

IX congresso ibérico de  
**AGROENGENHARIA**  
IX congresso ibérico de  
**AGROINGENIERÍA**

---

**livro de atas · libro de actas**

organização · organización



Sociedad Española de Agroingeniería

**IX Congresso Ibérico de Agroengenharia**

**IX Congreso Ibérico de Agroingeniería**

**Livro de Atas**

**Libro de Actas**

**Título: IX Congresso Ibérico de Agroengenharia: Livro de Atas = IX Congreso Ibérico de Agroingeniería: Libro de Actas**

**Editores: José Carlos Barbosa      Instituto Politécnico de Bragança, Portugal**  
**António Castro Ribeiro      Instituto Politécnico de Bragança, Portugal**

**Execução gráfica: Serviços de Imagem do Instituto Politécnico de Bragança**

**Edição: 1ª edição, 2018**

**Instituto Politécnico de Bragança**  
**Campus de Santa Apolónia 5300-253 Bragança, Portugal**

**ISBN 978-972-745-247-7**

**DOI: <https://doi.org/10.34620/9cia.2018>**

**URI: <http://hdl.handle.net/10198/17982>**

Por favor, use o seguinte formato para citação dos trabalhos apresentados nestas Atas:

Autor(s) (2018). Título. In: J. C. Barbosa, A. C. Ribeiro (Eds.) Atas do IX Congresso Ibérico de Agroengenharia. Bragança, Instituto Politécnico de Bragança, pp. xxx-xxx.

Please, use the following format for citation:

Author(s) (2018). Title. In: J. C. Barbosa, A. C. Ribeiro (Eds.) Atas do IX Congresso Ibérico de Agroengenharia. Bragança, Instituto Politécnico de Bragança, pp. xxx-xxx.

## patrocinadores



Centro de Investigação  
de Montanha

**TERMOLAN**  
ISOLAMENTOS TERMO-ACÚSTICOS, S.A.



Os trabalhos incluídos nestas Atas foram apresentados no IX Congresso Ibérico de Agroengenharia que se realizou de 4 a 6 de setembro de 2017, na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança. Todos os trabalhos publicados foram sujeitos a revisão por pares, pela Comissão Científica deste Congresso.

Os textos publicados nestas Atas exprimem as ideias, pensamento e a obra dos autores, e são publicados na forma como foram apresentados. Alguns trabalhos apresentados durante o congresso podem não estar inseridos nesta publicação.

Na publicação destas Atas, os trabalhos estão agrupados por Área Temática.

## **Apresentação**

Nestas Atas publicam-se os trabalhos apresentados no IX Congresso Ibérico de Agroengenharia que se realizou de 4 a 6 de setembro de 2017, na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança.

Este congresso foi organizado conjuntamente pela Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, pela Secção Especializada de Engenharia Rural da Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal e pela Sociedad Española de Agroingeniería.

No IX Congresso Ibérico de Agroengenharia foram apresentadas cento e três comunicações orais e cinquenta e duas comunicações em forma de poster.

As comunicações estão distribuídas pelas dez áreas temáticas do congresso: Construções; Energia; Inovação Educativa em Agroengenharia; Mecanização; Tecnologia da Produção Animal e Aquicultura; Tecnologia Pós-colheita; Projetos, Meio Ambiente e Território; Solos e Águas; Tecnologias de Informação e Controlo de Processos; e Agricultura de Montanha.

Durante o IX Congresso Ibérico de Agroengenharia foram analisadas as mais avançadas inovações técnicas e metodológicas na área da Agroengenharia. Foram apresentadas comunicações orais e posters sobre o uso eficiente da água, energia e outros recursos, sustentabilidade, controlo de erosão, tratamento e valorização de resíduos, uso de TIC e tecnologias emergentes e qualidade da produção.

Nas várias sessões do congresso foram apresentados diversos trabalhos, de onde sobressaem temas relacionados com :

- a aplicação eficiente de fitossanitários e os avanços em operações mecanizadas;
- o uso eficiente da água e de novas técnicas de tratamento de águas residuais;
- a utilização de ferramentas de Zootecnia de precisão com aplicação na melhoria da eficiência de utilização dos recursos alimentares, do bem-estar animal e no controlo ambiental das instalações pecuárias;
- as novas tecnologias informáticas para modelação e simulação e o desenvolvimento de materiais sustentáveis incluindo a construção com madeira;
- o emprego de resíduos para a produção de energia, bem como a utilização sustentável da energia enquanto fator de produção;
- o uso de imagens de teledeteção e novas aplicações SIG;
- técnicas avançadas, como a interferometria, e a sua aplicação em soluções para temas sociais, culturais e económicos;
- o controlo e qualidade, e o uso de técnicas como a espectroscopia e a irradiação com vista à valorização dos produtos;
- o controlo da erosão e o uso de TIC (tecnologias de informação e comunicação) na gestão florestal.
- a possibilidade de colaboração entre disciplinas e o uso de plataformas avançadas na formação online, tendo em vista a inovação educativa em Agroengenharia.

De todas estas sessões sobressai a conclusão da importância da Agroengenharia na melhoria e modernização dos sectores produtivos, no desenvolvimento rural e na qualidade, segurança e sustentabilidade da produção de alimentos.

## **Presentación**

En este libro de Actas se publican los trabajos presentados en el IX Congreso Ibérico de Agroingeniería que se ha realizado del 4 al 6 de Septiembre de 2017 en Braganza, Portugal, en las instalaciones de la Escola Superior Agrária del Instituto Politécnico de Braganza.

Este congresso se organizó conjuntamente por la Escola Superior Agrária de Bragança, la Secção Especializada de Engenharia Rural de la Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal, y por la Sociedad Española de Agroingeniería.

En el IX Congreso Ibérico de Agroingeniería se han presentado ciento tres comunicaciones orales y cincuenta y dos comunicaciones en formato poster.

Las comunicaciones presentadas abarcan las diez áreas temáticas del congreso: Construcción; Energía; Innovación Educativa en Agroingeniería; Mecanización; Tecnología de la Producción Animal y Acuicultura; Tecnología Poscosecha; Proyectos, Medio Ambiente y Territorio; Suelos y Aguas; Tecnologías de la Información y Control de Procesos; y Agricultura de Montaña.

Durante el IX Congreso Ibérico de Agroingeniería se analizaron las más avanzadas innovaciones técnicas y metodológicas del área de la Agroingeniería. Se presentaron comunicaciones orales y paneles sobre el uso eficiente del agua, energía y otros recursos, sustentabilidad, control de la erosión, tratamiento y valorización de residuos, uso de TIC y tecnologías emergentes y calidad de la producción.

En las varias sesiones del congreso se presentaron diversos trabajos, donde se destacan temas relacionados con:

- la aplicación eficiente de fitosanitarios y los avances en operaciones mecanizadas
- el uso eficiente del agua y de nuevas técnicas de tratamiento de aguas residuales
- la utilización de herramientas de Zootecnia de precisión con aplicación en la mejora de la eficiencia de utilización de los recursos alimenticios, del bienestar animal y en el control ambiental de las instalaciones pecuarias
- las nuevas tecnologías informáticas para modelación y simulación y el desarrollo de materiales sostenibles incluyendo la construcción en madera;
- el empleo de residuos para la producción de energía, así como otros temas de utilización sostenible de la energía como factor de producción;
- el uso de imágenes de teledetección y nuevas aplicaciones SIG;
- técnicas avanzadas como la interferometría, y su aplicación en soluciones para temas sociales, culturales y económicos;
- el control y calidad y el uso de técnicas como la espectroscopía y la radiación con vistas a valorar los productos
- el control de la erosión y el uso de TIC en la gestión forestal;
- la posibilidad de colaboración entre disciplinas y el uso de plataformas avanzadas en la formación on-line, teniendo en cuenta la innovación educativa en Agroingeniería

De todas estas sesiones se destaca la conclusión de la importancia de la Agroingeniería en la mejora y modernización de los sectores productivos, en el desarrollo rural y en la calidad, seguridad y sostenibilidad de la producción de alimentos.

## **Presentation**

These Proceedings publishes the works presented at the IX Iberian Congress of Agricultural Engineering, held in Braganza, Portugal, from 4 to 6 of September 2017.

The Congress was organized by School of Agriculture – Polytechnic Institute of Bragança, in collaboration with the Portuguese Specialized Section of Rural Engineering/SCAP and the Spanish Society of Agricultural Engineering .

There were presented one hundred and three oral presentations and fifty two poster presentations, covering the main fields of interest of Agricultural Engineering.

Presentations were distributed in ten thematic areas: farm building structures and environment, energy and sustainability, innovation in agricultural engineering higher education, machinery and mechanization, animal production and aquaculture technologies, post-harvest and agri-food processing, engineering and rural landscape, soil and water, information technology and agricultural processes, mountain agriculture development.

During the various technical sessions, were analyzed the most advanced techniques and methodologies in agricultural engineering.

## **Comissão Organizadora / Comité Organizador**

Presidente:

José Carlos Barbosa

Vice-presidente / Vicepresidente:

António Castro Ribeiro

Vogais / Vocales:

Arlindo Almeida

Maria José Miranda Arabolaza

Fátima Batista

José Luis García Fernández

João Verdial Andrade

Luis Leopoldo Silva

Carmen Rocamora Osorio

Álvaro César

Francisco Javier García Ramos

## **Organização / Organización**

Escola Superior Agrária - Instituto Politécnico de Bragança

Secção Especializada de Engenharia Rural - Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal

Sociedad Española de Agroingeniería

## **Patrocinadores e Apoios / Patrocinadores e Apoyos**

EurAgEng - European Society for Agricultural Engineers

CIMO - Centro de Investigação de Montanha

Termolan - Isolamentos Termo-Acústicos, S.A. / Rocterm

Vórtice - Equipamentos Científicos, Lda.

Fundação Caixa CA - Crédito Agrícola

Câmara Municipal de Bragança

## **Comissão Científica / Comité Científico**

Presidente: Vasco Fitas da Cruz – Universidade de Évora/ICAAM  
Adélia de Sousa – Universidade de Évora/ICAAM  
Alfredo Augusto de Carvalho Aires - UTAD / CITAB  
Álvaro Ramírez Gómez – Universidad Politécnica de Madrid  
Ana Cristina Santos – Universidade de Évora/ICAAM  
Ana Isabel García García – Universidad Politécnica de Madrid  
Ana Martí de Olives – Universidad Miguel Hernández  
Andrés Martínez Rodríguez – Universidad de Valladolid  
António Bento Dias – Universidade de Évora/ICAAM  
Antonio Brasa Ramos – Universidad de Castilla – La Mancha  
Antonio Castro Ribeiro – Instituto Politécnico de Bragança  
Antonio Ruiz Canales – Universidad Miguel Hernández de Elche  
Antonio Torregrosa Mira – Universidad Politécnica de Valencia  
Arlindo Ferreira de Almeida – Instituto Politécnico de Bragança  
Bernardo Martín Gorriz – Universidad Politécnica de Cartagena  
Carmen Rocamora - Universidad Miguel Hernández  
Coral Ortíz Sánchez – Universidad Politécnica de Valencia  
Divanildo Outor Monteiro – UTAD  
Elsa Cristina Dantas Ramalhosa ESA / IPB  
Emilio Camacho Poyato – Universidad de Córdoba  
Emilio Gil Moya – Universidad Politécnica de Cataluña  
Enrique Ortí García – Universidad Politécnica de Valencia  
Enrique Relea Gangas – Universidad de Valladolid  
Esperanza Ayuga Téllez – Universidad Politécnica de Madrid  
Eugenio García Marí – Universidad Politécnica de Valencia  
Fátima Baptista – Universidade de Évora/ICAAM  
Fernando Augusto dos Santos – UTAD  
Francisco Ayuga Téllez – Universidad Politécnica de Madrid  
Francisco Javier García Ramos – Universidad de Zaragoza  
Francisco Lúcio dos Santos – Universidade de Évora/ICAAM  
Francisco Rodríguez Díaz – Universidad de Almería  
Francisco Rovira Más- Universidad Politécnica de Valencia  
Henrique Manuel da Fonseca Trindade – UTAD/CITAB  
Ignacio Díaz-Maroto – Universidad de Santiago de Compostela.  
Jaime Pires – CIMO- Centro de Investigação da Montanha, IPB  
João Manuel Serrano – Universidade de Évora/ICAAM  
José Alberto Pereira – Instituto Politécnico de Bragança  
José Antonio Flores Yepes – Universidad Miguel Hernández de Elche  
José Blasco Ivars – Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias  
José Carlos Barbosa – Instituto Politécnico de Bragança  
José Luís Garcia - Universidad Politécnica de Madrid

José Luis Torres Escribano – Universidad Pública de Navarra  
José Manuel Gonçalves – Instituto Politécnico de Coimbra  
José María Tarjuelo Martín-Benito – Universidad de Castilla-La Mancha  
José Rafael Marques da Silva – Universidade de Évora/ICAAM  
Luis Leopoldo Silva – Universidade de Évora/ICAAM  
Luis Manuel Navas Gracia – Universidad de Valladolid  
Luis Val Manterola – Universidad Politécnica de Valencia  
Manuel Joaquim da Costa Minhoto – Instituto Politécnico de Bragança  
Manuel Moya Ignacio – Universidad de Extremadura  
Manuel Pérez Ruiz – Universidade de Sevilla  
Margarida Maria Arrobas Rodrigues – ESA-IPB/CIMO  
Margarita Ruiz Altisent – Universidad Politécnica de Madrid  
María Ángeles Grande Ortíz – Universidad Politécnica de Madrid  
Mariano Suarez de Cepeda Martínez – Universidad de Castilla-La Mancha  
Martín Barrasa Rioja – Universidad de Santiago de Compostela  
Miguel Ángel Moreno Hidalgo – Universidad de Castilla-La Mancha  
Miguel Angel Muñoz García – Universidad Politécnica de Madrid  
Montano Pérez Teruel – Universidad Politécnica de Valencia  
Morris Villarroel Robinson – Universidad Politécnica de Madrid  
Pablo Melgarejo Moreno – Universidad Miguel Hernández  
Pablo Zarco Tejada – IAS, Consejo Superior de Investigaciones Científicas  
Ricardo Suay Cortés – INRA, Sophia-Antipolis, Francia  
Rosa Penélope Gutiérrez Colomer – Universidad Politécnica de Valencia  
Rosario Castro Abengoza – Universidad de León  
Salvador Calvet Sanz – Universidad Politécnica de Valencia  
Victoriano Martínez Álvarez – Universidad Politécnica de Cartagena

Aplicación de la fotogrametría métrica para el cálculo del porcentaje de cubierta vegetal del cultivo de lechuga	1225
José Cordero Gracia, Cesáreo Bas Vivancos, Francisco Javier Mesas Carrascosa, Antonio Ruiz Canales	
<b>Área Temática: Agricultura de Montanha / Agricultura de Montaña</b>	<b>1234</b>
Aparición de la agricultura en las montañas orientales gallegas versus declive del área cubierta por bosques de frondosas caducifolias autóctonas	1235
Ignacio J. Díaz-Maroto, María Consuelo Díaz-Maroto	
Planificación y gestión de los bosques de frondosas caducifolias en la montaña oriental gallega (Ancares-O Courel)	1241
Ignacio J. Díaz-Maroto, María Consuelo Díaz-Maroto	
Obtenção de conservantes e bioativos a partir de matrizes naturais e sua aplicação em produtos alimentares	1247
Caleja, Cristina; Dias, Maria Inês; Pires, Tânia C.S.P.; Roriz, Custódio; Barros, Lillian; Oliveira, M. Beatriz P.P.; Barreiro, Maria Filomena; Ferreira, Isabel C.F.R	
Análise da utilização das ferramentas FlorNEXt® e FlorNEXt Pro® e do seu possível impacto na gestão florestal do Nordeste Trasmontano	1257
Marcelo Fagundes, Luis Nunes, João C. Azevedo, Fernando Perez-Rodríguez	
Short-term response of the canopy arthropod community to fire in a Portuguese olive grove	1266
David Barreales, Sónia A.P. Santos, Márcio Capelo, José A. Pereira, Jacinto Benhadi-Marín	
Eficácia no controlo da erosão de medidas de gestão do solo baseadas em coberturas herbáceas: simulações para a viticultura do Douro, Portugal	1271
Tomás de Figueiredo, Zulimar Hernández, Felícia Fonseca, Jean Poesen	
Produtividade e azoto recuperado de diversas proteaginosas cultivadas em sequeiro e regadio no Nordeste de Portugal	1279
Rosalino Viegas, Margarida Arrobas, M Ângelo Rodrigues	
Resposta do trigo a sementes tratadas com zinco e aplicação de zinco ao solo	1290
Margarida Arrobas, Sandra Afonso, José Norberto P. Coutinho, Fernando Lidon, Ana Sofia Almeida, Fernando Reboredo, Maria Fernanda Pessoa, Paula Scotti, José Semedo, Isabel Pais, M. Ângelo Rodrigues	

## Obtenção de conservantes e bioativos a partir de matrizes naturais e sua aplicação em produtos alimentares

Caleja, Cristina<sup>1,2,3</sup>; Dias, Maria Inês<sup>1</sup>; Pires, Tânia C.S.P.<sup>1,3</sup>; Roriz, Custódio<sup>1,4</sup>; Barros, Lillian<sup>1</sup>, Oliveira, M. Beatriz P.P.<sup>3</sup>; Barreiro, Maria Filomena<sup>2</sup>; Ferreira, Isabel C.F.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal, tania.pires@ipb.pt; cmlobo@ipb.pt; ccaleja@ipb.pt; maria.ines@ipb.pt; iferreira@ipb.pt

<sup>2</sup> Laboratório de Separação e Engenharia das Reações (LSRE), Laboratório Associado LSRE/LCM, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal, barreiro@ipb.pt

<sup>3</sup> REQUIMTE/LAQV, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Portugal, beatoliv@ff.up.pt

<sup>4</sup> Dpto. Nutrición y Bromatología II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid (UCM), Pza Ramón y Cajal, s/n, E-28040 Madrid, Spain

### Resumo

Os efeitos nocivos de alguns aditivos sintéticos preocupam cada vez mais os consumidores, impulsionando uma tendência crescente para a sua substituição por compostos/extratos de origem natural. No presente trabalho, foram desenvolvidos dois protocolos de incorporação de extratos naturais em alimentos, visando obter efeitos de conservação e de funcionalização do produto final. O 1º protocolo consistiu na incorporação de um extrato obtido a partir da decocção de *Foeniculum vulgare* Mill. (funcho) e *Matricaria recutita* L. (camomila), na sua forma livre, em iogurtes, não se tendo verificado alterações significativas do seu valor nutricional e propriedades organolépticas, quando comparadas com amostras aditivadas com um conservante sintético (sorbato de potássio, E202). No entanto, verificou-se que os iogurtes incorporados com os extratos de funcho e camomila apresentaram atividade antioxidante superior. No 2º protocolo fez-se a incorporação de microesferas de alginato enriquecidas com o extrato obtido a partir da infusão de *Fragaria vesca* L. silvestre (morangueiro) em gelatinas. As microesferas produzidas apresentaram forma esférica, uma eficiência de encapsulação de 95% e capacidade de reidratação adequada. A dissolução da *k*-carragenina a temperaturas elevadas não afetou a integridade das microesferas. A atividade antioxidante dos extratos protegidos foi, assim, preservada comparativamente à sua forma livre. Este trabalho mostrou que os extratos aquosos de funcho e camomila apresentam potencial para o desenvolvimento de conservantes naturais, enquanto que os extratos de morangueiro silvestre são alternativas de interesse para a formulação de novos produtos nutracêuticos.

**Palavras-chave:** *Foeniculum vulgare* Mill., *Matricaria recutita* L., *Fragaria vesca* L., conservantes, bioativos

## Obtaining preservatives and bioactives from natural matrices and their application in food products

### Abstract

The harmful effects of some synthetic additives are increasingly concerning some consumers, motivating a growing trend for their replacement by natural compounds/extracts. In the present work, two protocols were developed to incorporate natural extracts in food matrices to confer conservation and bioactive effects to the final product. The first protocol was the addition of an extract obtained from the decoction of *Foeniculum vulgare* Mill. (fennel) and *Matricaria recutita* L. (Chamomile), in the free form, in yogurts. No significant changes of their nutritional value and organoleptic properties were observed when compared with samples with a synthetic preservative (potassium sorbate E202). However, it was possible to confirm that yogurts incorporated with fennel and chamomile extracts exhibited higher antioxidant activity. The second protocol was the incorporation of alginate microspheres enriched with an extract obtained from the infusion of wild

*Fragaria vesca* L. (strawberry) in gelatine. The microspheres produced presented spherical shape, encapsulation efficiency of 95% and proper rehydration. The dissolution of the k-carrageenan at high temperatures did not affect the integrity of the microspheres. The antioxidant activity of the protected extract was preserved when compared with the free form. Overall, this work showed the potential of aqueous extracts of fennel and chamomile to be used in the development of natural preservatives, while wild strawberry extracts are an interest alternative for formulating new nutraceuticals products.

**Keywords:** *Foeniculum vulgare* Mill., *Matricaria recutita* L., *Fragaria vesca* L, preservative, bioactives

## 1. Introdução

O sorbato de potássio é um dos conservantes mais utilizados pela indústria alimentar, sobretudo como agente antimicrobiano uma vez que tem a capacidade de inibir o crescimento de fungos, bactérias aeróbicas e leveduras (Liu et al., 2014). Apesar de ser considerado seguro por apresentar uma toxicidade mais baixa que os restantes conservantes (Fandos e Dominguez, 2007), alguns autores consideram que a sua utilização pode provocar efeitos prejudiciais para a saúde humana (Kamankesh et al., 2013), tendo sido já descritos alguns casos de alergias associadas ao seu consumo (urticária e asma) e algumas intolerâncias (Goren et al., 2015).

Para contornar esta problemática em torno dos efeitos adversos para a saúde do consumidor tem-se apostado na procura de alternativas aos aditivos sintéticos. As plantas, algas e cogumelos representam uma excelente fonte de antioxidantes e, podem por isso representar uma excelente alternativa (Carocho et al., 2015). Devido ao elevado potencial antioxidante, os compostos fenólicos são consideradas substâncias naturais interessantes para incorporação em alimentos quer como conservantes, quer como ingredientes bioativos (Caleja et al., 2015a; Caleja et al., 2015b).

Por outro lado, após ingestão, os compostos fenólicos podem sofrer metilações, glucoronidações e sulfatações, alterando a sua estabilidade e funcionalidade no organismo humano com a consequente perda de biodisponibilidade, sendo esta também influenciada pela quantidade ingerida, estrutura química, interações moleculares e pelo próprio organismo (Holst & Williamson, 2008; Leong & Oey, 2012; Heleno et al., 2015).

Para ultrapassar alguns destes problemas, a microencapsulação surge como uma resposta viável na proteção e estabilização de extratos bioativos, podendo ainda providenciar uma libertação controlada e localizada dos mesmos (Dias et al., 2015a). A microencapsulação pode ser aplicada em várias áreas, nomeadamente a farmacêutica, agrícola e biomédica no entanto, a área alimentar é ainda um nicho de mercado por explorar e com elevado potencial de aplicação (Dias et al., 2015a).

As propriedades antioxidantes e antimicrobianas da decocção de *Matricaria recutita* L. (camomila) e de *Foeniculum vulgare* Mill. (funcho) (ricos em compostos fenólicos como quercetina-3-*O*-glucósido e ácido 5-*O*-caffeoilquínico, e luteolina-*O*-glucuronido, respetivamente) foram demonstradas pelo nosso grupo de investigação, bem como a sua eficiência como conservantes em requeijões (Caleja et al., 2015a; Caleja et al., 2015b). Relativamente às partes vegetativas de *Fragaria vesca* L. silvestre (morangueiro), o seu potencial como fonte de compostos nutricionais e bioativos foi também demonstrado pelo nosso grupo de investigação (Dias et al., 2015c).

O objetivo deste estudo foi mostrar a versatilidade da incorporação de extratos naturais em produtos alimentares, providenciando-lhes diferentes efeitos: função conservante, no caso dos extratos de funcho e camomila, e efeitos bioativos, no caso do morangueiro silvestre. Para tal, foram implementados dois protocolos de incorporação: um em iogurtes (com extratos conservantes de camomila e funcho e comparação com um aditivo sintético) e outro em gelatinas (com extratos bioativos de morangueiro silvestre livres e microencapsulados).

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Amostras e preparação das infusões e decocções

As amostras desidratadas de *Matricaria recutita* L. (camomila) e *Foeniculum vulgare* Mill. (funcho) foram fornecidas pela empresa Américo Duarte Paixão Lda. (Alcanede, Portugal). As partes vegetativas de *Fragaria vesca* L. (morangueiro silvestre) foram recolhidas na Serra da Nogueira, Bragança, tendo sido posteriormente identificadas e um exemplar armazenado em Herbário; as restantes amostras foram desidratadas por liofilização para posterior análise. Para a preparação das decocções, as amostras de camomila e funcho foram reduzidas a pó e adicionadas (5 g) a 200 ml de água destilada. As misturas foram aquecidas (placa VELD Scientific, Usmate, Itália) até à fervura durante 5 min, com 5 min adicionais de repouso, filtradas, congeladas e liofilizadas (FreeZone 4,5, Labconco, Kansas City, Missouri, EUA). As infusões de morangueiro silvestre foram preparadas adicionando 1 g de amostra a 200 ml de água destilada a 100°C, deixadas repousar 5 min à temperatura ambiente e posteriormente filtradas e liofilizadas. Os extratos liofilizados obtidos das decocções (camomila e funcho) e da infusão (morangueiro) foram posteriormente utilizados nos protocolos de incorporação em alimentos como conservantes naturais e bioativos, respetivamente.

### 2.2. Protocolo I - Enriquecimento de iogurtes com conservantes naturais e sintéticos

2.2.1 Preparação dos iogurtes: Foram preparados quatro grupos de amostras: i) controlo (iogurtes sem conservantes); ii) iogurtes com sorbato de potássio (E202); iii) iogurtes com decocção de funcho; iv) iogurtes com decocção de camomila. Para cada porção de 100 g de iogurte, foram incorporados 40 mg de decocção ou conservante sintético. Os iogurtes foram preparados seguindo uma receita tradicional utilizando apenas leite ultrapasteurizado (lípidos 3,6%, proteínas 3,3% e glúcidos 5,0%) misturado com iogurte natural comprado no mercado local. Após a fortificação com os diferentes conservantes, cada amostra correspondente foi deixada a incubar durante a noite a 44°C para a produção de iogurte. Todos os iogurtes foram preparados em duplicado e foram testados 3 tempos de conservação, 0, 7 e 14 dias, ao fim dos quais as amostras foram congeladas e liofilizadas para posterior análise (Caleja et al, 2015a).

2.2.2 Avaliação nutricional e dos parâmetros físico-químicos: os iogurtes fortificados foram analisados quanto à sua composição nutricional (humidade, proteína, lípidos, cinzas e glúcidos) seguindo os métodos de referência AOAC (2016). A medição da cor foi efetuada recorrendo a um colorímetro (modelo CR-400, Konica Minolta Sensing Inc., Tóquio, Japão) medindo seis pontos diferentes (três na parte superior e três na parte inferior), para cada amostra. O pH foi medido diretamente nas amostras (HI 99161, Hanna Instruments, Woonsocket, Rhode Island, EUA) (Caleja et al, 2015a).

2.2.3 Avaliação da atividade antioxidante: As amostras de iogurte fortificadas (3 g) foram extraídas com metanol/água (80:20) à temperatura ambiente durante 1 h sob agitação. O extrato foi filtrado e o resíduo sólido foi submetido a uma nova extração nas mesmas condições. Os extratos resultantes foram evaporados sob pressão reduzida num evaporador rotativo até à remoção completa do solvente. De seguida, o extrato resultante foi redissolvido em metanol para a obtenção de uma concentração conhecida para avaliação da atividade antioxidante. A atividade captadora de radicais de DPPH e o poder redutor foram avaliados a 515 e 690 nm, respetivamente, utilizando um leitor de microplacas ELX800 (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, Vermont, EUA) (Caleja et al, 2015a).

### 2.3. Protocolo II – Funcionalização de gelatinas com bioativos naturais livres e microencapsulados

2.3.1 Caracterização fenólica das infusões: Os extratos de infusão de morangueiro silvestre foram redissolvidos em água ultrapura para determinar o perfil fenólico por HPLC (Hewlett-Packard 1100, Agilent Technologies, Santa Clara, USA) acoplado a um detetor de díodos, usando 280 nm e 370 nm como comprimentos de onda preferenciais, e a um espectrómetro de massa. Os compostos fenólicos foram identificados comparando o seu tempo de retenção e espectros UV e de massa com compostos padrão, se existentes. Em alternativa, os picos foram identificados por comparação com a literatura.

Para a análise quantitativa, foram construídas curvas de calibração de padrões individuais com base no sinal UV. No caso dos compostos fenólicos identificados sem padrão comercial, a quantificação foi realizada com base na curva de calibração de um composto similar pertencente ao mesmo grupo fenólico. Os resultados foram expressos em mg por g de extrato (Dias et al., 2015b).

2.3.2 Encapsulação das infusões de morangueiro silvestre: Foi utilizada a técnica de atomização/coagulação na preparação das microesferas. Foram dissolvidos 50 mg de infusão em 10 ml de água destilada com 400 mg de alginato de sódio (material encapsulante) e, posteriormente, atomizadas com o sistema NISCO Var J30 (Zurich, Switzerland) gerando microesferas que coagularam imediatamente numa solução de cloreto de cálcio (agente de coagulação); o período de coagulação durou 4 horas. As microesferas obtidas foram recolhidas sob pressão, lavadas duas vezes com água destilada, liofilizadas e armazenadas até posterior incorporação. A caracterização das microesferas foi ainda realizada por microcopia ótica, análise SEM e FTIR. A eficiência de encapsulação das microesferas foi avaliada através do extrato não encapsulado que permaneceu na água de coagulação, com base no composto maioritário (quercetina-O-glucoronido).

2.3.3 Incorporação em gelatina e avaliação da sua atividade antioxidante: As gelatinas foram preparadas usando somente k-carragenina como material gelificante. Para os ensaios de incorporação, foram preparadas três gelatinas: i) controlo (k-carragenina); ii) k-carragenina com a infusão de morangueiro silvestre na sua forma livre; iii) k-carragenina com as microesferas enriquecidas com a infusão. A atividade captadora de radicais de DPPH e o poder redutor foram avaliados a 515 e 690 nm, respetivamente, utilizando o leitor de microplacas já mencionado anteriormente.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Protocolo I - Enriquecimento de iogurtes com conservantes naturais e sintéticos

Os quatro tipos de iogurtes (controlo, enriquecido com E202, com funcho e com camomila) foram armazenados a frio (4°C) e analisados após três períodos de armazenamento (0, 7 e 14 dias). Os valores médios da composição nutricional relativos a cada tempo de armazenamento (TA), independentemente do conservante incorporado, e também os valores médios relativos a cada conservante (Cons), independentemente do tempo de armazenamento, são apresentados na Tabela 1. Assim, é possível determinar o melhor tipo de enriquecimento (controlo, E202, decocção de funcho e decocção de camomila) independentemente do tempo de armazenamento, bem como a influência do tempo de armazenamento independentemente do tipo de incorporação.

Foi possível verificar que o iogurte é uma matriz com elevado teor de humidade sendo os lípidos os macronutrientes menos abundantes. Em geral, nenhuma das incorporações teve uma influência significativa no perfil nutricional dos iogurtes. Os valores de humidade e proteína estão de acordo com os resultados descritos por Serafeimidou et al. (2013), em iogurtes preparados com leite de vaca e de ovelha. No entanto, os valores de cinzas foram superiores aos descritos por estes autores.

O enriquecimento com os diferentes conservantes não provocou alterações significativas no aspeto final dos iogurtes, tal como é possível observar na Figura 1. Relativamente ao pH, também se verificou a mesma tendência.

Num estudo semelhante com iogurtes enriquecidos com extrato de sementes de uva (*Vitis vinifera*), observou-se a mesma tendência em relação ao pH uma vez que a incorporação com extratos de sementes não afetou os valores de pH dos iogurtes no entanto, a cor vermelha e amarela das diferentes sementes (Agiorgitiko e Moschofilero, respetivamente) provocaram uma alteração na cor dos iogurtes (Chouchouli et al., 2013).

Tabela 1. Composição nutricional (g/100 g) dos iogurtes ao longo do tempo e com incorporação de diferentes conservantes.

		Humidade	Lípidos	Proteínas	Cinzas	Glúcidos
Tempo de armazenamento (TA)	0 dias	87,6 ± 0,2b	2,58 ± 0,18	3,92 ± 0,12	0,67 ± 0,02	5,25 ± 0,4
	7 dias	87,5 ± 0,3a	2,42 ± 0,23	3,77 ± 0,10	0,70 ± 0,02	5,62 ± 0,33
	14 dias	87,3 ± 0,8ab	2,32 ± 0,13	3,84 ± 0,05	0,70 ± 0,02	5,79 ± 0,81
<i>p</i> -value (n=24)	Teste Tukey	0,036	<0,001	<0,001	<0,001	0,005
Conservante (Cons)	Controlo	87,6 ± 0,5	2,55 ± 0,22	3,81 ± 0,04	0,70 ± 0,03	5,39 ± 0,66
	E202	87,4 ± 0,7	2,38 ± 0,22	3,87 ± 0,08	0,68 ± 0,02	5,64 ± 0,73
	Decocção de funcho	87,3 ± 0,5	2,54 ± 0,16	3,91 ± 0,12	0,70 ± 0,02	5,57 ± 0,52
	Decocção de camomila	87,6 ± 0,3	2,30 ± 0,13	3,79 ± 0,14	0,67 ± 0,02	5,62 ± 0,31
<i>p</i> -value (n=18)	Teste Tukey	0,058	<0,001	0,098	<0,001	0,606
TA x Cons (n=72)	<i>p</i> -value	0,086	<0,001	<0,001	<0,001	0,016

Em cada linha e dentro de cada período de armazenamento, letras diferentes significam diferenças estatísticas significativas entre os diferentes iogurtes ( $p < 0,05$ ). Em Caleja et al. (2016).

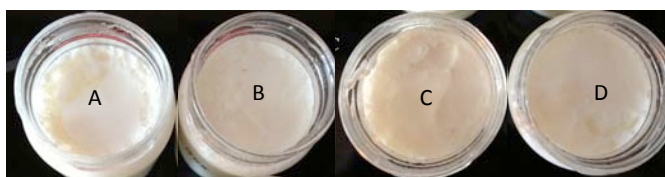


Figura 1. Aspeto visual das diferentes amostras de iogurte: (A) iogurte controlo, (B) iogurte com E202, (C) iogurte com decocção de funcho e (D) iogurte com decocção de camomila.

Os resultados obtidos após avaliação da atividade antioxidante são apresentados na Tabela 2. Os menores valores de EC50 foram obtidos no ensaio do poder redutor. De uma maneira geral, as decocções de funcho e camomila conferiram maior capacidade antioxidante aos iogurtes do que o conservante sintético. Outro dado interessante é o facto da capacidade antioxidante dos iogurtes enriquecidos com funcho e camomila se manter durante mais tempo de armazenamento, sendo que os iogurtes com o conservante sintético perdem atividade, principalmente a partir do sétimo dia de armazenamento. Estudos semelhantes descrevem que a atividade antioxidante dos iogurtes foi reforçada pela presença de extratos naturais, por exemplo, em estudos com iogurtes fortificados com frutos de dragão (*Hylocereus polyrhizus* F.A.C.Weber Britton & Rose) (Zainoldin e Baba, 2009) ou com amora preta (*Rubus ulmifolius* Schott)(Martins et al., 2014). Foram detetados e identificados dezanove compostos fenólicos nas infusões preparadas a partir de partes vegetativas silvestres de *F. vesca* L. (Tabela 3): cinco derivados de ácidos elágico e HHDP, sete flavan-3-óis (catequinas) e sete flavonóides (derivados de quercetina e canferol). O composto maioritário encontrado corresponde ao pico 15 (3-O-glucoronido de quercetina, 22,10 mg/g), seguido do composto correspondente ao pico 7 (catequina, 21,65 mg/g). A presença de 3-O-glucoronido de quercetina já tinha sido previamente descrita em frutos de *F. vesca* (Bubba et al., 2012; Sun et al., 2014) e em outras espécies de *Fragaria* (Simirgiotis & Schmeda-Hirschmann, 2010; Aaby et al., 2012).

Tabela 2. Atividade antioxidante dos iogurtes (expressa em valores de  $Ec_{50}$ , mg/ml) ao longo do tempo e com incorporação de diferentes conservantes.

		Poder Redutor	DPPH
Tempo de armazenamento (TA)	0 dias	25 ± 6	105 ± 54
	7 dias	26 ± 6	107 ± 56
	14 dias	27 ± 6	121 ± 57
<i>p</i> -value (n=27)	Teste Tukey	<0,001	<0,001
Conservante (Cons)	Controlo	32,4 ± 0,4	195 ± 5
	E202	29 ± 2	111 ± 20
	Decocção de funcho	27 ± 1	94 ± 4
	Decocção de camomila	16,4 ± 0,8	45 ± 3
<i>p</i> -value (n=36)	Teste Tukey	<0,001	<0,001
TA x Cons (n=108)	<i>p</i> -value	<0,001	<0,001

Em Caleja et al. (2016).

Tabela 3. Identificação e quantificação de compostos fenólicos (mg/g) em infusões de partes vegetativas silvestres de *F. vesca*.

Pico	Rt (min)	$\lambda_{max}$ (nm)	Tentativa de identificação	mg/g
1	4,9	258	Bis-HHDP-glucose	1,72 ± 0,12
2	5,6	278	Hexósido de (epi)catequina	4,51 ± 0,09
3	5,8	260	Bis-HHDP-glucose	0,63 ± 0,06
4	7,3	280	Dímero de procianidina	8,47 ± 0,29
5	7,1	280	Trímero de (epi)catequina tipo B	4,82 ± 0,16
6	7,7	356	Hexósido glucurónido de quercetina	4,04 ± 0,08
7	8,1	280	(+)-Catequina	21,65 ± 0,01
8	9,7	278	(epi)Afzelequina-(epi)catequina tipo B	5,53 ± 0,04
9	10,2	280	Dímero de procianidina	2,68 ± 0,21
10	14,7	278	(epi)Afzelequina-(epi)catequina tipo B	3,75 ± 0,29
11	17,0	352	Di-hexósido glucurónido de quercetina	15,21 ± 0,08
12	17,6	364	3-O-rutinósido de quercetina	5,11 ± 0,12
13	18,6	264	Isómero de sanguin h10	7,40 ± 0,11
14	19,8	346	Di-hexósido glucurónido de canferol	11,96 ± 0,07
15	20,6	358	O-glucurónido de quercetina	22,10 ± 0,32
16	20,4	354	Di-hexósido glucurónido de metilquercetina	10,43 ± 0,23
17	21,1	356	3-O-glucósido de quercetina	1,41 ± 0,06
18	21,7	252/sh370	Ácido elágico	1,77 ± 0,02
19	26,1	248/sh372	Metildesoxi-hexósido de ácido elágico	1,47 ± 0,00
<b>Derivados do ácido elágico</b>				11,22 ± 0,06 <sup>b</sup>
<b>Flavonois</b>				72,02 ± 0,40 <sup>a</sup>
<b>Flavan 3-óis</b>				51,41 ± 0,44 <sup>a</sup>
<b>Compostos fenólicos</b>				134,65 ± 0,09 <sup>b</sup>

Em cada linha e dentro de cada período de armazenamento, letras diferentes significam diferenças estatísticas significativas entre os diferentes iogurtes ( $p < 0,05$ ). Em Dias et al. (2015b).

### 3.2 Protocolo II – Funcionalização de gelatinas com bioativos naturais livres e microencapsulados

Após avaliação do perfil fenólico da infusão, procedeu-se à preparação das microsferas enriquecidas com este extrato que foram posteriormente caracterizadas recorrendo à microscopia óptica; as microsferas apresentaram-se perfeitamente individualizadas. No final do procedimento, atingiu-se a forma esférica desejada, com tamanhos de partículas entre os 39 e 202  $\mu\text{m}$ , e com um leve tom acastanhado devido à incorporação do extrato. A determinação da eficiência de encapsulação (EE) foi baseada no composto 3-*O*-glucoronídeo de quercetina presente na água de coagulação (não encapsulado), tendo sido atingida uma EE de 97%. A análise de FTIR e SEM deram também evidências qualitativas de uma alta eficiência de encapsulação.

A Figura 2 apresenta a morfologia das microsferas enriquecidas imediatamente após a sua incorporação em gelatina de *k*-carragenina, sendo possível observar que a temperatura de preparação da gelatina (90°C) não afetou a morfologia da microsfera. Os pontos pretos observados nas microsferas representam o extrato, evidenciando uma vez mais a proteção efetiva do extrato dentro da matriz.

Relativamente à atividade antioxidante do produto final, como era expectável, somente a gelatina de *k*-carragenina com o extracto livre mostrou atividade antioxidante ( $\text{EC}_{50}$  atividade captadora de radicais DPPH =  $2,74 \pm 0,11$  mg/ml;  $\text{EC}_{50}$  poder redutor =  $1,23 \pm 0,12$  mg/ml). Nem o controlo (sem incorporação de bioativos) nem a gelatina com extratos microencapsulados (proteção eficiente dos extratos) mostraram atividade antioxidante.

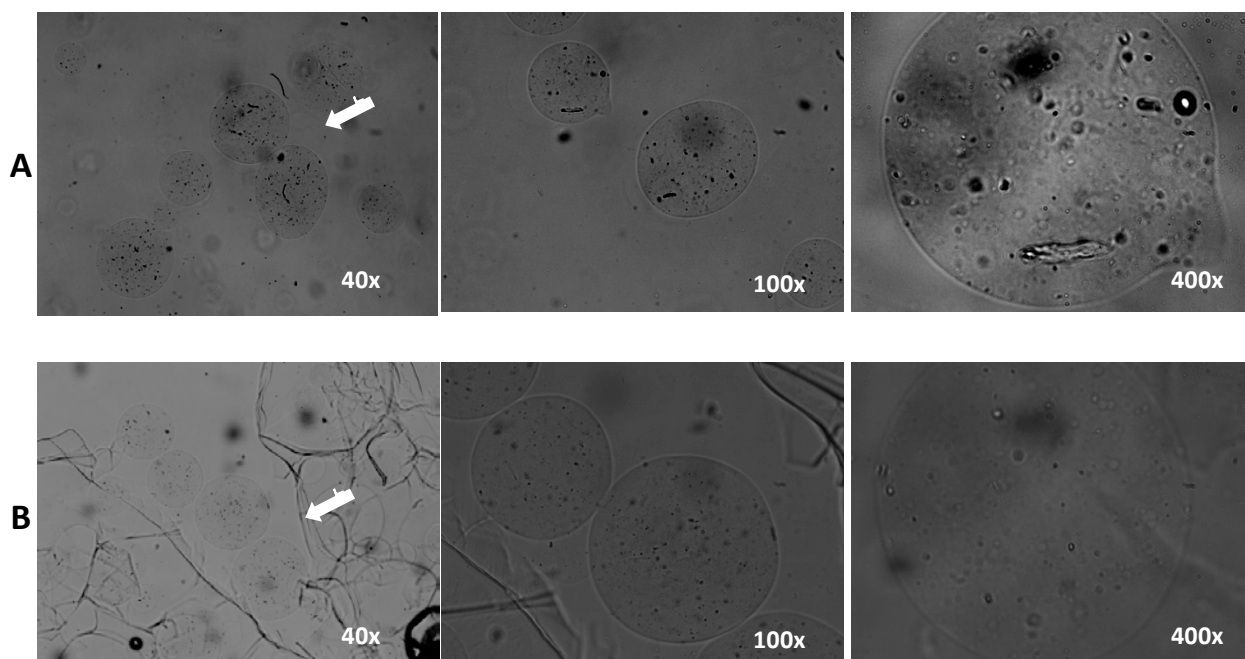


Figura 2. Análise de microscopia óptica com ampliações de 40, 100 e 400 $\times$  da *k*-carragenina com infusão de morangueiro silvestre microencapsulada antes (A) e após (B) liofilização. Em Dias et al. (2015b).

## 4. Conclusões

Os iogurtes enriquecidos com antioxidantes de origem natural são um alimento inovador que deverá ter uma boa aceitabilidade por parte dos consumidores uma vez que vai de encontro às suas expectativas na procura de produtos saudáveis. Este estudo revelou que a introdução de extratos aquosos preparados a partir de plantas (nomeadamente funcho e camomila) melhora a atividade antioxidante de iogurtes, mostrando maior capacidade do que o aditivo sintético, sorbato de

potássio. Além disso, essa mesma incorporação não provocou alterações significativas no perfil nutricional, aparência ou pH dos produtos finais evidenciando que os extratos vegetais naturais são benéficos para os consumidores e não apresentam alterações nutricionais nos iogurtes durante o seu período normal de armazenamento.

A técnica de microencapsulação de atomização/coagulação foi efetivamente aplicada para produzir microesferas enriquecidas com infusão de morangueiro silvestre (eficiência de encapsulação próxima a 97%). A incorporação das microesferas numa matriz alimentar de gelatina demonstrou que este sistema preserva as propriedades antioxidantes do extrato em comparação com a forma livre. Este é um estudo inovador sobre o desenvolvimento de nutracêuticos baseados em extratos de morangueiro silvestre. Serão necessários mais estudos para avaliar processos de libertação controlada do extrato bioativo no organismo utilizando, por exemplo, modelos gastrointestinais.

Com estes dois estudos pudemos verificar a grande versatilidade de aplicação de extratos naturais, na sua forma livre ou microencapsulada, no desenvolvimento de novos produtos alimentares.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT, Portugal) e ao FEDER no âmbito do Programa PT2020 pelo apoio financeiro ao CIMO (UID/AGR/00690/2013), REQUIMTE (UID/QUI/50006/2013 - POCI/01/0145/FEDER/007265), bolsa de C. Caleja (SFRH/BD/93007/2013), bolsa de C. Roriz (SFRH/BD/117995/2016) e contrato de L. Barros. Ao POCI-01-0145-FEDER-006984 - Laboratório Associado LSRE-LCM financiado pelo FEDER através do COMPETE2020 - Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI) - e por fundos nacionais através da FCT - Fundação para a Ciência e Tecnologia.

### Bibliografia

- Aaby, K., Ekeberg, D., & Skrede, G. 2007. Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4395-4406.
- AOAC (2016) Official Methods of Analysis of AOAC International - 20th Edition, 20th ed. AOAC International.
- Bubba, M., Checchini, L., Chiuminatto, U., Doumet, S., Fibbi, D., & Giordani E. 2012. Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of polyphenolic composition of four cultivars of *Fragaria vesca* L. berries and their comparative evaluation. *Journal of Mass Spectrometry*, 47, 1207-1220.
- Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Ciric, A., Soković, M., Oliveira, M. B. P. P., Santos-Buelga, C. and Ferreira, I. C. F. R. 2015a. *Foeniculum vulgare* Mill. as natural conservation enhancer and health promoter by incorporation in cottage cheese. *Journal of functional foods*, 12, 428-438.
- Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Ciric, A., Barreira, J. C. M., Soković, M., Oliveira, M. B. P. P. and Ferreira, I. C. F. R. 2015b. Development of a functional dairy food: exploring bioactive and preservation effects of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Journal of functional foods*, 16, 114-124.
- Caleja, C., Ribeiro, A., Barros, L., Barreira, J. C. M., Antonio, A. L., Oliveira, M. B. P.P., Barreiro, M. F. and Ferreira, I. C. F. R. 2016. Cottage cheeses functionalized with fennel and chamomile extracts: comparative performance between free and microencapsulated forms. *Food Chemistry*. 199, 720-726.

- Carocho, M., Morales, P. and Ferreira, I. C. F. R. 2015. Natural food additives: Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology*, 45, 284–295.
- Chouchouli, V., Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Karvela, E., Makris, D. P. and Karathanos, V. T. 2013. Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *LWT – Food Science and Technology*, 53, 522–529.
- Dias, M. I., Barros, L., Fernandes, I. P., Ruphuy, G., Oliveira, M. B. P., Santos-Buelga, C., Barreiro, Filomena & Ferreira, I.C.F.R. 2015b. A bioactive formulation based on *Fragaria vesca* L. vegetative parts: Chemical characterisation and application in  $\kappa$ -carrageenan gelatin. *Journal of Functional Foods*, 16, 243-255.
- Dias, M. I., Barros, L., Morales, P., Sánchez-Mata, M. C., Oliveira, M. B. P., & Ferreira, I. C. 2015c. Nutritional parameters of infusions and decoctions obtained from *Fragaria vesca* L. roots and vegetative parts. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 32-38.
- Dias, M.I., Ferreira, I.C.F.R., & Barreiro, M.F. 2015a. Microencapsulation of bioactives for food applications. *Food & Function*, Submitted.
- Fandos, G. E. and Dominguez, J. L. 2007. Effect of potassium sorbate washing on the growth of *Listeria monocytogenes* on fresh poultry. *Food Control*, 18(7), 842–846.
- Goren, A. C., Bilsel, G., Simsek, A., Bilsel, M., Akcadag, F., Topal, K. and Ozgen, H. 2015. HPLC and LC–MS/MS methods for determination of sodium benzoate and potassium sorbate in food and beverages: Performances of local accredited laboratories via proficiency tests in Turkey. *Food Chemistry*, 175, 273–279.
- Helena, S., Martins, A., Queiroz, M.J.R.P., & Ferreira, I.C.F.R. 2015. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food Chemistry*, 173, 501-513.
- Holst, B., & Williamson, G. (2008). Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Current Opinion in Biotechnology*, 19, 73-82.
- Kamankesh, M., Mohammadi, A., Tehrani, Z. M., Ferdowsi, R. and Hosseini, H. 2013. Dispersive liquid–liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography for determination of benzoate and sorbate in yogurt drinks and method optimization by central composite design. *Talanta*, 109, 46–51.
- Leong, S.Y., & Oey, I. 2012. Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 133, 1577-1578.
- Liu, K., Wang, X. and Young, M. 2014. Effect of bentonite/potassium sorbate coatings on the quality of mangos in storage at ambient temperature. *Journal of Food Engineering*, 137, 16–22.
- Martins, A., Barros, L., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., Fernandes, I. P., Barreiro, F. and Ferreira, I. C. F. R. 2014. Phenolic extracts of *Rubus ulmifolius* Schott flowers: characterization, microencapsulation and incorporation into yogurts as nutraceutical sources. *Food & Function*, 5, 1091–1100.
- Serafeimidou, A., Zlatanov, S., Kritikos, G. and Tourianis, A. 2013. Change of fatty acid profile, including conjugated linoleic acid (CLA) content, during refrigerated storage of yogurt made of cow and sheep milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31, 24–30.
- Wilson, B. G. and Bahna, S. L. 2005. Adverse reactions to food additives. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 95(6), 499–507.
- Simirgiotis, M.J., & Schmeda-Hirschmann, G. 2010. Determination of phenolic composition and antioxidant activity in fruits, rhizomes and leaves of the white strawberry (*Fragaria chiloensis* spp. *chiloensis* form *chiloensis*) using HPLC-DAD–ESI-MS and free radical quenching techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 545-553.

- Sun, J., Liu, X., Yang, T., Slovin, J., & Chen, P. 2014. Profiling polyphenols of two diploid strawberry (*Fragaria vesca*) inbred lines using UHPLC-HRMSn. *Food Chemistry*, 146, 289-298.
- Zainoldin, K. H. and Baba, A. S. 2009. The effect of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* on physicochemical, proteolysis, and antioxidant activity in yogurt. *Engineering and Technology*, 60, 361–366.