

GC 및 HPLC 비교분석에 기초한 차조기 종실내 tocotrienol 부재의 평가

이영상[†] · 김민경

순천향대학교 농산물품질및안전성평가연구소

Absence of Tocotrienol Form of Vitamin E in Purple Perilla (*Perilla frutescens* var. *acuta* Kudo) Seeds Confirmed by Comparative Analysis Using HPLC and GC

Young-Sang Lee*[†] and Min-Kyoung Kim

Quality Control Institute for Agricultural Products, Soonchunhyang Univ., Asan 336-745, South Korea

ABSTRACT Lipid soluble vitamin E consists of tocopherols and tocotrienols depending upon double bonds in phytyl side chains attached to chromanol ring. Recent reports on antioxidative, anticancer, and cholesterol-lowering effects of tocotrienols have increased researches and commercialization of tocotrienols. Purple perilla (*Perilla frutescens* var. *acuta* Kudo) has been reported as a plant containing tocotrienols along with tocopherol forms of vitamin E based upon normal phase HPLC analysis. To confirm the existence or absence of tocotrienol form of vitamin E in purple perilla, comparative analysis using HPLC, GC/FID, and GC/MSD has been conducted for 14 purple perilla genetic accessions collected from Korea and Japan. Normal phase HPLC analysis showed α -, β -, γ -, and δ -tocopherols along with peaks with retention times quite similar to β - and γ -tocotrienols. Same purple perilla samples, analysed by GC exhibited α -, β -, γ -, and δ -tocopherols quantitatively equivalent to HPLC results. However, no peaks for β - and γ -tocotrienols could be observed and unknown two peaks of similar retention times with β - and γ -tocotrienols were identified not corresponding tocotrienols by GC/MSD. These results suggest the absence of tocotrienol form of vitamin E in purple perilla as well as the necessity of using GC-based qualitative and quantitative vitamin E analysis to avoid misinterpretation of peaks with similar retention times as tocotrienol isomers when analysed by an HPLC.

Keywords : GC, HPLC, purple perilla, tocopherol, tocotrienol

비타민 E는 인체 신진대사에 필수적인 지용성 비타민으로 α -, β -, γ -, δ -tocopherol(T)과 α -, β -, γ -, δ -tocotrienol(T3)

등 8종류의 이성질체를 통칭한다. 이들 이성질체들은 공통적으로 chromanol ring을 갖고 있으며 여기에 결합하는 isoprenoid side chain의 이중결합 여부에 따라 tocopherol 및 tocotrienol로 나뉘고 또한 chromanol ring에 부착되는 methyl기의 위치와 개수에 따라 α -, β -, γ -, δ - 등의 isomer로 분류된다(Fig. 1). Tocopherol이란 명칭은 비타민 A, C, D, K 등을 충분히 먹인 숫쥐에서 관찰된 고환기능의 감퇴현상이 식물성 기름에 존재하는 어떠한 물질과 관련이 있음을 발견하고 그 생식조절기능 물질에 주어진 명칭으로 ‘자손’을 뜻하는 ‘tocos’와 ‘낳다’를 뜻하는 ‘phero’가 조합된 것으로 후에 vitamin E로 부르게 된다(Evans & Bishop, 1922). 총 8종의 이성질체중 가장 많이 연구되고 알려진 α -tocopherol로 대표되는 vitamin E는 대사과정중 발생하는 free radical로부터 생체막을 보호하는 항산화제로 알려져 있으며 동시에 항암 효과, 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 저하 등 다양한 생리활성을 갖고 있다(Gould *et al.*, 1991; Suzuki *et al.*, 1993).

Tocotrienol은 tocopherol과 같은 비타민 E 계열의 vitamer로서 초기에는 영양적 가치가 없는 것으로 간주되어왔으나, 최근 항산화, 항암, 고지혈증 개선, 혈당 강하, 동맥경화 완화, 피부 손상 회복 등 다양한 생리 활성 효과에서 tocopherol보다 월등한 것으로 밝혀진 이래 집중적으로 의약품, 화장품 및 건강보조식품 소재로 개발되고 있다(Gould *et al.*, 1991; Ngah *et al.*, 1991., Parker *et al.*, 1993; Lee & Kim, 2006; Woo *et al.*, 2007). 비타민 E는 식물성 기름, 땅콩 등의 견과류 등에 많이 함유되어 있는데, 최근 한국에서도 벼의 도정 부산물인 미강에 포함된 tocopherol 및 tocotrienol에 주목하여 벼 품종별, 도정 강도별 미강함유 tocopherol 및 tocotrienol 함량 변화에 대한 연구가 이루어진 바 있으며, 나아가 콩, 보리 등 곡류와 울무, 홍화, 달맞이꽃 등 다

[†]Corresponding author: (Phone) +82-41-530-1287

(E-mail) mariolee@sch.ac.kr <Received November 28, 2008>

수의 작물 종실에 함유된 8종의 vitamin E isomer 함량이 보고된 바 있다(Park *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2004a; 2004b).

기능성 물질의 경우 정성적, 정량적 분석이 필수적인데, tocopherol만이 관심 대상이었던 초기에는 HPLC 및 GC 이 개발되지 않았었고, 따라서 TLC를 이용한 분석이 수행되었다(Desai, 1980). 그 후 GC를 이용한 분석방법 개발(Lehner *et al.*, 1999)과 더불어 최근에는 HPLC를 이용한 vitamin E 정량 분석이 가장 널리 사용되고 있는데, 비타민 E 분석을 위하여 HPLC를 사용할 경우에 있어서도 역상(reverse phase) 방법으로는 tocopherol 및 tocotrienol 모두 β - 형태와 γ - 형태의 이성질체를 분리하기 어렵고, 따라서 순상(normal phase) 방법이 8종류의 isomer를 모두 분석하기 위하여 보편적으로 사용되고 있다(Lee & Park, 2004).

Tocopherol 형태의 vitamin E가 거의 모든 식물에서 발견됨과는 상이하게 tocotrienol의 존재여부는 식물 종에 따라 다르게 나타나 땅콩, 참깨, 올리브, 호두 등에서는 tocopherol만이 발견되고 tocotrienol은 발견되지 않고 있는데(Heinonen & Piironen, 1991), 이는 tocopherol 및 tocotrienol의 생합성 과정에서 chromanol ring을 구성하는 homogentisic acid에 geranylgeranyl diphosphate를 결합시키는 homogentisic acid geranylgeranyl transferase 효소가 이들 식물에는 결핍된 때 문으로 추정되고 있다(Cahoon *et al.*, 2003). 다양한 생리활성 및 항암 효과에서, 혹은 심지어 항산화력에서조차 tocopherol보다 tocotrienol 형태의 vitamin E가 우수하다는 평가(Suzuki, *et al.*, 1993; Suarna, *et al.*, 1993)에 기초하여 작물, 특히 유지작물 중 tocopherol뿐인 vitamin E 조성을 tocotrienol을 함유하는 조성으로 바꾸어 작물의 영양 및 기능성을 증대하려는 노력이 이루어지고 있다(Cahoon *et al.*, 2003). 이러한 vitamin E 조성 변경은 tocotrienol의 방향으로 tocopherol 생합성 경로를 바꾸는 homogentisic acid geranylgeranyl transferase 유전자를 tocopherol 뿐인 식물에 삽입하는 대사공학(metabolic engineering) 기술을 적용함으로써 이루어진다(DellaPenna, 2005). 따라서 tocotrienol을 함유하고 있는 작물을 찾아 관련 유전자를 cloning 함은 tocopherol 형태의 vitamin E만 함유하고 있는 많은 작물의 영양기능성 개선에 매우 중요한 작업이라 할 수 있다.

한편 국내 tocotrienol 관련 연구 보고 중에서 동일한 종(species)임에도 불구하고 들깨에는 존재하지 않은 tocotrienol이 차조기(*Perilla frutescens* var. *acuta* Kudo)에 존재함이 보고된 바 있는데, 이 때 사용된 tocopherol 및 tocotrienol의 정량분석 방법은 순상의 HPLC system이었다(Park *et al.*, 2004a). 본 논문은 gas chromatography를 이용

한 tocopherol 및 tocotrienol 동시분석법에 준하여 차조기 종실 함유 vitamin E 분석을 수행한 결과 차조기 내에는 tocotrienol이 발견되지 않는 상이한 결과가 얻어졌기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

차조기 종자

시중에서 구입 가능한 차조기 종자의 경우 유전적, 분류학적 정보가 불분명한 제한이 있다. 따라서 정확한 유전적 배경의 차조기 종실의 취득을 위하여 차조기 유전자원 관리 포장에서 증식된 차조기를 분양받아 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 유전자원은 한국 수집종 6종과 일본 수집종 8종 등 차조기 14개 수집종, 그리고 비교를 위한 들깨 1종(만백개) 등 총 15종이었다.

분석용 시료의 조제

HPLC 및 GC 분석용 시료의 조제는 Lee & Park(2004)에 따라 수행하였다. 즉, 차조기 및 들깨 종실을 분쇄하여 40 mesh로 걸러낸 후 powder 0.5 g을 0.1 g의 ascorbic acid가 들어있는 시험관에 넣은 후, EtOH 5 mL를 첨가하고 80°C의 수욕상에서 10분간 20 rpm의 속도로 진탕하였다. 반응 직후 신속히 44% KOH 0.15 mL를 넣고 마개를 막은 후 다시 80°C의 수욕상에서 18 분간 비누화반응을 진행하였다. 반응이 종료된 시험관을 얼음이 채워진 수조에서 신속히 상온까지 온도를 낮춘 후, *n*-hexane 5 mL와 물 5 mL를 첨가하여 교반한 후, 4°C에서 1분간 1,000 rpm 속도로 원심분리하여 액-액분리를 수행하였다. 원심분리후 hexane층을 다른 시험관에 옮긴 후 다시 hexane 첨가, 교반, 원심분리, 액액분리, hexane층 수집 등 일련의 과정을 2회 추가 반복하였다. 모아진 hexane 층을 5 mL의 증류수로 세척하는 과정을 3회 반복하고, 이를 Na₂SO₄층을 통과시켜 탈수한 후, 진공농축기를 이용하여 용매를 제거하였다. 용매가 제거된 잔유물을 1 mL의 isooctane에 희석한 후, 이를 HPLC 및 GC 주입에 사용하였다.

HPLC 분석 조건

HPLC를 이용한 tocopherol 및 tocotrienol 분석은 8종의 vitamin E 이성질체 분리가 가능한 순상의 방법(Park & Lee, 2004)에 따라 다음과 같이 실시하였다. 즉, HPLC(S1201, Sykam, German)에 컬럼으로는 SupelcosilTM LC-Si(5 μ m, 25 cm \times 46 mm)를 사용하였으며 이동상은 isooctane/ethyl

acetate/acetic acid/2,2,-dimethoxypropane(DMP)(98.15:0.9:0.85:0.1)을 사용하였다. 이동상의 유속은 1.6 mL/min로 하였으며, 컬럼 오븐 온도는 20°C로 하였고 별도의 유도체화 과정 없이 fluorescence detector(excitation 290 nm, emission 330 nm)를 검출기로 사용하였다.

GC/FID 및 GC/MS 분석 조건

Tocopherol 및 tocotrienol 분석을 위한 GC의 조건은(Cho *et al.*, 2007)에 준하여 다음과 같이 실시하였다. 즉, GC (Varian 3800, USA)에 컬럼으로는 CP-SIL 8 CB(25 m × 0.25 mm, ID 0.4 μm)을 사용하였으며 oven 온도 조건은

220°C에서 290°C까지 분당 5°C씩 승온 후 28분간 유지하고 다시 300°C까지 승온하였다. 주입부 및 FID 검출기의 온도는 각각 250, 300°C였으며 이동상으로는 He 가스를 1.0 mL min⁻¹의 유속으로 사용하였고, split ratio는 1/50이었다. 시료의 분석 대상 성분과 머무름 시간이 중복되지 않는 campesterol을 internal standard로 사용하였다. GC/MS (HP 6890)의 경우 GC/FID에서와 동일한 조건을 유지하였고, mass spectrum을 이용한 peak의 동정을 위해 Wiley library 및 authentic standard를 mass spectrum의 비교용으로 사용하였다.

표준품 및 기타 시약

Tocopherol 및 tocopherol의 표준품으로 CalBiochem사의 α-, β-, γ-, δ-tocotrienol kit 및 α-, β-, γ-, δ-tocopherol kit 을 구입하여 사용하였으며 HPLC 이동상 조제를 위한 iso-octane 및 ethyl acetate는 HPLC급(J. T. Baker, USA)을, acetic acid, DMP 및 기타 시약은 Sigma에서 구입하여 사용하였다.

결 과

HPLC를 이용한 차조기 함유 tocotrienol 탐색

순상의 HPLC를 이용하여 얻어진 국내 수집종 차조기 (Acc. No. K126157) 시료 및 8종 vitamin E isomer 표준품의 chromatogram을 Fig. 2에 나타내었다. 전체 8종의 vitamin E isomer 중에서 tocopherol류의 경우 α-, β-, γ-, 및 δ- 등 4종의 tocopherol이 검출되었다. 한편 tocotrienol류의 경우 α-tocotrienol과 δ-tocotrienol과 일치하는 머무름 시간대의

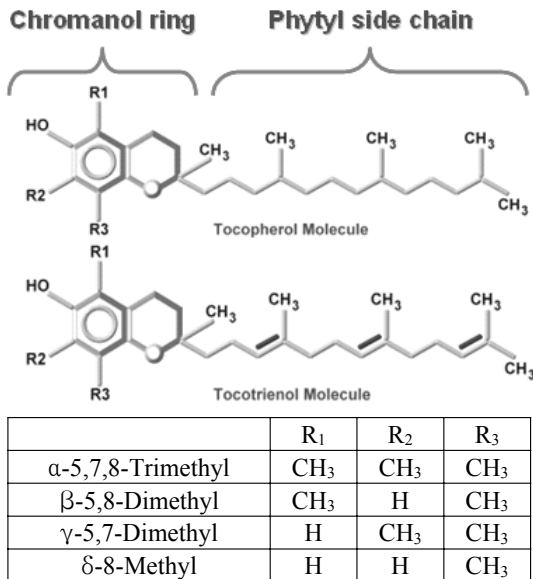


Fig. 1. Chemical structures of 8 vitamin E isomers.

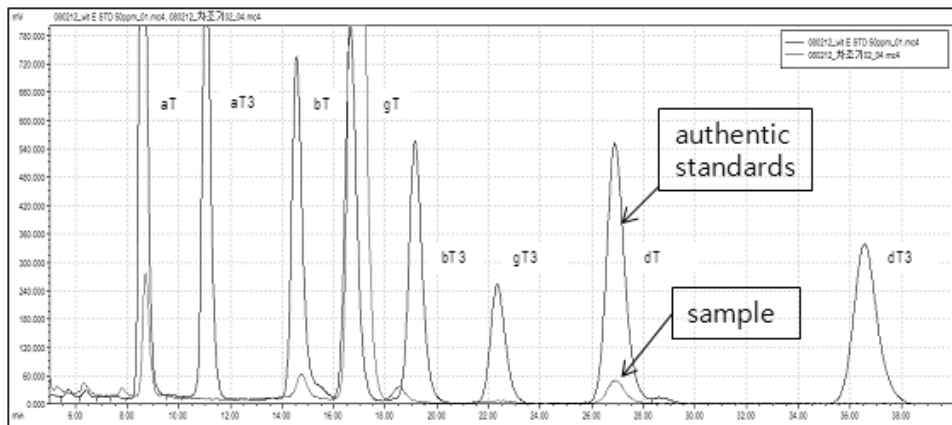


Fig. 2. HPLC chromatograms of authentic tocopherol (T) and tocotrienol (T3) standards and purple perilla sample. In chromatogram, a, b, g, d indicates α-, β-, γ-, and δ- form of vitamin, respectively.

peak는 검출되지 않았으나 β -tocotrienol과 매우 유사한 머무름 시간을 나타내는 peak 및 γ -tocotrienol과 매우 일치하는 머무름 시간의 peak가 검출되었다. 이러한 양상은 시험에 사용된 국내 수집 6종 일본 수집 8종 등 전체 14개 수집종 차조기 모두에서 동일한 양상으로 나타났다.

Gamma-tocotrienol과 일치하는 머무름 시간을 나타낸 성분 경우 비록 그 peak 면적은 작았으나, 항상 γ -tocotrienol 표준품의 머무름시간대인 21.5-23.5분안에서 검출되었기에 충분히 동일한 물질로 판단함에 무리가 없을 정도였다. 한편 β -tocotrienol의 경우 표준품과 차조기 시료간 다소의 머무름 시간 차이가 발견되어 동일 물질 여부에 주의가 요구되었다. 즉, 표준품 β -tocotrienol이 18.2-20.4분의 머무름 시간을 나타내었음과 비교할 때, 유사한 머무름 시간대의 peak는 18.1-19.5분의 머무름 시간으로 약 1분의 차이를 나타내었으며, 실험에 사용된 14종 차조기 시료에 따라 머무름 시간대의 차이는 약 1분에서 2분 정도의 차이를 나타내었다.

상기 두 물질을 β -tocotrienol 및 γ -tocotrienol로 간주하고 정량분석을 수행할 경우 국내산 수집종인 차조기 K126157의 종실 내 함량은 각각 $0.25 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ 및 $0.02 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ 으로 Park *et al.*(2004a)이 제시한 각각 $18.5 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ g

및 $6.4 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ 과 비교할 때에도 매우 낮은 수치였다. 한편 tocopherol류의 정량적 분석결과 본 실험에서의 차조기 종실 함유 α -, β -, γ -, 및 δ -tocopherol 함량은 각각 $0.62 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, $0.18 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, $14.41 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, $0.74 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ 수준으로 나타났는데, 이는 각각 $1.2 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, $1.3 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, $13.9 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, $0.3 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ 을 보고한 Park *et al.*(2004a)의 결과와 유사한 수준이었다.

또한 대조(control)로써 들깨(품종명: 만백개) 종실을 대상으로 HPLC 분석을 수행한 결과 기타 국내산 6종의 차조기 유전자원과 일치하는 경향의 chromatogram을 나타내었으며 특이한 peak는 발견되지 않았다.

GC를 이용한 차조기 함유 tocotrienol 탐색

차조기 시료를 GC 조건에 따라 분석한 결과 나타난 chromatogram을 8종의 vitamin E isomer 표준품과 함께 Fig. 3에 나타내었다. tocopherol류로는 HPLC에서와 동일하게 α -, β -, γ -, 및 δ -등 4종의 tocopherol이 모두 검출되었으나, tocotrienol류의 경우 α -, β -, γ -, 및 δ -tocopherol 모두 일치하는 peak가 검출되지 않았다. 비록 표준품의 δ -tocotrienol과 유사한 머무름 시간대의 peak(Fig. 3. peak A)와 β -tocotrienol 및 γ -tocotrienol 사이에 존재하는 peak(Fig. 3. peak B)가

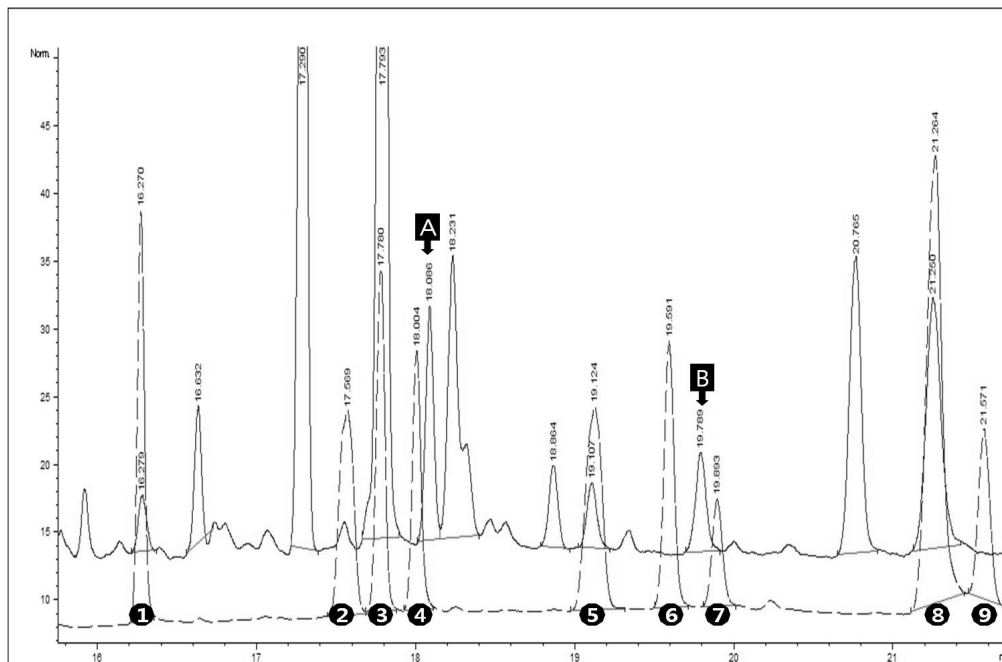


Fig. 3. GC/FID chromatogram of purple perilla (solid line) and authentic tocopherol (T) and tocotrienol (T3) standards (dotted line). The numbers 1 to 9 indicates: (1) δ -T, (2) β -T, (3) γ -T, (4) δ -T3, (5) α -T, (6) β -T3, (7) γ -T3, (8) campesterol (I.S.), and (9) α -T3, respectively. A and B in black box indicate unknown peaks with retention times similar to δ -T3 and γ -T3, respectively.

검출되었으나, 해당 성분과 동일한 물질로 판단하기에는 머무름 시간의 차이가 뚜렷하였다.

실제 이들 유사 머무름 시간대의 성분 동정을 위하여 동일 시료를 GC/MS에 다시 주입하고 Wiley library 및 vitamin E 표준품의 mass spectrum에 기초한 동정을 수행한 결과 δ -T3 및 β -tocotrienol 및 γ -tocotrienol 사이에 존재하는 peak 들(Fig. 3. peak A and peak B)는 tocotrienol과는 매우 상이한 물질로 판정되었으며 모든 종류의 tocotrienol isomer 표준품과 일치하는 mass spectrum의 peak는 발견되지 않았다. 이상의 결과를 종합할 때, GC를 이용할 경우 차조기 내에 tocotrienol이 존재하지 않는 것으로 판단되었는데, 이는 HPLC에서 β - 및 γ -tocotrienol로 간주된 성분이 검출된 것과는 반대되는 결과였다.

한편 대조로 들깨인 만백개 종실을 대상으로 GC 및 GC/MS분석을 수행한 결과 국내산 6종의 차조기 유전자원 및 일본산 차조기 유전자원과 일치하는 profile의 chromatogram을 나타내 tocotrienol의 존재가 검출되지 않았다.

고 찰

Tocopherol과 tocotrienol 정량 분석을 위해 가장 많이 사용되는 방법은 순상의 HPLC를 이용하는 것이다(Lee & Park, 2004). 한편 HPLC를 이용한 물질의 정량분석의 기초는, 동일한 물질의 경우 주어진 고정상(컬럼) 및 이동상(용매) 조건에서 항상 동일한 머무름 시간(retention time)을 갖는다는 것이며(Neue, 1997), 따라서 동일한 머무름 시간대에 용출되는 peak의 면적, 혹은 높이를 표준품의 값들과 비교하여 정량분석을 수행하게 된다. 그러나 이러한 HPLC 이용에 있어 가장 문제가 되는 것은 시료 내에 어떤 미지의 성분이 존재하고, 동일한 이동상 및 고정상 조건 하에서 유연하게 분석대상성분(표준품)과 동일한 머무름 시간을 갖으며, 흡광 파장 등 적용된 검출기로 감지되어 결과적으로 chromatogram상에 peak의 모양으로 나타나는 경우이다. 실제로 대부분의 HPLC를 이용한 정량 분석은 알려진 컬럼 및 이동상 조건 하에서 우선적으로 분석대상 물질의 표준품을 injection하여 머무름 시간대를 확인하고, 그 후에 분석대상 sample 시료를 injection하여 동일 머무름 시간대에 peak가 나타날 경우 그 peak를 동일 물질로 간주하여 peak 면적 계산을 통해 농도를 계산하는 것이 일반적이다. 이 때 시료 내에서 동일한 머무름 시간대에 용출된 peak가 목적하는 성분인지 여부에 대한 사전검토를 수행할 필요가 있으나, 이러한 정성적 확인은 별도의 분취와 NMR, 혹은 MS를

이용해야 하는 등 어려움이 있어 대부분의 경우 이러한 사전 검토가 충분이 이루어지지 않은 상태에서 정량분석을 수행하고 있는 실정이다.

또한 HPLC 기기의 특성상 이론적으로 항상 동일해야 하는 머무름 시간의 재현성은 실제로는 다수의 시료를 반복적으로 분석하는 과정에서 다소의 증가, 혹은 감소 변화가 있게 된다. 이러한 머무름 시간 재현성의 문제는 표준품의 경우에도 발생하고 특히 matrix가 복잡하고 정제가 미흡한 분석 시료의 경우에는 더욱 심하게 발생하는 현상으로 GC에 비교할 때 고정상에서의 분리 과정 중 확산이 크게 발생하는 HPLC의 특성에 기인한 것이다. 따라서 분석자들은 각 시료의 matrix별로 표준품의 머무름 시간의 변동 가감을 고려하여 시료 내 해당성분의 정성적 판단 및 정량적 분석을 수행하게 된다. Park *et al.*(2004a)의 보고는 HPLC를 이용하여 분석을 수행하였고, 따라서 본 보고서에서 나타난 β -tocotrienol 및 γ -tocotrienol과 일치하는 경향의 성분들에 대해 각각 β -tocotrienol 및 γ -tocotrienol으로 간주하여 정량분석 결과를 제시한 것으로 보인다. 또한 상기 보고서의 경우 시중에서 구입된 차조기 종자를 대상으로 분석을 수행한 것으로 유전적인 동정이 불분명한 제한점도 동시에 갖고 있다 하겠다.

작물의 기능성은 환경 변이 및 유전 변이 모두를 평가 대상으로 하고 있다. 그러나 정성적인 성분 분석의 경우 제한된 개수 시료를 대상으로 하였거나 유전적 배경이 불분명할 경우 신뢰성을 확보하기 어렵다. 본 보고서의 경우 유전자원관리센터를 통해 보존, 증식되고 있는, 유전적인 배경이 분명하게 동정된 차조기를 시료로 사용하였고, 또한 국내에서 수집된 6종 및 일본 수집 8종 등 비교적 다수의 차조기를 대상으로 분석을 수행한 바, 비록 더욱 많은 자생종 차조기에 포함되어 있을 수 있는 tocotrienol의 존재 유무에 대해 완전한 결론을 내림에는 미흡하나 일반적으로 국내, 혹은 일본에서 재배되고 있는 차조기 종실에는 tocotrienol이 존재치 않음을 추정할 수 있었다. 또한 vitamin E isomer 분석에 있어서는 tocotrienol과 매우 유사한 머무름 시간대의 미지물질이 존재하여 잘못된 정성적, 정량적 결과를 초래할 위험이 높아 분취 및 GC/MS, 혹은 LC/MS 등을 이용한 동정이 선행되어야 할 필요가 있음을 알 수 있었다.

적 요

비타민 vitamin E 구성 성분으로 항산화, 항암, 고지혈증 개선 등 다양한 생리활성을 나타내는 tocotrienol이 국내산

차조기에서 보고된 바, 존재 여부 확인을 위하여 국내수집 6종, 일본수집 8종 등 총 14종의 차조기 유전자원과 들깨 종실을 대상으로 HPLC 및 GC, GC/MS 비교 분석을 수행하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 순상의 HPLC 이용시 차조기에서 4종의 tocopherol 및 β -tocotrienol, γ -tocotrienol과 매우 유사한 머무름 시간의 발견되었다.

2. 그러나 동일 시료를 GC로 재분석한 결과 13개 차조기 유전자원에서 모두 4종의 tocotrienol과 일치하는 물질은 발견되지 않았다.

3. GC 이용시 δ -tocotrienol 및 γ -tocotrienol과 유사한 머무름 시간의 peak가 검출되었으나 GC/MS를 이용하여 확인한 결과 tocotrienol이 아닌 것으로 확인되었다.

4. 이상의 HPLC 및 GC 비교분석결과에 기초할 때, 차조기에는 tocotrienol류의 vitamin E는 존재하지 않는 것으로 추정되었으며 GC를 이용한 vitamin E isomer 분석이 HPLC 이용시 발생가능한 유사 머무름시간대 물질을 tocotrienol로 판단하는 오류 방지에 효과적임을 알 수 있었다.

인용문헌

- Cahoon, E. B., S. E. Hall, K. G. Ripp, T. S. Ganzke, W. D. Hitz, and S. J. Coughlan. 2003. Metabolic redesign of vitamin E biosynthesis in plants for tocotrienol production and increased antioxidant content. *Nat. Biotechnol.* 21 : 1082-1087.
- Cho, K. S., M. S. Sung, and Y. S. Lee. 2007. Gas Chromatography-based simultaneous analysis of tocopherols, tocotrienols, squalene, and phytosterols in rice bran. *Korean J. Crop Sci.* 52(Suppl 1) : 151.
- DellaPenna, D. 2005. Progress in the dissection and manipulation of vitamin E synthesis. *Trends Plant Sci.* 10(2) : 574-579.
- Desai, I. D. 1980. Assay methods. in *Vitamin E. A comprehensive treaties*, Machlin, L. J. (Ed.), Marcel Dekker, Inc., New York. pp. 67-68.
- E synthesis. *Trends Plant Sci.* 10(2) : 574-579.
- Evans, H. M. and K. S. Bishop. 1922. On the existence of a hitherto unrecognised dietary factor essential for reproduction. *Science* 56 : 650-651.
- Gould, M. N., J. D. Haag, W. S. Kennan, M. A. Tanner, and C. E. Elson. 1991. A comparison of tocopherol and tocotrienol for the chemoprevention of chemically induced rat mammary tumors. *Am. J. Clin. Nutr.* 53(4 Suppl) : 1068S-1070S.
- Heinonen, M. and V. Piironen. 1991. The tocotrienol, and vitamin E content of the average Finnish diet. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 61 : 27-32.
- Lechner, M., B. Reiter, and E. Lorbeer. 1999. Determination of tocopherols and sterols in vegetable oils by solid-phase extraction and subsequent capillary gas chromatographic analysis. *Journal of Chromatography A* 857 : 231-238.
- Lee, Y. S. and S. R. Park. 2004. Determination of tocopherols and tocotrienols in rice bran by using HPLC. *Korean J. Crop Sci.* 49(S) : 82-89.
- Lee, Y. S. and Y. H. Kim. 2006. Evaluation of anticancer activity and toxicity of tocotrienol extracted from rice bran. *Korean J. Crop Sci.* 51(S) : 1-6.
- Neue, U. D. 1997. HPLC columns: theory, technology, and practice. Wiley-VCH.
- Ngah, W. Z., Z. Jarien, M. M. San, A. Marzuki, G. M. Top, N. A. Shamaan, and K. A. Kadir. 1991. Effect of tocotrienols on hepatocarcinogenesis induced by 2-acetylaminofluorene in rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 53(4 Suppl) : 1076S-1081S.
- Parker, R. A., B. C. Pearce, R. W. Clark, D. A. Gordon, J. J. Wright. 1993. Tocotrienols regulate cholesterol production in mammalian cells by post-transcriptional suppression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *J. Biol. Chem.* 268(15) : 11230-11238.
- Park, K. Y., C. S. Kang, Y. C. Cho, Y. S. Lee, Y. H. Lee, and Y. S. Lee. 2003. Genotypic difference in tocopherol and tocotrienol contents of rice bran. *Korean J. Crop Sci.* 48 : 469-472.
- Park, K. Y., C. S. Kang, Y. S. Lee, Y. H. Lee, and Y. S. Lee. 2004a. Tocotrienol and tocopherol contents in various plant seeds. *Korean J. Crop Sci.* 49 : 207-210.
- Park, K. Y., C. S. Kang, Y. C. Cho, Y. S. Lee, Y. H. Lee, and Y. S. Lee. 2004b. Tocotrienol and tocopherol contents of rice bran by milling recovery. *Korean J. Crop Sci.* 49 : 468-471.
- Suarna, C., R. I. Hood, R. T. Dean, R. Stocker. 1993. Comparative antioxidant activity of tocotrienols and other natural lipid-soluble antioxidants in a homogeneous system, and in rat and human lipoproteins. *Biochem. et Biophysica Acta.* 1166 : 163-170.
- Suzuki, Y. J., M. Tsuchiya, S. R. Wassel, Y. M. Choo, G. Govil, V. E. Kagan, and L. Packer. 1993. Structural and dynamic membrane properties of α -tocopherol and α -tocotrienol: Implication to the molecular mechanism of their antioxidant potency. *Biochem.* 32 : 10692-10699.
- Woo, K. M., Y. S. Lee, and Y. H. Kim. 2007. Effects of dietary tocotrienol extracted from rice bran on hematological and histological changes of the mouse. *Korean J. Plant Res.* 20 : 104-112.