

## 人蔘의 部位別 脂肪酸 組成

崔康注·金萬旭·金東勳\*

韓國人蔘煙草研究所·\*高麗大學校 食品工學科  
(1983년 11월 1일 수리)

## Fatty Acid Compositions of the Various Parts of Ginseng Plant

Kang Ju Choi, Man Wook Kim and Dong Hoon Kim\*

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, \*Department of Food Technology, Korea University  
(Received November 1, 1983)

### Abstract

An attempt was made to investigate the lipid contents and fatty acid compositions of the roots (rhizome, epidermis, pith, cortex, branch root, fine root) and aerial parts (seed, flesh of seed, leaf, stem) of ginseng plant.

Total contents of free and bound lipids in nine parts ranged 0.91 to 3.48%, those of the seeds were 15.08%. Fourteen even-numbered and 4 odd-numbered fatty acids were identified and quantified by GLC. The major fatty acids in each part were linoleic, palmitic, oleic, and linolenic acid.

Fatty acid composition of different parts was varied significantly. Fatty acid composition of ginseng seeds was notably different from those of other parts in plant; the amount of oleic and linoleic acids (51.21 and 37.46%) were higher than those of the other parts.

The unsaturated fatty acid content of the free lipid in seed, pith, and cortex were higher than those of the other parts in plant.

### 結 論

高麗人蔘의 ether 可溶性成分은 일찍 부터 관심의 대상이 되었으며 1914년 酒井<sup>1)</sup>씨는 동물실험 결과 소량에서는 혈압을 상승시키고 다량은 혈압을 하강시키는 高麗人蔘의 不飽和酸 劃分을 얻어서 panaxsäure라고 명명하였다. 그 후 崔<sup>2)</sup>은 동물실험 결과 人蔘의 지방산 획분은 동맥경화와 관계가 깊은 혈청 내 cholesterol과 triglyceride 함량을 감소시킨다는 사실을 밝혔으며, 林<sup>3)</sup>, 宋<sup>4)</sup>등은 ether可溶部의 주된 성분인 人蔘 精油와 지방산이 histamine과

serotonin에 유리에 미치는 영향을 보고하였다.

人蔘의 지방산 성분과 加工方法에 따른 紅蔘 및 白蔘등의 지방산 조성에 대해서는 Cook<sup>5)</sup>, 辛<sup>6)</sup>, 尹<sup>7)</sup> 및 崔<sup>8)</sup>등에 의하여 分析 보고 되었으나 人蔘의 部位別 지방질의 함량과 그 구성지방산에 대한 연구는 거의 없다. 특히 人蔘의 部位別 遊離脂質과 結合脂質에 관한 분석조사 결과는 組織培養과 育種研究 뿐 아니라 藥理研究 등을 수행 함에 있어 기초 자료 내지는 참고자료로 사용될 수 있을 것으로 생각되어 본 연구를 수행하였다. 따라서 본 실험에서는 人蔘의 根部와 地上部를 각각 部位別로 구분하여 遊離

및 結合脂質의 함량과 그 구성지방산을 gas liquid chromatography로 분석한 결과를 보고하는 바이다.

ester化劑는 boron trifluoride-methanol (Sigma Chemical Co.)을 사용하였으며 기타 시약류는 등급을 사용하였다.

### 材料 및 方法

### 2. 方 法

#### 1. 材 料

#### (1) 遊離 및 結合脂質의 含量 調査

##### (1) 人蔘의 根部 및 地上部 試料

粗遊離脂質은 ethyl ether을 사용하여 분말화된 시료를 Soxhlet 추출법으로 연속 추출하여 ethyl ether에 추출되는 성분이 없을 때까지 총 24시간 정도 추출하였다. 粗結合脂質(bound lipid 또는 fatty-hydrolysis)은 ether에 쉽게 추출되지 않고 친수성 용매에 의해서만 추출되는 지질 성분으로 Schoch방법<sup>9)</sup>을 사용하여 人蔘과 같이 전본질의 함량이 많은 감자<sup>10)</sup>와 고구마<sup>11)</sup>로 부터 結合脂質의 추출방법을 수정하여 遊離脂質이 추출된 殘渣를 85% methanol로 加溫 추출하였다. 각 시료로 부터 추출된 粗遊離脂質과 粗結合脂質을 Folch 등의 방법<sup>12)</sup>에 따라 精製하여 遊離脂質 및 結合脂質을 분리한 다음 重量法으로 그 함량을 조사하였다.

본 실험에 사용된 시료는 曾坪 人蔘試驗場에서 82년 10월 초순에 채굴된 6年根 水蔘과 그 地上部를 구입하여 Fig. 1. 과 같이 根部는 6部位로 細分 하였고 地上部는 4部位로 區分하였다. 즉 根部는 腦頭(rhizome), 胴體表皮(epidermis), 胴體皮層(cortex), 胴體內層(pith), 支根(branch root)과 細尾(fine root)로 구분하였고, 地上部는 果肉(flesh of seed), 種子(seed), 莖(stem)과 葉(leaf)으로 각각 구분하여 냉동 건조시킨 후 컷팅 밀을 사용 직경 2mm로 분쇄시켜 시료로 하였다.

#### (2) Gas Liquid Chromatography에 의한 脂 肪 酸 分 析

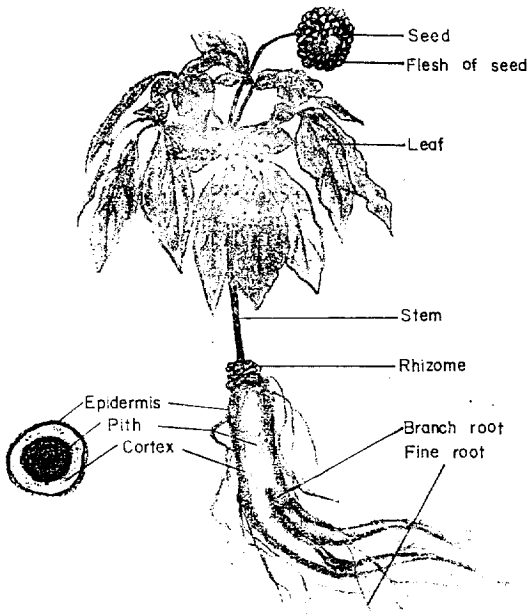


Fig. 1. Various parts of ginseng plant.

精製된 遊離 및 結合脂質을 Metcalf 등의 방법<sup>13)</sup>에 따라 0.5N NaOH methanol로 가수분해하여 BF<sub>3</sub>-methanol로 methyl ester化시킨 다음 GLC로 분석하였다. GLC에서 분리된 각 지방산 methyl ester의 면적과 총 면적에 대한 각 peak 면적(%)은 digital integrator로 계산하여 각 지방산들의 조성비(%)로 표시하였다.

본 실험에서 사용된 GLC의 장치 및 분석조건은 다음과 같다.

- Instrument : Varian Aerograph model 3700
- Integrator : Varian model CDS-111
- Detector : Flame ionization detector
- Column : 2m×2mm(ID) Stainless steel  
with 10% DEGS on Chromosorb W
- Column temp : 190°C
- H<sub>2</sub> flow rate : 30ml/min.
- Injection temp. : 240°C
- Detector temp. : 250°C

#### (2) 試 藥

### 結果 및 考察

GLC용 적수지방산 표준품은 일본 가스크로 공업 주식회사의 saturated & unsaturated fatty acid methyl ester kit를 사용하였고, 홀수 지방산 표준품은 Applied Science Laboratories Inc.의 methyl ester kit를 사용하였다. 그리고 지방산 methyl

#### 1. 遊離 및 結合脂質의 含量

人蔘의 部位別 遊離 및 結合脂質의 含量은 Table

1.과 같다. 根部の 部位別 精製遊離脂質의 含量은 0.78~2.45%로 胴體 內層이 가장 낮았고 腦頭가 가장 높았다. 精製 結合脂質의 含量은 0.13~1.01%로 遊離脂質에 비하여 그 含量이 낮았으며 胴體內層이 가장 낮았고 表皮가 가장 높았다. 地上部의 部位別 粗遊離脂質은 2.01~18.77%였으나 精製遊離脂質은 0.99~13.72%였다. 따라서 根부에 비하여 地上部는 ethyl ether에 추출된 粗遊離脂質중에 精製脂質 이외의 성분이 더 많음을 알 수 있었다. 地上部는 部位別 含量차가 현저하였으며, 莖은 0.99%로 매우

적은 반면에 葉은 2.98%, 果肉은 2.65%였으나 種子는 13.72%로 그 含量이 현저히 높았다. 한편 地上部의 精製結合脂質의 含量은 0.21~1.36%로 遊離脂質에 비하여 그 含量이 적을 뿐만 아니라 部位間의 含量차도 적었다. 遊離脂質과 結合脂質을 합한 總脂肪質의 部位別 含量은 根部는 0.91~2.68%였으나, 地上部는 1.20~15.08%로 含量차가 많았으며 특히 種子는 人蔘의 다른 부위에 비하여 지방질의 含量이 매우 높았다.

Table 1. Contents of free and bound lipids in various parts of ginseng plant (dry weight : %)

Portions	Contents	Free lipids		Bound lipids		Total lipids	
		Crude lipids	Purified lipids	Crude lipids	Purified lipids	Crude lipids	Purified lipids
Root	Rhizome	2.72	2.45	0.27	0.23	2.99	2.68
	Epidermis	1.34	0.96	1.13	1.01	2.47	1.97
	Cortex	1.28	1.14	0.31	0.29	1.59	1.43
	Pith	0.89	0.78	0.17	0.13	1.06	0.91
	Branch root	1.15	1.04	0.23	0.20	1.38	1.24
	Fine root	1.60	1.28	0.55	0.40	2.15	1.68
Aerial portions	Flesh of seed	2.87	2.65	0.44	0.26	3.31	2.91
	Seed	18.77	13.72	2.59	1.36	21.36	15.08
	Stem	2.01	0.99	0.79	0.21	2.80	1.20
	Leaf	3.89	2.98	0.69	0.50	4.58	3.48

2. 根部の 部位別 脂質成分의 脂肪酸組成

(1) 遊離脂質의 脂肪酸 組成

根部 6部位의 遊離脂質의 지방산을 분석 결과는 Table 2.와 같고 表皮의 지방산 methyl ester의 gas chromatogram은 Fig. 2.와 같다. 본 실험에서는 C 12:0에서 C 24:1까지 총 18종을 동정하였으며 그 중 linoleic acid, palmitic acid, oleic acid 및 linolenic acid등이 주된 지방산성분으로 Cook<sup>5)</sup>, 幸<sup>6)</sup>, 尹<sup>7)</sup> 및 崔<sup>8)</sup>등에 의해서 보고된 지방산들의 종류 및 지방산조성 패턴과 대체로 유사하였다. 그러나 지방산들의 조성 패턴은 部位에 따라 차가 뚜렷하였으며 腦頭는 4종의 주된 지방산 역시 동일하였으나 그중 oleic acid가 17.02%로 많았고 그 외에 nervonic acid가 3.62%로 많은 점이 특징이었다. 表皮는 palmitic acid의 含量이 19.86%로 높은 반면에 주된 불포화지방산들의 含量이 낮아서 총 불포화지방산은

57.43%로 다른 부위에 비하여 낮았다. 胴體皮膚은 4개의 주된 지방산외에 nervonic acid가 7.12%로 상당히 높았다. 특히 linoleic acid는 필수 지방산 일 뿐 아니라 생체내에서 여러가지 중요한 생리적 기능이 있다고 밝혀졌으며<sup>14)</sup> 胴體內層의 遊離脂質에 83.84%나 함유되어 酒井<sup>1)</sup> 및 崔<sup>2)</sup>등이 보고한 바 있는 藥理作用이 다른 部位의 지방질에 비하여 현저할 것으로 사료된다. 支根은 4개의 주된 지방산 외에 nervonic acid의 含量이 높았고 細尾는 linoleic acid가 28.54%로 다른 부위에 비하여 낮았으며 반면에 oleic acid는 35.13%로 현저하게 높았고 palmitic acid도 17.55%로 다소 높은 편이었다. 根部 6部位의 遊離脂質의 지방산 조성은 각기 相異하였으며 胴體內層, 胴體外層과 支根의 遊離脂質은 表皮, 腦頭 및 細尾의 遊離脂質에 비하여 linoleic acid의 含量이 높고 총 불포화 지방산의 含量이 높았다.

Table 2. Fatty acid composition of the free lipids in various parts of ginseng root

Fatty acids	Portions	Rhizome	Epidermis	Cortex	Pith	Branch root	Fine root
Lauric	12:0	0.97	1.22	1.42	0.04	1.41	2.42
Myristic	14:0	1.91	1.91	1.43	0.16	1.42	2.27
Pentadecanoic	15:0	0.94	1.55	1.16	0.50	1.15	0.84
Palmitic	16:0	16.01	19.86	12.09	4.58	12.03	17.55
Palmitoleic	16:1	3.76	4.07	2.61	1.10	2.59	2.38
Heptadecanoic	17:0	1.09	1.92	0.99	0.34	0.99	1.57
Stearic	18:0	2.51	4.15	2.16	0.65	1.92	2.98
Oleic	18:1	17.02	8.67	7.99	3.05	7.99	35.13
Linoleic	18:2	37.31	37.30	48.42	83.84	48.16	28.54
Linolenic	18:3	6.47	3.25	6.16	2.36	6.45	2.11
Arachidic	20:0	1.22	3.48	—	0.05	0.66	0.51
Gadoleic	20:1	0.78	1.78	0.63	0.29	1.09	0.58
Heneicosanoic	21:0	1.30	1.27	1.93	0.78	2.34	—
Behenic	22:0	1.71	0.62	1.47	0.71	2.33	—
Erucic	22:1	—	0.12	0.24	—	0.69	—
Tricosanoic	23:0	1.63	5.11	1.67	0.50	1.72	1.64
Lignoceric	24:0	1.74	1.48	2.52	0.65	2.24	0.75
Nervonic	24:1	3.62	2.24	7.12	0.40	4.82	0.72
T. S. F. A *		31.03	42.57	26.83	8.96	28.21	30.53
T. U. S. F. A **		68.96	57.43	73.17	91.04	71.79	69.46

\* T. S. F. A : total saturated fatty acid  
 \*\* T. U. S. F. A : total unsaturated fatty acid

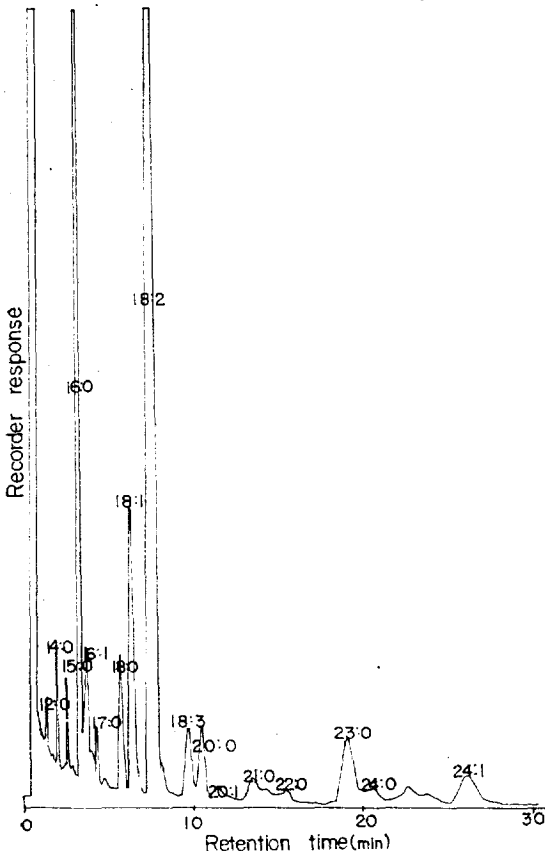


Fig. 2. Fatty acid composition of the bound lipids in various parts of ginseng epidermis

(2) 結合脂質의 脂肪酸 組成

根部 6部位의 結合脂質의 지방산 분석 결과는 Table 3.과 같다. 根部의 部位別 結合脂質의 지방산 역시 C12:0에서 C24:1까지 18種을 동정할 수 있었으며 erucic acid는 細尾에서만 동정되었다. 表皮을 제외하고는 대체로 部位別 結合脂質은 遊離脂質에 비하여 linoleic acid, linolenic 및 oleic acid등 주된 불포화 지방산의 함량이 낮은 반면에 주된 포화 지방산인 palmitic acid의 함량이 현저하게 높았고 그 외에 일부 포화지방산들의 함량이 대체로 높았다.

3. 地上部の 部位別 脂質成分의 脂肪酸 組成

(1) 遊離脂質의 脂肪酸 組成

地上部 6部位의 遊離脂質의 지방산분석 결과는 Table 4와 같다. 種子의 果肉에서는 根部에 함유된 18種의 지방산중 lauric acid와 erucic acid를 제외한 16種의 지방산을 동정할 수 있었고 그 중 根部에 함유된 4개의 주된 지방산외에 nervonic acid의 함량이 10.48%로 현저하게 많은 점이 특이 하였다. 種子是 根部뿐 아니라 地上部の 다른 部位와도 매우 상이하여 根部에 함유된 18種의 지방산중 10種만이 同定되었고 그 중에서도 특히 oleic acid가 51.21%로 현저하게 많았고 linolenic acid는 37.46%, palmitic acid는 6.34%였으며, 이외에 지방산 7種은

**Table 3. Fatty acid composition of the bound lipids in various parts of ginseng root**

Fatty acids	Portions	Rhizome	Epidermis	Cortex	Pith	Branch root	Fine root
Lauric	12:0	1.29	0.89	0.86	0.68	0.67	0.47
Myristic	14:0	1.84	1.68	1.62	2.38	1.90	1.15
Pentadecanoic	15:0	1.77	1.17	1.56	1.71	1.52	1.50
Palmitic	16:0	24.62	25.38	25.44	34.67	29.88	21.44
Palmitoleic	16:1	3.93	3.92	3.04	3.66	3.37	2.99
Heptadecanoic	17:0	1.63	1.09	1.41	1.50	1.25	1.45
Stearic	18:0	2.76	2.54	2.56	1.88	2.09	3.01
Oleic	18:1	7.72	7.27	8.20	7.66	8.92	9.86
Linoleic	18:2	38.45	43.06	43.34	34.97	36.54	39.37
Linolenic	18:3	2.14	2.96	1.44	1.42	1.65	3.54
Arachidic	20:0	1.00	0.88	0.36	0.06	0.32	1.75
Gadoleic	20:1	1.19	0.50	0.74	0.76	0.86	2.15
Heneicosanoic	21:0	1.19	0.63	1.31	1.55	1.15	0.96
Behenic	22:0	0.62	0.73	0.38	1.06	0.37	0.65
Erucic	22:1	—	—	—	—	—	0.18
Tricosanoic	23:0	3.55	3.21	2.76	2.11	3.08	4.95
Lignoceric	24:0	3.93	2.25	2.93	2.91	4.33	2.12
Nervonic	24:1	2.37	1.85	2.05	1.02	2.11	2.47
T. S. F. A *		44.20	40.45	41.19	50.51	46.56	39.45
T. U. S. F. A. **		55.80	59.56	58.81	49.49	53.45	60.56

\* T. S. F. A : total saturated acid

\*\* T. U. S. F. A: total unsaturated fatty acid

**Table 4. Fatty acid composition of the free lipids in various aerial parts of ginseng plant**

Fatty acids	Portions	Flesh of seed	Seed	Stem	Leaf
Lauric	12:0	—	—	2.40	4.49
Myristic	14:0	2.45	0.05	2.23	5.28
Pentadecanoic	15:0	1.38	0.04	2.04	7.03
Palmitic	16:0	11.22	6.34	33.31	25.20
Palmitoleic	16:1	2.91	1.74	3.98	7.12
Heptadecanoic	17:0	1.25	0.02	2.29	2.50
Stearic	18:0	2.53	0.84	4.16	4.38
Oleic	18:1	8.37	51.21	5.92	7.86
Linoleic	18:2	41.85	37.46	11.15	16.51
Linolenic	18:3	6.89	0.20	0.97	14.02
Arachidic	20:0	1.60	—	2.23	—
Gadoleic	20:1	1.00	2.08	0.75	—
Heneicosanoic	21:0	2.02	—	4.31	0.11
Behenic	22:0	1.99	—	7.26	0.38
Erucic	22:1	—	—	—	0.42
Tricosanoic	23:0	2.66	—	7.74	2.02
Lignoceric	24:0	1.38	—	6.63	1.70
Nervonic	24:1	10.48	—	2.63	1.00
T. S. F. A*		28.48	7.29	74.60	53.09
T. U. S. F. A**		71.50	92.69	25.40	46.93

\* T. S. F. A: total saturated fatty acid

\*\* T. U. S. F. A: total unsaturated fatty acid

극히 소량씩 함유되어 매우 단순한 지방산 조성을 나타내었다. 따라서 人蔘種子로부터 개작 받아되는 성숙과정에서 oleic acid와 linoleic acid가 증가된 매우 단순한 지방산 조성에서 人蔘根部에서 나타난 바와 같은 복잡한 지방산 조성으로 전환되어 가는 것으로 사료된다. 莖은 linoleic acid와 linolenic acid의 함량이 매우 낮은 반면에 palmitic acid는 33.31%로 현저하게 많았으며, 그 외에 C21:0에서 C24:1까지의 포화 지방산들의 함량이 높은 점이 특징적이었다. 莖은 linolenic acid가 14.02%로 높았으나 linoleic acid는 莖을 제외하고는 가장 낮았다. 또한 C12:0~C16:1까지의 지방산들의 함량도 다른 部位에 비해서 높은 편이었고 특히 palmitic acid가 25.20%로 그 함량이 높았다.

(2) 結合脂質의 脂肪酸 組成

地上部 4部位의 結合脂質의 지방산 분석 결과는 Table 5.와 같고 人蔘葉의 結合脂質의 지방산 methyl ester의 gas chromatogram은 Fig. 3과 같다. 果肉의 結合脂質은 遊離脂質에 비하여 linoleic acid와 linolenic acid가 36.58%와 3.90%로 함량이 낮은 반면에 palmitic acid는 26.47%로 함량이 높았다. 또한 총 불포화 지방산은 55.80%로 遊離脂質에 비

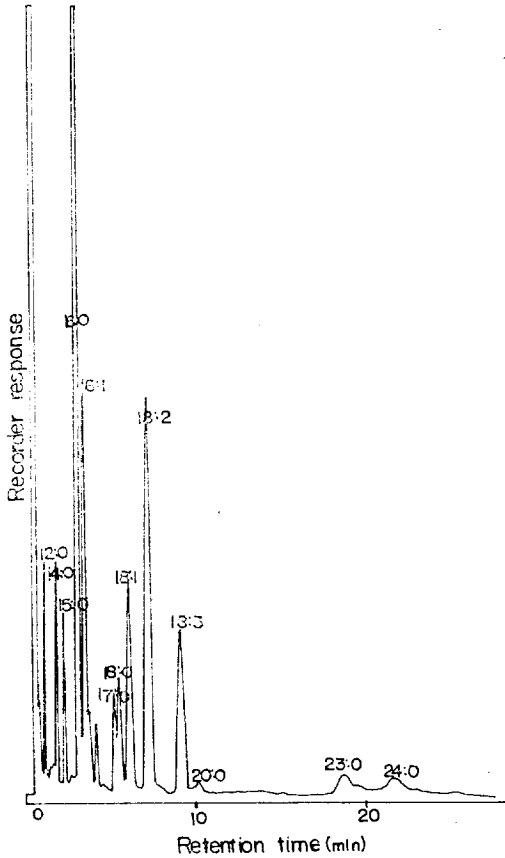


Fig. 3. Gas chromatogram of methyl esters of fatty acids in bound lipids of ginseng leaf.

하여 15.7% 낮았으며 果肉의 遊離脂質에 10.48%나 함유된 nervonic acid는 結合脂質에서는 동정되지 않았다. 種子의 結合脂質은 遊離脂質에서와 같이 10種의 지방산만이 동정되었으며 遊離脂質에서 언급한 바와 같이 다른 部位와는 매우 상이 하였다. 莖과 葉은 palmitic acid의 함량이 35.14% 및 31.03%로 그 함량이 높았고 linoleic acid는 26.59% 및 18.83%로 果肉이나 種子의 結合脂質보다는 그 함량이 낮았으나 莖과 葉의 遊離脂質에 함유된 量보다는 오히려 높았으며 총 불포화지방산의 함량도 46.21% 및 51.26%로 結合脂質에서 더 높았다. 따라서 莖과 葉은 根部의 外皮를 형성하고 있는 表皮에서와 같이 다른 部位와는 달리 遊離脂質에서 총 포화 지방산의 조성이 높은 반면에 結合脂質은 遊離脂質에 비하여 총 불포화 지방산의 조성이 높았다.

Table 5. Fatty acid composition of bound lipids in various aerial parts of ginseng plant

Fatty acids	Portions	Flesh of seed	Seed	Stem	Leaf
Lauric	12:0	2.12	—	2.09	2.79
Myristic	14:0	2.75	0.98	2.65	3.32
Pentadecanoic	15:0	1.16	0.16	2.02	3.77
Palmitic	16:0	26.47	13.13	35.14	31.03
Palmitoleic	16:1	3.20	1.81	3.51	10.51
Heptadecanoic	17:0	1.66	0.08	2.10	2.30
Stearic	18:0	4.07	0.72	4.03	4.19
Oleic	18:1	11.35	48.95	8.97	9.43
Linoleic	18:2	36.58	33.40	26.59	18.83
Linolenic	18:3	3.90	0.21	4.30	9.71
Arachidic	20:0	0.66	—	0.80	0.71
Gadoleic	20:1	0.77	0.55	0.51	—
Heneicosanoic	21:0	—	—	—	—
Behenic	22:0	0.10	—	—	—
Erucic	22:1	—	—	0.01	2.78
Tricosanoic	23:0	3.22	—	2.93	0.61
Lignoceric	24:0	1.99	—	2.02	—
Nervonic	24:1	—	—	2.32	—
T. S. F. A*		44.20	15.07	53.79	48.72
T. U. S. F. A**		55.80	84.92	46.21	51.26

\* T. S. F. A: total saturated fatty acid

\*\* T. U. S. F. A: total unsaturated fatty acid

要 約

人蔘의 根部(腦頭, 表皮, 胴體皮層, 胴體內層, 支根, 細尾)와 地上部(果肉, 種子, 莖, 葉)의 部位別 지방질의 함량과 그 구성지방산을 조사하였다. 9部位의 遊離脂質과 結合脂質을 합한 총 지방질 함량은 0.91~3.48%였으나 種子是 15.08%로 다른 部位에 비하여 그 함량이 대단히 높았다. gas liquid chromatography에 의하여 14種의 짝수지방산과 4種의 홀수지방산을 분리, 정량하였으며 주된 지방산은 linoleic acid, palmitic acid, oleic acid 및 linolenic acid였다. 部位別 지방산 조성은 현저한 차이를 나타내고 있었으며 특히 種子是 다른 部位들과는 상당한 차이가 있었으며 10種의 지방산만이 동정되었고 oleic acid와 linoleic acid(51.21%와 37.46%)가 다른 部位들보다 상당히 많았다. 또한 種子, 胴體內層 및 胴體皮層에 함유된 遊離脂質은 다른 部位의 脂肪質에 비하여 불포화 지방산의 함량이 높았다.

## 參 考 文 獻

1. 酒井和太郎 : 東京醫學會雜誌, 28, 8(1914)[閏丙  
祺 : 朝鮮醫學會雜誌, 19, 69(1927)에서 인용]
2. 崔澤圭, 洪思岳 : 대한 약리학 잡지, 4, 17(1968)
3. 林定圭 : 서울의대 잡지, 4, 9(1963)
4. 宋雄圭 : 대한 생화학 잡지, 1, 1(1964)
5. Cook, C.H. and An, S.H. : 생약학 회지,  
6(1), 15(1975)
6. 辛孝善, 李敏雄 : 한국식품과학회지, 12(3), 185  
(1980)
7. 尹泰憲, 金乙祥 : 한국식품과학회지, 11(3), 182  
(1979)
8. 崔康法, 金萬旭 : 人蔘研究報告書(製品分野),  
113. 韓國人蔘 煙草研究所, 서울(1982)
9. Schoch, T.J. : *J. Am. Chem. Soc.*, 64, 2954
10. 李相榮, 辛孝善 : 한국식품과학회지, 11(4), 291  
(1979)
11. 李寬寧, 李瑞來 : 한국식품과학회지, 4(4), 309  
(1972)
12. Folch, Jo, Lee M. and Sloane Stanley, G.H.  
: *J. Biol. Chm.*, 226, 497(1957)
13. Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A. and Pelka,  
J.R. : *Anal. Chem.*, 38, 514(1966)
14. Krause, M.V. and Manhar, L, K. : Food,  
Nutrition and Diet Theraphy, 58 W.B Saun-  
ders Company, Philadelphia(1978)