

Artículo recibido 18 de agosto de 2023

Publicado 25 de septiembre de 2023

Diseño de sistemas de conservación de biomoléculas para favorecer la innovación en la industria alimentaria

Vasile, Franco E.¹; Mazzobre, María F.²

¹ Instituto de Investigaciones en Procesos Tecnológicos Avanzados (INIPTA, CONICET - UNCAUS) Universidad Nacional del Chaco Austral, Comandante Fernández 755, Presidencia Roque Sáenz Peña 3700, Chaco, Argentina

² Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos ITAPROQ-CONICET Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Av. Intendente Güiraldes 2620, CABA 1428, Buenos Aires, Argentina

ORCID María Florencia Mazzobre 0000-0002-8165-4879 fmazzobre@yahoo.com.ar

ORCID Franco Emanuel Vasile 0000-0001-6769-3137 francovasile@uncaus.edu.ar

Resumen

La encapsulación de biomoléculas incluye diversas tecnologías que comenzaron a estudiarse hace más de 50 años, y desde entonces, han experimentado un continuo crecimiento en evidencia de su potencialidad, versatilidad y gama de aplicaciones. Actualmente, la encapsulación desempeña un papel clave en la industria alimentaria, contribuyendo al diseño y desarrollo de alimentos innovadores, con propiedades especiales. Los desarrollos recientes en tecnologías de micro y nano encapsulación resultan herramientas valiosas que permiten estabilizar componentes bioactivos inestables, aumentar la eficacia y mejorar su entrega. Con este trabajo de revisión se pretende visibilizar la potencialidad de la nano y microencapsulación como tecnologías que impulsan la innovación en la industria alimentaria, y a su vez, como una alternativa interesante para la valorización de subproductos agroindustriales y recursos regionales escasamente industrializados.

Palabras clave: Encapsulación, nanotecnología, compuestos bioactivos, funcionalidad

Abstract

Design of biomolecules preservation systems to promote innovation in the food industry

Encapsulation has been around for over 50 years and has experienced continuous growth ever since, in evidence of its potential, versatility and range of applications. Currently, it plays a key role the food industry, contributing to the design and development of innovative food with special properties. Recent developments in micro- and nano-encapsulation technologies are valuable tools that can be used to preserve unstable bioactive components, increase efficacy, and improve the delivery. With this review, we pretend to make visible the potential of nano and microencapsulation as technologies that drive innovation in the food industry, and as interesting alternatives for the valorization of agro-industrial co-products and minimally industrialized regional resources.

Keywords: Encapsulation, nanotechnology, bioactive compounds, functionality

LA ENCAPSULACIÓN COMO HERRAMIENTA DE INNOVACIÓN

La encapsulación se ha descrito como un método por el cual una sustancia es atrapada temporalmente dentro de un material inerte que forma una cubierta, posibilitándose su liberación bajo condiciones específicas o controladas [1]. La sustancia atrapada se denomina comúnmente agente activo, núcleo, relleno o fase interna, mientras que el material circundante se designa como revestimiento, membrana, cubierta externa, material de pared, material portador, fase externa o matriz [2].

Los principales objetivos de la encapsulación se pueden resumir de la siguiente manera [3,4,5]

- Proteger el principio activo de la degradación producida por el medio ambiente (calor, aire, luz, humedad, etc.)
- Modificar las características físicas del material original y facilitar su manipulación. Por ejemplo, reducir la higroscopicidad, mejorar la fluidez, evitar el apelmazamiento, distribuir el material uniformemente en una mezcla, convertir materiales líquidos en polvo, entre otros.

- Enmascarar sabores desagradables.
- Separar componentes para que no reaccionen entre sí.
- Liberación controlada de un principio activo en condiciones específicas (pH, temperatura, etc.).

Los materiales encapsulantes más utilizados para proteger compuestos e ingredientes bioactivos en la industria alimentaria y farmacéutica son las biomoléculas (como proteínas, polisacáridos, gomas, azúcares simples, lípidos, celulosa, entre otros) porque son abundantes en la naturaleza, no tóxicos y tienen baja alergenicidad. Estas moléculas también se pueden combinar entre sí o con otros materiales o componentes para mejorar sus capacidades individuales [6].

Distintos sistemas de encapsulación pueden obtenerse dependiendo del procedimiento de encapsulación utilizado. Las tecnologías de encapsulación pueden clasificarse en nano/micro encapsulación según la escala de tamaño de las partículas resultantes. En cualquiera de los casos, se han descrito dos enfoques principales para la obtención de las partículas; 1) el enfoque *bottom up* (que involucra mecanismos específicos de autoensamblaje de moléculas en la nanoescala y están controlados por fuerza iónica, pH y/o temperatura, entre otros parámetros), y 2) el enfoque *top down* (que implica la aplicación de energía para disminuir el tamaño de las partículas, son en general métodos mecánicos como la molienda, ultrasonido o la ultrahomogeneización).

La selección del proceso de encapsulación apropiado dependerá de múltiples factores, como el tamaño de partícula requerido, las propiedades fisicoquímicas del material de encapsulación y el compuesto activo, el propósito/aplicación del ingrediente encapsulado, la liberación deseada y el costo [3, 7, 8]. Las estructuras resultantes han demostrado gran potencial de aplicación en diversos sectores industriales, incluidas las industrias alimentaria, farmacéutica, cosmética, química y electrónica [9]. En particular, para la industria de los alimentos, la encapsulación constituye una herramienta útil en la modulación de atributos sensoriales (por ejemplo, impartir o enmascarar aromas, colores y sabores), en la transformación de ingredientes (ej. de líquido a sólido para facilitar su manejo), en el aumento de la vida útil, y en la protección y transporte de nutrientes sensibles, con entrega efectiva en el organismo, entre otros, convirtiéndose de este modo en una poderosa herramienta de innovación y diferenciación [10].

ESTABILIDAD Y FUNCIONALIDAD DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

Una sustancia bioactiva es un compuesto capaz de interactuar con uno o más componentes de tejidos u órganos vivos responsables de importantes procesos bioquímicos, lo que resulta en efectos fisiológicos beneficiosos sobre la salud y en funciones corporales específicas. Compuestos como antioxidantes naturales, péptidos bioactivos, ácidos grasos poliinsaturados (p. ej., omega-3), vitaminas y probióticos, constituyen ejemplos frecuentes. La presencia de sustancias bioactivas, ya sea de forma natural, o bien debido a una intervención tecnológica, hace que un alimento sea *funcional*. El interés de los consumidores por productos alimenticios que promuevan beneficios para la salud ha aumentado en forma conjunta con la necesidad de las industrias alimentarias de mejorar su competitividad y desarrollar nuevos productos más complejos, con mayor grado de elaboración y/o valor agregado. Todo esto ha motivado la producción de alimentos especialmente diseñados para apoyar a la salud humana y la prevención de enfermedades [11].

Sin embargo, la incorporación directa de estas sustancias presenta numerosos desafíos. En la mayoría de los casos, tienen una baja estabilidad frente a varios factores como oxígeno, luz, metales y otros componentes alimentarios, son insolubles o bien, imparten atributos sensoriales indeseables afectando negativamente la apariencia, la textura y/o el aroma del producto alimenticio [12]. Además, pueden interactuar con otras sustancias en el tracto digestivo, pudiendo conducir a la degradación, mala absorción, reducida bioaccesibilidad y biodisponibilidad de estos agentes activos [13]. Así, por ejemplo, Vasile y col. [14] propusieron la encapsulación de aceite de pescado en cápsulas de polielectrolitos como estrategia para el enriquecimiento de productos cárnicos (hamburguesas) con ácidos grasos poliinsaturados omega-3. Los encapsulados contribuyeron a una mayor retención de la fracción lipídica de alto valor nutricional, evidenciando una menor oxidación durante la cocción y la conservación a -18 °C. La encapsulación de las enzimas (invertasa) empleando cápsulas de alginato de calcio se estudió incorporando trehalosa y/o quitosano como material de pared. Las cápsulas

liofilizadas conteniendo trehalosa y quitosano resultaron la mejor opción para estabilizar la enzima tanto durante la deshidratación como durante el tratamiento térmico [15, 16].

Ante las dificultades que plantea la incorporación directa de sustancias bioactivas, asegurar la protección de dichos compuestos hasta su correcta disposición constituye un requisito clave en el diseño de alimentos funcionales. En este sentido, si bien la encapsulación permite proteger a los compuestos bioactivos y/o ingredientes de las condiciones ambientales y optimizar las propiedades fisicoquímicas (solubilidad, emulsificación y estabilidad termofísicas) [17], debe garantizarse la entrega y liberación de los compuestos transportados en condiciones controladas [18].

En este contexto, la evaluación de la digestión en condiciones simuladas, constituye una valiosa herramienta para la estimación de los eventos pre-absortivos (digestibilidad y bioaccesibilidad) de los ácidos grasos. Ortega y col. [19] demostraron que el uso de encapsulados con matrices compuestas (alginato/goma) y recubrimiento con quitosano, modula la liberación de ácidos grasos permitiendo un ajuste de la velocidad de hidrólisis, lo cual podría tener implicancia directa sobre funciones fisiológicas (ej. control de saciedad) útiles en el diseño de alimentos con propiedades especiales. Lencina y col., [20] estudiaron la fortificación con hierro de calabazas listas para consumir por impregnación al vacío en soluciones de beta-ciclodextrina (BCD). Los resultados obtenidos mostraron que la encapsulación en ciclodextrinas mejoró la estabilidad del Fe^{2+} durante el procesamiento o almacenamiento, favoreciendo su liberación durante la digestión "*in vitro*" de las calabazas. También se evidenció una mejor percepción sensorial del producto fortificado con gluconato ferroso-BCD.

SUBPRODUCTOS AGROINDUSTIALES Y RECURSOS VEGETALES AUTÓCTONOS COMO FUENTE DE COMPUESTOS BIOACTIVOS O MATERIALES ENCAPSULANTES

La industria alimentaria es un importante consumidor de productos químicos de diferente funcionalidad ya sea como ingredientes específicos o aditivos. Teniendo en cuenta la preocupación actual en relación a la sostenibilidad en la producción de alimentos y los problemas medioambientales, existe un interés creciente en el desarrollo

de nuevos métodos de producción y en favorecer el aprovechamiento de subproductos o fuentes vegetales locales como fuentes de compuesto bioactivos o aditivos [21, 22, 23].

A nivel global, los residuos vegetales agroindustriales constituyen un tercio de los desechos alimentarios, comprendiendo a las pérdidas poscosecha y a los resultantes de la actividad del procesamiento agrícola en general [24]. Pulpas, cáscaras, cortezas, pieles, hojas, tallos y semillas contienen una enorme diversidad de metabolitos secundarios entre los que se incluyen polifenoles, flavonoides, taninos, pigmentos, ácidos orgánicos, vitaminas, fibras, pectinas y aceites esenciales, entre otros [25]. Muchas de estas sustancias son ampliamente reconocidas por su actividad antioxidante, capacidad antimicrobiana o incluso antiinflamatoria, lo cual exige considerar su potencial efecto benéfico en la salud (previenen el estrés oxidativo y diversas enfermedades crónicas relacionadas), o bien, en sistemas alimentarios donde podrían cumplir diversas funciones como aditivos conservantes/estabilizantes [26].

Por otro lado, la diversidad de especies vegetales disponibles en el país ofrece la posibilidad de encontrar compuestos naturales con propiedades específicas, beneficiosas para la salud y capaces de reemplazar ingredientes sintéticos actualmente cuestionados por el consumidor o importados. El aprovechamiento sostenible de recursos vegetales autóctonos/locales actualmente subutilizados, como fuentes de ingredientes, nutrientes y compuestos fisiológicamente activos contribuye a la generación de productos diferenciados con alto valor agregado [22, 27].

En términos generales, los tejidos vegetales constituyen materias primas interesantes para la extracción, separación y estabilización por encapsulación de compuestos fisiológicamente activos y/o tecnofuncionales. El aprovechamiento de nuevas fuentes vegetales y/o subproductos reporta una oportunidad de agregado de valor, posibilitando un uso sostenible de recursos biológicos renovables [28].

Tradicionalmente, el recupero de compuestos útiles a partir de materias vegetales se ha llevado a cabo mediante separaciones sólido-líquido (ej. lixiviación, maceración o percolación), con disolventes orgánicos no-polares (benceno, hexano y éter de petróleo), o de polaridad intermedia (metanol, etanol, acetona) a temperaturas y/o presiones elevadas [28]. En todos los casos, la obtención de compuestos puros mediante técnicas convencionales es limitada debido a la persistencia de subproductos

peligrosos y/o restos de solventes, lo cual hace que sean inadecuados para la industria alimentaria o farmacéutica. Así mismo, la generación de efluentes tóxicos, volátiles e inflamables, el significativo consumo de energía y el mayor tiempo de procesos contribuyen a un inevitable impacto negativo en el entorno y en la salud de las personas [29]. Por otro lado, estos métodos convencionales de extracción presentan en general bajos rendimientos y tiempos de procesamiento prolongados [30].

Ante ello, se ha incorporado recientemente el concepto de extracción "verde o no contaminante", en referencia a aquellos procesos viables, seguros y sostenibles con menor demanda de energía que los convencionales [28], que satisfacen los requisitos de seguridad, economía, productividad y calidad [31]. Entre estos se encuentran las extracciones con fluidos supercríticos, campo eléctrico pulsado, microondas, ultrasonido, enzimas y soluciones acuosas de ciclodextrina [32, 33]. En este contexto, una nueva generación de solventes conocidos como solventes eutécticos profundos (DES), incluidos los solventes eutécticos profundos naturales (NADES), se han delineado como solventes sostenibles y seguros para reemplazar los solventes orgánicos convencionales en la extracción de compuestos bioactivos debido a su excelente biocompatibilidad y baja toxicidad que los hace adecuados para aplicaciones farmacéuticas, cosméticas, agroquímicas y alimentarias. Se trata de mezclas formadas a partir de compuestos aceptores y dadores de enlaces de hidrógeno, cuyas principales características son poseer un punto de fusión inferior al de los componentes puros, una muy baja volatilidad, ser biocompatibles, fáciles de preparar y no tóxicos entre otras [34]. Entre las mezclas más ampliamente estudiadas para esta aplicación, se encuentran las combinaciones de ácidos orgánicos y azúcares o cloruro de colina [35]. Los denominados *métodos verdes* han ganado notable atención, en tanto la extracción de compuestos bioactivos y/o tecnofuncionales a partir de residuos vegetales en cantidad y calidad adecuadas, correcta biodisponibilidad y/o funcionalidad resulta actualmente de gran interés para la industria alimentaria moderna.

Maraulo y col., [33], encontraron que el empleo de soluciones acuosas de BCD en combinación con ultrasonido y agitación, resultó ser un método eficiente y no contaminante para extraer y estabilizar mediante encapsulación/complejación, compuestos bioactivos (antioxidantes) a partir de alperujo de oliva. La extracción de

compuestos bioactivos constituye un aspecto decisivo para su posterior incorporación a alimentos funcionales. En este contexto, la sostenibilidad de las tecnologías de extracción surge como un aspecto fundamental ya que impacta en distintas dimensiones como salud, ambiente y economía.

Por otro lado, como materiales de pared, revestimiento, cubierta o soporte se emplean comúnmente biomoléculas de calidad alimentaria como proteínas y polisacáridos (p. ej., gomas). En forma individual o en combinación, las biomoléculas son materiales atractivos para formular sistemas complejos de encapsulación y administración (por ejemplo, emulsiones, cápsulas y micelas). Los factores económicos, tales como la disponibilidad y el costo, son primordiales en la selección del material encapsulante. En este sentido, resulta interesante el aprovechamiento de vegetales disponibles localmente para obtener nuevos hidrocoloides como alternativas a insumos importados. Con este objetivo, Vasile y col. [36], propusieron el uso de la goma exudada del algarrobo blanco (*Neltuma alba*) de la región NEA como material encapsulante de compuestos hidrofóbicos. Se encontró además que este exudado presenta propiedades funcionales comparables e incluso superiores a la goma arábiga, de alto costo por ser un insumo importado [14, 36].

Muchas características de los encapsulados, como la eficiencia de atrapamiento y estabilidad, son afectadas por el tipo de material de cubierta elegido. En este sentido, los aspectos estructurales, fisicoquímicos y funcionales (propiedades interfaciales, capacidad de gelificación y solubilidad), de los materiales encapsulantes, así como su compatibilidad con los compuestos activos, son factores clave en su eficacia e idoneidad general [37]. Así, por ejemplo, para la estabilización de aceite de pescado se encontró que la goma de *N. alba* presentó buenas propiedades interfaciales y emulsionantes [38], así como interesantes propiedades antioxidantes [39], lo cual constituye un beneficio adicional en el transporte y protección de los sustratos hidrofóbicos susceptibles a la oxidación. Los resultados obtenidos a partir del estudio y caracterización de este exudado para su uso como excipiente/matriz de encapsulación resultan particularmente interesantes. Los resultados podrían promover su explotación y su aplicación tecnológica, afianzándose la goma en el mercado local en reemplazo de productos importados similares.

OBSERVACIONES FINALES Y TENDENCIAS FUTURAS

La encapsulación de compuestos bioactivos constituye una estrategia factible y prometedora para el diseño de nuevos alimentos funcionales. La obtención sostenible de sustancias biológicamente activas y/o materiales encapsulantes a partir de subproductos agroalimentarios, mediante métodos seguros y compatibles con el ambiente, contribuye al desarrollo de una economía alimentaria circular. El mejoramiento de las propiedades físicas y de estabilidad mediante encapsulación, pueden resultar en ingredientes multifuncionales cuya potencialidad se expande rápidamente debido a los avances tecnológicos, la disminución de los costos de producción y la alta demanda de alimentos que promueven la salud. El diseño de micro y nanocápsulas de calidad alimentaria atraen permanentemente la atención de investigadores. Dada la gran variedad de materiales encapsulantes, en términos de origen, estructura química y conformación, de condiciones del proceso y de las sustancias biológicas encapsuladas, hay numerosas posibilidades de diseño y formulación, por lo que se requieren aún más estudios sistemáticos sobre los mecanismos responsables de la estabilización y las variables químicas y físicas que la afectan. También se hace necesario profundizar sobre los efectos fisiológicos y moleculares de los nutraceuticos encapsulados en base a estudios clínicos e *in situ*, que sustenten la efectividad de los bioactivos alimentarios encapsulados en la prevención y tratamiento de enfermedades crónicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] V. Marcillo-Parra, D.S. Tupuna-Yerovi, Z. González & J. Ruales. *Trends Food Sci Technol*, 116, 11–23. (2021).
- [2] J. Burgain, C. Gaiani, M. Linder & J. Scher, *J Food Eng*, 104(4), 467–483. (2011).
- [3] M. Bhatia, Mayuri. Manickam Sivakumar, *Encapsulation of Active Molecules and Their Delivery System*. Elsevier (2020).

- [4] A. López Córdoba, L. Deladino, M. Martino. *Carbohydr Polym.*, 95(1):315–323. (2013).
- [5] C.I. Onwulata, C. I. *Annu Rev Food Sci Technol*, 3(1), 183-202. (2011).
- [6] C. Wandrey, A. Bartkowiak, S.E. Harding. *Materials for Encapsulation. Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing.* Springer New York. (2010).
- [7] A. Munin, F. Edwards-Lévy. *Pharmaceutics*, 3(4), 793-829. (2011).
- [8] I. Khan, K. Saeed & I. Khan. *Arab. J. Chem.*, 12(7), 908-931. (2019).
- [9] J. Rodríguez, M.J. Martín, M.A. Ruiz & B. *Food Res Int*, 83, 41 - 59. (2016).
- [10] M.H. Alu'datt, M. Alrosan, S. Gammoh, C.C. Tranchant, M.N. Alhamad, T. Rababah, & T.C. Tan. *Food Biosc*, 101971. (2022).
- [11] A. Rezvankhah, Z. Emam-Djomeh & G. Askari. *Drying Tech*, 38(1–2), 235–258. (2020).
- [12] K. Banwo, A.O. Olojede, A.T. Adesulu-Dahunsi, D.K. Verma, M. Thakur, S. Tripathy, S. Singh, A.R. Patel, A.K. Gupta, C.N. Aguilar & G.L. Utama, *Food Biosc*, 43 (July), Article 101320. (2021).
- [13] M. Mohammadian, M.I. Waly, M. Moghadam, Z. Emam-Djomeh, M. Salami & A.A. Moosavi-Movahedi. *Food Science and Human Wellness*, 9 (3), 199–213. (2020).

-
- [14] F.E.Vasile, A.M. Romero, M.A. Judis, M.F. Mazzobre. *Food and Bioproc Tech*, 1-11. (2019).
- [15] P.R. Santagapita, Mazzobre, M.F., Buera, M.P.. *Food Research International*, 47: 321-330 (2012).
- [16] P.R. Santagapita,; Mazzobre, M.F.; Buera, M.P.. *Biomacromolecules*, 12(9): 3147–3155 (2011).
- [17] A. Marefati, A. Pitsiladis, E. Oscarsson, N. Ilestam B. & Bergenståhl. *LWT - Food Sci Tech*, 146, (2021).
- [18] C. Jacobsen, P. García-Moreno, A.C. Mendes, R.V. Mateiu & I.S. Chronakis. *Annual Review of Food Sci. Technol.*, 9, 525–549. (2018).
- [19] M.S. Ortega & F.E. Vasile. Tesina presentada para acceder al título de Licenciado en Biotecnología, Universidad Nacional del Chaco Austral. (2017).
- [20] M.S. Lencina, dos Santos Ferreira, Cristina; Archaina, Diego; Gómez, María B.; Mazzobre, María F. *LWT - Food Science and Technology*, 161: 113342 (2022).
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113342>.
- [21] F.J. Barba, Z. Zhu, M. Koubaa, A.S. Sant'Ana, V. Orlie. *Trends in Food Sci. Tech.*, 49, 96–109 (2016).
- [22] B. Gullón, P. Gullón, G. Eibes, C. Cara, A. De Torres, J.C. López-Linares ... & E. Castro, *Sci. of the Total Environment*, 645, 533–542 (2018).

-
- [23] C. Caleja, L.A. Barros, L. Amilcar, A. Ciric, J.C.M. Barreira, M. Sokovic, M. Oliveira, C. Santos-Buelga, I. Ferreira, *J. of Functional Foods*, 16, 114-124 (2015).
- [24] A.K. Jha & N. Sit. *Trends in Food Sci. & Tech.* 119, 579–591. (2021)
- [25] A. Saini, P.S. Panesar & M.B. Bera. *Bioresources Bioprocessing*, 6(1). (2019)
- [26] M. Pateiro, J.A. Gómez-Salazar, M. Jaime-Patlán, M.E. Sosa-Morales & J.M. Lorenzo. *Antioxidants*, 10(2), 1–21. (2021).
- [27] M. Dedousi, V. Mamoudaki, S. Grigorakis, D. Makris, *Environments*, 4(2), 31 (2017).
- [28] P.R. More, A.R. Jambrak & S.S. Arya, *Trends in Food Sci. & Tech.* (2022).
- [29] N.A. Sagar, S. Pareek, S. Sharma, E.M. Yahia & M.G. Lobo. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(3), 512–531. (2018).
- [30] H. Mechqoq, M. El Yaagoubi, S. Momchilova, F. Msanda & N. El Aouad. *Grain & Oil Sci. and Tech.*, 4 (3), 125–130. (2021).
- [31] M. Garcia-Vaquero & B.K. Tiwari. *Oil and Oilseed Processing*, 41–60. (2021).
- [32] V.M. Lavenburg, K.A. Rosentrater & S. Jung. *Processes*, 9 (10), 1–14 Issue. (2021).
- [33] G.E. Maraulo, dos Santos Ferreira, C.; Mazzobre, M.F. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45: 1-13 (2021).

- [34] R. Cai, Y. Yuan, L. Cui, Z. Wang, T. Yue, *Trends Food Sci. Technol.*, 79, 19–27 (2018).
- [35] S. Cretton, A. Oyarzún, D. Righi, L. Sahib, M. Kaiser, P. Christen, V. Fajardo. *Natural Product Res.*32(6) 695-701 (2018).
- [36] F.E. Vasile, M.A. Judis, M.F. Mazzobre. *Carbohydrate Pol.* 166, 309-319. (2017).
- [37] A.A. Karim & R. Bhat. *Food hydrocolloids*, 23(3), 563-576. (2009).
- [38] F.E. Vasile, A.M. Romero, M.A. Judis, M.F. Mazzobre. *Food chem.* 190, 1093-1101. (2016).
- [39] F.E. Vasile, A.M. Romero, M.A. Judis, M. Mattalloni, M.B. Virgolini, M.F. Mazzobre. *Food chem.* (2019).