

Microencapsulación de aceite esencial de pomelo en matriz de alginato-almidón y alginato-sílice

Microencapsulation of grapefruit essential oil in alginate-starch and alginate-silica matrix

Presentación: 06/10/2020

Doctorando:

Liliana Mariel Cáceres

Universidad Tecnológica Nacional. Facultad Regional Resistencia. Argentina
lmarielc@yahoo.com.ar

Director/a:

Ester Chamorro

Co-director/a:

Eliana Paola Dagnino

Resumen

La microencapsulación de aceites esenciales tiene innumerables aplicaciones en la industria. Más aún si a partir de ella se agrega valor en la cadena productiva a materiales que de lo contrario serían residuos o subproductos de bajo precio. En el presente trabajo se estudia la microencapsulación de aceite esencial de pomelo, subproducto del proceso de elaboración de jugos, en matriz de alginato de sodio con agregado de sílice, componente de la cáscara de arroz residuo agrícola de la zona noreste de la Argentina y con almidón. Se realizan comparaciones de Tukey entre las eficiencias y rendimientos porcentuales y los resultados demuestran que no existen diferencias entre las eficiencias que se mantiene en todos los casos sobre el 96% pero se registran diferencias en el rendimiento. También se comparan las liberaciones controladas del aceite esencial de las microcápsulas evidenciando una mejor performance con las matrices que contienen sólido y secas.

Palabras clave: Microencapsulación, Sílice, Almidón, Aceite esencial, Alginato.

Abstract

Microencapsulation of essential oils have many applications in industry. Moreover if from it added value in the production chain to material that would otherwise be waste or by-products of low price. The present work studies the microencapsulation of grapefruit essential oil, a by-product of the juice-making process, in a sodium alginate matrix with added silica, a component of the rice husk, agricultural residue from the northeast of Argentina and with starch. Tukey comparisons are made between efficiency and yield percentage and the results show no differences between the efficiencies that remains in all cases over 96% but differences are seen in yield. The controlled releases of the essential oil from the microcapsules are also compared, showing a better performance with the matrices containing solid and dry.

Keywords: Microencapsulation, Silica, Starch, Essential Oils, Alginate.

Introducción

Los aceites esenciales cítricos tienen innumerables aplicaciones en distintas industrias (Benavidez et al., 2016). El aceite esencial de pomelo se lo utiliza por su aroma, sabor y sus propiedades antimicrobianas, especialmente en la industria alimentaria y perfumería. Sin embargo, presenta alta volatilidad e inestabilidad química en presencia de aire, luz, humedad y altas temperaturas. Una solución a este problema es microencapsular el aceite esencial antes de su uso en alimentos o bebidas para impedir su degradación o pérdida de aroma durante el procesamiento y almacenamiento (Jun-Xia et al., 2012). El proceso de microencapsulación consiste en generar una matriz polimérica que recubre el aceite esencial, al cual protege, y luego

permite su liberación controlada en determinadas condiciones (Hosseini et al., 2013). Los polímeros utilizados generalmente son hidrocoloides (Lupo Pasin et al., 2012), como el alginato de sodio, con propiedades coloidales únicas y una composición química que permiten la gelificación iónica (Draget, et al., 1996). Este método es versátil y simple y se adosa una extrusión (Chan, 2011) por medio de una bomba jeringa (Pasukamonset et al., 2016) para microencapsular aceites esenciales.

Hay varios aditivos que pueden acompañar al alginato para mejorar la liberación del aceite esencial en el tiempo. Entre éstos se encuentran los almidones, modificados o no, que son utilizados para microencapsular además de aceites esenciales, vitaminas y microorganismos (Hoyos-Leiva et al., 2016). De esta manera se ha demostrado que una microcápsula con alginato de sodio y almidón en su matriz puede mantener el recuento de bacterias probióticas en el queso por seis meses (Mirzaei et al., 2012). Otro aditivo que puede usarse en la matriz de alginato es el óxido de sílice o sílica. En un estudio reciente se analiza la liberación controlada de aceite esencial de clavo de olor adsorbido en sílica precipitada y luego microencapsulado en alginato de sodio por el método de emulsificación modificada (Faidi et al., 2019). Otro trabajo muestra la microencapsulación de aceite esencial de eucalipto y aceite esencial de limón, en cápsulas de óxido de sílice como medio para controlar su liberación rápida (Sousa et al., 2014) utilizando metodología de sol-gel.

El uso de la sílice como constituyente de matrices para encapsular es particularmente interesante, ya que se agrega valor a un producto que se obtiene a partir de un residuo abundante de la región noreste de la Argentina (provincias de Corrientes, Entre Ríos, Santa Fe, Formosa y Chaco) como lo es la cáscara de arroz (Dagnino et al., 2013).

El objetivo de este trabajo es comparar la eficiencia, rendimiento y liberación controlada de la microencapsulación del aceite esencial de pomelo en matrices de alginato adicionando almidón sin modificar y sílice, esta última proveniente del tratamiento de la cáscara de arroz.

Desarrollo

Reactivos

Se usó alginato de sodio (Aldrich, PM de 120000 a 190000 g/mol), cloruro de calcio anhidro (Cicarelli p.a.). El aceite de pomelo, provisto por Mager (Corrientes, Argentina) con contenido de 93% g/g de limoneno analizado por GC masa en estudios anteriores donde se demostró que inhibe el crecimiento de bacterias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum* y *Lactobacillus plantarum* (Vasek et al., 2015). Almidón soluble de maíz (Biopack). Sílice obtenida por otro grupo del mismo Centro de investigación a través de un proceso de deslignificación con el método soda-etanol de la cáscara de arroz, en el contexto de una biorrefinería, con un máximo de 99,7% de inorgánicos (sílice o silicatos) (Dagnino et al., 2017).

Preparación de las microcápsulas

Se preparó una solución al 1% p/p y una solución de cloruro de calcio anhidro en agua ionizada al 2% p/v. Luego, 3 grupos de emulsiones: el primero con 30 g de la solución de alginato y aceite de pomelo con una carga del 10% p/p sin agregado de sólido, el segundo y tercer grupo se preparó incorporando almidón y sílice respectivamente con concentraciones de 0,5; 0,8 y 1% p/p. Se formaron las emulsiones agitando con un homogenizador DLAB, Modelo D-500 a 2000 rpm durante 3 minutos para lograr la distribución homogénea. Se formaron las cápsulas a través de una extrusión con una bomba jeringa APEMA PC 11 UBT, goteando la emulsión sobre la solución de cloruro de calcio a 5 cm de altura, con caudal de 90 mL/h y diámetro de salida de la gota de 0,21 mm. Estas variables de proceso se definieron en trabajos anteriores. El tiempo de reticulación fue de 1 hora. Luego se filtraron las cápsulas húmedas y se lavaron con alcohol etílico para eliminar el aceite residual y se registró su peso. Esta metodología se repitió para obtener otro grupo de microcápsulas en iguales condiciones a las que se les trató en estufa para secado con vacío a una temperatura de 60°C durante 1 hora.

Características y propiedades

La eficiencia porcentual del aceite esencial de pomelo encapsulado se calculó determinando su concentración con un espectrofotómetro UV/Vis marca METASH modelo UV-5100 y Software METASH MetaSpec a una longitud de onda de 323 nm. Además se verificaron los resultados con cromatografía gaseosa determinando la concentración de limoneno (componente principal del aceite esencial) con un SHIMADZU GC 14B, con columna polar Megabore DB-WAX P/N 125-7032 de 30 m de longitud x 0,53 mm de diámetro interno x 1 µm de espesor, detector FID.

El valor de la eficiencia (E%) se determinó con la ecuación (1). Donde w_1 es la masa de aceite en una masa conocida de microcápsulas que se determina por diferencia de w_2 (masa inicial teórica de aceite agregada) y la masa final medida.

$$E\%=(w_1/w_2)100 \quad (1)$$

Para determinar el rendimiento, se pesaron las microcápsulas (w_m) obtenidas y conociendo la cantidad de principio activo (w_a) y de polímero (w_p) que se empleó para preparar la emulsión, se aplicó la siguiente ecuación (2):

$$R\% = \frac{w_m}{(w_a + w_p)} 100 \quad (2).$$

Se analizaron luego las microcápsulas con un microscopio electrónico (SEM) Jeol 5800 LV.

Se efectuaron pruebas Anova con el método de Tukey para evaluar las diferencias de las medias en pareja con el software Minitab 18 (2017). Se realizaron dos comparaciones: entre grupos tomando como factor al tipo de sólido utilizado y otro intra- grupo tomando como factor a la concentración de sólido utilizada. En ambos análisis se consideraron como variables respuestas a la eficiencia y el rendimiento de la encapsulación.

También se midió la humedad de las microcápsulas pesando alrededor de 1 g de microcápsulas filtradas con y sin sólido antes y después del secado, en todos los casos sin aceite esencial de pomelo. Se utilizó una balanza analítica para la determinación de humedad marca RADWAG modelo PMR50 y se realizaron las mediciones por quintuplicado

Por último se estudió la liberación controlada suspendiendo aproximadamente 0,6 g de microcápsulas filtradas en un Erlenmeyer de 50 mL con 5 mL de alcohol etílico, a temperatura ambiente y agitación continua sobre un agitador orbital. Se extrajeron muestras con reposición en tramos de 10-15-30 minutos primero y luego en intervalos de 24 horas. Las muestras se analizaron en un espectrofotómetro UV con las mismas condiciones especificadas anteriormente. Esta liberación controlada se repite con cada grupo de microcápsulas húmedas y con secado.

Resultados

La emulsión preparada con la solución de alginato más 10% w/w de aceite de pomelo mostró estabilidad luego de una hora de reposo, sin separación de fases. Similares resultados obtuvieron Levic, et al. (2015) con concentraciones de aceite de pomelo de 5 y 10% w/v. Las microcápsulas húmedas obtenidas fueron de forma esférica y homogénea y de diámetro de hasta 2mm (Figura 1), mientras que después de secadas su diámetro disminuyó aproximadamente a un tercio del anterior.

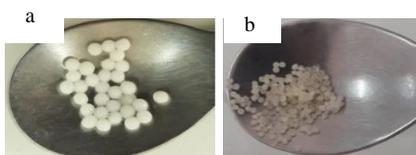


Figura 1: Imágenes de las microcápsulas obtenidas: (a) húmedas, (b) secas sin sólidos.

Características y propiedades

Los valores de rendimiento y eficiencia porcentuales de cada tratamiento se muestran en la tabla 1. La mayor eficiencia se dio en matrices de alginato más sílice, que puede ser atribuido a la porosidad del sólido. El rendimiento máximo se da en matrices de alginato sin sólido. Algunos autores explican la retención de aromas en silicatos por un atrapamiento en microrregiones porosas (Ashraf et al., 2015). También fue posible la encapsulación con agregado de almidón con eficiencias y rendimientos similares a la de sílice. Otros autores también han obtenido buenos resultados en la encapsulación de extracto de la hoja de guayaba en alginato más almidón aunque no indican valores de eficiencia ni rendimiento (Rehan et al., 2019) y sin interferir el almidón con el alginato en la matriz.

Sólido	% sólido p/p	E %	R %
Sílice	0,5	97,01±1,20	47,81±2,03
	0,8	96,83±0,71	55,63±0,58
	1	98,13±0,43	56,38±0,38
Almidón	0,5	97,08±0,75	54,94±2,69
	0,8	96,62±1,34	55,25±2,91
	1	97,36±1,09	59,74±2,71
Sin sólido	-	97,5±2,02	61,51±1,52

Tabla 1: Promedio y desvío estándar medio de eficiencia (E%) y rendimiento (R%) realizados por quintuplicado en cada caso. Microcápsulas obtenidas con alginato de sodio (1% p/v) reticuladas con cloruro de calcio (7,5% p/v) con carga de 10% p/p de aceite esencial de pomelo.

El análisis estadístico de comparación de medias aplicando el método de Tukey con $\alpha = 0,05$ se muestra en la tabla 2. Se puede ver que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los rendimientos de microcápsulas con distintas concentraciones de sílice, observando que la muestra que posee 0,5% p/p es distinta y de menor valor que la que posee 0,8 y

1% p/p del sólido. Con respecto a las microcápsulas con almidón, existen diferencias significativas entre los tratamientos de 1 y de 0,5% p/p, siendo este último de menor rendimiento.

Sólido	% sólido p/p	R%	Agrupación*		Valor p Anova	E%	Agrupación*	Valor p Anova
sílice	1	56,38	A		0,000	98,13	A	0,064
	0,8	55,63	A			97,01	A	
	0,5	47,81		B		96,83	A	
almidón	1	59,74	A		0,031	97,36	A	0,568
	0,8	55,25	A	B		97,08	A	
	0,5	54,94		B		96,62	A	

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

Tabla 2. Comparación de medias de rendimiento porcentual (R%) y eficiencia porcentual (E%) entre los distintos tratamientos de matrices de microcápsulas con sílice y almidón.

Por otra parte en los valores de eficiencia no se observan diferencias significativas en ningún caso ($p > 0,05$). El agregado de sólidos a la matriz no afectó a la eficiencia de la microcápsula pero sí al rendimiento del proceso, esto puede deberse a que el sólido deja intersticios dentro de la red de alginato reticulado por donde puede perder agua fácilmente.

En las imágenes SEM con distintas magnificaciones (Figura 2) se puede apreciar las tres microcápsulas obtenidas con y sin sólido. Las superficies porosas muestran considerable cantidad de bultos que indican la presencia de aceite esencial de pomelo en liberación. Además se puede observar a 700x la estructura como esponja, que indica la reticulación del alginato de sodio en todos los casos. Estos resultados son consistentes con los obtenidos por Soliman et al. (2013) en la encapsulación de aceite esencial de clavo de olor y timol con alginato de sodio.

La humedad porcentual promedio de las microcápsulas de cada grupo se muestra en la tabla 3. Esta pérdida de agua puede ser una de las causas del bajo rendimiento del proceso de obtención de las microcápsulas. Las microcápsulas con sólido tienen menor contenido de agua, los sólidos podrían formar canales por donde puede escurrir el agua más fácilmente, también reservan agua dentro de sus poros por lo que luego del secado finalmente quedan con mayor contenido de agua.

Se comparó la liberación controlada del aceite esencial de pomelo en microcápsulas elaboradas en 6 condiciones diferentes: sin sólido, con sílice (0,8% p/p) y con almidón (1% p/p) húmedos y con secado. Se eligieron los tratamientos con sólido que resultaron con un rendimiento mayor. En todos los casos se utilizó un medio alcohólico para facilitar la solubilidad del aceite liberado. Las muestras fueron analizadas por espectrofotometría UV. El porcentaje acumulativo de liberación en función del tiempo para las microcápsulas preparadas se presenta en la Figura 3. Se puede observar que el perfil de liberación posee dos fases en todos los casos: una más rápida al comienzo, o de “explosión” inicial como lo observan otros autores (Siepmann et al., 2002). Perfiles similares de liberación han obtenido otros autores: con aceite de eucalyptus (Noppakundiligrat et al., 2015). Con respecto a las microcápsulas húmedas (Figura 2: a_1 , b_1 y c_1) todas indican bajo contenido de aceite esencial superficial (tiempo 0) relacionado con su alta eficiencia. En cambio, en las secas sin sólido y con almidón (Figura 2: a_2 y b_2) la liberación en el tiempo inicial es superior, debido al propio proceso de secado, que comprime la pared al deshidratarla y queda más expuesto el contenido; por lo que el aceite esencial superficial aumenta. En el caso de la microcápsula con sílice seca (Figura 2- c_2) se observa el bajo contenido de aceite superficial, que puede ser por la adsorción del aceite dentro del sólido. En las matrices sin sólido la tasa de liberación llega al 90% en 30 minutos, siendo mucho más rápida que la informada por Hosseini et al., (2013) de 60 a 78% en 9 horas, con 1 al 3% v/v de carga de aceite. Esto puede ser por la mayor carga de aceite contenido en la microcápsula que indicaría una difusión de mayores cantidades de moléculas de aceite por poro (Banerjee et al., 2012). La liberación total del aceite microencapsulado (superior al 90%) en microcápsulas húmedas se obtuvo entre 200-360 horas de liberación continua, estos datos no se muestran en el gráfico por la escala tomada. En las microcápsulas con sólido se observa una menor velocidad de liberación en todos los casos, siendo más evidente en las secas (con pendientes más suaves), que puede deberse también a las moléculas de aceite esencial dentro de la porosidad del sólido y a la falta de agua como vehículo para la liberación.

	H% sin secar	H% con secado
Sin sólido	87,91±1,70	7,28±1,04
Con sílice	81,49±2,10	53,48±3,16
Con almidón	81,37±1,24	23,58±2,72

Tabla 3. Humedad porcentual de las microcápsulas húmedas y con secado en estufa de vacío a 60°C durante 1 hora.

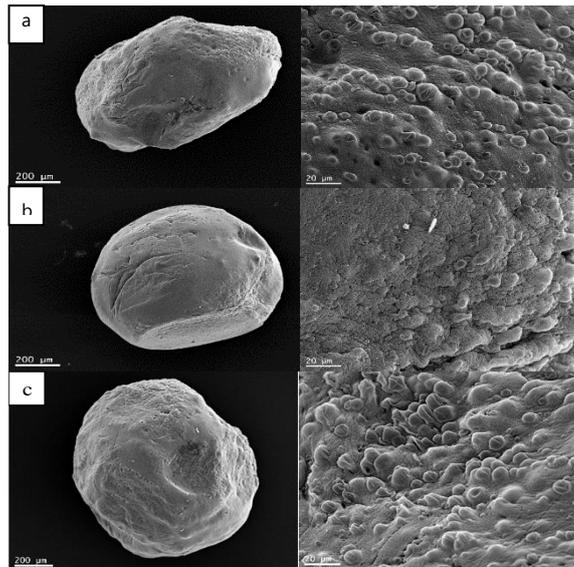


Figura 2: Imágenes SEM de las microcápsulas con aceite esencial de pomelo: (a) sin sólido, (b) con sílice y (c) con almidón. Las imágenes a la izquierda corresponden a un aumento de 75x y las de la derecha a 700x.

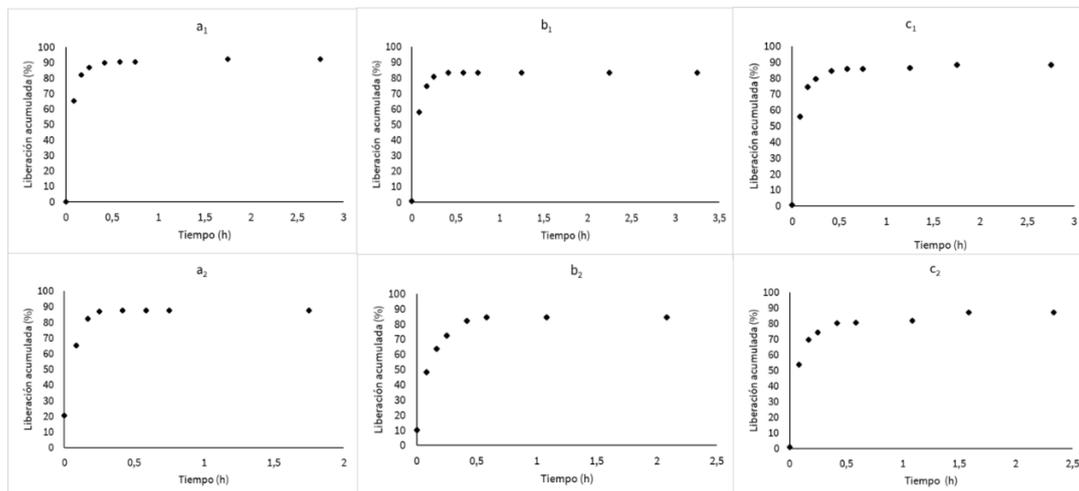


Figura 3: Liberación controlada de microcápsulas húmedas sin sólido (a_1), con sílice (b_1) y con almidón (c_1); y de microcápsulas con secado sin sólido (a_2), con almidón (b_2) y con sílice (c_2)

Conclusiones:

Se logró comparar las eficiencias y rendimiento de microcápsulas elaboradas con matrices de alginato con agregado de almidón y sílice en distintas proporciones. Resultando evidente que los tratamientos con 0,8% p/p de sílice y 1% p/p de almidón se distinguían de los demás por su mayor rendimiento, pero igualmente menor a la microcápsula sin sólidos. No se evidenciaron diferencias significativas en la eficiencia de los tratamientos. Se probó un secado al vacío el cual sirvió para disminuir el tamaño de las microcápsulas y mejorar su manipulación. Las gráficas de liberación controlada del aceite esencial de pomelo de las microcápsulas muestran que las microcápsulas con matrices con sólido agregado evidencian menor velocidad de liberación, y este efecto se observa aún más en microcápsulas con secado aunque con mayor aceite superficial. Son resultados prometedores para el uso de productos como la sílice proveniente de procesos que tienden al aprovechamiento total de la materia prima como en una biorrefinería.

Referencias

Ashraf, M. A., Khan, A. M., Sarfraz, M., & Ahmad, M. (2015). Effectiveness of silica based sol-gel microencapsulation method for odorants and flavors leading to sustainable environment. *Frontiers in chemistry*, 3, 42. <https://doi.org/10.3389/fchem.2015.00042>

Banerjee, S., Chattopadhyay, P., Ghosh, A., Goyary, D., Karmakar, S., and Veer, V. (2013). Influence of process variables on essential oil microcapsule properties by carbohydrate polymer–protein blends. *Carbohydrate polymers*, 93(2), 691-697. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.01.028>

Benavides, S., Cortés, P., Parada, J. y Franco, W. (2016). Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. *Food chemistry*, 204, 77-83. doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.104

Chan, E. S. (2011). Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. *Carbohydrate polymers*, 84(4), 1267-1275. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.01.015>

Dagnino, E. P., Chamorro, E. R., Romano, S. D., Felissia, F. E., & Area, M. C. (2013). Optimization of the acid pretreatment of rice hulls to obtain fermentable sugars for bioethanol production. *Industrial Crops and Products*, 42, 363-368. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.019>

Dagnino, E. P., Felissia, F. E., Chamorro, E., & Area, M. C. (2017). Optimization of the soda-ethanol delignification stage for a rice husk biorefinery. *Industrial Crops and Products*, 97, 156-165. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.12.016>

Draget, K. I., Skjåk-Bræk, G., & Smidsrød, O. (1997). Alginate based new materials. *International journal of biological macromolecules*, 21(1-2), 47-55. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(97\)00040-8](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(97)00040-8)

Faidi, A., Lassoued, MA, Becheikh, MEH, Touati, M., Stumbé, JF y Farhat, F. (2019). Aplicación de alginato de sodio extraído de un alga parda tunecina *Padina pavonica* para encapsulación de aceites esenciales: preparación, caracterización y estudio de liberación in vitro de microesferas. *Revista internacional de macromoléculas biológicas*, 136, 386-394. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.023>

Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M., and Farahmandghavi, F. (2013). Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydrate polymers*, 95(1), 50-56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.031>

Hoyos-Leyva, J. D., Bello-Pérez, L. A., Alvarez-Ramirez, J., & Garcia, H. S. (2018). Microencapsulation using starch as wall material: A review. *Food reviews international*, 34(2), 148-161. <http://dx.doi.org/10.1080/87559129.2016.1261298>

Jun-xia, X., Hai-yan, Y. y Jian.Y. (2011). Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chemistry*, 125, 1267–1272. doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.063

Lević, S., Lijaković, I. P., Dordević, V., Rac, V., Rakić, V., Knudsen, T. S., Pavlović, V., Bugarski, B. and Nedović, V. (2015). Characterization of sodium alginate/d-limonene emulsions and respective calcium alginate/d-limonene beads produced by electrostatic extrusion. *Food Hydrocolloids*, 45, 111-123. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.10.001>

Lupo Pasin, B., González Azón, C. y Maestro Garriga, A. (2012). Microencapsulación en alginato para alimentos. *Tecnologías y aplicaciones. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3(1), 130-151

Mirzaei, H., Pourjafar, H., & Homayouni, A. (2012). Effect of calcium alginate and resistant starch microencapsulation on the survival rate of *Lactobacillus acidophilus* La5 and sensory properties in Iranian white brined cheese. *Food Chemistry*, 132(4), 1966-1970. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.033>

Noppakundilokrat, S., Piboon, P., Graisuwan, W., Nuisin, R., and Kiatkamjornwong, S. (2015). Encapsulated eucalyptus oil in ionically cross-linked alginate microcapsules and its controlled release. *Carbohydrate polymers*, 131, 23-33. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.054>

Pasukamonset, P., Kwon, O. y Adisakwattana, S. (2016). Alginate-based encapsulation of polyphenols from *Clitoria ternatea* petal flower extract enhances stability and biological activity under simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 61, 772-779. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.039

Rehan, M., Ahmed-Farid, O. A., Ibrahim, S. R., Hassan, A. A., Abdelrazek, A. M., Khafaga, N. I., & Khattab, T. A. (2019). Green and sustainable encapsulation of Guava leaf extracts (*Psidium guajava* L.) into alginate/starch microcapsules for multifunctional finish over cotton gauze. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(22), 18612-18623. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b04952>

Siepmann, J., Faisant, N., and Benoit, J. P. (2002). A new mathematical model quantifying drug release from bioerodible microparticles using Monte Carlo simulations. *Pharmaceutical research*, 19(12), 1885-1893. <https://doi.org/10.1023/A:1021457911533>

Soliman, E. A., El-Moghazy, A. Y., El-Din, M. M., and Massoud, M. A. (2013). Microencapsulation of essential oils within alginate: formulation and in vitro evaluation of antifungal activity. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, 3(01), 48. <http://dx.doi.org/10.4236/jeas.2013.31006>

Sousa, FL, Santos, M., Rocha, SM y Trindade, T. (2014). Encapsulación de aceites esenciales en microcápsulas de SiO₂ y comportamiento de liberación de compuestos volátiles. *Revista de microencapsulación*, 31 (7), 627-635. <https://doi.org/10.3109/02652048.2014.911376>