

採取時期에 따른 黃漆나무 잎의 化學性分 變化^{1*}

金炯良² · 鄭熙鍾²

Seasonal Changes in Chemical Components of the Leaves of *Dendropanax morbifera* Lev.^{1*}

Hyung-Ryang Kim² and Hee-Jong Chung²

요 약

채취시기에 따른 황칠나무 잎중의 화학성분의 변화를 분석한 결과 수분 함량은 계절이 지남에 따라 점점 감소하였으나 지방, 회분 및 섬유 함량은 오히려 점점 증가하였고 단백질 함량은 봄부터 여름까지는 감소하다가 가을에서 겨울로 감에 따라 다시 증가하는 경향을 보였다. 유리당은 검출된 세 종류의 당이 모두 봄으로부터 겨울로 감에 따라 점점 증가하는 것으로 나타났고 지방산은 일반적으로 포화지방산보다 불포화지방산이 더 많이 함유되어 있었으며, 가장 많이 함유된 포화지방산 및 불포화지방산은 계절에 관계없이 각각 arachidic acid 및 cis-13,16-docosadienoic acid였다. 유리 아미노산은 15종이 검출되었는데 계절에 관계없이 arginine의 함량이 가장 높았고 계절이 지남에 따라 점차 감소하는 것으로 나타났다. 무기성분은 채취시기에 따라 그 함량이 약간씩 차이가 있어서 칼슘 또는 칼륨이 가장 많이 함유되어 있었고 다른 무기성분의 함량은 거의 동일한 경향을 보였다. 총 비타민 C 함량은 계절이 점차 겨울로 감에 따라 감소하는 경향이었으나 수용성 탄닌 함량은 오히려 증가하는 경향을 보여 새잎보다 성숙된 겨울에 채취한 잎에 훨씬 더 높은 것으로 밝혀졌다.

ABSTRACT

Dendropanax morbifera Lev. leaves were collected during different seasons to analyze the chemical components. In proximate composition the leaves collected in spring had the highest moisture content and in winter had the lowest. Lipid, ash and fiber contents gradually increased from spring to winter and in winter had the highest. Protein content decreased until summer and then it increased. All of free sugars detected have gradually increased during the growing season. Unsaturated fatty acids content was higher than that of the saturated fatty acids and the major saturated and unsaturated fatty acids were arachidic acid and cis-13,16-docosadienoic acid, respectively. Fifteen free amino acids detected with arginine content being the highest regardless of season and amino acid content gradually decreased during the seasons. The highest content of mineral elements was potassium in leaves collected in spring, with calcium was the highest in leaves picked in other seasons. Vitamin C content was gradually decreased over the growing season and soluble tannin content increased notably.

Key words : *Dendropanax morbifera* Lev., chemical components, seasonal changes

¹ 接受 1999年 10月 8日 Received on October 8, 1999.

² 전남대학교 농과대학 식품공학과 Dept. of Food Science and Technology, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea.

* 본 연구는 과학기술처 특정연구개발사업(1994~1996) 연구비 지원으로 수행된 연구결과의 일부임.

서 론

드릅나무과(Araliaceae)에 속하는 아열대성 상록 교목인 황칠나무(*Dendropanax morbifera* Lev.)는 관상용 분재로 활용하거나 우리의 전통칠인 황금색의 황칠을 채취할 수 있는 경제적 이용 가치가 있는 수목이다. 특히 한국 특산종인 황칠나무는 한국 난대림대 및 온대인 서남부 해안지역과 도서지역에 제한적으로 자생하고 있는 것으로 알려져 있다(조종수, 1990). 황칠나무의 분포지역을 보면 서해안은 전라북도 어청도를 북한계선으로 소흑산도에 이르는 도서지역의 삼림이 잘 보존된 험준한 계곡주변의 상록활엽수림지대에서 자생하고 있고 내륙으로는 전라남도 해남군 두륜산 해발 150-350m 계곡의 상록활엽수림지대에서 자생하고 있으며, 남해안은 완도군 일대, 보길도, 소안도, 거문도, 금어도 등의 당산림 및 험준한 경사면 계곡의 상록활엽수림지대, 제주도 한라산의 남사면 돈내코 해발 400-1000m에 이르는 험준한 계곡사면의 상록활엽수림지대에 자생하고 있는 것으로 보고되었다(김종홍, 1987).

황칠나무로부터 채취되는 황칠은 갑옷이나 투구에 황금색을 나타내기 위한 고급도료로 사용되었으나(정명호, 1993) 값싼 인공합성도료가 대량 공급되면서 황칠과 같은 천연 전통도료는 거의 생산이 중단되고 결국 황칠나무 자체의 가치도 저평가되게 됨에 따라 황칠나무는 멸감용으로 무분별하게 벌채하게 되었고 이로 인하여 수목자원 자체가 고갈되어 가고 있는 실정이다(정명호, 1991).

황칠나무에 관한 연구로는 중앙시험소에서 황칠의 정유성분에 대한 연구(安田邦擘, 1937)가 최초로 수행되었는데 황칠은 일종의 정유성분으로 주성분은 2중 결합이 2개 있는 양이온과 유사한 쌍환성 세스퀴테르펜이며 그 외에 알코올, 에테르 등의 성분을 함유하고 있다고 보고하였고, 공영토(1993)는 전통 황칠공예의 재현을 위한 문헌상의 황칠을 소개함과 동시에 이와 관련된 자료를 수집하였으며 현장답사를 통한 전남 완도군 일대의 황칠나무 자생지를 발견하고 소량의 황칠나무 수액을 채취하였다(공영토, 1993). 최근의 황칠나무에 관한 연구로는 임업연구원 남부임업시험장에서 수행한 황칠나무의 분포, 생육 입지 조건, 수액채취 방법 등에 관한 연구(김세현, 1994)가 있고 정명호(1993)는 옛 문헌에 나타난

황칠공예의 역사적 배경과 기록을 조사하고 한국 전통공예의 세계시장화를 위한 방안도 제시하였고 정만철(1994)은 전남 완도군 일대에 황칠나무 재배지를 확대하기 위한 현지 실태조사연구를 수행한 바 있다.

이상과 같이 황칠나무는 그 경제적 장점에도 불구하고 황칠의 채취가 매우 어렵고 그 양도 아주 적어 황칠나무 자원을 전통도료인 황칠채취에만 이용하는 것은 한계가 있기 때문에 황칠나무 자원의 이용방안을 다양화하는 기술을 개발하기 위한 연구가 절실하게 요구되고 있다. 더구나 황칠나무의 잎과 줄기는 토끼, 노루 등의 야생동물의 먹이가 되고 있고 황칠나무의 열매는 야생조류의 좋은 먹이가 되고 있음에도 불구하고 황칠나무 자원의 화학적 특성에 대한 연구는 거의 없다. 따라서 본 연구실에서는 황칠나무 잎과 종실의 화학적 특성을 구명하기 위하여 황칠나무의 잎과 종실에 대한 화학적 조성을 분석하는 기초적인 연구를 수행하였고(임기표 등, 1995) 본 연구에서는 채취시기에 따라 황칠나무 잎중의 화학성분이 어떻게 변화하는가를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 연구에 사용한 황칠나무(*Dendropanax morbifera* Lev.)의 잎은 전남 완도군 보길도에서 시기별로 3개월마다 즉 1995년 4월말(봄), 7월말(여름), 10월말(가을) 및 96년 1월말(겨울)에 싱싱한 상태로 각각 채취하였으며 ice box에 담아 운반한 후 물로 깨끗이 씻고 표면의 잔여수분이 제거될 때까지 상온에 방치하여 건조시켜 곧바로 실험에 사용하였다.

2. 방법

1) 일반성분 분석

황칠나무 잎의 일반성분 분석은 AOAC법(1990)에 준하여, 수분은 상압가열건조법, 단백질은 Micro-kjeldahl법, 지방은 Soxhlet추출법, 회분은 직접회화법, 조섬유는 Henneberg-Stohmann 개량법으로 각각 그 함량을 측정하였다.

2) 유리당 함량

유리당은 최진호 등(1981) 및 노혜원 등(1983)의 방법에 의하여 추출하여 HPLC로 분석하였고 함량은 적분 기록계를 사용하여 면적 백분율에 의

한 내부표준법으로 계산하였다. HPLC는 High-Performance Carbohydrate Cartridge column 및 RI detector가 장치된 Waters Associates(Milford, MA) HPLC를 사용하였고 mobile phase는 acetonitrile-water(80 : 20, v/v), flow rate는 1.0ml/min, injection volume은 25 μ l의 조건에서 분석하였다.

3) 지방산 조성의 분석

지질은 Bligh와 Dyer(1959)의 방법에 따라 추출하고 추출된 지질은 0.5N NaOH로 검화시켜 14% BF₃/CH₃OH로 유도체화하였으며 n-heptane 층을 분리한 다음 무수 Na₂SO₄로 탈수한 시료를 GC주입용 시료로 하여 GC로 분석하였다(AOCS, 1988). GC는 Model 1077 split/splitless injector (220°C)가 장치된 Model 3400 Varian GC(Walnut Creek, CA), detector는 flame ionization detector(FID, 240°C), column은 DB Wax capillary column(30m×0.32mm I.D., 0.25 μ l), flow rate는 20ml/min, carrier gas는 N₂, injection volume은 1.0 μ l와 같은 분석조건에서 분석하였다.

4) 유리 아미노산 함량

시료를 에탄올과 함께 마쇄하여 균질화한 후 박수원(1977)의 방법에 따라 유리 아미노산을 추출하여 HPLC로 분석하였다. HPLC는 Pico·Tag column(3.9mm×150mm) 및 UV detector(@ 254nm)가 장치된 Waters Associates(Milford, MA) HPLC를 사용하였고 standard concentration은 0.125 μ mole/ml, flow rate는 1.0ml/min, mobile phase는 A : 0.05M sodium acetate-triethylamine ; B : acetonitrile-0.1M sodium acetate(94 : 6, V/V) ; C : acetonitrile-water(80 : 40, V/V)의 조건에서 분석하였다. Elution solvents로 사용된 A 및 B용액의 pH는 빙초산으로 6.4로 조절되었고 C용액은 실험중 column을 씻어내는데 사용하였다.

5) 총 비타민 C 함량 분석

총 비타민 C 함량은 2,4-dinitro-phenylhydra-

zine 비색법(주현규 등, 1991)에 준하여 540nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 총 비타민 C 함량을 계산하였다.

6) 수용성 탄닌 함량 분석

수용성 탄닌은 차의 공정분석법(杉補午二, 1970)에 준하여 540nm에서 흡광도를 측정하고 ethyl-gallate 표준곡선에 의하여 탄닌함량을 ethylgal-late의 1.5배량으로 계산하여 산출하였다.

7) 무기성분 함량

무기성분은 습식분해법(우순자와 유시생, 1983)에 준하여 검액을 조제하고 원자흡광광도계(Varian AA-300A)로 정량하였으며 다만 인의 정량은 molybdenum blue흡광도법(Perkin-Elmer corporation, 1986)으로 비색정량하였다.

8) 통계분석

분석결과는 Analysis of Variance(ANOVA)를 사용하여 유의성을 분석하였고 유의성이 인정된 경우에는 P<0.05에서 그 유의성의 의미를 분석하였다(SAS Institute, Inc., 1990).

결과 및 고찰

1. 채취시기별 황칠나무 잎의 화학성분 변화

1) 일반성분

황칠나무 잎의 일반성분을 채취시기별로 분석한 결과 그 변화하는 경향은 Table 1과 같다. 수분 함량은 봄에 75.1%이던 것이 겨울철에 65.3%까지 떨어진 것으로 보아 계절이 지남에 따라 점점 감소하는 경향을 보였는데 이같은 수분의 감소는 결국 단백질, 지방, 회분 등 고형분의 함량 증가로 나타났다. 단백질 함량은 봄의 새 잎에 4.2%이던 것이 여름에 1.2%로 감소하다가 다시 증가하여 겨울에는 다시 2.4%까지 증가하였고 지방, 회분 및 섬유 함량은 봄부터 겨울까지 약간씩 점점 증가하는 경향을 보였다. 이처럼 수분은 감소하고 고형분은 증가하는 실험결과는 황칠나무가 겨울이 되면 추위에 적응하기 위한 사전

Table 1. Proximate composition(%) of *Dendropanax morbifera* Lev. leaves picked at different seasons

	Spring	Summer	Fall	Winter
Moisture(%)	75.1±2.5 ^a	70.0±1.8 ^{ab}	66.4±1.4 ^{bc}	65.3±1.6 ^c
Protein(%)	4.2±0.2 ^a	2.1±0.1 ^b	1.3±0.1 ^c	2.4±0.2 ^b
Lipid(%)	1.8±0.1 ^c	2.5±0.1 ^b	2.9±0.2 ^{ab}	3.2±0.3 ^a
Ash(%)	1.4±0.1 ^c	1.8±0.1 ^{bc}	1.9±0.1 ^b	2.5±0.1 ^a
Fiber(%)	3.6±0.2 ^b	4.5±0.2 ^a	5.0±0.3 ^a	4.8±0.5 ^a

^{a,b,c} Means with different letters in the same row are significantly different (P<0.05).

준비를 하는 것을 시사하였다.

2) 유리당

유리당은 Table 2에서와 같이 채취시기에 관계 없이 fructose나 glucose에 비하여 sucrose의 함량이 훨씬 높았고 채취시기에 따른 유리당 함량의 변화는 잎중에 함유된 sucrose, glucose 및 fructose의 모든 함량이 봄에서 겨울로 갈수록 점차 증가하는 경향을 나타냈다. 황칠나무 잎은 다른 나무의 잎에 비하여 유리당의 함량이 높아 야생동물이 선호할 뿐만 아니라 이들 동물의 아주 좋은 에너지원으로 평가되었다.

3) 지방산 조성

채취시기별 황칠나무 잎중의 지방산 조성을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 봄에 채취한 새 잎의 지방산 조성은 포화지방산이 42.6%, 불포화지방산이 57.4%로 포화지방산의 함량이 4계절중에 가장 낮은 경향을 보였고 겨울에 채취한 잎에는 포화지방산이 50.4%, 불포화지방산이 49.6%가 함유되어 포화지방산이 4계절중 가장 많이 함유

된 것으로 나타나 계절이 지남에 따라 포화지방산은 점점 증가하고 불포화지방산은 점점 감소하는 경향을 보였다. 황칠나무 잎에 함유된 지방산은 일반적으로 포화지방산보다 불포화지방산이 더 많이 함유된 것으로 밝혀졌고 가장 많이 함유된 포화지방산은 계절에 관계없이 arachidic acid였고 가장 많이 들어있는 불포화지방산은 cis-13,16-docosadienoic acid인 것으로 분석되었다.

4) 유리 아미노산의 조성

채취시기가 다른 황칠나무 잎중의 유리 아미노산 조성은 Table 4와 같다. 15종의 아미노산이 검출되었는데 그 중에서 arginine 함량이 가장 높았고 그 다음으로 aspartic acid, glutamic acid, threonine, alanine, serine의 순으로 함유되어 있었으며 glycine, lysine, histidine 및 proline은 그 함량이 아주 낮은 것으로 나타났다.

5) 무기성분 함량

채취시기가 다른 황칠나무 잎에 함유된 무기성분의 함량은 Table 5와 같은데 봄에 채취한 황칠나무 잎은 칼륨의 함량이 가장 높았고 그 다음으로 칼슘, 마그네슘, 인의 함량이 높았으나 여름, 가을 및 겨울에 채취한 잎은 칼슘의 함량이 가장 높았고 그 다음으로 칼륨, 마그네슘, 인의 함량이 높은 것으로 분석되었다. 하지만 채취시기에 따른 각 무기성분의 함량은 점점 감소하거나 증가하는 경향을 보이지는 않았다.

6) 총 비타민 C 함량

총 비타민 C 함량은 Table 6에서와 같이 봄철

Table 2. Free sugar composition of *Dendropanax morbifera* Lev. leaves picked at different seasons

Sugar(%)	Spring	Summer	Fall	Winter
Fructose	0.2 ^b	0.3 ^b	0.3 ^b	0.5 ^a
Glucose	0.2 ^d	0.3 ^c	0.5 ^b	0.6 ^a
Sucrose	1.3 ^c	1.4 ^b	1.7 ^{ab}	2.0 ^a

a, b, c, d Means with different letters in the same row are significantly different (P<0.05).

Table 3. Fatty acid composition of *Dendropanax morbifera* Lev. leaves picked at different seasons

Fatty acid(%)	Spring	Summer	Fall	Winter
Myristic(14 : 0)	1.9 ^b	1.9 ^b	2.0 ^{ab}	2.0 ^a
Pentadecanoic(15 : 0)	1.3 ^d	1.5 ^c	2.9 ^a	2.1 ^b
Palmitic(16 : 0)	4.6 ^a	3.9 ^b	4.6 ^a	4.7 ^a
Stearic(18 : 0)	1.3 ^d	2.1 ^c	3.6 ^a	2.6 ^b
Arachidic(20 : 0)	30.3 ^a	32.2 ^a	32.5 ^a	34.2 ^a
Pentacosic(25 : 0)	3.3 ^b	2.5 ^c	2.2 ^d	4.7 ^a
Saturated	42.6±0.2 ^c	44.1±0.3 ^c	47.7±0.3 ^b	50.4±0.3 ^a
Palmitoleic(16 : 1)	0.4 ^d	0.6 ^c	0.7 ^b	1.1 ^a
Oleic(18 : 1)	2.2 ^a	1.4 ^c	2.2 ^a	1.6 ^b
Linoleic(18 : 2)	7.0 ^a	5.4 ^c	5.4 ^c	6.2 ^b
Linolenic(18 : 3)	7.5 ^a	6.1 ^b	5.6 ^c	5.7 ^c
cis-13,16-docosadienoic(22 : 2)	40.3±0.5 ^b	42.4±0.5 ^a	38.4±0.6 ^b	35.0±0.5 ^c
Unsaturated	57.4±0.5 ^a	56.0±0.4 ^a	52.3±0.5 ^b	49.6±0.5 ^c

a, b, c, d Means with different letters in the same row are significantly different(P<0.05).

Table 4. Free amino acid composition of *Dendropanax morbifera* Lev. leaves picked at different seasons

Amino acid (mg%)	Spring	Summer	Fall	Winter
ASP	17.2 ^a	13.6 ^b	9.5 ^c	10.1 ^c
GLU	12.3 ^a	10.9 ^b	4.6 ^d	5.2 ^c
SER	1.5 ^b	1.3 ^c	1.7 ^a	1.1 ^d
GLY	0.8 ^a	0.7 ^a	0.1 ^c	0.2 ^b
HIS	0.1 ^b	0.1 ^b	0.3 ^a	0.1 ^b
ARG	37.2 ^a	34.9 ^b	22.8 ^c	23.4 ^c
THR	4.0 ^a	2.9 ^b	3.0 ^b	2.5 ^c
ALA	2.5 ^c	2.7 ^b	3.1 ^a	2.0 ^d
PRO	0.7 ^b	0.8 ^a	0.3 ^c	0.1 ^d
TYR	1.2 ^c	1.6 ^b	2.7 ^a	1.2 ^c
VAL	0.7 ^c	0.5 ^d	1.2 ^a	0.9 ^b
ILE	0.4 ^b	—	0.4 ^b	0.7 ^a
LEU	1.1 ^a	—	0.7 ^c	0.9 ^b
PHE	0.7 ^a	0.4 ^c	0.3 ^d	0.5 ^b
LYS	0.3 ^a	—	0.1 ^b	0.1 ^b
TOTAL	80.7±1.3 ^a	67.5±1.1 ^b	50.1±1.0 ^c	49.0±0.8 ^c

a,b,c,d Means with different letters in the same row are significantly different (P<0.05).

Table 5. Mineral composition of *Dendropanax morbifera* Lev. leaves picked at different seasons

Mineral (mg%)	Spring	Summer	Fall	Winter
K	457.6±23.5 ^b	372.5±18.2 ^c	668.3±26.1 ^a	473.3±21.7 ^b
Ca	164.0±7.3 ^d	781.2±45.7 ^c	866.7±46.2 ^b	1000.0±51.1 ^a
Na	25.5±1.5 ^b	24.6±1.2 ^b	26.5±1.5 ^b	29.8±1.4 ^a
Fe	17.7±0.8 ^a	9.4±0.4 ^c	13.9±0.5 ^b	9.0±0.3 ^c
Mg	88.3±3.3 ^a	74.3±2.7 ^b	88.8±3.0 ^a	69.7±2.2 ^c
Cu	1.8±0.2 ^b	1.9±0.1 ^b	1.9±0.2 ^a	1.8±0.1 ^b
Mn	3.3±0.2 ^d	14.2±0.5 ^b	7.4±0.3 ^c	29.9±1.0 ^a
Zn	7.8±0.4 ^a	4.9±0.3 ^b	2.7±0.2 ^d	3.5±0.2 ^c
P	46.0±2.1 ^d	58.8±2.4 ^a	51.3±2.1 ^c	55.0±2.5 ^b

a,b,c,d Means with different letters in the same row are significantly different (P<0.05).

Table 6. Vitamin C contents of *Dendropanax morbifera* Lev. leaves picked at different seasons

	Spring	Summer	Fall	Winter
Vitamin C(mg%)	151.6±7.4 ^a	86.7±4.2 ^b	53.3±2.7 ^c	32.9±1.3 ^d

a,b,c,d Means with different letters in the same row are significantly different (P<0.05).

Table 7. Soluble tannin contents of *Dendropanax morbifera* Lev. leaves picked at different seasons

	Spring	Summer	Fall	Winter
Soluble tannin(mg%)	233.7±14.3 ^d	728.4±26.4 ^c	1015.2±58.3 ^b	1487.7±71.0 ^a

a,b,c,d Means with different letters in the same row are significantly different (P<0.05).

의 새잎에 151.6mg%가 함유되어 가장 많았고 계절이 겨울로 바뀌어 감에 따라 그 함량은 32.9mg%로 점점 감소되었다.

7) 수용성 탄닌 함량
수용성 탄닌의 함량은 Table 7에서 보는 바와 같이 총 비타민 C 함량과는 반대의 경향을 보였

는데 겨울철에 채취한 잎이 봄철의 새잎에 비하여 훨씬 그 함량이 높아 1487.7mg%나 함유된 것으로 분석되었다.

인 용 문 헌

1. 공영토. 1993. 황칠의 화학적 특성. 아트 & 크래프트, 6월호 80pp.
2. 공영토·강인애. 1993. 황칠나무 수액(황칠)의 도료적 성질과 도막의 성능. 임산에너지, 13(1) : 1-6.
3. 김세현. 1994. 황칠나무의 분포 및 입지환경. 임업연구원 남부임업시험장, 임목육종연구소 세미나 발표자료집, 22 : 167-172.
4. 김종홍. 1987. 한반도 상록활엽수림에 대한 식물사회학적 연구. 건국대학교 대학원 박사학위 논문.
5. 노혜원·도재호·김상달·오훈일. 1983. 저장 상대습도가 백삼품질에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 15(1), 32-36.
6. 박수원. 1977. 고들빼기 성분 및 생물학적 활성에 관한 연구(I). 한국생화학회지, 10(4) : 241-246.
7. 우순자·유시생. 1983. 원자흡광분석을 위한 식품시료의 전처리 방법. 한국식품과학회지, 15(3) : 225-229.
8. 임기표·정희중·이정석. 1995. 황칠나무자원 이용기술의 개선 및 활용방안의 다양화(I). 과학기술처 연구보고서, 109pp.
9. 정만철. 1994. 황칠나무 확대재배단지 조성을 위한 조사 연구보고서. 완도군농촌지도소.
10. 정명호. 1991. 한국 전통공예의 세계시장화

를 위한 연구. 한국문화예술진흥원 문화발전 연구소.

11. 정명호. 1993. 문헌에 나타난 황칠. 아트 & 크래프트, 6월호. 31pp.
12. 조종수. 1990. 단기임산신소득원 개발에 관한 연구. 임산 유지 및 칠 자원 개발. 임업연구원.
13. 주현규·조현기·박충균·조규성·채수규·마상조. 1991. 식품분석법. 203pp. 유림문화사.
14. 최진호·장진규·박동길·박영환·오성기. 1981. HPLC에 의한 인삼 및 유리당의 정량. 한국식품과학회지, 13(2) : 107-112.
15. 杉浦午二. 1970. 차의 공정분석법. 다업시험장 연구보고 제6호. 167pp.
16. 安田邦學. 1937. 黃漆の精油について. 中央試驗所報告 17 : 1-4.
17. AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
18. AOCS. 1988. *Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society*, 3rd ed. Method BC 3-49, American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA.
19. Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *J. Bio. Physiol.* 37 : 911-916.
20. Perkin-Elmer Corporation. 1986. *Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrometry*. Norwalk Co.
21. SAS Institute, Inc. 1990. *SAS/STAT User's Guide*. SAS Institute, Inc., Cary, NC.