

Agavins as prebiotic. Their influence on lipid metabolism of pigs

Agavinas como prebióticos: su influencia en el metabolismo lipídico de cerdos

Yanelys García-Curbelo¹, Lazara Ayala², R. Bocourt[†], Nereyda Albelo¹, Odalis Nuñez¹,
Y. Rodríguez², and Mercedes G. López³

¹ *Departamento de Fisiología y Bioquímica, Instituto de Ciencia Animal (ICA), Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba*

² *Departamento de Alimentación y Manejo de Especies Monogástricas, Instituto de Ciencia Animal (ICA), Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba*

³ *Departamento de Biotecnología y Bioquímica, Centro de Investigaciones y Estudios de Avanzadas del IPN-Unidad Irapuato (CINVESTAV), México*
Email: ygarcia@ica.co.cu

In order to evaluate the effects of agavins of *Agave fourcroydes* on indicators of lipid metabolism of growing pigs, pigs of YL x L35 breed and 33 d of age were used. The animals were randomly distributed into three treatments using a randomized block design, with eight replications per treatment and five pigs per pen. The treatments were standard diet and addition of agavins of *Agave fourcroydes* (0.25 % and 0.50 %) to the diet. Indicators of liveweight, serum cholesterol, triglycerides, lipoproteins and total lipids were determined. The use of agavins in the diet, with respect to control, achieved a decrease in serum cholesterol levels ($P = 0.0172$), which was related to the decrease in low-density lipoproteins ($P = 0.0091$) and to a decrease of total lipids ($P = 0.0254$). The groups treated with prebiotic did not have differences in the levels of triglycerides, high-density lipoproteins, very low-density lipoproteins and liveweight of animals. The inclusion of agavins of *Agave fourcroydes* in the diet of pigs produced modifications in lipid metabolism, related to the decrease of total cholesterol, low-density lipoproteins and total lipids.

Key words: *Agave fourcroydes*, *agavins*, *pigs*, *prebiotic*, *lipid metabolism*

Nowadays, the use of functional foods has increased, which are potentially healthy products, including any food or food ingredient, modified or not, that can provide a beneficial effect on health, and traditional nutrients (Gibson and Roberfroid 1995). This is due, among other causes, to the fact that the population has greater concern for their health and increase of their life expectancy, which has led to the search for new compounds, secure and innocuous, that reduce the risk of diseases.

Disorders in lipid metabolism are one of the most frequent diseases worldwide. For this reason, producers and consumers look for healthy products for human and animal nutrition, which influence on reducing the effects of cholesterol and triglycerides, among which we can mention probiotics and prebiotics (Sharma y Puri 2015 y Yang *et al.* 2018).

Prebiotics are defined as substrates that are selectively used by host microorganisms, conferring health benefits (Gibson *et al.* 2017). Different

Para evaluar los efectos de las agavinas de *Agave fourcroydes* en indicadores del metabolismo lipídico de cerdos en la etapa de crecimiento, se emplearon cerdos de la raza YL x L35, de 33 d de edad. Los animales se distribuyeron aleatoriamente en tres tratamientos mediante un diseño de bloques al azar, con ocho replicas por tratamiento y cinco cerdos por corral. Se utilizaron los siguientes tratamientos: dieta estándar, adición de agavinas de *Agave fourcroydes* (0.25 % y 0.50 %) a la dieta. Se determinaron los indicadores peso vivo, colesterol sérico, triglicéridos, lipoproteínas y lípidos totales. El empleo de las agavinas en la dieta, con respecto al control, logró disminución de los niveles de colesterol sérico ($P=0.0172$), que estuvo relacionado con la disminución de las lipoproteínas de baja densidad ($P=0.0091$) y también disminuyó los lípidos totales ($P=0.0254$). Los grupos tratados con prebiótico no tuvieron diferencias en los niveles de triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad, lipoproteínas de muy baja densidad y peso vivo de los animales. La inclusión de agavinas de *Agave fourcroydes* en la dieta de cerdos produjo modificaciones en el metabolismo lipídico, relacionadas con la disminución del colesterol total, lipoproteínas de baja densidad y lípidos totales.

Key words: *Agave fourcroydes*, *agavinas*, *cerdos*, *prebiótico*, *metabolismo lipídico*

En la actualidad, se incrementa la utilización de alimentos funcionales, que son productos potencialmente saludables, en los que se incluye cualquier alimento o ingrediente alimenticio, modificado o no, que pueda proporcionar un efecto benéfico en la salud; además de los nutrientes tradicionales (Gibson y Roberfroid 1995). Esto se debe, entre otras causas, a que la población tiene mayor preocupación por su salud e incremento de su expectativa de vida, lo que ha conducido a la búsqueda de nuevos compuestos, seguros e inocuos, que reduzcan el riesgo de enfermedades.

Los trastornos en el metabolismo lipídico constituyen una de las enfermedades más frecuentes a nivel mundial. Por ello, productores como consumidores buscan productos saludables para la alimentación humana y animal, que incidan en efectos reductores del colesterol y triglicéridos, entre ellos se pueden mencionar los probióticos y prebióticos (Sharma y Puri 2015 y Yang *et al.* 2018).

Los prebióticos se definen como sustratos que son utilizados selectivamente por los microorganismos del

researches showed the prebiotic effect of agavins obtained from different *Agave* species (García-Vieyra *et al.* 2014, García-Curbelo *et al.* 2015a and Huazano-García and López 2015). The objective of this research was to evaluate the effects of agavins of *Agave fourcroydes* on indicators of lipid metabolism growing pigs.

Materials and Methods

Prebiotic. Agavins of *Agave fourcroydes* were used, constituted by oligosaccharides with a degree of polymerization < 10, with bonds of type β (2-1), β (2-6), ramifications and neoseries (García-Curbelo *et al.* 2015b).

Animals, management and treatments. One hundred twenty pigs (Yorkshire-Landrace x L35 hybrid) of 33 d old and initial mean body weight of 8.0 ± 0.95 kg were used in the experiment. At the beginning of the experiment, pigs were randomly distributed into three treatments using a randomized block design, with eight replicates per treatment and five pigs per pen. The experiment lasted 75 d and was developed in the experimental pig unit of the Institute of Animal Science, located in Mayabeque province, Cuba.

Three treatments were used, which consisted of a standard diet of maize and soybeans (STD) and the addition of 0.25 % of agavins of *Agave fourcroydes* (AF-C 0.25 %) and 0.50 % of agavins of *Agave fourcroydes* (AF-C 0.50 %) to the standard diet, respectively. The diet was prepared according to the requirements of the National Research Council (1998). No antibiotics or coccidiostats were included. During the entire experimental period, pigs had ad libitum access to food and water.

Determinations. Liveweights of the animals were determined at the beginning and end of the experiment. At the end of the experimental stage, a pig was randomly selected from each pen and blood samples were taken from the jugular vein. Samples were centrifuged at 2000 xg at 4 °C for 30 min. and serum was separated, and stored at -20 °C until their analysis. Cholesterol, high-density lipoprotein-cholesterol (HDLc), triglycerides and total lipids were measured using commercial diagnostic enzymatic kits (Centro de Radioisótopos, Cuba).

Very low-density lipoprotein-cholesterol (VLDLc) was estimated by the equation $VLDLc = TG/5$, and low-density lipoprotein (LDLc) by the equation

$LDLc = \text{total cholesterol} - (VLDLc + HDLc)$ (Friedewald *et al.* 1972).

Statistical analysis. For the analysis, the statistical package INFOSTAT (Di Rienzo *et al.* 2012) was used. For the statistical treatment of data, analysis of variance was performed and comparison test of Duncan (1955) was used for detecting significant differences.

hospedero, confiriéndoles beneficios a la salud (Gibson *et al.* 2017). Diferentes investigaciones demostraron el efecto prebiótico de las agavinas obtenidas de diferentes especies de Agaves (García-Vieyra *et al.* 2014, García-Curbelo *et al.* 2015a y Huazano-García y López 2015). El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de las agavinas de *Agave fourcroydes* en indicadores del metabolismo lipídico de cerdos en la etapa de crecimiento.

Materiales y Métodos

Prebiótico. Se emplearon agavinas de *Agave fourcroydes*, constituidas por oligosacáridos con un grado de polimerización < 10, con enlaces de tipo β (2-1), β (2-6), ramificaciones y neoserie (García-Curbelo *et al.* 2015b).

Animales, manejo y tratamientos. Se utilizaron en el experimento ciento veinte cerdos (Yorkshire-Landrace x L35 híbrido) de 33 d de edad y peso corporal promedio inicial de 8.0 ± 0.95 kg. Al comienzo del experimento, los cerdos se distribuyeron aleatoriamente en tres tratamientos mediante un diseño de bloques al azar, con ocho réplicas por tratamiento y cinco cerdos por corral. El experimento duró 75 d y se desarrolló en la unidad experimental porcina del Instituto de Ciencia Animal, ubicado en la provincia de Mayabeque, Cuba.

Se emplearon tres tratamientos, que consistieron en una dieta estándar de maíz y soja (STD) y la adición de 0.25 % agavinas de *Agave fourcroydes* (AF-C 0.25 %) y 0.50 % de agavinas de *Agave fourcroydes* (AF-C 0.50 %) a la dieta estándar, respectivamente. La dieta se preparó de acuerdo con los requerimientos de la National Research Council (1998). No se incluyeron antibióticos ni coccidiostáticos. Durante todo el período experimental, los cerdos tuvieron acceso *ad libitum* al alimento y al agua.

Determinaciones. Se determinaron los pesos vivos de los animales, al inicio y final del experimento. Al concluir la etapa experimental, se seleccionó al azar un cerdo de cada corral y se tomaron muestras de sangre de la vena yugular. Las muestras se centrifugaron a 2 000 xg a 4 °C durante 30 min. y se separó el suero, se almacenaron a -20 °C hasta su análisis. El colesterol, lipoproteína de alta densidad-colesterol (HDLc), triglicéridos y los lípidos totales, se midieron usando kits enzimáticos comerciales de diagnóstico (Centro de Radioisótopos, Cuba).

Las lipoproteínas de muy baja densidad-colesterol (VLDLc) se estimaron por la ecuación $VLDLc = TG/5$, y las lipoproteínas de baja densidad (LDLc) por la ecuación

$LDLc = \text{colesterol total} - (VLDLc + HDLc)$ (Friedewald *et al.* 1972).

Análisis estadístico. Para el análisis se empleó el paquete estadístico INFOSTAT (Di Rienzo *et al.* 2012). Para el tratamiento estadístico de los datos, se realizaron análisis de varianza y para detectar diferencias significativas se utilizó la prueba de comparación de Duncan (1955).

Results and Discussion

Resultados y Discusión

Table 1 shows that there was no effect of agavins of *Agave fourcroydes* on liveweight of animals.

En la tabla 1 se muestra que no hubo efecto de las agavinas de *Agave fourcroydes* en el peso vivo de los

Table 1. Effect of the addition of agavins of *A. fourcroydes* on liveweight of growing pigs.

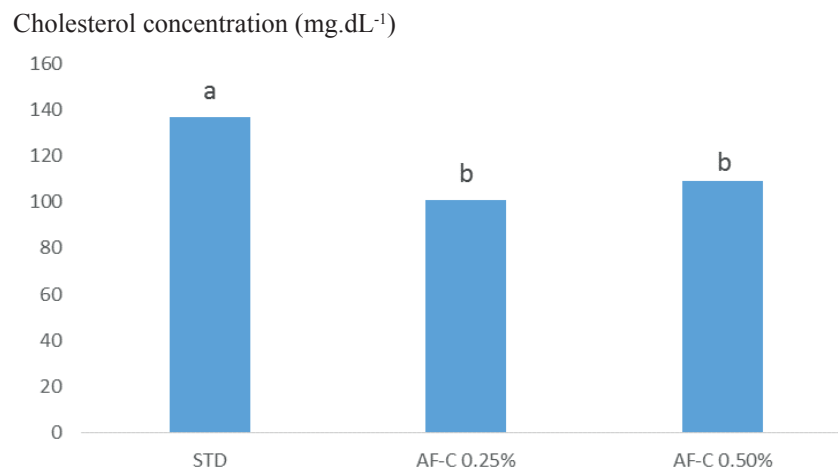
Liveweight (kg)	STD	AF-C 0.25 %	AF-C 0.50 %	±SE	Prob
Initial	8.14	8.12	8.11	0.05	0.0921
Final	21.08	21.51	21.48	0.82	0.1163

Figure 1 shows the reduction of serum cholesterol levels with the addition of the prebiotic, achieving a decrease of this indicator in the animals treated with agavins (0.25 % and 0.50 %), with a reduction of 26 % and 20 %, respectively, in relation to the standard diet.

Prebiotics can regulate lipid metabolism. Different

animales.

En la figura 1 se muestra la reducción de los niveles de colesterol sérico con la adición del prebiótico, al lograr disminución de este indicador en los animales tratados con agavinas (0.25 % y 0.50 %), con reducción de 26 % y 20 %, respectivamente, en relación con la dieta estándar.



^{a,b} Columns with different letters differ at $P < 0.05$ (Duncan 1955) \pm SE=2.05 $P=0.0172$

Figure 1. Concentration of serum cholesterol in growing pigs with the addition of agavins of *A. fourcroydes*

studies have proposed possible mechanisms of modulation by means of short chain fatty acids, intestinal peptides or enzyme-regulating genes in the liver (Delzenne *et al.* 2002 and Liu *et al.* 2017). The results of this study showed that the intake of agavins did not increase liveweight, but decreased serum cholesterol levels in pigs. This could be related to the structure of these compounds, by presenting β -type bonds. These are not degraded by digestive enzymes of the host in the upper parts of the gastrointestinal tract, and reach the large intestine, where they are fermented by the beneficial microbiota. This causes an increase in the production of short-chain organic acids and a decrease of pH (unpublished data). The production of propionic acid by fermentation participates in the decrease of cholesterol, since it causes inhibition of the hepatic enzyme 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase (HMG-CoA reductase), which regulates this synthetic metabolic pathway (Jackson and Lovegrove 2012).

The hypocholesterolemic activity was obtained

Los prebióticos pueden regular el metabolismo lipídico. Diferentes estudios han planteado posibles mecanismos de modulación mediante los ácidos grasos de cadena corta, péptidos intestinales o genes reguladores de enzimas en el hígado (Delzenne *et al.* 2002 y Liu *et al.* 2017). Los resultados de este trabajo demostraron que el consumo de agavinas no incrementó el peso vivo, pero disminuyó los niveles de colesterol sérico en cerdos. Esto pudiera estar relacionado con la estructura de estos compuestos, al presentar enlaces tipo β . Estos no son degradados por las enzimas digestivas del hospedero en las partes altas del tracto gastrointestinal, y llegan al intestino grueso, donde son fermentados por la microbiota beneficiosa. Esto provoca incremento en la producción de ácidos orgánicos de cadena corta y disminución del pH (datos no publicados). La producción de ácido propiónico mediante la fermentación interviene en la disminución del colesterol, ya que provoca inhibición de la enzima 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa) hepática, que regula esta vía metabólica de síntesis (Jackson y Lovegrove 2012).

by Gallaher *et al.* (2000), finding similar effects in rats with the administration of glucomannans and chitosan as prebiotic sources. It was also obtained by García-Curbelo *et al.* (2015a), with the use of agavins of *Agave fourcroydes* in mice. However, other studies do not report changes in lipid metabolism, when using prebiotic. Research conducted by Grela *et al.* (2014), with the use of chicory inulin as an additive in pigs, did not achieve changes in cholesterol levels. Studies in diabetic patients with fructooligosaccharides did not modify lipid metabolism either (Luo *et al.* 2000).

Table 2 shows the effect on triglycerides and lipoproteins related to cholesterol transport. Only low-density lipoproteins decreased in the groups treated with agavins, being the group of AF-C 0.25 % the one that achieved the greatest reduction, with 40.66 % with respect to the untreated group.

The decrease of cholesterol with the use of agavins was related to the reduction of bad cholesterol (LDLc), which is one of the lipoproteins responsible for its transfer to different peripheral and storage tissues, including adipose tissue. However, it did not influence on the concentrations of triglycerides (VLDLc), nor in high-density lipoproteins (HDLc), responsible for taking cholesterol to the liver for its degradation. Studies conducted by Mortensen *et al.* (2002), with the use of long chain fructans in mice, also found a reduction of cholesterol and low density lipoproteins. Liong *et al.* (2007), with a symbiotic with lactobacilli and fructooligosaccharides, obtained a reduction of total cholesterol in plasma, triglycerides, and LDL cholesterol in pigs. However, this paper does not evidence the hypothesis proposed by Delzenne and Kok (2001), related to the reduction of novo lipogenesis in the liver by reducing the activity of all lipogenic enzymes in rats fed fructans.

The concentration of total lipids also decreased with the addition of agavins in the diets (figure 2), being higher in the group AF-C 0.25 %, with 22.61 % reduction with respect to the control.

The reduction of total lipids was related to the reduction of cholesterol with the use of agavins and their influence on the decrease of LDLc. The effect of prebiotics on metabolism of lipids requires further research, since there are contradictory answers in the

La actividad hipocolesterolemica fue obtenida por Gallaher *et al.* (2000), al encontrar efectos similares en ratas con la administración de los glucomannanos y la quitosa como fuentes prebióticas. También la obtuvo García-Curbelo *et al.* (2015a), al emplear agavinas de *Agave fourcroydes* en ratones. Sin embargo, otros estudios no informan modificaciones en el metabolismo lipídico, al emplear prebiótico. Investigaciones realizadas por Grela *et al.* (2014), con la utilización de inulina de achicoria como aditivo en cerdos, no lograron modificaciones en los niveles de colesterol. Estudios en pacientes diabéticos con fructooligosacáridos tampoco modificaron el metabolismo lipídico (Luo *et al.* 2000).

El efecto en los triglicéridos y las lipoproteínas relacionadas con el transporte del colesterol se muestra en la tabla 2. Solo las lipoproteínas de baja densidad disminuyeron en los grupos tratados con agavinas, siendo el grupo de AF-C 0.25 % el que logró mayor reducción, con 40.66 % con respecto al grupo sin tratar.

La disminución del colesterol con el empleo de agavinas estuvo relacionada con la disminución del denominado colesterol malo (LDLc), que es una de las lipoproteínas encargadas de su traslado a diferentes tejidos de depósito y periféricos, entre ellos al tejido adiposo. Sin embargo, no influyó en las concentraciones de triglicéridos (VLDLc), ni en las lipoproteínas de alta densidad (HDLc), encargadas de llevar el colesterol al hígado para su degradación. Estudios realizados por Mortensen *et al.* (2002) con el empleo de fructanos de cadena larga en ratones, también encontraron disminución del colesterol y las lipoproteínas de baja densidad. Liong *et al.* (2007) con un simbiótico con lactobacilos y fructooligosacáridos obtuvieron reducción del colesterol total en plasma, triglicéridos, y LDL colesterol en cerdos. Sin embargo, en este trabajo no se evidencia la hipótesis planteada por Delzenne y Kok (2001), relacionada con la disminución de la lipogénesis de novo en el hígado mediante la reducción de la actividad de todas las enzimas lipogénicas, en ratas alimentadas con fructanos.

La concentración de lípidos totales también disminuyó con la adición de agavinas en las dietas (figura 2), siendo mayor en el grupo AF-C 0.25 %, con 22.61 % de reducción con respecto al control.

La reducción de los lípidos totales estuvo relacionada con la disminución de colesterol con el empleo de agavinas y su influencia en la reducción de LDLc. El efecto de los prebióticos en el metabolismo de los lípidos

Table 2. Concentration triglycerides and lipoproteins related to transport of cholesterol in growing pigs with the addition of agavins of *A. fourcroydes*.

Indicators (mg.dL ⁻¹)	STD	AF-C 0.25 %	AF-C 0.50 %	±SE	Prob
Triglycerides	43.21	42.76	43.05	1.82	0.0827
Lipoproteins					
HDLc	38.14	38.92	38.87	0.92	0.0775
LDLc	90.22 ^a	53.53 ^c	61.52 ^b	1.06	0.0091
VLDLc	8.64	8.55	8.61	0.53	0.0923

^{a,b,c} Values with different subscript in the same line are significantly different (P < 0.05).

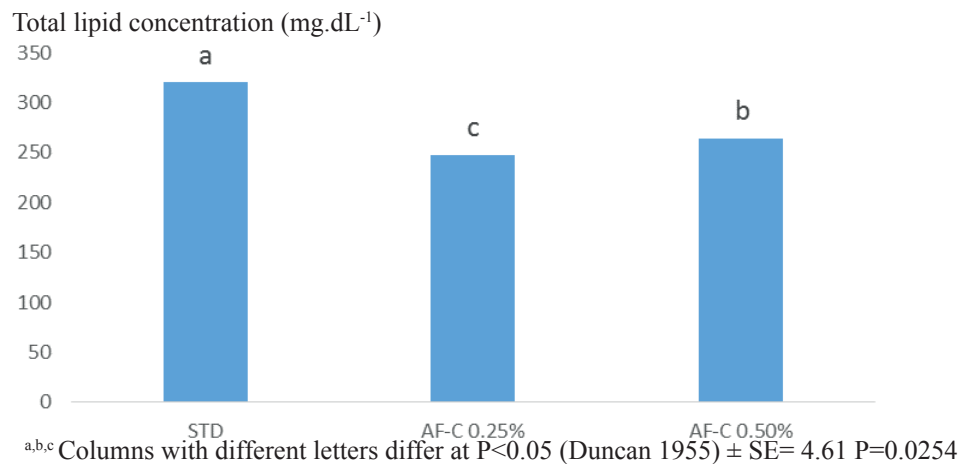


Figure 2. Concentration of total lipids in growing pigs with the addition of agavins of *A. fourcroydes*.

scientific literature. This could be related to different factors, such as optimum dose of products, frequency and duration of treatment, physiological state, species, feeding, age, sex, and some other aspects.

It is concluded that the inclusion of agavins of *Agave fourcroydes* in the diet of pigs produced modifications in lipid metabolism, related to the decrease of total cholesterol, LDLc and total lipids.

Acknowledgements

Thanks to the staff of the Institute of Animal Science of the Republic of Cuba and to CINVESTAV-Irapuato, Mexico, for the support to carry out this research.

requiere mayor investigación, pues existen respuestas contradictorias en la literatura científica. Esto pudiera estar relacionado con diferentes factores, como la dosis óptima de los productos, la frecuencia y duración del tratamiento, el estado fisiológico, la especie, la alimentación, edad, sexo, entre otros aspectos.

Se concluye que la inclusión de agavinas de *Agave fourcroydes* en la dieta de cerdos produjo modificaciones en el metabolismo lipídico, relacionadas con la disminución del colesterol total, las LDLc y los lípidos totales.

Agradecimientos

Al personal del Instituto de Ciencia Animal de la República de Cuba y al CINVESTAV-Irapuato, México por el apoyo recibido para la realización de la investigación.

References

- Delzenne, N. & Kok, N. 2001. Effects of fructans-type prebiotics on lipid metabolism, *Am. J. Clin. Nutr.* 73: 456S- 458S.
- Delzenne, N., Daubioul, C., Neyrinck, A., Lasa, M. & Taper, H. 2002. Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals: review of biochemical events and future prospects. *British Journal of Nutrition* 87 (2): S255-S259.
- Di Rienzo, J.A., Belzarini, M., Casanoves, F., González, L., Tablada, M., Guzmán, W. & Robledo, C.W. 2012. Software estadístico INFOSTAT. Estadística y Biometría. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Duncan, D.B. 1955. Multiple ranges and multiple F test. *Biometrics* 11: 1.
- Friedewald, W.T., Levy, R.I. & Fredrickson, D.S. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18 (6): 499-502.
- Gallaher, C.M., Munion, J., Hesslink, R.J., Wise, J. & Gallaher, D. 2000. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats. *J. Nutr.* 130 (11): 2753-2759.
- García-Curbelo, Y., López, M.G., Bocourt, R., Collado, E., Albelo, N., & Nunez, O. 2015b. Structural characterization of fructans from *Agave fourcroydes* (Lem.) with potential as prebiotic. *Cuban Journal of Agricultural Science* 49 (1): 75-80.
- García-Curbelo, Y., López, G.M., Bocourt, R., García-Vieyra, I. & Savón, L. 2015a. Prebiotic effect of *Agave fourcroydes* fructans: An animal model. *Food and Functions* 6 (9): 3177-3182.
- García-Vieyra, M.I. & López, M.G. 2014. Agave fructans: Their Effects on Mineral Absorption and Bone Mineral Content. *Journal of Medicinal Food* 17 (11): 1247-1255.
- Gibson, G. & Roberfroid, M. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota introducing the concept of prebiotic. *J. Nutr.* 125 (6): 1401-1412.
- Gibson, G., Hutkins, R., Sanders, M.E., Prescott, S., Reimer, R.A., Salminen, S.J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K.S., Cani, P.D., Verbeke, K. & Reid, G. 2017. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews. Gastroenterology and Hepatology* 14: 491-500.
- Grela, E.R., Sobolewska, S. & Roziński, T. 2014. Effect of inulin extracts or inulin-containing plant supplement on blood lipid indices and fatty acid profile in fattener tissues. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 17 (1): 93-98.
- Huazano-García, A. & López, M.G. 2015. Agavins reverse the metabolic disorders in overweight mice through the increment

- of short chain fatty acids and hormones. *Food & Function* 6 (12): 3720-3727.
- Jackson, K.G. & Lovegrove, J.A. 2012. Impact of probiotics, prebiotics and synbiotics on lipid metabolism in humans. *Nutrition and Aging* 1(3-4): 181-200.
- Liong, M.T., Dunshea, F.R. & Shah, N.P. 2007. Effects of A Synbiotic Containing *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4962 on Plasma Lipid Profiles and Morphology of Erythrocytes in Hypercholesterolemic Pigs on High- and Low-Fat Diets. *Br. J. Nutr.* 98 (4): 736-744.
- Liu, F., Prabhakar, M., Ju, J., Long, H. & Zhou, H. 2017. Effect of inulin-type fructans on blood lipid profile and glucose level: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *European Journal of Clinical Nutrition* 71: 9-20.
- Luo, J., Van Yperselle, M., Rizkalla, S.W., Rossi, F., Bornet, F.R. & Slama, G. 2000. Chronic Consumption of Short-Chain Fructooligosaccharides Does Not Affect Basal Hepatic Glucose Production or Insulin Resistance in Type 2 Diabetics. *J. Nutr.* 130 (6): 1572-1577.
- Mortensen, A., Poulsen, M. & Frandsen, H. 2002. Effect of Long-Chained Fructan Raftilose® HP on Blood Lipids and Spontaneous Atherosclerosis in Low Density Receptor Knockout Mice. *Nutr. Res.* 22:473-480.
- National Research Council (NRC). 1998. Nutrient Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Swine. National Research Council (NRC). National Academy Press. Washington. 189.
- Sharma, S. & Puri, S. 2015. Prebiotics and lipid metabolism: a review. *Prebiotics and Lipid Metabolism* 21 (3): 28-36.
- Yang, J., Zhang, S., Henning, S.M., Lee, R., Hsu, M., Grojean, E., Pisegna, R., Ly, A., Heber, D. & Li, Z. 2018. Cholesterol-lowering effects of dietary pomegranate extract and inulin in mice fed an obesogenic diet. *J. Nutr Biochem.* 52: 62-69.

Received: July 8, 2018