

ORIGINAL ARTICLE

수산폐기물 재활용을 위한 미더덕껍질 용매 추출물의 생리활성 탐색

이상미 · 강은진 · 고태훈 · 정성윤¹⁾ · 박근태²⁾ · 이희섭³⁾ · 황대연 · 정영진 · 손흥주*

부산대학교 생명자원과학대학, ¹⁾대구가톨릭대 의생명과학과, ²⁾부산대학교 산학협력단, ³⁾부산대학교 생활환경대학

Screening of Biological Activity of Solvent Extract from *Styela clava* Tunic for Fishery Waste Recycling

Sang-Mee Lee, Eun-Jin Kang, Tae-Hun Go, Seong-Yun Jeong¹⁾, Geun-Tae Park²⁾,
Hee-Sup Lee³⁾, Dae-Youn Hwang, Young-Jin Jung, Hong-Joo Son*

College of Natural Resources & Life Science, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

¹⁾Department of Medical Life Science, Catholic University of Daegu, Daegu 712-784, Korea

²⁾Research and University-Industry Cooperation, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

³⁾College of Human Ecology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

Abstract

Styela clava tunic is generated in large amounts as a waste from *S. clava* processing plants and causes environmental problem. Although biological activities of *S. clava* were reported by many investigators, study on *S. clava* tunic was little. In this study, therefore, tyrosinase inhibition and antioxidative activities of extracts from *S. clava* tunic using different solvent were investigated for recycling of the fishery waste. Among extraction methods tested, autoclaved extraction (25.7%) and hot water extraction (18.2%) appeared to be effective for extraction. The highest total phenolic content was 46.6 mg/g in autoclaved extract while the highest flavonoid content was 23.0 mg/g in chloroform extract. All extracts possessed tyrosinase inhibition activity and the inhibition activity was concentration-dependent. Inhibition concentration (IC₅₀) against tyrosinase activity was 0.36×10^4 mg/ml in ethanol extract, 0.11×10^3 mg/ml in acetone extract and 0.27 mg/ml in n-butanol extract. Among extracts tested, hot water and autoclaved extracts displayed higher antioxidative activity than organic solvent extracts. Therefore, our data suggest that extract from *S. clava* tunic may potential candidate for cosmetic product with whitening effect and medicine for diseases caused by various oxidative stresses.

Key words : Antioxidant, Solvent extract, *Styela clava*, Whitening effect

1. 서론

해양에 서식하는 생물은 지구 전체 생물의 95%를 차지하며, 육상에 서식하는 생물과 달리 고유의 대사 형식을 보유하고 있고, 독특한 환경에 적응되어 있으

므로 육상생물과 다른 새로운 생리활성물질을 생성할 가능성이 높아 이에 대한 연구가 조류, 해면 등을 중심으로 활발히 진행되고 있다(Amador 등, 2003; Garcia-Fernandez 등, 2002).

미더덕(*Styela clava* Herdman)은 척삭동물문-미색

Received 2 July, 2013; Revised 7 August, 2013;

Accepted 12 August, 2013

*Corresponding author: Hong-Joo Son, College of Natural Resources and Life Science, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea
Phone: +82-55-350-5544
E-mail: shjoo@pusan.ac.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.
© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

동물아문에 속하는 해양생물로서, 한국을 포함한 전 세계에 광범위하게 분포하고 있다. 미더덕은 독특한 향미가 있기 때문에 우리나라에서는 찜이나 된장찌개 등의 식품 재료로 널리 이용되고 있다. 미더덕에 관한 연구는 계절 변화에 따른 영양성분과 정미성분의 변화(Lee 등, 1995) 및 스테롤 함유량(Jo, 1978) 등 성분에 대한 연구가 주로 이루어졌으며, 미더덕은 각종 아미노산, 미네랄, 핵산계 물질의 함량이 높아 영양학적으로 우수한 것으로 보고되었다. 또한 미더덕 추출물의 항산화 활성(Jung 등, 2008), 가공방법과 조리방법에 따른 미더덕의 생리활성 변화(Cha 등, 2008; Lee 등, 2006), 미더덕을 첨가한 어묵의 품질 특성(Park 등, 2006) 등 많은 연구 결과가 보고되었다.

우리나라의 경우, 1980년대 중반부터 본격적인 미더덕 양식이 이루어져 어민들의 소득 증대에 크게 기여하고 있다. 최근 들어 국민들의 기능성식품, 신선식품 등을 선호하는 소비패턴 변화로 수산물 중에서 아미노산, 미네랄 등이 풍부한 미더덕의 소비가 급격히 증가하고 있고, 이에 따라 미더덕의 국내 총 생산량도 2005년 1412 M/T에서 2008년 2620 M/T로 매년 급증하고 있다. 이처럼 미더덕의 생산량과 소비는 증가하고 있으나 실제 양식 미더덕의 40%는 껍질로써 해안가 등에 폐기되고 있어 연안의 미관을 해치고, 악취 등 환경오염을 유발하는 새로운 문제를 초래하고 있다. 따라서 미더덕 생산량과 맞물려 껍질의 폐기량도 증가할 것으로 예상되므로 미더덕 껍질을 재활용할 수 있는 방안의 개발이 절실한 상황이다. 현재 미더덕 폐기물에 대한 연구는 미더덕 껍질로부터 황산콘드로이틴, glycosaminoglycan을 추출하여 화장품 소재로서의 이용 가능성(Ahn 등 2003; Kim 등, 2004)을 탐색한 보고만 있을 정도로 극소수에 불과하다.

따라서 본 연구에서는 다양한 용매를 이용하여 미더덕 껍질을 추출한 후, 그 추출물의 미백활성과 항산화 활성을 탐색함으로써 폐기되는 미더덕 껍질의 재활용 방안 강구를 위한 기초자료를 획득하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료

본 실험에 사용한 시료는 가식부위인 미더덕의 내

용물을 회수하고 폐기한 껍질이었으며, 경남 고성군의 한 마을에서 입수하였다. 미더덕 껍질은 다음과 같이 세척하였다. 외부에 오염되어 있는 스티로폼 조각과 해조류 등 각종 이물질들을 손으로 깨끗하게 제거한 후, 수돗물로 충분히 세척하여 염분을 제거하였다. 세척된 미더덕 껍질을 음지에서 풍건한 후, 다시 60°C에서 향량이 될 때까지 건조하였다. 건조된 미더덕 껍질을 가정용 mixer를 이용하여 1-2 cm 길이의 조각으로 파쇄한 후, 이것을 다시 실험용 blender로 분말화하여 추출을 위한 시료로 사용하였다.

2.2. 미더덕 껍질의 추출

미더덕 껍질을 추출하기 위하여 사용한 용매는 극성에 따라 물, 에탄올, 메탄올, 아세톤, 에틸아세테이트, 클로로포름, n-butanol, n-hexane으로 구분하여 사용하였다. 미더덕 껍질 분말 100 g을 각종 용매 1 L에 첨가하여 추출을 수행하였으며, 열수 추출(100°C, 3시간), 고압열수 추출(121°C, 15 lb, 3시간), 에탄올과 메탄올 추출(80°C, 3시간), 기타 용매 추출(30°C, 24시간)을 각각 3회 반복하였다. 각 추출물은 Whatmann no. 1 여과지로 여과한 후, 회전감압농축 및 원심진공농축함으로써 용매를 완전히 제거하였다. 각 농축물은 실험에 따라 적당한 농도로 dimethylsulfoxide (DMSO)에 용해하여 사용하였다. 추출수율(%)은 [추출분말의 무게(g)/최초시료의 무게(g)] × 100에 의하여 산출하였다.

2.3. 추출물의 플라보노이드 및 총페놀 함량 조사

추출물의 플라보노이드 함량은 다음과 같이 조사하였다. 다양한 농도의 추출물 시료 200 μ l를 5% NaNO₂ 60 μ l, 10% AlCl₃ 60 μ l와 혼합하여 25°C에서 5분 동안 반응시킨 후, 1 M NaOH 400 μ l를 첨가하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다(Zhishen 등, 1999). 표준곡선은 catechin을 이용하여 작성하였다. 총페놀 함량의 경우, 추출물 시료 1 ml에 Folin-Ciocalteu 시약 5 ml를 첨가하여 실온에서 6분 동안 방치한 후, 20% Na₂CO₃ 15 ml를 첨가하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다(Singleton과 Rossi, 1965). 표준곡선은 gallic acid를 이용하여 작성하였다.

2.4. 추출물의 미백활성 조사

추출물의 미백활성은 tyrosinase 저해활성을 다음과 같이 조사함으로써 평가하였다. 다양한 농도의 추출물 시료 500 μl 를 2.5 mM L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) 100 μl , 0.1 M phosphate buffer (pH 6.5) 1 ml에 첨가하여 25°C에서 10분 동안 반응시켰다. 즉시 mushroom tyrosinase (1500 U/ml) 50 μl 를 첨가하여 25°C에서 2분 동안 반응시킨 후, 475 nm에서 흡광도를 측정하였다(Yagi 등, 1987). Tyrosinase 저해활성은 시료 대신 DMSO를 첨가한 대조군과 시료간의 흡광도 차이를 백분율(%)로 환산하여 나타내었다. 또한 상기 결과를 바탕으로 Sigmaplot program을 이용하여 각 추출물의 inhibitory concentration (IC₅₀)을 구하였다. 이때 사용한 식은 다음과 같다.

$$y = \min + (\max - \min) / (1 + 10^{[\log \text{IC}_{50} - x] \text{ hill slope}})$$

여기서 x는 추출물 농도의 로그값, max는 100% 저해, min은 0% 저해를 나타낸다.

2.5. 추출물의 항산화활성 조사

미더덕 껍질 추출물의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능은 추출물 시료 250 μl 에 200 μM DPPH 용액 500 μl 를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하여 조사하였다(Blois, 1958). DPPH 소거능은 시료 대신 DMSO를 첨가한 대조군과 시료간의 흡광도 차이를 백분율(%)로 환산하여 나타내었다.

Metal chelation 활성은 추출물 시료 1 ml에 2 mM ferrous chloride 100 μl 와 5 mM ferrozine 200 μl 를 첨가하여 실온에서 10분간 반응시킨 후, 562 nm에서 흡광도를 측정하여 조사하였다(Dinis 등, 1994). Metal chelation 활성은 시료 대신 DMSO를 첨가한 대조군과 시료간의 흡광도 차이를 백분율(%)로 환산하여 나타내었다.

미더덕 껍질 추출물의 환원력(reducing power)은 다음과 같이 조사하였다. 추출물 시료 250 μl 를 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 250 μl 와 1% potassium ferricyanide 250 μl 에 첨가하여 50°C에서 20분간 반응시킨 후, 원심분리하였다. 상등액 250 μl 에 증류수 250 μl 및 0.1% ferric chloride 50 μl 를 첨

가하여 실온에서 10분간 반응시킨 후, 700 nm에서 흡광도를 측정하여 조사하였다(Oyaizu, 1986). 환원력은 시료대신 DMSO를 첨가한 대조군에 대한 시료의 흡광도 증가량을 백분율(%)로 환산하여 나타내었다.

Nitric oxide (NO) 소거능은 추출물 시료 500 μl 를 10 mM sodium nitroprusside 500 μl 에 첨가하여 25°C에서 150분간 반응시킨 후, 1% sulfanilamide 용액 500 μl , 0.1% N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride 용액 500 μl 를 다시 첨가하여 10분간 반응시켜서 546 nm에서 흡광도를 측정하여 조사하였다(Marcocci 등, 1994). NO 소거능은 시료 대신 DMSO를 첨가한 대조군과 시료간의 흡광도 차이를 백분율(%)로 환산하여 나타내었다.

Superoxide dismutase (SOD) 유사활성은 추출물 시료 200 μl 를 50 mM Tris-HCl 3 ml 및 7.2 mM pyrogallol 200 μl 에 첨가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후, 420 nm에서 흡광도를 측정하여 조사하였다(Marklund와 Marklund, 1974). SOD 유사활성은 시료 대신 DMSO를 첨가한 대조군과 시료간의 흡광도 차이를 백분율(%)로 환산하여 나타내었다.

모든 실험은 3반복 수행하였으며, 결과는 평균값으로 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 미더덕 껍질의 추출수율

각 추출방법에 따른 미더덕 껍질의 추출수율은 Table 1에서 보는 바와 같다. 전체적으로 열수 추출이나 고압열수 추출과 같은 수용성 추출이 유기용매 추출보다 수율이 높았다. 고압열수 추출(26.7%)이 열수 추출(18.2%)보다 수율이 높았으며, 유기용매 추출 중에서는 메탄올 추출이 1.9%로 가장 높았다. 일반적으로 수용성 추출의 경우, 수용성 섬유질이나 단백질 등이 많이 용출되어 유기용매 추출보다 많은 양의 추출물을 획득할 수 있다고 보고(Lee 등, 2009)되어 있다. 미더덕 껍질은 조단백질 22.8%, 탄수화물 31.7%를 함유하고 있는 것(An, 2004)으로 알려져 있는데 본 실험의 수용성 추출수율이 유기용매 수율보다 높게 나타난 이유 중의 하나라고 판단된다.

Table 1. Extraction yield, flavonoid and total phenolic contents of extract from *Styela clava* tunic using different method

Solvent	Temperature (°C)	Time (h)	Yield (%)	Flavonoid (mg/g)	Total phenolic (mg/g)
Hot water	100°C	3	18.2	1.9	46.6
Autoclaved water	121°C	3	26.7	3.3	32.3
Ethanol	80°C	3	0.8	15.6	37.5
Methanol	80°C	3	1.9	3.7	21.8
Acetone	30°C	24	0.8	17.2	24.3
Ethylacetate	30°C	24	0.5	6.3	26.1
Chloroform	30°C	24	0.6	23.0	24.7
n-Butanol	30°C	24	0.6	19.1	22.2
n-Hexane	30°C	24	0.5	8.9	21.8

3.2. 추출물의 플라보노이드 및 총페놀 함량

페놀화합물과 플라보노이드 성분은 항당뇨, 항고혈압, 항암, 항염증, 항균 등 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Zhishen 등, 1999). 따라서 각 추출물의 플라보노이드와 총페놀의 함량을 조사하였으며, 그 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. 총페놀 함량은 고압열수 추출물이 46.6 mg/g으로 가장 높았으며, 에탄올 추출물(37.5 mg/g), 열수 추출물(32.3 mg/g)이 그 뒤를 이었다. 반면 플라보노이드 함량은 클로로포름 추출물(23.0 mg/g), n-butanol 추출물(19.1 mg/g), 아세톤 추출물(17.2 mg/g) 등의 유기용매 추출물에서 전반적으로 높았다. 식물의 경우, 총페놀이 플라보노이드보다 많이 함유되어 있으며, 보통 총페놀 함량이 많은 식물이 플라보노이드 함량도 많은데, 본 연구결과는 이러한 경향을 나타내지 않았다. 그러나 본 결과와 유사한 경향이 오미자 용매추출물에서 보고되어 있다(Nam 등, 2013).

3.3. 추출물의 tyrosinase 저해활성

Tyrosinase는 melanosome에 있는 melanocyte 내에서 L-tyrosine과 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) 으로부터 흑갈색의 melanin 색소를 합성하는 효소로서, 피부에 갈색의 색소물질을 침착시키는 원인물질이다(Prota, 1980). 따라서 미백활성은 tyrosinase의 활성을 저해하는 정도를 조사함으로써 확인할 수 있다. 먼저 각 추출물의 tyrosinase 저해활성을 스크리닝하기 위하여 추출물 농도를 10 mg/ml로 조정한 시료를 이용하여 저해활성을 조사하였으며, 그 결과는 Table 2

Table 2. Tyrosinase inhibition activity of extract from *Styela clava* tunic using different method

Extract (10 mg/ml)	Tyrosinase inhibition activity (%)
Hot water	54.2
Autoclaved water	63.2
Ethanol	100.0
Methanol	100.0
Acetone	100.0
Ethylacetate	100.0
Chloroform	79.2
n-Butanol	100.0
n-Hexane	50.9

에서 보는 바와 같다. 에탄올, 메탄올, 아세톤, 에틸아세테이트, n-butanol은 10 mg/ml의 농도에서 tyrosinase 활성을 100% 저해하였으며, 그 외 추출물은 50.9~79.2%의 저해활성을 나타내었다. 즉 모든 추출물에서 tyrosinase 저해 활성을 확인할 수 있었으며, 이에 따라 각 추출물의 농도에 따른 저해 활성을 조사한 후, 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 모든 추출물은 농도의존적으로 tyrosinase 저해활성을 나타내었으며, 에탄올, 메탄올, 아세톤, 에틸아세테이트 및 n-butanol 추출물은 비교적 저농도에서 저해활성이 뛰어났으나 그 외 추출물은 고농도에서 효과적이었다. 상기 결과를 바탕으로 Sigmaplot program을 이용하여 각 추출물의 inhibitory concentration (IC₅₀)을 산출하였다. Table 3에서 보는 바와 같이 tyrosinase 활성에 대한 IC₅₀은 ethanol 추출물(0.36×10⁴ mg/ml), 아세톤 추출물

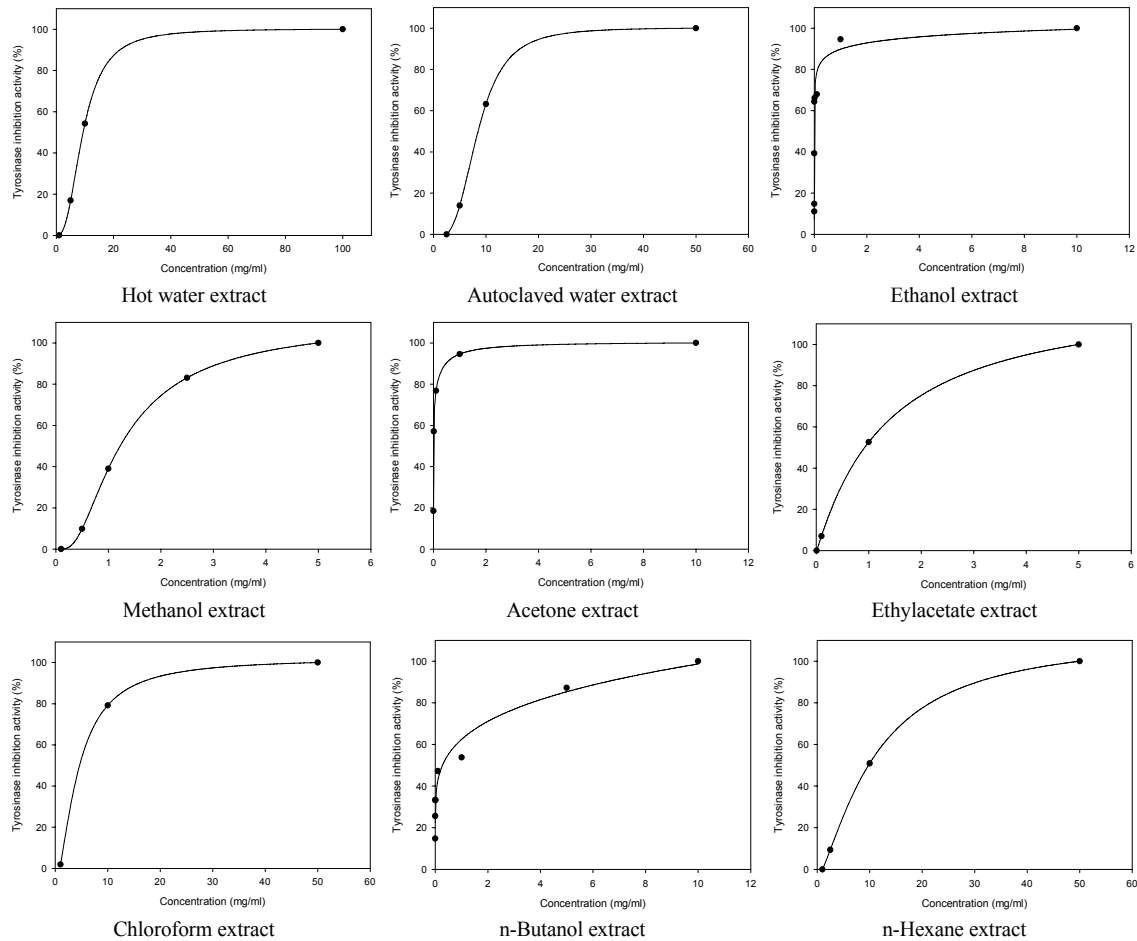


Fig. 1. Effect of *Styela clava* tunic extract concentration on tyrosinase inhibition activity.

Table 3. Inhibitory concentration (IC_{50}) of *Styela clava* tunic extract against tyrosinase activity

Extract	IC_{50} (mg/ml)
Hot water	9.34
Autoclaved water	8.40
Ethanol	0.36×10^4
Methanol	1.35
Acetone	0.11×10^3
Ethylacetate	0.93
Chloroform	4.36
n-Butanol	0.27
n-Hexane	9.80

(0.11×10^3 mg/ml), n-butanol 추출물(0.27 mg/ml)의 순서로 낮았다. 이전에 보고에 의하면, 황백 에탄올 추출물은 1.42 mg/ml 농도에서 25%의 tyrosinase 저해활성(Cho, 2011)을, 오가피와 숙지황 추출물은 1 mg/ml의 농도에서 10% 미만의 저해활성(Jung 등, 1995)을 나타내었다. 또한, 0.2 mg/ml 농도의 산삼 hexane 추출물은 76%의 tyrosinase 저해활성을 나타내었고(Lim 등, 2004), 쪽 꽃 추출물의 tyrosinase 활성에 대한 IC_{50} 은 0.071 mg/ml(Woo 등, 2011)이었다. 본 연구에서는 미더덕 껍질의 tyrosinase 저해활성을 최초로 확인하였으며, 그 결과 사용한 각 미더덕 껍질 추출물은 tyrosinase 저해 활성이 우수함을 알 수 있었고,

결과적으로 수산폐기물로서 환경오염을 초래하는 미더덕 껍질을 향장소재로서 재활용하기 위한 잠재적 가능성이 있는 것으로 판단되었다.

3.4. 추출물의 항산화 활성

산화된 식품의 섭취와 정상적인 생체 내 대사과정 중에 발생한 다양한 활성산소는 인간의 세포에 산화적 손상을 유발하여 동맥경화증, 혈관질환, 노화 등을 초래하는 것으로 알려져 있다(Azzi 등, 2004). 이러한 활성산소를 소거하기 위하여 tert-butylhydroxyanisole 등의 합성 항산화제가 사용되고 있으나 이들은 많은 부작용을 초래할 수 있어 천연 항산화 물질의 개발은 매우 중요한 주제이다. 따라서 미더덕 껍질 추출물의 농도를 10 mg/ml로 조정하여 다양한 항산화 활성을 조사하였으며, 그 결과는 Table 4에서 보는 바와 같다. DPPH 라디칼 소거능은 메탄올 추출물(32.0%)을 제외한 모든 추출물(82.5~100.0%)에서 높게 나타난 반면, 열수 추출물(97.8%)과 고압열수 추출물(100.0%)을 제외한 모든 추출물은 환원력이 거의 없었다(0~4.6%). 클로로포름 추출물의 metal chelation 활성은 100.0%였으나 n-butanol 추출물은 활성이 없었다. NO 소거능은 열수, 에틸아세테이트 및 n-hexane 추출물에서 75.4~100.0%로 높게 나타났으며, SOD 유사활성은 n-butanol 추출물을 제외한 모든 추출물에서 활성을 나타내었다. 전체적으로 실험한 추출물 가운데 열수 및 고압열수 추출물이 다양한 활성산소를 소거하는 능력이 우수하였다. Jung 등(2008)이 보

고한 미더덕 부위별 항산화능에 의하면, 미더덕 살부위와 동결건조된 미더덕 살부위의 DPPH 라디칼 소거능은 각각 아세톤 추출물과 물 추출물에서, 미더덕 껍질과 동결건조된 미더덕 껍질의 라디칼 소거능은 에탄올 추출물과 아세톤 추출물에서 각각 가장 높았다. 또한 Kim 등(2006)은 미더덕 물 추출물보다 아세톤, 에탄올 및 메탄올 추출이 DPPH 라디칼 소거능이 높다고 보고하였다. 연구자에 따른 이러한 차이점이 나타나는 것은 추출에 사용한 미더덕의 부위, 추출온도, 추출시간 등 환경조건의 차이에 기인하는 것으로 판단된다.

4. 결론

해마다 소비량이 증가하고 있는 미더덕의 생리활성에 관한 연구는 많지만 환경오염을 초래하는 미더덕 껍질 폐기물에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다. 따라서 본 연구에서는 미더덕 껍질의 재활용을 위한 기초연구로써 각종 용매를 이용하여 미더덕 껍질을 추출한 후, 미백활성(tyrosinase 저해활성)과 다양한 항산화 활성을 조사하였다. 추출수율은 고압열수 추출(26.7%)과 열수 추출(18.2%)에서 높았으며, 총페놀 함량은 고압열수 추출물이 46.6 mg/g으로 가장 높았으며, 플라보노이드 함량은 클로로포름 추출물(23.0 mg/g)에서 가장 높았다. 모든 미더덕 껍질 추출물에서 tyrosinase 저해 활성을 확인할 수 있었으며, 농도 의존적으로 tyrosinase 저해활성을 나타내었다. Tyrosinase

Table 4. Antioxidant activity of extract from *Styela clava* tunic using different method

Extract (10 mg/ml)	DPPH radical scavenging activity(%)	Metal chelation activity (%)	Reducing power (%)	NO scavenging activity (%)	SOD-like activity (%)
Hot water	82.5	30.9	97.8	75.4	20.6
Autoclaved water	87.8	27.9	100.0	30.0	13.1
Ethanol	93.3	46.5	2.9	15.0	27.0
Methanol	32.0	54.3	1.5	9.7	33.3
Acetone	100.0	77.4	0.0	0.0	7.6
Ethylacetate	100.0	21.6	0.0	81.3	16.1
Chloroform	100.0	100.0	3.1	1.4	28.0
n-Butanol	100.0	0.0	4.6	1.0	0.0
n-Hexane	92.9	24.7	0.0	100.0	16.6

활성에 대한 IC₅₀은 ethanol 추출물에서 0.36×10⁴ mg/ml, 아세톤 추출물에서 0.11×10³ mg/ml, n-butanol 추출물에서 0.27 mg/ml이었다. 미더덕 껍질 추출물 가운데 열수 및 고압열수 추출물이 다양한 활성산소를 소거하는 능력이 우수하였다. 따라서 미더덕 껍질 추출물은 피부미백을 위한 화장품 소재 및 산화적 스트레스에 의해 유발되는 질병을 위한 의약품 등 다양한 용도 개발에 응용 가능성이 있는 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 농림수산식품부 수산실용화학기술개발사업의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Ahn, S. H., Jung, S. H., Kang, S. J., Jeong, T. S., Choi, B. D., 2003, Extraction glycosaminoglycans from *Styela clava* tunic, Kor. J. Biotechnol. Bioeng., 18, 180-185.
- Amador, M. L., Jimeno, J., Paz-Ares, L., Cortes-Funes, H., Hidalgo, M., 2003, Progress in the development and acquisition of anticancer agents from marine sources. Ann. Oncol., 14, 1607-1615.
- An, S. H., 2004, Fractionation of glycosaminoglycans extracted from the *Styela clava* Tunic, MS Dissertation, Gyungang National University, Jinju.
- Azzi, A., Davis, K. J. A., Kelly, F., 2004, Free radical biology-terminology and critical thinking, FEBS Lett., 558, 3-6.
- Blois, M. S., 1958, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature, 181, 1199-1200.
- Cha, Y. J., Lee, H. Y., Jeong, E. J., 2008, Changes of biological activities of two ascidians, *Styela calava* and *Styela plicata* by cooking, J. Life Sci., 18, 109-113.
- Cho, Y. J., 2011, Characteristics of cosmetic with whitening compounds from *Phellodendron amurense*, J. Appl. Biol. Chem., 54, 108-113.
- Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C., Almeida, L. M., 1994, Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers, Arch. Biochem. Biophys., 315, 161-169.
- Garcia-Fernandez, L. F., Fernando, R., Sanchez-Puelles, J. M., 2002, The marine pharmacy: New antitumoral compounds from the sea. Pharmaceutical News, 9, 495-501.
- Jo, Y. G., 1978, The sterol composition of *Styela clava*, Kor. Fish Soc., 11, 97-101.
- Jung, E. S., Park, E., Lee, S. C., 2008, Antioxidant activities of extracts from parts of *Styela clava*, J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 37, 1674-1678.
- Jung, S. W., Lee, N. K., Kim, S. J., Han, D. S., 1995, Screening of tyrosinase inhibitor from plants, Kor. J. Food Sci. Technol., 27, 891-896.
- Kim, J. J., Kim, S. J., Kim, S. H., Park, H. R., Lee, S. C., 2006, Antioxidant and anticancer activities of extracts from *Styela clava* according to the processing methods and solvents, J. Kor. Soc. Food Nutr., 35, 278-283.
- Kim, Y. R., Ahn, S. H., Choi, B. D., Kang, S. J., Shin, G. W., Oh, M. J., Jung, T. S., 2004, In vitro examination of chondroitin sulfates extracted Midduck (*Styela clava*) and Munggae tunics (*Halocynthia roretzi*) as cosmetic material, J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 33, 646-652.
- Lee, J. J., Kim, A. R., Seo, Y. N., Lee, M. Y., 2009, Comparison of physicochemical composition of three species of genus *Angelica*, Kor. J Food Preserv., 16, 94-100.
- Lee, K. H., Park, C. S., Hong, B. I., Jung, B. C., Cho, H. S., Jea, Y. G., 1995, Seasonal variations of nutrients in warty sea squirt (*Styela clava*). J. Kor. Soc. Food Nutr., 24, 268-273.
- Lee, S. C., Kim, J. J., Kim, S. J., Kim, S. H., Park, H. R., 2006, Antioxidant and anticancer activities of extracts from *Styela clava* according to the processing method and solvents, J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 35, 278-283.
- Lim, N. Y., Kwon, G. J., Kim, Y. S., Baik, S. K., Lim, J. R., Mun, Y. j., Woo W. H., 2004, Inhibitory effect of methanolic extract from *Adenophorae radix* on melenogenesis, Kor. Ori. Physiol. Pathol. 18, 747-753.
- Marcocci, L., Maguire, J. J., Droylefaix, M. T., Packer, L., 1994, The nitric oxide-scavenging properties of Ginkgo biloba extract EGb 761, Biochem. Biophys. Res. Commun., 201, 748-755.
- Marklund, S., Marklund, G., 1974, Involvement of

- superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *Eur. J. Biochem.*, 47, 469-474.
- Nam, S. H., Choi, H. J., Hwang, S. M., Choi, Y. W., Lee, Y. G., Joo, W. H., 2013, Antimicrobial and anti-oral malodor efficacy of *Schizandra chinensis* extracts against oral pathogens, *J. Life Sci.*, 23, 443-447.
- Oyaizu, M., 1986, Studies on products of the browning reaction. Antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine, *Jpn. J. Nutr.*, 44, 307-315.
- Park, S. M., Lee, B. B., Hwang, Y. M., Lee S. C., 2006, Quality properties of fish paste containing *Styela clava*, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 35, 908-911.
- Prota, G., 1980, Recent advances in the chemistry of melanogenesis in mammals, *J. Invest. Dermatol.*, 75, 122-127.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A., 1965, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *Am. J. Enol. Viti.*, 16, 144-158.
- Woo, Y. M., Kim, A. J., Kim, J., Lee, C. H., 2011, Tyrosinase inhibitory compounds isolated from *Persicaria tinctoria* flower, *J. Appl. Biol. Chem.*, 54, 47-50.
- Yagi, A., Kanbara, T., Morinobu, N., 1987, Inhibition of mushroom-tyrosinase by *Aloe* extract, *Planta Med.*, 53, 515-517.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999, The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chem.*, 64, 555-559.