

미역 추출물로부터 충치 원인균, *Streptococcus mutans* 에 대한 항균물질의 분리 및 동정

윤소미¹ · 장준호² · 이종수^{1*}

¹경상대학교 해양생명과학부 · 해양산업연구소

²日本東北大學 대학원 농학연구과

Isolation and Identification of an Antibacterial Substance from Sea Mustard, *Undaria pinnatifida*, for *Streptococcus mutans*

So-Mi Yun¹, Jun-Ho Jang² and Jong-Soo Lee^{1*}

¹Division of Marine Life Science and Technology, Institute of Marine Industry,
Gyeongsang National University, Gyeongnam 650-160, Korea

²Graduate School of Agricultural Science, Tohoku Univ., Sendai 981-8555, Japan

Abstract

An antibacterial substance to the *Streptococcus mutans*, a causative bacterium for decayed teeth, was isolated from the dried sea mustard, *Undaria pinnatifida*, and identified by GC and GC/MS. Acetone extract from the sea mustard (10.4 kg), was evaporated and partitioned to 4 fractions such as hexane, chloroform, butanol and water. The most active chloroform fraction were further purified through basic alumina, silicic acid and ODS column, successively, and finally, 3 antibacterial substances were isolated on the HPLC attached ODS column by using 95% MeOH and guided with UV detector (254 nm). Antibacterial substances (total 160 mg, yield $1.5 \times 10^{-3}\%$) had the same R_f value (0.42) on the TLC developed hexane-diethyl ether-acetic acid (80:30:1) and those methyl esters moved to 0.95. They were identified as the same unsaturated fatty acid, C_{18:4,n-3} (3,6,9,12-octadecatetraenoic acid, stearidonic acid) compared relative retention times (15.5 min) with authentic fatty acid on the GC chromatogram. It was further confirmed unambiguously on the GC/MS giving molecular ion peak at m/z 290 which coincided with its methyl ester.

Key words: sea mustard, *Streptococcus mutans*, antibacterial activity, stearidonic acid, GC, GC/MS

서 론

일반적으로 충치라고 부르는 치아 우식증(齒牙 齲蝕症)은 전 세계적으로 만연되어 있는 구강 내 질병의 하나로서 국내에서도 소득 수준의 향상에도 불구하고 식생활 습관의 변화 등으로 그 이환율은 오히려 점점 증가하고 있는 추세이다. 충치가 생기는 원인에는 여러 가지 설이 있으나, 구강 내에서 서식하는 세균에 의한 것으로 알려져 있다. 즉, 우리가 섭취하는 식품의 일부가 치아나 치아 사이에 남아 있게 되면, 이중에 함유된 당질이 충치 원인균들이 가지고 있는 glucosyltransferase(GTase)에 의해 점착성이 강하고 불용성인 glucan이 생성되어 치아 표면에 부착하게 되고, 이 glucan에서 균이 증식하면서 각종 유기산을 생성하여 치아 표면의 enamel질을 분해하여 충치가 발생하는 것으로 알려져 있다(1,2). 충치를 유발하는 대표적인 균주로는 *Streptococcus mutans*가 알려져 있으며(3), 충치의 예방을 위해서는 항상

치아를 깨끗하게 닦고 유지하는 것이 최선의 방법이라 할 수 있으나, 이러한 원인균의 증식 억제도 중요시 되어야 할 수단으로 생각된다. 따라서, 치약에 각종 항균물질을 첨가하거나, 최근에는 인체에 무해한 xylitol과 같은 세균 증식 억제 물질 등을 껌이나 사탕류에 첨가하여 이용하기도 하며, 인체에 무해하고 충치 원인균만 선택적으로 죽이는 효과가 있는 천연 물질을 찾으려는 연구들도 행하여지고 있다(4,5).

한편, 해조류를 이용한 건강식품 및 그 기능성 연구는 1950년대 이후 미국, 일본 등에서 활발히 진행되어 왔다(6,7). 해조류에 함유되어 있는 항균활성물질들로서는 할로젠 화합물, diterpene 및 triterpene계 화합물, phenol/tannin 류, 지방산화합물 등이 보고되어져 있으며(8-14), 이는 항산화활성, 항암, 항충치작용, 항혈액응고, 항염증활성, 항균활성 및 면역조절작용 등의 다양한 생리활성이 있는 것으로 알려져 있다(15-18). Lee 등(19)은 해조류 추출물로부터 구취 억제 활성을 검색하여 대황으로부터 구취 저해효과를 규

*Corresponding author. E-mail: leejs@gshp.gsnu.ac.kr
Phone: 82-55-640-3117, Fax: 82-55-640-3111

명한 바 있으며 대항 추출물의 층치원인균, *Streptococcus mutans*에 대한 항균성과 이 균이 생성하는 GTase 활성 저해효과를 보고하였다. Kim과 Lee(20)는 우리나라 연안에서 채취한 각종 해조류의 80% ethanol 추출물이 *S. mutans*의 증식에 미치는 영향을 검색한 바, 다시마, 미역 등에서의 항균활성을 보고하였다. 이에 다시마 및 미역의 아세톤 추출물로부터 *S. mutans*에 대한 항균활성을 재검토하고, 미역으로부터 항균활성물질을 분리, 정제하여 GC와 GC/MS에 의하여 동정하였다.

재료 및 방법

재료

건조 미역(*Undaria pinnatifida*)은 부산시 기장군에서 양식하여 수확한 것을 자연 건조하여 시판중인 원형이 보존된 특급 마른 미역을 구입하여 실험에 사용하였다.

시험 균주 및 배지

실험에 사용한 균주 *Streptococcus mutans* KCTC 3300은 한국생명공학연구원 유전자 은행실에서 분양받았으며, 세균 배양 및 보존에는 brain heart infusion medium(BHI, Difco Lab., USA)을 사용하였다.

항균활성의 측정

미역의 acetone 추출물 및 각 용매 획분의 항균활성은 Lorian법(21)을 개량하여 측정하였다. 즉, BHI broth를 조제하여 5 mL씩 시험관에 분주하고 121°C에서 15분간 멸균시켰다. 한편, 별도로 증균시켜 둔 *S. mutans* 배양액 10 µL를 BHI broth에 무균적으로 첨가하고 이를 35°C에서 12시간 배양하여 균수가 10⁶ CFU/mL 되도록 하였다. 여기에 시료 용액은 건조 미역 30 g 추출물에 상당하는 양을 취하여 0.8 cm의 paper disk(thick, Toyo Roshi, Japan)에 흡습시킨 후 건조시켜 각 시험관에 넣어 35°C에서 72시간 배양하여 배양액의 흡광도를 660 nm에서 spectrophotometer(Shimadzu UV-160A, Shimadzu Inc, Japan)로 측정하였다. 이때 동일 농도마다 3개의 시험구를 사용하였으며, *S. mutans*의 증식 억제 여부는 대조구와 시험구의 흡광도 차이를 백분율로 환산하여 저해율을 표시하였다.

$$\text{Antibacterial activity (\%)} = \frac{\text{O.D. of control} - \text{O.D. of sample}}{\text{O.D. of control}} \times 100$$

항균물질의 추출, 분리 및 정제

항균물질은 건조 미역(10.4 kg)을 분쇄기로 잘 분쇄한 다음, 2배량의 acetone을 가하여 교반, 추출하고 Toyo No.2 여지(Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Japan)로 여과하였다. 잔사는 2배량의 acetone으로 2회 더 추출하여 여액을 합한 다음 vacuum evaporator(Büchi R-114, Büchi, Switzerland)로

감압 농축하여 점액성의 조추출액을 얻었다. 조추출액은 Fig. 1과 같이 1 L의 80% MeOH과 hexane으로 분배하여 hexane 획분을 분취하고, 80% MeOH 획분은 순차적으로 CHCl₃, BuOH, 수용성 획분으로 용매 극성별로 분획하였다. 이중 항균성이 강한 CHCl₃ 획분을 염기성 alumina column(60×1 cm, id., Aluminoxide 90, Merck, Germany)에서 1% NH₄OH-MeOH(1:1)로 용출한 다음, silica column(20×1 cm, id., Kieselgel 60, Merck, Germany), ODS column(20×1 cm, id., 2.4 mL/min)으로 순차 정제하였다. 이때 각 column에서 사용한 용매는 column 부피의 3배량으로 각각 용출하였다. 최종적으로 Develosil ODS-7 column(20×1 cm, id., Nomura Chemical Co., Japan, 유속: 1 mL/min)에서 90% MeOH을 용매로 UV 254 nm에서 monitoring 하면서 항균성 있는 3개의 물질 S-1(10 mg), S-2(90 mg), S-3(60 mg)을 각각 분리하였다.

항균물질의 methyl ester화

정제한 항균물질 S-1, S-2 및 S-3 각각의 1/2량에 12% BF₃/MeOH 용액 2 mL를 가하고 100°C에서 10분간 가열하여 methyl ester화 하였다. 여기에 포화식염수 5 mL를 가하고, 이어서 iso-octane 1 mL를 가하여 잘 흔들어 methyl ester 유도체들을 iso-octane 층으로 이행시켰다. Iso-octane 층은 따로 분리하여 질소 기류 하에서 농축한 다음 hexane 1 mL 용액으로 조제하였다.

항균물질의 TLC

항균물질 및 methyl ester 유도체들은 silica plate(Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck, Germany)를 이용하여 hexane-diethyl ether-acetic acid(80:30:1) 혼합용매로 전개하였으며, 검출은 건조 후 50% sulfuric acid/EtOH을 분무하여 120°C로 가열하여 갈색 반점의 R_f값을 계산하였다. 대조 시료로서는 대두유 및 대두유의 0.5 N NaOH로 가수분해하여 얻은 지방산 획분을 사용하였다.

항균물질의 GC 및 GC/MS 분석

정제된 항균물질의 methyl ester화물을 일반적인 지방산 분석에 사용하는 승온 조건에서 GC로 분석하였다(22). 분석기기는 supelcowax-320 capillary column(30 m×0.32 mm i.d.)이 장착된 Shimadzu GC-17A(Shimadzu Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 FID로 검출하였다. 지방산 methyl ester 표준품은 진주조개에서 분리한 지방산을 methyl ester화 한 것을 사용하였다. 한편, 항균물질의 methyl ester 유도체 약 30 mg을 항균물질 정제에 사용한 ODS column과 동일한 조건하에서 재분리, 정제하여 GC/MS(Jeol JMS-700, Japan)로 EI mode에서 분석하였다. 이 때 column은 DB-5 capillary column(60 m×0.32 mm, i.d., Agilent Tech, Colorado, USA)을 사용하였으며, 50°C에서 230°C까지 승온 조건(5°C/min)에서 분석하였다.

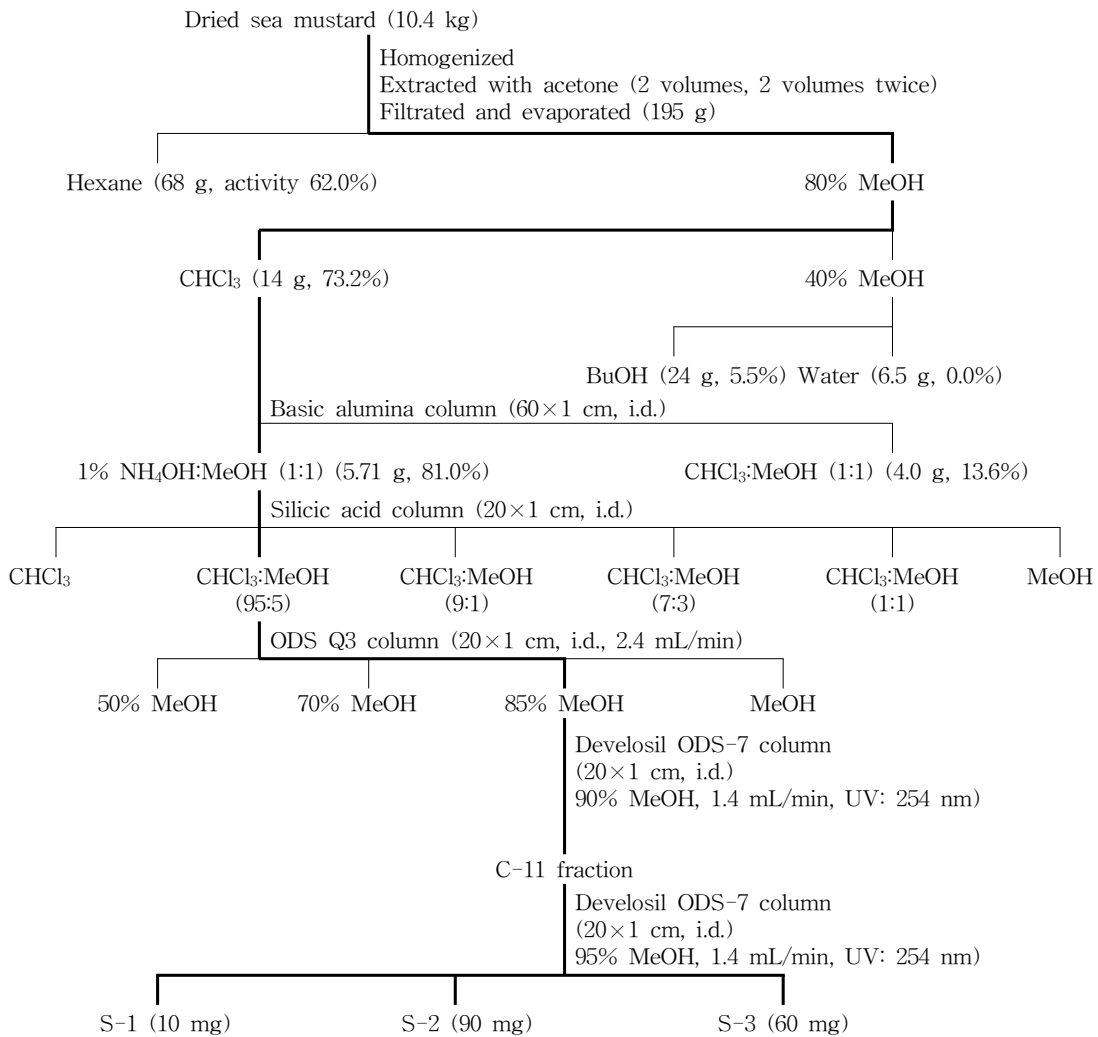


Fig. 1. Partition and isolation procedures of antibacterial substances from sea mustard.
Activity means antibacterial activity of the extract equivalent to 30 g of dried sea mustard.

결과 및 고찰

각 획분별 항균활성

미역 acetone 추출물을 hexane, CHCl₃, BuOH, water로 극성에 따라 분획한 결과, 극성이 가장 낮은 hexane층의 잔사가 68 g으로 가장 많았으며, water층이 가장 적었다. 이는 아세톤 추출물을 농축하는 과정에서 다량의 염분이 석출되어 제거되었기 때문이다. 한편, 건조 미역 30 g 상당량의 추출액의 항균활성은 CHCl₃ 획분이 73.2%로 가장 높았고, hexane층도 62.0%로 비교적 높았으나, BuOH층과 수용성 획분은 거의 활성이 나타나지 않아 항균활성물질은 CHCl₃에 잘 녹는 성분으로 추정되었다(Fig. 1).

각 칼럼에서의 항균활성

항균활성이 가장 큰 CHCl₃ 획분은 염기성 alumina column 상에서 CHCl₃:MeOH(1:1) 혼합 용액으로 중성 물질을 용출시키고, 흡착된 물질은 1% NH₄OH:MeOH(1:1)로 용출

시킨 결과, 1% NH₄OH:MeOH(1:1) 혼합용액에서 81.1%의 활성이 나타나 이 물질은 산성물질로 추정되었다(Fig. 1). 이 획분은 농축 후, silica column에서 chromatography를 행하였다. Silica column에서는 CHCl₃:MeOH(95:5) 획분에서 97.1%로 가장 높은 항균활성을 나타냈으며, CHCl₃:MeOH(9:1)에서도 68.7%로 비교적 높은 항균활성이 나타났다(Table 1). 항균 활성이 가장 높은 CHCl₃:MeOH(9:1) 획분은 농축하여 ODS column에서 50%, 70%, 85%, 100% MeOH로 극성을 높여가며 용출시킨 결과, 85% MeOH 획분에서 96.4%로 가장 활성이 높게 나타났다(Table 1).

이 획분은 Develosil ODS-7 column에서 90% MeOH을 이동상 용매로 하여 HPLC상에서 UV 254 nm에서 monitoring 하면서 분취한 결과, 36분대에 적은 peak 부분(C-11)에서 항균활성을 나타내었다(Fig. 2A). 이 획분은 다시 농축하여 최종적으로 Develosil ODS-7 column상에서 95% MeOH을 이동상으로 하여 chromatogram에 나타난 peak의 형태를

Table 1. Antibacterial activity of each fractions on the silicic acid column and ODS column

Silica column		ODS column	
Fraction	Inhibitory activity (%)	Fraction	Inhibitory activity (%)
CHCl ₃	39.3	50% MeOH	7.0
CHCl ₃ :MeOH (95:5)	95.5	70% MeOH	76.3
CHCl ₃ :MeOH (9:1)	68.6	85% MeOH	96.4
CHCl ₃ :MeOH (7:3)	30.8	100% MeOH	29.7
CHCl ₃ :MeOH (1:1)	9.6		
MeOH	0.0		

% means average activity of the extract equivalent to 30 g dried sea mustard.

기준으로 거의 같은 시간대에 3개의 물질 S-1, S-2, S-3을 용출 순서대로 분리하여(Fig. 2B) 항균활성을 조사한 결과, 3개의 성분 모두에서 90% 이상의 높은 활성을 나타내었고 (S-1: 91.4%, S-2: 99.6%, S-3: 99.4%), 모두 기름상의 연한 황색을 나타내었으며, 시간이 갈수록 황색이 더 진하여졌다. 각종 칼럼을 통한 정제과정에서 활성이 가장 강한 획분만을 선택하여 최종적으로 항균물질은 총 160 mg을 정제하였다 (수율 $1.5 \times 10^{-3}\%$).

항균물질의 TLC 상에서의 거동

HPLC에서 분리한 3개의 항균물질 S-1, S-2, S-3은 hexane-diethyl ether-acetic acid(80:30:1) 혼합 용매로 전개한 TLC상에서 동일한 위치에 spot이 나타났으며(R_f값 0.42), 이들은 대두유에서 분리한 유리지방산과 비슷하였다. 한편, 이들의 methyl ester 유도체들은 R_f값이 0.95로 이동하여 대두유의 중성지방인 triglyceride와 비슷하였다. 이와 같은 항균물질 및 이들 methyl ester화 유도체들의 TLC상에서의 거동으로 보아 이들은 carboxyl기를 가지는 지방산으로 추정되었으나, 각 성분이 동일한 물질인지는 TLC로 확인이 불가능하였다.

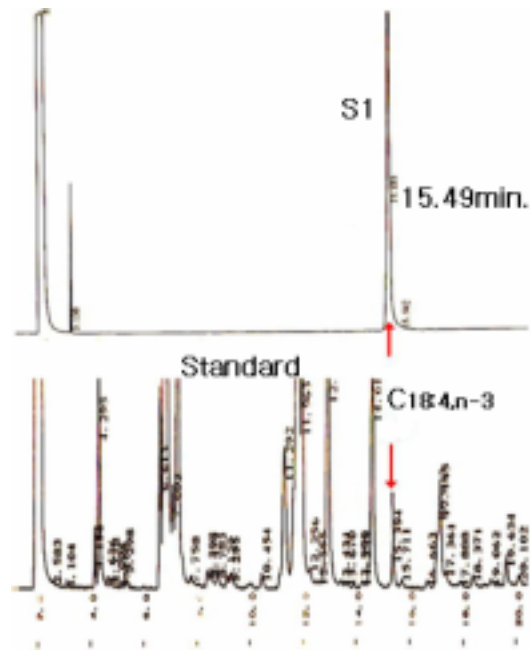


Fig. 3. Typical GC chromatogram of the antibacterial substance S-1.

항균물질의 GC에 의한 동정

분리, 정제한 항균물질 S-1, S-2, S-3을 각각 gas chromatography에서 분석하여 표준 혼합 지방산 methyl ester 화물과 용출 시간을 비교하였다. 비록 이들이 분리, 정제과정 중에 ODS column 상에서는 peak가 분리되어 용출되었으나, 세 성분 모두 동일한 15분대에 peak가 나타났으며, 불포화지방산의 C_{18:4n-3}과 용출 시간이 정확히 일치하여 이 성분들은 동일한 물질로서 불포화지방산인 3,6,9,12-octadecatetraenoic acid(stearidonic acid, C_{18:4n-3})로 동정하였다. 이 중 S-1의 chromatogram을 Fig. 3에 나타내었다.

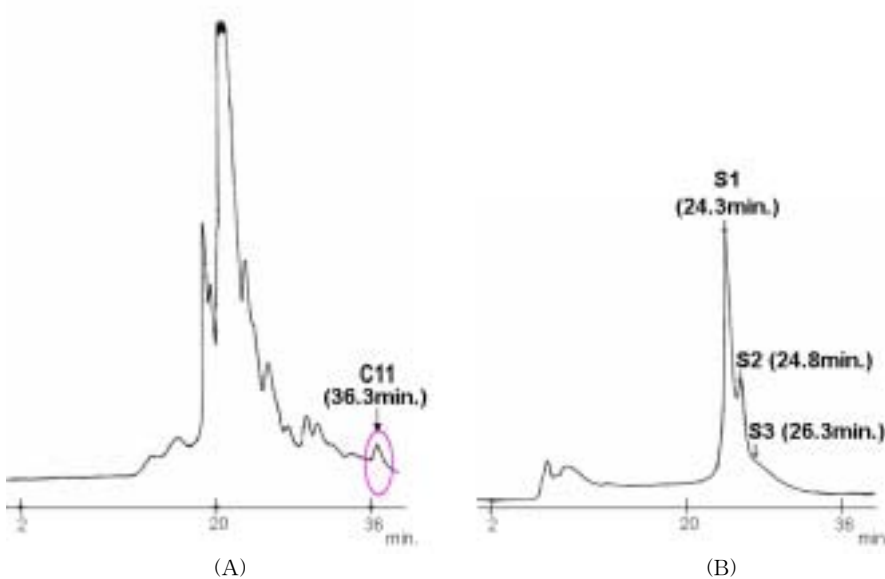


Fig. 2. HPLC chromatograms of the antibacterial substances on the ODS column (A) chromatographed on the Develosil ODS-7 column, 90% MeOH, 1.4 mL/min, UV 254 nm and (B) rechromatographed C11 fraction on the same conditions with 95% MeOH.

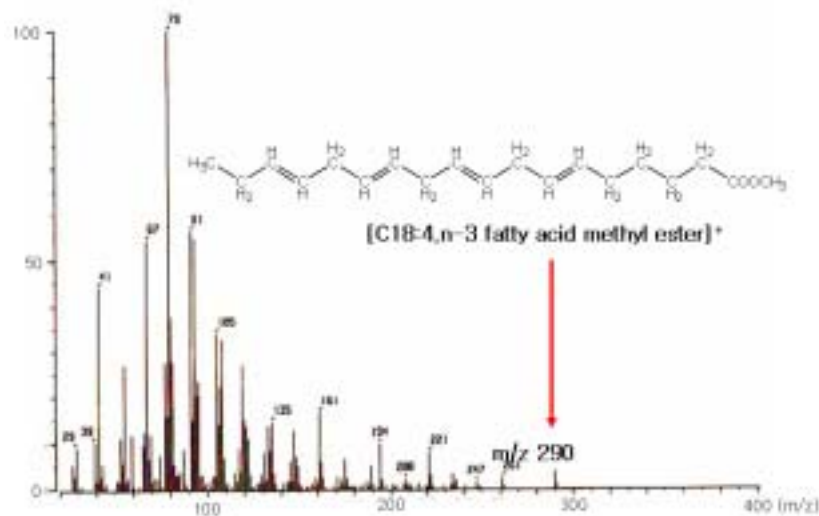


Fig. 4. GC/MS spectrum of $C_{18:4,n-3}$ fatty acid methyl ester.

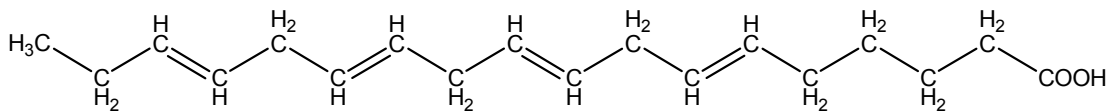


Fig. 5. Structure of 3,6,9,12-octadecatetraenoic acid (stearidonic acid, $C_{18:4,n-3}$).

항균물질의 GC/MS에 의한 동정

GC 분석에서 항균물질이 $C_{18:4,n-3}$ 지방산으로 동정되었는 바, 이를 다시 확인하기 위하여 이들의 methyl ester 유도체를 HPLC에서 분리하여 GC/MS로 분석하였다. GC/MS spectrum 상에서는 m/z 290 mass unit에 분자 이온 peak가 관측되었다(Fig. 4). 이것은 지방산 $C_{18:4,n-3}$ 의 분자에 methyl ester가 결합한 유도체(R-COOCH₃)의 분자량인 290과 일치하는 것으로서 이 물질이 3,6,9,12-octadecatetraenoic acid (stearidonic acid, $C_{18:4,n-3}$) 지방산임을 확인하였다(Fig. 5).

$n-3$ 계열의 고도 불포화지방산들은 어패류나 미세조류와 같은 수산물에서 주로 발견되는 지방산들로서 주로 linolenic acid, EPA 및 DHA가 잘 알려져 있으며, 이중 특히 EPA와 DHA는 다양한 생리활성을 가지고 있어 각종 식품이나 건강기능식품 또는 의약품으로서도 이용되고 있으나, stearidonic acid는 양적으로도 적어 잘 알려져 있지 않은 특이한 지방산이다.

최근, 이 지방산은 식물성 플랑크톤에 많이 존재하는 것으로 밝혀졌으며(23), 항균성 이외에도 용혈 작용(24), 적조를 일으키는 *Heterosigma akashiwo*에 대한 살조 활성(25) 및 홍반, 부종 등에 대한 항염증 작용(26)이 있음이 새로이 보고되었다.

또, 우리나라에서 예로부터 여러 가지 식품으로 가공하여 즐겨 먹는 미역은 다이어트에 효과가 있는 기능성 성분인 다당류를 비롯한 무기질 등 여러 가지 영양성분이 풍부한 식품으로 알려져 있으며, 그 중 지질 성분에 관하여 Choe와

Choi(27)는 완도산 미역의 지방산을 분석한 결과, stearidonic acid가 총지질에 대하여 엽상부에 0.22%, 포자엽에 0.49%, 줄기에 0.97%나 함유되어 있다고 하였다. 또한, Jeong 등(28)은 기장, 통영, 여수 산 해조류의 지방산을 분석하여 stearidonic acid가 지역과 종에 따라 함량에 차이는 있으나, 해조류에 함유된 주요 지방산으로서, 기장산 미역에서는 불포화지방산 조성 중에서 가장 많은 13.8%나 함유되어 있다고 하였다. 금후, 이러한 특이 지방산이 나타내는 생리적 효과와 이용에 관한 좀 더 많은 연구가 필요하며, 이를 많이 함유한 미역과 같은 해조류의 소비 증가에 도움이 될 것으로 기대한다.

요 약

건조 미역 10.4 kg을 acetone으로 추출, 여과한 다음 액-액 분배, 각종 크로마토그래피를 통하여 증치원인균, *Streptococcus mutans*에 대한 항균물질의 한 성분을 분리, 정제하고(160 mg, 수율 $1.5 \times 10^{-3}\%$) 물질을 동정한 결과는 다음과 같다. 건조 미역 30 g 상당량의 추출액을 기준으로 용매 희분별 항균활성을 조사하였을 때, CHCl₃층이 73.2%로 가장 강하였고, hexane층이 62.0%이었으며, BuOH층이나 물층은 거의 없었다. 알루미늄 칼럼에서는 산성 희분인 1% NH₄OH:MeOH(1:1)용매 희분이 81.0%의 항균활성을 나타내었으며, 실리카 칼럼에서는 CHCl₃:MeOH(95:5)용매에서 가장 높은 95.5%의 항균성을 나타내었고, ODS칼럼에서는 85% MeOH

에서 96.4%의 항균성을 나타내었다. 최종적으로 ODS칼럼에서 95% MeOH를 이동상으로 하여 3개의 물질 S1(10 mg), S2(90 mg), S3(60 mg)을 분리 정제하였다. TLC에서 각 성분은 동일한 R_f값 0.42를 나타내어 동일한 물질로 추정되었으며, 이들을 메칠 유도체화한 성분들은 R_f값이 0.95로 바뀌어 이들 물질이 carboxyl기를 가지는 지방산으로 추정되었다. GC분석에서 표준 지방산과 비교한 결과, 이들은 C_{18:4,n-3} 지방산과 retention time이 일치하였다. 또한, 메칠 유도체의 mass spectrum 분석 결과, m/z 290에 분자 이온 peak가 관측되어 C_{18:4,n-3} 지방산의 methyl 유도체의 분자량과 일치하여, 이 물질을 3,6,9,12-octadecatetraenoic acid(stearidonic acid, C_{18:4,n-3}) 지방산으로 동정하였다.

문 헌

- Lee KY, Cho HS, Yoon JW, Hae TR. 1993. Study on the development of preventive agent of dental caries from biological active materials. *Korean J Biotechnol Bioeng* 8: 126-132.
- Kim DB, Ju H, Baik BJ, Song WY, Song YH. 1995. Effects of propolis to the cariogenic activity of *Streptococcus mutans*. *J Korean Acad Pediatr Dent* 22: 231-238.
- Hardie JM, Whiley RA. 1992. The genus *Streptococcus*-oral. In *The Prokaryotes*. 2nd ed. Balows A, Truper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH, eds. Springer-Verlag, New York. p 1421-1449.
- Do DS, Lee SM, Na MK, Bae KH. 2002. Antimicrobial activity of medicinal plant extracts against a cariogenic bacterium, *Streptococcus mutans* OMZ 176. *Kor J Pharmacogen* 33: 319-323.
- Namba T, Tsunozuka M, Bae KH, Hattori M. 1981. Studies on dental caries prevention by traditional Chinese medicines. *Shoyakugaku Zasshi* 35: 295-302.
- Nisizawa K. 1978. Marine algae from a viewpoint of pharmaceutical studies. *Jap J Phycol* 26: 73-78.
- 佐藤 寛. 1993. 海藻成分の機能性. 海藻の科学, 大石圭一編. 朝倉書店, 東京, 日本. p 160-181.
- Ali MS, Saleem M, Yamdagni R, Ali MA. 2002. Steroid and antibacterial steroidal glycosides from marine green alga *Codium iyengarii* Borgesen. *Nat Prod Lett* 16: 407-413.
- Bennamara A, Abourriche A, Berrada M, Charrouf M, Chaib N, Boudouma M, Garneau FX. 1999. Methoxy-bifurcarenone: an antifungal and antibacterial monoditerpenoid from the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*. *Phytochemistry* 52: 37-40.
- Enoki N, Ishida R, Matsumoto T. 1982. Structure and conformation of new nine-membered ring diterpenoids from the marine alga *Dictyota dichotoma*. *Chem Lett* 11: 1749-1752.
- Kurata K, Amiya T. 1980. A new bromophenol from red alga *Polysiphonia urce rolata*. *Bull Chem Soc Jpn* 53: 2020-2022.
- Kurata K, Amiya T. 1980. Bis(2,3,6-tribromo-4,5-dihydroxybenzyl) ether from the red alga, *Symphycladia latiuscula*. *Phytochemistry* 19: 141-142.
- Vairappan CS, Kawamoto T, Miwa H, Suzuki M. 2004. Potent antibacterial activity of halogenated compounds against antibiotic-resistant bacteria. *Planta Med* 70: 1087-1090.
- Xu N, Fan X, Yan X, Li X, Niu R, Tseng CK. 2003. Antibacterial bromophenols from the marine red alga *Rhodomela confervoides*. *Phytochemistry* 62: 1221-1224.
- Asia A, Sugawara T, Ono H, Nagao A. 2004. Bio-transformation of fucoxanthinol into amarouchixanthin in mice and Hep G2 cells: formation and cytotoxicity of fucoxanthin metabolites. *Drug Metab Dispos* 32: 205-211.
- Liu JN, Yoshida Y, Wang MQ, Okai Y, Yamachita U. 1997. B cell stimulating activity of seaweed extracts. *Int J Immunopharmac* 19: 135-142.
- Mayer AMS, Hamann MT. 2002. Marine pharmacology in 1999: compounds with antibacterial, anticoagulant, anti-fungal, anti-inflammatory, antiplatelet, antiprotozoal and antiviral activities; affecting the cardiovascular, endocrine, immune, and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action. *Comp Biochem Physiol Part C* 132: 315-339.
- Mayer AMS, Hamann MT. 2004. Marine pharmacology in 2000: marine compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiplatelet, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune, and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action. *Mar Biotechnol* 6: 37-52.
- Lee DS, Kim TJ, Kim JH, Kim SB, Cho SW, Lim CW, Min JG. 2001. Effect of *Eisenia bicyclis* extract on the growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus mutans*. *Bull Nat'l Fish Res Dev Inst Kor* 59: 171-176.
- Kim JH, Lee DS. 2002. Antibacterial activity of sea-mustard, *Laminaria japonica* extracts on the cariogenic bacteria, *Streptococcus mutans*. *J Kor Fish Soc* 35: 191-195.
- Lorian V. 1991. *Antibiotics laboratory medicine*. Williams & Wilkins, Baltimore, USA. p 17-105.
- Lee HS. 2005. Changes in EPA and DHA content of microalgae at different environment condition. *MS thesis*. Gyeongsang National Univ. p 9.
- Kakisawa H, Asari F, Kusumi T, Toma T, Sakurai T, Oohusa T, Hara Y, Chihara M. 1988. An allelopathic fatty acid from the brown alga *Cladosiphon okamuranus*. *Phytochemistry* 27: 731-735.
- Fu M, Koulman A, Rijssel MV, Lutzen A, Boer MKD, Monika RT, Liebezeit G. 2004. Chemical characterization of three haemolytic compounds from the microalgal species *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae). *Toxicon* 43: 355-363.
- Alamsjah MA, Hirao S, Ishibashi F, Fujita Y. 2005. Isolation and structure determination of algicidal compounds from *Ulva fasciata*. *Biosci Biotechnol Biochem* 69: 2186-2192.
- Khan MNA, Kang JY. 2006. Purification and characterization of anti-inflammatory constituents from the edible brown alga, *Undaria pinnatifida*. The 2006 joint meeting of the Kor Societies Fish Sci Abstracts p 145-146.
- Choe SN, Choi KJ. 2000. Fatty acid compositions of natural lipids and polar lipids in the parts of Miyekok (*Undaria pinnatifida*). *Kor J Food Nutr* 13: 553-557.
- Jeong BY, Cho DM, Moon SK, Pyeun JH. 1993. Quality factors and functional components in the edible seaweeds. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 621-628.