

알로에 겔의 *in vitro* 생리기능 특성에 미치는 삼투탈수공정의 영향

김성아 · 백진홍 · 이신영*

주)김정문 알로에 과학연구소, *강원대학교 생물공학과

Effect of DIS Process on *in vitro* Physiological Functionality of *Aloe vera* Gel

Sung-A Kim, Jin-Hong Baek, and Shin-Young Lee*

KJM Aloe R&D Center

*Department of Bioengineering and Technology, Kangwon National University

Abstract

In vitro physiological functions such as jack bean (*Canavalia ensiformis*) urease inhibitory activity and retarding effect of glucose/bile acid of *Aloe vera* gel concentrated by the optimized DIS (Dewatering Impregnation & Soaking) process conditions were examined. Urease inhibitory activity of DIS aloes ranged from 84.6 to 94.4%, which was similar to or higher than 86.3% of fresh aloe. Also, urease inhibitory activity of DIS aloes was maintained at initial levels after heat treatment (90°C, 10 min.) and drying treatment (freeze or hot air drying). Urease inhibition pattern from Lineweaver-Burk plot indicated general non-competitive inhibition, and inhibition constants (K_{IE} and K_{IS}) of DIS aloes were 41-149 and 87-163 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectively. DIS(glucose) and DIS(polyethylene glycol) exhibited the highest retarding effect of glucose and bile acid. Their retarding effects were about 1.6 and 1.8 folds higher than that of fresh aloe after 0.5 and 1 hr of the dialysis, respectively. Conclusively, the above *in vitro* physiological functions of *Aloe vera* gel concentrated by DIS process suggested that aloe products treated with DIS would have the potential benefits for protection against *Helicobacter pylori* and reduction of blood glucose and cholesterol levels.

Key words: dewatering impregnation & soaking, *Aloe vera* gel, urease inhibition, glucose/bile acid retarding effect

서 론

알로에 베라(*Aloe vera* Linne)는 3500년 이상 동안 광범위한 민간치료제로서 널리 사용되어 왔으며, 점차 다양한 약리작용도 새로이 밝혀지고 있다(Coat & Ahola, 1979; Grindlay & Reynolds, 1986; Femenia et al., 1999; Reynolds & Dweck, 1999). 특히, 알로에 베라 겔의 다당류는 면역증강, 항균, 항바이러스, 항당뇨 및 항암활성을 가지며, 항염증효과, 상처치료효과, 위궤양치료효과 등의 치료적 성질을 가지는 것으로 잘 알려져 있으며(Grindlay & Reynolds, 1986; Femenia et al., 1999; Reynolds & Dweck, 1999; Hamman, 2008), 현재 우리나라에서도 알로에에 대해 면역력 증강, 위장건강, 피부건강의 기능성을 인

정하여 그 기능성의 법적표현을 허용하고 있다(KFDA, 2008).

이 중, 알로에의 대표적인 약리작용 중의 하나인 위장보호작용에 대해서는 그동안 lectin 분획(Aloctin A)의 항궤양효과(Saito et al., 1989), 고분자 분획(5,000-50,000 Da)의 알코올성 궤양치료효과(Teradaria et al., 1993), acemannan의 아프타성 구내염(apthous stomatitis)에 대한 치료효과(Galal, et al., 1975; Reynolds & Dweck, 1999) 등이 보고되어지는 등 활발한 연구가 이루어졌다. 그러나 위궤양의 원인균으로 알려져 있는 *Helicobacter pylori* 저해에 관해서는 그 연구가 미미한 편이다.

*H. pylori*는 위의 원위부로부터 십이지장에 이어지는 유문(pylorus)에서 생육하는 나선형의 편모를 갖는 Gram 음성균이다(Blaser, 1992). Marshall과 Warren(1984)에 의해 처음 발견되었으며, WHO에서는 1994년 이 균을 위암의 원인균 및 Class I carcinogen으로 분류하였다. *H. pylori*의 생리학적 특성 중 가장 특이한 점은 강력한 urease(urea aminohydrolase) 활성을 나타내는 것이다. 현재 *H. pylori*의 urease는 pH 4-8의 생육조건을 가진 이 균이 위액의 강한

Corresponding author: Shin-Young Lee, Department of Bioengineering and Technology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

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

E-mail: sylee@kangwon.ac.kr

Received August 12, 2009; revised October 21, 2009; accepted October 21, 2009

산성조건에서 살아갈 수 있도록 도와주는 물질이거나 특이한 발병결정인자로 추정하고 있다(Lee et al., 1999; McGee & Mobley, 1999; Sugiyama et al., 2001; Giudice et al., 2001). 따라서 urease 활성저해제는 위나 십이지장 궤양의 치료에 사용되는데, jack bean(*Canavalia ensiformis*) urease의 저해 동력학 및 저해제 작용기작은 인체 *H. pylori* urease와 매우 유사한 것으로 알려져 *in vitro* urease 모델 계로 사용하고 있다(Ciurli et al., 1999)

한편, 식이섬유(dietary fiber)는 Trowell(1976)이 심장계 질환, 장질환을 비롯한 비만증, 당뇨병, 담석 등 질병과의 관련성을 보고한 이후 그동안 이의 생리적 역할에 대한 연구와 관심이 크게 고조되어 왔다. 식이섬유는 gel을 형성함으로써 음식물의 점성을 높여주고 음식물의 위내 체류시간을 연장시켜 포만감을 제공한다(Krotkiewski, 1987). 또한, 영양소의 소화 및 흡수를 지연시켜 당뇨병 환자의 혈액 내 glucose tolerance를 증진시키는 효과를 가지며(Jenkins et al., 1976; Anderson & Chen, 1979), 장내에서 cholesterol 및 bile acid를 흡착하여 대변 내 배설 및 lipoprotein 대사에 변화를 주어 혈청 cholesterol의 수준을 저하시킬 뿐 아니라 심장병 및 대장암의 발병률을 낮춘다고 보고되고 있다(Kay & Truswell, 1977). 인체 및 동물 실험에서는 혈액 내 glucose 조절효과 및 혈청 내 cholesterol 감소효과도 관찰되고 있다(Lee & Lee, 1996). 그러나 아직도 각종 식이섬유의 구성성분으로 이루어진 천연의 식이섬유 급원에 대한 생리적 효과에 대해서는 많은 실험이 이루어지지 못하고 있다.

이와 관련하여 알로에 잎의 내부 유세포 조직(parenchyma tissue)은 99% 이상의 물을 함유하며, 대표적인 대량 함유 성분은 다당과 섬유질이다. 섬유질은 겔의 약 10%이고, 다당은 겔 고형분의 약 60%인데, 섬유질의 식이섬유함량은 약 98%로 불용성과 수용성의 비는 약 4:1이다. 반면, 다당은 대부분 수용성 식이섬유의 특성을 나타낸다(Baek, 2008). 따라서 알로에는 식이섬유원으로서의 특징도 기대되지만 그동안 그 역할이나 용도적성이 전혀 규명되지 않았으며, 특히, 섬유질은 가공 중 부산물로 폐기되어왔다(Grindlay & Reynolds, 1986; Reynolds & Dweck, 1999).

전보에서 삼투탈수 농축(DIS: Dewatering Impregnation & Soaking) 및 이에 의한 건조제품의 구조적 및 물리적 특성을 조사한 결과, 삼투탈수공정은 알로에의 유효다당함량 유지를 위한 농축이나 알로에 건조의 전처리조작으로서의 효율적인 공정특성을 나타내었다(Kim et al., 2008a, 2008b, 2009).

본 연구에서는 삼투처리한 알로에 겔 농축액의 jack bean (*Canavalia ensiformis*) urease 활성의 저해, glucose 및 bile acid의 *in vitro* 흡수지연효과를 삼투처리하지 않은 신선한 알로에 주스와 비교, 검토하였다. 아울러, 열처리 및 건조 등에 따른 이들의 영향을 검토함으로써 각각의 생

리기능소재화를 위한 기초자료를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 알로에는 (주)김정문알로에의 제주농장에서 수확한 3년산의 알로에 베라(*Aloe vera* Linnne)로, 신선한 알로에 생잎을 4°C의 저온실에 보관하면서 실험에 사용하였다.

실험에 사용한 알로에는 부착 토양 및 부스러기를 제거하기 위해 물로 철저히 세척하였다. 알로인 및 껍질을 제거한 후 두께 1 cm의 슬라이스로 절단하여 삼투탈수 시료로 하였으며, 삼투탈수 전 시료의 평균 수분함량은 습량기준으로 약 99%이었다.

한편, 삼투탈수(DIS) 공정의 침적용 삼투제로는 saccharose(Yakuri Pure Chemicals, Japan), glucose anhydrous(Dae Jung Chemicals & Metals, Korea), NaCl (Dae Jung Chemicals & Metals, Korea), high fructose syrup (Samyang Genex, Korea) 및 polyethylene glycol 400(clear viscous liquid : Sigma, USA)을 사용하였다.

삼투탈수 시료의 조제

삼투탈수(DIS) 실험은 밀폐된 유리제 용기를 온도조절 항온수조에 넣어 수행하였다. 용기에 각 삼투용액 및 두께 1 cm의 알로에 슬라이스를 넣고(5:1, w/v) 30°C에서 2시간 동안 삼투처리하였다. 이때, 삼투처리 용액은 전보(Kim et al., 2008b)에서 선정된 적정조건의 용질, 즉 glucose (50%, w/v) 및 saccharose(60%, w/v)에 각각 NaCl(0.25 또는 0.5%, w/v)을 병용 사용한 혼합 삼투용액과 high fructose syrup(60%, v/v) 및 polyethylene glycol 400(50%, v/v)의 단독 삼투용액을 사용하였다. 신선한 알로에 및 삼투처리한 알로에는 4겹의 cheese cloth로 쌓아 압착하여 주스를 얻었으며, 이를 원심분리(8,000 rpm, 30 min)한 상등액을 그대로 (또는 건조하여) 시료로 하였다. 건조는 동결건조 또는 70°C 오븐에서 4시간 동안 열풍건조하였으며, 얻어진 시료는 saccharose, glucose, high fructose syrup 및 polyethylene glycol의 삼투제에서 얻어진 것을 각각 DIS(S), DIS(G), DIS(HF) 및 DIS(PEG)로 구분하였다.

Jack bean urease 활성저해효과

Jack bean(*Canavalia ensiformis*) urease의 활성은 alkalimetric 법(Mobley et al., 1988)에 의해 다음과 같이 측정하였다. 즉, 2 mM EDTA를 포함한 20 mM phosphate buffer (pH 7.0)에 0.5 mg/mL jack bean urease(Sigma U-1500)와 탐색하고자 하는 저해 물질을 각각 1 mL씩 넣은 후 0.02% phenol red 0.2 mL를 혼합하고 30°C에서 30분간 예비배양하였다. 예비배양 후 2 mM EDTA를 포함한

20 mM phosphate buffer(pH 7.0)로 만든 urea(1.665 mM-333 mM) 1 mL와 일정시간(~40분) 반응시켜 560 nm에서의 흡광도를 측정하였다(Tabak et al., 1996; Juskiewicz et al., 2004). Urease inhibition rate(%)는 다음 식을 사용하여 산출하였다(Matsubara et al., 2003).

Inhibition rate (%) =

$$\frac{(OD_{560}control - OD_{560}sample)}{OD_{560}control} \times 100$$

한편, 동력학적 특성은 기질(urea) 및 시료의 농도를 달리하여 initial velocity(dA/min)를 측정하고, 최대반응속도 (V_{max})와 Michaelis-Menten 상수(K_m)값을 Lineweaver-Burk plot으로부터 구하였다. 또 유리 효소 및 효소-기질복합체에 대한 각각의 저해상수 K_{IE} 및 K_{IES} 값은 Lineweaver-Burk plot의 기울기 및 절편값을 저해제 농도에 대해 도시한 secondary re-plot으로부터 산출하였다(Henderson, 1978).

Glucose 및 bile acid의 *in vitro* 흡수지연효과

In vitro 법에 의한 glucose 및 bile acid의 흡수지연효과는 식이섬유가 투석막을 빠져나오는 glucose 및 bile acid의 투과를 지연하는 원리를 이용한 Adiotomre et al.(1990)의 반투막 투과실험법으로 각각 다음과 같이 측정하였다.

Glucose 흡수지연효과: 유리상태의 glucose는 투석막을 그대로 통과하지만 고분자 물질에 흡착된 glucose는 투석막을 통과하지 못하므로 투석 외액의 glucose 농도를 분석하여 측정하였다. 넓이 3.2 cm², 길이 10 cm의 투석막 (Sigma D6066 : M.W. cut-off<1200)을 0.1% sodium azide 용액에 하룻밤 담근 후 사용하였다. 투석막의 한쪽 끝을 목면실로 단단히 묶은 후 투석막 내부에 건조 시료 0.1 g 및 원액 1 mL를 넣고, 여기에 glucose 36 mg을 용해시킨 0.1% sodium azide 용액 6 mL를 넣었다. 반대편의 투석막 끝도 단단히 묶은 후 150 mL 용량의 용기에 넣고 14시간 동안 수화시켰으며, 이 때 대조구의 경우는 시료만을 제외하여 마찬가지로 방법으로 실시하였다. 수화종료 후 용기에 0.1% sodium azide 용액 100 mL를 첨가하였으며, 이를 37°C로 유지한 진탕 항온조에서 100 rpm으로 6시간 동안 투과실험을 실시하였다. 일정시간 간격으로 투석 외액 1 mL씩을 취하여 glucose 함량을 측정하였으며, 흡수지연효과를 다음 식에 의해 계산하였다.

Glucose dialysis retardation index (%)=

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

이때, glucose 함량은 DNS 법(Miller, 1959) 또는 ABTS

법(White & Kennedy, 1981)으로 측정하였다.

Bile acid 흡수지연효과: Glucose의 경우와 마찬가지로, 유리상태의 bile acid는 투석막을 빠져나오므로 투석막 내부에 탈수시료 0.1 g 및 원액 1 mL를 넣고 0.1% sodium azide 용액으로 조제한 0.05 M phosphate buffer(pH 7.0)에 1 L당 15 mmole 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 시간간격으로 1 mL씩을 취하여 bile acid 함량을 측정하였으며, bile acid 흡수지연효과는 다음 식에 의해 계산하였다.

Bile acid dialysis retardation index (%)= 100-

$$\frac{\text{Bile acid diffused form sack containing fiber}}{\text{Bile acid diffused form sack without fiber}} \times 100$$

이때, bile acid 함량은 Boyd 등의 방법(1966)에 따라 측정하였다. 즉, bile acid(Sigma B-8756) 용액 0.5 mL에 70% H₂SO₄ 용액 2.5 mL를 넣고 5분 후에 0.25% furfural 용액 0.5 mL를 각각 첨가하였다. 60분간 방치하여 분홍색이 최대로 발색된 후의 최대 흡수파장인 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

Jack bean urease 활성저해효과

알로에의 위장보호 작용 연구의 일환으로 *H. pylori*의

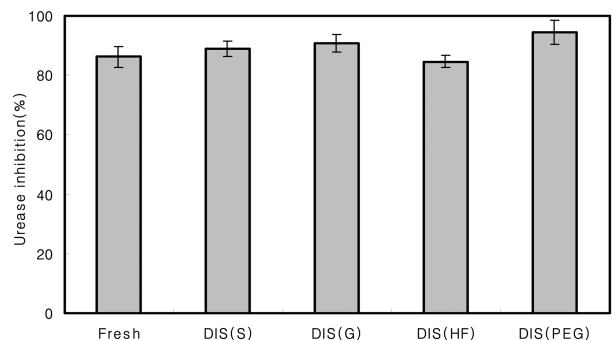


Fig. 1. Urease inhibition rate of fresh and osmotic dehydrated aloe gel products after 40 min. of incubation time (urea concentration was 166.5 mM, and values represent the mean±SD of three replications)

DIS(S): sample treated with saccharose/NaCl as osmotic agent.
 DIS(G): sample treated with glucose/NaCl as osmotic agent.
 DIS(HF): sample treated with high fructose syrup as osmotic agent.
 DIS(PEG): sample treated with polyethylene glycol as osmotic agent.

urease 활성저해효과를 알아보기로 인체유래 urease와 저해 기작이 유사한 jack bean urease를 사용하여 삼투탈수 알로에의 urease 저해활성을 조사하였다.

예비실험결과, 효소반응 40분에서 최대흡광도를 보여 반응시간은 40분으로 하였으며, 삼투처리하지 않은 알로에와 삼투탈수 알로에 시료의 urease 저해활성을 비교, 측정된 결과는 Fig. 1과 같다.

삼투탈수 알로에 액상시료 1 mL를 첨가하였을 때 urease 활성의 저해율은 시료에 따라 다소 차이를 보여 DIS(HF) 시료가 84.6%의 저해율로 삼투처리하지 않은 알로에 (86.3%)보다 낮았다. 그러나 나머지 시료는 모두 88.9-94.4%로 더 높은 저해율을 보여 삼투탈수처리로 이러한 생물활성이 유지되거나 향상됨을 보였다. 하지만 평균차이의 T-검정결과, DIS(G)와 DIS(PEG)만이 유의차($p < 0.05$)를 보여 이들 시료가 신선한 알로에와 비교하여 평균에 차이가 있음을 보였다. 특히, DIS(PEG)는 신선한 알로에보다 약 9.4%나 증가된 94.4%의 가장 높은 저해율을 나타내었다($p = 0.002$).

신선한 알로에주스 및 삼투탈수알로에 농축액의 고형분 함량은 약 0.5-1%이므로 1 mL 첨가에 따른 이러한 jack bean urease 저해정도는 thyme 열수추출물 (3 mg/mL)의 약 45% 저해(Tabak et. al, 1996), 소목, 소엽 및 황련 (10 mg/mL)의 80% 이상의 저해 및 호장근 메탄올추출물 (2 mg/mL)의 85% 저해(Lee et. al., 2003; Lee et. al., 1999) 등의 보고된 값과 비교하였을 때 그 효과가 매우 우수한 것으로 판단되었다.

한편, 삼투탈수제품은 불안정하여 대부분의 경우 냉동, 동결건조, 열풍건조, 살균 등의 공정을 병행한다(Ponting, 1973; Hawkes & Flink, 1978; Najundaswamy et al., 1978; Palou et al., 1994). 따라서 Fig. 2 및 3에서와 같이, 열처리 및 건조효과를 조사하였다. 먼저 Fig. 2는 90°C에서 10

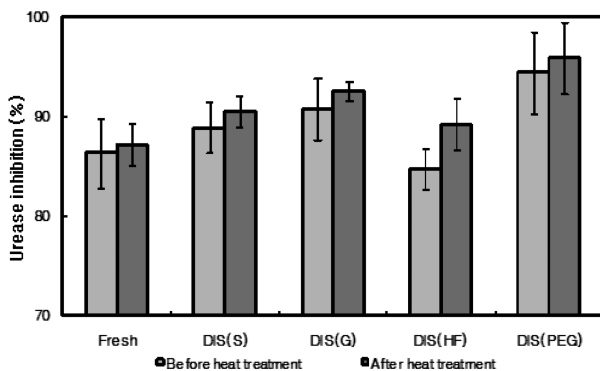


Fig. 2. Effect of heat treatment on urease inhibition rate in fresh and DIS aloe gel products after 40 min. of incubation time (Urea concentration was 166.5 mM, and values represent the mean±SD of three replications). For illustration of symbols, see Fig. 1.

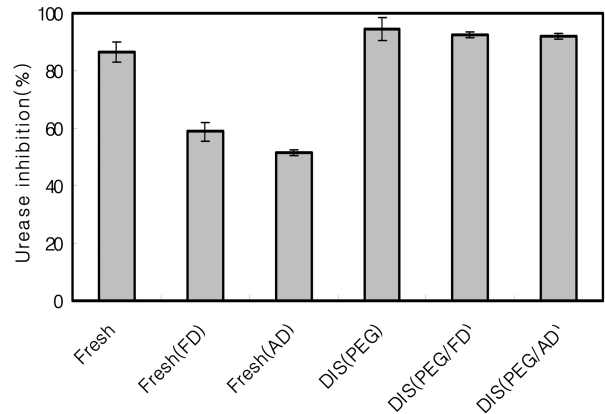


Fig. 3. Effect of drying treatments on urease inhibition rate of fresh and osmotic dehydrated aloe gel products after 40min. of incubation time

(Urea concentration was 166.5 mM, and values represent the mean±SD of three replications). For illustration of symbols, see Fig. 1. FD and AD mean freeze drying and air drying, respectively. Concentration of dried sample was 0.5% (w/v).

분간 열처리 한 후 삼투탈수 알로에 시료의 urease 저해 활성을 신선한 알로에주스와 함께 조사한 결과이다.

열처리를 하지 않은 삼투탈수 알로에 및 신선한 알로에 시료의 urease 저해활성은 모두 84.6-94.4%의 높은 저해활성을 나타내었다. 반면, 열처리 한 후의 저해활성은 모든 시료에서 오히려 미미한 증가를 보여 알로에시료는 열처리 공정을 거치더라도 urease 저해활성효과에는 영향을 미치지 않음을 확인할 수 있었다($p < 0.05$).

Fig. 3은 삼투탈수 농축액(DIS(PEG))과 신선한 알로에주스의 건조에 따른 urease 저해활성의 변화를 측정 결과이다. 신선한 알로에 경우는 건조 전 urease 저해활성이 86.4%이었으나 신선한 알로에와 비슷한 고형분 농도인 5 mg/mL의 동결건조 또는 열풍건조시료는 각각 58.8 및 51.6%로 urease 저해활성이 크게 감소하였다($p < 0.05$). 이는 알로에의 건조탈수가 원래 제품의 물리화학적 성질을 변화시키며, 그들의 기능적 성질을 수식(modification)하기 때문이라고 생각된다(Thibault et al., 1992). 예로서 Femenia et al.(2003)은 탈수건조에 의해 알로에의 대표적인 유효성분인 다당이 비가역적 수식을 일으키며, 이에 따라 이들 고분자에 의해 제안된 생리적 및 약리적 성질에서의 중요변화를 촉진하는 원래의 구조에 영향을 줄 수 있다고 하였다. 그러나 삼투탈수 알로에 건조시료(5 mg/mL)는 건조 전 94.4%이었으나 동결건조 및 열풍건조 후에도 각각 92.4 및 91.9%로 건조에 따른 활성저해가 매우 미미하였으며, 건조 방법에 따라서도 차이가 없었다. 또한, 평균차이의 T-검정결과 유의차를 보이지 않아 urease 저해활성에 대한 안정성을 나타내었다. 이러한 결과는 삼투탈수 처리가 건조나 저온살균 등의 전처리로서 적합하다는 다른 보고자들의 보고서와 잘 일치한다(Ponting, 1973; Hawkes & Flink,

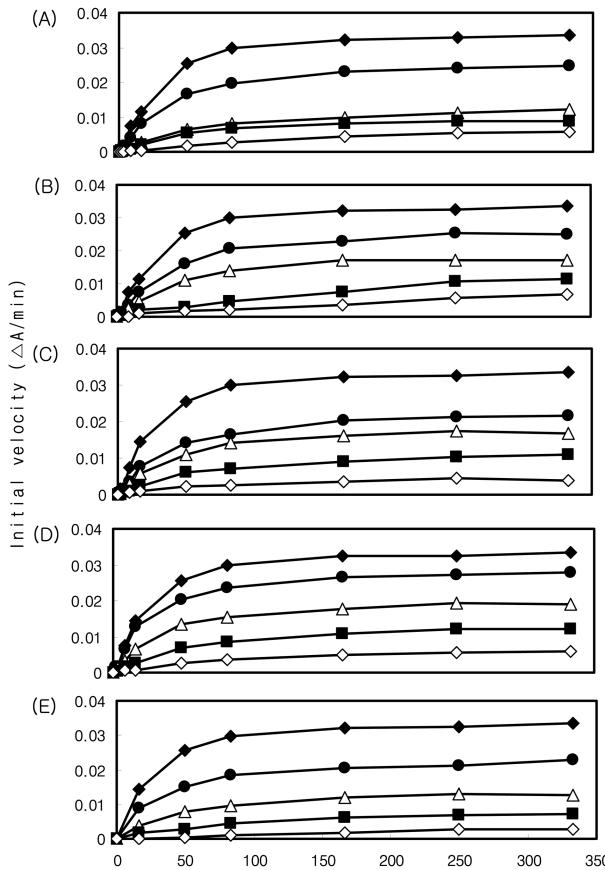


Fig. 4. Urease activity as a function as function of urea concentration in the absence or presence of different dilution factors of fresh and DIS aloe gels
 (A) Fresh aloe, (B) DIS(S), (C) DIS(G), (D) DIS(HF), (E) DIS(PEG), ◆ No inhibitor, ● 0.1x, △ 0.2x, ■ 0.5x, ◇ 1x. For illustration of symbols, see Fig. 1.

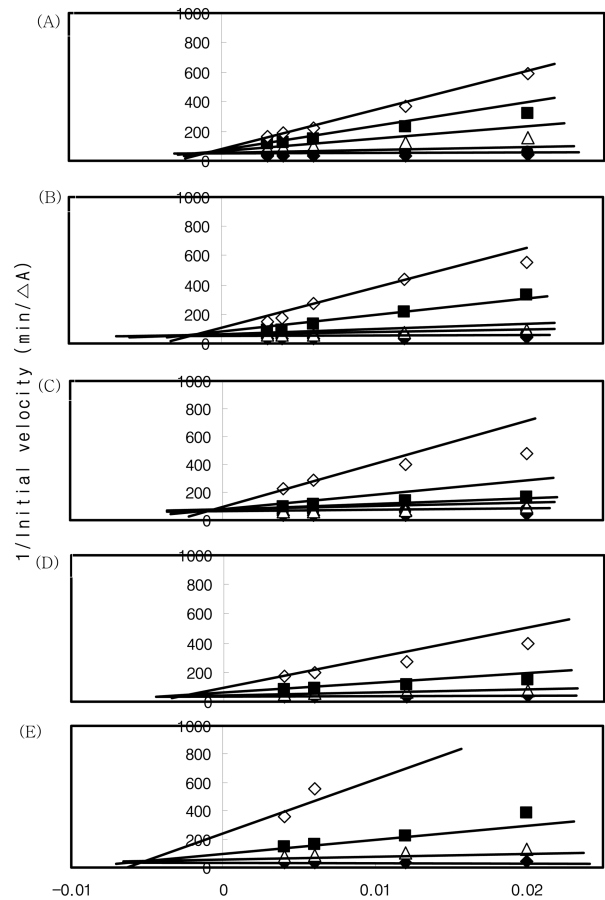


Fig. 5. Lineweaver-Burk (LB) plots in urea concentrations of 1.665~333 mM (derived from Fig. 4)
 (A) Fresh aloe, (B) DIS(S), (C) DIS(G), (D) DIS(HF), (E) DIS(PEG), ◆ No inhibitor ● 0.1x, △ 0.2x, ■ 0.5x, ◇ 1x. For illustration of symbols, see Fig. 1.

1978; Najundaswamy et al., 1978; Palou et al., 1994).

한편, 원액을 2, 5 및 10배로 희석하여 알로에시료의 농도를 달리하면서 기질(urea)의 농도변화에 따른 초기반응속도(initial velocity)의 관계를 조사한 결과는 Fig. 4와 같다.

모든 시료는 기질의 농가증가에 따라 초기반응속도가 hyperbolic하게 변화하여 전형적인 효소반응의 양상을 보였다. 또, 시료 무첨가구에 비해 시료첨가구는 시료농도가 높을수록 각 대응하는 기질농도에서의 최대 반응속도값이 낮아져 시료가 저해제로서 작용함을 보였다. Fig. 5의 자료로부터 Lineweaver-Burk plot한 결과는 Fig. 6에서와 같이 직선관계를 보였다. Vmax 값은 0.034 abs./min이었고, Km값은 133 mM로 다소 높은 값 범위이었다. 또, 삼투처리하지 않은 알로에를 비롯한 삼투탈수 알로에시료는 모두 시료 무첨가구와는 서로 다른 기울기와 절편 값을 나타내었는데, 각 직선의 교점은 축과 일치하지 않아 일반적인 비경쟁저해(general non-competitive) 양상을 나타내었다. 일반적인 비경쟁저해에서는 저해제가 유리 효소나 효소-기질 복합체에 결합하는 반응 저해 상수 즉, K_{IE} 및 K_{IES} 가 서로 다르

다. 따라서 이들 값을 구하기 위해 Fig. 5의 직선관계로부터 기울기와 절편값을 각각 구한 다음 이를 저해제 농도에 대해 재도시하여 Fig. 6에 나타내었다.

대체로 $R^2=0.90$ 이상의 직선관계가 얻어졌으며, 이로부터 K_{IE} 및 K_{IES} 를 구한 결과는 Table 1과 같다.

삼투처리하지 않은 신선한 알로에의 K_{IE} 및 K_{IES} 는 각각 33 및 187 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 로 유리 효소에 대한 저해 속도가 약 6 배 더 높았다. 반면, 삼투탈수 알로에 시료는 시료간의 현저한 차이(1.2-4.5배)를 보여 각각 41-149(평균=95±49) 및 87-163(평균=117±32) $\mu\text{L}/\text{mL}$ 로, 유리 효소에 대한 저해의 친화성은 대체로 삼투탈수 알로에가 삼투처리하지 않은 알로에보다 더 낮은 편이었다. 그러나 효소-기질복합체에 대해서는 더 낮은 값 범위(0.47-0.82배)를 보여서 삼투처리로 효소-기질복합체에 대한 친화성이 증가되는 특징을 보였다.

이상으로부터 삼투처리하지 않은 알로에 및 삼투탈수한 알로에는 모두 일반적인 비경쟁적 저해기작에 의해 urease 활성의 저해에 탁월한 효과를 가지며, 삼투탈수 알로에는 삼투처리하지 않은 알로에 비해 약 5-10%의 저해활성이

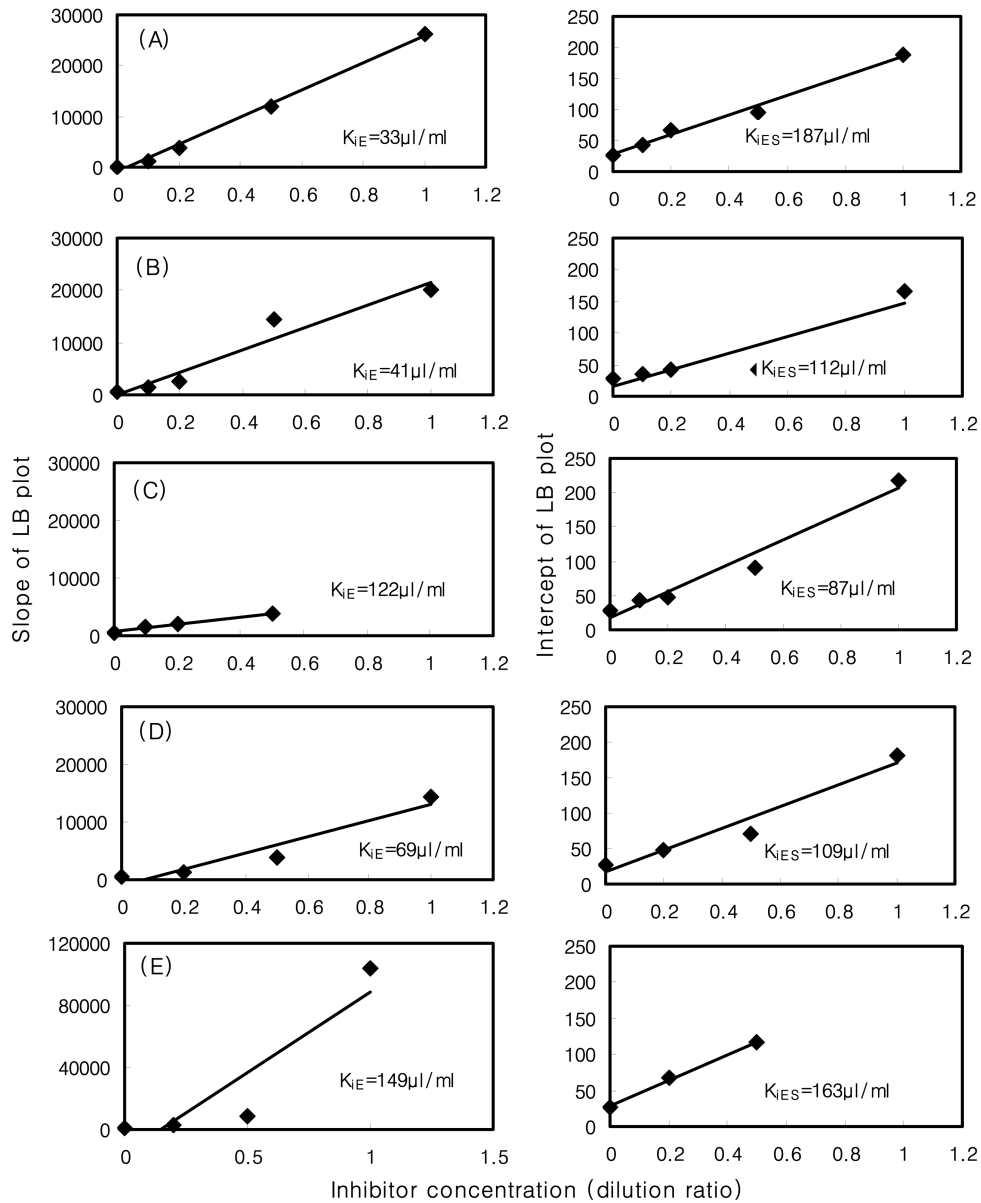


Fig. 6. The secondary re-plots of the Lineweaver-Burk plot to determine inhibition constant for fresh aloe and DIS aloes
 (A) Fresh aloe, (B) DIS(S), (C) DIS(G), (D) DIS(HF), (E) DIS(PEG).
 For illustration of symbols, see Fig. 1.

Table 1. Kinetic characterization of fresh and DIS aloe gel products

	K_{IE} ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	K_{IES} ($\mu\text{L}/\text{mL}$)
Fresh aloe gel	33	187
DIS aloe gel	95±49	117±32
DIS(S)	41	112
DIS(G)	122	87
DIS(HF)	69	109
DIS(PEG)	149	163

K_{IE} : Inhibitor constant for free enzyme (E)
 K_{IES} : Inhibitor constant for enzyme-substrate (ES) complex For illustration of symbols, see Fig. 1.

향상되고, 건조나 열처리에 의해 안정성을 가짐을 확인할 수 있었다. 따라서 알로에의 urease 활성저해를 통한 *H. pylori*에 의한 위궤양의 예방 및 치료효과 등이 기대되며, 이에 대한 *in vivo* 실험의 필요성이 높다고 판단하였다.

Glucose 및 bile acid 흡수지연효과

Glucose 흡수지연효과: 투석막을 이용한 삼투탈수 알로에의 glucose 흡수지연효과를 알아보기 위하여 투석되는 glucose의 양을 6시간 동안 경시적으로 측정하고, 그 결과를 glucose 투과율(%)의 경시변화로서 Fig. 7에 나타내었다.

삼투탈수 알로에 액상시료의 경우(Fig. 7a), 대조구의

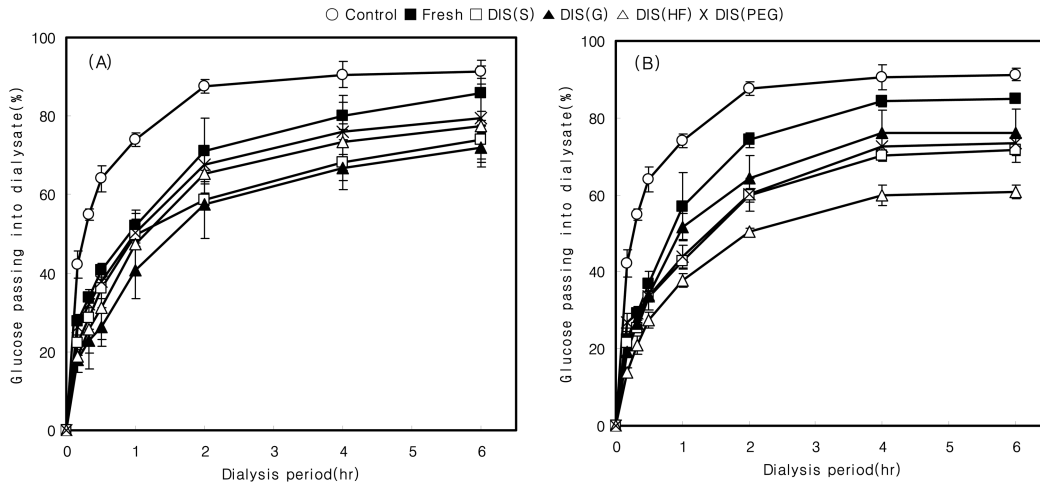


Fig. 7. Glucose movement across dialysis bag in the absence or presence of DIS aloes gel products (A) and dried aloes samples (B). For illustration of symbols, see Fig. 1

glucose 투과율은 투석초기 2시간에 급격히 증가하여 87.6%에 달하였고, 2시간 이후에는 그 투과속도가 완만해져 6시간 후에는 91.3%를 나타내었다. 삼투처리하지 않은 알로에를 비롯한 삼투탈수 알로에 액상시료는 모두 투과시간 2시간까지는 대조구와 비슷하게 glucose 투과경향을 나타내었으나 2시간 후에는 57.5-74.1%, 6시간 후에는 71.8-86.3%로 glucose 투과율이 지연됨을 확인할 수 있었다. 또한 삼투탈수 알로에의 동결건조 시료의 경우 Fig. 7b에서도 액상시료 수준이상의 비슷한 경향을 보여 투과지연효과는 건조에 의해 영향을 받지 않음을 보였다.

일반적으로 glucose의 흡수지연효과는 Schneeman(1987)

에 의하면 식이섬유의 구조 내에 glucose를 붙잡아 가두는 효과 (entrapping effect)에 기인한다. 또, Lopez et al.(1996)은 이러한 glucose 확산의 지연은 glucose 분자이동에 대한 섬유입자의 물리적 장애에 영향을 받는다고 하였다. 특히, 점성이 높은 수용성 식이섬유의 경우는 이들이 물과 함께 점성이 높은 gel 구조를 형성하여 물성변화와 더불어 glucose를 가두는 능력이 증가하는 것으로 잘 알려져 있다 (Aditomre et al., 1990; Lee & Lee, 1996; Story, 1985). 자료화하지는 않았으나 알로에의 다당함량은 겔 고형분의 약 60%로 대부분 수용성 심이섬유의 특성을 나타낸다. 또, 겔 고형분의 10%를 차지하는 섬유질의 식이섬유함량은 약

Table 2. Retarding effects of fibers from aloes gel products and dried aloes samples on glucose movement

Samples	Dialysis for 30 min		Dialysis for 60 min		Dialysis for 120 min	
	Glucose in dialysate (% w/v)	GDR1(%) ²⁾	Glucose in dialysate (% w/v)	GDR1(%)	Glucose in dialysate (% w/v)	GDR1(%)
Control	65.05±3.35 ¹⁾	0	74.00±1.80	0	87.61±1.75	0
Gel products						
Fresh	40.80±1.66	36.30	51.91±4.11	29.30	71.05±8.36	18.90
DIS aloes	32.93±4.09	48.59	47.04±5.51	36.43	62.31±4.83	28.88
DIS(S)	36.18±2.71	43.51	49.57±3.56	33.00	58.65±1.39	33.05
DIS(G)	26.32±4.92	58.90	40.88±7.40	44.75	57.54±8.66	34.32
DIS(HF)	31.30±8.29	51.13	47.51±7.61	35.79	65.45±5.00	25.30
DIS(PEG)	37.90±0.42	40.82	50.20±3.47	32.16	67.60±4.27	22.84
Dried samples						
Fresh	36.76±3.49	42.60	56.95±8.89	23.04	74.20±1.92	15.31
DIS aloes	32.00±2.00	48.78	44.00±1.78	40.54	58.71±2.32	32.99
DIS(S)	33.23±3.13	48.11	42.69±1.59	42.31	59.89±1.76	31.64
DIS(G)	33.80±1.28	47.22	51.69±3.40	30.14	64.45±5.70	26.44
DIS(HF)	27.37±2.10	57.26	37.75±1.67	48.98	50.42±0.96	42.45
DIS(PEG)	33.61±1.48	42.52	43.86±0.46	40.73	60.08±0.86	31.43

1) Mean±SD

2) Glucose dialysis retardation index

For illustration of symbols, see Fig. 1.

98%로 불용성과 수용성의 비는 약 4:1이다(Baek, 2008). 이미 전보(Kim et al., 2008a.)에서 보고된 바와 같이 삼투처리 알로에시료의 다당함량은 삼투처리하지 않은 알로에시료보다 다당함량이 더 높았음을 고려할 때, glucose의 더 높은 투과지연효과는 알로에 겔의 주성분인 이들 성분과 관계되는 것으로 보인다.

한편, glucose의 흡수지연효과를 판단하는 지표로 이용되는 투석초기의 30분, 1시간 및 2시간에서의 glucose 흡수억제지수(glucose dialysis retardation index, %)는 Table 2와 같다.

2시간 동안의 삼투탈수 알로에 겔상 시료의 평균 포도당 흡수지연효과는 48.59-28.88%로 삼투처리하지 않은 알로에의 36.30-18.90%보다 약 1.5배 우수한 효과를 보였다. 특히, DIS(G) 액상시료는 투석시작 30분 만에 58.90%로 가장 우수한 흡수억제효과를 보였다. 투석 30분경과시 glucose 흡수억제지수는 상업용 식이섬유(알진산, 구아검, CM-cellulose 및 citrus pectin)가 31.0-33.0%임(Jun et al., 2006)을 고려할 때 이러한 삼투탈수 알로에의 glucose 흡수지연효과는 매우 우수한 것임을 알 수 있다. 또, 동결건조 시료는 액상시료수준 이상의 포도당 흡수지연효과를 보여 건조에 의한 영향을 받지 않음을 보였다. 따라서 이러한 실험결과로부터 삼투탈수 알로에는 음식을 통한 glucose 섭취 시 초기에 glucose 흡수지연 효과가 높아 혈액 내 glucose가 급격히 상승하는 것을 억제하는데 도움을 줄 것으로 판단된다. Glucose 흡수지연지수 값은 위장관내에서 glucose 흡수를 지연하는 효과를 예측하는 *in vitro* 지표 값이므로(Aditomre et al., 1990), 차후 당뇨병 예방 및 이에 따른 치료의 잠재적 효과가 예측되며, 이에 대한 추가 *in vivo* 연구의 필요성이 충분하다고 판단된다.

Bile acid 흡수지연효과

삼투탈수 알로에의 bile acid 흡수지연효과를 알아보기 위하여 glucose에서와 마찬가지로 투석막을 통해 투석되는 taurocholic acid의 양을 72시간 동안 경시적으로 측정하여 조사한 결과는 Fig. 8과 같다.

Taurocholic acid의 투과율은 초기 12시간까지 크게 증가하다가 이후 72시간까지는 서서히 증가하여 72시간에 거의 100%까지 투과하였다. 이러한 경향은 glucose와 마찬가지로 이었으나, glucose의 경우보다는 비교적 서서히 이루어졌는데, 이는 bile acid의 분자량(538)이 glucose의 분자량(180)보다 크기 때문인 것으로 생각되었다(Lee & Lee, 1996).

삼투탈수 알로에 및 삼투처리하지 않은 알로에 겔상 시료의 경우는 bile acid의 뚜렷한 지연효과를 보였다. 하지만, 이의 동결건조시료의 경우는 초기 10시간까지는 3.06-15.2%의 지연효과를 보이고 72시간 경과 시에는 대조구(97.6%)와 비슷한 투과율을 보여 포도당과는 달리, bile acid의 흡수지연효과를 보이지 않았다.

Bile acid의 흡수지연효과를 보다 명확히 알아보기 위하여 glucose에서와 마찬가지로 bile acid 흡수억제지수(bile acid dialysis retardation index, %)를 구하였으며, 그 결과를 Table 3에 나타내었다.

투석 1-4시간에는 각 시료의 bile acid 흡수억제지수 값이 16.731-45.53%의 넓은 범위 값을 나타내었으며, DIS(PEG)>DIS(HF)>DIS(G)>DIS(S)순이었다. 투석 1시간 후의 bile acid 흡수억제지수를 보면, 신선한 알로에 겔의 경우는 25.29%인 반면, 삼투처리한 알로에 겔의 경우는 평균 33.31%로 DIS(S)를 제외한 나머지 시료 모두에서 삼투처리하지 않은 알로에보다 우수한 효과를 보였다. 이러한 결과는 citrus pectin 30.4%, guar gum 22.3%, alginic acid 17.0% 및 apple pectin 13.4%(Lee & Lee, 1996)인 것과 비교하여, 매우 양호한 bile acid 흡수억제효과가 있

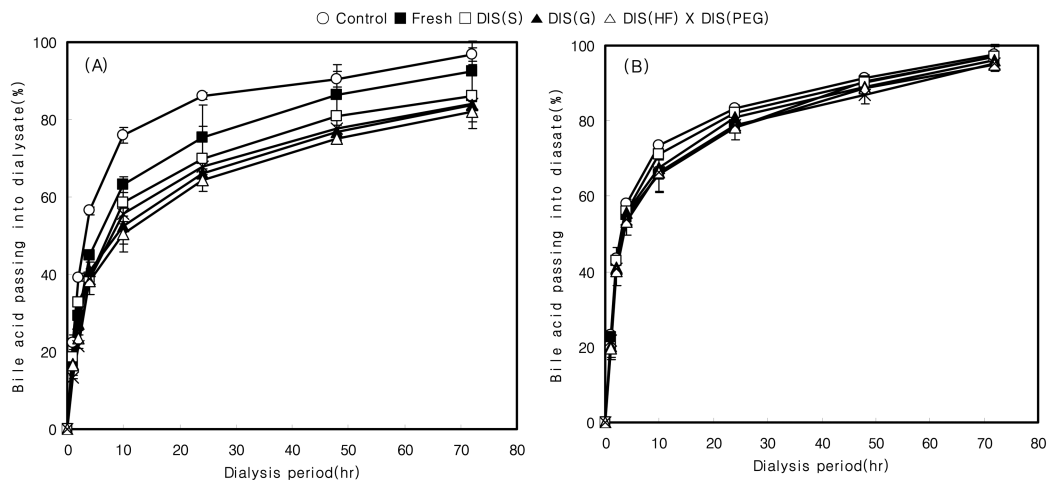


Fig. 8. Bile acid movement across dialysis bag in the absence and presence of aloe gel products (A) and dried aloe samples (B). For illustration of symbols, see Fig. 1.

Table 3. Retarding effects of fibers from aloe gel products on bile acid movement

Samples	Dialysis for 1 hr		Dialysis for 2 hr		Dialysis for 4 hr	
	Bile acid in dialyzate (mmol/L)	BDRI(%) ²⁾	Bile acid in dialyzate (mmol/L)	BDRI(%)	Bile acid in dialyzate (mmol/L)	BDRI(%)
Control	22.45±1.76 ¹⁾	0	39.24±1.02	0	56.39±1.08	0
Gel products						
Fresh	17.41±0.92	22.47	29.32±0.92	25.29	44.90±1.08	20.36
DIS aloes	16.31±0.42	27.36	26.17±0.88	33.31	38.52±1.96	30.36
DIS(S)	18.47±0.39	17.75	32.68±0.46	16.73	36.06±0.81	30.72
DIS(G)	16.75±0.43	25.41	27.12±1.61	30.90	40.94±2.15	27.40
DIS(HF)	16.60±0.46	26.07	23.51±0.89	40.08	38.14±3.34	32.36
DIS(PEG)	13.43±0.39	40.20	21.38±0.55	45.53	38.93±1.55	30.96
Dried samples						
Fresh	22.66±0.20	2.02	42.81±1.06	1.73	55.04±1.77	4.96
DIS aloes	20.39±2.52	11.88	41.16±2.65	5.52	54.67±2.41	5.62
DIS(S)	19.89±2.76	14.02	42.87±3.54	1.61	55.94±1.95	3.41
DIS(G)	20.32±3.75	12.16	41.07±2.20	5.73	55.58±2.14	4.03
DIS(HF)	19.65±2.89	15.05	40.04±3.80	8.09	53.17±3.53	8.18
DIS(PEG)	21.68±0.68	6.29	40.67±1.05	6.64	53.96±2.03	6.84

1) Mean±SD

2) Bile acid dialysis retardation index

For illustration of symbols, see Fig. 1.

음을 확인할 수 있다.

일반적으로 점질성의식이섬유는 담즙산과 결합에 의해 유리상태의 담즙산 함량을 감소시키며, 이에 따라 재흡수되는 담즙산 함량에 영향을 줌으로써 궁극적으로 지방대사에 영향을 미치고 콜레스테롤 합성을 저해한다고 알려져 있다(Story, 1985). 더구나 bile acid 흡수지연지수값이 클수록 인체의 혈청 콜레스테롤 수준이 낮아지므로 매우 높은 bile acid 흡수지연지수값(평균 33.31%)을 나타내는 삼투탈수 알로에 겔은 동맥경화억제 등에 효과가 있을 것으로 기대된다.

하지만 신선한 알로에 겔의 동결건조시료는 투석 1-4시간 동안 bile acid 흡수억제지수(%)의 현저한 감소를 보였다. 즉, 신선한 알로에 겔상 시료는 건조에 의해 투석 1-4시간에 20.36-25.29%로부터 1.76-4.96%로 급격히 감소하였다. 반면, 삼투탈수시료도 평균적으로 27.36-33.31%로부터 5.52-14.43%까지 감소하였지만 상대적으로 건조에 의한 저해율의 감소정도가 낮아 신선한 알로에 겔에 비하면 1.5-3배나 더 우수한 bile acid의 흡수저해 효과를 보여 상대적 안정성을 보였다. 이와 같이 겔상 시료보다 건조시료가 매우 낮은 bile acid 흡수억제를 보이는 것은 bile acid 흡수억제가 높은 점성과의 상관성이 크므로(Story, 1985) 점도의 변화와 크게 관련되는 것으로 생각된다. 자료화하지는 않았으나 겔상 시료는 건조 후에 급격한 점도의 소실을 가져왔다. 하지만 Han et al.(2009)은 대두의 소화저항성 분획의 *in vitro* bile acid 흡수저해에 미치는 열처리효과의 연구에서 열처리하지 않은 대두는 열처리대두보다 bile acid 흡수저해율이 훨씬 더 높다고 하였다. 또한,

이는 저항전분, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 같은 난소화성 성분이나 자일로오스와 같은 단당류 조성이 열처리에 의하여 변하였기 때문이라고 하였다. 따라서 건조에 의한 bile acid 흡수 저해율의 급속한 저하는 난소화성 성분조성의 변화 등과도 관련될 것으로 보이며, 추가 규명연구의 필요성이 있다.

결 론

새로운 알로에 생산공정인 삼투탈수(dewatering impregnation & soaking, DIS) 공정을 통해 농축된 알로에의 jack bean(*Canavalia ensiformis*) urease 활성의 저해, glucose 및 bile acid의 *in vitro* 흡수지연효과를 삼투처리하지 않은 알로에와 비교, 검토하였다. 삼투탈수 알로에의 jack bean urease 활성저해효과의 경우, 삼투탈수 알로에의 활성저해는 84.6-94.4%로, 삼투처리하지 않은 알로에(86.3%)와 비슷하거나 더 높은 저해율을 보였다. 이러한 urease 활성의 저해율은 90°C에서 10분 동안의 열처리나 동결건조 또는 열풍건조에 의해서도 유지 또는 미미하게 증가되는 안정성을 보였다. Urease 활성의 저해양상은 기질(urea) 및 삼투탈수 알로에시료의 농도변화에 따른 초기반응속도의 동력학적 해석결과, general non-competitive이었고, 이때의 유리효소 및 효소-기질복합체의 반응저해상수(K_{IE} 및 K_{IES})는 4-149 및 87-163 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 이었다. 한편, glucose 및 bile acid의 *in vitro* 흡수지연효과를 살펴본 결과, DIS 겔제품의 흡수억제지수값은 각각 평균 28.88-48.59%(투석 0.5-2시간 중) 및 27.36-33.31%(투석 1-4시간 중)로 신선한 알로에

겔제품(18.90-36.30% 및 20.36-25.29%)보다 높았고, 매우 우수한 흡수지연효과를 나타내었다. 또한, glucose의 *in vitro* 흡수지연효과도 건조의 영향을 받지 않았고, bile acid의 *in vitro* 흡수지연효과도 삼투탈수의 경우에 건조의 영향을 덜 받았다. 따라서 삼투탈수 알로에 겔 또는 건조시료는 차후 *H. pylori*에 대한 위장보호작용을 비롯한 당뇨 및 동맥경화억제의 예방이나 치료의 잠재적 효과를 나타낼 수 있는 생리기능성 소재로서의 가능성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 (주) 김정문 알로에의 일부 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Adiotomre J, Eastwood MA, Edwards CA, Brydon, WG. 1990. Dietary fiber: *in vitro* methods that anticipate nutrition and metabolic activity in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 52: 128-134.
- Anderson JW, Chen WJ. 1979. Plant fiber. Carbohydrate and lipid metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 346-363.
- Baek JH. 2008. Development of functional materials from *Aloe vera* gel fractions with different molecular sizes and their functionality characterization. Ph.D. Dissertation, Kangwon National University, Chunchon.
- Blaser MJ. 1992. Hypotheses on the pathogenesis and natural history of *Helicobacter pylori*-induced inflammation. *Gastroenterology* 102: 720-727.
- Boyd GS, Eastwood MA, MacLean N. 1966. Bile acids in the rat: studies in experimental occlusion of the bile duct. *J. Lipid Res.* 7: 83-94.
- Ciurli S, Benini S, Rypniewski WR, Wilson KS, Miletto S, Mangani S. 1999. Structural properties of the nickel ions in urease: novel insight into the catalytic and inhibition mechanisms. *Coord. Chem. Rev.* 190-192: 331-335.
- Coat BC, Ahola R. 1979. *Aloe vera* the silent healer. A modern study of *Aloe vera*, Bill Coats, Dallas, pp. 228-294.
- Femenia A, Sanchez ES, Simal S, Rossello C. 1999. Compositional features of polysaccharides from *aloe vera (Aloe barbadensis* Miller) plant tissues. *Carbohydr. Polym.* 39: 109-117.
- Femenia A, Garcia-Pascual P, Simal S, Rossello C. 2003. Effects of heat treatment and dehydration on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from *Aloe barbadensis* Miller. *Carbohydr. Polym.* 51: 397-405
- Galal EE, Kandil A, Hegazy R. 1975. *Aloe vera* and gastrogenic ulceration. *J. Drug Res.* 7: 73-76.
- Giudice GD, Covacci A, Telford JL, Montecucco C, Rappuoli R. 2001. The design of vaccines against *Helicobacter pylori* and their development. *Annu. Rev. Immunol.* 19: 523-563.
- Grindlay D, Reynolds T. 1986. The *aloe vera* phenomena: a review of the properties and uses of the leaf parenchyma gel. *J. Ethnopharmacol.* 16: 117-151.
- Han SH, SW Lee, Rhee C. 2009. Effect of heat treatment of digestion-resistant fraction from soybean on retarding of bile acid transport *in vitro*. *Nutr. Res. Prac.* 3: 149-155.
- Hamman JH. 2008. Composition and applications of *Aloe vera* leaf gel. *Molecules* 13: 1599-1616.
- Hawkes J, Flink JM. 1978. Osmotic concentration of fruit slices prior to freeze dehydration. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2: 265-284.
- Henderson PJF. 1978. Statistical analysis of enzyme kinetic data. In: *Techniques in the Life Sciences: Techniques in Protein and Enzyme Biochemistry-Part II*, B113. Kornberg HL, Metcalfe JC, Northcot DH, Pogsoson CI, Tipton KF (ed.). Elsevier, Netherlands, pp.1-43.
- Jenkins DJA, Leed AR, Wolever TMS, Goff DV, Alverti KGM, Gassull MA, Hochaday TDR. 1976. Unabsorbable carbohydrates and diabetes: decreased post-prandial hyper-glycemia. *Lancet* 24: 172-174.
- Jun HI, Lee CH, Song GS, Kim YS. 2006. Characterization of the pectic polysaccharides from pumpkin peel. *LWT* 39: 554-561.
- Juszkiewicz A, Zaborska A, Laptas A, Olech Z. 2004. A study of the inhibition of jack bean urease by garlic extract. *Food Chem.* 85: 553-558.
- Kay RM, Truswell AS. 1977. Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 30: 171-175.
- KFDA. 2008. <http://hfoodi.kfda.go.kr/am/menu.jsp?code1=00100050>.
- Kim SA, Baek JH, Lee SY. 2008a. Concentration of *aloe vera* gel by DIS (dewatering impregnation & soaking) process and process kinetics of DIS concentration. *Food Eng. Prog.* 12: 198-208.
- Kim SA, Baek JH, Lee CW, Lee SY. 2008b. Effects of osmotic agents, operating pressure and agitation processing on osmotic dehydration process of *aloe vera* gel. *Food Eng. Prog.* 12: 275-283.
- Kim SA, Baek JH, Lee SY. 2009. Structural and physicochemical properties of *Aloe vera* gel dried samples using DIS (dewatering impregnation & soaking) process. *Food Eng. Prog.* 13: 24-31.
- Krotkiewski M. 1984. Effect of guar gum on body-weight, hunger ratings and metabolism in obese subjects. *Br. J. Nutr.* 52: 97-105.
- Lee IS, Im HG, Lee S. 2003. Growth inhibition of *Helicobacter pylori* by *Reynoutria elliptica* Migo. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35(6): 1182-1187.
- Lee JJ, Kim SH, Chang BS, Baek YJ, Juj CS, Kim TJ, Baek YJ. 1999. The antimicrobial activity of medicinal plants extracts against *Helicobacter pylori*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 764-770.
- Lee KS, Lee SR. 1996. Retarding effect of dietary fibers on the glucose and bile acid movement across a dialysis membrane *in vitro*. *Korean J. Nutr.* 29: 738-746.
- Lopez G, Ros G, Rincon F, Perago MJ, Martinez MC, Ortuno J. 1996. Relationship between physical and hydration properties of soluble and insoluble fiber of articoke. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2773-2778.
- Marshall BJ, Warren JR. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 323: 1311-1315.
- Matsubara S, Shibata H, Ishikawa F, Yokokura T, Takahashi M, Sugimura T, Wakabayashi K. 2003. Suppression of *Helicobacter pylori*-induced gastritis by green tea extract in Mongolian ger-

- bils. Biochem. Biophys. Res. Commun. 310: 715-719.
- McGee DJ, Mobley HLT. 1999. Mechanisms of *Helicobacter pylori* infection: bacterial factors. Current Topics in Microbiology and immunology 241: 155-180.
- Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars, Anal. Chem. 31: 426-428.
- Mobley HLT, Cortesia MJ, Rosenthal LE, Jones BD. 1988. Characterization of urease from *Campylobacter pylori*. J. Clin. Microbiol. 26: 289-292.
- Nanjundaswamy AM, Radhakrishnaiah SG, Balachandran C, Saroja S, Murthy KBS. 1978. Studies of development of new categories of dehydrated product from indigenous fruits. Indian Food Packer 22: 91-93.
- Palou E, Lopez-Malo A, Argaiiz A, Welti J. 1994. The use of Peleg's equation to model osmotic concentration of papaya, Drying Technol. 12: 965-978.
- Ponting ID. 1973. Osmotic dehydration of fruits-Recent modifications and applications. Proc. Biochem. 8: 18-20.
- Reynolds T, Dweck AC. 1999. Aloe vera leaf gel: a review update. J. Ethnopharmacol. 68: 3-37.
- Saito H, Imanishi K, Okabe S. 1989. Effects of aloe extract, Aloctin A on gastric secretion and on experimental gastric lesions in rats. Yakugaku Zasshi 109: 335-339.
- Schneeman BO. 1987. Soluble vs. insoluble fiber-different physiological responses. Food Technol. 41: 81-82.
- Story JA. 1985. Dietary fiber and lipid metabolism. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 180: 447-452.
- Sugiyama T, Nishikawa K, Komatsu Y, Ishizuka J, Mizushima T, Kumagai A, Kato M, Saito N, Takeda H, Asaka M, Feston JW. 2001. Attributable risk of *H. pylori* in peptic ulcer disease. Dig. Dis. Sci. 46: 307-310.
- Tabak M, Armon R, Potasman I, Neeman I. 1996. *In vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. J. Appl. Bacteriol. 80: 667-672.
- Teradaira R, Shinzato M, Beppu H, Fujita K. 1993. Anti-gastric ulcer effects of *Aloe arborescens* Mill. var. *natalensis* Berger. Phytother. Res. 7: 34-36.
- Thiobault JF, Lahaye M, Guillon F. 1992. Physico-chemical properties of food plant cell walls. In: Dietary Fibres - A component of food (Schweizer TF, Edwards CA (ed.)). Springer, London, pp.21-39.
- 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.
- White CA, Kennedy JF. 1981. Manual and automated spectrophotometric techniques for the detection and assay of carbohydrates and related molecules. In: Techniques in Carbohydrate Metabolism, B312 (Kornberg HL, Metcalfe JC, Northcote DH, Tipton KF (ed.)). Elsevier, New York, pp.1-64.