

땅빈대 추출물의 항산화 활성 및 세포독성 효과

허성일 · 호위성 · 한 응 · 왕명현*

강원대학교 생명공학부

Antioxidant Activity and Cytotoxic Effect of Extracts from *Euphorbia humifusa*

Seong-Il Heo, Weicheng Hu, Woong Han and Myeong-Hyeon Wang*

School of Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon, 200-701, Republic of Korea

Abstract – The antioxidant activities, anti-inflammatory activity and cytotoxic effects of methanol extract from *Euphorbia humifusa* were evaluated in this study. Total phenolic compound contents were 68.35±0.16 mg/g and total flavonoid compound contents were estimated as 38.74±1.26 mg/g. EC₅₀ values for DPPH radical scavenging activity of methanol extract was 56.26±0.66 µg/mL and those of positive controls as ascorbic acid, α-tocopherol and BHA were 8.38±0.14 µg/mL, 16.45±0.89 µg/mL and 21.18±1.01 µg/mL respectively. NO scavenging activity increased in depending on concentration of extract. Treatment of RAW 264.7 cells with extract caused inhibition of LPS-induced nitric oxide production. The cell viability showed that the methanol extract had cytotoxicity in the growth of breast cancer cell (66.54±1.91% at 400 µg/mL conc., 43.98±3.35% at 800 µg/mL conc.). Based on the results, It was suggested that the methanol extract of *Euphorbia humifusa* has a potential candidate for functional cosmetic and medicine.

Key words – Antioxidant activity, Cytotoxicity, *Euphorbia humifusa*, Anti-inflammation

대극속(*Euphorbia* sp.)은 주로 열대 및 아열대 지역에 분포하는 식물로서, 전세계에 2,000여종이 분포하고 있는 피자식물에서 가장 큰 속이며, 우리나라에는 약 20종이 생육하고 있는 것으로 알려져 있다. 땅빈대(*Euphorbia humifusa*)는 1년생 초본으로서 전국의 전야나 노변에 야생하며 백색의 유액을 함유하고 있고, 줄기는 보통 뿌리의 상단에서 2개의 가지로 갈라져 지면을 따라 옆으로 뻗으며 잎의 중앙에 붉은 반점이 있는 식물로 한방에서도 이용되고 있다.¹⁻³⁾ 주요성분은 flavonoid, gallic acid, tannin 등을 함유하고 있으며 항산화 약리활성으로는 발병성 구균과 나균에 대한 항균활성과 포도상구균, diptheria균, 대장균 및 녹농균에 대해 살균작용을 나타내며, 사람의 뇌 암세포인 U-373 MG astrocytoma 및 SK-N-MC neuroblastoma 세포주에 대해 농도의존적인 세포독성이 보고 되었다.^{2,4)}

인간을 포함한 호기성 생물은 이렇게 풍부한 산소를 전자수용체로 하는 호흡을 통해 에너지 대사를 진행하며 생명유지에 절대적으로 필요한 산소이지만 안정한 분자상태인

기저삼중항 산소(ground state triplet oxygen)가 체내 효소계, 환원대사, 화학약품, 공해물질, 광화학반응 등의 물리적, 화학적, 환경적 요인 등에 의하여 수퍼옥사이드 라디칼(superoxide radical, O₂^{·-}), 과산화수소 (hydrogen oxygen, H₂O₂), 하이드록실 라디칼 (hydroxyl radical, ·OH), 일중항 산소 (singlet oxygen, ¹O₂)와 같은 반응성이 매우 큰 활성산소 (active oxygen)로 전환되면 생체에 치명적인 산소독성을 일으키는 양면성을 지니고 있다.⁵⁻⁶⁾ 즉, 이들 활성산소는 지질, 단백질, 당, DNA 등에 대하여 비선택적, 비가역적인 파괴작용을 함으로써 노화는 물론 암을 비롯하여 뇌졸중, 파킨슨 병 등의 노질환과 심장질환, 동맥경화, 피부질환, 소화기질환, 염증, 류마티스, 자가면역질환 등의 각종 성인병 질환을 일으키는 것으로 보고되었다.⁷⁻⁸⁾

따라서, 본 연구는 강원도 정선에서 채취한 땅빈대에 대하여 항산화효과와 항염증효과 및 결장암, 위암, 유방암 세포종 등을 이용하여 암세포에 대한 세포독성을 평가하여, 땅빈대의 활용가치를 높이며, 그 우수성을 알리고자 한다.

*교신저자 (E-mail): mhwang@kangwon.ac.kr
(Tel): 033-250-6486

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에 사용한 땅빈대는 2008년 8월에 정선군에서 채취하여 뿌리를 포함한 전체를 음건하여 사용하였으며, 시료의 추출방법은 시료 중량 대비 20배의 메탄올을 가하여 24시간 동안 실온에서 침지하여 추출하였으며, 각 추출물은 Advantec No. 2 여과지로 여과하여 감압 농축하여 본 실험의 시료로 사용하였다.

총 페놀성 화합물 함량 - 총페놀성 함량은 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색으로 발색되는 것을 이용한 Folin-Denis 방법에 따라 분석하였다.⁹⁻¹⁰ 즉, 1 mg/mL로 조제한 추출물 1 mL에 Folin-Denis 시약 2 mL을 잘 넣고, 35%의 탄산나트륨 (Na₂CO₃)용액을 2 mL을 넣은 다음 잘 혼합하여 실온에서 30분 간 반응 후, 분광도계 (ELx800, Biotec, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 탄닌산 (tannic acid)을 이용하여 작성된 표준곡선을 이용하여 검량선을 작성하여 총 페놀성 화합물의 함량을 계산하였다.

총 플라보노이드 화합물 함량 - 1 mg/mL의 농도로 추출물을 제조하여, 20 mg/mL의 aluminum trichloide을 함유하는 100% 에탄올 (ethanol)용액 잘 혼합하여 40분 동안 실온에서 반응시킨 후 UV/VIS 분광도계 (Optizen 2120UV, Mecasys, Korea)를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.¹⁰

전자공여능 측정 - 시료의 전자공여능은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma)을 이용한 방법으로 측정하였다.¹¹ 즉, 10, 50, 100, 500, 1000 µg/mL의 농도로 준비한 추출물 1 mL에 0.2 mM DPPH 용액 1 mL을 잘 혼합하여 25분 간 실온에 방치하고 multiplate spectrophotometer (ELx800TM, BioTek, USA)를 이용하여 515 nm 흡광도를 측정하고 다음과 같이 EC₅₀값을 나타내었다.

전자공여능 (%) = (1 - 시료첨가군의 흡광도/무첨가군의 흡광도) × 100

·OH 소거능 측정 - Hydroxyl radical 소거능 측정은 Fenton 반응으로 생성된 ·OH에 의해 핵산의 구성당인 deoxyribose가 분해되는 정도를 TBA 발색법을 이용하여 측정하였다. 시험관에 각 부위별 추출물 0.2 mL에 10 mM FeSO₄/EDTA 용액 (0.2 mL, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 mL, 0.1 M phosphate buffer pH 7.4) 1 mL를 잘 혼합한 후, 10 mM H₂O₂ 0.2 mL를 가하고 37°C에서 4시간 반응시킨 후 2.8% TCA (trichloroacetic acid)용액 1 mL과 1.0% TBA (Thiobarbituric acid)를 첨가하여 100°C에서 10분 동안 가열한 후 급속 냉각시켜 532 nm에서 UV-Visible

spectrophotometer (Optizen 2120UV, Mecasys, Korea)에서 흡광도를 측정하였다.

아질산염 소거능 측정 - 추출물이 발암성 nitrosamine 생성의 전구물질인 아질산염을 소거하거나 또는 분해하는 작용을 알아보기 위하여 1 mM NaNO₂용액 1 mL에 시료 용액 1 mL를 첨가하고, 0.1 N HCl을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2으로 조정된 다음 총량을 10 mL로 하였다. 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 1 mL를 취하여 여기에 2% 초산 용액을 5 mL을 첨가하고 Griess 시약 (30% 초산으로 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 각각 조제하여 1:1의 비율) 0.4 mL를 가하여 실온에서 15분 동안 방치한 후, 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염의 양을 산출하였다. 대조구는 시료 대신 증류수를 1 mL 가하여 상기와 같은 방법으로 실시하며, 아질산염 소거능은 추출액을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 아질산염 백분율 (%)로 나타내었다.¹²⁻¹³

아질산염소거능 (%) = (1 - 시료첨가군의 흡광도/무첨가군의 흡광도) × 100

NO 생성 저해 효과 탐색 - NO소거활성은 마우스의 대식세포 세포주인 RAW264.7세포를 지시세포로 이용하여 측정하였다.¹⁴⁻¹⁵ RAW264.7세포는 10%의 FBS가 함유된 RPMI 1640 media에서 계대배양하였다. NO소거활성을 측정하기 위하여 RAW 264.7세포를 96 well에 well당 1 × 10⁵ cells을 분주한 다음 시료를 10 µg/mL 및 100 µg/mL의 농도가 되도록 세포배양 well에 첨가하여 37°C, 48시간 동안 5% CO₂의 공기조건에서 배양하였다. 시료에 대한 대조구로는 10 µg/mL의 LPS (Lipopolysaccharide) 처리하여 활성화를 유도한 세포를 사용하였다. 배양 후, 상등액 100 µL를 회수하고 여기에 동량의 Griess reagent를 첨가하여 15분 동안 방치한 다음 상등액의 발색도를 ELISA reader (ELx800, Bio-Tek, USA)를 사용하여 550 nm의 흡광도로 측정하였다. 세포가 생산한 NO를 정량하기 위하여 Sodium nitrate를 사용하여 표준곡선을 작성하였다.

암세포주 및 배양조건 - 항암활성 실험에 이용된 HT-29 (colon carcinoma cell, 결장암세포), NCI-N87 (stomach carcinoma cell, 위암세포), 293 (normal kidney cell, 정상신장세포)은 10% FBS (fetal bovine serum, Gibco, Rocville, MD, USA)와 1% penicillin-streptomycin (100 IU-100 µg/mL)이 첨가된 RPMI 1640 medium에 접종하여 37°C, 5% CO₂, 배양기에서 배양하였다. 각각의 세포들은 23일간 배양한 후 배지를 제거하고 PBS (pH7.4)로 세척한 뒤 0.25% trypsin-EDTA 용액을 처리하여 부착된 세포를 분리시켜 원심분리하고, 상등액을 제거 후 모아진 세포에 새로운 배지를 넣어 1 × 10⁵ cells/mL로 접종하여 계대배양하였다.

MTT assay에 의한 항암효과 측정 - 암세포주에 대한 추출물의 세포독성을 평가하기 위해 MTT assay를 수행하였다.¹⁶⁾ 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 0.1 mL (10^5 cells/mL)을 접종하여 37°C의 CO₂ 배양기에서 24시간 배양한 후 0.3 mg/mL 농도의 추출물 0.1 mL를 넣고 48시간 배양한 후 상등액을 제거하고, PBS (pH 7.4)에 5 mg/mL의 농도로 녹인 MTT 용액 10 µL에 배지 90 µL를 더하여 각 well에 넣어 주고, 빛을 차단하고 3시간 반응 후 상등액을 버리고 DMSO를 100 µL씩 넣고 10분 동안 실온에서 방치한 후 ELISA reader (ELx800, Bio-Tek, USA)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교하여 cell viability를 측정하였다.

결과 및 고찰

총 페놀성 및 플라보노이드 화합물 함량 - 땅빈대는 메탄올 (methanol)을 이용하여 침지 방법을 이용하여 추출하였으며 추출 수율은 26.16%로 나타났다 (Table I). 총 페놀성 화합물은 항산화 효과와 밀접한 관계가 있으며, 식물체에 널리 분포되어있는 페놀성 물질은 다양한 구조와 분자량을 가지며 이것은 단백질처럼 거대분자와 결합하여 항산화, 항균, 항암 등의 생리활성 기능을 가지는 것으로 보고되었다.¹⁷⁾

땅빈대 추출물의 페놀성 화합물의 함량은 68.35±0.16 mg/g으로 나타났으며, 페놀성 화합물에 속하는 총 플라보노이드 함량은 38.74±1.26 mg/g으로 이는 페놀성 화합물의 약 56.7%를 차지하는 것으로 나타났다.

항산화 효과 - 환경, 화학약품, 광 등에 의해 생성된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)으로 유발되는 산화적 스트레스는 체내에서 노화, 암, 심혈관계질환을 비롯 그 외의 병리적 문제를 야기시키므로 ROS를 차단하거나 제거하기 위한 방법을 식물체내에서 찾고자 노력하였으며, 땅빈대에 관한 연구도 이런 항산화 활성이나 라디칼 소거활성에 관하여 일부 진행되고 있다. 땅빈대 추출물의 항산화 효과는 DPPH radical 소거능, ·OH radical 소거능 방법에 의해 측정되어 결과를 Table II에 나타내었다. DPPH radical

소거능은 땅빈대 추출물에서 EC₅₀값이 56.26±0.66 µg/mL로 나타났으며, 대조군으로 현대 항산화제로 많이 사용되고 있는 Ascorbic acid, α-tocopherol 및 BHA는 각각 8.38±0.14 µg/mL, 16.45±0.89 µg/mL, 21.18±1.01 µg/mL으로 나타났다. 땅빈대의 MeOH 조추출물이 항산화제 BHA에 비해 37.7%의 높은 활성을 보였다.

Hydroxyl radical (·OH)은 활성산소 중에서 반응성이 강하여 생체 내 각종 조직 및 세포막 등의 산화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 땅빈대 추출물의 ·OH radical 소거능은 14.12%로 나타났으며, 이는 대조군으로 사용된 α-tocopherol (93.23%)에 비해 낮은 소거능을 나타냈다 (Table II).

아질산염 소거능 효과 - 아질산염과 아민류가 반응하여 결합된 발암성 nitrosamine은 강산성 조건 특히 인체나 동물 체내의 pH 조건에서 생성되는데, 식품 중에 함유되어 있는 nitrite 자체는 해롭지 않지만 nitrite reductase에 의해 아질산염으로 환원되면 독성을 갖게 된다. 플라보노이드나 페놀성 화합물은 radical acceptor로서 conjugated double bond 구조로 환원성이 강해 free radical에 전자를 공여하여 nitrite scavenger 역할을 하게 된다.¹⁸⁾ 땅빈대 추출물의 발암물질인 nitrosamine의 생성 원인물질인 nitrite 제거 활성은 Table III 과 같이 나타났다. 땅빈대 추출물에서 nitrite 제거활성이 100 µg/mL에서 1.42±0.47%, 500 µg/mL에서 19.81±1.44%, 1000 µg/mL에서 46.70±1.19%로 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였다.

NO 생성 저해 효과 - RAW264.7 macrophages에 LPS를 처리한 후에 땅빈대 메탄올 추출물을 25 µg/mL, 50 µg/mL,

Table I. The yield, total phenolic and flavonoid content of methanol extract from *Euphorbia humifusa*

Yield(%)	Total phenolic content (mg Tan ^a /g)	Total flavonoid content (mg Que ^b /g)
26.16	68.35±0.16	38.74±1.26

^aTannic acid (Tan) was used as a standard for measuring of the total phenolic content.

^bQuercetin (Que) was used as a standard for measuring of the total flavonoid content.

Table II. Antioxidant activities of extract from *Euphorbia humifusa*

Sample	DPPH radical scavenging activity	·OH scavenging activity (100µg/mL)
	EC ₅₀ ^a (µg/ml)	(%)
<i>E. humifusa</i>	56.26±0.66	14.12
Ascorbic acid	8.38±0.14	-
α-Tocopherol	16.45±0.89	93.23
BHA	21.18±1.01	91.44

^aAmount required for 50% reduction of DPPH (0.2mM) after 25 min

Table III. Nitrite scavenging activity of MeOH extract of *Euphorbia humifusa*

Sample	Nitrite scavenging activity (%)		
	100 µg/mL	500 µg/mL	1000 µg/mL
<i>E. humifusa</i>	1.42±0.47	19.81±1.44	46.70±1.19
Ascorbic acid	35.38±2.18	74.06±0.98	99.53±0.27

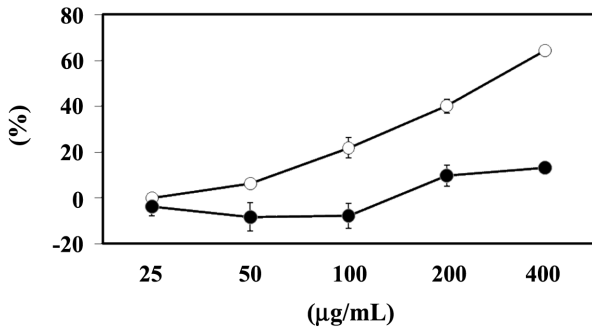


Fig. 1. Cytotoxicity and NO inhibition activity of methanol extract of *Euphorbia humifusa* (○ : inhibition rate of NO production; ● : rate of cell mortality).

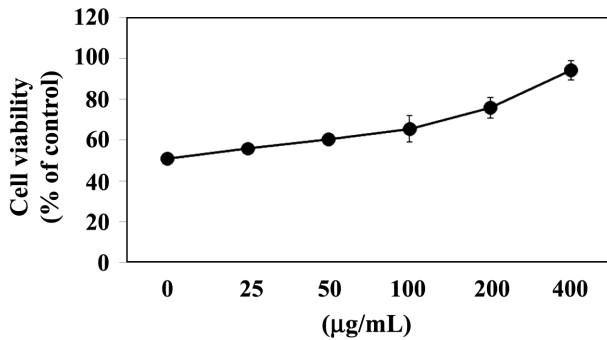


Fig. 2. Cytoprotective effect of methanol extract of *Euphorbia humifusa* on LPS-induced cytotoxicity of RAW264.7 cells.

100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL 의 농도로 처리했을 때의 NO 생성량을 비교함으로써 항염증 효과를 비교하였다. Syringin을 농도별로 처리했을 경우 50 µg/mL의 농도에서 6.39±1.06%, 100 µg/mL의 농도에서 21.77±4.44%, 200 µg/mL의 농도에서 40.00±3.02%, 400 µg/mL의 농도에서 64.20±1.02%로 농도 의존적으로 NO의 생성을 억제 하는 것으로 나타났다. RAW264.7 macrophage에 대한 세포독성은 200 µg/mL에서 9.70±4.61%, 400 µg/mL에서 13.14±1.09%로 나타났다(Fig. 1). 또한 LPS처리 후에 NO 생성에 대한 세포독성에 대한 세포보호 효과는 LPS만을 처리한 대조군(50.79±0.89%)에 비해 추출물을 처리한 군에서 200 µg/mL에서 75.72±5.18%, 400 µg/mL에서 94.12±4.65%로 NO 생성에 대해 세포의 독성을 억제하는 것으로 나타났다.

세포독성 평가 - 땅빈대의 항암 및 항종양 활성에 관한 보고는 사람의 뇌암세포인 U-373 MG astrocytoma 및 SK-N-MC neuroblastoma 세포주에 대해 농도 의존적인 세포독성이 보고되었다.²⁾

땅빈대 추출물의 결장암(HT-29), 위암(NCI-N87) 및 유방암세포(MDA-MB-231)에 대한 항암활성은 Fig. 3과 같고 대조군으로는 5-FU(5-Fluorouracil) 25 µg/mL을 사용하였다. 5-FU의 항암활성은 결장암(HT-29)에 대해 53.25±1.57%, 위

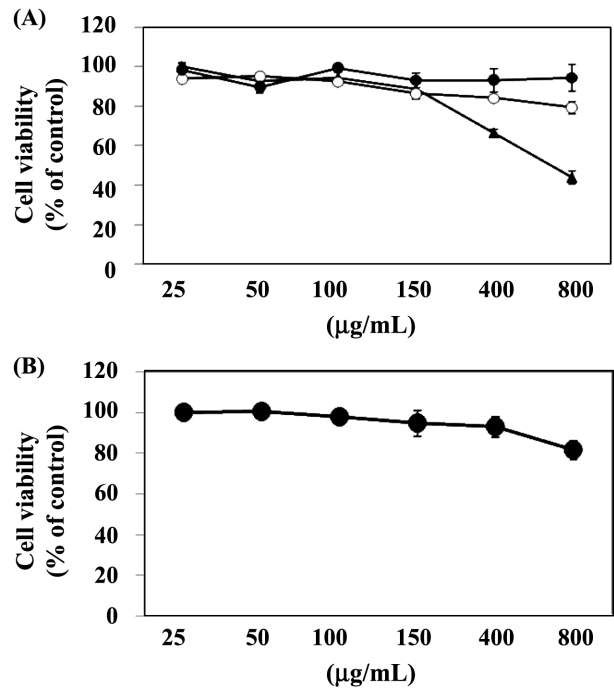


Fig. 3. Effect of methanol extract of *Euphorbia humifusa* on the viability (A) HT-29 (●), NCI-N87 (○) and MDA-MB-231 (▲), (B) HEK 293 cells.

암(NCI-N87)에 대해 49.23±1.34%, 유방암세포 (MDA-MB-231)에 대해 67.32±4.67%의 세포 생존율을 나타냈다. 땅빈대 추출물의 항암효과는 위암(NCI-N87)에 대해 800 µg/mL 위암(NCI-N87) 세포 생존율을 79.40±3.02%로 나타냈으며, 유방암 세포(MDA-MB-231)에 대한 항암효과는 400 µg/mL에서 66.54±1.91%, 800 µg/mL에서 43.98±3.35%로 높게 나타났다. 하지만 결장암세포 (HT-29)에 대해서는 항암활성을 보이지 않았다. 또한 땅빈대 추출물은 정상 신장 세포 (293)를 이용하여 세포에 대한 독성을 나타내는지 검토하였다. 25 µg/mL - 400 µg/mL의 농도에서는 세포생존율 100.63 - 92.95%로 나타났으며, 800 µg/mL의 농도에서 81.51%의 세포독성을 나타냈다. 이는 µg/mL의 농도에서는 세포독성을 갖지 않는다는 것을 나타낸다. 땅빈대 추출물은 400 µg/mL 이하의 농도에서 정상세포에 대해 독성을 나타내지 않았으며, 유방암세포에 대해 높은 항암효과를 나타냈다.

결론

땅빈대(*Euphorbia humifusa*)는 생리활성을 나타내는 폐놀성 화합물을 많이 함유하고 있으며, DPPH radical 소거능 평가를 통해 생체 내 여러 병인으로 작용되는 ROS를 소거 및 차단하는 높은 항산화 효과를 나타내었다. 발암물질인 nitrosamine 생성물질의 원인이 되는 nitrite 소거활성 평가를 통해 농도 의존적으로 소거활성이 증가하는 것을 확인하

였다. LPS에 의해 유도된 NO 생성도 저해효과도 RAW264.7 세포주를 통해 확인하였다. 또한 현대 여성의 높은 발병률을 나타내는 지방암 대해 항암효과를 나타내고 있다. 본 연구를 통해 땅빈대를 이용한 기능성 식품 및 의약품 소재로 개발할 수 있는 가능성을 확인하였으며, 앞으로는 추출물 단위가 아닌 땅빈대의 생리활성 물질의 연구가 요구된다.

인용문헌

1. Chung, G. Y., Oh, B. U., Park, K. R., Kim, J. H. and Kwon, H. J. (2002) Taxonomic study of Korean *Euphorbia* L. by anatomical characters. *Kor. J. PlantTax.* **32**: 77-94.
2. Cha, B. C., Kim, J. A. and Lee, Y. S. (1996) Cytotoxic activities of *Panaxginseng* and *Euphorbia humifusa* in human brain tumor cells. *Kor. J. Pharmacogn.* **27**: 350-353.
3. Chung, G. Y., Oh, B. U., Park, K. R., Kim, J. H., Kim, M. S. and Kwon, H. J. (2003) Taxonomic study of Korean *Euphorbia* L. (*Euphorbiaceae*) by leaf venation. *Kor. J. Plant Tax.* **33**: 135-149.
4. 김재길, 소배근 (1995) 동양전통약물. 영림출판사, 서울.
5. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1991) Free radicals in biology and medicine. Third ed. *Oxford University Press, New York.*
6. Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. (2000) Antioxidants in food. *CRC press, Boca Raton, USA.*
7. Branen, A. L. (1975) Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **52**: 59-65.
8. Farag, R. S., Badei, A. Z. M. A. and Baroty, G. S. A. (1989) Influence of thyme and clove essential oils in cotton seed oil oxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **66**: 800-806.
9. Birt, D. F., Hendrich, S. and Wang, W. Q. (2001) Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol. Ther.* **90**: 157-177.
10. Lin, J. Y. and Tang, C. Y. (2007) Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chem.* **101**: 140-147.
11. Kilani, S., Ammar, R. B., Bouhleb, I., Hayder, N., Mahmoud, A., Ghedira, K. and Chekir-Ghedira, L. (2005) Investigation of extracts from (Tunisian) *Cyperus rotundus* as antimutagens and radical scavengers. *Environ. Toxicol. Phar.* **20**: 478-484.
12. Gray, J. I. and Dugan J. R. L. (1975) Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J. Food Sci.* **40**: 981-985.
13. Choi, N. Y., Lee, J. H. and Shin, H. S. (2008) Antioxidant activity and nitrite scavenging ability of Olive leaf (*Olea europaea* L.) fractions. *Korean J. Food Sci. Technol.* **40**: 257-264.
14. Clark, B. A., Armstrong, M. K. and Jump, D. B. (1990) Nutritional control of rat liver fatty acid synthase and S14 mRNA abundance. *J. Nutr.* **120**: 218-224.
15. Kwak, H. Y., Lee, S. J., Lee, D. Y., Jung, L. H., Bae, N. H., Hong, S. Y., Kim, G. W. and Back, N. I. (2008) Cytotoxic and anti-inflammatory activities of lipids from the Nuruk (*Rhizopusoryzae* KSD-815). *J. Korean. Appl. Biol. Chem.* **51**: 142-147.
16. Athukorala, Y., Kim, K. N. and Jeon, Y. J. (2006) Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga, *Ecklonia cava*. *Food Chem. Toxicol.* **44**: 65-1074.
17. Park, C. S. (2005) Component and quality characteristics of powdered green tea cultivated in Hwagae area. *Kor. J. Food Preserv.* **12**: 36-42.
18. Issa, A. Y., Volate, S. R. and Wargovich, M. J. (2006) The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation new directions and perspectives. *J. Food Compos. Anal.* **19**: 405-419.

(2008년 11월 14일 접수)