



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

**EMULSIONES COMO COADYUVANTES DE LA ABSORCIÓN
Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CELULAR DE COMPUESTOS
BIOACTIVOS DE CÁSCARA DE MANGO cv. ATAULFO**

Por:

Jacqueline Ruiz Canizales

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

DOCTORA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Jacqueline Ruiz Canizales, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Doctora en Ciencias.



Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar
Director de Tesis



Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala
Integrante del comité de tesis



Dr. Tomas Jesús Madera Santana
Integrante del comité de tesis



Dr. Humberto Francisco Astiazarán García
Integrante del comité de tesis



Dra. Rosario Maribel Roblés Sánchez
Integrante del comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Emulsiones como Coadyuvantes de la Absorción y Actividad Antioxidante Celular de Compuestos Bioactivos de Cáscara de Mango cv Ataulfo” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Jacqueline Ruiz Canizales, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

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



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



Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para los estudios de Doctorado en Ciencias.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C), y a la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal (CTAOV), por todo el apoyo académico y de infraestructura.

A mi director de tesis, el Dr. Gustavo González Aguilar, por aceptarme en su grupo de trabajo, por todo su apoyo, atención, y paciencia. Gracias por formar parte de esta etapa de crecimiento académico y personal.

A los miembros del comité de tesis, Dr. Tomás Madera Santana, Dr. Fernando Ayala Zavala, Dr. Humberto Astiazarán García, Dra. Maribel Robles Sánchez, por toda la asesoría brindada, las sugerencias acertadas, la confianza y su buena disposición en todo momento durante la realización del proyecto.

A la Q.B. Mónica Villegas, por ser el soporte de todos los estudiantes que pasamos por el laboratorio, por toda la comprensión, paciencia, risas y afecto que tanto la caracterizan, este proyecto no se habría logrado sin todo su apoyo. ¡Muchas gracias!

A la Dra. Gabriela Ramos Clamont, responsable del Laboratorio de Bioquímica de Proteínas y Glicanos, de la Coordinación de Ciencia de los Alimentos del CIAD, en especial a la Q.B. Rosa Armenta, por todas las facilidades técnicas brindadas durante el desarrollo del proyecto.

Al Dr. Ramón Robles Zepeda, responsable del Laboratorio de Productos Naturales de la Universidad de Sonora, por el apoyo de infraestructura, técnico y académico durante la etapa final del proyecto. Agradecimiento especial a Salvador Meneses, estudiante de Doctorado, por todo el apoyo y capacitación brindada en técnicas de cultivo celular.

A la Q.B. Bertha Pacheco y el Dr. Iván Anduro, de la Coordinación de Nutrición del CIAD, por el apoyo en técnicas de microscopía y biología molecular.

Al Dr. Jorge Welti Chanes, de la Escuela de Ciencias e Ingeniería, la Dra. Marilena Antunes, y Dra. Perla Ramos, del Departamento de Bioingeniería, del Instituto de Estudios Superiores de Monterrey, por todo el apoyo y facilidades brindadas durante mi estancia académica.

A mis compañeros de Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales, Alejandra, Ramón,

Tavo, Shain, Beatriz, Dafne, Diana, Nill, Alejandro, Clarisa, Perlette y Rosario. Al Dr. Abraham Domínguez, Dra. Norma Salazar y Dra. Xóchitl Martínez, por siempre apoyarnos cuando más lo necesitamos.

A mi amiga Carmen Valdez, por siempre estar ahí en las altas y bajas a pesar de la distancia, por siempre creer en mí.

A mis padres, Dalia Canizales y Martin Ruiz, y hermano Alejandro Ruiz, por ser ejemplo de vida, por todo el apoyo, comprensión y amor incondicional.

A mi amigo y esposo, Ignacio Valenzuela, por siempre estar ahí, en las buenas y malas, por siempre tener palabras de aliento y dar tu opinión tan directa y clara, por todas las risas, por hacer este viaje lo más grato posible y motivarme a ser mejor persona.

DEDICATORIA

A mi madre, Dalía Canizales, por ser el ejemplo de persona que algún día espero llegar a ser. El mejor regalo que me ha dado la vida eres tú, te quiero mucho.

A mi esposo, Ignacio Valenzuela, por todo tu amor, paciencia, buen humor y comprensión. Gracias por acompañarme en este viaje.

“La educación es el arma más poderosa que puedes usar para cambiar el mundo”.

Nelson Mandela.

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	6
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE CUADROS	10
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUCCIÓN	13
2. ANTECEDENTES	16
2.1. Prevención de Enfermedades Crónicas No Transmisibles	16
2.2. Propiedades Biológicas de Compuestos Bioactivos de Cáscara de Mango cv. Ataulfo... 18	
2.3. Bioaccesibilidad y Biodisponibilidad de Compuestos Bioactivos.....	21
2.4. Encapsulación de Compuestos Bioactivos en Emulsiones.....	24
2.5. Liberación, Absorción y Actividad Biológica de Compuestos Bioactivos Encapsulados en Emulsiones del Tipo Aceite en Agua.....	30
3. HIPÓTESIS	33
4. OBJETIVOS	34
5. MATERIALES Y MÉTODOS	35
5.1. Materiales y Reactivos	35
5.2. Material Vegetal.....	35
5.3. Caracterización Química de la Cáscara de Mango cv. Ataulfo	36
5.3.1. Extracción e Identificación de Compuestos Fenólicos	36
5.3.2. Extracción e Identificación de Carotenoides.....	37
5.3.3. Capacidad Antioxidante de la Cáscara de Mango cv. Ataulfo.....	38
5.4. Encapsulación de Compuestos Bioactivos de Cáscara de Mango cv. Ataulfo en Emulsiones	38
5.4.1. Determinación de Carotenoides Totales en las Emulsiones	39
5.4.2. Capacidad Antioxidante de las Emulsiones	39
5.4.3. Caracterización Física de las Emulsiones	40
5.5. Evaluación de la Estabilidad de las Emulsiones bajo Condiciones de Almacenamiento Controlado	40
5.6. Bioaccesibilidad de Compuestos Bioactivos Encapsulados en Emulsiones bajo Condiciones de Digestión Simulada.....	40
5.7. Viabilidad Celular de las Emulsiones	41
5.8. Capacidad Antioxidante Celular de las Emulsiones	42
5.9. Consumo Celular de las Emulsiones.....	42

CONTENIDO (continuación)

5.10. Análisis Estadístico	42
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
6.1. Caracterización de la Cáscara de Mango cv. Ataulfo	44
6.2. Caracterización de las Emulsiones del Tipo Aceite-en-Agua	49
6.3. Estabilidad de las Emulsiones bajo Almacenamiento Controlado	52
6.4. Digestión Simulada de Emulsiones del Tipo Aceite en Agua Adicionadas con Extracto de Cáscara de Mango cv. Ataulfo.....	57
6.5. Viabilidad Celular de las Emulsiones	62
6.6. Capacidad Antioxidante de las Emulsiones.....	64
6.7. Consumo Celular de las Emulsiones.....	62
7. CONCLUSIONES	69
8. RECOMENDACIONES	70
9. REFERENCIAS	71

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Aprovechamiento de subproductos generados durante el procesamiento del mango cv. Ataulfo para la obtención de ingredientes funcionales.	11
2	Bioaccesibilidad y biodisponibilidad de compuestos bioactivos de cáscara de mango cv. Ataulfo durante el proceso de digestión gastrointestinal.	14
3	Fenómenos de inestabilidad de emulsiones del tipo aceite en agua	18
4	Interacción de compuestos bioactivos con la interfase agua-aceite en emulsiones del tipo aceite en agua.	22
5	Posibles mecanismos de absorción intestinal de emulsiones del tipo aceite-en-agua cargadas con β -caroteno.	24
6	Identificación de compuestos fenólicos en cáscara de mango cv. Ataulfo mediante cromatografía de líquidos (HPLC-DAD).	35
7	Identificación de carotenoides en cáscara de mango cv. Ataulfo mediante cromatografía de líquidos (HPLC-DAD).	37
8	Cambios en el contenido de carotenoides y capacidad antioxidante mediante los ensayos de TEAC y FRAP de las emulsiones al final de ocho semanas de almacenamiento controlado.	43
9	Cambios físicos de las emulsiones durante la digestión simulada.	47
10	Bioaccesibilidad de β -caroteno en las emulsiones bajo condiciones gastrointestinales simuladas.	49
11	Viabilidad celular de emulsiones aplicadas en células normales de retina (ARPE-19).	50
12	Capacidad antioxidante celular de emulsiones evaluada en células normales de retina (ARPE-19).	52
13	Microscopía confocal laser de barrido de células normales de retina (ARPE-19).	54

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Carotenoides presentes en cáscara de mango cv. Ataulfo mediante cromatografía de líquidos (HPLC-DAD).	37
2	Caracterización de las emulsiones cargadas con β -caroteno y adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo.	40
3	Cambios físicos de las emulsiones al final del almacenamiento bajo condiciones de temperatura controlada.	45
4	Cambios en la capacidad antioxidante de las emulsiones sometidas a condiciones de digestión simuladas.	48

RESUMEN

La encapsulación de compuestos lipofílicos, como el β -caroteno, en emulsiones de aceite en agua aumenta su solubilidad, estabilidad y absorción. No obstante, la fase lipídica tiende a oxidarse, requiriendo del uso de antioxidantes para su conservación, los cuales deben de ser seguros para su consumo. El presente estudio, evaluó la adición de compuestos fenólicos (CFs) extraídos de la cáscara de mango cv. Ataulfo en emulsiones cargadas de β -caroteno, determinando la estabilidad, citotoxicidad, capacidad antioxidante y consumo celular. Las emulsiones obtenidas presentaron tamaños entre 240 a 260 nm, con un índice de polidispersión de ≈ 0.30 y potencial zeta de ≈ -30 mV. La adición de CFs de cáscara de mango presentó el menor tamaño de partícula (240 nm) y aumentó 3 y 36x su capacidad antioxidante, según lo medido por los ensayos de FRAP y TEAC, respectivamente. Los CFs de cáscara de mango preservaron la estabilidad de β -caroteno encapsulado durante el almacenamiento a 4, 25 y 40 °C. El ensayo de viabilidad celular evidenció la inocuidad de los componentes de las emulsiones al mantener $\geq 90\%$ de las células normales de retina (ARPE-19) viables. La capacidad antioxidante celular se incrementó 2x cuando se adicionaron CFs de cáscara de mango en las emulsiones, respecto a las emulsiones con β -caroteno. El consumo celular, evaluado mediante microscopía laser confocal de barrido, aumentó $\approx 10\%$ en las emulsiones adicionadas con CFs, en comparación con el Rojo de Nilo en solución. Con base en los resultados obtenidos, la emulsificación de CFs de cáscara de mango cv. Ataulfo podría explotarse para su incorporación en matrices alimentarias y prevenir la oxidación; además de ejercer capacidad antioxidante celular por una mejora en la absorción.

Palabras clave: Subproductos de mango; Compuestos bioactivos; Emulsiones; Estabilidad; Capacidad antioxidante celular; Consumo celular

ABSTRACT

Encapsulating lipophilic compounds, such as β -carotene, in oil-in-water emulsions increases their solubility, stability, and absorption. However, the lipid phase tends to oxidize, requiring the use of antioxidants for its preservation, which must be safe for consumption. The present study evaluated the addition of phenolic compounds (PCs) of mango cv. Ataulfo peel in emulsions loaded with β -carotene, determining their stability, cytotoxicity, cellular antioxidant capacity and cellular uptake. The size of the emulsion ranged from 240 to 260 nm, with a polydispersity index ≈ 0.30 and zeta potential ≈ -30 mV. The addition of mango peel CFs produced the lowest particle size (240 nm), increased its antioxidant activity, as measured by the FRAP and TEAC assays. The addition of mango peel PCs, preserved the stability of encapsulated β -carotene stored at 4, 25 and 40°C. The cell viability assay showed the safety of the emulsion components by keeping $\geq 90\%$ of normal retinal cells (ARPE-19) viable. The cellular antioxidant capacity increased 2x when mango peel PCs were added in the emulsions, with respect to the emulsions with only β -carotene. Cell uptake, evaluated by confocal scanning laser microscopy, increased $\approx 10\%$ in the emulsions added with PCs, compared to Nile Red in solution. Based on the results obtained, the emulsification of PCs of mango peel cv. Ataulfo could be exploited for incorporation into food matrices and prevent oxidation; in addition to exerting cellular antioxidant capacity by improving absorption.

Keywords: Mango by-products; Bioactive compounds; Emulsions; Storage stability; Cellular antioxidant activity; Cellular uptake

1. INTRODUCCIÓN

Los carotenoides son pigmentos naturales que dan coloración amarilla a naranja a diversas flores, frutas y hortalizas, los cuales presentan diferentes propiedades biológicas como la actividad de provitamina A. De todos los compuestos del tipo carotenoide, el β -caroteno es el compuesto que tiene mayor actividad provitamina A; además, de atribuírsele mejoras en problemas de visión, y efecto inmunomodulador (Toti *et al.*, 2018). Sin embargo, la baja hidrosolubilidad y absorción, son los principales factores limitantes para su aplicación industrial (Gonçalves *et al.*, 2016). La encapsulación en emulsiones es una estrategia para aumentar la dispersión en agua, mantener la estabilidad en almacenamiento y mejorar la absorción intestinal de moléculas bioactivas (Ruiz-Canizales *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2015).

Las emulsiones del tipo aceite-en-agua han sido utilizadas para prevenir la degradación de curcumina (Sari *et al.*, 2015), catequinas (Gadkari *et al.*, 2017) y licopeno (Ha *et al.*, 2015), bajo condiciones de estrés como alta temperatura, pH y potencial iónico; además, de mejorar la bioaccesibilidad y biodisponibilidad. Asimismo, se ha reportado una mejora en el consumo celular de compuestos bioactivos cuando estos son incorporados en emulsiones, como se observó para astaxantina (Shen *et al.*, 2019) y β -caroteno (Lu *et al.*, 2017), aumentando la absorción en 10 y 13 veces, respectivamente, comparado con las moléculas libres. Este comportamiento puede asociarse al tamaño nanométrico y el uso de surfactantes, ya que a menor tamaño de partícula y mayor balance hidrófilo-lipófilo, mayor bioaccesibilidad y consumo celular se ha sido evidenciado en emulsiones con β -caroteno (Lu *et al.*, 2017; Salvia-Trujillo *et al.*, 2019). No obstante, las emulsiones son sistemas que naturalmente tienden a separarse, reducir su interfase e incrementar la colisión de partículas, promoviendo la oxidación de lípidos y liberando al compuesto bioactivo.

La adición de surfactantes puede retardar los fenómenos de inestabilidad como el cremado, coalescencia y floculación al formar películas finas y viscoelásticas en la interfase aceite-agua (Wu *et al.*, 2017), sin embargo, la mayoría de ellos pueden ser tóxicos para consumo debido a la elevada concentración necesaria para lograr su efecto estabilizador (Kaur y Mehta, 2017). Una alternativa para coadyuvar la estabilidad de emulsiones, manteniendo niveles $\leq 2\%$ de surfactantes, puede ser

la adición de antioxidantes naturales provenientes de subproductos agroindustriales como la cáscara de mango cv. Ataulfo. La adición de antioxidantes naturales de fuentes vegetales como aditivos en emulsiones muestra características interesantes como extensión de la vida útil e incremento de la biodisponibilidad de compuestos lipofílicos como los carotenoides (Liu *et al.*, 2016; Salvia-Trujillo y McClements, 2016).

Los compuestos fenólicos al mostrar carácter anfipático por la presencia de anillos aromáticos y grupos hidroxilo en su estructura, permite su posicionamiento en la interfase aceite-agua, lo cual incrementa la fuerza interfacial, previniendo la colisión de partículas y la oxidación de lípidos por moléculas prooxidantes presentes en el medio (Cheng *et al.*, 2019; Mohanan *et al.*, 2018). Di Mattia *et al.* (2010) observaron que la tensión superficial de emulsiones de aceite de oliva aumentó al incorporar quercetina en concentraciones bajas (10^{-5} y 10^{-4} M), lo cual podría asociarse con la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la quercetina con el grupo polar de la fase lipídica, incrementando las fuerzas repulsivas entre las fases acuosa y lipídica. Por otro lado, se mostró un efecto protector contra la oxidación de lípidos al reducir la formación de malondialdehído por medio de la donación de hidrógenos de los grupos hidroxilo de la quercetina. Resultados similares fueron reportados por Liu *et al.* (2016) para una bebida tipo emulsión con aceite de nuez. Los autores observaron que, al adicionar antioxidantes hidrofílicos de té, se redujo la formación de peróxidos y malondialdehído, similar al antioxidante sintético BHT (butilhidroxitolueno), ambos a la concentración de 0.04%. Además, el perfil de ácidos grasos mostró que al adicionar los antioxidantes de té, la oxidación térmica de los ácidos grasos poliinsaturados se redujo significativamente, durante los 25 días de evaluación a 62°C, en comparación con el tratamiento control. En este sentido, la cáscara de mango cv. Ataulfo es un subproducto agroindustrial del cual pueden extraerse compuestos bioactivos como son mangiferina, quercetina y galotaninos (Pacheco-Ordaz *et al.*, 2018; Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2013), los cuales tienen potencial biológico como antioxidantes, antiproliferativos (Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2018), para ser incorporados en alimentos funcionales y productos nutraceuticos.

Debido a lo anterior, el objetivo del presente estudio fue extraer e incorporar compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo, en emulsiones del tipo aceite-en-agua cargadas con β -caroteno para mejorar la estabilidad en almacenamiento, bioaccesibilidad, capacidad antioxidante y

consumo celular. La información generada podría ser de utilidad para la industria alimenticia y nutracéutica, al explotar el uso de subproductos agroindustriales como la cáscara de mango para la obtención de compuestos bioactivos y su posterior aplicación durante el diseño de alimentos funcionales y productos nutracéuticos.

2. ANTECEDENTES

2.1. Prevención de Enfermedades Crónicas No Transmisibles

En México, el Sistema Epidemiológico y Estadístico de las Defunciones, reportó que durante el periodo de 2010-2017, las enfermedades cardiovasculares, diabetes y cáncer, fueron las primeras causas de muerte (SSA, 2018). Por lo cual, organizaciones Internacionales como la Organización Mundial de la Salud y Nacionales como la Secretaría de Salud, establecieron recomendaciones para la población con el fin de reducir los factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), como son el consumo de tabaco, inactividad física y dieta alta en grasa y azúcares refinados. La alta incidencia de mortalidad por ECNT, ha alertado a la población, promoviendo una mayor ingesta de alimentos de origen vegetal, que además de brindar nutrimentos esenciales como proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales, proveen compuestos con actividad biológica como son los compuestos fenólicos, carotenoides, terpenoides, fitoesteroles, entre otros (Carnauba *et al.*, 2017). Los compuestos con actividad biológica hacen referencia a aquellas moléculas presentes en matrices alimentarias de origen vegetal que presentan un beneficio adicional al nutricional cuando este es consumido. Diferentes estudios se han realizado para evaluar el potencial biológico de estas moléculas como antioxidantes (Quirós-Sauceda *et al.*, 2017), antiinflamatorios (Ambriz-Pérez *et al.*, 2016), antiproliferativos (Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2018), neuroprotectores (Cázares-Camacho *et al.*, 2021), entre otros.

El mango es un fruto proveniente de la familia de las Anacardiáceas, del género *Mangifera* originario de la India e introducido al continente americano por los españoles. El fruto es una drupa carnosa con tonalidades que van del verde al amarillo/anaranjado cuando ya ha madurado. El mango es uno de los frutos tropicales de mayor consumo debido a sus propiedades organolépticas tales como dulzor, aroma, textura y color (Tharanathan *et al.*, 2006; Wall-Medrano *et al.*, 2015). México se coloca como el primer exportador a nivel mundial de este cultivo con una superficie sembrada de 203 mil ha y una producción de 1.9 millones de toneladas con un valor de 8.5 millones de pesos, para el ciclo agrícola de 2018 (SIAP, 2019). Los principales estados productores son

Guerrero, Nayarit y Sinaloa, destacándose el cultivo de las variedades Kent, Keitt, Tommy Atkins, Haden, Manila y Ataulfo (Wall-Medrano *et al.*, 2015). Dentro de las variedades de mango cultivadas en México, el cultivar Ataulfo destaca por ser el de mayor producción e importancia económica. Asimismo, se ha reportado que éste presenta un alto contenido de carotenoides, compuestos fenólicos, vitamina C y capacidad antioxidante, en comparación con otras variedades mexicanas (Manthey y Perkins-Veazie, 2009).

El consumo y procesamiento industrial del mango genera una gran cantidad de subproductos como son el hueso y cáscara, los cuales representan del 35-60% del peso del fruto dependiendo del cultivar. Diferentes reportes han evidenciado el potencial de estos residuos agroindustriales para la obtención de fibra (Blancas-Benitez *et al.*, 2015), pigmentos (de Ancos *et al.*, 2018) y compuestos bioactivos (Pacheco-Ordaz *et al.*, 2018). Particularmente, la cáscara de mango es considerada una fuente importante para la obtención de carotenoides y compuestos fenólicos, los cuales pueden ser utilizados para el diseño de alimentos funcionales y productos nutraceuticos (Figura 1). Pacheco-Ordaz *et al.* (2018) realizaron la extracción de compuestos fenólicos libres y ligados de la cáscara de mango cv. Ataulfo, encontrando dímeros de ácido gálico, ácido *p*-cumárico, quercetina, como los de mayor concentración en la fracción ligada y mangiferina en la fracción libre. También, se ha reportado un alto contenido de galotaninos, siendo el pentagalolil-glucósido como el principal de estos compuestos (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2013). Asimismo, la cáscara de mango cv. Ataulfo representa una fuente potencial para la extracción de carotenoides, principalmente β -caroteno, los cuales además de dar coloración a la cáscara, han sido relacionados con la regulación del sistema inmune, prevención de la ceguera nocturna, enfermedades de la piel, entre otros (Saini *et al.*, 2015).

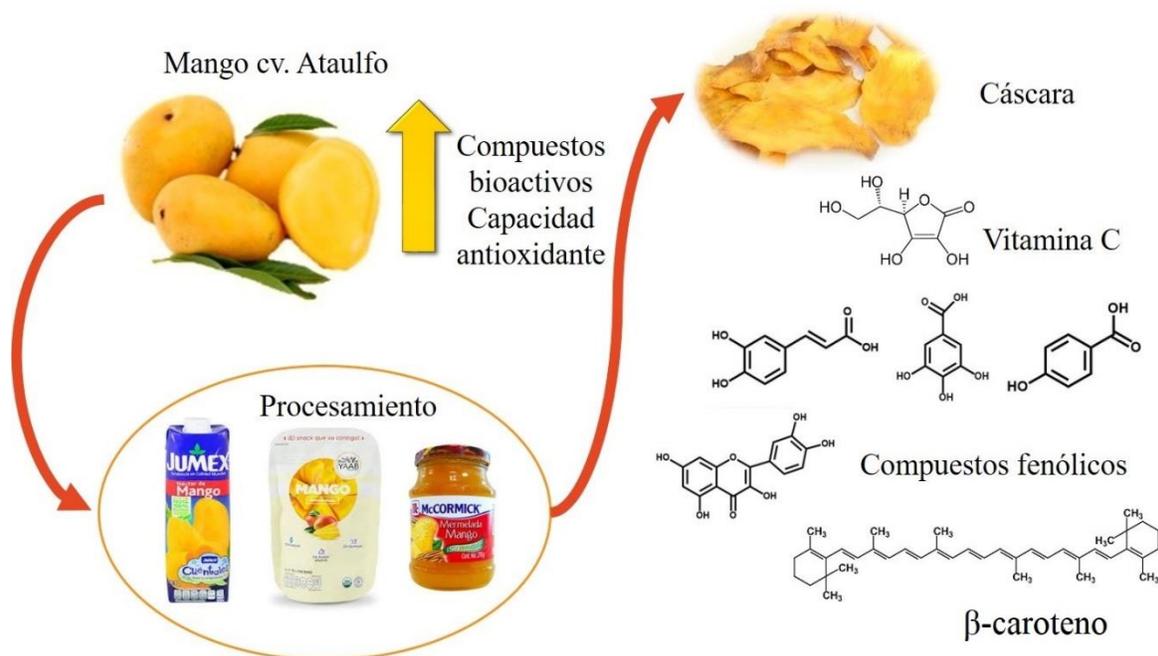


Figura 1. Aprovechamiento de subproductos generados durante el procesamiento del mango cv. Ataulfo para la obtención de ingredientes funcionales.

2.2. Propiedades Biológicas de Compuestos Bioactivos de Cáscara de Mango cv. Ataulfo

Los compuestos fenólicos son productos del metabolismo secundario de las plantas que juegan un papel importante en los procesos de reproducción y crecimiento, protección contra agentes adversos (patógenos, radiación, alta temperatura), además de contribuir en las propiedades sensoriales de frutas y vegetales, tales como el color y astringencia (Balasundram *et al.*, 2006; Zapata *et al.*, 2013). Son sintetizados por dos vías, la ruta del ácido shiquímico y la ruta del acetato. Con base en su estructura, los compuestos fenólicos se pueden clasificar en ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos (Balasundram *et al.*, 2006; Manach *et al.*, 2004). La cáscara de mango cv. Ataulfo es fuente potencial para la extracción de ácidos fenólicos como el ácido gálico, ácido digálico, ácido *p*-cumárico, flavonoides como quercetina, catequina y xantonas como la mangiferina, cuyo consumo regular ha sido asociado con el mantenimiento y mejora de la salud, debido a su potencial biológico como antioxidantes, antiinflamatorios, antiproliferativos, entre otros (Pacheco-Ordaz *et al.*, 2018; Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2018; Wall-Medrano *et al.*, 2015).

Zhang y Wang (2018) observaron una disminución de la proliferación de células de cáncer de tiroides al aplicar mangiferina en concentraciones de 2 y 4 μM , esto atribuido a la reducción en la expresión del antígeno nuclear de células en proliferación (PCNA), el cual está involucrado en el proceso de síntesis de ADN. Asimismo, se obtuvieron valores de IC_{50} de 49.85 y 65.27 μM , para reducir la proliferación celular de las líneas de cáncer de ovario A2780 y ES-2, respectivamente. Mientras que la administración de 60 mg/kg en ratas con cáncer de ovario, mostraron menor proliferación tumoral debido a la regulación en la expresión de las metaloproteinasas MMP2 y MMP9, asociadas con el desarrollo de tumores y metástasis (Zeng *et al.*, 2020).

Gandhi *et al.* (2014) observaron que la administración de ácido gálico (20 mg/kg) a ratas diabéticas disminuía significativamente el nivel de glucosa en plasma y la grasa corporal, esto debido a la regulación de la actividad de las enzimas glucosa-6-fosfatasa, fructosa-1,6-bisfosfatasa, hexoquinasa, una sobreexpresión proteica de GLUT 1, GLUT4 y PI3K, así como del mRNA de p-Akt y PPAR γ . También se ha demostrado que los ácidos gálico y *p*-cumárico promueven la actividad de enzimas antioxidantes, tales como la catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión S-transferasa en ratas con diabetes tipo 2 (Abdel-Moneim *et al.*, 2017).

Por otro lado, los galotaninos de mango cv. Keitt mostraron actividad antiobesógena mediante la inhibición de la adipogénesis al disminuir la expresión de moléculas clave como C/EBP α , PPAR γ y FAS, en un 59.2, 49.2 y 43.1%. La expresión de FAS y FABP4 están relacionadas con el desarrollo de obesidad, resistencia a la insulina y aterosclerosis, por lo cual, la reducción en la expresión de estas enzimas mediada por los galotaninos de mango, evidencian el potencial que tienen para prevenir el desarrollo de estas enfermedades (Fang *et al.*, 2018). Asimismo, el galotanino, pentagalolil-glucósido, presente en cáscara de mango fue efectivo para inhibir de forma no competitiva a la lipasa pancreática a un IC_{50} de 64.6 μM . La presencia de grupos hidroxilo en la molécula del pentagalolil-glucósido promueve la interacción no covalente con residuos polares de lipasa y colipasa, lo cual se asocia con una afectación de la conformación activa de la lipasa y cambios en su estructura terciaria y actividad enzimática (Moreno-Córdova *et al.*, 2020).

Cázares-Camacho *et al.* (2021) adicionaron pulpa y cáscara de mango cv. Ataulfo en la dieta estándar de ratas macho Wistar con diabetes inducido por estreptozotocina para evaluar el potencial

neuroprotector. Los autores observaron un incremento significativo en la enzima superoxidasas 2 en la corteza cerebral, la cual es una región fundamental para las funciones cognitivas e intelectuales. Los resultados son indicio del potencial que presenta el consumo de matrices vegetales para mitigar el deterioro sistémico que surge tras el padecimiento de enfermedades crónicas no transmisibles como lo es la diabetes.

Los carotenoides son pigmentos liposolubles que dan la coloración roja, naranja y amarilla a una gran variedad de frutas, flores y hojas. Estos compuestos son sintetizados por la vía del fosfato de metileritritol (MEP) en los plástidos de la mayoría de las plantas superiores y tienen diferentes funciones como fotoprotectores, precursores de fitohormonas como el ácido abscísico, atractivo visual para insectos y aves que participan en la polinización, entre otros (Cazzonelli, 2011; Stahl y Sies, 2003). Los carotenoides se clasifican en dos grupos, las xantofilas como la β -criptoxantina, luteína y zeaxantina, y los carotenos como el α -caroteno, β -caroteno y licopeno. En mango, el β -caroteno es el carenoide mayoritario responsable de la coloración amarilla en la pulpa y cáscara. El consumo de estos compuestos se ha asociado con mejoras a la salud debido a su capacidad antioxidante, antiinflamatoria, actividad provitamina A (Langi *et al.*, 2018).

Latief *et al.* (2018) observaron que la suplementación con β -caroteno en ratas tratadas con nitrosodietilamina durante dos semanas, redujo la fibrosis hepática mediante la reducción de malondialdehído hepático en un 35%, asociado a la peroxidación lipídica. Además, la actividad de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa y catalasa, y de metabolismo de xenobióticos como glutatión-S-transferasa, aumentaron significativamente, en comparación con el grupo sin suplementación. Este efecto protector del β -caroteno podría atribuirse a la inhibición de la expresión de α -actina 2 (α -SMA) y ciclooxigenasa 2 (COX-2), actuando como agente antiinflamatorio para prevenir la progresión de la fibrosis hepática.

El consumo de una bebida enriquecida con β -criptoxantina durante 12 semanas, mostró una reducción significativa del peso y la grasa subcutánea en adultos japoneses pre-obesos a las 8 y 12 semanas de evaluación (Iwata *et al.*, 2018). Los autores mencionan que el potencial para reducir la grasa visceral podría estar asociado a la supresión de la actividad de PPAR γ en los adipocitos. Por otro lado, se evidenció que la suplementación con 2.5 mg/kg de β -criptoxantina en una dieta

alta en grasa, evaluada en un modelo murino por 12 semanas, logró reducir el peso corporal, contenido de grasa visceral, lípidos séricos, mientras que la actividad de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa aumentó significativamente, en comparación con el grupo sin suplementación. Asimismo, se midieron factores de transcripción como factor nuclear kappa B (NF- κ B) y factor nuclear eritroide-2 (Nrf2), lo cual se podría relacionar con el aumento de la actividad antioxidante endógena y la prevención de síndrome metabólico (Sahin *et al.*, 2017). El uso de subproductos agroindustriales como la cáscara de mango cv. Ataulfo, resulta una alternativa viable para la extracción de compuestos con actividad biológica, tales como los compuestos fenólicos y carotenoides. La incorporación de compuestos bioactivos como ingredientes funcionales de matrices alimentarias, además de brindar beneficios a la salud, podrían mejorar las propiedades fisicoquímicas del alimento al brindar protección contra la oxidación, cambios de color, separación de componentes, entre otros. Estas características podrían potenciar su uso como aditivos y ser usados en combinación o sustituir a los aditivos sintéticos.

2.3. Bioaccesibilidad y Biodisponibilidad de Compuestos Bioactivos

Para que los compuestos bioactivos puedan tener un impacto positivo en la salud, primero deben ser liberados de la matriz alimentaria (bioaccesibles) y posteriormente ser absorbidos para pasar a circulación sistémica (biodisponibles) (Figura 2). Sin embargo, este proceso es complejo y se ve afectado por la presencia de otros componentes como carbohidratos, proteínas, lípidos y fibra, que pueden interactuar molecularmente con los compuestos bioactivos. Asimismo, su biodisponibilidad se puede ver afectada con base en la forma en la que se encuentran estos metabolitos, es decir, si están formando polímeros, están glucosilados, metilados o esterificados (Quirós-Sauceda *et al.*, 2011; Pandareesh *et al.*, 2015; Seiquer *et al.*, 2015).

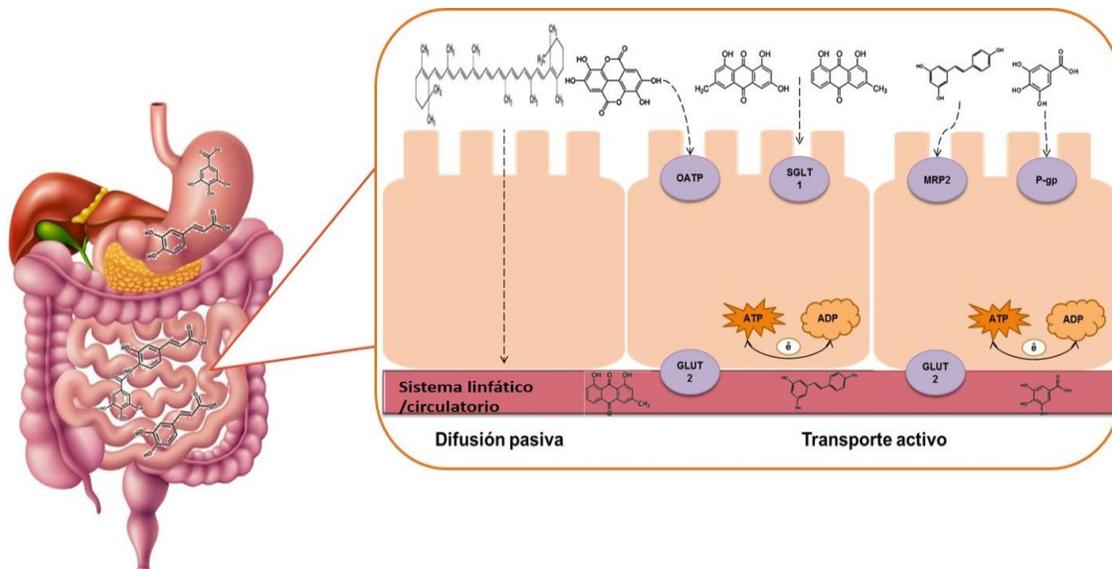


Figura 2. Posibles mecanismos de la absorción de compuestos bioactivos de cáscara de mango cv. Ataulfo durante el proceso de digestión gastrointestinal. Los compuestos bioactivos hidrosolubles que logran llegar al intestino pueden ser absorbidos por enzimas presentes en la membrana de los enterocitos que facilitan su transporte al interior de la célula; mientras que los compuestos lipofílicos pueden absorberse por difusión pasiva al interactuar con los componentes de la membrana lipídica. Una vez absorbidos pueden ser metabolizados por enzimas endógenas para facilitar su transporte hacia torrente sanguíneo/linfático, permitiendo su irrigación hacia los tejidos y órganos. OATP, proteínas transportadoras de aniones orgánicos; SGLT1, proteínas de transporte sodio-glucosa; MRP2, proteína de resistencia a xenobióticos; P-gp, P-glicoproteína; GLUT2, proteína transportadora de glucosa; ATP, adenosín trifosfato; ADP, adenosín difosfato.

Durante la etapa bucal, la masticación promueve la ruptura de las células de la matriz alimentaria y facilita la liberación de los compuestos bioactivos en las etapas posteriores. En estómago, las condiciones ácidas y la presencia de algunas enzimas como la pepsina, facilitan la hidrólisis del alimento y permiten la liberación de los compuestos bioactivos (CBs) débilmente asociados a la matriz alimentaria. Reportes sugieren que en el estómago, pueden absorberse algunos ácidos fenólicos como el ácido gálico, cafeico y *p*-cumárico, y flavonoides como las antocianinas (Fernandes *et al.*, 2014; Palafox-Carlos *et al.*, 2011; Quirós-Sauceda *et al.*, 2011). Mientras que los CBs liposolubles como los carotenoides son incorporados en gotas lipídicas en el estómago para su micelización en intestino delgado y posterior absorción (Toti *et al.*, 2018). Debido a su baja solubilidad, menos del 10% del total de carotenoides presentes en la matriz alimentaria son bioaccesibles y biodisponibles, lo cual se ve afectado por diferentes factores como la naturaleza de la matriz celular, interacción con otros componentes dietarios, concentración de lípidos de la dieta,

entre otros (Estévez-Santiago *et al.*, 2016). El intestino es el lugar donde se lleva a cabo la mayor absorción y paso a circulación sistémica de compuestos bioactivos. Debido a lo anterior, es necesario que las especies conjugadas de CFs deben ser hidrolizadas a su forma aglicona por las enzimas intestinales para su absorción en los enterocitos. La fracción que no se absorbe en intestino delgado, pasa a colon donde la microbiota puede fermentar los restos indigeribles y liberar algunos CFs que pueden llegar a absorberse o brindar un ambiente antioxidante en el colon (Palafox-Carlos *et al.*, 2011; Pandareesh *et al.*, 2015).

Sanz-Buenhombre *et al.* (2016) evaluaron la biodisponibilidad *in vitro* de los CFs de un extracto de uva, identificando las moléculas principales (ácido gálico, elágico y vanílico, miricetina, epicatequina, catequina y quercetina) antes y durante el modelo de digestión *in vitro*. Se observó que los ácidos fenólicos fueron los menos afectados por las condiciones químico-enzimáticas, seguido por los flavonoles, mientras que los flavan-3-oles (epicatequina y catequina) fueron completamente degradados después de la masticación. Al final del modelo, solo los ácidos fenólicos se identificaron en la fracción bioaccesible con un 81.96, 62.75 y 10.24% para el ácido vanílico, gálico y elágico, respectivamente. Dicho comportamiento, sugiere que los flavonoides resultan mayormente afectados en ambientes de pH neutro o alcalino, sufriendo modificaciones estructurales que podrían dar origen a otras moléculas con posible actividad biológica (Tenore *et al.*, 2013). García-Solís (2008) observaron que, al administrar jugo de mango a ratas con cáncer mamario inducido durante 22 semanas, no presentó disminución significativa en la progresión del cáncer, respecto al control. Esto podría atribuirse a la desestabilización estructural de los CFs por efecto del pH intestinal, con una consecuente absorción limitada.

Por otro lado, los compuestos lipofílicos como los carotenoides requieren de la emulsificación en micelas mixtas para su absorción en los enterocitos por difusión pasiva, donde son parcialmente transformados por la enzima β -caroteno-15,15'-oxigenasa (BCO1) en retinal, después reducidos a retinol y posteriormente esterificados para su empaquetamiento en quilomicrones y distribución en el sistema linfático a tejidos periféricos e hígado (Moran *et al.*, 2018; Toti *et al.*, 2018). A pesar de que los carotenoides tienen baja biodisponibilidad, se ha reportado que la inclusión de grasa en la dieta puede aumentar hasta el 20% de la absorción de β -caroteno, debido a una mejora del ambiente lipofílico durante el proceso digestivo, que facilita la difusión de los carotenoides de la

matriz alimentaria a gotas lipídicas en el estómago, que a su vez propician una mayor emulsificación y absorción en el intestino (Estévez-Santiago *et al.*, 2016). Como alternativa para mantener la estabilidad de moléculas bioactivas durante el proceso digestivo y mejorar su absorción, la encapsulación en emulsiones podría ser una estrategia de la incorporación de compuestos nutracéuticos en matrices alimentarias.

2.4. Encapsulación de Compuestos Bioactivos en Emulsiones

La encapsulación es una tecnología emergente empleada para proteger compuestos lábiles, enmascarar olores/sabores desagradables, incrementar la vida de anaquel, transportar y liberar moléculas en puntos de interés del tracto gastrointestinal, mediante el recubrimiento del analito con una matriz, para protegerlo de condiciones adversas como luz, temperatura, oxígeno y pH (Ruiz-Canizales *et al.*, 2018). Como producto de este proceso, se tiene la generación de partículas con características de forma y tamaño deseados, de acuerdo con el método de encapsulación empleado, tales como el secado por aspersión, precipitación y emulsificación. Una vez encapsulado el compuesto de interés, este puede ser liberado de forma controlada por solubilización de la matriz de cubierta, por hidrólisis ácida o enzimática (Desai y Jin Park, 2005; Fathi *et al.*, 2014).

Las emulsiones son dispersiones coloidales formadas por la combinación de dos líquidos inmiscibles entre sí, como agua y aceite, en las cuales uno de estos líquidos se dispersa en el otro formando emulsiones del tipo aceite-en-agua o agua-en-aceite. Las emulsiones del tipo aceite en agua (O/W, por sus siglas en inglés) son muy utilizadas en la industria de alimentos y bebidas para la incorporación de colorantes, saborizantes, vitaminas, compuestos bioactivos, entre otros. De acuerdo al tamaño de partícula pueden clasificarse en nanoemulsiones (20-200 nm), microemulsiones (4-100 nm) y emulsiones (200 nm-200 μ m) (McClements, 2011; McClements y Decker, 2000). Un factor importante, previo a su producción, es la selección del aceite a utilizar, ya que este se relacionará con las propiedades físicas y biológicas que presenten las emulsiones. Diversos estudios reportan el uso de aceites vegetales como el aceite de oliva, maíz, linaza, girasol, entre otros, para la formulación de emulsiones O/W, los cuales al ser naturales son seguros para su

consumo (Cheng *et al.*, 2019; Gadkari *et al.*, 2017; Salvia-Trujillo *et al.*, 2017).

Lu *et al.* (2020) midieron la capacidad antioxidante celular (CAC) de emulsiones de aceite de salvado de arroz y coco. Las emulsiones de aceite de salvado de arroz presentaron la mayor CAC con 846 μmol equivalentes de quercetina/100 mg de aceite, esto debido a su composición química la cual es fuente potencial de orizanol (25 mg/g), compuestos fenólicos (0.2 mg/g) y ácidos grasos insaturados como el oleico (C18:1) y linoleico (C18:2). Además, se ha reportado que los ácidos grasos insaturados modulan la fluidez de la membrana lipídica, permitiendo mayor absorción vía paracelular (Aspenström-Fagerlund *et al.*, 2007; Nano *et al.*, 2003), en comparación con los ácidos grasos saturados como los que se encuentran en el aceite de coco (ácido láurico, mirístico y palmítico).

Por otro lado, Verkempinck *et al.* (2018) evaluaron el efecto del grado de saturación del aceite de oliva, soya y linaza, sobre la digestibilidad de la emulsión y la bioaccesibilidad de licopeno y β -caroteno. Los resultados mostraron mayor tasa de liberación de ácidos grasos libres y monoglicéridos ($k= 0.045$) durante la digestión de las emulsiones de aceite de oliva, lo cual se relacionó con un incremento en la bioaccesibilidad de licopeno y β -caroteno en 19 y 24%, respectivamente. El aceite de oliva es rico en ácidos grasos monoinsaturados y presenta geometría molecular lineal, mientras que el aceite de soya y linaza al tener mayor concentración de ácidos grasos poliinsaturados, se forman dobles en su estructura lo que ocasiona un impedimento estérico para la lipólisis del enlace éster (Sun *et al.*, 2015).

A pesar de ser ampliamente utilizadas en el área farmacéutica y alimenticia, las emulsiones son sistemas termodinámicos inestables ya que requieren energía para aumentar el área de contacto entre las fases de agua y aceite que presentan diferentes densidades, lo cual ocasiona la separación de fases por mecanismos físicos como el cremado, floculación, coalescencia y maduración de Ostwald (Aranberri *et al.*, 2006; McClements, 2013). En la Figura 3 se representan gráficamente los fenómenos de inestabilidad de emulsiones, en donde el cremado es un proceso causado por la acción de la gravedad en el que las gotas tienden a movilizarse a la superficie debido a la diferencia de densidad entre el agua y el aceite, se considera un proceso reversible que se presenta en emulsiones del tipo aceite en agua. En la floculación, las gotas de aceite se adhieren entre sí sin

fusionarse y forman aglomerados, debido a un incremento en las fuerzas de atracción. La coalescencia se presenta cuando se fusionan gotas de aceite, formando una gota de mayor tamaño, este proceso está asociado a características del surfactante empleado como la curvatura y rigidez de la película interfacial. La maduración de Ostwald se causa por la difusión de las gotas de aceite a través de la fase acuosa, de manera que las gotas pequeñas tienden a moverse hacia las gotas más grandes (Aranberri *et al.*, 2006; McClements, 2007, 2011).

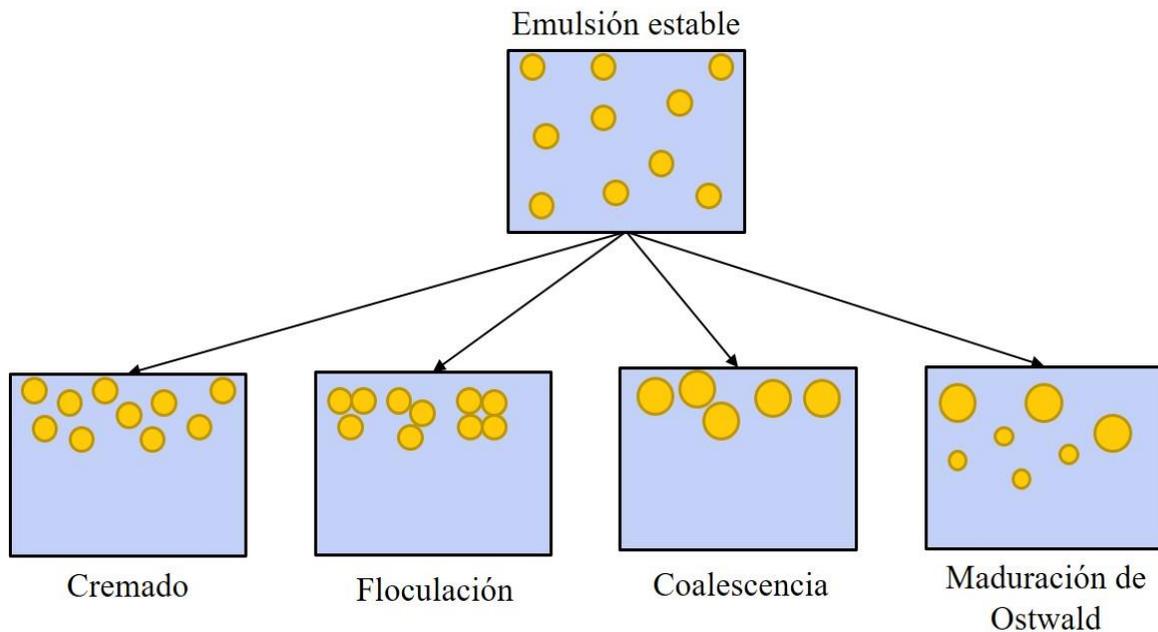


Figura 3. Fenómenos de inestabilidad de emulsiones del tipo aceite en agua. Adaptado de McClements (2007). Las emulsiones son coloides que tienden a sufrir diferentes procesos de inestabilidad, ocasionado por la energía libre de formación del sistema, asociado a la inmiscibilidad de sus fases acuosa y oleosa. Entre los fenómenos físicos observados esta la formación de cremado, floculación, coalescencia, y maduración de Ostwald.

Para la formulación de emulsiones estables se añaden agentes tensoactivos (surfactantes) que se adsorben alrededor de las gotas dispersadas para formar una película interfacial, que reduce la atracción entre partículas y extiende la estabilidad del sistema desde días hasta meses. Los surfactantes son moléculas que presentan una cabeza polar y cadena hidrocarbonada apolar, las cuales forman películas interfaciales, son compuestos capaces de formar micelas por su carácter anfipático. El grupo polar o iónico, tiende a interactuar con la fase polar o acuosa mediante

fuerzas dipolo-dipolo, ion-dipolo. Por lo cual, los surfactantes pueden clasificarse en catiónicos, aniónicos, anfóteros y no iónicos (Schramm *et al.*, 2003). En la industria de alimentos, los surfactantes más utilizados son proteínas anfífilas (caseína, lactoglobulina), fosfolípidos (lecitina) y surfactantes no iónicos como los Tween (McClements y Decker, 2000). Los surfactantes no iónicos son los más utilizados, después de los aniónicos, ya que estos presentan baja toxicidad asociado a su grupo apolar que puede estar conformado por algún ácido graso, por lo cual son fácilmente absorbidos y metabolizados.

Roldan-Cruz *et al.* (2016) evaluaron la estabilidad de emulsiones empleando diferentes concentraciones de Tween 80. Las concentraciones de surfactante probadas mostraron que a partir del 2% p/p, el tamaño de partícula fue más homogéneo y presentó menor variación en un periodo de 7 días, esto asociado con la concentración crítica micelar que asegura la cobertura de las gotas de aceite mediante la adsorción del surfactante alrededor de éstas. La concentración crítica micelar de Tween 80 es de 0.012 mM, concentración a partir de la cual se pueden obtener micelas esféricas de tamaño homogéneo, promoviendo las fuerzas de repulsión estérica que evitan la coalescencia de las partículas.

Wu *et al.* (2017) probaron diferentes surfactantes en la producción de emulsiones cargadas con curcumina. El uso de Tween 80 al 1% p/p mostró una mayor reducción de la tensión superficial (37.49 mN/m), en comparación con la goma arábica y proteína de suero de leche. Asimismo, se evaluó la estabilidad de las emulsiones en condiciones de pH (2-8), fuerza iónica (NaCl 0-500 mM) y temperatura (30-90°C), mostrando que Tween 80 presentó las mejores propiedades físicas al no tener variaciones significativas en el tamaño y potencial zeta, por lo cual resulta una opción viable para su uso en diferentes tipos de matrices alimentarias.

La oxidación de lípidos es uno de los procesos químicos más comunes que se presenta en matrices alimentarias, lo cual ocasiona un detrimento en las propiedades sensoriales y nutrimentales. Durante este proceso, se afecta la calidad de los componentes nutricionales y se generan radicales libres que pueden ocasionar daños para los consumidores. Diferentes estrategias se han implementado para contrarrestar la oxidación de lípidos en diferentes tipos de matrices, como el empacado a vacío, almacenamiento a baja temperatura y humedad, así como la adición de compuestos antioxidantes sintéticos o naturales (Berton-Carabin *et al.*, 2014). La adición de

antioxidantes en matrices alimentarias puede retardar la oxidación de lípidos, al dispersarse en la fase acuosa u oleosa o en la interfaz agua-aceite, previniendo el contacto de las gotas de aceite con moléculas oxidantes. Los antioxidantes más empleados en la industria son los sintéticos como el BHT (butilhidroxitolueno) y BHA (butilhidroxianisol) (Ibáñez *et al.*, 2003; McClements y Decker, 2000). Estos compuestos están reconocidos como seguros por la FDA, sin embargo, se han reportado efectos adversos por la exposición a altas dosis, entre los que destacan daño renal y hepático.

Mean *et al.* (2018) evaluaron la toxicidad hepática aguda (1000-1500 mg/kg, 4 días) y subaguda (250-500 mg/kg, 28 días) por exposición vía oral a diferentes concentraciones de BHT en ratas hembra Wistar. Los resultados mostraron una reducción significativa en la concentración de glutatión y actividad de enzimas como glutatión peroxidasa, glutatión-S-transferasa y glutatión reductasa, las cuales participan en el metabolismo fase II de detoxificación, al administrar las dosis de 500, 1000 y 1500 mg/kg. Dichos resultados fueron relacionados con los cambios histológicos observados en el tejido hepático. El BHT y BHA son reconocidos como seguros por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA), no obstante, estudios reportan efectos negativos a la salud tras el consumo en altas dosis (Tortosa *et al.*, 2020).

Vandghanooni *et al.* (2013) evaluaron la toxicidad de BHT en la línea celular de pulmón A549, observando una disminución dosis-tiempo dependiente de la proliferación celular, presentando un IC₅₀ de 0.55, 0.4 y 0.3 mM a las 24, 48 y 72 h, respectivamente. Asimismo, se evidenció que el tratamiento con BHA provocó la contracción nuclear, fragmentación en los anillos de cromatina y ADN dentro del núcleo de las células, mientras que la morfología no se afectó en las células no tratadas. Jeong *et al.* (2005) observaron alteraciones en el desarrollo y funciones reproductivas de ratas macho Sprague-Dawley tratadas con 500 mg/kg de BHA por siete semanas. Los resultados obtenidos mostraron una reducción en la concentración sérica de testosterona y T4, así como una disminución del número y tamaño de espermatozoides, mientras que la concentración de colesterol y peso del hígado aumentaron. El efecto observado podría asociarse con la inhibición de la acil-CoA-colesterol aciltransferasa de los microsomas del hígado que participan en la absorción del colesterol; mientras que, las alteraciones del sistema endocrino se pueden relacionar con los cambios en la morfología y biosíntesis de espermatozoides.

Los antioxidantes sintéticos son muy utilizados en la industria para mantener el olor, sabor, color, valor nutricional y frescura de gran variedad de productos como cremas, aderezos, bebidas, enlatados, entre otros. Sin embargo, la tendencia actual es la adquisición de productos naturales, o que contengan baja concentración o ausencia de aditivos artificiales que puedan ocasionar daños a la salud. Como se mencionó anteriormente, las emulsiones son sistemas que mejoran la solubilidad y absorción de compuestos bioactivos liposolubles como el β -caroteno, pero durante el almacenamiento pueden ser inestables o tender a oxidarse. Di Mattia *et al.* (2009) evaluaron la adición de antioxidantes naturales como el ácido gálico, catequina y quercetina en emulsiones de aceite de oliva. Los resultados muestran que los tres antioxidantes lograron mantener la estabilidad de las emulsiones por diez días de almacenamiento, asimismo, se incrementó la capacidad antioxidante del sistema. La quercetina (250 μ M) fue el antioxidante que mostró mayor protección contra la oxidación primaria y secundaria de la fase oleosa, esto debido a su carácter anfifílico que le permite posicionarse en la interfase agua-aceite evitando la difusión del oxígeno u otras moléculas prooxidantes (Figura 4).

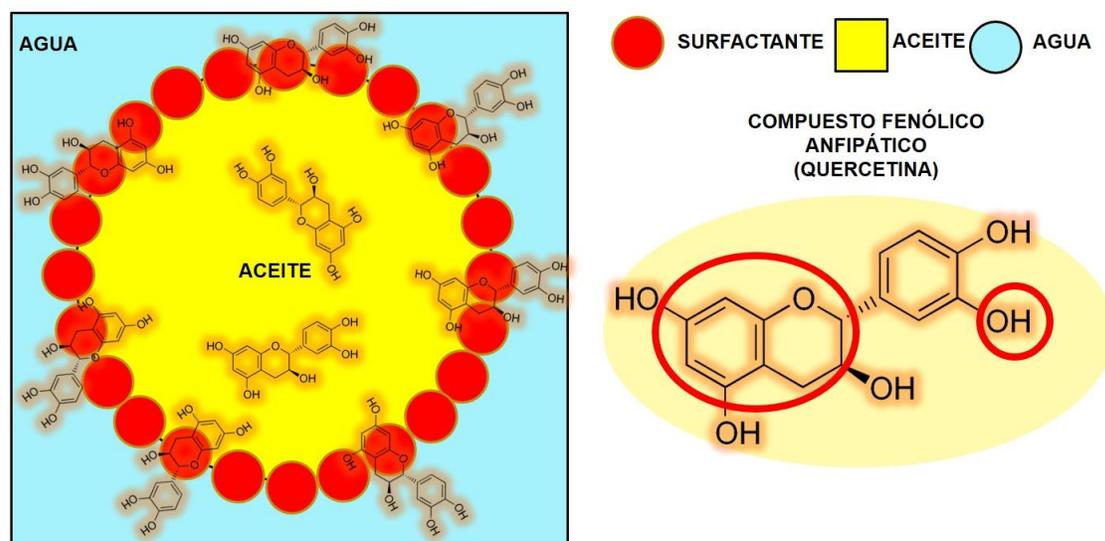


Figura 4. Interacción de compuestos bioactivos con la interfase agua-aceite en emulsiones del tipo aceite en agua. Compuestos bioactivos presentes en la cáscara de mango cv. Ataulfo como quercetina, mangiferina, catequina, tienen carácter anfipático lo cual les permite posicionarse en la interfase agua-aceite durante la formación de las emulsiones. El anillo aromático brinda carácter lipofílico permitiendo su interacción con la fase oleosa, mientras que sus grupos hidroxilo le permiten interactuar con la fase acuosa, brindando así mayor protección contra la oxidación.

2.5. Liberación, Absorción y Actividad Biológica de Compuestos Bioactivos Encapsulados en Emulsiones del Tipo Aceite en Agua

La encapsulación de compuestos bioactivos en emulsiones permite aumentar la solubilidad, estabilidad química, absorción y eficacia terapéutica. Debido a lo anterior, es de suma importancia la evaluación de las propiedades fisicoquímicas y biológicas de los encapsulados formulados. Debido a que el empleo de modelos *in vivo* es costoso, presenta variabilidad genética y limitaciones éticas, los modelos *in vitro* son los más empleados por considerarse rápidos, seguros y sin restricciones éticas (Rodríguez-Yunta, 2007). Existen diversos modelos de digestión *in vitro* como el propuesto por Minekus *et al.* (2014), en el cual se establecen las condiciones químico-enzimáticas de los fluidos gastrointestinales, mediante un consenso internacional que buscó aproximarse a las condiciones normales del humano. Para la evaluación de actividad biológica, el uso de cultivos celulares permite medir respuestas muy aproximadas a lo que ocurre en los diferentes órganos y tejidos.

Salvia-Trujillo (2013) observaron mayor bioaccesibilidad de β -caroteno incorporado en emulsiones pequeñas (0.210 μm), respecto a emulsiones de mayor tamaño (23 μm), bajo condiciones gastrointestinales simuladas. Lo anterior fue correlacionado positivamente ($R^2=0.99$) con la liberación de ácidos grasos libres durante la etapa intestinal, ya que en ésta se lleva a cabo la formación de micelas mixtas las cuales posteriormente son absorbidas por los enterocitos mediante difusión pasiva.

Sabouri *et al.* (2018) encapsularon galato de epigallocatequina (EGCG, por sus siglas en inglés) en emulsiones estabilizadas con caseína. La recuperación de EGCG después de la digestión *in vitro* mostró un incremento significativo en el tratamiento emulsificado, comparado con EGCG en solución a una concentración de 6 mg/mL. Asimismo, se observó una reducción del 40% de la viabilidad celular (Caco-2) en las emulsiones cargadas con EGCG, respecto al compuesto en solución, lo cual indica que las emulsiones protegieron a EGCG de la degradación digestiva.

Dada la naturaleza lipídica de las emulsiones y la presencia de surfactantes, la absorción de

emulsiones se lleva a cabo por difusión pasiva al entrar en contacto con las membranas celulares (Figura 5). Asimismo, se ha reportado que el uso de surfactantes no iónicos durante la formulación de emulsiones del tipo aceite-en-agua, como el Labrasol, mejoró la absorción de doxorubicina vía paracelular, lo cual se evidenció por la reducción a 70.7 y 62.6% de la resistencia eléctrica transepitelial de células de cáncer de colon (Caco-2) al aplicar los tratamientos Span80/Tween80 y Capmul MCM/Labrasol, respectivamente (Kim *et al.*, 2014).

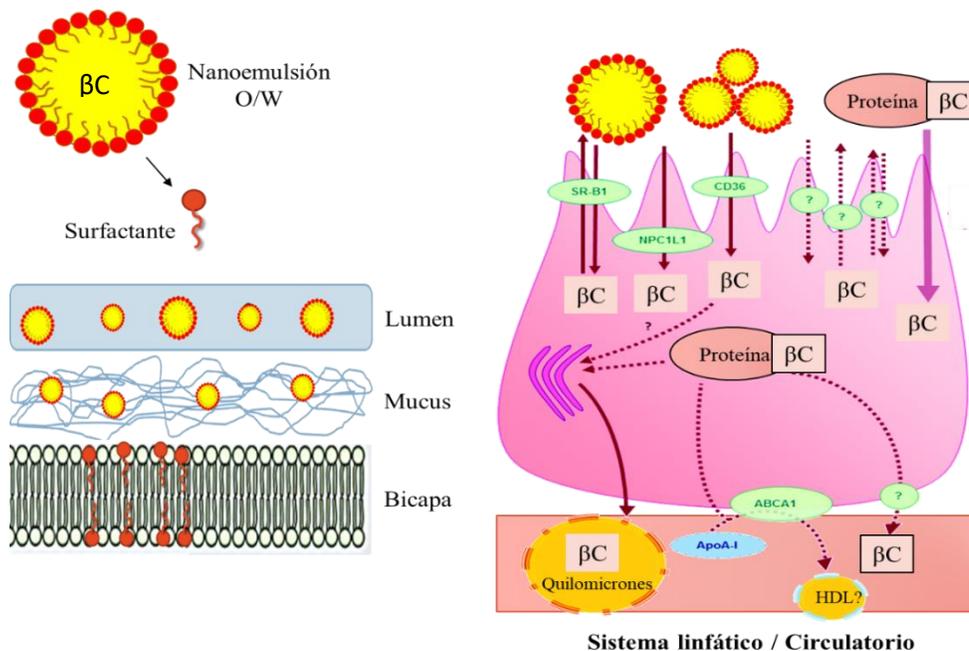


Figura 5. Posibles mecanismos de absorción intestinal de emulsiones del tipo aceite-en-agua cargadas con β -caroteno. Las emulsiones del tipo aceite-en-agua contienen surfactantes en la interfase que facilita la dispersión de las gotas de aceite en el medio acuoso. Los surfactantes no iónicos, asimismo, facilitan la absorción de las emulsiones por difusión pasiva al interactuar con los componentes lipídicos de las membranas celulares, permitiendo la internalización del compuesto bioactivo como los carotenoides. En el caso de los carotenoides, además de difusión pasiva, se han realizado reportes sobre la participación de algunas proteínas de membrana como SR-B1 (receptor eliminador de clase B tipo 1, NPC1L1 (proteína Niemann-Pick C1-Like) y CD36 (translocasa de ácidos grasos), las cuales están relacionadas con el transporte de lípidos.

Con base en la información antes descrita, se destaca el potencial uso de subproductos para la obtención de compuestos bioactivos que sean aplicados en la industria. A pesar de los múltiples beneficios que ofrece el consumo de estas moléculas, es evidente su labilidad a diferentes

condiciones de procesamiento, almacenamiento, digestión y absorción, por lo cual el desarrollo de matrices tipo emulsión resulta una alternativa para mejorar la solubilidad, estabilidad y absorción intestinal de compuestos bioactivos como los carotenoides. A su vez, la incorporación de compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo puede aportar un ambiente antioxidante en la fase acuosa e interfase, evitando la degradación de los lípidos, de manera que se reduzca el uso de antioxidantes sintéticos en las formulaciones alimentarias.

3. HIPÓTESIS

La adición de compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo en emulsiones del tipo aceite-en-agua cargadas con β -caroteno, aumenta la estabilidad y capacidad antioxidante celular debido a un incremento en el consumo celular.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Evaluar la estabilidad y capacidad antioxidante celular de emulsiones del tipo aceite-en-agua cargadas con β -caroteno, adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo.

4.2. Objetivos Específicos

1. Obtener emulsiones cargadas con β -caroteno, adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo, y caracterizar sus propiedades físicas (tamaño, índice de polidispersión, potencial zeta) y químicas (carotenoides, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante).
2. Evaluar la estabilidad de las emulsiones y de los compuestos bioactivos incorporados en las emulsiones, bajo condiciones de almacenamiento controlado.
3. Evaluar la bioaccesibilidad y estabilidad de las emulsiones en un modelo de digestión simulada.
4. Evaluar la capacidad antioxidante y consumo celular de los compuestos bioactivos de cáscara de mango cv. Ataulfo encapsulados en emulsiones.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Materiales y Reactivos

La línea celular epitelial de retina humana (ARPE-19, CRL-2302™) fue adquirida de la Colección Americana de Cultivo Celular (ATCC, Rockville, MD, US). Las células fueron cultivadas en frascos de expansión de 25 cm² utilizando medio DMEM (Dulbecco's modified Eagle minimal essential medium) suplementado con 5% de suero bovino fetal y penicilina (100 U/L) /L-arginina+L-asparagina+piruvato de sodio bajo condiciones de cultivo estándar (5% CO₂, 95% humedad relativa, 37°C). Los reactivos empleados para las determinaciones colorimétricas fueron grado reactivo de la marca Sigma-Aldrich, y grado HPLC de la marca J.T. Baker para la determinación de los perfiles cromatográficos.

5.2. Material Vegetal

Se obtuvieron frutos de mango cv. Ataulfo en estado de madurez comercial en la Central de Abastos Francisco I. Madero en Hermosillo, Sonora. Los frutos seleccionados (sin daños físicos y microbiológicos visibles) fueron transportados en cajas de madera de 20 kg a las instalaciones del Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Los frutos fueron desinfectados con hipoclorito de sodio (200 ppm) y se retiró el exceso de humedad. Se removió la cáscara de los frutos con un pelador de frutas de acero inoxidable, para ser congeladas a -80°C y posteriormente liofilizadas (FreeZone 6, Labconco, Kansas City, MO, US) a una presión de 0.03 mBar y temperatura del colector de -50°C, por 72 h. Una vez secas, las cáscaras fueron molidas en un procesador de alimentos hasta obtener una harina fina. La harina se almacenó a -20°C protegida de la luz hasta su uso.

5.3. Caracterización Química de la Cáscara de Mango cv. Ataulfo

5.3.1. Extracción e Identificación de Compuestos Fenólicos

La extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de mango cv. Ataulfo se realizó siguiendo la metodología reportada por Kim y Lee (2002). 1 g de cáscara de mango liofilizada se homogeneizó con 10 mL de etanol al 80%, seguido por sonicación durante 30 min. La muestra fue centrifugada (9,391 g, 4°C, 15 min) y se colectó el sobrenadante. El proceso de extracción se repitió 3 veces para extraer la mayor cantidad de compuestos fenólicos. Los sobrenadantes se mezclaron y fueron caracterizados respecto al contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Posteriormente, los extractos fueron concentrados en un evaporador rotatorio con vacío (Yamato Scientific, Santa Clara, CA, US) y liofilizados (FreeZone 6, Labconco, Kansas City, MO, US) a una presión de 0.03 mBar y temperatura del colector de -50°C, por 72 h, para remover el agua residual y evitar la oxidación de los compuestos fenólicos. Los extractos fueron almacenados a -20°C protegidos de la luz hasta su uso.

El contenido de compuestos fenólicos totales se determinó usando el reactivo de Folin-Ciocalteu, siguiendo el protocolo de Singleton *et al.* (1999), con adaptaciones menores. 30 µL de extracto de cáscara de mango se mezclaron con 150 µL de Folin-Ciocalteu 2N al 10%, y 120 µL de carbonato de sodio al 7.5%. La mezcla se dejó incubar por 30 min, antes de leer absorbancia a 765 nm en un lector de microplacas. Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/ g p.s. (peso seco).

El perfil de los compuestos fenólicos se realizó mediante cromatografía de líquidos con detector UV-DAD (Serie 1200, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, US), siguiendo el método reportado por Acosta-Estrada (2015) con modificaciones menores. Las fases empleadas fueron (A) agua pH 2 acidificada con ácido fórmico y (B) acetonitrilo 100%. El gradiente comenzó con 5% de B y aumentó a 30% en los primeros 15 min, alcanzando 60% a los 20 min y 80% a los 25 min, para terminar en 100% a los 30 min. Se utilizó una columna Zorbax (3.0 x 100 mm, 3.5 µm) a 25°C,

flujo de 0.6 mL/min y volumen de inyección de 5 μ L. Los resultados fueron expresados como μ g del compuesto fenólico por g de cáscara de mango p.s., empleando curvas de calibración de estándar.

5.3.2. Extracción e Identificación de Carotenoides

La extracción de carotenoides de la cáscara de mango se realizó de acuerdo a la metodología reportada por García-Cayuela *et al.* (2018) con adaptaciones menores. 1 g de cáscara de mango se mezcló con 0.5 g de carbonato de magnesio más 20 mL de tetrahidrofurano con BHT al 0.1%, seguido de homogeneización con Ultra-Turrax a 7, 000 rpm por 1 min. La muestra fue filtrada a vacío para recuperar el solvente con los pigmentos. Seguido, el proceso de extracción se repitió un total de 3 veces y los extractos combinados se secaron en un evaporador rotatorio. Los extractos secos se resuspendieron en 15 mL de éter etílico y se realizaron dos lavados con 25 mL de NaCl al 30% en un embudo de separación. La fase orgánica se recuperó y se secó con sulfato sódico anhidro. Los extractos obtenidos fueron saponificados con KOH al 30% en metanol, bajo agitación constante por 90 min protegido de la luz y en atmósfera de N₂. Terminado el periodo de saponificación, se pasó la muestra a un embudo de separación, se agregaron 15 mL de éter etílico y se realizaron lavados con NaCl al 30% hasta que el pH fue neutro. Finalmente, se recuperó la fase orgánica con los pigmentos y se llevó a sequedad con sulfato sódico anhidro, seguido de filtración y evaporación rotatoria. Los extractos obtenidos fueron resuspendidos en 2 mL de metanol/metil-terbutil éter/H₂O (81/15/4, v/v/v), para la identificación de los carotenoides por HPLC-DAD.

La identificación de carotenoides en cáscara de mango cv. Ataulfo se realizó mediante HPLC-DAD con el método reportado por García-Cayuela *et al.* (2018) . Se utilizó una columna C30 (YMC C30, 250x4.6 mm, 5 μ m) a 32°C. Se empleó un gradiente de elución lineal con 100% de A (metanol/MTBE/H₂O; 81/15/4, v/v/v) al minuto cero y terminando con 100% B (MTBE/metanol; 90/10, v/v) en 60 min de corrida. Se utilizó un flujo de 1 mL/min, el volumen de inyección fue de 20 μ L. Para la identificación y cuantificación se utilizaron los estándares de β -caroteno, β -

criptoxantina. La concentración de los carotenos se realizó como μg equivalentes de β -caroteno y las xantofilas como equivalentes de β -criptoxantina por g p.s.

5.3.3. Capacidad Antioxidante de la Cáscara de Mango cv. Ataulfo

La capacidad antioxidante de la cáscara de mango se determinó mediante los métodos colorimétricos de FRAP y TEAC. El poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) se llevó a cabo de acuerdo a la metodología reportada por Benzie y Strain (1996) , con modificaciones de Mazzucotelli *et al.* (2018). 20 μL de extracto etanólico apropiadamente diluido, se mezcló con 280 μL de solución de FRAP, dejando incubar por 30 min, para después leer su absorbancia a 595 nm. La capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) fue determinada con la metodología de Re *et al.* (1999) , con adaptaciones de Quirós-Sauceda *et al.* (2014). Cinco μL de extracto fueron mezclados con 245 μL del radical ABTS, dejando incubar 6 min antes de leer absorbancia a 754 nm. Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de Trolox (ET)/g p.s.

5.4. Encapsulación de Compuestos Bioactivos de Cáscara de Mango cv. Ataulfo en Emulsiones

La encapsulación de β -caroteno en emulsiones se realizó empleando el método de ultrasonicación. Se utilizó aceite de girasol como fase oleosa para la encapsulación de β -caroteno (0.15 g/L). Para la obtención de la emulsión primaria se homogeneizó (Ultra-Turrax T25, IKA, Staufen, DE) 5% de fase oleosa, surfactante (2% Tween 80) y fase acuosa (93% de agua ultrapura) a 9,500 rpm por 5 min. Las emulsiones adicionadas con fenoles, incluyeron la incorporación de 0.005% (p/v) de extracto de cáscara de mango disuelto en la fase acuosa. Para obtener emulsiones de menor tamaño, la emulsión primaria se sometió a ultrasonicación (Ultrasonic Homogenizer JY92-IIDN, Drawell Scientific, Shanghai, CN) utilizando una sonda de $\Phi 6$, 100% de amplitud, potencia nominal de 650 W, frecuencia de 25 kHz, ciclos de 10 s de trabajo y 5 s de descanso durante 10 min, controlando la temperatura de la muestra por debajo de 40°C con un baño de hielo. Las emulsiones obtenidas

fueron almacenadas en atmósfera inerte, protegida de la luz, a 4°C hasta su uso.

5.4.1. Determinación de Carotenoides Totales en las Emulsiones

La extracción de carotenoides de las emulsiones se realizó con la metodología reportada por Salvia-Trujillo *et al.* (2013). 2 mL de emulsión se mezclaron con 1 g de NaCl y 25 mL de etanol/acetona/hexano (25/25/50, v/v/v) con BHT al 0.1%, seguido de agitación por 20 min. Después, 7.5 mL de agua ultrapura se agregaron y se agitó por 10 min más. Seguido, la fase orgánica (hexano) se recolectó y se midió absorbancia a 450 nm. La concentración de carotenoides totales se calculó empleando la ecuación 1.

$$\text{Ec.1Carotenoides totales } (\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{A_{450} \cdot V \cdot 10^4}{E^{1\%} \cdot PM}$$

donde:

A_{450} = absorbancia de la muestra medida a 450 nm

V = volumen total final de la muestra (mL)

10^4 = factor de conversión de unidades ($\mu\text{g/g}$)

$E^{1\%}$ = coeficiente de extinción molar de β -caroteno en hexano= 2560

PM = peso de la muestra (g)

5.4.2. Capacidad Antioxidante de las Emulsiones

La capacidad antioxidante de las emulsiones se determinó mediante los métodos colorimétricos de FRAP y TEAC, descritos previamente. Los resultados fueron expresados como mg ET/mL de emulsión.

5.4.3. Caracterización Física de las Emulsiones

Para la determinación del tamaño, índice de polidispersión y potencial zeta se realizó una dilución 1:100 de las nanoemulsiones con agua ultra-pura, mediante dispersión dinámica de luz con el equipo Zeta Sizer N90 (Malvern Instruments, Malvern, GB). La evaluación se realizó a 25°C, para la medición de tamaño e índice de polidispersidad (pDI) se utilizó el índice de refracción de aceite de girasol (1.43).

5.5. Evaluación de la Estabilidad de las Emulsiones Bajo Condiciones de Almacenamiento Controlado

Las emulsiones producidas (control, emulsión cargada con β -caroteno (EC), emulsión cargada con β -caroteno + adicionada con extracto de cáscara de mango (ECFM) se colocaron en microtubos, los cuales fueron expuestos a temperaturas controladas de 4, 25 y 40 °C durante ocho semanas. Se realizaron mediciones de tamaño, índice de polidispersidad, potencial zeta, carotenoides totales y capacidad antioxidante (FRAP y TEAC), para observar el efecto de la temperatura sobre la estabilidad del sistema y los compuestos bioactivos.

5.6. Bioaccesibilidad de Compuestos Bioactivos Encapsulados en Emulsiones Bajo Condiciones de Digestión Simulada

La liberación de los compuestos bioactivos encapsulados en emulsiones se evaluó en condiciones gástricas e intestinales simuladas, siguiendo la metodología de Minekus *et al.* (2014). Una alícuota de emulsión (10 mL) se mezcló con 7.5 mL de fluido gástrico, 0.2 mL de HCL 1 M, 0.695 mL de agua destilada, 5 μ L de CaCl₂, más 1.6 mL de pepsina (25,000 U/mL), seguido de 1 h de incubación a 37°C con agitación a 100 rpm. Una vez terminada la digestión gástrica, 20 mL de la muestra

digerida se homogeneizó con 11 mL de fluido intestinal, 2.5 mL de bilis (160 mM), 0.15 mL de NaOH 1 M, 1.3 mL de agua destilada, 40 µL de CaCl₂, más 5 mL de solución pancreatina (100 U/mL basado en actividad de tripsina y 200 U/mL de lipasa). Las muestras fueron incubadas por 2 h a 37°C con agitación constante a 100 rpm. Se tomaron alícuotas al inicio y final de cada etapa digestiva para realizar las determinaciones correspondientes. Para determinar la bioaccesibilidad de los carotenoides se tomaron alícuotas durante la etapa intestinal a los 15, 30, 60, 90 y 120 min. Para detener la actividad enzimática, las muestras fueron sometidas a choque térmico a 85°C por 5 min, seguido de enfriamiento en baño de hielo para proteger a los compuestos bioactivos de degradación térmica.

5.7. Viabilidad Celular de las Emulsiones

La viabilidad celular se determinó por el ensayo de MTT [bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol] utilizando la línea celular epitelial de retina humana (ARPE-19, ATCC[®] CRL-2302[™], Rockville, MD, US), siguiendo el protocolo reportado por Rascón-Valenzuela *et al.* (2015). Para el ensayo, se colocó una suspensión de células (1x10⁴ células/pocillo) en una placa estéril de 96 pocillos y se incubó por 24 h (5% CO₂, 95% humedad relativa, 37 °C) para su adherencia. Posteriormente, las células fueron tratadas con 50 µL de estímulo (emulsiones diluidas 1:15, 1:30, 1:60, 1:120) durante 48 h. Una vez cumplido el periodo de incubación, las células fueron lavadas con 100 µL de PBS 1x y seguido se añadieron 100 µL de medio de cultivo DMEM al 5% de enriquecimiento con suero fetal bovino (SFB), más 10 µL de MTT (5 mg/mL), dejando incubar (5% CO₂, 95% humedad relativa, 37 °C) por 4 h. Después de la incubación, los cristales de formazán producidos por la célula fueron disueltos con 100 µL de isopropanol acidificado. Finalmente, se leyó absorbancia a 570 y 630 nm en un lector de microplacas (iMark[™], Bio-Rad, Hercules, CA, US). Los resultados fueron expresados como porcentaje de viabilidad celular.

$$\text{Ec. 2} \quad \% \text{Viabilidad celular} = \frac{\text{Muestra}(\text{Abs}_{570} - \text{Abs}_{630})}{\text{Control}(\text{Abs}_{570} - \text{Abs}_{630})} \times 100$$

5.8. Capacidad Antioxidante Celular de las Emulsiones

La capacidad antioxidante celular se estimó mediante la desesterificación y oxidación intracelular de DCFH₂-DA (2',7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato) a DCF (diclorofluoresceína), utilizando la línea celular epitelial de retina humana (ARPE-19), siguiendo el protocolo de López-Barrios *et al.* (2016) con modificaciones menores. Para el ensayo se colocó una suspensión de células (5×10^4 células/pocillo) en una placa estéril de 96 pocillos, dejando incubar por 24 h (5% CO₂, 95% humedad relativa, 37 °C). Las células fueron lavadas con 100 µL de PBS y seguido se agregaron 200 µL de emulsión con DCFH-DA (60 µM), incubando por 1 h. Después, las células se lavaron dos veces con PBS y 100 µL de dihidrocloruro de 2,2'-azobis (2-amidinopropano) (AAPH, 500 µM) fueron adicionados, seguido se midió la fluorescencia a 37°C cada 5 min durante 1 h a 485 nm de excitación y 520 nm de emisión en un lector de microplacas (FLUOstar™ Omega, BMG Labtech, Rockford, IL, US).

5.9. Consumo Celular de las Emulsiones

Para determinar la internalización celular de las emulsiones se realizó el ensayo de consumo celular. Para ello, las emulsiones (1 mL) fueron previamente teñidas con 50 µL de Rojo de Nilo (1 mg/mL en etanol). Se montó una suspensión celular (2×10^5 células/placa) en placas de 35 mm con fondo de vidrio, dejando incubar por 24 h. Seguido las células se lavaron con PBS y se agregó la emulsión teñida dejando incubar por 1 h. Después, las células se lavaron dos veces con PBS para observar la fluorescencia en las células mediante microscopía confocal laser de barrido (CLSM) (LSM800, Carl Zeiss, Oberkochen, DE, EU) en condiciones de 620 nm y 10x de magnificación.

5.10. Análisis Estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó un diseño experimental completamente al azar expresando

los resultados en media \pm error estándar (n=3). La caracterización de la cáscara de mango y características fisicoquímicas de las emulsiones se analizaron con estadística descriptiva. La estabilidad de las emulsiones en almacenamiento controlado correspondió a un diseño factorial 2x3, siendo los factores el tiempo de almacenamiento (inicial, final) y la temperatura (4, 25 y 40° C). La biodisponibilidad constó de un diseño unifactorial, siendo el factor la etapa de digestión (gástrica e intestinal). Para la viabilidad celular se empleó un diseño unifactorial, siendo la concentración de surfactante (0.125, 0.25, 0.5 y 1 mM) el factor evaluado. El consumo celular se analizó con estadística descriptiva. El análisis estadístico se realizó con el software Minitab v.16 (Minitab Inc., Coventry, GB). Para todos los ensayos se realizó un análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer ($p \leq 0.05$).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Caracterización de la Cáscara de Mango cv. Ataulfo

Para determinar el potencial nutracéutico de la cáscara de mango cv. Ataulfo se realizaron extractos etanol/agua (80/20, v/v) para medir la concentración de compuestos fenólicos (CFs), carotenoides y capacidad antioxidante. La concentración de CFs fue de 116.38 ± 4.40 mg EAG/ g p.s., similar a lo reportado por Ajila *et al.* (2007) para las variedades Badami y Raspuri en diferentes estados de madurez (55-110 mg EAG/g). En comparación con cultivares de mango mexicano, se han reportado concentraciones de CFs extraíbles de 68 y 40 mg EAG/g p.s. para cáscara de mango cultivar Ataulfo y Tommy Atkins, respectivamente (García-Magaña *et al.*, 2013). La cáscara del mango contribuye con 15-20% del peso del fruto (Ravani y Joshi, 2013), generando anualmente millones de toneladas de residuos a nivel mundial, solo para México, en 2018 se generaron cerca de 400 mil toneladas (SIAP, 2019). Debido a lo anterior, se han realizado diversos estudios para la caracterización química de la cáscara, con el fin de explotar este residuo agroindustrial para la obtención de compuestos con actividad biológica como son compuestos fenólicos (Pacheco-Ordaz *et al.*, 2018), carotenoides (de Ancos *et al.*, 2018), fibra (Blancas-Benitez *et al.*, 2015), entre otros, que posteriormente sean incorporados en matrices alimentarias.

Se realizó un análisis cualitativo de los CFs presentes en la cáscara de mango cv. Ataulfo mediante cromatografía de líquidos (HPLC-DAD). En la Figura 6, se muestra el cromatograma del extracto etanólico de la cáscara de mango, donde se observa la mangiferina como uno de los compuestos de mayor abundancia, con una concentración de 25.95 mg/g p.s. Resultados similares fueron reportados por Ordoñez-Torres *et al.* (2020) y Pacheco-Ordaz *et al.* (2018) en extractos etanólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo, mostrando una concentración de 35.93 y 36.02 mg/g, respectivamente. Asimismo, se evidenció la presencia de galotaninos, los cuales son ésteres de ácido gálico y un poliol (principalmente glucosa), que al ser sometidos a condiciones gastrointestinales liberan moléculas de ácido gálico, los cuales han mostrado potencial prebiótico en dos cepas de lactobacilos (*Lactobacillus rhamnosus* GG y *Lactobacillus acidophilus*) (R

Pacheco-Ordaz *et al.*, 2018). En el mango cv. Ataulfo, los galotaninos que han sido identificados corresponden a compuestos de 5 (pentagaloil-glucósido) hasta 12 unidades (dodecagaloil-glucósido) de ácido gálico (Ordoñez-Torres *et al.*, 2020; Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2013). Otros compuestos fenólicos como quercetina, catequina, maclurina e isómeros de mangiferina, han sido identificados en la cáscara de mango cv. Ataulfo, mediante cromatografía de líquidos-masas (de Ancos *et al.*, 2018; Pacheco-Ordaz *et al.*, 2018). Las diferencias en concentración y diversidad de especies químicas pueden asociarse a variaciones genéticas de los cultivares, condiciones agroclimáticas, estado de madurez, técnica de extracción y solventes empleados, así como el procesamiento de la matriz alimentaria como el secado (Ajila *et al.*, 2007; de Ancos *et al.*, 2018; García-Magaña *et al.*, 2013; Ordoñez-Torres *et al.*, 2020).

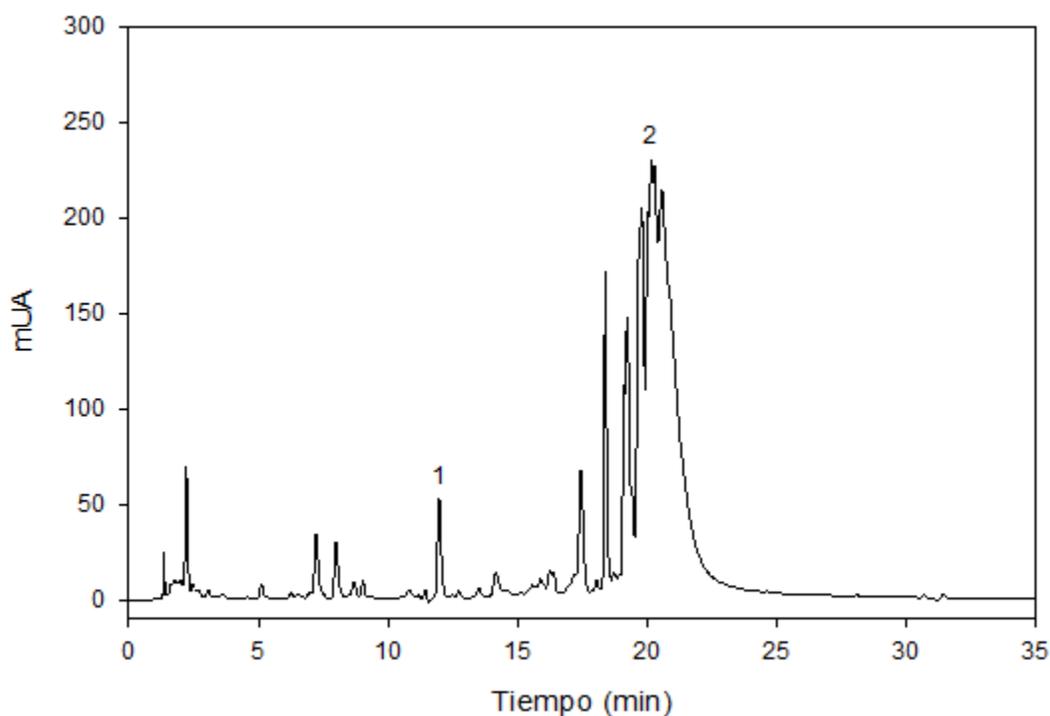


Figura 6. Identificación de compuestos fenólicos en cáscara de mango cv. Ataulfo mediante cromatografía de líquidos (HPLC-DAD). 1, mangiferina; 2, galotaninos.

Los compuestos fenólicos han mostrado potenciales biológicos como antioxidantes (Quirós-Sauceda *et al.*, 2017), antiinflamatorios (Ambriz-Pérez *et al.*, 2016), antiproliferativos (Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2018), neuroprotectores (Cázares-Camacho *et al.*, 2021), entre otros.

Particularmente, son considerados compuestos con alta capacidad antioxidante, debido a los grupos hidroxilo presentes en su estructura, los cuales pueden estabilizar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno.

La capacidad antioxidante de los extractos de la cáscara de mango cv. Ataulfo fue de 210.33 y 215.93 mg ET/g p.s., determinada por los ensayos de FRAP y TEAC, respectivamente. Dorta *et al.* (2012) evaluaron la capacidad antioxidante en cáscara de mango cv. Keitt, obteniendo valores de 480 y 370 mg ET/g p.s., medida por los ensayos de DPPH y TEAC, respectivamente. Asimismo, Nguyen *et al.* (2019) obtuvieron valores de 60.1 y 79.8 mg TE/g p.s. en cáscara de mango, empleando los métodos de TEAC y FRAP, respectivamente. La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos está asociada al número y posición de los grupos hidroxilo presentes en su estructura, los cuales pueden estabilizar radicales libres mediante los mecanismos de transferencia de átomos de hidrógeno o electrones (Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2018; Zhang y Tsao, 2016). En el primer caso, la entalpía de disociación del enlace O–H es un parámetro importante en la evaluación de la capacidad antioxidante, puesto que cuanto menor es su valor numérico, menor energía se requiere para la disociación del enlace O–H y posterior reacción con el radical libre. En el mecanismo de transferencia de electrones, el potencial de ionización es el parámetro más significativo, ya que cuanto menor sea éste, menor será la energía requerida para la donación o abstracción de electrones a los radicales libres (Leopoldini *et al.*, 2011).

Diversos estudios han evidenciado el potencial antioxidante que tienen subproductos como la cáscara de granada (Tozetto *et al.*, 2017), pasta de nuez (Grosso *et al.*, 2018) y residuos de café molido (Hwang *et al.*, 2019), para la obtención y adición de extractos antioxidantes en aceites vegetales (canola, nuez, soya) para evitar la oxidación. Por ejemplo, la adición de 0.25% de extracto de residuos de café molido en aceite de soya, presentó capacidad antioxidante similar a 0.02% BHT (Hwang *et al.*, 2019). Bamdad *et al.* (2006) observaron que extractos de semilla de alcaraván y clavo (100 ppm), presentaron mayor capacidad antioxidante con 40.5 y 30.5% de inhibición del radical DPPH, respectivamente, en comparación con BHT (11.1%) a la misma concentración. Por otro lado, la adición de 1% de extracto de cáscara de granada en albóndigas de carne redujo 10% la oxidación lipídica, con base en el índice de peróxidos y TBARS, en comparación con el uso de 0.01% de BHT, al final de seis meses de almacenamiento (Turgut *et al.*, 2017). Por otro lado,

residuos del procesamiento del mango, como la cáscara, han sido utilizados como ingrediente para la elaboración de totopos de maíz. Al incorporar 15% de cáscara de mango cv. Ataulfo, se obtuvieron totopos con buena aceptación sensorial, además de presentar un aumento significativo en la concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, en comparación con el tratamiento control (Zepeda-Ruiz *et al.*, 2020). Debido a lo anterior, la cáscara de mango cv. Ataulfo es un subproducto con alto potencial antioxidante, el cual puede ser explotado para la obtención de antioxidantes naturales e incorporarse en matrices alimentarias, para prevenir la oxidación de ingredientes como los lípidos y darle valor agregado a los productos alimenticios que los contengan, sin dejar de mencionar la reducción de contaminación que este residuo genera al no ser aprovechado.

Por otro lado, se tiene que la cáscara de mango cv. Ataulfo también es una fuente importante de compuestos liposolubles con actividad biológica como los carotenoides. La concentración de carotenoides totales en la cáscara de mango cv. Ataulfo fue de $129.50 \pm 0.03 \mu\text{g/g p.s.}$ Resultados similares fueron reportados por Lizárraga-Velázquez *et al.* (2018) para cáscara de mango cv. Ataulfo, cuya concentración fue de $132.14 \mu\text{g/g p.s.}$ Muralidhara *et al.* (2019) determinaron la concentración de carotenoides totales en la cáscara de 12 cultivares de mango, siendo las variedades Amrapali, Neelum y Vanraj, las de mayor concentración ($49.0\text{-}57.8 \mu\text{g/g p.s.}$). Ajila *et al.* (2007) observaron diferencia significativa en la concentración de carotenoides en cáscara de mango cv. Badami y Raspuri de acuerdo con su estado de madurez, siendo el estado maduro el que presentó el contenido más alto de 194 y $436 \mu\text{g/g p.s.}$, respectivamente, en comparación con el estado verde (sin madurar). Sánchez-Camargo *et al.* (2019) lograron obtener hasta $2,000 \mu\text{g/g p.s.}$ de carotenoides totales de cáscara de mango cv. Sugar, al optimizar la extracción con CO_2 supercrítico. Por otro lado, el perfil de carotenoides obtenido en la cáscara de mango cv. Ataulfo (Figura 7) muestra al β -caroteno como el compuesto de mayor abundancia con $59.36 \pm 1.67 \mu\text{g/g p.s.}$ (Cuadro 1), lo cual concuerda con otros estudios realizados en diferentes cultivares de mango tales como Sugar, Tommy Atkins, Bombay No.1, Hamlet, Arka Anmol (de Ancos *et al.*, 2018; Ranganath *et al.*, 2018; Sánchez-Camargo *et al.*, 2019).

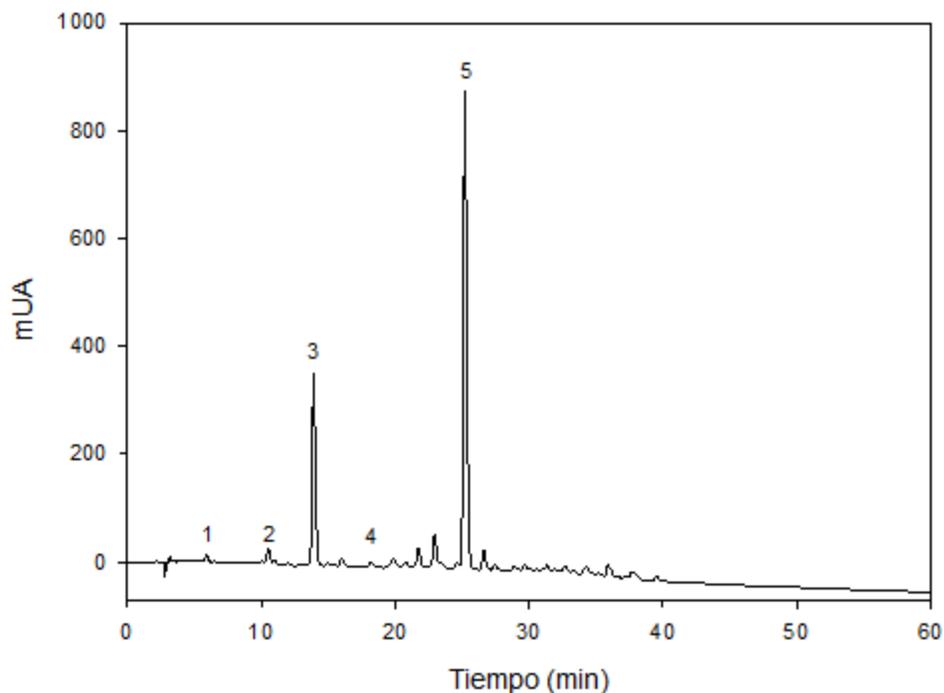


Figura 7. Identificación de carotenoides en cáscara de mango cv. Ataulfo mediante cromatografía de líquidos (HPLC-DAD). 1, violaxantina; 2, luteína; 3, apo-β-carotenal; 4, β-criptoxantina; 5, β-caroteno.

Cuadro 1. Carotenoides presentes en cáscara de mango cv. Ataulfo mediante cromatografía de líquidos (HPLC-DAD).

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Concentración (μg/g p.s.)
Violaxantina	6.16	NC
Luteina	10.85	1.85 ± 0.03
Apo-β-carotenal*	13.96	5.01 ± 0.03
β-criptoxantina	18.62	2.20 ± 0.06
β-caroteno	25.90	59.36 ± 1.67

Media ± desviación estándar (n=3). NC= no cuantificable;

*Estándar interno.

Se ha reportado que la incorporación de cáscara de mango en matrices alimentarias como galletas (Bandyopadhyay *et al.*, 2014), biscoques (Ajila *et al.*, 2008), bebidas (Morales *et al.*, 2019) y barras energéticas (Blancas-Benitez *et al.*, 2015) aumenta la capacidad antioxidante. Sin embargo, el escalamiento industrial se ha visto limitado por la labilidad que presentan estos compuestos

bioactivos a factores como la temperatura, pH, oxígeno, luz, entre otros. En este sentido, las emulsiones O/W mejoran la solubilidad y bioaccesibilidad de compuestos lipofílicos como los carotenoides (Salvia-Trujillo *et al.*, 2019). Además, se ha reportado que la adición de antioxidantes naturales en emulsiones mitiga la oxidación lipídica (Carvalho *et al.*, 2019) por un aumento en la capacidad antioxidante. Con base en los resultados, la cáscara de mango cv. Ataulfo es fuente potencial para la extracción de antioxidantes, los cuales, al ser incorporados en emulsiones, pueden mejorar la estabilidad durante almacenamiento y actividad biológica.

6.2. Caracterización de las Emulsiones del Tipo Aceite-en-Agua

Se obtuvieron emulsiones O/W mediante ultrasonificación con un tamaño promedio de 240 a 260 nm e índice de polidispersión ≤ 0.3 (Tabla 2), lo cual indica una distribución monomodal del tamaño de partícula. La adición de compuestos fenólicos de cáscara de mango en las emulsiones cargadas con β -caroteno redujo $\approx 5\%$ el tamaño de partícula, esto podría asociarse a que los compuestos fenólicos son moléculas anfipáticas que pueden interactuar con el surfactante en la película interfacial mediante puentes de hidrógeno (grupos hidroxilo) e interacciones hidrofóbicas (anillo aromático) (Cheng *et al.*, 2019), incrementando la tensión interfacial. Resultados similares fueron reportados en emulsiones cargadas con curcumina (226 nm, 0.26 pDI) mediante ultrasonificación bajo las condiciones de operación de 130 W, 45% de amplitud, 5 min (Páez-Hernández *et al.*, 2019). Nejatian *et al.* (2018) obtuvieron emulsiones de aceite de girasol con tamaño 193 nm mediante ultrasonificación (600 W, 100% de amplitud, 6 min), las cuales presentaron comportamiento bimodal en las gráficas de distribución de tamaño.

Las condiciones de operación, la proporción de surfactante:aceite empleado, el tipo de aceite y surfactante, son algunos de los factores que afectan directamente el rango y dispersión de tamaño de las emulsiones (McClements, 2012). Por ejemplo, Salvia-Trujillo *et al.* (2019) evaluaron diferentes proporciones de surfactante:aceite (0.1 y 2) con las cuales lograron obtener emulsiones de aceite de oliva cargadas con β -caroteno, con tamaño de 787 y 279 nm, respectivamente. Kirkhus *et al.* (2019) formularon emulsiones con 5 y 10% de aceite mediante homogeneización a altas

presiones, observando el menor tamaño de partícula (700 nm) en la condición de 5% de aceite y 1500 bar. Yuan *et al.* (2018) formularon emulsiones con aceites de cadena media y larga, obteniendo tamaños de partícula desde 170 a 220 nm, con índice de polidispersión <0.30, lo cual se asoció con la estabilidad observada durante una semana a 4°C y una mayor digestibilidad *in vitro* a menor tamaño de partícula.

Cuadro 2. Caracterización de las emulsiones cargadas con β -caroteno y adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo.

Muestra	Tamaño (nm)	Índice de polidispersidad	Potencial zeta (mV)	Eficiencia de encapsulación (%)	Capacidad antioxidante (mg ET/mL de emulsión)	
					FRAP	TEAC
Control	253.72 ± 2.19 ^a	0.28 ± 0.02 ^a	-23.37 ± 0.60 ^a	---	---	---
EC	256.40 ± 1.99 ^a	0.28 ± 0.02 ^a	-31.63 ± 2.58 ^b	85.33 ± 7.54 ^a	0.183 ± 0.01 ^b	2.50 ± 0.04 ^b
ECFM	240.64 ± 2.41 ^b	0.26 ± 0.02 ^a	-29.77 ± 0.45 ^b	93.99 ± 5.77 ^a	6.73 ± 0.20 ^a	8.36 ± 0.22 ^a

Media ± error estándar (n=3). EC, emulsión cargada con carotenoides; ECFM, emulsión cargada con carotenoides adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo. Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa (p<0.05).

El potencial zeta de las emulsiones cargadas con β -caroteno (EC) y adicionadas con CFs (ECFM) fue \approx -30 mV, significativamente mayor a la emulsión control (-23 mV) (Cuadro 2). En la literatura se reporta que en el caso de sistemas coloidales, valores absolutos mayores a \pm 30 mV son considerados estables debido a que presentan alta energía de repulsión entre las partículas, lo cual previene la separación de fases, coalescencia o cremado (Mora-Huertas *et al.*, 2010; Salvia-Trujillo *et al.*, 2019). Salvia-Trujillo *et al.* (2017) produjeron emulsiones con potencial zeta de -51, -36 y -29 mV, para emulsiones grandes, medianas y pequeñas, respectivamente. Yuan *et al.* (2018) emulsificaron carotenoides de espinaca, utilizando caseína de sodio como emulsificante, obteniendo valores de potencial zeta desde -10 a -28 mV. De acuerdo al tipo de surfactante empleado, el potencial zeta puede ser neutro, positivo o negativo, para aquellos surfactantes no

iónicos, catiónicos o aniónicos, respectivamente. En las emulsiones formuladas se utilizó Tween 80, como surfactante no iónico, las cuales presentaron valores negativos de potencial zeta, esto debido a la presencia de ácidos grasos libres u otras impurezas del surfactante, así como los grupos hidroxilo del agua que confieren carga negativa a la interfase (McClements, 2011; Salvia-Trujillo *et al.*, 2017).

La eficiencia de encapsulación de carotenoides en las emulsiones del tipo aceite-en-agua fue $\approx 90\%$, debido a que los carotenoides son moléculas liposolubles con coeficiente de partición de 13.5 (National Center for Biotechnology Information, 2021), lo cual se asocia con una alta afinidad a la fase oleosa. Además, el uso de ultrasonido permite la formación de gotas de aceite con tamaño pequeño y homogéneo con buena estabilidad y alta eficiencia de encapsulación debido a la fuerza de cavitación, en comparación con otras metodologías como la homogeneización a alta velocidad y homogeneización mecánica (Canselier *et al.*, 2002).

La adición del extracto de la cáscara de mango en las emulsiones incrementó la capacidad antioxidante en 36 y 3x, medida por el ensayo de FRAP y TEAC (Cuadro 2), respectivamente. Como se mencionó anteriormente, la cáscara de mango cv. Ataulfo es fuente potencial de compuestos fenólicos como galotaninos, quercetina, catequina, mangiferina, entre otros, los cuales brindan protección contra la oxidación de la fase oleosa durante el procesamiento y almacenamiento. Jiménez-Escobar *et al.* (2020) produjeron emulsiones cargadas de carotenoides de paprika, las cuales presentaron una capacidad antioxidante de 4.22 mg ET/mL determinado por el ensayo de FRAP. Meng *et al.* (2019) adicionaron compuestos fenólicos de té verde en la fase acuosa de emulsiones con carotenoides, observando que la incorporación de compuestos antioxidantes prevenía la degradación de β -caroteno y además mantenían las propiedades físicas del sistema. Otros compuestos fenólicos como la catequina y quercetina han sido utilizados para reducir la formación de hidroxiperóxidos y dienos conjugados en emulsiones de aceite de semilla de algodón, que debido a su carácter anfipático pueden interactuar en la interfase de la emulsión, brindando protección antioxidante (Kiokias y Varzakas, 2014).

6.3. Estabilidad de las Emulsiones bajo Almacenamiento Controlado

Las emulsiones son sistemas coloidales que naturalmente tienden a presentar floculación, cremado, separación de fases, por lo cual es importante evaluar su estabilidad durante almacenamiento. Las emulsiones fueron almacenadas a diferentes temperaturas (4, 25 y 40°C) por ocho semanas. Los resultados obtenidos mostraron una reducción $\leq 10\%$ de la concentración de carotenoides en las emulsiones cuando éstas fueron almacenadas a 4°C, mientras que a 25 y 40°C se observó una reducción significativa en el contenido de carotenoides (Figura 8A) para ambos tratamientos. La adición de extracto de cáscara de mango en las emulsiones (ECFM) mostró mayor conservación de los carotenoides con un 87 y 72%; mientras que en el tratamiento sin CFs (EC), se observaron valores de 51 y 60%, a 25 y 40°C, respectivamente.

Resultados similares fueron reportados en emulsiones con β -caroteno y astaxantina, observando una mayor reducción de su contenido a partir de los 20 a 70°C (Liu *et al.*, 2016; Qian *et al.*, 2012). Altas temperaturas afectan las propiedades físicas de la fase oleosa y la solubilidad del surfactante, lo cual se asocia con una reducción de la fuerza en la película interfacial promoviendo la coalescencia de las partículas, así como la liberación indeseada del compuesto encapsulado (Li y Lu, 2016). Shao *et al.* (2017) obtuvieron una reducción de β -caroteno incorporado en emulsiones de 12.8, 21.9, 26.7 y 38.8% al exponer los tratamientos a 70, 80, 90 y 100°C, por 4 h, respectivamente. Altas temperaturas, más la presencia de oxígeno, promueven la formación de radicales libres en el medio, lo cual afecta la estabilidad de moléculas lábiles como los carotenoides, los cuales, al presentar insaturaciones en su estructura, pueden ser oxidados, ciclados o isomerizados y afectar sus propiedades funcionales.

A su vez, se observó que la adición de extracto de cáscara de mango redujo significativamente la pérdida de la capacidad antioxidante, en comparación con las emulsiones sin extracto añadido (Figura 8b-c). Resultados similares fueron reportados para extractos fraccionados de hojas de murta (*Ugni molinae*), los cuales mostraron un menor periodo de inducción de la oxidación en emulsiones de aceite de linaza, lo cual fue atribuido al contenido de compuestos fenólicos como el ácido vanílico, cafeico, ferúlico y *p*-cumárico (Rubilar *et al.*, 2012). Asimismo, la adición de 0.05% de

un extracto de alga roja marina (*Grateloupza filicina*) mostró mayor protección contra la oxidación de aceite de pescado, en comparación con antioxidantes sintéticos como BHT y BHA (Athukorala *et al.*, 2003). El uso de antioxidantes naturales provenientes de extractos de romero fueron efectivos para reducir la oxidación de lípidos y prolongar la vida de anaquel de emulsiones con carotenoides, adicionadas en una bebida de limón (Mesnier *et al.*, 2014). Se ha reportado que, de acuerdo con la estructura de los compuestos fenólicos, éstos pueden posicionarse en la fase acuosa o interaccionar en la interfase aceite-agua. De esta manera, los compuestos con mayor afinidad a la fase oleosa o aquellos compuestos anfipáticos brindan protección antioxidante al núcleo de la partícula, mientras que los antioxidantes hidrofílicos se distribuyen en la fase acuosa en donde están más expuestos a las condiciones ambientales y podrían ser mayormente susceptibles a la oxidación y disminución de la capacidad antioxidante (Di Mattia *et al.*, 2009).

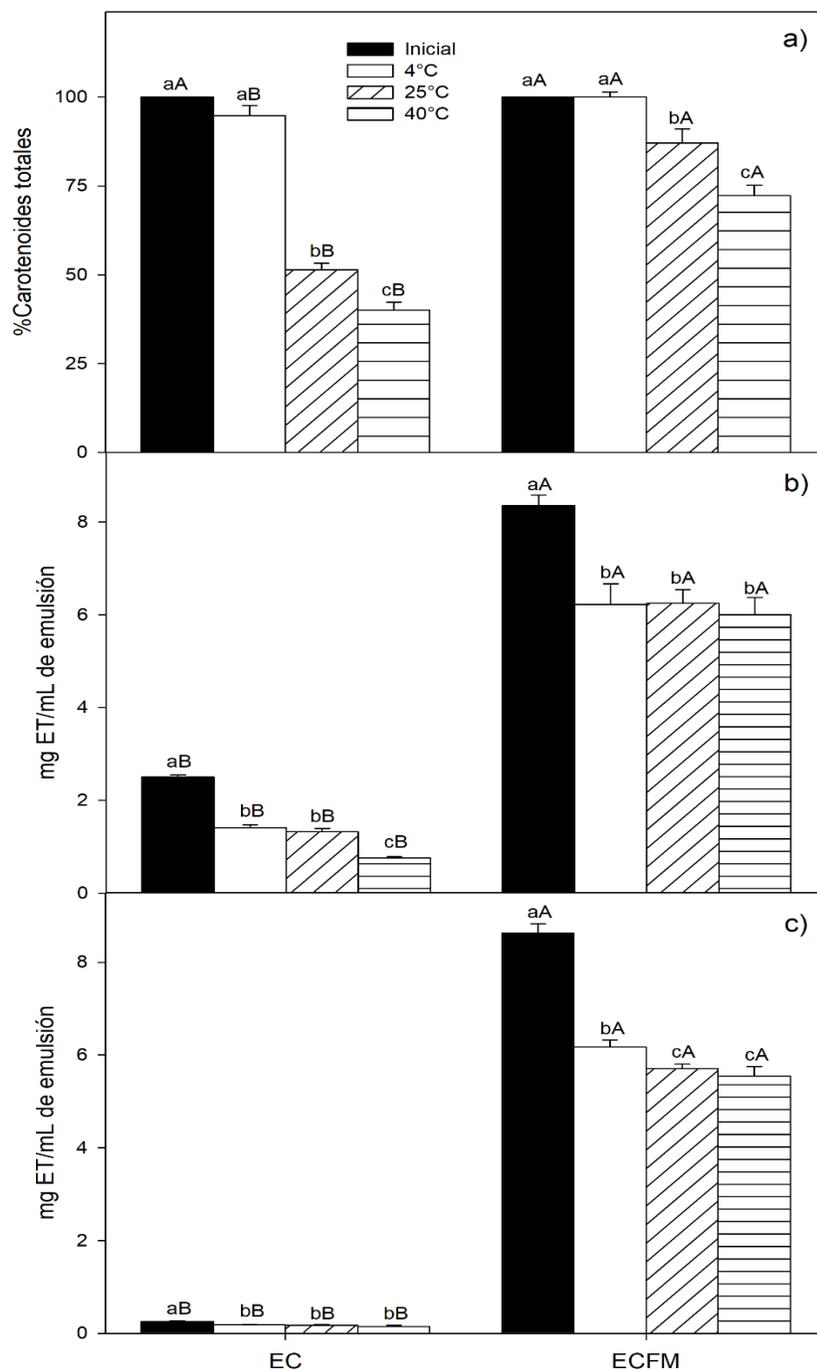


Figura 8. Cambios en el contenido de carotenoides (a) y capacidad antioxidante mediante los ensayos de TEAC (b) y FRAP (c) de las emulsiones al final de ocho semanas de almacenamiento controlado. Media \pm error estándar (n=3). EC, emulsión cargada con carotenoides; ECFM, emulsión cargada con carotenoides y adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo. Letras minúsculas indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las temperaturas de almacenamiento por tratamiento. Letras mayúsculas indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre tratamientos a la misma temperatura.

La evaluación de los cambios físicos en emulsiones es indicadora de la estabilidad del sistema. Diferentes factores son lo que pueden modificar el tamaño o potencial zeta de las partículas tales como la temperatura. Debido a ello, se evaluó la estabilidad del tamaño de partícula, índice de polidispersidad y potencial zeta de las emulsiones bajo condiciones de almacenamiento a temperatura controlada (4, 25 y 40°C). Como se muestra en el Cuadro 3, el tamaño de partícula e índice de polidispersidad no resultaron afectados significativamente al culminar el periodo de almacenamiento de ocho semanas. Resultados similares han sido reportados por Wu *et al.* (2017) en emulsiones cargadas con curcumina, en donde la exposición a temperaturas de 30 a 90°C por 30 min, no afectaron el tamaño de partícula usando Tween 80 como surfactante. El mismo comportamiento fue observado por Ma *et al.* (2017) en emulsiones cargadas con curcumina al ser almacenadas a 4, 25 y 55°C durante 60 días, cuyos resultados muestran estabilidad del tamaño de partícula y el contenido de curcumina al emplear Tween 80 como surfactante, mientras que con lecitina de soya se presentó mayor variación tanto en tamaño como en el contenido de curcumina. Zhao *et al.* (2018) midieron la estabilidad de emulsiones cargadas con luteína, empleando β -lactoglobulina como emulsificante, durante cuatro semanas de almacenamiento a temperatura controlada de 4, 25 y 37°C. No se presentaron cambios en el tamaño a 4°C, mientras que un incremento del 4% se observó a 25 y 37°C, lo cual puede atribuirse a que altas temperaturas se asocian con un incremento en la energía del sistema que promueve la colisión y agregación de las partículas.

Cuadro 3. Cambios físicos de las emulsiones al final del almacenamiento bajo condiciones de temperatura controlada.

Tratamiento	Temperatura (°C)	Tamaño (nm)	Índice de polidispersidad	Potencial zeta (mV)
Control	Inicial	253.72 ± 2.19 ^{aA}	0.28 ± 0.02 ^{aA}	-23.37 ± 0.60 ^{bcA}
	4	253.87 ± 4.46 ^{aA}	0.25 ± 0.03 ^{aA}	-20.01 ± 0.98 ^{aA}
	25	250.50 ± 3.53 ^{aA}	0.26 ± 0.02 ^{aA}	-21.82 ± 1.19 ^{abA}
	40	251.39 ± 3.78 ^{aA}	0.26 ± 0.02 ^{aA}	-24.40 ± 0.91 ^{cA}
EC	Inicial	256.40 ± 1.99 ^{aA}	0.28 ± 0.02 ^{aA}	-31.63 ± 2.58 ^{aB}
	4	253.82 ± 3.07 ^{aA}	0.29 ± 0.02 ^{aA}	-24.94 ± 4.94 ^{aA}
	25	252.13 ± 1.91 ^{aA}	0.29 ± 0.02 ^{aA}	-28.15 ± 2.28 ^{aB}
	40	253.01 ± 3.56 ^{aA}	0.27 ± 0.02 ^{aA}	-25.53 ± 2.95 ^{aA}
ECFM	Inicial	240.64 ± 2.41 ^{aB}	0.26 ± 0.02 ^{aA}	-29.77 ± 0.45 ^{cbB}
	4	238.64 ± 3.25 ^{aB}	0.25 ± 0.03 ^{aA}	-23.03 ± 1.24 ^{aA}
	25	237.67 ± 3.58 ^{aB}	0.26 ± 0.02 ^{aA}	-25.87 ± 0.79 ^{bbB}
	40	238.50 ± 2.47 ^{aB}	0.27 ± 0.03 ^{aA}	-27.19 ± 1.05 ^{baA}

Media ± error estándar (n=3). EC, emulsión cargada con carotenoides; ECFM, emulsión cargada con carotenoides adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo. Letras minúsculas indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las temperaturas de almacenamiento por tratamiento. Letras mayúsculas indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre tratamientos a la misma temperatura.

Los cambios en potencial zeta de las emulsiones expuestas a 4, 25 y 40°C, al final del almacenamiento de ocho semanas, se muestran en el Cuadro 3. Las emulsiones cargadas con β -caroteno no presentaron cambios significativos, mientras que el tratamiento control y el tratamiento adicionado con compuestos fenólicos de cáscara de mango, mostraron cambios entre las diferentes temperaturas de almacenamiento, observándose la mayor reducción a 4°C con un 14 y 22%, respectivamente. El potencial zeta permite predecir la estabilidad física de emulsiones a corto y largo plazo. Se considera que valores absolutos $\geq +30$ mV o ≤ -30 mV son eléctricamente estables, las fuerzas de repulsión son mayores que las fuerzas de atracción, evitando así la colisión entre partículas, mientras que emulsiones con valores $\leq +20$ mV o ≥ -20 mV tienden a coagular o flocular, es decir, forman un sistema inestable (Lu y Gao, 2010). Meng *et al.* (2019) observaron menor variación del potencial zeta en emulsiones cargadas con β -caroteno al adicionar CFs de té verde, durante 30 días de almacenamiento a 4, 25 y 35°C. El efecto observado lo atribuyeron al surfactante Tween 80 que forma la película interfacial alrededor de las gotas de aceite, brindando protección contra agregación; mientras que la adición de CFs de té verde protegió el sistema de la oxidación, manteniendo la carga general del sistema.

6.4. Digestión Simulada de Emulsiones del Tipo Aceite en Agua Adicionadas con Extracto de Cáscara de Mango cv. Ataulfo

Las emulsiones fueron sometidas a condiciones gastrointestinales simuladas para evaluar la estabilidad de las emulsiones y la liberación de los compuestos bioactivos, siguiendo la metodología propuesta por Minekus *et al.* (2014). Los cambios en tamaño y potencial zeta de las emulsiones durante las etapas gástrica e intestinal se muestran en la Figura 9. El tamaño de las emulsiones mostró una reducción significativa en la etapa gástrica en todos los tratamientos. Se ha reportado que en condiciones de pH ácido se induce la protonación de los grupos carbonilo presentes en la región polar del surfactante, lo cual podría ocasionar mayor condensación de la interfase aceite-agua (Tatá *et al.*, 2018). Asimismo, estos cambios pueden asociarse con el tipo de surfactante empleado, en el caso de Tween 80, al ser un surfactante no iónico proporciona alta repulsión estérica entre las gotas de aceite debido al grupo polioxietileno presente en su estructura, evitando la agregación y coalescencia de las gotas de aceite (Golding *et al.*, 2011; Tan *et al.*, 2020). En la etapa intestinal, se observó un incremento significativo en el tamaño de partícula, lo cual podría atribuirse a la acción enzimática de la lipasa pancreática, sales biliares y pH alcalino, que al promover la digestión del surfactante y fase oleosa, generan cambios en la interfase que ocasionan la agregación o coalescencia de las gotas de aceite (Salvia-Trujillo *et al.*, 2017). Resultados similares fueron reportados por Salvia-Trujillo *et al.* (2019) para emulsiones de aceite de maíz y oliva, donde se observaron cambios mínimos en el tamaño durante la digestión gástrica de las emulsiones, mientras que bajo condiciones de intestino delgado, el tamaño incrementó en 16 y 26x, respectivamente, en comparación con los valores iniciales, utilizando Tween 80 al 10%.

El potencial zeta de todos los tratamientos se redujo significativamente en la etapa gástrica, mientras que en condiciones de intestino se observó un incremento significativo. Resultados similares han sido reportados para emulsiones cargadas con β -caroteno, astaxantina, curcumina, mostrando menor potencial zeta en condiciones ácidas, mientras que en pH alcalino, se tiende a mayor negatividad de las partículas (Liu *et al.*, 2016; Salvia-Trujillo *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2017). En la etapa gástrica, el pH ácido podría inducir la protonación de los grupos carbonilo presentes en la región polar del surfactante (Tatá *et al.*, 2018), alterando la carga negativa de la partícula. El

incremento de la carga negativa de las emulsiones observado en la etapa intestinal podría deberse al aumento de los ácidos grasos libres asociado a la hidrólisis de las gotas de aceite por acción de la lipasa y la emulsificación por las sales biliares (Salvia-Trujillo *et al.*, 2017).

Yu *et al.* (2019) observaron que partículas lipídicas aniónicas presentaron menor tasa de degradación al ser sometidas a lipólisis *in vitro*, en comparación con partículas neutras y catiónicas. Lo cual se corroboró en el ensayo murino, al presentarse cerca del 30% de las partículas aún sin digerir después de 12 h de haber administrado el tratamiento en ratones. Asimismo, las partículas aniónicas presentaron mayor transporte linfático (3.24%), en comparación con las catiónicas (0.46%). Además de resistir las condiciones del tracto gastrointestinal, los sistemas de entrega como las emulsiones, deben ser capaces de penetrar la capa mucosa antes de llegar al epitelio del intestino, ser absorbidos y transportados a circulación sistémica. En este sentido, las partículas aniónicas pueden desplazarse fácilmente por la capa mucosa debido a que está presenta carga negativa debido a los ácidos siálico y sulfónico que forman parte de la estructura de esta barrera; mientras que las partículas catiónicas tienden a ser retenidas por efecto de interacciones iónicas (Dünnhaupt *et al.*, 2015).

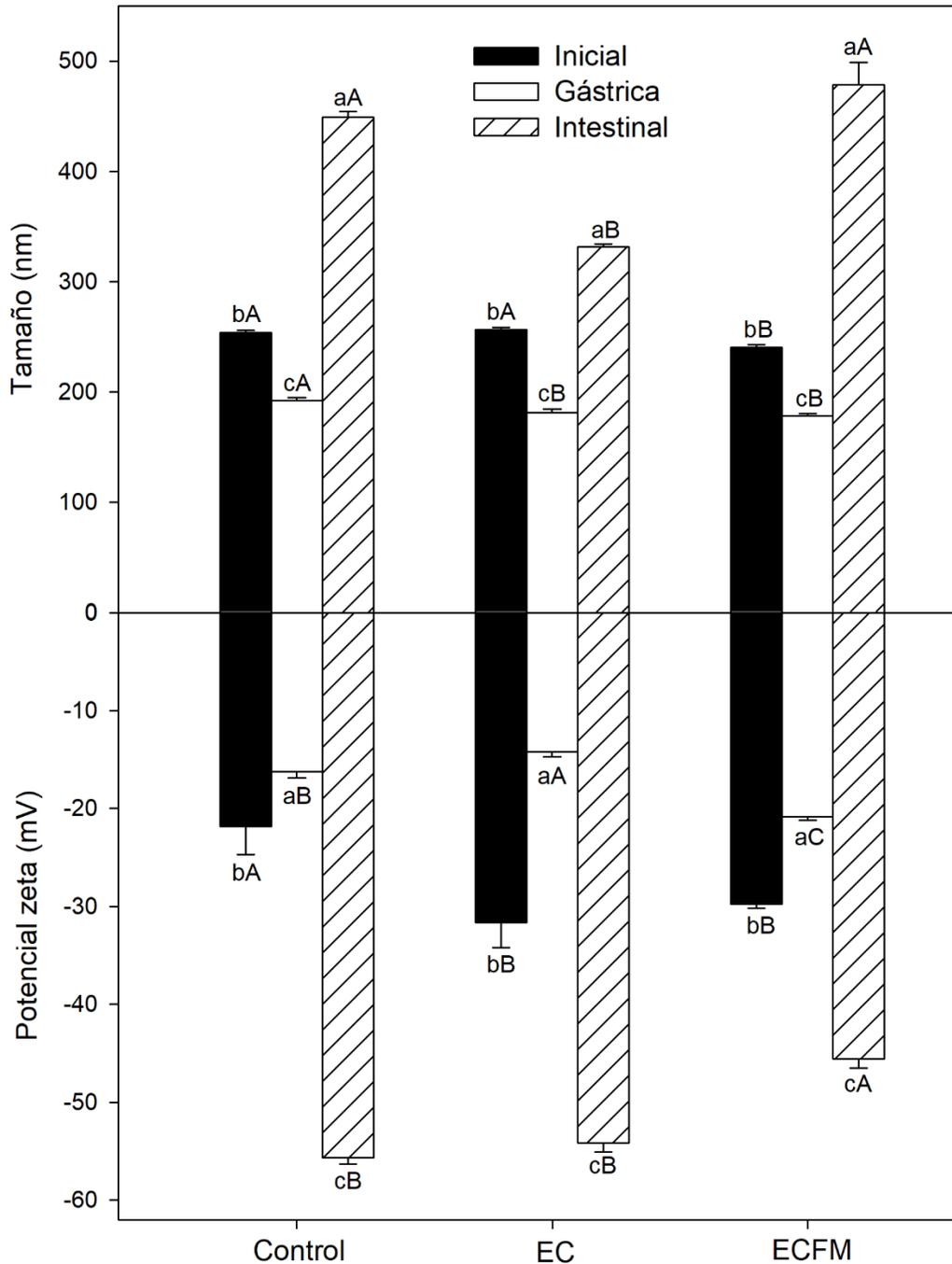


Figura 9. Cambios físicos de las emulsiones durante la digestión simulada. Media \pm error estándar (n=3). EC, emulsión cargada con carotenoides; ECFM, emulsión cargada con carotenoides y adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo. Letras minúsculas indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las etapas de digestión por tratamiento. Letras mayúsculas indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre tratamientos por etapa de digestión.

La adición de CFs de cáscara de mango cv. Ataulfo en las emulsiones brindó un efecto protector a los carotenoides contra la oxidación, sin embargo, al encontrarse dispersos en la fase acuosa o en la interfase agua-aceite, pueden verse mayormente afectados por las condiciones químico-enzimáticas de la digestión. Como se observa en el Cuadro 4, durante la digestión de las emulsiones se observaron cambios en la capacidad antioxidante durante las etapas gástrica e intestinal. La mayor afectación sobre la capacidad antioxidante de las emulsiones se observó durante la etapa intestinal, principalmente en el tratamiento adicionado con CFs. Bermúdez-Soto *et al.* (2007) evaluaron los cambios en el contenido de CFs de aronia (*Aronia melanocarpa*) durante el proceso de digestión *in vitro*. Los autores observaron pérdidas de 43, 26 y 19% en el contenido antocianinas, flavonoles y flavanoles, respectivamente. Los CFs son compuestos lábiles en condiciones alcalinas del intestino delgado y se menciona que, durante la digestión en el duodeno, una proporción de estos compuestos puede sufrir cambios conformacionales. Tenore *et al.* (2015) evaluaron el efecto del proceso de digestión sobre catequinas de té verde, blanco y negro, observando la pérdida del 91.8% de éstas; lo cual puede relacionarse con la formación de radicales libres semiquinona debido a la desprotonación de la molécula de catequina en condiciones de pH alcalino.

Cuadro 4. Cambios en la capacidad antioxidante de las emulsiones sometidas a condiciones de digestión simuladas.

Tratamiento	Etapa digestión	Capacidad antioxidante (mg ET/mL de emulsión)	
		FRAP	TEAC
EC	Inicial	0.18 ± 0.01 ^{bB}	2.50 ± 0.05 ^{aB}
	Gástrica	0.21±0.01 ^{aB}	2.35±0.05 ^{bB}
	Intestinal	0.12±0.01 ^{cB}	1.76±0.06 ^{cB}
ECFM	Inicial	6.73 ± 0.20 ^{aA}	8.36 ± 0.22 ^{aA}
	Gástrica	5.95±0.19 ^{bA}	7.93±0.25 ^{aA}
	Intestinal	3.46±0.12 ^{cA}	6.33±0.37 ^{bA}

Media ± error estándar (n=3). EC, emulsión cargada con carotenoides; ECFM, emulsión cargada con carotenoides y adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo. Letras minúsculas indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las etapas de digestión por tratamiento. Letras mayúsculas indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre tratamientos por etapa de digestión.

La bioaccesibilidad de carotenoides fue determinada en la etapa intestinal ya que en ésta se lleva a cabo la digestión y absorción de los compuestos liposolubles. Como se observa en la Figura 10,

ambos tratamientos mostraron un incremento gradual en la concentración de carotenoides, lo cual se asocia con la hidrólisis de las gotas de aceite por acción de la lipasa pancreática. El tratamiento adicionado con CFs mostró un incremento significativo en la bioaccesibilidad a partir de los 90 min. Lo anterior podría asociarse con un efecto protector de los CFs hacia el β -caroteno durante la digestión intestinal. Shao *et al.* (2017) observaron pérdidas del 42 y 37% cuando emulsiones cargadas con β -caroteno fueron almacenadas a pH de 6.0 y 7.0, respectivamente, durante 3 días. Tao *et al.* (2021) identificaron un aumento en la concentración de los isómeros 15-cis- β -caroteno y 9-cis- β -caroteno durante la digestión gastrointestinal de trans- β -caroteno. Entre los cambios estructurales que se identificaron por espectroscopia de infrarrojo están el estiramiento del enlace C-H del grupo aldehído a 2672 nm, la aparición de un grupo funcional polar C-O a 1055 nm, así como la formación de dos picos a 943 nm que indican la formación del furanoide β -caroteno-epóxido o β -caroteno-diepóxido.

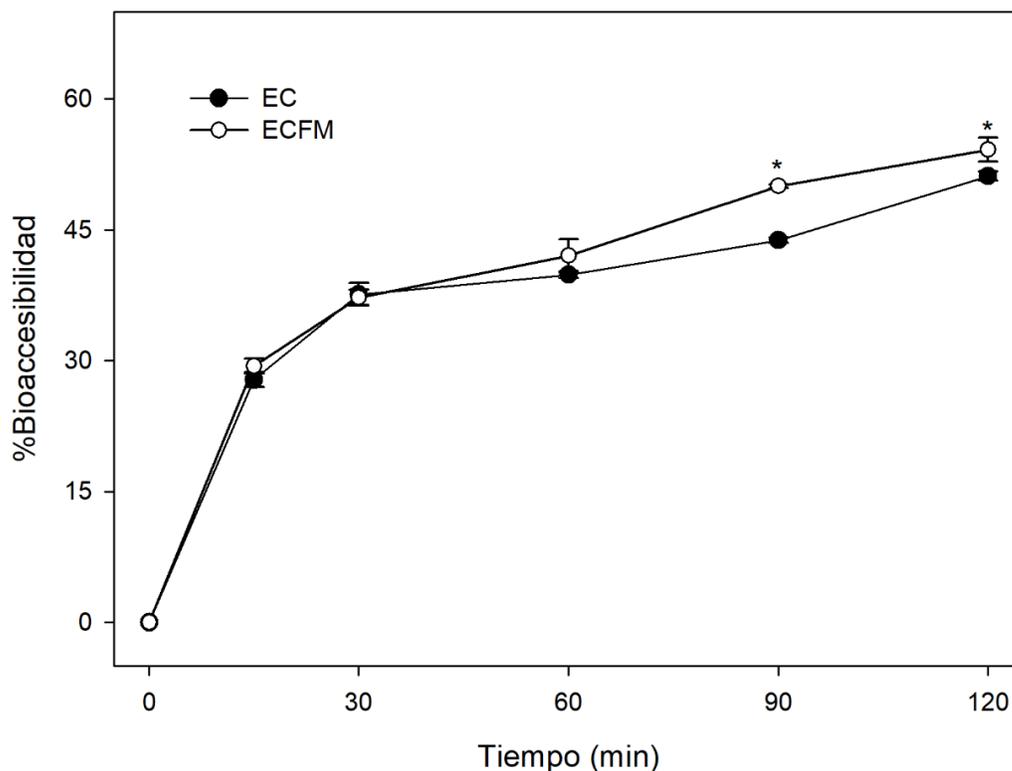


Figura 10. Bioaccesibilidad de β -caroteno en las emulsiones bajo condiciones gastrointestinales simuladas. Media \pm error estándar (n=3). EC, emulsión cargada con carotenoides; ECFM, emulsión cargada con carotenoides y adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo. Asterisco indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos por tiempo de medición.

Por otro lado, Salvia-Trujillo (2013) encapsularon β -caroteno en emulsiones pequeñas (0.21 μm), medianas (0.38 μm) y grandes (23 μm), para evaluar la relación entre el tamaño de partícula y la bioaccesibilidad. Los resultados obtenidos muestran que la bioaccesibilidad del β -caroteno aumentó significativamente al disminuir el tamaño, con 59% y 34% de liberación en las emulsiones pequeñas y grandes, respectivamente. Salvia-Trujillo y McClements (2016) elaboraron emulsiones cargadas con licopeno para mejorar su bioaccesibilidad en jugo de tomate. Se produjeron emulsiones con tamaños de 0.16 y 19 μm para evaluar el efecto del tamaño sobre la liberación del licopeno en condiciones de digestión simulada. Los resultados muestran que la bioaccesibilidad de licopeno en el zumo de tomate crudo sin emulsión fue de 7.5%, mientras que las emulsiones aumentaron la liberación en 10.1 y 12.5%, para el caso de las partículas grandes y pequeñas, respectivamente. Ambos estudios muestran una relación positiva entre la producción de ácidos grasos libres y el aumento en la bioaccesibilidad, esto asociado a que se promueve mayor formación de micelas mixtas a partir de los productos de la digestión de lípidos y las sales biliares, siendo un punto crítico para la incorporación de los carotenoides en micelas y que éstos puedan ser transportados y absorbidos por los enterocitos.

6.5. Viabilidad Celular de las Emulsiones

Las emulsiones son sistemas coloidales compuestos de aceite, agua y surfactante. Con el fin de asegurar la inocuidad de los ingredientes empleados en las emulsiones producidas, se realizó un ensayo de viabilidad celular en la línea normal de retina humana (ARPE-19). Todas las concentraciones de surfactante evaluadas mostraron $\approx 90\%$ de viabilidad (Figura 11), lo cual indica que las emulsiones producidas no afectaron el metabolismo o componentes celulares que pudieran inducir la muerte celular. Resultados similares han sido reportados para otros sistemas lipídicos como las micelas (Lornejad-Schäfer *et al.*, 2007) y nanoemulsiones (Ge *et al.*, 2020) cargadas con luteína y zeaxantina, las cuales mostraron viabilidad celular mayor al 80%, utilizando el mismo modelo celular que en el presente estudio. Asimismo, se ha evaluado la toxicidad de emulsiones con luteína (Teo *et al.*, 2017), vitamina E (Yang *et al.*, 2017), epigallocatequina-3-galato (Ru *et al.*, 2010) y astaxantina (Shen *et al.*, 2019) en líneas celulares de colon (Caco-2) e hígado (HepG2), mostrando viabilidad mayor al 80%.

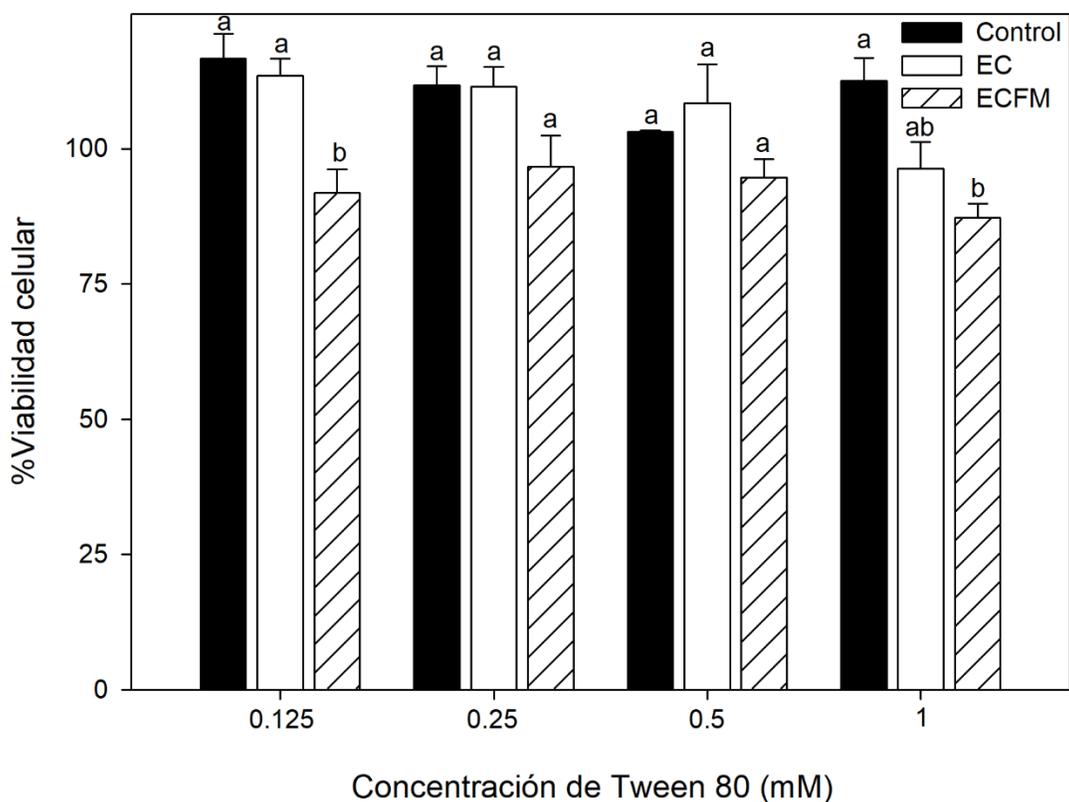


Figura 11. Viabilidad celular de células normales de retina (ARPE-19) tratadas con emulsiones del tipo aceite en agua. Media \pm error estándar (n=3). EC, emulsión cargada con carotenoides; ECFM, emulsión cargada con carotenoides y adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo.

Doufène *et al.* (2021) evaluaron la citocompatibilidad de micropartículas híbridas a base de aceite vegetal para la administración subcutánea de estradiol empleando fibroblastos embrionarios de ratón (NIH3T3). Las concentraciones evaluadas mostraron viabilidad $>98\%$ hasta los 10 mg/mL a las 24 h de exposición a las micropartículas, la cual disminuyó a 84% a las 48 h de incubación. Por otra parte, el ensayo de biocompatibilidad no mostró daño aparente o signos de inflamación aguda al ser administrado vía subcutánea en ratones albinos macho (BALB/cAnNRj). Yin *et al.* (2017) produjeron nanoemulsiones con aceite de hemp para la administración oral de baicaleína, las cuales mostraron $>90\%$ de viabilidad en la línea celular de cáncer de colon Caco-2 tras 24 h de exposición. El uso de sistemas de liberación controlada en aplicaciones médicas, alimenticias y nutraceúticas es importante para mantener la estabilidad, incrementar la absorción y eficacia terapéutica. El uso de aceites vegetales y surfactantes no iónicos para la formulación de emulsiones ha sido evaluada, debido a la biocompatibilidad, y biodegradabilidad que presentan, ya que estos componentes son

digeridos en el intestino liberando ácido oleico, lo cual mejora la formación de quilomicrones y promueve el transporte linfático de compuestos lipofílicos (Kaur y Mehta, 2017).

6.6. Capacidad Antioxidante Celular de las Emulsiones

El ensayo de capacidad antioxidante celular es utilizado para medir el potencial antioxidante intracelular de compuestos de interés, a través de los cambios en fluorescencia de una sonda. La sonda más utilizada es el 2',7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato (DCFH₂-DA), la cual rápidamente permea la membrana celular hacia el citosol, donde es desesterificada a 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (DCFH₂) por esterasas endógenas. Después, la oxidación de DCFH₂ a 2',7'-diclorofluoresceína (DCF) es mediada por radicales peróxido, provenientes de una solución oxidante de AAPH, lo que ocasiona un incremento en la fluorescencia (Chen *et al.*, 2018; López-Alarcón y Denicola, 2013). En este sentido, los resultados obtenidos mostraron menor intensidad de fluorescencia en las células que fueron tratadas con emulsiones adicionadas con extracto de cáscara de mango cv. Ataulfo (ECFM) (Figura 12) a partir de los 50 min. La adición de antioxidantes naturales retardó la oxidación de DCFH₂ a DCF por los radicales libres formados de la oxidación lipídica, previniendo el estrés oxidativo, como se reporta para curcuminoides (Yu *et al.*, 2011) y β-caroteno (Du *et al.*, 2019) encapsulados en micelas poliméricas. Durante el ensayo, la oxidación de DCFH₂ se lleva a cabo en el citosol, donde por acción de las esterasas se forma el fluoróforo DCF, por lo que mayor intensidad en fluorescencia es indicativo de estrés oxidativo.

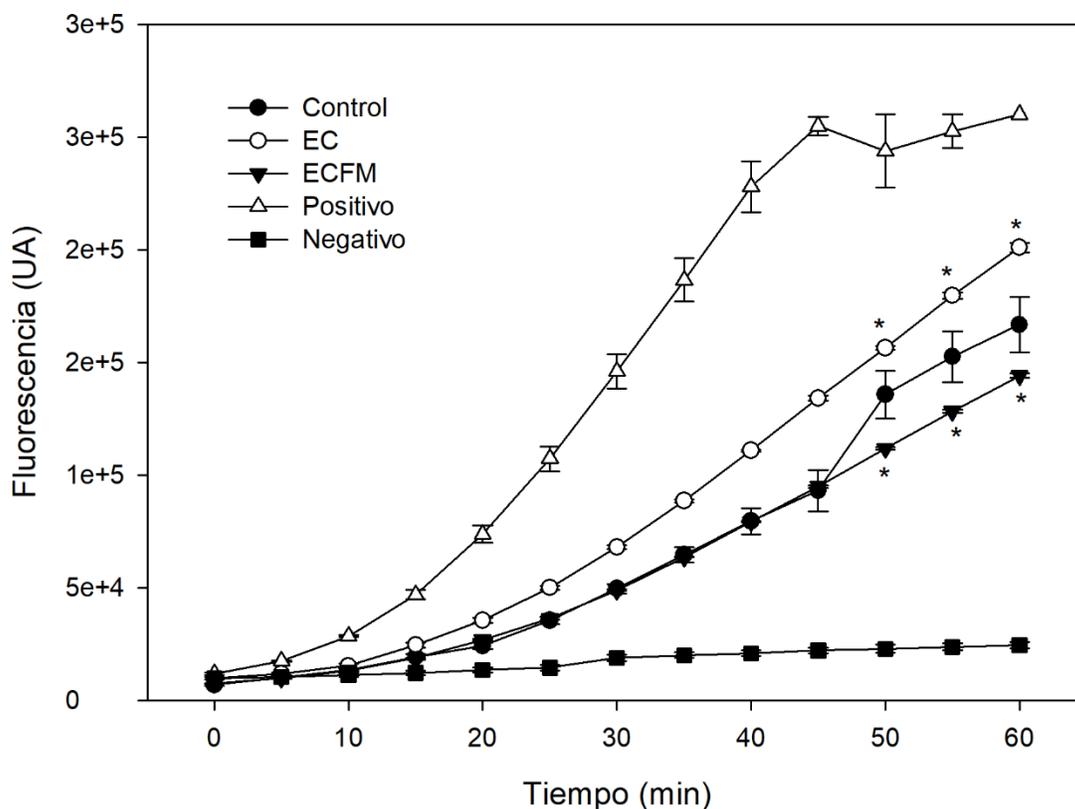


Figura 12. Capacidad antioxidante celular de emulsiones evaluada en células normales de retina (ARPE-19). Media \pm error estándar (n=3). Control positivo indica oxidación de la fluoresceína por adición de AAPH; control negativo no se añade AAPH. EC, emulsión cargada con carotenoides; ECFM, emulsión cargada con carotenoides y adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo. Asterisco indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos al mismo tiempo de medición.

Como se observa en la Figura 12, la adición de CFs en las emulsiones cargadas con β -caroteno, redujo significativamente la concentración de radicales libres, ocasionando una reducción en la fluorescencia. Esto a su vez, podría ser un indicativo de la internalización de los CFs en el modelo celular empleado (ARPE-19) debido al uso de emulsiones y sus componentes, tales como el surfactante y tipo de aceite empleado. Se ha reportado que algunos ácidos grasos, como el ácido oleico presente en el aceite de girasol, tienen la capacidad de mejorar la permeabilidad de la membrana celular. El ácido oleico es un ácido graso monoinsaturado de cadena larga (C18) que ha mostrado mejoras en la absorción de compuestos hidrofóbicos al promover la síntesis de quilomicrones y el transporte linfático. Houshaymi *et al.* (2019) observaron un incremento de 9 veces en la absorción de ivermectina encapsulada en micelas, las cuales contenían ácido oleico. Se

demonstró que la expresión de transportadores de eflujo como la P-glicoproteína y BCRP (proteína de resistencia a cáncer de mama) se veían inhibidas significativamente al aumentar la concentración de ácido oleico de 1 a 5 mM, permitiendo así la absorción celular del fármaco. Otro mecanismo asociado, podría ser la modulación del transporte paracelular debido a la captación de iones divalentes como el Ca^{2+} de la matriz extracelular por efecto de la carga negativa de la partícula (Kumar *et al.*, 2020). Además, la presencia de surfactantes, como Tween 80, promueven la difusión pasiva a través de la membrana celular, debido a su interacción con los fosfolípidos de membrana (Lu *et al.*, 2017). A su vez, el tamaño es un parámetro asociado con una mejora en la liberación y absorción, debido a que tamaños menores a 200 nm presentan mayor área de contacto; lo cual promueve mayor interacción con enzimas digestivas y membranas celulares, incrementando la absorción, en comparación con partículas de tamaño > 400 nm (Lu *et al.*, 2017; Salvia-Trujillo *et al.*, 2013).

6.7. Consumo Celular de las Emulsiones

El uso de sistemas de transporte como las emulsiones, resultan una alternativa viable para mejorar la estabilidad y absorción de compuestos bioactivos como la mangiferina y β -caroteno. En este sentido, el ensayo de consumo celular permite evidenciar la internalización de partículas en modelos celulares, dando un acercamiento a lo que podría suceder en un modelo *in vivo*. El consumo celular de las emulsiones fue evaluado en la línea normal de retina (ARPE-19), mediante la medición de fluorescencia en las emulsiones previamente teñidas con rojo de Nilo. Todos los tratamientos de emulsiones lograron ser internalizados en las células (Figuras 13b-d). Mediante la medición de la intensidad de fluorescencia se observó un incremento $\approx 30\%$ en la internalización del tratamiento control y emulsión con carotenoides, respecto al colorante en solución (Figura 13e).

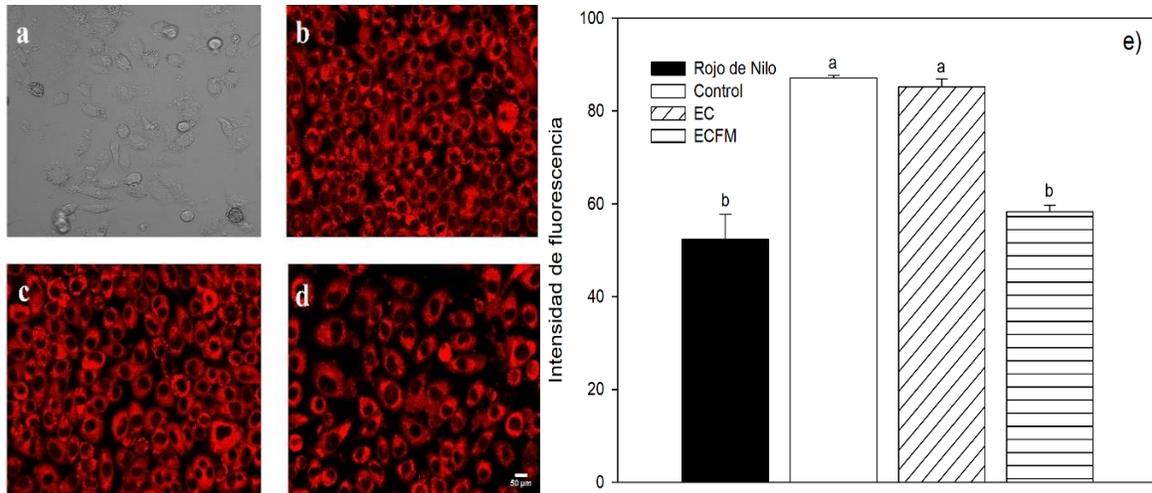


Figura 13. Microscopia confocal laser de barrido de células normales de retina (ARPE-19) a) sin emulsión, b) emulsión control, c) EC, d) ECFM, e) Intensidad de fluorescencia de las células incubadas con las emulsiones teñidas con Rojo de Nilo. Todas las emulsiones fueron teñidas con Rojo de Nilo (1 mg/mL). Media \pm error estándar (n=4). EC, emulsión cargada con carotenoides; ECFM, emulsión cargada con carotenoides y adicionadas con compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo. Letras diferentes entre barras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos.

Resultados similares fueron reportados por Du *et al.* (2019) en micelas con β -caroteno, utilizando la línea celular Caco-2. La encapsulación en micelas logró incrementar 3 veces el consumo celular, mientras que la permeabilidad transmembrana aumentó 13 veces, en comparación con betacaroteno en solución. Los compuestos hidrofóbicos como el β -caroteno pueden permear la membrana por difusión pasiva, el cual no resulta ser el transporte celular más eficiente. Por ello, la incorporación de bioactivos en nanoacarreadores resulta una alternativa para la mejora de la biodisponibilidad ya que se ha observado que partículas con tamaño < 60 nm pueden ser transportarse a través de la capa mucosa y llegar al epitelio del intestino, donde pueden ser internalizadas mediante endocitosis facilitada por caveolina (Lee *et al.*, 2013). Mientras que partículas de mayor tamaño entre 200 a 1500 nm presentan mejor absorción vía fagocítica (Behzadi *et al.*, 2017).

La absorción de partículas en membranas celulares está relacionada con el tamaño, carga, concentración de surfactantes, naturaleza de la cubierta, entre otros. Fan *et al.* (2017) reportan que la absorción celular de emulsiones de aceite de maíz aumentaba al disminuir el tamaño de 556 a 170 nm, debido a una mayor área de contacto con la membrana celular que implica menor

requerimiento energético para ser absorbido. Asimismo, el consumo celular de luteína y zeaxantina en células de retina, aumentó cuando estos compuestos fueron incorporados en micelas de Tween40/etanol. La permeabilidad de fármacos en células de retina se lleva a cabo a través del epitelio de la córnea mediante difusión pasiva de las moléculas hidrofóbicas, mientras que aquellos compuestos hidrosolubles pueden internalizarse a través de las uniones estrechas entre las células (Andrés-Guerrero & Herrero-Vanrell, 2018). En este sentido, Tween 80, es una molécula anfipática que brinda estabilidad a las emulsiones, la cual puede interactuar con la membrana retinal promoviendo la absorción. También, se ha reportado que los grupos hidroxilo del ácido oleico, presente en el aceite de girasol, interactúa con los fosfolípidos de las membranas celulares, mejorando la absorción (Houshaymi *et al.*, 2019).

7. CONCLUSIONES

La cáscara de mango cv. Ataulfo es fuente potencial para la obtención de antioxidantes naturales. La adición de compuestos fenólicos de cáscara de mango cv. Ataulfo en emulsiones del tipo aceite-en-agua mantuvieron la estabilidad de los carotenoides durante almacenamiento, así como el tamaño y carga, haciéndolos una alternativa potencial respecto de los antioxidantes sintéticos. El uso de emulsiones como sistemas de liberación fue efectiva para mejorar bioaccesibilidad de β -caroteno y capacidad antioxidante celular, atribuido a un aumento en el consumo celular. Estos resultados podrían ser de utilidad para explotar el uso de residuos agroindustriales como la cáscara de mango cv. Ataulfo, para la obtención de moléculas con valor biológico, y poder incorporarlos en matrices alimentarias.

8. RECOMENDACIONES

La mejora de este sistema mediante la adición de compuestos bioactivos provenientes de subproductos agroindustriales debe ser evaluada a detalle, previo a su incorporación en matrices alimentarias. Por lo cual, en próximas investigaciones deben evaluarse otros indicadores de estabilidad como rancidez, índice de cremado, cambios de color, entre otros, para asegurar o establecer la vida de anaquel. Asimismo, es importante evaluar la farmacocinética de las emulsiones al ser administradas por vía oral, empleando modelos *in vivo*, con la finalidad de evidenciar el potencial que presenta el sistema como coadyuvante de la absorción de compuestos bioactivos y así poder estimar dosis efectivas.

9. REFERENCIAS

- Abdel-Moneim, A., Yousef, A. I., Abd El-Twab, S. M., Abdel Reheim, E. S., & Ashour, M. B. (2017). Gallic acid and p-coumaric acid attenuate type 2 diabetes-induced neurodegeneration in rats. *Metabolic Brain Disease*, 32(4), 1279–1286. <https://doi.org/10.1007/s11011-017-0039-8>
- Acosta-Estrada, B. A., Serna-Saldívar, S. O., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2015). Chemopreventive effects of feruloyl putrescines from wastewater (Nejayote) of lime-cooked white maize (*Zea mays*). *Journal of Cereal Science*, 64, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.04.012>
- Ajila, C. M., Leelavathi, K., & Prasada Rao, U. J. S. (2008). Improvement of dietary fiber content and antioxidant properties in soft dough biscuits with the incorporation of mango peel powder. *Journal of Cereal Science*, 48(2), 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.10.001>
- Ajila, C. M., Naidu, K. A., Bhat, S. G., & Rao, U. J. S. P. (2007). Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chemistry*, 105(3), 982–988. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.052>
- Ambriz-Pérez, D. L., Bang, W. Y., Nair, V., Angulo-Escalante, M. A., Cisneros-Zevallos, L., & Heredia, J. B. (2016). Protective Role of Flavonoids and Lipophilic Compounds from *Jatropha platyphylla* on the Suppression of Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Inflammation in Macrophage Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(9), 1899–1909. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05534>
- Andrés-Guerrero, V., & Herrero-Vanrell, M. (2018). Absorción de fármacos por vía tópica: Papel de la conjuntiva. *Archivos de La Sociedad Española de Oftalmología*, 83, 683–686.
- Aranberri, I., Binks, B., Clint, J., & Fletcher, P. (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensioactivos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 7(3), 211–231. <https://reviberpol.files.wordpress.com/2019/08/2006-aranberri.pdf>
- Aspenström-Fagerlund, B., Ring, L., Aspenström, P., Tallkvist, J., Ilbäck, N.-G., & Glynn, A. W. (2007). Oleic acid and docosahexaenoic acid cause an increase in the paracellular absorption of hydrophilic compounds in an experimental model of human absorptive enterocytes. *Toxicology*, 237(1), 12–23. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.04.014>
- Athukorala, Y., Lee, K.-W., Shahidi, F., Heu, M. insoo, Kim, H.-T., Lee, J.-S., & Jeon, Y.-J. (2003). Antioxidant efficacy of extracts of an edible red alga (*Grateloupia filicina*) in linoleic acid and fish oil. *Journal of Food Lipids*, 10(4), 313–327. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2003.tb00024.x>
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Bamdad, F., Kadivar, M., & Keramat, J. (2006). Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(s1), 20–27. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01238.x>
- Bandyopadhyay, K., Chakraborty, C., & Bhattacharyya, S. (2014). Fortification of mango peel and kernel powder in cookies formulation. *Journal of Academia and Industrial Research*, 2(12), 661–664. <http://www.jairjp.com/MAY 2014/03 KAKALI.pdf>
- Behzadi, S., Serpooshan, V., Tao, W., Hamaly, M. A., Alkawareek, M. Y., Dreaden, E. C., Brown,

- D., Alkilany, A. M., Farokhzad, O. C., & Mahmoudi, M. (2017). Cellular uptake of nanoparticles: journey inside the cell. *Chemical Society Reviews*, 46(14), 4218–4244. <https://doi.org/10.1039/c6cs00636a>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bermúdez-Soto, M.-J., Tomás-Barberán, F.-A., & García-Conesa, M.-T. (2007). Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion. *Food Chemistry*, 102(3), 865–874. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.025>
- Berton-Carabin, C. C., Ropers, M.-H., & Genot, C. (2014). Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Involvement of the Interfacial Layer. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), 945–977. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12097>
- Blancas-Benitez, Francisco J, Mercado-Mercado, G., Quirós-Sauceda, A. E., Montalvo-González, E., González-Aguilar, G. A., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2015). Bioaccessibility of polyphenols associated with dietary fiber and in vitro kinetics release of polyphenols in Mexican ‘Ataulfo’ mango (*Mangifera indica* L.) by-products. *Food & Function*, 6(3), 859–868. <https://doi.org/10.1039/C4FO00982G>
- Blancas-Benitez, Francisco Javier, de Jesús Avena-Bustillos, R., Montalvo-González, E., Sáyago-Ayerdi, S. G., & H. McHugh, T. (2015). Addition of dried ‘Ataulfo’ mango (*Mangifera indica* L) by-products as a source of dietary fiber and polyphenols in starch molded mango snacks. *Journal of Food Science and Technology*, 52(11), 7393–7400. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1855-7>
- Canselier, J. P., Delmas, H., Wilhelm, A. M., & Abismaïl, B. (2002). Ultrasound Emulsification—An Overview. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 23(1–3), 333–349. <https://doi.org/10.1080/01932690208984209>
- Carnauba, R. A., Chaves, D. F. S., Baptistella, A. B., Paschoal, V., Naves, A., & Buehler, A. M. (2017). Association between high consumption of phytochemical-rich foods and anthropometric measures: a systematic review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68(2), 158–166. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1229761>
- Carvalho, A. G. A., Silva, K. A., Silva, L. O., Costa, A. M. M., Akil, E., Coelho, M. A. Z., & Torres, A. G. (2019). Jussara berry (*Euterpe edulis* M.) oil-in-water emulsions are highly stable: the role of natural antioxidants in the fruit oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(1), 90–99. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9147>
- Cázares-Camacho, R., Domínguez-Avila, J. A., Astiazarán-García, H., Montiel-Herrera, M., & González-Aguilar, G. A. (2021). Neuroprotective effects of mango cv. ‘Ataulfo’ peel and pulp against oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(2), 497–504. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10658>
- Cazzonelli, C. I. (2011). Carotenoids in nature: insights from plants and beyond. *Functional Plant Biology*, 38(11), 833–847. <https://doi.org/10.1071/FP11192>
- Chen, C., Wang, L., Wang, R., Luo, X., Li, Y., Li, J., Li, Y., & Chen, Z. (2018). Phenolic contents, cellular antioxidant activity and antiproliferative capacity of different varieties of oats. *Food Chemistry*, 239, 260–267. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.104>
- Cheng, C., Yu, X., McClements, D. J., Huang, Q., Tang, H., Yu, K., Xiang, X., Chen, P., Wang, X., & Deng, Q. (2019). Effect of flaxseed polyphenols on physical stability and oxidative stability of flaxseed oil-in-water nanoemulsions. *Food Chemistry*, 301, 125207. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125207>

- de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Zacarías, L., Rodrigo, M. J., Sáyago Ayerdí, S., Blancas Benítez, F. J., Domínguez Avila, J. A., & González-Aguilar, G. A. (2018). Effects of two different drying methods (freeze-drying and hot air-drying) on the phenolic and carotenoid profile of 'Ataulfo' mango by-products. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *12*(3), 2145–2157. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9830-4>
- Desai, K. G. H., & Jin Park, H. (2005). Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Drying Technology*, *23*(7), 1361–1394. <https://doi.org/10.1081/DRT-200063478>
- Di Mattia, C D, Sacchetti, G., Mastrocola, D., & Pittia, P. (2009). Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions. *Food Research International*, *42*(8), 1163–1170. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.05.017>
- Di Mattia, Carla D, Sacchetti, G., Mastrocola, D., Sarker, D. K., & Pittia, P. (2010). Surface properties of phenolic compounds and their influence on the dispersion degree and oxidative stability of olive oil O/W emulsions. *Food Hydrocolloids*, *24*(6), 652–658. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.03.007>
- Dorta, E., Lobo, M. G., & González, M. (2012). Using drying treatments to stabilise mango peel and seed: Effect on antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *45*(2), 261–268. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.08.016>
- Doufène, K., Basile, I., Lebrun, A., Pirot, N., Escande, A., Chopineau, J., Devoisselle, J.-M., Bettache, N., & Aubert-Pouëssel, A. (2021). Vegetable oil-based hybrid microparticles as a green and biocompatible system for subcutaneous drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, *592*, 120070. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120070>
- Du, Y., Bao, C., Huang, J., Jiang, P., Jiao, L., Ren, F., & Li, Y. (2019). Improved stability, epithelial permeability and cellular antioxidant activity of β -carotene via encapsulation by self-assembled α -lactalbumin micelles. *Food Chemistry*, *271*, 707–714. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.216>
- Dünnhaupt, S., Kammona, O., Waldner, C., Kiparissides, C., & Bernkop-Schnürch, A. (2015). Nano-carrier systems: Strategies to overcome the mucus gel barrier. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *96*, 447–453. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.01.022>
- 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, Y., Zhang, Y., Yokoyama, W., & Yi, J. (2017). Endocytosis of Corn Oil-Caseinate Emulsions In Vitro: Impacts of Droplet Sizes. In *Nanomaterials* (Vol. 7, Issue 11). <https://doi.org/10.3390/nano7110349>
- Fang, C., Kim, H., Noratto, G., Sun, Y., Talcott, S. T., & Mertens-Talcott, S. U. (2018). Gallotannin derivatives from mango (*Mangifera indica* L.) suppress adipogenesis and increase thermogenesis in 3T3-L1 adipocytes in part through the AMPK pathway. *Journal of Functional Foods*, *46*, 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.043>
- Fathi, M., Martín, Á., & McClements, D. J. (2014). Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. *Trends in Food Science & Technology*, *39*(1), 18–39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.06.007>
- Fernandes, I., Faria, A., Calhau, C., de Freitas, V., & Mateus, N. (2014). Bioavailability of anthocyanins and derivatives. *Journal of Functional Foods*, *7*, 54–66. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.05.010>
- Gadkari, P. V., Shashidhar, M. G., & Balaraman, M. (2017). Delivery of green tea catechins through Oil-in-Water (O/W) nanoemulsion and assessment of storage stability. *Journal of*

- Food Engineering*, 199, 65–76. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.12.009>
- Gandhi, G. R., Jothi, G., Antony, P. J., Balakrishna, K., Paulraj, M. G., Ignacimuthu, S., Stalin, A., & Al-Dhabi, N. A. (2014). Gallic acid attenuates high-fat diet fed-streptozotocin-induced insulin resistance via partial agonism of PPAR γ in experimental type 2 diabetic rats and enhances glucose uptake through translocation and activation of GLUT4 in PI3K/p-Akt signaling pathway. *European Journal of Pharmacology*, 745, 201–216. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.10.044>
- García-Cayueta, T., Nuño-Escobar, B., Welti-Chanes, J., & Cano, M. P. (2018). In vitro bioaccessibility of individual carotenoids from persimmon (*Diospyros kaki*, cv. Rojo Brillante) used as an ingredient in a model dairy food. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(9), 3246–3254. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8827>
- García-Magaña, M. de L., García, H. S., Bello-Pérez, L. A., Sáyago-Ayerdi, S. G., & de Oca, M. M.-M. (2013). Functional Properties and Dietary Fiber Characterization of Mango Processing By-products (*Mangifera indica* L., cv Ataulfo and Tommy Atkins). *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(3), 254–258. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0364-y>
- García-Solís, P., Yahia, E. M., & Aceves, C. (2008). Study of the effect of ‘Ataulfo’ mango (*Mangifera indica* L.) intake on mammary carcinogenesis and antioxidant capacity in plasma of N-methyl-N-nitrosourea (MNU)-treated rats. *Food Chemistry*, 111(2), 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.060>
- Ge, Y., Zhang, A., Sun, R., Xu, J., Yin, T., He, H., Gou, J., Kong, J., Zhang, Y., & Tang, X. (2020). Penetratin-modified lutein nanoemulsion in-situ gel for the treatment of age-related macular degeneration. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 17(4), 603–619. <https://doi.org/10.1080/17425247.2020.1735348>
- Golding, M., Wooster, T. J., Day, L., Xu, M., Lundin, L., Keogh, J., & Clifton, P. (2011). Impact of gastric structuring on the lipolysis of emulsified lipids. *Soft Matter*, 7(7), 3513–3523. <https://doi.org/10.1039/C0SM01227K>
- Gonçalves, A., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2016, May 1). Microencapsulation of vitamin A: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 51, 76–87. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.001>
- Grosso, A. L., Asensio, C. M., Nepote, V., & Grosso, N. R. (2018). Antioxidant Activity Displayed by Phenolic Compounds Obtained from Walnut Oil Cake used for Walnut Oil Preservation. *Journal of the American Oil Chemists’ Society*, 95(11), 1409–1419. <https://doi.org/10.1002/aocs.12145>
- Ha, T. V. A., Kim, S., Choi, Y., Kwak, H. S., Lee, S. J., Wen, J., Oey, I., & Ko, S. (2015). Antioxidant activity and bioaccessibility of size-different nanoemulsions for lycopene-enriched tomato extract. *Food Chemistry*, 178, 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.048>
- Houshaymi, B., Nasreddine, N., Kedeas, M., & Soayfane, Z. (2019). Oleic acid increases uptake and decreases the P-gp-mediated efflux of the veterinary anthelmintic Ivermectin. *Drug Res (Stuttg)*, 69(03), 173–180. <https://doi.org/10.1055/a-0662-5741>
- Hwang, H.-S., Winkler-Moser, J. K., Kim, Y., & Liu, S. X. (2019). Antioxidant Activity of Spent Coffee Ground Extracts Toward Soybean Oil and Fish Oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(4), 1800372. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800372>
- Ibáñez, F., Torre, P., & Irigoyen, A. (2003). Aditivos alimentarios. *Área de Nutrición y Bromatología, Universidad Pública de Navarra*, 1–10. <http://muybio.com/wp-content/uploads/2012/10/aditivos-alimentarios.pdf>
- Iwata, A., Matsubara, S., & Miyazaki, K. (2018). Beneficial effects of a beta-cryptoxanthin-

- containing beverage on body mass index and visceral fat in pre-obese men: Double-blind, placebo-controlled parallel trials. *Journal of Functional Foods*, 41, 250–257. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.040>
- Jeong, S.-H., Kim, B.-Y., Kang, H.-G., Ku, H.-O., & Cho, J.-H. (2005). Effects of butylated hydroxyanisole on the development and functions of reproductive system in rats. *Toxicology*, 208(1), 49–62. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.11.014>
- Jiménez-Escobar, M. P., Pascual-Mathey, L. I., Beristain, C. I., Flores-Andrade, E., Jiménez, M., & Pascual-Pineda, L. A. (2020). In vitro and In vivo antioxidant properties of paprika carotenoids nanoemulsions. *LWT*, 118, 108694. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108694>
- Kaur, G., & Mehta, S. K. (2017). Developments of Polysorbate (Tween) based microemulsions: Preclinical drug delivery, toxicity and antimicrobial applications. In *International Journal of Pharmaceutics* (Vol. 529, Issues 1–2, pp. 134–160). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.06.059>
- Kim, D.-O., & Lee, C. Y. (2002). Extraction and Isolation of Polyphenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 6(1), I1.2.1-I1.2.12. <https://doi.org/10.1002/0471142913.fai0102s06>
- Kim, J.-E., Yoon, I.-S., Cho, H.-J., Kim, D.-H., Choi, Y.-H., & Kim, D.-D. (2014). Emulsion-based colloidal nanosystems for oral delivery of doxorubicin: Improved intestinal paracellular absorption and alleviated cardiotoxicity. *International Journal of Pharmaceutics*, 464(1), 117–126. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.01.016>
- Kiokias, S., & Varzakas, T. (2014). Activity of flavonoids and β -carotene during the auto-oxidative deterioration of model food oil-in water emulsions. *Food Chemistry*, 150, 280–286. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.112>
- Kirkhus, B., Afseth, N. K., Borge, G. I. A., Grimsby, S., Steppeler, C., Krona, A., & Langton, M. (2019). Increased release of carotenoids and delayed in vitro lipid digestion of high pressure homogenized tomato and pepper emulsions. *Food Chemistry*, 285, 282–289. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.124>
- Kumar, R., Sirvi, A., Kaur, S., Samal, S. K., Roy, S., & Sangamwar, A. T. (2020). Polymeric micelles based on amphiphilic oleic acid modified carboxymethyl chitosan for oral drug delivery of bcs class iv compound: Intestinal permeability and pharmacokinetic evaluation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 153, 105466. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105466>
- Langi, P., Kiokias, S., Varzakas, T., & Proestos, C. (2018). Microbial Carotenoids: Methods and Protocols. In B. C. & B. JL. (Eds.), *Carotenoids: From Plants to Food and Feed Industries* (pp. 57–71). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8742-9_3
- Latief, U., Husain, H., & Ahmad, R. (2018). β -Carotene supplementation ameliorates experimental liver fibrogenesis via restoring antioxidant status and hepatic stellate cells activity. *Journal of Functional Foods*, 49, 168–180. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.08.027>
- Lee, J., Twomey, M., Machado, C., Gomez, G., Doshi, M., Gesquiere, A. J., & Moon, J. H. (2013). Caveolae-Mediated Endocytosis of Conjugated Polymer Nanoparticles. *Macromolecular Bioscience*, 13(7), 913–920. <https://doi.org/10.1002/mabi.201300030>
- Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288–306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.012>
- Li, P. H., & Lu, W. C. (2016). Effects of storage conditions on the physical stability of D-limonene nanoemulsion. *Food Hydrocolloids*, 53, 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.031>

- Liu, S., Liu, F., Xue, Y., & Gao, Y. (2016). Evaluation on oxidative stability of walnut beverage emulsions. *Food Chemistry*, 203, 409–416. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.037>
- Liu, X., McClements, D. J., Cao, Y., & Xiao, H. (2016). Chemical and Physical Stability of Astaxanthin-Enriched Emulsion-Based Delivery Systems. *Food Biophysics*, 11(3), 302–310. <https://doi.org/10.1007/s11483-016-9443-6>
- Lizárraga-Velázquez, C. E., Hernández, C., González-Aguilar, G. A., & Heredia, J. B. (2018). Effect of hydrophilic and lipophilic antioxidants from mango peel (*Mangifera indica* L. cv. Ataulfo) on lipid peroxidation in fish oil. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 1095–1101. <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1513425>
- López-Alarcón, C., & Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. In *Analytica Chimica Acta* (Vol. 763, pp. 1–10). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.11.051>
- López-Barrios, L., Antunes-Ricardo, M., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2016). Changes in antioxidant and antiinflammatory activity of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolates due to germination and enzymatic digestion. *Food Chemistry*, 203, 417–424. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.048>
- Lornejad-Schäfer, M. R., Lambert, C., Breithaupt, D. E., Biesalski, H. K., & Frank, J. (2007). Solubility, uptake and biocompatibility of lutein and zeaxanthin delivered to cultured human retinal pigment epithelial cells in tween40 micelles. *European Journal of Nutrition*, 46(2), 79–86. <https://doi.org/10.1007/s00394-006-0635-6>
- Lu, G. W., & Gao, P. (2010). CHAPTER 3 - Emulsions and Microemulsions for Topical and Transdermal Drug Delivery. In V. S. B. T.-H. of N.-I. D. D. S. Kulkarni (Ed.), *Personal Care & Cosmetic Technology* (pp. 59–94). William Andrew Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-8155-2025-2.10003-4>
- Lu, M., Zhang, T., Jiang, Z., Guo, Y., Qiu, F., Liu, R., Zhang, L., Chang, M., Liu, R., Jin, Q., & Wang, X. (2020). Physical properties and cellular antioxidant activity of vegetable oil emulsions with different chain lengths and saturation of triglycerides. *LWT*, 121, 108948. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108948>
- Lu, W., Kelly, A. L., & Miao, S. (2017). Bioaccessibility and Cellular Uptake of β -Carotene Encapsulated in Model O/W Emulsions: Influence of Initial Droplet Size and Emulsifiers. In *Nanomaterials* (Vol. 7, Issue 9). <https://doi.org/10.3390/nano7090282>
- Ma, P., Zeng, Q., Tai, K., He, X., Yao, Y., Hong, X., & Yuan, F. (2017). Preparation of curcumin-loaded emulsion using high pressure homogenization: Impact of oil phase and concentration on physicochemical stability. *LWT*, 84, 34–46. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.074>
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727–747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>
- Manthey, J. A., & Perkins-Veazie, P. (2009). Influences of Harvest Date and Location on the Levels of β -Carotene, Ascorbic Acid, Total Phenols, the in Vitro Antioxidant Capacity, and Phenolic Profiles of Five Commercial Varieties of Mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(22), 10825–10830. <https://doi.org/10.1021/jf902606h>
- Mazzucotelli, C. A., González-Aguilar, G. A., Villegas-Ochoa, M. A., Domínguez-Avila, A. J., Ansorena, M. R., & Di Scala, K. C. (2018). Chemical characterization and functional properties of selected leafy vegetables for innovative mixed salads. *Journal of Food Biochemistry*, 42(1), e12461. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12461>
- McClements, D. J. (2011). Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter*, 7(6), 2297–2316. <https://doi.org/10.1039/C0SM00549E>

- McClements, D. J. (2012). Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design principles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 17(5), 235–245. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2012.06.002>
- McClements, D. J. (2013). Edible lipid nanoparticles: Digestion, absorption, and potential toxicity. In *Progress in Lipid Research* (Vol. 52, Issue 4, pp. 409–423). Pergamon. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.04.008>
- McClements, D. J., & Decker, E. A. (2000). Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems. *Journal of Food Science*, 65(8), 1270–1282. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10596.x>
- McClements, David Julian. (2007). Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(7), 611–649. <https://doi.org/10.1080/10408390701289292>
- Mean, S., Değer, Y., & yıldıırım, S. (2018). Effects of butylated hydroxytoluene on blood liver enzymes and liver glutathione and glutathione-dependent enzymes in rats. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 21, 461–469. <https://doi.org/10.15547/bjvm.2010>
- Meng, Q., Long, P., Zhou, J., Ho, C. T., Zou, X., Chen, B., & Zhang, L. (2019). Improved absorption of β -carotene by encapsulation in an oil-in-water nanoemulsion containing tea polyphenols in the aqueous phase. *Food Research International*, 116, 731–736. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.004>
- Mesnier, X., Gregory, C., Fañca-Berthon, P., Boukobza, F., & Bily, A. (2014). Heat and light colour stability of beverages coloured with a natural carotene emulsion: Effect of synthetic versus natural water soluble antioxidants. *Food Research International*, 65(PB), 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.025>
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., ... Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113–1124. <https://doi.org/10.1039/C3FO60702J>
- Mohan, A., Nickerson, M. T., & Ghosh, S. (2018). Oxidative stability of flaxseed oil: Effect of hydrophilic, hydrophobic and intermediate polarity antioxidants. *Food Chemistry*, 266, 524–533. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.117>
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., & Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. In *International Journal of Pharmaceutics* (Vol. 385, Issues 1–2, pp. 113–142). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.10.018>
- Morales, M., Zapata, K., Alzate, A. F., Angulo, A. A., & Rojano, B. A. (2019). Oxidative stability of a Colombian Criollo mango (*Mangifera indica*) drink fortified with peel. *Vitae*, 26(2 SE-Foods: Science, Engineering and Technology). <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v26n2a04>
- Moran, N. E., Mohn, E. S., Hason, N., Erdman Jr, J. W., & Johnson, E. J. (2018). Intrinsic and Extrinsic Factors Impacting Absorption, Metabolism, and Health Effects of Dietary Carotenoids. *Advances in Nutrition*, 9(4), 465–492. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy025>
- Moreno-Córdova, E. N., Arvizu-Flores, A. A., Valenzuela-Soto, E. M., García-Orozco, K. D., Wall-Medrano, A., Alvarez-Parrilla, E., Ayala-Zavala, J. F., Domínguez-Avila, J. A., & González-Aguilar, G. A. (2020). Gallotannins are uncompetitive inhibitors of pancreatic lipase activity. *Biophysical Chemistry*, 264, 106409. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2020.106409>
- Muralidhara, B., Veena, G., Bhattacharjee, A., & Rajan, S. (2019). Antioxidants in ripe peel and pulp of twelve mango (*Mangifera indica*) cultivars. *Indian Journal of Agricultural Sciences*,

89, 1580–1584.

- Nano, J.-L., Nobili, C., Girard-Pipau, F., & Rampal, P. (2003). Effects of fatty acids on the growth of Caco-2 cells. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 69(4), 207–215. [https://doi.org/10.1016/S0952-3278\(03\)00083-8](https://doi.org/10.1016/S0952-3278(03)00083-8)
- National Center for Biotechnology Information. (2021). *PubChem Compound Summary for CID 5280489, beta-Carotene*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/beta-Carotene>
- Nejatian, M., Abbasi, S., & Kadkhodae, R. (2018). Ultrasonic-Assisted Fabrication of Concentrated Triglyceride Nanoemulsions and Nanogels. *Langmuir*, 34(38), 11433–11441. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b01596>
- Nguyen, N. M. P., Le, T. T., Vissenaekens, H., Gonzales, G. B., Van Camp, J., Smagghe, G., & Raes, K. (2019). In vitro antioxidant activity and phenolic profiles of tropical fruit by-products. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 1169–1178. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14093>
- Ordoñez-Torres, A., Torres-León, C., Hernández-Almanza, A., Flores-Guía, T., Luque-Contreras, D., Aguilar, C. N., & Ascacio-Valdés, J. (2020). Ultrasound-microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds from Mexican “Ataulfo” mango peels: Antioxidant potential and identification by HPLC/ESI/MS. *Phytochemical Analysis*, 32(4), 495–502. <https://doi.org/10.1002/pca.2997>
- Pacheco-Ordaz, R., Wall-Medrano, A., Goñi, M. G., Ramos-Clamont-Montfort, G., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2018). Effect of phenolic compounds on the growth of selected probiotic and pathogenic bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 66(1), 25–31. <https://doi.org/10.1111/lam.12814>
- Pacheco-Ordaz, Ramón, Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Urbe, J. A., & González-Aguilar, G. A. (2018). Intestinal Permeability and Cellular Antioxidant Activity of Phenolic Compounds from Mango (*Mangifera indica* cv. Ataulfo) Peels. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 19, Issue 2). <https://doi.org/10.3390/ijms19020514>
- Páez-Hernández, G., Mondragón-Cortez, P., & Espinosa-Andrews, H. (2019). Developing curcumin nanoemulsions by high-intensity methods: Impact of ultrasonication and microfluidization parameters. *LWT*, 111, 291–300. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.012>
- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2011). The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. *Journal of Food Science*, 76(1), R6–R15. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01957.x>
- Pandareesh, M. D., Mythri, R. B., & Srinivas Bharath, M. M. (2015). Bioavailability of dietary polyphenols: Factors contributing to their clinical application in CNS diseases. *Neurochemistry International*, 89, 198–208. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2015.07.003>
- Qian, C., Decker, E. A., Xiao, H., & McClements, D. J. (2012). Physical and chemical stability of β -carotene-enriched nanoemulsions: Influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type. *Food Chemistry*, 132(3), 1221–1229. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.091>
- Quirós-Sauceda, A. E., Chen, C.-Y. O., Blumberg, J. B., Astiazaran-Garcia, H., Wall-Medrano, A., & González-Aguilar, G. A. (2017). Processing ‘Ataulfo’ Mango into Juice Preserves the Bioavailability and Antioxidant Capacity of Its Phenolic Compounds. In *Nutrients* (Vol. 9, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/nu9101082>
- Quirós-Sauceda, AE, Ayala-Zavala, J., Sáyago-Ayerdi, S., Vélez-de La Rocha, R., A, S.-B., & González-Aguilar, G. (2014). Added dietary fiber reduces the antioxidant capacity of phenolic compounds extracted from tropical fruit. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2014.087.032>

- Quirós-Sauceda, Ana, Palafox-Carlos, H., Robles-Sánchez, R., & González-Aguilar, G. (2011). Interacción de compuestos fenólicos y fibra dietaria: capacidad antioxidante y biodisponibilidad. *BIOtecnica*, *13*, 3. <https://doi.org/10.18633/bt.v13i3.91>
- Ranganath, K. G., Shivashankara, K. S., Roy, T. K., Dinesh, M. R., Geetha, G. A., Pavithra, K. C., & Ravishankar, K. V. (2018). Profiling of anthocyanins and carotenoids in fruit peel of different colored mango cultivars. *Journal of Food Science and Technology*, *55*(11), 4566–4577. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3392-7>
- Rascón Valenzuela, L. A., Jiménez Estrada, M., Velázquez Contreras, C. A., Garibay Escobar, A., Medina Juárez, L. A., Gámez Meza, N., & Robles Zepeda, R. E. (2015). Antiproliferative and apoptotic activities of extracts of *Asclepias subulata*. *Pharmaceutical Biology*, *53*(12), 1741–1751. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1005752>
- Ravani, A., & Joshi, D. (2013). Mango and it's by product utilization—a review. *Energy (Kcal)*, *74*(44), 2013.
- 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)
- Rodríguez-Yunta, E. (2007). Ética de la investigación en modelos animales de enfermedades humanas. In *Acta bioethica* (Vol. 13, pp. 25–40). scielocl.
- Roldan-Cruz, C., Vernon-Carter, E. J., & Alvarez-Ramirez, J. (2016). Assessing the stability of Tween 80-based O/W emulsions with cyclic voltammetry and electrical impedance spectroscopy. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *511*, 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.09.074>
- Ru, Q., Yu, H., & Huang, Q. (2010). Encapsulation of Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) Using Oil-in-Water (O/W) Submicrometer Emulsions Stabilized by ι -Carrageenan and β -Lactoglobulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(19), 10373–10381. <https://doi.org/10.1021/jf101798m>
- Rubilar, M., Morales, E., Sáez, R., Acevedo, F., Palma, B., Villarroel, M., & Shene, C. (2012). Polyphenolic fractions improve the oxidative stability of microencapsulated linseed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *114*(7), 760–771. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201100230>
- Ruiz-Canizales, J., Velderrain-Rodríguez, G., Domínguez-Avila, J., Preciado-Saldaña, A., Alvarez-Parrilla, E., Villegas-Ochoa, M., González-Aguilar, G., & Álvarez-Parrilla, E. (2018). Encapsulation to Protect Different Bioactives to Be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients. In *Bioactive Molecules in Food* (pp. 1–20). Springer International Publishing.
- Sabouri, S., Arranz, E., Guri, A., & Corredig, M. (2018). Sodium caseinate stabilized emulsions as a delivery system for epigallocatechin-gallate: Bioaccessibility, anti-proliferative activity and intestinal absorption. *Journal of Functional Foods*, *44*, 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.03.009>
- Sahin, K., Orhan, C., Akdemir, F., Tuzcu, M., Sahin, N., Yilmaz, I., & Juturu, V. (2017). β -Cryptoxanthin ameliorates metabolic risk factors by regulating NF- κ B and Nrf2 pathways in insulin resistance induced by high-fat diet in rodents. *Food and Chemical Toxicology*, *107*, 270–279. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.07.008>
- 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>
- Salvia-Trujillo, L., & McClements, D. J. (2016). Enhancement of lycopene bioaccessibility from

- tomato juice using excipient emulsions: Influence of lipid droplet size. *Food Chemistry*, 210, 295–304. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.125>
- Salvia-Trujillo, L., Qian, C., Martín-Belloso, O., & McClements, D. J. (2013). Influence of particle size on lipid digestion and β -carotene bioaccessibility in emulsions and nanoemulsions. *Food Chemistry*, 141(2), 1472–1480. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.050>
- Salvia-Trujillo, L., Verkempinck, S. H. E., Sun, L., Van Loey, A. M., Grauwet, T., & Hendrickx, M. E. (2017). Lipid digestion, micelle formation and carotenoid bioaccessibility kinetics: Influence of emulsion droplet size. *Food Chemistry*, 229, 653–662. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.146>
- Salvia-Trujillo, L., Verkempinck, S. H. E., Zhang, X., Van Loey, A. M., Grauwet, T., & Hendrickx, M. E. (2019). Comparative study on lipid digestion and carotenoid bioaccessibility of emulsions, nanoemulsions and vegetable-based in situ emulsions. *Food Hydrocolloids*, 87, 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.053>
- Sánchez-Camargo, A. del P., Gutiérrez, L.-F., Vargas, S. M., Martínez-Correa, H. A., Parada-Alfonso, F., & Narváez-Cuenca, C.-E. (2019). Valorisation of mango peel: Proximate composition, supercritical fluid extraction of carotenoids, and application as an antioxidant additive for an edible oil. *The Journal of Supercritical Fluids*, 152, 104574. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104574>
- Sanz-Buenhombre, M., Villanueva, S., Moro, C., Tomás-Cobos, L., Viadel, B., & Guadarrama, A. (2016). Bioavailability and the mechanism of action of a grape extract rich in polyphenols in cholesterol homeostasis. *Journal of Functional Foods*, 21, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.11.044>
- Sari, T. P., Mann, B., Kumar, R., Singh, R. R. B., Sharma, R., Bhardwaj, M., & Athira, S. (2015). Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin. *Food Hydrocolloids*, 43, 540–546. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.011>
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Moreno-Hernández, C. L., Montalvo-González, E., García-Magaña, M. L., Mata-Montes de Oca, M., Torres, J. L., & Pérez-Jiménez, J. (2013). Mexican “Ataulfo” mango (*Mangifera indica* L) as a source of hydrolyzable tannins. Analysis by MALDI-TOF/TOF MS. *Food Research International*, 51(1), 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.034>
- Schramm, L. L., Stasiuk, E. N., & Marangoni, D. G. (2003). 2 Surfactants and their applications. *Annual Reports Section “C” (Physical Chemistry)*, 99(0), 3–48. <https://doi.org/10.1039/B208499F>
- Seiquer, I., Rueda, A., Olalla, M., & Cabrera-Vique, C. (2015). Assessing the bioavailability of polyphenols and antioxidant properties of extra virgin argan oil by simulated digestion and Caco-2 cell assays. Comparative study with extra virgin olive oil. *Food Chemistry*, 188, 496–503. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.006>
- Shao, P., Qiu, Q., Xiao, J., Zhu, Y., & Sun, P. (2017). Chemical Stability and in vitro release properties of β -carotene in emulsions stabilized by *Ulva fasciata* polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 225–231. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.186>
- Shen, X., Fang, T., Zheng, J., & Guo, M. (2019). Physicochemical Properties and Cellular Uptake of Astaxanthin-Loaded Emulsions. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 4). <https://doi.org/10.3390/molecules24040727>
- SIAP. (2019). *Anuario Estadístico de la Producción Agrícola*. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Singleton, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. (1999). [14] Analysis of total phenols and

- other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology*. Academic Press.
- SSA. (2018). *Panorama Epidemiológico* 2018. http://187.191.75.115/gobmx/salud/documentos/panorama/Panorama_OMENT_2018.pdf
- Stahl, W., & Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. In *Molecular Aspects of Medicine* (Vol. 24, Issue 6, pp. 345–351). Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S0098-2997\(03\)00030-X](https://doi.org/10.1016/S0098-2997(03)00030-X)
- Sun, Y., Xia, Z., Zheng, J., Qiu, P., Zhang, L., McClements, D. J., & Xiao, H. (2015). Nanoemulsion-based delivery systems for nutraceuticals: Influence of carrier oil type on bioavailability of pterostilbene. *Journal of Functional Foods*, 13, 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.030>
- Tan, Y., Zhang, Z., Muriel Mundo, J., & McClements, D. J. (2020). Factors impacting lipid digestion and nutraceutical bioaccessibility assessed by standardized gastrointestinal model (INFOGEST): Emulsifier type. *Food Research International*, 137, 109739. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109739>
- Tao, W., Ye, X., & Cao, Y. (2021). Isomerization and degradation of all-trans- β -carotene during in-vitro digestion. *Food Science and Human Wellness*, 10(3), 370–374. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.02.028>
- Tatá, Y., Salazar-Rodríguez, F., Forgiarini, A. M., Delgado-Linares, J. G., & Bullón, J. (2018). *Revisión sobre películas de asfaltenos en las interfases aire-agua y aceite-agua*.
- Tenore, G. C., Campiglia, P., Giannetti, D., & Novellino, E. (2015). Simulated gastrointestinal digestion, intestinal permeation and plasma protein interaction of white, green, and black tea polyphenols. *Food Chemistry*, 169, 320–326. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.006>
- Tenore, G. C., Campiglia, P., Ritieni, A., & Novellino, E. (2013). In vitro bioaccessibility, bioavailability and plasma protein interaction of polyphenols from Annurca apple (*M. pumila* Miller cv Annurca). *Food Chemistry*, 141(4), 3519–3524. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.051>
- Teo, A., Lee, S. J., Goh, K. K. T., & Wolber, F. M. (2017). Kinetic stability and cellular uptake of lutein in WPI-stabilised nanoemulsions and emulsions prepared by emulsification and solvent evaporation method. *Food Chemistry*, 221, 1269–1276. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.030>
- Tharanathan, R. N., Yashoda, H. M., & Prabha, T. N. (2006). Mango (*Mangifera indica* L.), “The King of Fruits”—An Overview. *Food Reviews International*, 22(2), 95–123. <https://doi.org/10.1080/87559120600574493>
- Tortosa, V., Pietropaolo, V., Brandi, V., Macari, G., Pasquadibisceglie, A., & Polticelli, F. (2020). Computational Methods for the Identification of Molecular Targets of Toxic Food Additives. Butylated Hydroxytoluene as a Case Study. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 9). <https://doi.org/10.3390/molecules25092229>
- Toti, E., Chen, C.-Y. O., Palmery, M., Villaño Valencia, D., & Peluso, I. (2018). Non-Provitamin A and Provitamin A Carotenoids as Immunomodulators: Recommended Dietary Allowance, Therapeutic Index, or Personalized Nutrition? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 4637861. <https://doi.org/10.1155/2018/4637861>
- Tozetto, J. T., Tozetto, A. T., Hoshino, B. T., Andrighetti, C. R., Ribeiro, E. B., Cavalheiro, L., & Ferrarini, S. R. (2017). Extract of *Punica granatum* L.: an alternative to BHT as an antioxidant in semissolid emulsified systems. In *Química Nova* (Vol. 40, pp. 97–104). scielo .

- Turgut, S. S., Işıkcı, F., & Soyer, A. (2017). Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage. *Meat Science*, *129*, 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.02.019>
- Vandghanooni, S., Forouharmehr, A., Eskandani, M., Barzegari, A., Kafil, V., Kashanian, S., & Ezzati Nazhad Dolatabadi, J. (2013). Cytotoxicity and DNA Fragmentation Properties of Butylated Hydroxyanisole. *DNA and Cell Biology*, *32*(3), 98–103. <https://doi.org/10.1089/dna.2012.1946>
- Velderrain-Rodríguez, G. R., Torres-Moreno, H., Villegas-Ochoa, M. A., Ayala-Zavala, J. F., Robles-Zepeda, R. E., Wall-Medrano, A., & González-Aguilar, G. A. (2018). Gallic Acid Content and an Antioxidant Mechanism Are Responsible for the Antiproliferative Activity of ‘Araulfo’ Mango Peel on LS180 Cells. In *Molecules* (Vol. 23, Issue 3). <https://doi.org/10.3390/molecules23030695>
- Verkempinck, S. H. E., Salvia-Trujillo, L., Moens, L. G., Carrillo, C., Van Loey, A. M., Hendrickx, M. E., & Grauwet, T. (2018). Kinetic approach to study the relation between in vitro lipid digestion and carotenoid bioaccessibility in emulsions with different oil unsaturation degree. *Journal of Functional Foods*, *41*, 135–147. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.030>
- Wall-Medrano, A., Olivas-Aguirre, F. J., Velderrain-Rodríguez, G. R., González-Aguilar, A., Rosa, L. A. de la, López-Díaz, J. A., & Álvarez-Parrilla, E. (2015). El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud . In *Nutrición Hospitalaria* (Vol. 31, pp. 67–75). scieloes .
- Wu, M.-H., Yan, H. H., Chen, Z.-Q., & He, M. (2017). Effects of emulsifier type and environmental stress on the stability of curcumin emulsion. *Journal of Dispersion Science and Technology*, *38*(10), 1375–1380. <https://doi.org/10.1080/01932691.2016.1227713>
- Yang, Y., Xiao, H., & McClements, D. J. (2017). Impact of Lipid Phase on the Bioavailability of Vitamin E in Emulsion-Based Delivery Systems: Relative Importance of Bioaccessibility, Absorption, and Transformation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(19), 3946–3955. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00955>
- Yin, J., Xiang, C., Wang, P., Yin, Y., & Hou, Y. (2017). Biocompatible nanoemulsions based on hemp oil and less surfactants for oral delivery of baicalein with enhanced bioavailability. *International Journal of Nanomedicine*, *12*, 2923–2931. <https://doi.org/10.2147/IJN.S131167>
- Yu, H., Li, J., Shi, K., & Huang, Q. (2011). Structure of modified ϵ -polylysine micelles and their application in improving cellular antioxidant activity of curcuminoids. *Food & Function*, *2*(7), 373–380. <https://doi.org/10.1039/C1FO10053J>
- Yu, Z., Fan, W., Wang, L., Qi, J., Lu, Y., & Wu, W. (2019). Effect of Surface Charges on Oral Absorption of Intact Solid Lipid Nanoparticles. *Molecular Pharmaceutics*, *16*(12), 5013–5024. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00861>
- Yuan, X., Liu, X., McClements, D. J., Cao, Y., & Xiao, H. (2018). Enhancement of phytochemical bioaccessibility from plant-based foods using excipient emulsions: impact of lipid type on carotenoid solubilization from spinach. *Food & Function*, *9*(8), 4352–4365. <https://doi.org/10.1039/C8FO01118D>
- Zapata, K., Cortes, F. B., & Rojano, B. A. (2013). Polifenoles y Actividad Antioxidante del Fruto de Guayaba Agria (*Psidium araca*) . In *Información tecnológica* (Vol. 24, pp. 103–112). scielocl .
- Zeng, Z., Lin, C., Wang, S., Wang, P., Xu, W., Ma, W., Wang, J., Xiang, Q., Liu, Y., Yang, J., Ye, F., Xie, K., Xu, J., Luo, Y., Liu, S.-L., & Liu, H. (2020). Suppressive activities of mangiferin on human epithelial ovarian cancer. *Phytomedicine*, *76*, 153267. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153267>

- Zepeda-Ruiz, G. C., Domínguez-Avila, J. A., Ayala-Zavala, J. F., Robles-Sánchez, M., Salazar-López, N. J., López-Díaz, J. A., & González-Aguilar, G. A. (2020). Supplementing corn chips with mango cv. “Ataulfo” peel improves their sensory acceptability and phenolic profile, and decreases in vitro dialyzed glucose. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(12), e14954. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14954>
- Zhang, H., & Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, *8*, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.02.002>
- Zhang, L., & Wang, M. (2018). Growth Inhibitory Effect of Mangiferin on Thyroid Cancer Cell Line TPC1. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, *23*(6), 649–654. <https://doi.org/10.1007/s12257-018-0212-x>
- Zhao, C., Shen, X., & Guo, M. (2018). Stability of lutein encapsulated whey protein nano-emulsion during storage. *PLOS ONE*, *13*(2), e0192511. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192511>