

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA
ESCUELA DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA, ALIMENTOS Y AMBIENTAL
DOCTORADO EN CIENCIA DE ALIMENTOS



**Evaluación de la capacidad antioxidante de los carotenoides
de mamey (*Pouteria sapota*) y zanahoria (*Daucus carota*)**

Tesis que, en cumplimiento parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencia
de Alimentos, es presentada por

L.B.C. Marco Antonio González Peña

Directora: Dra. Ana Eugenia Ortega Regules
Co-Director: Dr. José Daniel Lozada Ramírez

Santa Catarina Mártir, San Andrés Cholula, Puebla
Primavera 2021

ACTA DE REVISIÓN Y AUTORIZACIÓN DE TESIS

ESCUELA DE INGENIERÍA
Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental
Doctorado en Ciencia de Alimentos

San Andrés Cholula, Puebla a 3 de mayo de 2021

Nombre del estudiante: Marco Antonio González Peña

ID: 143551

Nombre de la directora de tesis: Dra. Ana Eugenia Ortega Regules

Título de la tesis

“Evaluación de la capacidad antioxidante de los carotenoides de mamey (*Pouteria sapota*) y zanahoria (*Daucus carota*)”

Integrantes del Comité Doctoral

Firma

Dra. María Teresa Jiménez Munguía-Presidente

Dra. Taisa Sabrina Silva Pereira-Secretaria

Dra. Ana Eugenia Ortega Regules -Vocal

Dr. José Daniel Lozada Ramírez-Vocal

Dra. Encarna Gómez Plaza-Vocal

Los integrantes del Comité Doctoral expresamos que hemos leído y revisado el manuscrito de la tesis de Doctorado en Ciencia de Alimentos anteriormente descrita, por lo que estamos de acuerdo en que se proceda a generar la versión definitiva de la tesis y programar el examen de grado en la fecha, horario y lugar que se indican a continuación.

Fecha y hora de examen: Martes 18 de mayo de 2021, a las 11:00 h

Lugar: Aula virtual Microsoft TEAMS

El presente trabajo fue realizado con el financiamiento de:

Beca académica UDLAP investigación (BAUI)

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)

Agradecimientos

Quiero agradecer primero que nada a mi familia que me apoyaron y estuvieron conmigo durante los últimos cinco años del doctorado. En segundo lugar, quiero dar las gracias a mis asesores la Dra. Ana Eugenia Ortega Regules y el Dr. José Daniel Lozada Ramírez, por aceptarme como su tesista, confiar en mí, guiarme durante la investigación y sobre todo por todo el apoyo que me mostraron. También quiero agradecer a los profesores del doctorado quienes ayudaron en mi formación como estudiante e investigador y siempre me mostraron su apoyo lo requería, en especial el Dr. Aurelio López Malo. A mis vecinas de laboratorio y amigas Claudia Valencia Olivares y Ana Laura Manzano Covarrubias, estoy infinitamente agradecido por su apoyo en el laboratorio con los nematodos y todo lo que me enseñaron, pero más que nada gracias por su compañía y el tiempo que pasamos juntos.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	IV
LISTA DE TABLAS	VIII
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE ECUACIONES	XIII
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. JUSTIFICACIÓN	5
3. OBJETIVOS	7
4. HIPÓTESIS.....	8
5. MARCO TEÓRICO	9
5.1. Mamey	9
5.1.1. Generalidades	9
5.1.2. Composición química y propiedades nutricionales.....	10
5.1.3. Producción nacional	11
5.2. Zanahoria	12
5.2.1. Generalidades	12
5.2.2. Composición química y propiedades nutricionales.....	13
5.2.3. Producción nacional y usos	14
5.3. Carotenoides	15
5.3.1. Características y propiedades	15
5.3.2. Fuentes naturales de carotenoides	20
5.3.3. Biodisponibilidad	21
5.3.4. Funciones biológicas	23
5.3.4.1. Vitamina A	23
5.3.4.2. Antioxidantes.....	25
5.3.4.3. Otros	26
5.4. Estabilidad de carotenoides	27
5.5. Técnicas para la protección de carotenoides.....	29

5.5.1. Microencapsulación	30
5.6. Estrés oxidativo.....	32
5.7. <i>Caenorhabditis elegans</i>	33
5.7.1. Generalidades	33
5.7.2. Envejecimiento y estrés oxidativo.....	35
6. MATERIALES Y MÉTODOS	37
6.1. Materiales.....	37
6.2. Métodos	37
6.2.1. Caracterización fisicoquímica de los alimentos	37
6.2.1.1. Humedad.....	37
6.2.1.2. Cenizas	37
6.2.1.3. Grasa.....	37
6.2.1.4. Proteína.....	37
6.2.1.5. Fibra cruda.....	38
6.2.1.6. Sólidos solubles totales.....	38
6.2.1.7. Acidez titulable.....	38
6.2.1.8. pH	38
6.2.1.9. Color.....	39
6.2.1.10. Compuestos fenólicos.....	39
6.2.2. Extractos de carotenoides.....	40
6.2.2.1. Contenido de carotenoides.....	40
6.2.2.2. Capacidad antioxidante <i>in vitro</i>	41
6.2.3. Microencapsulación de carotenoides	42
6.2.3.1. Preparación de la muestra.....	42
6.2.3.2. Secado por aspersion	42
6.2.3.3. Caracterización física de microcápsulas.....	43
6.2.3.3.1. Tamaño de partícula.....	43
6.2.3.3.2. Color	43
6.2.3.3.3. Actividad de agua	44
6.2.3.3.4. Humedad.....	44
6.2.3.3.5. Densidad	44
6.2.3.3.6. Solubilidad en agua.....	44

6.2.3.4. Condiciones de almacenamiento	45
6.2.3.5. Contenido de carotenoides.....	45
6.2.3.6. Capacidad antioxidante <i>in vitro</i>	45
6.2.4. Capacidad antioxidante <i>in vivo</i>	46
6.2.4.1. Modelo biológico.....	46
6.2.4.2. Expansión y sincronización de nematodos	46
6.2.4.3. Resistencia al estrés oxidativo.....	47
6.2.4.4. Medición de especies reactivas de oxígeno (ERO)	48
6.2.5. Análisis estadístico.....	50
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
7.1. Caracterización fisicoquímica de mamey y zanahoria	51
7.2. Carotenoides de mamey y zanahoria	55
7.3. Microencapsulación de carotenoides	57
7.3.1. Propiedades físicas de las microcápsulas de carotenoides	57
7.3.2. Contenido de carotenoides de las microcápsulas	62
7.4. Capacidad antioxidante <i>in vitro</i>	66
7.4.1. Extractos de carotenoides.....	66
7.4.2. Microcápsulas de carotenoides.....	67
7.5. Resistencia al estrés oxidativo	68
7.5.1. Trolox	69
7.5.2. Extractos de carotenoides.....	73
7.5.3. Microcápsulas de carotenoides.....	83
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	87
9. BIBLIOGRAFÍA.....	91
10. EVIDENCIAS	119

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Producción anual de mamey durante el 2019 en México (SIAP, 2020).

Tabla 2. Producción anual de zanahoria durante el 2019 en México (SIAP, 2020).

Tabla 3. Soluciones de carotenoides y condiciones para la microencapsulación mediante la técnica de secado por aspersión.

Tabla 4. Caracterización fisicoquímica de mamey y zanahoria.

Tabla 5. Parámetros de color de mamey y zanahoria.

Tabla 6. Contenido de carotenoides en mamey y zanahoria.

Tabla 7. Rendimientos y temperaturas de salida de las microcápsulas de carotenoides de mamey y zanahoria.

Tabla 8. Propiedades físicas de las microcápsulas de carotenoides de mamey y zanahoria.

Tabla 9. Fracciones sobrevivientes de los nematodos tratados con antioxidantes tras la exposición a juglona (400 μ M) durante 4 y 8 horas.

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. Estructura química de los carotenoides: a) α -caroteno, b) β -caroteno, c) licopeno, d) luteína e) β -criptoxantina, f) zeaxantina, g) violaxantina, h). neoxantina, i) fucoxantina, j) astaxantina, k) capsantina, l) bixina, m) capsorubina, n) flavoxantina, o) rubixantina, p) rodoxantina, q) cantaxantina, r) citranaxantina, y s) crocina.

Fig. 2. Vía de biosíntesis de carotenoides en plantas. Geranil-geranil pirofosfato sintasa (GGPS), fitoeno sintasa (PSY), ζ -caroteno desaturasa (ZDS), fitoeno desaturasa (PDS), licopeno- ϵ ciclasa (LYC-), licopeno- β ciclasa (LYC- β), α -caroteno hidroxilasa (CHY- ϵ), β -caroteno hidroxilasa (CHY- β), zeaxantina epoxidasa (ZEP), violaxantina de-epoxidasa (VDE), y neoxantina sintasa (NXS).

Fig. 3. Ciclo de vida del nematodo *C. elegans* (García-Vara, 2015).

Fig. 4. Esquema de ensayos de estrés oxidativo en generaciones consecutivas de *C. elegans*.

Fig. 5. Microcápsulas de carotenoides de mamey (a) y zanahoria (b) con maltodextrina y goma Arábica como agentes encapsulantes.

Fig. 6. Cambio neto de color (ΔE) de las microcápsulas de carotenoides durante el almacenamiento. a) Mamey con MD 10% – GA 5%. b) Mamey con MD 10% – GA 10%. c) Zanahoria con MD 10% – GA 5%. d) Zanahoria con MD 10% – GA 10%. Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar (n=3).

Fig. 7. Contenido de carotenoides de las microcápsulas de carotenoides durante el almacenamiento. a) Mamey con MD 10% – GA 5%. b) Mamey con MD 10% – GA 10%.

c)Zanahoria con MD 10% – GA 5%. d)Zanahoria con MD 10% – GA 10%. Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar (n=3).

Fig. 8. Actividades antioxidantes, *in vitro*, de las microcápsulas las microcápsulas de carotenoides durante el almacenamiento. a)Mamey con MD 10% – GA 5%. b)Mamey con MD 10% – GA 10%. c)Zanahoria con MD 10% – GA 5%. d)Zanahoria con MD 10% – GA 10%. Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar (n=3).

Fig. 9. Resistencia al estrés oxidativo de los nematodos tratados con trolox. Los resultados se expresaron como el porcentaje del tiempo de vida media de los nematodos tratados con trolox (225 $\mu\text{g}/\text{mL}$) cuando son sometidos a condiciones de estrés oxidativo (juglona 400 μM) comparado con el control (0 $\mu\text{g}/\text{mL}$). a) Primera generación (F1). b) Segunda generación (F2). c) Tercera generación (F3). Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar de tres estudios independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los nematodos tratados y los no tratadas en cada generación.

Fig. 10. Resistencia al estrés oxidativo de los nematodos tratados con β -caroteno. Los resultados se expresaron como el porcentaje del tiempo de vida media de los nematodos tratados con β -caroteno (20, 30 y 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) cuando son sometidos a condiciones de estrés oxidativo (juglona 400 μM) comparado con el control (0 $\mu\text{g}/\text{mL}$). a) Primera generación (F1). b) Segunda generación (F2). c) Tercera generación (F3). Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar de tres estudios independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los nematodos tratados y los no tratadas en cada generación.

Fig. 11. Resistencia al estrés oxidativo de los nematodos tratados con el extracto de carotenoides de la cáscara de mamey (ECCM). Los resultados se expresaron como el porcentaje del tiempo de vida media de los nematodos tratados con el ECCM (20, 30 y 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) cuando son sometidos a condiciones de estrés oxidativo (juglona 400 μM) comparado con el control (0 $\mu\text{g}/\text{mL}$). a) Primera generación (F1). b) Segunda generación (F2). c) Tercera generación (F3). Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar de tres estudios independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los nematodos tratados y los no tratadas en cada generación.

Fig. 12. Resistencia al estrés oxidativo de los nematodos tratados con el extracto de carotenoides de la pulpa de mamey (ECPM). Los resultados se expresaron como el porcentaje del tiempo de vida media de los nematodos tratados con el ECPM (20, 30 y 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) cuando son sometidos a condiciones de estrés oxidativo (juglona 400 μM) comparado con el control (0 $\mu\text{g}/\text{mL}$). a) Primera generación (F1). b) Segunda generación (F2). c) Tercera generación (F3). Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar de tres estudios independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los nematodos tratados y los no tratadas en cada generación.

Fig. 13. Resistencia al estrés oxidativo de los nematodos tratados con el extracto de carotenoides de zanahoria (ECZ). Los resultados se expresaron como el porcentaje del tiempo de vida media de los nematodos tratados con el ECZ (20, 30 y 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) cuando son sometidos a condiciones de estrés oxidativo (juglona 400 μM) comparado con el control (0 $\mu\text{g}/\text{mL}$). a) Primera generación (F1). b) Segunda generación (F2). c) Tercera generación (F3). Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar de tres estudios

independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los nematodos tratados y los no tratados en cada generación.

Fig. 14. Comparación de la resistencia al estrés oxidativo de los nematodos de la tercera generación (F3) tratados con los carotenoides (40 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Los resultados se expresaron como el porcentaje del tiempo de vida media de los nematodos tratados con los antioxidantes cuando son sometidos a condiciones de estrés oxidativo (juglona 400 μM) comparado con el control (0 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar de tres estudios independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Fig. 15. Vía de señalización insulina/factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) (IIS) de la respuesta al estrés en *Caenorhabditis elegans*. DAF-2: ortólogo del receptor de insulina/IGF-1. AGE-1: fosfatidil inositol 3-quinasa. PDK-1: fosfoinositol dependiente de 3-quinasa. AKT: serina-treonina quinasa. DAF-16: ortólogo de FOXO. SKN-1: ortólogo de Nrf-2 (factor nuclear eritroide 2. PMK-1: ortólogo de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) p38.

Fig. 16. Actividad antioxidante *in vivo* de las microcápsulas de carotenoides almacenadas por 3 meses a diferentes condiciones de temperatura (4 y 25 $^{\circ}\text{C}$) y luz (con y sin acceso a luz de día). Los resultados se expresaron como el porcentaje de fluorescencia relativo al del control, es decir, los nematodos no tratados con las microcápsulas de carotenoides. Las letras indican las diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los nematodos tratados y los no tratados con las microcápsulas de carotenoides para cada tratamiento.

LISTA DE ECUACIONES

Ec. 1. Eliminación de radicales libres por transferencia de electrones.

Ec. 2. Transferencia de electrones por los carotenoides.

Ec. 3. Eliminación de radicales libres por formación de aductos.

Ec. 4. Eliminación de radicales libres por transferencia de átomos de hidrógeno.

Ec. 5. Saturación (C).

Ec. 6. Tono (h).

Ec. 7. Porcentaje de inhibición del radical catiónico ABTS.

Ec. 8. Porcentaje de rendimiento de secado.

Ec. 9. Cambio neto de color.

Ec. 10. Coeficiente de Hausner.

Ec. 11. Solubilidad.

RESUMEN

Los carotenoides son los pigmentos responsables de los colores rojos, naranjas y amarillos en los alimentos como zanahoria, tomate, naranja, mango, maíz, achiote y cempasúchil. Además, poseen actividad antioxidante la cual se ha asociado con su capacidad para neutralizar el daño oxidativo y la prevención de enfermedades. Por esta razón el objetivo de la tesis fue evaluar la capacidad antioxidante de los carotenoides extraídos del mamey (*Pouteria sapota*) y la zanahoria (*Daucus carota*). Para ello se extrajeron los carotenoides del mamey y la zanahoria y se evaluaron las capacidades antioxidantes, *in vitro* e *in vivo*, de los carotenoides mediante la eliminación del radical catiónico ABTS y la resistencia al estrés oxidativo en *Caenorhabditis elegans*, respectivamente. Adicionalmente, los carotenoides de mamey y zanahoria fueron encapsulados mediante el secado por aspersión. Los polvos obtenidos fueron almacenados a diferentes condiciones de temperatura e iluminación durante tres meses, analizando periódicamente su contenido de carotenoides y capacidades antioxidantes, *in vitro* e *in vivo*. Los contenidos de carotenoides en mamey y zanahoria fueron 4.42 ± 0.12 y 5.47 ± 0.04 mg de β -caroteno/100 g, respectivamente, mientras que las capacidades antioxidantes *in vitro* fueron 87.75 ± 5.74 y 90.24 ± 11.66 $\mu\text{mol TEAC}/100$ g, respectivamente. La combinación de maltodextrina y goma arábica (1:1) resultó efectiva para la encapsulación de los carotenoides de mamey y zanahoria, logrando preservar más del 50% de su contenido tras tres meses de almacenamiento. Los extractos de carotenoides de mamey y zanahoria aumentaron la supervivencia y resistencia al estrés oxidativo de *C. elegans*, aumentando los efectos en generaciones consecutivas. Adicionalmente, las microcápsulas de carotenoides fueron capaces de reducir la acumulación de especies reactivas de oxígeno hasta en un 30%, revelando el potencial antioxidante *in vivo* de los carotenoides.

ABSTRACT

Carotenoids are the pigments responsible for the red, orange, and yellow colors in foods such as carrot, tomato, orange, mango, corn, annatto and marigold. Moreover, they possess antioxidant activity which has been associated with their capacity to neutralize the oxidative damage and the prevention of diseases. Therefore, the objective of this thesis was to evaluate the antioxidant capacity of the carotenoids extracted from mamey (*Pouteria sapota*) and carrot (*Daucus carota*). For this purpose, the carotenoids were extracted from mamey and carrot, and the antioxidant capacities, *in vitro* and *in vivo*, of the carotenoids were evaluated by scavenging the ABTS cation radical and the resistance to oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*, respectively. Furthermore, mamey and carrot carotenoids were encapsulated by spray drying. The powders obtained were stored at different temperature and light conditions for three months, periodically analyzing their carotenoid content and antioxidant capacities, *in vitro* and *in vivo*. The carotenoid contents in mamey and carrot were 4.42 ± 0.12 and 5.47 ± 0.04 mg β -carotene/100 g, respectively, while the *in vitro* antioxidant capacities were 87.75 ± 5.74 and 90.24 ± 11.66 μ mol TEAC/100 g, respectively. The combination of maltodextrin and Arabic gum (1:1) was effective for the encapsulation of mamey and carrot carotenoids, successfully preserving more than 50% of their content after three months of storage. Mamey and carrot carotenoid extracts increased the survival and resistance to oxidative stress of *C. elegans*, increasing the effects in continuous generations. Moreover, the carotenoid microcapsules were able to reduce the accumulation of reactive oxygen species up to 30%, thereby demonstrating the *in vivo* antioxidant potential of the carotenoids.

1. INTRODUCCIÓN

Estudios epidemiológicos señalan que el consumo de frutas se ha asociado con la reducción y prevención de enfermedades crónicas, debido a su contenido de vitaminas, minerales, compuestos fitoquímicos y antioxidantes (Moo-Huchin et al., 2014; Yahia et al., 2011).

El mamey (*Pouteria sapota*) es un fruto tropical, de temporada, originario de México y Centroamérica. Este fruto se caracteriza por su pulpa de color rojiza, aroma suave, sabor dulce y alto contenido de carotenoides. De acuerdo con Alia-Tejacal et al. (2007) y Moo-Huchin et al. (2014), los niveles de carotenoides en mamey son similares a los que se encuentran en zanahoria. Ello implica que se pueda considerar al mamey como una buena fuente de carotenoides.

México es el principal productor de mamey a nivel mundial, se estima que hasta el 2019 existían 1,731.71 hectáreas para el cultivo de mamey, siendo los principales estados productores Yucatán, Guerrero, Veracruz, Michoacán y Puebla, cosechándose cerca de 22 mil toneladas de fruta al año (SIAP, 2020). Debido a sus características organolépticas agradables, importante valor nutricional y elevada producción nacional, el mamey es un fruto altamente consumido en México. No obstante, existe información limitada alrededor de las propiedades antioxidantes de este fruto y sus beneficios a la salud de los seres humanos.

Los compuestos fitoquímicos de interés en el mamey son mayoritariamente los carotenoides, pigmentos que en otros productos vegetales se han identificado como precursores de vitamina A (retinol); sin embargo, estudios recientes señalan su papel en la prevención de enfermedades crónicas (Yahia et al., 2011), debido a que participan en la modulación del sistema inmune y la comunicación celular; favorecen el desarrollo

embrionario, la hematopoyesis y la apoptosis; y poseen actividad antiinflamatoria, antiangiogénica, antiproliferativa y antioxidante (Saini et al., 2015).

Los carotenoides están conformados por unidades repetitivas de isopreno. Los dobles enlaces conjugados son los responsables del color y la actividad antioxidante (Saini et al., 2015) que caracterizan a productos vegetales tales como zanahoria, tomate, maíz y mamey, entre otros. Sin embargo, debido a su estructura, los carotenoides son muy sensibles a la luz, el calor, los ácidos, el oxígeno, los metales y los radicales libres. Esto conduce a cambios estructurales que resultan en compuestos que han perdido su actividad biológica.

Una manera para prevenir la degradación de los carotenoides y la pérdida de la actividad antioxidante consiste en el uso de técnicas de encapsulación, como la microencapsulación. La microencapsulación es un proceso que consiste en recubrir una sustancia (núcleo) con otra (agente encapsulante) que actúa como barrera y protege contra el deterioro en diversas condiciones. La microencapsulación es ampliamente utilizada en la industria alimentaria para la protección de sustancias sensibles como pigmentos, antioxidantes, aceites esenciales, sabores, olores y medicamentos.

Tomando en consideración lo anterior, el propósito de esta tesis abarca el estudio de las propiedades antioxidantes de los carotenoides del mamey, tanto en condiciones *in vitro* como *in vivo*, y la estabilización de los carotenoides a través de la técnica de microencapsulación, contrastando los resultados con los carotenoides de zanahoria; además de ampliar la información que existe acerca del beneficio al consumir este fruto mexicano.

2. JUSTIFICACIÓN

El mamey es una fruta tropical rica en vitaminas A y C, hidratos de carbono, fibra, calcio, potasio, hierro y compuestos fenólicos (Alia-Tejacal et al., 2007; Torres-Rodríguez et al., 2011). La zanahoria es una hortaliza rica en vitaminas A, C, D y K, minerales (calcio, potasio, fósforo, sodio y hierro) y β -caroteno (Adubofuor et al., 2010; Sharma et al., 2012). Los colores rojos y naranjas característicos del mamey y de la zanahoria, respectivamente, se deben a su contenido de carotenoides. En el mamey se ha identificado al β -caroteno como el carotenoide principal cuyo contenido puede llegar hasta 36 mg/100 g de fruto (Alia-Tejacal et al., 2007; Moo-Huchin et al., 2014). Por otro lado, en la zanahoria los carotenoides mayoritarios son el β -caroteno y el α -caroteno, con un contenido de hasta 28 mg/100 g de zanahoria (da Silva-Dias, 2014; Jourdan et al., 2015). De acuerdo con estos datos, el mamey podría ser considerado como una buena fuente alternativa de carotenoides.

Los carotenoides son un grupo de pigmentos naturales presentes en frutas (tomate, naranja, mandarina, piña, papaya, durazno), flores (cempasúchil, girasol, achiote, azafrán) y verduras (zanahoria, calabaza, brócoli, hojas verdes). Los carotenoides son compuestos con actividad antioxidante, algunos actúan como precursores de la vitamina A (β -caroteno, α -caroteno y β -criptoxantina) y desempeñan múltiples funciones a nivel celular y molecular, promoviendo la salud y retrasando el desarrollo de enfermedades crónicas (Saini et al., 2015; Salter-Venzon et al., 2017). Los dobles enlaces conjugados en los carotenoides absorben la luz y son responsables de los colores (amarillo, naranja y rojo) y de las propiedades protectoras y antioxidantes asociadas con la prevención de enfermedades (Sanches-Silva et al., 2013; Schawartz et al., 2017).

Sin embargo, la estructura de los carotenoides los hace propensos a reacciones de oxidación que conducen a la formación de productos incoloros y la pérdida de los dobles enlaces, perdiendo también sus propiedades biológicas y protectoras (Ribeiro et al., 2018). Para prevenir la degradación de los carotenoides se han empleado técnicas de encapsulación, las cuales consisten en recubrir una sustancia sensible (como los carotenoides) con otra sustancia que actúa como barrera (Gul et al., 2015). La encapsulación no sólo mejora la estabilidad y protege a los compuestos frente a condiciones adversas, sino que afecta su biodisponibilidad y solubilidad (Capelezzo et al., 2018). La microencapsulación es una de las técnicas más comunes para la encapsulación de los carotenoides e implica la formación de partículas finas cuyo tamaño de partícula se encuentra entre 1 y 1000 μm (Thakur et al., 2017). En este sentido, Boiero et al. (2014); Faria et al. (2010) y Rodrigues et al. (2012) han señalado que las microcápsulas de carotenoides, además de mejorar su estabilidad, poseen mayor actividad antioxidante en comparación con los carotenoides no encapsulados.

3. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la capacidad antioxidante de los carotenoides obtenidos a partir del mamey, y comparar su eficacia contra los carotenoides extraídos de zanahoria; así como también, evaluar la capacidad antioxidante de los extractos de carotenoides estabilizados por microencapsulación.

Objetivos Específicos

1. Caracterizar zanahoria, y pulpa y cáscara de mamey.
2. Extraer los carotenoides de zanahoria, y de pulpa y cáscara de mamey.
3. Evaluar la capacidad antioxidante de los extractos de los carotenoides de zanahoria, y de pulpa y cáscara de mamey, *in vitro* e *in vivo*.
4. Determinar el efecto de la estabilización de los extractos de los carotenoides de mamey y zanahoria, sobre su capacidad antioxidante, *in vitro* e *in vivo*.
5. Determinar el efecto de la temperatura y la presencia de luz, durante el almacenamiento de los extractos estabilizados de los carotenoides de mamey y zanahoria, sobre su capacidad antioxidante, *in vitro* e *in vivo*.

4. HIPÓTESIS

Los carotenoides extraídos del mamey poseen capacidades antioxidantes, *in vitro* e *in vivo*, similares a la de los carotenoides extraídos de la zanahoria. La microencapsulación de los extractos de carotenoides del mamey y de la zanahoria, mediante el secado por aspersión, permite obtener polvos estables de los carotenoides del mamey de la zanahoria que preservan sus capacidades antioxidantes bajo diferentes condiciones de almacenamiento.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. Mamey

5.1.1. Generalidades

El zapote mamey (*Pouteria sapota*) es un árbol tropical de la familia *Sapotaceae*, nativo de México y Centroamérica, de 20 a 50 m de altura, de madera durable, que tolera climas tropicales y subtropicales, se desarrolla en zonas de poca altitud y de suelos francos (SIAP, 2017). La palabra zapote o sapote deriva del Náhuatl “tzapotl” o “tezontzapotl”, término con el que se denominan a los frutos de textura suave y sabor dulce (Alia-Tejacal et al., 2007).

El fruto de mamey es una baya cuya forma varía entre fusiforme alargada, elipsoidal o casi esférica, de 10 a 25 cm de largo por 8 a 12 cm de ancho y cuyo peso varía entre los 227 g hasta 2 kg; compuesto de mesocarpio (pulpa), epicarpio (cáscara) y semilla (Pinto et al., 2016; SIAP, 2017). La pulpa representa del 60 al 80% del peso total del fruto, la cáscara del 10 al 25% y la semilla del 10 al 15% (Villegas-Monter et al., 2016). El mamey se caracteriza por una pulpa color rojo salmón de sabor muy dulce (Pinto et al., 2016). La cáscara, de aspecto liso, tiene un grosor de 1 a 2.5 mm y color variable (grisáceo a rojizo, dependiendo de la exposición al sol) protege al fruto de daños mecánicos y plagas. Además, en los frutos se pueden encontrar de una a dos semillas, aunque en algunos casos este número puede ascender hasta cuatro semillas (Villegas-Monter et al., 2016).

Los árboles presentan dos floraciones por año, siendo la más importante de julio a septiembre seguida de noviembre a enero. Una vez formado el fruto, se desarrolla en un lapso de 14 a 20 meses hasta su maduración. El periodo de cosecha abarca los meses de marzo, abril, mayo, junio y julio; sin embargo, se pueden encontrar frutos el resto del año, aunque

su producción es limitada gracias a los genotipos precoces y tardíos (Villegas-Monter et al., 2016). Dependiendo de las características genéticas del mamey, las condiciones climáticas y de suelo, pueden variar los tiempos de maduración del fruto, su forma, tamaño, contenido de nutrientes y características sensoriales (Alia-Tejacal et al., 2007).

5.1.2. Composición química y propiedades nutricionales

Los frutos de mamey son ricos en vitamina A y C, hidratos de carbono, fibra, calcio, potasio y hierro (Alia-Tejacal et al., 2007). Poseen características sensoriales agradables y alto valor nutricional. En este sentido, múltiples autores han reportado en mamey un contenido de sólidos solubles totales (SST) de 23 a 31 °Brix, 1.2 a 3.2 g de fibra/100 g de fruto, 29 mg de vitamina C/100 g de fruto, 0.4 g de calcio/100 g de fruto, 2.26 g de potasio/100 g de fruto y cantidades importantes de carotenoides (1.2 a 36 mg β -caroteno/100 g de fruto) (Alia-Tejacal et al., 2007; Bayuelo-Jiménez et al., 2007; Chacón-Ordóñez et al., 2016; Gaona-García et al., 2008; Moo-Huchin et al., 2014; Sauri et al., 1997; Torres-Rodríguez et al., 2011; Villarreal-Fuentes et al., 2015).

El color naranja-rojo característico del mamey proviene de los carotenoides presentes en el fruto. De acuerdo con Alia-Tejacal et al. (2007), el β -caroteno representa el 98% de los carotenoides presentes en el mamey. No obstante, se han identificado proporciones significativas de otros carotenoides como β -criptoxantina, zeaxantina, luteína y spotexantina, entre otros (Chacón-Ordóñez et al., 2016; Murillo et al., 2012, 2013).

Por otro lado, Moo-Huchin et al. (2014) y Torres-Rodríguez et al. (2011), encontraron que el fruto de mamey es una fuente significativa de compuestos fenólicos. En este sentido, Torres-Rodríguez et al. (2011), Velázquez Paulin et al. (2015) y Yahia et al. (2011) han

identificado al ácido gálico, ácido p-hidroxibenzoico, catequina, epicatequina, polifenoles y flavonoides como los compuestos fenólicos mayoritarios en mamey; los cuales están asociados con la capacidad antioxidante y propiedades benéficas del fruto.

5.1.3. Producción nacional y usos

De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2020), en el 2019 el cultivo de mamey abarcaba 1,731.71 ha sembradas, de las cuales 1,460.36 ha fueron cosechadas, obteniéndose una producción nacional de 21,806.42 toneladas de mamey. Los estados productores de mamey (ordenados de mayor a menor producción) se muestran en la Tabla 1.

El comercio de mamey en México se concentra principalmente en la Ciudad de México, Guadalajara, Monterrey y Puebla, para consumo local (Villegas-Monter et al., 2016).

Los frutos de mamey son utilizados para la alimentación humana a través del consumo del producto fresco o alimentos procesados como pulpa congelada, mermelada de mamey, helados, paletas, gelatinas, yogurt, pastelería y repostería fina. Los frutos de menor tamaño se reservan para su consumo en fresco, mientras que los frutos de mayor tamaño son utilizados por la industria alimentaria para la elaboración de alimentos procesados (Alia-Tejacal et al., 2007).

Por otro lado, la corteza de los árboles de mamey es utilizada para la obtención de látex, madera y fabricación de muebles. Por su parte, el hueso (semilla) del fruto se emplea como fuente de aceites que son utilizados en las industrias cosmética y farmacéutica, debido a sus propiedades medicinales (Alia-Tejacal et al., 2007; Villegas-Monter et al., 2016).

Tabla 1. Producción anual de mamey durante el 2019 en México (SIAP, 2020).

Estado	Producción (t)
Yucatán	13,580.67
Guerrero	2,666.71
Veracruz	1,328.00
Michoacán	844.24
Puebla	742.06
Chiapas	614.33
Campeche	560.12
México	367.83
Colima	309.00
Morelos	282.34
Oaxaca	270.50
Tabasco	135.53
Jalisco	95.45
Hidalgo	9.64
	21,806.42

5.2. Zanahoria

5.2.1. Generalidades

La zanahoria (*Daucus carota* L.) es una raíz vegetal, de color variado (anaranjado, amarillo, rojo, blanco o morado), originaria de Asia Central y el Mediterráneo, considerada como la principal fuente de carotenoides en el continente americano (da Silva-Dias, 2014; Sharma et al., 2012).

El cultivo de zanahoria se da en climas templados, con temperaturas óptimas de crecimiento de 16 a 18 °C, suelos arcillo-calizos, aireados y frescos. Éstos son sembrados a mediados del verano y su desarrollo toma de 75 a 120 días. La recolección se efectúa cuando

la raíz está por alcanzar su desarrollo completo (5 cm de diámetro). La mayor producción de zanahoria se da en los meses de abril, mayo, agosto, septiembre, octubre y noviembre (SIAP, 2016).

5.2.2. Composición química y propiedades nutricionales

La zanahoria es considerada una de las hortalizas con mayor beneficio a la salud ya que aporta una cantidad importante de vitaminas (A, B, C, D, E y K) y minerales (calcio, potasio, fósforo, sodio y hierro), fuente de β -caroteno, elevado contenido de agua (alrededor de 90%) y bajos niveles de lípidos, proteínas e hidratos de carbono (0.2 g, 0.7 g y 4 g/100 g, respectivamente) (Adubofuor et al., 2010; Mestry et al., 2011; Sharma et al., 2012).

Durante muchos años se ha mencionado que el consumo de zanahoria ayuda a mejorar la salud visual, y reducir el riesgo de cataratas y glaucoma. Estas propiedades se atribuyen a la presencia de carotenoides precursores de vitamina A como β -caroteno y α -caroteno (Saini et al., 2015).

Los carotenoides y las antocianinas son los principales pigmentos antioxidantes de la zanahoria. Las zanahorias anaranjadas se caracterizan por su contenido de carotenoides provitamina A (β -caroteno y α -caroteno). El color amarillo es característico de zanahorias ricas en luteína. El color rojo en la zanahoria se debe a la presencia conjunta de licopeno y antocianinas. Las zanahorias con elevado contenido de antocianinas presentan un característico color púrpura. En cambio, las zanahorias blancas presentan bajos niveles de pigmentos (da Silva-Dias, 2014).

El contenido de carotenoides en zanahoria es muy variable, ya que depende de la variedad, genotipo, condiciones de crecimiento, época de cosecha, estado de maduración,

condiciones climatológicas, localización y características del suelo, entre otras. No obstante, varios autores señalan que la zanahoria posee de 1 a 28.83 mg de β -caroteno/100 g (Al-Dabbas et al., 2015; Alia-Tejacal et al., 2007; Howard et al., 1996; Jourdan et al., 2015; Koca Bozalan y Karadeniz, 2011).

Por otro lado, Sharma et al. (2012) señalan que el contenido de compuestos fenólicos en zanahoria es de 26.6 mg de equivalentes de ácido gálico/100 g. En este sentido, se ha identificado la presencia de ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido *p*-cumárico, luteolina, quercetina y kaempferol como los compuestos fenólicos mayoritarios en zanahoria (da Silva-Dias, 2014; Sharma et al., 2012; Shebaby et al., 2015).

5.2.3. Producción nacional y usos

De acuerdo con el SIAP (2020), durante el 2019 se sembraron y cosecharon 11,749.89 ha de zanahoria, generando una producción nacional de 353,750.24 toneladas de zanahoria. Los estados productores de zanahoria (ordenados de mayor a menor producción) se observan en la Tabla 2.

La zanahoria, fresca o procesada, se emplea para la elaboración de diversos alimentos tales como ensaladas, sopas, jugos, cócteles, repostería, botanas, conservas, encurtidos, purés, alimentos para niños, productos congelados, enlatados, alimento para ganado y snacks de mascotas (López, 2009).

El colorante natural, E160a, compuesto de carotenos (β -caroteno y α -caroteno principalmente), es comercialmente extraído de la zanahoria y se emplea para la elaboración de bebidas, margarinas, mermeladas, quesos, repostería y cereales (Food-Info Foundation, 2017; Lehto et al., 2017). Por otro lado, la industria cosmética emplea la zanahoria para la

extracción de β -caroteno, el cual se emplea para la elaboración de bronceadores (López, 2009).

Tabla 2. Producción anual de zanahoria durante el 2019 en México (SIAP, 2020).

Estado	Producción (t)
Guanajuato	95,877.95
Puebla	82,954.13
Zacatecas	57,664.76
México	35,094.12
Querétaro	20,273.70
Tlaxcala	15,919.96
Sonora	10,414.43
Aguascalientes	8,681.40
Veracruz	6,837.00
Michoacán	6,566.27
Baja California	4,298.53
Jalisco	3,850.40
Tamaulipas	1,470.00
Ciudad de México	1,384.00
Baja California Sur	1,246.87
Sinaloa	562.40
San Luis Potosí	539.97
Durango	58.35
Chihuahua	56.00
	353,750.24

5.3. Carotenoides

5.3.1. Características y propiedades

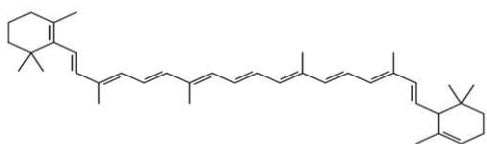
Los carotenoides son un grupo de pigmentos que se encuentran en frutas, flores y verduras, tales como tomate, zanahoria, piña, papaya, flor de cempasúchil, girasol, achiote, azafrán y

hojas verdes. Son responsables de los colores amarillo, naranja y rojo en las plantas, y se utilizan comercialmente como colorantes naturales e ingredientes en suplementos nutricionales (Li et al., 2012). Todos poseen actividad antioxidante, algunos son precursores de la vitamina A y desempeñan múltiples funciones a nivel celular y molecular, además de promover la salud (Saini et al., 2015; Salter-Venzon et al., 2017).

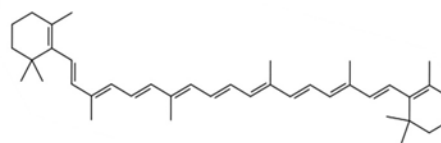
Los carotenoides están formados por ocho unidades repetitivas de isopreno, con estructuras cíclicas o lineales en ambos extremos de las cadenas de carbono, lo que da lugar a múltiples isómeros *cis* y *trans*, siendo estos últimos más abundantes en la naturaleza (Guerrero-Legarreta et al., 2013; Schawartz et al., 2017). Los dobles enlaces conjugados de los carotenoides absorben la luz y son responsables de los colores, amarillo, naranja y rojo, de las frutas y verduras. Además, los dobles enlaces protegen las células contra la oxidación y el daño celular (Sanches-Silva et al., 2013; Schawartz et al., 2017).

Los carotenoides se clasifican en carotenos y xantofilas. Los carotenos, como α -, β -, y γ -caroteno y licopeno, son solubles en solventes orgánicos e insolubles en agua (Guerrero-Legarreta et al., 2013). En contraste, las xantofilas son solubles en solventes polares (alcoholes) y solventes orgánicos (éter y hexano). Son derivados oxigenados de los carotenos, formando alcoholes, aldehídos, cetonas y ácidos. Ejemplos de xantofilas incluyen la fucoxantina, luteína y violaxantina (Guerrero-Legarreta et al., 2013; Schawartz et al., 2017). En la Fig. 1 se muestran las estructuras químicas de varios carotenos y xantofilas.

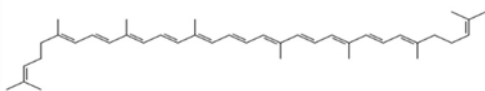
a)



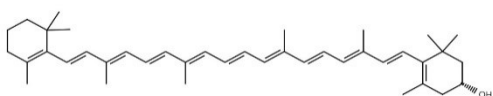
b)



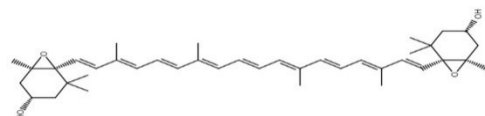
c)



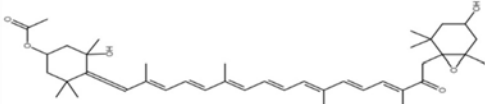
e)



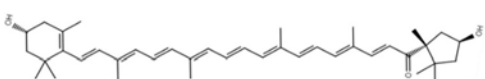
g)



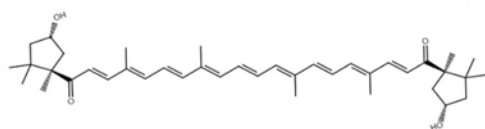
i)



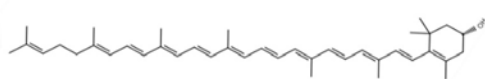
k)



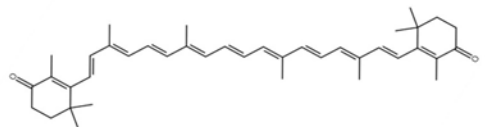
m)



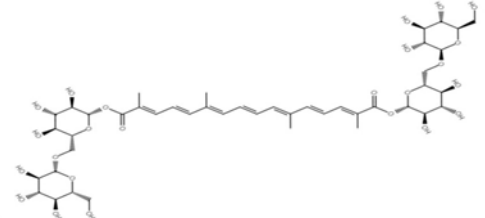
o)



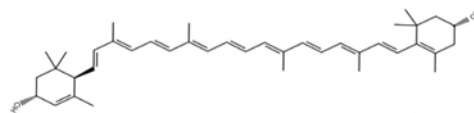
q)



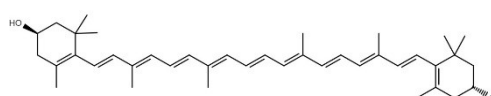
s)



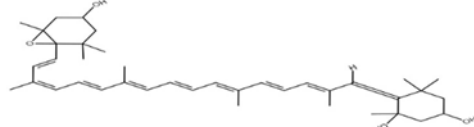
d)



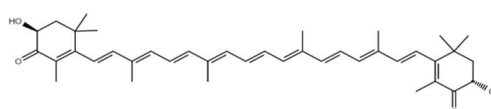
f)



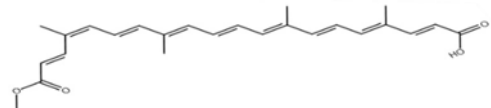
h)



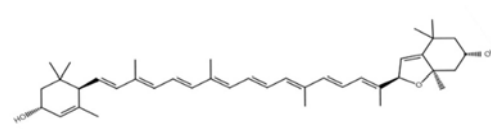
j)



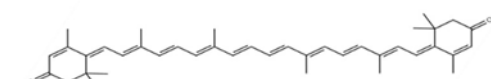
l)



n)



p)



r)

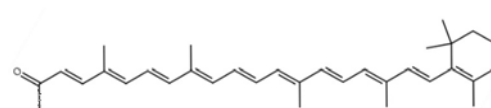


Fig. 1. Estructura química de los carotenoides. a) α -caroteno, b) β -caroteno, c) licopeno, d) luteína e) β -criptoxantina, f) zeaxantina, g) violaxantina, h). neoxantina, i) fucoxantina, j) astaxantina, k) capsantina, l) bixina, m) capsorubina, n) flavoxantina, o) rubixantina, p) rodoxantina, q) cantaxantina, r) citranaxantina, y s) crocina.

Los carotenoides se almacenan en los tejidos de plantas (plástidos), como los cromoplastos, amiloplastos y oleoplastos. En las frutas, flores y raíces, los carotenoides se encuentran en los cromoplastos, mientras que en los granos y las semillas oleaginosas se encuentran en los amiloplastos y oleoplastos, respectivamente (Howitt y Pogson, 2006). En cambio, las xantofilas se encuentran libremente en los tejidos verdes de las plantas, mientras que en los frutos y las flores se encuentran como ésteres de ácidos grasos (Perera y Yen, 2007).

La biosíntesis de los carotenoides (Fig. 2) tiene lugar en los cloroplastos. A partir del pirofosfato de isopentenilo (IPP) y del dimetil difosfato (DMAPP) se producen dos moléculas de geranil geranil difosfato (GGPP), catalizadas por la geranil geranil pirofosfato sintasa (GGPS). A continuación, dos moléculas de GGPP son condensadas en fitoeno por la fitoeno sintasa (PSY). Posteriormente, el fitoeno es desaturado en licopeno por la ζ -caroteno desaturasa (ZDS) y la fitoeno desaturasa (PDS). El licopeno es convertido en α -caroteno (vía α) y β -caroteno (vía β), en reacciones catalizadas por licopeno- ϵ (LYC- ϵ) y licopeno- β ciclasa (LYC- β), respectivamente. Las xantofilas se sintetizan a partir de los carotenos; la luteína se forma por la acción de la α -caroteno hidroxilasa (CHY- ϵ) por la vía α ; β -caroteno se convierte en β -criptoxantina por la vía β , en una reacción catalizada por la β -caroteno hidroxilasa (CHY- β), que también cataliza su conversión en zeaxantina. A su vez, la zeaxantina puede ser convertida en violaxantina por la zeaxantina epoxidasa (ZEP); e inversamente la

violaxantina puede ser convertida en zeaxantina por la violaxantina de-epoxidasa (VDE). Por último, la violaxantina es convertida en neoxantina por la neoxantina sintasa (NXS) (Butnariu, 2016; Howitt y Pogson, 2006; Kang et al., 2017).

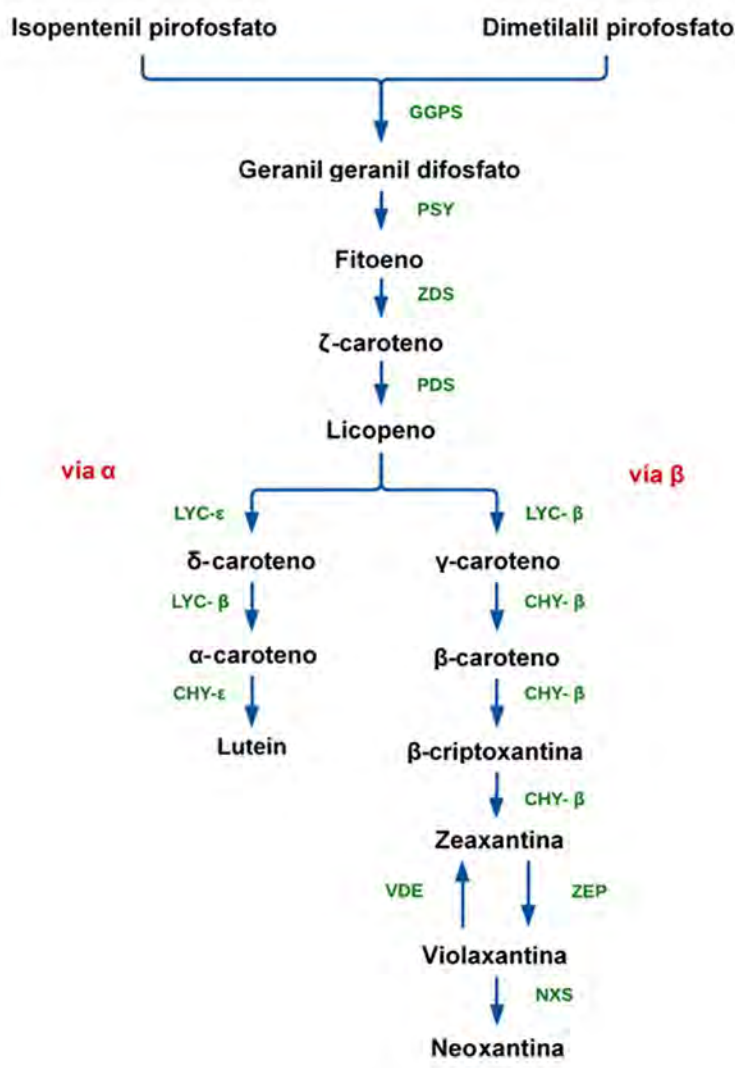


Fig. 2. Vía de biosíntesis de carotenoides en plantas. Geranil-geranil pirofosfato sintasa (GGPS), fitoeno sintasa (PSY), ζ-caroteno desaturasa (ZDS), fitoeno desaturasa (PDS), licopeno-ε ciclaza (LYC-ε), licopeno-β ciclaza (LYC-β), α-caroteno hidroxilasa (CHY-ε), β-caroteno hidroxilasa (CHY-β), zeaxantina epoxidasa (ZEP), violaxantina de-epoxidasa (VDE), y neoxantina sintasa (NXS).

5.3.2. Fuentes naturales de carotenoides

Se han identificado más de 700 carotenoides, pero sólo 40 están incluidos en la dieta humana, siendo los más comunes β -caroteno, α -caroteno, licopeno, β -criptoxantina, luteína y zeaxantina (Olmedilla-Alonso, 2017). La ingesta de carotenoides proviene principalmente de alimentos de origen vegetal (frutas y verduras). α - y β -caroteno se encuentran generalmente en zanahoria, naranja, calabaza, pimiento, camote, mango y hojas verdes, en los cuales su color varía entre amarillo, naranja y rojo. El licopeno aporta un color rojo brillante a los alimentos y es el principal carotenoide en los tomates, aunque también está presente en sandía, guayaba y papaya. La β -criptoxantina se encuentra en cítricos, melón, papa, guayaba y manzana, en los cuales se pueden observar tonalidades amarillos y naranjas. Los isómeros luteína y zeaxantina se encuentran juntos de forma natural en el maíz amarillo y la flor de cempasúchil, aunque también se encuentran en brócoli, calabaza, pimienta, hojas verdes, semillas y legumbres. Las xantofilas violaxantina (amarilla), capsantina y capsorubina (naranja-rojo) se encuentran frecuentemente en los chiles y el pimentón. La neoxantina, caracterizada por su color amarillo, es un componente natural de las hojas de hortalizas. La bixina es el principal componente del achiote y es responsable de su característico color rojo marrón. La crocina es responsable de la coloración amarilla del azafrán (Guerrero-Legarreta et al., 2013; Howitt y Pogson, 2006; Saini et al., 2015; Schawartz et al., 2017).

Algunos carotenoides se encuentran sólo en las algas y los mariscos. La astaxantina es responsable del color rosa-rojo en el camarón, el salmón y las plumas del flamenco, ya que se encuentra de forma natural en el krill y en las microalgas *Haematococcus pluvialis*, que son consumidas por pequeños crustáceos (camarones y langostas), peces (salmón) y aves (flamenco) (Food-Info Foundation, 2017; Liu et al., 2016). La fucoxantina tiene un color

marrón característico y sólo se encuentra en las microalgas y los cloroplastos de las algas marrones (Kumar et al., 2013).

Los carotenoides más abundantes en la dieta occidental son β -caroteno y α -caroteno provenientes de zanahoria, calabaza, chabacano, chile, mango, cilantro y espinaca (Gul et al., 2015; Olmedilla-Alonso, 2017; Saini et al., 2015; Yoon et al., 2012); la luteína del brócoli, calabaza, espinaca, maíz, mango y papaya (Olmedilla-Alonso, 2017; Saini et al., 2015); y el licopeno del tomate, guayaba, papaya y sandía (Bagetti et al., 2011; Chandrika et al., 2009; Gul et al., 2015; Olmedilla-Alonso, 2017; Saini et al., 2015; Yoon et al., 2012).

5.3.3. Biodisponibilidad

La biodisponibilidad de los carotenoides se define como la fracción de carotenoide liberada de los alimentos que se absorbe en el intestino y está disponible para los procesos fisiológicos o el almacenamiento (Olmedilla-Alonso, 2017).

La naturaleza de la matriz alimentaria que contiene carotenoides afecta en gran medida a su biodisponibilidad. Debido a su naturaleza hidrofóbica y a su ubicación en los tejidos vegetales (plástidos), la biodisponibilidad de los carotenoides en las frutas y verduras crudas es limitada. Por lo tanto, los carotenoides deben ser liberados de la matriz celular e incorporados a una fracción lipídica (micelas) durante la digestión para su absorción (Lemmens et al., 2014).

Los carotenoides se liberan de los alimentos durante la masticación (acción mecánica) y la acción de las enzimas digestivas (amilasas, lipasas, pepsina) y el ácido clorhídrico en el estómago (acción química) (Cervantes-Paz et al., 2016). Estos procesos contribuyen a disminuir el tamaño de las partículas, aumentando así la superficie de contacto con las sales

biliares y las enzimas, tales como amilasas pancreáticas, lipasas pancreáticas, nucleosidasas, tripsinógeno, quimotripsinógeno, carboxipeptidasa, elastasas y fosfolipasas, así como la liberación de los carotenoides y su incorporación a las micelas (Bohn et al., 2017; Saini et al., 2015). Las sales biliares actúan como emulgentes que ayudan a la formación y estabilización de micelas, mientras que las lipasas descomponen los lípidos en ácidos grasos y monoglicéridos, fomentando la emulsificación (Bohn et al., 2017). Las micelas son absorbidas por los enterocitos mediante difusión pasiva o mediante la unión a las proteínas receptoras de la membrana apical para facilitar la difusión (Lemmens et al., 2014).

Después de la absorción, los carotenoides se unen a los quilomicrones y se transportan al torrente sanguíneo a través del sistema linfático (Gul et al., 2015; Salter-Venzon et al., 2017). Una vez que han entrado en el torrente sanguíneo, los carotenoides son transportados al hígado donde son almacenados o metabolizados en vitamina A (sólo los carotenoides provitamina A) por β -oxigenasas ligadoras de caroteno (BCO1 y BCO2). El resto se libera de nuevo en la circulación y se integra a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), baja densidad (LDL) y alta densidad (HDL) para distribuirse a otros tejidos, como el tejido adiposo (almacenamiento de vitamina A), la piel y los tejidos subcutáneos (reserva de carotenos y xantofilas), la mácula lútea en la retina (luteína, zeaxantina y mesozeaxantina), el páncreas y el endotelio vascular (Bohn et al., 2017).

La biodisponibilidad de los carotenoides se ve influida por factores dietéticos, como el contenido y la naturaleza de los carotenoides, el contenido de grasa en la dieta y la interacción entre los carotenoides y otros componentes de los alimentos; y por factores fisiológicos, como la tasa de absorción de los carotenoides, el estado nutricional, los factores genéticos y el metabolismo (Gul et al., 2015; Lemmens et al., 2014). Por lo general la

biodisponibilidad de los carotenoides es baja debido a que éstos se encuentran unidos a complejos proteicos, fibras y la pared celular, lo que los hace resistentes a la digestión y la degradación, limitando así su liberación (Gul et al., 2015; Saini et al., 2015). Los tratamientos térmicos y mecánicos ayudan a mejorar la biodisponibilidad de los carotenoides al reducir la fibra dietética, liberar el contenido celular, ablandar el material vegetal y reducir las interacciones entre los carotenoides y otros componentes de los alimentos. De esta manera, se promueve tanto la liberación de carotenoides como la formación de micelas y se aumenta su absorción (Aschoff et al., 2015; Odriozola-Serrano et al., 2009; Vimala et al., 2011).

5.3.4. Funciones biológicas

5.3.4.1. Vitamina A

El valor nutricional de los carotenoides radica principalmente en su papel como provitamina A, es decir, su habilidad para convertirse en vitamina A (Olmedilla-Alonso, 2017). Los carotenoides provitamina A, como β -caroteno, α -caroteno, γ -caroteno y β -criptoxantina, se obtienen del consumo de zanahoria, espinaca, camote y naranja. Sin embargo, la concentración de carotenoides no es el único factor que determina la calidad de la fuente nutricional; también deben considerarse la biodisponibilidad y la capacidad de conversión a retinol (Beltrán-de-Miguel et al., 2015; Olmedilla-Alonso, 2017). Por otro lado, la sapotexiantina, la criptocapsina y el β -Apo-8'-carotenal son también carotenoides con potencial de provitamina A (Chacón-Ordóñez et al., 2016; Food-Info Foundation, 2017).

Los carotenoides provitamina A cuentan con un anillo β -ionona, el cual es responsable de su actividad como precursores de retinol. Los carotenoides licopeno, luteína y zeaxantina carecen del anillo β -ionona, por lo tanto, no poseen actividad de provitamina A (Cruz-Bojórquez et al., 2013).

La vitamina A existe en tres formas: retinal, retinol y ácido retinoico. La vitamina A, que se obtiene a través de la dieta, puede ser de origen vegetal (carotenoides provitamina A) o animal (ésteres de retinol). Tras su ingestión, los ésteres de retinol se almacenan en los tejidos, principalmente en el hígado, o se convierten en *trans*-retinaldehído y ácido *trans*-retinoico, por la acción de las enzimas alcohol y aldehído dehidrogenasas, respectivamente (Cañete et al., 2017).

La principal fuente de vitamina A es el β -caroteno, ya que se pueden generar dos moléculas de retinol en presencia de oxígeno, reacción catalizada por la β -caroteno 15,15'-monooxigenasa (Gul et al., 2015). Esta enzima divide el β -caroteno en dos moléculas de *trans*-retinal, que se oxidan en ácido retinoico por la retinal deshidrogenasa o se reducen en retinol por la retinal reductasa (Álvarez et al., 2015). En contraste, la ruptura enzimática del α -caroteno y la β -criptoxantina produce sólo una molécula de retinol (Gul et al., 2015).

La vitamina A es esencial para el desarrollo y el mantenimiento de la vista, aunque también ejerce otras funciones en el organismo, como la modulación de la expresión genética, la promoción del desarrollo embrionario, la reproducción, el crecimiento y la diferenciación celular, el fortalecimiento del sistema inmunológico, la estimulación de los procesos metabólicos en el tracto gastrointestinal y la reducción del riesgo de cáncer (Álvarez et al., 2015; Gul et al., 2015; Olmedilla-Alonso, 2017).

El ácido retinoico actúa como molécula de señalización en el desarrollo vascular y la hematopoyesis durante la etapa embrionaria. Además, participa en la regulación y la homeostasis del sistema inmunológico, la diferenciación de las células T, la migración de las células T hacia los tejidos, el desarrollo de células T dependientes de anticuerpos, la

proliferación y diferenciación de células B, la protección de las células B contra la apoptosis mediante la unión al receptor 9 tipo toll (TLR-9), la modulación del linaje de granulocitos, la diferenciación de neutrófilos y el tratamiento del cáncer (Cañete et al., 2017).

5.3.4.2. Antioxidantes

Un antioxidante retrasa o previene el deterioro, el daño o la destrucción causada por la oxidación, a través de su capacidad para neutralizar los radicales libres y estabilizar las moléculas (Liang y Kitts, 2014). Los carotenoides poseen actividad antioxidante, que ayuda a proteger contra enfermedades crónicas, como cataratas, enfermedades coronarias, ciertos tipos de cáncer, obesidad y asma (Bohn et al., 2017; Salter-Venzon et al., 2017).

Los carotenoides desempeñan un papel fundamental como acarreadores de electrones en la protección las células, los tejidos y los órganos frente al daño inducido por las especies reactivas de oxígeno (ERO), las especies reactivas de nitrógeno (ERN) y los lípidos peróxidos (Nagayama et al., 2014; Saini et al., 2015). La eliminación de radicales libres se lleva cabo mediante la transferencia de electrones (Ecs. 1 y 2), la formación de aductos (Ec. 3) y la transferencia de átomos de hidrógeno (Ec. 4) (Cervantes-Paz et al., 2016; Ribeiro et al., 2018).



Los carotenoides β -caroteno, α -caroteno, zeaxantina, β -criptoxantina, luteína y licopeno poseen una gran actividad antioxidante y promueven la eliminación del oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical de óxido nítrico (NO^*) y el anión peroxinitrito (ONOO^*), debido a la estructura isoprenoide (dobles enlaces conjugados) (Cervantes-Paz et al., 2016; Gul et al., 2015; Xavier y Pérez-Gálvez, 2016). Aunque todos los carotenoides tienen propiedades antioxidantes, el licopeno, la astaxantina y el β -caroteno son más eficaces para eliminar el oxígeno singlete en comparación con otros carotenoides (Perera y Yen, 2007; Ribeiro et al., 2018).

La ingesta de β -caroteno, astaxantina, luteína y licopeno previene la oxidación de LDL, neutraliza la formación de radicales de peróxido, reduce la agregación plaquetaria y fomenta el adelgazamiento de las arterias carótidas (Li et al., 2012; Ribeiro et al., 2018; Shegokar y Mitri, 2012).

La degeneración macular es una enfermedad ocular relacionada con el envejecimiento que provoca ceguera y pérdida de la vista (Shegokar & Mitri, 2012; Yoon et al., 2012). La luteína y la zeaxantina protegen las células maculares del estrés oxidativo e inhiben la formación de drusas (depósitos de grasa), disminuyendo el riesgo de desarrollar degeneración macular (Li et al., 2012; Shegokar & Mitri, 2012).

5.3.4.3. Otros

Además de su potencial como provitamina A y antioxidantes, los carotenoides desempeñan un papel fundamental en los procesos celulares y moleculares asociados a la prevención de enfermedades crónicas (Olmedilla-Alonso, 2017). Los carotenoides están involucrados en la proliferación, señalización y comunicación celular, provocando cambios

en la transcripción y la expresión de las proteínas. Estos cambios se han asociado a interacciones entre los carotenoides o sus derivados (apocarotenoides y/o retinoides) y los factores de transcripción, o a través de la modificación indirecta de la actividad transcripcional (Álvarez et al., 2015; Perera y Yen, 2007).

Los carotenoides se han utilizado en el tratamiento del cáncer porque regulan los cambios en la expresión de las proteínas implicadas en la proliferación y diferenciación celular, la apoptosis, la angiogénesis, la reparación del ADN, la eliminación de carcinógenos y la inmunovigilancia (Addis et al., 2009; Perera y Yen, 2007). Por ejemplo, el β -caroteno puede inducir la cascada de caspasas al interactuar con los complejos de señalización en la membrana celular, desencadenando así la apoptosis o muerte celular programada. Además, el β -caroteno puede inducir la liberación del citocromo c de las mitocondrias y alterar el potencial de la membrana mitocondrial para promover la apoptosis (Perera y Yen, 2007).

Una dieta rica en carotenoides se asocia con una menor incidencia enfermedades crónicas tales como cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, degeneración macular, cataratas, osteoporosis, artritis, asma bronquial e infecciones del tracto urinario (Estévez-Santiago et al., 2016; Olmedilla-Alonso, 2017; Sharma et al., 2012). En cambio, la deficiencia de carotenoides puede dar lugar a trastornos visuales (xeroftalmia) y a una inmunidad innata y adaptativa deficiente (Saini et al., 2015).

5.4. Estabilidad de carotenoides

Los carotenoides al estar conformados por unidades repetitivas de isopreno (dobles enlaces conjugados) son muy sensibles a la luz, al calor, a las altas temperaturas, a los ácidos, al oxígeno, a los metales y a los radicales libres. Esto provoca cambios estructurales (ciclación, migración de dobles enlaces y adición de moléculas de oxígeno) que conlleva a la formación

de epoxicarotenoides y apocarotenoides, compuestos sin actividad biológica (Butnariu, 2016; Ribeiro et al., 2018; Thakur et al., 2017).

La luz, la alta temperatura, el aceite y la deshidratación causan la isomerización de los carotenoides y la formación de los isómeros 15-*cis*-, 9-*cis*- y 13-*cis*- del α - y β -caroteno. Los isómeros *cis* tienen menor actividad provitamina A que los isómeros *trans*, lo que reduce las propiedades nutraceuticas de los carotenoides (Butnariu, 2016; Delgado-Vargas et al., 2000).

Varios autores han reportado la degradación de los carotenoides en productos vegetales expuestos a tratamientos térmicos. Addis et al. (2009) demostraron que el contenido de carotenoides en las hojas de *Coccinia grandis* (139.80 mg/100 g) disminuyó con el secado (109.90 mg/100 g) y la deshidratación (63.20 mg/100 g). Así mismo, Aschoff et al. (2015) demostraron que el contenido de carotenoides en jugo de naranja pasteurizado (230.50 μ g/100 g) es menor que en jugo de naranja fresco (328.70 μ g/100 g). Por otro lado, Odriozola-Serrano et al. (2009) observaron que los niveles de carotenoides en jugo de tomate fresco (14.10 mg/100 mL) disminuyeron después de la pasteurización y el almacenamiento a 4°C durante 56 días (7.30 mg/100 mL).

La pérdida de carotenoides en los productos de frutas y verduras se debe principalmente a la oxidación de las estructuras insaturadas (dobles enlaces). La oxidación puede ser causada por la autooxidación (formación espontánea de radicales libres en presencia de oxígeno) o por la fotooxidación (causada por el oxígeno en presencia de luz), lo que conduce a la formación de productos incoloros. Algunos de estos productos de descomposición son 5,6-epoxi- β -ionona, 5,6-epoxi- β -caroteno, 5,8-epoxi- β -caroteno, 5,6,5'6'-diepoxi- β -caroteno, 2,6,6-trimetil-ciclohexanona, dihidroactinidiolida, β -ciclocitral,

4-oxo- β -ionona, 2-metil-2-hepten-6-ona, β -ionona, pseudo-ionona, 6-metil-3,5-heptadien-2-ona, β -caroteno 5,8-endoperóxido, geranial, neral, ácido gerónico, acicloretilal, aurocromo y mutacromo (Burton et al., 2016; Carail y Caris-Veyrat, 2006; Delgado-Vargas et al., 2000; Johnston et al., 2014; Odriozola-Serrano et al., 2009; Ribeiro et al., 2018).

5.5. Técnicas para la protección de carotenoides

El uso de carotenoides en la industria alimentaria ha sido limitado debido a su baja estabilidad frente a los agentes químicos (oxígeno, metales, radicales libres) y ambientales (luz y calor), nula solubilidad en agua, elevados puntos de fusión y baja biodisponibilidad (Gul et al., 2015).

Para prevenir la degradación de los carotenoides y preservar sus propiedades biológicas/nutracéuticas se han empleado técnicas de encapsulación que mejoran no sólo su estabilidad, sino que influyen también en su biodisponibilidad y solubilidad (Capelezzo et al., 2018). Las técnicas de encapsulación consisten en recubrir una o más sustancias sensibles (pigmentos, antioxidantes, aceites esenciales, sabores, aromas y medicamentos) con otro componente que actúa como barrera (pared, cápsula o agente encapsulante) (Gul et al., 2015; Santos y Meireles, 2010).

Las técnicas de encapsulación de los carotenoides pueden dividirse en microencapsulación, nanoencapsulación y encapsulación supercrítica. Tanto en la microencapsulación como en la nanoencapsulación la sustancia de interés (núcleo de la partícula) se recubre con un material encapsulante que la protege del daño ambiental (humedad, calor, luz, oxígeno, pH), preservando sus propiedades biológicas y mejorando su absorción y biodisponibilidad (Sessa, 2012). La diferencia entre ambas técnicas radica en la

escala métrica en la que se ubican las partículas encapsuladas, las micropartículas tienen un tamaño de partícula $> 1 \mu\text{m}$, mientras que el tamaño de las nanopartículas es $< 100 \text{ nm}$ (Focsan et al., 2019; Weiss et al., 2008). La reducción del tamaño de partícula se logra a través de procesos físicos (secado por aspersión, liofilización), químicos (emulsificación espontánea, complejos de inclusión, coacervación) o mecánicos (homogenización, sonicación) (Apanasenko et al., 2015; Rehman et al., 2020; Soukoulis y Bohn, 2018).

En la encapsulación supercrítica, el núcleo de la partícula está disuelta en un fluido supercrítico (FSC), usualmente dióxido de carbono supercrítico, en lugar de los solventes tradicionales. Además, este tipo de encapsulación puede usarse en conjunto con las técnicas de microencapsulación o nanoencapsulación para obtener partículas finas y estables (Capelezzo et al., 2018; Janiszewska-Turak, 2017; Soh y Lee, 2019).

5.5.1. Microencapsulación

El secado por aspersión es el proceso de microencapsulación más utilizado, el cual consiste en la formación de partículas finas al pasar una suspensión a través de un atomizador por el que fluye aire comprimido calentado a altas temperaturas. El flujo de aire caliente deshidrata las partículas y las convierte en polvo, en el que se encapsula la sustancia de interés (Gul et al., 2015). De este modo, se obtienen polvos estables (tamaño entre 1 y 1000 μm) a bajo costo y en corto tiempo, empleando temperaturas moderadas, lo que permite la encapsulación y protección de compuestos termolábiles (Mestry et al., 2011; Thakur et al., 2017).

La selección de un agente encapsulante adecuado se basa en sus propiedades físicas, como peso molecular, punto de fusión, solubilidad, viscosidad, difusividad, capacidad de formación de película y propiedades emulgentes (Arellano Corral, 2011). Los más comunes

son los polisacáridos (maltodextrina, almidón, quitosano, inulina, alginato de sodio, carragenina, pectina, carboximetilcelulosa y fibras cítricas), las gomas (goma arábiga, goma de Mesquite y goma Guar) y las proteínas (gluten, caseína, gelatina, proteína de suero, proteína de soya, albúmina, leche en polvo y oligopéptidos) (Gul et al., 2015; Janiszewska-Turak, 2017).

Un proceso de microencapsulación eficaz depende en gran medida de la técnica empleada, que afecta al contenido de humedad, la actividad del agua, el tamaño de las partículas, la eficiencia de la encapsulación y la morfología de las microcápsulas (Gul et al., 2015). Por ejemplo, las altas temperaturas reducen el tiempo de formación de la cápsula que rodea a los compuestos encapsulados, impidiendo así su retención. Además, las altas temperaturas pueden provocar pérdidas en el contenido de carotenoides y su isomerización (Janiszewska-Turak, 2017).

Múltiples autores han reportado que la actividad antioxidante de los carotenoides encapsulados es mayor en comparación con la de los carotenoides libres, dado que las microcápsulas mejoran su estabilidad al formar una capa semipermeable que permite la difusión de oxígeno y otras especies reactivas en las microcápsulas, donde interactúan con los antioxidantes y son eliminados (Rodrigues et al., 2012). En este sentido, Boiero et al. (2014) encontraron que las microcápsulas de β -caroteno ($0.54 \mu\text{g } \beta\text{-caroteno/mL}$) protegen a la riboflavina de la fotodegradación en leche. Así mismo, Faria et al. (2010) y Rodrigues et al. (2012) observaron que las microcápsulas de β -caroteno, apo-8'-carotenal y apo-12'-carotenal son capaces de neutralizar el daño ocasionado por el oxígeno, el radical peróxido (ROO^{\bullet}), el H_2O_2 , el radical hidróxido (OH^{\bullet}), el ácido hipocloroso (HOCl) y ONOO^{\bullet} .

5.6. Estrés oxidativo

Durante el proceso de respiración celular existe una transferencia de electrones hacia el oxígeno generando ERO, debido a que el oxígeno es el aceptor final de electrones en la cadena de transporte de electrones durante la producción de energía. No obstante, cuando se generan fugas en el flujo de electrones, se producen reacciones de oxidación o se activa el mecanismo de defensa del sistema inmune, se generan radicales libres (Wang et al., 2013). A pesar de ello, los organismos cuentan con un sistema de defensa antioxidante capaz de capturar o neutralizar a los radicales libres, como las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión transferasa y glutatión reductasa, los antioxidantes endógenos (glutatión) y exógenos (ácido ascórbico, tocoferol, compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides). Cuando la producción de especies reactivas aumenta, o los niveles de antioxidantes disminuyen, se rompe el balance prooxidante-antioxidante que existe en el organismo, lo que se conoce como estrés oxidativo (Erzsébet et al., 2016).

Los radicales libres son moléculas altamente inestables que poseen uno o más electrones desapareados, los cuales pueden reaccionar con los lípidos, las proteínas o el ADN. Los radicales libres incluyen a los radicales hidroxilo (HO^\bullet), superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), ROO^\bullet , hidroxiperóxido (HOO^\bullet), lípido (L^\bullet), lípido peróxido (LOO^\bullet), proteína (P^\bullet), tiol (RS^\bullet), $^1\text{O}_2$ y óxido nítrico (NO). Además, el H_2O_2 y el lípido hidroxiperóxido (LOOH) son otras especies reactivas capaces de dañar a los componentes celulares (Erzsébet et al., 2016; Ristow y Schmeisser, 2014).

Las ERO generadas como productos intermediarios de las reacciones celulares químicas, así como por diversos factores de estrés (luz ultravioleta, iones metálicos, calor,

radiación ionizante y químicos carcinógenos o mutagénicos), son responsables del daño oxidativo de lípidos, proteínas, ADN y mutaciones, procesos que están implicados en el envejecimiento celular y el desarrollo de enfermedades degenerativas como diabetes, cataratas, hipertensión, inflamación, cáncer, artritis reumatoide, neuropatías y cardiopatías, entre otras (Chen et al., 2013; Perera & Yen, 2007; Wagner & Elmadfa, 2003; You et al., 2015).

5.7. *Caenorhabditis elegans*

5.7.1. Generalidades

El uso de organismos simples como modelos biológicos permite obtener información relacionada con los procesos patológicos, metabólicos, moleculares y bioquímicos. En este sentido, los modelos biológicos más empleados han sido roedores, moscas, levaduras, peces, cultivos celulares y nematodos (Ye et al., 2020). El nematodo *Caenorhabditis elegans* ha sido empleado como modelo de estudio de enfermedades presentes en el humano, tales como cáncer, obesidad, diabetes, enfermedades neurodegenerativas y musculares, entre otras (Corsi et al., 2015).

El nematodo *C. elegans* es un organismo que frecuentemente se encuentra en los suelos, alimentándose de bacterias y otros microorganismos. Se caracteriza por su longitud corta (1 mm) y diámetro pequeño (80 μm). Además, posee estructuras celulares definidas tales como sistema nervioso, muscular, digestivo (cavidad bucal, faringe, intestino, recto y ano) y reproductor (útero, espermateca, vulva y músculos). El 99.9% de la población es hermafrodita auto-fertilizante, lo cual facilita la obtención de gran número de individuos. Tiene una corta esperanza de vida de 2 a 3 semanas. Crece en un intervalo amplio de

temperatura de 10 a 25 °C, sin embargo, su temperatura óptima de crecimiento se ubica entre los 20 y 22 °C (Back et al., 2012; Brenner, 1974).

Por otro lado, el genoma del nematodo ha sido completamente secuenciado, contiene 19 mil genes y se han identificado cerca del 65% de genes homólogos relacionados con enfermedades humanas en su genoma (Corsi et al., 2015). Tres vías de señalización importantes para el funcionamiento fisiológico del nematodo, la vía de insulina/IGF-1, la vía de cinasa c-Jun N-terminal (JNK) y la vía de proteína cinasa PMK-1, corresponden a vías de señalización altamente conservadas en mamíferos y humanos (Ye et al., 2020). Lo anterior hace evidente la importancia de *C. elegans* como modelo de estudio para entender los procesos biológicos, metabólicos, patológicos y moleculares ligados al desarrollo de enfermedades, funcionamiento y toxicidad de compuestos bioactivos y sustancias antioxidantes (Pons et al., 2014).

El ciclo de vida del nematodo (Fig. 3) consta de varias etapas larvarias (L1, L2, L3 y L4) hasta alcanzar la fase adulta. En la fase adulta el nematodo es capaz de poner huevos (hasta 300 huevos por cada nematodo hermafrodita) los cuales eclosionarán y darán lugar a su descendencia. El ciclo de vida completo del nematodo dura aproximadamente 3.5 días a 20 °C, aunque este puede variar dependiendo de la temperatura de crecimiento. Bajo condiciones de estrés como la ausencia de alimento, las altas temperaturas y la presencia de sustancias tóxicas, el nematodo entra en una etapa de resistencia conocida como fase Dauer. Durante la fase de resistencia, el nematodo puede sobrevivir por largos periodos de tiempo (meses) hasta que las condiciones se tornen favorables para su desarrollo, momento en el cual alcanzará la etapa larvaria L4 y reanudará su ciclo de vida (Corsi et al., 2015).



Fig. 3. Ciclo de vida del nematodo *C. elegans* (García-Vara, 2015).

5.7.2. Envejecimiento y estrés oxidativo

El nematodo *C. elegans* es un modelo biológico fácil de manejar en el laboratorio debido a su tamaño, anatomía simple, tiempo de vida corto, estructura transparente, fácil reproducción, genoma completamente secuenciado y amplia disponibilidad de cepas mutantes (Brenner, 1974; Chen et al., 2013).

La exposición de *C. elegans* a ciertos compuestos prooxidantes como H_2O_2 , *tert*-butilhidroxiperoxido, arsenito, paraquat y juglona, induce estrés oxidativo en el nematodo. Esto implica un incremento en los niveles de O_2 y ERO, lo cual acorta el tiempo de vida y supervivencia del nematodo (Gems y Doonan, 2009; Zhou et al., 2011). Esta característica ha permitido evaluar los efectos de los alimentos, las sustancias bioactivas, los compuestos antioxidantes y los extractos de origen vegetal sobre el organismo (Pons et al., 2014).

El estrés oxidativo es considerado un factor crítico que acorta la longevidad y acelera el envejecimiento tanto en *C. elegans* como en humanos (Ye et al., 2020). Múltiples autores han señalado la disminución en niveles de ERO y el incremento en la esperanza de vida y/o la resistencia al estrés oxidativo en los nematodos tratados con vitaminas C (Pons et al., 2014) y E (Back et al., 2012); extractos de espinaca (Fan et al., 2011) y cocoa (Martorell et al., 2011); compuestos fenólicos como quercetina (Pietsch et al., 2009; Surco-Laos et al., 2011), epicatequina (González-Manzano et al., 2012) y resveratrol (Chen et al., 2013); y carotenoides como β -caroteno (Pons et al., 2014; You et al., 2015) y astaxantina (Liu et al., 2016; Yazaki et al., 2011).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Materiales

El mamey (*Pouteria sapota*) y la zanahoria (*Daucus carota*) se obtuvieron de un supermercado local de la ciudad de Puebla, Pue., México. Ambos se lavaron con agua para remover impurezas y otras contaminantes, se pelaron y homogeneizaron con una batidora de inmersión 2612 (Oster, China). La cáscara de mamey se limpió perfectamente para remover trazas de pulpa y se cortó en trozos pequeños manualmente. El mamey (pulpa y cáscara) y la zanahoria se almacenaron en bolsas de poliestireno a -20 °C hasta su uso.

6.2. Métodos

6.2.1. Caracterización fisicoquímica de los alimentos

6.2.1.1. Humedad

El contenido de humedad se determinó con base en el método gravimétrico 930.15 de la A.O.A.C. (2000). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.1.2. Cenizas

El contenido de cenizas se determinó mediante el método 940.26 de la A.O.A.C. (2000). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.1.3. Grasa

El contenido de grasa se cuantificó mediante el método de extracción con disolvente (Goldfish) 920.39 de la A.O.A.C. (2000). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.1.4. Proteína

El contenido de proteína se determinó con base en el método Kjeldahl 920.152 de la (A.O.A.C., 2000), empleando el factor de 6.25 para convertir la cantidad de nitrógeno a

proteína. Se tituló con ácido clorhídrico 0.1 N, empleando rojo de metilo como indicador. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.1.5. Fibra cruda

La fibra cruda se determinó mediante el método 962.09 de la A.O.A.C. (2000). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.1.6. Sólidos solubles totales

El contenido de sólidos solubles totales (SST) se obtuvo empleando con un refractómetro digital (PAL-BX/RI, Atago, Japón) y los resultados se expresaron en °Brix. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.1.7. Acidez titulable

La acidez titulable (AT) se determinó siguiendo la metodología descrita en la Norma Mexicana NMX-F-102-NORMEX-2010 (Secretaría de Salud, 2010). La titulación se realizó con NaOH 0.1 N, empleando fenolftaleína como indicador (cambio de color de incoloro a rosa a pH 8.3). Las muestras se suspendieron en agua destilada en proporción 1:10 previo a la determinación. Los resultados se expresaron en función del ácido mayoritario presente en cada muestra. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.1.8. pH

El valor de pH se determinó con un potenciómetro (pHTestr 20, Eutech Instruments OAKTON, Singapur), previamente calibrado, por inmersión en la muestra. En todos los casos la muestra se homogeneizó en agua destilada en proporción 1:10 previo a la determinación. Las mediciones se realizaron por triplicado.

6.2.1.9. Color

Las características cromáticas de la escala CIE Lab L* (luminosidad, 0-100), a* (a+ rojo, a- verde) y b* (b+ amarillo, b- azul), se determinaron empleando un colorímetro portátil DR-410 (Konica Minolta, Japón). Para ello, se homogeneizó la muestra (pulpa de mamey o zanahoria) y se colocó sobre un vidrio de reloj para los ensayos de color. Por otro lado, la cáscara de mamey se colocó sobre un vidrio de reloj y se tomó la lectura directamente sobre la cara externa de la cáscara. Las determinaciones se realizaron por triplicado. Adicionalmente, se calcularon los parámetros de saturación (C) y tono (h) a partir de la Ecs. 5 y 6, respectivamente.

$$C = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{Ec. 5})$$

$$h = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{Ec. 6})$$

6.2.1.10. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se determinaron empleando el método descrito por Torres-Rodríguez et al. (2011) con algunas modificaciones. Se trituraron y homogeneizaron 2 g de muestra (pulpa de mamey, cáscara de mamey, o zanahoria), los cuales se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 50 mL. Se adicionaron 7 mL de una solución de metanol : ácido acético (85 : 15 v/v). Los recipientes se cubrieron con Parafilm® y se colocaron en un baño de ultrasonido (M 1800, Branson, EE. UU.) durante 30 min. Posteriormente, se centrifugaron a 2200 *xg* durante 10 min (centrífuga Z 366K, HERMLE Labortechnik, Alemania). Se recolectó el sobrenadante, y se repitió la extracción con el residuo. Ambos sobrenadantes se mezclaron y se filtraron a través de un papel filtro Whatman No. 1. Los compuestos fenólicos se cuantificaron a través del método colorimétrico Folin-Ciocalteu. Para ello, se preparó una solución 1:1 del reactivo Folin-Ciocalteu (Hycel, México) y agua. En un tubo de ensaye se

colocaron 125 μ L de la solución anterior, se adicionaron 100 μ L de extracto y se incubó durante 6 min. Posteriormente, se agregaron 1.25 mL de Na_2CO_3 al 19% y se ajustó el volumen final a 3 mL con agua destilada. La mezcla se agitó en un vórtex (Vortex-Genie 2 G560, Scientific Industries, EE. UU.) y se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 90 min. El blanco se preparó con agua destilada en lugar del extracto. Las muestras se analizaron por espectrofotometría (espectrofotómetro UV-Vis Genesys 10S, Thermo Fisher Scientific, EE. UU.) a 760 nm. Se preparó una curva de calibración con ácido gálico (Sigma-Aldrich, México; 0-1500 mg/mL) y la concentración de fenoles totales se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de peso fresco. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.2. Extractos de carotenoides

6.2.2.1. Contenido de carotenoides

La extracción de carotenoides se basó en el método descrito por Moo-Huchin et al. (2014) con algunas modificaciones. 10 g de la muestra (pulpa de mamey, cáscara de mamey o zanahoria) se mezclaron con 50 mL de solución hexano : acetona : etanol (70 : 15 : 15 v/v/v). La mezcla se dejó en agitación magnética durante 1 h; posteriormente, se adicionaron 5 mL de KOH al 40% en metanol y se incubó a temperatura ambiente en la oscuridad durante 2 h para saponificar. Después, se agregaron 30 mL de hexano, se agitó vigorosamente la mezcla y se recolectó la capa superior. Se añadieron nuevamente 30 mL de hexano, y se recolectó la capa superior. Ambos sobrenadantes se juntaron y se filtraron con Na_2SO_4 en polvo para remover trazas de agua. Posteriormente, se concentró el sobrenadante en un evaporador rotatorio (R-124, Büchi, Suiza) a 35 °C al vacío (7.50 mmHg). El residuo se suspendió en 100 mL de etanol y se analizó espectrofotométricamente a 450 nm (espectrofotómetro UV-

Vis Genesys 10S, Thermo Fisher Scientific, EE. UU.). Se preparó una curva de calibración con β -caroteno (pureza > 97%, Sigma-Aldrich, México; 0-20 ppm) en etanol, empleando etanol como blanco. Los resultados se expresaron como mg β -caroteno/100 g de peso fresco. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.2.2. Capacidad antioxidante *in vitro*

La capacidad antioxidante de los carotenoides se determinó por el método desarrollado por Re et al. (1999) con algunas modificaciones. Se prepararon 5 mL de una solución acuosa del 2,2'-azino-bis-(3-etil-benzo-tiazolina-6-ácido sulfónico) (ABTS; Sigma-Aldrich, México) 7 mM. Se generó el radical catiónico ABTS^{•+} al hacer reaccionar la solución stock de ABTS con K₂S₂O₈ 2.45 mM, y se dejó reposar a temperatura ambiente en la oscuridad durante 12-16 h. Posteriormente, la solución se diluyó con etanol absoluto hasta obtener una absorbancia de 0.70 ± 0.02 a 734 nm (espectrofotómetro UV-Vis Genesys 10S, Thermo Fisher Scientific, EE. UU.), la cual se registró como la absorbancia inicial. Se mezclaron 980 μ L de la solución diluida de ABTS^{•+} con 20 μ L de la solución etanólica de carotenoides, y se midió la absorbancia a los 6 min (absorbancia final). El porcentaje de inhibición se calculó a partir de la Ec. 7:

$$\% \text{ inhibición} = \left(\frac{\text{Absorbancia inicial} - \text{Absorbancia final}}{\text{Absorbancia inicial}} \right) \times 100 \quad (\text{Ec. 7})$$

Se preparó una curva de calibración con trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico; Sigma-Aldrich, México) en etanol. Las soluciones de trolox (0-1500 μ M) se sometieron al mismo tratamiento con ABTS^{•+}, previamente descrito. Se graficó la concentración de trolox contra el porcentaje de inhibición para obtener la curva de calibración. Los resultados se expresaron como μ mol equivalentes de la capacidad

antioxidante de trolox (TEAC) por 100 g de peso fresco. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.3. Microencapsulación de carotenoides

6.2.3.1. Preparación de la muestra

Los extractos etanólicos de los carotenoides de pulpa mamey (10.70 ± 0.20 mg β -caroteno/100 g de peso fresco) y zanahoria (13.83 ± 0.23 mg β -caroteno/100 g de peso fresco) (sección 6.2.2.1.) se mezclaron con una combinación de maltodextrina 10 equivalentes de dextrosa (CP Ingredients, México) y goma arábica (CP Ingredients, México) (MD-GA) o goma de Mezquite (Gomas Naturales, México) (MD-GM) como se indica en la tabla 3.

Tabla 3. Soluciones de carotenoides y condiciones para la microencapsulación mediante la técnica de secado por aspersión.

No.	Carotenoides	Maltodextrina (w/v)	Goma arábica (w/v)	Goma de Mezquite (w/v)	SST (°Brix)
1	Mamey	10%	5%	-	15.2
2	Mamey	10%	10%	-	19.1
3	Zanahoria	10%	5%	-	15.8
4	Zanahoria	10%	10%	-	18.6
5	Mamey	10%	-	5%	14.6
6	Mamey	10%	-	10%	20.2
7	Zanahoria	10%	-	5%	14.9
8	Zanahoria	10%	-	10%	20.1

6.2.3.2. Secado por aspersión

El secado de las soluciones (tabla 3) se realizó en un secador por aspersión (Mini Spray Dryer B-290, Büchi, Suiza), bajo las siguientes condiciones: 100% de rendimiento de aspiración,

temperatura de aire de secado de 160 ± 2 °C, flujo de alimentación de 10 mL/min. Los contenidos de SST de las soluciones se muestran en la tabla 3. Los polvos recolectados se pesaron, se almacenaron en recipientes de vidrio, se guardaron en bolsas de plástico selladas para prevenir la ganancia de agua y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su posterior análisis. El rendimiento de los polvos obtenidos se calculó a partir de la Ec. 8:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Masa de las microcápsulas (g)}}{\text{Sólidos totales (g)}} \times 100 \quad (\text{Ec. 8})$$

6.2.3.3. Caracterización física de microcápsulas

6.2.3.3.1. Tamaño de partícula

El diámetro de partícula de las microcápsulas se midió con un analizador automático de partícula (Microtrac Bluewave S3500, EE. UU.). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

6.2.3.3.2. Color

El color de las microcápsulas se determinó utilizando los parámetros de la escala CIELab L^* , a^* y b^* (sección 6.2.1.9.) empleando un colorímetro portátil (CR-400, Konica Minolta S.A., Alemania) con un paso de celda óptica de 1 cm y 10 mL de muestra. Las soluciones se prepararon al disolver 2.70 g de cada microcápsula de carotenoides en 10 mL de agua destilada (Jiménez-Aguilar et al., 2011). Las determinaciones se realizaron por triplicado. Adicionalmente, se calculó el cambio neto de color (ΔE) a partir de la Ec. 9:

$$\Delta E = \sqrt{(L^\circ - L^*)^2 + (a^\circ - a^*)^2 + (b^\circ - b^*)^2} \quad (\text{Ec. 9})$$

6.2.3.3.3. *Actividad de agua*

La actividad de agua se determinó a temperatura ambiente empleando un higrómetro de punto de rocío (AQUA LAB, 4TEV, Decagon Devices, Inc., EE. UU.). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.3.3.4. *Humedad*

El contenido de humedad se determinó mediante el método 930.15 de la A.O.A.C. (2000) (sección 6.2.1.1.). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.3.3.5. *Densidad*

La densidad de bulto se calculó pesando 2 g de cada microcápsula y midiendo su volumen ocupado en una probeta graduada de 10 mL. La densidad compactada se determinó midiendo el volumen ocupado por la misma masa de microcápsula en la probeta después de 425 golpes (Mestry et al., 2011). Las determinaciones se realizaron por triplicado. Adicionalmente, se calculó el coeficiente de Hausner a partir de la Ec. 10:

$$\text{Coeficiente de Hausner} = \frac{\text{Densidad compactada}}{\text{Densidad de bulto}} \quad (\text{Eq. 10})$$

6.2.3.3.6. *Solubilidad en agua*

La solubilidad se determinó mediante el método de Montero et al. (2016). Se pesaron 200 mg de cada microcápsula y se disolvieron en 10 mL de agua destilada. La mezcla se centrifugó a 760 xg durante 10 min (centrífuga Z 366K, HERMLE Labortechnik, Alemania), se removieron 9 mL y el residuo fue secado a 105 °C durante 24 h. La solubilidad en agua se calculó a partir de la Ec. 11. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

$$\text{Solubilidad (\%)} = \frac{\text{Peso final} \times \left(\frac{10}{9}\right)}{\text{Peso inicial}} \quad (\text{Eq. 11})$$

6.2.3.4. Condiciones de almacenamiento

Las microcápsulas de carotenoides (~ 15 g) se almacenaron en cajas Petri (55 x 10 mm) dentro de bolsas de poliestireno. Las bolsas selladas se mantuvieron en tres condiciones diferentes: 25 °C en presencia de luz de día, 25 °C en ausencia de luz de día y 4 °C en ausencia de luz de día (Jiménez-Aguilar et al., 2011). Los cambios en color, contenido de carotenoides y capacidad antioxidante *in vitro* se analizaron por triplicado al inicio, primer, segundo y tercer mes de almacenamiento. La capacidad antioxidante *in vivo* se determinó únicamente al inicio y final del almacenamiento.

6.2.3.5. Contenido de carotenoides

El contenido de carotenoides en las microcápsulas se determinó mediante la metodología descrita en la sección 6.2.2.2. Para ello, se prepararon soluciones de carotenoides disolviendo 1.35 g de cada microcápsula en 5 mL de agua destilada (Jiménez-Aguilar et al., 2011). Se emplearon soluciones de MD-GA o MD-GM como blanco. Los resultados se expresaron como $\mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g polvo}$. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.3.6. Capacidad antioxidante *in vitro*

La capacidad antioxidante de las microcápsulas de carotenoides se determinó mediante la metodología descrita en la sección 6.2.2.1. Para ello, se prepararon soluciones de carotenoides disolviendo 1.35 g de cada microcápsula en 5 mL de agua destilada (Jiménez-Aguilar et al., 2011). Se emplearon soluciones de MD-GA o MD-GM como blanco. Los resultados se expresaron como $\mu\text{mol TEAC/g polvo}$. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6.2.4. Capacidad antioxidante *in vivo*

6.2.4.1. Modelo biológico

Como modelo biológico se empleó la cepa silvestre (Bristol N2) del nematodo *Caenorhabditis elegans*, alimentado con la bacteria, auxótrofa de uracilo, *Escherichia coli* OP50. Los nematodos se mantuvieron a 22 ± 2 °C in el medio de cultivo NGM [nematode growth medium; NaCl 3 g/L; peptona 2.5 g/L; agar bacteriológico 24 g/L; CaCl₂ (1M) 1 mL/L; MgSO₄•7H₂O (1M) 1 mL/L; buffer fosfato (pH 6.0) 20 mL/L; colesterol (0.005 g en 1 mL etanol) 1 mL/L]. *E. coli* OP50 se mantuvo en el medio Luria-Bertani (NaCl 10 g/L; triptona 10 g/L; extracto de levadura 5 g/L; agar bacteriológico 20 g/L). Los organismos se obtuvieron en el Departamento de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad de las Américas Puebla.

6.2.4.2. Expansión y sincronización de nematodos

La expansión es el proceso mediante el cual se transfieren los nematodos de una caja Petri a otra, con el fin de mantenerlos viables y permitir su reproducción. Para la expansión, los nematodos se lavaron con 4 mL de la solución M9 (Na₂HPO₄ 6 g/L; KH₂PO₄ 3 g/L; NaCl 5 g/L; MgSO₄•7H₂O 0.215 g/L). Los nematodos se centrifugaron a 4600 rpm y 4 °C durante 1 min (centrífuga Z 366K, HERMLE Labortechnik, Alemania). Posteriormente, se removió el sobrenadante, se añadió 1 mL de la solución M9 y se repitió la centrifugación. El paso anterior se repitió dos veces. Por último, se removió el sobrenadante y el residuo se transfirió a placas nuevas de NGM suplementadas con 600 µL de *E. coli* OP50. Las placas se incubaron a 22 ± 2 °C (Stiernagle, 2006).

La sincronización es el proceso para obtener nematodos en una misma etapa larvaria (huevos). Para ello, los nematodos en etapa adulta (tercer día) se lavaron con 4 mL de la

solución M9, empleando la metodología de expansión previamente descrita. Después de los lavados con la solución M9, se retiró el sobrenadante y se agregó 1 mL de NaOH 1M, se agitó en un vórtex (Vortex-Genie 2 G560, Scientific Industries, EE. UU.) durante 30 s y se centrifugó bajo las mismas condiciones. Posteriormente, se retiró el sobrenadante, se agregaron 500 μ L de NaOH 1M y 500 μ L de la solución NaOH : NaClO 5% (3 mL de NaOH 1M + 2 mL Cloralex®), se agitó en un vórtex durante 60 s y se centrifugó bajo las mismas condiciones. Posteriormente, se retiró el sobrenadante, se adicionó 1 mL de la solución M9 y se centrifugó nuevamente incrementado la velocidad a 5600 rpm. Se retiró el sobrenadante y se repitió el lavado con M9 una vez más. El paso anterior se repitió dos veces. Finalmente, se retiró el sobrenadante y los huevos se depositaron en nuevas placas de NGM con *E. coli* OP50. Las placas se incubaron a 22 ± 2 °C (Surco-Laos et al., 2011).

6.2.4.3. Resistencia al estrés oxidativo

Los nematodos sincronizados (sección 6.2.4.3.) fueron divididos en los siguientes grupos para los ensayos de estrés oxidativo:

- Grupo control: sin antioxidante;
- Grupo antioxidante: trolox (225 μ g/mL);
- Grupo β -caroteno: β -caroteno (20, 30 y 40 μ g/mL);
- Grupo pulpa de mamey: extracto de carotenoides de pulpa de mamey (20, 30 y 40 μ g/mL);
- Grupo cáscara de mamey: extracto de carotenoides de cáscara de mamey (20, 30 y 40 μ g/mL);
- Grupo zanahoria: extracto de carotenoides de zanahoria (20, 30 y 40 μ g/mL).

Las concentraciones de los antioxidantes se seleccionaron con base en los resultados de inhibición del radical ABTS^{•+}, las cuales fueron capaces de inhibir al radical entre un 60% y 70%.

Los nematodos de cada grupo expuesto o no a los antioxidantes y las concentraciones previamente establecidas se incubaron a 22 ± 2 °C hasta alcanzar la etapa L4 (2-2.5 días). Se transfirieron 60 ± 5 nematodos en etapa L4 de cada grupo a placas de NGM con juglona (5 hidroxi-1,4-naftoquinona; Sigma-Aldrich, México) 400 μ M, la cual induce estrés oxidativo mortal (Sangha et al., 2013). Se evaluó la supervivencia de los nematodos cada hora, hasta las 8 h, contando como muertos a aquellos nematodos que no respondían al estímulo provocado con un asa de platino (Chen et al., 2013). Los resultados se expresaron como porcentaje de supervivencia para cada grupo evaluado.

Paralelamente, los nematodos en etapa L4 se sincronizaron, los huevos obtenidos se transfirieron a nuevas placas de NGM con bacteria y con o sin antioxidantes y se incubaron a 22 ± 2 °C hasta alcanzar nuevamente la etapa L4. Se evaluó la supervivencia de los nematodos empleando la metodología descrita anteriormente. Se repitió este procedimiento hasta evaluar la capacidad antioxidante en tres generaciones diferentes (F1, F2 y F3) para cada generación (Fig. 4). Los experimentos se realizaron por triplicado.

6.2.4.4. Medición de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO)

Para examinar la producción de ERO, los nematodos adultos fueron sincronizados y los huevos se colocaron en placas nuevas de NGM con bacteria y microcápsulas de carotenoides (0 y 15 μ g/mL) y se incubaron a 22 ± 2 °C hasta alcanzar la etapa L3. Al llegar a la etapa L3, se transfirieron 15 nematodos a nuevas placas de NGM con 5-fluoro-2'-deoxiridina (FUdR; Sigma-Aldrich, México) 100 μ M, para prevenir la descendencia, y juglona 150 μ M, para

inducir el estrés oxidativo, y se incubaron a 22 ± 2 °C durante 12 h. Al alcanzar la etapa adulta, los nematodos se transfirieron a 200 μ L de la solución M9, la cual contiene 2'7'-diclorofluorescina diacetato (DCFH₂-DA; Sigma-Aldrich, México) y se incubaron en la oscuridad a temperatura ambiente durante 1.5 h. Posteriormente, se añadieron 50 μ L de la solución M9, la cual contiene azida de sodio 10 mM como anestésico, y se transfirieron a una lámina de agar montada sobre un portaobjetos de vidrio. Los portaobjetos se colocaron en un microscopio de fluorescencia (Zeiss Axio Imager 2, Jena, Alemania) para capturar la fluorescencia del producto oxidado DCF (Ren et al., 2017). Para cuantificar la fluorescencia del DCF, las imágenes fueron analizadas usando el software ImageJ.

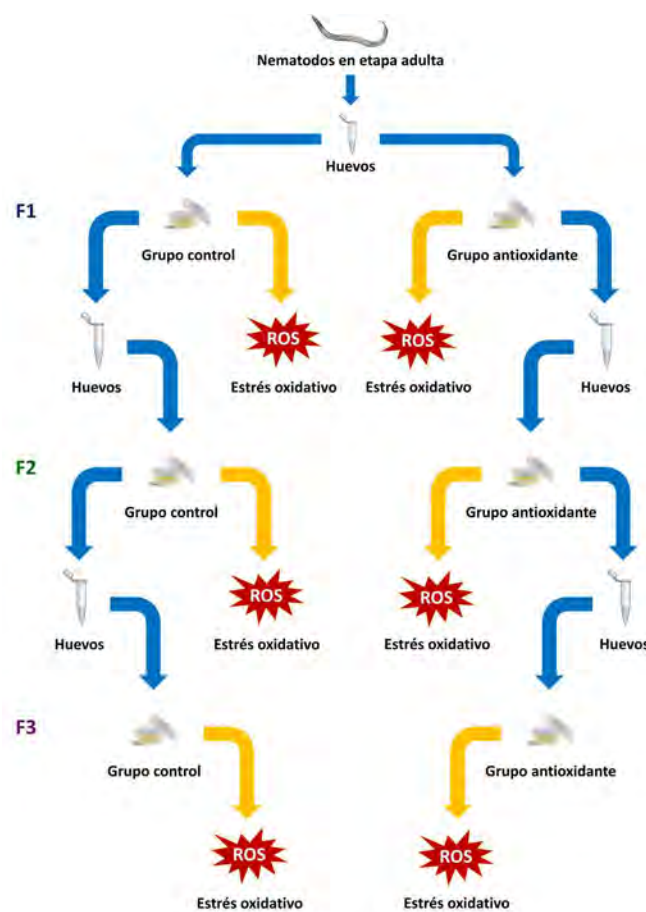


Fig. 4. Esquema de ensayos de estrés oxidativo en generaciones consecutivas de *C. elegans*.

6.2.5. Análisis estadístico

Se reportó la media y desviación estándar de todas las determinaciones. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza y comparación de medias (Fisher, $p < 0.05$). Los ensayos de supervivencia de *C. elegans* se analizaron mediante la metodología Kaplan-Meier y la prueba log-rank para determinar diferencias significativas ($p < 0.05$). Los análisis se realizaron con el programa Minitab Statistical Software (versión 19, Minitab Inc., EE. UU.).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Caracterización fisicoquímica de mamey y zanahoria

Se llevó a cabo la caracterización de pulpa de mamey, cáscara de mamey y zanahoria. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Caracterización fisicoquímica de mamey y zanahoria.

	Pulpa de Mamey	Cáscara de Mamey	Zanahoria
Humedad (%)	72.43 ± 0.23	41.52 ± 3.16	90.15 ± 0.23
Cenizas (%)	1.02 ± 0.20	2.23 ± 0.20	0.33 ± 0.10
Grasa (%)	0.34 ± 0.05	0.23 ± 0.13	1.47 ± 1.24
Proteína (%)	1.36 ± 0.11	5.45 ± 0.64	0.88 ± 0.13
SST (° Brix)	23.60 ± 2.00	ND	4.33 ± 0.15
Fibra cruda (%)	1.23 ± 0.05	50.08 ± 1.34	2.48 ± 0.31
pH	6.35 ± 0.07	5.87 ± 0.04	6.88 ± 0.06
AT (mg de ácido málico/100 g)	0.07 ± 0.00	0.21 ± 0.01	0.02 ± 0.002
Compuestos fenólicos (mg GAE/100 g)	15.22 ± 0.75 ^b	20.28 ± 0.49 ^a	3.99 ± 1.00 ^c

Los datos mostrados corresponden a la media ± desviación estándar (n=3). SST: sólidos solubles totales. AT: acidez titulable. ND: no determinado. GAE: equivalentes de ácido gálico. Letras diferentes indican diferencias significativas entre el contenido de compuestos fenólicos de las muestras ($p < 0.05$).

Los resultados de caracterización de la pulpa de mamey son similares a los reportados por diversos autores, entre los que destacan su contenido de humedad y SST. El alto contenido de SST se asocia con la degradación del almidón y su conversión en azúcares durante la maduración del fruto, lo que a su vez contribuye al característico sabor dulce y agradable del mamey (Torres-Rodríguez et al., 2011; Villarreal-Fuentes et al., 2015). En este sentido, Bayuelo-Jiménez et al. (2007), Moo-Huchin et al. (2014), Torres-Rodríguez et al. (2011) y Villarreal-Fuentes et al. (2015) reportaron valores de SST de 26.40–31.30, 19.89 ±

0.18, 28.10 ± 1.40 y $17.50\text{--}23.00$ °Brix, respectivamente. Por otro lado, se han encontrado contenidos de humedad de $70.50\text{--}74.40\%$ (Bayuelo-Jiménez et al., 2007) y $74.99 \pm 0.63 \%$ (Moo-Huchin et al., 2014). Por su parte, Alia-Tejacal et al. (2007) señalan que los contenidos de cenizas, grasa y fibra corresponden a $0.89\text{--}1.32\%$, $0.09\text{--}0.60\%$, y $1.21\text{--}3.20\%$, respectivamente. Por otro lado, Bayuelo-Jiménez et al. (2007) encontraron valores de pH entre 6.30 y 6.80, y de AT entre 0.06 y 0.16 mg de ácido málico/100 g. De esta manera se puede observar que los resultados de la caracterización fisicoquímica de la pulpa de mamey están dentro de los rangos esperados. Las variaciones observadas entre los diferentes estudios se asocian a múltiples factores como el genotipo, la época de cosecha, la etapa de maduración, el tamaño de los frutos, las condiciones climáticas de crecimiento, las propiedades del suelo, la ubicación del cultivo, el manejo post-cosecha, las condiciones de almacenamiento, entre otros (Villarreal-Fuentes et al., 2015).

A diferencia de la pulpa de mamey, la cáscara del mamey no se emplea en la industria alimenticia, a pesar su elevado contenido de fibra (tabla 4). Es por ello que los estudios de caracterización de la cáscara son muy limitados. Uno de los pocos reportes corresponde a Solís-Fuentes et al. (2015), quienes encontraron contenidos de humedad, ceniza y proteína de $44.25 \pm 0.06\%$, $3.89 \pm 0.07\%$ y $6.48 \pm 0.43\%$, respectivamente. Por otro lado, el pH de cáscara (5.87) es inferior al pH de la pulpa (6.35), ya que brinda protección al fruto y podría asociarse parcialmente con el mecanismo de defensa antimicrobiano del fruto.

La zanahoria es una de las hortalizas más estudiadas, por lo que existen numerosos estudios que reportan su caracterización. En este sentido, Upadhyay et al. (2008) reportaron contenidos de humedad, ceniza y fibra de 90.80% , 0.83% y 1.87% , respectivamente. De manera similar, Adubofuor et al. (2010) obtuvieron valores de humedad, cenizas, SST, AT y

pH de 89.68%, 0.88%, 4.00 °Brix, 0.053 mg de ácido málico/100 g y 5.87, respectivamente. Por otro lado, Sharma et al. (2012) también reportaron los contenidos de humedad (86.00-89.00%), grasa (0.20-0.50%), proteína (0.70-0.90%) y fibra (1.20-2.40%). De esta manera se puede observar que los resultados de caracterización de la zanahoria son similares a los valores reportados en la literatura, siendo el agua su principal componente y su bajo contenido de azúcares en comparación a la pulpa de mamey. Las variaciones en los contenidos obtenidos (Tabla 4) pueden atribuirse a los mismos factores que se mencionaron para el mamey (Adubofuor et al., 2010; Upadhyay et al., 2008).

Los compuestos fenólicos son una fuente importante de compuestos antioxidantes, que se encuentran en muchas frutas y verduras. La ingesta de compuestos fenólicos se ha asociado con beneficios en la salud de los consumidores. Por esta razón, se estudió el contenido de compuestos fenólicos en mamey y zanahoria. El contenido de compuestos fenólicos en orden descendente fue el siguiente: cáscara de mamey > pulpa de mamey > zanahoria. Torres-Rodríguez et al. (2011) y Yahia et al. (2011) encontraron contenidos de compuestos fenólicos de 23.40 ± 0.44 y 28.51 ± 0.61 mg GAE/100 g, respectivamente, para mamey. Las diferencias se atribuyen al estado de maduración y a la actividad de la polifenoloxidasas (PPO). Torres-Rodríguez et al. (2011) y Villarreal-Fuentes et al. (2015) reportaron que los compuestos fenólicos disminuyen con la maduración del fruto, de 256.30 a 23.40 y de 199.00 a 70.00 mg de GAE/100 g, respectivamente. Así mismo, Moo-Huchin et al. (2014) encontraron que el contenido de compuestos fenólicos en mamey maduro es de 14.21 ± 3.08 mg GAE/100 g. Por otro lado, se ha reportado que la zanahoria contiene bajos niveles de compuestos fenólicos (Shebawy et al., 2015), por ejemplo, Sharma et al. (2012) reportaron un contenido de 2.66 ± 0.17 mg GAE/100 g.

El color es reconocido como un factor importante para determinar la apariencia, el agrado y la aceptabilidad de los alimentos. Además, el color es indicativo de la presencia de pigmentos (antocianinas, betalaínas, carotenoides o clorofila) en frutas y verduras. Con base en ello, se determinaron los parámetros de color para la pulpa de mamey, la cáscara de mamey y la zanahoria (Tabla 5).

Tabla 5. Parámetros de color de mamey y zanahoria.

	L*	a*	b*	Saturación (C)	Tono (h°)
PM	45.78 ± 2.23	32.95 ± 0.95	36.43 ± 1.62	49.12 ± 1.83	47.85 ± 0.46
CM	47.85 ± 3.12	11.20 ± 1.96	23.93 ± 0.46	26.44 ± 2.87	65.00 ± 2.40
Z	43.72 ± 1.09	15.42 ± 0.78	32.71 ± 2.18	36.16 ± 2.29	64.75 ± 0.44

Los datos mostrados corresponden a la media ± desviación estándar (n=3). PM: pulpa de mamey. CM: cáscara de mamey. Z: zanahoria.

El fruto de mamey se caracteriza por una pulpa de color rojo-salmón (valores positivos para a* y b*). El color de la pulpa está directamente relacionado con el contenido de carotenoides en el mamey (sección 7.2.). De acuerdo con Villarreal-Fuentes et al. (2015), los frutos con valores de tono por debajo de 65 se asocian con tonalidades rojas y son más atractivos para los consumidores. En este sentido, Chacón-Ordóñez et al. (2017), Moo-Huchin et al. (2014) y Torres-Rodríguez et al. (2011) reportaron valores de 50.20 ± 2.10, 47.22 ± 0.07 y 46.30 ± 1.30, respectivamente, los cuales coinciden con los encontrados en este estudio. De manera similar, Chacón-Ordóñez et al. (2017) y Yahia et al. (2011) han reportado valores de saturación de 54.60 ± 3.00 y 51.38 ± 7.56, respectivamente, los cuales son similares a los encontrados en este estudio. Por otro lado, los valores de luminosidad obtenidos fueron menores a los reportados en la literatura; 59.60 ± 2.50 (Chacón-Ordóñez et al., 2017), 48.43 ± 0.08 (Moo-Huchin et al., 2014) y 65.86 ± 6.51 (Yahia et al., 2011). Los

bajos valores de luminosidad se asocian con el oscurecimiento de la pulpa como consecuencia de la degradación de los compuestos fenólicos por la acción de la enzima PPO (Tabla 4).

En lo que respecta a la zanahoria, similar a la pulpa de mamey, su color anaranjado está relacionado con la presencia y cantidad de carotenoides (sección 7.2.). En este sentido, Villarreal-Fuentes et al. (2015) reportaron valores de tono entre 63 y 79, los cuales son característicos del color naranja, que coinciden con los que se obtuvieron en este trabajo.

7.2. Carotenoides de mamey y zanahoria

Los carotenoides son compuestos naturales responsables de los colores rojo, naranja y amarillo, típicos del mamey y la zanahoria. La pulpa de mamey se asocia con tonalidades rojas y anaranjadas, mientras que la zanahoria comúnmente se asocia con el anaranjado. La Tabla 6 muestra el contenido de carotenoides en pulpa de mamey, cáscara de mamey y zanahoria. Se decidió investigar el contenido de carotenoides en la cáscara de mamey para determinar si ésta podría tener un valor nutricional no aprovechado, ya que en la industria de alimentos se descarta con frecuencia.

Tabla 6. Contenido de carotenoides en mamey y zanahoria.

	Pulpa de Mamey	Cáscara de Mamey	Zanahoria
Carotenoides (mg de β -caroteno/100 g)	4.42 \pm 0.12 ^b	0.85 \pm 0.20 ^c	5.47 \pm 0.04 ^a

Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar (n=3). Letras superíndice diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los extractos de carotenoides.

El contenido de carotenoides en orden descendente es el siguiente: zanahoria > pulpa de mamey > cáscara de mamey ($p < 0.05$). Algunos autores señalan que las diferencias entre los contenidos de carotenoides de diferentes productos están relacionadas tanto con la cantidad de carotenoides como con el tipo de carotenoides. Por ejemplo, Yahia et al. (2011) identificaron al β -caroteno como el principal carotenoide en el mamey. Sin embargo, Chacón-Ordóñez et al. (2017) y Murillo et al. (2013) señalan que otros carotenoides como la sapotexantina, la criptocapsina, la β -criptoxantina, la neoxantina y la luteína, también están presentes, pero en pequeñas cantidades. Por otro lado, Sharma et al. (2012) han identificado a el β -caroteno, el α -caroteno y la luteína como los carotenoides mayoritarios en la zanahoria. De acuerdo con Velázquez Paulin et al. (2015), el fruto de mamey contiene carotenoides tanto en la pulpa como en la cáscara. No obstante, se encontró que el contenido de carotenoides en la cáscara es despreciable al lado de la pulpa ($p < 0.05$).

Los resultados de carotenoides en la pulpa de mamey y zanahoria coinciden con los valores reportados por diversos autores. Para mamey se han reportado valores de 1.13 ± 0.01 (Yahia et al., 2011), 2.60 a 3.40 (Alia-Tejacal et al., 2007), y 3.79 ± 1.25 a 8.08 ± 2.31 (Chacón-Ordóñez et al., 2017) mg de β -caroteno/100 g. Para zanahoria se han encontrado valores de 5.00 (Grassmann et al., 2007), 6.00 ± 0.39 a 12.52 ± 0.49 (Nicolle et al., 2004), 2.00 a 10.00 (Mestry et al., 2011), 14.82 (Al-Dabbas et al., 2015) y 28.83 (Jourdan et al., 2015) mg de β -caroteno/100 g. Las diferencias en el contenido de carotenoides entre las muestras pueden asociarse con el genotipo, la época de cosecha, la etapa de maduración, el tamaño del fruto, las condiciones climáticas de crecimiento, las propiedades del suelo, la ubicación del cultivo, la manipulación postcosecha, las condiciones de almacenamiento, el método de extracción y el contenido de fibra (Cervantes-Paz et al., 2016; Villarreal-Fuentes

et al., 2015; Yahia et al., 2011). Es interesante que, aunque existen diferencias entre los contenidos de carotenoides en mamey y zanahoria, los resultados sugieren que el mamey es una fuente importante de carotenoides y vitamina A, como señalaron anteriormente Moo-Huchin et al. (2014) y Murillo et al. (2013).

Otras frutas, especialmente las tropicales, se asocian con fuentes importantes de carotenoides. Tal es el caso del mango, fruta tropical con características similares al mamey, es otra fuente alternativa de carotenoides, principalmente de β -caroteno y α -caroteno (Gul et al., 2015). En este sentido, Varakumar et al. (2011) encontraron que el contenido de carotenoides en siete variedades de mango (*Mangifera indica*) va desde 0.98 ± 0.15 hasta 5.81 ± 0.22 mg de β -caroteno/100 g, valores que son similares los encontrados en mamey. Por otro lado, el contenido de carotenoides en mamey fue superior al de otras frutas tropicales como sapodilla (*Manilkara sapota*; 1.69 ± 0.06 mg de β -caroteno/100 g), fruta de dragón (*Hylocereus undatus*; 2.93 ± 0.73 mg de β -caroteno/100 g), manzana estrella verde (*Chrysophyllum cainito*; 4.25 ± 1.45 mg de β -caroteno/100 g) y mamoncillo (*Melicoccus bijugatus*; 3.85 ± 0.08 mg de β -caroteno/100 g), aunque ligeramente menor al de zapote negro (*Diospyros digyna*; 7.99 ± 0.38 mg de β -caroteno/100 g) (Moo-Huchin et al., 2014).

7.3. Microencapsulación de carotenoides

7.3.1. Propiedades físicas de las microcápsulas de carotenoides

A partir de los extractos de carotenoides obtenidos del mamey y de la zanahoria se procedió a encapsularlos mediante el secado por aspersión con diferentes agentes encapsulantes. Los extractos de carotenoides (mamey y zanahoria) y las mezclas de los agentes encapsulantes (MD 10% – GA 5%; MD 10% – GA 10%; MD 10% – GM 5%; MD 10% – GM 10%) fueron empleadas para la microencapsulación de los carotenoides. Los rendimientos y temperaturas

de salida de los polvos de carotenoides obtenidos se observan en la Tabla 7. Se observaron ligeras diferencias en el rendimiento de los ocho sistemas evaluados; sin embargo, se lograron rendimientos más altos con la mezcla MD–GA (experimentos 1 a 4). Independientemente de la composición de la cápsula, se logró la encapsulación de los carotenoides. Las microcápsulas de mamey fueron de un color rosa salmón (Fig. 5a), mientras que las microcápsulas de zanahoria fueron de un color amarillo (Fig. 5b).

Tabla 7. Rendimientos y temperaturas de salida de las microcápsulas de carotenoides de mamey y zanahoria.

No.	Carotenoides	MD (w/v)	GA (w/v)	GM (w/v)	Rendimiento (%)	Temperatura de salida (°C)
1	Mamey	10%	5%	-	74	62
2	Mamey	10%	10%	-	85	63
3	Zanahoria	10%	5%	-	74	61
4	Zanahoria	10%	10%	-	75	60
5	Mamey	10%	-	5%	69	87
6	Mamey	10%	-	10%	76	87
7	Zanahoria	10%	-	5%	72	82
8	Zanahoria	10%	-	10%	77	81

MD: maltodextrina. GA: goma arábica. GM: goma de Mezquite.

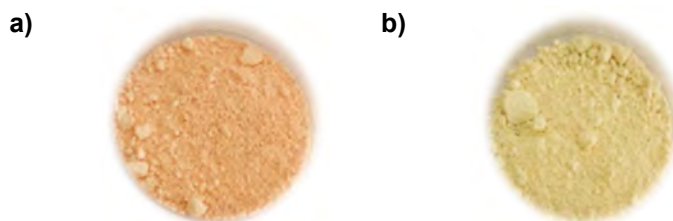


Fig. 5. Microcápsulas de carotenoides de mamey (a) y zanahoria (b) con maltodextrina y goma arábica como agentes encapsulantes.

La Tabla 8 muestra las características físicas de las microcápsulas de carotenoides de mamey y zanahoria. Tanto el tamaño de las partículas (2.86–3.31 μm) como el índice de Hausner (1.52–1.91) hacen referencia a polvos cohesivos de clase "C" (Geldart, 1973). Este tipo de polvo tiende a formar aglomerados de tamaño y forma aleatorios debido a las fuerzas interparticulares que afectan a sus propiedades de flujo (Turki y Fatah, 2008). Los tamaños de las partículas de las microcápsulas de MD–GA (2.86–3.25 μm) y MD–MG (2.94–3.31 μm) fueron más pequeños que los obtenidos por Faria et al. (2010) para β -caroteno en MD (7.1 μm) o GA (10.7 μm), y por Hojjati et al. (2014) para cantaxantina en polisacárido soluble de soya (7.94 μm), GA (9.08 μm) o MD (10.42 μm). Es probable que estas diferencias estén relacionadas con las temperaturas de secado. Ambos autores utilizaron una temperatura de 170 °C, mientras que en este trabajo se utilizó una temperatura de 160 °C. En todos los casos, las microcápsulas tienden a adherirse entre sí a través de enlaces de Van der Waals, ya que tienen una mayor superficie de contacto, lo que aumenta el tamaño de las partículas. Estas fuerzas de cohesión aumentan junto con la temperatura, lo que lleva a la formación de aglomerados (Esmailpour et al., 2015).

Los contenidos de humedad y actividad del agua de las microcápsulas de mamey (experimentos 1 y 5) y zanahoria (experimentos 3 y 7) fueron más altos ($p < 0.05$) en comparación con los de las microcápsulas obtenidas de los experimentos 2 y 6, y 4 y 8, respectivamente, ya que las primeras contienen menor cantidad de agente encapsulante y más agua. Además, las microcápsulas con GA 10% o GM 10% son más solubles en agua ($p < 0.05$) que sus contrapartes, ya que pueden atraer más agua debido a una mayor interacción entre las partículas y las moléculas de agua (Juscamaita Fabián et al., 2017). Además, De Marco et al. (2013) demostraron que la microencapsulación de bixina en MD–GA aumentaba

su solubilidad en agua en un 72%. El aumento de la solubilidad de los carotenoides dio lugar a polvos solubles en agua, que pueden utilizarse en sistemas acuosos, a diferencia de los carotenoides no encapsulados que son insolubles en agua.

Tabla 8. Características físicas de las microcápsulas de carotenoides de mamey y zanahoria.

No.	D ₅₀ (µm)	a _w	Humedad (%)	Solubilidad (%)	ρ de bulto (kg/m ³)	ρ compacta (kg/m ³)	IH
1	2.86	0.207 ± 0.004 ^a	2.92 ± 0.13 ^c	87.82 ± 0.93 ^b	233 ± 8 ^a	365 ± 28 ^a	1.57
2	3.09	0.150 ± 0.006 ^b	2.58 ± 0.34 ^c	91.09 ± 2.96 ^a	215 ± 14 ^a	347 ± 23 ^a	1.61
3	3.09	0.201 ± 0.018 ^a	2.75 ± 0.10 ^c	86.64 ± 0.32 ^b	188 ± 10 ^b	286 ± 1 ^b	1.52
4	3.25	0.134 ± 0.004 ^b	2.74 ± 0.63 ^c	90.46 ± 3.15 ^a	187 ± 16 ^b	342 ± 6 ^a	1.83
5	2.94	0.312 ± 0.008 ^a	6.98 ± 0.08 ^a	85.85 ± 1.21 ^b	229 ± 18 ^a	370 ± 19 ^a	1.61
6	3.15	0.211 ± 0.018 ^c	5.85 ± 0.17 ^c	94.45 ± 3.39 ^a	210 ± 11 ^a	350 ± 24 ^a	1.67
7	3.12	0.292 ± 0.009 ^a	6.53 ± 0.28 ^b	83.63 ± 2.33 ^b	191 ± 10 ^b	290 ± 9 ^b	1.52
8	3.31	0.237 ± 0.015 ^b	4.88 ± 0.07 ^d	92.07 ± 4.60 ^a	175 ± 7 ^b	334 ± 7 ^a	1.91

D₅₀: diámetro mediano de las partículas. a_w: actividad de agua. ρ: densidad. IH: coeficiente de Hausner. Letras superíndice diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05) entre las microcápsulas para cada parámetro.

Los cambios de color de los polvos de carotenoides durante el almacenamiento se muestran en la Fig. 6. Un valor de ΔE > 5 es indicativo de un cambio de color significativo, el cual es perceptible por el ojo humano. De esta forma los valores de ΔE cercanos o superiores a 5 corresponden a polvos almacenados a 25 °C con acceso a la luz de día, ya que estas condiciones aceleran las pérdidas de los carotenoides (sección 7.4.2.) y de color (p < 0.05). En particular, los polvos almacenados en refrigeración (4 °C) mostraron pequeños

cambios de color durante el almacenamiento. Además, los parámetros L* aumentaron y a* (microcápsulas de mamey) y b* (microcápsulas de zanahoria) disminuyeron debido a las pérdidas de carotenoides al aumentar la temperatura y el período de almacenamiento.

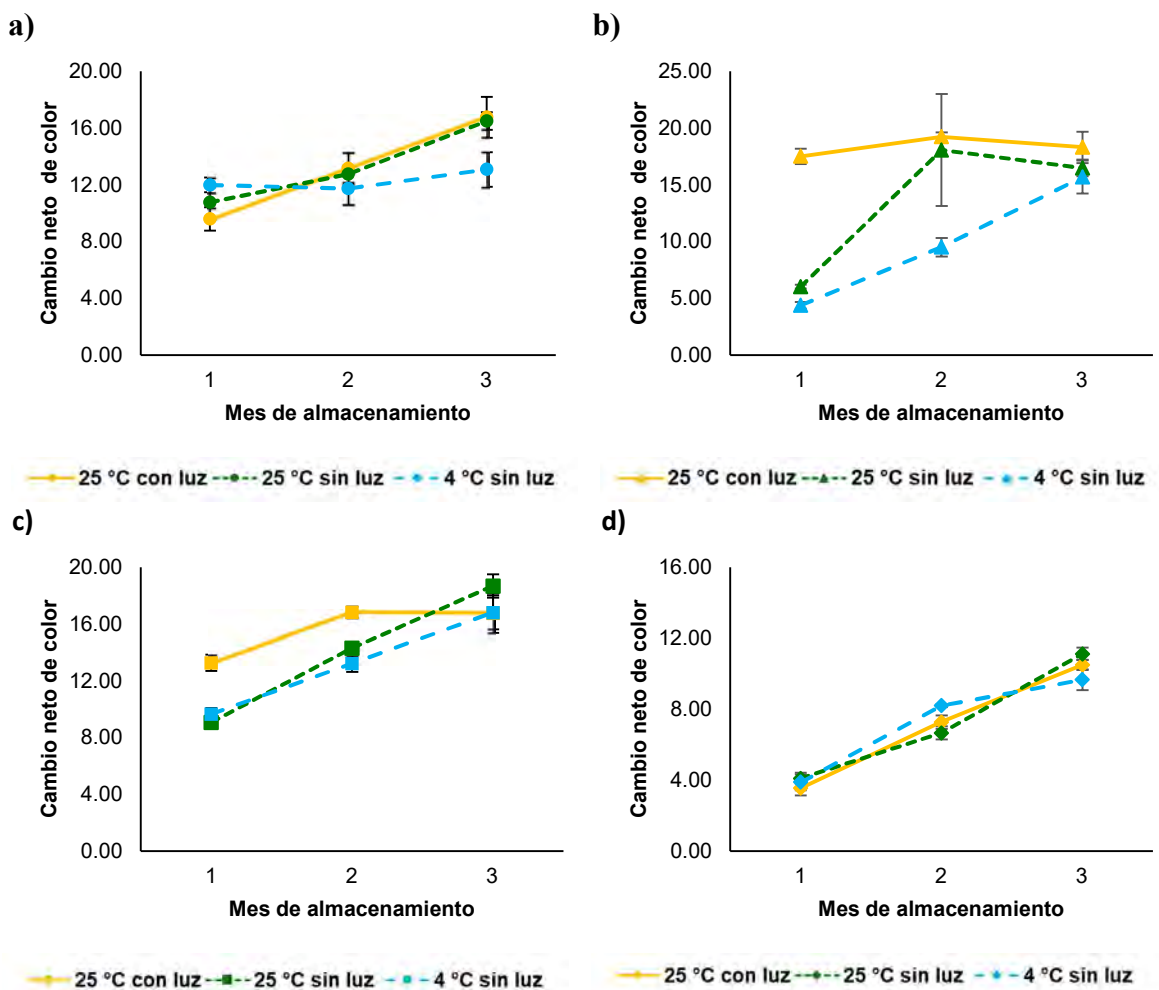


Fig. 6. Cambio neto de color (ΔE) de las microcápsulas de carotenoides durante el almacenamiento. a)Mamey con MD 10% – GA 5%. b)Mamey con MD 10% – GA 10%. c)Zanahoria con MD 10% – GA 5%. d)Zanahoria con MD 10% – GA 10%. Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar (n=3).

7.3.2. Contenido de carotenoides de las microcápsulas

Los resultados del análisis de carotenoides en las microcápsulas con MD–GA mostraron que los contenidos de carotenoides en los polvos de zanahoria fueron significativamente mayores ($p < 0.05$) que en los polvos de mamey. De acuerdo con Alia-Tejacal et al. (2007), el contenido de carotenoides en mamey es menor que en la zanahoria, lo cual coincide con los resultados previamente mencionados. Además, es evidente la diferencia en los contenidos de carotenoides de los polvos al observar los extractos de carotenoides de mamey (10.70 ± 0.20 mg β -caroteno/100 g) y zanahoria (13.83 ± 0.23 mg β -caroteno/100 g) empleados para la microencapsulación. A pesar de las diferencias de carotenoides entre el mamey y la zanahoria, Moo-Huchin et al. (2014) y Murillo et al. (2013) consideran al mamey como una fuente alternativa de carotenoides.

Los contenidos de carotenoides en las microcápsulas con MD–GA como agentes encapsulantes fue de 23.06 ± 0.26 (experimento 1), 36.69 ± 0.38 (experimento 2), 62.68 ± 0.25 (experimento 3) y 73.50 ± 0.24 (experimento 4) μg β caroteno/g polvo, mientras que en las microcápsulas con MD–GM fueron menores, 19.62 ± 0.52 (experimento 5), 16.06 ± 0.52 (experimento 6), 20.34 ± 0.48 (experimento 7) y 15.53 ± 0.40 (experimento 8) μg β -caroteno/g polvo, debido a las mayores temperaturas de salida (tabla 7). Estos resultados fueron superiores a los obtenidos por Pu et al. (2011) para las microcápsulas de astaxantina (13.76 $\mu\text{g/g}$ polvo) en lactosa-caseinato de sodio (1:1). La estabilidad y la retención de los carotenoides durante la microencapsulación dependen del tipo de material empleado para formar las partículas (Przybysz et al., 2018). Desobry et al. (1997) observaron que el proceso de secado por aspersión y encapsulación con MD degradaba el 11% de β -caroteno debido a la alta temperatura empleada durante el secado. Además, Wang et al. (2012) reportaron que

la mezcla de almidón y gelatina ayudaba a retener el 80% de luteína en las microcápsulas después del secado. Aunque en el proceso de secado por atomización se utilizan altas temperaturas, el proceso de microencapsulación ayuda a prevenir grandes pérdidas de carotenoides y por lo tanto sus actividades antioxidantes (Aissa et al., 2012; Thakur et al., 2017).

Las diferencias de temperaturas de salida entre los sistemas de GA y GM (tabla 7) son consistentes con varios estudios, los cuales indican que se alcanzan mayores temperaturas al secar las microcápsulas con GM en contraste a las microcápsulas con GA. Las temperaturas de salida reportadas para las microcápsulas con GM varían entre 80 °C (Carrillo-Navas et al., 2011; Jiménez-Aguilar et al., 2011), 95 °C (Jiménez-Aguilar et al., 2011) y 104 °C (Ochoa-Velasco et al., 2017), mientras que para las microcápsulas con GA las temperaturas se encuentran entre 70 °C (Bastías-Montes et al., 2019) y 80 °C (Bednarska y Janiszewska-Turak, 2020). Por esta razón, los estudios de almacenamiento y las actividades antioxidantes *in vivo* se realizaron sólo en microcápsulas con MD–GA.

Los contenidos de carotenoides de las microcápsulas de mamey y zanahoria, almacenadas durante tres meses bajo diferentes condiciones de temperatura y luz, se muestran en la Fig. 7. El contenido de carotenoides en los polvos de los extractos zanahoria fue mayor que en los polvos de los extractos de mamey, lo que concuerda con los contenidos de los extractos utilizados para el secado. Los resultados del almacenamiento mostraron que las concentraciones más altas de agentes encapsulantes (MD 10% – GA 10%) disminuyeron las pérdidas de carotenoides en comparación con las concentraciones más bajas (MD 10% – GA 5%), bajo las mismas condiciones de almacenamiento. Además, las pérdidas de carotenoides aumentaron al incrementarse la temperatura de almacenamiento. Hojjati et al.

(2014) y Lim y Roos (2016) reportaron que los niveles de carotenoides (cantaxantina y β -caroteno/luteína, respectivamente) en microcápsulas disminuyeron al aumentar la temperatura de almacenamiento. De manera similar, Pu et al. (2011) reportaron que el contenido de astaxantina en microcápsulas de astaxantina disminuyó en un 26.17% (5 °C) y 39.83% (25 °C) después de 26 días de almacenamiento. Además, Desobry et al. (1997) y Przybysz et al. (2018) encontraron que el contenido de β -caroteno disminuyó entre 54% (12 semanas a 20 °C) y 70% (15 semanas a 25 °C) tras el almacenamiento. En cambio, las temperaturas de almacenamiento más bajas reducen la tasa de degradación de los carotenoides. Al final del almacenamiento a 4 °C, se conservaron casi el 70% (experimentos 1 y 3) y el 80% (experimentos 2 y 4) de los carotenoides, lo que demuestra que el uso de MD y GA como agentes encapsulantes fue eficaz ($p < 0.05$) para proteger a los carotenoides de la degradación.

Los carotenoides son sensibles al calor, la oxidación y la luz debido a su estructura insaturada; por lo tanto, se degradan gradualmente durante el almacenamiento (Pu et al. 2011). Los resultados de la fig. 7 mostraron que la luz de día aceleró la degradación de los carotenoides almacenados a 25 °C en comparación con los carotenoides almacenados a la misma temperatura sin acceso a la luz. Estos resultados coinciden con las pérdidas de color y los grandes cambios de color ($\Delta E > 5$) que se muestran en la fig. 6. Hojjati et al. (2014) reportaron que los valores de retención de cantaxantina, en las microcápsulas con polisacárido soluble de soya, GA y MD almacenadas a 25 °C durante 16 semanas con acceso a la luz de día, eran menores (58%, 53% y 26%, respectivamente) en comparación con las microcápsulas sin acceso a la luz de día (75%, 72% y 57%, respectivamente).

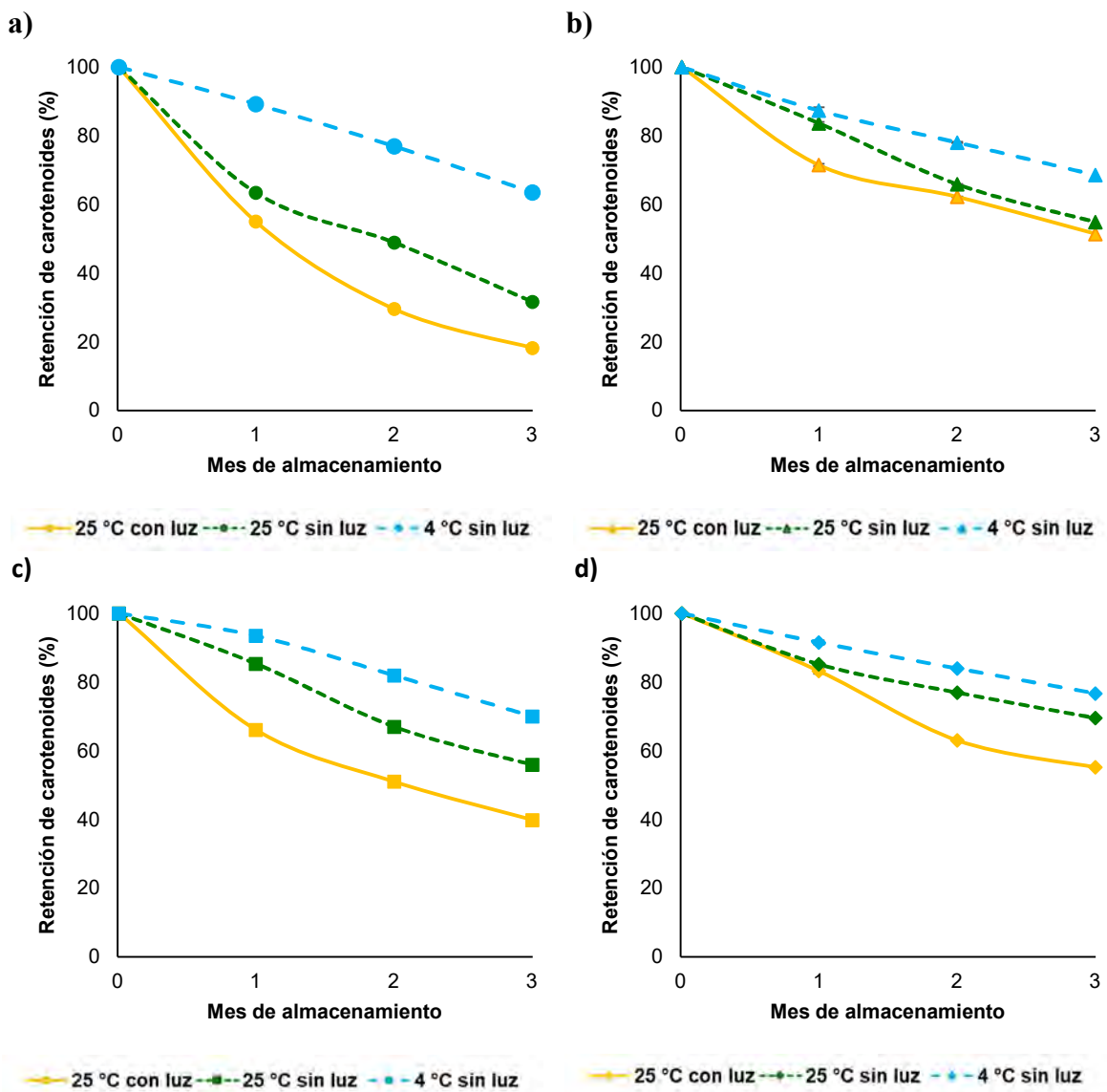


Fig. 7. Contenido de carotenoides de las microcápsulas de carotenoides durante el almacenamiento. a)Mamey con MD 10% – GA 5%. b)Mamey con MD 10% – GA 10%. c)Zanahoria con MD 10% – GA 5%. d)Zanahoria con MD 10% – GA 10%. Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar (n=3).

7.4. Capacidad antioxidante *in vitro*

7.4.1. Extractos de carotenoides

Los resultados de capacidad antioxidante *in vitro* de los extractos de carotenoides de pulpa de mamey (ECPM), cáscara de mamey (ECCM) y zanahoria (ECZ) fueron 87.75 ± 5.74 , 53.53 ± 11.61 y 90.24 ± 11.66 $\mu\text{mol TEAC}/100$ g, respectivamente. La mayor capacidad antioxidante corresponde al ECZ, seguido del ECPM, aunque no se encontraron diferencias significativas entre ellos ($p > 0.05$), mientras que el ECCM posee la menor capacidad antioxidante ($p < 0.05$). Se determinaron los porcentajes de inhibición del radical catiónico ABTS de los extractos de carotenoides, encontrándose valores entre 60 y 70 % para la pulpa de mamey y la zanahoria, mientras que para la cáscara de mamey la inhibición varió alrededor del 25%. Estas diferencias están asociadas con el tipo y contenido de carotenoides encontrados en cada muestra. Aunque el contenido de carotenoides en la zanahoria era mayor que en la pulpa de mamey, no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las capacidades antioxidantes de ambos extractos.

Moo-Huchin et al. (2014) encontraron que los carotenoides de mamey poseen una actividad antioxidante de 393.81 ± 0.36 $\mu\text{mol TEAC}/100$ g, la cual es considerablemente mayor que la obtenida en este estudio. A pesar de ello, esto se puede explicar con base en el contenido de carotenoides reportado por los investigadores, el cual es de 36.12 ± 1.24 mg β -caroteno/100 g, siendo casi diez veces mayor al que se obtuvo en este trabajo. Por otro lado, el porcentaje de inhibición del radical ABTS de β -caroteno (5 μM) reportado por You et al. (2015) fue del 40%. Durante este estudio, los porcentajes de inhibición de mamey y zanahoria fueron mayores al reportado por los investigadores, siendo probable que la combinación de

los carotenoides en ambos extractos, en lugar del β -caroteno solo, genere un efecto sinérgico que potencia la actividad antioxidante de los carotenoides.

7.4.2. Microcápsulas de carotenoides

Las actividades antioxidantes *in vitro* de las microcápsulas con MD–GA fueron 51.11 ± 4.30 (experimento 1), 49.08 ± 2.21 (experimento 2), 60.06 ± 1.52 (experimento 3) y 61.53 ± 2.74 (experimento 4) TEAC/g polvo, mientras que para las microcápsulas con MD–GM fueron 24.07 ± 3.42 (experimento 5), 22.08 ± 2.79 (experimento 6), 30.58 ± 2.48 (experimento 7) y 31.23 ± 2.96 (experimento 8) TEAC/g polvo. Las actividades antioxidantes de las microcápsulas de mamey (experimentos 1 y 2) y zanahoria (experimentos 3 y 4), almacenadas por tres meses bajo diferentes condiciones de temperatura y luz, se muestran en la Fig. 8. Las disminuciones de las actividades antioxidantes de los polvos están estrechamente relacionadas con las pérdidas de carotenoides debido a la oxidación de estos y a las pérdidas de los dobles enlaces (Jiménez-Aguilar et al., 2011), que son esenciales para mantener sus funciones antioxidantes. Sin embargo, las actividades antioxidantes de las microcápsulas del experimento 2 almacenadas a 4 °C y 25 °C sin acceso a la luz de día no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$). Esto es interesante ya que bajo las mismas condiciones de almacenamientos sí se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los contenidos de carotenoides de las microcápsulas. Este fenómeno probablemente se deba a la complejidad de compuestos presentes en el extracto de mamey y al efecto sinérgico que existe entre ellos, lo que permite compensar la pérdida de los carotenoides durante el almacenamiento y ayuda a mantener sus actividades antioxidantes. Esta tendencia no se observó para el resto de las microcápsulas (experimentos 1, 3 y 4).

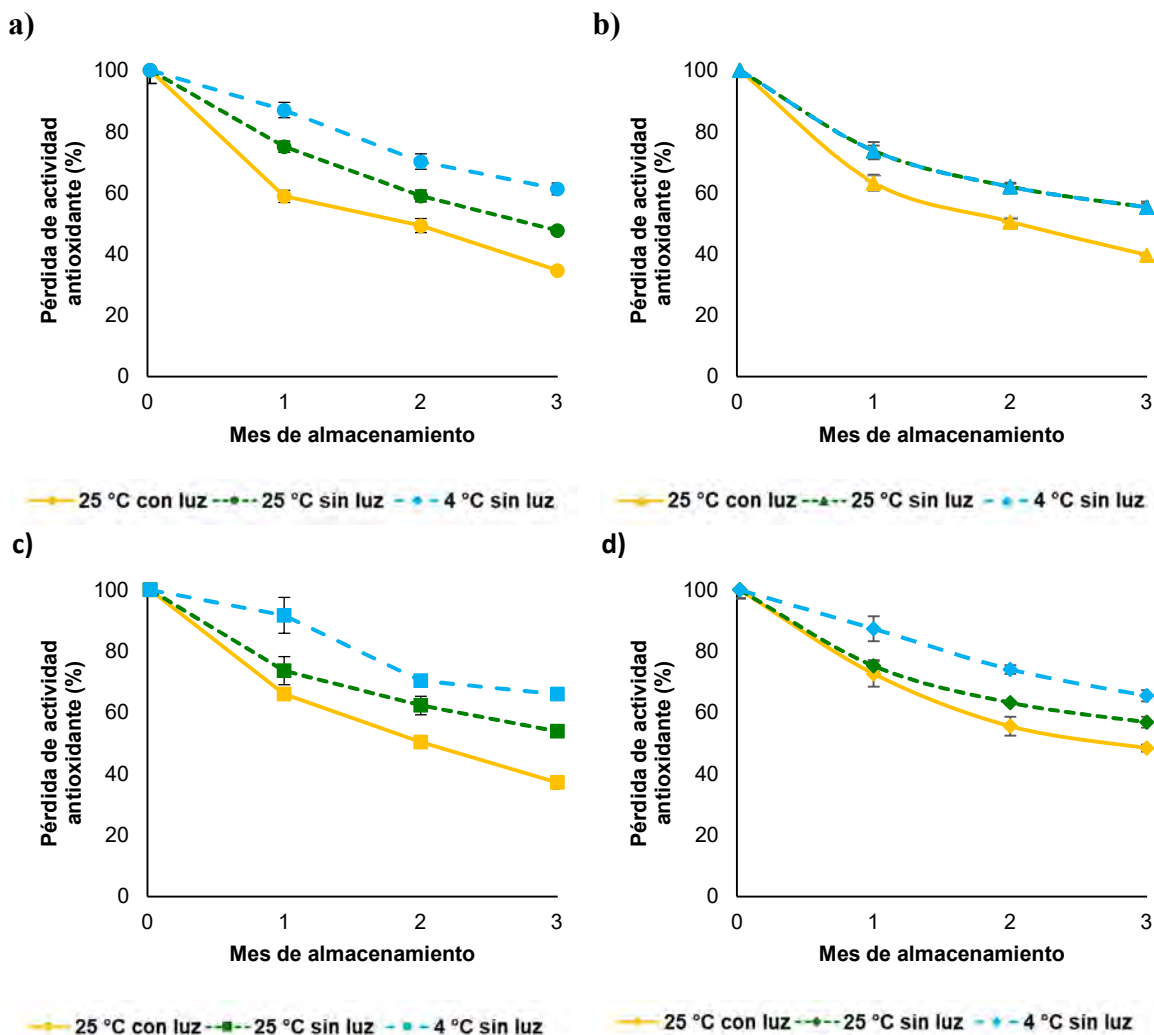


Fig. 8. Actividades antioxidantes, *in vitro*, de las microcápsulas las microcápsulas de carotenoides durante el almacenamiento. a) Mamey con MD 10% – GA 5%. b) Mamey con MD 10% – GA 10%. c) Zanahoria con MD 10% – GA 5%. d) Zanahoria con MD 10% – GA 10%. Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar (n=3).

7.5. Resistencia al estrés oxidativo

En *C. elegans* se puede inducir experimentalmente el estrés oxidativo al exponerse a ciertos compuestos pro-oxidantes, como H₂O₂, tert-butilhidroperóxido, arsenito, paraquat y juglona. Esto conduce a un aumento en los niveles de O₂ y ERO, acortando la vida y la supervivencia del nematodo (Gems y Doonan, 2009; Zhou et al., 2011). Además, *C. elegans* ha sido un

modelo adecuado para estudiar las respuestas de múltiples compuestos, naturales y sintéticos, y su influencia en el envejecimiento y regulación de genes antioxidantes (Arantes et al., 2018; Bouanfif et al., 2019). Esta característica permitió evaluar la capacidad antioxidante *in vivo* de los extractos de carotenoides de mamey y zanahoria, estabilizados y no estabilizados.

7.5.1. Trolox

Para comparar y evaluar las capacidades antioxidantes de los extractos de carotenoides de mamey y zanahoria, se incluyó como parte de la evaluación un compuesto antioxidante que sirve como control, trolox (un análogo de la vitamina E), en una concentración de 225 µg/mL. La concentración anterior se eligió para imitar el porcentaje de inhibición en los ensayos *in vitro* que ejercen los extractos de carotenoides. Los nematodos tratados con trolox (fig. 9) aumentaron significativamente su resistencia al estrés oxidativo en comparación con los nematodos no tratados ($p < 0.05$) en todas las generaciones evaluadas (F1, F2 y F3). Además, la resistencia aumentó en cada generación consecutiva ($F3 > F2 > F1$), porque el efecto antioxidante se potenció, lo que indica la presencia de un efecto hereditario (Tabla 9). Estos resultados concuerdan con los resultados de Yazaki et al. (2011), quienes sugieren que la resistencia y la supervivencia de los nematodos están influenciadas tanto por factores ambientales (nutrientes, oxígeno, sustancias tóxicas y patógenos) como por factores hereditarios (20% a 50%).

El aumento de la resistencia contra el estrés oxidativo en los nematodos tratados con trolox concuerda con los resultados de otros antioxidantes. En este sentido, Pietsch et al. (2009) demostraron que la quercetina (100–200 µM) aumentaba la vida media de tres generaciones diferentes de nematodos. Chen et al. (2013) observaron que el resveratrol (50 µM) aumentó la resistencia de los nematodos en un 27.6%. Además, los investigadores

encontraron que el extracto de antocianinas de maíz azul proporcionaba protección contra el estrés oxidativo al reducir la producción de ERO y aumentar la supervivencia de *C. elegans*. Por otra parte, Abbas y Wink (2009) demostraron que el galato de epicatequina (200 μM) disminuyó los niveles de H_2O_2 en los nematodos y aumentó su supervivencia y su resistencia al estrés oxidativo. De manera similar, González-Manzano et al. (2012) reportaron que la epicatequina (200 μM) aumentaba la resistencia de los nematodos contra el estrés térmico al disminuir los niveles de ERO y aumentar la actividad de CAT. Además, Kampkötter et al. (2007) concluyeron que el kaempferol prolonga la vida media de los nematodos al aumentar su resistencia al estrés térmico. El estrés térmico conduce a una acumulación de ERO, por lo que los antioxidantes reducen los niveles de ERO y protegen a los nematodos contra el estrés oxidativo. Además, Surco-Laos et al. (2011) descubrieron que la quercetina (200 μM) aumentaba la fertilidad, la supervivencia y la resistencia contra el estrés térmico y oxidativo. Por su parte, Lee et al. (2015) demostraron que la vixetina (50–100 μM) prolongaba la esperanza de vida, disminuía los niveles de ERO e inducía la termotolerancia, lo que se traduce en un incremento en la resistencia contra el estrés oxidativo.

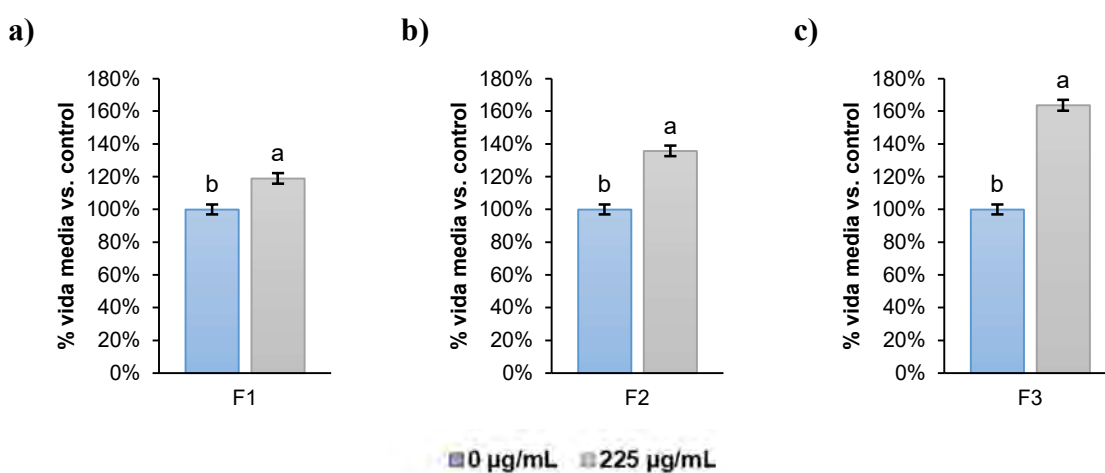


Fig. 9. Resistencia al estrés oxidativo de los nematodos tratados con trolox. Los resultados se expresaron como el porcentaje del tiempo de vida media de los nematodos tratados con

trolox (225 µg/mL) cuando son sometidos a condiciones de estrés oxidativo (juglona 400 µM) comparado con el control (0 µg/mL). a) Primera generación (F1). b) Segunda generación (F2). c) Tercera generación (F3). Los datos mostrados corresponden a la media ± desviación estándar de tres estudios independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los nematodos tratados y los no tratadas en cada generación.

Se ha demostrado que el trolox aumenta la esperanza de vida, la termotolerancia y la resistencia al estrés de los nematodos. Zhang et al. (2018) encontraron que el trolox era capaz de neutralizar los niveles de ERO y revertir el daño oxidativo inducido por la calicosina-7-O-β-D-glucósido, hallazgos que concuerdan con las observaciones de este trabajo. Por otro lado, la administración de vitamina E aumenta la esperanza de vida, la supervivencia y el crecimiento, protege contra el estrés oxidativo durante la gametogénesis, disminuye la toxicidad y el estrés oxidativo y revierte los daños causados por la radiación UV en *C. elegans* (Gems y Doonan, 2009; Kim et al., 2008; Liu et al., 2013; Zhou et al., 2011). En cambio, una concentración elevada de vitamina E (400 µg/mL) demostró tener un efecto tóxico, generando efectos adversos en la reproducción y retrasando el crecimiento de los nematodos (Harrington y Harley, 1988). Esto concuerda con los hallazgos de Li et al. (2013), quienes demostraron que las altas concentraciones de vitamina E poseían efectos neurotóxicos. Los altos niveles de vitamina E inducen un desarrollo neuronal anormal que interrumpe la termosensación y la termotaxis de los nematodos. De manera similar, los nematodos tratados con altas dosis de antioxidantes, como el EUK-8 y el EUK-134 (miméticos de SOD), poseen una vida media más corta debido al aumento en la producción de ERO (Back et al., 2012; Gems y Doonan, 2009). Además, Chen et al. (2013), Desjardins et al. (2017) y Yazaki et al. (2011) han sugerido que los altos niveles de antioxidantes exhiben un efecto pro-oxidante y

tóxico en el organismo, mientras que las concentraciones más bajas ejercen un efecto protector.

Tabla 9. Fracciones (en porcentaje) sobrevivientes de los nematodos tratados con antioxidantes tras la exposición a juglona (400 μ M) durante 4 y 8 horas.

Antioxidante	F1		F2		F3	
	4 h	8 h	4 h	8 h	4 h	8 h
Trolox						
0 μ g/mL	6%	0%	3%	0%	3%	0%
225 μ g/mL	16%	0%	46%	0%	60%	28%
β-caroteno						
0 μ g/mL	45%	0%	1%	1%	38%	0%
20 μ g/mL	35%	9%	8%	0%	42%	8%
30 μ g/mL	53%	8%	19%	0%	41%	10%
40 μ g/mL	56%	11%	19%	0%	52%	15%
Extracto de carotenoides de pulpa de mamey						
0 μ g/mL	55%	0%	53%	3%	31%	5%
20 μ g/mL	63%	0%	62%	3%	55%	23%
30 μ g/mL	66%	0%	59%	7%	58%	22%
40 μ g/mL	74%	3%	53%	10%	62%	22%
Extracto de carotenoides de cáscara de mamey						
0 μ g/mL	10%	0%	21%	6%	29%	0%
20 μ g/mL	20%	0%	36%	5%	30%	14%
30 μ g/mL	34%	0%	29%	3%	30%	5%
40 μ g/mL	52%	0%	22%	3%	23%	3%
Extracto de carotenoides de zanahoria						
0 μ g/mL	16%	0%	13%	0%	13%	0%
20 μ g/mL	36%	6%	27%	7%	42%	9%
30 μ g/mL	37%	3%	24%	3%	36%	12%
40 μ g/mL	46%	5%	46%	8%	40%	16%

Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar de tres análisis independientes. F1: primera generación. F2: segunda generación. F3: tercera generación.

7.5.2. Extractos de carotenoides

Los nematodos tratados con β -caroteno puro (Fig. 10) mostraron un aumento significativo en su resistencia contra el estrés oxidativo en comparación con los nematodos no tratados ($p < 0.05$), de manera similar a los nematodos tratados con trolox. Además, las concentraciones más altas de β -caroteno puro fueron más eficaces que las concentraciones más bajas. Los nematodos sobrevivientes se muestran en la Tabla 9. El número de nematodos sobrevivientes aumentaron de la primera generación a la tercera generación, lo que indica que la resistencia de los nematodos al estrés oxidativo tiene un carácter hereditario causado por el β -caroteno. No obstante, en la segunda generación no se encontraron nematodos sobrevivientes, lo cual puede estar relacionado con un probable efecto tóxico del carotenoide.

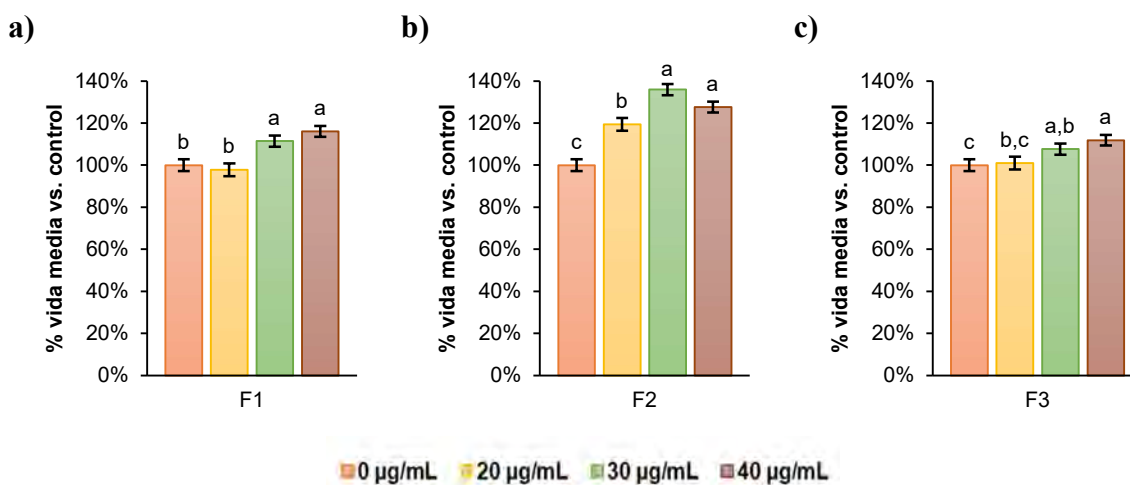


Fig. 10. Resistencia al estrés oxidativo de los nematodos tratados con β -caroteno. Los resultados se expresaron como el porcentaje del tiempo de vida media de los nematodos tratados con β -caroteno (20, 30 y 40 $\mu\text{g/mL}$) cuando son sometidos a condiciones de estrés oxidativo (juglona 400 μM) comparado con el control (0 $\mu\text{g/mL}$). a) Primera generación (F1). b) Segunda generación (F2). c) Tercera generación (F3). Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar de tres estudios independientes. Letras diferentes indican

diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los nematodos tratados y los no tratados en cada generación.

Los nematodos tratados con el ECCM (Fig. 11) mostraron respuestas diferentes a las exhibidas por otros antioxidantes. En los ensayos *in vitro*, el ECCM demostró ser ineficaz para neutralizar la formación de radicales. Sin embargo, los ensayos de estrés oxidativo revelaron un efecto protector, que fue muy similar al de otros carotenoides, al menos en la primera generación de nematodos. La resistencia de los nematodos F1 aumentó a medida que se incrementaba la concentración del extracto de carotenoides ($20 \mu\text{g/mL} < 30 \mu\text{g/mL} < 40 \mu\text{g/mL}$) (Fig. 11a). Sin embargo, la resistencia en los nematodos F2 disminuyó a medida que se aumentó la concentración ($p < 0.05$) (fig. 11b). Además, los nematodos F3 tratados con el ECCM fueron menos resistentes al estrés oxidativo ($p < 0.05$) a comparación de los nematodos no tratados (Fig. 11c); sin embargo, se observaron algunos sobrevivientes (Tabla 9).

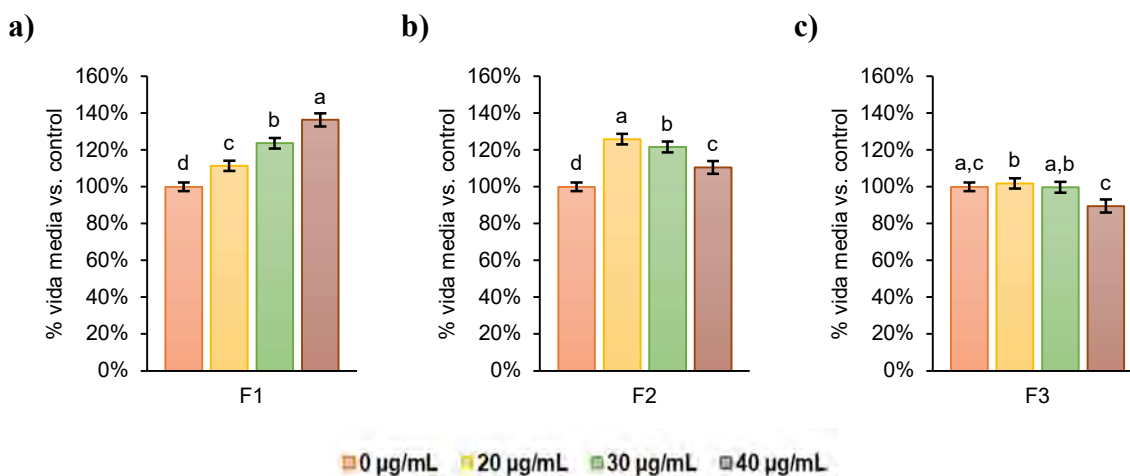


Fig. 12. Resistencia al estrés oxidativo de los nematodos tratados con el extracto de carotenoides de la cáscara de mamey (ECCM). Los resultados se expresaron como el porcentaje del tiempo de vida media de los nematodos tratados con el ECCM (20, 30 y 40

$\mu\text{g/mL}$) cuando son sometidos a condiciones de estrés oxidativo (juglona 400 μM) comparado con el control (0 $\mu\text{g/mL}$). a) Primera generación (F1). b) Segunda generación (F2). c) Tercera generación (F3). Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar de tres estudios independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los nematodos tratados y los no tratadas en cada generación.

En los nematodos tratados con β -caroteno y el ECCM, la exposición continua a los carotenoides demostró ser dañina para los nematodos, incluso su resistencia y el número de sobrevivientes disminuyeron. De acuerdo con You et al. (2015), esto puede atribuirse a la degradación del β -caroteno en productos que son dañinos para el nematodo y acortan su tiempo de vida media, como el 5,6-epoxi- β -caroteno, 5,8-epoxi- β -caroteno, 5,6,5'6'-diepoxi- β -caroteno, 5,6-epoxi- β -ionona, β -ciclocitral, β -ionona, entre otros (Ribeiro et al., 2018). Además, previamente se mencionó que los altos niveles de antioxidantes ejercen efectos prooxidantes en comparación con los efectos protectores a concentraciones más bajas (sección 7.5.1.), lo cual coincide con lo reportado por Chen et al. (2013), Desjardins et al. (2017), Duangjan et al. (2019), Jara-Palacios et al. (2013) y Yazaki et al. (2011). Curiosamente, aunque las concentraciones más altas del ECCM demostraron ser tóxicas, la supervivencia fue superior a la de los nematodos del grupo control. Es probable que esto se debiera a la activación de los mecanismos de defensas antioxidantes y a la respuesta frente al estrés, un fenómeno denominado hormesis. En la hormesis, la exposición continua a condiciones oxidativas leves, como las bajas concentraciones de compuestos prooxidantes y/o antioxidantes, las temperaturas entre 30 y 35 °C y la restricción dietética, generan una respuesta adaptativa que permite aumentar la vida media y la supervivencia de los nematodos en condiciones adversas (Back et al., 2012; Zhou et al., 2011).

Los nematodos tratados con el ECPM (Fig. 12) también aumentaron significativamente su resistencia contra el estrés oxidativo ($p < 0.05$) y el número de sobrevivientes (Tabla 9). Los nematodos sobrevivientes aumentaron con el paso de las generaciones ($F3 > F2 > F1$). Se observó el mismo efecto hereditario que se encontró en los nematodos tratados con el trolox y con el β -caroteno. Además, la concentración más baja del extracto evaluada ($20 \mu\text{g/mL}$) fue igual de efectiva que las concentraciones más elevadas (30 o $40 \mu\text{g/mL}$).

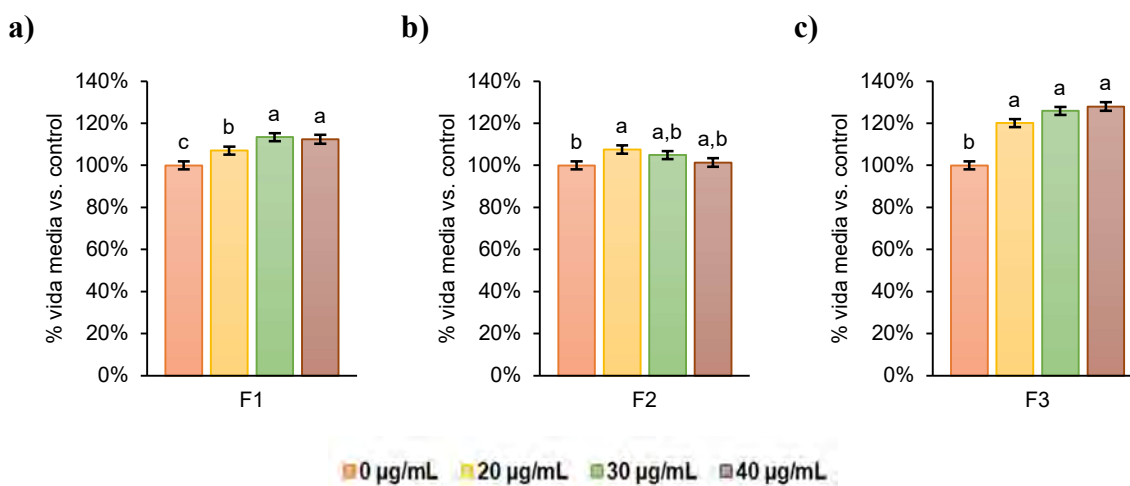


Fig. 12. Resistencia al estrés oxidativo de los nematodos tratados con el extracto de carotenoides de la pulpa de mamey (ECPM). Los resultados se expresaron como el porcentaje del tiempo de vida media de los nematodos tratados con el ECPM (20 , 30 y $40 \mu\text{g/mL}$) cuando son sometidos a condiciones de estrés oxidativo (juglona $400 \mu\text{M}$) comparado con el control ($0 \mu\text{g/mL}$). a) Primera generación (F1). b) Segunda generación (F2). c) Tercera generación (F3). Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar de tres estudios independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los nematodos tratados y los no tratadas en cada generación.

Por otro lado, los nematodos tratados con el ECZ (Fig. 13) mostraron un aumento significativo en su resistencia al estrés oxidativo en comparación con los nematodos no tratados ($p < 0.05$). Además, la resistencia fue mayor al incrementar la concentración del extracto y los nematodos sobrevivientes aumentaron con cada generación ($F3 > F2 > F1$) (Tabla 9). Nuevamente se observó que la resistencia se potenció a través de un efecto hereditario causado por los carotenoides. Sin embargo, a diferencia del ECPM, la mayor concentración evaluada ($40 \mu\text{g/mL}$) fue más efectiva que el resto de las concentraciones (20 y $30 \mu\text{g/mL}$) con respecto al número de nematodos sobrevivientes.

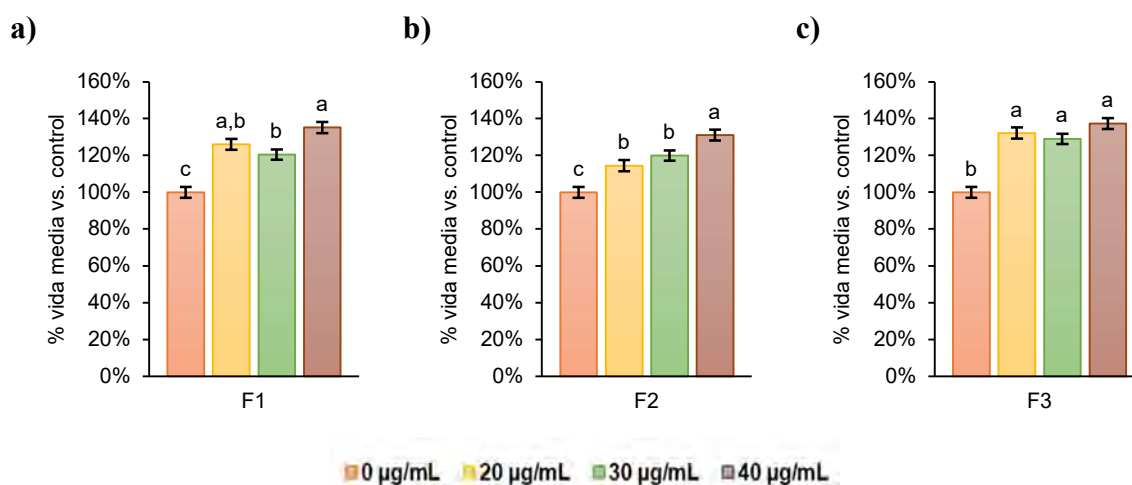


Fig. 13. Resistencia al estrés oxidativo de los nematodos tratados con el extracto de carotenoides de zanahoria (ECZ). Los resultados se expresaron como el porcentaje del tiempo de vida media de los nematodos tratados con el ECZ (20 , 30 y $40 \mu\text{g/mL}$) cuando son sometidos a condiciones de estrés oxidativo (juglona $400 \mu\text{M}$) comparado con el control ($0 \mu\text{g/mL}$). a) Primera generación (F1). b) Segunda generación (F2). c) Tercera generación (F3). Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar de tres estudios independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los nematodos tratados y los no tratadas en cada generación.

Tanto el ECPM como el ECZ mostraron una mayor resistencia contra el estrés oxidativo, la cual fue superior a la resistencia de los nematodos tratados con β -caroteno (Fig. 14), pero inferior cuando se comparó con los nematodos expuestos al trolox. No obstante, estos resultados revelaron el potencial antioxidante de los carotenoides de mamey y zanahoria en los organismos vivos a través de su capacidad para eliminar las ERO e incluso activar las defensas antioxidantes, lo que concuerda con los efectos de otros carotenoides encontrados por Pons et al. (2014) y Yazaki et al. (2011). Por otro lado, algunos investigadores señalan que la resistencia contra el estrés oxidativo aumenta cuando se utilizan fuentes naturales de antioxidantes, como el jugo de naranja (Pons et al., 2014), extractos de polifenoles de espinacas (Fan et al., 2011) o extractos fenólicos de flores de cempasúchil (*Tagetes erecta*) (Moliner et al., 2018) en lugar de los carotenoides puros. Esto puede atribuirse a la compleja mezcla de compuestos en los extractos o en la matriz alimentaria, ya sea potenciado su actividad a través de interacciones sinérgicas o mejorando la biodisponibilidad de los compuestos (Pons et al., 2014; Sangha et al., 2013).

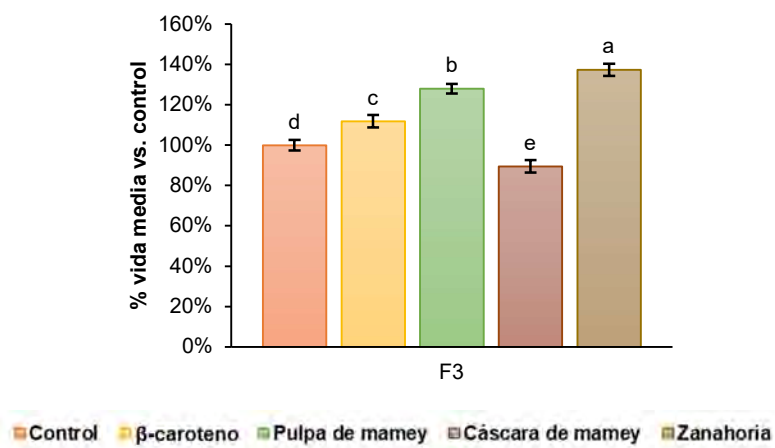


Fig. 14. Comparación de la resistencia al estrés oxidativo de los nematodos de la tercera generación (F3) tratados con los carotenoides (40 μ g/mL). Los resultados se expresaron como

el porcentaje del tiempo de vida media de los nematodos tratados con los antioxidantes cuando son sometidos a condiciones de estrés oxidativo (juglona 400 μM) comparado con el control (0 $\mu\text{g/mL}$). Los datos mostrados corresponden a la media \pm desviación estándar de tres estudios independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

El aumento de la resistencia al estrés oxidativo de los nematodos tratados con carotenoides concuerda con los hallazgos reportados por otros investigadores. Por ejemplo, Pons et al. (2014) demostraron que la exposición continua a β -caroteno (3–30 $\mu\text{g/mL}$) durante siete días aumentó la resistencia de los nematodos en más del 50%. De manera similar, el tratamiento con astaxantina aumentó la esperanza de vida y la resistencia de los nematodos (Liu et al., 2016; Yazaki et al., 2011). You et al. (2015) reportaron que los carotenoides sintéticos BAS y BTS (0.1 mM) aumentaron el tamaño, la fertilidad y la longevidad de los nematodos. Lashmanova et al. (2015) encontraron que la fucoxantina (0.3–10 μM) también aumentaba la longevidad y la resistencia al estrés oxidativo de los nematodos. Sin embargo, el β -caroteno no tuvo efecto en la resistencia de los nematodos, lo que puede atribuirse a una tasa de absorción deficiente del carotenoide.

En los últimos años, varios estudios en los que se empleó el *C. elegans* han demostrado que el efecto protector de los antioxidantes (incluidos los carotenoides) no se debe exclusivamente a su capacidad para eliminar los radicales libres y contrarrestar la producción de ERO. La resistencia al estrés oxidativo también implica la regulación de las defensas antioxidantes, la expresión de los genes de las enzimas SOD, CAT y GPx, la modulación de los factores de transcripción, las vías de señalización y la reducción en la producción de ERO mitocondriales, los cuales impactan en el desarrollo, el crecimiento, el

metabolismo y la supervivencia de *C. elegans* (González-Manzano et al., 2012; Kim et al., 2008; Pietsch et al., 2009; Liu et al., 2016; Yazaki et al., 2011; You et al., 2015; Zhang et al., 2018).

C. elegans posee mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo similares a los de los humanos, como las enzimas antioxidantes, el sistema de glutatión y las vías de señalización de respuesta al estrés (Camargo et al., 2016). Un regulador clave de la respuesta antioxidante es DAF-16, un factor de transcripción homólogo a la familia de proteínas FOXO de los mamíferos, que está regulado por la vía de señalización insulina/IGF-1 (IIS) (Arantes et al., 2018; Gillet et al., 2017). La vía IIS es una vía altamente conservada en los organismos que regula el envejecimiento, la longevidad y la respuesta al estrés en mamíferos y *C. elegans* (Fig. 15) (Back et al., 2012; Ye et al., 2020). En *C. elegans*, la vía IIS comprende un receptor de insulina/IGF-1 (DAF-2), que regula la actividad de una cascada de fosforilación que modula a DAF-16 (Onken & Driscoll, 2010; Yue et al., 2019). En condiciones normales, la vía IIS regula la actividad de DAF-16 impidiendo su translocación al núcleo (Camargo et al., 2016). Condiciones ambientales como el estrés, el calor, la falta de nutrientes, los metales pesados y la irradiación ultravioleta estimulan la translocación de DAF-16 al núcleo, activando la expresión de genes implicados en la resistencia al estrés oxidativo y la longevidad (Back et al., 2012). DAF-16/FOXO es responsable de la activación de genes implicados en los mecanismos de defensa antioxidante, como superóxido dismutasa-3 (*sod-3*), catalasa-1 (*ctl-1*) y la proteína de choque térmico 16.2 (*hsp-16.2*) (Duangjan et al., 2019; Gillet et al., 2017). Muchos compuestos bioactivos en los alimentos pueden extender la vida media de los nematodos a través de la vía de DAF-16. Por ejemplo, el extracto de *Euterpe*

oleracea aumentó la expresión de CTL-1 vía DAF-16, prolongando así la supervivencia y aumentando la resistencia al estrés oxidativo de *C. elegans* (Bonomo et al., 2014).

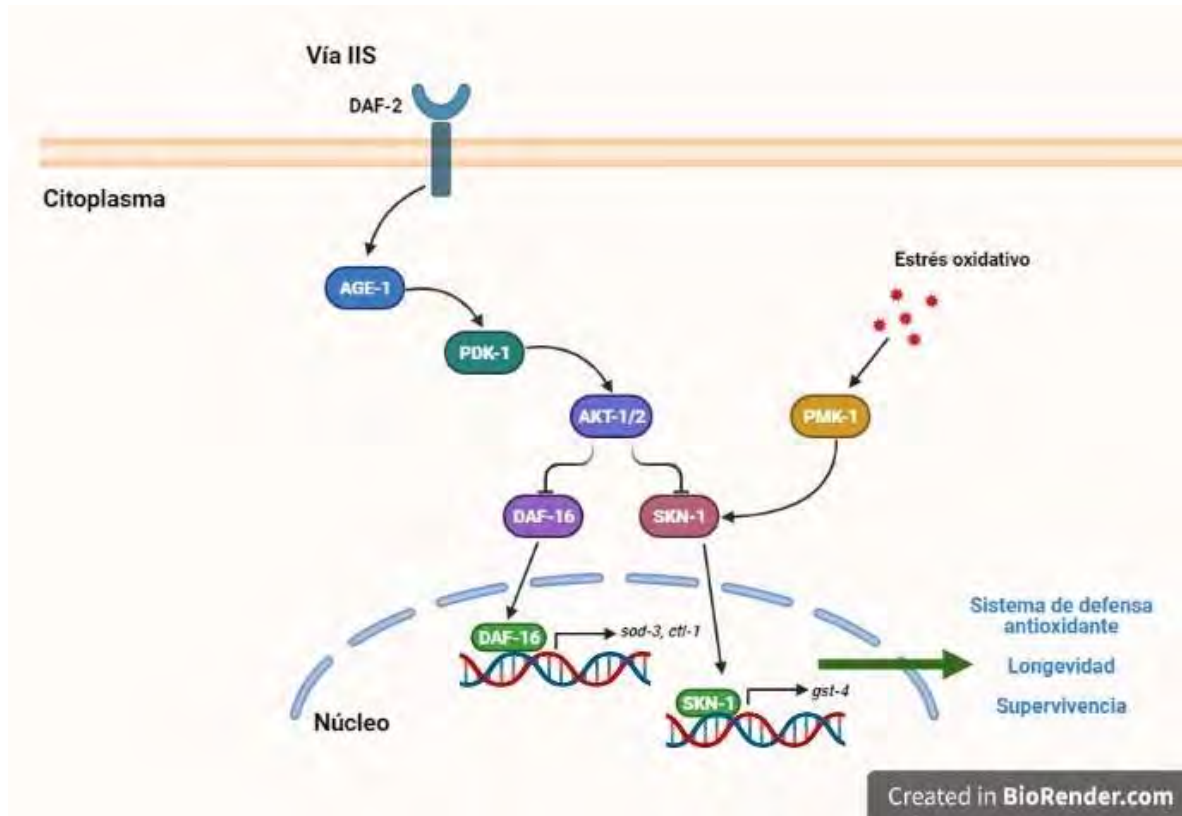


Fig. 15. Vía de señalización insulina/factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) (IIS) de la respuesta al estrés en *Caenorhabditis elegans*. DAF-2: ortólogo del receptor de insulina/IGF-1. AGE-1: fosfatidil inositol 3-quinasa. PDK-1: fosfoinositol dependiente de 3-quinasa. AKT: serina-treonina quinasa. DAF-16: ortólogo de FOXO. SKN-1: ortólogo de Nrf-2 (factor nuclear eritroide 2. PMK-1: ortólogo de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) p38.

Otra vía genética clave que modula la respuesta al estrés oxidativo y la longevidad en *C. elegans* es SKN-1 (Yue et al., 2019). SKN-1 es el ortólogo mamífero del factor nuclear eritroide 2 (Nrf2), que regula los genes de desintoxicación de fase II y modula la

supervivencia (Dehghan et al., 2017; Ye et al., 2020). Nrf2/SKN-1 es un mecanismo de defensa contra las enfermedades relacionadas con el envejecimiento, como las neurodegenerativas, la inflamación crónica y el cáncer (Onken y Driscoll, 2010). La actividad de SKN-1 es inhibida por las quinasas de la vía IIS en condiciones normales (González-Manzano et al., 2012; Yue et al., 2019). Sin embargo, en condiciones de estrés oxidativo, SKN-1 es fosforilada y activada por la PMK-1 (Wu et al., 2016). La fosforilación de SKN-1 promueve su translocación al núcleo, donde se une a elementos de respuesta antioxidante en las regiones promotoras de diversos genes antioxidantes, y promueve la expresión de enzimas de desintoxicación de fase II como la glutatión S-transferasa 4 (GST-4) (Dehghan et al., 2017; Duangjan et al., 2019; Espinosa-Diez et al., 2015). Por ejemplo, Yue et al. (2019) demostraron que el ácido *p*-cumérico era capaz de reducir el daño oxidativo y prolongar la vida de *C. elegans* a través de SKN-1. La hidralazina también prolongó la vida media de *C. elegans*, aumentó la locomoción, redujo la concentración de superóxido y aumentó la expresión de GST-4 a través de la vía SKN-1 (Dehghan et al., 2017).

Los carotenoides han demostrado la capacidad para eliminar los radicales libres y contrarrestar la producción de ROS. Sin embargo, los carotenoides también pueden regular y activar los mecanismos de defensa antioxidante para proteger contra el daño oxidativo (Yazaki et al., 2011). En este sentido, el extracto de *Anacardium occidentale* que contiene β -caroteno, luteína y polifenoles, redujo los niveles intracelulares de ROS, promovió la expresión de SOD-3 y aumentó la tasa de supervivencia de *C. elegans* (Duangjan et al., 2019). Liu et al. (2016) y Yazaki et al. (2011) también encontraron que la astaxantina aumentó la translocación nuclear de DAF-16 a través de la vía IIS, disminuyendo el daño oxidativo y prolongando la vida de *C. elegans*. Por otro lado, el licopeno y la adonixantina

redujeron la producción de ROS y protegieron contra la muerte celular inducida por la exposición a la luz en células 661 W a través de Nrf2 (Inoue et al., 2017). Además, el jugo pasteurizado de naranja roja (*Citrus sinensis* L. Osbeck), rico en violaxantina, zeaxantina, licopeno y β -caroteno, redujo los niveles de ROS, aumentó la tasa de supervivencia y promovió la resistencia al estrés oxidativo en *C. elegans* a través de SKN-1 y DAF-16 mediante el aumento en la expresión de los genes *gst-4* y *sod-3*, respectivamente (de Oliveira Caland et al., 2019).

7.5.3. Microcápsulas de carotenoides

En los estudios anteriores (sección 7.5.2.) se demostró la capacidad de los ECPM y ECZ para aumentar la resistencia de los nematodos al estrés oxidativo en generaciones continuas. Considerando estos resultados y aprovechando la encapsulación de los carotenoides de mamey y zanahoria, se decidió estudiar el efecto de los carotenoides microencapsulados en la producción de ERO en *C. elegans*. Para ello se empleó la metodología de Ren et al. (2017) para la cuantificación de ERO intracelulares con DCFH2-DA. El compuesto DCFH2-DA se utiliza comúnmente para detectar la fluorescencia vinculada a la producción de ERO en ensayos *in vitro* e *in vivo*. El DCFH2-DA puede penetrar fácilmente en la membrana celular y es desacetilado enzimáticamente por las esterasas. Esta reacción convierte el DCFH2-DA en el compuesto no fluorescente DCFH2, que luego se oxida rápidamente a DCF, un compuesto altamente fluorescente, en presencia de ERO (Ren et al., 2017; Yoon et al., 2018). Dado que *C. elegans* puede someterse a condiciones experimentales de estrés oxidativo al exponerse a determinados compuestos prooxidantes (Zhou et al., 2011), esta característica permitió investigar la capacidad antioxidante *in vivo* de los carotenoides. En la Fig. 16 se muestra la acumulación de ERO en los nematodos tratados con las microcápsulas de

carotenoides, expresada como el porcentaje de fluorescencia relativo al del control (nematodos no expuestos a las microcápsulas).

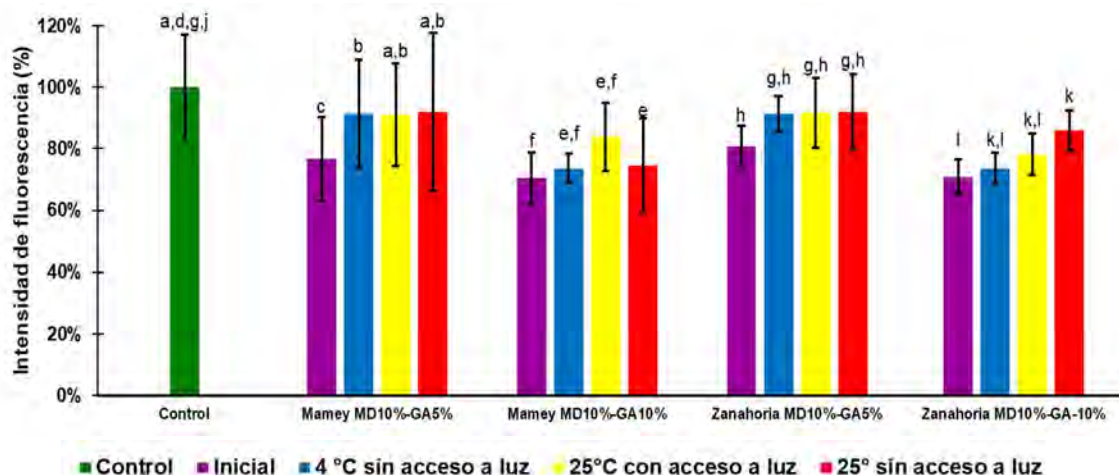


Fig. 16. Actividad antioxidante *in vivo* de las microcápsulas de carotenoides almacenadas por 3 meses a diferentes condiciones de temperatura (4 y 25 °C) y luz (con y sin acceso a luz de día). Los resultados se expresaron como el porcentaje de fluorescencia relativo al del control, es decir, los nematodos no tratados con las microcápsulas de carotenoides. Las letras indican las diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los nematodos tratados y los no tratados con las microcápsulas de carotenoides para cada tratamiento.

Los nematodos tratados con las microcápsulas de carotenoides frescas disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) sus niveles de ERO intracelulares después de la exposición a la juglona. La acumulación de ERO en los nematodos tratados con las microcápsulas no. 1 ($76.63 \pm 15.79\%$) y no. 3 ($80.78 \pm 8.12\%$) (MD 10% – GA 5%) fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que en los nematodos tratados con las microcápsulas no. 2 ($70.31 \pm 12.06\%$) y no. 4 ($70.71 \pm 8.06\%$) (MD 10% – GA 10%); no obstante, en todos los casos las ERO disminuyeron debido a la presencia de los carotenoides, en contraste con los nematodos no

tratados ($p < 0.05$). Además, estos resultados fueron consistentes con los resultados de las actividades antioxidantes *in vitro*, mostrando que una mayor concentración de agentes encapsulantes permite una mejor protección de los carotenoides y de sus actividades antioxidantes atribuibles a menores temperaturas de salida durante el secado por aspersión.

Después de tres meses de almacenamiento, las actividades antioxidantes de las microcápsulas no. 1 y no. 3 disminuyeron significativamente en comparación con sus actividades iniciales ($p < 0.05$), y no se observaron diferencias significativas entre ellas y los nematodos de control ($p > 0.05$) debido a una mayor acumulación de ERO en los nematodos, un fenómeno causado por la pérdida de carotenoides durante el almacenamiento (Fig. 7). Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con las microcápsulas no. 2 y no. 4, independientemente de las condiciones de almacenamiento (25 °C con acceso a la luz de día, 25 °C sin acceso a la luz de día y 4 °C sin acceso a la luz de día) o de sus actividades antioxidantes al comienzo del almacenamiento ($p > 0.05$), a pesar de las pérdidas de carotenoides (Fig. 7) y actividades antioxidantes (Fig. 8). Se encontraron diferencias significativas entre los nematodos del grupo control y los tratados con las microcápsulas no. 2 y no. 4 ($p < 0.05$), lo que implica una reducción en la acumulación de ERO. Además, estos resultados sugieren que los carotenoides del mamey poseen una actividad antioxidante *in vivo* similar a la de los carotenoides de la zanahoria.

Las microcápsulas de carotenoides de mamey y zanahoria pudieron neutralizar la producción y acumulación de ERO hasta en un 30%, especialmente en los nematodos tratados con las microcápsulas no. 2 y no. 4 (MD 10% – GA 10%), en comparación con los nematodos no tratados. Estos resultados revelan el potencial antioxidante de los carotenoides del mamey y la zanahoria en los organismos vivos, gracias a su capacidad para neutralizar el

oxígeno singlete y desactivar los radicales libres, disminuyendo así la producción de ERO mitocondriales, y posiblemente activando las defensas antioxidantes como SOD, CAT y GPx (Liu et al., 2016; Pons et al., 2014; Saini et al., 2015; Yazaki et al., 2011; You et al., 2015).

Se han investigado las actividades antioxidantes *in vivo* de diferentes antioxidantes, que son responsables de la disminución de la producción de ERO inducida por el estrés oxidativo. Chen et al. (2013) descubrieron que el resveratrol (200 μM) disminuyó la producción de ERO en un 40%, lo que indica tanto la actividad antioxidante del resveratrol como la capacidad del nematodo para incorporar el antioxidante en su metabolismo y protegerse contra el daño del estrés oxidativo. De manera similar, You et al. (2015) encontraron una disminución en los niveles de fluorescencia debido al uso de carotenoides BTS (58%) y β -caroteno (4%). Además, Liu et al. (2016) y Yazaki et al. (2011) reportaron que la astaxantina disminuyó 40% los niveles de ERO mitocondriales después de la exposición de los nematodos al carotenoide. Lee et al. (2015) demostraron que la vixetina (100 μM) disminuyó los niveles de ERO en un 15%, lo que condujo a un aumento de la resistencia contra el estrés oxidativo. Por otro lado, Jara-Palacios et al. (2013) encontraron que los nematodos alimentados con extracto de orujo (300 $\mu\text{g/mL}$) redujeron su producción de ERO en un 30%. En contraste, los antioxidantes solubles en agua como las betalaínas (feniletilamina-betaxantina e indicaxantina) han demostrado ser muy eficaces en la protección del nematodo contra el estrés oxidativo, logrando reducir la acumulación de ERO hasta en un 90% con la concentración máxima evaluada (100 μM) (Guerrero-Rubio et al., 2019). Estos resultados coinciden con los hallazgos en este trabajo, ya que muestran que los carotenoides de mamey y zanahoria pueden reducir eficazmente los niveles de ERO intracelulares y neutralizar el daño por estrés oxidativo en los nematodos.

8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En resumen, se caracterizaron el mamey y la zanahoria y los resultados obtenidos son similares a los valores reportados en la literatura. Las diferencias observadas provienen de los factores ambientales (condiciones climáticas, región de cultivo, propiedades del suelo, época de cosecha) e inherentes (genotipo o variedad, estado de maduración, manipulación postcosecha, condiciones de almacenamiento) a los productos vegetales.

El contenido de carotenoides en la zanahoria fue mayor que en el mamey; sin embargo, este último puede considerarse una fuente importante de carotenoides y compuestos antioxidantes con igual eficacia en condiciones *in vitro* e *in vivo*. En un inicio se consideró que la cáscara de mamey podría representar una fuente alternativa de carotenoides, adicional a la pulpa de mamey. No obstante, el contenido de carotenoides en la cáscara mostró ser despreciable en comparación con el de la pulpa.

El β -caroteno y los extractos de carotenoides de mamey (pulpa) y zanahoria prolongaron la supervivencia de *C. elegans* en condiciones de estrés oxidativo. Esta resistencia aumentó tras la exposición a los carotenoides durante generaciones continuas, indicando que la respuesta al estrés oxidativo es potenciada por la activación de mecanismos de defensa antioxidantes que se mantienen en la descendencia. Además, la combinación de los carotenoides en los extractos de mamey y zanahoria mostró ser más eficaz para proteger contra el daño oxidativo y aumentar la supervivencia del nematodo en comparación con el β -caroteno puro.

Se estabilizaron con éxito los carotenoides de mamey y zanahoria por medio de la microencapsulación en MD y GA y se midió la estabilidad de las microcápsulas de

carotenoides obtenidas en diferentes condiciones de luz y temperatura durante un periodo de tres meses. El orden decreciente de las pérdidas del contenido de carotenoides y de la actividad antioxidante fue 25 °C con acceso a la luz de día > 25 °C sin acceso a la luz de día > 4 °C sin acceso a la luz de día. A pesar de la pérdida general de los carotenoides y la disminución de las actividades antioxidantes en todas las condiciones de almacenamiento, las microcápsulas de carotenoides pudieron contrarrestar en un 30% la producción de ERO en los nematodos.

Los resultados, tanto de los carotenoides estabilizados como de los no estabilizados, sugieren que la resistencia contra el estrés oxidativo de los carotenoides de mamey y zanahoria está determinada por su capacidad para eliminar las ERO y neutralizar el daño oxidativo, además de promover los mecanismos de defensas antioxidantes, probablemente a través de la vía DAF-16/FOXO y/o SKN-1/Nrf2, y transmitir esta resistencia a la descendencia. Además, se demostró que la capacidad antioxidante de los carotenoides de mamey posee un potencial similar al de los carotenoides de zanahoria. Ello sugiere que el mamey es una buena fuente alternativa de carotenoides.

Aunque el consumo de frutas ricas en compuestos fitoquímicos se ha asociado con beneficios para la salud, los resultados de este trabajo se limitan a la capacidad de los carotenoides para contrarrestar el daño oxidativo en *C. elegans*, un organismo modelo. Los resultados no se pueden extrapolar a los seres humanos. Sin embargo, existe una gran posibilidad de que la actividad antioxidante de los carotenoides esté relacionada con su capacidad para eliminar las ERO y activar los mecanismos de defensa antioxidante a través de vías de señalización conservadas tanto en los nematodos como en los seres humanos.

Es necesario realizar la identificación de los compuestos presentes en los extractos de carotenoides para reconocer a los compuestos responsables de los efectos protectores. Para ello se podrían emplear técnicas cualitativas de identificación como espectroscopía infrarroja o técnicas cuantitativas como HPLC o espectrometría de masas.

México es un país con una gran biodiversidad agrícola, siendo poseedor de una gran variedad de frutas ricas en compuestos fitoquímicos. Las frutas regionales, tropicales y/o exóticas se han identificado como fuentes importantes de pigmentos, compuestos fenólicos y antioxidantes, como se demostró con el mamey. Sin embargo, el estudio de estas frutas y sus componentes es muy limitado ya que no son alimentos muy reconocidos en el ámbito internacional. Es por ello por lo que se sugiere para futuros trabajos estudiar la composición y las propiedades antioxidantes de diversos frutos mexicanos.

Es importante para trabajos futuros elucidar los mecanismos moleculares y bioquímicos de los compuestos antioxidantes implicados en la supervivencia y la resistencia ante el estrés oxidativo. Para ello se sugiere emplear cepas mutantes de *C. elegans*, como *skn-1* y *daf-16*, las cuales poseen una longevidad corta y son altamente sensibles al estrés oxidativo. A través de estas cepas es posible identificar las vías de señalización implicadas en la resistencia al estrés oxidativo. Por otro lado, también sería deseable identificar y cuantificar los niveles de las enzimas antioxidantes responsables de prolongar la supervivencia de los nematodos, tales como catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa, como resultado de la exposición a los antioxidantes.

Por último, el secado por aspersión no es la única técnica de estabilización de los carotenoides, así que se espera que se empleen otras técnicas de encapsulación y se evalúe

su efecto sobre las actividades antioxidantes *in vitro* e *in vivo*, bajo diferentes condiciones de almacenamiento (temperatura, pH, actividad de agua, presencia de luz). En este sentido, se tenía planeado realizar la estabilización de los carotenoides por medio de la nanoencapsulación y se realizaron estudios preliminares con nanopartículas de almidón de maíz, óxido de zinc y óxido de titanio, pero por falta de tiempo ya no se continuaron los análisis de estas partículas.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, S., & Wink, M. (2009). Epigallocatechin gallate from green tea (*Camellia sinensis*) increases lifespan and stress resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Planta Medica*, 75(3), 216–221. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088378>
- Addis, G., Baskaran, R., Raju, M., Ushadevi, A., Asfaw, Z., Woldu, Z., & Baskaran, V. (2009). Effect of blanching and drying process on carotenoids composition of underutilized ethiopian (*Coccinia grandis* L. Voigt) and indian (*Trigonella foenum-graecum* L.) green leafy vegetables. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33(6), 744–762. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00308.x>
- Adubofuor, J., Amankwah, E. A., Arthur, B. S., & Appiah, F. (2010). Comparative study related to physico-chemical properties and sensory qualities of tomato juice and cocktail juice produced from oranges, tomatoes and carrots. *African Journal of Food Science*, 4(7), 427–433.
- Aissa, A. F., Bianchi, M. L. P., Ribeiro, J. C., Hernandez, L. C., de Faria, A. F., Mercadante, A. Z., & Antunes, L. M. G. (2012). Comparative study of β -carotene and microencapsulated β -carotene: Evaluation of their genotoxic and antigenotoxic effects. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1418–1424. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.030>
- Al-Dabbas, M. M., Saleh, M. I., & Al-Ismail, K. (2015). Preservation Methods Impacted Phenolic, Flavonoid and Carotenoid Contents and Antioxidant Activities of Carrots (*Daucus carota* L.): Antioxidant Activities of Processed Carrots. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1618–1625. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12391>

- Alia-Tejacal, I., Villanueva-Arce, R., Pelayo-Zaldívar, C., Colinas-León, M. T., López-Martínez, V., & Bautista-Baños, S. (2007). Postharvest physiology and technology of sapote mamey fruit (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn). *Postharvest Biology and Technology*, 45(3), 285–297.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.12.024>
- Álvarez, R., Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., & Alcalde, M. J. (2015). Carotenoid and Vitamin A Contents in Biological Fluids and Tissues of Animals as an Effect of the Diet: A Review. *Food Reviews International*, 31(4), 319–340.
<https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1015139>
- A.O.A.C. (2000). *Official Methods of Analysis of A.O.A.C. International* (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- Apanasenko, I. E., Selyutina, O. Yu., Polyakov, N. E., Suntsova, L. P., Meteleva, E. S., Dushkin, A. V., Vachali, P., & Bernstein, P. S. (2015). Solubilization and Stabilization of Macular Carotenoids by Water Soluble Oligosaccharides and Polysaccharides. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 572, 58–65.
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.12.010>
- Arantes, L. P., Machado, M. L., Zamberlan, D. C., da Silveira, T. L., da Silva, T. C., da Cruz, I. B. M., Ribeiro, E. E., Aschner, M., & Soares, F. A. A. (2018). Mechanisms involved in anti-aging effects of guarana (*Paullinia cupana*) in *Caenorhabditis elegans*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 51(9), e7552.
<https://doi.org/10.1590/1414-431X20187552>

- Arellano Corral, C. A. (2011). *Extracción de luteína a partir de flores de tagete (Tagete erecta) y estabilización por microencapsulación* [Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile]. http://www.tesis.uchile.cl/tesis/uchile/2011/qf-arellano_ca/pdfAmont/qf-arellano_ca.pdf
- Aschoff, J. K., Rolke, C. L., Breusing, N., Bosity-Westphal, A., Högel, J., Carle, R., & Schweiggert, R. M. (2015). Bioavailability of β -cryptoxanthin is greater from pasteurized orange juice than from fresh oranges—A randomized cross-over study. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(10), 1896–1904. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500327>
- Back, P., Braeckman, B. P., & Matthijssens, F. (2012). ROS in Aging *Caenorhabditis elegans*: Damage or Signaling? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. <https://doi.org/10.1155/2012/608478>
- Bagetti, M., Facco, E. M. P., Piccolo, J., Hirsch, G. E., Rodriguez-Amaya, D., Kobori, C. N., Vizzotto, M., & Emanuelli, T. (2011). Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.). *Food Science and Technology*, 31(1), 147–154. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000100021>
- Bastías-Montes, J. M., Choque-Chávez, M. C., Alarcón-Enos, J., Quevedo-León, R., Muñoz-Fariña, O., & Vidal-San-Martín, C. (2019). Effect of spray drying at 150, 160, and 170 °C on the physical and chemical properties of maqui extract (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 79(1), 144–152. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392019000100144>

- Bayuelo-Jiménez, J. S., Alcantar, N. R., & Ochoa, I. (2007). Sapote mamey [*Pouteria sapota* (Jacquin) HE Moore & Stearn]: A potential fruit crop for subtropical regions of Michoacan, Mexico. *Canadian Journal of Plant Science*, 87(3), 537–544.
- Bednarska, M. A., & Janiszewska-Turak, E. (2020). The influence of spray drying parameters and carrier material on the physico-chemical properties and quality of chokeberry juice powder. *Journal of Food Science and Technology*, 57(2), 564–577. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04088-8>
- Beltrán-de-Miguel, B., Estévez-Santiago, R., & Olmedilla-Alonso, B. (2015). Assessment of dietary vitamin A intake (retinol, α -carotene, β -carotene, β -cryptoxanthin) and its sources in the National Survey of Dietary Intake in Spain (2009–2010). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(6), 706–712. <https://doi.org/10.3109/09637486.2015.1077787>
- Bohn, T., Desmarchelier, C., Dragsted, L. O., Nielsen, C. S., Stahl, W., Rühl, R., Keijer, J., & Borel, P. (2017). Host-related factors explaining interindividual variability of carotenoid bioavailability and tissue concentrations in humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(6), 1600685. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600685>
- Boiero, M. L., Mandrioli, M., Braber, N. V., Rodriguez-Estrada, M. T., García, N. A., Borsarelli, C. D., & Montenegro, M. A. (2014). Gum arabic microcapsules as protectors of the photoinduced degradation of riboflavin in whole milk. *Journal of Dairy Science*, 97(9), 5328–5336. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7886>
- Bonomo, L. de F., Silva, D. N., Boasquivis, P. F., Paiva, F. A., Guerra, J. F. da C., Martins, T. A. F., de Jesus Torres, Á. G., de Paula, I. T. B. R., Caneschi, W. L., Jacolot, P.,

- Grossin, N., Tessier, F. J., Boulanger, E., Silva, M. E., Pedrosa, M. L., & de Paula Oliveira, R. (2014). Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) Modulates Oxidative Stress Resistance in *Caenorhabditis elegans* by Direct and Indirect Mechanisms. *PLoS ONE*, *9*(3), e89933. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089933>
- Bouyanfif, A., Jayarathne, S., Koboziev, I., & Moustaid-Moussa, N. (2019). The Nematode *Caenorhabditis elegans* as a Model Organism to Study Metabolic Effects of ω -3 Polyunsaturated Fatty Acids in Obesity. *Advances in Nutrition*, *10*(1), 165–178. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy059>
- Brenner, S. (1974). The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, *77*(1), 71–94.
- Burton, G. W., Daroszewski, J., Mogg, T. J., Nikiforov, G. B., & Nickerson, J. G. (2016). Discovery and Characterization of Carotenoid-Oxygen Copolymers in Fruits and Vegetables with Potential Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *64*(19), 3767–3777. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00503>
- Butnariu, M. (2016). Methods of Analysis (Extraction, Separation, Identification and Quantification) of Carotenoids from Natural Products. *Journal of Ecosystem & Ecography*, *6*(2). <https://doi.org/10.4172/2157-7625.1000193>
- Camargo, G., Elizalde, A., Trujillo, X., Montoya-Perez, R., Luisa Mendoza-Magana, M., Hernandez-Chavez, A., & Hernandez, L. (2016). Inactivation of GABA(A) receptor is related to heat shock stress response in organism model *Caenorhabditis elegans*. *Cell Stress and Chaperones*, *21*(5), 763–772. <https://doi.org/10.1007/s12192-016-0701-9>

- Cañete, A., Cano, E., Muñoz-Chápuli, R., & Carmona, R. (2017). Role of Vitamin A/Retinoic Acid in Regulation of Embryonic and Adult Hematopoiesis. *Nutrients*, *9*(2), 159. <https://doi.org/10.3390/nu9020159>
- Capelezzo, A. P., Mohr, L. C., Dalcanton, F., Mello, J. M. M. de, & Fiori, M. A. (2018). β -Cyclodextrins as Encapsulating Agents of Essential Oils. *Cyclodextrin - A Versatile Ingredient*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.73568>
- Carail, M., & Caris-Veyrat, C. (2006). Carotenoid oxidation products: From villain to saviour? *Pure and Applied Chemistry*, *78*(8), 1493–1503. <https://doi.org/10.1351/pac200678081493>
- Carrillo-Navas, H., González-Rodea, D. A., Cruz-Olivares, J., Barrera-Pichardo, J. F., Román-Guerrero, A., & Pérez-Alonso, C. (2011). Storage stability and physicochemical properties of passion fruit juice microcapsules by spray-drying. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *10*(3), 421–430.
- Cervantes-Paz, B., Victoria-Campos, C. I., & Ornelas-Paz, J. de J. (2016). Absorption of Carotenoids and Mechanisms Involved in Their Health-Related Properties. In C. Stange (Ed.), *Carotenoids in Nature* (Vol. 79, pp. 415–454). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7_16
- Chacón-Ordóñez, T., Esquivel, P., Jiménez, V. M., Carle, R., & Schweiggert, R. M. (2016). Deposition Form and Bioaccessibility of Keto-carotenoids from Mamey Sapote (*Pouteria sapota*), Red Bell Pepper (*Capsicum annuum*), and Sockeye Salmon (*Oncorhynchus nerka*) Filet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *64*(9), 1989–1998. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b06039>

- Chacón-Ordóñez, T., Schweiggert, R. M., Bosy-Westphal, A., Jiménez, V. M., Carle, R., & Esquivel, P. (2017). Carotenoids and carotenoid esters of orange- and yellow-fleshed mamey sapote (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) fruit and their post-prandial absorption in humans. *Food Chemistry*, *221*, 673–682. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.120>
- Chandrika, U. G., Fernando, K. S. S. P., & Ranaweera, K. K. D. S. (2009). Carotenoid content and *in vitro* bioaccessibility of lycopene from guava (*Psidium guajava*) and watermelon (*Citrullus lanatus*) by high-performance liquid chromatography diode array detection. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *60*(7), 558–566. <https://doi.org/10.3109/09637480801987195>
- Chen, W., Rezaizadehnajafi, L., & Wink, M. (2013). Influence of resveratrol on oxidative stress resistance and life span in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *65*(5), 682–688. <https://doi.org/10.1111/jphp.12023>
- Corsi, A. K., Wightman, B., & Chalfie, M. (2015). A Transparent Window into Biology: A Primer on *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, *200*(2), 387–407. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.176099>
- Cruz-Bojórquez, R. M., González-Gallego, J., & Sánchez-Collado, P. (2013). Propiedades funcionales y beneficios para la salud del licopeno. *Nutrición Hospitalaria*, *28*(1), 6–15. <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6302>
- da Silva, B. A., Gordon, A., Jungfer, E., Marx, F., & Maia, J. G. S. (2012). Antioxidant capacity and phenolics of *Pouteria macrophylla*, an under-utilized fruit from

- Brazilian Amazon. *European Food Research and Technology*, 234(5), 761–768.
<https://doi.org/10.1007/s00217-012-1684-0>
- De Marco, R., Viera, A. M. S., Ugri, M. A., Monteiro, A., & Bergamasco, R. (2013). Microencapsulation of annatto seed extract: Stability and application. *Chemical Engineering Transactions*, 32, 1777–1782. <https://doi.org/10.3303/CET1332297>
- de Oliveira Caland, R. B., Cadavid, C. O. M., Carmona, L., Peña, L., & de Paula Oliveira, R. (2019). Pasteurized Orange Juice Rich in Carotenoids Protects *Caenorhabditis elegans* against Oxidative Stress and β -Amyloid Toxicity through Direct and Indirect Mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019(Article ID 5046280), 1–13. <https://doi.org/10.1155/2019/5046280>
- Dehghan, E., Zhang, Y., Saremi, B., Yadavali, S., Hakimi, A., Dehghani, M., Goodarzi, M., Tu, X., Robertson, S., Lin, R., Chudhuri, A., & Mirzaei, H. (2017). Hydralazine induces stress resistance and extends *C. elegans* lifespan by activating the NRF2/SKN-1 signalling pathway. *Nature Communications*, 8(1), 2223. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02394-3>
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R., & Paredes-López, O. (2000). Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3), 173–289. <https://doi.org/10.1080/10408690091189257>
- Desjardins, D., Cacho-Valadez, B., Liu, J.-L., Wang, Y., Yee, C., Bernard, K., Khaki, A., Breton, L., & Hekimi, S. (2017). Antioxidants reveal an inverted U-shaped dose-response relationship between reactive oxygen species levels and the rate of aging in

Caenorhabditis elegans. *Aging Cell*, 16(1), 104–112.
<https://doi.org/10.1111/accel.12528>

Desobry, S. A., Netto, F. M., & Labuza, T. P. (1997). Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for β -carotene encapsulation and preservation. *Journal of Food Science*, 62(6), 1158–1162.

Duangjan, C., Rangsinth, P., Gu, X., Wink, M., & Tencomnao, T. (2019). Lifespan Extending and Oxidative Stress Resistance Properties of a Leaf Extracts from *Anacardium occidentale* L. in *Caenorhabditis elegans*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2019/9012396>

Erzsébet, F., Dumitru, C. M., & Daniela-Lucía, M. (2016). Is the Oxidative Stress Really a Disease? *Acta Medica Marisiensis*, 62(1), 112–120. <https://doi.org/10.1515/amma-2015-0070>

Esmailpour, A. A., Zarghami, R., & Mostoufi, N. (2015). Effect of Temperature on the Nanoparticles Agglomerates Fluidization. *Proceedings of the 2015 International Conference on Modeling, Simulation and Applied Mathematics*. 2015 International Conference on Modeling, Simulation and Applied Mathematics, Phuket, Thailand. <https://doi.org/10.2991/msam-15.2015.55>

Espinosa-Diez, C., Miguel, V., Mennerich, D., Kietzmann, T., Sánchez-Pérez, P., Cadenas, S., & Lamas, S. (2015). Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biology*, 6, 183–197. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.07.008>

Estévez-Santiago, R., Olmedilla-Alonso, B., & Fernández-Jalao, I. (2016). Bioaccessibility of provitamin A carotenoids from fruits: Application of a standardised static *in vitro*

digestion method. *Food & Function*, 7(3), 1354–1366.
<https://doi.org/10.1039/c5fo01242b>

Fan, D., Hodges, D. M., Zhang, J., Kirby, C. W., Ji, X., Locke, S. J., Critchley, A. T., & Prithiviraj, B. (2011). Commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* enhances phenolic antioxidant content of spinach (*Spinacia oleracea* L.) which protects *Caenorhabditis elegans* against oxidative and thermal stress. *Food Chemistry*, 124(1), 195–202. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.008>

Faria, A. F., Mignone, R. A., Montenegro, M. A., Mercadante, A. Z., & Borsarelli, C. D. (2010). Characterization and singlet oxygen quenching capacity of spray-dried microcapsules of edible biopolymers containing antioxidant molecules. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 8004–8011. <https://doi.org/10.1021/jf100925j>

Focsan, A. L., Polyakov, N. E., & Kispert, L. D. (2019). Supramolecular Carotenoid Complexes of Enhanced Solubility and Stability—The Way of Bioavailability Improvement. *Molecules*, 24(21), 3947. <https://doi.org/10.3390/molecules24213947>

Food-Info Foundation. (2017). *E-numbers: E100- E200 Food Colours*. Wageningen University. <http://www.food-info.net/uk/e/e100-200.htm>

Gaona-García, A., Alia-Tejacal, I., López-Martínez, V., Andrade-Rodríguez, M., Colinas-León, M. T., & Villegas-Torres, O. (2008). Caracterización de frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota*) en el suroeste del estado de Morelos. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 14(1), 41–47.

García-Vara, A. (2015). *Evaluación de la actividad antioxidante de las antocianinas provenientes del extracto de maíz azul (Zea mays L.) ante el estrés oxidativo inducido*

en Caenorhabditis elegans [Tesis de Licenciatura]. Universidad de las Américas Puebla.

Geldart, D. (1973). Types of gas fluidisation. *Powder Technology*, 7, 285–292.

Gems, D., & Doonan, R. (2009). Antioxidant defense and aging in *C. elegans*: Is the oxidative damage theory of aging wrong? *Cell Cycle*, 8(11), 1681–1687. <https://doi.org/10.4161/cc.8.11.8595>

Gillet, F.-X., Bournaud, C., de Souza Júnior, J. D. A., & Grossi-de-Sa, M. F. (2017). Plant-parasitic nematodes: Towards understanding molecular players in stress responses. *Annals of Botany*, 119(5), 775–789. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw260>

González-Manzano, S., González-Paramás, A. M., Delgado, L., Patianna, S., Surco-Laos, F., Dueñas, M., & Santos-Buelga, C. (2012). Oxidative Status of Stressed *Caenorhabditis elegans* Treated with Epicatechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(36), 8911–8916. <https://doi.org/10.1021/jf3004256>

Grassmann, J., Schnitzler, W. H., & Habegger, R. (2007). Evaluation of different coloured carrot cultivars on antioxidative capacity based on their carotenoid and phenolic contents. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58(8), 603–611. <https://doi.org/10.1080/09637480701359149>

Guerrero-Legarreta, I., López-Hernández, E., Armenta-López, R. E., & García-Barrientos, R. (2013). Pigmentos. In S. Badui-Dergal (Ed.), *Química de Alimentos* (5º, p. 379). Pearson.

Guerrero-Rubio, M. A., Hernández-García, S., García-Carmona, F., & Gandía-Herrero, F. (2019). Extension of life-span using a RNAi model and *in vivo* antioxidant effect of

- Opuntia* fruit extracts and pure betalains in *Caenorhabditis elegans*. *Food Chemistry*, 274, 840–847. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.067>
- Gul, K., Tak, A., Singh, A. K., Singh, P., Yousuf, B., & Wani, A. A. (2015a). Chemistry, encapsulation, and health benefits of β -carotene—A review. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1018696>
- Gul, K., Tak, A., Singh, A. K., Singh, P., Yousuf, B., & Wani, A. A. (2015b). Chemistry, encapsulation, and health benefits of β -carotene—A review. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), Article 1. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1018696>
- Harrington, L. A., & Harley, C. B. (1988). Effect of vitamin E on lifespan and reproduction in *Caenorhabditis elegans*. *Mechanisms of Ageing and Development*, 43(1), 71–78. [https://doi.org/10.1016/0047-6374\(88\)90098-x](https://doi.org/10.1016/0047-6374(88)90098-x)
- Hojjati, M., Razavi, S. H., Rezaei, K., & Gilani, K. (2014). Stabilization of canthaxanthin produced by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 with spray drying microencapsulation. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 2134–2140. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0713-0>
- Howard, L. R., Braswell, D. D., & Aselage, J. (1996). Chemical composition and color of strained carrots as affected by processing. *Journal of Food Science*, 61(2), 327–330.
- Howitt, C. A., & Pogson, B. J. (2006). Carotenoid accumulation and function in seeds and non-green tissues. *Plant, Cell and Environment*, 29(3), 435–445. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01492.x>
- Inoue, Y., Shimazawa, M., Nagano, R., Kuse, Y., Takahashi, K., Tsuruma, K., Hayashi, M., Ishibashi, T., Maoka, T., & Hara, H. (2017). Astaxanthin analogs, adonixanthin and

- lycopene, activate Nrf2 to prevent light-induced photoreceptor degeneration. *Journal of Pharmacological Sciences*, 134(3), 147–157.
<https://doi.org/10.1016/j.jphs.2017.05.011>
- Janiszewska-Turak, E. (2017). Carotenoids microencapsulation by spray drying method and supercritical micronization. *Food Research International*, 99, 891–901.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.02.001>
- Jara-Palacios, M. J., González-Manzano, S., Escudero-Gilete, M. L., Hernanz, D., Dueñas, M., González-Paramás, A. M., Heredia, F. J., & Santos-Buelga, C. (2013). Study of Zalema Grape Pomace: Phenolic Composition and Biological Effects in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(21), 5114–5121. <https://doi.org/10.1021/jf400795s>
- Jiménez-Aguilar, D. M., Ortega-Regules, A. E., Lozada-Ramírez, J. D., Pérez-Pérez, M. C. I., Vernon-Carter, E. J., & Welti-Chanes, J. (2011). Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(6), 889–894.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.04.012>
- Johnston, J. B., Nickerson, J. G., Daroszewski, J., Mogg, T. J., & Burton, G. W. (2014). Biologically Active Polymers from Spontaneous Carotenoid Oxidation: A New Frontier in Carotenoid Activity. *PLoS ONE*, 9(10), e111346.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111346>
- Jourdan, M., Gagné, S., Dubois-Laurent, C., Maghraoui, M., Huet, S., Suel, A., Hamama, L., Briard, M., Peltier, D., & Geoffriau, E. (2015). Carotenoid Content and Root Color

of Cultivated Carrot: A Candidate-Gene Association Study Using an Original Broad Unstructured Population. *PLOS ONE*, *10*(1), e0116674. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116674>

Juscamaita Fabián, L., Pérez Salvatierra, T., Espinoza Silva, C., Quispe Solano, M., Hinostroza Quiñónez, G., Flores Ramos, O., & Manyari Cervantes, G. (2017). Evaluación de la estabilidad de carotenoides y actividad antioxidante de la flor de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) en la microencapsulación por Spray-Drying. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, *83*(3), 282–293.

Kampkötter, A., Gombitang Nkwonkam, C., Zurawski, R. F., Timpel, C., Chovolou, Y., Wätjen, W., & Kahl, R. (2007). Effects of the flavonoids kaempferol and fisetin on thermotolerance, oxidative stress and FoxO transcription factor DAF-16 in the model organism *Caenorhabditis elegans*. *Archives of Toxicology*, *81*(12), 849–858. <https://doi.org/10.1007/s00204-007-0215-4>

Kang, L., Park, S.-C., Ji, C. Y., Kim, H. S., Lee, H.-S., & Kwak, S.-S. (2017). Metabolic engineering of carotenoids in transgenic sweetpotato. *Breeding Science*, *67*(1), 27–34. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.16118>

Kim, J., Takahashi, M., Shimizu, T., Shirasawa, T., Kajita, M., Kanayama, A., & Miyamoto, Y. (2008). Effects of a potent antioxidant, platinum nanoparticle, on the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Mechanisms of Ageing and Development*, *129*(6), 322–331. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2008.02.011>

- Koca Bozalan, N., & Karadeniz, F. (2011). Carotenoid Profile, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity of Carrots. *International Journal of Food Properties*, *14*(5), 1060–1068. <https://doi.org/10.1080/10942910903580918>
- Kumar, A., Srikanta, A. H., Chinnaswamy, A., Lai, O. M., & Govindaswamy, V. (2016). Encapsulation of partially saturated canthaxanthin—A functional ingredient from *Aspergillus Carbonarius* mutant. *Current Topics in Nutraceutical Research*, *14*(4), 251–258.
- Lashmanova, E., Proshkina, E., Zhikrivetskaya, S., Shevchenko, O., Marusich, E., Leonov, S., Melerzanov, A., Zhavoronkov, A., & Moskalev, A. (2015). Fucoxanthin increases lifespan of *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. *Pharmacological Research*, *100*, 228–241. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.08.009>
- Lee, E. B., Kim, J. H., Cha, Y.-S., Kim, M., Song, S. B., Cha, D. S., Jeon, H., Eun, J. S., Han, S., & Kim, D. K. (2015). Lifespan Extending and Stress Resistant Properties of Vitexin from *Vigna angularis* in *Caenorhabditis elegans*. *Biomolecules & Therapeutics*, *23*(6), 582–589. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2015.128>
- Lehto, S., Buchweitz, M., Klimm, A., Straßburger, R., Bechtold, C., & Ulberth, F. (2017). Comparison of food colour regulations in the EU and the US: A review of current provisions. *Food Additives & Contaminants: Part A*, *34*(3), 335–355. <https://doi.org/10.1080/19440049.2016.1274431>
- Lemmens, L., Colle, I., Van Buggenhout, S., Palmero, P., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2014). Carotenoid bioaccessibility in fruit- and vegetable-based food products as affected by product (micro)structural characteristics and the presence of lipids: A

- review. *Trends in Food Science & Technology*, 38(2), 125–135.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.05.005>
- Li, H., Tsao, R., & Deng, Z. (2012). Factors affecting the antioxidant potential and health benefits of plant foods. *Canadian Journal of Plant Science*, 92(6), 1101–1111.
<https://doi.org/10.4141/cjps2011-239>
- Li, Y., Li, Y., Wu, Q., Ye, H., Sun, L., Ye, B., & Wang, D. (2013). High Concentration of Vitamin E Decreases Thermosensation and Thermotaxis Learning and the Underlying Mechanisms in the Nematode *Caenorhabditis elegans*. *PLoS ONE*, 8(8), e71180.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071180>
- Liang, N., & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant Property of Coffee Components: Assessment of Methods that Define Mechanisms of Action. *Molecules*, 19(11), 19180–19208.
<https://doi.org/10.3390/molecules191119180>
- Lim, A. S. L., & Roos, Y. H. (2016). Spray drying of high hydrophilic solids emulsions with layered interface and trehalose-maltodextrin as glass formers for carotenoids stabilization. *Journal of Food Engineering*, 171, 174–184.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.10.026>
- Liu, C.-L., Lim, Y.-P., & Hu, M.-L. (2013). Fucoxanthin Enhances Cisplatin-Induced Cytotoxicity via NFκB-Mediated Pathway and Downregulates DNA Repair Gene Expression in Human Hepatoma HepG2 Cells. *Marine Drugs*, 11(12), 50–66.
<https://doi.org/10.3390/md11010050>
- Liu, X., Luo, Q., Cao, Y., Goulette, T., Liu, X., & Xiao, H. (2016). Mechanism of Different Stereoisomeric Astaxanthin in Resistance to Oxidative Stress in *Caenorhabditis*

- elegans*. *Journal of Food Science*, 81(9), H2280–H2287.
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.13417>
- López, A. O. (2009). Industrialización de Zanahoria. *TecnoAgro*, 52.
<https://tecnoagro.com.mx/no.-52/industrializacion-de-zanahoria>
- Martorell, P., Forment, J. V., de Llanos, R., Montón, F., Llopis, S., González, N., Genovés, S., Cienfuegos, E., Monzó, H., & Ramón, D. (2011). Use of *Saccharomyces cerevisiae* and *Caenorhabditis elegans* as Model Organisms To Study the Effect of Cocoa Polyphenols in the Resistance to Oxidative Stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(5), 2077–2085. <https://doi.org/10.1021/jf104217g>
- Mestry, A. P., Mujumdar, A. S., & Thorat, B. N. (2011). Optimization of Spray Drying of an Innovative Functional Food: Fermented Mixed Juice of Carrot and Watermelon. *Drying Technology*, 29(10), 1121–1131.
<https://doi.org/10.1080/07373937.2011.566968>
- Moliner, C., Barros, L., Dias, M., López, V., Langa, E., Ferreira, I., & Gómez-Rincón, C. (2018). Edible Flowers of *Tagetes erecta* L. as Functional Ingredients: Phenolic Composition, Antioxidant and Protective Effects on *Caenorhabditis elegans*. *Nutrients*, 10(12), 2002. <https://doi.org/10.3390/nu10122002>
- Montero, P., Calvo, M. M., Gómez-Guillén, M. C., & Gómez-Estaca, J. (2016). Microcapsules containing astaxanthin from shrimp waste as potential food coloring and functional ingredient: Characterization, stability, and bioaccessibility. *LWT - Food Science and Technology*, 70, 229–236.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.040>

- Moo-Huchin, V. M., Estrada-Mota, I., Estrada-León, R., Cuevas-Glory, L., Ortiz-Vázquez, E., Vargas, M. de L. V. y, Betancur-Ancona, D., & Sauri-Duch, E. (2014). Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, *152*, 508–515. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.013>
- Murillo, E., Giuffrida, D., Menchaca, D., Dugo, P., Torre, G., Meléndez-Martínez, A. J., & Mondello, L. (2013). Native carotenoids composition of some tropical fruits. *Food Chemistry*, *140*(4), 825–836. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.014>
- Murillo, E., Mosquera, Y., Kurtán, T., Gulyás-Fekete, G., Nagy, V., & Deli, J. (2012). Isolation and characterization of novel capsorubin-like carotenoids from red mamey (*Pouteria sapota*). *Helvetica Chimica Acta*, *95*, 983–988.
- Nagayama, J., Noda, K., Uchikawa, T., Maruyama, I., Shimomura, H., & Miyahara, M. (2014). Effect of maternal *Chlorella* supplementation on carotenoid concentration in breast milk at early lactation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *65*(5), 573–576. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.898257>
- Nicolle, C., Simon, G., Rock, E., Amouroux, P., & Rémésy, C. (2004). Genetic Variability Influences Carotenoid, Vitamin, Phenolic, and Mineral Content in White, Yellow, Purple, Orange, and Dark-orange Carrot Cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *129*(4), 523–529. <https://doi.org/10.21273/JASHS.129.4.0523>
- Ochoa-Velasco, C. E., Salazar-González, C., Cid-Ortega, S., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2017). Antioxidant characteristics of extracts of *Hibiscus sabdariffa* calyces

- encapsulated with mesquite gum. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1747–1756. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2564-1>
- Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., Hernández-Jover, T., & Martín-Belloso, O. (2009). Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. *Food Chemistry*, 112(1), 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.087>
- Olmedilla-Alonso, B. (2017). Carotenoids: Content in foods, in diet and bioavailability. *COST Action EUROCAROTEN (CA15136), Scientific Newsletter 2*, 1–9. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.20315.98080>
- Onken, B., & Driscoll, M. (2010). Metformin Induces a Dietary Restriction-Like State and the Oxidative Stress Response to Extend *C. elegans* Healthspan via AMPK, LKB1, and SKN-1. *PLoS ONE*, 5(1), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008758>
- Perera, C. O., & Yen, G. M. (2007). Functional Properties of Carotenoids in Human Health. *International Journal of Food Properties*, 10(2), 201–230. <https://doi.org/10.1080/10942910601045271>
- Pietsch, K., Saul, N., Menzel, R., Stürzenbaum, S. R., & Steinberg, C. E. W. (2009). Quercetin mediated lifespan extension in *Caenorhabditis elegans* is modulated by *age-1*, *daf-2*, *sek-1* and *unc-43*. *Biogerontology*, 10(5), 565–578. <https://doi.org/10.1007/s10522-008-9199-6>
- Pinto, R. M., Nakamura, L. R., Ramires, T. G., López Bautista, E. A., & Dos Santos Dias, C. T. (2016). Genotype selection of *Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn, under

- a multivariate framework. *Acta Agronómica*, 65(3), 312–317.
<https://doi.org/10.15446/acag.v65n3.49877>
- Pons, E., Alquézar, B., Rodríguez, A., Martorell, P., Genovés, S., Ramón, D., Rodrigo, M. J., Zacarías, L., & Peña, L. (2014). Metabolic engineering of β -carotene in orange fruit increases its *in vivo* antioxidant properties. *Plant Biotechnology Journal*, 12(1), 17–27. <https://doi.org/10.1111/pbi.12112>
- Przybysz, M., Szterk, A., Symoniuk, E., Gąszczyk, M., & Dłużewska, E. (2018). α - and β -Carotene Stability During Storage of Microspheres Obtained from Spray-Dried Microencapsulation Technology. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 68(1), 45–55. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2017-0006>
- Pu, J., Bankston, J. D., & Sathivel, S. (2011). Production of Microencapsulated Crawfish (*Procambarus clarkii*) Astaxanthin in Oil by Spray Drying Technology. *Drying Technology*, 29(10), 1150–1160. <https://doi.org/10.1080/07373937.2011.573155>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rehman, A., Tong, Q., Jafari, S. M., Assadpour, E., Shehzad, Q., Aadil, R. M., Iqbal, M. W., Rashed, M. M. A., Mushtaq, B. S., & Ashraf, W. (2020). Carotenoid-loaded nanocarriers: A comprehensive review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 275, 102048. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102048>

- Ren, Y., Chenb, S., Mengmeng, M., Zhangb, C., Wangb, K., Lib, F., Guoa, W., Huangb, J., & Zhanga, C. (2017). Do ROS really slow down aging in *C. elegans*? *Arxiv*, 1704.06086v2.
- Ribeiro, D., Freitas, M., Silva, A. M. S., Carvalho, F., & Fernandes, E. (2018). Antioxidant and pro-oxidant activities of carotenoids and their oxidation products. *Food and Chemical Toxicology*, *120*, 681–699. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.060>
- Ristow, M., & Schmeisser, K. (2014). Mitohormesis: Promoting Health and Lifespan by Increased Levels of Reactive Oxygen Species (ROS). *Dose-Response*, *12*(2), 288–341. <https://doi.org/10.2203/dose-response.13-035.Ristow>
- Rodrigues, E., Mariutti, L. R. B., Chisté, R. C., & Mercadante, A. Z. (2012). Development of a novel micro-assay for evaluation of peroxy radical scavenger capacity: Application to carotenoids and structure–activity relationship. *Food Chemistry*, *135*(3), 2103–2111. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.074>
- Saini, R. K., Nile, S. H., & Park, S. W. (2015). Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Research International*, *76*, 735–750. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.047>
- Salter-Venzon, D., Kazlova, V., Izzy Ford, S., Intra, J., Klosner, A. E., & Gellenbeck, K. W. (2017). Evidence for decreased interaction and improved carotenoid bioavailability by sequential delivery of a supplement. *Food Science & Nutrition*, *5*(3), 424–433. <https://doi.org/10.1002/fsn3.409>
- Sanches-Silva, A., Albuquerque, T. G., Finglas, P., Ribeiro, T., Valente, A., Vasilopoulou, E., Trichopoulou, A., Alexieva, I., Boyko, N., Costea, C.-E., Hayran, O., Jorjadze,

- M., Kaprelyants, L., Karpenko, D., Filippo D'Antuono, L., & Costa, H. S. (2013). Carotenoids, vitamins (A, B₂, C and E) and total folate of traditional foods from Black Sea Area countries: Health-promoting compounds in traditional foods from Black Sea Area. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(14), 3545–3557. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6243>
- Sangha, J. S., Fan, D., Banskota, A. H., Stefanova, R., Khan, W., Hafting, J., Craigie, J., Critchley, A. T., & Prithiviraj, B. (2013). Bioactive components of the edible strain of red alga, *Chondrus crispus*, enhance oxidative stress tolerance in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Functional Foods*, 5(3), 1180–1190. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.04.001>
- Santos, D. T., & Meireles, M. A. A. (2010). Carotenoid Pigments Encapsulation: Fundamentals, Techniques and Recent Trends. *The Open Chemical Engineering Journal*, 4, 42–50.
- Sauri, E., Tamayo, E., DÍAZ, J., GARCÍA, K., Vargas, L., González, S., & Centurión, A. (1997). Calidad y vida útil de dos cultivares de mamey (*Pouteria sapota*) cosechados en Yucatán, México. *Instituto Tecnológico de Mérida, Mérida, Yucatán, México*.
- Schawartz, S. J., Cooperstone, J. L., Cichon, M. J., von Elbe, J. H., & Giusti, M. M. (2017). Colorants. In S. Damodaran & K. L. Parkin (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* (5th ed., p. 681). CRC Press/Taylor & Francis.
- Secretaria de Salud. (2010). *NMX-F-102-NORMEX-2010 ALIMENTOS. Determinación de acidez titulable en alimentos. Método de ensayo (prueba)*.

<https://produccionindustrialdealimentos2.jimdo.com/1-1-5-nmx-f-102-normex-2010/>

Sessa, M. (2012). *Nanoencapsulation of bioactive compounds for food applications*. Universitá Degli Studi di Salerno.

Sharma, K. D., Karki, S., Thakur, N. S., & Attri, S. (2012). Chemical composition, functional properties and processing of carrot—A review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(1), 22–32. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0310-7>

Shebaby, W. N., Daher, C. F., El-Sibai, M., Bodman-Smith, K., Mansour, A., Karam, M. C., & Mroueh, M. (2015). Antioxidant and hepatoprotective activities of the oil fractions from wild carrot (*Daucus carota* ssp. *Carota*). *Pharmaceutical Biology*, 53(9), 1285–1294. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.976349>

Shegokar, R., & Mitri, K. (2012). Carotenoid Lutein: A Promising Candidate for Pharmaceutical and Nutraceutical Applications. *Journal of Dietary Supplements*, 9(3), 183–210. <https://doi.org/10.3109/19390211.2012.708716>

SIAP. (2016). *Monografías de productos agroalimentarios mexicanos. Zanahoria*. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. <https://www.gob.mx/siap/>

SIAP. (2017). *Monografías de productos agroalimentarios mexicanos. Mamey*. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. <https://www.gob.mx/siap/>

SIAP. (2020). *Anuario Estadístico de la Producción Agrícola*. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

- Soh, S. H., & Lee, L. Y. (2019). Microencapsulation and Nanoencapsulation Using Supercritical Fluid (SCF) Techniques. *Pharmaceutics*, 11(1).
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11010021>
- Solís-Fuentes, J. A., Ayala-Tirado, R. C., Fernández-Suárez, A. D., & Durán-de-Bazúa, M. C. (2015). Mamey sapote seed oil (*Pouteria sapota*). Potential, composition, fractionation and thermal behavior. *Grasas y Aceites*, 66(1), e056.
<https://doi.org/10.3989/gya.0691141>
- Soukoulis, C., & Bohn, T. (2018). A comprehensive overview on the micro- and nano-technological encapsulation advances for enhancing the chemical stability and bioavailability of carotenoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(1), 1–36. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.971353>
- Stiernagle, T. (2006). Maintenance of *C. elegans*. *WormBook*.
<https://doi.org/10.1895/wormbook.1.101.1>
- Surco-Laos, F., Cabello, J., Gómez-Orte, E., González-Manzano, S., González-Paramás, A. M., Santos-Buelga, C., & Dueñas, M. (2011). Effects of O-methylated metabolites of quercetin on oxidative stress, thermotolerance, lifespan and bioavailability on *Caenorhabditis elegans*. *Food & Function*, 2(8), 445.
<https://doi.org/10.1039/c1fo10049a>
- Thakur, D., Jain, A., Ghoshal, G., Shivhare, U. S., & Katare, O. P. (2017). Microencapsulation of β -Carotene Based on Casein/Guar Gum Blend Using Zeta Potential-Yield Stress Phenomenon: An Approach to Enhance Photo-stability and

- Retention of Functionality. *AAPS PharmSciTech*, 18(5), 1447–1459.
<https://doi.org/10.1208/s12249-017-0806-1>
- Torres-Rodríguez, A., Salinas-Moreno, Y., Valle-Guadarrama, S., & Alia-Tejacal, I. (2011). Soluble phenols and antioxidant activity in mamey sapote (*Pouteria sapota*) fruits in postharvest. *Food Research International*, 44(7), 1956–1961.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.045>
- Turki, D., & Fatah, N. (2008). Behavior and fluidization of the cohesive powders: Agglomerates sizes approach. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 25(4), 697–711. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322008000400007>
- Upadhyay, A., Sharma, H. K., & Sarkar, B. C. (2008). Characterization and dehydration kinetics of carrot pomace. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*.
- Varakumar, S., Kumar, Y. S., & Reddy, O. V. S. (2011). Carotenoid composition of mango (*Mangifera indica* L.) wine and its antioxidant activity. *Journal of Food Biochemistry*, 35(5), 1538–1547. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2010.00476.x>
- Velázquez Paulin, K., Alvarado Sánchez, B., & Reyes Munguía, A. (2015). Historia del mamey *Pouteria sapota*. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 2(3), 55–63.
- Villarreal-Fuentes, J. M., Alia-Tejacal, I., Hernández, E., Pelayo-Zaldivar, C., & Franco-Mora, O. (2015). Caracterización poscosecha de selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.)H. E. Moore & Stearn) procedentes del Soconusco, Chiapas. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2(5), 217–224.

- Villegas-Monter, A., Escobar-Sandoval, C. M., Arrieta-Ramos, G., & Berdeja-Arbeu, R. (2016). Zapote mamey [*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore & Stearn], diversidad y usos. *Agro Productividad*, 9(4), 47–54.
- Vimala, B., Nambisan, B., & Hariprakash, B. (2011). Retention of carotenoids in orange-fleshed sweet potato during processing. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 520–524. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0323-2>
- Wagner, K.-H., & Elmadfa, I. (2003). Biological relevance of terpenoids. Overview focusing on mono-, di- and tetraterpenes. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 47(3–4), 95–106. <https://doi.org/10.1159/000070030>
- Wang, Ying, Chun, O. K., & Song, W. O. (2013). Plasma and dietary antioxidant status as cardiovascular disease risk factors: A review of human studies. *Nutrients*, 5(8), 2969–3004. <https://doi.org/10.3390/nu5082969>
- Wang, Yufeng, Ye, H., Zhou, C., Lv, F., Bie, X., & Lu, Z. (2012). Study on the spray-drying encapsulation of lutein in the porous starch and gelatin mixture. *European Food Research and Technology*, 234(1), 157–163. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1630-6>
- Weiss, J., Decker, E. A., McClements, D. J., Kristbergsson, K., Helgason, T., & Awad, T. (2008). Solid Lipid Nanoparticles as Delivery Systems for Bioactive Food Components. *Food Biophysics*, 3(2), 146–154. <https://doi.org/10.1007/s11483-008-9065-8>
- Wu, C.-W., Deonaraine, A., Przybysz, A., Strange, K., & Choe, K. P. (2016). The Skp1 Homologs SKR-1/2 Are Required for the *Caenorhabditis elegans* SKN-1

- Antioxidant/Detoxification Response Independently of p38 MAPK. *PLoS Genetics*, 12(10), 1–30. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006361>
- Xavier, A. A. O., & Pérez-Gálvez, A. (2016). Carotenoids as a Source of Antioxidants in the Diet. In C. Stange (Ed.), *Carotenoids in Nature* (Vol. 79, pp. 359–375). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7_14
- Yahia, E. M., Gutiérrez-Orozco, F., & Arvizu-de Leon, C. (2011). Phytochemical and antioxidant characterization of mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) fruit. *Food Research International*, 44(7), 2175–2181. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.029>
- Yazaki, K., Yoshikoshi, C., Oshiro, S., & Yanase, S. (2011). Supplemental Cellular Protection by a Carotenoid Extends Lifespan via Ins/IGF-1 Signaling in *Caenorhabditis elegans*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2011/596240>
- Ye, Y., Gu, Q., & Sun, X. (2020). Potential of *Caenorhabditis elegans* as an antiaging evaluation model for dietary phytochemicals: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, n/a(n/a). <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12654>
- Yoon, D., Lee, M.-H., & Cha, D. (2018). Measurement of Intracellular ROS in *Caenorhabditis elegans* Using 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein Diacetate. *BIO-PROTOCOL*, 8(6). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2774>
- Yoon, G.-A., Yeum, K.-J., Cho, Y.-S., Chen, C.-Y. O., Tang, G., Blumberg, J. B., Russell, R. M., Yoon, S., & Lee-Kim, Y. C. (2012). Carotenoids and total phenolic contents

- in plant foods commonly consumed in Korea. *Nutrition Research and Practice*, 6(6), 481. <https://doi.org/10.4162/nrp.2012.6.6.481>
- You, J. S., Jeon, S., Byun, Y. J., Koo, S., & Choi, S. S. (2015). Enhanced biological activity of carotenoids stabilized by phenyl groups. *Food Chemistry*, 177, 339–345. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.062>
- Yue, Y., Shen, P., Xu, Y., & Park, Y. (2019). *P*-Coumaric acid improves oxidative and osmosis stress responses in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1190–1197. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9288>
- Zhang, J., Xue, X., Yang, Y., Ma, W., Han, Y., & Qin, X. (2018). Multiple biological defects caused by calycosin-7-O- β -d-glucoside in the nematode *Caenorhabditis elegans* are associated with the activation of oxidative damage. *Journal of Applied Toxicology*, 38(6), 801–809. <https://doi.org/10.1002/jat.3588>
- Zhou, K. I., Pincus, Z., & Slack, F. J. (2011). Longevity and stress in *Caenorhabditis elegans*. *Aging*, 3(8), 733–753.

10. EVIDENCIAS

Producción de artículos

Artículos aceptados

Artículo de revisión Revista TSIA 2018

González-Peña, M. A., Lozada-Ramírez, J. D., Toxqui, L., & Ortega-Regules, A. E. (2018). Los beneficios del consumo de carotenoides. *TSIA Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 12, 30–42.

Los beneficios del consumo de carotenoides

Marco Antonio González Peña*, José Daniel Lozada Ramírez**, Laura Toxqui Abascal*** y Ana Eugenia Ortega Regules****

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla

***Decanatura de Ciencias, Universidad de las Américas Puebla*

****Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de las Américas Puebla*

Ex hacienda Sta. Catarina Mártir, C.P. 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México.

Artículo para coloquio UDLAP 2019

González-Peña, M. A., Lozada-Ramírez, J. D., & Ortega-Regules, A. E. (2020). Trolox Protection against Oxidative Stress in *Caenorhabditis elegans*. In S. Picazo-Vela & L. R. Hernández (Eds.), *Technology, Science and Culture—A Global Vision, Volume II* (1st ed., pp. 73–82). InTech. <https://www.intechopen.com/books/technology-science-and-culture-a-global-vision-volume-ii/technology-science-and-culture-a-global-vision-volume-ii>

Chapter

Trolox Protection against Oxidative Stress in *Caenorhabditis elegans*

Marco Antonio González-Peña,

José Daniel Lozada-Ramírez and Ana Eugenia Ortega-Regules

Artículo para congreso AMIDIQ 2019

Da Silva Gabriela-Paris, M. J., González-Peña, M. A., Lainez-Cerón, E., Lastra-Vargas, L., & Jiménez-Munguía, M. T. (2020). Evaluación de las propiedades fisicoquímicas del vino tinto secado por aspersión. *Avances En Ingeniería Química*, 1(1), 415–420.



Artículo de investigación 2021

González-Peña, M. A., Lozada-Ramírez, J. D., & Ortega-Regules, A. E. (2021). Antioxidant activities of spray-dried carotenoids using maltodextrin-Arabic gum as wall materials. *Bulletin of the National Research Centre*, 45(58): 1–11. <https://doi.org/10.1186/s42269-021-00515-z>



Artículo de investigación 2021

González-Peña, M. A., Lozada-Ramírez, J. D., & Ortega-Regules, A. E. (2021). Carotenoids from mamey (*Pouteria sapota*) and carrot (*Daucus carota*) increase the oxidative stress

resistance of *Caenorhabditis elegans*. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 26:100989.

<https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.100989>



Biochemistry and Biophysics Reports

Volume 26, July 2021, 100989



Carotenoids from mamey (*Pouteria sapota*) and carrot (*Daucus carota*) increase the oxidative stress resistance of *Caenorhabditis elegans*

Marco Antonio González-Peña ^a, José Daniel Lozada-Ramírez ^b, Ana Eugenia Ortega-Regules ^c

Artículos pendientes

Artículo de revisión de carotenoides

González-Peña, M. A., Lozada-Ramírez, J. D., & Ortega-Regules, A. E. (n.d.). Chemistry, Occurrence, Properties, Applications, and Encapsulation of Carotenoids—A Review.

Chemistry, Occurrence, Properties, Applications, and Encapsulation of Carotenoids—A

Review

Marco Antonio González-Peña¹, José Daniel Lozada-Ramírez² and Ana Eugenia Ortega-Regules^{1*}

¹ Department of Environmental, Food and Chemical Engineering, Universidad de las Américas Puebla, Santa Catarina Mártir S/N, Cholula, Puebla 72810, Mexico. ORCID [0000-0003-3497-966X](https://orcid.org/0000-0003-3497-966X)

² Department of Chemical and Biological Sciences, Universidad de las Américas Puebla, Santa Catarina Mártir S/N, Cholula, Puebla 72810, Mexico. ORCID

¹ Department of Health Sciences, Universidad de las Américas Puebla, Santa Catarina Mártir S/N, Cholula, Puebla 72810, Mexico. ORCID

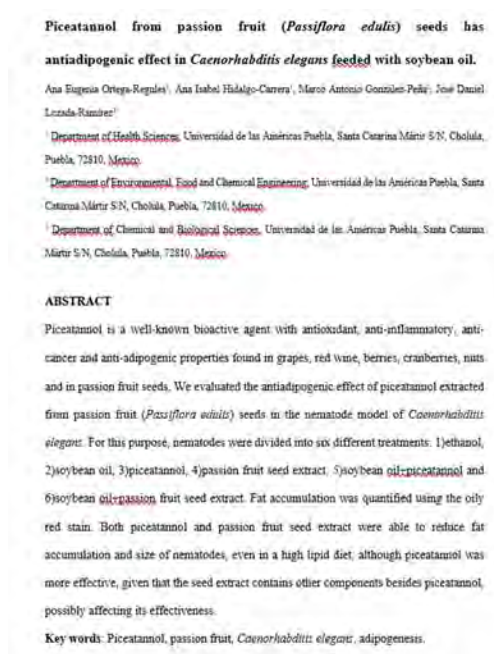
* Corresponding author. Email: ana.ortega@udlap.mx

Abstract

Carotenoids are natural lipophilic pigments and antioxidants that are present in many fruits and vegetables. The consumption of carotenoids is correlated with positive health effects and a decreased risk of several chronic diseases. Provitamin A carotenoids (β -carotene, α -carotene, γ -carotene, and β -cryptoxanthin) are essential for the development and maintenance of sight. β -carotene, α -carotene, zeaxanthin, β -cryptoxanthin, lutein, and lycopene have high antioxidant activity and promote free radical scavenging, which helps protect against chronic diseases. However, carotenoids are chemically unstable and prone to oxidation in the presence of light, heat, oxygen, acids, and metal ions. The use of carotenoids in the food industry is limited due to their poor solubility in water, bioavailability, and quick release. Encapsulation techniques, such as microencapsulation, nanoencapsulation, and supercritical encapsulation, are used to overcome these problems. The objective of this paper is to describe the characteristics and potential health benefits of carotenoids and advances in encapsulation techniques for protecting and enhancing their solubility or bioavailability.

Artículo de piceatannol

Ortega-Regules, A. E., Hidalgo-Carrera, A. I., González-Peña, M. A., & Lozada-Ramírez, J. D. (n.d.). Piceatannol from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds has antiadipogenic effect in *Caenorhabditis elegans* fed with soybean oil.



Artículo de nanopartículas de antocianinas

Ortega-Regules, A. E., González-Peña, M. A., Guerrero-Moras, M. C., Silva-Pereira, T. S., Jiménez-Garduño, A. M., & Lozada-Ramírez, J. D. (n.d.). Anthocyanins from coffee husks: Extraction, stabilization with ZnO nanoparticles, and evaluation of the *in vivo* antioxidant activity.

Anthocyanins from coffee husks: extraction, stabilization with ZnO nanoparticles, and evaluation of the *in vivo* antioxidant.

Ana Eugenia Ortega-Ragales¹, Marco Antonio González Peña¹, María Cristina Cuervo-Mera¹, Tala Salazar Silva-Peñate¹, Aura Mabel Jiménez-Garduño¹, José Daniel Lucado-Ramírez^{1*}

¹Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de las Américas Puebla, 72810, San Andrés Cholula, Puebla México. *E-mail: ans.cuervo@udlap.mx

²Departamento de Ingeniería Química, Aluminio y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, 72810, San Andrés Cholula, Puebla México.

³Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad de las Américas Puebla, 72810, San Andrés Cholula, Puebla México. *E-mail: jose.lucado@udlap.mx

Abstract

Anthocyanins (ACNs) are natural pigments whose colors range from red to purple and blue. However, ACNs have low stability and are sensitive to all type of changes, such as pH, temperature, light, enzymes, and oxygen. Nanoparticles (NPs) can be used as bio-encapsulant agents for ACNs, preventing their degradation and improving their bioavailability. Thus, the main objective of this study was to evaluate the stability of the ACNs extracted from coffee (*Coffea arabica*) husks, using three different extracting agents (ethanol, methanol, and water) and stabilized through conjugation with zinc oxide (ZnO) NPs. The ACNs extracts were mainly composed of cyanidin-3-rutinoside (89%). The total phenolic compounds for the fresh ACNs extracts were 460 ± 8 (methanol extract), 373 ± 5 (ethanol extract), and 369 ± 2.5 (water extract) mg GAE/g, and for the ZnO NPs attached to ACNs were 452 ± 2.2 (methanol extract), 336 ± 0.36 (ethanol extract), and 354 ± 7.3 (water extract) mg GAE/g after 12 weeks of storage. ACNs, in extract and in ZnO NPs, showed a protective effect versus oxidative stress and increased the survival rate in *Caenorhabditis elegans*.

Participación en congresos

Presentación de póster en Coloquio UDLAP 2019: 2º Coloquio Tecnología, Ciencia y Cultura: Una Visión Global.



Universidad de las Américas Puebla
Otorga la presente constancia

al: **Marco Antonio González Peña**

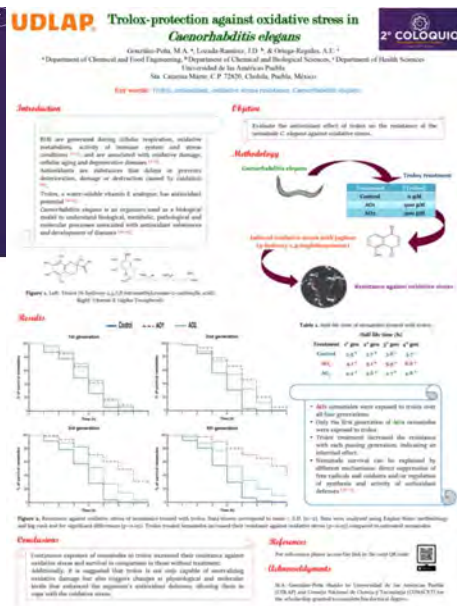
Por su asistencia al
2º Coloquio Tecnología, Ciencia y Cultura: Una Visión Global



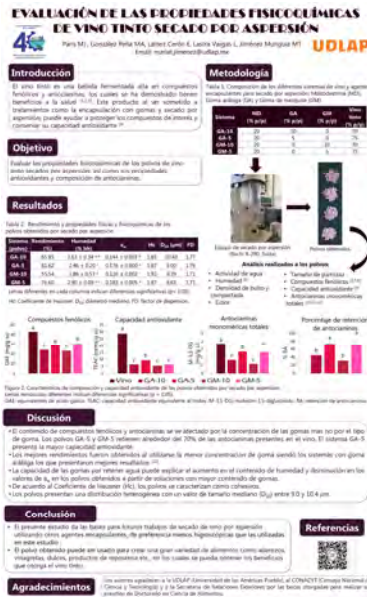
Dr. Sergio Picazo Vela
Decano de Investigación
y Posgrado

San Andrés Cholula, Puebla,
Septiembre 6, 2019

Dr. Luis Ricardo Hernández
Director de Investigación
y Posgrado



Presentación de póster en congreso AMIDIQ 2019: Retos de la ingeniería química para el desarrollo nacional.



Asistencia a Coloquio UDLAP 2020: 3° Coloquio Tecnología, Ciencia y Cultura: Una Visión Global.



Envío de resumen para póster en XLII Encuentro Nacional de la AMIDIQ 2021.

