

## 주름 미더덕(*Styela plicata*) 추출물의 항산화력 및 항암활성

김진주 · 김선정 · 김선희 · 박해룡 · 이승철<sup>†</sup>

경남대학교 식품생명공학부

### Antioxidant and Anticancer Activities of Extracts from *Styela plicata*

Jin-Ju Kim, Sun-Jung Kim, Sun-Hee Kim, Hae-Ryong Park and Seung-Cheol Lee<sup>†</sup>

Division of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

#### Abstract

The antioxidant and anticancer activities of *Styela plicata* extracts were evaluated. When extracts were prepared with fresh *Styela plicata* (FR), extraction yield was in the order of methanol > ethanol = acetone > water among treated solvents. However, the extraction order was methanol > water > ethanol > acetate in freeze dried *Styela plicata* (FD). Radical scavenging activity was the highest in acetone extracts (37.39%) from FR, while in ethanol extracts (78.40%) from FD. Reducing power of FR was the greatest in methanol extracts (1.076), and that of FD in ethanol extracts (1.360). The acetone extracts from FD showed significant anticancer activity when revealed with human colon cancer cell line HT-29. These results indicated that extraction yields and properties of extracts from *Styela plicata* were variable depending on solvent and/or physicochemical state, and appropriate extraction process could provide some valuable bioactive materials from *Styela plicata*.

**Key words:** *Styela plicata*, antioxidant, anticancer, freeze-drying

#### 서 론

*Styelidae*(미더덕과)는 척삭동물문의 미색동물아문, 해초강, 측성해초목에 속하는 해양생물을 총칭한다. 가늘고 긴 몸체에 자루가 있고 그 끝이 바위에 붙어 있으며, 전체 길이는 5~10 cm로서 황갈색을 띠며 외피는 섬유질과 같은 물질로 되어 있고 딱딱하다. 바닷물이 들어오고 나가는 구멍이 몸에 있어, 영어로는 멍게(우렁쉥이)와 같이 sea squirt로 불리운다.

*Styelidae*의 대표적인 생물로는 미더덕(*Styela clava*)이 잘 알려져 있으며, 독특한 향과 맛으로 인해 식품에 널리 이용되고 있다. 미더덕에 대한 연구는 스테롤 함량(1), 계절에 따른 영양성분 조성의 변화 등 주로 성분(2)에 대한 보고가 있었으며, 기능성 성분으로 껍질로부터 glycosaminoglycan을 추출(3)한 예가 있었으며, 미더덕 유래 용혈성 항균 펩티드에 대한 연구(4-7)가 보고된 바 있다. *Styela plicata*는 주름 미더덕, 오만둥이, 흰 멍게라는 이름으로 불리이지며, 미더덕과 비교하여 다소 둥그스름하며 꼬리가 없고, 껍질표면의 돌기가 굵고 다소 열은 빛깔을 띠고 있다. 주름 미더덕은 일반 미더덕과 비슷하게 이용되고 있지만, 학문적으로 연구된 예는 찾기 어렵다.

한편, 산소는 생명 유지에 절대적으로 필요한 원소이지만 각종 물리적, 화학적, 환경적 요인 등에 의하여 반응성이 매

우 큰 활성산소로 전환되면 생체에 치명적인 영향을 미친다. 즉, 이들 활성산소는 세포구성 성분들인 지질, 단백질, 유전자(DNA) 등에 대하여 비선택적, 비가역적인 산화반응을 유발하여 면역체계를 파괴함으로써 노화 및 각종 질병을 일으키는 것으로 밝혀졌다(8,9).

활성산소는 정상적인 세포 대사과정에서도 일부 생성되고 있으며 체내에서는 각종 항산화효소와 항산화물질로 이를 제어하고 있다(10). 그러나 현대 생활에서는 각종 환경 요인에 의하여 과량의 활성산소가 생성되어 인체 내의 항산화물질은 부족한 상태이며, 이로 인해 각종 질병과 노화가 유발된다.

항산화물질은 식품산업, 의약산업, 화장품산업 등 다양한 분야에서 이용될 수 있기 때문에 국가 경제 산업적 측면에서 매우 큰 파급효과를 기대할 수 있다(11). 특히 지금까지 알려진 항산화제가 약한 활성, 독성 및 사용상의 한계로 인하여 의약활성물질로 사용하는 데에 있어서 많은 문제점을 내포하고 있다. 따라서 천연으로부터 보다 안전하고 강한 활성을 지닌 신규 천연 항산화제의 개발이 요구된다.

한편, 2001년 통계에 의하면 암은 현재 우리나라 전체 사망원인의 23.9%를 차지하는 주된 사망원인으로써 국민 건강에 매우 위협적이다(12). 암이 발병되어 진행이 계속될 경우 수술, 약물치료 및 방사선치료 등을 통한 집중적인 치료

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr  
Phone: 82-55-249-2684, Fax: 82-55-249-2995

를 해야 하지만 이와 같은 약물치료는 그 독성 등의 후유증을 배제할 수 없으므로 최근 항암 및 암예방이 우수한 새로운 천연물 중에서 안전성이 있는 약물개발이 절실히 요구되고 있다(13,14).

해양생물은 육상생물에 없는 특유의 대사과정과 독특한 환경으로 인하여 다양한 신규 생리활성물질의 탐색 가능성을 가지고 있다. 또한, 육상생물은 이미 많은 연구가 진행되었으나 해양생물은 아직 제한된 연구로 인하여 미지의 천연물질의 개발에 대한 기대가 높게 평가되고 있다(15). 따라서 본 연구에서는 주름 미더덕 유래의 생리활성물질을 탐색하여 신규 소재 발굴을 기하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 주름 미더덕 및 시약

본 실험에서 사용한 주름 미더덕은 경남 마산시의 어시장에서 2004년 9월경에 구입하였다. 구입한 주름 미더덕의 이물질을 제거하고 물로 깨끗이 여러 번 씻어 물기를 제거한 후, 분쇄기(Mixer MC 811C, (주)노비타, 한국)를 이용하여 분쇄하여 사용하였다. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, potassium ferricyanide, ethanol, 염화철은 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

### 추출물 제조

분쇄한 주름 미더덕 100 mL에 1 L의 용매(methanol, ethanol, acetone, water)를 각각 첨가하여 진탕배양기(HB-201s, (주)한백, 한국) (25°C, 100 rpm)에서 18시간동안 추출하여 FR 시료로 명명하였다. 한편, 분쇄한 주름 미더덕을 -70°C의 심온 동결기(Deep Freezer VX 530, Jousn S.A, 프랑스)에서 동결한 후, 동결건조기(Freeze dryer FD 5512, (주)일신랩, 한국)로 4일동안 완전히 건조시킨 후, 분쇄하여 27 mesh의 체로 거른 후, 3.616 g을 100 mL의 용매로 상기 방법과 같이 제조한 추출물을 FD 시료라 명명하였다. 각각의 추출 시료는 여과지(Whatman No. 1)로 여과한 후, 회전진공농축기(Eyela N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 37°C에서 농축하였다. 각 농축물을 유리병에 담아 질소치환 후, 4°C에서 저장하였고, 최종농도 50 mg/mL로 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 녹여 모든 분석에서 시료로 사용하였다.

### 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 Lee 등의 방법(16)에 준하여 시료 0.03 mL에  $4.1 \times 10^{-2}$  M의 DPPH 용액 1.0 mL를 가한 후 상온에서 10분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

전자 공여능 =  $\left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}}\right) \times 100$  백분율로 나타내었다.

### 환원력 측정

환원력은 Oyaizu의 방법(17)에 의해, 항산화 물질에 대한 철 이온의 환원력을 측정하였다. 1 mL의 인산염 완충용액(0.2 M, pH 6.6)에 1 mL의 시료와 1%(w/v) potassium ferricyanide 용액 1 mL을 가하고 이 혼합물을 50°C에서 20분간 반응시킨 후, 10% (w/v) trichloroacetic acid 용액 1 mL을 넣어 반응을 종결시켰다. 반응이 끝난 혼합물을  $13,400 \times g$ 에서 원심분리하여 얻은 상징액 1 mL과 증류수 1 mL을 넣고 0.1% 염화철 용액 0.1 mL을 넣고 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 암세포 배양

본 실험에서 사용한 암 세포주는 인간 대장암 유래의 세포인 HT-29를 사용하였다. 세포배양을 위한 배지는 RPMI1640 medium(Gibco BRL)을 사용하였으며 10% fetal bovine serum(FBS)과 항생제는 100 units/mL의 penicillin, 100 µg/mL의 streptomycin을 처리하였고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C의 incubator에서 배양하였다(18,19). 세포는 PBS(phosphate buffered saline) buffer로 세척한 후 0.25% trypsin 0.02% EDTA(Gibco BRL)를 사용하여 부착된 세포를 분리하였다. 집적된 암세포에 배지를 넣고 암세포가 골고루 분산되도록 피펫으로 잘 혼합하여 cell culture dish에 10 mL씩 일정량 분할하여 주입하고, 3~4일 마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

### 암세포 증식 억제 측정

세포독성은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide를 사용하여 MTT assay로 행하였다(20). 각 세포주를  $1 \times 10^5$  cells/well의 농도로 맞추고 96 well에 각각 100 µL씩 첨가하여 24시간 5% CO<sub>2</sub>, 37°C incubator에서 배양한 후, DMSO에 녹여진 *Styela plicata* 추출물 시료를 각각 5, 10, 50, 100 및 500 µg/mL의 농도로 첨가하였다. 24시간 동안 배양한 후 각 well에 PBS 완충액에 녹인 MTT 용액을 10 µL씩 첨가하여 4시간 동안 다사배양시킨 후, well 바닥에 형성된 formazan이 용해되지 않게 상등액을 제거하고 DMSO를 100 µL 첨가하여 천천히 녹인 후 ELISA reader(BioRad, microplate, Model 680, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군 세포 수를 100%로 하였을 때의 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다.

### 통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 이루어졌으며, 그 평균값은 SAS software를 사용하여 General Linear Model의 방법에 따라 처리하였다(21). 모든 처리값의 차이는 신뢰 수준 95% (p<0.05)로 비교하여 분석되었다.

## 결과 및 고찰

### 추출수율

가공 방법과 용매에 따라 주름 미더덕의 추출물을 제조하였다. Table 1에 나타난 바와 같이 100 mL의 신선 주름 미더

**Table 1. Extraction yield from *Styela plicata* with various solvents (g)**

	FR <sup>1)</sup>		FD <sup>2)</sup>	
	Weight <sup>3)</sup>	% <sup>4)</sup>	Weight <sup>5)</sup>	% <sup>4)</sup>
Methanol	1.17	29.9	1.01	47.0
Ethanol	1.04	26.5	0.11	5.1
Acetone	1.04	26.5	0.07	3.3
Water	0.67	17.1	0.96	44.6
Total	3.92	100.0	2.15	100.0

<sup>1)</sup>FR: Fresh *Styela plicata*.

<sup>2)</sup>FD: Freeze dried *Styela plicata*.

<sup>3)</sup>Weight in FR column means weight (g) of extract from 100 g of ground *Styela plicata*.

<sup>4)</sup>% means percent of total extract.

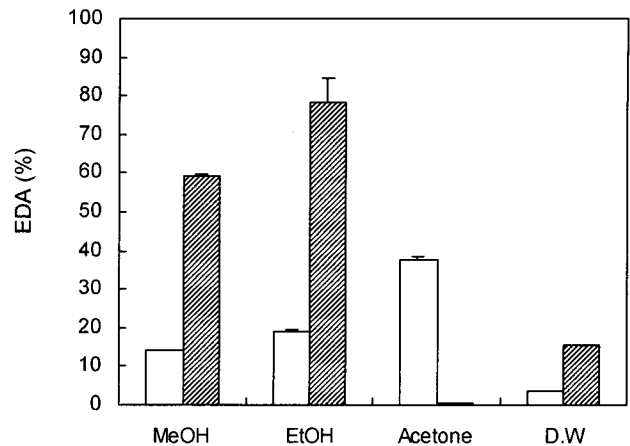
<sup>5)</sup>Weight in FD column means weight (g) of extract from 3.616 g of freeze-dried materials, which were obtained from 100 mL of *Styela plicata*.

덕(FR)으로부터는 methanol을 용매로 사용하였을 때 1.17 g이 추출되었으며, ethanol과 acetone을 이용한 경우에 각각 1.04 g이 추출되었고, 물을 이용한 경우에는 0.67 g으로 낮게 추출되었다. 한편, 100 mL의 신선 주름 미더덕을 동결건조하면 3.616 g의 분말을 회수할 수 있었는데, 동결건조한 주름 미더덕 분말 3.616 g에 100 mL의 용매를 첨가하여 추출물을 제조한 경우(FD)에는 신선 주름 미더덕으로부터 추출한 경과와는 차이를 보였다. 즉, methanol을 이용한 경우에는 1.01 g이 추출되어 추출량은 자연의 경우에 비해 줄었지만 전체 추출물에서 차지하는 비율은 47%로 증가하였다. Ethanol과 acetone에 의해 추출되는 양은 매우 줄어 각각 0.11 g, 0.07 g에 불과하였다. 그러나, 물로 추출한 경우에는 0.96 g이 추출되어 절대량 및 상대량도 매우 증가하였다. 전체적인 추출량은 신선 주름 미더덕을 이용하였을 때(3.92 g)가 동결건조한 주름 미더덕을 이용하는 경우(2.15 g)보다 많았다. 이러한 차이는 주름 미더덕 시료 자체에 함유된 수분의 유무에 의해 기인한다.

**라디칼 소거능**

유리 라디칼은 생물학적 손상의 주요 요인으로 잘 알려져 있는데, DPPH는 천연 항산화제의 유리 라디칼 소거능을 평가하는데 일반적으로 사용된다(22). 보라빛을 나타내는 DPPH는 항산화제와의 반응에 의해 안정한 화합물로 변하면 노란색으로 변한다. 이러한 반응의 정도는 항산화제의 수소 공여능에 의존한다(23).

각 용매에 의한 주름 미더덕 추출물 1.5 mg(0.03 mL, 50 mg/mL)이 4.1×10<sup>-2</sup> M의 DPPH 용액 1.0 mL에 대한 라디칼 소거능을 조사한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 신선 주름 미더덕 추출물의 경우에는 acetone으로 추출한 경우에서 가장 높은 활성(37.39%)을 보였으며, 물 추출물에서 가장 낮았다. 그러나, 동결건조 주름 미더덕 분말로부터 추출한 경우에는 ethanol 추출물이 78.40%의 높은 활성을 보였으며, acetone 추출물은 거의 활성을 보이지 않았다. 이는 같은 용



**Fig. 1. Radical scavenging activities of extracts from *Styela plicata*.**

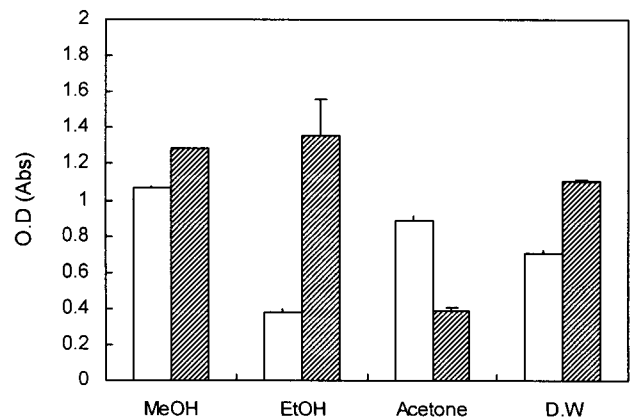
Each extract was prepared from □, fresh *Styela plicata*; ▨, freeze dried *Styela plicata*. Values represent means±SE of triplicate determinations.

매를 이용하였지만 시료 자체에 함유된 수분에 따라 추출되는 물질이 다를 수 있음을 의미한다.

미더덕과의 생물은 척삭동물문의 미색동물아문의 우렁쟁이(멍게)류에 속하는데, 생물학적 특성이 우렁쟁이와 매우 유사하다. 우렁쟁이에는 다양한 carotenoid 색소가 존재하며(24-26), 특히 껍질 부분에 alloxanthin을 비롯한 xanthin계 carotenoid가 많이 함유되어 있다(27). 이러한 carotenoid는 강한 항산화 활성을 나타내는데(28), 우렁쟁이와 유사하게 주름 미더덕의 경우에도 carotenoid가 항산화 활성을 보이는 것으로 사료된다.

**환원력 측정**

어떤 물질의 환원력은 그 물질의 항산화 능력의 중요한 지표가 된다(29). 신선 주름 미더덕의 경우 methanol 추출물이 가장 좋은 활성을 나타내었고, ethanol 추출물이 가장 낮았다(Fig. 2). 또한, 동결건조한 주름 미더덕 추출물은 ethanol



**Fig. 2. Reducing power of extracts from *Styela plicata*.**

Each extract was prepared from □, fresh *Styela plicata*; ▨, freeze dried *Styela plicata*. Values represent means±SE of triplicate determinations.

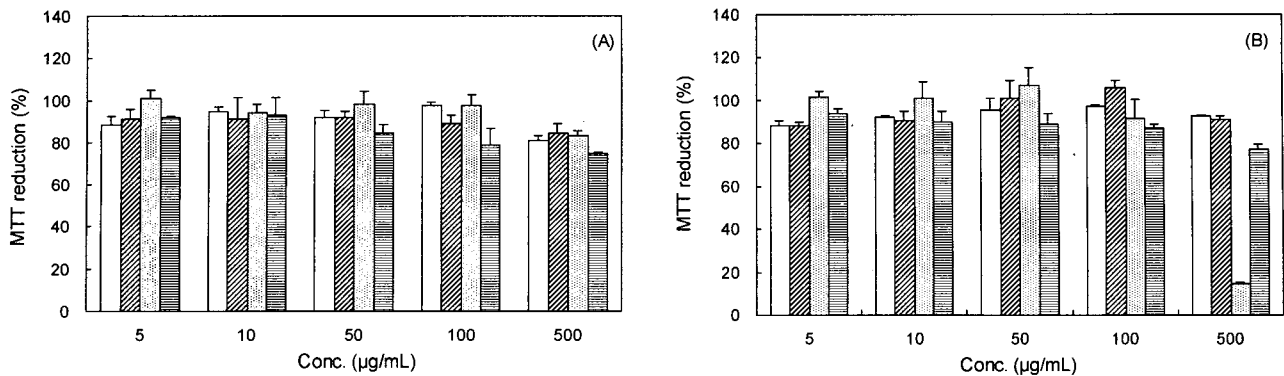


Fig. 3. Anticancer activities of extracts from *Styela plicata*.

Each extract was prepared with □, MeOH; ▨, EtOH; ▤, acetone; and ▧, distilled water from (A) fresh *Styela plicata*; and (B) freeze dried *Styela plicata*. After MTT assay, the survival factors (means  $\pm$ SD of triplicate determinations) were calculated by setting each of control survivals in the absence of *Styela plicata* extracts.

에서 가장 높은 활성을 보였다. 이러한 결과는 라디칼 소거능과는 정확히 일치하지는 않는데, 이는 항산화 물질의 작용이 여러기작(연쇄 반응 개시의 방해, 전이 금속물의 결합, 과산화물의 분해, 연속적 수소 제거의 방해, 라디칼 소거 등)(30)들과 연관이 있으므로 측정 방법에 따라 차이가 나기 때문이다.

#### 암세포 증식억제에 미치는 주름 미더덕 추출물의 영향

인간 유래의 대장암 세포주 HT-29에 대한 주름 미더덕 추출물의 암세포 증식억제 효과에 대한 실험 결과는 Fig. 3과 같다. 각 용매에 대한 추출물의 항암효과를 조사하기 위하여 MTT reduction assay법(20)을 이용하였으며 추출물을 처리하지 않은 대조구와 비교하여 각 추출물의 암세포 증식억제효과를 확인하였다. 신선 주름 미더덕 추출물의 경우에는 물추출물을 포함한 전 추출물에서 항암활성을 보이지 않았으며 가장 농도가 높은 500 µg/mL에서 약간의 항암활성을 보였다. 그러나, 동결건조 주름 미더덕 분말로부터 추출한 경우에는 acetone 추출물이 농도 의존적으로 암세포 증식억제를 나타내지는 않았지만, 추출물의 농도가 500 µg/mL에서 약 20% 이하의 높은 암세포 증식억제활성을 보였다. 그러나, 활성을 나타내는 농도를 현저히 높는데 이는 현재 추출물에 불순물이 많이 함유되어 있음을 의미하며 정제수율을 높이면 상대적 활성이 증가하리라 예상된다. 그 이외의 동결건조 주름 미더덕 추출물은 신선 주름 미더덕 추출물의 경우와 마찬가지로 거의 활성을 보이지 않았다.

이상의 결과로 주름 미더덕에 항산화력과 항암력을 가지는 성분이 함유되어 있음을 확인할 수 있었고, 같은 시료의 경우라도 추출하는 용매와 물리적인 추출 방법에 따라 추출되는 활성물질이 다를 수 있음을 확인하였다. 지금까지는 한 약재를 비롯한 농산물 유래의 추출물이 항암효과를 보이는 연구(31,32)가 보고된 바가 있으나 해양생물 유래의 추출물에서 항암효과를 보이는 결과에 대해서 구체적으로 보고된 바가 많이 없는 실정이다. 따라서 이번 연구결과는 생리활성

물질을 탐색함에 있어서 추출방법의 중요성과 해양생물이 중요한 천연자원이 될 수 있다는 가능성을 확인할 수 있었다.

## 요 약

주름 미더덕(*Styela plicata*)에 methanol, ethanol, acetone, 물을 가하여 추출물을 제조하여 항산화활성과 항암활성을 조사하였다. 신선 주름 미더덕을 분쇄하여 용매를 가하여 추출물을 제조한 경우 methanol을 이용하였을 때 가장 많이 추출되었으며, 물을 이용한 경우에 가장 추출율이 낮았다. 그러나, 동결건조한 주름 미더덕 분말로부터 추출물을 제조한 경우에는 물을 이용한 경우에서 추출량이 크게 증가하였다. 각 추출물의 라디칼 소거능을 측정한 결과, 신선 주름 미더덕 추출물의 경우에는 acetone 추출물이 가장 높은 활성(37.39%)을 보였으며, 동결건조 주름 미더덕 분말로부터 추출한 경우에는 ethanol 추출물이 78.40%의 높은 활성을 나타내었다. 환원력은 신선 주름 미더덕의 경우 methanol 추출물이 가장 좋은 활성을 나타내었고, 동결건조한 주름 미더덕 추출물은 ethanol에서 가장 높은 활성을 보였다. 대장암 세포주 HT-29에 대한 주름 미더덕 추출물의 암세포 증식억제 효과는 동결건조 주름 미더덕의 acetone 추출물이 500 µg/mL의 농도에서 약 20% 이하의 높은 활성을 보였다. 이상의 실험 결과로 주름 미더덕에 항산화력과 항암력을 가지는 성분이 함유되어 있음을 알 수 있었다.

## 감사의 글

본 연구는 2004학년도 경남대학교 학술논문게재연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Jo YG. 1978. The sterol composition of *Styela clava*. *Kor*

- Fish Soc* 11: 97-101.
2. Lee KH, Park CS, Hong BI, Jung BC, Cho HS, Jea YG. 1995. Seasonal variations of nutrients in warty sea squirt (*Styela clava*). *J Korean Soc Food Nutr* 24: 268-273.
  3. Ahn SH. 2003. Extraction of glycosaminoglycans from *Styela clava* tunic. *Biotechnol Bioproc Eng* 18: 180-185.
  4. Lehrer RI. 2001. Clavanins and styelins, alpha-helical antimicrobial peptides from the hemocytes of *Styela clava*. *Adv Exp Med Biol* 484: 71-76.
  5. Menzel LP, Lee IH, Sjostrand B, Lehrer RI. 2002. Immunolocalization of clavanins in *Styela clava* hemocytes. *Dev Comp Immunol* 26: 505-515.
  6. Lee IH, Zhao C, Nguyen T, Menzel L, Waring AJ, Sherman MA, Lehrer RI. 2001. Clavaspirin, an antibacterial and haemolytic peptide from *Styela clava*. *J Pept Res* 58: 445-456.
  7. Taylor SW, Craig AG, Fischer WH, Park M, Lehrer RI. 2000. Styelin D, an extensively modified antimicrobial peptide from ascidian hemocytes. *J Biol Chem* 275: 38417-38426.
  8. Blake D, Winyard PG. 1995. *Immunopharmacology of free radical species*. Academic Press, San Diego.
  9. Lopaczynski W, Zeissel SH. 2001. Antioxidant, programmed cell death, and cancer. *Nutr Res* 21: 295-307.
  10. Cook NC, Samman S. 1996. Flavonoids chemistry, mechanism, cardioprotective effects and dietary source. *Nutr Biochem* 7: 66-76.
  11. Namiki M. 1990. Antioxidants/antimutagens in food. *Crit Rev Food Sci Nutr* 29: 273-300.
  12. Gerlier D, Thomasset N. 1986. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. *J Immun Meth* 94: 57-63.
  13. Kang TB, Liang NC. 1997. Studies on the inhibitory effects of quercetin on the growth of HL-60 leukemia cells. *Biochem Pharm* 54: 1013-1018.
  14. Park KY, Moon SH, Rhee SH, Baek KY, Lim SY. 1995. Effect of tannin from persimmon leaves on the growth inhibition and the synthesis of mRNA of type IV collagen in AZ-521 human gastric cancer cells. *Environm Muta Carcino* 15: 32-37.
  15. Park JC. 1996. Screening of marine natural products on inhibitory effect of the formation of lipid peroxidation. *Kor J Pharmacogen* 27: 117-122.
  16. Lee SC, Kim JH, Jeong SM, Kim DR, Ha JU, Nam KC, Ahn DU. 2003. Effect of far-infrared radiation on the antioxidant activity of rice hulls. *J Agric Food Chem* 51: 4400-4403.
  17. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44: 307-315.
  18. National Statistical Office. 2001. *Annual Report on the Cause of Death Statistics*. Seoul, Korea.
  19. Goodman GY, Yen YP, Cox TC, Crowley J. 1987. Effect of verapamil *in vitro* cytotoxicity and vinblastin in human tumor cell. *Cancer Res* 47: 2295-2311.
  20. Fish B. 1984. Clinical trials for the evaluation of cancer therapy. *Cancer Res* 54: 609-615.
  21. SAS Institute. 1995. *SAS/STAT User's Guide*. SAS Institute Inc., Cary, NC.
  22. Yokozawa T, Chen CP, Dong E, Tanaka T, Nonaka GI, Nishioka I. 1998. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochem Pharm* 56: 213-222.
  23. Bondent V, Brand-Williams W, Bereset C. 1997. Kinetics and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical methods. *Lebensm-Wiss Technol* 30: 609-615.
  24. Sato A, Shindo T, Kasanuki N, Hasegawa K. 1989. Antioxidant metabolites from the tunicate *Amaroucium multiplicatum*. *J Nat Prod* 52: 975-981.
  25. Matsuno T, Ookubo M, Komori T. 1985. Carotenoids of tunicates. III. The structural elucidation of two new marine carotenoids, amarouciaxanthin A and B. *J Nat Prod* 48: 606-613.
  26. Cotellet N, Moreau S, Bernier JL, Catteau JP, Henichart JP. 1991. Antioxidant properties of natural hydroquinones from the marine colonial tunicate *Aplidium californicum*. *Free Radic Biol Med* 11: 63-68.
  27. Choi BD, Kang SJ, Choi YJ, Youm MG, Lee KH. 1994. Utilization of ascidian (*Halocynthia roretzi*) tunic. 3. Carotenoid compositions of ascidian tunic. *Bull Korean Fish Soc* 27: 344-350.
  28. El-Agamey A, Lowe GM, McGarvey DJ, Mortensen A, Phillip DM, Truscott TG, Young AJ. 2004. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch Biochem Biophys* 430: 37-48.
  29. Mier S, Kanner J, Akiri B, Hadas SP. 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *J Agric Food Chem* 43: 1813-1819.
  30. Diplock AT. 1997. Will the good fairies please prove to us that vitamin E lessens human degenerative disease? *Free Rad Res* 27: 511-532.
  31. Jung BM, Lim SS, Park YJ, Bae SJ. 2005. Inhibitory effects on cell survival and quinone reductase induced activity of *Aster yomena* fractions on human cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 8-12.
  32. Choe WK, Park JH, Kim SH, Lee DY, Lee YC. 1999. Antitumor effects of green tea catechin on different cancer cells. *Korean J Nutr* 32: 838-843.

(2005년 5월 11일 접수; 2005년 6월 30일 채택)