

## 갈파래 분획, LPS, 효소활성의 상관성과 수층분획의 가치평가

남천석 · 강금석 · 하종명 · 이상현 · 이재화 · 이동근 · 장정수<sup>1</sup> · 강환열<sup>2</sup> · 하배진\*

신라대학교 의생명과학대학 제약공학과, <sup>1</sup>바이넥스 기업부설연구소, <sup>2</sup>아마란스 화장품

Received July 20, 2006 / Accepted September 15, 2006

**The Correlativity of *Ulva lactuca* Fractions, LPS, Enzymatic Activity and the Evaluation of Water Fraction.** Chun Suk Nam, Kum Suk Kang, Jong-Myung Ha, Sang Hyeon Lee, Jae Hwa Lee, Dong Geun Lee, Jeong Su Jang<sup>1</sup>, Hwan Yul Kang<sup>2</sup> and Bae Jin Ha\*. Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical Life Science, Silla University, 1-1 San, Gwaebup-dong, Sasang-gu, Busan, 617-736, Korea. <sup>1</sup>Central Research Institute, Binex Co., Ltd. 480-2, Jangrim-dong, Saha-gu, Busan, 604-846, Korea <sup>2</sup>Amaranth Cosmetics, 1534-2, Songjeon Dong, Gangseo Gu, Pusan, Korea – Lipopolysaccharide(LPS) was posttreated after the 14 day-pretreatment of *Ulva lactuca* fractions(ULF), and their correlativity to enzymatic activity alteration was investigated in the liver of rats. ULF was intraperitoneally administered into rats at dose of 1ml/kg of 100 mg/kg concentration for 14 days. On the day 15, 1ml/kg of LPS was injected. The corelativity was examined by measuring the changed values of superoxide dismutase(SOD) in mitochondrial fraction and catalase(CAT), glutathione peroxidase(GPx) in liver homogenate. The results showed that LPS treatment decreased the high values of SOD, CAT, GPx to the low values, but ULF pretreatment increased the low values of SOD, CAT, GPx to the high values. It was suggested that ULF, LPS and antioxidative enzymes like SOD, CAT, GPx had the corelativity of the high-low-high pattern and that the ULF pretreatment played the proper preventive role in the protection against the LPS treatment-induced enzymatic inactivity in the water fraction.

**Key words** – *Ulva lactuca*, fraction, lipopolysaccharide, enzymatic activity

### 서 론

Lipopolysaccharide(LPS)는 그람음성균의 세포벽에 존재하는 구성물질의 일종으로 대식세포(M $\phi$ )나 단핵구의 활성화로 인한 cytokine의 분비작용의 원인이 되는 물질로 열, 시상하부, 부신피질 등의 활성을 유도하여 감염이나 염증을 유발하기도 하고[14] LPS-binding protein과 결합되어 M $\phi$ 의 CD14에 인식되어져 패혈성 쇼크가 일어나기도 하며[3] inducible nitric oxide synthase의 유전자를 활성화 시켜 NO의 생성을 증가시킨다[7]. NO는 M $\phi$ 의 활성화로 인한 산물로 oxygen radical과 더불어 강력한 항 미생물 작용을 하며[4] NO가 생성될 때 Ca<sup>2+</sup>의 농도증가로 인해 superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 함께 생성되며 산화력이 강한 OH로 연쇄반응을 일으켜 세포 조직에 영향을 주어 직 간접적으로 조직의 노화를 초래한다[12,16]. 이러한 radicals는 간 세포의 지질막을 공격하여 급성 지방 변성 및 지방축적을 야기하고[6] 간 독성을 통한 세포의 파괴를 가져온다[8]. 또한 항산화계 효소들은 대사과정 중 발생하는 radicals에 의해 효소활성이 비가역적으로 불활성화 될 수 있으며, 또한 지방산화에 의해 생성된 유리기도 제거하는 능력이 있다고 보고 되고 있다[9,27].

해양성 조류는 육상생물에 비하여 비타민, 미네랄 및 식이 섬유 등의 함량이 높고 마그네슘, 철, 요오드, 아연 등의 필수 미

네랄이 많이 존재하는 해양식물이다[17]. 최근에는 이러한 식물들이 항암, 항 종양, 항 혈액응고 등의 생리 활성기능을 가지고 있는 것이 연구에 의해 밝혀지고 있으며[5] 해양성 조류 중 갈조류에 존재하는 다당류는 세포내 골지체에서 합성되어 세포조직에 푸코이단으로 존재하며 세포를 보호하기 위한 물질로써 분비되는 것이다[23].

국내 해안가에 자생하는 갈파래는 녹조류의 일종으로 엽체는 얇은 녹색을 띄고 암반에 착생한다. 엽체는 분지하지 않고 폭 7~10 cm, 길이 10~15cm의 피침형이나 신장형으로 존재하고 가장자리는 파형으로 굴곡을 가지는 것이 특징이다[13]. 그러나 현재 식용으로 이용되지 않고 방치되어 갈파래에 함유되어 있는 유용물질의 효용성을 과학적으로 증명하여 경제 산업적 가치를 창출하여 해양자원의 활용 범위를 확대하는 것은 중요하고도 절실한 과제이다.

본 연구는 갈파래는 해양성 조류 중 녹조류의 일종으로 갈파래에 함유되어 있는 유용물질의 효용성을 과학적으로 증명하기 위하여 에틸에테르, 에틸아세테이트, 수층으로 분획하여 그 분획물을 선 투여하고 LPS를 후 투여한 경우에 항산화효소에서 분획별 LPS에 대한 예방효과를 관찰하고 효소활성화 최적 분획을 검색하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료

갈파래는 부산광역시 기장읍 앞바다 및 광안리 수변공원

\*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5466, Fax : +82-51-999-5684

E-mail : bjha@silla.ac.kr

주변에 서식하는 것을 채취하고 수 회 세척하여 소금성분을 최대한 제거한 후 그늘에서 건조 하여 사용하였다.

**실험동물 및 식이**

Table 1과 같이 실험동물은 체중 170~180 g 내외의 생후 7주 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 대구 효창 사이언스로부터 제공받았고 7일 동안 적응시켰다. 실험흰쥐는 난괴법에 따라 총 35마리를 7마리씩 5군으로 나누었고 군별로 cage에 분리시키고 고품사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였으며 22±1℃의 온도와 60±5% 상대습도로 유지시켰다. 정상군(NOR; normal group)은 15일 동안 1 ml/kg of 0.9% saline을 투여하고 대조군(CON; LPS-treated group)은 14일 동안 1 ml/kg of 0.9% saline을 매일 투여한 후 15일째 되는 날 LPS를 5 mg/kg의 농도로 만들어 1 ml/kg의 용량으로 복강 내로 투여하였다. 에틸에테르분획군(ULE; *Ulva lactuca* ethyl ether fraction-pretreated and LPS-posttreated group), 에틸아세테이트 분획군(ULA; *Ulva lactuca* ethyl acetate fraction-pretreated and LPS-posttreated group), 수층분획군(ULW; *Ulva lactuca* water fraction-pretreated and LPS-posttreated group) 등의 시료군에는 100 mg/kg 농도의 각각의 분획을 1 ml/kg씩 복강 내에 14일간 매일 투여하고 15일째 되는 날에 LPS를 1 ml/kg의 용량을 복강 내로 투여하였다. LPS를 투여하고 질식 시킨 뒤 5시간 후에 ether로 마취하고 해부하여 간을 적출하여 실험하였다.

**갈파래 분획 시료의 제조**

Fig. 1과 같이 갈파래 추출 분획은 건조중량의 20배에 해당하는 95% ethanol를 침지시켜 8시간 추출한 다음 evaporator를 이용하여 추출물을 농축하고 극성도 차이에 의한 방법으로 5개 분획을 얻었고 이 중 타 선행연구에서 유효한 효과가 있는 에틸에테르분획, 에틸아세테이트분획, 수층분획을 시료로 사용하였다.

**간 적출**

시료 투여 기간 종료 후 실험동물을 ether 마취 하에서 개복한 후 간 4엽을 전부 적출하여 0.9% 생리 식염수로 세척 여지로 흡착한 후 -70℃ deep freezer에 보관하여 실험에 사용하였다.

간 무게 10배의 solution (10 mM tris, 0.07 M saccharose, 0.1 mM EDTA, 0.2 M mannitol, in dissolved 0.1 N HCl)을 넣어 균질화한 후, 600 ×g, 4℃에서 10 min 원심분리한 상등액을 다시 8,000 ×g, 4℃에서 10 min 원심분리하여 얻은 pellet에 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 5 ml 넣어 mitochondrial fraction으로 사용하였다.

**간 조직의 단백질 정량**

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법[18]에 의해서 750 nm에서 흡광도를 측정하고 표준 단백 시료를 bovine serum albumin (BSA)으로 정량하였다.

**간 조직 내 mitochondria 분획의 superoxide dismutase (SOD) 효소활성 측정**

Beauchamp와 Fridovich의 방법[2]에 따라 0.2 M K-phosphate buffer (pH 7.4)를 672 µl, 1 mM xanthine 100 µl, 1% sodium deoxychlorate 30 µl, 1.5 mM KCN 30 µl, 0.2 mM cytochrome C 150 µl를 넣은 혼합에 sample 8 µl를 넣고, xanthine oxidase원액을 10 µl를 넣어 mixing한 후 Elisa에 이용하여 550 nm에서의 흡광도 변화를 2 min 동안 측정하였다. 효소의 활성도는 표준액으로 Sigma사의 superoxide dismutase standard를 사용하여 측정하였다.

**간 조직 중 catalase (CAT)의 활성 측정**

Aebi의 방법[1]을 이용하여 phosphate buffer (0.05 M pH 7.0) 1.9 ml에 sample (homogenate와 mitochondrial fraction)을 800 ×g에서 20 min 원심분리한 상등액 100 µl를 buffer로

Table 1. Experimental design of rats

Experimental group	day 1-14	day 15
	Dose of sample	
NOR (7)	1 ml/kg of 0.9% saline, i.p.	
CON (7)	1 ml/kg of 0.9% saline, i.p.	
ULE (7)	1 ml/kg of <i>Ulva lactuca</i> ethyl ether fraction (100 mg/kg), i.p.	1 ml/kg of LPS (5mg/kg), i.p.
ULA (7)	1 ml/kg of <i>Ulva lactuca</i> ethyl acetate fraction (100 mg/kg), i.p.	
ULW(7)	1 ml/kg of <i>Ulva lactuca</i> water fraction (100 mg/kg), i.p.	

NOR : normal group  
 CON : LPS-treated group  
 ULE : *Ulva lactuca* ethyl ether fraction-pretreated and LPS-posttreated group  
 ULA : *Ulva lactuca* ethyl acetate fraction-pretreated and LPS-posttreated group  
 ULW : *Ulva lactuca* water fraction-pretreated and LPS-posttreated group  
 The number of experiment animals is given in parenthesis.

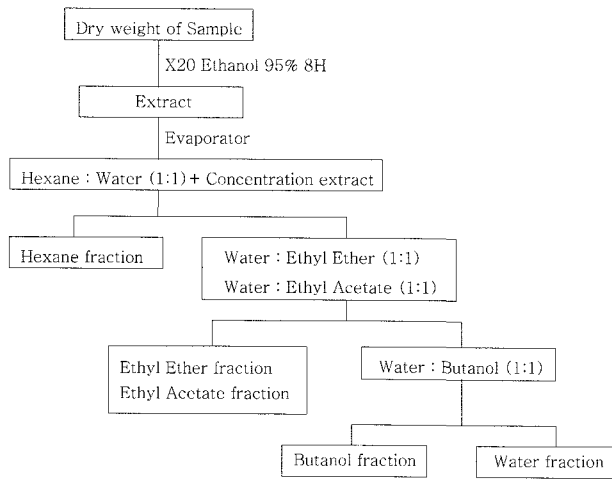


Fig. 1. Process of *Ulva lactuca* fractions

10, 20, 40, 80배 희석) 0.1 ml와 과산화수소 용액 1 ml를 혼합하여 240 nm에서 90 sec 동안 흡광도 감소를 측정 하였다.

**간 조직 중 glutathione peroxidase (GPx)의 활성 측정**

Lawrence 등의 방법[19]에 준하여 0.1 M phosphate buffer (4 mM EDTA) 400 µl, 0.01 M NaN<sub>3</sub> 70 µl, 0.01 M GSH 70 µl, 1.5 mM NADPH 70 µl, H<sub>2</sub>O 360 µl, GSSG-reductase (1.8 U/ml) 20 µl, sample 10 µl를 혼합하여 상온에서 1분간 방치한 후 5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 100 µl를 가해 잘 섞은 후 340 nm에서 90 sec 동안 흡광도 감소 측정을 하였다.

**통계처리**

본 실험에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성은 SPSS를 이용한 ANOVA로 검정하였다.

**결과 및 고찰**

**Mitochondrial fraction 중 SOD 측정**

SOD는 생체 내의 항산화 방어기구 중에서 효소적 방어계의 하나로 주로 mitochondria에 존재하며 superoxide radical을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 변환하여 생체를 보호한다[22,24]. 이 효소는 활성 부위에 금속이온을 가지고 있는 metaloprotein으로 금속이온의 종류에 따라 3가지로 분류된다[10]. Cu, Zn SOD는 곰팡이나 mammalian cell에 존재하고[15,20] Mn-SOD의 경우 진핵, 원핵 생물에 존재하는 것으로 진핵생물은 mitochondria에 원핵생물은 matrix 혹은 periplasmic space에 주로 존재한다[26]. 본 실험에서 초점으로 맞춘 Fe-SOD는 박테리아나 blue green algae, protozoa등에 존재하지만[25] 최근에는 육상고등동물에게 존재하는 것으로 밝혀졌다. Table 2와 같이 SOD의 활성도는 대조군에서는 정상군에 비해 1.93배 정도로

Table 2. Effects of *Ulva lactuca* fractions on SOD activities in mitochondrial fraction

Experimental group	SOD (U/mg protein)
	Mitochondrial fraction
NOR	70.33±0.41 <sup>***</sup>
CON	38.43±0.7
ULE	51.7 ±0.28 <sup>**</sup>
ULA	52.32±0.07 <sup>**</sup>
ULW	52.52±0.46 <sup>**</sup>

NOR : normal group, CON : LPS-treated group  
 ULE : *Ulva lactuca* ethyl ether fraction-pretreated and LPS-posttreated group  
 ULA : *Ulva lactuca* ethyl acetate fraction-pretreated and LPS-posttreated group  
 ULW : *Ulva lactuca* water fraction-pretreated and LPS-post-treated group  
<sup>\*\*\*</sup>p<0.001, <sup>\*\*</sup>p< 0.05 <sup>\*</sup>p< 0.01 values are mean ± SE (n=7).  
 SOD : superoxide dismutase

낮았으며 LPS를 투여함으로써 활성도를 낮춘 것으로 나타났다. 갈파래 분획별로 활성도를 보면 대조군에 비해 ULE군은 45.04% ULA군은 46.86%, ULW군은 47.46% 상승하였으며 갈파래 분획의 선 투여가 LPS의 후 투여로 인한 효소 불활성을 예방하여 활성을 높이는 역할을 한 것으로 나타났다.

**간 조직 내의 CAT 측정**

CAT는 생체 내 생명 현상에서 필수적인 산화환원반응의 일종으로 생성되는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 H<sub>2</sub>O와 O<sub>2</sub>로 분해하는 효소 중 하나이다. 이것은 다수의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성효소들과 복합체를 형성하여 peroxisome에 주로 분포하고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있다고 알려져 있다[11,28]. Table 3과

Table 3. Effects of *Ulva lactuca* fractions on CAT activities in liver homogenate

Experimental group	CAT (mU/mg protein)
	Liver homogenate
NOR	246.96±0.33 <sup>**</sup>
CON	191.02±3.38
ULE	228.48±4.61 <sup>*</sup>
ULA	217.04±0.52 <sup>*</sup>
ULW	215.04±1.5 <sup>*</sup>

NOR : normal group, CON : LPS-treated group  
 ULE : *Ulva lactuca* ethyl ether fraction-pretreated and LPS-posttreated group  
 ULA : *Ulva lactuca* ethyl acetate fraction-pretreated and LPS-posttreated group  
 ULW : *Ulva lactuca* water fraction-pretreated and LPS-post-treated group  
<sup>\*\*\*</sup>p<0.001, <sup>\*\*</sup>p< 0.05 <sup>\*</sup>p< 0.01 values are mean ± SE (n=7).  
 CAT : catalase

같이CAT의 활성도는 대조군에서는 정상군에 비해 1.29배 정도로 낮았으며 LPS를 투여함으로써 활성도를 낮춘 것으로 나타났다. 갈파래 분획별로 활성도를 보면 대조군에 비해 ULE군은 66.96% ULA군은 46.51%, ULW군은 42.94% 상승하였으며 갈파래 분획의 선 투여가 LPS의 후 투여로 인한 효소 불활성을 예방하여 활성을 높이는 역할을 한 것으로 나타났다.

**간 조직 내의 GPx 측정**

Glutathione은 aerobic life에서 해로운 부산물인 hydrogen peroxide와 organic peroxide와 함께 반응함으로써 해독 작용에서 중요한 역할을 수행한다. 이 반응에서 촉매 효소인 GPx는 selenium 원자가 공유 결합되어있는 것이 특징이며 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 lipid peroxide와 같은 peroxides의 다양한 종류들을 조절한다[22]. Table 4와 같이 GPx의 활성도는 대조군에서는 정상군에 비해 3.72배 정도로 낮았으며 LPS를 투여함으로써 활성도를 낮춘 것으로 나타났다. 갈파래 분획별로 활성도를 보면 대조군에 비해 ULE군은 34.06% ULA군은 11.52%, ULW군은 24.9% 상승하였으며 갈파래 분획의 선 투여가 LPS의 후 투여로 인한 효소 불활성을 예방하여 활성을 높이는 역할을 한 것으로 나타났다.

전반적으로 3가지 항산화효소 SOD, CAT, GPx 전부에서 LPS를 투여하면 높은 효소활성이 낮아지고 갈파래분획을 선 투여하면 LPS를 투여하더라도 효소활성이 낮아지지 않고 상승된 높은 효소활성을 나타냄으로서 고-저-고 패턴의 상관성을 보여 주었고 갈파래 분획의 선투여가 LPS에 대한 예방적 보호효과에 중요한 역할을 한 것으로 관찰되었다. 갈파래 분획 중에서 에틸에테르 분획이 실험적으로는 가장 높은 예방적 보호효과를 나타냈으나 용매의 제거비용 및 해독 면에서

Table 4. Effects of *Ulva lactuca* fractions on GPx activities in liver homogenate

Experimental group	GPx (mU/mg protein)
	Liver homogenate
NOR	77.39±1.01**
CON	20.76±0.5
ULE	40.06±0.68*
ULA	27.29±1.5
ULW	34.87±0.99

NOR : normal group, CON : LPS-treated group  
 ULE : *Ulva lactuca* ethyl ether fraction-pretreated and LPS-posttreated group  
 ULA : *Ulva lactuca* ethyl acetate fraction-pretreated and LPS-posttreated group  
 ULW : *Ulva lactuca* water fraction-pretreated and LPS-posttreated group  
 \*\* p<0.001, \*p< 0.05 p< 0.01 values are mean ± SE (n=7).  
 GPx : glutathione peroxidase

볼 때 수층분획이 실용적으로는 활용가치가 더 높을 것으로 사료되었다.

**요 약**

갈파래는 해양성 조류 중 녹조류의 일종으로 현재 식용으로 이용되지 않고 방치되어 갈파래에 함유되어 있는 유용물질의 효용성을 과학적으로 증명하여 활용가치를 창출하고 해양자원의 이용범위를 확대하는 것은 중요하고도 절실하다. LPS는 그람 음성균의 세포벽을 만드는 물질의 일종으로 NO를 생성시키고 Ca<sup>2+</sup>를 증가시키며 free radicals를 형성하여 간 조직의 막을 파괴하고 간의 지방을 축적시키고 노화를 촉진하는 역할을 한다.

갈파래를 에틸에테르, 에틸아세테이트, 수층으로 분획하고 그 분획을 선 투여하고 LPS를 후 투여한 경우에 항산화효소에서 분획 별 LPS에 대한 예방효과를 관찰하고 효소활성화 최적 분획을 검색하고자 하였다. 흰쥐를 사용하여 갈파래 분획을 14일간 매일 1회 복강 내로 선 투여하고 15일째 되는 날에 LPS를 투여하였다.

SOD의 활성도는 대조군에서는 정상군에 비해 1.93배 정도로 낮았으며 LPS를 투여함으로써 활성도를 낮춘 것으로 나타났다. 갈파래 분획별로 활성도를 보면 대조군에 비해 ULE군은 45.04% ULA군은 46.86%, ULW군은 47.46% 상승하였으며 갈파래 분획의 선 투여가 LPS의 후 투여로 인한 효소 불활성을 예방하여 활성을 높이는 역할을 한 것으로 나타났다. CAT의 활성도는 대조군에서는 정상군에 비해 1.29배 정도로 낮았으며 LPS를 투여함으로써 활성도를 낮춘 것으로 나타났다. 갈파래 분획별로 활성도를 보면 대조군에 비해 ULE군은 66.96% ULA군은 46.51%, ULW군은 42.94% 상승하였으며 갈파래 분획의 선 투여가 LPS의 후 투여로 인한 효소 불활성을 예방하여 활성을 높이는 역할을 한 것으로 나타났다. GPx의 활성도는 대조군에서는 정상군에 비해 3.72배 정도로 낮았으며 LPS를 투여함으로써 활성도를 낮춘 것으로 나타났다. 갈파래 분획별로 활성도를 보면 대조군에 비해 ULE군은 34.06% ULA군은 11.52%, ULW군은 24.9% 상승하였으며 갈파래 분획의 선 투여가 LPS의 후 투여로 인한 효소 불활성을 예방하여 활성을 높이는 역할을 한 것으로 나타났다.

전반적으로 3가지 항산화효소 SOD, CAT, GPx 전부에서 LPS를 투여하면 높은 효소활성이 낮아지고 갈파래분획을 선 투여하면 LPS를 투여하더라도 효소활성이 낮아지지 않고 상승된 높은 효소활성을 나타냄으로서 고-저-고 패턴의 상관성을 보여 주었고 갈파래 분획의 선투여가 LPS에 대한 예방적 보호효과에 중요한 역할을 한 것으로 관찰되었다. 갈파래 분획 중에서 에틸에테르 분획이 실험적으로는 가장 높은 예방적 보호효과를 나타냈으나 용매의 제거비용 및 해독 면에서 볼 때 수층 분획이 실용적으로는 활용가치가 더 높을 것으로 사료되었다.

## 참고 문헌

1. Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*, Methods. *Enzymology* **105**, 121-126.
2. Beauchamp, C. and I. Fridovich, 1971. Superoxide dismutase : improved assays and an assay applicable to acrylamide gel. *Anal. Biochem.* **44**, 276-287.
3. Charles A Janeway, 2002. Immunobiology. P. 68
4. Charles A Janeway, 2002. Immunobiology. P. 350
5. Cho, K. J., Y. S. Lee and B. IL. Ryu. 1990. Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *J. Korea Fish. Soc.*, **23**, 315-352
6. Jeong, C. S., K. W. Jung and J. S. Jeong. 1999. Hepatoprotective Effect of Subfractions of *Carthamus tinctorius* L. Semen on the Reversal of Biotransformation Enzyme Activities in CCl<sub>4</sub>-induced Hepatotoxic Rats. *J. Fd Hyg. Safety.* **14(2)**, 172-178.
7. Dantzer, R., R. M. Bluthe, G. Gheusi, S. Cremona, S. Laye, P. Parnet and K. W. Kelley. 1998. Molecular basis of sickness behavior. *Annals N. Y. Acad. Sci.* **856**, 132
8. Enomoto N, S. Yamashina, H. Kono, *et al.* 1999. Development of a new, simple rat model of early alcohol-induced liver injury based on sensitization of kupffer cells. *Hepatology*, **29**, 1680-1689
9. Fridovich, I. 1986. Biologic effects of the superoxide radicals. *Arch. Biochem. Biophysm.* **247**, 1-15.
10. Fridovich, I. 1986. Superoxide dismutase. *Adv. Enzymol.*, **58**, 61.
11. Gutteridge, J. M. C., A. P. C. Beard and G. J. Quinlan. 1983. Superoxide-dependent lipid peroxidation. Problem with the use of catalase as a specific probe for Fenton-derived hydroxyl radicals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **117**, 901-907.
12. Halliwell, B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.* **9**, 1
13. Lee, I. H., Y. P. Lee and Y. S. Ahn. 1986. Flora of Marine Algae in Cheju Island 1. Ulvaceae. *The Korean Journal of Phycology.* Vol. 1, No. 1, 157-167
14. Jean-Luc. Bret-dibat, C. Chistophe, *et al.* 1997. Systemic Capsaicin Pretreatment Fails to Block the Decrease in Food-Motivated Behavior induced by Lipopolysaccharide and Interleukin-1 $\beta$ . *Brain Research Bul.* Vol. 42, No. 6. PP. 443-449
15. Keele, B. B. Jr., J. M. McCord and I. Fridovich. 1970. superoxide dismutase from *Escherichia. coli* : A new manganese-containing enzyme. *J. Biol. Chem.*, **245**, 6176.
16. Kinght, J. A. 1995. The process and theories of aging. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **25**, 1
17. Lee, J. H and V. J. Sun. 1980. The content of minerals in algae. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.*, **9**, 51-58
18. Lowry, O. H., N. J. Rosenbrough., A. S. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein Measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 256-261.
19. Lawrence, R. A. and R. F. Burk. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **71**, 952-958.
20. Misra, H. P. and I. Fridovich. 1972. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.*, **247**, 3170.
21. Nagumo, T. and T. Nishino. 1997. Fucan Sulfates and their anticogulant activities. In S. Dumitriu.(ed.), *Polysaccharides in Medicinal Applications, New York-Basel-Hong Kong.* PP. 545-574.
22. Rosen, D. R., *et al.* 1993. Mutations with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* **362**, 59-62.
23. Schaeffer, D. J. and V. S. Krylov. 2000. Anti-HIV activity of Extracts and compounds from algae and Cyanobacteria. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* **45** : 208-227.
24. Tainer, J. A., E. D. Getzoff, J. S. Richardson. and D. C. Richardson. 1983. Structure and mechanism of Cu, Zn, superoxide dismutase. *Nature* **306**, 274-287.
25. Trant, N. L., S. R. Meshnick, K. Kitchene, J. W. Eaton and A. Cerami. 1983. Iron-containing superoxide dismutase from *Crithidia fasciata* : Purification, characterization and similarity to leishmanial and trypanosoml enzymes. *J. Biol. Chem.*, **258**, 125.
26. Vance, P. G. and B. B. Jr. Keele. 1972. Superoxide dismutase from *Streptococcus mutans*. *J. Biol. Chem.*, **247**, 4782.
27. Von, Sonntag. 1987. In "The Chemical Basis of Radiation of Biology" Tylor and Francis.(ed.). London. pp. 31.
28. Yosjikawa, T., M. Murakami, N. Yoshida, O. Seto and M. Kondo. 1983. Effects of superoxide dimutase and catalase on disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb. Haemostas* **50**, 869-872.