



Foto di Tree Aid

Lannea microcarpa

MICROINCAPSULAZIONE DI UN ESTRATTO DI LANNEA MICROCARPA AD ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE

Diffuso in varie regioni dell'Africa, questo albero è conosciuto come uva africana ed è noto per il suo valore economico e per le proprietà medicinali. Infatti dalle foglie, dalla corteccia, dai frutti e dalle radici si ottengono rimedi utilizzati tradizionalmente per diversi disturbi quali reumatismi, dissenteria, stomatiti, eruzioni cutanee e ulcere. Un estratto dalle foglie, con proprietà antiossidanti e antinfiammatorie verificate, è oggetto di questo studio teso a verificarne l'efficacia funzionale per il suo utilizzo come ingrediente fitoattivo in prodotti salutistici e cosmetici. Lo sguardo della ricerca si rivolge ancora una volta, con successo, all'etnofarmacologia e alle medicine tradizionali.

***Francesca Sansone**
 ***Teresa Mencherini**
 ***Patrizia Picerno**
 ***Tiziana Esposito**
 ***Rita Patrizia Aquino**

I fitoestratti rappresentano una fonte ricchissima di sostanze bioattive con effetti benefici sulla salute umana e sono utilizzati come ingredienti attivi in prodotti salutistici (integratori alimentari, alimenti funzionali, dermocosmetici) e fitoterapici. Spesso, però, i fitoestratti sono materie prime poco gradite alle Aziende in quanto non completamente idrosolubili, con caratteristiche organolettiche non piacevoli (colore scuro e odore intenso) soggetti ad alterazioni e/o fenomeni degradativi nel tempo. Per tali motivi, riuscire a veicolare l'estratto funzionale in una forma stabile e maggiormente manipolabile è una problematica tecnologica, oggi, di particolare rilievo. La soluzione a questi problemi può essere rappresentata dalla microincapsulazione, delle sostanze attive e/o dell'intero fitocomplesso, in matrici polimeriche, mediante tecniche fisiche. Durante il processo di trasformazione tecnologica, infatti, i materiali impiegati vanno incontro unicamente a variazioni fisiche senza essere sottoposti a reazioni chimiche che potrebbero alterarne proprietà e funzionalità (Picerno *et al.*, 2011b; Sansone *et al.*, 2011a; 2011b).

Lannea microcarpa Engl e K. Krause (famiglia botanica delle Anacardiaceae), il cui nome co-

mune è uva africana o selvatica, è un albero tropicale distribuito in diverse regioni africane, noto per il suo valore economico e per le sue proprietà medicinali. Preparati ottenuti dalle foglie, dalla corteccia, dalle radici e dai frutti, infatti, sono utilizzati come rimedi tradizionali per il trattamento di diverse malattie, quali vesciche della mucosa boccale, reumatismi, mal di gola, dissenteria, congiuntiviti, stomatiti, eruzioni cutanee e ulcere (Bazongo *et al.*, 2014). I frutti, ricchi di vitamine, vengono consumati freschi o spremuti e le foglie sono utilizzate come cibo e foraggio (Haarmeyer *et al.*, 2013). L'olio ottenuto dai semi è utilizzato come ingrediente in prodotti *hair-care* (Picerno *et al.*, 2006). Una ricerca condotta presso il Dipartimento di Farmacia dell'Università di Salerno (Picerno, *et al.*, 2006) ha portato allo sviluppo, dalle foglie essiccate di *L. microcarpa*, di un estratto polare (Lm) da metanolo, ricco in polifenoli (derivati della miricetina, isovitexina e isovitexina, acido gallico ed epi-catechina) (Figura 1).



Figura 1. Foglie di *Lannea microcarpa* e struttura chimica del marker chimico (miricetina 3-O- α -L-rannopiranoside)

L'estratto ha mostrato una significativa attività antiossidante *in vitro* e antinfiammatoria *in vivo*. La ricerca condotta ha dimostrato, inoltre, l'assenza di citotossicità dopo incubazione di diverse linee cellulari con Lm e l'assenza di ir-

ritazione cutanea su un modello di epidermide umana ricostruita (RHE), in cui è stato anche confermato l'effetto inibitorio di Lm sul rilascio di *markers* pro-infiammatori.

L'obiettivo del lavoro di ricerca riassunto in questo articolo, è stato quello di riuscire a sfruttare la provata efficacia funzionale di Lm e la sua potenziale sicurezza d'uso, rendendolo tecnologicamente adeguato per essere incorporato, come ingrediente fitoattivo, in prodotti salutistici. A tal fine è stata formulata e prodotta una polvere microparticolata di Lm (LmC), utilizzando come matrice polimerica la sodio-carbossimetilcellulosa (NaCMC), mediante tecnologia spray-drying. Il lavoro condotto ha permesso di ottenere un prodotto con proprietà antiossidanti, maggiormente maneggevole, stabile e con aumentate caratteristiche di idrosolubilità, rispetto all'estratto non processato. Mediante la tecnica *Spray-drying*, processo tecnologico "one-step" di microincapsulazione, diffuso nell'industria cosmetica, farmaceutica e alimentare, è possibile

trasformare in un prodotto secco, solido, finito una soluzione/sospensione/emulsione di partenza. L'uso di questa particolare tecnica offre numerosi vantaggi tra i quali: riproducibilità, controllo delle caratteristiche fondamentali

delle polveri risultanti, possibilità di applicazione a materiali termosensibili (come i fitoestratti), possibilità di lavorare con matrici di alimentazione acquose e/o organiche e applicabilità su scala industriale (facile *scale-up*) (Picerino *et al.*, 2011b; Sansone *et al.*, 2014; 2011a; 2011b). Tra i derivati semisintetici della cellulosa, è stata selezionata come *carrier* del processo di microincapsulazione, la NaCMC, un eccipiente non tossico e ipoallergenico ampiamente usato, da solo o in combinazione con altri polimeri, in formulazioni farmaceutiche e nutraceutiche. La NaCMC presenta caratteristiche che favoriscono il processo di microincapsulazione come:

- l'elevata capacità di assorbire l'acqua con conseguente riduzione della viscosità della soluzione/sospensione di partenza;
- la compatibilità con solventi organici, come l'etanolo utilizzato per solubilizzare Lm;
- la capacità di rigonfiamento (*swelling*) in acqua in grado di facilitare i processi di dissoluzione (Sansone *et al.*, 2013).

Il lavoro è stato articolato in tre fasi principali:

1) Fase formulativa: a) determinazione e caratterizzazione

della composizione della “*feed solution*” da sottoporre a *spray-drying*; b) determinazione delle condizioni strumentali e delle variabili operative di processo; c) produzione delle microparticelle.

2) Caratterizzazione tecnologica dei microsistemi prodotti: a) determinazione della resa del processo, efficienza di caricamento ed *extract content* (spettrofotometria UV e analisi HPLC); b) analisi morfologica (SEM e FM); c) analisi dimensionale (granulometria laser-scattering, LLS); d) analisi termica (DSC); e) studi di dissoluzione *in vitro* (USPII, Sotax apparatus).

3) Studi di stabilità fisica e funzionale: a) verifica del contenuto in principio attivo (analisi HPLC); b) verifica delle proprietà antiossidanti (DPPH° test).

Una serie di esperimenti preliminari sono stati condotti al fine di determinare la composizione della matrice di alimentazione per il processo di *spray-drying* (concentrazione polimerica, viscosità e rapporto polimero/estratto) e delle condizioni strumentali (diametro dell'ugello atomizzatore, temperatura di entrata e di uscita, pressione dell'aria interna all'apparecchio, velocità

di flusso nell'unità di tempo). La composizione finale della soluzione sottoposta al processo di atomizzazione ed essiccamento *via spray-drying* è riportata in tabella 1. La matrice liquida preparata con lo 0.5% (p/v) di NaCMC è risultata ideale, in termini di viscosità, per microincapsulare Lm (solubilizzato in etanolo/acqua 50/50) allo 0.5% (p/v) in un rapporto polimero/estratto (1:1). La polvere prodotta (LmC) è stata raccolta e stoccata in stufa per 48 ore prima della successiva caratterizzazione. I risultati ottenuti in termini di resa, contenuto in estratto, efficienza di incapsulazione e distribuzione dimensionale sono riportati in tabella 1. Le microparticelle prodotte (LmC), sono state caratterizzate e confrontate con l'estratto secco (Lm) e il polimero (NaCMC) non processati. Come riferimento, è stata preparata nelle stesse condizioni sperimentali, mediante *spray-drying*, la polvere contenente solo NaCMC (blank), partendo da una matrice di alimentazione acquosa con lo 0.5% p/v di NaCMC (Sansone *et al.*, 2013).

Le rese di processo (46.7-63.2%) non risultano molto elevate a causa sia dei piccoli volumi processati (*feed solution* 200 mL) con

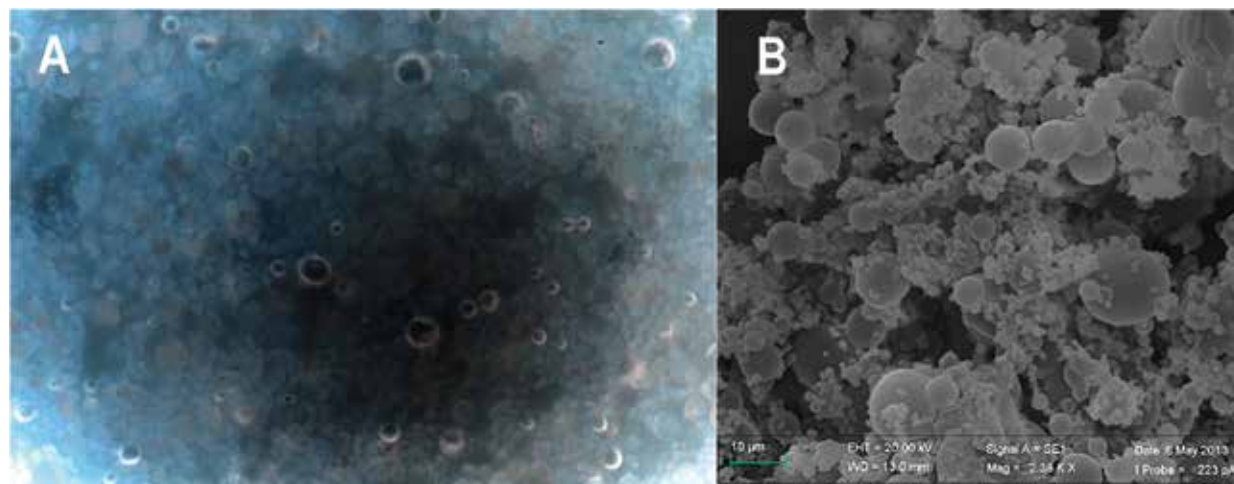


Figura 2. Microscopia a fluorescenza (a) e microscopia elettronica a scansione (b) delle microparticelle *Lannea microcarpa*/NaCMC (LmC) prodotte. Dalle microfotografie è evidente la formazione di materiale amorfo e tendenzialmente sferico con una superficie liscia.

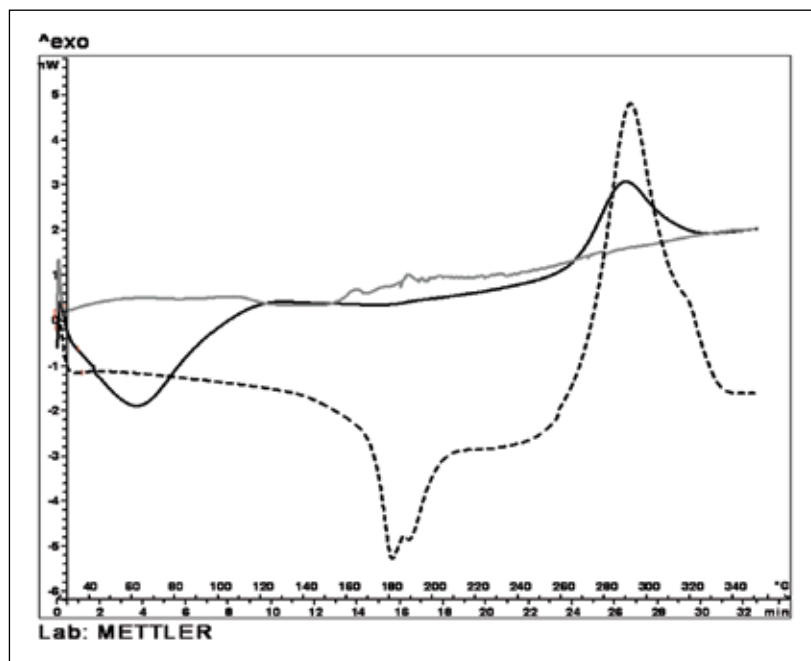


Figura 3. Calorimetria a scansione differenziale (DSC): termogrammi delle microparticelle prodotte di *Lannea microcarpa*/NaCMC in polvere (LmC) (linea nera), dell'estratto non processato di *Lannea microcarpa* (Lm) (linea grigia) e della NaCMC (materia prima) (linea tratteggiata). Il profilo termico di Lm presenta una serie di eventi endotermici alla fusione dei componenti attivi, principalmente polifenoli, in un range di temperatura compreso tra 130 °C e 270 °C. Questi comportamenti termici non sono rilevabili nei termogrammi della LmC a conferma dell'interazione fisica tra polimero ed estratto nella formazione della matrice durante il processo di spray-drying.

basse concentrazioni di materiale solido (1% p/v), sia della perdita delle particelle più piccole e/o più leggere che vengono aspirate insieme al solvente dopo l'evaporazione. Tuttavia, questo risultato in resa non particolarmente soddisfacente viene controbilanciato da un elevato contenuto in attivi (valutato come APC) incapsulati nella polvere prodotta (Fernan-

dez-Perez *et al.*, 2004). Nel caso della polvere LmC il contenuto in estratto reale (AEC) delle microparticelle LmC è risultato molto vicino al contenuto teorico (TEC). Di conseguenza, l'efficienza di incapsulazione (EE), calcolata come rapporto tra AEC e TEC, è risultata molto elevata (91.8%). I risultati sono molto positivi considerando che l'efficacia

antiossidante di Lm è correlata al contenuto di polifenoli (Picerno *et al.*, 2006) e quindi, a maggiore APC (espresso come contenuto di miricetina 3-O- α -L-ramnopiranoside), potrebbe corrispondere una migliore attività funzionale della polvere prodotta.

I risultati dell'analisi dimensionale (LLS), riportati in Tabella 1, hanno messo in evidenza che le microparticelle a base di NaCMC (blank) hanno una distribuzione granulometrica molto ristretta (d_{50} 6.47 μ m), rispetto al polimero tal quale (NaCMC, d_{50} 21.09 μ m). Inoltre, le dimensioni delle particelle prodotte sembrano essere influenzate dall'interazione tra polimero e estratto. Infatti, per LmC è stata osservata una riduzione della distribuzione dimensionale delle microparticelle (d_{50} 4.75 μ m) rispetto al bianco di Lm (d_{50} 6.47 μ m). Questo comportamento è probabilmente dovuto a una interazione fisica tra NaCMC e Lm nel formare la matrice particellare durante il processo di spray-drying. Una piccola dimensione particellare è una caratteristica auspicabile in quanto aumenta la scorrevolezza e la velocità di dissoluzione della polvere prodotta, che sono proprietà tecnologiche estremamente utili nelle fasi successive di lavorazione (Da Silva-Junior *et al.*, 2009). Gli studi morfologici, condotti

Tabella 1. Composizione e caratteristiche della polvere prodotta (LmC) e dei materiali di partenza (Lm e NaCMC)

Lotti	NaCMC (g/100ml)	Lm (g/100ml)	NaCMC/Lm	Resa %	^a TEC %	^b TPC %	^c APC % w/w	^d AEC %	^e EE %	d_{50} μ m (span) ^g
NaCMC	---	---	---	---	---	---	---	---	---	21.09 (1.06)
Lm	---	---	---	---	---	---	10.7 \pm 0.8	---	---	---
Blank	0.5	---	---	63.2 \pm 1.7	---	---	---	---	---	---
LmC	0.5	0.5	1:1	46.7 \pm 3.4	50	5.3	4.9 \pm 0.1	45.9	91.8	4.75 (1.29)

^acontenuto teorico dell'estratto; ^bcontenuto teorico in polifenoli; ^ccontenuto effettivo di miricetina 3-O- α -L-ramnopiranoside; ^dcontenuto effettivo di estratto; ^eefficienza di incapsulazione; ^fi dati sono espressi come media di tre determinazioni \pm SD. * $P < 0,003$. Il confronto statistico tra i gruppi è stato realizzato utilizzando ANOVA seguito da test parametrico di Bonferroni. ^gLa distribuzione dimensionale delle particelle è stata calcolata utilizzando il modello di Fraunhofer ed è stata espressa come d_{50} che indica il diametro volume del 50% della distribuzione granulometrica e valore di span calcolato come $[d_{90}-d_{10}] / d_{50}$.

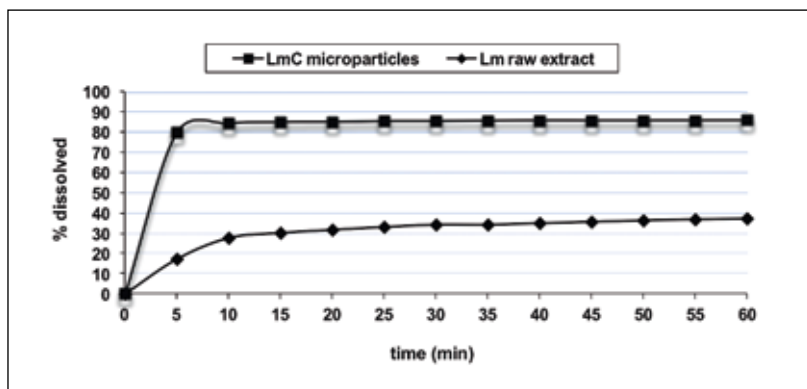


Figura 4. Profilo di dissoluzione in vitro in acqua delle microparticelle di *Lansea microcarpa*/NaCMC (LmC) rispetto all'estratto di *Lansea microcarpa* non processato (Lm). In 5 min è stato ottenuto il rilascio e la dissoluzione dell'80% dell'estratto da LmC, valutato come APC, rispetto al 18% della velocità di dissoluzione dell'estratto non processato (Lm).

mediante analisi al microscopio a fluorescenza (FM) e a scansione elettronica (SEM), hanno mostrato risultati simili, in termini di distribuzione dimensionale delle microparticelle prodotte (Figura 2). Dalle microfotogra-

fie di LmC è evidente, inoltre, la formazione di materiale amorfo e tendenzialmente sferico.

Il processo di spray-drying coinvolge molti parametri, come utilizzo di solventi, range di temperatura e velocità di evaporazione del solvente che possono influenzare la stabilità, l'interazione estratto-polimero, o il rapporto amorfo/cristallino della polvere prodotta. L'analisi me-

dante calorimetria a scansione differenziale (DSC) permette di valutare lo stato fisico (amorfo o cristallino) del prodotto, eventuali prodotti di degradazione nonché la presenza di eventuali interazioni tra i componenti della formulazione. I profili termici DSC di Lm e NaCMC, rispetto al campione LmC incapsulato sono mostrati in Figura 3. I risultati mostrano che l'estratto Lm è ben incapsulato nella matrice di NaCMC e che si trova in uno stato amorfo, confermando i risultati ottenuti dall'analisi morfologica (SEM e FM). Inoltre, l'assenza sia di nuovi picchi che di picchi attribuibili a prodotti di degradazione indicano che il processo di microincapsulazione non ha avuto effetti negativi sulla stabilità dell'estratto di partenza (Sansone et al, 2011b; Sansone et al., 2013).

Studi di dissoluzione *in vitro* sono stati effettuati allo scopo di valutare la velocità con cui le microparticelle formulate sono in grado di dissolvere in acqua e la percentuale di rilascio dell'estratto incapsulato (figura 4). I risultati hanno messo in evidenza che in soli 5 minuti dall'inizio del test, eseguito in acqua a temperatura ambiente, è stato ottenuto il rilascio e la dissoluzione dell'80% dell'estratto incapsulato nel microsistema LmC. Nello stesso tempo riesce a dissolvere solo il 18% di estratto non processato. Questo aumento di velocità e percentuale di dissoluzione può essere attribuito sia alla riduzione delle dimensioni particellari delle microparticelle neo-formulate, sia allo stato fisico amorfo del microsistema prodotto (DSC, SEM, FM). Anche la natura idrofila della NaCMC e la sua capacità di rigonfiare in acqua, possono migliorare la bagnabilità della



Lansea microcarpa

(Jeff Heath and the Dogon and Bangime Languages Project) (CC BY 4.0)

polvere e contribuire all'aumento della velocità di dissoluzione del microparticolato e, quindi, al rilascio dell'estratto funzionale da esso (Hostler, 2004; Sansone *et al.*, 2013).

Lm è ricco di polifenoli (Picerno *et al.*, 2006) che sono generalmente noti per essere suscettibili a processi di ossidazione/degradazione. La loro reattività ne può impedire l'uso come materia prima funzionale per scopi nutraceutici e farmaceutici (Laine *et al.*, 2008); pertanto, sulla polvere prodotta, è stato condotto un test di stabilità accelerata secondo quanto previsto dalle norme ICH (International Conference Harmonization, 2003) con lo scopo di valutare l'emivita del prodotto in condizioni di conservazione più dure rispetto a quelle ambientali (temperatura più alta e maggiore umidità) e un periodo di tempo minore rispetto al "tempo reale" di stabilità.

Il test è stato condotto su LmC, impiegando una camera di stabilità a 40 °C e 75% Umidità Relativa. I risultati ottenuti (Tabella 2) hanno messo in evidenza che, a 6 mesi, il contenuto di miricetina 3-O- α -L-ramnopiranoside (marker chimico di Lm), indicato come APC%, dell'estratto incapsulato è rimasto inalterato dopo 6 mesi (4.9%), rispetto al tempo 0 (t_0), evidenziando che l'estratto caricato è risultato stabile all'interno della formulazione per tutta la durata del test (variazioni inferiori al 1.0% contemplate dalle linee guida ICH). La stabilità delle microparticelle prodotte è strettamente dipendente dalla matrice polimerica e dalla sua efficienza di incapsulamento. I risultati ottenuti suggeriscono che l'utilizzo di NaCMC è vantaggioso per le sue proprietà di rivestimento e di caricamento, nonché per la

sua capacità di trattenere stabilmente l'estratto nel core polimerico. Inoltre, prima e dopo il processo di microincapsulazione e dopo la fase di stoccaggio è stata determinata e valutata l'attività antiradicalica, "free-radical scavenging" dell'estratto Lm nei microsistemi, utilizzando il test del DPPH° (Picerno *et al.*, 2011). I risultati ottenuti sono



Jeff Heath and the Dogon and Bangime Languages Project (CC BY 4.0)

Lannea microcarpa

Tabella 2. Contenuto in principio attivo (miricetina 3-O- α -L-ramnopiranoside) e attività antiradicalica/free radical scavenging espressa come concentrazione in $\mu\text{g/mL}$ di campione necessario per diminuire la concentrazione iniziale DPPH del 50% (EC50) dell'estratto non processato (Lm) e dopo processo di microincapsulazione in polvere (LMC)

	APC% ^a		EC ₅₀ (mg/ml) ^a	
	t_0	$t_{6\text{mesi}}$	t_0	$t_{6\text{mesi}}$
Lm	10.7±0.8	6.8±0.4*	6.5±0.4	11.1±0.3**
LmC	4.9±0.1	4.9±0.5	7.4±0.2	7.6±0.4
a-tocoferolo ^b	-	-	10.1±1.3	10.1±1.6

^a Il test è stato eseguito fino a 6 mesi di stoccaggio. Sono state effettuate tre repliche su 3 campioni diversi di ogni lotto. I dati sono espressi come media \pm SD. * $P < 0,003$, (vs APC a t_0), ** $p < 0,002$ (vs EC₅₀ a t_0); ^b controllo positivo nel test del DPPH



Scilla

stati confrontati con i dati relativi alla dimostrata attività antiossidante dell'estratto non processato. L'attività antiossidante di Lm (EC_{50} 6.5 ± 0.4 $\mu\text{g/ml}$) resta inalterata sia dopo il processo di microincapsulazione che dopo la fase di stoccaggio (LmC EC_{50} 7.6 ± 0.4 $\mu\text{g/mL}$). Al contrario, l'attività antiradicalica di Lm non processato si riduce nel tempo del test e l' EC_{50} passa da 6.5 ± 0.4 $\mu\text{g/mL}$ (inizio del test) a 11.1 ± 0.3 $\mu\text{g/mL}$ (dopo 6 mesi) (Tabella 2). I nostri risultati sono congrui con quelli riportati da Munin *et al.* (2010) sullo studio della stabilità di formulazioni contenenti polifenoli naturali, e dimostrano come il processo di spray-drying e un adeguato carrier polimerico siano in grado di preservare l'attività antiossidante di estratti vegetali.

Conclusioni

La polvere LmC, ottenuta nel lavoro di ricerca presentato, è adatta a essere utilizzata come ingrediente funzionale in formulazioni topiche, integratori alimentari e prodotti nutraceutici grazie al suo alto contenuto in polifenoli, ad attività antiossidante e antinfiammatoria. I risultati della ricerca mostrano che l'opportuna selezione della tecnica di microincapsulazione *spray-drying* (basso impatto ambientale e facile "scale up") con messa a punto delle migliori condizioni operative; della matrice polimerica di derivazione vegetale (carbossimetilcellulosa sodica come polimero di rivestimento) e della composizione della "feed solution" (Lm:NaCMC 1:1; 1% p/v) permettono di formulare microparticelle contenenti il fitoestratto con soddisfacenti rese di processo (46.7 ± 3.4 %) ed elevata

efficienza di incapsulazione (EE = 91.8%).

Le caratteristiche chimico-fisiche e tecnologiche del microsistema progettato e sviluppato (LmC) con opportune concentrazioni di polimero/estratto permettono di:

- diminuire l'igroscopicità della polvere risultante dal processo di *spray-drying*;
- aumentare drasticamente la velocità di dissoluzione in acqua dell'estratto (80% in 5 minuti)
- migliorare la stabilità chimica e funzionale nel tempo;
- agevolare lo stoccaggio e la manipolazione dell'estratto come materia prima.

*** UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI SALERNO
Dipartimento di Farmacia**

Bibliografia

- Bazongò P, Bassolè IHNn, Nielsen S, Hilou A, Dicko MH, Shukla VKS (2014) Characteristics, composition and oxidative stability of *Lannea microcarpa* seed and seed oil. *Molecules* 19(2): 2684-2693.
- Da Silva-Junior AA, De Matos JR, Formariz TP, Rossanezi G, Searpa MV, Do Egito EST, De Oliveira AG (2009) Thermal behaviour and stability of biodegradable spray-dried microparticles containing triamcinolone. *Int J Pharm* 368(1-2): 45-55.
- Fernandez-Perez V, Tapaidor J, Martin A, Luque de Castro MD (2004) Optimization of the drying step for preparing a new commercial powdered soup. *Innov Food Sci Emerg Technol* 5(3): 361-368.
- Haarmeyer DH, Schumann K, Bernhardt-Römermann M, Rüdiger W, Thiombiano A, Hahn K (2013) Human impact on population structure and fruit production of the socio-economically important tree *Lannea microcarpa* in Burkina Faso. *Agroforest Syst* 87(6): 1363-1375.
- Hostler AC (2004) Hydrocolloids: practical guides for the food industry. Eagan

Press Handbook Series, USA.

International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (2003) Stability testing of new drug substances and products Q 1A (R2), Geneva, Switzerland.

Laine P, Kylli P, Heinonen M, Jouppila K (2008) Storage stability of microencapsulated cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. *J Agric Food Chem* 56(23): 11251-11261.

Munin A and Edwards-Lévy F (2011) Encapsulation of natural polyphenolic compounds: a review. *Pharmaceutics* 3(4): 793-829.

Picerno P, Mencherini T, Della Loggia R, Meloni M, Sanogo R, Aquino RP (2006) An extract of *Lannea microcarpa*: composition, activity and evaluation of cutaneous irritation in cell cultures and reconstituted human epidermis. *J Pharm Pharmacol* 58(7): 981-988.

Picerno P, Mencherini T, Sansone F, Del Gaudio P, Granata I, Porta A, Aquino RP (2011a) Screening of a polar extract of *Paeonia rockii*: Composition and antioxidant and antifungal activities. *J Ethnopharmacol* 138(3): 705-712.

Picerno P, Sansone F, Mencherini T, Prota L, Aquino RP, Rastrelli L, Lauro MR (2011b) *Citrus bergamia* fresh juice: Phytochemical and technological studies. *Nat Prod Comm* 6(7): 951-955.

Sansone F, Mencherini T, Picerno P, d'Amore M, Aquino RP, Lauro MR (2011a) Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. *J Food Eng* 105(3): 468-476.

Sansone F, Picerno P, Mencherini T, Russo P, Gasparri F, Giannini V, Lauro MR, Puglisi G, Aquino RP (2013) Enhanced technological and permeation properties of a microencapsulated soy isoflavones extract. *J Food Eng* 115(3): 298-305.

Sansone F, Picerno P, Mencherini T, Russo P, Lauro MR, Aquino RP (2014) Technological properties and enhancement of antifungal activity of a *Paeonia rockii* extract encapsulated in a chitosan-based matrix. *J Food Eng* 120: 260-267.

Sansone F, Picerno P, Mencherini T, Villicco F, D'Ursi AM, Aquino RP, Lauro MR (2011b) Flavonoid microparticles by spray drying: influence of enhancers of the dissolution rate on properties and stability. *J Food Eng* 103(2): 188-196.