

칡잎蛋白質의 分離 및 그 性質에 관한 연구

李哿順·任菊二*·崔宇永·吳萬鎮

忠南大學校 農科大學·大田實業專門大學 食品營養科*
(1985년 8월 10일 접수)

Isolation and Characterization of Arrowroot Leaf Proteins

Ka-Sun Lee, Kook-Yi Yim*, Woo-Young Choi and Man-Jin Oh

College of Agriculture, Chungnam National University

*Department. of Food and Nutrition, Daejeon Junior College

(Received August 8, 1985)

Abstract

To characterize the protein from arrowroot leaf, proteins were extracted and separated from arrowroot leaf, then its amino acid composition and functional properties were studied.

Protein in arrowroot leaf was consisted of 18.5% albumin, 33.5% globulin, 34.0% glutelin, 6.2% protamine and 7.8% insoluble residues. The rates of precipitation of proteins which extracted with water, 1M NaCl, and 0.015N NaOH as a solvent were 84.7% (at pH 3.0), 76.4% (at pH 2.5) and 86.4% (at pH 4.0), respectively. The extracted proteins were separated up to about 90% by organic solvents such as ethanol and acetone at 80% concentration. Composition of arrowroot leaf protein concentrates were: 1~2% moisture, 59~67% protein, 4~8% ash and 5~6% (dialyzed concentrates) or 1~2% (acetone-treated ones) lipid. Main amino acids of the concentrates were aspartic acid, glutamic acid and glycine. Solubility profile of the concentrates according to pH was typical. The minimum solubility (below pH 5.0) of acetone extracted protein concentrates was lower than that of unextracted ones, whereas the reverse was true for pH value above this region. Bulk density, water and fat absorption of the concentrates were attributable to correlation to the treatment of acetone. And the bulk density of the concentrates was negatively correlative to both water and fat absorption. Emulsifying and foaming properties were not varied with the treatment of acetone.

緒論

蛋白質食糧資源의 개발은 우리 나라 뿐만 아니라 세계 각국에 있어서 당면과제로 되어 있으며, 개발도상국에 있어서는 고가의 动物性蛋白質보다는 저廉한 植物性蛋白質資源의 개발에 대한 중요성은 날로 증가되고 있다. 植物性蛋白質은 소백을 비롯한 豆類蛋白質 大豆蛋白質 및 유량증자蛋白質에 관하여는 많은 연구가 이루어져 실용화되고 있으며 이

중 일蛋白質에 관하여는 1940년대초부터 Pirie 등^{1~7)}의 연구가 报告되어 왔으나 실용화에는 아직도 많은 연구를 필요로 하고 있다. 일蛋白質의營養的價值에 관한 연구로서는 Duckworth 등,^{8,9)} Waterlow,¹⁰⁾ Geroff 등,¹¹⁾ Wilson 등¹²⁾ 및 Woodham¹³⁾의報告가 있으며 그의營養的價值가 大豆蛋白質과 비슷한 정도로 우수하며 methionine을 제외한 모든 필수아미노산의 함량이 풍부하다는 사실이 입증되었다. 일蛋白質濃縮物제조에 관한 연구로서는 Pirie 등⁵⁾은 일

蛋白質의 抽出物을 80°C 의 열처리에 의하여 분리하는 방법, Chayen 등⁷⁾은 酸沈澱에 의하여 분리하는 방법, Knuckles 등¹⁴⁾과 Edwards 등¹⁵⁾은 alfalfa 잎으로부터 Pro-Xan 과정에 의하여 단백질을 분리하면 촉색방지와 추출효과를 증진시킬 수 있다고 報告하였고, Edwards 등¹⁶⁾과 Bickoff 등¹⁷⁾은 alfalfa 단백질의 抽出物에 sodium meta bisulfate를 추가하였을 때 색액이 양호하여 methionine과 cystine의 酸化를 막을 수 있다고 報告하였다. 또한 Wang¹⁸⁾은 alfalfa 잎蛋白質의 機能的特性를 조사하여 溶解度는 pH 3.4~4.0에서 가장 낮았으며 acetone 처리에 의하여 溶解度는 약간 감소하였고 容積密度는 2~3 배 증가하였으며水分吸着度 및 脂肪吸着度는 50% 정도 약화되었다고 보고한 바 있다. 잎蛋白質에 관한 국내연구로서는崔 등^{19, 20)}이 각종 農產廢棄物 및 야생식물로부터蛋白質을抽出하여 아미노산組成 및 營養學의 特性을 조사보고한 바 있고 金 등²¹⁾은 아카시아 잎에서 葉綠體蛋白質과 細胞質蛋白質을 분리하여 그의 아미노산組成을 검토한 결과 methionine과 tryptophan을 제외한 필수아미노산의 含量이 높았으며 機能的性質은 milk casein의 그것과 비슷하였다고 보고하였다. 한편 金 등²²⁾은 우리 나라의 야산에 널리 분포되어 있고 가축의 사료로 많이 이용되고 있는 각종 식물체 중의蛋白質含量을 측정비교하였을 때 銀의蛋白質含量이 가장 높았다고 보고한 바 있다. 이에 本實驗은 銀蛋白質의 食糧資源化를 위한 기초연구로서 銀으로부터蛋白質을抽出分離하여 아미노酸組成과 分離蛋白質의機能的性質에 대하여 실험을 행한 바, 다음과 같은 결과를 얻었으므로 보고하는 바이다.

材料 및 方法

1. 材 料

大田近郊 야산에서 1983년 7월, 銀의 成葉을 채취하여 天日乾燥한 후 60 mesh로 粉碎하여 실험에 사용하였다.

2. 方 法

1) 一般成分의 分析

銀 및蛋白質濃縮物의 一般成分은 AOAC法²³⁾에 준하여 分析하였다.

2) 蛋白質의 分離

(1) 鹽의 종류 및 濃度에 따른蛋白質의 抽出

粉碎한 銀에 농도별 NaCl , Na_2CO_3 , Na_2SO_4 용액을 1:20의 비율로 가하여 상온에서 2시간 교반 추출한 후 15,000 rpm에서 30분간 遠心分離하였다. 그 상징액의蛋白質을 Lowery法²⁴⁾과 Kjeldahl法을 병행하여 定量함으로서 鹽의 종류와 濃度에 따른蛋白質抽出率을 계산하였다.

(2) pH에 따른蛋白質의 抽出

供試材料에 蒸溜水, 1M NaCl 용액을 가한 후 1N HCl , 1N NaOH 로서 pH 1~12로 조정하여蛋白質을抽出하였다.

(3) 蛋白質抽出液으로부터蛋白質의回收

蒸溜水, 1M NaCl , 0.015N NaOH 를抽出溶媒로 한抽出液을 1N HCl 과 1N NaOH 로서 pH 2~9로 조정하여 각 pH에서沈澱된蛋白質을 정량하고 ethyl alcohol, acetone과 같은 유기용매에 의한蛋白質沈澱率을 계산하였다.

(4) 잎蛋白質濃縮物의 조제

天日乾燥하여 60 mesh로粉碎한 銀을 蒸溜水, 1M NaCl , 0.015N NaOH 와 같은 추출제로 2시간 추출시킨 후 원심분리하여 얻은抽出液을 pH 3.0으로 조정하여 4°C 에서 8시간 방치한 후 15,000 rpm에서 10분간 원심분리하여沈澱物을回收하였다. 각沈澱物 중 일부는 24시간동안 물로透析하여 涼동건조한 후 마쇄하여試料로 사용하였고 일부는脂肪 및 촉색물질을 제거하기 위하여 涼동건조한 후 acetone으로 처리하여 흡인 여과하였다.抽出物 중에 잔존하는 acetone을 제거하기 위하여 진공건조하고 60 mesh로 마쇄하여試料로 사용하였다.

3) 溶解度에 따른蛋白質의分類

佐竹 등²⁵⁾의 방법에 준하였다. 즉 일정량의試料에蒸溜水, 10% NaCl , 80% ethyl alcohol, 0.3% NaOH 을用매로順次的抽出하여溶解度에 따른蛋白質을分類하였으며 요약하면 Fig. 1과 같다.

4) 아미노酸의 分析

蒸溜水, 1M NaCl , 0.015 N NaOH 를抽出溶媒로하여 얻은蛋白質溶液을 pH 3.0으로 조정하여沈澱物을分離하고 6N HCl 을 가한 후 dryice로 동결시켜 탈지밀봉하여 110°C 에서 24시간 가수분해하였다. 그 후 감압건조하여 HCl 을 제거하고 pH 2.2로 조정하고 여과하여 아미노산分析器(LKB Alpha-450)에 의하여 分析하였다.

5) 機能的特性

銀蛋白質濃縮物의溶解度(solubility)와容積密

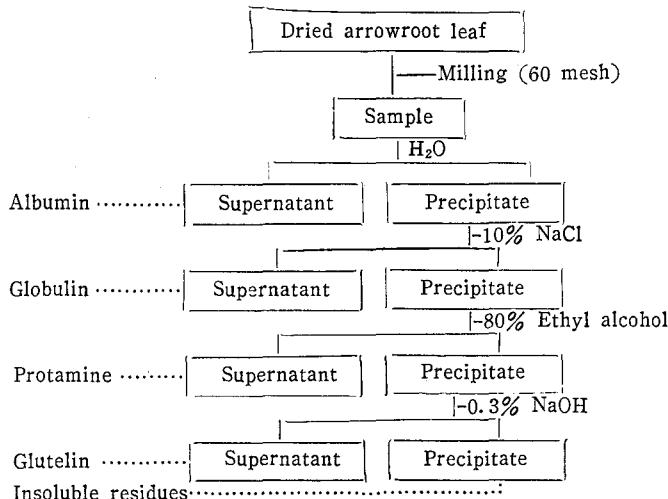


Fig. 1. Classification of simple protein from dried arrowroot leaf.

Table 1. Proximate composition of arrowroot leaf

Compositions	Crude protein ^b	Crude fat	Crude fiber	Ash	NFE ^c
Content(%) ^a	21.7	4.2	24.9	7.8	41.4

^a dry basis ^b % N×6.25 ^c nitrogen free extract.

度(bulk density)는 Wang 등¹⁸⁾, 水分吸着度(water absorption)와 脂肪吸着度(fat absorption)는 Lin 등²⁶⁾ 乳化能(emulsifying capacity) 및 乳化安定度(emulsion stability)은 Yatsumatsu 등²⁷⁾, 泡粒性(foaming capacity) 및 泡粒安定度(foam stability)은 Lawhon 등²⁸⁾의 방법에 따라 측정하였다.

하였으며 NaCl은 1M 이상의 농도에서는 거의 증가 현상을 보이지 않았다. 또 蒸溜水와 1M NaCl 용액을 가지고 pH를 달리하였을 때의 抽出率은 pH가 알카리성으로 옮아감에 따라 증가하는 경향을 보였으며, pH12에서 蒸溜水 추출구는 34.5%, 1M NaCl 추출구는 41.1%로 나타났다.

結果 및 考察

1. 供試材料의 一般成分

本實驗에 사용되어진 칡잎의 一般成分을 分析한 결과 Table 1과 같으며, 칡잎의 乾物 중蛋白質含量이 21.7%로 아카시아잎이나 참싸리잎과 같은 목본류의 잎에서와 같이蛋白質含量이 높으므로¹⁹⁾ 그 이 용가치가 클 것으로 기대된다.

2. 蛋白質의 抽出

칡잎으로부터蛋白質의 抽出條件를 검토하기 위하여 鹽의 종류와濃度 pH를 달리하였을 때의蛋白質抽出率을 실험한 결과는 Fig. 2, 3과 같다. NaCl, Na₂CO₃ 및 Na₂SO₄의 각 1M 용액에 의한蛋白質抽出率은 각각 36.5, 35.1, 30.5%이었으며 Na₂CO₃와 Na₂SO₄는 농도가 높아짐에 따라 抽出率은 증가하여 2.5 M NaSO₄용액에서 抽出率은 46.5%로 최고에 달

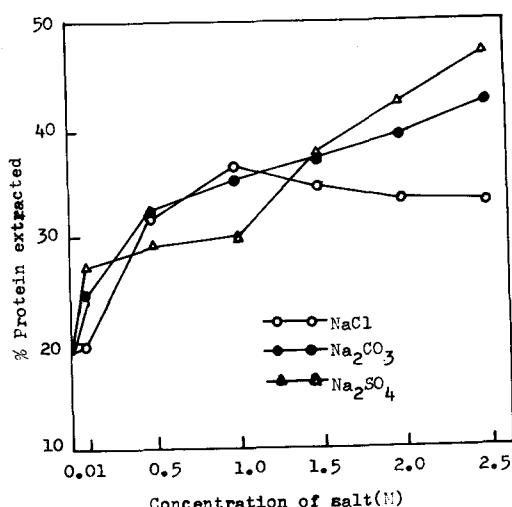


Fig. 2. Extractability of arrowroot leaf protein in various salt concentrations.

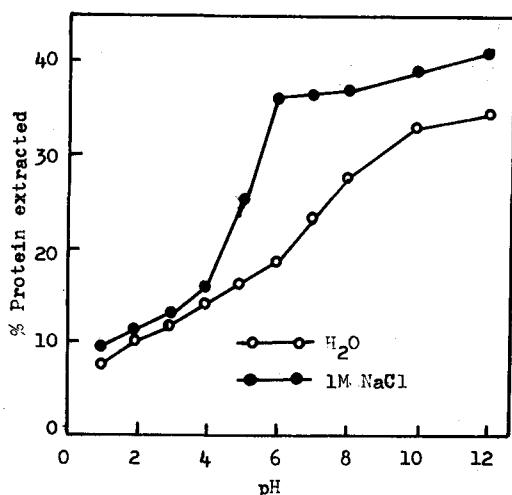


Fig. 3. Effect of pH on the extractability of arrowroot leaf protein.

3. 蛋白質의 沈澱

供試材料에 蒸溜水, 1M NaCl, 0.015N NaOH을 가하여 얻어진 抽出液을 pH 2~8로 조정하여 蛋白質의 沈澱率을 본 결과 Fig. 4와 같다. 蒸溜水를 溶媒로 한 抽出液의 蛋白質沈澱은 pH 3.0에서 84.7%, 1M NaCl로抽出한 溶液의 蛋白質沈澱率은 pH 2.5에서 76.4%, 0.015N NaOH로抽出한 溶液은 pH 4.0에서 86.4%로 가장 沈澱率이 높았으며 pH가 알칼리성 쪽으로 옮겨감에 따라 沈澱率은 급격히 감소하였다. 이 결과로부터 물, 염류 알칼리로抽出하여 얻어진 蛋白質의 종류는 서로 다르고 등전점 또한 각기 다른 것을 알 수 있었다. 또한 각 抽出液에 ethyl alcohol

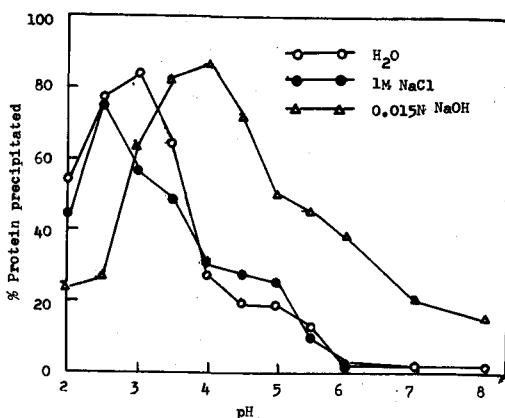


Fig. 4. Effect of pH on the precipitation of protein in arrowroot leaf extracts.

과 acetone을 가하여 蛋白質沈澱率을 본 결과는 Fig. 5, 6에서와 같다. 80% ethyl alcohol에서 沈澱率은 蒸溜水抽出液이 91.5%로 가장 높았으며 鹽抽出液이 74.9%로 가장 낮았다. 또한 acetone의 濃度에 따라 蛋白質沈澱은 ethyl alcohol에서와 같이 濃度가 높아짐에 따라 증가하여 80% acetone에서 蒸溜水抽出液이 82.5%, 鹽抽出液이 71.3%, 알칼리抽出液이 74.7%였으며 대체로 acetone에 의한 沈澱보다 ethyl alcohol에 의한 침전이 높은 경향을 나타내었다.

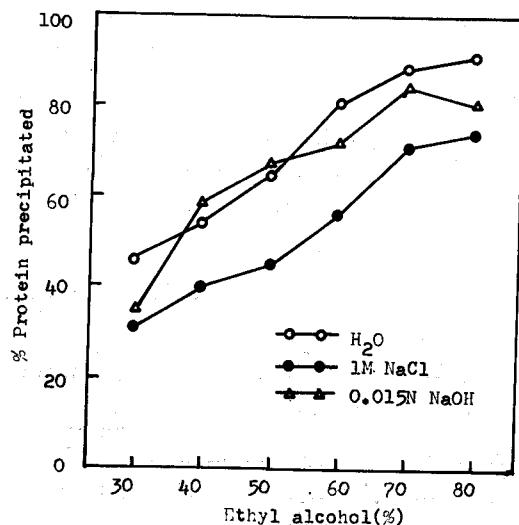


Fig. 5. Effect of ethyl alcohol on the precipitation of protein in arrowroot leaf extracts.

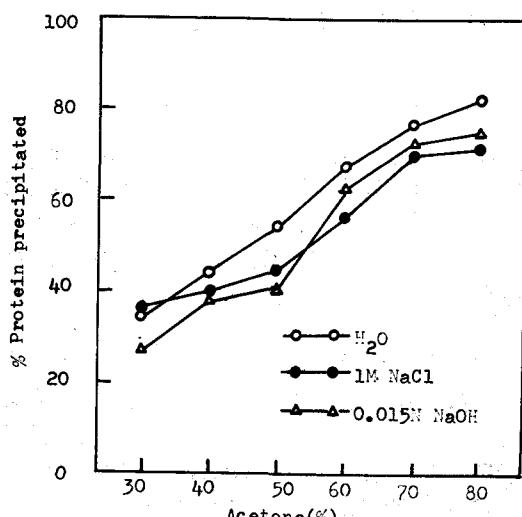


Fig. 6. Effect of acetone on the precipitation of protein in arrowroot leaf extracts.

Table 2. Classification of arrowroot leaf protein based on solubility

Proteins	Albumin	Globulin	Protamine	Glutelin	Insoluble residues
Content (%)	18.5	33.5	6.2	34.0	7.8

Table 3. Description and proximate composition of arrowroot leaf proteins prepared under different conditions

Protein sample	Preparative treatment				Proximate composition		
	Extractant	Dialysis	Acetone ext.	Moisture (%)	Protein ^a % dry	Lipid ^b	Ash
1	H ₂ O	Yes	No	1.62	62.85	5.34	4.64
2	1M NaCl	Yes	No	1.44	60.78	5.72	4.40
3	0.015N NaOH	Yes	No	1.75	59.99	5.54	4.18
1a	H ₂ O	No	Yes	1.82	66.52	1.58	5.06
2a	NaCl	No	Yes	1.57	61.21	2.01	7.41
3a	0.015N NaOH	No	Yes	1.98	64.17	1.95	5.23

^a Total % N × 6.25^b Chloroform: methanol (2:1 v/v) as extractants

4. 蛋白質의 分類

Table 2에서와 같이 溶解度에 따른 칡잎중의 蛋白質은 수용성 단백질인 albumin이 18.5%, 염용해성 단백질인 globulin이 33.5%, 알칼리용해성 단백질인 glutelin이 34%, 80% ethyl alcohol 용해성 단백질인 protamine이 6.2%, 그리고 불용성 단백질이 7.8%로서 globulin과 glutelin이 주종을 이루는 蛋白質이었다.

5. 蛋白質濃縮物의 一般成分

냉동건조한 칡잎蛋白質濃縮物의 一般成分은 Table 3과 같다. acetone 처리를 하지 않은 칡잎蛋白質濃縮物 중 지방함량은 5~6% 정도로 Wang 등²⁹이 alfa-alfa 蛋白質의 지방함량 10~12%이라고 보고한 것보다 낮았으며 Hudson³⁰은 [초본류로부터 만들어진濃縮物의 지방함량은 7~20%로서 또한 낮은 경향이 있다. 蛋白質 함량은 59~67%로서 이는 Betschart 등³¹의 연구에서 대두잎蛋白質의蛋白質 함량이 72%이라고 보고한 것보다 낮았으며,崔 등²⁰이 발표한 바에 의하면蛋白質濃縮物 중蛋白質 함량은 64.3%로 비슷하였다. 이와 같이蛋白質 함량의 약간의 차이는蛋白質의抽出 및沈澱 등分析法의 차이에 의한 것으로 사료된다. 灰分의含量은 4~8%로서 acetone 처리를 한 것보다透析시킨 것이 약간 낮았다.

6. 茎蛋白質濃縮物의 아미노酸組成

蒸溜水, 1M NaCl, 0.015 N NaOH를 용매로 추출

한 칡잎蛋白質濃縮物의 아미노酸含量은 Table 4와 같으며, 모두 aspartic acid가 가장 높았으며蒸溜水와 알칼리로抽出한蛋白質濃縮物에서는 glutamic acid, glycine, leucine의順으로 있고鹽으로抽出한蛋白質濃縮物에서는 glycine, alanine, glutamic acid

Table 4. Amino acid composition of arrowroot leaf proteins extracted with different extractants (g amino acid per 100g recovered amino acid).

Amino acids	A	B	C
Isoleucine	4.801	4.658	5.003
Leucine	8.768	8.188	8.322
Lysine	5.657	5.527	5.916
Methionine	0.825	0.684	0.726
Phenylalanine	4.594	4.820	4.727
Threonine	6.021	6.540	5.827
Valine	6.901	6.480	6.983
Alanine	8.458	8.658	8.252
Arginine	3.423	2.297	3.049
Aspartic acid	11.396	11.756	10.962
Cystine	0.810	0.958	1.086
Glutamic acid	10.292	8.447	10.413
Glycine	8.807	9.942	8.737
Histidine	3.427	3.547	3.327
Proline	5.894	6.480	6.316
Serine	6.791	7.693	7.114
Tyrosine	3.136	3.331	3.239

A: extract of arrowroot leaf protein extracted with H₂O

B: extract of arrowroot leaf protein extracted with 1M NaCl

C: extract of arrowroot leaf protein extracted with 0.015N NaOH

順이었으며, 抽出劑의 종류에 따른 아미노酸含量에는 비슷한 경향이 있다. 이는 金 등²¹⁾이 아카시아잎에 대한 보고에서 아미노酸含量이 aspartic acid, glutamic acid順이었다고 보고한 것과 비슷한 결과를 나타내었다. 또한 흙잎蛋白質의 制限아미노酸으로는 methionine으로 나타났으며 필수아미노酸의含量을 FAO reference protein과 비교해 볼 때 制限아미노酸인 methionine을 제외하고는 비교적 必須아미노酸의含量이 높았으므로蛋白質源으로서 영양적 가치가 우수하다고 할 수 있겠다.

7. 蛋白質濃縮物의 機能的性質

(1) 溶解度

흙잎蛋白質濃縮物의 pH에 따른溶解度는 Fig. 7과 같이 pH 5 이하에서는 급격히 감소하였으며 알칼리성쪽으로 옮아감에 따라 점차 증가하였다. 또한 pH 2~5에서는 acetone을 처리한蛋白質이溶解度가 낮았으며 pH 6 이상이 알칼리성에서는 acetone을 처리한 것이溶解度가 증가하였다. 이는 Wang 등¹⁸⁾이 보고한 alfalfa잎蛋白質에서도 비슷한 경향이었으며 Neucere와 Ory³²⁾은 acetone 처리에 의하여溶解度가 증가하는 것은濃縮物 중의 지질합량이 낮아지고蛋白質 구조변화에 기인된 것이라고 보고한 바와 같은 현상으로 생각된다.

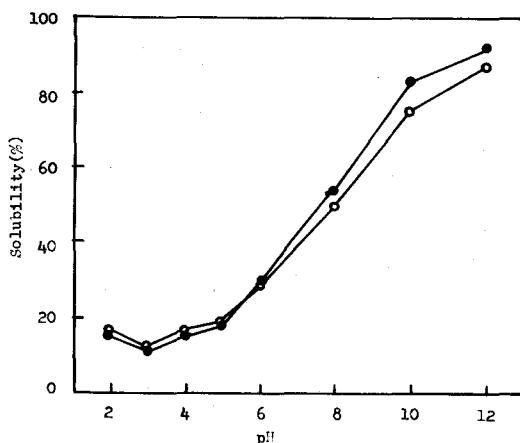


Fig. 7. Effect of pH on the solubility of arrowroot leaf proteins; ○, arrowroot leaf protein; ●, arrowroot leaf protein extracted with acetone.

(2) 容積密度, 水分 및 脂肪吸着度

Table 5에서와 같이容積密度는蒸溜水로抽出分離한蛋白質이鹽, 알칼리抽出에 의한 것보다 낮은

Table 5. Functional properties of arrowroot leaf protein extracted with different extractants

Protein sample	Bulk density (ml H ₂ O/g leaf protein)	Properties	
		Water absorption (ml H ₂ O/g leaf protein)	Fat absorption (ml oil/g leaf protein)
1	0.1523	4.03	4.61
2	0.2964	4.26	3.36
3	0.2012	4.25	4.12
1a	0.3168	1.42	1.73
2a	0.4173	2.01	1.38
3a	0.4405	2.08	1.57

값을 나타냈으며 acetone 처리를 하지 않은 것이 acetone 처리를 한 것보다 낮은 값을 나타내었다.水分吸着度는 acetone 처리를 한 것이 1.4~2.1 ml H₂O/g로서 acetone 처리를 하지 않은 4.03~4.26 ml H₂O/g 보다 감소하는 현상이었으며 Wang 등¹⁸⁾이 보고한 alfalfa 잎蛋白質濃縮物보다 상당히 낮은 값을 나타내었다. 脂肪吸着度는 acetone 처리에 의하여 감소하였으며 acetone 처리를 하지 않은 것에서는 鹽溶解性蛋白質이 가장 낮았다. 容積密度, 水分 및 脂肪吸着度의 상관관계를 검토한 결과 Fig. 8과 같다.水分吸着度와容積密度와의 관계는 acetone 처리한 것이 결정계수가 0.99로서 처리하지 않은 것의 결정계수 0.62 보다 크게 나타나 acetone 처리를 함으로서 높아졌으며容積密度와脂肪吸着度에서는 acetone

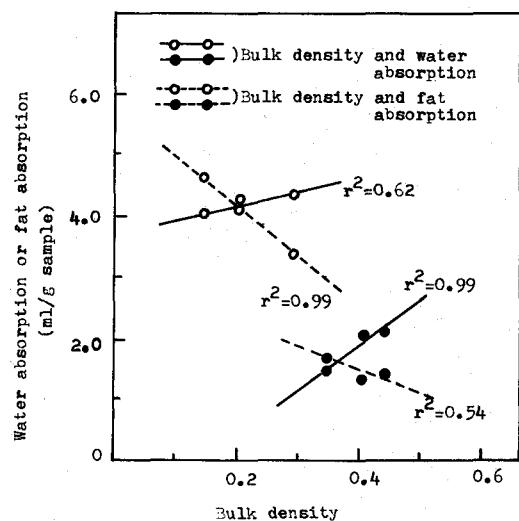


Fig. 8. Linear regression between bulk density and water absorption or fat absorption; ○, dialyzed arrowroot leaf protein; ●, undialyzed arrowroot leaf protein.

처리를 하지 않은 것이 상관관계가 더욱더 높았다. 이 직선회귀에서 容積密度에 대한 水分吸着度와 脂肪吸着度의 상관관계는 반비례적이었다.

(3) 乳化能과 乳化安定度

蛋白質濃縮物의 乳化能은 acetone 처리를 하지 않은 鹽溶解性蛋白質이 가장 높았으며 80°C에서 30分間 가열처리한 후의 乳化安定度는 더 낮은 값을 나타내었다. 또한 acetone 처리를 한 것이 하지 않은 것보다 乳化能은 낮았으나 安定度는 차이가 인정되지 않았다. 칡잎蛋白質濃縮物의 乳化安定度는 Wang 등¹⁸⁾의 alfalfa에 대한 실험결과와 비교해 보면 대체로 낮은 결과를 나타냈으나, 金 등²¹⁾의 아카시아 잎에서의 결과와는 비슷한 결과를 보여 주었다.

Table 6. Emulsifying properties arrowroot leaf proteins extracted with different extractants.

Protein sample	Emulsifying activity(%)	Stability of emulsified layer(%)
1	55.29	69.45
2	59.07	56.25
3	55.28	65.79
1a	49.82	70.25
2a	50.14	57.07
3a	52.71	66.01

(4) 泡粒性

칡잎蛋白質濃縮物의 泡粒性은 대체로 acetone 처리를 한 것이 높았으나 0.015 N NaOH로抽出한濃縮物에서는 acetone 처리를 한 것이 더 낮은 값을 나타내었다. 時間의 경과에 따른 泡粒性은 acetone 처리와 無처리 간에 차이가 인정되지 않았으며 鹽溶解性蛋白質이 가장 낮았고 水溶性蛋白質이 가장 높았다.

Table 7. Foaming properties of arrowroot leaf proteins extracted with different extractants

Protein sample	Foaming capacity ml(1/2 min.)	Foaming stability (ml)			
		10 min.	30 min.	60 min. (% change)	2hr. (% change)
1	92.5	43.5	39.0	29.5(32.2)	14.5(66.7)
2	98.0	49.0	42.5	23.0(53.0)	10.0(79.6)
3	90.0	40.5	73.0	30.0(25.9)	8.5(79.0)
1a	98.0	49.0	45.0	30.0(38.7)	15.0(69.3)
2a	105.0	54.0	47.0	25.5(52.7)	11.5(78.7)
3a	84.5	34.5	32.0	30.5(11.5)	9.5(72.4)

要 約

칡잎蛋白質의 食糧資源化를 위한 基礎研究를 目的으로 칡잎으로부터 여러 가지 溶媒를 이용하여蛋白質을 抽出, 分離한 후 그의 아미노酸組成 및 機能의 特性를 검토한 결과는 다음과 같다.

溶解度에 따른 칡잎蛋白質은 水溶性蛋白質이 18.5%, 鹽溶解蛋白質이 33.5%, 일칼리溶解性蛋白質이 34.0%, protamine이 6.2%, 不溶解性蛋白質이 7.8%이었다. 蒸溜水, 1M NaCl, 0.015 N NaOH의 溶媒에 의한抽出液의蛋白質沈澱率은 pH 3.0, 2.5, 4.0에서 가장 높다. 84.7, 76.4, 86.4%이었으며 80%의 ethanol과 acetone의 첨가에 의해서는 약 90%가沈澱되었다.

蛋白質濃縮物의 一般成分은 水分 1~2%,蛋白質이 59~67%, 灰分이 4~8%였으며 지질함량에 있어서는 透析한 것은 5~6%, acetone 처리한 것은 1~2%이었다.

濃縮物의 아미노酸含量은 aspartic acid, glutamic acid, glycine의順으로 높았다.

濃縮物의 溶解度는 pH 5이하에서 acetone 처리區가 무처리區에 비하여 낮았으며 그 이상의 pH에서는 높았다. 또 濃縮物은 acetone 처리에 의하여 容積密度,水分 및 脂肪吸着度에 상관관계를 나타내었으며 容積密度에 대한水分 및 脂肪吸着度는 반비례적이었다. 乳化性과 泡粒性은 acetone 처리에 따라별 차이가 없었다.

文 獻

1. Pirie, N.W.: *Chem. and Ind.*, **61**, 4 (1942a)
2. Pirie, N.W.: *Green Leaves as a Source of Proteins and other Nutrients*, **149**, 251(1942b)
3. Carpenter, K.J., Duckworth, J. and Ellinger, G.M.: *Proc. Europ Grassal Conf*, Paris, **2**, 128 (1952)
4. Tilly, J.M.A., Barnes, M.L. and Raymond, W.F.: *Farm Mechanization*, **6**, 481 (1954)
5. Morrison, J.E. and Pirie, N.W.: *J.Sci. Food Agr.*, **12**, 1(1961)
6. Byers, M.: *J. Sci. Food Agr.*, **12**, 20(1961)
7. Chayen, I.R., Smith, R.H., Tristram, G.R., Thirkell, D. and Webb, T.: *J. Sci. Food Agr.*, **12**, 20 (1961)
8. Duckworth, J. and Woodham, A.A.: *J. Sci. Food Agr.*, **12**, 5(1961)
9. Duckworth, J., Hepburn, W.R., Woodham, A.A.: *J. Sci. Food Agr.*, **12**, 16 (1961)
10. Waterlow, J.C.: *Brit. J. Nutr.* **16**, 531 (1062)
11. Geroff, E.D., Lima, I.H., and Stahmann, M.A.: *J. Agr. Food Chem.* **13**, 139 (1965)
12. Wilson, R.F. and Tilly, J.M.: *J. Sci. Food Agr.*, **16**, 173 (1965)
13. Woodham, A.A.: *Proc. Nut. Soc.*, **24**, 24 (1965)
14. Knuckles, B.E., Bickoff, E.M., and Kohler, G.O.: *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 1055 (1972)
15. Edwards, R.H., DE Fremery, D. and Kohler, G.O.: *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 1055 (1972)
16. Edwards, R.H., Miller, R.E., DE Fremery, D., Knuckles, B.E., Bickoff, E.M. and Kohler, G.O: *J. Agr. Food Chem.*, **23**, 620 (1975)
17. Bickoff, E.M., Booth, A.N., DE Fremery,
- E., Edwards, R.H., Knuckles, B.E., Miller, R.E., Saunders, R.M. and Kohler. G.O.: In *Protein Nutritional Quality of Foods and Feeds*, ed. M. Friedman, Dekker, New York, 319 (1975)
18. Wang, J.C. and Kinsella, J.E.: *J. Food Sci.*, **41**, 286 (1976)
19. 崔相·金建治·金明姬·金吉煥: *한국식품과학회지*, **2**(2), 8 (1970)
20. 崔相·金建治·金明姬·金吉煥: *한국식품과학회지*, **2**(2), 17 (1970)
21. 金鍾奎·姜申錫·高永社: *한국식품과학회지*, **5**(4), 321 (1983)
22. 김용국·전창기: *충남대 농업기술연구보고*, **8** (2), 164 (1981)
23. AOAC: *Association of Official Analytical Chem.*, 11th ed., Washington D.C., 211 (1970)
24. Lowry, O.H. nad Rosebrough, N.J: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
25. 佐竹一夫·小澤均: *實驗化學 講座*, (日本化學會編) **23**(1)(1957)
26. Lin, M.J., Humbert, E.S. and Sosulski, F.W.: *J. Food Sci.*, **37**, 94(1974)
27. Yatsumatsu, K., Sawada, K., Moritaka, s., Toda, J. and Ishii, K.: *Agr. Biol. Chem.*, **36**, 719 (1972)
28. Lawhon, J.T. and C.M. Carter: *J. Food Sci.*, **36**, 372 (1972)
29. Wang, J.C. and Kinsella, J.E.: *J. Food Sci.*, **40**, 1156 (1975)
30. Hudson, B.J.P. and Karis, I.G.: *J. Sci. Food Agr.*, **24**, 154 1(1973)
31. Betschart, A.A. and Kinsella, J.E.: *J. Agr. Food Chem.*, **22**, 116(1974a)
32. Neucere, N.J. and Ory, R.L.: *J. Agr. Food Chem.*, **16**, 364 (1968)