

ESTRATEGIAS SOSTENIBLES PARA LA VALORIZACIÓN DE LOS RESIDUOS AGROALIMENTARIOS: DE RESIDUOS A RECURSOS

Esther Gómez Mejía, Noelia Rosales Conrado y María Eugenia de León González

Dpto. Química Analítica, Facultad de Química, Universidad Complutense de Madrid  
Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid, España.

E-mail: egomez03@ucm.es, nrosales@ucm.es y leongon@ucm.es

Introducción

La gran cantidad de residuos alimentarios que se generan en todo el mundo ocasionan graves problemas medioambientales, como la generación de gases de efecto invernadero, la ocupación de tierras o la contaminación de las aguas [1]. Por ello, uno de los grandes retos a los que se enfrenta la sociedad actual, es la gestión y el tratamiento sostenible de dichos biorresiduos, tal y como se presenta en el Objetivo 12 de Desarrollo Sostenible de la Agenda 2030 [2].

Desde esta perspectiva, la comunidad científica ha ido aportando diferentes soluciones, que incluyen el uso de tecnologías verdes de procesamiento en combinación con los biorresiduos agroalimentarios para obtener, biocombustibles, biofertilizantes o sustancias bioactivas, entre otros [1,3]. Dentro de los usos mencionados, la valorización de los residuos agroalimentarios para la obtención de compuestos bioactivos naturales es una de las alternativas que ha recibido una mayor atención en los últimos años [4]. Esto se debe principalmente al creciente interés social por la seguridad alimentaria y el bienestar, lo que ha producido un aumento en la demanda de productos de etiqueta limpia, que garantizan una mayor seguridad y promueven posibles efectos saludables [4]. Así, el concepto de economía circular es considerado como una vía crucial para gestionar de manera sostenible dichos residuos, permitiendo la obtención de sustancias naturales bioactivas, que pueden ser empleadas posteriormente para el desarrollo de conservantes, cosméticos o nutracéuticos funcionales (Figura 1).



Figura 1. Esquema de la gestión de biorresiduos agroalimentarios mediante valorización para la recuperación de polifenoles bioactivos.

Un amplio número de estructuras y funcionalidades componen el destacado conjunto de moléculas naturales bioactivas, donde destacan los polifenoles. Los compuestos fenólicos son una familia extensa de fitoquímicos de origen vegetal, reconocidos ampliamente por sus propiedades bioactivas antioxidantes, antiinflamatorias, anti-carcinogénicas, antimicrobianas y neuroprotectoras [5].

Estos fitoquímicos se encuentran, principalmente, en las frutas, las verduras, los cereales, los frutos secos y en algunas bebidas procesadas como el té, la cerveza o el vino. Así, los residuos hortofrutícolas (pieles, cáscaras, huesos, semillas, etc.) han ganado un reconocimiento muy importante como fuentes naturales de polifenoles bioactivos [1].

En este artículo se recogen las metodologías analíticas desarrolladas para la extracción, el análisis y la evaluación de las propiedades bioactivas de los extractos fenólicos, obtenidos a partir de varios residuos de la industria agroalimentaria. Todo ello, enmarcado en el contexto de estrategias sostenibles para la valorización de los biorresiduos de alimentos.

Metodologías para la extracción y determinación de polifenoles a partir de residuos

Una vez identificadas las fuentes de polifenoles a estudiar, el siguiente reto analítico se centra en la extracción y caracterización de los extractos fenólicos. El desarrollo de nuevos métodos de extracción se dirige hacia enfoques más rápidos y respetuosos con el medioambiente, en los que se reduce la cantidad de muestra y el volumen de disolventes orgánicos empleados, al tiempo que se evita la degradación del analito y se aumenta la selectividad [4]. Asimismo, es importante considerar la facilidad de implementación a escala industrial, el coste y la simplicidad del equipamiento de extracción. A este respecto, se ha optado por la extracción convencional sólido-líquido (SLE) asistida por agitación magnética y/o calefacción y la dispersión de matriz en fase sólida (MSPD).

La SLE se ha aplicado para la recuperación de polifenoles a partir de cáscaras de cítricos [6], posos del café [7], levadura de cerveza residual [8] y semillas de la mora y de la uva [9]. Por otro lado, la metodología

MSPD se ha aplicado a orujos de uva [10] y a levadura de cerveza residual [11].

La SLE propuesta es una técnica convencional, muy sencilla y fácil de reproducir a mayor escala. Además, el uso de agitación y calefacción favorece la transferencia de materia del analito, desde la matriz al disolvente, aumentando la eficacia de la extracción [6].

La MSPD desarrollada es una técnica no convencional, donde la matriz es mezclada y triturada junto con un soporte sólido (tierra de diatomeas y nanopartículas (NP) de dióxido de titanio con estructura anatasa), y en la que, posteriormente, los analitos son eluidos con una pequeña cantidad de disolvente. La tierra de diatomeas es un material abrasivo no retentivo que garantiza la disrupción completa de la matriz, liberando los analitos; mientras que las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  favorecen la selectividad y la eficacia de la limpieza, debido a su interacción con los grupos dioles de los polifenoles [10,11]. Por último, como una alternativa más rápida y sencilla a la etapa de limpieza convencional de la extracción en fase sólida (relleno y compactación de cartucho y elución del analito), se desarrolló un método de MSPD asistido por agitación y centrifugación [10,11]. De este modo, tras la dispersión de la muestra con tierra de diatomeas y nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  anatasa, la mezcla sólida se transfiere a un tubo de plástico, donde se añaden 2 mL del disolvente de elución y se agita con vórtex durante 1 minuto. Finalmente, se realiza una centrifugación para separar el sobrenadante de la mezcla formada por el soporte sólido y la matriz.

La **Figura 2** muestra un esquema de los procedimientos desarrollados para la extracción de polifenoles.



**Figura 2.** Esquema de los métodos de extracción sólido-líquido y por dispersión de matriz en fase sólida desarrollados para la recuperación de polifenoles a partir de diferentes biorresiduos agroalimentarios.

Por lo que se refiere a los disolventes de extracción, se han seleccionado sistemas basados en agua o en mezclas etanol-agua debido a su baja toxicidad (son considerados disolventes *Generally Recognise As Safe*) y a su compatibilidad con aplicaciones posteriores para el uso alimentario, nutracéutico o cosmético. Asimismo, conviene destacar que el etanol puede ser obtenido de biorrefinerías y, quizás, recuperado al final del proceso a escala industrial, integrando en mayor medida la economía circular en la valorización de los residuos agroalimentarios [6,10].

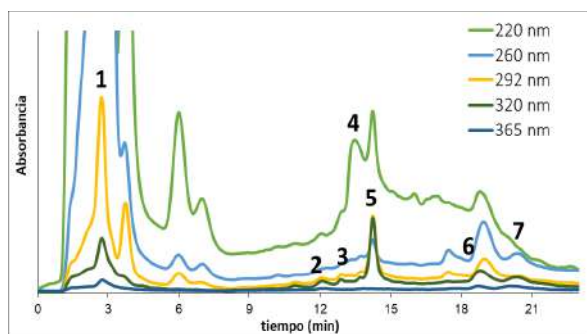
En cuanto al análisis de los extractos fenólicos, se han empleado diferentes métodos espectrofotométricos y cromatográficos.

Los métodos espectrofotométricos permiten estimar el contenido fenólico, ya que se basan en el reconocimiento de grupos estructurales presentes en estos compuestos [13]. Dentro de estos, se encuentra la determinación del contenido total de polifenoles (TPC) por el método Folin-Ciocalteu o la determinación del contenido total de flavonoides (TFC) basado en el método de la complejación del aluminio [8]. Aunque los métodos espectrofotométricos se han utilizado extensamente, su falta de selectividad puede inducir a error y sobreestimar la concentración de polifenoles [6]. Por ello, los métodos cromatográficos basados en la cromatografía líquida de alta eficacia en fase inversa (HPLC), acoplada a detectores de espectrofotometría o analizadores de espectrometría de masas, resultan imprescindibles para identificar y cuantificar individualmente los compuestos fenólicos presentes en las matrices agroalimentarias [12].

De esta manera, se han desarrollado varios métodos dirigidos basados en cromatografía líquida capilar acoplada a detectores espectrofotométricos (cHPLC-DAD) y analizadores de masas (cHPLC-DAD-MS). El uso de la cromatografía capilar, combinada con la técnica de focalización en cabeza de columna, permitió alcanzar una notable sensibilidad ( $\text{LOD} = 0.05 - 62 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  [10]), pudiendo cuantificar concentraciones muy bajas de los compuestos fenólicos. Asimismo, con la finalidad de identificar inequívocamente los compuestos fenólicos extraídos, se ha desarrollado un método de cromatografía líquida acoplada a un analizador de masas de triple cuadrupolo (HPLC-ESI-MS/MS) [6]. En todos los casos, la caracterización de los compuestos fenólicos se realizó comparando los tiempos de retención y los espectros UV-Vis y/o de masas, con los obtenidos para los compuestos estándares.

Complementariamente, se han realizado análisis no dirigidos del perfil fenólico de algunos extractos mediante HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup>, en colaboración con el Instituto Politécnico de Bragança (IPB) [9].

A modo de ejemplo, la **Figura 3** muestra el cromatograma registrado para un extracto de levadura de cerveza residual.



**Figura 3.** Cromatograma cHPLC-DAD de un extracto de levadura de cerveza residual obtenido por MSPD. Asignación de picos: 1-ácido gálico, 2-ácido p-coumárico, 3-ácido trans-ferúlico, 4-rutina, 5-narangina, 6-quercetina, 7-kaempferol.

**Tabla 1.** Métodos de extracción y resultados de la caracterización de los extractos fenólicos de diferentes residuos agroalimentarios.

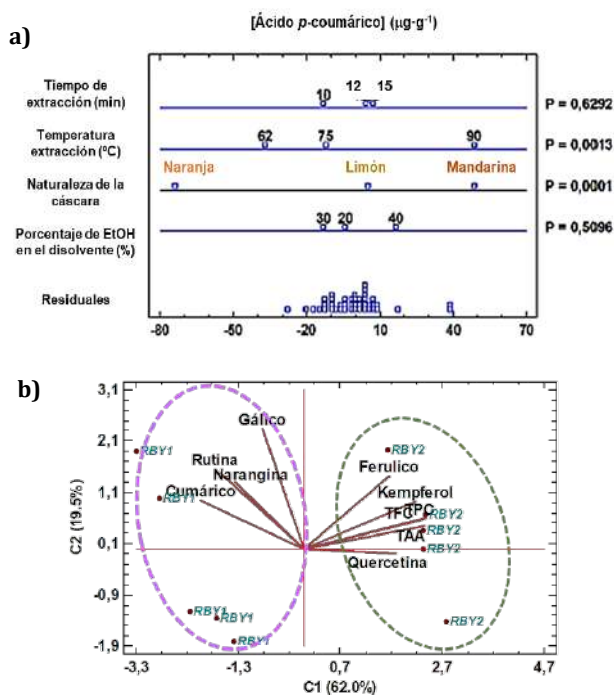
Muestra [Ref.]	Método de Extracción	Técnica instrumental	Polifenol mayoritario (concentración)	TPC, mg EAG·g <sup>-1</sup>	TFC, mg EQ·g <sup>-1</sup>
Cáscara de naranja [6]	SLE Etanol:agua 40:60 (v/v), 10 min, 90 °C, agitación magnética		Hesperidina (498 mg·g <sup>-1</sup> )	3.9	17.6
	SLE Etanol:agua 40:60 (v/v), 15 min, 90 °C, agitación magnética	cHPLC-DAD & HPLC-MS/MS	Hesperidina (673 mg·g <sup>-1</sup> )	5.9	18
Cáscara de limón [6]	SLE Etanol:agua 20:80 (v/v), 15 min, 90 °C, agitación magnética		Hesperidina (673 mg·g <sup>-1</sup> )	5.5	16.5
Posos de café [7]	SLE Etanol:agua 25:75 (v/v), 15 min, 60 °C, agitación magnética	cHPLC-DAD & HPLC-MS/MS	Ácido clorogénico (0.30-4.8 mg·g <sup>-1</sup> )	9-29	11-27
Levadura de cerveza residual [8]	SLE Agua o Etanol:agua 20:80 (v/v), 5 min, 25 °C, agitación magnética		Narangina (0.96-1.2 mg·g <sup>-1</sup> )	0.43 - 2.11	2.7 - 9.9
	SLE Etanol:agua 80:20 (v/v), 1 h, 25 °C, agitación magnética	HPLC-DAD-ESI- MS <sup>a</sup>	Tetrámero de (epi)catequina de tipo B (6.0 mg·g <sup>-1</sup> ) Galotaninos (1.67 mg·g <sup>-1</sup> )	-	-
Semillas de uva [9]	SLE Etanol:agua 80:20 (v/v), 1 h, 25 °C, agitación magnética		Tetrámero de (epi)catequina de tipo B (6.0 mg·g <sup>-1</sup> ) Galotaninos (1.67 mg·g <sup>-1</sup> )	-	-
Semillas de mora [9]	SLE Etanol:agua 80:20 (v/v), 1 h, 25 °C, agitación magnética		Tetrámero de (epi)catequina de tipo B (6.0 mg·g <sup>-1</sup> ) Galotaninos (1.67 mg·g <sup>-1</sup> )	-	-
Orujos de uva [10]	MSPD Etanol:agua 80:20 (v/v), 2 min, 25 °C, 8 mg TiO <sub>2</sub> NP 0.1 g tierra diatomeas	cHPLC-DAD-MS	Catequina (333 μg·g <sup>-1</sup> )	2.4	12.6
Levadura de cerveza residual [11]	MSPD Etanol:agua 60:40 (v/v), 2 min, 25 °C, 10 mg TiO <sub>2</sub> NP 0.1 g tierra diatomeas	cHPLC-DAD & HPLC-MS/MS	Narangina (1.5 mg·g <sup>-1</sup> )	-	-

La **Tabla 1** resume algunos resultados obtenidos en los estudios de caracterización de los extractos fenólicos procedentes de varios residuos agroalimentarios. Como se puede observar, los extractos de las cáscaras de los cítricos (naranja, limón y mandarina) y de la levadura de cerveza residual son ricos en las flavononas hesperidina y narangina, y particularmente, las cáscaras de mandarina y de limón, que alcanzaron concentraciones de hesperidina superiores a los 600 mg·g<sup>-1</sup>. Por otro lado, los residuos de la uva (orujos y semillas) son una fuente abundante del flavonol catequina y sus derivados poliméricos. Sin embargo, los posos del café destacaron por su mayor concentración en ácidos fenólicos como el ácido clorogénico, y las semillas de la mora por su abundancia en taninos hidrolizables.

Con relación al TPC y TFC, los mayores índices fueron estimados para los posos del café y las cáscaras de los cítricos, seguidos de los extractos de los orujos de la uva y, finalmente, de la levadura de cerveza residual (**Tabla 1**). Conviene destacar, además, que la levadura de cerveza residual no es una fuente natural de polifenoles, ya que estos compuestos tienen un origen vegetal, por lo que cabría esperar que tanto los índices totales como el contenido individual de polifenoles fuera inferior en este residuo [11].

Finalmente, es de reseñar la importancia y utilidad de las herramientas quimiométricas en estos estudios. Por un lado, el diseño experimental y el análisis de superficie de respuesta han sido imprescindibles para reconocer los factores experimentales más relevantes, en cuanto a la eficacia de la extracción, y para seleccionar las condiciones óptimas encaminadas a maximizar la recuperación de uno o varios polifenoles, a partir de los biorresiduos [6,7,10,11]. Análogamente, el Análisis de la Varianza (ANOVA) multifactorial ha sido de gran utilidad para establecer la influencia de los factores experimentales evaluados en la eficacia de la extracción (tiempo, temperatura, disolvente, etc.), tal y como se muestra en la **Figura 4a**.

Por otro lado, el análisis de componentes principales (PCA) ha permitido caracterizar y clasificar los residuos evaluados en base a sus contenidos fenólicos (concentración individual de polifenoles, TPC y TFC) y/o propiedades bioactivas (capacidad antioxidante, antimicrobiana, etc.) [7,8]. A modo de ejemplo, la **Figura 4b** muestra el diferente patrón de comportamiento de dos levaduras de cerveza residual (RBY) en cuanto al perfil fenólico de sus extractos, tras un análisis de datos por PCA. Así, la RBY 1 fue más rica en ácido cumárico, narangina y rutina, mientras que la RBY2 destacó por su contenido en quercetina, kaempferol y ferúlico, además de presentar mayores contenidos totales de polifenoles y flavonoides y capacidad antioxidante.



**Figura 4. a)** Gráfico ANOVA multifactorial de la influencia de los parámetros de extracción (tiempo, temperatura y disolvente de extracción) y del tipo de cáscara en el contenido recuperado del ácido p-cumárico. Figura adaptada de Gómez-Mejía et al. 2019 [6]. **b)** Bigráfica de la evaluación de la relación entre las levaduras de cerveza residual (RBY1 y RBY2), los polifenoles individuales, el contenido total de flavonoides y de polifenoles y la actividad antioxidante (TAA). Figura obtenida a partir de los datos presentados por León-González et al. 2018 [8].

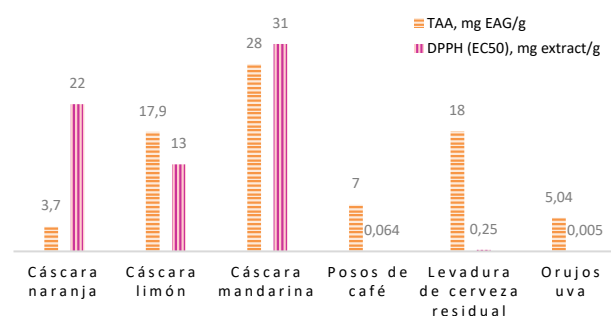
### Evaluación de las propiedades bioactivas de los extractos de los biorresiduos

Una vez extraídos y caracterizados los extractos fenólicos de los residuos agroalimentarios, es importante estudiar su bioactividad. La evaluación de la actividad antioxidante, anti-proliferativa o anti-inflamatoria o la inhibición del crecimiento bacteriano, entre otras, sirven de guía para estimar la calidad y la aplicación potencial de los extractos en la industria alimentaria, cosmética o nutracéutica [9,10].

La actividad antioxidante es una de las propiedades más características de los polifenoles y, por tanto, es indispensable en la valorización de los extractos fenólicos procedentes de los biorresiduos.

Existen diversos métodos para su determinación: la capacidad para donar electrones se puede establecer a partir del método de la actividad antioxidante total (TAA), basado en la reducción de Mo(VI), y del método de neutralización de los radicales libres DPPH. Por otro lado, se pueden llevar a cabo estudios *in vitro* como el ensayo de sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) o el ensayo de la inhibición de la hemólisis (OxHLIA). Ambos son estudios basados en tejidos biológicos, que permiten evaluar, respectivamente, la inhibición de la peroxidación lipídica y el retraso en la ruptura de la membrana de los eritrocitos por la acción de radicales libres.

En la **Figura 5** se recogen los resultados experimentales de la actividad antioxidante de algunos extractos fenólicos analizados. Los mayores valores de TAA se obtuvieron para las cáscaras de mandarina, limón y la levadura de cerveza residual ( $17,9\text{-}28\text{ mg GAE}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Análogamente, la levadura de cerveza mostró una alta efectividad frente a los radicales libres DPPH ( $\text{EC}_{50} = 0,25\text{ mg extracto}\cdot\text{g}^{-1}$ ), destacando también los orujos de la uva y los posos del café ( $\text{EC}_{50} < 0,07\text{ mg extracto}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Por lo que respecta a los ensayos *in vitro*, estos solo se realizaron en el estudio de los residuos vitivinícolas y de la mora [9,10], donde se obtuvieron valores de  $\text{EC}_{50}$  menores ( $\text{TBARS} = 23\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  y  $\text{OxHLIA } \Delta t_{60\text{ min}} = 46\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) en los extractos fenólicos de las semillas de la mora, debido a su mayor contenido en galotaninos [9]. Estos resultados demuestran la aplicación potencial de los extractos evaluados para el desarrollo de ingredientes antioxidantes o envases activos que alarguen la vida útil de los alimentos y los productos cosméticos [6,8,9].



**Figura 5.** Actividad antioxidante de diferentes residuos agroalimentarios. TAA-Actividad Antioxidante Total; DPPH-inhibición del radical DPPH [6–8,10,11].

Otra de las bioactividades más destacables, es la capacidad antibacteriana de los extractos fenólicos. La resistencia de las bacterias y hongos a los antibióticos es un problema creciente en la actualidad, de modo que el estudio de su inhibición por parte de los polifenoles es de gran interés. Para ello, se ha empleado el método de microdilución combinado con la tinción con cloruro de yodonitrotetrazodionium [9], cuantificando la concentración mínima que inhibe el crecimiento bacteriano (MIC). Esta metodología se ha aplicado a los extractos de los residuos de la uva y de la mora en bacterias relacionadas con el ámbito alimentario (ej: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*) y clínico (ej: *Enterococcus faecalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, etc.). A partir de los ensayos realizados, se concluyó que no había diferencias en la actividad antibacteriana de los extractos fenólicos de las semillas de la mora y de la uva, siendo el *S. aureus Multi-resistente* la bacteria más sensible ( $\text{MIC} = 5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) [9]. Por otro lado, los extractos de los residuos de la uva fueron altamente eficaces frente a las bacterias alimentarias *E. coli* y *S. aureus*, con valores  $\text{MIC} < 9,53\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  [10]. Así, los extractos fenólicos evaluados podrían ser empleados para el desarrollo de ingredientes antibacterianos en la industria cosmética, alimentaria e incluso farmacéutica.

## Conclusiones

La valorización de los residuos agroalimentarios para la producción de ingredientes antioxidantes y antimicrobianos con beneficios para la salud es una estrategia sostenible que puede apoyar a la economía circular y ayudar a abordar uno de los principales retos a los que se enfrenta la sociedad actual, esto es, la gestión de grandes cantidades de residuos agroalimentarios.

Así, el empleo de metodologías basadas en sistemas de extracción sólido-líquido asistidos por agitación y/o calefacción y sistemas de dispersión de matriz en fase sólida empleados mezclas hidro-etanoicas, han demostrado ser eficaces, útiles y versátiles para la recuperación de polifenoles de alta valor añadido en una amplia gama de biorresiduos.

En general, los resultados obtenidos apoyan la recuperación de compuestos bioactivos como una estrategia rentable y sostenible, con unas perspectivas de futuro muy prometedoras.

## Agradecimientos

Esta investigación es financiada por el programa Comunidad de Madrid/FEDER [S2018/BAA-4393, AVANSECAL II-CM], el Ministerio de Ciencia español [proyecto PID2020-114714RB-I00], y la Universidad Complutense de Madrid mediante una beca predoctoral [CT17/17-CT18/17]. Asimismo, agradecer al Instituto Politécnico de Bragança (IPB) por su apoyo y contribución científica.

## Referencias

- [1] N. Jiménez-Moreno, I. Esparza, F. Bimbela, L.M. Gandía, C. Ancín-Azpilicueta, Valorization of selected fruit and vegetable wastes as bioactive compounds: Opportunities and challenges, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 50 (2020) 2061–2108. <https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1694819>.
- [2] United Nations (UN), Transforming our World: The 2030 Agenda for Sustainable Development. <https://sustainabledevelopment.un.org/content/documents/21252030%20Agenda%20for%20Sustainable%20Development%20web.pdf>, 2015.
- [3] C. Du, J.J. Abdullah, D. Greetham, D. Fu, M. Yu, L. Ren, S. Li, D. Lu, Valorization of food waste into biofertiliser and its field application, *Journal of Cleaner Production*. 187 (2018) 273–284. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.03.211>.
- [4] J.M. Poveda, L. Loarce, M. Alarcón, M.C. Díaz-Maroto, M.E. Alañón, Revalorization of winery by-products as source of natural preservatives obtained by means of green extraction techniques, *Industrial Crops and Products*. 112 (2018) 617–625. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.063>.
- [5] A. Belščak-Cvitanović, K. Durgo, A. Huđek, V. Bačun-Družina, D. Komes, Overview of polyphenols and their properties, *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications*. (2018) 3–44. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813572-3.00001-4>.
- [6] E. Gómez-Mejía, N. Rosales-Conrado, M.E. León-González, Y. Madrid, Citrus peels waste as a source of value-added compounds: Extraction and quantification of bioactive polyphenols, *Food Chemistry*. 295 (2019) 289–299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.136>.
- [7] M. Ramón-Gonçalves, E. Gómez-Mejía, N. Rosales-Conrado, M.E. León-González, Y. Madrid, Extraction, identification and quantification of polyphenols from spent coffee grounds by chromatographic methods and chemometric analyses, *Waste Management*. 96 (2019) 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.07.009>.
- [8] M.E. León-González, E. Gómez-Mejía, N. Rosales-Conrado, Y. Madrid-Albarrán, Residual brewing yeast as a source of polyphenols: Extraction, identification and quantification by chromatographic and chemometric tools, *Food Chemistry*. 267 (2018) 246–254. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.141>.
- [9] E. Gómez-Mejía, C.L. Roriz, S.A. Heleno, R. Calhella, M.I. Dias, J. Pinela, N. Rosales-Conrado, M.E. León-González, I.C.F.R. Ferreira, L. Barros, Valorisation of black mulberry and grape seeds: Chemical characterization and bioactive potential, *Food Chemistry*. 337 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127998>.
- [10] E. Gómez-Mejía, L.H. Mikkelsen, N. Rosales-Conrado, M.E. León-González, Y. Madrid, A combined approach based on matrix solid-phase dispersion extraction assisted by titanium dioxide nanoparticles and liquid chromatography to determine polyphenols from grape residues, *Journal of Chromatography A*. 1644 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462128>.
- [11] E. Gómez-Mejía, N. Rosales-Conrado, M.E. León-González, Y. Madrid, Determination of phenolic compounds in residual brewing yeast using matrix solid-phase dispersion extraction assisted by titanium dioxide nanoparticles, *Journal of Chromatography A*. 1601 (2019) 255–265. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.05.009>.
- [12] M. Naczki, F. Shahidi, Extraction and analysis of phenolics in food, *Journal of Chromatography A*. 1054 (2004) 95–111. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>.