

<https://doi.org/10.15433/ksmb.2019.11.1.029>

ISSN 2383-5400 (Online)

## 남아프리카공화국 갈조류 *Ecklonia maxima* 줄기의 항산화 활성 평가

### Antioxidant Activity of Brown Seaweed, *Ecklonia maxima*, Collected from South Africa

최예지, 김현수, 제준건, Lei Wang, 전유진\*

Ye-Ji Choi, Hyun-Soo Kim, Jun-Geon Je, Lei Wang, You-Jin Jeon\*

제주대학교 해양생명과학부, 제주특별자치도 제주시 제주대학로 102, 64243, 대한민국

Department of Marine Life Science, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

(Received 3 June 2019, Revised 25 June 2019, Accepted 26 June 2019)

**Abstract** In the present study, the alcoholic and enzymatic extracts of *Ecklonia maxima* were prepared and their antioxidant activities were evaluated via the free radical scavenging activities. The lyophilized seaweed powder was extracted by 70% ethanol and the resultant extract was obtained, named as the alcoholic extract of *E. maxima* stem (EMSE) obtained. The residue after EMSE preparation was continuously by Celluclast-assistant extraction and then the obtained enzymatic extract was identified as polysaccharides-rich extract of *E. maxima* stem (EMSP). The results indicated that the extraction yields of EMSE and EMSP were 2.18% and 5.43%, respectively. In addition, the free radical scavenging activities of EMSE and EMSP were determined using an electron spin resonance (ESR) spectrometer. EMSE containing 5.36% of polyphenol and 1.56% of polysaccharide scavenged DPPH and alkyl radicals at the IC<sub>50</sub> values of 0.48 and 0.63 mg/mL, respectively. EMSP containing 0.33% of polyphenol and 41.58% of polysaccharide showed at the IC<sub>50</sub> values of 0.33 and 0.55 mg/mL, respectively. These results demonstrate that EMSP containing a high amount of polysaccharides possesses a strong free radical scavenging activity which might be a potential ingredient in pharmacological and cosmeceutical industries.

**Keywords :** *Ecoklonia maxima*, polysaccharide, Celluclast, electron spin resonance

## 서 론

해양생물 자원으로부터 인간 생활에 유용한 생리 활성 물질들을 얻으려는 시도가 지속되어 왔으며, 최근에는 해양 천연물 신약이라는 용어가 나올 만큼 해양생물에 존재하는 천연물들을 이용한 생물소재 개발이 각광을 받고 있다 [1]. 최근에 인류는 수많은 해양생물 종들을 식용, 약용 및 화장품 등의 다양한

용도로 이용하고 있으며, 여러가지 해양생물을 이용한 제품들이 생산되었고 소비자들에게 큰 인기를 끌고 있다 [2]. 그러나 해양생물 유래의 기능성 물질 연구는 같은 생물종이라도 해역, 날씨, 수온, 염분 변화 등에 따라 활성 물질 및 생리활성이 달라지는 이전 연구들의 결과들을 바탕으로, 다양한 해양생물 자원들의 기능성 물질 추출 및 활성성분 분리/정제와 그들의 생리활성평가에 대한 연구는 아주 필수적

\* Corresponding author

Phone: +82-64-754-3475 Fax: +82-64-756-3493

E-mail: [yujin@jejunu.ac.kr](mailto:yujin@jejunu.ac.kr)This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

인 부분이다. 우리는 전 세계적으로 넓게 분포하고 있는 *Ecklonia* 종들 중에 하나인 남아프리카공화국에 서식하고 있는 *Ecklonia maxima*에 대한 연구를 진행하였다.

*E. maxima*는 남아프리카공화국 서해안에 넓게 분포하는 갈조류이며, 길이는 최대 15 m 이상 자라는 해조류이다 [3]. 지난 10년간 *E. maxima*는 연간 최대 6,000 톤의 양이 전복 양식 산업에 사료로 공급되었을 정도로 1차 산업에 주로 쓰였다 [4]. 하지만 이전 연구들의 결과들을 통해 *E. maxima*의 분포는 점점 늘어나는 것이 확인되어 *E. maxima*를 이용한 생물소재 개발은 매우 필요한 실정이다 [5]. 같은 *Ecklonia* 종인 제주도에서 주로 서식하는 *Ecklonia cava*의 경우 수많은 연구가 진행되었으며, 기능성식품 및 기능성화장품으로 개발되어 많은 제품들이 출시되었다. *E. cava*의 대표적인 이전 연구 들에는 수많은 다당류 추출물과 에탄올 추출물의 연구가 이루어져 있는 것을 확인할 수 있다 [6,7,8,9].

활성산소종은 체내에 여러 대사과정에 의하여 생성되거나 여러가지 작용들에 의해서 생성되게 되는데, 이러한 활성산소종의 생성은 염증, 노화, 당뇨, 암과 같은 여러가지 질병들의 원인이 된다 [10]. 활성산소종들의 생성을 차단시키기 위한 합성 항산화제 중에는 propyl gallate (PG), butylated hydroxy toluene (BHT), butylated hydroxy anisole (BHA)가 널리 사용되고 있다. 하지만 합성 항산화제들을 복용하였을 때 여러가지 부작용과 독성이 발견되었기 때문에 이러한 합성 항산화제를 대체하기 위한 천연 항산화제의 발굴은 아주 필수적인 연구이다 [11].

따라서, 우리는 남아프리카공화국 *E. maxima* 줄기로부터 70% EtOH 추출물을 제조하였고, 남은 잔사를 이용하여 Celluclast 효소 추출 다당류의 제조를 위한 추출 공정을 확립하였으며, 각 추출물들의 항산화 활성 평가를 위해 ESR을 이용한 라디칼 소거 활성을 평가하여 *E. maxima*의 우수한 효능을 입증하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험 시약

효소를 이용한 추출물을 얻기 위해 사용한 효소는 Celluclast로 Novozyme Co. (Denmark)에서 구입하였

다. 실험에 사용된 시약 중 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH),  $\alpha$ -(4-Pyridyl-1-oxide)-N-tert-butylnitron (4-POBN), 2,2-azobis-(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)은 sigma-aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 모든 시약은 분석용 특급 시약을 사용하였다.

### 재료 및 추출

*E. maxima*는 남아프리카 공화국 Cape town 대학교 식물 및 해양 연구소에서 제공받았으며 제공받은 시료는 얼려 동결건조기를 이용하여 72시간 동안 건조시켰다. 이후 분쇄기를 이용하여 분말화시켜 추출에 사용하였다. 추출 용매는 70% EtOH을 이용하였고 기질 대 용매 비율을 5%로 하여 추출하였다. 추출은 24시간 동안 교반기에 넣어 총 3회 반복하여 진행하였고 이후 추출액을 여과하고 농축하여 사용하였다. 70% EtOH 추출 이후 남은 잔사를 기질 대 용매 비율 5%, 용매는 증류수로 재추출 하였다. 이 때 사용한 효소는 Celluclast이고 기질 대 효소 비율을 0.5%로 하여 최종적으로 우리가 얻고자 한 시료를 얻었다 (Fig. 1).

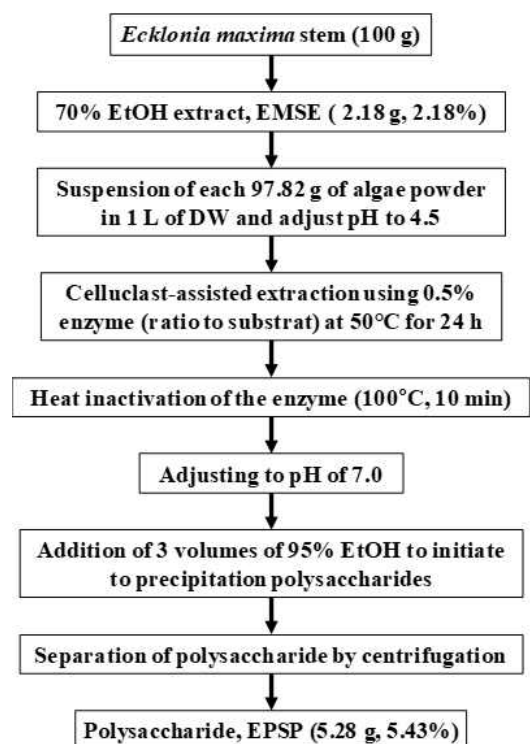


Figure 1. The protocol of 70% EtOH and polysaccharide extraction of *Ecklonia maxima* stem.

### 수율 측정

수율 측정은 여과한 *E. maxima* 줄기 70% EtOH 추출물(EMSE)과 효소(Celluclast)를 이용한 다당류 추출물(EMSP)을 액상 상태에서 건조된 수율 측정용 tray에 1 mL씩 담아 건조 오븐에 24시간 동안 건조하여 tray의 전, 후 무게를 확인하여 그 값의 차를 계산하는 방식으로 진행하였다. 수율을 측정하기 위한 계산식은 아래와 같다.

$$\text{Yield (\%)} = \frac{\{(a-b) \times c\}}{d} \times 100$$

a; 추출물 (1 mL) 추가 후 24시간 건조된 tray의 무게(g), b; 수율 측정용 tray 무게 (g), c; 추출물의 총 양 (mL), d; 기질의 양 (g)

### 총 polyphenol 함량 측정

*E. maxima* 줄기 추출물들의 총 polyphenol 함량 측정은 [12]에 준하여 수행하였다. 모든 시료와 시약은 0.1 mg/mL로 제조했다. 준비된 시험관에 각 추출물 0.5 mL을 넣고 95% EtOH 0.5 mL, 증류수 2.5 mL을 혼합한 후 50% Folin-Ciocalteu reagent를 0.25 mL을 넣어 상온의 암실에서 5분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 각 시험관에 0.5 mL씩 넣어 상온의 암실에서 1시간 동안 반응시켰고 이후 각 시험관에 있는 반응물들을 96 well plate에 옮겨 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선에 사용한 표준물질은 gallic acid이고 0, 20, 40, 60, 80, 100%의 농도로 측정하여 작성된 표준검량곡선으로부터 각 추출물의 polyphenol 함량을 환산하였다.

### 총 polysaccharide 함량 측정

Polysaccharide 함량 측정에 있어 표준검량곡선은 glucose를 표준물질로 이용하여 측정하였고 polyphenol과 마찬가지로 각 농도별로 측정하여 곡선을 작성하여 그로부터 각 추출물의 polysaccharide 함량을 환산하여 결과값을 얻었다. 시료는 0.1 mg/mL로 만들어 측정하였고 모든 시험관에 80% phenol 0.05 mL, sulfuric acid 5 mL을 넣고 30분간 상온에서 반응시켜 480 nm에서 측정하였다.

### Electron spin resonance spectrometer

DPPH, alkyl 라디칼 소거능을 확인하기 위해 [10]

에 방법에 따라 ESR을 이용하여 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능을 확인하기 위해 60 μM 농도의 DPPH 60 μL와 시료 60 μL를 혼합하여 2분간 반응시킨 후 측정하였다. Alkyl 라디칼 소거능은 증류수 20 μL와 시료 20 μL, 40 mM AAPH 20 μL, 4-POBN 20 μL를 혼합하여 37°C의 수조에서 30분간 반응 후에 측정하였다. 모든 실험의 대조군은 시료 대신 증류수를 사용하여 측정하였다.

### 결과 및 고찰

#### *E. maxima* 줄기 추출공정 확립

*E. maxima* 줄기의 추출공정을 확립하기 위해 원시료 100 g을 이용하여 Fig. 1에 나타난 순서로 추출을 진행하였다. *E. maxima* 줄기로부터 유기화합물들을 추출하기 위해 70% EtOH을 이용해 추출하여 *E. maxima* 줄기 70% EtOH 추출물 (EMSE)를 제조하였다. EMSE의 추출 수율을 확인한 결과, 2.18g (2.18%) 추출된 것으로 확인되었다 (Fig. 1). 이러한 결과는 다른 해조류들의 결과보다 적은 수율을 나타내는 것으로 확인된다. 보통 갈조류의 경우 8% 정도의 수율을 나타내는 것으로 확인되며, 녹조류의 경우 5%, 홍조류의 경우 2% 정도의 수율을 나타내는 것으로 확인되었다 [13]. EMSE의 경우 홍조류와 비슷한 수율을 나타내는 것으로 확인되었다. 70% EtOH 추출 후 잔사를 다시 건조한 후 잔사를 이용해 Fig. 1에 나타난 순서로 Celluclast 효소 반응 다당류 (EMSP)를 추출하였다. EMSP를 추출한 결과, 5.28g (5.43%)의 추출 수율이 확인되었다 (Fig. 1). EMSP의 경우 녹조류와 비슷한 수율을 나타내는 것으로 확인되었다. 갈조류의 Celluclast 다당류는 후코이단으로 평균 20 kDa의 분자량을 갖으며, 기능성 식품의 기초원료, 식이보조제, 첨가제 등으로 사용되고 염증작용, 항산화 작용이 우수하다고 알려져 있다 [14, 15]. 우리의 EMSP도 우수한 후코이단을 함유할 것으로 사료되어 이후로 성분분석 실험과 항산화 라디칼 소거 활성을 측정하였다.

#### *E. maxima* 줄기 추출물들의 성분분석

해조류에 함유되어 있는 폴리페놀은 세포 막 내 불포화 지방산의 산화를 예방하고 혈중콜레스테롤

저하 작용 등의 다양한 항산화 생리활성 기능을 가지고 있기 때문에 항산화 작용과 관련하여 생체 내에서의 노화나 여러가지 질병들에 대해서 억제하는 작용을 한다 [16, 17]. 따라서, 우리는 *E. maxima* 줄기 각 추출물들에 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. 총 폴리페놀 함량을 측정할 때 gallic acid를 농도별로 측정하여 검량곡선을 만들어 각 추출물들의 총 폴리페놀 함량을 계산하였다. 그 결과, EMSE는 5.36±0.22%, EMSP는 0.33±0.01%의 폴리페놀이 함량이 확인되었다 (Table 1). 이러한 결과는 70 % EtOH 추출 시 *E. maxima* 줄기 내 유기화합물들이 대부분 추출되어 나머지 잔사를 이용한 다당류 추출물인 EMSP에는 폴리페놀과 같은 유기화합물들이 포함되지 않은 것을 확인할 수 있다. 대표적인 해조류 다당류로는 알긴산 (alginic acid), 카라기난 (carrageenan), 한천 (agar)과 후코이단 (fucoidan)이 있다. 갈조류에 다량 함유하고 있는 후코이단은 알긴산과 같이 갈조류의 세포벽 성분인 점질 다당에 함유된 다당류이다 [18]. 후코이단은 물이나 묽은 염산에 의하여 추출되는 점조성 물질이며, 그들의 함량

은 종류, 시기, 수심에 따라 크게 달라진다. 최근 후코이단은 헤파린 (heparin)과 유사한 구조로 되어 있어서 헤파린을 대체할 수 있는 물질로 알려져 크게 각광받고 있으며, 후코이단의 알려진 여러 효능 들에는 혈행 개선, 항암, 항알레르기, 항산화, 항바이러스 효과 및 면역력 증강 효과가 있다고 알려져 있다 [19]. 따라서, 우리는 *E. maxima* 줄기 각 추출물들에 polysaccharide 함량을 측정하였으며, polysaccharide 함량을 알아보기 위해 glucose를 표준물질로 사용하여 농도별로 polysaccharide 함량을 측정하여 검량곡선을 만들었고 이를 통해 각 추출물들의 polysaccharide 함량을 측정하였다. 그 결과, EMSE는 1.56±0.92%, EMSP는 41.58±1.01%로 확인되어, EMSP가 EMSE에 비해 월등히 높은 polysaccharide 함량이 있음을 확인하였다 (Table 1). 이러한 결과는 EMSP 대부분이 polysaccharide로 구성되어 있음을 확인할 수 있었으며, EMSP가 잠재적으로 다당류의 여러가지 효능 중 항산화 활성을 기대할 수 있는 결과이다.

**Table 1.** Yields, polyphenol and polysaccharide contents of *Ecklonia maxima* stem extract.

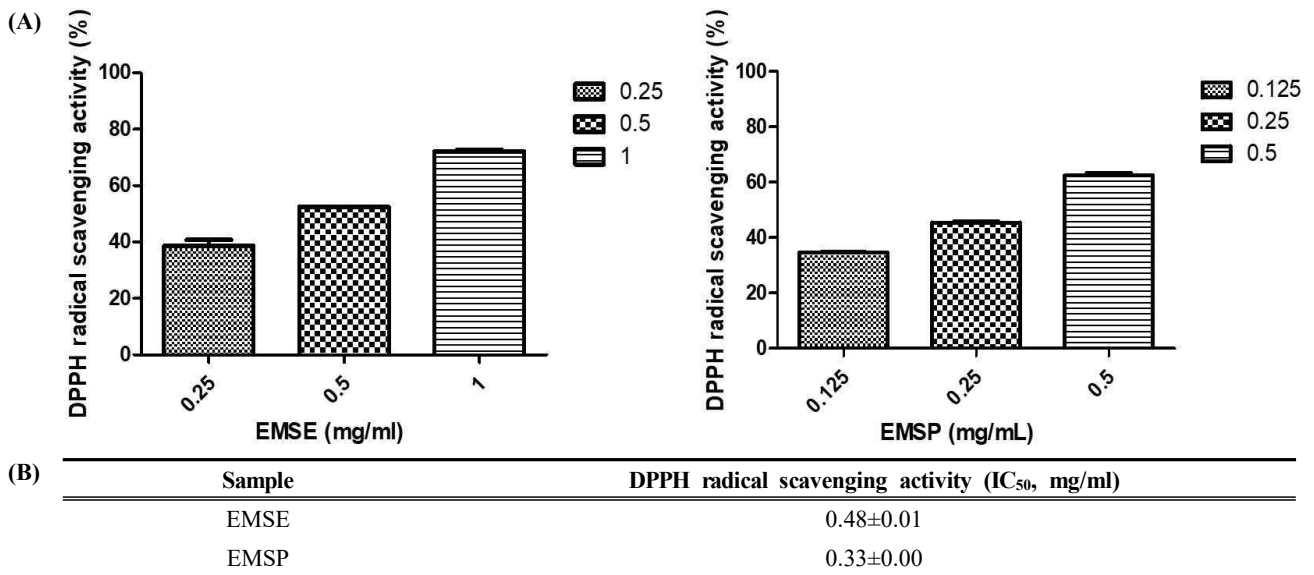
Sample	Yields(%)	Polyphenol contents(%)	Polysaccharide contents(%)
EMSE	2.18±0.02	5.36±0.22	1.56±0.92
EMSP	5.43±0.01	0.33±0.01	41.58±1.01

EMSE: *Ecklonia maxima* stem 70% EtOH extract; EMSP: *Ecklonia maxima* stem polysaccharide.

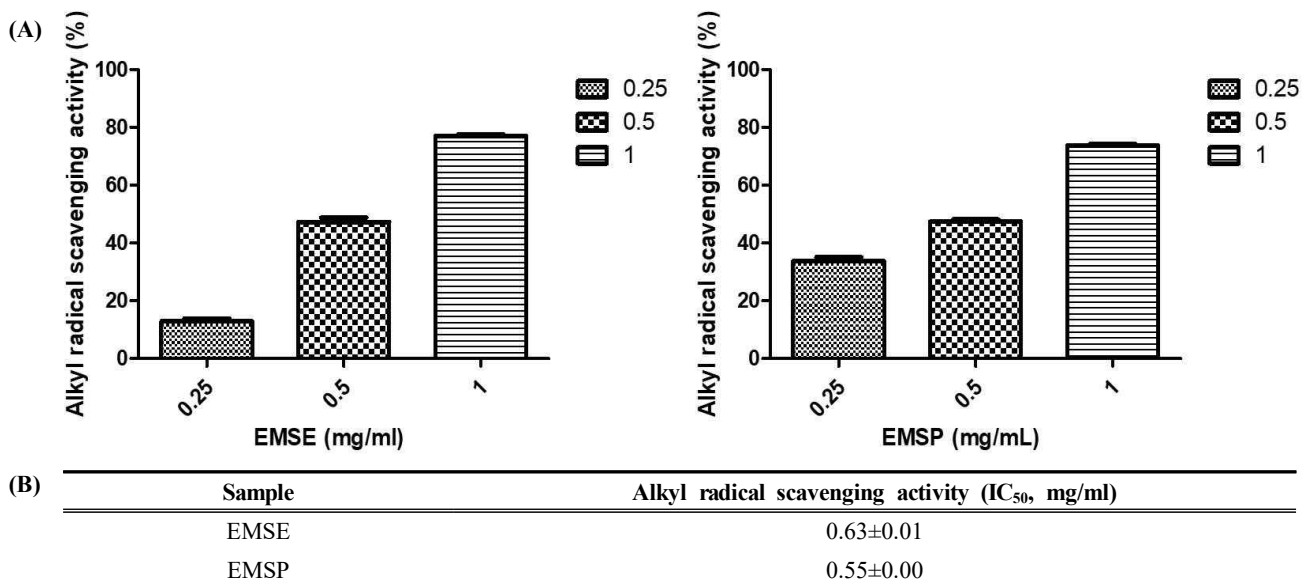
***E. maxima* 줄기 추출물들의 ESR을 이용한 라디칼 소거 활성**

DPPH는 보라색 빛이 나타나는 라디칼로서 비교적 안정하며, 항산화 물질들에 의하여 환원되어 탈색이 되기 때문에 기본적인 항산화 효과를 확인하는데 많이 사용되고 있다 [20]. EMSE와 EMSP의 50% 라디칼 소거능 농도 (IC<sub>50</sub>) 값은 각각 0.48±0.01, 0.33±0.00 mg/ml으로 EMSP가 EMSE에 비해서 비교적 우수한 DPPH 라디칼 소거 효과가 확인되었다 (Fig. 2). 이러한 결과는 이전 성분분석 결과에서 확인된, EMSP의 높은 polysaccharide 함량과 관련이 있을 것으로 사료된다. 활성산소 중에서 alkyl 라디칼은 수소탈취에 의해 생기며, 분자재구성을 통해 diene 형태로 바뀌고 이것이 다시 산소와 결합하여 peroxy

radical이 형성되면서 산화를 일으킨다 [13]. 이러한 alkyl 라디칼 소거능의 경우 EMSE와 EMSP가 각각 IC<sub>50</sub> 값이 0.63±0.01, 0.55±0.00 mg/ml로 확인되어, EMSP가 EMSE 보다 좋은 alkyl 라디칼 소거 효과를 가지고 있다는 것이 확인되었다 (Fig. 3). Alkyl 라디칼도 마찬가지로 EMSP의 polysaccharide에 의해서 효과적으로 소거되는 것으로 나타났다. 사람이 생활하는데 반드시 필요한 에너지를 만들기 위해 대사과정에서 발생한 활성산소는 최근 성인병의 질환과 노화의 원인일 뿐만 아니라, 유전자의 핵산 DNA에도 피해를 준다고 알려져 있다 [21, 22]. 그로 인하여 활성산소를 방지하는 능력을 가진 항산화제 개발에 대한 관심은 점점 늘어나고 있는 추세이다 [22, 23, 24]. 대부분의 해조류들은 많은 항산화 물질을 가지



**Figure 2.** DPPH radical scavenging activities of 70% ethanol extract and polysaccharide extract of *Ecklonia maxima* stem. (A) DPPH radical scavenging activities of EMSE and EMSP at the different concentrations; (B) IC<sub>50</sub> values of DPPH radical scavenging activities of EMSE and EMSP. DPPH radical scavenging activity was determined using ESR spectrometer. The data were expressed as the mean ± standard error (S.E). EMSE: *Ecklonia maxima* stem 70% EtOH extract; EMSP: *Ecklonia maxima* stem polysaccharide.



**Figure 3.** Alkyl radical scavenging activities of 70% ethanol extract and polysaccharide extract of *Ecklonia maxima* stem. (A) Alkyl radical scavenging activities of EMSE and EMSP at the different concentrations; (B) IC<sub>50</sub> values of alkyl radical scavenging activities of EMSE and EMSP. Alkyl radical scavenging activity was determined using ESR spectrometer. The data were expressed as the mean ± standard error (S.E). EMSE: *Ecklonia maxima* stem 70% EtOH extract; EMSP: *Ecklonia maxima* stem polysaccharide.

고 있고, 그 항산화 물질이 연구를 통하여 밝혀진 경우도 많이 있다 [25]. 대표적인 예로는 톳, 미역, 다시마의 활성 성분인 fucoxanthine과 스피루나의 활성 성분인 protean 추출물 등이 있다 [26, 27]. 우리는

본 연구를 통하여 Fig. 1에 나타난 추출공정을 통해 제조된 두가지 추출물인 EMSE와 EMSP가 모두 사람의 노화를 진행시키는 산화를 예방할 수 있는 항산화제로서 가능성이 있다는 것을 확인하였다. 또한

본 연구를 통해 *E. maxima* 줄기의 추출물 중 Celluclast 효소 반응 다당류인 EMSP가 70% EtOH 추출물인 EMSE에 비해 우수한 polysaccharide 함량 및 DPPH, alkyl 라디칼 소거활성이 나타남으로 *E. maxima* 줄기 내 성분들 중 polysaccharide가 우수한 활성이 있음을 확인할 수 있었다. 결론적으로, 본 연구 결과를 통해 남아프리카공화국에서 비교적 활용 가치가 떨어지는 소재로 알려진 *Ecklonia maxima* 줄기 추출물들의 우수한 항산화 활성이 확인되어 항산화적 스트레스와 그에 관련되어 있는 질환들을 예방할 수 있는 건강기능성 식품의 개발, 사용시 부작용이 없는 천연 항산화제의 원료, 또는 화장품 원료로의 활용이 기대된다.

## References

- Sanjeewa KKA, Kim EA, Son KT and Jeon YJ. 2016. Bioactive properties and potentials cosmeceutical applications of phlorotannins isolated from brown seaweeds: A review. *J. Photochem. Photobiol.* **162**, 100-105.
- Sanjeewa KKA, Lee JS, Kim WS and Jeon YJ. 2017. The potential of brown-algae polysaccharides for the development of anticancer agents: An update on anticancer effects reported for fucoidan and laminaran. *Carbohydr Polym.* **177**, 451-459.
- Stegenga H, Bolton JJ and Anderson RJ. 1997. Seaweeds of the South Africa west coast. *Bolus Herbarium.* **18**, pp. 1-655.
- Troell M, Robertson-Andersson D, Anderson RJ, Bolton JJ, Maneveldt G, Halling and Probyn T. 2006. Abalone farming in South Africa: perspectives on kelp resources, abalone feed, potential for on-farm seaweed production and socio-economic benefits. *Aquaculture.* **257**, 266-281.
- Bolton JJ, Anderson RJ, Smit AJ and Rothman MD. 2012. South Africa kelp moving eastwards: the discovery of *Ecklonia maxima* (OSbeck) Papenfuss at De Hoop Nature Reserve on the south coast of South Africa. *Afr. J. Mar. Sci.* **34**, 147-151.
- Eo H, Park JE, Jeon YJ and Lim Y. 2017. Ameliorative effect of *Ecklonia cava* polyphenol extract on renal inflammation associated with aberrant energy metabolism and oxidative stress in high fat diet-induced obese mice. *J. Agric. Food Chem.* **65**, 3811-3818.
- Ko SC, Kang MC, Kang N, Kim HS, Lee SH, Ahn G, Jung WK and Jeon YJ. 2017. Effect of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibition and nitric oxide (NO) production of 6,6'-bieckol, a marine algal polyphenol and its anti-hypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Process Biochem.* **58**, 326-332.
- Ahn G, Lee W, Kim KN, Lee JH, Heo SJ, Kang N, Lee SH, Ahn CB and Jeon YJ. 2015. A sulfated polysaccharide of *Ecklonia cava* inhibits the growth of colon cancer cells by inducing apoptosis. *EXCLI J.* **14**, 294-306.
- Lee WW, Ahn G, Lee BJ, Wijesinghe WAJP, Kim D, Yang H, Kim YM, Park SJ, Jee Y and Jeon YJ. 2013. Radio-protective effect of polysaccharides isolated from *Lactobacillus brevis*-fermented *Ecklonia cava*. *Int. J. Biol. Macromol.* **52**, 260-266.
- Je JG, Kim HS, Lee HG, Oh JY, Wang L, Rho S and Jeon YJ. 2019. Antioxidant and antihypertension effects of enzyme hydrolysate from *Hippocampus abdominalis*. *Korean J Fish Aquat Sci.* **52**, 127-133.
- Kang MC, Kim SY, Kim YT, Kim EA, Lee SH, Ko SC, Wijesinghe WAJP, Samarakoon KW, Kim YS, Cho JH, Jang HS and Jeon YJ. 2014. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activities of polysaccharide purified from aloe vera (*Aloe brabradensis*) gel. *Carbohydr Polym.* **99**, 365-371.
- Shetty K, Curtis OF, Levin RE, Witkowsky R, Ang W. 1995. Prevention of Vitrification Associated with *in vitro* Shoot Culture of *Origanum vulgare* by *Pseudomonas* spp. *J. Plant Physiol.* **147**, 447-451.
- Cui YR, Kim HS, Je JG, Wang L, Oh JY, Jia L and Jeon YJ. 2019. Protective effects of antioxidant active fractions derived from the edible seaweed *Hizikia fusiformis* in oxidatively stressed human dermal fibroblasts. *Korean J Fish Aquat Sci.* **52**, 35-42.
- Lee SH, Ko CI, Ahn G, You SG, Kim JS, Heu MS, Kim J, Jee Y and Jeon YJ. 2012. Molecular characteristics and anti-inflammatory activity of the fucoidan extracted from *Ecklonia cava*. *Carbohydr Polym.* **89**, 599-606.
- Lim SJ, Aida WMW, Maskat MY, Mamot S, Ropien J and Mohd DM. 2014. Isolation and antioxidant capacity of fucoidan from selected Malaysian seaweeds. *Food Hydrocoll.* **42**, 280-288.
- Zielinski H, Kozłowska H and Lewczuk B. 2001. Bioactive compounds in the cereal grains before and after hydrothermal processing. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2**, 159-169.
- Adom KK and Liu RH. 2002. Antioxidant activity of grains. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 6182-6187.
- Park Ky, Back JH, Hur W and Lee SY. 2007. In vitro glucose and bile acid retardation effect of fucoidan from *Laminaria japonica*. *Korean journal of biotechnology and bioengineering.* **4**, 265-269.
- Kim JH, Kim YH, Kim SK, Kim BW and Nam SW. 2011. Properties and industrial applications of seaweed polysaccharides-degrading enzymes from the marine microorganisms. *J. Microbiol. Biotechnol.* **39**, 189-199.

20. Kim MJ, Kim JH, Lee SH, Cho EJ and Kim HY. 2018. Determination of Radical Scavenging Activity of *Aster yomena* (Kitam.) Honda. *J korea Acad Industr Coop Soc.* **19**, 402-407.
21. S. Papa and V. P. Skulachev. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. 1997. *Mol Cell Biochem.* **174**, 305-319.
22. Benzie IFF. 2000. Evolution of antioxidant defense mechanisms. *Eur J Nutr.* **39**, 53-61.
23. Wang Q, Kuang H, Su Yang, Sun Y, Feng J, Guo R and Chan K. 2013. Naturally derived anti-inflammatory compounds from Chinese medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* **146**, 9-39.
24. Willcox JK, Ash SL and Catignani GL. 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **44**, 275-295.
25. Kim SJ, Woo SN, Yun HY, Yum SS, Choi ES, Do JR, Jo JH, Kim DG, Lee SC and Lee TK. 2005. Total Phenolic Contents and Biological Activities of Korean Seaweed Extracts. *food sci biotechnol.* **14**, 1-5.
26. Yan X, Chuda Y, Suzuki M, Nagata T. 1999. Fucoxanthins the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci Biochem.* **63**, 605-607.
27. Yan XJ, Li XC, Zhou CX and Fan X. 1996. Prevention of fish oil rancidity by phlorotannins from (*Sargassum kjellma-nianum*). *J Appl Phycol.* **8**, 201-203.