

분리 대두단백의 용해도와 소화율에 미치는 Phytate의 영향

조희환 · 윤재영 · 이서래

이화여자대학교 식품영양학과

Effect of Phytate on the Solubility and Digestibility of Soy Protein Isolates

Hee-Hwan Cho, Jae-Young Yoon and Su-Rae Lee

Department of Food and Nutrition, Ewha Woman's University

Abstract

Phytic acid known as an antinutritional factor was studied for its effect on the solubility and digestibility of high-phytate and low-phytate soy protein isolates (SPI) obtained by two different methods of pH adjustment. Phytic acid content was 2.48% in high-phytate SPI and 0.72% in low-phytate SPI. Solubility of soy proteins was higher in low-phytate SPI than in high-phytate SPI at all pH values tested and it was lowered by adding more phytic acid to result in precipitation of the proteins. The inhibitory effect of phytic acid toward pepsin digestion of SPI increased by the increasing amount of phytic acid added and its effect was slightly higher in high-phytate SPI than in low-phytate SPI.

Key words: phytic acid, soy protein isolate, solubility, digestibility

서 론

생대두 중에는 바람직하지 못한 향미성분과 영양 저해물질이 존재하는 것으로 알려져 이들 성분의 제거를 위한 전처리 과정이 요구되고 있다. 이들 중 off-flavor (異臭味)를 발생시키는 lipoxygenase와 영양 저해인자인 trypsin inhibitor, hemagglutinin은 가열처리로 불활성화되어 제거할 수 있으나, phytic acid는 비교적 가열처리의 효과가 없는 편이다¹⁾.

Phytic acid는 myo-inositol의 hexakis-phosphate로서 곡류, 두류, oilseed와 같은 종자에는 Ca, Mg 염인 phytin으로 존재한다. 그리고 phytic acid는 Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn 등의 금속이온과 불용성 복합체를 형성함으로써 이들 무기질의 체내흡수를 저해시키는 동시에²⁾ 단백질과 결합하여 불용성화합물을 형성함으로써 단백질의 이용률을 감소시킨다고 보고되어 왔다³⁾. 그리하여 식품에서 phytic acid를 제거시키기 위한 많은 연구가 외국에서 시도되어 왔다.

우리나라에서는 두유 제조시 대두를 발아시켜 phytic acid 함량이 감소됨이 알려졌고⁴⁾ 종자를 침지, 발아, incubation과 autoclaving 시켰을 때 phytic acid를 제거할 수 있었다는 보고가 있으며⁵⁾ 발효식품인 메주와 Tempeh 제조시 phytic acid 함량이 감소되었다는 연구결과⁶⁾들이 있을 뿐이다. 그러나 국내에서 중요한 단백질 자

원인 대두단백질의 특성에 대해 phytate가 어떠한 영향을 미치는가에 대한 연구는 별로 되어 있지 않은 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 phytic acid 함량이 대두단백질의 용해도와 소화율에 미치는 영향을 알아보기 위해 phytic acid 함량이 높은 분리 대두단백과 그 함량이 낮은 분리 대두단백을 제조한 다음 두 가지 제품의 용해도, phytate 첨가량 및 pH에 따른 단백질과 phytate의 결합도, 그리고 phytate가 대두단백질의 소화율에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

탈지 대두분은 유성식품공업사의 제품을 사용하였다. Bovine serum albumin, pepsin 효소제(porcine stomach mucosa, 1 : 60,000), sodium phytate(옥수수에서 정제)와 투석관(dialysis tubing sacks, Sigma diagnostics No. 25)은 Sigma Chemical Co.에서 구입하여 사용하였다.

High-phytate soy protein isolate(SPI)의 제조⁷⁾

탈지 대두분 100g을 10배의 증류수에 magnetic stirrer를 이용하여 30분간 분산시킨 후, 1.0 N NaOH를 사용하여 pH 8.5로 조절하였다. 30분 후에 이 현탁액을 3,000 rpm에서 15분간 원심분리시켜 침전된 불용성물질을 제거하고, 그 상청액에 1.0 N HCl을 가하여 pH 4.5로 조절할 때 침전되는 대두단백질을 5,000 rpm에서 15분간 원심분리시켜 회수했다. 침전물은 1.0 N HCl을 사용하여

Corresponding author: Su-Rae Lee, Department of Food and Nutrition, Ewha Woman's University, Seodaemun-gu, Seoul 120-750, Korea

pH 4.5로 조절한 물로 세척하였으며, -50°C 에서 freeze-dryer에 의해 냉동건조시킨 다음 건조된 시료의 무게를 측정하여 단백질 수율을 계산하였다. 냉동건조된 대두 단백질은 분쇄기로 곱게 마쇄하여 25 mesh 체를 통과시킨 후 건조제와 함께 밀폐된 용기에 넣어 분석시까지 냉장고에 보관하였다.

Low-phytate soy protein isolate의 제조⁽⁷⁾

pH에 따른 단백질과 phytate의 용해도 차이를 이용하여 phytate 함량이 낮은 분리 대두단백을 다음과 같이 제조하였다. 즉 탈지 대두분 100g을 10배의 증류수에 30분간 분산시킨 후 1.0 N NaOH를 사용하여 pH 11.5로 조절하였다. 30분 후에 이 현탁액을 3,000 rpm에서 15분간 원심분리시켰고 그 상탁액에 1.0 N HCl을 가하여 pH 5.5로 조절할 때 침전되는 대두단백질을 5,000 rpm에서 15분간 원심분리시켜 회수하였다. 침전물은 1.0 N HCl을 사용하여 pH 5.5로 조절한 물로 세척하였으며 그 후에는 high-phytate SPI에서와 동일한 방법으로 처리하였다.

Phytic acid의 함량분석

Wheeler와 Ferrel⁽⁸⁾의 방법을 약간 변형시켜 측정하였다. 모든 측정은 2회 반복으로 수행하였으며 그 평균치를 취하였다.

단백질의 함량분석

Lowry 등⁽⁹⁾의 방법에 따라 가용성단백질의 농도를 측정하였고 bovine serum albumin을 사용하여 작성한 표준곡선으로부터 단백질 함량을 계산하였다. 모든 측정은 2회 반복으로 수행하였으며 그 평균치를 취하였다.

대두단백질의 용해도 측정법

1.0 N HCl이나 1.0 N NaOH로 pH를 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0으로 조절한 물 25 ml에 대두단백 25 mg을 넣고 magnetic stirrer를 사용하여 30분간 교반시킨 후 pH를 다시 조절하였다. 불용성물질을 분리하기 위하여 현탁액을 5,000 rpm에서 15분간 원심분리시킨 후, 상탁액의 일정량을 취해 가용성단백질의 농도를 측정하였다.

대두단백질과 phytate의 결합도 측정법

Phytate 농도의 영향을 측정하기 위하여는 1.0 N HCl을 사용하여 pH 2.5로 조절한 물 30 ml에 분리 대두단백 1g을 넣고 magnetic stirrer를 사용하여 15분간 용해시킨 후 1.0 N HCl로 pH를 다시 조절하였다. 다음 sodium phytate를 각각 0, 25, 50, 75 mg 녹인 수용액 2 ml를 이 용액에 넣어 단백질과 phytate의 복합체가 형성되도록 30분간 잘 섞어주었다.

이 현탁액을 10,000 rpm에서 30분간 원심분리 시킨

후, 상탁액을 취하여 phytic acid 농도와 가용성단백질 농도를 측정하였다.

pH의 영향을 측정하기 위하여는 1.0 N HCl이나 1.0 N NaOH 용액으로 pH를 2.0, 2.5, 4.5, 6.5, 8.0으로 조절한 물 30 ml에 1g의 분리 대두단백을 넣고 15분간 용해시킨 후 1.0 N HCl과 1 N NaOH로 pH를 다시 조절한 후 2 ml 물에 sodium phytate 50 mg을 녹인 용액을 넣고 magnetic stirrer로 현탁액을 30분간 잘 혼합했다. 불용성의 phytate-단백질 복합체를 제거하기 위하여 앞의 실험방법과 동일하게 원심분리 시킨 후 상탁액을 취해 phytic acid 농도를 분석하여 침전된 단백질에 결합된 phytate 양을 계산하였다.

대두단백질의 소화율 측정법

Mauron 등⁽¹⁰⁾의 방법을 약간 변형시켜 pepsin에 의한 단백질 소화법을 사용하였다. 즉 6개의 삼각플라스크에 각각 분리 대두단백 0.5g을 넣고 6 N HCl 용액을 사용하여 pH 2.0으로 조절한 물 20 ml를 넣어 5분간 용해시킨 후, 1 ml 물에 각각 sodium phytate 0, 25, 50 mg을 녹인 용액을 첨가해 magnetic stirrer로 30분간 잘 혼합했다.

이 현탁액에 1 ml의 물에 25 mg pepsin을 녹인 용액을 첨가하여 1분간 혼합시킨 후, 한쪽 끝을 묶은 투석관에 넣고 다른쪽 끝을 묶어 밀폐시킨 후 6.0 N HCl로 pH 2.0으로 조절한 물 500 ml가 들어 있는 conical beaker에 넣어 37°C 로 온도를 유지시킨 shaking water bath에서 pepsin에 의한 가수분해가 일어나도록 하였다. 1, 2, 4, 6시간 후에 투석관 외액 1 ml씩을 취해 Lowry 등의 방법으로 단백질 가수분해물의 농도를 측정하였고 이 결과로부터 단백질의 소화율을 계산하였다.

결과 및 고찰

분리 대두단백(SPI)의 phytic acid 함량

탈지 대두분으로부터 각각 다른 방법으로 phytate 함량이 높은 high-phytate SPI와 phytate 함량이 낮은 low-phytate SPI를 제조한 결과 이들 제품의 수분, phytic acid 함량 및 수율은 Table 1과 같다.

본 실험에서 제조한 high-phytate SPI의 phytic acid 함량은 2.48%였으며 이미 보고된 바 있는 1.84%⁽⁷⁾, 1.03%⁽¹¹⁾ 그리고 2.6%⁽¹²⁾와 비교할 때 비슷한 수준이었다. 한편 low-phytate SPI는 phytic acid 함량이 0.72%로 high-phytate SPI의 30% 수준에 불과하였다. de Rham과 Jost⁽⁷⁾는 pH 8.2에서 추출 후 pH 4.5에서 침전시키는 SPI의 전통적인 제조방법 보다는 pH 11.5에서 추출하고 pH 5.5에서 침전시켜 제조한 SPI의 phytic acid 함량이 90% 감소된다고 하였는 바 SPI 제조시 phytic acid를 제거하기 위해서는 pH 조절이 매우 중요함을 알 수 있다.

Low-phytate SPI의 phytic acid 함량이 낮은 것은 알칼리성 pH 11.5에서 단백질을 추출했을 때 단백질이 매

Table 1. Moisture and phytic acid contents in defatted soy flour and soy protein isolates

Samples	Moisture (%)	Phytic acid (%)	Product yield ^{a)} (%)
Defatted soy flour	6.15	3.65	-
High-phytate SPI	6.98	2.48	4.6
Low-phytate SPI	9.50	0.72	19.8

^{a)}g dry SPI/100g defatted soy flour

우 높은 음전하를 띠게되어 이온화된 phytic acid와의 결합이 파괴되고 phytic acid를 함유한 불용성물질이 침전되어 원심분리를 통해 제거되었기 때문으로 생각된다.

본 실험에서 탈지 대두분으로부터 얻어진 분리 단백질의 수율(g dry SPI/100g defatted soy flour)은 high-phytate SPI에서 4.6%, low-phytate SPI에서 19.8%로 나타났다. de Rham과 Jost⁽⁷⁾는 이들 두 가지 방법으로 얻은 SPI의 수율이 비슷하였다고 보고하였으나 Hartman⁽¹¹⁾은 추출액의 pH가 7에서 12로 증가할수록 단백질의 수율이 높았다고 하였다. 본 실험에서 pH 11.5에서 용해, 침전시킨 low-phytate SPI의 수율이 pH 8.5에서 용해, 침전시킨 high-phytate SPI에서 보다 높았던 것은 Hartman⁽¹²⁾의 결과와 비슷하였다.

분리 대두단백의 용해도

각기 다른 pH에서 high-phytate 및 low-phytate SPI의 용해도를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. SPI의 용해도는 두 가지 제품 모두 pH 5 부근에서 가장 낮았는데 이것은 대두단백질의 등전점이 pH 4.6 부근이므로 최소의 용해도가 나타난 것으로 보인다. 등전점보다 높거나 낮은 pH에서는 두 가지 SPI의 용해도가 모두 증가하는 경향을 보여주었다.

Fig. 1에서 보면 low-phytate SPI의 용해도가 high-phytate SPI보다 전체적으로 높게 나타났다. Smith 및 Racikis⁽¹³⁾는 phytate가 단백질과 작용하여 복합체로 되어 단백질의 용해성을 감소시킨다고 보고한 반면, de Rham과 Jost⁽⁷⁾는 대두단백질에 함유된 수준의 phytate가 단백질의 용해도에 미치는 영향은 무시될 수 있다고 하였다. 본 실험에서 high-phytate SPI의 용해도가 low-phytate SPI에서 보다 낮게 나타난 것은 단백질내 phytic acid 함량에 따라 용해도에 차이가 있음을 말해주는 것이고, phytic acid가 단백질과 결합하여 불용성물질이 됨으로써 단백질의 용해도가 감소되었기 때문이라 생각된다.

대두단백질과 phytate의 결합도

SPI와 phytate와의 결합도에 미치는 phytate 농도의 영향을 보기 위하여 그 결합력이 가장 큰 것으로 알려진 pH 2.5에서 실험하였으며 얻은 결과는 Table 2, 3과 같다.

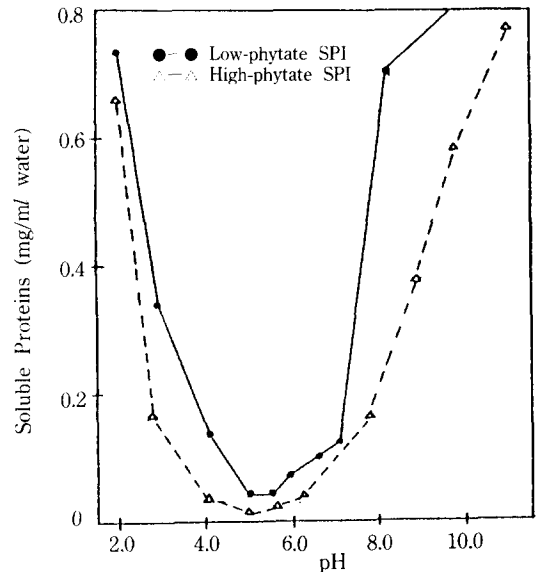


Fig. 1. Solubility of two soy protein isolates at various pH levels

Phytate의 첨가량이 증가함에 따라 가용성 부분인 상징액에서 phytate 양은 조금 증가하였으나 침전물에서의 phytate 양은 크게 증가하는 경향을 보였다. 한편, 가용성단백질 함량은 phytate 농도가 증가할수록 high-phytate 및 low-phytate SPI 모두 급격히 감소하는 현상을 보여 phytate의 농도가 높아질수록 더 많은 단백질이 침전되는 것을 알 수 있다.

이 실험에서 phytate/protein의 비율을 보면 상징액에서는 phytate의 첨가량에 따라 비례적으로 증가하였다. 한편 침전물에서의 phytate/protein 비율을 보면 phytate의 첨가량에 따라 조금씩 증가하지만 좁은 범위에서 변화되고 있음을 볼 수 있다. 결국 phytate가 대두단백질과 결합되면 용해성이 상실되어 침전되어 버리는데 phytate와 단백질 사이에는 어느 정도의 stoichiometric reaction이 일어나고 있는 것으로 추정된다. 또한, high-phytate SPI가 low-phytate SPI보다 phytate와의 결합도가 높게 나타났다. O'Dell과 de Boland⁽³⁾는 대두단백질은 phytate와 강하게 결합하나 lysine과 arginine이 풍부한 옥수수배아의 albumin은 phytate와 결합하지 않으므로 단백질과 phytate와의 결합은 염기성 아미노산의 농도와 상관없다고 하였다. 본 실험에서 두 가지 분리 대두단백의 phytate와의 결합도 차이는 단백질 분자의 conformation 차이로 추정된다. 따라서 전기영동 등의 방법으로 두 가지 분리 대두단백의 subunit 구조와 아울러 phytate와의 결합부위에 대해 더 깊은 연구가 이루어져야 할 것이다.

pH 2.0~8.0의 범위에서 단백질과 결합한 phytate 양의 변화를 보면 Fig. 2와 같다. 그 결과를 보면 pH 2.5에서 결합도가 가장 높았고 그 이외의 pH에서는 결합도가

Table 2. Effect of phytate concentration on the protein binding of high-phytate soy protein isolate at pH 2.5

Total phytate added (mg/g SPI)	Total phytate(mg)		Total protein(mg)		Phytate/protein ratio	
	Supernatant	Precipitate ^{a)}	Supernatant	Precipitate ^{b)}	Supernatant	Precipitate
0	21.4	3.4	158.7	771.3	0.13	0.004
25	39.1	10.7	59.3	870.7	0.66	0.012
50	40.9	33.9	4.6	925.4	8.89	0.037
75	38.9	60.9	1.0	929.0	38.90	0.066

^{a)}Calculated by subtracting total phytate in the supernatant from sum of added phytate and the amount(24.8 mg) present in 1g of high-phytate SPI

^{b)}Calculated by subtracting total protein in the supernatant from total protein(930 mg) in 1g of high-phytate SPI

Table 3. Effect of phytate concentration on the protein binding of low-phytate soy protein isolate at pH 2.5

Total phytate added(mg/g SPI)	Total phytate(mg)		Total protein(mg)		Phytate/protein ratio	
	Supernatant	Precipitate ^{a)}	Supernatant	Precipitate ^{b)}	Supernatant	Precipitate
0	7.2	0.0	510.0	395.0	0.014	0.000
25	30.4	1.8	309.6	595.4	0.098	0.003
30	33.7	23.5	7.7	897.3	4.38	0.026
75	37.7	44.5	3.5	901.5	10.77	0.049

^{a)}Calculated by subtracting total phytate in the supernatant from sum of added phytate and the amount(7.2 mg) present in 1g of low-phytate SPI

^{b)}Calculated by subtracting total protein in the supernatant from total protein(905 mg) in 1g of high-phytate SPI

감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 등전점 보다 낮은 pH에서 양성전하를 띤 단백질 표면의 염기성 그룹(lysyl, histidyl, arginyl)에 phytic acid의 음이온 그룹이 결합되어 불용성 복합체를 형성하기 때문으로 보인다. 반면, 등전점보다 높은 pH에서는 단백질과 phytate가 음성전하를 띠게 되어 Ca²⁺, Mg²⁺ 과 같은 양이온이 관여한 단백질-무기질-phytate의 불안정한 복합체를 형성하기 때문이 아닌가 생각된다.

O'Dell과 de Boland³³⁾은 pH 9.0에서 가용성 대두단백질과 phytate가 강하게 결합된다는 것을 전기영동에서 보여주었고, Reddy 등¹⁴⁾은 pH 8.4에서 일어난 phytate와 단백질의 결합은 등전점 보다 높은 pH에서 phytate의 polyvalent 성질 때문에 Ca, Mg 등의 양이온의 중재에 의하여 단백질-양이온-phytic acid의 3차원적 복합체를 형성하기 때문이라 하였다.

한편 high-phytate SPI는 low-phytate SPI보다 결합도가 높게 나타났다. 이러한 결과는 두 가지 방법으로 제조한 SPI의 입체구조나 전하의 차이라고 추정된다. 따라서, 전기영동 등의 방법으로 pH에 따른 두 가지 SPI의 결합도 변화가 더 연구되어야 할 것이다.

대두단백질의 소화율에 미치는 phytate의 영향

Phytate가 대두단백질의 pepsin 소화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험한 결과는 Fig. 3과 같다.

대조군(phytate 무첨가군)에서 두 가지 SPI의 소화율을 비교할 때, low-phytate SPI가 high-phytate SPI보다 평균 7.6% 더 높았고, 소화시간이 길어질수록 소화율의 차이가 더 크게 나타났다. Ritter 등¹⁵⁾은 phytate와 phe-

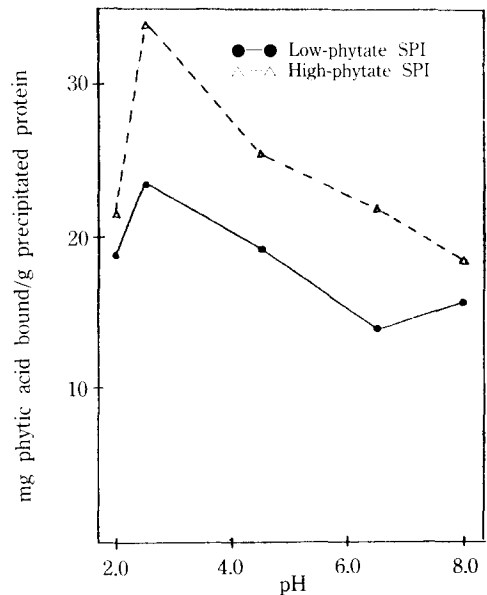


Fig. 2. Amounts of phytic acid bound to low-phytate and high-phytate soy protein isolates at different pH levels

nolics의 함량을 감소시킨 분리 대두단백은 정제되지 않은 대두단백질보다 소화가 더 잘 되었고, 0.07% phytate를 함유한 11S 대두단백질이 1.41% phytate를 함유한 7S 대두단백질보다 소화가 더 잘 되었다고 보고한 바 있다. 본 실험결과는 Ritter 등의 보고와 아울러 대두단백질에 함유된 phytate가 단백질의 소화율에 저해적 작

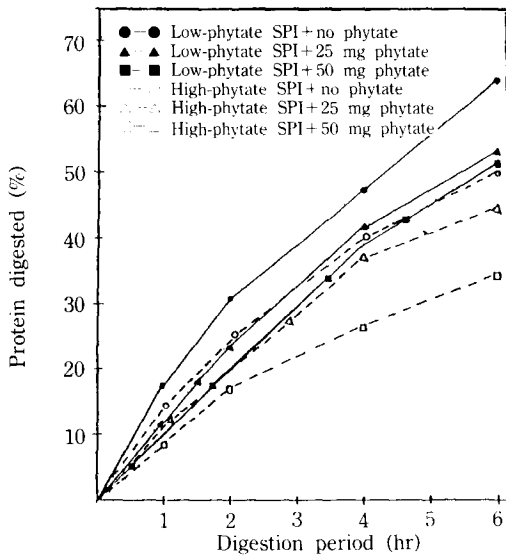


Fig. 3. Effect of phytate on the pepsin digestion of soy protein isolates

용을 하고 있음을 말해주고 있는 것이다.

High-phytate 및 low-phytate SPI 모두 phytate의 첨가량이 증가할수록 대두단백질의 소화율은 phytate를 첨가하지 않은 것에 비하여 5~10% 감소하였다. Knuckles 등⁽¹⁶⁾은 가장 높은 phytate 수준에서 casein과 bovine serum albumin의 소화율이 각각 14%, 7% 감소되었다고 하였다. 본 실험에서도 대두단백질에 phytate를 첨가했을 때 대두단백질의 pepsin 소화율이 감소되었으며, 이러한 결과는 phytate와 단백질의 복합체가 형성되어 효소의 접근이 억제되었기 때문이라 생각된다.

위의 결과들을 종합해 볼 때, pH 11.5에서 단백질을 추출하여 원심분리를 통해 phytate를 제거시키는 방법으로 phytate 함량이 낮은 분리 대두단백을 제조함으로써 대두단백질의 용해성과 소화율을 향상시킬 수 있을 것으로 생각된다. 그리고 대두단백질에 phytate를 첨가하였을 때 단백질의 용해성이 상실되어 침전되며, 단백질의 소화율이 감소된 결과로 보아 phytic acid의 함량이 높은 식품에서는 그의 함량을 감소시키거나 제거하는 것이 필요하리라 생각된다.

요 약

대두의 영양 저해인자로 알려진 phytic acid를 pH를 조절하는 각기 다른 방법으로 제거한 low-phytate soy protein isolate(SPI)와 high-phytate SPI를 얻어 이들 분리 대두단백의 용해도와 소화율에 미치는 phytic acid 함량의 영향을 조사하였다. 분리 대두단백의 phytic acid 함량은 high-phytate SPI에서 2.48%이었고, low-phytate SPI에서는 0.72%이었다. 분리 대두단백의 용해도는 모든 pH에서 low-phytate SPI가 high-phytate SPI 보다 높았

으며 phytic acid의 첨가량이 많을수록 용해도가 떨어져 침전되었다. 분리 대두단백의 소화율에 미치는 phytic acid의 저해적 영향은 phytic acid 첨가량이 증가할수록 더 컸으며, low-phytate SPI 보다 high-phytate SPI에서 그 저해효과가 약간 크게 나타났다.

문 헌

1. Liener, I.E.: *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*. Academic Press, New York, p.7 (1980)
2. Davies, N.T. and Nightingale, R.: The effects of phytate on intestinal absorption and secretion of zinc, and wholebody retention of zinc, copper, iron and manganese in rats. *Brit. J. Nutr.*, **34**, 243(1975)
3. O'Dell, B.L. and de Boland, A.: Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oil-seed meals. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 804(1976)
4. 김우정, 김나미, 성현순: 발아에 의한 콩우유의 phytic acid와 가용성 무기질의 함량 변화. *한국식품과학회지*, **16**, 358(1984)
5. 안 빈, 양차범: 처리방법에 따른 종자 중 phytic acid의 함량 변화. *한국식품과학회지*, **17**, 516(1985)
6. 배영희, 윤 선: 대두의 발효가 흰쥐의 단백질 및 무기질의 생체이용률에 미치는 영향. *한국영양학회지*, **18**, 139(1985)
7. de Rham, O. and Jost, T.: Phytate-protein interactions in soybean extracts and low-phytate soy protein products. *J. Food Sci.*, **44**, 596(1979)
8. Wheeler, E.L. and Ferrel, R.E.: A method for phytic acid determination in wheat and wheat fractions. *Cereal Chem.*, **48**, 313(1971)
9. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
10. Mauron, J., Mattu, F., Bujard, E. and Egli, R.H.: The availability of lysine, methionine and tryptophan in condensed milk and milk powder. *In vitro* digestion. *Arch. Biochem. Biophys.*, **59**, 433(1955)
11. Brooks, J.R. and Morr, C.V.: Phytate removal from soy protein isolates using ion exchange processing treatments. *J. Food Sci.*, **47**, 1280(1982)
12. Hartman, G.H. Jr.: Removal of phytate from soy protein. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 731(1979)
13. Smith, A.K. and Rackis, J.J.: Phytin elimination in soybean protein isolation. *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 633(1957)
14. Reddy, N.R. and Salunkhe, D.K.: Interactions between phytate, protein and minerals in whey fractions of black gram. *J. Food Sci.*, **46**, 564(1981)
15. Ritter, M.A., Morr, C.V. and Thomas, R.L.: *In vitro* digestibility of phytate-reduced and phenolics-reduced soy protein isolates. *J. Food Sci.*, **52**, 325(1987)
16. Knuckles, B.E., Kuzmicky, D.D. and Betschart, A.A.: Effect of phytate and partially hydrolyzed phytate on *in vitro* protein digestibility. *J. Food Sci.*, **50**, 1080(1985)