포도종자 추출물의 항산화 효과에 관한 연구

이영춘 · 황한주* · 오상석**

중앙대학교 식품공학과, *동원산업(주)식품연구소, **이화여자대학교 식품영양학과

Antioxidative Properties of Grape Seeds Extract

Young-chun Lee, Han-Joo Hwang* and Sang-suk Oh**

Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University
*Food Research and Development Center, Dong-Won Industries Co., Ltd
**Department of Food and Nutrition, Euha Womans University

Abstract

Attempts were made to prepare grape seeds extract for the utilization of grape seeds, a by-product of grape processing plants, and to evaluate antioxidative effect of it. The extraction of grape seeds with 75% ethanol resulted in 4.4% of extraction yield, and the yields of serial solvent fractions of grape seeds extract increased as the degree of polarization of solvents increased. The ethanol extract was effective antioxidant to the heat-oxidation of soybean oil, but not to that of lard. The serial solvent fractions did not show antioxidative activities to soybean oil, but isopropyl ether, ethyl acetate and acetone fractions revealed antioxidative activities to lard. The ethyl acetate fraction showed highest antioxidative activities among them. The contents of total phenolic compounds and electron donating ability of serial solvent fractions increased, as the degree of polarization of solvent increased. There was a high correlation between the contents of total phenolic compounds (r=0.98) and the electron donating ability of the serial solvent fractions of grape seeds.

Key words: grape seeds extract, antioxidative activities, natural antioxidants

서 론

식품의 가공 및 저장 중에 일어나는 지방질의 산화는 식품의 영양가의 저하, 이취발생 등의 품질저하 요인으로 작용할 뿐만 아니라 산화에 의해 생성되는 각종 산화생성물은 생체내에서 DNA를 손상시키거나 암을 유발하기도 하며, 인체의 노화와도관계가 있는 것으로 알려져 있다(Kim, 1988). 식품에 사용되고 있는 합성항산화제들 중 BHA, BHT같은 화학적 합성품들은 가격이 저렴하고 우수한항산화력을 나타내나 과잉섭취시 여러 질병의 원인이 될 수 있다는 보고가 있어 허용대상식품이나 사용량이 엄격히 규제되고 있으므로 보다 안전한 천연항산화제에 대한 연구가 절실히 요구되고 있는

Corresponding author: Young-chun Lee, Professor, Dept. food Sci. & Tech. Chung-Ang Univ. Naeri san 40-1, Daeduk-myun, Ansung, Kyungki-do 456-756

실정이다(Cho, 1982; Beanen, 1975; Kinta, 1980). Nakatani (1990)의 보고에 의하면 천연 항산화제에 대한 연구는 식물성유지에 흔히 함유되어 있는 tocopherol을 비롯한 식물종자, 향신료, 식물체나 생약추출물을 대상으로 활발히 진행되어져 왔으며, 우리나라에서는 칡뿌리, 쑥, 붉나무, 탈지 들깨박, 탈지미강 등에서 항산화 효과를 갖는 물질이 있음이보고되어 있다(Oh 등, 1990; Lee, 1992; Rhee, 1981).

한편 유지의 산화는 비교적 낮은 온도에서 일어나는 자동산화와 튀김과 같은 고온에서 일어나는 가열산화로 구분될 수 있는데, 서로 산화 메카니즘 이 상이하다. BHA, BHT와 같은 합성 항산화제는 상온에서는 항산화효과를 나타내나 휘발성이 강하여 튀김과 같은 고온가열 처리조건에서는 가열산화를 효과적으로 억제하지 못한다. 따라서 고온가열조건에서 효과적인 항산화 기능을 갖는 천연 항산

화제의 개발이 중요한 연구과제로 대두되고 있으나 기존의 천연 항산화제 연구는 자동산화에 대한 항 산화 연구에 편중되어 있어 가열산화에 효과를 갖 는 천연 항산화제에 대한 연구는 미미한 실정이다. 포도는 음료 및 주류가공 등에서 많이 이용되는 과 실이며, 그 중 가공 후 폐기되는 포도씨에 대한 연 구가 많이 진행되고 있다. 포도종자는 전체 포도중 량의 3-5%를 차지하며, 카테킨 성분이 많이 함유되 어 있고 수렴, 해독, 살균 및 방부작용 등 여러 가 지 생리작용이 있는 것으로 알려져 있으며, 성인병 및 암예방에 관계하는 항산화, 항돌연변이, 혈중콜 레스테롤 저하 등의 생리활성효과가 있어 이에 대 한 관심이 고조되고 있다(Watanabe, 1977; Hwang, 1999). 이에 본 연구에서는 포도종자의 효율적 이용 을 위하여 포도종자추출물에 대한 항산화 특성을 oven test에 의해 파악하고, 자동산화 및 가열산화에 대한 항산화 효과를 검증하므로서 새로운 천연 항 산화제로서의 이용가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 포도종자는 1999년 7월에 충청 북도 영동에서 수확된 Campbell early 품종의 포도종자로 수세한 다음 상온의 그늘에서 24시간 동안건조한 후 시료로 사용하였다. 항산화효과 실험에 사용한 기질로는 항산화제가 첨가되지 않은 정제 대두유(soybean oil)와 돈지(lard)를 (주)삼립유지로부터 구입하여 사용하였다.

실험에 사용한 지방산의 methyl ester, δ-tocopherol, β-carotene, butylated hydroxytoluene (BHT), propyl gallate (PG) 등의 항산화제, DPPH (α,α-diphenyl-β-picryl hydrazyl), tannic acid 표준품 등은 Sigma (St.Louis, MO, USA) 제품을 각각 구입하여 사용하였다. 그 외 사용한 모든 시약은 HPLC용 또는 특급시약을 사용하였다.

포도종자 추출물의 제조 및 가용성 고형분의 함량 측정 포도종자 추출물의 제조 및 가용성 고형분의 함 량 측정은 Fig. 1과 같이 실시하였다. 즉, 포도종자 를 10 mesh 이하로 조분쇄한 후, 포도종자 중량의 5배에 해당하는 75% EtOH을 가하여 50°C 수욕상에서 교반하면서 5시간 추출하였다. 추출액을 여과지(Whatman No. 1)로 여과한 후, 여과액을 rotary

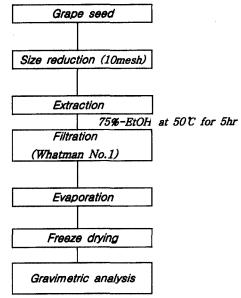


Fig. 1. Flow chart for extraction of grape seeds with 75%-EtOH.

vacuum evaporator로 농축하여 포도종자 추출물을 얻었다. 이때 가용성 고형분의 함량을 중량분석법 으로 측정하였다.

분희물 조제

포도종자 추출물을 비극성 용매로부터 극성이 높은 용매까지 5단계로 구분하여 순차적 추출방식으로 각 분획물을 조제하였다. 즉, n-hexane, isopropyl ether, ethyl acetate, acetone, methanol을 이용하여 Fig. 2와 같이 추출하였다. 추출액을 여과지(Whatman No. 1)로 여과한 후, 여과액을 rotary vacuum evaporator로 농축하여 각 용매별 분획물을 얻었다. 이때 각 용매의 가용성 고형분의 함량을 중량분석법으로 측정하였다.

항산화하과 측정

포도종자 추출물 및 각 용매별 분획물의 항산화 효과 측정은 oven test에 의하여 비교측정하였으며, 자동산화 및 가열산화에서의 항산화효과 비교를 위하여 oven test는 60°C와 180°C로 구분하여 실험하였다. 자동산화에 대한 항산화효과을 알아보기 위해 대두유와 돈지 각각 30 g과 포도종자 추출물, 분획물 일정량을 50 mL 비이커에 취한 다음 차광된 60°C (±2°C)의 전기항온기에서 18일간 저장하면서

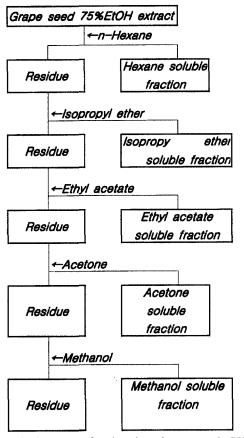


Fig. 2. Serial solvent fractionation of grape seeds 75%-EtOH extract with various solvents.

3일마다 시료를 취하여 저장증의 기질유지에 대한 산화안정성을 시험하였다. 산화안정성은 peroxide value (POV) 및 p-anisidine value의 변화로 측정하였다(AOAC, 1985). 또한 가열산화에 대한 안정성을 알아보기 위해 대두유와 돈지 각 30g과 포도중자추출물, 분획물 일정량을 50 mL 비이커에 취한 다음 차광된 180°C(±2°C)의 전기항온기에서 20시간 저장하면서 4시간마다 시료를 취하여 p-anisidine value의 변화를 통해 저장중의 기질유지에 대한 가열 산화안정성을 시험하였다. 포도종자 추출물 및 분획물의 항산화력 비교를 위하여 비교구로 δ-tocopherol, β-carotene, BHT, PG 등의 항산화제를 사용하였다.

분획물의 전자공여 작용 측정

포도종자 추출물의 분획별 전자공여 작용은 DPPH (α,α-diphenyl-β-picryl hydrazyl)에 대한 전자공여 효과로 환원력을 측정하였다(Okubo, 1995). 즉, 분획

별 추출물 0.3 g에 DMSO (dimethyl sulfoxide)를 가하여 25 mL로 정용한 후 이 중 1 mL를 취하고 여기에 DPPH를 무수에탄을에 용해시켜 만든 4.0×10⁻⁴M DPPH용액 2 mL를 가하여 30초간 vortex mixer로 혼합한 후, 상온에서 30분간 방치하면서 반 응시키고 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 분획별 추출물의 전자공여 효과는 흡광도의 백분률인 EDA (electron donating ability)로 표시하였으며, 다음과 같이 계산하였다.

EDA (electron donating ability, %) =[1-(absorbance of sample/ absorbance of blank)]×100

분획물의 총 페놀함량 측정

포도종자 추출물의 분획별 총 페놀함량 측정은 A.O.A.C (1980)의 Folin-Denis법을 이용하였다. 즉, 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 발색시키는 현상을 이용하였으며, 100 mL mess flask에 75 mL의 증류수와 분획별 추출물 1 g을 넣고 잘 혼합한 후, Folin-Denis 시약 5 mL와 탄산나트륨 포화용액 10 mL을 차례로 넣은 다음, 증류수로 100 mL로 정용하였다. 이것을 잘 혼합하여 실온에서 30분간 방치하여 반응시키고 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 분석은 각 시료당 3회 반복하였고, 측정된 흡광도는 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 % tannic acid 당량으로 환산하였다.

결과 및 고찰

포도종자 추출물의 수율 및 순차용매 분획물의 수율

75%-EtOH로 추출한 포도종자 추출물의 수율은 8회 반복실험한 결과 고형분 함량을 기준으로 4.3%~4.7%로 나타났으며, 평균 4.4%로 측정되었고, 75%-EtOH 추출물을 용매의 극성도에 따라 분획 추출한 결과는 n-hexane. isopropyl ether와 같이 비극성 용매로 추출된 분획물의 양은 1~1.5%로서 극히 적었으며, 극성도가 4.3인 ethyl acetate로 분획한 양도 1.5%에 불과 하였다. 그러나 극성도가 높은 methanol 획분의 양은 43%로 추출용매의 극성도가 높아질수록 분획되는 양이 증가하였다. 또한, 마지막 용매인 methanol에서도 분획되지 않고 남은

Table 1. The extraction yield of grape seeds with 75%-EtOH and that of serial sovent extracted from 75%-EtOH extract¹⁾

| Raw materials | Solvent | Yield (%,w/w) |
|-----------------------------|-----------------|---------------|
| Grape seed | 75%-EtOH | 4.44 |
| 75%-EtOH grape seed extract | Hexane | 1.2 |
| | Isopropyl ether | 1.8 |
| | Ethyl acetate | 1.5 |
| | Acetone | 4.5 |
| | Methanol | 43.0 |

Each value is the average of triplicates

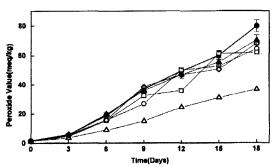


Fig. 3. Effects of grape seed extract and commercial antioxidants on the peroxide value of soybean oil stored at 60°C.

• control, ○ - ○ BHT, △ - △ PG, □ - □ δ-tocoperol,
 • ⇒ β-carotene, ▲ - ▲ grape extract

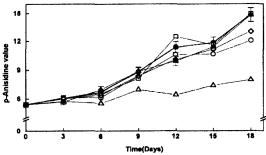


Fig. 4. Effects of grape seed extract and commercial anti-oxidants on the p-anisidine value of soybean oil stored at 60°C.

● - ● control, \bigcirc - \bigcirc BHT, \triangle - \triangle PG, \square - \square δ-tocoperol, \bigcirc - \bigcirc β-carotene, \blacktriangle - \spadesuit grape extract

잔사의 양은 48%이었다(Table 1).

포도종자 추출물의 항산화 효과

포도종자 추출물과 상업적으로 많이 이용되고 있는 항산화제인 BHT, PG, δ-tocopherol, β-carotene을

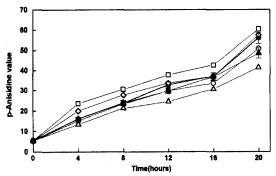


Fig. 5. The p-anisidine value of soybean oil stored at 180°C as affected by grape seeds extract and commercial antioxidants,

- - control, \bigcirc \bigcirc BHT(200 ppm), \triangle \triangle PG(200 ppm) \bigcirc \bigcirc δ-tocopherol(200 ppm)

각각 200 ppm 씩 대두유에 첨가한 후 60°C oven에서 18일동안 저장하면서 peroxide value와 p-anisidine value를 측정하였다(Fig. 3, 4). 대두유에 포도 종자 추출물을 첨가하였을 경우, 항산화제 무첨가구에 비해 산화안정성이 약간 상승되었지만 상업적으로 이용되고 있는 항산화제의 효과와 비교하여볼 때 그 효과는 극히 낮은 수준이었다.

가열산화에 대한 항산화 효과는 180°C에서 20시 간동안 저장하면서 p-anisidine value의 변화를 측정 한 결과 Fig. 5와 같이 항산화제 무첨가구는 물론 δ-tocopherol, β-carotene, BHT 첨가구보다 포도종자 추출물의 산화안정성이 향상되어 180°C의 고온에서 는 포도종자 추출물이 항산화 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한 δ-tocopherol, β-carotene 첨가구는 대 조구보다 가열산화가 더 진행되어 자동산화에 대한 항산화 효과는 있으나 가열산화에 있어서는 오히려 산화촉진 효과를 가지는 것으로 판단되었다. BHT 첨가구도 가열산화에 있어서는 항산화 효과를 나타 내지 않았는데 이는 BHT 및 BHA등은 상온에서는 효과적인 항산화능력을 가지나, 튀김과 같은 극한 고온가열 처리조건에서는 열 분해되거나 휘발되어 가열산화를 효과적으로 억제하지 못한다고 보고한 Peled 등 (1975)과 Jung 등 (1994)의 내용과 일치하 였다.

돈지에 대한 포도종자 추출물의 항산화 효과는 나타나지 않았다. 그리고 포도종자 추출물을 180℃ 에서 oven test한 결과 대조구에 비해 가열산화안정 성이 약간 상승되었지만 상업적으로 이용되고 있는

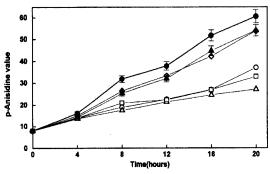


Fig. 6. Effects of grape seed extract and commercial antioxidants on the p-anisidine value of lard stored at 180°C.

● - ● control, \bigcirc - \bigcirc BHT, \triangle - \triangle PG, \square - \square δ-tocoperol, \bigcirc - \bigcirc β-carotene, \blacktriangle - \spadesuit grape extract

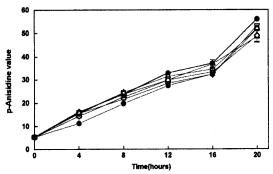


Fig. 7. Effect of various solvent fractions extracted from grape seed extract on the p-anisidine value of soybean oil at 180°C.

• - • control, △ - △ hexane, □ - □ isopropyl ether, ◇
- ◇ ethyl acetate, ▽ - ▽ acetone, ○ - ○ methanol, ▲-▲
75% ethanol

항산화제의 효과와 비교하여 볼 때 그 효과는 극히 낮은 수준이었다. 상업적으로 이용되고 있는 항산화제중에서는 PG가 가장 큰 항산화 효과를 나타내었다(Fig. 6).

순차 용매 분획물의 항산화 효과

포도종자 75% EtOH 추출물을 순차 용매 추출하여 얻은 분획물이 대두유의 가열 산화안정성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 n-hexane, isopropylether, ethyl acetate, acetone, methanol 분획물을 고형분 기준으로 각각 200 ppm 씩 대두유에 첨가한후 180°C oven에서 20시간동안 저장하면서 p-anisidine value의 변화를 측정한 결과 대조구에 비해 산화안정성이 약간 상승되었지만 상업적으로 이용되고 있는 항산화제의 효과와 비교하여 볼 때 그

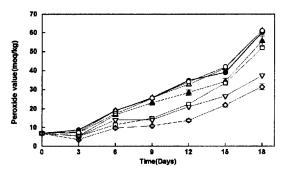


Fig. 8. The peroxide value of lard at 60°C as affected by various solvent fractions extracted from grape seeds.

• • control, △ - △ hexane(200 ppm), □ - □ isopropyl

ether(200 ppm), \diamondsuit - \diamondsuit ethyl acetate(200 ppm), \heartsuit - \heartsuit acetone(200 ppm), \bigcirc - \bigcirc methanol(200 ppm), \blacktriangle - \blacktriangle - \bigstar

Fig. 9. The p-anisidine value of lard at 60°C as affected by various solvent fractions extracted from grape seeds. • • control, \triangle - \triangle hexane(200ppm), \square - \square isopropyl ether(200 ppm), \bigcirc - \bigcirc ethyl acetate(200 ppm), ∇ - ∇ acetone(200 ppm), \square - \square methanol(200 ppm), \triangle - \triangle 75%ethanol(200 ppm)

효과는 극히 미미한 수준이었으며, 분획별 항산화 효과의 차이 또한 나타나지 않았다(Fig. 7). 그러나 동물성유지인 돈지를 기질로 하여 항산화효과를 측정한 결과, 60°C oven test에서는 n-hexane, methanol 분획은 항산화 효과가 없는 반면, ethyl acetate 및 acetone 분획은 항산화 효과가 우수하였다(Fig. 8, 9).

또한 180°C oven test에 의한 가열산화 안정성을 살펴본 결과 포도종자 추출물 및 각각의 순차용매 추출 분획물의 항산화효과는 항산화제 무첨가구에 비해 가열산화 안정성이 향상되었으며 항산화 효과 는 ethyl acetate > isopropyl ether > acetone > methanol > n-hexane > 75% 에탄을 추출물의 순이었다 (Fig. 10).

항산화 효과가 가장 우수하게 나타난 ethyl acetate

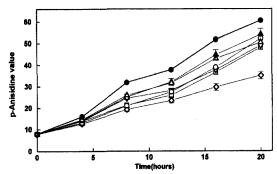


Fig. 10. The p-anisidine value of lard at 180°C as affected by various solvent fractions extracted from grape seeds.

O - O control, △ - △ hexane(200 ppm), □ - □ isopropyl ether(200 ppm), ◇ - ◇ ethyl acetate(200 ppm), ▽ - ▽ acetone(200 ppm), ○ - ○ methanol(200 ppm), ▲ - ▲ 75%ethanol(200 ppm)

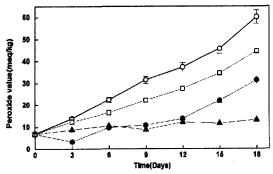


Fig. 11. The peroxide value of lard stored at 60°C as affected by ethyl acetate fraction from grape seeds and commercial antioxidants.

분획과 상업적으로 많이 이용하는 항산화제인 PG 와 δ-tocopherol의 돈지에 대한 항산화 효과를 비교해본 결과는 Fig. 11 및 12와 같았다. Ethyl acetate 분획물의 60°C 및 180°C에서 항산화 효과는 PG보다는 효과가 떨어지지만 δ-tocopherol과 최소한 비슷한 수준의 항산화 효과를 나타내었다. 이 결과로 보아 포도종자 추출물의 ethyl acetate 분획은 돈지의 자동산화와 가열산화에 대하여 우수한 항산화력을 나타내어 천연 항산화제로서 이용가치가 높음을 알 수 있었다.

순차용매 분획물의 페놀성 화합물 함량 및 전자공 여작용

포도종자 75% 에탄올 추출물과 이를 순차용매 추

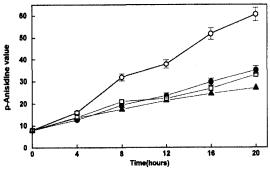


Fig. 12. The p-anisidine value of lard at 180°C as affected by ethyl acetate fraction from grape seeds and commercial antioxidants.

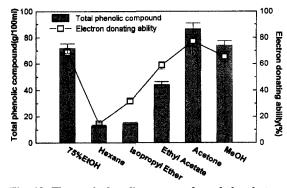


Fig. 13. The total phenolic compound and the electron donating ability of various solvent fractions extracted from grape seeds.

출하여 얻은 분획물의 페놀성 화합물 함량과 전자 공여작용을 측정한 결과는 Fig. 13과 같다. 페놀성 화합물 함량 및 전자공여작용은 acetone 분획물 > methanol 분획물 > 포도종자 추출물 > ethyl acetate 분획물 > isopropyl ether 분획물 > hexane 분획물 순 이었으며, 페놀성 화합물의 함량이 증가할수록 전 자공여작용도 함께 증가하여 높은 상관관계를 나타 내었다. 또한 극성도가 높은 추출용매로 추출한 분 획물이 페놀성 화합물 함량 및 전자공여작용이 높 게 나타나는 경향을 보였다. 그러나 본 실험에서 acetone 분획물 및 methanol 분획물은 페놀성 화합 물 함량과 전자공여작용은 높지만 항산화 효과는 거의 없는 것으로 나타나 항산화 효과와 상관성은 없었으며, Krigaya (1971)과 Yamaguchi (1969)이 보 고한 전자공여작용 및 페놀성 화합물의 함량이 항 산화 효과와 높은 상관관계가 있다는 보고와는 일

치하지 않는 결과를 나타내었으며, 이를 규명하기 위한 향후 연구가 필요하다고 생각되었다.

요 약

포도종자의 효율적 이용을 위하여 포도종자 추출 물에 대한 항산화 특성을 파악하고, 대두유 및 돈 지에 대하여 자동산화 및 가열산화에 대한 항산화 효과를 검증하므로써 새로운 천연 항산화제로서의 이용 가능성을 검토하였다. 포도종자를 75% 에탄올 로 추출한 포도종자 추출물의 수율은 평균 4.4%이 었으며, 이를 순차적으로 용매추출하여 얻은 분획 물의 수율은 추출용매의 극성도가 높아질수록 분획 되는 양이 증가하였다. 포도종자 추출물의 항산화 효과는 대두유의 가열산화에 효과적이었으며, 돈지 에는 효과를 나타내지 않았다. 그러나 순차용매 분 획물의 항산화 효과는 대두유에 대하여 모든 분획 물이 항산화 효과를 나타내지 않았으나, 돈지에 대 하여는 isopropyl ether, ethyl acetate, acetone 분획 이 자동산화 및 가열산화에 항산화 효과를 나타내 었다. 그중 ethyl acetate 분획물의 항산화 효과가 가 장 우수하였다. 분획물의 페놀성 화합물 함량 및 전 자공여작용은 극성도가 높은 용매로 추출할수록 높 게 나타났으며, 페놀성 화합물의 함량이 증가할수 록 전자공여작용도 함께 증가하여 높은 상관관계 (r=0.98)를 나타내었다.

문 헌

- A.O.A.C. 1985. Official Methods of analysis, 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- Branen, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole(BHA) and butylated hydroxy toluene. J. Am. Oil. Chem. Soc. 52: 59-63.
- Choe, S.Y and K.H. Yang. 1982. Toxicological studies of antioxidants, butylated hydroxy toluene(BHT) and butylated hydroxy anisole(BHA). Korean J. Food Sci. & Technol. 14: 283-288.
- Hwang, J.T., H.C. Kang, T.S. Kim and W.J. Park. 1999.

- Lipid composition and proterties of grape seed oils. Korean J. of Food & Nutrition. 12(2): 150-155.
- Jung, M.Y and K.C. Rhee. 1994. Quality improvement and extension of useful life of frying cottonseed oil by adsorbent or chemical treatment. Foods and Biotech. 3: 65-69. Kim, D.H. 1988. Toxic Materials in Foods. 764.
- Kinta, S. 1980. Toxicology of oxidized oil. J. Food Hygienic Soc. of Japane. 20: 419-422
- Krigaya, N., H. Kato and M. Fujimaki. 1971. Studieson antioxidant activity of nonenzymic browning reaction products, Part III. Fractionation of browning reaction solution between ammonia and D-glucose and antioxidant activity of the resulting fractions. J. Agric. Chem. Soc. Japan. 45: 292-298.
- Lee, G.D., J.S. Kim, J.H. Bae and H.S. Yoon. 1992. Anti-oxidative effectiveness of water extract and ether extract in wormwood(Artemisia montana Pampan). J. Korean Soc. Food Nutr. 21: 17-22.
- Lee, Y.J., D.W. Shin, Y.S. Chang and W.S. Kang. 1993. Antioxidative effects of us japonica Linne extract by various solvents. Korean J. Food Sci. & Technol. 25: 677-682.
- Nakatani, N. 1990. Recent advances in the study on natural antioxidants. J. Japanese Society for Food Sci. & Technol. 37: 569-576.
- Oh, M.J., K.S. Lee, H.Y. Son and S.Y. Kum. 1990. Antioxidative compunds in Pueraria Root. Korean J. Food Sci. & Technol. 22: 793-798.
- Okubo, K. 1995. Studies of functional food. 2. Saponine and its SOD. Japan Scientific Societies Press Center. 16
- Peled, M., T. Gutfinger and A. Letan. 1975. Effects of water and BHT on stability of cottonseed oil during frying. J. Sci. Food Agric. 26: 1655-1659.
- Rhee, K.S., Y.A. Ziprin and K.C. Rhee. 1981. Antioxidant activity of methanolic extracts of various oilseed proein ingredients. J. Food Sci. 46: 75-77.
- Watanabe, S., J. Mesino, M. Kaka and K. Kazama. 1977. Extraction of polyphenols from the grape seeds separated from fermented pomaces into a model wine. Studies on the polyphenols in wine(part 3). 797
- Yamaguchi, N. 1969. Studies on the browning reaction products from reducing sugars and amino acids, Part IX. Antioxidative activities of browning reaction products and several reductones. J. Japanese Soc. for Food Sci. & Technol. 16: 140-144.