

## AVANCES RECIENTES EN LA INTERACCIÓN CAROTENOIDE-PROTEÍNA LÁCTEA: MECANISMOS Y APLICACIONES

RECENT ADVANCES IN CAROTENOID–MILK PROTEIN  
INTERACTION: MECHANISMS AND APPLICATIONS

OCHOA VIÑALS, Nayra<sup>1</sup>

GUERRERO SUÁREZ, Alondra<sup>1</sup>

PEDRAZA CASTILLO, Paola<sup>1</sup>

ALONSO ESTRADA, Dania<sup>1</sup>

RAMOS GONZÁLEZ, Rodolfo<sup>2</sup>

GARCÍA CRUZ, Ariel<sup>1</sup>

TORRES ROSABAL, Daylin<sup>3</sup>

GOVEA SALAS, Mayela<sup>1</sup>

MICHELENA ÁLVAREZ, Georgina<sup>3</sup>

ILINÁ, Anna<sup>1</sup>

### RESUMEN

Las proteínas de la leche presentan un alto potencial de interacción con carotenoides gracias a la presencia de dominios hidrofóbicos en sus sitios de unión. De forma natural, solo una pequeña fracción de los carotenoides se asocia a estas proteínas. Se ha demostrado que esta interacción constituye una estrategia eficaz para mejorar la solubilidad y proteger estos compuestos frente a la oxidación. Esta revisión aborda los mecanismos de interacción entre carotenoides y proteínas lácteas, considerando el efecto de factores como la temperatura, el pH y la fuerza iónica, así como las propiedades intrínsecas de ambos componentes en la afinidad de unión. En conjunto, esta interacción se perfila como una alternativa prometedora para el desarrollo de alimentos funcionales enriquecidos con compuestos bioactivos. La presente revisión ofrece una visión actualizada y crítica que sienta las bases para futuras investigaciones orientadas al aprovechamiento biotecnológico de las interacciones carotenoide–proteína láctea en el diseño de alimentos funcionales de alta estabilidad y valor nutricional.

**Palabras clave:** interacción; proteína de la leche; carotenoides.

### ABSTRACT

*Milk proteins exhibit a high potential for interaction with carotenoids due to the presence of hydrophobic domains in their binding sites. Naturally, only a small fraction of carotenoids is associated with these proteins. It has been demonstrated that this interaction represents an effective strategy for improving*

1. Grupo de Nanobiocienci. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, Coahuila, México.
2. CONAHCYT, Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, Coahuila, México.
3. Instituto Cubano de Investigación de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), La Habana, Cuba.

Correspondencia

annailina@uadec.edu.mx  
<https://orcid.org/0000-0001-5349-2852>

Fecha de recepción  
9 de septiembre de 2025.

Fecha de aceptación  
5 de noviembre de 2025.

*solubility and protecting these compounds against oxidation. This review addresses the mechanisms underlying carotenoid–milk protein interactions, considering the influence of factors such as temperature, pH, and ionic strength, as well as the intrinsic properties of both components on binding affinity. Overall, this interaction emerges as a promising alternative for developing functional foods enriched with bioactive compounds. The present review provides an updated and critical overview that lays the groundwork for future research on the biotechnological exploitation of carotenoid–milk protein interactions to design functional foods with high stability and nutritional value.*

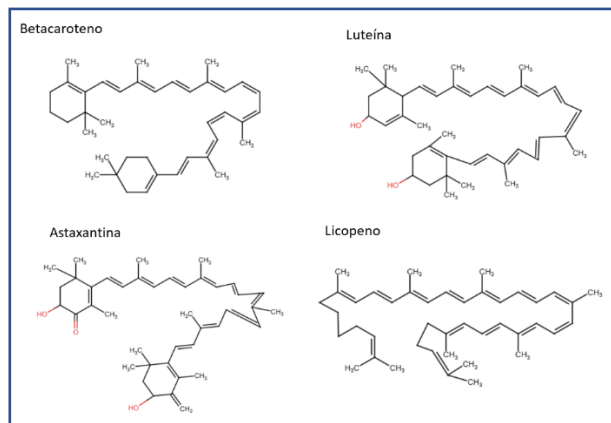
**Keywords:** *interaction; milk protein; carotenoids.*

## I. INTRODUCCIÓN

La demanda de ingredientes saludables y de una mayor calidad nutricional en los alimentos es una preocupación global para las industrias alimentarias, los consumidores y las agencias gubernamentales (Paiva y col., 2020). Para responder a esta tendencia del mercado, las industrias han invertido en el desarrollo de alimentos funcionales y nutracéuticos que puedan ofrecer beneficios para la salud y reducir el riesgo de determinadas enfermedades (Roy y col., 2025). El desarrollo de estos productos funcionales, con frecuencia, se basa únicamente en la suplementación de matrices alimentarias preformuladas con un compuesto bioactivo o en el diseño de mezclas que intentan imitar alimentos naturales, como en el caso de las fórmulas infantiles (Day y col., 2009). Entre los compuestos bioactivos más utilizados con este propósito se encuentran los minerales, las vitaminas, los péptidos bioactivos, los compuestos fenólicos y los carotenoides (Rehman y col., 2023). Su variabilidad estructural dificulta el desarrollo de estrategias universales para su aplicación en la formulación de alimentos. Su incorporación en productos alimentarios presenta varias desventajas, como su escasa solubilidad en agua, un sabor intensamente marcado y una baja estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento, lo cual dependerá de la naturaleza química de la molécula (Tavares y col., 2014). La solución debe considerar tanto las propiedades del compuesto bioactivo como las de los demás componentes de la matriz alimentaria.

Los carotenoides son pigmentos naturales lipofílicos, generalmente de color amarillo, naranja y rojo, que se encuentran distribuidos en vegetales, frutas,

ciertos tipos de microalgas y hongos. También pueden encontrarse en animales, aunque estos no son capaces de producir dichos compuestos, sino que los obtienen a través de la alimentación. Una característica importante de la estructura de este grupo de moléculas es su sistema de dobles enlaces conjugados (Figura 1) el cual es responsable de la absorción de luz en la región ultravioleta-visible, así como de su capacidad antioxidante, la cual se traduce en su habilidad para estabilizar radicales libres y desactivar el oxígeno singlete.



**Figura 1.** Estructuras químicas de los carotenoides

Numerosos estudios han demostrado los potenciales beneficios para la salud asociados con la ingesta de carotenoides, tales como la actividad provitamínica A, la mejora del sistema inmunológico y de las funciones cognitivas, el efecto antiinflamatorio, y la reducción del riesgo de desarrollar enfermedades crónicas como la degeneración macular asociada a la edad y las cataratas (Eggersdorfer y Wyss, 2018). No obstante, los carotenoides pueden sufrir cambios estructurales durante el procesamiento y el almacenamiento de los alimentos, lo que a menudo afecta negativamente su bioactividad y su color (Barba y col., 2017). Debido a su naturaleza lipofílica, durante el desarrollo de productos alimenticios formulados, los carotenoides suelen incorporarse a la fracción lipídica; sin embargo, pueden surgir problemas de solubilidad en productos libres de grasa, ya que tienden a agregarse fácilmente a medios acuosos (Hempel y col., 2016). La unión de los carotenoides a proteínas alimentarias constituye una estrategia prometedora para superar las dificultades mencionadas anteriormente.

En la leche, los carotenoides suelen encontrarse dispersos en los glóbulos de grasa, y aunque una cantidad mínima de ellos se une de forma natural a las

proteínas lácteas, estas últimas han sido señaladas como las más adecuadas para establecer interacciones con los carotenoides. Una de las razones de esta elección es que las proteínas de la leche son reconocidas como vehículos naturales capaces de transportar nutrientes esenciales desde la madre al recién nacido. Además, constituyen matrices alimentarias naturales ampliamente disponibles, con estatus GRAS (generalmente reconocidas como seguras) y alto valor nutricional (Tavares y col., 2014). Por ello, diversos estudios se han enfocado en la interacción entre estas proteínas y compuestos bioactivos, en especial aquellos hidrofóbicos, como los carotenoides y los ácidos grasos, así como con vitaminas lipofílicas (Tang, 2021). Las interacciones hidrofóbicas suelen ser las principales fuerzas en la unión entre proteínas lácteas y moléculas hidrofóbicas como las mencionadas, aunque también pueden intervenir fuerzas de van der Waals y enlaces de hidrógeno, dependiendo de la naturaleza química de las moléculas involucradas y de las condiciones de reacción (Allahdad y col., 2018). Así, varios factores intrínsecos y extrínsecos determinarán el equilibrio de unión entre los carotenoides y las proteínas de la leche, por lo que su control resulta esencial para reducir el empirismo en el desarrollo de nuevos productos alimentarios que contengan ambas moléculas. En este contexto, en la presente revisión se discuten los factores intrínsecos y extrínsecos que favorecen la interacción entre carotenoides y proteínas lácteas, así como las principales ventajas con potencial tecnológico de la unión entre carotenoides y proteínas de la leche.

## II. CARACTERÍSTICAS DE LOS CAROTENOIDES

Los carotenoides constituyen una extensa familia de más de 1100 pigmentos naturales, presentes en una gran diversidad de organismos como plantas, algas, hongos y bacterias. Químicamente, se clasifican en dos grandes grupos: carotenos, compuestos exclusivamente por átomos de carbono e hidrógeno como el  $\beta$ -caroteno ( $\beta$ -car), y xantófilas, que integran al menos un átomo de oxígeno en su estructura molecular, como la luteína y la zeaxantina. Esta diferencia química confiere a las xantófilas una polaridad ligeramente mayor, lo que a su vez modula sus interacciones con proteínas y otras biomoléculas, especialmente a través de enlaces de hidrógeno.

La estructura fundamental de los carotenoides consiste en una cadena tetraterpenoide de 40 carbonos (C40) derivada del fitoeno, que puede ser lineal o cíclica en uno o ambos extremos, dando lugar a carotenoides cíclicos

y acíclicos. En el caso de las xantófilas, es habitual encontrarlas en forma de ésteres con ácidos grasos, principalmente en frutos, donde la longitud y el grado de insaturación de estos ácidos afectan su reactividad y propiedades fisicoquímicas.

Entre los carotenoides, una subclase importante son los apocarotenoides, moléculas derivadas de la reducción del esqueleto carbonado mediante la eliminación de fragmentos terminales. Un ejemplo destacado es la bixina, un apocarotenoide de 25 átomos de carbono exclusivo de las semillas de achiote (*Bixa orellana* L.). Como colorante alimentario natural, la bixina exhibe un notable potencial antioxidante, actuando como quencher de oxígeno singlete y estados de tripletes de sensibilizadores. Su estructura presenta un doble enlace *cis*, un grupo carboxílico en un extremo y un éster metílico en el otro; en contraste, su análogo norbixina, con ambos grupos carboxílicos libres, muestra mayor solubilidad en entornos acuosos. Estas características estructurales permiten que, a diferencia de la mayoría de los carotenoides, las interacciones electrostáticas sean relevantes para la unión de bixina y norbixina a proteínas, condición clave para su funcionalidad biológica y farmacológica.

Desde una perspectiva fisiológica, los carotenoides son compuestos lipofílicos que desempeñan un papel esencial en la fotosíntesis y la pigmentación vegetal, responsables de los colores amarillo y rojo en muchas flores y frutos. En mamíferos, destacan por su capacidad antioxidante, actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora. Particularmente, ciertos carotenos, como el  $\beta$ -caroteno, actúan como provitamina A, importante para funciones vitales como la visión, el crecimiento y la homeostasis de los tejidos epiteliales.

Las xantófilas luteína y zeaxantina son fundamentales para la salud humana, ya que se acumulan en la mácula de la retina, formando un pigmento que filtra la luz azul perjudicial y protege contra el daño fotoquímico. Su ingesta adecuada ha sido asociada con una reducción significativa del riesgo de degeneración macular con edad. Más allá del sistema visual, estas xantófilas están presentes en el tejido cerebral, donde niveles elevados se correlacionan con un mejor rendimiento cognitivo, mientras que su deficiencia se asocia con enfermedades neurodegenerativas, incluido el Alzheimer.

En conjunto, las diferencias químicas y estructurales entre carotenos, xantófilas y apocarotenoides determinan sus propiedades de solubilidad, polaridad y modalidad de interacción con macromoléculas, lo que incide directamente en

sus actividades biológicas y potencial terapéutico. Estas moléculas bioactivas se perfilan como componentes clave en estrategias nutricionales y farmacológicas orientadas a mitigar el estrés oxidativo, modular las respuestas inflamatorias y proteger las funciones visuales y cognitivas.

### III. PROTEÍNAS LÁCTEAS CARACTERÍSTICAS E INTERACCIÓN CON CAROTENOS

Las proteínas de la leche se clasifican en dos fracciones principales: las caseínas y las proteínas del suero. Dentro de estas últimas, las más abundantes son la  $\alpha$ -lactoalbúmina ( $\alpha$ -La) y la  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -Lg). Ambas pertenecen a la familia de las lipocalinas, caracterizadas por su alta afinidad por ligandos hidrofóbicos pequeños, como carotenoides, ácidos grasos y vitamina D (Yang y col., 2023).

Las caseínas, que representan aproximadamente el 80 % del total proteico de la leche, son fosfoproteínas ácidas con marcada naturaleza anfifílica. Se encuentran organizadas de forma natural en estructuras supramoleculares denominadas micelas de caseína, con un diámetro hidrodinámico aproximado de 200 nm. Estas micelas poseen un núcleo formado por agregados de  $\alpha$ s1-caseína ( $\alpha$ s1-Cas),  $\alpha$ s2-caseína ( $\alpha$ s2-Cas) y  $\beta$ -caseína ( $\beta$ -Cas), estabilizados principalmente mediante interacciones hidrofóbicas y por nanoclústeres de fosfato de calcio. La superficie micelar está cubierta por la  $\kappa$ -caseína ( $\kappa$ -Cas), que desempeña un papel esencial en la estabilidad coloidal del sistema. El tamaño de las micelas puede variar entre 50 y 600 nm, y la proporción molar de  $\alpha$ s1-,  $\alpha$ s2-,  $\beta$ - y  $\kappa$ -caseína es de aproximadamente 4:1:4:1.3. Las subunidades están unidas mediante enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y puentes de calcio-fosfato (Runthala y col., 2023).

A partir de estas micelas, es posible obtener estructuras alternativas, como los caseinatos (por ejemplo, caseinato de sodio), mediante precipitación isoeléctrica seguida de neutralización. En estas estructuras, el tamaño hidrodinámico disminuye hasta cerca de 65 nm (Nunes y Tavares, 2019), lo que incrementa su área superficial y mejora su capacidad de interacción con moléculas hidrofóbicas, una propiedad relevante en la formación de complejos con carotenoides.

Las caseínas pueden interactuar con una amplia variedad de compuestos bioactivos mediante mecanismos de interacción hidrofóbicos, hidrofílicos y electrostáticos (Estevinho y Rocha, 2018). Diversos estudios han caracterizado con precisión las interacciones entre caseínas y carotenoides, lo que permite comprender mejor su potencial como sistemas de transporte y protección de compuestos lipofílicos. La mayoría de las investigaciones sobre sistemas de liberación basados en caseína se han centrado en aspectos como la eficiencia de encapsulación, la determinación de constantes de afinidad, los cambios estructurales inducidos por la formación de complejos, la estabilidad en condiciones de almacenamiento y su incorporación en matrices alimentarias. Por ejemplo, se ha reportado que la caseína se une al  $\beta$ -caroteno con una constante de afinidad de  $10^4 \text{ M}^{-1}$  en una estequiometría 1:1, y esta interacción se ve favorecida por pH alcalino, baja fuerza iónica y temperaturas elevadas. Entre las fracciones de caseína, la  $\kappa$ -Cas presenta la mayor afinidad por el  $\beta$ -caroteno, la cual se explica principalmente por fuerzas de van der Waals (Allahdad y col., 2018).

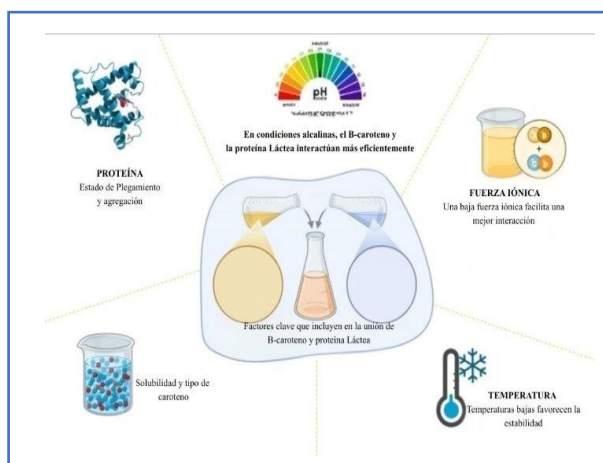
Por su parte, la  $\beta$ -Lg es una proteína globular de 162 residuos, con una masa molecular de 18400 Da y un punto isoeléctrico cercano a pH 5.0 (Madureira y col., 2007). Su estructura terciaria de la  $\beta$ -Lg está compuesta por un barril  $\beta$ , ocho láminas  $\beta$  antiparalelas y una hélice  $\alpha$  de tres giros, estabilizada por dos enlaces disulfuro. Además, presenta un grupo sulfhídrico libre en la posición Cys-121 y tres sitios de unión a ligandos hidrofóbicos: la cavidad central (cáliz), la hendidura entre la hélice  $\alpha$  y el barril  $\beta$ , y la interfaz entre monómeros. La afinidad de unión varía en función del pH; a valores superiores a 7.0, se expone el centro activo y se favorece la incorporación de ligandos al núcleo hidrofóbico (Le Maux y col., 2014). La  $\beta$ -Lg es una de las proteínas más estudiadas por su capacidad para transportar compuestos lipofílicos como carotenoides, vitaminas y ácidos grasos (Møller y col., 2020). La  $\alpha$ -lactoalbúmina, la segunda proteína más abundante del suero bovino, posee una estructura con cuatro puentes disulfuro, sin grupos tioles libres, dividida en dos dominios unidos por un lazo de fijación de calcio (Thompson y col., 2009). Su estructura incluye un bolsillo hidrofóbico, responsable de su capacidad para unirse a ligandos no polares como los carotenoides (Delavari y col., 2015; Ursache y col., 2017).

La albúmina sérica bovina (BSA), otra proteína globular presente en el suero, está formada por tres dominios helicoidales separados por nueve lazos y diecisiete puentes disulfuro (Thompson y col., 2009). Contiene dos residuos

de triptófano (Trp), uno de los cuales se encuentra en una cavidad hidrofóbica (Mohan y col., 2018). Por su similitud estructural con la albúmina sérica humana y su capacidad para transportar fármacos y compuestos bioactivos, la BSA ha sido ampliamente utilizada en estudios de interacción proteína-ligando (Allahdad y col., 2019).

#### IV. FACTORES QUE AFECTAN LA UNIÓN CAROTENO CON PROTEÍNA DE LA LECHE

La interacción entre proteínas lácteas y carotenoides ha sido objeto de numerosos estudios, en los que se reconoce la influencia de diversos factores que determinan su estabilidad y afinidad, entre los que destacan el plegamiento proteico y la estructura de los carotenoides, en particular la presencia o ausencia de grupos polares y su estado de agregación (monomérico o agregado). Asimismo, parámetros ambientales como la temperatura, el pH, la concentración y la naturaleza de las sales o iones presentes se han representado en la Figura 2 como moduladores claves de estas asociaciones. Investigaciones recientes que incluyen análisis espectroscópicos, estudios de acoplamiento molecular y evaluaciones funcionales en sistemas modelo, han permitido ampliar la comprensión de los mecanismos. Diversos autores han enfatizado no solo los factores fisicoquímicos que regulan la afinidad de unión, sino también las consecuencias estructurales y funcionales que dichas interacciones pueden tener sobre la estabilidad de los complejos proteína-carotenoide (Moran y col., 2018; Mora-Gutiérrez y col., 2018).



**Figura 1.** Esquema de factores que intervienen en la interacción proteína lácteas –carotenoide.

#### 4.1 CONFORMACIÓN PROTEICA EN LA UNIÓN CON CAROTENOIDES

El estado conformacional de la proteína es un factor que influye en la interacción. Un leve desdoblamiento (desnaturalización parcial) puede exponer parches hidrofóbicos adicionales, lo que favorece la unión con carotenoides. Sin embargo, un desdoblamiento intenso seguido de una agregación proteica puede bloquear los sitios de unión, reduciendo la afinidad. Silva y col. (2018) registraron una disminución de la constante de afinidad ( $K_a$ ) de la interacción  $\beta$ -caroteno-BSA tras un tratamiento térmico (80 °C durante 10 min). Pequeñas variaciones en la secuencia aminoacídica y estructura pueden modificar drásticamente la afinidad de unión a carotenoides. Un estudio de Mora-Gutiérrez y col. (2018) comparó caseínas caprinas y bovinas y encontró que la constante de unión de la luteína a las caseínas caprinas fue al menos 3.57 veces mayor que la de las bovinas, reflejando diferencias estructurales que impactan la interacción proteína-carotenoide.

La afinidad de unión con carotenoides no depende únicamente del grado de hidrofobicidad total, sino que varía según la accesibilidad o exposición real de estos dominios hidrofóbicos. Por ejemplo, Allahdad y col. (2018) reportaron las  $K_a$  para el  $\beta$ -car con algunas caseínas bovinas:  $\alpha$ -caseína ( $\alpha$ -Cas)  $1.57 \times 10^4 M^{-1}$ ,  $\beta$ -caseína  $0.04 \times 10^4 M^{-1}$ , y  $\kappa$ -caseína  $3.01 \times 10^4 M^{-1}$ . Sin embargo,  $\beta$ -caseína, aunque es la más hidrofóbica, mostró la menor afinidad de unión con  $\beta$ -car. Este comportamiento se atribuye al autoensamblaje de las colas hidrofóbicas de la  $\beta$ -caseína, que bloquean los sitios de unión para el carotenoide, fenómeno que no se observó en otras caseínas.

#### 4.2 EFECTO DE PH, TEMPERATURA Y CONCENTRACIÓN SALINA EN LA UNIÓN PROTEÍNAS LÁCTEAS–CAROTENOIDES

La concentración y naturaleza de las sales presentes en el microambiente proteico son factores determinantes de la conformación estructural y de las propiedades fisicoquímicas de las proteínas. Además de los efectos asociados al fenómeno de “salting-in” y “salting-out”, la incorporación de iones cosmotrópicos o caotrópicos en sistemas dispersos de proteínas puede

modular de manera diferenciada su estabilidad conformacional, actuando como agentes estabilizadores o desestabilizadores, según el caso. Estudios de Paiva y col. (2020) evaluaron la influencia de las sales sobre la interacción entre la BSA y la luteína. Los autores reportaron que la adición de cloruro de sodio (NaCl), considerado un ion cosmotrópico, promovió la formación de un complejo proteína–ligando de mayor estabilidad en comparación con el sistema sin sal, mientras que el tiocianato de sodio (NaSCN), clasificado como caotrópico, generó un efecto desestabilizador opuesto.

Aprodu y col. (2017) estudiaron el efecto del tratamiento térmico sobre el complejo formado entre  $\beta$ -LG y carotenoides de espino cerval de mar (*Hippophae rhamnoides*). Evaluaron un rango de temperaturas de 25 a 100 °C durante 15 minutos, utilizando espectroscopía de fluorescencia, acoplamiento molecular (docking) y simulaciones de dinámica molecular. Ellos concluyeron que a temperaturas superiores a 80 °C ocurre un desdoblamiento parcial de la conformación de la proteína, resultado consistente con lo reportado por van den Oever y col. (2021), quienes observaron la desnaturalización térmica de la  $\beta$ -LG a 78 °C en un tampón fosfato 0.7 M (pH 6).

Allahdad y col. (2019) analizaron las interacciones moleculares entre  $\beta$ -caroteno y diversas proteínas séricas, incluyendo caseína,  $\beta$ -LG,  $\alpha$ -lactoalbúmina y BSA, observando que la afinidad de unión aumentó con el pH, la temperatura y la fuerza iónica. Las interacciones hidrofóbicas fueron las principales responsables de la estabilización del complejo, siendo la  $\beta$ -LG la que mostró mayor afinidad por el  $\beta$ -caroteno, seguida por la BSA y la  $\alpha$ -Lac. Estudios cristalográficos indicaron que el  $\beta$ -caroteno se une al subdominio IIA de la BSA, a los residuos aromáticos del grupo II de la  $\alpha$ -Lac, y en el cáliz de la  $\beta$ -LG. Se concluyó que esta interacción induce cambios conformacionales en las estructuras secundaria y terciaria de las proteínas séricas.

Allahdad y col. (2020) observaron que tanto la caseína micelar como el aislado de proteína de suero (WPI) incrementaron la solubilidad del  $\beta$ -caroteno entre 2.7 y 3.6 veces, dependiendo de la relación proteína: carotenoide y del pH del medio. Este efecto se atribuyó principalmente a interacciones hidrofóbicas entre el núcleo de las micelas y la molécula de caroteno, lo que facilita su incorporación en medios acuosos sin recurrir a disolventes orgánicos.



La elevada sensibilidad de los carotenoides a la luz, el oxígeno y la temperatura los convierte en compuestos particularmente inestables durante el procesamiento y almacenamiento. En este contexto, las proteínas lácteas actúan como una barrera protectora gracias a sus estructuras supramoleculares. Los complejos formados con caseína y WPI han demostrado reducir significativamente la fotodegradación y la oxidación del  $\beta$ -caroteno, especialmente bajo condiciones de pH alcalino y baja fuerza iónica (Allahdad y col., 2020). Asimismo, la encapsulación disminuye la exposición del carotenoide a radicales libres y al ambiente, preservando su funcionalidad por periodos prolongados.

Sęczyk y Świdorski (2016) comprobaron que la interacción de luteína con proteínas lácteas incrementó su estabilidad química incluso en condiciones de almacenamiento prolongado, efecto atribuido a la localización de la molécula en regiones hidrofóbicas protegidas dentro de la matriz proteica.

Wu y col. (2021) propusieron el uso de proteosomas, estructuras nanométricas constituidas por fosfolípidos lácteos, WPI y caseinato de sodio, que alcanzaron eficiencias de encapsulación superiores al 90% y una biodisponibilidad in vitro mayor al 85% del  $\beta$ -caroteno. Además, estos sistemas mostraron una liberación sostenida y una elevada resistencia a condiciones gastrointestinales simuladas, características esenciales para aplicaciones nutracéuticas.

Wang y col. (2020) desarrollaron emulsiones de  $\beta$ -caroteno estabilizadas con un complejo ternario formado por  $\beta$ -LG, ácido ferúlico y quitosano (BFCC), sintetizado mediante una reacción de acoplamiento mediada por carbodiimida e inducción con lacasa. Los resultados mostraron que la emulsión estabilizada por BFCC presentó alta estabilidad fisicoquímica frente a diferentes condiciones ambientales.

Pispas y col. (2024) sintetizaron nanopartículas compuestas por sulfato de condroitina y BSA para inmovilizar  $\beta$ -caroteno. Mediante dispersión de neutrones de ángulo pequeño (SANS), caracterizaron la morfología interna de las nanopartículas y concluyeron que la unión del  $\beta$ -caroteno ocurre preferentemente en la superficie externa de las nanopartículas. Esto sugiere que las sustancias bioactivas hidrofóbicas pueden interactuar con la proteína BSA, restringiéndose principalmente a la región superficial.

Liu y col. (2018) sintetizaron un nanocomplejo de astaxantina y  $\beta$ -LG (Ax- $\beta$ -LG), recubierto con quitosano, mediante autoensamblaje espontáneo favorecido por interacciones de afinidad y fuerzas electrostáticas. Estos nanocomplejos formaron esferas homogéneas de 40–60 nm de diámetro con alta estabilidad coloidal. Los estudios de acoplamiento molecular revelaron que las fuerzas predominantes en la formación del complejo Ax- $\beta$ -LG fueron los enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals e interacciones hidrofóbicas.

Estos estudios demuestran que tanto los factores intrínsecos (estructura de la proteína, naturaleza del carotenoide) como extrínsecos (temperatura, pH, fuerza iónica) juegan un papel crucial en la estabilidad y eficiencia de unión entre carotenoides y proteínas lácteas, con implicaciones directas en el diseño de sistemas de liberación controlada y matrices alimentarias funcionales.

## V. DESAFÍOS Y ESTRATEGIAS PARA FORTIFICAR ALIMENTOS CON CAROTENOIDES

El desarrollo de alimentos enriquecidos con carotenoides presenta desafíos significativos debido a la baja biodisponibilidad, solubilidad y estabilidad de estos compuestos. Para crear un producto comercialmente viable y beneficioso para la salud del consumidor, es crucial entender y superar estas limitaciones, entre las que se pueden destacar las siguientes:

**Biodisponibilidad vs. Bioaccesibilidad:** Es importante diferenciar entre la bioaccesibilidad (la liberación del carotenoide de la matriz alimentaria en el tracto gastrointestinal para su absorción) y la biodisponibilidad (la fracción del carotenoide ingerido que realmente está disponible para funciones fisiológicas). La bioaccesibilidad influye directamente en la biodisponibilidad y, por ende, en la bioactividad del compuesto.

**Factores Limitantes:** La baja biodisponibilidad de los carotenoides se ve influida por la matriz alimentaria, las interacciones con otros nutrientes y los métodos de procesamiento. Por tal manera que el procesamiento tecnológico de los alimentos puede influir en la bioaccesibilidad de carotenoides, una técnica que reduce el tamaño de gota en emulsiones lácteas, logrando un aumento en la superficie disponible para la acción de enzimas digestivas y,

por ende, mejorando la liberación y absorción de carotenoides, es la homogenización de alta presión, asimismo, el tratamiento térmico, cuando es aplicado en condiciones moderadas, contribuye a liberar carotenoides de la matriz y a mejorar su biodisponibilidad; sin embargo, bajo tratamientos intensos puede acelerar su degradación oxidativa ocasionando una reducción significativamente su aporte nutricional. Por ende, una selección cuidadosa de las condiciones de procesamiento es decisiva para equilibrar la liberación y la estabilidad de estos compuestos bioactivos (Zhang, 2024).

El papel de la matriz alimentaria y la grasa: se propone que el uso de productos lácteos como matriz alimentaria podría ser una estrategia efectiva. El contenido de grasa en los lácteos podría ayudar a superar la baja biodisponibilidad observada en frutas y verduras, facilitando la absorción de los carotenoides, ya que estos compuestos son lipofílicos. Esta estrategia busca aprovechar la popularidad y el consumo masivo de productos lácteos para una entrega más eficiente de los carotenoides al organismo. Los carotenoides son moléculas altamente lipofílicas y susceptibles a la oxidación, lo que limita su solubilidad en matrices acuosas y comprometiendo a su estabilidad durante su manejo. La leche como transporte natural, puede ser una buena alternativa ya que ofrece un entorno favorable combinando lípidos y proteínas que interactúan directamente con los carotenoides. Estudios comparativos se logró observar que la leche entera presenta una mayor disposición para favorecer la formación de micelas y solubilización de carotenoides durante la digestión, en contraste con la leche descremada. Esto se debe a que los lípidos lácteos proporcionan los ácidos grasos necesarios para la formación de micelas mixtas intestinales, estructuras esenciales para la absorción de compuestos lipofílicos. Por lo cual, la leche entera se puede optar como una matriz más eficaz que la leche reducida en grasa para aumentar la fracción bioaccesible de carotenoides, dando resultados que destacan particularmente para la luteína, seguida del  $\beta$ -caroteno y, en menor medida, el licopeno (Stephenson, 2021).

La interacción de los carotenoides con proteínas lácteas es una estrategia clave para mejorar su estabilidad y biodisponibilidad. Proteínas como la  $\beta$ -lactoglobulina y la caseína micelar presentan una alta afinidad por carotenoides hidrofóbicos, lo que facilita su incorporación en medios acuosos y reduce fenómenos de agregación. Es decir, la  $\beta$ -lactoglobulina puede comportarse como un portador eficaz, estabilizando carotenoides como el  $\beta$ -caroteno, mientras que la caseína funciona como un reservorio protegiendo a los compuestos frente a la oxidación. Dichas interacciones son sensibles a

factores como el pH y la fuerza iónica, lo que subraya la importancia de controlar las condiciones de formulación para lograr complejos proteína-carotenoide estables y funcionales (Qiao, 2021).

Un aspecto crítico en el diseño de un alimento funcional fortificado con carotenoides es optimizar su absorción. Esto se puede lograr seleccionando una matriz alimentaria adecuada, como los productos lácteos con contenido graso, que ayuden a superar la baja solubilidad y biodisponibilidad inherentes a estos compuestos.

## VI. CONCLUSIONES

Las proteínas de la leche han demostrado un gran potencial como sistemas de transporte para carotenoides. La característica más relevante que posibilita esta interacción es la presencia de regiones hidrofóbicas en la estructura proteica, que facilitan la unión con estas pequeñas moléculas también hidrofóbicas. Los estudios recopilados en esta revisión han contribuido a una mejor comprensión de los factores, como la temperatura, el pH, la presencia de sales, entre otros, que favorecen o dificultan dicha interacción, lo cual resulta fundamental para el desarrollo de nuevos productos.

Además de mejorar su estabilidad, los carotenoides pueden beneficiarse de una mayor solubilidad en medios acuosos al interactuar con proteínas lácteas. Sin embargo, son pocos los estudios que han considerado explícitamente la solubilidad de los carotenoides en entornos predominantemente hidrofílicos durante las mediciones experimentales. A esto se suma que la agregación de carotenoides, tanto previa como posterior a la formación del complejo con las proteínas, rara vez ha sido objeto de atención, a pesar de que podría influir significativamente en la afinidad de unión. Comprender la distribución y el comportamiento de estos complejos proteína-carotenoide en alimentos resulta crucial para el diseño de productos funcionales y nutracéuticos. La investigación sobre las interacciones entre proteínas y compuestos bioactivos, en el contexto del diseño de sistemas de liberación más eficientes, constituye un campo en expansión que ofrece amplias oportunidades para la innovación científica y tecnológica.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del financiamiento recibido a través de los proyectos CF-2023-G-472 y becas de Doctorado en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

## REFERENCIAS

- Allahdad, Z., Varidi, M., Zadmard, R., & Saboury, A. A. (2018). Spectroscopic and docking studies on the interaction between caseins and  $\beta$ -carotene. *Food Chemistry*, 255: 187-196. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.143>
- Allahdad, Z., Varidi, M., Zadmard, R., Saboury, A. A., & Haertlé, T. (2019). Binding of  $\beta$ -carotene to whey proteins: Multi-spectroscopic techniques and docking studies. *Food Chemistry*, 277: 96-106. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.057>
- Allahdad, Z., Khammari, A., Karami, L., Ghasemi, A., Sirotkin, V. A., Haertlé, T., & Saboury, A. A. (2020). Binding studies of crocin to  $\beta$ -lactoglobulin and its impacts on both components. *Food Hydrocolloids*, 108, 106003. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106003>
- Aprodu, I., Ursache, F.-M., Turturică, M., Râpeanu, G., & Stănciuc, N. (2017). Thermal stability of the complex formed between carotenoids from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) and bovine  $\beta$ -lactoglobulin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 173: 562-571. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.10.010>
- Barba, F. J., Mariutti, L. R. B., Bragagnolo, N., Mercadante, A. Z., Barbosa-Cánovas, G. V., & Orlén, V. (2017). Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. *Trends in Food Science & Technology*, 67: 195-206. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.006>
- Day, L., Seymour, R. B., Pitts, K. F., Konczak, I., & Lundin, L. (2009). Incorporation of functional ingredients into foods. *Trends in Food Science & Technology*, 20(9): 388-395. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.05.002>
- Delavari, B., Saboury, A. A., Atri, M. S., Ghasemi, A., Bigdeli, B., Khammari, A., Maghami, P., Moosami-Movahedi, A.A., Haertlé, T., Golaeli, B. (2015). Alpha-lactalbumin: A new carrier for vitamin D3 food enrichment. *Food Hydrocolloids*, 45: 124-131. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.10.017>
- Eggersdorfer, M., & Wyss, A. (2018). Carotenoids in human nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 652: 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.06.001>



- Estevinho, B. N., Rocha, F. (2018). Chapter 7. Application of Biopolymers in Microencapsulation. In: *Handbook of Food Bioengineering, Biopolymers for Food Design*, (Eds: Grumezescu, A.M., Holban, A.M.), Academic Press, NY, Pp. 191–222. doi:10.1016/B978-0-12-811449-0.00007-4
- Hempel, J., Schweiggert, C. N., Leptihn, S., Carle, R., & Schweiggert, R. M. (2016). Structure-related aggregation behavior of carotenoids and carotenoid esters. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 317: 161–174. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2015.10.024>
- Le Maux, S., Dalgleish, D. G., & Horne, D. S. (2014). Caseins: The key to milk and milk products. In: *Milk Proteins: From Expression to Food*. (Ed: de Koning J.H.), American Chemical Society. NY. Pp. 119-142.
- Liu, C., Liu, Z., Sun, X., Zhang, S., Wang, S., Feng, F., Wang, D., & Xu, Y. (2018). Fabrication and Characterization of  $\beta$ -Lactoglobulin-Based Nanocomplexes Composed of Chitosan Oligosaccharides as Vehicles for Delivery of Astaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(26): 6717-6726. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00834>
- Moran, N. E., Mohn, E. S., Hason, N., Erdman, J. W., Jr., & Johnson, E. J. (2018). Intrinsic and extrinsic factors impacting absorption, metabolism, and health effects of dietary carotenoids. *Advances in Nutrition*, 9(4): 465–492. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy025>
- Mora-Gutierrez, A., Attaie, R., Núñez de González, M. T., Jung, Y., Woldesenbet, S., & Marquez, S. A. (2018). Complexes of lutein with bovine and caprine caseins and their impact on lutein chemical stability in emulsion systems: Effect of arabinogalactan. *Journal of Dairy Science*, 101(1): 18-27. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13105>
- Mohan, S., Hemachandran, H., Sneha, P., Doss, C. G. P., Christopher, J. G., Jayaraman, G. (2018). Structural insights into the binding mode and conformational changes of BSA induced by bixin and crocin. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 36(8): 2085–2098. <https://doi.org/10.1080/07391102.2017.1342565>
- Møller, A. H., Wijaya, W., Jahangiri, A., Madsen, B., Joernsgaard, B., Vaerbak, S., der Meeren, P.V., Dalsgaard, T.K. (2020). Norbixin binding to whey protein isolate - alginate electrostatic complexes increases its solubility and stability. *Food Hydrocolloids*, 101:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105559>
- Pispas, I., Spiliopoulos, N., & Papagiannopoulos, A. (2024). Biocompatible Preparation of Beta-Lactoglobulin/Chondroitin Sulfate Carrier Nanoparticles and Modification of Their Colloidal and Hydropathic Properties by Tween 80. *Polymers*, 16(14): 141995. <https://doi.org/10.3390/polym16141995>
- Nunes, L., & Tavares, G. M. (2019). Thermal treatments and emerging technologies: Impacts on the structure and techno-functional properties of milk proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 90: 88–99. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.06.004>

- Paiva, P. H. C., Coelho, Y. L., da Silva, L. H. M., Pinto, M. S., Vidigal, M. C. T. R., Pires, A. C. (2020). Influence of protein conformation and selected Hofmeister salts on bovine serum albumin/lutein complex formation. *Food Chemistry*, 305: 125463. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125463>
- Qiao, H., Li, X., Chen, J., Liang, R., & McClements, D. J. (2021). Interaction of carotenoids with milk proteins: Influence on physicochemical stability and bioaccessibility of carotenoids. *Food Hydrocolloids*, 117: 106676. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106676>
- Rehman, A., Tong, Q., Jafari, S. M., Assadpour, E., Shehzad, Q., Aadil, R. M., Iqbal, M.W., Roshed, M.M.A., Mushtaq, B.S., Ashraf, W. (2020). Carotenoid-loaded nanocarriers: A comprehensive review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 275: 102048. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102048>
- Roy, S., Dora, K.C., Kumar, S., Saklani, P., Muthukumar, A., Fatih Ozogul, F., Harisankar, K. C., Mutum, R. D., Celine Hilda Mary, S., Surasani Dara, P.K (2025) A critical review on technical advances and multifaceted role of carotenoids in human health with special emphasis on metabolic diseases. *Phytochemistry Reviews*, 2025: 1-7. <https://doi.org/10.1007/s11101-025-10156-z>
- Runthala, A., Mbye, M., Ayyash, M., Xu, Y., & Kamal-Eldin, A. (2023). Caseins: Versatility of Their Micellar Organization in Relation to the Functional and Nutritional Properties of Milk. *Molecules*, 28(5): 2023. <https://doi.org/10.3390/molecules28052023>
- Silva, C. E. L., Hudson, E. A., Agudelo, A. J. P., da Silva, L. H. M., Pinto, M. S., do Carmo Hespanhol, M., Ribeiro Barras, F.A., dos Santos Pires, A.C. (2018).  $\beta$ -Carotene and milk protein complexation: A thermodynamic approach and a photo stabilization study. *Food and Bioprocess Technology*, 11(3): 610–620. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-2028-7>
- Stephenson, C. B., Yi, F., Wu, Y., & Failla, M. L. (2021). Impact of milk fat and proteins on the bioaccessibility of carotenoids during in vitro digestion of whole milk. *Journal of Dairy Science*, 104(10): 10542–10555. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20248>
- Sęczyk, L., & Świdorski, F. (2016). The effect of protein components on the stability and bioaccessibility of lutein in model protein-based beverages. *Journal of Functional Foods*, 23: 192-202. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.03.003>
- Tang, C. (2021). Strategies to utilize naturally occurring protein architectures as nanovehicles for hydrophobic nutraceuticals. *Food Hydrocolloids*, 112: 106344. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106344>
- Tavares, G. M., Croguennec, T., Carvalho, A. F., & Bouhallab, S. (2014). Milk proteins as encapsulation devices and delivery vehicles: Applications and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 37(1): 5–20. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.02.008>

- Thompson, A., Boland, M., & Singh, H. (2009). *Milk Proteins: From expression to food*. Academic Press - Elsevier, NY.
- Ursache, M. F., Dumitras, L., Aprodu, I., & Stănciuc, N. (2017). Screening the thermal stability of carotenoids- $\alpha$  lactalbumin complex by spectroscopic and molecular modeling approach. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 54(5): 316–322. <https://doi.org/10.1080/10601325.2017.1294456>
- van den Oever, S.P., Haselmann, A., Schreiner, M., Fuerst-Waltl, B., Zebeli, Q., Mayer, H.K., Knaus, W. (2021). Hay versus silage: Does hay feeding positively affect milk composition? *International Dairy Journal*, 118 (2021), Article 105024. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105024>
- Wang, D., Lv, P., Zhang, L., Yang, S., Wei, Y., Mao, L., Yuan, F., & Gao, Y. (2020). Enhanced Physicochemical Stability of  $\beta$ -Carotene Emulsions Stabilized by  $\beta$ -Lactoglobulin–Ferulic Acid–Chitosan Ternary Conjugate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(31): 8404-8412. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01757>
- Wu, D., Jiao, H., Niu, J., Zhang, Z., & Chen, H. (2021). Physicochemical properties and strength analysis of vitreous encapsulated solids for the safe delivery of  $\beta$ -carotene. *Food Hydrocolloids*, 114: 106883. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106883>
- Yang, H.-H., Wang, X., Li, S., Liu, Y., Akbar, R., & Fan, G.-C. (2023). Lipocalin family proteins and their diverse roles in cardiovascular disease. *Pharmacology & Therapeutics*, 244: 108385. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2023.108385>
- Zhang, Y., Liu, W., Wang, C., & McClements, D. J. (2024). Influence of processing on the stability and bioaccessibility of carotenoids in dairy-based emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 139: 70–82. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.02.005>