

## 짜잎모자반(*Sargassum hemiphyllum*)의 암세포주 증식 억제 및 항산화 효과

최형주 · 서영완 · 임선영\*

한국해양대학교 해양환경생명과학부

Received August 3, 2007 / Accepted August 23, 2007

**Effect of Solvent Extracts from *Sargassum hemiphyllum* on Inhibition of Growth of Human Cancer Cell Lines and Antioxidant Activity.** Hyung-Ju Choi, Youngwan Seo and Sun-Young Lim\*. *Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea* - This study was carried out to determine the inhibitory effects of solvent extracts from *Sargassum hemiphyllum* on growth of cancer cell lines (AGS human gastric adenocarcinoma and HT-29 human colon cancer cells) and production of lipid peroxides. Inhibitory effects of acetone with methylene chloride extract from *S. hemiphyllum* on the growth of AGS and HT-29 cancer cells were increased as dose dependent patterns ( $p < 0.05$ ). The methanol extract was more effective on inhibition of growth of AGS. The treatments of hexane, 85% aq. methanol, butanol and water fractions significantly inhibited the growth of cancer cells ( $p < 0.05$ ) and the inhibitory effect was stronger in HT-29. In DCFH-DA (dichlorodihydrofluorescein diacetate) assay, acetone with methylene chloride and methanol extracts showed a stronger inhibitory effect on the production of cellular lipid peroxides ( $p < 0.05$ ) compared with the butanol and hexane fractions. These results indicate that the consumption of *S. hemiphyllum* may be recommended as a potent functional food for preventing cellular oxidation and cancer.

**Key words :** *Sargassum hemiphyllum*, human cancer cell, growth inhibition, antioxidant, DCFH-DA assay

### 서 론

해조류는 특히 아시아 지역에서 널리 섭취해 왔으며 중국 및 우리나라의 고대 문헌에서도 해조류에 대한 기록들이 발견되는 것으로 보아 이미 오래 전부터 식용으로 사용되었던 것으로 추정된다. 해조류는 영양학적으로 열량은 매우 낮으면서 양질의 식물성 섬유인 알긴산을 많이 함유하고 각종 미네랄과 비타민 또한 다량 함유하고 있어 활성 산소와 과산화 지질의 생성을 억제한다[9,13,16,22]. 알긴산 함유 해조류의 경우 채소류와 비교해서 필수아미노산과 불포화지방산이 많아 고혈압과 동맥경화 등의 방지에도 효과[2,10,15]가 있으며 각종 암의 발생을 억제한다고 알려져 있다[3,19,24,25]. 우리나라에서 가장 많이 섭취되고 있는 해조류는 김, 미역, 다시마 등으로 건조 및 염장 등 다양한 방법으로 저장되면서 식용으로 사용되어 왔다. 해조류에 관한 연구로는 한천, carrageenan 등과 같은 해조류 다당류를 이용 가공하는 연구[6,12]와 미역, 김 등의 식품성분과 가공에 관한 연구[7,18]들로부터 더욱 발전하여 해조류의 기능성에 관한 연구로 확대되고 있다[9,10,13,15]. Choi 등[4]은 Ames test를 이용하여 7종 갈조류인 다시마(*Laminaria japonica*), 켈생이모자반(*Sargassum horneri*), 폐배기모자반(*Sargassum tortile*), 모자반(*Sargassum fulvellum*), 불레기말(*Colpomenia sinuosa*), 왜모자

반(*Sargassum yezoense*), 짝잎모자반(*Sargassum hemiphyllum*)과 홍조류인 까막살(*Carpopeltis affinis*)에 의한 항돌연변이 효과를 살펴 본 결과 특히 켈생이모자반(*S. horneri*)과 짝잎모자반 추출물에 의한 돌연변이 억제 효과가 높았다고 보고하였다. 해조류 추출물에 의한 항발암 효과 실험에서 갈조류인 감태, 곰피, 다시마 및 모자반에 의한 발암 억제가 우수하였으며 특히 곰피 추출물에서 발암 억제 물질인 phenol, chlorophyll 및 carotenoids 화합물들이 보고되었다[24]. Yan 등[27]은 톡의 아세톤 추출물로부터 우수한 항산화 효과를 나타내는 fucoxanthin 성분을 분리하였고 또한 모자반로부터 phlorotannins 물질을 분리하여 강한 지질 과산화 억제 효과를 밝혔다[28]. Haung과 Wang[8]은 16종 해조류들을 diethyl ether로 추출하여 얻어진 지용성 성분에 의한 항산화 효과가 우수하였으며 또한 지방산의 함량이 높았다고 하여 해조류에 함유된 항산화물질과 불포화지방산 존재와의 관련성을 언급하였다.

갈조류는 녹조류보다 깊은 물속에서 자라며 특수한 carotenoid 색소와 fucoxanthin이 엽록소를 덮고 있어 특유의 갈색을 띠며 광합성을 위한 엽록소뿐만 아니라 xanthophyll을 함유하고 있어 수심 30 m에서도 성장할 수 있다. 대부분의 갈조류는 거의 모든 해양에서 발견되고 있으며 고위도 지방에서 다량으로 서식된다. 본 연구에 사용된 짝잎모자반은 한국에서 나는 대형 갈조류의 종류로 섬유상의 뿌리에서 많은 가는 줄기를 내어 퍼지고 중심가지가 30-50 cm 자라며 줄가지를 낸다. 잎은 몸의 하부에서 췌기꼴 또는 도란형이고

\*Corresponding author

Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-410-3988

E-mail : sylim@hhu.ac.kr

위쪽에서는 가장자리에 틈이나 나거나 밋밋하며 상부의 잎이 좌우대칭이 아니기 때문에 짝잎모자반이라고 불리운다. 현재까지 짝잎모자반에 의한 항알레르기성에 관한 연구[20]는 되어 있으나 짝잎모자반에 의한 항산화 및 암세포에 대한 독성 효과에 관한 연구는 미미한 상태이므로 본 연구에서는 짝잎모자반을 용매별로 추출하여 인체 위암 및 결장암세포에 대한 증식 억제와 지질 과산화물 생성 억제효과에 대해 검토하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료

실험에 사용된 짝잎모자반은 2003년 5월 제주도 귀덕(경도 126°-127°, 위도 33°-34°)에서 채집하였으며 응달에서 건조한 후 추출하기 전까지 -25℃에서 보관하였다.

### 추출 및 분획

유기용매 추출을 위하여 채집한 짝잎모자반은 사용하기 전에 -25℃의 냉동고에 보관하였다가 해빙하여 잘게 자른 후, acetone:methylene chloride를 1:1 비율로 혼합하여 짝잎모자반이 충분히 잠기도록 하여 24시간 방치한 후 추출하였다. 이 과정을 2회 반복하여 얻은 여액은 40℃ 수욕 상에서 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)을 사용하여 농축하여 aceton/methylene chloride 추출물(A+M)을 얻었다. 남은 잔사에 동량의 methanol을 부어 위와 동일한 방법으로 2회 반복한 후 농축하여 methanol 추출물(MeOH)을 얻었다. 두 추출물을 혼합한 추출물은 용매 극성에 따라 순차적으로 분획하여 hexane, 85% aq. MeOH, butanol (BuOH), water 분획물을 얻었다. 실험에는 각각의 추출물들을 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 실험에 사용하였고 세포배지로 필요한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다. 세포배양에 사용된 DMSO의 최종농도는 0.05%이하가 되도록 하였다.

### 암세포 및 암세포 배양

한국 세포주 은행(서울의대)으로부터 인체 위암세포(AGS, human gastric adenocarcinoma cell)와 인체 결장암세포(HT-29, human colon cancer cell)를 분양받아 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. AGS와 HT-29 암세포를 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10% FBS가 함유된 RPMI 배지를 사용하여 37℃, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양 중인 세포를 일주일에 2번 새로운 배지로 바꿔 주었다. 일주일 후 phosphate buffered saline (PBS)으로 세척한 뒤 0.05% trypsin-0.02% EDTA (Gibco Co., USA)로 부착된 세포를 분리하여 원심분리 한 후 집적된 암세포에 배지를 넣고 피펫으로 암세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 75 mm<sup>3</sup> cell culture flask에 10 ml씩 일정한 수로 분할하여

주입하고 계속 6~7일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

### MTT assay

배양된 암세포는 96 well plate에 2×10<sup>4</sup> cells/ml이 되도록 100 μl씩 분주하여 37℃, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양한 후 배지는 제거한 뒤 각 시료를 RPMI 배지로 희석하여 각 well당 시료를 100 μl씩 첨가하고, 대조군에는 시료 대신 PBS를 100 μl씩 첨가하였다. 이 plate를 다시 37℃, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양하였다. 배양 후 MTT assay를 위하여 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 시약 5 mg을 1 ml PBS로 녹인 후, 10% FBS가 함유된 RPMI배지 9 ml와 희석하여 100 μl를 첨가하고 3~4시간 동안 더 배양하여 MTT가 환원되도록 한다. 배양종료 후 생성된 formazan 결정을 가라앉힌 후 각 well에 형성된 결정이 흐트러지지 않도록 주의하면서 MTT 시약처리 배지를 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 formazan 결정을 용해시키기 위하여 DMSO를 100 μl씩 분주하여서 5~10분간 반응시켜 96well plate용 광도계(ELISA reader)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 흡광도는 MTT가 세포에 의해서 환원된 양을 나타내며, 따라서 각 well에 존재하는 생존 수와 비례한다. 생존을 계산은 각 well로부터 한 칼럼의 평균값을 구하여 대조군 (100% 생존군)의 평균값에 대한 백분율의 값을 산출하였다. 이 백분율은 비교한 시험군의 세포 생존율에 해당하는 값으로 세포의 생존율은 다음과 같은 식으로 계산하였다[5].

$$\text{Cytotoxicity (\%)} = \frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{시료처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

### 세포내 지질 과산화물 측정

인체 섬유육종 세포인 HT-1080세포는 한국 세포주 은행으로부터 분양받아 배양하여 실험에 사용하였다. HT-1080세포는 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10% FBS가 함유된 DMEM 배양액을 사용하여 cell culture dish에서 37℃, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 세포의 지질 과산화물의 생성은 DCFH-DA (dichlorodihydrofluorescein diacetate) assay로 측정하였다[17,26]. DCFH-DA (Sigma, USA)는 세포내 지질 과산화물과 반응하여 형광물질(dichlorofluorescein, DCF)을 만들어 내는 것으로 이 시약을 세포 속에 넣어 발생하는 형광을 측정함으로써 세포내의 지질 과산화물을 측정할 수 있다. 세포를 96 well에 분주한 후 24시간 배양하고, PBS 완충액으로 씻은 후 20 μM DCFH-DA를 각 well에 분주하여 37℃ 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 20분간 pre-incubation하였다. 각 well에 시료를 처리하여 37℃ 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 1시간 incubation한 후, DCFH-DA를 없애고 세포는 다시 PBS 완충액으로 씻은 후 500 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리

하여 시간별로 DCF fluorescence를 excitation 488 nm, emission 530 nm에서 형광 분석기로 측정하였다. 대조군들(blank 군과 control군)은 시료 대신 PBS를 처리하며, control군은 500  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리를 하고, blank군은 500  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 대신 PBS를 처리하여 측정하였다.

**통계분석**

실험결과는 Mean  $\pm$  SEM으로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 one-way ANOVA를 실시하여 유의성이 있을 경우에 post-hoc test로 Duncan's mutiple range test를 실시하여 p<0.05 수준에서 유의성을 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**인체 암세포 증식 억제 효과**

작잎모자반 추출물과 그 분획물들의 인체 암세포 증식 억제효과를 조사하기 위해 MTT assay를 행하였다. 실험에는 인체 위암세포(AGS)와 인체 결장암세포(HT-29)가 사용되었

으며 Fig. 1은 작잎모자반의 acetone/methylene chloride 추출물(A+M)과 methanol 추출물(MeOH)을 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 5 mg/ml의 농도로 AGS 위암세포에 처리했을 때 인체 암세포 증식 억제효과를 나타낸 것이다. A+M 추출물과 MeOH 추출물은 둘 다 가장 낮은 농도인 0.5 mg/ml에서부터 농도 의존적으로 위암세포의 성장을 억제시켰다(p<0.05). A+M 추출물의 경우, 1 mg/ml 첨가농도에서 75%의 증식 억제효과를 보였고, 5 mg/ml 첨가농도에서는 78%의 억제효과를 보였다(p<0.05). MeOH 추출물을 처리한 경우에도 A+M 추출물과 유사하게 1 mg/ml, 5 mg/ml 첨가농도에서 각각 79%, 77%의 높은 암세포 증식 억제효과를 보였다(p<0.05). 작잎모자반의 hexane, BuOH, 85% aq. MeOH, water 분획물을 5 mg/ml의 농도로 AGS 위암세포에 처리했을 때(Fig. 2), 각각 71%, 70%, 44%, 68%의 높은 암세포 증식 억제효과(p<0.05)가 나타나 A+M 추출물 및 MeOH 추출물과 유사한 억제효과를 보였다. Fig. 3은 인체 결장암세포(HT-29)에 대한 결과를 나타낸 것으로, A+M 추출물은 AGS 위암세포의 결과와 유사하게 낮은 농도에서부터 농도 의존적으로 암세포의 증식을 억제하여 1 mg/ml 및 5 mg/ml의

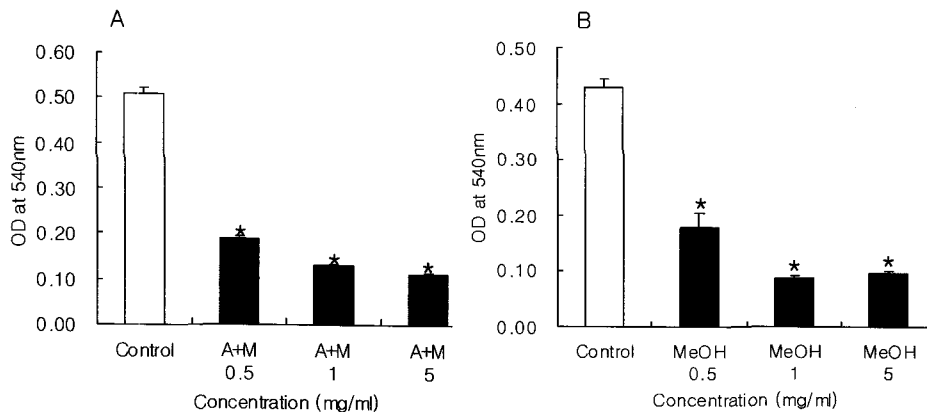


Fig 1. Inhibitory effect of acetone/methylene chloride (A+M, A) and methanol (MeOH, B) extracts of *Sargassum hemiphyllum* on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells. \*P<0.05, significant effect between the control and each extract fraction.

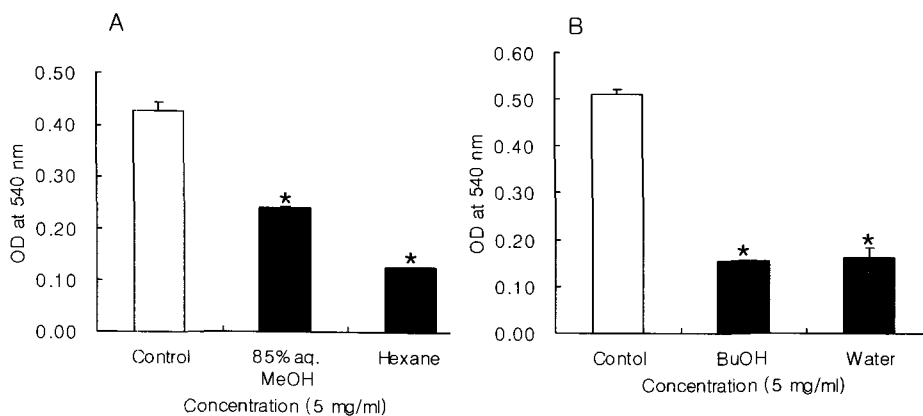


Fig 2. Inhibitory effect of its solvent fractions (5 mg/ml) of *Sargassum hemiphyllum* on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells. \*P<0.05, significant effect between the control and each fraction.

첨가농도에서 각각 62% 및 89%로 암세포 증식 억제효과를 보였다( $p < 0.05$ ). 그러나 MeOH 추출물의 경우, 인체 위암세포와 비교했을 때 0.5 mg/ml, 1 mg/ml 첨가농도에서 다소 낮은 암세포 성장 억제효과를 보였지만, 첨가농도 5 mg/ml에서는 91%로 높은 암세포 증식 억제효과를 보였다( $p < 0.05$ ). Fig. 4는 짙모자반의 hexane, BuOH, 85% aq. MeOH, water 분획물을 5 mg/ml의 농도로 인체 결장암세포에 처리했을 때 암세포 성장 억제효과를 나타낸 것으로 각각 89%, 87%, 81%, 63%의 암세포 성장 억제효과( $p < 0.05$ )를 보여 AGS 위암세포에 처리하였을 때와 비교했을 때 보다 높은 암세포 증식 억제효과를 보였다. 식용 해조류의 일종인 듄부기모자반(*S. fulvellum*)에 대한 연구로 이를 추출, 분획하여 항발암효과를 알아본 결과 ethylacetate 분획층에 의한 암세포 주 독성효과가 높았으며 체내 독성 물질이나 발암 물질을 무독화시키는 효소로 암예방지표인 quinone reductase (QR)의 측정 실험에서도 ethylacetate 분획층은 아주 낮은 농도(25 µg/ml)에서부터 대조군에 비해 QR 유도 활성 효과가 높았음이 보고되었다[1]. Kim 등[14]은 톳, 다시마 및 미역 등 갈조류가 암세포에 대한 저해 효과가 큰 것은 갈조류에 함유된

fucoidan, fucoxanthin 및 요오드 등에 의해 세포 증식이 억제된 것으로 보고하였다.

**지질 과산화물 생성 억제에 의한 항산화효과**

항산화제는 산화반응을 억제시킬 수 있는 물질로서 식품의 산패, 인체조직의 노화 등을 억제시키는데 사용되며 현재 가장 널리 사용되고 있는 항산화제는 식품산업에서 주로 사용되는 합성 항산화제인 Butylated hydroxyl anisol (BHA) 또는 Butylated hydroxyl toluene (BHT)가 있다. 그러나 이러한 물질은 발암물질로 알려져 안정성 문제가 선진국 등에서 크게 대두되고 있는 실정이다. 이러한 이유 때문에 합성 항산화제의 문제점을 극복하기 위해 천연물에서 항산화물질을 추출하여 제조하는 방법이 오래 전부터 개발되어 오고 있다. 이러한 관점에서 본 연구에서는 지질 과산화물 생성에 미치는 짙모자반의 효과를 알아보고자 한다. A+M 추출물 및 MeOH 추출물과 각 분획물들을 10mg/ml의 농도로 HT-1080 섬유육종 세포에 처리하였을 때 지질 과산화물의 생성을 크게 억제시켰다(Fig. 5). A+M 추출물과 MeOH 추출물 처리군은 blank군과 control군과 비교하였을 때 측정 시

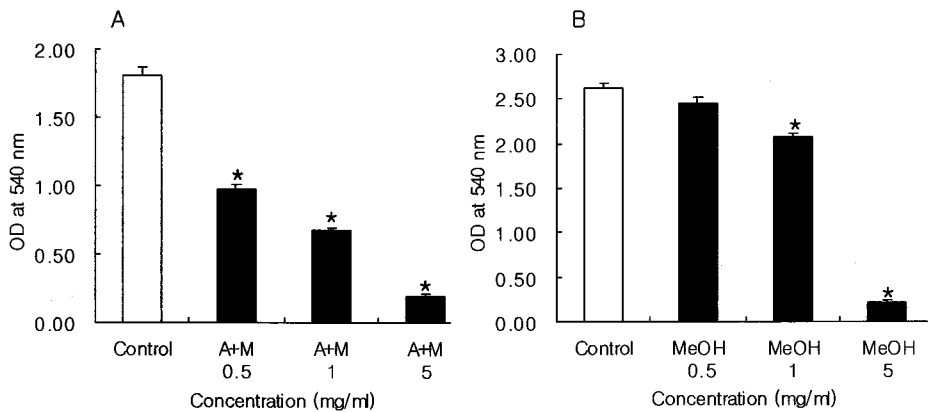


Fig 3. Inhibitory effect of acetone/methylene chloride (A+M, A) and methanol (MeOH, B) extracts of *Sargassum hemiphyllum* on the growth of HT-29 human colon cancer cells. \* $P < 0.05$ , significant effect between the control and each extract fraction.

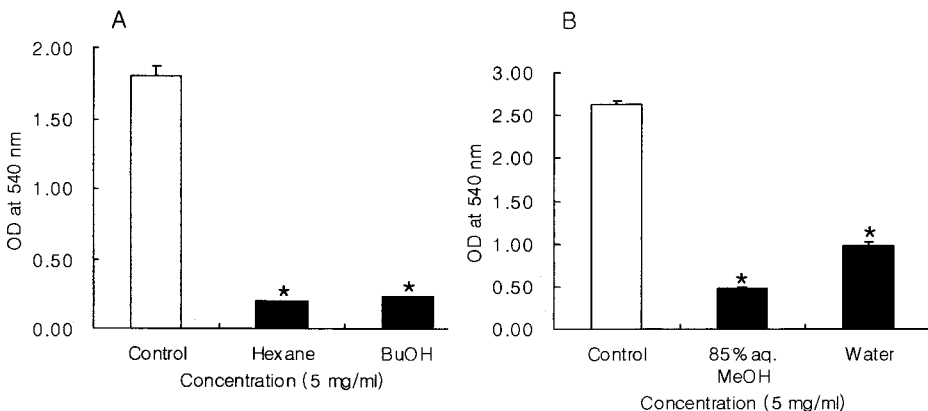


Fig 4. Inhibitory effect of its solvent fractions (5 mg/ml) of *Sargassum hemiphyllum* on the growth of HT-29 human colon cancer cells. \* $P < 0.05$ , significant effect between the control and each fraction.

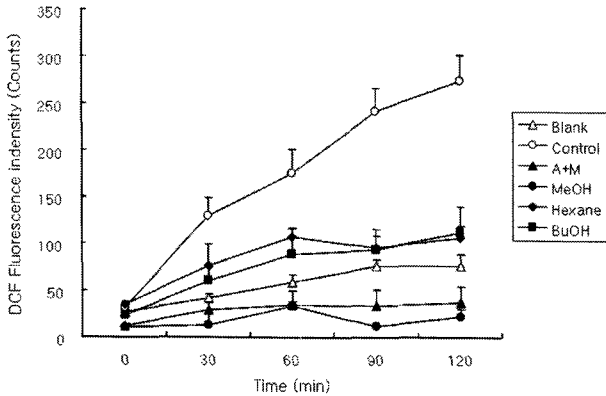


Fig 5. Inhibitory effect of extracts and its solvent fractions (10 mg/ml) from *Sagassum hemiphyllum* on production of cellular lipid peroxide in HT-1080 cell.

간 120분 동안 계속적으로 높은 세포 내 지질 과산화물 생성 억제 능력을 나타내었으며(p<0.05), BuOH 및 hexane 분획물을 처리한 경우에는 A+M 추출물과 MeOH 추출물 처리군들보다는 다소 낮은 활성을 나타내었지만, 500 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만을 처리한 control군보다 지질 과산화물의 증가율이 현저히 낮았음을 관찰할 수가 있었다(p<0.05). 이상의 결과로부터 10mg/ml의 농도에서 짙잎모자반의 A+M 추출물, MeOH 추출물, BuOH 분획물 및 hexane 분획물이 세포내 지질 과산화물의 생성을 억제시키는 활성이 있음을 확인하였다. Park[23]은 발암물질인 니트로사민의 전구물질인 아질산염 소거활성에 미치는 갈조류, 홍조류 및 녹조류의 효과에 관한 연구로 아질산염 분해작용은 대체로 갈조류의 경우가 뛰어난 효과를 나타내었고 유리 라디칼 소거능 실험에서는 갈조류 중에서 모자반(*S. horneri*)과 툃(*Hizikia fusiformis*), 미야베모자반(*S. miyabe*)에 의한 유리 라디칼 소거효과가 가장 높았다고 보고하였다. Kim 등[11]은 7종 해조류 추출물의 총페놀 함량과 유리 라디칼 소거능을 측정된 결과, 구멍쇠미역(*Agarum cribrosum*)과 팽생이모자반(*S. horneri*)의 총페놀 함량이 각각 10.8 mg/g 및 7.22 mg/g으로 높았으며 전자공여능과 hydroxy radical 소거능도 각각 71% 및 84%로 모두 높게 나타나 해조류 추출물에서 총페놀 함량과 유리 라디칼 소거능은 밀접한 관련성이 있는 것으로 보고하였다. Bae[1]는 듄부기모자반(*S. fulvellum*)에 의한 1,1-diphenyl-picryl hydrazyl (DPPH) radical 소거능을 측정하였을 때 듄부기모자반(*S. fulvellum*)의 메탄올 추출물에 의한 DPPH 소거능력은 대조군인 항산화제인 BHT 및 비타민 C의 소거능과 유사하였다고 보고하였다. Park 등[21]도 식용 해조류를 용매별로 추출하고 DPPH법으로 항산화 활성을 측정된 연구에서 분획물들 중 수용성 메탄올 분획층에서 강한 항산화 활성을 나타내었다고 보고하였다. 따라서 본 연구 결과로부터 짙잎모자반은 인체 위암 및 결장암 세포의 증식을 크게 억제하였으며 세포막 손상을 일으키는 지질 과산화물의 생성을 억제시키

는 작용이 있으므로 향후 짙잎모자반을 이용한 유용한 기능성 물질의 활용을 기대해 본다.

### 요 약

본 연구에서는 갈조류에 속하는 짙잎모자반을 용매별로 추출하여 인체 위암 및 결장암세포에 대한 증식 억제 및 지질 과산화물 생성 억제효과에 대해 검토하고자 하였다. Acetone/methylene chloride 추출물(A+M) 및 methanol 추출물(MeOH)을 인체 위암세포에 처리했을 때 농도 의존적으로 암세포 증식을 억제하였고(P<0.05), MeOH 추출물의 경우 인체 결장암 세포에 비해 위암세포에 대한 증식 억제효과가 높았다. 분획물들인 hexane, BuOH, 85% MeOH, water 분획물을 5 mg/ml의 농도로 인체 위암 및 결장암세포에 처리했을 때 암세포의 성장을 크게 억제시켰으며(P<0.05) 위암세포와 비교해 볼 때 결장암 세포에서 보다 높은 암세포 증식 억제효과를 보였다. A+M 추출물 및 MeOH 추출물과 각 분획물들을 10mg/ml의 농도로 HT-1080 섬유육종 세포에 처리하였을 때, 지질 과산화물의 생성을 억제시키는 활성을 나타내었다(p<0.05). A+M 추출물과 MeOH 추출물 처리군은 blank군과 control군과 비교하였을 때, 측정 시간 120분 동안 계속적으로 높은 세포 내 지질 과산화물 생성 억제 능력을 나타내었으며(p<0.05), BuOH 및 hexane 분획물들을 처리한 경우에는 A+M 추출물과 MeOH 추출물 처리군들보다는 다소 낮은 활성을 나타내지만, control군에 비해 지질 과산화물의 증가율이 현저히 낮았음을 관찰할 수 있다(p<0.05). 이상의 결과로부터 짙잎모자반의 추출물 및 각 분획물들은 인체 암세포의 증식을 크게 억제하였으며 지질 과산화물 생성을 억제시켜 우수한 산화 방지 효과가 있음을 확인할 수가 있었다.

### 참 고 문 헌

1. Bae, S. J. 2004. Anticarcinogenic effects of *Sargassum fulvellum* fractions on several human cancer cell lines in vitro. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 480-486.
2. Cha, S. H., G. N. Ahn, S. J. Heo, K. N. Kim, K. W. Lee, C. B. Song, S. K. Cho and Y. J. Jeon. 2006. Screening of extracts from marine green and brown algae in Jeju for potential marine angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 307-314.
3. Cho, K. J., Y. S. Lee and B. H. Ryu. 1990. Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward Sarcoma-180. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **23**, 345-352.
4. Choi, H. J., J. H. Kil, S. S. Bak, C. S. Kong, K. Y. Park, Y. W. Seo and S. Y. Lim. 2006. Inhibitory effects of solvent extracts from seven brown algae on mutagenicity and growth of human cancer cells. *J. Life Sci.* **16**, 1080-1086.

5. Denizot, F. and R. Lang. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods* **89**, 271-277.
6. Do, J. R. 1997. Extraction and purification of agar from *Celidium amansii*. *J. Korean Fish Soc.* **31**, 423-427.
7. Han, B. H., T. J. Bae and B. S. Kim. 1984. Stability of chlorophyll during processing and storage of salted undaria pinnatifida. *Korean J. Food Sci. Technol.* **16**, 71-77.
8. Huang, H. L. and B. G. Wang. 2004. Antioxidant capacity and lipophilic content of seaweeds collected from the Qingdao coastline. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 4993-4997.
9. Heo, S. J., K. W. Lee, C. B. Song and Y. J. Jeon. 2003. Antioxidant activity of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Algae*. **18**, 71-81.
10. Jung, K. J., B. M. Jung and S. B. Kim. 2001. Effect of porphyrin isolated from laver, *Porphyra yezoensis*, on lipid metabolism in hyperlipidemic and hypercholesterolemic rats. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**, 633-640.
11. Kim, B. M., J. Y. Jun, Y. B. Park and I. H. Jeong. 2006. Antioxidative activity of methanolic extracts from seaweeds. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 1097-1101.
12. Kim, D. S. and Y. H. Park. 1984. Uronic acid composition, block structure and related properties of alginic acid. *Bull Korean Fish Soc.* **17**, 391-397.
13. Kim, J. A. and J. M. Lee. 2004. Changes of chemical components and antioxidant activities in *Hizikia fusiformis* (harvey) OKAMURA with blanching times. *Korean J. Food Cookery Sci.* **20**, 219-226.
14. Kim, S. A., M. K. Woo, C. S. Kwak and M. S. Lee. 2005. Antimutagenic and cytotoxic effects of ethanol extracts from five kinds of seaweeds. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 451-459.
15. Kim, Y. M., J. R. Do, J. P. In and J. H. Park. 2005. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activities of laver (*Porphyra tenera*) protein hydrolysates. *Korean J. Food Nutr.* **18**, 11-18.
16. Kwak, C. S., S. A. Kim and M. S. Lee. 2005. The correlation of antioxidative effects of 5 Korean common edible seaweeds and total polyphenol content. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 1143-1150.
17. LeBel, C. P., H. Ischiropoulos and S. C. Bondy. 1992. Evaluation of the probe 2', 7'-Dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. *Chem. Res. Toxicol.* **5**, 227-231.
18. Lee, K. H., S. H. Song and I. H. Jeong. 1987. Quality changes of dried lavers during processing and storage. *Bull Korean Fish Soc.* **20**, 408-418.
19. Lee, Y. S., D. S. Kim, B. H. Ryu and S. H. Lee. 1992. Antitumor and immunomodulating effects of seaweeds toward Sarcoma-180 cell. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **21**, 544-550.
20. Na, H. J., P. D. Moon, S. G. Ko, H. J. Lee, H. A. Jung, S. H. Hong, Y. W. Seo, J. M. Oh, B. H. Lee, B. W. Choi and H. M. Kim. 2005. *Sargassum hemiphyllum* inhibits atopic allergic reaction via the regulation of inflammatory mediators. *J. Pharmacol. Sci.* **97**, 219-226.
21. Park, J. H., K. C. Kang, S. B. Baek, Y. H. Lee and K. S. Rhee. 1991. Separation of antioxidant compounds from edible marine algae. *Korean J. Food Sci. Technol.* **23**, 256-261.
22. Park, S. Y., B. M. Jung, Y. H. Choi and S. J. Bae. 2005. Growth inhibition effects of cancer cell lines by *gloiopeltis furcata* fractions *in vitro*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 771-775.
23. Park, Y. B. 2005. Determination of nitrite-scavenging activity of seaweed. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 1293-1290.
24. Park, Y. B., J. K. Anh, S. J. Yoo, D. C. Park, I. S. Kim, Y. H. Park and S. B. Kim. 1998. Eluciation of anti-tumor initiator and promoter derived from seaweed-4: Desmutagenic principles of *Ecklonia stolonifera* extracts against carcinogenic heterocyclic amines. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 537-542.
25. Ryu, B. H., D. S. Kim, K. J. Cho and D. B. Sin. 1989. Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **21**, 595-600.
26. Tsuchiya, M., M. Suematsu and H. Suzuki. 1994. In Vivo visualization of oxygen radical-dependent photoemission. *Methods Enzymol.* **233**, 128-140.
27. Yan, X., Y. Chuda, M. Suzuki and T. Nagata. 1999. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hizikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **63**, 605-607.
28. Yan, X. J., X. C. Li, C. X. Zhou and X. Fan. 1996. Prevention of fish oil rancidity by phlorotannins from *Sargassum Kjellmanianum*. *J. Appl. Phycol.* **8**, 201-203.