

저항전분 투여가 Loperamide 유도 변비 쥐의 대장환경과 혈청지질에 미치는 효과

신현주¹ · 김광옥² · 김성홍³ · 김영아¹ · 이혜성^{1*}

¹경북대학교 식품영양학과
²경북대학교 장수생활과학연구소
³한국기초과학지원연구원 대구센터

Effect of Resistant Starch on the Large Bowel Environment and Plasma Lipid in Rats with Loperamide-Induced Constipation

Hyun-Ju Sin¹, Kwang-Ok Kim², Sung-Hong Kim³, Young-Ah Kim¹, and Hye-Sung Lee^{1*}

¹Dept. of Food Science and Nutrition and ²Center for Beautiful Aging,
Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

³Division of Analysis Research, Daegu Center, Korea Basic Science Institute, Daegu 702-701, Korea

Abstract

The present study was conducted to evaluate the effect of resistant starch (RS) on the large bowel function and plasma lipids in rats with constipation induced by Loperamide. Animals were divided into six groups: normal control-5% cellulose, constipation-5% cellulose, constipation-5% pectin, constipation-5% RS-type 2 (RS2), constipation-8% RS2 and constipation-5% RS type 3 (RS3) groups, and fed experimental diets for five weeks. The results from RS groups were compared with those from other dietary fiber groups. The groups supplemented with RS3 or high level of RS2 showed significantly increased counts of bifidobacteria in the cecum than the other groups. The production of total short chain fatty acids in the cecal contents was significantly high in pectin, RS3 and high RS2 groups. The pH in the cecal contents of the RS supplemented groups was significantly decreased compared with the cellulose supplemented groups. The production of prostaglandin E2 in the colon mucus of the RS groups was higher than the normal group; however, it was significantly decreased compared to the cellulose or pectin supplemented constipated groups. The thickness of the mucus layer and the production of mucus from epithelial cells were significantly increased in RS3 group compared to the constipated cellulose group. Supplementation of resistant starch significantly elevated the ratio of HDL-cholesterol to total cholesterol and significantly lowered plasma atherogenic index compared with cellulose or pectin supplementation in constipated rats. The results of the present study demonstrated that resistant starch supplementation may help in improving the large bowel environment by stimulation of bifidobacterial proliferation, reduction of pH and inflammation factor and by increased production of mucus. It has also been found that an additional health benefit is improvement in lipid levels of serum.

Key words: resistant starch, dietary fiber, constipation, large bowel function, plasma lipid

서 론

식이섬유는 인체의 소화효소에 의하여 분해되지 않는 난분해성의 복합 다당류로서 변량을 증가시키고 변통을 원활하게 하며 장내 미생물의 활성화, 영양소의 흡수조절 등을 통해 상피세포의 기능을 조절하는 생리적 효과를 나타냄으로써 대장질환의 발병을 감소시킬 수 있다고 알려져 있다(1). 경제성장과 더불어 서구화된 식생활의 주요 특징 중 하나는 식이섬유의 섭취부족을 들 수 있으며 이에 따라 변비증과 대장암, 고지혈증 등의 생활습관병으로 주요 질병의 양상도 변화하게 되었다. 이에 따라 최근에는 식이섬유의 기능성을 감안하여 식이섬유를 이용한 기능성식품과 식이섬유를

가공식품에 첨가한 보강식품 등의 개발이 증가하고 있다.

기능성식품과 보강식품에 첨가되는 식이섬유는 대부분 곡류의 호분층, 구근작물 등의 식물성 원료와 해조류에서 추출, 정제되는데 추출 시 수득률이 낮고 공정이 복잡하며, 첨가 시 식품의 질감, 맛 등의 관능적 품질을 저하시키는 단점이 있다(2). 또한 식이섬유는 수분흡수력이 높기 때문에 저장 중 첨가식품의 변질을 유발할 수 있어 식품에 첨가량을 증가시키는데 어려움이 있다(3). 이러한 제조·가공상의 문제점 이외에도 식이섬유는 과잉 섭취 시 무기질 흡수의 방해, 에너지의 소실, 장 점막 손상 등의 부작용을 가져올 수 있고, 체중 조절이나 변비 완화 등을 이유로 고도로 정제된 수용성 식이섬유를 과다하게 먹었을 경우 구토, 장내 가스

*Corresponding author. E-mail: hslee@knu.ac.kr
Phone: 82-53-950-6231, Fax: 82-53-950-6229

증가 등을 초래해 생리적 또는 영양적 측면에서의 문제점이 대두되었다(3,4). 따라서 생리적 불편함과 영양적으로 다른 영양소와의 대사 불균형을 초래하지 않는 식이섬유 소재의 개발이 요구되게 되었으며 이러한 물질로서 난소화성 다당류, 즉 저항전분(resistant starch, RS)이 관심을 얻게 되었다.

RS는 건강한 사람의 소장에서 흡수되지 않는 전분과 분해된 전분의 산물을 총칭한다고 정의되어 있다(5). RS는 주로 4 종류로 분류되는데, RS1은 물리적으로 소화가 되지 않는 부분을, RS2는 생감자 전분이나 고아밀로오스 전분처럼 소화되지 않는 전분을, RS3는 노화된 전분을, RS4는 화학적으로 변성된 전분을 의미한다(5). RS는 prebiotic 효과뿐만 아니라(6) 혈액 내 중성지방과 콜레스테롤량을 낮추는 hypolipidemic 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(7). RS의 섭취는 대장에서 short chain fatty acid(SCFA)의 생산을 촉진하는데 그 중에서도 butyrate는 antineoplastic 효과를 가지고 있어서 대장암 발생에서 보호적인 역할을 하는 것으로 보고되고 있다(8). 또한 가공식품에 이용할 경우 품질의 변화 없이 잘 어울리면서 식품의 식이섬유 함량을 증가시키고 식이섬유의 과다섭취로 나타날 수 있는 문제를 개선할 수 있는 것으로도 보고되고 있다(9).

최근 우리나라에서도 상업적으로 제조된 RS를 첨가한 가공식품들이 출시되기 시작하고 있으나 지금까지 RS에 대한 연구는 주로 자연식품 내에 있는 RS의 형태별 연구가 주로 되어 왔다(4,10,11). 이에 본 연구에서는 현재 시판 중인 RS2, RS3가 대장의 생리적 기능에 미치는 영향을 알아보기 위한 목적으로 Loperamide 유도 변비 쥐를 이용하여 RS2, RS3와 대표적인 식이섬유인 셀룰로오스, 펙틴을 각각 첨가 급여시킨 후 이들 각 식이섬유가 대장환경과 혈청지질 패턴에 미치는 영향을 비교해 보고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 식이

실험동물은 4주령 된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐(Dae-han Biolink Co. Ltd, Eumsung, Korea)를 환경이 조절된 사육실(기온 20±2°C, 습도 55±15%, 12시간 dark/light cycle)에서 체중이 200 g 정도의 성숙쥐로 성장할 때까지 pellet형 고형사료(Jeil animal feed Co., Daejeon, Korea)로 사육한 후 평균 체중이 유사하도록 10마리씩 6군으로 나누었다. 정상대조군을 제외한 다섯 군의 동물은 Loperamide(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 식이의 0.03% 수준으로 첨가하여 변비를 유발하였다(12). 실험식은 AIN-76 기본식에 식이섬유원으로 정상대조군(NC)과 변비대조군(CC)은 5% 셀룰로오스, 변비펙틴군(CP)은 5% 펙틴, 변비RS2군(CR2)은 5% RS2, 변비RS2 고섭취군(CR2-H)은 8% RS2, 그리고 변비RS3군(CR3)은 5% RS3를 첨가하였다. 모든 실험식은 총 탄수화물(65%), 총 단백질(20%), 총 지방(15%)의 비율을

Table 1. Composition of experimental diets (g/100 g diet)

Ingredients	NC	CC	CP	CR2	CR2-H	CR3
Casein	20	20	20	20	20	20
Sucrose	10	10	10	10	10	10
Corn oil	5	5	5	5	5	5
Vitamin mix ¹⁾	1	1	1	1	1	1
Mineral mix ²⁾	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
DL-methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Polysaccharide						
Corn starch	55	55	55	51.7	46.7	43.3
Cellulose	5	5	—	—	—	—
Pectin	—	—	5	—	—	—
Hi-Maize 1043 ³⁾	—	—	—	8.3	13.3	—
Novelose 330 ⁴⁾	—	—	—	—	—	16.7
Loperamide	—	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03

Abbreviations: NC, normal control; CC, constipated cellulose; CP, constipated pectin; CR2, constipated resistant starch type2; CR2-H, constipated resistant starch type2-high concentration; CR3, constipated resistant starch type3.

¹⁾AIN-76 vitamin mix (g/kg mix): thiamin·HCl 0.6, riboflavin 0.6, pyridoxine HCl 0.7, nicotinic acid 3, D-calcium pantothenate 1.6, folic acid 0.2, cyanocobalamin 0.001, retinyl palmitate 0.8 (500,000 IU/g), DL- α -tocopheryl acetate 20 (2,501 IU/g), cholecalciferol 0.0025, menaquinone 0.005, sucrose to make 1 kg.

²⁾AIN-76 mineral mix (g/kg mix): calcium phosphate dibasic 500, sodium chloride 74, potassium citrate monohydrate 220, potassium sulfate 52, magnesium oxide 24, manganese carbohydrate 3.5, ferric citrate 6, zinc carbonate 1.6, cupric carbonate 0.3, potassium iodate 0.01, sodium selenite 0.01, chromium potassium sulfate 0.55, sucrose to make 1 kg.

³⁾“HI-MAIZE 1043” (National Starch, Seoul, Korea) is a natural high amylose maize starch and contains 60% of RS2-type resistant starch.

⁴⁾“Novelose 330” (National Starch, Seoul, Korea) is technically classified as an RS3-type resistant starch mixed with oat flour and contains typically 30% total dietary fiber.

동일하게 하여 isocaloric diet가 되도록 제조하였으며 실험 식이의 조성은 Table 1과 같다. 본 실험에 사용된 식이섬유들 중 RS2의 급원으로는 “HI-MAIZE 1043”(National Starch, Seoul, Korea)을 사용하였으며 이 시료는 고아밀로오스 옥수수전분으로서 RS2-type의 난소화성 식이섬유를 60% 함유하고 있다. RS3의 급원으로는 “NOVELOSE 330”(National Starch)을 사용하였으며 이 시료는 귀리 전분으로서 RS3-type으로 분류되는 노화전분(retrograded starch)인 난소화성 식이섬유를 30% 함유하고 있다. 식이섬유를 제외한 제품의 나머지 성분의 대부분은 일반 전분으로 간주하였다. 따라서 저항전분 급여군들의 식이는 이들 급원으로부터 오는 RS2 또는 RS3의 함량이 총 식이의 5% 또는 8%가 되도록 이들 제품의 량을 계산하여 식이에 혼합하였다. 실험식이 급여 기간은 5주였으며 실험 전 기간 동안 식이와 물은 제한 없이 섭취하도록 하였다.

실험동물 희생 및 시료 채취

희생 전날 밤 실험동물을 12시간 절식시킨 후 희생일 아침 1% ketamine hydrochloride(Sigma) 용액을 체중 100 g 당

0.2 mL 양으로 복강 내 주사하여 마취시킨 후 회복하였다. Heparin(Green Cross, Seoul, Korea) 처리가 된 주사기로 복부 하대 정맥에서 혈액을 채취하여 이를 실온에서 1시간 방치한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리(Hanil Science Industrial Co. Ltd, Incheon, Korea) 해서 혈장을 분리하여 분석 시까지 -70°C 에서 냉동 보관하였다. 맹장부분은 미생물 증식, 단쇄지방산 측정, 장내 pH를 측정할 목적으로 즉시 분리하고 대장 점막 내 prostaglandin E_2 를 측정할 목적으로 결장부분을 10 cm 취하여 각각 알루미늄 호일로 포장하여 액체질소를 이용하여 급속 동결해 분석 시까지 -70°C 에서 보관하였다. 대장 내 점막의 두께를 측정하고 점액질의 분비세포의 활성도를 관찰할 목적으로 결장의 말단 부분을 3 cm 정도 취해서 고정액(10% formalin)에 보관하였다.

맹장 내용물의 미생물 증식 측정

맹장 내용물 중의 혐기성 균수와 비피더스균 수의 증식은 Hungate 방법(13)에 의해 측정하였다. 즉, 맹장 내용물 0.5 g을 취하여 4.5 mL의 멸균 phosphate buffer(0.2 M Na_2HPO_4 , 0.2 M NaH_2PO_4 , pH 7.0)에 넣어 균질화 시키고 심진 희석하였다. 혐기성 균은 Titgemeyer 등(14)이 사용한 anaerobic agar (BD Difco, Kansas city, MO, USA) 배지를 사용하였고 비피더스균은 Guillon과 Champ(15)가 사용한 *bifidobacterium* 선택용 배지인 BS agar(BD Difco)를 사용하였다. 적당한 배율의 멸균 희석용액을 50 μL 씩 취해 배지에 도달하고 혐기적 배양을 위해 CO_2 incubator(Vision Scientific Co., Bucheon, Korea)에 넣어 10% CO_2 , 37°C 에서 72시간 배양하였다. 72시간 동안 혐기적으로 배양한 뒤에 배양된 집락의 수를 계수하고 여기에 희석 배수를 곱하여 분변 1 g당 균수(\log_{10} CFU: colony forming unit/g cecal contents)로 나타내었다.

맹장 내용물의 단쇄지방산과 pH 측정

맹장 내용물의 단쇄지방산 조성은 Christian과 Christian(16)의 방법으로 GC(Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA) /Mass Spectrometer(Jeol Ltd., Tokyo, Japan)로 분석하였다. 즉 건조된 맹장 내용물 0.2 g에 5배의 증류수를 가하여 3분 동안 균질화한 후 내부표준물질로 isobutyric acid (Sigma)를 첨가하였다. 다음에 ethyl acetate(Sigma) 1 mL를 넣고 vortex(Scientific Industries Inc., Bohemia, NY, USA)로 10분간 추출한 후 4°C , 3,000 rpm에서 20분 동안 원심 분리하여 상층액 0.5 mL를 취하였다. 같은 방법으로 한 차례 더 반복 추출한 후 이것을 Na_2SO_4 (Sigma)로 탈수하여 최종적인 시료로 보관하였다가 일부를 GC 분석하였다. 맹장 내용물의 pH는 내용물을 0.5 g 채취한 후 10배의 증류수로 희석하고 4°C , 3,000 rpm에서 10분 동안 원심 분리하여 상층액의 산도를 측정하였다.

대장관 내 점액질의 두께 측정 및 점액 분비세포의 활성도 관찰

희생 직후 대장 결장의 말단 부위를 3 cm 정도 취하여 10%

formaldehyde phosphate buffered saline, pH 4.0(Sigma)로 조직 처리 과정을 거친다. 그 후 파라핀으로 고정하여 5 μm 두께로 절편을 제작하고 Alcian blue(Asan Pharm., Seoul, Korea)로 염색하여 100배와 200배 광학현미경(Carl Zeiss Inc., Oberkochen, Germany)으로 관찰하였다. 점막 두께의 측정은 각 조직 샘플에서 점막층이 가장 두꺼운 세 부분을 측정하였고, 점액질 분비세포의 활성은 점액분비세포의 수가 가장 많은 세 부분의 세포를 계수하여 활성 정도를 나타내었다.

대장점막의 prostaglandin E_2 의 농도 측정

대장 점막의 prostaglandin E_2 (PGE_2)의 농도는 Sheng 등의 방법(17)으로 측정하였다. 대장을 채취하여 뒤집은 후 ice-cold PBS(pH 7.2, 0.1 M)로 장 내용물을 씻어내고, slide glass를 이용하여 대장점막을 긁어내었다. 이를 1 mL의 ice-cold buffer가 들어 있는 tube에 넣고 sonicator(Branson, Danbury, CT, USA)를 이용하여 세포를 파괴하고 4°C , $12,000 \times g$ 에서 10분 동안 원심분리한 후 상층액을 얻어 PGE_2 의 생산을 측정하였다. PGE_2 는 효소면역법을 이용한 kit (Cayman Co., Ann Arbor, MI, USA)로 ELISA reader(Bio-Rad, Richmond, VA, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였으며 PGE_2 량의 표시는 결장 길이 1 cm 당으로 하였다.

혈장지질 농도의 측정

혈장의 중성지방 함량, 총 콜레스테롤 함량과 HDL-콜레스테롤 함량은 분석 kit(Asan Pharm.)을 사용하여 효소 비색법으로 분석하였다. 동맥경화지수(Atherogenic index, AI)는 다음 공식에 의해 계산하였다(18).

$$\text{AI} = \frac{\text{Total cholesterol} - \text{HDL-cholesterol}}{\text{HDL-cholesterol}}$$

통계분석

실험 결과는 SPSS package program(version 12.0)을 이용하여 평균 \pm 표준오차로 나타내었으며 각 군의 평균치간의 차이에 대한 유의성은 one-way ANOVA(analysis of variance)와 Duncan's multiple comparison test에 의해 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

맹장 내용물의 미생물, 단쇄지방산 및 pH

저항 전분 첨가 식이가 장에서의 미생물 증식과 산도에 미치는 영향은 Table 2와 같다. 맹장 내용물의 혐기성균의 수는 모든 군간 유의적인 차이가 없었던 반면 비피더스균의 수는 CC군에서 가장 적게 나타났으며 변비유발군들에서는 CR3군과 CR2-H군의 비피더스균수가 유의적으로 높은 경향을 보였고 CP군과 CR2군은 정상대조군과 비슷한 수준을

Table 2. Microbial counts and pH value of cecal contents of the rats fed experimental diets

Group ¹⁾	Microbial counts (log ₁₀ CFU ²⁾ /g cecal content)		pH value
	Anaerobes	Bifidobacteria	
NC	8.91 ± 0.03 ^{3)ns4)}	8.72 ± 0.05 ^{bc5)}	7.63 ± 0.06 ^{ab}
CC	8.90 ± 0.03	8.64 ± 0.06 ^c	7.84 ± 0.08 ^a
CP	8.91 ± 0.02	8.75 ± 0.06 ^{bc}	7.38 ± 0.14 ^{bc}
CR2	8.92 ± 0.03	8.81 ± 0.04 ^{ab}	7.22 ± 0.08 ^c
CR2-H	8.94 ± 0.02	8.90 ± 0.04 ^a	6.79 ± 0.06 ^d
CR3	8.92 ± 0.03	8.92 ± 0.03 ^a	6.39 ± 0.14 ^e

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾CFU: colony-forming unit.

³⁾Mean ± SE (n=10).

⁴⁾ns: not significant.

⁵⁾Values with different superscripts within a column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

보였다. 인체의 장내에는 다양한 세균류가 상호공생 또는 길항관계를 유지하면서 섭취된 음식물과 소화관으로부터 분리되는 생체 성분을 이용하여 증식하고 배설되고 있다. 이들은 호기성균과 혐기성균이 혼재한 생태계를 형성하고 있지만 혐기성 세균이 우세균으로 밝혀져 있다(19). 이중 Lactobacilli와 Bifidobacteria 등은 우리 몸에 필요한 영양분, 비타민, 아미노산, 단백질 등의 합성, 면역강화, 소화촉진 등의 유익한 작용을 하고 장내세균을 안정화시킬 수 있는 능력을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(20). Silvester 등(21)은 RS3의 종류인 CrystaLean를 HFA(human flora-associated) 쥐에게 주었을 때 비피더스균의 수가 유의적으로 증가하였다고 보고했고, Le Leu 등(22)은 RS2의 종류인 Hi-maize가 2% 함유된 식이를 4주간 급여했을 때 비피더스균의 수가 유의적으로 증가하였다고 보고하여 본 연구의 결과와 일치하였다. Seol 등(11)은 RS2형의 고아밀로오스전분(high amylose starch, HAS)을 일반전분의 0, 25, 50, 100%로 대체한 식이로 사육하였을 때 HAS 섭취에 따라 맹장 내 총 혐기성균수와 비피더스균의 증식이 증가되었으나 비피더스균의 수는 HAS 50% 이상일 때 유의적이었다고 보고하였다. 본 실험에서 RS2의 경우 CR2-H군에서만 비피더스균이 유의적으로 증가한 결과는 RS2의 섭취량의 차이에 기인한 것으로 사료된다. Wong 등(23)은 밀겨 30 g과 사탕수수섬유 10.5 g을 각각 12주간 급여하였으나 장내 균총의 변화가 나타나지 않

았다고 하였으며 Vince 등(24)은 락툴로오스, 펙틴, 아라비노갈락탄, 셀룰로오스 등을 14주간 공급하였음에도 불구하고 장내 균총 조성에는 변화를 가져오지 못하였다고 보고하여 본 실험에서 셀룰로오스, 펙틴 등이 장내 균총 조성에는 큰 영향을 미치지 않았던 결과와 일치하였다.

이상의 세균들은 장내에서 식이섬유를 발효시켜 단쇄지방산들, 주로 아세트산, 프로피온산, 부티르산을 생성하며 단쇄지방산은 장 점막으로부터 빨리 흡수되어 대장점막세포의 주요한 에너지원으로 이용되는 것으로 알려져 있다(25). 사람 또는 쥐의 대장점막세포는 에너지의 5~10%를 단쇄지방산으로부터 공급받고 있으며 이로 인해 대장점막의 증식작용이 현저한 것으로 보고되고 있다(26). 또한 면역 조절기능이 확인되어 알레르기와 염증성 장질환에 대한 효과도 기대된다(27). 그 밖에도 단쇄지방산은 물, 전해질의 흡수 촉진작용, 중탄산 이온의 분비 항진 작용, 대장 점막의 혈류 증가 작용 등을 나타내는 것으로 알려져 있다(26). 장 건강증진에 도움을 주는 단쇄지방산 생성에 대한 여러 가지 섬유질의 영향을 실험한 결과(Table 3)는 아세트산의 경우 정상군에 비해 모든 변비군들에서 생성량이 낮았으나 변비군 간에는 섬유질의 종류에 따른 유의차는 없었다. 프로피온산의 경우는 펙틴군(CP)의 생성량이 가장 높고 셀룰로오스군(CC)이 가장 낮았으며 저항전분군들(CR2군, CR2-H군, CR3군)은 그 중간 정도의 수준을 보였다. 부티르산의 경우 저항전분 투여군들에서 셀룰로오스군에 비해 높은 생성을 보였으며 특히 CR3군에서 가장 높았다. 단쇄지방산의 총 생성량은 CP군, CR2-H군과 CR3군에서 다른 군에 비해 유의적으로 높았다. Brown 등(28)은 돼지에게 총 에너지의 50%가 되도록 HAS를 주면서 *Bifidobacterium longum*을 함께 보충시켰을 때 변이로의 단쇄지방산 배설량이 증가하였는데 아세트산의 양은 차이가 없었으나 프로피온산과 부티르산의 양이 증가하였다고 보고하였다. Jenkins 등(29)은 24명의 젊은 성인을 대상으로 2주 동안 HAS를 이용하여 하루에 30 g의 저항전분이 포함된 식사를 제공하였을 때 HAS 섭취군이 대조군에 비해 총 단쇄지방산에 대한 부티르산의 비율이 증가하였다고 하여 본 연구의 결과와 일치하였다. 본 실험에서는 RS3군에서 부티르산의 농도가 가장 높게 나타나 저항전분이 장의 건강성에 뛰어난 효과를 나타낼 것으로 보여 변비 쥐의 대장

Table 3. Short chain fatty acid value of cecal contents of the rats fed experimental diets (μM/g cecal contents)

Group ¹⁾	Acetate	Propionate	Butyrate	Total SCFA ⁴⁾
NC	183.79 ± 31.33 ^{2)a3)}	18.21 ± 1.11 ^{ab}	27.58 ± 4.15 ^{ab}	225.26 ± 30.20 ^a
CC	112.35 ± 1.06 ^b	13.99 ± 1.66 ^b	21.22 ± 5.12 ^b	145.34 ± 6.35 ^b
CP	117.85 ± 11.75 ^{ab}	27.44 ± 7.17 ^a	36.14 ± 8.70 ^{ab}	220.87 ± 12.82 ^a
CR2	116.90 ± 17.29 ^b	20.92 ± 3.40 ^{ab}	31.58 ± 5.26 ^{ab}	170.29 ± 15.87 ^{ab}
CR2-H	150.29 ± 30.45 ^{ab}	25.25 ± 4.70 ^{ab}	43.07 ± 7.73 ^{ab}	219.64 ± 23.51 ^a
CR3	138.14 ± 6.90 ^{ab}	22.60 ± 3.90 ^{ab}	50.72 ± 12.17 ^a	209.63 ± 16.72 ^a

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Mean ± SE (n=10).

³⁾Values with different superscripts within a column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

⁴⁾SCFA: short chain fatty acid.

환경 개선에 가장 유용하게 작용할 것으로 사료된다.

단쇄지방산의 생산 증가는 장내 pH 저하에 영향을 주어 발암물질의 생성을 저하시키는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서 저항 전분 첨가 식이가 장내 pH 변화에 미치는 영향을 측정된 결과(Table 2)는 CR3군, CR2-H군, CR2군에서 정상대조군에 비해 유의적으로 낮게 나타나 장내 비피더스균의 증식 및 단쇄지방산의 생산과 유사한 경향을 보였다. Sembries 등(30)은 유산균의 증식과 단쇄지방산의 생산이 대장 내의 pH 저하에 영향을 주는데 이는 비피더스균의 수에 비례하고, 이러한 대장 내 pH의 저하는 혐기성균의 증식을 막고 단백질 유래의 질소나 유황을 가진 유해물질의 생성을 억제시키는 것으로 보고하고 있다. 따라서 저항전분은 장내 비피더스균의 증식, 단쇄지방산의 생산 증가 및 대장 내 pH의 저하를 초래함으로써 대장환경을 개선하고 장기적으로 여러 가지 대장질환의 예방인자로서 작용할 것이라 생각할 수 있다.

대장 내 점액질의 두께 및 대장 내의 점액분비세포 활성화

저항전분 첨가 식이가 변비가 유발된 쥐의 대장관내 점막의 두께 및 점액분비세포 활성화에 미치는 영향을 관찰한 결과(Table 4, Table 5) 대장관내 점막의 두께는 정상대조군에 비해 CC군이 유의하게 감소하였으며 CR2군과 CP군은 CC군에 비해 두꺼운 수준이었으나 유의적 차이는 없었고 CR3군과 CR2-H군에서 변비유발상태임에도 불구하고 대장관내 점막의 두께가 정상대조군과 비슷한 수준으로 나타났다. Loperamide를 일정 기간 투여하면 대장관내의 점액질의 두께가 감소하여 대장 내용물의 이동에 지장을 초래하는 것으로 알려져 있지만 RS2 및 RS3를 급여함에 따라 점액질의 두께가 정상 수준으로 유지되었음을 알 수 있었다. 점막하층과 근육층의 두께는 모든 군 간에 유의적 차이가 나타나지 않았다. 점액분비세포의 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위해 측정된 crypt column의 길이는 모든 군간 유의적 차이가 나타나지 않았다. Crypt column당 점액분비세포의 수는 CR3군과 CR2-H군에서 정상대조군과 유사하게 나타났고 CR2군, CP군, CC군에 비해 유의적으로 많았다. 이를 바탕으로 도출한 crypt column 100 μm 당 점액분비세포의 밀도는 CC

군이 정상군에 비해 유의적으로 낮았고, 다른 식이섬유를 투여한 모든 변비유발군들은 정상대조군과 유의한 차이가 없었으며 CR3 투여군은 정상군과 거의 같은 높은 수준을 보였다. Crypt column 100 μm 당 점액분비세포(crypt epithelial cell)의 밀도에서 RS3군이 정상대조군과 유사한 수준을 나타낸 점으로 보아 저항전분 RS3는 점액분비세포의 활성도를 정상 수준으로 유지하는데 도움이 될 수 있다. 이러한 결과로 미루어보아 RS3의 섭취가 장관 내 유효성을 유지하게 하고 장의 운동성을 증가시켜 배변을 용이하게 함으로써 변비유발에 의해 저하된 장 기능을 개선시킬 수 있을 것으로 기대할 수 있다. 장의 건강을 유지하기 위해서는 식이섬유, 장내세균총, 소화관 상피세포와 점액질층(mucus layer)을 포함하는 점막(mucosa) 등 3대 요소의 상호보완 및 균형 관계가 중요하다. 특히 Corfield 등(31)은 점액의 분비와 점액층의 형성이 제대로 이루어져야 하며 각종 장 질환의 거의 대부분은 점액의 부족과 관계가 있다고 하였다. 소화기관의 점액질은 상피세포(epithelial cell)를 덮고 있으며, 유효유적 방어막으로서 수화를 유지하여 기계적인 손상과 화학적인 자극으로부터 상피조직인 장내 표면을 보호하는 역할과 소화운동의 유효제 역할을 한다(32). 식이섬유의 섭취에 의한 대장 점막과 점액분비세포의 구조적, 기능적 반응을 일으키는 기전은 잘 알려져 있지 않다. 그러나 단쇄지방산은 장점막세포가 에너지원으로 이용할 수 있는 주요 급원이고, 단쇄지방산이 장내로 공급되면 점막세포의 밀도 및 미생물의 종류와 분포가 바뀐다고 보고된 바 있다(33). 세포수의 증가는 반드시 증식과정을 필요로 하므로 미생물이 발효시켜 생성된 단쇄지방산과 장세포 증식 간의 상관관계가 있을 것으로 생각된다. 이는 단쇄지방산 중 특히 부티르산이 정상적인 장세포의 세포증식을 자극한다는 연구결과(34)와 일치하는 것으로 점막 세포에 미치는 영향은 어떤 한 가지 요인만이 아닌 여러 요인들 간의 상호작용에 의해 영향 받을 수 있을 것으로 사료된다.

대장점막의 prostaglandin E2의 농도

저항전분 첨가 식이가 대장점막에서 염증지표 PGE₂의 농

Table 4. Thickness of mucosa, submucosa and muscularis of distal colon of the rats fed experimental diets (mm)

Group ¹⁾	Mucosa	Submucosa	Muscularis
NC	0.24±0.01 ^{2)ab3)}	0.09±0.00 ^{ns4)}	0.12±0.01 ^{ns}
CC	0.19±0.02 ^c	0.11±0.01	0.13±0.00
CP	0.21±0.00 ^{bc}	0.11±0.01	0.12±0.01
CR2	0.21±0.01 ^{bc}	0.10±0.01	0.13±0.01
CR2-H	0.24±0.02 ^{ab}	0.09±0.01	0.12±0.01
CR3	0.25±0.01 ^a	0.10±0.01	0.13±0.01

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Mean±SE (n=10).

³⁾Values with different superscripts within a column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

⁴⁾ns: not significant.

Table 5. Crypt column length and crypt epithelial cell density of colonic mucosa of the rats fed experimental diets

Group ¹⁾	Crypt column length (μm)	No. of cells/crypt column	Crypt epithelial cell density (No. of cells/100 μm)
NC	188.57±9.48 ^{2)ns3)}	22.60±1.17 ^{a4)}	12.14±0.67 ^a
CC	170.48±4.68	17.13±0.85 ^b	10.13±0.63 ^b
CP	170.24±11.10	17.67±0.41 ^b	10.51±0.50 ^{ab}
CR2	172.86±7.55	18.07±0.92 ^b	10.44±0.48 ^{ab}
CR2-H	195.24±10.73	22.17±1.63 ^a	11.39±0.62 ^{ab}
CR3	184.29±2.45	22.07±0.82 ^a	12.11±0.35 ^a

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Mean±SE (n=10).

³⁾ns: not significant.

⁴⁾Values with different superscripts within a column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 6. Production of prostaglandin E₂ of colonic mucosa of the rats fed experimental diets

Group ¹⁾	Prostaglandin E ₂ (pg/cm large intestine)
NC	89.59 ± 4.16 ^{2)e3)}
CC	144.11 ± 0.94 ^a
CP	131.32 ± 4.97 ^b
CR2	118.46 ± 5.43 ^c
CR2-H	103.69 ± 4.64 ^d
CR3	90.07 ± 3.53 ^e

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Mean ± SE (n=10).

³⁾Values with different superscript within a column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

도에 미치는 영향을 측정된 결과(Table 6), CR3군에서 정상대조군(NC)과 유사한 수준으로 나타나 다른 섬유군들에 비해 염증성 장질환 등에 노출될 위험이 가장 적은 것으로 나타났다. CR2-H군과 CR2군에서도 PGE₂의 생산이 감소하여 CC군이나 CP군에 비해 유의적으로 낮은 수준을 보였다. 대장에서 단쇄지방산의 단기간 부족은 점막의 발육부진을 일으키며, 장기간의 부족은 대장염을 일으키는데(35) 동물실험에서 항생제를 섭취하는 경우 장내에서의 단쇄지방산의 생산 감소로 인하여 설사와 다양한 종류의 대장염이 나타나는 것으로 보고되었다(36). 또한 단쇄지방산의 보충이 여러 종류의 궤양을 치료할 수 있다는 Scheppach 등(35)의 보고는 식이탄수화물로부터 생산된 단쇄지방산이 대장에서의 염증발생을 예방할 수 있을 것으로 기대된다. 특히 n-부티르산은 대장세포에 영양분을 제공하는 것 이외에도 염증을 억제하는 효과가 생체 내와 생체 외에서 보고되고 있다. 이는 염증을 일으키는 사이토킨의 전사과정에 작용을 하기 때문인 것으로 알려져 있다(37). 본 연구에서도 RS3 및 RS2 섭취 시 대장세포 점막에서의 염증의 원인으로 알려져 있는 PGE₂의 생산이 감소하였고, 이는 RS 섭취에 의한 단쇄지방산의 생산증가, 특히 부티르산의 증가와 일치하여 RS 섭취가 대장에서의 염증을 예방할 수 있을 것으로 추정된다.

혈장지질 농도

변비상태가 지속되면 체외로 배출되어야 할 콜레스테롤과 지방 등이 밖으로 나가지 못하고 장내 체류시간이 연장되어

그 흡수량이 많아지면 체내의 콜레스테롤과 지방이 증가되어 동맥경화를 일으키고 고혈압과 심장 비대 등의 원인이 될 수 있다고 보고되고 있다(38). 본 실험에서 저항 전분을 첨가한 실험 식이를 변비유발 쥐에 5주간 투여한 결과 혈중 중성지방은 펙틴(CP)군과 RS2 투여군들이 셀룰로오스나 RS3군에 비해 유의적으로 낮았으며, 총콜레스테롤 수준은 모든 RS 투여군들과 펙틴군이 변비 셀룰로오스 투여군에 비해 유의적으로 낮았고 정상대조군과 비슷한 수준을 나타내었다(Table 7). 이와 같은 결과는 정상대조군과 변비유발군의 식이효율의 차이에 따른 체중증가량의 차이에 일부 기인한 것일 수도 있다. Nishina 등(39)은 불용성 식이섬유를 식이 중 5% 첨가 시 혈중 콜레스테롤 농도에 영향을 미치지 않거나 오히려 콜레스테롤 농도를 높인다고 보고하였고, Garcia 등(40)은 펙틴과 같은 수용성 식이섬유를 5~7% 첨가시킬 때 콜레스테롤 농도를 낮춘다고 보고하여 본 실험에서 셀룰로오스군(CC군)에 비해 펙틴을 투여한 CP군의 콜레스테롤 농도가 낮게 나타난 결과와 일치한다. 수용성 식이섬유의 체내 콜레스테롤 감소효과는 식이섬유의 점성과 밀접한 관계가 있으며 많은 연구자들에 의해 확인되었다(41). 이는 식이 중 콜레스테롤의 흡수저해에 의한 효과보다는 담즙산의 재흡수 방지 효과에 그 기전이 있는 것으로 보고되고 있다(42). 저항전분은 불용성 식이섬유로 분류되나 수용성 식이섬유와 비슷한 생리적 기능을 갖는 것으로 보고(9)된 바 있으므로 이와 유사한 기전을 통해 혈중 콜레스테롤 농도를 낮춘 것으로 생각된다. Vanhoof와 Schrijver(43)는 RS2와 RS3 각각의 형태를 식이무게의 50%로 흰쥐에게 섭취시키면서 RS종류에 따른 효과를 비교하였을 때 RS3의 섭취 시에만 혈액 내 총 콜레스테롤, 유리 콜레스테롤, 간 조직 중 지방함량이 감소한다고 보고하였으나 Seol 등(11)의 연구에서는 RS2에 속하는 HAS를 섭취하여도 혈액 중 지질이 감소하였다고 보고하여 본 연구에서 저항전분의 종류에 관계없이 혈액 중 중성지방과 콜레스테롤이 감소한 결과와 일치하였다. 저항전분은 helical structure를 가지고 있어서 담즙산과 결합함으로써 변으로 담즙산의 배설을 증가시키고 결과적으로 혈중 콜레스테롤을 간으로 이동시켜 새로운 담즙산을 생성함으로써 혈중 콜레스테롤을 함량을 감소시키는 것

Table 7. Plasma lipid concentrations and atherogenic index of the rats fed experimental diets (mg/dL)

Group ¹⁾	Triglyceride	Total cholesterol	HDL-cholesterol	HDL-C/Total C (%) ²⁾	AI ³⁾
NC	135.05 ± 1.47 ^{4)a5)}	132.76 ± 2.21 ^b	52.07 ± 2.88 ^b	39.30 ± 1.89 ^b	1.57 ± 0.12 ^b
CC	134.96 ± 0.09 ^a	173.35 ± 4.81 ^a	52.48 ± 1.94 ^b	30.80 ± 1.29 ^c	2.27 ± 0.13 ^a
CP	120.96 ± 1.75 ^b	135.03 ± 7.88 ^b	50.70 ± 2.21 ^b	38.14 ± 1.94 ^b	1.50 ± 0.15 ^b
CR2	125.86 ± 2.37 ^b	134.08 ± 9.72 ^b	63.94 ± 0.66 ^a	50.34 ± 3.68 ^a	1.05 ± 0.16 ^c
CR2-H	126.22 ± 2.55 ^b	118.31 ± 5.08 ^b	63.18 ± 3.89 ^a	53.50 ± 3.17 ^a	0.91 ± 0.13 ^c
CR3	135.86 ± 2.12 ^a	121.02 ± 3.08 ^b	66.45 ± 2.50 ^a	55.78 ± 2.07 ^a	0.80 ± 0.06 ^c

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾HDL-C/Total C (%): (HDL-cholesterol/ Total cholesterol) × 100.

³⁾AI: Atherogenic index = (Total cholesterol - HDL-cholesterol) / HDL-cholesterol.

⁴⁾Mean ± SE (n=10).

⁵⁾Values with different superscripts within a column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

로 보고되었다(44). 또한 RS는 대장에서 발효되어 단쇄지방산들을 생성하고 이들이 콜레스테롤 생합성과정의 율속 효소인 HMG-CoA reductase의 활성을 저해함으로써 콜레스테롤 합성을 억제시키는 것으로 알려져 있다(45).

혈장 HDL-콜레스테롤의 농도와 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 수준의 비는 RS2 및 RS3를 급여한 군들이 펙틴이나 셀룰로오스 급여군들에 비해 유의적으로 높았다. 이는 Lopez 등(9)과 David와 Jenkins(46)의 저항전분 첨가 식이가 혈장 HDL-콜레스테롤의 농도 변화에 영향을 주지 않는다는 연구결과와는 상반되지만, Kishida 등(47)의 연구에서는 저항전분 첨가 식이로 인해 혈장 HDL-콜레스테롤의 농도와 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 수준의 비가 유의적으로 증가했다고 보고해 본 연구의 결과와 일치하였다. 혈장지질 수준으로부터 산출된 동맥경화지수는 그 수치가 높을수록 관상동맥질환의 발병위험이 높아지는데 RS2 및 RS3 급여군에서 펙틴이나 셀룰로오스군에 비해 유의적으로 낮은 수준을 나타내었다. 이상의 결과에서 RS2 및 RS3의 급여는 혈중 중성지질과 총 콜레스테롤의 농도를 저하시킬 뿐만 아니라 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 수준의 증가, 동맥경화지수의 감소 등 심혈관질환의 위험인자를 개선시키는데 긍정적인 효과를 나타내었으므로 변비 유발 쥐의 지질대사 개선에 대해 유익한 효과를 나타낼 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 저항전분이 Loperamide 유도 변비 쥐의 대장내 환경과 혈중지질 농도에 미치는 영향에 대해 실험 조사하였다. 실험동물은 Sprague-Dawley계 수컷 쥐를 사용하였으며 60마리를 정상 셀룰로오스군, 변비 셀룰로오스군, 변비 펙틴군, 변비 RS2군, 변비 고RS2군, 변비 RS3군의 6개 군으로 나누었다. AIN-76 식이를 기본으로 각각 다른 식이 섬유원 즉, 셀룰로오스, 펙틴, RS2, RS3를 첨가하여 에너지 밀도가 동일한 실험식을 변비 유발 쥐에 5주 동안 투여하여 다음과 같은 결과를 얻었다. RS3 투여군과 고농도 RS2 투여군은 맹장 내용물의 비피더스균 수를 정상대조군에 비해 유의적으로 높이는 효과를 나타내었다. 맹장 내용물의 단쇄지방산 총량은 셀룰로오스 군에 비해 펙틴과 저항전분군들에서 유의적으로 높았고, 개별 단쇄지방산은 프로피온산의 경우 펙틴군에서 가장 높았으며 부티르산은 CR3군에서 가장 높았다. 저항전분의 투여는 맹장 내용물의 pH를 셀룰로오스군에 비해 유의적으로 낮추었다. RS3 투여는 대장 관내 점막의 두께를 정상대조군에 비해 증가시키는 경향을 보였고, 점액 분비 세포의 활성도를 정상대조군과 비슷한 수준으로 나타내었다. 염증지표 PGE₂의 수준은 저항전분 보충군들이 정상 셀룰로오스군에 비해서는 높았으나 변비 셀룰로오스군이나 펙틴군에 비해서는 유의적으로 낮았다. 뿐만 아니라 저항전

분들의 투여는 종류에 관계없이 변비동물에서 혈중 중성지질과 총 콜레스테롤 농도를 낮추고 HDL-콜레스테롤의 비율을 높임으로써 동맥경화지수를 낮추어 지질대사를 개선하는 유익한 효과를 나타내었다. 이상의 결과들에서 저항전분들은 장내 비피더스균과 같은 유용균의 증식을 활성화시키며 단쇄지방산의 생산을 증가시킴으로써 장내 pH를 낮추는 효과를 나타낼 수 있으며, 또한 대장 점막층의 두께와 점액분비 세포수를 증가시키고 염증지표 수준을 낮춤으로써 변비동물의 대장 내의 환경을 건강하게 유지하고 장 기능을 효과적으로 개선시킬 뿐 아니라 혈중지질의 개선효과를 함께 나타낼 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2008년도 경북대학교 연구교수 연구비에 의하여 수행되었으며, Resistant starch를 제공해준 National Starch(Seoul, Korea) 회사에 감사드립니다.

문 헌

1. Skrabanja V, Liljeberg Elmstahl HGM, Kreft I, Björck IME. 2001. Nutritional properties of starch in buckwheat products: Studies *in vitro* and *in vivo*. *J Agric Food Chem* 49: 490-496.
2. Yook HS, Kim YH, Ahn HJ, Kim DH, Kim JO, Byun MW. 2000. Rheological properties of wheat flour dough and qualities of bread prepared with dietary fiber purified from ascidian (*Halocynthia roretzi*) tunic. *Korean J Food Sci Technol* 32: 387-395.
3. Kim SY, Chang YK. 1993. Effect of guar gum and calcium supplement on nutritional bioavailabilities in the rats. *Korean J Nutr* 26: 21-33.
4. Lopez HW, Coudray C, Bellanger J, Levrat-verny MA, Demigne C, Rayssiguier Y, Remesy C. 2000. Resistant starch improves mineral assimilation in rats adapted to a wheat bran diet. *Nutr Res* 20: 141-155.
5. Englyst HN, Trowell H, Southgate DAT, Cummings JH. 1987. Dietary fiber and resistant starch. *Am J Clin Nutr* 46: 873-874.
6. Brown I, Warhust M, Arcot J, Playen M, Illman RT, Topping DL. 1997. Fecal numbers of bifidobacteria are higher in pigs fed *Bifidobacterium longum* with a high amylose cornstarch than with a low amylose cornstarch. *J Nutr* 127: 1822-1827.
7. de Deckere EAM, Kloots WJ, van Amelsvoort JM. 1993. Resistant starch decreases serum total cholesterol and triglycerol concentrations in rats. *J Nutr* 123: 2142-2151.
8. Topping DL, Clifton PM. 2001. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol Rev* 81: 1031-1064.
9. Lopez HW, Levrat-verny MA, Coudray C, Besson C, Krespine V, Messager A, Demigne C, Rémésy C. 2001. Class 2 resistant starches lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats. *J Nutr* 131: 1283-1289.
10. Ferguson LR, Tasman-Jones C, Englyst H, Harris PJ. 2000. Comparative effects of three resistant starch preparation on transit time and short chain fatty acid production in rats. *Nutr Cancer* 36: 230-237.

11. Seol SM, Bang MH, Choi OS, Kim WK. 2003. Effects of high amylose starch on lipid metabolism and immune response in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 450-457.
12. Loeschke K, Schmid T, Farack UM. 1989. Inhibition by loperamide of mucus secretion in the rat colon in vivo. *Eur J Pharmacol* 170: 41-46.
13. Hungate RE. 1950. The anaerobic mesophilic cellulolytic bacteria¹. *Am Soc Microbiol* 14: 1-49.
14. Titgemeyer EC, Bourquin LD, Fahey GC, Garleb KA. 1991. Fermentability of various fiber sources by human fecal bacteria in vitro. *Am J Clin Nutr* 53: 1418-1424.
15. Guillon F, Champ MMJ. 2002. Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *Br J Nutr* 88: 293-306.
16. Christian D, Christian R. 1985. Stimulation of absorption of volatile fatty acids and minerals in the cecum of rats adapted to a very high fiber diet. *J Nutr* 115: 53-60.
17. Sheng H, Shao J, Washington MK, DuBois RN. 2001. Prostaglandin E2 increases growth and motility of colorectal carcinoma cells. *J Biol Chem* 276: 18075-18081.
18. Holmes DT, Frohlich J, Buhr KA. 2008. The concept of precision extended to the atherogenic index of plasma. *Clin Biochem* 41: 631-635.
19. Mitsuoka T. 1990. Bifidobacteria and their role in human health. *J Ind Microbiol* 6: 263-268.
20. Kimura K, McCartney AL, McConnell MA, Tannock GW. 1997. Analysis of fecal populations of bifidobacteria and lactobacilli and investigation of the immunological responses of their human hosts to the predominant strains. *Appl Environ Microbiol* 63: 3394-3398.
21. Silvester KR, Englyst HN, Cummings JH. 1995. Ileal recovery of starch from whole diets containing resistant starch measured in vitro and fermentation of ileal effluent. *Am J Clin Nutr* 62: 403-411.
22. Le Leu RK, Brown IL, Hu Y, Morita T, Esterman A, Young GP. 2007. Effect of dietary resistant starch and protein on colonic fermentation and intestinal tumourigenesis in rats. *Carcinogenesis* 28: 240-245.
23. Wong JMW, de Souza R, Kendall CWC, Emam A, Jenkins DJA. 2006. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clinical Gastroenterology* 40: 235-243.
24. Vince AJ, McNeil NI, Wager JD, Wrong OM. 1990. The effect of lactulose, pectin, arabinogalactan and cellulose on the production of organic acids and metabolism of ammonia by intestinal bacteria in a faecal incubation system. *Br J Nutr* 63: 17-26.
25. Thompson DB. 2000. Strategies for the manufacture of resistant starch. *Trends in Food Sci Technol* 11: 245-253.
26. Lim BO, Lee CJ, Kim JD. 2004. Study on immunoregulatory function of dietary fiber. *Food Ind Nutr* 9: 26-30.
27. Siavoshian S, Segain JP, Kornprobst M, Bonnet C, Cherbut C, Galmiche JP, Blottiere HM. 2000. Butyrate and trichostatin A effects on the proliferation/differentiation of human intestinal epithelial cells: induction of cyclin D3 and p21 expression. *Gut* 46: 507-514.
28. Brown I, Warhurst M, Arcot J, Playne M, Illman RJ, Topping DL. 1997. Fecal numbers of bifidobacteria are higher in pigs fed *Bifidobacterium longum* with a high amylose cornstarch than with a low amylose cornstarch. *J Nutr* 127: 1822-1827.
29. Jenkins DJ, Vuksan V, Kendall CW, Würsch P, Jeffcoat R, Waring S, Mehling CC, Vidgen E, Augustin LS, Wong E. 1998. Physiological effects of resistant starches on fecal bulk, short chain fatty acids, blood lipids and glycemic index. *J Am Coll Nutr* 17: 609-616.
30. Sembries S, Dongowski G, Jacobasch G, Mehrlander K, Will F, Dietrich H. 2003. Effects of dietary fibre-rich juice colloids from apple pomace extraction juices on intestinal fermentation products and microbiota in rats. *Br J Nutr* 90: 607-616.
31. Corfield AP, Carroll D, Myerscough N, Probert CS. 2001. Mucins in the gastrointestinal tract in health and disease. *Front Biosci* 6: D1321-1327.
32. Corfield AP, Warren BF. 1996. Mucus glycoproteins and their role in colorectal disease. *J Pathol* 180: 8-17.
33. Whitehead RH, Young GP, Bhathal PS. 1986. Effect of short chain fatty acids on a new human colon carcinoma cell line (LIM1215). *Gut* 27: 1457-1463.
34. Sakata T. 1987. Stimulatory effect of short chain fatty acids on the epithelial cell proliferation in rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors. *Br J Nutr* 58: 95-103.
35. Scheppach W, Christl SU, Bartram HP, Rechter F, Kasper H. 1997. Effects of short chain fatty acids on the inflamed colonic mucosa. *Scand J Gastroenterol Suppl* 222: 53-57.
36. Mortensen PB, Clausen MR. 1996. Short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 216: 132-148.
37. Saemann MD, Bohmig GA, Zlabinger GJ. 2002. Short-chain fatty acids: bacterial mediators of a balanced host-microbial relationship in the human gut. *Wien Klin Wochenschr* 114: 289-300.
38. Lee HG. 1996. Nutritional problems of Koreans. Cause various diseases and nutritional aspects of Korean-The necessity of research of nutrition/health. *Korean J Nutr* 29: 381-383.
39. Nishina PM, Schneeman BO, Freedland RA. 1991. Effects of dietary fibers on nonfasting plasma lipoprotein and apolipoprotein levels in rats. *J Nutr* 121: 431-437.
40. Garcia Diez F, Garcia Mediavilla V, Bayon JE, Gonzalez Gallego J. 1996. Pectin feeding influences fecal bile acids excretion, hepatic bile acid and cholesterol synthesis and serum cholesterol in rats. *J Nutr* 126: 1766-1771.
41. Anderson JW, Jones AE, Riddle-Mason S. 1994. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *J Nutr* 124: 78-83.
42. Gallaher DA, Hassel CA, Lee KJ, Gallaher CM. 1993. Viscosity and fermentability as attributes of dietary fiber responsible for the hypocholesterolemic effect in hamsters. *J Nutr* 123: 244-256.
43. Vanhoof K, Schrijver R. 1997. Consumption of enzyme resistant starch and cholesterol metabolism in normo- and hypercholesterolemic rats. *Nutr Res* 17: 1331-1340.
44. Fernandez ML, Roy S, Jimenez MV. 2000. Resistant starch and cholestyramine have distinct effects on hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. *Nutr Res* 20: 837-849.
45. Chen WJL, Anderson JW, Jennings D. 1984. Propionate may mediate the hypocholesterolemic effects of certain soluble plant fibers in cholesterol fed rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 175: 215-218.
46. David JA, Jenkins MD. 1998. Physiological effects of resistant starches on fecal bulk, short chain fatty acids, blood lipids and glycemic index. *J Am Coll Nutr* 17: 609-616.
47. Kishida T, Nogami H, Himeno S, Ebihara K. 2001. Heat moisture treatment of high amylose cornstarch increases its resistant starch content but not its physiologic effect in rats. *J Nutr* 131: 2716-2721.