

Antioxidantes naturales adicionados al aceite de maíz y sus emulsiones en agua para retardar su oxidación

Y. Maureira Gómez, L. Janczuk, P. Della Rocca

Tecnología de Alimentos del Departamento de Ingeniería Química de la Facultad Regional Buenos Aires de la Universidad Tecnológica Nacional.

Medrano 951, (C1179AAQ), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, República Argentina.

e-mail: patriciadellarocca@hotmail.com

Recibido el 1 de junio de 2007; Aceptado el 2 de agosto de 2007.

Resumen

El objetivo del trabajo fue determinar la acción antioxidante del extracto etanólico de ajo en la oxidación de un aceite comestible (aceite de maíz) y sus emulsiones en agua. Se llevaron a cabo ensayos de oxidación y a distintos intervalos de tiempo se evaluó el grado de oxidación mediante la determinación del índice de peróxido, según AOCS (1997). Asimismo, se caracterizó el aceite utilizado al que se le determinó su composición en ácidos grasos por cromatografía gaseosa y se determinó si tenía algún antioxidante sintético adicionado por HPLC. Varios componentes del extracto de ajo son los responsables de su capacidad antioxidante, entre ellos los compuestos fenólicos. Éstos se midieron por métodos espectrofotométricos. También se estudió la cinética de formación de hidroperóxidos durante la oxidación de las emulsiones y se aplicó un modelo que considera reacción de orden 1 que ajustó satisfactoriamente los datos experimentales.

PALABRAS CLAVE: ANTIOXIDANTES NATURALES, EXTRACTO DE AJO, OXIDACIÓN LIPÍDICA, ACEITES Y EMULSIONES

Abstract

The aim of this work was the study of the antioxidant action of the garlic ethanolic extract in the oil (corn oil) and its water emulsions oxidation. Oxidation tests were carried out and at different time intervals the antioxidant activity was evaluated by the peroxide index (AOCS, 1997). Also, the oil was characterized in its fatty acid composition by gas chromatographic and it was determined if the oil held additional synthetic antioxidants by HPLC. Numerous components of the garlic extract are responsible of their antioxidant capacity, the phenolic compounds are some of them. These ones were determined by spectrophotometric methods. Furthermore, the kinetic study of the hidroperoxide formation during the oil and its emulsions oxidation was performed. A model that considers a reaction of one order was adjusted satisfactorily to the experimental data.

KEYWORDS: NATURAL ANTIOXIDANT, GARLIC EXTRACT, LIPIDIC OXIDATION, OILS AND EMULSIONS

Introducción

El estudio de la oxidación de los aceites comestibles y de las emulsiones de estos aceites en agua, que constituyen alimentos tales como mayonesas, sopas, salsas y aliños para ensaladas, tiene como principal objetivo evitar el desarrollo de rancidez (olores y sabores desagradables) y la disminución en la calidad nutricional del producto por formación de productos secundarios indeseables.

La oxidación se lleva a cabo a través de una serie de reacciones en cadena que generan la formación de radicales libres y pueden tener lugar durante el almacenamiento, la cocción o el procesado. Estas reacciones que intervienen en la oxidación de los lípidos son extremadamente complejas (Chan, 1987). Para su estudio se pueden subdividir en tres etapas, conocidas cada una de ellas como: iniciación, propagación y terminación. Por la acción del calor, la luz o la presencia de cationes metálicos, en la etapa de iniciación se produce la ruptura homolítica de la molécula de un ácido graso no saturado o su éster dando origen a la formación de un radical libre alquílico, $R\bullet$. En la fase de propagación, este radical reacciona rápidamente con el oxígeno para formar un radical peroxi, $ROO\bullet$, el cuál a su vez reacciona con otras moléculas de lípidos no saturados para formar hidroperóxidos, $ROOH$ y más radicales lipídicos, $R\bullet$. Los hidroperóxidos pueden descomponerse en otros radicales peroxi, $ROO\bullet$ y radicales alcoxi, $RO\bullet$ que luego darán lugar a la generación de nuevos radicales libres lipídicos, $R\bullet$ y más hidroperóxidos. Cabe resaltar que la descomposición de los hidroperóxidos puede ser catalizada por metales presentes en el medio, M^{n+} , $M^{(n+1)+}$. Durante la fase de terminación se unen los radicales libres entre sí. Como la velocidad de reacción entre un radical alquílico y el oxígeno es muy rápida, la mayoría de los radicales libres son radicales peroxi, $ROO\bullet$. Entonces, el principal producto obtenido en la etapa de terminación es el obtenido a partir de la unión de dos radicales peroxi (reacción 10).

Etapas de iniciación:

- (1) $RH \rightarrow R\bullet + H\bullet$ (luz, calor, cationes metálicos)
- (2) $2 ROOH \rightarrow ROO\bullet + RO\bullet + H_2O$
- (3) $ROOH + M^{n+} \rightarrow RO\bullet + M^{(n+1)+} + OH\bullet$
- (4) $ROOH + M^{(n+1)+} \rightarrow ROO\bullet + M^{n+} + H^+$

Etapas de propagación

- (5) $R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet$
- (6) $ROO\bullet + RH \rightarrow ROOH + R\bullet$
- (7) $RO\bullet + RH \rightarrow ROH + R\bullet$

Etapas de terminación

- (8) $R\bullet + R\bullet \rightarrow 2R$
- (9) $R\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR$
- (10) $ROO\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR + O_2$

Uno de los métodos para controlar la oxidación es el agregado de sustancias antioxidantes. Estas retrasan o inhiben la aparición de los fenómenos de oxidación manteniendo intactas las características sensoriales y prolongando la vida útil del producto. Los antioxidantes pueden actuar de varias formas: capturando radicales libres, descomponiendo peróxidos o como agentes quelantes de metales. Algunos antioxidantes pueden actuar en más de una forma a la vez (Moure et al, 2000).

Actualmente cada vez es mayor la preferencia por el uso de antioxidantes naturales aunque muchos de ellos han sido usados desde la antigüedad. Numerosos estudios recientes han comprobado que varios de estos antioxidantes naturales contribuyen también a la inhibición de las reacciones de oxidación que se producen en nuestro organismo y que suelen ser las responsables de enfermedades crónicas entre ellas cardiovasculares, inmunológicas, inflamatorias, alérgicas, neurodegenerativas, etc. y de los procesos de envejecimiento.

Muchos extractos de especies vegetales han demostrado un considerable efecto de estabilización de los lípidos ante las reacciones de oxidación y sus componentes demostraron poseer un gran potencial comercial como fuente de nutraceuticos o ingredientes de alimentos funcionales (Shui G. y Leong L., 2006). Antioxidantes con importante actividad han sido encontrados en berries (Abuja et al., 1998; Heinomen et al., 1998; Prior et al., 1998), cerezas (Wang et al., 1999), cítricos (Saleh et al., 1998), kiwis (Dawes y Keene, 1999), olivos (Romani et al., 1999), chauchas de cacao (Sanbongi et al., 1998), papas (Al-Saikhan et al., 1995; Friedman, 1997), tomates (Abushita et al, 1997), espinaca (Gil et al., 1999), ajo (Auroma et al, 1997) y legumbres (Ganthavorn y Hughes, 1997; Tsuda et al., 1994). La mayoría de las especias como el pimentón (Markus et al., 1999), el orégano y el jengibre (Kikuzaki y Nakatani, 1989) así como también el romero (Hall y Cuppett, 1998) poseen importantes propiedades antioxidantes. La protección antioxidante proveniente de las frutas y los vegetales ha sido atribuida a numerosos y variados compuestos que las integran, entre ellos: vitaminas C y E, tocoferoles, carotenos y compuestos fenólicos (Abushita et al., 1997).

El ajo cuyo nombre botánico es *Allium sativum* L. es una de las hortalizas frescas de mayor exportación en la Argentina. El término *allium* procede de la palabra celta *all*, que significa ardiente o caliente y *sativum* es un término latino cuyo significado es cultivado. Las principales regiones productoras son Mendoza (aproximadamente 80 % de la producción nacional), San Juan, sur de la provincia de Buenos Aires y el Noroeste Argentino (NOA). San Juan y Mendoza poseen características agroecológicas óptimas para producir y secar ajo que facilitan la inserción del producto en el mercado de exportación (M. Barembaum y M. di Paola, 2006).

PROYECCIONES - Publicación de posgrado e investigación de la Facultad Regional Buenos Aires

Propósito

El propósito del presente trabajo fue evaluar la capacidad antioxidante del extracto etanólico de ajo frente a un aceite comestible (aceite de maíz) y a sus emulsiones en agua (al 10 % m/m y al 50 % m/m). Los resultados obtenidos se compararon con los alcanzados utilizando un antioxidante sintético, el 2,6-di-ter-butil-4-hidroxitolueno o vulgarmente llamado butilhidroxitolueno (BHT), de naturaleza lipofílica, en una concentración de 0.01%.

Naturaleza hidrofílica o lipofílica de los antioxidantes

Los antioxidantes en los sistemas lipídicos multifásicos exhiben diferentes afinidades por las interfaces aire-aceite y aceite-agua según la naturaleza hidrofílica o lipofílica de los mismos (Frankel, 1994, 1996). Porter (1980, 1983) y Porter et al. (1989) observaron que en sistemas lipídicos donde la relación superficie volumen es pequeña como en el caso de los aceites los antioxidantes hidrofílicos (polares) son más efectivos que los antioxidantes lipofílicos (no polares). En contraste, estos últimos, en los alimentos con altas relaciones superficie volumen como en las emulsiones de aceite en agua resultan ser más efectivos. Según Frankel, este comportamiento se atribuye a que en los aceites los antioxidantes hidrofílicos se orientan en la interfase aire-aceite y protegen de la oxidación mejor que uno de naturaleza lipofílica que tiende a permanecer en el aceite. En el caso de las emulsiones de aceite en agua los antioxidantes lipofílicos son suficientemente tensoactivos para orientarse hacia la interfase aceite-agua y proteger al aceite emulsionado de su oxidación mejor que un antioxidante hidrofílico que se disolvería en la fase acuosa y estaría lo suficientemente diluido para no proteger eficazmente el aceite emulsionado. En la Figura 1 se esquematiza este fenómeno conocido como paradoja polar.

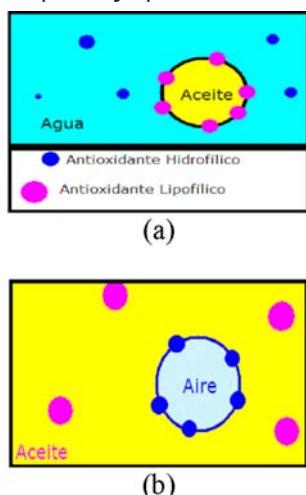


Figura 1. Fenómeno interfasial que explica la acción de los antioxidantes en sistemas lipídicos según su naturaleza hidrofílica o lipofílica a) emulsión aceite en agua b) aceite.

Materiales y métodos

Determinación de ácidos grasos del aceite original

Se realizó la hidrólisis de los triglicéridos del aceite, y luego la metilación para finalizar con la extracción y el purificado según Norma IRAM 5652.

Los ésteres metílicos así obtenidos se analizaron en un cromatógrafo de gases marca Shimadzu con detector FID.

Determinación de antioxidantes en el aceite original empleado en los ensayos de oxidación

Se analizó si el aceite original poseía antioxidantes sintéticos adicionados. Se llevó a cabo el análisis por HPLC (marca Hewlett Packard 1050) según AOCS Official Method Ce 6-86 empleando una columna LiChrosorb RP-18 y un detector de arreglo de diodos a una longitud de onda de 280 nm.

Preparación del extracto: El ajo molido se tamizó hasta alcanzar un diámetro de partícula inferior a 400 μ m. y posteriormente se secó en estufa a 55 °C. El solvente de extracción fue etanol al 96°. El extracto de ajo se preparó en una concentración inicial de 25% m/m, luego se llevó a cabo un almacenamiento en condiciones de agitación intermitente a una temperatura de 45° C durante una semana. Finalmente, se procedió a la filtración y concentración de la solución con una bomba de vacío, a temperatura ambiente, hasta alcanzar una concentración tres veces superior.

Preparación de las emulsiones: El agente emulsionante fue Tween 20, un monoéster de polioxietilensorbitano. Se prepararon dos emulsiones de aceite en agua, una al 10 % m/m y la otra al 50% m/m.

Ensayos de oxidación

Al aceite de maíz y a las emulsiones (10 % y 50% m/m) se agregó el extracto de ajo en una concentración 20 % m/m. Asimismo, se analizaron muestras control sin la adición de antioxidante y muestras conteniendo el antioxidante sintético, butilhidroxitolueno (BHT) en una concentración de 0.01 %, con fines comparativos. Cabe resaltar que la concentración máxima permitida de BHT en alimentos es de 0,0075 % por el CODEX STAN 19-1981, rev.2-1999, por ello la concentración utilizada. En cuanto a la concentración del extracto de ajo no se encuentran restricciones hasta el momento, si bien las altas concentraciones podrían otorgar un aroma muy intenso al sustrato a proteger.

Las muestras fueron almacenadas en frascos color caramelo en condiciones estáticas en estufa a una temperatura de 60 \pm 0.5°C y a distintos intervalos

de tiempo se evaluó su grado de oxidación mediante la determinación del índice de peróxido, según AOCS (1997). Los análisis se llevaron a cabo por duplicado y los resultados obtenidos corresponden al promedio de las determinaciones.

Determinación de compuestos fenólicos totales

Se tomó una alícuota de extracto de 20 µl y se adicionó agua destilada hasta alcanzar 1 ml. Luego, 0.5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu se adicionó a los tubos y se agitaron. A continuación se agregó carbonato de sodio (Na₂CO₃) y los tubos fueron agitados nuevamente. Después de ser incubados a temperatura ambiente durante 35 min, los tubos fueron centrifugados y se midió la absorbancia contra un blanco a 725 nm utilizando un espectrofotómetro marca Metrolab. Los resultados se informaron con base al equivalente de fenol por gramo de muestra.

Tratamiento estadístico de los datos experimentales

Mediante ANOVA se analizó si existían diferencias significativas entre los distintos tratamientos a que fueron sometidos el aceite y sus emulsiones consistentes en: adición de antioxidante natural, extracto de ajo; antioxidante sintético, BHT o sin agregado de antioxidantes. Se utilizaron niveles de significación del 0.05 y del 0,01

Resultados y Discusión

Caracterización del aceite de maíz

Los resultados obtenidos al analizar la composición de los ácidos grasos en el aceite de maíz por cromatografía gaseosa se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición porcentual en ácidos grasos del aceite de maíz.

Ácido Palmítico	10.5
Ácido Esteárico	2.5
Ácido Oleico	32.5
Ácido Linoleico	52.0
Ácido Linolénico	1.0
Ácido Araquídico	0.5

El análisis por HPLC realizado al aceite original comprobó la ausencia de antioxidantes sintéticos agregados al mismo.

Ensayos de oxidación

En los ensayos de oxidación del aceite de maíz, el extracto de ajo demostró poseer una capacidad antioxidante significativamente superior que el BHT

en las concentraciones analizadas. Estos resultados se aprecian en la Figura 2. Varios constituyentes del ajo actúan como antioxidantes, entre ellos algunos compuestos sulfurados y compuestos fenólicos. El contenido de estos últimos en el extracto fue de 3099 ppm. Al comparar este resultado con el obtenido en otros extractos vegetales podemos afirmar que se trata de un valor muy significativo

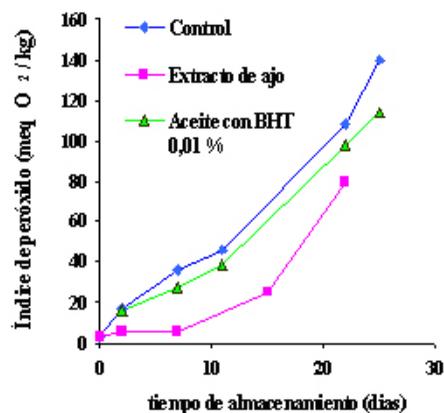


Figura 2. Índice de peróxido (miliequivalentes de oxígeno por kg de muestra, meq O₂/kg) del aceite de maíz, muestra control sin el agregado de antioxidantes, muestra con extracto etanólico de ajo y muestra con BHT al 0,01 %

En la Figura 3 correspondiente a los ensayos de oxidación con la emulsión de aceite en agua al 10 % m/m se puede inferir un comportamiento aproximadamente similar ante la oxidación de las muestras conteniendo el antioxidante natural (extracto de ajo) y el antioxidante sintético (BHT) ya que ambas curvas de oxidación se hallan prácticamente superpuestas hasta los 38 días. Mediante el ANOVA se pudo comprobar que las diferencias entre tratamientos resultaron ser significativas al nivel de significación del 0,05 pero no del 0,01%.

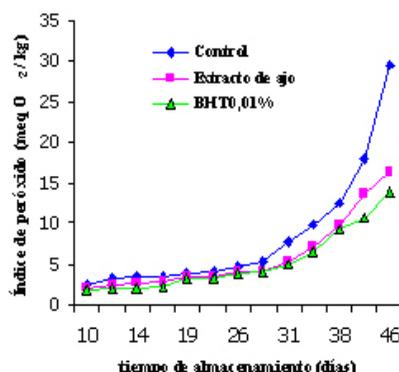


Figura 3. Índice de peróxido (miliequivalentes de oxígeno por kg de muestra, meq O₂/kg) de la emulsión de aceite de maíz en agua al 10 % m/m, muestra control: emulsión sin el agregado de antioxidantes, muestra con extracto etanólico de ajo y muestra con BHT al 0.01 %

En la Figura 4 se muestran los resultados obtenidos para la emulsión de aceite en agua al 50% m/m. Aproximadamente transcurridos 30 días de almacenamiento, la curva correspondiente a las muestra con extracto de ajo evidencia una capacidad antioxidante levemente superior a la del BHT. En este caso, las diferencias entre tratamientos fueron significativas al nivel de significación del 0,05 y del 0,01 %.

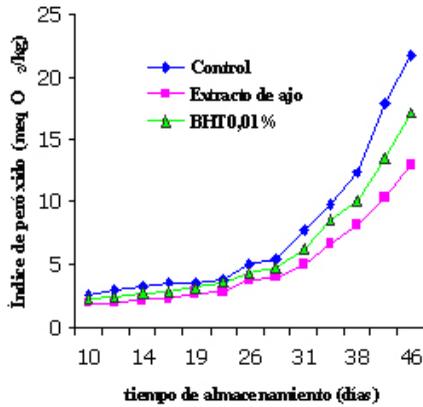


Figura 4. Índice de peróxido (miliequivalentes de oxígeno por kg de muestra, meq O₂/kg) de la emulsión de aceite de maíz en agua al 50 % m/m, muestra control: emulsión sin el agregado de antioxidantes, muestra con extracto etanólico de ajo y muestra con BHT al 0.01 %

En la Figura 5 se comparan los datos experimentales obtenidos con las emulsiones de aceite en agua al 10% y al 50% y el extracto de ajo. Hasta aproximadamente transcurridos 34 días las emulsiones tanto del 10% como del 50% con extracto de ajo se oxidan de manera similar pero

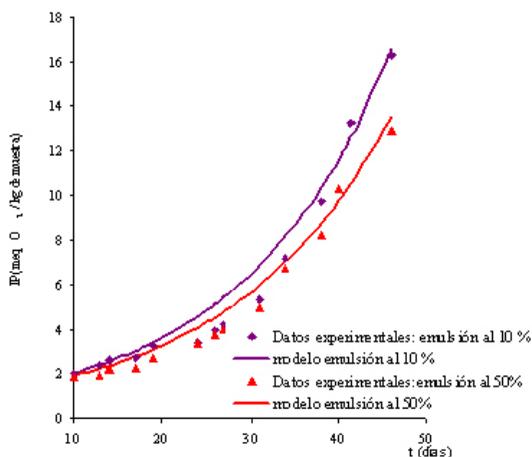


Figura 5. Índice de peróxido (miliequivalentes de oxígeno por kg de muestra, meq O₂/kg) de la emulsión de aceite de maíz en agua al 10 % m/m y al 50% m/m y ajuste de los datos experimentales por los modelos de reacción de orden uno

luego la emulsión al 10% se oxida más fácilmente. Este resultado se puede atribuir a que el extracto de ajo con componentes antioxidantes en su mayoría polares no protege de manera eficiente la emulsión con mayor proporción de agua tal como lo predicho por la paradoja polar.

Se supuso un modelo de reacción de orden uno para la formación de hidroperóxidos en la oxidación de las emulsiones. La siguiente ecuación representa el modelo:

$$\frac{dIP}{dt} = k IP \quad (1)$$

donde,
t= tiempo (días)

k= constante de velocidad específica (día⁻¹)

IP = concentración de hidroperóxidos (miliequivalentes de oxígeno por kg de muestra)
velocidad de formación de hidroperóxidos (miliequivalentes de oxígeno/kg de muestra* día)

Luego de integrar la ecuación anterior teniendo en cuenta las condiciones iniciales resulta:

$$IP = IP_0 \exp (k (t - t_0)) \quad (2)$$

Se consideró la relación entre la constante de velocidad específica y la temperatura mediante la ecuación de Arrhenius:

$$k = k_0 \exp (-E_a / R T) \quad (3)$$

donde,

t₀ = tiempo inicial (día)

IP₀ = índice de peróxidos inicial (miliequivalentes de oxígeno por kg de muestra)

k₀ = factor preexponencial (día⁻¹)

E_a = energía de activación (cal/mol)

R = constante universal de los gases (2 cal/K mol)

T = temperatura absoluta (K)

En la Tabla 2 se pueden apreciar los valores de los parámetros cinéticos obtenidos al aplicar el modelo.

Tabla 2. Parámetros cinéticos del modelo

Muestra	K_0 (día ⁻¹)	e_0 (cal/mol)	K (T=60 °C)	r^2
Emulsión al 10 %	5,3060	3000	0,05868	0,9992
Emulsión al 50 %	4,9539	3000	0,05478	0,9999

En la Figura 5 se muestra como el modelo ajusta los datos experimentales de las dos muestras: emulsión de aceite en agua al 10 % y extracto de ajo y emulsión de aceite en agua al 50 % y extracto de ajo. El factor k_0 y por lo tanto k (T=60 °C) es un poco menor en la emulsión al 50 % indicando una menor velocidad de formación de peróxidos en esta muestra ya que el extracto de ajo ejerce una acción antioxidante más efectiva sobre la emulsión con mayor proporción de aceite.

Si se compara la oxidación del aceite y de las emulsiones en el tiempo (Figura 6) se evidencia que el aceite se oxida más rápido que las emulsiones de aceite en agua ya que en estas últimas el oxígeno debe difundir en el agua para alcanzar los glóbulos de aceite además de difundir en el aire que queda en la cabeza superior del frasco. En los ensayos de oxidación con el aceite sólo tenemos que considerar esta última difusión. También hay que tener en cuenta que la difusión del oxígeno en el agua se lleva a cabo con más lentitud que en el aire. En consecuencia, la velocidad global del proceso de oxidación en la emulsión es más lenta que en el aceite. Tal como Marcuse y Fredriksson, 1968 lo habían resaltado, a baja presión de oxígeno la etapa limitante de la oxidación lipídica es la difusión del oxígeno a través de la fase acuosa. Asimismo, el que el oxígeno sea 3 veces más soluble en aceite que en agua contribuye a la mayor velocidad de oxidación del aceite

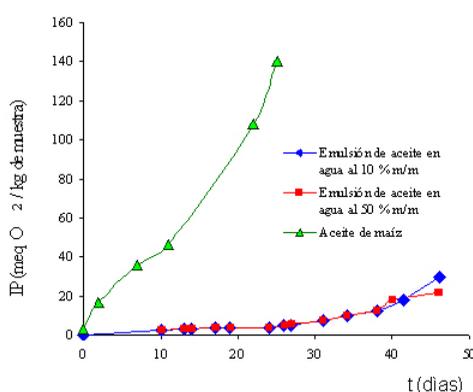


Figura 6. Índice de peróxidos (miliequivalentes de oxígeno por kg de muestra, meq O₂/kg) del aceite de maíz, de la emulsión de aceite de maíz en agua al 10 % m/m y de la emulsión de aceite de maíz en agua al 50 % m/m.

Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos se puede inferir que el aceite de maíz se oxidó más rápidamente que sus emulsiones en agua y al analizar la oxidación del aceite de maíz, el extracto de ajo que posee componentes con actividad antioxidante de naturaleza hidrofílica como los compuestos fenólicos y algunos compuestos sulfurados se concentran en la superficie interfásica aire-aceite actuando como barrera ante el oxígeno. En cambio, en las emulsiones, los antioxidantes de naturaleza más lipofílica como el BHT resultan ser más efectivos frente a la oxidación lipídica y esta eficiencia denota ser superior en emulsiones con concentraciones de aceite en agua inferiores. En este caso el antioxidante lipofílico se sitúa en la interfase aceite-agua protegiendo los glóbulos de aceite de la emulsión.

Además, tal como lo señala Huang et al., 1997, la inferior efectividad de los antioxidantes hidrofílicos en las emulsiones puede atribuirse no sólo a su afinidad por la fase acuosa sino también a su afinidad por las micelas del emulsionante, en este caso el Tween 20.

Cabe resaltar que en las experiencias llevadas a cabo se pudo comprobar el fenómeno conocido como paradoja polar en el que un antioxidante de naturaleza hidrofílica se comporta mejor protegiendo un lípido y uno de naturaleza lipofílica resulta más efectivo para una emulsión lípido-agua.

Agradecimientos

Agradecemos al Departamento de Ingeniería Química y a la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Facultad Regional Buenos Aires de la Universidad Tecnológica Nacional por el financiamiento de este trabajo.

Referencias

- ABUJA, P.; MURKOVIC, M.; PFANHAUSER, W. (1998). *J. Agric. and Food Chem.*, 46, 4091-96.
- ABUSHITA, A., HEBISHI, E., BIACS, P. (1997). *Food Chem.*, 60, 207-212.
- AL-SAIKHAN, M; HOWARD, L.; MILLER, J. (1995). *J. Food Science*, 60, 341-343.
- AOCS. 1997. American Oil Chemists' Society
- ARUOMA, O. I., SPENCER, J., WARREN, D., JENNER, P., BUTLER, J. Y HALLIWELL, B. (1997), *Food Chemistry*, 60, 149-156.
- BAREMBAUM, M. Y DI PAOLA, M. (2006). *Apuntes Agroeconómicos*, FAUBA.
- CHAN, H. (1987). In *Autooxidation of Unsaturated Lipids*; Chan H. Ed., Academic Press, London, U.K., 1-16
- DAWES, H.; KEENE, J. (1999). *J. Agric. and Food Chem.*, 47, 2398-2403.
- FRANKEL, E., HUANG, S., KANNER, J., GERMAN, J. (1994). *J. Agric. and Food Chem.*, 42, 1054-1059.
- FRANKEL, E., HUANG, S., AESCHBACH, R. Y PRIOR, E. (1996). *J. Agric. Food Chem.*, 44, 131-135.
- FRANKEL, E. (1996). *Food Chemistry*, 57, (1), 51-55
- FRIEDMAN, M. (1997). *J. Agric. and Food Chem.*, 45, 1523-1540.
- GANTHAVORN, C. Y HUGHES, J. (1997). *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 74, 1025-1030.
- GIL, M., HOLCROFT, D. Y KADER, A. (1997). *J. Agric. Food Chem.*, 45, 1662-1667.
- HALL, C., CUPPETT, S., DUSSAULT, P. (1998). *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 1147-1154.
- HEINOMEN, M., LEHTONEN, P, HOPIA, A. (1998). *J. Agric. Food Chem.*, 46, 25-31.
- HUANG, S. Y FRANKEL, E. (1997). *J. Agric. Food Chem*, 45, 3033-3038.
- KIKUZAKI, H, NAKATAMI, N. (1993). *J. food Sci.*, 58, 1407-1410.
- MARCUSE, R., FREDRIKSSON, P. (1968). *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 45, 400-407.,
- MARKUS, F., DAOOD, H., KAPITÁN, J., BIACS, P., (1999). *J. Agric. Food Chem.*, 47, 100-107.
- MOURE, A., CRUZ, J., FRANCO, D., DOMINGUEZ, J., SINEIRO, J, DOMÍNGUEZ, H., NUÑEZ, M., PARAJÓ, J. (2001). *Food Chem.* 72, 145-171.
- PORTER, W. (1980). Recent Trends in food applications of antioxidants, In *Autoxidation in Food and Biological Systems*, eds M.G. Simic & M. Karel. Plenum Press, New York, 295-365.
- PORTER, W. (1983). Paradoxical behaviour of antioxidants in food and biological systems, In *Antioxidants: Chemical, Physiological, Nutritional and Toxicological Aspects*, ed. G. Williams. Princeton Scientific, Princeton, New Jersey, 93-122.
- PORTER, W., DROLET, A. (1989). *J. Agric. and F. Chem.*, 37, 615-624.

PRIOR, L., CAO, G., MARTIN, A., SOFFIC, E., MCEWEN, J., O'BRIEN, C., LISCHNER, N., EHLENFELDT, M., KALT, W., KREWER, G., MAINLAND, C. (1998). J. Agric. Food Chem., 45, 2686-2693.

ROMANI, A., MULINACCI, N., PINELLI, P., VINCIERI, F. Y CIMATO, A. (1999). J. Agric. Food Chem., 47, 964-967.

SALEH, M., HASHEM, F., GLOMBITZA, K. (1998). FOOD CHEMISTRY, 63, 397-400.

SANBONGI, C., OSAKABE, N., NATSUME, M., TAKIZAWA, T., GOMI, S., OSAWA, T. (1998). J. Agric. Food Chem., 46, 454-457.

SHUI G., LEONG L. (2006). Food Chem., 97, 277-284.

TSUDA, T., WATANABE, M., OHSHIMA, K., YAMAMOTO, A., KAWAKISHI, S., OSAWA, T. (1994). J. Agric and Food Chem., 42, 2671-2674.

WANG, H., NAIR, M., STRASBURG, G., GRAY, J. (1999). J. Nat. Produc. 62, 294.