

## 다섯 가지 해조류 에탄올 추출물의 항돌연변이 활성 및 암세포 성장억제 효과

김성애<sup>1</sup> · 김진<sup>1</sup> · 우미경<sup>2</sup> · 광충실<sup>3</sup> · 이미숙<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>한남대학교 식품영양학과

<sup>2</sup>(주)메타만나

<sup>3</sup>서울대학교 체력과학노화연구소

### Antimutagenic and Cytotoxic Effects of Ethanol Extracts from Five Kinds of Seaweeds

Sung-Ae Kim<sup>1</sup>, Jin Kim<sup>1</sup>, Mee-Kyung Woo<sup>2</sup>, Chung Shil Kwak<sup>3</sup> and Mee Sook Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 306-791, Korea

<sup>2</sup>Metamanna Co., Daejeon 306-791, Korea

<sup>3</sup>Aging and Physical Culture Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-510, Korea

#### Abstract

The protective effects of ethanol extracts from 5 seaweeds on the mutagenic and cytotoxic damage were evaluated. They were separately extracted using ethanol from dried samples at room temperature, and freeze-dried. The inhibition effects on the mutagenicity in *Salmonella* assay by Ames test and cancer cell inhibitory effect in HeLa cell, MCF-7 cell and SNU-638 cell by MTT assay were assayed. Seaweed fusiforme, sea tangle and green laver showed strong inhibitory effect against 2-nitrofluorene, sodium azide- or 2-anthramine-induced mutagenicities in *Salmonella* Typhimurium TA 98 and TA 100 at the level of 2.5 mg ethanol extract per plate. Cancer cell inhibitory effect was shown with all of the seaweed extracts. Green laver, sea mustard, sea tangle and seaweed fusiforme showed strong cytotoxicity against HeLa and MCF-7 cells, with inhibiting by 92~93% and 89~92%, respectively. These data show that 5 seaweeds tested in this study might be potent functional foods for cancer prevention, and consumption of these seaweeds in adequate amount is recommended.

**Key words:** seaweeds, antimutagenic effect, Ames test, MTT assay

#### 서론

과학기술과 의학의 발전은 많은 질병의 치료를 가능하게 하였다. 그럼에도 불구하고 식습관 등의 환경적인 요인에 의한 만성퇴행성 질환은 증가하고 있으며, 암은 그 대표적인 질병으로 현대사회에서 인류복지에 큰 위협이 되고 있다. 암 발생의 80%는 환경요인에 의한 것으로 보고되었으며, 식품 중에 함유된 각종 성분들은 발암물질 또는 촉진물질로서 암화과정을 촉진시킬 수 있는 반면, 이를 저해하는 기능을 가지기도 한다(1). 식품에 함유되어 있는 극소수의 돌연변이원과 환경에 오염되어 있는 발암원은 암을 일으키는 주요 원인이며, 암 발생 개시단계의 돌연변이는 발암원으로서 인식되어지고 있다(2). Kada 등(3)과 Song 등(4,5)은 이러한 돌연변이원의 활성을 억제하거나 경감시키는 항돌연변이 물질이 식품을 비롯한 각종 천연물 중에 존재하는 것을 Ames test 및 SOS chromo test를 통해 발견하였다. 항돌연변이원은 질병은 물론 유전독성물질에 의해 유도되는 돌연변이를

차단하여 암의 예방에 기여하므로 매우 중요하다(6). 식물성 식품에 함유된 플라보노이드, 폴리페놀 등의 phytochemicals는 생리활성을 갖고 있는 것으로 알려져 있는데, 특히 해조류 중에 풍부한 알긴산과 펙틴산 등의 수용성 다당류는 식품의 조리 및 가공 중에 생성되는 nitrosoamine과 같은 발암원이 소장에서 흡수되는 것을 감소시켜 암의 발생을 감소시킨다고 보고되었다(7). 또 많은 연구에서 해조류의 추출물은 돌연변이 활성을 억제한다고 보고되고 있다(8,9). 특히 해조류에 함유된 sulfated polysaccharide인 fucoidan은 sarcoma-180(육종), L-1210(백혈구), Meth-A,B-16 melanoma cell(피부암) 등과 같은 암세포의 성장을 크게 저해하였으며, 미역과 다시마의 다당류 분획은 sarcoma-180 cell에 대하여 항암작용을 나타내었다(10). 또한 *Sargassum fulvellum*에서 분리한 알긴산은 대식세포의 활성을 통해서 항암활성을 나타낸다고 보고되었다(11).

해조류는 소화 흡수율이 낮아 영양학적인 측면에서 관심을 끌지 못하였으나, 최근 해조류에 함유된 탄수화물이 혈관

\*Corresponding author. E-mail: meesook@hannam.ac.kr  
Phone: 82-42-629-7494, Fax: 82-42-629-7490

내 콜레스테롤 침착 방지 및 장관 운동을 원활히 하고, 중금속 배출을 촉진시키며 고지혈증의 개선에 유효하다는 등 식용 해조류로부터 생리활성 물질들이 확인되면서 기능성 식품으로서의 개발에 관심이 모아지고 있다(12,13). 툫(*Hisikia fusiforme*)은 갈조식물(Phaeophyta) 모자반과의 바닷말로 우리나라의 서해안, 남해안 및 제주도에 서식하는 천연자원식물이다. 툫은 우수한 식이섬유의 공급원일 뿐만 아니라 혈액응고작용, 면역증강작용 등의 기능이 있는 것으로 알려진 laminaran과 함황 산성다당류인 fucoidin이 다량 함유되어 있다. 그 외에 툫에 관한 연구는 항암효과, 항균성 효과, 항응고 활성, 지방대사에 관한 연구가 있고 최근에는 생체 내 항고지혈증, 항콜레스테롤 및 항산화효과(14,15)에 대한 연구가 이루어지고 있다. 다시마(*Laminaria longissima*)는 갈조류에 속하는 다시마과의 한 속으로서 한국, 일본 및 중국 등의 극동 아시아 지역에서 서식하며, 독특한 맛과 향으로 기호성이 양호하다(16). 또한 갈조류 중에는 중성다당류인 laminaran과 함황 산성다당류인 fucoidan과 alginate가 함유되어 있는데, fucoidan은 heparin과 같은 혈액응고 활성, 항암 및 항AIDS 등의 활성이 있다고 보고되었다(17,18). 미역(*Undaria pinnatifida*)은 칼슘과 점질성 다당류를 다량 함유하고 있는데, 미역으로부터 추출한 다당류인 fucoidan은 sarcoma 180, L-1210, Meth A, B-16 melanoma 등의 종양 세포의 성장을 저해하는 것으로 관찰되었다(19-22). 홍조류의 일종인 김(*Porphyra tenera*)에는 항산화물질인 폴리페놀이 함유되어 있음이 보고되었고(23,24), Han 등(25)의 김 추출물이 collagen 합성 및 성숙가교인 pyridinoline 생성을 회복시킨다는 보고 등이 있으나 항돌연변이나 항암활성과 관련된 연구는 미비한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 한국과 일본을 비롯한 극동아시아에서 널리 사용되고 있는 툫, 다시마, 미역, 김, 파래를 대상으로 각 해조류의 항돌연변이 효과 및 항암활성을 검색하고, 각 해조류들 간의 항돌연변이 및 항암 효과를 비교해봄으로써 이미 보고된 미역과 다시마뿐만 아니라 툫, 김, 파래의 암 예방효과를 측정하였다. 또한 각 해조류 에탄올 추출물을 Ames test를 이용하여 돌연변이 유발 억제능을 검색하고, MTT assay를 이용하여 MCF-7 cell, HeLa cell 및 SNU-638 cell에 대한 암세포 증식 억제 효과를 각각 비교함으로써, 그 동안 보고된 암 예방효과의 유무뿐만 아니라 각 해조류가 작용하는 억제기전의 종류와 어떤 암세포의 성장을 저해하는지를 관찰하였다. 이 결과는 한국인이 즐겨 먹는 해조류를 이용하여 암 예방 또는 항암작용을 가진 새로운 생리활성물질의 탐색과 이를 이용한 고부가가치의 기능성식품 또는 항암소재로서의 개발을 위한 기초 자료가 될 것이다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

본 실험에 사용된 툫(seaweed fusiforme, *Hizikia fusiforme*), 다시마(sea tangle, *Laminaria japonica*), 미역(sea mustard, *Undaria pinnatifida*), 김(laver, *Porphyra tenera*), 파래(green laver, *Enteromorpha*)는 대전 중앙시장에서 구입하여 세정, 음건하여 실험 전까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동 보관하였다.

시료의 제조

시료의 에탄올 추출물은 건조시료 일정량에 20배의 95% 에탄올을 가하여 실온에서 24시간 동안 추출한 후 여과하는 과정을 2회 반복하였다. 이때 얻은 에탄올 추출물은 회전압축기(EYELA Co., N-N series, Japan)로 농축한 후 동결건조(BioTron, Hannil Co., Korea)하였고, 추출 시료는 DMSO(dimethyl sulfoxide, Sigma Co., USA)에 용해시켜 Ames test를 위한 시료로 사용하였고, 70% 에탄올에 용해시켜 MTT assay를 위한 시료로 사용하였다.

### 항돌연변이능 측정

**실험균주 및 돌연변이 유발물질** : *Salmonella* Typhimurium TA 98과 TA 100 균주를 이용하여 항돌연변이능을 측정하였다. 정기적으로 이들 균주의 histidine 요구성, deep rough(*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이와 R factor 등의 유전형질을 확인하였다. 이들 균주는 nutrient broth(Difco Co., USA)에 접종, 배양하여 현탁액 1 mL당 DMSO 90  $\mu\text{L}$ 를 가하여 냉동보관용 튜브에 채워 액체질소(Thermolyne, USA)에 보관하면서 사용하였다. Master plate에 배양한 균주를 nutrient broth에 접종하여  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 약 14~16시간 동안 진탕배양(Vision Scientific Co., KMC-8480S, Korea)한 후  $1\sim 2 \times 10^9$  cells/mL의 밀도가 되도록 하여 실험에 사용하였다.

돌연변이 유발물질로는 간접 또는 직접돌연변이 물질을 사용하였는데 간접돌연변이 물질로는 환경성 돌연변이 물질인 2-AA(anthramine, Sigma Co., USA)를 사용하였고, 직접돌연변이 물질로는 2-NF(2-nitrofluorene, Aldrich Co., USA)와 sodium azide phosphate(Sigma Co., USA)를 사용하였다. 2-AA와 2-NF는 DMSO에 녹여 사용하였고, sodium azide phosphate는 증류수에 녹여 사용하였다. 각 돌연변이 유발물질은 2-AA의 경우 TA 98과 TA 100에서 2.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$ , 2-NF는 TA 98에서 4  $\mu\text{g}/\text{plate}$ , sodium azide phosphate는 TA 100에서 2  $\mu\text{g}/\text{plate}$ 의 농도로 사용하였다.

**Ames test에 의한 항돌연변이능 측정** : 돌연변이 억제 효과를 측정하기 위한 배지 및 시약의 조제는 Maron과 Ames(26)의 방법에 따라 행하였으며 Matsushima 등(27)의 방법에 따라 pre-incubation mutagenicity test를 행하였다. 모든 실험은 얼음수욕 상에서 행하였고 중복 실험하였다. 대사 활성 물질이 필요한 간접돌연변이 물질을 사용할 때는 S9 mix(Moltox, 11-01L RAT LIVER LS-9, Japan)를 첨가하였다.

멸균된 시험관에 배양한 실험균주 0.1 mL( $1\sim 2 \times 10^9$  cells/mL), DMSO에 녹인 시료 90  $\mu\text{L}$ 와 돌연변이 유발물질 10  $\mu\text{L}$ 를 넣고, 직접돌연변이 물질에는 0.5 mL의 0.1 M phosphate

buffer(pH 7.4)를, 간접돌연변이원에는 0.5 mL의 S9 mix를 첨가한 후 가볍게 섞어, 37°C shaking water bath(Vision Co., KMC-1205SW1, Korea)에서 30분 동안 예비 배양하였다. 0.5 mM histidine/biotin 용액을 100 mL당 10 mL 첨가한 45°C 정도의 top agar를 2 mL씩 각 시험관에 붓고 3초간 섞은 후 minimal glucose agar plate에 도말하여 굳혔다. Top agar가 굳으면 plate를 뒤집어 37°C 항온기(Vision scientific Co., VS-1203P3, Korea)에서 48시간 배양한 후 각각의 역돌연변이 colonies를 계수하였고, 돌연변이 억제효과의 정도 (inhibition rate, %)를 계산하였다.

#### 암세포 성장억제 효과 측정

본 실험에서 사용한 암세포는 인체의 자궁경부암세포인 HeLa cell과 유방암 세포인 MCF-7 cell, 위암세포인 SNU-638 cell이었다. 이들 세포는 서울대학교 의과대학 생화학실험실에서 *in vitro*로 배양해 온 것을 사용하였다. HeLa cell과 MCF-7 cell, SNU-638 cell은 각각 5% FBS(fetal bovine serum, HyClone, USA) 및 항생제 혼합액을 첨가한 DMEM 배양액(HyClone, USA)과 RPMI-1640 배양액(HyClone, USA)을 사용하였다.

#### MTT assay

암세포에 대한 암세포 성장억제 효과를 측정하기 위해 Charmichael 등(28)의 방법에 따라 MTT assay를 실시하였다. 암세포를 48 well plate에  $1 \times 10^4$  cells/well이 되게 300  $\mu$ L씩 분주하여 24시간 후 시료를 일정한 농도로 제조하여 10  $\mu$ L 첨가한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 72시간 배양하였다. 여기에 PBS에 5 mg/mL의 농도로 제조한 MTT 용액 30  $\mu$ L를 첨가하고 동일한 배양조건에서 4시간을 배양하였다. 배양액을 제거하고 각 well 당 DMSO 300  $\mu$ L를 가하여 ELISA reader(Molecular Devices, SpectraMAX 340pc, USA)로 517 nm에서 흡광도를 측정하여 inhibition rate(%)를 구하였다.

## 결과 및 고찰

#### 항돌연변이원성

각 해조류 에탄올 추출물의 돌연변이원성 억제작용을 검토하기 위하여 Ames test에서 양성반응을 나타내며 직접변이원물질로 알려진 2-nitrofluorene과 sodium azide, 그리고 대사활성을 필요로 하는 간접 변이원물질인 2-anthramine을 사용하여 각 해조류의 농도에 따른 돌연변이원성 억제효과를 검토한 Ames test 결과는 Table 1, 2와 같다. 이 결과를 농도별 저해율로 표시하면 Fig. 1, 2와 같다.

Fig. 1과 같이 간접돌연변이원 2-anthramine(2.5  $\mu$ g/plate)으로 유도된 항돌연변이능은 툷, 다시마, 파래 에탄올 추출물에서 매우 높은 돌연변이 억제능을 나타냈다. *Salmonella* Typhimurium TA 98에서 툷과 다시마는 3.5 mg/plate의 농

도 처리시 각각 100%, 94.2%의 저해율을 보였고, 이에 비해 파래는 4.5 mg/plate의 농도 처리시 68.5%의 약간 낮은 저해율을 보였다. *Salmonella* Typhimurium TA 100에서는 툷(100%), 다시마(94.1%), 파래(100%)가 각각 2.5 mg/plate, 4.5 mg/plate, 1.5 mg/plate의 농도에서 최대 돌연변이 억제효과를 보여 각 시료에 따라 항돌연변이 효과를 나타내는 정도의 차이를 볼 수 있었다. 반면, 미역과 김은 간접돌연변이원에 대한 저해율이 0%로 나타나 간접돌연변이원에 대한 돌연변이 억제 효과는 보이지 않았다.

세포내의 DNA에 직접적으로 손상을 주어 돌연변이를 유발하는 물질로 알려진 돌연변이원 2-nitrofluorene(4  $\mu$ g/plate)으로 유도된 *Salmonella* Typhimurium TA 98에 대한 해조류 추출물의 항돌연변이능은 Fig. 2와 같다. 직접작용 돌연변이능을 효과적으로 억제한 해조류는 툷, 미역과 파래였고, 4.5 mg/plate의 농도에서 각각 83%, 73%, 73%의 저해율을 보였다. 김은 4.5 mg/plate의 농도에서 50% 정도의 상대적으로 낮은 저해율을 나타냈다. 또한 sodium azide(2  $\mu$ g/plate)로 유도된 *Salmonella* Typhimurium TA 100에 대한 해조류 에탄올 추출물의 항돌연변이능은 Fig. 2와 같다. 툷, 다시마, 파래의 세 가지 해조류는 모두 3.5 mg/plate의 농도에서 sodium azide의 직접작용 돌연변이능을 100% 저해하였다. 반면, 김과 미역은 3.5 mg/plate의 농도에서는 0% 저해율을 보여 sodium azide에 의한 돌연변이에 대한 저해능력이 없는 것으로 나타났다.

이런 결과로 볼 때 다섯 가지 해조류 에탄올 추출물 중 툷과 파래는 직접 및 간접작용 돌연변이원에 대한 항돌연변이 효과가 우수하였으나, 미역은 간접작용 돌연변이원에 의한 돌연변이 억제능, 다시마는 직접작용 돌연변이원에 의한 돌연변이 억제능이 다소 떨어지는 경향이였다. 김은 직접작용 돌연변이 억제효과는 약간 나타났지만 미미하였고 간접작용 돌연변이 억제능은 확인할 수 없었다. *Salmonella* Typhimurium TA 98에 의해 검출되는 위치이동 돌연변이 뿐만 아니라 *Salmonella* Typhimurium TA 100에 의해 검출되는 염기쌍 치환 돌연변이 모두를 억제할 수 있는 해조류는 툷과 파래였고, 툷이 파래보다 우수하였다. 다시마는 *Salmonella* Typhimurium TA 100에 의해 검출되는 염기쌍 치환 돌연변이는 효과적으로 억제하였으나, *Salmonella* Typhimurium TA 98에 의해 검출되는 위치이동 돌연변이 중 간접작용 돌연변이만을 효과적으로 억제하였다. 이에 비해 억제효과가 낮은 미역과 김은 위치이동 돌연변이 중 직접작용 돌연변이만을 억제하였고, 그 효과는 미역이 김보다 높았다.

툷의 수용성 분획과 불용성 분획이 돌연변이원성 물질인 2-aminoanthracene, DNP, Trp-P-1, Trp-P-2 등에 대한 항돌연변이원성을 연구한 결과, 수용성 분획보다 불용성 분획물이 더 높은 항돌연변이원성을 나타내었는데 이는 해조의 식물성유에 의한 효과일 것이라고 추정하였다(8). 또한, Okai 등(9)은 다시마의 일종인 *Laminaria japonica*와 미역의 일종

Table 1. Effects of ethanol fraction from five seaweeds on indirect mutagenicity mediated by 2-anthramine<sup>1)</sup> in *Salmonella* Typhimurium TA 98 and TA 100

Seaweeds (mg/plate)	<i>Salmonella</i> Typhimurium				
	TA 98		TA 100		
	Revertants/plate	Inhibition rate (%)	Revertants/plate	Inhibition rate (%)	
Seaweed fursiforme	0.25	1,123 ± 46 <sup>2)</sup>	57.57 ± 2.83	2,143 ± 38	33.16 ± 4.11
	0.5	634 ± 70	76.38 ± 3.38	1,341 ± 73	60.17 ± 1.62
	1.5	34 ± 4	99.74 ± 0.06	142 ± 5	99.77 ± 0.21
	2.5	28 ± 3	99.96 ± 0.20	93 ± 3	100
	3.5	26 ± 4	100	84 ± 3	100
	4.5	22 ± 2	100	64 ± 2	100
Sea tangle	0.25	1,640 ± 31	4.52 ± 1.42	1,251 ± 83	34.44 ± 1.93
	0.5	1,218 ± 25	29.55 ± 1.91	1,101 ± 36	42.90 ± 1.60
	1.5	515 ± 24	71.43 ± 1.41	682 ± 56	66.78 ± 5.42
	2.5	303 ± 24	84.05 ± 1.41	336 ± 25	87.81 ± 1.96
	3.5	132 ± 18	94.24 ± 0.99	292 ± 32	90.27 ± 2.37
	4.5	60 ± 7	98.50 ± 0.33	223 ± 51	94.11 ± 3.38
Sea mustard	0.25	2,867 ± 91	0	2,945 ± 7	0
	0.5	2,817 ± 83	0	2,867 ± 9	0
	1.5	2,744 ± 85	0	2,844 ± 18	0
	2.5	2,786 ± 115	0	2,774 ± 29	0
	3.5	2,680 ± 95	0	2,778 ± 30	0
	4.5	2,637 ± 70	0	2,755 ± 40	0
Laver	0.25	3,084 ± 82	0	2,389 ± 39	0
	0.5	3,049 ± 90	0	2,288 ± 50	0
	1.5	3,058 ± 50	0	2,274 ± 46	0
	2.5	3,051 ± 31	0	2,260 ± 15	0
	3.5	3,070 ± 38	0	2,218 ± 20	0
	4.5	3,087 ± 68	0	2,132 ± 61	2.45 ± 2.19
Green laver	0.25	798 ± 26	0	788 ± 41	37.16 ± 5.16
	0.5	801 ± 13	0	211 ± 1	95.51 ± 1.75
	1.5	726 ± 28	4.59 ± 4.02	136 ± 2	100
	2.5	502 ± 18	36.73 ± 3.07	97 ± 7	100
	3.5	-	-	93 ± 10	100
	4.5	280 ± 33	68.51 ± 3.64	109 ± 2	100

<sup>1)</sup>2-Anthramine: 2.5 µg/plate. <sup>2)</sup>Values are mean ± SE.

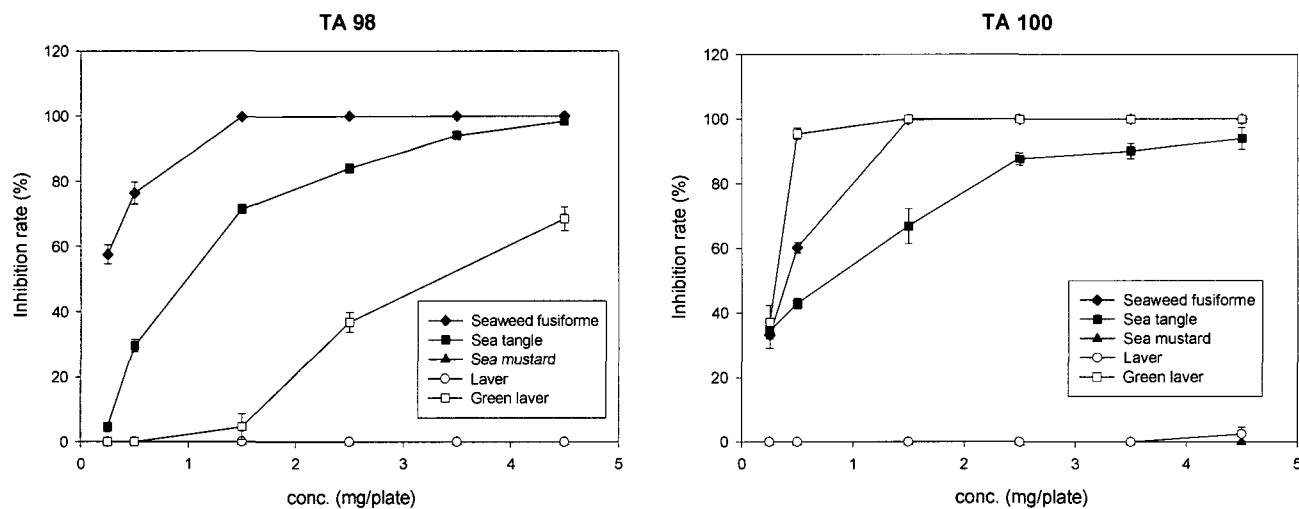


Fig. 1. Antimutagenicity of five seaweeds against the mutagenicity of 2-anthramine in *Salmonella* Typhimurium TA 98 and *Salmonella* Typhimurium TA 100. Each bar represents the mean ± SE.

Table 2. Effects of ethanol fraction from five seaweeds on direct mutagenicity mediated by 2-nitrofluorene<sup>1)</sup> in *Salmonella* Typhimurium TA 98 and sodium azide<sup>2)</sup> in *Salmonella* Typhimurium TA 100

Seaweeds (mg/plate)	<i>Salmonella</i> Typhimurium				
	TA 98		TA 100		
	Revertants/plate	Inhibition rate (%)	Revertants/plate	Inhibition rate (%)	
Seaweed fursiforme	0.25	422±4 <sup>3)</sup>	33.55±3.83	1,703±81	0
	0.5	462±52	27.49±7.64	1,192±244	35.59±9.47
	1.5	219±14	67.24±3.73	459±11	78.82±3.51
	2.5	172±15	75.37±2.39	172±51	97.49±4.21
	3.5	154±29	78.44±4.30	103±39	100
	4.5	125±9	83.22±1.26	96±27	100
Sea tangle	0.25	478±12	0	1,293±38	0
	0.5	451±13	0	1,153±34	0.82±5.29
	1.5	403±18	7.68±8.75	1,120±63	3.84±7.33
	2.5	384±7	13.11±2.85	15±15	100
	3.5	325±5	26.96±3.15	18±12	100
	4.5	310±10	30.87±1.32	0	100
Sea mustard	0.25	903±21	0	2,304±76	0
	0.5	769±2	15.17±2.75	2,228±61	0
	1.5	543±8	41.08±1.55	1,998±83	0.73±3.02
	2.5	410±28	56.56±2.34	2,061±74	0
	3.5	330±10	65.44±1.63	2,092±7	0
	4.5	261±13	73.24±1.89	1,917±69	3.87±2.30
Laver	0.25	810±15	0	2,243±59	0
	0.5	714±11	1.99±2.61	2,279±12	0
	1.5	597±14	18.63±2.81	2,230±27	0
	2.5	471±30	36.56±4.53	2,206±14	0
	3.5	423±28	43.24±4.96	2,228±46	0
	4.5	380±12	49.68±0.47	1,859±12	2.38±2.90
Green laver	0.25	633±1	0	1,519±34	21.36±2.64
	0.5	613±26	0	322±54	92.54±3.22
	1.5	281±18	53.87±2.74	31±7	100
	2.5	272±24	55.32±4.69	11±1	100
	3.5	180±16	71.86±2.64	10±5	100
	4.5	174±16	72.93±2.67	11±2	100

<sup>1)</sup>2-Nitrofluorene: 4 µg/plate. <sup>2)</sup>Sodium azide: 2 µg/plate. <sup>3)</sup>Values are mean±SE.

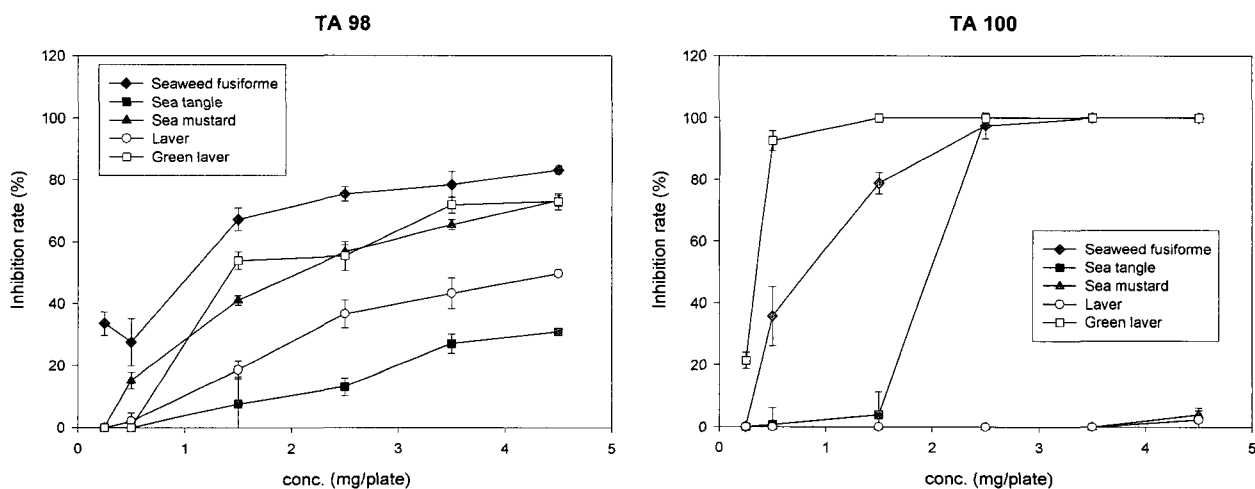


Fig. 2. Antimutagenicity of five seaweeds against the mutagenicity of 2-nitrofluorene in *Salmonella* Typhimurium TA 98 and sodium azide in *Salmonella* Typhimurium TA 100. Each bar represents the mean±SE.

인 *Undaria pinnatifida*의 열수 추출물이 2-acetylaminofluorene(2-AAF)와 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1)로 유도된 돌연변이현상을 유의적으로 저해하였고, 다시마는 바다당류 층에서, 미역은 다당류 층에서 더 강한 항돌연변이 효과가 나타났음을 보고하였다. Park 등(29)은 해조류의 메탄올 추출물을 이용하여 가열 식품에서 생성되는 돌연변이원성 물질인 헤테로사이클릭 아민에 대한 항암 및 항돌연변이 효과를 알아본 결과, 해조류 중에서 갈조류가 녹조류 및 홍조류에 비해 항암 및 항돌연변이 효과가 컸으며 갈조류 중에서도 다시마, 감태, 곰피 등에서 그 효과가 우수하다고 보고하였고, 이러한 효과를 나타내는 물질로는 phenol 추출물, bromophenol, chlorophyllin, lutein 과  $\alpha$ -cryptoxanthin 등을 꼽았다. Ryu 등(30)도 미역, 다시마, 곰피, 청각, 파래, 김 등의 해조 추출물이 MeIQ와 aflatoxin B1에 대해 효과적인 항돌연변이 활성을 지녔다고 보고하였다. 이와 같은 연구들과 본 연구 결과를 비교해 볼 때, 툇과 다시마의 항암 및 항돌연변이능은 유사한 결과를 나타냈으나, 미역과 김의 항돌연변이 효과에는 차이가 있었다. 이는 본 연구는 해조류를 에탄올 추출만 하였고, 다른 연구들은 분획 추출하였기 때문에 나타난 차이일 것으로 사료된다.

#### 암세포 성장억제 효과

**HeLa cell에 대한 암세포 성장억제 효과**: 각 해조류 추출물의 인체 자궁경부암 세포인 HeLa cell에 대한 암세포

성장 억제효과는 Table 3과 같다. 해조류 에탄올 추출물들 모두 50% 이상의 억제효과를 보였다. 이 중 90% 이상 억제효과를 보인 해조류는 툇(92%), 다시마(92%), 미역(93%), 파래(92%)였고, 김은 56%로서 다른 해조류보다 다소 낮은 억제효과를 나타냈다. 각 해조류 에탄올 추출물 농도에 따른 암세포 성장 억제 효과를 살펴보면, 다시마와 미역, 김은 농도가 높아짐에 따라 억제 효과가 높아졌으나, 툇과 파래는 250  $\mu$ g/assay의 농도에서 최대 성장억제 효과를 보였다. 각 해조류 에탄올 추출물 수득율의 차이에 따라 IC<sub>50</sub>(50% 억제 효과)값을 나타내는 건조무게를 살펴보면(Table 6), 파래가 0.52 mg으로 가장 효과가 좋았고, 미역(1.06 mg), 다시마(1.68 mg), 툇(23.24 mg), 김(23.30 mg) 순이었다.

**MCF-7 cell에 대한 암세포 성장억제 효과**: 유방암 세포인 MCF-7 cell에 대한 각 해조류 추출물의 암세포 성장억제 효과는 Table 4와 같다. 해조류 에탄올 추출물들의 유방암세포 증식에 대한 저해율을 살펴보면, 50% 이상의 억제효과를 보인 해조류는 툇(89%), 다시마(90%), 미역(92%), 파래(91%), 김(50%)로 모든 해조류 에탄올 추출물에서 암세포 성장억제 효과가 있는 것으로 나타났다. 각 해조류들의 농도에 따른 저해율은 각 시료의 농도가 높아짐에 따라 암세포 성장억제 효과가 상승하는 것으로 나타났다. IC<sub>50</sub> 값을 나타내는 각 해조류의 건조무게는(Table 6), 파래가 0.64 mg으로 가장 효과가 좋은 것으로 나타났고, 미역, 다시마, 툇, 김은 각각 1.18 mg, 2.12 mg, 3.10 mg, 18.29 mg으로 나타났다.

Table 3. Inhibitory effects of ethanol fractions of five seaweeds on HeLa cell growth

Conc. ( $\mu$ g/assay)	Inhibition rate (%)				
	Seaweed fusiforme	Sea tangle	Sea mustard	Laver	Green laver
20	6.19 $\pm$ 2.60 <sup>1)</sup>	2.10 $\pm$ 0.71 <sup>ns3)</sup>	5.29 $\pm$ 1.51	1.24 $\pm$ 1.74	1.04 $\pm$ 1.31
45	45.72 $\pm$ 2.30 <sup>c2)</sup>	10.22 $\pm$ 2.42 <sup>a</sup>	33.04 $\pm$ 3.51 <sup>b</sup>	5.53 $\pm$ 1.99 <sup>a</sup>	38.93 $\pm$ 4.34 <sup>bc</sup>
75	51.30 $\pm$ 1.27 <sup>d</sup>	27.45 $\pm$ 1.52 <sup>b</sup>	41.17 $\pm$ 0.83 <sup>c</sup>	13.34 $\pm$ 1.08 <sup>a</sup>	56.09 $\pm$ 5.69 <sup>d</sup>
150	91.64 $\pm$ 0.71 <sup>d</sup>	39.59 $\pm$ 5.03 <sup>b</sup>	48.50 $\pm$ 1.47 <sup>c</sup>	21.17 $\pm$ 0.99 <sup>a</sup>	91.96 $\pm$ 0.31 <sup>d</sup>
250	91.98 $\pm$ 0.11 <sup>d</sup>	49.99 $\pm$ 5.50 <sup>b</sup>	66.30 $\pm$ 2.38 <sup>c</sup>	28.21 $\pm$ 0.74 <sup>a</sup>	90.58 $\pm$ 0.81 <sup>d</sup>
500	86.81 $\pm$ 0.90 <sup>c</sup>	85.39 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	92.86 $\pm$ 0.26 <sup>d</sup>	35.53 $\pm$ 2.68 <sup>a</sup>	80.99 $\pm$ 1.21 <sup>b</sup>
1000	78.94 $\pm$ 1.07 <sup>b</sup>	92.47 $\pm$ 0.23 <sup>c</sup>	93.39 $\pm$ 0.30 <sup>c</sup>	56.38 $\pm$ 1.82 <sup>a</sup>	78.22 $\pm$ 1.90 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean $\pm$ SE.

<sup>2)</sup>Values with different letters within a same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

<sup>3)</sup>Not significant.

Table 4. Inhibitory effects of ethanol fractions of five seaweeds on MCF-7 cell growth

Conc. ( $\mu$ g/assay)	Inhibition rate (%)				
	Seaweed fusiforme	Sea tangle	Sea mustard	Laver	Green laver
20	0.88 $\pm$ 1.52 <sup>1)</sup>	2.67 $\pm$ 0.89 <sup>ns3)</sup>	0.54 $\pm$ 0.12	0.38 $\pm$ 0.41	3.55 $\pm$ 1.92
45	55.07 $\pm$ 2.79 <sup>c2)</sup>	12.81 $\pm$ 3.02 <sup>ab</sup>	20.51 $\pm$ 3.31 <sup>b</sup>	7.40 $\pm$ 1.45 <sup>a</sup>	23.70 $\pm$ 5.42 <sup>b</sup>
75	71.75 $\pm$ 1.55 <sup>c</sup>	17.68 $\pm$ 2.86 <sup>a</sup>	34.83 $\pm$ 3.93 <sup>b</sup>	16.29 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	45.14 $\pm$ 7.10 <sup>b</sup>
150	81.64 $\pm$ 0.75 <sup>c</sup>	24.52 $\pm$ 6.28 <sup>a</sup>	62.72 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>	29.92 $\pm$ 2.68 <sup>a</sup>	89.85 $\pm$ 0.30 <sup>c</sup>
250	88.45 $\pm$ 1.66 <sup>c</sup>	40.58 $\pm$ 8.76 <sup>a</sup>	62.06 $\pm$ 1.45 <sup>b</sup>	35.76 $\pm$ 2.42 <sup>a</sup>	90.62 $\pm$ 0.37 <sup>c</sup>
500	89.39 $\pm$ 0.64 <sup>c</sup>	81.75 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	91.07 $\pm$ 0.33 <sup>c</sup>	42.95 $\pm$ 0.93 <sup>a</sup>	90.41 $\pm$ 0.29 <sup>c</sup>
1000	87.93 $\pm$ 1.07 <sup>b</sup>	90.59 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>	91.74 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup>	50.49 $\pm$ 2.58 <sup>a</sup>	87.37 $\pm$ 1.28 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean $\pm$ SE.

<sup>2)</sup>Values with different letters within a same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

<sup>3)</sup>Not significant.

Table 5. Inhibitory effects of ethanol fractions of five seaweeds on SNU-638 cell growth

Conc. ( $\mu\text{g}/\text{assay}$ )	Inhibition rate (%)				
	Seaweed fusiforme	Sea tangle	Sea mustard	Laver	Green laver
20	12.20 $\pm$ 2.12 <sup>1)c2)</sup>	1.10 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	2.09 $\pm$ 0.77 <sup>ab</sup>	6.13 $\pm$ 0.66 <sup>b</sup>	2.13 $\pm$ 1.40 <sup>ab</sup>
45	43.47 $\pm$ 1.64 <sup>c</sup>	5.26 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>	12.42 $\pm$ 0.81 <sup>b</sup>	13.64 $\pm$ 2.65 <sup>b</sup>	15.89 $\pm$ 3.40 <sup>b</sup>
75	49.78 $\pm$ 1.02 <sup>e</sup>	8.72 $\pm$ 1.29 <sup>a</sup>	32.13 $\pm$ 2.57 <sup>c</sup>	18.89 $\pm$ 1.53 <sup>b</sup>	41.79 $\pm$ 3.56 <sup>d</sup>
150	68.50 $\pm$ 1.83 <sup>c</sup>	18.88 $\pm$ 2.80 <sup>a</sup>	54.03 $\pm$ 3.03 <sup>b</sup>	20.51 $\pm$ 2.90 <sup>a</sup>	67.44 $\pm$ 1.64 <sup>c</sup>
250	75.26 $\pm$ 2.77 <sup>c</sup>	39.21 $\pm$ 2.05 <sup>a</sup>	56.61 $\pm$ 1.66 <sup>b</sup>	29.25 $\pm$ 5.31 <sup>a</sup>	69.20 $\pm$ 2.76 <sup>c</sup>
500	75.67 $\pm$ 1.52 <sup>c</sup>	66.52 $\pm$ 1.40 <sup>b</sup>	69.79 $\pm$ 0.38 <sup>bc</sup>	40.27 $\pm$ 2.04 <sup>a</sup>	74.68 $\pm$ 2.87 <sup>c</sup>
1000	71.81 $\pm$ 0.93 <sup>bc</sup>	76.36 $\pm$ 2.82 <sup>c</sup>	72.57 $\pm$ 1.61 <sup>bc</sup>	68.21 $\pm$ 1.38 <sup>a</sup>	74.68 $\pm$ 0.41 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean $\pm$ SE.

<sup>2)</sup>Values with different letters within a same row are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

Table 6. IC<sub>50</sub> values of five seaweeds on HeLa cell, MCF-7 cell and SNU-638 cell growth

	HeLa cell		MCF-7 cell		SNU-638 cell	
	70% EtOH ext. (mg/assay)	dry wt (mg)	70% EtOH ext. (mg/assay)	dry wt (mg)	70% EtOH ext. (mg/assay)	dry wt (mg)
Seaweed fusiforme	61.7 <sup>1)</sup>	23.24	59.0	3.10	84.4	4.43
Sea tangle	183.6	1.68	231.1	2.12	353.9	3.24
Sea mustard	118.9	1.06	133.2	1.18	207.2	1.84
Laver	1053.3	23.30	826.9	18.29	667.7	14.77
Green laver	60.4	0.52	74.9	0.64	126.1	1.08

<sup>1)</sup>Values are mean of triplicate measurements.

**SNU-638 cell에 대한 암세포 성장억제 효과**: 각 해조류 추출물에서 위암 세포인 SNU-638에 대한 암세포 성장억제 효과는 Table 5와 같다. HeLa cell이나 MCF-7 cell에 대한 암세포 성장억제 효과보다는 다소 낮은 저해율을 나타냈으나 실험에 사용된 모든 해조류 에탄올 추출물이 유방암 세포 증식을 50% 이상 저해한 것으로 나타났다. 저해율이 70% 이상인 해조류는 툷(76%), 다시마(76%), 미역(73%), 파래(75%)였고, 김도 68%로 비슷하였다. 각 해조류의 농도에 따른 저해율은 각 시료의 농도가 높아짐에 따라 암세포 성장억제 효과가 상승하는 것으로 나타났다. IC<sub>50</sub> 값을 나타내는 각 해조류의 건조무게는(Table 6) 파래가 1.08 mg으로 가장 효과가 좋은 것으로 나타났고, 미역, 다시마, 툷, 김은 각각 1.84 mg, 3.24 mg, 4.43 mg, 14.77 mg으로 나타났다.

해조류에 의한 암세포 성장억제 효과에 관한 다른 연구들을 살펴보면, 툷과 미역의 열수 추출물을 100 mg/kg/day씩 쥐에게 10일간 투여한 결과 56.6%와 69.8%의 종양 성장 저지율을 보였고 수명 연장율은 각각 9.0%와 18.9%를 나타내었다(10). 갈조류에 함유되어 있는 fucoidan은 L-fructose와 산성당으로 구성된 함황 산성 다당류의 일종으로 함황 다당류 중 함량은 적지만 hepatin과 생리적 특성이 유사하며, 항혈액응고 작용뿐 아니라 항암작용 등의 생리활성이 밝혀져 주목받고 있다(31). 갈조류인 *Ascophyllum nodosum*에서 추출한 fucoidan은 인체 기관지 폐암세포(NSCLC-N6)의 G1기를 차단하여 암세포 증식을 억제하였고(32), *Ascophyllum nodosum*에서 분리된 저분자 fucoidan은 인체 대장암세포인 Colo 320DM에 대한 증식을 10 mg/mL 농도에서 50%, CCL39 fibroblast cell에 대한 증식은 10 ng/mL의 농도에서

85% 저해하였다(33). 미역 등 갈조류의 carotenoid계 색소인 fucoxanthin 역시 신경 아세포의 증식을 저해하거나 증식속도를 저하시키고(34), 마우스 피부암 2단계 발암실험에서 발암 promoter의 작용을 강력하게 억제하고 십이지장 종양에도 유의한 억제 효과를 보였다(35). 한편, 일본에서 주로 사용되는 Wakame(미역)와 Mekonbu(다시마) 수용액 성분은 쥐의 유방암에 대한 강한 억제작용을 보였고, Mekonbu 수용액은 시험관 내 실험에서는 MCF-7, T-47D, MDA-MB-231 등 3가지 인체 유방암 세포의 apoptosis를 유발하여 유방암 세포에 대한 증식 억제작용을 보였는데 이는 유방암 치료에 사용되는 화학요법보다 강한 것으로 나타났으며, 이는 해조류에 함유된 다량의 요오드에 의한 것으로 사료된다고 보고하였다(36).

본 실험 결과에서도 툷, 다시마, 미역 등 갈조류가 암세포에 대한 저해 효과가 큰 것으로 보아 갈조류에 함유된 fucoidan, fucoxanthin, 요오드 등에 의해 세포 증식이 억제된 것으로 사료된다. 또한 본 연구에서 녹조류인 파래가 갈조류와 마찬가지로 HeLa cell과 MCF-7 cell에 대해서는 90% 이상, SNU-638 cell에 대해서는 70% 이상의 높은 암세포 성장 억제 효과를 나타내는 것을 볼 때, 갈조류뿐만 아니라 녹조류도 암을 예방 또는 치료할 수 있는 기능성 식품소재로서의 가능성을 보여 주었다.

## 요 약

한국과 일본을 비롯한 극동아시아 지역에서 널리 사용되고 항암효과가 있는 것으로 알려진 툷, 다시마, 미역, 파래,

김을 대상으로 각 해조류 에탄올 추출물을 Ames test를 이용하여 돌연변이 유발 억제능을 검색하고, MTT assay를 이용하여 HeLa cell, MCF-7 cell과 SNU-638 cell에 대한 암세포 성장억제 효과를 비교한 결과는 다음과 같다. 5종의 해조류 에탄올 추출물의 2-anthramine에 대한 간접작용 돌연변이능 억제효과를 *S. Typhimurium* TA 98에서 측정된 결과, 톳(100%), 다시마(94.2%)가 3.5 mg/plate에서, 파래(68.5%)가 4.5 mg/plate에서 효과적인 돌연변이 억제능을 나타냈고, *S. Typhimurium* TA 100에서는 파래(100%), 톳(100%), 다시마(94.1%)가 각각 1.5 mg/plate, 2.5 mg/plate, 4.5 mg/plate의 농도에서 최대 돌연변이 억제 효과를 보였다. 반면 미역과 김은 간접작용 돌연변이 억제 효과가 없는 것으로 나타났다. 직접작용 항돌연변이능을 *S. Typhimurium* TA 98로 측정된 결과, 톳, 미역과 파래 모두 4.5 mg/plate의 농도에서 각각 83%, 73%, 73%의 저해율을 보여 2-nitro-flouorene의 돌연변이능에 대한 저해율이 비교적 높은 것으로 나타났다. 또한 *S. Typhimurium* TA 100에서 sodium azide의 돌연변이능에 대한 저해효과가 가장 큰 해조류는 톳, 다시마와 파래로 세 가지 해조류 모두 3.5 mg/plate의 농도에서 100% 저해율을 보였다. 반면, *S. Typhimurium* TA 98에서 미역과 김은 4.5 mg/plate의 농도에서 각각 73%, 50% 정도의 저해율을 나타냈고, *S. Typhimurium* TA 100에서는 0% 저해율을 보여 직접작용 돌연변이에 대한 저해 능력이 적은 것으로 나타났다. MTT assay를 이용하여 HeLa cell과 MCF-7 cell, SNU-638 cell에 대한 암세포 성장억제 효과를 관찰한 결과, 5종 해조류의 에탄올 추출물 모두 암세포 증식을 억제하였다. HeLa cell의 성장을 90% 이상 저해한 해조류는 톳, 다시마, 미역, 파래였고, 그 효과를 건조무게로 비교하면 파래, 미역, 다시마, 톳의 순이었다. 김은 56% 저해율을 나타냈다. MCF-7 cell에 대한 세포 성장억제 효과 역시 90% 이상 저해율을 나타낸 해조류는 파래, 미역, 다시마, 톳의 순이었고, 김은 50%의 저해율을 나타냈다. SNU-638 cell에 대한 세포 성장억제 정도는 HeLa cell이나 MCF-7 cell에 대한 세포성장 억제 효과보다는 다소 낮았다. 저해율이 70% 이상인 해조류는 파래, 미역, 다시마, 톳이었고, 김은 68%로 나타나 해조류 간에 차이는 적었다. 이상에서 Ames test와 MTT assay를 통해 해조류 에탄올 추출물의 항돌연변이 효과와 암세포 성장억제 효과를 검색한 결과, 톳, 파래와 다시마는 항돌연변이 효과 및 암세포 성장억제 효과가 우수한 것으로 나타났고, 암세포에 대한 항암 효과는 각 시료마다 정도의 차이는 있으나 5종의 해조류 모두 암세포 증식을 억제하는 것으로 나타났다. 이 결과는 해조류가 개발 가능한 고부가가치의 기능성식품 소재임을 확인한 것으로서, 이를 위해서는 갈조류, 녹조류, 홍조류 등의 해조류에 함유된 암 예방 또는 항암작용을 가진 새로운 생리활성물질을 탐색할 필요가 있다.

## 감사의 글

본 연구는 2001년 농림부 농림기술개발연구과제(201052-03-HD110) 연구비의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 문헌

1. Watson RR, Leonard TK. 1986. Selenium and vitamin A, E and C: nutrients with cancer prevention properties. *J Am Diet Assoc* 86: 505-510.
2. Mohn GR. 1981. Bacterial systems for carcinogenicity testing. *Mutat Res* 87: 191-210.
3. Kada T, Morita K, Inoue T. 1978. Antimutagenic action of vegetable factors on the mutagenic principle of tryptophan pyrolysate. *Mutat Res* 53: 351-353.
4. Song GS, Ahn BY, Maeong IK, Kwon YJ, Han SB, Choi DS. 1997. Antimutagenicity screening of water extracts from Chinese herbs with SOS Chromotest with several direct mutagens. *Food Sci Biotechnol* 6: 214-218.
5. Song GS, Ahn BY, Lee GS, Maeong IK, Choi DS. 1997. Effect of hot water extracts from medicinal plants on the mutagenicity of indirect mutagens. *Korean J Food Sci Technol* 29: 1288-1294.
6. Kuroda Y, Inoue T. 1988. Antimutagenesis by factors affecting DNA repair in bacteria. *Mutat Res* 202: 387-391.
7. Chiharu N, Tadashi N, Toshimara Y. 1992. Effect of pH on the *in vitro* absorption of mutagens to dietary fibers. *Biosci Biotech Biochem* 56: 1100-1105.
8. Yasuji O, Kiyoka HO. 1994. Identification of antimutagenic activities in the extract of an edible brown algae. *Hijikia fusiforme* (Hijiki) by ume gene expression system in *Salmonella typhimurium* (TA 1535/pSK 1002). *J Sci Food Agric* 66: 103-109.
9. Okai Y, Higashi-Okai K, Nakamura S. 1993. Identification of heterogenous antimutagenic activities in the extract of edible brown seaweeds, *Laminaria japonica* (Makonbu) and *Undaria pinnatifida* (Wakame) by the ume gene expression system in *Salmonella typhimurium* (TA 1535/pSK 1002). *Mutat Res* 303: 63-70.
10. Ryu BH, Kim DS, Cho KJ, Sin DB. 1989. Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Korean J Food Sci Technol* 21: 595-600.
11. Fujihara M, Nagumo T. 1993. An influence of the structure of alginate on the chemotactic activity of macrophages and antitumor activity. *Carbohydrate Research* 243: 211-216.
12. Ebihara K, Kiriya S. 1990. Physicochemical property and physiological function of dietary fiber. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 37: 916-925.
13. Kim HS, Kim GJ. 1998. Effects of the feeding *Hijikia fusiforme* (Harvey) Okamura on lipid composition of serum in dietary hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 718-723.
14. Hurch FC, Meade JB, Treanor RE, Whinna HC. 1989. Antithrombotic activity of fucoidin with heparin cofactor II, antithrombin III and thrombin. *J Biol Chem* 6: 361-375.
15. Kim KI, Seo HD, Lee HS, Jo HY, Yang HC. 1998. Studies on the blood anticoagulant polysaccharide isolated from hot water extracts on *Hijikia fusiforme*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1204-1210.
16. Ito K, Tsuchiya Y. 1972. The effect of algal polysaccharides on the depressing of plasma cholesterol levels in rat. In



- Proc. of 7th Int. Seaweed Symp.* Nishizawa K, ed. Univ. Tokyo Press, Japan. p 558-561.
17. Kim DS, Park YH. 1985. Uronic acid composition, block structure and some related properties of alginic acid. *J Korean Fish Soc* 18: 29-36.
  18. Collic S, Fischer AM, Tapon-Brethaudiere J, Boisson C, Durand P, Jozefonvicz J. 1991. Anticoagulant properties of a fucoidan fraction. *Thromb Res* 64: 143-154.
  19. Yamamoto L, Takahashi M, Tamura E, Maruyama H, Mori H. 1984. Antitumor activity of edible marine algae: Effect of crude fucoidan fraction prepared from edible brown seaweeds L-1210 leukemia. *Hydrobiologia* 116: 145-150.
  20. Yamamoto L, Nagumo T, Takahashi M, Fujihara M, Suzuki Y, Lizima N. 1981. Antitumor effect of seaweeds: III. Antitumor effect of an extract from Sargassum. *Jap J Exp Med* 51: 187-189.
  21. Cho KJ, Lee YS, Ryu BH. 1990. Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Bull Korean Fish Soc* 23: 345-352.
  22. Kim IS, Kim SB, Park YH. 1994. Desmutagenic of seaweed and vegetable extracts against mutagenicity of Maillard reacting products. *Bull Korean Fish Soc* 27: 139-141.
  23. Lee NH, Oh KI. 2002. Screening of radical scavenging effects from marine algae. *Cheju J Life Science* 3: 95-101.
  24. Lee BH, Choi BW. 1996. Extraction of water soluble antioxidants from seaweeds. *J Korean Ind & Eng Chemistry* 7: 1069-1077.
  25. Han HS, Bae SJ, Kim MH. 2004. Effects of *Porphyra tenera* extracts on formation of collagen cross-link in ovariectomized rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 324-330.
  26. Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 113: 173-215.
  27. Matsushima T, Sugimura T, Nagao M, Yahagi T, Shirai A, Sawamura M. 1980. Factors modulating mutagenicity in microbial test. In *Short-term test, systems for detecting carcinogens*. Norphth KH, Garner RC, eds. Springer, Berlin. p 273-275.
  28. Charmichael J, Degraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Michell JB. 1987. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay, assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* 47: 936-941.
  29. Park YB, Ahn JK, Yoo SJ, Park DC, Kim IS, Park YH, Kim SB. 1998. Elucidation of anti-tumor initiator and promoter derived from seaweed-4: desmutagenic principles of *Ecklonia stolonifera* extracts against carcinogenic heterocyclic amines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 537-542.
  30. Ryu BH, Chi BS, Kim DS, Ha MS. 1986. Desmutagenic effect of extracts obtained from seaweeds. *Bull Kor Fish* 19: 502-508.
  31. Takahi N, Hiroaki K, Haruki Y, Terukazu N. 1991. An anticoagulant fucoidan from the brown seaweed *Ecklonea kurome*. *Phytochemistry* 30: 535-539.
  32. Riou D, Collic-Jouault S, Pinczon du Sel D, Bosch S, Siavoshian S, Le Bert V, Tomasoni C, Siquin C, Durand P, Roussakis C. 1996. Antitumor and antiproliferative effects of a fucan extracted from *Ascophyllum nodosum* against a non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line. *Anti-cancer Res* 16: 1213-1218.
  33. Ellouali M, Boisson-Vidal C, Durand P, Jozefonvicz J. 1993. Antitumor activity of low molecular weight fucans extracted from brown seaweed *Ascophyllum nodosum*. *Anticancer Res* 13: 2011-2019.
  34. Krinsky NI. 1993. Micronutrients and their influence on mutagenicity and malignant transformation. *Ann New York Acad Sci* 686: 229-234.
  35. Krinsky NI. 1994. Carotenoids and cancer, basic research studies, natural antioxidants in human health and disease. *Ann New York Acad Sci* 239: 1-6.
  36. Funahashi H, Imai T, Mase T, Sekiya M, Yokoi K, Hayashi H, Shibata A, Hayashi T, Nishikawa M, Suda N, Hibi Y, Mizuno Y, Tsukamura K, Hayakawa A, Tanuma S. 2001. Seaweed prevents breast cancer? *Jpn J Cancer Res* 92: 483-487.

(2005년 1월 24일 접수; 2005년 4월 4일 채택)