

改良메주의 熟成過程 中 Proteins 및 Amino Acid 變化에 關한 研究

裴晚鍾 · 尹相弘 · 崔 清

嶺南大學校 食品加工學科

(1983년 6월 2일 수리)

Studies on Change of Lipid in Improvement-*Meju* during the Fermentatation

Man-Jong Bae, Sang-Hong Yoon and Cheong Choi

Dept. of Food Science and Technology, Yeungnam University

(Received June 2, 1983)

Abstract

Changes of protein and amino acids composition in improvement-*Meju* inoculated with *Aspergillus oryzae* were examined at various time intervals over 6-day test period. To investigate those changes systematically, Disc gel electrophoresis, gel filtration and amino acid analyzer were used. Following results were obtained;

1. Nitrogen solubility of the soybean meal in Na_2SO_4 , MgSO_4 , Na_2CO_3 , NaCl and Na_2HPO_4 solutions of various concentrations were determined. The salt soluble protein of soybean meal was highly dispersible on 0.4M Na_2SO_4 solution and the extractability of protein was 33%.
2. From the quantitative fractionation of soybean proteins, albumin content (46.0%) was highest followed by globulin (33.9%), glutelin (19.5%) and prolamin (2.4%). During *Meju* incubation period, albumin and prolamin increased gradually but glutelin decreased. Globulin content was not changed substantially.
3. When albumin was fractionated by Sephadex G-200, the following results were obtained. Soybean albumin showed fraction which was reduced to 3 fraction at 0-day of incubation. The number of fraction, however increased to 8 after 6-day of incubation.
4. Amino acids of albumin in soybean and *Meju* appeared to be 17 kinds. Glutamic acid and aspartic acid were the highest. In amino acid composition of cooked soybean albumin, arginine, aspartic acid, glutamic acid and glycine remained higher than those of *Meju* throughout incubation period.
5. The major fraction of albumins from soybean and *Meju* fractionated by Sephadex G-200 showed 17 kinds of amino acid. Aspartic acid and glutamic acid were the highest. During *Meju* incubation period, the change of amino acid composition was investigated; threonine, serine, lysine, histidine, alanine, isoleucine, leucine, phenylalanine and NH_3 was increased gradually, the others decreased.
6. According to the electrophoretic pattern, soybean protein showed 13 bands which decreased to 3-after cooking. During incubation, those bands increased gradually to 10 bands after 6-days.

材料 및 方法

序 論

대두의 醱酵食品은 우리나라를 비롯하여 東洋各國에서 일상 調味料으로써 중요할 뿐 아니라 營養上 蛋白質 供給源으로써 그 의의가 크다. 이를 利用한 제품 들은 우리나라 總 蛋白質 供給量의 약 8%에 이른다. 그 중 약 60%가 醱酵食品인 醬類製造에 利用되고 있다.^(1,2)

우리나라에서는 醬類를 전통적 在來式 方法으로 담겨 왔으나 近年에 와서는 微生物 및 醱酵工業의 발달로 *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, *Aspergillus niger* 등을 純粹分離하여 콩 및 밀기울에 接種시켜 메주를 만들고 있다. 金은 *Aspergillus oryzae* 및 *Aspergillus sojae*를 이용한 改良메주의 형상에 의한 醬類의 品質을 비교 하였고,⁽³⁾ NaKadai 등은 *Aspergillus oryzae*로부터 carboxypeptidase, leucine amineopeptidase, alkaline protease, neutral protease를 分離精製하고 이들의 特性을 說明하였다.⁽⁴⁻⁹⁾ Takeuchi 등은 *Aspergillus oryzae*에 의해서 熟成된 soysause에 함유되는 있는 neutral protease와 alkaline protease는 acid protease 보다 더욱 큰 활성을 갖는다고 보고하였으며,⁽⁹⁾ Hayashi와 Terada 및 Sekine는 *Aspergillus sojae*로부터 얻은 protease 들의 特性과 성질을 說明하였다.⁽¹⁰⁻¹¹⁾

生活의 簡素化와 메주의 消費量이 增加함에 따라 메주의 品質과 製造方法의 改善이 더욱 요청됨에 따라 張의 메주 改良化에 대한 研究,⁽¹²⁾ 趙의 메주제조에 관한 特許,⁽¹³⁾ 金 등의 메주제조 改善에 관한 연구,⁽¹⁴⁾ 李의 在來式 간장 및 된장제조가 대두 단백질의 營養價에 미치는 影響에 대한 연구⁽¹⁵⁾ 등이 있다. 또한 Kim 등,⁽¹⁶⁾ Sin 과 Yoon⁽¹⁷⁾ 은 일본 *Miso*와 한국된장이 醱酵期間이 경과함에 따라 溶解性 nitrogen과 유리아미노산의 濃度가 상당히 增加한다는 보고와 尹 등의 한국된장이 醱酵過程에 따른 N-compounds 消長에 관한 연구,⁽¹⁸⁾ Sugimura 등의 일본 soybean *Miso*가 醱酵期間이 경과함에 따라 총 lysine 함량이 20%나 감소한다⁽¹⁹⁾고 하였다 그리고 이 등은 전통적 方法에 의해서 만들어진 한국된장의 amino acid pattern은 대두의 것과 상당한 차이가 있다⁽²⁰⁾고 보고 하였다. 따라서 본인은 *Aspergillus oryzae*를 接種醱酵시킨 改良메주의 蛋白質에 관해서는 보고가 없는 듯하여 본 實驗에서는 *Aspergillus oryzae*를 이용한 改良메주의 熟成 동안에 蛋白質을 分別定量하고, protein pattern, 주단백질의 분자량 및 아미노산의 變化를 觀察하였기에 그 結果를 報告하는 바이다.

材料

本 實驗에 使用된 대두는 1981年度産 奨勵品種인 長端白目(*Glycine max.* L.)를 大邱市中에서 購入하였으며 그의 일반성분은 수분 9.26, 조단백질 39.13, 조지방 19.80, 조섬유 3.66, 조회분 5.22이었고 種麹(*Aspergillus oryzae*)은 忠武醱酵化學研究所製品的 것을 購入하여 供試材料로 하였다.

試藥

Sephadex G-200(스웨덴 Uppsala, Pharmacia Co.) β -galactosidase, pepsin, trypsin, hemoglobin, serum albumin(미국, St. Louis Sigma Co.) 기타 일반 시약은 市販의 特級品을 使用하였다.

機器

Amino acid autoanalyser (KLA-5, 日本 Hitachi Co.), Disc gel electrophoresis (SJ-1060D, Mitsumi Scientific Ind. Co.) Spectrophotometer (Beckman DB-G), Fraction collector (Fractomette 200, Fisher Scientific Co.).

實驗方法

가. 메주製造

메주는 實驗室에서 Fig. 1 과 같은 과정을 거쳐 製造하였다. 즉, 대두 250g을 平均하여 약 12시간 沈漬하고 물을 뺀 다음 autoclave를 使用 15 lbs에서 약 1 시간 加庄蒸煮한 후 30 °C로 冷却시켰다. 冷却된 콩에 *Aspergillus oryzae* 種麹을 0.1% 比率로 섞은 메주는 直徑 4 cm 정도의 등근형으로 만들어 35±1 °C 培養基에서 6 일 동안 培養하였다.

나. 蛋白質의 抽出 및 分別定量

Cold hexane (시료: hexane = 1 : 20 v/v)으로 3 회 反復해서 완전히 脫脂된 試料는 여러가지 溶媒를 使用하여 Bietz⁽²¹⁾이 종합 평가한 Osborne의 分類法에 따라 Fig. 2 와 같이 操作하여 蛋白質을 分別定量하였다.

다. 塩溶解性 蛋白質의 溶解度

塩溶解性 단백질의 抽出은 Fig. 2 의 方法에 準하였다. 즉, 脫脂한 試料 3 g에 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, M 濃度의 NaCl, MgSO₄, Na₂CO₃, Na₂SO₄, NaHPO₄를 함유한 sodium phosphate buffer (pH 7.0) 60 ml를 加하여 실온에서 90 分間 攪拌하여 抽出하고 3,500 rpm에서 30 分間 遠心分離하고 이의 上等液을 Lowery法⁽²²⁾에 의해 3 회 反復하여 단백질 定量을 하였다.

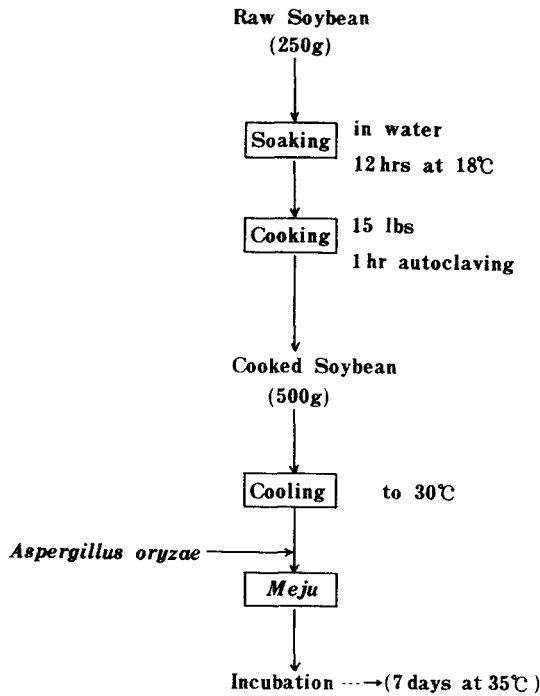


Fig. 1. Manufacturing process of improvement Meju

라. 水溶性 蛋白質의 分割 및 精製
 凍結乾燥된 단백질 500 mg에 증류수 (pH 7.0) 2 ml를 加하여 完全 溶解시켜 Whatman No.4 로 Syringe를 使用하여 여과한 溶液을 Sephadex G-200 으로 分割하였다. 이때 使用한 column의 크기는 2.0 × 80 cm, 容量은 25 ml, flow rate는 2 ml /10 min. 이었고 automatic fraction collector로 4ml 씩 받아 spectrophotometer로 吸光度 280nm에서 測定하였다.

마. Disc gel 電氣泳動
 電氣泳動은 acrylamide 7% 濃度, 0.5 × 7.0 cm gel 에서 凍結乾燥된 水溶性 蛋白質을 Davis⁽²³⁾와 Orstein⁽²⁴⁾의 方法에 따라 4 시간 電氣泳動하였다.

바. Amino Acid 分析
 단백질의 加水分解는 10 ml 크기의 유리관에 10 mg 의 단백질과 6 N HCl를 加하여 24 時間 동안 行하였다. 이 分解液은 여과하여 40 °C 以下에서 rotary evaporator를 使用하여 HCl를 完全히 蒸發시킨 다음 sodium citrate buffer 10 ml에 녹힌 것을 아미노산 自動分析機로 分析하였다.

사. 分子量 測定
 주단백질의 分子量 測定은 Sephadex G-200과 polyacrylamide gel disc electrophoresis에 依하여⁽²⁵⁾

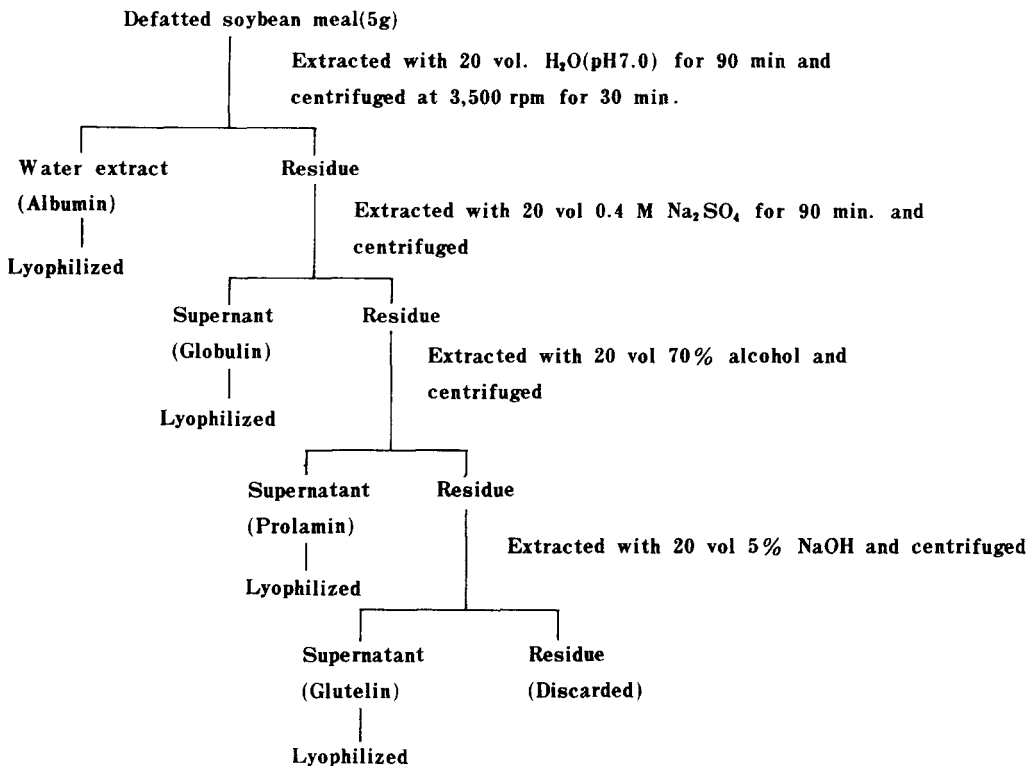


Fig. 2. Flow chart for the fractionation of proteins in soybean meal and Meju

測定하였고 分子量 測定 標準物質은 β -galactosidase (MW, 130,000), pepsin (MW, 35,000), serum albumin (MW, 68,000), trypsin (MW, 24,000), hemoglobin (MW, 15,000)을 使用하였다.

結果 및 考察

蛋白質의 分別定量

메주 熟成 中 단백질의 溶解性에 對한 分別定量 結果는 Table 1에서 보는 바와 같이 대두는 albumin 46.00 %로 제일 많았고, globulin 33.90 %, prolamin 2.38% glutelin 19.52% 순이었다. 이 結果는 강과 이⁽²⁶⁾가 韓國產 두류 팥, 녹두, 강남콩의 protein 들을 分別定量한 結果와 % 含量이 대체로 비슷했다. 대두를 蒸餾함으로서 albumin 과 globulin의 含量은 줄었으나 glutelin은 상당히 增加하였으나 그 후로는 큰 變化가 없었다.

鹽溶解性 蛋白質의 溶解度

供試試料에 對하여 濃度가 다른 各種 鹽類를 胞含시킨 sodium phosphate buffer 溶液으로 抽出한 단백질의 鹽溶解性은 Fig. 3과 같다. 各種 鹽類에서 가

장 높은 단백질의 收得率은 0.4 M Na_2SO_4 에서 33%로 제일 높았고, 0.2 M Na_2SO_4 27%, 0.2 M MgSO_4 24%, 0.2 M Na_2CO_3 23%, 0.6 M NaCl 21% 순이었다. 이는 Tinay 등⁽²⁷⁾의 목화씨로부터 단백질 抽出과 Gheyasuddin⁽²⁸⁾의 해바라기씨로부터 鹽溶解性 蛋白質의 抽出, 윤⁽²⁹⁾의 포도씨, 사과씨, 수박씨, 참외씨, 고추씨, 호박씨의 鹽溶解性 단백질의 抽出 結果에서 植物性 種實에서 MgSO_4 鹽이 제일 높은 溶解性을 보여준 보고와 差異點을 나타내었다. 단백질의 溶解度는 全般的으로 濃度에서 단백질의 용해도가 增加하다가 濃度가 높아짐에 따라 단백질 溶解性이 漸次로 減少하는 傾向이었다. 이는 Gheyasuddin⁽²⁸⁾의 해바라기씨 단백질의 抽出性에 對한 鹽의 影響과 비슷한 結果를 보여주었다.

水溶性 蛋白質의 分劃 및 精製

Sephadex G-200 column (2.0 x 80 cm)을 使用하여 分劃한 各 試料의 分劃 結果는 Fig. 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 및 11에서 보는 바 같이 醱酵 날짜 및 分劃 樣相은 대두에서 6 개, 삶은 대두의 3 개에서 6 일째는 5 개로 增加하였다. 試料의 主分劃의 收得率은 대두가 31.3% 삶은 콩이 55%, 메주가 熟成함에 따라 6 일에서는 38.7%로 減少하였다. 이것은

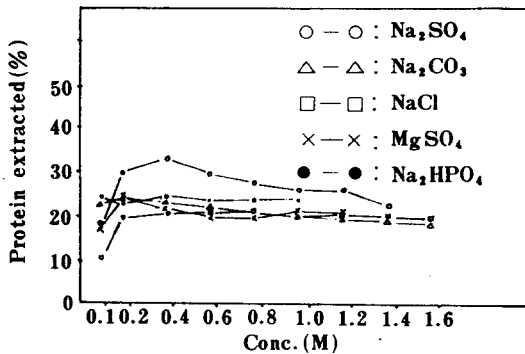


Fig. 3. Effect of Na_2SO_4 , Na_2CO_3 , NaCl, MgSO_4 and Na_2HPO_4 salts on solubility of protein in defatted soybean meal

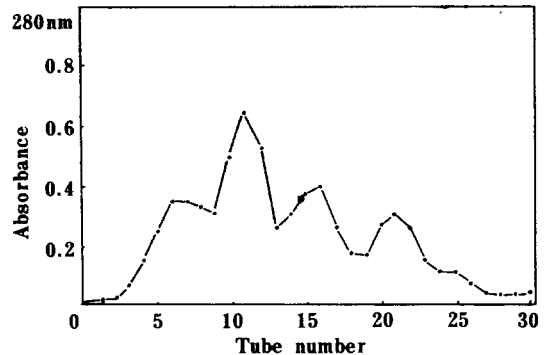


Fig. 4. Fraction of the soaked soybean albumin on the Sephadex G-200 column (2.0 x 80 cm)

Table 1. Fraction of the soluble protein in soybean during fermentation

(% Composition of each fraction/Total soluble protein)

Proteins	Days	Soaked Soybean	0	1	2	3	4	5	6
Albumin		46.00	31.00	41.01	49.28	52.87	53.53	51.88	52.48
Globulin		33.90	23.38	20.30	19.69	19.69	19.18	19.98	19.78
Prolamin		2.38	2.10	2.06	3.40	3.40	3.05	3.13	3.34
Glutelin		19.52	44.10	36.63	25.41	25.42	25.23	25.01	24.39

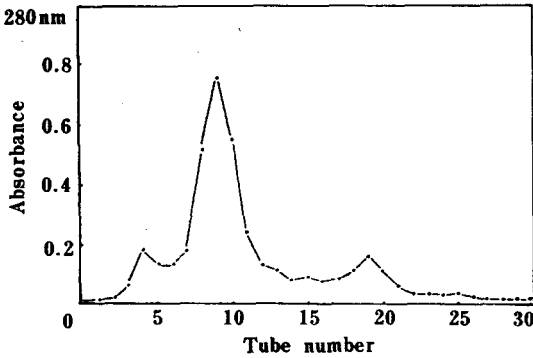


Fig. 5. Fraction on the Sephadex G-200 column (2.0x80cm) of improvement-Meju albumin during 0 day fermentation.

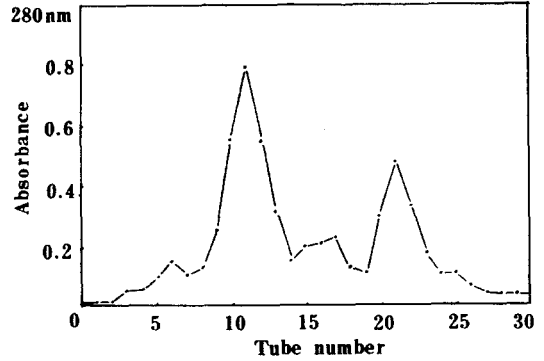


Fig. 8. Fraction on the Sephadex G-200 column of improvement-Meju albumin during 3 day fermentation.

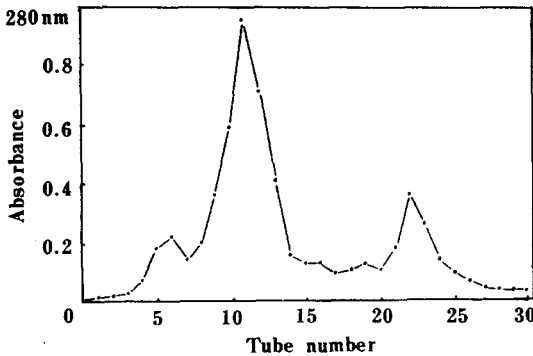


Fig. 6. Fraction on the Sephadex G-200 column (2.0x80cm) of improvement-Meju albumin during 1 day fermentation.

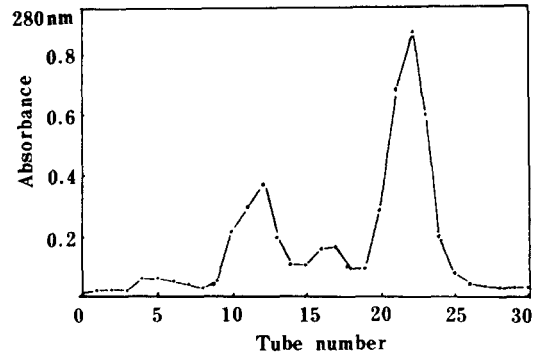


Fig. 9. Fraction on the Sephadex G-200 column (2.0x80cm) of improvement-Meju albumin during 4 day fermentation.

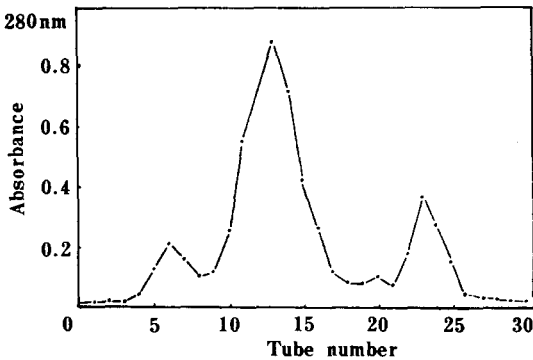


Fig. 7. Fraction on the Sephadex G-200 column (2.0x80cm) of improvement-Meju albumin during 2 day fermentation.

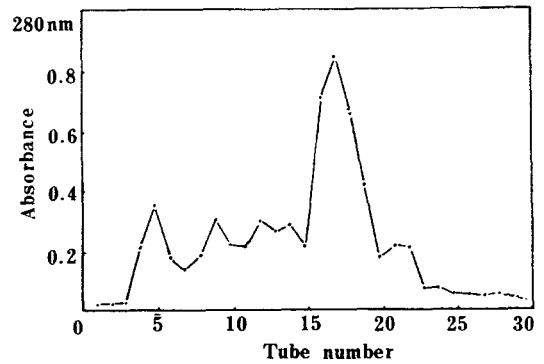


Fig. 10. Fraction on the Sephadex G-200 column (2.0x80cm) of improvement-Meju albumin during 5 day fermentation.

Nakadai 등이⁽⁴⁻⁶⁾ *Aspergillus oryzae*에서 分離한 protease에 의하여 高分子의 단백질이 低分子의 단백질로 分解되어 漸次로 增加한다는 보고와 비슷한 結果를 얻었다.

아미노산 組成

水溶性 단백질의 아미노산 組成은 Table 2에서 보는 바와 같다. 즉, aspartic acid, glutamic acid 및 glycine은 대두에서 보다 메주에서 상당히 더 많은 量

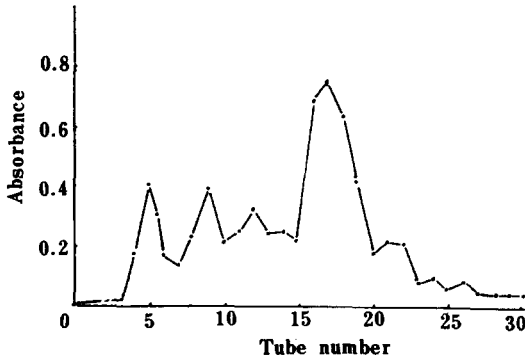


Fig. 11. Fraction on the Sephadex G-200 column (2.0×80cm) of improvement-Meju albumin during 6 day fermentation.

을 함유했으나 leucine, isoleucine, valine, phenylalanine은 그 반대로 삶은 대두에서 더 많은 함량을 나타내었다. 또한 메주의 醱酵過程에 있어서는 lysine, histidine, arginine, aspartic acid, glutamic acid 및 glycine은 醱酵일자가 經過함에 따라 함량이 減少

하였으나 다른 아미노산 들은 대체로 增加하였다. 主蛋白質의 아미노산組成은 Table 3에서 보는 바와 같이 水溶性 단백질과 비슷한 樣相이었으나 glutamic acid는 대두에서 보다 메주에서 더욱 많은 함량을 나타내었으나 aspartic acid는메주에서 보다 대두에서 더 많은 量을 含有했다. 삶은 콩이 대두에 비하여 그 함량이 減少한 amino acid은 serine, cystine, methionine, isoleucine 및 leucine 이었다.

電氣泳動 패턴

메주의 熟成過程에 있어서 電氣泳動상의 결과는 Fig. 12에서 보는 바와 같이 삶은 콩에서 band의 數가 3 개에서 熟成함에 따라 6 일에서는 10 개로 band의 수가 增加했다. 醱酵 3 일째 부터 Rf 치0.44~0.75 範圍에서 새로운 band 들이 나타나고 있다. 이는 John 등²⁰⁾이보고한 *Aspergillus oryzae*로 接種한 땅콩에서의 아미노산과 단백질의 變化에 대한 보고 결과와 비슷한 樣相을 보여주었다. Rf치 0.3과 0.875에서 두개의 主 band가 位置했고 醱酵 3 일째 까지는 Rf치 0.3에서 位置했던 主 band가 醱酵 4 일째는

Table 2. Amino acid composition of the albumin

(% Amino acid/Total protein as dry)

Amino acids	Soaked soybean	0	1	2	3	4	5	6
Lysine	8.72	8.16	8.25	8.79	8.71	7.96	7.40	6.91
Histidine	2.82	2.40	2.46	2.51	2.50	2.43	2.22	1.93
Arginine	3.48	4.16	4.15	3.14	2.77	2.75	2.53	2.98
Aspartic acid	11.26	16.29	16.20	16.12	13.97	13.52	13.19	11.83
Threonine	5.32	4.80	4.55	4.81	4.79	6.10	6.18	6.86
Serine	6.71	5.81	5.85	6.07	6.98	7.32	7.40	6.96
Glutamin acid	13.31	17.90	18.85	18.63	15.77	14.00	14.60	12.36
Proline	0.61	0.56	0.45	0.31	0.75	0.80	0.70	0.78
Glycine	7.86	10.37	12.05	7.95	8.11	8.19	8.30	9.00
Alanine	6.80	6.44	5.04	5.44	6.46	6.72	6.38	7.12
Cystine	t	t	t	t	t	0.30	0.32	0.36
Valine	0.05	5.18	5.25	7.55	8.91	8.99	8.71	8.73
Methionine	1.14	0.50	0.80	1.04	0.97	0.19	0.81	1.20
Isoleucine	7.29	4.54	4.57	5.65	5.70	5.95	5.16	5.65
Leucine	8.17	6.19	6.25	6.53	7.66	7.49	7.99	7.59
Tyrosine	2.08	1.74	1.77	1.67	1.27	1.08	1.11	1.83
Phenylalanine	3.40	2.40	2.20	2.30	2.32	2.24	2.02	2.82
NH ₂	1.20	2.50	2.30	1.40	3.30	3.60	4.10	5.20

t : trace

Table 3. Amino acid composition of the main fraction of albumin

(% Amino acid/Total protein as a dry)

Amino acids	Soaked soybean	0	1	3	4	5	5	6
Lysine	8.49	10.05	9.22	9.22	8.50	8.92	7.40	6.10
Histidine	2.37	3.09	2.44	1.87	2.10	2.28	1.90	1.84
Arginine	2.76	5.61	3.63	2.29	2.25	2.36	2.35	2.51
Aspartic acid	16.21	14.70	11.78	11.03	11.89	11.98	12.34	12.43
Threonine	4.74	4.05	4.94	5.15	5.01	5.78	5.78	5.03
Serine	5.73	4.63	6.08	5.62	5.55	5.51	4.83	4.89
Glutamic acid	15.22	17.80	14.65	15.37	15.41	15.43	15.50	15.68
Proline	3.15	6.10	3.36	3.00	2.76	2.67	2.15	2.23
Glycine	8.30	8.89	7.43	6.79	7.02	6.94	7.01	7.23
Alanine	4.74	5.21	5.97	5.62	5.52	5.26	5.78	5.97
Cystine	0.78	0.19	0.32	0.23	0.28	0.25	0.20	0.13
Valine	10.67	6.96	6.46	7.87	7.97	8.53	9.01	9.20
Methionine	1.38	1.36	1.03	1.03	1.01	1.12	1.15	1.17
Isoleucine	5.53	3.28	4.83	5.06	5.01	5.21	5.35	5.39
Leucine	6.92	4.63	6.46	6.70	6.80	6.59	7.10	7.18
Tyrosine	1.18	1.35	1.24	1.46	1.21	1.42	1.25	1.07
Phenylalanine	1.77	1.75	1.17	1.92	2.02	2.15	2.35	2.37
NH ₃	1.20	1.50	2.30	3.30	3.60	3.92	3.95	4.28

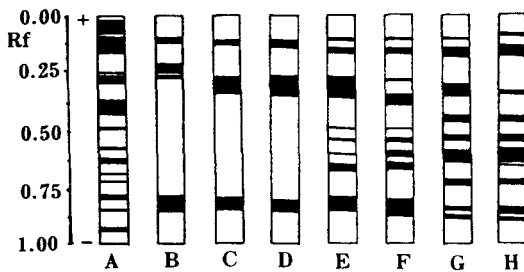


Fig. 12. Electrophoretograms of soybean and Meju-proteins during fermentation
 A;soybean, B;0, C;1, D;2, E;3, F;4, G;5, H; 6 day.

0.875, 5 일째 0.525, 6 일째 0.513에서 主 band 가 位置했다. 이것은 Nakadai 등⁽⁴⁾이 보고한 protease 들에 의해서 단백질이 보다 低分子의 단백질로 分解되었음을 의미한다.

分子量 測定

水溶性 단백질에 있어서 主된 단백질의 分子量은 disc gel 電氣泳動法에 의해서 標準物質의 Rf와 比較하여 얻어진 結果는 Fig. 13과 같다. 대두 175,000 嵩은 콩 135,000에서 메주가 熟成함에 따라 그 主된

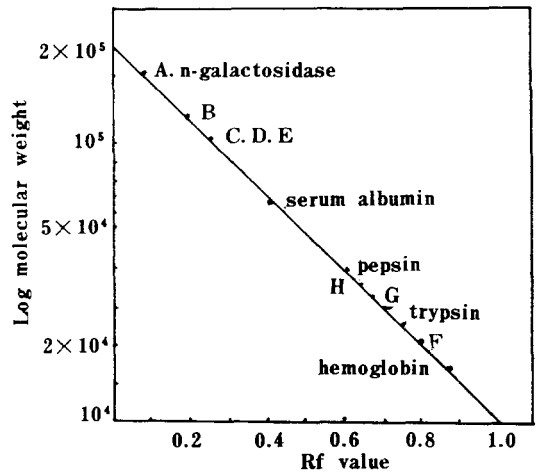


Fig. 13. Determination of molecular weight of the main protein by compared with other known molecular weight of proteins.
 (A:soaked soybean, B;0, C;1, D;2, E;3, F;4, G;5, H;6 day.)

단백질의 分子量은 6 일째에서 36,000으로 減少하였다. 또한 Sephadex G-200로 分子量을 測定한 結果는 disc gel 電氣泳動과 비슷한 結果를 얻었다.

要 約

*Aspergillus oryzae*에 의한 改良메주의 熟成過程에 있어서 단백질 및 아미노산 組成의 變化를 体系的으로 糾明하기 위하여 disc gel electrophoresis 및 아미노산 分析機器에 의한 實驗結果는 다음과 같다.

1. 濃度가 다른 Na_2SO_4 , MgSO_4 , Na_2CO_3 , NaCl 및 Na_2SO_4 의 鹽을 이용하여 대두의 鹽溶解性 단백질을 分離한 結果 0.4 M Na_2SO_4 溶液에서 그 收得率(30%)이 가장 높았다.
2. 대두 단백질을 分別定量한 結果 그 含有量이 가장 많은 것은 albumine 46.0 % 였으며 globulin 33.9 %, glutelin 19.5 %, prolamin 2.4 % 순 이였으며 메주의 熟成過程 中에 있어서 albumin 과 prolamin은 차차 增加하였으나 glutelin은 減少하였고 globulin은 큰 變化가 없었다.
3. Sephadex G-200으로 albumin을 分劃한 結果 대두에서는 6개, 熟成 0 일에서는 3개, 6 일째는 8개로 增加하였다.
4. 대두 및 메주의 醱酵過程에 있어서 아미노산은 다같이 17 種類로 glutamic acid 및 aspartic acid 가 제일 많았으며 삶은 콩이 메주에 比하여 albumin의 아미노산組成 가운데 arginine, aspartic acid, glutamic acid 및 glycine의 含量이 많았다.
5. Sephadex G-200으로 albumin을 分劃한 結果 대두 및 메주에서 主된 단백질의 組成아미노산은 17 種類로 그 含量은 aspartic acid 및 glutamic acid가 제일 많았으며, 메주의 醱酵過程에 있어서 albumin의 主된 단백질의 amino acid 組成變化는 lysine, histidine, phenylalanine, threonine, serine, alanine, isoleucine, leucine, phenylalanine 및 NH_3 가 차차 增加하였으며 이 밖의 다른 아미노산은 減少하였다.
6. 電気泳動의 pattern에서 대두 단백질의 band數는 13개로 나타났으며 메주 熟成過程에 있어서는 처음 3개에서 6일째에는 10개의 band로 차차 增加하였다. 메주의 醱酵過程 中에 있어서 albumin의 主된 단백질의 分含量은 대두에서 175,000이었고 0 일때 135,000에서 6 일째는 36,000으로 減少하였다.

文 獻

1. FAO: *Food Balance Sheets, Average 1964~1966*(1971).

2. Korea Institute of science and Technology : *Food Stuffs and Additives for Industry in Korea*, Ministry of Science and Technology, Republic of Korea (1972).
3. 김상순 : 한국식품과학회지, 10, 63(1978)
4. Nakadai, T., Nasuno, S. and Iguchi, N. : *Agr. Biol. Chem.*, 36, 261(1972)
5. Nakadal, T., Nasuno, S. and Iguchi, N. : *Agr. Biol. Chem.*, 36, 1243(1972)
6. Nakadai, T., Nasuno, S. and Iguchi, N. : *Agr. Biol. Chem.*, 36, 1473(1972)
7. Nakadai, T., Nasuno, S. and Iguchi, N. : *Agr. Biol. Chem.* 36, 1481(1972)
8. Nakadal, T., Nasuno, S. and Iguchi, N. : *Agr. Biol. Chem.* 37, 2703(1973)
9. Takeuchi, T. and Yoshii, H. : *醸工*, 45, 29 (1967)
10. Hayashi, K. and Terada, M. : *Agr. Biol. Chem.*, 36, 1975(1972)
11. Sekine, H. : *Agr. Biol. Chem.* 37, 1945(1973)
12. 張智鉉 : 한국농화학회지, 6, 8 (1965)
13. 趙伯顯 : 한국특허 2601(1961)
14. 金載勳, 趙武濟, 金尚淳 : 한국농화학회지, 11, 35 (1969)
15. 이철호 : 한국식품과학회지, 8, 12(1976)
16. Kim, S. Y., Lee, K. D., Kim M. H. and Yoo, C. K. : *New Medical J.*, 9, 183(1968)
17. Sin, H. D. and Yoon, J. O. : *Korean Chem. Soc.*, 7, 6 (1963)
18. 尹鎰燮, 金顯五, 尹世億, 李甲湘 : 한국식품과학회지, 9, 131(1977)
19. Sugimura, K., Taira, H., Ebisawa, H. and Sakurai, Y. : *J. Japan Soc. Food Nutr.*, 14, 414(1962)
20. 이철호 : 한국식품과학회지, 5, 210(1973)
21. Bietz, J. A. : *Cereal Foods World*, 24, 199 (1979)
22. Lowery, O. H. and Rosebrough, N. J. : *J. Biol. Chem.*, 193, 265(1951)
23. Davis, S. J. : *Ann. New York Acad. Sci.*, 121, 404(1964)
24. Orstein, L. : *Ann. New York Acad. Sci.*, 121, 321(1964)
25. Weber, K. and Osborn M. : *J. Biol. Chem.*, 244, 4406(1969)

26. 姜明善, 李瑞來 : 한국식품과학회지, 10, 415(1978)
27. Tinay, A., Chendrasekher, H. and Ramanatham, G. : *J. Science Food Agric.*, 31, 38(1980)
28. Gheyasuddin, S. : *J. Food Sci.*, 35, 453(1970)
29. 尹衡植 : 충남대학교, 박사학위청구논문(1982)
30. John, P. C., Larry, R. B. and Clyde, T. Y. : *J. Agric. Food Chem.*, 24, 79(1976)