

## 고아밀로오스전분의 섭취가 흰쥐의 장기능에 미치는 영향\*

설소미 · 방명희 · 정미경 · 김우경<sup>§</sup>

단국대학교 식품영양학과

### Effects of High Amylose Starch on Gut Functions in Rats\*

Seol, So Mi · Bang, Myung Hee · Jeong, Mi Kyung · Kim, Woo Kyoung<sup>§</sup>

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

#### ABSTRACT

This study investigated the effects of high amylose starch (HAS) consumption on gut functions in male Sprague-Dawley rats. Experimental animals were fed an diet containing HAS for 4 weeks (0, 125, 250, 500 g/kg diet). Stool weights, transit time, the pH of cecum, *Bifidobacterium* growth, short chain fatty acid production, and prostaglandin E<sub>2</sub> production in colon mucus were measured. HAS intake did not affect body weight gain or food efficiency ratio during experimental period. There were no significant differences in kidney weight, epididymal fat pad weights or spleen weights, but the weights of the liver and thymus were significantly lower in the HAS100 group. The length of the large intestine, the weights of the cecum wall and cecum contents, and stool weights significantly increased through HAS intake. But transit time was not affected by the experimental diet. Although *Bifidobacterium* growth in the cecum increased through the HAS intake dose dependently, there were significant differences in the HAS50 and HAS100 groups. HAS intake increased the production of short chain fatty acid in the cecum contents. In particular, acetate and butyrate concentrations grew significantly. And the production of prostaglandin E<sub>2</sub> in the colon mucus significantly decreased through HAS intake. These results demonstrate that high amylose starch intake significantly improves gut function. (*Korean J Nutrition* 36(2) : 109~116, 2003)

KEY WORDS : high amylose starch, gut function, *Bifidobacterium*.

#### 서 론

고아밀로오스 전분 (high amylose starch, HAS)은 gelatin화 되지 않은 전분으로  $\alpha$ -amylase에 대한 저항성을 갖는 특징으로 저항전분 (resistant starch, RS) 중 type 2에 속한다.<sup>1)</sup> 저항전분은  $\alpha$ -amylase에 대한 저항성 때문에 소장에서 소화되지 않고, 대장으로 이동되어 발효되므로 식이 섬유와 비슷한 생리효과가 있을 것을 기대하고 있다.<sup>2)</sup> 저항전분을 섭취했을 때 나타나는 가장 공통된 생리적 효과는 변 부피의 증가와 대장 내 미생물에 의해 발효되어 acetate, propionate, butyrate와 같은 단쇄지방산 (short chain fatty acid : SCFA)의 생산증가로<sup>3)</sup> 대장 내 pH 감소,<sup>4)</sup> 분변을 통한 담즙산의 배설증가<sup>5)</sup> 및 혈장 및

간의 콜레스테롤과 중성지방의 감소<sup>6,7)</sup> 등이 보고되고 있다. 저항전분은 다른 식품에 첨가되었을 때 맛이나 texture의 변화 없이 잘 어울려 식품내 식이 섬유를 증가시키는 방법으로 사용될 수 있으며,<sup>8)</sup> 식이 섬유의 과다섭취로 나타날 수 있는 무기질 흡수 저하라는 부작용이 없으므로<sup>9)</sup> HAS를 포함한 저항전분의 사용에 대한 관심이 높아지고 있다.

Germ-free 쥐와 정상 쥐에서 일반전분과 HAS의 소화율을 비교하였을 때 germ free 쥐에서 일반전분은 거의 소화되었으나 HAS는 40%만이 소화되었고, 정상 쥐에서 일반전분은 98% 소화되었으나, HAS는 60%만이 소화되었다고 한다.<sup>10)</sup> 또한 쥐에게 HAS와 일반 전분을 이용한 빵을 만들어 항생제와 함께 투여하였을 때 소장에서의 소화율이 일반전분은 96%인데 반하여 HAS는 68%이었다.<sup>11)</sup> 그리고 RS2인 HAS와 노화된 전분인 RS3와의 소화율을 비교하였을 때는 RS3은 51%가 회장으로 소화되지 않은 채 이동하고, HAS는 21%가 이동하여 RS3에 비해서는 HAS의 소화율이 높다고 보고하고 있으나 HAS의 소화율

접수일 : 2003년 1월 2일

채택일 : 2003년 2월 10일

\*The present research was conducted by the research fund of Dankook University in 2002.

<sup>§</sup>To whom correspondence should be addressed.

이 일반전분에 비해서는 낮고 소화되지 않은 부분이 대장으로 넘어가는 것은 공통적으로 보고되고 있다.<sup>12)</sup>

소장에서 소화되지 않고 대장으로 넘어간 전분은 맹장에서 분해되는데 대장에서 *Bifidobacterium*이 HAS를 분해할 수 있다고 보고하고 있다.<sup>13)</sup> 사람에게 있어서 저항전분 섭취 후 호흡으로의 수소분비를 증가시키는데 이것은 대장에서의 발효를 대변해 줄 수 있으며,<sup>14)</sup> 이러한 발효는 맹장에서의 단쇄지방산 (short chain fatty acid, SCFA)의 생산 증가를 일으키고,<sup>3)</sup> pH를 감소시킨다고 한다.<sup>4)</sup> 그런데 이러한 SCFA의 생산은 장 기능과 관련하여, 장에서의 염증을 완화시키며,<sup>15,16)</sup> 대장 세포의 성장과 관련하여 대장암과 같은 질병발생을 억제할 수 있다는 보고가 있다.<sup>17)</sup>

그러므로 본 연구의 목적은 흰쥐에게 전분급원으로 저항전분의 한 형태인 HAS의 식이 첨가수준이 장기능에 미치는 효과를 관찰하여 HAS 섭취에 의한 장기능 개선과 HAS의 적정 섭취수준에 대한 지침을 제공하고자 하는 것이다.

## 연구방법 및 내용

### 1. 실험동물 및 식이

이유를 끝낸 생후 4주된 Sprague-Dawley종 흰쥐 수컷 40마리를 일반 식이로 1주일간 적응시킨 후 체중에 따라 난괴법으로 군당 10마리씩 나누어 실험식으로 4주간 사육하였다. 실험식은 AIN-93G diet<sup>18)</sup>를 기본으로 하였다. 식이내 전분함량은 499.486 g/kg 이었고, 실험식은 전분의 조성을 달리하여 대조군은 식이 중 전분으로 옥수수전분만 첨가하였고, 나머지 실험군들은 옥수수 high amylose starch를 일정량 씩 첨가하였다. HA25군은 식이내 전분량 중 25% (식이무게당 12.5%)를, HA50군은 식이내 전분량 중 50% (식이무게당 25%)를, HA100군은 식이전분의 100% (식이무게당 50.0%)를 HAS로 공급하였다. 실험에 사용된 HAS는 amylose 함량이 70%이상인 HS-7 (일본, 풍년)이었고, 일반 전분은 amylose 함량이 약 20%인 덕산화학 제품을 사용하였으며, AOAC법<sup>19)</sup>에 의해 RS를 측정하였을 때 RS 함량이 일반전분은 4.9%, HAS는 16.5% 포함하고 있었다. 그러므로 실험식의 실제적인 RS 함량은 대조군과 HAS를 포함하고 있는 세 실험군의 경우 각기 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.

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

Ingredient	Control	HAS25	HAS50	HAS100
Starch common starch	499.486	374.615	249.743	-
high amylose starch <sup>1)</sup>	-	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 <sup>2)</sup>	35.0	35.0	35.0	35.0
Vitamin mix <sup>3)</sup>	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-butylhydro-quinone	0.014	0.014	0.014	0.014

1) High amylose starch (HAS): 70% amylose starch, containing of 6.5% RS

2) 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 paramolybdate, 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; Sodium fluoride 0.0635 g; Nickel carbonate, 0.0318; Ammonium vanadate, 0.0066; Powdered sucrose, 221.026 g

3) 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- $\alpha$ -tocopheryl acetate) (500 IU/g), 15.000 g; Vitamin A (all-trans-retinyl palmitate) (500.0 IU/g), 0.800 g; Vitamin D<sub>3</sub> (cholecalciferol) (400. IU/g), 0.250 g; Vitamin K (phyloquinone), 0.075 g; Powdered sucrose, 974.655 g

## 2. 시료채취 및 실험방법

### 1) 시료 채취

실험동물은 희생하기 전까지 식이를 계속 공급받았고, ethyl ether로 마취시켜 심장에서 혈액을 채취하여 희생하였다. 간, 흉선, 비장, 신장, 부고환지방, 맹장을 채취하여 무게를 측정하였고, 소장과 대장의 길이를 측정하였다.

### 2) 분변 무게 및 수분함량 측정

실험동물을 희생하기전 24시간 동안 배설되는 대변을 하루에 2회 수집하여 즉시 wet weight를 측정하였다. 수집된 분변은 105°C에서 향량에 달할 때까지 건조시킨 후에 dry weight를 측정하였고, wet weight에서 dry weight를 뺀 것을 수분 함량으로 하였다.

### 3) 장통과시간

실험식이 섭취 후 3주째 장통과시간을 측정하였다. 실험동물을 18시간 절식시킨 후, 설탕 50%, carmine red (Sigma, USA) 0.5%가 혼합된 식이를 10 g 주어 이를 다 먹

도록 한 다음 실험식이를 같은 시간에 넣어주었다. 일정시간 간격 (20분)으로 변중에 marker가 나타나는지를 check 하여 marker를 급여하기 시작한 시간과 marker가 변 중에 처음 나타나기 시작한 시간 간격을 기록하여 이를 장통과시간이라 하였다.

**4) 맹장내용물의 미생물 증식**

맹장내용물을 채취하여 총 균수와 비피더스균 수를 측정하였다. 실험식이 섭취 0주와 4주째 되는 날에 실험동물을 희생한 후 맹장내용물 0.5 g을 채취하여 4.5 ml의 멸균 phosphate buffer (0.2 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.2 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.0, 0.1% polypeptone)에 넣어 잘 균질화시키고 십진 희석하였다. 총 균은 BL 배지를 사용하였고, 비피더스균은 *bifidobacterium* 선택용 배지인 BS배지를 사용하였다. 적당한 배율의 멸균 희석용액을 50 µl씩 취해 배지에 도말하고, 혐기적 배양을 위해 anaerobic jar (Difco, USA)에 넣어 37°C에서 72시간 배양하였다. 72시간동안 혐기적으로 배양한 뒤에 배양된 집락의 수를 계수하고 여기에 희석 배수를 곱하여 분변 1 g당 균수 (log cfu : colony forming unit/g wet feces)로 나타내었다.

**5) 맹장 내용물의 pH**

맹장 내용물을 0.5 g 채취한 후 10배의 증류수로 희석하고, pH meter를 이용하여 pH를 측정하였다.<sup>20)</sup>

**6) 맹장 내용물의 Short chain fatty acid 측정**

맹장 내용물 0.5 g에 10% phosphoric acid 200 µl를 첨가하고 2분간 vortex하여 잘 혼합한 후 4°C, 13,000 rpm에서 30분 동안 원심분리하고 상층액 1 µl를 취하여 DB-FFAP silica capillary column (30 m × 0.25 µm film, 0.25 mm ID, J&W Scientific)이 장착된 gas chromatography에 주입하여 SCFA를 분석하였다. 사용한 gas chromatography (Varian, Star 3400CX)의 분석 조건은 injector temperature 250°C, detector temperature 260°C이고, oven의 온도조건은 70°C에서 1분간 머문 후 6°C/min으로 200°C까지 올려 5분간 유지하였다. 질소를 carrier gas (30 ml/min)로 사용하였고, split ratio 10 : 1

이었으며, flame ionization detector (FID)로 peak를 검색하였다. 맹장내 SCFA생산은 맹장의 총 무게로 환산하여 표시하였다.<sup>21)</sup>

**7) 대장 점막 내 prostaglandin E<sub>2</sub> 측정**

대장을 채취하여 뒤집은 후 ice-cold PBS로 장 내용물을 씻고, 대장점막을 slide glass로 이용하여 긁어내어 1 ml의 ice cold buffer가 들어 있는 tube에 넣고 sonicator를 이용하여 10 sec, 50%로 cell을 파괴하였다. 4°C, 12,000 g, 10분 동안 원심분리한 후 supernatant를 얻어 prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)의 생산을 측정하였다. PGE<sub>2</sub>는 효소면역법을 이용한 kit (Cayman Co., USA)로 ELISA reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. Prostaglandin E<sub>2</sub>량의 표시는 배양액 내 함유된 단백질당으로 하였다.

**3. 통계 처리**

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

**연구결과 및 고찰**

**1. 체중변화와 식이섭취량**

실험식이를 섭취하기 전의 실험동물의 무게는 약 90 g으로 실험군간의 유의적인 차이가 없었으며, 실험기간 동안의 체중증가도 실험군간에 유의적인 차이가 없어 최종 무게에서 실험군간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 그러나 식이섭취량은 대조군에서 유의적으로 많았고, HAS50군에서 유의적으로 낮았으나 식이효율은 식이의 영향을 받지 않았다 (Table 2). HAS는 소화가 효율적으로 일어나지 않고 저항전분의 대사적 에너지가 건강한 사람에서 1g당 2.8 Kcal이므로<sup>22)</sup> 저에너지원으로써 HAS의 섭취가 많아질수록 체중증가가 적을 것으로 기대하였으나 최종무게에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. Jeong등<sup>23)</sup>은 RS3형태로 노화된 옥수수전분을 식이무게의 10, 20, 30%로 첨

**Table 2.** Initial weight, final weight, weight gain, food intake and food efficiency ratio (F.E.R) for 4 weeks

Group	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g/day)	Food intakes (g/day)	F.E.R.
Control	90.4 ± 3.7 <sup>1)NS2)</sup>	302.6 ± 13.6 <sup>NS</sup>	7.1 ± 0.6 <sup>NS</sup>	18.3 ± 1.1 <sup>a3)</sup>	0.56 ± 0.05 <sup>NS</sup>
HAS25	90.5 ± 3.1	292.8 ± 10.7	6.8 ± 0.4	17.3 ± 0.8 <sup>ab</sup>	0.57 ± 0.05
HAS50	90.7 ± 2.8	305.6 ± 22.3	7.2 ± 0.7	17.0 ± 0.6 <sup>b</sup>	0.60 ± 0.04
HAS100	90.7 ± 2.8	294.9 ± 47.7	6.8 ± 1.2	17.6 ± 1.3 <sup>ab</sup>	0.56 ± 0.06

1) Mean ± SE, 2) NS: not significant

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

**Table 3.** Organ weights

(g)

Group	Kidney	Liver	Epididymal fat pad	Thymus	Spleen
Control	2.0 ± 0.72 <sup>1)NS2)</sup>	14.1 ± 0.8 <sup>3)</sup>	3.1 ± 0.77 <sup>NS</sup>	0.61 ± 0.12 <sup>NS</sup>	0.69 ± 0.10 <sup>ab</sup>
HAS25	2.1 ± 0.19	12.4 ± 1.0 <sup>bc</sup>	3.1 ± 0.60	0.60 ± 0.11	0.65 ± 0.05 <sup>bc</sup>
HAS50	2.2 ± 0.18	13.4 ± 1.2 <sup>ab</sup>	2.9 ± 0.52	0.62 ± 0.06	0.73 ± 0.09 <sup>a</sup>
HAS100	2.0 ± 0.11	11.4 ± 1.3 <sup>c</sup>	3.1 ± 0.97	0.52 ± 0.07	0.58 ± 0.04 <sup>c</sup>

1) Mean ± SE, 2) NS: not significant

3) Values with different alphabet within a column are significantly different at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test**Table 4.** Length of intestines, weights of cecum wall and cecum contents

Group	Small intestine length (cm)	Large intestine length (cm)	Cecum wall weight (g)	Cecum content (g)
Control	87.8 ± 12.9 <sup>1)NS2)</sup>	13.6 ± 1.5 <sup>3)</sup>	0.47 ± 0.07 <sup>d</sup>	1.9 ± 0.13 <sup>d</sup>
HAS25	90.2 ± 12.3	13.9 ± 0.8 <sup>b</sup>	0.74 ± 0.14 <sup>c</sup>	3.8 ± 1.2 <sup>c</sup>
HAS50	94.1 ± 13.1	14.5 ± 1.3 <sup>ab</sup>	1.10 ± 0.20 <sup>b</sup>	6.0 ± 1.3 <sup>b</sup>
HAS100	96.7 ± 13.9	15.7 ± 1.1 <sup>a</sup>	1.50 ± 0.16 <sup>a</sup>	9.2 ± 1.2 <sup>a</sup>

1) Mean ± SE

2) NS: not significant

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

가하였을 때 식이섭취량과 최종 무게, 식이효율에 유의적인 차이가 없었는데 본 연구에서도 일치하고 있다.

## 2. 장기무게 및 길이

HAS의 섭취가 장기의 무게와 길이에 미치는 영향을 알아보았을 때 신장과 부고환지방, 흉선무게는 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 간과 비장의 무게는 HAS100군에서 유의적으로 낮았다 (Table 3). 소장의 길이는 식이에 의해 영향을 받지 않았으나, 대장의 길이는 식이내 HAS 양이 증가함에 따라 dose dependent 하게 증가하였다. 또한 맹장벽과 맹장내용물의 무게도 HAS양이 증가함에 따라 dose dependent 하게 유의적으로 증가하였다 (Table 4). Topping등<sup>24)</sup>은 총 에너지의 50%를 전분으로 섭취하면서 전분을 HAS로 50% 대체하였을 때 대장의 길이가 식이 HAS 함량에 비례해서 증가한다고 보고하였고, Demigne 등<sup>25)</sup>은 식이 무게의 25%, 50%로 HAS를 섭취하였을 때 cecum이 커졌다고 하였는데 이는 맹장에서의 발효가 증가되었다는 것을 말해주고 있으며, HAS 섭취에 따라 dose dependent 한 결과를 보여주고 있다.

## 3. 분변 무게 및 장통과시간

하루에 배설하는 대변의 양은 HAS 섭취가 증가함에 따라 유의적으로 증가하여 HAS100군은 대조군에 비해 70% 이상을 배설하여 HAS섭취가 배변양을 증가시키는 효과가 있음이 나타났다 (Table 5). 대변내 수분량은 HAS섭취에 따라 증가하는 경향이나 유의적인 차이가 없었고 건조무게

**Table 5.** Stool weights and transit time

Group	Stool wet weight (g/day)	Stool water content (g/g stool)	Dry stool weight (g/day)	Transit time (min)
Control	2.6 ± 0.6 <sup>1)2)</sup>	0.52 ± 0.30 <sup>NS3)</sup>	2.1 ± 0.4 <sup>b</sup>	773.0 ± 104.6 <sup>NS</sup>
HAS25	2.9 ± 0.8 <sup>ab</sup>	0.53 ± 0.34	2.4 ± 0.5 <sup>ab</sup>	729.3 ± 44.5
HAS50	4.1 ± 0.8 <sup>ab</sup>	0.98 ± 0.40	3.1 ± 0.5 <sup>a</sup>	762.8 ± 42.3
HAS100	4.5 ± 1.6 <sup>a</sup>	1.20 ± 0.74	3.3 ± 1.0 <sup>a</sup>	758.0 ± 76.0

1) Mean ± SE

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

3) NS: not significant

는 유의적으로 증가하여 대변 배설량의 증가는 수분량의 증가보다는 고형분의 증가로 인한 것으로 보인다. 또한 장 통과시간은 HAS 섭취증가에 따라 감소하는 경향을 보이거나 유의적이지는 않았다. Ferguson등<sup>26)</sup>은 실험동물에게 생감자전분, HAS, alpha-amylase treated HAS를 섭취시켰을 때 모든 실험군들에서 변무게는 증가되었으나 장 통과시간은 조금만 감소시켰고 유의적인 차이가 없다고 하여 본 연구결과와 일치하였다. 그리고 Heijen등<sup>27)</sup>은 사람에게 1주일 동안 RS2와 노화된 전분인 RS3을 하루에 32 g씩 섭취하였을 때 포도당을 섭취한 대조군에 비해 RS섭취군의 변배설량이 대조군에 비해 증가하였으며, RS종류에 따른 차이는 없었다고 하였다.

## 4. 맹장 내용물의 미생물 증식 및 pH

HAS 섭취에 따른 장에서의 미생물 증식에 미치는 영향을 실험시작 시와 실험식이 섭취 4주 후를 비교하여 알아보았다. 총 균수는 BL 배지를 이용하였는데 실험시작 시에는 실험군간에 차이가 없었고, 4주 후에는 모든 실험군에서 증가하였으나 실험군간에 차이가 없었으며, 각 실험군간에서 시작 시와 4주 후를 비교하였을 때에도 유의적인 차이는 나타나지 않았다 (Fig. 1). 그러나 BS배지를 이용하여 비피더스균의 증식을 측정하였을 때는 실험시작시에 실험군간에 유의적인 차이가 없었으나, 4주 후에는 HAS 섭취가 증가함에 따라 비피더스균의 증식이 유의적으로 증가하였다 (Fig. 2). 또한 각 실험군에서 실험식이 섭취 전후의 차이는 대조군과 HAS25군에서는 유의적인 차이가 없었으나

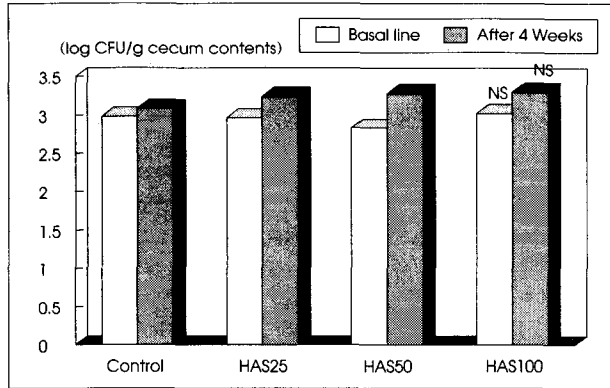


Fig. 1. Growth of total microorganisms in cecum contents. NS: not significant.

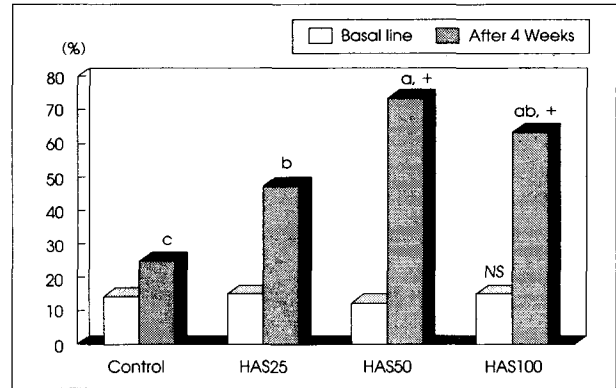


Fig. 3. Percentage of *Bifidobacterium* to total microorganisms in cecum contents. Different alphabet represents the significant differences among groups after 4 weeks at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range-test, NS: not significant at baseline, +: Significantly different between baseline and after 4 weeks at  $\alpha = 0.05$  by paired t-test.

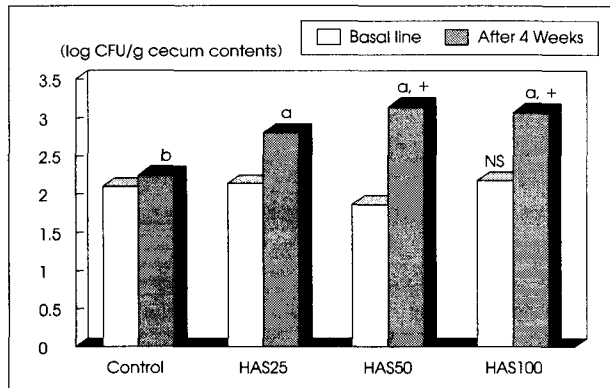


Fig. 2. Growth of *Bifidobacterium* in cecum contents. Different alphabet represents the significant differences among groups after 4 weeks at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range-test, NS: not significant at baseline, +: Significantly different between baseline and after 4 weeks at  $\alpha = 0.05$  by paired t-test.

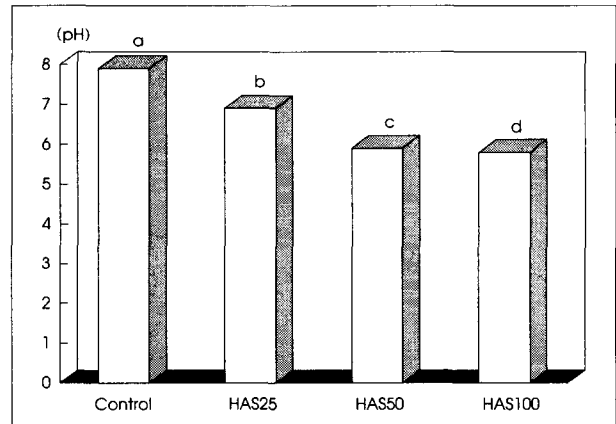


Fig. 4. pH in cecum contents. Different alphabet represents the significant differences among groups after 4 weeks at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range-test.

HAS50, HAS100군에서는 전후에 유의적인 차이를 보여 비피더스균의 증식을 위해서는 HAS가 50% 정도는 대체되어야 할 것으로 생각된다. 또한 총 균수에 대한 비피더스균의 비율을 계산하였을 때도 실험식이 섭취 후 총 균수에 대한 비피더스균의 비율이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, 각 실험군에서 보면 비피더스균수에서와 같이 HAS50, HAS100군에서 유의적인 차이가 나타났다 (Fig. 3). 실험동물에게 *Bifidobacterium*과 HAS를 함께 섭취시켰을 때 변으로의 *Bifidobacterium*의 배설이 HAS섭취 시에 6배 증가하였고,<sup>28)</sup> *in vitro* 실험에서 *Bifidobacterium*가 HAS에 부착하여 분해를 하면서 성장을 한다고 하여<sup>13)</sup> HAS가 *Bifidobacterium*에 의해 분해될 수 있다고 볼 수 있다. 본 연구에서도 HAS섭취는 *Bifidobacterium*의 증식을 dose dependent하게 증가시켜 HAS가 prebiotic property를 가지고 장에 유익한 효과를 줄 수 있을 것으로 볼 수 있으며, 이러한 효과는 HAS을 총 전분의 50% 이상으로 대체하여 식이무게의 25%는 되어야 유의적인 차이를 보이고 있다.

또한 맹장내 pH는 HAS 섭취가 증가할수록 dose dependent하게 감소하였으며, 이는 비피더스균의 성장에 의한 SCFA의 생산증가 때문으로 볼 수 있다 (Fig. 4). Kishida 등<sup>1)</sup>도 본 연구와 마찬가지로 HAS섭취 시 맹장에서의 pH 감소를 보고하고 있으며, Engelhardt<sup>29)</sup>은 점막의 pH 변화는 대장세포의 swelin이나 mucin 분비, mucosal blood flow에 변화를 가져와 장기능에 영향을 줄 것으로 보고하고 있다.

### 5. 맹장 내용물의 Short chain fatty acid 측정

맹장내 SCFA의 총량을 보면 acetic acid, butyric acid의 농도는 HAS 섭취에 따라 유의적으로 증가하였으나 propionic acid는 일정한 경향을 보이지 않았고, 세 가지 SCFA를 합한 총량은 HAS섭취에 따라 유의적인 증가를 보여주고 있다 (Table 6).

Table 6. Pool of cecal short chain fatty acid

(mmoles/cecum)

Group	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	SCFA
Control	63.1 ± 36.6 <sup>1)c2)</sup>	33.9 ± 17.9 <sup>NS</sup>	6.4 ± 4.4 <sup>bc</sup>	102.7 ± 50.5 <sup>b</sup>
HAS25	146.8 ± 69.6 <sup>c</sup>	43.8 ± 20.5	5.3 ± 5.1 <sup>c</sup>	194.5 ± 70.2 <sup>b</sup>
HAS50	253.4 ± 105.7 <sup>b</sup>	111.2 ± 140.4	14.2 ± 8.2 <sup>b</sup>	378.9 ± 168.6 <sup>a</sup>
HAS100	357.5 ± 101.3 <sup>a</sup>	63.0 ± 31.3	29.2 ± 10.5 <sup>a</sup>	446.1 ± 73.9 <sup>a</sup>

1) Mean ± SE

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

3) NS: not significant

대장에서 생성되는 SCFA 양은 상당하며, 대부분의 SCFA는 acetate, propionate, butyrate로 HAS를 섭취하면 변으로의 SCFA의 배설량은 35%가 증가한다고 보고하고 있다.<sup>30)</sup> Brown<sup>31)</sup> 등은 돼지에게 총 에너지의 50%가 되도록 HAS를 주면서 *bifidobacterium longum*을 함께 보충시켰을 때 변으로의 SCFA의 배설량이 증가하였는데 acetate 양은 차이가 없으며, propionate와 butyrate의 양이 증가하였다고 하여 본 연구와 butyrate의 생산증가는 일치하지만 acetate와 propionate 생산에서는 반대되는 결과를 보이고 있다. 그러나 Jenkins 등<sup>32)</sup>은 24명의 젊은 성인을 대상으로 2주 동안 HAS를 이용하여 하루에 30g의 저항전분이 포함된 식사를 제공하였을 때 HAS섭취군이 대조군에 비해 총 SCFA에 대한 butyrate가 차지하는 비율이 증가하였고, Cummings 등<sup>33)</sup>은 사람에게 RS2를 하루에 17~30 g 씩 15일간을 섭취시켰을 때 변에서 acetate의 비율이 증가한다고 하여 본 연구와 일치하였다. 그리고 Morita 등<sup>21)</sup>은 HAS를 식이무게의 65.5%로 섭취하면서 단백질을 25% 수준으로 주었을 때, casein과 함께 섭취하면 succinate가 주요 SCFA 이었으나 쌀이나 감자 단백질과 함께 섭취하였을 때는 butyrate의 생산이 많았으므로 같이 섭취하는 단백질의 종류에 따라서도 생성되는 SCFA의 종류가 달라진다고 보고하고 있어 SCFA의 생산은 섭취하는 식품에 따라 많이 달라진다는 것을 알 수 있다.

## 6. 대장 점막내 Prostaglandin E<sub>2</sub> 측정

대장점막에서 염증의 지표로 PGE<sub>2</sub>의 농도를 측정하였는데 대조군에 비해 실험군에서 PGE<sub>2</sub>의 농도는 현저하게 유의적으로 감소하였고, 실험군간에는 차이가 없었다 (Fig. 5).

대장에서 SCFA의 단기간 부족은 점막의 hypoplasia를 일으키며, 장기간의 부족은 colitis를 일으키는데<sup>34)</sup> 동물실험에서 항생제를 섭취하는 경우 장내에서의 SCFA의 생산 감소로 인하여 설사와 다양한 종류의 colitis가 나타나는 것으로 보고되었다.<sup>35)</sup> 또한 SCFA의 보충은 (acetate 60 mM, propionate 30 mM, n-butyrate 40 mM) 여러 종류의 궤양을 치료할 수 있다<sup>34)</sup>고 하므로, 식이 탄수화물로

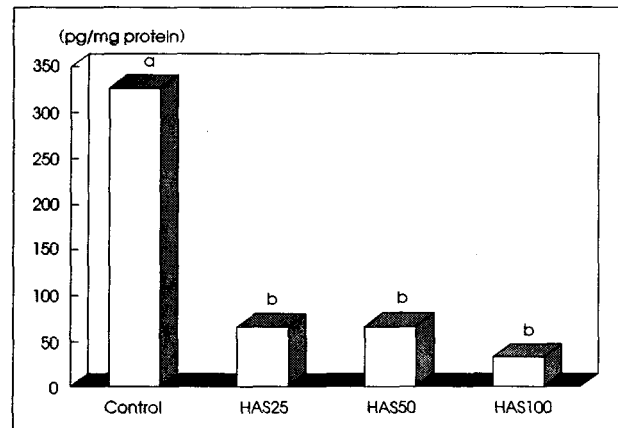


Fig. 5. Production of prostaglandin E<sub>2</sub> in colon mucus. Different alphabet represents the significant differences among groups after 4 weeks at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range-test.

부터 생산된 SCFA는 대장에서 염증을 예방할 수 있을 것으로 사료된다. 특히 n-butyrate는 대장세포에게 영양분을 제공하는 것 이외에 염증을 억제하는 효과가 생체내와 생체외에서 보고되고 있으며 이는 염증을 일으키는 cytokine의 전사과정에 작용을 하기 때문이라고 한다.<sup>16)</sup> 본 연구에서도 HAS의 섭취가 증가하면 대장세포 점막에서의 염증의 원인이라고 알려져 있는 PGE<sub>2</sub>의 생산이 감소하였고, 이는 HAS섭취에 의한 SCFA의 생산증가, 특히 butyrate의 증가와 일치하여 HAS섭취가 대장에서의 염증을 예방할 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 BKA mice에게 1 ml의 butyrate를 주입하였을 때 4시간정도 되어 dose dependent하게 염증이 발생했다는 상반된 보고가 있으므로 이에 대한 연구가 많이 되어야 할 것이다.<sup>36)</sup>

이상의 결과로 보아 HAS섭취는 변의 무게를 증가시키며 미생물의 증식 특히 비피더스균의 증식을 가져와 장내 SCFA의 생산을 증가시키고, pH 감소를 가져오며 PGE<sub>2</sub>의 생산을 감소시켜 장 기능개선의 효과를 나타내고 있다. 그리고 HAS의 섭취수준을 보면 변의 무게 증가, pH 감소, PGE<sub>2</sub>의 감소는 dose dependent하게 나타나지만 SCFA의 생산증가, 비피더스균의 생산증가 등은 HAS50와 HAS100

에서 관찰되어 섭취하는 전분의 50% 이상이 대치되었을 때 효과가 나타나는 것을 알 수 있다.

### 요약 및 결론

본 연구는 흰쥐에게 전분을 식이무게의 50%로 공급하면서 HAS를 일반전분의 0, 25, 50, 100% (Control, HAS25, HAS50, HAS100)로 대체한 식이로 4주간 사육하여, 분변무게, 장통과시간, 맹장내 비피더스균 증식, 맹장내 pH, 맹장 내용물의 short chain fatty acid, 대장 점막내 prostaglandin E<sub>2</sub> 등 장기능과 관련된 인자들을 측정하여 HAS섭취가 장기능 개선에 미치는 효과와 섭취수준에 대한 자료를 제공하기 위해 실시되었다. 실험기간 동안의 체중증가, 최종 무게와 식이효율은 식이의 영향을 받지 않았다. 신장, 부고환지방, 흉선의 무게는 실험군간에 유의적인 차이가 없었으나 간과 비장의 무게는 HAS100군에서 유의적으로 낮았다. 소장외 길이는 식이에 의해 영향을 받지 않았으나, 대장의 길이와 맹장벽과 맹장내용물의 무게는 식이내 HAS양이 증가함에 따라 dose dependent 하게 유의적으로 증가하였다. 하루에 배설하는 대변의 양은 HAS 섭취가 증가함에 따라 유의적으로 증가하여 HAS100군은 대조군에 비해 70%이상을 배설하였으며, 장통과시간은 HAS의 섭취에 따라 감소하는 경향을 보이나 유의적이지는 않았다. HAS 섭취에 따라 맹장내 총 균수와 비피더스균의 증식이 증가되었으나 비피더스균에서만 유의적인 증가가 나타났고, HAS50이상일 때 유의적이었다. 맹장내 acetic acid, butyric acid의 농도는 HAS 섭취에 따라 유의적으로 증가하였으나 propionic acid는 일정한 경향을 보이지 않았고, 세 가지 SCFA를 합한 총량은 HAS섭취에 따라 유의적으로 증가하였다. HAS 섭취시 PGE<sub>2</sub>의 농도는 현저하게 유의적으로 감소하였다. 이상의 결과로 보아 HAS 섭취는 변무게 증가, 비피더스균의 증식, 이에 따른 SCFA의 생산증가와 pH감소, PGE<sub>2</sub> 생산 감소등 장기능 개선 효과가 있는 것으로 사료되며 섭취수준은 섭취하는 전분의 50% 이상 (식이무게의 25%)을 대체하였을 때 효과가 있는 것으로 사료된다.

### Literature cited

1) Kishida T, Nogami H, Himeno S, Ebihara K. Heat moisture treatment of high amylose cornstarch increases its resistant starch content but not its physiologic effects in rats. *J Nutr* 131: 2716-2721, 2001  
 2) Asp NG, van Amelsvoort JMM, Hautvast JGA. Nutritional im-

plications of resistant starch. *Nutr Res Rev* 9: 1-31, 1996  
 3) Levrat MA, Moundras C, Younes H, Morand C, Demigne C, Remesy C. Effectiveness of resistant starch, compared to guar gum, in depressing plasma cholesterol and enhancing fecal steroid excretion. *Lipid* 31 (10): 1069-1075, 1996  
 4) Phillips J, Muir J, Birkett A, Lu ZX, Jones GP, O'Dea K. Young GP. Effect of resistant starch on fecal bulk and fermentation dependent events in humans. *Am J Clin Nutr* 62: 121-130, 1995  
 5) Grubben MJ, van den Braak CC, Essenberg M, Olthof M, Tangerman A, Katan MB, Nagengast FM. Effect of resistant starch on potential biomarkers for colonic cancer risk in patients with colonic adenomas: a controlled trial. *Dig Dis Sci* 46(4): 750-756, 2001  
 6) Cheng HH, Lai MH. Fermentation of resistant rice starch produces propionate reducing serum and hepatic cholesterol in rats. *J Nutr* 130: 1991-1995, 2000  
 7) Fernandez ML, Roy S, Vergara-Jimenez M: Resistant starch and cholestyramine have distinct effects on hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. *Nutr Res* 20(6): 837-849, 2000  
 8) Würsch P. Production of resistant starch. In *Complex Carbohydrates in Foods*. New York: Marcel Dekker, pp.385-394, 1999  
 9) Lopez HW, Coudray C, Bellanher J, Levrat-verny MA, Demigne C, Rayssiguier Y, Remesy C. Resistant Starch Improves Mineral Assimilation in Rats Adapted to a Wheat Bran Diet. *Nutr Res* 20: 141-155, 2000  
 10) Andrieux C, Pacheco ED, Bouchet B, Gallant D, Szyliet O. Contribution of the digestive tract microflora to amylo maize starch degradation on the rat. *Br J Nutr* 67(3): 489-499, 1992  
 11) Granfeldt YE, Drews AW, Björck IM. Starch bioavailability in arepas made from ordinary or high amylose corn: concentration and gastrointestinal fate of resistant starch in rats. *J Nutr* 123(10): 1676-1684, 1993  
 12) Champ MMJ, Molis C, Flourie B, Pelletier P, Colonna P, Galliche JP, Rambaud JC. Small-intestinal digestion of partially resistant cornstarch in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 68: 705-710, 1998  
 13) O'Riordan K, Muljadi N, Conway P. Characterization of factors affecting attachment of Bifidobacterium species to amylo maize starch granules. *J Appl Microbiol* 90(5): 749-754, 2001  
 14) Olsen M, Rumessen JJ, Gudmand-Hoyer E. Large bowel fermentation in rats eating processed potatoes. *J Nutr* 66: 313-329, 1991  
 15) Bird AR, Brown IL, Topping DL. Starches, resistant starches, the gut microflora and human health. *Curr Issues Intest Microbiol* 1(1): 25-37, 2000  
 16) Saemann MD, Bohmig GA, Zlabinger GJ. Short-chain fatty acids: bacterial mediators of a balanced host-microbial relationship in the human gut. *Wien Klin Wochenschr* 114(8-9): 289-300, 2002  
 17) Hylla S, Gostner A, Dusel C, Anger H, Bartran HP, Christl SU, Kasper H, Scheppach W. Effects of resistant starch on the colon in healthy volunteers: possible implications for cancer prevention. *Am J Clin Nutr* 67: 137-142, 1998  
 18) Philip G. Reeves, Forrest H, Nielsen and George C. Fahey, JR. 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, 1993
- 19) AOAC. Official methods of analysis, 15th ed., Total dietary fiber in foods, enzymatic-gravimetric method. The association of official analytical chemists, pp.1105-1106, Washington DC, USA, 1990
  - 20) Chen HL, Lu YH, Lin J, Ko LY. Effects of fructooligosaccharide on bowel function and indicators of nutritional status in constipated elderly men. *Nutr Res* 12: 1725-1733, 2000
  - 21) Morita T, Kasaoka S, Oh-hashii A, Ikai M, Numasaki Y, Kiriya-ma S. Resistant proteins alter cecal short-chain fatty acid profiles in rats fed high amylose cornstarch. *J Nutr* 128: 1156-1164, 1998
  - 22) Behall KM, Howe JC. Resistant starch as energy. *J Am Coll Nutr* 15 (3): 248-254, 1996
  - 23) Jeong MK, Kim MH, Kang NE, Kim WK. Effects of resistant starch on gut functions and plasma lipid profiles in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31 (2): 271-276, 2002
  - 24) Topping DL, Gooden JM, Brown IL, Biebrick DA, McGrath L, Trimble RP, Choct M, Illman RJ. A high amylose (Amylomaize) starch raises proximal large bowel starch and increases colon length in pig. *J Nutr* 127: 615-622, 1997
  - 25) Demigne C, Levrat MA, Remesy C. Effects of feeding fermentable carbohydrates on the cecal concentrations of minerals and thier fluxes between the cecum and blood plasma in the rat. *J Nutr* 119(11): 1625-1630, 1989
  - 26) Ferguson LR, Jones CT, Englyst H, Harris PJ. Comparative effects of three resistant starch preparations on transit time and short chain fatty acid production in rats. *Nutr Cancer* 36(2): 230-237, 2000
  - 27) Heijen MLA, van Amelsvoort JMM, Deurenberg P, Beynen AC. Limited effect of consumption of uncooked (RS<sub>2</sub>) or retrograded (RS<sub>3</sub>) resistant starch on putative risk factors for colon cancer in healthy men. *Am J Clin Nutr* 67: 322-331, 1998
  - 28) Wang X, Brown IL, Evans AJ, Conway PL. The protective effects of high amylose maize (amylomaize) starch granules on the survival of Bifidobacterium spp. in the mouse intestinal tract. *J Appl Microbiol* 87 (5): 631-639, 1999
  - 29) von Engelhardt W, Bartels J, Kirschberger S, Meyer zu Dutingdorf HD, Busche R. Role of short-chain fatty acids in the hind gut. *Vet Q* 20 Suppl 3: S52-59, 1998
  - 30) van Munster IP, Tangerman A, Nagengast FM. Effect of resistant starch on colonic fermentation, bile acid metabolism, and mucosal proliferation. *Dig Dis Sci* 39 (4): 834-842, 1994
  - 31) Brown I, Warhurst M, Arcot J, Playne M, Illman RJ, Topping DL. Fecal numbers of bifidobacterium are higher in pig fed bifidobacterium longum with a high amylose cornstarch than with a low amylose cornstarch. *J Nutr* 127: 1822-1827, 1997
  - 32) Jenkins DJA, Vuksan V, Kendall CWC, Wursch P, Jeffcoat R, Earing S, Mehling CC, Vidgen E, Augustin LSA, Wong E. Physiological effects of resistant on fecal bilk, short chain fatty acids, blood lipids and glycemic index. *J Am Coll Nutr* 17 (6): 609-616, 1998
  - 33) Cummings JH, Beatty ER, Kingman SM, Bingham SA, Englyst HN. Digestion and physiological properties of resistant starch in the human large bowel. *Br J Nutr* 75: 733-747, 1996
  - 34) Scheppach W, Christl SU, Bartram HP, Richter F, Kasper H. Effects of short-chain fatty acids on the inflamed colonic mucosa. *Scand J Gastroenterol Suppl* 222: 53-57, 1997
  - 35) Mortensen PB, Clausen MR. Short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 216: 132-148, 1996
  - 36) Saemann MD, Bohmig GA, Zlabinger GJ. Short-chain fatty acids: bacterial mediators of a balanced host-microbial relationship in the human gut. *Wien Klin Wochenschr* 114(8-9): 289-300, 2002
  - 37) McCafferty DM, Zeitlin IJ. Short chain fatty acid-induced colitis in mice. *Int J Tissue React* 11 (4): 165-168, 1989