In Vitro Digestion Model을 활용한 두류 소화 단계별 영양성분 변화 분석

^{*}이다빈·장경아^{*}·황인선^{*}·강민숙^{*}·서미경^{**}·김행란^{***}·유선미^{***}

농촌진흥청 국립농업과학원 식생활영양과 석사연구원, ^{*}농촌진흥청 국립농업과학원 식생활영양과 농업연구사, ^{**}농촌진흥청 국립농업과학원 식생활영양과 연구원, ^{***}농촌진흥청 국립농업과학원 식생활영양과 농업연구관

Analysis of Nutrient Content by Digestion Phase of Legumes using an In Vitro Digestion Model

^{*}Da Bin Lee, Kyeong A Jang^{*}, In Seon Hwang^{*}, Min Sook Kang^{*},

Mi-Kyung Seo**, Haeng Ran Kim*** and Seon Mi Yoo***

Master's Degree Researcher, Food and Nutrition Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea *Researcher, Food and Nutrition Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

**Researcher Assistant, Food and Nutrition Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

*** Senior Researcher, Food and Nutrition Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

Abstract

Changes in contents of free sugars, amino acids, and fatty acids of legumes were analyzed for each phase of *in vitro* digestion. In addition, contents of resistant starch in raw and digested pulses were compared. Soybeans, kidney beans, cowpeas, and chickpeas were analyzed. An *in vitro* digestion model was used to analyze contents of nutrients using LC-MS and GC-MS. Stachyose in kidneybean, cowpea, and chickpea increased as the digestion phase progressed. In four types of legumes, raffinose slightly decreased or showed no significant difference between the Oral phase and the BBMV phase. Content of glucose, a monosaccharide, increased during the BBMV phase. During the digestion phase, levels of free amino acids and free fatty acids also increased. Content of resistant starch was reduced compared to that in the raw material. It was 0.01g/100 g food in soybean, 1.06 g/100 g food in red kidney bean, 0.77g/ 100g food in cowpea, and 0.76 g/100 g food in chickpea. It was confirmed that nutrients in the *in vitro* digestion model were liberated at each digestion phase with changes in the content of resistant starch. These results are expected to be used as fundamental data for obtaining bioavailability of nutrients.

Key words: legume, in vitro digestion, nutrient content

서 론

한국인의 식생활에 있어 주요 식량 자원으로 이용되는 콩 은 탄수화물, 단백질, 식이섬유가 풍부한 식품으로 섭취 시 많은 건강상 이점이 있는 것으로 알려져 있다(Cha 등 2023). 콩에 함유된 올리고당의 일종인 stachyose와 raffinose는 sucrose 에 galactose가 α-1,6 결합으로 각각 단일 또는 두 개의 결합이 되어있는 화학구조를 가지고 있어 인체 효소에 의해 분해가 되지 않는 난소화성 올리고당이다(Hodoniczky 등 2012). 이는 인 체의 장내 미생물에 의해 이용되어 장내 유익균인 bifdobacteria 의 생육을 촉진시켜 부패균에 의한 대사산물 생성을 억제하 고 혈장 내 총지방, 콜레스테롤 및 중성지방의 함량을 감소 시켜 성인병의 유발을 억제한다(Choi 등 2014; Kim 등 2023). 또한, 콩에는 올리고당 외에도 대장 미생물의 먹이로 활용되 는 식이섬유와 저항전분이 다량 함유되어 있다(Lee 등 2022). 소화되지 않는 탄수화물을 식이섬유라고 하며 불용성 식이 섬유와 수용성 식이섬유로 분류된다. 불용성 섬유질은 대변 의 부피를 증가시켜 장을 더 빨리 통과하도록 돕고, 수용성

^{*} Corresponding author: Da Bin Lee, Master's Degree Researcher, Food and Nutrition Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea. Tel: +82-63-238-3842, E-mail: wnel4495@daum.net 섬유질은 유익한 박테리아에 의해 선택적으로 발효되어 다 양한 단쇄지방산(SCFA)의 생성을 증가시키는 프리바이오틱 스로써 작용한다(Julio-Gonzalez 등 2021). 저항전분은 장내 유익한 미생물의 먹이가 되어 발효되면서 bifidobacteria와 같 은 장내 유익균을 증가시키는 생리적 효과가 있다(Oku & Nakamura 2002; Chang MJ 2004).

한편 콩은 단백질과 지방의 공급원으로도 이용된다. 특히 lysine 등의 필수아미노산과 linoleic acid, linolenic acid 등 불 포화 지방산을 다량 함유하고 있어 심혈관계 질환을 예방하 고 두뇌 발달 촉진 효과를 기대할 수 있다(Lee 등 2013).

입을 통해 섭취한 식품 성분은 인체 내에서 입의 amylase, 위의 pepsin과 lipase, 소장의 pancreatin, sucrase, lactase, maltase 등 다양한 소화 효소에 의해 분해되어 체내 유용할 수 있는 영양 및 기능성 성분을 생산한다. 주요 영양성분인 탄수화 물, 지방, 단백질은 섭취 후 각각 당, 지방산, 아미노산으로 분해 · 흡수되어 생리활성 기능을 유지하는 데 활용된다. 따 라서 식품 섭취 이후 건강 영향을 파악하기 위해서는 소화 단계에 따른 성분 변화에 대한 연구가 필수적이다.

In vitro digestion model은 인체 내 소화과정을 모사하여 만 든 방법으로 인체 내 소화와 비슷한 유사 환경을 만들어 비 슷한 결과를 얻어낼 수 있는 연구 방법이다(Bae 등 2021). 동 물 또는 인간을 대상으로 한 식품의 기능성 검증이 가장 정 확한 생리활성 결과를 얻을 수 있으나, in vivo digestion model 은 많은 시간과 비용이 소요되며 동물실험이나 인체적용시 험 등에서 발생하는 윤리적 문제가 있다(Jo 등 2018). In vitro digestion model을 활용한 식품 연구는 많이 이루어지고 있다. 특히 전분, 차, 쌀, 빵 등 식물성 식품 관련 연구가 45%를 차 지한다. 다음으로 식육 18%, 낙농식품 9%로 대부분의 식품 연구 분야에서 in vitro digestion model이 이용된다는 것을 의 미한다. 이 실험법을 두류에 적용한 연구는 보고된 바 없으 나 볶음 메밀이나 케일, 석류, 신선초 등 식이섬유 다함유 시 료를 활용한 연구는 일부 연구에서 보고되었다(Lee 등 2019; Bae 등 2021; Kim 등 2021). In vitro digestion model은 실험의 목적에 따라 사용하는 효소, 시료의 성질, 시료의 사이즈, 소 화 온도, pH 등의 항목이 고려되어야 한다. 시료의 성질에 따라 탄수화물 시료는 a-amylase와 mucin을, 지방질 시료에 는 pancreatin 및 bile salt를, 단백질 시료에는 pepsin을 첨가 또는 함량을 증가시키는 등의 조절이 필요하며 시료의 입자 가 크거나 시료의 양이 많을수록 소화시간을 증가시켜 in vitro digestion이 원활히 이루어지도록 실험하여야 한다(Hur 등 2012).

본 연구에서는 한국인 식생활에서 식용유, 장류, 두부 등 식품의 원료로 사용되어 다소비 두류에 해당하는 대두를 대 조군으로 하여 저항전분 함량이 많은 붉은강낭콩(국산), 동 부(국산), 병아리콩(외국산) 3종을 분석 시료로 선별하였다. 식품과학, 영양학자 등 과학자들이 모여 음식 소화에 대한 기초연구를 수행하는 국제연구 네트워크인 INFOGEST에서 제시한 가장 일반적이고 표준화된 *in vitro* digestion model을 참고하여 입, 위, 소장에서의 소화를 진행하였다(Minekus 등 2014). 추가로 췌장 소화단계를 구현하여 전분과 단백질 소 화를 완료하기 위해 brush border membrane vesicles(BBMV) 효소를 첨가하였으며(Ferreira-Lazarte 등 2019), 소화물의 대 장 이관 전 마지막 단계인 흡수(dialysis) 과정까지 모사하여 기존 시스템을 보완하였다. 최종적으로 구축된 digestion model을 두류 시료에 적용하여 두류의 영양성분 함량 변화를 입, 위, 소장, 융모 소화단계별로 확인하였다.

재료 및 방법

1. 시료 선정 및 전처리

본 연구에서 사용한 시료 중 대두(Glycinemax), 붉은 강낭콩 (Phaseolus vulgrais var. humilis Alef), 동부(Vigna unguiculata)는 각각 경상북도 상주, 경상남도 거창, 전라남도 구례 농협에 서 직접 구매하였고, 병아리콩(Cicer arietinum)은 미국산으로 온라인 유통처를 통해 구매하였다. 두류 4종을 국가표준식품 성분표(National Institute of Agricultural Sciences 2021)에 제시 된 표준 조리법에 따라 조리하여 실험에 사용하였다. 각 두 류의 조리 방법은 불린 시간·물양·삶는 시간을 달리하였 으며 두류별 조리법은 다음과 같다. 대두는 4시간 동안 불린 후 3배의 물양을 넣고 40분 동안 삶았다. 동부는 8시간 불린 후 10배의 물을 넣고 50분간 삶았다. 붉은 강낭콩은 불림 없 이 10배의 물에 1시간 동안 삶았다. 병아리콩은 6시간 동안 불린 후 10배의 물에 15분 동안 삶아 전처리하였다. 조리 완 료된 두류 시료는 물기를 제거하고 믹서기(SMX-350SKHN, Shinil, Korea)로 20초간 분쇄하여 최종 시료로 사용하였다.

2. In vitro digestive model

소화 단계별 영양소 함량 변화를 보기 위해 Minekus 등 (2014)의 방법에 따라 oral phase(입), gastric phase(위), intestinal phase(소장), BBMV phase(융모) 소화 과정을 진행하였다(Fig. 1, Table 1). Oral phase는 시료와 입 소화액(SSF, pH 7.0), 효소 (75 U/mL salivary α-amylase solution(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 0.3 M CaCl₂(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), water)을 1:1(w/v)로 넣어 37℃ 항온 진탕기(200 rpm)에서 2분 간 반응하였다. Gastric phase는 입 소화물과 위 소화액(SGF, pH 3.0), 효소[2000 U/mL porcine pepsin stock solution(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 0.3M CaCl₂, 1M HCl(Daejung, Seoul, Korea), water]을 1:1(v/v)로 섞고 37℃ 항온 진탕기(200



Fig. 1. Overall process of each phase in *in vitro* digestion system.

 Table 1. Composition of simulated fluid
 (mmol/L)

| Composition | SSF | SGF | SIF |
|---|------|------|------|
| KCl ¹⁾ | 15.1 | 6.9 | 6.8 |
| $KH_2PO_4^{(2)}$ | 3.7 | 0.9 | 0.8 |
| NaHCO ₃ ³⁾ | 6.8 | 12.5 | 42.5 |
| NaCl ⁴⁾ | - | 11.8 | 9.6 |
| $MgCl_2 \cdot (H_2O)_6^{(5)}$ | 0.5 | 0.4 | 1.1 |
| (NH ₄) ₂ CO ₃ ⁶⁾ | 0.06 | 0.5 | - |

¹⁾ Potassium chloride P9333, Sigma aldrich Co, Seoul, Korea.

²⁾ Potassium phosphate monobasic P0662, Sigma aldrich Co.

³⁾ Sodium bicarbonate S5761, Sigma aldrich Co.

⁴⁾ Sodium chloride S9888, Sigma aldrich Co.

⁵⁾ Magnesium chloride hexahydrate 63068, Sigma aldrich Co.

⁶⁾ Ammonium carbonate 207861, Sigma aldrich Co.

rpm)에서 120분간 반응하였다. Intestinal phase는 위 소화물과 장 소화액(SIF, pH 7.0), 효소[200 U/mL pancreatin from porcine pancreas(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)], 160 mM bile salts(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 0.3 M CaCl₂ water을 1:1(v/v)로 섞고 37℃ 항온 진탕기(200 rpm)에 서 120분간 반응하였다. 이후 intestinal phase를 거친 시료에 77.3 U/mL BBMV 효소를 첨가하고 37℃ 항온 진탕기(200 rpm)에서 180분간 1:1(v/v) 반응하였다(Oku 등 2011). 다음 phase로 진행하기 전에 phase별로 샘플을 채취하였고 100℃ 에서 10분 동안 효소 반응을 중지시킨 후 보관하였다. 모든 샘플은 원심분리(4,000 rpm, 10분) 후 상등액을 취하여 0.45 µm 필터로 여과한 다음 성분분석에 이용하였다.

3. Dialysis 구현

In vitro digestion을 거친 샘플을 회수하여 Spectra/Por[®] 6 Standard RC Pre-wetted Dialysis Tubing(SPL Life Sciences, Pocheon, Gyeonggi, Korea)에 넣고 10 mM NaCl(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 담가 저분자 소화물을 제거하였다. 37℃ 에서 24시간 동안 진행하였다(Shiowatana 등 2006; Bouayed 등 2011; Hettiarachchi 등 2021).

4. 유리당 분석

Phase별 유리당(6종) 함량은 Dionex ultimate 3000(Thermo Fisher, Waltham, MA, USA)를 이용해 분석하였다. 컬럼은 Sugar-pak(WAT085188, 300 mm×6.5 mm, Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였으며, 소화물 시료는 일정량의 증류수에 균 질화한 후 0.45 µm 필터에 여과하여 HPLC 분석에 사용하였 다. 표준품은 glucose(98%), lactose monohydrate(99%) 2종은 Junsei chem에서 구입하여 사용하였고 raffinose(99%), stachyose (99%), sucrose(99.5%)은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA) 제 품을 사용하여 유리당 함량을 분석하였다.

5. 아미노산 분석

아미노산(18종)은 Dionex Ultimate 3000(Thermo Fisher, Waltham, MA, USA)을 사용해 분석하였으며 컬럼은 Inno C18 column(4.6 mm×150 mm, 5 µm, USP L1, YounJin Biochrom, Seongnam, Gyeonggi, Korea)을 사용하였다. 소화물 시료는 추 출 Buffer(0.1 M perchloric acid, 0.1% meth-phosphoric acid)에 넣어 1시간 초음파 추출 후 상온에서 1시간 혼합한 뒤 0.2 µm 필터 후 분석에 사용하였다. 표준품(aspartic acid, glutamic acid, serine, histidine, glycine, threonine, alanine, arginine, taurine, tyrosine, valine, methionine, phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine, proline, tryptophan)은 Agilent(Santa Clara, CA, USA)와 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 분 석하였다.

6. 지방산 분석

지방산은 palmitic acid, stearic acid, arachidic acid, oleic acid, linoleic acid, α-linolenic acid의 함량 변화를 GC-MS (7890A, Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석하였 다. 시료는 동결 건조하여 methylation mixture (MeOH:Benzen: DMP:H₂SO₄ = 39:20:5:2) 340 µL, heptane 200 µL를 넣고 흔든 후 80℃에서 2시간 추출하였다. 추출 후 상온 냉각하여 형성 된 두 층 중 상층액을 일정량 추출 후 GC로 분석하였다. 컬 럼은 DB-23(60 mm×0.25 µm, 122-2362-INT, Agilent, Santa Clara, CA, USA)을 사용하였고 검출기는 FID(280℃, H₂ 35, Air 350, He 35 mL/min)를 사용하여 분석하였다.

7. 저항전분 함량 분석

시료는 동결건조 및 분쇄하여 Resistant starch assay kit(K-RAPRS, Megazyme International Ireland Ltd., Ireland)를 사용하 여 AOAC 방법으로 측정하였다(Hoehnel 등 2020; McCleary 등 2020). Pancreatin α-amylase/amyloglucosidase로 37 °C에서 4 시간 반응하였고, 95% 에탄올 용액 4 mL를 넣어 효소 반응 을 중지시켰다. 4,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액 을 분리한 후 상등액은 소화가능한 전분 분석에 사용하였고, 침전물은 저항전분 분석에 사용하였다. 저항전분 함량을 분 석하기 위해 침전물에 50% 에탄올 용액을 넣어 원심분리하여 세척하고, 침전물에 1.7 M NaOH 용액을 첨가하여 분산 및 용 해했다. 1 M sodium acetate buffer(pH 3.8)와 amyloglucosidase (AMG)를 첨가하여 50℃에서 30분 반응시킨 후 가수분해된 glucose 양에 따라 저항전분 함량을 계산하였다. 소화가능한 전분 함량은 상등액에 dilute AMG를 추가하여 50℃에서 30분 동안 반응시킨 후 glucose oxidase plus peroxidase로 D-glucose 함량으로 측정하였으며, 수분함량을 고려한 식품 100 g 당 전분 함량으로 제시하였다.

8. 통계분석

모든 실험은 3회 이상 반복 측정하여 평균과 표준편차를 산출하였고, 시료 간의 차이는 Statistical Package for Social Sciences(SPSS)(26.0, IBM, Chicago, IL, USA) 소프트웨어를 사용하여 t-test 및 분산분석(one-way ANOVA, Duncan 다중범 위시험법 사후검정)으로 95% 유의수준에서 검정하였다. 주 성분분석법(PCA, principle component analysis)을 이용한 다변 량분석은 GraphPad Prism(9.5.1, Dotmatics, Boston, MA, USA) 을 사용하였다. 각 시료의 phase별 영양성분 함량 데이터를 표준화(평균을 0, 표준편차를 1로 조정)하여 사용하였으며, 주성분은 eigenvalue가 1을 초과하는 두 개의 성분을 선정하였 다. 데이터 입력 및 기술통계는 Microsoft Excel 2016(Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA)을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. *In vitro* digestive model을 적용한 두류의 단계별 유리 당 함량 분석

두류 4종에 함유된 유리당 함량 변화를 phase별로 확인하 였다(Table 2). 대두의 stachyose(사당류)와 raffinose(삼당류)는 oral phase보다 소화 마지막 단계인 BBMV phase에서 유의적 으로 감소하였다. Stachyose의 함량을 보면 붉은강낭콩은 30,839.88 mg/L에서 58,389.65 mg/L로, 동부는 41,360.63 mg/L 에서 73,802.63 mg/L로, 병아리콩은 19,618.06 mg/L에서 45,862.19 mg/L로 oral phase보다 BBMV phase에서 증가하였 다. 대두의 stachyose 함량은 소화가 진행됨에 따라 감소하였 으나, 그 외 콩 시료들은 약 1.5배 증가하였다. 이는 올리고 당, 저항전분, 식이섬유가 많은 두류로 알려진 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩은 대조군인 대두보다 탄수화물 함량이 높아 (Im 등 2016; National Institute of Agricultural Sciences 2021; Zuo 등 2022) 다당류인 복합탄수화물이 BBMV phase에서 분 해되면서 stachyose의 함량이 증가하였기 때문으로 보인다. 한편, 대두의 raffinose 함량은 oral phase보다 BBMV phase에 서 감소하였고, 붉은강낭콩은 증가하였다. 동부, 병아리콩의 raffinose 함량은 소화 전 · 후의 유의적인 차이를 보이지 않 았다.

두류에 많이 함유된 올리고당류인 stachyose와 raffinose는 소 화 효소에 의해 잘 분해되지 않고 산과 열에 강하여 바로 대장 까지 도달하는 특성이 있다(Hodoniczky 등 2012; Julio-Gonzalez 등 2021). Table 2에서 소화 후에도 stachyose와 raffinose가 상 당량 잔존한다는 사실을 확인하였으며, 이 물질은 대장에서 장내 미생물의 먹이인 프리바이오틱스로 활용될 가능성이 있음을 시사한다.

본 연구에서는 전분을 충분히 소화하기 위해 BBMV 효소 를 첨가하여 융모소화단계를 추가하였다. BBMV 효소는 포유 류 소장 점막 소포체에서 분비되는 다중효소복합체로 sucraseisomaltase, lactase-phlorizin hydrolase, maltase-glucoamylase 등의 활성을 가진다(Ferreira-Lazarte 등 2019). Zhang 등(2023)에 따 르면 stachyose는 소화되지 않는 탄수화물이지만 BBMV 효 소에 의해 부분적으로 소화된다고 보고하였다. 앞서 보았듯 대두의 stachyose 함량은 oral, gastric, intestinal phase까지는 증 가하다가 BBMV phase에서 함량이 감소하는 경향을 보였다. 이는 융모 단계에서의 BBMV효소에 의해 stachyose가 부분 적으로 소화되어 나타난 현상으로 보인다.

모든 시료에서 단당류인 glucose는 oral, gastric, intestinal

Table 2. Changes in free sugar contents at each phase of digestion

| Sample ¹⁾ | Glucose | Lactose | Sucrose | Stachyose | Raffinose |
|----------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| SO | N/A ²⁾ | N/A | 42,979.07±312.77 ^a | 28,944.09±166.69ª | 7,801.8±87.45 ^{ab} |
| SG | N/A | 7,771.97±394.76 | 38,410.46±1,308.7 ^b | 30,101.61±913.85 ^a | 8,911.33±291.84ª |
| SI | N/A | 13,582.57±717.28 | 37,411.08±970.59 ^b | 31,243.91±1,641.37 ^a | 7,149.54±1,222.17 ^b |
| SB | 19,952.33±638.23 | N/A | 29,009.74±1,792.1° | 23,815.13±1,472.22 ^b | 4,501.78±286.12° |
| KO | N/A | N/A | 56,092.97±254.32° | 30,839.88±250.24 ^c | 23,673.82±125.12 ^d |
| KG | N/A | 5,785.17±326.72 ^b | 30,135.64±421.18 ^d | 42,886.89±322.13 ^b | 20,171.15±253.81° |
| KI | N/A | 16,487.98±913.73ª | 102,758.79±2,929.43ª | 28,351.11±380.64 ^d | 64,373.59±968.96 ^a |
| KB | 176,968.38±2,010.68 | 16,640.7±216.71 ^a | 68,200.93±498.84 ^b | 58,389.65±456.93ª | 27,928.03±720.21 ^b |
| CO | N/A | N/A | 71,733.82±1,738.34 ^c | 41,360.63±1,523.81 ^b | 36,657.4±1,346.15 ^b |
| CG | 10,927.63±189.93 ^b | 3,266.05±513.59° | 16,190.62±598.14 ^d | 25,005.9±274° | 36,726.67±359.56 ^b |
| CI | 8,038.83±162.93 ^b | 16,920±245.52ª | 135,785.51±807.87 ^a | 32,989.15±409.27 ^c | 91,807.13±487.16 ^a |
| CB | 236,139.7±9,280.11ª | 13,168.17±621.9 ^b | 97,430.45±4,680.02 ^b | 73,802.63±3,840.77 ^a | $39,762.34{\pm}2,082.07^{b}$ |
| CHO | N/A | N/A | 52,700.25±916.73° | 19,618.06±372.01° | $38,509.73{\pm}607.2^{b}$ |
| CHG | N/A | 8,134.32±215.34° | $41,741.27 \pm 499.4^{d}$ | 22,550.63±305.83 ^b | 36,685.49±271.15° |
| CHI | 5,594.36±213.29 | 21,213.51±952.87ª | 84,953.01±754.19 ^a | 19,424.93±31.37° | 64,711.91±257.23 ^a |
| CHB | 160,828.94±2,070.2* | 15,019.13±664.79 ^b | 54,877.3±468.47 ^b | 45,862.19±1,064.9ª | 38,348.29±767.34 ^b |

^{a-d}Different letters within the same column indicate significant differences (p < 0.05) in contents compared by digestion phase (after). *Significant differences (p < 0.05) in contents before and after the same digestion phase.

S: soybean, K: kidneybean, C: cowpea, CH: chickpea, O: oral phase, G: gastric phase, I: intestinal phase, B: BBMV phase.
 N/A: not available.

phase에서는 검출되지 않았고 BBMV phase에서 함량이 증가 하였다. BBMV효소에 의해 올리고당, 이당류 등이 가수분해 되어 glucose가 생성된 것으로 보인다.

2. In vitro digestive model 적용 전·후 저항전분 함량 소화하지 않은 원물의 저항전분 함량은 선행연구 데이터 를 인용하여 제시하였다(Table 3). Lee 등(2022)에서 대두, 붉 은강낭콩, 병아리콩의 저항전분과 소화가능한 전분의 함량 을 분석하였고 동일한 방법으로 동부와 *in vitro* digestive model을 적용한 소화 후 시료의 저항전분과 소화가능한 전분 의 함량을 확인하였다. 저항전분은 소장에서 흡수되지 않고 대장으로 이관되므로 소장과 대장에서 흡수되는 영양소들을 제외하기 위해 인위적 막을 활용한 흡수단계를 구현하였다. 대두의 경우 소화 전 시료의 저항전분과 소화가능한 전분

| | n • 4 4 | | 1 | | | • | | 1 0 | | • | • | • . | 1 • /• |
|------------|----------------|-----|------------|--------|----------|-----|----------|--------|-------|-------|-----|---|---------------|
| | Docistont | and | digastible | storoh | aontonta | 111 | 10000000 | hotoro | and | OTTOM | 114 | 11111100 | digastion |
| 1 200 1 20 | | | Investine | MALCH | COMPENS | | revinnes | nerme | 21111 | инег | | VIIII | Investion |
| | 1 | | | | CONCONS | | 10Lunios | | | | | ,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,, | |
| | | | ~ | | | | | | | | | | |

(mean±S.D.)

| Starch | RS ¹⁾ (g/ fo | RS^{11} (g/ food 100 g) ³¹ | | od 100 g) |
|----------------------|-------------------------|---|--------------------------|-------------------------|
| In vitro digestion4) | Before | After | Before | After |
| Soybean | 0.01±0.01 ⁵⁾ | 0.01±0.01° | 0.27 ± 0.04^{5} | $0.01{\pm}0.01^{d}$ |
| Kidneybean | 2.24±0.06 ⁵⁾ | 1.06 ± 0.06^{a} | 18.61±0.51 | 2.26±0.02 ^b |
| Cowpea | 1.70±0.10 | $0.77{\pm}0.02^{b}$ | 15.15±0.78 ⁵⁾ | $1.66{\pm}0.07^{\circ}$ |
| Chickpea | 1.31±0.04 ⁵⁾ | 0.76 ± 0.05^{b} | 17.32±0.74 ⁵⁾ | 4.48±0.09 ^a |

a-dDifferent letters within the same column indicate significant differences (p<0.05) in contents compared by digestion phase (after).

¹⁾ RS: resistant starch.

2) DS: digestible starch.

³⁾ g/food 100 g: Starch content considering moisture content of boiled legumes; dry weight basis×{(100 - Moisture content)/100}.

⁴⁾ Samples were treated from oral to dialysis phase.

⁵⁾ Data from the previous study (Lee et al. 2022).

함량이 각각 0.01±0.01 g/food 100 g, 0.27±0.04 g/food 100 g으 로 대상 시료 중 가장 낮은 수준이었고 소화 후 시료에서도 전분 함량이 타 시료에 비해 매우 낮았다. 붉은강낭콩과 동 부, 병아리콩은 저항전분이 높은 두류로 알려져 있다. 붉은 강낭콩의 저항전분은 2.24±0.06 g/food 100 g이었고 소화 후 에는 1.06±0.06 g/food 100 g으로 감소하였다. 동부의 저항전 분은 1.70±0.10 g/food 100 g으로 나타났고 소화 후에는 0.77± 0.02 g/food 100 g으로 감소하였다. 병아리콩은 소화전에 1.31± 0.04 g/food 100 g, 소화 후에 0.76±0.05 g/food 100 g으로 감소하였다. 결론적으로 두류별 저항전분 소화율은 붉은 강 낭콩 47%, 동부 45%, 병아리콩 58%로 나타났다. 저항전분은 약 30~70%만이 소화된다고 보고된 바 있어(Chang MJ 2004), 선행연구와 유사한 결과를 보였음을 알 수 있다.

저항전분의 종류에는 RS-1, RS-2, RS-3, RS-4가 있다. RS-1 은 도정이나 저작에 의해 분해되는 전분인데, *in vitro* digestion 구현 시 입의 저작 작용을 모사하기 위해 삶은 두류를 분쇄 하는 과정에서 RS-1 형태의 저항전분이 감소했을 것으로 예 상된다. RS-3는 열에 의해 호화되며 식품 내 소화 효소에 의 해 감소한다(Nugent AP 2005). 소화가 진행되면서 작용하는 여러 소화 효소에 의해 일부 분해되었을 것이다. 다만, 소화 효소에 의한 전분 분해율은 콩 껍질의 유무, 발효, 조리 방법 에 따라 달라지는데(Jeong 등 2019), 본 연구에서 사용한 시 료는 다른 첨가물 없이 물에 불린 후 적정 시간 동안 삶은 것으로 전처리 방법에 따라 저항전분과 소화가능한 전분의 함량은 달라질 수 있다.

3. *In vitro* digestive model을 적용한 두류의 단계별 아미 노산 함량 분석

소화 단계별 아미노산 함량 변화를 보았다(Table 4, Table 5). 모든 두류에서 소화가 진행됨에 따라 아미노산의 함량이 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 특히 BBMV phase에서 필수아미노산의 함량이 유의적으로 증가한 것을 통해 단백질은 위의 pepsin뿐만 아니라 소장과 융모 효소에 의한 소화도 가능하다는 사실을 알 수 있다.

비필수아미노산 8종(tyrosine, alanine, aspartic acid, glutaminc acid, glycine, proline, serine, taurine) 중 taurine은 대두에서는 gastric, intestinal, BBMV phase를 거칠수록 함량이 증가하였 고 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩의 BBMV phase에서는 검출되 지 않았다.

BBMV phase의 아미노산 함량을 보면 품종과 상관없이 필 수아미노산에서는 leucine, lysine, phenylalanine, arginine이 비 필수아미노산에서는 tyrosine, alanine, glutamic acid, serine이 전반적으로 높은 함량을 보였다. 국가표준식품성분표에서도 다른 아미노산류보다 leucine, lysine, arginine, gutamic acid, aspartic acid의 함량이 높았다. 특히 콩에는 곡류의 제한아미노 산인 lysine이 풍부하다고 보고되고 있다(Lee 등 2013; Kim 등 2022). 따라서 두류에 풍부한 아미노산류가 *in vitro* digestion model을 이용한 두류 소화물에서도 나타났다고 볼 수 있다. 콩의 소화단계별 아미노산 함량 변화와 관련된 선행연구

는 보고된 바 없으나, 탈지분유를 사용한 *in vitro* digestion system 검증 연구는 꾸준히 진행되었다. 탈지분유의 경우 입

Table 4. Changes in essential amino acid content at each phase of digestion

(mg/L)

| Sample ¹⁾ | Isoleucine | Leucine | Lysine | Methionine | Phenylalanine | Threonine | Tryptophan | Valine | Histidine | Arginine |
|----------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| SO | 29.42±1.92 ^d | $23.02{\pm}0.55^{d}$ | 48.06±5.22° | 11.58±0.39 ^d | 30.4±2.58° | 26.98±0.78 ^d | 230.59±6.39 ^d | 29.96±0.3 ^d | 101.14±4.88° | 2,164.67±62.71 ^d |
| SG | 94.9±1.16° | $207.09{\pm}4.34^{\circ}$ | 115.54±9.76° | 66.29±1.98° | 153.02±2.41° | 102.07±2.46° | 337.56±4.16° | 135.7±4.24° | 128.66±3.53° | 2,480.85±51.25° |
| SI | $1067.19{\pm}22.66^{b}$ | 3,257.8±81.33 ^b | 1,957.34±109.28 ^b | 357.76±15.94 ^b | 3,870.98±96.17 ^b | 453.11±8.54 ^b | 1,001.25±23.61 ^b | $734.35{\pm}22.02^{b}$ | 486.05±32.79 ^b | 5,952.66±130.72 ^b |
| SB | 4,588.88±42.58 ^a | 10,691.88±105.57 ^a | 9,015.81±83.36 ^a | 1,727.23±29.26 ^a | 9,462.78±94.73 ^a | 2,280.16±28.47 ^a | 2,229.86±22.36ª | 3,849.95±33.28 ^a | 1,651.21±61.37 ^a | 15,365.88±165.51ª |
| KO | 30.88±0.45° | 36.59±0.37° | 65.37±2.16° | 7±0.86 ^d | 70.99±1.72° | 65.13±0.62° | 89.12±0.38° | 66.32±2.55° | 160.46±1.52° | 1,521.26±10.13° |
| KG | 77.22±0.89° | 172.98±3.57° | 98.87±6.89° | 48.84±2.03° | 161.18±2.96° | 105.12±2.4° | 136.66±2.94° | 148.5±5.14° | 164.53±5.62° | 1,495.03±36.09° |
| KI | 424.61±5.9 ^b | $1,636.09{\pm}23.5^{b}$ | 1,678.81±58.61 ^b | 157.79±3.24 ^b | 1,962.91±23.73 ^b | $330.23{\pm}10.64^{b}$ | 397.45±5.63 ^b | 416.22±1.78 ^b | 413.46±10.76 ^b | $3,815.37{\pm}72.61^{b}$ |
| KB | 3,300.93±112.87ª | 7,763.77±221.83ª | 7,358.6±319ª | 707.25±22.75 ^a | 6,647.25±213.7ª | 2,120.82±63.74 ^a | 1,187.56±70.26 ^a | 3,605.23±98.8ª | 1,929.77±205.56ª | 8,893.86±304.3ª |
| CO | 16.65±0.72 ^d | 24.65±0.3 ^d | 44.94±2.44° | 9.69±0.39 ^d | 42.43±0.86° | $33.98{\pm}1.13^{d}$ | $99.98{\pm}2.74^{d}$ | $43.4{\pm}0.94^{d}$ | 106.79±2.05° | $1,272.58{\pm}26.72^{d}$ |
| CG | 73.18±2.13° | 174.73±3.05° | 96.24±8.01° | 54.57±1.06° | 153.12±3.84° | 92.55±3.69° | 132.13±0.95° | 142.29±1.76° | 152.98±3.25° | 1,706.38±31.96° |
| CI | 474.5±17.45 ^b | 1,931.34±69.19 ^b | 2,023.27±90.79 ^b | 208.83±8.54 ^b | 2,287.34±91.97 ^b | 345.73±30.99 ^b | $519.61{\pm}13.8^{b}$ | 445.12±16.81 ^b | 434.99±21.43 ^b | 4,406.49±200.06 ^b |
| CB | 4,031.29±49.42ª | 9,356.31±119.54ª | 9,179.25±59.28ª | 825.1±17.51ª | 7,805.94±77.9ª | $3,047.97{\pm}50.56^{a}$ | 1,501.53±19.11ª | 4,366.42±47.48ª | 2,244.01±63.91ª | 10,376.73±160.56ª |
| CHO | 7.13±0.73° | $5.24{\pm}0.51^d$ | 203.21±10.67 ^c | 4.53±0.36 ^d | 21.54±3.25° | 44.53±0.63 ^d | 278.86±8.21 ^d | $15.68{\pm}0.64^{d}$ | 73.28±2.11° | 5,897.06±145.81 ^d |
| CHG | 74.98±1.4° | 186.98±2.59° | 270.14±2.62° | 50.58±1.8° | 136.57±1.87° | 117.54±1.54° | 381.94±3.61° | 114.18±0.62° | 101.96±1.51° | 6,542.32±90.08° |
| CHI | 533.07±4.8 ^b | 1,741.31±18.42 ^b | 1,349.64±19.37 ^b | 184.77±3.56 ^b | 2,106.77±22.76 ^b | 366.82±7.24 ^b | 607.73±9.1 ^b | 506.29±8.01 ^b | 482.58±7.00 ^b | 8,324.94±108.42 ^b |
| CHB | 2,698.98±89.84 ^a | 5,646.8±173.16ª | 5,459.15±248.18 ^a | 641.13±21.26 ^a | 5,219.33±176.75ª | 2,066±65.78 ^a | 941.32±25.87ª | 2,599.46±89.53 ^a | 1,248.48±81.53ª | 14,596.08±486.92 ^a |

a-dDifferent letters within the same column indicate significant differences (p<0.05) in contents compared by digestion phase (after).

¹⁾ S: soybean, K: kidneybean, C: cowpea, CH: chickpea, O: oral phase, G: gastric phase, I: intestinal phase, B: BBMV phase.

Table 5. Changes in nonessential amino acid content at each phase of digestion

| Sample ¹⁾ | Tyrosine | Alanine | Aspartic acid | Glutaminc acid | Glycine | Proline | Serine | Taurine |
|----------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------------------|------------------------------|----------------------------|
| SO | 16.67±0.46° | 170.06±4.25 ^d | 306.93±14.38° | 370.83±13.12° | $12.34{\pm}0.47^{d}$ | $30.47{\pm}1.08^{b}$ | 43.65 ± 2.04^{d} | N/A ²⁾ |
| SG | 79.62±2.69° | 301.67±4.49° | 468.02±10.31 ^b | $616.97{\pm}11.52^{b}$ | 96.42±4.73° | 71.55±0.46 ^b | 133.08±6.52° | 17.1±0.9 ^c |
| SI | 3764±117.85 ^b | $565.37{\pm}14.46^{b}$ | 446.38±12.25 ^b | 666.67 ± 18.67^{b} | 145.84±9.01 ^b | 74.28±2.06 ^b | 294.89 ± 7.98^{b} | $27.43{\pm}0.8^{\text{b}}$ |
| SB | 8,161.39±120.28 ^a | 4,871.68±39.07 ^a | 1,265±20.45 ^a | 2,830.51±75.75 ^a | 962.08±15.44 ^a | 675.11±74.22 ^a | 3,528.03±47.05 ^a | 76.32±8.47 ^a |
| KO | 43.01±0.43° | 181.07±0.44 ^c | 393.49±2.98° | 1,079.53±10.2° | 51.76±0.38° | 56.94±1.63° | 50.51±0.74° | N/A |
| KG | 86.28±2.24 ^c | 256.14±5.35° | 460.47±13.51 ^b | 1,104.69±28.89° | 92.56±7.91 ^{bc} | 106.25±8.26 ^b | 106.94±5.56° | 13.61±1.05 |
| KI | 1,677.58±22.43 ^b | 439.4±5.81 ^b | 493.51 ± 7.82^{b} | $1,251.32{\pm}15.26^{b}$ | 142.4 ± 5.44^{b} | 130.72±2.66 ^b | 243.36±7.01 ^b | $32.3 \pm 0.82^*$ |
| KB | 4,565.66±165.33 ^a | 3,911.66±99.92 ^a | 1,467.68±54.65 ^a | 4,094.07±142.02 ^a | $1,094.03{\pm}59.95^{a}$ | 570.93±32.81ª | 3,550.36±102 ^a | N/A |
| CO | $36.45{\pm}1.7^{c}$ | 125.99±4.76 ^d | 455.22±11.64° | 901.94 ± 33.41^{d} | 36.36 ± 2.23^{d} | 41.4±2.12 ^c | $28.68{\pm}0.25^{\rm d}$ | N/A |
| CG | 75.9±2.09 ^c | 257.23±3.86 ^c | 699.5±13.85 ^b | 1,190.21±21.13° | 89.72±0.93 ^c | 80.06 ± 1.43^{bc} | 104.15±1.63 ^c | N/A |
| CI | 2,111.58±87.99 ^b | 476.63 ± 16.28^{b} | 712.98±35.7 ^b | 1,389.39±60.4 ^b | 161.39±6.72 ^b | 125.28±9.33 ^b | 259.73±10.36 ^b | 28.17±1.62 |
| CB | 5,635.62±138.54 ^a | 4,918.39±58.33 ^a | 2,111.76±22.64 ^a | 5,222.6±26.19ª | 1,597.1±18.12 ^a | $714.54{\pm}72.54^{a}$ | 4,782.38±40.84 ^a | N/A |
| CHO | 31.5±0.85° | 32.22 ± 0.65^{d} | 71.73±2.61 ^d | 1,044.8±31.84° | 32.86 ± 2.04^{d} | 354.16±13.84 ^b | 22.9±0.41° | N/A |
| CHG | 93.26±1.98° | 167.63±2.55° | 232.33±5.37° | 1,295.94±29.1 ^b | 109.9±1.4° | 368.03±39.11 ^b | 103.28±1.38 ^c | 19.42±0.33 |
| CHI | 1,783.45±30.47 ^b | 407.77±6.26 ^b | 284.86±5.32 ^b | 1,356.07±41.45 ^b | 166.01±2.01 ^b | 433.98±13.23 ^b | 247.16±1.86 ^b | N/A |
| CHB | 3,547.66±106.34 ^a | 3,312.54±116 ^a | 1,072.02±51.55 ^a | 3,411.85±166.61ª | 1,105.35±57.77 ^a | 1,645.36±339.49ª | 2,825.42±130.25 ^a | N/A |
| | | | | | | | | |

a-dDifferent letters within the same column indicate significant differences (p<0.05) in contents compared by digestion phase (after).

*Significant differences (p<0.05) in contents before and after the same digestion phase.

¹⁾ S: soybean, K: kidneybean, C: cowpea, CH: chickpea, O: oral phase, G: gastric phase, I: intestinal phase, B: BBMV phase.

²⁾ N/A: not available.

단계에서는 유청단백질의 소화가 거의 이루어지지 않고, a-S2-casein, a-S1-casein, β-casein, к-casein, a-lactoglobulin은 위 소화 단계에서 완료되며 β-lactoglobulin은 소장을 거쳐야 완 전히 소화된다. 유리 아미노산도 pancreatin과 bile이 첨가된 소장 단계에서 다량 생성되었다(Kopf-Bolanz 등 2012). Xu 등 (2021)에 따르면 위 소화 단계에서는 단백질을 펩타이드로 분해하고 단백질의 작은 부분만 아미노산으로 분해되며 intestinal phase에서 펩타이드와 소분자 단백질이 아미노산으 로 분해된다. 한편 Minekus 등(2014)은 단백질의 최종 소화를 위해서는 BBMV 효소가 필요하다고 하였다. BBMV는 주로 prolyl endopeptidase 효소를 통해 강력한 단백질 분해 활성을 갖는 것으로 알려져 있다(Perez-Gregorio 등 2018). 본 연구의 대두, 붉은강낭콩, 병아리콩, 동부의 소화과정에서도 intestinal phase에서 첨가된 pancreatin과 bile에 의해 단백질이 소화되 며 동일한 pH와 온도 조건에서 BBMV 효소가 첨가되기 때문 에 BBMV phase에서는 pancreatin과 BBMV 효소가 동시에 작 용하게 된다. 이 때문에 gastric, intestinal phase보다 BBMV phase에서 높은 아미노산 함량을 나타내는 것으로 보인다.

4. In vitro digestive model을 적용한 두류의 단계별 지방 산 함량 분석

콩의 지방산 함량은 linoleic acid>oleic acid>palmitic acid>

linolenic>stearic acid 순으로 높다고 알려져 있다(Kim 등 2007). 유리지방산 함량의 변화를 gastric, intestinal, BBMV phase별로 분석하였으며, oral phase에서는 지방의 소화가 거 의 이루어지지 않아 제외하였다(Table 6).

대두, 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩 모두 지방산 5종의 함량 이 증가하는 경향을 보였다. 본 연구에서 BBMV phase에서 유리지방산의 함량이 가장 높았는데, 선행연구에서도 두유 의 소장 소화 단계에서 BBMV효소를 첨가하였을 때 지질 안 정성이 떨어지고 유리지방산이 증가하였다. BBMV 효소는 lipase, phospholipase, A₂ cholesterol esterase가 포함된 효소 복 합체이기 때문에 지방산의 소화에 영향을 미치는 것으로 보 인다(Xu 등 2021).

본 연구와 유사하게 Minekus 등(2014)을 참고한 방법으로 탈지분유의 소화 전·후 총 지방산을 분석한 선행연구 결과 (Kopf-Bolanz 등 2012), SCFA는 소화 후에 증가하였고, medium chain fatty acid(MCFA)와 LCFA는 종류에 따라 증가 하기도 감소하기도 하였다. 탈지분유의 stearic acid, oleic acid, linoleic acid는 소화 후에 증가하였다. 지방산의 전체 비 율로 보았을 때 소화 후 LCFA은 감소하고 MCFA와 SCFA는 증가하지만, 각각의 지방산 사슬은 어떠한 규칙에 따라 감소 하거나 증가하는 것으로 보이지 않는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 사용한 두류와 달리 탈지분유는 중성지방이 상당

| Sample ¹⁾ | Palmitic acid (C16:0) | Stearic acid (C18:0) | Arachidic acid (C20:0) | Oleic acid (C18:1(n-9)) | Linoleic acid (C18:2(n-6)) | α-linolenic acid (C18:3(n-3)) |
|----------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| SG | 4.265±0.08° | 1.317±0.04° | $0.12 \pm 0.00^{\circ}$ | 6.372±0.13° | 18.922±0.36 ^b | 3.113±0.07° |
| SI | $8.826{\pm}0.07^{b}$ | 2.71 ± 0.08^{b} | 0.239 ± 0.01^{b} | 10.781 ± 0.18^{b} | $34.234{\pm}0.34^{a}$ | 5.86 ± 0.07^{b} |
| SB | 10.999±0.34 ^a | 3.691 ± 0.14^{a} | $0.318{\pm}0.01^{a}$ | 11.253±0.3ª | 33.27±0.84 ^a | 5.517±0.17 ^a |
| KG | $0.728{\pm}0.07^{c}$ | $0.142 \pm 0.03^{\circ}$ | N/A ²⁾ | $0.311 \pm 0.03^{\circ}$ | $0.816{\pm}0.05^{\circ}$ | 1.089±0.06° |
| KI | 2.17 ± 0.06^{b} | 0.432 ± 0.03^{b} | N/A | $0.869{\pm}0.03^{\rm b}$ | 2.161 ± 0.05^{b} | $2.758{\pm}0.06^{b}$ |
| KB | 3.324±0.21 ^a | 0.777 ± 0.08^{a} | N/A | $1.554{\pm}0.09^{a}$ | 3.566±0.16 ^a | 4.134±0.14 ^a |
| CG | $0.769{\pm}0.02^{\circ}$ | $0.131 \pm 0.01^{\circ}$ | N/A | $0.294{\pm}0.01^{\circ}$ | 0.913±0.03° | 1.336±0.04° |
| CI | $2.99{\pm}0.12^{b}$ | $0.542{\pm}0.08^{b}$ | N/A | 1.076 ± 0.04^{b} | $3.102{\pm}0.09^{b}$ | 4.446 ± 0.10^{b} |
| CB | 4.236±0.22 ^a | 0.989 ± 0.12^{a} | N/A | 1.746 ± 0.08^{a} | 4.475±0.20 ^a | 5.817±0.24 ^a |
| CHG | $2.017{\pm}0.18^{b}$ | $0.408{\pm}0.08^{\rm b}$ | $0.093{\pm}0.01^{b}$ | 6.596±0.43° | 6.063±0.48° | 0.223±0.02° |
| CHI | 3.103±0.45 ^a | 0.817 ± 0.30^{a} | 0.149±0.02ª | 9.115 ± 0.37^{b} | 8.077 ± 0.30^{b} | $0.325{\pm}0.02^{b}$ |
| CHB | 3.61±0.15 ^a | 0.959±0.10 ^a | 0.155±0.01 ^a | 11.444±0.31 ^a | 10.111±0.30 ^a | 0.365±0.01ª |

Table 6. Changes in fatty acid content at each phase of digestion

^{a-d}Different letters within the same column indicate significant differences (p < 0.05) in contents compared by digestion phase (after).

¹⁾ S: soybean, K: kidneybean, C: cowpea, CH: chickpea, O: oral phase, G: gastric phase, I: intestinal phase, B: BBMV phase. ²⁾ N/A: not available.

량 제거되므로 지방 소화 후 LCFA 생성량이 적어 발생한 현 상으로 추정할 수 있다.

5. 주성분분석(PCA)을 이용한 두류의 소화단계별 영양 성분 함량 비교

두류 시료의 소화단계별 영양성분 함량을 비교·분석하 고자 주성분 분석 방법을 사용하였다. 주성분 분석 결과 PC score와 loadings를 함께 나타낸 biplot은 Fig. 2에 나타내었다.

유리당의 경우 PC1에 대한 variance proportion은 45.47%, PC2에 대한 variance proportion은 27.33%이었다(Fig. 2A). 대

두를 제외한 두류 3종(붉은강낭콩, 동부, 병아리콩)은 같은 소화단계를 거친 시료 간 유리당 함량이 유사한 양상으로 나타 나는 것을 확인할 수 있다. 1사분면에 속하는 성분은 raffinose, sucrose, lactose로 서로 상관관계를 보였으며 붉은강낭콩, 동 부, 병아리콩의 intestinal phase에서 높은 함량을 보였다. 2사분 면에 속하는 stachyose와 glucose는 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩 의 BBMV phase에서 함량이 높았다. 이중 동부의 intestinal 및 BBMV phase에서 타 두류보다 모든 유리당 함량이 가장 높 다는 사실을 알 수 있다. Table 2의 유리당 함량을 보면, stachyose는 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩의 BBMV phase에서



Fig. 2. Principal component analysis (PCA) biplots of digestion phase and nutrients contents in legumes. (A) Free sugar, (B) Amino acid, (C) Fatty acid. S: soybean, K: kidneybean, C: cowpea, CH: chickpea, O: oral phase, G: gastric phase, I: intestinal phase, B: BBMV phase.

 $(\mu g/mL)$

가장 함량이 높았고 glucose는 모든 두류에서 높았다.

비필수아미노산의 주성분 분석 결과 PC1에 대한 variance proportion은 76.4%이고, PC2는 15.4%이었다. 각 두류의 BBMV phase에서 아미노산 함량이 가장 높았으며, oral, gastric, intestinal phase에서는 모두 낮은 함량을 보였다(Fig. 2B). 비 필수아미노산인 proline, glutamic acid, glycine, aspartic acid, serine, alanine은 1사분면에 속해 서로 상관성을 보였고, 붉은 강낭콩, 동부, 병아리콩의 BBMV phase에서 함량이 높았다. 그 외 필수아미노산 성분은 4사분면에 속해 상관성을 보였 으며 대두의 BBMV phase에서 높은 수준이었다.

지방산의 주성분 분석 결과 biplot은 Fig. 2C에 나타냈으며 PC1에 대한 variance proportion은 77.96%이고, PC2는 19.72% 이었다. palmitic acid, stearic acid, a-linolenic acid는 2사분면, arachidic acid, oleic acid, linoleic acid는 3사분면에 속해 각각 상관성을 보였다. 모두 음의 방향으로 분포하고 있다. 대두 소화물에서는 타 두류보다 지방산 함량이 높다는 사실을 알 수 있으며, 소장, 융모단계보다 위 단계에서 상대적으로 낮 은 수준이었다. 한편 동부, 붉은강낭콩의 위, 소장, 융모 소화 물은 병아리콩보다 palmitic acid, stearic acid, a-linolenic acid 함량이 높은 경향을 보이며, 병아리콩 소화물에서는 arachidic acid, oleic acid, linoleic acid가 상대적으로 많이 검출되었다. 각 두류에서 gastric-intestinal-BBMV phase로 갈수록 지방산 함량이 증가하는 경향 또한 확인할 수 있다.

요약 및 결론

본 연구에서는 네 가지 종류의 두류 시료를 in vitro digestion model에 적용하여 탄수화물 · 단백질 · 지방의 소화 단계별 함량 변화를 보고자 하였다. 콩은 양질의 단백질을 함유한 식품이며 종에 따라서는 저항전분이나 식이섬유 함 량이 높아 장내 미생물의 좋은 먹잇감을 제공하기도 한다. 불용성 식이섬유가 높은 동부, 붉은강낭콩, 병아리콩을 선별 하고 다소비 두류인 대두와 비교하여 유리당, 아미노산, 지방 산의 함량 변화를 보았다. 올리고당인 stachyose와 raffinose는 소화되지 않고 대장으로 이관되어 프로바이오틱스로 작용하 는 유리당이다. 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩에서 stachyose는 BBMV phase에서 증가하였다. 이는 복합 탄수화물이 분해되 면서 생성된 것으로 보인다. Raffinose는 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩에서 oral phase와 BBMV phase에서 유의적인 차이 를 보이지 않았다. 대두는 stachyose와 raffinose가 oral phase보 다 BBMV phase에서 감소하였다. 단당류인 glucose는 oral, gastric, intestinal phase에서 검출되지 않거나 미량 검출되다 가 소화 마지막 단계인 BBMV phase에서 증가하였다. 필수아 미노산 10종과 비필수아미노산 8종 모두 oral phase보다 BBMV phase에서 증가하였다. 콩의 유리지방산 소화가 진행 됨에 따라 증가하는 경향을 보였다. 대두와 병아리콩의 alinolenic acid은 소장과 융모단계에서 유의적인 차이를 나타 내지 않았다. 콩 원물과 소화 후의 저항전분과 소화가능한 전분 함량을 분석하였다. 소화가능한 전분은 대부분 소화되 었고, 붉은강낭콩, 동부, 병아리콩의 저항전분 함량은 원물과 비교하였을 때 약 1 g/food 100 g 감소하였으나 대조군인 대 두보다는 높은 함량을 보였다. 본 연구결과를 통해 소장 융 모 및 흡수 과정이 보완된 *in vitro* digestion model을 적용하여 식품 섭취 후 체내에서 생성 · 흡수되는 영양성분 함량을 추 정할 수 있으며, 추후 다양한 영양 · 기능성분의 생체이용률 산출을 위한 기초 자료로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 기관고유 연구사업 "식재료 및 식 단의 장내 미생물·대사체 변화 분석 및 건강 영향 예측 연구 (PJ016762)"의 일환으로 수행되었으며, 지원에 감사를 드립 니다.

References

- Bae HG, Kim S, Lee JC, Kim MJ. 2021. Evaluation of antioxidant activity and lipid oxidative stability of roasted buckwheat according to *in vitro* digestive system. *Korean J Food Preserv* 28:612-620
- Bouayed J, Hoffmann L, Bohn T. 2011. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chem* 128:14-21
- Cha SH, Song HY, Pyeon GN, Hong EA, Bak SL, Park SB, Jiang S, Jang KI. 2023. Changes of isoflavone contents in white and black soybean powders prepared under drying conditions after soaking. *Korean J Food Nutr* 36:87-92
- Chang MJ. 2004. Starch in human health. Food Ind Nutr 9:10-18
- Choi M, Cho K, Nam S. 2014. Antioxidant activities and changes in *trans*-resveratrol and indigestible oligosaccharides according to fermentation periods in *cheonggukjang*. J Korean Soc Food Sci Nutr 43:243-249
- Ferreira-Lazarte A, Gallego-Lobillo P, Javier Moreno F, Villamiel M, Hernandez-Hernandez O. 2019. *In vitro* digestibility of galactooligosaccharides: Effect of the structural features on their intestinal degradation. *J Agric Food Chem* 67:4662-

377

4670

- Hettiarachchi HACO, Gunathilake KDPP, Jayatilake S. 2021. Effect of *in-vitro* gastrointestinal digestion and dialysis process on phenolic compounds and antioxidant capacity of selected underutilized fruits in Sri Lanka. *Trop Agric Res* 32:212-218
- Hodoniczky J, Morris CA, Rae AL. 2012. Oral and intestinal digestion of oligosaccharides as potential sweeteners: A systematic evaluation. *Food Chem* 132:1951-1958
- Hoehnel A, Bez J, Sahin AW, Coffey A, Arendt EK, Zannini E. 2020. *Leuconostoc citreum* TR116 as a microbial cell factory to functionalise high-protein faba bean ingredients for bakery applications. *Foods* 9:1706
- Hur SJ, Lee SK, Kim YC, Choi IW. 2012. Development of *in vitro* human digestion models for health functional food research. *Food Sci Ind* 45:40-49
- Im JY, Kim SC, Kim S, Choi Y, Yang MR, Cho IH, Kim HR. 2016. Protein and amino-acid contents in Backtae, Seoritae, Huktae, and seomoktae soybeans with different cooking methods. *Korean J Food Cookery Sci* 32:567-574
- Jeong D, Han JA, Liu Q, Chung HJ. 2019. Effect of processing, storage, and modification on *in vitro* starch digestion characteristics of food legumes: A review. *Food Hydrocoll* 90:367-376
- Jo YN, Hwang HJ, Yoo M, Lee DE, Jung TH, Han KS. 2018. Estimation of digestibility of hanwoo cuts using *in vitro* physicochemical gastroduodenal system. J Korean Soc Food Sci Nutr 47:1029-1035
- Julio-Gonzalez LC, Moreno FJ, Jimeno ML, Doyagüez EG, Olano A, Corzo N, Hernandez-Hernandez O. 2021. Hydrolysis and transglycosylation activities of glycosidases from small intestine brush-border membrane vesicles. *Food Res Int* 139: 109940
- Kim HH, Kim YJ, Kim KY, Shin CS, Yoon JW, Jeon S, Kim BM, Bang J, Kim K. 2023. Effects of 2'-fucosyllactyose on defecation and intestinal microbiota in mice. *Korean J Food Nutr* 36:193-201
- Kim HJ, Seo JH, Won DJ, Han N, Lee JY, Kim M, Lee YY, Kang MS. 2022. Comparison of physicochemical properties of seed protein in soybean cultivars. J Korean Soc Food Sci Nutr 51:1048-1055
- Kim HS, Oh KY, Lee SM, Kim JY, Lee SH, Jang JS, Lee MH. 2021. Effect of extraction methods on the quality of pomegranate juice and physiological activity. J Korean Soc

Food Sci Nutr 50:136-148

- Kim SL, Lee YH, Chi HY, Lee SJ, Kim SJ. 2007. Diversity in lipid contents and fatty acid composition of soybean seeds cultivated in Korea. *Korean J Crop Sci* 52:348-357
- Kopf-Bolanz KA, Schwander F, Gijs M, Vergères G, Portmann R, Egger L. 2012. Validation of an *in vitro* digestive system for studying macronutrient decomposition in humans. *J Nutr* 142:245-250
- Lee DB, Lee YJ, Kang MS, Kim HR, Jang KA. 2022. Analysis of resistant starch content and its functional properties in legumes and manufactured soy milk. *Korean J Food Cookery Sci* 38:332-340
- Lee S, Lee Y, Kim HS. 2013. Analysis of the general and functional components of various soybeans. J Korean Soc Food Sci Nutr 42:1255-1262
- Lee SM, Park HJ, Kim HS, Kim JY, Lee SH, Jang JS, Lee MH. 2019. Quality characterization by various juice extraction method and changes in physiological activities by *in vitro* digestion of *Angelica keiskei*, *Brassica oleracea*, and *Oenanthe javanica* vegetable juices. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 48:718-727
- McCleary BV, McLoughlin C, Charmier LMJ, McGeough P. 2020. Measurement of available carbohydrates, digestible, and resistant starch in food ingredients and products. *Cereal Chem* 97:114-137
- Minekus M, Alminger M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C, Carrière F, Boutrou R, Corredig M, Dupont D, Dufour C, Egger L, Golding M, Karakaya S, Kirkhus B, Le Feunteun S, Lesmes U, Macierzanka A, Mackie A, Marze S, McClements DJ, Ménard O, Recio I, Santos CN, Singh RP, Vegarud GE, Wickham MSJ, Weitschies W, Brodkorb A. 2014. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food: An international consensus. *Food Funct* 5:1113-1124
- National Institute of Agricultural Sciences. 2021. Korean Food Composition Table. 10th ed. rev. pp.90-96. National Institute of Agricultural Sciences
- Nugent AP. 2005. Health properties of resistant starch. *Nutr Bull* 30:27-54
- Oku T, Nakamura S. 2002. Digestion, absorption, fermentation, and metabolism of functional sugar substitutes and their available energy. *Pure Appl Chem* 74:1253-1261
- Oku T, Tanabe K, Ogawa S, Sadamori N, Nakamura S. 2011. Similarity of hydrolyzing activity of human and rat small

intestinal disaccharidases. Clin Exp Gastroenterol 2011:155-161

- Shiowatana J, Kitthikhun W, Sottimai U, Promchan J, Kunajiraporn K. 2006. Dynamic continuous-flow dialysis method to simulate intestinal digestion for *in vitro* estimation of mineral bioavailability of food. *Talanta* 68:549-557
- Xu Q, Ritzoulis C, Han J, Han F, Jin W, Liu W. 2021. Particle degradation and nutrient bioavailability of soybean milk during *in vitro* digestion. *Food Biophys* 16:58-69
- Zhang G, Sun C, Song, J, Jin W, Tang Y, Zhou D, Song L. 2023. Glycation of whey protein isolate and stachyose

modulates their *in vitro* digestibility: Promising prebiotics as functional ingredients. *Food Biosci* 52:102379

Zuo Z, Liu S, Pang W, Lu B, Sun W, Zhang N, Zhou X, Zhang D, Wang Y. 2022. Beneficial effect of kidney bean resistant starch on hyperlipidemia–induced acute pancreatitis and related intestinal barrier damage in rats. *Molecules* 27:2783

Received 21 August, 2023 Revised 13 September, 2023 Accepted 25 September, 2023