



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
TESIS DOCTORAL

Aplicación de extractos polifenólicos de romero (*R. officinalis*) y salvia (*S. lavandulifolia*) como antioxidantes en alimentos nutricionalmente mejorados

D.^a Cristina del Carmen Cedeño Pinos

2023



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
TESIS DOCTORAL

Aplicación de extractos polifenólicos de romero (*R. officinalis*) y salvia (*S. lavandulifolia*) como antioxidantes en alimentos nutricionalmente mejorados

Autor: D.^a Cristina del Carmen Cedeño Pinos

Director/es: D. Sancho Bañón Arias y
D.^a Magdalena Martínez Tomé



**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD
DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022

D./Dña. CRISTINA DEL CARMEN CEDEÑO PINOS

doctorando del Programa de Doctorado en

TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS, NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

APLICACIÓN DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE ROMERO (R. officinalis) y SALVIA (S. lavandulifolia) COMO ANTIOXIDANTES EN ALIMENTOS NUTRICIONALMENTE MEJORADOS.

y dirigida por,

D./Dña. SANCHO JOSÉ BAÑÓN ARIAS

D./Dña. MARÍA MAGDALENA MARTÍNEZ TOMÉ

D./Dña.

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Si la tesis hubiera sido autorizada como tesis por compendio de publicaciones o incluyese 1 o 2 publicaciones (como prevé el artículo 29.8 del reglamento), declarar que cuenta con:

- La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 9 de marzo de 2023

Fdo.: CRISTINA DEL CARMEN CEDEÑO PINOS

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.

Información básica sobre protección de sus datos personales aportados	
Responsable:	Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es
Legitimación:	La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos
Finalidad:	Gestionar su declaración de autoría y originalidad
Destinatarios:	No se prevén comunicaciones de datos

Derechos:	Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia
-----------	--

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a mis directores de tesis el Dr. Sancho Bañón y la Dra. Magdalena Martínez Tomé, por depositar su confianza en mí desde el primer momento y ofrecerme la oportunidad de seguir formándome. Gracias por todo el tiempo y esfuerzo que han dedicado a este trabajo, por su paciencia, amabilidad, sinceridad, y por todo lo que me han enseñado. Ha sido una suerte contar con vosotros.

A la Dra. María José Jordán y a María Quílez, por recibirme con tanto cariño en mi estancia en el Departamento de Cultivos de Secano del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Medioambiental (IMIDA). Gracias por sumergirme en el maravilloso mundo de las plantas aromáticas, por la paciencia y por estar siempre dispuestas a ayudar. También a Cristina, Inma y Pascual por vuestra ayuda, sobre todo en los momentos de catas. Os llevo en mi corazón.

Gracias por la colaboración e inestimable ayuda a todos los coautores de los artículos científicos que conforman esta tesis.

A la Dra. Cristina Marcucci, profesora de la Universidad de Anhanguera de São Paulo, por tantos ratos buenos en el laboratorio mientras aprendía sobre polifenoles. Gracias por el derroche de energía, alegría y de cariño que emanabas a diario. Eres una fuente de inspiración y te llevo en mi corazón. Nos veremos pronto ¿Italia? ¿Brasil? ¿España? no importa el sitio, lo importante es la compañía.

A la Dra. Antonia María Monreal, por estar siempre disponible para ayudarme con mis dudas en el laboratorio. Gracias por salir al café con nosotros y por todos los buenos momentos, incluidas las catas.

Al personal del SACE: María José Gabaldón y Lola, gracias por la ayuda, por la paciencia y por compartir vuestro tiempo y conocimientos.

A nuestras queridas técnicas de laboratorio Carmen Belén, Carmen María y Mari Carmen, gracias por estar allí siempre que os necesitaba y por implicaros en todo. A Carmen Cáceles por esas charlas y por estar siempre dispuesta a ayudar.

A mis compañeras de laboratorio, a Marina Kravets, mi compi en las buenas y no tan buenas, mi niña bonita, te aseguro que nada hubiera sido igual sin ti. Gracias por tanto cariño, por estar ahí cuando lo necesitaba, por esas charlas tan enriquecedoras y por esas salidas al sol mientras comíamos, que nos sentaban tan bien ¡Te quiero!

A Leti por los momentos de té y café tan especiales. A Faustina y Celia, aunque coincidimos poco, fue un placer conoceros. A los alumnos internos Ana María y Juanjo, gracias por la ayuda. A los alumnos de TFG Andrea, Cristina, María José, un placer haberos conocido y ayudado.

A las alumnas de intercambio, Analissa, Guila, Bianca, que eligieron nuestro departamento para realizar su estancia, muchas gracias por la ayuda y por esas risas aprendiendo italiano.

A Pili, Irene, Andrea y Paula, por las visitas al despacho y por esas charlas tan amenas para desconectar.

A mi madre, que sin tener nada me enseñó todo lo que necesitaba para salir adelante. Gracias por creer en mí, por enseñarme que con esfuerzo y perseverancia todo es posible y sobre todo, por enseñarme a quedarme con lo bueno incluso de lo malo. Te amo.

A mi hermana Gissela, por estar allí siempre, por apoyarme en todas mis locuras y por tu amor. Casi no puedo esperar para abrazarte. La siguiente eres tú y aquí estaré para lo que haga falta.

Y finalmente a mi esposo Diego y mi hijo Sebastián. Quiero deciros que no hay suficientes palabras para expresar todo lo que os debo. Sin vuestra ayuda, seguramente hoy no estaría escribiendo esta dedicatoria. Sebastián, gracias por ser siempre tan responsable, comprensivo y esperarme (sé que me perdí muchas cosas). Por acompañarme mientras estudiaba (aún recuerdo que te aprendiste antes que yo la tabla periódica), me hiciste todo más fácil. Diego vinimos a España con el sueño de trabajar y estudiar (si se podía) y mira hasta donde hemos llegado ¡Dr. Diego Paladines! Me siento muy orgullosa de ti y siempre te estaré agradecida por todo lo que has hecho por mí. Por sacrificar tus horas de sueño para darme clases, por levantarme y secar mis lágrimas en los momentos más duros.... Gracias, por tanto, tanto amor. Os amo.

Me siento afortunada, mil gracias.

Cristina

Dedicado a:

Los amores de mi vida, mi hijo Sebastián y mi esposo Diego, que han sido siempre mi gran apoyo y fortaleza. Gracias por llenar mi camino de luz y alegrías, y por alentarme a ser mejor y alcanzar mis metas.



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE	Página
1. ANTECEDENTES.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1. Aditivos alimentarios en los alimentos.....	9
2.1.1. Aditivos alimentarios de origen natural como alternativa a los sintéticos.....	10
2.2. Mejora de matrices alimentarias.....	12
2.2.1. Caramelos de goma.....	13
2.2.2. Salsas de yogur.....	14
2.2.3. Paté de salmón.....	16
2.3. Plantas aromático-medicinales (PAM).....	17
2.3.1. Cultivo de PAM (Mundial, europeo y español).....	18
2.4. Familia Lamiácea.....	20
2.4.1. Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	22
2.4.2. Salvia (<i>Salvia lavandulifolia</i> Vahl).....	24
2.4.3. Especies antioxidantes presentes en el romero y la salvia....	23
2.4.4. Características diferenciales entre romero y salvia.....	27
2.5. Factores que afectan la composición polifenólica de las PAM.....	28
2.6. Procesado industrial de las PAM.....	29
2.6.1. Técnicas de extracción de aceites esenciales (AE).....	30
2.6.2. Problemas de contaminación de la industria de destilación de AE de PAM.....	30
2.6.3. Desafíos para la revalorización de residuos sólidos de PAM..	32
2.7. Propiedades de los extractos polifenólicos.....	34
2.7.1. Propiedades sensoriales.....	34
2.7.2. Propiedades antioxidantes.....	35
2.7.3. Propiedades antimicrobianas.....	37

2.7.4. Propiedades saludables.....	39
2.7.5. Posibles efectos adversos.....	40
2.8. Aplicaciones alimentarias de extractos polifenólicos de romero y salvia.....	42
2.9. Factores que afectan la eficacia de los antioxidantes.....	51
2.9.1. Eficacia de los antioxidantes en emulsiones.....	52
2.10. Métodos para evaluar la actividad antioxidante en alimentos.....	56
2.10.1. Eliminación de radicales.....	56
2.10.2. Capacidad de absorción de radicales de oxígeno en inglés ORAC).....	57
2.10.3. Eliminación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo en inglés DPPH).....	58
2.10.4. Capacidad antioxidante equivalente a Trolox (en inglés TEAC).....	59
2.10.5. Métodos basados en el potencial redox.....	60
2.10.6. Quelación de metales.....	60
2.10.7. Poder antioxidante reductor férrico (en inglés FRAP).....	61
2.10.8. El contenido fenólico total (en inglés TPC).....	62
2.10.9. Ensayo de la desoxirribosa.....	63
2.11. Determinación de los productos de oxidación de los lípidos.....	63
2.11.1. Determinación del Valor Peróxido (en inglés PV).....	64
2.11.2. Dienos y trienos conjugados.....	65
2.11.3. Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (en inglés TBARS).....	66
2.11.4. Determinación de compuestos volátiles.....	67
2.11.5. Productos oxidados del colesterol.....	68
2.11.6. Rancimat.....	69

2.11.7. Autooxidación del ácido linoleico.....	70
2.11.8. Peroxidación de liposomas de fosfolípidos.....	70
2.12. Análisis sensorial.....	70
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	79
3.1. Justificación.....	81
3.2. Hipótesis de partida.....	82
3.3. Objetivos.....	82
3.3.1. Objetivo general.....	82
3.3.2. Objetivos específicos.....	83
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	87
4.1. Diseño experimental.....	89
4.1.1. Ensayo 1. Desarrollo de caramelos de goma con y sin azúcar, enriquecidos con extracto etanólico de propóleo (producto de referencia).....	89
4.1.2. Ensayo 2. Aplicación de extractos hidrosolubles de romero en caramelos de goma sin azúcar.....	90
4.1.3. Ensayo 3. Aplicación de extractos hidrosolubles de salvia en caramelos de goma sin azúcar.....	91
4.1.4. Ensayo 4. Desarrollo de salsas de yogur con inulina y extractos de romero.....	93
4.1.5. Ensayo 5. Aplicación de extractos hidrosolubles de salvia en salsas de yogur con inulina.....	93
4.1.6. Ensayo 6. Aplicación de extracto liposoluble de romero en paté de salmón con semilla de lino.....	94
4.2. Análisis estadístico.....	95
5. RESULTADOS.....	101

5.1. Contribution of green propolis to the antioxidant, physical, and sensory properties of fruity jelly candies made with sugars or fructans.....	103
5.2. Revalorisation of sage (<i>Salvia lavandulifolia</i> Vahl) extracts as a source of polyphenol antioxidants for novel jelly candies.....	121
5.3. Assessment of rosemary (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) extract as antioxidant in jelly candies made with fructan fibres and stevia.....	139
5.4. Rosemary Extracts Improved the Antioxidant Status of Low-Fat Yoghurt Sauces Enriched with Inulin.....	159
5.5. Polyphenol Extracts from Sage (<i>Salvia lavandulifolia</i> Vahl) By-products as Natural Antioxidants for Pasteurised-Chilled Yoghurt Sauce.....	175
5.6. Assessment of a Diterpene-Rich Rosemary (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) Extract as a Natural Antioxidant for Salmon Pâté Formulated with Linseed.....	195
6. CONCLUSIONES.....	217
7. RESUMEN.....	225
8. DIFUSIÓN DE RESULTADOS.....	235
9. REFERENCIAS.....	243

LISTADO DE ABREVIATURAS

AAPH	2,2'-azobis(2-amidinopropano) dihidrocloruro
ABTS	2,20-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
ACR	Ácido carnósico
AE	Aceite esencial
AM	Aerobios mesófilos
ATP	Adenosín Trifosfato
AW	Actividad de agua
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
CA	Capacidad antioxidante
CARCUP	Capacidad antioxidante reductora del cúprico
CB	Compuestos bioactivos
CG	Cromatografía de gases
CS	Carnosol
DC	Dienos conjugados
DHA	Ácido docosahexaenoico
DPPH	2,2-difenil-1 picrilhidrazilo
EDTA	Etilendiaminotetraacético
EEUU	Estados Unidos de América
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria
EN	Extractos naturales
EP	Extractos polifenólicos
EPA	Ácido eicosapentaenoico
ET	Equivalente de Trolox
FAOSTAT	Base de datos de la Organización para la Agricultura y la Alimentación
FOS	Fructooligosacáridos
FRAP	Poder antioxidante reductor férrico
g	Gramo
GAE	Equivalentes de ácido gálico
GRAS	Generalmente reconocidos como seguros
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
IEO	Índice de estabilidad oxidativa
IMIDA	Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Medioambiental
INIA	Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria
kg	Kilogramo

MAPA	Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación
MDA	Malondialdehído
mg	Miligramo
min	Minuto
mL	Mililitro
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleótida
NBV	Nitrógeno básico volátil
nm	Nanómetros
° C	Grado centígrado
OH	Hidroxilos
OMS	Organización Mundial de la Salud
ORAC	Capacidad de absorción de radicales de oxígeno
PAM	Plantas aromático-medicinales
PUFAs	Ácidos grasos poliinsaturados
ppm	Partes por millón
ppb	Partes por billón
PV	Valor de peróxidos
R	Romero
RC	Recubrimiento comestible
RE	Extractos de romero
RLE	Extracto liposoluble de romero
RPE	Resonancia paramagnética electrónica
S	Salvia
SE	Extractos de salvia
Sol	Solución
SWE	Extracto acuoso de salvia
TAH	Transferencia de átomos de hidrógeno
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico
TBHQ	Butilhidroquinona terciaria
TC	Trienos conjugados
TE	Trasferencia de electrones
TEAC	Capacidad antioxidante de equivalentes de Trolox
TPC	Contenido de fenoles totales
UE	Unión Europea
μL	Microlitros
VE	Vitamina E

ÍNDICE DE FIGURAS	Página
Figura 1. Representación de los aditivos naturales más comunes divididos por categorías.....	11
Figura 2. Superficie cosechada (ha) de “Otros cultivos de estimulantes, especias y plantas aromáticas” en el Mundo, Europa y España.....	19
Figura 3. Producción (toneladas) de plantas aromático-medicinales en España.....	20
Figura 4. Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	22
Figura 5. Salvia (<i>Salvia lavandulifolia</i> Vahl).....	23
Figura 6. Estructuras de los principales polifenoles del romero y la salvia.....	26
Figura 7. Valorización de los subproductos después de la producción de aceite esencial de PAM.....	31

ÍNDICE DE TABLAS	Página
Tabla 1. Taxonomía de romero y salvia.....	21
Tabla 2. Fenoles identificados en los extractos de romero y salvia.....	24
Tabla 3. Compuestos fitoquímicos identificados en los aceites esenciales de romero y salvia.....	27
Tabla 4. Aplicaciones de romero y salvia en matrices alimentarias.....	43
Tabla 5. Ensayos basados en la eliminación de las principales especies reactivas del oxígeno (ERO) y basados en el potencial redox...	57
Tabla 6. Ensayos de actividad antioxidante que miden los productos de oxidación.....	64
Tabla 7. Tipos de pruebas de evaluación sensorial.....	72



1. ANTECEDENTES

La principal industria del cultivo de las plantas aromático-medicinales (PAM) es la destilación de los aceites esenciales (AE) destinados a la creación de productos farmacéuticos, tintes, biocidas y cosméticos, etc. [1]. Sin embargo, la destilación de los AE solo representa entre 1 y el 5 % (p/p) del material vegetal utilizado, generando grandes cantidades de subproductos que causan problemas ambientales relacionados con su eliminación [2,3]. Estos subproductos son ricos en compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas [3–5], cuyos extractos podrían ser utilizados en la industria alimentaria por ser naturales, novedosos y seguros. Además, el uso alimentario de extractos polifenólicos (EP) puede contribuir a revalorizar los cultivos de las PAM [3], uno de los sectores menos desarrollados de la agricultura española, lo que incrementaría su competitividad, mejorando la rentabilidad de las explotaciones y apoyando el asentamiento de la población rural [6]. Sin embargo, los EP presentan una alta variabilidad en el contenido de fenoles y, por consiguiente, en la capacidad antioxidante (CA) resultante, debido a factores genéticos, ambientales y agronómicos, entre otros [7], por lo que es imprescindible la estandarización del material vegetal para obtener extractos más homogéneos y reproducibles.

Los EP obtenidos de subproductos de destilación de romero y salvia contienen una fracción no volátil rica en polifenoles como la genkwanina, hesperidina, luteolina, apigenina, circimaritina; diterpenos como el ácido carnósico, carnosol y sus derivados; así como ácidos fenólicos como el rosmarínico, salviánico, cafeico, ferúlico, y salvianólico; los cuales pueden ser aplicados en alimentos con un propósito tecnológico (estabilización frente a la oxidación) [3,8], y/o para mejorar las características funcionales de determinados alimentos pobres en antioxidantes y vitaminas relacionadas. Además, debido a las dudas existentes sobre la inocuidad de algunos antioxidantes sintéticos, los antioxidantes naturales obtenidos a partir de materiales comestibles, subproductos comestibles y fuentes residuales se están aplicando ampliamente en los alimentos [9].

Actualmente, la Unión Europea (UE) ha autorizado el uso de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) (E392) en productos cárnicos y pesqueros (Reglamento 1129/2011/EU), cuya efectividad como antioxidante se ha demostrado en numerosos estudios [9–12]. También ha autorizado el uso del aceite de chía (*Salvia hispanica*) y sus semillas enteras o trituradas para el consumo humano (Reglamento 2470/2017 UE). La Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (en inglés, FDA) ya ha reconocido los aceites esenciales, las oleorresinas (sin disolventes) y los extractos naturales (incluidos los destilados) de algunas especies de salvia (*S. officinalis*, *fruticosa*, *sclarea* y *lavandulifolia*) como sustancias GRAS (en inglés generalmente reconocida como segura). También se ha comprobado la efectividad de los extractos de salvia como antioxidantes alimentarios en algunos productos [13–17].

No obstante, el uso de EP en los alimentos también presenta retos importantes. Por un lado, algunos EP son sensorialmente “agresivos” por naturaleza, lo que podría proporcionar sabores extraños a los alimentos y provocar cierto rechazo por parte de los consumidores, lo que hace imprescindible una buena elección del extracto y la matriz alimentaria. Por otro lado, el procesado térmico de los alimentos puede dar lugar a cambios en la bioactividad y composición química de los compuestos fenólicos añadidos, incluso interacciones con otros ingredientes alimentarios [18]. De hecho, al estudiar la influencia de diversos procesos tecnológicos sobre la CA en vegetales, se ha observado cierta pérdida de CA en algunos productos enlatados como el apio, debido probablemente al efecto prooxidante del líquido de gobierno [19]. Además, somos conscientes de que, aunque la bioactividad y la estabilidad térmica de los compuestos fenólicos purificados se han estudiado bien en modelos químicos o biológicos, los estudios sobre su estabilidad y sus transformaciones en los alimentos procesados reales son bastante más limitados [9].



2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



2.1. Aditivos alimentarios en alimentos

Aunque la necesidad de alimentarse se ha mantenido inmutable a través de los tiempos, la forma en que consumimos los alimentos ha experimentado cambios profundos. Hoy en día, los alimentos se producen en instalaciones específicas y luego se transportan a mercados que pueden estar dentro del mismo país o incluso en otros distantes [20]. Por lo que transportar alimentos en buenas condiciones requiere una gran carga de energía, ya sea mediante la refrigeración, el envasado controlado o el uso de aditivos para evitar su deterioro. Además, los alimentos se comercializan en un mercado global muy competitivo, donde siempre se favorece el método más económico de conservación, y en la mayoría de los casos se opta por los aditivos alimentarios frente a los demás [21].

Así, la industria alimentaria tal cual la conocemos hoy en día no existiría sin el uso de aditivos alimentarios. Según el Codex Alimentarius, un aditivo alimentario es una sustancia que no se consume normalmente como alimento y que se agrega intencionalmente a los alimentos durante su fabricación, procesamiento, empaquetamiento, almacenamiento o transporte con fines tecnológicos u organolépticos. El aditivo puede tener o no valor nutricional y puede afectar directa o indirectamente las características del alimento, o convertirse en un componente de este. No obstante, estos compuestos deben cumplir los requerimientos cada vez más exigentes del mercado y de la legislación [22]. En la Unión Europea (UE) los aditivos alimentarios se dividen en 27 clases, según su función en las categorías de alimentos a las que pueden añadirse: edulcorantes, colorantes, conservantes, antioxidantes, correctores de la acidez, antiaglomerantes, emulsionantes, potenciadores del sabor, almidones modificados, estabilizantes, espesantes, entre otros (Reglamento (CE) 1333/2008). No obstante, el mayor conocimiento científico del uso de algunos aditivos

alimentarios (especialmente los sintéticos) y sus posibles efectos negativos sobre la salud [24], ha obligado a investigar posibles alternativas a los aditivos convencionales.

Además, los consumidores están cada vez más preocupados e interesados en aspectos relacionados con la salud, la sostenibilidad y en su modo de vida en general [25]. Demandan alimentos más naturales y ecológicos [26,27], menos procesados y “libres” de ingredientes que se perciben negativamente como: alérgenos, aditivos químicos, etc. [28,29]. Esto se traduce en una tendencia a consumir más productos alimentarios de origen vegetal, buscando la naturalidad asociada con un procesamiento más tradicional y “auténtico”, lo que lleva a suponer efectos favorables para la salud [30]. Como respuesta a esta creciente demanda, los productores de alimentos se esfuerzan cada vez más por ofrecer productos denominados de “etiqueta limpia o clean label” que se caracterizan por la presencia de ingredientes percibidos como naturales, inofensivos, sencillos y que los consumidores conocen y utilizan habitualmente [29,31].

2.1.1. Aditivos alimentarios de origen natural como alternativa a los sintéticos.

La gran cantidad de aditivos tanto sintéticos como naturales, sumado al desconocimiento de la mayoría de la población a la hora de distinguirlos, no ayuda a esclarecer el contenido de la mayoría de los productos alimentarios. La única forma de superar este problema es proporcionar a los consumidores información clara sobre los compuestos añadidos a los alimentos. Sorprendentemente, en la UE no existe ninguna definición de conservantes, antioxidantes, colorantes o edulcorantes naturales [21]. Solo los aromatizantes naturales tienen legislación tanto en la UE como en EE. UU., y esta se transpone a las demás clases de aditivos, lo que lleva a interpretaciones erróneas y a la confusión de lo que es natural o sintético. Además, en la UE no existen categorías definidas para los aditivos naturales, se incorporan a la misma clasificación

“E” que el resto de los homólogos [32]. Sin embargo, resulta curioso que los aditivos naturales más investigados sean los antioxidantes, los antimicrobianos, los colorantes y los edulcorantes [21]. Por lo tanto, es necesaria una legislación relativa a los aditivos naturales, ya que son de creciente interés en los países desarrollados [33]. En la **Figura 1** se representan las principales categorías de aditivos alimentarios naturales junto con los compuestos más utilizados de cada categoría.

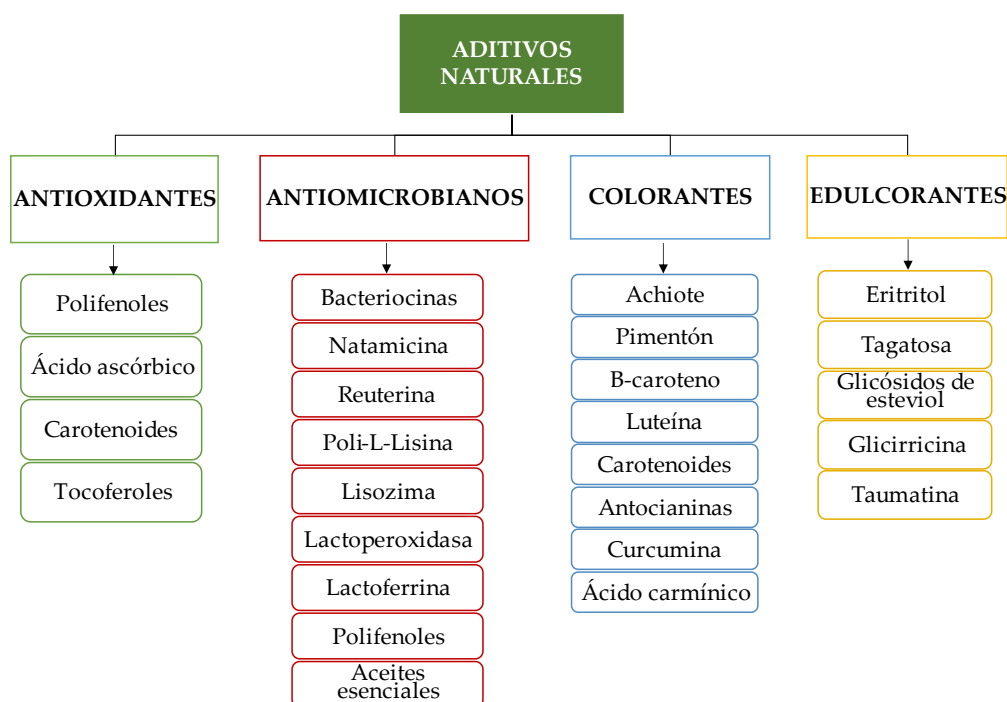


Figura 1. Representación de los aditivos naturales más comunes divididos por categorías. Adaptado de Carochó (2017) [21].

El reino vegetal es una de las principales fuentes de aditivos naturales, incluyendo plantas, árboles, arbustos, hierbas, así como las partes del material vegetal de donde se pueden obtener (tallos, semillas, frutos, hojas, raíces), dando lugar a materiales con composiciones muy diferentes y por tanto con actividades biológicas que proporciona un amplio campo de aplicaciones [34]. Así mismo, algunos materiales provenientes de residuos agroalimentarios y forestales también pueden ser

considerados como potenciales fuentes de aditivos naturales [35], por lo que pueden dejar de ser un residuo sin valor y convertirse en un recurso aprovechable, debido a su considerable contenido en polifenoles, fibra, entre otros [36]. De hecho, algunos extractos de residuos vegetales han sido estudiados por sus distintas cualidades, entre los que podemos encontrar: la semilla de aguacate [37], cáscara y semillas de granada [38], orujo de manzana [39], polvo de orujo de uva [40,41], concentrados de fibra de maíz [42], o residuos de oliva [43], entre muchos otros.

Por lo que en la actualidad se pretende dar mayor relevancia al uso de extractos vegetales, principalmente de aquellos con altas concentraciones de sustancias biológicamente activas, con el objetivo fundamental de diseñar ingredientes con fines tecnológicos (conservantes, estabilizantes, etc.), suplementos alimenticios, nutraceuticos y/o alimentos de uso específico para la salud debido a sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, antitumorales, etc. y la consecuente implicación en una variedad de mecanismos biológicos [44].

2.2. Mejora de matrices alimentarias

La adición de compuestos naturales en los alimentos puede tener varios propósitos. Por ejemplo, a nivel tecnológico y nutricional para reducir y/o eliminar azúcares, grasa, almidón etc.; como conservantes para alargar la vida útil de los alimentos, etc. A nivel funcional, para aportar compuestos bioactivos a través de la dieta como fibra, polifenoles, vitaminas, etc. Principalmente se pretende mejorar alimentos con perfil nutricional bajo; es decir, alimentos con alto contenido en azúcares simples, grasa y almidón, y pobres en vitaminas, antioxidantes y fibra. No obstante, la incorporación de nuevos ingredientes en los productos que se pretende mejorar requiere una elección cuidadosa, debido a las posibles alteraciones en las características tecnológicas y sensoriales del producto, lo que conllevaría al rechazo de

los consumidores. A continuación, nos centraremos en los tres alimentos objeto de nuestro estudio: caramelos de goma, salsa de yogur y paté de salmón.

2.2.1. Caramelos de goma

Los caramelos de goma, según el Código Alimentario Español (CAE, 2021) se clasifican dentro del capítulo “Edulcorantes naturales y derivados”, en la sección de “Productos de confitería”, y están dirigidos a un amplio y variado grupo de consumidores, desde niños hasta ancianos [45]. Además, la producción y el consumo de este tipo de alimentos sigue creciendo y se espera que en los próximos años (2023-2027) incremente hasta en un 3% [46]. Sin embargo, la formulación de caramelos de goma o “golosinas” incluye grandes cantidades de azúcares simples (aproximadamente 80%), colorantes y saborizantes, por lo que son catalogados como poco saludables. De hecho, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha destacado su preocupación por el consumo de este tipo de alimentos, debido al incremento de enfermedades como la obesidad, diabetes, caries, etc., relacionadas con el excesivo consumo de azúcar [47].

Con la finalidad de dar respuesta a estos problemas, varias investigaciones están centradas en la mejora nutricional y funcional de estos alimentos. Lo que ha permitido conocer la versatilidad de esta matriz para la incorporación de extractos naturales con diferentes finalidades. Por ejemplo, como aporte de fibra y/o como sustituto del almidón se han usado: inulina, pectina y residuos de maíz [48–50]. Para sustituir el azúcar se han usado estevia, miel y otros edulcorantes menos calóricos (maltitol, xilitol) [50–54]. También se han aplicado como pigmentos naturales, polvo y orujo de remolacha, azafrán [55,56], zumo y puré de pitaya [49,57,58], betalaínas de *Opuntia-ficus-indic* [59], betaninas encapsuladas [45] o antocianinas de residuos de uva [40]. Como aporte de vitaminas y compuestos bioactivos se han adicionado

concentrados y zumos de frutas [54,60–64]; o extracto de propóleo como antioxidante y antimicrobiano [53,61,65,66].

2.2.2. Salsas de yogur

Las salsas para ensaladas son productos listos para comer y forman parte de la vida cotidiana de los consumidores en todo el mundo, por lo que han cobrado importancia a nivel nutritivo y económico [67,68]. Según el Codex Alimentarius las salsas y aliños para ensaladas se definen como “sustancias añadidas a los alimentos para realzar el aroma y el sabor”. En general, son emulsiones cuya formulación puede contener agua, lípidos, proteínas, espesantes, sal, especias y aditivos alimentarios, y pueden clasificarse: por su origen (p. ej., salsas italianas, indias, japonesas, griegas, etc.); por la temperatura de servicio (p. ej., salsas calientes o frías); por el sabor (p. ej., salsas dulces, saladas, suaves, picantes etc.); o el color (p. ej., salsas rosadas, verdes, etc.) [69]. Sin embargo, pese a su popularidad, las salsas son muy calóricas debido al alto contenido en grasa (16-42%), carbohidratos simples (6-10%), por lo que recomiendan limitar su consumo.

Además, debido a su composición, las salsas pueden favorecer el crecimiento de microorganismos patógenos, o degradarse rápidamente por reacciones de oxidación lipídica, generando productos secundarios como el malondialdehído (MDA), 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE), 4-hidroxihexenal (4-HHE) y algunos compuestos volátiles que provocan cambios de color, sabores extraños, enranciamiento, pérdida del valor nutricional y finalmente el rechazo del consumidor [70–72]. Además, varias investigaciones han recogido que el consumo de productos residuales como MDA, 4-HNE y 4-HHE podrían aumentar el riesgo de padecer enfermedades metabólicas, neurodegenerativas y algunos cánceres [71,73–75]. Por

tanto, la industria alimentaria suele utilizar los aditivos para garantizar la calidad e inocuidad de los alimentos durante su vida útil.

El uso de antioxidantes sintéticos como: butilhidroquinona terciaria (TBHQ) (E-319), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (E-385), butilhidroxitolueno (BHT) (E-321), butilhidroxianisol (BHA) (E-320), galato de propilo (E-310), entre otros, es uno de los métodos más utilizados en la industria debido principalmente a su eficacia y bajo coste [76,77]. Sin embargo, estos antioxidantes sintéticos presentan inconvenientes como: limitación en las cantidades, degradación a altas temperaturas, alta volatilidad [78] y posibles efectos tóxicos y cancerígenos sobre la salud humana que generan preocupación entre los consumidores [24,79].

Las tendencias en la producción de salsas y aliños para ensaladas se han centrado en la reducción del contenido de sodio y de calorías, en la adición de ingredientes funcionales y sustitución de aditivos sintéticos. Entre los ingredientes funcionales utilizados encontramos: la inulina, los aceites de oliva y de pescado, la equinácea, la espirulina y los ésteres de estanoles vegetales [68,80]. Otros ingredientes se han utilizado como sustitutos de la grasa y estabilizadores tales como: goma xantana, yema de huevo deshidratada baja en colesterol, aceites de semillas de cáñamo y lino, inulina y celulosa microcristalina [68]. Por ejemplo, Herranz et al., (2019) [81] incorporaron a las salsas fibra de manzana, guisante, avena, hiedroxipropilmetilcelulosa (3%) y patata, y consiguieron un efecto tecnológico similar al almidón, además de incorporar fibra dietética al producto. En otros trabajos se aplicaron extractos naturales de *Citrus* [82], de hoja de olivo [83] o de orujo de uva [84], y mejoraron las propiedades antioxidantes y/o antimicrobianas de las salsas.

2.2.3. Paté de salmón

El pescado y los productos pesqueros son fuente de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (PUFAs) nutricionalmente importantes, como el ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5 n-3) y el ácido docosahexaenoico (DHA, C22:6 n-3), los cuales son considerados como “esenciales” ya que no pueden ser sintetizados por el cuerpo humano [85]. El consumo de estos dos PUFAs se ha correlacionado con la disminución de enfermedades cardiovasculares [86,87], neurovegetativas, trastornos inflamatorios [88–90], o con la potenciación del desarrollo del cerebro e hígado en lactantes [91,92]. De hecho, la EFSA recomienda un consumo de 250 mg de (EPA+DHA)/día a partir de 2 años. Sin embargo, pese a las recomendaciones, el consumo de pescado en España ha disminuido un 14,5 % en 2022 respecto al consumo del 2021 [93]. Con la finalidad de suplir las posibles carencias (EPA+DHA) debido al bajo consumo de pescado, la industria alimentaria ofrece a los consumidores alternativas de fácil acceso, y con características nutricionales aparentemente saludables como los patés de pescado. Estos productos son emulsiones de aceite en agua que pueden contener entre 40-50% de pescado (por ejemplo, salmón, atún entre otros), 20% de aceite vegetal, 4-5% de espesantes (almidón), 1-2,5% de sal y aditivos conservantes, que lo convierten en un producto altamente calórico (aproximadamente 300 kilocalorías/100 g de paté) [94].

La investigación para mejorar este tipo de productos apuesta por la reducción del contenido de aceite vegetal, la disminución de sal y espesantes, y sustitución de aditivos antioxidantes sintéticos para controlar el deterioro oxidativo [95]. La semilla de lino (rico en PUFAs y fibra) y la inulina (fibra soluble) son utilizados en la industria alimentaria como sustitutos de grasas y/o estabilizantes naturales [96–101] cumpliendo así una función tecnológica y nutricional debido al aporte de compuestos funcionales. Sin embargo, los PUFAs son susceptibles a la degradación ya sea por la

presencia de agentes prooxidantes como el oxígeno, la sal, altas temperaturas e incluso los procesos mecánicos [13,102]; además, la presencia de pigmentos hemo (mioglobina y hemoglobina) y de trazas de iones metálicos como el hierro y el cobre, pueden acelerar su descomposición [103,104]. Por lo tanto, tal como se explicó en el apartado de salsas de yogur, el paté de salmón es un producto que necesita ser estabilizado con aditivos antioxidantes para mantener la estabilidad de los PUFA y preservar sus cualidades beneficiosas durante la vida útil. En este sentido, varios estudios han reportado el uso de extractos naturales en productos pesqueros elaborados, como el extracto de piel de calamar (*Dosidicus gigas*) en paté de atún con efecto antioxidante y conservante [105]. O los extractos de granada, aceituna [106] y los subproductos de la oliva, que se utilizaron como antioxidante y antimicrobiano en hamburguesas de pescado [107].

Mientras algunos estudios buscan nuevas fuentes aún inexploradas, otros se centran en la reutilización de subproductos de la industria alimentaria. En este sentido, las plantas aromático-medicinales han sido y siguen siendo una fuente de recursos disponibles y asequibles, reconocidos como seguros y que incluso pueden permitir la obtención de la denominada “etiqueta verde”.

2.3. Plantas aromático-medicinales (PAM)

Las plantas aromáticas se describen principalmente en asociación con las plantas medicinales, ya que juntas forman una categoría especial descrita por los etnobotánicos como plantas aromáticas y medicinales abreviadas como PAM [108]. Las PAM son materias primas botánicas, que se utilizan principalmente con fines aromáticos, terapéuticos y/o culinarios, como componentes de cosméticos, productos medicinales, alimentos saludables, aditivos para piensos y otros productos naturales para la salud. Además, pueden considerarse como los materiales básicos para

ingredientes naturales procesados de valor añadido, como aceites esenciales, extractos secos y líquidos y oleorresinas [109]. La actividad farmacológica de las PAM se debe a sus ingredientes biológicamente activos clasificados en cuatro grupos: alcaloides, glucósidos, aceites esenciales y otras sustancias activas misceláneas.

Las PAM están ampliamente distribuidas a nivel mundial, incluidos el sur y sureste de Asia, así como América, Europa, África y Australia. En la India, se utilizan más de 7500 especies en etnomedicina, lo que representa la mitad de las especies de plantas nativas del país. En China se usan alrededor de 6000 especies de plantas con propiedades medicinales; mientras que en África se usan algo más de 5000 especies. En Europa se utilizan al menos 2000 PAM y dos tercios de ellas (1200-1300) son nativas del continente europeo. La mayoría de estas plantas todavía se recolectan en la naturaleza [108].

2.3.1. Cultivo de PAM (Mundial, europeo y español)

Los registros de la FAO catalogan a las PAM dentro de “Otros cultivos de estimulantes, especias y plantas aromáticas” [110], por lo que resulta complicado realizar una estimación ajustada de su cultivo. Sin embargo, la superficie mundial cosechada no ha dejado de crecer desde que se tienen registros (**Figura 2**).

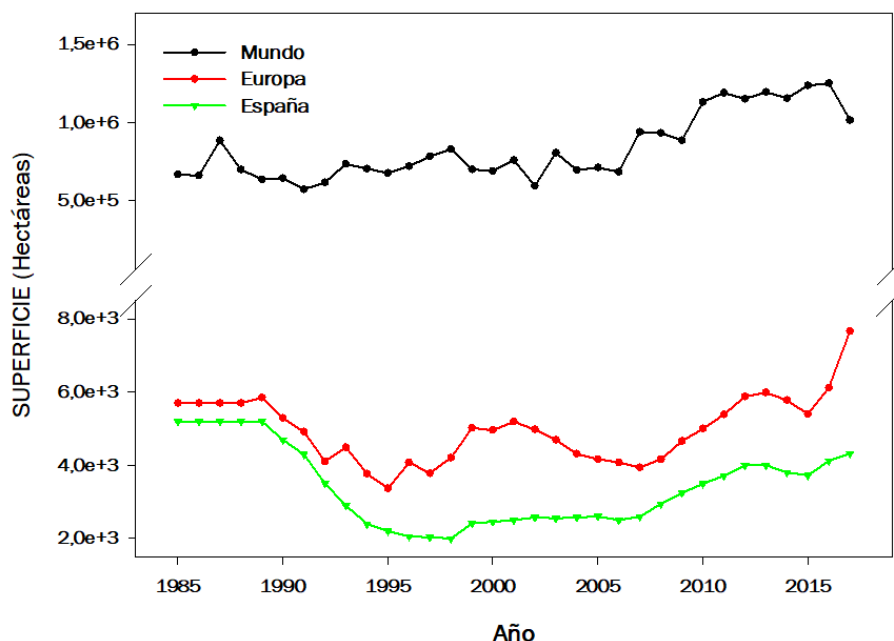


Figura 2. Superficie cosechada (ha) de “Otros cultivos de estimulantes, especias y plantas aromáticas” en el Mundo, Europa y España [110]. (Elaboración propia)

Los datos mundiales muestran algo más de 600 mil ha en 1985, hasta llegar a más de 1 millón en 2017. En el caso de la superficie cosechada en Europa, los valores estimados son de 5700 ha durante los 4 primeros años (1985-1988); y en las siguientes décadas se observan descensos e incrementos en la superficie cosechada, aunque la tendencia es al alza, hasta ubicarse en más de 7660 ha en 2017. En el caso de la superficie cosechada en España de “Otros cultivos de estimulantes, especias y plantas aromáticas”, se aprecia la importante aportación al conjunto de países europeos. Se distingue un descenso prolongado de la superficie cosechada desde 1989 (5200 ha) hasta 1998 (1996 ha), y a partir de ahí, un incremento paulatino hasta llegar a más de 4300 ha en 2017.

Los niveles de producción de PAM en España son importantes, por lo que posee un potencial importante para competir internacionalmente y ser un gran país productor-transformador. Las razones son que la península registra una flora muy

variada, un clima adecuado y que tiene los suficientes conocimientos científico-técnicos para producir cultivos de calidad, precisamente los que demandan actualmente las empresas [93]. Según el anuario de estadística agraria del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, en 2021 se registraron en España más de 13 mil hectáreas dedicadas al cultivo de plantas aromáticas, con una producción de más de 91 mil toneladas. Las comunidades de Castilla la Mancha, Murcia, Andalucía y Valencia fueron con diferencia las mayores productoras (**Figura 3**), sumando entre las 4, más del 73% de la producción española [93].

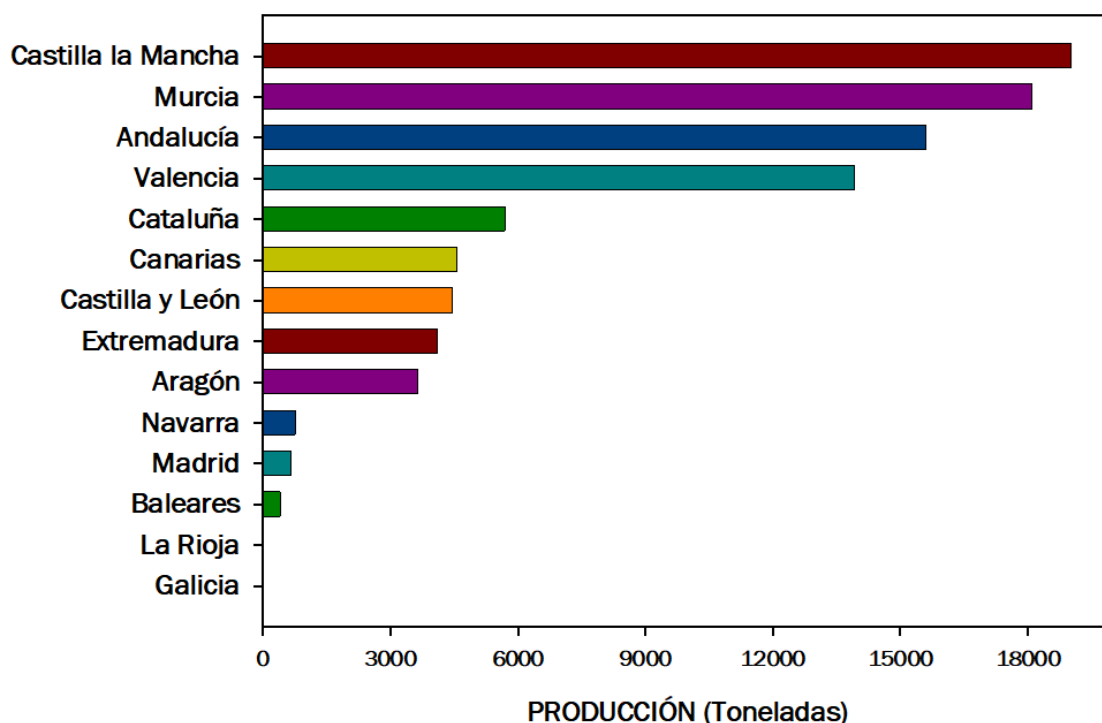


Figura 3. Producción (toneladas) de plantas aromático-medicinales en España [93].
(Elaboración propia)

2.4. Familia Lamiácea

Lamiácea (*Labiatae*), es una importante familia de plantas que consta de 250 géneros y más de 7000 especies. Los géneros más importantes de esta familia son *Salvia*, *Rosmarinus*, *Scutellaria*, *Stachys*, *Plectranthus*, *Hyptis*, *Teucrium*, *Thymus*, *Vitex*,

Nepeta, etc. Un gran número de especies de Lamiácea habitan en diferentes ecosistemas y presentan una gran diversidad con una distribución cosmopolita. La mayoría de las especies son aromáticas y poseen una compleja mezcla de compuestos bioactivos que contribuyen a la actividad biológica global tanto en condiciones *in vitro* como *in vivo*. Metabolitos secundarios con potentes propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas, antivirales y anticancerígenas son cruciales para las actividades biológicas mencionadas. Además, las plantas que pertenecen a esta familia son valiosas en las industrias alimentaria, cosmética, aromatizante, de fragancias, perfumería, pesticidas y farmacéutica. Debido a su amplia gama de aplicaciones, las plantas de la familia Lamiácea, en la que se incluyen al romero y la salvia (**Tabla 1**) se cultivan ampliamente y, por lo tanto, se consideran una fuente indispensable de compuestos funcionales [3,111,112]. A partir de este punto nos centraremos en el romero y la salvia, objeto de estudio de esta tesis doctoral.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de romero y salvia.

REINO	<i>Plantae</i>	
DIVISIÓN	<i>Magnoliophyta</i>	
CLASE	<i>Magnoliopsida</i>	
ORDEN	<i>Lamiales</i>	
FAMILIA	<i>Lamiaceae</i>	
SUBFAMILIA	<i>Nepetoideae</i>	
TRIBU	<i>Mentheae</i>	
GÉNERO	<i>Salvia</i>	<i>Rosmarinus</i>
ESPECIE	<i>Lavandulifolia</i>	<i>Officinalis</i>
NOMBRE CIENTÍFICO	<i>Salvia lavandulifolia</i> Vahl	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.
NOMBRE COMÚN	Salvia	Romero

Fuente [113,114]

2.4.1. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.)

El romero es un arbusto leñoso, denso y perenne de 60-200 cm de altura, con hojas pequeñas y puntiagudas (2-4 cm), con un fuerte olor aromático. Las flores son blanquecinas, azules o púrpuras en inflorescencias cimosas. Se cultiva en laderas y collados de tierra baja, sobre todo en los terrenos calcáreos, desde la costa hasta los 1500 metros de altitud. Puede ser cultivado a partir de esquejes trasplantados, lo que hace que su cultivo sea algo intensivo en comparación con las operaciones en las que la siembra directa es una opción. Es bastante tolerante a la sal y a la sequía. Puede cosecharse de tres a cuatro veces al año, y los rodales de romero siguen siendo productivos de 5 a 7 años. Es originario del Mediterráneo, desde España hasta los Balcanes y el norte de África. En España, se puede encontrar en Cataluña, los Pirineos, en Aragón y Navarra, Castilla la Mancha, Valencia, Murcia, Andalucía, Extremadura y las Islas Baleares. El romero utilizado en la preparación de extractos antioxidantes procede de países donde crece de forma silvestre (por ejemplo, Marruecos) o donde se cultiva intencionadamente (por ejemplo, Estados Unidos, Francia, España, Argelia, Túnez, Portugal, Rumanía) [6,115,116].



Figura 4. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.) (Fuente: newworldencyclopedia.org).

2.4.2. Salvia (*Salvia lavandulifolia* Vahl)

Es nativa de la Península Ibérica, razón por la cual es conocida como la salvia española. Es un arbusto perenne con tallos leñosos en la base que alcanza una altura de 20 a 100 cm. Las hojas son pecioladas simples y la corola es frecuentemente de color rosa, azul o violeta con una altura de unos 15 a 40 mm. La época de floración varía entre abril y julio. Esta especie se puede encontrar en las montañas calcáreas del área mediterránea occidental o en suelos calizos, margosos y yesíferos a una altura de entre 200 y 2000 metros, aunque es más común encontrarla entre los 600 y 1000 m de altitud [117]. Crece en España (especialmente Andalucía, Murcia y Castilla la Mancha), sur de Francia y noroeste de África [7,118]. Esta planta puede soportar suelos poco profundos y condiciones ambientales inhóspitas; sin embargo, no resiste el exceso de agua.



Figura 5. Salvia (*Salvia lavandulifolia* Vahl) (Fuente: Nasser Halaweh; hoseito.com)

2.4.3. Especies antioxidantes presentes en el romero y la salvia

La razón por la que los extractos de romero y salvia han encontrado una amplia aplicación en la gestión de la oxidación en alimentos y bebidas, es que producen una amplia gama de compuestos fenólicos antioxidantes con características químicas únicas (Tabla 2).

Tabla 2. Fenoles identificados en los extractos de romero y salvia.

Fenoles	Planta	Fenoles	Planta
Ácido cafeico	R y S	Genkwanina	R
Ácido salviánico	R y S	Hesperidina	R y S
Ácido rosmarínico	R y S	Hispidulina-rutinósido	R
Ácido p-coumárico	R	Naringina	S
Ácido salvianólico A	S	Carnosol metil éter isómero	R
Ácido ferúlico	R y S	Carnosato de metilo	SA
Luteolina-7-O-glucurónido	R	Rosmanol	R
Luteolina	R y S	Rosmanol isómero (epirosmanol)	R
Luteolina-7-O-rutinósido	S	Carnosol	R y S
Apigenina	R	Rosmadial	R y S
Apigenina-7-O-glucósido	R y S	Ácido carnósico	R y S
Apigenina-7-O-neohesperidósido	S	Ácido 12-O-metilcarnósico	R y S
Hispidulina 7-glucósido	R y S	Carnosol isómero	R
Salvigenina	S	Ácido betulínico	R

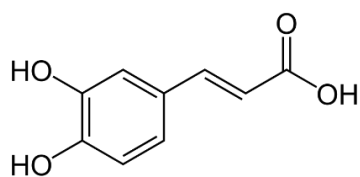
Abreviaturas: R: romero; S: salvia. Fuente: [3,119,120]

Estos compuestos fenólicos presentan una gran variedad de polaridades y solubilidades, estando el ácido rosmarínico en el extremo hidrofílico de la escala y el ácido carnósico en el extremo lipofílico. Siendo considerados como los principales metabolitos secundarios de la fracción no volátil de los extractos de estas PAM [3,119].

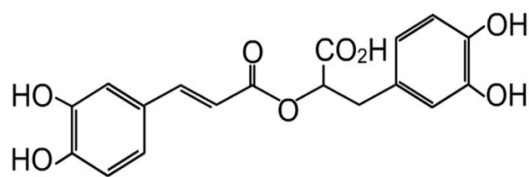
El ácido rosmarínico se deriva del ácido cafeico y se sintetiza por enlace éster con el ácido 3,4-dihidroxifenil láctico (también conocido como ácido salviánico o

danshensu). Tanto el ácido cafeico como el ácido salviánico se originan a partir de los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina, respectivamente [2,121]. El ácido rosmarínico tiene cuatro hidroxilos fenólicos periféricos y un grupo carboxilo central ionizable, por lo que presenta una alta solubilidad en mezclas de agua y etanol [122].

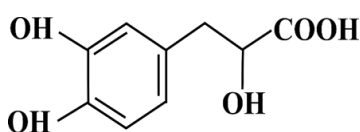
Los diterpenos fenólicos del romero y la salvia incluyen el rosmadial, el ácido carnósico y sus derivados, como el rosmanol, el carnosol y el carnosato de metilo. También están presentes los flavonoides, como la genkwanina, la hesperidina, la apigenina y la luteolina, entre otros [3,122–124]. El romero contiene mayores concentraciones de ácido carnósico que la salvia. El ácido carnósico tiene dos hidroxilos fenólicos y un grupo carboxílico, este último es responsable de su conversión en carnosol cuando se oxida [125]. El carnosol puede convertirse a su vez en los isómeros rosmanol y epirosmanol por hidroxilación de C-7 en su anillo de tipo lactona [126]. El ácido carnósico también puede metilarse en el grupo carboxilo, formando carnosato de metilo. La vía propuesta para la biosíntesis del ácido carnósico es a partir del geranilgeranil difosfato a través de varias reacciones de ciclización secuenciales [122,125]. En relación con el romero, la salvia es particularmente prolífica en la producción de flavonoides y otros derivados fenólicos, incluyendo aquellos estructuralmente relacionados con el ácido rosmarínico [115,116,127]. En la **Figura 6** se presentan algunas estructuras químicas de los principales polifenoles del romero y la salvia.



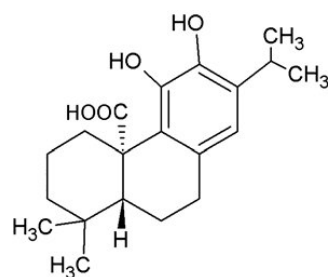
Ácido cafeico



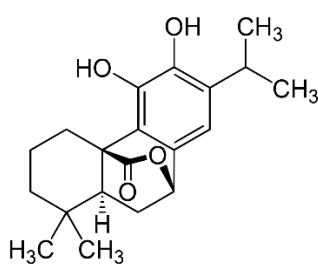
Ácido rosmarínico



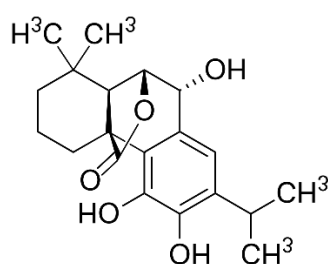
Ácido salviánico



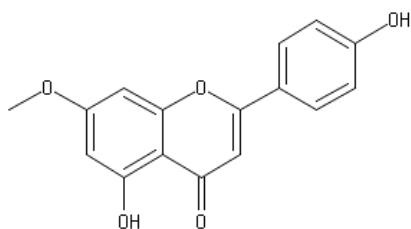
Ácido carnósico



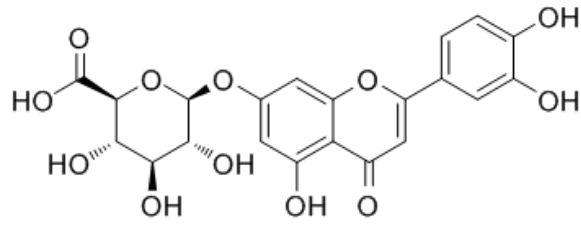
Carnosol



Rosmanol



Genkwanina



Luteolina 7-O-glucorónido

Figura 6. Estructuras de los principales polifenoles del romero y la salvia. Fuente Berdahl et al., (2015) [115].

La **Tabla 3** también recoge algunos compuestos identificados en los aceites esenciales de romero y salvia. Así, en el aceite de romero han sido identificados como componentes principales: alcanfor, eucaliptol, α -pineno, α -cariofileno, p-cimeno, β -cariofileno, α -terpineol, verbenona, α -tuyona, y acetato de bornilo [119,128]. Mientras que en el aceite esencial de salvia fueron: alcanfor, 1,8-cineol, α -pineno, β -pineno y limoneno [129,130].

Tabla 3. Compuestos fitoquímicos identificados en los aceites esenciales de romero y salvia.

Compuestos	Planta	Compuestos	Planta
α -tuyona	R y S	(+)-4-Carene	R
α -Pineno	R y S	Verbenona	R
Canfeno	S	α -Terpineol	R y S
β -Sabineno	S	α -Cariofileno	R
β -Pineno	S	Caprato de etilo	R
β -Mirceno	R y S	Acetato de bornilo	R
p-Cimeno	R y S	β -linalol	R
D-Limoneno	R y S	o-Cimeno	R
1,8-Cineol	S	Eucaliptol	R
γ -Terpineno	R y S	Caprilato de etilo	R
Alcanfor	R y S	Ylangeno	R
Borneol	R y S	Terpineno-4-ol	R y S
Acetato de bornilo	S	α -Muroleno	R
Óxido de trans-cariofileno	S	Limoneno	R
Viridiflorol	S		

Abreviaturas: R: romero; S: salvia. Fuente: [119,128–131]

2.4.4. Características diferenciales entre romero y salvia.

Aunque el romero y la salvia producen los mismos o similares diterpenos fenólicos y otras sustancias fenólicas, el romero produce estos compuestos en mayores concentraciones y es una fuente más económica de ellos. Ésta es una de las razones por las que el extracto de romero ha eclipsado al de salvia como ingrediente alimentario

comercial. Otra desventaja económica de la salvia está relacionada con la densidad aparente de la salvia deshidratada y molida, que es mucho menor que la del romero molido. Ya que es más difícil transportar el material ligero y esponjoso de la salvia a un extractor (o peletizador), por lo que supone un mayor coste de procesamiento. Así, los productores de extractos de romero y salvia se enfrentan a una serie de retos y opciones, ya que su objetivo final es conseguir productos con un alto poder antioxidante que sean útiles en la más amplia gama de aplicaciones alimentarias, y cuyos costes sean proporcionales al valor proporcionado. Deben elegir y asegurar una fuente que suministre una concentración industrialmente suficiente y constante de los principios activos [115].

2.5. Factores que afectan la composición polifenólica de las PAM

Según la literatura científica son muchos los factores que afectan la composición química de las PAM. Así tenemos: el área geográfica [129,132,133], las labores agronómicas [134], el estado fenólico de la planta [135–138], las condiciones ambientales [128,130,139], los factores genéticos [4,131], entre otros. En este contexto, se ha informado que los factores genéticos tienen un impacto relevante en la variabilidad química detectada, incluso entre individuos pertenecientes a una misma población [7,129,140]. Por lo tanto, esta variabilidad polifenólica debe tenerse en cuenta, ya que la calidad y la actividad biológica de los extractos de PAM varían en función de su composición. De hecho, varios estudios señalan la importancia de testar, seleccionar y estandarizar los EP para garantizar su inocuidad y adecuarlos a las características de los alimentos receptores [129,132]. En el caso de los EP comerciales, muchas veces no tienen una composición estandarizada, debido a que provienen de plantas silvestres originales, recolectadas y cultivadas por los agricultores y, por tanto, proporcionan propiedades diferentes [129,132]. Como respuesta a este desafío, varios

trabajos a nivel nacional están enfocados en la selección clonal y cultivo de PAM en base a su rendimiento y actividades biológicas [130,141]. En concreto, el Grupo de Investigación en Cultivos de Secano para el Desarrollo Rural, del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Medioambiental (IMIDA) de la Región de Murcia, viene trabajando desde hace años en la selección clonal de PAM como el romero, la salvia, el espliego, tomillo, etc. para múltiples aplicaciones en los campos de la salud y la alimentación humana y animal, apostando por la conservación y utilización de recursos genéticos de interés agrícola [127,128,130,134,135]. Su propósito es conseguir nuevas estrategias para el desarrollo rural integrado, de uno de los sectores menos desarrollados de la agricultura española y con mayor potencial, como son los cultivos de PAM. Esto incrementaría la competitividad de sus productores, mejorando la rentabilidad de sus explotaciones y apoyando el asentamiento de la población rural, contribuyendo así al beneficio socioeconómico de esta región [6].

2.6. Procesado industrial de las PAM

Las PAM, especialmente las de la familia Lamiácea, han ido ganando interés como fuente de compuestos bioactivos naturales, con usos potenciales no solo en las industrias farmacéutica y cosmética, sino también en la industria alimentaria. La industria de los aceites esenciales (AE) se centra principalmente en su extracción a partir de PAM, utilizando diferentes técnicas convencionales y/o innovadoras con diferentes impactos en el rendimiento, composición y calidad del producto final [112]. Aunque también se pueden obtener otro tipo de extractos a partir de estas plantas como oleorresinas o extractos acuosos [142].

2.6.1. Técnicas de extracción de aceites esenciales (AE)

Aunque la hidrodestilación, la destilación al vapor y la extracción con solventes orgánicos son los métodos más comúnmente empleados [143], son de alto costo y requieren mucho tiempo y tienen un impacto negativo en los compuestos termosensibles, desencadenando la hidrólisis de los enlaces lábiles y la degradación de compuestos insaturados o esterificados [144]. Para superar estos inconvenientes, recientemente se han desarrollado técnicas más ecológicas o sostenibles, más viables y económicamente eficientes, conocidas como “tecnologías verdes”. Técnicas como la extracción subcrítica con agua, la extracción supercrítica con dióxido de carbono y la extracción asistida por microondas, que operan a bajas temperaturas durante el proceso de extracción, permiten la recuperación de compuestos térmicamente inestables o propensos a la degradación oxidativa [145].

2.6.2. Problemas de contaminación de la industria de destilación de AE de PAM

La creciente demanda de AE naturales y su rendimiento relativamente bajo (1-5% del material vegetal utilizado), causan un problema significativo de eliminación de los residuos restantes, principalmente de residuos sólidos. Esta biomasa liberada al medio ambiente ejerce un fuerte impacto de contaminación y carga económica [146,147]. Tradicionalmente los residuos sólidos de las PAM se han usado como biomasa de combustión en hornos, aunque en años recientes se han usado como bioadsorbentes [147], acolchado de cultivos para la gestión microbiana o de malas hierbas [148], etc. (**Figura 7**). Así, la gestión de residuos agrícolas e industriales constituye un motor para el desarrollo de diferentes estrategias, encaminadas a su revalorización como fuente de productos-ingredientes de alto valor añadido. Por ello, la estrategia

europea para el desarrollo sostenible (Plan de Acción para la Economía Circular) se centra en la promoción de los residuos agrícolas, principalmente a través de su revalorización como fuente potencial de compuestos bioactivos, que ayuden al crecimiento sostenible y la creación de empleo. Es un requisito previo para alcanzar el objetivo de neutralidad climática de la UE para 2050, para evitar la pérdida de biodiversidad y reducir la contaminación [149].

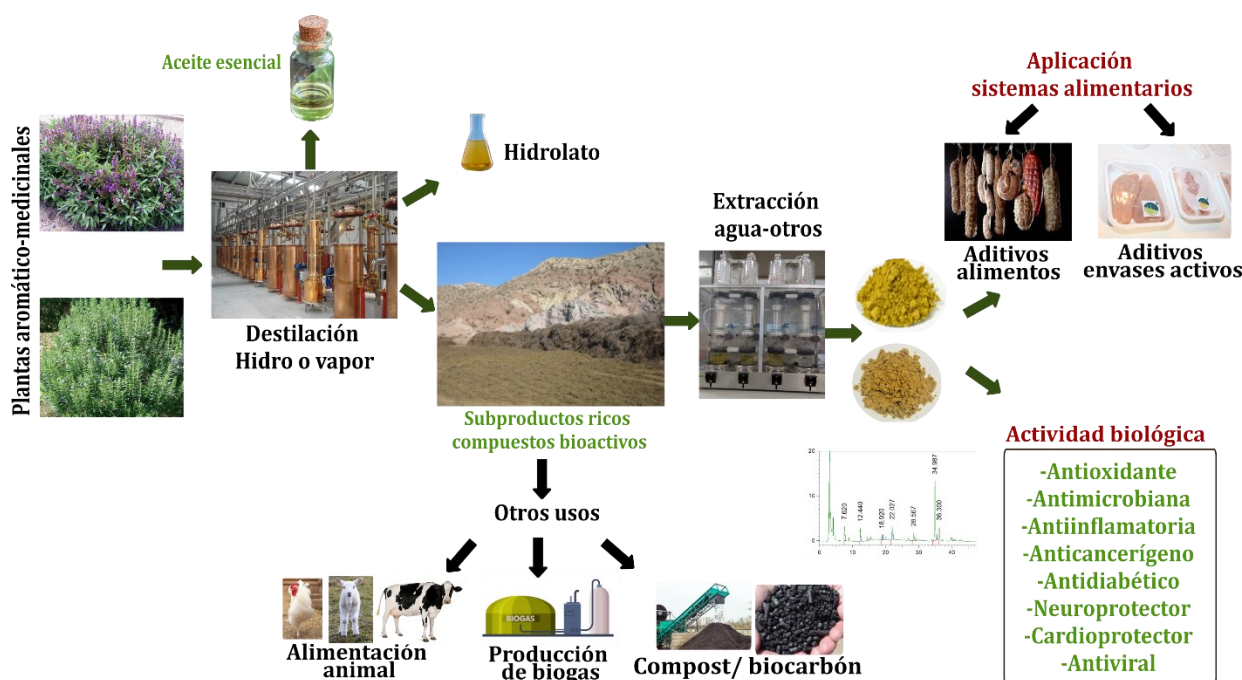


Figura 7. Valorización de los subproductos después de la producción de aceite esencial de PAM. Adaptado de Skendi et al., (2022) [112].

Además, dado que la industria alimentaria está en continua búsqueda de “aditivos naturales” para sustituir a los “aditivos químicos”, los extractos fenólicos de los residuos de destilación de PAM podrían utilizarse para este fin, siempre y cuando cumplan con los estrictos requisitos impuestos por la legislación. La utilización de residuos sólidos de PAM después de la destilación del AE representa una nueva tendencia y, hasta ahora son escasos los estudios que intentan utilizar extractos fenólicos en aplicaciones de la industria alimentaria [112].

2.6.3. Desafíos para la revalorización de residuos sólidos de PAM

Hay que considerar varios aspectos antes de ejecutar un protocolo de revalorización de residuos sólidos de PAM. Por ejemplo, el residuo sólido que queda después de la destilación de PAM generalmente se seca para evitar el crecimiento microbiano y actividades de fermentación, para garantizar la estabilidad durante un almacenamiento prolongado y proporcionar así una mejor calidad del residuo sólido [150]. La selección del método de secado dependerá de la estructura de las sustancias activas que se van a recuperar, del material herbal destilado, del equipo disponible y los costes de energía. Así tendremos secado al aire en condiciones soleadas o sombreadas [146], o secado mediante la utilización de equipos, como el secado al horno, el secado infrarrojo, el secado por microondas, el secado al vacío, la liofilización, etc., representan alternativas efectivas para mejorar la eficiencia y mantener estable la calidad del producto. En general, las condiciones de secado dependen de la posible degradación de los compuestos termosensibles de interés contenidos en el residuo sólido [151].

Además, dado que los residuos sólidos de la industria de AE están libres de compuestos volátiles, pueden ser considerados como un material desodorizado rentable [152]. Esto resulta ventajoso en la industria alimentaria, ya que los ingredientes olorosos pueden perjudicar las propiedades organolépticas del producto, o provocar problemas de rechazo cuando se suministra en dietas para animales [153], etc. No obstante, hay que tener en cuenta que la composición química del residuo sólido se puede ver afectada por la naturaleza del material vegetal destilado, la técnica y temperatura-tiempos de destilación [2,154,155] entre otros.

Por ello, el proceso de obtención de extractos fenólicos del residuo sólido después de la destilación de AE es un paso crítico. Generalmente, existen diferentes

técnicas de extracción/separación para la recuperación de los compuestos bioactivos [156,157]. Los trabajos publicados indican el uso de técnicas de extracción convencionales (Soxhlet, maceración y agitación/agitación, etc.) y/o modernas (asistida por ultrasonido, con fluido supercrítico, acelerada con disolventes, etc.), así como otros enfoques que implican métodos combinados. La selección de un protocolo de extracción específico depende del grado requerido de pureza del extracto, la naturaleza de los compuestos extraíbles de interés, la rentabilidad y el valor añadido del extracto. Por ejemplo, con la técnica de hidrodestilación, durante el proceso de ebullición se produce la lixiviación de ciertos compuestos en el residuo de las PAM, especialmente los polares. Esto puede ser una ventaja si se buscan fenoles apolares, pero una desventaja si el objetivo es obtener fracciones polares y apolares ricas en fenoles. Por el contrario, este proceso es menos importante tanto en la destilación al vapor, en la que la planta no se sumerge en agua, como en la extracción por microondas sin disolventes, ya que los volúmenes de agua utilizados son muy bajos. Por lo tanto, es de esperar que con estas dos técnicas los residuos sólidos presenten mayores concentraciones de compuestos químicos de cierta polaridad [2].

La eficiencia de extracción también depende en gran medida del disolvente utilizado. A menudo, se utiliza un protocolo de extracción secuencial mediante el uso de diferentes disolventes o una mezcla hecha de algunos disolventes compatibles para obtener un extracto rico en compuestos fenólicos. No obstante, aunque existe un gran número de disolventes adecuados para la recuperación de los compuestos bioactivos, la Directiva 2009/32/CE [158] “sobre disolventes de extracción utilizados en la producción de productos alimenticios e ingredientes alimentarios”, enumera los disolventes de extracción que pueden utilizarse, junto con las condiciones de su uso y los niveles máximos permitidos de sus residuos en alimentos destinados al mercado europeo.

De igual importancia puede ser el sólido resultante tras el proceso de extracción, una especie de residuo secundario compuesto principalmente por estructura vegetal y agua, el cual sigue siendo un material rentable, como forma sostenible de reciclar los nuevos residuos generados y cerrar el ciclo. Este material sólido también podría ser útil para alimentación animal, mantillo orgánico, compost o biocarbón para la enmienda eficaz del suelo [147], o para una posterior extracción de polisacáridos [159], o incluso mediante la fermentación de estos residuos sólidos para la producción de bioetanol, que también puede utilizarse como disolvente para la extracción de fenoles [160].

2.7. Propiedades de los extractos polifenólicos

2.7.1. Propiedades sensoriales

La percepción sensorial desempeña un papel importante en la aceptación del producto alimentario por parte del consumidor. Algunos extractos de PAM presentan restricciones que limitan su aplicación en los alimentos debido a su alto impacto sobre las propiedades sensoriales. Por ejemplo, el uso directo de AE en alimentos está limitado por el intenso aroma, y suele ser destinado a productos con sabor más fuerte como por ejemplo los productos cárnicos y pesqueros [2,115]. Para superar este problema, se han empleado estrategias como su encapsulación en polímeros comestibles y biodegradables como parte de sistemas de envasado activo, o en nano-emulsiones para evitar la interacción con matrices alimentarias [161]. En el caso de los extractos obtenidos directamente del material vegetal fresco, seco y sin extracción del AE, es necesario aplicar un proceso de desodorización para minimizar el impacto sensorial sobre los alimentos. Sin embargo, los procesos de desodorización podrían afectar su contenido polifenólico [12].

Otra ventaja de reutilizar los subproductos de la destilación de los AE para obtener EP es que, durante la destilación se elimina la mayor parte de la clorofila y de los compuestos aromáticos (volátiles), como se mencionó anteriormente, lo que permite obtener EP con menor color, aroma y sabor [112]. No obstante, estos EP no son completamente inodoros, incoloros e insípidos, ya que pueden aportar a los alimentos cierto amargor, astringencia y notas picantes debido a la propia naturaleza de los polifenoles como por ejemplo flavonoides, taninos y/o restos de AE que no han sido extraídos durante la destilación [162]. Por lo tanto, es muy importante la elección previa del EP a utilizar en una determinada matriz alimentaria, ya que la adición de dicho extracto no debe cambiar el perfil de sabor original del alimento.

2.7.2. Propiedades antioxidantes

La actividad antioxidante de los polifenoles viene determinada fundamentalmente por sus estructuras. La reacción de estos compuestos con los radicales libres, produce la deslocalización del electrón ganado sobre el antioxidante fenólico, y la estabilización por el efecto de resonancia del núcleo aromático, lo que impide la continuación de la reacción en cadena de los radicales libres [122,163,164].

El estudio de las propiedades antioxidantes de los extractos de romero y salvia, así como de sus componentes individuales han sido ampliamente estudiadas. Estas PAM presentan una elevada CA siendo una de sus propiedades biológicas más relevantes. Son muchos los estudios que atribuyen la elevada CA a su riqueza en los principales compuestos bioactivos como el ácido rosmarínico, ácido carnósico y carnosol [3,122–124]. Aunque, otros defienden que la mayor actividad biológica de un EP se debe al sinergismo entre los diferentes componentes que forman estos extractos [165].

Los antioxidantes fenólicos pueden incluir tocoferoles, ácidos fenólicos, cinamatos y flavonoides [166]. En los ácidos fenólicos, el grado de hidroxilación y el número de grupos OH en la molécula son importantes para su actividad antioxidante. Así, la presencia de dos o tres grupos OH fenólicos con un grupo carbonilo en forma de lactona o chalcona, flavanona o flavona es fundamental para su actividad antioxidante [167]. También, se ha descrito que la sustitución en la posición *para* con un grupo *etilo* o *n-butilo* en lugar de un grupo metilo del fenol mejora la actividad antioxidante [168]. Además, Heijnen et al., (2001) [169], informaron que la presencia de múltiples grupos OH contribuye a la actividad antioxidante; igualmente, la presencia de un segundo grupo OH en la posición *orto* o *para* (derivado de 1,2-dihidroxibenceno) que tiene el catecol y la hidroquinona, les confiere una mejor capacidad captadora. Así mismo, Heim et al., (2002) [170], encontraron que la actividad antioxidante de los derivados del dihidroxibenceno, se debe al radical semiquinoide producido inicialmente ya que puede convertirse en una quinona. Además, la presencia de un grupo funcional carbonilo en el anillo C y el doble enlace mejora la estabilidad del radical flavonoide al ayudar a la deslocalización de electrones, lo cual potencia su actividad. La presencia de anillos aromáticos y los grupos sustituyentes en los ácidos carnósico y rosmarínico les proporcionan la estabilización de la estructura, incluso tras la donación del átomo de hidrógeno [163].

Se ha demostrado que los EP de romero y la salvia tienen la capacidad *in vitro* de eliminar radicales libres [3,120,133,171], como las especies reactivas de oxígeno (en inglés ROS) [172,173], de inducir la quelación de metales [3,120,133], e inhibir las enzimas responsables de la formación de radicales libres [122].

También se han evaluado de forma aislada algunos polifenoles de los RE y SE. En este contexto, varios autores han informado que la potente actividad antioxidante que presenta el ácido carnósico, radica principalmente en la capacidad de convertirse

en otros diterpenos fenólicos [114,174]. Así, tanto el ácido carnósico como sus derivados pueden actuar como antioxidantes secuestrando radicales superóxido, previniendo el enranciamiento de lípidos y quelando metales [163]. Así mismo, Lu & Yeap Foo, (2001) [175], evaluaron el ácido rosmarínico y sus derivados y determinaron que eran potentes eliminadores de radicales DPPH, mientras que flavonoides (luteolina y los glucósidos de apigenina), poseían actividades moderadas. Lo mismo, observaron con las actividades de barrido de superóxido, estos compuestos presentaron actividades entre 15 y 20 veces superiores a las del trolox. En otro estudio, evaluaron los ácidos salvianólico B y salviánico aislados de *Salvia miltiorrhiza* y concluyeron que estos compuestos mostraron una mayor actividad de eliminación de radicales libres que la vitamina C, aunque una menor actividad quelante del hierro y de eliminación del peróxido de hidrógeno [176].

2.7.3. Propiedades antimicrobianas

Hay un creciente interés entre los productores de alimentos y los consumidores en reducir el uso de conservantes antimicrobianos sintéticos en alimentos, y optar en su lugar por conservantes naturales derivados de plantas [177]. Por ello, se han estudiado ampliamente las aplicaciones de EP (por ejemplo, romero y salvia) como tratamiento antimicrobiano para evitar la proliferación de la flora bacteriana en los alimentos, debido a sus propiedades bactericidas y bacteriostáticas como medida preventiva contra el deterioro de los alimentos [178].

Se sabe que los extractos de plantas ricos en polifenoles pueden actuar a través de diferentes mecanismos. Por ejemplo, el grupo OH de una molécula fenólica es fundamental para la actividad antimicrobiana, ya que puede interactuar con la membrana celular del microorganismo mediante enlaces de hidrógeno [179]. Esto provoca la ruptura de la estructura de la membrana, lo que resulta en la pérdida del

contenido celular, o la deslocalización de los electrones que induce la despolarización que impacta en la fuerza motriz de protones, lo que disminuye el gradiente de pH a través de la membrana y el nivel de la reserva del Adenosín Trifosfato (ATP), y en última instancia conduce a la muerte celular. Así mismo, la presencia de un ácido orgánico puede afectar a la oxidación de la Nicotinamida Adenina Dinucleótida (NADH), eliminando así el suministro del agente reductor al sistema de transporte de electrones [180].

El número de grupos OH en el anillo fenólico también influye en la intensidad y la magnitud de la actividad antimicrobiana. Por ejemplo, Stojković, et al (2013) [181] estudiaron el impacto antimicrobiano del ácido cafeico, el ácido p-cumárico y la rutina en sistemas alimentarios y descubrieron que el ácido cafeico tenía una mayor actividad antimicrobiana en comparación con el ácido p-cumárico debido al grupo OH adicional en el anillo fenólico del ácido cafeico.

La posición de los grupos OH en el anillo aromático de la molécula fenólica también influye en la eficacia antimicrobiana de los conservantes de origen vegetal [182]. Por ejemplo, la diferencia en la actividad antimicrobiana entre el timol y el carvacrol cuando se probó frente a las bacterias se atribuyó al grupo OH situado en la posición meta del timol en comparación con la posición orto del carvacrol [183]. En otro estudio, la actividad antibacteriana de los flavonoides contra cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina mostró que los grupos OH en las posiciones 2' de las chalconas y en la posición 5' de las flavanonas y flavonas aumentan su actividad antimicrobiana [184]. La posición del grupo OH en el anillo aromático de los polifenoles, es relevante en la deslocalización de los electrones de la membrana citoplasmática que ejerce una actividad antimicrobiana sobre las bacterias [185].

Sin embargo, el mecanismo molecular exacto de la actividad antimicrobiana aún no se conoce bien, porque las plantas y los extractos de plantas contienen una

gama diversa de moléculas bioactivas que son diferentes en su configuración y estructura química, y que regularmente funcionan en sinergia/antagonismo entre sí. Esto significa que puede haber varios mecanismos moleculares de acción antimicrobiana posibles para impactar en la célula de muchas maneras [180].

2.7.4. Propiedades saludables

Los distintos estudios con compuestos bioactivos de romero y salvia y sus efectos sobre la salud apuntan su enorme potencial en este campo. Por ejemplo, los diterpenos fenólicos del romero y la salvia muestran efectos positivos en la prevención de la obesidad, la diabetes, la dislipidemia, la hipertensión y los trastornos cardiovasculares [177,186–188]. Los flavonoides de estas dos PAM también pueden prevenir enfermedades degenerativas y enfermedades crónicas no transmisibles como la esteatosis hepática y el cáncer de próstata y de colon [189]. Otros estudios indican que la administración de compuestos presentes en el romero y la salvia contribuye a reducir los niveles de necrosis tumoral [190,191]. Además, sus flavonoides y ácidos fenólicos tienen propiedades antioxidantes y protegen contra las infecciones virales y bacterianas *in vitro* e *in vivo* [186,192,193]. También pueden promover la acción de enzimas protectoras endógenas como la glutatión-peroxidasa, la superóxido-dismutasa y la catalasa [194].

Más específicamente, se ha informado que los ácidos rosmarínico y carnósico y sus derivados reducen la presencia de citoquinas inflamatorias en modelos celulares y animales. Estas citoquinas están relacionadas con las vías metabólicas que combaten la inflamación de los tejidos y, por tanto, aumentan en presencia de enfermedades y lesiones inflamatorias [195]; los ácidos carnósico y rosmarínico también se relacionan con la disminución de la ciclooxigenasa-2, una enzima de actividad inflamatoria [196,197]. Según un estudio reciente, el ácido carnósico actúa como inhibidor de la

proteasa del VIH-1, lo que tiene potencial para ser utilizado en el tratamiento eficaz del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) [198]. Con la aparición pandémica del COVID-19, las sustancias con características antivirales han ganado atención. Los flavonoides, el ácido cafeico, el ácido ferúlico, el ácido p-cumárico [199], el ácido rosmarínico [200] y el ácido carnósico [201] han sido investigados como potenciales agentes antivirales para el SARS-CoV-2 al atrapar e inhibir algunas de sus proteínas.

2.7.5. Posibles efectos adversos

En general, se considera que tanto el romero como la salvia son seguros y carecen de efectos secundarios tóxicos si se consumen en las dosis recomendadas. Sin embargo, deben seguirse ciertas pautas para su uso. Por ejemplo, si se ingiere en exceso el aceite de romero puede desencadenar convulsiones, por lo que se desaconseja su uso a las mujeres embarazadas y lactantes, y en personas epilépticas [202]. Así mismo, las personas con tensión arterial o insomnio deben utilizar el aceite de romero con precaución. El consumo excesivo de hojas de romero puede provocar coma, espasmos, vómitos y, en algunos casos, edema pulmonar [116]. También se ha informado que las aplicaciones cutáneas de alcohol de romero indujeron dermatitis de contacto [203]. Nusier et al., (2007) [204] informaron que la administración dietética de romero a ratones Sprague-Dawley (500 mg/kg de peso corporal; durante 63 días), fue relacionada con una disminución de la espermatogénesis.

Por otro lado, a pesar de que los polifenoles poseen características beneficiosas para la salud, la ingesta elevada y crónica puede resultar en efectos adversos negativos para la salud. En varios estudios se ha observado que los compuestos fenólicos del té [205], el café [206], el romero [207] y el vino [208], pueden inhibir la absorción de hierro. Más específicamente, algunos taninos pueden ocasionar efectos antinutricionales

debido a que forman complejos con las proteínas y los carbohidratos de la dieta, así como con las enzimas [209]; y reducen la absorción de minerales como el hierro y el cobre [207]. En cualquier caso, se ha concluido que la ingesta de polifenoles en concentraciones tóxicas estaría entre el 1 y 5% del total de la dieta diaria, no obstante, una persona en condiciones normales podría ingerir aproximadamente entre 25 mg y 1 g por día [210].

En el caso de la salvia, la Agencia Europea del Medicamento [211] publicó varios informes sobre la toxicidad de varias especies de salvia, entre ellas: *S. officinalis*, *folium*, *aetheroleum*, y *fruticosa*, e informó que la hoja de salvia es segura cuando se utiliza en las dosis recomendadas. Sin embargo, esta agencia emitió una declaración pública general sobre el uso de medicamentos a base de plantas que contienen tuyona, debido a que es neurotóxica en dosis elevadas. La tuyona está presente en el aceite de *S. officinalis*, y otras plantas (como la hoja de cedro, el tanaceto, el ajeno, el tomillo y el romero). Esta declaración recomienda una dosis límite de 3,5 y 6,6 mg/día; además, en un preparado es necesario especificar la cantidad de tuyona, mientras que para concentraciones superiores sería necesaria una evaluación caso por caso del beneficio/riesgo [212]. Hay que destacar que la presencia de tuyona en *S. lavandulifolia* es mucho menos significativa (<0,5%) y por tanto menos tóxica que en otras especies del mismo género [213,214].

En el caso del aceite de salvia, el valor agudo de DL50 por administración oral es de 2,6 g/kg en ratas [211]. Otras especies de salvia producen otros compuestos tóxicos. Por ejemplo, *S. divinorum* contiene la molécula psicotrópica salvinatorina A, que tiene efectos disociativos, alucinógenos y sobre la memoria (recuerdo/reconocimiento) [215]. La salvia roja (*S. haematodes* Wall.) tiene efectos anticonvulsivantes y depresores del sistema nervioso central [216]. Del mismo modo, *S. miltiorrhiza* una hierba tradicional china muy conocida y sin efectos adversos graves. En varios extractos de

esta planta, la DL50 fue superior a 2,5 g/kg en modelos animales [217], mientras que la del danshensu (ácido 3-(3,4 dihidroxifenil) láctico), uno de sus compuestos activos, fue de 2,4 g/kg en ratones tras una única dosis intravenosa [218].

2.8. Aplicaciones alimentarias de extractos polifenólicos de romero y salvia

La oxidación de los lípidos es una de las principales causas del deterioro de la calidad de los alimentos. Los lípidos son susceptibles de sufrir procesos oxidativos en presencia de catalizadores como el calor, la luz, las enzimas, los metales, las metaloproteínas y los microorganismos. El desarrollo de sabores extraños en los alimentos y la pérdida de aminoácidos esenciales, vitaminas liposolubles y otras moléculas bioactivas son algunos de los efectos nocivos experimentados [219].

Desde hace años, los extractos de romero y salvia han sido utilizados para aplicaciones alimentarias debido a sus propiedades como conservantes (**Tabla 4**). Sin embargo, la mayoría de estos estudios se han realizado con productos cárnicos, probablemente porque estos alimentos son más propensos a la oxidación y necesitan estabilizarse, y por su fuerte sabor pueden enmascarar mejor los aromas que suelen aportar los EP como el romero y la salvia.

Tabla 4. Aplicaciones de romero y salvia en matrices alimentarias.

Productos	Condiciones	Formato extracto	PAM	Dosis	Análisis	Resultados	Ref.
Hamburguesas de salmón frescas y parrilla	-18 °C; 90 d	Hojas secas molidas	S	0,50;1;1,5 % (p/p)	DPPH, TBARS, color CIELab, pH, aw; PAG, microbiológico	Reducción procesos oxidativos y efecto antimicrobiano	[220]
Hamburguesas de pescado	4 °C; 11 d	Polvo comercial	R	200 mg/kg	Volátiles, <i>L. monocytogenes</i> , <i>E. Coli</i> , Coliformes	Reducción de oxidación y crecimiento microbiológico	[106]
Hamburguesas de ternera, pollo y pavo	-18 °C; 120 d	Polvo y líquido	R	0,01;0,03; 0,06%	Color CIELab, pH, acidez, TBARS	Estabilidad oxidativa y microbiológica. Aceptación sensorial	[24]
Hamburguesas de cerdo frescas	4 °C; 6 d (600 lux)	Polvo comercial	R	300 mg/kg + Atmósfera	TBARS, oxidación proteínas, volátiles	Estabilidad lipídica	[221]
Hamburguesas de pollo	-18 °C; 120 d	Polvo comercial	R	480 mg/kg	Color CIELab, TBARS.	Estabilidad lipídica = BHA. Aceptación sensorial	[222]
Paté de pollo	4 °C; 28 d	Polvo-Etanol	R y S	2 g/kg	TBARS, DPPH, ABTS, FRAP	Reducción oxidación paté Efecto CA y microbiológico extracto	[13]
Paté de cerdo	4 °C; 15 d	Polvo comercial	R	150 mg/kg (ACR+CS)	Rancimat, PAG, TBARS, PV, DPPH, pH, AW	Inhibición colinesterasa, efecto CA, reducción oxidación lipídica y microbiológica	[223]
Paté de hígado	3,5 °C; 3 d 1000 lux	Polvo comercial	R	125; 250; 500; 750 mg/kg	Color CIELab, TBARS	Reducción TBARS y decoloración	[224]

Tabla 4. Continuación

Productos	Condiciones	Formato extracto	PAM	Dosis	Análisis	Resultados	Ref.
Pâté de hígado	4 °C; 48 h	Polvo Comercial (19% ACR)	R	250;500;750 mg/kg	Color CIELab, TBARS, tocoferol, ácido ascórbico.	Reducción oxidación. Composición proximal. Estabilidad ACR	[225]
Salchichas de cerdo frescas	3 °C; 8 d	Polvo y AE	S	0,05;0,075;0,1 µL/g	TBARS, <i>L. monocytogenes</i> , <i>E. Coli</i> , Mesófilos	Reducción oxidación lipídica y microbiológica, aceptación sensorial	[15]
Salchichas de cerdo	-18 °C; 49 d	Polvo-etanol	R	0,2%	TBARS, sensorial.	Reducción oxidación lipídica, aceptación sensorial	[226]
Salchichas de cerdo	10 °C; 32 d	Hojas secas molidas	R	1;2%	Color CIELab, DPPH, TPC, bacterias lácticas.	Aumento CA, reducción microbiana, aceptación sensorial	[227]
Salchichas Chinas	4 °C; 21 d	Hojas secas molidas	S	0,05;0,1;0,15% (p/p)	Color CIELab, TBARS, carbonilos proteicos, grupos triol.	Reducción oxidación lipídica y proteica, aceptación sensorial	[16]
Rebozados de cerdo	4 °C; 10 d	Polvo comercial ACR-5% y CS,5%	R	0,05% (p/p)	Color CIELab, TBARS, proteínas, contenido hierro no hemo.	Reducción oxidación secundaria y proteica, aumento CA	[228]
Nuggets de pollo congelados	-18 °C; 9 m	Polvo y líquido-acetona líquido-metanol	R	150 mg/kg (ACR+CS)	TBARS, color CIELab, pH	Reducción oxidación aceptación sensorial	[229]
Pollo cocido listo/consumo	4 °C; 16 d	RC. (nano emulsiones)	R	Sol. 0,5 g/100 mL	TBARS, pH, AM, mohos y levaduras, volátiles.	Estabilidad lípidos y microbiológica	[230]

Tabla 4. Continuación

Productos	Condiciones	Formato extracto	PAM	Dosis	Análisis	Resultados	Ref.
Carne fresca	4 °C; 6 d	Polvo (Etanólico)	R	0,2;0,3%	TBARS, NBV, estafilococos, enterobacterias.	Reducción oxidación y carga microbiológica	[231]
Filetes de salmón	Frito	Hojas secas molidas	R	A-infusionado 1:4 g/mL	TEAC, PV, PAG	Aumento CA y reducción oxidación lípidos	[102]
Filetes de sardina	3 °C; 20 d	Polvo (Etanólico)	R y S	Sol. 0,1%;4 min	Putrescina y cadaverina	Reducción aminas biógenas	[232]
Filetes de anguila ahumada	4 °C; 30 d	Polvo etanólico + Aceite esencial	R	Recubrimiento comestible	DC, PV, p-AV, AM, <i>Pseudomonas spp.</i> , bacterias lácticas	Reducción oxidación lípidos y control microbiano	[233]
Filetes de sardina	4 °C; 20 d	Polvo	R	Inmersión sol. 0,1%; 2%;2 min	VP, TBARS, NBV, AM	Reducción oxidación lipídica y control microbiológico, aceptación sensorial	[234]
Dorada frita	4 °C; 5 d	Polvo comercial	R	Inmersión sol. 2;2,5;3%	PV, TBARS, ácidos grasos libres	Reducción oxidación lípidos, aceptación sensorial	[235]
Leche de cabra y soja	2 °C; 12 d	Polvo comercial	R	0,03;0,06% (p/p)	PV, pentanal, hexanal, hexanol, 1-penten-3-ol	Reducción oxidación lípidos, estabilidad α -tocoferol	[76]
Requesón	4 °C; 7 d	Polvo-etanol	R	Libre y encapsulado	DPPH, PAG, color CIELab	Aumento CA, estabilidad AG y color	[236]
Aceite de lino	60 °C; 24 h	Polvo-Etanol	R	-	PV, anisidina	Estabilidad lipídica primaria y secundaria	[237]

Tabla 4. Continuación

Productos	Condiciones	Formato extracto	PAM	Dosis	Análisis	Resultados	Ref.
Aceites vegetales	62 °C; 24 d	Polvo comercial (70% ACR)	R	400 mg/kg	PAG, PV, TPC, tocoferol, DPPH, ABTS	Aumento CA, reducción oxidación lipídica	[238]
Aderezos para ensaladas	40 °C; 12 d	Polvo (Acetona)	R y S	600 mg/kg	PV, DC, Hexanal	Estabilidad oxidativa primaria secundaria	[239]

Abreviaturas: CA: Capacidad antioxidante; ABTS: 2, ácido 2'-Azino-Bis-3-Etilbenzotiazolina-6-Sulfónico; ACR: ácido carnósico; AM: aerobios mesófilos; aw: actividad de agua; CS: carnosol; DPPH: 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo; d: días; DC: dienos conjugados; FRAP: Poder antioxidante reductor férrico; m: meses; min: minutos; NBV: nitrógeno básico volátil; PV: valor peróxido; PAG: perfil de ácidos grasos; PAM: plantas aromático-medicinales; RC: recubrimiento comestible; Ref: referencia; R: romero; Sol: solución; S: salvia; TPC: contenido polifenólico total; TBARS: Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico; VE: vitamina E.

Así tenemos, la adición de RE o SE (indistintamente de la concentración o formato) en **hamburguesas de carne o pescado**, en las que se observó una reducción en la producción de compuestos secundarios (MDA y 1-Penten-3-ol, hexanal), protección del color [24,106,220–222] y en el control del crecimiento de *L. monocytogenes*, *E. Coli*, o coliformes totales [24,106,220]. Por otro lado, la adición de RE inhibió la rancidez de las hamburguesas sin afectar la aceptabilidad del consumidor en las dosis usadas [24,222]. Así mismo, Pires et al., (2017) [222] concluyeron que el romero era igual de efectivo que el BHA (E-320) para ralentizar la oxidación secundaria (medida con TBARS) y la decoloración de las hamburguesas, por lo que podría usarse como sustituto de este antioxidante sintético. Similarmente, RE fue más efectivo inhibiendo la oxidación de las proteínas de hamburguesas de cerdo que el antioxidante sintético BHT (E-321) [221].

Otros estudios con **patés de pollo y cerdo** concluyeron que la adición de RE o SE aumentó la CA [223]; disminuyó el contenido de MDA [13,223–225]; evitó la decoloración [224,225]; redujo el crecimiento de *Enterococos*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* [223] y contribuyó en la estabilidad de los AGPI [223].

Doolaege et al., (2012) [225], observaron que cuando añadieron RE al paté de hígado, las concentraciones de α -tocoferol tendían a mantenerse más altas en comparación con los patés control. Según los autores se debe a que el ácido carnósico presente en el RE interactúa con el α -tocoferol y evita que se degrade. En otro estudio observaron que patés con aceite de colza y RE contenían un mayor índice de peróxidos que los patés control. Sin embargo, los valores TBARS de patés con RE fueron menores que los no tratados. Por otro lado, Haile, (2015) [224], encontraron que el RE es un potente antioxidante contra la oxidación lipídica (medida con TBARS), mientras que el ascorbato sódico (E-301) es mejor

contra la decoloración de los patés de hígado, y concluyeron que una combinación de RE y ascorbato sódico puede mejorar el potencial antioxidante, aunque sugirieron prestar atención a los posibles efectos antagónicos y sinérgicos.

En otros estudios con **salchichas de pollo y cerdo**, la adición de RE o SE aumentó el contenido polifenólico total y la actividad antioxidante (medida con DPPH) [227]; redujo la oxidación secundaria (medida con TBARS), [15,226,227,240]; mantuvo el color [16,227]; retardó la oxidación de las proteínas [16]; y contribuyó al control microbiológico de aerobios mesófilos totales, *Salmonella spp.*, *L. monocytogenes*, *E. coli* y bacterias lácticas [15,227]. Además, la aceptabilidad de las salchichas no se vio afectada por la adición de RE y SE en las dosis usadas [15,16,227]. Mientras que Bianchin et al., (2017) [226], concluyeron que la eficiencia del RE para prevenir la oxidación secundaria de los lípidos (medida con TBARS), fue superior al antioxidante sintético eritorbato sódico (E-316), y el análisis sensorial determinó una aceptación del 75% en salchichas enriquecidas con RE.

La aplicación de RE en **rebozados de pollo y cerdo, pollo cocido y carne fresca** también exhibieron un menor contenido de compuestos secundarios (medidos con TBARS) [12,228,230,231]; menor producción de nitrógeno básico volátil total [230]; mayor estabilidad del color [12,228]; y menor recuento microbiano de estafilococos, enterobacterias, mohos y levaduras [230,231]. Así mismo, Huang et al., (2020) [230], aplicaron como recubrimiento comestible una nano-emulsión con gelatina, quitosano y romero en pollo listo para el consumo, y concluyeron que la liberación del compuesto activo hacia la superficie de la carne redujo los recuentos totales de bacterias viables, mohos y levaduras, y los cambios de pH, prolongando 6 días más la vida útil que las muestras no tratadas. Por otro lado, la adición de RE a rebozados de cerdo generó mayor CA (medida

con ORAC) que aquellos tratados con ascorbato sódico (E-301). Estos autores también observaron que los rebozados con RE o ascorbato sódico mostraron un mayor contenido de hierro no hemo que las muestras sin aditivos, y concluyeron que el RE podría ser una alternativa como aditivo natural [228]. En otro estudio concluyeron que la adición de RE (polvo o líquido) a la máxima dosis permitida (150 mg ácido carnósico + carnosol/kg), no generó alteraciones sensoriales en nuggets de pollo con los formatos usados [12].

La aplicación de **RE o SE en productos pesqueros** se ha investigado principalmente por inmersión o recubrimiento comestible. Leung et al., (2019) [102], detectaron que los filetes de salmón frito con aceite infusionado con RE, redujo la peroxidación lipídica al disminuir la formación de hidroperóxido y 4-hydroxynonenal; disminuyó también el desarrollo de aldehídos tóxicos de los ácidos araquidónico y docosahexaenoico y el contenido de ácidos grasos saturados. Se ha comprobado también la efectividad de RE o SE sobre el crecimiento microbiano de aerobios mesófilos, *Pseudomonas spp.* y bacterias lácticas [233]. En otro estudio observaron que la inmersión de filetes de sardina en solución de RE y SE y conservadas en atmósfera protectora, redujo significativamente la acumulación de amoníaco, histamina, trimetilamina, putrescina y cadaverina. Este efecto también se detectó después de 20 días de almacenamiento [232]. Por otro lado, la aplicación de RE ya sea como recubrimiento comestible o inmersión, ha tenido efectos inhibidores en la formación de compuestos de la oxidación de los lípidos primarios (medidos como dienos conjugados, peróxidos) y secundarios (medidos con TBARS, nitrógeno básico total) [234,235]; así como una menor formación de ácidos grasos libres [235]. Choulitoudi et al., (2017) [233], también encontraron mayor efecto protector frente a la oxidación lipídica (primaria y secundaria) en filetes de anguila ahumada, con recubrimiento comestible de carboximetilcelulosa con RE y aceite esencial de romero, y concluyeron posibles efectos sinérgicos en la

matriz. Ozogul et al., (2010) [234] observaron que el uso de RE (1 y 2%) mejoró la calidad sensorial tanto de la sardina cruda como de la cocida, aunque fue mejor valorada la sardina tratada con 1% de romero. Resultados similares se obtuvieron con filetes de dorada fritos, los cuales obtuvieron mejor aceptabilidad que aquellos sin tratar, indistintamente de la dosis usada (2 - 3%) [235].

En otros alimentos como leche de cabra y soja, requesón, aceites vegetales y aderezos para ensaladas, la aplicación de RE o SE fue efectiva para aumentar los TPC y la CA (medida con DPPH y ABTS) [237,238]; minimizar la formación de compuestos primarios (medidos PV y DC) [76,236–239]; y retrasar la formación de compuestos volátiles oxidados como pentanal, hexanal, hexanol, 1-penten-3-ol [76,239]. Así mismo, varios autores encontraron que el RE o SE fueron eficientes para mantener la estabilidad del α -tocoferol, durante la vida útil de aderezos para ensaladas y leche de cabra y soja enriquecidos con aceite de pescado [76,239]. Por otro lado, en un estudio con aceite de lino (rico en omega-3) al que se añadió RE, se registró una menor oxidación lipídica en comparación con otros conservantes (α -tocoferol y el BHT (E-321)), y se concluyó que el RE tiene un alto potencial como conservante natural en alimentos ricos en omega-3 para sustituir a los sintéticos. Así mismo, Ribeiro et al. (2016) [236] observaron que los quesos con RE microencapsulado, mantuvieron sus propiedades antioxidantes (DPPH y FRAP) de forma más eficiente que los quesos con RE sin encapsular (7 días de almacenamiento). No obstante, no se observaron diferencias en el perfil de ácidos grasos de los quesos. En otro estudio, Yang et al. (2016) [238] analizaron los aceites vegetales de soja, salvado de arroz y semilla de algodón, enriquecidos con RE (rico en carnosol) y con antioxidantes sintéticos (BHA + BHT), y encontraron que los aceites con RE tuvieron mayor estabilidad química, incluyendo un mayor periodo de inducción de CA, TPC y menor PV, aunque también observaron una ligera disminución del contenido de tocoferoles y PUFAs.

2.9. Factores que afectan la eficacia de los antioxidantes

El procesamiento de alimentos es una herramienta crítica en el desarrollo de productos de consumo enfocados con beneficios para la salud. Por lo que resulta fundamental considerar cómo las distintas fases del procesamiento de alimentos pueden alterar la estabilidad, la biodisponibilidad y la actividad biológica final de los polifenoles [241]. La susceptibilidad de los polifenoles al estrés térmico (secado, pasteurización, horneado, tostado, entre otros) ha sido objeto de estudio en múltiples matrices, incluidas frutas, verduras, té, galletas, etc. [9,242–244]

Si bien existen variaciones en el grado de sensibilidad entre las clases de polifenoles y entre las matrices de alimentos, se ha informado que los mecanismos generales y la cinética de las reacciones de degradación de polifenoles siguen consistentemente la degradación térmica de primer orden [241]. Así, las pérdidas de compuestos fenólicos libres pueden variar según la extensión del procesamiento con una disminución entre el 15 y 60 % durante la pasteurización del zumo de manzana [242], a pérdidas entre el 60 y 90 % en procesos térmicos más intensos, como el horneado y la extrusión de cereales [243].

Doolaege et al., (2012) [225], analizaron el ácido carnósico después de la cocción al vapor a 75 °C durante 90 minutos, y almacenamiento durante 48 horas en paté de hígado, y determinaron que el ácido carnósico era estable ya que apenas se degradó en las condiciones estudiadas. En otro ensayo, Ou et al., (2018) [9] estudiaron la estabilidad del ácido rosmarínico, resveratrol y epicatequina tras la cocción de las galletas a 190 °C durante 10 minutos, y concluyeron que el ácido rosmarínico fue el compuesto más estable, ya que se recuperó hasta el 73,4%, seguido del resveratrol (26,7%), mientras que la epicatequina sólo la

cuantificaron un 9,9%. En el caso de las antocianinas se ha observado que la magnitud y la duración del calentamiento tienen una fuerte influencia en su estabilidad [244].

Por otro lado, los productos se formulan con ingredientes adicionales, las interacciones entre los macronutrientes y los micronutrientes en los productos terminados también pueden afectar la estabilidad de los polifenoles [241].

Las interacciones entre los antioxidantes en el sistema alimentario son más complejas, no sólo por los diferentes tipos de antioxidantes, sino también por las interacciones con otros componentes del alimento. El efecto de la matriz alimentaria puede ser importante, ya que las interacciones entre los antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos se producen en la interfaz entre las fases acuosa y lipídica [245].

2.9.1. Eficacia de los antioxidantes en emulsiones

Para seleccionar antioxidantes eficaces en alimentos emulsionados, hay que tener en cuenta la complejidad de los sistemas de emulsión, los cuales engloban diferentes fases y constituyentes que afectan a la eficacia de los antioxidantes, debido a su localización e interacciones. Así, la naturaleza heterofásica de las emulsiones alimentarias hace que, en la mayoría de ellas, la oxidación lipídica y los mecanismos antioxidantes sean más complejos que en los aceites puros [246].

Se han realizado numerosos trabajos para evaluar la eficacia de los antioxidantes en las emulsiones en relación con sus propiedades de partición, debido a que los antioxidantes pueden ubicarse en al menos tres fases diferentes: la fase acuosa (por ej., ácidos fenólicos polares o glucósidos flavonoides), la fase

oleosa (por ej., agliconas de flavonoides) y la interfaz aceite-agua (por ej., ácidos fenólicos de polaridad media y flavonoides) [247,248]. Dado que la oxidación de los lípidos en las emulsiones se inicia en la interfaz, la ubicación de los antioxidantes en un sistema de emulsión determinado es crucial para su eficacia [246]. La gran superficie de las emulsiones también facilita las interacciones entre los lípidos y los prooxidantes solubles en agua, como los iones de metales de transición [249]. No obstante, existen otros factores que pueden acelerar la oxidación de los lípidos en sistemas emulsionados. Estos factores incluyen los ingredientes, la composición de la superficie (interfaz), es decir, el tipo y la concentración del emulsionante, la carga superficial, el pH de la emulsión, la viscosidad, las condiciones del proceso, etc. [246].

El **emulsionante** es un compuesto tensioactivo que mantiene el aceite disperso en la fase acuosa (emulsión aceite/agua) o la fase acuosa dispersa en la fase oleosa (emulsión agua/aceite). Además, la mayor concentración de emulsionante se encuentra en la interfaz donde se inicia la oxidación de los lípidos. La carga de un emulsionante (puede ser iónico o no iónico) afectará a la carga de la interfaz, lo que puede influir en la eficacia de los antioxidantes. Por ejemplo, el ácido cafeico añadido en emulsiones aceite/agua se vio afectado por el tipo de emulsionante Citrem (emulsionante aniónico) y Tween 80 (emulsionante no iónico) [250]. A pH 6, con Tween como emulsionante, el ácido cafeico promovió la formación de productos de oxidación secundarios; mientras que con Citrem, el ácido cafeico no tuvo ningún efecto sobre la formación de volátiles con hierro añadido, e incluso tuvo un ligero efecto antioxidante sin hierro añadido [250].

Por otro lado, **la concentración** del emulsionante también puede influir en la actividad antioxidante, ya que una alta concentración dará lugar a estructuras de micela en la fase acuosa. Panya et al., (2012) [251], evaluaron la actividad

antioxidante de los rosmarinatos (butilo, dodecilo y eicosilo) en emulsiones con una mayor concentración de emulsionante (Tween 20); es decir, una mayor formación de micelas de tensioactivos. La presencia de micelas de tensioactivos sólo mejoró la actividad antioxidante del rosmarinato de eicosilo. Las micelas de tensioactivos promovieron la migración del eicosil rosmarinato fuera del núcleo de la gota de emulsión mediante la formación de co-micelas de Tween y eicosil rosmarinatos. Estos autores, subrayaron que la razón de la eficacia mejorada fue debido al fácil intercambio entre las co-micelas en la fase acuosa y la interfaz de la gota, la reubicación del eicosil rosmarinato desde el núcleo de la gota de emulsión a la fase acuosa como co-micelas [251], y concluyeron que la actividad antioxidante aumenta para otros antioxidantes no polares con el aumento de la concentración de emulsionante en la emulsión.

También se ha observado que el pH de la emulsión puede influir en la degradación y por tanto en la eficacia de los antioxidantes. Por ejemplo, la concentración tanto del ácido clorogénico como del ácido cafeico disminuía debido a la degradación con el aumento del pH (rango 5,0-9,0) [252]. Por otro lado, la adición de (-)-epigallocatequina-3-galato a matrices de bajo pH ($\text{pH} \leq 4$) dio lugar a efectos prooxidantes [253]. Además, la galamida, el galato de metilo y el ácido gálico fueron antioxidantes a pH 7 en emulsiones estabilizadas no iónicas, independientemente de la concentración (5 y 500 μM); en cambio, fueron prooxidantes a pH 3 o ineficaces a baja concentración, y antioxidantes a altas concentraciones [254]. Además, el pH de las emulsiones es crucial para el progreso de la oxidación de los lípidos, cuando el hierro metálico está presente en emulsiones estabilizadas aniónicas con compuestos fenólicos como antioxidantes [250,254]. Por lo tanto, si los antioxidantes pueden degradarse o actuar como prooxidantes a determinados valores de pH, habría que tenerlo en cuenta al seleccionar los antioxidantes para los distintos productos alimentarios.

Otro parámetro importante que puede afectar la eficacia de los antioxidantes en las emulsiones es la **concentración de los antioxidantes**. Algunos antioxidantes como el palmitato de ascorbilo, pueden convertirse en prooxidantes a altas concentraciones [255]. También hay estudios que recogen efectos prooxidantes entre antioxidantes endógenos y añadidos. Por el contrario, otros antioxidantes añadidos artificialmente, pueden actuar en sinergia con los componentes endógenos de los alimentos (por ejemplo, otros polifenoles, carotenoides y los compuestos que contienen azufre, entre otros), contribuyendo al resultado antioxidante final [256,257]. Las interacciones entre los distintos componentes pueden ser sinérgicas, aditivas y antagónicas. Aunque existen tres tipos distintos de interacciones antioxidantes, la interacción sinérgica es la de mayor interés porque puede tener varias ventajas: (1) una mayor eficacia que conduce a una mayor calidad y a la prolongación de la vida útil de los alimentos; (2) la reducción de la cantidad de antioxidantes necesarios, lo que supone un menor coste de producción; (3) la reducción del uso o la sustitución total de antioxidantes sintéticos, que podrían tener efectos adversos para la salud; y (4) las combinaciones sinérgicas pueden proporcionar una distribución más completa de los antioxidantes en algunos alimentos [258].

Además, otros parámetros **como la viscosidad y las condiciones del procesado** pueden influir en la eficacia del antioxidante. La viscosidad puede influir en la movilidad de los distintos componentes entre las fases y, por tanto, en el efecto de los antioxidantes. Mientras que las diferentes condiciones del procesado pueden cambiar la composición y el grosor de la interfase, así como la ubicación del antioxidante, que puede afectar a las interacciones con el emulsionante y a las reacciones con los componentes prooxidantes, y por tanto a su eficacia en las emulsiones alimentarias [246].

2.10. Métodos para evaluar la actividad antioxidante en alimentos

Como se ha descrito anteriormente, los antioxidantes pueden actuar a través de varios mecanismos de acción, por lo que es necesario evaluarlos con distintos métodos de análisis para comprender mejor su comportamiento. Son muchos los métodos que se utilizan para evaluar la efectividad de los EP en sistemas alimentarios (**Tabla 4**). No obstante, nos centraremos en los utilizados en esta tesis doctoral.

2.10.1. Eliminación de radicales

Dependiendo de las reacciones químicas implicadas, estos ensayos se dividen en dos categorías: ensayos basados en la reacción de transferencia de átomos de hidrógeno (TAH) y ensayos basados en la reacción de transferencia de electrones simples (TE) (**Tabla 5**). Los antioxidantes pueden eliminar los radicales libres u otras ERO (peróxido de hidrógeno y peróxidos lipídicos) mediante TAH y TE, lo que conduce a los mismos resultados finales, independientemente del mecanismo implicado, aunque la cinética y el potencial de las reacciones secundarias varían [259].

Tabla 5. Ensayos basados en la eliminación de las principales especies reactivas del oxígeno (ERO) y basados en el potencial redox.

Ensayo	Mecanismo dominante	Oxidante	Sonda	Detección
Ensayos de barrido de ERO				
ORAC	TAH	Radical peroxil generado AAPH	Fluoresceína	Fluorimetría
DPPH	TE	Radical DPPH	Radical DPPH	Espectrofotometría o RPE
TEAC	TE	Catión radical ABTS	Catión radical ABTS	Espectrofotometría
Ensayos de potencial REDOX				
FRAP	TE	Fe ³⁺	Ferricianuro	Espectrofotometría
CARCUP	TE	Cu ²⁺	Neocuproína	Espectrofotometría
Reductor Ag⁺	TE	Ag ⁺	Nanopartícula de Ag	Plasmón superficial resonancia
Reductor Au³⁺	TE	Au ³⁺	Nanopartícula de Au	Voltamperometría cíclica

Abreviaturas: TAH: Transferencia de átomos de hidrógeno; TE: Transferencia de electrones RPE: Resonancia paramagnética electrónica; CARCUP: Capacidad antioxidante reductora del cúprico; AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropano) dihidrocloruro). Adaptado de Zhong et al., (2015) [219]

2.10.2. Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (en inglés ORAC)

El método capacidad de absorción de radicales de oxígeno mide la capacidad de donación de átomos de hidrógeno de los antioxidantes y es, por tanto, un método basado en TAH. El ORAC mide la capacidad de ruptura de la cadena de radicales de los antioxidantes mediante el control de la inhibición de la oxidación inducida por los radicales peroxilo. Los radicales peroxilo son los radicales libres predominantes en la oxidación de los lípidos en los alimentos y los sistemas biológicos en condiciones fisiológicas. En este ensayo, el radical

peroxilo producido por un generador reacciona con una sonda fluorescente dando lugar a la pérdida de fluorescencia, que se registra con un fluorímetro. Como referencia se utiliza un antioxidante estándar, normalmente el trolox, y los valores ORAC de los antioxidantes ensayados se presentan como equivalentes de trolox [219].

Aunque originalmente se desarrolló para medir antioxidantes hidrofílicos, el ensayo ORAC también se ha adaptado para detectar antioxidantes tanto lipofílicos como hidrofílicos alterando la fuente de radicales y el disolvente [260]. Por otro lado, también se observó que algunos antioxidantes pueden formar un complejo con los iones metálicos, lo que conlleva a subestimar la capacidad de barrido de radicales peroxilo. Para eliminar esta interferencia se utilizó el quelante de metales, el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) que aumentó significativamente los valores ORAC medidos [261].

2.10.3. Eliminación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (en inglés DPPH)

El barrido del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo es uno de los ensayos más utilizados y ofrece el primer enfoque para evaluar la actividad antioxidante. Es un método basado en la TE, siendo el mecanismo TAH sólo una vía de reacción marginal en el ensayo [259]. El DPPH es un radical cromógeno estable de color púrpura intenso. Este ensayo se basa en la donación de electrones de los antioxidantes para neutralizar el radical DPPH, lo que va acompañado de un cambio de color que se mide a 517 nm; la decoloración actúa como indicador de la eficacia del antioxidante y puede notificarse como EC50, que se define como la concentración del antioxidante necesaria para disminuir la concentración inicial de DPPH en un 50%. Además, puede utilizarse el TEC50, que es el tiempo necesario para alcanzar el estado estacionario con el EC50. El ensayo DPPH es

una técnica sencilla y sólo requiere un espectrofotómetro UV o un espectrómetro EPR (resonancia paramagnética de electrones). El ensayo del DPPH, aunque es simple y robusto, debido a su sensibilidad hay una serie de factores que pueden verse afectados, como el tipo y la cantidad de disolvente utilizado, la presencia y la concentración de iones metálicos e hidrógeno, y la frescura del reactivo del DPPH [219,262,263]. Una de las principales limitaciones del ensayo DPPH es la superposición de los espectros de los compuestos que absorben en el mismo rango de longitudes de onda que el DPPH. Por ejemplo, las antocianinas tienen una fuerte absorción en el mismo rango de longitudes de onda (500-550 nm) que el DPPH, por lo que pueden introducir interferencias en los resultados y su interpretación [219].

2.10.4. Capacidad antioxidante equivalente a trolox (en inglés TEAC)

El ensayo de CA equivalente a trolox se desarrolló por primera vez como un método para la determinación de la CA total [264]. El ensayo mide la capacidad de los antioxidantes para eliminar el catión radical estable ABTS $\bullet$ (ácido 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)), un cromóforo azul-verde con absorción máxima a 734 nm que disminuye su intensidad en presencia de antioxidantes. Los antioxidantes pueden neutralizar el catión radical ABTS $\bullet$, generado a partir del ABTS, ya sea por reducción directa a través de la donación de electrones o por el apagado del radical a través de la donación de átomos de hidrógeno, y el equilibrio de estos dos mecanismos está generalmente determinado por la estructura del antioxidante y el pH del medio [259]. Por lo tanto, aunque el ensayo TEAC suele clasificarse como un método basado en la TE, el mecanismo TAH también es aplicable. El grado de decoloración del color azul-verde, cuantificado como una disminución de la absorbancia a 734 nm, depende de la duración de la reacción, la actividad antioxidante intrínseca y la

concentración en la muestra. Al igual que otros ensayos de barrido de radicales comentados anteriormente, el ensayo TEAC puede controlar la disminución de la absorbancia con el tiempo o la caída en un punto final determinado. Cuando se realiza como un ensayo de punto final, el método TEAC requiere la determinación fiable de un punto final de la reacción para la evaluación cuantitativa de la actividad antioxidante [265]. Los resultados obtenidos por el ensayo TEAC se expresan como equivalentes de trolox.

2.10.5. Métodos basados en el potencial redox

Los antioxidantes, también conocidos como reductores, no sólo permiten eliminar los radicales libres y otras sustancias reactivas de oxígeno derivados del oxígeno, sino que también reducen los elementos de mayor valencia a su estado de menor valencia. El potencial redox o el poder reductor de los antioxidantes es un importante indicador de su eficacia antioxidante y se mide mediante la reacción redox con diversos iones metálicos como hierro, cobre, cromo y cerio, entre otros [219].

2.10.6. Quelación de metales

En general, la capacidad de quelación de metales se determina midiendo el efecto quelante de los antioxidantes para el ion ferroso. El sulfato ferroso y la ferrozina son las fuentes de iones ferrosos más utilizadas. Una pérdida de absorbancia a 485 nm (para el sulfato ferroso) o a 562 nm (para la ferrozina) tras la adición de antioxidantes representa la formación de un complejo metal-antioxidante, y la capacidad de quelación de metales del antioxidante añadido puede cuantificarse espectrofotométricamente. La propiedad antioxidante de los quelantes de metales se evalúa cuando se forma un complejo entre el

antioxidante y el metal, de manera que los iones metálicos ya no pueden actuar como iniciadores de la oxidación lipídica. Por lo tanto, la capacidad de quelación de metales también se utiliza como indicador de la actividad antioxidante, normalmente en combinación con otros ensayos antioxidantes [219].

2.10.7. Poder antioxidante reductor férrico (en inglés FRAP)

El ensayo del poder antioxidante reductor férrico es un método basado en la TE que mide la reducción del complejo de iones férricos (Fe^{3+})-ligando al complejo ferroso (Fe^{2+}) de color intenso por parte de los antioxidantes en un medio ácido. La actividad antioxidante se determina como el aumento de la absorbancia a 593 nm, y los resultados se expresan como equivalentes $\mu\text{molares}$ de Fe^{2+} o en relación con un estándar antioxidante [266]. A diferencia de otros métodos basados en la TE, el ensayo FRAP se lleva a cabo en condiciones de pH ácido (3,6) para mantener la solubilidad del hierro y, lo que es más importante, impulsar la transferencia de electrones. Esto aumentará el potencial redox, causando un cambio en el mecanismo de reacción dominante [267]. El ensayo FRAP es sencillo, rápido y no requiere equipo especializado. Originalmente se empleó para medir el poder reductor en plasma, pero su uso se ha extendido para evaluar la actividad antioxidante en otros fluidos biológicos, alimentos y extractos de plantas. Sin embargo, se ha observado que los valores FRAP pueden variar en función del tiempo de análisis ya que la reacción entre los antioxidantes y el Fe^{3+} puede darse en minutos u horas [268]. Por lo tanto, un punto final de absorción único puede no representar una reacción completa, ya que diferentes antioxidantes requieren diferentes tiempos de reacción para su detección [259].

2.10.8. El contenido fenólico total (en inglés TPC)

El método TPC es otro parámetro importante de la CA total y se utiliza ampliamente para la evaluación de extractos antioxidantes, incluidos los de hierbas, especias, frutas, cereales y legumbres, entre otros. El ensayo de Folin-Ciocalteu es como un ensayo de TE y se basa en la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu por compuestos fenólicos en condiciones alcalinas. Este reactivo contiene complejos de ácido fosfomolibdico/fosfotúngstico que se reducen, dando lugar a un cromóforo de color azul con absorción máxima a 765 nm. Este ensayo, adaptado para analizar los componentes fenólicos del vino, se convirtió en un análisis de rutina para la evaluación antioxidante de los alimentos y los extractos de plantas. Los resultados suelen expresarse como equivalentes de ácido gálico que es el estándar de referencia comúnmente utilizado, aunque ocasionalmente suelen expresarse como equivalentes de catequina, ácido cafeico, ácido clorogénico o ácido ferúlico, lo que hace necesaria la estandarización de los resultados reportados [269]. El uso del ensayo TPC tiene muchas ventajas, incluyendo su simplicidad, reproducibilidad y robustez. Sin embargo, presenta varios inconvenientes como la sensibilidad al pH, la temperatura y el tiempo de reacción [269]. Además, la sobreestimación del TPC es una preocupación importante para el ensayo de Folin-Ciocalteu, debido a la contribución de los agentes reductores no fenólicos, como los azúcares reductores y ciertos aminoácidos presentes en el sistema que pueden contribuir a la reducción del reactivo [270]. Por lo tanto, los resultados del TPC pueden estar sobreestimados en un orden de magnitud en comparación con los obtenidos por métodos de HPLC.

2.10.9. Ensayo de la Desoxirribosa

El método de la desoxirribosa puede ofrecer una información muy valiosa sobre el mecanismo de acción de los antioxidantes añadidos en los alimentos. Los radicales hidroxilos generados por reacción de un complejo de hierro (III)-EDTA con H_2O_2 en presencia de ácido ascórbico, ataca a la desoxirribosa para formar productos que, al calentarse con ácido tiobarbitúrico (ATB) a pH bajo, producen un cromógeno rosa, el aducto MDA-ATB. Los antioxidantes que actúan como “atrapadores” (“scavengers”) de radicales, pueden actuar como antioxidantes primarios captando los radicales hidroxilos, disminuyendo la formación de cromógeno y, por tanto, la absorbancia a $\lambda=532$ nm; o bien se puede detectar si actúan como antioxidantes secundarios impidiendo el daño a la desoxirribosa [271].

2.11. Determinación de los productos de oxidación de los lípidos

Los antioxidantes pueden suprimir las reacciones de oxidación en las grasas y los aceites, e inhibir la formación de productos de oxidación tanto primarios como secundarios, los cuales pueden medirse por diferentes métodos utilizando una variedad de marcadores de oxidación (**Tabla 6**).

Tabla 6. Ensayos de actividad antioxidante que miden los productos de oxidación.

Ensayo	Marcador de oxidación	Reactivo	Detección
Valor Peróxido	Hidroperóxido	Yoduro de potasio Tiocianato o xilenol naranja	Valoración Espectrofotometría
Dienos conjugados	Dienos conjugados	-	Espectrofotometría
TBARS	Equivalentes de MDA	Ácido tiobarbitúrico	Espectrofotometría
Valor de <i>p</i>-anisidina	2-alquenes y 2,4-alkadienes	Anisidina	Espectrofotometría
Carbonilos totales	Compuestos carbonilos	2,4-Dinitrofenilhidrazina	Espectrofotometría
Espacio de cabeza volátil	Compuestos volátiles (hexanal propanal)	-	Espacio de cabeza CG

Abreviaturas: CG: Cromatografía de gases; MDA: Malondialdehído; TBARS: Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico. Adaptado de Zhong et al., (2015) [219].

2.11.1. Determinación del Valor Peróxido (en inglés PV)

La **Tabla 6**, muestra algunos métodos para la determinación del PV, entre ellos: la valoración yodométrica, la espectrofotometría de medición del complejo de iones férricos, y la espectroscopia infrarroja son los más utilizados [272]. El PV es un indicador de las etapas iniciales del cambio oxidativo, y la inhibición de la formación y/o la acción de estas especies inestables por parte de los antioxidantes puede utilizarse para evaluar la actividad antioxidante. El ensayo de valoración yodométrica, que se basa en la oxidación del ion yoduro (I-) a yodo por parte de los hidroperóxidos, es la base de los métodos estándar actuales para la determinación de PV. El yodo liberado (I₂) se valora con una solución estandarizada de tiosulfato de sodio y almidón como indicador del punto final.

El PV se calcula y se informa como miliequivalentes de oxígeno por kilogramo de muestra (meq/kg). Aunque la valoración yodométrica es el método más comúnmente practicado para la medición del PV, requiere mucho tiempo y trabajo e introduce dificultades en la determinación del punto final de la valoración, aunque este último problema puede solucionarse utilizando un valorador automático.

Alternativamente, el PV puede determinarse espectrofotométricamente midiendo la capacidad de los hidroperóxidos lipídicos para oxidar los iones ferrosos a férricos, que son acomplejados por el tiocianato o el naranja de xilenol para formar cromóforos rojo-violeta o azul-púrpura, respectivamente [273]. Los métodos espectrofotométricos son rápidos, sencillos y más sensibles que el método de valoración yodométrica. Sin embargo, debido a que muchos factores, como la cantidad de muestra de aceite, el disolvente utilizado y la fuente de reactivos, como el naranja de xilenol, pueden afectar al coeficiente de absorción, es necesario conocer la naturaleza de los hidroperóxidos presentes en la muestra de aceite y controlar cuidadosamente las condiciones utilizadas para obtener mediciones precisas [274].

2.11.2. Dienes y trienos conjugados

Además del marcador de hidroperóxido, los dienos conjugados y los trienos pueden utilizarse como indicadores del grado de oxidación y de la inhibición por parte del antioxidante. Debido al hecho de que las grasas y aceites poliinsaturados son generalmente de naturaleza metilénica, se forman dienos y trienos conjugados tras la oxidación, que pueden medirse espectrofotométricamente a 234 y 268 nm, respectivamente, en la región ultravioleta (UV) [275]. Un aumento de la absorción UV refleja teóricamente la formación de productos de oxidación primaria en las grasas y los aceites. Por lo

tanto, la actividad antioxidante puede evaluarse mediante mediciones de la fase de retardo y el porcentaje de inhibición en presencia de un determinado antioxidante [266]. Se ha observado una buena correlación entre los dienos conjugados y el valor del peróxido [276]. La detección ultravioleta de dienos conjugados es sencilla, rápida y no requiere reactivos químicos, y sólo se necesitan pequeñas cantidades de muestras. Sin embargo, este método tiene menos especificidad y sensibilidad que la medición PV. Además, el resultado puede verse afectado por la presencia de compuestos que absorben en la misma región, como los carotenoides [275].

2.11.3. Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (en inglés TBARS)

Los PV y los dienos conjugados son productos de oxidación primarios. Son inestables y se descomponen en productos de oxidación secundaria más estables, como una variedad de compuestos de carbonilo, incluyendo aldehídos y cetonas. Por lo tanto, los productos de oxidación primarios se suelen determinar en combinación con la medición de los productos de oxidación secundarios para obtener una imagen más completa del proceso de oxidación. Entre los productos de oxidación secundarios producidos a partir de la descomposición de los hidroperóxidos, los TBARS son un marcador bien conocido del proceso de oxidación, tanto por su aparición temprana cuando se produce la oxidación como por la sensibilidad del método analítico [277]. Los TBARS se presentan como equivalentes de malonaldehído o malondialdehído (MDA). El MDA es un producto de degradación de los ácidos grasos poliinsaturados, que reacciona con el reactivo TBA y forma un complejo MDA-TBA de color rosa que tiene una absorción máxima de 530 a 535 nm. Dado que algunos productos de oxidación distintos del MDA también reaccionan con el TBA y contribuyen a la intensidad del color, el término TBARS se utiliza para incluir una serie de sustancias,

principalmente compuestos carbonílicos, que reaccionan con el TBA en un mecanismo similar al del MDA. Estas sustancias incluyen alcanos, 2-alquenos, 2,4-alquenos, cetonas, cetoesteroides, ácidos y ésteres, entre otros. A pesar de la falta de especificidad y sensibilidad [278], el ensayo de TBA se encuentra entre las pruebas más utilizadas para evaluar la oxidación de grasas y aceites. En un sistema de matriz alimentaria más complicado, pueden surgir interferencias de otros componentes no lipídicos como proteínas, sacarosa, urea, piridinas y pirimidinas, entre otros [279,280]. Para mejorar la especificidad y la sensibilidad, se ha propuesto modificar la prueba del TBARS, utilizando la tecnología infrarroja por transformada de Fourier para la detección directa del MDA, y la HPLC para la separación y caracterización de las especies individuales del TBARS [280]. En los sistemas de aceite que contienen antioxidantes, se puede cuantificar la disminución de la cantidad de TBARS total o de un aldehído específico para evaluar la eficacia de los antioxidantes.

2.11.4. Determinación de compuestos volátiles

La medición de los volátiles en el espacio de cabeza como aldehídos volátiles totales o específicos, ha sido una herramienta eficaz para evaluar la oxidación de los lípidos y la eficacia de los antioxidantes en sistemas modelo que contienen lípidos. Algunos de los productos secundarios de la oxidación son volátiles con valores umbrales variables, y contribuyen al mal sabor de los aceites oxidados a través de diferentes rutas y mecanismos, dependiendo de la naturaleza del aceite y de las condiciones de oxidación. En los aceites ricos en ácidos grasos omega-6, como la mayoría de los aceites vegetales, el hexanal es el principal compuesto volátil que se forma tras la oxidación del ácido linoleico, mientras que los aceites marinos ricos en ácidos grasos omega-3 producen principalmente propanal [281]. La cromatografía de gases (CG) equipada con un

muestreador de espacio de cabeza se utiliza para determinar los productos de oxidación volátiles secundarios. La técnica de microextracción en fase sólida del espacio de cabeza (HS-SPME) también se ha utilizado para el análisis de productos de oxidación volátiles [282]. Además de los aldehídos volátiles, los ácidos orgánicos volátiles, principalmente los ácidos fórmico y acético, se producen como productos secundarios de oxidación volátil a altas temperaturas, simultáneamente con los hidroperóxidos. Además, otros productos secundarios, como los alcoholes y los compuestos carbonílicos, pueden oxidarse aún más hasta convertirse en ácidos carboxílicos [283].

2.11.5. Productos oxidados del colesterol

Los procedimientos analíticos para determinar el grado de oxidación del colesterol en los alimentos, sobre todos aquellos sometidos a tratamiento térmico y/o almacenamiento, incluyen la cromatografía de gases capilar [284], espectrometría de masas [285,286] y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) [287].

Los oxiesteroles presentes en alimentos o tejidos animales se encuentran en bajas concentraciones (ppm o ppb). Por ello, los procedimientos analíticos que separan los productos de oxidación de esteroides de otras sustancias que interfieren en la cuantificación de los oxiesteroides, son difíciles. La separación implica dos pasos: una separación de la fracción de esteroides de otros materiales lipídicos y la eliminación del colesterol. La separación inicial se puede lograr ya sea por saponificación-extracción o por cromatografía en columna de sílice [288]. A esto debe seguir una cromatografía en columna de capa fina o de fase inversa para eliminar el colesterol que podría interferir con los análisis posteriores. En estudios anteriores se empleaba la saponificación de los lípidos extraídos con álcali caliente. Este paso, es importante porque libera la mayor parte de los

lípidos del residuo de esteroles y también convierte el colesterol esterificado en esteroles libres. Sin embargo, algunos óxidos de colesterol importantes, como el 7-cetocolesterol, son inestables a los álcalis acuosos calientes [288]. La solución a este problema fue la saponificación en frío y ahora es el procedimiento estándar para la extracción de oxisteroles antes de la separación analítica [289].

2.11.6. Rancimat

El nivel de oxidación de los lípidos puede medirse mediante métodos químicos, físicos y mediante pruebas que miden la estabilidad de un aceite en condiciones que favorecen la oxidación natural. El índice de estabilidad oxidativa (IEO) es el principio que determina la estabilidad a la oxidación de un aceite haciendo pasar una muestra, sometida a un tratamiento controlado por una corriente de aire, lo que facilita la rápida degradación de los lípidos a ácidos orgánicos volátiles. La corriente de aire captura los ácidos volátiles liberados y los solubiliza en un depósito lleno de agua destilada; los ácidos solubilizados se disocian en iones, provocando así un cambio en la conductividad de esta agua. La duración de la fase de inducción es la que da información sobre la estabilidad de un lípido. Cuanto más largo es el tiempo de inducción, más estable es el lípido. El valor IEO se define por el tiempo (en horas) necesario para que la conductividad alcance un valor predeterminado [290]. Este método es interesante porque no requiere una preparación previa de la muestra. Debido a su facilidad de uso y a la reproducibilidad de los resultados obtenidos, el ensayo Rancimat es muy utilizado para determinar la estabilidad de los aceites de los diferentes antioxidantes en la industria alimentaria [291].

2.11.7. Autooxidación del ácido linoleico

Para la evaluación de la CA en el tiempo, también se utiliza la técnica del sistema del ácido linoleico. Esta técnica consiste en la incubación de una solución de ácido linoleico con la muestra a analizar, bajo condiciones desfavorables (por ejemplo, 40 °C y durante un largo periodo de tiempo), emulando el almacenamiento del alimento. Esta técnica mide el grado de inhibición de la autooxidación del ácido linoleico, el contenido de los peróxidos formados se mide espectrofotométricamente con una solución de etanol, tiocianato de amonio y FeCl₂, y se expresan como porcentaje de inhibición [292]. Así, cuanto menor sea la autooxidación del ácido linoleico mayor es la CA del compuesto.

2.11.8. Peroxidación de liposomas de fosfolípidos

La inhibición de la peroxidación de los fosfolípidos es una forma de comprobar directamente la CA de una sustancia. Consiste en examinar si inhibe la peroxidación de sistemas lipídicos artificiales (liposomas) mediante la eliminación de radicales peroxilo. La formación de radicales peroxilo es el paso más importante en la peroxidación lipídica, aunque también pueden formarse radicales peroxilo en sistemas no lipídicos. Estos radicales pueden generarse en los alimentos y en el cuerpo humano [292].

2.12. Análisis sensorial

La evaluación sensorial se puede utilizar en múltiples ámbitos de la industria alimentaria, entre ellos: el desarrollo de nuevos productos; evaluación de prototipos de productos; ajuste del concepto de producto; reducción de costos por sustitución o modificación de ingredientes; cambio de procesos; respaldo de

actividades de marketing e investigación de mercados; comparación de calidad con los productos de la competencia; así como, evaluación de la vida útil de los productos alimenticios [293].

La evaluación sensorial se define como “una disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de los alimentos y materiales tal como son percibidas por los sentidos de la vista, el olfato, el gusto, el tacto y el oído” [294,295]. La evaluación sensorial, al igual que otros métodos científicos se basa en tomar medidas de manera precisa y exacta, considerando la sensibilidad y con el objetivo de evitar resultados falsos positivos [295]. Para ser considerado un método fiable, el análisis sensorial debe basarse en las habilidades de un analista sensorial para optimizar la definición del problema (lo que debe medirse) y el diseño de la prueba (producir la precisión deseada de los resultados), instrumentación (expertos seleccionados y formados) e interpretación de los resultados [294].

Al evaluar las características de un producto alimenticio, primero evaluamos su apariencia, después el olor, textura/consistencia y sabor/gusto [293]. La reacción a un estímulo sensorial, por otro lado, se puede dividir en tres dimensiones diferentes: percepción cualitativa, percepción cuantitativa y reacción hedónica. Para obtener esa información, debemos utilizar métodos analíticos o afectivos durante la evaluación sensorial [293,296]. El propósito de las pruebas analíticas es evaluar en detalle la calidad sensorial de un producto, mientras que las pruebas afectivas se utilizan para medir la aceptabilidad o preferencia de un producto por parte de los consumidores. El objetivo básico al elegir los métodos de evaluación sensorial es hacer coincidir la prueba correcta con la pregunta correcta que queremos responder [297].

Las pruebas analíticas son aquellas que son evaluadas principalmente por jueces expertos (**Tabla 7**). Las pruebas más simples son las discriminativas que

únicamente tratan de establecer si existen diferencias entre dos o más muestras; no indican la magnitud ni el sentido de la diferencia, sólo si ésta existe. Básicamente, consisten en comparar dos muestras (A y B) y decir si son o no diferentes; difieren entre sí en el número de unidades de cada muestra que se presenta simultáneamente, y en la existencia o no de una muestra de referencia [298]. Entre ellas podemos encontrar: prueba triangular, prueba dúo-trío, y prueba dos de cinco.

Tabla 7. Tipos de pruebas de evaluación sensorial

Tipo	Tipo de prueba		Pregunta
Analítica	Discriminación	Triangular	¿Qué muestra es diferente?
		Dúo o trío	¿Qué muestra es diferente de la muestra de referencia?
		Dos de cinco	¿Qué tres muestras son del mismo tipo?
	Calificación	Comparación pareada	¿Qué muestra es más (dulce, amarga, etc.)? Enumere las muestras en orden creciente de intensidad para un atributo seleccionado (dulce amargo etc.).
		Clasificación	¿Cómo de (dulce, amarga etc.) es la muestra?
		Puntuación	
	Descriptiva	Análisis Descriptivo Cuantitativo (inglés QDA)	¿Son diferentes los productos y en qué se diferencian?
		Perfil del sabor	
		Perfil de textura	
		Perfil de libre elección	
Hedónica	Afectiva	Comparación pareada	¿Cuál prefieres? ¿Cuál te gusta más?
		Clasificación	Clasificar el producto por preferencia
		Prueba de puntuación hedónica	Evalúa el grado de placer/gusto que le dan los productos en la escala.

Adaptada de Świąder et al., (2021) [293]

La **prueba triangular** se usa para determinar si existe una diferencia sensorial entre dos productos. Esta prueba es útil en situaciones en las que los efectos de un tratamiento han producido cambios que no pueden ser caracterizados por la variación individual de 1 o 2 atributos. Tiene una buena eficacia estadística, $1/3$, sin embargo, es de aplicación limitada en productos que producen fatiga, regusto o adaptación, y con ciertos jueces. Entre sus aplicaciones tenemos:

- Estudiar las diferencias causadas por un cambio de ingredientes, procesado, embalaje o almacenamiento.
- Estudiar si existe una diferencia global, sin existir un atributo específico característico de esa diferencia.
- Seleccionar y entrenar jueces (habilidad para discriminar diferencias dadas).

En la medida en que se conozca la naturaleza de las diferencias entre los productos, podemos utilizar una **prueba de calificación**, como la prueba de comparación pareada, para posicionar diferentes productos de acuerdo con sus características sensoriales. Estas pruebas de clasificación sirven para evaluar diferencias notables entre varios productos según la intensidad de la diferencia, y se puede utilizar una prueba de puntuación para evaluar la intensidad específica de las características sensoriales de los productos [293].

En las pruebas **analíticas descriptivas** (llamadas perfil sensorial), se usan muy a menudo para describir y evaluar tanto la intensidad como la calidad de las características percibidas del producto, entre ellas: Análisis Descriptivo Cuantitativo (en inglés QDA), perfil de textura, entre otras. Estas pruebas deben ser realizadas por jueces seleccionados y adiestrados, aunque el grado de

adiestramiento necesario varía en función de la prueba que se utilice y del objetivo del análisis [293,299].

Así, el **QDA** se basa en el principio de la capacidad de un panelista para verbalizar y expresar sus percepciones de forma fiable, acerca de un producto. Este método requiere de un procedimiento formal de entrenamiento de los jueces, el desarrollo y uso de un lenguaje específico sensorial, así como, la valoración de los productos en repetidas pruebas para obtener una descripción cuantitativa completa [298]. En este análisis se incluye lo siguiente:

- Listado completo de los atributos sensoriales (basado en las percepciones).
- Orden de aparición de dichos atributos.
- Medida relativa de intensidad para cada uno de los atributos a valorar en múltiples ensayos.
- Análisis estadístico de los resultados obtenidos.

Una de las dificultades más relevantes del QDA es el tiempo necesario para su implementación. Seleccionar y capacitar evaluadores sensoriales para una aplicación específica puede llevar de 10 a 120 horas de prueba, dependiendo de los objetivos de la prueba y la complejidad del producto [300].

Por último, las técnicas sensoriales llamadas **pruebas afectivas o hedónicas** que son las utilizadas para investigar la opinión del consumidor. El método más directo de enfrentar un problema es ofrecer al consumidor diversos productos y establecer si existe una preferencia significativa por un determinado producto por parte de la mayoría de los jueces. Este tipo de pruebas afectivas se denomina prueba de **preferencia** y sirve, por tanto, para determinar qué muestra, entre dos o tres, es la preferida o seleccionada. Sin embargo, esta metodología no es muy informativa acerca de la magnitud de la aceptación o rechazo de los sujetos. Por ello, a finales de los años 40, se creó la primera escala hedónica por

parte del *U.S. Army Food and Container Institute*. Consistía en usar una escala de 9 puntos para expresar el **grado de satisfacción** ante los alimentos, con una categoría central neutra y puntos superiores e inferiores que trataban de crear una escala numérica equidistante con adverbios que representaban una escala hedónica [301].

Finalmente, las **pruebas de aceptación** nos indican el grado de aceptación de un producto por sus potenciales consumidores; es decir, si estarían dispuestos a adquirirlo teniendo en cuenta factores como su relación “calidad/precio”, etc. El principal ámbito de aplicación de estas pruebas es el estudio de mercados, y deben ser realizadas por grupos muy grandes de jueces no entrenados, y que representen al público o clase social sobre la que se quiere obtener información [298].

Como hemos visto, la evaluación sensorial proporciona importantes datos cuantitativos y cualitativos que ayudan en el desarrollo de productos, e influyen en las decisiones comerciales y de marketing. Aunque, los evaluadores humanos pueden proporcionar una visión única de las características sensoriales de los alimentos, esas ideas a veces son subjetivas y pueden verse influenciadas por factores externos. El uso de paneles sensoriales altamente capacitados puede eliminar el sesgo que a menudo resulta de los paneles de consumidores; sin embargo, son caros y requieren mucho entrenamiento antes de que puedan evaluar con precisión los productos alimenticios [302]. Cuando se realizan pruebas sensoriales con la finalidad de medir la rancidez de un producto, se suelen utilizar pruebas de grado de satisfacción y se utilizan escalas hedónicas (miden sensaciones agradables o desagradables), las cuales pueden ser verbales o gráficas. Hay que decir, que los atributos sensoriales como el sabor y el aroma son más difíciles de correlacionar con datos obtenidos por análisis fisicoquímicos. Así, aunque las técnicas analíticas no están directamente asociadas con la calidad

sensorial de los alimentos, proporcionan medidas objetivas de su estabilidad y calidad, especialmente para los alimentos a base de aceite y grasa donde se miden las moléculas de oxidación. Con frecuencia, las mejores estimaciones de la calidad de los aceites y grasas y de los alimentos que los contienen, se evalúan utilizando una combinación de métodos sensoriales y analíticos [302].



3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

3.1. Justificación

Las aplicaciones alimentarias de los subproductos de las PAM son objeto de un número creciente de investigaciones a nivel nacional e internacional [303]. Los aceites esenciales son muy eficaces como conservantes, pero suelen ser muy agresivos sensorialmente, mientras que el empleo de EP tiene un mayor margen sensorial y también aportan buenas propiedades tecnológicas. Numerosas investigaciones han demostrado la eficacia de estos EP como conservantes (antioxidantes y antimicrobianos) en los alimentos [9,13–16], lo que ha impulsado la oferta de productos más “naturales” elaborados con polifenoles en sustitución de aditivos. Sin embargo, a día de hoy, las PAM continúan siendo una fuente desaprovechada de polifenoles para uso alimentario, salvo excepciones como el romero [304]. La mayor parte de los estudios consultados se limitan a aplicar EP comerciales para conservar alimentos con más o menos éxito, si bien hay estudios que abordan la selección previa de los EP en base a su CA [305]. En general, las aplicaciones alimentarias desarrolladas son todavía escasas y se centran principalmente en productos cárnicos, transformados de la pesca o grasos. Por otro lado, los EP de subproductos de las PAM pueden aportar polifenoles biodisponibles a la dieta con potenciales propiedades funcionales [306], por tanto, introducidos en el alimento adecuado, podrían aportar beneficios para el propio alimento y para la salud.

3.2. Hipótesis de partida

1. Es posible obtener EP con un perfil polifenólico estandarizado a partir de subproductos de destilación de plantas de romero y salvia seleccionadas y cultivadas.
2. La aplicación de estos EP en matrices alimentarias (caramelos, salsas de yogur y patés de salmón) podría aportar propiedades antioxidantes y/o antimicrobianas, e incrementar su estabilidad y vida útil.
3. Si la tolerancia sensorial de los EP y la estabilidad de sus compuestos activos en el alimento procesado son adecuadas, los EP, dependiendo de la dosis alcanzada, podrían ser considerados ingredientes con potencial actividad funcional.

3.3. Objetivos

3.3.1. Objetivo general

Por todo lo expuesto, la presente tesis está orientada a la revalorización de subproductos de la destilación de romero y salvia, obtenidos a partir de plantas pertenecientes a ecotipos con un alto rendimiento en polifenoles.

El objetivo general fue desarrollar nuevas aplicaciones alimentarias para EP obtenidos de subproductos de romero y salvia en tres alimentos nutricionalmente mejorados, y determinar su potencial como conservantes naturales y/o posibles ingredientes funcionales.

3.3.2. Objetivos específicos

1. Diseñar caramelos de goma más saludables con una composición mejorada con fibra soluble (inulina y FOS) y *Stevia rebaudiana* como edulcorante natural, como base para la adición de EP. Evaluar el efecto de la adición de un extracto etanólico de propóleo como antioxidante natural de referencia sobre las propiedades sensoriales, antioxidantes y fisicoquímicas de los caramelos, incluyendo la estabilidad de los polifenoles de propóleo (**Artículo N° 1**).
2. Evaluar la aplicación de dos extractos hidrosolubles de romero con diferente contenido polifenólico sobre las propiedades sensoriales, antioxidantes y fisicoquímicas de los caramelos de goma mejorados (**Artículo N° 2**).
3. Evaluar la aplicación de dos extractos hidrosolubles de salvia con diferente contenido polifenólico sobre las propiedades sensoriales, antioxidantes y fisicoquímicas de los caramelos de goma mejorados (**Artículo N° 3**).
4. Diseñar una salsa de yogur con una composición más saludable basada en la sustitución parcial del aceite de girasol por inulina como base para la adición de EP. Evaluar la aplicación de dos extractos hidro y liposolubles de romero con diferente contenido polifenólico sobre la propiedades sensoriales, antioxidantes y fisicoquímicas de salsa de yogur recién pasteurizada (**Artículo N° 4**).
5. Evaluar la aplicación de dos extractos hidrosolubles de salvia con diferente contenido polifenólico sobre la estabilidad microbiológica y

oxidativa de la salsa de yogur pasteurizada y mantenida en condiciones de venta al por menor (**Artículo N° 5**).

6. Diseñar un paté de salmón con una composición más saludable basado en la sustitución parcial de aceite de girasol por semilla de lino. Evaluar la aplicación de un extracto liposoluble de romero sobre la estabilidad oxidativa del paté de salmón pasteurizado y mantenido en condiciones de venta al por menor (**Artículo N° 6**).



4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño experimental

La presente tesis forma parte del proyecto nacional de investigación titulado “Cultivo y selección clonal de plantas élite de salvia, romero, mejorana y espliego para su aplicación innovadora en el ámbito de la salud y la alimentación humana”, subproyecto 4º, “Desarrollo de nuevas aplicaciones alimentarias con EP obtenidos a partir de PAM”, financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) (RTA2017-00031-C04-04) del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad. La investigación básicamente consistió en desarrollar nuevas aplicaciones alimentarias de extractos de plantas aromático-medicinales como posibles conservantes naturales y/o ingredientes funcionales.

Para ello, se planificaron 6 ensayos:

4.1.1. Ensayo 1. Desarrollo de caramelos de goma con y sin azúcar, enriquecidos con extracto etanólico de propóleo (producto de referencia)

Se planificó un primer ensayo para desarrollar los caramelos de goma (matriz rica en carbohidratos, baja en agua y sin lípidos), testar un posible ingrediente funcional como referencia y poner a punto los métodos de análisis previstos. Una colaboración con la Profesora María Cristina Marcucci de la Universidad Andanguera (Sao Paulo, Brasil) brindó la oportunidad de trabajar con extracto etanólico de propóleo (PEE, en inglés), un producto rico en polifenoles comercializado con éxito como ingrediente funcional en caramelos duros. También se contó con el asesoramiento técnico de la Dra. María Dolores Esteban Maestre, de la empresa de nutraceúticos MARNYS (Cartagena, Murcia), especialistas en la fabricación de caramelos con propóleo.

Se desarrollaron caramelos de goma con dos formulaciones: convencional (azúcares y almidón) (S) y mejorada nutricionalmente [Fructooligosacáridos (FOS) y *Stevia rebaudiana*] (F); tres sabores frutales (fresa, menta y naranja); y tres niveles de dosificación de PEE: 0; 0,1 y 0,2 g/kg caramelo.

Se estudió el efecto de la adición de PEE sobre diferentes características de los extractos y caramelos:

- Tolerancia sensorial del PEE en los caramelos (identificación de sabores herbales y alteraciones del sabor detectadas por consumidores).
- Identificación y cuantificación por HPLC-DAD de los polifenoles del PEE.
- Estabilidad de los principales compuestos activos de propóleo (Artepillin-C y ácido p-Cumárico) en los caramelos después de la fabricación.
- La CA del PEE y caramelos (Contenido Polifenólico Total (TPC), DPPH, ABTS).
- Propiedades fisicoquímicas usadas para controlar la calidad de los caramelos de goma (humedad, pH, sólidos solubles, color CIELab y textura).

4.1.2. Ensayo 2. Aplicación de extractos hidrosolubles de romero en caramelos de goma sin azúcar.

En base a los resultados del ensayo 1, se decidió fabricar solo caramelos de goma mejorados nutricionalmente (FOS y *Stevia rebaudiana*) con sabor a fresa (aromatización frutal representativa).

Las plantas “élite” de romero se cultivaron en la finca experimental del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Medioambiental (IMIDA), ubicada en la Alberca (Región de Murcia). Los extractos hidrosolubles de romero (RE) fueron obtenidos a partir de los subproductos de la destilación

del aceite esencial, en los laboratorios del Grupo de Investigación en Cultivos de Secano para el Desarrollo Rural del IMIDA.

Se fabricaron caramelos enriquecidos con extractos hidrosolubles de romero de bajo (RE74) y alto (RE146) contenido polifenólico (mg/g), aplicando 4 niveles de dosificación: 0; 0,13; 0,26 y 0,52 g/kg caramelo.

Se estudió el efecto de la adición de los RE sobre diferentes características de los extractos y caramelos:

- Análisis sensorial descriptivo cuantitativo (QDA, en inglés) para fijar los límites de detección (panel entrenado).
- Identificación y cuantificación por HPLC-DAD de los polifenoles de los RE.
- Estabilidad del principal compuesto activo del RE (ácido rosmarínico) en los caramelos después de la fabricación.
- CA de los RE, caramelos e ingredientes (TPC, Desoxirribosa, TEAC).
- Propiedades fisicoquímicas usadas para controlar la calidad de los caramelos de goma (pH, sólidos solubles, humedad, actividad de agua, color CIELab y textura).
- Tolerancia sensorial de los RE en los caramelos (identificación de sabores herbales y alteraciones del sabor detectadas por consumidores).

4.1.3. Ensayo 3. Aplicación de extractos hidrosolubles de salvia en caramelos de goma sin azúcar.

A partir de los resultados obtenidos en el ensayo 2 se planteó la posibilidad de usar extractos de PAM con menos impacto sensorial, que permitieran a su vez incrementar la cantidad de polifenoles añadida a los caramelos de goma. Entre los extractos hidrosolubles de hoja destilada disponibles para el proyecto, se optó

por utilizar dos extractos de salvia (SE) denominados SE38 (38 mg/g extracto, con ácidos salviánico como principal polifenol) y SE70 (70 mg/g extracto, con ácido rosmarínico como principal polifenol). Ambos extractos presentaban un suave sabor a manzanilla y, a priori, eran menos amargos y astringentes que los extractos de propóleo y romero.

Las plantas “élite” de salvia también se cultivaron en la finca experimental del IMIDA. Los extractos hidrosolubles de salvia (SE) fueron obtenidos a partir de los subproductos de la destilación del aceite esencial, en los laboratorios del Grupo de Investigación en Cultivos de Secano para el Desarrollo Rural del IMIDA.

Se fabricaron caramelos de goma enriquecidos con SE38 y SE70 a cuatro niveles de dosificación: 0; 0,25; 0,50 y 0,75 g/kg caramelo.

Se estudió el efecto de la adición de los SE sobre diferentes características de los extractos y caramelos:

- Tolerancia sensorial de los SE en los caramelos (identificación de sabores herbales y alteraciones del sabor por panel entrenado).
- Identificación y cuantificación por HPLC-DAD de los polifenoles de los SE.
- Estabilidad de los principales compuestos activos de los SE (ácidos rosmarínico y salviánico) en los caramelos después de la fabricación.
- Propiedades fisicoquímicas usadas para controlar la calidad de los caramelos de goma (pH, sólidos solubles, humedad, color CIELab).
- CA de los SE y los caramelos (TPC, ABTS, DPPH, FRAP, DR).

4.1.4. Ensayo 4. Desarrollo de salsas de yogur con inulina y extractos de romero.

Este ensayo sirvió para desarrollar salsas de yogur (pasteurizada y refrigerada) con una formulación mejorada mediante la sustitución de una parte del aceite de girasol por inulina, así como testar la fracción hidrosoluble (RE146) y liposoluble (RE120) de extracto de romero. Tratamientos: (1) Control, (2) IN2 (inulina 2%), (3) IN5 (inulina 5%), (4) RWE (0,3 g/kg), (5) RLE (0,3 g/kg), (6) RWLE (RWE + RLE) (1:1) (0,15+0,15 g/kg), y (7) IN5 + RWLE.

Se evaluó el efecto de la sustitución de aceite de girasol por inulina, y la adición de los RE sobre las características de las salsas recién fabricadas:

- Tolerancia sensorial de los RE en las salsas (identificación de sabores herbales y alteraciones del sabor detectadas por panel entrenado).
- Identificación y cuantificación por HPLC-DAD de los polifenoles de los RE.
- CA de las salsas e ingredientes (secuestrador de radicales OH, DPPH).
- Estabilidad lipídica (peroxidación lipídica, Rancimat, autooxidación del ácido linoleico).
- Propiedades fisicoquímicas usadas para controlar la calidad de las salsas (pH y color CIELab).

4.1.5. Ensayo 5. Aplicación de extractos hidrosolubles de salvia en salsas de yogur con inulina.

Analizados los resultados del ensayo 4 se decidió fabricar solo salsas de yogur mejoradas (5% de inulina), utilizando otros extractos menos estudiados

como los extractos de salvia del ensayo 3 (con diferente contenido polifenólico pero igual CA), pero cambiando el diseño experimental.

Por un lado, se fabricaron salsas de yogur enriquecidas con SE38 y SE70 a la misma dosis usada para los RE (0,3 g/kg), y, por otro, se fabricó una salsa de yogur con una dosis reducida de SE70, denominada SE70/2 (0,16 g/kg) para poder comparar salsas con la misma cantidad total de polifenoles de salvia. Adicionalmente, se realizó un estudio de la estabilidad oxidativa y microbiológica del producto en refrigeración.

Se evaluó el efecto de la adición de los SE sobre diferentes características de la salsa de yogur recién fabricada (día 0) y mantenida en condiciones de venta al por menor (42 días; 4°C; 600 Lux).

- Estabilidad de los principales compuestos activos de los SE (ácidos rosmarínico y salviánico) en la salsa.
- CA de los SE y las salsas (TPC, ABTS, DPPH, FRAP).
- Oxidación primaria y secundaria de los lípidos [Dienos conjugados (DC) y Trienos Conjugados (TC), Valor Peróxido (PV), TBARS].
- Propiedades fisicoquímicas relacionada con la calidad de las salsas (composición proximal, pH y color CIELab).
- Análisis microbiológico (*L. monocitogenes*, mohos y levaduras, aerobios mesófilos totales).

4.1.6. Ensayo 6. Aplicación de extracto liposoluble de romero en paté de salmón con semilla de lino.

En este experimento se testó un nuevo extracto lipídico de romero (RLE) rico en diterpenos, con 334 mg de polifenoles totales/g de extracto, en paté de

salmón con semilla de lino (emulsión de pescado muy grasa rica en ácidos grasos poliinsaturados). Se aplicaron 4 niveles de dosificación: (1) Control sin tratar; (2) RLE21 (0,21 g/kg); (3) RLE42 (0,42 g/kg) y (4) RLE63 (0,63 g/kg). El tratamiento RLE63 equivalía a 150 mg de ácido carnósico + carnosol por kg de paté, la dosis máxima autorizada por el Reglamento 1129/2011/EU.

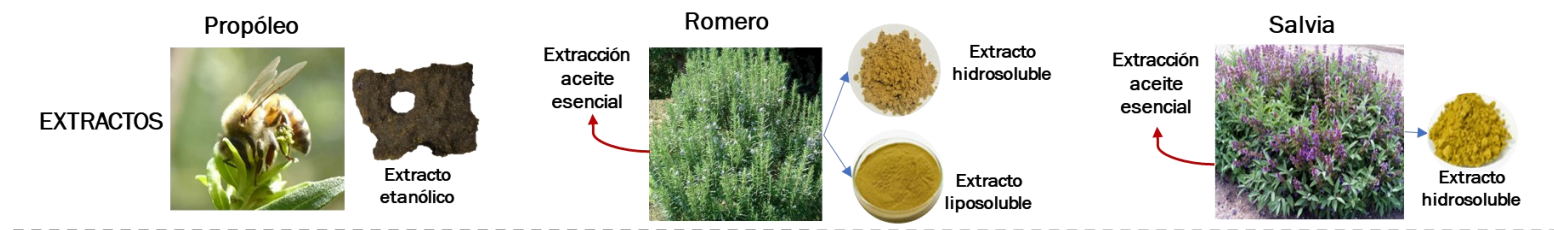
Se estudió el efecto de la adición de RLE sobre diferentes características del paté recién fabricado (día 0) y mantenido en condiciones de venta al por menor (día 42; 4°C; 600 Lux):

- Identificación y cuantificación por HPLC-DAD de los polifenoles del RLE.
- Estabilidad de los principales compuestos activos de los RLE (ácido carnósico y carnosol).
- Composición proximal (proteínas, grasa, humedad).
- Estabilidad de lípidos (perfil de ácidos grasos, DC, TC, PV, TBARS, esteroides y productos de la oxidación del colesterol y compuestos orgánicos volátiles).
- Parámetros físicos relacionados con la oxidación (pH y color CIELab).

4.2. Análisis estadístico

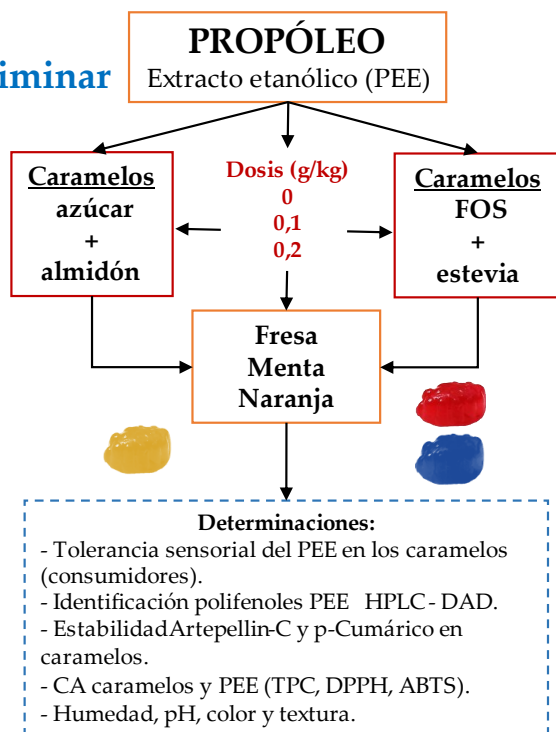
Los análisis estadísticos, aunque se realizaron para cada experimento (ver detalles en cada artículo del compendio), en todos los casos se aplicó un diseño aleatorio donde el efecto del principal tratamiento (formulaciones experimentales) se determinó mediante ANOVA simple (formulaciones simples), ANOVA bifactorial (formulaciones combinadas) y ANOVA con diseño de medidas repetidas (estudios de estabilidad en refrigeración). En todos los casos se utilizó el test de homogeneidad de Tukey para un nivel de significación

de $p < 0,05$. La relación entre variables dependientes se determinó mediante coeficientes de correlación de Pearson y se utilizó análisis discriminante para clasificar las muestras en función de múltiples variables. Los datos se analizaron con los programas Statistix 8,0 para Windows (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA) y Statgraphics 5,0 Plus (Statpoint Technologies, Warrenton, VA, USA).

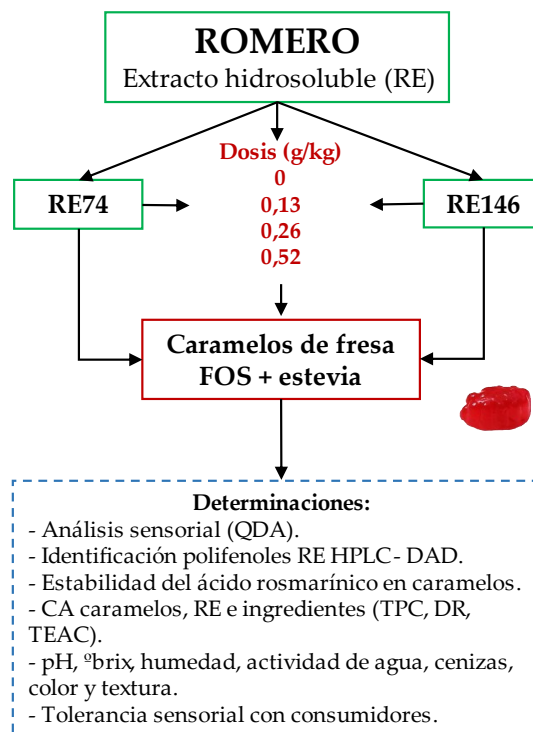


Ensayo 1: Caramelos de goma

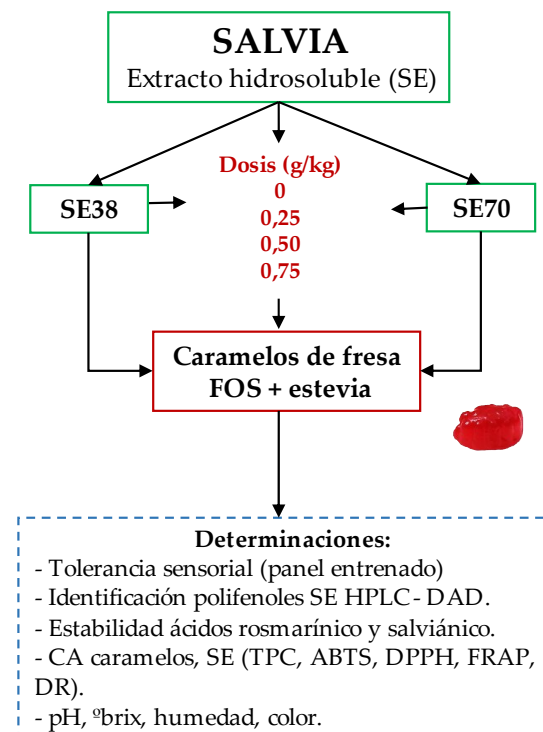
Preliminar



Ensayo 2: Caramelos de goma

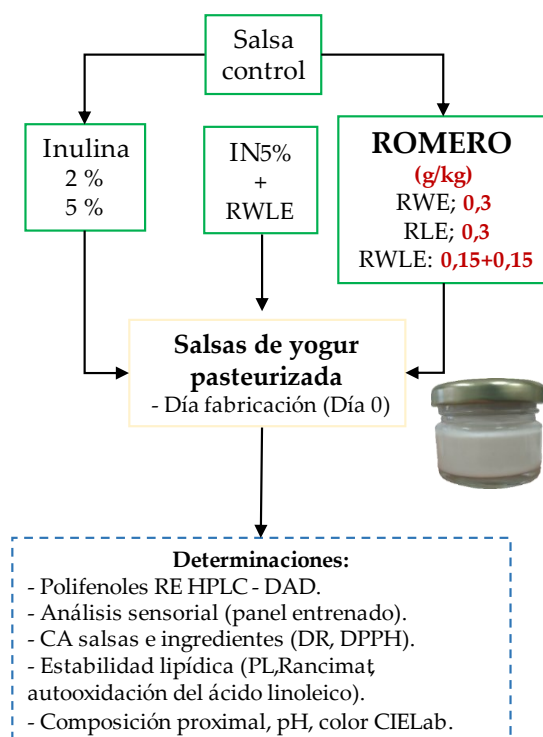


Ensayo 3: Caramelos de goma

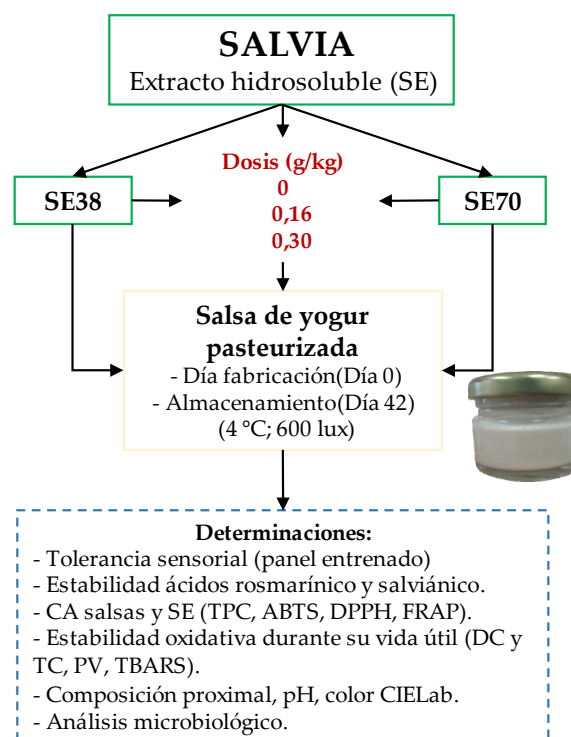




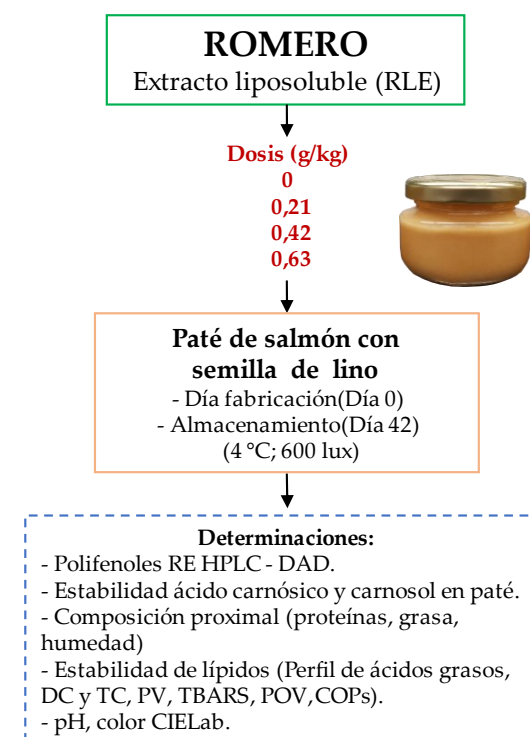
Ensayo 4: Salsa de yogur



Ensayo 5: Salsa de yogur



Ensayo 6: Paté de salmón





5. RESULTADOS

5.1

Título: Contribution of green propolis to the antioxidant, physical, and sensory properties of fruity jelly candies made with sugars or fructans.

Autores: Cedeño-Pinos Cristina¹, Marcucci María Cristina², & Bañón Sancho¹

¹ Department of Food Technology and Science and Nutrition, Veterinary Faculty, Regional Campus of International Excellence "Campus Mare Nostrum", University of Murcia, 30100 Murcia, Spain.

² Departament of Biosciences and Oral Diagnosis, Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista ICT-Unesp, Campus de São José dos Campos 12245-000, São Paulo 01000-000, Brazil.

Foods, 2021 10(11), 2586.

Resumen

Enrichment with phenolic compounds is proposed as a strategy to obtain more stable and healthier candy products. A green propolis ethanolic dry extract (PEE) from *Braccharis dracunculifolia* (Brazilian Alecrim-do Campo) was assessed as an antioxidant in jelly candies. Three levels (0, 0.01, and 0.02% *w/w*) of PEE were tested in jelly candies alternatively made with two carbohydrate bases (sugars or fructans) and three fruity dyes and flavours (menthe, orange, or strawberry). Propolis polyphenol content (identified by HPLC-MS and quantified by HPLC-DAD/UV-Vis), antioxidant capacity (total phenolics and radical scavenging activity), physical properties (moisture, pH, CIELab colour, and texture profile

analysis), and flavour were studied in candies. PEE was rich in polyphenols (>8.7%), including several prenylated p-coumaric, caffeoylquinic and diterpenic acids, and flavonoids, with Artepillin-C (3.4%) as the main bioactive compound. The incorporation of PEE into the hot liquor at 80 °C for 5 min before moulding allowed a good retention of propolis polyphenols in the final product (recovery percentages of up to 97.4% for Artepillin-C). Jelly candies made with sugars or dietetic fructans have poor antioxidant properties, which depend on the dyes and flavours used. Using PEE (at 0.02%) strongly improved the antioxidant capacity (relative increases of up to 465%) of candies without altering the pH, colour, or texture, although off-flavour may appear. Propolis, due to its good antioxidant properties, has potential for use as a functional ingredient in jelly candies.

URL: <https://doi.org/10.3390/foods10112586>

5.2

Título: Assessment of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract as Antioxidant in Jelly Candies Made with Fructan Fibres and Stevia.

Autores: Cedeño-Pinos Cristina¹, Martínez-Tomé Magdalena^{1,2}, Murcia María Antonia^{1,2}, Jordán, María José³, & Bañón Sancho¹

¹ Department of Food Technology and Science and Nutrition, Veterinary Faculty, Regional Campus of International Excellence "Campus Mare Nostrum", University of Murcia, 30100 Murcia, Spain

² CIBER: CB12/03/30038 Pathophysiology of Obesity and Nutrition, CIBERobn, Carlos III Health Institute (ISCIII), 28013 Madrid, Spain

³ Research Group on Rainfed Crops for the Rural Development, Murcia Institute of Agri-Food Research and Development (IMIDA), c/Mayor s/n, 30150 La Alberca Murcia, Spain.

Antioxidants, 2020, 9(12), 1289.

Resumen

Enrichment with rosemary antioxidants is proposed as a possible strategy to obtain healthier jelly candies. Two aqueous rosemary extracts (RE) containing 73.9 (RE74) and 145.6 (RE146) mg polyphenols per g fresh weight were assessed as antioxidants in jelly candies based on fructooligosaccharides, inulin and stevia. Up to 15 phenolic acids, flavonoids and diterpenes were determined in the extracts, with rosmarinic acid as the main active compound. Sensory tolerance, physical properties, rosmarinic acid recovery, polyphenol content, and antioxidant capacity were determined in jelly candies. The threshold of sensory

detection was established at 0.26 g RE146/kg of raw candy, below which rosemary off-flavours were avoided without altering pH, brix, texture, CIELab colour, and consumer acceptance. Adding 0.26 g RE146 per kg increased ($p < 0.001$) polyphenol content from 197 to 411 $\mu\text{g GAE/g}$ and the antioxidant capacity from 1.77 to 4.14 $\mu\text{mol Trolox/g}$. Rosemary polyphenols resulted in being resistant to cooking, acted as secondary antioxidants and showed good interaction with the other jelly ingredients. Aqueous extracts from rosemary distillation by-products can be incorporated at acceptable levels to jelly candy formulations leading to higher oxidative stability and an increased content of dietary polyphenols.

URL: <https://doi.org/10.3390/antiox9121289>

5.3

Título: Revalorisation of Sage (*Salvia lavandulifolia* Vahl) By-Product Extracts as a Source of Polyphenol Antioxidants for Novel Jelly Candies.

Autores: Cedeño-Pinos Cristina¹, Martínez-Tomé Magdalena^{1,2}, Jordán María José³ & Bañón Sancho¹

¹ Department of Food Technology and Science and Nutrition, Veterinary Faculty, Regional Campus of International Excellence "Campus Mare Nostrum", University of Murcia, 30100 Murcia, Spain.

² CIBER: CB12/03/30038 Pathophysiology of Obesity and Nutrition, CIBERobn, Carlos III Health Institute (ISCIII), 28013 Madrid, Spain

³ Research Group on Rainfed Crops for the Rural Development, Murcian Institute for Agricultural and Environmental Research and Development (IMIDA), 30150 Murcia, Spain

Antioxidants, 2023, 12(1), 159.

Resumen

Sage (*Salvia lavandulifolia* Vahl) aqueous extracts (SE) obtained from distillation by-products were assessed as antioxidants for nutritionally enhanced jelly candies. Two experimental SEs with a different content of phenolic acids and flavonoids were tested: (i) SE38 (37.6 mg/g) and (ii) SE70 (69.8 mg/g), with salvianic and rosmarinic acids as main polyphenols, respectively. Flavour alteration, stability of sage polyphenols, physical quality traits and antioxidant capacity (AC) were studied in strawberry candies formulated without sugars and enriched with SEs at 0.25, 0.50 and 0.75 g/kg. Despite their different quantitative composition, SE38 and SE70 provided similar antioxidant properties, which were dose dependent. Salvianic and rosmarinic acids were stable without degrading to candy processing (up to 80 °C), keeping their antioxidant potential. There were no relevant differences in flavour or physical traits (pH, °Brix and CIELab colour)

between untreated and SE-enriched strawberry candies. The addition of 0.75 g SE/kg resulted in relevant increases of candy AC: (i) from 30 to 38 mg GAE/100 g (Total phenolics); (ii) from 10 to 17 mg TE/100 g (DPPH• radical scavenging assay); (iii) from 5 to 13 mg TE/100 g (ABTS•+ radical scavenging assay); (iv) from 84 to 163 $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ /100 g (FRAP capacity) and (v) from 75 to 83% (inhibition of deoxyribose damage). Sage distillation by-products can be revalorized as a source of natural antioxidants to produce healthier candies.

URL: <https://doi.org/10.3390/antiox12010159>

5.4

Título: Rosemary Extracts Improved the Antioxidant Status of Low-Fat Yoghurt Sauces Enriched with Inulin.

Autores: Martínez-Tomé Magdalena ^{1,2}, Cedeño-Pinos Cristina ¹, Bañón Sancho ¹, & Jiménez-Monreal Antonia María ^{1,2}

¹ Department of Food Science, Veterinary Faculty, Regional Campus of International Excellence "Campus Mare Nostrum", University of Murcia, 30100 Murcia, Spain.

² CIBER, CB12/03/30038 Fisiopatología de la Obesidad y la Nutrición, CIBEROBN, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), 28013 Madrid, Spain

³ Department of Food Technology and Science and Nutrition, Veterinary Faculty, Regional Campus of International Excellence "Campus Mare Nostrum", University of Murcia, 30100 Murcia, Spain.

Antioxidants, 2022, 11(4), 789.

Resumen

Yoghurt sauces are considered fatty products which are quite susceptible to oxidation and must be stabilised using antioxidants. Novel formulations for yoghurt sauces often involve replacement of fat with dietary fibres and use of natural preservatives. The aim of the present research was to design healthier formulations for yoghurt sauces based on the replacement of sunflower oil (SO) with chicory inulin (IN) and the use of rosemary extracts (RE) as natural antioxidants. Different sauces were developed by adding IN at 2 and 5% *w: w* and/or 300 mg/kg lipo- and/or water-soluble rosemary extracts (RLE and/or RWE) containing 120 and 146 mg polyphenols per g extract, respectively. Nutritional value (proximate composition and caloric contribution), some physical properties (pH and CIELab colour) and antioxidant status (deoxyribose, DPPH radical scavenging, Rancimat, lipid peroxidation and linoleic acid assays) were assessed in the sauces. Replacement of SO with IN (5%) reduced fat content by 30%, roughly 15% low calories, thereby obtaining healthier sauces. As expected, the RLE was more effective than the RWE in improving antioxidant

activity in lipidic environment. Using RLE enhanced the antioxidant capacity of lipid peroxidation by 44%. In the Rancimat test, this increased the oxidative protection of the sauce made with and without IN (5%) by around 20% or 45%, respectively. Similarly, using RLE doubled protection against linoleic acid oxidation. Application of IN in yoghurt sauce has nutritional (replacement of lipids with dietary fibre) and technological interest (foaming agent) and can be combined with RE of high polyphenol content as a potential functional ingredient capable of stabilising the sauces against oxidation.

URL: <https://doi.org/10.3390/antiox11040789>

5.5

Título: Polyphenol Extracts from Sage (*Salvia lavandulifolia* Vahl) By-Products as Natural Antioxidants for Pasteurised Chilled Yoghurt Sauce.

Autores: Cedeño-Pinos Cristina ¹, Antonia María Jiménez-Monreal ^{1,2}, Quílez María ³ & Bañón Sancho ¹

¹ Department of Food Technology and Science and Nutrition, Veterinary Faculty, Regional Campus of International Excellence "Campus Mare Nostrum", University of Murcia, 30100 Murcia, Spain

² CIBER: CB12/03/30038 Pathophysiology of Obesity and Nutrition, CIBERobn, Carlos III Health Institute (ISCIII), 28013 Madrid, Spain

³ Research Group on Rainfed Crops for the Rural Development, Murcia Institute of Agri-Food Research and Development (IMIDA), 30150 Murcia, Spain

Antioxidants, 2023, 12(2), 364.

Resumen

Sage by-product extracts (SE) are a valuable source of phenolic acids and flavonoids for food applications. The objective was to test two SE as antioxidants in pasteurised chilled yoghurt sauces against oxidation. Two SE of different polyphenol total content and profile were selected: SE38 (37.6 mg/g) and SE70 (69.8 mg/g), with salvianic and rosmarinic acid as the main polyphenols, respectively. Four experimental low-fat yoghurt sauces were formulated: untreated; SE70/2 (0.16 g/kg); SE38 (0.3 g/kg); and SE70 (0.3 g/kg). The stability of phenolic acids, microbiological quality (mesophilic bacteria, moulds and yeasts, and *L. monocytogenes*), and oxidative stability (lipids, colour, and pH) were

studied in the sauces after pasteurisation at 70 °C for 30 min (day 0) and stored by refrigeration (day 42). Pasteurisation and further chilling ensured the microbiological quality and inhibition of microbial growth could not be evidenced, although SE70 showed some antimicrobial potential. Both SE showed good properties as antioxidants for yoghurt sauces. This finding was based on two results: (i) their main polyphenols, salvianic and rosmarinic acids, resisted to mild pasteurisation and remained quite stable during shelf life; and (ii) SE improved radical scavenging capacity, delayed primary and secondary lipid oxidation, and increased colour stability, contributing to sauce stabilisation. SE38 had a better antioxidant profile than SE70; therefore, the selection criteria for SE should be based on both quantity and type of polyphenols. Due to their stability and antioxidant properties, sage polyphenols can be used as natural antioxidants for clean-label yoghurt sauces.

URL: <https://doi.org/10.3390/antiox12020364>

5.6

Título: Assessment of a Diterpene-Rich Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract as a Natural Antioxidant for Salmon Pâté Formulated with Linseed.

Autores: Cedeño-Pinos Cristina¹, Martínez-Tomé Magdalena^{1,2}, Mercatante Darío³, Rodríguez-Estrada Teresa³, & Bañón Sancho¹

¹ Department of Food Technology and Science and Nutrition, Veterinary Faculty, Regional Campus of International Excellence "Campus Mare Nostrum", University of Murcia, 30100 Murcia, Spain.

² CIBER: CB12/03/30038 Pathophysiology of Obesity and Nutrition, CIBERObn, Carlos III Health Institute (ISCIII), 28013 Madrid, Spain

³ Department of Agricultural and Food Sciences, Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, 40127 Bologna, Italy; dario.mercatante2@unibo.it (D.M.); maria.rodriguez@unibo.it (M.T.R.-E.)

Antioxidants, 2022, 11(6), 1057.

Resumen

The use of natural plant extracts with standardised antioxidant properties is a growing strategy to stabilise food products. The use of a rosemary lipophilic extract (RLE), obtained from the by-product of high-yield selected plants and rich in polyphenols (334 mg/g, with diterpenes such as carnosic acid and carnosol as main compounds), is here proposed. Four RLE doses (0, 0.21, 0.42 and 0.63 g/kg) were tested in a salmon pâté formulated with sunflower oil and linseed, which was pasteurised (70 °C for 30 min) and subjected to storage at 4 °C and 600 lux for 42 days. Rosemary diterpenes resisted pasteurisation without degrading and showed antioxidant activities during the shelf-life of pasteurised pâté. RLE addition led to increased peroxide value (from 3.9 to 5.4 meq O₂/kg), but inhibited formation of secondary oxidised lipids such as malondialdehyde (from 1.55 to 0.89 mg/g) and cholesterol oxidation products (from 286 to 102 µg/100 g) and

avoided discolouration (slight brownness) in the refrigerated pâté. However, this did not entail relevant changes in fatty acid content or in the abundance of volatile organic compounds from oxidised lipids. Increasing the RLE dose only improved its antioxidant efficacy for some oxidation indexes. Thus, the oxidative deterioration of these types of fish emulsion can be naturally controlled with rosemary extracts rich in diterpenes.

URL: <https://doi.org/10.3390/antiox11061057>



6. CONCLUSIONES

El desarrollo de la presente tesis doctoral ha permitido ampliar el conocimiento existente sobre importantes propiedades tecnológicas (sensoriales, antioxidantes y retención de compuestos activos) de los extractos de romero y salvia aplicados en distintos alimentos. También sobre la eficiencia de la metodología de análisis empleada para evaluar la utilidad de estos extractos.

Las conclusiones de la presente tesis doctoral son las siguientes:

1. Los subproductos de destilación de plantas clónicas seleccionadas y cultivadas de romero y salvia pueden revalorizarse como fuente de antioxidantes naturales para aplicaciones alimentarias, ya que permite obtener extractos ricos en polifenoles con un contenido y perfil reproducibles.

2. Los extractos de romero son los más ricos en polifenoles totales, seguidos por los de propóleo y salvia. Su perfil polifenólico es muy diferente. Los extractos de propóleo son ricos en ácidos fenólicos como p-cumárico y Artepillin C, los extractos hidrosolubles de romero y salvia son ricos en ácidos fenólicos y flavonoides, como los ácidos rosmarínico y salviánico, mientras que los extractos liposolubles de romero son ricos en diterpenos como el ácido carnósico y el carnosol. El subproducto de romero permite obtener extractos de distinta solubilidad para su uso específico en alimentos con más o menos grasa.

3. La actividad antioxidante potencial de estos extractos está relacionada con su contenido total en polifenoles, tal como se observa en los extractos de romero, pero también con el tipo de polifenoles, como se observa en los extractos de salvia. Ello aconseja basar los criterios de selección de estos extractos antioxidantes, tanto en la cantidad total, como en el perfil de

polifenoles, para intentar obtener extractos con un contenido en polifenoles lo más alto y equilibrado posible.

4. Los **caramelos de goma** son una matriz versátil que permite incorporar ingredientes menos calóricos y/o potencialmente funcionales como fibra de inulina y fructooligosacáridos y edulcorantes naturales como la Stevia. La adición de extractos de propóleo, romero y salvia a los caramelos presenta limitaciones sensoriales debido a su sabor amargo y astringencia. Los extractos de salvia tienen mejor sabor y pueden usarse a mayores dosis. A las dosis usadas (0,2 - 0,75 g/kg), estos tres extractos aportan entre 0,018 y 0,053 mg de polifenoles por g de caramelo mejorando sus propiedades antioxidantes. Ello se debe a que los polifenoles mayoritarios y probablemente otros presentes en estos extractos apenas se degradan y permanecen activos en los caramelos enriquecidos.

5. La sustitución de aceite de girasol por inulina mejora el perfil nutricional de la **salsa de yogur**, ya que permite incorporar fibra soluble y reducir el contenido de grasa sin perder cremosidad. A dosis adecuadas (0,3 g/kg) los extractos de romero no aportan sabores herbales y amargos y solo proporcionan una ligera tonalidad amarilla. El extracto liposoluble es más eficaz que el hidrosoluble en la protección contra la oxidación lipídica, no obstante, ambos extractos pueden combinarse como ingredientes con potencial antioxidante y/o funcional.

6. Los extractos de salvia presentan buenas propiedades sensoriales y pueden emplearse a la misma dosis (0,3 g/kg) como antioxidantes naturales para **salsa de yogur**, aunque potencialmente son menos eficaces que los extractos de romero. Los polifenoles mayoritarios de estos extractos resisten bastante bien la pasteurización y probablemente actúan junto con otros polifenoles como antioxidantes durante la vida comercial de la salsa, contribuyendo a su

estabilización. Estos extractos además también contribuyen a reducir la carga de bacterias mesófilas en la salsa pasteurizada.

7. La semilla de lino puede ser incorporada al **paté de salmón** como fuente de ácidos grasos poliinsaturados (omega-3 y omega-6), fibra y proteína. Esto permite sustituir parte del aceite de girasol y mantener la estabilidad de la emulsión, sin perjudicar a su calidad tecnológica y sensorial. La adición de extracto liposoluble de romero no altera el sabor del paté. La pasteurización no degrada sus diterpenos mayoritarios y éstos actúan como antioxidantes probablemente junto con otros polifenoles durante la vida comercial del paté, contribuyendo a su estabilización. No resulta necesario adicionar la cantidad máxima autorizada de diterpenos de romero (0,15 mg/g) para obtener un efecto antioxidante adecuado.

8. **Los extractos polifenólicos** obtenidos a partir de subproductos de destilación de plantas autóctonas seleccionadas de romero y salvia presentan buenas características para ser utilizados como conservantes naturales o como ingredientes con potencial funcional en alimentos “clean label”. Futuros estudios deberían ampliar el conocimiento sobre las propiedades tecnológicas y nutricionales de estos y otros extractos de plantas aromáticas en diferentes matrices alimentarias para intentar promover su producción y mejorar la salud pública.



7. RESUMEN



La presente Tesis Doctoral por compendio de publicaciones se enmarca en el subproyecto del plan nacional de investigación titulado “Desarrollo de nuevas aplicaciones alimentarias con extractos polifenólicos obtenidos a partir de plantas aromático-medicinales” (RTA2017-00031-C04-04), desarrollado por la Universidad de Murcia en colaboración con el Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Medioambiental (IMIDA) y otros centros del antiguo INIA. La propuesta fue intentar revalorizar los subproductos de la destilación de los aceites esenciales PAM autóctonas. La estrategia fue obtener y aplicar EP seleccionados como antioxidantes, antimicrobianos y/o ingredientes funcionales en alimentos “clean label”. Para ello, se desarrollaron tres tipos de alimentos con propiedades muy diferentes, caramelos de goma, salsa de yogur y paté de salmón a partir de formulaciones nutricionalmente mejoradas (reducción calórica y de aditivos conservantes, incorporación de fibra alimentaria, etc.).

Lo primero fue definir las PAM objeto de estudio. En la Región de Murcia, la destilación de plantas de romero y la salvia para obtener aceites esenciales genera una gran cantidad de subproductos industriales ricos en polifenoles que son aprovechables. El problema es que estas PAM pueden presentar una alta variabilidad en su contenido polifenólico, y, por consiguiente, en las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de sus extractos. Por tanto, hubo que estandarizar el material vegetal de partida para elaborar los diferentes EP. Se seleccionaron varios ecotipos de romero y salvia cuya composición en polifenoles (ácidos fenólicos, flavonoides y diterpenos) fue tipificada.

A continuación, se obtuvieron los diferentes EP. Primero se seleccionaron dos extractos hidrosolubles de romero (RE) con diferente contenido polifenólico, RE74 (73,9 mg/g) y RE146 (145,6 mg/g), con el ácido rosmarínico como principal compuesto activo. Tras una segunda extracción selectiva del mismo material vegetal, se obtuvieron otros dos RE liposolubles con diferente contenido en

polifenoles: RLE334 (334mg/kg) y RLE120 (120,28 mg/g), que eran ricos en diterpenos como el ácido carnósico y carnosol. Posteriormente, se obtuvieron dos extractos hidrosolubles de salvia (SE) con distinto contenido polifenólico, SE38 (37,6 mg/g) y SE70 (69,8 mg/g), ambos ricos en ácido rosmarínico y salviánico. Además se usó como referencia un extracto etanólico de propóleo (PEE) (87 mg/g), cuyos polifenoles principales fueron el Artepelin-C y ácido p-cumárico.

El siguiente paso fue establecer la tolerancia sensorial a los extractos y las dosis a introducir en los alimentos. La aplicación alimentaria de estos extractos polifenólicos está limitada por la concentración utilizada, ya que se pueden alterar el sabor y, en menor medida, el color de los alimentos enriquecidos. Este fenómeno puede ser atribuido al amargor natural de los polifenoles, así como a la presencia de otros compuestos herbales que pueden ser incluso más determinantes.

Se elaboraron caramelos convencionales (con azúcares y almidón) y nutricionalmente mejorados, sustituyendo el jarabe de glucosa y la sacarosa por jarabe de fructooligosacáridos y edulcorante natural (*Stevia rebaudiana*), y sustituyendo el almidón por crema de inulina de achicoria. Los caramelos fueron preparados con colores y sabores a menta, naranja y fresa. Se modificó el tratamiento mecánico y se redujo la temperatura de cocinado a menos de 100 °C con el objeto de proteger a los ingredientes termosensibles, entre ellos, a los EP. Los caramelos mejorados presentaron una excelente calidad sensorial comparados con los convencionales.

El primer ensayo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la adición de PEE sobre la calidad de los caramelos de goma. El propóleo es una resina natural elaborada por las abejas que se utiliza a escala comercial para elaborar caramelos duros y suplementos nutricionales. Al igual que los EP de PAM, los PEE son ricos en polifenoles y tienen un intenso sabor y aroma. Los consumidores no

detectaron el sabor a propóleo en los caramelos enriquecidos con 0,2 g PEE/kg (indistintamente del tipo y sabor de los caramelos). Los polifenoles mayoritarios del PEE, Artepellin-C y el ácido p-cumárico, resistieron al cocinado de los caramelos, ya que se cuantificó casi el 100% de la cantidad añadida. La adición de PEE aumentó la CA de los caramelos medida por cuatro métodos diferentes y apenas alteró los parámetros fisicoquímicos de los caramelos.

Por lo tanto, habiendo demostrado que es posible añadir EP a los **caramelos de goma** y que el proceso de fabricación apenas degrada los polifenoles añadidos, nos planteamos hacer estudios similares con dos extractos acuosos de subproductos de romero (74 y 146 mg polifenoles /g extracto) y de salvia (38 y 70 mg polifenoles /g extracto) en caramelos de goma mejorados de fresa, el sabor más común en la industria. Los caramelos enriquecidos con RE a altas dosis presentaron sabores herbales y amargos bastante parecidos a los de los caramelos enriquecidos con PEE. Por el contrario, los caramelos enriquecidos con SE tenían mejor sabor, ya que este extracto es menos amargo y tiene un suave sabor a manzanilla. Las dosis (g/kg) no detectables fueron establecidas en 0,26 para RE y 0,75 para SE. La capacidad antioxidante de los caramelos mejoró claramente con la adición de ambos tipos de EP (romero y salvia) siendo su efecto dosis-dependiente en la mayoría de los casos. Los extractos con un perfil polifenólico más equilibrado presentaron mejores propiedades antioxidantes en los caramelos. La incorporación de 0,75 g/kg de SE no supuso un mayor aporte de polifenoles totales al caramelo, ni un mejor efecto antioxidante comparado con dosis menores de PEE y RE. Tampoco hubo cambios fisicoquímicos relevantes en los caramelos. Los ácidos rosmarínico y salviánico también resistieron al cocinado, alcanzando niveles de recuperación cercanos al 100%.

A tenor de las dosis utilizadas, ambos extractos y muy probablemente otros extractos similares de PAM- parecen idóneos para enriquecer los caramelos

de goma con polifenoles. La vida comercial de estos caramelos puede llegar a los dos años a temperatura ambiente y todo apunta a que la incorporación de polifenoles parece contribuir a su estabilidad oxidativa. Además, la calidad nutricional de estos caramelos mejora debido a la aportación de antioxidantes a la dieta, aunque estas aportaciones fueron modestas desde un punto de vista dietético debido a la anteriormente mencionada limitación sensorial. En caso necesario, las cantidades adicionadas de EP podrían ser incrementadas en caramelos con un sabor más compatible.

Teniendo en cuenta el potencial antioxidante de los RE y SE, se planteó comprobar la efectividad de estos extractos en una matriz alimentaria diferente. Para ello, se desarrolló una **salsa de yogur** nutricionalmente mejorada, utilizando como orientación las salsas comerciales disponibles. Se sustituyó parte del aceite de girasol por crema de inulina como fibra espesante e hipocalórica. Se realizaron diferentes ensayos hasta ajustar las proporciones y obtener la textura semilíquida deseada; también se ajustó los tratamientos de pasteurización y enfriamiento. Esta salsa es una emulsión donde las proteínas lácteas (caseínas) y los espesantes (inulina) contribuyen a estabilizar el aceite de girasol, lo que aconsejó probar, tanto extractos hidrosolubles (RE146), como liposolubles (RLE120). Se adicionaron 0,3 g de RE146, RLE120 y una mezcla de ambos por kg de salsa, combinados con dos dosis de inulina (2 y 5%) y se estudió el producto recién pasteurizado. A nivel sensorial, dichas dosis de RE no afectaron negativamente al sabor de la salsa. Se consiguió una mejora nutricional por la incorporación de fibra y reducción de grasa (30%) sin perjudicar a la calidad de la salsa. Además, la adición de RE, tanto hidro, como liposoluble, tuvo efectos antioxidantes en la mayoría de los tests ensayados. El extracto liposoluble (RLE120) proporcionó mejores resultados en los índices relacionados con la estabilidad oxidativa de lípidos (peroxidación lipídica, Rancimat y autooxidación del ácido linoleico) y puede ser usado solo o combinado con RE146.

En vista de los buenos resultados obtenidos con los RE en salsas de yogur recién pasteurizadas, se decidió hacer un estudio de vida comercial en la misma salsa elaborada pero en este caso con diferentes SE, con menos polifenoles, pero con mejor sabor que los RE. Se prepararon salsas de yogur con inulina (5%) que fueron pasteurizadas y mantenidas en condiciones de venta al por menor (4 °C; 600 lux; 42 días). Se añadieron 0,3 g de SE38 y 0,15-0,30 g de SE70. Las dosis de SE usadas no proporcionaron sabores anómalos a las salsas, confirmando que estos SE son sensorialmente menos agresivos que los RE. La pasteurización y el posterior almacenamiento refrigerado de la salsa garantizaron su calidad microbiológica y no se pudo evidenciar la inhibición del crecimiento microbiano, aunque el uso de SE70 contribuyó a reducir la carga de bacterias mesófilas. La recuperación de los ácidos rosmarínico y salviánico en la salsa recién pasteurizada fue del 94% y 97%, respectivamente. Tras 42 días a 4 °C, los valores de recuperación disminuyeron al 74% y 39%, respectivamente, debido a la probable participación de los polifenoles de salvia en la protección antioxidante de la salsa. Tanto SE38, como SE70, mejoraron los resultados de todas las pruebas de CA realizadas en la salsa. Se comprobó que SE38 (rico en ácido salviánico) tenía un mejor perfil antioxidante con menos cantidad de polifenoles, pero más equilibrio entre ácidos fenólicos y flavonoides que SE70 (muy rico en ácido rosmarínico). En cambio, la cantidad añadida de SE70 no resultó relevante para la estabilidad oxidativa y las propiedades antioxidantes.

Por último, se testó un segundo extracto liposoluble de romero (RLE334) aún más rico en polifenoles (334 mg/g extracto), en particular, diterpenos (ácido carnósico y carnosol). La ventaja de contener más diterpenos es que se necesita añadir menos extracto para alcanzar la máxima dosis autorizada por la UE (150 mg/kg), y, por tanto, hay menos riesgo de aportar sabor a romero. Para este experimento se desarrolló un **paté de salmón** con un 30% menos de grasa sustituyendo parte del aceite de girasol por semilla hidratada de lino. Se trata de

un producto muy rico en grasa polinsaturada, muy susceptible a la oxidación, emulsionada con proteínas y espesada con fibras de lino. Se ajustaron los tratamientos mecánicos y térmico (pasteurización) y se definieron las condiciones de almacenamiento (4 °C; 600 lux; 42 días). Se añadieron 0,21; 0,42 ó 0,63 g de RLE334/kg de paté. Primero se verificó que el panel sensorial no detectaba la dosis máxima de RLE (0,63 g). El paté recién fabricado retuvo casi el 100% del ácido carnósico añadido y gran parte del carnosol (70-80%). Tras 42 días, el paté contenía un 79-90% del ácido carnósico y un 45-62% del carnosol añadidos, por lo que el producto continuaba reteniendo buena parte de estos antioxidantes. Como resultado, todos los índices de oxidación (color, oxidación primaria y secundaria de lípidos, y óxidos del colesterol), mejoraron en el paté con RLE333, independientemente de la dosis usada. Sin embargo, no se observaron cambios en el perfil de ácidos grasos, ni en la abundancia de compuestos volátiles marcadores de la oxidación lipídica. Además, se comprobó que con este extracto no era necesario añadir la dosis máxima autorizada, ya que con un tercio de ésta se ralentizaron los índices de oxidación. En cualquier caso, siempre es posible añadir más cantidad de extracto si se quiere extender la vida comercial del paté.

Por tanto, es posible aprovechar los subproductos de destilación (hoja libre de aceite esencial) de plantas seleccionadas y cultivadas de romero y salvia para obtener extractos estandarizados con un alto rendimiento en polifenoles que pueden ser usados en la industria alimentaria y farmacéutica. La investigación realizada ha revelado que estos extractos contienen antioxidantes muy eficaces que permanecen activos tras el procesado y durante la vida comercial de los alimentos objeto de estudio. Los distintos ensayos realizados, tanto con los extractos, como con los alimentos, orientan sobre su potencial tecnológico y/o funcional. No obstante, serán necesarios estudios específicos para dilucidar el potencial funcional (beneficios para la salud) de los antioxidantes ingeridos, mediante pruebas de biodisponibilidad *in vitro* e *in vivo*.



8. DIFUSIÓN DE RESULTADOS

➤ Artículos en revistas

Cedeño-Pinos, C., Marcucci, M. C., & Bañón, S. (2021). Contribution of Green Propolis to the Antioxidant, Physical, and Sensory Properties of Fruity Jelly Candies Made with Sugars or Fructans. *Foods*, 10(11), 2586.

Cedeño-Pinos, C., Martínez-Tomé, M., Murcia, M. A., Jordán, M. J., & Bañón, S. (2020). Assessment of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract as Antioxidant in Jelly Candies Made with Fructan Fibres and Stevia. *Antioxidants*, 9(12), 1289.

Cedeño-Pinos, C., Martínez-Tomé, Jordán, M. J., & Bañón, S. (2023). Revalorisation of Sage (*Salvia lavandulifolia* Vahl) By-Product Extracts as a Source of Polyphenol Antioxidants for Novel Jelly Candies. *Antioxidants*, 12(1), 159.

Martínez-Tomé, M., Cedeño-Pinos, C., Bañón, S., & Jiménez-Monreal, A. M. (2022). Rosemary Extracts Improved the Antioxidant Status of Low-Fat Yoghurt Sauces Enriched with Inulin. *Antioxidants*, 11(4), 789.

Cedeño-Pinos, C., Antonia M^a Jiménez-Monreal, Quílez M., & Bañón, S. (2023). Assessment of sage (*Salvia lavandulifolia* Vahl) by-product extracts as natural preservatives for yogurt sauce. *Antioxidants*, 12(2), 364.

Cedeño-Pinos, C., Martínez-Tomé, M., Mercatante, D., Rodríguez-Estrada, T., & Bañón, S. (2022). Assessment of a Diterpene-Rich Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract as a Natural Antioxidant for Salmon Pâté Formulated with Linseed. *Antioxidants*, 11(6), 1057.

➤ **Artículo de divulgación científica**

Sancho B. A. Cristina C-P, Magdalena M-T, María Cristina M.; y María José J. B. Potencial de los EP de romero, salvia y propóleo como ingredientes funcionales para caramelos de goma. *Tecnifood. La revista de la tecnología alimentaria*. pp; 108-110/abril/2023.

➤ **Comunicaciones orales jornadas doctorales Universidad de Murcia**

Cristina Cedeño Pinos; Sancho Bañón; María Quílez; María José Jordán. (2019). Diseño y aplicación de extractos polifenólicos de plantas aromático-medicinales en alimentos mejorados nutricionalmente. IV Jornadas Doctorales de la Universidad de Murcia. Murcia, España.

Cristina Cedeño-Pinos, Cristina Marccuci, Giulia Moratti, Annalisa Daniele, Sancho Bañón. (2021). Enriquecimiento con propóleo de caramelos de goma elaborados con azúcar o con fibra alimentaria. VI Jornadas Doctorales de la Universidad de Murcia. Murcia, España.

Cristina Cedeño-Pinos, Magdalena Martínez-Tomé, María Quílez, Sancho Bañón. (2022). Estabilización de los lípidos en paté de salmón con extracto liposoluble de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) obtenido de plantas seleccionadas. VII Jornadas Doctorales de la Universidad de Murcia. Murcia, España.

➤ **Posters en congresos**

Cristina Cedeño-Pinos; Sancho Bañón Arias; A. Santo; dos Santos Negrão; S. dos Santos Grecco; M.C. Marcucci. (2019). Physicochemical parameters and antioxidant activity of gummy jellies prepared with. 7th Brazilian Conference on Natural Products and XXXIII RESEM. Río de Janeiro, Brazil.

Ibán Pagán; Cristina Cedeño-Pinos; Sancho Bañón. (2019). Desarrollo de un paté de salmón mejorado nutricionalmente. II Congreso de Jóvenes Investigadores en Ciencias Agroalimentarias. Almería, España.

Cristina Cedeño-Pinos; María Quílez; María José Jordán Bueso; María Antonia Murcia; Magdalena Martínez-Tomé; Sancho Bañón. (2019). Evaluación del ácido rosmarínico como antioxidante en caramelos. X Congreso CYTA/CESIA. León, Castilla y León, España.



9. REFERENCIAS

1. Lubbea, A., & Verpoorte, R. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Ind. Crops Prod.* **2011**, 34, 785–801, doi:org/10.1016/j.indcrop.2011.01.019.
2. Ortiz de Elguea-Culebras, G.; Bravo, E.M.; Sánchez-Vioque, R. Potential sources and methodologies for the recovery of phenolic compounds from distillation residues of Mediterranean aromatic plants. An approach to the valuation of by-products of the essential oil market – A review. *Ind. Crops Prod.* **2022**, 175, 114261, doi:10.1016/j.indcrop.2021.114261.
3. Sánchez-Vioque, R.; Izquierdo-Melero, M.E.; Quílez, M.; Herraiz-Peñalver, D.; Santana-Méridas, O.; Jordán, M.J. Solid Residues from the Distillation of *Salvia lavandulifolia* Vahl as a Natural Source of Antioxidant Compounds. *JAOCS, J. Am. Oil Chem. Soc.* **2018**, 95, 1277–1284, doi:10.1002/aocs.12128.
4. Méndez-Tovar, I. Assesment of chemical and morphological variation of Spanish marjoram, Spanish sage and spike lavender., Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid. Valladolid-España, 2015.
5. Tsimogiannis, D.; Choulitoudi, E.; Bimpilas, A.; Mitropoulou, G.; Kourkoutas, Y.; Oreopoulou, V. Exploitation of the biological potential of *Satureja thymbra* essential oil and distillation by-products. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* **2017**, 4, 12–20, doi:10.1016/j.jarmap.2016.07.002.
6. Sotomayor, J.A.; Martínez, C.; Moñino, I.; Lax, V., Quílez, M.; Jordán, M.J. Effect of altitude on *Rosmarinus officinalis* essential oil in Murcia (Spain). *Acta Hortic.* **2009**, 826, 309–316.
7. Jordán, M.J.; Martínez, R.M.; Martínez, C.; Moñino, I.; Sotomayor, J.A. Polyphenolic extract and essential oil quality of *Thymus zygis* ssp. *gracilis* shrubs cultivated under different watering levels. *Ind. Crops Prod.* **2009**, 29, 145–153, doi:10.1016/J.INDCROP.2008.04.021.
8. Mateo, L.; Delgado, P.; Ortuño, J.; Otal, J.; Bañón, S. Effects of sage distillation by-product (*Salvia lavandulifolia* Vahl.) dietary supplementation in light lambs fed on concentrates on meat shelf life and fatty acid

- composition. *Meat Sci.* **2017**, *134*, 44–53, doi:10.1016/J.MEATSCI.2017.07.007.
9. Ou, J.; Teng, J.; El-Nezami, H.S.; Wang, M. Impact of resveratrol, epicatechin and rosmarinic acid on fluorescent AGEs and cytotoxicity of cookies. *J. Funct. Foods* **2018**, *40*, 44–50, doi:10.1016/j.jff.2017.10.042.
10. Liu, D.C.; Tsau, R.T.; Lin, Y.C.; Jan, S.S.; Tan, F.J. Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage. *Food Chem.* **2009**, *117* (1), 106–113.
11. Naveena, B.M.; Vaithiyanathan, S.; Muthukumar, M.; Sen, A.R.; Kumar, Y.P.; Kiran, M.; Shaju, V.A.; Chandran, K.R. Relationship between the solubility, dosage and antioxidant capacity of carnosic acid in raw and cooked ground buffalo meat patties and chicken patties. *Meat Sci.* **2013**, *95*, 195–202, doi:10.1016/j.meatsci.2013.04.043.
12. Teruel, M.R.; Garrido, M.D.; Espinosa, M.C.; Linares, M.B. Effect of different format-solvent rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis*) on frozen chicken nuggets quality. *Food Chem.* **2015**, *172*, 40–46, doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.018.
13. Bianchin, M.; Pereira, D.; Almeida, J.; Moura, C.; Pinheiro, R.; Heldt, L.F.S.; Haminiuk, C.; Carpes, S. Antioxidant Properties of Lyophilized Rosemary and Sage Extracts and its Effect to Prevent Lipid Oxidation in Poultry Pâtê. *Molecules* **2020**, *25*, 5160, doi:10.3390/molecules25215160.
14. Pateiro, M.; Gómez-Salazar, J.A.; Jaime-Patlán, M.; Sosa-Morales, M.E.; Lorenzo, J.M. Plant Extracts Obtained with Green Solvents as Natural Antioxidants in Fresh Meat Products. *Antioxidants* **2021**, *10*, 181, doi:10.3390/ANTIOX10020181.
15. Šojić, B.; Pavlić, B.; Zeković, Z.; Tomović, V.; Ikonić, P.; Kocić-Tanackov, S.; Džinić, N. The effect of essential oil and extract from sage (*Salvia officinalis* L.) herbal dust (food industry by-product) on the oxidative and microbiological stability of fresh pork sausages. *LWT - Food Sci. Technol.*

- 2018, 89, 749–755, doi:10.1016/j.lwt.2017.11.055.
16. Zhang, L.; Lin, Y.H.; Leng, X.J.; Huang, M.; Zhou, G.H. Effect of sage (*Salvia officinalis*) on the oxidative stability of Chinese-style sausage during refrigerated storage. *Meat Sci.* **2013**, *95*, 145–150, doi:10.1016/j.meatsci.2013.05.005.
17. Komes, D.; Bušić, A.; Belščak-Cvitanović, A.; Brnčić, M.; Bosiljkov, T.; Vojvodić, A.; Dujmić, F. Novel Approach to the Development of Functional Goat's Milk-Based Beverages Using Medicinal Plant Extracts in Combination with High Intensity Ultrasound Treatment. *Food Technol. Biotechnol* **2017**, *55*, 484–495, doi:10.17113/ftb.55.04.17.5123.
18. Jiménez, A.M.; Murcia, M.A.; Parras, P.; Martínez-Tomé, M. On the importance of adequately choosing the ingredients of yoghurt and enriched milk for their antioxidant activity. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2008**, *43*, 1464–1473, doi:10.1111/j.1365-2621.2007.01701.x.
19. Murcia, M.A.; Jiménez, A.M.; Martínez-Tomé, M. Vegetables antioxidant losses during industrial processing and refrigerated storage. *Food Res. Int.* **2009**, *42*, 1046–1052, doi:10.1016/j.foodres.2009.04.012.
20. Atkins, P.; Bowler, I. *Food in Society: Economy, Culture, Geography*; Oxford University Press, Ed.; 1st Ed.; New York, USA, 2001; ISBN 9781315824819.
21. Carocho, M. Desarrollo de nuevos productos alimenticios: incorporación de extractos de plantas como ingredientes funcionales y conservantes naturales, Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Madrid-España, 2017.
22. Saltmarsh, M. *Essential guide to food additives*; RSC Publishing, Ed.; 4th Ed.; Cambridge, UK, 2013; ISBN 978-1-84973-498-1.
23. Reglamento (CE) 1333/2008 Del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre aditivos alimentarios y modificaciones.
24. Borella, T.G.; Peccin, M.M.; Mazon, J.M.; Roman, S.S.; Cansian, R.L.; Soares, M.B.A. Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) antioxidant in industrial

- processing of frozen-mixed hamburger during shelf life. *J. Food Process. Preserv.* **2019**, 43, e14092, doi:10.1111/jfpp.14092.
25. Aschemann-Witzel, J. Consumer perception and trends about health and sustainability: Trade-offs and synergies of two pivotal issues. *Curr. Opin. Food Sci.* **2015**, 3, 6–10, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2014.08.002.
26. Román, S.; Sánchez-Siles, L.M.; Siegrist, M. The importance of food naturalness for consumers: Results of a systematic review. *Trends Food Sci. Technol.* **2017**, 67(Sup.-C), 44–57, doi:10.1016/j.tifs.2017.06.010.
27. Janssen, M. Determinants of organic food purchases: Evidence from household panel data. *Food Qual. Prefer.* **2018**, 68, 19–28, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.02.002.
28. Aschemann-Witzel, J.; Varela, P.; Peschel, A.O. Consumers' categorization of food ingredients: Do consumers perceive them as 'clean label' producers expect? An exploration with projective mapping. *Food Qual. Prefer.* **2019**, 71, 117–128, doi:10.1016/j.foodqual.2018.06.003.
29. Ingredion. The clean label guide to Europe. <http://www.alimentatec.com/wp-content/uploads/2014/10/The-Clean-Label-Guide-To-Europe.pdf>.
30. Amos, C.; Pentina, I.; Hawkins, T.G.; Davis, N. "Natural" labeling and consumers' sentimental pastoral notion. *J. of Product Brand Manag.* **2014**, 23 (4/5), 268–281, doi:org/10.1108/JPBM-03-2014-0516.
31. Varela, P.; Fiszman, S.M. Exploring consumers' knowledge and perceptions of hydrocolloids used as food additives and ingredients. *Food Hydrocoll.* **2013**, 30 (1), 477–484, doi:10.1016/j.foodhyd.2012.07.001.
32. EUR-Lex-1129 Amending 1333/2008 of the European Parliament and of the Council to establish a Union list of food additives. 2011.
33. Baines, D.; Seal, R. *Natural food additives, ingredients and flavourings*.; Chief: J.K. Parker, J.S.E. and L.M., Ed.; 1st Ed.; Woodhead Publishing: Cambridge, UK., 2012; ISBN 978-1-84569-811-9.

34. Quintana Martínez, E. Formulación de extractos vegetales bioactivos para el desarrollo de ingredientes con aplicaciones alimentarias., Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid-España, 2020.
35. Garrote, G.; Cruz, J.M.; Domínguez, H.; Parajó, J.C. Valorisation of waste fractions from autohydrolysis of selected lignocellulosic materials. *J. Chem. Technol. Biotechnol* **2003**, 78, 392–398, doi:<https://doi.org/10.1002/jctb.760>.
36. Gallego Iradi, M.G. Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles, Tesis Doctoral. Universitat Politècnica de Catalunya. Barcelona-España, 2016.
37. Segovia Gómez, F.; Peiró Sánchez, S.; Gallego Iradi, M.G.; Mohd Azman, N.A.; Almajano, M.P. Avocado seeds: Extraction optimization and possible use as antioxidant in food. *Antioxidants* **2014**, 3, 439–454, doi:[10.3390/antiox3020439](https://doi.org/10.3390/antiox3020439).
38. Kaderides, K.; Goula, A.; Konstantinos, G.; Adamopoulos A process for turning pomegranate peels into a valuable food ingredient using ultrasound- assisted extraction and encapsulation. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2015**, 31, 204–215.
39. Rabetafikaa, H.; Bchirb, B.; Bleckerb, C.; Richela, A. Fractionation of apple by-products as source of new ingredients: Current situation and perspectives. *Trends Food Sci. Technol.* **2014**, 40, 99–114.
40. Cappa, C.; Lavelli, V.; Mariotti, M. Fruit candies enriched with grape skin powders: Physicochemical properties. *LWT - Food Sci. Technol.* **2015**, 62, 569–575, doi:[10.1016/j.lwt.2014.07.039](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.039).
41. Arvanitoyannis, I.; Ladas, D.; Mavromatis, A. Potential uses and applications of treated wine waste: a review. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2006**, 41, 475–487.
42. Cha, M.J.; Lee, J.H. Quality and antioxidant proprieties of jelly incorporated with corn concentrate. *Eng. Food* **2018**, 25, 436–440, doi:[10.1002/kjfp.2018.25.4.436](https://doi.org/10.1002/kjfp.2018.25.4.436).

43. Martínez Zamora, L. Aplicación de Ingredientes Mediterráneos para la Mejora Bromatológica de Alimentos Clean Label de Origen Animal, Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Murcia-España, 2019.
44. Kaur, C.; Kapoor, H.C. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2008**, 36(7), 703–725, doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.00513.x>.
45. Amjadi, S.; Ghorbani, M.; Hamishehkar, H.; Roufegarinejad, L. Improvement in the stability of betanin by liposomal nanocarriers: Its application in gummy candy as a food model. *Food Chem.* **2018**, 256, 156–162, doi:10.1016/j.foodchem.2018.02.114.
46. Research-Industry *Global jelly candies (gummies) sales market report 2021*.
47. OMS *Guideline: Sugars intake for adults and children. WHO opens public consultation on draft sugars guideline.*; 2015.
48. Kamboj, S.; Rana, V. Physicochemical, rheological and antioxidant potential of corn fiber gum. *Food Hydrocoll.* **2014**, 39, 1–9, doi:10.1016/j.foodhyd.2013.12.015.
49. Hani, N.M.; Romli, S.R.; Ahmad, M. Influences of red pitaya fruit puree and gelling agents on the physico-mechanical properties and quality changes of gummy confections. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2015**, 50, 331–339, doi:10.1111/ijfs.12638.
50. Delgado, P.; Bañón, S. Effects of replacing starch by inulin on the physicochemical, texture and sensory characteristics of gummy jellies. *CYTA - J. Food* **2018**, 16, 1–10, doi:10.1080/19476337.2017.1327462.
51. Čižauskaite, U.; Jakubaityte, G.; Žitkevičius, V.; Kasparavičiene, G. Natural ingredients-based gummy bear composition designed according to texture analysis and sensory evaluation in vivo. *Molecules* **2019**, 24, 1442, doi:10.3390/molecules24071442.
52. Periche, Á.; Castelló, M.L.; Heredia, A.; Escriche, I. *Stevia rebaudiana*, Oligofructose and Isomaltulose as Sugar Replacers in Marshmallows:

-
- Stability and Antioxidant Properties. *J. Food Process. Preserv.* **2015**, *40*, 724–732, doi:10.1111/jfpp.12653.
53. Rivero, R.; Archaina, D.; Sosa, N.; Leiva, G.; Baldi Coronel, B.; Schebor, C. Development of healthy gummy jellies containing honey and propolis. *J. Sci. Food Agric.* **2020**, *100*, 1030–1037, doi:10.1002/jsfa.10107.
 54. Delgado, P. Acciones tecnológicas para mejorar la calidad nutricional y sensorial de los caramelos de goma, Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Murcia-España, 2017.
 55. Chranioti, C.; Nikoloudaki, A.; Tzia, C. Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. *Carbohydr. Polym.* **2015**, *127*, 252–263.
 56. Kumar, V.; Kushwaha, R.; Goyal, A.; Tanwar, B.; Kaur, J. Process optimization for the preparation of antioxidant rich ginger candy using beetroot pomace extract. *Food Chem.* **2018**, *245*, 168–177, doi:10.1016/j.foodchem.2017.10.089.
 57. Coria-Cayupán, Y.; Nazareno, M.A. Cactus betalains can be used as antioxidant food colorants protecting food constituents from oxidative damage. *Acta Hort.* **2015**, *1067*, 319–325.
 58. Rodríguez-Sánchez, J. A., Cruz y Victoria, M. T., & Barragán-Huerta, B.E. Betaxanthins and antioxidant capacity in *Stenocereus pruinosus*: Stability and use in food. *Food Res. Int.* **2017**, *91*, 63–71.
 59. Otálora, M.C.; de Jesús Barbosa, H.; Perilla, J.E.; Osorio, C.; Nazareno, M.A. Encapsulated betalains (*Opuntia ficus-indica*) as natural colorants. Case study: Gummy candies. *LWT* **2019**, *103*, 222–227, doi:10.1016/j.lwt.2018.12.074.
 60. Ventura, J.; Alarcón-Aguilar, F.; Roman-Ramos, R.; Campos-Sepulveda, E.; Reyes-Vega, M.L.; Daniel Boone-Villa, V.; Jasso-Villagómez, E.I.; Aguilar, C.N. Quality and antioxidant properties of a reduced-sugar pomegranate

- juice jelly with an aqueous extract of pomegranate peels. *Food Chem.* **2013**, 136, 109–115, doi:10.1016/j.foodchem.2012.07.039.
61. Rivero, R.; Archaina, D.; Sosa, N.; Schebor, C. Development and characterization of two gelatin candies with alternative sweeteners and fruit bioactive compounds. *Lwt* **2021**, 141, 110894, doi:10.1016/j.lwt.2021.110894.
 62. Teixeira-Lemos, E.; Almeida, A.R.; Vouga, B.; Morais, C.; Correia, I.; Pereira, P.; Guiné, R.P.F. Development and characterization of healthy gummy jellies containing natural fruits. *Open Agric.* **2021**, 6, 466–478, doi:10.1515/OPAG-2021-0029.
 63. Cano-Lamadrid, M.; Calín-Sánchez, Á.; Clemente-Villalba, J.; Hernández, F.; Carbonell-Barrachina, Á.A.; Sendra, E.; Wojdyło, A. Quality parameters and consumer acceptance of jelly candies based on pomegranate juice “Mollar de Elche.” *Foods* **2020**, 9, 516, doi:10.3390/foods9040516.
 64. Bañón, S.; Delgado, P. Uso de derivados de fruta y fibra alimentaria en caramelos de goma. *Tecnifood* **2013**, 122.
 65. Made Artika, I.; Susilo, H.; Virginia Dwi Setyo, A.; Endang Zainal Hasan, A. Antibacterial Activity of Propolis Supplemented-Chewing Candy Against *Streptococcus mutans*. *Microbiol. Indones.* **2011**, 5, 99–102, doi:10.5454/mi.5.3.1.
 66. Irigoiti, Y.; Yamul, D.K.; Navarro, A.S. Co-crystallized sucrose with propolis extract as a food ingredient: Powder characterization and antioxidant stability. *LWT - Food Sci. Technol.* **2021**, 111164, doi:10.1016/j.lwt.2021.111164.
 67. García-Casal, M.N.; Peña-Rosas, J.P.; Malavé, H.G. Sauces, spices, and condiments: definitions, potential benefits, consumption patterns, and global markets. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2016**, 1379, 3–16, doi:10.1111/NYAS.13045.
 68. Sikora, M.; Badrie, N.; Deisingh, A.K.; Kowalski, S. Sauces and Dressings:

-
- A Review of Properties and Applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2008**, *48*, 50–77, doi:10.1080/10408390601079934.
69. Maoloni, A.; Cardinali, F.; Milanović, V.; Garofalo, C.; Osimani, A.; Mozzon, M.; Aquilanti, L. Microbiological safety and stability of novel green sauces made with sea fennel (*Crithmum maritimum* L.). *Food Res. Int.* **2022**, *157*, 111463, doi:10.1016/J.FOODRES.2022.111463.
 70. Alamed, J.; Chaiyasit, W.; Julian, D.; Decker, E.A. Relationships between Free Radical Scavenging and Antioxidant Activity in Foods. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 2969–2976, doi:10.1021/jf803436c.
 71. Kanner, J., Hazan, B., & Doll, L. Catalytic ‘free’ iron ions in muscle foods. *J. of Agricultural Food Chem.* **1991**, *36*, 412–415.
 72. Estévez, M.; Ramírez, R.; Ventanas, S.; Cava, R. Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pâté. *LWT - Food Sci. Technol.* **2007**, *40*, 58–65, doi:10.1016/j.lwt.2005.07.010.
 73. Leung, K.S.; Galano, J.M.; Durand, T.; Lee, J.C.Y. Profiling of Omega-Polyunsaturated Fatty Acids and Their Oxidized Products in Salmon after Different Cooking Methods. *Antioxidants* **2018**, *7*, 96, doi:10.3390/ANTIOX7080096.
 74. Long, E.K.; Murphy, T.C.; Leipson, L.J.; Watt, J.; Morrow, J.D.; Milne, G.L.; Howard, J.R.H.; Picklo, M.J. Trans-4-hydroxy-2-hexenal is a neurotoxic product of docosahexaenoic (22:6; n-3) acid oxidation. *J. Neurochem.* **2008**, *105*, 714–724, doi:10.1111/j.1471-4159.2007.05175.x.
 75. Steppeler, C.; Haugen, J.E.; Rødbotten, R.; Kirkhus, B. Formation of Malondialdehyde, 4-Hydroxynonenal, and 4-Hydroxyhexenal during in Vitro Digestion of Cooked Beef, Pork, Chicken, and Salmon. *J. Agric. Food Chem.* **2016**, *64*, 487–496, doi:10.1021/acs.jafc.5b04201.
 76. Qiu, X.; Jacobsen, C.; Sørensen, A.D.M. The effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract on the oxidative stability of lipids in cow and soy milk

-
- enriched with fish oil. *Food Chem.* **2018**, 263, 119–126, doi:10.1016/j.foodchem.2018.04.106.
77. Pateiro, M.; Lorenzo, J.M.; Amado, I.R.; Franco, D. Effect of addition of green tea, chestnut and grape extract on the shelf-life of pig liver pâté. *Food Chem.* **2014**, 147, 386–394, doi:10.1016/j.foodchem.2013.09.153.
 78. Ahn, J.; Grün, I.U.; Mustapha, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiol.* **2007**, 24, 7–14, doi:10.1016/j.fm.2006.04.006.
 79. Bandoniene, D.; Venskutonis, P.R.; Gruzdiene, D.; Murkovic, M. Antioxidative activity of sage (*Salvia officinalis* L.), savory (*Satureja hortensis* L.) and borage (*Borago officinalis* L.) extracts in rapeseed oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2002**, 104, 286–292, doi:10.1002/1438-9312(200205)104:5<286::AID-EJLT286>3.0.CO;2-O.
 80. Ohr, L.M. Salad dressings tap inulin's functional benefits. *Prep. Foods* **2000**, 169, 48.
 81. Herranz, B.; Martínez, A.; Alvarez, M.D. Influence of Fiber Addition on White Sauces Made with Corn Starch: Effect on Their Freezing/Thawing Stability. *J. Food Sci.* **2019**, 84, 2128–2138, doi:10.1111/1750-3841.14700.
 82. Tsiraki, M.I.; Savvaidis, I.N. The effects of citrus extract (Citrox©) on the naturally occurring microflora and inoculated pathogens, *Bacillus cereus* and *Salmonella enterica*, in a model food system and the traditional Greek yogurt-based salad Tzatziki. *Food Microbiol.* **2016**, 53, 150–155, doi:10.1016/J.FM.2015.09.015.
 83. Amin Aliyari, M.; Rezaei, K. Improving the Biological Value of Olive and Soybean Oil Blends with Olive Leaf Extract Obtained by Ultrasound-Assisted Extraction towards the Preparation of a Sauce Product. *Life* **2021**, 11, 974, doi:10.3390/life11090974.
 84. Tseng, A.; Zhao, Y. Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad

- dressing. *Food Chem.* **2013**, 138, 356–365, doi:10.1016/J.FOODCHEM.2012.09.148.
85. Ribeiro Palmeira, K.; Mársico, E.T.; Monteiro, M.L.G.; Lemos, M.; Conte Junior, C.A. Ready-to-eat products elaborated with mechanically separated fish meat from waste processing: Challenges and chemical quality. *CYTA - J. Food* **2016**, 14, 227–238, doi:10.1080/19476337.2015.1087050.
86. Kris-Etherton, P.M.; Harris, W.S.; Appel, L.J. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* **2002**, 106, 2747–2757, doi:10.1161/01.CIR.0000038493.65177.94.
87. Calder, P.C. n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. In *Proceedings of the American Journal of Clinical Nutrition*; Oxford Academic, 2006; Vol. 83, pp. 1505S-1519S.
88. Thomas, J.; Thomas, C.J.; Radcliffe, J.; Itsiopoulos, C. Omega-3 Fatty Acids in Early Prevention of Inflammatory Neurodegenerative Disease: A Focus on Alzheimer's Disease. *Biomed Res. Int.* **2015**, 2015, 13, doi:10.1155/2015/172801.
89. Bouwens, M.; Van De Rest, O.; Dellschaft, N.; Bromhaar, M.G.; De Groot, L.C.P.G.M.; Geleijnse, J.M.; Müller, M.; Afman, L.A. Fish-oil supplementation induces antiinflammatory gene expression profiles in human blood mononuclear cells. *Am. J. Clin. Nutr.* **2009**, 90, 415–424, doi:10.3945/ajcn.2009.27680.
90. Zhang, T.T.; Xu, J.; Wang, Y.M.; Xue, C.H. Health benefits of dietary marine DHA/EPA-enriched glycerophospholipids. *Prog. Lipid Res.* **2019**, 75, 100997, doi:10.1016/j.plipres.2019.100997.
91. Fidalgo, L.G.; Simões, M.M.Q.; Casal, S.; Lopes-da-Silva, J.A.; Carta, A.M.S.; Delgadillo, I.; Saraiva, J.A. Physicochemical parameters, lipids stability, and volatiles profile of vacuum-packaged fresh Atlantic salmon (*Salmo salar*) loins preserved by hyperbaric storage at 10 °C. *Food Res. Int.*

- 2020, 127, 108740, doi:10.1016/j.foodres.2019.108740.
92. Guo, X.; Sinclair, A.J.; Kaur, G.; Li, D. Differential effects of EPA, DPA and DHA on cardio-metabolic risk factors in high-fat diet fed mice. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* **2018**, 136, 47–55, doi:10.1016/j.plefa.2017.09.011.
93. MAPA Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Mercados agrícolas y ganaderos. *Gob. España* 2021.
94. Aquerreta, Y.; Astiasarán, I.; Mohino, A.; Bello, J. Composition of patés elaborated with mackerel flesh (*Scomber scombrus*) and tuna liver (*Thunnus thynnus*): comparison with commercial fish patés. *Food Chem.* **2002**, 77, 147–153, doi:10.1016/S0308-8146(01)00310-7.
95. Nielsen, T.; Mihnea, M.; Båth, K.; Cunha, S.C.; Fereira, R.; Fernandes, J.O.; Gonçalves, A.; Nunes, M.L.; Oliveira, H. New formulation for producing salmon pâté with reduced sodium content. *Food Chem. Toxicol.* **2020**, 143, 111546, doi:10.1016/J.FCT.2020.111546.
96. Meyer, D.; Bayarri, S.; Tárrega, A.; Costell, E. Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocoll.* **2011**, 25, 1881–1890, doi:10.1016/J.FOODHYD.2011.04.012.
97. Guardado, L.M.; Hernando, I.; Llorca, E.; Hernández-Carrión, M.; Quiles, A. Microstructural, Physical, and Sensory Impact of Starch, Inulin, and Soy Protein in Low-Fat Gluten and Lactose Free White Sauces. *J. Food Sci.* **2012**, 77, 859–865, doi:10.1111/j.1750-3841.2012.02798.x.
98. Majzoobi, M.; Mohammadi, M.; Mesbahi, G.; Farahnaky, A. Feasibility study of sucrose and fat replacement using inulin and rebaudioside A in cake formulations. *J. Texture Stud.* **2018**, 49, 468–475, doi:10.1111/jtxs.12330.
99. Rodríguez Furlán, L.T.; Campderrós, M.E. The combined effects of *Stevia* and sucralose as sugar substitute and inulin as fat mimetic on the physicochemical properties of sugar-free reduced-fat dairy dessert. *Int. J. Gastron. Food Sci.* **2017**, 10, 16–23, doi:10.1016/j.ijgfs.2017.09.002.

100. Nikbakht Nasrabadi, M.; Goli, S.A.H.; Sedaghat Doost, A.; Van der Meeren, P. Characterization and enhanced functionality of nanoparticles based on linseed protein and linseed gum biocomplexes. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *151*, 116–123, doi:10.1016/J.IJBIOMAC.2020.02.149.
101. Basiri, S.; Tajbakhsh, S.; Shekarforoush, S.S. Fortification of stirred yoghurt with mucilage-free flaxseed and its physicochemical, microbial, textural and sensory properties. *Int. Dairy J.* **2022**, *131*, 105384, doi:10.1016/j.idairyj.2022.105384.
102. Leung, K.S.; Leung, H.H.; Wu, C.Y.; Galano, J.M.; Durand, T.; Lee, J.C.Y. Limited antioxidant effect of rosemary in lipid oxidation of pan-fried salmon. *Biomolecules* **2019**, *9*, doi:10.3390/biom9080313.
103. Hsieh, R.; Kinsella, J. Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products and inhibition with emphasis on fish. *Adv Food Res Nutr Res* **1989**, *33*, 233–41.
104. Maqsood, S.; Benjakul, S.; Abushelaibi, A.; Alam, A. Phenolic Compounds and Plant Phenolic Extracts as Natural Antioxidants in Prevention of Lipid Oxidation in Seafood: A Detailed Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2014**, *13*, 1125–1140, doi:10.1111/1541-4337.12106.
105. Chan-Higuera, J.E.; Ezquerro-Brauer, J.M.; Lipan, L.; Cano-Lamadrid, M.; Rizzitano, R.; Carbonell-Barrachina, A.A. Evaluation of Dosidicus gigas Skin Extract as An Antioxidant and Preservative in Tuna Pâté. *Foods* **2019**, *8*, 1–14, doi:10.3390/foods8120693.
106. Martínez, L.; Castillo, J.; Ros, G.; Nieto, G. Antioxidant and antimicrobial activity of rosemary, pomegranate and olive extracts in fish patties. *Antioxidants* **2019**, *8*, 86, doi:10.3390/antiox8040086.
107. Cedola, A.; Cardinali, A.; Del Nobile, M.A.; Conte, A. Fish burger enriched by olive oil industrial by-product. *Food Sci. Nutr.* **2017**, *5*, 837–844, doi:10.1002/FSN3.461.
108. Pandey, A.K.; Kumar, P.; Saxena, M.J.; Maurya, P. Distribution of aromatic

- plants in the world and their properties. In *Feed Additives: Aromatic Plants and Herbs in Animal Nutrition and Health*; Elsevier, 2019; pp. 89–114 ISBN 9780128147016.
109. Centro de Comercio Internacional International Trade Centre's areas of work Available online: <https://intracen.org/food-and-agriculture> (accessed on Dec 8, 2022).
110. FAOSTAT Food and agriculture Organization (statistical database) Available online: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL> (accessed on Dec 12, 2022).
111. Stankovic, M. *Lamiaceae Species: biology, ecology and practical uses*; Editorial Office MDPI, 2020; ISBN 9783039284184.
112. Skendi, A.; Irakli, M.; Chatzopoulou, P.; Bouloumpasi, E.; Biliaderis, C.G. Phenolic extracts from solid wastes of the aromatic plant essential oil industry: Potential uses in food applications. *Food Chem. Adv.* **2022**, *1*, 100065, doi:10.1016/j.focha.2022.100065.
113. Porres Martínez, M. Actividad neuroprotectora del aceite esencial de *Salvia lavandulifolia* Vahl, Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Madrid-España, 2013.
114. Andrade, J.M.; Faustino, C.; García, C.; Ladeiras, D.; Reis, C.P.; Rijo, P. *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. *Futur. Sci.* **2018**, *4*(4), doi:10.4155/fsoa-2017-0124.
115. Berdahl, D.R.; McKeague, J. Rosemary and sage extracts as antioxidants for food preservation. In *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*; Shahidi, F., Ed.; Elsevier Ltd, 2015; pp. 177–217 ISBN 9781782420972.
116. Sasikumar, B. Rosemary. In *Handbook of Herbs and Spices Second Edition*; 2012; Vol. 1, pp. 452–468 ISBN 9780857095671.
117. Burillo Alquézar, J.; García Vallejo, M.C. *Investigación y experimentación de plantas aromáticas y medicinales en Aragón: cultivo, transformación y analítica*; Agricultura., G. de A.D. de, Ed.; Aragón, 2003; ISBN 84-688-2583-2.

118. Sáez, L. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. In *Flora Iberica*; Morales R, Quintanar A, Cabezas FJ, A.J. P, S.C., Ed.; Real Jardín Botánico, CSIC.: Madrid, 2010; pp. 298–326.
119. Mena, P.; Cirilini, M.; Tassotti, M.; Herrlinger, K.A.; Dall'Asta, C.; Del Rio, D. Phytochemical profiling of flavonoids, phenolic acids, terpenoids, and volatile fraction of a rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract. *Molecules* **2016**, *21*, 1576, doi:10.3390/molecules21111576.
120. Jordán, M.J.; Lax, V.; Rota, M.C.; Lorán, S.; Sotomayor, J.A. Relevance of carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid concentrations in the in vitro antioxidant and antimicrobial activities of *Rosmarinus officinalis* (L.) methanolic extracts. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 9603–9608, doi:10.1021/jf302881t.
121. Marchev, A.S.; Vasileva, L. V.; Amirova, K.M.; Savova, M.S.; Koycheva, I.K.; Balcheva-Sivenova, Z.P.; Vasileva, S.M.; Georgiev, M.I. Rosmarinic acid - From bench to valuable applications in food industry. *Trends Food Sci. Technol.* **2021**, *117*, 182–193, doi:10.1016/j.tifs.2021.03.015.
122. Pizani, R.S.; Vigan, J.; de Souza Mesquita, L.M.; Contieri, L.S.; Sanches, V.L.; Chaves, J.O.; Souza, M.C.; da Silva, L.C.; Rostagno, M.A. Beyond aroma: A review on advanced extraction processes from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and sage (*Salvia officinalis*) to produce phenolic acids and diterpenes. *Trends Food Sci. Technol.* **2022**, *127*, 245–262, doi:10.1016/j.tifs.2022.07.001.
123. Jordán, M.J.; Castillo, J.; Bañón, S.; Martínez-Conesa, C.; Sotomayor, J.A. Relevance of the carnosic acid/carnosol ratio for the level of rosemary diterpene transfer and for improving lamb meat antioxidant status. *Food Chem.* **2014**, *151*, 212–218, doi:10.1016/j.foodchem.2013.11.068.
124. del Baño, M.J.; Lorente, J.; Castillo, J.; Benavente-García, O.; Río, J.A. del; Ortuño, A.; Quirin, K.-W.; Gerard, D. Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers,

- stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 4247–4253, doi:10.1021/jf0300745.
125. Loussouarn, M.; Krieger-Liszkay, A.; Svilar, L.; Bily, A.; Birtić, S.; Havaux, M. Carnosic Acid and Carnosol, Two Major Antioxidants of Rosemary, Act through Different Mechanisms. *Plant Physiol.* **2017**, *175*, 1381, doi:10.1104/PP.17.01183.
126. Schwarz, K.; Ternes, W. Antioxidative constituents of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis*-II. Isolation of carnosic acid and formation of other phenolic diterpenes. *Zeitschrift für Leb. und -forsch. A* **1992**, *195*, 99–103, doi:10.1007/BF01201766.
127. Sotomayor, J.A.; Martínez, C.; Moñino, M.I.; Lax, V.; Quílez, M.; Jordán, M.J. Effect of altitude on *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in Murcia (Spain). In Proceedings of the Acta Horticulturae; International Society for Horticultural Science, 2009; pp. 309–316.
128. Jordán, M.J.; Lax, V.; Rota, M.C.; Lorán, S.; Sotomayor, J.A. Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Control* **2013**, *30*, 463–468, doi:10.1016/j.foodcont.2012.07.029.
129. Sánchez-Vioque, R.; Herraiz-Peñalver, D.; Melero Bravo, E.; Ortiz de Elguea-Culebras, G.; Herrero, B.; Santiago, Y.; Bueno, M.; Pérez-Magarino, S.; Asensio S. Manzanera, M. Variability of the essential oil composition of cultivated populations of *Salvia lavandulifolia* Vahl. *Crop Sci.* **2022**, *62*, 744–752, doi:10.1002/csc2.20691.
130. Herraiz-Peñalver, D.; Usano-Aleman, J.; Cuadrado, J.; Jordán, M.J.; Lax, V.; Sotomayor, J.A.; Palá-Paúl, J. Essential oil composition of wild populations of *Salvia lavandulifolia* Vahl. from Castilla-La Mancha (Spain). *Biochem. Syst. Ecol.* **2010**, *38*, 1224–1230, doi:10.1016/j.bse.2010.10.015.
131. Usano-Aleman, J.; Palá-Paúl, J.; Herraiz-Peñalver, D. Essential oil yields and qualities of different clonal lines of *Salvia lavandulifolia* monitored in

- Spain over four years of cultivation. *Ind. Crops Prod.* **2016**, 80, 251–261, doi:10.1016/j.indcrop.2015.11.010.
132. Herraiz-Peñalver, D.; Asensio-S Manzanera, M.C.; Herrero, B.; Martin, H.; Santiago, Y.; Zalacaín, A.; Berruga, M.I.; Sánchez-Vioque, R. Evaluation of the morphological variability in Iberian *Salvia lavandulifolia* Vahl accessions. *Genet. Resour. Crop Evol.* **2017**, 64, 1797–1806, doi:10.1007/s10722-017-0545-x.
133. Farhat, M.B.; Sotomayor, J.A.; Jordán, M.J. Antioxidants of *Salvia aegyptiaca* L. residues depending on geographical origin. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **2019**, 17, 486–491, doi:10.1016/j.bcab.2019.01.001.
134. Jordán, M.J.; Quílez, M.; Luna, M.C.; Bekhradi, F.; Sotomayor, J.A.; Sánchez-Gómez, P.; Gil, M.I. Influence of water stress and storage time on preservation of the fresh volatile profile of three basil genotypes. *Food Chem.* **2017**, 221, 169–177, doi:10.1016/j.foodchem.2016.10.059.
135. Jordán, M.J.; Lax, V.; Rota, M.C.; Lorán, S.; Sotomayor, J.A. Effect of the phenological stage on the chemical composition, and antimicrobial and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L essential oil and its polyphenolic extract. *Ind. Crops Prod.* **2013**, 48, 144–152, doi:10.1016/j.indcrop.2013.04.031.
136. Ben Farhat, M.; Jordán, M.J.; Chaouch-Hamada, R.; Landoulsi, A.; Sotomayor, J.A. Changes in phenolic profiling and antioxidant capacity of *Salvia aegyptiaca* L. by-products during three phenological stages. *LWT - Food Sci. Technol.* **2015**, 63, 791–797, doi:10.1016/j.lwt.2015.03.015.
137. Farhat, M.B.; Chaouch-Hamada, R.; Sotomayor, J.A.; Landoulsi, A.; Jordán, M.J. Antioxidant potential of *Salvia officinalis* L. residues as affected by the harvesting time. *Ind. Crops Prod.* **2014**, 54, 78–85, doi:10.1016/j.indcrop.2014.01.001.
138. Farhat, M.B.; Sotomayor, J.A.; Jordán, M.J. *Salvia verbenaca* L. essential oil: Variation of yield and composition according to collection site and

- phenophase. *Biochem. Syst. Ecol.* **2019**, 82, 35–43, doi:10.1016/j.bse.2018.12.002.
139. Jordán, M.J.; Lax, V.; Rota, M.C.; Lorán, S.; Sotomayor, J.A. Influence of the bioclimatic area on the polyphenolic composition, and the antioxidant and bacteriostatic activities of *Rosmarinus officinalis* L. *Natrural Prod. Commun.* **2013**, 8(6), 817–822.
140. Lax Vivancos, V. Estudio de la varibilidad química, propiedades antioxidantes y biocidas de las poblaciones espontáneas de *Rosmarinus Officinalis* L. en la Región de Murcia, Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Murcia-España, 2014.
141. Méndez-Tovar, I.; Novak, J.; Sponza, S.; Herrero, B.; Asensio-S-Manzanera, M.C. Variability in essential oil composition of wild populations of Labiatae species collected in Spain. *Ind. Crops Prod.* **2016**, 79, 18–28, doi:10.1016/j.indcrop.2015.10.009.
142. Lubbe, A.; Verpoorte, R. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Ind. Crops Prod.* 2011, 34, 785–801.
143. Ferhat, M.A.; Meklati, B.Y.; Chemat, F. Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: Cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. *Flavour Fragr. J.* **2007**, 22 (6), 494–504, doi:https://doi.org/10.1002/ffj.1829.
144. Okoh, O.O.; Sadimenko, A.P.; Afolayan, A.J. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chem.* **2010**, 120, 308–312, doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.084.
145. Machado, B.A.S.; Pereira, C.G.; Nunes, S.B.; Padilha, F.F.; Umsza-Guez, M.A. Supercritical Fluid Extraction Using CO₂: Main Applications and Future Perspectives. *Sep. Sci. Technol.* **2013**, 48, 2741–2760, doi:10.1080/01496395.2013.811422.

146. Gavaric, N.; Kladar, N.; Misan, A.; Nikolic, A.; Samojlik, I.; Mimica-Dukic, N.; Bozin, B. Postdistillation waste material of thyme (*Thymus vulgaris* L., Lamiaceae) as a potential source of biologically active compounds. *Ind. Crop. Prod.* **2015**, *74*, 457–464, doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.070>.
147. Saha, A.; Basak, B.B. Scope of value addition and utilization of residual biomass from medicinal and aromatic plants. *Ind. Crop. Prod.* **2020**, *145*, 111979, doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111979>.
148. Zaccardelli, M.; Roscigno, G.; Pane, C.; Celano, G.; Di Matteo, M.; Mainente, M.; Vuotto, A.; Mencherini, T.; Esposito, T.; Vitti, A.; et al. Essential oils and quality composts sourced by recycling vegetable residues from the aromatic plant supply chain. *Ind. Crops Prod.* **2021**, *162*, 113255, doi:[10.1016/j.indcrop.2021.113255](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113255).
149. EUR-Lex-128117 Desarrollo sostenible en Europa para un mundo mejor: Estrategia de la Unión Europea para un desarrollo sostenible Available online: <https://eur-lex.europa.eu/ES/legal-content/summary/strategy-for-sustainable-development.html> (accessed on Dec 14, 2022).
150. Chua, L.Y.W.; Chong, C.H.; Chua, B.L.; Figiel, A. Influence of Drying Methods on the Antibacterial, Antioxidant and Essential Oil Volatile Composition of Herbs: a Review. *Food Bioprocess Technol.* **2019**, *12*, 450–476, doi:[10.1007/s11947-018-2227-x](https://doi.org/10.1007/s11947-018-2227-x).
151. Ebadi, M.T.; Azizi, M.; Sefidkon, F.; Ahmadi, N. Influence of different drying methods on drying period, essential oil content and composition of *Lippia citriodora* Kunth. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* **2015**, *2*, 182–187, doi:[10.1016/j.jarmap.2015.06.001](https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.06.001).
152. Džamić, A.M.; Soković, M.D.; Novaković, M.; Jadranin, M.; Ristić, M.S.; Tešević, V.; Marin, P.D. Composition, antifungal and antioxidant properties of *Hyssopus officinalis* L. subsp. *pilifer* (Pant.) Murb. essential oil and deodorized extracts. *Ind. Crops Prod.* **2013**, *51*, 401–407,

- doi:10.1016/j.indcrop.2013.09.038.
153. Guerreiro, O.; Alves, S.P.; Soldado, D.; Cachucho, L.; Almeida, J.M.; Francisco, A.; Santos-Silva, J.; Bessa, R.J.B.; Jerónimo, E. Inclusion of the aerial part and condensed tannin extract from *Cistus ladanifer* L. in lamb diets – Effects on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular and subcutaneous fat. *Meat Sci.* **2020**, *160*, 107945, doi:10.1016/j.meatsci.2019.107945.
 154. Wollinger, A.; Perrin, É.; Chahboun, J.; Jeannot, V.; Touraud, D.; Kunz, W. Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus Chim.* **2016**, *19*, 754–765, doi:10.1016/j.crci.2015.12.014.
 155. Moisa, C.; Copolovici, L.; Bungau, S.; Pop, G.; Imbrea, I.; Lupitu, A.; Nemeth, S.; Copolovici, D. Wastes resulting from aromatic plants distillation – Bio-sources of antioxidants and phenolic compounds with biological active principles. *Farmacia* **2018**, *66*, 289–295.
 156. Fierascu, R.C.; Fierascu, I.; Ortan, A.; Georgiev, M.I.; Sieniawska, E. Innovative approaches for recovery of phytoconstituents from medicinal/aromatic plants and biotechnological production. *Molecules* **2020**, *25* (2), 309.
 157. Oreopoulou, A.; Choulitoudi, E.; Tsimogiannis, D.; Oreopoulou, V. Six common herbs with distinctive bioactive, antioxidant components. A review of their separation techniques. *Molecules* **2021**, *26* (10), 2920–2960.
 158. EUR-Lex-32 Aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre los disolventes de extracción utilizados en la fabricación de productos alimenticios y de sus ingredientes. Available online: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/ALL/?uri=CELEX%3A32009L0032>.
 159. Yantcheva, N.; Vasileva, I.; Denev, P.; Lutova, P.; Mitov, S.; Iordanova, Z. Valorization of waste of *Calendula officinalis*-obtaining of ethanol extracts. *Bulg. Chem. Commun.* **2017**, *49*, 21–25.

160. Lesage-Meessen, L.; Bou, M.; Ginies, C.; Chevret, D.; Navarro, D.; Drula, E.; Bonnin, E.; Del Río, J.C.; Odinet, E.; Bisotto, A.; et al. Lavender- and lavandin-distilled straws: An untapped feedstock with great potential for the production of high-added value compounds and fungal enzymes. *Biotechnol. Biofuels* **2018**, *11*, 217, doi:10.1186/s13068-018-1218-5.
161. Filipčev, B. The effects of aromatic plants and their extracts in food products. In *Feed Additives: Aromatic Plants and Herbs in Animal Nutrition and Health*; 2019; pp. 279–294 ISBN 9780128147016.
162. García Garvía, J.M. Identificación de compuestos volátiles característicos del herbero de la Sierra de Mariola., Tesis de Grado. Universidad Miguel Hernández de Elche. Orihuela-Alicante, 2017.
163. Embuscado, M.E. Herbs and spices as antioxidants for food preservation. In *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*; Shahidi, F., Ed.; Elsevier Ltd, 2015; Vol. 2005, pp. 251–283 ISBN 9781782420972.
164. M. G. Miguel Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavor Fragrance J.* **2010**, *25*, 291–312, doi:10.1002/ffj.
165. Erkan, N.; Ayranci, E.; Ayranci, E. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chem.* **2008**, *110*, 76–82.
166. Tsao, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients* **2010**, *2*, 1231–1246, doi:10.3390/nu2121231.
167. Moazzen, A.; Öztinen, N.; Ak-Sakalli, E.; Koşar, M. Structure-antiradical activity relationships of 25 natural antioxidant phenolic compounds from different classes. *Heliyon* **2022**, *8*, e10467, doi:10.1016/j.heliyon.2022.e10467.
168. Gordon, M. The mechanism of antioxidant action in vitro. In *In Food Antioxidants*; Hudson, B.J.F., E., Ed.; Elsevier Science Publishing: New York, NY, USA, 1990; pp. 1–18.
169. Heijnen, C.G.; Haenen, G.M.; Vekemans, J.A.J.; Bast, A. Peroxynitrite scavenging of flavonoids: structure activity relationship. *Environ. Toxicol.*

- Pharmacol.* **2001**, *10*, 199–206.
170. Heim, K.E.; Tagliaferro, A.R.; Bobilya, D.J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* **2002**, *13*, 572–584, doi:10.1016/S0955-2863(02)00208-5.
 171. Karadağ, A.E.; Demirci, B.; Çaşkurlu, A.; Demirci, F.; Okur, M.E.; Orak, D.; Sipahi, H.; Başer, K.H.C. In vitro antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and analgesic evaluation of *Rosmarinus officinalis* L. flower extract fractions. *South African J. Bot.* **2019**, *125*, 214–220, doi:10.1016/j.sajb.2019.07.039.
 172. Zhao, G.R.; Xiang, Z.J.; Ye, T.X.; Yuan, Y.J.; Guo, Z.X. Antioxidant activities of *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*. *Food Chem.* **2006**, *99*, 676–77.
 173. Hölihan, C.M.; Ho, C.T.; Chang, S.S. The structure of rosmariquinone—A new antioxidant isolated from *Rosmarinus officinalis* L. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1985**, *61*, 1036–1039.
 174. Kompelly, A.; Kompelly, S.; Vasudha, B.; Narender, B. *Rosmarinus officinalis* L.: An update review of its phytochemistry and biological activity. *J. Drug Deliv. Ther.* **2019**, *9*, 323–330.
 175. Lu, Y.; Yeap Foo, L. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chem.* **2001**, *75*, 197–202, doi:10.1016/S0308-8146(01)00198-4.
 176. Zhao, G.R.; Zhang, H.M.; Ye, T.X.; Xiang, Z.J.; Yuan, Y.J.; Guo, Z.X.; Zhao, L.B. Characterization of the radical scavenging and antioxidant activities of danshensu and salvianolic acid B. *Food Chem. Toxicol.* **2008**, *46*, 73–81, doi:10.1016/j.fct.2007.06.034.
 177. Sharifi-Rad, M.; Ozcelik, B.; Altın, G.; Daşkaya-Dikmen, C.; Martorell, M.; Ramírez-Alarcón, K.; Alarcón-Zapata, P.; Morais-Braga, M.F.B.; Carneiro, J.N.P.; Alves Borges Leal, A.L.; et al. *Salvia* spp. plants-from farm to food applications and phytopharmacotherapy. *Trends Food Sci. Technol.* **2018**, *80*, 242–263.

178. Moreno, S.; Scheyer, T.; Romano, C.S.; Vojnov, A.A. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radic. Res.* **2006**, *40*, 223–231.
179. Bouarab Chibane, L.; Degraeve, P.; Ferhout, H.; Bouajila, J.; Oulahal, N. Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *J. Sci. Food Agric.* **2019**, *99*, 1457–1474, doi:10.1002/jsfa.9357.
180. Beya, M.M.; Netzel, M.E.; Sultanbawa, Y.; Smyth, H.; Hoffman, L.C. Plant-Based Phenolic Molecules as Natural Preservatives in Comminuted Meats: A Review. *Antioxidants* **2021**, *10*, 263, doi:10.3390/antiox10020263.
181. Stojković, D.; Petrović, J.; Soković, M.; Glamočlija, J.; Kukić-Marković, J.; Petrović, S. In situ antioxidant and antimicrobial activities of naturally occurring caffeic acid, p-coumaric acid and rutin, using food systems. *J. Sci. Food Agric.* **2013**, *93*, 3205–3208, doi:10.1002/jsfa.6156.
182. Dorman, H.J.D.; Deans, S.G. Antimicrobial agents from plants, antibacterial activity of plant volatile. oils. *J. Appl. Microbiol.* **2000**, *88*, 308–316.
183. Gyawali, R.; Ibrahim, S. Natural products as antimicrobial agents. *Food Control* **2014**, *46*, 412–429, doi:10.1016/j.foodcont.2014.05.047.
184. Alcaráz, L.E.; Blanco, S.E.; Puig, O.N.; Tomás, F.; Ferretti, F.H. Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *J. Theor. Biol.* **2000**, *205*, 231–240, doi:10.1006/jtbi.2000.2062.
185. Ultee, A.; Bennik, M.H.J.; Moezelaar, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **2002**, *68*, 1561–1568, doi:10.1128/AEM.68.4.1561-1568.2002.
186. Hassani, F.V.; Shirani, K.; Hosseinzadeh, H. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: a review. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* **2016**, *389*, 931–949, doi:10.1007/s00210-016-1256-0.

187. Li, M.; Li, Q.; Liu, Y.; Cui, Z.; Zhang, N.; Huang, L. Pharmacophylogenetic study on plants of genus *salvia* L. From China. *Chinese Herb. Med.* **2013**, *5*, 164–181, doi:10.3969/j.issn.1674-6348.2013.03.001.
188. Ribeiro-Santos, R.; Carvalho-Costa, D.; Cavaleiro, C.; Costa, H.S.; Albuquerque, T.G.; Castilho, M.C.; Ramos, F.; Melo, N.R.; Sanches-Silva, A. A novel insight on an ancient aromatic plant: The rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Trends Food Sci. Technol.* **2015**, *45*, 355–368, doi:10.1016/j.tifs.2015.07.015.
189. Kumar, S.; Pandey, A. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *Sci. World J.* **2013**, *2013*, 16, doi:10.1155/2013/162750.
190. Bao, T.Q.; Li, Y.; Qu, C.; Zheng, Z.G.; Yang, H.; Li, P. Antidiabetic effects and mechanisms of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its phenolic components. *Am. J. Chin. Med.* **2020**, *48*, 1353–1368, doi:10.1142/S0192415X20500664.
191. Luo, C.; Zou, L.; Sun, H.; Peng, J.; Gao, C.; Bao, L.; Ji, R.; Jin, Y.; Sun, S. A Review of the Anti-Inflammatory Effects of Rosmarinic Acid on Inflammatory Diseases. *Front. Pharmacol.* **2020**, *11*, 153, doi:10.3389/fphar.2020.00153.
192. Ali, A.; Chua, B.L.; Chow, Y.H. An insight into the extraction and fractionation technologies of the essential oils and bioactive compounds in *Rosmarinus officinalis* L.: Past, present and future. *Trends Anal. Chem.* **2019**, *118*, 338–351.
193. Koutsoulas, A.; Čarnecká, M.; Slanina, J.; Tóth, J.; Slaninová, I. Characterization of phenolic compounds and antiproliferative effects of *Salvia pomifera* and *Salvia fruticosa* extracts. *Molecules* **2019**, *24*, 2921, doi:10.3390/molecules24162921.
194. Agati, G.; Azzarello, E.; Pollastri, S.; Tattini, M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Sci.* **2012**, *196*, 67–76, doi:10.1016/j.plantsci.2012.07.014.

195. Kumar, V.; Abbas, A.K.; Aster, J.C.; Coana, C. *Robbins: patología básica.*; 10a ed.; 2013; ISBN 978-0-323-35317-5.
196. Bahri, S.; Jameleddine, S.; Shlyonsky, V. Relevance of carnosic acid to the treatment of several health disorders: Molecular targets and mechanisms. *Biomed. Pharmacother.* **2016**, *84*, 569–582, doi:10.1016/j.biopha.2016.09.067.
197. Nunes, S.; Madureira, A.R.; Campos, D.; Sarmiento, B.; Gomes, A.M.; Pintado, M.; Reis, F. Therapeutic and nutraceutical potential of rosmarinic acid—Cytoprotective properties and pharmacokinetic profile. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2017**, *57*, 1799–1806, doi:10.1080/10408398.2015.1006768.
198. Lešnik, S.; Bren, U. Mechanistic Insights into Biological Activities of Polyphenolic Compounds from Rosemary Obtained by Inverse Molecular Docking. *Foods* **2021**, *11*, 67, doi:10.3390/foods11010067.
199. Khalil, A.; Tazeddinova, D. The upshot of Polyphenolic compounds on immunity amid COVID-19 pandemic and other emerging communicable diseases: An appraisal. *Nat. Products Bioprospect.* **2020**, *10*, 411–429, doi:10.1007/s13659-020-00271-z.
200. Tegen, D.; Dessie, K.; Damtie, D. Candidate Anti-COVID-19 Medicinal Plants from Ethiopia: A Review of Plants Traditionally Used to Treat Viral Diseases. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* **2021**, *2021*, doi:10.1155/2021/6622410.
201. McCord, J.M.; Hybertson, B.M.; Cota-Gomez, A.; Gao, B. Nrf2 activator PB125® as a carnosic acid-based therapeutic agent against respiratory viral diseases, including COVID-19. *Free Radic. Biol. Med.* **2021**, *175*, 56–64, doi:10.1016/j.freeradbiomed.2021.05.033.
202. Burkhard, P.R.; Burkhardt, K.; Landis, T.; Haenggeli, C.A. Plant-induced seizures: Reappearance of an old problem. *J. Neurol.* **1999**, *246*, 667–670, doi:10.1007/s004150050429.
203. González-Mahave, I.; Lobesa, T.; Del Pozo, M.D.; Blasco, A.; Venturini, M. Rosemary contact dermatitis and cross-reactivity with other labiate plants.

-
- Contact Dermatitis* **2006**, 54(4), 210–212, doi:10.1111/j.0105-1873.2006.00794.x.
204. Nusier, M.K.; Bataineh, H.N.; Daradka, H.M. Adverse effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) on reproductive function in adult male rats. *Exp. Biol. Med.* **2007**, 232, 809–813, doi:15353702.
 205. Disler, P.B.; Lynch, S.R.; Torrance, J.. D.; Sayers, M.H.; Bothwell, T.H.; Charlton, R.W. The mechanism of the inhibition of iron absorption by tea. *Afr. J. Med. Med. Sci.* **1975**, 40, 109–116, doi:org/10.1136/gut.16.3.193.
 206. Morck, T.A.; Lynch, S.R.; Cook, J.. D. Inhibition of food iron absorption by coffee. *Am. J. Clin. Nutr.* **1983**, 37, 416–420, doi:https://doi.org/10.1093/ajcn/37.3.416.
 207. Samman, S.; Sandström, B.; Toft, M.B.; Bukhave, K.; Jensen, M.; Sørensen, S.S.; Hansen, M. Green tea or rosemary extract added to foods reduces nonheme-iron absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* **2001**, 73, 607–612, doi:10.1093/ajcn/73.3.607.
 208. Cook, J.D.; Reddy, M.B.; Hurrell, R.F. The effect of red and white wines on nonheme-iron absorption in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* **1995**, 61, 800–804.
 209. Naurato, N.; Wong, P.; Lu, Y.; Wroblewski, K.; Bennick, A. Interaction of tannin with human salivary histatins. *Food Chem.* **1999**, 47, 2229–2234, doi:10.1021/jf981044i.
 210. Valencia, E.; Ignacio, I.; Sosa, E.; Bartolomé, M.; Martínez, H.; García, M. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas (Michoacán, México)*. 2017, pp. 15–29.
 211. European Medicines Agency Assessment report on *Salvia Officinalis* L., folium and *Salvia Officinales* L., aetheroleum. (Accessed on 15 November 2022).
 212. European Medicines Agency Assessment report on *Salvia fruticosa* Mill., folium. (Accessed on 15 November 2022). 2014.
 213. Martínez Porres, M.; Gómez-Serranillos Cuadrado, M.P.; Carretero

-
- Accame, M.E. *Revista de Fitoterapia*. 2012, pp. 53–63.
214. Tildesley, N.T.J.; Kennedy, D.O.; Perry, E.K.; Ballard, C.G.; Wesnes, K.A.; Scholey, A.B. Positive modulation of mood and cognitive performance following administration of acute doses of *Salvia lavandulaefolia* essential oil to healthy young volunteers. *Physiol. Behav.* **2005**, *83*, 699–709, doi:10.1016/j.physbeh.2004.09.010.
 215. MacLean, K.A.; Johnson, M.W.; Reissig, C.J.; Prisinzano, T.E.; Griffiths, R.R. Dose-related effects of salvinorin A in humans, dissociative, hallucinogenic, and memory effects. *Psychopharmacology (Berl)*. **2013**, *226*, 381–392.
 216. Baricevic, D.; Bartol, T. The biological/pharmacological activity of the *Salvia* genus. In *Sage the genus Salvia*; In S. E. Kintzios (Ed.): Singapore: Harwood Biodiversity, 2005; p. 290 ISBN e1700102.
 217. Zhou, L.; Zuo, Z.; Chow, M.S.S. Danshen: An overview of its chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use. *J. Clin. Pharmacol.* **2005**, *45*, 1345–1359.
 218. Gao, Y.; Liu, Z.; Li, G.; Li, C.; Li, M.; Li, B. Acute and subchronic toxicity of danshensu in mice and rats. *Toxicol. Mech. Methods* **2009**, *19*, 363–368, doi:https://doi.org/10.1080/15376510902810672.
 219. Zhong, Y.; Shahidi, F. Methods for the assessment of antioxidant activity in foods. In *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*; Shahidi, F., Ed.; Elsevier Ltd, 2015; pp. 287–333 ISBN 9781782420972.
 220. Ripke Ferreira, C.S.; Figueiredo Saqueti, B.H.; Silva dos Santos, P.D.; Martins da Silva, J.; Matiucci, M.A.; Feihrmann, A.C.; Graton Mikcha, J.M.; Santos, O.O. Effect of *Salvia* (*Salvia officinalis*) on the oxidative stability of salmon hamburgers. *LWT* **2022**, *154*, 112867, doi:10.1016/J.LWT.2021.112867.
 221. Lara, M.S.; Gutierrez, J.I.; Timón, M.; Andrés, A.I. Evaluation of two natural extracts (*Rosmarinus officinalis* L. and *Melissa officinalis* L.) as

- antioxidants in cooked pork patties packed in MAP. *Meat Sci.* **2011**, 88, 481–488, doi:10.1016/j.meatsci.2011.01.030.
222. Pires, M.A.; Munekata, P.E.S.; Villanueva, N.D.M.; Tonin, F.G.; Baldin, J.C.; Rocha, Y.J.P.; Carvalho, L.T.; Rodrigues, I.; Trindade, M.A. The antioxidant capacity of rosemary and green tea extracts to replace the carcinogenic antioxidant (BHA) in chicken burgers. *J. Food Qual.* **2017**, 2017, doi:10.1155/2017/2409527.
 223. Bilska, A.; Kobus-Cisowska, J.; Kmiecik, D.; Danyluk, B.; Kowalski, R.; Szymanowska, D.; Gramza-Michałowska, A.; Szczepaniak, O. Cholinesterase inhibitory activity, antioxidative potential and microbial stability of innovative liver pâté fortified with rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*). *Electron. J. Biotechnol.* **2019**, 40, 22–29, doi:10.1016/J.EJBT.2019.03.007.
 224. Haile, D.M. A comparative study on the effect of rosemary extract and sodium ascorbate on lipid and pigment oxidative stability of liver pate. *J. Food Sci. Technol.* **2015**, 52(2), 992–999, doi:10.1007/s13197-013-1087-7.
 225. Doolaege, E.H.A.; Vossen, E.; Raes, K.; De Meulenaer, B.; Verhé, R.; Paelinck, H.; De Smet, S. Effect of rosemary extract dose on lipid oxidation, colour stability and antioxidant concentrations, in reduced nitrite liver patés. *Meat Sci.* **2012**, 90, 925–931, doi:10.1016/j.meatsci.2011.11.034.
 226. Bianchin, M.; Pereira, D.; dos Reis, A.S.; Almeida, J. de F.; da Silva, L.D.; Moura, C. de; Carpes, S.T. Rosemary Essential Oil and Lyophilized Extract as Natural Antioxidant Source to Prevent Lipid Oxidation in Pork Sausage. *Adv. J. Food Sci. Technol.* **2017**, 13, 210–217, doi:10.19026/ajfst.13.5070.
 227. Jin, S.K.; Choi, J.S.; Lee, S.Y.J.; Lee, S.Y.J.; Hur, S.J. Effect of thyme and rosemary on the quality characteristics, shelf-life, and residual nitrite content of sausages during cold storage. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* **2016**, 36, 656–664, doi:10.5851/kosfa.2016.36.5.656.
 228. Villamonte, G.; Pottier, L.; De Lamballerie, M. Influence of high-pressure

- processing on the oxidative processes in pork batters: efficacy of rosemary extract and sodium ascorbate. *Eur. Food Res. Technol.* **2017**, 243, 1567–1576, doi:10.1007/s00217-017-2865-7.
229. Teruel, M.R. Efecto del extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) y el proceso de fritura sobre la calidad y vida útil de aceite y productos pre-fritos, Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Murcia-España, 2015.
 230. Huang, M.; Wang, H.; Xu, X.; Lu, X.; Song, X.; Zhou, G. Effects of nanoemulsion-based edible coatings with composite mixture of rosemary extract and ϵ -poly-L-lysine on the shelf life of ready-to-eat carbonado chicken. *Food Hydrocoll.* **2020**, 102, 105576, doi:10.1016/j.foodhyd.2019.105576.
 231. Salem, A.; Khater, D.; El Barody, S. Effect of rosemary and green tea extracts on overall quality and shelf-life of meat during storage. *Benha Vet. Med. J.* **2016**, 31, 17–23, doi:10.21608/bvmj.2016.31212.
 232. Özogul, F.; Kuley, E.; Kenar, M. Effects of rosemary and sage tea extract on biogenic amines formation of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2011**, 46, 761–766, doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02560.x.
 233. Choulitoudi, E.; Ganiari, S.; Tsironi, T.; Ntzimani, A.; Tsimogiannis, D.; Taoukis, P.; Oreopoulou, V. Edible coating enriched with rosemary extracts to enhance oxidative and microbial stability of smoked eel fillets. *Food Packag. Shelf Life* **2017**, 12, 107–113, doi:10.1016/j.fpsl.2017.04.009.
 234. Ozogul, Y.; Ayas, D.; Yazgan, H.; Ozogul, F.; Boga, E.K.; Ozyurt, G. The capability of rosemary extract in preventing oxidation of fish lipid. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2010**, 45, 1717–1723, doi:10.1111/J.1365-2621.2010.02326.X.
 235. Özyurt, G. Effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract addition on oxidative stability of fried sea bream (*Sparus aurata*) during chill storage (4°C). *J. Food Process. Preserv.* **2013**, 37, 1039–1042, doi:10.1111/j.1745-4549.2012.00796.x.
 236. Ribeiro, A.; Caleja, C.; Barros, L.; Santos-Buelga, C.; Barreiro, M.F.; Ferreira,

- I.C.F.R. Rosemary extracts in functional foods: Extraction, chemical characterization and incorporation of free and microencapsulated forms in cottage cheese. *Food Funct.* **2016**, 7, 2185–2196, doi:10.1039/c6fo00270f.
237. Wang, Y.-Z.; Fu, S.-G.; Wang, S.-Y.; Yang, D.-J.; Samuel Wu, Y.-H.; Chen, Y.-C. Effects of a natural antioxidant, polyphenol-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, on lipid stability of plant-derived omega-3 fatty-acid rich oil. *LWT - Food Sci. Technol.* **2018**, 89, 210–216, doi:10.1016/j.lwt.2017.10.055.
238. Yang, Y.; Song, X.; Sui, X.; Qi, B.; Wang, Z.; Li, Y.; Jiang, L. Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. *Ind. Crops Prod.* **2016**, 80, 141–147, doi:10.1016/j.indcrop.2015.11.044.
239. Abdalla, A.E.; Roozen, J.P. The effects of stabilised extracts of sage and oregano on the oxidation of salad dressings. *Eur. Food Res. Technol.* **2001**, 212, 551–560, doi:10.1007/s002170100288.
240. Ning, Z.; Song, S.; Miao, L.; Zhang, P.; Wang, X.; Liu, J.; Hu, Y.; Xu, Y.; Zhao, T.; Liang, Y.; et al. High prevalence of vitamin D deficiency in urban health checkup population. *Clin. Nutr.* **2016**, doi:10.1016/j.clnu.2015.05.019.
241. Debelo, H.; Li, M.; Ferruzzi, M.G. Processing influences on food polyphenol profiles and biological activity. *Curr. Opin. Food Sci.* **2020**, 32, 90–102, doi:10.1016/j.cofs.2020.03.001.
242. Yang, Y.; Shen, H.; Tian, Y.; You, Z.; Guo, Y. Effect of thermal pasteurization and ultraviolet treatment on the quality parameters of not-from-concentrate apple juice from different varieties. *CYTA - J. Food* **2019**, 17, 189–198, doi:10.1080/19476337.2019.1569725.
243. Abdel-Aal, E.S.M.; Rabalski, I. Effect of baking on free and bound phenolic acids in wholegrain bakery products. *J. Cereal Sci.* **2013**, 57, 312–318, doi:10.1016/j.jcs.2012.12.001.
244. Patras, A.; Brunton, N.P.; O'Donnell, C.; Tiwari, B.K. Effect of thermal

- processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends Food Sci. Technol.* **2010**, 21, 3–11, doi:10.1016/j.tifs.2009.07.004.
245. Trombino, S.; Serini, S.; Di Nicuolo, F.; Celleno, L.; Andò, S.; Picci, N.; Calviello, G.; Palozza, P. Antioxidant Effect of Ferulic Acid in Isolated Membranes and Intact Cells: Synergistic Interactions with α -Tocopherol, β -Carotene, and Ascorbic Acid. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 2411–2420, doi:10.1021/jf0303924.
 246. Jacobsen, C.; Sørensen, A.D.M. The use of antioxidants in the preservation of food emulsion systems. In *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*; Shahidi, F., Ed.; Elsevier Ltd, 2015; pp. 389–412 ISBN 9781782420972.
 247. Skowrya, M.; Gallego, M.G.; Segovia, F.; Almajano, M.P. Antioxidant properties of *Artemisia annua* extracts in model food emulsions. *Antioxidants* **2014**, 3, 116–128, doi:10.3390/antiox3010116.
 248. García-Iñiguez, M.; Rehecho, S.; Calvo, M.I.; Cavero, R.Y.; Navarro, Í.; Astiasarán, I.; Ansorena, D. Effect of lyophilized water extracts of *Melissa officinalis* on the stability of algae and linseed oil-in-water emulsion to be used as a functional ingredient in meat products. *Meat Sci.* **2010**, 85, 373–377, doi:10.1016/j.meatsci.2010.01.007.
 249. Waraho, T.; McClements, D.J.; Decker, E.A. Mechanisms of lipid oxidation in food dispersions. *Trends Food Sci. Technol.* **2011**, 22, 3–13, doi:10.1016/j.tifs.2010.11.003.
 250. Sørensen, A.-D.M.; Haahr, A.M.; Becker, E.M.; Skibsted, L. H. Bergenstahl, B.; Nilsson, L.A. Interactions between iron, phenolic compounds, emulsifiers, and pH in omega-3-enriched oil-in water emulsions. *Journal of Agricultural and Food. Chemistry (Easton)*. **2008**, 56, 1740–1750.
 251. Panya, A.; Laguerre, M.; Bayrasy, C.; Lecomte, J.; Villeneuve, P.; McClements, D.J.; Decker, E.A. An investigation of the versatile antioxidant mechanisms of action of rosmarinate alkyl esters in oil-in-

-
- water emulsions. *J. Agric. Food Chemistry* **2012**, 60, 2692–2700, doi:10.1021/jf204848b.
252. Narita, Y.; Inouye, K. Degradation kinetics of chlorogenic acid at various pH values and effects of ascorbic acid and epigallocatechin gallate on its stability under alkaline conditions. *J. Agric. Food Chemistry* **2013**, 61, 966–972.
 253. Zhou, L.; Elias, R.J. Antioxidant and pro-oxidant activity of (-)-epigallocatechin-3-gallate in food emulsions: influence of pH and phenolic concentration. *Food Chem.* **2013**, 138, 1503–1509, doi:10.1016/j.foodchem.2012.09.132.
 254. Mei, L.; McClements, D.J.; Decker, E.A. Lipid oxidation in emulsions as affected by charge status of antioxidants and emulsion droplets. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, 47, 2267–2273, doi:10.1021/jf980955p.
 255. Let, M.B.; Jacobsen, C.; Meyer, A.S. Ascorbyl palmitate, gamma-tocopherol, and EDTA affect lipid oxidation in fish oil enriched salad dressing differently. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 2369–237, doi:10.1021/jf062675c.
 256. Diez-Sánchez, E.; Quiles, A.; Hernando, I. Interactions between blackcurrant polyphenols and food macronutrients in model systems: In vitro digestion studies. *Foods* **2021**, 10, doi:10.3390/foods10040847.
 257. Zhang, H.; Yu, D.; Sun, J.; Liu, X.; Jiang, L.; Guo, H.; Ren, F. Interaction of plant phenols with food macronutrients: Characterisation and nutritional-physiological consequences. *Nutr. Res. Rev.* **2014**, 27, 1–15, doi:10.1017/S095442241300019X.
 258. Tsao, R. Synergistic interactions between antioxidants used in food preservation. In *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*; Shahidi, F., Ed.; Elsevier Ltd, 2015; pp. 335–347 ISBN 9781782420972.
 259. Prior, R.L.; Wu, X.; Schaich, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J.*

-
- Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 4290–4302, doi:0.1021/jf0502698.
260. Huang, D.; Ou, B.; Hampsch-Woodill, M. Flanagan, J.A.; Deemer, E.K. Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated β -cyclodextrin as the solubility enhancer. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 1815–1821, doi:10.1021/jf0113732.
 261. Nkhili, E.; Brat, P. Reexamination of the ORAC assay: effect of metal ions. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, 400, 1451–1458, doi:10.1007/s00216-011-4884-8.
 262. Kedare, S.B.; Singh, R.P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J. Food Sci. Technol.* **2011**, 48, 412–422, doi:10.1007/S13197-011-0251-1.
 263. Musa, K.H.; Abdullah, A.; Kuswandi, B.; Hidayat, M.A. A novel high throughput method based on the DPPH dry reagent array for determination of antioxidant activity. *Food Chem.* **2013**, 141, 4102–4106, doi:10.1016/j.foodchem.2013.06.112.
 264. Miller, N.J.; Rice-Evans, C.; Davies, M.J.; Gopinathan, V.; Milner, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.* **1993**, 84, 407–412, doi:10.1042/cs0840407.
 265. Huang, D.; Boxin, O.U.; Prior, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 1841–1856.
 266. Antolovich, M.; Prenzler, P.D.; Patsalides, E.; McDonald, S.; Robards, K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* **2002**, 127, 183–198, doi:10.1039/b009171p.
 267. Hagerman, A.E.; Riedl, K.M.; Jones, G.A.; Sovik, K.N.; Ritchard, N.T.; Hartzfeld, P.W.; Riechel, T.L. High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 1887–1892, doi:10.1021/jf970975b.
 268. Pulido, R.; Bravo, L.; Saura-Calixto, F. Antioxidant activity of dietary

- polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 3396–3402, doi:10.1021/jf9913458.
269. Karadag, A.; Ozcelik, B.; Saner, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Anal. Methods* **2009**, *2*, 41–60, doi:10.1007/s12161-008-9067-7.
 270. Muñoz-Bernal, Ó.A.; Torres-Aguirre, G.A.; Núñez-Gastélum, J.A.; de la Rosa, L.A.; Rodrigo-García, J.; Ayala-Zavala, J.F.; Álvarez-Parrilla, E. Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo Folin-Ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *Tip Rev. Espec. Cienc. Química Biológica* **2017**, *20*, 23–28, doi:10.1016/j.recqb.2017.04.003.
 271. Martínez-Tomé, M.; Murcia, M.A.; Mariscal, M.; Lorenzo, M.L.; Gómez-Murcia, V.; Bibiloni, M.; Jiménez-Monreal, A.M. Evaluation of antioxidant activity and nutritional composition of flavoured dehydrated soups packaged in different formats. Reducing the sodium content. *J. Food Sci. Technol.* **2015**, *52*, 7850–7860, doi:10.1007/s13197-015-1940-y.
 272. Yildiz, G.; Wehling, R.L.; Cuppett, S.L. Comparison of four analytical methods for the determination of peroxide value in oxidized soybean oils. *JAOCS, J. Am. Oil Chem. Soc.* **2003**, *80*, 103–107, doi:10.1007/s11746-003-0659-3.
 273. Eymard, S.; Genot, C. A modified xylenol orange method to evaluate formation of lipid hydroperoxides during storage and processing of small pelagic fish. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2003**, *105*, 497–501, doi:10.1002/ejlt.200300768.
 274. Velasco, J.; Dobarganes, C. Oxidative stability of virgin olive oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2002**, *104*, 661–676, doi:10.1002/1438-9312(200210).
 275. Shahidi, F.; Wanasundara, U.; Akoh, C.; Min, D. Methods for Measuring Oxidative Rancidity in Fats and Oils. In *Food Lipids*; Inc, N.M.D., Ed.; CRC Press: New York, USA., 2002; pp. 565–587.
 276. Wanasundara, U.N.; Shahidi, F.; Jablonski, C.R. Comparison of standard

- and NMR methodologies for assessment of oxidative stability of canola and soybean oils. *Food Chem.* **1995**, 52, 249–253, doi:10.1016/0308-8146(95)92819-6.
277. Cesa, S. Malondialdehyde Contents in Infant Milk Formulas. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 2119–2122, doi:10.1021/jf034446l.
 278. de las Heras, A.; Schoch, A.; Gibis, M.; Fischer, A. Comparison of methods for determining malondialdehyde in dry sausage by HPLC and the classic TBA test. *Eur. Food Res. Technol.* **2003**, 217, 180–184, doi:10.1007/s00217-003-0728-x.
 279. Guillén-Sans, R.; Guzmán-Chozas, M. The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1998**, 38, 315–350, doi:10.1080/10408699891274228.
 280. Jardine, D.; Antolovich, M.; Prenzler, P.D.; Robards, K. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) investigation of the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) reaction. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 1720–1724, doi:10.1021/jf011336a.
 281. Zhong, Y.; Lall, S.P.; Shahidi, F. Effects of oxidized dietary oil and vitamin E supplementation on lipid profile and oxidation of muscle and liver of juvenile atlantic cod (*Gadus morhua*). *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 6379–6386, doi:10.1021/jf070124w.
 282. Gioti, E.M.; Fiamegos, Y.C.; Skalkos, D.C.; Stalikas, C.D. Improved method for the in vitro assessment of antioxidant activity of plant extracts by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-electron capture detection. *J. Chromatogr. A* **2007**, 1152, 150–155, doi:10.1016/j.chroma.2007.01.124.
 283. Kiritsakis, A.; Kanavouras, A.; Kiritsakis, K. Chemical analysis, quality control and packaging issues of olive oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2002**, 104, 628–638, doi:10.1002/1438-9312(200210)104:9/10<628::AID-EJLT628>3.0.CO;2-1.

284. Maraschiello, C.; Esteve, E.; García Regueiro, J.A. Cholesterol oxidation in meat from chickens fed α -tocopherol-and β - carotene-supplemented diets with different unsaturation grades. *Lipids* **1998**, *33*, 705–713, doi:10.1007/s11745-998-0260-4.
285. Osada, K.; Kodama, T.; Cui, L.; Yamada, K.; Sugano, M. Levels and formation of oxidized cholesterol in processed marine foods. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 1893–1989.
286. Boselli, E.; Cardenia, V.; Rodriguez-Estrada, M.T. Cholesterol photosensitized oxidation in muscle foods. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2012**, *114*, 644–655, doi:10.1002/ejlt.201100352.
287. Park, P.S.; Addis, P.B. HPLC determination of C-7 oxidized cholesterol derivatives in foods. *J. Food Sci.* **1985**, *50*, 1437–1441.
288. Addis, P.B.; Park, P.S. Cholesterol oxide content of foods. In *Biological Effects of Cholesterol Oxides*; Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 1992; pp. 71–88.
289. Cardenia, V.; Massimini, M.; Poerio, A.; Venturini, M.C.; Rodriguez-Estrada, M.T.; Vecchia, P.; Lercker, G. Effect of dietary supplementation on lipid photooxidation in beef meat, during storage under commercial retail conditions. *Meat Sci.* **2015**, *105*, 126–135, doi:10.1016/j.meatsci.2015.02.010.
290. Martínez-Tomé, M.; Jiménez, A.M.; Ruggieri, S.; Frega, N.; Strabbioli, R.; Murcia, M.A. Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. *J. Food Prot.* **2001**, *64*, 1412–9, doi:10.4315/0362-028X-64.9.1412.
291. Murcia, M.A.; Jiménez-Monreal, A.M.; Martínez-Tomé, M. Evaluation of the antioxidant properties of Mediterranean and tropical fruits compared with common food additives. *J. Food Prot.* **2001**, *64*, 2037–2046, doi:10.4315/0362-028X-64.12.2037.
292. Murcia, M.A.; Martínez-Tomé, M.; Jiménez, A.M.; Vera, A.M.; Honrubia, M.; Parras, P. Antioxidant activity of edible fungi (truffles and

- mushrooms): Losses during industrial processing. *J. Food Prot.* **2002**, *65*, 1614–1622, doi:10.4315/0362-028X-65.10.1614.
293. Świąder, K.; Marczevska, M. Trends of using sensory evaluation in new product development in the food industry in countries that belong to the European regional innovation scheme. *Foods* **2021**, *10*, 1–18, doi:10.3390/foods10020446.
294. Tuorila, H.; Monteleone, E. Sensory food science in the changing society: Opportunities, needs, and challenges. *Trends Food Sci. Technol.* **2009**, *20*, 54–62, doi:10.1016/J.TIFS.2008.10.007.
295. Stone, H.; Sidel, J. *Sensory Evaluation Practices*; 3rd ed.; Tragon Corporation 365 Convention Way Redwood: California, USA, 2004; ISBN 978-0-12-672690-9.
296. Carbonell-Barrachina, A. Application of sensory evaluation of food to quality control in the Spanish food industry. *Polish J. Food Nutr.* **2007**, *57*, 71–76.
297. Majou, D. Sensory Evaluation: Guide of Good Practice. *Assoc. Coord. Tech. pour l'industrie agro-alimentaire* 2001.
298. Costell, E.; Duran, L. *Revista de Agroquímica y Tecnología de los alimentos*. 1981, pp. 21 (1) 1–10.
299. O'Sullivan, M.G. Innovative technologies for the food and beverage industry. In *A handbook for Sensory and Consumer-Driven New Product Development*; Cambridge, M., Ed.; Elsevier: USA, 2017.
300. Murray, J.M.; Delahunty, C.M.; Baxter, I.A. Descriptive sensory analysis: Past, present and future. *Food Res. Int.* **2001**, *34*, 461–471, doi:10.1016/S0963-9969(01)00070-9.
301. Lawless, H.T.; Heymann, H. Discrimination Testing. In *Sensory evaluation of foods*; Springer US: Gaithersburg, 1999; pp. 116–139 ISBN 978-1-4757-6499-4, 978-1-4419-7452-5.
302. Yang, X.; Boyle, R.A. Sensory Evaluation of Oils/Fats and Oil/Fat-Based

- Foods. In *Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats*; Min Hu, C.J., Ed.; AOCS Press, 2016; pp. 157–185 ISBN 9781630670566.
303. Christaki, E.; Bonos, E.; Giannenas, I.; Florou-Paneri, P. Aromatic plants as a source of bioactive compounds. *Agric.* **2012**, *2*, 228–243, doi:10.3390/agriculture2030228.
304. Sánchez-Camargo, A. del P.; Herrero, M. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a functional ingredient: recent scientific evidence. *Curr. Opin. Food Sci.* **2017**, *14*, 13–19, doi:10.1016/j.cofs.2016.12.003.
305. Fernandes, R.P.P.; Trindade, M.A.; Tonin, F.G.; Lima, C.G.; Pugine, S.M.P.; Munekata, P.E.S.; Lorenzo, J.M.; de Melo, M.P. Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers. *J. Food Sci. Technol.* **2016**, *53*, 451–460, doi:10.1007/s13197-015-1994-x.
306. Barata, A.M.; Rocha, F.; Lopes, V.; Carvalho, A.M. Conservation and sustainable uses of medicinal and aromatic plants genetic resources on the worldwide for human welfare. *Ind. Crops Prod.* **2016**, *88*, 8–11, doi:10.1016/j.indcrop.2016.02.035.