ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ *Sargassum polycystum* C. Agardh

Anti-oxidant activity of *Sargassum polycystum* C. Agardh

***ดวงพร อมรเลิศพิศาล[1] ยุวดี พีรพรพิศาล[1] ธวัช แต้โสตถิกุล[2] อุเทน จำใจ[2]**
มัณฑนา นวลเจริญ[3]และ ดวงตา กาญจนโพธิ์[2]
[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200
[2]ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

บทคัดย่อ

ทำการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล *Sargassum polycystum* C. Agardh (Division Phaeophyta) ที่เก็บจากหาดไนยาง จังหวัดภูเก็ต ของประเทศไทย ส่วนสกัดน้ำของสาหร่าย *S. polycystum* มีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระโดยมีค่าเท่ากับ 0.450 ± 0.028 มิลลิกรัมของสาหร่าย ต่อ 1 กรัมของ gallic acid (GAE) เมื่อทดสอบในการทดลองฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH และมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระเท่ากับ 1.476 ± 0.005 ไมโครโมลาร์ของ Trolox ต่อ 1 มิลลิกรัมของสาหร่าย (TEAC) เมื่อทดสอบในการทดลองฤทธิ์กำจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ นอกจากนั้นส่วนสกัดยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดภาวะลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น เมื่อทดสอบในตับของหนูขาว โดยมีค่ายับยั้งเท่ากับ 0.009 ± 0.0001 มิลลิโมลาร์ TEAC ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาหร่าย *S. polycystum* แสดงถึงศักยภาพในการนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเวชสำอางได้

คำสำคัญ : *Sargassum polycystum* ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ $ABTS^{\bullet+}$ ลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เวชสำอาง

Abstract

A brown alga, *Sargassum polycystum* C. Agardh (division Phaeophyta), collected from Naiyang beach, Phuket province, Thailand was examined for antioxidant properties. The aqueous extract of *S. polycystum* showed radical scavenging activity of 0.450 ± 0.028 mg of extract/ g of gallic acid (GAE) and 1.476 ± 0.005 uM Trolox/ mg of extract (TEAC) when tested in the DPPH and $ABTS^{\bullet+}$ assays, respectively. Additionally, the extract inhibited lipid peroxidation of rat liver of 0.009 ± 0.0001 mM TEAC. The anti-oxidant of *S. polycystum* rather suggests its potentials as nutraceutical and cosmeceutical.

Keywords:, *Sargassum polycystum*, Anti-oxidant activity, DPPH, $ABTS^{\bullet+}$, Lipid peroxidation, Nutraceutical, Cosmeceutical

บทนำ

การบริโภคสาหร่ายทะเลมีมาเป็นเวลานาน โดยเฉพาะในประเทศแถบเอเชียได้แก่ จีน ญี่ปุ่น เกาหลี รวมทั้งได้มีการนำสาหร่ายทะเลมาใช้เป็นยารักษาโรคหลายชนิด (Hoppe, *et al*., 1979, Yubin and Guangmei,1998) มีรายงานว่า สาหร่ายทะเลสีน้ำตาลที่ใช้เป็นอาหารและสารสกัดจากสาหร่ายสามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งเต้านม มะเร็งเม็ดเลือดขาวและยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปยังปอดได้ การรับประทานสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล (*Undaria spp*.)ยังช่วยยับยั้งโรคที่เกิดจากการอักเสบบางชนิด และลดระดับไขมัน cholesterol ได้ (Fitton,2003) นอกจากนั้นยังพบว่า ส่วนสกัดของสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum* spp. มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย (Yan *et al*., 1998, Lim *et al*., 2002)

อนุมูลอิสระมีบทบาทในการก่อให้เกิดการอักเสบ และการทำลายเนื้อเยื่อ มีผลต่อความเสื่อมหรือการแก่ของเซลล์ ทำให้เป็นต้นเหตุของความแก่ชรา เกิดริ้วรอยเหี่ยวย่น รวมทั้งการเกิดโรคต่าง ๆเช่น โรคของหลอดเลือด โรคหัวใจ โรคข้ออักเสบ และมะเร็ง (Lee *et al*., 2004, Middleton *et al*., 2000) ปัจจุบันมีการนำเอาสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอางเป็นจำนวนมาก โดยมุ่งเน้นไปที่การมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ งานวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล *Sargassum polycystum* C. Agardh ซึ่งพบมากบริเวณชายฝั่งทะเลทั้งทางด้านอ่าวไทยและทะเลอันดามัน เพื่อนำไปสู่การใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอางต่อไป

วิธีการทดลอง

สาหร่ายทะเลสีน้ำตาล

เก็บตัวอย่างสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล *Sargassum polycystum* C. Agardh จากหาดไนยาง จังหวัดภูเก็ต ในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2549 นำมาล้างด้วยน้ำประปาหลายๆครั้งให้สะอาด ปราศจากเศษเปลือกหอยและทราย แบ่งสาหร่ายสด 2-3 ทัลลัส สำหรับการพิสูจน์เอกลักษณ์ นำสาหร่ายที่เหลือทั้งหมดมาผึ่งลม แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส (°ซ) นาน 1-2 วัน จนสาหร่ายแห้งสนิท

การพิสูจน์เอกลักษณ์สาหร่ายทะเลที่นำมาศึกษา

นำสาหร่ายสดที่เก็บได้ 2-3 ทัลลัส มาทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ทั้งจากเซลล์ปกติ (vegetative cell) และเซลล์สืบพันธุ์ (sex cell) รวมถึงที่อยู่อาศัย (habitat) ที่สาหร่ายเจริญ ถ่ายรูปทั้งเซลล์ปกติและเซลล์สืบพันธุ์ จากนั้นเก็บสาหร่ายในลักษณะ herbarium sheet

การเตรียมส่วนสกัดสาหร่ายทะเล

นำสาหร่ายแห้งหนัก 200 กรัมมาต้มกับน้ำปริมาตร 1 ลิตร ที่อุณหภูมิ 50 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองด้วยผ้ากอซหนา 4 ชั้น นำส่วนที่เป็นน้ำมาระเหยเอาน้ำออกโดยใช้เครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 70°ซ จากนั้นทำให้แห้งโดยใช้เครื่อง Freeze dryer ปริมาณส่วนสกัดน้ำของสาหร่ายที่เตรียมได้ (% yield) เท่ากับ 15.2

การทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

อ้างอิงจากวิธีการของ Hou *et al.* ดังนี้ หยดสารทดสอบ 0.3 มล. ที่ละลายในเมธานอล ลงในหลอดทดสอบที่มี 1 M Tris-HCl buffer (pH 7.9) 0.1 มล. เติม 100 ไมโครโมลาร์ของ DPPH ที่ละลายใน เมธานอล 0.6 มล. ผสมให้เข้ากัน ทิ้งในที่มืด 20 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร โดยใช้เมธานอลเป็น blank คำนวณฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH เป็นร้อยละได้ดังนี้

ฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH (%) = 100 x [$A517_{blank}$ – $A517_{sample}$] / $A517_{blank}$

เมื่อ $A517_{blank}$ และ $A517_{sample}$เป็นค่าดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรของ blank และสารทดสอบตามลำดับ เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารทดสอบกับความเข้มข้นของ gallic acid ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่แสดงฤทธิ์เท่ากัน (Gallic acid antioxidant equivalent ,GAE)

การทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ (2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline -6-sulfonic acid cation)

อ้างอิงจากวิธีการของ Re *et al.* ดังนี้ เตรียมน้ำยา 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline -6-sulfonic acid (ABTS) โดยการผสม 7 ไมโครโมลาร์ของ ABTS 5 มล. กับ 140 ไมโครโมลาร์ของ K2S2O8 88 ไมโครลิตร เก็บในที่มืด 16 ชั่วโมง เจือจางด้วย 95 % เอทานอล ในการวัดฤทธิ์กำจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ หยดน้ำยานี้ 1 มล.ลงในหลอดที่มีสารทดสอบหรือ เมธานอล ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 6 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรโดยใช้เอทานอลเป็น blank คำนวณฤทธิ์กำจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ เป็นร้อยละได้ดังนี้

ฤทธิ์กำจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ (%) = {1- (A734 sample / A734 MeOH} x 100

เมื่อ A734 sample และ A734 MeOH เป็นค่าดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรของสารทดสอบและ เมทานอลตามลำดับ เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารทดสอบกับความเข้มข้นของ Trolox ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอี ที่แสดงฤทธิ์เท่ากัน (Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)

การทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นโดยใช้เซลล์ตับหนูขาว

อ้างอิงจากวิธีของ Masao *et al.* ดังนี้ ตัดแยกตับของหนูขาวเพศผู้ ออกมาแช่ใน ice-cold Tris-HCl buffer (pH 7.2) ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ บดด้วย homogenizer กรองด้วยผ้ากอซ แล้วปรับความเข้มข้นของ homogenate ให้ได้10 มก.โปรตีน/มล. หยด liver homogenate 0.2 มล. ลงในหลอดที่มี 30 ไมโครโมลาร์ของ potassium chloride, 0.5 ไมโครโมลาร์ของ ferrous iron, 0.06 ไมโครโมลาร์ของ ascorbic acid และสารทดสอบ โดยให้ปริมาตรรวมกันในหลอดเป็น 1.0 มล ผสมให้เข้ากัน นำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$ ซ เป็นเวลา 60 นาที ดูดส่วนผสมนี้มา 0.4 มล. เติม 8.1 % sodium dodecyl sulfate (SDS) 0.2 มล. 0.8 % thiobarbituric acid (TBA) 1.5 มล. 20 % สารละลายกรดอะเซติก 1.5 มล. และน้ำกลั่น 0.4 มล. นำสารผสมที่

ได้แช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 100 °ซ นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็น จากนั้นเติมน้ำกลั่น 1.0 มล. และ n-butanol 5 มล.เขย่าอย่างแรงแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4000 รอบ/นาที นาน 10 นาที ดูดชั้นบน (organic layer) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร ร้อยละของการยับยั้งการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น คำนวนได้ดังนี้

การยับยั้งการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น (%) = 100 x (A532control – A532sample) / A532control

เมื่อ A532 control และ A532sample เป็นค่าดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตรของ หลอดควบคุม และสารทดสอบ ตามลำดับ เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารทดสอบกับความเข้มข้นของ Trolox ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอี ที่แสดงฤทธิ์เท่ากัน (TEAC)

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการทดลองเป็นหนูขาว พันธุ์ Sprague-Dawley เพศผู้ อายุ 7-8 สัปดาห์ น้ำหนัก 200-250 กรัม สั่งซื้อจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล การทดลองได้รับการพิจารณาและความเห็นชอบจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ผลการทดลอง

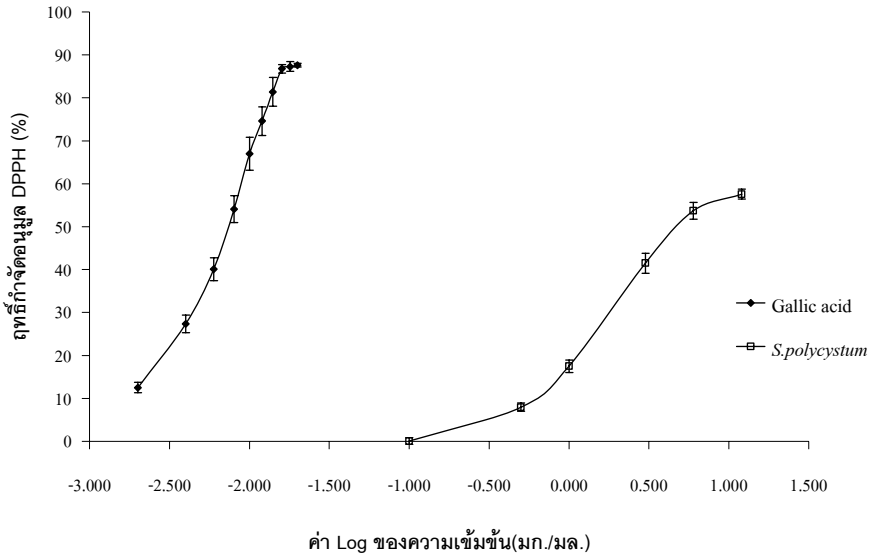
สาหร่ายที่ใช้ในการศึกษา

ได้ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของตัวอย่างสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลที่เก็บมา พบว่าเป็นสาหร่ายชนิด *Sargassum polycystum* C. Agardh มีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง มีส่วนคล้ายรากเป็นรูปถ้วย ลำต้นกลมสั้น แขนงที่แตกจากลำต้นมีหนามเล็กๆ จำนวนมาก มีถุงลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 – 1.5 มม. จำนวนมาก ซึ่งทำหน้าที่พยุงทัลลัสให้ตั้งตรงในน้ำได้ ทัลลัสสีน้ำตาลแตกแขนงมากเป็นพุ่ม ขึ้นอยู่บนก้อนหินในระดับน้ำขึ้นลง

รูปที่ 1 สาหร่าย *Sargassum polycystum* C. Agardh

การทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH

ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 2 และตารางที่ 1 พบว่าส่วนสกัดน้ำของ *S. polycystum* มีฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH ได้สูงสุด 58% ในขณะที่ Gallic acid ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน กำจัดได้สูงสุด 88% จากการคำนวณค่าความเข้มข้นที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 50% (EC50) ส่วนสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *S. polycystum* มีค่า EC50 = 3.62 มก./มล. ส่วน EC50 ของ gallic acid = 7.64 มก./มล.



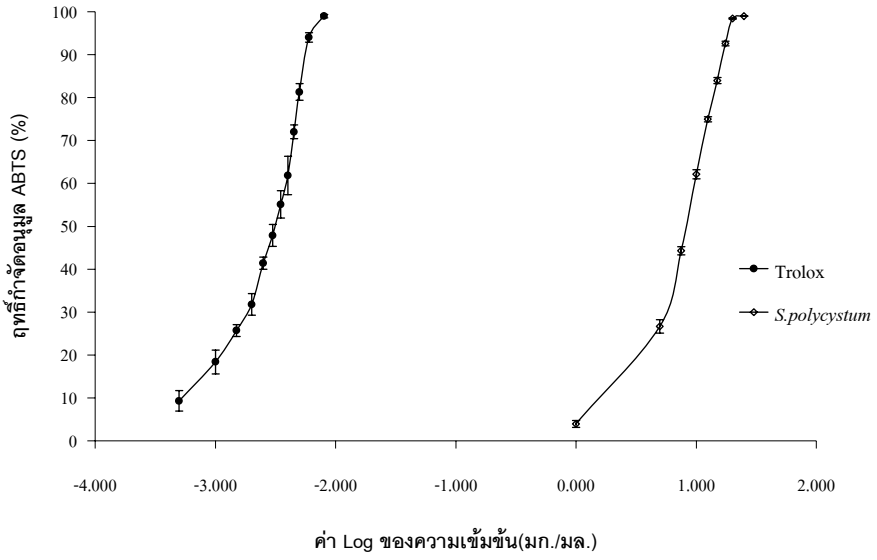
รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส่วนสกัดสาหร่าย *S. polycystum* และความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH

การทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$

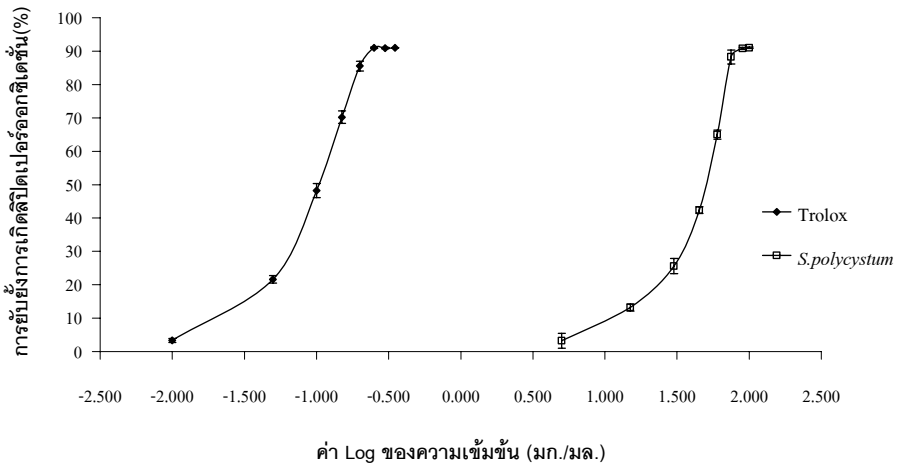
ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 3 และตารางที่ 1 พบว่าส่วนสกัดน้ำของ *S. polycystum* มีฤทธิ์กำจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ได้ถึง 99% เท่ากับ Trolox ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน และจากการคำนวณค่าความเข้มข้นที่สามารถกำจัดอนุมูล ABTS ได้ 50% (EC50) ส่วนสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *S. polycystum* มีค่า EC50 = 8.40 มก./มล. ส่วน EC50 ของ Trolox = 0.03 มก./มล.

การทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดลิปิด เปอร์ออกซิเดชั่น

ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4 และตารางที่ 1 พบว่าส่วนสกัดน้ำของ *S. polycystum* มีฤทธิ์ต้านการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น ได้ถึง 91% เท่ากับ Trolox ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน และจากการคำนวณค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น ได้ 50% (EC50) ส่วนสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *S. polycystum* มีค่า EC50 = 49.33 มก./มล. ส่วน EC50 ของ Trolox = 0.11 มก./มล.



รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส่วนสกัดสาหร่าย *S. polycystum* และความสามารถในการกำจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$



รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส่วนสกัดสาหร่าย *S. polycystum* และความสามารถในการยับยั้งการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของส่วนสกัดสาหร่าย *S. polycystum* กับสารมาตรฐาน

สารทดสอบ	EC50(มก./มล.) ของสารทดสอบ			ค่าเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน
	กำจัดอนุมูลDPPH	กำจัดอนุมูลABTS$^{\bullet+}$	ลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น	
S. polycystum	3.62 ± 0.22	-	-	0.450 ± 0.028 มล.GAE
S. polycystum	-	8.40 ± 0.03	-	1.476 ± 0.005 มคม.โมลาร์ TEAC
S. polycystum			49.33 ± 0.71	0.009 ± 0.0001มล.โมลาร์ TEAC
Gallic acid	7.64 ± 0.56	-	-	
Trolox		0.003 ± 0.0001	0.11 ± 0.002	

EC50 : ค่าความเข้มข้นที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ 50%

GAE : gallic acid equivalent แสดงถึง ขนาดมิลลิกรัมของ *S. polycystum* ต่อ gallic acid 1 กรัม

TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity แสดงถึง ความเข้มข้นของ Trolox ต่อ 1 มิลลิกรัมของ *S. polycystum*

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± S.D)

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

สาหร่ายทะเลสีน้ำตาล *S. polycystum* สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ เมื่อทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH และ ABTS$^{\bullet+}$ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นได้อีกด้วย การทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH เป็นวิธีเบื้องต้นที่นิยมใช้ในการทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ การทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ เป็นวิธีที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระเปอร์ออกซี เนื่องจาก ABTS$^{\bullet+}$ เป็นอนุมูลอิสระที่สลายตัวให้อนุมูลเปอร์ออกซี และในการทดสอบการยับยั้งการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น เป็นวิธีที่แสดงถึงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดขบวนการออกซิไดซ์ในร่างกาย เนื่องจากการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นเป็นภาวะที่บ่งชี้ว่าร่างกายถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลอิสระ ถึงแม้ว่าความเข้มข้นของส่วนสกัดน้ำของ *S. polycystum* ที่ใช้ในการกำจัดอนุมูล DPPH อนุมูล ABTS$^{\bullet+}$ และต้านการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นจะสูงกว่าสารมาตรฐาน แต่พบว่าประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดอนุมูล ABTS$^{\bullet+}$ และต้านการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นมีค่าใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน Trolox (อนุพันธุ์ของวิตามินอีที่สามารถละลายน้ำได้)

ความสามารถของสาหร่าย *S. polycystum* ในการกำจัดอนุมูล DPPH อนุมูล ABTS$^{\bullet+}$ และต้านการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น แสดงว่า สาหร่าย *S. polycystum* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเวชสำอางได้

การเก็บตัวอย่างสาหร่าย *S. polycystum* สำหรับการทดลองครั้งนี้เป็นการเก็บในช่วงฤดูร้อน ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปจะทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายอีกครั้งในช่วงฤดูฝน เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระสาหร่าย *S. polycystum* ระหว่างการเก็บตัวอย่างช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Fitton J. Helen. 2003. Brown marine algae; A survey of therapeutic potentials. Alternative and Complementary Therapies. February: 29-33.

Hoppe HA, Levring T and Tanka Y, eds. 1979 Marine Algae in Pharmaceutical Science. Berlin & New York: Walter de Gruyter.

Hou, W.C., Y.C. Chen, H.J. Chen, Y.H. Lin, L.L. Yang, and M.H. Lee. 2001. Antioxidant activities of trypsin inhibitor, a 33 kDa root storage protein of sweet potato (Ipomoea batatas (L.). J Agric Food Chem, 49: 2978-2981

Lee, J., Koo, N. and Min D.B. 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 3: 21–33.

Lim SN,Cheung PC, OoiVE and Ang PO.2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum silliquastrum.* J Agric Food Chem.50(13):3862-3866.

Masao H, Yang HW, Miyashrio H and Nabma T.1993. Inhibitory effects of monomeric and dimeric phenyl propanoids from mice on lipid peroxidation in vivo and in vitro. Phytother Res 7, 95–401.

Middleton, E., Kandaswamy, C. and Theoharides,T.C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer, Pharmacological Reviews 52: 673–751.

Re, R., Pellegrini, N., Pannala, A.,Yang, M. and Rice-Evan, C. 1999. Antioxidant activity applying an on decolorisation assayimproved ABTS radical cati. Free Radical Bio Med, 26(9/10): 1231-1237.

Yan X, Nagata T and Fan X. 1998. Antioxidative activities in some common seaweeds. Plant Food Hum Nutr.52(3): 253-262.

Yubin Ji and Guangmei Z. 1998. Pharmacological action and application of available antitumor composition of traditional Chinese medicine. Heilongijang, China:Heilongjiang Science and Technology Press.