

## Caracterização Fitoquímica e Estabilidade Química do Extrato do Chá Verde

### *Phytochemical Characterization and Chemical Stability of Green Tea Extract*

Ana Paula Azevêdo Macêdo,<sup>a</sup>  Mariane dos Santos Gonçalves,<sup>a</sup>  Oscar Caetano da Silva Neto,<sup>b</sup>  Ricardo David Couto,<sup>c</sup> Jorge Mauricio David<sup>b,\*</sup> 

<sup>a</sup> Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos, Campus Ondina, CEP 40170-290, Salvador-BA, Brasil

<sup>b</sup> Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Campus Ondina, CEP 40170-290, Salvador-BA, Brasil.

<sup>c</sup> Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Campus Ondina, CEP 40170-290, Salvador-BA, Brasil.

\*E-mail: [jmdavid@ufba.br](mailto:jmdavid@ufba.br)

Recebido em: 3 de Janeiro de 2022

Aceito em: 18 de Março de 2022

Publicado online: 2 de Maio de 2022

*Camellia sinensis* leaves tea has been one of the most consumed drinks in worldwide. Green tea has been consumed regularly by the world population, including for medicinal purposes. From a nutritional point of view, phytochemical analyzes is essential to know the composition and concentration of compounds in green tea, as well as the stability of these components. In this study the phytochemical properties and chemical stability of green tea were evaluated. A sample, widely sold in Brazil, was submitted to extraction, following of analyzes for detection of the main compounds and evaluation of the stability of green tea extract preparations by HPLC. As result, the green tea extract presented caffeine (34.4%), epicatechin gallate (11.9%), and epigallocatechin (5.8%) as main identified compounds in its composition. During the four weeks of evaluation, the main metabolites presented small decomposition rate (2.4 to 2.9%). In addition, the phytochemical analysis revealed the presence of several secondary metabolites in their composition (alkaloids, glycosides, saponins, tannins, terpenoids, caffeine and flavonoids). This demonstrates that green tea extract has compounds with properties that bring health benefits but also as it contains other secondary metabolites, and its therapeutic use should be carefully evaluated.

Keywords: *Camellia sinensis*; HPLC; flavonoids; phytochemical analysis.

### 1. Introdução

O chá verde, oriundo de folhas de *Camellia sinensis*, tem sido uma das bebidas mais consumidas há milhares de anos em todo o mundo. É considerado não apenas como uma bebida, mas como um composto medicinal.<sup>1</sup> Nesse contexto, o chá verde é considerado a segunda bebida mais popular e saudável desde a antiguidade, perdendo apenas para a água.<sup>2</sup>

O chá verde é obtido das folhas de *C. sinensis*, planta originária do sudeste asiático. As folhas passam por processo de secagem imediatamente após a colheita, onde as folhas são aquecidas, evitando, assim, a fermentação. A fermentação que ocorre no chá preto e no oolong, originados também de *C. sinensis*, elimina a maior parte de seus compostos bioativos, assim, o chá verde mantém estas substâncias.<sup>3</sup>

Os estudos científicos indicam que o consumo de chá verde promove efeitos benéficos na saúde humana como: auxílio no controle do peso corporal, protege contra radiação ultravioleta, melhora o desempenho físico-funcional, a saúde bucal e a saúde óssea, além de apresentar bioatividade contra doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e câncer.<sup>4</sup> A esses benefícios atribuem-se à composição fitoquímica do chá verde que é constituído de polifenóis, metilxantinas, aminoácidos livres, vitaminas e outros componentes secundários que, isoladamente ou sinergicamente, afetam as atividades biológicas.<sup>5</sup>

Os flavonoides são os principais compostos polifenólicos encontrados na folha do chá verde e, dentre estes, as catequinas estão presentes em maiores concentrações. A literatura descreve que epigallocatequina-3-galato (EGCG), epigallocatequina, epicatequina-3-galato e epicatequina como sendo as quatro principais catequinas do chá verde.<sup>6</sup>

O chá verde tem sido consumido regularmente pela população mundial, por isso deve ser considerado os seus benefícios citados e a importância das análises fitoquímicas para conhecer a composição e a concentração, assim como a estabilidade dos seus componentes. Portanto, faz-se necessário determinar as propriedades fitoquímicas e estabilidade química da preparação contendo o chá verde comercializado no Brasil.

## 2. Experimental

### 2.1. Amostra

Neste estudo, foi selecionado o chá verde importado da marca comercial Viva Natureza®, amplamente comercializado no Brasil. O chá verde foi adquirido a granel, e, juntamente com o produto, a empresa encaminhou os laudos de análises informando as características organolépticas, físico-químicas e microbiológicas do chá verde.

### 2.2. Preparo do extrato

As folhas (500 g) de chá verde (*C. sinensis*) foram submetidas à maceração com etanol:água (6:4) na proporção 20% (v/v). Após o preparo do extrato, o mesmo foi imediatamente liofilizado e mantido em temperatura ambiente.

### 2.3. Análise fitoquímica

Foram utilizados em replicata para triagem fitoquímica os métodos padrão propostos por Brito e colaboradores.<sup>7</sup>

### 2.4. Teste para alcaloides

Foi adicionado ácido sulfúrico (2%) ao extrato bruto do chá verde (0,2 g). Em seguida, essa amostra foi colocada em banho de água quente durante 2 min e depois arrefecido. Logo após, a amostra foi filtrada e adicionou-se o reagente de Dragendorff ao tubo de ensaio. A cor vermelha alaranjada precipitada no tubo de ensaio mostra a presença de alcaloides.

### 2.5. Teste para taninos

Foram adicionados 20 mL de água destilada a 2 g da amostra (extrato do chá verde). Essa solução foi fervida durante cerca de 5 min em banho de água quente. A solução fervida foi filtrada imediatamente e depois arrefecida à temperatura ambiente. Foi retirado 1 mL do filtrado e adicionado a 5 mL de água destilada. Em seguida, 10% de cloreto férrico (2 a 3 gotas) foi adicionado. A aparência do precipitado preto-azulado ou cor verde acastanhada mostra a presença de taninos.

### 2.6. Teste para saponinas

O extrato do chá verde (0,2 g) juntamente com 10 mL de água destilada foi fervido em banho-maria por cerca de 10 min. A mistura foi filtrada e deixada a arrefecer. 1 mL do filtrado juntamente com 2 mL de água destilada foi colocado em tubo de ensaio e agitado vigorosamente durante 2 min. A formação de espuma indica a presença de saponinas no filtrado.

### 2.7. Teste para terpenoides (teste de Salkowski)

Às folhas do chá verde foram adicionadas 5 mL de solução aquosa e fervido em banho-maria. A solução foi filtrada e 2 mL de clorofórmio foram adicionadas ao filtrado em tubo de ensaio; seguido pela adição de 3 mL de ácido sulfúrico concentrado. A aparência da interface marrom avermelhada indica a presença de terpenoides na amostra.

### 2.8. Teste para antraquinonas

A amostra do extrato do chá verde (de 2 g) foi macerada com éter. Logo após, acrescentou-se à solução 1 mL de amônia diluída. A solução foi agitada. A aparência de cor vermelha, violeta ou rosa na camada aquosa indica a presença de antraquinona.

### 2.9. Teste para glicosídeos

Ácido sulfúrico concentrado (1 mL), extrato do chá verde (5 mg) e ácido glacial (2 mL) foram misturados e, em seguida, adicionado a mistura uma gota de cloreto férrico. O ácido sulfúrico concentrado permanece abaixo da mistura. O aparecimento de anel marrom indica a presença de glicosídeo.

### 2.10. Detecção dos principais constituintes e avaliação da estabilidade das preparações do extrato de chá verde por CLAE

A estabilidade do extrato do chá verde foi avaliada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), verificando a diferença de intensidade relativa e área dos picos cromatográficos relativos às catequinas e cafeína a cada sete dias durante um (01) mês, todos analisados em triplicata. O extrato foi mantido em temperatura ambiente (20-24 °C). Foram realizadas apenas 12 replicatas, não se seguiu a RDC N°18/2014 para análise longa ou acelerada de 12 e/ou 24 meses<sup>8</sup>, pois, o intuito era verificar a estabilidade em curto período de tempo, já que habitualmente a bebida não é armazenada durante muito tempo pelas pessoas que a utilizam.

As análises foram realizadas em equipamento da Shimadzu, modelo SPD-M20A. A coluna utilizada foi a Shimadzu Shim-pack VP-C8 (150 mm L. × 2 mm I.D., 5 µm) e a fase móvel utilizada foi água:metanol (7:3) em modo isocrático de 0 a 10 min e gradiente de 10 a 30 min até 100 % metanol com vazão de 0,2 mL/minuto. A detecção foi realizada em 254 nm. Todas as análises cromatográficas foram realizadas a 40 ± 1 °C.

### 2.11. Análise por CL-EM

Esta análise foi realizada pela central analítica da Universidade de São Paulo. Nas determinações dos componentes presentes no extrato de chá verde, foi utilizado

a CLAE da marca Shimadzu, modelo SPD-M20A. A coluna utilizada foi Supelco Ascentis C18 (250 x 4.6 mm – 5 µm) e a fase móvel utilizada foi água:metanol (7:3) com vazão de 0,2 mL/minuto, isocrático de 0 a 10 min e gradiente de 10 a 30 min até 100% metanol. Todas as análises cromatográficas foram realizadas a 40 ± 1 °C. Esteve acoplado ao CLAE, o detector de massas Amazon Speed ETD – Bruker, fonte de íons por eletrospray (IES) no modo positivo e negativo, analisador por capturas de íons (IT), nebulizador 27 Psi, vazão de gás 12 L/min, temperatura 300 °C, HV: 4500V. O extrato também foi analisado por injeção direta num espectrômetro de massas de alta resolução (Bruker MicroTof), com fontes IES e registrado no modo negativo.

### 3. Resultados e Discussão

A análise fitoquímica revelou a presença de vários metabólitos secundários (Tabela 1). Para o teste de alcaloides o resultado foi positivo, pois o precipitado no tubo de ensaio apresentou coloração vermelho alaranjado. O teste para antraquinonas foi negativo devido à ausência da coloração vermelha, violeta ou rosa. O aparecimento de anel marrom indicou a presença de glicosídeo no extrato de chá verde. O extrato de chá verde contém saponinas, pois a formação de espuma indicou a presença deste componente no filtrado. O teste para presença de taninos foi positivo, confirmado pela aparência do precipitado preto-azulado. A interface marrom avermelhada confirmou a presença de terpenoides no extrato de chá verde.

Em suma, o extrato de chá verde (60:40) analisado contém alcaloides, glicosídeos, saponinas, taninos e terpenoides. De modo similar, Samadi e Fard<sup>9</sup> identificaram no extrato de chá verde (80:20) a presença de taninos e alcaloides. Porém, estes autores indicaram a ausência de saponinas e terpenoides, sendo que não foram realizados teste para antraquinonas e glicosídeos. Corroborando nossos achados, há na literatura trabalhos que identificaram a presença de saponinas, terpenoides e glicosídeos no chá verde.<sup>10,11</sup>

Além disso, o chá verde é rico em compostos fenólicos. As principais classes de polifenóis são: flavonoides, taninos, antocianinas, cumarinas, antraquinonas e outros.<sup>12,13</sup> Não foram encontrados relatos da presença de antraquinonas no chá verde, o que ratifica nosso resultado de teste negativo

para a presença de antraquinonas. Entretanto, sabe-se que os principais polifenóis encontrados no chá verde são as catequinas, que pertencem à classe dos fenólicos<sup>6</sup>, e foram identificadas por CLAE.

A análise por CLAE aliada a EMAR do extrato de chá verde permitiu identificar em sua composição cafeína, *epicatequina galato*, *epigalocatequina* e, tentativamente rutina e tilirosídeo (Tabela 2). Como a composição química desse produto é bastante conhecida, a análise por espectrometria de massas com ionização por electrospray (IES-EM), principalmente da molécula protonada ou desprotonada (M+H ou M-H), permitiu a identificação dos compostos presentes no extrato com alguma segurança. Assim, o EM registrado no modo negativo, cujo pico em  $m/z$  441,11 e em  $m/z$  443,04, no modo positivo, com percentual relativo de área de pico de 11,9% pode ser tentativamente relacionado à *epicatequina* 3-galato. O composto eluído em  $t_R = 23,0$  min pode ser identificado como cafeína, seu percentual de área de pico foi de 34,4%. A identificação dessa molécula pode ser verificada pelo IES-EM, que apresentou molécula protonada com  $m/z$  195,03, no espectro de massas de baixa resolução. Não foi observada a presença do íon molecular nos experimentos em modo negativo. A *epigalocatequina* só foi identificada pelo íon registrado no espectro de alta resolução. O composto eluído com  $t_R = 27,4$  min foi tentativamente identificado como rutina (5,8%). No espectro obtido após fragmentação foi observada a perda de um diglicosídeo formado por glicose e ramnose. Como esse composto já foi detectado em chá,<sup>14</sup> foi considerado sua presença ao invés do glicosídeo ligado em outras posições. Da mesma forma foi identificado em  $t_R = 29,6$  min a presença do tilirosídeo<sup>15</sup>.

Entretanto, nas amostras analisadas não foi detectada a presença de *epigalocatequina galato* (EGCG), considerada a catequina mais abundante do chá verde, sendo, portanto, um quimiomarcador. Todavia, em análises do chá verde de diferentes marcas comercializados no Brasil encontraram também a cafeína e *epigalocatequina*, divergindo na presença da EGCG. Entretanto, pode se observar com esses dados que os chás verdes comercializados no Brasil apresentam grande variação na sua composição fitoquímica.<sup>16,17</sup> Consequentemente, isso repercute na efetividade terapêutica desta bebida.

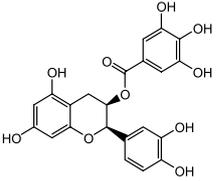
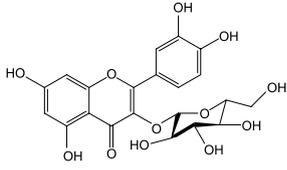
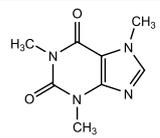
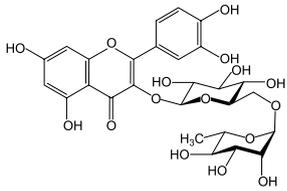
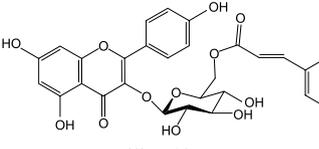
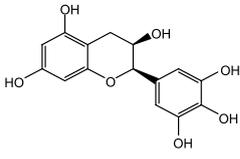
Os componentes fitoquímicos podem variar de acordo com as práticas agrônômicas, época do ano, espécie, clima, e

**Tabela 1.** Análise fitoquímica do extrato de chá verde

Testes fitoquímicos	Observações	Resultados
Alcaloides	Presença de precipitado vermelho alaranjado no tubo de ensaio	+
Antraquinonas	As cores vermelhas, violeta ou rosa não foram formadas na camada aquosa	-
Glicosídeos	Presença de anel marrom no tubo de ensaio	+
Saponinas	Formação de bolhas de espuma	+
Taninos	Presença de precipitado preto-azulado	+
Terpenoides	Aparência de cor marrom avermelhada	+

Legenda: (+): presença de fitoquímicos, (-): ausência de fitoquímicos

**Tabela 2.** Identificação de componentes do extrato de chá verde por CLAE-EM, IES-EM<sup>+</sup> e IES-EM<sup>-</sup>

t <sub>R</sub> (min.)	[M-H] <sup>-</sup>	[M+H] <sup>+</sup>	Ions fragmentos [M+H]	Composto	MMcalc	MMreg (MS)
22,2	441,11	443,04	273	 Epicatequina 3-galato	441,0821	441,0816
22,7		465,09	487 (+Na), 303	 Quercetina-3-O-glicosídeo	463,0900	463,0876
23,0	-	195,03		 Cafeína	194,19	-
27,4	609	611	301	 Rutina	609,1417	609,1455
29,9	593	595,13	287, 471, 449	 Tilirosídeo	593,1344	593,1295
				 Epigallocatequina*	305,0661	305,0770

\*Detectado somente no extrato.

idade das flores.<sup>18</sup> Neste sentido, vale ressaltar a importância do controle de qualidade dos produtos comercializados e no seu processo de produção.

Pode ser observado na figura 1 que durante as quatro semanas os componentes do extrato do chá verde mostraram pouca degradação, mantendo-se estáveis. Após quatro semanas, a cafeína, a epicatequina e a rutina sofreram degradação, com redução de 2,4% a 2,9% nas áreas dos picos, respectivamente. A estabilidade da catequina pode ser influenciada pelo pH, temperatura, disponibilidade de oxigênio, presença de íons metálicos e também concentração de outros ingredientes ativos.<sup>19</sup>

A estabilidade do extrato de chá verde foi anteriormente

analisada por SU e colaboradores<sup>20</sup> ao adicionarem o extrato em bebidas. No mínimo 50% dos componentes presentes no extrato foram degradados no primeiro mês de armazenamento à temperatura ambiente. A estabilidade das catequinas e da cafeína presentes em infusões do chá verde foram avaliadas imediatamente após o preparo, após 24 horas de armazenamento em temperatura ambiente, e em geladeira, e mesmo assim, não apresentaram diferenças significativas.<sup>21</sup> Em amostras de oito folhas comerciais de chá verde armazenadas a 20 °C, e amostradas em uma semana e um, dois, quatro e seis meses, houve a diminuição progressiva das catequinas, em especial das mais abundantes, EGCG e EGC.<sup>8</sup>

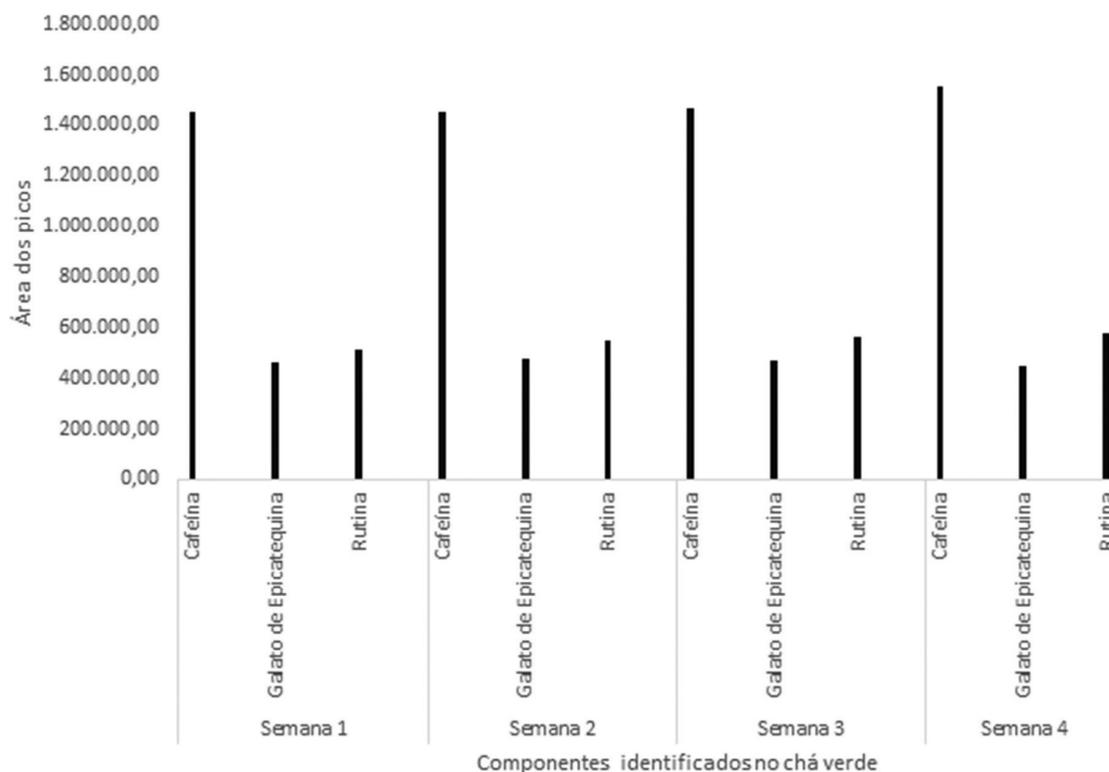


Figura 1. Estabilidade das concentrações dos componentes do chá verde, em relação a sua área de pico

## 4. Conclusão

Os dados obtidos neste estudo indicam que o chá verde (Viva Natureza®) comercializado no Brasil possui em sua composição cafeína, epicatequina galato e epigallocatequina, além de metabólitos secundários como alcaloides, glicosídeos, saponinas, taninos e terpenoides. As catequinas e a cafeína se mantiveram estáveis no extrato do chá verde armazenado à temperatura ambiente por um mês, demonstrando que essa formulação garante a conservação das propriedades biológica das folhas. Dessa forma, podemos concluir que o chá verde é uma planta rica em catequinas e contém metabólitos secundários (que podem apresentar função antinutricional) em sua composição, sendo assim, é necessária a realização de estudos que se proponham a identificar e quantificar esses fitoquímicos, além de avaliar o seu uso terapêutico.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e CAPES pelos auxílio financeiro (CNPq #406427/2018-6) e pelas bolsas de estudo concedidas.

## Referências Bibliográficas

- Zhu, J.; Cai, R.; Tan, Y.; Wu, X.; Wen, Q.; Liu, Z.; Ouyang, S. H.; Yin, Z.; Yang, H.; Preventive consumption of green tea modifies the gut microbiota and provides persistent protection from high-fat diet-induced obesity. *Journal of Functional Foods* **2020**, *64*, 103621. [Crossref]
- Saeed, M.; Naveed, M.; Arif, M.; Kakar, M. U.; Manzoor, R.; Abd El-Hack, M. E.; Alagawany, M.; Tiwari, R.; Khandia, R.; Munjal, A.; Karthik, K.; Dhama, K.; Iqbal, H. M. N.; Dadar, M.; Sun, C.; Green tea (*Camellia sinensis*) and L-theanine: Medicinal values and beneficial applications in humans—A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2017**, *95*, 1260. [Crossref] [PubMed]
- Gonçalves, M. D. S.; Macêdo, A. P. A.; Izabel, J. D.; Couto, R. D.; Medeiros, J. M. B.; Estudo Prospectivo sobre Preparações Medicinais do Chá Verde. *Cadernos de Prospecção* **2020**, *13*, 823. [Crossref]
- Lorenzo, J. M.; Munekata, P. E. S.; Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in food. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **2016**, *6*, 709. [Crossref]
- Liu, Y.; Luo, L.; Liao, C.; Chen, L.; Wang, J.; Zeng, L.; Effects of brewing conditions on the phytochemical composition, sensory qualities and antioxidant activity of green tea infusion: A study using response surface methodology. *Food Chemistry* **2018**, *269*, 24. [Crossref] [PubMed]
- López-Gutiérrez, N.; Romero-González, R.; Plaza-Bolaños, P.; Martínez Vidal, J. L.; Garrido Frenich, A. Identification and quantification of phytochemicals in nutraceutical products from green tea by UHPLC-Orbitrap-MS. *Food Chemistry* **2015**, *173*, 607. [Crossref] [PubMed]
- Brito, H. O.; Noronha, E. P.; França, L. M.; Brito, L. M. O.; Prado, M. S.-A.; Análise da composição fitoquímica do extrato

- etanólico das folhas da *Annona squamosa* (ATA). *Revista Brasileira de Farmácia* **2008**, *89*, 180. [[Link](#)]
8. Samadi, S.; Raouf Fard, F.; Phytochemical properties, antioxidant activity and mineral content (Fe, Zn and Cu) in Iranian produced black tea, green tea and roselle calyces. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* **2020**, *23*, 101472. [[Crossref](#)]
  9. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA.; Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 18, de 04 de abril de 2014. Brasília, 2014. Disponível em:< [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0018\\_04\\_04\\_2014\\_rep.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0018_04_04_2014_rep.pdf)> Acesso em: 01 setembro 2021.
  10. Barbosa, W. L. R., Quignard, E., Tavares, I. C. C., Pinto, L. N., Oliveira, F. Q., Oliveira, R. M.; Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. *Revista científica da UFPA* **2004**, *4*, 1.
  11. Matsui, Y.; Kumagai, H.; Masuda, H.; Antihypercholesterolemic activity of catechin-free saponin-rich extract from green tea leaves. *Food Science and Technology Research* **2006**, *12*, 50. [[Crossref](#)]
  12. Zhu, Y.; Shao, C. Y.; Lv, H. P.; Zhang, Y.; Dai, W. D.; Guo, L.; Tan, J. F.; Peng, Q. H.; Lin, Z.; Enantiomeric and quantitative analysis of volatile terpenoids in different teas (*Camellia sinensis*). *Journal of Chromatography A* **2017**, *1490*, 177. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  13. Potrickos, R.; Kletcke, V.; Locatelli, C.; Zancanaro, V.; Santos, P.; Determinação de fenóis totais em infusões aquosas de chá verde (*Camellia sinensis*) e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) preparada na forma de chimarrão. *Revista Interdisciplinar de Estudos em Saúde* **2013**, *1*, 27. [[Crossref](#)]
  14. Liang, Y.; Ma, W.; Lu, J.; Wu, Y.; Comparison of chemical compositions of *Ilex latifolia* Thumb and *Camellia sinensis* L. *Food Chemistry* **2001**, *75*, 339. [[Crossref](#)]
  15. Atoui, A. K.; Mansouri, A.; Boskou, G.; Kefalas, P.; Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry* **2005**, *89*, 27. [[Crossref](#)]
  16. Saito, S. T.; Welzel, A.; Suyenaga, E. S.; Bueno, F.; A method for fast determination of epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin (EC), catechin (C) and caffeine (CAF) in green tea using HPLC. *Food Science and Technology* **2006**, *26*, 394. [[Crossref](#)]
  17. Matsubara, S.; Rodriguez-Amaya, D. B.; Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil. *Food Science and Technology* **2006**, *26*, 401. [[Crossref](#)]
  18. Mamede Filho, D. S.; Oliveira, A. M.; *Anais do IV Seminario Pesquisar*, Goiânia, Brasil, 2015. [[Link](#)]
  19. Ananingsih, V. K.; Sharma, A.; Zhou, W.; Green tea catechins during food processing and storage: A review on stability and detection. *Food Research International* **2013**, *50*, 469. [[Crossref](#)]
  20. Su, Y. L.; Leung, L. K.; Huang, Y.; Chen, Z. Y.; Stability of tea theaflavins and catechins. *Food Chemistry* **2003**, *83*, 189. [[Crossref](#)]
  21. Nishiyama, M. F.; Costa, M. A. F.; da Costa, A. M.; de Souza, C. G. M.; Bôer, C. G.; Bracht, C. K.; Peralta, R. M.; Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): Efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. *Food Science and Technology* **2010**, *30*, 191. [[Crossref](#)]