

**Efecto de la extracción asistida por ultrasonido en la liberación y bioaccesibilidad *in vitro* de carotenoides, en bebidas elaboradas con mango (*Mangifera indica* L.) ‘Ataulfo’**

**Effect of ultrasound-assisted extraction on the release and *in vitro* bioaccessibility of carotenoids in mango (*Mangifera indica* L.) ‘Ataulfo’-based beverages**

G. Mercado Mercado<sup>1</sup>, V. López Teros<sup>2</sup>, E. Montalvo González<sup>1</sup>, G. A. González Aguilar<sup>3</sup>, E. Álvarez Parrilla<sup>4</sup> y S. G. Sáyo Ayerdi<sup>1</sup>

**Palabras clave:** sub-productos; mango; carotenoides; bioaccesibilidad; bebidas; extracción-asistida por ultrasonido

**Keywords:** By-products; mango; carotenoids; bioaccessibility; beverage; ultrasound-assisted extraction

Recepción: 04-12-2017 / Aceptación: 20-01-2018

---

## Resumen

**Introducción:** Durante el proceso de industrialización del mango se generan cerca del 40 % de subproductos (SP, cáscara y pasta). Estos SP contienen carotenoides que benefician a la salud del consumidor. Por lo tanto, es un tema de interés conocer si los carotenoides pueden ser bioaccesibles. De tal manera, la extracción asistida por ultrasonido (EAU) ha demostrado ser una herramienta útil para aumentar la bioaccesibilidad de diversos compuestos bioactivos. Se propone elaborar bebidas con SP de mango ‘Ataulfo’ aplicando la EAU y evaluando la bioaccesibilidad de los carotenoides *in vitro*.

**Método:** Se elaboraron 4 bebidas: una control (BC) y tres utilizando la EAU (B-EAU1: X<sub>TE</sub>: 30 min, X<sub>AS</sub>: 30 %, X<sub>C</sub>: 0.8; B-EAU2: X<sub>TE</sub>: 15 min, X<sub>AS</sub>: 70 %, X<sub>C</sub>: 0.4; B-EAU3: X<sub>TE</sub>: 12 min, X<sub>AS</sub>: 100 % y X<sub>C</sub>: 1). Se determinó el perfil de los carotenoides por HPLC-DAD y la bioaccesibilidad *in vitro* de los carotenoides. Se evaluó la liberación de los compuestos en la digestión gástrica (DG) e intestinal (DI); así como la retención de éstos en la fracción indigestible soluble (FIS) e insoluble (FII). De esta manera, se determinó el porcentaje de bioaccesibilidad (%BA) de los carotenoides. Se determinó la cinética de liberación durante 180 min, estimando los parámetros cinéticos.

**Resultados:** El contenido de los carotenoides osciló entre 0.01 a 3.29 µg/100 mL en las bebidas de mango. Las xantofilas mostraron diferencia significativa en todas las bebidas con EAU en la DI.

<sup>1</sup>División de Estudios de Posgrado, Instituto Tecnológico de Tepic, Tepic. E-mail: \_sonia.sayago@gmail.com, ssayago@ittec.edu.mx

<sup>2</sup>Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de Sonora, Hermosillo

<sup>3</sup>Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Hermosillo

<sup>4</sup>Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Ciudad Juárez

La EAU tuvo un efecto negativo sobre el contenido de  $\beta$ -criptoxantina, luteína, y  $\beta$ -caroteno en B-EAU2 y B-EAU3. Por otra parte, el contenido de  $\alpha$ -caroteno fue similar en todas las bebidas. En la DI, el contenido de  $\alpha$ -caroteno y  $\beta$ -caroteno fueron altos en la BC y los contenidos de luteína y zeaxantina fueron mayores en B-EAU1. El %BA de luteína, zeaxantina,  $\alpha$ -caroteno y  $\beta$ -caroteno en la B-EAU1 fue del 95.63, 56.88, 58.68 y 90.54 %, respectivamente. Sin embargo, la  $\beta$ -criptoxantina y zeaxantina fueron los menos bioaccesibles en BC y B-EAU3 con 96.5 y Zea 92.3 %, respectivamente. La B-EAU1 presentó una mayor velocidad de liberación de luteína,  $\beta$ -criptoxantina y  $\beta$ -caroteno.

**Discusión o Conclusión:** La EAU ocasionó una disminución en el contenido de los carotenoides, debido probablemente a reacciones de isomerización. La liberación de xantófilas y carotenos en las bebidas de mango, pudo deberse a factores asociados a los componentes de la matriz del alimento, interacciones de los carotenoides con otros componentes y el tratamiento al que se sometieron las bebidas. Por otro lado, la EAU favoreció la liberación de estos compuestos. La presencia de carotenoides en la FIS y FII se puede atribuir a la fibra dietética de la cáscara y la goma xantana adicionada. La EAU contribuyó al aumento del %BA de los carotenos y xantofilas. También, los parámetros de las cinéticas de liberación mostraron que el EAU facilitó el transporte de los carotenoides. Por lo tanto, los parámetros de la cinética de liberación muestran que existen factores que influyen este fenómeno como la acción sinérgica o antagónica entre los carotenoides y otros componentes.

## Abstract

**Introduction:** During the industrial processing of the mango is wasted close to 40 % of by-products (BP, peel and paste). These BP contain carotenoids that benefit to the consumer's health, such as, the carotenoids. Hence, it is a matter of interest to know if the carotenoids can be bioaccessible. Hence, ultrasound-assisted extraction (UAE) has proven to be a tool to increase their bioaccessibility of diverse bioactive compounds. In this sense, it is proposed to develop beverages where BP were used applying the UAE, evaluating *in vitro* the bioaccessibility of carotenoids.

**Method:** Four beverages were developed, a control (CB), and three with UAE (B-UAE1:  $X_{ET}$ : 30 min,  $X_{SA}$ : 30 %,  $X_{DC}$ : 0.8; B-UAE2:  $X_{ET}$ : 15 min,  $X_{SA}$ : 70 %,  $X_{DC}$ : 0.4; B-UAE3:  $X_{ET}$ : 12 min,  $X_{SA}$ : 100 % and  $X_{DC}$ : 1). The carotenoids profile was analyzed by HPLC-DAD and in the *in vitro* bioaccessibility. The kinetics of the release of these compounds was evaluated in the gastric

digestion (GD) and intestinal (ID), as well as, its retention in the soluble indigestible fraction (SIF) and insoluble indigestible fraction (IIF). In this way, it was determined the percentage of bioaccessibility (%BA) of carotenoids. Finally, it was determined the release kinetics during 180 min, estimating the kinetic parameters (final velocity and constant kinetic).

**Results:** The carotenoids content were ranged from 0.01 to 3.29  $\mu\text{g}/100\text{ mL}$  in the mango beverages. The xanthophylls showed significant differences in all beverages with UAE in the ID. The UAE had a negative effect on the  $\beta$ -cryptoxanthin, lutein, and  $\beta$ -carotene content in B-UAE2 and B-UAE3. On the other hand, the  $\alpha$ -carotene content was similar in all beverages. During ID, the  $\alpha$ -carotene and  $\beta$ -carotene content were higher in CB and lutein and zeaxanthin contents were higher in the B-UAE1. The %BA of lutein, zeaxanthin (Zea),  $\alpha$ -carotene and  $\beta$ -carotene in the B-UAE1 was 95.63, 56.88, 65.20, and 90.54%, respectively. Therefore,  $\beta\text{Cr}$  and Zea were the most not bioaccessible in BC and B-EAU3, respectively. The B-UAE1 presented a greater rate of release of  $\beta$ -cryptoxanthin, lutein and  $\beta$ -carotene.

**Discussion or Conclusion:** UAE caused a decrease in the carotenoids content due to isomerization reactions. The release of the xanthophylls and carotenes can be due to components of the food matrix, interactions of the carotenoids with other compounds, and the preparation of beverages. However, the UAE favors the release of these compounds. On the other hand, the presence of carotenoids in the SIF and IIF was due to dietary fiber of the peel, and the xanthan gum. In this way, UAE contributes to increase the %BA of carotenoids. Therefore, the release kinetic parameters show that there are diverse factors that influence this phenomenon such as the synergistic or antagonistic action between the carotenoids and other components.

---

## **Introducción**

Las enfermedades crónicas degenerativas son patologías de larga duración, cuyo proceso es generalmente lento; entre las que se incluyen las enfermedades cardiovasculares (ECV), diferentes tipos de cáncer, enfermedades de las vías respiratorias y diabetes *mellitus*. Todas estas representan un problema que va en un aumento progresivo, debido al envejecimiento de la población y a los estilos de vida actuales que acentúan el sedentarismo y la mala alimentación (Zhang *et al.*, 2015, 1). Actualmente, el 70% de los mexicanos padecen obesidad, donde cerca de una tercera parte son jóvenes (Colchero *et al.*, 2016, 22). En México, una de las bebidas que contribuye al incremento

de estos factores de riesgo son las bebidas azucaradas, como los refrescos (Colchero *et al.*, 2016, 33). Por ello, se han implementado alternativas para aumentar el consumo de productos naturales que puedan ayudar a reducir el riesgo de contraer de estas enfermedades. Las frutas y los vegetales son productos naturales que aportan componentes que ejercen beneficios a la salud y se han asociado en la prevención de enfermedades causadas por el estrés oxidativo. Actualmente, existen evidencias científicas que correlacionan un efecto benéfico con el consumo de frutas y vegetales que son ricos en fitoquímicos y la disminución en el desarrollo de las ECV (Zhang *et al.*, 2015, 15).

El mango (*Mangifera indica* L.) pertenece a la familia Anarcadáceas se cultiva en zonas tropicales y sub-tropicales de México, donde crecen diversas variedades de mango, entre ellas la variedad 'Ataulfo'. Durante el proceso de industrialización se utiliza el 60 % del fruto y el 40 % restante son sub-productos (SP), entre los que se encuentran la cáscara (15-20 %), la pasta (residuo de la obtención del concentrado) y el hueso (60 %) (Ravani y Joshi, 2013, 690). Estudios previos han demostrado que la cáscara y la pasta son ricos en fitoquímicos, entre ellos fibra dietética, compuestos fenólicos y carotenoides (Blancas-Benítez *et al.*, 2015a, 11; Ajila *et al.*, 2007, 18). Los carotenoides son tetraterpenoides formados por poli-isoprenoides (por ocho unidades) unidas con dobles enlaces conjugados y con ramificaciones de grupos metilo por cada cinco átomos de carbono (Kiokas *et al.*, 2016, 77). Actualmente, se conocen más de 600 carotenoides, que se dividen en carotenos y xantófilas (Kiokas *et al.*, 2016, 47). Los carotenos ( $\alpha$ -caroteno y  $\beta$ -caroteno) y las xantofilas (zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina, luteína) desempeñan diversas funciones como pro-vitamínicos, antioxidantes, activadores del sistema inmunológico, entre otros (Fiedor y Burda, 2014, 13).

Por otra parte, la extracción asistida por ultrasonido (EAU) ha demostrado ser una tecnología emergente viable para la conservación de alimentos a partir de la inactivación de enzimas, mejorando la calidad sensorial y aumentando la vida de anaquel de diferentes productos (Zou y Jiang, 2016, 24). Sin embargo, existen pocos trabajos que se hayan enfocado sobre el efecto de la EAU en el contenido de carotenoides en los jugos de frutas o subproductos de ellas (Zou y Jiang, 2016, 24; Janiszewska y Sakowski, 2013, 30). En este sentido, aprovechar los SP del mango como ingrediente para la formulación de bebidas podría aumentar el contenido y consumo de carotenoides. Así mismo, la EAU en las bebidas facilitaría la liberación de estos compuestos de los

SP y aumentaría su bioaccesibilidad. En este sentido, el presente estudio consiste en evaluar el contenido y bioaccesibilidad de los carotenoides en bebidas a base de SP de mango 'Ataulfo'.

## **Método**

### **Obtención de la materia prima**

Los SP (cáscaras y pasta) del mango 'Ataulfo' fueron donados de una empresa procesadora de la ciudad de Tepic, Nayarit, México (Mexifrutas, S.A. de C.V.) y fueron trasladadas inmediatamente al Instituto Tecnológico de Tepic, en donde fueron secados por un proceso convencional a 60 °C por 15 h y 7 h para la cáscara y la pasta, respectivamente. Se eligió esta temperatura para conservar los compuestos bioactivos de los SP (Izli *et al.*, 2017, 192). Los SP del mango fueron molidos y almacenados a -20 °C hasta su análisis. Los mangos fueron adquiridos en un mercado de la localidad con un estado de madurez de consumo (12.5 °B) y fueron lavados, sanitizados, pelados y se obtuvo la pulpa, que se almacenó a -20 °C.

### **Extracción asistida por ultrasonido (EAU) para la preparación de las bebidas de mango**

Todas las bebidas fueron elaboradas con los siguientes ingredientes; agua purificada, cáscara, pasta, pulpa de mango, sacarosa, ácido ascórbico, áloe vera (AgroFresh Food, México) y goma xantana (Droguería Cosmopolita, México), de acuerdo a lo indicado en la Tabla 1. Los SP del mango se seleccionaron como fuente de fibra dietética. La bebida control (BC) consistió en mezclar los ingredientes mencionados anteriormente en 300 mL de agua purificada. Posteriormente, se adicionaron 200 mL más a la mezcla y se agitó hasta quedar totalmente homogenizado en los envases previamente lavados y sanitizados. La preparación de BC se realizó por triplicado, las cuales fueron envueltas con papel aluminio y se almacenaron a temperaturas de refrigeración ( $5 \pm 0.1$  °C).

En el caso de las bebidas tratadas con la EAU estas fueron preparadas de la misma manera solo que al finalizar la elaboración se empleó un procesador de ultrasonido UP 400S (Hielscher GmbH, Teltow, Germany) con un sonotrodo de 3 a 40 mm de diámetro y una frecuencia constante de 24 KHz. La energía ultrasónica fue controlada por el ajuste de la amplitud de la sonda al sonicador. Posteriormente, el transductor de ultrasonidos (H7 Tip 7, Hielscher, Teltow, Alemania) fue introducido aproximadamente 150 mm en el interior de cada botella y las bebidas fueron sonicadas en oscuridad a fin de evitar posibles daños inducidos por la luz. El tiempo de extracción

(TE), la amplitud de sonicación (AS) y el ciclo (C) se utilizaron como variables independientes. Las condiciones óptimas utilizadas en este estudio fueron: el contenido de  $\beta$ -caroteno (B-EAU1) ( $X_{TE}$ : 30 min,  $X_{AS}$ : 30 %,  $X_C$ : 0.8); inhibición de los mesófilos en las bebidas de mango (B-EAU2): ( $X_{TE}$ : 15 min,  $X_{AS}$ : 70 %,  $X_C$ : 0.4); y la inhibición de las bacterias coliformes (B-EAU3): ( $X_{TE}$ : 12 min,  $X_{AS}$ : 100 %,  $X_C$ : 1). Después de aplicar la EAU, las bebidas se almacenaron a temperaturas de refrigeración ( $5 \pm 0,1$  °C). Las bebidas BC y B- EAU fueron una suspensión coloidal. Las bebidas (BC y B-EAUs) se envolvieron en papel de aluminio y fueron colocadas sobre hielo para ser transportadas a la Universidad de Sonora en Hermosillo, Sonora e inmediatamente fueron almacenados a 4 °C hasta su análisis. Las bebidas con la EAU fueron comparados con la BC, que no fue sometida a la EAU (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Formulación de bebidas preparadas con sub-productos de mango ‘Ataulfo’.

	<b>Bebidas de mango ‘Ataulfo’</b>			
	<b>BC<sup>1</sup></b>	<b>B-EAU1*</b>	<b>B-EAU2<sup>+</sup></b>	<b>B-EAU3<sup>·</sup></b>
Cáscara (g)	1	1	1	1
Pasta (g)	1	1	1	1
Pulpa (g)	10	10	10	10
Goma xantana (g)	0.2	0.2	0.2	0.2
Aloe Vera (g)	0.4	0.4	0.4	0.4
Azúcar comercial (g)	12	12	12	12
Ácido ascórbico (g)	0.4	0.4	0.4	0.4
Agua (mL)	500	500	500	500

<sup>1</sup>: Bebida de mango control. B- EAU: bebidas de mango tratadas con extracción asistida por ultrasonido (EAU): \*Condición óptima de extracción para  $\beta$ -caroteno en cáscara y pasta ( $X_{TE}$ : 30 min,  $X_A$ : 30 %,  $X_C$ : 0.8). <sup>+</sup> Condición óptima para la inhibición de mesófilos en bebidas de mango ( $X_{TE}$ : 15 min,  $X_A$ : 70 %,  $X_C$ : 0.4). <sup>·</sup>Condición óptima para la inhibición de coliformes totales ( $X_{TE}$ : 12 min,  $X_A$ : 100 %,  $X_C$ : 1).

### **Extracción de carotenoides en las bebidas de mango**

La extracción de los carotenoides de las bebidas del mango se realizó siguiendo el método descrito por Qin (2008, 78). Brevemente, 200  $\mu$ L de cada bebida se homogenizó con una disolución salina (500  $\mu$ L, 0,85 % w/v), y cloroformo-metanol (3000  $\mu$ L, 2:1 v/v) y se utilizó equinenona como estándar interno (100  $\mu$ L), se agitaron por 30 s a temperatura ambiente (25 °C). Después, se centrifugaron (3500 rpm a 4 °C por 10 min) y el extracto orgánico fue recuperado. Posteriormente,

el residuo se lavó con 3000  $\mu\text{L}$  de hexano (BHT 0.25 % w/v) y se repitió el procedimiento anterior. Cada uno de los extractos se llevaron a sequedad por arrastre de nitrógeno gaseoso a 40 °C (Organomation, N-Evap 111, USA) para ser re-suspendidos en 200  $\mu\text{L}$  de etanol (BHT 0.25 % w/v) y se filtraron con acrodiscos (Acrodisc<sup>®</sup>, Micropore Millex GN, nylon; 0,20  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro de 13 mm de diámetro), se colocaron en frascos viales ámbar para cromatografía de 1.5 mL (Thermo Scientific Fsher) e inmediatamente fueron analizados por HPLC-DAD.

### **Análisis de carotenoides por HPLC-DAD**

El análisis de los carotenoides por HPLC-DAD se realizó siguiendo el método descrito por Qin (2008, 78). Los extractos de los carotenoides fueron analizados en un cromatógrafo de líquidos de alta presión Agilent 1200 (Agilent 1200 Series<sup>®</sup>, USA), equipado con una bomba cuaternaria, un inyector de muestra automática, un detector de arreglo de diodos (DAD) y equipado con una columna C<sub>18</sub> Alltima (3,0  $\times$  150 mm, 5  $\mu\text{m}$  de partículas, Thermo Scientific<sup>®</sup>, Wilmington, USA) por un sistema binario de dos solventes en diferentes proporciones. Se utilizaron dos eluentes para el análisis, el eluente A fue metanol/metil *ter*-butil éter/ acetato de amonio 0.03M en agua (85:12:3 v/v/v) y el eluente B fue metanol/metanol *ter*-butil éter/acetato de amonio 0.03M (8:90:2 v/v/v). El gradiente utilizado fue 0 min, 0 % B; 21 min, 45 %B; 22 min, 55 %B; 33 min, 95 % B; después se mantuvo a 95 % B, hasta los 39 min; y finalmente, un ciclo de acondicionamiento de 20 min con las condiciones iniciales para el siguiente análisis. El flujo de elución fue de 0.4 mL min<sup>-1</sup> y el tiempo total de la corrida fue 60 min. El volumen de inyección de las muestras fue de 10  $\mu\text{L}$ . La cuantificación individual de los compuestos se realizó con los métodos de calibración utilizando el estándar externo (equinenona) y el estándar añadido a las muestras para obtener el porcentaje de recuperación de equinenona. Para el cálculo de los porcentajes de recuperación (%R) se procedió en inyectar en el HPLC-DAD cada extracto a una concentración conocida de equinenona y se obtuvo un área para cada carotenoide a medir. Luego, las áreas de los compuestos fueron restadas con el área de equinenona externo y con este resultado se calculó la concentración obtenida de cada carotenoide. El porcentaje de recuperación se calculó de acuerdo con la Ec. 1.

$$\%R = \frac{C_{Eo}}{C_{Ea}} \quad \text{Ec. 1}$$

Donde el %R es el porcentaje de recuperación.  $C_{Eo}$  es la concentración de equinenona obtenido.  $C_{Ea}$  es la concentración de equinenona agregada.

Los carotenoides analizados en las bebidas de mango fueron:  $\alpha$ -caroteno ( $\alpha C$ ) y  $\beta$ -caroteno ( $\beta C$ ); y las xantofilas: ( $\beta$ -criptoxantina ( $\beta Cr$ ), Luteina (Lut) y zeaxantina (Zea). Los picos se compararon con los tiempos de retención ( $t_R$ ) y los espectros de absorción de UV/Vis de los estándares. Los carotenoides fueron detectados a 450 nm y los resultados fueron expresados como  $\mu g$  de carotenoide/100 mL de la bebida.

### **Bioaccesibilidad *in vitro* de carotenoides**

La digestión gastrointestinal *in vitro* se realizó siguiendo el método descrito por Saura-Calixto *et al.* (2000) con algunas modificaciones. Las bebidas fueron digeridas en dos fases secuenciales: digestión gástrica (DG) e intestinal (DI). Para este análisis se colocaron 6 muestras de cada bebida, los cuales se tomaron duplicados en cada etapa de la digestión para poder ser analizadas, tal como se describe a continuación. Se midieron 100 mL de cada bebida y se les añadió 10 mL de la solución HCl-KCl (0.2 M, pH 1.5). Posteriormente, se agregó 200  $\mu L$  de una disolución de pepsina (P-7000,  $\geq 250$  unidades/mg Sigma-Aldrich Chemical Co., St Louis MO, USA; 300 mg/mL) y se incubaron a 40 °C por 1 h con agitación constante. Pasado el tiempo, los 100 mL de cada bebida por duplicado de cada tratamiento fueron centrifugados a 3000 rpm por 15 min a 5 °C y el sobrenadante se recuperó; se añadió nitrógeno líquido por 5 s y se almacenaron a -45 °C, con la finalidad de evitar la oxidación de los carotenoides. Este paso se llamó digestión gástrica (DG). Por otro lado, otro lote de muestra continuó el proceso de digestión, a los tubos se les agregó 5 mL de amortiguador de fosfato (0.1 M, pH 7.5) y 1000  $\mu L$  de pancreatina porcina (5 mg/mL de amortiguador de fosfato 0.1 M, pH 7.5, P-1750 Sigma Aldrich,) y se incubaron por 6 h a 37 °C con agitación constante. Posteriormente, se agregaron 9 mL del tampón Tris-maleato (0.1 M, pH 6.9) y se mezclaron con la disolución de  $\alpha$ -amilasa (A-3176 Type VI-B, Sigma Aldrich). La solución se colocó en un baño a 37 °C por 16 h en agitación constante. Se tomó una muestra considerada como digestión intestinal (DI) y se almacenaron en las mismas condiciones mencionadas anteriormente.

Por otro lado, otro lote de muestras procedente de la digestión intestinal se centrifugó y los sobrenadantes de los duplicados restantes se mezclaron con dos lavados con 5 mL de agua destilada y fueron transferidos a las bolsas de diálisis (12,000-14,000 de corte de peso molecular; tubo de diálisis Visking, Sigma Aldrich). Las muestras se dializaron a 25 °C por 48 h. Finalizado el proceso,

el contenido retenido de la bolsa de diálisis se almacenó en las mismas condiciones, esta fracción se le llamó fracción indigestible soluble (FIS). Por otro lado, el residuo se dejó secar durante 24 h y se almacenó 45 °C, nombrando a esta fracción como fracción indigestible insoluble (FII). A cada una de las fracciones obtenidas se les extrajeron los carotenoides y a partir de los resultados obtenidos se determinó el porcentaje de la bioaccesibilidad (%BA) de cada carotenoide utilizando la Ec. 2.

$$\%BA = \frac{(DI-FIS)}{(FIS+FII)} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde el %BA es el porcentaje de bioaccesibilidad ( $\alpha$ C,  $\beta$ C,  $\beta$ Cr, Lut y Zea), DI son los carotenoides liberados en la digestión intestinal, FIS son los carotenoides determinados en la fracción indigestible soluble, FII son los carotenoides determinados en la fracción indigestible insoluble.

El porcentaje carotenoides no bioaccesibles (%NBA) fue calculado a partir de la Ec. 3:

$$\% NBA = 100 - \%BA \quad \text{Ec. 3}$$

### **Cinética de liberación de los carotenoides**

La cinética de liberación de los carotenoides se determinó siguiendo el método reportado por Blancas-Benítez *et al.* (2015b, 57) con algunas modificaciones. Se tomaron 100 mL de cada bebida y se mezclaron con 10 mL de amortiguador de fosfatos (0.05 M, pH 1.5); el pH se ajustó a 1.5. A continuación se añadió 200  $\mu$ L de la disolución de pepsina (P-7000, polvo  $\geq$ 250 unidades/mg de Sigma-Aldrich; 300 mg/mL) y se incubó a 37 °C durante 1 h. Posteriormente, se ajustó el pH de las bebidas a 6.9 con 20 mL de amortiguador de fosfatos 0.05 M (pH 6.9) y se pusieron en bolsas de diálisis de celulosa (12,000-14,000 de corte de peso molecular; tubo de diálisis Visking, Sigma Aldrich), previamente hidratadas en 100 mL buffer fosfato 0,05 M (pH 6.9) durante 10 min. Se añadió 1000  $\mu$ L de la disolución de la  $\alpha$ -amilasa pancreática (A-6255, Sigma-Aldrich; Sigma 110 U/mL, 40 $\mu$ l / 7 mL), ajustando el volumen a 30 mL. Las bolsas de diálisis se colocaron en recipientes con 200 mL de tampón de fosfatos (0.05 M, pH 6.9), previamente estabilizados a 37 °C y en constante agitación. Se tomaron alícuotas de 1000  $\mu$ L del medio externo (tampón de fosfato 0.05 M, pH 6.9, 37 °C) en intervalos de 30 min por 3 h las cuales fueron congeladas en nitrógeno líquido y almacenados a -45 °C hasta su análisis. Los carotenoides se extrajeron de cada alícuota

para ser cuantificados y a partir de estos resultados se determinó la velocidad inicial de liberación con la Ec. 4:

$$v_o = \frac{(C_1 - C_0)}{(t_1 - t_0)} \quad \text{Ec. 4}$$

Donde:  $v_o$  es la velocidad inicial de liberación de los carotenoides en tiempo específico durante la digestión *in vitro* (mg/min),  $C_1 - C_0$  es la diferencia de concentración entre la concentración específica con la concentración inicial (mg/g db) y  $t_1 - t_0$  es la diferencia de tiempo entre el tiempo específico y el tiempo inicial (min).

La velocidad final ( $V_f$ ) y la constante de cinética ( $k$ ) de  $\alpha C$ ,  $\beta C$ ,  $\beta Cr$ , Lut y Zea fueron determinadas a partir de las Ec. 5 y 6:

$$V_f = \sum \left( \frac{\Delta C}{\Delta t} \right) \quad \text{Ec. 5}$$

$$k = \frac{V_f}{[C]} \quad \text{Ec. 6}$$

Donde,  $\Delta C$  es la diferencia de concentración,  $\Delta t$  es la diferencia del tiempo entre el tiempo específico y el tiempo inicial,  $V_f$  es la velocidad final de los carotenoides liberados durante la cinética de liberación *in vitro*,  $t$  es tiempo.

Una vez determinada la velocidad de liberación de los carotenoides se ajustaron a modelos de orden cero (Ec. 7) o de primer orden (Ec. 8):

$$A = A_0 - kt \quad \text{Ec. 7}$$

$$\frac{A}{A_0} = e^{(-kt)} \quad \text{Ec. 8}$$

Donde:  $A_0$  es el parámetro estimado, el sub-índice 0 indica el valor inicial,  $t$  es el tiempo (min) y  $k$  es la constante cinética en función del tiempo.

### **Análisis estadístico**

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía, con el fin de determinar el efecto de la EAU sobre los carotenoides ( $\alpha = 0.05$ ). La prueba posterior utilizada fue una comparación

múltiple de las medias aplicando la prueba de Tukey. También, se realizó una prueba de t-Student para poder comparar entre la DG y DI, así como FIS y FII. Los datos fueron procesados por el programa estadístico Statistica 10 (Stat Soft. Inc., Tulsa, OK, USA).

## **Resultados y Discusión**

### **Elaboración de las bebidas de mango**

Las bebidas fueron elaboradas con pulpa, cáscara y pasta de mango ‘Ataulfo’, los cuales son ricos en carotenoides. En estudios previos de nuestro grupo se cuantificó el contenido de  $\beta$ C en la cáscara y la pasta de esta variedad, dando resultados de  $1.29 \pm 0.12$  mg/g p.s y  $0.56 \pm 0.007$  mg/g p.s., respectivamente (Datos no publicados). Así mismo, se determinó la condición óptima de la EAU, la cual fue  $X_{TE}$ : 30 min,  $X_{AS}$ : 30 %,  $X_C$ : 0.8 para ambos SP. Bajo estas condiciones el contenido de carotenoides se incrementó a 19.13 mg/g p.s. para la cáscara y 6.60 mg/g p.s para la pasta. Además, estos SP son ricos en fibra dietética (14.97 % en pasta y 41.34 % en cáscara) (Blancas-Benítez *et al.* (2015b, 57). Por tal motivo, elaborar una bebida a base de estos SP de mango ‘Ataulfo’ pueden aportar ciertos beneficios a la salud debido a los compuestos bioactivos que presentan y que pueden tener actividad anti-proliferativa, anti-inflamatoria, inmunoreguladora, así como inhibir la peroxidación lipídica y aumentar la citotoxicidad de los linfocitos T y B en la sangre (Lauricella *et al.*, 2017, 100; Lin *et al.* 2016, 22). También, se decidió adicionar *aloe vera* a las bebidas, ya que puede contribuir en diversas propiedades como la actividad del sistema nervioso central, actividad angiogénica, inmunoreguladora, antimicrobiana y gastroprotectora por su alto contenido de micronutrientes esenciales (Na, Ca, Mg y K), así como vitaminas, compuestos fenólicos, antraquinonas, mono y polisacáridos (pectina, hemicelulosa), esteroides, saponinas, aloína, aloe emodina, entre otros (Nandal y Bhardwaj, 2012, 84). Además, el *aloe vera* ayuda a conservar ciertos alimentos, esto debido a su ordenamiento molecular e isodiamétrica manteniendo sus propiedades sensoriales (Radi *et al.*, 2017, 38). Sin embargo, su alto contenido de fibra dietética puede reducir la absorción de los carotenoides. Por tal motivo, se empleó la EAU debido a que esta tecnología puede romper las interacciones de la fibra dietética dejando más bioaccesibles a los compuestos que se encuentran dentro de la matriz de la fibra dietética (Carail *et al.*, 2015, 24).

**Efecto de la EAU sobre el contenido de carotenoides en las bebidas de mango ‘Ataulfo’**

Al realizar los análisis cromatográficos de las bebidas de mango (BC y B-EAU), se identificaron y cuantificaron tres xantófilas ( $\beta$ Cr, Lut y Zea) y dos carotenos ( $\alpha$ C y  $\beta$ C), tal como se reporta en el Cuadro 2, donde se observa que en la BC, la Lut fue la que se encontró en mayor cantidad (3.29  $\mu$ g/100 mL), seguido de  $\alpha$ C (1.11  $\mu$ g/100 mL),  $\beta$ Cr (0.21  $\mu$ g/100 mL) y Zea (0.01  $\mu$ g/100 mL). Destaca el resultado de  $\alpha$ C, que solamente había sido identificado en mango en las variedades ‘Gedong’, ‘Manalagi’, ‘Golek’, ‘Harum manis’, ‘Black-gold’ e ‘Indramayn’ (Khoo *et al.*, 2011, 200). Nuestros resultados concuerdan con estudios previos, donde se ha reportado que la Lut es la xantófila que se encuentra en mayor concentración en la pulpa de mango (Chen *et al.*, 2004, 16).

**Cuadro 2.** Contenido de carotenos y xantofilas en bebidas de mango ‘Ataulfo’.

	<b>Bebidas de mango (<i>Mangifera indica</i> L.) ‘Ataulfo’ (<math>\mu</math>g/100 mL)</b>			
	<b>BC<sup>1</sup></b>	<b>B-EAU1</b>	<b>B-EAU2</b>	<b>B-EAU3</b>
<i>Caroteno</i>				
$\alpha$ C	1.11 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.09 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.13 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.16 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
$\beta$ C	0.16 $\pm$ 0.003 <sup>a</sup>	0.14 $\pm$ 0.002 <sup>b</sup>	0.07 $\pm$ 0.001 <sup>c</sup>	0.07 $\pm$ 0.001 <sup>c</sup>
<i>Xantofilas</i>				
$\beta$ Cr	0.21 $\pm$ 0.004 <sup>b</sup>	0.37 $\pm$ 0.007 <sup>a</sup>	0.16 $\pm$ 0.003 <sup>d</sup>	0.18 $\pm$ 0.003 <sup>c</sup>
Lut	3.29 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	2.50 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	1.44 $\pm$ 0.07 <sup>d</sup>	1.50 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>
Zea	0.01 $\pm$ 0.003 <sup>b</sup>	0.01 $\pm$ 0.0003 <sup>b</sup>	0.01 $\pm$ 0.0003 <sup>b</sup>	0.02 $\pm$ 0.0003 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>:BC: bebida sin tratamiento. B- EAU: bebida con tratamiento de ultrasonido-asistido: <sup>1</sup>X<sub>TE</sub>: 30 min, X<sub>A</sub>: 30 %, X<sub>C</sub>: 0.8. <sup>2</sup>X<sub>TE</sub>: 15 min, X<sub>A</sub>: 70 %, X<sub>C</sub>: 0.4. <sup>3</sup>X<sub>TE</sub>: 12 min, X<sub>A</sub>: 100 %, X<sub>C</sub>: 1.  $\alpha$ -caroteno ( $\alpha$ C),  $\beta$ -caroteno ( $\beta$ C),  $\beta$ -criptoxantina ( $\beta$ Cr), luteína (Lut) y zeaxantina (Zea). Los valores representan media  $\pm$  desviación estándar de tres repeticiones. Diferentes letras representan diferencia significativa ( $\alpha = 0.05$ ) entre los diferentes tratamientos y el control.

El contenido de carotenoides en diferentes frutas oscila entre 0.8  $\mu$ g/100 mL a 151.4  $\mu$ g/100 mL (Aschoff *et al.*, 2014, 213). Nuestros resultados fueron similares a los reportados en jugos con leche de soya tratados con altas presiones hidrostáticas (Cilla *et al.*, 2012, 324). Sin embargo, los resultados obtenidos en esta investigación fueron menores a los reportados en la pulpa liofilizada de mango ‘Tommy Atkins’ (Petry y Mercadante, 2018, 335).

Al aplicar la EAU el contenido de los carotenos y las xantofilas cambiaron con respecto al BC (Cuadro 2), en donde se apreció un efecto negativo de la EAU sobre el contenido de Lut y  $\beta$ C y en menor medida  $\beta$ Cr en las B-EAU2 y B-EAU3. Esto es debido al efecto de la cavitación sobre

la estructura de estos compuestos (Song *et al.*, 2015, 130). Song *et al.* (2015) observaron que los carotenoides sufren cambios estructurales cuando se encuentran en soluciones acuosas. Carail *et al.* (2015) reportaron que los carotenoides son inestables a altas amplitudes de sonicación (Carail *et al.*, 2015, 274). Otros autores han reportado que los carotenoides se isomerizan durante el proceso de cavitación (Song *et al.*, 2015, 134). Este cambio estructural (*trans* a *cis*) puede facilitar a que las xantofilas sean solubilizadas y ser absorbidas con mayor facilidad (Periago *et al.*, 2001, 462). Por otro lado, el contenido de  $\alpha$ C y Zea fue similar en todas las bebidas. El contenido de  $\alpha$ C no tuvo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre las bebidas. Esto se debe que el  $\alpha$ C es un isómero que se forma a partir del 15-*cis*- $\beta$ -caroteno durante el almacenamiento (Ornelas-Paz *et al.*, 2008, 30; Marx *et al.*, 2003, 45). El contenido de  $\beta$ C presentó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la B-EAU1, respecto a la BC (Cuadro 2). Se observó una disminución drástica en el contenido de  $\beta$ C en las muestras B-EAU2 y B-EAU3, lo cual parece indicar que la amplitud de extracción tiene un efecto importante en la estabilidad del  $\beta$ C. También, la  $\beta$ Cr tuvo la misma tendencia por lo que las condiciones del EAU influyeron en la liberación de estos compuestos (Goula *et al.*, 2017, 254).

### **Efecto de la EAU sobre la bioaccesibilidad *in vitro* de los carotenoides**

La liberación de los carotenos ( $\alpha$ C y  $\beta$ C) y las xantófilas (Lut, Zea y  $\beta$ Cr) durante la digestión DG y DI *in vitro* de las bebidas de mango se presentan en el Cuadro 3. El contenido de  $\alpha$ C se incrementó en la DI, frente a la DG en la BC. Sin embargo, en esta misma bebida, el contenido de  $\beta$ C presentó una disminución de compuestos. Estos resultados fueron similares a los encontrados en los zumos de la mezcla de frutas (kiwi, piña, mango, naranja) analizados por Rodríguez-Roque *et al.* (2014, 294). También pueden deberse al cambio de pH en las diferentes etapas de la digestión (Rodríguez-Roque *et al.*, 2014, 294). Además, se sabe que la estructura del  $\beta$ C no cambia durante la DI (Blanquet-Diot *et al.*, 2009, 160). Por esta razón, el contenido de  $\beta$ C permaneció similar entre la DG y en la DI. Al igual que el BC, las xantófilas (Lut y  $\beta$ Cr) permanecieron constantes durante el proceso de digestión en la BC (Cuadro 3). Sin embargo, el contenido de Zea se redujo entre ambas etapas en la BC. De tal manera, la liberación de carotenoides entre DG y DI depende de los componentes de la matriz del alimento, las interacciones de los carotenoides con otros componentes (fibra dietética, proteínas, ácidos grasos), la forma de preparación de bebidas, los cambios de pH entre las etapas de la digestión, entre otros (Estevez-Santiago *et al.*, 2016, 438) son algunas de las razones por las cuales pueden existir estas diferencias.

El Cuadro 3 se observa que al aplicar la EAU existe una disminución en el contenido de los carotenos y xantofilas en la DG y DI. El contenido de  $\alpha$ C,  $\beta$ C,  $\beta$ Cr disminuyó con respecto a BC en la DG. En este sentido, la disminución de estos compuestos fue mayor en la B-EAU3. Sin embargo, el contenido de Lut fue mayor en la B-EAU1 con respecto a BC y las B-EAU1 y B-EAU2 tuvieron mayor contenido de Zea con respecto a BC en la DG (Cuadro 3). De la misma manera, en la DI se aprecian estos comportamientos. Por lo tanto, las amplitudes altas generaron un efecto negativo sobre el contenido de las xantofilas (Song *et al.*, 2015, 233).

El contenido de carotenos y xantofilas liberados durante la digestión *in vitro* de las EAU presentaron cambios importantes. El Cuadro 3 se observa un cambio significativo en la liberación de los carotenos y xantofilas entre la DG y DI. El  $\alpha$ C tuvo una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las bebidas excepto en la B-EAU1. Las xantofilas ( $\beta$ C,  $\beta$ Cr y Lut) mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en todas las bebidas con la EAU. Sin embargo, la Zea presentó diferencia en todas las bebidas. En el Cuadro 3, se muestra que en la B-EAU1 el contenido de  $\alpha$ C aumentó en la DI. Sin embargo, el contenido de Lut disminuyó en la misma bebida en esta etapa digestiva. En cambio, el contenido de Zea aumentó en la B-EAU1 en la DI. Esto puede ser explicado en parte considerando que durante la EAU el  $\alpha$ Cr, la neoluteína, neoluteína monoéster y neoluteína epóxido A y B sufren cambios estructurales produciendo la Zea (Cano y Ancos, 1994, 252). Del mismo modo, el contenido de  $\beta$ C aumentó en la DI en todas las bebidas con la EAU. Por lo tanto, los resultados muestran que los carotenos y las xantofilas son estables en TE prolongados y en AS bajas del EAU (Poojary *et al.*, 2016, 584; Song *et al.*, 2015, 220). Sin embargo, el proceso de cavitación en la B-EAU3 ocasionado por elevadas AS, produjo una disminución en el contenido de  $\beta$ Cr y Lut, posiblemente debido a las reacciones de isomerización y/o oxidación (Song *et al.*, 2015, 236).

**Cuadro 3.** Contenido de carotenoides liberados en la digestión gástrica (DG) y digestión intestinal (DI) en las bebidas de mango ‘Ataulfo’.

		<b>Bebidas de mango (<i>Mangifera indica</i> L.) ‘Ataulfo’ (<math>\mu</math>g/100 mL)</b>			
		<b>BC<sup>1</sup></b>	<b>B-EAU1</b>	<b>B-EAU2</b>	<b>B-EAU3</b>
<i>Caroteno</i>					
DG	$\alpha$ C	1.59 $\pm$ 0.04 <sup>aB</sup>	0.79 $\pm$ 0.02 <sup>bA</sup>	0.79 $\pm$ 0.02 <sup>bA</sup>	0.05 $\pm$ 0.001 <sup>cB</sup>
	$\beta$ C	2.65 $\pm$ 0.05 <sup>aA</sup>	0.005 $\pm$ 0.0001 <sup>dB</sup>	0.009 $\pm$ 0.002 <sup>bB</sup>	0.006 $\pm$ 0.001 <sup>cB</sup>
<i>Xantofilas</i>					

Efecto de la extracción asistida por ultrasonido en la liberación y bioaccesibilidad *in vitro* de carotenoides, en bebidas elaboradas con mango (*Mangifera indica* L.) ‘Ataulfo’

	$\beta$ Cr	$3.74 \pm 0.07^{aA}$	$0.41 \pm 0.008^{bA}$	$0.41 \pm 0.008^{bA}$	$0.08 \pm 0.001^{cB}$
	Lut	$0.48 \pm 0.02^{bA}$	$2.09 \pm 0.10^{aA}$	$0.44 \pm 0.02^{bB}$	$0.02 \pm 0.001^{cB}$
	Zea	$0.11 \pm 0.003^{bA}$	$0.23 \pm 0.007^{aB}$	$0.23 \pm 0.007^{aA}$	$0.01 \pm 0.0003^{cB}$
DI	<i>Caroteno</i>				
	$\alpha$ C	$2.04 \pm 0.06^{aA}$	$0.83 \pm 0.02^{bA}$	$0.23 \pm 0.007^{cB}$	$0.28 \pm 0.008^{cA}$
	$\beta$ C	$2.35 \pm 0.04^{aA}$	$0.06 \pm 0.001^{bA}$	$0.03 \pm 0.0006^{cA}$	$0.01 \pm 0.0002^{dA}$
	<i>Xantofilas</i>				
	$\beta$ Cr	$3.51 \pm 0.07^{aA}$	$0.14 \pm 0.003^{cB}$	$0.21 \pm 0.004^{bB}$	$0.12 \pm 0.0002^{dA}$
	Lut	$0.43 \pm 0.02^{cA}$	$1.68 \pm 0.08^{aB}$	$0.63 \pm 0.03^{bA}$	$0.31 \pm 0.01^{dA}$
	Zea	$0.04 \pm 0.001^{bB}$	$0.36 \pm 0.01^{aA}$	$0.01 \pm 0.0003^{cB}$	$0.03 \pm 0.009^{bA}$

<sup>1</sup>:BC: bebida sin tratamiento. B-EAU: bebida con extracción asistida por ultrasonido: <sup>1</sup>X<sub>TE</sub>: 30 min, X<sub>A</sub>: 30 %, X<sub>C</sub>: 0.8. <sup>2</sup>X<sub>TE</sub>: 15 min, X<sub>A</sub>: 70 %, X<sub>C</sub>: 0.4. <sup>3</sup>X<sub>TE</sub>: 12 min, X<sub>A</sub>: 100 %, X<sub>C</sub>: 1.  $\alpha$ -caroteno ( $\alpha$ C),  $\beta$ -caroteno ( $\beta$ C),  $\beta$ -criptoxantina ( $\beta$ Cr), luteína (Lut) y zeaxantina (Zea). Los valores representan media  $\pm$  desviación estándar de tres repeticiones. Diferentes letras minúsculas representan diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el control. Diferentes letras mayúsculas representan diferencia significativa entre etapas de digestión.

Por otro lado, al hacer un comparativo entre el contenido de los carotenos y xantofilas sin el proceso de digestión *in vitro* (Cuadro 2) y con el proceso de digestión *in vitro* (Cuadro 3) se puede observar que el contenido de  $\alpha$ C,  $\beta$ C,  $\beta$ Cr y Zea en la BC aumenta en la DI. En contraste, en las B-EAUs los carotenos y las xantofilas disminuyeron a excepción de la Zea (X<sub>TE</sub>: 30 min, X<sub>AS</sub>: 30 %, X<sub>C</sub>: 0.8),  $\beta$ Cr (X<sub>TE</sub>: 12 min, X<sub>AS</sub>: 70 %, X<sub>C</sub>: 0.4) y Zea (X<sub>TE</sub>: 12 min, X<sub>AS</sub>: 100 %, X<sub>C</sub>: 1) (Cuadro 3). Por lo tanto, a pesar del incremento en Zea la EAU tuvo un impacto negativo sobre la bioaccesibilidad de los carotenoides cuando se encontraron en medios acuosos y sometidos a EAU (Carrillo-López et al., 2017, 52; Corte-Real et al., 2017; 14).

**Cuadro 4.** Contenido de carotenos y xantófilas asociadas a la fracción indigestible soluble (FIS) y fracción indigestible insoluble (FII) en las bebidas de mango ‘Ataulfo’<sup>1</sup>.

		<b>Bebidas de mango (<i>Mangifera indica</i> L.) ‘Ataulfo’ (<math>\mu</math>g/100 mL)</b>			
		<b>BC<sup>1</sup></b>	<b>B-EAU1</b>	<b>B-EAU2</b>	<b>B-EAU3</b>
	<i>Caroteno</i>				
FIS	$\alpha$ C	$1.42 \pm 0.04^{aA}$	$0.45 \pm 0.01^{bA}$	$0.18 \pm 0.005^{cB}$	$0.17 \pm 0.005^{cB}$
	$\beta$ C	$0.88 \pm 0.01^{aB}$	$0.03 \pm 0.0006^{bA}$	$0.01 \pm 0.0002^{cA}$	$0.02 \pm 0.0004^{cA}$
	<i>Xantofilas</i>				

	$\beta$ Cr	$1.25 \pm 0.02^{aA}$	$0.04 \pm 0.0008^{cB}$	$0.08 \pm 0.001^{bB}$	$0.09 \pm 0.001^{bA}$
	Lut	$0.40 \pm 0.02^{bA}$	$0.76 \pm 0.04^{aA}$	$0.39 \pm 0.02^{cA}$	$0.25 \pm 0.01^{dA}$
	Zea	$0.02 \pm 0.0006^{cA}$	$0.15 \pm 0.004^{aA}$	$0.005 \pm 0.001^{dB}$	$0.03 \pm 0.0009^{bA}$
FII	<i>Caroteno</i>				
	$\alpha$ C	$0.99 \pm 0.03^{aB}$	$0.19 \pm 0.005^{cB}$	$0.51 \pm 0.01^{bA}$	$0.51 \pm 0.01^{bA}$
	$\beta$ C	$0.99 \pm 0.02^{aA}$	$0.01 \pm 0.0004^{bB}$	$0.01 \pm 0.0004^{bA}$	$0.009 \pm 0.0001^{cB}$
	<i>Xantofilas</i>				
	$\beta$ Cr	$1.58 \pm 0.03^{aA}$	$0.09 \pm 0.002^{cA}$	$0.10 \pm 0.002^{bA}$	$0.10 \pm 0.002^{bA}$
	Lut	$0.34 \pm 0.01^{aA}$	$0.20 \pm 0.01^{cB}$	$0.29 \pm 0.01^{bB}$	$0.29 \pm 0.01^{bA}$
	Zea	$0.02 \pm 0.0006^{cA}$	$0.19 \pm 0.005^{aB}$	$0.05 \pm 0.001^{bA}$	$0.02 \pm 0.0006^{cA}$

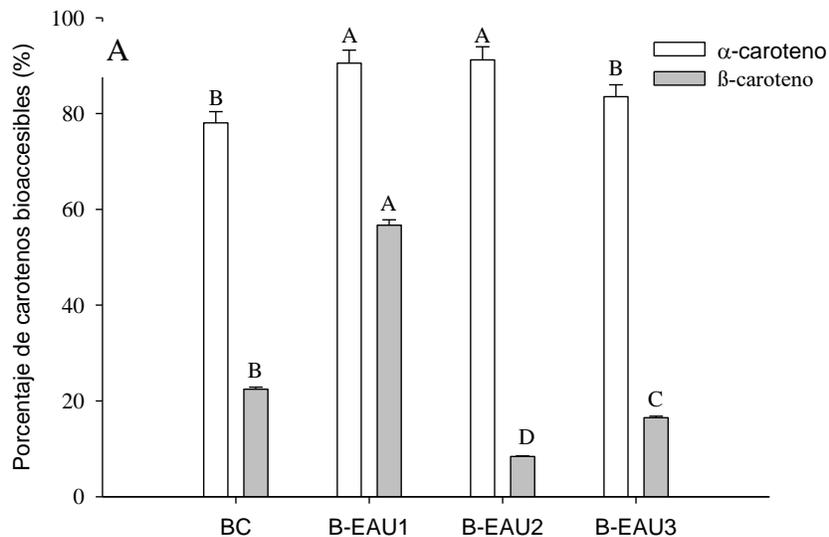
<sup>1</sup>BC: bebida sin tratamiento. B-EAU: bebida con extracción asistida por ultrasonido: <sup>1</sup>X<sub>TE</sub>: 30 min, X<sub>A</sub>: 30 %, X<sub>C</sub>: 0.8. <sup>2</sup>X<sub>TE</sub>: 15 min, X<sub>A</sub>: 70 %, X<sub>C</sub>: 0.4. <sup>3</sup>X<sub>TE</sub>: 12 min, X<sub>A</sub>: 100 %, X<sub>C</sub>: 1.  $\alpha$ -caroteno ( $\alpha$ C),  $\beta$ -caroteno ( $\beta$ C),  $\beta$ -criptoxantina ( $\beta$ Cr), luteína (Lut) y zeaxantina (Zea). Los valores representan media  $\pm$  desviación estándar de tres repeticiones. Diferentes letras minúsculas representan diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el control. Diferentes letras mayúsculas representan diferencia significativa entre etapas de digestión.

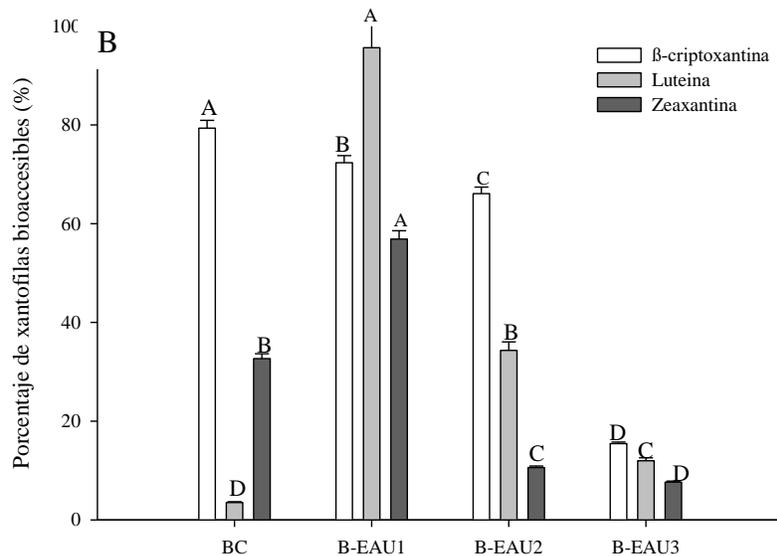
En el Cuadro 4 se muestra el contenido de los carotenos y xantófilas que están asociados en la FIS y FII. El contenido de  $\alpha$ C de todas las bebidas presentó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre FIS y FII. En contraste, el  $\beta$ C de la B-EAU no presentó diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). Sin embargo, todas las xantofilas de BC no presentaron diferencia significativa entre FIS y FII. Por el contrario, la  $\beta$ Cr y Lut en las B-EAU1 y B-EAU2 presentaron diferencia significativa entre FIS y FII ( $p < 0.05$ ). En contraste; las tres xantofilas en la B-EAU3 no tuvieron diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). La presencia de carotenoides en la FIS y FII se puede deber a que la interacción entre la fibra dietética (cáscara, pasta, pulpa) con la goma xantana mantiene a los carotenoides atrapados en una red que retarda o impide su liberación durante el proceso de digestión (Goñi *et al.*, 2006, 236; Fernández-García *et al.*, 2012, 91). Sin embargo, la energía que se generó durante el proceso de la cavitación facilitó la liberación de los carotenoides al romper las interacciones intermoleculares entre la goma xantana con la fibra dietética y los enlaces del complejo fibra-carotenoide (D'Evoli *et al.*, 2013, 140; Palafox-Carlos *et al.*, 2011, 268). En concordancia con los valores de carotenoides durante el proceso digestivo *in vitro* (Cuadro 3), el contenido de  $\alpha$ C,  $\beta$ C y  $\beta$ Cr disminuyeron en los EAUs (Cuadro 3). Sin embargo, la presencia de los carotenos y las xantofilas en la FIS y FII puede deberse a que estos compuestos están asociados con otros componentes formando interacciones covalentes y puentes de hidrógeno que impiden su liberación (Palafox-Carlos *et al.*, 2011, 268;

D'Evoli *et al.*, 2013, 142). De tal manera, su retención en la FIS y FII pueden llegar al intestino grueso y pueden tener un efecto favorable en el colon por la acción de la microbiota (Sen *et al.*, 2013, 11; Taipina *et al.*, 2013, 58). Cabe mencionar, que no existen estudios sobre el efecto positivo y/o negativo del contenido de carotenoides en la FII, lo que abre la posibilidad de estudiar el efecto que pueden ejercer los carotenoides en el colon.

### Efecto de la EAU sobre el porcentaje de bioaccesibilidad de los carotenoides

En la Figura 1 se muestra el %BA de carotenos ( $\alpha$ C,  $\beta$ C) (Figura 1A) y xantofilas (Lut,  $\beta$ Cr y Zea) (Figura 1B), en las bebidas de mango.





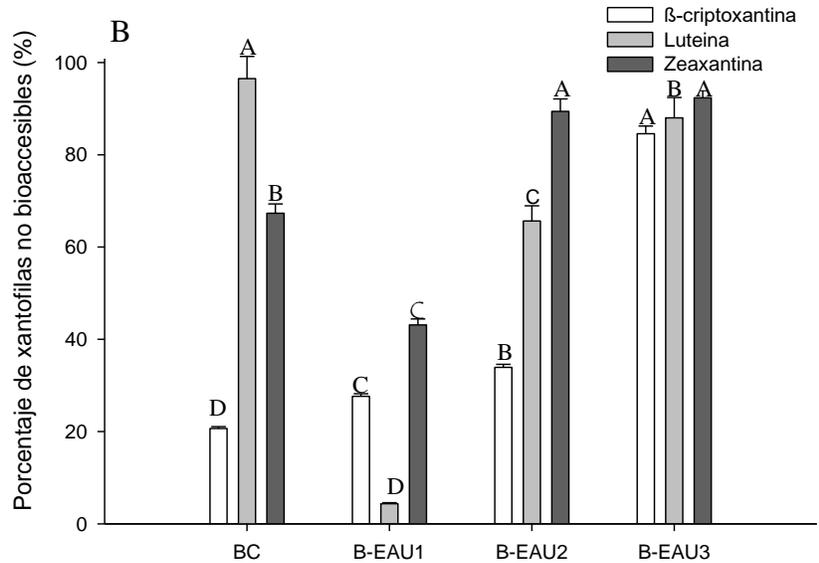
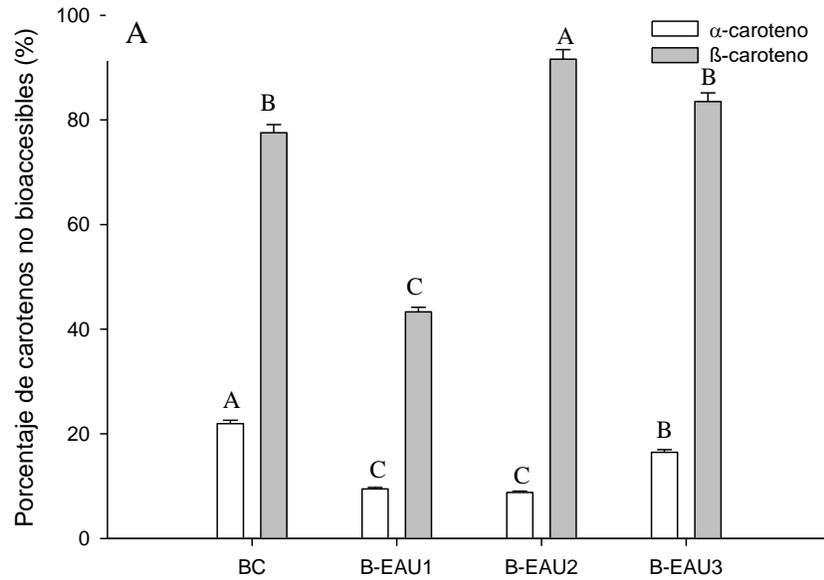
**Figura 1.** Porcentaje de bioaccesibilidad de (A) carotenos ( $\alpha$ -C y  $\beta$ -C) y (B) xantófilas (Lut, Zea y  $\beta$ -Cr) en las bebidas de mango ‘Ataulfo’ (BC: bebida sin tratamiento. B-EAU: bebida con tratamiento de ultrasonido-asistido: 1 ( $X_{TE}$ : 30 min,  $X_A$ : 30 %,  $X_C$ : 0.8); 2( $X_{TE}$ : 15 min,  $X_A$ : 70 %,  $X_C$ : 0.4); 3 ( $X_{TE}$ : 12 min,  $X_A$ : 100 %,  $X_C$ : 1). Los valores representan media  $\pm$  desviación estándar de tres repeticiones. Diferentes letras representan diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el control.

La Figura 1A muestra que el  $\alpha$ C presentó un %BA mayor en todos los EAU, respecto a la BC, con un 91.22 % (B-EAU2), 90.54 % (B-EAU1) y 83.52 % (B-EAU3). Por otra parte, el %BA de  $\beta$ C fue mayor en la B-EAU1 (56.68 %). La Figura 1B muestra que la  $\beta$ Cr presentó un %BA mayor (79.35 %) en BC, en comparación con los tratamientos con EAU, por lo que la cavitación tuvo un efecto negativo en la estructura de esta xantofila. Sin embargo, para el resto de las xantofilas (Lut y Zea) el %BA fue mayor en el tratamiento B-EAU1 con un 95.63 y 56.88 %, respectivamente. Por lo tanto, las amplitudes altas y los tiempos de exposición prolongados (B-EAU1) favorecen la liberación de los carotenos ( $\alpha$ C y  $\beta$ C), Lut y Zea (Ofori-Boateng y Lee, 2013, 301). Por último, el  $\beta$ C es el caroteno más abundante en el mango, el cual se puede encontrar en forma *all-trans*, *all-cis* y *cis-9* (Figura 1B) (Low *et al.*, 2015, 70; Khoo *et al.*, 2010, 8). De tal manera, la concentración de estos compuestos, las condiciones de las B-EAUs pueden contribuir en el %BA de los carotenos.

Las xantofilas (Lut, Zea) tienen actividad provitamínica, previenen patologías crónicas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, enfermedades de la visión (cataratas y

degeneración macular asociada a la edad) y enfermedades relacionadas al envejecimiento (Taipina *et al.*, 2013, 60; Edwards, 2016, 29; Mares, 2016, 6).

Por otra parte, se determinó el porcentaje de los carotenos y xantófilos no bioaccesibles a partir de la diferencia del %BA (Figura 2).



**Figura 2.** Porcentaje no bioaccesible de (A) carotenos ( $\alpha$ -C y  $\beta$ -C) y (B) xantofilas (Lut, Zea y  $\beta$ -Cr) en las bebidas de mango ‘Ataulfo’ (BC: bebida sin tratamiento. B-EAU: bebida con tratamiento de ultrasonido-asistido: bebida con tratamiento de ultrasonido-asistido: 1 ( $X_{TE}$ : 30 min,  $X_A$ : 30 %,  $X_C$ : 0.8); 2 ( $X_{TE}$ : 15 min,  $X_A$ : 70 %,  $X_C$ : 0.4); 3 ( $X_{TE}$ : 12 min,  $X_A$ : 100 %,  $X_C$ : 1). Los valores representan media  $\pm$  desviación estándar de tres repeticiones. Diferentes letras representan diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el control.

Los carotenos no bioaccesibles son aquellos que quedaron retenidos en la FIS y la FII. El porcentaje de  $\beta$ C no bioaccesible fue de 91.6, 83.5, 77.5 y 43.2 % en las bebidas B-EAU2, B-EAU3, BC y B-EAU1, respectivamente (Figura 2A). El porcentaje no bioaccesible del  $\alpha$ C fue mayor (21.9 %) en la BC respecto a las demás bebidas. También, en la misma bebida se observó el mismo efecto en la Lut (96.5 %). El mayor porcentaje de  $\beta$ Cr y Zea no bioaccesibles se presentó en la BC y B-EAU3 con un 96.5 y 92.3 %, respectivamente (Figura 2B). Por lo tanto, encontrar xantofilas y carotenos asociados en la fracción indigestible de las bebidas de mango pueden ejercer funciones en el colon, ya que son inmunomodulares, por ejemplo, astaxantina,  $\beta$ Cr y Zea favorecen la inhibición del cáncer de colon (Kuppusamy *et al.*, 2014, 146). Así mismo, el  $\beta$ C puede favorecer la proliferación de microbiota precursora de la fermentación colónica. Se conoce que el  $\beta$ C es un sustrato para el crecimiento de *E. coli*, el cual produce ácidos grasos de cadena corta (Jawed *et al.*, 2016, 202; Wassef *et al.*, 2014, 232).

### **Cinética de liberación de los carotenoides**

El contenido de  $\alpha$ C,  $\beta$ C,  $\beta$ Cr, Lut y Zea liberado de las bebidas de mango se muestra en el Cuadro 5, donde se observa que la liberación de  $\alpha$ C fue mayor (1.92  $\mu$ g/100 mL), seguido de  $\beta$ Cr (0.82  $\mu$ g/100 mL), Lut (0.40  $\mu$ g/100 mL), Zea (0.12  $\mu$ g/100 mL) y  $\beta$ C (0.08  $\mu$ g/100 mL) en la BC a los 180 min. Este comportamiento se puede explicar considerando que existe una acción sinérgica o antagónica entre ellos durante su liberación (Ordoudi *et al.*, 2015, 20; Fernández-García *et al.*, 2008). También, durante el proceso de la cinética de liberación, existen otros compuestos que pudieran estar ejerciendo estas acciones sobre los carotenoides tales como la fibra dietética (Ordoudi *et al.*, 2015, 22).

Al comparar la liberación de los carotenos y las xantofilas en las B-EAUs, se observó que presentaron mayor velocidad de liberación con respecto a la BC. En el Cuadro 5 se observa que los carotenos ( $\alpha$ C y  $\beta$ C) en las B-EAUs no tuvieron diferencia significativa a los 180 min. Sin embargo, la liberación de  $\beta$ Cr (9.15  $\mu$ g/100 mL) en la B-EAU1 fue mayor que el resto de las bebidas. Del mismo modo, Lut y Zea tuvieron mayor liberación en la B-EAU2. Por tal motivo, se considera que

el efecto de las condiciones del EAU influye en la liberación de estos compuestos (Goula *et al.*, 2017, 254).

**Cuadro 5.** Cinética de liberación de  $\alpha$ -caroteno ( $\alpha$ C),  $\beta$ -caroteno ( $\beta$ C),  $\beta$ -criptoxantina ( $\beta$ Cr), luteína (Lut), zeaxantina (Zea) en las bebidas de mango 'Ataulfo'.

Tiempo (min)	Bebidas de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) 'Ataulfo' ( $\mu$ g/100 mL)				
	BC <sup>1</sup>	B-EAU1	B-EAU2	B-EAU3	
$\alpha$ C	30	0.21 $\pm$ 0.006 <sup>b</sup>	0.77 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.11 $\pm$ 0.003 <sup>c</sup>	0.07 $\pm$ 0.002 <sup>d</sup>
	60	0.25 $\pm$ 0.007 <sup>b</sup>	0.78 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.25 $\pm$ 0.007 <sup>b</sup>	0.14 $\pm$ 0.004 <sup>c</sup>
	90	0.49 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.83 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.61 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.28 $\pm$ 0.008 <sup>d</sup>
	120	0.50 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.97 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.63 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.40 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>
	150	0.62 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	1.63 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.50 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.71 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
	180	1.92 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	2.28 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	2.43 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	2.63 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
$\beta$ C	30	0.02 $\pm$ 0.0004 <sup>b</sup>	0.11 $\pm$ 0.002 <sup>a</sup>	0.004 $\pm$ 0.001 <sup>c</sup>	0.11 $\pm$ 0.002 <sup>a</sup>
	60	0.04 $\pm$ 0.008 <sup>d</sup>	0.11 $\pm$ 0.002 <sup>c</sup>	0.53 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.28 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup>
	90	0.04 $\pm$ 0.008 <sup>d</sup>	0.92 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	1.02 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.39 $\pm$ 0.008 <sup>c</sup>
	120	0.04 $\pm$ 0.008 <sup>d</sup>	1.63 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	2.37 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.65 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
	150	0.07 $\pm$ 0.001 <sup>c</sup>	3.22 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	3.03 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.14 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
	180	0.08 $\pm$ 0.001 <sup>b</sup>	4.84 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	4.30 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	4.74 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
$\beta$ Cr	30	0.26 $\pm$ 0.005	2.88 $\pm$ 0.05	1.47 $\pm$ 0.03	0.48 $\pm$ 0.009
	60	0.26 $\pm$ 0.005	3.54 $\pm$ 0.07	1.48 $\pm$ 0.03	0.73 $\pm$ 0.01
	90	0.33 $\pm$ 0.006	4.96 $\pm$ 0.09	1.49 $\pm$ 0.03	0.80 $\pm$ 0.01
	120	0.35 $\pm$ 0.007	6.43 $\pm$ 0.12	2.61 $\pm$ 0.05	1.02 $\pm$ 0.02
	150	0.35 $\pm$ 0.007	7.49 $\pm$ 0.15	2.78 $\pm$ 0.05	2.53 $\pm$ 0.05
	180	0.82 $\pm$ 0.01	9.15 $\pm$ 0.18	3.95 $\pm$ 0.08	6.16 $\pm$ 0.12
Lut	30	0.07 $\pm$ 0.003 <sup>c</sup>	0.49 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.45 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.001 $\pm$ 0.0005 <sup>d</sup>
	60	0.11 $\pm$ 0.005 <sup>a</sup>	0.55 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.45 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.004 $\pm$ 0.0002 <sup>c</sup>
	90	0.21 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.65 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.56 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.68 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
	120	0.40 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	0.77 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.57 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	0.73 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>
	150	0.43 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	0.71 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.62 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	1.03 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
	180	0.40 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	0.86 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	1.23 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.24 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>

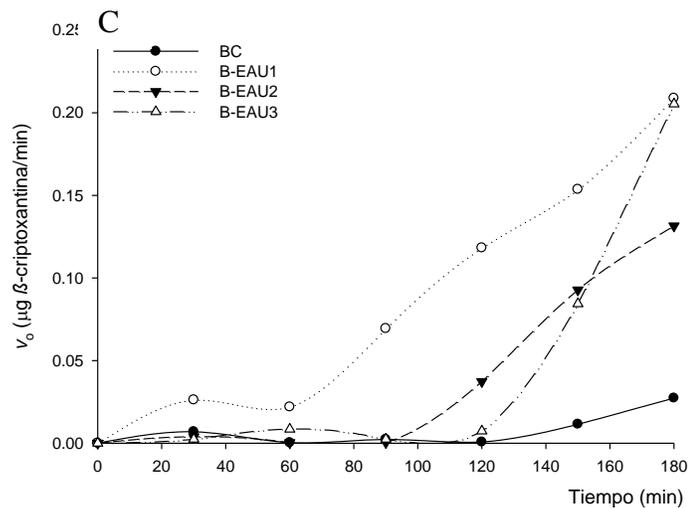
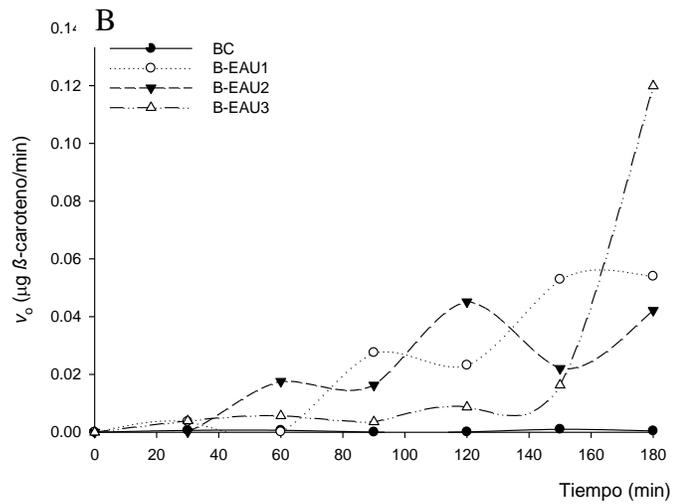
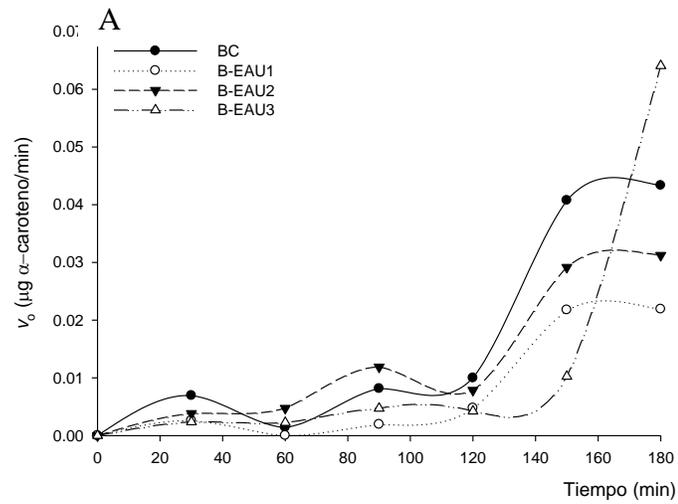
Zea	30	0.009 ± 0.0002 <sup>d</sup>	0.04 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.02 ± 0.006 <sup>c</sup>	0.03 ± 0.0009 <sup>b</sup>
	60	0.03 ± 0.0009 <sup>b</sup>	0.08 ± 0.002 <sup>a</sup>	0.02 ± 0.006 <sup>c</sup>	0.03 ± 0.0009 <sup>b</sup>
	90	0.14 ± 0.004 <sup>a</sup>	0.11 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.009 <sup>b</sup>	0.03 ± 0.0009 <sup>b</sup>
	120	0.13 ± 0.004 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.009 <sup>c</sup>	0.06 ± 0.0002 <sup>b</sup>
	150	0.13 ± 0.004 <sup>b</sup>	0.13 ± 0.004 <sup>b</sup>	0.05 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.65 ± 0.02 <sup>a</sup>
	180	0.12 ± 0.003 <sup>c</sup>	0.14 ± 0.004 <sup>c</sup>	0.72 ± 0.02 <sup>b</sup>	1.74 ± 0.05 <sup>a</sup>

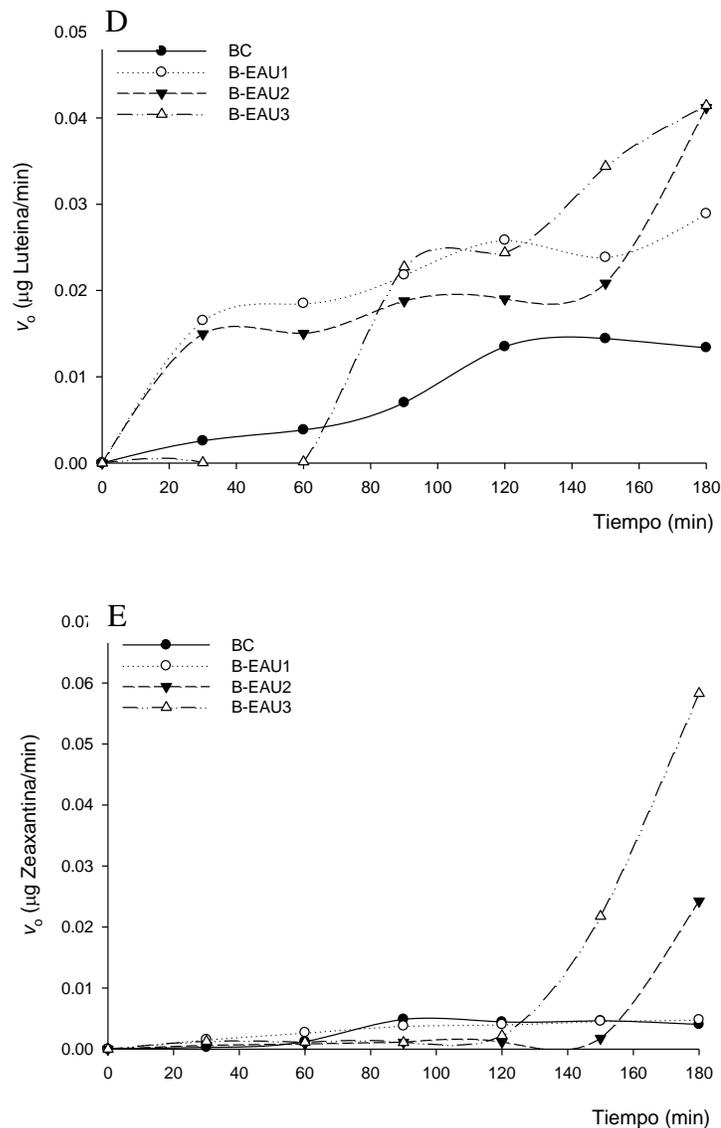
BC: bebida sin tratamiento. B-EAU: bebida con extracción asistida por ultrasonido: 1 ( $X_{TE}$ : 30 min,  $X_A$ : 30 %,  $X_C$ : 0.8); 2 ( $X_{TE}$ : 15 min,  $X_A$ : 70 %,  $X_C$ : 0.4); 3 ( $X_{TE}$ : 12 min,  $X_A$ : 100 %,  $X_C$ : 1). Los valores representan media ± desviación estándar de tres repeticiones. Diferentes letras minúsculas representan diferencia significativa entre los diferentes tratamientos y el control.

Por otra parte, al comparar el cuadro anterior con la bioaccesibilidad, se puede concluir que el efecto de la EAU durante el proceso de digestión favoreció la liberación de estos compuestos, sin embargo su bioaccesibilidad fue menor. Estos resultados sugieren que existen factores que influyen negativamente sobre la bioaccesibilidad, como la presencia de algunos minerales (cofactores divalentes), la fibra dietética, el tipo de lípidos presentes, que son liberados durante el proceso de digestión (Eriksen *et al.*, 2017, 51; Corte Real *et al.* 2016, 35). Por esta razón, se analizó la velocidad de liberación de los carotenos y xantofilas.

En la Figura 3 se muestran las velocidades de liberación de  $\alpha C$ ,  $\beta C$ , Lut, Zea y  $\beta Cr$  en las bebidas del mango. En la Figura 3A y 3B se observa que el comportamiento de la liberación de  $\alpha C$  y  $\beta C$  fueron similares en todas las muestras, respectivamente. Sin embargo,  $\alpha C$  y  $\beta C$  tuvieron una mayor velocidad de liberación en la B-EAU3 en los 180 min (Figura 3A).

Efecto de la extracción asistida por ultrasonido en la liberación y bioaccesibilidad *in vitro* de carotenoides, en bebidas elaboradas con mango (*Mangifera indica* L.) ‘Ataulfo’





**Figura 3.** Velocidad de liberación de  $\alpha$ -Caroteno (A),  $\beta$ -Caroteno (B),  $\beta$ -Criptoxantina (C), Luteína (D) y Zeaxantina (E) en las bebidas de mango 'Ataulfo' (BC: bebida sin tratamiento. B-EAU: bebida con tratamiento de ultrasonido-asistido: bebida con tratamiento de ultrasonido-asistido: 1 ( $X_{TE}$ : 30 min,  $X_A$ : 30 %,  $X_C$ : 0.8); 2 ( $X_{TE}$ : 15 min,  $X_A$ : 70 %,  $X_C$ : 0.4); 3 ( $X_{TE}$ : 12 min,  $X_A$ : 100 %,  $X_C$ : 1).

Las Figuras 3C y 3E muestran que la liberación de  $\beta$ Cr y Zea fueron a partir de los 120 min. En la Figura 3D se muestra la velocidad de liberación de Lut, en donde su liberación máxima estuvo en las muestras B-EAU2 y B-EAU3 a los 180 min. Estos resultados se deben que el  $\beta$ C, Zea y algunos ácidos grasos (ácido palmítico y láurico) presentes en el mango facilitan el transporte por difusión facilitada de la Lut (Nwachukwu *et al.*, 2016, 315; Nidhi *et al.*, 2014, 257). Sin embargo, el efecto de la cavitación rompe los enlaces ésteres, puentes de hidrógeno y covalentes de las xantofilas con

la fibra dietética haciendo su liberación con mayor facilidad (Nwachukwu *et al.*, 2016, 185; Altemimi *et al.*, 2015, 103). Por lo tanto, se determinaron los parámetros cinéticos de la liberación de cada caroteno y xantofilas. En el Cuadro 6 se muestran los parámetros cinéticos  $V_f$  y  $k$ , de los carotenos y xantófilas a partir de la cinética de liberación.

**Cuadro 6.** Determinación de los parámetros cinéticos del  $\alpha$ -caroteno ( $\alpha$ C),  $\beta$ -caroteno ( $\beta$ C),  $\beta$ -criptoxantina ( $\beta$ Cr), luteína (Lut) y zeaxantina (Zea) en las bebidas de mango 'Ataulfo'<sup>1</sup>.

<b>Bebidas de mango (<i>Mangifera indica</i> L.) 'Ataulfo' (<math>\mu</math>g/100 mL)</b>				
	<b>BC<sup>1</sup></b>	<b>B-EAU1</b>	<b>B- EAU2</b>	<b>B-EAU3</b>
$\alpha$ C				
$V_f$	1.19	0.004	0.038	2.42
$k$	1.013	0.007	0.020	0.022
R	0.8865	0.8641	0.8263	0.7974
$\beta$ C				
$V_f$	2.007	2.007	2.53	2.41
$k$	0.009	0.028	0.039	0.022
R	0.9505	0.8764	0.7276	0.9276
$\beta$ Cr				
$V_f$	2.44	0.004	3.76	2.422
$k$	0.006	0.008	0.007	0.016
R	0.8809	0.9556	0.9363	0.8661
Lut				
$V_f$	1.33	0.004	3.21	2.81
$K$	0.012	0.004	0.006	0.049
R	0.9642	0.9041	0.9503	0.933
Zea				
$V_f$	3.47	0.001	2.43	1.35
$k$	0.016	0.007	0.020	0.027
R	0.9994	0.919	0.8674	0.8519

<sup>1</sup>:BC: bebida sin tratamiento. B-EAU: bebida con tratamiento de ultrasonido-asistido: <sup>2</sup>X<sub>TE</sub>: 30 min, X<sub>A</sub>: 30 %, X<sub>C</sub>: 0.8. <sup>3</sup>X<sub>TE</sub>: 15 min, X<sub>A</sub>: 70 %, X<sub>C</sub>: 0.4. <sup>4</sup>X<sub>TE</sub>: 12 min, X<sub>A</sub>: 100 %, X<sub>C</sub>: 1.  $V_f$ : Velocidad final de liberación ( $\mu$ g/min);  $k$ : constante cinética.

En el Cuadro 6 se observan los parámetros estimados para los carotenos y las xantofilas en cada bebida. La Zea presentó una mayor liberación (3.47  $\mu\text{g}/\text{min}$ ) en BC. Sin embargo, en las bebidas con la EAU, el  $\beta\text{C}$  presentó una concentración mayor (2.007  $\mu\text{g}/\text{min}$ ) en B- EAU1,  $\beta\text{Cr}$  (3.76  $\mu\text{g}/\text{min}$ ) en B-EAU2 y Lut (2.81  $\mu\text{g}/\text{min}$ ) en la B- EAU3. También, en este Cuadro 6 se muestra el ajuste de los datos al modelo cinético de primer orden (R), que ratifica que el proceso de liberación de los carotenos y xantofilas está controlado por reacciones químicas que ocurren durante el proceso de digestión y no por difusión. Por lo tanto, la variabilidad del ajuste de cada compuesto depende de la heterogeneidad del alimento lo cual es habitual cuando se trabaja con alimentos, en los que la composición no es únicamente dependiente del compuesto sino también de la cantidad de la muestra dentro del alimento (Shannon *et al.*, 2017, 465; Kodal y Aksu, 2017, 130). Así mismo, la liberación de los carotenos y xantofilas va a depender de las propiedades de incremento de viscosidad que puede presentar la fibra dietética soluble lo que favorece un proceso de difusión más lento (Palafox-Carlos *et al.*, 2011, 401; Kotake-Nara y Nagao, 2011, 33). De esta manera, estudios previos han demostrado que la matriz alimentaria, las interacciones con la fibra dietética, proteínas y ácidos grasos (esterificados o en forma libre), dentro de las micelas, pH del medio (en comparación con el agua), la competencia entre los mismos carotenoides, la formulación de ciertas bebidas, los tratamientos físicos y tecnológicos influyen en el comportamiento de la liberación de los compuestos de interés (Kong *et al.*, 2016. 168; Domínguez-Cañedo *et al.*, 2015, 425; Mardai *et al.*, 2012, 201).

### **Conclusiones**

Los SP de mango ‘Ataulfo’ fueron utilizados en este estudio para elaborar bebidas con la aplicación del EAU. También, el uso de nuevas tecnologías como la EAU pueden resultar una alternativa viable para la extracción de estos compuestos y tener más bioaccesibles a los carotenos y xantofila. De esta manera, el contenido de las xantofilas y los carotenos de las bebidas dependió de cada condición de EAU. Sin embargo, la B-EAU1 tuvo la mayor bioaccesibilidad *in vitro* de luteína, zeaxantina,  $\alpha$ -caroteno y  $\beta$ -caroteno en un 95.63, 56.88, 58.68, y 90.54 %, respectivamente. Sin embargo, la BC y la B-EAU3 tuvieron mayor retención a la  $\beta$ -criptoxantina (96.5 %) y zeaxantina (92.3 %), respectivamente. Del mismo modo, los factores intrínsecos de las bebidas al igual que EAU influyeron en la velocidad de liberación de los carotenoides.

## **Agradecimientos**

GMM agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca de doctorado otorgada, número 241180. También se agradece al M. en C. Orlando Tortoledo-Ortíz y al Dr. Humberto Astiazarán-García por la capacitación de extracción de equinonona por el método de estándar externo para determinar el porcentaje de recuperación en el Laboratorio de Nutrición en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Hermosillo.

## **Referencias**

- Achoff, J. K., Kaufmann, S., Kalkan, O., Nedhart, S., Carle, R. y Schweiggert, R. M. (2014). *In vitro* bioaccessibility of carotenoids, flavonoids, and vitamin C from differently processed oranges and orange juices [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63: 578-587.
- Altemimi, A., Lightfoot, D. A., Kinsel, M. y Watson, D. G. (2015). Employing response surface methodology for the optimization of ultrasound assisted extraction of lutein and  $\beta$ -carotene from spinach. *Molecules*. 20: 6611-6625.
- Ajila, C M., Bhat, S. G. y Prasada-Rao, U. J. S. (2007). Valuable components of raw and ripe pells from two Indian mango varieties. *Food Chemistry*. 102: 1006-1011.
- Blancas-Benítez, F. J., Avena-Bustillos, R. J., Montalvo-Gonzalez, E., Sáyago-Ayerdi, S. G. y McHugh, T. H. (2015a). 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.
- Blancas-Benítez, F.J., Mercado-Mercado, G., Quirós-Sauceda, A.E., Montalvo-González, E., González-Aguilar, G.A. y Sáyago-Ayerdi, S.G. (2015b). Bioaccessibility of polyphenols associated with dietary fiber and *in vitro* kinetics release of polyphenols in Mexican ‘Ataulfo’ mango (*Mangifera indica* L.) by-products. *Food and Function*. 6(3): 859-868.
- Blanquet-Diot, S., Soufi, M., Rambeau, M., Rock, E. y Alric, M. (2009). Digestive stability of xanthophylls exceeds that of carotenes as studied in a dynamic *in vitro* gastrointestinal system. *Journal of Nutrition*. 876-883.
- Cano, M. P. y de Ancos. (1994). Carotenoid and carotenoid ester composition in mango fruit as influenced by processing method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42(12): 2737-2742.

- Carail, M., Fabiano-Tixier, A. S., Meullemiestre, A., Chemat, F. & Caris-Veyrat, C. (2015). Effects of high power ultrasound on all-E- $\beta$ -carotene, newly formed compounds analysis by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry*. 26: 200–209.
- Carrillo-López, L. M., Alarcon-Rojo, A. D., Luna-Rodríguez, L. y Reyes-Villagrana, R. (2017). Modification of food system by ultrasound. *Hindawi Journal of Food Quality*. 12.
- Chen, J. P., Tai, C. Y. y Chen, B. H. (2004). Improve liquid chromatographis method for determination of carotenoids in Taiwanese mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Chromatography A*. 1054: 261-268.
- Cilla, A., Alegría, A., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Pilar-Cano, M., Plaza, L., Clemente, G., Lagarda, M. J. y Barberá, R. (2012). Bioaccessibility of tocopherols, carotenoids, and ascorbic acid from milk- and soy-based fruit beverages: influence of food matrix and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60: 7282-7290.
- Colchero, M. A., Popkin, B. M., Rivera, J. A. y Ng, S. W. (2016). Beverage purchases from stores in Mexico under the excise tax on sugar sweetened beverages: observational study. *British Medical Journal*. 6: 352.
- Corte-Real, J., Bertucci, M., Soukoulis, C., Desmarchelier, C., Borel, P., Richling, E., Hoffmann, L. y Bohn, T. (2017). Negeative effects of divalent mineral cations on the bioaccessibility of carotenoids from plant food matrices and related physical properties of gastro-intestinal fluids. *Food and Function*. 8: 1008-1019.
- D'Evoli, L., Lombardi-Boccia, G. y Lucarini, M. (2013). Influence of heat treatments on carotenoid content of cherry tomatoes. *Foods*. 2: 352-363.
- Domínguez-Cañedo, I. L., Beristain-Guevara, C. I., Díaz-Sobac, R. y Vázquez-Luna, A. (2015). Degradación de carotenoides y capsaicina en el complejo de inclusión molecular de oleorresina de chile habanero (*Capsicum chinense*) con  $\beta$ -ciclodextrina. *CyTA – Journal of Food*. 13(1): 151-158.
- Edwards, J. A. (2016). Zeaxanthin, review of toxicological data and acceptable daily intake. *Journal of Ophthalmology*. 4: 1-15.
- Eriksen, J. N., Luu, A. Y., Dragsted, L. O. y Arrigoni, E. (2017). Adaption of an *in vitro* digestión method tos creen carotenoid liberation and *in vitro* accessibility from differently processed spinach preparation. *Food Chemistry*. 224: 407-413.

- Estévez-Santiago, R., Olmedilla-Alonso, B. y Fernández-Jalao, I. (2016). Bioaccessibility of provitamin A carotenoids from fruits: application of a standardised static *in vitro* digestion method. *Food and Function*. 7: 1354-1366.
- Fernández-García, E., Rincón, F. y Pérez-Gálvez, A. (2008). Developing an emulsifier system to improve the bioaccessibility of carotenoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 10384-10390.
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., Jarén-Galán, M., Garrido-Fernández, J., Pérez-Gálvez, A. y Hornero-Méndez, D. (2012). Carotenoids bioavailability from foods: from plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International*. 46: 438-450.
- Goula, A. M., Ververi, M., Adamopoulou, A. y Kaderides, K. (2017). Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegrate wastes using vegetable oils. *Ultrasonics Sonochemistry*. 34: 821-830.
- Fiedor, J. y Burda, K. (2014). Review Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*. 6: 466-488.
- Goñi, I., Serrano, J. y Saura-Calixto, F. (2006). Bioaccessibility of  $\beta$ -carotene, lutein, and lycopene from fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 5382-5387.
- Janiszewska, E. y Sakowski, P. (2013). Effect of the ultrasound on the carrot juices freezing process. *Inzynieria Rolnicza*. 4(148): 49-57.
- Izli, N., Izli, G. y Taskin, O. (2017). Influence of different drying techniques on drying parameters of mango. *Food Science and Technology*. 37(4): 604-612.
- Jawed, K., Mattam, A. J., Fatma, Z., Wajid, S., Abdin, M. y Yazdani, S. S. (2016). Engineered production of short chain fatty acid in *Escherichia coli* using fatty acid synthesis pathway. *PLoSone*. 1-20.
- Kiokas, S., Proestos, C. y Varzakas, T. (2016). A review of the structure, biosynthesis, absorption of carotenoids-analysis and properties of their common natural extracts. *Current Research in Nutrition and Food Science*. 4(Special Issue 1): 25-37.
- Khoo, H. E., Nagendra-Praad, K., Kong, K. W., Jiang, Y. y Ismail, A. (2011). Review carotenoids and their isomers: color pigments in fruits and vegetables. *Molecules*. 16: 1710-1738.
- Khoo, H. E., Nagendra-Prasad, K., Ismail, A. y Mohd-Esa, N. (2010). Carotenoids from *Mangifera pajang* and their antioxidant capacity. *Molecules*. 15: 6699-6712.

- Kodal, S. P. y Aksu, Z. (2017). Phenolic pigment extraction from orange peels: kinetic modeling. 15<sup>th</sup> International Conference on Environmental Science and Technology. Rhodes, Greece. 31 August to 2 September 2017. 798-803.
- Kong, F., Yu, S., Bi, Y., Huang, X. y Huang, M. (2016). Optimization of process parameters and kinetic model of enzymatic extraction of polyphenols from *Lonicerae Flos*. *Pharmacognosy Magazine*. 12(45): 70-74.
- Kotake-Nara E. y Nagao, A. (2011). Absorption and metabolism of xanthophylls. *Marine Drugs*. 9: 1024-1037.
- Kuppusamy, P., Yusoff, M. M., Maniam, G. P., Arief-Ichwan, S. J., Soundharrajan, I. y Govindan, N. (2014). Nutraceuticals as potential therapeutic agents for colon cancerL a review. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 4(3): 173-181.
- Lauricella, M., Emanuele, S., Calvaruso, G., Giuliano, M. y D'Anneo, A. (2017). Multifaceted health benefits of *Mangifera indica* L. (Mango): the inestimable value of orchards recently planted in Sicilian rural areas. *Nutrients*. 9: 525.
- Lin, K. H., Lin, K. C., Lu, W. J., Thomas, P. A., Jayakumar, T. y Sheu, J. R. (2016). Astaxanthin, a carotenoid, stimulates immune response by enhancing IFN- $\gamma$  all IL-2 secretion in primary cultured lymphocytes *in vitro* and *ex vivo*. *International Journal of Molecular Science*. 17: 44.
- Low, D. Y., D'Arcy, B. y Gidley, M. J. (2015). Mastication effects on carotenoid bioaccessibility from mango fruit tissue. *Food Research International*. 67: 238-246.
- Mares, J. (2016). Lutein and zeaxanthin isomers in eye health and disease. *Reviews in Advance. Annual Reviews of Nutrition*. 36: 24-29.
- Mardai, A., Maldonado, F., Cuadros, S., Bautista, (2012). Adsorption, isotherm, thermodynamic and kinetics studies of polyphenols onto tannery shavings. *Chemical Engineering Journal*. 185(15): 21-29.
- Marx, M., Stuparic, M., Schieber, A. y Carle, R. (2003). Effect of thermal processing on trans-cis-isomerization of  $\beta$ -carotene in carrot juices ad carotene-containing preparation. *Food Chemistry*. 83: 609-617.
- Mercadante, A. Z., Rodríguez-Amaya, D. B. y Britton, G. (1998). HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45: 120-123.

- Naldal, U. y Bhardwaj, R. L. (2012). Aloe vera for human nutrition, health and cosmetic use – A review. *International Research Journal of Plant Science*. 3(3): 38-46.
- Nidhi, B., Ramaprasad, T. R. y Baskaran, V. (2014). Dietary fatty acid determines the intestinal absorption of lutein in lutein deficient mice. *Food Research International*. 64: 256-263.
- Nwachukwu, I. D., Udenigwe, C. C. y Aluko, R. E. (2016). Review: lutein and zeaxanthin: production technology, bioavailability, mechanism of action, visual function, and health claim status. *Trends in Food Science and Technology*. 49: 74-84.
- Ofori-Boateng, C. y Lee, K.T. (2013). Response surface optimization of ultrasonic-assisted extraction of carotenoids from oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) fronds. *Food Science and Nutrition*. 1(3): 209-221.
- Ordoudi, S. A., Kyriakoudi, A. y Tsimidou, M. Z. (2015). Enhanced bioaccessibility of crocetin sugar esters from saffron in infusions rich in natural phenolic antioxidants. *Molecules*. 20: 17760-17774.
- Ornelas-Paz, J. J., Yahia, E. M. y Gardea, A. A. (2008). Changes in external and internal color during postharvest ripening of 'Manila' and 'Ataulfo' mango fruit and relationship with carotenoid content determined by liquid chromatography-APcL+time-of-flight mass spectrometry. *Postharvest Biology and Technology*. 50: 145-152.
- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F. y 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.
- Periago, M. J., Martínez-Valverde, I., Ros, G., Martínez, C. y López, G. (2001). Propiedades químicas, biológicas y valor nutritivo del licopeno. *Anales de Veterinaria de Murcia*. 17: 51-66.
- Petry, C. F. y Mercadante, A. Z. (2018). Short report New method for carotenoid extraction and analysis by HPLC-DAD-MS/MS in freeze-dried citrus and mango pulp. *Journal of Brazilian Chemical Society*. 29(1): 205-216.
- Plaza, L., Crespo, I., de Pascual-Teresa, S., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Muñoz, M. y Pilar-Cano, M. (2011). Impact of minimal processing on orange bioactive compounds during refrigerated storage. *Food Chemistry*. 124: 646-651.

- Poojary, M. M., Barba, F. J., Aliakbarian, B., Donsi, F., Pataro, G., Dias, D. A. y Juliano, P. (2016). Innovative alternative technologies to extract carotenoids from microalgae and seaweeds. *Marine Drugs*. 14: 2-34.
- Pott, I., Breithaupt, D. E. y Carle, R. (2003). Detection of unusual carotenoid ester in fresh mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Kent'). *Phytochemistry*. 64: 825-829.
- Qin, J., Yeum, K. J., Johnson, E., Krinsky, N. I., Russell, R. M. y Tang, G. (2008). Determination of 9-cis  $\beta$ -carotene and  $\zeta$ -carotene in biological samples. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 19: 612-618.
- Radi, R., Firouzi, E., Akhavan, H. y Amiri, S. (2017). Effect of gelatin0based edible coating incorporated with *Aloe vera* and black and Green tea extracts on the shelf life of fresh-cut oranges. *Hindawi Journal of Food Quality*. 10.
- Ravani, A. y Joshi, D. C. (2013). Mango and its by-product utilization – a review. *Trend in Post Harvest Technology*. 1(1): 55-67.
- Rodríguez-Roque, M. J., Rojas-Graii, M. A., Elez-Martínez, P. y Martín-Belloso, O. (2013). Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout in vitro gastrointestinal digestion of a blended fruit juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61: 1859-1867.
- Rodríguez-Roque, M. J., Rojas-Grañ, M. A., Martínez, P. E. y Martín-Belloso, O. (2014). *In vitro* bioaccessibility of health-related compounds as affected by the formulation of fruit juice- and milk-based beverages. *Food Research International*. 62: 771-778.
- Saura-Calixto, F., García-Alonso, A. Goñi, I. y Bravo, L. (2000). *In vitro* determination of indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 48(8): 3342-3347.
- Sen, A., Ren, J., Ruffin, M. T., Tergeon, D. K., Brenner, D. E., Sidahmed, E., Rapai, M. E., Cornellier, M. L. y Djuric, Z. (2013). Relationship between serum and colon concentrations of carotenoids and fatty acids in randomized dietary intervention trial. *Cancer Prevention Research*. 6(6): 558-565.
- Shannon, E., Jaiswal, A. K. y Abu-Ghannam, N. (2017). Polyphenolic content and antioxidant capacity of white, green, black, and herbal teas: a kinetic study. *Food Research*. 2(1): 1-11.
- Song, J. F., Li, D. J., Pang, H. L. y Liu, C. Q. (2015). Effect of ultrasonic waves on the stability of all-*trans* lutein and its degradation kinetics. *Ultrasonics Sonochemistry*. 27: 602-608.

- Taipina, M.S., Lamardo, L. C. A., Camilo-Campos, N., Tavares, M., González, E., Ferrerira-Jorge, L. I. y Aued-Pimentel, S. (2013). Review of literatura: carotenoids, chemical composition and dietary reference intake of buriti fruits. *International Journal of Nutrology*. 6(3): 102-106.
- Wassef, L., Wirawan, R., Chikindas, M., Breslin, P, A. S., Hoffman, D. J. y Quadro, L. (2014).  $\beta$ -carotene-producing bacteria residing in the intestine provide vitamin A to mouse tissues *in vivo*. *Journal of Nutrition*. 144(5): 608-613.
- Zhang, Y. J., Gan. R. Y., Li, S., Zhou, Y., Li, A. N., Xu, D. P. y Li, H. B. (2015). Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases. *Molecules*. 20: 21138-21156.
- Zou, Y. y Jiang, A. (2016). Effect of ultrasound treatment on quality and microbial load of carrot juice. *Food Science and Technology, Campinas*. 36(1): 111-115.