

Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de cuatro residuos agroindustriales sometidos a diferentes tratamientos

Leticia Casas-Godoy*, Iliana Barrera-Martínez*

Unidad de biotecnología industrial, CONACYT-CIATEJ, Camino Arenero 1227, 45019 Zapopan, Jalisco, México.

* Autor de correspondencia: lcasas@ciatej.mx, ibarrera@ciatej.mx

Recibido: 15 de abril de 2021 Aceptado: 27 de mayo de 2021

Resumen: Los residuos agroindustriales no son de interés para la industria que los generó, sin embargo, pueden ser utilizados para la extracción de compuestos de alto valor agregado. Compuestos con actividad antimicrobiana y antioxidante pueden ser recuperados de residuos generados por las diferentes industrias. Jalisco es un gran productor agroalimentario por lo tanto se seleccionaron residuos generados por industrias establecidas o en crecimiento en el estado. Sin embargo, la extracción de los compuestos de interés de los residuos no se puede realizar de forma directa, estos deben ser sometidos a diferentes tratamientos que rompan las matrices con la finalidad de liberar los componentes de interés, y aumentar el rendimiento de extracción. En este trabajo se evaluaron extracciones acuosas, enzimáticas, químico enzimáticas y etanólicas para evaluar la capacidad antioxidante y antimicrobiana de los extractos. Como residuos se evaluaron el bagazo de agave y el residuo de malta cervecera, así como, la zarzamora y la frambuesa, ambas con un alto estado de maduración. Para la evaluación de la capacidad antioxidante se utilizaron las técnicas de ABTS y DPPH. La capacidad antimicrobiana se evaluó observando el halo de inhibición generado por los extractos, y determinando el porcentaje de inhibición al utilizar diferentes concentraciones de los extractos, con tres bacterias Gram positivas, tres bacterias Gram negativas y tres levaduras. Las técnicas utilizadas para la recuperación de los compuestos con actividad antioxidante y antimicrobiana fueron adecuadas, y se lograron observar diferencias entre los pretratamientos para los diferentes residuos. Cabe mencionar que se observó inhibición en el crecimiento de las bacterias Gram positivas y Gram negativas utilizando concentraciones del 10% de los extractos.

Palabras clave: extracción; pretratamientos; bagazo de agave; residuo de malta; bayas.

Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activity of extracts obtained from four agro-industrial residues after different pretreatments

Abstract: Agro-industrial wastes are not of interest to the industry that generated them; however, they can be used for the extraction of high value-added compounds. Compounds with antimicrobial and antioxidant activity can be recovered from residues generated by different industries. Jalisco is a large agri-food producer therefore residues generated by established or growing industries in the state were selected. However, the extraction of the compounds of interest from residues cannot be carried out directly, they must be subjected to different treatments that break the matrices to release the components of interest and increase the extraction yield. In this study, aqueous, enzymatic, chemical-enzymatic and ethanolic extractions were used to evaluate the antioxidant and antimicrobial capacity of the extracts. As residues, agave bagasse and brewers spent grain were evaluated, as well as blackberry and raspberry, both showing the first stages of spoilage. For the evaluation of antioxidant capacity ABTS and DPPH techniques were used. The antimicrobial capacity was evaluated by observing the inhibition halo caused by the extracts, and the inhibition percentage using different concentrations of the extracts, with three Gram-positive bacteria, three Gram-negative bacteria and three yeasts. The techniques used for the recovery of compounds with antioxidant and antimicrobial activity were adequate, and it was possible to observe differences between pretreatments for the different residues. It should be mentioned that inhibition was observed in the growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria using low concentrations (10% of extracts).

Keywords: extraction; pretreatments; agave bagasse; brewers spent grain; berries.

Introducción

Los residuos generados por las distintas industrias agroindustriales, en la mayoría de los casos, no son de interés para la industria que los genera, por lo que no son procesados y pueden llegar a generar daños ambientales, así como efectos negativos a la salud. Los residuos contienen compuestos como carbohidratos, lípidos y lignina, sin embargo, dependiendo de su naturaleza también pueden ser ricos en compuestos antioxidantes y compuestos con actividad antimicrobiana. La recuperación de estos compuestos de alto valor agregado no se puede realizar de forma directa, por lo tanto, los residuos deben ser sometidos a diferentes pretratamientos que nos permitan extraerlos de las diferentes matrices. Estos pretratamientos pueden ser químicos o biológicos, por lo que es necesario evaluar el efecto que tienen sobre los compuestos de interés.

Los residuos pueden ser utilizados como fuentes de compuestos con diversas propiedades como actividad antiinflamatoria, antimicrobiana y antioxidante, entre otras. Los compuestos antioxidantes son de interés debido a su capacidad para atrapar especies reactivas de oxígeno, por lo tanto, su consumo se ha incrementado a nivel mundial. Estos compuestos pueden ser recuperados de cáscaras, semillas, y bagazos, entre otros residuos, con el fin de producir suplementos y aditivos que cubran la demanda. Los compuestos antimicrobianos tienen muchas aplicaciones, además el interés producirlos de fuentes naturales ha aumentado.

El estado de Jalisco es el mayor productor agropecuario del país con más de 40 millones de toneladas al año. Actualmente es el mayor productor de agave tequilero, arándano, frambuesa, maíz y leche, además de ser el segundo mayor productor de aguacate, caña de azúcar, cártamo, coco, sandía y zarzamora (SIAP, 2020). El estado de Jalisco cuenta con diversas industrias de interés como lo son la industria tequilera, las cervecerías artesanales, la industria láctea y las industrias dedicada a la producción y comercialización de bayas, donde destacan la frambuesa y la zarzamora. Por estos motivos los residuos producidos en alguna de las diferentes etapas de la industria tequilera, la producción de cerveza artesanal y la producción de frambuesa y zarzamora, fueron seleccionados para la extracción de compuestos con actividad antioxidante o actividad antimicrobiana, después de ser sometidos a cuatro diferentes tratamientos.

Materiales y Métodos

Materiales

Los residuos agroindustriales utilizados en este estudio fueron bagazo de agave (BA), residuo de malta de cerveza (RMC), así como frambuesa (F) y zarzamora (Z) sobre maduras. Los dos primeros fueron donados por una empresa tequilera y una cervecería artesanal, respectivamente. Las frutas en mal estado se consiguieron en un mercado local. F y Z se molieron sin añadir agua y se congelaron hasta su uso. El RMC se secó en un horno a 70°C durante 72 h. BA y RMC se molieron y tamizaron. La fracción malla 40 fue seleccionada para realizar este estudio.

Procesos de obtención de los extractos

La concentración final de residuos fue de 10% (p/v) en todos los procedimientos de extracción. Las condiciones de proceso fueron 50°C y 220 rpm, por 20 h y estos fueron: (1) extracción acuosa (EA), (2) hidrólisis enzimática (HE, buffer de acetatos 50mM, pH 5.5, 2% enzima CTec2), (3) extracción química-enzimática (EQE), en la primera parte del proceso se llevó a cabo una hidrólisis ácida con H₂SO₄ 1% (v/v) durante a 15 min y 121°C. Después, una vez que la mezcla alcanzó la temperatura ambiente y se ajustó el pH a 5.5 y se adicionó la enzima, y (4) extracción etanólica (EE, mezcla agua:etanol 50:50 v/v).

Actividad antioxidante

Capacidad antioxidante (equivalente de Trolox TE)

La capacidad antioxidante se determinó utilizando la metodología descrita por Moreira *et al.*, 2013 con algunas modificaciones. El radical ABTS⁺ se produjo mezclando soluciones de ABTS 7.4 mM y persulfato de potasio 2.45 mM en proporción 1:1 v/v, permitiendo que reaccione 16 h a temperatura ambiente en oscuridad. Después de este tiempo se ajusta la absorbancia de la solución de ABTS⁺ a 0.700 ± 0.02 a 734 nm. Para realizar el ensayo, se mezclan 30 µl del extracto con 570 µl de ABTS⁺, se incuba 2 h a temperatura ambiente en oscuridad. Posteriormente, se determinó la absorbancia a 734 nm. La capacidad antioxidante TE se determina usando una curva de calibración de ácido 2-carboxílico 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo (trolox) y calculado como µM de equivalentes de Trolox (TE) por g de materia seca (µM TE/g):

$$TE = TE_s * \left(\frac{V_s}{M_s} \right) \quad (1)$$

Donde TE_s, es la actividad antioxidante de la muestra en equivalente de Trolox (µM); V_s es el volumen de la muestra (mL) y M_s masa de la muestra.

Capacidad de atrapar radicales libres (DPPH)

Este método se basa en la capacidad para atrapar radicales libre del 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Smolskaitė et al. 2015). Se mezclan 15 µL de extracto con 300 µL de una solución metanólica de DPPH (6×10^{-5} M) y se permite reaccionar en oscuridad por 40 min. Después se determina la abs a 515 nm. La capacidad de atrapamiento de radicales se determina usando una curva de calibración de trolox (0- 1000 µM/L) y se expresa en µM de equivalente de trolox (TE) por g de muestra (µM TE/g).

Actividad antimicrobiana

Halo de inhibición

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos con 9 cepas, tres levaduras y seis bacterias: *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, and *Kodamaea ohmeri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus cereus* and *Shigella sonnei*, *Serratia marenescens*, *Escherichia coli*. La actividad antimicrobiana se determinó usando la técnica de difusión de discos en agar, usando agar nutritivo y PDA para bacterias y levaduras, respectivamente.

Las cajas petri con los medios de cultivo fueron inoculadas con 0.1 mL de los cultivos ajustados a 0.5 de la escala de Mcfarland con solución fisiológica. Después, discos estériles de papel filtro se empaparon con los diferentes extractos y se colocaron en la superficie del agar. Las cajas se incubaron a 30 y 37°, para levaduras y bacterias respectivamente. La actividad antimicrobiana fue evaluada después de 24 h para bacterias y 48 h para las levaduras midiendo la zona de inhibición. Filtros de papel empapados con etanol al 70% se usaron como control (Bobinaitė et al., 2013).

Porcentaje de inhibición

Fue evaluado utilizando 5 concentraciones de extractos crudos (10, 15, 20, 25 y 30% v/v). Para realizar este ensayo se utilizó PBD y caldo nutritivo para levaduras y bacterias, respectivamente, estos fueron inoculados con 0.1 mL de cultivo fresco de cada cepa ajustado a 0.5 de la escala de Mcfarland con solución fisiológica. Después de incubarlos (37° C, 24 h para bacterias y 30° C, 48 h para levaduras), se determinó la absorbancia de los cultivos a 600 nm. Como control positivo y negativo se utilizó una solución de etanol al 70% v/v y cultivos sin extractos, respectivamente (Aguilar-Pérez et al., 2020).

Resultados y Discusión

Los resultados de capacidad antioxidante y antimicrobiana de los diferentes extractos se presentan a continuación.

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante detectada en cada uno de los extractos con ABTS y DPPH se presenta en la Tabla 1. De acuerdo con los resultados encontrados, la capacidad antioxidante de cada uno de los extractos depende de la naturaleza del residuo y el proceso aplicado, tal como lo menciona en su estudio Bonifácio-Lopes et al. 2020.

Tabla 1. Capacidad antioxidante de los diferentes extractos.

Extracto	BA	RMC	Zarzamora	Frambuesa
<i>ABTS (mm TE/g)</i>				
<i>Acuoso</i>	2.78 ± 0.17	38.63 ± 2.66	43.80 ± 1.91	74.02 ± 3.25
<i>Enzimático</i>	5.94 ± 0.02	212.55 ± 6.7	219.85 ± 9.1	112.93 ± 3.60
<i>Químico + Enzimático</i>	124.2 ± 19.77	158.58 ± 5.98	178.35 ± 6.34	154.33 ± 3.94
<i>Etanólico</i>	19.78 ± 1.81	66.58 ± 1.97	98.3 ± 5.01	68.15 ± 4.24
<i>DPPH (mm TE/g)</i>				
<i>Acuoso</i>	85.37 ± 2.33	317.88 ± 6.11	582.36 ± 12.98	375.26 ± 9.47
<i>Enzimático</i>	8.68 ± 0.55	467.58 ± 18.33	570.7 ± 24.73	206.43 ± 12.39
<i>Químico + Enzimático</i>	106.79 ± 5.47	594.17 ± 19.66	140.06 ± 13.27	372.9 ± 17.19
<i>Etanólico</i>	250.62 ± 7.39	180.42 ± 5.73	209.26 ± 7.36	324.86 ± 9.20

De acuerdo con los resultados encontrados en este estudio para el BA los procesos más adecuados para la extracción de compuestos con actividad antioxidante fueron EQE y EE, seguidos por HE y EA. El valor más alto de capacidad antioxidante fue con el tratamiento EQE ($124.2 \pm 19.77 \mu\text{m TE/g}$) y EE ($250.62 \pm 7.39 \mu\text{m TE/g}$) usando ABTS y DPPH, respectivamente. Esta diferencia de valores se puede atribuir a la sensibilidad de las técnicas utilizadas. Existen limitados estudios sobre la capacidad antioxidante del agave y sus derivados. Sin embargo, los valores encontrados en este trabajo son superiores al publicado por Ahumada-Santos, *et al.* 2013 quien reporta $9.86 \pm 1.51 \text{ mm TE/g}$ en un extracto metanólico de las hojas de la planta. Por otro lado, diversos estudios han encontrado moléculas presentes en el agave azul (*Agave tequilana* Weber var. Azul) capaces de conferir actividad antioxidante a los extractos de esta planta (Nava-Cruz *et al.*, 2014; López-Romero *et al.*, 2018). Cabe resaltar que en este estudio se trabajó exclusivamente con las fibras de bagazo de agave residuales del proceso de producción de tequila.

Las extracciones que liberaron más compuestos bioactivos para RMC fueron el EQE e HE, siendo la EE y EA las menos efectivas para este fin. Los valores encontrados en los extractos enzimáticos, y químico enzimático con ABTS y DPPH fueron 212.55 ± 6.7 y $594.17 \pm 19.66 \mu\text{m TE/g}$ respectivamente. Los valores encontrados en este estudio son mayores a los publicados en la literatura, por ejemplo, Socaci *et al.* (2018) reportan actividad antioxidante de extractos etanólicos (60/40 etanol/agua) y acuosos de $1.35 \mu\text{m TE/ 100 g}$ y $1.09 \mu\text{m TE/ 100 g}$, respectivamente y Bonifásio-Lopes *et al.*, 2020 refiere valores de 0.28 y 0.77 mg ácido ascórbico/g BSG en extractos acuosos y etanólicos (60% etanol) (ensayo con ABTS). En condiciones similares de extracción (acuoso y etanólico), los valores encontrados en este estudio son 9.60 ± 1.32 y $16.63 \pm 0.67 \text{ mg TE/g}$ respectivamente (para valores en $\mu\text{m TE/g}$ revisar la tabla 1).

Para la zarzamora, el valor más alto de actividad antioxidante se obtuvo con la extracción HE para ambos ensayos, dejando atrás a la EA, EE y EQE como se puede observar en la tabla 1. Esto sugiere que las condiciones suaves de extracción, en cuanto a pH y temperatura, favorecen la liberación de compuestos con capacidad antioxidante. El método de extracción impacta en la calidad del producto obtenido y su actividad biológica, por ejemplo, extractos de zarzamora usando ultrasonido y extracción líquida presurizada presentaron valores de actividad antioxidante de 50 y $90 \mu\text{m TE/ g}$ (aproximadamente) (Oszminski *et al.*, 2015) valores menores a los encontrados en este estudio. En el extracto enzimático el valor encontrado fue de $219.85 \pm 9.1 \mu\text{m TE/ g}$, que es 4 y 2 veces más alto al reportado por Oszminski *et al.*, 2015.

En el caso de la frambuesa, el método de extracción con el que se obtuvo una mejor actividad biológica fue EQE y EA. Sin embargo, los valores obtenidos para los cuatro procesos de extracción son muy cercanos. La actividad antioxidante reportada en la literatura para extractos obtenidos con solventes orgánicos y con enzimas fue de 285.5 y $342 \mu\text{m TE/g}$, respectivamente (Saad *et al.*, 2019). Estos valores son muy cercanos a los obtenidos en este trabajo. Por otro lado, Bobinaite *et al.* en 2013, reportaron la actividad antioxidante de extractos metanólicos de diferentes cultivares de frambuesa, los valores referidos por este autor son 459.8, 299.8 y $334.2 \mu\text{m TE/g}$. El primer valor es alto, sin embargo, los dos restantes coinciden con los encontrados en este estudio.

Actividad antimicrobiana

Tabla 2. Actividad antimicrobiana de los extractos seleccionados (halo de inhibición)

Cepas	Halo de inhibición (mm)				
	BA	RMC	Zarzamora	Frambuesa	Control
<i>B. cereus</i>	0	1.88 ± 0.06	1.55 ± 0.03	0	0
<i>S. saprophyticus</i>	0.70 ± 0.02	0.93 ± 0.02	0.71 ± 0.03	0.69 ± 0.01	1.17 ± 0.06
<i>S. aureus</i>	0	0.68 ± 0.03	0.41 ± 0.01	0.77 ± 0.01	1.30 ± 0.02
<i>S. sonnei</i>	0.37 ± 0.03	0.74 ± 0.02	0.56 ± 0.04	0.48 ± 0.03	0.63 ± 0.05
<i>S. marcescens</i>	0.29 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.54 ± 0.02	0.51 ± 0.04	0.75 ± 0.06
<i>E. coli</i>	0.48 ± 0.02	0.58 ± 0.03	0.67 ± 0.04	0.77 ± 0.01	1.27 ± 0.01
<i>K. ohmeri</i>	0	0	0	0	0
<i>S. cerevisiae</i>	0	0	0	0	0
<i>C. albicans</i>	0	1.06 ± 0.04	0.91 ± 0.05	0.65 ± 0.03	4.46 ± 0.09

La evaluación de la actividad antimicrobiana se realizó utilizando el extracto producido por la EQE para el BA y la HE para los otros tres residuos. El halo de inhibición generado por los diferentes extractos se muestra en la Tabla 2. En el caso de *B. cereus*, *S. saprophyticus*, *S. sonnei* y *C. albicans*, el mayor halo de inhibición se encontró con el RMC. Para *S. aureus* y *E. coli*, el halo más grande se detectó con el extracto enzimático de frambuesa. Los HE de RMC y Z, generaron halos de inhibición en siete de las nueve cepas evaluadas, mientras que el HE de F en siete y el EQE de BA solo en cuatro. Bajo las condiciones estudiadas, no se detectó halo de inhibición para *K. ohmeri* ni *S. cerevisiae* con ninguno de los extractos, sin embargo, es posible que el exceso de azúcar presente en los hidrolizados haya estimulado el crecimiento de estas levaduras.

Posteriormente se evaluó el porcentaje de inhibición al crecimiento utilizando diferentes concentraciones de los extractos (Figura 1). En el caso de BA se observó inhibición para *B. cereus*, *S. saprophyticus*, *S. sonnei*, *E. coli* y *K. ohmeri* a diferentes concentraciones. Cabe mencionar que a estas concentraciones con hidrolizado de BA se logró observar inhibición para *B. cereus* y *K. ohmeri*, comportamiento que no se observó al utilizar el extracto concentrado, lo cual se puede deber a la dilución de otros compuestos que pueden favorecer el crecimiento de las cepas. En el caso de RM podemos observar inhibición en la mayoría de las cepas, confirmando los resultados previamente obtenidos. Con este hidrolizado se obtuvo inhibición desde una concentración del 10% del extracto. Sin embargo, no se observó inhibición de *C. albicans*, esto se puede deber a que a las concentraciones estudiadas no se alcanzó la concentración mínima para causar una inhibición del crecimiento de esta cepa. En el caso de la frambuesa y la zarzamora los resultados fueron muy similares a lo observado con el halo de inhibición, afectando el crecimiento de 5 de las bacterias evaluadas, con la única excepción de *B. cereus*. El caso de *C. albicans* fue similar a lo observado con RMC. Al utilizar el extracto de frambuesa se observó un porcentaje de inhibición del 50% en promedio al utilizar bajas concentraciones, mientras que en el caso de la zarzamora se observa una tendencia a aumentar la inhibición a mayores concentraciones del extracto.

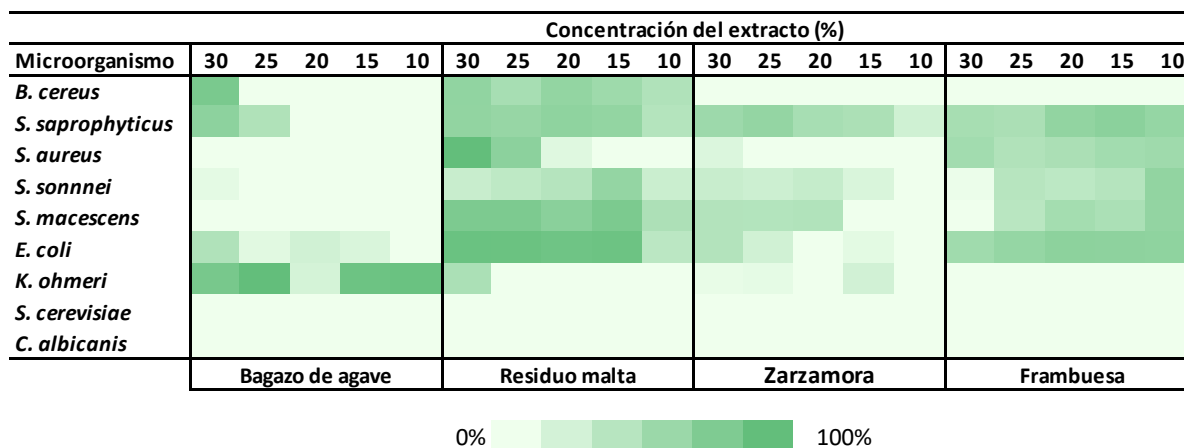


Figura 1. Porcentaje de inhibición de las cepas sometidas a diferentes concentraciones de los extractos. Bagazo de agave, químico-enzimático; residuo de malta cervecera, zarzamora y frambuesa, enzimático.

Conclusiones

Bajo las condiciones evaluadas fue posible extraer compuestos con actividad antioxidante y antimicrobiana de los cuatro residuos elegidos. Además, se observó que el proceso de extracción tiene una influencia directa en la calidad de los extractos obtenidos. Podemos inferir que la composición y naturaleza de cada uno de los materiales trabajados tiene una relación directa con el proceso adecuado para la obtención de este tipo de compuestos y la conservación de su actividad biológica. La zarzamora y frambuesa presentaron mejores resultados, por lo que se perfilan como residuos con potencial para revalorizarse obteniendo moléculas con importante actividad biológica. El residuo de malta de cerveza también puede ser considerado un material con potencial para ser revalorizado, pues presenta actividad antioxidante y antimicrobiana.

Es necesario realizar más estudios buscando mejorar la extracción de estos compuestos con el fin de incrementar la actividad antioxidante y antimicrobiana, además de identificar las moléculas que se están obteniendo y relacionarlas con las actividades biológicas observadas. Los resultados de este estudio abren la posibilidad de revalorizar los cuatro

materiales que se trabajaron obteniendo moléculas de alto valor agregado, que pueden ser utilizadas en la industria farmacéutica, de alimentos y cosmética.

Bibliografía

- Aguilar-Pérez, M. M., Torres-Mendoza, D., Vásquez, R., Rios, N., & Cubilla-Rios, L. (2020). Exploring the Antibacterial Activity of *Pestalotiopsis* spp. under Different Culture Conditions and Their Chemical Diversity Using LC–ESI–Q–TOF–MS. *Journal of Fungi*, 6(3), 140.
- Ahumada-Santos, Y. P., Montes-Avila, J., de Jesús Uribe-Beltrán, M., Díaz-Camacho, S. P., López-Angulo, G., Vega-Aviña, R., ... & Delgado-Vargas, F. (2013). Chemical characterization, antioxidant and antibacterial activities of six Agave species from Sinaloa, Mexico. *Industrial crops and products*, 49, 143-149.
- Bobinaite, R., Viškelis, P., Šarkinas, A., & Venskutonis, P. R. (2013). Phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of raspberry fruit, pulp, and marc extracts. *CyTA-Journal of food*, 11(4), 334-342.
- Bonifácio-Lopes, T., Teixeira, J. A., & Pintado, M. (2020). Current extraction techniques towards bioactive compounds from brewer's spent grain—A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(16), 2730-2741.
- López-Romero, J. C., Ayala-Zavala, J. F., González-Aguilar, G. A., Peña-Ramos, E. A., & González-Ríos, H. (2018). Biological activities of Agave by-products and their possible applications in food and pharmaceuticals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(7), 2461-2474.
- Moreira, M. M., Morais, S., Carvalho, D. O., Barros, A. A., Delerue-Matos, C., & Guido, L. F. (2013). Brewer's spent grain from different types of malt: Evaluation of the antioxidant activity and identification of the major phenolic compounds. *Food research international*, 54(1), 382-388.
- Nava-Cruz, N. Y., Medina-Morales, M. A., Martínez, J. L., Rodríguez, R., & Aguilar, C. N. (2015). Agave biotechnology: an overview. *Critical reviews in biotechnology*, 35(4), 546-559.
- Oszmiański, J., Nowicka, P., Teleszko, M., Wojdyło, A., Cebulak, T., & Oklejewicz, K. (2015). Analysis of phenolic compounds and antioxidant activity in wild blackberry fruits. *International journal of molecular sciences*, 16(7), 14540-14553.
- Saad, N., Louvet, F., Tarrade, S., Meudec, E., Grenier, K., Landolt, C., ... & Bressollier, P. (2019). Enzyme-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Pomace. *Journal of food science*, 84(6), 1371-1381.
- SIAP. (2020). Panorama agroalimentario 2020. Servicio de información agroalimentaria y pesquera.
- Smolskaitė, L., Venskutonis, P. R., & Talou, T. (2015). Comprehensive evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of different mushroom species. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 462-471.
- Socaci, S. A., Fărcaș, A. C., Diaconeasa, Z. M., Vodnar, D. C., Rusu, B., & Tofană, M. (2018). Influence of the extraction solvent on phenolic content, antioxidant, antimicrobial and antimutagenic activities of brewers' spent grain. *Journal of cereal science*, 80, 180-187.