

## DOSAGGIO DELLA VITAMINA E NELLE CARIOSSIDI DI ALCUNE VARIETÀ DI MAIS

### VITAMIN E ASSESSMENT IN SOME CORN BREEDS GRAINS

Quarantelli A.<sup>1</sup>, Righi F.<sup>1</sup>, Renzi M.<sup>1</sup>, Strozzi L.<sup>2</sup>, Romanelli S.<sup>1</sup>

#### PAROLE CHIAVE:

Vitamina E, varietà di mais, biopotenza antiossidante relativa.

#### KEY WORDS:

Vitamin E, corn breeds, relative antioxidant biopotency.

#### Riassunto

Su 10 varietà di mais ibridi, coltivate in parcelle sperimentali, è stato valutato il tenore di vitamina E. Lo studio è stato condotto con l'obiettivo di individuare varietà che possano risultare più adatte all'alimentazione animale e più resistenti ai processi di ossidazione degli olii durante lo stoccaggio.

Il contenuto medio di  $\alpha$ -tocoferolo è risultato pari a 9,47 mg/kg di SS con un campo di variabilità compreso fra 2,19 e 15,64, mentre i valori medi di  $\beta$ + $\gamma$ -tocoferoli sono risultati pari a 35,24 mg/kg di SS con valori minimo e massimo rispettivamente di 18,07 e 67,33 mg/kg di SS.

La valutazione della biopotenza antiossidante relativa (RAB) ha consentito di individuare quattro varietà, contrassegnate con i n.ri 6, 8, 9, 10, le quali risultano più rispondenti con gli obiettivi della ricerca.

#### Summary

Vitamin E level was evaluated on 10 corn breeds. The study was performed to characterize the more suitable corn breeds for feeding animals such as breeds more resistant to oil oxidation process during stocking period.

Average content of  $\alpha$ -tocopherol was 9.47 mg/kg of DM with a range of variation between 2.19 and 15.64, while mean value of  $\beta$ + $\gamma$ -tocopherols was 35.25 mg/Kg of DM with minimal and maximal values of 18.07 and 67.33 mg/kg of DM respectively.

Relative antioxidant bio potency (RAB) evaluation has concurred to characterize four varieties, marked 6, 8, 9, 10, which resulted more consistent with the objectives of the research.

---

<sup>1</sup> Dipartimento di: Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti.

<sup>2</sup> Sezione di Scienza degli Alimenti e della Nutrizione.

Indirizzo per corrispondenza: afro.quarantelli@unipr.it

## Introduzione

Il termine “Vitamina E” viene utilizzato per individuare due gruppi di molecole liposolubili, i **tocoferoli** ed i **tocotrienoli**. Queste molecole si caratterizzano per la loro azione antiossidante sulla componente lipidica delle membrane biologiche proteggendole dai perossidi e dai radicali dell’ossido nitrico (Christen et al., 1997).

I **tocoferoli** ed i **tocotrienoli** sono sintetizzati in natura dai vegetali superiori, dalle alghe e da alcune piante non fotosintetiche ma non dagli animali (Threlfall, 1971) e si trovano, soprattutto sotto forma di alcoli liberi, nei tessuti fogliari e nella parte lipidica dei semi. La loro ripartizione nei vegetali è legata alla specie, alla varietà, allo stato di maturazione ed ai metodi di raccolta e di conservazione (Peterson, 1995). La funzione di queste molecole è stata posta in relazione con l’elevato contenuto di acidi grassi poliinsaturi (PUFA) presenti nelle specie vegetali. Lange (1950) ha dimostrato che la concentrazione dei tocoferoli e dei tocotrienoli è *positivamente correlata* con la presenza dell’acido linoleico (C18:2) e dell’acido linolenico (C18:3) nella componente lipidica dell’alimento stesso. Successivamente Booth (1964) ha messo in evidenza che la Vitamina E, nelle specie vegetali, agisce come antiossidante proteggendo questi acidi grassi poliinsaturi dall’auto-ossidazione. Fattori quali l’essiccazione, lo stoccaggio e l’aggiunta di conservanti riducono il contenuto naturale di Vitamina E presente negli alimenti di origine vegetale. Per questo foraggi ed altri alimenti freschi fanno registrare tenori di vitamina E più elevati di quelli conservati. La differenza assume proporzioni tanto più marcate quanto più lungo è il periodo di conservazione.

Keitel (1979) ha riscontrato che un mais umido dopo due mesi di stoccaggio ha denunciato una perdita di Vitamina E oscillante intorno al 75%.

Bieber-Wlaschny (1988) ha potuto accertare che negli insilati di mais il processo di distruzione della Vitamina E inizia già una settimana dopo l’insilamento.

I tocoferoli e i tocotrienoli pur avendo strutture chimiche molto affini si caratterizzano per attività biologiche profondamente diverse in funzione del grado di metilazione dell’anello aromatico presente in entrambe le molecole. In base al grado di metilazione i tocoferoli sono stati suddivisi in quattro gruppi denominati **alfa**, **beta**, **gamma** e **delta**, mentre i tocotrienoli sono stati classificati solo come **alfa** e **beta**. I tocoferoli sembrano in grado di svolgere una funzione antiossidante più importante rispetto ai tocotrienoli. A questi ultimi è infatti riconosciuta una attività oscillante intorno al 16% rispetto ai primi.

Sia i tocoferoli sia i tocotrienoli possono donare un idrogeno ad un radicale libero che si forma durante la perossidazione dei lipidi (Cheeseman et Slater, 1993). L’azione antiossidante dei tocoferoli tuttavia sembra essere diversificata a seconda delle condizioni in cui questi si trovano. L’ **$\alpha$ -tocoferolo** sembra svolgere la sua funzione principalmente nei tessuti animali proteggendo dall’ossidazione gli acidi grassi poliinsaturi (PUFA) contenuti nei fosfolipidi delle membrane cellulari e soprattutto di quelle sub-cellulari a livello di mitocondri (Taylor, Lamden et Tappel 1976). Al  **$\gamma$ -** e  **$\delta$ -tocoferolo** è riconosciuto invece un ruolo particolarmente importante nella prevenzione e nel rallentamento dell’ossidazione dei grassi e degli olii nelle loro sedi di accumulo e nel sistema alimentare (McLaughlin et Weirauch 1979; Bauernfeind,

1980; Wagner et al., 2004).

Alcune sperimentazioni sono state condotte per valutare il ruolo svolto dalle varie forme di tocoferoli nella prevenzione del processo di ossidazione. Yoshida et Takagi (1996) hanno osservato che soia integrale sottoposta a tostatura con microonde per 20 minuti ha evidenziato una riduzione dei tocoferoli oscillante intorno al 20%. L'aggiunta di **alfa**, **beta**, **gamma** o **delta** tocoferoli a sego e lardo, dopo riscaldamento con microonde per 0, 4, 8, 12 e 20 minuti, ha consentito a Yoshida et al. (1992) di verificare perdite di attività che sono risultate particolarmente elevate per l'**alfa tocoferolo** ed in misura decrescente per il **gamma**, il **beta** e il **delta** tocoferolo. Osservazione analoga è stata riportata da Surai (1999), il quale ha annotato, in presenza di acido linoleico e di fattori ossidanti, la scomparsa, nell'ordine, di **alfa**, **gamma** e **delta** tocoferolo.

La molecola dell' **$\alpha$ -tocopherolo** si differenzia infatti da quelle degli altri tocoferoli e dai tocotrienoli per la presenza, nell'anello aromatico, di tre gruppi metilici i quali conferiscono alla molecola stessa una spiccata attività di antiossidante biologico. Leth et Sondergaard (1977) a seguito di ricerche condotte sui ratti hanno attribuito una **relativa biopotenza antiossidante** pari a 100, 56, 16 e 0,5% rispettivamente all'**alfa**, al **beta**, al **gamma** e al **delta** tocoferolo. Quest'ordine è stato successivamente condiviso da Surai (1999) il quale, in aggiunta, afferma che la stabilità delle differenti forme di vitamina E presente negli alimenti è inversamente proporzionale alla attività antiossidante dei medesimi.

Janiszowska et Pennok nel 1976 hanno messo in evidenza che nei vegetali sono presenti vie metaboliche distinte per la sintesi dei tocoferoli e dei tocotrienoli. Successivamente altre ricerche (McDowell (1989), Lynch (1996), White et Xing (1997), Kurilich et Juvik (1999), Goffman et Bohme (2001)) hanno dimostrato che varietà diverse di mais ibridi sintetizzano differenti quantità di tocoferoli in funzione del loro patrimonio genetico.

In tale contesto è stato ritenuto interessante istituire una ricerca avente le seguenti finalità:

a - approfondire le conoscenze in merito al tenore di Vitamina E presente in campioni di granello di mais appartenente a linee genetiche diverse;

b - condurre una indagine preliminare per creare le basi per una ricerca più dettagliata e finalizzata ad individuare cultivar di mais dotate di un corredo di tocoferoli in grado di rallentare il più possibile il processo di ossidazione della componente lipidica durante lo stoccaggio.

## Materiali e metodi

Sono state esaminate 10 varietà di mais ibridi coltivati in parcelle sperimentali appositamente allestite nell'annata 2004.

Sui campioni di granello, contrassegnati con i numeri dall' 1 al 10, si è provveduto alla determinazione, condotta in doppio, del tenore di vitamina E.

Il dosaggio della vitamina E è stato effettuato mediante HPLC in *fase inversa*. Tale procedura analitica ha consentito di ottenere per ciascun campione, i tenori in alfa- e delta-tocopherolo, mentre per il beta- ed il gamma-tocopherolo, è stato determina-

to solo il valore della loro somma in quanto i relativi picchi vengono coeluiti (Tan et Brzuskiwicz (1989); Abidi (2000)). I campioni sono stati sottoposti a saponificazione con KOH in ambiente metanolico a 70°C e successivamente ad estrazione liquido-liquido con etere di petrolio. Gli estratti sono stati portati a secchezza in rotavapor a 45°C, ripresi con metanolo e quindi iniettati in HPLC, con colonna C18, eluente metanolo 100%, flusso 1.5 ml/min., loop da 20 µl. Il rivelatore dispone di una microcella da 1.2 µl e la lettura è stata effettuata ad una lunghezza d'onda pari 294 nm.

I dati raccolti sono stati elaborati con la finalità di valutare **“la biopotenza antiossidante relativa” (RAB - relative antioxidant biopotency)** proposta da Leth et Sondergaard (1977); in particolare sono state calcolate la RAB della Vitamina E e la RAB della Vitamina E presente per kg di Sostanza Secca di mais.

## Risultati e discussione

Il tenore di Vitamina E presente nella componente lipidica dell'olio di mais è da tempo oggetto di studio per il ruolo che viene riconosciuto alla medesima vitamina. Alcune indicazioni bibliografiche relative ai tenori di tocoferolo totale nonché dei singoli omologhi sono riportati nelle tabella n. 1. Come osservato da Kurilich et Juvik (1999) i tenori di tocoferoli nelle cariossidi di mais appartenenti a cultivar diverse presentano una elevata variabilità verosimilmente attribuibile alle differenze genetiche che intercorrono fra le medesime, al grado di maturità della granelle al momento delle analisi ed al relativo contenuto di sostanze grasse.

**Tabella 1:**

Tenori in tocoferoli del mais (mg/kg di alimento secco).

References	$\alpha$ -tocoferolo	$\beta+\gamma$ -tocoferolo	$\delta$ -tocoferolo	Totale tocoferoli	Rapporto $\beta+\gamma / \alpha$
McDowell 1989	6,0	38,0	-----	44,0	6,33
Lynch 1996	20,0	15,0	-----	35,0	0,75
White et Xing 1997	13,7	46,1	-----	59,8	3,36
Kurilich et Juvik 1999	1,43 - 32,54	2,37 - 63,28	0,20 - 4,27	7,24 - 85,62	-----
Goffman et Bohme 2001	2,91 - 12,01	29,97 - 45,98	0,52 - 3,09	33,58 - 58,46	-----

In considerazione dell'elevata biopotenza antiossidante riconosciuta all' $\alpha$ -tocoferolo, l'esame del rapporto  $\beta+\gamma / \alpha$  evidenziato dai diversi Autori può rappresentare un valido elemento di discriminazione ai fini della nutrizione animale. È evidente infatti come, a parità di tocoferoli totali, una riduzione di questo rapporto sia indicativo di una maggiore biopotenza antiossidante della Vitamina E contenuta nell'alimento.

In questo contesto la possibilità di separare le diverse frazioni della Vitamina E appare essenziale nella valutazione della reale efficacia della stessa nel contrastare l'azione dei radicali liberi negli organismi animali.

I risultati emersi dalle analisi condotte sui campioni di granella di mais oggetto delle nostre indagini sono compendati nella tabella n. 2.

**Tabella 2:**

Tenori di tocoferoli riscontrati nei campioni di mais analizzati (mg/kg di S.S.).

Campioni n.ro	$\alpha$ - tocoferolo	$\beta+\gamma$ - tocoferolo	Totale tocoferoli	Rapporto $\beta+\gamma / \alpha$	Biopotenza Antiossidante Relativa per la Vitamina E	Biopotenza Antiossidante Relativa per kg di mais
1	9,75	20,82	30,57	2	43,02	13,15
2	8,48	22,47	30,95	3	39,25	12,15
3	7,76	23,09	30,85	3	37,39	11,54
4	8,02	26,96	34,98	3	35,51	12,42
5	7,26	31,14	38,40	4	32,15	12,35
6	9,45	49,44	58,89	5	29,76	17,53
7	2,19	67,33	69,52	31	18,98	13,19
8	15,33	37,36	62,69	2	40,68	21,43
9	10,88	55,73	66,61	5	30,00	19,98
10	15,64	18,07	33,71	1	55,15	18,59
Media	9,47	35,24	45,72	-----	36,19	15,23
Variabilità	2,19 - 15,64	18,07 - 67,33	30,57 - 69,52	-----	18,98 - 55,15	11,54 - 21,43

Dall'esame della tabella emerge quanto segue:

- **contenuto di  $\alpha$ -tocoferolo:** il contenuto medio di  $\alpha$ -tocoferolo delle varietà testate è risultato pari a 9,47 mg/kg di SS con un campo di variabilità compreso fra 2,19 e 15,64; tali valori collimano, in linea di massima con quanto riportato in letteratura;

- **contenuto di  $\beta+\gamma$ -tocoferolo:** i tenori in  $\beta+\gamma$ -tocoferoli sono sostanzialmente in accordo con quelli riportati da Kurilich et Juvik (1999), attestandosi su una media pari a 35,24 mg/kg di SS con un range di variabilità compreso fra 18,07 e 67,33;

- **contenuto di tocoferoli totali:** il range di variabilità registrato per le varietà in questione risulta inferiore a quello riportato da Kurilich et Juvik (1999) mentre appare analogo a quello riscontrato da Goffman et Bohme (2001);

- **rapporto  $\beta+\gamma$  /  $\alpha$ -tocoferoli**: il rapporto è stato calcolato con la finalità di evidenziare la prevalenza di alcuni tocoferoli rispetto ad altri. In tale contesto **6** campioni hanno evidenziato valori compresi fra 3 e 5; 3 campioni hanno fatto registrare un rapporto più ridotto compreso fra 1 e 2. Il campione n. 7 si discosta sensibilmente da tutti gli altri e denuncia un rapporto pari a 31. Tale rapporto scaturisce da tenori pari a 2,19 e 67,33 mg/kg di SS rispettivamente per  $\alpha$  e  $\beta+\gamma$ -tocoferolo;

- **la Biopotenza Antiossidante Relativa (RAB - Relative Antioxidant Biopotency)**: proposta da Leth et Sondergaard (1977) la biopotenza antiossidante relativa attribuisce un valore ottimale all' $\alpha$ -tocoferolo e riconosce agli altri tocoferoli attività notevolmente inferiori. Ricerche successive hanno fornito dati contrastanti in merito alla RAB verificata sperimentalmente per i vari tocoferoli (Cooney et al. (1999); Wagner et al. (2004)).

In considerazione delle difficoltà che emergono in sede di valutazione della **RAB** della Vitamina E rintracciata nelle varietà di mais è stato ritenuto utile proporre una valutazione ponderata sulla base dei tenori di tocoferoli registrati, nonostante la medesima valutazione potrebbe risultare empirica e prestarsi a molteplici interpretazioni.

All'uopo è stata utilizzata la RAB proposta da Leth et Sondergaard (1977), numericamente espressa da valori pari a 100, 56, e 16 rispettivamente per **alfa**, **beta** e **gamma** tocoferolo.

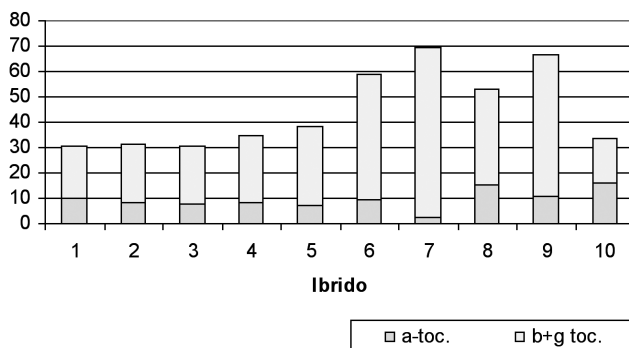
I dati raccolti sono stati elaborati con la finalità di valutare la RAB della Vitamina E e la RAB calcolata per kg di Sostanza Secca di mais.

Da questa elaborazione sono stati ricavati i dati riportati nella tabella n. 2 e raffigurati nei grafici nn. 1, 2 e 3.

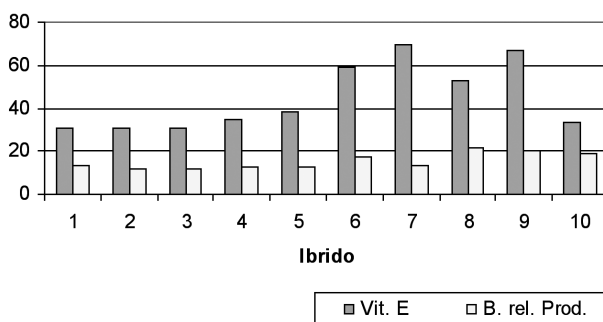
- **RAB della Vitamina E contenuta nel mais**: dall'esame dei dati ottenuti emerge che la varietà 10 si caratterizza per la presenza della Vitamina E con RAB più elevata (55,15%) mentre la cultivar contrassegnata con il n. 7, caratterizzata dal tenore di "tocoferoli totali" più elevato (69,52 mg/kg di SS), è quella che denuncia una RAB più contenuta (18,98%). Per quest'ultima varietà il basso livello di RAB trova giustificazione nel limitato apporto in  $\alpha$ -tocoferolo (2,19 mg/kg di SS). Le rimanenti varietà evidenziano una più elevata uniformità e denunciano valori di RAB oscillanti fra il 29,76 e 43,02%.

- **RAB della Vitamina E calcolata per kg di Sostanza Secca di mais**: sono stati registrati valori di RAB compresi fra 11,54 e 21,43. In tale intervallo di variabilità la linea genetica 10, citata nella valutazione precedente per il valore più elevato, si attesta su un livello di RAB pari a 18,59 mentre la varietà 7, evidenziata per il valore più limitato fa annotare un valore pari a 13,19, in linea con le altre varietà.

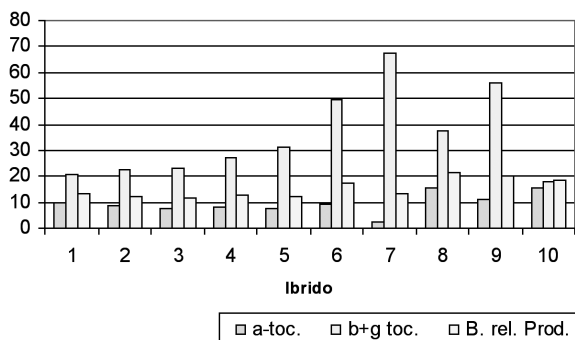
**Graf. 1 - Contenuto di tocoferoli degli ibridi di mais**



**Graf. 2 - Contenuto di Vitamina E e Biopotenza Antiossidante Relativa del mais**



**Graf. 3 - Contenuto di tocoferoli e Biopotenza Antiossidante**



## Conclusioni

Sulla base dei risultati conseguiti e delle successive valutazioni riteniamo sia possibile affermare quanto segue:

a - le cultivar di mais testate si caratterizzano per un apporto in Vitamina E che collima in linea di massima con i tenori registrati in altre sperimentazioni;

b - i tenori di tocoferoli sono risultati diversificati fra le diverse cultivar, come ipotizzato in base alle differenze genetiche che caratterizzano le stesse; ciò ha consentito di individuare rapporti fra gli  $\alpha$ - e  $\beta$ + $\gamma$  tocoferoli anche di entità rilevante (cultivar 7) dovuti ad uno scarso apporto di  $\alpha$ -tocoferolo;

c - il calcolo della RAB della Vitamina E contenuta nelle varietà di mais è risultato utile ai fini della valutazione della capacità antiossidante della stessa. Sulla base di questo parametro è possibile ipotizzare che le varietà a più elevata RAB (es. 10, 1, 8) possano trovare un impiego ottimale non solo per l'alimentazione animale ma anche per la produzione dell'olio;

d - il calcolo della RAB della Vitamina E / kg di Sostanza Secca di mais è risultato utile per individuare le varietà che possono risultare più adatte all'alimentazione animale in virtù del loro buon apporto in tocoferoli e per la loro potenziale capacità di prevenire e/o rallentare i processi di ossidazione degli olii durante lo stoccaggio. Queste caratteristiche sembrano individuabili nelle cultivar contrassegnate con i n.ri 6, 8, 9, 10;

e - le varietà 8 e 10 sembrano offrire entrambe le possibilità di impiego, a motivo della loro elevata RAB riferita alla Vitamina E e al kg di vss' di mais.

A conclusione, riteniamo che nell'ambito delle 10 varietà di mais prese in considerazione sia possibile individuarne alcune che si caratterizzano per tenori di Vitamina E degni del massimo interesse e, come tali, giustificano ulteriori e più approfondite indagini finalizzate alla ottimizzazione della filiera produttiva di questo cereale.

## Bibliografia

1. Abidi S.L. (2000) - Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants. *J. Chromatogr. A.*, 881, 197-216.
2. Bauernfeind J. (1980) - in *Vitamin E: A Comprehensive Treatise*, ed. Machlin L.J. (Dekker, New York), pp 99-165.
3. Bieber-Wlaschny M. (1988) - *Importanza della vitamina E nell'alimentazione della bovina da latte*. F. Hoffman-La Roche - Basilea.
4. Booth, V. H. (1964) - The rise in tocopherol content in wilting and in non-illuminated leaves. *Phytochemistry*, 3, 273.

5. Cheeseman K.H., Slater T.F. (1993) - An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.*, 49, 481-493.
6. Christen S., Woodall A. A., Shigenaga M.K., Southwell-Keely P.T., Duncan M.W., Ames B.N. (1997) -  $\gamma$ -Tocopherol traps mutagenic electrophiles such as NO<sub>x</sub> and compliments  $\alpha$ -tocopherol: physiological implications. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 94, 3217-3222.
7. Cooney R.V., Franke A.A., Harwood P.J., Hatch-Pigott V., Custer L.J., Morand L.J. (1993) -  $\gamma$ -Tocopherol detoxification of nitrogen dioxide: Superiority to  $\alpha$ -tocopherol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 1771-1775.
8. Goffman F.D., Bohme T. (2001) - Relationship between fatty acid profile and Vitamin E content in maize Hybrids (*Zea mays* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 49, 4990-4994.
9. Janiszowska W., Pennok J.F. (1976) - The biochemistry of vitamin E in plants. *Vitam. Horm.*, 34, 77-105.
10. Keitel K. (1979) - Untersuchungen zur Veränderung der Lipide und des Tokopherolmusters von Körnermais nach unterschiedlicher Konservierung und Lagerung. Dissertation, Honhenheim.
11. Kurilich A.C., Juvik J.A. (1999) - Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays*. *J. Agric. Chem.*, 47, 1948-1955.
12. Lange W. (1950) - Cholesterol, phytosterol and tocopherol content of food products and animal tissue. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 29, 414.
13. Leth T. and Sondergaard H. (1977). Biological activity of vitamin E compounds and natural materials by the resorption-gestation test, and chemical determination of the vitamin E activity in foods and feeds. *J. Nutr.* 107: 2236-2243.
14. Lynch G.L. (1996) - Natural occurrence and content of vitamin E in feed-stuffs. In: Coelho M.B. ed. *Vitamin E in animal nutrition and management*. A. BASF Reference Manual., 51-56.
15. McDowell L.R. (1989) - Vitamins in animal nutrition. Comparative aspects to human nutrition. Academic Press, Inc. San Diego.
16. McLaughlin P.J. and Weihrauch J.L. (1979) - Vitamin E content of foods. *J Am Diet Assoc.*, 75: 647-665.
17. Peterson D.M. (1995) - Oat tocopherols - concentration and stability in oat products and distribution within the kernel. *Cereal Chemistry*, 72, 21-24.
18. Surai P.F. (1999) - Vitamin E in Avian Reproduction. *Poultry and Avian Biology Reviews*, 10, 1-60.
19. Tan B., Brzuskiwicz L. (1989) - Separation of tocopherol and tocotrienol isomers using normal- and reverse-phase liquid chromatography. *Anal. Biochem.*, 180, 368-373.
20. Taylor S.L., Lamden M.P. and Tappel A.L. (1976) - Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis. *Lipids*, 2 530-538.
21. Threlfall D.R. (1971) - The biosynthesis of vitamins E and K and related compounds. *Vitam. Horm.*, 29, 153-200.
22. Yoshida H., Takagi S. (1996) - Vitamin E and oxidative stability of soya bean oil prepared with beans at various moisture contents roasted in a microwave

- oven. *J. Sci. Food Agric.* 72, 1, 111-119.
23. Yoshida H., Tatsumi M., Kajimoto G., (1992) - Influence of fatty acids on the tocopherol stability in vegetable oils during microwave heating. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69, 119-125.
  24. Wagner K.H., Isnardy B., Elmadfa I. (2004) –  $\gamma$ - and  $\delta$ -tocopherols are more effective than  $\alpha$ -tocopherol on the autoxidation of a 10% rapeseed oil triacylglycerol-in-water emulsion with and without a radical initiator. *European Journal of Lipid Science and Technology* Vol. 106, Issue 1, 2004. Pages 44-51.
  25. White P.J., Xing Y. (1997) - Antioxidants from cereals and legumes. In: Shaidi F, ed. *Natural Antioxidants. Chemistry health effects and applications.* 25-63 AOCs PRESS Champaign.