

## 다시마 유래 Fucoidan의 *In-vitro* 포도당 및 담즙산 흡수지연 효과

박 갑 용 · <sup>1</sup>백 진 홍 · 허 원 · † 이 신 영  
강원대학교 생물공학과, <sup>1</sup>주) 김정문 알로에 생명과학연구소  
(접수 : 2007. 5. 23., 게재승인 : 2007. 8. 20.)

### *In Vitro* Glucose and Bile Acid Retardation Effect of Fucoidan from *Laminaria japonica*

Kap-Yong Park, Jin-Hong Back<sup>1</sup>, Won Hur, and Shin-Young Lee†  
Department of Bioengineering and Technology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea  
<sup>1</sup>KJM Aloe R&D Center  
(Received : 2007. 5. 23., Accepted : 2007. 8. 20.)

Fucoidan from sea tangle (*Laminaria japonica*) was isolated by hot water extraction, and partially purified. The in-vitro glucose and bile acid retarding effects of the partially purified fucoidan were investigated. Fucoidan exhibited 27.06~21.42% of retarding index for glucose and 33.50~27.02% of retarding index for bile acid during in vitro dialysis experiment for 2 hours. These retarding effects on glucose and bile acid diffusion was considered as a relatively good or very good, suggesting the prevention from diabetes and arteriosclerosis of some extent.

**Key Words** : Fucoidan, *Laminaria japonica*, in-vitro glucose and bile acid retarding effect

#### 서 론

다시마 (*Laminaria japonica*)는 오랫동안 산모의 건강증진을 위한 민간치료제로 널리 사용되어왔고, 또 식이보충제로서 혈압저하효과, DPPH 라디칼에 대한 활성산소 소거제, 항변이원성 및 당뇨 쥐에서의 혈당 강하조절 등의 생물활성을 갖는 것으로 잘 알려져 왔다(1-4).

특히, 다시마에는 갈조류의 세포벽 matrix에서 발견되는 함 유황 다당인 fucoidan이 건물중량으로 2~5% 정도 존재하는데, 이 fucoidan은 heparin의 대체물질로서 항혈액응고 작용, 항트롬빈 작용을 가지며, 항암작용, 면역조절 작용 및 항 바이러스 작용 등의 생물활성도 갖는다(5-11).

Fucoidan은 주 결합이 α-1,3 결합의 L-fucose 중합체로, 황산기가 C-4 위치에 결합되어 있으며, 점성이 낮고 용해성이 우수한 특징을 갖는다(12). 아울러, fucoidan을 분해하는 효소인 fucoidanase는 해양생물에서만 존재하며, 활성도 매우 낮은 것으로 알려져 있다(13). 따라서 fucoidan은 수용성 식이섬유로서의 이용가능성이 매우 높지만 식이섬유로

서의 fucoidan 특성에 대해서는 별로 보고된 바가 없어 검토의 여지가 높다.

1970년대 초 식이섬유의 부족이 심장계 질환, 장 질환을 비롯한 비만증, 당뇨병, 담석 등의 질병들과 관련이 있다는 Trowell(14, 15)의 보고 후, 이의 생리적 역할에 대한 연구와 관심은 크게 고조되었다(16-18). 따라서 그 동안 각종의 식이섬유가 산업적 중요 소재의 하나로서 널리 연구, 개발되어 왔는데, 저자 등은 최근 산업적 생산체제가 점차 확대되고 있는 fucoidan의 기능성 식품 소재나 성분으로의 잠재성을 탐색, 조사하는 연구의 일환으로, 다시마로부터 fucoidan을 추출하고, 이의 혈당저하나 혈중 콜레스테롤 저하작용과 같은 식이섬유로서의 활용성을 검토하고자 하였다.

식이섬유의 혈당저하나 혈중 콜레스테롤 저하작용 기작은 소화관내에서 분비된 glucose의 흡수를 지연시키거나 bile acid를 흡착하여 재흡수를 저지하는 것에 기인한다(19, 20).

*In-vitro*법에 의한 glucose나 bile acid의 흡수지연 효과는 식이섬유가 영양소를 가두어 두는 가둠효과 (entrapping effect)에 기초해서 투석막을 통해 투석되는 glucose나 bile acid의 양을 측정하는 것으로, 짧은 시간에 인체의 생리적 기능을 예측할 수 있는 장점을 갖는다. 또 동물이나 인체 실험의 *in-vivo* 혈당강하 및 혈중 콜레스테롤 감소 실험과 매우 높은 상관성을 갖는 것으로 잘 알려져 있다(21).

† Corresponding Author : Department of Bioengineering and Technology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Tel : +82-33-250-6273, Fax : +82-33-243-6350

E-mail : sylee@kangwon.ac.kr

본 연구에서는 다시마 fucoidan의 *in-vitro* glucose 및 bile acid 흡수지연효과를 표준 식이섬유 시료로서  $\alpha$ -cellulose와 비교하면서 조사하였으며, 이로부터 혈당강하나 콜레스테롤 저하 소재로서의 가능성을 탐색하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 연구에 사용한 다시마는 2006년산 생다시마를 열풍 건조하여 얻은 건조분말 (20 mesh)로 강릉대학교로부터 제공받았으며, 데시케이터에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### Fucoidan의 조제

Fucoidan은 Choosawad 등(8) 및 Maeda와 Nisizawa(22)의 방법을 조합하여 다음과 같이 분리, 정제하였다. 즉, 다시마 분말 20 g을 추출기에 넣고 증류수 400 ml를 가하여 95°C에서 12시간 추출하였고, 이 추출물을 여과하고 여액을 물로 하룻밤 투석하였다. 투석액에 3배량에 해당하는 95% 에탄올을 넣어 침전시켰으며, 원심분리 (3000 xg, 15분) 후 침전물을 동결건조하여 부분정제된 fucoidan으로 하였다.

### FT-IR 분석

FT-IR (Fourier transformed infra red) spectra는 동결건조한 UF 전후 시료 2 mg을 함유한 KBr disc를 조제하고 3 cm<sup>-1</sup>의 해상도로 Bio-Rad Model Excaliber (Cambridge, USA) 기기를 사용하여 얻었다.

### 표면구조 관찰

표면구조는 주사형 전자현미경 (JEOL model JSM-5410, Japan)으로 관찰하였다. 즉, 시료를 양면 접착 테이프에 얇게 분산시킨 후, Au로 진공증착 (100 Å 두께)하여 전압 5 kV, 시료 경사 30°의 조건에서 5000 및 10000배로 촬영하여 관찰하였다.

### *In-vitro* 법에 의한 glucose 흡수 지연효과

Glucose 흡수 지연효과는 유리상태의 glucose는 투석막을 그대로 통과하지만 식이섬유와 같은 고분자 물질에 흡착된 glucose는 투석막을 통과하지 못하는 것을 이용한 Adiotomre 등(21)의 반투막 투과 실험법에 따라 투석 외액의 glucose 농도를 분석하여 측정하였다. 즉, 넓이 3.2 cm<sup>2</sup>, 길이 10 cm의 투석막 (Sigma D7884 : M.W. cut-off <1200)을 0.1% sodium azide 용액에 하룻밤 담그어 전처리한 후 투석막의 한쪽 끝을 목면실로 단단하게 묶은 다음 투석막 내부에 시료 0.2g을 넣고, 여기에 glucose 36mg을 용해시킨 0.1% sodium azide 용액 6 ml를 넣었다. 반대편의 투석막 끝도 단단히 묶은 후 150 ml 용량의 용기에 넣고 14시간 동안 수화시켰다. 이 때 대조구의 경우는 시료만을 제외하여 마찬가지로 방법으로 실시하였으며, 수화 종료 후 용기에 0.1% sodium azide 용액 100 ml를 첨가하였고, 이를 37°C로 유지한 진탕 항온조에서 100 rpm으로 24시간 동안 투과실험

를 실시하였다. 일정 시간 (30분~24시간) 간격으로 투석 외액 1 ml씩을 취하여 glucose 함량을 측정하였으며, 흡수 지연 효과를 다음 식에 의해 계산하였다.

Glucose retardation index (%)

$$= \frac{\text{Total glucose diffused from sack containing fiber}}{\text{Total glucose diffused from sack without fiber}} \times 100$$

이 때, glucose 함량은 glucose (GO) assay kit (Sigma production code GAGO-20, Sigma, USA)를 사용하여 540 nm에서의 흡광도를 측정하고, 다음 식에 따라 mg glucose로 구하였다.

mg Glucose

$$= \frac{(\Delta_{540} \text{ of test}) (\text{mg glucose in standard})}{\Delta_{540} \text{ of standard}} \times 100$$

### *In-vitro* 법에 의한 bile acid의 흡수 지연효과

Bile acid 흡수 지연효과는 glucose의 경우와 마찬가지로, 유리상태의 bile acid가 투석막을 빠져나오는 원리를 이용한 Adiotomre 등(21)의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 전처리 한 투석막 내부에 시료 0.2 g을 넣은 다음, 0.1% sodium azide 용액으로 조제한 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0)에 1 L당 15 m mole taurocholic acid (Sigma T-4009)를 녹인 용액 6 ml를 넣어 투석막 끝을 단단히 묶었다. 이를 150 ml 용량의 용기에 넣어 14시간 동안 수화시켰으며, 대조구의 경우는 시료만을 제외하여 마찬가지로 실시하였다. 여기에 0.1% sodium azide 용액으로 조제한 0.05 M-phosphate buffer (pH 7.0) 100 ml를 첨가한 후 37°C의 항온수조에서 100 rpm으로 72시간 동안 진탕하였다. 일정 시간 간격으로 1 ml씩을 취하여 bile acid 함량을 측정하였으며, bile acid 흡수 지연 효과는 다음 식에 의해 계산하였다.

Bile acid retardation index (%)

$$= \frac{\text{Total bile acid diffused from sack containing fiber}}{\text{Total bile acid difused from sack without fiber}} \times 100$$

이 때, bile acid 함량은 Boyd 등의 방법(23)에 따라 측정하였다. 즉 bile acid (Sigma B-8756) 용액 1 ml에 70% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액 5 ml를 넣고 5분 후에 0.25% furfural 용액 1 ml를 각각 첨가하였다. 60분간 방치하여 분홍색이 최대로 발색된 후의 최대 흡수 파장인 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### Fucoidan의 조제 및 특성

다시마 분말로부터 열수 추출, 여과, 투석, 에탄올 침전 및 원심분리를 거쳐 얻어진 상정액을 동결건조하였고, 이

를 부분 정제된 fucoidan 분말 시료로 하였다. 이와 같이 얻어진 분말의 색택은 담황색이었고, 표면구조를 주사형 전자현미경으로 5000 및 10000배로 관찰한 결과는 Fig. 1 과 같았다. 통상 다당의 표면구조는 섬유상 구조 또는 겔 유사 구조를 나타내는데, fucoidan은 겔 유사 구조를 보였으며, 표면은 불규칙한 많은 다공성을 갖는 모자이크 유사 구조이었다.

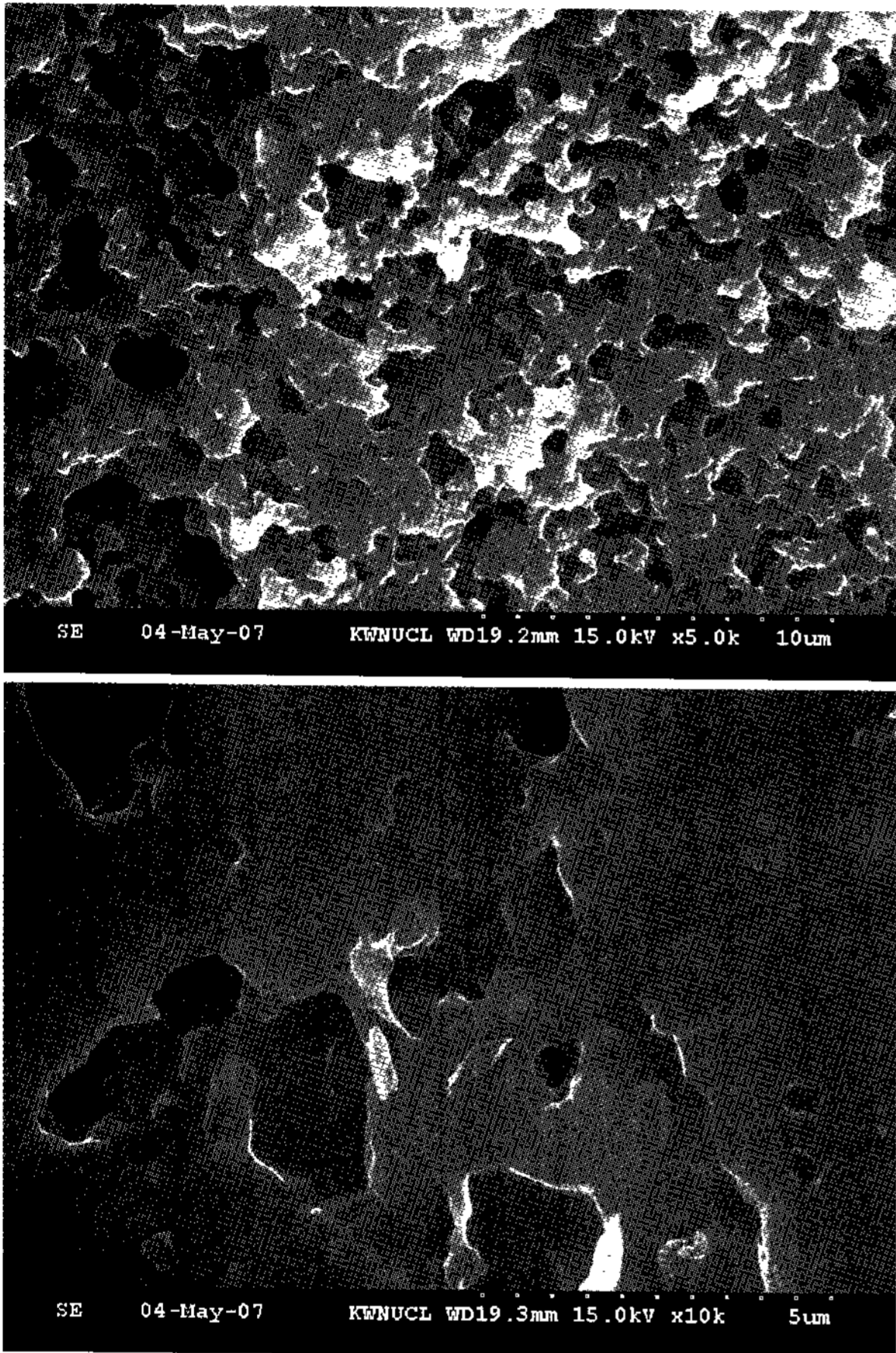


Figure 1. Scanning electron microscopic view of partially purified fucoidan from *Laminaria japonica* (Top: x5,000, Bottom: x10,000).

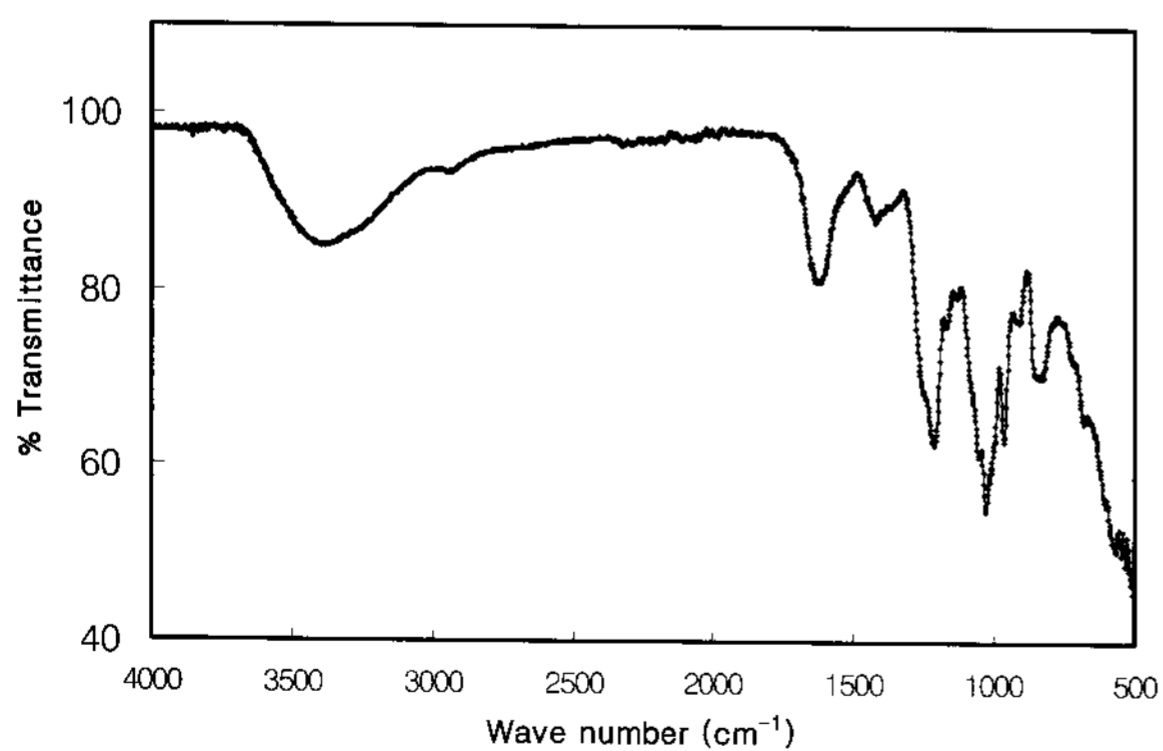


Figure 2. FT-IR spectra of partially purified fucoidan from *Laminaria japonica*.

한편, 적외선 흡수스펙트럼의 분석은 각종 다당류의 구조적 특성 규명에 유효하게 이용되며, 다당의 분석에서 특

히 중요한 것으로 알려져 있으므로(24, 25), 부분정제한 fucoidan의 FT-IR 흡수스펙트럼을 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 2와 같다.

시료가 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ 로 주사되었을 때, 스펙트럼으로부터 수소결합의 O-H stretching frequency에 기인한 3600~3200  $\text{cm}^{-1}$  및 관련 bending vibration의 1100~1050  $\text{cm}^{-1}$ , 2950~2800  $\text{cm}^{-1}$ 에서의 stretching vibration 및 대응하는 bending frequency 1450  $\text{cm}^{-1}$ 은 C-H기의 기능이 발견되어 전형적인 다당의 특성을 나타내었다. 특히, S=O 진동을 나타내는 1200  $\text{cm}^{-1}$  부근의 흡수 및 C-O-S 연결의 진동을 나타내는 800-900  $\text{cm}^{-1}$ 의 흡수를 나타내어 유산 ester의 존재가 시준되었으며, 비교적 보고된 유산화 다당의 적외선 흡수 스펙트럼과 유사하였다(Fujikawa *et al.*, 1975). 또, 이는 다시마, 미역 포자엽, 톳, 모자반 유래의 정제 fucoidan이 시료간의 차이없이 모두 1240 및 850  $\text{cm}^{-1}$ 부근에서 강한 흡수가 나타나며, 이것은 각각 S=O 및 C-O-S 결합을 나타낸다고 한 Koo(12)의 보고와 잘 일치하였다. 따라서 추출 분리한 시료는 부분 정제된 fucoidan의 특성을 갖는 것으로 판단하였으며, 이하의 공시 시료로 사용하였다.

### Glucose의 흡수 지연효과

*In-vitro*법에 의한 glucose 흡수지연 효과는 앞서 언급한 바와 같이, 영양소에 대한 식이섬유의 가동효과를 이용하여 투석막을 통해 투석되는 glucose의 양을 측정하는 것이다(21, 27). 따라서 일정 농도의 glucose 용액이 들어있는 투석막 내에 fucoidan 시료를 넣고 투석막을 통해 투석되는 glucose의 양을 24시간 동안 일정시간 간격으로 측정하였으며, 그 결과를 glucose 투과율 (%)의 경시변화로서 Fig. 3에 나타내었다.

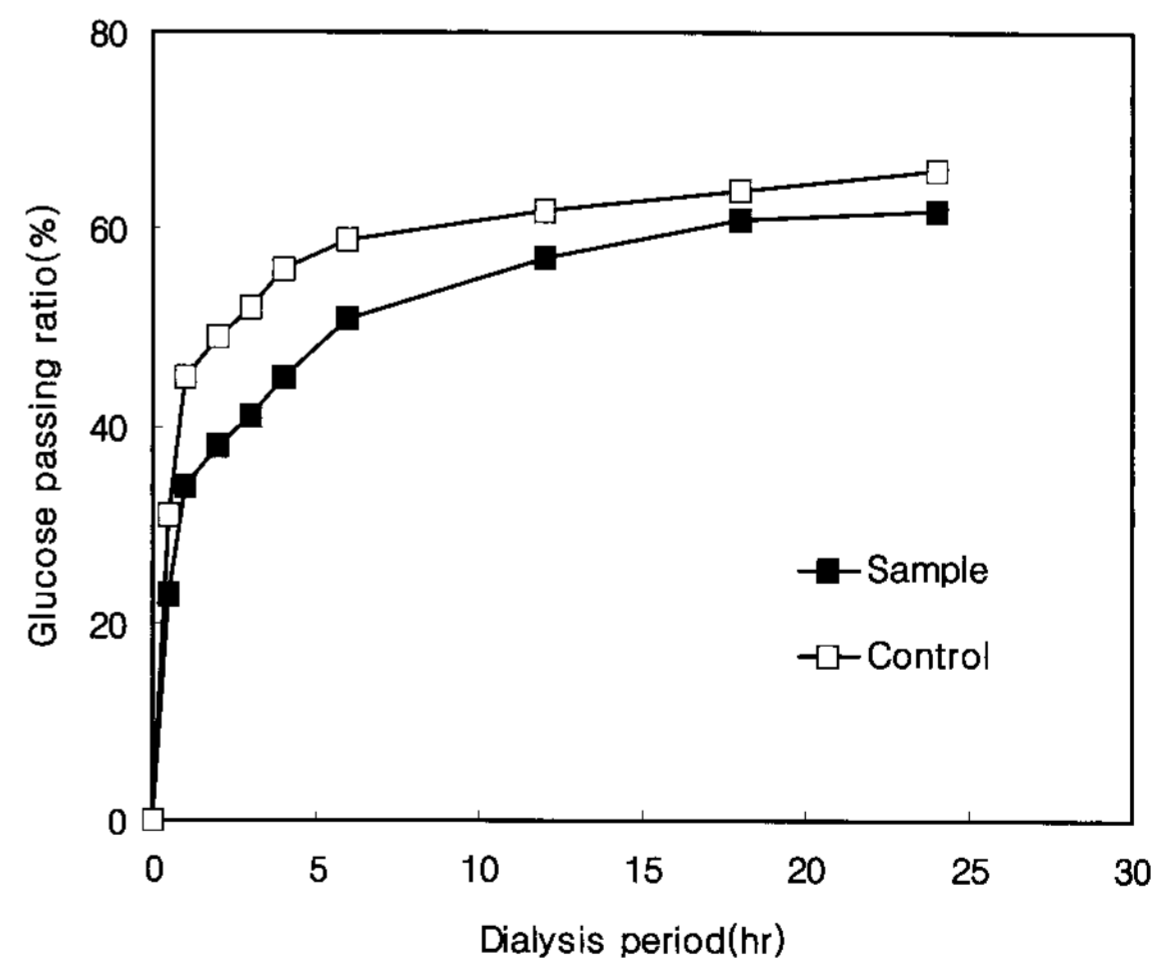


Figure 3. Glucose movement across dialysis bag in the presence of fucoidan.

대조구의 glucose 투과율은 투석 초기 6시간에 급격히 증가하여 약 59%에 달하였고, 이후 미미하게 증가하여 24시간 후에 약 66%를 나타내었다. 따라서 투석 6시간 이내에 fucoidan이 glucose의 투과를 지연시킴을 알 수 있는데, 이는 식이섬유가 그 구조 내에 glucose를 가두어 두는 효



과에 기인하는 것으로 볼 수 있다(27).

한편, 투석 초기의 glucose retardation index (%)는 glucose의 흡수 지연 효과를 판단하는 지표로 이용되므로, 초기 30, 60 및 120분에서의 glucose 흡수 억제 지수를 구하였으며, 그 결과는 Table 1과 같다.

Table 1. Retarding effects of fucoidan on glucose movement

Samples	Dialysis for 30 min		Dialysis for 60 min		Dialysis for 120 min	
	Glucose in dialyzate (mg/dl)	GDRI (%) <sup>2)</sup>	Glucose in dialyzate (mg/dl)	GDRI (%)	Glucose in dialyzate (mg/dl)	GDRI (%)
Control	1.969±0.157 <sup>1)</sup>	0.00	2.698±0.036	0.00	2.978±0.054	0.00
Fucoidan	1.436±0.070	27.06±4.89	2.120±0.075	21.42±3.54	2.229±0.062	25.14±2.78
α-cellulose	1.754±0.150	10.90±1.10	2.390±0.27	11.45±2.13	2.419±0.170	18.76±2.14

<sup>1)</sup>Mean±S.D.

<sup>2)</sup>Glucose dialysis retardation index.

Table에서 보는 바와 같이, 투석 30~120분 경과시 fucoidan의 glucose 흡수 억제지수값은 27.06~21.42%로 비교적 우수한 값 범위이었다. 이 값은 같은 기간 중 glucose 흡수 억제지수가 10.90~18.76% 수준을 유지한 α-cellulose 보다는 매우 높았다. α-cellulose에 대한 본 실험값은 불용성 식이섬유인 시판용 α-cellulose의 glucose 흡수지연효과가 투석 30분 경과시 10.5%라고 한 Lee와 Lee(28)의 보고와 비교적 잘 일치하였다.

일반적으로 보수력과 점성이 높은 수용성 식이섬유에서 glucose 흡수 억제지수가 높은 것으로 알려지고 있으므로 (27), α-cellulose보다 fucoidan의 glucose 흡수지연효과가 높은 것은 수용성에 기인하는 것으로 보인다.

Lee와 Lee(28)의 보고에 의하면, 현재 시판용 식이섬유 중 수용성 식이섬유인 alginic acid, guar gum, CM-cellulose 및 citrus pectin의 투석 30분 경과시 glucose 흡수 억제지수는 약 30% 수준이다. 따라서 fucoidan은 이들 값에 근사한 범위로, 비교적 높은 glucose 흡수지연 효과가 있음을 보여주는 결과이며, 따라서 이들 glucose 흡수지연 억제에 의한 항 당뇨효과가 기대된다.

**Bile acid의 흡수 지연 효과**

In-vitro법에 의한 bile acid 흡수 지연 효과 역시 glucose에서와 마찬가지로 투석막을 통해 투석되는 bile acid의 양을 36시간 동안 경시적으로 측정하여 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 4와 같다.

대조구의 bile acid 투과율은 초기 7시간까지 비교적 급격히 증가하여 약 64%의 투과를 보였으나 이후 거의 평형 값에 도달하여 36시간 후에도 67%까지만 투과하였다.

시료 첨가구의 경우는 각 대응하는 시간에서 bile acid의 투과를 지연시켰는데, 이 bile acid의 흡수 지연효과를 보다 명확히 알아보기 위하여 glucose에서와 마찬가지로 투석 초기 1~2시간 사이의 bile acid 흡수 억제지수 (bile acid retardation index, %)를 구하였으며, 그 결과를 Table 2에 나타내었다.

투석 1~2시간에서 각 시료의 bile acid 억제 지수는

33.50~27.02%로 투석 1시간 후의 값인 α-cellulose의 10.89%보다 약 2~3배 높은 값 범위이었다. 본 실험의 α-cellulose에 대한 값은 역시 시판용 불용성 식이섬유인 α-cellulose의 bile acid 흡수 억제지수가 8.9%정도라고 한 Lee와 Lee(28)의 보고와 비교적 잘 일치한다. 또, 이는 시판용 식이섬유 중 수용성 식이섬유인 bile acid 흡수 억제 지수가 citrus pectin 30.4%, guar gum 22.3%, alginic acid 17.0% 및 apple pectin 13.4%임을 고려할 때(28), fucoidan의 bile acid 억제지수값은 citrus pectin과 비슷한 값으로 bile acid 흡수 지연효과가 매우 우수함을 보여주는 결과임도 알 수 있다.

Table 2. Retarding effects of fucoidan on bile acid movement

Samples	Dialysis for 1 hour		Dialysis for 2 hour	
	Bile acid in dialyzate (mmol/L)	BDRI (%) <sup>2)</sup>	Bile acid in dialyzate (mmol/L)	BDRI (%)
Control	1.303±0.026 <sup>1)</sup>	0.00	1.775±0.024	0.00
Fucoidan	0.917±0.010	33.50±2.73	1.336±0.023	27.02±1.01
α-cellulose	1.161±0.020	10.89±1.72	1.637±0.012	7.76±0.73

<sup>1)</sup>Mean±S.D.

<sup>2)</sup>Bile acid dialysis retardation index.

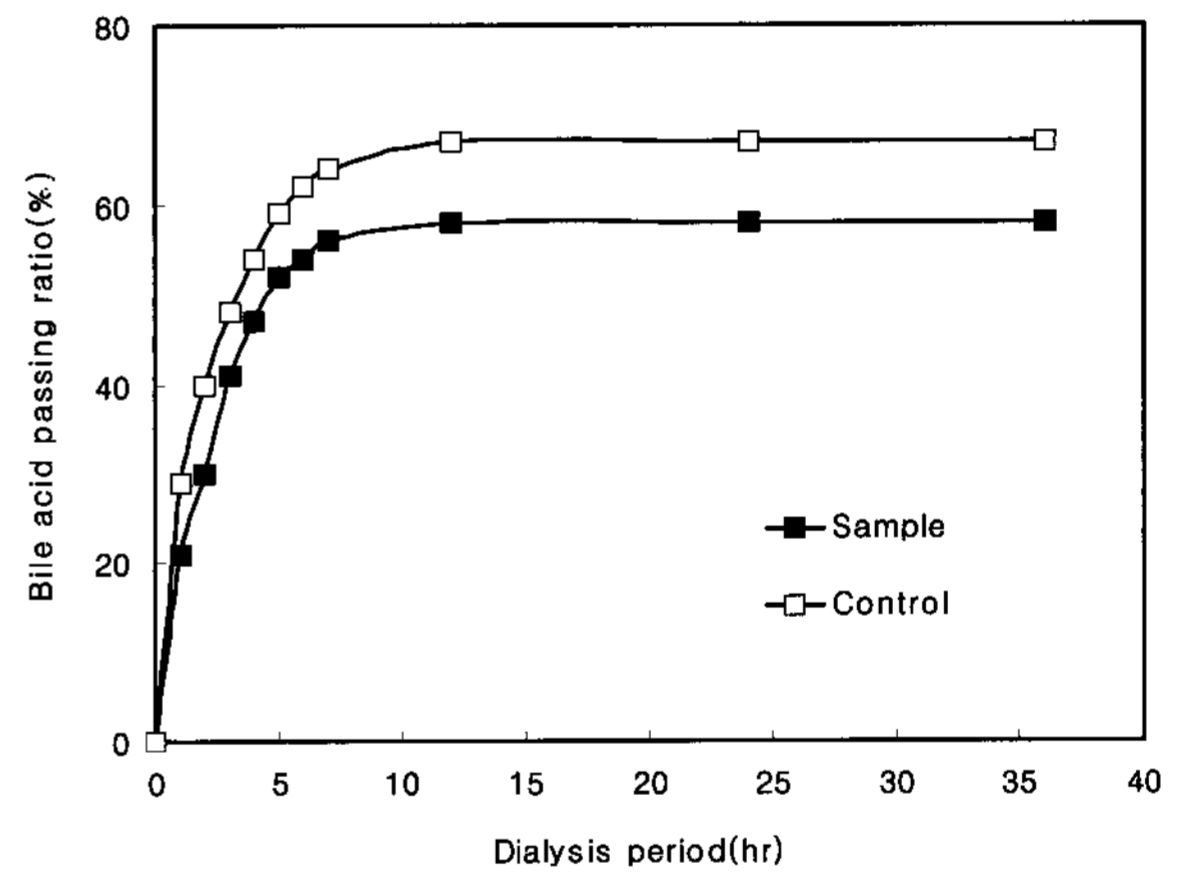


Figure 4. Bile acid movement across dialysis bag in the presence of fucoidan.

Story(29)는 점질성의 식이섬유는 장에서 당 흡수를 지연시켜 혈중 인슐린값을 감소시킬 뿐만 아니라, bile acid와의 결합에 의해 유리 상태의 bile acid 함량을 감소시켜 재흡수되는 담즙산의 함량에 변화를 줌으로써 궁극적으로 지방대사에 영향을 미치고 cholesterol 합성을 저하시킨다고 하였다. 따라서 fucoidan은 동맥경화의 억제 등에 큰 효과를 가질 것으로 기대되며, 차후 이에 대한 in vivo 연구검토의 필요성이 높은 것으로 생각되었다.

**요 약**

다시마 fucoidan의 식이섬유로서의 생리기능성 탐색연구의 일환으로, 다시마의 건조 분말로부터 fucoidan을 열수 추출하여 분리하고 부분정제하였으며, 이의 in-vitro 포도당

및 담즙산 흡수 지연 효과를 조사하였다. 다시마 fucoidan은 투석막을 이용한 2시간 동안의 *in-vitro* glucose 및 bile acid 흡수 지연 실험에서 각각 25.36~22.68% 및 27.03~33.50%의 흡수지연효과를 나타내었다. 이들 효과는 타 식이섬유와 비교하여 비교적 우수하거나 매우 우수한 효과로, 어느 정도 당뇨 및 동맥경화 억제에의 효과를 나타낼 것이 기대되어 추가 검토의 필요성이 높았다.

## 감 사

본 연구는 산업자원부의 지방기술혁신사업 (RTI05-01-02) 지원에 의해 수행되었는 바, 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Han, J., S. Kang, R. Choue, H. Kim, K. Leem, S. Chung, C. Kim, and J. Chung (2002), Free radical scavenging effect of *Diospyros kaki*, *Laminaria japonica* and *Undaria pinnatifida*, *Fitoterapia* **73**, 710-712.
- Park, D. A. and D. N. Granger (1986), Xanthine oxidase: biochemistry, distribution and physiology, *Acta Physiol. Scand. Suppl.* **548**, 87-99.
- Okai, Y., K. Higashi-Okai, and S. Nakamura (1993), Identification of heterogenous antimutagenic activities in the extract of edible brown seaweeds, *Laminaria japonica* (Makonbu) and *Undaria pinnatifida* (Wakame) by the umu gene expression system in *Salmonella typhimurium* (TA1535/pSK1002), *Mutat. Res.* **303**, 63-70.
- Lee, K. S., B. S. Bae, M. J. Bae., M. A. Jang, J. S. Seo, and Y. S. Choi (1999), Effect of sea tangle and metformin on lipid peroxide and antioxidants levels in diabetic rats, *Korean J. Nutr.* **32**, 230-238.
- Dobashi, K., T. Nishino, M. Fujihara, and T. Nagumo (1989), Isolation and preliminary characterization of fucose-containing sulfated polysaccharides with blood-anticoagulant activity from the brown seaweed, *Hizikia fusiforme*. *Carbohydr. Res.* **194**, 315-320.
- Nishino, T., Y. Aizu, and T. Nagumo (1991), The relationship between the molecular weight and the anticoagulant activity of two types of fucan sulfates from the brown seaweed, *Ecklonia kurome*. *Agric. Biol. Chem.* **55**, 791-796.
- Nishino, T., H. Ura, and T. Nagumo (1995), The relationship between the sulphate content and the antithrombin activity of an  $\alpha$ -(1-2)-fucoidan purified from a commercial fucoidan fraction, *Bot. Mar.* **38**, 187-193.
- Choosawad, D., U. Leggat, C. Dechsukhum, A. Phongdara, and W. Chottigeat (2005), Anti-tumor activities of fucoidan from the aquatic plant *Utricularia aurea* Lour., *Sonklanakarinn J. Sci. Technol.* **27**(3), 779-807.
- Funahashi, H., T. Imai, and T. Mase (2001), Seaweed prevents breast cancer, *Jpn. J. Cancer Res.* **92**(5), 483-487.
- Itoh, H., H. Noda, H. Amano, C. Zhuang, T. Mizuno, and H. Ito (1993), Antitumor activity and immunological properties of marine algal polysaccharide, especially fucoidan prepared from *Sargassum thunbergii* of Phaeophyceae, *Anticancer Res.* **13**, 2045-2052.
- Ponce, N. M. A., C. A. Pujol, E. B. Damonte, M. L. Flores, and C. A. Stortz (2003), Fucoidans from the brown seaweed *Adenocystis utricularis*: extraction methods, antiviral activity and structural studies, *Carbohydr. Res.* **338**, 153-165.
- Koo, J. G. (1997), Structural characterization of purified fucoidan from *Laminaria religiosa*, Sporophylls of *Undaria pinnatifida*, *Hizikia fusiforme* and *Sargassum fulvellum* in Korea, *J. Korean Fish. Soc.* **30**(1), 128-131.
- Kusaikin, M. I., A. O. Chizhov, S. A. Alekseeva, I. Yu. Bakumina, O. I. Nedashkovskaya, V. V. Sova, T. N. Zvyagintseva, and Academician G. B. Elyakov (2004), A comparative study of the specificity of fucoidanases of marine microorganisms and invertebrates, *Doklady Biochemistry and Biophysics* **396**, 187-189.
- Trowell, H. (1972), Dietary fiber and coronary heart diseases, *Rev. European Studies Clin. Biol.* **17**, 345-349.
- Trowell, H. (1976), Definition of dietary fiber and hypotheses that it is a protective factor in certain diseases, *Am. J. Clin. Nutr.* **29**, 417-427.
- Schneeman, B. O. (1986), Dietary fiber: Physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects, *Food Technol.* **40**, 104-110.
- Schneeman, B. O. (1989), Dietary fiber, *Food Technol.* **43**, 133-139.
- Reiser, S. (1987), Metabolic effects of dietary pectins related to human health, *Food Technol.* **41**, 91-99.
- Torsdottir, I., M. Alpsten, G. Holm, A. S. Sandberg, and J. A. Tili (1991), Small dose of soluble alginate-fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes, *J. Nutr.* **121**, 795-799.
- Penagini, R., P. Velio, R. Vigorelli, A. Bozzani, D. Castagnone, T. Ranza, and P. A. Bianchi (1986), The effect of dietary guar on serum cholesterol, intestinal transit, and fecal out in man, *Am. J. Gastroenterol.* **81**, 123-125.
- Adiomre, J., M. A. Eastwood, C. A. Edwards, and W. G. Brydon (1990), Dietary fiber; *In Vitro* methods that anticipate nutrition and metabolic activity in humans, *Am. J. Clin. Nutr.* **52**, 128-134.
- Maeda, M. and K. Nisizawa (1968), Fine structure of laminaran of *Eisenia bicyclis*, *J. Biochem.* **63**, 199-208.
- Boyd, G. S., M. A. Eastwood, and N. MacLean (1966), Bile acids in the rat; Studies in experimental occlusion of the bile duct, *J. Lipid Research* **7**, 83-94.
- McAnalley, B. H. and G. Prairie (1988), Process for preparation of aloe products, produced thereby and components thereof, US patent 4,735,935
- Neely, W. B. (1957), Infrared spectra of carbohydrates. In *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* Vol. 12, M. L. Wolfrom, and R. S. Tipson, Eds. p13, Academic Press Inc., New York.
- Fujikawa, T., T. Anno, and M. Wada (1975), Sulfated polysaccharide of thallus of brown seaweed *Undaria pinnatifida*, Wakame, *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **49**(12), 667-669.
- Schneeman, B. O. (1987), Soluble vs. insoluble fiber - Different physiological responses, *Food Technol.* **41**, 81-82.
- Lee, K. S. and S. R. Lee (1996), Retarding Effect of dietary fibers on the glucose and bile acid movement across a dialysis membrane *in vitro*, *Korean J. Nutr.* **29**(7), 738-746.
- Story, J. A. (1985), Dietary fiber and lipid metabolism, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **180**, 447-452.