

家兎에 있어서 Capsaicin의 吸收 및 排泄에 관한 研究

金 洛 斗 · 朴 贊 瑢

서울대학교 藥學大學

(Received September 5, 1981)

Nak Doo Kim and Chan Yong Park

College of pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Study on the Absorption and Excretion of Capsaicin in Rabbits

Abstract—Quantitative determination of capsaicin in biological fluid was investigated. The pharmacokinetic study of capsaicin in rabbits was performed by high-pressure liquid chromatography, equipped with a micro-particulate reversed-phase column and a fixed wavelength detector. Elution was carried out using methanol-water(70:30). It allows the quantitative determination at 8~400 ng level. When single dose of capsaicin(4mg/kg) was given to rabbits intravenously, the elimination phase was extremely short with average half-life to 17.35 minute. Urine excretion of capsaicin itself during first 2 hours after intravenous administration (4mg/kg) was 0.004~0.04% of the administered amount. The maximum plasma concentration of capsaicin after oral administration (300mg/kg) was 4×10^{-7} g/ml at 40 minutes. The LD₅₀ of capsaicin in mouse was 0.40mg/kg (*i. v.*) and 47.2 mg/kg (*p. o.*) which was determined by Litchfield and Wilcoxon's method, suggesting that the gastrointestinal absorption of capsaicin is poor.

苦椒(*Capsicum annuum* L.)의 辛味成分은 1876年 Thresh¹⁾에 의하여 처음으로 單離되어 Capsaicin 이라고 命名되었으나 Benett 와 Kirby²⁾, Kosuge 와 Furuta³⁾, Masada⁴⁾ 등에 의하여 적어도 5種의 유사한 vanillyl amide의 혼합물이 밝혀졌다. 辛味成分의 主成分인 capsaicin은 苦椒末 中 含有量이 약 0.2%⁵⁾인데 1919年 Nelson⁶⁾에 의하여 isodecylenic acid vanillylmethyl amide 임에 判明되었으며 Micko⁷⁾, Spät⁸⁾ 및 Crombie⁹⁾ 등에 의한 構造 및 合成研究 結果 N-(4-hydroxy-3-methoxy benzyl)-8-methylnon-trans-6-enamide 임이 밝혀졌다.

苦椒가 生體에 미치는 影響에 관하여 diastase의 消化率을 높이며¹⁰⁾ 消化液分泌를 充進시켜 消化機能을 旺盛하게 한다는 報告¹¹⁾ 외에 小腸의 glucose 吸收를 阻害하는 作用¹²⁾ 및 장티푸스 백신의 効力이 苦椒經口投與에 의하여 더욱 증가한다는 報告가 있다¹³⁾. 또한 韓等¹⁴⁾은 家兎에서 少量投與에 의한 體重증가와 多量投與에 의한 體重감소를 관찰하였으며 孔¹⁵⁾, 金¹⁶⁾ 등은 苦椒의 acetone 抽出物 및 capsaicin을 흰쥐에 慢性的으로 投與時 肝의 藥物代謝효소가 유도됨을 報告하였다.

그러나, 苦椒의 生體內 動態에 관한 研究報告는 전혀 없기에 본 研究에서는 苦椒 辛味の 主成分인 capsaicin을 使用하여 家兎에서의 吸收 및 排泄에 관하여 實驗하였다.

Capsaicin의 定量方法에 대하여는 많은 報告가 있는데 대부분의 比色法은 von Fodor¹⁷⁾가 개발한 capsaicin과 vanadium oxytrichloride와의 반응에 基반을 두고 있으며 North¹⁸⁾는 phospho-

tungstic-phosphomolybdic acid와의 반응을 基礎로 하는 方法을 사용하였으며 Nogrady¹⁹⁾는 picric acid로 적정하는 方法을 개발하였다. Spanyol와 Blazovich²⁰⁾는 chromatography와 比色法을 결합하였으며(TLC), Rios와 Duden²¹⁾는 chromatography와 형광 spectrophotometry를 이용한 方法을 報告하였고 Todd²²⁾, Morrison²³⁾, Hartman²⁴⁾ 등은 gas-liquid chromatography(GLC)를 사용하였다. Sensory 方法도 사용되었으나 化學的 方法에 비하여 正確성과 再現성이 부족하였다. González²⁵⁾는 UV를 사용하는 方法을 개발하였으며 Lee²⁶⁾ 등은 mass fragmentography(MF)를 사용하였고, Sticher等²⁷⁾는 고압액체 chromatography(HPLC)에 의한 方法을 報告하였다.

본 實驗에서는 生體 試料 중 적어도 10^{-6} g/ml~ 10^{-7} g/ml 濃度の capsaicin을 측정하여야 하는데 TLC, UV, 比色法에 의한 capsaicin 定量法으로는 이와 같은 微量分析을 할 수 없었고 MF는 우선 試料 중 casaicin을 TLC, HPLC,로 純粹分離하는 過程을 거쳐야 했으며 GLC법은 유도체를 만들어야 한다.

본 實驗에서는 血漿中 또는 尿中의 capsaicin 分析을 HPLC로 定量하였으며 이 方法으로는 4~200ng(0.2ug/ml~10ug/ml) 수준에서 定量이 가능하였다.

實驗 方法

實驗材料—1) Capsaicin(Merck) : HPLC로 측정하였을때 2개의 peak로 나타났으며 capsaicin을 methyl化시켜 GLC로 측정한 結果 3 peak가 나타났다. Sigma製 capsaicin을 分析한 Lee²⁶⁾ 등의 報告와 比較하여 볼 때 Merck製 capsaicin도 nordihydrocapsaicin(NDC), capsaicin, dihydrocapsaicin(DC)의 혼합물이며 HPLC로 측정時 처음 peak는 NDC와 capsaicin, 두번째 peak는 DC에 의한 것으로 여겨진다. 本 試驗에서는 처음 peak를 基準으로 하였다.

2) 試藥 : methanol(Merck), water(2차 蒸溜水) : millipore filter(0.45 μ m)로 濾過하여 사용하였다.

0.1M potassium oxalate in 0.7% saline(Kanto Chemical Co.)

ethyl acetate(Wako Pure Chemical Ind., Ltd.)

3) 實驗動物 : a. 家兔—同一조건에서 飼育한 2~4kg의 健康한 雄性 New Zealand 白色家兔를 사용하였다.

b. 마우스—同一조건에서 飼育한 15g 内外의 健康한 마우스(A Strain)을 性的 區別없이 사용하였다.

實驗方法—1) HPLC에 의한 capsaicin의 定量 : a. Apparatus—Waters社의 High-pressure liquid chromatograph를 사용하였으며 이것은 constant-flow pump(Model 6000 A), valve-type injector (Model u6K), fixed wavelength(280nm) UV detector(Model 440), Strip-Chart recorder (Houston Inst.)로 構成되어 있다.

Column으로는 reversed-phase인 μ Bondapak C₁₈을 사용하였는데 fully porous 10- μ m silica particles에 organosilane의 monomolecular layer를 化學적으로 결합시킨 입자로 充填시킨 stainless steel column(3.9mm \times 30cm)이다.

b. Chromatographic Conditions—Mobile Phase로는 methanol-water(70 : 30)을 사용하였으며 flow rate는 1.0ml/min로 하였다.

c. Capsaicin 標準溶液—Capsaicin 10mg을 methanol에 溶解시켜 10ml로 하여 stock solution

을 만든 다음 methanol로 희석하여 4×10^{-5} , 8×10^{-5} , 1.2×10^{-4} , 2×10^{-4} g/ml의 표준용액을 만들었다.

d. 표준곡선작성—15ml-glass-stoppered tube에 있는 unspiked 家兔血漿 0.95ml에 위에서 만든 capsaicin 표준용액을 각각 50 μ l씩 가하고 맹검관에는 methanol 50 μ l를 가하였다. vortex mixer로 1분간 잘 혼합하여 준 뒤 ethylacetate 4ml를 가하고 vortex mixer로 1분간 혼합하여 혈漿중의 capsaicin을 抽出하였다. 3,000rpm으로 15분간 遠心分離한 후 上層에서 3ml를 취하여 dryer로 蒸發乾燥시켰다. 0.5ml의 methanol을 가하고 vortex mixer로 5분간 溶解시킨 후 5.0- μ m filter(catalog No. LSWP 01300, Milipore, Corp, Bedford, MA 01730)로 濾過한 뒤 이중 20 μ l를 취하여 HPLC에 injection하였다(Fig. 1).

尿에서도 血漿에서와 같은 方法으로 하여 標準曲線を 작성하였다.

2) 靜脈內 投與時 capsaicin의 血漿濃度의 變化: a. 注射溶液의 제조—capsaicin을 ethanol에 溶解시킨 후 등장성 인산염 緩衝液(PH 7.4)(Table I)으로 희석하여 20mg/ml濃度の 50% ethanol溶液으로 만들었다.

b. 實驗過程—capsaicin 4mg/kg을 家兔의 귀정맥內 投與 후 3, 6, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 65, 80분에 다른쪽 귀정맥으로부터 2m씩 採血하였으며 白熱電球과 xylene을 並用하여 血管을 확장시켰다. xylene이 血液중에 汚染되면 血球가 破壞되었으나 本 實驗에서는 影響을 주지 없었다. 抗 血液凝固劑로는 0.1M potassium oxalate(0.7% NaCl 溶液)을 血液 9 容量에 대하여 1 容量의 比率로 加하였다. 3,000 rpm으로 15분간 遠心分離후 血漿 1ml씩을 취하였다. 위의 標準曲線을 작성할 때와 同一하게 操作하여 얻은 HPLC 의 peak height를 標準曲線에 맞추어 血漿중의 capsaicin 濃度를 算出하였다.

c. 血漿 半減期($t_{1/2}$)의 계산—① Elimination rate constant (Kel)의 계산

血漿濃度의 時間的 變化를 semilog paper에 plot하여 나타나는 elimination phase의 直線의 式을 최소 자승법으로 구하여 이 式으로부터 Kel을 구하였다.

3) 靜脈內 投與時 capsaicin의 尿排泄: 25% Urothane 溶液 4ml/kg을 家兔의 腹腔內에 投與하여 麻酔시킨 後 下腹部 正中線을 切開하여 膀胱을 露出시키 뒤집었다. 기저부의 後面양측에 있는 尿管을 주위의 결합조직으로부터 잘 分離하여 膀胱에 가까운 부분의 尿管에 polyethylene tube(I. D. 0.023" \times O.D. 0.038")를 插入하여 結찰하였다. 尿管壁 出血때문에 cannula 끝이 凝血된 덩어리 있으므로 cannula를 통하여 生理食鹽水를 조금씩 尿管內로 넣어주면서 cannulation 하였다. 양쪽 cannula의 끝을 합쳐서 尿를 받았다. 尿排出이 일정해진 後 4m/kg 用量의 capsaicin 注射溶液(2. 에서와 同一한)을 귀정맥內에 投與하고 2時間씩 尿를 수 집하였다. 各 fraction마다 1ml씩 취하여 上記 定量方法으로 尿중 capsaicin을 측정하였다.

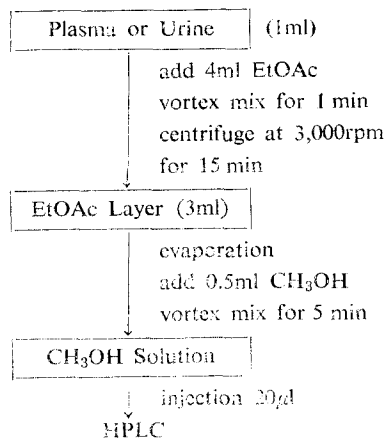


Fig. 1—Determination procedure of capsaicin in plasma or urine.

Table I—Isotonic phosphate buffer.

Na ₂ HP ₄ · 12H ₂ O	295.5 mg
KH ₂ PC ₄	23.8 mg
NaCl	700.0 mg
Distilled water	q. s
to make	100.0 ml

4) 經口投與時 capsaicin 의 吸收度 :

a. 投與藥液의 제조—capsaicin 을 少量의 0.5% tween 80으로 濕潤시켜 충분히 攪拌한 다음 0.5% CMC-Na 을 천천히 加하여 懸탁시켰다. 濃度는 經口 投與하는 藥液의 容量이 5ml 內外가 되도록 하였다.

b. 實驗方法—capsaicin 懸탁액 8mg/kg, 20mg/kg, 100mg/kg, 300mg/kg 을 고무 catheter 를 使用하여 家兔에 經口 投與하였다.

capsaicin 投與후 5, 10, 20, 30, 40, 60분에 귀정맥으로부터 2.에서와 同一한 方法으로 2ml 씩 採血하여 上記 定量방법으로 血漿중의 capsaicin 을 측정하였다.

5) 마우스에서의 capsaicin 의 LD₅₀ :

a. 靜脈內 投與時—① 注射溶液의 제조 : capsaicin 을 0.1N-NaOH 溶液으로 溶解시킨 후 등장성 인산염 緩衝液으로 희석하여 0.04mg/ml 濃度の 注射液을 만들었다.

② 實驗過程 : 7 마리의 마우스를 1 群으로 하여 0.33, 0.36, 0.40, 0.44mg/kg 用量的 capsaicin 注射液을 各 群에 꼬리정맥內 投與한 후 72時間 동안 관찰하여 Litchfield and Wilcoxon²⁸⁾ 法에 의하여 LD₅₀를 계산하였다.

b. 經口 投與時—1)과 同一한 方法으로 마우스에 2mg/ml 濃度の capsaicin 懸탁액 (4.에서와 同一한 方法으로 만든) 30.0, 36.0, 43.2, 51.8, 62.2, 74.6, 89.6mg/kg 用량을 經口로 投與하였다.

實 驗 結 果

HPLC 에 의한 capsaicin 定量—Fig.2는 血漿 中 capsaicin 의 典型的인 liquid chromatogram 이며 capsaicin 의 retention time 은 약 8 분이었다. 血漿이나 尿로부터의 방해는 없었다. Ethylacetate 로 추출한 capsaicin 은 24시간이상 안정하였고 血漿으로부터의 recovery 는 100.5±2.9% (Table II)이였으며 尿에서는 94.7±4.9%이였다 (Table III). 血漿이나 尿中 capsaicin 의 標準曲線은 10μg/ml(400ng)까지에서 直線的인 관계가 성립하였고 本 定量方法으로 定量 可能한 最低 capsaicin 濃度는 0.2μg/ml(8ng)이였다.

靜脈內 投與時 capsaicin 의 血漿濃度の 變化—capsaicin 4mg/kg 을 家兔의 靜脈內 投與時 capsaicin 의 血漿濃度の 變化는 bi-exponential curve 의 樣相을 보였으며 (Fig. 3) elimination rate constant 는 0.041min⁻¹ 이였고, 半減期는 17.35분으로 극히 짧았다 (Table IV).

結果的으로 投與후 1時間이 지나면 血漿중의 capsaicin 은 거의 濃度를 측정할 수 없었다.

靜脈內 投與時 capsaicin 의 尿排泄—capsaicin 4mg/kg 을 家兔에 靜脈內 投與 후 2時間씩 尿

Table II —Recovery of capsaicin from rabbit plasma.

Actual concentration μg/ml	Recovery	
	Concentration μg/ml	Percent
0.5	0.49±0.04 ^a	97.3
1	1.04±0.03	104.3
5	5.11±0.21	102.2
10	9.80±0.58	98.0
Mean		100.5±2.9

a: Mean±S. D. (Average of 5 experiments)

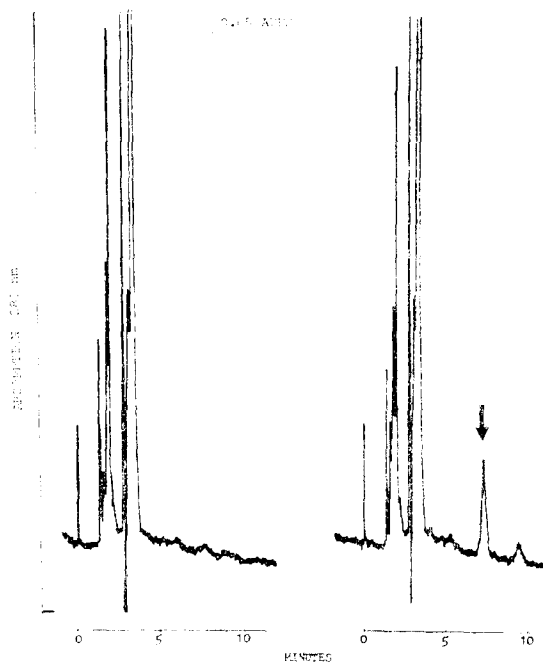


Fig. 2—Chromatogram obtained from HPLC assay of control rabbit plasma (left) and plasma from a rabbit given a single intravenous dose (4mg/kg) of capsaicin (right). Peak corresponds to a concentration of 2×10^{-6} g/ml capsaicin.

Table III—Recovery of capsaicin from rabbit urine.

Actual Concentration $\mu\text{g/ml}$	Recovery	
	concentration $\mu\text{g/ml}$	percent
2.5	2.54	101.5
5	4.41	83.2
7.5	6.95	92.7
10	9.65	96.5
Mean		94.7 ± 4.9

Table IV—Estimates for the rate constant and half-life of elimination for capsaicin in rabbit.

	Rate constant, min^{-1}	Half-Life, min
A	0.036	19.06
B	0.048	14.44
C	0.035	19.80
D	0.049	14.14
E	0.036	19.30
Mean	0.041	17.35

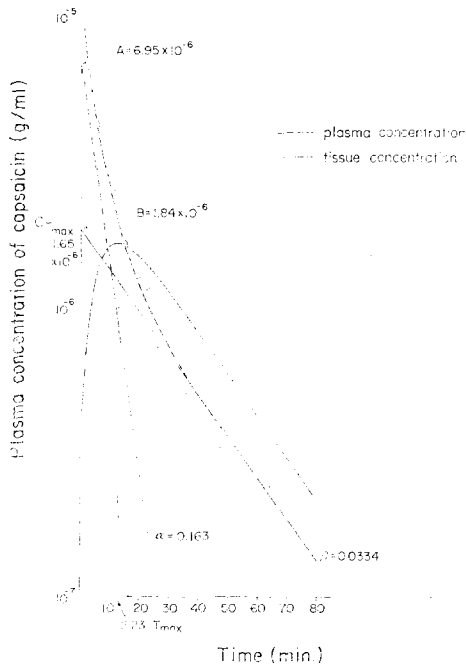


Fig. 3—Semilogarithmic plot of plasma and tissue concentrations of capsaicin versus time obtained after single intravenous dose (4mg/kg) of capsaicin.

$$K_{12}: 0.0459, K_{21}: 0.0605, K_{el}: 0.09,$$

$$G_{Tmax}: 1.65 \times 10^{-6} \text{ (g/ml)},$$

$$Tmax: 12.23 \text{ (min)} \quad A = 6.95 \times 10^{-6} \text{ (g/ml)}$$

$$B = 1.84 \times 10^{-6} \text{ (g/ml)}, \quad \alpha = 0.163$$

$$\beta = 0.0334, \quad c_p^0 = 8.81 \times 10^{-6} \text{ (g/ml)}$$

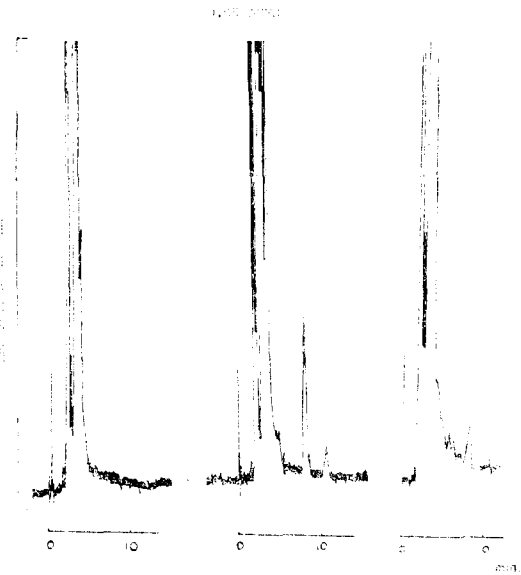


Fig. 4—Chromatogram of control rabbit urine (left) and urine containing 2.5×10^{-6} g/ml of capsaicin (middle) and urine collected for 2 hrs from a rabbit given a single intravenous dose (4mg/Kg) of capsaicin (right).

를 수집하여 측정하여 본 결과 처음 2시간동안의尿에서만 측정가능한濃度のcapsaicin이檢出되었고(Fig. 4) 그 이후로는本定量方法으로는 측정할 수 없을 정도의微量이었다. 처음 2시간동안의尿중에서檢出된capsaicin은投與量(4mg/kg)의 0.004~0.04%에 불과했다.

經口投與時 capsaicin의吸收度—capsaicin을家兔에經口投與한 후血漿중의capsaicin을 측정한結果 8mg/kg, 20mg/kg用量の投與時는 단지 capsaicin의存在만을感知할 수 있었고, 100mg/kg, 300mg/kg用量を投與하였을 때 비로소血漿濃度の 측정이 가능하였다. capsaicin 300mg/kg의經口投與時檢출된血漿濃度는投與 후 40분에 4×10^{-7} g/ml이었다.

마우스에서의 capsaicin의 LD₅₀—마우스에서의 capsaicin의 LD₅₀를 Litchfield and Wilcoxon法에 의하여 측정한結果靜脈內投與時는 0.40mg/kg 이었고,經口投與時는 47.2mg/kg 이었다 (Table V).

Table V —LD₅₀ of capsaicin in mouse.

Route of Adm.	LD ₅₀ (mg/kg)	Confidence Limit (mg/kg)
i. v.	0.40	0.37—0.43
oral	47.2	37.5—59.5
i. p.	18.63	

p=0.05

LD₅₀ is determined by Litchfield and Wilcoxon method.

考 察

Biological fluid 內的 capsaicin 定量에 관하여 報告된 바가 없으므로 本 實驗에서는 HPLC 를 使用하여 血漿이나 尿中の capsaicin 定量方法을 開發하였다.

血漿이나 尿中の capsaicin 抽出時 pH의 變化에 의한 抽出效果의 차이는 없었으며, 오히려 尿에서는 pH를 점차 酸性으로 함에 따라 방해 peak가 증가하였으므로, capsaicin 抽出時 pH는 變化시키지 않았다.

Coumn을 계속 使用함에 따라 capsaicin의 retention time이 점차 길어졌으나 每 實驗마다 標準曲線을 작성하였으므로 定量에는 지장을 주지 않았을 것으로 생각된다.

靜脈內 投與時 capsaicin의 짧은 血漿 半減期로 보아 capsaicin의 尿排泄과 조직으로의 移行을 생각할 수 있었다. 그러나 capsaicin의 尿排泄은 投與量에 比하면 극히 微量인 0.004~0.04% 이었다.

Capsaicin의 代謝에 관하여는 李동²⁹⁾이 capsaicin을 rat의 liver microsomal fraction에서 incubation시킨 후 capsaicin의 metabolite를 分離 確認한 정도이므로 本 實驗에서는 capsaicin의 metabolite에 대한 分析은 할 수 없었다. 그러므로 capsaicin이 體內에서 代謝되어 排泄되었을 가능성을 배제할 수는 없다.

Capsaicin의 조직으로의 分布를 관찰하기 위하여 rat의 各 臟器를 適出하여 homogenize한 후 capsaicin을 加하고 血漿이나 尿에서와 同一한 方法으로 처리하였으나 조직으로부터의 방해 peak로 인하여 capsaicin을 측정할 수 없었다. homogenize시킨 조직에 대한 熱처리, ethyl acetate로 抽出時의 pH變化, ethyl acetate 대신 n-Hexane으로 추출 후 다시 acetonitrile로 抽出, 試料의 clean-up을 위한 SEP-PAK C₁₈ Cartridge(Waters Associates) 使用 등을 하여 보았으나 방해 peak는 제거되지 않았으므로 capsaicin의 조직으로의 分布는 관찰할 수 없었다.

Capsaicin을 家兎에 經口 投與時 靜脈內 投與量(4mg/kg)의 75배인 300mg/kg의 用量은 投與할 때 비로소 capsaicin의 最高血漿濃度가 4×10^{-7} g/ml에 도달하였는데 capsaicin은 보통 胡椒末 中 0.2% 含有되어 있으므로 1日 平均섭취량이 胡椒末로 5g³⁰⁾인 韓國民의 경우 capsaicin 300 mg/kg의 用量은 상당한 量에 해당된다.

마우스에서의 capsaicin의 LD₅₀는 經口投與時가 靜脈內 投與時(0.4mg/kg)의 100배 이상인 47.2mg/kg이었다. 參考로 金等¹⁶⁾에 의한 腹腔內 投與時의 capsaicin의 LD₅₀는 18.63mg/kg이었다.

家兎에서의 capsaicin의 靜脈內 投與量과 經口投與量에 있어서의 顯著的한 차이, 또한 마우스에서의 capsaicin의 靜脈內 投與時와 經口投與時의 LD₅₀의 현저한 차이로 보아 capsaicin의 經口 投與時 吸收가 잘 안되는 것으로 思料된다.

結 論

1. 血漿과 尿중의 capsaicin 을 고압액체 chromatography(HPLC)에 의하여 定量하였으며 4~200ng(0.2 μ g/ml~10 μ g/ml) 수준에서 定量이 可能하였다.
2. Capsaicin 4mg/kg 을 家兔의 靜脈內 投與時 capsaicin 의 血漿濃度의 半減期는 17.35분이었다.
3. Capsaicin 4mg/kg 을 家兔의 靜脈內 投與時 capsaicin 自體의 尿排泄은 投與量의 0.004~0.04%이었다.
4. Capsaicin 300mg/kg 을 家兔에 經口投與時 capsaicin 自體의 最高血漿濃度는 投與 후 40분에 4 \times 10⁻⁷g/ml 이었다.
5. 마우스에서의 capsaicin 의 平均致死量(LD₅₀)은 靜脈內 投與時 0.40mg/kg, 經口投與時 47.2 mg/kg 이었다.

文 獻

1. J. C. Thresh, *Pharm. J. and Trans.*, 7, 21, 259, 473 (1876-7).
2. D. J. Bennett and G. W. Kirby, *J. Chem. Soc.*, (C), 442 (1968).
3. S. Kosuge and M. Furuta, *Arg. Biol. Chem.* (Japan), 34, 248 (1970).
4. Y. Masada and K. Hashimete, *J. Food Sci.*, 36, 858 (1971).
5. C. K. Hahn, 最新醫學, 4, 1305 (1961).
6. E. K. Nelson, *J. Am. Chem. Soc.*, 41, 1115 (1919).
7. K. Micko, *J. Am. Chem. Soc.*, 2, 219 (1910).
8. Spät et al., *Ber.*, 63, 737 (1930).
9. L. Crombie et al., *J. Chem. Soc.*, 1025 (1955).
10. 平田吾, 岡山醫誌, 265, 116 (1912).
11. 川島四郎, 邊, 小林, 糧食誌, 119, 331 (1936).
12. 門英雄, 消化器, 42, 1 (1943).
13. Zenko, Gu, *Chosen Med. Assoc.*, 30, 894 (1940).
14. 韓心錫, 韓鎮觀, 最新醫學, 4, 1305 (1961).
15. 孔泳玉, 金涓涓, 金洛斗, 趙允成, 生약학회지, 10, 17 (1978).
16. 金明惠, 金洛斗, 李相燮, 약학회지, 23, 111 (1979).
17. K. von Fodor, New reaction for capsacin. *S. Unter. Lebens.* 61, 94 (1931).
18. H. North, *Anal. Chem.*, 21, 934 (1944).
19. G. Nogrady, *Kiserletügyi közlemenyek*, 46, 160 (1943).
20. P. Spányár and M. Blazovich, *Analyst*, 94, 1084 (1969).
21. V. M. Rios and R. Duden, *Lebensm. Wiss. v Technol.*, 4, 97 (1971).
22. P. H. Todd and C. Perun, *Food Technol.*, 15, 270 (1961).
23. J. T. Morrison, *Chem. Ind.* (London), 42, 1785 (1967).
24. K. T. Hartman, *J. Food Sci.*, 35, 543 (1970).
25. A. T. González and C. W. Altanirano, *J. Food Sci.*, 38, 342 (1973).
25. K. R. Lee, et al., *J. Chromatogr.*, 123, 119 (1976).
27. O. Stricher, et al., *J. Chromatogr.*, 116, 221 (1978).
28. J. T. Litchfield Jr. and F. Wilcoxon, *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 96, 99 (1949).
29. 李相燮, *Personal Communication*.
30. 韓國食品研究文獻總覽(1971), 韓國食品科學會發行.