

근적외선분광분석기를 이용한 미강의 Tocopherol과 Tocotrienol 함량 분석

김용호*† · 강창성** · 이영상*

*순천향대학교 생명과학부, **경기도 농업기술원

Quantification of Tocopherol and Tocotrienol Content in Rice Bran by Near Infrared Reflectance Spectroscopy

Yong-Ho Kim*†, Chang-Sung Kang**, and Young Sang Lee*

*Div. of Life Sciences, Soonchunhyang Univ., Asan 336-745, Korea

**Gyenggi-do Agricultural Research and Extension Services, Hwasong 445-972, Korea

ABSTRACT : Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) is a rapid and accurate analytical method for determining the composition of agricultural products and feeds. This study was conducted to determine tocopherol and tocotrienol contents in rice bran by using NIRS system. Total 80 rice bran samples previously analyzed by HPLC were scanned by NIRS and over 60 samples were selected for calibration and validation equation. A calibration equation calculated by MPLS(modified partial least squares) regression technique was developed and coefficient of determination for tocopherol and tocotrienol content were 0.975 and 0.984, respectively, in calibration sets. Each calibration equation was fitted to validation set that was performed with the remaining samples not included in the calibration set, which showed high positive correlation both in tocopherol and tocotrienol content file. This results demonstrate that the developed NIRS equation can be practically used as a rapid screening method for quantification of tocopherol and tocotrienol contents in rice bran.

Keywords: NIRS, rice bran, tocopherol, tocotrienol, HPLC, MPLS regression.

쌀은 가장 주요한 한국의 식량자원으로 현재 약 115만ha의 경지에서 연간 526만 톤이 생산되고 있다. 국내에서 생산되는 쌀은 일부 떡이나 미과 등의 가공식품의 원료로 사용될 뿐 대부분 취반용으로 이용되는데, 이들은 일반적으로 영과 종피를 제거하는 도정 과정을 거쳐 백미로 가공하여 이용되고 있다. 현재 현미는 백미에 비해 건강식으로 인정받고 있는데, 그 이유는 도정 과정 중에 미강 층에 존재하는 단백질, 지질, 식이 섬유 및 비타민 등 다양한 영양소가 상실되기 때문이다. 그러나 연간 60만 톤이나 생산되는 것으로 추정되는 미강은 우수

한 식품 영양원임에도 불구하고 극히 일부가 미강유 제조에 사용될 뿐, 대부분 사료용으로 또는 농업폐기물로 처리되고 있는 실정이다.

미강 내에는 일반적인 영양요소 외에도 다양한 기능성 물질이 함유되어 있는데 특히 비타민 E인 토코페롤과 토코트리엔올이 풍부하게 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(Gould & Haag, 1991; Kamel & Appelqvist, 1996; Sugano & Tsuji, 1997; Park *et al.*, 2003). 토코트리엔올(tocotrienol)은 토코페롤(tocopherol)과 같은 비타민 E 계열의 비타민(vitamer)로서 영양적 가치가 없는 것으로 간주되어 왔으나, 최근 1990년대 중반 이후 항산화, 항암, 고지혈증 개선, 혈당 저하, 동맥경화 완화 등 다양한 생리 활성 효과면에서 토코페롤 보다 40~60 배 이상 월등한 것으로 밝혀진 이래 집중적으로 의약품 및 건강보조식품의 소재로 개발되고 있다(Qureshi *et al.*, 1995; Serbinova & Packer, 1994; Tomeo *et al.*, 1995). 대부분의 곡물에 토코페롤이 함유되어 있음에 반해 토코트리엔올은 특이하게도 벼의 미강과 팜 오일(palm oil), 그리고 보리의 배아 등 일부에서만 함유한 것으로 보고되어 있는데, 그 중 상업적으로 이용가능한 것은 미강과 팜 오일 정도이다(Babu *et al.*, 1992; Kamat & Sarma, 1997; Yu & Menchaca, 1999). 미국과 일본 등지에서는 'MaxLife Rice Tocotrienols', 'Nutri-Rice' 등 미강 중 토코트리엔올을 활용한 수십 종의 다양한 건강보조식품 및 심지어 화장품까지 개발, 시판되고 있으며, 쌀이 주곡작물인 우리 나라에도 한가지 종류의 완제품이 수입되어 판매되고 있다. 특히 우리나라는 오랜 벼 재배의 역사와 더불어 다양한 유전자원과 육종 및 재배 기술을 보유하고 있으며, 현대화된 미곡종합처리장(RPC)이 지속적으로 건립되고 있기 때문에 도정 후 농부산물로 대량 생산되고 있는 미강의 산업화 방안이 강구되어야 할 것이다.

비타민 E와 같은 기능성 물질의 분석은 일반적으로 실험실 수준에서 까다로운 과정을 거쳐 정량적으로 측정된다. 현재 통상적으로 정량 측정하는 방법은 시료를 목적하는 물질별로 추

*Corresponding author: (Phone) +82-41-530-1281 (E-mail) yohokim@sch.ac.kr

<Received February 25, 2004>

출 분리하는 방법인데, 이러한 방법은 시료의 측정에 따른 단점을 가지고 있으며 시료를 분쇄하여 분석하여야 하는 문제가 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 비파괴적으로 신속 용이하게 물질 분석을 하는 방법의 중요성이 대두되고 있다.

NIRS(근적외선분광분석기)에 의한 방법은 시료를 파괴없이 있는 그대로 신속하게 정성 및 정량분석을 가능하게 할 뿐만 아니라 다량의 시료를 단시간내에 정확하게 분석할 수 있어 최근 각 분야에서 다양하게 쓰이고 있는 분석기기이다(Velasco *et al.*, 1996; Daun *et al.*, 1994; Williams *et al.*, 1991). 이 밖에 NIRS를 이용하여 분석된 기지의 시료 성분 함량을 자료화하여 library를 구축한 후 새로운 제품의 스펙트럼과 대조·평가를 함으로써 제품의 품질 평가를 할 수 있어, NIRS의 control chart를 이용하여 시료의 일정한 품질관리를 항상 관측할 수 있는 기술도 개발이 가능하다. 국내에서도 NIRS를 이용한 성분 함량 분석에 관한 보고(Choung *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2001; Jung *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 1995)가 계속해서 발표되고 있다. 이와 같이 NIRS는 전처리가 필요없는 비파괴분석이 큰 장점이므로 미강의 분말상태에서 주요 성분 함량을 분석할 수 있다면 미강의 품질 평가를 위한 많은 시간과 노력을 줄일 수 있다. 본 연구에서는 미강에 함유되어 있는 토코페롤 및 토코트리에놀 함량을 신속하게 측정하기 위하여 NIRS를 이용한 분석 방법을 검토하였기에 그 결과를 발표하고자 한다.

재료 및 방법

미강 함유 비타민 E 분석

미강에 함유된 비타민 E(tocotrienol, tocopherol) 함량의 분석에 사용된 시험 재료는 경기도 농업기술원의 시험재배 포장에서 2001년도에 표준 재배법(5월 25일 중묘 기계이앙, 재식거리: 30×14 cm, N-P-K:11-4.5-5.7 kg/10a)으로 생산된 공시 유전자원(조생종인 오대벼, 중만생종인 추청, 유색미인 흑진주, 재래종인 다마금, 대립형인 대립벼1호, 교배종인 안다(인디카×자포니카), 일본계 고품질미인 고시히카리 등 80개 계통 및 품종)을 수확하여 ToYo(model MC-90A) 도정기로 중량비 8.5%가 되도록 도정한 것을 사용하였다. 비타민 E(tocotrienol, tocopherol)의 분석방법은 50 ml 원심분리관에 EtOH 및 미강시료를 넣고 80°C 항온수조에서 10분간 방치 후 saponification 시키고 증류수 5 ml, hexane 5 ml과 섞어 교반 후 원심분리하였으며, 다시 핵산층을 분액여두에 옮기고 증류수로 세척 후 Na₂SO₄를 통과시키고 N₂ gas로 hexane을 제거한 후 isoctane 1 ml에 녹여 HPLC로 분석하였다. HPLC 조건은 isoctane/ethyl acetate/acetic acid/2,2-Dimethoxypropane (DMP)(98.15 : 0.9 : 0.85 : 0.1)를 이동상(1.5 mL/min)으로 하여 Supelcosil™ LC-Si(5 μm, 25 cm×46 mm) 컬럼을 이용, 형광검출기로 분석하였다.

NIRS 검량식 작성

NIRS를 이용한 정량분석 방법은 먼저 수집된 유전자원들의 NIR spectrum을 얻은 후, 검량식을 유도하여야 한다. NIR spectrum은 가시광선 및 근적외선 대역(400~2,500 nm)에서 미강 상태로 스캐닝하였으며, 지방 함량, 비타민 E 및 토코페롤, 토코트리에놀 함량치와 비교 분석하여 검량식을 작성하였다. 분석에 이용된 기기는 NIRSystem model 6500(FOSS NIRSystem)이었다. 검량식은 우선 spectrum을 4가지 수처리 방법을 통하여 1차적으로 noise와 bias를 줄였다. 수처리(math treatment)는 1차미분법을 이용한 1, 4, 4, 1(1st derivative, 4 nm gap, 4 points smooth, and 1 point second smooth)조건, 1, 10, 10, 1 조건과 2차미분을 이용한 2, 4, 4, 1 조건 및 2, 10, 10, 1 조건을 사용하였다. 수처리된 spectrum은 회귀분석을 통하여 검량식을 작성하였다. 회귀분석은 Step-up, Step-wise, 그리고 MPLS(Modified Partial Least Squares)법을 사용하여 검량식을 산출하였으며, 작성된 검량식을 상호 비교 분석한 후 적정의 검량식을 도출하였다.

결과 및 고찰

미강 성분의 NIRS 검량식 작성

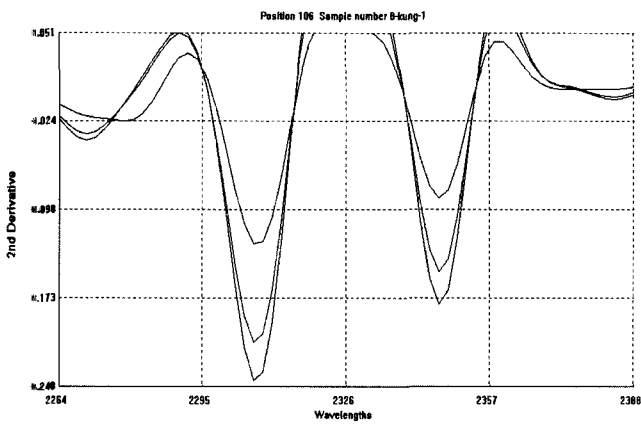
미강 함유 성분 함량을 속시렛 방법(지방)과 HPLC를 이용하여 분석(비타민 E, 토코페롤, 토코트리에놀)한 결과는 Table 1과 같다. 다양한 유전자원을 분석 재료로 이용한 까닭에 토코페롤과 토코트리에놀 함량은 각각 3.43~27.2 mg/kg, 2.29~32.8 mg/kg의 범위를 보이는 등 성분 함량들의 변이가 크게 나타났다. 이러한 넓은 범위의 성분 변이는 oil과 비타민 E 전체 함량에서도 분석되어졌는데, 이런 결과는 NIRS를 이용하여 미강의 성분 분석을 함에 있어 유리하게 작용할 수 있었다.

NIRS를 이용하여 NIR 대역(1,100~2,500 nm)에서 미강의 스펙트럼을 구하였는데 Table 1의 결과와 같이 NIR 스펙트럼은 다양하게 나타났다. Fig. 1은 실험실에서 HPLC 등을 이용하여 분석된 토코페롤 및 토코트리에놀 함량의 최고 및 최저치 시료가 나타내는 스펙트럼 중에서 두 시료간 폭이 가장 크게 나타난 특정 파장 대역의 스펙트럼이다. 각 스펙트럼은 NIRS 대역에서 scanning이 이루어진 후, 공시 시료 스펙트럼 간 일정한 바탕선 유지 및 상호 비교를 위하여 2차 미분하여

Table 1. Laboratory reference values of oil, tocopherol, tocotrienol, and vitamin E concentration in rice bran.

	No. of samples(n)	Range	Mean	Std. dev
Oil (%)	101	6.53~29.3	22.4	2.77
Vitamin E (mg/kg)	80	5.72~56.8	44.6	13.8
Tocopherol (mg/kg)	80	3.43~27.2	18.3	6.66
Tocotrienol (mg/kg)	80	2.29~32.8	26.3	7.88

A: Tocopherol



B: Tocotrienol

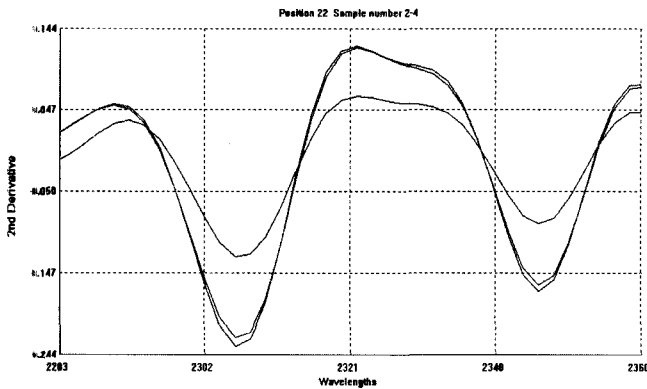


Fig. 1. Second derivative of high and low spectra in the region 2,260~2,380 nm (A: tocopherol) and 2,280~2,360 nm (B: tocotrienol).

도식하였다. 토코페롤 및 토코트리에놀 공히 2,305 nm와 2,348 nm 근처에서 최고치와 최저치 시료간 스펙트럼 차이 폭이 크게 나타났다. 이것은 토코페롤과 토코트리에놀의 화학적 구조가 비슷함을 나타내는 결과라 사료되며, 따라서 이러한 대역이 이들 성분분석의 파장범위임을 짐작할 수 있었으나 앞으로 좀더 세밀한 검토가 요구된다고 하겠다.

Table 2는 미강의 비타민 E 함량을 NIRS를 이용하여 검량식을 작성한 결과이다. 회귀분석법은 step-wise, step-up 및 MPLS(modified partial least squares) 방법을 이용하였으며 수처리하는 1차미분 및 2차미분을 이용하는 4가지 방법을 사용하였다. 즉, 1차미분법을 이용한 1,4,4,1(1st derivative, 4nm gap, 4 points smooth, 1 point second smooth)조건 및 1,10,10,1 조건과 2차미분을 이용한 2,4,4,1 조건 및 2,10,10,1 조건을 사용하였다.

표에서 보는 바와 같이 R² 및 SEC 값으로 판단할 때 MPLS 방법이 step-wise 및 step-up 방법 보다 우수한 것으로 나타났다. 미분 방식에 따른 MPLS의 4가지 수처리 방법에 의한 비타민 E 함량의 검량식은 2차 미분법이 우수하였다. 그러나 NIRS 이용시 유용한 검량식을 얻기 위해서는 validation

Table 2. Calibration parameters according to three different regression analyses and four mathematical treatments for vitamin E content in rice bran.

Regression analysis	Math treatment	Vitamin E(mg/kg)		
		R2*	Mean	SEC**
Step-wise	1, 4, 4, 1	0.589	47.2	7.17
	1, 10, 10, 1	0.529	49.0	6.51
	2, 4, 4, 1	0.736	46.6	6.59
	2, 10, 10, 1	0.694	49.7	5.10
Step-up	1, 4, 4, 1	0.479	46.3	8.55
	1, 10, 10, 1	0.578	46.7	7.58
	2, 4, 4, 1	0.539	45.1	8.93
	2, 10, 10, 1	0.686	44.6	7.73
Modified partial Least Squares (MPLS)	1, 4, 4, 1	0.925	51.3	1.70
	1, 10, 10, 1	0.952	48.3	2.35
	2, 4, 4, 1	0.971	49.0	1.61
	2, 10, 10, 1	0.975	48.0	1.75

Math treatment a, b, c, d: a = derivative function; b = gap; c =smooth; d = second smooth

*R² = squared coefficient of multiple determination in calibration; **SEC = standard error of calibration

file을 작성한 후 calibration file에서 얻어진 검량식을 적용하여 봄으로써 그 유효성을 판단하여야 한다. Validation file은 NIRS의 프로그램인 WinISI에서 calibration file 과 스펙트럼에 중복성이 나타나지 않는 시료들을 배제시킨 후, 나머지 시료들을 이용하여 자동적으로 구성되어졌다. 따라서 비타민 E의 validation file을 작성한 후 검량식의 유효성 여부를 분석한 결과 2,10,10,1의 수처리에서 r² 값이 0.932를 나타내었으며, 이것은 추후 비타민 E의 일상분석을 수행함에 있어 본 연구에서 도출된 검량식이 충분히 적용될 수 있음을 보여주는 결과라고 판단된다.

Table 3은 미강의 토코페롤 및 토코트리에놀 함량 분석을 위한 NIRS 검량식 작성의 결과이다. Table 2와 마찬가지로 MPLS법의 2차 미분이 검량식 작성에 적당한 것으로 나타났는데, 토코페롤은 2,4,4,1의 수처리 방법을 통한 검량식이 우수한 것으로 판단되었다. 토코트리에놀은 검량식 작성에서는 2,4,4,1 및 2,10,10,1의 검량식이 비슷한 경향이었으나 validation file 에서는 2,10,10,1의 상관계수가 0.956을 나타낸 반면 2,4,4,1은 0.869에 그쳐 2,10,10,1의 수처리가 우수한 것으로 판단되었다.

Table 4는 Table 3의 결과에 따른 토코페롤 및 토코트리에놀 검량식 작성의 적합모델에 의한 각 parameters를 나타내었다. 토코트리에놀의 경우 검량식이 validation file 에서도 상관관계가 높게 나타났으나 토코페롤은 이에 미치지 못하는 결과를 보였다. 그러나 토코페롤의 검량식도 일상 분석에 있어서는 무리없이 사용할 수 있으리라 판단된다. 이와 같이 미강

Table 3. Calibration parameters according to three different regression analyses and four mathematical treatments for tocopherol and tocotrienol content in rice bran.

Regression analysis	Math treatment	Tocopherol (mg/kg)			Tocotrienol (mg/kg)		
		R ²	Mean	SEC	R ²	Mean	SEC
Step-wise	1, 4, 4, 1	0.504	20.7	3.37	0.510	26.9	5.22
	1, 10, 10, 1	0.583	21.3	2.64	0.735	28.1	2.93
	2, 4, 4, 1	0.549	20.6	3.22	0.847	28.6	2.13
	2, 10, 10, 1	0.645	19.0	3.59	0.871	28.6	2.12
Step-up	1, 4, 4, 1	0.547	18.7	4.34	0.511	26.3	5.52
	1, 10, 10, 1	0.538	18.9	4.30	0.341	27.4	5.28
	2, 4, 4, 1	0.528	18.5	4.48	0.541	27.4	4.41
	2, 10, 10, 1	0.532	18.5	4.54	0.583	26.6	4.81
Modified partial Least Squares (MPLS)	1, 4, 4, 1	0.889	20.0	1.97	0.946	28.8	1.17
	1, 10, 10, 1	0.923	21.1	1.24	0.963	29.5	0.70
	2, 4, 4, 1	0.975	19.8	0.89	0.988	28.4	0.60
	2, 10, 10, 1	0.950	20.2	1.23	0.984	28.5	0.69

Table 4. Calibration and cross validation parameters by MPLS regression for tocopherol and tocotrienol contents in rice bran.

	Math treatment	Calibration set		Validation set	
		R ²	SEC	r ²	SEP
Tocopherol	2, 4, 4, 1	0.975	0.889	0.846	2.205
Tocotrienol	2, 10, 10, 1	0.984	0.688	0.956	1.149

*SEP : Standard error of prediction in validation

상태에서도 NIRS를 이용하여 비타민 E 뿐만 아니라 토크페롤 및 토크트리엔올 함량을 분석할 수 있음을 알 수 있었다. NIRS 분석의 장점은 시료의 전처리 없이 비파괴분석이 가능하다는 점이다. 이런 관점에서 볼 때 미강 상태에서의 여러 가지 성분함량의 분석은 NIRS를 응용함으로써 여러 가지 신속 분석법 개발이 가능하다는 것을 시사하는 것이라 생각한다.

Fig. 2는 HPLC에서 분석된 토크페롤, 토크트리엔올의 함량과 미강상태의 NIRS 검량식에서 도출한 분석치와의 상관관계

를 나타낸 것이다. NIRS가 성분 함량 분석에 유용하게 이용되기 위해서는 분석 시료의 성분 함량 폭이 넓은 유전자원들이 고른 분포도로 검량식 작성에 사용되어야 한다. 그림에서 보는 바와 같이 본 검량식에 이용된 유전자원의 토크페롤 및 토크트리엔올 함량 분포는 한쪽에 치우치지 않고 고르게 분포되어 있음을 알 수 있으며, 따라서 본 연구에서 도출된 검량식은 미지의 시료를 대상으로 한 토크페롤 및 토크트리엔올 함량의 일상 분석에 무리없이 적용될 수 있으리라 판단된다. 한편, 토크페롤 및 토크트리엔올이 미강에 함유된 양이 미량이므로 보다 정확한 함량 분석이 수행되기 위해서는 추후 계속적인 유전자원 수집과 함께 검량식 보정이 필요할 것으로 사료된다.

적 요

미강에 함유되어 있는 토크페롤 및 토크트리엔올의 함량을 비파괴적으로 신속하게 추정하기 위하여 NIRS(근적외선 분광

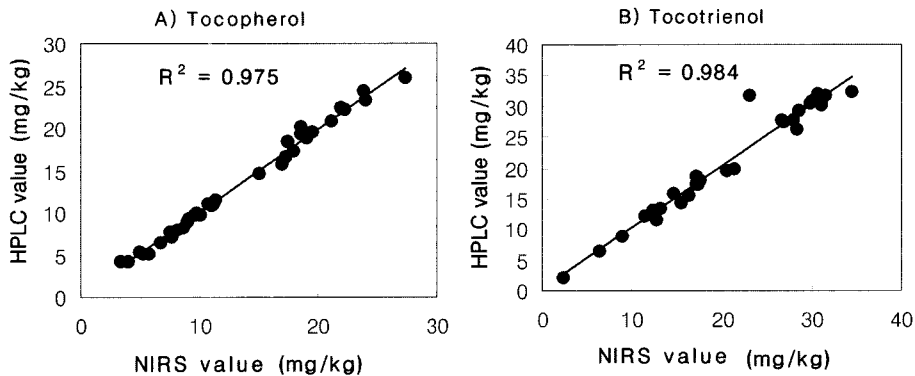


Fig. 2. Correlation plot for tocopherol and tocotrienol contents, NIRS data vs. laboratory data of the calibration set in rice bran samples.

분석기)를 이용한 분석 방법을 검토하였다. 벼 유전자원 80 계통의 미강을 사용하여 HPLC에서 분석된 토코페롤 및 토코트리엔올의 함량치를 NIRS 스펙트럼에 적용시킨 후 검량식을 작성하였다. NIRS의 검량식을 몇가지 방법에 의하여 비교 분석한 결과 2차미분된 스펙트럼을 MPLS(Modified Partial Least Squares)를 이용한 회귀식에 이용하는 것이 가장 적합하였다. HPLC를 이용한 유전자원들의 성분 함량과 NIRS에서도 출된 검량식과의 상관계수는 토코페롤과 토코트리엔올이 각각 0.992, 0.953을 나타내었다. 이들 검량식은 validation file에서도 0.846 및 0.956의 높은 상관을 보여 미강 상태에서 토코페롤 및 토코트리엔올의 함량을 NIRS를 이용하여 신속하게 분석할 수 있을 것으로 판단되었다.

사 사

본 논문은 2002년도 농림부 농림기술개발연구과제(201034-05-2-SB010)의 연구비 지원에 의하여 일부 수행되었다.

인용문헌

- Babu, U. S. and M. Y. Jenkins. 1992. Effect of short-term feeding of barley oil extract containing naturally occurring tocotrienols on the immune response of rats. *Ann. NY Acad. Sci.* 669 : 317-319.
- Choung, M. G., I. Y. Baek, S. T. Kang, W. Y. Han, D. C. Shin, H. P. Moon, and K. H. Kang. 2001. Non-destructive method for selection of soybean lines contained high protein and oil by near infrared reflectance spectroscopy. *Korean J. Crop Sci.* 46(5) : 401-406.
- Daun, J. K., K. M. Clear, and P. Williams. 1994. Comparison of three whole seed near-infrared analyzers for measuring quality components of canola seed. *JAOCS.* 71(10) : 1063-1068.
- Gould, M. N. and J. D. Haag. 1991. A comparison of tocopherol and tocotrienol for the chemoprevention of chemically induced rat mammary tumors. *Am. J. Clin. Nutr.* 53 : 1068S-1070S.
- Jung, C. S., B. J. Kim, Y. C. Kwon, W. Y. Han, and Y. H. Kwack. 1998. Analysis of protein and moisture contents in Pea using near-infrared reflectance spectroscopy. *Korean J. Crop Sci.* 43(2) : 101-104.
- Kamal, E. A. and L. A. Appelqvist. 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids* 31 : 671-701.
- Kamat, J. P. and H. D. Sarma. 1997. Tocotrienols from palm oil as effective inhibitors of protein oxidation and lipid peroxidation in rat liver microsomes. *Mol. Cell Biochem.* 170 : 131-137.
- Kim, Y. H., B. R. Choi, H. Y. Baek, and Y. S. Lee. 2002. Quantification of icariin contents in *Epimedium Koreanum* N. by using a Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *K. J. Medicinal Crop Sci.* 10(5) : 340-343.
- Kim, Y. H., H. T. Yun, W. K. Chung, and S. D. Kim. 1995. Determination of seed component contents in whole soybean seeds by Near Infrared Spectroscopy analysis. *RDA J. Agricul. Sci.* 37(2) : 91-94.
- Lee, H. B., B. R. Choi, C. S. Kang, Y. H. Kim, and Y. J. Choi. 2001. Determination of seed protein and oil concentration in Kiddy Bean by near infrared spectroscopic analysis. *Korean J. Crop Sci.* 46(3) : 248-252.
- Park, K. Y., C. S. Kang, Y. C. Cho, Y. S. Lee, and Y. S. Lee. 2003. Genotypic difference in tocopherol and tocotrienol contents of rice bran. *Korean J. Crop Sci.* 48(6) : 469-472.
- Qureshi, A. A., B. A. Bradlow, L. Brace, J. Manganello, D. M. Peterson, B. C. Pearce, J. J. K. Wright, A. Gapo, and C. E. Elson. 1995. Response of hypercholesterolemic subjects to administration of tocotrienols. *Lipids* 30 : 1171-1177.
- Serbinova E. A. and L. Packer. 1994. Antioxidant properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol. *Methods Enzymol.* 234 : 354-366.
- Shenk, J. S. and M. O. Westerhaus. 1991. Population structuring of near infrared spectra and modified partial least squares regression. *Crop Science* 31 : 1548-1555.
- Sugano, M. and E. Tsuji. 1997. Rice bran oil and cholesterol metabolism. *J. Nutr.* 127 : 521S-524S.
- Tomeo, A. C., M. Geller, T. R. Watkins, A. Gapor, and M. L. Bierbaum. 1995. Antioxidant Effects of Tocotrienols in Patients with Hyperlipidemia and Carotid Stenosis. *Lipids* 30 : 1179-1183.
- Velasco, L., J. Fernandez-Martinez, and A. D. Haro. 1996. Screening ethiopian mustard for erucic acid by near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* 36 : 1068-1071.
- Williams, P. C., H. M. Cordeiro, and M. F. T. Hamden. 1991. Analysis of oat bran products by Near Infrared reflectance Spectroscopy. *Cereal Foods World* 36(7) : 571-574.
- Yu, W. and M. S. Menchaca. 1999. Induction of apoptosis in human breast cancer cells by tocopherols and tocotrienols. *Nutr. Cancer* 33 : 26-32.