

## $\gamma$ -Oryzanol: un importante componente del aceite de salvado de arroz

*Eliete Malfatti Serra Scavariello, Daniel Barrera Arellano*

Universidade Estadual de Campinas, Brasil

**RESUMEN.** El  $\gamma$ -Oryzanol, una mezcla de ésteres del ácido ferúlico de esteroles y alcohol triterpénico, está presente en el aceite de salvado de arroz en niveles que varían entre 1-2 g/100g, donde actúa como antioxidante natural.

Recientes investigaciones han demostrado que el  $\gamma$ -Oryzanol causa una disminución en el nivel de colesterol en las arterias, reduciendo el riesgo de enfermedades cardiovasculares, además, también ha sido usado en Japón como antioxidante natural en alimentos, bebidas y cosméticos.

Esta revisión aborda los aspectos referentes al  $\gamma$ -Oryzanol, como sus propiedades físico-químicas, su presencia en el aceite de salvado de arroz, su actividad antioxidante e hipocolesterolémica, así como los métodos de extracción, identificación y cuantificación.

**Palabras clave:** Salvado de arroz, colesterol, antioxidante.

**SUMMARY.**  $\gamma$ -Oryzanol: an important component in rice bran oil.  $\gamma$ -Oryzanol, a mixture of ferulic acid esters of sterol and triterpene alcohols, it occurs in rice bran oil at a level of 1 to 2%, where it serves as natural antioxidant.

Recent research has shown that  $\gamma$ -Oryzanol can lower the cholesterol levels in the blood, lowering the risk of coronary heart disease, besides that, also has been used in Japan like natural antioxidant in foods, beverages and cosmetics.

This review refers to aspects about  $\gamma$ -Oryzanol, like its physicochemical properties, its presence in the rice bran oil, its antioxidant and hypocholesterolemic activity, as well as, identification, quantitation and extraction methods.

**Key words:** Rice, bran, cholesterol, antioxidant.

### INTRODUCCION

Recientes investigaciones muestran que el salvado de arroz, considerado como un subproducto del procesamiento del grano y el aceite extraído del mismo, tienen propiedades hipocolesterolémicas, disminuyendo el nivel de colesterol en animales y humanos (1-6).

El aceite de salvado de arroz se produce actualmente a niveles inferiores a su potencial (7), debido a una serie de dificultades técnicas encontradas en su procesamiento. El problema mayor está relacionado con la rápida deterioración del aceite, cuando todavía se encuentra en el salvado, ocasionado por la presencia de enzimas lipolíticas, las cuales se activan durante la etapa del pulido del grano, aumentando rápidamente la cantidad de ácidos grasos libres, que pueden alcanzar hasta el 70% del peso del aceite, reduciendo el rendimiento de aceite neutro y dificultando su refinación (8).

Por otra parte, el aceite de salvado de arroz posee una excelente estabilidad oxidativa, y las propiedades benéficas atribuidas al aceite, han sido asociadas a un componente no triglicéridico presente en la fracción insaponificable del aceite, el  $\gamma$ -Oryzanol, definido como una mezcla de ésteres del ácido ferúlico de esteroles y alcohol triterpénico (9-10).

El  $\gamma$ -Oryzanol ha sido usado en Japón para conservar aceites, alimentos y bebidas en la forma de una mezcla sinérgica con vitamina E y también en fórmulas medicinales y cosméticas (11).

Esta revisión tiene como objetivo resumir los aspectos referentes al  $\gamma$ -Oryzanol, como sus propiedades físico-químicas, su presencia en el aceite de salvado de arroz, su actividad antioxidante e hipocolesterolémica, así como los métodos de extracción, identificación y cuantificación.

### Propiedades físico-químicas

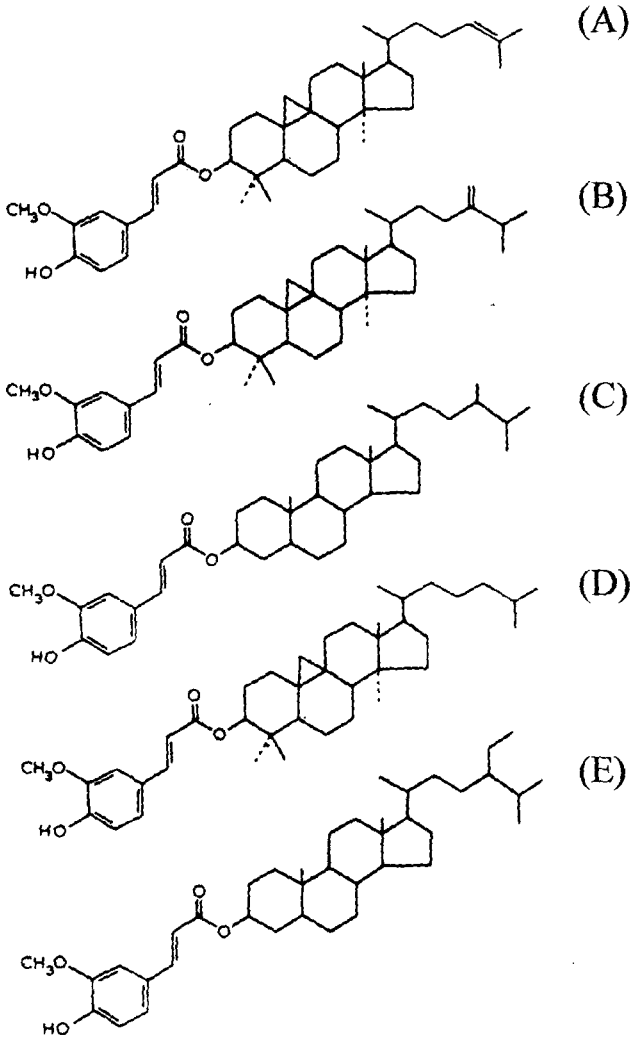
El  $\gamma$ -Oryzanol es un polvo blanco o ligeramente amarillento, cristalino, insípido, con poco o ningún olor. Definido como una mezcla de ésteres del ácido ferúlico con esteroles y alcoholes triterpénicos con un punto de fusión en el rango entre 135°-137°C, dependiendo de la composición exacta de sus alcoholes triterpénicos (12). Está compuesto principalmente por cicloartenil ferulato, 24 metilen-cicloartanil ferulato, campesteril ferulato,  $\beta$ -sitosteril ferulato y cicloartanil ferulato, cuya estructura está representada en la Figura 1, pero también puede contener otros componentes menores como estigmastanil ferulato (13).

La solubilidad del  $\gamma$ -Oryzanol en metil etil cetona es aproximadamente 20% y es prácticamente insoluble en agua. La Tabla 1 muestra su solubilidad en diferentes solventes (11).

En la Figura 2 puede observarse la alta absorción en UV de  $\gamma$ -Oryzanol, con máximos a 291 y 315 nm. Esta absorción característica en el rango UV, resulta en una actividad fotoprotectora y este efecto se ve aumentado por la acción de los rayos UV debido a la formación de radicales fenoxi (11).

FIGURA 1

Estructura del cicloartenil ferulato (A), 24 metilen cicloartanil ferulato (B), campesteril ferulato (C), cicloartanil ferulato (D) y  $\beta$ -sitosteril ferulato (E).



Fuente : Evershed et al, 1988 (13)

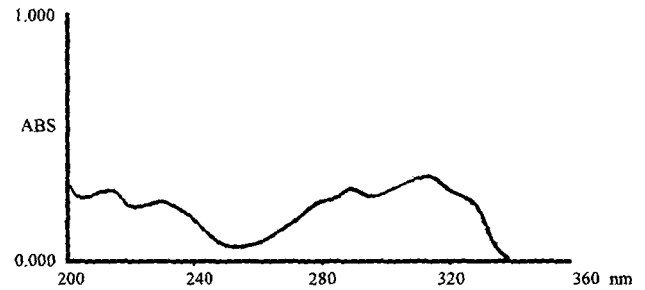
TABLA 1  
Solubilidad del  $\gamma$ -Oryzanol

Disolvente	Solubilidad (20°C) (g/l)
Agua	0,1
Etanol	1,3
Metanol	1,4
n-Hexano	2,8
n-Heptano	4,0
Cloruro de etileno	20,0
Benceno	40,0
Acetona	67,0
Cloroformo	100,0
Metil etil cetona	200,0

Fuente: Tsuno Co,1995

FIGURA 2

Espectro de absorción en UV de 0.01 mg/ml de  $\gamma$ -Oryzar en n-heptano.



Fuente: Tsuno Co,1995 (11)

El  $\gamma$ -Oryzanol puede presentarse con dos estereoconfiguraciones diferentes. El producto aislado de aceite de salvado de arroz, frecuentemente aparece en la forma de isómeros trans de esteril ferulatos. Ambos estereoisómeros, muestran el mismo grado de actividad antioxidante y fotoprotectora (14).

La presencia de agua en condiciones alcalinas puede provocar la hidrólisis de  $\gamma$ -Oryzanol, lo que afecta a su función como antioxidante (11).

#### $\gamma$ -Oryzanol en el aceite de salvado de arroz

El aceite obtenido del salvado de arroz contiene altos niveles de tocoferoles, tocotrienoles y fitosteroles. Estos componentes actúan como antioxidantes naturales, dando al aceite una mayor resistencia a la oxidación y deterioración. Sin embargo, mientras muchos otros aceites contienen niveles variables de estos antioxidantes, el aceite de salvado de arroz presenta una mayor estabilidad, debido a la presencia de un antioxidante ausente en otros aceites:  $\gamma$ -Oryzanol.

El  $\gamma$ -Oryzanol se descubrió en el aceite de salvado de arroz (*Oryza sativa*) en 1954 (15). Como se aisló de este aceite y contenía un grupo hidroxilo, se le llamo Oryzanol. Los estudios subsiguientes revelaron que el Oryzanol no es un compuesto simple, sino que está constituido por una variedad de esteril ferulatos llamados  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -Oryzanol (16). De estos, el  $\gamma$ -Oryzanol ha sido el mas estudiado debido a su importancia comercial en Japón.

Algunos trabajos han presentado el contenido de  $\gamma$ -Oryzanol en el aceite de salvado de arroz crudo y refinado. Seetharamaiah & Prabakar (17) determinaron el contenido de  $\gamma$ -Oryzanol en el aceite crudo comercial entre 1,3 y 1,9%. Otros experimentos efectuados en laboratorio, obtuvieron  $\gamma$ -Oryzanol entre 1,1 y 1,4% en el aceite, cuando se extrajo usando hexano. En el caso de extracción utilizando cloroformo-metanol (2:1), el aceite presentó alto contenido de  $\gamma$ -Oryzanol (2,55-2,61%) (17). Otros trabajos, obtuvieron niveles de  $\gamma$ -Oryzanol entre

1,0-2,0% en el aceite crudo extraído de salvado de arroz, donde actúa como antioxidante natural (18-20).

Yoon & Kim (19) determinaron el contenido de antioxidantes naturales y la estabilidad oxidativa del aceite de salvado de arroz en diferentes etapas del refinado y concluyeron que el nivel de  $\gamma$ -Oryzanol se mantenía constante en el aceite crudo y desgomado, pero disminuía en el aceite neutralizado, blanqueado y desodorizado. En los procesos de neutralización, blanqueado y desodorización se elimina hasta el 51% del contenido inicial de  $\gamma$ -Oryzanol (19), como muestra la Tabla 2. Además, durante el almacenamiento del aceite desodorizado durante 7 semanas, más del 19% del  $\gamma$ -Oryzanol se perdió (19).

TABLA 2

Efecto de las etapas de refinado, en la concentración de  $\gamma$ -Oryzanol del aceite de salvado de arroz

Aceite de salvado de arroz	$\gamma$ -Oryzanol (g/100g)
Crudo	1,61
Desgomado	1,64
Neutralizado	0,77
Blanqueado	0,87
Desodorizado	0,88

Fuente: Yoon & Kim, 1994 (19)

Rogers et al (10) determinaron la cantidad de  $\gamma$ -Oryzanol en muestras de aceite de salvado de arroz refinado de diferentes fabricantes, obteniendo resultados que variaron entre 0,144 y 0,787mg/g.

Informaciones obtenidas a través de la Riceland Foods, Inc.; citan que la refinación química disminuye el nivel de  $\gamma$ -Oryzanol de 1,5-2,0% a 0,5% mientras que el refinado físico lo mantiene prácticamente constante. La etapa de neutralización es la que causa mayor pérdida de  $\gamma$ -Oryzanol en el aceite, transfiriéndose parte de éste para la borra. La cantidad de  $\gamma$ -Oryzanol en la borra obtenida mediante refinado alcalino oscila entre 1,3 y 3,1% (17). Al estar los beneficios nutricionales, particularmente la disminución de colesterol, relacionados con el contenido de  $\gamma$ -Oryzanol, el aceite obtenido por refinación física mantiene sus propiedades prácticamente inalteradas.

La gran variabilidad de la concentración de  $\gamma$ -Oryzanol en el aceite es evidente. Las causas potenciales para esta variación incluyen, diferencias en la variedad y procesamiento del grano de arroz, así como, las pérdidas durante el proceso, que dependen del tipo de refinación y de las condiciones en que se realiza cada etapa (10).

#### Actividad antioxidante

La actividad antioxidante del  $\gamma$ -Oryzanol, se atribuye principalmente al ácido ferúlico. Desde que este ácido fue descubierto en 1866, se ha encontrado presente en la mayoría

de las semillas y en muchas otros tejidos de plantas.

El ácido ferúlico generalmente está presente como ésteres de polisacáridos, glicoproteínas, lignina y otros biopolímeros carbohidratos insolubles de las paredes celulares. También ha sido identificado como un componente estructural de muchos lípidos, como los alquil y esteril ferulatos (21).

Sharma (22) demostró que el potencial antioxidante aumenta con la extensión de la hidroxilación de los anillos aromáticos.

El ácido ferúlico esterificado con esteroides de plantas, como es el caso del  $\gamma$ -Oryzanol, aumenta el potencial antioxidante, favoreciendo el acceso molecular a componentes hidrófobos que son más susceptibles a la destrucción celular oxidativa (21).

Varios estudios han sido realizados para determinar la actividad antioxidante del  $\gamma$ -Oryzanol. Kanno et al (23) adicionaron  $\gamma$ -Oryzanol en el aceite de soja refinado que no contaba con otros aditivos, y calentaron durante 2,75 horas a 190°C con aire y vapor. Los resultados de los análisis determinaron que el  $\gamma$ -Oryzanol retarda la oxidación térmica cuando es utilizado a una concentración de 0.5-1.0 g/100g. Pruebas con los componentes de la mezcla indicaron que el principio activo es el ácido ferúlico.

El potencial antioxidante del  $\gamma$ -Oryzanol aumenta en presencia de varios agentes sinergistas, como fosfolípidos, aminoácidos, ácido fosfórico, ácido tartárico y  $\alpha$ -tocoferol. La Tabla 3 demuestra el fuerte efecto protector de una mezcla de  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -Oryzanol en la estabilidad oxidativa del sebo bovino y del aceite de algodón (11).

TABLA 3

Efecto sinergista de  $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -Oryzanol en la estabilidad de grasas

Aditivo (g/100g)	Estabilidad días a 40°C	
	Sebo	Aceite de algodón
Ninguno	24	16
$\gamma$ -Oryzanol (0,5)	100	93
$\alpha$ -tocoferol (0,1)	95	81
$\gamma$ -Oryzanol/ $\alpha$ -tocoferol (2:1) (0,2)	360	192

Fuente: Tsuno Co, 1995 (11)

Una mezcla de 0.25g/100g de  $\gamma$ -Oryzanol/ $\alpha$ -tocoferol (2:1), posee un potencial antioxidante similar a 0.04g/100g de una mezcla de BHA y BHT (1:1), siendo recomendado en algunas aplicaciones por ser un sistema antioxidante natural (11).

La actividad antioxidante de  $\gamma$ -Oryzanol se torna especialmente muy interesante cuando el material sufre exposición a los rayos UV. La impregnación de películas o envases con  $\gamma$ -Oryzanol, aumenta la vida útil de cereales, almendras y "snacks" (11).

Una patente japonesa informa que algunos alimentos pueden preservarse del ataque de hongos mediante la adición de una solución de  $\gamma$ -Oryzanol y ácido ferúlico (24).

### Actividad hipocolesterolémica

Investigaciones recientes han demostrado que la ingestión de aceite de salvado de arroz causa una reducción del colesterol sanguíneo y en la acumulación de grasas en las arterias (4,5). Ha sido probado que esta reducción se debe no solamente a la composición de ácidos grasos del aceite, sino también a la presencia de otros componentes. Dos grupos de componentes, tocotrienoles y  $\gamma$ -Oryzanol encontrados en la fracción insaponificable han sido investigados como posibles responsables por estos efectos (10).

Los efectos fisiológicos que se consideran como asociados al  $\gamma$ -Oryzanol son la disminución de colesterol en el plasma, la reducción en la biosíntesis de colesterol hepático, disminución de la absorción de colesterol y un aumento de la excreción fecal de ácidos biliares (25,26).

La estructura química de la mayoría de los componentes del  $\gamma$ -Oryzanol encontrados en el aceite de salvado de arroz, son similares a los del colesterol. Esta similitud puede ser responsable por el efecto en la absorción y síntesis del colesterol (10).

La síntesis de fracciones no triglicéridicas, como el  $\gamma$ -Oryzanol, en plantas, tiene etapas iniciales similares a la síntesis del colesterol en el cuerpo humano, lo que sugiere que estos componentes pueden comportarse como un agente que altera la síntesis de colesterol. Normalmente, la síntesis de colesterol en el cuerpo humano se regula por el nivel de colesterol en la sangre, que a su vez, depende de la ingestión diaria vía dieta alimentaria. El  $\gamma$ -Oryzanol debe funcionar, para provocar una reducción de colesterol en la sangre, inhibiendo el enzima HMG-CoA reductasa, que regula la síntesis de colesterol. Este proceso se conoce como inhibición del producto final, donde el aumento del producto disminuye la actividad de la enzima, es decir, el organismo reconoce la estructura del  $\gamma$ -Oryzanol como si fuera colesterol, inhibiendo la enzima y consecuentemente disminuyendo la síntesis de colesterol (3).

Seetharamaiah & Chandrasekhara (27) compararon la actividad hipocolesterolémica de oryzanol, curcumina y ácido ferúlico en ratones, usando dosis comparativas de ácido ferúlico, es decir, 0,5g/100g de  $\gamma$ -Oryzanol, 0,15g/100g de curcumina y 0,075 g/100g de ácido ferúlico en la dieta y llegaron a la conclusión de que el  $\gamma$ -Oryzanol es el mejor agente hipocolesterolémico. Los resultados indican también una mayor disminución del contenido de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y un aumento del HDL (lipoproteínas de alta densidad), lo que resulta en una disminución significativa en la proporción LDL /HDL.

Tamagawa et al (28) estudiaron el potencial carcinogénico ( cancerígeno) del  $\gamma$ -Oryzanol en ratones. Fueron formados grupos que ingirieron dietas que contenían 0 (control), 200, 600 y 2000 mg de  $\gamma$ -Oryzanol/kg peso corporal/día por 78 semanas y determinaron que bajo las condiciones del estudio,

el  $\gamma$ -Oryzanol no es carcinogénico. La dosis terapéutica usada en el tratamiento de la hiperlipidemia, o sea, alto nivel de triglicéridos y colesterol en la sangre es de 300 mg/día ( aprox. 6 mg/kg peso corporal/día), por lo tanto, las dosis usadas en el estudio fueron 33.3, 100 y 333 veces superiores a las dosis clínicas.

### Identificación y cuantificación

Algunas técnicas se han descrito en la literatura, para la identificación y cuantificación de  $\gamma$ -Oryzanol.

Seetharamaiah & Prabhakar (17) estimaron el contenido de  $\gamma$ -Oryzanol en el aceite mediante la determinación de densidad óptica en éter de petróleo a 315nm, usando un coeficiente de extinción específico (E1%,1cm) igual a 358,9. El contenido de  $\gamma$ -Oryzanol fue calculado utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{ppm } (\gamma\text{-Oryzanol}) = \frac{\text{absorbancia} \times \text{volumen (ml)} \times 10000}{E (1\%,1\text{cm}) \times \text{peso de la muestra}}$$

Un método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase inversa, se desarrolló para la separación simultánea y la cuantificación de tocoferoles, tocotrienoles y  $\gamma$ -Oryzanol presentes en el aceite de salvado de arroz. Los tocoferoles y tocotrienoles se cuantificaron por detección fluorescente y el  $\gamma$ -Oryzanol se determinó a 325nm con un detector de arreglo de diodos (10).

La separación de los componentes del  $\gamma$ -Oryzanol se efectuó utilizando una columna analítica empacada con 5  $\mu\text{m}$  DOS (C18) sílice Hipersil. La composición de la fase móvil de mejor resolución para estos componentes, fue una mezcla de acetonitrilo/metanol/isopropanol en la relación 50:45:5 (v/v/v).

Usando este procedimiento, se obtiene un cromatograma típico de HPLC, que se muestra en la Figura 3, cuyos componentes (4 picos) se identificaron por medio de espectrometría de masa por ionización química, como cicloartenil ferulato, 24-metileno cicloartanil ferulato, campesteril ferulato (picos 1, 2 e 3 respectivamente) y una mezcla de  $\beta$ -sitosteril ferulato y cicloartanil ferulato (pico 4).

Una técnica de separación e cuantificación por HPLC utilizando fase normal fue desarrollada por Diack & Saska (29), sin embargo, no se obtuvo buena resolución de los componentes del  $\gamma$ -Oryzanol. Estos quedaron representados solamente por dos picos: isómeros menos polares y mas polares.

### Extracción de $\gamma$ -Oryzanol

La extracción del  $\gamma$ -Oryzanol está descrita en algunos trabajos (17, 30), se efectuó básicamente a partir de la borra de neutralización obtenida en el refinado químico.

Kim & Kim (30) aislaron  $\gamma$ -Oryzanol a partir del aceite obtenido por la acidificación de la borra de neutralización, mediante procesos de cristalización fraccionada utilizando hexano y en seguida metanol. Los ácidos grasos fueron elimi-

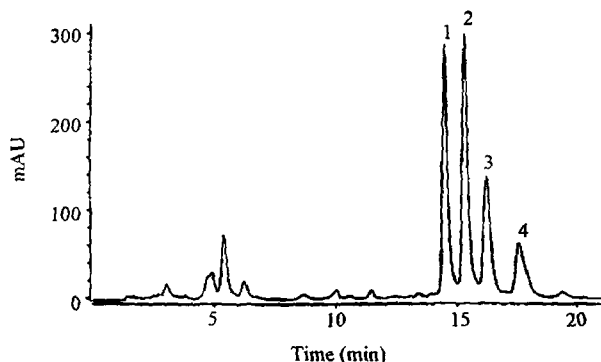
nados por medio de destilación a vacío, obteniendo así un concentrado con 99% de  $\gamma$ -Oryzanol.

Seetharamaiah & Prabhakar (17) utilizaron una columna de alúmina neutra y un proceso de recristalización usando metanol para purificar un concentrado de  $\gamma$ -Oryzanol disuelto en hexano. El concentrado se obtuvo a través de la extracción de la borra de neutralización con eter dietílico y presentó una concentración de  $\gamma$ -Oryzanol que variaba entre 3,7 y 36,6%, dependiendo del pH de la borra. El porcentaje de recuperación fue inversamente proporcional al contenido de  $\gamma$ -Oryzanol en el concentrado. El material recristalizado, obtenido a partir del concentrado con 16,3% de  $\gamma$ -Oryzanol alcanzó una pureza de 98%.

Actualmente, el  $\gamma$ -Oryzanol se extrae industrialmente con una pureza de alrededor de 99% (11), lo que proporciona, además de los propios beneficios inherentes a las diversas aplicaciones del producto, un aumento del valor añadido del aceite de salvado de arroz.

FIGURA 3

Cromatograma de los componentes del  $\gamma$ -Oryzanol.  
1 = cicloartenil ferulato; 2 = 24-metilen cicloartenil ferulato; 3 = campesteril ferulato; 4 =  $\beta$ -sitosteril ferulato y cicloartenil ferulato



Fuente: Rogers, 1993 (10)

### CONCLUSION

El aceite crudo de salvado de arroz contiene entre 1 y 2 g/100g de  $\gamma$ -Oryzanol, actuando como antioxidante natural, sin embargo una gran parte de este componente se pierde durante el procesamiento y, por lo tanto, el aceite refinado tiene su nivel de  $\gamma$ -Oryzanol reducido.

La etapa de neutralización, es la fase crítica del refinado químico en lo referente a la pérdida de  $\gamma$ -Oryzanol. La borra de neutralización, subproducto obtenido de esta etapa, puede contener más de 1,5 g/100g de  $\gamma$ -Oryzanol.

Varios estudios han comprobado la acción del  $\gamma$ -Oryzanol como agente hipocolesterolémico y antioxidante, funciones que lo caracterizan como un importante componente del aceite de salvado de arroz.

### REFERENCIAS

- Hegsted M, Windhauser MM, Morris SK & Lester SB. Stabilized rice bran and oat bran lower cholesterol in humans. *Nutrition Research* 1993; 13:387-398.
- Kahlon TS, Chow FI & Sayre RN. Cholesterol-lowering properties of rice bran. *Cereal Foods World* 1994; 39:99-103.
- Hegsted M & Kousik CS. Rice bran and rice bran oil may lower heart disease risk by decreasing cholesterol synthesis in the body. *Louisiana Agriculture* 1994; 37:16-17.
- Nicolosi RJ, Ausman LM & Hegsted DM. *Circulation*. 82:7109, 1990 (Original no consultado; compendiado en *J Am Oil Chem Soc*. 1993; 70 (3):301-307).
- Nicolosi RJ & Liang S. *Ibid* 11:1603, 1991 (Original no consultado; compendiado en *J Am Oil Chem Soc*. 1993; 70(3):301-307).
- Tokyo Oil Mills, Hitotsumatsu H & Takeshita Y. Process for producing rice bran oil. Patent US005290579, 1994.
- Rucati EG. Informe Económico. *Lavoura Arrozeira* 1994; 47:412.
- Gupta HP. Rice brans offers India an oil source. *J Am Oil Chem Soc*. 1989; 66 (5):620-623.
- Yoon SH & Kim SK. Oxidative stability of high-fatty acid rice bran oil at different stages of refining. *J Am Oil Chem Soc*. 1994; 71(2) 227-229.
- Rogers EJ, Rice SM & Nicolosi RJ. Identification and quantitation of  $\gamma$ -oryzanol components and simultaneous assessment of tocopherols in rice bran oil. *J Am Oil Chem Soc*. 1993; 70(3):301-307.
- Tsuno Rice Fine Chemical Co.  $\gamma$ -Oryzanol, a naturally derived food antioxidant. 1995
- The Merck Index, twelfth edition. Published by Merck Research Laboratories. 1996; pg1181.
- Evershed RP, Spooner N, Prescott MC & Gould LJ. Isolation and characterization of intact sterol ferulates from seeds. *Journal of Chromatogr*. 1988; 440: 23-35.
- Fenton TW, Mueller MM & Clandinin DR. Isomerization of some cinnamic acid derivatives. *Journal of Chromatogr*. 1978; 152:517-522.
- Kaneko R, & Tsuchiya T. New compound in rice bran and germ oils. *J Chem Soc Jpn*. 1954; 57:526.
- Tsuchiya T, Kato A & Endo T. Constitution of oryzanol I. Saponification products. *Rep Govt Ind Res Inst. Tokyo*. 1956; 31:359.
- Seetharamaiah GS & Prabhakar JV.  $\gamma$ -Oryzanol content of Indian rice bran oil and its extraction from soapstock. *Journal of Food Science and Technology*. 1986; 23, 270-273.
- Tanaka A, Tanabe K, Kato A & Muramatsu J. Quantitative analysis of ferulates in rice bran oil by high performance liquid chromatography. *J Japan Oil Chem Soc*. 1976; 26, 119-122.
- Yoon SH & Kim SK. Oxidative stability of high-fatty acid rice bran oil at different stages of refining. *J Am Oil Chem Soc*, 1994; 71:2, 227-229.
- Norton RA. Quantitation of sterol ferulate and p-coumarate esters from corn and rice. *Lipids* 1995; 30:3.
- Graf E. Antioxidant potential of ferulic acid. *J Free Radical Biol Med*. 1992; 13, 435-448.
- Sharma OP. Antioxidant activity of curcumin and related

- compounds. *Biochem Pharmacology*. 1976; 25,1811-1812.
23. Kanno H, Usuki R & Kaneda T. Antioxidative effect of  $\gamma$ -Oryzanol on thermal oxidation of oils. *J. of Japanese of Food Science and Technology*. 1985; 32:3, 170-173,.
  24. Kyokuto Shibosan Co. Preservative Patent. 5214293- Japan, 1977.
  25. Seetharamaiah GS & Chandrasekhara N. Effect of oryzanol on cholesterol absorption and biliary and faecal bile acids in rats. *Indian J Med Res*. 1990; 92, 471-475.
  26. Nakayama S, Manabe A, Suzuki J, Sakamoto K & Inagaki T. Comparative effects of two forms of  $\gamma$ -Oryzanol in different sterol compositions on hyperlipidemia induced by cholesterol diet in rats. *Jpn. J. Pharmacol*. 1987; 44:135-144.
  27. Seetharamaiah GS & Chandrasekhara N. Comparative hypocholesterolemic of oryzanol, curcumin and ferulic acids in rats. *J of Food Sci and Technology*. 1993; 30:4 249-252.
  28. Tamagawa M, Otaki Y, Takahashi T & Otaka T. Carcinogenicity study of  $\gamma$ -Oryzanol in mice. *Food and Chemical Toxicology*. 1992; 30:11, 49-56.
  29. Diack M & Saska M. Separation of vitamin E and  $\gamma$ -Oryzanols from rice bran by normal-phase chromatography. *J Am Oil Chem Soc*. 1994; 71:11, 1211-1217.
  30. Kim IH & Kim CJ. Separation of oryzanol from the refining by-product of rice bran oil. *Korean J. Food Sci Technol*. 1991; 23:1, 76-80.

Recibido: 11-04-1997

Aceptado: 22-12-1997