

## 투스숙액 에탄올 추출물의 항산화 활성

박기의 · 장미순\* · 임치원 · 김연계 · 서영완<sup>1</sup> · 박희연

국립수산과학원 생명공학연구단, <sup>1</sup>한국해양대학교 해양환경 · 생명과학부

### Antioxidant Activity on Ethanol Extract from Boiled-water of *Hizikia fusiformis*

Ki Eui Park, Mi-Soon Jang\*, Chi Won Lim, Yeon-Kye Kim, Youngwan Seo<sup>1</sup> and Hee-Yeon Park

Biotechnology Research Center, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-902, Korea

<sup>1</sup>Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Koera

Received October 24, 2005; Accepted December 5, 2005

Antioxidant activity of the ethanol extract from boiled-water of *Hizikia fusiformis* (EBH) were compared with those of BHA, L-ascorbic acid, gallic acid, caffeic acid and (-)-catechin. The free radical scavenging ability against DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), authentic peroxyntirite and reducing power were measured as indices of antioxidant activity. EBH showed the potent DPPH radical and peroxyntirite scavenging activities, showing 85.23 and 96.97% at final concentration of 1000 µg/ml, respectively. The reducing power increased with the increasing amount of EBH (final concentration of 1, 10, 100 and 1000 µg/ml). Total phenolic content of EBH was 588 mg (-)-catechin/g at the final concentration 1000 µg/ml. Total phenolic contents correlated with DPPH radical scavenging activity ( $R^2=0.766$ ) and reducing power ( $R^2=0.944$ ). These results suggested that EBH could be a natural antioxidative source containing antioxidative components.

**Key words:** antioxidant, DPPH, *Hizikia fusiformis*, peroxyntirite, reducing power

### 서 론

바다로 둘러싸인 우리나라에서는 예로부터 바다로부터 많은 귀한 자원을 얻을 수 있었다. 그 중에서 해조류는 미네랄, 비타민, 식이섬유 등이 균형 있게 분포되어 대사작용 개선 효과가 있고, 산성다당류인 alginic acid는 정장작용과 유독물질 제거 효과가 있는 것으로 알려져 있다.<sup>1)</sup> 최근에는 해조류의 생리활성물질에 관한 연구가 성행하여 항균,<sup>2)</sup> 항암,<sup>3,4)</sup> 항산화<sup>5,6)</sup> 물질에 관한 연구가 이루어져 기능성식품 및 약품개발 소재로서 주목받고 있다. 툯(*Hizikia fusiformis*)은 갈조류 모자반과에 속하며 형태상 원주상의 줄기로 체장 20~100 cm까지 성장하는 다년생 해조류이다. 툯은 독특한 맛과 함께 칼슘, 비타민 A 및 식이섬유소 함량이 풍부하여 당뇨병, 고혈압 예방, 대장암 및 변비 등에 효과가 좋으며 요오드 성분 함량이 많아 갑상선 암 및 각기병 예방에 효과가 있다고 알려져 있다.<sup>7)</sup> 지금까지 툯과 관련하여 이루어진 연구로는, 항산화성다당인 fucoidan을 추출, 분리하여 항혈액 응고 활성을 조사한 연구<sup>8)</sup>와 툯의 열수추출물을 100 mg/kg/day씩 쥐에 10일간 투여하였을 때 56.6%의 중앙

성장 저지율을 보였다고 한 Ryu 등<sup>9)</sup>의 연구 및 툯 열수추출물이 sarcoma-180 세포를 이식한 흰쥐의 고형암 성장을 63% 정도 저지하는 효과를 보였다고 한 김<sup>10)</sup>의 항암활성 측정 연구가 보고 되어져 있다. 또한 툯의 에탄올 추출물이 *E. coil*와 *B. subtilis*에 대해 뛰어난 항균효과를 나타낸다고 한 연구<sup>2)</sup>와 툯에서 fucoxanthin이라는 물질을 분리, 동정하여 DPPH 라디칼 소거능 실험을 한 결과 툯이 우수한 항산화 활성을 가진 해조류임을 보고 한 연구<sup>11)</sup> 등 툯 자체의 우수한 생리활성 물질과 관련하여 많은 연구가 이루어져 왔다.

툯은 생 툯으로 소비되기도 하지만 툯 가공공장에서는 수출 등의 목적으로 툯을 찌서 찌뽕 건조품을 제조하는데, 이때 다량 발생되는 툯 지숙액은 별다른 활용 방안 없이 그대로 버려져 왔다. 따라서 본 연구에서는 툯 지숙액의 항산화 활성을 조사하여 저렴한 천연 항산화제로서의 활용 방안을 검토하고, 낮은 항산화 활성과 비교적 고가인 천연 항산화제의 단점을 보완한 자료로도 활용하고자 하였다.

### 실험재료 및 방법

**시약 및 실험기기.** 본 실험에 사용된 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), Folin & Ciocalteu's phenol reagent, BHA, caffeic acid, gallic acid, (-)-catechin, L-ascorbic acid는 Sigma사

\*Corresponding author  
Phone: +82-51-720-2455; Fax: +82-51-720-2456  
E-mail: suni@momaf.go.kr

(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, peroxyntirite(ONOO<sup>-</sup>)는 Cayman(Ann Arbor, MI, USA)에서 구입하였으며, 그 외의 시약은 특급시약을 사용하였다. 분석에 이용된 UV-visible spectrophotometer는 Mecasys사의 Optizen 2120UV를 사용하였고, EILSA reader기는 PerkinElmer사의 Wallac 1420(Finland)을 사용하였다.

**실험재료 및 톳 자숙액 에탄올 추출물 제조.** 전라남도 완도에서 8월에 채집한 톳을 수돗물로 수세하여 염분을 제거하고, 120°C, 2.5 kg/cm<sup>2</sup>에서 50분간 가열하여 얻어진 톳 자숙액을 냉장보관을 하면서 실험재료로 사용하였다. 톳 자숙액에 에탄올을 1:3(v/v) 비율로 첨가하고 4,200×g에서 20분간 원심분리를 행하여 상등액과 침전물을 분리하였다. 상등액은 whatman No. 2 filter paper로 여과한 후 40°C에서 rotary evaporator로 에탄올을 제거하면서 농축시켰다. 점착성의 잔류물에 75% 에탄올을 가해 추출하고 40°C에서 rotary evaporator로 농축한 후 동결건조하여 분말화 한 톳 자숙액 에탄올 추출물(EBH)을 실온에 보관하면서 분석 시료로 사용하였다.

**DPPH 라디칼을 이용한 전자 공여능 측정.** 톳 자숙액 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼에 대한 전자 공여능(electron donating ability, EDA)은 Blois<sup>12)</sup> 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. DPPH 시약 2 mg을 정확히 칭량하여 에탄올 15 ml에 용해시킨 용액 1.2 ml에 에탄올 3 ml와 DMSO(dimethyl sulfoxide) 0.5 ml를 실험 시작 전에 바로 혼합하여 사용하였다. DPPH용액 900 μl와 증류수에 녹인 각 농도별 시료(최종농도 1000 μg/ml, 100 μg/ml, 10 μg/ml, 1 μg/ml) 100 μl를 혼합하여 20~30초간 세차게 흔들고 10분간 실온에서 반응시킨 후 518 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 시료 대신 증류수를 첨가한 음성 대조구의 흡광도는 0.94~0.97이 되도록 조정하여 실험하였고, 기존의 항산화제로 알려진 BHA, L-ascorbic acid, gallic acid, caffeic acid 및 (-)-catechin을 양성 대조구로 하여 동일한 방법으로 실험하였다. EDA는 시료첨가구와 음성 대조구의 흡광도를 구하여 다음과 같이 백분율로 나타내었으며, 각 실험은 3회 반복하여 얻은 결과를 평균한 값으로 나타내었다.

$$\text{EDA (electron donating ability) (\%)} = \frac{\text{음성대조구의 흡광도} - \text{시료처리구의 흡광도}}{\text{음성대조구의 흡광도}} \times 100$$

**Peroxyntirite 소거 활성 측정.** Peroxyntirite(ONOO<sup>-</sup>) 소거 활성은 Kooy 등<sup>13)</sup>의 방법에 따라 dihydrorhodamine 123(DHR 123)이 산화되는 정도를 측정함으로써 검색하였다. Dimethylformamide로 녹인 DHR 123(5 mM) stock 용액은 질소로 충전하여 -80°C에 보관하고, DHR 123(최종농도 5 μM) 용액의 희석은 암실의 얼음 위에서 사용하기 전에 조절하였다. Buffer는 90 mM sodium chloride, 50 mM sodium phosphate(pH 7.4)와 5 mM potassium chloride, DTPA(diethylenetriaminepenta acetic acid) 100 μM(최종농도)을 혼합하여 조절하며 사용하기 전에 냉장 보관하였다. 이 buffer 용액에 DHR 123 용액을 혼합하고 10% 에탄올에 녹인 각 농도별 시료(최종농도 1000 μg/ml, 100 μg/ml, 10 μg/ml, 1 μg/ml)와 peroxyntirite를 첨가한 후 실온에

서 5분간 방치하였다. Excitation 파장은 485 nm, emission 파장은 530 nm로 하여 실온에서 측정하였다. 그리고 ONOO<sup>-</sup>(최종농도 10 μM)의 희석용액은 0.3 N NaOH를 사용하였고, 각 실험은 3번 반복한 결과를 평균하여 계산하였다. 양성대조구로 BHA, L-ascorbic acid, penicillamine을 사용하였다.

$$\text{Peroxyntirite 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{실험구 흡광도} - \text{blank 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도} - \text{blank 흡광도}}\right) \times 100$$

**Reducing power 측정.** Reducing power는 Oyaizu<sup>14)</sup>의 방법에 따라 측정하였다. 증류수에 녹인 각 농도별 시료(최종농도 1000 μg/ml, 100 μg/ml, 10 μg/ml, 1 μg/ml) 2.5 ml에 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 2.5 ml와 potassium ferricyanide(10 mg/ml) 2.5 ml를 혼합한 후 50°C에서 20분간 반응시켰다. 반응 후 trichloroacetic acid(100 mg/ml) 2.5 ml를 첨가하고 2,000×g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 상등액 5 ml에 증류수 5 ml와 1 ml의 ferric chloride(1 mg/ml)를 잘 혼합하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 상등액에 ferric chloride 대신 증류수를 사용하여 시료 자체 색깔이 미치는 영향을 조사하였고, 항산화제인 BHA, L-ascorbic acid, gallic acid, caffeic acid, (-)-catechin을 양성 대조구로 하여 동일한 방법으로 흡광도를 측정하여 reducing power를 비교하였다. 실험 측정은 3번 반복하여 평균값을 사용하였다.

**총 페놀 함량 측정.** 총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 시약이 추출물의 페놀성 화합물에 의해 환원되어 몰리브덴 청색으로 발색되는 원리를 이용하여 분석하였다.<sup>15)</sup> 증류수에 녹인 각 농도별 톳 자숙액 에탄올 추출물(1 μg/ml~2000 μg/ml) 100 μl에 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2 ml를 혼합하고 2분간 실온에 정지한 후 50% Folin-Ciocalteu reagent 100 μl를 첨가하였다. 실온에서 30분 정지한 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 반응혼합물에 50% Folin-Ciocalteu reagent시약 대신 증류수를 가한 혼합액을 사용하였다. 표준곡선은 (-)-catechin을 0~1.0 mg/ml의 농도로 조제하여  $y = 3.6348x + 0.051$  ( $R^2 = 0.9954$ )에서 작성하여 검량하였고, 모든 처리는 3회 반복하여 평균한 값으로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

**DPPH 라디칼 소거 효과.** DPPH 라디칼은 alcohol 용액 내에서는 DPPH의 질소 원자와 alcohol간에 수소결합이 형성되기 때문에 다른 유리 라디칼보다 비교적 안정하고, 항산화 활성을 갖는 물질과 반응하면 진보라색의 DPPH의 색깔이 점점 없어져 흡광도가 감소하게 되므로 흡광도의 감소를 측정함으로써 radical 소거 활성을 쉽게 측정 할 수 있다<sup>16)</sup>는 장점을 가지고 있어 DPPH 라디칼 소거법이 항산화 활성 측정의 척도로 많이 활용되고 있다. Fig. 1은 톳 자숙액의 에탄올 추출물(EBH)에 대한 DPPH 라디칼 소거 활성을 검토한 결과이다. (-)-catechin의 최종농도가 반응액 1 ml당 1000 μg, 100 μg, 10 μg, 1 μg의 농도에서 각각 85.23 ± 1.39%, 62.36 ± 1.69%, 49.17 ± 1.87%,

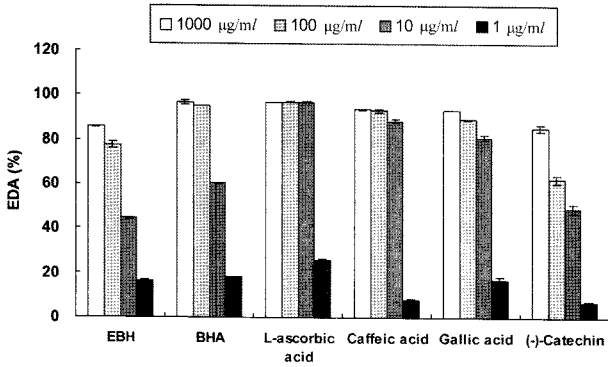


Fig. 1. DPPH radical scavenging effect of ethanol extract from boiled-water of *Hizikia fusiformis* (EBH). Mean value±S.D. (n=3).

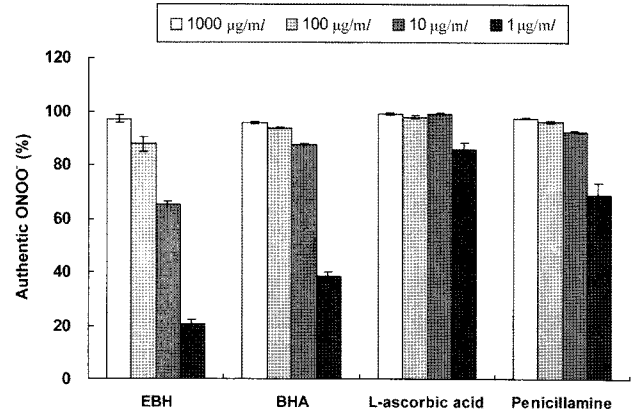


Fig. 2. Peroxynitrite scavenging activity of ethanol extract from boiled-water *Hizikia fusiformis* (EBH). Mean value±S.D. (n=3).

6.74±0.78%의 소거 활성을 나타내었고, 같은 농도에서 EBH는 85.68±0.16%, 77.37±1.39%, 44.32±0.32%, 16.53±0.22%의 소거 활성을 나타내 시판 항산화제인 (-)-catechin과 비슷한 효과를 가지며 우수한 DPPH 라디칼 소거 활성이 있는 것을 알 수 있었다. 또한, 양성 대조구로 사용한 항산화제 BHA, L-ascorbic acid, caffeic acid 및 gallic acid의 경우 최종농도가 100 µg/ml의 농도에서 각각 95.30±0.12%, 96.74±0.22%, 93.06±0.76% 및 89.16±0.21%로 뛰어난 소거 활성을 나타내었고, 최종농도 10 µg/ml에서도 60.35±0.12%, 96.74±0.28%, 88.43±0.65% 및 81.04±1.11%의 우수한 소거 활성을 나타내었다. 한편, 최종농도가 1 µg/ml의 농도인 경우에는 각각 25.79±0.22%, 18.28±0.27%, 7.96±0.71% 및 16.77±1.38%를 나타내 전체적으로 10 µg/ml의 농도일 때보다 상당히 낮은 소거 활성을 보였고, 같은 농도에서 EBH는 caffeic acid와 (-)-catechin 보다는 높고 gallic acid와는 비슷한 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내었다. EBH의 DPPH 라디칼 소거 활성은 천연 항산화제인 L-ascorbic acid와 비교하여 볼 때 다소 낮은 활성을 보였는데, 이는 EBH가 조추출물 상태로 단일 성분이 아닌 여러 가지 활성물질들의 상호 작용 때문이라고 사료되었다. 지금까지, 해조류의 항산화물질에 대해서 많은 연구가 보고되어 있다. 예를 들면, Kaneda 등<sup>16)</sup>은 일본 해안에 생육하는 21종의 해조류 중 김에서 항산화력을 가진 phospholipids를 분리 보고하였고, Fujimoto 등<sup>17)</sup>은 36종의 해조류 중 홍조류인 빨간 김동이과의 *Rhodomela*속과 *Polysiphonia*속에서 5-bromo-3,4-hydroxybenzaldehyde라는 활성이 뛰어난 새로운 천연 항산화 물질을 분리 보고하였다. DPPH 라디칼 소거 활성능을 측정된 본 연구 결과로부터, 식용되고 있는 톳을 가열한 후 생성되는 톳 자숙액에는 효과적인 항산화성을 가진 성분이 존재하는 것이 시사되었다.

**Peroxynitrite 소거 효과.** 산소는 정상적인 대사과정 중 끊임 없이 활성산소(reactive oxygen species)인 superoxide, hydroxyl, peroxy radical과 같은 반응성이 큰 유리 라디칼을 생성하고, 이들은 다시 비라디칼의 반응종인 hypogen peroxide, peroxy nitrite와 같은 것으로 전환된다.<sup>18,19)</sup> 생성된 peroxy nitrite는 강력한 산화제로 여러 가지 심각한 손상을 일으켜 과도한 양의 peroxy nitrite는 알츠하이머병, 류마티스 관절염, 암, 동맥경화와

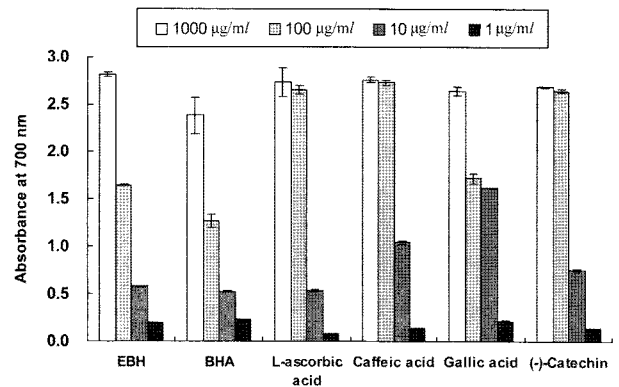


Fig. 3. Reducing power of ethanol extract from boiled-water *Hizikia fusiformis* (EBH). Mean value±S.D. (n=3).

같은 질환과 직접적인 관련이 있다.<sup>20)</sup> 본 실험은 peroxy nitrite 소거능 실험으로 활성산소종의 생성을 효과적으로 방지 할 수 있는지를 살펴보고자 하였다. 톳 자숙액 에탄올 추출물(EBH)의 peroxy nitrite 소거 활성을 검토한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 최종농도가 1000 µg/ml일 때 EBH와 대조구로 사용된 BHA, L-ascorbic acid 및 penicillamine은 각각 96.97±1.41%, 95.72±0.40%, 98.96±0.33% 및 97.45±0.15%를 나타내어 EBH는 탁월한 peroxy nitrite 소거 효과가 있음을 알 수 있었다. EBH의 최종농도가 반응액 1 ml당 100 µg, 10 µg, 1 µg의 농도인 경우에는 각각 87.67±2.53%, 65.30±1.18%, 20.57±1.81%의 소거 효과를 보여 EBH의 농도가 낮아짐에 따라 peroxy nitrite 소거 효과도 낮아졌다. L-ascorbic acid 및 penicillamine의 경우는 최종농도가 반응액 1 ml당 100 µg, 10 µg, 1 µg의 농도에서 각각 98.77±0.59%, 85.75±0.79%, 98.77±2.66% 및 96.18±0.39%, 92.39±0.49%, 68.69±4.72%로 여전히 우수한 peroxy nitrite 소거 활성 효과를 나타내었다. 본 연구 결과로부터 톳 자숙액의 에탄올 추출물은 1000 µg/ml의 농도에서 L-ascorbic acid 및 penicillamine과 견줄만한 peroxy nitrite 소거 활성을 지니고 있음을 알 수 있었다.

**Reducing power 생성능.** Reducing power 측정은 항산화 활성<sup>21)</sup>과 밀접한 관련이 있으며, 항산화 활성을 측정하는데 중요

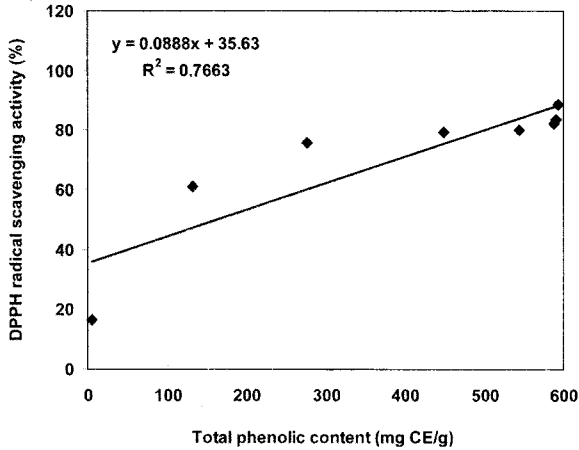


Fig. 4. Correlation between DPPH radical scavenging activity and total phenolic content.

한 지표로 사용되고 있다.<sup>22)</sup> 즉, 반응 혼합물의 흡광도 값이 증가할수록 reducing power도 증가했음을 나타낸다. Fig. 3은 톳 자색액 에탄올 추출물(EBH)의 reducing power를 BHA, L-ascorbic acid, caffeic acid, gallic acid 및 (-)-catechin의 항산화제와 비교한 결과를 나타낸 것이다. 최종농도가 1000 µg/ml 일 때 EBH, BHA, L-ascorbic acid, caffeic acid, gallic acid 및 (-)-catechin의 흡광도는 각각  $2.813 \pm 0.02$ ,  $2.379 \pm 0.19$ ,  $2.730 \pm 0.15$ ,  $2.757 \pm 0.03$ ,  $2.641 \pm 0.05$  및  $2.684 \pm 0.01$ 을 나타내었고, 최종농도가 100 µg/ml인 경우는 각각  $1.644 \pm 0.01$ ,  $1.270 \pm 0.07$ ,  $2.651 \pm 0.05$ ,  $2.727 \pm 0.03$ ,  $1.717 \pm 0.05$  및  $2.644 \pm 0.02$ 의 흡광도를 나타내었다. 또한, 최종농도가 10 µg/ml의 농도일 때 흡광도는 각각  $0.577 \pm 0.01$ ,  $0.529 \pm 0.01$ ,  $0.538 \pm 0.01$ ,  $1.042 \pm 0.02$ ,  $1.615 \pm 0.01$  및  $0.759 \pm 0.01$ 을 나타내었고, 최종농도가 1 µg/ml인 경우는  $0.192 \pm 0.01$ ,  $0.227 \pm 0.01$ ,  $0.077 \pm 0.01$ ,  $0.136 \pm 0.01$ ,  $0.215 \pm 0.01$  및  $0.135 \pm 0.01$ 이었다. 이 결과로부터 EBH는 BHA, L-ascorbic acid, caffeic acid, gallic acid 및 (-)-catechin의 항산화제와 같이 뛰어난 reducing power를 생성하는 활성을 지니고 있음을 알 수 있었고, 10 µg/ml과 1 µg/ml의 농도에서는 BHA와 L-ascorbic acid보다도 높은 reducing power를 나타내었다. EBH의 항산화 활성을 측정하기 위해 DPPH 라디칼 및 peroxyntirite 소거 활성능을 실험한 결과와 일치하여, EBH의 농도별로 유리 라디칼 소거 활성이 클수록 reducing power도 높음을 알 수 있었다. 이와 유사한 연구로 Gülçin 등<sup>23)</sup>에 의하면 *Pinus nigra* Am. subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe의 turpentine은 emulsion계에서 농도의존별 ( $500 \mu\text{g} > 300 \mu\text{g} > 100 \mu\text{g}$ )로 항산화 활성을 나타냈으며, turpentine의 농도가 증가함에 따라 reducing power도 높다고 보고하였다.

**항산화 활성과 총 페놀 함량의 관계.** Fig. 4와 5는 톳 자색액 에탄올 추출물(EBH)의 항산화 활성을 측정하기 위한 지표로 DPPH 라디칼 소거능과 reducing power를 측정하고 그 결과를 총 페놀 함량과의 관계로 나타낸 것이다. EBH의 최종 농도가 1000, 100 및 10 µg/ml 일 때 총 페놀 함량은 각각 588, 133 및 5 mg/ml을 나타내 농도의존별로 총 페놀 함량에

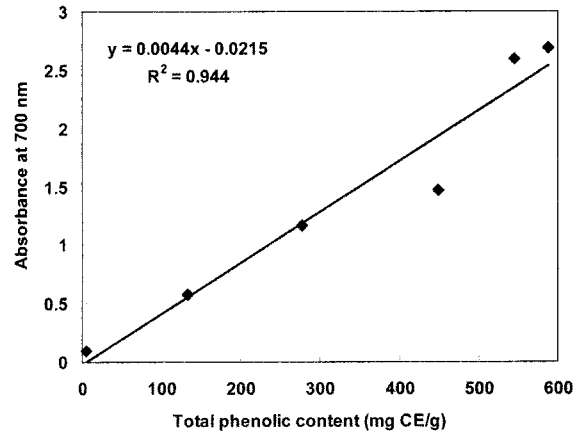


Fig. 5. Correlation between reducing power and total phenolic content.

차이를 보였다. 즉, Fig. 4와 5에 나타내었듯이 EBH의 총 페놀 함량이 증가됨에 따라 DPPH 라디칼 소거 활성( $R^2 = 0.7663$ ) 및 reducing power( $R^2 = 0.944$ )도 증가되어 페놀성 물질과 항산화 활성과의 상관관계가 높은 것으로 나타났으며 항산화 활성을 나타내는 물질은 총 페놀 함량이 크게 기여함을 알 수 있었다. Lu 등<sup>24)</sup>과 Kim 등<sup>25)</sup>은 DPPH 라디칼 소거능과 총 polyphenol 함량과는 높은 상관관계를 가진다고 보고하였고, Pyo 등<sup>26)</sup> 역시 DPPH 라디칼 소거능에 polyphenol이 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 또한, 항산화 활성과 reducing power가 증가함에 따라 총 페놀 함량도 증가한다고 보고한 Park 등<sup>27)</sup>의 연구 결과와도 본 연구 결과는 일치하였다.

이상의 연구결과들로부터 톳 자색액 에탄올 추출물은 효과적인 항산화 활성을 지니고 있음을 알 수 있었고, 앞으로 항산화 물질에 대한 분리가 이루어져야 할 것으로 사료된다. 아울러 최근에는 해조류를 비롯한 천연물로부터 인체에 무해한 항산화제를 개발하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 시점에서, 폐기처분되고 있는 톳 자색액의 활용은 우수한 항산화력과 저렴한 가격을 가진 천연 항산화제로서의 상업적 활용 가능성이 기대되었다.

## 감사의 글

이 연구는 국립수산물과학원(RP-2005-BT-014)의 지원에 의해 운영되었습니다.

## 참고문헌

- Suzuki, T., Nakai, K., Yoshie, Y., Shirai, T. and Hirano, T. (1993) Effect of sodium alginates rich in guluronic acid and mannuronic acids on cholesterol levels and digestive organs of high-cholesterol-fed rats. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**, 545-551.
- Kim, S. H., Lim, S. B., Ko, Y. H., Oh, C. K., Oh, M. C. and Park, C. S. (1994) Extraction yields of *Hizikia fusiforme* by solvents and their antimicrobial effects. *Bull. Korean Fish. Soc.* **27**, 462-468.

3. Bae, S. J. (2004) Anticarcinogenic effects of *Sargassum fulvellum* fractions on several human cancer cell lines *in vitro*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 480-486.
4. Kim, S. A., Kim, J., Woo, M. K., Kwak, C. S. and Lee, M. S. (2005) Antimutagenic and cytotoxic effects of ethanol extracts from five kinds of seaweeds. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 451-459.
5. Lee, B. H., Choi, B. W., Chun, J. H. and Yu, B. S. (1996) Extraction of water soluble antioxidants from seaweeds. *J. of Korean Ind. & Eng. Chemistry* **7**, 1069-1077.
6. Ko, M. S., Shin, K. M. and Lee, M. Y. (2002) Effects of *Hizikia fusiforme* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol-induced hepatotoxicity of rat liver. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 87-91.
7. Arasaki, S. and Arasaki, T. (1983) *In vegetables from the sea*. Japan Publications Inc., Tokyo.
8. Kim, K. I., Seo, H. D., Lee, H. S., Jo, H. Y. and Yang, H. C. (1998) Studies on the blood anticoagulant polysaccharide isolated from hot water extracts on *Hizikia fusiforme*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 1204-1210.
9. Ryu, B. H., Kim, D. S., Cho, K. and Sin, D. B. (1989) Antitumor activity of seaweeds agarne sarcoma-180. *Korean J. Food Sci. Technol.* **21**, 595-600.
10. Kim, S. H. (1990) Antitumor effect of water-soluble extracts of plants-herbs, seaweeds, and mushrooms-in Cheju island. M. S. Thesis, Cheju National University, Cheju.
11. Yan, X., Yoshihiro, C., Masahiro, S. and Tadahiro N. (1999) Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hizikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **63**, 605-607.
12. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1158.
13. Kooy, N. W., Royall, J. A., Ischiropoulos, H. and Beckman, J. S. (1994) Peroxynitrite-mediated oxidation of dihydrorhodamine 123. *Free radical Biology & Medicine.* **16**, 149-156.
14. Oyaizu, M. (1986) Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutr.* **44**, 307-315.
15. Cheung, L. M., Cheung, P. C. K. and Ooi, V. E. C. (2003) Antioxidant activity and total phenolic of edible mushroom extracts. *Food Chem.* **81**, 249-255.
16. Kaneda, T. and Ando, H. (1971) Component lipids of purple laver and their antioxidigenic activity. *Proc. Int. Seaweed Symp.* **7**, 553.
17. Fujimoto, K. and Kaneda, T. (1984) Separation of antioxidant compounds from marine algae. *Hydrobiologia*, 116.
18. Pryor, W. and Squadrito, G. (1995) The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with the superoxide anion. *A. J. Physiol.* **264**, 699-722.
19. Reiter, R. J., Tan, D. X. and Burkhardt, S. (2002) Reactive oxygen and nitrogen species and cellular and organismal decline: amelioration with melatonin. *Mech. Aging. Dev.* **123**, 1007-1019.
20. Virag, L., E. Szabo, P. Gergely and C. Szabo (2003) Peroxynitrite induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention. *Toxicol. Lett.* **140-141**, 113-124.
21. Siddhuraju, P., Mohan, P. S. and Becker, K. (2002) Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L.): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp. *Food Chem.* **79**, 61-67.
22. Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. and Hadas, S. P. (1995) Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 1813-1815.
23. Gülçin, İ., Büyükkokuroglu, M. E., Oktay, M. and Küfrevioğlu, Ö. İ. (2003) Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn. subsp. *palsiana* (Lamb) Holmboe. *J. Ethnopharmacol.* **86**, 51-58.
24. Lu, Y. and Foo, L. Y. (2000) Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chem.* **68**, 81-85.
25. Kim, Y. C. and Chung, S. K. (2002) Reactive oxygen radical species scavenging effects of Korean medicinal plant leaves. *Food Sci. Biotechnol.* **11**, 407-411.
26. Pyo, Y. H., Lee, T. C., Logendra, L. and Rogen, R. T. (2004) Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. *Food Chem.* **85**, 19-26.
27. Park, Y. K., Lee, W. Y., Park, S. Y., Ahn, J. K. and Han M. S. (2005) Antioxidant activity and total phenolic content of *Callistemon citrinus* extracts. *Food Sci. Biotechnol.* **14**, 212-215.