

화곡류 종실의 토코페롤과 토코트리에놀 연구현황과 전망

이동진*[†] · 이지영*

*단국대학교 생명자원과학대학

Tocopherols and Tocotrienols in Cereal Grains

Dong-Jin Lee*[†] and Ji-young Lee*

*College of Bio-resources Science, Dankook University

ABSTRACT : Vitamin E is a fat-soluble vitamin that exists in eight different forms, which are α , β , γ , and δ tocopherol, and α , β , γ , and δ tocotrienol. Tocopherols and tocotrienols are important antioxidant in foods, feeds and their raw materials, where they scavenge lipid radicals. Each form has its own biological activity, the measure of potency or functional use in the body. Antioxidants such as vitamin E act to protect cells against the effects of free radicals, which are potentially damaging by-products of the body's metabolism. Free radicals can cause cell damage that may contribute to the development of cardiovascular disease and cancer. The content of tocopherols and tocotrienols vary depending on the environmental condition such as growing regions, temperature, crops and varieties. This report deals with chemical and physical properties and extends to their nutritional and health effect on the tocopherols and tocotrienols in cereal grains.

Keywords : tocopherols, tocotrienols, cereals, chemicals, physicals, functional, cancer, antioxidant

최근 건강에 대한 관심이 높아지면서 일상적으로 섭취하는 식품에 함유되어 있는 생리활성 물질의 생체조절기능에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며(Kim *et al.*, 1992; Tsuneo *et al.*, 1984; Txuneo *et al.*, 1978; Ebata *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 1992; Lawson *et al.*, 1989; Ryu *et al.*, 1989; Samejima *et al.*, 1995; Osawa, 1992; Chan *et al.*, 1979; Kong *et al.*, 1989), 특히 식물성 식품에 함유되어 있는 비타민 A, C, E 및 페놀화합물 등에서 항암 효과 등이 밝혀졌다(Ramel *et al.*, 1986; Zhang *et al.*, 1992; Kahb *et al.*, 1992; Mergens *et al.*, 1978; Namiki *et al.*, 1980; Cook & McNamara, 1980; Wattenberg *et al.*, 1980). 발암의 여러 가지 요인 중 30% 이상이 식품섭취와 관련이 있어(Ryu, 1991; Ryu, 1985), 지속적으로 섭취하는 식품의 선택이 암의 예방

및 치료에 효과가 있음을 나타낸 것이라 할수 있겠다. 우리들의 식생활에서 주식으로 이용되는 쌀을 포함한 화곡류는 미량이지만 여러 가지 페놀화합물, 리그닌, 플라보노이드, 피틴산 등이 함유되어 있으며(Osawa, *et al.*, 1987; Newmark, 1984; Bramley *et al.*, 2000; Campbell *et al.*, 2003) 다량섭취가 가능하다는 점을 감안 한다면 이들에 대한 항암효과가 기대된다.

식품에는 α , β , γ , δ 네 종류의 토코페롤과 토코트리에놀 형태로 나타나지만 이 중 생체활성이 큰 것은 α -토코페롤로서 비타민 E의 대명사처럼 사용된다. 토코페롤과 토코트리에놀 유도체들은 각각 구조적으로 여러 가지 stereoisomer의 모양을 갖는다.

토코페롤은 생체 내에서는 활성산소를 소거시켜 유리기와 과산화지질의 생성을 억제하는 항산화 작용을 한다(Barnes, 1983). 또한 토코페롤은 면역기능을 증진 시키는 능력을 가지고 있으며, 백혈구의 생산을 증가시키는 기능을 가지고 있어 리포푸신이나 체내세포에 발현하고, 생체 내 불포화 지방산이 과산화중합을 일으켜 혈액이나 근육단백질과 반응하여 나타나는 노년기의 검버섯이나 기미를 방지시키는 생체노화현상을 방지하는 역할을 한다. 토코페롤의 한 종류인 토코트리에놀은 암세포의 확산을 방지하거나 사멸시키는 작용을 하며, 산화로 인하여 일어나는 자유라디칼과 과산화지방질의 생성으로 세포막과 세포 내 생체막의 생리활성 상실, 세포기능의 약화 및 괴사 등을 억제하여 노화를 저지시키는 항산화작용을 한다.

토코페롤에 비하여 토코트리에놀에 대한 연구는 현재까지 그 영양학적, 식품학적 연구에 있어서 미진하였다. 초기 연구에는 비타민E 가운데서 α -토코페롤이 가장 활성이 강한 것으로 알려졌으나 최근 연구에 의하면 토코트리에놀이 토코페롤보다 항산화작용이 40~60배나 더 강한 것으로 밝혀졌다. 천연 토코페롤은 콩기름, 채종유, 면실유, 야자유 등 식물성 유지에 많이 분포되어 있는 반면, 토코트리에놀은 천연물들 가운데선 쌀겨기름과 palm oil(야자기름)에 많이 포함되어있다(Qureshi *et al.*, 1986). 특히 palm oil과 coconut oil 등에는 미량의 α -토코트리에놀과, γ -토코트리에놀이 함유되어 있음이 보고 된 바 있다(Fredrich, 1988).

[†]Corresponding author: (Phone) +82-41-550-3622 (E-mail) dongjlee@dankook.ac.kr

<Received November 3, 2003>

본 연구에서는 화곡류의 종실에 함유되어 있는 토코페롤과 토코트리에놀에 대한 기능성, 물리·화학적 특성, 추출과 분리법, 함량분석 및 안정성 등과 관련된 연구논문을 위주로 하여 정리한 것으로 기능성식품 및 기능성 신소재 개발을 위한 기초 자료를 얻고자 하였다.

토코페롤과 토코트리에놀의 기능

항산화성

국내에서 사용하고 있는 합성 항산화제인 BHA(butyl hydroxy anisol)와 BHT(dibutyl hydroxy toluen)는 다른 항산화제에 비하여 열에 대한 안정성이 높아 가공식품 등 장기보존 식품에 주로 이용되고 있다. 그러나 이들은 인공합성제로서 다량투여 및 연용시에는 간장의 인지질, 혈액효소, 카탈라제, 퍼옥시다제, 콜린에스테라제 등의 활성을 감소시키는 것으로 알려져 있다(Hodge *et al.*, 1964; Wilder *et al.*, 1960; Day *et al.*, 1959), 특히 BHT에 의한 돌연변이원성이 보고됨으로써 그 사용이 기피되고 있어(Branen, 1975; Weiss, 1993) 토코페롤을 포함한 여러 천연 항산화제들이 연구되고 있다(Buck, 1981; Kim & Kim, 1972). 대두유에 있어 합성 항산화제인 BHA와 α -토코페롤을 비롯한 여러 천연항산화제의 항산화력 비교 실험에서, 항산화력은 BHA > α -토코페롤 > propyl gallate > sesamol의 순으로 BHA에 비하여 천연 항산화제가 다소 떨어졌지만 α -토코페롤의 경우는 BHA에 크게 뒤지지 않는 우수한 항산화력을 나타내었다고 보고하였다(Yoon & Kim, 1988).

생체내에서 노화현상과 관련이 많은 과산화 지질의 생성을 억제하는 항산화제로서의 토코페롤류와 토코트리에놀류의 항산화효과는 $\alpha < \beta < \gamma < \delta$ 의 순서로 알려져 있다(Niki *et al.*, 1986; Ikeda & Fukuzumi, 1977; Cillard & Cillard, 1980). 최근 linoleic acid methylester와 토코페롤류 및 토코트리에놀류를 사용한 모델 시스템에서의 자동산화과정에서 40, 60, 80°C의 온도와 1, 10, 20%의 산소량에 따른 항산화 효과 연구에서 α -토코트리에놀을 제외한 모든 토코페롤류는 60°C 범위에서 항산화효과가 있었으며, 80°C 범위의 하이드로퍼옥사이드 생성량간의 오차가 심한 구간을 제외한 40°C/10% O₂에서부터 60°C/20% O₂까지의 산화구간에서 cis/trans-: trans/trans-hydroperoxides의 비율은 α -T > α -T3 > γ -T > β -T > γ -T3 > δ -T > δ -T3의 순으로, 토코페롤류 중 α -토코페롤이 가장 낮은 항산화 효과가 있다고 밝혀졌다(Lee, 1993).

심장혈관질환 예방과 항암효과

비타민 E는 관상동맥 심장질환에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 비타민E가 관상동맥 심장질환의 진전을 막아줌으로써 저밀도 리포단백질(LDL, low-density lipoproteins)의 산화를 억제시킨다는 항산화 가설이 제안되었다(Stampfer &

Rimm, 1995). 토코트리에놀 성분도 콜레스테롤 생합성에 있어서 LDL 콜레스테롤의 저하와 HMG-CoA 환원효소의 감소에 의해 관상동맥 심장질환에 효과가 있다고 보고된 바 있다(Hood, 1998).

비타민 E는 호르몬, 소화계 도관과 관련된 암 및 다양한 암 형태에 있어서 세포의 변종, 촉진 및 증식을 억제시키는 화학보호제로서 역할을 담당하고 있다(Patterson *et al.*, 1997; Stone and papas, 1997; Kline *et al.*, 1998; Shkla and Oh, 2000). E-vitamins는 항산화 특성 및 면역조절 기능을 통한 발암 및 종양 생장을 보호할 수 있다(Das, 1994). 비타민 E의 항암효과는 돌연변이 유발성, 과산화물 및 질소이산화물 라디칼 소거능, DNA와 단백질의 peroxidation 억제, 암세포 DNA 대사의 억제에 의한 세포소멸 유도 등으로 알려져 있다(Stone & papas, 1997; Summerfield & tappel, 1984; Carroll *et al.*, 1995; Yu *et al.*, 1999).

영양관련 요소에 대한 효과로는 직장암의 예방과 촉진에 있어 중요한 역할을 한다. 토코페롤과 토코트리에놀을 포함하는 비타민 E와 같은 항산화제는 몇몇 다른 세포질과 분자의 메카니즘을 통해 결장암을 예방할 수 있다. 비타민 E는 대소변의 lipids의 산화에서 생긴 변이의 형성을 감소시켜 결장암을 예방한다(Campbell *et al.*, 2003).

신경계 질환 예방 등의 기능

활성 산소 종과, 자유기 그리고 산화물은 알츠하이머병, 파킨슨병을 포함한 다양한 신경 질환에 관련되어 있다(Ayasolla *et al.*, 2002). 그리고 이것은 연구자들이 자유기를 제거하고 지질산화 작용을 예방하거나, 신경세포 사멸에 관계되는 전사 인자들의 활성화를 억제하는 항산화제가 가진 보호 효과들에 관심을 가지고 연구를 촉구하게 했다. 최근의 임상 시험 결과들을 보면 알츠하이머병 환자들에게서 기능적인 악화의 지연을 유발한다고 하였다. 또한 산화 스트레스가 알츠하이머병의 발병에 관련이 있다고 보고된 바 있다(Ayasolla *et al.*, 2002).

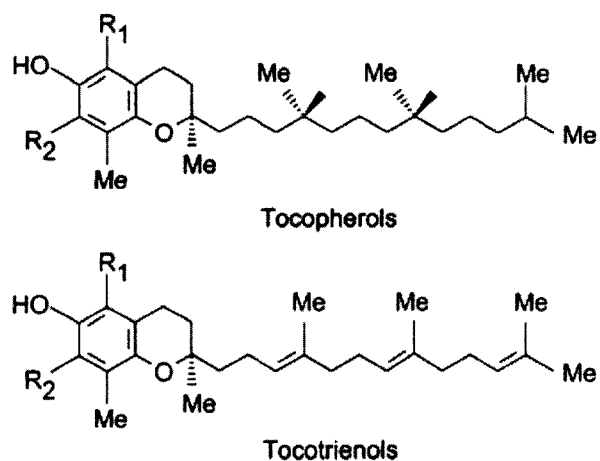
산화스트레스는 또한 파킨슨병의 발병에 관련되어 있다. 하지만, 지금까지 획득한 결과들은 아직까지 미흡한 실정이다. 혈액 또는 뇌에서 α -토코페롤 레벨의 어떤 중요한 차이들은 파킨슨병 환자와 대조 실험자들 사이에서 관찰되었다. 예비 임상 실험은 병의 진행이 α -토코페롤에 의해 지연된다고 발표한 바 있다.

비타민 E는 면역시스템의 유지에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 비타민 E의 결핍은 면역반응을 감소시키는 반면 권장량 보다 많은 음식물(비타민이 함유된)을 보충하는 경우 면역성을 향상시킨다(Meydani & Tengerdy, 1993). Meydani *et al.*(1997)은 건강한 노령의 피실험자들을 대상으로 235일 동안 날마다 60, 200 또는 800 mg 씩 복용하게 한 결과 하루 200 또는 800 mg을 섭취한 피실험자들에게서 B형 간염에 대해 상당히 좋은 항체반응을 관찰할 수 있었다. 또한

200 mg을 섭취한 피실험자들은 파상풍 백신에 대한 항체반응의 증가를 가져왔다고 하였으며, 면역반응을 위하여 비타민 E의 최상의 권장량은 200 mg/day라고 하였다. O₂, OH, H₂O₂ 그리고 ¹O₂를 포함한 활성산소종의 방출은 염증의 독특한 특징이다. Blankenhorn & Clewing(1993)은 비타민 E를 투여가 급성관절염, 류머티즘성 관절염 그리고 골관절염과 같은 급성 또는 만성 염증의 원인으로 고통 받는 환자들의 고통을 덜게 하는 징후들을 보인다고 보고하였다. 많은 경우에 그것은 표준약물 치료와 마찬가지로 효과적이며, 약물의 부작용을 경감시키는데 관련이 있다.

토코페롤과 토코트리에놀의 화학적, 물리적 특성

비타민 E는 기본적으로 chromanol [benzopyrane] ring(head group)과 ring의 탄소분자에 hydrophobic [isoprenoid] sidechain(tail group)이 연결된 구조를 기본 골격으로 하고 있으며, head group의 phenolic 부분에서 5번 탄소와 7번 탄소에 붙어있는 methyl group(R1, R2)의 position이나 수에 따라서 α-, β-, γ-, δ-로 구분된다(Fig. 1). 또한 비타민 E의 대명



Substitution in the chromanol ring of tocopherols and tocotrienols

Tocol Structure	Trienol Structure	R ₁	R ₂
α-Tocopherol (α-T) (5,7,8-Trimethyl tocol)	α-Tocotrienol (α-T3) (5,7,8-Trimethyl tocotrienol)	Me	Me
β-Tocopherol (β-T) (5,8,-Dimethyl tocol)	β-Tocotrienol (β-T3) (5,8-Dimethyl tocotrienol)	Me	H
γ-Tocopherol (γ-T) (7,8,-Dimethyl tocol)	γ-Tocotrienol (γ-T3) (7,8-Dimethyl tocotrienol)	H	Me
δ-Tocopherol (δ-T) (8-Monomethyl tocol)	δ-Tocotrienol (δ-T3) (8-Monomethyl tocotrienol)	H	H

Fig. 1. Structures and methyl positions of the eight natural E vitamins. The Chemical Abstracts name for tocol is 3,4-dihydro-2methyl-2-(4',8',12'-trimethyltridecyl)-chromanol and for tocotrienol is 2-methyl-2-(4',8',12'-trimethyltrideca-3'7'11'-trienyl)-6-chromanol(Kamal-Eldin et al., 2000).

사라 할 수 있는 토코페롤은 head group의 2번 탄소와 단일 사슬의 4'탄소, 8'탄소에서 chiral center를 갖는 반면, 토코트리에놀은 오직 head group의 2번 탄소만이 chiral center를 갖고, tail group의 3'탄소와 7'탄소, 11'탄소가 이중사슬로 이루어져 있다. 구조적인 차이에 있어, head group의 phenolic hydroxyl group은 비타민 E의 항산화 활성에 결정적인 역할을 하며, aromatic ring에 있는 methyl group의 존재 역시 이들의 생리활성에 매우 중요하다. 3개의 methyl group이 있는 α-토코페롤은 나머지 세 개의 토코페롤보다 생리활성이 매우 높으며, β, γ, δ의 순서로 생리활성의 차이를 나타낸다. 또한 tail group에서 isoprenoid side chain의 변화 역시 비타민 E의 활성에 영향을 미친다. 천연에서 분리한 모든 토코페롤은 2R, 4'R, 8'R(d-form 또는 RRR form) 배열을 하고 있으며, 토코트리에놀은 2R, 3'-trans, 7'-trans 배열을 하고 있다. 토코페롤과 토코트리에놀은 각각 구조적으로 여러 가지 stereoismer 갖게되며(Table 1), 이들의 isomeric configuration은 그들의 생리활성면에서 매우 중요하다.

실온에서 맑고 투명한 노랑색으로 점성의 액체인 토코페롤과 토코트리에놀은 물에는 녹지 않으나 아세톤, 에탄올, 에테르 및 식물성 오일에 잘 녹는다. 치환 양식과 일치하여, 토코페롤의 소수성 특성(성질)은 α- > β- > γ- > δ-토코페롤에 따라 감소한다. RRR-α-토코페롤의 melting point는 ca 3°C인 반면, RRR-γ-토코페롤은 -3°C에서 -2°C의 melting point를 갖는다. 에탄올에 녹인 토코페롤과 토코트리에놀의 자외선 흡광도는 290-298 nm 범위에서 최대값을 갖으며(Table 2) (Podda et al, 1996), 특히 α-토코페롤의 경우 성질이 다른 여러 가지 유기용매에서의 흡광도는 용매의 극성이 증가함에 따라 흡광계수는 감소한다(Fig. 2, Table 3). 또한 용액중의 α-토코페롤은 monomer와 dimer의 두 가지로 존재하며, 단파장흡수대(291~294 nm)의 monomer는 형광성인데 반하여 dimer는 298 nm 부근을 흡수하는 비형광성이고 분자간 수소 결합에 의하여 형성된다(Jung & Kim, 1982).

토코페롤과 토코트리에놀의 추출과 분리

시료추출

토코페롤류와 토코트리에놀류 그리고 그들의 ester는 지용성 화합물로서 유기 용매를 이용하여 추출 한다. 또한 화곡류에 있어 시료의 추출과 분리 과정에 있어 가장 중요한 것은 실험 온도와 빛, 그리고 진행 시간인데, 토코페롤과 토코트리에놀의 변성(파괴)을 최소화하고, 최대한 유지(회복시키기 위해서는 빛의 밝기를 약하게 하고, 낮은 온도의 조건 하에서 최대한 신속하게 하여야 한다. 예를 들어 쌀겨에서 추출한 기름(Kim et al., 1999)의 경우, 일정 시간(1시간)동안 3가지 온도 조건(40, 50, 70°C)으로 압력의 조건을 달리 하여 추출하였을 때 5000 psi와 6000 psi에서 50°C와 70°C의 조건으로 추출

Table 1. Various forms of tocopherols and tocotrienols. (Abidi, 2000)

Stereoisomer	Homologue ^a			
	α	Position isomer		δ
		β	γ	
Methyl substitution:				
Number	3	2	2	1
Position	C-5, 7, 8	C-5, 8	C-7, 8	C-8
Tocopherols:				
No. 1	2R4'R8'R	2R4'R8'R	2R4'R8'R	2R4'R8'R
No. 2	2R4'R8'S	2R4'R8'S	2R4'R8'S	2R4'R8'S
No. 3	2R4'S8'S	2R4'S8'S	2R4'S8'S	2R4'S8'S
No. 4	2R4'S8'R	2R4'S8'R	2R4'S8'R	2R4'S8'R
No. 5	2S4'S8'S	2S4'S8'S	2S4'S8'S	2S4'S8'S
No. 6	2S4'S8'R	2S4'S8'R	2S4'S8'R	2S4'S8'R
No. 7	2S4'R8'R	2S4'R8'R	2S4'R8'R	2S4'R8'R
No. 8	2S4'R8'S	2S4'R8'S	2S4'R8'S	2S4'R8'S
Tocotrienols:				
No. 1	2R-tr/tr	2R-tr/tr	2R-tr/tr	2R-tr/tr
No. 2	2R-tr/cis	2R-tr/cis	2R-tr/cis	2R-tr/cis
No. 3	2R-cis/tr	2R-cis/tr	2R-cis/tr	2R-cis/tr
No. 4	2R-cis/cis	2R-cis/cis	2R-cis/cis	2R-cis/cis
No. 5	2S-tr/tr	2S-tr/tr	2S-tr/tr	2S-tr/tr
No. 6	2S-tr/cis	2S-tr/cis	2S-tr/cis	2S-tr/cis
No. 7	2S-cis/tr	2S-cis/tr	2S-cis/tr	2S-cis/tr
No. 8	2S-cis/cis	2S-cis/cis	2S-cis/cis	2S-cis/cis

^aC, Carbon; Tr, trans

Table 2. Characterizing tocopherols and tocotrienols by ultraviolet light (Podda *et al.*, 1996).

Vitamer	λ_{\max} (nm), in EtOH	E ^{1%} , 1 cm
α -tocopherol	292	75.8
β -tocopherol	296	89.4
γ -tocopherol	298	91.4
δ -tocopherol	298	87.3
α -tocotrienol	292	91.0
β -tocotrienol	295	87.5
γ -tocotrienol	298	103.0
δ -tocotrienol	292	83.0

한 추출물의 양 [W/W₀]이 40°C에서 추출한 추출물의 양보다 높았으며, 경제적인 면을 생각할때 70°C의 조건보다 50°C의 조건이 추출조건으로 적합하다고 하였다. 또한 각 시간별(0~9 시간) 온도를 달리하여(40, 50, 70°C) 쌀겨유를 추출한 경우 세 온도 조건에서 모두 4시간 동안 추출하였을 때의 추출물의 양이 70-80%로 가장 높게 나타났다.

HPLC를 이용한 분리

특징과 함량분석을 목적으로 천연에서 분리시킨 토코플과 토코트리엔올은 column chromatography, thin layer chromatography(TLC),

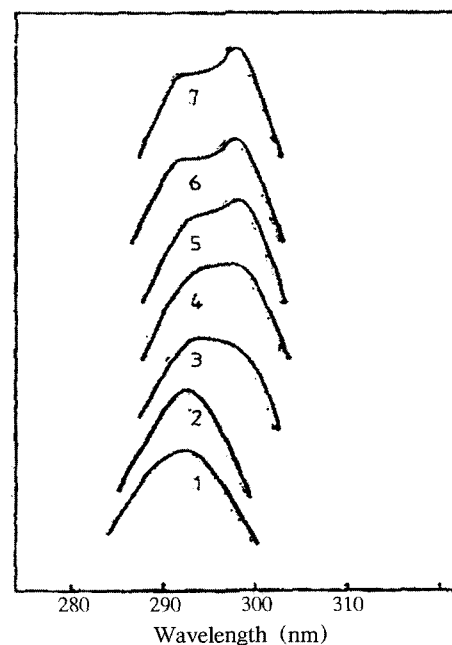


Fig. 2. The absorption spectra of α -tocopherol in various organic solvents; (1) methanol, (2) ethanol, (3) p-dioxane, (4) chloroform, (5) benzene, (6) cyclohexane, (7) n-hexane (Jung & Kim, 1982).

Table 3. The extinction coefficients of α -tocopherol in relation to the dipole moment of various solvents (Jung & Kim, 1982).

Solvent	Dipole moment*	$\epsilon_{1\%}^1$ at $^{cm}\lambda_{max}^{**}$
n-Hexane	~0	84.9
Cyclohexane	~0	84.4
Benzene	~0	85.5
p-Dioxane	~0	83.9
Chloroform	1.12	78.5
Ethanol	1.69	76.3
Methanol	1.69	74.5

*Dipole moment in gas phase (Minkin *et al.*, 1970).
 **Values are means of 3 measurements and significant at 1.5% level.

normal-phase high-performance liquid chromatography(순상 HPLC), reversed-phase HPLC(역상), 그리고 다른 여러 가지 chromatographic techniques에 의해 분리하고, 정제할 수 있다.

지금까지 발표된 여러 문헌에 근거하면, 대부분의 연구자들은 지질 항산화 물질의 분리를 위해 순상 HPLC 기술이 이용된다. 이것은 β -와 γ -토코페롤 그리고 β -, γ -토코트리엔놀이 구조적으로 매우 유사하여 역상 HPLC를 이용한 분리방법으로

는 이들을 분리할 수 없기 때문에 비교적 쉽게 분리할 수 있는 순상 HPLC를 사용하는 것이다(Fig. 3).

HPCL를 이용한 E vitamers의 분리 시 컬럼의 종류와 전개 용매의 종류에 따라 vitamers들의 머무름시간(Fig. 3~6)과 분리 정도는 다르게 나타나며(Kamal-Eldin *et al.*, 2000), 또한 이들은 용매의 극성에 따라 화합물의 자외선 흡수 spectra의 모양도(특히 peak 부근에서) 다르게 나타난다(Table 4, Fig. 3)고 보고된 바 있다(Jung & Kim, 1982; Balz *et al.*, 1992; Schuep *et al.*, 1994).

곡류로부터 토코페롤과 토코트리엔놀의 분리 · 정제

화곡류에 있어, 토코페롤은 옥수수, 밀, 콩, 그리고 땅콩과 같은 일반적인 곡류와 콩과식물에 많이 함유되어있는데 반하여 토코트리엔놀은 야자과 식물, 쌀겨, 귀리, 그리고 보리 등에 대부분이 함유되어 있다. α -토코페롤의 경우 밀의 잎을 사용하여 분리한 결과는 Keles & öncel(2002) 등에 의해 보고 되었는데, 위의 추출 방법과는 다르게 음건 세절한 밀의 잎을 insoluble polyvinylpyrrolidone과 0.2 g의 Na_2SO_4 가 함유된 8 mL의 에탄올에 담가 30 초 동안 4°C에서 추출, 여과하여 RP-C18 column(250×4.6 mm)을 이용하여 분리 하였다. 전개용매로는 A; 5% water(95% methanol)과 B; 5%

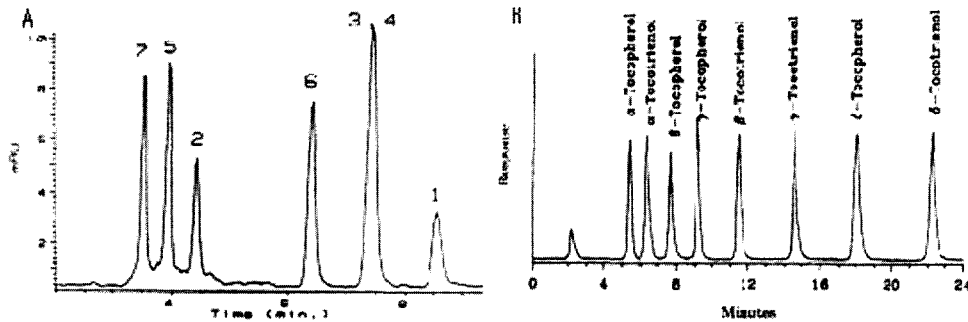


Fig. 3. Reversed-phase HPLC-UV detection of tocopherols (T), tocotrienols (T3) (on ODS) in a standard mixture. 1, α T (α -tocopherol); 2, α T3 (α -tocotrienol); 3, β T (β -tocopherol); 4, γ T (γ -tocopherol); 5, γ T3 (γ -tocotrienol); 6, δ T (δ -tocopherol); 7, δ T3 (δ -tocotrienol) (A) (Balz *et al.*, 1992), and Normal-phase HPLC-FL detection of tocopherols and tocotrienols (on silica) in a standard mixture (B). (Schuep *et al.*, 1994).

Table 4. The wavelengths of absorption peak and shoulder of α -tocopherol in relation to the hydrogen bonding ability of various solvents (Jung & Kim, 1982).

Sovent	Type*	H-Bonding ability**	λ_{max} (nm)	shoulder (nm)
n-Hexane	IV	none	298	291~294
Cyclohexane	IV	none	298	291~294
Benzene	II	very weak	298	292~295
Chloroform	I	weak	297	293~295
p-Dioxane	II	medium	293	296~299
Ethanol	III	strong	292	none
Methanol	III	strong	292	none

*Classified types are according to Pimmentel and McClellan (Pimmentel & McClellan, 1960)
 **Hydrogen bonding ability toward acidic OH group of chromanol ring of α -tocopherol (Vinogradov & Linnell, 1971)

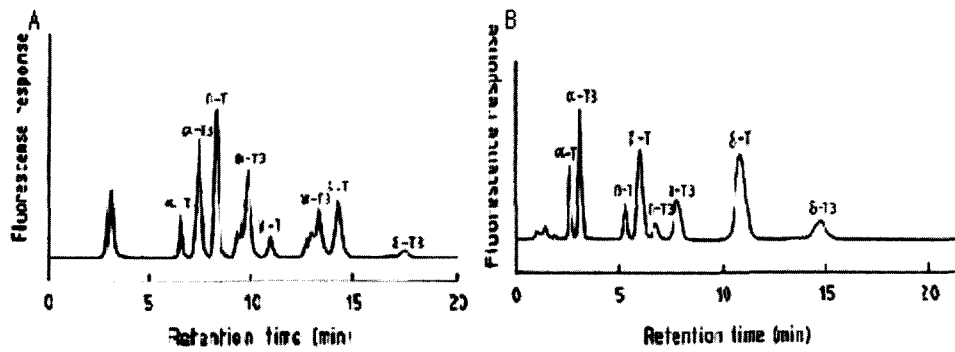


Fig. 4. Separation of Merck tocopherol and tocotrienol vitamins on an LiChrosorb NH₂ column (250 × 4, 5 μm) using hexane-*tert*-butyl methyl ether-tetrahydrofuran-methanol (79:20:1:0.1) at a flow-rate of 1.0 ml/min⁻¹ (A), and Separation of a balanced mixture of tocopherols and tocotrienols on Hypersil APS-2^o silica column (250 × 4.6, 5 μm) using solvent hexane-1,4-dioxane (95:5) at 2.5 ml/min⁻¹ (B). Peaks, see legend to Fig. 4. (Abidi, 2000)

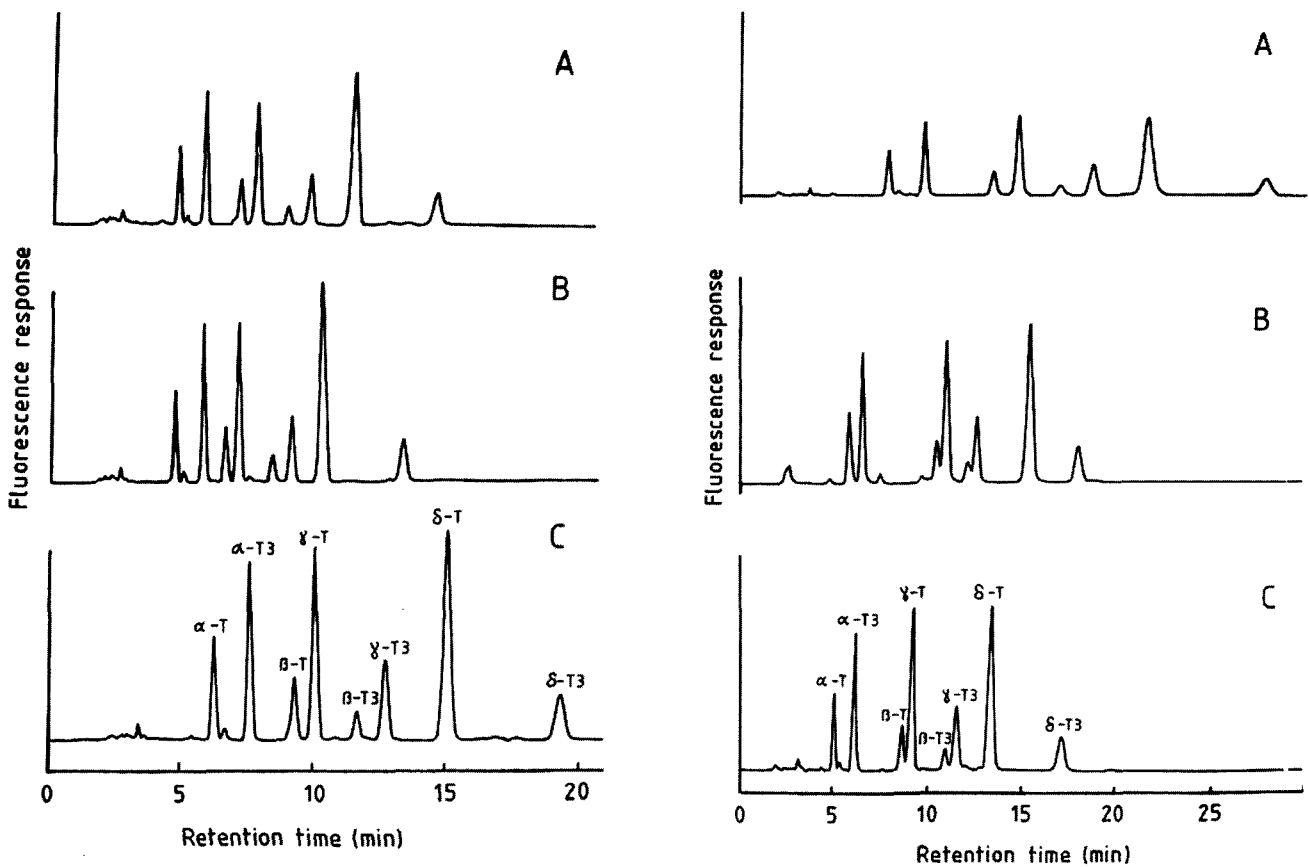


Fig. 5. Separation of a balanced mixture of tocopherols and tocotrienols on three silica columns (A; Alltima SI 5U, B; Inertsil SI, C; Genesis silica, B, C) using mixtures of hexane and 1,4-dioxane (A; 96:4, B; 95:5, C; 96:4) at a flow-rate of 2.0 ml/min⁻¹ (A), 2.0 ml/min⁻¹ (B), 1.5 ml/min⁻¹ (C). For identification of peaks, see legend to Fig. 4. (Abidi, 2000).

Fig. 6. Separation of a balanced mixture of tocopherols and tocotrienols on LiChrosorb Diol Hibar silica column using different mobile phases: (A) hexane-*tert*-butyl methyl ether, 96:4 at 2.0 ml/min⁻¹; (B) hexane-2-propanol, 99:1 at 1.0 ml/min⁻¹; (C) hexane-1,4-dioxane, 96:4 at 1.5 ml/min⁻¹. For identification of peaks, see legend to Fig. 4. (Abidi, 2000).

ethyl acetate(95% methanol)를 사용하였고, 1.2 ml/min⁻¹의 flow rate로 B의 양을 1분 간격으로 10%씩 점차 증가시키면서 총 15분 동안 분리하고, 어느 정도의 순도가 높은 정제물

은 292 nm의 파장에서 UV detector를 이용하여 monitoring하면서 분리하였다(Keles & öncel, 2002). 마찬가지로, 토코트리 에놀은 싼겨로부터 분리하였는데(Qureshi *et al.*, 2000), 추출

시 밀과는 반대로 열처리하여 안정화시킨 쌀겨를 메탄올을 이용해 추출하고, 15000 g에서 원심분리한 후, 상등액을 40°C의 진공상태에 완전히 건조시켰다. 이 메탄올 추출물을 다시 10 mg/mL의 농도로 헥산에 녹인 다음 Bond Elut Amine Column에 1 mL을 로딩하였다. 시료 로딩 후 컬럼의 전개용매는 헥산 100% 1 mL을 시작으로, 3%의 2-propanol(97%의 헥산) 1 mL, 5%, 6% 2-propanol 1 mL 그리고 마지막으로 10%의 2-propanol(1 mL)까지 순차적으로 분리하였다. 각 fraction의 성분을 HPLC(Waters silica column, 1%(v/v) 2-propanol in hexane mobile phase)를 이용하여 확인하고, Bond Elut Amine Column의 5%와 6% 2-propanol에서 획득한 fractions를 혼합하여 진공상태의 40°C에서 완전히 건조시켜 헥산으로 녹인 후, 1.3 mL/min의 flow rate로 0.6%의 (v/v) 2-propanol(99.4% hexane)전개용매를 사용하여 HPLC(Beckman Ultrasphere Silica, 5 μm, 4.6 × 250 mm column) 방법에 의해 분리하였다.

토코페롤과 토코트리에놀의 함량분석

분석방법

특징과 함량분석을 목적으로 천연에서 분리시킨 토콜과 토코트리에놀은 칼럼 크로마토그래피, TLC, 순상 HPLC, 역상 HPLC, 그리고 다른 여러 가지 크로마토그래피 기술에 의해 분리하고, 정제할 수 있다. Fig. 7은 쌀겨에서 분리한 토코페롤, 토코트리에놀 isomers의 HPLC 분석을 나타낸 것이다 (Qureshi *et al.*, 2000).

HPLC가 발명되기 이전의 과학자들은 토코페롤과 토코트리에놀을 함유하는 기름성분의 정확한 측정을 위하여 GC 기술에 의존하여 왔다. Table 5는 GC 분석 방법 중 천연유 그리고 관련된 토코페롤과 토코트리에놀의 분석을 위해 관련된 몇 가지 방법들을 요약한 것이다. 토코페롤과 토코트리에놀의 β-,

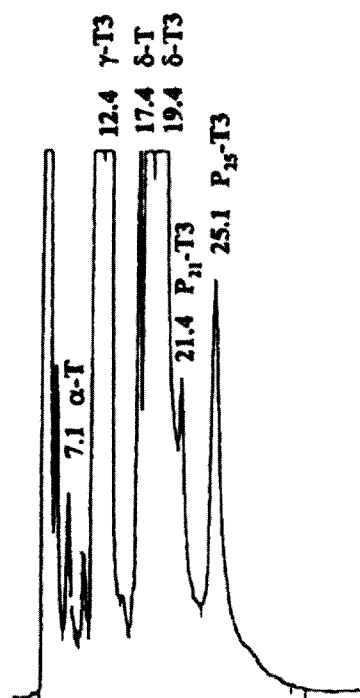


Fig. 7. E vitamers of HPLC from rice bran.

γ-positions isomers은 충전된 GC 칼럼[1-3]에서는 분리되어 있지 않으나, 캐필러리 칼럼 [4-6]에서는 분리되어 있다.

최근 HPLC를 이용한 비타민 E의 분석방법은 방법적인 면에서 모체가 다른 시료를 융통성 있고, 편리하게 다룰 수 있기 때문에 GC를 이용한 분석방법보다 널리 사용되고 있다 (Abidi, 2000; Lang *et al.*, 1985). HPLC를 이용한 분석 방법은 분석 과정 중 ultraviolet (UV), fluorescence (FL), electrochemical (ED), light-scattering 또는 photodiode array (PDA) detectors에 의해 토코페롤과 토코트리에놀을 모니터 할 수 있으며, 또한 동일 과정 중에 모든 토코페롤과 토코트리에

Table 5. Gas chromatographic analysis of tocopherols and tocotrienols^a

Method(detection)	Column	Elution order	References*(Matrices)
(1) FID	Packed, 8 ft. × 4 mm, 6% SE-52 on Chromosorb W AW-DMCS	δT→(β+γ)T→αT (propionates)	[1] Vegetable oils
(2) FID	Packed, 6 ft. × 5 mm, 3% SE-30 on Gaschrom Q	δT→(β+γ)T→αT (butyrates)	[2] Vegetable oils
(3) FID	Packed, 3 ft. × 4 mm, 2% Silicon oil on Chromosorb W AW-DMCS	δT→(β+γ)T→δT ₃ →αT(β+γ)T ₃ →αT ₃	[3] Palm oil
(4) FID	Capillary, 150 ft. × 0.25 mm, Desil 400	→ζT→βT ₃ →γT ₃ →αT→α ₃ (TMS ether)	[4] Fats & oils
(5) FID	Capillary, 90 ft. × 0.25 mm, 0.25 μm DB-5	δT→βT→γT (TMS ether)	[5] Oil distillate
(6) FID	Capillary, 45 ft. × 0.32 mm, RTX-50	δT→βT→γT→δT ₃ →αT-AC→γT ₃	[6] Foods
(7) FID	Capillary, 30 ft. × 0.53 mm, HP-1	αT→αT-AC	[7] Edible oils

^aT, tocopherol; T₃, tocotrienol; TMS, trimethylsilyl; AC, acetate.

*References: Feeter, 1974[1]; Hartman, 1977[2]; Meijboom & Jongenotter, 1979[3]; Slover *et al.*, 1983[4]; Marks, 1988[5]; Sponsler, 199[6]; Ballesteros *et al.*, 1996[7].

Table 6. Tocopherol (T) and tocotrienol (T3) contents of cereal grains (ug/g FW)

Cereal	α -T	β -T	γ -T	δ -T	α -T3	β -T3	γ -T3	δ -T3	Total T+T3	References*
Wheat	10	5	-	<1	4	21	-	-	40.4	1
	10	7	-	-	4	28	-	-	49.0	2
	12	6	-	-	4	26	-	-	47.8	3
	6	2	-	-	3	17	-	-	27.8	4
Rye	10	3	-	-	14	11	-	-	38.0	1
	16	4	-	-	15	8	-	-	43.0	2
	10	2	<0.2	-	12	7	-	-	32.4	3
	11	2	-	<0.1	9	6	-	-	18.7	4
Barley	3	<1	1	<1	16	6	6	-	32.0	1
	2	0.4	0.3	0.1	11	3	-	-	16.7	2
	4	<0.2	1	-	20	4	8	0.6	36.9	3
	2.9	0.1	-	0.2	10.6	2.3	2.7	-	27.8	4
	10	0.7	0.7	0.7	33	7	5	0.9	58.5	5
Oats	9	0.6	-	-	25	3	<0.2	-	38.0	3
	5	1	-	-	11	2	-	-	19.0	2
	8	0.9	0.9	-	15	0.9	-	0.2	25.9	5
	2.1	0.5	-	-	1.4	7.6	-	-	11.6	4
Rice, brown	6	1	1	<1	4	<0.1	7	-	19.0	1
	8	0.7	4	0.5	4	<0.2	10	0.7	27.0	3
white	3	-	3	0.4	5	-	-	-	11.4	2
Corn	6	-	45	-	3	-	-	-	54.0	2

*References: Piironen *et al.*, 1986(1); Sheppard *et al.*, 1993(2); Balz *et al.*, 1992(3); Peterson & Qureshi, 1993(5); Zielinski *et al.*, 2001(4).

Table 7. Tocopherol (T) and tocotrienol (T3) contents of oils and seeds from cereal grains(mg/100g oil)

Cereal	α -T	β -T	γ -T	δ -T	α -T3	β -T3	Total T+T3	References*
Corn	11.2	5.0	60.2	1.8	-	-	94.4	1
	14.3	0.4	64.9	2.8	0.6	-	83.2	2
	26.4	-	79.4	4.0	-	-	109.8	3
Wheat germ	133.0	71.0	26.0	27.1	2.6	18.1	277.8	1
	162.5	50.9	32.6	-	32.4	-	278.4	3
Wheat bran	16.3	10.1	-	-	11	53.7	91.1	1
Wheat flour	<0.1	<0.1	-	<0.1	<0.1	0.2	0.3	1
Wheat germ	115.3	66	-	-	2.6	8.1	192	1

*References: Sheppard *et al.*, 1993(1); Choi, 1996(2); Bogumila & Gogolewski, 2003(3).

놀 유사체들의 분리와 함량분석을 선택적으로 할 수 있다(Shin & Godber, 1993). 화곡류의 분석은 대부분이 순상 HPLC를 사용하였다. 분석 방법 면에서 순상의 경우 대부분의 칼럼을 실리카 칼럼으로 사용하였고, 순상 HPLC 분석에서의 E vitamers들의 분리 정도는 역상 HPLC 분석에서의 분리 정도보다 월등히 좋았다. 역상 HPLC 분석에서 ODS 칼럼과 함께 isopropanol-water를 사용한 경우(Satomura *et al.*, 1992) β -와 γ -isomer들이 분리되었으며, 또한 이들의 유도체 역시 acetonitrile-water와 ODS 칼럼(Abidi & Mounts, 1997)의

조건 하에서 분리되었다. 마찬가지로 β -, γ -토코페롤의 약한 분리 역시 acetonitrile과 hexane(91.5:8.5)의 전개 용매로 C₁₈ 칼럼(Wahyuni & Jinno, 1988)을 사용하여 획득할 수 있었고, 이 새로운 칼럼체계는 위험한 용매의 사용을 없앨 수 있다는 점에서 매우 중요하다. 비타민 E 분석에 사용된 column의 type과 mobile phases, detectors 그리고 크로마토그래픽 시스템의 보다 완벽한 기술은 여러 문헌에서(Lang *et al.*, 1985; Ball, 1998; Ball, 1988; Bourgeois, 1992)에 의해 보고되었다.

화곡류의 토코페롤과 토코트리에놀 함량

화곡류에는 쌀, 보리, 밀, 호밀, 귀리와 옥수수, 수수, 조 등이 있으며, 이들 대부분의 종실에는 토코페롤(T)과 토코트리에놀(T3)을 함유하고 있다. 발표된 문헌들을 근거로 품종 간 토코페롤과 토코트리에놀의 분포를 살펴보면, 대부분의 곡류가 전체 토클 함량 중 토코페롤보다 토코트리에놀의 함량이 높았으며, 옥수수의 경우에서만 토코페롤의 함량이 토코트리에놀의 함량보다 현저하게 높게 나타났다(Sheppard *et al.*, 1993; Piironen *et al.*, 1986; Balz *et al.*, 1992; Peterson & Qureshi, 1993; Zielinski *et al.*, 2001)(Table 6). 또한 rye(호밀)은 α -T와 α -T3의 함량이 비교적 비슷하게 존재하였으며, 대부분의 곡류가 α - 또는 β -isomer를 주로 함유하고 있는데 반하여, 보리와 쌀은 γ 와 δ -isomer를 비교적 많이 함유하고 있었고, 옥수수의 경우에는 γ -T를 83%(전체 T+T3 중의) 이상 함유하고 있었다. 전체 곡류의 비타민 함량 순서는 밀; α -T3 > α -T > β -T > α T3, 호밀; α -T3 > α -T > β -T3 > β T, 보리; α -T3 > β -T3 > γ -T3 > α -T > γ -T > δ -T3 \geq β -T > δ -T, 귀리; α -T3 > α -T > β -T3 > β -T > γ -T \geq δ -T3, 쌀; γ -T3 > α -T > α -T3 > γ -T > β -T \geq δ -T3 \geq δ -T, 옥수수; γ -T > α -T > α -T3이었다.

곡류 뿐 아니라 곡류로부터 생산되는 식물성유는 또한 토코페롤과 토코트리에놀 isomer의 좋은 sources가 되기도 한다. 특히 옥수수의 경우 천연상태에서는 α -T와 γ -T, α -T3가 주를 이루었던 반면, 오일에서는 β -T와 δ -T를 함유하고 있으며, 밀배아 오일 역시 천연 밀 보다 β -T와 γ -T의 함량이 많았으며, δ -T의 함량도 천연 밀보다 많은 것으로 알려져 있다. 또한 밀의 부위별 총 T+T3 함량은 배아>밀겨>꽃의 순서였고, 꽃은 토코페롤과 토코트리에놀을 미량 함유하고 있는데 반하여, 밀겨는 전체 T+T3의 함량 중 58.9% 이상이 β -T3를 함유하고 있었고, 밀 배아는 60.1%이상의 α -T를 함유하고 있었다. 표7은 곡류의 오일 성분과 종실이 함유하고 있는 토코페롤과 토코트리에놀의 함량을 정리한 것이다.

재배환경에 따른 토코페롤 및 토코트리에놀 함량

토코페롤과 토코트리에놀의 함량에는 해당 작물별 재배지의 지리적조건, 기후상태, 종자의 성숙도 및 품종 간 차이 등에 의하여 크게 영향을 주는 것으로 알려져 있다.(Kamal-Eldin and Andersson, 1997; White and Xing, 1997; Zhai, 1992). 온도는 이들 성분의 함량에 가장 큰 영향을 준다. 일반적으로 화곡류에서는 저온에서 생육한 작물 보다 고온에서 생육한 작물의 종실에서 높은 함량을 나타냈는데 이는 고온에 의해서 물질의 생합성이 촉진된 것으로 해석하였다.(Marquard, 1990, White and Xing, 1997). 그러나 쿵에 있어서 Dolde *et al.*(1999)은 고온 보다 저온에서 생육된 경우 토코페롤의 함량이 높았다고 보고한 결과도 있었다.

중국에서 자란 야생벼, Weishan lake(0.48 mg/100 g)는 다른

중국 야생벼(Luoma lake(0.26 mg/100 g), Baoying lake(0.22 mg/100 g), Hongze lake(0.20 mg/100 g), Tailake(0.29 mg/100 g))보다 토코페롤의 함량이 약 2배 정도 높았으며, 북아메리카의 야생벼(Lunds Inc.(0.20 mg/100 g), Shoal lake(0.20 mg/100 g)) 보다도 2.4배가 높았다(Zhai *et al.*, 1992; Zhai *et al.*, 2001). 또한 Weishan lake를 포함한 모든 중국 야생벼가 북아메리카의 야생벼 보다도 토코페롤 함량이 높게 나왔을 뿐 아니라, 더불어 중국과 북아메리카의 야생벼들은 중국의 백미(0.10 mg/100 g)보다 토코페롤 함량이 높게 나왔다. 지용성 비타민인 카로티노이드나 토코페롤은 동·식물 등의 생체 내에서 지질 산화과정으로 인해 산화되어 이들의 영양적 손실과 생리적 활성을 상실하게 되는 것으로 알려져 있으며, 이 중 α -토코페롤은 지질과산화의 억제과정에서 자신은 산화되어 다른 생성물로 전환된다는 보고도 있지만 이에 대해서는 아직 불명확한 점이 많다고 하였다.

토코페롤류의 산화물에 대하여는 현재까지 α -토코페롤에 관한 연구가 대부분 이루어졌으며, 유지 내 함유되어 있는 토코페롤류는 유지의 산화가 진행됨에 따라 스스로 산화된다. 밀배아 저장 중 저장 기간별로 밀배아에 존재하는 토코페롤의 함량 감소 현상은 리놀레산의 자동산화 동안 α -토코페롤은 처음 농도에 상관없이 완전히 산화되는 반면, δ -토코페롤은 부분적인 산화를 일으킨다는 보고(Kim & Cheigh, 1995)와 일치하는 경향을 보였으며, 저장 기간이 길어질수록 감소율이 둔화되는 것은 저장 중 밀배아의 수분함량이 감소되어 리파아제와 리폭시게나아제의 활성이 미약했기 때문일 것으로 보고, 밀배아 저장(30°C) 중 카로티노이드와 토코페롤의 감소현상은 지방질의 산화에서 항산화제로 작용하여 산화된 결과로 보인다고 하였다. 또한 볶음 조건에서 얻어진 쌀눈의 토클1 안정성 실험에서(Ko *et al.*, 2003), 60°C 저장 중 모든 볶음 처리구(170°C, 20 min; 180°C, 10 min; 190°C, 6 min)에서 토클 isomer의 영향은 Kim & Cheigh(1995)의 결과와 마찬가지로 α -토코페롤이 가장 현저한 감소를 보인 반면, β 토코페롤과 γ -토코페롤은 서서히 감소하였다고 하였다. 또한 이들은 δ -토코페롤이 토코페롤 이성질체 중 가장 높은 안정성을 보였으며 저장기간 별 토코트리에놀 이성질체들의 지질 산화 안정성도 토코페롤과 유사한 경향을 보였다고 하였다.

리폭시게나아제에 의한 토코페롤의 산화, 분해 현상은 공존하고 있는 리놀레산 등이 산화할 때 만들어지는 유리기에 의해 토코페롤이 co-oxidation을 일으키기 때문으로 알려져 있다. 최근 Kim & Cheigh(1992)은 고형상의 모델시스템에서 β -카로틴과 α -토코페롤의 산화에 미치는 리폭시게나아제, 리놀레산, 수분활성도의 영향에 대한 실험에서, 리놀레산 존재 하에서 리폭시게나아제에 의한 α -토코페롤의 peroxy radical과의 반응성은 높은 수분 활성도에서 β -카로틴보다 뛰어나다고 하였다. 또한 알파토코페롤의 산화 생성물은 α -tocopheryl quinone, α -tocopheryl dimer로 주요 생성물은 α -tocopheryl

quinone이었으며, 이들은 리폭시나아제와이 반응에 의해 그 함량이 훨씬 많아졌다고 하였다.

주요 생성물인 α -tocopheryl quinone은 Lee(1993), Cillard *et al.*(1980)에 의해서도 α -토코페롤의 주요 생성물임이 보고된 바 있다. 또한 Lee(1993)는 Gottstein & Grosch(1990)에 의하여 제안된 가설에 따라 quinone이 Fig. 8과 같은 경로를 거쳐 다음과 같이 생성될 것으로 설명하였다. 즉 α -토코페롤의 OH-group으로부터 1개의 수소원자를 지방산의 peroxy radical에 주고, 생성된 chromoxy radical (a)는 개환되어 p-quinone alkyl radical (b)이 되고, 이어 peroxy radical (c)를 거쳐서 hydroperoxide (d)로 산화되어, hydroperoxide의 fragmentation과 H-abstraction으로 α -tocopheryl quinone이 형성된다고 하였다. 또한 이(1993)는 유지의 자동산화과정 중의 α -, γ -토코페롤과 γ -토코트리엔올에 대한 주요 산화생성물로는 quinone이 확인되었으며, 미량의 dimer 혹은 trimer로 추정되는 성분이 검출되었다고 하였다. 특히 γ -토코페롤의 경우에는 생성된 산화물도 항산화성이 있는 것을 확인하였으며, 자동산화과정중의 항산화제로써 고려할 가치가 있다고 하였다.

맺 음 말

토코페롤류와 토코트리엔올류에는 네 종류의 α , β , γ , δ 형태를 가지고 있으며, 주로 α -토코페롤의 생물학적 활성으로 인해 비타민 E 라고 불리는 화합물에 속하고 있다. 토코페롤에 비하여 토코트리엔올에 대한 연구는 현재까지 그 영양학적, 식품학적 연구에 있어서 미진하였으나 최근 연구에 의하면 토코트리엔올이 토코페롤보다 항산화작용이 더 강한 것으로 밝혀졌다. 천연 토코페롤과 토코트리엔올은 벼, 보리, 밀, 옥수수 등 화곡류 뿐 아니라 콩기름, 면실유, 야자유 등 식물성 유지에 많이 분포되어 있다. 최근 HPLC를 이용한 비타민 E의 분석방법은 방법적인 면에서 모체가 다른 시료를 융통성 있고, 편리하게 다룰 수 있기 때문에 GC를 이용한 분석방법보다 널리 사용되고 있다. HPLC를 이용한 분석 방법 중에서도 역상 HPLC 칼럼체계는 순상 HPLC 칼럼체계와 비교하여 분리정도에 있어 큰 차이는 없으나, 위험한 용매의 사용을 없앨 수 있다는 점에서 매우 중요하다.

토코페롤류와 토코트리엔올류의 함량에는 작물의 종류, 재배지역의 지리적조건, 기후상태, 종자의 성숙도 및 품종 간 차이 등에 의하여 크게 영향을 받는 것으로서 고품유 생산을 위한 재배 생리학적 연구가 뒷받침되어야 하겠다.

이들 성분들은 노화와 관련된 항산화성은 물론이고 심장혈관 관련 질환의 예방에 탁월한 효과와 항암효과 등이 밝혀지고 있어 금후 화곡류를 이용한 기능성식품산업의 신소재로서 개발가능성이 매우 높다고 할 수 있으며 이에 대한 세밀한 연구가 앞으로 이루어져야 할 것이다.

인용문헌

- Abidi, S. L., T. L. Mounts. 1997. *J. Chromatogr. A.* 782 : 25.
- Abidi, S.L. 2000. Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants, *J. Chromatogr. A.* 881: 197-216.
- Ayasolla, K., S. Giri., M. Khan., A. Singh and I. Singh. 2002. Amyloid induced upregulation of inducible nitric oxide synthase by amyloid peptide in glial cells: implications to alzheimer's disease. SFRR 2002 PARIS. S186 : 489.
- Ball, G. H. 1988. *Fat-soluble vitamin assays in food analysis: A comprehensive review.* Elsevier Applid Science, London.
- Ball, G. H. 1998. Vitamin E, in bioavailability and analysis of vitamins in foods, ed by Ball, G. H. Chapman & Hall. London. : 195-232.
- Ballesteros, E. Gallego, M., Valcarcel, M. 1996. *J. Chromatogr. A.* 719 : 221.
- Balz, M. K., E. Schulte., H. P. Thier. 1992. *Fat Sci. Technol.*, 94 : 209.
- Balz, M., E. Schulte. and H.-P. Thier. 1992. Trennung von tocopherolen und tocotrienolen durch HPLC. *Fat Sci. Technol.* 94 : 209-213.
- Barnes, P. J. 1983. In 'Progress in cereal chemistry and technology. proc. 7th World cereal and bread congress' (J. Holas and J. Kratochvil, eds), Elsevier, Amsterdam. : 1095-1100.
- Blankenhorn, G and Clewing S. 1993. Human studies of vitamin E and rheumatic inflammatory disease, in *Vitamin E in Health and Diseases*, ed by Packer L and Fuchs J, Marcel-Dekker, New York. : 563-575.
- Bogumila Kupczyk and Marek Gogolewski. 2003. Effect of menadi-one (vitamin K3) addition on lipid oxidation and tocopherols content in plant oils, *Nahrung/Food.* 47 (1) : 11-16.
- Bourgeois, E. 1992. *Determination of vitamin E: Tocopherols and tocotrienols.* Elsevier Science Publishers, Barking, Essex.
- Braanen, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylate hydroxytoluene. *JAOCS* 52 : 59-63.
- Bramley, P. M., I. Elmadfa., A. Kafatos., F. J. Kelly., Y. Manios., H. E. Roxborough., W. Schuch., P. J. A. Sheey., K-H. Wagner. 2000. Review Vitamin E, *J. Sci. Food. Agric.* 80 : 913-938.
- Buck, D. F. 1981. Eastman chemical products Inc., Kingsport, T. N. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, March : 275.
- Campbell, S., W. Stone., S. Whaley., K. Krishnan. 2003. Development of gamma (γ)-tocopherol as a colorectal cancer chemopreventive agent, *Critical Reviews in Oncology/Hematology.* 47 : 249-259.
- Campbell, S., W. Stone., W. Sarah., K. Koyamangalth. 2003. Development of gamma (γ)-tocopherol as a colorectal cancer chemopreventive agent, *Critical Reviews in Oncology/Hematology.* 47 : 249-259.
- Carroll, K. K., Guthrie, N., Nesaretnam, K., Gapor, A., and Chambers, A. F. 1995. Anticancer properties of tocopherols from palm oil, in nutrition, lipids, health and disease. Ong, A. S. N., Niki, E. and Packer, L. (eds.) Champaign, IL: *Am. Oil Chem. Soc. Press.* : 117-121.
- Chan, R. I. M., H. F. Rosin and W. D. Powrie. 1979. Antimutagenic activity of vrowning reaction products. *Cancer Lett.* 15 : 27-33.
- Choi, Y. S. 1996. Nutritional evaluation of soybean oil, *Kor. Soybean Res. Rep.* 13 (1) : 7-18.
- Cillard, J. and P. Cillard. 1980. Behavior of alpha, gamma, and delta tocopherols with linoleic acid in aqueous media. *JAOCS.* 57 : 39.
- Cillard, J., Cillard, P., Cormier, M. and Girre, L. 1980. *JAOCS.* 57 : 252.
- Cook, M. G. and P. McNamara. 1980. Effect of dietary vitamin E on dimethylhydrazine-induced colonic tumors in mice. *Cancer Res.*

- 40 : 1329-1331.
- Das, S. 1994. Vitamin E in the genes and prevention of cancer. A Review. *Acta Oncol.* 33 : 615-619.
- Day, A. J., and W. D. Brown., A. R. Johnson. 1959. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 37 : 295.
- Dolde, D., Vlahakis, C., and Hazebroek, J., 1999. Tocopherols in breeding lines and effects of planting location, fatty acid composition, and temperature during development. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76 : 349-355.
- Ebata, J., K. Kawai and H. Furukawa. 1993. Inhibitory effects of dietary leafy vegetables on mutagens and active oxygens. In: *Bronzetti, G et al edit, Antimutagenesis and anticarcinogenesis mechanism III, Plenum press, New York.* : 99-102.
- Feeter, D. K. 1974. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 51 : 184.
- Fredrich. W. 1988. Vitamins. Walter de Gruyter. Berlin. New York., : 251.
- Gottstein, T. and Grosch, W. 1990. *Fat Sci. Technol.* 92 : 139.
- Hartman, K. T. 1977. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 54 : 421.
- Hodge, W. K., K. W. Fassett., E. A. Maynard., W. L. Kowns. and R. D. Coye., Jr. 1964. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 6 : 512.
- Hood, R. L. 1998. Tocotrienols in metabolism, in phytochemicals-A new paradigm. Bidlack, W. R., Omaye, S. T., Meskin, M. S. and Jahner, D. (eds.) Lancaster, PA : Technomic Publishing Co., Inc. : 33-51.
- Ikeda, N. and K. Fukuzumi. 1977. Synergistic antioxidant effect of nucleic acid and tocopherols. *JAOCS.* 54 : 360.
- Jung, J. and D-H. Kim. 1982. α -Tocopherol as a fluorescent probe <I> its spectroscopic characterization and use as a probe of liposome, *J. Korean. Agricultural Chemical Society.* 25 (4) : Dec.
- Kahb, S. G., S. K. Katiyar, R. Agarwakal and H. Mukhta. 1992. Enhancement of antioxidant and phase II enzyme by oral feeding green tea polyphenols in drinking water to SHK-1 hairless mice; possible role in cancer chemoprevention. *Cancer Res.* 52 : 4050-4052.
- Kamal-Eldin, A. and Andersson R. 1997. Multivariate study of the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74 : 375-380.
- Kamal-Eldin, A., S. Gorgen., J. Pettersson., A-M. Lampi. 2000. Normal-phase high-performance liquid chromatography of tocopherols and tocotrienols Comparison of different chromatographic columns, *J. Chromatogr. A.* 881 : 217-227.
- Keles, Y., I. Öncel. 2002. Response of antioxidative defence system to temperature and water stress combinations in wheat seedlings, *Plant Science.* 163 : 783-790.
- Kim, H-G, H-S. Cheigh. 1992. Effect of lipoxygenase on oxidative stability of β -carotene and α -tocopherol, *Korean J. Food Sci. Technol.* 24 (1) : 37-41.
- Kim, H-G., H-S. Cheigh. 1995. Oxidative stability of wheat germ lipid and changes in the concentration of carotenoid and tocopherol during oxidation, *Korean J. Food Sci. Technol.* 27 (4) : 478-482.
- Kim, H-J., S-B. Lee., K-A. Park., I-K. Hong. 1999. Characterization of extraction and separation of rice bran oil rich in EFA using SFE process, *Separation and Purification Technology.* 15 : 1-8.
- Kim, H-L., D-H. Kim. 1972. Relative effectiveness of BHA and Ascorbic acid in retarding the rancidity development of potato chips stored in various conditions, *Korean J. Food Sci. Technol.* 4 (4) : 245-251.
- Kline, K., Yu, W., and Sanders, B.G. 1998. Vitamin E : mechanism of action of as tumor cell growth inhibitors, in cancer and nutrition. Prasad, K. N. and Cole, W. C. (eds.) Amsterdam, The Netherlands ; IOS. : 37-53.
- Ko, S-N., C-J. Kim., I-H. Kim. 2003. Effects of roasting condition on the quality characteristics and oxidative stabilities of rice germ, *Korean J. Food Sci. Technol.* 35 (3) : 347-352.
- Kong, Z. L., M. Mitsui, H. Murakami and H. Omura. 1989. Desmutagenicity of furan compounds toward some mutagens. *Agric. Biol. Chem.* 53 : 2073-2079.
- Lang, J. K., M. Schillaci, and G. Irvin. 1985. Vitamin E, in *Modern chromatographic analysis of the vitamins*, ed by de Leenheer AP, Lambert WE and de Ruyter MGM. Marcel-Dekker, New York. : 129-200.
- Lawson, T., J. Nunnally, B. Walker, E. Bresnik, D. Wheeler and M. Wheeler. 1989. Isolation of compounds with anti-mutagenic activity from savory chieften cabbage. *J. Agric. Food Chem.* 37 : 1363-1367.
- Lee, H. O. 1993. Antioxidant effect of tocopherols and rocotrienols and cis/trans-, trans/trans-hydroperoxide isomer from linoleic acid methylester, *Korean J. Food Sci Technol.* 25 (4) : 307-312.
- Lee, H. O. 1993. Oxidations product of α -, γ -Tocopherol and γ -tocotrienol, *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 36 (1) : 33-37.
- Lee, K. L., S. H. Rhee, K. Y. Park and J. O. Kim. 1992. Anti-mutagenic compound identified from perilla leaf (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21 : 302-307.
- Marks, C. 1988. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 65 : 1936.
- Marquard, V. 1990. Investigations on the influence of genotype and location on the tocopherol content of the oil from different oil crops. *Fat Sci. Technol.* 92 : 452-455.
- Meijboom, P. W., G. A. Jongenotter. 1979. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56 : 33.
- Mergens, W., J. J. Kamm, H. L. Newmark, W. Fiddler and J. Pensabene. 1978. In *Environmental aspects of N-nitrosocompounds: α -tocopherol; uses in preventing nitrosamin formation.* Walker, E.A., Casagnaro, M., Griციute, L., and Lyle, R.E., Ed, No16 IARC Publication, Lyon, France.
- Meydani S. N., M. Meydani., J. B. Blumber., L. S. Leka., G. Siber, R. Loszewske., C. Thompson., M. C. Pedrosa., R. D. Diamond and B. D. Stollar. 1997. Vitamin E supplementation and *in vivo* immune response in healthy elderly subjects. A randomized controlled trial. *J Am Med Ass.* 277 : 1380-1386.
- Meydani, S. N. and R. P. Tengerdy. 1993. Vitamin E and immune response, in *Vitamin E in Health and Disease*, ed by Packer L and Fuchs J. Marcel-Dekker, New York... : 549-561.
- Minkin, V. I., O. A. Osipov, and Y. A. Zhdanov. 1970. in "Dipole moments in organic chemistry" translation ad. by Vaughan, W. E., p.67, Plenum press, New York.
- Namiki, M., S. Udaka, T. Osawa, K. Tsuji and T. Kada. 1980. Formation of ascorbic acid-nitrite reaction: effects of reaction conditions on biological activities. *Mutation Res.* 73 : 21-28.
- Newmark, H. L. 1984. A hypothesis for dietary components as blocking agents of chemical carcinogenesis: plant phenolics and pyrrole pigments. *Nutr. Cancer.* 6 : 58-70.
- Niki, E., J. Tsuchiya., Y. Yoshikawa., Y. Yamamoto. and Y. Kamiya. 1986. Oxidation of lipids. XIII. Antioxidant activities of α -, β -, γ - and δ -tocopherols. *Bull. Chem. Soc. Japan.* 59 : 497.
- Osawa, T. 1992. Phenolic antioxidants in dietary plants as anti-mutagen. In: *M.T. Huang, C.T. Ho and C.Y. Lee, editors, Phenolic compound in food and their effects on health II. Antioxidants and cancer prevention. ACS. symposium series. 507, American Chemical Society, Washington D.C.* : 135-149.
- Osawa, T., A. Ide, D. S. Jeng and M. Namiki. 1987. Inhibition of lipid

- peroxidation by ellagic acid, *J. Agric. Food Chem.* 35 : 808-812.
- Patterson, R. E., White, E., Kristal, A.R., Neuhauser, M.L., and Potter, J.D. 1997. Vitamin supplements and cancer risk : the epidemiologic evidence. *Cancer Causes Control.* 8 : 786-802.
- Peterson, D. M. and Qureshi, A. A. 1993. Genotype and environment effects on tocopherols of barley and oats. *Cereal Chem.* 70 : 157-162.
- Piironen, V., E.-L. Syvaöja., P. Varo., K. Salminen. and P. Koivisto-inen. 1986. Tocopherols and tocotrienols in cereal products from Finland. *Cereal Chem.* 63 : 78-81.
- Pimmental and McClellan. 1960. in "the Hydrogen Bonds" Freeman, San Francisco.
- Podda, M., C. Weber., M. G. Trber. and L. Packer. 1996. Simultaneous determination of tissue tocopherols, tocotrienols, ubiquinol, and ubiquinones. *J. Lipid Res.* 37 : 893-901.
- Qureshi, A. A., H. Mo., L. Packer. and D. M. Peterson. 2000. Isolation and identification of novel tocotrienols from rice bran with hypocholesterolemic, antioxidant, and antitumor properties, *J. Agric. Food Chem.* 48 : 3130-3140.
- Qureshi, A. A., W. C. Burger., D. M. Peterson. and C. E. Elson. 1986. The structure of an inhibitor of cholesterol biosynthesis isolated from barley. *J. Biological Chemistry. Issue of August 15.* 261 (23) : 10544-10550.
- Ramel, C., U. K. Alekperov, B. N. Ames, T. Kada and L. W. Wattenberg. 1986. Inhibitors of mutagenesis and their relevance to carcinogenesis. *Mutation Res.* 168 : 47-65.
- Ryu, B. H. 1991. Eating habits preventing against cancer (in Korean). *Korean J. Food & Nutrition.* 40 : 213-229.
- Ryu, B. H., D. S. Kim and D. B. Sin. 1989. Antitumor activity of seaweed toward sarcoma-180 (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* 21 (5) : 595-599.
- Ryu, T. H. 1985. Food, nutrition and cancer (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutrition.* 14 (3) : 305-313.
- Saatomura, Y., Kimura, M., Itokawa, Y. 1992. *J. Chromatogr.* 625 : 372.
- Samejima, K., K. Kanazawa and G. Nanno. 1995. Luteoline: a strong antimutagen against dietary carcinogen, Trp-P-2 in peppermint, sage and thyme. *J. Agric. Food. Chem.* 43 : 410-414.
- Schuep, W., R. Rettenmaier. 1994. *Method Enzymol.* 234 : 294.
- Sheppard, A. J., J. A. T. Pennington. and J. L. Weihrauch. 1993. Analysis and distribution of vitamin E in vegetable oils and foods, in *Vitamin E in health and disease*, ed by Packer L and Fuchs J. Marcel-Dekker, New York. : 9-31.
- Shin, T. S. and J. S. Godber. 1993. Improved high-performance liquid chromatography of vitamin E vitamers on normal-phase columns. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 70 : 1289-1291.
- Shklar, G. and Oh, S.K. 2000. Experimental basis for cancer prevention by vitamin E. *Cancer Invest.* 18 : 214-222.
- Slover, H. T., R. H. Thompson Jr., G. V. Merola. 1983. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60 : 1524.
- Sponsler, S. 1996. *Food Test Anal.* 1 (3) : 45.
- Stampfer, M. J. and Rimm, E. B. 1995. Epidemiologic evidence for vitamin E in prevention of cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 62 : 1365-1369.
- Stone, W. L., and Papas, A. M. 1997. Tocopherols and the etiology of colon cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 89 : 1006-1014.
- Summerfield, F. W. and Tappel, A. A. 1984. Effect of dietary polyunsaturated fats and vitamin E on aging and peroxidation damages to DNS. *Arch. Biochem. Biophys.* 233 : 408-416.
- Tsuneo, K., K. Masayuki, A. Katsuhiro and K. Shuhach. 1984. Adsorption of pyrolysate mutagen by vegetable fibers. *Mutation Res.* 141 : 149-152.
- Txsuneo, K., M. Kazuyoshi and I. Tadashi. 1978. Antimutagenic action of vegetable factors on the mutagenic principle of tryptothan pyrolysate. *Mutation Res.* 53 : 351-353.
- Vinogradov, S. N. and R. H. Linnell. 1971. in "Hydrogen Bonding", p.15, Van Nostrand Reinhold Co.
- Wahyuni, W. T., K. Jinno. 1988. *J. Chromatogr.* 448 : 398.
- Wattenberg, L. W., J. B. Coccia and L. K. T. Lan. 1980. Inhibitory effects of phenolic compounds on benzo[a]pyrene-induced neoplasia. *Cancer Res.* 40 : 2820-2823.
- Weiss, J. J. 1993. Food oil and their uses. 2nd edition, The Avi Publishing Co. Inc., Westport, Connecticut. : 110.
- White, P. J. and Xing, Y. 1997. Antioxidants from cereals and legumes, in natural antioxidant chemistry, health effects, and application. Shadihi, F. (eds.) Champaign, IL: *Am. Oil Chem. Soc. Press.* : 25-63.
- Wilder, O. H. M., P. C. Ostby. and B. A. Gregoey. 1960. *J. Agr. Food Chem.* 8 : 504.
- Yoon, S-H. and J-W. Kim. 1988. Antioxidative effects of various antioxidants on the soybean oil, *J. Korean Soc. Food Nutr.* 17 (1) : 19-23.
- Yu, W., M. Simmons-Menchaca., A. Gapor., B. G. Sanders., and K. Kline. 1999. Induction of apoptosis in human breast cancer cells by tocopherols and tocotrienols. *Nutr. Cancer.* 33 : 26-32.
- Zhai, C. K., T. A. Yin, W. R. Yao, D. K. Liu, W. S. Qian. 1992. Analysis of nutritional composition of Chinese wild rice. *Acta Nutrimenta Sinica.* 14 : 210-214.
- Zhai, D. K., C. M. Lu., X. Q. Zhang., G. J. Sun. and K. J. Lorenz. 2001. Comparative study on nutritional value of Chinese and North American wild rice, *J. Food Comp. and Anal.* 14 : 370-382.
- Zhang, Y., P. Talalay, C. G. Cho and G. H. Posner. 1992. A major inducer of anticarcinogenic protective enzyme from broccoli. *Pro. Natl. Acad. Sci., U.A.S.* 89 : 2399-2403.
- Zielinski, H., H. Kozłowska., B. Lewczuk. 2001. Bioactive compounds in the cereal grains before and after hydrothermal processing, *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* 2 : 159-169.