

고아밀로오스전분의 섭취가 흰쥐의 지방대사 및 면역능력에 미치는 영향

설소미 · 방명희 · 최옥숙 · 김우경[†]

단국대학교 식품영양학과

Effects of High Amylose Starch on Lipid Metabolism and Immune Response in Rats

So Mi Seol, Myung Hee Bang, Ok Suk Choi and Woo Kyoung Kim[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Dankook University, Seoul 140-714, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of high amylose corn starch consumption on plasma, liver and feces lipid profiles and immune responses in male Sprague-Dawley rats. Experimental animals were fed on diets containing the high amylose starch (HAS, 0, 125, 250, 500 g/kg diet) for 4 weeks. HAS intake did not affect on food intakes and food efficiency ratio. Final body weights were lowered in HA100 group than in control group. HAS intakes dose dependently increased the weights of cecum and excretion of feces per day, and decreased the pH of cecum contents. And HAS intakes significantly decreased the plasma total lipid, triglyceride and total cholesterol levels. But there were not significant differences total lipid, triglyceride and cholesterol concentrations in liver. The absolute and relative weights of thymus and spleen, plasma Ig G and C₃ concentrations were unaffected by experimental diets. The splenocyte proliferations with low dose Con A (0.1 µg/10 µL) as lower in HA25 group and HA50 group than in control group. These results demonstrate that high amylose corn starch intakes significantly improve lipid profiles in plasma.

Key words: resistant starch, high amylose starch, lipid metabolism, immune response

서 론

탄수화물은 일반적으로 하루 열량의 50~60%를 차지하는 열량원으로서의 기능이 강조되어 왔으나 섭취하는 탄수화물의 종류에 따라 소화·흡수율이 다르고 이것이 생리적인 면에 영향을 줄 것이라는 개념이 알려지면서, 탄수화물이 열량만을 제공하는 것이 아니라 생리활성을 가지고 있는 물질로서 새로이 인식되고 있다(1). 그 중의 하나가 저소화성 탄수화물(low-digestible carbohydrate, LDC)이라고 할 수 있다(2). 저소화성 탄수화물이란 일반 탄수화물에 비해 소장에서 소화가 효율적으로 일어나고 않고, 소화되지 않은 부분이 대장으로 넘어가 장내 미생물에 의해 발효되는 탄수화물들을 말하고 올리고당, 저항전분(resistant starch, RS) 등이 이에 속한다(3). Nuir 등(4)은 회장을 제거한 환자에게 RS를 적게 포함하고 있는 식사로 탄수화물을 51.8 g 섭취시켰을 때 2.4 g이 소화되지 않는 반면에 RS를 많이 함유하고 있는 식사로 탄수화물을 52.7 g 섭취시키면 19.9 g의 전분이 소화되지 않았다고 하였다. 그리고 Behall과 Howe(5)는 RS의 대사적 에너지가 건강한 사람에서는 1 g 당 2.8 kcal이며, 고인슐린혈증을 가지고 있는 사람에서는 2.2 kcal로 일반전분에 비해 RS의

대사적 에너지가 낮은 것을 확인하였다.

RS는 Prosky Method에 의해 total dietary fiber(TDF)를 결정하는데 있어서 영향을 주는 인자로 처음에 인식되었다(6). RS는 4가지로 분리되는데 RS1은 물리적으로 소화가 되지 않는 부분을 말하고, RS2는 생감자전분이나 고아밀로오스전분처럼 호화되지 않은 전분을 말하며, RS3는 노화된 전분, RS4는 화학적으로 변성된 전분을 말한다(7). 자연식품이나 가공식품에는 어느 정도의 RS가 함유되어 있으며 그 양은 amylose/amylopectin의 비율, 물리적 형태, 호화정도, 가열 정도 및 냉각과 저장조건 등에 의해 영향을 받는다(8,9). RS의 생리적 이점은 부분적으로 식이섬유와 같이 포도당의 분비를 지연시키고, 장내 발효를 촉진시키며, 혈액내 지방성분을 감소시킨다고 한다(10). 또한 식이섬유와는 다르게 철분이나 아연과 같은 무기질의 체내 보유를 증가시키는 작용이 보고되고 있다(11). 그러나 Marteau와 Flourie(2)는 RS가 소장에서 완전하게 흡수가 되지 않고 대장에서 발효되므로 일반적으로 tolerate 할 수 있으나 섭취하는 양에 따라 삼투압이나 과잉발효에 의해 복부팽만, 경련, 설사 등의 이상증세를 나타내기도 하며, 이는 개인에 따라 흡수능력, 민감성, 섭취량과 섭취형태 등에 의해 많은 차이가 있다고 하여 섭취량에

[†]Corresponding author. E-mail: WkKim@dankook.ac.kr
Phone: 82-2-709-2407. Fax: 82-2-792-7960

대한 제안이 필요하다고 하였다.

고아밀로오스전분(high amylose starch, HAS)은 amylose 함량이 일반전분의 20%에 비해 많은 전분을 말하며, amylose 함량이 50~80%까지 종류가 다양하다(12). 전분을 구성하고 있는 amylose나 amylopectin은 큰 분자 그대로 장에서 흡수될 수 없으므로 소화효소에 의해 소화되어야 하는데 amylose는 직쇄상이며 amylopectin은 가지가 많다는 구조적인 차이가 가수분해율에 영향을 주어, 분자량과 함께 표면적이 넓은 amylopectin은 amylose보다 더 빨리 소화된다고 한다(12). Kabir 등(13)도 amylose 함량이 많은 전분이 낮은 전분에 비해 α -amylase에 의한 분해력이 낮다고 보고하고 있다. 그러므로 HAS를 섭취하면 일반전분에 비해 소화되지 않은 amylose가 대장으로 넘어가 생리적인 영향을 줄 수 있는데, HAS에 대한 연구는 우리 나라에서 많이 이루어져 있지 않다. 그러므로 본 연구는 흰쥐를 대상으로 HAS를 이용하여 RS 섭취수준을 달리하였을 때 지방대사와 면역능력에 미치는 영향을 살펴본다. 전분의 종류가 생리적인 기능에 영향을 미치는지를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 식이

이유를 끝낸 체중이 약 90 g되는 Sprague Dawley(SD) 중수컷 흰쥐 40마리를 대조군(Control) 식이로 1주일간 적응시킨 후 체중에 따라 난괴법으로 군당 10마리씩 나누어 실험식이로 4주간 사육하였다. 실험식은 AIN-93G diet(14)를 기본으로 하였고, 식이 중 전분함량은 499.486 g/kg diet로 식이무게의 약 50%를 차지하였다. 대조군은 식이 중 전분을 모두 일반 옥수수전분으로 사용하였고, 나머지 세군은 식이내 전분 중 RS를 포함하고 있는 옥수수 HAS를 증가시켰다. HA25군은 식이내 전분량 중 25%를, HA50군은 식이내 전분량 중 50%를, HA100군은 모든 전분을 HAS로 주었다. 실험에 사용된 HAS는 amylose 함량이 70%이상인 HS-7(일본, 풍년)을 사용하였고, 일반 전분은 amylose 함량이 약 20%인 덕산화학 제품을 사용하였는데 AOAC법(15)에 의해 RS를 측정하였을 때 RS 함량이 일반전분은 4.9%, HAS는 16.5%를 포함하고 있었다. 그러므로 실험식이의 실제적인 RS 함량은 대조군과 HAS를 포함하고 있는 세 실험군의 경우 2.4%, 3.9%, 5.3%, 8.2%이었다. 자세한 실험식이 조성은 Table 1과 같다. 실험 전 기간 동안 물과 식이는 제한 없이 공급하였다. 식이 섭취량은 매주 2회, 체중은 일주일에 1회씩 측정하였고 체중 증가와 식이 섭취량으로 식이 효율을 계산하였다.

시료 채취

실험동물을 희생하기 전 12시간동안 절식시킨 후에 ethyl ether로 마취시켜 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 sodium citrate가 들어 있는 용기에 담아 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 혈장을 분리하였다.

Table 1. Composition of experimental diet (unit: g/kg)

Ingredient	Groups ¹⁾			
	Control	HA25	HA50	HA100
Starch common starch	499.486	374.615	249.743	-
high amylose starch ²⁾	-	124.871	249.743	499.486
Casein	200.0	200.000	200.0	200.0
Sucrose	100.0	100.0	100.0	100.0
Soybean oil	70.0	70.0	70.0	70.0
Fiber(cellulose)	50.0	50.0	50.0	50.0
Mineral mix ³⁾	35.0	35.0	35.0	35.0
Vitamin mix ⁴⁾	10.0	10.0	10.0	10.0
L-Cystine	3.0	3.0	3.0	3.0
Choline	2.5	2.5	2.5	2.5
Tert-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014

¹⁾Control: common starch 100%, HA25: common starch 75% and high amylose starch 25%, HA50: common starch 50% and high amylose starch 50%, HA100: high amylose starch 100%.

²⁾High amylose starch (HAS): 70% amylose starch, containing of 16.5% RS.

³⁾Mineral mixture: calcium carbonate, anhydrous, 357 g; potassium phosphate, monobasic, 196 g; potassium citrate, tri-potassium, monohydrate, 70.78 g; sodium chloride, 74.00 g; potassium sulfate, 46.60 g; magnesium oxide, 24.00 g; ferric citrate, 6.06 g; zinc carbonate, 1.65 g; mangarous carbonate 0.63 g; cupric carbonate 0.30 g; potassium iodate, 0.01 g; sodium selenate, anhydrous 0.01025 g; ammonium paramolydate, hydrate, 0.00795 g; sodium meta-silicate, hydrate, 1.45 g; chromium potassium sulfate, 0.275 g; lithium chloride 0.0174 g; boric acid, 0.0815 g; sodium fluoride 0.0635 g; nickel carbonate, 0.0318 g; ammonium vanadate, 0.0066 g; powdered sucrose, 221.026 g.

⁴⁾Vitamin mixture: nicotinic acid, 3.000 g; Ca-pantothenate, 1.600 g; pyridoxine-HCl, 0.700 g; thiamin-HCl, 0.600 g; riboflavin, 0.600 g; folic acid, 0.200 g; D-biotin, 0.020 g; vitamin B-12 (cyanocobalamin) (0.1% in mannitol), 2.500 g; vitamin E (all-rac- α -tocopheryl acetate) (500 IU/g), 15.000 g; vitamin A (all-trans-retinyl palmitate) (500.0 IU/g), 0.800 g; vitamin D₃ (cholecalciferol) (400 IU/g), 0.250 g; vitamin K (phyloquinone), 0.075 g; powdered sucrose, 974.655 g.

분리한 혈장은 생화학적 실험을 할 때까지 -20°C에 보관하였다. 간, 흉선, 비장, 신장, 부고환지방, 맹장을 채취하여 무게를 측정 후 -70°C에 보관하였고, 비장은 즉시 면역세포증식실험에 사용하였다. 실험동물을 희생하기 전 24시간 동안의 변을 채취하였다.

맹장 내용물의 pH

맹장 내용물을 0.5 g 채취한 후 10배의 증류수로 희석하고, pH meter를 이용하여 pH를 측정하였다(16).

지방대사

혈장 내 총 지방, 중성지방, 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤은 아산제약의 효소법에 의한 kit를 사용하여 측정하였다. 간과 변 내 지방은 Folch법(17)을 변형하여 chloroform : methanol solution(2 : 1, v/v)으로 추출한 후 지방성분 측정에 사용하였다. 총 지방과 중성지방은 아산제약의 효소법에 의한 kit를 사용하여 측정하였고, 콜레스테롤은 Zak법(18)에 의해 측정하였다.

면역실험

비장세포증식능력 : 비장은 무균적으로 분리하여 RPMI

1640(Gibco, Grand Island N.Y. : 200 mM glutamin, 25 mM Hepes, 1.4 µL/mL gentamycin)용액에 넣고, scalpel을 이용하여 single cell suspension을 만들었다. Spleen single cell suspension을 10% fetal calf serum을 함유한 RPMI 1640 배양액 내의 세포농도가 5.0×10^6 cells/mL 되게 하여 96 well plate에 각 well당 100 µL씩 분주하였다. 각 well에 mitogen으로 Con A concanavalin A, Sigma)를 0.75 µg/10 µL, 0.10 µg/10 µL를 10 µL씩 첨가하였다. PHA(phytohemagglutinin) 10 µg/10 µL, 15 µg/10 µL씩 첨가하였다. Control well에는 mitogen을 첨가하지 않았고, 모든 실험은 3회 반복하여 실시하였다. 분주된 plate를 37°C, CO₂ incubator에서 68시간 배양한 후 각 well에 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromid, Sigma: 5 mg/mL PBS)를 20 µL씩 첨가하여 다시 4시간 배양하였다. 배양 후 DMSO(Dimethylsulfoxide, Sigma)를 각 well에 150 µL씩 첨가하여 세포를 용해한 후 ELISA reader로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

비장세포의 Prostaglandin E₂ 생산 : 비장세포증식실험에서와 같이 spleen single cell suspension을 세포농도가 5.0×10^6 cells/mL이 되게 하여 96 well plate에 각 well당 100 µL씩 분주하였다. 각 well에 mitogen으로 Con A를 0.10 µg/10 µL를 첨가한 후 72시간을 배양한 후 배양액을 얻어 prostaglandin E₂(PGE₂)의 생산을 측정하였다. PGE₂는 호소면역법을 이용한 kit(Cayman Co., USA)로 ELISA를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. Prostaglandin E₂량의 표시는 배양액 내 함유된 단백질당으로 하였다.

Immunoglobulin, complement 측정 : 혈액 내 immunoglobulin G, C₃ 양을 nephrometry 방법(19)을 이용하여 측정하였다.

통계 처리

SAS program을 이용하여 각 군의 평균과 표준 오차를 구하고, ANOVA분석을 한 후 그룹간의 평균차이 비교는 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

체중변화와 식이섭취량

실험동물의 체중변화, 식이섭취량 및 식이효율은 Table 2

와 같다. 실험식이 시작 전의 체중은 약 90 g으로 군간의 차이가 없었고, 실험기간의 1일 체중증가량은 대조군에 비해 HA25, HA50에서 약간 증가하였으나, HA100군에서 감소하였다. 식이섭취량과 식이효율에 있어서는 실험군간에 유의적인 차이가 없었다.

Topping 등(20)은 쥐에게 총 에너지의 50%를 전분으로 섭취하면서 전분의 50%를 HAS로 대체하였을 때 체중이 식이 전분에 의해 영향을 받지 않았다고 하였는데 본 연구에서는 HA50군에서는 대조군에 비해 약간 증가하는 경향을 보였고 HAS를 100% 대체하였을 때 체중이 감소하는 경향이였다. Schrijver 등(21)은 노화시킨 HAS를 식이무게의 6%로 첨가시킨 사료로 돼지를 사육하였을 때 장에서의 탄수화물 소화율이 일반전분을 섭취한 군에 비해 유의적으로 감소하였고, Ranhotra 등(22)은 어린 쥐에서 RS가 대장내에서 발효되기는 하지만 에너지를 공급하지 않는다고 하였다. 이는 본 연구에서 HA100군에서 체중이 감소한 것이 RS의 소화율이 낮아 에너지 섭취 감소로 인한 체중감소로 사료되나 이러한 효과는 모든 전분을 HAS로 대체하였을 때만 나타났으므로 HAS 섭취에 의한 체중감소 효과는 많은 양 섭취 시 나타나는 것으로 생각된다.

장기무게 및 변량

장기무게와 맹장내 pH, 하루 변 배설량은 Table 3과 같다. 신장무게는 군간의 유의적인 차이가 없었으나 간무게는 HA100군에서 유의적으로 낮았고, 부고환지방의 무게도 HA100군에서 낮은 경향이였다. 맹장무게와 하루 변배설량은 대조군에서 가장 낮았고, 식이내 HAS량이 증가할수록 맹장무게와 변 배설량이 유의적으로 증가하였다. 또한 맹장내용물의 pH를 측정된 결과, 식이내 HAS량이 증가할수록 맹장내용물의 pH가 유의적으로 감소하였다.

Morita 등(23)은 HAS와 LAS(low amylose starch)를 섭취하면 HAS섭취시 변으로의 전분배설이 증가한다고 하며, Ferguson 등(24)은 쥐에게 일반전분과 생감자전분, HAS를 공급하였을 때 생감자전분과 HAS를 섭취하였을 때 변 무게와 맹장무게가 증가한다고 하여 본 연구결과와 일치하였다. Phillips 등(25)은 RS의 섭취는 변의 pH를 감소시킨다고 하여 본 연구결과와 일치하였다. 그리고 Wang 등(26)은 HAS를 식이의 40%로 섭취시켰을 때 mice에서 장내 미생물의 구

Table 2. Initial weight, final weight, weight gain, diet intake and food efficiency ratio (FER) for 4 weeks

Group ¹⁾	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g/day)	Food intakes (g/day)	FER ²⁾
Control	90.3±4.02 ^{3)NS4)}	280.9±17.5 ^{ab5)}	6.3±0.9 ^{ab}	17.0±0.9 ^{NS}	0.5±0.07 ^{NS}
HA25	90.5±3.1	290.5±13.7 ^a	6.7±0.6 ^a	16.9±0.8	0.6±0.05
HA50	90.7±3.0	288.3±18.9 ^a	6.6±0.4 ^a	17.6±0.6	0.5±0.04
HA100	90.7±2.8	272.2±11.3 ^b	6.1±0.4 ^b	16.8±1.04	0.5±0.04

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾FER (food efficiency ratio) = Total food intakes for 4 weeks (g) / Total weight gain for 4 weeks (g).

³⁾Mean±SD.

⁴⁾NS: not significant.

⁵⁾Values with different alphabet within a column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 3. Organ weights, pH of cecum content and stool weights

Group ¹⁾	Kidney (g)	Liver (g)	Epididymal fat pad (g)	Cecum (g)	pH of cecum contents	Stool wet weight (g/day)
Control	1.9±0.3 ^{2)NS3)}	8.9±1.0 ^{a4)}	2.5±0.9 ^{ab}	2.4±0.1 ^d	7.9±0.2 ^a	2.6±0.6 ^b
HA25	2.1±0.2	8.9±0.9 ^a	3.0±0.6 ^a	4.6±1.4 ^c	6.9±0.6 ^b	2.9±0.8 ^{ab}
HA50	2.1±0.2	9.5±0.7 ^a	2.9±0.5 ^{ab}	7.0±1.5 ^b	5.9±0.2 ^c	4.1±0.8 ^{ab}
HA100	1.9±0.1	7.8±0.4 ^b	2.3±0.4 ^b	10.7±1.3 ^a	5.8±0.1 ^d	4.5±1.6 ^a

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Mean ± SD.

³⁾NS: not significant.

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

Table 4. Concentration of plasma lipids

Group ¹⁾	Total lipid	Triglycerides	Total cholesterol	HDL-cholesterol
Control	254.4±43.5 ^{2)a3)}	70.3±17.0 ^a	85.5±12.5 ^a	24.5±5.1 ^{NS4)}
HA25	259.3±20.8 ^a	54.0±11.7 ^b	65.5±10.1 ^b	19.7±3.5
HA50	214.0±35.9 ^b	56.4±11.8 ^b	69.5± 8.2 ^b	22.1±4.5
HA100	211.1±22.5 ^b	40.2± 6.0 ^c	76.6± 7.6 ^{ab}	22.8±5.3

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Mean ± SD.

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

⁴⁾NS: not significant.

성이 바람직하게 바뀌어 HAS가 prebiotic property를 가지고 있다고 하였다.

Noakes 등(27)은 사람에서도 탄수화물을 섭취열량의 55%로 하고 이중 25%를 HAS로 대체하였을 때 변내 pH가 감소하며, 단쇄지방산(short chain fatty acids, SCFAs) 농도가 증가하였다고 하였다. Heijen 등(28)도 정상인에게 1주일 동안 HAS와 노화된 HAS를 하루에 32 g씩 섭취시켰을 때 포도당을 섭취한 대조군에 비해 실험군들의 변배설량과 변으로의 전분배설이 증가하였으며, HAS와 노화된 HAS간에 차이가 없어 RS2인 HAS도 노화된 전분인 RS3와 같은 정도의 효과를 나타낸다고 보고하고 있다.

이와 같이 HAS의 섭취시 소화되지 않는 부분이 대장으로 넘어가고, 미생물 발효에 의해 맹장의 무게를 증가시키며, 맹장 내 pH를 낮추는 것으로 사료된다.

지방대사

혈액 내 지질조성은 Table 4에 나타내었다. 혈장 내 총 지질은 대조군과 HA25군에서는 차이가 없었으나, HA50군과 HA100군에서는 대조군에 비해 유의적으로 낮았다. 혈장 내 중성지방도 대조군에 비해 HAS의 섭취시 유의적으로 감소하였고, HA25군과 HA50군에 비해 HA100군에서 더 많은 감소가 있었다. 총 콜레스테롤은 대조군에서 유의적으로 높았으며 HA25군과 HA50군에서 유의적으로 낮게 나타났으나 HDL-콜레스테롤량은 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 간조직 중 총 지질, 중성지방, 콜레스테롤량은 HAS섭취가 증가할수록 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다(Table 5). 변 내 지방성분의 경우 단위 g당 총 지질과 중성지방, 총 콜레스테롤 함량은 실험군간에 유의적인 차이가 없었으나, 하루 총 배설량으로 환산했을 때 대조군에 비해

Table 5. Concentration of liver lipids (mg/g liver)

Group ¹⁾	Total lipid	Triglycerides	Total cholesterol
Control	29.1±5.2 ^{2)NS3)}	9.2±5.3 ^{NS}	3.1±0.7 ^{NS}
HA25	28.1±5.8	8.3±4.3	3.2±0.2
HA50	25.9±6.4	7.7±3.1	3.2±1.1
HA100	22.9±3.9	7.2±0.5	2.8±0.5

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Mean ± SD.

³⁾NS: not significant.

HAS 섭취시 총 지방량과 중성지방량, 총콜레스테롤량은 증가하는 경향이었으며, 특히 총 콜레스테롤량은 HA50군에서 유의적으로 증가하였다(Table 6).

Ranhotra 등(29)은 햄스터에서 RS를 식이무게의 20%로 섭취시켰을 때 혈액 내 콜레스테롤량이 유의적으로 감소하였다고 보고하였고, Younes 등(30)과 Jeong 등(31)은 RS섭취시간 내 콜레스테롤량의 감소 없이 혈액 내 콜레스테롤이 감소하였다고 하여 본 연구결과와 일치하였다. Lopez 등(32)도 총 전분을 식이무게의 73.3%로 공급하고 HAS로 전분의 약 27%를 대체하였을 때 콜레스테롤의 흡수가 대조군에 비해 14% 감소되고 이는 혈액과 간 내 콜레스테롤과 중성지방의 감소를 나타낸다고 하였다. 본 연구에서도 HAS섭취는 변으로의 지방배출을 증가시켰으며, 이는 혈액 내 지방성분을 감소시키는 원인으로 작용하였을 것으로 사료된다. Vanhoof와 Schrijver(33)는 RS2와 RS3의 형태로 RS를 41.1%로 포함하고 있는 전분을 식이 무게의 50%로 흰쥐에게 섭취시킨 뒤 RS종류에 대한 효과를 비교하였을 때 RS3의 섭취시만 혈액 내 총 콜레스테롤과 유리 콜레스테롤량, 간조직 중 지방함량이 감소한다고 보고하였으나 본 연구에서는 RS2에

Table 6. Concentration of feces lipids

Group ¹⁾	Total lipid		Triglycerides		Total cholesterol	
	(mg/g feces)	(mg/day)	(mg/g feces)	(mg/day)	(mg/g feces)	(mg/day)
Control	17.1±7.0 ^{2)NS3)}	35.7±15.9 ^{NS}	2.0±0.6 ^{NS}	4.0±1.1 ^{NS}	4.0±0.4 ^{NS}	8.2±1.4 ^{b4)}
HA25	16.8±8.1	41.9±28.3	3.2±2.2	8.2±7.6	4.5±0.6	10.8±3.6 ^{ab}
HA50	14.3±5.1	44.2±17.1	3.3±1.5	10.7±5.8	5.3±2.8	16.8±9.3 ^a
HA100	13.6±2.1	44.2±14.2	2.0±0.4	6.2±1.2	3.3±1.1	9.9±1.9 ^{ab}

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Mean±SD.

³⁾NS: not significant.

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

속하는 HAS를 섭취하여도 혈액 중 지방이 감소하였다.

사람을 대상으로 한 실험에서 Reiser 등(34)은 과당식에 비해 고아밀로오스식사를 하였을 때 혈액 내 LDL-콜레스테롤과 중성지방량이 감소하였다고 보고하였고, 고중성지방혈증을 보이는 환자를 대상으로 탄수화물을 에너지 섭취의 55% 이상, 지방을 에너지 섭취의 30% 이하로 구성한 식단에서 탄수화물량의 25%를 HAS로 대체하였을 때 혈장 내 총 지방량은 변화하지 않았으나 중성지방량은 감소하였다고 보고하였다(27). 그러나 정상인에게 HAS와 노화된 HAS를 하루에 30 g씩 21일간 섭취시켰을 때 혈액 내 중성지방, 콜레스테롤, HDL-, LDL-콜레스테롤량이 식이 섭취에 따른 차이가 없었다고 하였고(28), Marchini 등(35)도 10명의 건강한 성인에게 생감자전분으로 RS를 하루에 30 g씩 섭취시켰을 때 혈청 내 중성지방과 콜레스테롤량에 변화가 없다고 하여 사람을 대상으로 하였을 때는 동물실험에서 나타난 RS의 혈액 내 지방 저하효과가 뚜렷하게 나타나지 않았다.

RS가 혈액 내 지방량을 감소시키는 기전으로 중성지방의 경우에는 대장에서 흡수된 SCFA들이 간에서 지방산 합성을 조절하는 효소의 활성을 감소시키기 때문이라고 하며(36), 콜레스테롤의 경우는 1) 장에서의 콜레스테롤 흡수를 저하시키고(37), 2) RS의 helical structure가 담즙산과 결합함으로써 변으로 담즙산의 배설을 증가시켜 결과적으로 콜레스테롤로부터 담즙산의 생성을 증가시켜 혈액 내 콜레스테롤 함량을 감소시키며(38), 3) SCFA들이 간에서 HMG-CoA reductase의 활성을 감소시키기 때문이라고 한다(39). Hylla 등(40)은 12명의 건강한 사람에게 55.2 g과 7.7 g의 RS가 함유된 식이를 각각 공급한 결과 RS를 많이 섭취하면 분변 내 중성 스테롤과 4-cholesten-3-one의 함량이 각각 30%, 36% 감소됨을 보고하였다. 그러나 SCFA 중에서 특히 propionate

가 HMG-CoA reductase의 활성을 감소시킨다는 기전에 대해서는 생체에서 생산된 propionate의 농도는 간에서 콜레스테롤 생성을 조절하는 HMG-CoA reductase의 활성을 감소시킬 만큼 충분하지 않으며(41), RS가 간에서의 HMG-CoA reductase의 활성을 증가시킨다(42)는 상반된 이론들이 보고되고 있으므로 SCFA들에 의한 콜레스테롤 감소효과에 대해서는 더 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

면역능력

대표적인 면역기관인 흉선과 비장의 무게는 식이에 의해 영향을 받지 않았으며, 체중 100 g당 장기무게도 군간의 차이가 없었다(Table 7). Con A와 PHA를 mitogen으로 사용하여 비장세포의 증식을 알아본 결과 저용량(0.1 µg/10 µL)의 Con A로 자극하였을 때 HA25, HA50에서 유의적으로 낮았다(Table 8). 또한 비장세포를 Con A(0.1 µg/10 µL)로 자극하거나 자극하지 않은 상태에서 배양한 후 배양액 내 PGE₂의 생산량을 측정하였을 때 HAS섭취 시 PGE₂의 생산이 증가하는 경향을 보였다(Table 9). 혈장 내 Immunoglobulin G와 C₃의 농도는 실험식이에 의해 영향을 받지 않았다(Table 10).

HAS의 섭취가 직접 면역능력에 미치는 영향에 대해서는 연구되어 있지 않으나 HAS가 대장에서 발효되어 SCFA를 생산하므로 장의 면역능력에 영향을 줄 것으로 보고 있다. Kurita-Ochiai 등(43)은 mice의 비장세포에 직접 SCFA를 첨가하면서 Con A와 LPS로 자극하였을 때 SCFA의 첨가는 T-cell과 B-cell의 증식을 모두 감소시켰으며, 본 연구에서 저농도의 Con A 자극시 비장세포의 증식이 감소된 것과 일치하고 있다. Eftimiadi 등(44)도 SCFA는 dose dependent하게 PHA에 의해 유도된 blastogenesis를 억제시키며, butyrate가 propionate보다 더 큰 효과가 있다고 보고하였다. 또

Table 7. Immune organ weights

Group ¹⁾	Thymus (g)	Thymus index (g/100g bw)	Spleen (g)	Spleen index (g/100 g bw)
Control	0.53±0.15 ^{2)NS3)}	0.20±0.05 ^{NS}	0.66±0.15 ^{NS}	0.25±0.04 ^{NS}
HA25	0.62±0.26	0.21±0.09	0.74±0.14	0.25±0.04
HA50	0.60±0.10	0.21±0.04	0.68±0.07	0.24±0.01
HA100	0.51±0.09	0.19±0.03	0.67±0.07	0.25±0.02

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Mean±SD.

³⁾NS: not significant.

Table 8. Proliferations of splenocytes stimulated by Con A and PHA (stimulation index)

Group ¹⁾	Con A ²⁾ (0.1 µg/10 µL)	Con A (0.75 µg/10 µL)	PHA (10 µg/10 µL)	PHA (15 µg/15 µL)
Control	2.2±0.3 ^{3)ab4)}	3.6±0.6 ^{NS5)}	2.1±0.3 ^{NS}	2.1±0.3 ^{NS}
HA25	1.7±0.4 ^b	3.0±0.9	1.9±0.4	2.0±0.5
HA50	1.8±0.5 ^b	2.7±0.8	1.7±0.4	1.9±0.6
HA100	2.0±0.3 ^{ab}	2.9±0.9	2.0±0.4	2.1±0.4

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Con A: concanavalin A, PHA: phytohemagglutinin.

³⁾Mean ± SD.

⁴⁾Values with different alphabet within a column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

⁵⁾NS: not significant.

Table 9. Prostaglandin E₂ production in splenocyte stimulated by Con A (pg/mg protein)

Group ¹⁾	Control	Con A ²⁾
Control	10.0±1.0 ^{3)ab4)}	73.3± 60.3 ^{NS5)}
HA25	56.7±80.8 ^{ab}	156.7±106.9
HA50	140.0±45.8 ^a	203.3± 61.1
HA100	116.4±28.9 ^a	226.7± 68.1

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Con A: concanavalin A.

³⁾Mean ± SD.

⁴⁾Values with different alphabet within a column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

⁵⁾NS: not significant.

Table 10. Plasma immunoglobulin G and C₃ concentrations (mg/100 mL)

Group ¹⁾	Ig G	C ₃
Control	23.7±2.8 ^{2)NS3)}	41.7±8.8 ^{NS}
HA25	24.7±2.6	43.6±2.4
HA50	23.5±2.5	45.9±2.5
HA100	23.2±2.7	43.7±3.7

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Mean ± SD.

³⁾NS: not significant.

한 butyrate는 B-cell의 DNA에 작용하여 apoptosis를 일으키며, 이것은 butyrate가 calmodulin-dependent regulation을 포함하는 신호전달체계에 영향을 주기 때문이라고 한다(45). 이와 같이 SCFA가 면역능력을 감소시키는 것으로 보고되고 있으나 Kudoh 등(46)은 수용성이나 불용성 비소화성 당류가 면역능력에 미치는 영향을 알아보기 위해 SD계 흰쥐를 대상으로 5%의 비소화성 당류를 섭취시켰을 때 맹장내 SCFA와 젖산이 증가되었으며, 소장과 맹장 점막에서 kappa-light chain과 Ig A-presenting lymphocytes 비율이 증가하였다고 보고하였다. Lom 등(47)은 수용성식이섬유를 섭취하였을 때 혈청의 Ig G와 Ig A의 농도가 불용성식이섬유를 섭취한 경우에 비해 유의적으로 높았으며 allergy를 일으키는 Ig E양은 감소하였다고 보고하였다. 또한 CD4/CD8의 비율을 증가시켰는데 이는 수용성식이섬유로부터 대장에서 발효된 SCFA들에 의해 면역능력이 증가하는 것으로 보고하고 있다. 이와 같이 SCFA가 면역능력에 미치는 영향에 대해서는 상반된 보고들이 되고 있으므로 앞으로 많은 연구가 필요하다고 생각한다.

요 약

본 연구는 SD계 흰쥐를 대상으로 전분 음식 무게의 50%로 주면서 일반 옥수수전분을 고아밀로오스 옥수수전분으로 대체시켜 RS양을 증가시켰을 때, 지방대사와 면역능력에 미치는 영향을 살펴보는 것을 목적으로 하였다. 식이섭취량이나 식이효율에는 유의적인 차이가 없었으나 최종 체중은 대조군에 비해 HA100군에서 감소하는 경향이 있었다. 맹장 무게와 하루 변배설량은 식이 내 HAS량이 증가할수록 유의적으로 증가하였다. 맹장내용물의 pH는 식이 내 HAS량이 증가할수록 유의적으로 감소하였다. 혈장 내 총 지방, 중성지방, 총 콜레스테롤량은 HAS섭취가 증가하면 감소하였으나 HDL-콜레스테롤량과 간 내 총 지방, 중성지방, 콜레스테롤량은 HAS섭취에 의한 영향을 받지 않았다. 변을 통한 총 콜레스테롤의 배설량은 HA50군에서 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. 면역기관인 흉선과 비장의 무게와 혈장의 Ig G와 C₃농도는 식이에 의해 영향을 받지 않았다. 비장세포의 증식능력을 보았을 때 PHA에 의한 자극에는 식이의 영향이 없었으나 저용량의 Con A로 자극하였을 때 HA25, HA50에서 증식이 유의적으로 낮았고, 배양액 내 PGE₂의 생산량이 증가하는 경향을 보였다. 이를 종합해보면, HAS의 섭취는 체중감소의 효과가 있는 것으로 보이며, 맹장의 무게를 증가시키고, 맹장 내 pH를 낮추고, 혈액내 지방성분을 감소시키는 것으로 나타났다.

감사의 글

이 연구는 2001학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었음.

문 헌

1. Asp NG. 1997. Resistant starch--an update on its physiological effects. *Adv Exp Med Biol* 427: 201-210.
2. Marteau P, Flourie B. 2001. Tolerance to low-digestible carbohydrates:symptomatology and methods. *Brit J Nutr* 85 (suppl 1): S17-S21.
3. Murphy O. 2001. Non-polyol low-digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. *Brit J Nutr* 85 (suppl 1): S47-S53.

4. Nuir JG, Birkett A, Brown I, Jones G, O'Dea K. 1995. Food processing and maize variety affects of starch escaping digestion in the small intestine. *Am J Clin Nutr* 61: 82-89.
5. Behall KM, Howe JC. 1996. Resistant starch as energy. *J Am Coll Nutr* 15: 248-254.
6. Englyst HN, Trowell H, Southgate DAT, Cummings JH. 1987. Dietary fiber and resistant starch. *Am J Clin Nutr* 46: 873-874.
7. Haralampu SG. 2000. Resistant starch—a review of physical properties and biological impact of RS₃. *Carbohydrate polymers* 41: 285-292.
8. Tovar J, Björck I, Asp NG. 1992. Starch content and alpha-amylolysis rate in precooked legume flours. *J Agric Chem* 38: 1818-1823.
9. Sievert D, Pomeranz Y. 1989. Enzyme-resistant starch I. Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical and microscopic methods. *Cereal Chem* 66: 342-347.
10. Englyst HN, Kingman SM, Cummings JH. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur J Clin Nutr* 46 (suppl 2): S30-S50.
11. Behall KM, Howe JC, Anderson RA. 2002. Apparent mineral retention is similar in control and hyperinsulinemic men after consumption of high amylose cornstarch. *J Nutr* 132: 1886-891.
12. Tatsuya M, Seiichi K, Koji H, Shuhachi K. 1999. Psyllium shifts the fermentation site of high amylose cornstarch toward the distal colon and increase fecal butyrate concentration in rats. *J Nutr* 129: 2081-2087.
13. Kabir M, Rizkalla SW, Champ M, Luo J, Boilloy J, Bruzzo F, Slama G. 1998. Dietary amylose-amylopectin starch content affects glucose and lipid metabolism in adipocytes of normal and diabetic rats. *J Nutr* 128: 35-43.
14. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. 1993. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.
15. AOAC. 1990. *Official methods of analysis*. 15th ed. Total dietary fiber in food, enzymatic-gravimetric method. The association of official analytical chemists, Washington DC, USA. p 1105-1106.
16. Chen HL, Lu YH, Lin J, Ko LY. 2000. Effects of fructooligosaccharide on bowel function and indicators of nutritional status in constipated elderly men. *Nutr Res* 12: 1725-1733.
17. Folch JM, Lees G, Stanley HS. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Bio Chem* 223: 497-509.
18. Zak B. 1968. Total and free cholesterol. In *Standard method chemistry*. Acad Press, NY. p 79-89.
19. Sternberg JC. 1977. A rate nephelometer for measuring specific proteins by immunoprecipitate reaction. *Clin Chem* 23: 1456-1464.
20. Topping DL, Gooden JM, Brown IL, Biebrick DA, McGrath L, Trimble RP, Choct M, Illman RJ. 1997. A high amylose (Amylomaize) starch raises proximal large bowel starch and increases colon length in pig. *J Nutr* 127: 615-622.
21. Schrijver R, Vanhoof KM, Vande GJ. 1999. Nutrient utilization in rats and pigs fed enzyme resistant starch. *Nutr Res* 19: 1349-61.
22. Ranhotra GS, Gelroth JA, Glaser BK. 1996. Energy value of resistant starch. *J Food Sci* 61: 453-455.
23. Morita T, Kasaoka S, Hase K, Kiriya S. 1999. Psyllium shifts the fermentation site of high amylose cornstarch toward the distal colon and increases fecal butyrate concentration in rats. *J Nutr* 129: 2081-2087.
24. Ferguson LR, Jones CT, Englyst H, Harris PJ. 2000. Comparative effects of three resistant starch preparations on transit time and short chain fatty acid production in rats. *Nutr Cancer* 36: 230-237.
25. Phillips J, Muir J, Birkett A, Lu ZX, Jones GP, O'Dea K, Young GP. 1995. Effect of resistant starch on fecal bulk and fermentation dependent events in humans. *Am J Clin Nutr* 62: 121-130.
26. Wang X, Brown IL, Khaled D, Mahony MC, Evans AJ, Conway PL. 2002. Manipulation of colonic bacteria and volatile fatty acid production by dietary high amylose maize (amylomaize) starch granules. *J Appl Microbiol* 93: 390-397.
27. Noakes M, Clifton PM, Nestel PJ, Le Leu R, McIntosh G. 1996. Effect of high amylose starch and oat bran on metabolic variables and bowel function in subjects with hyperglycemia. *Am J Clin Nutr* 64: 944-951.
28. Heijnen MLA, van Amelsvoort JMM, Deurenberg P, Beynen AC. 1998. Limited effect of consumption of uncooked (RS₂) or retrograded (RS₃) resistant starch on putative risk factors for colon cancer in healthy men. *Am J Clin Nutr* 67: 322-331.
29. Ranhotra GS, Gelroth JA, Leinen SD. 1997. Hypolipidemic effects of resistant starch in hamsters is not dose dependent. *Nutr Res* 17: 317-323.
30. Younes H, Levrat M, Demigné C, Rémest C. 1995. Resistant starch is more effective than cholestyramine as a lipid-lowering agent in the rats. *Lipids* 30: 847-853.
31. Jeong MK, Kim MH, Kang NE, Kim WK. 2002. Effects of resistant starch on gut functions and plasma lipid profiles in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 271-276.
32. Lopez HW, Levrat-verny MA, Coudray C, Besson C, Krespine V, Messenger A, Demigne C. 2001. Class 2 resistant starches lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats. *J Nutr* 131: 1283-1289.
33. Vanhoof K, Schrijver R. 1997. Consumption of enzyme resistant starch and cholesterol metabolism in normo- and hypercholesterolemic rats. *Nutr Res* 17: 1331-1340.
34. Reiser S, Powell AS, Scholfield DJ, Panda P, Ellwood KC, Canary JJ. 1989. Blood lipids, lipoproteins, apoproteins and uric acid in men fed diets containing high fructose or high amylose cornstarch. *Am J Clin Nutr* 49: 832-839.
35. Marchini SJ, Faisant N, Champ M, Ranganathan S, Azoulay C, Kergueris MF, Piloquet H, Michel K. 1998. Effects of an acute raw resistant potato starch supplement on postprandial glycemia, insulinemia, lipemia in healthy adults. *Nutr Res* 18: 1135-1145.
36. Morand C, Levart MA, Besson C, Demigne C, Remesy C. 1994. Effects of diet rich in resistant starch on hepatic lipid metabolism in rats. *J Nutr Biochem* 5: 138-144.
37. Chezem J, Furumoto E, Story J. 1997. Effects of resistant potato starch on cholesterol and bile acid metabolism in the rat. *Nutr Res* 17: 1671-1682.
38. Abadie C, Hug M, Kubi C, Gains N. 1994. Effect of cyclodextrins and undigested starch on the loss of chenodeoxycholate in the faces. *Biochem J* 299: 725-730.
39. 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.
40. Hylla S, Gostner A, Dusel C, Anger H, Bartran HP, Christl SU, Kasper H, Scheppach W. 1998. Effects of resistant starch on the colon in healthy volunteers; possible implications for cancer prevention. *Am J Clin Nutr* 67: 137-142.
41. Vanhoof K, De Schrijver R. 1998. The influence of enzyme-resistant starch on cholesterol metabolism in rats fed on

- a conventional diet. *Br J Nutr* 80: 193-198.
42. Fernandez ML, Roy S, Vergara-Jimenez M. 2000. Resistant starch and cholestyramine have distinct effects on hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. *Nutr Res* 20: 837-849.
43. Kurita-Ochiai T, Fukushima K, Ochiai K. 1995. Volatile fatty acids, metabolic by-products of periodontopathic bacteria, inhibit lymphocyte proliferation and cytokine production. *J Dent Res* 74: 1367-1373.
44. Eftimiadi C, Stashenko P, Tonetti M, Mangiante PE, Mas-sara R, Zupo S, Ferrarini M. 1991. Divergent effect of the anaerobic bacteria by-product butyric acid on the immune response: suppression of T-lymphocyte proliferation and stimulation of interleukin-1 beta production. *Oral Microbiol Immunol* 6: 17-23.
45. Kurita-Ochiai T, Ochiai K, Fukushima K. 1998. Volatile fatty acid, metabolic by-product of periodontopathic bacteria, induces apoptosis in WEHI 231 and RAJI B lymphoma cells and splenic B cells. *Infect Immun* 66: 2587-2594.
46. Kudoh K, Shimizu J, Wada M, Takita T, Kanke Y, Innami S. 1998. Effect of indigestible saccharides on B lymphocyte response of intestinal mucosa and cecal fermentation in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 44: 103-112.
47. Lom BO, Yamada K, Nonaka M, Kuramoto Y, Hung P, Sugano M. 1997. Dietary fibers modulate indices of intestinal immune function in rats. *J Nutr* 127: 663-667.

(2003년 1월 4일 접수; 2003년 4월 4일 채택)