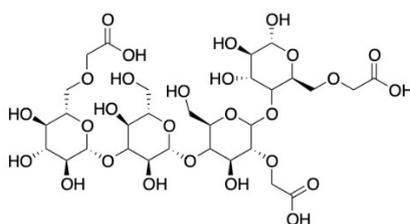


Figura 2. Modelo propuesto para la carboximetil celulosa.

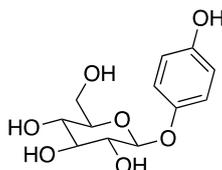


Figura 3. Modelo propuesto para Arbutina

Los ligandos fueron serán optimizados a nivel PM6(Stewart, 2007) y utilizando el formalismo de la teoría de funcionales de la densidad (DFT, por sus siglas en inglés), específicamente empleando el funcional meta GGA (PBE), formulado por Perdew, Burke y Ernzerhof(Perdew, Burke, & Ernzerhof, 1996), a través del paquete computacional (G09) Gaussian 09(Frisch et al., 2009), el cual, se reporta en la literatura como un método apropiado para obtener ángulos, distancias de enlace, energías y propiedades electrónicas similares a las experimentales.

3.1.2 Selección y preparación de blancos

Como uno de los objetivos implícitos de este trabajo es elucidar un posible blanco biológico involucrado en la ruta metabólica de los ligandos seleccionados (CMC, fructanos, y arbutina)

para lo cual y debido a la amplia gama de proteínas presentes en *B. animalis subsp. lactis*, en este estudio debemos enfocarnos en una proteína en específico, la cuál debe ser caracterizada y corregida a través de los datos cristalográficos obtenidos del estado del arte. La proteína seleccionada será la *BIG16BP*(Ejby et al., 2016), cuyos datos cristalográficos se descargarán de la base de datos Protein Data Bank (código PDB: 4ZZE), para poder realizar el modelado molecular correspondiente, a través de metodologías basadas en la fisicoquímica teórica-computacional, empleando los softwares que se mencionaron en la sección anterior. Dicho modelado comenzó con las correcciones de solventes y pH a través del paquete computacional Chimera (Pettersen et al., 2004).

3.1.3 Docking

La interacción entre los prebióticos seleccionados, la carboximetilcelulosa y la *BIG16BP*, se llevó a cabo con el software (MVD) Molegro Virtual Docker(Yang & Chen, 2004), a través de la función de scoring MoldockScore (Thomsen & Christensen, 2006).

Finalmente, el análisis de interacciones no covalentes, entre los ligandos y proteína seleccionada, se llevarán a cabo con el software MVD.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 *Docking* de ligandos de interés con *BIG16BP*

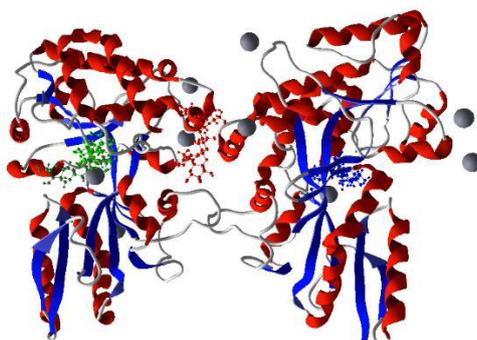


Figura 4. Acoplamiento molecular *in silico* de los ligandos estudiados en la superficie de *BIG16BP*.

En la **Figura 4** se muestra el *docking* ciego de los sistemas estudiados, el cual es un escaneo de la superficie de toda la proteína, y es claro que los ligandos se posicionan en diferentes cavidades. Una vez realizada esta primera aproximación, se procedió a realizar un *docking* específico, del cual se muestran los resultados en la siguiente sección.

4.1.1 Energías totales y Eficiencia del Ligando (EL)

Los resultados obtenidos una vez realizado el estudio computacional de las principales interacciones moleculares no covalentes entre *BIG16BP* y la arbutina, fructanos y CMC con la proteína son mostrados en la Tabla 1. En dicha tabla se puede observar que la arbutina es la molécula que presenta mejor interacción blanco-ligando, al obtener una eficiencia del ligando (LE) más negativa que las demás moléculas. El acomodo de los ligandos con mejor interacción quedaría como sigue Arbutina > Neocestosa > 1-cestosa > Bifurcosa > CMC, notando nuevamente que la molécula con menor interacción es la CMC y en este caso los fructanos presentan la misma tendencia reportada en trabajos anteriores.

Tabla 1. Principales energías de interacción, en kcal/mol, entre *BIG16BP* y los ligandos estudiados

Molécula	E	LE	Hbond	VdW	Electro
Neocestosa	-123.52	-3.63	-22.11	-37.93	3.86
Arbutina	-85.56	-4.50	-13.25	-28.35	-1.67
1-Cestosa	-99.69	-2.93	-15.08	5.19	-2.50
Bifurcosa	-117.98	-2.62	-17.56	-42.36	-0.45
CMC	-125.39	-2.20	-18.92	13.27	-0.86

E = Energía total de interacción ligando-receptor; LE= eficiencia del ligando; Hbond= Interacciones de enlaces de hidrógeno; VdW = Interacciones de Van der Waals y Electro = Interacciones electrostáticas.

A partir de los resultados anteriores, podemos decir que la arbutina presenta una mejor interacción con el blanco seleccionado, significando que puede ser considerada como posible

prebiótico, teniendo una mejor interacción incluso que los fructanos del agave (LE = -3.63 kcal/mol, -2.93 kcal/mol y -2.62 kcal/mol) y la CMC (LE = -2.20 kcal/mol).

4.1.2 Interacciones de enlace de hidrógeno y electrostáticas

Los resultados de la tabla 1 se pueden sustentar debido a la presencia de interacciones electrostáticas atractivas y a la baja cantidad de interacciones estéricas, ver **Figura 5**.

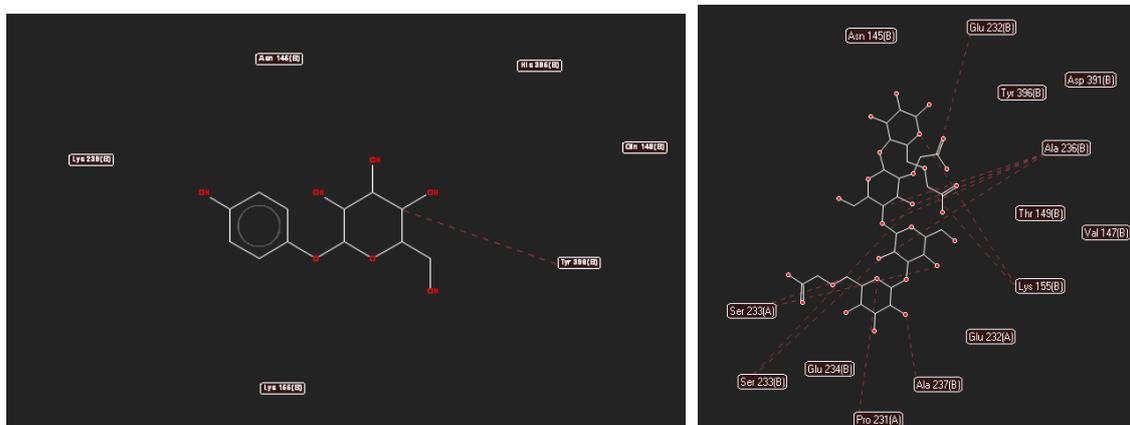


Figura 5. Interacciones estéricas entre *BIG16BP* y la arbutina (izquierda) y CMC (derecha).

La **Figura 5** nos muestra las interacciones estéricas blanco-ligando para la arbutina y la CMC, siendo clara la cantidad mayor de interacciones estéricas en esta última, comparada con las presentes en la arbutina (una interacción notoria y 5 muy bajas), lo cual nos da pauta a considerar que este tipo de interacciones son las causantes de un favorable LE en el caso de la arbutina y un LE menos negativo en el caso de la CMC. Cabe destacar que las interacciones estéricas son repulsivas y causan interacciones blanco-ligando menos favorables.

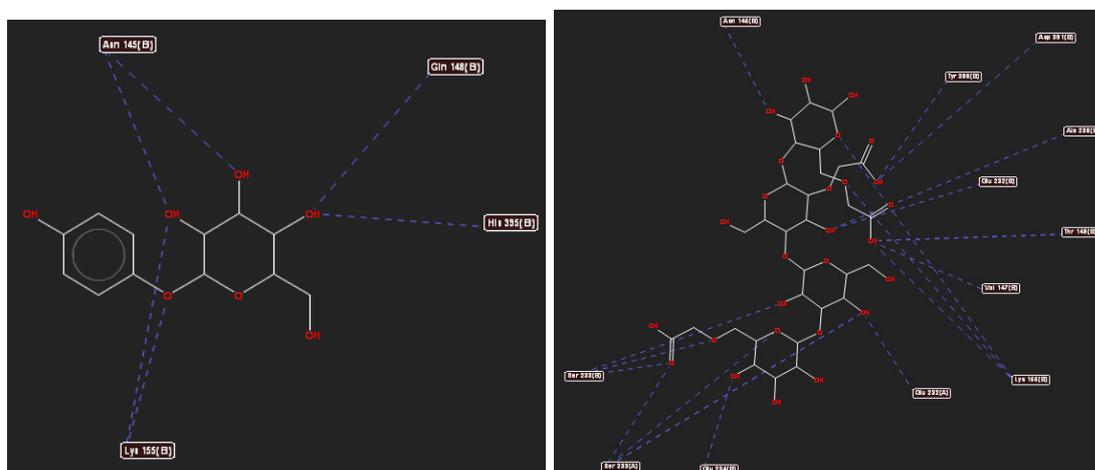


Figura 6. Interacciones de enlace de hidrógeno entre *BIG16BP* y la arbutina (izquierda) y CMC (derecha).

En forma contrastante con lo discutido anteriormente, es notorio que aunque la CMC presenta una gran cantidad de enlaces de hidrógeno, ver **Figura 6**, no aportan la suficiente energía para contrastar la gran cantidad de interacciones estéricas presentes en la **Figura 6**. Lo que causa que CMC interactúe de manera menos favorable que las demás moléculas estudiadas, presentando una LE menos negativa.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

5.1 Conclusiones

En el presente trabajo se evaluaron las interacciones moleculares de una proteína presente en *Bifidobacterium* con una serie de fructanos presentes en el agave (Neocestosa, cestosa, bifurcosa), un aditivo utilizado en industria de alimentos (CMC), así como con un bioactivo presente en la pingüica (arbutina). Los resultados muestran que las moléculas estudiadas presentan el siguiente orden de interacción favorable con *BIG16BP*: Arbutina > Neocestosa > 1-cestosa > Bifurcosa > CMC, siendo las interacciones estéricas determinantes en la interacción final blanco-ligando.

Se puede concluir además que es posible proponer a los fructanos del agave, así como a la arbutina como posibles probióticos, que presentan una interacción favorable con la proteína *BIG16BP*, la cuál está involucrada en el metabolismo de azúcares de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, pudiendo aportar a un mejor desarrollo de este prebiótico, generando así las bases para posteriormente formular un alimento funcional basado en azúcares del agave y de la pingüica.

5.2 Perspectivas

- Llevar a cabo la extracción de azúcares del agave y de la pingüica de manera experimental.
- Formular un aditivo a partir de los azúcares extraídos.
- Realizar pruebas sobre *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* para evaluar su comportamiento en presencia azúcares del agave y de la pingüica, así como CMC como control.

CAPÍTULO VI. REFERENCIAS

- Akhlaq, M., & Uroos, M. (2023). Evaluating the Impact of Cellulose Extraction via Traditional and Ionosolv Pretreatments from Domestic Matchstick Waste on the Properties of Carboxymethyl Cellulose. *ACS Omega*, 8(9), 8722–8731. doi:10.1021/acsomega.2c08118
- Allgeyer, L. C., Miller, M. J., & Lee, S.-Y. (2010). Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4471–4479. doi:10.3168/jds.2009-2582
- Asiamah, I., Obiri, S. A., Tamekloe, W., Armah, F. A., & Borquaye, L. S. (2023). Applications of molecular docking in natural products-based drug discovery. *Scientific African*, 20, e01593. doi:10.1016/j.sciaf.2023.e01593
- Bodke, H., & Jogdand, S. (2022). Role of Probiotics in Human Health. *Cureus*. doi:10.7759/cureus.31313
- Castro, J. J., Gomez, A., White, B. A., Mangian, H. J., Loften, J. R., & Drackley, J. K. (2016). Changes in the intestinal bacterial community, short-chain fatty acid profile, and intestinal development of preweaned Holstein calves. 1. Effects of prebiotic supplementation depend on site and age. *Journal of Dairy Science*, 99(12), 9682–9702. doi:10.3168/jds.2016-11006
- Corzo, N., Alonso, J. L., Azpiroz, F., Calvo, M. A., Cirici, M., Leis, R., ... Clemente, A. (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutr. Hosp.*, 31, 99–118. doi:10.3305/nh.2015.31.supl.8715
- Das, T. K., Pradhan, S., Chakrabarti, S., Mondal, K. C., & Ghosh, K. (2022). Current status of probiotic and related health benefits. *Applied Food Research*, 2(2), 100185. doi:10.1016/j.afres.2022.100185
- Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S., ... Ghasemi, Y. (2019). Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. *Foods*, 8(3), 92. doi:10.3390/foods8030092
- Davidson, A. G. F., & Bridges, M. A. (1987). Coeliac disease: A critical review of aetiology and pathogenesis. *Clinica Chimica Acta*, 163(1), 1–40. doi:10.1016/0009-8981(87)90031-3
- Ejby, M., Fredslund, F., Andersen, J. M., Vujičić Žagar, A., Henriksen, J. R., Andersen, T. L., ... Abou Hachem, M. (2016). An ATP Binding Cassette Transporter Mediates the Uptake of α -(1,6)-Linked Dietary Oligosaccharides in Bifidobacterium and Correlates with Competitive Growth on These Substrates. *Journal of Biological Chemistry*, 291(38), 20220–20231. doi:10.1074/jbc.M116.746529
- Enríquez, J. E. B. (2016). *Síntesis de fucosil-oligosacáridos, evaluación de sus propiedades bioactivas y caracterización de sus rutas metabólicas en Lactobacillus*. Universitat de València. Retrieved from <https://roderic.uv.es/handle/10550/55892>
- Fei, Y., Chen, Z., Han, S., Zhang, S., Zhang, T., Lu, Y., ... Yao, M. (2023). Role of

- prebiotics in enhancing the function of next-generation probiotics in gut microbiota. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(8), 1037–1054. doi:10.1080/10408398.2021.1958744
- Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., ... Fox, D. J. (2009). Gaussian 09. Wallingford CT.
- García-Tejada, E.-P., Aguilera-Granja, F., Albino-Flores, Á., Bazán-Jiménez, A., & Diaz-Cervantes, E. (2022). TiO₂ como nanoacarreadores de antibióticos (quinolonas): ensayo de acoplamiento molecular. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencias y Nanotecnología*, 15(29), 1e-18e. doi:10.22201/ceiich.24485691e.2022.29.69703
- Godínez-Hernández, C. I., Aguirre-Rivera, J. R., Juárez-Flores, B. I., Ortiz-Pérez, M. D., & Becerra-Jiménez, J. (2015). Extraction and characterization of Agave salmiana Otto ex Salm-Dyck fructans. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, XXII(1), 59–72. doi:10.5154/r.rchscfa.2015.02.007
- Jia, F., Liu, H., & Zhang, G. (2016). Preparation of Carboxymethyl Cellulose from Corncob. *Procedia Environmental Sciences*, 31, 98–102. doi:10.1016/j.proenv.2016.02.013
- Jungersen, M., Wind, A., Johansen, E., Christensen, J., Stuer-Lauridsen, B., & Eskesen, D. (2014). The Science behind the Probiotic Strain Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12®. *Microorganisms*, 2(2), 92–110. doi:10.3390/microorganisms2020092
- Kaur, N., & Gupta, A. K. (2002). Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of Biosciences*, 27(7), 703–714. doi:10.1007/BF02708379
- López-Castejón, M. L., Bengoechea, C., Espinosa, S., & Carrera, C. (2019). Characterization of prebiotic emulsions stabilized by inulin and β -lactoglobulin. *Food Hydrocolloids*, 87, 382–393. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.08.024
- McGregor, D. (2007). Hydroquinone: An Evaluation of the Human Risks from its Carcinogenic and Mutagenic Properties. *Critical Reviews in Toxicology*, 37(10), 887–914. doi:10.1080/10408440701638970
- Mei, Y., Chen, H., Yang, B., Zhao, J., Zhang, H., & Chen, W. (2023). Computational Analysis and Heterologous Expression of BBI-like Proteins from Food-Grade Bifidobacterium Species Reveal Possibly a Key Factor in Conjugated Linoleic Acid Bioconversion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(21), 8093–8103. doi:10.1021/acs.jafc.3c00857
- Molfetta, M., Morais, E. G., Barreira, L., Bruno, G. L., Porcelli, F., Dugat-Bony, E., ... Minervini, F. (2022). Protein Sources Alternative to Meat: State of the Art and Involvement of Fermentation. *Foods*, 11(14), 2065. doi:10.3390/foods11142065
- Mudannayake, D. C., Jayasena, D. D., Wimalasiri, K. M. S., Ranadheera, C. S., & Ajlouni, S. (2022). Inulin fructans – food applications and alternative plant sources: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(9), 5764–5780. doi:10.1111/ijfs.15947
- Perdew, J. P., Burke, K., & Ernzerhof, M. (1996). Generalized Gradient Approximation Made Simple. *Phys. Rev. Lett.*, 77, 3865–3868.

- Peshev, D., & Van den Ende, W. (2014). Fructans: Prebiotics and immunomodulators. *Journal of Functional Foods*, 8, 348–357. doi:10.1016/j.jff.2014.04.005
- Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *J. Comput. Chem.*, 25, 1605–1612. doi:https://doi.org/10.1002/jcc.20084
- Quevedo-Robles, R. V., Vilchis-Nestor, A. R., & Luque, P. (2023). Synthesis of semiconductor ZnO nanostructures using *Arctostaphylos pungens* extract applied in the photodegradation of water pollutions. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 42(5). doi:10.1002/ep.14152
- Quiñones-Muñoz, T. A., Villanueva-Rodríguez, S. J., & Torruco-Uco, J. G. (2022). Nutraceutical Properties of Medicago sativa L., Agave spp., Zea mays L. and Avena sativa L.: A Review of Metabolites and Mechanisms. *Metabolites*, 12(9), 806. doi:10.3390/metabo12090806
- Saeedi, M., Khezri, K., Seyed Zakaryaei, A., & Mohammadamini, H. (2021). A comprehensive review of the therapeutic potential of α -arbutin. *Phytotherapy Research*, 35(8), 4136–4154. doi:10.1002/ptr.7076
- Searle, T., Al-Niaimi, F., & Ali, F. R. (2021). Hydroquinone: myths and reality. *Clinical and Experimental Dermatology*, 46(4), 636–640. doi:10.1111/ced.14480
- Silva, R. S. da, Mendonça, I. P., Paiva, I. H. R. de, Souza, J. R. B. de, & Peixoto, C. A. (2023). Fructooligosaccharides and galactooligosaccharides improve hepatic steatosis via gut microbiota-brain axis modulation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 74(7), 760–780. doi:10.1080/09637486.2023.2262779
- Song, M. W., Kim, K.-T., & Paik, H.-D. (2023). Probiotics as a Functional Health Supplement in Infant Formulas for the Improvement of Intestinal Microflora and Immunity. *Food Reviews International*, 39(2), 858–874. doi:10.1080/87559129.2021.1928178
- Stewart, J. J. P. (2007). Optimization of parameters for semiempirical methods V: modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *J. Mol. Mod.*, 13, 1173–1213.
- Thomsen, R., & Christensen, M. H. (2006). MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *J. Med. Chem.*, 49(11), 3315–3321.
- Uusitupa, H.-M., Rasinkangas, P., Lehtinen, M. J., Mäkelä, S. M., Airaksinen, K., Anglenius, H., ... Maukonen, J. (2020). Bifidobacterium animalis subsp. lactis 420 for Metabolic Health: Review of the Research. *Nutrients*, 12(4), 892. doi:10.3390/nu12040892
- Veiga, P., Gallini, C. A., Beal, C., Michaud, M., Delaney, M. L., DuBois, A., ... Garrett, W. S. (2010). Bifidobacterium animalis subsp. lactis fermented milk product reduces inflammation by altering a niche for colitogenic microbes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(42), 18132–18137. doi:10.1073/pnas.1011737107
- Viborg, A. H., Katayama, T., Abou Hachem, M., Andersen, M. C., Nishimoto, M., Clausen, M. H., ... Kitaoka, M. (2014). Distinct substrate specificities of three glycoside

hydrolase family 42 -galactosidases from *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* ATCC 15697. *Glycobiology*, 24(2), 208–216. doi:10.1093/glycob/cwt104

Vijn, I., & Smeekens, S. (1999). Fructan: More Than a Reserve Carbohydrate?1. *Plant Physiology*, 120(2), 351–360. doi:10.1104/pp.120.2.351

Wang, X., Yu, S., Zhang, T., Jiang, B., & Mu, W. (2015). From fructans to difructose dianhydrides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(1), 175–188. doi:10.1007/s00253-014-6238-x

Yang, J., & Chen, C. (2004). GEMDOCK: a generic evolutionary method for molecular docking. *Proteins*, 55, 288–304.

Young, C. D. (2009). *Computational Drug Design: A Guide for Computational and Medical Chemists* (Vol. 1). Canada: John Wiley and Sons.

CAPÍTULO VII. APÉNDICES

7.1 Apéndice A: Trabajos presentados en congresos

- A. Velázquez-Ledezma, G. Ramírez-García, M. A. García-Revilla, E. Díaz-Cervantes. Uso de arbutina de *Arctostaphylos pungens* como prebiótico. VI Congreso Internacional sobre Innovación y Tendencias en Procesamiento de Alimentos, 15-17 de Mayo, **2023**. Guanajuato, México.