

콩 종자의 Raffinose 및 Stachyose 함량에 대한 유전자형과 환경의 영향

성미경* · 한성진* · 서형진* · 최상우* · 남상해** · 정종일*[†]

*경상대학교 농학과, 생명과학연구원, **경남과학기술대학교, 식품과학부

Genotype and Environment Influence on Raffinose and Stachyose Content of Soybean Seed

Mi Kyung Sung*, Sung Jin Han*, Hyung Jin Seo*, Sang Woo Choi*, Sang Hae Nam**, and Jong Il Chung*[†]

*Department of Agronomy, Research Institute of Life Sci., Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

**Department of Food Science, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 660-758, Korea

ABSTRACT Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) is an important crop for protein, oil, carbohydrates, isoflavones, and many other nutrients to humans and animals. But, antinutritional factors in the raw mature soybean are exist. Raffinose and stachyose are main antinutritional factors in soybean seed. Both raffinose and stachyose are carbohydrates, belonging to the raffinose family of oligosaccharides (RFOs). RFOs are not readily digested in humans and cause flatulence or diarrhea. The objective of this research is to obtain the information on raffinose and stachyose content according to genotype and environment. A total of twenty two soybean genotypes (11 cultivars, 3 germplasm and 8 breeding lines) were selected. Each genotype was grown in the field for two years with two replications and harvested in bulk at natural maturity for two years. Content of raffinose and stachyose was detected by HPLC. The raffinose content (g/kg) of 22 genotypes was 2.68±0.21 - 5.87±2.43 in year 1 and was 3.24±0.37 - 9.05±0.16 in year 2. The stachyose content (g/kg) was 4.23±0.98 - 27.68±9.90 at year 1 and was 5.11±1.09 - 25.32±0.35 in year 2. Genotype and environment have highly significant effects on raffinose and stachyose content. Three genotypes (Da-7, 116-13, and RS-78) have low stachyose content at 5% significant level in two years. A positive correlation ($R^2=0.1985^*$) between raffinose and stachyose was observed in year 2. These informations are valuable in soybean genetics and breeding program related with raffinose and stachyose content.

Keywords : Raffinose, stachyose, genotype, environment, soybean

콩(*Glycine max* (L.) Merr.) 종자에는 대체적으로 수용성 탄수화물 11%, 단백질 40%, 지방 21% 정도의 3대 영양소가 골고루 함유되어 있어 예로부터 양질의 단백질과 지질의 공급원으로 널리 이용되어져 왔다(Openshaw and Hadley, 1978). 콩 성숙 종자의 탄수화물은 50%의 insoluble carbohydrate와 50%의 soluble carbohydrate로 이루어져 있다. Insoluble carbohydrate에는 pectin, cellulose, hemicellulose, starch 등이 있고 soluble carbohydrate에는 mono- saccharide (glucose, fructose), di-saccharide (sucrose), raffinose oligosaccharide (raffinose, stachyose)가 있으며, 주요 soluble sugar는 sucrose, raffinose, stachyose로 구성되어 있다. Raffinose 및 stachyose는 콩류에 가장 많이 함유되어 있는 올리고당으로 대두 올리고당이라고도 불린다. 올리고당은 단당이 2-10개 정도 결합한 oligomer로 분자량 300-2,000가량의 저분자 물질로 인체 효소에 의해 분해흡수되지 않는 난소화성이다. 올리고당은 식물계에 널리 분포되어 있으나 sucrose가 약 5%, raffinose가 1%, stachyose가 4% 정도로 콩에 특히 많이 존재한다. Raffinose와 stachyose는 sucrose에 galactose가 α -1, 6결합으로 1개 또는 2개 결합되어 있는 형태로 장내에는 α -galactosidase 효소가 결핍되어 있어 sucrose와 galactose로 분해시키지 못하기 때문에 난소화성인 것으로 밝혀져 있다(Suarez et al., 1999). 난소화성당은 분해되지 않은 상태로 대장에 도달하게 되고, 대장 내의 혐기성 미생물에 의해 분해되면서 가스가 발생하면서 장을 불편하게 하고 체외로 배출시켜 불쾌감을 주는 것으로 알려져 있다(Murphy et al., 1972). 콩 성숙 종자에서 raffinose 및 stachyose의 함량이 낮은 유전자원이 밝혀져 있다(Kerr and Sebastian, 2000). Dierking와

[†]Corresponding author: (Phone) +82-055-772-1872 (E-mail) jongil@gnu.ac.kr

<Received 25 April, 2014; Revised 12 May, 2014; Accepted 18 June, 2014>

Bilyeu (2008)는 PI200508로부터 *RS2*라는 raffinose synthase의 새로운 allele를 발견하였고. *RS2* gene은 raffinose 함량을 낮게 한다고 하였다. Hou *et al.* (2009)은 유전자형, 성숙군, 원산지에 따른 raffinose 및 stachyose의 함량 변이를 보고하였고, Kumar *et al.* (2010)은 재배환경에 따른 함량의 변이를 보고한 바 있다. Neus *et al.* (2005)은 정상계통과 raffinose 및 stachyose의 함량이 적은 계통간 농업적 형질의 차이를 보고하였다. 한편 국내에서는 Choung (2005)이 32개의 장려품종과 468개의 유전자원을 이용하여 soluble carbohydrate인 glucose, sucrose, raffinose 및 stachyose의 함량 변이를 보고하였으며. NIRS을 이용하여 sucrose, raffinose 및 stachyose의 함량을 빠르게 분석하는 방법을 보고하였다(Choung, 2010). 콩의 맛과 품질을 높이기 위해서는 sucrose의 함량이 높은 콩 계통의 선발이 필요하지만 반면에 raffinose 및 stachyose의 함량은 적은 품종의 육성이 요구된다. 따라서, 본 연구의 목적은 raffinose 및 stachyose의 함량이 적은 콩 품종 육성을 위하여 요구되는 기본정보를 얻기 위하여 장려품종, 육성계통, 유전자원을 이용하여 유전자원간 년차간 raffinose 및 stachyose의 함량변이를 관찰하고자 수행되었다.

재료 및 방법

유전자원

콩의 genotype 및 environment에 따른 성숙종자에 존재하는 raffinose 및 stachyose의 함량 변이에 대한 정보를 얻기 위하여 전체 22개의 유전자형을 이용하였다(Table 1). 국내 장려품종 11 품종, 3개의 유전자원, 8개의 breeding line을 이용하여 2012년 및 2013년 부속농장 전작포장에 6월 10일 70 × 15 cm의 재식거리로 파종하여 1주 1분을 유지하였다. 시험구 배치는 완전임의배치법 2반복으로 하였다.

Raffinose 및 stachyose 함량 분석

포장에 파종된 22개의 유전자형에 대하여 성숙시 수확하여 자연 건조 후 유전자형별로 random 종자를 선발하여 raffinose 및 stachyose의 함량을 분석하기 위한 시료로 사용하였다. 선발된 성숙 종자를 막자와 사발을 이용하여 파쇄 한 후 분말 200 mg을 취해 3 ml의 acetone 처리를 하고 60°C의 water bath에 두어 2시간 동안 반응시킨 후, 이를 2000 rpm으로 5분간 원심분리하여 침전물을 취함으로써 지방질을 제거하였다. 침전물을 약 60°C의 heating block에서 열처리하여 남은 유기용매를 완전히 제거하였고, 삼차 증류수 1.9 ml을 가하여 60°C의 water bath에 2시간 동안 둔 후 0.1 ml의 1M 5-SSA (5-sulfosalicylic acid)를 첨가하여 4°C에 두고 overnight

시켰다. 이를 3000 rpm으로 5분간 원심분리하여 침전물은 버리고 상등액을 취하여 시료에 포함된 단백질을 비롯한 방해물질을 제거한 후 상등액 0.8 ml에 동량의 삼차 증류수를 넣고 4°C에서 12000 rpm으로 10분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 0.2 μm membrane filter에 상등액을 여과시킨 후 4°C에 보관하여 HPLC (High performance liquid chromatography)로 raffinose 및 stachyose 함량을 분석하였다. 사용된 HPLC는 Agilent 1100 series (Agilent Technologies, USA)이며, RI (reflective index) detector를 사용하였다. 분석 column은 Supelcogel 610-H column (300 × 7.8 mm i.d., 9 μm, Supelco, USA)을 사용하였으며, elution solvent는 0.1% H₃PO₃ 수용액을 사용하였고, 이동상의 flow rate는 0.6 ml/min, 시료의 주입량은 10 μl이었다. 각각의 표준용액은 100 mg/ml을 삼차 증류수에 용해하여 stock solution으로 갈색 유리병에 냉장보관한 후, 희석하여 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 mg/ml로 하여 각각의 chromatogram을 얻었으며 peak의 면적당 표준용액 농도의 관계로 검량선을 작성하여 시료의 raffinose 및 stachyose 함량 정량분석에 적용하였다.

통계처리는 SAS 프로그램을 이용하여 분산분석, 덩컨의 다중검정, 상관관계 및 유의성 분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

Raffinose와 stachyose의 함량변이

유전자형 및 재배환경에 따른 콩 성숙 종자에 함유되어져 있는 raffinose 및 stachyose의 함량 변이를 관찰하기 위하여 22개의 유전자형을 선발하여 2년(2012년, 2013년)간 재배 후 함량을 분석하였으며 soluble carbohydrate의 HPLC

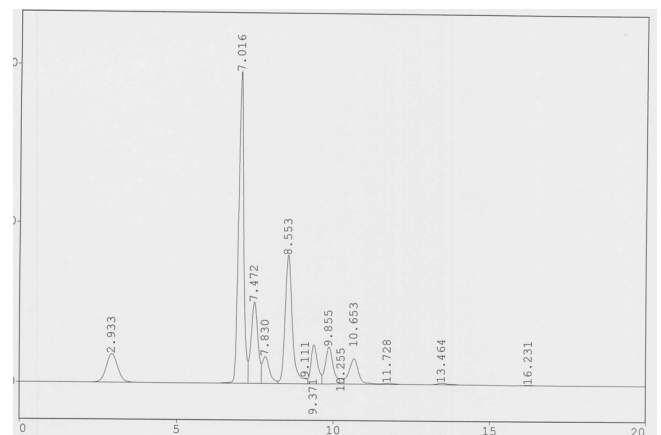


Fig. 1. HPLC chromatogram of the soluble carbohydrates in soybean seeds (peak 7.472=stachyose, peak 7.830=raffinose, peak 8.553=sucrose).

Table 1. List of 22 genotypes used and raffinose and stachyose content(g/kg) for two years.

Genotype	Class ¹⁾	Stachyose		Raffinose	
		Year 1	Year 2	Year 1	Year 2
CJ#1	C	17.78±1.51 ²⁾	21.50±0.42	4.19±0.17	6.44±0.18
Gaechuck#1	C	15.93±2.06	19.45±1.36	3.32±0.60	4.69±1.60
Gaechuck#2	C	18.13±1.00	21.18±0.93	4.28±0.56	6.40±0.46
Gyeongsang#1	C	15.61±0.52	17.42±0.88	2.96±0.04	7.51±0.02
Gyeongsang#3	C	22.77±1.79	23.87±0.19	3.99±0.16	6.36±0.58
Jinpum#2	C	27.68±9.90	22.43±1.22	5.25±2.95	5.93±1.42
Jinnong#1	C	18.06±1.16	19.58±4.16	3.18±0.57	6.37±0.16
Jinnong#2	C	23.10±0.63	24.39±3.63	4.16±1.68	5.90±0.46
Taekwangkong	C	14.69±2.21	17.52±2.06	3.01±0.59	4.69±1.99
Pumsannamulkong	C	12.92±1.44	16.18±1.12	3.17±1.28	4.94±2.56
Hwangkumkong	C	15.97±2.74	17.93±3.78	2.86±0.97	5.24±0.98
PI506903	G	19.41±4.27	23.86±2.33	3.31±0.32	4.97±0.24
PI507226A	G	16.70±3.92	23.60±1.42	5.87±2.43	7.80±1.29
PI507487	G	18.71±2.47	17.36±2.20	4.15±0.67	6.47±1.90
Da-7	B	6.75±1.39	5.28±0.28	3.98±0.35	3.24±0.37
P34-162	B	23.53±1.27	25.20±1.10	2.68±0.21	4.57±0.49
10R9	B	18.91±4.67	20.53±0.18	5.53±0.21	9.05±0.16
RS-78	B	4.23±0.98	6.87±0.47	3.51±0.26	4.75±0.89
116-13	B	4.38±1.29	5.11±1.09	3.67±1.16	3.35±0.34
70F7-1	B	22.83±3.90	25.45±0.02	4.43±2.46	5.08±0.23
70F7-2	B	20.12±0.88	25.32±0.35	3.69±1.42	5.36±0.60
09M1	B	14.89±0.16	19.82±1.93	3.41±0.93	8.72±0.48

¹⁾C: current cultivar, G: germplasm, B: breeding inbred line

²⁾Each value represents the mean±standard deviation (n = 2).

Table 2. Mean squares from analysis of variance of stachyose and raffinose content(g/kg) for soybean genotypes during 2013 and 2014 year.

Source	df	Mean Squares	
		Stachyose	Raffinose
Genotype (G)	21	139.42**	4.15**
Year (Y)	1	99.34**	85.06**
G x Y	21	6.54	1.88
Error	44	6.44	1.29

** Significant at the 0.01 probability level.

분석 peak는 Fig. 1과 같다. Table 1은 이용된 22개의 유전자형과 년차간 함량을 나타낸다. 1년차(Year 1, 2013년) 실험결과 raffinose의 함량은 2.68±0.21 - 5.87±2.43 g/kg의 범

위를 보였으며 Hwangkumkong에서 가장 낮았으며 PI507226A 유전자원이 가장 높은 값을 보였다. 2년차(Year 2, 2014년)에서는 3.24±0.37 - 9.05±0.16 g/kg의 범위를 보였고 Da-7 계통에서 가장 낮았으며 반면에 10R9 계통에서 가장 높았다. Stachyose의 함량은 1년차에서는 4.23±0.98 - 27.68±9.90 g/kg의 범위를 보였으며 RS-78 계통에서 가장 낮았으며 Jinpum#2에서 가장 높은 값을 보였다. 2년차(Year 2, 2014년)에서는 5.11±1.09 - 25.32±0.35 g/kg의 범위를 보였고 116-13 계통에서 가장 낮았으며, 70F7-2 계통에서 가장 높았다. 선발된 22개의 유전자형을 이용한 2년간 실험결과 stachyose의 함량이 raffinose의 함량보다 높았고 년차에 따라 함량의 값에서 차이를 보였다.

유전자형 및 년차에 따른 stachyose 및 raffinose의 함량에 대한 분산분석 결과는 Table 2와 같다. 유전자형과 년차

간 stachyose 및 raffinose의 함량은 고도의 유의성을 보였고 상호작용은 인정되지 않았다.

22개의 유전자형을 이용한 콩 성숙 종자에서 raffinose 및 stachyose의 함량은 유전자형에 따라 차이를 보여(Table 1, 2) 유전적 개량이 가능함을 보였다. 이러한 결과는 이전의 연구자들이 보고한 결과와 유사하였다. Hou *et al.* (2009)은 241개의 유전자원을 대상으로 stachyose 및 raffinose의 함량을 조사하였는데 stachyose의 함량은 0.2 - 69.6 mg/g 범위였고 raffinose의 함량은 0.1 - 19.9 mg/g로 성숙군, 원산지, 유전자형에 따라 함량에서 다양한 변이를 보고하였다. Kumar *et al.* (2010)은 148개의 유전자형을 재료로 raffinose 함량은 0.64 - 2.53 mmol/100g, stachyose 함량은 2.09 - 7.1

mmol/100g로 보고하여 raffinose와 stachyose 함량은 재배 지역 및 유전자형에 영향을 받는다고 하였다. Choung (2005)은 32개의 국내 장려품종을 재료로 raffinose의 함량은 0.86 - 1.78%, stachyose의 범위는 1.36 - 3.32%의 범위로 품종간 차이를 보고하였다. 장려품종을 제외한 468개의 유전자원에서는 raffinose가 0.08 - 1.87%, stachyose가 0.75 - 3.18%의 범위로 함량변이가 더 심함을 보고하였다.

Raffinose와 stachyose 함량의 년차간 변이

본 연구에서 이용된 22개의 유전자형에 대한 stachyose 및 raffinose의 평균간 차이는 Table 3과 4와 같다.

Table 3. Mean rank and mean of 22 genotypes for stachyose content (g/kg) averaged two replication across 2 years.

Mean Rank	Stachyose			
	Year 1		Year 2	
	Genotype	Mean ¹⁾	Genotype	Mean ¹⁾
1	Jinpum#2	27.68a	70F7-1	25.45a
2	P34-162	23.53ab	70F7-2	25.32a
3	Jinnong#2	23.10abc	P34-162	25.20a
4	70F7-1	22.83abc	Jinnong#2	24.39ab
5	Gyeongsang#3	22.77abc	Gyeongsang#3	23.87abc
6	70F7-2	20.12bcd	PI506903	23.86abc
7	PI506903	19.41bcd	PI507226A	23.60abc
8	10R9	18.91bcd	Jinpum#2	22.43abc
9	PI507487	18.71bcd	CJ1#1	21.50abcd
10	Gaechuck#2	18.13bcd	Gaechuck#2	21.18abcd
11	Jinnong#1	18.06bcd	10R9	20.53bcde
12	CJ1#1	17.78bcd	09M1	19.82cde
13	PI507226A	16.70bcd	Jinnong#1	19.58cde
14	Hwangkumkong	15.97cd	Gaechuck#1	19.45cde
15	Gaechuck#1	15.93cd	Hwangkumkong	17.93de
16	Gyeongsang#1	15.61cd	Taekwangkong	17.52de
17	09M1	14.89d	Gyeongsang#1	17.42de
18	Taekwangkong	14.69d	PI507487	17.36de
19	Pumsan-namulkong	12.92de	Pumsan-namulkong	16.18e
20	Da-7	6.75ef	RS-78	6.87f
21	116-13	4.38f	Da-7	5.28f
22	RS-78	4.23f	116-13	5.11f

¹⁾Mean values followed by the same letter are not significantly different at the $\alpha = 0.05$ probability level.

Table 4. Mean rank and mean of 22 genotypes for raffinose content (g/kg) averaged two replication across 2 years.

Mean Rank	Raffinose			
	Year 1		Year 2	
	Genotype	Mean ¹⁾	Genotype	Mean ¹⁾
1	PI507226A	5.87a	10R9	9.05a
2	10R9	5.53ab	09M1	8.72ab
3	Jinpum#2	5.25ab	PI507226A	7.80abc
4	70F7-1	4.43ab	Gyeongsang#1	7.51abcd
5	Gaechuck#2	4.28ab	PI507487	6.47bcde
6	CJ#1	4.19ab	CJ#1	6.44bcde
7	Jinnong#2	4.16ab	Gaechuck#2	6.40bcde
8	PI507487	4.15ab	Jinnong#1	6.37bcde
9	Gyeongsang#3	3.99ab	Gyeongsang#3	6.36bcde
10	Da-7	3.98ab	Jinpum#2	5.93cde
11	70F7-2	3.69ab	Jinnong#2	5.90cde
12	116-13	3.67ab	70F7-2	5.36cdef
13	RS-78	3.51ab	Hwangkumkong	5.24def
14	09M1	3.41ab	70F7-1	5.08def
15	Gaechuck#1	3.32ab	PI506903	4.97def
16	PI506903	3.31ab	Pumsan-namulkong	4.94ef
17	Jinnong#1	3.18ab	RS-78	4.75ef
18	Pumsan-namulkong	3.17ab	Gaechuck#1	4.69ef
19	Taekwangkong	3.01ab	Taekwangkong	4.69ef
20	Gyeongsang#1	2.96ab	P34-162	4.57ef
21	Hwangkumkong	2.86b	116-13	3.35f
22	P34-162	2.68b	Da-7	3.24f

¹⁾Mean values followed by the same letter are not significantly different at the $\alpha = 0.05$ probability level.

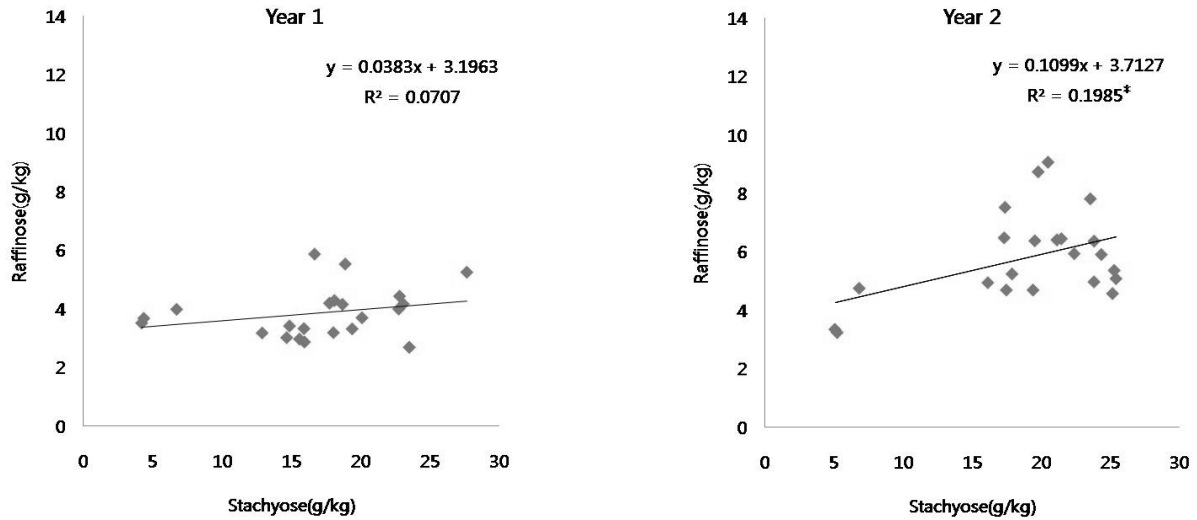


Fig. 2. Relation of raffinose and stachyose content for 22 genotypes as determined by cultivation year. * Significant at the 0.05 probability level.

Stachyose 함량에서는 2년간 모두 유전자형에 따라 5% 유의수준에서 평균함량에서 차이를 보였고 이는 이전의 연구자들과 같은 경향이었다. 2년차 평가 모두에서 Da-7, 116-13, RS-78 유전자형은 유의하게 낮은 함량을 보였다. 주요 장려품종 중에서는 Jinpum#2가 2년 모두 가장 높은 값을 보였다. 22개의 유전자형을 높은 평균 함량을 기준으로 순서로 볼 때 3개의 유전자형(Gyeongsang#3, Gaechuck#2, Pumsannamulkong)은 2년 동일했으며, 4개의 유전자형(PI507226A, Jinpum#2, 09M1, PI507487)은 년차에 따라 순서의 변동이 심하였다. 이러한 결과는 stachyose의 함량은 유전자형에 따라 환경의 영향을 받는 정도에서 차이가 있음을 나타내었다. Raffinose 함량의 경우 2년간 모두 유전자형에 따라 5% 유의수준에서 평균함량에서 차이를 보였으며 stachyose의 함량보다 변이가 작았고 콩 종실에서 이들이 차지하는 비율은 이전의 연구자들과 같은 경향이었다. 1년차 평가에서는 Hwangkumkong 및 P34-162 유전자형이 낮은 값을 보였고 2년차에서는 116-13과 Da-7 유전자형이 낮은 값을 보였다. 3개의 유전자형(CJ#1, Gyeongsang#3, Taekwangkong)은 함량의 순서에서 2년간 동일하였으며 환경에 따른 함량의 차이는 stachyose와 마찬가지로 유전자형에 따라 차이가 있었다.

Raffinose와 stachyose 함량의 상관

22개의 유전자형을 이용한 raffinose 및 stachyose의 함량에서 년차간에 나타나는 상호관계는 Fig. 2와 같다. 2년차 모두 stachyose의 함량이 raffinose의 함량보다 높고, raffinose의 함량이 높아지면 stachyose의 함량도 높아지는 정의 상관관계를 보였다. 그러나 1년차에서는 통계적으로 유의성

이 인정되지 않았으나 2년차에서는 5% 유의수준에서 유의하였고($R^2=0.1985^*$) 이러한 결과는 raffinose와 stachyose의 함량간에는 $r=0.68$ 로 높은 정의 상관관계를 보고한 이전의 연구결과(Hou et al. 2009)와 유사하였다. 이러한 결과는 콩에서 raffinose 및 stachyose의 성분과 관련된 유전 육종연구를 위한 기초자료로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

콩 성숙 종자에 존재하는 raffinose 및 stachyose의 함량이 적은 콩 품종 육성을 위하여 요구되는 기본정보를 얻기 위하여 장려품종, 육성계통, 유전자원등 22개의 유전자원과 2년간 함량변이를 관찰한 결과는 아래와 같았다.

1. Raffinose의 함량(g/kg)은 1년차의 경우 2.68 ± 0.21 - 5.87 ± 2.43 의 범위를 보였고 2년차에서는 3.24 ± 0.37 - 9.05 ± 0.16 의 범위를 보였다.
2. Stachyose의 함량(g/kg)은 1년차에서 4.23 ± 0.98 - 27.68 ± 9.90 , 2년차에서는 5.11 ± 1.09 - 25.32 ± 0.35 의 범위를 보였다.
3. 분산분석 결과 유전자형과 년차간 stachyose 및 raffinose의 함량은 고도의 유의성을 보였고 상호작용은 인정되지 않았다.
4. Stachyose 함량에서는 2년차 평가 모두에서 Da-7, 116-13, RS-78 유전자형이 유의하게 낮은 함량을 보였다.
5. Raffinose 함량은 1년차 평가에서 Hwangkumkong 및 P34-162 유전자형이 낮은 값을 보였고, 2년차에서는

116-13과 Da-7 유전자형이 낮은 값을 보였다.

6. Raffinose와 stachyose의 함량간에는 2년차 평가에서 유의한 정의 상관관계($R^2=0.1985^*$)을 보였다.

사 사

본 연구는 농림축산식품부의 농림수산물기술평가위원의 연구개발과제(관리번호: 111097-03-1-SB010) 지원에 의해 이루어진 것입니다.

인용문헌(REFERENCES)

- Choung, M. G. 2005. Determination of soluble carbohydrates in soybean seeds. *Korean J. Crop Sci.* 50(5) : 319-324.
- Choung, M. G. 2010. Determination of sucrose content in soybean using Near-infrared Reflectance spectroscopy. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 53(4) : 478-484.
- Dierking, E. C. and K. D. Bilyeu. 2008. Association of a Soybean Raffinose Synthase Gene with Low Raffinose and Stachyose Seed Phenotype. *The Plant Genome* 1 : 135-145.
- Hou, A., P. Chen, J. Alloatti, D. Li, L. Mozzoni, B. Zhang, and A. Shi. 2009. Genetic variability of seed sugar content in worldwide soybean germplasm collections. *Crop Science* 49 : 903-912.
- Kerr, P. S. and S. A. Sebastian. 2000. Soybean products with improved carbohydrate composition and soybean plants. U.S. Patent 6147193. Date issued: 14 November.
- Kumar, V., A. Rani, L. Goyal, A. K. Dixit, J. G. Manjaya, and M. Swamy. 2010. Sucrose and raffinose family oligosaccharides (RFOs) in soybean seeds as influenced by genotype and growing location. *J. Agric. Food Chem.* 58 : 5081-5085.
- Murphy, E. L., H. Horsley, and H. K. Burr. 1972. Fractionation of Dry Bean Extracts Which Increase Carbon Dioxide Egestion in Human Flatus. *J. Agr. Food. Chem.* 20 : 813-817.
- Neus, J. D., W. R. Fehr, and S. R. Schnebly. 2005. Agronomic and seed characteristics of soybean with reduced raffinose and stachyose. *Crop Science* 45 : 589-592.
- Openshaw, S. J. and H. H. Hadley. 1978. Maternal effects on sugar content in soybean seeds. *Crop Sci.* 18(4) : 581-584.
- Suarez, F. L., J. Springfield, J. K. Furne, T. T. Lohrmann, P. S. Kerr, and M. D. Levitt. 1999. Gas production in humans ingesting soybean flour derived from beans naturally low in oligosaccharides. *Am. J. Clin. Nutr.* 69 : 135-139.