

치자의 항산화 활성성분에 관한 연구

한용남 · 오희경* · 황금희* · 이미순*
서울대학교 천연물과학연구소 · *덕성여자대학교 식품영양학과

Antioxidant Components of Gardenia Fruit

Yong Nam Han, Hee Kyung Oh*, Keum Hee Hwang* and Mie Soon Lee*
Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460
and *Department of Foods & Nutrition, Duksung Women's University,
Seoul 132-714, Korea

Abstract—An antioxidant activity of Gardenia Fruit (*Gardenia jasminoides* Ellis) which has been used for food coloring was studied. The antioxidant activity was determined by measuring lipid peroxide produced when a mouse liver homogenate was exposed to the air at 37°C, using 2-thiobarbituric acid (TBA). Both water and methanol extracts of Gardenia Fruit showed the antioxidant activity. On solvent fractionation, the antioxidant activity was removed into the ethyl acetate and butanol soluble fractions. And the final water soluble fraction also showed the antioxidant activity in the low concentration, but it promoted the lipid peroxidation in the high concentration. Two compounds (I and II) having the antioxidant activity were isolated from the butanol fraction, and compound I also occurred in the ethyl acetate fraction. The antioxidant activity of compound II was more potent than that of I. By analyzing data for UV, IR and ¹H-NMR, compounds I and II were identified as geniposide and crocin, respectively.

Keywords—*Gardenia jasminoides* · antioxidant · lipid peroxidation · geniposide · crocin

梔子(*Gardeniae Fructus*)는 꼭두서니과(Rubiaceae)에 속하는 치자나무(*Gardenia jasminoides* Ellis)의 열매이며, 옛부터 가정에서 식품의 착색료로 사용되어 왔다. 치자에 함유되어 있는 황색색소는 색깔이 아름답고, 비교적 오랫동안 보존되므로 천연색소로 이용되어 왔으며 고려사에 염료로서의 치자가 보이므로 고려시대 혹은 그 이전에 전래되었을 것으로 생각되고 최근까지도 단무지를 노랗게 착색하거나 전을 부칠 때 사용되었으며 가구의 염색에도 쓴다. 한방에서는 소염, 이뇨, 지혈약으로 황달, 토혈 등에 이

용하고 있다.¹⁾

치자의 성분 연구로는 Karrer 및 Harry²⁾가 치자에서 처음으로 crocin을 분리하였고, Kuhn 및 Alfred³⁾에 의해 화학구조가 밝혀졌다. Lin과 Wang⁴⁾은 crocin이 간기능에 독성효과를 나타내지 않으며 식품착색료로서의 안정성에 대해 논한 바 있다. Hong 및 Yoo⁵⁾는 치자로부터 색소를 공업적으로 얻기 위해 orange-yellow 색소의 추출기작에 관한 기본적 이론을 규명하였다. 치자의 iridoid 배당체 성분에 관한 연구는 Inouye 등이 치자나무의 과실, 잎, 줄기를 추출하여

gardenoside와 geniposide를 단리하였고⁶⁾ 그 밖에 gardoside와 shanzhiside 등이 밝혀져 있다.^{7,8)} 치자의 geniposide는 고설탕 함유식으로 사육된 rat에 대하여 혈청 triglyceride, 인지질, 지질과산화물, glucose량, GTP치 및 간 triglyceride, 유리 지방산을 감소시킨다고 보고되어 있다.⁹⁾ 그 밖에 치자에서 D-mannitol이 분리 보고되었으 며^{7,10)} 항산화작용이 있는 cinnamoyl 유도체¹¹⁾가 보고되었다.

최근 우리나라에서는 튀김가공 식품의 소비가 증가하고 있으며 이로 인해 식품의 저장성에 대한 문제가 대두되고 있다. 튀김기름의 대부분은 주로 식물에서 채취한 지방으로 필수지방산의 함량이 많아 인체에는 매우 유익하나 조리과정에서 쉽게 산화되는 결점이 있다.¹²⁾ 산패된 유지는 동물실험에 있어서 성장을 억제하며 독성을 나타낼 뿐 아니라, 발암성을 갖는다는 보고도 있다.¹³⁾ 따라서 유지식품은 그 저장성을 높이기 위해 식품위생법이 허용하는 범위내에서 산화를 방지하기 위하여 흔히 산화방지제가 첨가되고 있다. 현재 우리나라에서 허용된 산화방지제로는 tocopherol, carotenoid계 화합물, butylated hydroxyanisole(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT) 등이 있다. 그러나 최근에 와서는 합성 항산화제는 일반적으로 독성이 있으므로 식품첨가물에 대한 소비자의 거부반응이 강하기 때문에 천연적인 tocopherol, carotenoid계 화합물 사용이 증가하고 있는 추세이다.¹⁴⁻¹⁷⁾ 치자의 황색색소는 carotenoid계에 속하는 crocetin의 COOH 기에 여러가지 당이 결합된 페당체로 구성되어 있고, 그 중에서 crocetiindigentiobioside인 crocin이 주성분으로 알려져 있다. 일반적으로 β -carotene과 같은 성분은 지용성인 반면에 crocin은 수용성이다.¹⁸⁾ 현재까지 치자 이외의 천연 항산화제에 대한 보고로는 rosemary^{19,20)}, 마늘²¹⁾, 겨자와 서양 고추냉이²²⁾가 있으며, Han 등¹⁶⁾은 갖 및 겨자의 항산화 활성성분으로 sinapine을 보고하였다. 따라서, 본 연구에서는 crocin이 항산화 활성을 나타낼 것으로 추정하여 crocin을 분리하고자 하였으며 아울러 crocin 이외의 항산화 활성성분이 치자에

함유되어 있는지 연구하고자 하였다.

종래 생체내의 과산화 지질량을 평가하는 방법으로는 a) 과산화지질분해 산물인 malondialdehyde를 thiobarbituric acid(TBA)로 비색정량하는 방법, b) malondialdehyde가 생체내에서 아미노기와 반응하여 생성하는 공역쉬프염기(Schiff's base)의 형광감도를 측정하는 방법, c) 과산화 지질을 HI와 반응시켜 생산하는 I₂를 측정하는 방법, d) 과산화 지질의 전구물질인 공역 diene 구조를 지닌 지방산을 자외부 흡수로 측정하는 방법이 있지만 어느 것이나 특이성에 있어서 장단점이 있다.²³⁾ 본 연구에서는 가장 간편한 방법인 TBA에 의한 비색정량법을 택하였다.

실험 재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 치자는 서울 소재 경동시장 한약건재상에서 1990년 3월 및 9월에 구입하여 사용하였다.

실험동물

암수 구별없이 체중 20~25 g의 순계 mice를 시판 고형사료로 사육하여 실험동물로 하였다.

간조직의 과산화지질 정량

Mouse 간 1 g에 saline 5 ml를 가하여 빙냉하에서 마쇄한 다음 간 마쇄액에 saline을 가하여 10 ml 되도록 하였다. 이 간 마쇄액 0.3 ml에 검액 또는 증류수 0.1 ml를 가하고 37°C에서 4시간 incubation하여 생성된 과산화지질을 TBA법으로 정량하였다. TBA값은 532 nm에서 흡광도가 0.1일때를 1 unit로 한 후 생쥐 간 1 g에 대한 TBA값을 환산하여 표시하였다.²⁴⁾

치자의 물추출 및 용매분획

치자 10 g에 물 100 ml를 가해 실온, 40° 또는 60°C에서 5시간 방치한 후 탈지면으로 여과한 추출액을 100 ml로 조절한 다음 이를 원액으로 사용하였다. 이 원액중 25 ml를 각각 취해 상법에 따라 에틸아세테이트 분획, 부탄올 분획, 최종 물 분획을 얻고 용매를 제거한 후 얻은 잔사를 물 25 ml에 현탁시켜 검액으로 사용하였다.

치자의 메탄올 추출물의 용매분획

치자 100 g을 메탄올 1200 ml로 2회 수욕상에서 5시간 환류추출한 후 메탄올 추출물을 모아 농축하고 증류수로 현탁하여 100 ml 되도록 한 후 50 ml를 취하여 에틸아세테이트 60 ml로 4회 반복추출하여 에틸아세테이트 가용분 3.36 g을 얻었다. 다시 수층에 동량의 부탄올로 4회 반복추출하여 부탄올 추출물 9.82 g과 최종 물추출물 4.90 g을 얻었다. 각 분획의 잔사를 물 50 ml에 현탁시켜 검액으로 사용하였다.

다량의 치자의 메탄올 엑스를 얻기 위해 조말로 만든 치자 4 kg에 메탄올 10 l을 가하여 94°C 수욕상에서 5시간 동안 7회 반복하여 환류 추출하였다. 메탄올 엑스(2.0 kg)를 적당히 물에 현탁하고 에틸아세테이트로 4회 반복 추출하여 에틸아세테이트 가용분(212.5 g)을 얻었다. 다시 물층에 동량의 부탄올로 5회 추출하여 부탄올 추출물(856.5 g)과 최종 물층을 얻었다.

치자 부탄올 분획으로부터 항산화 활성성분 분리

치자 부탄올 가용분 중 150 g을 소량의 메탄올에 녹이고 여기에 과잉량의 아세톤을 가하여 미황색 침전을 얻었다. 이 침전물 75 g을 메탄올에 녹이고 silica gel 300 g(Merck Art. 7734)에 흡착시켜 상온에서 완전 건조시킨 후 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 혼합용매로 gradient 컬럼크로마토그래피를 실시하였다. 용출액을 TLC로 monitoring 하면서 5개의 분획, Fr. I-V를 얻었다. : Fr. I, 1.75 g ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}=10:1 \rightarrow 5:1$); Fr. II, 16.66 g ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}=5:1 \rightarrow 3:1$); Fr. III, 18.7 g ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}=3:1 \rightarrow 1:1$); Fr. IV, 2.95 g ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}=1:1$); Fr. V, 17.5 g (MeOH).

항산화 활성이 있는 Fr. II에서 compound I을 15.5 g 순수히 분리하였고, Fr. III에서 compound II를 1.2 g 분리하였다. Compound I은 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}(3:1)$ 전개용매에서 TLC 하였을 때 $R_f=0.6$ 이었으며, compound II는 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}(15:10:2.5)$ 용매에서 TLC하였을 때 $R_f=0.5$ 인 단일 spot를 각각 나타내었다. Compound I을 acetic anhydride/pyridine으로 상법에 따라 acetylation 하였다.

Compound I

mp 160~162°C(colorless needles from acetone) (Lit.⁶⁾ mp 163~164°C); UV, $\lambda_{\text{max}}(\epsilon)$ in EtOH 237 nm(12,000); IR, $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1}, \text{KBr})$ 3370 (OH), 1700(ester), 1633(conjugated C=C); $^1\text{H-NMR}(80 \text{ MHz}, \text{CD}_3\text{OD}) \delta$: 3.72(3 H, s, OCH_3), 4.37(2 H, br. s, H_2-10), 5.82(1 H, m, H-7), 7.51(1 H, s, H-3).

Compound I pentaacetate

mp 128~130°C(colorless needles from MeOH) (Lit.⁶⁾ mp 137.5~138°C); IR, $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1}, \text{KBr})$ 1755, 1715(ester), 1643(conjugated C=C), 1255, 1240(C-O-C), 902, 836 (C=CH-); $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$: 1.95, 1.98, 2.00 (each 3H, s, $3 \times \text{CH}_3\text{CO}$), 3.69(3 H, s, COOCH_3), 5.81(1 H, m, H-7), 7.39(1 H, d, $J=1.4 \text{ Hz}$, H-3).

Compound II

mp 180~185°C(orange-colored powder)(Lit.²⁾ mp 186°C); Visible λ_{max} in MeOH 431, 456 nm; IR, $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1}, \text{KBr})$ 3298(OH), 1695(conjugated ester); $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}) \delta$: 1.97 ($4 \times \text{CH}_3$), 4.17(2 H, d, $J=8 \text{ Hz}$, $2 \times \text{H}_{1-1''}$), 5.42(2 H, d, $J=7 \text{ Hz}$, $2 \times \text{H}_{1-1'}$), 6.27~6.97 (8 H, m), 7.35(2 H, d-like, $J=10 \text{ Hz}$).

결과 및 고찰

1. 치자 물 추출물의 항산화 활성

1) Incubation시간 변화에 따른 지질 과산화 억제효과

생쥐 肝 homogenate를 37°C에서 배양하면 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 시간이 경과함에 따라 급격히 TBA 값이 증가하여 4시간 후에 약 5배이상 증가하고 그 후 거의 일정한 수준에 도달하였다. 그러므로 4시간 조건하에서 치자의 물추출물의 항산화력을 측정하였다.

치자는 민간에게 뜨거운 물에 달여 사용하지 않고 따뜻한 물에 담그어 두었다가 치자의 빛깔이 충분히 추출될 때 사용하므로 본 실험에서는 치자의 물추출물을 20°C(실온), 40°C, 60°C에서 각각 추출하였으며 치자 10 g에 물 100 ml로 추출한 것을 원액으로 하였다. Fig. 1에 나타낸

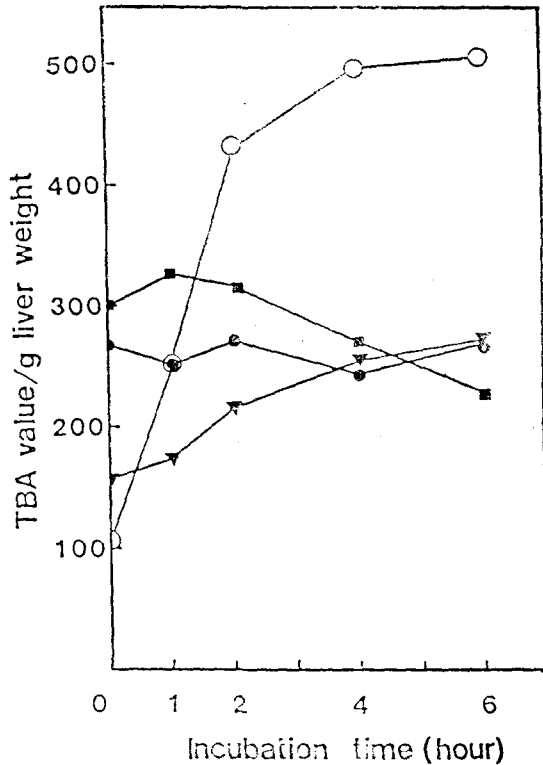


Fig. 1. Auto-oxidation of lipid in mouse liver homogenate as a function of incubation time (○), and effects of various water extracts of *Gardeniae Fructus* macerated at 20° (■), 40° (●), and 60°C (▼) on lipid peroxidation of mouse liver homogenate

A mixture of mouse liver homogenate (0.3 ml) and water (0.1 ml) or the total water extract (0.1 ml) in an open test tube was incubated at 37°C. After addition of 2-thiobarbituric acid (TBA) reagent (3.7 ml), the mixture was heated for 1 hr on a boiling water bath, and then cooled. The red pigment formed was extracted with *n*-butanol (4 ml). Absorbance of the *n*-butanol layer was measured at 532 nm.

바와 같이 간 homogenate에 치자의 물추출물 원액을 첨가하였을 때 incubation 후 4시간에 지질 과산화율 50% 이상 억제하였다. Incubation zero 시간에서 TBA치가 blank의 값 보다 높은 것은 아마도 시료 원액중에 TBA색소 발색에 영향을 주는 물질이 존재하기 때문으로 생각되며, 이 영향은 20°C에서 추출하였을 때가 제일 컸

다. 실제로 치자 추출물의 색깔은 진한 적색을 나타내므로 이 적색이 TBA색소 발색에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

2) 검액의 농도에 따른 지질 과산화 억제 효과 추출온도를 달리한 치자의 물추출물 원액과 이 원액을 용매분획법에 따라 에틸아세테이트 분획, 부탄올 분획, 물 분획으로 나누고 각각을 회석하여 항산화 작용을 비교하였다.

실온에서 추출했을 경우 Fig. 2a에서 나타낸 바와 같이 원액과 에틸아세테이트 분획은 1/4 이하 회석하였을 때, 최종 물층과 부탄올 분획은 1/8 이하 회석했을 때 용량에 따라 항산화력이 비례관계가 있으나, 이보다 높은 농도에서는 오히려 항산화력이 약해졌다. 여러 분획들중에서 에틸아세테이트 분획이 지질과산화 억제효과가 제일 컸다.

Fig. 2b는 40°C에서 추출하였을 때의 각 분획들을 회석하여 항산화 활성을 측정하였다. 원액과 에틸아세테이트 분획은 1/8 이하 회석하였을 때, 부탄올 분획과 최종 물층은 1/4 이하 회석하였을 때 과산화지질 억제효과가 용량에 비례하였고 이 보다 높은 농도에서는 오히려 항산화력이 낮아졌다. 에틸아세테이트 분획이 다른 분획들보다 작용이 가장 강하다.

Fig. 2c에 나타낸 바와 같이 60°C에서 추출했을 경우 40°C 및 실온에서 추출했을 때 보다 항산화력이 높았다. 여러 분획들중 부탄올 분획이 항산화력이 제일 좋았다.

Fig. 2의 결과들을 요약하면, 치자 60°C 물추출물이 다른 온도에서 추출한 것보다 항산화 활성이 제일 높게 나타났다. 각 용매추출 분획들의 어떤 농도이하에서는 항산화력이 농도에 비례하지만, 그 농도 이상부터는 작용이 약하게 나타났다. 이는 TBA시약의 발색에 영향을 주는 물질이 존재하기 때문이라 생각되며 특히 40°C, 60°C 실험군의 최종 물층에 TBA발색에 영향을 주는 물질이 많았다.

2. 치자 메탄올 추출물의 항산화 활성

1) Incubation시간 변화에 따른 지질 과산화 억제효과

치자 메탄올 추출물의 생쥐 간 homogenate에 대한 항산화 작용을 Fig. 3에 나타내었다. 시료

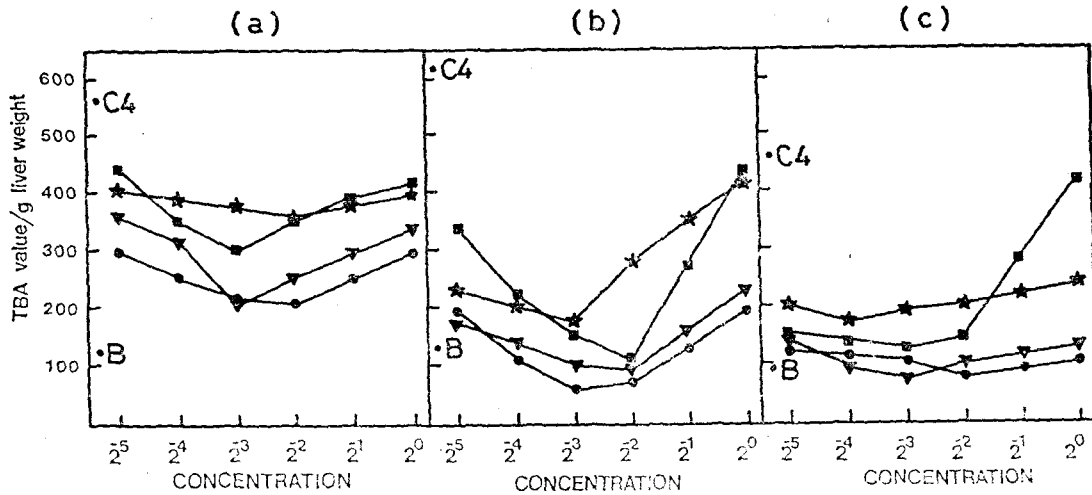


Fig. 2. Effects of the water extracts of *Gardeniae Fructus* macerated at 20° (a), 40° (b) and 60°C (c) and their various solvent fractions on lipid peroxidation of liver homogenate. TBA values were measured after incubation for 4 hr. ★, The total water extract; •, EtOAc fraction; ▽, BuOH fraction; ■, Final water fraction. B, blank; C₄, control value in 4 hrs.

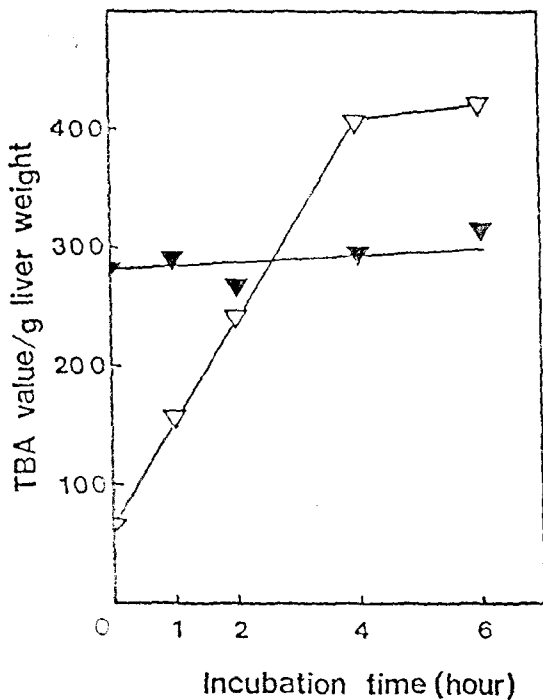


Fig. 3. Effect of the methanol extract of *Gardeniae Fructus* on lipid peroxidation of mouse liver as a function of incubation time ▽, control; ▽, methanol extract

를 첨가하지 않은 대조군은 시간이 경과함에 따라 Fig. 1에서와 같이 TBA치가 증가하여 4시간 후 TBA값이 약 410 unit에 도달하지만, 시료액 첨가군은 zero time에서 부터 6시간까지 약 300 TBA value를 유지하고 있다. 이 결과로 보아 치자 메탄올 추출물은 항산화력이 있다고 볼 수 있다. Incubation zero 시간에서 TBA치가 대조군보다 높은 것은 시료원액중에 TBA색소 발색에 영향을 주는 물질이 메탄올 엑스 중에도 있기 때문이라 생각된다.

2) 검액의 농도에 따른 지질 과산화 억제효과
치자 메탄올 추출물을 용매분획법에 따라 에틸아세테이트 분획, 부탄올 분획, 최종 물층으로 나누고 각 분획을 희석해감에 따라 항산화 작용을 비교한 결과를 Fig. 4에 나타냈다. 에틸아세테이트 분획과 부탄올 분획의 각 원액을 1/8 이하로 희석할수록 항산화력이 증가하다가 그 농도 이상에서 감소하기 시작하였다. 그러므로 이 두 분획은 어떤 농도에서만 (1/8 이하 희석 용액) 항산화력이 크를 말해준다. 이는 두 분획이 적색으로 착색되어 있으므로, TBA치 측정에, false negative한 방향으로 영향을 미친 것으로 해석된다. 한편 최종 물층은 오히려 묽은 농도에서 과산화 지질 생성을 촉진시켰다. Fig. 3

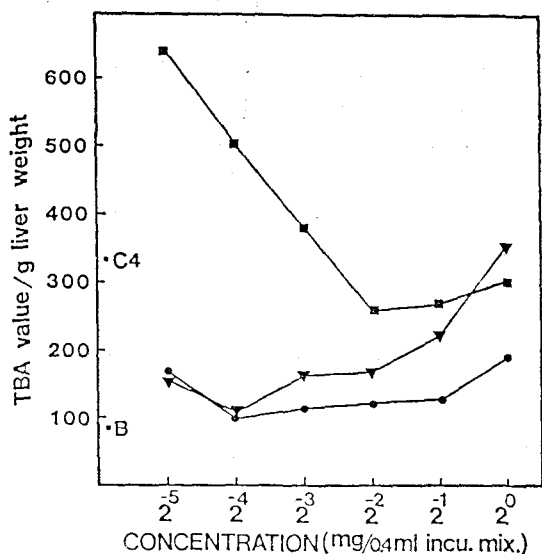


Fig. 4. Effect of various solvent fractions obtained from the methanol extract of Gardeniae Fructus on lipid peroxidation of mouse liver homogenate
 ●, EtOAc fraction; ▼, BuOH fraction; ■, Final water fraction.

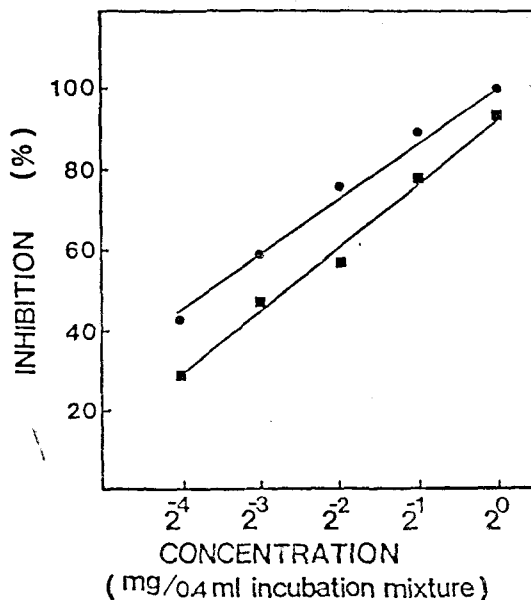


Fig. 5. Inhibition of lipid peroxidation by compounds I (■) and II (●)

에서 메탄올 추출물이 zero time에서 blank보다 큰 것은 최종물층에 함유된 성분에 기인될 가능성이 높다.

3. 항산화 활성성분 분리

치자의 항산화 활성이 에칠아세테이트 및 부탄올 분획에 있고 이 두 분획의 TLC pattern이 매우 유사하였다. 부탄올 분획을 silica gel 칼럼으로 크로마토그래피를 실시하여 여러가지 세분획에 대하여 항산화 활성을 측정하면서 유효성분을 단리하여 compound I과 II를 얻었다.

Fig. 5에는 단리한 compound I과 II의 항산화 활성을 나타낸 것이다. Compound I과 II의 ED₅₀는 각각 350, 162.5 μg으로 compound II가 I보다 항산화 활성이 2배정도 강하였다. 수율면에서 compound I이 II보다 많았으므로 이 두가지 성분 모두는 치자의 주된 항산화 활성성분이라고 할 수 있다.

4. Compound I 및 II의 화학구조 등정

Compound I은 acetone에서 미세한 침상결정으로 얻었으며 용점은 160~162°C이고, UV spectrum에서 237 nm에서 흡수 극대를 나타내었

다. IR spectrum에서 3370 cm⁻¹에서 hydroxy기, 1700 및 1633 cm⁻¹에서 conjugated ester의 band가 나타났다. ¹H-NMR spectrum에서 δ 3.72에서 OCH₃가 singlet로 나타났으며, δ 5.82(1 H, m) 및 7.51(1 H, s-like)에서 2개의 olefin 수소가 관찰되었다. Compound I은 acetic anhydride/pyridine으로 acetylation했을 때 pentaacetate가 얻어졌다. 즉 이 acetate의 ¹H-NMR spectrum에서 δ 1.95, 1.98, 2.00에서 3개의 acetyl기 peak들이 각각 singlet로 나타났고, δ 2.05에서 2개의 acetyl기가 한 개의 singlet로 나타났다. 또한 δ 3.69에서 OCH₃가 singlet로 나타났으며, δ 5.81(1 H, m) 및 7.39(1 H, d, J=1.4 Hz)에서 2개의 olefin 수소를 관찰할 수 있었다. 이러한 성상들은 치자에서 이미 보고된 geniposide의 그것들과 일치하므로 compound I은 geniposide로 동정하였다.

Compound II는 진한 오렌지색 분말로 얻어졌으며 UV/visible spectrum에서 431, 456 nm에서 극대흡광을 나타내며, IR spectrum에서 3298 cm⁻¹에서 hydroxy기, 1695 cm⁻¹에서 conjugated ester의 band가 나타났다. ¹H-NMR spectrum에

서 δ 1.97에서 4개의 CH_3 기, δ 4.17(d, $J=8$ Hz) 및 5.42(d, $J=7$ Hz)에서 2쌍의 anomeric proton이 관찰되었고, δ 6.27~6.97에서 8H 및 7.35에서 2H(d-like, $J=10$ Hz)의 10개의 olefin 수소가 관찰되었다. 이러한 성상들은 치자의 주된 황색 색소인 crocin의 그것들과 일치하므로 compound II는 crocin으로 동정하였다.

<1994년 5월 17일 접수 : 6월 13일 수리>

참 고 문 헌

1. Lee, C.H.: *Illustrated Flora of Korea*, Hyang Mun Sa Publishing Co. (1985).
2. Karrer, P. and Harry, S.: *Chem. Acta* 10, 397 (1927).
3. Kuhn, R. and Alfred, W.: *Ber.* 67B, 344 (1934).
4. Lin, J.K. and Wang, C.J.: *Korean Biochem. J.* 24, 1 (1985).
5. Hong, Y.M. and Yoo, S.K.: *Korean J. Food Sci. Technol.* 6, 1 (1974).
6. Inouye, H., Saito, S. and Taguchi, H.: *Tetrahedron Lett.* 28, 2347 (1969).
7. Inouye, H., Takada, Y. and Nishimura, H.: *Phytochemistry* 13, 2219 (1974).
8. Endo, T. and Taguchi, H.: *Chem. Pharm. Bull.* 21, 2648 (1973).
9. Yoshiyuki, K., Hiromichi, O. and Shigeru, A.: *Chem. Pharm. Bull.* 30, 4444 (1982).
10. Endo, T. and Taguchi, H.: *Chem. Pharm. Bull.* 18, 1066 (1970).
11. Nishizawa, M., Inouye, R., Ko, K. and Yasuo, F.: *Chem. Pharm. Bull.* 35, 2133 (1987).
12. Kang, D.H. and Park, H.K.: *Korean J. Food Sci. Technol.* 21, 409 (1989).
13. Matsushita, S., Hsieh, Oliver, A. and Cheng, H.: *J. Korean Soc. Food Nutr.* 16, 63 (1987).
14. Choe, S.Y. and Yang, K.H.: *Korean J. Food Sci. Technol.* 14, 282 (1982).
15. Choi, K.J.: *J. Korea Diabetic Association* 32, 4 (1981).
16. Han, Y.N., Kim, M.R., Han, B.H. and Han, Y.B.: *Kor. J. Pharmacogn.* 18, 41 (1987).
17. Yun, T.O.: *Korean J. Food Sci.* 12, 43 (1979).
18. Kim, D.H.: *Food Chemistry*, Tam Ku Dang, Seoul, p.468 (1982).
19. Chang, S. and Matijasevic, B.: *J. Food Sci.* 42, 1102 (1977).
20. Wu, J.W., Lee, M.H., Ho, C.T. and Chang, S.S.: *JAOCS* 59, 339 (1982).
21. Chun, H.J.: Thesis for Doctorate, Han Yang Univ. (1983).
22. Yamaguchi, N., Kanoo, M. and Kimiko, I.: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 31, 114 (1984).
23. Masugi, F. and Nakamura, T.: *Vitamins(Japan)*. 51, 21 (1977).
24. Han, Y.N., Kwon, Y.K. and Han, B.H.: *Kor. J. Pharmacogn.* 12, 26 (1981).