

토코페롤류의 항산화작용과 Linoleic Acid Methyleneester에서 생성된 cis/trans-, trans/trans-Hydroperoxide Isomer

이 형 옥
한국인삼연구소

Antioxidant Effect of Tocopherols and Tocotrienols and cis/trans-, trans/ trans-Hydroperoxide Isomer from Linoleic Acid Methyleneester

Hyung-Ok Lee

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute

Abstract

Antioxidant effect was studied in model system with linoleic acid methyleneester and tocopherols (α -, β -, γ -, δ -tocopherol and α -, γ -, δ -tocotrienol) under definite autoxidation condition-temperature (40, 60, 80°C), O_2 (0, 10, 20% O_2 in N_2). 13-Hydroperoxy-9-cis-11-trans-, 13-hydroperoxy-9-trans-11-trans-, 9-hydroperoxy-10-trans-12-cis-, 9-hydroperoxy-10-trans-12-trans-octadecadienoic acid methyleneester as the major oxidation product were produced from linoleic acid methyleneester by autoxidation, analyzed with HPLC and antioxidant activities were compared by their quantitative changes. Experimental results showed that all added tocopherols except α -tocotrienol had antioxidant effect at 60°C, and also α -tocopherol, α -tocotrienol and δ -tocotrienol had prooxidant effect at 80°C. And cis/trans-hydroperoxide was predominantly produced at 40°C, but trans/trans-hydroperoxide at 80°C. Except no reproductive experimental data in produced hydroperoxides amount, the production ratio of cis/trans-: trans/trans-hydroperoxides in the autoxidation condition of range from 40°C/10% O_2 to 60°C/20% O_2 were as follows: α -T> α -T₃> γ -T> β -T> γ -T₃> δ -T> δ -T₃. This result showed that α -tocopherol among tocopherols had the lowest antioxidant effect.

Key words: antioxidant effect, linoleic acid methyleneester, tocopherol, tocotrienol, cis/trans-hydroperoxide isomer

서 론

유지산패에 있어서 그 주요한 원인의 하나인 자동산화는 free-radical에 의한 연쇄 반응으로, 자동산화과정의 주요 중간 생성체인 hydroperoxide를 형성한다^(1,2). 이 자동산화과정에서 항산화제는 radical inhibitor로써, 생성된 free-radical을 안정화 시킴으로써, hydroperoxide의 생성속도를 효과적으로 억제하는 것으로 알려져 있다⁽³⁾. 항산화제로서의 토코페롤류(α -, β -, γ -, δ -tocopherol and α -, β -, γ -, δ -tocotrienol)의 활성은 현재까지는 주로 토코페롤에 한정되어 연구되어 왔다. 그 항산화효과는 $\alpha < \beta < \gamma < \delta$ 의 순서로 알려져 있다^(4, 5).

온도와 기질의 종류에 따른 조건에서 γ -, δ -tocopherol은 α -tocopherol에 비하여 우수한 항산화성이 있음이 보고된 바 있다^(6, 7). α -tocopherol의 경우에 있어서는 그 농도와 기질에 따라 산화촉진효과도 있음이 고찰된 바

있다^(8, 10). tocopherols에 비하여 tocotrienols에 대한 연구는 현재까지 그 영양학적, 식품학적 연구에 있어서 잘 알려져 있지 않고 있다. 천연 tocopherols가 주로 식물성 유지에 많이 분포되어 있는 반면, tocotrienols는 palm oil과 coconut oil 등에 비량의 α -tocotrienol과, γ -tocotrienol이 함유되어 있음이 보고된 바 있다^(11,12). 본 연구에서는 필수지방산으로서의 그 영양학적 의의가 큰 linoleic acid를^(5,9,10,13,14), 또한 자동산화반응의 초기 기질물질로서의 산화안정성과 자동산화시의 반응속도를 고려하여 그 methyleneester를^(5,6,14, 20) 기질로 선정하였다.

식용유지나 지방질 성분의 자동산화는 매우 중요한, 그러나 잠정적인 안정성(metastable) 밖에 못가지는 hydroperoxide의 형성, 축적에서 이 hydroperoxide류의 계속 산화, 분해에 의한 더 안정한 각종 산화 생성물의 형성, 축적으로 이어진다⁽¹⁾. 즉, 유지의 자동산화기구의 전체적인 개관을 위해서는 자동산화과정 전체를 hydroperoxide의 형성 및 축적단계와 hydroperoxide의 계속 산화, 분해와 최종 산화생성물들의 형성단계로 나누어서 설명하는 것이 편리하다⁽¹⁾. 항산화성을 비교 측정하는

Corresponding author: Hyung-Ok Lee, Korean Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon, 305-345, Korea

실험방법으로는 Shelf Storage Tests, Oven Storage Tests, AOM(Active Oxygen Method), Oxygen Absorption Tests 등을 들 수 있다⁽⁹⁾.

본 실험에서는 linoleic acid methylester를 기질로 하여 7가지 tocopherol isomer(α -, β -, γ -, δ -tocopherol과 α -, γ -, δ -tocotrienol)를 천연유지에 함유되어 있는 정도의 농도인 500 ppm 수준으로⁽²¹⁾ 첨가하여, 자동산화반응시 hydroperoxide의 형성 및 축적단계에서 생성되는 주요 산화생성물로 알려진⁽²²⁾ 4종의 metastable한 hydroperoxide를 종래의 hydroxylation과 같은 전처리 과정^(23, 27) 없이 직접 HPLC로 분석하였으며, 그 양적인 비교로써 각 토크페놀류의 항산화적 특성을 고찰하였다.

재료 및 방법

재료

α -, β -, γ -, δ -tocopherol(이하 α -, β -, γ -, δ -T로 표기)은 Merck社 Tocopherol-Isomer(순도 97% 이상)를 사용하였고, α -, γ -, δ -tocotrienol(이하 α -, γ -, δ -T₃로 표기)은 latex로부터 분리하여(순도 96% 이상)사용하였다⁽²⁸⁾. Linoleic acid methylester는 Sigma社 제품(95%)을 사용하였다. HPLC용 용매는 Merck社 제품이었다.

자동산화

시험관에 500 mg의 linoleic acid methylester를 정확히 평량하여, n-hexane에 용해시킨 각각의 α -, β -, γ -, δ -T와 α -, γ -, δ -T₃을 500 ppm 농도 수준으로 첨가시켰으며, Thermoblock에서 산화온도를 40, 60, 80°C로 하고, 각각에 0, 10, 20% O₂/N₂의 gas를 0.5 ml/sec의 유속으로 공급하면서 6시간 동안 산화반응시켰다. 각 조건에서 3반복 실험하였으며, 반응이 끝난 시료는 n-hexane에 용해시킨 후(ad 25 ml) HPLC 분석용 시료로 사용하였다.

HPLC 분석

Hydroperoxide와 같은 비교적 불안정한 화합물의 분리 및 분석에 있어서 HPLC는 그 분석온도 및 험기적 조건과, 정량적인 분석을 고려할 때 적합한 분석방법으로 알려져 있다^(29,30). Linoleic acid methylester로부터 생성된 hydroperoxide에 대한 분석은 Chan et al.^(23,31,32), Shieberle et al.⁽²⁴⁾, Haslbeck et al.^(25,26), Neff et al.⁽²⁷⁾에 의한 방법들이 고려되었으나, 이들 분석방법들은 hydroxylation과 같은 전처리 과정을 거치며, 이는 chromatogram상의 분리는 좋아질 수 있으나, 이 전처리과정중 불안정한 hydroperoxide의 이성질화(isomerization)를 야기시킬 우려가 있어서⁽³³⁾, 생성된 각 hydroperoxide들의 정량적인 비교에 문제점이 있었다. 또한 Koskas et al.⁽³³⁾에 의한 방법에는 이러한 전처리과정 없이 직접 HPLC로 분석 가능하였으나 그 용리시간이 길어서 시험구수가 많은 본 실험에 있어서는 실제적으로 용이하지 못하였다.

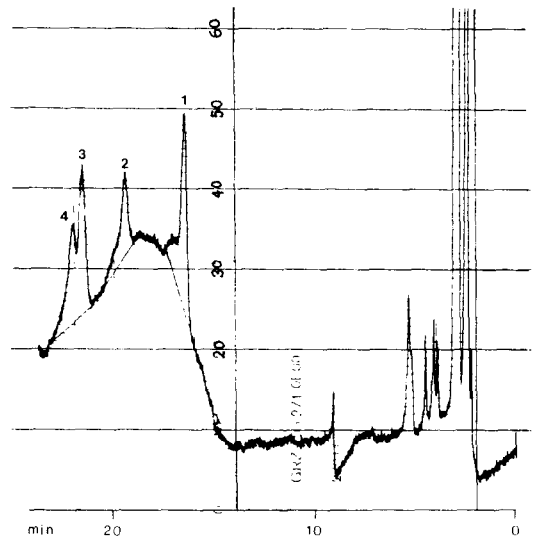


Fig. 1. An HPLC separation of 4 major hydroperoxide isomers derived from linoleic acid methylester: Linoleic acid methylester (500 mg) with 250 μ g α -T at 40°C/N₂, 6 hr oxidized

colum: Hypersil, 5 μ m, 500 \times mm i.D.,

mobile phase: 0.4% ethanol/n-hexane

flow rate: 2 ml/min

detection: UV 210 nm, 0.02 AUFS

1: 13-hydroperoxy-9-cis-11-trans-octadecadienoic acid methylester (13-c-t)

2: 13-hydroperoxy-9-trans-11-trans-octadecadienoic acid methylester (13-t-t)

3: 9-hydroperoxy-10-trans-12-cis-octadecadienoic acid methylester (9-t-c)

4: 9-hydroperoxy-10-trans-12-trans-octadecadienoic acid methylester (9-t-t)

본 실험에서는 시험구 수가 많고, hydroperoxide의 안정성에 따른 시간적인 문제점이 있었으므로 전처리과정 없이 적정농도로 희석하여 사용하였으며 Hypersil column 5 μ m, 500 \times 4 mm i.D., 0.4% ethanol/n-hexane을 mobile phase로 하는 np-HPLC로 분석하였다. Linoleic acid methylester를 기질로 하여 자동산화과정에서 생성된 주요 산화생성물로 알려진⁽²²⁾ 4종의 hydroperoxide isomer에 대한 chromatogram은 Fig. 1과 같다.

결과 및 고찰

각각의 3반복 실시한 시험구에서 얻은 chromatogram의 peak 높이를 측정하여 구한 평균값으로, 생성된 hydroperoxide의 양을 상대적으로 비교하였다(Table 1).

실시한 9수준은 hydroperoxide의 생성량에 따라 그 산화정도를 크게 3단계로 구분할 수 있었다.

그 첫번째 범위는 그 산화정도가 약한 40°C/0% O₂에서 60°C/0% O₂ 속하는 구간으로, cis/trans-conjugated double bond가 많이 생성되었다.

Table 1. Experimental results

Condition	α -T			β -T			γ -T			δ -T		
	$h_{1:3}$ **	$h_{2:4}$ ***	Σh ****	$h_{1:3}$	$h_{2:4}$	Σh	$h_{1:3}$	$h_{2:4}$	Σh	$h_{1:3}$	$h_{2:4}$	Σh
40/0	840	440	1280	879	473	1352	806	483	889	770	463	1233
40/10	1790	850	2640	1125	790	1865	1025	590	1615	1130	705	1835
40/20	1920	1080	3020	1579	900	2479	1926	1056	2982	1249	759	2008
60/0	940	560	1500	1010	609	1619	876	583	1459	886	633	1519
60/10	4253	3090	7343	2991	2647	5638	3964	3263	7227	1664	1927	3591
60/20	4154	3153	7307	2774	2726	5500	2740	2620	5360	2373	2606	4979
80/0	810	610	1420	795	670	1465	830	596	1426	756	660	1416
80/10	44233	142632	185865	4766	10116	14882	3846	8419	12265	5116	12232	17348
80/20	55532	155200	210732	19900	61449	81349	21750	63450	85200	13983	40249	54232
Condition	α -T ₃			γ -T ₃			δ -T ₃			S(0)*		
	$h_{1:3}$	$h_{2:4}$	Σh	$h_{1:3}$	$h_{2:4}$	Σh	$h_{1:3}$	$h_{2:4}$	Σh	$h_{1:3}$	$h_{2:4}$	Σh
40/0	765	475	1240	783	449	1232	843	463	1306	809	470	1279
40/10	1860	820	2680	1245	700	1945	1070	680	1750	2513	2023	4536
40/20	1870	875	2745	1213	703	1916	1399	856	2255	2616	2682	5298
60/0	710	455	1165	876	623	1499	759	583	1342	1016	756	1772
60/10	2385	1675	4060	2280	2193	4473	3783	4324	8107	17666	37799	55465
60/20	3200	2790	5990	2587	2814	5401	3205	4975	8180	18599	43733	62332
80/0	450	580	1030	522	597	1119	377	670	1047	1206	1216	2422
80/10	45250	162500	207750	17666	54332	71998	47332	148999	196331	53499	179499	232998
80/20	47750	153750	201500	33466	104666	138132	59833	177499	237332	48166	140166	188322

*S(0): blank, ** $h_{1:3}$: peak height of (13-c-t)+(9-t-c), *** $h_{2:4}$: peak height of (13-t-t)+(9-t-t), **** Σh : total hydroperoxide

두번째 범위는 중간단계의 산화로써 60C/10% O₂와 60C/20% O₂에 속하는 구간으로 볼 수 있다.

세번째 범위는 심한 산화조건인 80C/0% O₂에서 80C/20% O₂에 속하는 구간으로, trans/trans-conjugated double bond가 많이 생성됨을 볼 수 있으며 hydroperoxide의 총 생성량(Σh)의 시료간 오차가 심하며, 이 구간에서는 총 hydroperoxide의 생성량으로 그 산화 정도를 비교하기가 곤란했다.

Fig. 2에서는 각 조건에 있어서 chromatogram상의 각 4종의 hydroperoxide isomer 생성량을 대조구(토코페롤 비첨가군)와 비교하여 α -, β -, γ -, δ -T과 α -, γ -, δ -T₃의 항산화성 비교하였다. 즉 h_T/h_s 로 비교하였는데, 이때 h_T 는 tocopherol 첨가시킨 시험구에서 생성된 hydroperoxide의 양(peak height)이며, h_s 는 tocopherol이 첨가되지 않은 시험구에서 생성된 hydroperoxide의 양이다. 즉, $h_T/h_s > 1$ 인 경우는 산화촉진효과, $h_T/h_s < 1$ 인 경우는 항산화효과를 나타낸다. 60C까지의 범위에 있어서 대부분의 경우(α -T₃, 40C/10%, 20% O₂ 제외) 모든 토코페롤류는 항산화효과를 나타내고 있음으로 알 수 있었다. 그러나 80C에서 α -T, α -T₃, δ -T₃의 경우 산소량의 증가에 따라 산화촉진효과가 있다는 것을 알 수 있었다.

또한 산소분압에 다른 특이한 사실은 10% O₂의 낮은 산소분압에서 나타나고 있는 높은 항산화성이다. 이는

토코페롤류의 생체 항산화제(biological antioxidant)로서의 특성으로 제시할 수 있다. 즉 Burton et al.^(34,35)에 의해서 보고된 바 있는, β -carotene의 경우 낮은 산소압생리조건하의 대부분 조직에서 발견되는에서 고찰된 우수한 radical-trapping behavior와 일치한 결과일 것으로 사료된다. 한편 9번 C와 13번 C에 위치하는 이성질체 분포(isomeric distribution)를 비교할 때 거의 모든 시험구에 있어서 13-hydroperoxy-compounds의 생성량이 약간 증대됨을 볼 수 있었으나, 토코페롤류의 종류나 산화조건에 따르는 경향성은 관찰되지 않았다. cis/trans-compound에서 trans/trans-compound에로의 산화진행 정도를 비교하기 위하여 각각의 시험구는 Table 1로부터 cis/trans- : trans/trans-compounds($h_{1:3}$: $h_{2:4}$)의 생성 비율을 계산하면 Table 2와 같다.

Table 2에서 나타난 바와 같이 산화조건이 극심할수록(고온이고, O₂ 함량이 클수록) cis/trans- : trans/trans-compounds의 비율은 감소한다. 80C/10% O₂와 80C/20% O₂의 조건과 같은 극심한 산화 조건 구간에서는 그 비율이 실제로 거의 일치함을 나타내고 있다. 80C/0% O₂에서부터 80C/20% O₂까지의 hydroperoxide 총 생산량(Σh)간의 시료간 오차가 심한 구간을 제외하고, 40C/10% O₂에서부터 60C/20% O₂까지의 산화 구간에서 그 비율을 비교하여 볼때 다음과 같은 순으로 나타났다.

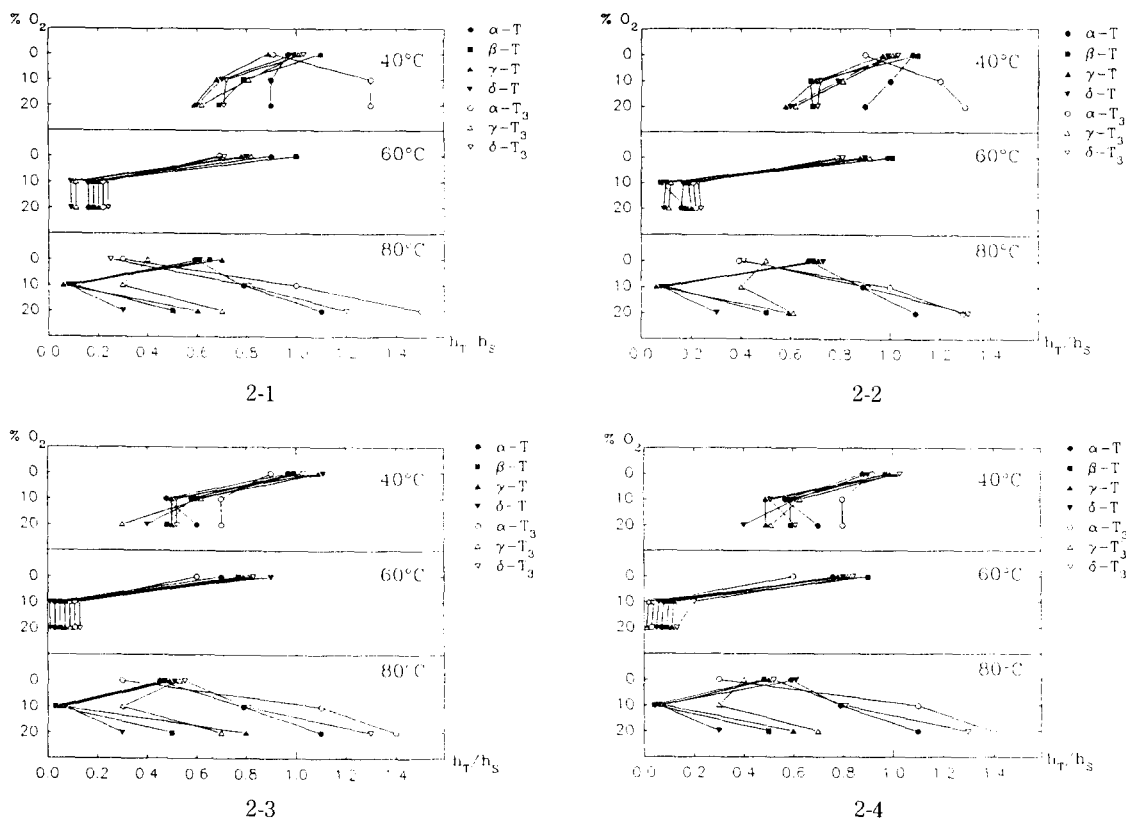


Fig. 2. Effect of 4 tocopherols and 3 tocotrienols on the production of 13-hydroperoxy-9-cis-11-trans-octadecadienoic acid methylester (peak height = h₁, Fig. 2-1), 13-hydroperoxy-9-trans-11-trans-octadecadienoic acid methylester (peak height = h₂, Fig. 2-2), 9-hydroperoxy-10-trans-12-cis-octadecadienoic acid methylester (peak height = h₃, Fig. 2-3) 9-hydroperoxy-10-trans-12-trans-octadecadienoic acid methylester (peak height = h₄, Fig. 2-4)

Table 2. The ratio of peak height of cis/trans-: trans/trans-compounds

Temp/O ₂ (°C /%)	α-T	β-T	γ-T	δ-T	α-T ₃	γ-T ₃	δ-T ₃	S(0)*
40/0	1.90	1.85	1.66	1.66	1.61	1.74	1.82	1.72
40/10	2.10	1.42	1.73	1.60	2.26	1.77	1.57	1.24
40/20	1.77	1.75	1.82	1.64	2.13	1.72	1.63	0.97
60/0	1.67	1.65	1.50	1.39	1.56	1.40	1.30	1.34
60/10	1.37	1.12	1.21	0.86	1.42	1.03	0.87	0.46
60/20	1.31	1.01	1.04	0.91	1.14	0.91	0.64	0.42
80/0	1.32	1.18	1.39	1.14	0.77	0.87	0.56	0.99
80/10	0.31	0.47	0.45	0.41	0.27	0.32	0.31	0.29
80/20	0.35	0.32	0.34	0.34	0.31	0.31	0.33	0.34

*S(0): blank

$$\alpha-T > \alpha-T_3 > \gamma-T > \beta-T > \gamma-T_3 > \delta-T > \delta-T_3$$

이는 Seher et al.⁽³⁶⁾과 Yanishlieva-Maslarova et al.⁽³⁷⁾에 의해 보고된 바 있는 POV 측정에 따른 토코페놀류의 항산화 효과 경향과 일치하고 있다.

바꾸어 말하면, 항산화력이 약한 토코페놀류를 첨가

시킨 시험구에서 생성된 산화생성물들에 있어서 그 cis/trans-conjugated double bond의 생성량이 trans/trans-conjugated double bond의 생성량 보다 크게 나타난 것으로 미루어 토코페놀류의 항산화 작용은 1차적으로 cis/trans-conjugated double bond의 생성에 관여하는 것으로 설명될 수 있을 것이다.

요 약

Linoleic acid methylester와 토코페놀류(α -, β -, γ -, δ -tocopherol과 α -, γ -, δ -tocotrienol)를 사용한 model system에서의 자동산화과정에서 온도(40, 60, 80°C)와 산소의 양(0, 10, 20% O₂)에 따르는 항산화효과를 고찰하였다. Linoleic acid methylester에서 생성된 주요 산화생성물인 13-cis/trans-, 13-trans/trans-, 9-trans/cis-, 9-trans/trans-hydroperoxide를 HPLC를 이용하여 분석하였으며, 그 양적 변화로 항산화정도를 비교하였다. 모든 토코페놀류(α -tocotrienol 제외)는 60°C 범위에서 항산화효과가 있었다. α -tocopherol, α -tocotrienol, δ -tocotrienol의 경우 80°C 범위에서 산화촉진효과가 관찰되었다. 40°C 범위에서는 주로 cis/trans-hydroperoxide가 많이 생성되었고, 80°C 범위에서는 trans/trans-hydroperoxide가 많이 생성되었다. 80°C 범위의 hydroperoxide 생성량간의 오차가 심한 구간을 제외한 40°C/10% O₂에서부터 60°C/20% O₂까지의 산화구간에서 cis/trans- : trans/trans-hydroperoxides의 비율은 α -T₁ > α -T₂ > γ -T > β -T > γ -T₃ > δ -T > δ -T₃의 순으로 관찰되어, 토코페놀류 중 α -tocopherol이 가장 낮은 항산화효과가 있는 것으로 나타났다.

문 헌

1. 김동훈 : 식품화학, 탐구당, p.549(1979)
2. Thiele, O.W.: *Lipide, Isoprenoide mit Steroiden*, Thieme Verlag, Stuttgart, p.45(1979)
3. Sherwin, E.R.: Synthetic Antioxidants for Fats and Oils. In *Flavor Chemistry of Fats and Oils*, Min, D.B. and Smouse, T.H.(ed), American Oil Chemists' Society, U.S.A., p.155(1974)
4. Elmadfa, I. and Bosse, W.: *Vitamin E*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH., Stuttgart, p.50(1985)
5. Gottstein, T. and Grosch, W.: Model Study of Different Antioxidant Properties of α - and γ -Tocopherol in Fats. *Fat Sci. Technol.*, **92**, 139(1990)
6. Niki, E., Tsuchiya, J., Yoshikawa, Y., Yamamoto, Y. and Kamiya, Y.: Oxidation of Lipids. XIII. Antioxidant Activities of α -, β -, γ - and δ -Tocopherols. *Bull. Chem. Soc. Japan.*, **59**, 497(1986)
7. Ikeda, N. and Fukuzumi, K.: Synergistic Antioxidant Effect of Nucleic Acid and Tocopherols. *JAOCS*, **54**, 360(1977)
8. Cillard, J. and Cillard, P.: Behavior of Alpha, Gamma, and Delta Tocopherols with Linoleic Acid in Aqueous Media. *JAOCS*, **57**, 39(1980)
9. Koskas, J.P., Cillard, J. and Cillard, P.: Autoxidation of Linoleic Acid and Behavior of Its Hydroperoxides with and without Tocopherols. *JAOCS*, **61**, 1446(1984)
10. Cillard, J., Cillard, P., Cormier, M. and Girre, L.: α -Tocopherol Prooxidant Effect in Aqueous Media: Increased Autoxidation Rate of Linoleic Acid. *JAOCS*, **57**, 252(1980)
11. Friedrich, W.: *Vitamins*, Walter de Gruyter, Berlin, New York, p.251(1988)
12. Bieri, J.G. and McKenna, M.C.: Expressing Dietary Values for Fat Soluble Vitamins: Changes in Concepts and Terminology. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 289(1981)
13. Farag, R.S. and Osman, S.A.: Linoleic Acid Oxidation Catalyzed by Various Amino Acids and Cupric Ions in Aqueous Media. *JAOCS*, **55**, 703(1978)
14. Marcuse, R.: The Effect of Some Amino Acids on the Oxidation of Linoleic Acid and Its Methylester. *JAOCS*, **39**, 97(1962)
15. Ishikawa, Y.: Effect of Amino Compounds on the Formation of γ -Tocopherol Reducing Dimers in Autoxidizing Linoleate. *JAOCS*, **59**, 505(1982)
16. Gardner, H.W., Eskins, K., Grams, G.W. and Inglett, G.E.: Radical Addition of Linoleic Hydroperoxides to α -Tocopherol or Analogous Hydroxychroman. *Lipids*, **7**, 324(1972)
17. Fukuzumi, K. and Ikeda, N.: Study on the Effect of Antioxidant in the Autoxidation of Methyl Nonconjugated Octadecadienoates. *JAOCS*, **46**, 64(1969)
18. Labuza, T.P., Tsuyuki, H. and Karel, M.: Kinetics of Linoleate Oxidation in Model System. *JAOCS*, **46**, 409(1969)
19. Rawl, H.R. and Santen, van P.J.: A Possible Role for Singlet Oxygen in Initiation of Fatty Acid Autoxidation. *JAOCS*, **47**, 121(1970)
20. Niki, E., Saito, T., Kawakami, A. and Kamiya, Y.: Inhibition of Oxidation of Methyl Linoleate in Solution by Vitamin E and Vitamin C. *J. Biol. Chem.*, **259**, 4177(1984)
21. Souci, S.W., Fachmann, W. and Kraut, H.: *Food Composition and Nutrition Tables 1986/87*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH., Stuttgart, p.146(1986)
22. Frankel, E.N.: Chemistry of Autoxidation. In *Flavor Chemistry of Fats and Oils*, Min, D.B. and Smouse, T.H.(ed), American Oil Chemists' Society, U.S.A., p.5(1985)
23. Chan, H.W.-S and Levett, G.: Autoxidation of Methyl Linoleate: Analysis of Methyl Hydroxylinoate Isomers by High Performance Liquid Chromatography. *Lipids*, **12**, 837(1977)
24. Schieberle, P. and Grosch, W.: Detection of Monohydroperoxides with Unconjugated Diene Systems as Minor Products of the Autoxidation of Methyl Linoleate. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **173**, 199(1981)
25. Haslbeck, F. and Grosch, W.: Autoxidation of Phenyl Linoleate and Phenyl Oleate: HPLC Analysis of the Major and Minor Monohydroperoxides as Phenyl Hydrostearates. *Lipids*, **18**, 706(1983)
26. Haslbeck, F. and Grosch, W.: HPLC Analysis of All Positional Isomers of the Monohydroperoxides Formed by Soybean Lipoxigenases during Oxidation of Linoleic Acid. *J. Food Biochem.*, **9**, 1(1985)
27. Neff, W.E. and Frankel, E.N.: Quantitative Analyses of Hydrostearate Isomers from Hydroperoxides by High Pressure Liquid Chromatography of Autoxidized and Photosensitized-oxidized Fatty Esters. *Lipids*, **15**, 587(1980)
28. 이형옥 : 천연 latex로부터 α -, γ -, δ -Tocotrienol의 분리. *한국농·화학회지*, **36**, 29(1993)
29. Christie, W.W.: *HPLC and Lipids*, Pergamon Press, U.K., p.157(1987)

30. Chan, H.W.-S. and Coxon, D.T.: Lipid Hydroperoxide. In *Autoxidation of Unsaturated Lipids*, Chan, H.W.-S. (ed), Academic Press, London, p.26(1987)
31. Chan, H.W.-S. and Levett, G.: Autoxidation of Methyl Linoleate. Separation and Analysis of Isomeric Mixtures of Methyl Linoleate Hydroperoxides and Methyl Hydroxylinoates, *Lipids*, **12**, 99(1977)
32. Chan, H.W.-S. and Prescott, F.A.A.: Separation of Isomeric Hydroperoxides by High Performance Liquid Chromatography. *Biochem. Biophys. Acta*, **380**, 141(1975)
33. Koskas, J.P., Cillard, J. and Cillard, P.: Direct High Performance Liquid Chromatographic Separation of Hydroperoxide Isomers of Linoleic Acid. *J. Chromatogr.*, **258**, 280(1983)
34. Burton, G.W. and Ingold, K.U.: β -Carotene: An Unusual Type of Lipid Antioxidant. *Science*, **224**, 569(1984)
35. Burton, G.W., Foster, D.O., Perly, B., Slater, T.F., Smith, I.C.P. and Ingold, K.U.: Biological Antioxidants. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, **B311**, 565(1985)
36. Seher, A. and Ivanov, st. A.: Natürliche Antioxidantien. *Fette Seifen Anstichmittel*, **75**, 606(1973)
37. Yanishlieva-Maslarova, N., Popov, A., Seher, A. and Ivanov, st. A.: Natürliche Antioxidantien: Zur Kinetik der antioxidativen Wirkung von α -Tocotrienol. *Fette Seifen Anstichmittel*, **79**, 357(1977)

(1992년 11월 12일 접수)