

## Estabilidad y Efectos Biológicos de los Antioxidantes del Aceite Crudo de Palma

O. Holger<sup>1</sup>, O. Rodríguez, C. Alfonso<sup>2</sup>  
Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela  
ortizholger@hotmail.com<sup>1</sup>, candelaria.alfonso@ucv.ve<sup>2</sup>

### Resumen

*Se evaluó la estabilidad de los carotenos, tocoferoles y tocotrienoles del aceite crudo de palma africana almacenado en recipiente opaco con atmósfera inerte a 27 °C (I), en un alimento con 10 % de aceite crudo de palma, en atmósfera inerte a -4 °C (II) y en recipiente abierto a 27 °C (III). Se comparó la susceptibilidad a la oxidación in vitro de la HDL de ratas Sprague Dawley que recibieron aceite de palma o maíz al 10%. Se determinó que los antioxidantes del aceite crudo de palma son estables durante 7 semanas en las condiciones I. En II la estabilidad se mantuvo 8 días, mientras que en III la concentración de antioxidantes disminuyó a los 2 días. La HDL aislada por ultracentrifugación y oxidadas con Cu<sup>2+</sup> generaron dienos conjugados medidos por espectroscopia a 234 nm. La fase de retardo de la oxidación de la HDL del grupo alimentado con aceite crudo de palma fue de 94 min con respecto a 60 min del grupo que recibió aceite de maíz (p < 0,05). Se concluye que la ingesta de aceite crudo de palma incrementó la protección contra las oxidaciones in vitro, de los ácidos grasos poliinsaturados de la HDL.*

**Palabras Claves:** aceite de palma, estabilidad, antioxidantes, HDL

### Abstract

*The stability of the carotenos, tocopherols and tocotrienols was determined of the raw oil of African palm stored in: (I) inert atmosphere to 27 °C in opaque container, (II) an alimentary preparation with 10% of raw palm-oil, stored in inert atmosphere to -4 °C, and (III) stored in open container to 27 °C. The optimum conditions were chosen to carry out a biological trial that consisted of supply the food II to rats Sprague Dawley and compare the sensitivity to the oxidation in vitro of the HDL of animals that received corn oil to the 10% in their diet. It was determined that the antioxidants of the raw oil of palm are stable during 7 weeks in the conditions I. The food prepared with raw oil of palm was stable for 8 days to -4 °C in inert atmosphere, while in open container the concentration diminished to the 2 days of storage. The HDLs remote by ultracentrifugation and oxidized with Cu<sup>2+</sup> they generated conjugated dienes analysed by spectroscopic at 234 nm. The lag-phase of the oxidation of HDL of the group fed with raw palm-oil was 94 min. with regard to 60 min. of the group that received corn oil (p < 0.05). It is concluded that the consumption of raw oil of palm increased the protection in vitro against polyunsaturated fatty acids oxidation of the HDL.*

**Keywords:** palm oil, stability, antioxidant, HDL

## 1. Introducción

El aceite obtenido del mesocarpio del fruto de la palma (*Elaeis guineensis*), es la segunda fuente más abundante de aceite vegetal a nivel mundial [1], contiene entre 500 a 2000 mg de caroteno/Kg y aproximadamente 500 mg de tocoferoles y tocotrienoles/Kg [2] [3]. Estudios epidemiológicos reportan que la ingesta de antioxidantes como los carotenos, tocoferoles y tocotrienoles reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares, del cáncer de próstata y del tracto gastrointestinal, porque previenen la propagación de las reacciones de oxidación asociadas a estas enfermedades [4]. En Venezuela el aceite de palma se importa de otros países de la región y su cultivo también se ha incrementado, por lo cual, ha aumentado la disponibilidad y el interés en evaluar los efectos biológicos de su consumo.

De acuerdo con los estudios clásicos de Hegsted y Keys [5] [6], el aceite de palma con 38% del ácido graso saturado palmítico, se considera una grasa saturada y según las fórmulas de predicción, el consumo de aceite de palma aumentaría la concentración de colesterol plasmático; sin embargo, el aceite de palma tiene alto contenido del ácido graso monoinsaturado oleico y antioxidantes, que modifican su comportamiento respecto a otras grasas saturadas [7]. Los antioxidantes del aceite de palma pueden prevenir la acción oxidante de los radicales libres derivados del  $O_2$  ( $O_2^{\cdot-}$ ,  $OH^{\cdot}$ ) sobre las biomoléculas, disminuyendo los cambios biológicos que caracterizan a las enfermedades cardiovasculares y el cáncer [8] [9]. Se ha recomendado el consumo de cantidades moderadas de aceite crudo de palma y sus fracciones, en grupos o comunidades deficientes de vitaminas A y E, porque durante la cocción de los alimentos se retiene entre el 70 y 80 % del  $\beta$ -caroteno, siempre que se tenga la precaución de no utilizar el aceite en el reciclaje a altas temperaturas, porque se forman sustancias tóxicas que afectan las estructuras y el metabolismo celular del consumidor [10].

El aceite de palma y sus derivados son los únicos productos naturales en el mercado mundial con apreciables cantidades de tocotrienoles, en particular de  $\gamma$ -tocotrienol que puede reducir la concentración del colesterol plasmático, mediante la inhibición de la enzima Hidroximetil-glutaril-coenzima A-reductasa hepática que regula la síntesis del colesterol, también pudiera modificar la estabilidad de la lipoproteína HDL [11]. En adultos sanos, una dosis de 200 mg de tocoferoles/día durante 50 días incrementó la protección contra las oxidaciones de la HDL, lo cual no se observó con dosis de 50 mg/día [12].

El objetivo de este trabajo fue comparar la estabilidad de los antioxidantes del aceite crudo de

palma en diferentes condiciones y evaluar sus efectos en la oxidación *in vitro* de la HDL de ratas Sprague Dawley alimentadas durante 2 meses con suplemento de aceite crudo de palma o maíz, mediante la cuantificación de los dienos conjugados que se generan en la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados.

## 2. Procedimiento experimental

El aceite crudo de palma adquirido en el estado Yaracuy, República Bolivariana de Venezuela se desgomó y eliminaron los ácidos grasos libres con ácido fosfórico, NaOH y agua, luego se determinó la concentración de carotenos, tocoferoles y tocotrienoles según el método propuesto por Kang y col [13] con modificación, utilizando un equipo HPLC Agilent serie 1100®, las muestras se protegieron de la luz y se utilizó  $N_2$  como atmósfera inerte durante el análisis. Los lípidos de 1 g de muestra se extraen tres veces con 5 mL de cloroformo (2:1, v:v) conteniendo 0,01 % de BHT. Los tres extractos se combinan y el solvente se evapora a 30 °C con corriente de  $N_2$ . La columna de separación en HPLC fue Hypersil® ODS de 250 x 4,6 mm. Se utilizó como fase móvil acetoneitrilo:tetrahidrofurano:metanol:1% acetato de amonio (65 : 25 : 6 : 4 v/v) a 1 mL/min. El detector fue un sistema con variación de longitud de onda y se programó a 291 nm para determinar  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tocoferoles y  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tocotrienoles y a 450 nm para el análisis de  $\alpha$ -caroteno y  $\beta$ -caroteno, ocho componentes con la misma inyección,  $\alpha$  y  $\beta$  carotenos se reportan como la suma de la concentración de carotenos. Para determinar el tiempo de retención se utilizaron patrones Sigma® o Merck®. Los factores de recuperación y de respuesta se determinaron con patrones de cada componente. El índice de peróxidos y la acidez libre se determinó con la norma venezolana Covenin 69-2000.

Las muestras analizadas fueron las siguientes:

I.- Aceite crudo de palma almacenado en recipientes de polietileno de 50 mL, opacos y sellado con  $N_2$  como atmósfera inerte, a 27 °C. Se analizó durante 7 semanas.

II.- Alimento preparado con 10 % de aceite crudo de palma y 90 % del alimento basal para el ensayo biológico, que contiene: almidón de maíz (57%), sacarosa (10,8%), caseína (21,5%), celulosa (5,4%), vitaminas y minerales (3,8%), L-cisteína (0,35%) y bitartrato de colina (0,2%), según las proporciones recomendadas por el Instituto Americano de Nutrición (AIN) para la alimentación de roedores [14], almacenado en atmósfera inerte a -4 °C durante ocho días.

III.- El alimento preparado con 10% de aceite crudo de palma, según AIN almacenado en condiciones ambientales, 27 °C, durante 8 días, en envase abierto como se suministra el alimento a los roedores en el ensayo biológico.

Para evaluar el efecto antioxidante del consumo de aceite de palma, se utilizaron ratas albinas de sepa Sprague Dawley de 160 g de peso corporal (N=8) alimentadas *ad libitum* durante 2 meses con el alimento con 10% de aceite crudo de palma y otro grupo recibió una dieta que reemplaza el aceite de palma con aceite de maíz (N=8). Los animales permanecieron en jaulas individuales. Al final del período de la dieta, después de un ayuno de 14 h se extrajo muestra de sangre por punción cardiaca en tubos con EDTANA<sub>2</sub> (1mg/mL). La HDL se separó del plasma por ultracentrifugación, ajustando la densidad con KBr a 1,21 g/mL [15]. Se dializaron contra buffer fosfato 10 mM en relación 1:500 (v:v). La oxidación de las HDL se realizó el mismo día con 10 µL CuSO<sub>4</sub> 1mM (concentración final 10 µM) y 50 µg de proteínas/mL. El tiempo inicial de la oxidación corresponde al momento de adicionar la solución de Cu<sup>2+</sup> directamente en la celda para medir los dienos conjugados que se generan en el transcurso de la reacción, los dienos conjugados se determinaron a 234 nm. La concentración de proteínas se realizó mediante el método de Markwell [16]. Las concentraciones de Cu<sup>2+</sup> y de proteínas fueron optimizadas [17].

En la cinética de la oxidación se evaluó (i) el tiempo de retardo de la oxidación y (ii) la velocidad máxima de formación de dienos conjugados. El tiempo de retardo está relacionado con la resistencia a la oxidación de los lípidos insaturados contra la oxidación inducida por el ión Cu<sup>2+</sup>. Este tiempo es directamente proporcional al contenido de antioxidantes y equivale a la intersección entre las rectas **a** y **b** de la figura 4. Estas rectas corresponden a las pendientes de la fase de retardo y de la fase de la velocidad máxima de oxidación lipídica respectivamente [18] [19]. Los resultados se presentan como media± EEM, se considera que hay diferencias significativas cuando el valor de p es menor de 0,05.

### 3. Resultados y discusión

En la tabla 1 se reporta el contenido de los carotenos, tocoferoles y tocotrienoles del aceite crudo de palma y de los alimentos preparados para el ensayo biológico.

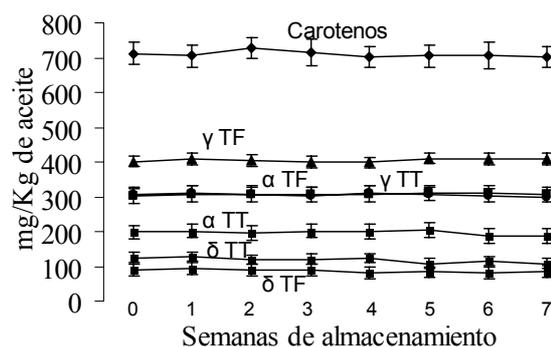
El contenido de carotenos del aceite crudo de palma fue 712 mg/Kg, lo cual influye en el elevado contenido que tiene el alimento preparado con este aceite respecto al preparado con aceite refinado de maíz ( $p < 0,05$ ). La concentración de  $\alpha$ -tocoferol es mayor en la dieta con aceite crudo de palma, además, se observa gran diferencia en el contenido de tocotrienoles abundante en el aceite crudo de palma respecto al aceite de maíz. Esta diferencia del contenido de antioxidantes podría incrementar la protección contra las oxidaciones del organismo que los ingiere, no obstante, también se debe considerar

el contenido de ácidos grasos poliinsaturados en el aceite, ya que son sustratos oxidables; en efecto, el aceite de maíz contiene 47 % de ácido linoleico (C18:2,n-6) un porcentaje mayor respecto al 10% en el aceite de palma, lo cual es otro factor que contribuye para que la ingesta de aceite de maíz respecto al aceite de palma favorezca la peroxidación en el organismo [20]. El índice de acidez del aceite crudo de palma lavado fue 0,1% y el índice de peróxidos 2 meq O<sub>2</sub>/Kg.

**Tabla 1.** Carotenos, tocoferoles y tocotrienoles en el aceite crudo de palma y en las dietas (mg/Kg de alimento) N=4

	Aceite crudo de palma	Alimento con 10% de ACP	Alimento con 10% de AM
$\alpha$ Car +	712±22	72±4	0,50±0,05
$\beta$ Car			
$\alpha$ TF	303±14	31±2	15±5
$\gamma$ TF	402±15	47±2	36±8
$\delta$ TF	90±9	8±1	< 5
$\alpha$ TT	198±21	22±4	< 5
$\gamma$ TT	306±22	33±2	< 1
$\delta$ TT	125±14	13±1	< 1

En la figura 1 se observa la estabilidad de los antioxidantes del aceite crudo de palma cuando se almacena en N<sub>2</sub> con bajos niveles de O<sub>2</sub> y en ausencia de luz. No hubo cambio significativo ( $p > 0,05$ ) de la concentración de los antioxidantes analizados durante las primeras 7 semanas de almacenamiento a 27 °C. La estabilidad de los antioxidantes del aceite crudo de palma varía con las condiciones de almacenamiento; ya que, la presencia de sustancias derivadas del oxígeno, nitrógeno o del cloro aumenta la reactividad de los antioxidantes [21].



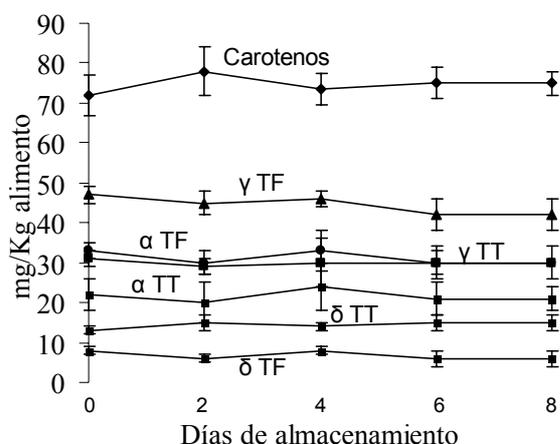
**Figura 1.-** Estabilidad de los antioxidantes del aceite crudo de palma almacenado en atmósfera inerte a 27 °C. Media ± EE, n=4

La luz ultravioleta también disminuye la concentración del  $\beta$ -caroteno, aunque la presencia de  $\alpha$ -tocoferol aumenta la estabilidad de los carotenos [22]. Por otra parte, la formulación de un alimento con el aceite crudo de palma crea un ambiente favorable para que el oxígeno atmosférico y la presencia de minerales como

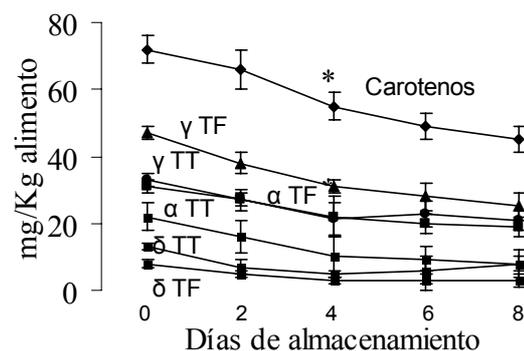
el hierro favorezcan la oxidación de los carotenos, tocoferoles y tocotrienoles; además, el mezclado de los componentes de la formulación aerea el alimento, incrementando la relación  $O_2$ /antioxidantes.

El alimento preparado y almacenado a  $-4\text{ }^\circ\text{C}$  en atmósfera inerte, no presentó cambios en la concentración de los antioxidantes (Figura 2) durante 8 días; sin embargo, cuando se almacenó en recipiente abierto, se observó disminución de la concentración de los antioxidantes a los 2 días de almacenamiento, la cual fue significativa ( $p < 0,05$ ) a los 4 días (Figura 3), por lo cual, en el ensayo biológico fue necesario suministrar diariamente el alimento a los animales, previa preparación semanalmente y conservado a  $-4\text{ }^\circ\text{C}$  en atmósfera inerte. La oxidación de los carotenos se debe a la estructura altamente insaturada, siguiendo un mecanismo similar a la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados, que es favorecido por la presencia de  $O_2$  [23], el  $\beta$ -caroteno puede tener reacción cruzada con el radical peroxilo de los lípidos, reacción que explica la acción antioxidante del  $\beta$ -caroteno frente a los lípidos [24].

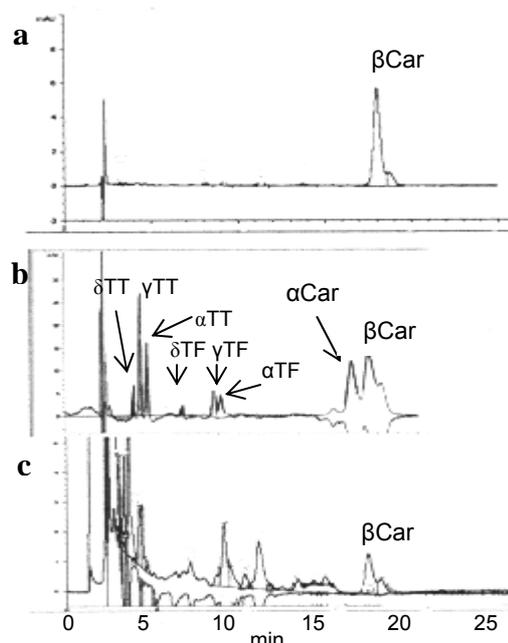
La figura 4-a contiene un cromatograma HPLC del  $\beta$ -caroteno Sigma® a 450 nm, no hay absorción a 291 nm, la figura 4-b contiene dos cromatogramas del alimento con aceite crudo de palma, a 291 nm se obtuvieron los picos cromatográficos de los tocoferoles y tocotrienoles, mientras que los picos de los carotenos  $\alpha$  y  $\beta$  corresponden a 450 nm, con la misma inyección al cromatógrafo. La figura 4-c es un cromatograma de un patrón de  $\beta$  caroteno sigma® que fue almacenado en envase abierto por 8 días a  $27\text{ }^\circ\text{C}$ , se observó disminución del área de pico de  $\beta$ -caroteno y la aparición de picos a 450 nm que pueden corresponder a sustancias formadas a partir del  $\beta$ -caroteno.



**Figura 2.-** Estabilidad de los antioxidantes del aceite crudo de palma en un alimento almacenado en atmósfera inerte a  $-4\text{ }^\circ\text{C}$ . Media  $\pm$  EE,  $n=4$



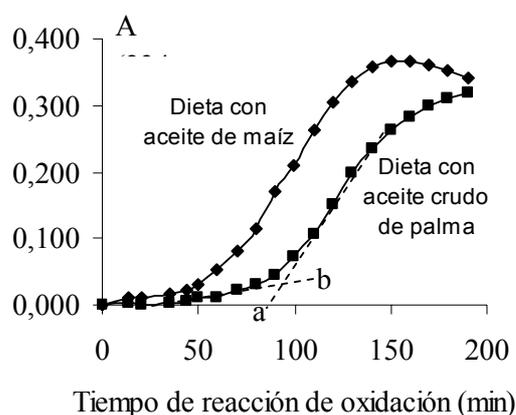
**Figura 3.-** Estabilidad de los antioxidantes del aceite crudo de palma en un alimento almacenado a  $27\text{ }^\circ\text{C}$  en envase abierto. Media  $\pm$  EE,  $N=4$  (\* ) Diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) respecto al valor inicial.



**Figura 4.-** Cromatogramas. 4.a Patrón de  $\beta$ -caroteno a 450 nm. 4.b Tocoferoles, tocotrienoles a 291 nm y carotenos  $\alpha$  y  $\beta$  a 450 nm del alimento con aceite crudo de palma. 4.c Sustancias formadas del  $\beta$ -caroteno, detector a 450 nm.

La figura 5 representa el aumento de la concentración de dienos conjugados *in vitro* cuando los lípidos de la lipoproteína HDL se oxidan en presencia de  $Cu^{2+}$ . Con aceite crudo de palma como suplemento alimenticio incrementó la fase de retardo de la oxidación desde 60 a 94 min ( $p < 0,05$ ), mientras que la  $V_{m\acute{a}x}$  no presentó diferencias entre grupos (tabla 2). Este aumento posiblemente se debe a la incorporación de los antioxidantes del alimento con aceite crudo de palma en el organismo y particularmente en la HDL. La

administración de sustancias antioxidantes, retarda el proceso oxidativo y el riesgo de padecer afección cardiovascular [25]. Coni y col, demostraron que conejos alimentados durante 6 semanas con dieta suplementada con oleoropeína, un bifenol antioxidante del aceite de oliva produjo aumento de 200 min en la fase de retardo de la oxidación de la LDL [26].



**Figura 5.-** Cinética de la oxidación *in vitro* de la HDL de ratas Sprague Dawley alimentadas con aceite crudo de palma o aceite de maíz.

**Tabla 2.-** Parámetros de la cinética de peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de la HDL

	Fase de retardo (min)	Velocidad max. (A/min)
Con aceite crudo de palma	94 ± 6	0,004 ± 0,001
Con aceite de maíz	60 ± 4	0,005 ± 0,001

No se encontró diferencias ( $p < 0,05$ ) en la velocidad máxima de peroxidación entre los grupos con aceite crudo de palma y de maíz, posiblemente porque el porcentaje de los ácidos grasos poliinsaturados, 35,8 % y 40,6 % (resultados preliminares) de la HDL para los grupos con el aceite crudo de palma ó aceite de maíz respectivamente no tienen diferencia tan marcada como en las dietas preparadas con los aceites. La HDL oxidada en presencia de  $\text{Cu}^{2+}$  o de radicales libres tiene menor capacidad para cumplir su función: inducir la salida del colesterol tisular [27]. La evaluación de las oxidaciones *in vitro* de las lipoproteínas aisladas como se utilizó en este trabajo, permiten simular las condiciones en el espacio subendotelial con bajas concentraciones de albúmina. En humanos, la administración de vitamina E, aumentó la resistencia a la oxidación de la LDL y HDL [28]. En conclusión, la presencia de

antioxidantes en el aceite crudo de palma protege la oxidación de la HDL, en comparación con el aceite de maíz, lo cual es importante porque la HDL estaría en condiciones para realizar el transporte reverso del colesterol. Estos hallazgos podrían explicar la menor incidencia de lesiones anatomopatológicas reportadas en trabajos previos de nuestro laboratorio, cuando se utilizó el mismo protocolo experimental con aceite de palma y de maíz [29] [30].

#### 4. Agradecimiento

Este trabajo fue financiado por el CDCH-UCV, mediante los proyectos N° 09.00.6003.05 y 09.00.5704.04

#### 5. Nomenclatura

A: Absorbancia a 234 nm; ACP: Aceite crudo de palma; AM: Aceite refinado de maíz; Car. Caroteno; EEM: error estándar de la media; TF: Tocoferol; TT: Tocotrienol.

#### 6. Referencias bibliográficas

- [1] Cottrell RC. Introduction: nutritional aspects of palm oil. *J Clin Nutr* 1991; (53): 989S-100S
- [2] Go SH, Choo YM, Ong SH. Minor constituents of palm oil. *J Am Oil Chem Soc.* 1985; (62): 237-40
- [3] Nagendran B, Unnithan U, Choo Y, and Sundram K. Characteristics of red palm oil, a carotene-and vitamin E- rich refined oil for food uses. *Food Nutr Bull.* 2000; 21 (2): 189-94
- [4] Ortiz H, Giacomini M, Alfonso C, Bosch V. Efecto antioxidante del tomate en la lipoproteína de alta densidad (HDL) en los microsomas hepático de la rata. *Arch Ven Farmacol Terap* 2003; 22 (1): 1-7
- [5] Hegsted DM, Mc Gandy RB, Mayers ML, Tare FJ. Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am J Clin Nutr.* 1965; 17: 281-95
- [6] Key A, Anderson J, and Grande F. Serum cholesterol response to change in the diet. *Metabolism* 1965 (14) 747-8
- [7] Wilson TA, Nicolosi RJ, Kottyla T, Sundram K, Kritchevsky D. Different palm oil preparations reduce plasma cholesterol concentrations and aortic cholesterol accumulation compared to coconut oil in hypercholesterolemic hamsters. *J Nutr Biochem.* 2005; (10): 633-40
- [8] Rissanen T, Voutilainen S, Nyssonen K, Salonen J. Atherosclerosis and coronary heart disease. *Exp Biol Med.* 2002; (10): 900-7
- [9] Sundram K, Sambanthamurthi R, Tan YA. Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pac J clin Nutr.* 2003; (3): 355-62
- [10] Kritchevsky D. Impact of red palm oil on human nutrition and health. *Food Nutr Bull.* 2002; (2): 182-7
- [11] Gapor AB, Berger KG, Hashimoto T, et al. Effects of processing on the content and composition of tocopherols and tocotrienols in

- palm oil. In: Pushparajah E, Rajadurai M, eds. The palm oil product technology in the eighties. Kuala Lumpur: Incorporated Society of planters 1983: 145-56
- [12] Arrol S, Mackness MI, Durrington PN. Vitamin E supplementation increases the resistance of both LDL and HDL to oxidation and increases cholesteryl ester transfer activity. *Atherosclerosis*. 2000; (150): 129-34
- [13] Kang K, Cherian G y Sim J. Tocopherols, retinol and carotenes in chicken egg and tissues as influenced by dietary palm oil. *J Food Sci*. 1998; 63(4): 592-5
- [14] Reeves P, Nielsen F y Fahey G. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. 1993; 123: 1939-51
- [15] Giacopini MI, Ortiz H, Bosch V. Oxidación de las lipoproteínas de alta y baja densidad del plasma humano y su correlación con los ácidos grasos de los fosfolípidos. *Rev Fac Med. UCV*. 2002;(25): 17-19
- [16] Markwell M, Hass S, Bieber L, Tolbert N. A modification of the Lowry procedure to simplify determination in membrane and lipoprotein samples. *Anal Biochem*. 1978; (87): 206-10
- [17] Scorza T, Ortiz H, Rodríguez O, Alfonso-Pérez C. Efecto del consumo de aceite crudo de palma o maíz sobre la oxidación *in vitro* de la HDL plasmática de conejos. *Arch Ven Farm y Terap* 2007; 26(2): 115-119.
- [18] Arrol S, Mackness MI, Durrington PN. Vitamin E supplementation increases the resistance of both LDL and HDL to oxidation and increases cholesteryl ester transfer activity. *Atherosclerosis*. 2000; (150): 129-34
- [19] Pinchuk I, Lichtenberg D. The mechanism of action of antioxidants against lipoprotein peroxidation, evaluation based on kinetic experiments. *Progr Lip Res*. 2002; (41): 279-314
- [20] Scorza T, Ortiz H, Rodríguez, O, Alfonso-Pérez C. Efecto del consumo de aceite crudo de palma o maíz sobre la oxidación *in vitro* de la HDL plasmática de conejos. *Arch. Ven Farm y Terap*. 2007; 26 (2) 115-119
- [21] Evans P y Halliwell B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *British Journal of Nutrition*. 2001; 85 S2, S67-S74
- [22] Scita G. The stability of  $\beta$ -carotene under different laboratory conditions. *J Nutr Biochem*. 1992; 3: 124-8
- [23] Takahashi A, Shibasaki N y Yonemoto T. Kinetic model for autooxidation of  $\beta$ -carotene in organism solutions. *JAOCS*. 1999; 76: 897-903
- [24] Takashi A, Suzuki J, Shibasaki N y Yonemoto T. (2001) A kinetic model for co-oxidation of  $\beta$ -carotene with oleic acid. *JAOCS*. 2001; 78: 1203-7
- [25] Black T, Wang P, Maeda N, Coleman R. Palm tocotrienols protect apoE +/- mice from diet-induced atheroma formation. *J Nutr*. 2000; (19): 2420-6
- [26] Coni E, Benedetto R, Pasquale M, Maselli R, Modesti D, Mattei R, Carlini E. Protective effect of oleuropein, an olive oil biophenol, on low density lipoprotein oxidizability in rabbits. *Lipids*. 2000; (35): 45-54
- [27] Rifichi VA, Khachadurian AK. Effects of dietary vitamin C and E supplementation on the copper mediated oxidation of HDL and on HDL mediated cholesterol efflux. *Atherosclerosis*. 1996; (127): 19-36
- [28] Esterbauer H, Jurgens G, Quehenberger O, Koller E: Auto-oxidación of human low density lipoprotein: loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J Lipid Res*. 1987; (28): 495-509
- [29] Martucci A, Scorza T, de Ron AT, Pujol I. Lesiones arteriales en Conejos hipercolesterolémicos con dietas ricas en aceite de palma y contenido variable de antioxidantes. *Rev Soc Venez Cien Morfol*. 1997; (3):43-50
- [30] Martucci A; Scorza T, de Ron AT, Pujol I, Hamana N. Hipercolesterolemia crónica en conejos. Agregación plaquetaria y lesiones en la aorta abdominal. *Rev Fac Medic*. 1998; (21): 24-30