

## 다시마(*Laminaria japonicus*) Alginate의 가열가수분해에 따른 물리·화학적 및 생물학적 특성에 관한 연구

### 2. 저분자 alginate의 항돌연변이효과와 Cholesterol, Glucose 및 카드뮴(Cd) 결합능의 변화

김육용 · 이근우\*\* · 김건배\*\* · 조영제\*  
주식회사 MSC 연구소, \*부경대학교 식품생명공학부, \*\*군산대학교 식품공학과

## Studies on Physicochemical and Biological Properties of Depolymerized Alginate from Sea tangle, *Laminaria japonicus* by Thermal Decomposition

### 2. Changes in Antimutagenicity Effects and Cholesterol, Glucose and Cadmium(Cd) Binding Capacity of Depolymerized Alginate

Yuck-Yong KIM, Keun-Woo LEE\*\*, Geon-Bae KIM\*\* and Young-Je CHO\*

Research Laboratory, MSC Co. Ltd., Yangsan 626-840, Korea

\*Faculty of Food Science and Biotechnology, Food Science and Technology Major, Pukyong National Univ., Pusan 608-737, Korea

\*\*Department of Food Science and Technology, Kunsan 573-360, Korea

To improve functionality and characteristics of alginate from the sea tangle, *Laminaria japonicus*, partially depolymerized alginates (HAG-10, average molecular weight 10,000; HAG-50, average molecular weight 50,000; HAG-100, average molecular weight 100,000) were obtained with hydrolysis of alginate by heating at 121°C. Effects of the depolymerization on physicochemical properties were investigated in the antimutagenicity and binding capacity of cholesterol, glucose and cadmium. In the Ames mutagenicity test using *Salmonella typhimurium* TA 100, HAG-10, HAG-50, HAG-100 and intact alginate reduced effectively the mutagenicities induced by aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) and HAG-10 showed the strongest antimutagenicity among the tested samples. The binding capacity of cholesterol, glucose and cadmium at different pH *in vitro* depended highly on molecular weight of alginate, and the changes in binding capacity at different pH was not different.

Key words: Sea tangle, Depolymerized alginate, HAG-10, HAG-50, HAG-100, Antimutagenicity, Cholesterol, Glucose, Cadmium, Binding capacity

## 서 론

알긴산의 항돌연변이 및 항종양효과는 M/G 비율이 증가할수록 면역활성을 증가시켜서 강한 항종양효과를 가질뿐만 아니라, 세균 감염에 대한 저항성을 높이게 되고 (Fujihara and Nagumo, 1993; Fujiki *et al.*, 1994) macrophage의 식세포능을 증가시키는데, 이는 block 조성에 의해 영향을 받으며, MM-block의 함량이 높을수록 cytokine을 생성하는 monocyte를 자극하고 정상적인 macrophage activity를 가져 높은 항종양활성을 나타내는 것으로 알려져 있다 (Chiharu *et al.*, 1992; Fujihara *et al.*, 1984; Fujihara and Nagumo, 1993). 또한, alginate의 일반적인 항종양기구는 microphage의 활성화 및 인터페론의 유도기능작용 (誘導起能作用) 등에 의한 숙주개재성 (宿主介在性)에 의한 것으로 추정되고 있다 (Fujihara *et al.*, 1984).

알긴산의 중금속 결합능에 대하여, 유리 carboxyl기를 가지는 알긴산은 금속이온과 반응하며 (Haug, 1961; Haug and Smidsrød, 1962; Harrison *et al.*, 1966), Haug (1959, 1961)와 Lee *et al.* (1998)은 알긴산과 중금속 (Pb, Cu, Cd, Zn, Ba, Ca, Co 등)의 이온교환능은 M/G 비율이 낮을수록 높아진다고 하였다. 랫드에 방사성 칼슘과 strontium을 투여후 알긴산을 섭취시켰을 때, 분변 중으로 방사성 칼슘과 strontium의 배출은 M/G 비율이 낮을수록

금속이온결합능이 증가하므로써 체외배출률이 증가한다고 보고하였다 (Haug, 1961; Haug and Smidsrød, 1962; Takahashi and Tsuji, 1981). Takahashi and Tsuji (1981)도 알긴산의 카드뮴과 칼슘의 중금속결합능은 M/G 비율이 낮을수록, 중합도가 클수록 그 결합능이 증가한다고 하였다.

본 연구는 alginate의 광범위하고 효율적인 이용을 목적으로 가열에 의한 저분자화를 시도하였으며, 저분자화에 따른 항돌연변이 원성과 cholesterol, glucose 및 카드뮴의 결합능을 검토하였다.

## 실험 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

다시마 alginate 및 저분자 alginate (HAG-10, HAG-50 및 HAG-100)는 전보 (Kim and Cho, 2000)의 방법에 따라 제조하여 사용하였다.

### 2. 실험 방법

#### 1) 저분자 alginate의 항돌연변이원성

##### (1) 돌연변이유발물질

간접돌연변이원은 aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) (Sigma사제, U.S.A.)을

dimethylsulfoxide (DMSO)에 녹여 실험하였고, 직접돌연변이원은 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) (Aldrich사제, U. S.A.)을 증류수에 녹여 실험하였다.

### (2) 항돌연변이 효과

Ames *et al.* (1975)와 Maron and Ames (1983)의 방법에 따라서 *Salmonella typhimurium* TA 100 균주를 사용하여 실험하였고, 돌연변이유발물질인 aflatoxin B<sub>1</sub>을 활성형으로 만들기 위하여 체중이 약 200g이 되는 Sprague-Dawley계 랫드(♂)를 사용하여 Maron and Ames (1983)의 방법에 따라 S9 mixture를 조제하여 첨가하였으며, Yahagi *et al.* (1979)의 방법으로 preincubation mutagenicity test를 이용하여 항돌연변이 실험을 실시하였다. 돌연변이 억제효과 (inhibition rate)는 아래 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate}(\%) = [(A-B)/(A-C)] \times 100$$

A; 돌연변이원에 의해 유도된 복귀돌연변이원수

B; 시료를 처리하였을 때의 복귀돌연변이원수

C; 돌연변이원과 시료가 없을 경우의 자연복귀돌연변이원수

### 2) 저분자 alginate의 cholesterol, glucose 및 카드뮴 결합능

#### (1) Cholesterol 결합능

HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate에 의해 흡착제거되는 cholesterol의 양을 정량적으로 측정하기 위하여 평형투석법 (Tsuji *et al.*, 1988; Kimura *et al.*, 1993)으로 평형투석장치인 acryl성 plastic dialysis cell (08-066-17, Fisher, U.S.A.)을 사용하였다. 이 장치는 2개의 10ml half cell로 구성되어 있고 2개의 half cell 중간에는 투석막 (MWCO 6,000)을 장착하였다. 한쪽 cell에는 0.1% (w/v) 시료용액 3ml와 cholesterol 용액 (0.0057ml/ml isopropanol, v/v, Sigma) 7.0ml의 혼합액을 1M HCl과 1M NaOH 용액으로 pH 2.8, 6.5 및 10.0으로 조정하여 투석막안에 넣고 다른 쪽 cell에는 증류수 3ml와 isopropanol 7ml의 혼합액을 투석막밖에 넣은 후 shaker로 진탕하면서 60시간 동안 투석하였다. 2개의 half cell 용액중의 cholesterol 함량은 그 용액 1ml씩을 취하여 total cholesterol 측정용 kit (Sigma Chemical Co., U.S.A.)를 이용한 효소법으로 측정하였으며, 그 결합률 (%)은 cholesterol 투입량에 대한 결합량의 백분율로 나타내었다.

#### (2) Glucose 결합능

평형투석법 (Tsuji *et al.*, 1988; Kimura *et al.*, 1993)으로 측정하였으며, 평형투석장치인 acryl성 plastic dialysis cell (08-066-17, Fisher, U.S.A.)을 사용하였다. 2개의 half cell 중간에는 투석막 (MWCO 6,000)을 장착하여 한쪽 cell에는 0.1% (w/v) 시료용액 3ml와 0.57% glucose 용액 7ml의 혼합액을 1M HCl과 1M NaOH 용액으로 pH 2.8, 6.5 및 10.0으로 조정하여 투석막안에 넣고 다른 쪽 cell에는 증류수 10ml를 투석막밖에 넣은 후 shaker로 진탕하면서 60시간 동안 투석하였다. 2개의 half cell 용액중의 glucose 함량은 그 용액 1ml를 취하여 glucose 측정용 kit (Sigma Chemical Co., U.S.A.)를 이용한 효소법으로 측정하였다. 그 결합률 (%)은 glucose 투입량에 대한 결합량의 백분율로 나타내었다.

#### (3) 카드뮴 (Cd) 결합능

HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate에 의해 흡착제거되는 카드뮴의 양을 정량적으로 측정하기 위하여 Takahashi and Tsuji

(1981)의 투석법으로 실시하였다. 즉, 시판되는 중금속 카드뮴표준용액 (Junsei Chemical Co., Japan)을 0.01M로 제조한 용액 100ml를 비이커에 넣고 30cm의 36/32 cellulose 투석막에 0.4%의 시료용액 10ml를 1M HCl과 1M NaOH 용액으로 pH 2.8, 6.5 및 10.0으로 조정하여 넣고 새지 않도록 잘 봉입한 후 비이커에 침지하여 24시간 동안 교반투석하였다. 투석후 투석액을 증류수로 씻고 세액을 비이커액과 합하여 0.01M EDTA 용액으로 적정하고 소비된 금속량을 계산하였다. 한편 투석막내에 잔존하는 금속이온을 1N HCl로 용해하여 100ml로 정용한 후 50배 정도 희석하여 ICP (JY-38S, Jobin Yvon, France)로 카드뮴량을 측정하였다. 또한, 투석막으로 흡착되는 카드뮴량을 측정하기 위하여 투석막을 0.01M 카드뮴용액 100ml에 침지하여 동일한 방법으로 실험하여 blank로 하였으며 그 결합률 (%)은 카드뮴 투입량에 대한 결합량의 백분율로 나타내었다.

### 3) 통계처리

분석결과는 SAS (Statistical Analysis System, Cary, U.S.A.) 통계 패키지로 처리하여 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, 각 기간별 유의성검정은 Student *t*-test로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 저분자 alginate의 항돌연변이원성

HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate의 *Salmonella typhimurium* TA 100 균주의 aflatoxin B<sub>1</sub>에 대한 간접돌연변이원성 항돌연변이 효과를 독성을 나타내지 않는 5.0%의 농도범위에서 살펴 본 결과를 Table 1에 나타내었다. HAG-10에서 그 활성이 가장 높았으며, 0.001% 농도에서 부터 항돌연변이 효과를 나타내어 43.76%였으나, 이보다 5,000배 높은 농도인 5.0% 농도에서는 그 효과가 약 1.5배 정도밖에 증가하지 않은 65.16%였다. 다음으로 HAG-50, HAG-100 및 alginate의 순으로 현저한 차이는 없었지만 alginate에서 활성이 가장 낮았고 간접적으로 발암물질의 돌연변이 유발성을 억제하는 것은 낮은 농도에서부터 항돌연변이 효과가 있었지만 농도를 높여도 그 효과는 크게 증가되지 않았다.

HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate의 *Salmonella typhimurium* TA 100 균주의 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)에 대한 직접돌연변이원성 항돌연변이 효과를 독성을 나타내지 않는 5.0%의 농도범위에서 살펴 본 결과를 Table 2에 나타내었다. HAG-10에서 그 활성이 가장 높았으며, 0.001% 농도에서 부터 항돌연변이 효과를 나타내어 32.34%였으나, 이보다 5,000배 높은 농도인 5.0% 농도에서는 그 효과가 약 1.8배 정도밖에 증가하지 않은 57.52%였다. 다음으로 HAG-50, HAG-100 및 alginate의 순으로 alginate에서 가장 낮았고 직접적으로 발암물질의 돌연변이 유발성을 억제하는 것은 낮은 농도에서부터 항돌연변이 효과가 있었지만 농도를 높여도 그 효과는 크게 증가하지 않았다.

이상과 같이, alginate가 저분자와 할수록 M/G 비율은 증가하였고 이와 비례적으로 간접 및 직접돌연변이원에 대한 항돌연변이 효과도 증가하였는데, 이것은 alginate의 M/G 비율이 증가할수록

**Table 1.** Effects of HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate on the mutagenicity induced by aflatoxin B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>, 1.0 $\mu$ g/plate) in *Salmonella typhimurium* TA 100

Treatment	Concentration (%)	Revertant/plate <sup>*1</sup>	Inhibition rate(%)
Spontaneous Control(AFB <sub>1</sub> )		128 $\pm$ 10	
		1,128 $\pm$ 56	
AFB <sub>1</sub> + HAG-10	0.001	690 $\pm$ 51	43.76
	0.01	611 $\pm$ 43	50.88
	0.1	579 $\pm$ 42	54.91
	0.5	535 $\pm$ 36	59.28
	1.0	517 $\pm$ 25	61.11
	5.0	476 $\pm$ 22	65.16
AFB <sub>1</sub> + HAG-50	0.001	715 $\pm$ 49	41.27
	0.01	653 $\pm$ 31	47.49
	0.1	603 $\pm$ 29	52.55
	0.5	556 $\pm$ 24	57.18
	1.0	512 $\pm$ 25	61.65
	5.0	489 $\pm$ 19	63.94
AFB <sub>1</sub> + HAG-100	0.001	768 $\pm$ 39	35.96
	0.01	706 $\pm$ 25	42.24
	0.1	666 $\pm$ 18	46.19
	0.5	617 $\pm$ 19	51.08
	1.0	584 $\pm$ 21	54.44
	5.0	541 $\pm$ 14	58.72
AFB <sub>1</sub> + Alginate	0.001	770 $\pm$ 43	35.76
	0.01	725 $\pm$ 29	40.28
	0.1	660 $\pm$ 31	46.81
	0.5	626 $\pm$ 14	50.25
	1.0	590 $\pm$ 23	53.80
	5.0	571 $\pm$ 15	55.72

<sup>\*1</sup> Mean  $\pm$  S.D. for 3 individuals.

면역활성을 증가시켜서 강한 항종양효과와 세균감염에 대한 저항성을 높인다는 보고 (Fujihara and Nagumo, 1993; Fujiki *et al.*, 1994)와 일치하였다. 또한, Fujihara and Nagumo (1993)와 Chiharu *et al.* (1992)는 alginate가 macrophage의 식세포능을 증가시키며 그 활성은 MM-block의 조성이 높을수록 cytokine을 생성하는 monocyte를 자극하고 정상적인 macrophage activity를 가져 항종양활성을 가지는 것으로 보고하고 있어서 MM-block의 조성이 높을수록 항돌연변이 효과가 높게 나타난 본 실험의 결과를 뒷받침하고 있다. 또, Chiharu *et al.* (1992)은 알긴산의 carboxyl기가 Glu-p-1, Trp-p-1, dimethylnitrosoamine 등과 같은 발암원의 amino기와 결합하여 소장에서의 흡수를 억제하므로써 발암을 감소시킨다고 하였고, Cumings *et al.* (1978)과 Stephen and Cumings (1980)은 알긴산과 같은 gum 물질은 발암물질의 장점막과의 접촉을 감소시켜, 발암을 억제한다고 보고하여 본 실험의 저분자 alginate의 항돌연변이 효과는 microphage의 활성화, 물리적 특징 및 carboxyl기의 반응에 의한 결과라고 생각된다.

**Table 2.** Effects of HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate on the mutagenicity induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG, 0.45 $\mu$ g/plate) in *Salmonella typhimurium* TA 100

Treatment	Concentration (%)	Revertant/plate <sup>*1</sup>	Inhibition rate(%)
Spontaneous Control(AFB <sub>1</sub> )		116 $\pm$ 13	
		1,038 $\pm$ 29	
AFB <sub>1</sub> + HAG-10	0.001	740 $\pm$ 19	32.34
	0.01	690 $\pm$ 44	37.71
	0.1	636 $\pm$ 42	43.62
	0.5	601 $\pm$ 19	47.39
	1.0	554 $\pm$ 19	52.48
	5.0	508 $\pm$ 24	57.52
AFB <sub>1</sub> + HAG-50	0.001	757 $\pm$ 35	30.49
	0.01	702 $\pm$ 26	36.48
	0.1	653 $\pm$ 19	41.76
	0.5	613 $\pm$ 11	46.11
	1.0	571 $\pm$ 14	50.65
	5.0	524 $\pm$ 21	55.72
AFB <sub>1</sub> + HAG-100	0.001	788 $\pm$ 54	27.08
	0.01	735 $\pm$ 41	32.90
	0.1	700 $\pm$ 18	36.63
	0.5	648 $\pm$ 29	42.29
	1.0	606 $\pm$ 36	46.81
	5.0	564 $\pm$ 21	51.38
AFB <sub>1</sub> + Alginate	0.001	842 $\pm$ 40	21.29
	0.01	783 $\pm$ 28	27.71
	0.1	737 $\pm$ 17	32.62
	0.5	695 $\pm$ 19	37.19
	1.0	648 $\pm$ 23	42.31
	5.0	602 $\pm$ 14	47.25

<sup>\*1</sup> Mean  $\pm$  S.D. for 3 individuals.

2. 저분자 alginate의 cholesterol, glucose 및 카드뮴 결합능 HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate의 cholesterol 결합능을 Fig. 1에 나타내었다. HAG-10은 pH 2.8에서 13.32  $\pm$  1.27%, pH 6.5에서 12.89  $\pm$  2.76% 및 pH 10.0에서 11.91  $\pm$  2.32%로 결합능을 보이지 않았으나 HAG-50와 HAG-100은 유의적으로 ( $p < 0.01$ ) 증가하였으며, alginate는 pH 2.8에서 32.26  $\pm$  3.09%, pH 6.5에서 33.65  $\pm$  5.26% 및 pH 10.0에서 30.43  $\pm$  3.68%로 그 결합능이 가장 높았다. 다음으로 HAG-50과 HAG-100은 유사하였으며, HAG-10은 거의 결합능을 보이지 않았으며, pH에 따른 차이는 보이지 않았다. HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate의 glucose 결합능을 Fig. 2에 나타내었다. HAG-10은 pH 2.8에서 12.44  $\pm$  4.44%, pH 6.5에서 16.72  $\pm$  3.11% 및 pH 10.0에서 13.88  $\pm$  1.80%로 가장 낮았으나, HAG-50와 HAG-100은 HAG-10보다 유의성있게 ( $p < 0.01$ ) 증가하였으며, alginate는 pH 2.8에서 40.72  $\pm$  3.01%, pH 6.5에서 42.28  $\pm$  4.00% 및 pH 10.0에서 36.66  $\pm$  3.27%

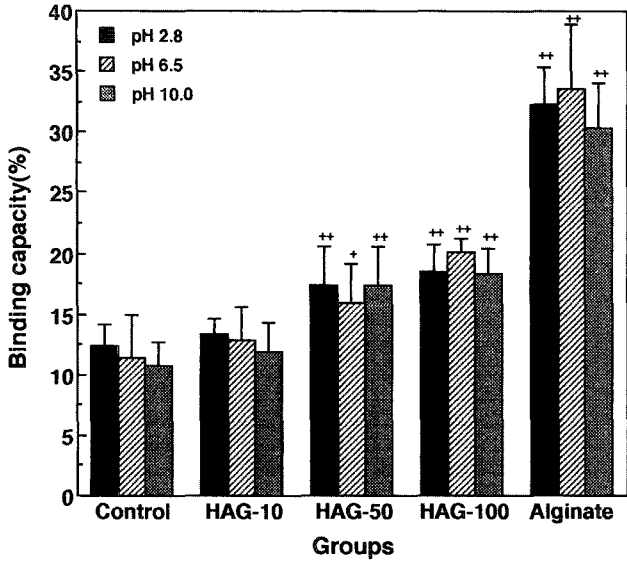


Fig. 1. Changes of cholesterol binding capacity in HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate at various pH. All data were calculated by Mean  $\pm$  S.D. for 7 individuals. +, ++ : Significantly different in student *t*-test from the control(+*p*<0.05, ++*p*<0.01).

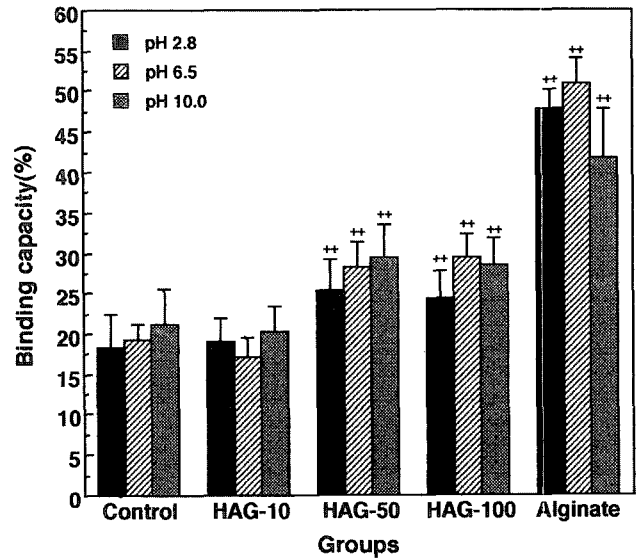


Fig. 3. Changes of cadmium binding capacity in HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate at various pH. All data were calculated by Mean  $\pm$  S.D. for 7 individuals. +, ++ : Significantly different in student *t*-test from the control(+*p*<0.05, ++*p*<0.01).

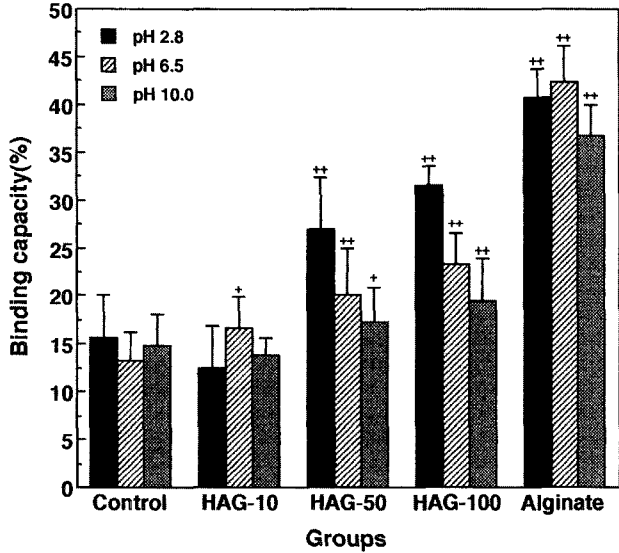


Fig. 2. Changes of glucose binding capacity in HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate at various pH. All data were calculated by Mean  $\pm$  S.D. for 7 individuals. +, ++ : Significantly different in student *t*-test from the control(+*p*<0.05, ++*p*<0.01).

에 대하여 pH에 따른 카드뮴의 결합률을 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 3과 같다. HAG-10은 pH 2.8에서 19.00  $\pm$  3.00%, pH 6.5에서 17.22  $\pm$  2.38% 및 pH 10.0에서 20.29  $\pm$  3.19%로 거의 결합률을 보이지 않았고, HAG-50와 HAG-100은 HAG-10보다 상당히 증가하였으며, alginate는 pH 2.8에서 47.77  $\pm$  2.43%, pH 6.5에서 50.91  $\pm$  3.04% 및 pH 10.0에서 41.80  $\pm$  5.91%로 결합률이 가장 높았고 pH에 따른 차이는 보이지 않았다.

이상과 같이, cholesterol, glucose 및 카드뮴의 결합률에 미치는 저분자 alginate의 영향을 검토한 결과, 그 결합률은 전반적으로 alginate에서 가장 높았고 HAG-50과 HAG-100은 유사하였으며, HAG-10은 거의 결합능을 보이지 않았다. M/G 비율이 높은 HAG-10보다 M/G 비율이 낮은 alginate에서 cholesterol, glucose 및 카드뮴의 결합률이 증가한 결과는 Harrison *et al.* (1966)은 랫드에 방사성 칼슘과 strontium을 투여하고 alginate를 섭취시켰을 때, 분변중으로 방사성 칼슘과 strontium의 배설이 촉진되며, M/G 비율이 낮을수록, 중합도가 클수록 금속이온결합능이 증가하여 체외배설률이 증가한다는 보고 (Haug, 1959; Haug, 1961; Haug and Smidsrød, 1962; Takahashi and Tsuji, 1981)와 일치하였다.

요 약

로 가장 높았다. 다음으로 HAG-50과 HAG-100은 유사하였으며, HAG-10은 거의 결합능이 보이지 않았고 pH가 낮을수록 결합률은 전반적으로 높았다. HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate

Alginate의 광범위하고 효율적인 이용을 목적으로 평균분자량이 약 10,000 (HAG-10), 50,000 (HAG-50) 및 100,000 (HAG-100) 정도의 저분자 alginate를 제조하였으며, 이 저분자 alginate의 항

돌연변이효과와 cholesterol, glucose 및 카드뮴과의 결합능을 측정하여 그 물리·화학적 특성을 비교, 검토하였다.

Ames test로 저분자 alginate의 항돌연변이 효과를 측정한 결과, aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>)에 대한 간접돌연변이원성과 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)에 대한 직접돌연변이원성의 항돌연변이 효과는 HAG-10이 가장 높았고, 다음으로 HAG-50, HAG-100 및 alginate의 순으로 나타나 저분자화가 진행될수록 그 효과는 증가하는 것으로 나타났다. 저분자 alginate의 cholesterol, glucose 및 카드뮴에 대한 결합능은 alginate가 가장 높았고, 다음으로 HAG-50과 HAG-100은 유사하였으며, HAG-10은 결합능을 거의 보이지 않았다.

### 참 고 문 헌

- Ames, B.N., J. McCann and E. Yamasaki. 1975. Methods for the detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 31, 347~351.
- Chiharu, N., N. Tadashi and Y. Toshimara. 1992. Effect of pH on the *in vitro* sorption of mutagens to dietary fibers. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56, 1100~1107.
- Cummings, J.H. 1978. Nutritional implications of dietary fiber. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31, S21~29.
- Fujihara, M., K. Komiyama, I. Umezawa and T. Nagumo. 1984. Antitumor activity and its mechanisms of sodium alginate from the brown seaweed *Sargassum fulvellum*. *Chemotherapy*, 32, 1004~1009.
- Fujihara, M. and T. Nagumo. 1993. An influence of the structure of alginate on the chemotactic activity of macrophages and the antitumor activity. *Carbohydrate Research*, 243, 211~216.
- Fujiki, K., H. Matsuyama and T. Yano. 1994. Protective effect of sodium alginates against bacterial infection in common carp, *Cyprinus Carpio*. L. *J. Fish Dis.*, 17, 349~355.
- Harrison, G.E., E.R. Humphreys, A. Sutton, H. Shepherd. 1966. Strontium uptake in rats on alginate-supplemented diet. *Science*, 152, 655~656.
- Haug, A. 1959. Ion exchange properties of alginate fractions. *Acta Chem. Scand.*, 13, 1250~1251.
- Haug, A. 1961. The affinity of some divalent metals to different types of alginates. *Acta Chem. Scand.*, 15, 1794~1795.
- Haug, A. and O. Smidsrød. 1962. Determination of intrinsic viscosity of alginate. *Acta Chem. Scand.*, 16, 1569~1578.
- Kim, Y.Y. and Y.J. Cho. 2000. Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by heating hydrolysis. 1. Changes in viscosity, average molecular weight and chemical structure of depolymerized alginate. *J. Korean Fish. Soc.*, in press (in Korean).
- Kimura, T., K. Takahashi, Y. Ueda, H. Obika, Y. Kobayashi and K. Tsuji. 1993. Effects of the primary structure of alginate on fecal excretion of sodium in rats. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 67, 1177~1183.
- Lee, D.S., H.R. Kim and J.H. Pyeun. 1998. Effect of low-molecularization on rheological properties of alginate. *J. Korean Fish. Soc.*, 31, 82~89 (in Korean).
- Maron, D.M. and B.N. Ames. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 113, 173~177.
- Stephen, A.M. and J.H. Cumings. 1980. Mechanism of action of dietary fiber in the human colon. *Nature*, 284, 283~289.
- Takahashi, Y. and K. Tsuji. 1981. Studies on the binding properties of alginic acid to heavy metals. I. Metal ratio in alginate formed by precipitation and dialysis method. *Eisei Kagaku*, 27, 30~37 (in Japanese).
- Tsuji, K., E. Tsuji, Y. Nakagawa and L.S. Suzuki. 1988. Effects of Na-binding capacity of dietary fibers on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *J. Home Econ. Jpn.*, 39, 187~195 (in Japanese).
- Watanabe, K., K. Iwata, Y. Tandai, M. Nishizawa, T. Yamagishi and I. Yoshizawa. 1992. Effects of soluble alginates on the excretion of cholesterol, Trp-p-1 and aflatoxin B<sub>1</sub> in rats. *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 38, 258~262.
- Yahagi, T., M. Nagao, T. Sugimura, A. Fuuya and T. Matsushima. 1979. Mutagenicity of purrolizidine alkaloids in *Salmonella*-microsome test. *Mutat. Res.*, 68, 211~216.

2000년 6월 1일 접수

2000년 9월 1일 수리