

들기름의 산화방지 성분 분리에 관한 연구

김충기 · 송근섭* · 권용주

전북대학교 식품공학과, *이리농공전문대학 식품공학과

Studies on the Isolation of Antioxidative Components of Perilla Oil

Choong-Ki Kim, Geun-Seoup Song* and Yong-Ju Kwon

Department of Food Science & Technology, Chonbuk National University

*Department of Food Engineering, Iri National College of Agriculture & Technology

Abstract

The perilla seed and the germinated perilla seed (25~28°C, 2~3 days) were extracted by n-hexane, and from the extracted oil the antioxidative components were separated, and then the effect of the change in the contents of antioxidative components by germination on the oxidative stability of the perilla oil was studied. The perilla oils were solved acetone and methanol, and kept at -60°C overnight and separated into the frozen oil fraction and unfrozen solvent soluble fraction. By comparing the antioxidative stability of the frozen oil fraction the antioxidative components in the perilla oil were found to be methanol soluble. The methanol soluble fraction of perilla oil was applied to silica gel column chromatography and the separated fractions were compared in terms of antioxidative activity. The fraction of n-hexane : ethyl acetate (7 : 3, v/v) showing the highest antioxidative activity was further separated by TLC. The components included in the band (R_f 0.71) showing the highest antioxidative activity was separated by HPLC. Four peaks were observed on the HPLC chromatogram and the peak areas were changed by germination (perilla seed : peak 1; 46.5%, peak 2; 25.6%, peak 3; 22.6%, germinated perilla seed : peak 1; 43.8%, peak 2; 20.6%, peak 3; 29.8%). The comparative change in the contents of these components was considered to be one factor affecting the antioxidative stability of perilla oil by germination.

Key words: germination, perilla oil, antioxidative components

서 론

들깨(*Perilla frutescens* Britton var. *japonica* Hara)는 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 일년생 초본으로 종자에서 채유한 들기름은 특이한 향기가 나므로 참기름과 함께 조리 등에 쓰이며, 들깨잎에는 식물성 정유인 L-perillaldehyde, L-limonen, perillaketone 등이 0.3~0.8%나 들어 있어서 독특한 향미와 개운한 맛을 나타내므로 장아찌, 쌈, 깻잎나물로서 많이 식용되고 있다⁽¹⁾.

일반적으로 유지를 많이 함유한 식물종자에는 산화방지 물질이 함유되어 있다고 알려져 있는데, 대두^(2, 4), 미강⁽⁵⁾, 유채⁽⁶⁾ 등에 함유되어 있는 산화방지 성분에 관한 보고 이외에도 Rhee와 Ziprin⁽⁷⁾은 여러 종류의 oilseed로부터 추출한 phenol성 물질들의 일부가 높은 산화방지력을 나타낸다고 보고하였다. 이밖에도 sunflower seed⁽⁸⁾, cotton seed⁽⁹⁾, peanut⁽⁹⁾, olive⁽¹⁰⁾ 등에서도 산화

방지 효과가 우수한 성분들이 존재한다는 연구보고가 있다. 그리고 Budowsky⁽¹¹⁾에 의하여 참깨의 산화방지 성분인 sesamol이 처음 발견된 이래 참깨중의 또다른 산화방지 성분에 관한 보고도 많다⁽¹²⁻¹⁴⁾.

들깨의 산화방지 성분에 관한 연구로는 윤과 최⁽¹⁵⁾가 탈지 들깨박의 ethanol 추출물을 들기름에 첨가하였을 때 산화방지 효과가 증진되었음을 보고하였고, 김과 김⁽¹⁶⁾도 탈지콩, 참깨 및 들깨의 ethanol 추출물이 강한 산화방지가 있음을 보고하였다. 또한 황과 고⁽¹⁷⁾도 들깨의 ethanol 추출물에는 δ-tocopherol 및 수산기를 지닌 미지의 산화방지 성분이 함유되어 있다고 보고한바 있다. 이밖에도 이⁽¹⁸⁾는 탈지 들깨박으로부터 추출한 유리페놀산, 페놀산 에스터 및 불용성 결합형 페놀산 형태의 페놀화합물들이 식용대두유 기질에서 BHT와 비슷한 정도의 산화방지 효과가 있음을 보고하였다.

지금까지 들깨의 산화방지 성분에 관한 연구는 주로 ethanol 추출물에 함유되어 있는 성분에 대해 연구되어져 있을 뿐이다. 전보⁽¹⁹⁾에서 들깨발아가 들기름의 산화안정성 증진에 미치는 효과를 검토한 결과 들깨 종자를 발아시켜 추출한 들기름이 보통의 들깨 종자에서 추출한

Corresponding author: Yong-Ju Kwon, Department of Food Science & Technology, Chonbuk National University, Dukjin-dong, Chonju, Chonbuk 560-756, Korea

들기름보다 산화안정성이 2배 이상 증가됨을 확인하였다. 이는 발아과정중에 일어나는 인지질, tocopherol류 등 유지의 화학적 조성의 변화뿐만 아니라 들기름의 산화안정성에 관여하는 것으로 생각되어지는 phenol성 화합물의 함량 변화에 의해서도 산화안정성이 다르게 나타나는 것으로 추정되었다. 따라서 본 연구에서는 들깨 및 발아들깨에서 추출한 들기름에 존재하는 산화방지 성분을 분리하고 이들 성분의 함량 변화를 비교하여 들기름의 산화안정성에 미치는 들깨 종자 발아의 효과를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 및 들기름의 추출

들깨는 91년 11월 중순경에 생산농가에서 직접 구입하여 전보⁽¹⁹⁾와 같이 처리한 후 들깨(nongerminated perilla seed) 및 발아들깨(germinated perilla seed) 시료로 사용하였으며 들기름은 전보⁽¹⁹⁾와 같이 n-hexane을 이용한 용매추출법으로 추출하였다.

산화방지 물질의 추출 및 산화안정성 측정

산화방지 물질은 Fukuda 등의 방법⁽²⁰⁾에 따라 추출하였다. 즉, 들기름을 중량비 6배량의 methanol에 용해하여 -60℃에서 하룻밤 동결시켜 추출한 다음 여과하여 저온에서 고체상인 유지와 액체상인 methanol 가용성 획분으로 분리하였으며 위와 같은 방법으로 들기름을 acetone에 용해하여 유지와 acetone 가용성 획분으로 분리하였다. 한편 methanol 가용성 획분과 acetone 가용성 획분이 제거된 불용성 획분을 감압농축하여 용매를 제거시킨 후 일정량을 취하여 45℃의 항온기에 유지하면서 산패를 유발시켜 경시적으로 peroxide value는 일본기준유지분석법⁽²¹⁾, carbonyl value는 Henick 등의 방법⁽²²⁾에 따라 산화안정성을 측정하였다.

산화방지 성분의 분리

Fig. 1과 같이 column chromatography, TLC 및 HPLC에 의하여 들기름에 존재하는 산화방지 성분을 분리하였다.

Column chromatography에 의한 산화방지 성분의 분리: 산화방지 성분을 분리하기 위하여 들기름의 methanol 가용성 획분을 silica gel 60(70~230 mesh, Merck사) 10g을 n-hexane으로 현탁시켜 충전한 column (2 cm I.D×30 cm)에 흡착시킨 후 n-hexane 내의 ethyl acetate 농도를 0%에서 100%까지 10%씩 단계적으로 증가시킨 step-wise 용출방법⁽¹²⁾으로 0.7~1.0 ml/min 용출속도로 각 10 ml씩 분획한 다음 각 분획물에 대하여 산화방지 활성을 측정하였다.

TLC에 의한 산화방지 성분의 분리: Column chromatography에서 산화방지 활성이 가장 강하게 나타난 획분을 silica gel 60 F₂₅₄ TLC plate에 점적하고 toluene :

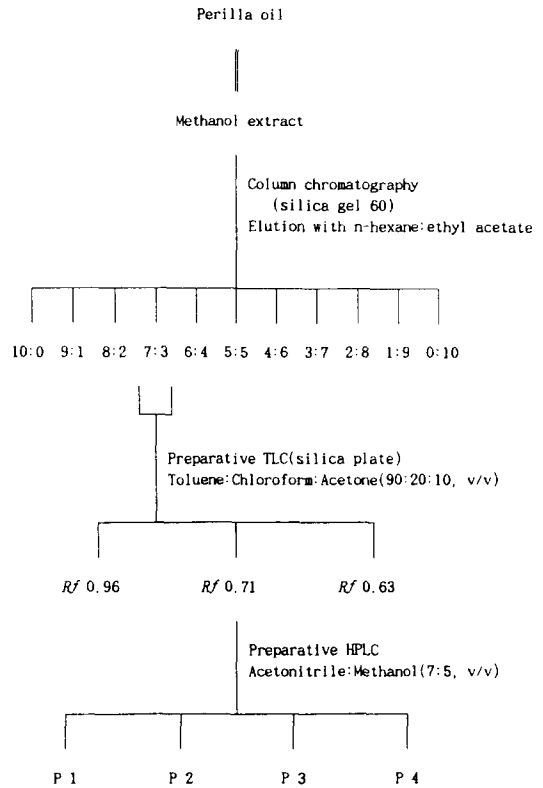


Fig. 1. The schematic diagram of the isolation of the antioxidative components

chloroform : acetone(90 : 20 : 10, v/v)으로 전개시킨 후 UV Lamp(Model SL-3660, Black Light Eastern)로 조사하여 chromatogram을 확인한 후 발색 band를 각각 구분하여 분취한 다음 산화방지 활성을 측정하였다.

HPLC에 의한 산화방지 성분의 분리: TLC에서 산화방지 활성이 가장 강하게 나타난 R_f 0.71의 band를 분취하여 ethanol에 용해시켜 여과지(Whatman No.2)로 여과한 후 0.45 μm membrane filter를 이용하여 다시 여과한 다음 HPLC(LKB 2150, Sweden)로 분리하였다. 이때 column은 μ-Bondapak C₁₈ column(30 cm×3.9 mm, Waters), mobile phase는 acetonitrile : methanol(7 : 5, v/v)를 사용하여 1 ml/min의 유속으로 용출시켜 UV-VIS recording spectrophotometer(Shimadzu UV-160A)를 detector로 사용하여 220 nm에서 chart speed 5 mm/min의 조건으로 분석하였다.

산화방지 활성의 측정

분리된 산화방지 성분의 활성은 다음과 같이 측정하였다. 즉, 유리 radical 소거활성은 Blois의 방법⁽²³⁾, thiocyanate method는 Mitsuda 등의 방법⁽²⁴⁾에 따라 측정하였으며 β-carotene spray에 의한 측정은 Hammersch-

midt와 Pratt의 방법⁽⁴⁾에 따라 spray를 조제하여 측정하였다.

산화방지 성분의 화학적 조성

TLC에 의하여 분리, 확인된 산화방지 활성이 가장

강하게 나타난 R_f 0.71의 band에 함유된 물질의 화학적 조성은 phenolic 화합물의 발색제⁽²⁵⁾들을 사용하여 그 정색반응을 확인하여 추정하였다.

결과 및 고찰

산화방지 물질의 추출 및 확인

들깨 및 발아들깨에서 추출한 들기름을 acetone 및 methanol에 용해하여 동결처리한 다음 분리된 각각의 불용성 획분의 산화안정성을 peroxide value 및 carbonyl value를 측정하여 비교한 결과는 Fig. 2와 같았다.

Peroxide value가 100에 이르는 데 소요되는 시간으로 비교할 경우에 acetone 추출물을 제거한 들기름은 11.2일 경과하여 도달하였으나 methanol 추출물을 제거한 들기름은 4.2일 경과 후에 도달하여 산화안정성이 현저하게 감소하는 것으로 나타났다. 또한 carbonyl value에 있어 서도 peroxide value에서 나타나는 현상과 비슷한 경향을 나타내는 것으로 보아 들기름에 존재하는 산화방지성 물질은 methanol에 대한 용해성이 강한 성분임을 추정할 수 있었다. 이와 같은 결과는 들깨박 ethanol 추출물이 들기름의 산화안정성을 증진시키는데 효과가 있었다는 윤과 최⁽¹⁵⁾의 보고와 유사한 결과이다.

Column chromatography에 의한 분리 및 확인

들기름에 존재하는 산화방지 성분을 분리하기 위하여 들깨 및 발아들깨로부터 추출한 들기름에서 얻어진 methanol 가용성 획분을 silica gel column에 흡착시킨 후 n-hexane : ethyl acetate 용매계로 분획하였다. 각각의 획분을 최종농도 1 mg/ml로 하여 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH) 용액을 기질로 유리 radical 소거활성을 측정한 결과는 Table 1과 같았다. 분리된 획분중 들깨 및 발아들깨 모두 n-hexane : ethyl acetate의 비가 7 : 3인

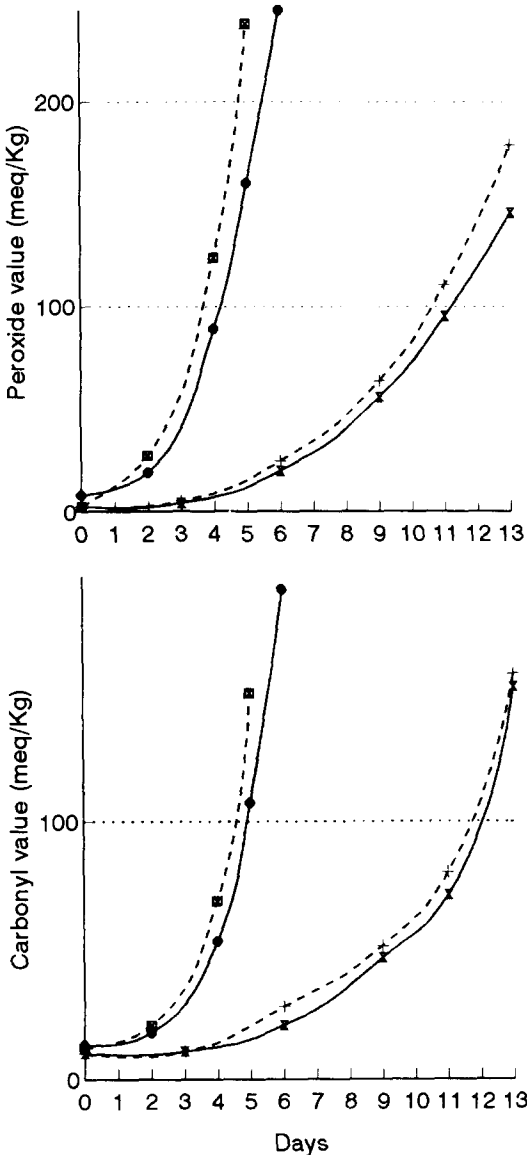


Fig. 2. Changes of the peroxide values and the carbonyl values of perilla oil from which acetone solubles and methanol solubles were removed during the autoxidation at 45°C

⊠—⊠; methanol treated GPO, ●—●; methanol treated NPO, +—+; acetone treated GPO, ⊞—⊞; acetone treated NPO
 NPO; The oil from nongerminated perilla seed
 GPO; The oil from germinated perilla seed

Table 1. Free radical quenching activity of the fractions of methanol extract separated by silica gel column chromatography

Fraction No.	Solvent mixture n-hexane : ethyl acetate	Decrease in A ₅₁₇	
		Nongerminated	Germinated
A	10 : 0	0.010	0.012
B	9 : 1	0.014	0.050
C	8 : 2	0.040	0.036
D	7 : 3	0.450	0.441
E	6 : 4	0.042	0.056
F	5 : 5	0.022	0.032
G	4 : 6	0.050	0.044
H	3 : 7	0.038	0.052
I	2 : 8	0.058	0.040
J	1 : 9	0.048	0.044
K	0 : 10	0.054	0.044
control		0.004	

Table 2. Antioxidative activity of the fractions of methanol extract separated by silica gel column chromatography

Fraction No.	Solvent mixture n-hexane : ethyl acetate	Days*	
		Nongerminated	Germinated
A	10 : 0	16	17
B	9 : 1	16	17
C	8 : 2	17	19
D	7 : 3	25	28
E	6 : 4	15	18
F	5 : 5	16	16
G	4 : 6	17	17
H	3 : 7	15	16
I	2 : 8	17	17
J	1 : 9	17	18
K	0 : 10	17	17
control		14	

*Time to reach O.D.(optical density) 0.3 at 500 nm by thiocyanate method. 1 mg of each fraction was used for the assay.

획분에서 높은 유리 radical 소거활성을 보여 산화방지 활성이 높음을 알 수 있었다.

또한 thiocyanate method에 의해 산화방지 활성을 측정한 결과는 Table 2와 같았다. 각 획분을 1mg씩 첨가하여 500 nm에서 흡광도가 0.3에 이르는데 걸리는 시간으로 비교하였을 때 유리 radical 소거활성이 가장 높았던 n-hexane : ethyl acetate의 비가 7 : 3인 획분에서 역시 강한 산화방지 활성을 나타냈다.

이상의 결과 들기름에 존재하는 산화방지 성분은 ethyl acetate 농도가 30%인 용출획분에 다량 존재함을 확인할 수 있었으며, 어떤 성질을 지닌 성분인지를 알아보기 위하여 TLC에 의한 화학적 분석을 실시하였다.

TLC에 의한 분리 및 확인

산화방지 활성이 강하게 나타난 n-hexane : ethyl acetate의 비가 7 : 3인 획분을 silica gel 60 F₂₅₄ plate에 점적하여 toluene : chloroform : acetone(90 : 20 : 10, v/v) 용매로 전개시킨 후 UV lamp를 조사한 결과 들깨 및 발아들깨 모두 R_f치가 0.96, 0.71 및 0.63인 3개의 band가 분리되었다.

이들 분리된 3개의 band를 각각 분취하여 ethanol로 용출한 후 유리 radical 소거활성을 측정하여 산화방지 활성을 비교한 결과는 Table 3과 같았다. 들깨 및 발아들깨 모두 R_f치가 0.71인 band가 가장 높은 유리 radical 소거활성을 보여 산화방지 활성이 강한 성분이 존재함을 알 수 있었다.

또한 TLC상에서 β-carotene spray에 의한 산화방지 활성의 정도를 검정한 결과 들깨 및 발아들깨 모두 R_f치 0.96 및 0.63인 band는 일광에 노출시킨 2시간 후에 오

Table 3. Free radical quenching activity of the antioxidative components separated by TLC

Band	R _f value	Decrease in A ₅₁₇	
		Nongerminated	Germinated
1	0.96	0.078	0.016
2	0.71	0.561	0.613
3	0.63	0.026	0.028

Table 4. Identification of antioxidative components in methanol extract of perilla oil by using TLC reagents

Spray reagent	Colour	Compound identified
A	Dark blue	Phenolics
B	Blue	Phenolics
C	Brown	Phenolics
D	Brown	OH-Phenolics
E	Dark yellow	Phenolics

A: Folin-Ciocalteu reagent, B: Mixed solution of 1% FeCl₃ and 1% K₃Fe(CN)₆, C: FeCl₃ ethanol solution, D: Diazotized p-nitroaniline, E: 20% Na₂CO₃ solution

렌지색이 거의 퇴색하였으나 R_f치 0.71인 band는 4시간 후에도 오렌지색이 퇴색되지 않아 산화방지 활성이 강한 성분이 존재하는 band임을 확인할 수 있었다.

한편 산화방지 활성이 강하게 나타난 R_f치 0.71인 band에 존재하는 산화방지 성분의 화학적 조성을 동정하기 위하여 phenolic 화합물의 발색제들을 이용하여 정색반응을 확인한 결과는 Table 4와 같았다.

Folin-Ciocalteu 시약 및 FeCl₃와 K₃Fe(CN)₆의 혼합용액에서 각각 진한청색 및 청색으로 발색되었으며, 20% Na₂CO₃ 용액을 분무하여 UV를 조사하였을 때 진한 황색형광을 나타내어 phenolic 화합물의 특성⁽²⁶⁾을 지니고 있었다. 그리고 FeCl₃ ethanol 용액과 diazotized p-nitroaniline 시약에서는 갈색으로 발색되어 ortho- 또는 para-hydroxy기를 지닌 phenolic 화합물임을 확인⁽²⁶⁾할 수 있었다.

이상의 결과로 보아 R_f치 0.71인 band에 존재하는 산화방지 성분은 ortho- 또는 para-hydroxy기를 지닌 phenolic 화합물로 추정된다.

HPLC에 의한 분리

TLC상에서 분리되어 산화방지 활성이 강하게 나타난 R_f치 0.71인 band를 분취하여 ethanol로 용출한 후 0.45 μm membrane filter로 여과하여 HPLC로 분리한 chromatogram은 Fig. 3~4와 같다.

들깨 및 발아들깨 모두 HPLC chromatogram상에서 retention time이 2.3분(P 1), 3.3분(P 2), 5.5분(P 3) 및 7.5분(P 4)에서 4개의 활성물질 peak가 분리, 확인되었다. 이들 peak의 함량을 먼적 백분율로 비교하여 볼 때 들깨에서는 P 1, P 2가 각각 46.5%, 25.6%이었고 P 3는

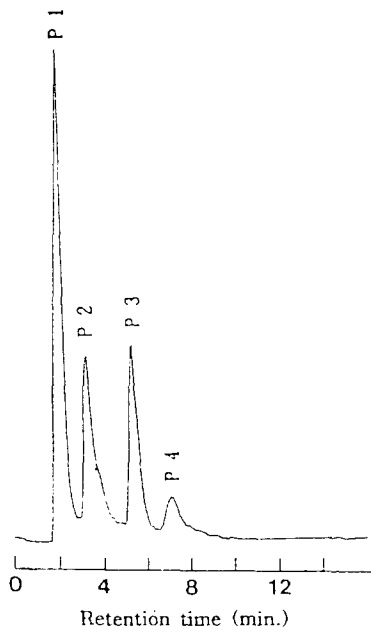


Fig. 3. HPLC chromatogram of the antioxidative components in perilla oil from nongerminated perilla seed

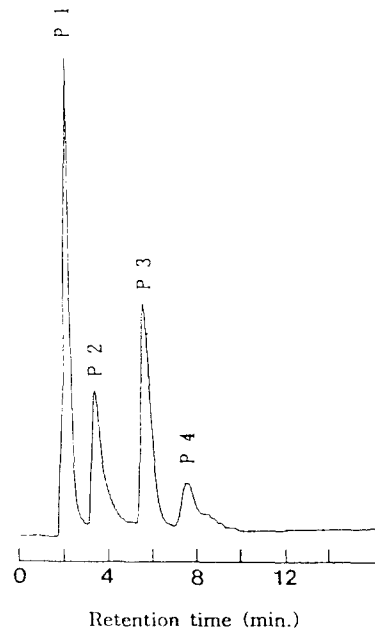


Fig. 4. HPLC chromatogram of the antioxidative components in perilla oil from germinated perilla seed

22.6%이었으나, 발아들개에서는 P 1, P 2의 함량이 약간 감소하여 각각 43.8%, 20.6%인 반면 P 3 함량은 상당량 증가하여 29.8%이었다. 이와 같이 HPLC chromatogram상에서 분리된 4개의 peak중 발아에 의해 P 1, P 2의 활성물질 함량은 상대적으로 감소하고 P 3의 활성물질 함량은 증가하는 것으로 보아, 전보⁽¹⁹⁾에서 논의된 바와 같이 인지지방과 tocopherol류 등의 함량차이 뿐만 아니라 이들 물질의 함량 변화에 의해서도 들개 및 발아들개에서 추출한 들기름의 산화안정성이 다르게 나타나는 또다른 요인으로 작용하는 것으로 추정된다. 따라서 앞으로 이들 물질에 대하여 GC/MS, IR, NMR 분석방법에 의한 좀 더 상세한 성분분석 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

들개와 들개 종자를 25~28°C 에서 2~3일간 발아시켜 얻은 발아들개로부터 n-hexane으로 들기름을 추출한 후 이들 2종류의 들기름에 함유되어 있는 산화방지 성분을 분리하고, 발아에 의한 산화방지 성분의 함량 변화가 들기름의 산화안정성에 미치는 영향을 검토하였다. 들기름을 acetone 및 methanol에 용해시켜 동결처리한 다음 분리된 불용성 회분의 산화안정성을 측정된 결과 들기름에 존재하는 산화방지성 물질은 methanol에 용해성이 강한 성분임을 확인하였다. 들기름에서 분리된

methanol 가용성 회분을 silica gel column chromatography로 분획하여 산화방지 활성을 검정한 결과 n-hexane : ethyl acetate의 비가 7 : 3인 회분에서 가장 높은 산화방지 활성을 나타내었다. 산화방지 활성이 가장 높았던 회분을 TLC로 분리한 결과 3개의 band가 확인되었다. 이중 R_f치 0.71인 band가 가장 높은 산화방지 활성을 나타내었으며 이 band에 존재하는 산화방지 성분은 phenolic 화합물로 추정되었다. TLC에 의하여 분리된 산화방지 성분을 다시 HPLC에 의하여 분리한 결과 HPLC chromatogram상에서 4가지 활성물질 peak가 분리되었다. 이들 peak중 들개에서는 P 1, P 2의 함량이 각각 46.5%, 25.6%이었고 P 3의 함량은 22.6%이었으나, 발아들개에서는 P 1, P 2의 함량이 각각 43.8%, 20.6%로 약간 감소한 반면 P 3 함량은 29.8%로 상당량 증가하였다. 이와 같이 HPLC 분석에서 분리된 4가지 peak중 발아에 의해 P 1, P 2의 활성물질 함량은 상대적으로 감소하고 P 3의 활성물질 함량은 증가하는 것으로 보아 이들 물질의 함량 변화에 의해서도 들개 및 발아들개로부터 추출한 들기름의 산화안정성이 다르게 나타나는 것으로 추정되었다.

감사의 글

본 연구는 (주)미원 부설 한국음식문화연구원의 지원으로 이루어진 결과로 이에 감사를 드립니다.

문 헌

1. 文範洙, 李甲湘: 食品材料學, 修學社, p.165(1993)
2. Pratt, D.E. and Birac, P.M.: Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. *J. Food Sci.*, **44**(6), 1720(1979)
3. Pratt, D.E., Pietro, C.D., Porter, W.L. and Giffee, J.W.: Phenolic antioxidants of soy protein hydrolyzates. *J. Food Sci.*, **47**(1), 24(1981)
4. Hammerschmidt, P.A. and Pratt, D.E.: Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J. Food Sci.*, **43**(2), 556(1978)
5. Okada, T. and Yamaguchi, N.: Antioxidative effect and pharmacology of oryzanol. *J. Jpn. Oil Soc.*, **33**(6), 305(1983)
6. Fenton, T.W., Leung, J. and Clandinin, D.R.: Phenolic components of rapeseed meal. *J. Food Sci.*, **45**(6), 1702(1980)
7. Rhee, K.S. and Ziprin, Y.A.: Oilseed protein ingredients as antioxidant for meat in food service. *J. Food Prot.*, **44**, 254(1981)
8. Leun, J., Fenton, T.W. and Clandinin, D.R.: Phenolic components of sunflower flour. *J. Food Sci.*, **46**(5), 1386(1981)
9. Rhee, K.S., Ziprin, Y.A. and Rhee, K.C.: Antioxidant activity of methanolic extracts of various oilseed protein ingredients. *J. Food Sci.*, **46**(1), 75(1981)
10. Sheabar, F.Z. and Neeman, I.: Separation and concentration of natural antioxidants from the rape of olives. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **65**(6), 990(1988)
11. Budowski, P.: Recent research on sesamine, sesamol, and related compounds. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **41**(4), 280(1964)
12. Fukuda, Y., Osawa, T., Namiki, M. and Ozaki, T.: Studies on antioxidative substances in sesame seed. *Agric. Biol. Chem.*, **49**(2), 301(1985)
13. Fukuda, Y., Nagata, M., Osawa, T. and Namiki, M.: Chemical aspects of the antioxidative activity of roasted sesame seed oil, and the effect of using the oil for frying. *Agric. Biol. Chem.*, **50**(4), 857(1986)
14. 안찬영, 현규한, 박근형: 검은깨의 항산화 활성물질. 한국식품과학회지, **24**(1), 31(1992)
15. 윤석권, 최수임: 들기름의 酸敗抑制에 관한 研究. 동대농촌(동덕여대), **16**, 339(1986)
16. 金恩姬, 金東勳: 脫脂 콩, 참깨 및 들깨粕의 에탄올 抽出物의 공기름-물 기질에서의 酸化抑制效果. 한국식품과학회지, **13**(4), 283(1981)
17. 황성자, 고영수: 한국산 식물식용유지의 성분에 관한 연구. 제6보; 참깨와 들깨종자유 중의 천연산화방지제에 관한 연구. 한국영양학회지, **15**(1), 30(1982)
18. 이기영: 탈지들깨박에서 분리한 케놀화합물의 항산화효과. 한국식품과학회지, **25**(1), 9(1993)
19. 김충기, 송근섭, 권용주, 김인숙, 이태규: 들깨기름의 산화안정성에 미치는 들깨 종실 발아의 영향. 한국식품과학회지, **26**(2), 178(1994)
20. Fukuda, Y., Osawa, T. and Namiki, M.: Antioxidants in sesame seed. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **28**(8), 461(1981)
21. 日本油化學協會: 基準油脂分析試驗法, 2.4.12-71(1984)
22. Henick, A.S., Benca, M.F. and Mitchell, J.H. Jr.: Estimating carbonyl compounds in rancid fats and foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 88(1954)
23. Blois, M.S.: Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199(1958)
24. Mitsuda, H., Yasumoto, K. and Iwami, K.: Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyo to Shokuryo*, **19**(3), 210(1966)
25. Stahl, E.: Thin Layer Chromatography, 2nd ed., Springer-Verlag Berlin, p.855(1969)
26. Duve, K.J. and White, P.J.: Extraction and identification of antioxidants in oats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **68**(6), 365(1991)

(1994년 7월 4일 접수)