

고콜레스테롤혈증 유발식이를 급여한 흰쥐에서 머루씨 분말첨가가 항산화활성과 혈액지질조성에 미치는 효과

원 향례
상지대학교 식품영양학과

Antioxidative Activity and Serum Lipid Composition of Wild Grape Seed Powder in Rats fed Hypercholesterolemic Diet

Won, Hyang Rye

Dept. of Food and Nutrition, Sangji University, Wonju, Korea

ABSTRACT

This study is to find out the antioxidative effect and serum lipid composition of wild grape seed powder in vivo. 20 white Sprague Dawley rats of six weeks old were divided into 2 groups and AIN-93 basic diet, high fat and cholesterol were provided. And they were examined to know how wild grape seed powder worked for antioxidative effect and serum lipid composition. For the comparing group, wild grape seed powder consisting 5% of the diet weight was provided and the quantity of protein, fat, carbohydrate, and cellulose was controlled following the analysis of the ingredients. The rats were fed for four weeks with experimental diet. Serum lipid and the antioxidant enzyme activity in blood and liver microsome were measured after 4 weeks of experiment. The results are as follows; There was no difference between the experimental groups in the initial body weight, final body weight, weight gain and FER. Food intake was higher in the group wild grape seed powder was provided than in the control group($p<0.05$). Serum total cholesterol in the control group was significantly higher than that in the group wild grape seed powder was provided.($p<0.05$). There was no difference serum HDL cholesterol and LDL cholesterol between the groups. Serum triglyceride showed no significant difference between the groups. In blood, glutathione peroxidase activity was higher in the group supplemented with wild grape seed powder than in the control group. The glutathione reductase activity of blood showed no difference between the groups. In liver, the glutathione peroxidase activity was higher in the group supplemented with wild grape seed powder than in the control group($p<0.05$). Glutathione reductase activity in liver showed no difference in accordance with the supplementation of wild grape seed powder.

Key words: wild grape seed, antioxidative activity, lipid composition, hypercholesterolemic diet

이 논문은 2006년도 상지대학교 학술연구비지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

접수일: 2007년 6월 26일 채택일: 2007년 8월 23일

Corresponding Author: Won, Hyang-Rye Tel: 82-33-730-0496 Fax: 82-33-738-7652

e-mail: hrwon@sangji.ac.kr

I. 서론

민간의학에서 약효가 알려진 식물의 생체기능 물질을 의약품이나 기능성 식품 개발 소재로 사용하는 연구가 활발히 진행되고 있고(Ju et al. 2006; Jung et al. 2004; Kim et al. 2004; Lee 2007; Nam & Kang 2000; Shin et al. 2006; Shin et al 2000), 이를 식물의 다양한 생리활성 성분은 식용 또는 질병 치료에도 사용되고 있다(Buxiang & Fukuhara 1997; Frei 1994; Hirose et al 1998; Lee et al. 2000; Lee et al. 2003; Ricardo et al. 1991).

포도과에 속하는 머루(*Vitis coignetiae Pulliat*)는 갈매나무목 포도과에 속하는 낙엽활엽의 덩굴성 식물로서 내한성이 강하여 전국 어디서나 생육한다. 머루는 당질, 섬유질, 화분 칼슘, 주석산 등이 풍부해 피로회복과 식욕증진을 도와주는 것으로 알려졌으며 또한 통증을 완화하는 기능이 있는 것으로 알려져 있다(안덕균 1998). 최근에는 항염증 효과와 항암효과에 대해서도 보고되고 있다(Kai et al. 2001; Kai et al. 2000; Lee et al. 2004; 대한 암 예방학회 2007). 타임지도 2002년 1월호에 '건강에 가장 좋은 열 가지 식품'에 머루를 선정하였다. 이것은 항산화제로서 알려진 폴리페놀과 레스베라톨 성분이 포도에서 보다 폴리페놀은 2배, 레스베라톨은 5배 이상 함유된 것으로 알려졌다. 또한 일반 성분 중 칼슘은 포도보다 10배 이상 함유하고 있다(농촌자원개발연구소 2007).

머루와 같은 *vitis* 속인 포도는 성분분석, 항산화, 항암, 항균활성(Jayaprakasha et al. 2001; Jayaprakasha et al. 2003; Lee et al. 2000; Jung et al. 2005; Chung et al. 2002; Nam JH & Joo KJ 2004; Jang JK & Han JY 2002; Jorge et al. 1991)에 관한 연구와 포도씨 분말을 사료로서의 활용(김동필 1989), 식품첨가제로 활용(Joo et al. 2004; Yoo et al. 2004)에 관한 다양한 연구 등이 진행되어 왔다.

국내에서의 머루와 연관된 연구는 머루즙과 머루주의 이화학적 분석 및 항산화효과(최선영 등 2006), 발효머루 부산물의 사료로서의 활용가능성(박경숙과 정인철 2005), 개량머루를 이용한 발효제 품의 제조(김성렬과 김승경 1997), 머루의 항산화물질로 알려진 anthocyan의 구조 확인(황인경 1975),

머루 종의 polyphenol oxidase의 화학적 성질(임홍빈 등 1998), 머루 과피 추출물의 항산화효과(최선영 등 2006), 머루종자의 에탄올 추출물의 항산화 효과(김난영 등 2006)에 관한 연구들이 진행되어 왔다.

이에 본 연구는 머루주의 부산물을 자원으로 서의 활용을 위하여 머루씨의 항산화 활성과 혈액지질조성에 미치는 효과를 동물실험을 통해 확인하여 그동안 농가에서 폐기물로 처리되어 왔던 머루씨를 식품 내 첨가물로서, 혹은 다른 약용으로의 활용 가능성을 제시하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

실험재료

실험에 사용된 머루씨는 2006년 4월 강원도 평창에 소재하고 있는 머루가공회사인 (주)홍지원에서 공급받아 사용하였다. 머루씨 표면에 붙어 있는 이물질을 충분히 털어낸 후 증류수로 세척하여 풍건한 후 120mesh 이하로 마쇄하여 사료배합에 사용하였다. 머루씨의 일반성분은 농촌진흥청 자원개발연구소에 의뢰하여 AOAC(27) method로 분석하였다.

1. 실험동물 및 식이

실험동물은 바이오링크(충북 음성, 대한민국)에서 6주령의 Sprague Dawley 종 흰쥐 숫컷을 공급

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredients	Group ^{b)}	
	HC	HCG
Starch	569.45	539.15
Casein	140	136.85
Beef tallow	180	177.6
α-Cellulose	50	35.85
Mineral-mix(AIN-93)	35	35
Vitamin-mix(AIN-93)	10	10
L-Cystine	1.8	1.8
Choline bitartrate	2.5	2.5
Cholesterol	10	10
Sodium cholate	1.25	1.25
Wild strawberry powder		50

^{b)}HC: Hypercholesterol supplemented group,

CG: Hypercholesterol and wild strawberry supplemented group

받아 체중에 따라 각 실험군 당 10마리씩 완전 임의 배치하였다. 환경 조절된 실험동물 사육실(온도 22±2°C, 상대습도 60±5%, 조명 06:00 Am-18:00 Pm)에서 스테인레스 망 사육상자에 한 마리씩 분리 사육하였다.

실험 식이의 조성은 AIN-93M을 기본으로 하여 고콜레스테롤혈증을 유발하기 위하여 식이지방을 동물성지방인 beef tallow 19% 수준으로 조정하고, sodium cholate를 사료중량의 1.25% 공급하였다. 실험군에는 머루씨 분말을 사료중량의 5%를 첨가하여 조성하였다(Table 1).

2. 시료수집 및 분석방법

6주간 실험식이를 급여하고 사육기간 중 섭취량, 체중증가율, 식이효율은 이틀에 한번 씩 측정하였다. 6주간 실험 식이로 사육 후에 18시간 절식시킨 후 ether로 마취하여 경동맥혈을 채취하였고, 채취한 혈액은 냉장고에서 하룻동안 방치한 후 3000rpm에서 20분간 원심 분리하였다. 혈청을 분리한 후 HDL-cholesterol을 즉시 분석하였고 혈청과 간조직은 분석 전까지 -70°C에서 냉동 보관하였다.

혈액의 Triglyceride, Total cholesterol, HDL-cholesterol는 효소법을 이용한 Kit(Wako Co.,Japan)를 사용하여 측정하였고, 혈청 LDL-cholesterol은 Frierwald식(29)을 이용하여 산출하였다.

항산화 효소와 과산화물 측정을 위해 냉동 보관한 간은 얼음 위에서 살짝 조각 낸 다음 homogenize

용 관에 넣어 Buffer용액(154mM KCL, 50mM Tris-HCl, 1mM EDTA buffer, PH7.4)으로 homogenize 한 후 4°C 15,000rpm에서 30분 원심 분리 후 상층액으로 glutanthione peroxidase와 glutanthione reductase activity를 측정하였다. 혈액 및 간조직의 단백질 함량은 Bradford method를 이용한 protein quantification kit(PQO1-12, Dojimdo Co.,Japan)를 사용하여 BSA(bovine serum albumin)을 표준으로 600nm에서 microplate reader(Bio-Rad, USA)를 사용하여 측정하였고, 혈액 및 간조직의 glutanthione peroxidase 활성은 spectrophotometric Assay용 kit (Oxford Biomedical Research, Inc.; FR17, USA) glutanthione reductase 활성은 spectrophotometric assay kit(Oxford Biomedical Research, Inc.; FR19, USA)를 사용하였다.

3. 통계처리

모든 자료는 SPSS 통계 프로그램을 이용하여 분석하였으며, 실험군 간의 유의성 차이 여부는 실험분석 결과를 평균과 표준편차로 나타내어 Student's t-test로 유의성을 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 머루씨의 일반성분

본 실험에 사용한 머루씨의 일반성분 조성은 Table 2와 같다.

Table 2. Chemical composition of wild grape seed power

Item	Energy (kcal/100g)	Moisture (%)	Crude protein(%)	Crude lipid(%)	Carbohydrate (%)	Crude fiber(%)	ash (%)
Wild strawberry seed power	167	33.6	6.3	4.8	25.7	28.3	1.3

Table 3. Final body weight, weight gain, food intake and FER

Groups ¹⁾	initial body weight(g)	final body weight(g)	weight gain(g)	food intake(g)	FER ²⁾
HC	167.41±4.05 ³⁾	315.08±19.26	147.67±18.55	395.10±76.57 ⁴⁾	0.38±0.73
HCW	167.39±3.52	328.96±18.58	161.57±17.54	477.92±76.04	0.34±0.32

¹⁾Groups are the same as in Table 1.

²⁾FER : weight gain/food intake

³⁾All values are mean±SE

⁴⁾Values with different superscript letters in the same column are significantly different at p<0.05.

2. 체중 증가량, 사료섭취량, 사료효율

실험군의 체중체중, 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율은 Table 3과 같다. 체중증가량, 사료효율은 실험군 간의 유의차가 없었다. 사료섭취량은 머루씨 분말 첨가군이 높게 나타났다 ($p<0.05$). 즉 머루씨 분말 공급군이 식이섭취량은 많았지만 체중증가는 대조군과 차이가 없는 것으로 나타났다. 이러한 특성은 머루씨를 비만 예방을 위한 식품첨가제로서의 사용가능성을 보여주고 있다. Joo 등(2004)은 포도씨 분말을 첨가한 기능성 머핀 품질 특성 관한 연구에서 0.5% 첨가 수준이 머핀의 기호성을 떨어뜨리지 않으면서 항산화기능을 가진 것으로 보고하고 있다.

3. 혈액과 간의 항산화효소

혈액과 간의 glutathione peroxidase와 glutathione reductase의 활성은 Table 4와 같다. 혈액과 간 모두에서 glutathione peroxidase 활성은 머루씨 분말 첨가군이 대조군보다 유의하게 높게 나타났다.

혈액 glutathione reductase의 경우는 머루씨 분말 첨가에 따른 차이를 볼 수 없었다.

Glutathione peroxidase는 Se를 함유하는 항산화

계 효소로서 과산화지질과 H_2O_2 의 무독화를 촉매하며 철분, 비타민 E, 필수지방산의 결핍 시 활성이 감소되고 산화적 스트레스 시 활성이 증가하는 것으로 알려져 있다(Huh et al. 1985; Audrey et al. 2004). 본 실험에서 혈액과 간의 Glutathione peroxidase의 활성이 증가한 것은 머루씨 분말의 항산화 작용 효과로 보인다. 김난영(2006)은 머루씨에서 생리활성 물질을 분리한 결과 폐놀화합물, (+)-catechin과 ethyl acetate 분획물 자체가 항산화효과를 가지고 있는 것을 확인하였다. Jorge 등(1991)은 식품공정과정에서 포도과육 제조공정의 부산물로 얻어지는 포도씨에 함유된 polyhydroxy flavan이 항산화 작용을 한다고 하였으며 또 다른 연구에서는 이 항산화 작용을 통해 동맥경화, 노인성 치매, 당뇨, 대장암 예방 등에 효과가 있다고 보고하였다(Castillo 2000). 본 실험에서는 머루씨 분말 자체를 고콜레스테롤증 유발 식이에 섞어 주어 항산화 효과를 본 것으로, 이 효과는 지금까지 밝혀진 머루씨에 함유된 항산화 물질 외에 다른 성분도 함께 작용했을 가능성이 보여진다. 이 결과는 머루씨 분말이 고콜레스테롤증 상태에서도 항산화 능력을 가지고 있음을 알

Table 4. Antioxidant enzyme activity in blood and liver

Groups ¹⁾	Blood		Liver	
	GPx(mU/mg protein) ²⁾	GR((mU/mg protein) ³⁾	GPx(mU/mg protein)	GR((mU/mg protein)
HC	76.65±4.62 ^{4)*5)}	2.54±0.23	9.87±0.45*	22.10±2.67
HCW	92.37±5.13	3.08±0.32	17.68±0.49	25.36±2.47

¹⁾Groups are the same as in Table 1.

²⁾GPx: Glutathione peroxidase

³⁾GR: Glutathione reductase

⁴⁾All values are mean±SE

^{5)*}Values with different superscript letters in the same column are significantly different at $p<0.05$.

Table 5. Serum triglyceride, triglyceride, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol

Groups ¹⁾	Triglyceride	Total cholesterol	(mg/dL)	
			HDL-cholesterol	LDL-cholesterol
HC	70.56±17.23 ²⁾	160.53±12.36	54.39±10.90	106.14±8.95
HCW	55.00±9.17	141.28±14.26 ³⁾	53.16±8.17	88.12±25.59

¹⁾Groups are the same as in Table 1.

²⁾All values are mean±SE

^{3)*}Values with different superscript letters in the same column are significantly different at $p<0.05$.

수 있었다.

4. 혈액의 지질성분

혈액의 지질 조성은 Table 5와 같다.

혈액의 총 콜레스테롤농도는 대조군보다 머루씨 분말 급여군이 유의하게 낮게 나타났다($p<0.05$).

혈액의 LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도과 중성지방의 농도는 실험군 간 유의적인 차이를 보이지 않았다.

IV. 결론 및 요약

본 연구는 머루씨의 항산화 활성과 혈액 지질 조성에 미치는 효과를 동물실험을 통해 확인하고자 6주령 된 Sprague Dawley 종 흰쥐 20마리를 대조군과 머루씨 분말 첨가군의 2군으로 나누어 대조군은 AIN-93 기본식이에 고지방과 콜레스테롤을 공급하고 비교군은 머루씨 분말을 식이중량의 5%를 공급하고 머루씨 성분을 분석하여 단백질, 지방, 당질, 섬유소의 양을 조절하였다. 실험 식이로 4주간 사육 후 혈액 및 간 microsome 내의 항산화효소 활성과 혈액 지질 조성을 측정하였다.

1. 개시체중, 최종체중, 체중증가량, 식이효율은 실험군 간의 차이가 없었다.

2. 식이섬유량은 대조군보다 머루씨 분말을 공급한 군이 높았다($p<0.05$).

3. 혈액과 간의 glutathione peroxidase 활성은 머루씨 분말을 첨가한 군이 대조군보다 유의하게 높게 나타났다($p<0.05$).

4. 혈액과 간의 glutathione reductase 활성은 머루씨 첨가에 따른 차이를 보이지 않았다.

5. 혈액 지질성분은 총 콜레스테롤농도는 대조군보다 머루씨 분말 급여군이 유의하게 낮게 나타났다($p<0.05$).

6. 혈액의 LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤과 중성지방의 농도는 실험군 간 차이를 보이지 않았다.

이상의 결과를 요약해보면 고콜레스테롤 유발 식이에 머루씨 분말 공급 효과는 실험동물의 식

이 섭취량이 많았지만 체중증가는 대조군과 차이가 없는 것으로 나타났다. 또한 혈액과 간의 glutathione peroxidase 활성에 효과를 나타내는 것으로 나타났으며, 혈액지질 성분 중 총콜레스테롤을 낮추는 효과가 있는 것으로 나타났다.

참고문헌

- 김난영(2006) 머루종자 추출물의 생리활성 불질 분리 및 효능탐색에 관한 연구. 강원대학교 대학원 석사학위논문.
- 김난영·최재호·김영국·장미영·문제학·박금형·오덕환(2006) 머루종자 에탄올 추출물로부터 항산화활성물질 분리 및 동정. 한국식품과학회지 38(1), 109-113.
- 김동필(1989) 오리사육에 있어서 포도씨의 사료 대체 효과. 광주보건전문대학 논문집 제 14집, 33-37.
- 김성렬·김승겸(1997) 개량머루를 이용한 발효제품의 제조. 한국식품영양학회지 10(2), 254-262.
- 농촌자원개발연구소(2007) 식품성분표 제 7 개정판. 효일출판사.
- 대한암예방학회(2007) 암을 이기는 한국인의 음식 54가지. 연합뉴스, p216-219.
- 안덕균(1998) 한국본초도감. 교학사, p781.
- 임홍빈·성찬기·박희중·조성희(1986) 산포도와 머루 종의 Polyphenol Oxidase에 관한 연구. 기초 과학연구소 논문집 11집, 85-95.
- 박경숙·정인철(2005) 발효 머루 부산물을 급여한 돈육의 품질 및 기호성. 동아시아식생활학회지 15(6), 759-765.
- 최선영·조현소·김행자·류충호·이정옥·성낙주(2006) 머루과 추출물의 항산화효과. 2006년 한국생명과학 회 춘계학술대회 초록집, p 98.
- 최선영·조현소·김행자·류충호·이정옥·성낙주(2006) 머루과 머루주의 이화학적 분석 및 항산화효과. 한국 식품영양학회지 19(3), 311-317.
- 황인경·안승요(1975) 바루(*Vitis amurensis Ruprecht*) Anthocyanin에 관한 연구. 한국농화학회지 18(4), 188-193.
- AOAC. 1990. Official method of analysis. 15th ed.
- Audrey B, Katherine YK, Blythe J, Owen G, Michael GC(2004) Contribution of Glutathione Peroxidase to the Virulence of *Streptococcus pyogenes*. Infection and Immunity 72(1), 408-413.
- Buxiang S, Fukuhara M(1997) Effects of co-administration of butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole and flavonoid on the activation of mutagens and drug-metabolizing enzymes in mice. Toxicology 122, 61-72.
- Castillo J, Benavente-Garcia O, Lorente J, Alcaraz M, Redondo A, Ortuno A, Del Rio J(2000) Antioxidant

- activity and radioprotective effect against chromosomal damage induce in vivo by X-rays of flavan-3-ols(procyanidins) from grape seeds (*Vitis vinifera*): Comparative study versus other phenolic and organic compounds. *J Agric Food Chem* 48, 1738-1745.
- Friedwald Wi, Levy RI, Fredrisko D(1972) Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol with use of the preparation ultracentrifuge. *Clin Chem* 18, 499-502.
- Frei B(1994) Natural antioxidants in human health and disease. Academic Press, New York. 25-55.
- Hirose M, Takesada Y, Tanaka H, Tamano S, Kato T, Shirai T(1998) Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeoic acid, sesanol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model. *Carcinogenesis* 19, 207-212.
- Huh K, Park JM, Lee SI(1985) Garlic effect on the glutathione S-transferase and glutathione peroxidase. *Archives of Pharmacal Research*. 8(4), 197-203.
- Jang JK, Han JY(2002) The antioxidant ability of grape seed extracts. *Korean J Food Sci Technol* 34, 524-528.
- Jayaprakasha GK, Singh RP, Sakariah KK(2001) Antioxidant activity of grape seed(*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food chem*, 73, 285-290.
- Jayaprakasha GK, Tamil S, Sakariah KK(2003) Antibacterial and antioxidant activity of grape seed(*Vitis vinifera*)extracts. *Food research international* 36, 117-122.
- Joo SY, Choi MH, Chung HJ(2004) Studies on the Quality Characteristics of Functional Muffin Prepared with Different Levels of Grape Seed Extract. *Korean J Food Culture* 19(3), 267-272.
- Jorge M, Ricardo DS, Jacques R, Vernomique C, Annie C,m Michel M(1991) Procyandin dimers and trimers from grape seeds. *Phytochemistry* 30, 1259-1264.
- Ju JC, Shin JH, Lee SJ, Cho HS, Sung NT(2006) Antioxidative Acitivity of Hot water Extracts from Medicinal plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25, 7-14.
- Jung SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS, Lee SE, Baek NI(2004) Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47, 135-140.
- Kai SH, Mao L, Lin NY, Man K.(2000) Four novel oligostilbenes from the root of *Vitis amurensis*. *Tetrahedron* 56, 1321-1329.
- Kai SH, Mao L, Gui FC(2001) Anti-inflammatory tetramer of reveratrol from the roots of *Vitis amurensis* and the conformations of the seven-membered ring in some oligostilbenes. *Phytochem* 56, 357-362.
- Kim HK, Na KM, Ye SH, Han HS(2004) Extraction characteristics and antioxidative activity of *Lycium chinense* extracts. *Korean J Food Preservation* 11, 352-357.
- Lee E, Choi MY, Oh HS(2000) Effects of Powered Siho(*Bupleuri Radix*) on Serum and Liver Lipid Composition and Antioxidative Capacity in Rat Fed High Oxidized Fat. *The Korean Journal of Nutrition* 33, 502-506.
- Lee EO, Kwon BM, Song GY, Chae CH, Kim HS(2004) Heayneanol A induces apoptosis via cytochrome c release and caspase activation in human leukemic U937 cells. *Life Science* 74, 2313-2326.
- Lee SE, Seong NS, Bang JK, Park CG, Seong JS, Song J(2003) Antioxidative activity of Korean medicinal plant. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11, 127-134.
- Lee WY, Chang KS, Choi YH(2000) Extraction of phenolic compounds from grape seed using supercritical CO₂ and ethanol as co-solvent. *Kor. J postharvest sci.technol.* 7, 177-183.
- Lee YS(2007) Physiological Activities of Ethanol Extract from Different Parts of *Ailanthus altissima*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36, 389-394.
- Nam JH, Joo KJ(2004) Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Some Selected Fruit Juices and Fermented Grape Juices. *J East Asian Soc Dietary Life* 14(5), 501-507.
- Nam SH, Kang MY(2000) Screening of antioxidative activity of hot-water extracts from medicinal plants. *J Korean Soc Agric Chem Biotchnol* 43, 141-147.
- Ricardo da Silva JM, Darmon N, Fernandez Y, Mitjavila S.(1991) Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of deferent procyanidins from grape seed. *J Agric Food Chem* 39, 1549-1552
- Shin SR, Hong JY, Nam YS, Yoon KY, Kim KS(2006) Anti-oxidative Effects of Extracts of Korean Herbal Materials. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35, 187-191.
- Song JC, Park NK, Hur HS, Bang MH, Beak NI(2000) Examination and isolation of natural antioxidants from Korean medical plants. *Korean J Medical Crop Sci* 8, 94-101.
- Yoo MA, Chung HK, Kang MH(2004) Evaluation of physicochemical properties in different cultivar grape seed waste. *Food Sci Biotechnol* 13, 26-29.