韓國營養學會誌 : 第 15 卷 · 第 1 號 · 1982
Korean J. Nutr. Vol. 15, No. 1, 1982

한국산 식물식용유지의 성분에 관한 연구

-제 6 보 : 참깨와 들깨종자유 중의 천연산화방지제에 관한 연구-

황 성 자 · 고 영 수

한양대학교 식품과학연구소

Studies on the Constituents of Korean Edible Oils and Fats

– Part 6 : A Study on the Natural Antioxidants of sesame and perilla seeds –

Sung Za Hwang and Young Su Ko

Institute of Food Sciences, Hanyang University, Seoul, Korea

= ABSTRACT =

Experiments were carried out in order to compare the natural antioxidants in the acetonitril extracts of raw and baked seeds of Korean sesame and perilla by thin layer and gas chromatography.

The sample was dissolved in n–pentane and extracted with acetonitril and the acetonitril extract was separated by thin layer chromatography using silica gel. The spots were detected by spraying with 2, 6 –dichloroquinone –4 –chlorimide, phosphomolybdic acid and dimethylamine as chromogenic reagents.

Natural antioxidant, such as δ –tocopherol detected in raw and baked sesame and perilla seed oil by TLC and sesamol was detected only in raw and baked sesame seed oil by GC.

서 론

식용유지중의 천연산화방지제로서 많이 알려져있는 것은 참깨종자유중의 sesamol과 그 밖의 식물종자유속에 함유되어있는 tocopherol 등임으로 저자등은 제 4 보에서 [1] 한국산 참깨와 들깨종자유중의 sesamol의 함량을 불검화물속에서 검출하여서 천연산화방지제로서 장기저장에도 안전한 점이 있다는 것을 보고하여 특히 우리나라 참깨종자유의 품질의 우수성을 확인한 바 있다.

접수일자 1982 년 1 월 7 일

천연의 산화방지제는 tocopherol 이외에도 flavon 유도체 및 천연의 phenol성 산화방지물질등이 알려져 있어서 각종 식품에서 單離하여 이용되고 있는 실정이다 [2)3)].

합성산화방지제 [4)5)6)] 는 각각의 특징이 있으며 유용하기는 하지만 이것들을 사용할 때에는 산화방지제의 표시를 해야 하고 또한 소비자들은 신경을쓰며 게다가 산화방지제로서 효과가 있는 물질이 많기는 하지만 식품에 사용시 독성이 있어도 곤란함으로 최근에는 합성식품첨가물에 대한 소비자의 거부반응이 강하기 때문에 천연의 tocopherol 등의 사용이 증가하는 경향이다 [7)8)9)]. 천연물 중에는 위에 말한 것처럼 수종의 산화방지제가 존재하며 특히 tocopherol은 식물유지 중에 다량 함유되고 있으며 이는 튀김시에도 잔존율이 BHA (butylated hydroxyanisol) 나 BHT (butylated hydroxy toluene) 보다도 우수하며 [10)11)] tocopherol의 4종 동족체 중에서 산화방지력이 δ-, γ-, β-, 및 α-, 순으로 크다는 것을 清野등 [12)] 이 최근 재확인한 바 있고 유지의 산화방지에 대한 제반대책등도 보고 되어 있어서 [13)14)] 산화방지제에 대한 연구가 흥미롭게 진행되고 있다.

식품첨가물로서의 tocopherol에 관해서는 많은 보고가 있으나 그중에서 대표적인 것으로는 식품첨가물로서의 산화방지제나 tocopherol에 관한 총설 [15)] 이라든가 기타의 보고가 되어 있으며 [16)-19)] sesamol에 관한 보고로는 藤林등 [20)] 은 sesame oil의 採製및 정제공정에 있어서의 sesamol, sesamolin 및 sesamin의 消長에 대하여 연구를 하였으며 Suarez [21)] 등은 sesame oil 및 除皮 sesame oil 중의 sesamol 과 sesamolin의 정량을 한바 있고 그밖에도 Lyon [22)] 및 저자 등의 보고가 있다 [23)]. 이상에 언급한것 이외에도 일반적으로 산화방지제의 분리는 많이 보고되어 있으나 [24)-28)] 한국산 참깨종자유나 들깨종자유를 볶아서 생것과 비교를 하여 산화방지제를 추출하여 Thin layer chromatograph 법에 의해서 분리한 보고는 아직 없기때문에 (불검화물 속에서 분리한 보고와는 다름) 이를 TLC 상에서 분리하였고 또한 합성산화제로서 각국에서 사용되어지고 있는 표준품을 비교물질로 하여 Gas chromatograph 법에 의해서도 분석을 하였기에 이에 실험한 것을 보고하고저 한다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료 장치 및 방법

1〕실험재료

1) 분석시료

본실험에 사용한 참깨종자는 Pedaliaceae에 속하는 sesamum indicum L. 의 학명을 가진 것이고 들깨종자는 Labiatae에 속하는 Perilla frutescens Britton으로 2종류 모두 1979년에 경기도 평택에서 수확한 것이며 같은 시료를 각각 볶아서 4종류로 만들었으며 그 4종류의 시료는 다음과 같이 이름을 붙혔다.

참깨종자 : raw sesame seeds
볶은종자 : baked 〃 〃
들깨종자 : raw perilla seeds
볶은종자 : baked 〃 〃

2) Standard Antioxidants

산화방지제의 표준품으로서는 다음의 각 화합물을 사용하였다.

Tocopherol류 (α-, γ-, 및 δ-,) 는 일본의 Eaisai 주식회사 연구소에서 분석전에 순도를 아는것으로 각각 그의 순도는 α- form의 경우 98.5%, γ- form의 경우 99.0%, 그리고 δ- form의 경우 96.0%이었다.

합성산화방지제의 표준품으로서 본 실험에서 사용한 BHA, BHT, HMBP 및 THBP는 和光純藥工業 K. K. 社의 제품을 사용하였고 TBHQ는 Yiestman Kodack Co 제품을 그리고 P. G.는 東京化成工業㈱製이었으며 NDGA는 半井化學藥品㈱의 제품을 사용하였다.

3) 시 약

i) TLC 용 표준용액 : BHA, BHT, P. G., TBHQ, THBP, tocopherol, NDGA 및 HMBP등의 각 100mg을 평취하여 aceton에 용해시켜서 100ml로 하였다.

ii) TLC 용 plate; DC – Fertigplatten Kieselgel 60 (ohne Fluoreszenzindikator) 20cm × 20cm, 두께 0.25mm (E. Merck 社製)

iii) 전개용매 : n – hexan – dioxane – acetic acid (30:7:2).

iv) 발색시약

a. 0.2 % 2.6 – dichlorquinone – 4 – chlorimide in ethanol solution (和光純藥工業㈱製)

b. 50 % dimethylamine solution (30:7:2)

c. 20 % phosphomolybdic acid in ethanol solution (30:7:2).

v) GC용 내부표준용액 : benzophenone (和光純藥工業㈱製 특제품) 을 dichloromethane에 용해하여 200 μg/ml가 되도록 조제하였다.

vi) GC용 표준용액 : BHA와 BHT를 내부표준용액에 용해하여 200 μg/ml가 되도록 조제하였다.

2] 장 치

1) 전개조 ; 矢澤科學器械工業㈱製 107D型

2) Gas chromatograph ; ㈱島津製作所製 GC – 5A 型 (FID detector 付)

3] 분석방법

1) 종자유의 추출

각 시료종자 약 100g씩을 막자사발로 분쇄하고 상법에 의해서 soxhlet 추출기를 사용하여 ethyl ether을 추출용매로 하여 4 시간 동안 추출하고 [29] 다시 시료를 재분쇄한 다음에 재차 2 시간씩 추출하고 그의 추출액에서 용매를 유거 [30] 하였다.

2) 시료용액의 조제

각 유지 5g을 평취하여 n – pentane 20ml로 용해시킨 후에 n – pentane를 포화시킨 acetonitril 100ml로 3 회 추출하고 acetonitril층을 합쳐서 감압하 (40 °C 이하) 에서 용매를 약 1ml로 농축하였다. 잔유물에 benzene을 가해서 5ml로 한 것을 TLC용 시험용액으로 하였다 [31].

3) TLC에 의한 정성

TLC용 plate는 silicagel의 하단에서 2cm의 위치에 TLC용표준용액 10 μl 및 시험용액 50 μl을 도포하고 풍건시킨 후에 전개용매로 n – hexane – dioxane – acetic acid (30:7:2) 로 상승법에 의해서 전개시킨 후에 발색시약으로 0.2 % 의 2.6 – dichlorquinone – 4 – chlorimide의 용액, 20 % 의 phosphomolybdic acid의 ethanol 용액 및 25 % 의 dimethylamine 용액을 spray하여 약 1 시간 동안 방치 시킨 후에 각 표준물질의 spot의 Rf치 및 색조에 의해서 동정 확인 하였으며 발색은 다음과 같다.

i) 0.2 % 2.6 – dichlorquinon – 4 – chlorimide의 ethanol 용액을 spray한 다음에 0.5 %의 붕산 natrium 용액을 spray한 후에 각 표준물질의 spot의 Rf치 및 정색색조와를 비교하여 동정한다.

ii) 20 % phosphomolybdic acid의 ethanol 용액을 spray한 후에 50 ~ 70 °C의 dry oven에서 5 분간 가온하고 ammonia 기류에서 잠시 포화시킨 후에 동정을 한다.

iii) 전개조 속에서 dimethylamine기류를 포화시킨 후에 나타나는 색조를 동정한다.

4) GC분석

각 시험용액 1 μl를 아래의 조건하에서 측정을 하였다.

Conditions of GC :

Column: 5 % SE – 30 (Chromosorb W AW – DMCS 60 – 80 mesh), glass tube: 3mm × 2m, carrier gas N_2 60 ml/min., Column temp. : 150 °C, Injection and detector temp. : 200°C, Flow Rate: 40ml/min., H_2 Flow Rate: 1.0 ml/min., Air Flow Rate: 1.5kg/cm², Range: 10 × 64mV./V., Sample Amount: 5 μl.

그리고 본 실험에서 천연산화방지제로서 검출된 tocopherol과 sesamol의 구조식은 다음 Fig. 1과 같다.

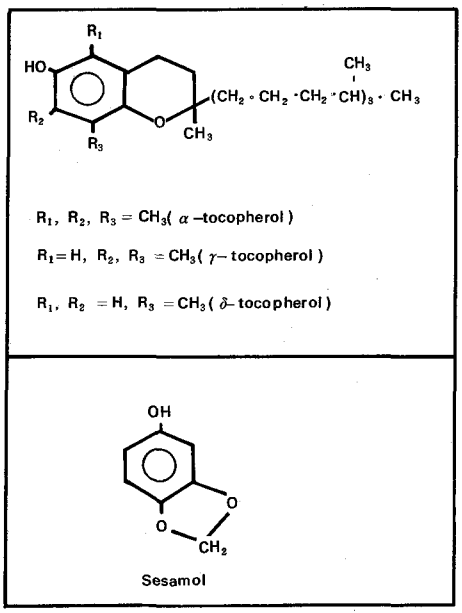

Fig. 1. Structure of tocopherols and sesamol.

결과 및 고찰

1) TLC 에 의한 tocopherol 의 분리

tocopherol 의 분리는 TLC 에 의해서 하였으며 표준품으로는 tocopherol 의 3 종의 동족체를 포함한 10 종의 산화방지제를 비교 검토하였다.

Plate 는 Silica gel 60 (pre – coated) 를 사용하고 전개용매로서는 n – hexane – dioxane – acetic acid (30:70:2) 를 그리고 발색 시약으로서는 2.6 – dichloroquinone – 4 – chlorimide 를 spray 한 chromatogram 의 결과는 Fig. 2 와 같다.

2) Tocopherol 의 검출

Tocopherol 의 확인을 위해서 3 종의 발색시약을 사용하였으며 발색시약을 2.6 – dichlorquinone – 4 – chlorimide, phorphomolybdic acid 및 dimethylamine 등을 사용하였을 때의 정색한 색조는 각각 달랐으므로 발색한 색조 및 Rf 치를 표준물질과 비교하여 tocopherol 을 검출할 수 있었고 이것을 표시한 것은 Table 1 과 같다.

이상의 Fig. 2 및 Table 1 의 결과를 보면 4 종의 시료유에서는 모두 δ – tocopherol 이 검출되었으며

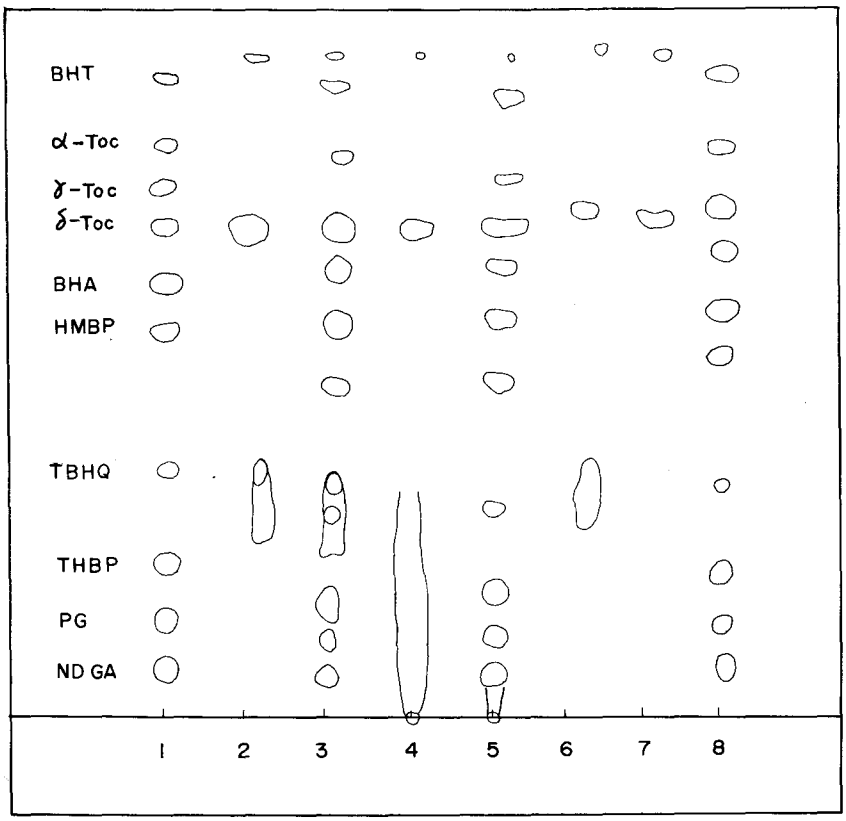

Fig. 2. Thin layer chromatogram of antioxidants in sesame and perilla seed oils.
1 : standard of antioxidants, 2 : raw sesame oil, 3 : ② + standards, 4 : baked sesame oil, 5 : ④+standards, 6 : raw perilla oil, 7 : baked perilla oil, 8 : standard of antioxidants.
Adsorbent pre-coated silica gel 60 ; developing solvent, n–hexane–dioxan–acetic acid (30 : 7 : 2) ; chromogenic reagent, 2,6-dichloroguinone –4 –chlorimide.

Table 1. Identification of antioxidants by chromogenic reagents

Antioxidant	Chromogenic reagent		
	(A)	(B)	(C)
BHT	yellowish brown	hell green	–
α–Toc.	〃 〃	hell brown	–
γ–Toc.	dark brown	〃 〃	–
δ–Toc.	brown	〃 〃	–
BHA	yellowish brown	hell brown	–
HMBP	purple	〃 〃	–
TBHQ	dark brown	dark purple	red
THBP	brown	brown	–
PG	greenish brown	〃	–
NDGA	purple brown	〃	–

(A) : 2.6 –dichlorquinone – 4 –chlorimide
(B) : phosphomolybdic acid
(C) : dimethylamine

색조는 갈색을 나타내었고 그밖에는 산화물과 천연의 식용유에서 검출될 수 있는 OH – 기를 가진 산화방지제라고 사려되는 spot가 δ-tocopherol 이외의 물질로 나타났으며 이는 앞으로도 계속 규명해야 할 과제 중의 하나이다.

그리고 검출시약으로서 2.6 –dichlorquinone – 4 –chlorimide를 사용하였을 때에 BHT는 황갈색, α-tocopherol도 역시 황갈색이고 γ-tocopherol은 암갈색, δ-tocopherol은 갈색, BHA는 황갈색, HMBP는 자색, TBHQ는 암갈색, THBP는 갈색, PG는 녹갈색이고 NDGA는 자색계통의 갈색 색조를 나타내는 등 각각의 표준물질은 특이한 색조를 나타내었으며 phosphomolybdic acid의 ethanol 용액으로 발색을 시켰을 때에는 α-, γ-, 및 δ-tocopherol과 BHA 및 HMBP는 담록색, TBHQ는 암자색, THBP와 PG 그리고 NDGA는 모두 갈색을 나타내었다.

그리고 dimethylamine으로 정색을 시켰을때에는 TBHQ만이 적색을 나타냈으며 다른 물질은 전혀 발색이 되지 않았다.

3) GC에 의한 분석

GC의 column 충진제는 SE – 30을 사용하였고 온도를 150 °C로 하여 분석하였으며 표준물질로서는 BHA 및 BHT로 하여서 내부표준물질을 benzophenone으로 하여 GC를 사용한 결과는 BHA, BHT 및 benzophenone의 순으로 peak가 나타났으며 이때의 표준물질의 chromatogram은 다음 Fig. 3과 같다. 시료유 4종 중에서 raw sesame seed oil의 GC chromatogram은 Fig. 4와 같고 baked sesame seed oil의 chromatogram은 Fig. 5와 같으며 같은 조건 하에서 raw perilla seed oil의 chromatogram은 Fig. 6, baked perilla seed oil의 chromatogram은 Fig. 7과 같다.

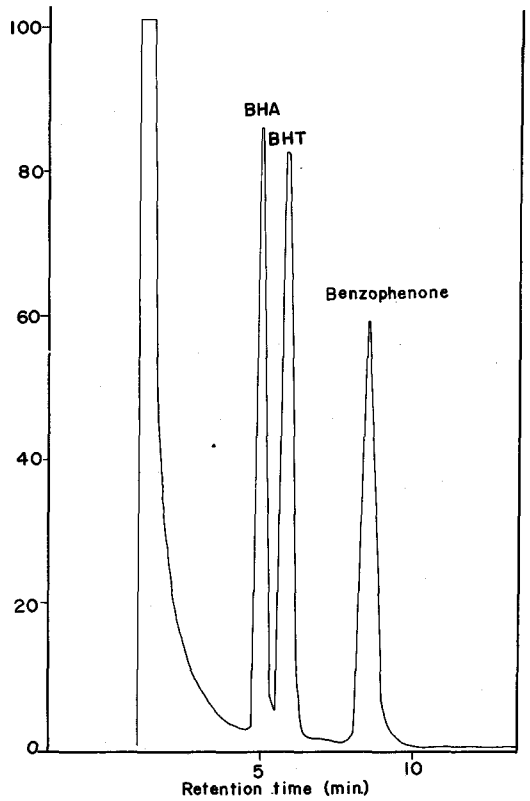

Fig. 3. Gas chromatogram of standard antioxidants and internal standard.
Column : 5% SE –30 (3mm × 2m); column temp., 150°C ; injection and detector temp 200c carrier gas, N_2 60ml/min.

이상의 Fig. 2의 TLC의 결과와 Fig. 3부터 Fig. 7까지의 GC의 결과를 종합해 보면 raw 및 baked sesame oil에는 δ-tocopherol과 sesamol 및 그밖에 산화생성물과 OH – 기를 가진 산화방지제를 검

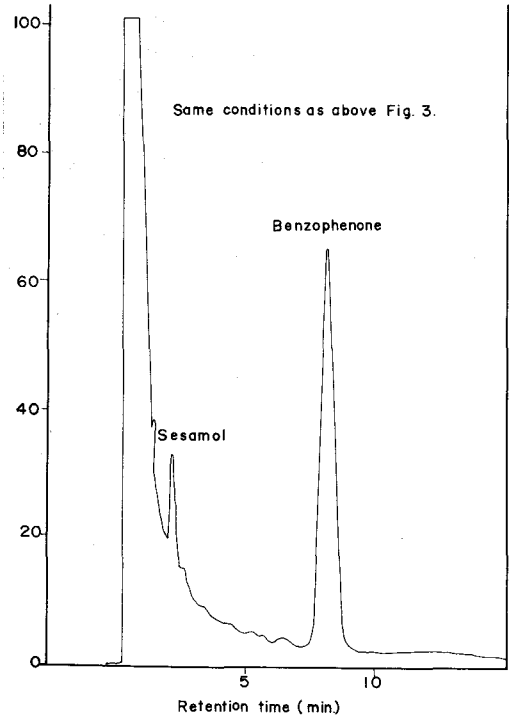

Fig. 4. Gas chromatogram of antioxidants in raw sesame oil.

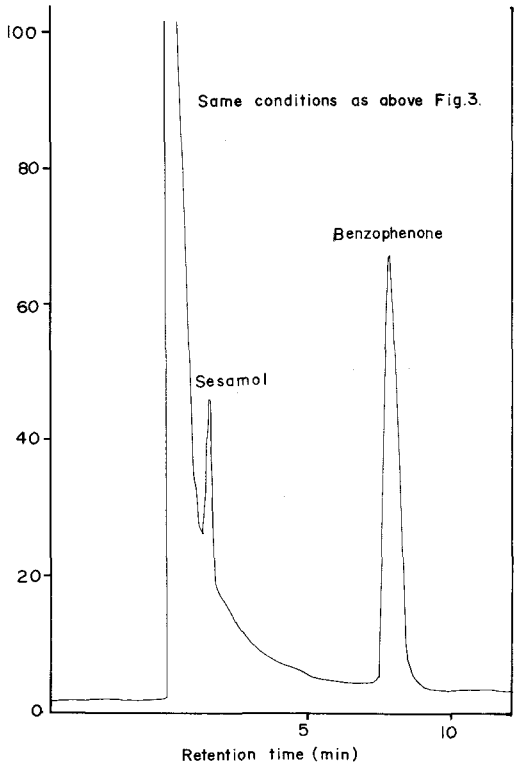

Fig. 5. Gas chromatogram of antioxidants in baked sesame Oil.

출할 수 있었다. raw 및 baked perilla oil에서는 δ-tocopherol은 검출할 수 있었으나 미지의 천연산화방지 제가 baked perilla oil에 나타났음을 동정할 수 있었다.

이 결과도 역시 sesamol 이외의 OH－기를 함유한 산화방지제라고 사료되며 이는 앞으로도 계속 규명해야 할 과제라고 생각된다.

그리고 GC에서 tocopherol은 분해가 되어 검출할 수 없었으나 TLC에서는 확인할 수가 있었다.

4) 타 논문과의 비교 검토

정등[32]은 미강유, 대두유, 일본 산초유, 참깨유, 채종유 및 들깨유등의 6종 식물유 중의 불검화물 속에서 tocopherol의 함량을 Dilley[33] 및 Sturm[34]등과 기타의 방법[35][36]을 이용하여서 정량하였는데 tocopherol의 함량은 채종유의 경우 가장 많았다고 보고를 한 바 있다.

또한 Carpenter[37]는 tocopherol의 정량을 대두유, 해바라기유, 면실유, 옥배유, 파넛트유와 올리브유를 시료로 하여 HPLC에 의해서 정량을 하였으며 이들 식물유 중에서는 HPLC의 결과로서 대두유에서 가장 많이 검출되었다고 하였다.

그리고 Waltking 등[38]은 polarographic 방법에 의해서 corn oil 등의 식물유 속에서 tocopherol 의 함량을 측정하여 보고를 한바 있다.

이들의 타논문에 보고된 tocopherol의 측정 방법과 본 논문과를 비교하여 볼때에 본 논문에서는 식물유를 추출하여 tocopherol을 분리한 방법을 이용하였으므로 타의 논문에서 처럼 식물유를 검화하여 불검화물 속에서 tocopherol을 정량하는 방법보다는 조작이 간편하고 결과가 더욱 정확하다고 생각되는 바이다.

불검화물은 식물유 속에 극미량이 함유되어 있기 때문이고 더구나 우리나라 참깨와 들깨유 속에서의 천연의 산화방지제를 불검화물에서 추출하지 않고 TLC에서 직접 분리한 보고는 없기 때문에 의의가 있다.

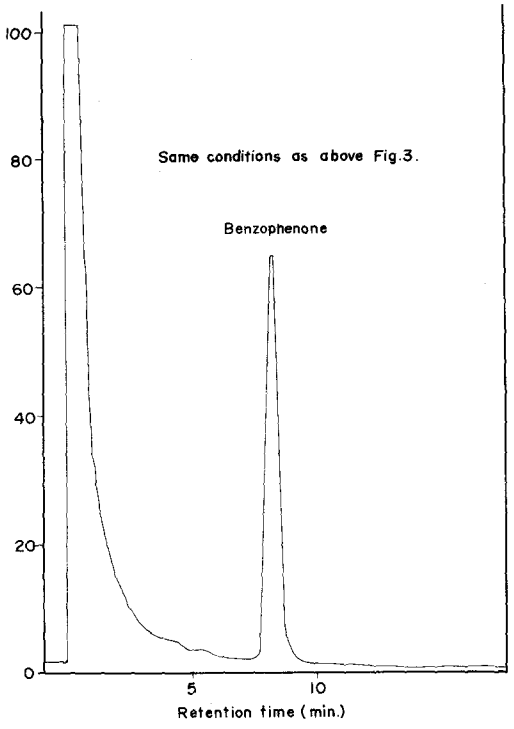

Fig. 6. Gas chromatogram of antioxidants in raw perilla oil.

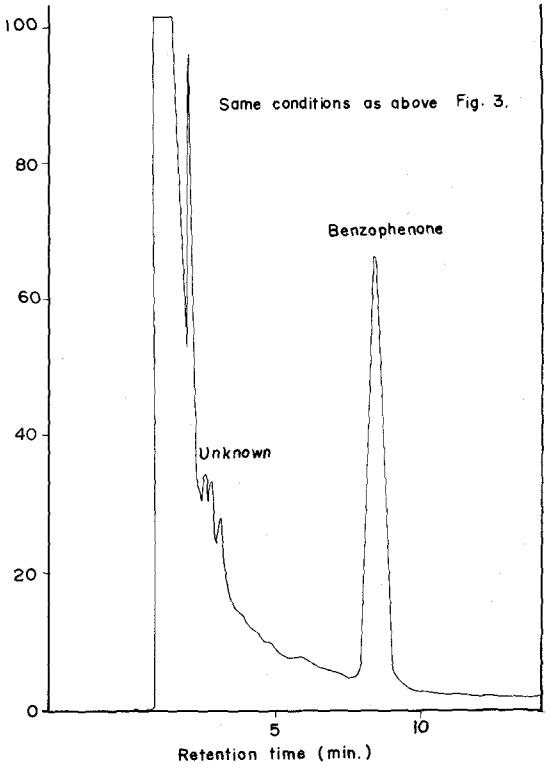

Fig. 7. Gas chromatogram of antioxidants in baked perilla oil.

결 론

한국산 참깨 및 들깨종자를 생것과 볶은것을 시료로 만들어서 그의 추출물중에서 천연산화방지제인 sesamol과 tocopherol을 검출하기 위해서 TLC 법과 GC법을 이용하고 표준물질로서 합성산화방지제를 사용, 비교, 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 참깨 종자유에서는 raw 및 baked seed oil에서 천연산화방지제인 δ-tocopherol과 sesamol이 검출되었다.

2) 들깨종자유의 경우에는 raw 및 baked seed oil에서 δ-tocopherol이 모두 검출되었으며 OH-기를 가진 천연산화방지제라고 사려되는 미지의 산화방지제가 검출되었다.

3) 참깨와 들깨 종자유에는 천연산화방지제인 tocopherol이나 sesamol등이 함유되어 있어서 장기저장에도 산패의 우려가 적음으로 식용유로서 좋은 조건을 갖추었다고 생각된다.

참 고 문 헌

1) 황성자 · 고영수 : 한국산식물식용유지의 성분에 관한 연구 - 제 4 보 : 참깨와 들깨종자중의 sesamol 의 정량 -, 한국영양학회지, *13(4) : 177–186, 1980.*

2) Ohta, S. & Kusaka, H.: *Antioxidants for Edible Fats and Oils, Yukagaku 28(10):93–105, 1979.*

3) 食品化學新聞社 : 現在使われている實用 天然添加物 一酸化防止劑– *51–56, 1980.*

4) 谷村顯雄 : 食品添加物の實際知識 一商品知識シリーズ, 東洋經濟, *74, 1977.*

5) 猿渡健市, 西野堯・田端豊：酸化防止劑ハンドブツク, 大成社, *12, 1976.*

6) 川田十三夫, 保野景典：最新食品衛生學, 講談社サイエンテイフイク, *108–109, 1975.*

7) 郡司篤孝：食品添加物讀本, 三一書房, *42–52, 1981.*

8) 新村壽夫：食品添加物の生化學と安全性 一腸內細菌の作用一, 地人書館, *60–61, 1979.*

9) 渡迎忠雄, 諸岡信一, 橋本秀夫, 菊池武昭：食品の汚染と安全性, 講談社サイエンテイフイク, *76–79, 1980.*

10) 太田靜行：油脂食品の劣化とえの防止, 幸書房, *118–134, 1977.*

11) Masuyama, S.: *Natural Antioxidants, Yukagaku 19(8): 675–681, 1970.*

12) Seino, H., Isobe, T. & Watanabe, S.: *Antimicrobial Activity of Tocopherols, Sesamol and Their Related Compounds, J. Antibact. Antifung 9(3): 119–124, 1981.*

13) 太田靜行：食用油脂, 學建書院, *106–113, 1974.*

14) Takagi, T., Ishizawa, T. & Iida, T.: *Studies on the Prevention of Changes of Qualities of Fatty Oils and their Related Materials, Yukagaku 28(8): 30–33, 1979.*

15) A Sceientific Status Summary by the Institute of Food Technologist Export Panel on Food Safety & Nutrition and the Committee on Public Information, Vitamin E, Food Technology, January *77–80, 1977.*

16) Kato, A., Tanabe, K. & Yamaoka, M.: *Esterified Tocopherols and Tocotrienols in Rice Bran Oil, Soybean Oil, and Sesame Oil, Yukagaku 30(8): 515–516, 1981.*

17) 堀口博：危險食品– 自然毒, 汚染毒, 添加物毒, 三共出版 株式會社 *205–207, 1979.*

18) 太田良三：食用油脂の酸化防止–tocopherol を中心として–, 食品と科學, *No. 7, 119–123. 1974.*

19) Sherwin, E.R.: *Antioxidants for Vegetable Oils, J. Am. Oil Chemists Soc. 53(6): 430–436, 1976.*

20) Fujimura, K. & Toyama, Y.: *Changes in the Contents of Sesamol, Sesamolin in Sesame Oil in the Coures of Extraction and Refining Processes, Yukagaku 7(1): 31–33, 1958.*

21) Suarez, C., O'connor, R.T., Field, E.T. & Bickford, W.G.: *Determination of Sesamol, Sesamolin, and Sesamin in Sesamin Concentrates and Oils, Analytical Chemistry 24(4): 668–671; 1952.*

22) Lyon, O.K.: *Sesame: Current Knowledge of Composition and Use, J. Am. Oil Chemiss Soc. 49(4): 245–249, 1972.*

23) 고영수：한국산 참기름및 그의 밖에 관한연구, 삼양식품공업 주식회사 연구보고서 *39–46, 1973.*

24) 小原哲二郎, 鈴木隆雄, 岩尾裕元責任編集：食品分析ハンドブツク 第2版 一酸化防止劑一, 建帛社, *578–582, 1977.*

25) Pearson, D.: *The Chemical Analysis of Food –seventh edition–, Oils and Fats, Vitamine E, Churchil Livingstone, 513–514, 1976.*

26) Komoda, M. & Harada, I.: *Interreaction of Tocored with Unsaturated Fatty Esters, J. Am. Oil Chemists Soc. 47(7): 249–253, 1970.*

27) Stahl, E.: *Dünnschicht Chromatographie–Ein Laboratoriumshandbuch (zweite Auflage) –Antioxidantien– Springer Verlag, Berlin–Heidelberg–New York 602–607, 1967.*

28) Kanematsu, H., Maruyama, T., Kinoshita, N. & Imamura, M.: *On the Simultaneous Determination of Antioxidants in Edible Oil and Fat, J. Food Hyg. Soc. Japan 14(4): 357–363 1973.*

29) Pharmaceutical Society of Japan: *Standard Methods of Analysis for Hygienic Chemists– with Commentary –* 金原出版株式會社, *177, 1980.*

30) Kaufmann, H.P.: *Analyse der Fette. und Fettprodukte–einschlie β lich der Wachse, Harze und verwandter Stoffe, Springer Verlag, Berlin–Göttingen–Heidelberg, 7, 1958.*

31) Nakazato, M., Kanmuri, M., Ariga, T., Fujinuma, K. & Naoi, Y.: *Systematic Detection and Determination of Antioxidants in Edible Oil, J. Food Hyg. Soc. Japan 239–245, 1981.*

32) 정태명 · 이부영 · 조무제 : 식물유의 불검화물이용에 관한 연구, –제 1 보 Sterol 과 Tocopherol 의 정량–, 경상대 논문집 *11, 27–30, 1972.*

33) Dilley, R. A.: *New Methods for determination of Tocopherol and then Applieation to Vegetable oil, Anal. Biochem. 7, 240–243, 1964.*

34) Sturm, P. A. & Parkhurst, R. M.: *Quantitative determination of individual Tocopherols by Thin Layer Chromatographic Separation and Spectrophotometry 38, 1244–1247, 1966.*

35) Stowe, H. D.: *Thin Layer Chromatography of the Tocopherols, Arch. Biochem. Biophy. 103, 42–48, 1963.*

36) Katsuki, G., Ichimura, Y. & Nishimoto, Y.: *Methods for determination of Vitamin E. (1) Determination of Total Tocopherol, Arch. Pract. pharm. 23(4) 299–305, 1963.*

37) Carpenter, A. P.: *Determination of Tocopherols in Vegetable Oils, J. Am. Oil Chem. Soc. 56, 668–671, 1979.*

38) Waltking, A. E., Kiernan, M. & Bleffert, G. W.: *Evaluation of Rapid Polarographic Method for Determining Tocopherols in Vegetable Oils and Oil–Based Products, Journal of the AOAC 60(4) 890 –894, 1977.*