

## 廢棄種實의 食糧資源化에 關하여

### 第 1 報 : 포도씨의 化學的 組成

尹衡植·權重浩\*·黃周浩·崔載春·申大休

慶北大學校 農科大學

(1982年 5月 11日 受理)

## Studies on the Development of Food Resources from Waste Seeds

### I. Chemical Composition of Grape Seed

Hyung-Sik Yoon, Joong-Ho Kwon, Jae-Chun Choi, Joo-Ho Hwang, Dae-Hyn Shin

College of Agriculture, Kyung Pook National University, Daegu, Korea

(Received May 11, 1982)

#### Abstract

A series of studies were conducted to find out the possibility of utilizing grape seed as resources of food fats and proteins, and the results of the studies are as follows: The grape seed contained 25.1% of crude fat and 12.0% of crude protein. The lipid fractions obtained by silicic acid column chromatography were mainly composed of about 95.5% neutral lipid, whereas compound lipid was only 4.5% level. Among the neutral lipid by thin layer chromatography, triglyceride was 91.89%, sterol ester, sterol, diglyceride and free fatty acid were 3.24%, 2.87%, 1.20% and 0.80%, respectively. The predominant fatty acids of total and neutral lipids were linoleic acid (69.72~71.72%) and oleic acid (18.09~19.46%), but those of glycolipid and phospholipid were linoleic acid (31.49~38.18%), oleic acid (20.20~35.27%) and palmitic acid (26.80~39.98%). The major fatty acids of triglyceride separated from neutral lipid were oleic acid (43.08%), linoleic acid (38.42%) and palmitic acid (11.60%). The salt soluble protein of grape seed was highly dispersible in 0.02 M sodium phosphate buffer containing about 1.0 M MgSO<sub>4</sub>, and the extractability of seed protein was 31%. Glutamic acid was the major amino acid in salt soluble protein, followed by arginine and aspartic acid. The electrophoretic analysis showed 3 bands in grape seed protein, and the collection rate of the main protein fraction purified by Sephadex G-100 and G-200 was 82%. Glutamic acid, aspartic acid and arginine were the major amino acids of the main grape seed protein. The molecular weight for the main protein of the grape seed was estimated to be 81,000.

\* 現住所 : 韓國에너지研究所

## 序 論

最近 食糧不足 現象이 甚刻한 問題로 擊頭됨에 따라 食糧資源 開發을 為한 많은 研究가 이루어 지고 있다. 한편 國民所得의 增加로 食品의 消費樣相이 달라지고 있으며, 營養素別로 보면 從來에는 热量을 為主로 한 炭水化合物 食品의 消費가 많았으나 減次 蛋白質과 脂肪質食品을 많이 摄取하는 傾向으로 變해가고 있어 이들의 需要가 顯著하게 增加되고 있다.

여러 蛋白質 資源中 油糧種實(oilseeds)은 油脂나 蛋白質 資源으로서 重要한 位置에 있으며, 營養과 經濟的인 面에서도 좋은 食糧資源이라고 생각된다. 代表的인 油糧種實로서는 뚉, 땅콩, 콩, 옥수수, 해바라기씨 및 평지씨等을 들 수 있으며, 오늘날 이들을 보다 効率的으로 利用하기 為한 研究가 많이 이투어지고 있다<sup>(1~6)</sup>.

한편, 未利用 또는 廢棄資源의 食糧化를 為하여 지금까지 很多로 利用되지 않았던 有實樹 및 其他 種實에 對한 研究로서 새암<sup>(6,7)</sup>, 감<sup>(8)</sup>, 까<sup>(9)</sup>, 椰子<sup>(10)</sup>, 銀杏<sup>(11)</sup>, 쪽제비씨리<sup>(12)</sup>, 夏橙種子<sup>(13)</sup> 및 호박씨<sup>(14)</sup> 等에 對한 檢討가 國內外의 으로 많이 行해지고 있다. 그러나 園藝 生產物을 加工 處理할 때 副產物로 얻어지는 果實 및 菜蔬類 種子를 食糧資源에 利用하려는 試圖는 外國에 있어서 몇 가지 種實의 化學組成과 利用에 關한 報告<sup>(15~17)</sup>가 있을 뿐 그다지 찾아 볼 수 없다.

食生活 水準의 向上과 더불어 草實 및 菜蔬類 加工品의 消費가 減次 增加됨에 따라 이들의 加工 副產物로 얻어지는 種實도 無視할 수 없을 程度로 많아지고 있다. 따라서 이것을 食糧資源에 利用한다던 相當한 보탬이 될 것으로 생각되어 筆者等은 國內에서 이들 未利用 資源을 利用하기 為한 基礎資料를 얻기 為하여 園藝食品 加工工場等에서 比較的 많은 量이 廢棄되고 있는 포도씨에 對하여 食糧資源 開發의 一環으로서 脂肪質 및 蛋白質 成分을 體系的으로 分析하고 이들이 構成하는 必須 脂肪酸 및 必須 アミノ酸等을 檢討하였다.

## 材料 및 方法

## 材 料

## 가. 포도씨

本 實驗에 使用된 포도씨(*Vitis labrusca*, Campbell early)는 1980年 產으로서 慶北 倭館 삼미식품에서 收集하여 試料로 하였다.

## 나. 試 藥

標準 脂肪酸 methyl ester kit(日本大板, Gas chromatograph 工業製), Sephadex G-100 및 G-200(Pharmacia Co.),  $\beta$ -galactosidase, pepsin, trypsin, hemoglobin, serum albumin (Sigma Co.), silicic acid 및 silicagel G (Merck 社製)等이 使用되었다.

## 다. 機 器

가스 액체 크로마토그래피(Hitachi model 063), 아미노산 차등분석기(JEDL, molel JLC-6AH), disc gel electrophoresis(Mitsumi scientific Ind. Co. ST-1060 D), high speed centrifuge(Beckmen, J-21), spectrophotometer(Beckmen, DB-G), fraction collector(Fisher scientific Co., Fractomette 200).

## 方 法

## 가. 一般成分의 定量

試料中の 水分, 粗脂肪, 粗蛋白質 및 灰分은 AOAC 公定法<sup>(18)</sup>에 따랐다.

## 나. 脂肪質의 分析

## (1) 脂肪質의 抽出

試料中の 脂肪質 抽出은 Folch法<sup>(19)</sup>에 따라 Fig. 1 과 같이 하였다.

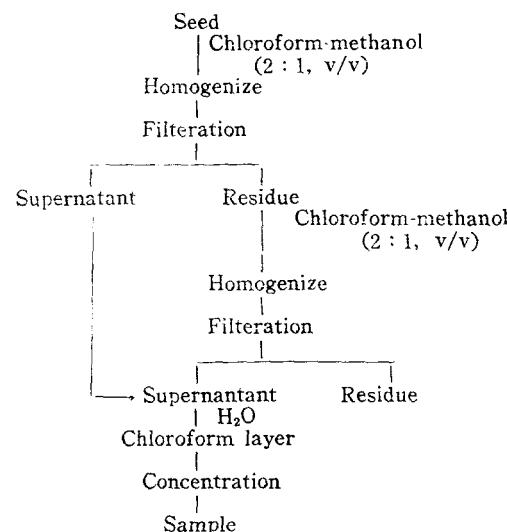


Fig. 1. Extraction of lipids

## (2) 中性脂肪質, 糖脂肪質 및 燐脂質의 分離 定量

試料에서 抽出한 脂肪質을 Rouser法<sup>(20)</sup>에 따라 硅酸管 크로마토그래피(SCC)에 依하여 中性, 糖 및 燐脂質을 分離定量하였다.

## (3) 中性脂肪質 成分의 分離 및 定量

박층 크로마토그래피(TLC)를 利用하여 中性脂肪質成分을 分離하였다. 即, 20×20 cm의 유리판에 silica gel G로 0.5 mm 두께의 판을 만들어 乾燥後 活性化시키고,

試料 脂肪質은 클로로포름에 溶解하여 사용하였다. 展開溶媒는 석유 에테르: 디에틸에테르: 아세트산(80:30:1, v/v)이, 發色劑는 1% 요드석유 에테르溶液이 각各使用되었고 中性脂肪質의 各成分은 標準 脂肪質의  $R_f$  값과 比較 同定하여 Amenta 法<sup>(21)</sup>으로 定量하였다.

#### (4) 脂肪酸組成

粗脂肪質, 中性脂肪質, 糖脂肪質, 燃脂肪質 및 中性脂肪質에서 分離한 트리-글리세리드의 脂肪酸分析은 日本油脂 및 油脂製品試驗法<sup>(22)</sup>에 따라 가스액체 크로마토그래피(GLC)에 依하여 分離 定量하였다. 또한 同定된 各 퍼크는 半值幅法으로 面積을 求한 다음 各各의 面積比를 百分率로 나타내었으며, 이때 使用된 GLC의 分析條件은 Table 1과 같다.

Table 1. Instrument and operating conditions for gas Liquid chromatography

Instrument	Hitachi model 063
Detector	Flame ionization detector
Column	3 m × 2 mm, Glass column with DEGS(20%) on chromosorb W(60~70 mesh)
Column Temp.	180°C
Injection Temp.	250°C
Detection Temp.	250°C
Carrier gas and flow-rate	N <sub>2</sub> (40 ml/min)
Chart speed	10 mm/min

#### 다. 蛋白質의 分析

##### (1) 鹽溶解性蛋白質의 抽出

鹽溶解性蛋白質은 Fig. 2의 같이 操作하여 抽出하였다. 即, 試料를 粉碎하여 50mesh 以下로 한 것을 n-헥산으로 16時間 脫脂시킨 試料 10g에 0.2~3.0M各濃度의 NaCl, MgSO<sub>4</sub> 및 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 含有한 0.02M sodium phosphate 완충액(pH 7.0) 200ml를 加하여 4°C에서 90分間 抵盪하여 抽出하고, 4,600×g에서 30分間 遠心 分離하였다. 上澄液을 다시 10,000×g에서 1時間 遠心 分離하고 얻어진 上澄液을 Lowry<sup>(23)</sup>法에 依하여 蛋白質을 定量하였다.

##### (2) 鹽溶解性蛋白質의 分割

濃度를 달리한 各鹽溶液의 抽出結果에서 1.0M MgSO<sub>4</sub>를 含有한 sodium phosphate 완충용액에서 그溶解度가 가장 좋았으므로 이濃度에서 얻은 鹽溶解性蛋白質溶液을凍結乾燥하여 脫脂시킨 뒤 다시 凍結乾燥하였다. 이 試料 500mg에 上記 緩衝溶液 4ml를 加하여 溶解시킨 다음 Whatman No. 4로 주사기를 使

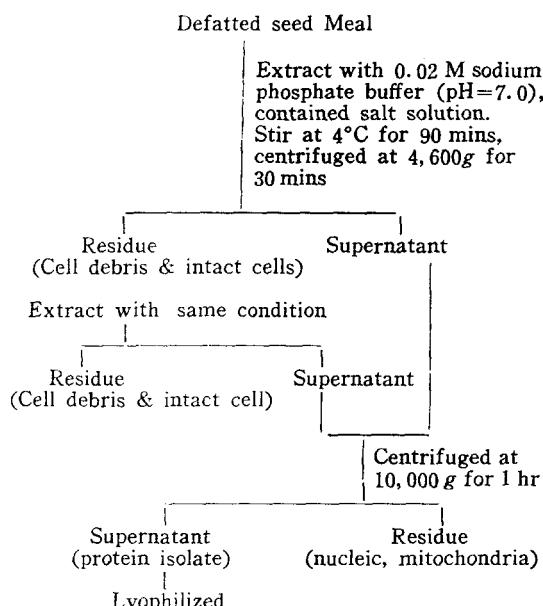


Fig. 2. Preparation of seed protein isolate

用하여 濾過한 溶液을 Sephadex G-100 및 G-200으로 分割하였다. 이때 使用한 管의 크기는 2.0×80 cm였으며, 流出液은 자동 회분 분취기로 0.4 ml/min 씩 받아 280 nm의 波長에서 吸光度를 測定하여 회분을 설정하였다.

##### (3) アミノ酸分析

抽出한 鹽溶解性蛋白質에서 鹽을 除去한 後 6N HCl溶液을 加하고 窒素 gas로 置換한 다음 密封하여 105°C에서 24時間 加水分解하였다. 이 分解液을 濾過하여 진공 회전 증발기로 鹽酸을 蒸發시킨 다음 pH 2.2의 sodium citrate 緩衝液 10ml에 녹여 아미노酸 自動 分析機로 分析하였다.

##### (4) Disc gel 電氣泳動

鹽溶解性蛋白質의 電氣泳動은 Davis<sup>(24)</sup>와 Ornstein<sup>(25)</sup>의 方法에 따라 하였다.

##### (5) 分子量測定<sup>(26)</sup>

鹽溶解性主蛋白質의 分子量測定은 標準物質  $\beta$ -galactosidase(MW. 130,000), serum albumin(MW. 68,000), pepsin(MW. 35,000), trypsin(MW. 24,000), hemoglobin(MW. 15,000)을 利用하여 Sephadex G-200 및 polyacrylamide gel electrophoresis에 依하여 測定하였다.

#### 結果 및 考察

##### 一般成分

포도씨의 一般成分을 分析한 結果는 Table 2와 같다.

Table 2. Chemical composition of grape seed

Seed components	Contents(%)
Moisture	10.42
Crude fat	25.10
Crude protein	12.00
N-free extract	48.58
Ash	3.90

포도씨의 粗脂肪 含量은 25% 內外로써 Miric 等<sup>(27)</sup>의 18.3% 보다 多少 높은 値이었고, 粗蛋白質의 含量은 約 12%로 Gaetano,<sup>(17)</sup> Kinsella<sup>(16)</sup> 및 Miric 等<sup>(27)</sup>에 의한 報告와 비슷한 値을 나타내었다.

#### 脂肪質의 性狀

가. 中性脂肪質, 糖脂脂肪質 및 燐脂肪質의 含量 포도씨에서 抽出한 脂肪質을 SCC에 依하여 中性, 糖, 및 燐脂肪質을 分離 定量한 結果는 Table 3 과 같다.

Table 3. Contents of neutral lipid, glycolipid and phospholipid in oil from grape seed\*

Lipids	Contents(%)
Neutral lipid	95.46
Glycolipid	1.42
Phospholipid	3.12

\*Each lipid fraction was separated by silicic acid column chromatography and quantitated by gravimetric measurement.

即, 포도씨의 脂肪質 成分은 中性脂肪質이 95.46%로 大部分을 차지하고 있으며, 燐脂肪質은 3.12%, 糖脂肪質은 1.42%에 불과하였다. 이는 다른 植物性 油脂의 構成 脂肪質<sup>(28)</sup>과 類似한 傾向이었으며, 燐脂肪質의 含量은 Mark 等<sup>(29)</sup>의 果菜類 種子에 대한 分析值와 거의 비슷한 値을 나타내었다.

#### 나. 中性脂肪質의 構成 脂肪質

SCC를 利用하여 分別한 中性脂肪質을 TLC에 依하여 分離 定量한 結果는 Table 4 과 같다.

試料 脂肪質 成分中에는 트리-글리세리드의 含量이 92% 內外로 거의 大部分을 차지하고 있으며, 다른 植物性 油脂中 트리-글리세리드의 含量(85~90%)<sup>(30)</sup> 보다 多少 높은 値이었고, 모노-글리세리드는 檢出되지 않은 反面 其成 脂肪質은 他 植物性 油脂와 類似한 値을 보여주었다.

#### 다. 脂肪酸組成

포도씨에서 抽出 精製한 總脂肪質 成分과 SCC에 依

Table 4. Composition of neutral lipid in oil from grape seed

Fraction of Lipid	Contents(%)
Triglyceride	91.89
Diglyceride	1.20
Monoglyceride	—
Free fatty acids	0.80
Sterol	2.87
Sterol ester	3.24

하여 分割한 中性脂肪質, 糖脂肪質, 燐脂肪質 및 中性脂肪質에서 分別한 트리-글리세리드의 脂肪酸組成을 GLC에 依하여 分析한 結果는 Table 5와 같다.

Table 5. Fatty acid composition of total lipid and major lipid classes in oil from grape seed\*

Fatty acid	Total lipid	Neutral lipid	Glyco-lipid	Phospho-lipid	Triglycerides of NL
12 : 0	—	—	—	0.22	—
14 : 0	Tr.	Tr.	Tr.	0.39	Tr.
16 : 0	7.42	7.61	26.80	34.98	11.60
Unk.	—	—	—	—	Tr.
18 : 0	2.44	2.42	4.36	4.44	5.01
18 : 1	18.09	19.46	35.27	20.20	43.08
18 : 2	71.54	69.72	31.59	38.18	38.42
18 : 3	0.50	0.79	1.03	1.58	1.85
20 : 0	—	—	Tr.	—	Tr.
Unk.	—	—	—	Tr.	—

\*Expressed as percent and calculated from peak areas of the gas chromatograms. Fatty acids are expressed as number of carbons: number of double bonds. Tr.: Trace. Unk.: Unknown

總脂肪質 成分의 脂肪酸組成은 리놀레산이 가장 높은 含量이었고 (71.72%), 올레산(18.89%), 팔미트산(7.42%)의 順으로 Kinsella<sup>(16)</sup>의 報告와 類似한 結果였으며, 이들이 포도씨 기름의 主된 脂肪酸으로써 全體 脂肪酸의 97%를 차지하고 있다. 그밖의 脂肪酸으로써는 스테아르산(2.44%), 리놀렌산(0.50%)이었으며, 2種의 未確認 脂肪酸을 나타내었다.

한편 中性脂肪質의 脂肪酸은 總脂肪質의 脂肪酸組成과 그 泰度에 類似하였으며, 糖脂肪質과 燐脂肪質의 脂肪酸組成은 總脂肪質과 中性脂肪質의 脂肪酸보다 리놀레산의 含量이相當히 적은 反面, 올레산과 팔미트산의 含量은 比較的 높은 것이 特異하다 하겠다. 특히 팔미트산의 含量은 다른 劃分의 含量에 比해 2~3倍以

上 많이 含有되어 있었고, 磷脂質의 脂肪酸에서는 라오르산이 0.22% 含有되어 있었다. 中性脂肪質에서 分別한 트리글리세리드의 脂肪酸組成은 올레산(43.08%)과 리놀레산(38.42%)이 主脂肪酸이었고, 中性脂肪質의 脂肪酸組成과 比較해 볼때 올레산과 팔미트산의 含量은 높은 反面 리놀레산은相當히 적게 含有되어 있었다.

### 蛋白質의 性狀

#### 가. 鹽溶解性蛋白質의 溶解度

脫脂시킨 試料에 對하여 濃度를 달리한 各種 鹽類를 包含시킨 sodium phosphate 緩衝液으로 鹽溶解性蛋白質을 抽出한 結果는 Fig. 3 과 같다.

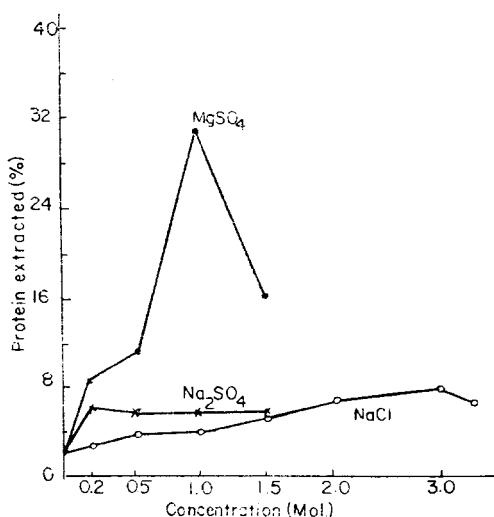


Fig. 3. Effects of  $MgSO_4$ ,  $NaCl$  and  $Na_2SO_4$  salts on the solubility of protein in defatted grape seed meal

使用的 鹽類가운데  $NaCl$  과  $Na_2SO_4$  는 各濃度에서 10%未滿의 蛋白質抽出率을 나타내었으나  $MgSO_4$  鹽溶液에서는 1.0 M 濃度에서 30% 以上의 好은 蛋白質溶解度를 나타내고 있다. 이와같은 結果는 Tinay 等<sup>(4)</sup> 의 폭화씨로부터의 蛋白質抽出結果  $MgSO_4$  鹽溶液이 가장 好았다는 報告와 一致하였다.

#### 나. 鹽溶解性蛋白質의 分離 및 精製

포도씨의 鹽溶解性蛋白質을 Sephadex G-200 으로 精製하였던 바 Fig. 4 와 같이 3 개의 疙分을 나타내었으며, 이 中 主된 疙분의 收得率은 82%였다.

#### 다. 아미노酸組成

脫脂시킨 試料를 1.0 M  $MgSO_4$  鹽溶液으로抽出한 鹽溶解性蛋白質과 sephadex G-200으로 精製한 主蛋白質割分의 아미노酸組成을 分析한 結果는 Table 6 과 같다.

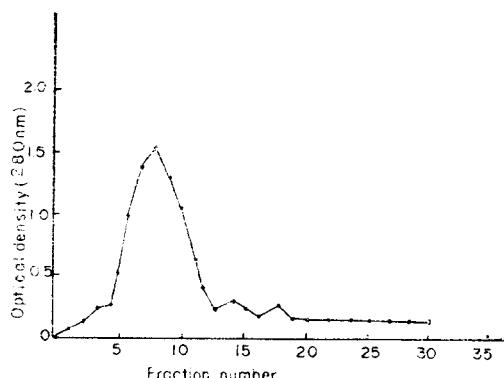


Fig. 4. Fraction of the salt extractable (1.0 M  $MgSO_4$ ) grape seed protein on the Sephadex G-200 column (20×80 cm)

即, 포도씨 蛋白質의 아미노酸組成은 16種이었으며, 그 含量을 보면 全體 蛋白質은 글루탐산이 25.80%로 가장 높고 아트기닌, 아스파르트산, 글리신의 順으로 높게 나타났으며 프로린과 히스티딘이 가장 낮은 含量를 보았다. 한편 主蛋白質의 아미노酸組成을 보면

Table 6. Amino acid composition of the salt soluble protein and main fraction protein in grape seed

Amino acid	Contents (% amino acid/total protein) as a dry basis	
	I *	II **
Lysine	3.20	3.70
Histidine	1.69	Tr.
Arginine	9.22	10.05
Aspartic acid	8.76	20.06
Threonine	2.47	2.74
Serine	4.21	3.86
Glutamic acid	25.80	24.48
Proline	1.32	—
Glycine	8.07	5.02
Alanine	4.73	4.74
Valine	5.47	5.06
Methionine	2.94	Tr.
Isoleucine	3.06	3.28
Leucine	6.87	5.93
Tyrosine	3.61	2.01
Phenylalanine	4.57	3.11
NH <sub>3</sub>	4.01	5.94

\*the salt soluble protein

\*\*main fraction of salt soluble protein

Tr.: Trace

그 패턴이 全體蛋白質과 비슷 하였으며, 아스파르트산이 20.06%로 높게 나타난 반면 히스티딘, 메티오닌, 프로린은 trace程度였다. 上의 結果는 Gaetano等<sup>(17)</sup>의 포도씨에 對한 아미노酸組成과 類似한 傾向이었으나 主蛋白質의 아스파르트산含量이 全體蛋白質에서 보다 2倍以上 높아진 것이 特異하다 하겠다.

#### 4) Disc gel 電氣泳動과 分子量 测定

鹽溶解性蛋白質을 電氣泳動한 結果 Fig. 5와 같이 3개의 ベンド를 나타내었다. 한편, 上된蛋白質의 分子量을 SDS disc gel 電氣泳動에 依하여 標準物質과 比較하여 测定해 본 結果 Fig. 6과 같이 約 81,000이었으며, 이는 Sephadex G-200으로 分子量을 测定해 본 結果와 비슷하게 나타났다.

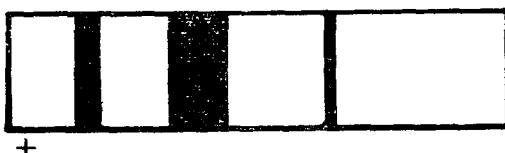


Fig. 5. Disc gel electrophoretic pattern of grape seed protein developed in glycine buffer (pH 8.3)

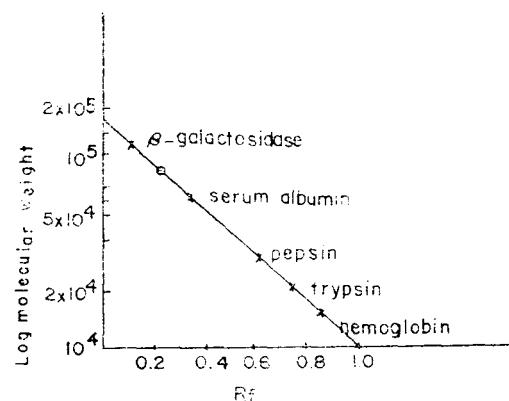


Fig. 6. Determination of molecular weight of the grape seed main protein as compared with other known molecular weight of protein

#### 要 約

未利用 廢棄種子를 食糧資源에 利用하기 为基盤 資料를 얻기 为하여 포도씨의 脂肪質成分과 蛋白質成分을 檢討한 結果는 다음과 같다.

1. 포도씨의 一般成分中 粗脂肪은 25.1%, 粗蛋白質은 12.0%였다.

2. 포도씨 기름에는 中性脂肪質이 95.46%이나 複合脂肪質은 約 4.5%에 불과하였으며, 中性脂肪質의 成

分으로서는 91.89%가 트리-글리세리드였고, 스테롤 에스터, 스테롤, 디-글리세리드 및 유리 지방산은 각각 3.24%, 2.87%, 1.20% 및 0.80%였다.

3. 脂肪酸組成은 總脂肪質과 中性脂肪質에서 리놀레산(69.72~71.72%)과 올레산(18.09~19.46%)이 主脂肪酸이었고, 糖脂肪質과 煙脂質은 올레산(20.20~35.27%)과 판미트산(26.80~39.98%)의 含量이 比較的 높았으며, 中性脂肪質에서 分別한 트리-글리세리드의 脂肪酸組成은 올레산이 43.08%로 가장 높은 含量이었다.

4. 鹽(1.0 M MgSO<sub>4</sub>) 溶解性蛋白質의 抽出率은 約 31%, 아미노酸組成은 글루탐산이 가장 높은 含量이었고 다음이 아르기닌, 아스파르트산의 順이었다.

5. 포도씨 蛋白質의 電氣泳動 結果 3개의 ベンド를 나타내었고, 分割된 主蛋白質의 收得率은 約 82%였으며, 아미노酸組成은 글루탐산, 아스파르트산 및 아르기닌의 順으로 높은 含量이었다.

6. 鹽溶解性蛋白質에서 分割된 主蛋白質의 分子量은 約 81,000이었다.

本研究는 1981年 文教部 研究助成費에 依하여 이루어진 것임.

#### 文 獻

- Herbert, M. W.: *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, **52**, 148 (1975)
- 尹衡植, 黃周浩: 韓國營養食糧學會誌, **10**, 17 (1981)
- Mohammad, A. S. and Sosulsk, F. W.: *J. Agr. Food Chem.*, **21**, 988(1973)
- Tinay, A. and Chandrasehar, H.: *J. Sci. Fd. Agric.*, **31**, 38(1980)
- 梁昌日: 韓國食品科學會誌, **12**, 109(1980)
- 洪亨基, 辛孝善: 韓國食品科學會誌, **10**, 361(1978)
- 金美蘭, 高英秀: 韓國食品科學會誌, **13**, 1(1981)
- 鈴木公一, 伊藤眞吾: 日食工誌, **28**, 360(1981)
- 韓在淑: 嶺南大 食糧資源研究集, **3**, 7(1979)
- 任姬洙, 尹光老, 鄭東孝: 韓國食品科學會誌, **12**, 324(1980)
- 韓在淑: 嶺南大 論文集, **7**, 267(1973)
- 李 榕, 辛孝善: 韓國食品科學會誌, **9**, 284(1979)
- 太田英明, 渡邊敦夫: 日食工誌, **28**, 91(1981)
- 伊藤精高, 岡田周三: 日農化誌, **48**, 8(1974)
- Markovic, V. V. and Bestic, L. V.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **53**, 43(1976)
- Kinsella, J. E.: *Food Technol.*, **28**, 58(1974)

17. Gaetano, C. and Marco, C.: *J. Agr. Food Chem.*, **26**, 763(1978)
18. AOAC Method of Analysis: 13th edition.(1980)
19. Folch, J. and Lees, M.: *J. Biol. Chem.*, **226**, 467 (1957)
20. Rouser, G. and Kritchrsky, G.: *Lipids*, **2**, 37 (1967)
21. Amenta, J. S.: *J. Lipid Res.*, **5**, 270(1964)
22. 油脂および油脂製品試験法部會: 油化學, **19**, 337 (1970)
23. Lowry, O. H. and Rosebrough, N. J.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
24. Davis, B. T.: *Ann. New York Acad. Sci.*, **121**, 404(1964)
25. Ornstein, L.: *Ann. New York Acad. Sci.*, **121**, 321(1964)
26. Weber, K. and Osborn, M.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406(1969)
27. Miric, M. and Lalic, Z.: *Hrana Ishrana*, **18**, 227(1977)
28. 鄭安錫, 辛孝善: 韓國食品科學會誌, **10**, 119(1978)
29. Mark, L. D. and Charles, W. W.: *J. Agr. food Chem.*, **28**, 364(1980)
30. DeMan, J. M.: *Principles of Food Chemistry*. AVI pub. Co. p.52(1976)