

## Nano-Scale Pulverizer (NSP)와 Ultra-Fine Pulverizer (UFP)로 물리적 변성된 옥수수전분 섭취가 흰쥐의 성장능력 및 장기능에 미치는 영향\*

이혜성<sup>1</sup> · 주다남<sup>1</sup> · 김보람<sup>1</sup> · 김선희<sup>1</sup> · 한명륜<sup>2</sup> · 김명환<sup>3</sup> · 장문정<sup>1§</sup>

국민대학교 식품영양학과,<sup>1</sup> 혜전대학 식품영양과,<sup>2</sup> 단국대학교 식품공학과<sup>3</sup>

### Effect of Dietary Intake of Ultra-fine or Nano-Scale Pulverized Cornstarch on the Growing Performance and Gut Function in Rats\*

Lee, Hye-Sung<sup>1</sup> · Ju, Danim<sup>1</sup> · Kim-Boram<sup>1</sup> · Kim, Sun-Hee<sup>1</sup>  
Han, Myung Ryun<sup>2</sup> · Kim, Myung Hwan<sup>3</sup> · Chang, Moon-Jeong<sup>1§</sup>

<sup>1</sup>Department of Foods and Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Hyejeon College, Hongseong 350-702, Korea

<sup>3</sup>Department of Food Engineering, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

#### ABSTRACT

The objectives of this study was to determine whether a new physically modified cornstarch by ultra-fine- or nano-scale pulverizer to reduce particle size offers better bioactive function than native cornstarch in weanling Sprague-Dawley rats. Male weanling Sprague-Dawley rats were fed diets containing native cornstarch (NAC), ultra fine pulverized cornstarch (UFC) or nano-scale pulverized cornstarch (NSC) for 4 weeks. In vitro rate of starch hydrolysis, growth performance, organ weight, intestine length intestinal proliferation and the fermentation by *Bifidobacterium* of rat cecum were evaluated. The diet with reduced particle size (UFC or NSC) significantly increased body weight gain and organ weight. Feed efficiency was increased in NSC fed rats and was not affected in UFC fed rats. Intestinal proliferation was decreased in NSC group. Reduction of particle size also increased cecal short chain fatty acid concentration and the growth and acidifying activity of *Bifidobacterium*. It is concluded that a reduction of particle size of starch granules by physically modification may increase growing performance and gut function. (Korean J Nutr 2009; 42(8): 740~749)

**KEY WORDS:** cornstarch, ultra-fine pulverization, nano-scale pulverization, growing performance, gut function.

#### 서 론

전분은 식물에 존재하는 소화 가능한 탄수화물로 인체가 필요로 하는 에너지의 1차적 공급원이다. 소화흡수율이 높고 수분용해성이 높아 영유아용 식품, 환자용 식품, 운동선수용 영양보충식품등 특수용도용 식품이나 소프트 드링크,

기타 액상 식품의 탄수화물 급원으로 많이 사용되고 있다. 전분은 다양한 기능성을 가지고 있기 때문에 그 자체로 식품의 물리적 특성을 개선하는 식품성분으로 사용되기도 하나, 전분의 기능을 증진시키기 위해 물리적 또는 화학적 방법으로 전분의 입자 또는 분자구조를 변화시킨 변성전분이 많이 사용되고 있다.<sup>1)</sup> 그러나 화학적 변성전분은 안전성 문제로 인해 식품으로의 사용에 많은 제한을 받고 있어,<sup>2)</sup> 안전성과 기능성을 갖춘 물리적 방법에 의한 변성화가 시도되고 있으며 물리적 변성 전분은 매우 안전한 물질로 받아 들여 지고 있다.<sup>3)</sup>

소장에서 전분의 소화는 섭취하는 전분의 양이나 종류에 따라 다르다. 전분 내 아밀로오스와 아밀로펙틴 비율, 아밀로오스의 결정 구조, 전분입자의 크기와 같은 물리·화학

접수일 : 2009년 11월 20일 / 수정일 : 2009년 11월 30일

채택일 : 2009년 12월 5일

\*This work was supported by the Korea Science and Engineering Foundation (KOSEF) Grant funded by the Korean Government (R01-2006-000-10857-0).

§To whom correspondence should be addressed.

E-mail: cmoon@kookmin.ac.kr

적 특성은 장내에서  $\alpha$ -아밀라아제의 소화력에 영향을 준다. 전분의 소화는  $\alpha$ -아밀라아제의 활성, 같이 존재하는 식품의 다른 성분에 의해 영향을 받을 뿐 아니라, 물리적 또는 가열 처리에 의한 전분의 입자구조의 변화에 의해 영향을 받는다.<sup>4)</sup> 전분의 소화율은  $\alpha$ -아밀라아제의 활성이 낮거나 방해인자들에 의해 감소되나, 입자구조를 파괴시킬 수 있는 전분의 호화, 결정형 구조의 변화를 유도할 수 있는 물리적 또는 가열처리시 소화력이 증가된다. Stephen 등은 혼합식의 형태로 섭취하였을 때 장으로 유입된 전분의 2~20%가 장을 통과한다고 보고하였다.<sup>5)</sup> 소장에서 소화되지 않고 대장으로 넘어간 전분은 맹장에서 분해되는 데 대장에서 전분의 일부가 *Bifidobacterium*에 의해 발효되면서 여러 가지 생리적 기능을 부여하게 된다.<sup>6)</sup>

전분 가공은 생물학적, 경제적 이익을 제공하기 위해 수행되어 왔으며, 이러한 가공방법은 맛을 증진시키거나 부산물의 생성을 줄이기 위해 또는 소화 흡수율을 증진시켜 영양가를 개선하기 위한 목적으로 수행되어 왔다. 냉온처리, 건조 또는 습윤처리, 물리적·화학적 처리가 식미감을 개선하고, 생리적 기능을 촉진시킨다고 보고된 바 있으며,<sup>7)</sup> 전분의 가열이나 물리적 가공처리는 호화과정에서 전분의 입자구조를 파괴하거나 결정형의 전분구조를 교란하여 효소와의 반응성을 증가시켜 소화기능을 촉진시킬 수 있다고 보고되었다.<sup>4)</sup> 최근 식품산업에서 식품원료에 새로운 특성을 부여하기 위해 마이크로화 기술 (micron technology) 과 나노기술 (nano technology)을 적용하여 초미세분쇄시켜 전분의 기능성을 증진시키는 연구가 급속히 발달해 왔다. 전분의 초미세분쇄는 nano-scale pulverizer나 ultra-fine pulverizer에 의해 이루어지는 데 ultra-fine pulverizer로 전분의 변성을 유도하였을 때에 비해 nano-scale pulverizer로 유도하였을 때 직경이 더 작은 입자가 만들어진다. 전분의 초미세분쇄는 크기가 큰 입자에 비해 단위 질량당 표면적을 증가시키므로 생물학적으로 더 활성이 있는 특성을 갖게 된다.<sup>8-9)</sup> 최근 연구에서 ultra-fine pulverizer를 이용하여 15  $\mu\text{m}$  미만의 크기로 초미세분쇄시킨 쌀전분을 성장기 Sprague-Dawley 종 쥐에 섭취시켰을 때 체중 증가량이 높은 경향이었으며, 소화율이 유의하게 증가하여 성장능력을 개선하는 효과가 있음을 보고하였다.<sup>10)</sup>

식품가공의 원료로 사용하기 전 전분의 가공은 널리 시도되어 왔으나 전분 입자의 초미세분쇄기를 이용하여 물리적으로 변성시킨 전분 섭취의 생리적 기능특성은 거의 보고된 바 없다. 본 연구는 이유한 성장기 Sprague-Dawley 종 쥐를 이용하여 ultra fine, nano-scale 2 종류의 pulverizer로 전분입자의 크기를 감소시켜 변성을 유도한 옥수수

전분의 섭취가 성장기 동물의 성장능력 및 장기능에 미치는 효과를 비교하여 물리적 변성 옥수수전분의 영양적 가치를 분석하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 옥수수전분의 초미세분쇄

Ultra fine pulverizer에 의한 옥수수전분의 물리적 변성은 옥수수전분 (주, 대상)을 진동동결 건조기로 5% 수분 함량 (wet basis)이 될 때 까지 건조시킨 후 분리된 옥수수전분을 11 mm와 5 mm ziloconium oxide 250 g이 들어있는 용기에 넣고 high impact planetary mill (Pulverisette 6, Fritsch Co., Germany)로 30분간 300 rpm으로 분쇄시켰다. 분쇄된 옥수수전분 (UFC)은 분급기를 이용하여 입자크기가 15  $\mu\text{m}$  미만인 것을 분류하여 실험식이 제조에 사용하였다. Nano-scale의 물리적 변성 옥수수전분 (NSC)은 (주)나노테크월드 (포항)의 건식나노분쇄기에 의해 초미세분쇄된 것을 제공받아 실험식이제조에 사용하였으며 전분입자의 평균 크기가 7.19  $\mu\text{m}$ 였다. 변성시키지 않은 천연 옥수수전분 (native cornstarch, NAC)의 입자의 직경은 9.7~23.3  $\mu\text{m}$ 였다.

### 실험동물의 사육과 실험식이

4주령 된 (평균 체중 85.7 g) Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐 24마리를 (주)대한실험동물센터로부터 분양받아 고형사료와 물을 자유로이 공급하면서 1주일간 적응시킨 후 난괴법에 의하여 3군으로 나누어 대조군에게는 탄수화물 급원으로 일반 옥수수전분 (native cornstarch, NAC)을, 다른 2군에는 ultra-fine pulverized 옥수수전분 (UFC)과 nano-scale pulverized 옥수수전분 (NSC)을 각각 공급하였다. 실험식이의 조성은 Table 1과 같다. 실험동물은 stainless cage에 한 마리씩 분리 사육하였으며 사육실의 환경은 온도  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ , 상대습도 ( $60 \pm 5\%$ ). 명암은 12시간 주기 (light 6 : 00 AM~6 : 00 PM)로 일정하게 유지하였다. 실험 식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다. 체중은 일주일에 한번 같은 시각에 측정하였으며, 식이 섭취량은 2일에 1번 일정시간에 측정하여 식이 효율을 계산하였다. 식이효율 (food efficiency ratio: FER)은 매주별 체중증가량을 같은 기간 동안 섭취한 식이섭취량으로 나누어 산출하였다.

### In vitro 소화율 측정

$\alpha$ -Amylase를 이용한 전분의 in vitro 소화율 (digestibility) 측정은 Liu 등<sup>11)</sup>의 방법을 이용하였다. 50 mL의

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

Ingredients	NAC <sup>1)</sup>	UFC	NSC
Starch	529.486	529.486	529.486
Sucrose	100.00	100.00	100.00
Casein	200.000	200.000	200.000
Soybean oil	70.000	70.000	70.000
cellulose	50.000	50.000	50.000
Mineral mixture 93G <sup>2)</sup>	35.000	35.000	35.000
Vitamin mixture 93G <sup>3)</sup>	10.000	10.000	10.000
Choline bitartrate (41.1% choline)	2.500	2.500	2.500
Tert-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014

1) NAC: cornstarch control, UFC: ultra-fine pulverized cornstarch, NSC: nano-scale pulverized cornstarch

2) Mineral mixture : AIN-93G mineral mixture (g/kg mix) Calcium carbonate, anhydrous 357.00 : Potassium phosphate, monobasic 196.00 : potassium citrate, tri-potassium, monohydrate 70.78 : Sodium chloride 74.00 : potassium sulfate 46.60 : Magnesium oxide 24.00 : ferric citrate 6.06 : Zinc carbonate 1.65 : manganous carbonate 0.63 : Cupric carbonate 0.30 : Potassium iodate 0.01 : Sodium selenate, anhydrous 0.01025 : Ammonium paramolybdate, 4 hydrate 0.00795 : Sodium meta-silicate, 9 hydrate 1.45 : Chromium potassium sulfate, 12 hydrate 0.275 : Lithium chloride 0.0174 : Boric acid 0.0815 : Sodium fluoride 0.0635 : Nickel Carbonate 0.0318 : Ammonium vanadate 0.0066 : Powdered sucrose 221.026

3) Vitamin mixture : AIN 93G Vitamin mixture (g/kg mix) nicotinic acid 3.000 : Ca panthothenate 1.600 : Pyridoxine-HCl 0.700 : Thiamin-HCl 0.600 : Riboflavin 0.600 : Folic acid 0.200 : D-Biotin 0.020 : Vitamin B<sub>12</sub> (cyanocobalamin) 2.500 : Vitamin E (all-rac- $\alpha$ -tocopheryl acetate, 500 IU/g) 15.000 : Vitamin A (all-trans-retinyl palmitate, 500,000 IU/g) 0.800 : Vitamin D<sub>3</sub> (cholecalciferol, 400,000 IU/g) 0.250 : Vitamin K (phyloquinone) 0.075 : Powdered sucrose 974.655

cornical tube에 전분 1.0 g과 0.2 M phosphate buffer (pH 6.9) 30 mL를 넣고 95℃에서 30분 동안 가열하여 전분 시료를 완전 호화시킨 후 이를 상온으로 냉각하였다. 이에 320unit의  $\alpha$ -amylase (A6380, Sigma, St. Louis, MO., USA)를 가하여 30℃에서 14시간 동안 효소반응을 진행하였고 이 효소반응액에 1% (v/v)의 황산 용액 5 mL를 넣어 효소반응을 정지시킨 다음 3,000 × g의 속도로 원심분리 (Union 32R, Hanil, Daejeon, Korea)하여 상등액은 제거하고 침전물을 분리하였다. 이 침전물에 2배량의 80%의 ethanol을 가하여 세척한 다음 원심분리하는 과정을 2회 반복하였으며 침전물을 105℃로 건조하여 얻은 무게로부터 in vitro 소화율 (%)을 계산하였다.

### 장 통과시간 (Gastrointestinal transit time)의 측정

장 통과시간은 사육 3주 후에 12시간 절식시킨 후 실험 동물 1마리당 사료 2 g에 10% carmine red (Sigma Chem. CO., USA)를 1 mL 첨가하여 섭취시킨 후 실험사료를 급여하였고 그 후 붉은색 변이 나오는 처음시간으로 하였다.

### 비피더스 증식효과

실험 식이를 섭취한 0, 4주째 되는 날에 쥐의 항문을 자극하여 분변을 인위적으로 채취하여 멸균 phosphate buffer에 일정농도로 희석한 후, *Bifidobacteria* 선택용 배지인 BL 한천배지 (Becton & Dickenson, Co., USA)에 항생물질을 첨가한 BS배지를 사용하여 혐기성 배양기에서 37℃로 72시간 배양한 후 균수를 측정하였다. 배지의 조성은 Table 2와 같다.

**Table 2.** Composition of BS agar medium

Composition	Content
BL agar medium	1,000 mL
BS solution	50 mL
Sodium propionate	30 g
Paromomycin sulfate	100 mg
Neomycin sulfate	400 mg
Lithium chloride	6 g
Distilled water	100 mL

### 소장세포 증식실험

실험동물을 희생하기 1시간 전에 체중 kg 당 5 mg의 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)를 phosphate buffer saline (PBS, pH 7.4)에 녹여 복강 주사하였다.<sup>12)</sup> 실험동물의 희생후 소장은 균등하게 3등분하여 자른 후 위문부 괄약근 시작점부터 5 cm에 해당하는 부위 (십이지장)와 3 등분의 중간부위의 시작점부터 5 cm에 해당하는 부위 (공장)를 잘라내어 통상적인 paraffin block을 만들었고 monoclonal anti-BrdU antibody, peroxidase를 붙인 anti-mouse antibody와 diaminobenzidine을 이용한 면역조직학적 방법으로 염색하였다. 십이지장과 공장 상피세포의 proliferation index로 total cell number, labelled cell의 수, labeling index를 구하였다. 십이지장과 공장 상피세포의 증식판독은 double blind 방식으로 단국대학교 임상병리실 병리조직학 전문가에 의하여 수행되었다.

### 맹장내용물의 pH

맹장 내용물을 0.5 g 채취한 후 10배의 증류수로 희석하

고, pH를 이용하여 pH를 측정하였다.<sup>13)</sup>

### 혈액 및 각종 장기의 채취

혈액은 실험기간 종료 전 12시간 굶긴 동물을 단두하여 혈액을 채취하였으며, 3,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 혈청을 채취한 후 분석 전까지  $-50^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동 보관하였다. 혈액채취 후 즉시 간, 심장, 신장을 떼어 지방을 제거하고 냉장 생리식염수에 세척한 다음 여과지로 수분을 제거한 후 무게를 측정하고 분석을 위해 바로  $-50^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동 보관하였다.

### 장기 조직의 분석

장기 조직중의 DNA, protein 함량은 조직을 균질기로 분쇄하여 적정농도로 희석한 후, DNA는 genomic DNA extraction kit for tissue (주, Intron biotechnolgy Inc., Korea)를 이용하여 추출한 후 추출된 DNA pellet을 TE

(10 mM Tris (Hydorxmethyl)Aminomethane, 1 mM EDTA)에 용해 시킨 후 260 nm에서 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 조직의 단백질 함량은 Lowry법으로<sup>14)</sup>로 비색정량하였다.

### 통계분석

본 연구의 모든 실험결과는 SPSS 12 for windows package를 이용하여 각 군의 평균과 표준편차를 구하고, 실험군간의 평균의 유의성은 분산분석 (ANOVA)을 한 후 Duncan's multiple range test로 유의수준  $\alpha = 0.05$ 에서 검정하였다.

## 결 과

### In vitro 소화율

Fig 1.에 제시한 바와 같이 물리적 변성 옥수수 전분의 In vitro 소화율은 전분 입자의 크기에 반비례로 증가하여 입자의 크기가 작을 수록 소화율이 높았다. 입자의 크기가  $9.7 \sim 23.3 \mu\text{m}$ 였던 NAC에 비해  $15 \mu\text{m}$  이하로 감소시킨 UFC < 평균 직경이  $7.4 \mu\text{m}$ 이었던 NSC군 ( $p < 0.05$ )으로 유의하게 높았다.

### 성장능력 및 식이 섭취량

실험기간 동안 식이 섭취량, 체중증가량 및 식이효율을 Table 3에 제시하였다. 체중증가량 및 식이 효율은 옥수수 전분의 초미세화 시키는 분쇄방법에 의한 차이가 있었다. NAC군, UFC군의 식이 섭취량은 차이가 없었으며, NSC군의 식이섭취량이 유의하게 낮았다. 체중증가량은 일반옥수수전분에 비해 물리적으로 입자의 크기를 초미세화시킨 UFC섭취군과 NSC섭취군에서 유의적으로 높았으며 UFC군과 NSC군간의 유의적인 차이는 없었다. 식이섭취량이 가장 적었던 NSC군의 체중증가량이 높았기 때문에 식이효율이 증가하였으며 UFC군과 식이효율에 있어서 유의적인 차이는 없었다. 물리적으로 전분의 입자를 초미세분쇄시켰을 때 체중증가를 높이는 효과가 있었으며, ultra-fine pulverizer 보다 nano-scale pulverizer로 입자의 크기를 더

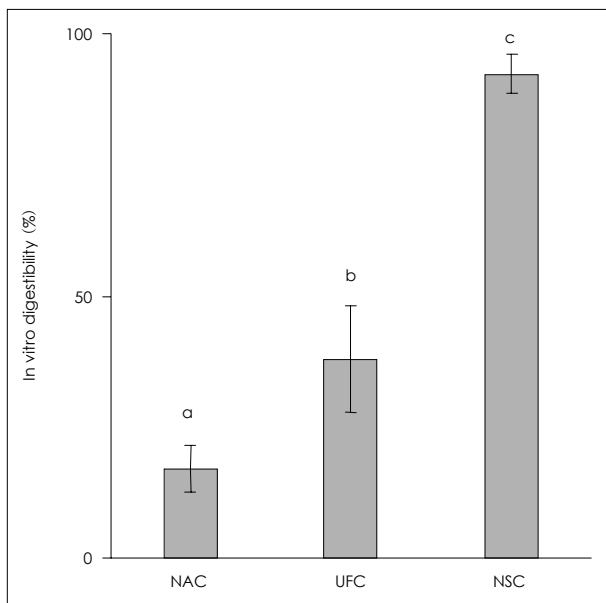


Fig. 1. In vitro digestibility of native cornstarch, ultra-fine pulverized and nano-scale pulverized cornstarch. NAC: native cornstarch; UFC: ultra-fine pulverized starch, NSC: nano-scale pulverized cornstarch. Data are means and bars indicate SD. Values with different superscripts are significantly different as assessed by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

Table 3. Total Food intake, initial and final body weight, body weight gain, and food efficiency ratio (FER) for 4 weeks

Group	Food intake (g/Total)	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Body weight gain (g)	Food efficiency ratio (FER)
NAC <sup>1)</sup>	480.7 $\pm$ 7.0 <sup>b2)3)</sup>	84.6 $\pm$ 1.1 <sup>ns4)</sup>	228.1 $\pm$ 4.9 <sup>a</sup>	139.5 $\pm$ 4.5 <sup>a</sup>	0.29 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
UFC	510.6 $\pm$ 23.8 <sup>b</sup>	84.7 $\pm$ 0.6	257.8 $\pm$ 8.2 <sup>b</sup>	173.8 $\pm$ 8.7 <sup>b</sup>	0.34 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
NSC	452.1 $\pm$ 6.6 <sup>a</sup>	84.3 $\pm$ 0.7	248.8 $\pm$ 6.4 <sup>b</sup>	164.4 $\pm$ 6.8 <sup>b</sup>	0.36 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>

1) NAC: cornstarch control, UFC: ultra-fine pulverized corn starch, NSC: nano-scale pulverized cornstarch

2) Values are means  $\pm$  SD (n = 7)

3) Values with different superscripts are significantly different as assessed by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ )

4) ns: not significant

작게 만들었을 때 작은 섭취량으로도 성장을 촉진시키는 효과가 있었다.

간, 신장, 심장조직의 성장은 Table 4에 제시된 바와 같이 간무게는 UFC군과 NSC군간의 유의적인 차이가 없었으며 일반 옥수수 전분 섭취군의 무게가 유의하게 낮았다. DNA 함량과 단백질 함량은 각 실험군간에 유의적인 차이가 없으나 UFC군이 낮은 경향이었고, 단백질/DNA 비율은 UFC와 NSC 군은 유의적인 차이가 없었으며 NAC군에서 가장 낮았다. 신장조직의 무게도 UFC군이 유의하게 높았고, NSC군, NAC군 순으로 낮아졌으나, 각 조직의 DNA함량, 단백질 함량, 단백질/DNA 비율은 세군간의 유의적인 차이가 없었다. 단백질/DNA 비율은 세포의 크기를 나타내 주는 지표로 사용되고 있으며 NSC군의 경우 식이 섭취량이 유의하게 낮았음에도 불구하고 장기의 성장, 세포의 크기는 다른 옥수수전분 섭취군에 비해 차이가 없어 성장효율이 가장 높았음을 알 수 있었다. 심장의 무게는 각 실험군간의 유의적인 차이가 없었으나, DNA는 NSC군에서 유의하게 높았다. 단백질 함량은 NSC군에서 유의하게 높았고, 단백질/DNA 비율은 NSC군에서 가장 낮았다. 간, 신장, 심장등 주요 장기의 성장능력은 NAC군에 비해 UFC군에서 높았으며, 식이섭취량이 가장 적었던 NSC군의 간과 심장 무게는 UFC군과 비슷한 성장능력을 나타내어 간과 심장과 같은 주요 장기의 성장능력은 NSC군이 UFC군에 비해 상대적으로 우수하였고 일반옥수수전분보다 ultra-fine pulverizer로 초미세 분쇄시킨 전분이 간과 신장의 성장을 촉진시켰음을 알 수 있었다.

### 소장무게, 길이, 장세포 증식

초미세분쇄 옥수수 전분의 섭취가 장기능에 미치는 영향을 관찰하여 소장의 길이 및 무게는 Table 5에 제시하였다. 소장의 길이는 NSC군에서 짧은 경향이었으며 각 실험식이 섭취군의 장통과 시간은 Table로 제시하지는 않았으나 각 실험군간의 416~475분으로 각 실험군간의 유의적인 차이가 없었다. 소장의 무게는 UFC군이 NAC군에 비해 유의하게 높았으며 UFC > NSC군 > NAC군 순으로 낮아졌다. 맹장내용물의 무게는 각 실험군간의 유의적인 차이가 없었다. 맹장 내용물의 pH는 NAC군에서 유의하게 높았으며, UFC군, NSC군 순으로 낮아져 NSC군이 가장 낮았다.

소장세포의 증식은 총세포수와 BrDU로 증식하는 세포를 염색하였을 때 염색된 세포수와 proliferation zone에서의 labelling index로 보았으며 Table 6과 Fig. 2에 제시하였다. 십이지장에서 총세포수와 BrDU로 표지된 세포

Table 4. The weights, DNA and protein contents of organ

Group	Liver			Kidney			Heart					
	wet wt (g)	DNA (mg/g)	Protein (mg/g)	P/D ratio <sup>2)</sup>	wet wt (g)	DNA (mg/g)	Protein (mg/g)	P/D ratio	wet wt (g)	DNA (mg/g)	Protein (mg/g)	P/D ratio
NAC <sup>1)</sup>	7.1 ± 0.2 <sup>a3/4)</sup>	2.4 ± 0.3 <sup>ns5)</sup>	16.6 ± 1.0 <sup>ns</sup>	7.1 ± 0.8 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.0 <sup>a</sup>	3.3 ± 0.2 <sup>ns</sup>	14.2 ± 0.4 <sup>ns</sup>	4.3 ± 0.1 <sup>ns</sup>	1.0 ± 0.2 <sup>ns</sup>	1.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	15.1 ± 0.7 <sup>a</sup>	14.2 ± 7.4 <sup>b</sup>
UFC	9.9 ± 0.3 <sup>b</sup>	2.1 ± 0.3	15.6 ± 0.4	7.4 ± 0.9 <sup>b</sup>	2.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	3.0 ± 0.3	14.0 ± 0.3	4.4 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	15.4 ± 0.4 <sup>ab</sup>	15.9 ± 1.4 <sup>b</sup>
NSC	7.6 ± 0.3 <sup>ab</sup>	2.3 ± 0.2	16.8 ± 0.6	7.3 ± 0.7 <sup>ab</sup>	1.8 ± 0.1 <sup>a</sup>	3.2 ± 0.2	13.9 ± 0.3	4.3 ± 0.1	1.0 ± 0.2	1.7 ± 0.2 <sup>b</sup>	16.8 ± 0.5 <sup>b</sup>	10.2 ± 4.9 <sup>a</sup>

1) NAC: cornstarch control, UFC: ultra-fine pulverized cornstarch, NSC: nano-scale pulverized cornstarch

2) P/D ratio: Protein/DNA

3) Values are means ± SD (n = 7)

4) Values with different superscripts are significantly different as assessed by Duncan's multiple range test (p < 0.05)

5) ns: not significant

의 수는 유의적인 차이가 없었으나 proliferation zone에 서는 BrDU로 표지된 labelling index는 NSC군에서 유의 하게 낮았다. 공장에서는 총세포수, BrdU로 표지된 세포수, proliferation zone에서의 labelling index는 각 실험군에 서 모두 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

### 장내 미생물증식 및 발효

본 연구에서 BS 배지를 이용하여 배양된 분변내 *Bifido- bacterium* 수와 맹장내 단쇄지방산 농도를 미생물 증식및 발효의 지표로 사용하였다. Table 7에 나타난 바와 같이 단쇄지방산의 함량은 NAC군과 UFC 군간에는 유의적인

**Table 5.** Small intestine weight, small intestine length and cecum content

Group	Small intestine weight (g)	Small intestine length (cm)	Cecum content (g)	pH
NAC <sup>1)</sup>	5.3 ± 0.29 <sup>a2)3)</sup>	102.5 ± 1.1 <sup>ns4)</sup>	0.38 ± 0.06 <sup>ns</sup>	7.1 ± 0.5 <sup>b</sup>
UFC	6.9 ± 0.38 <sup>b</sup>	102.8 ± 1.9	0.43 ± 0.02	6.7 ± 0.7 <sup>ab</sup>
NSC	6.2 ± 0.18 <sup>ab</sup>	99.4 ± 1.3	0.37 ± 0.03	6.2 ± 0.6 <sup>a</sup>

1) NAC: cornstarch control, UFC: ultra-fine pulverized cornstarch, NSC: nano-scale pulverized cornstarch

2) Values are means ± SD (n = 7)

3) ns: not significant

4) Values with different superscripts are significantly different as assessed by Duncan's multiple range test (p < 0.05)

**Table 6.** Proliferation of small intestines

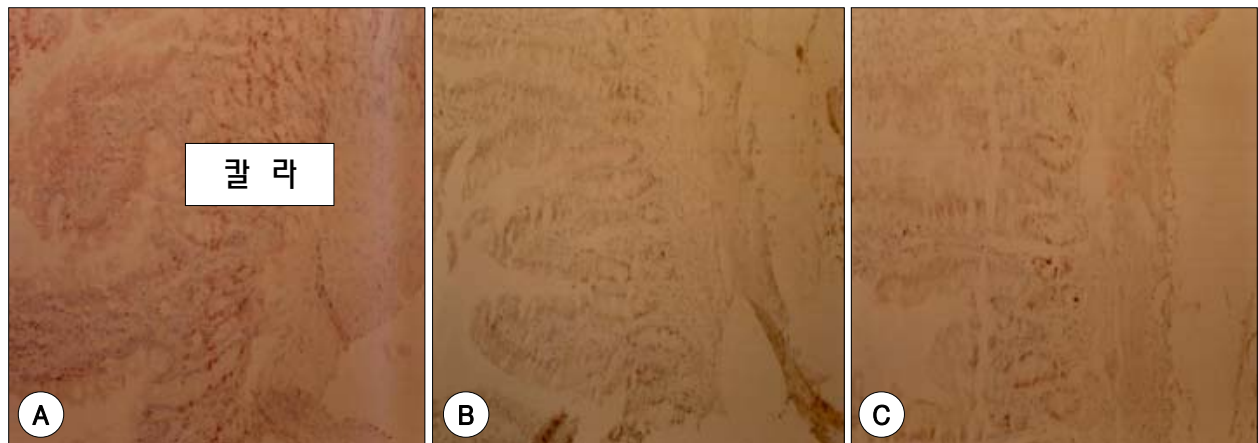
Group	Duodenum			Jejunum		
	Total cell number (cells)	Labelled cell (cells)	Labeling index (%)	Total cell number (cells)	Labelled cell (cells)	Labeling index (%)
NAC <sup>1)</sup>	319.3 ± 86.9 <sup>2)</sup>	91.2 ± 26.6 <sup>ns3)</sup>	27.6 ± 9.2 <sup>b4)</sup>	379.1 ± 234.1 <sup>ns</sup>	95.3 ± 29.4 <sup>ns</sup>	24.4 ± 11.4 <sup>ns</sup>
UFC	341.2 ± 88.2	95.2 ± 12.6	26.6 ± 4.2 <sup>b</sup>	290.6 ± 91.6	95.3 ± 29.4	27.4 ± 10.7
NSC	299.8 ± 98.1	92.9 ± 15.3	18.9 ± 4.4 <sup>a</sup>	315.1 ± 234.1	85.5 ± 22.4	23.5 ± 15.6

1) NAC: cornstarch control, UFC: ultra-fine pulverized cornstarch, NSC: nano-scale pulverized cornstarch

2) Values are means ± SD (n = 7)

3) ns: not significant

4) Values with different superscripts are significantly different as assessed by Duncan's multiple range test (p < 0.05)



**Fig. 2.** Intestinal morphology. A : Duodenal mucosa of a NAC fed rat. B : Duodenal mucosa of a UFC fed rat. C : Duodenal mucosa of a NSC fed rat (decrease in stained cell number), Original magnification, x100.

**Table 7.** Short chain fatty acid profile in cecum

Group	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Total SCFA
	mmol/L			
NAC <sup>1)</sup>	17.1 ± 1.9 <sup>a2)3)</sup>	5.4 ± 0.5 <sup>a</sup>	3.4 ± 0.3 <sup>a</sup>	25.9 ± 2.6 <sup>a</sup>
UFC	16.0 ± 1.0 <sup>a</sup>	4.9 ± 0.6 <sup>a</sup>	3.7 ± 0.3 <sup>ab</sup>	25.3 ± 3.9 <sup>a</sup>
NSC	25.3 ± 1.3 <sup>b</sup>	7.5 ± 0.5 <sup>b</sup>	4.5 ± 0.4 <sup>b</sup>	37.3 ± 1.6 <sup>b</sup>

1) NAC: cornstarch control, UFC: ultra-fine pulverized cornstarch, NSC: nano-scale pulverized cornstarch

2) Values are means ± SD (n = 7)

3) Values with different superscripts are significantly different as assessed by Duncan's multiple range test (p < 0.05)

Table 8. Growth of *Bifidobacterium* in cecum contents

Group	<i>Bifidobacterium</i>
	Log CFU/g cecum contents
NAC <sup>1)</sup>	2.45 ± 1.91 <sup>ab(2/3)</sup>
UFC	1.94 ± 0.91 <sup>a</sup>
NSC	3.52 ± 1.28 <sup>b</sup>

1) NAC: comstarch control, UFC: ultra-fine pulverized comstarch, NSC: nano-scale pulverized comstarch

2) Values are means ± SD (n = 7)

3) Values with different superscripts are significantly different as assessed by Duncan's multiple range test (p < 0.05)

차이가 나타나지 않았으나 NSC군의 맹장내 단쇄지방산의 함량이 유의하게 높았다. 맹장에서 생성되는 단쇄지방산양은 상당하며 acetic acid, propionic acid의 농도는 UFC군 < NAC군 < NSC군의 순으로 높아져, NSC군에서 가장 높았으며, 세가지의 단쇄지방산을 합한 총량도 NSC군에서 유의하게 높았다 (p < 0.05). 특히 맹장내용물의 무게가 세 실험식이 섭취군간의 유의적인 차이가 없었음에도 불구하고 단쇄지방산의 농도는 NSC군에서 유의하게 많아 pH를 감소시키는 결과를 보였다. 맹장내용물의 pH 감소는 비피더스 군의 성장에 의한 단쇄지방산 생산증가 때문으로 볼 수 있다. Table 8에 일반옥수수전분과 물리적 변성 옥수수전분 섭취에 의한 *Bifidobacterium* 증식을 제시하였다. *Bifidobacterium* 증식은 NAC군과 UFC군간의 유의적인 차이가 없었으나 NSC군에서 유의적으로 많았다.

## 고 찰

이 연구는 ultra-fine pulverizer와 nano-scale pulverizer로 초미세분쇄하여 전분입자크기를 감소시키는 물리적 변성을 유도한 옥수수 변성전분과 일반옥수수전분의 섭취가 이유후 성장기 동물의 성장능력과 장기능에 미치는 영향을 비교하였다. 식품의 가공기술이 전분섭취의 생체 이용도에 영향을 주는 중요한 인자라고 알려져 왔다. 새로운 가공기술이 적용된 전분 섭취의 기능성을 평가하는 중요한 요소는 생체이용성과 질적 평가이므로 소화율과 섭취후 생리적 기능증진을 평가하는 것이 필요하다.

본 연구에서 ultra-fine pulverizer로 초미세분쇄시킨 UFC 섭취군과 nano-scale pulverizer로 초미세분쇄된 NSC군의 체중증가량이 NAC군에 비해 유의하게 높았다. Nano-scale의 초미세분쇄로 전분 입자의 크기를 7 µm로 감소시킨 NSC는 이유후 성장기 SD종 흰쥐에 에너지 주요 급원으로 4주간 공급하였을 때 식이 섭취량이 유의하게 적었음에도 불구하고 체중증가량이 NAC섭취군에 비해 유의

하게 높아졌다. 체중증가량이 가장 높았던 UFC군은 식이 섭취량도 높았기 때문에 nano-scale로 입자크기를 감소시켰을 때 체중증가의 효과가 더 컸음을 알 수 있었다. 간, 신장등 장기의 성장은 UFC군이 유의하게 NSC군과 NAC군에 비해 높았으며 NSC군과 NAC군간의 차이는 없었다. Thacker와 Fernades 등은 전분의 초미세화가 소화율의 증가를 초래하여 성장능력을 개선하였다고 하였는 데<sup>15,16)</sup> 본 연구에서도 옥수수 전분 입자의 크기 감소가 식이효율을 개선하고 성장을 촉진시키는 효과가 있었다. Thacker와<sup>15)</sup> Fernades 등<sup>16)</sup>은 식이 탄수화물 급원의 미세화가 단백질과 에너지 소화율을 유의하게 개선하였다고 보고하였으며 Huang 등<sup>17)</sup>도 성장기 동물에서 미세분쇄시킨 보리를 탄수화물 급원으로 제조한 식이를 공급한 결과 단백질과 에너지 소화율을 각각 7.4%, 3% 증가시켰다고 보고한 바 있어 전분의 입자크기 감소가 소화율을 증가시켜 성장기 동물에서 체중증가를 촉진시키는 효과를 갖음을 알 수 있었으며 본 연구 결과와도 일치하였다. 본 연구에서 ultra fine pulverized 옥수수 전분보다 nano-scale pulverized 옥수수 전분섭취군의 식이효율이 더 우수한 것으로 나타났으며 조기 이유한 돼지에게 미세분쇄시킨 곡류를 섭취시켜 영양소 소화율 증진 및 성장 촉진을 유발하였다는 Medel 등<sup>18)</sup>의 연구와도 일치하였다. 반면 Hearly 등<sup>19)</sup>의 연구에서는 옥수수의 입자크기를 900 µm에서 300 µm로 감소시켰을 때 1일 체중증가량과 식이 전환율 (feed conversion ratio)은 이유후 첫 2주까지 증가되었으나 그 이후에는 옥수수 입자크기의 감소에 의한 영향이 없었다. 본 연구에서 사용한 전분 입자의 크기는 15 µm 이하로 Hearly 등의 연구에서 사용된 입자 크기보다 1/20 이하로 입자의 크기가 극도로 미세분쇄되었기 때문에 그 섭취효과가 더 지속되었을 가능성이 있다. 전분의 생체이용도는 섭취된 전분으로부터 방출되는 포도당의 양에 의해 영향을 받게 되며, 이는 다시 장통과시간, 회장 α-아밀라아제의 분비량, 위장 점막의 상태에 의해 영향을 받는다. 전분입자의 초미세분쇄로 인한 입자의 크기와 전분의 소화는 역상관계가 있으며, 파쇄된 전분입자의 수의 증가는 표면적을 증가시킨다고 보고된 바 있다.<sup>20)</sup> Morrison과 Tester는 밀전분을 고에너지 mill로 미세분쇄시켰을 때 전분의 손상도가 증가하였으며 아밀로오스의 축합도 (polymerization)감소, 아밀로 펙틴이 저분자량으로 파쇄되어 분자량이 줄어들고 수용성이 증가하는 결과를 얻었다.<sup>21)</sup> Martinez-Butos 등은 전분을 미세분쇄하였을 때 전분의 결정구조가 점차적으로 파괴되면서 무정형 구조로 변화되고 물과 같은 용매와 아밀라아제와 같은 효소가 자유롭게 도달할 수 있음을 보고

하였다.<sup>22)</sup> 전분 입자의 초미세화로 인한 입자크기의 감소는 섭취후 장에서 점도를 증가시키며 실험 쥐에서 식사의 점도의 증가는 위의 배출시간을 느리게 하는 효과가 있음이 보고된 바 있다.<sup>19)</sup> 이러한 연구 결과들은 전분의 미세화가 소화효소와의 접촉면적을 증가시켜 소화율을 증진시킬 가능성을 제시하며 본 연구에서 입자의 크기가 감소할수록 소화율이 증가하여 이 결과들과 일치하였다. 본 연구에서 옥수수 전분과 초미세분쇄 전분의 소화율은  $NAC < UFC < NSC$  순으로 유의하게 높아져 입자크기에 반비례하여 입자의 크기가 작을수록 소화율이 증가하였다. 전분의 소화율은 입자 크기에 반비례하여 증가하는 데 옥수수, 밀, 감자전분의 입자는 귀리나 쌀전분의 입자에 비해 크기 때문에 상대적으로 소화율이 적다.<sup>23)</sup> 따라서 pulverizer로 전분의 입자크기를 감소시켰을 때 소화율을 유의하게 높여 대사에너지 증가시켜 체중뿐 아니라 간, 심장, 신장등 주요 장기의 성장을 촉진시키며, 특히 nano-scale의 초미세분쇄 옥수수전분은 작은 섭취량에도 불구하고 UFC와 비슷한 체중증가를 보여 성장능력을 촉진 시켰으므로, pulverizer로 입자의 크기를 감소시켰을 때 옥수수 전분에서 성장능력 촉진과 같은 생리적 기능을 증진시킬 수 있을 것으로 보인다.

전분의 일부는 소장에서 소화, 흡수되지 않고 대장에 도달하는 데<sup>24)</sup> 대장에서 *Bifidobacterium*를 비롯한 장내 미생물 발효에 의해 발효되어 단쇄지방산을 생성한다. 장내 미생물 발효에 의한 단쇄지방산의 생성은 섭취하는 탄수화물의 종류, 단백질의 종류에 의해 영향을 받는 것으로 보고된 바 있으며,<sup>25)</sup> 전분보다 amylose 섭취시 섭취량에 비례하여 맹장내 단쇄지방산의 생성이 증가하는 것으로 보고되었다.<sup>6)</sup> 선행연구에서 전분의 변성은 변성전의 전분과 비교하여 물리화학적 특성에 영향을 주며 노화된 아밀로오스를 주로 함유하는 저항전분으로 변성시켰을 때 *Bifidobacterium* 성장을 증가시키고 pH를 감소시키는 결과를 나타내었다.<sup>26)</sup> 전분의 초미세 분쇄를 통한 물리적 변성화가 장내 미생물 증식에 미치는 영향은 보고된 바 없으며 본 연구에서 입자의 크기가 작을수록 장내 단쇄지방산 생성을 증가하는 것으로 나타났다. 대장에서 소장에서 소화되지 않고 넘어간 전분이 맹장에서 분해되고 대장에서 *Bifidobacterium*이 분해할 수 있다고 보고하였는 데,<sup>27)</sup> 본 연구에서 nano-scale pulverizer로 초미세분쇄시킨 옥수수전분의 섭취후 맹장내로 유입되는 양은 ultra-fine pulverizer로 초미세분쇄시킨 옥수수 전분과 일반 옥수수 전분군과 비교하였을 때 차이가 없었음에도 불구하고 단쇄지방산 생성을 증가시키는 것으로 나타나 nano-scale로 입자의 크기를 감소시

켰을 때 전분의 결정구조의 파괴가 증가되어 입자 표면이 거칠어 지고 비정형상태가 되며, 표면적이 작아져 미생물의 부착을 증가시켜 미생물에 의한 전분 발효를 촉진시킬 가능성이 있다. 장염으로 인한 설사증세를 갖는 환자에서 분변의 단쇄지방산 증가는 설사증세를 완하시키며, 설사 지속기간을 단축시키는 효과가 있는 것으로 보고된 바 있어,<sup>28)</sup> 초미세분쇄된 옥수수 전분이 소화기능이 약화된 환자나 유아의 에너지 이용효율을 높이고 지속적인 탄수화물의 발효를 통해 병원균이나 설사를 예방할 효과가 있을 가능성을 제시할 수 있다. Engelhardt 등은 장내 단쇄지방산의 함량 변화는 점막의 pH 변화, 대장세포의 swelling이나 mucin의 분비, 점막의 혈류의 변화를 가져와 장기능에 영향을 준다고 보고한 바 있다.<sup>29)</sup>

초미세분쇄 옥수수전분의 섭취는 장의 무게와 길이, 소화물의 장통과시간을 측정한 바 장통과시간이 통계적으로 유의하지 않았다. 다른 연구에서 소화물의 장통과시간이 길어지는 것은 발효로 인해 생성되는 에너지를 흡수하는 데 유리한 결과를 낼 수 있다고 보고하였으나<sup>30)</sup> 본 연구에서 초미세분쇄전분의 섭취는 소화물의 장통과시간에 영향을 주지 않았다.

Bromodeoxyuridine (BrdU)은 분열하는 세포주기의 S기 때 DNA로 들어가며 BrdU로 표시된 세포의 증가는 세포의 증식잠재력을 나타내며 세포증식이 빠른 세포는 BrdU로 표시된 세포의 수가 증가한다.<sup>31)</sup> 장은 세포교체율과 세포 재생이 빠르기 때문에 장점막의 세포는 영양상태, 식이조성의 영향을 받으며, 적절한 장세포의 발달 및 기능의 유지는 장세포로 유입되는 식이성분의 변화에 적응하는 정도에 의해 영향을 받는다.<sup>32)</sup> 본 연구에서 옥수수전분의 초미세분쇄는 세포의 증식능력을 억제하여 장세포 발달을 유도하는 능력이 지연됨을 나타내었다. 그러나 장세포의 증식이 낮음에도 불구하고 UFC군이나 NSC군의 성장능력이 우수하였으며 NSC군의 경우 식이 섭취량이 낮았음에도 불구하고 체중 및 간과 심장의 성장효율이 높았다. 설치류의 경우 출생초기 위장의 발달이 미숙하고 생후 18~22일에 빠른 위와 장의 성숙이 일어난다.<sup>33)</sup> 이유기에는 유즙에 의존하는 시기에서 일반식이 섭취로 이행되는 시기이며 생리적인 기능 발달정도에 따라 감염성 질환의 이환율이나 알레르기성 질환이 나타나 건강의 위해를 줄 수 있는 시기이며, 80% 이상의 유아기 어린이가 이유 시작초기 설사나 알레르기 반응을 경험하고 있다. 또한 이 시기에 섭취하는 식사의 구성 성분은 위와 장의 세포 증식 반응, 내분비발달, 미생물군의 형성, 면역기능에 영향을 준다.<sup>34,35)</sup> 본 연구에서 사용된 nano-scale pulverizer로 초미세분쇄시켜 입자의 크기가 감소된



전분 섭취는 장기능이 미숙하거나 이유 초기 이유식에 적응할 때 소화흡수율 및 영양밀도를 개선하여 성장을 촉진시킬 수 있어 이러한 문제점을 개선시킬 수 있을 가능성을 나타내었다.

이상의 결과 ultra fine pulverizer와 nano-scale pulverizer로 옥수수 전분을 초미세 분쇄시켜 입자의 크기를 감소시켰을 때 소화율을 증진시키고, 성장능력을 증진시키는 생리적 기능이 개선되었으며 nano-scale로 입자크기가 감소되면 장기능이 미숙하였을 때 성장능력을 촉진시키는 기능이 있을 것으로 기대된다.

## 요 약

본 연구는 ultra-fine pulverizer 또는 nano-scale pulverizer로 초미세분쇄시켜 입자크기가 감소된 옥수수전분의 섭취로 인한 생리적 기능성을 탐색한 결과는 다음과 같다.

1) 각 실험식이군의 식이 섭취량은 UFC군, NAC군은 차이가 없었으며, NSC군에서 유의하게 낮았다. NSC군의 식이 섭취량이 낮았음에도 불구하고 체중증가량이 많아 식이효율은 NSC군에서 가장 높았다.

2) 간, 신장의 무게는 UFC군 > NSC군 > NAC군순으로 높았다.

3) 소장 무게는 UFC군이 NAC군에 비해 유의하게 높았으며, 소장의 길이는 각 실험군에서 유의적인 차이가 없었으며 맹장의 무게 및 장통과 시간도 유의적인 차이가 없었다.

4) 맹장내 단쇄지방산의 함량은 NSC군이 UFC군이나 NAC군에 비해 유의하게 높아 장내 미생물에 의한 발효가 활성화되고 있었으며 장내 *Bifidobacterium* 증식도 NSC군이 다른 군에 비해 활발하였다.

5) 소장세포의 증식은 NSC군에서 낮았다.

이상의 결과로 볼때 nano-scale로 입자의 크기가 감소된 옥수수 전분은 소화흡수율을 증가시켜 성장능력을 증진하는 것으로 나타났으며, *Bifidobacterium* 증식 촉진, 단쇄지방산 생성을 촉진하는 효과를 갖고 있어 상대적인 영양밀도를 높이는 기능성을 갖고 있는 것으로 나타났다. 따라서 장기능이 미숙한 유아기, 장기능이 불완전하거나 미약한 환자, 노인등의 특수목적 영양식의 기본재료로 활용될 수 있음을 제안한다.

## Literature cited

1) Eliasson AC, Gudmundsson M. Starch: physicochemical and

- functional aspects. In Eliasson A-C, editor. Carbohydrates in food. New York: Marcer Dekker; 2006. p.431-503
- 2) CFR, Code of Federal Regulations. Food starch modified. Title21 Chapter 1, Part 172 Sec172.892. In Food additives permitted for direct addition to food for human consumption. Washington, DC: US GPO; 2006
- 3) Jacobs H, Delcour JA. Hydrothermal modifications of granular starch, with retention of granular structure. A review. *J Agric Food Chem* 1998; 46: 2895-2905
- 4) Holm J, Björck I, Asp NG, Sjöberg LB, Lundquist I. Starch availability in vitro and in vivo after flaking steam-cooking and popping of wheat. *J Cereal Sci* 1985; 3: 193-206
- 5) Stephen AM, Haddad AC, Phillips SF. Passage of carbohydrate into the colon. Direct measurements in human. *Gastroenterology* 1983; 85: 589-595
- 6) O'Riordan K, Muljadi N, Conway P. Characterization of factors affecting attachment of Bifidobacterium species to amylomaize starch granules. *J Appl Microbiol* 2001; 90: 749-754
- 7) Champ M, Deloty-Larval J. Effects of processing on chemical characteristics and nutritive value of cereals. *Anim Prod* 1991; 52: 564-565
- 8) Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 823-839
- 9) Sanguansri P, Augustin MA. Nanoscale material development a food industry perspective. *Trends Food Sci Technol* 2006; 17: 547-556
- 10) Park JH, Kim MH, Chang MJ. The effect of dietary ultra finely pulverized rice starch on growth performance and development of small intestine. *Korean J Food Culture* 2007; 22: 645-651
- 11) Liu H, Corke H, Ramsden L. Functional properties and enzymatic digestibility of cationic and cross-linked cationic ae, wx, and normal maize starch. *J Agric Food Chem* 1999; 47(7): 2523-2528
- 12) Schutte, B, Reynders MM, Bosman FT, Glijham GH. Effect of tissue fixation on anti-bromodeoxyuridine immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 1987; 35(11): 1343-1345
- 13) 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* 2000; 20(12): 1725-1733
- 14) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1): 265-275
- 15) Thacker PA. Effect of micronization on the performance of growing/finishing pigs fed diets based on hulled and hullless barley. *Anim Feed Sci Technol* 1999; 79: 29-41
- 16) Fernandes TH, Hutton K, Smith WC. A note on the use of micronized barley for growing pigs. *Anim Prod* 1975; 20: 307-310
- 17) Huang SX, Sauer WC, Pickard M, Li S, Hardin RT. Effect of micronization on energy, starch and amino acid digestibility in hullless barley for young pigs. *Can J Anim Sci* 1998; 78: 81-87
- 18) Healy BJ, Hancock JD, Kennedy GA, Bramel-Cox PJ, Behnke KC, Hines RH. Optimum particle size of corn and hard and soft sorghum for nursery pigs. *J Anim Sci* 1994; 72: 2227-2236
- 19) Leeds AR, Bolster NR, Andrews R, Truswell AS. Meal viscosity, gastric emptying and glucose absorption in the rat. *Proc Nutr*

- Soc 1979; 38(2): 44A
- 20) Hosney RC. Principles of cereal science and technology. American Association of cereal chemists, St Paul, USA; 1994
- 21) Morrison WR, Tester RF. Properties of damage starch granules. IV. Composition of ball-milled wheat starches and of fractions obtained on hydration. *J Cereal Sci* 1994; 20: 69-77
- 22) Martínez-Bustos F, López-Soto M, San Martín-Martínez E, Zazueta-Morales JJ, Velez-Medina JJ. Effect of high energy milling on some functional properties of jicama starch (*Pachyrhizus erosus* L. Urban) and cassava starch (*Manihot esculenta* Crantz). *J Food Engineering* 2007; 78: 1212-1220
- 23) Medel P, Salado S, de Blas JC, Mateos GG. Processed cereals in diets for early-weaned piglets. *Anim Feed Sci Technol* 1999; 82: 145-156
- 24) Englyst HN, Cummings JH. Digestion of the polysaccharides of some cereal foods in the human small intestine. *Am J Clin Nutr* 1985; 42: 778-787
- 25) Morita T, Kasaoka S, Oh-hashii A, Ikai M, Numarsaki Y, Kiriya S. Resistant proteins alter cecal short-chain fatty acid profiles in rats fed high amylose cornstarch. *J Nutr* 1998; 128: 1156-1164
- 26) Seol SM, Bang MH, Heong MK, Kim WK. Effects of high amylose starch on gut functions in rats. *Korean J Nutr* 2003; 36: 10-116
- 27) Bielecka M, Biedrzycka E, Majkowska A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. *Food Res Int* 2002; 35: 125-131
- 28) Ramakrishna BS, Venkatraman S, Srinivasan P, Dash P, Young GP, Binder HJ. Amylase-resistant starch plus oral rehydration solution for cholera. *N Engl J Med* 2000; 342: 308-313
- 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* 1998; 20(Suppl 3): S52-59
- 30) Mathers JC, Smith H, Cartes S. Dose-response effects of raw potato starch on small-intestinal escape, large bowel fermentation and gut transit time in the rat. *Br J Nutr* 1997; 78: 1015-1029
- 31) Yanai T, Matsumoto C, Takashima H, Yoshida K, Sakai H, Isowa K, Iwasaki T, Sato Y, Masegi T. Immunohistochemical demonstration of S-phase cells by antibromodeoxyuridine monoclonal antibody in cattle tissues. *J Comp Pathol* 1998; 114: 265-272
- 32) Reville M, Grosse F, Kachelhoffer J, Doffoel M, Raul F. Ileal compensation for age-dependent loss of jejunal function in rats. *J Nutr* 1991; 121: 498-503
- 33) Sangild PT. Gut responses to enteral nutrition in preterm infants and animals. *Exp Biol Med* 2006; 231: 1695-1711
- 34) Grand RJ, Watkins JB, Torti FM. Development of the human gastrointestinal tract: a review. *Gastroenterology* 1976; 70: 790-810
- 35) Zabielski R, Le Huërou-Luron I, Guilloteau P. Development of gastrointestinal and pancreatic functions in mammals (mainly bovine and porcine species): influence of age and ingested food. *Reprod Nutr Dev* 1999; 39: 5-26