

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

6. 랫드 분변의 장내균총의 변화에 미치는 저분자 Alginate의 영향

김육용 · 조영제*

주식회사 MSC 연구소, *부경대학교 식품생명공학과/수산식품연구소

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

6. Effects of Depolymerized Alginate on Fecal Microflora in Rats

Yuck-Yong KIM, Young-Je CHO*

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

*Faculty of Science and Biotechnology/Institute of Seafood Science, Pukyong National Univ., Pusan 608-737, Korea

To clarify functionality of depolymerized alginate obtained by hydrolysis of alginate through a heating process at 121°C on gastrointestinal physiology, the effects of a depolymerized alginate on fecal microflora and the intestinal environment were studied in rats. Rats were fed with diets containing 1, 5 and 10% of each depolymerized alginate (HAG-10, HAG-50 and HAG-100) and alginate for 35 days. Among 20 species of authentic intestinal bacteria, *Bacteroides ovatus* showed the abilities to ferment HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate. The 1, 5 and 10% of HAG-50 and 1% of alginate diets resulted in the increased ratio of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* to total bacteria, while the 5 and 10% alginate diets decreased in feces of rats, significantly ($p < 0.01$). These results suggested that 5% HAG-50 diets contribute to an improvement of intestinal microflora in rats.

Key words: Depolymerized alginate, Gastrointestinal physiology, Fecal microflora, Intestinal environment, Authentic intestinal bacteria, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*

서 론

알긴산은 인체의 소화효소에 의해 분해되지 않는 식이섬유원으로써 장내세균중 유해미생물의 증식을 억제하고 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus*와 같은 유익한 균의 증식을 촉진하여 (Hidaka et al., 1986; Fujii et al., 1992; Kuda et al., 1992a, b, 1994; Kawadu et al., 1995), 장내미생물의 균총을 개선시킨다. 저분자화한 alginate를 건강한 남성에게 섭취시키면, 분변중의 *Bifidobacterium*이 증가되고 pH가 감소하게 된다고 보고하였다 (Kuda et al., 1994). 장관내에서 식이섬유의 발효양상은 분자량, 점도, 함량 및 pH 등의 특성에 따라 달라지며 (Hill et al., 1971; Peach et al., 1974; Finegold et al., 1974; Reddy et al., 1975a, b; Drasar et al., 1976), 식이섬유는 장관내에서 혐기적 발효대사산물인 단쇄지방산 (유기산)을 생성하는데, 이는 장내의 pH를 유익한 균인 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus*의 생육 최적 pH로 저하시켜 유해미생물의 증식을 억제함과 아울러 유익한 균의 증식을 촉진시켜서 장내미생물의 균총을 정상화하고, 설사와 변비를 정상변으로 개선시키는 기능을 가지고 있다고 하였다 (Burkitt et al., 1972; Levine et al., 1974; Takahashi et al., 1993, 1994a, b, c). *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium*은 젖산과 초산 등의 유기산을 다량 생성하여 유해미생물의 장관내 정착을 억제하므로써 설사 등의 장질환을 방지하고 숙주의 면역기구를 자극하여 감염에 대한 저항력을 높여 주는 반면, 유해미생물인 *Clostridium*과 *E.*

*coli*는 각종 부패성물질과 독소 및 발암물질 등을 생산하여 질병유발, 발암, 면역력감퇴 등을 초래하게 된다고 보고하였다 (Russell, 1979; Mitsuoka, 1982; Yazawa and Tamura, 1982).

따라서, 본 연구에서는 가열가수분해법으로 제조한 저분자 alginate인 HAG-10 (평균분자량 약 10,000), HAG-50 (평균분자량 약 50,000), HAG-100 (평균분자량 약 100,000) 및 alginate를 랫드에 장기간 섭취시켰을 때, 분변중의 장내미생물균총의 변화를 관찰하여 소화생리의 특성을 개선시키는 최적의 저분자 alginate를 찾고자 실험하여 그 결과를 정리하였다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

실험에 사용한 원료, 다시마 alginate 및 저분자 alginate (HAG-10, HAG-50, HAG-100)는 전보 (Kim and Cho, 2000)와 같이 제조하여 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 실험동물, 사육조건, 실험군의 구성 및 식이조성

전보 (Kim and Cho, 2001)와 같이 설정하여 실험하였다.

2) *In vitro*에 있어서 장내세균에 의한 저분자 alginate의 이

용성

장내세균의 대표적인 균주 18종과 식중독세균 2종 (*Clostridium perfringens*와 *Pseudomonas aeruginosa*)의 총 20종 (보존표준균주)을 한국과학기술원 유전공학연구소 유전자은행에서 분양받아 실험에 사용하였다. GAM당분해용 반유동배지 (Nissui, Japan)에 0.5% HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate를 각각 첨가한 시험배지 4 mL를 조제하고, 여기에 전배양한 균액을 1백금이 접종하여 37°C에서 72시간 배양하였다. 세균의 증식에 미치는 각 당질의 효과를 600 nm에서 측정된 흡광도와 배양액의 pH의 변화로 나타내었다.

3) 분변의 수집 및 처리

사육 7일마다 분변을 수집후 즉시 CO₂로 치환하고 4°C의 혐기적 조건하에 이송하여 즉시 약 1g을 취해 멸균된 유리균질기에 넣고 분변에 대하여 9배량의 CO₂로 치환된 멸균혐기회석용액 (0.85% NaCl, 0.1% L-cystine · HCl, 0.1% sodium thioglycolate)을 넣어 10분간 균질시킨 후에 심진회석하여 시료로 사용하였다.

4) 배지 및 배양조건

실험에 사용한 배지 및 배양조건은 Mitsuoka et al. (1976)의 방법에 준하여 Table 1과 같이 실시하였다. 즉, 3종의 비선택배지인 BL (Nissui, Japan), EG (Nissui, Japan) 및 TS (Difco, U.S.A.)와 11종의 선택배지인 BS (Eiken, Japan), ES (Nissui, Japan), LBS (Eiken, Japan), VS (Eiken, Japan), NN (Eiken, Japan), NBGE 1/5 (Eiken, Japan), PO (Eiken, Japan), PEES (Difco, U.S.A.), DHL (Eiken, Japan), TATAC (Difco, U.S.A.) 및 PD (Difco, U.S.A.)에 적정 심진회석한 분변시료를 0.5 mL 도포하고 호기배양 (TS, PEES, DHL, TATAC, PD)의 경우는 37°C에서 36~60시간 및 25°C에서 120시간, 혐기배양 (BL, EG, BS, ES, LBS, VS, NBGT 1/5, NN, PO)의 경우는 GasPak anaerobic system (BBL) 법으로 37°C에서 60시간 배양하여 출현 colony에 대하여 colony

형태, 출현빈도수, 호기적 발육의 유무, gram염색성 및 세포형태를 관찰하여 간이동정하였으며, 균수와 총균수를 계산하여 대수값으로 나타내었다.

5) 통계처리

분석결과는 SAS (Statistical Analysis System) 통계 패키지로 처리하여 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, 각 기간별 유의성 검증은 student *t*-test로 하였다.

결과 및 고찰

1. *In vitro*에 있어서 장내세균에 의한 저분자 alginate의 이용성

장내세균의 대표적인 균주 19종과 식중독세균 2종 (*Clostridium perfringens*와 *Pseudomonas aeruginosa*)의 총 20종 (보존표준균주)에 대하여 HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate가 증식에 미치는 영향을 검토하여 Table 2에 나타내었다. *Bacteroides ovatus*는 HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate를 분해 후 당기질로 이용하여 현저한 증식을 나타내었고, 또한 이 균주는 HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate의 존재하에 증식이 촉진되었다. *Megamonas hypermegas*는 HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate를 이용하여 약간 증식되었으나, 그 외의 균주에서는 기질로서의 이용성을 전혀 나타내지 않았으므로 장내미생물에 의해 분해되지 않는 식이섬유원임을 알 수 있었다.

이러한 결과는, Fujii et al. (1992)이 갈조류종의 알긴산, laminaran, fucoidan의 대표적인 사람의 장내세균에 의한 기질이용성을 *in vitro*에서 검토한 결과, *Bacteroides ovatus*는 alginate를 이용하였으며, 또 이 균주는 alginate에 의해 증식이 촉진되었다는 보고와 일치하였고, Salyer et al. (1977a, b, c)도 여러가지 다당류에

Table 1. Culture media and incubation condition for fecal microflora in rats

Medium	Microorganisms	Dilution	Incubation Temp. (°C)	Incubation Time (hrs)
Aerobic incubation				
TS blood agar (Difco, U.S.A.) ⁺	Predominant aerobes	10 ^{-5, -6, -7, -8}	37	36
DHL agar (Eiken, Japan)	Enterobacteriaceae	10 ^{-1, -3, -5, -6}	37	36
TATAC agar (Difco, U.S.A.) ⁺	<i>Streptococcus</i>	10 ^{-1, -3, -5, -6}	37	36
PEES agar (Difco, U.S.A.) ⁺	<i>Staphylococcus</i>	10 ^{-1, -3, -5, -6}	37	36
PD agar (Difco, U.S.A.)	Yeast	10 ^{-1, -3, -5, -6}	25	120
Anaerobic incubation				
EG agar (Nissui, Japan)	Predominant anaerobes	10 ^{-5, -6, -7, -8}	37	60
BL agar (Nissui, Japan)	Predominant anaerobes	10 ^{-1, -3, -5, -7}	37	60
NBGT 1/5 agar (Eiken, Japan) ⁺	Bacteroidaceae	10 ^{-1, -3, -5, -7}	37	60
BS agar (Eiken, Japan) ⁺	<i>Bifidobacterium</i>	10 ^{-1, -3, -5, -7}	37	60
ES agar (Nissui, Japan) ⁺	<i>Eubacterium</i>	10 ^{-1, -3, -5, -7}	37	60
VS agar (Eiken, Japan) ⁺	<i>Veillonella/Megasphaera</i>	10 ^{-1, -3, -5, -7}	37	60
LBS agar (Eiken, Japan) ⁺	<i>Lactobacillus</i>	10 ^{-1, -3, -5, -7}	37	60
NN agar (Eiken, Japan) ⁺	<i>Clostridium perfringens</i>	10 ^{-1, -3, -5, -7}	37	60
PO agar (Eiken, Japan) ⁺	<i>Clostridium</i> -other	10 ^{-1, -3, -5, -7}	37	60

⁺ Method of Mitsuoka (1982, 1986) and Mitsuoka et al. (1976).

Table 2. Effects of HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate on the growth of microorganisms

Microorganisms	Alginate		HAG-10		HAG-50		HAG-100	
	AP	GP	AP	GP	AP	GP	AP	GP
<i>Bacteroides ovatus</i> (ATCC 8483)	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Bacteroides vulgatus</i> (ATCC 8482)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacteroides distasonis</i> (ATCC 8503)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacteroides fragillis</i> (ATCC 43937)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Megamonas hypermegas</i> (ATCC 25560)	-	+	-	+	-	+	-	+
<i>Eubacterium aerofaciens</i> (ATCC 29738)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Eubacterium ventriosum</i> (ATCC 27560)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Clostridium clostridioforme</i> (ATCC 29084)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Clostridium ramosum</i> (ATCC 13937)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Clostridium perfringens</i> (ATCC 27057)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (ATCC 29521)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bifidobacterium infantis</i> (ATCC 25962)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bifidobacterium breve</i> (ATCC 15701)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> (ATCC 15706)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bifidobacterium longum</i> (ATCC 15708)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Peptostreptococcus productus</i> (ATCC 35244)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 47015)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC 25307)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 49474)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27559)	-	-	-	-	-	-	-	-

AP: Acid production (++, pH lower by more than 0.5 compared with the control; +, pH lower than control; -, same level of pH compared to control).

GP: Growth promotion(++ , A_{660nm} higher by more than 0.2 compared with the control; +, A_{660nm} higher than control; -, same level of A_{660nm} compared to control).

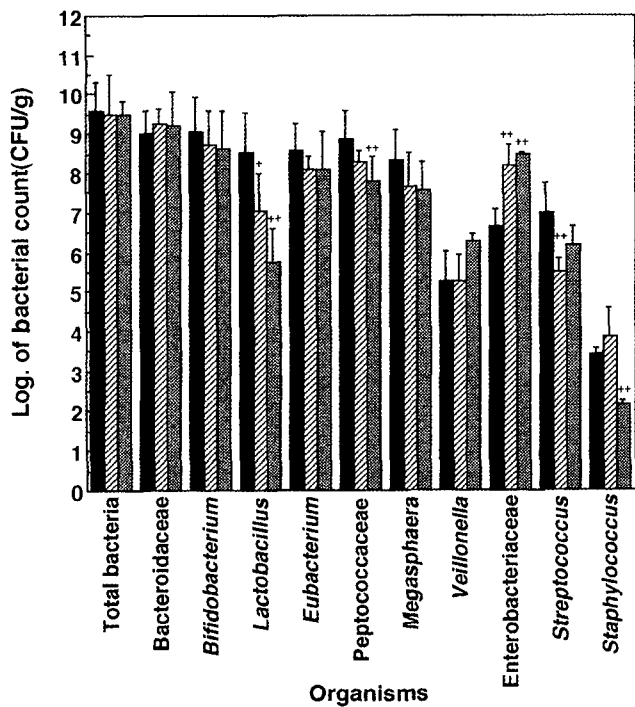


Fig. 1. Changes of fecal microflora in rats fed fiber-free diets. All data were calculated by Mean±S.D. for 7 individuals of bacterial counts per g of wet feces. +, ++: Significantly different in student t-test from the before intake (+, p<0.05; ++, p<0.01). ■, Before intake. ▨, During intake for 21 days. ▩, During intake for 35 days.

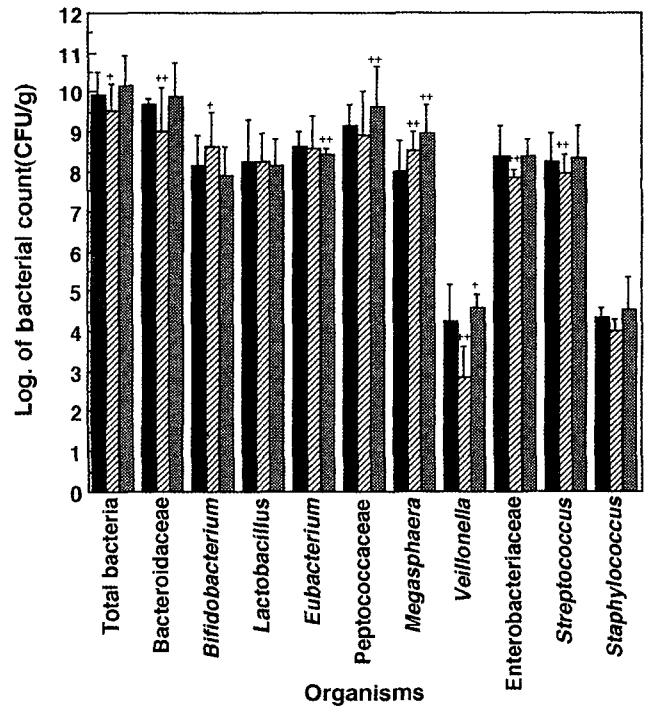


Fig. 2. Changes of fecal microflora in rats fed diets containing 5% HAG-10. All data were calculated by Mean±S.D. for 7 individuals of bacterial counts per g of wet feces. +, ++: Significantly different in student t-test from the before intake (+, p<0.05; ++, p<0.01). ■, Before intake. ▨, During intake for 21 days. ▩, During intake for 35 days.

대하여 장내세균에 의한 기질 이용성을 조사한 결과, *Bacteroides ovatus*는 alginate를 분해하여 당기질로 이용하였다는 결과와 일치하였다.

2. 분변중의 장내미생물군총의 변화

무첨가구의 장내균총 변화를 대수값으로 환산하여 Fig. 1에 나타내었다. 총균수의 변화는 사육기간에 관계없이 거의 변화가 없었으나, Bacteroidaceae은 이후 증가하였고 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus*는 유의적 ($p < 0.05$, $p < 0.01$)인 현저한 감소를 보였다. *Eubacterium*과 Peptococcaceae는 급격한 감소를 보였으며, *Megasphaera*, *Veillonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* 및 Yeast는 거의 변화가 없었으나, Enterobacteriaceae는 유의성 ($p < 0.01$)있게 증가하였다.

5% HAG-10은 Fig. 2와 같이, 무첨가구와 유사하였으나 총균수가 점점 증가하였고 ($p < 0.01$), *Lactobacillus*가 35일후에는 약간 증가하는 경향을 나타내었다. Fig. 3에 5% HAG-50의 장내균총의 변화를 나타내었는데, 총균수, Bacteroidaceae, *Bifidobacterium* 및 *Lactobacillus*는 뚜렷한 유의성 ($p < 0.01$)으로 현저히 증가하였고 *Eubacterium*과 Peptococcaceae도 유의적 ($p < 0.01$)으로 뚜렷한

증가를 보였으나, *Megasphaera*, Enterobacteriaceae, *Streptococcus* 및 *Staphylococcus* 등은 유의적 ($p < 0.01$)인 감소를 보였다. 5% HAG-100 (Fig. 4)에서는 Bacteroidaceae는 거의 변화가 없었고 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus*는 증가하였으며, *Megasphaera*는 오히려 유의적 ($p < 0.01$)으로 증가하였다. 5% alginate (Fig. 5)는 총균수, Bacteroidaceae, *Bifidobacterium* 및 *Lactobacillus*는 유의적 ($p < 0.01$)으로 감소하였으나, *Eubacterium*, *Veillonella* 및 *Staphylococcus*는 유의적 ($p < 0.01$, 0.05)으로 증가하였다. 장내미생물 중 유익한 균인 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus*의 변화를 각각 Fig. 6과 7에 나타내었는데, 무첨가구에서 모두 급격히 저하하는 경향을 보였고, 10% HAG-10, 1%, 5% 및 10% HAG-50, 그리고 1% alginate에서 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus* 모두 유의적 ($p < 0.01$)으로 증가하였으나, 유해미생물들은 현저히 ($p < 0.01$) 감소하였으며, 5%와 10% alginate에서는 반대로 유익한 균인 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus*는 오히려 급격히 ($p < 0.01$) 감소하였고 유해미생물들은 현저히 증가하는 경향을 보였다. 이것은 alginate가 장내세균 주위에 고점성과 점질물의 피막을 형성하여 운동성을 저하시키고 발육 및 증식에 필요한 에너지원인 영양분의 공급을 차단하기 때문에 증식이 억제되고 오히려 사멸된 것으로 생각된다.

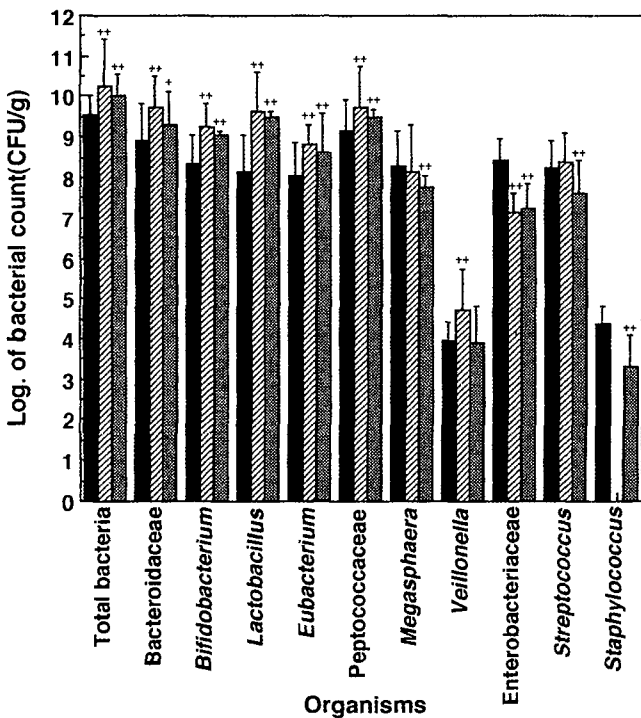


Fig. 3. Changes of fecal microflora in rats fed diets containing 5% HAG-50. All data were calculated by Mean±S.D. for 7 individuals of bacterial counts per g of wet feces. +, ++: Significantly different in student t-test from the before intake (+, $p < 0.05$; ++, $p < 0.01$). ■, Before intake. ▨, During intake for 21 days. ▩, During intake for 35 days.

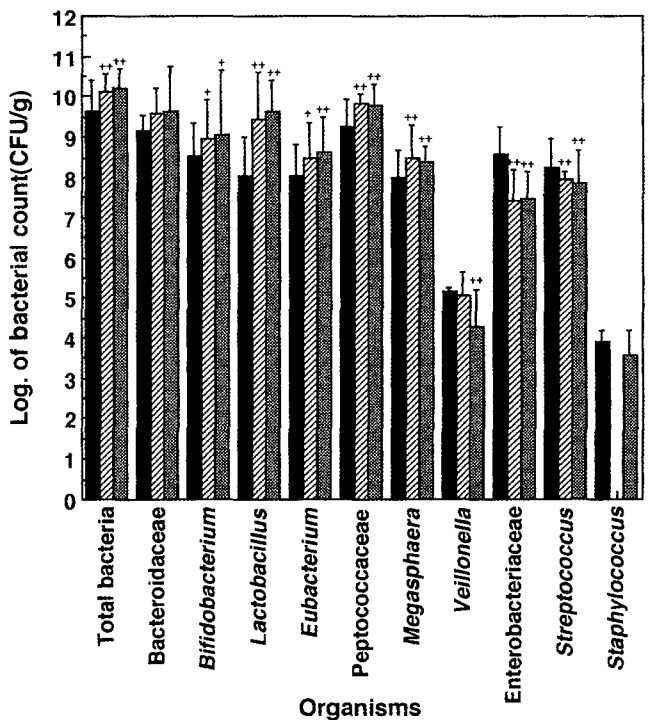


Fig. 4. Changes of fecal microflora in rats fed diets containing 5% HAG-100. All data were calculated by Mean±S.D. for 7 individuals of bacterial counts per g of wet feces. +, ++: Significantly different in student t-test from the before intake (+, $p < 0.05$; ++, $p < 0.01$). ■, Before intake. ▨, During intake for 21 days. ▩, During intake for 35 days.

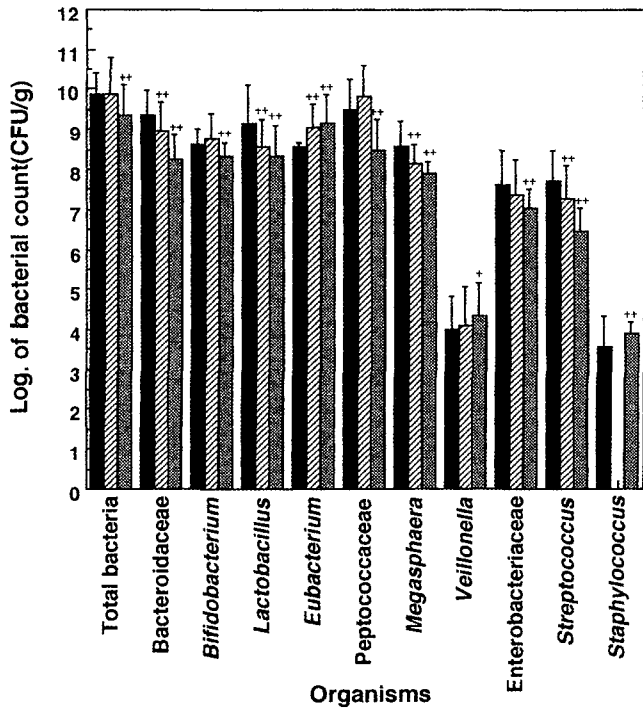


Fig. 5. Changes of fecal microflora in rats fed diets containing 5% alginate.
 All data were calculated by Mean±S.D. for 7 individuals of bacterial counts per g of wet feces.
 +, ++: Significantly different in student t-test from the before intake (+, p<0.05; ++, p<0.01).
 ■, Before intake.
 ▨, During intake for 21 days.
 ▩, During intake for 35 days.

알긴산은 장내유익균인 *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium*은 유의적으로 증가하였고, 유해세균은 감소시킨다는 알긴산의 장내 유해미생물의 증식억제 작용에 관한 연구 결과들 (Hidaka et al., 1986; Fujii et al., 1992; Kuda et al., 1992a, b, 1994; Kawadu et al., 1995)은 본 실험의 HAG-50의 장내균총의 변화와 일치하는 결과로, 특히 저분자 alginate를 사람에게 섭취시켰을 때, *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium*은 유의적으로 증가하였고, 유해세균 (*Clostridium perfringens*와 *Staphylococcus* 등)은 현저히 감소하였다는 보고 (Kuda et al., 1994)는 본 실험의 결과를 잘 설명해 주고 있다. 10% HAG-10, 1%, 5% 및 10% HAG-50 그리고 1% alginate에서 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus*의 유익균이 현저히 증가하였으나 5%와 10% alginate에서는 오히려 현저한 감소를 보였는데 (Fig. 6, 7), 이러한 결과는, Kuda et al. (1992)이 다시마분말, 알긴산 및 laminaran을 랫드에 섭취시켰을 때, 2% 다시마분말과 10% laminaran 투여구에서 *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium*이 증가되었으나 20% 다시마분말과 10% 알긴산 투여구에서는 오히려 현저히 감소하였다는 보고와 일치하였으며, 식이섬유의 분자량, 점도, 함량 및 pH 등의 특성에 따라 발효양상이 달라지는데 (Finegold et al., 1974; Reddy et al., 1975a), 고분자 (고점성) 일수록 또는 섭취량이 많을수록 유익균의 증식을 방해하여 *Bifidobacterium*과

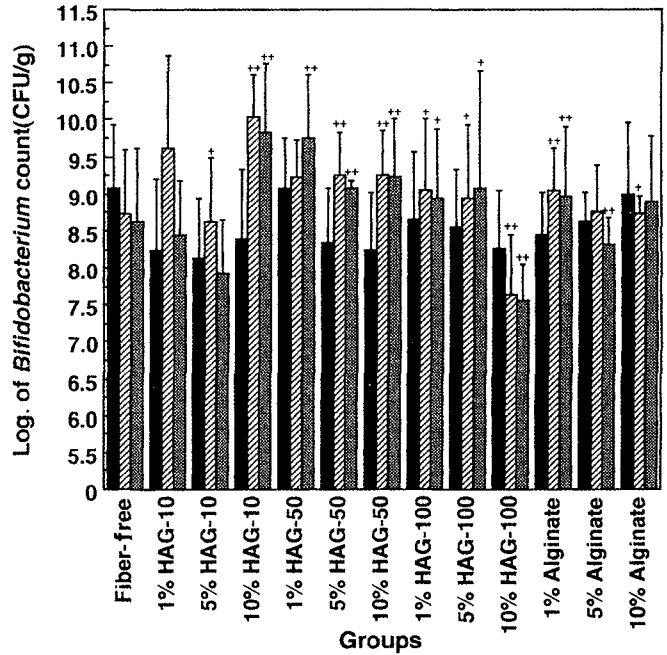


Fig. 6. Changes of fecal *Bifidobacterium* count in rats fed diets containing HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate.
 All data were calculated by Mean±S.D. for 7 individuals of bacterial counts per g of wet feces.
 +, ++: Significantly different in student t-test from the before intake (+, p<0.05; ++, p<0.01).
 ■, Before intake.
 ▨, During intake for 21 days.
 ▩, During intake for 35 days.

*Lactobacillus*는 감소하고 pH와 VBN은 오히려 증가된다는 보고들 (Kuda et al., 1992, 1994; Finegold et al., 1974; Reddy et al., 1975a)과 일치하였다.

따라서, 본 실험의 5%와 10% alginate에서는 고점성으로 인하여 장관내 발효대사산물인 단쇄지방산 (유기산)의 생성이 억제되어 pH의 저하가 일어나지 않았기 때문에 유익균의 증식이 억제되었고, 유해미생물의 증식이 촉진되어 장내미생물의 균총이 악화되었으며, 유해미생물의 증식에 의한 변이원성의 부패물질 (indole, skatol, phenol 및 nitrosoamine류 등)이 생성되었다고 생각된다. 또한, 고점성의 alginate가 유익균의 균체주위를 둘러싸고 피막을 형성하여 발육 및 증식에 필요한 영양분의 공급이 차단되어 유익균의 증식과 발육을 저해하였기 때문에 오히려 사멸된 것으로 사료된다.

요 약

저분자 alginate인 HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate를 랫드에 장기간 섭취시켰을 때, 분변중의 장내미생물균총의 변화를 관찰하여 소화생리의 특성을 개선시키는 최적의 저분자 alginate를 찾고자 실험하였으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

*In vitro*에 있어서 대표적인 장내세균에 의한 HAG-10, HAG-50,

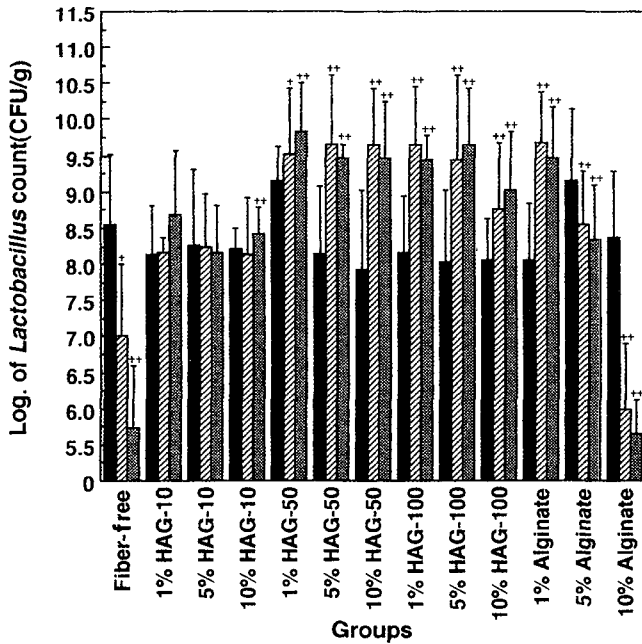


Fig. 7. Changes of fecal *Lactobacillus* count in rats fed diets containing HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate. All data were calculated by Mean±S.D. for 7 individuals of bacterial counts per g of wet feces. +, ++: Significantly different in student *t*-test from the before intake (+, $p < 0.05$; ++, $p < 0.01$). ■, Before intake. ▨, During intake for 21 days. ▩, During intake for 35 days.

HAG-100 및 alginate의 기질이용성을 조사한 결과, *Bacteroides ovatus*는 기질로 이용하였으며, *Megamonas hypermegas*는 약간의 증식하였으나, 그 외의 대부분의 균주는 기질로서의 이용성을 전혀 나타내지 않았다. 분변중 장내균총의 변화는 10% HAG-10, 1%, 5% 및 10% HAG-50 그리고 1% alginate에서 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus* 모두 유의적으로 증가하는 경향을 보였으나 유해미생물들은 현저히 감소하였으며, 5%와 10% alginate에서는 반대로 유익균의 증식이 억제되고 유해균의 증식이 현저히 촉진되었다.

이상의 결과로부터, 저분자 alginate는 대부분의 장내세균에 대한 기질로서의 이용특성을 나타내지 못하는 전형적인 식이섬유원이었으며, 또한 랫드에 있어서 HAG-50의 섭취는 alginate 고유의 기능적 특성을 그대로 유지하면서 장내세균중 유익균인 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus*의 증식을 촉진시키고 유해미생물의 증식을 억제하여 장내미생물균총을 개선시키는 최적의 저분자 alginate임을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

Burkitt, D.P., A.R.P. Walker and N.S. Painter. 1972. Effect of dietary fiber on stools transit times, and its role in the causation of disease. *Lancet*, 30, 1408.

Drasar, B.S. and D.J.A. Jenkins. 1976. Bacteria, diet and large bowel cancer. *Am. J. Clin. Nutr.*, 29, 1410~1416.

Finegold, S.M., H.R. Attebery and V.L. Sutter. 1974. Effect of diet on human fecal flora; Comparison of Japanese and American diets. *Am. J. Clin. Nutr.*, 27, 1456~1469.

Fujii, T., T. Kuda, K. Saheki and M. Okuzumi. 1992. Fermentation of water-soluble polysaccharides of brown algae by human intestinal bacteria *in vitro*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 147~152.

Hidaka, H., T. Eida, T. Takizawa, T. Tokuzawa and Y. Tashiro. 1986. Effect of fructooligosaccharide on intestinal flora and human health. *Bifidobacteria Microflora*, 5, 37~50.

Hill, M.J., J.S. Crowther, B.S. Drasar, G. Howksworth, V. Aries and R.E.O. Williams. 1971. Bacteria and aetiology of cancer of the large bowel. *Lancet*, 1, 95~100.

Kawadu, D., M. Tanaka and T. Fujii. 1995. Effect of polysaccharides of "Susabinori" *Porphyra yezoensis* on intestinal flora. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 61, 59~69.

Kim, Y.Y. and Y.J. Cho. 2000. Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by thermal decomposition. I. Changes in viscosity, average molecular weight and chemical structure of depolymerized alginate. *J. Korean Fish. Soc.*, 33, 325~330 (in Korean).

Kim, Y.Y. and Y.J. Cho. 2001. Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by thermal decomposition. 5. Effects of depolymerized alginate on changes in body weight, organ, pancreatic and small intestinal composition, and intestinal microvilli structure of rats. *J. Korean Fish. Soc.*, 34, 21~26 (in Korean).

Kuda, T., A. Oyamada and T. Fujii. 1994. Effects of depolymerized sodium alginate on human fecal flora and intestinal environment. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 60, 85~90.

Kuda, T., T. Fujii, A. Hasegawa and M. Okuzumi. 1992a. Effect of degraded products of laminaran by *Clostridium ramosum* on the growth of intestinal bacteria. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 1307~1311.

Kuda, T., T. Fujii, K. Saheki, A. Hasegawa and Okuzumi. 1992b. Effects of brown algae on fecal flora of rats. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 58, 307~314.

Levine, G.M., J.J. Deren, E. Steiger and R. Zinno. 1974. Role of oral intake in maintenance of gut mass and disaccharide activity. *Gastroenterology*, 67, 975~982.

Mitsuoka, T. 1982. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora*, 4, 3.

Mitsuoka, T., K. Ohno, Y. Benno, K. Suzuki and K. Namba. 1976. The fecal of man. IV. Communication: comparison of the newly developed method with the old conventional method for the analysis of intestinal flora. *Hyg. I. Abt. Orig.*, A234, 219~233.

Peach, S., F. Fernandez, K. Johnson and B.S. Drasar. 1974. The non-sporing anaerobic bacteria in human faeces. *J. Med. Microbiol.*, 7, 213~221.

Reddy, B.S., J.H. Weisburger and E.L. Wynder. 1975a. Effect of high risk and low risk diets for colon carcinogenesis on fecal microflora and steroids in man. *J. Nutr.*, 105, 878~884.

Reddy, B.S., T. Narisawa, P. Wright, D. Vukusich, J.H. Weisburger and E.L. Wynder. 1975b. Colon carcinogenesis with azoxymethane and dimethylhydrazine in germ-free rats. *Cancer Res.*, 35, 287~290.

- Russel, E.G. 1979. Types and distribution of anaerobic bacteria in the large intestine of pig. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37, 187.
- Salyers, A.A., J.K. Palmer and T.D. Wilkins. 1977a. Laminarinase (β -glucanase) activity in *Bacteroides* from the human colon. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 1118~1124.
- Salyers, A.A., J.R. Vercellotti, S.E. West and T.D. Wilkins. 1977b. Fermentation of mucins, and plant polysaccharides by strains of *Bacteroides* from the human colon. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 319~322.
- Salyers, A.A., S.E. West, J.R. Vercellotti and T.D. Wilkins. 1977c. Fermentation of mucins, and plant polysaccharides by anaerobic bacteria from the human colon. *Appl. Environ. Microbiol.*, 34, 529~533.
- Takahashi, H., S.I. Yang, C. Hayashi, M. Kim, J. Yamanaka and T. Yamamoto. 1993. Effect of partially hydrolyzed guar gum of fecal output in human volunteers. *Nutr. Res.*, 13, 649~657.
- Takahashi, H., N. Wako, T. Okubo, N. Ishihara, J. Yamanaka and T. Yamamoto. 1994a. Influence of partially hydrolyzed guar gum on constipation in women. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 40, 251~259.
- Takahashi, H., S.I. Yang, M. Kim and T. Yamamoto. 1994b. Protein and energy utilization of growing rats fed on the diets containing intact or partially hydrolyzed guar gum. *Com. Biochem. Physiol.*, 197A, 255~260.
- Takahashi, H., S.I. Yang, Y. Ueda, M. Kim and T. Yamamoto. 1994c. Influence of intact and partially hydrolyzed guar gum on iron utilization in rats fed on iron-deficient diets. *Comp. Biochem. Physiol.*, 109A, 75~82.
- Yazawa, K. and Z. Tamura. 1982. Search for sugar source for selective increase of *Bifidobacteria*. *Bifidobacteria Microflora*, 4, 39.
- 光岡知足. 1986. 腸内菌叢の分類と生態. 食生活研究會, 東京, 159~341.

2000년 11월 9일 접수

2001년 2월 20일 수리