

고추에서分離한微生物의發育과 Capsaicin의分解에關한研究

高麗大學校 食品工學科

鄭 榮 玉* · 劉 太 鍾

=Abstract=

Studies on the growth of fungi isolated from red pepper fruits and decomposition of capsaicin

Young-Ok Jung and Tai-Jong Yu

Dept. of Food Technology, Korea University

To explain the change of the pungent principles of red pepper, capsaicin, during storage, the relation between infecting mold and capsaicin was studied. Results obtained were summarized as follows;

1. Superior strains which showed good growth and high decomposition activity in their culture broths, *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus sp. KF-7* were obtained from the contaminated red pepper fruits.
2. The weight of dry matter was increased at low concentration of capsaicin (2~3 μ g/ml) but it was decreased at high concentration.
3. The residual capsaicin in the culture medium was reduced as half as such after 1 week, and almost disappeared after 2 weeks. At 30°C and pH 7~9 of culturing condition, the amounts of reducing capsaicin reached to the maximum.
4. At ground red pepper fruits as culture medium, *Aspergillus sp. KF-7* could not grow at all, but *Aspergillus oryzae* showed good growth at 13% of moisture contents and the residual of capsaicin of red pepper fruits after 40days of cultivation time was 45%.
5. At ground red pepper fruits seed as culture medium, *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus sp. KF-7* showed good growth, and the residual of capsaicin after 4 weeks of cultivation time was 55% and 38% respectively.

I. 序 論

우리나라는 옛날부터 고추를 食品調理에 널리 사용하여 왔으며 食品加工에도 여러가지로 이용되고 있다. 고추에는 辛味成分으로 Capsaicin이 0.2~0.6%가 포함되어 있음을 Thresh¹⁾가 처음 발표하였는데 千葉²⁾,

Gal³⁾, 小管, 竹內⁴⁾들은 고추의 병원균에 대한 殺菌作用, 防腐防黴作用에 대해 연구하여 Cholera 菌에 대해서는 殺菌作用이 있으나 *E. coli*의 발육저지와 防腐防黴作用은 없음을 발표하였다. 그러나 沈⁵⁾은 capsaicin이 간장의 産膜酵母의 발육을 저지시키는 효과가 있음을 발표하였다. Stoessl⁶⁾들은 고추에 오염된 곰팡이들에 의해서 생성된 capsidol과 그의 산화물인 capsenone이 防黴 효과가 있어 생육을 저지시킨다는 것을 보고하였다.

특히 capsaicin이 미생물에 의해서 분해되어 消失됨

* 삼육산업전문학교 식품영양과
(Sam Yuk Industrial Junior College, Dept. of Food Nutrition)

이 인정되어 小管, 竹内⁴⁾은 *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium*에 의해서 分解消失됨을 발표하였고 小野, 南¹⁰⁾은 *Aspergillus niger*에 의해서 거의 분해 소실되어 없어짐을 보고하였다. 金, 全¹¹⁾들은 고추가 일광 건조하는 동안 곰팡이 등에 의해서 부패하여 capsaicin이 평균 30% 이상이 소실됨을 보고하였고 장, 윤, 한¹²⁾들은 고추가루의 수분함량이 8.42%일때, 相對溫度가 평균 70% RH 이상에서 미생물의 오염도가 가장 높았고 안전 저장을 위해서는 Al. foil/polly cello가 P.V.C 보다 우수함을 보고하였다. 그리고 李¹³⁾은 capsaicin이 매주와의 발효기간 중의 그 辛味도가 酵素의 작용에 의해서 현저히 감퇴됨을 보고하였다.

이와같이 고추중의 capsaicin이 곰팡이의 오염에 의해서 그 辛味成分이 分解消失되고 風味가 떨어진다는 것을 인정할 뿐 확실하게 분해되는 內譯을 밝혀내지 못했기 때문에 本報에서는 고추에 오염된 곰팡이를 분리해내서 가장 생육이 좋고 capsaicin의 分解력이 좋은 菌株을 선정하여 capsaicin의 濃度別에 따른 생육 상태와 經時的 변화에 따른 分解력을 測定하였다.

Capsaicin의 抽出 및 定量法으로는 小管¹⁴⁻¹⁸⁾의 paper-chromatography를 이용한 법, Masada²¹⁾, 蔡¹⁹⁾, 小野¹⁰⁾, Müller-Stock³¹⁾의 Gas-chromatography를 이용한 법, Karawya²⁰⁾, 廉³⁰⁾의 Thin-layer chromatography를 이용한 법, 그리고 李²²⁾, 李²³⁻²⁶⁾, 韓²⁷⁾, ²⁸⁾의 방법이 있지만 Augusto Trejo-Gonzalez²⁹⁾의 방법이 최근의 것으로 매우 간단하며 효과적이므로 이 방법을 채택하였다. 특이한 것은 capsaicin의 螢光性을 이용하여 ultra violet lamp로 capsaicin을 추적하고 ultra violet absorbance로 정량하는 것이다.

本報는 小野¹⁰⁾들이 사용한 *Aspergillus niger* 보다 *Aspergillus oryzae*가 생육상태와 capsaicin의 분해력이 우수함을 확인하고 사용균주로 선정하였으며 이 균주로 튀김 기름으로 우수한 고추씨 기름의 capsaicin을 제거하는 방법이 유효함을 확인 보고 하는 바이다.

II. 材料 및 實驗方法

1. 實驗材料

本 實驗用 고추는 榮州産 재래종으로 경동시장에서 구입하고, 분쇄하여 사용하였다. 표준물질로 사용된 capsaicin은 K. & K. Lab. New York 제품이다.

Ultra Violet Lamp는 Black Light Eastern Corp의 Spectroline을 사용하였고 UV absorbance는 281

nm에서 Shimadzu Model QV-50 Spectrophotometer로 측정하였다.

2. Capsaicin 分離와 Standard Curve 測定

Augusto Trejo-Gonzalez²⁹⁾를 약간 수정하여 抽出하였다. 10g의 고추분말을 Soxhlet 抽出器에서 acetone으로 적색에서 무색이 될 때까지 추출하였다. 그 추출물을 냉각하여 acetone으로 100 ml이 되게하고 2.5g의 extra-pure charcoal을 加한 후 3분간 boiling시키고 여과시켰다. Charcoal residue는 acetone으로 수회 세척하였다. Clear extract는 flash-evaporator로 acetone을 제거하고 oil residue는 petroleum ether에 용해시켜서 separatory funnel에 옮겨 증류수로 세척하여 ether layer를 취하여 flash evaporator로 건조하였다. 남은 순수한 oily residue는 isopropanol로 용해시켜 총 용적이 3 ml이 되게하여 281 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Standard curve는 capsaicin 표준물질을 isopropanol에 10, 20, 30, 100 µg/ml이 되게하여 각각 용해시켜서 281 nm에서 흡광도를 측정하여 그 값에 따라 표준곡선을 만들고 이 standard curve로 capsaicin을 정량하였다.

3. Capsaicin의 定量

고추 분말에서 capsaicin을 추출하고 분리한 것을 chromatographic paper에 전개한 후 UV-lamp를 사용하여 front line에 이동한 capsaicin을 추적하였는데, 종전의 Diazobenzen-sulphonic acid에 의한 發色法³⁰⁾, Folin-Looney's phenol reagent에 의한 發色法^{14,17)}, 磷 Molybden-酸에 의한 發色法^{16,27)}보다 간편하였다. Capsaicin을 전개한 후 front line에 螢光性을 나타내는 부위를 5×5 mm로 절단하여 isopropanol로 용출시켜 281 nm의 파장에서 紫外線에 의한 吸光度를 측정하고 표준곡선에 의해서 capsaicin을 정량하였다.

4. Paper chromatography

Whatman #1 chromatographic paper (17.5×2.5 cm)에 上昇法으로 전개하였는데 下段 1.5 cm에서 40 µl을 spot하여 上段 2.5cm까지 전개시켰다. 展開劑로는 chloroform-methanol-acetic acid (95:1:5 v/v)을 사용하였고 전개가 끝나면 風乾하고 장파 3660 A.U. 단파 2537 A.U. UV lamp를 사용하여 전개제 바로 밑에까지 올라온 螢光性 capsaicin을 추적하여

5×5 mm 크기로 잘라서 screw test tube에 넣고 2 ml의 isopropanol로 용출시켜 吸光度測定을 위한 試料로 하였다.

5. 菌株의 分離

本實驗에 사용된 균주는 경동시장에서 수집한 각각 다른 產地의 10여종의 고추로부터 dilution pour plate method로 純粹分離한 12개종의 곰팡이로서 菌 분리용 培地로는 Czapek-Dox agar를 사용하였다.

6. 優秀 菌株의 選別方法

上記 방법에 의해서 분리된 12개종의 균주를 대상으로 capsaicin을 함유하는 培地중에서의 발육상태와 capsaicin 분해력을 통하여 우수 균주를 선별하였다.

1) 1차 選別

乾熱殺菌한 100 ml 삼각 flask에 Table 1과 같은 培養基를 50 ml씩 넣고 ethanol용액에 standard capsaicin 1000 µg/ml을 녹여서 각각 목적의 농도가 되도록 첨가하여 121°C, 15분간 autoclave에서 살균한 후 斜面培養한 使用菌을 백금선으로 接種하고 30°C로 4일간 靜置培養을 행하고 常法에 따라 乾燥菌體量을 측정하여 비교적 생육상태가 양호한 균주들을 선별하였다.

Table 1. Composition of basal medium

Glucose	10%
Peptone	1%
NH ₄ H ₂ PO ₄	0.2%
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05%

2) 2차 選別

i) 使用培地

Table 1이 조성을 가진 1차 選別用 培地와 같으며 50% ethanol용액에 녹인 capsaicin (1 mg/ml) 5 ml을 100 ml 삼각 flask에 첨가하였다.

ii) 培 養

1차 선별과 같은 방법으로 접종하고 30°C에서 3일간 정치 배양하였다.

iii) Capsaicin 殘存量 測定

培養液을 여과하여 균체를 제거한 후 capsaicin을 同量의 ether로 3회 추출하고 iso-propyl alcohol로 1 ml이 되게하여 chromatographic paper에 micro pipette으로 40 µl를 spot하고 전개한 후 capsaicin

을 용출시켜 吸光度를 측정하며 capsaicin의 殘存量을 측정하였다.

7. 培養條件에 따른 capsaicin 分解力 測定

1) 溫度의 영향

각 온도에 따른 capsaicin이 포함된 배지중에서의 생육상태와 분해력을 측정하기 위해 10, 20, 30, 40, 50°C에서 4일간 배양하였다. 사용배지와 배양방법은 1차 선별과 같으며 각 배지에는 capsaicin 용액(1mg/ml) 5 ml씩 첨가하였다. 배양후 capsaicin 추출과 정량은 2차 선별때와 같은 방법으로 하고 乾燥菌體量은 常法에 따라 행하였다.

2) pH의 영향

각 pH에 따른 capsaicin이 포함된 배지중에서의 생육상태와 분해력을 측정하기 위해 5% HCl, 5% NaOH를 사용하여 각각 다른 pH로 조절한 배지에 capsaicin 용액(1mg/ml) 5 ml씩 첨가하고 30°C에서 4일간 배양하였다. 배양후 capsaicin 추출과 정량은 2차 선별 때와 같은 방법으로 하고 건조 균체량은 常法에 따라 행하였다.

8. 고체배지(고추분말)중에서의 미생물 생육상태와 capsaicin 分解力 測定

1) 溫度와 水分含量에 따른 생육조사

수분함량이 7%인 고추분말 10 g을 100 ml 삼각 flask에 넣고 1, 2, 3, 4, 5, 6 ml씩의 물을 주입하고 접종하여 20°C와 30°C에서 각각 10일간 배양하였다.

2) 經時的 變化에 따른 分解力 測定

上記와 동일한 고추분말 10 g을 100 ml flask에 넣고 5 ml의 물을 주입하여 20°C에서 10, 20, 30, 40 일을 각각 배양한 후 Augusto Trejo-Gonzalez's method를 약간 수정하여 고추분말에서 capsaicin을 추출하고 정량하였다.

9. 고추씨중에서의 미생물 생육상태와 capsaicin 分解力 測定

1) 溫度와 水分含量에 따른 생육조사

고추씨 분말 10 g을 100 ml 삼각 flask에 넣고 1, 2, 3, 4, 5 ml씩의 물을 주입하고 접종하여 20°C와 30°C에서 각각 10일간 배양하였다.

2) 經時的 變化에 따른 分解力 測定

고체분말과 같은 방법으로 배양하여 capsaicin을 抽出, 定量하였다.

III. 結果 및 考察

1. Capsaicin 濃度에 따른 standard curve 작성

Capsaicin 을 정량하기 위해 281 nm 의 파장에서 측정하여 얻어진 standard capsaicin 의 농도에 따른 吸光度는 Lambert Beer's Law 가 적용되었다. 上記의 定量法에 의해 얻어진 標準曲線은 Fig.1와 같다.

2. Capsaicin 을 분해하는 菌株의 選別

1) 1차 選別

Capsaicin 은 미생물의 발육에 대해서 일반적으로 生育阻害를 나타내지만 capsaicin 을 분해할 수 있는 균주는 capsaicin 이 포함된 배지중에서도 生育상태가 양호하여야 하므로 고추에서 분리한 균주 8가지 중에서 生育상태가 양호한 4가지의 균주를 선정하였다. capsaicin 의 농도에 따른 미생물의 生育상태는 Table 2에 서 보는 바와 같다.

上記와 같이 生育상태가 양호한 1, 5, 6, 7번 균주를 선정하고 현미경의 鏡鏡을 통하여 곰팡이의 형태적인 특징을 관찰조사하고 생리적인 실험에 따른 결과에 의해서 다음과 같은 屬의 菌株임을 알 수 있었다.

1: *Aspergillus sp. KF-71*

5: *Aspergillus oryzae*

6: *Aspergillus niger*

7: *Aspergillus sp. KF-7*

이 4가지 균주들을 capsaicin 의 농도를 더 세분하여

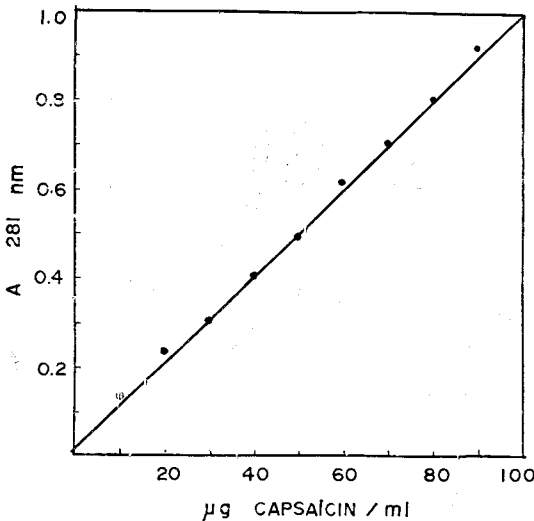


Fig. 1. Standard curve of capsaicin solution

만든 배지에서 배양하고 그 生育상태를 조사하여 Fig. 2과 같은 결과를 얻었다. capsaicin 의 농도가 1~5µg/ml 일 때는 菌體發育量은 증가하였지만 농도가 높을수록 菌體發育량은 감소하였다.

2) 2차 選別

1차 선별한 4가지 균주를 capsaicin (1 mg/ml) 5 ml 이 포함된 배지에 靜置 培養하여 각 균주의 capsaicin 분해력을 측정하였다. 經時的 變化에 따른 분해력을 측정한 결과는 Fig. 3와 같다.

*Aspergillus sp. KF-1*은 분해력이 거의 없었고

Table 2. Mycelial growth condition of various molds in medium containing capsaicin (unit: : mg)

Capsaicin conc	Blank	5 µg/ml	10 µg/ml	30 µg/ml	50 µg/ml
Strains					
1	109	45	131	58	61
2	57	33	51	44	45
3	90	81	45	44	42
4	161	50	48	50	50
5	132	113	162	74	88
6	214	204	158	66	48
7	236	232	115	87	50
8	48	44	52	52	44

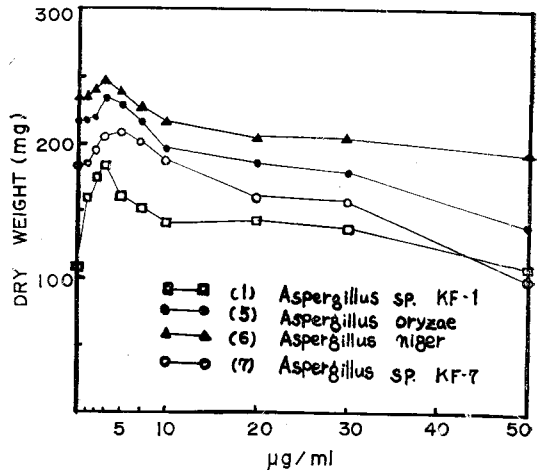


Fig. 2. Relation between capsaicin concentration and growth of cultures

- (1) *Aspergillus sp. KF-1*
- (5) *Aspergillus oryzae*
- ▲—▲ (9) *Aspergillus niger*
- (7) *Aspergillus sp. KF-7*

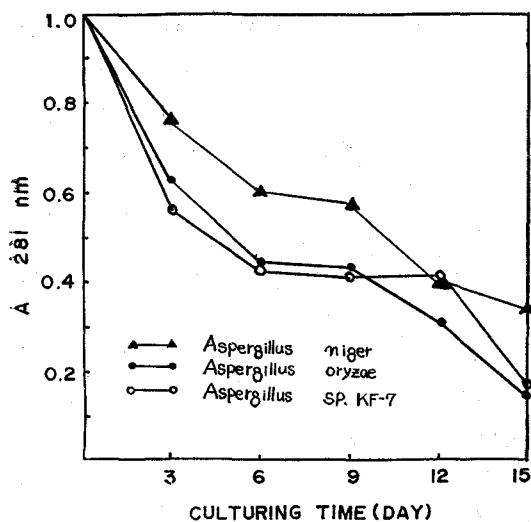


Fig. 3. Decomposition of capsaicin by Various molds

- (1) *Aspergillus* sp. KF-1
- (5) *Aspergillus* oryzae
- ▲—▲ (6) *Aspergillus* niger
- (7) *Aspergillus* sp. KF-7

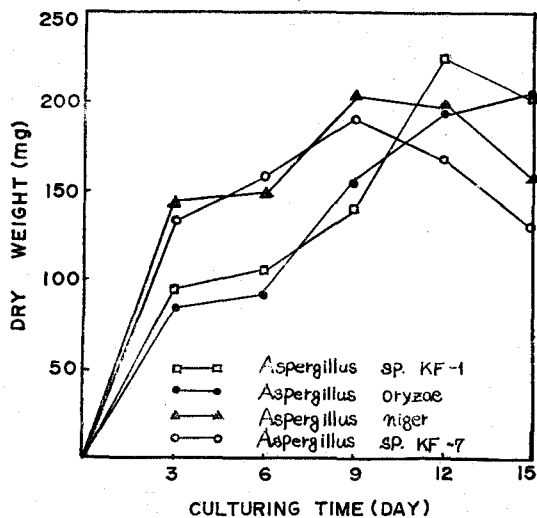


Fig. 4. Culturing Time and mycelium growth

- (1) *Aspergillus* sp. KF-1
- (5) *Aspergillus* oryzae
- ▲—▲ (6) *Aspergillus* niger
- (7) *Aspergillus* sp. KF-7

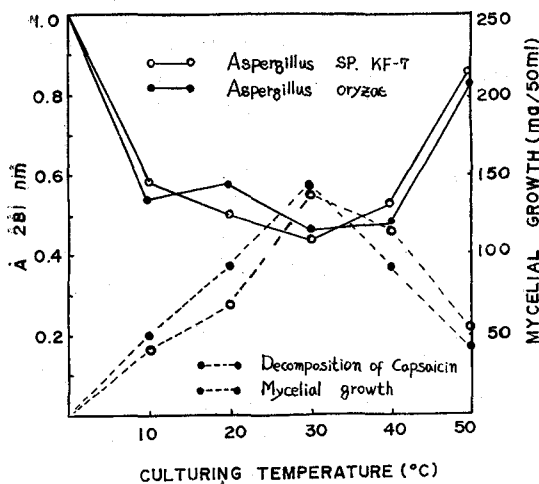


Fig. 5. Relation between culturing temperature and decomposition of capsaicin

- (1) *Aspergillus* sp. KF-1
- (5) *Aspergillus* oryzae
- ▲—▲ (6) *Aspergillus* niger
- (7) *Aspergillus* sp. KF-7

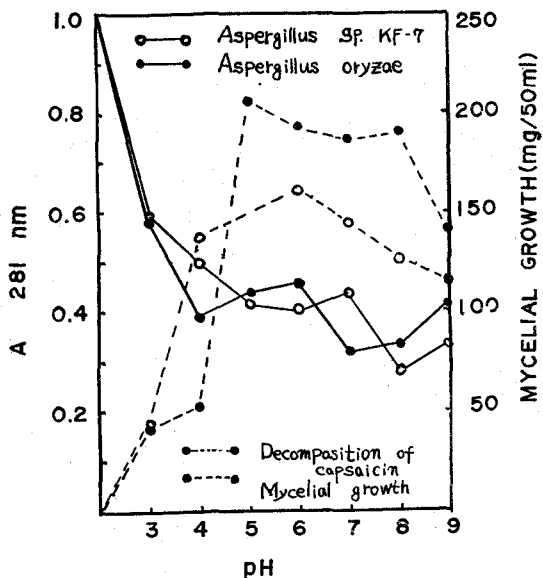


Fig. 6. Relation between pH of media and decomposition of capsaicin

- (1) *Aspergillus* sp. KF-1
- (5) *Aspergillus* oryzae
- ▲—▲ (6) *Aspergillus* niger
- (7) *Aspergillus* sp. KF-7

Aspergillus oryzae, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sp. KF-7*은 15일 배양 후에 capsaicin을 거의 다 분해하여 소실시킨 것을 알 수 있었다. 그러므로 생육 상태가 양호하고 분해력이 큰 *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sp. KF-7*를 使用菌으로 선별하였다.

經時的 변화에 따른 乾燥菌體量은 Fig. 4에서 보는 바와 같이 일주일 동안은 점차 증가하여 12일째에 최대를 보이다가 그 후 부터는 감소하는 경형을 보였다.

3. 培養條件에 따른 capsaicin 분해력 측정

1) 溫도의 영향

각 온도에 따른 capsaicin의 분해력을 측정한 결과는 Fig. 5과 같다. 온도가 30°C일때 capsaicin의 분해가 가장 많았고 동시에 乾燥菌體量도 최고에 달하였다.

2) pH의 영향

배지에 HCl 또는 NaOH 용액으로 각각 다른 pH로 조절하여 배양한 후 두 균주의 capsaicin 분해력을 측정한 결과는 Fig. 6과 같다. 균주의 생육은 약 산성 pH 5~7에서 양호하였지만 capsaicin의 분해는 약 알칼리 pH 7~9에서 많이 일어남을 알 수 있었다.

4. 固體培地(고추분말)중에서의 微生物 發育狀態와 capsaicin 分解力 測定

1) 溫도와 水分含量에 따른 생육조사

고추분말에 배양시켰을 때 수분함량에 따라 생육이 크게 좌우되는 것을 알 수 있었다. *Aspergillus sp. KF-7*은 거의 생육하지 못하였고 *Aspergillus oryzae*의 경우에는 7% 수분함량의 고추분말에 5ml의 물을 첨가하여 13% 수분함량이 될 때 생육상태가 가장 양호하였고 3ml이하의 물을 첨가했을 때는 거의 생육하지 않았다. 온도와 수분함량에 따른 생육상태에 대한 결과는 Table 3과 같다.

2) 經時的 變化에 따른 capsaicin 분해력 측정

고추분말의 저장중에 일어나는 capsaicin의 분해에 의해 소실되는 量을 알아내기 위해서 10, 20, 30, 40일씩 배양하여 잔재하는 capsaicin의 含量을 측정해 본 결과는 Fig. 7과 같다. *Aspergillus sp. KF-7*는 생육하지 않았기 때문에 제외되었고 *Aspergillus oryzae*는 배양 10일 후 부터는 capsaicin의 殘存量이 급속히 감소한 후 차츰 조금씩 서서히 감소하여 殘存率이 45%에 이르렀음을 알 수 있었다. 이로써 고추분말의 저장중에는 미생물에 의해서 계속적으로 辛味成分이 소실됨을 알 수 있었다.

Table 3. Mycelial growth condition of strains in ground red pepper fruits according to temperature and moisture contents

Added water		1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	6 ml
temp.							
strains							
Aspergillus oryzae	20°C	-	-	-	++	+++	++
	30°C	-	-	-	++	+++	+
Aspergillus sp. KF-7	20°C	-	-	-	-	-	-
	30°C	-	-	-	-	+	-

- : no growth
 + : slight growth
 ++ : some growth
 +++ : vigorous growth

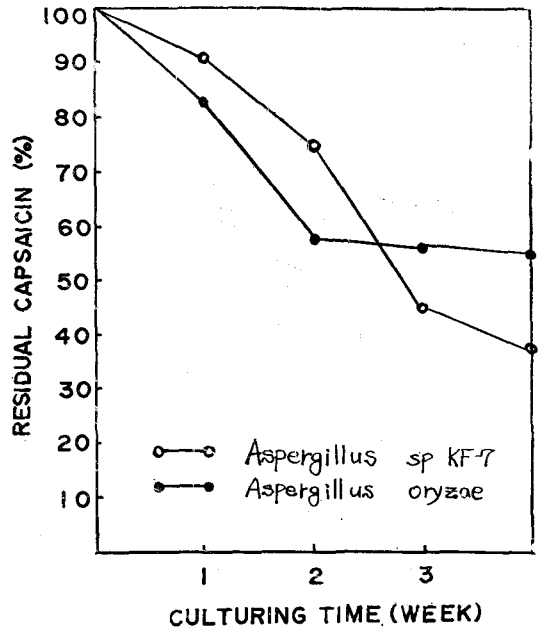


Fig. 7. Decomposition of capsaicin in ground pepper fruits by *Aspergillus oryzae*

5. 고추씨 중에서의 微生物 發育狀態와 capsaicin 分解力 測定

1) 溫도와 수분함량에 따른 생육조사

고추씨에는 果肉보다 capsaicin의 含量이 적으므로 미생물들이 쉽게 생육할 수 있었고 고추 분말의 경우와 마찬가지로 수분의 함량에 따라 생육상태의 차이가 있었다. 온도와 수분함량에 따른 생육상태는 Table 4와 같다.

Table 4. Mycelial growth condition of strains in ground red pepper seeds according to temperature and moisture contents

Added water		1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	6 ml
temp.							
Strains							
Aspergillus oryzae	20°C	-	-	-	+	##	+
	30°C	-	-	+	##	###	##
Aspergillus sp. KF-7	20°C	-	-	-	-	##	+
	30°C	-	-	-	+	###	##

- : no growth
 + : slight growth
 ## : some growth
 ### : vigorous growth

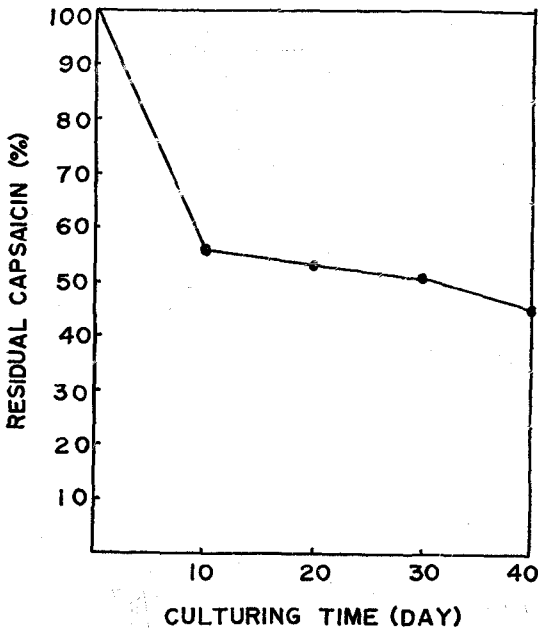


Fig. 8. Decomposition of capsaicin in pepper seed

- (1) *Aspergillus sp. KF-1*
- (5) *Aspergillus oryzae*
- ▲—▲ (6) *Aspergillus niger*
- (7) *Aspergillus sp. KF-7*

2) 經時的變化에 따른 分解力 測定

튀김 기름으로 우수한 고추씨 기름의 辛味成分을 제거하기 위해 고추씨 분말에 접종 배양하여 capsaicin 殘存量을 측정한 결과 4週 후에는 *Aspergillus oryzae* 에 의해 55%, *Aspergillus sp. KF-7*에 의해 38%로 감소한 것을 알 수 있었다. 이로써 미생물에 의해 고추씨로부터 辛味成分을 제거하는 방법이 유효하다는 것을 알 수 있었고 산업적으로 가치가 있다고 본다.

배양에 따라 측정한 고추씨 중의 capsaicin 殘存量은 Fig. 8와 같다.

IV. 要 約

고추의 저장중에 미생물 오염에 의해서 일어나는 辛味成分의 변화에 대하여 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. capsaicin 이 함유된 배지에서 생육이 강하고 分解力이 강한 우수균주로서 *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sp. KF-7*를 오염된 고추로부터 얻었다.

2. 乾燥菌體量은 capsaicin 의 농도가 2~3 µg/ml 일 때는 약간 증가하였지만 농도가 높아지면 감소하였다.

3. 배지중에 첨가한 capsaicin 은 일주일 후에는 반으로 감소되고 2주일 후에는 거의 소실되었고 30°C의 온도, 그리고 pH 7~9일 때에 분해 소실되는 양이 가장 많았다.

4. 고추분말로 된 고춧배지에서 *Aspergillus sp. KF-7*은 거의 생육하지 못하였고 *Aspergillus oryzae* 는 수분함량이 13%일때 가장 잘 생육하였으며 배양 40일 후에는 capsaicin 의 殘存率이 45%가 되었다.

5. 고추씨로 된 고춧배지에서 두 균주가 생육하여 배양 4週 후에는 각각 55%, 38%의 capsaicin 殘存率을 나타내었다.

REFERENCES

- 1) Thresh.: *Pharm. J. Trans.* (3)7, 259, 473 (1876-77) 8, 187(1877-78).
- 2) 千葉叔則: 朝鮮醫 23, 130(1918).
- 3) Gal.: 科學技術文獻速報 12, 201 (1969).
- 4) 小管貞良, 竹內德男: 食品工誌 9, 69 (1962).
- 5) 沈吉淳: capsaicin 의 간장 防微효과에 관한 연구, 약학회지 8, 69 (1964).
- 6) Ward, E.W.B. and Stoessl, A.: *Phytopathology* 62, 1186-1187 (1972).
- 7) Stoessl, A., Unwin, C.H. and Ward, E.W.B.: *Phytopathology* 63, 1225-1231 (1973).
- 8) Ward, E.W.B., Unwin, C.H. and Stoessl, A.: *Phytopathology* 63, 1537-1538 (1973).
- 9) Ward, E.W.B., Unwin, C.H. and Stoessl, A.: *Can. J. Bot.* 51, 2327-2332 (1973).
- 10) Onozaki Hiromichi, and Minami Kimiko.: *J. Jap. Soc. Food and Nutr* 25(6), 454-457

- (1972).
- 11) Kim, K.W. and Chun, J.K.: *Korean. J. Food. Sci. Technol.* **7**(2), 69-73 (1975).
 - 12) Chang, K.S., Weon, I.W. and Han, P.G.: *The research report of the office of Rural Development (Horticulture, Agri-Engine)* **17**, 39-45 (1975).
 - 13) Lee, S.S.: *Korean. Pharm.* **3**, 11 (1957).
 - 14) Kosuge, S., Inagaki, Y. and Uehara, K.: *J. Agri. Chem. Soc. Japan* **32**, 578-581(1958).
 - 15) Kosuge, S., Inagaki, Y. and Uehara, K.: *J. Agri. Chem. Soc. Japan* **32**, 720 (1958).
 - 16) Kosuge, S. and Inagaki, Y.: *J. Agri. Chem. Soc. Japan* **33**, 470 (1959).
 - 17) Kosuge, S., Inagaki, Y. and Nishimura, M.: *J. Agri. Chem. Soc. Japan* **33**, 915 (1960).
 - 18) Kosuge, S. and Ruruta, M.: *Agri. Biol. Chem.* **34**(2) 248-256 (1970).
 - 19) Karawya, M.S., Balbaa, S.I. Girgis, A.N. and Youssef, N.Z.: *Analyst* **92**, 581-583 (1967).
 - 20) Masada, Y., Hashimoto, K., Inoue, T. and Suzuki, M.: *J. Food Science* **36**, 858-860 (1971).
 - 21) Tai, P.L., Ueda, H. and Tatsumi, C.: *食品工誌* **16**, 430 (1969).
 - 22) Lee, T.Y. and Park, S.O.: *Korean Agri. Chem. Soc* **4**, 23-28(1963).
 - 23) Lee, S.W. and Cho, S.Y.: *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **10**, 31-35 (1971).
 - 24) 이성우 : 한국농화학회지 **14**(1) 29-34 (1971).
 - 25) 이성우 : 한국농화학회지 **14**(2) (1971).
 - 26) Lee, S.W., Kim, K.S., Lee, S.S. and Jo, Y.K.: *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **13**, 27-34 (1973).
 - 27) Han, K.D. and Lee, S.S.: *J.Kor. Pharm.* **4**, 56-56 (1958).
 - 28) Han, K.D. and Lee, S.S.: *J. Kor. Pharm.* **4**, 60-62 (1958).
 - 29) Augusto Trejo-Gonzalez, Carles Wild-Altamirano.: *J. Food Sci.* **38**, 342-344 (1973).
 - 30) Yum, C.A.: *Korean J. Nutr* **2**(2.3) 99-103 (1969).
 - 31) Müller-Stock A., Joshi, R.K. and Büchi, J.: *Pharnaceutica actahelvetiae* **48**, 504-515 (1973).