

Actividad antioxidante de las vitaminas C y E y de la provitamina A

Por R. Maestro Durán y R. Borja Padilla

Instituto de la Grasa y sus Derivados (C.S.I.C.). Apartado 1078. 41012 - Sevilla. España.

RESUMEN

Actividad antioxidante de las vitaminas C y E y de la provitamina A.

Siguiendo el estudio de los antioxidantes naturales, se incluyen en este trabajo la vitamina C (ácido ascórbico), la vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles) y la provitamina A (β -caroteno, luteína, zeaxantina, isozeaxantina, licopeno, astaxantina y cantaxantina), así como de los derivados de estos compuestos que han sido descritos como antioxidantes, bien sea en productos alimentarios o de otros usos, bien en la protección de membranas celulares o subcelulares (*in vivo*). Se discute su papel como inhibidores de la reacción en cadena de los radicales prooxidantes, por reacción irreversible o por secuestro de estos radicales.

Finalmente, se citan las patentes registradas en los últimos años para estos compuestos, sus derivados y sinérgicos.

PALABRAS-CLAVE: Antioxidante - Información (artículo) - Provitamina A - Vitamina C - Vitamina E.

SUMMARY

Antioxidant activity of vitamin C, E, and provitamin A.

As a continuation of the study of natural antioxidants, this paper includes vitamin C (ascorbic acid), vitamin E (tocopherols and tocotrienols), and provitamin A (β -carotene, lutein, zeaxanthin, isozeaxanthin, lycopene, astaxanthin and cantaxanthin) and, as well as those derivatives of these which have been described as antioxidants, either used as food additives or protectants of cell membranes (*in vivo*). Their role as inhibitors of chain reactions of prooxidant radicals by irreversible reaction or quenching of such radicals is discussed.

Finally, patents registered during the last years for these compounds, their derivatives and synergists are cited.

KEY-WORDS: Antioxidant - Information (paper) - Provitamin A - Vitamin C - Vitamin E.

1. INTRODUCCION

En este trabajo se recogen los trabajos sobre el carácter antioxidante o sinérgico con otros antioxidantes del ácido ascórbico (vitamina C), de los tocoferoles (Vitamina E), y de los carotenoides (provitamina A). En un trabajo anterior (Maestro, 1993) se han estudiado los mecanismos de oxidación producida por la luz y el oxígeno atmosférico y la protección contra ella ejercida por compuestos de naturaleza fenólica, a excepción de los tocoferoles.

2. VITAMINA C

La vitamina C, generalmente conocida como ácido ascórbico aunque en su estructura no existe ningún grupo carboxilo, ha sido propuesta desde hace muchos años como un eficaz antioxidante. Entre sus propiedades químicas sobresale su fuerte poder reductor, es decir, la facilidad con que se oxida reversiblemente a ácido dehidroascórbico.

El ácido ascórbico existe en concentraciones bastante altas en muchos ambientes celulares, como los estromas de los cloroplastos, donde alcanza niveles de $2-3 \cdot 10^{-3}M$. Sin embargo, actualmente, la extracción de ácido ascórbico de fuentes naturales está casi desechada, y se obtienen por síntesis química las grandes cantidades empleadas en tecnología de alimentos, aunque se siguen obteniendo concentrados de ácido ascórbico a partir de acerolas, donde hay cantidades del orden de 20 g/Kg (Schuler, 1990). En los sistemas a los que se añade ácido ascórbico como antioxidante alimentario, son muy importantes las siguientes reacciones:

— Secuestro de varias formas de oxígeno (oxígeno singlete, radical hidroxilo y superóxido).

— Reducción de radicales libres, frenando las reacciones en cadena y previniendo daños en los alimentos.

— Reducción de los radicales antioxidantes primarios, actuando así como sinérgico de éstos.

Se ha utilizado el ácido ascórbico como antioxidante en el procesado de alimentos, frutos, vegetales, carne, pescado, leche, grasas, aceites, harinas, bebidas no alcohólicas, cervezas, vinos y alimentos procesados. Con una grasa insaturada, en presencia de un antioxidante fenólico y ácido ascórbico, el primero cede hidrógeno al peróxido y lo recupera después del ácido ascórbico, regenerándose el antioxidante fenólico.

— Oxidación del ascorbato por el oxígeno molecular en presencia de iones metálicos.

Los aceites vegetales, a diferencia de las grasas animales, suelen contener tocoferoles naturales. Por esta razón puede ser diferente la respuesta cuando se añaden aditivos como el ácido ascórbico. Se ha estudiado el efecto de varios antioxidantes en la oxidación de grasas

comestibles a 115°C por su efecto en el índice de peróxidos, encontrándose que el palmitato de ascorbilo era el más efectivo.

El ácido ascórbico se ha empleado también para evitar el pardeamiento de frutos. Las fenolasas presentes en los frutos oxidan a los orto-difenoles y flavonoides presentes en ellos, dando orto-quinonas, de color oscuro. Si está presente el ácido ascórbico, estas orto-quinonas se reducen a fenoles y no tiene lugar el pardeamiento. Si se agota el ácido ascórbico, las orto-quinonas se polimerizan y el pardeamiento es irreversible. Con métodos colorimétricos y manométricos se estudió el efecto de fenolasa purificada de manzana sobre el catecol. Este efecto era reversible si se añadía suficiente ácido ascórbico como para reducir la mayor parte de la ortoquinona.

La mayor parte de las variedades de melocotón, albaricoque, peras, ciruelas, nectarinas, plátanos y manzanas, que son frutas con bajo contenido en vitamina C, se decoloran y adquieren un flavor desagradable cuando han sido congeladas y se descongelan. Esta reacción enzimática puede evitarse añadiendo ácido ascórbico. Este compuesto es un antioxidante ideal para frutas por varias razones: es un constituyente natural de muchos frutos, no tiene olor ni sabor detectables, se reconoce con facilidad con pruebas químicas y biológicas, es barato y aumenta el valor nutricional de los productos a los que se añade.

Se ha inhibido el pardeamiento de zumo y rodajas de manzana por adición de ácido ascórbico en combinación con cisteína. Se comprobó en 16 variedades de manzanas congeladas que el ácido ascórbico era un antioxidante tan efectivo como la mezcla ascórbico-citríco o el dióxido de azufre, que además afectaba negativamente al flavor. A la misma conclusión se llegó con cerezas congeladas. Tartas de melocotón a las que se había añadido ácido ascórbico mantuvieron su coloración amarilla después de haber estado almacenadas a muy baja temperatura. Los albaricokes pueden preservarse de la oxidación si se conservan bajo una capa de jarabe azucarado al que se ha añadido ácido ascórbico.

También se han realizado bastantes trabajos sobre la adición de ácido ascórbico a zumos de frutas para prevenir pérdidas de color. El β -caroteno no se altera en zumos a los que se ha agregado ácido ascórbico.

Como el ácido ascórbico actúa como un aceptor de oxígeno, crea un ambiente anaerobio o desoxigenado en recipientes sellados, por lo cual ha sido propuesto como un inhibidor del crecimiento de determinados hongos y bacterias en los zumos de fruta.

El ácido ascórbico actúa también como conservante del color en carne picada o enlatada. En carnes curadas se han empleado tanto el ácido ascórbico como el ascorbato sódico.

Dado que el ácido ascórbico es insoluble en un medio graso, cuando se emplea como antioxidante de grasas hay que recurrir a la preparación de mezclas reversas, usando agentes de superficie, como fosfatidil-colina (Han, 1990) o a derivados liposolubles, como el palmitato de ascorbilo. Este último protege de la oxidación a patatas fritas mejor que el BHT, así como al aceite en que se fríen

esas patatas (Gwo, 1985). Retarda la oxidación de los aceites de freír en condiciones extremas (alta temperatura y mucho tiempo). También es más efectivo que el BHA y el BHT en la conservación de aceites vegetales y de manteca de cacahuete almacenada (StAngelo, 1977).

Es importante señalar que el palmitato de ascorbilo está incluido desde el año 1982, Title 21 en el Código Federal de Regulaciones de Estados Unidos, número 1182.3149 como sustancia generalmente reconocida como segura (GRAS) para su uso como aditivo químico sin limitaciones específicas o restricciones. La ingestión de este antioxidante no ofrece ningún peligro, porque la hidrólisis metabólica da los ácidos ascórbico y palmítico, que son metabolitos normales.

Para obviar la falta de solubilidad del ácido ascórbico en medio no acuoso, además de los derivados con ácidos grasos, se han propuesto otros, algunos de los cuales han sido objeto de patente en los últimos años, como el L-5, 6-O-isopropiliden-3-O-(benzoil-metil)-ascórbico (Sato, 1989a), los ésteres metílicos (Sato, 1989b) y etílicos (Sato, 1989c) del anterior. Otros autores han propuesto otro derivado, el ácido glucosacaro-ascórbico, que, igual que sus sales, es un buen antioxidante para frutas y conservas cárnicas (Matsumura, 1987). También han sido objeto de patente (Pauling, 1989) los 6-ésteres del ácido ascórbico con ácidos alifáticos desde C_2 , hasta C_{20} y los fosfatos de tocoferilo y ascorbilo (Senoo, 1986). Una mezcla de ácido ascórbico estabilizado con zeolita, EDTA o sales de calcio, con un sinergista (sales de ácidos orgánicos o inorgánicos) se emplea en hospitales y cocina (Ichiji, 1986).

Entre los trabajos realizados sobre la acción antioxidante del ácido ascórbico sobre lípidos en ensayos *in vivo*, se pueden destacar los siguientes:

Los lípidos del plasma humano pueden protegerse de la autooxidación con ácido ascórbico. La eficacia de la protección depende de la concentración de éste último, dentro de un amplio intervalo (Wayner, 1986). También se ha observado que protege de la oxidación a las membranas de los eritrocitos.

El diestereoisómero del ácido ascórbico, llamado ácido eritórbito ó d-isoascórbico no es tan buen antioxidante como el ácido ascórbico. Las diferencias entre ambos compuestos, además de la configuración estereoquímica, son las siguientes:

— El ácido eritórbito no existe de forma natural en productos alimenticios.

— En muchos países (especialmente en Europa) no está permitido como aditivo alimentario.

— El ácido eritórbito se oxida más rápidamente que el ascórbico, lo que le da menor carácter protector de los alimentos, como se ha puesto de manifiesto en ensayos con frutas y carne (Ranken, 1981).

3. VITAMINA E

Los tocoferoles y tocotrienoles se conocen colectivamente con el nombre de vitamina E. Son derivados del cromano con una cadena lateral de tipo isoprenoide, se com-

portan como antioxidantes naturales y están presentes como componentes menores en muchos aceites vegetales y en hojas de algunos vegetales. Han sido objeto de numerosos trabajos por su actividad antioxidante, tanto en alimentos como en sistemas biológicos (*in vivo*).

En tejidos de origen animal solamente el α -tocoferol existe en cantidades apreciables, que dependen de la alimentación de los animales. Los vegetales contienen entre sus lípidos cantidades mayores de tocoferoles y tocotrienoles. Los cereales, semillas oleaginosas, nueces, guisantes, habas y zanahorias son fuentes importantes. También se han propuesto como fuentes de tocoferol, y han sido objeto de patentes la raíz de regaliz (Takagaki, 1988), el te (Nishizawa, 1990), el salvado de arroz (Miyawaki, 1988). En los aceites vegetales, la cantidad de tocoferoles se reduce en la refinación hasta un 30-40%.

Mientras que existen muchos estudios sobre los tocoferoles, los tocotrienoles han recibido relativamente poca atención. Entre los aceites vegetales, sólo el de palma contiene cantidades apreciables de α -, γ - y δ -tocotrienol (Gog, 1990). Se han encontrado también en brócolos (Leth, 1982), granos de cereales (Bauerfeind, 1980) y en zanahorias (Piironen, 1986).

La actividad antioxidante de los tocoferoles está basada en el sistema redox tocoferol-tocoferilquinona. Son secuestradores de radicales libres y de radicales peróxidos. Se ha sugerido que la larga cadena de fitilo permite al tocoferol repartirse entre las membranas lipófilas de células y orgánulos, donde ejercerían su actividad antioxidante, evitando el daño oxidativo. El α -tocoferol, con su cadena de isopreno de 16 carbonos protege mejor de la oxidación a microsomas de hígado, sinaptosomas de cerebro y liposomas de fosfatidil-colina que otros derivados del cromano con cadenas de C_{11} , C_6 , C_3 y C_1 , cuya actividad va disminuyendo a medida que se acorta la cadena.

Los tocoferoles son también unos de los mejores secuestradores de los 1O_2 y pueden también reaccionar con los O^1 , aunque no se ha determinado la cinética de esta reacción. El más efectivo en su reacción con el oxígeno singulete es el α -tocoferol, seguido del β - y el δ -, según se comprobó por una fotooxidación de tocoferoles sensibilizada por colorantes.

En lo que se refiere a propiedades antioxidantes, es lógico que el acetato de tocoferilo, que es la forma comercial más frecuente de la vitamina E, carezca de ellas, ya que el grupo hidroxilo se encuentra protegido. Sin embargo, en algunas condiciones, como pueden ser sistemas acuosos ácidos, se produce un cierto grado de hidrólisis, liberándose tocoferol, que actúa como antioxidante. Esto sucede con salchichas crudas, que se pueden proteger del enranciamiento con acetato de tocoferilo. ya que el pH es del orden 4,5-5 (Schuler, 1990).

Los tocoferoles han sido reconocidos como antioxidantes para alimentos desde hace más de 50 años. Probado con muchos sustratos lipídicos (manteca de cerdo, galletas, pasteles y patatas fritas con manteca), el más efectivo es el δ -tocoferol, seguido del γ -tocoferol. El γ -tocoferol, a concentración del 0,02% es más efectivo que el BHA y el BHT. En un ensayo realizado con mezcla de

tocoferoles ésta era tan eficaz como el TBHQ o el galato de propilo, y superior a la del BHT (Aoyama, 1986b).

Al calentar el sustrato lipídico, la estabilidad de los tocoferoles es mayor que la de otros antioxidantes naturales o sintéticos (Pongratz, 1988). No son volátiles (como el BHA y el BHT), no alteran el flavor (como el TBHQ) y no producen decoloraciones (como las lecitinas) cuando se calientan a altas temperaturas. La estabilidad de los tocoferoles a 180°C depende del tipo de grasa a la que se hayan añadido, siendo mayor en las que tienen índice de iodo altos.

Cuando se probaron α -, γ - y δ -tocoferol con ácido linoleico en un medio acuoso, mostraron un efecto prooxidante (Cillard, 1980). Esto se explica porque los tocoferoles se oxidan al aire, produciendo esta oxidación radicales perhidroxilo (OOH), que son prooxidantes. La facilidad para oxidarse está en el orden α - > γ - > δ -tocoferol. Los radicales derivados de los tocoferoles pueden estabilizarse porque los electrones desapareados del anillo de cromano están situados perpendicularmente al plano del anillo benzenico.

La alta solubilidad de la vitamina E en lípidos explica que, cuando se realizan medidas de actividad antioxidante *in vivo* se encuentren valores menores de lo que se esperaba por las medidas hechas en solución. Los oxidantes solubles en agua pueden no alcanzar el lugar de más alta concentración de vitamina E, donde puedan ser desactivados (Doba, 1985).

Se ha comprobado *in vivo* que el α -tocoferol evita la iniciación de la peroxidación de lípidos dependiente del NADP en icrosomas de hígado (Venekei, 1987). Reducen el riesgo de arteroesclerosis al atrapar los compuestos oxidados en las células, que hubieran sido oxidados a lipoproteínas de baja densidad, que son cruciales en la formación de neumocitos. típicos de las lesiones arterioscleróticas (Weiman, 1990).

Como los tocoferoles solos no pueden normalmente alcanzar la actividad antioxidante necesaria para un producto alimenticio, existe un interés creciente por el efecto sinergista con otros antioxidantes naturales. En un estudio de Kavashima (1979), se añadió al tocoferol un hidrolizado de gelatina y algunos ácidos orgánicos. Se escogió la gelatina porque es rica en prolina, que es un aminoácido con efecto antioxidante para lípidos insaturados. La mezcla fue muy efectiva, tanto en sistemas acuosos como en aceites.

Aoyama y colaboradores han estudiado la acción sinergista de los tocoferoles con muchas sustancias: con ésteres metílicos de triptófano, lisina, glutamina, prolina y tirosina en sebo y aceite de palma (Aoyama, 1987), con estearato de ascorbilo en grasas hidrogenadas (Aoyama, 1988a), con extractos de semillas de café (Aoyama, 1988b), con estearato de ascorbilo y lecitina (Aoyama, 1989a), con fosfatos condensados en la oxidación de margarina inducida por iones Fe^{3+} (Aoyama, 1989b) y con diversos aminoácidos, (histidina, cistina, triptófano y glicina) en margarina con alto contenido en linoleico (Aoyama, 1989c). El glutatión y algunos aminoácidos, como cisteína, S-metil-cisteína y alanina, fueron encontrados sinergistas con la vita-

mina E en la oxidación inducida del linoleato de metilo. También se ha descrito (Seher, 1986) el efecto sinergista de otros aminoácidos (γ -aminobutírico, serina y lisina) con los tocoferoles y ésteres del ácido gálico.

Existe una patente (Nguyen, 1990) de una mezcla sinergista de tocoferoles, palmitato de ascorbilo, EDTA y un polipéptido.

4. CAROTENOIDES

Los carotenoides son pigmentos naturales que se encuentran en numerosas plantas y animales. Están formados por un anillo de β -ionona y una larga cadena con dobles enlaces conjugados que son los responsables del color. Aunque la función principal reconocida a los carotenos es actuar como "pigmentos antena" fotorreceptores para llevar a cabo la fotosíntesis recogiendo longitudes de onda de la luz que no son absorbidas por las clorofilas, desde hace varias décadas se les ha reconocido, por lo menos al β -caroteno, una función protectora contra daños oxidativos.

El oxígeno singlete es atrapado muy fuertemente por el β -caroteno. Los radicales libres son también bastante reactivos con el β -caroteno, por lo menos en determinadas condiciones (Packer, 1981). A altas concentraciones de oxígeno, el β -caroteno puede convertirse en especies radicales que originan reacciones en cadena y pueden actuar como promotores de la oxidación.

El β -caroteno había mostrado eficacia (Lee, 1988) para secuestrar los oxígenos-triplete y -singlete, cuya formación es catalizada por la clorofila (Usuki, 1984).

Otros carotenoides (luteína, zeaxantina, licopeno, isozeaxantina y astaxantina), que contienen 10, 11, 11, 11 y 13 dobles enlaces conjugados, inhibieron la fotooxidación del aceite de soja con una concentración de clorofilas de $4,4 \cdot 10^{-9}$ (San-Hwa, 1990). La astaxantina contenida en músculos de salmón protege a éstos del enranciamiento, mientras que sí se enrancian los músculos de trucha arcoiris, que no contienen este carotenoide (Andersen, 1990). La cantaxantina y la astaxantina, que poseen grupos oxo en las posiciones 4 y 4' del anillo de β -ionona, retardan la oxidación autocatalizada del linoleato de metilo en solución mejor que el β -caroteno y la zeaxantina, que carecen de dichos grupos oxo (Terao, 1989), posiblemente por estabilización de los radicales atrapados.

Se ha comprobado la actividad contra los radicales libres de dihidroxicarotenoides (luteína, zeaxantina) en la prevención de la fotooxidación destructiva de las membranas de *Pisum sativum* y *Anacystus nidulans*. La cantaxantina (Mayne, 1989), el β -caroteno y otros carotenoides proporcionados en la dieta pueden impedir la carcinogénesis gracias a su actividad inhibidora de la peroxidación de los lípidos en las membranas biológicas.

La vitamina A (ó retinol), derivada del β -caroteno, se ha mostrado eficaz para impedir la peroxidación no enzimática en mitocondrias de cerebro de rata (Das, 1989) y el ácido retinoico inhibe la formación de colágeno en fibroblastos de dermis humana (Geesin, 1990).

Recientemente ha sido registrada una patente (Mizoguchi, 1989) sobre el empleo de vitamina A para prevenir de la oxidación fármacos en cuya composición forman parte ácidos grasos poliinsaturados, usados como profilácticos y terapéuticos en tratamientos de enfermedades cardiovasculares.

BIBLIOGRAFIA

- Andersen, N.H., Bertelsen, N.G., Christophersen, A.G., Ohlen, N.A. y Skibsted, L.H. (1990).— "Development of rancidity in salmonoids steaks during retail display. A comparison of practical storage life of wild salmon and farmed rainbow trout".— *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **191**, 119-122.
- Aoyama, M., Maruyama, T., Kanematsu, H., Niiya, I., Tsukamoto, M., Tokairin, S. y Matsumoto, T. (1986a).— "Studies on the improvement of antioxidant effect of tocopherols. X. Comparison of effects between the mixture of tocopherols and other antioxidants and synergists in the fry test".— *Yukagaku* **35**, 162-166.
- Aoyama, M., Maruyama, T., Kanematsu, H., Niiya, I., Tsukamoto, M., Tokairin, S. y Matsumoto, T. (1986b).— "Studies of the improvement of antioxidant effect of tocopherols. XI. Antioxidant efficiencies and effective tests on margarine".— *Yukagaku* **35**, 449-453.
- Aoyama, M., Maruyama, T., Kanematsu, H., Niiya, I., Tsukamoto, M., Tokairin, S. y Matsumoto, T. (1987).— "Studies of the improvement of antioxidant effect of tocopherols. XII. Synergistic effect on amino acid derivatives".— *Yukagaku* **36**, 662-666.
- Aoyama, M., Maruyama, T., Kanematsu, H., Niiya, I., Tsukamoto, M., Tokairin, S. y Matsumoto, T. (1988a).— "Studies of the improvement of antioxidant effect of tocopherols. XVIII. Synergistic effect of L-ascorbyl stearate on solid fats having different physical properties".— *Yukagaku* **37**, 1135-1142.
- Aoyama, M., Maruyama, T., Kanematsu, H., Niiya, I., Tsukamoto, M., Tokairin, S. y Matsumoto, T. (1988b).— "Studies of the improvement of antioxidant effect of tocopherols. XVII. Synergistic effect of extracted components from coffee-beans".— *Yukagaku* **37**, 606-612.
- Aoyama, M., Maruyama, T., Kanematsu, H., Niiya, I., Tsukamoto, M., Tokairin, S. y Matsumoto, T. (1989a).— "Enhancement of the antioxidant effect of tocopherols. XIX. Synergistic effects of lecithin or L-ascorbyl stearate on hardened palm kernel oil with added β -carotene at low temperature".— *Yukagaku* **38**, 72-77.
- Aoyama, M., Maruyama, T., Kanematsu, H., Niiya, I., Tsukamoto, M., Tokairin, S. y Matsumoto, T. (1989b).— "Enhancement of the antioxidant effect of tocopherols. XX. Synergistic effect of condensed phosphate in margarine".— *Yukagaku* **38**, 78-81.
- Aoyama, M., Maruyama, T., Kanematsu, H., Niiya, I., Tsukamoto, M., Tokairin, S. y Matsumoto, T. (1989c).— "Studies on the improvement of antioxidant effect of tocopherols. XXI. Effective synergists on high-linoleic margarine".— *Yukagaku* **38**, 427-431.
- Bauenfeind, J.C. (1980).— "Vitamin E. A comprehensive treatise".— Machlin Ed. Marcel Dekker. Nueva York y Basilea.
- Cillard, J. y Cillard, D.P. (1980).— "Behavior of α -, γ - and δ -tocopherols with linoleic acid in aqueous media".— *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **57**, 39-42.
- Das, N.P. (1989).— "Effects of vitamin A and its analogs on nonenzymatic lipid peroxidation in rat brain mitochondria".— *J. Neurochem.* **52**, 585-588. C.A. 110:93841c.
- Doba, T., Burton, G.W. e Ingold (1985).— "Antioxidant and co-antioxidant activities of vitamin C. The effect of vitamin C either alone or in the presence of vitamin E or a water-soluble vitamin E analog, upon the peroxidation of aqueous multilamellar phospholipid liposomes".— *Biochem. Biophys. Acta* **835**, 298-303.
- Geesin, J., Gordon, J.S. y Berg, R.A. (1990).— "Retinoids effect collagen synthesis through inhibition of ascorbate induced lipid peroxidation in cultured human dermal fibroblasts".— *Arch. Biochem. Biophys.* **278**, 350-355.
- Goh, S.H., Hew, N.F., Ong, A.S.H., Choo, V.M. y Brumby, S. (1990).— "Tocotrienols from palm oil: electron spin resonance spectra of tocotrienoxyl radical".— *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **67**, 250-254.
- Gwo, Y.Y., Flick Jr G.J. y Dupuy, H.P. (1985).— "Effect of ascorbyl palmitate on the quality of frying fats for deep-frying operations".— *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **62**, 1666-1671.
- Han, D., Yi, O.S. y Shin, H.K. (1990).— "Antioxidative effect of ascorbic acid solubilized in oils via reversed micelles".— *J. Food Sci.* **55**, 247-249.
- Ichiji, T. (1988).— "Antioxidant and deodorant compositions".— *Jpn. Kokai Tokkyo JP 257982 (87.257.982)*.

- Kawashima, K., Ono, I. y Chibata, I. (1979).— "Synergistic ternary antioxidant composition comprising tocopherol, partial hydrolyzate of gelatin and organic acid".— *Agric. Biol. Chem.* **43**, 827-831. C.A. 91:18459v.
- Lee, E.C. y Min, D.B. (1988).— "Quenching mechanism of β -carotene on the chlorophyll sensitized photooxidation of soybean oil".— *J. Food Sci.* **53**, 1894-1895.
- Leth, T. y Andersson, L. (1982).— "The vitamin E content in frozen vegetables compared with the content in fresh vegetables".— *Statens Levnedsmiddelinstitut. Denmark.*
- Maestro, R. y Borja, R. (1993).— "Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos".— *En prensa en Grasas y Aceites.*
- Matsumura, K., Kinou, H. Hise, N. y Miki, H. (1985).— "Preparation of D-glucosacharascorbic acid and its salts as food antioxidants".— *Eur. Pat. Appl EP 228, 273.*
- Mayne, S.T. y Parker, R.S. (1989).— "Antioxidant activity of dietary anthaxanthin".— *Nut. Cancer*, 225-236. C. A. 111:172934j.
- Miyawaki, M., Osoba, T., Kaka, Y., Matsudo, H., Yoshioka, T. y Morita, H. (1989).— "Natural antioxidants containing tocopherol for food".— *Jpn. Kokai Tokkyo Koho Jn 63 08.490.* (88 08, 490).
- Mizoguchi, T., Mochizuki, S., Ishii, T. y Yokai, M. (1989).— "Preservation of nutrient compositions containing polyunsaturated fatty acids and vitamin A".— *Jpn. Kokai Tokkyo Koho. Jp 01.128.918* (89.128.918).
- Mukai, K., Fukuda, K., Ishizu, K. y Kitamura, Y. (1987).— "Stoppd-flow investigation of the reaction between vitamin E radical and vitamin C in solution".— *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **146**, 134-139.— C.A. 107:198699d.
- Nguyen, Q.L., Griat, J., Millecamps, L., Lang, G. y Foreser, S. (1990).— "Cosmetic containing an antioxidant system based on a stabilized ascorbic acid ester".— *Eur. Pat Appl. EP 353.161.*
- Nishizawa, Y., Miyajima, M., Isoda, Y. y Fukada, T. (1990).— "Natural antioxidants containing tocopherol for food".— *Jpn. Kokai Tokkyo JP 02.785.785* (90.55.785).
- Packer, J.E., Mahood, J.S., Mora-Arellano, V.O., Slater, T.T.F., Willson, R.L. y Wolfenden, B.S. (1981).— "Free radicals and singlet oxygen scavengers reaction of a peroxiradical with β -carotene diphenyl-furan and 1,4-diazobicyclo (2.2.2)-octane".— *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **98**, 901-906.
- Pauling, H. y Wehrli, C. (1989).— "Preparation of ascorbic acid-6-esters as antioxidants and provitamins".— *Eur. Pat. Appl. EP 296.483.*
- Piironen, V., Shvåoja, E.L., Varo, P., Salminen, K. y Kolvistoinen, P. (1986).— "Tocopherols and tocotrienols in finnish-foods: vegetables, fruits and berries".— *J. Agric. Food Chem.* **34**, 742-746.
- Pongracz, G. (1988).— "Heat stability of the tocopherols".— *Fette Wiss. Technol.* **90**, 247-251.
- Ranken, M.D. (1981).— "The use of ascorbic acid in meat processing", en "Vitamin C". Counseel, J.N. y Horning, D. Edit. Applied Science Publisher. Londres. p. 105-122.
- Sang-Hwa, L. y David, B.M. (1990).— "Effects, quenching, mechanisms and kinetics of carotenoids in chlorophyll-sensitized photooxidation of soybean oil".— *J. Agric,Food Chem.* **38**, 1630-1634.
- Sato, T., Niino, Y., Kakegawa, T. y Matsumoto, H. (1989a).— "Preparation of ascorbic acid derivatives as antioxidants".— *Jpn Kokai Tokkyo Koho Jp 01.228.977.* (89.228.977).
- Sato, T., Niino, Y., Kakegawa, T. y Matsumoto, H. (1989b).— "Preparation of ascorbic acid derivatives as antioxidants".— *Jpn. Kokai Tokkyo Koho Jp 01.228.978.* (89.228.978).
- Sato, T., Niino, Y., Kakegawa, T. y Matsumoto, H. (1989c).— "Preparation of ascorbic acid derivatives as antioxidants".— *Jpn. Kokai Tokkyo Koho Jp 01.228.979.* (89.228.979).
- Schuler, P. (1990).— "Natural antioxidants exploited commercially" en "Food antioxidants". Ed. Hudson, B.J.F. Elsevier Applied Science. Londres y Nueva York, pag. 99-170.
- Scott, M.L. (1979).— "Vitamin E", en "The fat-soluble vitamins", p. 133-210. H.P. DeLuca, Plenum Press, N.Y. y Londres.
- Seher, A. (1986).— "Natural antioxidants. VI. Aminoacid mixtures on efficient synergists". *Fette, Seifen Antrichm.* **88**, 1-6.
- Senoo, K., Ogaka, K., Yoshida, K., Vehara, K. y Tomita, K. (1988).— "Tocopheryl ascorbyl phosphates as antioxidants for pharmaceuticals, cosmetics and foods".— *Jpn Kokai Tokkyo Koho JP 63.139.972.* (88.139.972).
- StAngelo, A.J., Ory, R.L. y Brown, L.E. (1977).— "Enzymes in food and beverage processing" p. 229-243.— *American Chemical Society Publishing Co. Washington DC.*
- Takagaki, R. (1988).— "Antioxidants consisting of tocopherols and licorice extracts for pharmaceuticals, cosmetics and foods".— *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 63.20.268* (88 20383).
- Terao, J. (1989).— "Antioxidant activity of β -carotene-related carotenoids in solution". *Lipids* **24**, 659-661.
- Venekei, I. (1987).— "Kinetics of NADPH dependent lipid peroxidation and a possible initiation-preventing antioxidant effect of microsomal (+)- α -tocopherol".— *Biochim. Biophys. Acta* **884**, 119-123.
- Wayner, D. D. M., Burton, G. W. e Ingold, K. U. (1986).— "The antioxidant efficiency of vitamin C is concentration dependent".— *Biochim. Biophys. Acta* **884**, 119-123.
- Weimann, B.J. y Gey, K.F. (1990).— "Relationship between vitamin E and arteriosclerosis". *Fett. Wiss Technol.* **92**, 29-37.

(Recibido: Abril 1992)

✻