

大豆發芽중 脂質代謝에 관한 연구

(第 1 報) 粗脂肪量 및 脂質성분의 변화에 관하여

辛 孝 善

東國大學校 食品工學科

(1974년 7월 29일 수리)

Studies on the Lipid Metabolism of Soybean during its Germination

(Part 1) Changes of crude fat content and lipid composition in soybean during germination

Hyo Sun, Shin

Department of Food Technology, College of Engineering

Dongguk University

(Received July, 29, 1974)

Summary

The Merit variety of soybean (*Glycine max* L.), harvested in 1971 was germinated in the dark at 21~25°C for days. The soybean sprouts were divided into cotyledons and seedling axis (=hypocotylplus root) and subjected to the determination of dry weight, crude fat content and lipid components (esterified sterols, triglycerides, free fatty acids, free sterols and phospholipids) at two-day intervals during the germination periods.

The results are summarized as follows:

1) During the germination period, the dry weight and crude fat content in cotyledons decreased continuously, but the dry weight seedling axis increased continuously and crude fat content remained almost constant.

2) The triglyceride content in crude fat from cotyledons decreased and free fatty acid content increased continuously, but triglyceride content in crude fat from seedling axis showed no change until 6th day and increased slightly after 8th day, and free fatty acid content showed increase after 4th day and decrease after 6th day. Phospholipids, free and esterified sterols content in cotyledons increased continuously, but their content in seedling axis remained unchanged.

緒 論

大豆의 生産 및 利用이 날로 증가됨에 따라 대두에 관한 연구는 여러 분야에서 매우 활발하게 진행되고 있다. 그 중에서 대두 발아과정 중의 각

종 화학성분의 변화는 발아중에 일어나는 복잡한 生化學的 메커니즘을 究明하는데 좋은 수단이 되므로 여러 植物 생화학자들에 의하여 오래전부터 연구되어 왔다. 특히 우리나라에서는 발아시킨 대두를 소위 豆芽, 豆菜芽 또는 콩나물 등으로 불리

古來로부터 食用으로 사용하여 왔고 콩나물에 대한 연구는 1930년대부터 오늘날까지 계속 되고 있으며 그 내용은 주로 콩나물 生長時의 一般成分, 비타민, 糖類 및 아미노산의 변화 등에 관한 報文⁽¹⁾이며 脂肪質의 消長이나 代謝에 관한 연구는 거의 볼 수 없다.

대두는 15~20%의 脂肪質을 함유하고 있으며 이는 대두발아 중 주로 에너지 源과 탄수화물 등의 합성에 이용된다. Van Ohlen⁽²⁾은 대두발아 중 지방의 함량은 감소하나 還元糖의 양은 증가한다고 하였다. 또 MacAlister⁽³⁾와 MacLachlan⁽⁴⁾은 대두발아 중 에테르 추출물의 양은 감소하나 sterol류의 함량은 증가한다고 하였다. 그러나 Green⁽⁵⁾은 대두발아 중 子葉部의 지방함량은 4일까지는 거의 일정하나 5일 후 부터는 감소된다고 보고 하였으며 McKinney⁽⁶⁾등도 에테르 추출물의 양은 발아 3일 후까지는 일정하나 4일 후 부터는 감소하며 遊離脂肪酸의 함량은 4일 후까지는 감소하다가 5일 후 부터는 증가한다고 하였다. 또 Brown등⁽⁷⁾은 대두발아 중 子葉部의 中性脂肪의 함량은 감소되나 遊離脂肪酸과 neutral non-triglyceride의 함량은 증가한다고 하였으며 Fedeli등⁽⁸⁾은 中性脂肪의 함량은 감소하나 유리지방산의 함량은 2일까지는 급속히 증가하다가 그 후 부터는 미량씩 감소되며 polar lipid는 증가 된다고 하였다. 이상과 같이 대두발아 중 지방질의 변화에 대하여는 연구자에 따라 다른 결과를 발표하고 있다.

특히 대두발아 중 子葉部는 分解의인 代謝를 하는데 反하여 胚軸部는 合成的인 代謝를 주로 하고 있으므로 이 두 部位의 脂質代謝도 매우 相異할 것으로 추측된다. 그러나 아직까지 이 두 부분의 脂質代謝를 비교연구 한 報文은 찾아볼 수 없다. 그리하여 筆者는 대두발아 중 子葉部와 胚軸部를 분리 한 후 각각 그 乾物量, 粗脂肪量 및 脂質成分 (esterified sterol, triglyceride, free fatty acid, free sterol, phospholipid)의 經時的인 변화를 정량하여 몇가지 결론을 얻었기에 이에 報告한다.

實驗材料 및 方法

1. 材 料

본 실험에 사용한 대두는 1971년 서울지방에서 재배된 Merit 種으로 수확후 약 6개월 저장한 것이며 傷害를 받았거나 外觀이 異常한 것은 제거하였으며 粒重이 180~200mg의 것을 選別하여 사

용하였다.

선별한 대두는 3.3%의 NaClO와 0.2%의 sorbic acid로 처리한 후 1%의 合成洗劑(Tide: 미국 Procter & Gamble社製)로 세척⁽⁷⁾ 한것을 3시간 水浸한 후 21~25°C의 暗所에서 하루에 5~6회씩⁽¹⁾ 注水하면서 10일간 발아 시켰다. 발아 중 2일 간격으로 豆芽를 채취하여 子葉部(cotyledon)와 胚軸部(seedling axis=hypocotyl+root)의 2부분으로 분리하여 각각 분석시료로 하였다.

2. 方 法

(1) 乾物量(dry weight): AOAC의 公定法⁽⁹⁾인 vacuum oven method에 의하였다.

(2) 粗脂肪(crude fat): 각 시료의 건조물을 n-hexane으로 추출하는 AOCS의 공정법⁽¹⁰⁾에 의하여 정량하였으며 溶媒는 窒素氣流下에서 rotary vacuum evaporator로 증발 제거하였다.

(3) 脂質(lipid)의 抽出 및 分別定量: 각 시료를 chloroform-methanol=2:1(v/v)에 의하여 Bligh 등의 방법⁽¹¹⁾으로 脂質을 추출하였으며 추출한 脂質은 Folch 등의 방법^(12,13)에 의하여 정제하였고 이 정제한 脂質은 thin layer chromatography (TLC)에 의하여 분리 확인 하였다. TLC는 glass plate (20×20cm)에 250m μ 로 silica gel G (E. Merk社製)의 薄層을 입힌다음 110°C에서 1시간 活性化시킨 후 위와같이 정제한 脂質을 spotting하여 n-hexane-diethyl ether-galcial acetic acid=80:20:1(v/v/v)의 展開溶媒⁽¹⁴⁾로 上昇一次元法에 의하여 전개시켰으며 황산을 塗布하여 炭化시키거나 iodine vapor에 의하여 脂質의 위치를 확인하였다. 標準 脂質은 cholesterol palmitate, tripalmitin, palmitic acid, cholesterol, lecithin (미국 Applied Science Lab. 社製)을 사용하였다. TLC에 의하여 분리한 각 脂質은 Amenta의 방법⁽¹⁵⁾에 의하여 정량하였다. 즉 展開가 끝난 thin layer의 plate마다 표준지질을 전개한 部位만 남기고 시료부분은 aluminum foil로 가린 후 iodine vapor로 표준지질의 部位만을 확인한 다음 Rf值에 의하여 재확인하고 시료를 전개한 部位에서 표준물질에 해당하는 부분을 scraping하여 시험관에 옮겼다. 여기에 acid dichromate용액을 가하고 100°C의 water bath에서 45분간 끓인 후 원심분리(3,000 r.p.m., 15min)하여 그 上澄液을 증류수로 적당히 희석한 다음 Beckman DB-G spectrophotometer에 의하여 350m μ 에서 吸光度를 측정 하였다.

實驗結果 및 考察

1. 乾物量의 변화

대두발아 중 子葉部와 胚軸部에 대한 乾物量의 經時的인 변화를 보면 Table 1과 같다.

Table 1. Changes in moisture content and dry weight of soybean seedlings germinated in the dark

Germination time(days)	Moisture content*		Dry weight*	
	Cotyledon	Seedling axis	Cotyledon	Seedling axis
0	50.2±0.4	—	117.8±0.8	—
2	180.2±4.9	12.9±2.7	108.3±1.8	3.6±4.1
4	204.6±2.8	67.4±3.7	101.2±5.2	7.3±2.7
6	224.5±7.2	90.7±1.9	98.3±1.1	10.3±4.1
8	219.4±2.8	97.5±6.8	90.6±3.3	13.3±2.2
10	228.4±1.7	128.2±4.9	84.7±0.2	17.2±2.8

* mg/seedling, as mean±standard deviation.

부의 乾物量은 발아 10일 후에는 약 33.1mg 감소되었으나 胚軸部の 乾物量은 17.2mg 증가하였다. 이와같이 子葉部の 乾物量이 감소된 정도는 胚軸部の 乾物量이 증가된 정도보다 더 심하였다. 이것은 대두발아 중 成長에 필요한 에너지를 공급하기 위하여 子葉部の 異化作用이 胚軸部の 同化作用보다 더 왕성하게 진행됨을 암시하여 준다.

즉 발아가 진행됨에 따라 子葉部の 乾物量은 감소하는데 반하여 胚軸部の 乾物量은 증가하였다. 이와같은 결과는 국내 여러 연구자들의 결과⁽¹⁾와 일치되며 또한 해바라기씨의 발아에 대한 Miller의 연구^(16,17) 및 수박씨의 발아에 대한 Crombie의 연구⁽¹⁸⁾와도 일치되는 현상이다. 본 실험에서 子葉

2. 粗脂肪量의 변화

대두발아중 子葉部와 胚軸部에 대한 粗脂肪量의 經時的인 변화를 보면 Table 2와 같다.

즉 발아중 子葉部の 粗脂肪量은 乾物量이나 발아대두 個體를 기준으로 하였을때 다 같이 계속적으로 감소하였으며 그 감소정도는 발아 10일 후에는 발아전의 시료에 비하여 乾物量을 기준으로 하

Table 2. Changes in crude fat content of soybean seedlings germinated in the dark

Germination time(days)	% fat on a dry basis		mg fat/seedling	
	Cotyledon	Seedling axis	Cotyledon	Seedling axis
0	21.6±0.2	—	21.5±0.2	—
2	20.4±0.1	12.1±0.4	19.3±0.6	0.34±0.01
4	18.3±0.3	4.9±0.4	17.4±0.4	0.31±0.02
6	17.5±0.3	3.6±0.3	16.6±0.2	0.33±0.04
8	15.4±0.3	2.8±0.1	15.4±0.3	0.35±0.03
10	14.1±0.2	2.5±0.2	14.2±0.7	0.38±0.02

였을때 7.5%, 발아대두 개체를 기준으로 하였을 때는 7.3mg씩 감소하였다. 그러나 胚軸部の 粗脂肪量은 乾物量을 기준으로 하였을때는 비교적 큰 감소경향을 나타냈으나 각 발아대두 개체를 기준으로 하였을때는 0.34±0.03mg의 수준으로 큰 변화없이 일정하였다. 이상과 같은 조지방량의 변화는 대두발아에 대한 Brown⁽⁷⁾ 및 McKinney의 연구⁽⁶⁾와 수박씨에 대한 Crombie의 연구⁽¹⁸⁾, 그리고

해바라기씨에 대한 Miller의 보고^(16,17)와도 잘 일치되는 현상이다. 특히 대두발아 중 胚軸部の 乾物量은 증가하는데 반하여 조지방량은 변화가 없는 것은 胚軸部에서 炭水化合物^(1,2,19) 非脂肪分(non-fat dry matter)이 주로 증가되기 때문인 것으로 추측된다.

3. 脂質의 변화

脂質의 표준품을 TLC로 분리하고 Amenta의

정량방법⁽¹⁵⁾에 의하여 작성한 표준곡선은 Fig. 1과

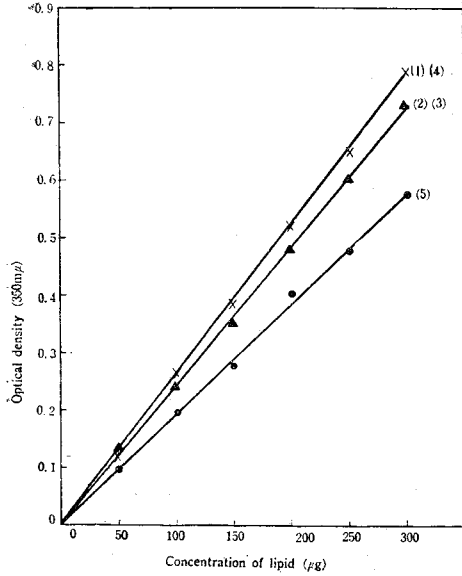


Fig. 1. Standard curves of lipid by thin layer chromatography. Standard lipid components developed on silica gel G plates with *n*-hexane—diethyl ether—glacial acetic acid(=80 : 20 : 1), followed by reaction with dichromate reagent.

- (1) Cholesterol palmitate (2) Tripalmitin
(3) Palmitic acid (4) Cholesterol
(5) Lecithin

Table 3. Changes in lipid components of cotyledon during germination of soybean in the dark

Germination time(days)	Lipid component (% of total lipid)				
	TG	FFA	PL	FS	ES
0	98.8	0.18	0.64	0.31	0.11
2	98.2	0.30	0.86	0.36	0.19
4	97.6	0.58	1.06	0.54	0.26
6	96.4	1.17	1.28	0.72	0.41
8	95.4	1.63	1.56	0.92	0.51
10	94.7	1.91	1.68	1.09	0.64

Abbreviations used throughout this paper:

TG:Triglyceride, FFA:Free fatty acid, PL:Phospholipid, FS:Free sterol, ES:Esterified sterol

의 증가현상은 대두발아 중 子葉部の 저장지방인 triglyceride가 lipase에 의하여 분해되어 일어나는 현상으로 추측된다. Olcott⁽²²⁾는 목화씨, Johnston⁽²⁷⁾은 油桐씨, wetler는 평지씨의 발아중 유리지방산의 양과 lipase activity가 서로 평행적으로 증가한다고 하였으며 Meyer⁽²⁹⁾와 Papavizas⁽³⁰⁾

같다. 이와같이 TLC에 의하여 분리한 脂質은 acid dichromate 용액으로 산화시킨 후 350mμ에서 吸光度를 측정 한 결과 脂質함량과 吸光度의 증가는 비례관계가 있음을 알수 있었다.

대두발아 중 脂質성분의 변화를 관찰하고자 Fig.1의 표준곡선에 의하여 子葉部に 있어서 triglyceride, free fatty acid, phospholipid, esterified sterol 및 free sterol의 변화를 정량한 결과는 Table 3과 같으며 그의 thin layer chromatogram은 Fig. 2와 같다.

즉, 대두발아중 子葉部에서는 中性脂肪인 triglyceride의 함량은 계속적으로 감소하는데 反하여 遊離脂肪酸의 함량은 계속 증가 하였다. 이와같은 연구는 대두발아에 대한 Brown⁽⁷⁾, Fedeli⁽⁸⁾ 및 Neumann의 연구⁽²⁰⁾와 강낭콩(*phaseolus vulgaris*)의 발아에 대한 Duperon의 연구⁽²¹⁾, 그리고 목화씨에 대한 Olcott의 연구⁽²²⁾, 호박씨에 대한 Heumann⁽²³⁾과 Jegerow의 연구⁽²⁴⁾, 亞麻씨에 대한 Zimmerman⁽²⁵⁾과 Desveaux의 연구⁽²⁶⁾와 일치되는 현상이다. 본 실험에서는 子葉部の triglyceride의 함량은 발아 4일 후부터 감소되기 시작하였으며 10일 후에는 발아전의 대두에 비하여 4.1% 감소 되었다. 그러나 유리지방산의 함량은 발아전의 대두에 비하여 10일 후에는 1.73%증가 하였다. 이와같은 triglyceride의 감소 및 유리지방산

는 lipase activity가 최고에 달한후에는 유리지방산의 양은 일정하게 된다고 보고 하였다. 그리고 발아중 子葉部の phospholipid는 계속 증가 되었고 10일 후에는 발아전의 대두에 비하여 1.04% 증가 되었다. 이와같은 phospholipid의 증가현상은 강낭콩의 발아에 대한 Duperon의 연구⁽²¹⁾와는 相反

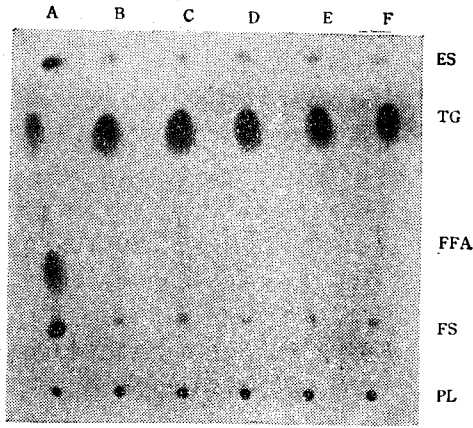


Fig. 2. Thin layer chromatogram of total lipids from cotyledons of soybeans during germination periods.

A; standard mixture(cholesterol palmitate, tripalmitin, palmitic acid, cholesterol and lecithin), B, C, D, E, F, total lipids extracted with chloroform—methanol=2 : 1(v/v) after 0, 2, 4, 6 and 8 days of germination, respectively.

Absorbent: Silica gel G.

Solvent: *n*-hexane—diethylether—glacial acetic acid=20 : 20 : 1(v/v/v).

되는 결과이나 평지씨의 발아중 phospholipid가 증가한다는 Houget⁽⁸¹⁾와 亞麻씨의 발아에서도 같은결과를 보고한 Zimmerman의 연구⁽²⁵⁾와는 일치되는 결과이다.

또 free sterol과 esterified sterol의 함량은 발아 중 미량씩 계속 증가되었고 10일후에는 발아 전의 대두에 비하여 각각 0.78 및 0.53%씩 증가

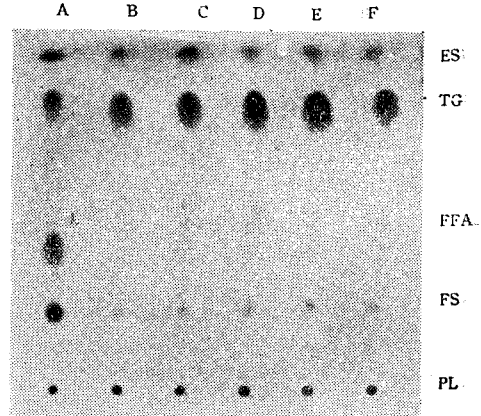


Fig. 3. Thin layer chromatogram of total lipid from seedling axis of soybeans during germination periods.

Abbreviation as in Fig. 2.

Table 4. Changes in lipid components of seedling axis during germination of soybeans in the dark

Germination time(days)	Lipid composition (% of total lipid)				
	TG	FFA	PL	FS	ES
2	97.7	0.78	0.72	0.42	0.39
4	97.2	1.18	0.67	0.39	0.54
6	97.9	0.64	0.69	0.38	0.56
8	98.1	0.41	0.76	0.41	0.39
10	98.6	0.19	0.81	0.46	0.37

Abbreviations as in Table 3.

하였다. 이와 같은 sterol의 변화는 대두발아중 free sterol과 esterified sterol이 다같이 증가한다는 MacLachlan의 연구^(4,32)와는 일치하나 강낭콩의 발아중 free sterol 및 total sterol이 각각 감소된다는 Duperon의 연구^(21,33)와는 相反되는 결과이다. 그러나 Brown⁽⁷⁾은 대두발아중 子葉部에서는 neutral non-triglyceride fraction (NNTF)이 계속적으로 증가한다고 보고 하였는데 본 연구에서도 NNTF는 계속적으로 증가 되었다. 이러한 현상은 대두발아 중 子葉部에서 triglyceride의 분해로

생성된 유리지방산의 일부가 NNTF의 합성에 이용되는것으로 추측된다.

또 대두발아 중 胚軸部에 있어서 triglyceride, free fatty acid, phospholipid, free sterol, esterified sterol의 변화를 정량한 결과는 Table 4와 같으며 그의 thin layer chromatogram은 Fig. 3과 같다. 즉 triglyceride 및 유리지방산의 함량은 발아 중 약간씩의 증감이 있으나 큰 변화는 없으며 일반적으로 triglyceride는 약간의 증가경향과 유리지방산은 약간의 감소경향을 나타내고 있는데

이것은 子葉部와 매우 相反되는 현상이다. 이와 같은 현상은 子葉部에서는 triglyceride의 분해가 빨리 진행되는데 반하여 胚軸部에서는 triglyceride

의 합성이 서서히 진행 되는 것으로 추측된다. 그리고 phospholipid, free 및 esterified sterol의 함량은 발아중 약간씩의 증감이 있었으나 큰 변화가

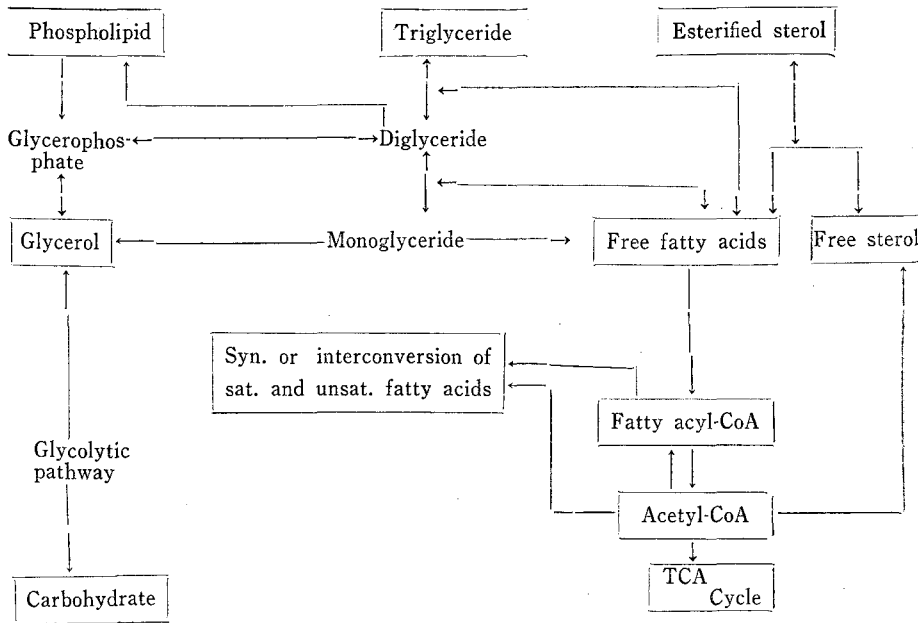


Fig. 4. Metabolic interrelations of lipids in soybean germination.

없었다.

이상과 같은 대두발아중 脂質의 변화경향에 의하여 그의 代謝經路를 要約하면 Fig. 4와 같다. 즉, 中性脂肪인 triglyceride는 식물 lipase에 의하여 glycerol과 지방산으로 분해되며 glycerol은 탄수화물의 합성에 주로 이용되고 지방산은 에너지 발생이나 다른 식물성분의 합성을 위하여 acetate unit로 분해된다. 본 실험결과에서 子葉部の triglyceride 함량은 계속 감소되었고 유리지방산의 함량이 계속 증가된것은 triglyceride가 lipase에 의하여 분해된 때문이다. 그러나 子葉部の triglyceride는 lipase에 의하여 diglyceride→monoglyceride로 분해 될것이므로 이들 di- 및 monoglyceride가 유리지방산과 re-esterification에 의하여 (7,34) triglyceride의 합성이 子葉部에서도 이루어 질것으로 예상된다. 그리고 胚軸部에서 triglyceride의 증가는 子葉部에서의 triglyceride의 감소정도에 비하여 微少한데 이것은 유리지방산이 胚軸部에서 脂質의 합성보다는 발아대두의 성장을 위한 에너지 공급이나 다른 성분의 합성에 더 많이 이용되기 때문인 것으로 추측된다.

要約

한국산의 대두를 21~25°C의 暗所에서 10일동안 발아시키면서 2일 간격으로 豆芽를 채취하여 子葉部和 胚軸部の 2부분으로 분리한 후 이 두部位의 乾物量, 粗脂肪量 및 脂質성분의 변화를 각각 비교한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

(1) 발아중 子葉部の 乾物量과 粗脂肪量은 감소하는데 反하여 胚軸部の 乾物量은 증가하였고 粗脂肪量은 큰 변화없이 일정 하였다.

(2) 발아중 子葉部の triglyceride 함량은 계속 감소하고 유리지방산의 함량은 계속 증가하는데 반하여 胚軸部の triglyceride 함량은 6일 후까지는 변화가 없으나 8일 후부터는 약간씩 증가하였고 유리지방산의 함량은 4일 후까지는 증가하다가 6일 후 부터는 감소하였다. 그리고 phospholipid, free 및 esterified sterol의 함량은 子葉部에서는 모두 증가하였고 胚軸部에서는 큰 변화가 없었다.

參考文獻

- 1) 한국식품과학회 : 한국식품연구 문헌총람, p.

- 90~103(1971).
- 2) Van Ohlen, F.W.: *Am. J. Bot.*, **18**, 30 (1931).
 - 3) MacAlister, D.F. and Krober, O.A.: *Plant Physiol.*, **26**, 525 (1951).
 - 4) MacLachlan, P.L.: *J. Biol. Chem.*, **113**, 197 (1936).
 - 5) Green, D.G. and Suida, J.W.: *Am. J. Bot.*, **56**, 1018 (1969).
 - 6) McKinney, L.L., Weakley, F.B. and Campbell, R.E.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35**, 364 (1958).
 - 7) Brown, B.E., Meade, E.M. and Butterfield, J.R.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **39**, 327 (1962).
 - 8) Fedeli, E., Lanzani, A. and Jacini, G.: *Riv. Ital. Sostanze Grasse (Italy)*, **48**, 477(1971); *Chem. Abstr.*, **76**, 110,360 (1972).
 - 9) Association of Official Agricultural Chemists: *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*, 10th ed., A.O.A.C., Washinton, D.C., p. 191 (1965).
 - 10) American Oil Chemists' Society: *A.O.C.S Official Methods*, Ba 3-38 (1954).
 - 11) Bligh, E.G. and Dyer, W.J.: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911 (1959).
 - 12) Folch, J., Lee, M. and Stanly, H.S.: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957).
 - 13) Sperry, W.M. and Brand, F.C.: *J. Biol. Chem.*, **223**, 69 (1955).
 - 14) Smith, I. and Feinberg, F.G.: *Paper, Thin Layer Chromatography and Electrophoresis*, Shandon Sci. Co., London, p. 187 (1965).
 - 15) Amenta, J.S.: *J. Lipid Res.*, **5**, 270 (1964).
 - 16) Miller, E.C.: *Ann. Bot.*, **26**, 889 (1912).
 - 17) Miller, E.C.: *Ann. Bot.*, **24**, 693 (1910).
 - 18) Crombie, M.W. and Cromber, R.: *J. Expt'l Bot.*, **7**, 166(1956).
 - 19) Eyster, H.C.: *Am. J. Bot.*, **25**, 33 (1938).
 - 20) Neumann, P.: *Biochem. Z.*, **308**, 141 (1941).
 - 21) Duperon, P., Delage, H. and Duperon, R.: *Compt. Rend. Soc. Biol. (Fr.)*, **161**, 1792 (1967).
 - 22) Olcott, H.D. and Fontaine, T.D.: *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 825 (1941).
 - 23) Heumann, W.: *Planta (Fr.)*, **34**, 1 (1944).
 - 24) Jegerow, M.: *Bot. Gazette*, **101**, 597 (1940).
 - 25) Zimmerman, D.C. and Klosterman, H.J.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **42**, 58 (1965).
 - 26) Desveaux, R. and Kogane-Charles, M.: *Ann. Inst. Natl. Rech. Agron.*, **3**, 385 (1952).
 - 27) Johnston, F.A. and Sell, H.M.: *Plant Physiol.*, **19**, 694 (1944).
 - 28) Wetler, T.R.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **34**, 66 (1957).
 - 29) Meyer, B.S. and Rader, D.S.: *Plant Physiol.*, **11**, 437 (1936).
 - 30) Papavizas, G.C. and Christensen, C.M.: *Cereal Chem.*, **34**, 350 (1957).
 - 31) Houget, J.: *Compt. Rend. (Fr.)*, **215**, 387 (1942).
 - 32) MacLachlan, P.L.: *J. Biol. Chem.*, **107**, 783 (1934).
 - 33) Duperon, P. and Duperon, R.: *Compt. Rend. Acad. Sci. (Fr.)*, **261**, 3459 (1965).
 - 34) Hilditch, T.P. and Jnes, E.E.: *J. Soc. Chem. Ind.*, **53**, 171 (1931).