■ Teresa Mencherini, Patrizia Picerno, Rita P. Aquino, Lorenzo Zappa– *Master in Scienza e Tecnologia Cosmetiche, Università degli Studi di Salerno*
Anna Maria Motta, Robin Variati, Angelo Cossu - *Variati Srl*

Cosmetico polifunzionale a base di lipoproteine, lipoamminoacidi e olio di avocado

La ricerca nel settore cosmetico è attualmente focalizzata sullo sviluppo di nuove materie prime e su strategie formulative innovative sia dal punto di vista dell'efficacia sia dal punto di vista tecnologico. Molto attiva è la ricerca di sostanze in grado di soddisfare non solo le esigenze puramente tecniche, emulsionanti, additivi reologici ecc., ma anche di apportare funzioni cosmetiche specifiche, come l'efficacia contro le manifestazioni visibili dell'invecchiamento cutaneo

Sempre più spesso alla base di un cosmetico innovativo o di una nuova generazione di ingredienti con proprietà inedite c'è la costante collaborazione dell'industria con i centri di ricerca e le Università. Nel settore degli emulsionanti, uno dei campi in cui la ricerca è molto attiva, i progressi nella ricerca e le nuove idee tecnico-scientifiche spingono sempre più, da una parte verso emulsionanti di origine naturale, privi di ossido di etilene (PEG-FREE) in grado di formare emulsioni a struttura biomimetica e, dall'altra, verso lo sviluppo di prodotti polifunzionali, capaci di funzionalità multipla. In questo contesto si inserisce lo studio di un nuovo prodotto di derivazione naturale, bioemulsionante polivalente da olio di avocado, che risponde alle richieste del mercato: Avogelia (*Persea Gratissima* - Avocado) Oil, Caprylic/Capric Triglyceride, Aqua, Glycerin, Potassium Cocoyl Hydrolyzed Rice Protein, Sodium Cocoyl Rice Amino Acids, Tocopheryl Acetato) della società Variati Srl (Concorezzo, MB).

Il principale componente di Avogelia è l'olio di avocado, presente in percentuali elevate (circa 70%), che interagisce nel prodotto con lipoproteine e lipoamminoacidi prodotti dalla condensazione degli acidi grassi dell'olio di cocco con le proteine e gli amminoacidi del riso. L'olio di avocado, ottenuto per pressione a basse temperature e ulteriormente raffinato per esigenze cosmetiche, mantiene la maggior parte dei costituenti del frutto: sostanzialmente triacilgliceroli, acidi grassi e circa l'1,5% di insaponificabile. L'olio di avocado è conosciuto per le ottime caratteristiche eudermiche e sebo-simili, la proprietà di penetrare facilmente nella cute e facilitare l'assorbimento di altri attivi, grazie alla particolare composizione in acidi grassi insaturi (oleico, palmitico, linoleico, linolenico e palmitoleico),[1,2] responsabili anche delle proprietà nutrienti e restitutive.[3] La frazione insaponificabile dell'olio di avocado (Avocadin®) è ricca di tocoferoli, carotenoidi, fitosteroli nonché selenio ad azione antinfiammatoria, emolliente, idratante; tali componenti sono in grado di conferire alla pelle un'eccellente protezione nei confronti di agenti nocivi (radicali liberi e radiazioni UV)[4,5] e stimolare l'attività dei fibroblasti del derma, promuovendo la sintesi di collagene

e, allo stesso tempo, inibendo le collagenasi, enzimi che degradano il collagene cutaneo.[6,7] Tutto ciò si traduce in un'efficace azione di stimolo del rinnovamento cutaneo, con conseguente incremento dell'idratazione e dell'elasticità della pelle, che è alla base dell'uso dell'olio di avocado nella composizione di numerosi prodotti solari e in cosmetici destinati alle pelli mature, devitalizzate e disidratate. Avogelia si presenta come un prodotto polifunzionale che, grazie alle lipoproteine e ai lipoamminoacidi, ha un'azione emulsionante e, grazie ai componenti dell'olio di avocado, svolge azione eudermica, nutriente, idratante ed emolliente. Mediante l'interazione con le lipoproteine e i lipoamminoacidi, la componente oleosa di Avogelia, costituita non solo dall'olio di avocado ma anche dal Caprylic/Capric Triglyceride, risulta disperdibile in acqua impartendo al prodotto caratteristiche di emulsionante O/A. Avogelia rappresenta, dunque, un ingrediente polivalente e di origine naturale, del tutto privo di composti etossilati (PEG-free) e derivati del petrolio, con elevata tollerabilità cutanea, adatto anche per le formulazioni destinate alle pelli più sensibili. La struttura biomimetica delle emulsioni ottenute e il contenuto in lipidi vegetali conferiscono al prodotto, inoltre, particolari caratteristiche sensoriali oltre all'alta biocompatibilità.

Studio analitico del prodotto

Nella ricerca, condotta in collaborazione tra Variati Srl e Master in Scienza e Tecnologia Cosmetiche dell'Università degli Studi di Salerno, in un precedente lavoro è stato affrontato lo studio analitico del prodotto (pH, viscosità, stabilità in centrifuga, analisi termica, microstruttura) e sistematico delle principali proprietà di Avogelia[8] quando utilizzato nella formulazione di emulsioni O/A. In questo lavoro vengono descritte alcune importanti tappe successive della ricerca:

- la valutazione della qualità emulsionante e capacità del prodotto di emulsionare elevate percentuali di una serie di trigliceridi vegetali e lipidi eco-approvati;
- l'analisi delle caratteristiche chimico-fisiche e strutturali (pH, viscosità, stabilità in centrifuga, distribuzione dimensionale delle particelle della fase dispersa e microstruttura) delle emulsioni preparate;
- la valutazione dell'influenza dell'aggiunta di fattori di consistenza (come Cetyl Alcohol) sulle caratteristiche delle emulsioni;
- lo sviluppo di formulazioni fluide (latte spray) e consistenti (base per un contorno occhi) e la valutazione della loro stabilità nel tempo.

Tab. 1 – Schemi formulativi di emulsioni a caldo a base di Avogelia

FORMULE-BASE A CALDO	n° 1	n° 2	n° 3	n° 4	n° 5	n° 6
	%	%	%	%	%	%
Avogelia	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Lipide*	-	3.0	30.0	3.0	-	6.0
Cetyl Alcohol	-	-	-	2.0	-	2.0
Pemulen TR-2	-	-	-	-	0.2	-
Glyceryl Stearate						2.0
Dimethicone						1.0
Aqua	q.b.100	q.b.100	q.b.100	q.b.100	q.b.100	q.b.100
Xanthan gum	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
NaOH soluz 10%					q.b. pH 5.5	

* Vedi Tab. 3.

Tab. 2 – Controlli chimico-fisici e organolettici di emulsioni a base di Avogelia

CONTROLLI IMMEDIATI (t=48h) EFFETTUATI SULLE EMULSIONI A BASE DI Avogelia						
	n°1	n°2	n°3	n° 4	n° 5	n°6
pH	6.52	6.29	6.67	6.38	5.29	6.28
Centrifuga T_{amb} 4000rpm per 30 minuti	Stabile	Stabile	Stabile	Stabile	Stabile	Stabile
Viscosità in mPa.s						
Viscosità in mPa.s girante L2 5rpm	1650.6	1847.2	2114.4	3195.5	546.9	9712.1
d_{50} in mm (SPAN)	1.935 (1.14)	2.448 (1.17)	3.281 (2.5)	4.074 (9.45)	1.617 (2.3)	2.626 (8.1)
Giudizio finale sul prodotto						
Struttura	Emulsione fluida	Emulsione fluida	Emulsione fluida	Emulsione semifluida	Emulsione spray	Emulsione consistente
Colore	Bianco					
Profumo	Caratteristico					
Skin feel	Buona spalmabilità, assorbimento rapido, sensazione di idratazione sulla pelle, gradevolezza al tatto					

Tab. 3 – Elenco dei lipidi utilizzati per le formulazioni-tipo n° 2 e n° 4

Lipidi vegetali "classici"	Lipidi di origine naturale "eco-approvati"
Olea Europea Prunus Amygdalus Dulcis Macadamia Ternifolia Butyrospermum Parkii	Refined Babassu Butter (Orbignya Oleifera Seed Oil) Vegetable Petrolatum VP 170 (Ricinus Communis (Castor) Seed Oil, Hydrogenated Castor Oil, Cera Alba, Copernicia Cerifera (Carnauba) Wax) Vegetable Petrolatum L 25 (Caprylic/Capric Triglyceride, Tirolein) Macadamia Butter (Macadamia Ternifola Seed Oil, Hydrogenated Vegetable Oil) Sensolive LD (Hydrogenated Octyl Olivate, Hydrogenated Olive Oil Unsaponifiables) Crambisol (Crambe Abyssinica seed Oil, Phytosterols Esters) OH-Isostearyl (Isostearyl Lactate) IS Avocadato (Isostearyl Avocadate)

Materiali e metodi

Le emulsioni O/A a base di Avogelia sono state preparate a caldo (65°C) con un metodo di emulsionamento diretto, omogenizzando le

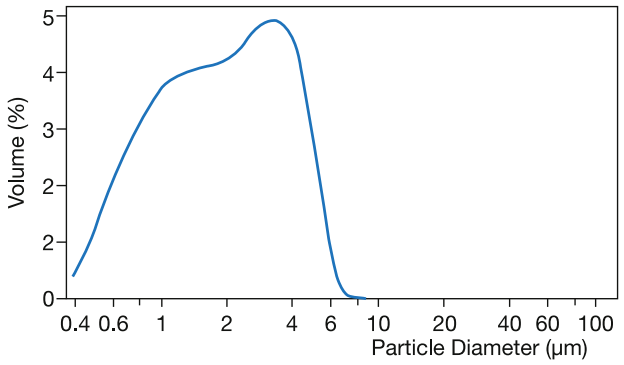

Fig.1 – Analisi della distribuzione dimensionale (LLS) della fase dispersa dell'emulsione-base n° 1 (AVOGELIA 15%), popolazione monodispersa.

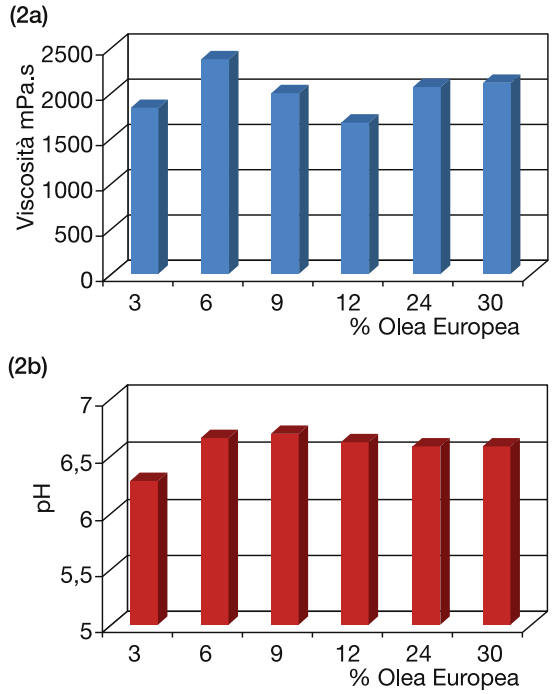

Fig. 2- Andamento di viscosità (2a) e pH (2b) in emulsioni con AVOGELIA (15%), Xanthan Gum (0.3%) e percentuali crescenti di Olea Europea.

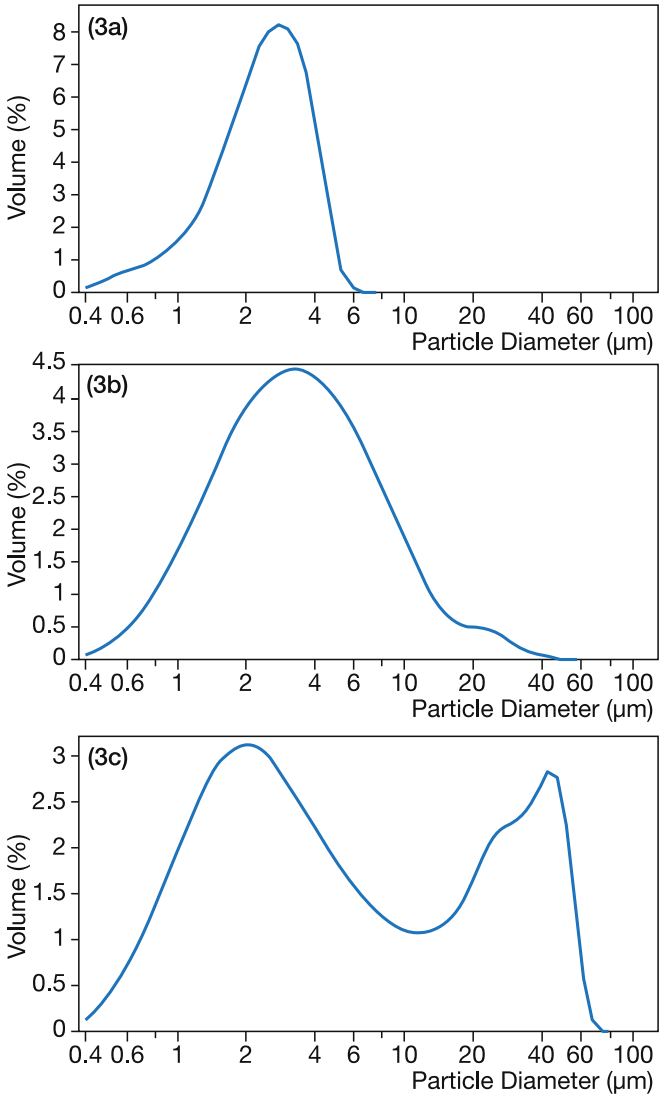

Fig. 3- Analisi della distribuzione dimensionale (LLS) della fase dispersa di emulsioni con AVOGELIA e Olea Europea al 3% (formulazione-tipo n° 2, 3a) e al 30% (formulazione-tipo n° 3, 3b), popolazioni monodisperse; in confronto con formulazione-tipo n° 4 (3c), curva bimodale.

due fasi al turboemulsore (Silverson SL2T) per 30 minuti e continuando la miscelazione manualmente fino a completo raffreddamento. La percentuale di emulsionante utilizzata è del 15% in presenza di un modificatore reologico naturale (Xanthan gum) allo 0,3% alla dispersione base così ottenuta (formulazione n° 1, tab. 1) sono stati aggiunti i lipidi in percentuale variabile dal 3 al 30% con o senza fattore di consistenza (Cetyl Alcohol). Per tutte le emulsioni preparate sono state valutate le caratteristiche organolettiche e determinati pH, viscosità e stabilità in centrifuga (dopo 48 h dalla preparazione) utilizzando come strumentazione un pHmetro Mettler Toledo Seven Easy, un viscosimetro Visco Basic Plus, Fungilab S.A., una centrifuga Labofuge 2000 (Heraeus), seguendo lo schema riportato in tabella 2. I tests di stabilità a lungo termine sono stati condotti secondo un protocollo che prevede la conservazione a tre differenti temperature (4 °C, 25°C e 40°C) per 3 mesi. A tempi stabiliti (24, 48 e 72 h, 7 e 15 giorni, 1, 2 e 3 mesi) è stato misurato il pH e la viscosità e controllato il comportamento in centrifuga. L'analisi dimensionale e relativa distribuzione dimensionale della emulsioni preparate è stata valutata mediante diffrattometria laser scattering (LLS) a modulo liquido (diffrattometro LS 13 230 Beckman Coulter Inc., Fl, USA) preparando opportunamente i campioni in modo da ottenere un oscuramento compreso tra l'8 e il 12% nella cella di analisi. La distribuzione dimensionale ottenuta è rappresentata da un grafico dell'intensità relativa della luce deviata dalle particelle in varie classi dimensionali. La distribuzione dimensionale è stata elaborata mediante uno specifico software utilizzando il modello matematico di Fraunhofer. Le analisi sono state condotte in triplicato, e i risultati espressi come d_{50} (diametro medio) e come SPAN $[(d_{90} - d_{10})/d_{50}]$, parametro che tiene conto della polidispersività della distribuzione di-

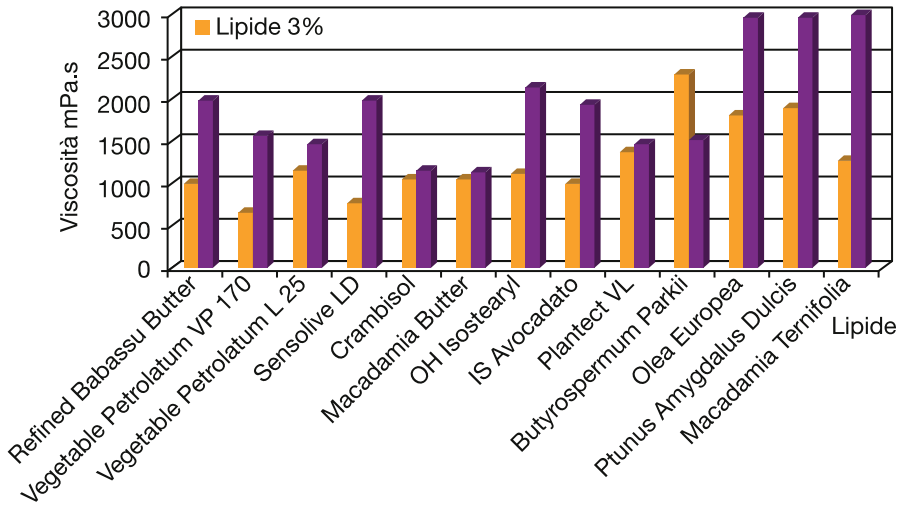

Fig. 4- Confronto tra le viscosità di emulsioni a base di AVOGELIA (15%), Xanthan Gum (0.3%) e lipide in assenza (barra arancione) e in presenza (barra viola) di Cetyl Alcohol.

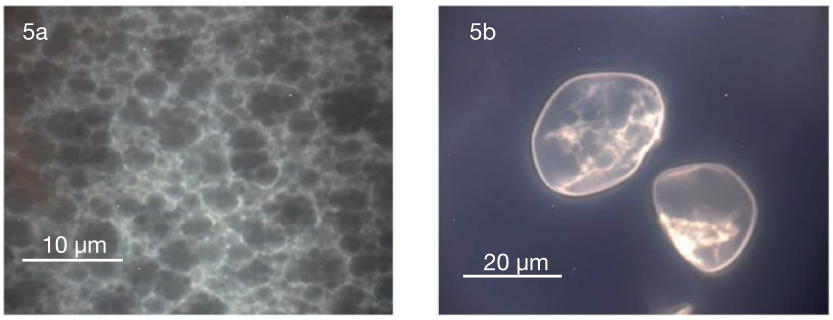

Fig. 5 – Microfotografie della formulazione n° 2 (5a) e n° 4 (5b) in presenza di colorante fluorescente.

mensionale ovvero dello scostamento dal valore medio delle dimensioni del campione; maggiore è il valore di SPAN, maggiore è la disomogeneità della distribuzione dimensionale. L'analisi della microstruttura delle emulsioni è stata effettuata mediante un Microscopio a fluorescenza (Zeiss Axiophot) usando un obiettivo 40x1.4 NA project Apochromat, oil immersion e un filtro DAPI (4,6-diamidino-2-fenil-diolo) preparando opportunamente il campione con aggiunta di un colorante giallo fluorescente idrosolubile. I lipidi vegetali "classici" (tab. 3), Cetearyl Alcohol, Cetyl Alcohol, Dimethicone, Xanthan Gum e parabeni in fenossietanolo (Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben) sono stati forniti da A.C.E.F. s.p.a. (Fiorenzuola d'Arda (PC), Italia); Pemulen TR2 (Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer) dalla Biochim Srl (Milano); i lipidi di origine naturale "eco-approvati" (tab. 3) dalla Variati srl.

Proprietà emulsionanti di Avogelia in presenza di lipidi e fattori di consistenza

Un primo set di esperimenti ha previsto la determinazione delle percentuali minime di utilizzo del prodotto al fine di ottenere semplici emulsioni-base in cui la componente lipidica è rappresentata unicamente dagli oli presenti in Avogelia. I risultati dello studio indicano che la percentuale ottimale di Avogelia da utilizzare per la formulazione di emulsioni stabili, a caldo, è del 15% in presenza di un modificatore reologico idrofilo (Xanthan Gum). L'emulsione-base così ottenuta (formulazione n° 1) risulta molto fluida (viscosità 1650 mPa.s) e con microstruttura fine e omogenea come dimostrato dalle analisi microscopiche. La caratterizzazione dell'emulsione, in funzione di dimensioni e distribuzione dimensionale della fase dispersa, è stata completata mediante diffrattometria laser scattering (LLS): la formulazione n° 1 presenta un diametro medio (d_{50}) di 1.935µm e SPAN 1.14 (fig. 1), indicatore di un campione omogeneo, monodisperso, in cui è presente un'unica popolazione dimensionale corrispondente alla media.

Partendo dalla formula dell'emulsione-base n° 1, sono state preparate una serie di emulsioni (formulazione-tipo n° 2, tab. 1) contenenti lipidi diversi per struttura e proprietà. La scelta si è incentrata su lipidi "classici" largamente utilizzati come fase grassa di emulsioni cosmetiche come i trigliceridi vegetali *(Olea Europea, Prunus Amygdalus Dulcis, Macadamia Ternifolia e Butyrospermum Parkii)* e altri lipidi di origine naturale eco-approvati (Refined Babassu Butter, Vegetable Petrolatum VP 170, Vegetable Petrolatum L 25, Macadamia Butter, Sensolive LD, Crambisol, OH-Isostearyl, IS Avocadato) (tab. 3), al fine di valutarne la compatibilità e il loro grado di interazione con il sistema emulsionante. I risultati degli esperimenti, integrati con misure di viscosità e analisi dimensionali, evidenziano che, a caldo, Avogelia al 15% consente di formulare emulsioni fluide (viscosità tra 1000 e 2500 mPa.s) o semifluide (viscosità < 4000 mPa.s) (fig. 4, barra arancione), incorporando lipidi con diversa struttura e polarità in concentrazioni crescenti (dal 3 al 30%). Tali lipidi rendono più ricca la fase oleosa dell'emulsione sommando la loro azione a quella dell'olio di avocado già presente. Le emulsioni preparate, inoltre, non mostrano significative differenze in termini di pH, dimensione delle particelle della fase dispersa e caratteristiche organolettiche, all'aumentare della percentuale di fase lipidica. Come esempio riportiamo l'andamento della viscosità e del pH (fig. 2), misurati dopo 48 h dalla preparazione, in emulsioni con Avogelia e Olea Europea incorporato dal 3 al 30%. L'analisi LLS dimostra che i lipidi, in qualsiasi concentrazione, non influenzano significativamente le dimensioni della fase dispersa che si mantengono molto ridotte. Per esempio, per le emulsioni con Olea Europea al 3% è stato registrato un d_{50} di 2.448 µm (SPAN 1.17, fig. 3a) e un d_{50} 3.281 µm (SPAN 2.5) per quelle al 30% (Fig. 3b), con una distribuzione dimensionale tendenzialmente unimodale. Risultati analoghi sono stati ottenuti per le formulazioni contenenti le altre classi di lipidi testati (dati non mostrati). L'analisi sensoriale evidenzia un'elevata omogeneità delle caratteristiche percepite: tutte le formule, anche quelle che incorporano un'alta percentuale di lipide, si presentano non untuose e con una texture morbida e setosa. Ulteriori esperimenti condotti con

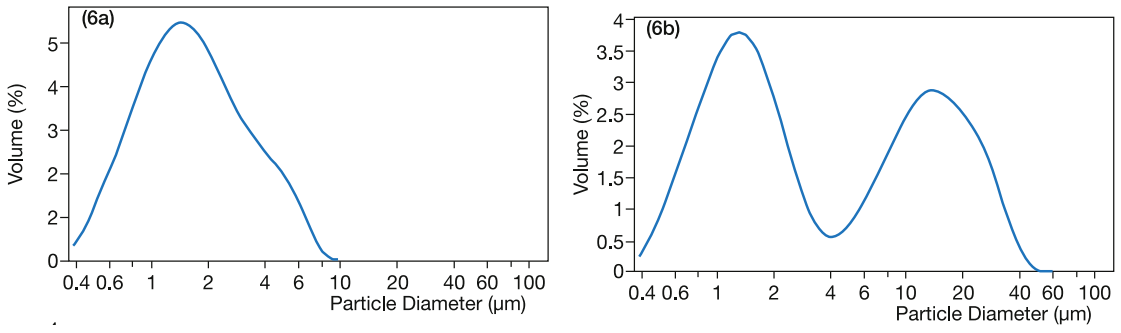

Fig. 6- Analisi della distribuzione dimensionale (LLS) della fase dispersa delle formulazioni n° 5 (6a) e n° 6 (6b).

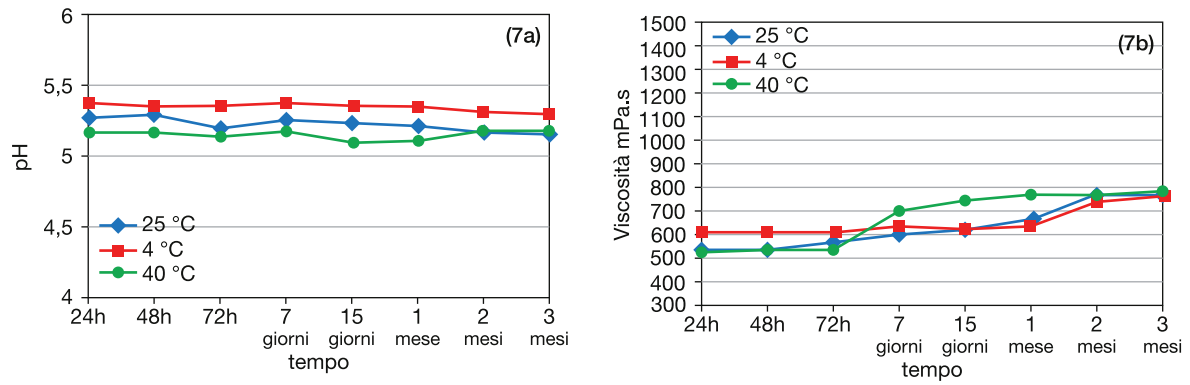

Fig. 7- Andamento nel tempo di pH (7a) e viscosità (7b) del latte spray a base di AVOGELIA (formulazione n° 6).

in presenza di un fattore di consistenza (Cetyl Alcohol, 2%) (formulazione-tipo n° 4, tab. 1) hanno confermato la particolare capacità di Avogelia di formare emulsioni stabili ma sempre fluide (viscosità tra 1000 e 3000 mPa.s) come si evidenzia dalla figura 4 (barra viola). Le analisi dimensionali via LLS indicano che la presenza di Cetyl Alcohol influenza le dimensioni della fase dispersa determinando variazioni e nel diametro e nella distribuzione dimensionale. Infatti, nella formulazione n° 2 (contenente solo il 3% di lipide) si osserva un diametro medio (d_{50}) della fase dispersa di 2.448 µm (fig. 3a); il basso valore di SPAN e l'andamento della curva sono indicativi di un'unica popolazione dimensionale monodispersa, che suggerisce micelle omogenee e completamente formate. Nel caso della formulazione n°4, il diametro medio (d_{50}) della fase dispersa risulta, comunque, basso (4.074 µm, fig. 3c). Tuttavia, il valore di SPAN più elevato (9.45), indicatore del grado di dispersione del campione stesso, ossia dell'esistenza di altre popolazioni dimensionali oltre a quelle corrispondenti alla media, e la curva dimensionale ad andamento bimodale indicano che, in presenza di Cetyl Alcohol, si formano di due popolazioni dimensionali micrometriche: una intorno ai 2 µm, e una con diametro dieci volte maggiore intorno ai 20 µm (d_{90} 39.55 µm), che può essere interpretata come formazione di micelle parzialmente aggregate, vescile-like. La formulazione n° 2, osservata al microscopio a fluorescenza (fig. 5a) si presenta strutturata omogeneamente. Dalle microfotografie appare una rete fitta di micelle (scure), disperse in una fase acquosa fluorescente, con una distribuzione dimensionale omogenea, diametro intorno ai circa 2 µm e forma tendenzialmente sferica. Per la formulazione n°4 è possibile rilevare, in alcuni campi dei microfotogrammi, micelle vesicle-like più grandi e stabili (fig. 5b) con dimensioni intorno ai 20 µm.

Emulsioni fluide e consistenti a base di Avogelia

I dati ottenuti dallo studio sistematico delle proprietà di Avogelia hanno permesso di formulare sia una base per emulsioni a bassa viscosità (latte) con il Pemulen TR-2 (formulazione n° 5), che una base per emulsioni consistenti in presenza di coemulsionanti e fattori di consistenza (Glyceryl Stearate e Cetyl Alcohol) (formulazione n°6). Il latte proposto si presenta spruzzabile tramite erogatori a pompa, di rapida e facile applicazione. Dopo l'applicazione, il latte spray a base di Avogelia e Pemulen TR-2 lascia la pelle morbida, vellutata e non unta e, grazie al meccanismo della "rapida rottura" (Quick Break), permette un immediato assorbimento degli emollienti contenuti in Avogelia. L'analisi LLS (fig. 6a) indica un diametro medio della fase dispersa di 1.617 µm con una distribuzione dimensionale omogenea (SPAN 2.3). L'emulsione consistente può essere proposta come un'ottima base per lo sviluppo di un cosmetico per il trattamento specifico del contorno occhi. L'analisi LLS (fig. 6b) indica sia un diametro medio della fase dispersa ridotto (d50 di 2.626 µm) che una distribuzione dimensionale bimodale (SPAN 8.1) ma sempre micrometrica.

Stabilità a lungo termine

Sia il latte che l'emulsione consistente sono risultati stabili in centrifuga a tutte le temperature di stoccaggio (4, 25 e 40°C), senza significative variazioni di pH e viscosità nel corso di 3 mesi di test di invecchiamento. Come esempio, riportiamo l'andamento di pH e viscosità (fig. 7) del latte spray alle diverse temperature di stoccaggio.

Conclusioni

Avogelia si presenta come un prodotto polifunzionale, interamente di derivazione naturale, che agisce da emulsionante, grazie alla presenza di lipoproteine e lipoamminoacidi di riso e cocco, e da principio dermoattivo

grazie all'alta percentuale di sostanze specializzanti (acidi grassi insaturi, frazione insaponificabile, vitamine) ad azione eudermica, nutriente, idratante ed emolliente. Il lavoro sperimentale ha permesso di stabilire: che Avogelia al 15% è in grado di realizzare emulsioni stabili di tipo O/A, con strutture micellari di diametro di circa 2µm e una buona capacità di inglobare componenti lipofile; la compatibilità di Avogelia con un gran numero di lipidi naturali, importanti per arricchire la fase lipofila con sostanze nutrienti ed emollienti; la capacità di Avogelia nell'emulsionare elevate percentuali di fase lipidica; la versatilità di Avogelia per la produzione di emulsioni a diversa consistenza da iperfluide, a fluide, a consistenti. Considerando il crescente interesse verso sostanze di origine naturale e prodotti "green" Avogelia può essere proposto come materia prima polifunzionale utilizzabile nell'ambito di un moderno design sia per cosmetici di composizione semplice, quali gel non untuosi, emulsioni iperfluide o sistemi detergenti fluidi estremamente mild, idratanti e skin-friendly che come veicolo di altri principi dermofunzionali in emulsioni cosmetiche più complesse. Le emulsioni a base di Avogelia sono in grado di formare sulla pelle un sottile film idrolipidico di elevata dermoaffinità realizzando al tempo stesso textures sofisticate e sensoriali. La recente tendenza e la crescente popolarità dei cosmetici di derivazione naturale considerati più "etici", più sicuri e anche efficaci dai consumatori, suggeriscono l'uso di Avogelia come ingrediente ideale di uno skin care naturale, rispettoso dell'uomo e della natura e, quindi, perfettamente in linea con i più recenti concetti di sostenibilità cosmetica.

© RIPRODUZIONE RISERVATA

Bibliografia

1. Meyer, M. D.; Terry, L. A. "Development of a rapid method for the sequential extraction and subsequent quantification of fatty acids and sugars from avocado mesocarp tissue". J. Agric. Food Chem. 2008, 56, 7439-7445.
2. Adama, K. K.; Edoga, M. O. "Avocado Apple (Persea americana) Pericarp Waste: A Source of Oil for Industrial Application Obtained and Characterized Using Extraction With Different Solvents" Archives of Applied Science Research 2011, 3 (4), 398-410.
3. Swisher, H. E. "Avocado oil from food use to skin care". J. Am. Oil Chem. Soc. 1988, 65, 1704-1706.
4. Anthony, C.; Dweck, FLS FRSC FRSH "The role of natural ingredients in anti-ageing of the skin" Australian Society of Cosmetic Chemists Annual Congress, Hamilton Island 2003.
5. Chaudhuri, R. K. "Compositions and Methods for Improving Skin Appearance" Patent application number: 20110117036 Publication date: 05/19/2011.
6. Werman, M.J.; Mokady, S.; Nimni, M.E.; Neeman, I. "The effect of various avocado oils on skin collagen metabolism" Connect Tissue Res. 1991, 26 (1-2), 1-10.
7. Werman, M. J.; Mokady, S.; Neeman, I. "Partial isolation and characterization of a new natural inhibitor of lysyl oxidase from avocado seed oil" J. Agric. Food; Chem. 1990, 38, 2164-2168.
8. Mencherini, T.; Motta, A. M.; Sansone, F.; Cossu, A.; Garavaglia, R.; Zappa, L.; Aquino, R. P. "Studio Sistematico di Avogelia: Prodotto Polifunzionale a Base di Lipoproteine e Lipoamminoacidi vegetali e Olio Di Avocado" Natural1 2011, 108, 26-33.