

Efecto del colágeno marino y proteína de soya en la estabilidad de emulsiones O/W enriquecidas con β -caroteno

Effect of marine collagen and soy protein in the stability of O/W emulsion enriched with β -carotene

Taishah Catillo Barrientos¹, Samuel García-Díaz³ , César Espinoza²  and Laura Acosta-Domínguez¹ 

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán, s/n, Zona Universitaria, CP 91000, Xalapa, Veracruz, México.

² Centro de Investigación en Micología Aplicada, Universidad Veracruzana, Médicos 5, Unidad del Bosque, CP 91010, Xalapa, Veracruz, México.

³ Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Veracruzana-Región Veracruz. Bv. Adolfo Ruíz Cortines 455, Costa Verde, 94294 Veracruz, Ver., México.

ABSTRACT

In this work 6 emulsions of β -carotene were prepared with marine collagen and soy protein, EP (soy protein emulsion), EPT20 (soy protein emulsion and Tween 20), EPT80 (soy protein emulsion and Tween 80), EPC (soy protein emulsion and marine collagen), EPCT20 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 20) and EPCT80 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 80), to evaluate its effect on the protection of β -carotene. Storage stability, thermic stability, microscopy and cream index were determined. The results showed that EPT20 and EPCT80 presented the best stability and the lowest color difference during storage at 25°C. On the other hand, EPCT20 and EPT20 showed the best stability during the heating at 40, 50, 60 and 70°C. Thus, the results suggest that the use of marine collagen, soy protein isolate and surfactants (Tween 20 and Tween 80) in the preparation of emulsions O/W gives β -carotene a better stability, which is an advance to create functional foods rich in proteins and antioxidants.

Keywords: Storage stability, thermic stability, color, microscopy, kinetic.

RESUMEN

En este trabajo se realizaron 6 emulsiones de β -caroteno con colágeno marino y aislado de proteína de soya, EP (emulsión de proteína de soya), EPT20 (emulsión de proteína de soya y Tween 20), EPT80 (emulsión de proteína de soya y Tween 80), EPC (emulsión de proteína de soya y colágeno marino), EPCT20 (emulsión de proteína de soya, colágeno marino y Tween 20) y EPCT80 (emulsión de proteína de soya, colágeno marino y Tween 80), con la finalidad de evaluar su efecto en la protección del β -caroteno. Se realizaron pruebas de estabilidad en el almacenamiento, pruebas de estabilidad térmica, microscopía y evaluación del índice de cremado. Los resultados mostraron que la mejor estabilidad durante el almacenamiento a 25 °C lo presentaron EPT20 y EPCT80, así como también presentaron la menor diferencia total de color, mientras que la mejor estabilidad durante el calentamiento a

40, 50, 60 y 70 °C la presentaron las muestras EPCT20 y EPT20. Los resultados sugieren que el uso de colágeno marino, aislado de proteína de soya y surfactantes (Tween 20 y 80) en la preparación de emulsiones aceite/agua proporcionan una mayor estabilidad al β -caroteno, lo cual da la pauta para crear alimentos funcionales ricos en proteínas y antioxidantes.

Palabras clave: Estabilidad en el almacenamiento, estabilidad térmica, color, microscopía, cinética.

INTRODUCCIÓN

El β -caroteno es un carotenoide que se caracteriza por ser un compuesto natural liposoluble sintetizado por plantas, algas, hongos y bacterias. Su principal uso es como pigmento, antioxidante y nutraceutico en los alimentos. Sin embargo, las cadenas insaturadas de este compuesto lo hacen susceptible a sufrir daños durante el procesamiento y almacenamiento debido a cambios de temperatura, disponibilidad de oxígeno, exposición a la luz, actividad del agua o acidez (Martins y de Rosso, 2016; Fratianni *et al.*, 2017). En general, la estabilidad del β -caroteno en los alimentos depende de la matriz donde se encuentre, de los diversos tipos de procesos industriales a los que está expuesto como el secado de frutas y hortalizas y de las condiciones de almacenamiento (Chirinos y Gargurevich, 2021).

Por otro lado, el consumo de cantidades adecuadas de β -caroteno se ha relacionado con beneficios para la salud, incluida la reducción del riesgo de cáncer de mama, enfermedades cardiovasculares y otros trastornos crónico-degenerativos. Sin embargo, el cuerpo humano no puede sintetizar este compuesto por sí mismo, razón por la cual es importante que los humanos lo obtengan a través de su dieta o tomando suplementos. Aunque está demostrado que el consumo de β -caroteno incluye diversos efectos nutraceuticos, tiene varias limitaciones, como baja solubilidad en agua, fácil degradación y poca vida útil, además, suele presentar baja biodisponibilidad por su gran tamaño, de ahí que, antes de ser absorbido por las células epiteliales del intestino delgado, el β -caroteno debe mezclarse con sales biliares, ácidos

grasos y otros compuestos para formar micelas y mejorar su absorción (Genç *et al.*, 2020; Lin *et al.*, 2024).

En este sentido, para proteger y mantener la calidad del β -caroteno en los alimentos, generalmente se propone su extracción y después que este se incluya en sistemas alimenticios como emulsiones O/W para favorecer la formación de micelas con diferentes materiales de pared o agentes encapsulantes como proteínas, gomas, entre otros. Al respecto, la encapsulación generalmente incrementa la vida de anaquel del β -caroteno y promueve su uso como ingrediente en diversos productos para ofrecer sus conocidos beneficios a la salud (Rostamabadi *et al.*, 2019).

Por otra parte, el uso de proteínas como materiales de pared en emulsiones puede mejorar eficazmente la administración de sustancias bioactivas. El aislado de proteína de soya (SPI) ya se ha usado para preparar emulsiones aceite en agua se ha demostrado que mejora en gran medida la dispersión en agua, la estabilidad y biodisponibilidad de las sustancias bioactivas y puede reducir la tensión interfacial de las emulsiones de O/W, lo que puede formar una emulsión más estable (Wang *et al.*, 2021).

Por su lado, el colágeno se usa regularmente en la industria alimenticia para añadirse a diferentes tipos de alimentos como productos cárnicos, emulsiones y sopas, ya que cuenta con actividad antioxidante y antimicrobiana, capacidad emulsificante y formación de espuma, mejora la viscosidad, y ayuda a aumentar y mantener las propiedades sensoriales, nutraceuticas, químicas y físicas de los alimentos (León-López *et al.*, 2019).

Teniendo lo anterior en consideración, durante esta investigación se buscó evaluar la estabilidad del β -caroteno en una emulsión aceite-agua adicionada con colágeno marino y proteína de soya aislada, con el fin de encontrar cual es la mejor formulación para la protección de este carotenoide funcionando como un estudio preliminar para producir bebidas proteicas ricas en β -caroteno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Elaboración de emulsiones

Para preparar las emulsiones EP, EPT20 y EPT80, se usó aislado de proteína de soya, aceite de ajonjolí y β -caroteno en las siguientes concentraciones: 10 %, 2.5 % y 0.1 % (p/V), respectivamente. En las emulsiones EPC, EPCT20 y EPCT80 se usó aislado de proteína de soya, colágeno marino hidrolizado, aceite de ajonjolí y β -caroteno en las siguientes concentraciones: 5 %, 5 %, 2.5 % y 0.1 % (p/V), respectivamente. Tween 80 y Tween 20, los cuales son surfactantes no iónicos que reducen la tensión interfacial fueron utilizados para mejorar la formación de micelas y estabilizar las emulsiones. En las emulsiones EPT20 y EPCT20 se añadió 1 % de Tween 20 (p/V) mientras que en las emulsiones EPT80 y EPCT80 se añadió 1 % Tween 80 (p/V). Todas las emulsiones se homogenizaron a 1500 rpm (OHAUS 5000) durante una hora para asegurar una emulsión homogénea. Las muestras se mantuvieron almacenadas en refrigeración (4 °C) durante cinco sem, siendo utilizadas una vez por semana para medir su estabilidad con base en la concentración de β -caroteno.

Determinación de la eficiencia de la encapsulación

La eficiencia de la encapsulación se determinó siguiendo la metodología de (Li *et al.*, 2020) con algunas modificaciones. Primero, se pesó el β -caroteno y se disolvió en una solución binaria 3:1 de acetona y n-hexano seguida por dilución. La absorbancia del β -caroteno fue medida a 450 nm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS para generar la curva estándar. El β -caroteno encapsulado fue recuperado por la técnica de extracción de solventes descrita por Fu *et al.* (2019). Brevemente, la solución compuesta consiste en una solución mixta de 1:3 de acetona y n-hexano a la cual se añadió la muestra de emulsión recién preparada. Después de agitarla a fondo, se recogió el n-hexano. A continuación, se consolidaron las fases de n-hexano y se cuantificó su absorbancia a 450 nm. La cuantificación de la eficiencia de la encapsulación fue establecida por la curva estándar. La eficiencia de encapsulación (EE) fue calculada usando la ecuación 1:

$$EE(\%) = \left(\frac{m1}{m2} \right) \times 100 \quad (ec. 1)$$

Donde m1 representa al β -caroteno en la emulsión y m2 representa el total de β -caroteno añadido.

Análisis de color

El análisis de color se llevó a cabo con la metodología reportada por Acosta-Domínguez *et al.* (2024) con ligeras modificaciones. Se tomaron fotos de la emulsión una vez a la semana durante 5 semanas con una cámara (iPhone 12, 12 MP, modelo MGJ53LZ/A, China) de alta resolución. Una vez que el tiempo de almacenamiento haya terminado, el análisis de color se realizó usando Photoshop 2020 para obtener la relación RGB (red, green, blue) de las imágenes. Posteriormente se utilizó Open RGB para determinar las coordenadas $L^*a^*b^*$ y se calculó la diferencia de color con la ecuación 2:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (ec. 2)$$

Retención β -caroteno

El porcentaje de retención de β -caroteno se determinó siguiendo la metodología reportada por Lin *et al.* (2024) con algunas modificaciones. Primero, se pesó el β -caroteno y se disolvió en una solución binaria 3:1 de acetona y n-hexano seguida por dilución. La absorbancia del β -caroteno fue medida a 450 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis para generar la curva estándar. A continuación, se añadió a 0.5 mL de emulsión la solución compuesta formada por una solución mixta 3:1 de acetona y n-hexano y se agitó a fondo; posteriormente, se recogió la fase líquida y se cuantificó su absorbancia a 450 nm. La cuantificación del contenido de β -caroteno se determinó mediante la curva estándar establecida. El porcentaje de retención (PR) se calculó empleando la ecuación 3:

$$PR(\%) = \left(\frac{m1}{m2} \right) \times 100 \quad (ec. 3)$$

Donde m_1 representa la concentración inicial de β -caroteno y m_2 la concentración de β -caroteno después del almacenamiento.

Índice de cremado

Siguiendo la metodología descrita por Jiang *et al.* (2024), se colocaron 2 mL de emulsión en un tubo de ensaye (13 mm de diámetro interno y 100 mm de altura) y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta el término del experimento. Se midió la altura de la capa de suero V_1 y el volumen total V_2 . El índice de cremado (I_c) se calcula con la ecuación 4:

$$I_c = 100 * \left(\frac{V_1}{V_2} \right) \quad (ec. 4)$$

Estabilidad térmica

Se siguió la metodología descrita por Lin *et al.* (2024) con algunas modificaciones. Cada muestra con un volumen de 1 mL, se sometió a condiciones de temperatura de 40 °C, 50 °C, 60 °C y 70 °C dentro de un baño de agua durante una duración de 30 min. La concentración de β -caroteno en las emulsiones iniciales ($C_{inicial}$) y en las muestras procesadas ($C_{retención}$) se midieron según la curva estándar y la tasa de retención ($ET_{\beta c}$) se calculó con la ecuación 5:

$$ET_{\beta c} (\%) = \frac{C_{retención}}{C_{inicial}} \times 100 \quad (ec. 5)$$

Microscopía

Para la microscopía, las muestras se tiñeron con azul brillante de Coomassie (0.1 % p/v) para contrastar las proteínas en las dispersiones. Las muestras teñidas se observaron utilizando un microscopio óptico (Carl Zeiss Microscopy, Stemi 305) y las imágenes se capturaron con una cámara digital Carl Zeiss Microscopy, AxioCam ERC 5s Rev 2.0 (5.0 megapíxeles). Las muestras se colocaron en el portaobjetos, sobre los cuales se colocaron suavemente cubreobjetos. El software asociado a la cámara (ZEN) se utilizó para registrar y procesar las imágenes de las muestras. Se presentan micrografías seleccionadas a 20 x.

Cinética

Se utilizó la ecuación de primer orden (ecuación 6) para ajustar los datos de retención de β -caroteno en el almacenamiento a 25 °C. Se calcularon parámetros como la constante cinética y concentración inicial.

$$\ln[A]_t = -kt + \ln[A]_0 \quad (ec. 6)$$

Donde $[A]_0$ es la concentración inicial, $[A]_t$ es la concentración en un tiempo arbitrario, t es el tiempo y k es la constante de reacción.

Análisis estadístico

Se realizó cada experimento por triplicado, se obtuvieron las medias y la desviación estándar, los resultados se expresaron como media $\pm$ desviación estándar. Se realizó ANOVA en el

software Minitab para analizar la diferencia entre los grupos; adicionalmente se utilizó las comparaciones en pares de Tukey para detectar diferencias significativas ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Eficiencia de la encapsulación

Los resultados de este estudio demostraron variaciones en la eficiencia de encapsulación de β -caroteno entre las seis emulsiones evaluadas. La emulsión con solo proteína añadida (EP) presentó la menor eficiencia de encapsulación, siendo significativamente diferente al resto de emulsiones, mientras que la emulsión de proteína de soya-Tween 80 (EPT80) mostró la mayor eficiencia de encapsulación, como se puede observar en la Figura 1.

De la misma manera, las emulsiones que contienen mezclas de proteína de soya-colágeno marino (EPC, EPCT20 y EPCT80) mostraron una mejora en la eficiencia de encapsulación en comparación a las emulsiones que solo contienen aislado de proteína de soya (EP, EPT20), excepto por EPT80. Por lo tanto, la adición de Tween 20 y Tween 80 influyó de manera positiva en la encapsulación de β -caroteno en emulsiones con proteína y proteína-colágeno, esto coincide con lo reportado por Gordillo-Herrera *et al.* (2025), quienes también determinaron que el uso de un emulsionante combinado con la proteína de soya mejora la eficiencia de encapsulación.

Estabilidad de β -caroteno en el almacenamiento

La Figura 2 muestra los porcentajes de retención de β -caroteno durante los 28 d de almacenamiento. Dentro de este periodo, las emulsiones demostraron una variabilidad

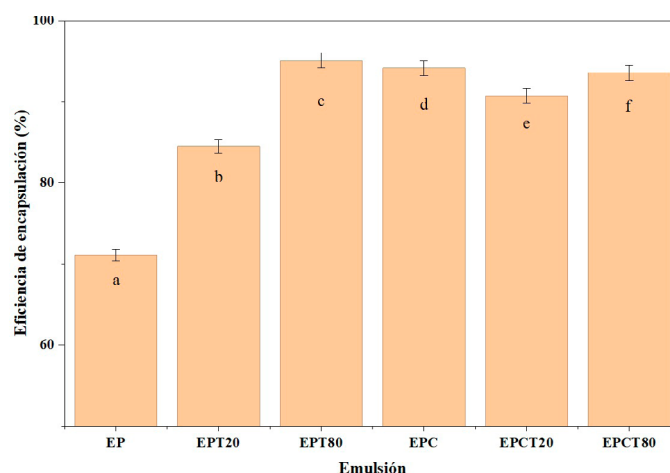


Figura 1. Eficiencia de encapsulación. EP (emulsión de proteína de soya), EPT20 (emulsión de proteína de soya y Tween 20), EPT80 (emulsión de proteína de soya y Tween 80), EPC (emulsión de proteína de soya y colágeno marino), EPCT20 (emulsión de proteína de soya, colágeno marino y Tween 20) y EPCT80 (emulsión de proteína de soya, colágeno marino y Tween 80). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).

Figure 1. Encapsulation efficiency. EP (soy protein emulsion), EPT20 (soy protein emulsion and Tween 20), EPT80 (soy protein emulsion and Tween 80), EPC (soy protein emulsion and marine collagen), EPCT20 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 20) and EPCT80 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 80). Means with the same letters do not differ statistically (Tukey, $p \leq 0.05$).

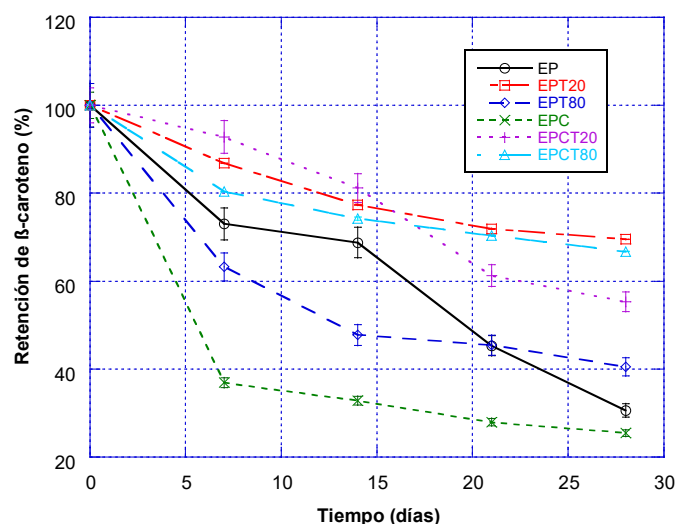


Figura 2. Retención de β -caroteno en almacenamiento a 25 °C. EP (emulsión de proteína de soja), EPT20 (emulsión de proteína de soja y Tween 20), EPT80 (emulsión de proteína de soja y Tween 80), EPC (emulsión de proteína de soja y colágeno marino), EPCT20 (emulsión de proteína de soja, colágeno marino y Tween 20) y EPCT80 (emulsión de proteína de soja, colágeno marino y Tween 80).

Figure 2. β -carotene retention in the storage at 25 °C. EP (soy protein emulsion), EPT20 (soy protein emulsion and Tween 20), EPT80 (soy protein emulsion and Tween 80), EPC (soy protein emulsion and marine collagen), EPCT20 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 20) and EPCT80 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 80).

en la retención de β -caroteno. La emulsión de proteína de soja con Tween 20 (EPT20) mostró el mayor porcentaje de retención del β -caroteno a lo largo de las 4 semanas en comparación del resto de muestras, lo cual indica una mejor conservación de este compuesto.

Los hallazgos concuerdan con Park *et al.* (2018) y con Bąk y Podgórska (2016) quienes concluyeron que las emulsiones con Tween 20 tienen una mejor estabilidad que aquellas que solo cuentan con proteína de soja, ya que el Tween 20 cuenta con mejores propiedades estabilizadoras gracias a la mayor reducción de la tensión interfacial. Por otro lado, la emulsión proteína de soja-colágeno marino-Tween 80 (EPCT80) mostró similares resultados a la emulsión EPT20, ya que también se mantuvo estable lo largo de las 4 semanas de almacenamiento, por lo que si se desea conservar la mayor cantidad de β -caroteno usando colágeno marino y proteína de soja simultáneamente se debiera agregar Tween 80.

En resumen, las emulsiones con mejor porcentaje de retención durante todo el periodo de almacenamiento fueron las muestras EPT20 y EPCT80, mientras que EPC tuvo los valores más bajos de retención, lo cual puede deberse a que hubo una mayor interacción entre los propios agentes encapsulantes (proteína de soja-colágeno marino) en lugar de con el β -caroteno, dejando más expuesto este compuesto a las condiciones ambientales y ocasionando una degradación más rápida. Por lo tanto, el uso del colágeno marino en emulsiones con proteína de soja puede mejorar la estabilidad del β -caroteno durante el almacenamiento a 25 °C si usa en conjunto con Tween 80.

Análisis de color

En la Tabla 1 se muestran los valores de b , L , a y ΔE (diferencia total de color). Los resultados del análisis de color revelaron diferencias entre las muestras evaluadas, lo que sugiere que la variación de proteínas y surfactantes influyó en las propiedades cromáticas. En particular, las muestras EPC y EPCT20 mostraron los valores más altos de luminosidad (valor L^*), indicando una apariencia más clara en comparación con las demás. Este comportamiento puede asociarse a la adición de colágeno en las muestras, fenómeno previamente reportado por Wei *et al.* (2023) quienes reportaron que el colágeno disminuyó la intensidad del color en emulsiones de astaxantina.

Por otro lado, las muestras EPT20 y EPT80, la cuales contienen proteína de soja más Tween 20 y proteína de soja más Tween 80, respectivamente, mostraron un mayor valor en el parámetro a^* y b^* , lo que indica una mayor coloración de tonos rojos y amarillos. Resultados similares fueron observados por Mehmood *et al.* (2021) en el estudio de nano emulsiones alimentarias para la administración eficaz de β -caroteno, donde se demostró que el uso de surfactantes mejoró la retención del color de β -caroteno.

De manera general, se puede observar una disminución de color dentro de las 6 emulsiones durante el almacenamiento. Esto puede deberse a que el β -caroteno tiene un intenso color naranja-rojo, el cual tiende a descolorarse durante la degradación química, lo cual fue reportado previamente por Mehmood *et al.* (2021), quienes demostraron que los valores de diferencia de color aumentaron durante el almacenamiento porque el β -caroteno refleja más luz conforme va disminuyendo la intensidad de su color, sugiriendo una degradación química del compuesto.

En cuanto al valor ΔE , las muestras EPT20 y EPCT80 mostraron el menor valor (Tabla 1), es decir, estas muestras tuvieron el menor cambio de color después de las cuatro semanas de almacenamiento, lo cual indica una menor degradación del β -caroteno, y esto se puede corroborar en la Figura 2 donde estas muestras presentaron el mayor porcentaje de retención del compuesto después de cuatro semanas de almacenamiento a 25 °C.

Índice de cremado

En la Figura 3 se encuentran los valores de índice de cremado de todas las emulsiones medidos cada 5 min durante 60 min. En esta Figura se observa que EP tuvo un índice de cremado significativamente menor en comparación a las otras emulsiones, es decir, que la emulsión de proteína de soja mostró una menor separación de fases durante el tiempo de estudio; mientras que las emulsiones que contenían proteína de soja-colágeno marino (EPC, EPCT20, EPCT80) demostraron los mayores índices de cremado durante toda la prueba. Chirilă *et al.* (2024) reportaron que en emulsiones O/W de colágeno con aceite de palmarosa, el colágeno aumentó la estabilidad de la emulsión y disminuyó el índice de cremado, ya que mejoraba la interacción en la interfaz agua-aceite funcionando como surfactante. Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que cuando el colágeno marino se

Tabla 1. Análisis de color (L*, a*, b*, ΔE).
Table 1. Color analysis (L*, a*, b*, ΔE)).

	EP					EPT20					EPT80				
	Inicio	7 días	14 días	21 días	28 días	Inicio	7 días	14 días	21 días	28 días	Inicio	7 días	14 días	21 días	28 días
L*	73.72	75.08	83.12	85.70	86.88	70.45	75.75	76.16	74.26	76.01	75.00	77.09	78.94	82.82	86.77
A*	19.02	15.63	12.3	10.63	9.44	25.39	24.24	23.16	21.89	20.29	19.13	21.37	18.69	14.38	10.14
B*	31.16	31.86	28.63	23.24	24.35	43.92	45.62	43.55	39.43	37.00	39.28	40.06	38.80	31.94	28.41
ΔE	0	3.72	11.82	16.64	17.65	0	5.67	6.14	6.84	10.23	0	3.16	3.98	11.74	18.37
Color															

	EPC					EPCT20					EPCT80				
	Inicio	7 días	14 días	21 días	28 días	Inicio	7 días	14 días	21 días	28 días	Inicio	7 días	14 días	21 días	28 días
L*	75.92	78.59	81.23	85.84	88.72	74.99	78.78	80.70	84.25	88.59	77.92	78.92	76.80	79.34	86.34
A*	11.82	10.73	11.19	7.96	5.19	15.33	14.19	10.11	9.04	7.59	14.65	17.11	16.23	13.15	9.70
B*	28.62	28.58	27.51	25.47	22.67	31.19	32.66	32.56	23.24	24.65	39.89	40.28	36.87	37.59	30.42
ΔE	0	2.89	5.48	11.12	15.61	0	4.22	7.86	13.73	16.91	0	2.68	3.59	4.09	13.30
Color															

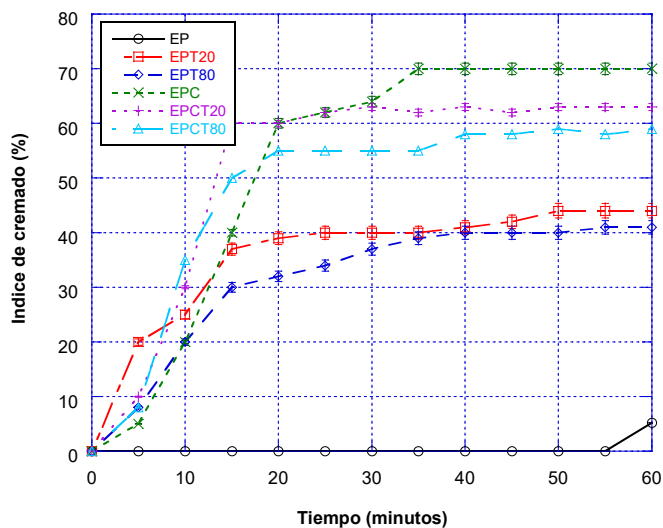


Figura 3. Índice de cremado de las emulsiones a 25 °C. EP (emulsión de proteína de soya), EPT20 (emulsión de proteína de soya y Tween 20), EPT80 (emulsión de proteína de soya y Tween 80), EPC (emulsión de proteína de soya y colágeno marino), EPCT20 (emulsión de proteína de soya, colágeno marino y Tween 20) y EPCT80 (emulsión de proteína de soya, colágeno marino y Tween 80).
Figure 3. Creaming index of emulsions at 25 °C. EP (soy protein emulsion), EPT20 (soy protein emulsion and Tween 20), EPT80 (soy protein emulsion and Tween 80), EPC (soy protein emulsion and marine collagen), EPCT20 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 20) y EPCT80 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 80).

utiliza en combinación con la proteína de soya propicia un mayor índice de cremado e inestabilidad de la emulsión, lo cual puede ser debido a la presencia de interacciones electrostáticas entre los grupos amino y carboxilos de las amidas presentes en las proteínas que provoca una mayor rigidez de las moléculas y densidad induciendo la sedimentación y la división de las fases de la emulsión.

Estabilidad térmica

Durante la prueba de estabilidad térmica (Figura 4), las emulsiones con Tween 20 (EPT20, EPCT20) presentaron los mejores resultados, e incluso se pueden encontrar similitudes en el comportamiento de ambas muestras durante la prueba, lo que demuestra que el Tween 20 es efectivo para proteger el β-caroteno a temperaturas entre 20 y 70 °C en tiempos cortos de exposición, lo cual coincide con Zhang *et al.* (2022), quienes utilizaron Tween 20 como surfactante en emulsiones O/W cargadas con β-caroteno, donde presentaron que a mayores cantidades de Tween 20 se retenía mayor cantidad del antioxidante durante la exposición a temperatura entre 70-90 °C.

Existe una amplia diferencia entre las emulsiones sin surfactante (EP, EPC) y el resto, es decir, las emulsiones que no tienen surfactante presentan la mayor degradación de β-caroteno, esto puede explicarse de acuerdo con Ma *et al.* (2020), quienes estudiaron la estabilidad térmica de emulsio-

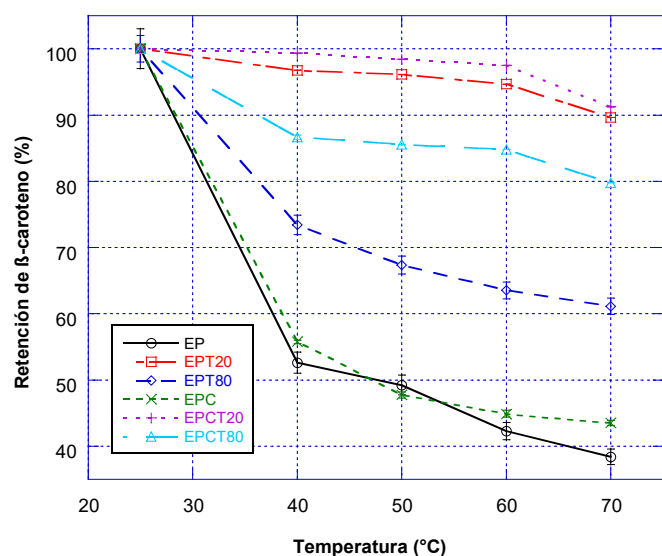


Figura 4. Estabilidad térmica del β -caroteno en emulsiones tratadas a 40, 50, 60 y 70 °C. EP (emulsión de proteína de soja), EPT20 (emulsión de proteína de soja y Tween 20), EPT80 (emulsión de proteína de soja y Tween 80), EPC (emulsión de proteína de soja y colágeno marino), EPCT20 (emulsión de proteína de soja, colágeno marino y Tween 20) y EPCT80 (emulsión de proteína de soja, colágeno marino y Tween 80).

Figure 4. Thermal stability of β -carotene in the emulsion at 40, 50, 60 and 70 °C. EP (soy protein emulsion), EPT20 (soy protein emulsion and Tween 20), EPT80 (soy protein emulsion and Tween 80), EPC (soy protein emulsion and marine collagen), EPCT20 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 20) and EPCT80 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 80).

nes O/W enriquecidas con partículas de soja donde demuestra que las proteínas de soja se desnaturalizan fácilmente ante el tratamiento térmico, inhibiendo sus propiedades encapsulantes, lo cual pudo ocurrir con la proteína de soja y el colágeno marino en este estudio.

Microscopía

En las imágenes tomadas con el microscopio (Figura 5), se muestra la distribución y forma de las gotas que tiene cada emulsión en las diferentes formulaciones estudiadas. En el caso de las emulsiones con proteína de soja, la muestra EP presentó la proteína más dispersa y con menor formación de gotas, sin embargo, al agregarse Tween 20 y 80 (EPT20 y EPT80) podemos ver la proteína menos dispersa y con una mayor formación de gotas, lo cual es esperado en la realización de emulsiones cuando se usan surfactantes para lograr la encapsulación. Al respecto, Liu *et al.* (2017) quienes elaboraron emulsiones usando proteína de soja y Tween, reportaron que el tamaño de gota está influenciado por la concentración del surfactante, indicando que el aumento de la concentración conduce a una reducción del tamaño medio de las gotas y un aumento de la densidad. En el caso de las emulsiones de proteína de soja-colágeno marino cuando se agrega Tween (EPCT20, EPCT80), se observa la formación de gotas más pequeñas. Esta diferencia se explica en diversos estudios como en el de Jo *et al.* (2019) donde se reportó que la adición de surfactantes como el Tween 80 estabiliza las

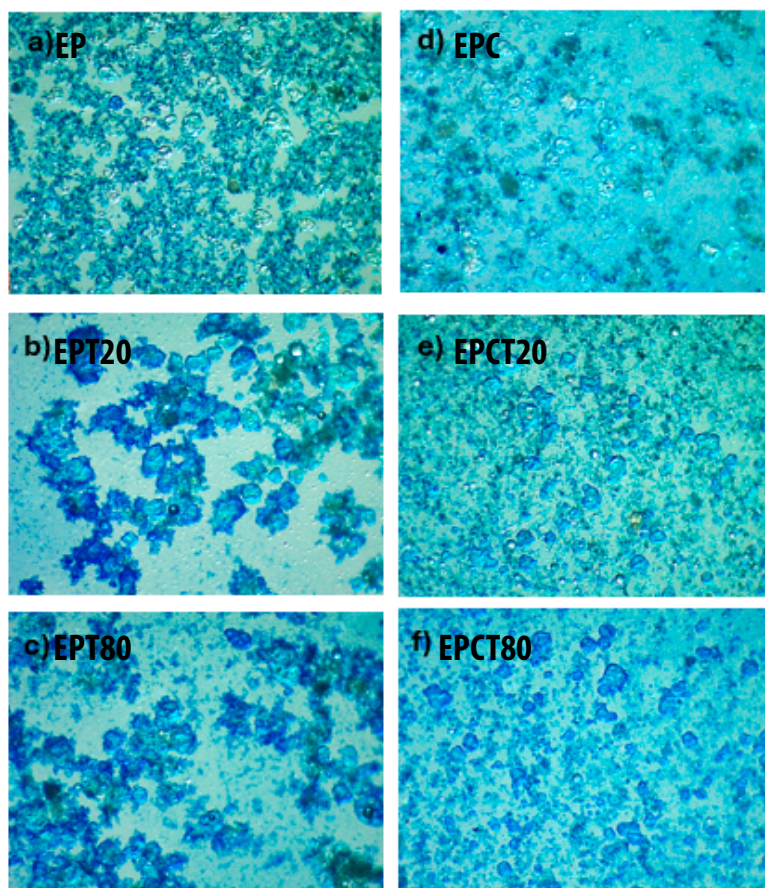


Figura 5. Imágenes de emulsiones a 20x. a) EP b) EPT20 c) EPT80 d) EPC e) EPCT20 f) EPCT80. EP (emulsión de proteína de soja), EPT20 (emulsión de proteína de soja y Tween 20), EPT80 (emulsión de proteína de soja y Tween 80), EPC (emulsión de proteína de soja y colágeno marino), EPCT20 (emulsión de proteína de soja, colágeno marino y Tween 20) y EPCT80 (emulsión de proteína de soja, colágeno marino y Tween 80).

Figure 5. Emulsions images at 20x. a) EP b) EPT20 c) EPT80 d) EPC e) EPCT20 f) EPCT80. EP (soy protein emulsion), EPT20 (soy protein emulsion and Tween 20), EPT80 (soy protein emulsion and Tween 80), EPC (soy protein emulsion and marine collagen), EPCT20 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 20) and EPCT80 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 80).

gotas cuando es usada con péptidos de colágeno, además incrementa la eficiencia de encapsulación y producen tamaño de partícula menores.

Cinética de degradación de β-caroteno

En ingeniería de alimentos, los modelos cinéticos funcionan como una herramienta que permite predecir el deterioro de los alimentos y determinar su vida de anaquel. Sin embargo, debido a que los alimentos son sistemas complejos, no es posible analizar todas las reacciones de deterioro que suceden en estos, por lo que en este caso solo se analizó la degradación del β-caroteno en las emulsiones.

En la Figura 6 se pueden observar los datos experimentales que corresponden a las concentraciones de β-caroteno con respecto al tiempo y las líneas de regresión a las cuales se ajustaron los datos según su degradación. La mayoría de las emulsiones se ajustan bien mediante los modelos cinéticos de primer orden, ya que presentaron un coeficiente de correlación cercano a uno ($R^2 > 0.93$).

Los parámetros cinéticos y el tiempo de vida media de las emulsiones se presentan en la Tabla 2 donde se puede observar que las emulsiones que tuvieron mayor tiempo de vida media fueron EPT20 y EPCT80, ya que fueron estas las que conservaron la mayor cantidad de β-caroteno en el almacenamiento (53 y 51 d, respectivamente). En cambio, EP y EPC mostraron los menores valores de vida media (16 días aproximadamente), lo cual sugiere que el uso de colágeno marino en conjunto con el aislado de proteína de soya no

Tabla 2. Parámetros de la cinética de primer orden de degradación de β-caroteno en el almacenamiento a 25 °C.

Table 2. First order kinetic parameters of β-carotene degradation in storage at 25 °C.

Parámetro	EP	EPT20	EPT80	EPC	EPCT20	EPCT80
k (días ⁻¹)	0.040972	0.012964	0.03082	0.04313	0.023191	0.01338
lnAo	-4.5098	-4.4069	-4.4219	-4.4309	-4.2458	-4.2099
R ²	0.97561	0.97448	0.93275	0.86313	0.97962	0.93874
t _{1/2} (días)	16.91	53.46	22.49	16.07	29.88	51.80

mejora la estabilidad del β-caroteno a menos que sea agregado Tween 80, el cual disminuye la interacción entre las proteínas y por lo tanto el índice de cremado permitiendo una mayor interacción de las proteínas con el antioxidante para evitar su degradación en el almacenamiento.

CONCLUSIÓN

Las interacciones electrostáticas entre el colágeno marino y proteína de soya generan una mayor separación de las emulsiones y por lo tanto una mayor degradación del β-caroteno así como una disminución en el color, por lo que, si se desea generar emulsiones con colágeno marino y proteína de soya, estas pueden mejorar la estabilidad durante el almacenamiento a 25 °C y disminuir la velocidad de degradación del β-caroteno si usa en conjunto con el Tween 80; en cambio, si solo se generan emulsiones a base de proteína de soya, se recomienda el uso de Tween 20. La realización de este trabajo permite visualizar la posibilidad de realizar bebidas proteicas ricas en antioxidantes estableciendo diversas formulaciones que permitan conservar el β-caroteno durante su almacenamiento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al laboratorio de investigación de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, por el espacio y los recursos proporcionados.

A los proyectos SIREI-UV (31506202571), SECIHTI (CBF-2025-I-1519) y al cuerpo académico UV-CA-354 Química y Biotecnología de Hongos.

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

REFERENCIAS

Acosta-Domínguez, L., Pérez-Rojas, B.Y., Galán-Méndez, F. y Velásquez-Melgarejo, V. 2024. Effectiveness of tilapia (*Oreochromis niloticus*) scale collagen in β-carotene encapsulation. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 47(2), 189. <https://doi.org/10.35196/rfm.2024.2.189>

Bąk, A. y Podgórska, W. 2016. Interfacial and surface tensions of toluene/water and air/water systems with nonionic surfactants Tween 20 and Tween 80. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 504, 414-425. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.05.091>

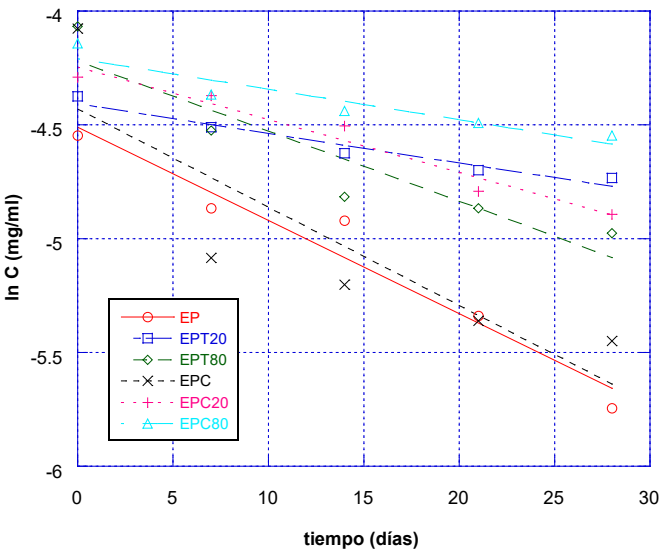


Figura 6. Cinética de primer orden de degradación de β-caroteno en el almacenamiento a 25 °C. EP (emulsión de proteína de soya), EPT20 (emulsión de proteína de soya y Tween 20), EPT80 (emulsión de proteína de soya y Tween 80), EPC (emulsión de proteína de soya y colágeno marino), EPCT20 (emulsión de proteína de soya, colágeno marino y Tween 20) y EPCT80 (emulsión de proteína de soya, colágeno marino y Tween 80).

Figure 6. First order kinetic of β-carotene degradation in storage at 25 °C. EP (soy protein emulsion), EPT20 (soy protein emulsion and Tween 20), EPT80 (soy protein emulsion and Tween 80), EPC (soy protein emulsion and marine collagen), EPCT20 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 20) y EPCT80 (soy protein emulsion, marine collagen and Tween 80).

- Chirilă, L., Stan, M.S., Olaru, S., Popescu, A., Lite, M.-C., Toma, D. y Voinea, I.C. 2024. Novel collagen-based emulsions embedded with palmarosa essential oil, and chamomile and calendula tinctures, for skin-friendly textile materials. *Materials*, 17(15), 3867. <https://doi.org/10.3390/ma17153867>
- Chirinos, A. y Gargurevich, G. 2021. Efecto del tratamiento térmico en la degradación de los carotenoides en conserva de pimiento piquillo (*Capsicum annuum*) en salmuera. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Fratianini, A., Niro, S., Messina, M.C., Cinquanta, L., Panfili, G., Albanese, D. y Di Matteo, M. 2017. Kinetics of carotenoids degradation and furosine formation in dried apricots (*Prunus armeniaca* L.). *Food Research International*, 99, 862-867. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.009>
- Fu, D., Deng, S., McClements, D.J., Zhou, L., Zou, L., Yi, J., Liu, C. y Liu, W. 2019. Encapsulation of β -carotene in wheat gluten nanoparticle-xanthan gum-stabilized pickering emulsions: enhancement of carotenoid stability and bioaccessibility. *Food Hydrocolloids*, 89, 89-89. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.032>
- Genç, Y., Bardakci, H., Yücel, Ç., Karatoprak, G.Ş., Küpeli Akkol, E., Hakan Barak, T. y Sobarzo-Sánchez, E. 2020. Oxidative stress and marine carotenoids: application by using nanoformulations. *Marine Drugs*, 18(8), 423. <https://doi.org/10.3390/md18080423>
- Gordillo-Herrera, A., Ventura-Canseco, L.M.C., Luján-Hidalgo, M.C., Mendoza-Avendaño, C., Gutiérrez-Miceli, F. y Abud-Archila, M. 2025. Effect of encapsulating agent mixtures on the stability and bioaccessibility of β -carotene encapsulated by freeze drying. *Biotecnia*, 27, e2454. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v27.2454>
- Jo, Y.-J., Karbstein, H.P. y van der Schaaf, U.S. 2019. Collagen peptide-loaded W 1 /O single emulsions and W 1 /O/W 2 double emulsions: influence of collagen peptide and salt concentration, dispersed phase fraction and type of hydrophilic emulsifier on droplet stability and encapsulation efficiency. *Food & Function*, 10(6), 3312-3323. <https://doi.org/10.1039/C8FO02467G>
- León-López, A., Morales-Peñaloza, A., Martínez-Juárez, V.M., Vargas-Torres, A., Zeugolis, D.I. y Aguirre-Álvarez, G. 2019. Hydrolyzed Collagen—Sources and Applications. *Molecules*, 24(22), 4031. <https://doi.org/10.3390/molecules24224031>
- Li, X.-M., Li, X., Wu, Z., Wang, Y., Cheng, J.-S., Wang, T. y Zhang, B. 2020. Chitosan hydrochloride/carboxymethyl starch complex nanogels stabilized Pickering emulsions for oral delivery of β -carotene: Protection effect and in vitro digestion study. *Food Chemistry*, 315, 126288. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126288>
- Lin, Q., Jiang, H., Li, X., McClements, D.J., Sang, S., Wang, J., Jiao, A., Jin, Z. y Qiu, C. 2024. Encapsulation and protection of β -carotene in pickering emulsions stabilized by chitosan-phytic acid-cyclodextrin nanoparticles. *Food Bioscience*, 59, 103845. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.103845>
- Liu, N., Wang, W., Tian, Y., Wu, C. y Gong, J. 2017. Experimental and numerical study for drop size distribution in oil-water dispersions with nonionic surfactant Tween 80. *Experimental Thermal and Fluid Science*, 89, 153-165. <https://doi.org/10.1016/j.expthermflusci.2017.08.007>
- Ma, W., Wang, J., Wu, D., Chen, H., Wu, C. y Du, M. 2020. The mechanism of improved thermal stability of protein-enriched O/W emulsions by soy protein particles. *Food & Function*, 2. <https://doi.org/10.1039/C9FO02270H>
- Martins, P.L.G. y de Rosso, V.V. 2016. Thermal and light stabilities and antioxidant activity of carotenoids from tomatoes extracted using an ultrasound-assisted completely solvent-free method. *Food Research International*, 82, 156-164. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.015>
- Mehmood, T., Ahmed, A. y Ahmed, Z. 2021. Food-grade nanoemulsions for the effective delivery of β -carotene. *Langmuir*, 37(10), 3086-3092. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c03399>
- Park, S., Mun, S. y Kim, Y.-R. 2018. Emulsifier dependent in vitro digestion and bioaccessibility of β -carotene loaded in oil-in-water emulsions. *Food Biophysics*, 13(2), 147-154. <https://doi.org/10.1007/s11483-018-9520-0>
- Rostamabadi, H., Falsafi, S.R. y Jafari, S.M. 2019. Nanoencapsulation of carotenoids within lipid-based nanocarriers. *Journal of Controlled Release*, 298, 38-67. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.02.005>
- Wang, S., Liu, X., Zhao, G., Li, Y., Yang, L., Zhu, L. y Liu, H. 2021. Protease-induced soy protein isolate (SPI) characteristics and structure evolution on the oil-water interface of emulsion. *Journal of Food Engineering*, 317, 110849. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110849>
- Zhang, R., Cui, M., Ye, J., Yuan, D. y Mao, L. 2022. Physicochemical stability of oleogel-in-water emulsions loaded with β -carotene against environmental stresses. *LWT*, 155, 112965. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112965>