

*Saccharomyces cerevisiae*와 *Kluyveromyces fragilis* 및 *Lactobacillus plantarum*의 혼합발효로 제조한 배 유과 발효제품의 생리기능성

장인택¹ · 김영현¹ · 나광출² · 이종수^{1*}

¹배재대학교 바이오 · 의생명공학과, ²조선이공대학교 식품영양조리과학과

Physiological Functionality of Fermented Pear Fruitlet Product Made by Mixed Fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces fragilis* and *Lactobacillus plantarum*

In-Taek Jang¹, Young-Hun Kim¹, Kwang-Chul Na² and Jong-Soo Lee^{1*}

¹Department of Biomedicinal Science and Biotechnology, Paichai University, Daejeon, 302-735, Korea

²Department of Food Nutrient and Culinary, Chosun University College of Science & Technology, Gwangju 501-744, Korea

ABSTRACT : To develop the functional pear fruitlet product, we prepared fermented pear fruitlet product (FPFP) from mixed fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces fragilis* and *Lactobacillus plantarum*. Then, we investigated their several physiological functionalities. Among several physiological functionalities, antihypertensive angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of the FPFP was the highest of 87.4% and its antioxidant activity was also showed 69.6%. FPFP from mixed fermentation by yeasts and *Lactobacillus plantarum* after thawing of frozen pear at 20°C showed higher physiological functionalities than those of single fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* or *Bacillus subtilis* after 40°C of thawing.

KEYWORDS : Fermented pear fruitlet, Functionality, *Kluyveromyces fragilis*, *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*

서 론

배에는 약 10-15%의 당질을 함유하고 있고 무기질 함량도 180-200 mg/kg으로 비교적 높으며 특히 마그네슘과 칼

륨 등 알카리성 무기질이 전체 무기질 함량 중 75% 정도로 함유되어 있는 매우 중요한 과실중의 하나이다. 또한 배에는 항암이나 항산화성이 탁월한 퀘르세틴과 기관지염, 가래, 기침을 다스리는 효과가 있는 루테놀린 등을 함유하고 있으며, 배에 함유된 폴리페놀 화합물들은 항암작용이 우수한 것으로 보고되었다(Amerine and Roessler, 1975; Jo et al., 2010).

배는 주로 생식으로 이용하고 있을 뿐 국내의 배 가공품 개발은 매우 빈약하여 주로 낙과 등을 이용하여 고온에서 가열 착즙 처리한 배 즙이 주로 생산되고 있으며 이들역시 생산량도 적고 침전과 열처리로 인해 기호성이 떨어지는 단점이 있다. 또한 배 농축과즙을 고추장, 식혜 제조 시에 소량 첨가하거나 육고기 가공 시 양념으로 사용되기도 하나, 그 사용량이 매우 적다. 또한 배 재배시 발생되는 낙과나 유과, 배 착즙 후 발생하는 배 추출박 등의 효율적인 이용에 관해서는 최근 Jang 등(2011b)이 배 추출박을 이용한 유용 효모 biomass 생산 등이 발표 되었을 뿐 매우 미진

Kor. J. Mycol. 2013 March **41**(1): 33-37
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2013.41.1.33>

eISSN 0253-651X
 © The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
 E-mail : biotech8@pcu.ac.kr

Received March 1, 2013
 Revised March 16, 2013
 Accepted March 22, 2013

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

한 설정이다.

최근 건강기능성 식품의 소비가 급격히 증가하고 있고 따라서 배를 이용한 새로운 건강기능성 식품을 개발할 목적으로 필자 등은 배를 이용한 기능성 음료 최적 제조 조건을 검토하여 이들을 산업화 시켰고(Jang *et al.*, 2010), 배를 이용한 천연 소스류 개발의 일환으로 배 쥬스 슬러리를 이용하여 기능성 배 페이스트를 개발하였다(Kim *et al.*, 2012).

본 연구에서는 배 유과를 이용하여 생리기능성이 우수한 배 가공제품을 개발하고자 배 유과를 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Kluyveromyces fragilis* 및 *Lactobacillus plantarum* 등으로 혼합 발효 시킨 후 이들의 생리기능성을 조사하였다.

재료 및 방법

배 유과 발효제품 제조

만개후 20일-50일령된 배 유과 1,000 g을 세척 하여 냉동시킨 유과를 상온에서 해동시킨 후 121°C에서 30분 멸균한 다음 분쇄기를 이용하여 3 mm 정도로 분쇄하고 발아 현미분말(현미를 40°C에서 5시간 침지한 후 건조시켜 제조)을 3% 첨가한 다음 *S. cerevisiae* KCTC 7904와 *K. fragilis* KCTC 7260의 활성액을 각각 1.5%, *L. plantarum* KCCM 11542의 MRS 액체배양액 0.3% 첨가하여 30°C에서 20시간 혼합발효시켰다. 이 발효물을 열풍건조기를 이용하여 50°C에서 24시간 건조시킨 다음 분쇄기로 80-100 mesh로 분쇄하여 진갈색 분말의 배 유과 발효제품을 제조하였다.

생리기능성 측정

항고혈압성 안지오텐신 전환효소(ACE) 저해활성과 혈전 용해활성을 다음과 같이 측정하였다. 100 mM sodium borate buffer(pH 8.3)에 300 mM NaCl과 ACE 3 unit을 배유과 제품의 추출물을 혼합하여 37°C에서 10분간 preincubation시켰다. 5 mM Hip-His-Leu 50 μL를 첨가하여 30분 반응 후 1.0 N HCl로 반응을 정지 시켰다. 다시, 생성된 hippuric acid는 ethyl acetate 1 mL로 추출 하였고 추출물 0.8 mL을 Speed Vac Concentrator (EYELA, Tokyo, Japan)로 건조한 후 잔여물을 sodium borate buffer 1 mL로 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정하여 생성된 hippuric acid 양을 정량하여 저해율을 계산하였다(Kang *et al.*, 2012).

혈전용해활성은 10 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0)로 제조한 0.5%(w/v) human plasminogen-free fibrinogen 용액 10 mL을 petri dish(100 × 15 mm)에 넣고 bovine thrombin(20 unit)을 섞어 상온에서 30분 동안 배양하였다. 다시 5 mm paper disc를 위에서 제조한 fibrin plate에 올려놓고 시료 10 μL를 점적하여 37°C에서 12시간 배양한

후 형성되는 투명화의 크기를 측정하여 혈전용해활성으로 하였다(Jang *et al.*, 2011a).

Xanthine oxidase 저해활성 측정은 먼저 Xanthine oxidase (0.2 U/mL) 100 μL를 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5)와 배유과 추출시료(10 mg/mL) 100 μL, 1 mM xanthine 200 μL 혼합액에 첨가한 후 37°C에서 5분간 반응시키고 1 N HCl 200 μL를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 다시 12,000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 단백질을 제거시키고 292 nm에서 흡광도를 측정하여 uric acid 양을 정량한 후 저해활성을 계산하였다(Jang *et al.*, 2012b).

항산화 활성을 DPPH에 대한 환원력(전자공여능)을 이용하는 방법으로 먼저 시료 0.2 mL에 DPPH 용액(DPPH 12.5 mg을 EtOH 100 mL에 용해) 0.8 mL를 가한 후 10분간 반응시키고 525 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 무첨가 대조구의 값과 비교하여 활성을 계산하였다. SOD-유사 활성을 시료 20 mL에 55 mM Tris-cacodylic acid 완충용액(TCB, pH 8.2)를 가하여 균질화하고 원심분리하여 얻은 상등액을 pH 8.2로 조정한 후 TCB를 사용하여 50 mL로 조정하여 시료액으로 사용하였다. 시료액 950 μL에 50 μL 24 mM pyrogallol을 첨가하여 420 nm에서 초기 2분간의 흡광도 증가율을 측정하여 시료액 무첨가 대조구와 비교하여 활성을 계산하였다(Jang *et al.*, 2012b).

Tyrosinase 저해활성은 시료 500 μL에 5 mM L-DOPA 0.2 mL, 0.1 M sodium phosphate 완충용액(pH 6.0)를 혼합한 후 tyrosinase 11 U을 첨가하여 35°C에서 2분간 반응시킨 다음 475 nm에서 흡광도를 측정하여 시료액 무첨가 대조구의 값과 비교하여 활성을 계산하였다(Jang *et al.*, 2012a).

α -Glucosidase에 대한 저해활성측정은 Watanabe 등(1997)의 실험 방법을 이용하였다. 100 mM phosphate buffer(pH 7.0)로 α -Glucosidase(0.7 U, Sigma)와 p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside(5 mM)를 용해시켜 각각 효소와 기질 용액을 만든 다음 효소 용액 50 μL, 시료용액 10 μL 및 완충용액 890 μL를 넣고 섞은 다음 5분동안 실온에서 preincubation하고, 기질용액 50 μL를 가하고 다시 5분 동안 incubation시킨 후 405 nm에서 흡광도 변화를 측정하여 α -Glucosidase 활성 저해율을 계산하였다(Jang *et al.*, 2012b).

배유과 제품의 물성 측정

수분흡수지수 및 수분용해지수는 Anderson의 방법(Anderson, 1982)으로 배 유과 시료 1 g에 40 mL 증류수를 넣어 한 시간 방치 후 10분간 2,090 g에서 원심분리 하였다. 상등액을 105°C에서 건조하여 고형분량을 측정하여 수분용해지수로 산출하였고, 침전물의 무게를 측정하여 수분 흡수지수를 산출하였다. 또한 혼탁안정도는 배 유과 시료를 증류수 일정량에 혼탁시킨 후 일정시간 간격으로 침침된 정도를 확인 하여 측정하였다.

결과 및 고찰

배 유과 발효 시제품의 생리기능성

*S. cerevisiae*와 *K. fragilis* 그리고 *L. plantarum*균을 배 유과에 접종한 후 혼합발효시켜 제조한 배 유과 발효 시제품의 생리기능성을 조사한 결과는 Table 1과 같다.

대조구인 배 유과 물 추출물의 생리기능성은 항산화 활성만이 27.0%이었을 뿐 대부분 없거나 10%미만을 보인 반면에 혼합 발효로 제조한 배 유과 발효 시제품은 혈전용해활성 외에 모두 대조구 보다 활성이 크게 증가하였고 특히 항고혈압성 안지오텐신 전환효소(ACE) 저해활성은 약 70% 이상이 증가한 87.4%를 보여 가장 높은 생리기능성을 보였다. 이는 Min 등(2012)이 발효 유과의 단백질 함량이 건조유과 보다 낮은 4.9 g/100 g이었다는 보고와 많은 ACE 저해 물질이 단백질 가수분해 물질인 웨타이드로 보고(Jang *et al.*, 2011)된 점 등으로 미루어 볼때 배 유과중의 단백질이 발효중 가수 분해되어 ACE 저해물질을 생성하였기 때문인 것으로 추정된다.

또한, 항산화 활성도 69.6%로 높았고 대조구인 배 유과 물추출물에서 없었던 항통풍성 잔틴산화효소(XOD)저해 활성, SOD 유사활성, 항비만성 α -glucosidase 저해활성

등은 혼합발효를 통하여 발효 시제품에서 새롭게 생성되었다. 따라서 건강식품제조시 효모와 젖산균의 혼합 발효 과정이 고부가가치의 생리기능성 생성에 매우 귀중한 공정으로 사료된다.

한편, 이들 배 유과 발효제품의 생리기능성 들은 단순히 배 주스 슬러리를 이용하여 제조한 배 페이스트들의 생리기능성들보다 훨씬 더 높았고(Kim *et al.*, 2012), 특히 Jang 등(2012b)이 전통 발효식품에서 분리한 효모들을 이용하여 제조한 막걸리들의 α -glucosidase 저해활성들(24.0~42.0%)과 항산화 활성들(10% 미만), SOD 유사활성등 보다도 높은 활성이었다.

발효 전처리 방법의 영향

발효 전처리가 배 유과 발효 시제품의 생리기능성에 미치는 영향을 조사한 결과 Table 2와 같이 α -glucosidase 저해활성만이 40°C로 냉동유과를 해동시킨 후 혼합발효 시켰을경우 88.2%를 보여 20°C에서 해동시켜 제조한 대조구 보다 약 40% 증가하였지만 대체로 20°C 해동 후 혼합발효시키는 것이 항고혈압성 등의 생리기능성 측면에서 더 좋았다. 또한, 20°C와 40°C 해동 후 분쇄와 열처리 순서를 달리하거나 효모 또는 젖산균으로 단독발효 시킬 경우 항고

Table 1. Physiological functionalities of the fermented pear fruitlet products

Pear fruitlet products	ACE inhibitory activity(%) ¹⁾	XOD inhibitory activity(%)	SOD-like activity(%)	Antioxidant activity(%)	α -Glucosidase inhibitory activity(%)	Tyrosinase inhibitory activity(%)	Fibrinolytic activity (mm)
FP ³⁾	87.4(±0.8)	36.6(±0.2)	25.7(±0.9)	69.6(±0.1)	49.1(±1.0)	32.2(±0.2)	n.d ²⁾
Pear fruitlet (control)	13.7(±0.5)	n.d	n.d	27.0(±0.3)	n.d	10.1(±0.9)	n.d

¹⁾ACE: angiotensin I-converting enzyme, XOD: xanthine oxidase.

²⁾n.d: not detected.

³⁾FP: fermented pear fruitlet product from fermentation by *S. cerevisiae*, *K. fragilis* and *L. plantarum* of frozen pear fruitlet.

Table 2. Effect of pretreatment on the physiological functionalities of the fermented pear fruitlet products

Pear fruitlet products	ACE inhibitory activity(%) ¹⁾	XOD inhibitory activity(%)	SOD-like activity(%)	Antioxidant activity(%)	α -Glucosidase inhibitory activity(%)	Tyrosinase inhibitory activity(%)	Fibrinolytic activity (mm)
FP ³⁾	87.4(±0.8)	36.6(±0.2)	25.7(±0.9)	69.6(±0.1)	49.1(±1.0)	32.2(±0.2)	n.d ³⁾
S1	67.9(±0.5)	26.0(±0.8)	15.4(±0.5)	55.9(±0.7)	88.2(±0.4)	34.9(±0.3)	n.d
S2	49.4(±0.8)	28.7(±0.4)	13.2(±0.4)	55.1(±0.8)	51.1(±0.5)	36.8(±0.3)	n.d
S3	56.5(±0.4)	34.9(±0.1)	19.5(±0.4)	56.6(±0.4)	30.5(±0.4)	25.1(±0.2)	n.d

¹⁾ACE: angiotensin I-converting enzyme, XOD: xanthine oxidase.

²⁾FP: frozen pear fruitlet → 20°C thawing → heating(121°C, 30 min) → chopping → fermentation(*S. cerevisiae*, *K. fragilis*, *L. plantarum*) → drying(50°C, 18 h) → powdering.

S1: frozen pear fruitlet → 40°C thawing → heating(121°C, 30 min) → chopping → fermentation(*S. cerevisiae* only) → drying(50°C, 18 h) → powdering.

S2: frozen pear fruitlet → 20°C thawing → chopping → heating(121°C, 30 min) → fermentation(*S. cerevisiae* only) → drying(50°C, 18 h) → powdering.

S3: frozen pear fruitlet → 40°C thawing → chopping → heating(121°C, 30 min) → fermentation(*L. plantarum* only) → drying(50°C, 18 h) → powdering.

³⁾n.d: not detected.

Table 3. Comparison of physiological functionalites between mixed fermentation pear fruitlet product and single fermentation pear fruitlet products

Pear fruitlet products	ACE inhibitory activity(%) ¹⁾	XOD inhibitory activity(%)	SOD-like activity(%)	Antioxidant activity(%)	α -Glucosidase inhibitory activity(%)	Tyrosinase inhibitory activity(%)	Fibrinolytic activity (mm)
FP ²⁾	87.4(± 0.8)	36.6(± 0.2)	25.7(± 0.9)	69.6(± 0.1)	49.1(± 1.0)	32.2(± 0.2)	n.d ³⁾
FY	67.9(± 0.5)	26.0(± 0.8)	15.4(± 0.5)	55.9(± 0.7)	88.2(± 0.4)	34.9(± 0.5)	n.d
FB	85.9(± 0.3)	52.3(± 0.5)	29.8(± 1.0)	70.1(± 0.3)	95.7(± 0.9)	25.7(± 0.7)	9
Pear fruitlet (control)	13.7(± 0.5)	n.d	n.d	27.0(± 0.3)	n.d	10.1(± 0.9)	n.d

¹⁾ ACE: angiotensin I-converting enzyme, XOD: xanthine oxidase.²⁾ FP: fermentation by *S. cerevisiae*, *K. fragilis* and *L. plantarum*, FY: fermentation by only *S. cerevisiae*, FB: fermentation by only *Bacillus subtilis*.³⁾ n.d: not detected.

혈압성 ACE 저해활성 등 여타의 생리기능성들은 감소하였다.

효모와 세균의 단독 발효의 영향

*S. cerevisiae*와 *K. fragilis* 그리고 *L. plantarum*을 배 유과에 접종한 후 혼합발효시켜 제조한 배 유과 발효 시제품의 생리기능성을 *S. cerevisiae*와 *Bacillus subtilis*로 각각 단독 발효시킨 배 유과 발효 시제품들의 생리기능성들과 비교한 결과는 Table 3과 같다. 효모와 젖산균으로 혼합발효시켜 제조한 배 유과 발효 시제품보다 *S. cerevisiae* 단독으로 발효시킨 제품이 α -glucosidase 저해활성은 약 40% 높은 88.2%를 보였고 tyrosinase 저해활성은 비슷하였으며 여타의 생리기능성들은 낮았다. 또한 *B. subtilis*로 단독 발효시킨 제품은 항산화 활성은 비슷하였으나 항고혈압성 ACE 저해활성과 미백성 tyrosinase 저해활성은 낮았다. 그러나, 항비만성 α -glucosidase 저해활성은 약 46% 증가된 95.7%로 가장 높은 활성을 보였고 항통풍성 XOD 저해활성은 약 16%, SOD 유사활성은 약 4% 높았고 특히 혈전용해활성도 새로 생성되었다. 이상의 결과들을 종합하였을 때 항고혈압성 ACE 저해활성과 미백성 tyrosinase 저해활성, 항산화 활성 등이 우수한 배 유과 발효제품 제조를 위해서는 *S. cerevisiae*와 *K. fragilis*, *L. plantarum*으로 혼합발효를 시켜야 하고 항비만성 α -glucosidase 저해활성과 혈전용해활성이 우수한 배 유과 발효제품 제조를 위해서는 *B. subtilis*만을 단독으로 발효시켜야 할것으로 사료된다.

배 유과 발효시제품의 물성

배 유과 발효 시제품에 대한 혼탁액 안정도와 수분흡착지수(WAI) 및 수분용해지수(WSI)를 측정한 결과 Table 4와 같이 배 유과 발효 시제품을 5시간 정치 했을때 약 3%의 침전물 생성량을 보여 높은 혼탁액 안정도를 보였다. 또한 수분흡수지수와 수분용해지수도 각각 3.38과 18.88을 보여 대조구인 세균 단독 발효 시제품보다 수분흡수지

Table 4. Rheological characteristics of the fermented pear fruitlet products

Pear fruitlet products	Suspension stability(% suspension) ¹⁾						WAI ²⁾	WSI
	0	1h	2h	3h	4h	5h		
FP ³⁾	100	65	40	20	8	3	0	3.38 18.88
FB	100	67	44	25	14	5	0	4.04 11.86

¹⁾ Suspension stability: after suspension of fermented pear fruitlet powder at each time, determined its precipitates.²⁾ Water absorption index(WAI) and water solubility index(WSI) means water capacity and solubility of pear fruitlet product, respectively.³⁾ FP and FB means mixed fermentation pear fruitlet product and *B. subtilis*, single fermentation pear fruitlet product, respectively.

수는 약간 낮았으나 수분흡수지수 즉 용해도는 월등히 높았다.

적 요

배 유과를 이용하여 새로운 고부가가치의 생리기능성 배 유과 시제품을 개발하고자 냉동배 유과를 해동하여 건조시킨 후 *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces fragilis* 및 *Lactobacillus plantarum*으로 혼합발효시켜 배 유과 발효 시제품을 제조한 다음 이들의 주요 생리기능성을 조사하였다. 배 유과 발효 시제품은 87.4%의 높은 항고혈압성 안지오텐신 전환효소 저해활성을 보였고 항산화 활성도 69.6%로 높았다. 또한, 냉동 배 유과를 20°C에서 해동시키고 효모와 젖산균으로 혼합발효 시켜 제조한 배 유과 발효 시제품이 40°C 해동 후 *S. cerevisiae*나 *Bacillus subtilis*로 단독발효 시킨 시제품보다 항고혈압활성과 항산화활성 등이 더 높았다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업(2008년도

배 수출 연구 사업단) 지원을 받아 수행된 연구결과의 일부임.

참고문헌

- Anderson, R. A. 1982. Water absorption and solubility and amylograph characteristics of roll-cooked small grain products. *Cereal Chem.* 59: 265-271.
- Amerine, M. A. and Roessler, E. B. 1975. *Wines, their sensory evaluation*, pp. 121. W. H. Freeman, Co, San Francisco.
- Jang, I. T., Kim, Y. H., Kang, M. G., Yi, S. H., Lim, S. I. and Lee, J. S. 2012a. Production of tyrosinase inhibitor from *Saccharomyces cerevisiae*. *Kor. J. Mycol.* 40:60-64.
- Jang, I. T., Kang, M. G., Yi, S. H., Lim, S. I., Kim, H. R., Ahn, B. H. and Lee, J. S. 2012b. Physiological functionality of *Nuruk, Makgeolli* and *Cheonggukjang* made with fungi and bacteria isolated from Korean traditional fermented foods. *Kor. J. Mycol.* 40:164-173.
- Jang, I. T., Kim, Y. H., Yi, S. H., Lim, S. I. and Lee, J. S. 2011a. Screening of a new fibrinolytic substances-producing yeast. *Kor. J. Mycol.* 39:227-228.
- Jang, I. T., Kang, M. G., Na, G. C. and Lee, J. S. 2011b. Growth profile of some yeasts in pear marc extracts. *Kor. J. Mycol.* 39:229-230.
- Jang, J. H., Jeong, S. C., Kim J. H., Lee Y. H., Ju, Y. C. and Lee, J. S. 2011. Characterisation of a new antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from *Pleurotus cornucopiae*. *J. Agric. Food Chem.* 127:412-418.
- Jang, J. H., Na, K. C., Kim, W. S. and Lee, J. S. 2010. Manufacture and characteristics of functional drink using pear-strawberry fermentative concentrates from fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* C-2. *Kor. J. Mycol.* 38:189-191.
- Jo, J. A., Kim, W. S. and Choi, H. S. 2010. Fruit quality, total phenol content, and antioxidant activity of fruit obtained from a sustainably managed vs conventionally managed asian pear (*Pyrus pyrifolia Nakai*) Orchard. *Kor. J. Preserv.* 17:169-173.
- Kang, M. G., Kim, J. H., Ahn, B. H. and Lee, J. S. 2012. Characterization of new antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from Korean traditional rice wine. *J. Microbiol. Biotechnol.* 22:339-342.
- Kim, Y. H., Jang, I. T., Na, K. C. and Lee, J. S. 2012. Quality characteristics and physiological functionality of pear paste made by pear juice slurry. *J. Natural. Sci. Paichai Univ.* 38:189-191.
- Min, J. H., Hyun, S. H., Na, K. C., Lee, J. S. and Kim, H. K. 2012. Quality characteristics of pear fruitlet products and changes of microbes during storage. *J. Natural. Sci. Paichai Univ.* 23:47-53.
- Watanabe, J., Kawabata, J., Kurihara, H. and Niki, R. 1997. Isolation and identification of L-glucosidase inhibitors from tochu-cha (*Eucommia ulmoides*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 61:177-178.