

REVISIÓN

Oxidación en sistemas lipídicos heterofásicos: emulsiones aceite en agua

Por J. Velasco, M.C. Dobarganes y G. Márquez-Ruiz*

Instituto de la Grasa (CSIC)
Padre García Tejero, 4
41012 Sevilla
E-mail: gmarquez@cica.es

RESUMEN

Oxidación en sistemas lipídicos heterofásicos: emulsiones aceite en agua.

La oxidación lipídica es la alteración más importante que ocurre en los alimentos porque disminuye su calidad y valor nutritivo, y puede tener consecuencias negativas para la salud. Sin embargo, las variables que afectan a la oxidación en sistemas lipídicos heterofásicos son poco conocidas y, en particular, poseen gran interés en el caso de las emulsiones aceite en agua ya que estos sistemas lipídicos constituyen un elevado número de alimentos, por ejemplo, leches, natas, mayonesas, sopas y salsas. En este trabajo, se revisa la situación actual del conocimiento sobre oxidación en emulsiones aceite en agua, incluyendo la descripción de las variables implicadas específicamente en la oxidación de estos sistemas (pH, presencia de la interfase, partición de reactivos y productos, interacciones con otros componentes) así como de las variables que afectan a la oxidación de los lípidos en general pero cuya acción en emulsiones presenta características particulares (oxígeno, grado de insaturación, presencia de antioxidantes y prooxidantes).

PALABRAS-CLAVE: Antioxidantes - Emulsiones aceite en agua - Oxidación lipídica - Sistemas lipídicos heterofásicos.

SUMMARY

Lipid oxidation in heterophasic lipid systems: oil – in – water emulsions.

Lipid oxidation is the major form of deterioration in foods because it decreases food quality and nutritional value, and may have negative health implications. However, variables affecting lipid oxidation in heterophasic lipid systems are scarcely known, and they are of particular interest in the case on oil-in-water emulsions since these lipid systems constitute a large number of foods, e.g., milks, creams, mayonnaises, soups and sauces. In this paper, the present state of the art on lipid oxidation in oil-in-water emulsions is revised, including description of the variables specifically involved in oxidation of these lipid systems (pH, presence of interface, partition of reactants and products, interaction with other components) as well as those affecting lipid oxidation in general but showing particular characteristics in their action in emulsions (oxygen, unsaturation degree, presence of antioxidants and prooxidants).

KEY-WORDS: Antioxidants - Heterophasic lipid systems - Lipid oxidation - Oil-in-water emulsions.

1. INTRODUCCIÓN

Los factores que afectan la oxidación en sistemas donde el aceite se encuentra en emulsión son poco conocidos y, no obstante, de gran interés, teniendo en cuenta el elevado número de alimentos que consisten total o parcialmente en emulsiones o lo han sido durante su proceso de elaboración, entre otros, leches, natas, quesos, mayonesas, helados, sopas, salsas y fórmulas infantiles (Coupland y McClements, 1996, Robins, 2000).

En la mayoría de los alimentos constituidos por emulsiones aceite en agua el diámetro de los glóbulos dispersos se encuentra entre 0.1 y 50 μm . Para formar emulsiones cinéticamente estables durante un periodo razonable de tiempo (semanas, meses o años, dependiendo de la aplicación) se requieren emulsionantes con objeto de disminuir la tensión interfacial. Los emulsionantes iónicos se orientan en la interfase con los restos alquilo inmersos en las gotas de aceite y los grupos cargados orientados hacia la fase acuosa, formando una doble capa electrostática que impide la agregación de las gotículas de aceite. Los emulsionantes no iónicos se adsorben en la superficie de las gotas de aceite con la parte más polar orientada hacia la fase acuosa, formándose una capa hidratada alrededor que ayuda a la estabilización y evita la coalescencia de las gotas. Son los más utilizados porque no pierden su actividad por interacción con las sales en los alimentos. Los sintéticos suelen ser ésteres parciales de ácidos de cadena media o larga (C-12 a C-22) con polialcoholes como el glicerol, propilenglicol, sacarosa o sorbitano. Ejemplos muy utilizados son los monoésteres de polioxietilensorbitano (Tweens) y ésteres parciales de sorbitol (Spans), o monoglicéridos comerciales disponibles como mezclas de glicéridos o concentrados por destilación. Entre los emulsionantes naturales, las proteínas son los más importantes, concretamente la β -lactoglobulina, que se adsorbe a la interfase sin cambiar su conformación nativa, y la β -caseína, que se desdobra y proporciona mayor estabilización por la presencia de cargas negativas.

También pueden conseguirse emulsiones estables por adición de fosfolípidos, que generalmente forman bicapas laminares en la interfase (Dagleish, 1996, Coupland y McClements, 1996).

Es bien conocido que la oxidación lipídica se ve afectada por numerosas variables entre las que destacan la luz, temperatura, disponibilidad de oxígeno, grado de insaturación del aceite, presencia o ausencia de antioxidantes y prooxidantes. La acción de algunas de estas variables puede diferir en emulsiones y además, existen factores adicionales en éstas que pueden ejercer una enorme influencia, tales como el pH, la presencia de la interfase, la partición de reactivos y productos de oxidación y la interacción de los lípidos con otros componentes de la emulsión. En este contexto, las preguntas fundamentales que se plantean acerca de los mecanismos de la oxidación lipídica en emulsiones son (Frankel, 1998): ¿Cuáles son las diferencias entre la oxidación lipídica en sistemas monofásicos y en emulsiones?, ¿Cómo se distribuyen los antioxidantes y prooxidantes en las diferentes fases de la emulsión?, ¿Cómo afectan los emulsionantes a las concentraciones, interacciones y actividad de los prooxidantes y antioxidantes en la interfase agua-aceite?, ¿Cómo afectan las características físico-químicas del entorno al mecanismo de oxidación? En esta revisión, se describen los factores más estudiados por su influencia en el desarrollo oxidativo de emulsiones aceite en agua.

2. VARIABLES ESPECÍFICAS DE LA OXIDACIÓN EN EMULSIONES.

pH

En general, la oxidación lipídica en emulsiones es menor a pH más altos y la velocidad se acelera a medida que éste disminuye, posiblemente debido a la solubilización de catalizadores metálicos. La oxidación lipídica se ve afectada también por el pH en relación con la carga de diferentes emulsionantes (Huang et al., 1996a; Frankel, 1998).

Presencia de la interfase

La interfase puede actuar como una barrera a la penetración o difusión de especies moleculares, y sus modificaciones (cambios en la carga eléctrica, concentración, permeabilidad, etc.) pueden influir enormemente en el desarrollo de la oxidación.

La atracción o repulsión electrostática por la interfase afecta significativamente la acción de los prooxidantes y los antioxidantes. Por consiguiente, la velocidad de oxidación puede ser muy diferente en emulsiones preparadas con emulsionantes iónicos, como el dodecil sulfato sódico (SDS) o palmitato potásico, que con emulsionantes no iónicos (Span 20,

Tween 20). Así, en emulsiones con el emulsionante aniónico SDS, se produce una atracción electrostática entre la interfase aceite-agua cargada negativamente y los metales iónicos cargados positivamente, presentes como impurezas o añadidos como catalizadores (Mei et al., 1998, 1999). Los metales se hidratan en la fase acuosa y reaccionan más fácilmente con los hidroperóxidos polares y radicales solubles en agua (HO^\bullet , HOO^\bullet) en la interfase aceite-agua (Frankel, 1998). Otro ejemplo de la influencia de la carga de la interfase es la efectividad relativa del ácido ascórbico (cargado negativamente), que disminuye 1000 veces cuando el lípido está incluido en micelas cargadas negativamente frente a las cargadas positivamente (Pryor et al., 1993) debido a la repulsión electrostática existente en el primer caso que hace que el ácido ascórbico sea excluido de la región donde tiene lugar la oxidación.

Otra forma de alterar la velocidad de oxidación es modificar la efectividad del empaquetamiento de las moléculas de emulsionante en la interfase. Se ha observado que la adición de tensioactivo en exceso a la fase acuosa de una emulsión aumentaba su estabilidad frente a la oxidación (Sims et al., 1979) probablemente porque, a concentraciones altas, el empaquetamiento de las moléculas de tensioactivo en la interfase es mayor y por tanto la barrera es más eficiente contra la difusión de iniciadores de la oxidación a las gotas de aceite (Kabalanov and Shchukin, 1992). Así mismo, al comparar emulsionantes no iónicos tipo Brij (éteres laúricos de polioxietileno) se ha observado que el incremento del número de grupos hidrofílicos conducía a un aumento de estabilidad oxidativa, indicando la importancia del espesor de la interfase (Silvestre et al., 2000).

El cambio de la composición de la interfase, mediante desplazamiento de especies moleculares por otras con mayor actividad interfacial, puede tener importantes consecuencias en la oxidación. Un ejemplo de ello es el efecto inhibitor observado al homogeneizar la leche, donde la caseína, presente en la fase acuosa, se adsorbe en los glóbulos grasos formando una capa protectora (Frankel, 1998).

La interfase puede contener también moléculas capaces de atrapar radicales libres. Así, muchos emulsionantes (como los Tween) contienen moléculas de azúcares o aminoácidos particularmente efectivas por su concentración relativamente alta en la interfase. De hecho, la estabilidad oxidativa de una emulsión depende en gran medida del tipo y localización de emulsionantes que puedan quelar metales o inactivar radicales libres (Donnelly et al., 1998).

Partición de reactivos y productos

Las distintas moléculas presentes en la emulsión se distribuyen de acuerdo con su polaridad y actividad tensioactiva entre las fases oleosa, acuosa y re-

gión interfacial que rodea las gotículas (mezcla de aceite, agua y emulsionante, con un grosor típicamente de escasos nanómetros). Las moléculas poco polares se localizan predominantemente en la fase oleosa, las polares en la acuosa y las anfifílicas en la interfase, y el entorno para una determinada molécula puede tener un efecto significativo en su reactividad química u otras propiedades del sistema. Otro factor de importancia respecto a la oxidación lipídica en emulsiones es la orientación de las moléculas en la región interfacial, por ejemplo, si se sitúan paralela o perpendicularmente a la interfase, ya que esto afectará a su accesibilidad al ataque por especies oxigenadas reactivas como los peróxidos, radicales hidroxilo y perhidroxilo, que son solubles en agua (Wedzicha, 1988, Coupland y McClements, 1996).

Muchas de las propiedades fisicoquímicas de las emulsiones sólo pueden ser explicadas teniendo en cuenta su naturaleza dinámica. Las gotículas están en movimiento constante y frecuentemente colisionan unas con otras. Algunos tipos de emulsionantes se mueven rápidamente entre la región interfacial y la fase acuosa u oleosa mientras que otros no. Las moléculas menos polares pueden pasar de gotícula a gotícula por colisiones entre las gotas, difusión a través de la fase continua o enlace a micelas o proteínas (Coupland y McClements, 1996; Dalgleish, 1996). Todos estos fenómenos pueden tener una importante influencia en la oxidación lipídica en estos sistemas. Así, se ha observado que la velocidad de oxidación en sistemas modelos constituidos por ácido linoleico solubilizado en micelas (Tween 20) y en presencia o ausencia de bajas concentraciones de gotículas de hexadecano (lípidio saturado, inerte a la oxidación, añadido al 0-3%) disminuía a medida que la concentración de éstas últimas aumentaba y se atribuyó a que una parte del ácido linoleico pudo haberse trasladado de las micelas de Tween 20 al interior de las gotas de hexadecano y hacerse así más inaccesible al ataque de los radicales libres presentes en la fase acuosa. El hexadecano también actuó como "reservorio no polar" para los productos de oxidación lipídica, disminuyendo así la cantidad de volátiles liberados al espacio de cabeza (Roozen et al., 1994a, 1994b).

La partición de los productos de escisión entre el aceite y la fase acuosa puede afectar la percepción sensorial en muchos alimentos (Sims, 1994). Por ejemplo, los componentes aromáticos se perciben mucho más intensamente en la fase acuosa que en la oleosa, lo que puede ser de extraordinaria importancia en la oxidación de aceites en emulsión porque muchos de los productos de oxidación finales son más solubles en agua que los de partida (constituidos éstos últimos mayoritariamente por triglicéridos). La partición del sustrato oxidable entre la fase oleosa y la interfase ha sido por otra parte relacionada con la inhibición de la oxidación observada a concentra-

ciones de Tween-20 superiores a la concentración micelar crítica, ya que los autores atribuyeron los resultados obtenidos a que el emulsionante sustituyó parcialmente al ácido linoleico en la interfase, haciéndolo menos accesible al ataque de radicales (Ponginebbi et al., 1999).

Interacciones con otros componentes de la emulsión

La mayor parte de los alimentos contienen un gran número de ingredientes adicionales en la fase acuosa en comparación con los que se contemplan en los sistemas modelo normalmente estudiados, constituidos básicamente por gotículas de aceite estabilizadas por un emulsionante y dispersas en agua, en compañía de antioxidantes y sistemas generadores de radicales libres. Dichos ingredientes pueden a su vez actuar como prooxidantes o antioxidantes dependiendo de sus propiedades químicas, sus condiciones e interacciones con los componentes lipídicos.

En relación con los azúcares, se ha sugerido que el aumento de viscosidad que produce su adición a la emulsión disminuye la concentración de oxígeno en la fase acuosa y por tanto su coeficiente de difusión (Sims et al., 1979). Además, los azúcares en concentraciones altas pueden atrapar radicales libres (Sims, 1994). Así, la adición de sacarosa (0-67%) a la fase acuosa de una emulsión de aceite de soja en agua redujo la velocidad de oxidación y se observó que para una concentración constante de azúcar, la oxidación lipídica aumentaba al disminuir la concentración de gotículas de aceite. Por otro lado, el aumento de la viscosidad disminuye en general la difusión de los reactivos y productos de reacción (Hsieh y Harris, 1987). Los hidratos de carbono pueden también enlazarse con los metales y radicales (Sagone et al., 1983; Yamauchi et al., 1982; Yamauchi y Yamada, 1981) o acelerar el proceso de oxidación (Yamauchi et al., 1988; Mabrouk, 1964; Mabrouk y Dugan, 1961).

La efectividad de las proteínas en emulsiones depende de la partición entre la interfase y la fase acuosa, la composición de la interfase y la conformación (Fillery-Travis et al., 2000). Aunque tiendan a acumularse en la interfase, pueden estar presentes en la fase acuosa cuando se satura la interfase, o bien cuando son desplazadas por ingredientes con mayor actividad interfacial. Su efecto antioxidante se ha evidenciado en condiciones concretas (Yee et al., 1980; Yee y Shipe, 1982; Lin et al., 1993; Tong et al., 2000) y atribuido a la capacidad de formación de membranas viscoelásticas densas capaces de restringir la penetración o difusión de los iniciadores de la oxidación al interior de las gotas. Presentes en la interfase o dispersas en la fase acuosa, son además capaces de atrapar radicales libres, quizás siendo

preferentemente oxidadas, como se ha observado con los péptidos cisteína y glutatión, que inhibieron la oxidación hemocatalizada de linoleato de etilo emulsionado y perdieron su actividad antioxidante cuando se bloquearon o eliminaron sus grupos tioles (Yee y Shipe, 1982). En otras condiciones, los grupos tioles pueden actuar como prooxidantes, promoviendo la generación de superóxidos mediante catalizador de cobre.

Las principales proteínas presentes en la leche, especialmente las caseínas, han mostrado actividad antioxidante en emulsiones acuosas de trioleína y aceite de girasol, ambas estabilizadas por lisofosfatidilcolina (Allen y Wierden, 1982a, 1982b). Sin embargo, también se observó en los mismos estudios que las metaloproteínas de la leche podían actuar como prooxidantes, especialmente en presencia de iones metálicos. La actividad enzimática de la xantina oxidasa y lactosa peroxidasa eran responsables en parte de este efecto. La homogeneización protege la grasa de la leche de la oxidación catalizada por complejos metálicos (Hegenaver et al., 1979) porque aumenta el área superficial de la interfase y altera la composición de la membrana. La caseína, la proteína de la leche más eficiente como antioxidante, originalmente dispersa en la fase acuosa, se adsorbe a la superficie de las gotículas de grasa formando una capa protectora.

Se ha observado que la metionina, lisina y treonina retardan la oxidación en emulsiones (Riisom et al., 1980) y la histidina puede por el contrario promoverla (Saunders et al., 1962; Coleman et al., 1964). Sin embargo, estos efectos son muy dependientes del tipo de emulsionante usado, de la presencia de metales y del pH. Por ejemplo, la actividad prooxidante de la histidina fue acelerada en presencia de iones férricos o ferrosos y los tampones fosfato retardaron la oxidación en dichas emulsiones.

En un estudio cuyo objetivo era comparar la acción de diversas proteínas y sacáridos concentrados en la oxidación de linoleato de metilo en emulsiones, se encontró una inhibición de la oxidación en el orden caseinato sódico > albúmina de huevo > Tween-60 > albúmina de suero bovino. Por otro lado, la dextrina fue más efectiva que los mono- y disacáridos, aumentando la estabilidad cuando se incrementa su concentración (Fujii et al., 1995).

Por otra parte, los alimentos constituidos por emulsiones concentradas conteniendo lípidos, proteínas y azúcares que están en el rango de humedad relativa entre 70 y 80% son sensibles a las reacciones de pardeamiento no enzimático que, mediante interacción de los grupos amino de las proteínas con azúcares reductores, pueden dar lugar a productos de Maillard con efecto antioxidante (Karel, 1984; Eriksson, 1987; Fritsch, 1994).

Finalmente, en este tipo de emulsiones con componentes múltiples, los productos de oxidación lipídi-

ca pueden interaccionar con proteínas bajo determinadas condiciones, con los consecuentes cambios de textura, color y de propiedades reológicas, y descenso del valor nutricional (Gardner, 1979; Eriksson, 1987; Hidalgo et al., 1992; Hidalgo y Zamora, 2000).

3. VARIABLES DE INFLUENCIA GENERAL EN LA OXIDACIÓN LIPÍDICA: CARACTERÍSTICAS PARTICULARES DE SU ACCIÓN EN EMULSIONES

Oxígeno

Aunque el oxígeno es aproximadamente 3 veces más soluble en aceite que en agua (0.6 mM y 0.2 mM a 25° C, respectivamente) (Ke y Ackman, 1973), puede difundir suficiente oxígeno a la fase oleosa a través de la acuosa y de ahí la necesidad de excluir o reducir el oxígeno disponible mediante envasado al vacío o con nitrógeno.

En estudios dirigidos a determinar el efecto de la presión de oxígeno en la cinética de la oxidación de ácido linoleico en emulsiones de aceite en agua estabilizadas por Tween 20 (Marcuse y Fredriksson, 1968, 1969) se ha observado que, a baja presión de oxígeno, la etapa limitante para la oxidación lipídica era la difusión del oxígeno a través de la fase acuosa. Sin embargo, no fue así a alta presión de oxígeno, en cuyo caso la velocidad de difusión del oxígeno fue mayor que la de oxidación lipídica. La agitación favoreció la oxidación cuando el oxígeno estaba limitado, por facilitar su incorporación a la emulsión, mientras que el incremento de temperatura, con la consecuente disminución de la solubilidad del oxígeno, ralentizó la oxidación.

Grado de insaturación del aceite

Mientras que es bien conocida la correlación positiva existente entre la susceptibilidad a la oxidación y el número de dobles enlaces (Frankel, 1985; Neff et al., 1994), existen diversos estudios sobre la paradoja de que los ácidos grasos poliinsaturados (conocidos internacionalmente como PUFA) más insaturados (ácido eicosapentaenoico, EPA y ácido docosahexaenoico, DHA, frente a araquidónico y linoléico) se oxidan menos en emulsión, ya sea por fotoirradiación (Bruna et al., 1989) o bien en la oscuridad, catalizada por Fe^{2+} -ácido ascórbico (Miyashita et al., 1993), y los autores atribuyen estos resultados a que su conformación es más compacta y protegida frente al ataque de los radicales libres. No obstante, en este último trabajo (Miyashita et al., 1993) se ensayaron mezclas de DHA:ácido linoleico (LA) observándose mayor pérdida de sustrato total conforme aumentaba la proporción de LA, pero al analizar separadamente ambos sustratos, el DHA se oxidaba antes. Estos resultados son difíciles de interpretar y los autores sugirieron

que las micelas de DHA y LA adquieren una conformación más estable frente al ataque de radicales libres y/o oxígeno a medida que aumenta el cociente DHA/LA, pero, una vez que se oxida la micela, el DHA es más susceptible debido a su mayor número de insaturaciones.

Posteriormente, estos autores obtuvieron similares resultados utilizando emulsiones de mezclas de ácidos grasos libres procedentes de aceites de soja, lino y sardina (Miyashita et al., 1994) y de triglicéridos de aceite de atún y aceite de soja (Miyashita et al., 1995). Yazu et al. (1996) y Duh et al. (1999) confirmaron que la susceptibilidad a la oxidación de los PUFA en emulsión está inversamente relacionada con el número de dobles enlaces pero los primeros propusieron otra hipótesis para explicar estos resultados: la mayor polaridad de los radicales peroxilo en PUFA más insaturados les facilita la difusión desde el centro hidrofóbico a la superficie más polar de la micela y ello disminuye su susceptibilidad oxidativa reduciendo las reacciones de propagación y aumentando la velocidad de las reacciones de terminación. Sin embargo, en otro estudio (Endo et al., 1997), utilizando triglicéridos sintéticos en solución acuosa con iniciadores de radicales tipo "azo", la velocidad de oxidación de triglicéridos con restos de EPA y ácido palmítico fue mayor cuanto mayor era la cantidad de EPA en el triglicérido, y la estructura del triglicérido influyó en que a igualdad de porcentaje de ácidos grasos, la mezcla 2:1 de triglicéridos monoácidos se oxidó más rápidamente que los triglicéridos con dos restos de EPA y uno de ácido palmítico.

En un estudio realizado para determinar la influencia de la relación poliinsaturado a saturado, utilizando diferentes proporciones de linoleato de etilo y hexadecano en emulsiones acuosas, se observó que la velocidad de oxidación era dependiente de la concentración de sustrato oxidable (insaturado) en las gotículas. Inicialmente la oxidación transcurrió más rápidamente en gotículas con bajas concentraciones de éste, pero durante estadios más avanzados, la oxidación fue más rápida en las gotículas con mayores concentraciones. Para explicar estos extraños resultados, los autores se basaron en la hipótesis de que la iniciación de la oxidación es más sensible a la cantidad de moléculas de sustrato presentes en la interfase y más accesibles al ataque por los radicales libres generados en la fase acuosa pero la oxidación avanzada es menor a concentraciones más bajas de sustrato porque la colisión con especies reactivas es menos frecuente (Coupland et al., 1996).

Prooxidantes: catálisis metálica

Una importante pregunta a formular es dónde tiene lugar la catálisis metálica en sistemas multifásicos. En los aceites en fase continua, los metales

hidrofílicos se orientarían en la interfase aire-aceite pero en emulsiones se situarían en la fase acuosa, orientados hacia la interfase aceite-agua, y la iniciación de la oxidación ocurriría en la fase lipídica a nivel de la interfase (Schaich, 1992). Por tanto, agentes quelantes y condiciones de reacción que aumenten la concentración de metales en este entorno aumentarían su efectividad. Por ejemplo, el cobre o hierro se unen fácilmente a las proteínas presentes en la interfase.

Los agentes quelantes determinan el modo de catálisis y efectividad de los metales aunque sus efectos pueden ser muy complejos en sistemas multifásicos ya que la carga eléctrica de los quelantes y el ambiente electrostático que rodea al metal puede afectar marcadamente su potencial redox y otras propiedades termodinámicas. Por ejemplo, el ácido etilendiaminotetracético puede inhibir la oxidación lipídica en emulsiones acuosas mediante cambios en la localización y reducción de la capacidad oxidante del hierro (Frankel, 1998). Sin embargo, la formación de complejos con hierro también puede promover la oxidación al disminuir su polaridad y por tanto, aumentar su capacidad de penetrar la interfase (Ruben y Larsson, 1985). Por otra parte, el polisacárido xantano es capaz de formar un complejo que inactiva el Fe^{2+} , inhibiendo la oxidación del aceite en emulsión, sinérgicamente con el tocoferol (Shimada et al., 1992). Los efectos de los antioxidantes y agentes reductores en presencia de diferentes formas de complejos metálicos pueden tener por tanto importantes consecuencias en la oxidación lipídica en sistemas multifásicos.

En los ensayos de oxidación acelerada en emulsiones se utilizan frecuentemente los metales de transición porque sus cambios de estado oxidativo ocurren a través de una única transferencia de electrones. El cobre y el hierro se utilizan para aumentar la velocidad de oxidación principalmente por escisión homolítica del débil enlace O-O de los hidroperóxidos y consecuente formación de radicales (Yee et al., 1980; Rankin y Pike, 1993; Donnelly et al., 1998; Ponginebbi et al., 1999; Bondet et al., 2000; Cuvelier et al., 2000). Los metales iónicos descomponen los hidroperóxidos a diferente velocidad según el pH del medio, el ión ferroso parece más efectivo que el férrico y el cobre mucho menos que ambos (Frankel, 1998).

Antioxidantes

Porter sugirió en 1980 que los antioxidantes relativamente polares, hidrofílicos o anfífilicos con valores elevados del parámetro conocido como balance hidrófilo-lipófilo (HLB: hydrophilic-lipophilic balance) son más efectivos en sistemas lipídicos de baja relación superficie/volumen (lípidos en fase continua, grasas y aceites), mientras que los poco polares, li-

polifílicos o con bajo valor de HLB son más efectivos en sistemas con alta relación superficie/volumen (emulsiones, micelas y membranas) (Porter, 1980). Cort y colaboradores observaron que la descarboxilación o esterificación de Trolox C (un ácido carboxílico derivado del α -tocoferol: ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-2-cromanocarboxílico), con su consecuente disminución de polaridad, aumentaba su actividad en emulsión y la disminuía en el aceite continuo, y que el ácido ascórbico era más efectivo que el palmitato de ascorbilo en fase continua que en emulsión (Cort, 1974; Scott et al., 1974; Cort, 1982). Así mismo, para los tocoferoles se ha encontrado que la efectividad relativa en emulsión y liposomas ($\alpha > \beta > \gamma > \delta$), que corresponde a su potencia como vitamina *in vivo*, es inversa a la observada en fase continua (Cillard y Cillard, 1980; Fukuzawa et al., 1982). Este efecto, llamado "paradoja polar", es particularmente pronunciado en series homólogas como el ácido gálico y sus ésteres, la flavona y sus hidroquinonas y los lipofílicos extremos, BHA, BHT y etoxiquina (Porter et al., 1989).

En estudios cinéticos, Pryor y colaboradores (Pryor et al., 1988) concluyeron que las constantes de velocidad para los antioxidantes son muy sensibles al sistema y método usado para la medida. De hecho, muchos de los resultados obtenidos en los estudios clásicos arriba mencionados son a menudo difíciles de interpretar debido a la multitud de condiciones usadas: temperaturas desde ambiente a 100° C, con o sin catalizadores, sustratos lipídicos variados, métodos muy diferentes y que evalúan sólo aspectos parciales de la oxidación, y una enorme diversidad de puntos considerados como marcadores de oxidación final.

En los últimos años, Frankel y colaboradores han realizado numerosos trabajos en este contexto y relacionado el fenómeno de la "paradoja polar" con la afinidad de los antioxidantes hacia las interfases aire/aceite en fase continua y agua/aceite en emulsión. De esta forma, en fase continua, los antioxidantes más hidrofílicos serían más efectivos por concentrarse en la interfase aire-aceite mientras que los antioxidantes lipofílicos serían menos protectores por permanecer en la fase oleosa. En cambio, en emulsiones, los lipofílicos se orientarían hacia la interfase aceite-agua gracias a su actividad tensioactiva y serían más protectores que los hidrofílicos, que se disolverían y diluirían en la fase acuosa. En un primer trabajo (Frankel et al., 1994), se realizó el seguimiento de la oxidación por dos métodos, hidropéroxidos de dienos conjugados determinados espectrofotométricamente y hexanal determinado por cromatografía de gases de espacio de cabeza estático, pero se obtuvieron resultados dispares: según la formación de dienos conjugados, el Trolox y el ácido ascórbico eran más efectivos en fase continua que en emulsión, donde lo fueron más el α -tocoferol

y el palmitato de ascorbilo. Sin embargo, según la formación de hexanal, la efectividad en fase continua se encontró en el orden palmitato de ascorbilo > ácido ascórbico > α -tocoferol. Similares contradicciones se obtuvieron al comparar α y γ -tocoferol (Huang et al., 1994).

En sistemas multifásicos, los antioxidantes se distribuyen entre las distintas fases, la acuosa, la lipídica y el entorno interfásico, rico en emulsionante, según su afinidad y cantidades relativas, y ello puede modificar su efectividad en alimentos y sistemas biológicos. Estudios posteriores de este grupo de investigadores sobre la partición de diferentes antioxidantes mostraron que el orden de efectividad en emulsión (ácido cafeico, ácido gálico < galato de propilo < BHA) era inverso a su proporción en la fase acuosa, y que los antioxidantes más lipofílicos como el α -tocoferol estaban mayoritariamente concentrados en la fase lipídica y en la interfase aceite/agua (Schwarz et al., 1996). Pero la actividad antioxidante no se ve afectada únicamente por su distribución en la emulsión sino también por su capacidad donadora de radicales hidrógeno y estabilidad oxidativa relativa en las diferentes fases. Así, en mezclas aceite-agua, más del 90% de los antioxidantes hidrofílicos catequina, ácido gálico, galato de propilo y ácido rosmarínico se distribuyeron en la fase acuosa y esta concentración disminuyó marcadamente en las correspondientes emulsiones por afinidad con el Tween-20. En emulsiones, las bajas actividades de los antioxidantes hidrofílicos pueden por tanto atribuirse a su afinidad por las micelas de Tween-20 y la fase acuosa (Huang et al., 1997).

Las diferencias tocoferol-Trolox en fase continua y en emulsión se examinaron teniendo en cuenta su partición y se observó que la proporción de Trolox aumentaba en la fase lipídica a medida que aumentaba su concentración en el medio. Se observó además que la concentración de Trolox en la fase oleosa fue superior en mezclas de ácido linoleico y agua que en mezclas de triglicéridos y agua. En las correspondientes emulsiones aceite en agua, la concentración de Trolox en la fase acuosa disminuyó debido a su afinidad hacia el emulsionante Tween-20 (Huang et al., 1996b).

Los extractos de romero y sus componentes activos mayoritarios, carnosol y ácido carnósico (Hopia et al., 1996; Frankel et al., 1996a, 1996b; Frankel and Huang, 1996), el β -caroteno (Heinonen et al., 1997), los extractos de uvas (Yi et al., 1997) y de té verde (Frankel et al., 1997; Huang y Frankel, 1997) también han sido estudiados, observándose en general mayor efectividad de los análogos menos polares en emulsión, aunque a menudo se obtuvieron resultados contradictorios según el método utilizado para evaluar la oxidación.

Todos estos estudios indican que la polaridad relativa parece ser el parámetro más importante que

afecta la eficacia de los antioxidantes fenólicos en medio disperso. Sin embargo, se ha encontrado mayor efectividad para el ácido ferúlico y cafeico que para sus correspondientes ésteres fenéticos en emulsiones estabilizadas con Triton X-100 (Chen y Ho, 1997), y diferente orden de actividad del ácido gálico y sus ésteres en emulsiones estabilizadas con tensioactivos aniónicos (SDS) y no iónicos (Brij y lecitina parcialmente hidrolizada) (Stöckman et al., 2000). Por tanto, no hay que olvidar la importante influencia de la naturaleza del emulsionante en la efectividad de los antioxidantes fenólicos (Mancuso et al., 1999; Mei et al., 1999).

En el caso de utilizar cationes metálicos para acelerar la oxidación en emulsiones, hay que tener en cuenta que la actividad de los fenoles es el resultado neto de su efecto prooxidante, por reducción de los cationes a valencias inferiores, y de su acción antioxidante, y este equilibrio puede depender de la carga de la interfase y sus posibles interacciones con los iones metálicos (Mei et al., 1998; Mancuso et al., 2000).

4. BIBLIOGRAFIA

- Allen, J.C. and Wierden, W.L. (1982a) Influence of milk proteins on lipid oxidation in aqueous emulsion. I. Casein, whey protein and α -lactalbumin. *J. Dairy Res.*, **49**, 239-248.
- Allen, J.C. and Wierden, W.L. (1982b) Influence of milk proteins on lipid oxidation in aqueous emulsion. II. Lactoperoxidase, lactoferrin, superoxide dismutase and xanthine oxidase. *J. Dairy Res.*, **49**, 249-263.
- Bondet, V., Cuvelier, M.-E. and Berset, C. (2000) Behavior of phenolic antioxidants in a partitioned medium: focus on linoleic acid peroxidation induced by iron/ascorbic acid system. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **77**, 813-818.
- Bruna, E., Petit, E., Beljean-Leymarie, M., Huynh, S. and Nouvelot, A. (1989) Specific susceptibility of docosahexanoic acid and eicosapentaenoic acid to peroxidation in aqueous solution. *Lipids*, **24**, 970-975.
- Chen, J.H. and Ho, C.-T. (1997) Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 2374-2378.
- Cillard, J. and Cillard, P. (1980) Behavior of alpha, gamma and delta tocopherols with linoleic acid in aqueous media. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **57**, 39-42.
- Coleman, J.E., Hampson, J.W. and Saunders, D.H. (1964) Autoxidation of fatty materials in emulsions. II. Factors affecting the histidine-catalyzed autoxidation of emulsified methyl linoleate. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **41**, 347-351.
- Cort, W.M. (1974) Antioxidant activity of tocopherols, ascorbyl palmitate and ascorbic acid and their mode of action. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **51**, 321-325.
- Cort, W.M. (1982) Antioxidant properties of ascorbic acid in foods, en *Ascorbic acids: chemistry, metabolism and uses*, p. 533-543, P.A. Seib and B.M. Tolbat (Eds.), Advances in Chemistry Series 200, America Chemical Society, Washington D.C.
- Coupland, J.N. and McClements, D.J. (1996) Lipid oxidation in food emulsions. *Trends Food Sci. Technol.*, **7**, 83-91.
- Coupland, J.N., Zhu, Z., Wan, H., McClements, D.J., Nawar, W.W. and Chinachoti, P. (1996) Droplet composition affects the rate of oxidation of emulsified ethyl linoleate. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **73**, 795-801.
- Cuvelier, M.-E., Bondet, V. and Berset, C. (2000) Behavior of phenolic antioxidants in a partitioned medium: structure-activity relationship. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **77**, 819-823.
- Dalgleish, D.G. (1996) Food emulsions, en *Emulsions and emulsion stability*, p. 288-325, J. Sjöblom (Ed.), Marcel Dekker Inc., USA.
- Donnelly, J.L., Decker, E.A. and McClements, D.J. (1998) Iron-catalyzed oxidation of menhaden oil as affected by emulsifiers. *J. Food Sci.*, **63**, 997-1000.
- Duh, P.-D., Yen, W.F. and Yen, G.-C. (1999) Oxidative stability of polyunsaturated fatty acids and soybean oil in an aqueous solution with emulsifiers. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **76**, 201-204.
- Endo, Y., Hoshizaki, S. and Fujimoto, K. (1997) Oxidation of synthetic triacylglycerols containing eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids: effect of oxidation systems and triacylglycerol structures. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **74**, 1041-1045.
- Eriksson, C.E. (1987) Oxidation of lipids in food systems, en *Autoxidation of unsaturated lipids*, p. 207-231, H.W.-S. Chan (Ed.), Academic Press, Londres.
- Fillery-Travis, A., Mills, E.N.C., and Wilde, P. (2000) Protein-lipid interactions at interfaces. *Grasas y Aceites*, **51**, 50-55.
- Frankel, E.N. (1985) Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids. *Prog. Lipid Res.*, **23**, 197-221.
- Frankel, E.N. (1998) Oxidation in multiphase systems, en *Lipid oxidation*, p. 161-186, E.N. Frankel (Ed.), The Oily Press., Dundee, UK.
- Frankel, E.N. and Huang, S.-W. (1996) Evaluation of antioxidant activity of rosemary extracts, carnosol and carnosic acid in bulk vegetable oils and fish oils and their emulsions. *J. Sci. Food Agric.*, **72**, 201-208.
- Frankel, E.N., Huang, S.-W., Kanner, J. and German, J.B. (1994) Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs. emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1054-1059.
- Frankel, E.N., Huang, S.-W., Aeschbach, R. and Prior, E. (1996a) Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol and rosmarinic acid in bulk oil and oil-in-water emulsion. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 131-135.
- Frankel, E.N., Huang, S.-W., Prior, E., Aeschbach, R. (1996b) Evaluation of antioxidant activity of rosemary extracts, carnosol and carnosic acid, in bulk vegetable oils and fish oil and their emulsions. *J. Sci. Food Agric.*, **72**, 201-208.
- Frankel, E.N., Huang, S.-W. and Aeschbach, R. (1997) Antioxidant activity of green teas in different lipid systems. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **74**, 1039-1315.
- Fritsch, C.W. (1994) Lipid oxidation-the other dimensions. *INFORM*, **5**, 423-431.
- Fujii, N., Hamano, M. and Yuasa, K. (1995) Inhibition of the autoxidation of methyl linoleate by protein and highly concentrated dextrin in an emulsion system. *Biosc. Biotech. Biochem.*, **59**, 1761-1763.
- Fukuzawa, K., Tokumura, A., Ouchi, S. and Tsukatani, H. (1982) Antioxidant activities of tocopherols on Fe^{2+} -ascorbate-induced lipid peroxidation in lecithin liposomes. *Lipids*, **17**, 511-513.
- Gardner, H.W. (1979) Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and amino acids: a review. *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 220-229.
- Hegenaver, I., Saltman, P., Ludwig, D., Ripley, L. and Bajo, P. (1979) Effects of supplemental iron and copper on lipid oxidation in milk. I. Comparison of metal

- complexes in emulsified and homogenized milk. *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 860-867.
- Heinonen, M., Haila, K., Lampi, A.-M. and Piironen, V. (1997) Inhibition of oxidation in 10% oil-in-water emulsions by β -carotene with α - and γ -tocopherols. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **74**, 1047-1051.
- Hidalgo, F.J., Zamora, R. y Alaiz, M. (1992) Modificaciones producidas en las proteínas alimentarias por su interacción con lípidos peroxidados. III. Consecuencias nutricionales y toxicológicas. *Grasas y Aceites*, **43**, 97-100.
- Hidalgo, F.J. and Zamora, R. (2000) The role of lipids in non enzymatic browning. *Grasas y Aceites*, **51**, 35-49.
- Hopia, A.I., Huang, S.-W., Schwarz, K., German, J.B. and Frankel, E.N. (1996) Effect of different lipid systems on antioxidant activity of rosemary constituents carnosol and carnosic acid with and without α -tocopherol. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 2030-2036.
- Hsieh, Y.P. and Harris, N.D. (1987) Oxidation of ascorbic acid in copper-catalyzed sucrose solutions. *J. Food Sci.*, **52**, 1384-1386.
- Huang, S.-W. and Frankel, E.N. (1997) Antioxidant activity of tea catechins in different lipid systems. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 3033-3038.
- Huang, S.-W., Frankel, E.N. and German, J.B. (1994) Antioxidant activity of α and γ -tocopherols in bulk oils and in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 2108-2114.
- Huang, S.-W., Frankel, E.N., Schwarz, K. and German, B. (1996a) Effect of pH on antioxidant activity of α -tocopherol and Trolox in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 2496-2502.
- Huang, S.-W., Hopia, A., Schwarz, K., Frankel, E.N. and German, J.B. (1996b) Antioxidative activity of α -tocopherol and Trolox in different lipid substrates: bulk oils vs. oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 444-452.
- Huang, S.-W., Frankel, E.N., Aeschbach, R. and German, J.B. (1997) Partition of selected antioxidants in corn oil-water model. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 1991-1994.
- Kabalanov, A.S. and Shchukin, E.D. (1992) Ostwald ripening theory: application to fluorocarbon emulsion stability. *Adv. Colloid Emul. Sci.*, **38**, 69-97.
- Karel, M. (1984) Chemical effects in food stored at room temperature. *J. Chem. Education*, **61**, 335-339.
- Ke, P.J. and Ackman, R.G. (1973) Bunsen coefficient for oxygen in marine oils at various temperatures determined by an exponential dilution method with a polarographic oxygen electrode. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **50**, 429-435.
- Lin, C.G., Fujimoto, K. and Hwang, L.S. (1993) The antioxidative effect of protein on the hemoglobin-catalyzed oxidation of sardine oil in an emulsion system. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkai-Shi*, **40**, 602-608.
- Mabrouk, A.F. (1964) Kinetics of methyl linoleate emulsions autoxidation in the presence of polyhydroxyl compounds. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **41**, 331-334.
- Mabrouk, A.F. and Dugan, L.R. (1961) Kinetic investigation into glucose-fructose and sucrose activated autoxidation of methyl linoleate emulsions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **38**, 692-695.
- Mancuso J.R., McClements D.J. and Decker E.A. (1999) The effects of surfactant type, pH, and chelators on the oxidation of salmon oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 4112-4116.
- Mancuso J.R., McClements D.J. and Decker E.A. (2000) Iron-accelerated cumene hydroperoxide decomposition in hexadecane and trilaurin emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 213-219.
- Marcuse, R. and Fredriksson, P.O. (1968) Fat oxidation at low oxygen pressure. I. Kinetic studies on the rate of fat oxidation in emulsions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **45**: 400-407.
- Marcuse, R. and Fredriksson, P.O. (1969) Fat oxidation at low oxygen pressure. II. Kinetic studies on linoleic acid oxidation in emulsions in the presence of antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **46**, 262-268.
- Mei L., Decker E.A. and McClements D.J. (1998) Evidence of iron association with emulsion droplets and its impact on lipid oxidation. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 5072-5077.
- Mei L., McClements D.J. and Decker E.A. (1999) Lipid oxidation in emulsions as affected by charge status of antioxidants and emulsions droplets. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 2267-2273.
- Miyashita, K., Nara, E. and Ota, T. (1993) Oxidative stability of polyunsaturated fatty acids in an aqueous solution. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 1638-1640.
- Miyashita, K., Tateda, N. and Ota, T. (1994) Oxidative stability of free fatty acid mixtures from soybean, linseed and sardine oils in solution. *Fisheries Sci.*, **60**, 315-318.
- Miyashita, K., Hirao, M., Nara, E. and Ota, T. (1995) Oxidative stability of triglycerides from orbital fat of tuna and soybean oil in an emulsion. *Fisheries Sci.*, **61**, 273-275.
- Neff, W.E., Mounts, T.L., Rinsch, W.M., Konishi, H. and El-Agaimy, M.A. (1994) Oxidative stability of purified canola oil triacylglycerols with altered fatty acid compositions as affected by triacylglycerol composition and structure. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **71**, 1101-1109.
- Ponginebbi, L., Nawar, W.W. and Chinachoti, P. (1999) Oxidation of linoleic acid in emulsions: effect of substrate, emulsifier and sugar concentration. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **76**, 131-138.
- Porter, W.L. (1980) Recent trends in food applications of antioxidants, en *Autoxidation in foods and biological systems*, p. 295-365, M. Simic and G. Karel (Eds.), Plenum Press, New York.
- Porter, W.L., Black, E.D. and Drolet, A.M. (1989) Use of polyamide oxidative fluorescence test on lipid emulsions: contrast in relative effectiveness of antioxidants in bulk versus dispersed systems. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 624-627.
- Pryor, W.A., Strickland, T. and Church, D.F. (1988) Comparison of the efficiencies of several natural and synthetic antioxidants in aqueous sodium dodecyl sulfate micelle solutions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **110**, 2223-2229.
- Pryor, W.A., Cornicelli, L.A., Devall, L.J., Tait, B., Trivedi, B.K., Witiak, D.T. and Wu, M. (1993) A rapid screening test to determine the antioxidant potencies of natural and synthetic antioxidants. *J. Org. Chem.*, **58**, 3521-3532.
- Rankin, S.A. and Pike, O.A. (1993) Cholesterol autoxidation inhibition varies among several natural antioxidants in an aqueous model system. *J. Food Sci.*, **58**, 653-655.
- Riisom, T., Sims, R.J. and Fioriti, J.A. (1980) Effects of amino acids on the autoxidation of safflower oil in emulsions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **57**, 354-359.
- Robins, M.M. (2000) Lipid emulsions. *Grasas y Aceites*, **51**, 26-34.
- Roosen, J.P., Frankel, E.N. and Kinsella, J.E. (1994a) Enzymic and autoxidation of lipids in low fat foods:

- model of linoleic acid in emulsified hexadecane. *Food Chem.*, **50**, 33-38.
- Roozen, J.P., Frankel, E.N. and Kinsella, J.E. (1994b) Enzymic and autoxidation of lipids in low fat foods: model of linoleic acid in emulsified triolein and vegetable oils. *Food Chem.*, **50**, 39-43.
- Ruben, C. and Larsson, K. (1985) Relations between antioxidant effect of α -tocopherol and emulsion structure. *J. Dispersion Sci. Technol.*, **6**, 213-221.
- Sagone, A.L., Greenwald, J., Kraut, E.H., Bianchine, J. and Singh, D. (1983) Glucose: a role as a free radical scavenger in biological systems. *J. Lab. Clin. Med.*, **101**, 97-103.
- Saunders, D.H., Coleman, J.E., Hampson, J.W., Wells, P.A. and Riemenschneider, R.W. (1962) Autoxidation of fatty materials in emulsions. I. Pro-oxidant effect of histidine and trace metals on the oxidation of linoleate esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **39**, 434-439.
- Schaich, K.M. (1992) Metals and lipid oxidation. Contemporary issues. *Lipids*, **27**, 209-218.
- Schwarz, K., Frankel, E.N. and German, J.B. (1996) Partition behavior of antioxidative phenolic compounds in heterophasic systems. *Fett/lipid*, **98**, 115-121.
- Scott, J.W., Cort, W.M., Harley, H., Parrish, D.R. and Saucy, G. (1974) 6-Hydroxychroman-2-carboxylic acids: novel antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **51**, 200-203.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. (1992) Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 945-948.
- Silvestre, M.P.C., Chaiyasit, W., Brannan, R.G., McClements, D.J. and Decker, E.A. (2000) Ability of surfactant headgroup size to alter lipid and antioxidant oxidation in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 2057-2061.
- Sims, R.J. (1994) Oxidation of fats in food products. *INFORM*, **5**, 1020-1028.
- Sims, R.J., Fioriti, J.A. and Trumbetas, J. (1979) Effect of sugars and sugar alcohols on autoxidation of safflower oil in emulsions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 742-745.
- Stöckmann, H., Schwarz, K. and Huynh-Ba, T. (2000) The influence of various emulsifiers on the partitioning and antioxidant activity of hydroxybenzoic acids and their derivatives in oil-in-water emulsions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **77**, 535-542.
- Tong, L.M., Sasaki, S., McClements, J.D. and Decker E.A. (2000) Mechanisms of the antioxidant activity of a high molecular weight fraction of whey. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 1473-1478.
- Wedzicha, B.L. (1988) Distribution of low molecular weight additives in dispersed systems, en *Advances in Food Emulsions and Foams*, p. 329-371, E. Dickinson and G. Stainsby (Eds.), Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Yamaguchi, N. and Yamada, A. (1981) Studies on antioxidative activity of brown sugar. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **28**, 303-308.
- Yamauchi, R., Aoki, Y., Sugiura, T., Kato, K. and Yoshimitsu, U. (1982) Effect of sugars and sugar analogs on autoxidation of methyl linoleate and safflower oil. *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 2997-3002.
- Yamauchi, R., Tatsumi, Y., Asano, M., Kato, K. and Yoshimitsu, U. (1988) Effects of metals, salts and fructose on the autoxidation of methyl linoleate in emulsions. *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 849-850.
- Yazu, K., Yamamoto, Y., Ukegawa, K. and Niki, E. (1996) Mechanism of lower oxidizability of eicosapentanoate than linoleate in aqueous micelles. *Lipids*, **31**, 337-340.
- Yee, J.J., Shipe, W.F. and Kinsella, J.E. (1980) Antioxidant effects of soy protein hydrolysates on copper-catalyzed methyl linoleate oxidation. *J. Food Sci.*, **45**, 1080-1083.
- Yee, J.J. and Shipe, W.F. (1982) Effects of sulphhydryl compounds on lipid oxidations catalyzed by copper and heme. *J. Dairy Sci.*, **65**, 1414-1420.
- Yi, O.-S., Meyer, A.S. and Frankel, E.N. (1997) Antioxidant activity of grape extracts in a lecithine liposome system. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **74**, 1301-1307.

Recibido: Julio 2001
 Aceptado: Marzo 2002