

Vitamina E y aceites vegetales

Por, A. Sayago⁽¹⁾, M.I. Marín⁽¹⁾, R. Aparicio⁽²⁾, y M.T. Morales^{(1)*}

⁽¹⁾ Departamento de Química Analítica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla.
C/ Profesor García González n° 2, 41012, Sevilla.

⁽²⁾ Instituto de la Grasa (CSIC), Avda. Padre García Tejero n° 4, 41012, Sevilla

RESUMEN

Vitamina E y aceites vegetales

El interés por la vitamina E ha aumentado en los últimos años debido a su potente poder antioxidante y a su papel frente a enfermedades relacionadas con la edad, trastornos cardiovasculares o Alzheimer. En este trabajo se detallan la biogénesis, biodisponibilidad, requerimientos nutricionales, actividad y propiedades de la vitamina E. Los aceites vegetales constituyen una de las fuentes principales de aporte de vitamina E a través de la dieta, por lo que se lleva a cabo una amplia revisión bibliográfica desde cuatro puntos de vista: vitamina E y propiedades antioxidantes, beneficios para la salud debidos a la ingestión de aceites vegetales, efecto de agentes externos y procesamiento sobre el contenido de vitamina E y técnicas analíticas utilizadas para su análisis.

PALABRAS-CLAVE: Aceites vegetales - Antioxidantes - Tocoferoles - Vitamina E.

SUMMARY

Vitamin E and vegetable oils

An interest in vitamin E has increased in recent years due to its potent antioxidant properties and its role in preventing age-related diseases, cardiovascular diseases or Alzheimer. This work describes the biogenesis, bioavailability, nutritional requirements, activity and properties of vitamin E. Vegetable oils constitute one of the main sources of vitamin E dietary intake and an extensive bibliographic revision of this vitamin in vegetable oils is carried out from four points of view: antioxidant properties, health benefits, effects of external agents and effects of processing on vitamin E content and analytical techniques used for its analysis.

KEY-WORDS: Antioxidants - Tocopherols - Vegetable oils - Vitamin E.

1. INTRODUCTION

El término general vitamina E se utiliza para designar a un grupo de ocho especies naturales de tocoferoles y tocotrienoles (α , β , γ , y δ). Junto con las vitaminas A, D y K constituyen el grupo de las vitaminas liposolubles, caracterizadas por ser derivados del núcleo isoprenoide, solubles en lípidos y disolventes orgánicos. Son compuestos esenciales, puesto que el organismo no puede sintetizarlas, por lo que su aporte se realiza a través de la dieta en pequeñas cantidades. Para una eficiente absorción por el organismo requieren de la presencia de áci-

dos grasos, de la bilis, y de enzimas lipolíticas del páncreas y mucosa intestinal.

En la década de 1920, Evans y Bishop realizaron una serie de investigaciones sobre la influencia que tenía la nutrición en la reproducción de animales de laboratorio, encontrando que cuando los animales eran alimentados con dietas a base de manteca rancia, se presentaban trastornos en su reproducción, a menos que se agregara a dicha dieta trigo entero o vegetales frescos. Posteriormente determinaron que en el aceite de germen de trigo se encontraban todas las propiedades "vitamínicas" del trigo (Mahan y Arlin, 1995). En 1925, Evans sugirió la adopción de la letra "E" para nombrar a este factor dietético por su proximidad dentro de la serie alfabética, a la designación de la vitamina antirraquítica D (Codoceo y Muñoz, 1999).

Años más tarde, Emerson logró aislar y purificar este factor E y le dio el nombre de tocoferol, cuya etimología viene del griego *tokos* (nacimiento) y *pherein* (manifestar o poner a la luz). El sufijo -ol se añadió para indicar la naturaleza alcohólica de la sustancia (Mahan y Arlin, 1995). Después de dos décadas en las que se realizó la identificación, purificación y síntesis de la vitamina E (Remy, 1930; Bowden y Moore, 1933; Olcott y Mattill, 1934; Martino, 1934; Evans *et al.*, 1936; Emerson *et al.*, 1937; Drummond y Hoover, 1937; Todd *et al.*, 1937a,b,c; Bergel *et al.*, 1938; Karrer y Jensen, 1938), ésta es hoy universalmente aceptada como el genérico de un conjunto de derivados tocoles (tocoferoles y tocotrienoles) que poseen cierta actividad vitamínica, siendo el alfa-tocoferol la forma más activa para el ser humano (Codoceo y Muñoz, 1999).

No es fácil determinar las necesidades diarias de vitamina E para el ser humano ya que varían según la actividad física, la edad, el estado de salud o enfermedad, el crecimiento, etc., por lo que las recomendaciones en cuanto a su ingesta resultan únicamente orientativas (Codoceo y Muñoz, 1999). La "Food and Drug Administration" (FDA) define el "valor diario" como un número de referencia que indica las necesidades humanas diarias, permitiendo de esta forma a los consumidores determinar si un alimento contiene mucho o poco de un determinado nutriente; concretamente para la vitamina E asigna un valor de 30 unidades internacionales que equivalen a 20 mg de tocoles expresados como alfa-tocoferol (U.S.D.A., 2004). Otras organizaciones

hacen recomendaciones de ingesta diaria de referencia (Tabla 1) en función de la edad, sexo y estado fisiológico.

Debido a la amplia disponibilidad de vitamina E en la dieta, ya que se encuentra presente en numerosos alimentos, rara vez se producen carencias (Mahan y Arlin, 1995). No obstante, varias son las situaciones en que se puede originar una deficiencia de vitamina E:

La deficiencia de esta vitamina en humanos, con un origen exclusivamente alimentario, es bastante rara y queda limitada a los cuadros multicausales propios de países subdesarrollados o en vías de desarrollo. La mayoría de los síntomas de esta deficiencia están relacionados con la ausencia de la protección antioxidante de esta vitamina, siendo uno de los signos más característicos la tendencia de los eritrocitos a la lisis. Suelen manifestarse también otros signos hematológicos, neurológicos, musculares y oftalmológicos (Mataix y Ochoa, 2002).

Pueden asimismo aparecer deficiencias asociadas a patologías como el síndrome de malabsorción, fibrosis quística, abetalipoproteinemia, enfermedades crónicas del hígado, enfermedad celíaca, anemias hemolíticas, etc. (Pita, 1997).

La prematuridad puede asociarse también a un déficit de vitamina E, debido a varios factores tales como la existencia de una inadecuada reserva en el organismo, una reducida capacidad en el transporte de la vitamina por la sangre y, posiblemente por problemas de absorción. En prematuros se asocia la deficiencia en esta vitamina a una disminución en la capacidad fagocítica y en la actividad

bactericida y quiotáctica, apareciendo por lo tanto una mayor incidencia de infecciones bacterianas. También se han observado anemias hemolíticas, estructuras anormales de las células rojas, hemorragias intracraneales, displasia broncopulmonar y fibrosis retrolental.

Por último en el caso de pacientes con nutrición parenteral total se requiere suplementación vitamínica E para evitar el riesgo de deficiencias (Mataix y Ochoa, 2002).

1.1. Estructura química

La vitamina E está formada por un grupo de 8 vitámeros. Su estructura consta de 2 partes primarias: un anillo complejo cromano y una larga cadena lateral. Estos 8 vitámeros se dividen en 2 grupos fundamentales: 4 tocoferoles y 4 tocotrienoles que se diferencian en la saturación de la cadena lateral; los tocoferoles tienen una cadena saturada y los tocotrienoles una insaturada con 3 dobles enlaces en los carbonos 3, 7 y 11 (Figura 1a).

Dentro de cada grupo, los vitámeros difieren en el número y posición de los grupos metilo en el anillo cromano, designándose como α , β , γ y δ (Figura 1 b).

1.2. Biogénesis y biodisponibilidad de la vitamina E

Los tocotrienoles surgen de la condensación del ácido homogentísico (HGA) y el geranil-geranil difosfato (GGDP), reacción catalizada por la enzima homegentísico geranil-geranil transferasa (HGGT)

Tabla 1
Ingesta diaria de referencia de vitamina E (Institute of Medicine, 2000)

Edad (años)	Hombres (mg/día)	Mujeres (mg/día)	Gestantes (mg/día)	Lactancia (mg/día)
1-3	6 mg	6 mg		
4-8	7 mg	7 mg		
9-13	11 mg	11 mg	15 mg	19 mg
14+	15 mg	15 mg	15 mg	19 mg

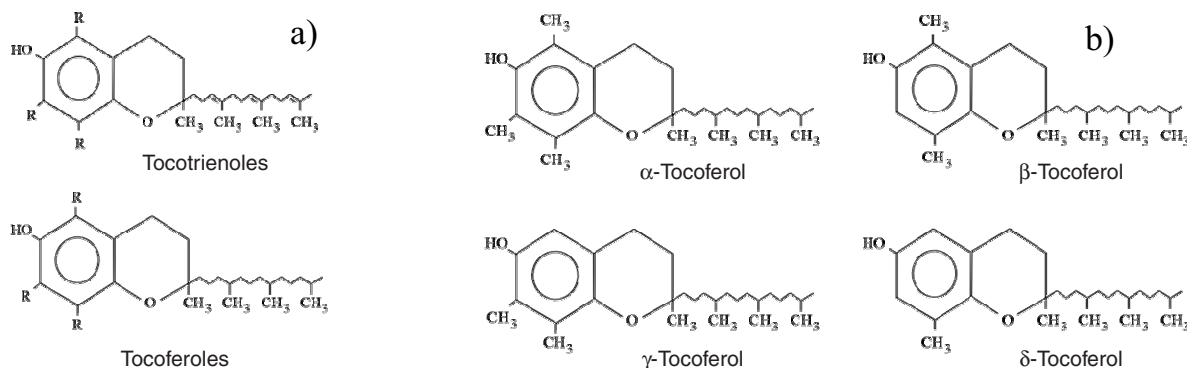


Figura 1

a) Estructura química de los tocoferoles y tocotrienoles. b) Estructura química de los tocoferoles

dando origen al 2-metil-6-geranilgeranilbenzoquinol (Cahoom *et al.*, 2003) (Figura 2).

Por otra parte la síntesis de los tocoferoles se basa en la condensación del ácido homogentísico (HGA) con el fitol difosfato (PDP), reacción catalizada por la enzima homogentísico fitol transferasa (HPT) dando lugar a la formación del 2-metil-6-fitilbenzoquinol (Cahoom *et al.*, 2003) (Figura 2). Se ha demostrado, a partir de espinacas y *Arabidopsis*, que las enzimas HPTs tienen una preferencia exclusiva sobre los sustratos PDPs (Cahoom *et al.*, 2003).

El 2-metil-6-geranilgeranilbenzoquinol y el 2-metil-6-fitilbenzoquinol, obtenidos en estas reacciones sufren una serie de reacciones de metilación y ciclación formando las moléculas de α -tocotrienol y α -tocoferol respectivamente (Figura 2).

La vitamina E es esencial para nuestro crecimiento y supervivencia, sin embargo, el cuerpo humano no puede sintetizarla y la ingiere unida a los lípidos con la dieta (Brigelius-Flohé *et al.*, 2002). Sólo del 20 al 50% de la dosis ingerida es absorbida en el intestino delgado por difusión pasiva (Codoceo y Muñoz, 1999).

El tocoferol esterificado es previamente hidrolizado a tocoferol libre, en el lumen del intestino y la mucosa, a través de las esterasas pancreáticas e

intestinales (Codoceo y Muñoz, 1999). Su absorción esta ligada a la simultánea digestión y absorción de la grasa alimentaria, habiéndose observado que los triglicéridos de cadena media incrementan esta absorción mientras que los ácidos grasos poliinsaturados la inhiben (Mataix y Ochoa, 2002). Los estudios en animales y humanos han mostrado que la bilis y la secreción pancreática son esenciales para la hidrólisis de los triglicéridos por las lipasas pancreáticas facilitando así la absorción de la vitamina E (Pita, 1997). Una vez atravesado el lumen intestinal es transportada por las lipoproteínas y eritrocitos encontrándose niveles significativos de esta vitamina en las membranas de estos últimos (Gerald y Combs, 1992). El tocoferol circulante es acumulado lentamente por los diferentes tejidos, incorporándose a las membranas de las células junto al colesterol y los fosfolípidos (Mataix y Ochoa, 2002). Su retención hística es dependiente de la proteína transportadora y de su actividad biológica (Pita, 1997). El tejido adiposo, el hígado y el músculo son áreas importantes para el depósito de esta vitamina encontrándose los niveles más altos en los tejidos finos (Gerald y Combs, 1992).

Los principales productos de degradación de la vitamina E son la tocoferilquinona y la tocoferilhi-

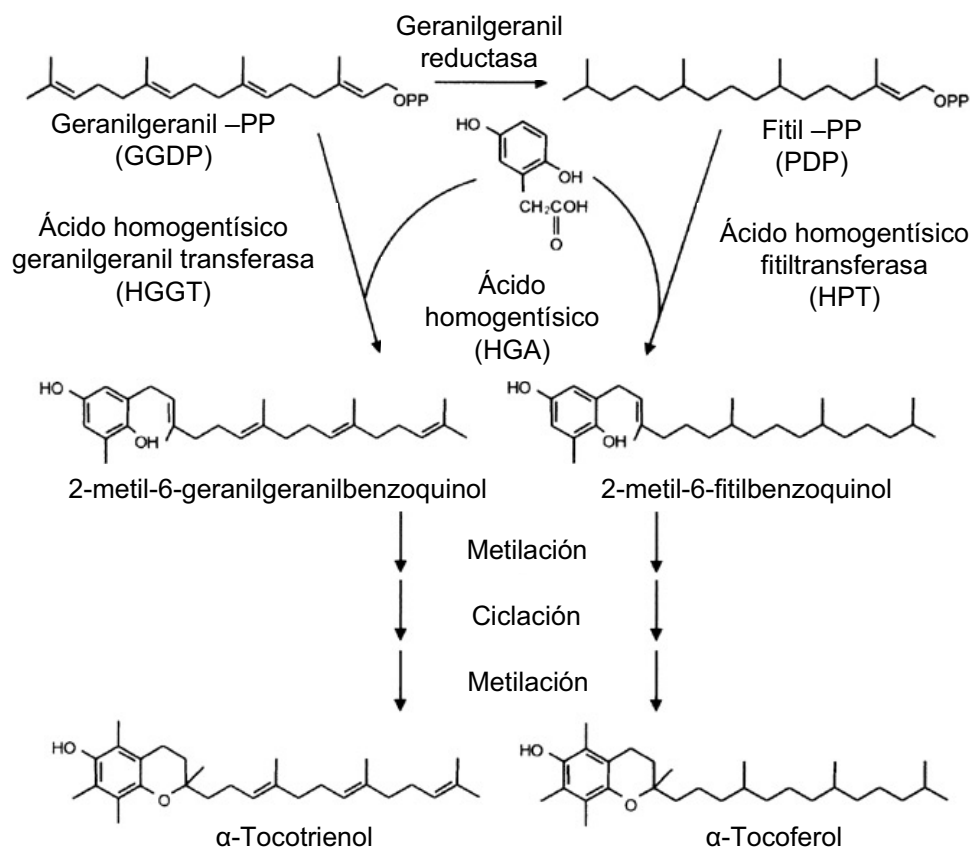


Figura 2
Mecanismo biosintético de α -tocoferol y α -tocotrienol.

droquinona, dímeros, trímeros y algunas sustancias solubles en agua (Figura 3). Estos compuestos se excretan fundamentalmente a través de las heces.

1.3. Actividad

Existen varias teorías acerca de la función de la vitamina E en el organismo, siendo la más aceptada que la vitamina E actúa coordinada con otras moléculas y enzimas para la defensa de las células (especialmente glóbulos rojos, células musculares y células nerviosas) frente a los efectos nocivos producidos por los radicales libres, considerándose actualmente un importante antioxidante que aporta sustanciales beneficios al organismo (Gerald y Combs, 1992).

Esta actividad antioxidante radica en su capacidad de protección de las membranas celulares, acción que realiza impidiendo la oxidación de las mismas por los radicales libres. Dicha oxidación llevaría a una degradación del organismo, especialmente a la aparición de enfermedades cardíacas o posibles cánceres. Esta vitamina, junto con las vitaminas A y C, forma el grupo de las vitaminas antioxidantes (Gerald y Combs, 1992).

El mecanismo de acción antioxidante consiste en la interrupción de las etapas de propagación y descomposición del proceso de autooxidación y en la reacción con el oxígeno singulete en el proceso de fotoxidación. En la autooxidación los tocoferoles interrumpen las reacciones en cadena mediante la donación de un hidrógeno al radical peroxilo originando un radical ariloxilo y un hidroperóxido (reacción I) (Burton e Ingold, 1986). Los radicales ariloxilo resultantes se estabilizan por deslocalización electrónica de la estructura fenólica, reaccionando fácilmente con otros radicales peroxilo para formar productos estables (reacción II), resultando poco probable que abstraigan átomos de hidrógeno de moléculas lipídicas intactas. Los múltiples productos de oxidación de los tocoferoles, que pueden for-

marse a partir de los radicales ariloxilo mediante una complicada gama de reacciones, incluyendo reacciones bimoleculares de radicales ariloxilo para formar dímeros (reacción III), constituyen un tema de estudio complejo de gran importancia debido a que no se conoce claramente su contribución al efecto antioxidante (Kamal-Eldin y Appelqvist, 1996; Frankel, 1996).



Esta vitamina ejerce muchos más efectos de los que su descubridor hubiera podido imaginar. Como antioxidante, defiende las células reduciendo el estrés oxidativo, estimula el sistema inmunológico y frena el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Asimismo, ayuda a reducir los niveles de colesterol (Packer y Obermüller-Jevic, 2002). Aunque su utilidad en la prevención de trombos en las arterias es aún discutible (Stanley, 2005).

La vitamina E, específicamente el succinato de α -tocoferol, su forma más activa, puede inducir apoptosis directa o indirectamente en las células tumorales, dependiendo de la dosis, del periodo de exposición y del tipo de células (Flebes *et al.*, 2002).

En estudios recientes se ha observado que la vitamina E, puede ayudar a retrasar el inicio de la diabetes mellitus tipo 2, e incluso, mejorar el control de azúcar en sangre (Packer y Obermüller-Jevic, 2002).

La resistencia de las LDL_s a la oxidación, como índice de susceptibilidad a la arteriosclerosis, se asocia con el contenido de vitamina E (Codoceo y Muñoz, 1999). Además se ha descrito que esta vitamina juega un importante papel como "regulador genético" a nivel del ARN_m o proteína, lo que podría tener consecuencias en la regulación de transcripción de genes, estabilidad del ARN_m, traducción de proteínas y estabilidad proteica (Gliszczynska-Swiglo y Sikorska, 2004).

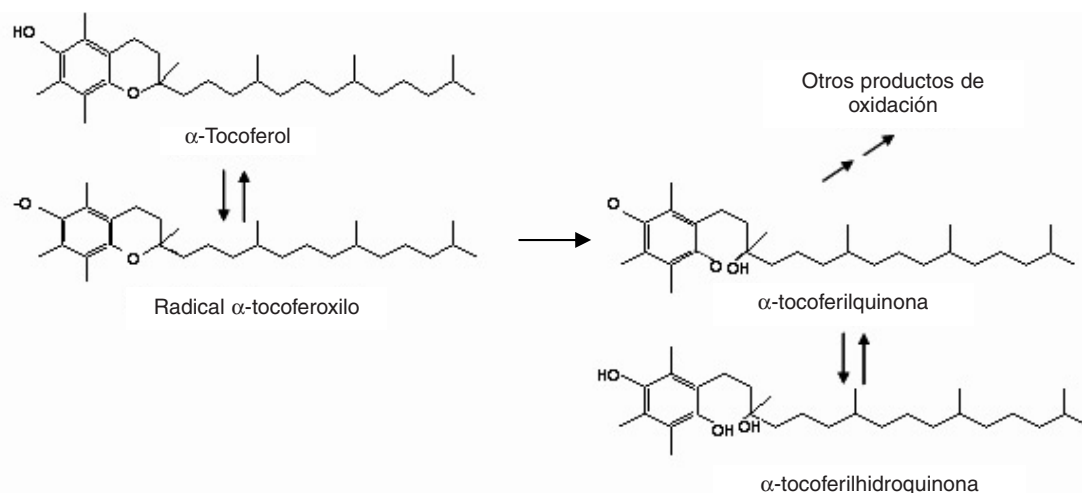


Figura 3
Degradación del α -tocoferol.

2. TOCOFEROLES EN ACEITES VEGETALES

La vitamina E se encuentra principalmente en los aceites vegetales (soja, maíz, algodón y girasol), granos, plantas y en el tejido adiposo de los animales. Se localiza principalmente en las hojas y partes verdes de las plantas, que contienen más α -tocoferol que las partes amarillas, mientras que el γ -tocoferol se encuentra en bajas concentraciones (Gerald y Combs, 1992). También se encuentran en las algas marrones, verdes y rojas, en algunas levaduras y hongos, pero no en las bacterias (Codoceo y Muñoz, 1999).

La distribución de los tocoferoles en aceites vegetales es diferente a la de los tocotrienoles. Durante el procesado (desodorización, refinado...) y almacenamiento de los aceites y a lo largo de la preparación de los alimentos, ocurren pérdidas considerables en el contenido de vitamina E que causan su desestabilización, siendo los procesos de fritura, asado o cocción a fuego lento aquellos en los que se producen las mayores pérdidas de esta vitamina, al existir un mayor contacto con el calor y el oxígeno (Mataix y Ochoa, 2002).

La Tabla 2 muestra el contenido de tocoferoles y tocotrienoles en algunos aceites vegetales. Los aceites derivados de palma y girasol, presentan un mayor contenido en tocotrienoles que el resto de los aceites vegetales citados, en los que el contenido en estos compuestos es prácticamente imperceptible o se encuentra en niveles traza. El aceite

de germen de trigo destaca por su elevado contenido en tocoferoles, principalmente en el isómero α -tocoferol, lo que lo convierte en un aceite con un elevado poder antioxidante muy empleado dentro del campo de la cosmética (Je Kyung, 2000; Pfeffer-Slobodinsky, 2004).

Debido a la importancia nutricional de la vitamina E, ya que es un elemento esencial, en los últimos años se han publicado numerosos trabajos de investigación relacionados con su estudio en aceites vegetales. Dichos trabajos se han centrado fundamentalmente en cuatro aspectos como son, la evaluación de las propiedades antioxidantes, los beneficios para la salud que conlleva su consumo, los efectos de agentes externos como la temperatura, el refinado o el almacenamiento sobre el contenido de tocoferoles y el desarrollo y puesta a punto de técnicas analíticas para la determinación de tocoferoles que permitan una caracterización de los aceites (Tabla 3).

En relación con las propiedades antioxidantes, se ha estudiado la rancidez y la estabilidad oxidativa de distintos aceites vegetales evaluándose el efecto de la concentración de tocoferoles, junto con otros factores, sobre la estabilidad de los aceites (Martínez de la Cuesta *et al.*, 1995; Chiba, 1999). Por otra parte se ha demostrado que los isómeros γ y δ -tocoferol son más estables frente al proceso oxidativo, y que los tocoferoles tienen potencial antioxidante mayor a los tocotrienoles (Elmadfa y Wagner, 1997). Asimismo se ha determinado la es-

Tabla 2

Contenido de tocoferoles y tocotrienoles en distintos tipos de aceites vegetales (Carpenter, 1979; Muller-Mulot, 1976; Rossell and Pritchard, 1990; Ong, 1993; Sheppard and Pennington, 1993; Harwood and Aparicio, 2000; Cabrini *et al.*, 2001; Barrera-Arellano *et al.*, 2002; Gutierrez and Fernández, 2002; Pereira *et al.*, 2002; García *et al.*, 2003; Aguilera *et al.*, 2005).

Aceite	Tocoferoles (mg/kg)				Tocotrienoles (mg/kg)			
	α -T	β -T	γ -T	δ -T	α -T-3	β -T-3	γ -T-3	δ -T-3
cacahuete	130-169	nd-5	144-780	13-21	nd	nd	nd	nd
canola	100-400	0-150	42-753	0.4-22	0.4	nd	nd	nd
cártamo	342-477	nd	44-71	10	nd	nd	nd	nd
castor	28	29	111	310	nd	nd	nd	nd
coco	nd-18	nd-11	nd-15	nd-6	nd-44	nd-1	nd	nd
colza	70	16	178	7	nd	nd	nd	nd
fibras de palma	1662	nd	nd	nd	456	nd	485	142
germen de trigo	1179-1330	398-710	260-493	118-271	tr-26	18.1	nd	nd
girasol	40-1000	9-45	nd-51	nd-75	nd-239	nd-52	nd-450	nd-20
maíz	20-600	nd-370	0-2500	18.9-75	nd-250	nd	nd	nd
manteca de cacao	11	nd	170	17	2	nd	nd	nd
mostaza	75	nd	494	31	nd	nd	nd	nd
nuez	563	nd	595	450	nd	nd	nd	nd
oliva	93-354	nd-3.18	0.75-28.5	nd	nd	nd	nd	nd
palmiste	nd-62	nd-248	nd-257	nd	nd-tr	nd	nd-60	nd
palma	2-256	nd-240	0-500	nd-70	2-350	nd-3.2	42-710	tr-148
salvado de arroz	324	18	53	nd	236	nd	349	nd
semilla de algodón	130-690	nd-40	140-740	nd-17	nd-30	nd	nd	nd
sésamo	12-136	6	244-290	32	nd	nd	nd	nd
soja	9-360	nd-50	90-2400	154-932	2	0.1	nd	nd

Tabla 3
Estudios relacionados con la presencia de tocoferol en aceites vegetales

APLICACIÓN/OBJETO DE ESTUDIO		TIPOS DE ACEITES	REFERENCIA	
Propiedades Antioxidantes	Rancidez Oxidativa.	Oliva, girasol y girasol alto oleico	Martínez de la Cuesta <i>et al.</i> , 1995.	
	Estabilidad oxidativa.	Maíz	Huang <i>et al.</i> , 1995	
		Aceites vegetales	Elmadfa y Wagner, 1997.	
		Soja	Chu y Kung, 1997.	
		Girasol y nuez	Demir y Cetil, 1999.	
		Vegetales refinados	Chiba, 1999.	
		Soja, colza, oliva y girasol	Marinova <i>et al.</i> , 2001.	
		Oliva virgen extra	Dessi <i>et al.</i> , 2001.	
		Colza y girasol	Velasco <i>et al.</i> , 2004.	
	Actividad Antioxidante	Soja y colza	Engberg <i>et al.</i> ,1996.	
		Aceites vegetales	Frankel, 1996.	
		Oliva y girasol	López-Bote <i>et al.</i> , 1997.	
		Soja y girasol	Armando <i>et al.</i> , 1998.	
		Aceites comestibles	Hirata <i>et al.</i> , 1999.	
		Aceites vegetales	Yoshida y Takagi, 1999.	
		Girasol y colza	Hras <i>et al.</i> , 1999.	
		Aceite de limón	Grassmann <i>et al.</i> , 2001.	
		Girasol y oliva	Tomasch <i>et al.</i> , 2001.	
		Soja	Wu y Weng, 2001.	
Beneficios para la salud basados en su carácter antioxidante.	Arritmia cardiaca	Aceites comestibles	Charnock, 1995.	
	Prevención del cáncer	Aceites vegetales	Albanes <i>et al.</i> , 1997.	
		Oliva virgen	Servili <i>et al.</i> , 2004.	
	Productos cosméticos	Aceite de borraja	Nishimoto y Fukushima, 1997.	
		Aceite de camelia, rosas y girasol	Lerondeau y Monclus, 1998.	
	Metabolismo lipoprotéico	Oliva, maíz y girasol	Wagner <i>et al.</i> , 2001.	
		Oliva virgen	Servili <i>et al.</i> , 2004.	
Disminución de la presión sanguínea	Oliva virgen	Perona <i>et al.</i> , 2004.		
Efectos de Agentes externos y procesado	Temperatura	Calentamiento tradicional	Aceites vegetales	Jeranek <i>et al.</i> , 1996.
			Palma y girasol	Li <i>et al.</i> , 1996.
			Aceites vegetales	Hiroi, 1997.
			Soja, girasol y colza	Porsgaard <i>et al.</i> , 1999.
			Oliva virgen	Nissiotis y Tasioula-Margari, 2001.
			Oliva y maíz	Tsaknis et al., 2002.
			Palma, girasol, soja, oliva y colza	Barrera- Arellano <i>et al.</i> , 2002.
			Oliva y girasol	Andrikopoulos <i>et al.</i> , 2002.
		Calentamiento con Microondas	Aceites vegetales	Yoshida <i>et al.</i> , 1996.
			Oliva	Rouit <i>et al.</i> , 1996.
			Soja, maíz, girasol, colza y oliva	Marinova <i>et al.</i> , 2001.
			Oliva virgen	Brenes <i>et al.</i> , 2002
			Oliva virgen	Nissiotis and Tasioula-Margari, 2002.
			Moringa oleifera oil	Tsaknis and Lalas, 2002
			Girasol, soja y cacahuete	Hassanein <i>et al.</i> , 2003
		Irradiación	Aceites vegetales	Chaouch <i>et al.</i> , 1999.
		Proceso de maduración	Oliva virgen	Beltrán <i>et al.</i> , 2005

Tabla 3 (cont.)
Estudios relacionados con la presencia de tocoferol en aceites vegetales

APLICACIÓN/OBJETO DE ESTUDIO		TIPOS DE ACEITES	REFERENCIA	
Efectos de Agentes externos y procesado	Deshuesado de la aceituna	Oliva virgen	Lavelli y Bondesan, 2005	
	Efectos de la extracción	Oliva virgen	Gimeno <i>et al.</i> , 2002	
	Refinado y desodorización	Aceites vegetales	Yamagami <i>et al.</i> , 1999.	
		Aceites vegetales	De Greyt <i>et al.</i> , 1999.	
		Maíz	Berski y De Greyt, 2001.	
		Maíz, palma y soja	Verleyen <i>et al.</i> , 2002.	
		Girasol	Alpsalan <i>et al.</i> , 2001	
	Almacenamiento	Aceitunas	Pereira <i>et al.</i> , 2002	
		Oliva	Gutiérrez y Fernández, 2002	
		Oliva	Rastrelli <i>et al.</i> , 2002	
Oliva		Psomiadou and Tsimidou, 2002		
Determinación de tocoferoles: Técnicas analíticas	RP-HPLC	Girasol, oliva, soja y cacahuete	Dionisi <i>et al.</i> , 1995.	
Caracterización de aceites.	Métodos cromatográficos	Oliva, girasol y maíz	Rovellini <i>et al.</i> , 1997.	
		Soja y maíz	Lima y Goncalves, 1997	
		Aceites vegetales y margarinas	Rader <i>et al.</i> , 1997	
		Oliva, oliva virgen girasol, maíz y soja	Gimeno <i>et al.</i> , 2000	
		Oliva virgen extra, girasol, soja, cacahuete y maíz.	Cabrini <i>et al.</i> , 2001.	
		Aceites vegetales	Puspitasari-Nienaber <i>et al.</i> , 2002	
		Aceites vegetales	Glyszczynska-Swiglo y Sikorska, 2004	
		NP-HPLC	Aceites vegetales	Ye <i>et al.</i> , 1998.
		Aceites vegetales	Takahashi <i>et al.</i> , 1998.	
		Aceites vegetales	Sánchez-Pérez <i>et al.</i> , 2000.	
		Aceites vegetales	Medina-Juárez <i>et al.</i> , 2000.	
		Oliva virgen	Psomiadou <i>et al.</i> , 2000	
		Palma	Moh <i>et al.</i> , 2001.	
		Oliva	Lo Curto <i>et al.</i> , 2001.	
		Oliva y soja	Seppanen <i>et al.</i> , 2003.	
		Oliva virgen	García <i>et al.</i> , 2003.	
		Oliva y avellana	Benítez-Sánchez <i>et al.</i> , 2003.	
		Oliva virgen	Aguilera <i>et al.</i> , 2005	
	GC	Girasol y palma.	Mariani y Bellan, 1997.	
	Aceites vegetales	Lechner <i>et al.</i> , 1999.		
	Aceites vegetales	Carstensen <i>et al.</i> , 2002.		
	HPLC y GC	Aceites vegetales	De Greyt <i>et al.</i> , 1998.	
	SFC	Aceites vegetales	Senorans <i>et al.</i> , 1999.	
	Métodos eléctricos	Cronopotenciometría	Aceites vegetales	Suturovic <i>et al.</i> , 1999.
		Voltametría	Oliva	Galeno <i>et al.</i> , 2004.
		Métodos luminiscentes	Soja, colza, maíz, girasol, oliva y lino	Sikorska <i>et al.</i> , 2004 y 2005
	Oliva virgen		Escuderos <i>et al.</i> , 2007	
	FT-IR	Canola, soja, girasol	Ahmed <i>et al.</i> , 2005	

tabilidad oxidativa de aceites de girasol y nuez tras su calentamiento a 100°C observándose que presentaba valores más elevados para aquellos aceites obtenidos por extracción con disolventes (Demir y Cetin, 1999). Otros investigadores han realizado estudios similares sobre la estabilidad oxidativa de distintos tipos de aceites vegetales durante el aumento de la temperatura, concluyendo que ésta se encuentra directamente relacionada con el contenido inicial de tocoferol (Dessi *et al.*, 2001; Marinova *et al.*, 2001). Desde un punto de vista metodológico, Velasco *et al.* (2004) realizaron un estudio comparativo entre diferentes técnicas analíticas (Resonancia de Spin electrónico (ESR), Calorimetría diferencial (DCS), y Rancimat) para examinar la capacidad de cada uno de los métodos en la determinación de la estabilidad oxidativa de once muestras diferentes de aceites vegetales de girasol y colza, concluyendo que el método ESR es un método útil que emplea condiciones más suaves y un menor tiempo de análisis.

Otro de los aspectos ampliamente estudiado ha sido la actividad antioxidante de los aceites vegetales. Se ha explicado el mecanismo antioxidante del α -tocoferol y cómo su concentración en el aceite determina la estabilidad oxidativa del mismo, así como los efectos del procesamiento sobre la concentración de tocoferoles (Frankel, 1996). También se ha determinado la actividad antioxidante de diferentes aceites vegetales "in vivo" mediante la medida del crecimiento de pollos (Engberg *et al.*, 1996) y de la oxidación de lípidos en músculo de conejos (López-Bote *et al.*, 1997) en cuyas dietas se había incluido un porcentaje de aceites vegetales, o mediante la medida de la oxidación de LDL en plasma (Grassman *et al.*, 2001; Tomash *et al.*, 2001). Otros estudios se han centrado, en cambio, en la mejora de la actividad antioxidante (disminución de la oxidación) de aceites a los que se adicionan tocoferoles sintéticos (Hirata, 1999 y Yoshida y Tagaki, 1999) o procedentes de extractos de pepita de uva (Carrasquero *et al.*, 1998) o de romero (Hras *et al.*, 1999). Wu y Weng (2001) compararon el potencial antioxidante del aceite de soja con el del α -tocoferol sintético concluyendo que la actividad de los tocoferoles naturales es mucho mayor que la de los sintéticos. Esto puede deberse a que estos últimos están formados por una mezcla racémica de isómeros D y L, siendo el isómero D el que tiene actividad biológica.

Por otra parte la acción beneficiosa para la salud de la presencia de tocoferoles en aceites vegetales ha sido también objeto de estudio. La actividad antioxidante de los tocoferoles y otros compuestos de los aceites vegetales, presenta un creciente interés desde que fueron relacionados con su carácter protector frente a enfermedades degenerativas crónicas como las enfermedades coronarias (Charnock, 1995), la degeneración neuronal y la aparición de tumores en diferentes localizaciones (Albanes *et al.*, 1997) además de su contribución a la reducción de la peroxidación lipídica (Wagner *et al.*, 2001) y su actividad antihiper-

tensiva (Perona *et al.*, 2004). Estas propiedades antioxidantes han sido también utilizadas en campos como la cosmética (Nishimoto y Fukushima, 1997; Lerondeau y Monclus, 1998).

En cuanto a la acción de los agentes externos se ha estudiado el efecto de la temperatura sobre el contenido de tocoferoles de los aceites vegetales, bien realizando el calentamiento mediante métodos convencionales (Jeranek *et al.*, 1996; Li *et al.*, 1996; Hiroi, 1997; Porsgaard *et al.*, 1999; Nissiotis y Tasioula-Margari, 2001; Tsaknis *et al.*, 2002; Barrena-Arellano *et al.*, 2002; Andriokopoulos *et al.*, 2002) o mediante microondas (Yoshida *et al.*, 1996; Rouit *et al.*, 1996; Marinova *et al.*, 2001; Brenes *et al.*, 2002; Nissiotis and Tasioula-Margari, 2002; Tsaknis and Lallas, 2002; Hassanein *et al.*, 2003). De todos estos estudios puede extraerse como conclusión que a medida que aumenta la temperatura disminuye el contenido en tocoferoles siendo el α -tocoferol el menos estable, lo que concuerda con lo expuesto en algunos estudios de estabilidad oxidativa (Elmadfa y Wagner, 1997). Efectos similares a la temperatura tienen lugar durante la irradiación de aceites vegetales (Chaouch *et al.*, 1999) y el procesamiento de los aceites (refinado, desodorización) (Yamagami *et al.*, 1999; De Greyt *et al.*, 1999; Berski y De Greyt, 2001; Apsalan, 2001; Verleyen *et al.*, 2002) y su almacenamiento (Pereira *et al.*, 2002; Gutiérrez y Fernández, 2002; Rastrelli *et al.*, 2002; Psomiadou and Tsimidou, 2002). En el caso del aceite de oliva, sistemas de procesado como la extracción en dos o tres fases (Gimeno *et al.*, 2002) o el deshuesado de la aceituna (Lavelli y Bondesan, 2005), no afectan aparentemente al contenido de tocoferoles final. Sin embargo, el estado de maduración de la aceituna influye decisivamente en el contenido de tocoferoles del aceite, siendo aquellos obtenidos de aceitunas verdes más ricos en este tipo de compuestos que los obtenidos de aceitunas maduras (Beltrán *et al.*, 2005).

En las últimas décadas, las investigaciones también se han orientado al desarrollo de procedimientos analíticos que permitan la caracterización y autenticación de los aceites, mediante el análisis del contenido total de tocoferoles, así como la diferenciación y determinación de sus diferentes isómeros.

Con frecuencia se emplean técnicas acopladas (in-tandem) para la separación y posterior determinación de los distintos isómeros de la vitamina E.

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es una de las técnicas más empleadas para la separación de las diferentes formas del tocoferol, debido a que no requiere una etapa compleja de preparación de la muestra, sino que en la mayoría de los casos basta con una dilución de la muestra con un disolvente compatible con la fase móvil. Entre las variantes que puede presentar esta técnica, frecuentemente los investigadores optan por HPLC en fase reversa (RP-HPLC) acoplado a detectores ópticos como UV-VIS (Rovellini *et al.*, 1997; Lima y Goncalves, 1997; Rader *et al.*, 1999; Gimeno *et al.*, 2000), detectores de fluorescencia

(Glyszczynska-Swiglo y Sikorska, 2004), o bien acoplado a detectores de tipo electroquímico (Dionisi et al., 1995; Puspitasari-Nienaber et al., 2002). Otros autores, en cambio, emplean HPLC en fase normal, acoplada a detectores de fluorescencia (Ye et al., 1998; Lo Curto et al., 2001), y de UV-Vis (Takahashi et al., 1998; Medina-Juárez et al., 2000; Psomiadou et al. 2000; Aguilera et al., 2005). Se ha descrito también, un método rápido para la determinación de α , γ y δ tocoferol en diferentes tipos de aceites vegetales basado en una extracción continua, seguida de una cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector coulombimétrico (Sánchez-Pérez et al., 2000). Frecuentemente se observa en la bibliografía el acoplamiento del HPLC en fase normal (NP-HPLC), con diversos detectores lo que permite la determinación de otros compuestos además de los tocoferoles. El empleo de un detector de dispersión de la luz evaporativa en línea con uno de fluorescencia ha permitido la separación y determinación simultánea de lípidos y diferentes isómeros de la vitamina E (α , β y γ -tocopherol y δ -tocotrienol) en muestras de aceite de palma (Moh et al., 2001). Por otra parte el acoplamiento en serie de un detector de UV-VIS con uno de fluorescencia al cromatógrafo líquido (HPLC) ha sido utilizado para el análisis simultáneo de β -carotenos, tocoferoles, tocotrienoles y feofitinas (Sepanen et al., 2003). La conexión en línea de NP-HPLC-Diodo array-fluorescencia se ha empleado en el análisis de polifenoles, lignanos y tocoferoles en muestras de distintas variedades de aceites de oliva virgen (García et al., 2003). Otros investigadores se han basado en los análisis por cromatografía de gases y por acoplamiento NP-HPLC-Fluorescencia-Masas para la determinación de sus componentes mayoritarios y minoritarios permitiendo de este modo la caracterización de muestras de aceites de avellana crudos y refinados (Benítez-Sánchez et al., 2003). Las columnas de NP permiten la separación de todos los isómeros del tocoferol, mientras que las columnas de RP, que son generalmente de octadecylsilano (C18) modificado, no resuelven totalmente el β - y γ -tocopherol. Por otra parte, las ventajas principales de la cromatografía en fase reversa comparada con la cromatografía en fase normal son el menor tiempo necesario para el equilibrio de la columna y una mejor reproducibilidad de los tiempos de retención, por ello cuando la separación del β - y γ -tocopherol no constituyen el principal objeto del análisis, se prefieren columnas de fase reversa (Glyszczynska-Swiglo A, Sikorska E. 2004).

La cromatografía de gases (GC) como técnica de separación no se utiliza mucho debido a la laboriosa preparación que requieren las muestras, aunque permita obtener una buena resolución. Mariani y Bellan (1996) plantearon una variante al método tradicional para la cual no resultaba necesario el paso previo de saponificación antes del análisis de la muestra. Otros investigadores realizan los pasos previos de "clean up" mediante extracción en fase sólida para separar los componentes minorita-

rios de la matriz de triglicéridos (Lechner et al., 1999) o aplicando cromatografía de exclusión para separar las diferentes fracciones de la muestra (Carstensen et al., 2002).

Un estudio comparativo de la cromatografía de gases y la cromatografía líquida de alta resolución en base a su repetibilidad, precisión y recuperación, ha permitido concluir que la cromatografía líquida presenta una mayor precisión y repetibilidad, mientras que la de gases posee mejor coeficiente de recuperación (De Greyt et al., 1998). No obstante cuando se emplea cromatografía de gases es necesaria una separación previa con cromatografía en capa fina (TLC) para evitar el solapamiento de otros componentes menores con los tocoferoles.

Otra de las técnicas de separación cromatográfica empleada es la cromatografía de fluidos supercríticos acoplada a un detector UV-Vis que se ha utilizado para la determinación de α , δ y γ -tocopherol. Esta cromatografía no necesita de un pretratamiento de la muestra para aislar la fracción insaponificable (Senorans et al., 1999).

La aplicación de métodos electroquímicos tales como la cronopotenciometría (Suturovic et al., 1999), y la voltametría (Galeano et al., 2004) permiten la diferenciación de los diferentes isómeros de los tocoferoles sin necesidad de técnicas de separación, pero necesitan de una fase de preparación de la muestra antes de someterla al análisis.

Finalmente en los últimos años se ha llevado a cabo la determinación del contenido total de tocoferoles mediante métodos luminiscentes, como la espectroscopía de luminiscencia (Sikorska et al., 2004) y la fluorescencia (Escuderos et al., 2007). Los estudios más recientes han permitido establecer los perfiles característicos de los diferentes tipos de aceites y, de esta forma, la diferenciación de los aceites comestibles y de sus posibles adulteraciones (Sikorska et al., 2004). Muy recientemente se ha puesto a punto un método que permite la cuantificación del contenido total de tocoferoles (Escuderos et al., 2007). El empleo de este tipo de técnicas unidas a métodos de análisis multivariante permitirán llevar a cabo estudios de caracterización y autenticación sin necesidad de un exhaustivo pretratamiento de las muestras (Sayago et al., 2004).

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera M P, Beltrán G, Ortega D, Fernández A, Jiménez A, Uceda M. 2005. Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia. *Food Chem.* **89**, 387–391.
- Albanes D, Heinone OP, Taylor PR, Virtamo J, Edwards BK, Rautalahti M, Hartman AM, Palmgren J, Freedman LS, Haapakoski J, Barrett MJ, Pietinen P, Malila N, Tala E, Liippo K, Salomaa E-R, Tangrea JA, Teppo L, Askin FB, Taskinen E, Erozan Y, Greenwald P, Huttunen JK. 1996. α -Tocopherol and β -carotene supplements and lung cancer incidence in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study:

- effects of base-line characteristics and study compliance. *J. Natl. Cancer Inst.* **88**, 1560-1570.
- Andrikopoulos NK, Dedoussis GVZ, Falirea A, Kalogeropoulos N, Hatzinikola HS. 2002. Deterioration of natural antioxidant species of vegetable edible oils during the domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **53**, 351-63.
- Andrikopoulos NK, Kalogeropoulos N, Falirea A, Barbogianni MN. 2002. Performance of virgin olive oil and vegetable shortening during domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. *Int. J. Food Sci. Tech.* **37**, 177-190.
- Apsalan M, Tepe S, Simsek O. 2001. Effect of refining processes on the total and individual tocopherol content in sunflower oil. *Int. J. Food Sci. Tech.* **36**, 737-739.
- Barrera-Arellano D, Ruiz-Mendez V, Velasco J, Marquez-Ruiz G, Dobarganes C. 2002. Loss of tocopherols and formation of degradation compounds at frying temperatures in oils differing in degree of unsaturation and natural antioxidant content. *J. Sci. Food Agric.* **82**, 1696-1702.
- Beltrán G, Aguilera MP, del Rio C, Sánchez S, Martínez L. 2005. Influence of fruit ripening on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chem.* **89**, 207-215.
- Benitez-Sanchez PL, Leon-Camacho M, Aparicio R. 2003. A comprehensive study of hazelnut oil composition with comparisons to other vegetable oils, particularly olive oil. *Eur. Food Res. Tech.* **218**, 13-19.
- Bergel F, Todd A R, Work T S. 1938. Vitamin E. III. Observations on the structure of α - and β -tocopherol. *J. Chem. Soc.* 253-258.
- Bowden F P, Moore T. 1933. Absorption spectrum of the vitamin E fraction of wheat-germ oil. *Nature* **132**, 204-205.
- Brenes M, Garcia A, Dobarganes MC, Velasco J, Romero C. 2002. Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the polyphenol content in virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 5962-5967.
- Brigelius-Flohé R, Kluth D, Landes N, Pfluger P, Birringer M. 2002. Mechanisms of Vitamin E Metabolism, en Packer L, Traber M, Kraemer K, Frei B. (Ed.) *The Antioxidant Vitamins C and E*, 171-179. AOCS Press, California.
- Burton GW, Ingold KU. 1986. Vitamin E: Application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Acc. Chem. Res.* **19**, 194-201.
- Cabrini L, Barzanti V, Cipollone M, Fiorentini D, Grossi G, Tolomelli B, Zamboni L, Landi L. 2001. Antioxidants and total peroxyl radical-trapping ability of olive and seed oils. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 6026-6032.
- Cahoon E, Hall S, Ripp K, Ganzke T, Hitz W, Coughlan S. 2003. Metabolic redesign of vitamin E Biosynthesis in plants for tocotrienol production and increased antioxidant content. *Nat. Biotech.* **21**, 1082-1087.
- Carrasquero A, Salazar M, Navas-Petra B. 1998. Antioxidant activity of grapefruit seed extract on vegetable oils. *J. Sci. Food Agric.* **77**, 463-467.
- Carstensen B, Schwack W. 2002. GPC isolation and gas chromatographic determination of minor compounds in vegetable oils. *Lipid Tech.* **14**, 135-138.
- Chaouch A, El Fartah S, Pouliquen-Sonaglia I, Lesgards G, Raffi J, Trihi M. 1999. Influence of irradiation dose upon tocopherol fraction of vegetable oils. *J. Chim. Phys. Phys.-Chim. Biol.* **96**, 178-182.
- Charnock JS. 1995. Vitamin E, edible oils, and cardiac arrhythmia. *Nutr., Lipids, Health, Dis.*, [Proc. UNESCO Conf.], Meeting Date 1994, 300-5. Edited by: Ong ASH, Niki E, Packer L. AOCS Press: Champaign, Ill.
- Chiba T. 1999. Prediction of oxidative stability based on various chemical properties for refined vegetable oils. *Nihon Yukagakkaishi* **48**, 781-786.
- Codoceo R, Muñoz R.A. 1999. Vitaminas liposolubles: vitaminas A, E y K, en Hernández M, Sastre A. (Ed.) *Tratado de Nutrición*, 177-202. Díaz de Santos, Madrid.
- De Greyt WF, Petrauskaite V, Kellens MJ, Huyghebaert AD. 1998. Analysis of tocopherols by gas-liquid and high-performance liquid chromatography. A comparative study. *Fett/Lipid* **100**, 503-507.
- Demir C, Cetin M. 1999. Determination of tocopherols, fatty acids, and oxidative stability of pecan, walnut, and sunflower oils. *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.* **95**, 278-282.
- Dessi MA, Deiana M, Rosa A, Crobu V, Isola M, Banni S, Corongiu FP. 2001. Oxidative stability of extra virgin olive oil in relation to antioxidant components. *Prog. Nutr.* **3**, 12-16.
- Dionisi F, Prodollet J, Tagliaferri E. 1995. Assessment of olive oil adulteration by reversed-phase high-performance liquid chromatography/amperometric detection of tocopherols and tocotrienols. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **72**, 1505-11.
- Drummond J C, Hoover A A. 1937. Vitamin E (tocopherol). *Biochem. J.* **31**, 1852-1860.
- Elmadfa I, Wagner KH. 1997. Vitamin E and stability of vegetable oils. *Fett/Lipid*, **99**, 234-238.
- Emerson O H, Emerson G A, Mohammad A, Evans H M. 1937. The chemistry of vitamin E. Tocopherols from various sources. *J. Biol. Chem.* **122**, 99-107.
- Engberg RM, Lauridsen C, Jensen SK, Jakobsen K. 1996. Inclusion of oxidized vegetable oil in broiler diets. Its influence on nutrient balance and on the antioxidative status of broilers. *Poult. Sci.* **75**, 1003-1011.
- Escuderos ME, Sayago A, Morales MT, Aparicio R. (2007) Detection of α -tocopherol in virgin olive oil by a spectrofluorimetric method. (comunicación personal).
- Evans H M, Emerson O H, Emerson G A. 1936. The isolation from wheat-germ oil of an alcohol, α -tocopherol, having the properties of vitamin E. *J. Biol. Chem.* **113**, 319-32.
- Flebes C, Soto C, Saldaña A, Garcia B. 2002. Funciones de la Vitamina E. *Rev. Cub. Estomatol.* **40**, 28-32.
- Frankel EN. 1996. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food Chem.* **57**, 51-55.
- Galeano Diaz T; Duran Meras I; Guiberteau Cabanillas A; Franco MFA. 2004. Voltammetric behavior and determination of tocopherols with partial least squares calibration: analysis in vegetable oil samples. *Anal. Chim. Acta* **511**, 231-238.
- Garcia A, Brenes M, Garcia P, Romero C, Garrido A. 2003. Phenolic content of commercial olive oils. *Eur. Food Res. Tech.* **216**, 520-525.
- Gerald F. Combs, JR. 1992. *The Vitamins Fundamental Aspects in Nutrition and Health*, Academic Press Inc., San Diego (California).
- Gimeno E, Castellote AI, Lamuela-Raventós RM, de la Torre MC, Lopez-Sabater MC. 2000. Rapid determination of vitamin E in vegetable oils by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **881**, 251-254.
- Gimeno E, Castellote AI, Lamuela-Raventós RM, de la Torre MC, López-Sabater MC. 2002. The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant

- content (phenolics, α -tocopherol, and β -carotene) in virgin olive oil. *Food Chem.* **78**, 207–211.
- Gliszczynska-Swiglo A, Sikorska E. 2004. Simple reversed-phase liquid chromatography method for determination of tocopherols in edible plant oils. *J. Chromatogr. A* **1048**, 195–198.
- Grassmann J, Schneider D, Weiser D, Elstner EF. 2001. Antioxidative effects of lemon oil and its components on copper induced oxidation of low density lipoprotein. *Arzneimittel-Forsch.* **51**, 799–805.
- Gutierrez F, Fernandez JL. 2002. Determinant Parameters and Components in the Storage of Virgin Olive Oil. Prediction of Storage Time beyond Which the Oil Is No Longer of "Extra" Quality. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 571–577.
- Harwood J, Aparicio R. 2000. Handbook of Olive Oil, capítulo 6, pp 129–158, Aspen Publishers, Gaithersburg, Maryland 20878.
- Hassanein Minar M, El-Shami Safinaz M, El-Mallah M H. 2003. Changes occurring in vegetable oils composition due to microwave heating. *Grasas Aceites* **54**, 343–349.
- Hirata K, Inoue M, Tsujiwaki Y, Hosai K. Processing of tocopherol for improving its antioxidant activity in edible oils and foods containing the processed tocopherol. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 11152491 A2 (8-06-1999).
- Hiroi M. 1997. Deterioration and its prevention of fats and oils during hot plate heating. *Nihon Yukagakkaishi.* **46**, 1147–1158.
- Hras A R, Hadolin M, Knez Z, Bauman D. 2000. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chem.* **71**, 229–233.
- Huang S-W, Frankel EN, German B. 1995. Effects of individual tocopherols and tocopherol mixtures on the oxidative stability of corn oil triglycerides. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 2345–2350.
- Institute of medicine, Food and Nutrition board. Dietary reference intakes: vitamin C, Vitamin E, selenium and carotenoides. National Academy Press. Washington DC. 2000.
- Je Kyung Y. Therapeutic composition for treating a pigmentation. Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo. Patent written in Korean. Application: KR 99-17677 19990517. CAN 142:100308 AN 2004:869354.
- Jeranek M, Hollo J, Weinbrenner Z, Terezia K, Zsilak V. 1996. Change of the tocopherol content during oil processing, storage, and use. *Olaj., Szappan. Kozmet.* **45**, 2–5.
- Kamal-Eldin A, Appelqvist LA. 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids* **31**, 671–701.
- Karrer P, Jensen K A. 1938. Structural specificity of vitamin E activity. *Helv. Chim. Acta* **21**, 1622–1624.
- Karrer P, Salomon H. Isolation of tocopherols from wheat-germ oil. 1938. *Helv. Chim. Acta* **21**, 514–519.
- Kubo KM, Kawakatu S, Horikoshi M, Ishinaga M. 2001. Storage stability of linseed oil and its utilization for food. *Nippon Kasei Gakkaishi* **52**, 351–358.
- Lavelli V, Bondesan L. 2005. Secoiridoids, Tocopherols, and Antioxidant Activity of Monovarietal Extra Virgin Olive Oils Extracted from Destoned Fruits. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 1102–1107.
- Lechner M, Reiter B, Lorbeer E. 1999. Determination of tocopherols and sterols in vegetable oils by solid-phase extraction and subsequent capillary gas chromatographic analysis. *J. Chromatogr. A* **857**, 231–238.
- Lerondeau C, Monclus D. Antiaging cosmetic compositions containing vegetable oils rich in essential fatty acids. Fr. Demande FR 2763843 A1 (4-12-1998).
- Li SX, Cherian G, Ahn DU, Hardin RT, Sim JS. 1996. Storage, heating, and tocopherols affect cholesterol oxide formation in food oils. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 3830–3834.
- Lima JR, Goncalves LAG. 1997. Tocopherols quantification in corn, soybean, Brazil nut and cashew nut oils by reversed phase high performance liquid chromatography. *Aliment. Nutr.* **8**, 65–73.
- Lo Curto S, Dugo G, Mondello L, Errante G, Russo MT. 2001. Variation in tocopherol content in Italian virgin olive oils. *Ital. J. Food Sci.* **13**, 221–228.
- Lopez-Bote CJ, Rey AI, Sanz M, Gray JI, Buckley DJ. 1997. Dietary vegetable oils and α -tocopherol reduce lipid oxidation in rabbit muscle. *J. Nutr.*, **127**, 1176–1182.
- Mahan K L, Arlin M. 1995. Nutrición y Dietoterapia, 8th Ed., Interamericana McGraw-Hill Inc., Atrampa (México).
- Mariani C, Bellan G. 1996. Content of tocopherols, deidrotocopherols, tocodienols, tocotrienols in vegetable oils. *Riv. Ital. Sostanze Grasse* **73**, 533–543.
- Marinova E, Yanishlieva N, Toneva A, Psomiadou E, Tsimidou M. 2001. Changes in the oxidation stability and tocopherol content in oils during microwave heating. *Riv. Ital. Sostanze Grasse* **78**, 529–533.
- Martinez de la Cuesta, PJ, Rus Martinez E, Galdeano Chaparro M. 1995. Oxidative rancidity of vegetable oils in the presence of α -tocopherol. *Grasas Aceites* **46**, 349–53.
- Martino G. 1934. The dual nature of vitamin E. *Quaderni nutrizione* **1**, 180–184.
- Mataix J, Ochoa J. 2002. Vitaminas, en Mataix Verdú J. (Ed.) *Nutrición y Alimentación Humana*, 137–203. Ergon, Majadahonda (Madrid).
- Medina-Juarez LA, Gamez-Meza N, Ortega-Garcia J, Noriega-Rodriguez JA, Angulo-Guerrero O. 2000. Trans fatty acid composition and tocopherol content in vegetable oils produced in Mexico. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **77**, 721–724.
- Moh MH, Tang TS, Tan GH. 2001. Simultaneous determination of free fatty acids, partial acylglycerols and tocopherols in palm oil products using high-performance liquid chromatography. *J. Food Lipids* **8**, 179–190.
- Muller-Mulot W. 1976. Rapid method for the quantitative determination of individual tocopherols in oils and fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **53**, 732–736.
- Nishimoto Y, Fukushima N. Cosmetics containing borage oil. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 09077633 A2 (25 Mar 1997).
- Nissiotis M, Tasioula-Margari M. 2002. Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. *Food Chem.* **77**, 371–376.
- Nissiotis ME, Tasioula-Margari, M. 2001. Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. *Special Publication - Royal Soc. Chem.* **274** (Food Flavors and Chemistry), 578–582.
- Olcott H S, Mattill H A. 1934. Vitamin E. I. Some chemical and physiological properties. *J. Biol. Chem.* **104**, 423–435.
- Olcott H S. 1934. Some chemical properties of vitamin E. *Proceedings of the Iowa Academy of Science* **41**, 173.
- Ong, A S H. 1993. Vitamin E in Health and Disease (eds. L. Packer and J. Fuchs) Marcel Dekker, New York.

- Packer L, Obermüller-Jevic U. 2002. Vitamin E in Disease Prevention and Therapy: Future Perspectives en Packer L, Traber M, Kraemer K, Frei B. (Ed.) *The Antioxidant Vitamins C and E*, 255-288. AOCS Press, California.
- Packer L, Obermüller-Jevic U. 2002. Vitamin E: An introduction, en Packer L, Traber M, Kraemer K, Frei B. (Ed.) *The Antioxidant Vitamins C and E*, 133-151. AOCS Press, California.
- Pereira J A, Casal S, Bento A, Oliveira M B P P. 2002. Influence of Olive Storage Period on Oil Quality of Three Portuguese Cultivars of *Olea europea*, Cobrancüosa, Madural, and Verdeal Transmontana. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 6335-6340.
- Perona JS, Cañizares J, Montero E, Sánchez-Domínguez JM, Catalá A, Ruiz-Gutiérrez V. 2004. Virgin olive oil reduces blood pressure in hypertensive elderly subjects *Clin. Nutr.* **23**, 1113-1121.
- Pfeffer-Slobodinsky, A.S. Emulsion to preserve keen edge of a blade. Brasil. Patent written in English. Application: US 2003-444739 20030523. CAN 142:11247 AN 2004:1019748.
- Pita G. 1997. Funciones de la Vitamina E en la Nutrición Humana. *Rev. Cubana Aliment. Nutr.* **11**, 46-57.
- Porsgaard T, Zhang H, Nielsen RG, Hoy C-E. 1999. Absorption in rats of rapeseed, soybean, and sunflower oils before and following moderate heating. *Lipids* **34**, 727-732.
- Psomiadou E, Tsimidou M, Boskou D. 2000. α -Tocopherol Content of Greek Virgin Olive Oils". *J. Agric. Food Chem.* **48**, 1770-1775.
- Puspitasari-Nienaber NL, Ferruzzi MG, Schwartz SJ. 2002. Simultaneous detection of tocopherols, carotenoids, and chlorophylls in vegetable oils by direct injection C30 RP-HPLC with coulometric electrochemical array detection *J. Am. Oil Chem. Soc.* **79**, 633-640.
- Rader JI, Weaver CM, Patrascu L, Ali LH, Angyal G. 1997. α -Tocopherol, total vitamin A and total fat in margarines and margarine-like products. *Food Chem.* **58**, 313-379.
- Rastrelli L, Passi S, Ippollito F, Vacca G, De Simone F. 2002. Rate of degradation of α -tocopherol, Squalene, Phenolics and polyunsaturated fatty acids in olive oil during different storage conditions. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 5566-5570.
- Remy E. 1930. Isolation, chemical constitution and reactions of vitamins. *Pharm. Ber. Schweiz. Apoth. Ztg.* **68**, 3-7.
- Rossell JB, Pritchard JLR. 1990. Analysis of Oilseeds, Fats and Fatty Foods, Elsevier Applied Science, London, pp 315-317.
- Rouit P, Ravel A, Villet A, Jeunet A, Alary J. Microwave heating effects on free radical formation and α -tocopherol level in oils. *Ann. Falsif. Expert. Chim. Toxicol.* **89**, 179-187.
- Rovellini P, Azzolini M, Cortesi N. 1997. HPLC determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats. *Riv. Ital. Sostanze Grasse* **74**, 1-5.
- Sanchez-Perez A, Delgado-Zamarreno MM, Bustamante-Rangel M, Hernandez-Mendez J. 2000. Automated analysis of vitamin E isomers in vegetable oils by continuous membrane extraction and liquid chromatography-electrochemical detection. *J. Chromatogr. A*, **881**, 229-241.
- Sayago, A.; Morales, M. T.; Aparicio, R. 2004. Detection of hazelnut oil in virgin olive oil by a spectrofluorimetric method. *Eur. Food Res. Tech.* **218**, 480-483.
- Senorans FJ, Markides KE, Nyholm L. 1999. Determination of tocopherols and vitamin A in vegetable oils using packed capillary column supercritical fluid chromatography with electrochemical detection. *J. Microcolumn Sep.* **11**, 385-391.
- Seppanen CM, Rahmani M, Csallany AS. 2003. Simultaneous determination of chlorophylls, pheophytins, β -carotene, tocopherols, and tocotrienols in olive and soybean oils by high-performance liquid chromatography. *J. Food Sci.* **68**, 1644-1647.
- Servili M, Selvaggini R, Esposto S, Taticchi A, Montedoro G, Morozzi G. 2004. Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *J. Chromatogr. A* **1054**, 113-127.
- Sheppard AJ, Pennington JAT. 1993. Vitamin E in Health and Disease (eds. L. Packer and J. Fuchs), Marcel Dekker, New York.
- Sikorska E, Romaniuk A, Khmelinskii IV, Herance R, Bourdelande JL, Sikorski M, Koziol J. 2004. Characterization of edible oils using total luminescence spectroscopy. *J. Fluoresc.* **14**, 25-35.
- Stanley J. 2005. Vitamin E supplements and vascular disease. *Lipid Tech.* **17**, 15-21.
- Suturovic Z, Marjanovic N. 1999. Chronopotentiometric study of tocopherols in vegetable oils. *Electroanalysis*, **11**, 207-209.
- Takahashi T, Iwase K, Koga S, Sasakawa K. 1998. Determination of vitamin E by HPLC. *Kanzei Chuo Bunsekishoho* **38**, 23-30.
- Todd A R, Bergel F, Waldmann H, Work T S. 1937a. Constituents of vitamin E concentrates from rice- and wheat-germ oils. *Nature (London, United Kingdom)* **140**, 361-362.
- Todd A R, Bergel F, Waldmann H, Work T S. 1937b. Vitamin E. I. The isolation of some crystalline alcohols from the unsaponifiable matter of rice and wheat germ oils. *Biochem. J.* **31**, 2247-2256.
- Todd A R, Bergel F, Work T S. 1937c. Vitamin E. II. The isolation of β -tocopherol from wheat germ oil. *Biochem. J.* **31**, 2257-2263.
- Tomasch R, Wagner K-H, Elmadfa I. 2001. Antioxidative power of plant oils in humans: the influence of α - and γ -tocopherol. *Ann. Nutr. Metab.* **45**, 110-115.
- Tsaknis J, Lalas S, Protosapa E. 2002. Effectiveness of the antioxidants BHA and BHT in selected vegetable oils during intermittent heating. *Grasas Aceites* **53**, 199-205.
- Tsaknis J, Lalas S. 2002. Stability During Frying of *Moringa oleifera* Seed Oil Variety "Periyakulam 1". *J. Food Comp. Anal.* **15**, 79-101.
- U.S. Department of Agriculture, Agricultural research service 2004. USDA. National nutrient database for standard reference release 16-1. Nutrient data laboratory home page. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.)
- Velasco J, Andersen ML, Skibsted LH. 2004. Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry. *Food Chem.* **85**, 623-632.
- Verleyen T, Sosinska U, Ioannidou S, Verhe R, Dewettinck K, Huyghebaert A, De Greyt W. 2002. Influence of the vegetable oil refining process on free and esterified sterols. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **79**, 947-953.
- Wagner KH, Tomasch R, Elmadfa I. 2001. Impact of diets containing corn oil or olive/sunflower oil mixture on

- the human plasma and lipoprotein lipid metabolism. *Eur. J. Nutr.* **40**, 161-7.
- Wagner KH, Wotruba F, Elmadfa I. 2001. Antioxidative potential of tocotrienols and tocopherols in coconut fat at different oxidation temperatures. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* **3**, 746-751.
- Wu H, Weng X. 2001. Antioxidant activity of natural tocopherol. *Ziran Kexueban* **7**, 142-146.
- Yamagami T, Aoyama M, Tsutsumi T, Tokairin S, Ehara H, Maruyama T, Niiya I. 1999. Behavior of vitamin K₁ in the refining of vegetable oil and vitamin K₁ content of commercial vegetable oils. *Nihon Yukagakkaishi*. **48**.1271-1274.
- Ye L, Landen WO, Jr, Lee J, Eitenmiller RR. 1998. Vitamin E content of margarine and reduced fat products using a simplified extraction procedure and HPLC determination. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **21**, 1227-1238.
- Yoshida H, Takagi S. 1999. Antioxidative effects of sesamol and tocopherols at various concentrations in oils during microwave heating. *J. Sci. Food Agric.* **79**, 220-226.

Recibido: Noviembre 2005

Aceptado: Octubre 2006