

각종 사료군의 투여에 따른 녹용 성분의 비교

하영완 · 전병태¹ · 문상호¹ · 김영식*

¹전국대학교 한국녹용연구센터, 서울대학교 천연물과학연구소

Comparison of Biochemical Components among Different Fodders-treated Antlers

Young Wan Ha, Byong T. Jeon¹, Sang H. Moon¹, and Yeong Shik Kim*

¹Korea Nokyoung Research Center, Konkuk University, Chungju 380-701, Natural Products Research Institute College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract – Antler has been used as one of the important traditional oriental medicines for many years. It contains many biochemical components including lipids, peptides, carbohydrates, and inorganic substances. The various biological activities of antler are being considered owing to such biochemical components. The purpose of this research is to compare the biochemical components of antlers after treatment of three different kinds of fodder. They are mulberry (group A), Lycii Fructus (group B) and the complex of herbs (group C). The chemical composition of each antler was determined in three sections (top, middle, and bottom) and compared with those of the control. The contents of sialic acid, uronic acid and glycosaminoglycans increased in the top antlers of the group B. Total lipids content increased in the top antlers of all groups (A, B, and C). The concentration of inorganic ions (Ca, Mg, and P) decreased in all groups. Fattyacid composition was also analyzed by GC-MS and expressed as percentage of total fatty acid concentration. The content of palmitic acid decreased in all groups. The content of 2-hydroxyhexadecanoic acid, which has not been reported in anter, increased in the top antlers of all groups. These results suggest that the treatment of special fodder may affect the composition of the biochemical components of antlers.

Key words – Antler, fodder, analysis, biochemical components

녹용은 인삼과 더불어 동양에서 오래 전부터 중요한 전통 약물로 사용되어왔다. 「녹용은 보정수(補精髓), 장신양(壯腎陽), 건근골(健筋骨)의 효능이 있고 심계(心悸), 빈혈, 양위(陽痿), 현훈이명(眩暈耳鳴), 요빈(尿頻), 요슬위약(腰膝痿弱) 등의 치료에 응용한다.」¹⁾ 동물을 이용한 효능에 관한 연구는 성장촉진작용, 조혈작용, 혈청 콜레스테롤 저하작용, 단백질합성 촉진작용, 노화방지효과, 척추신경 효소활성 증가효과, 진통작용, 항피로효과, 면역활성 증가작용 및 진정작용 등이 보고되고 있다.²⁻⁶⁾ 녹용의 주성분에 대해서는 지질, 단백질, 탄수화물, 무기질 등의 분석결과가 보고되고 있다.⁷⁻¹⁶⁾ 녹용의 다양한 생물활성은 이런 여러 가지의 성분에 기인하는 것으로 받아들여지고 있다.

최근 양록 농가에서 각종 약용식물자원을 이용하는 농가들이 늘어가고 있고, 또한 여러 가지 농산물을 활용하거나

*교신저자(E-mail) : kims@plaza.snu.ac.kr
(FAX) : 02-765-4768

산지에서 생산되는 다양한 초종의 육립부산물 등의 사료자원들이 양록 농가에서 이용되고 있어 외국의 단순 초지나 사료자원을 이용해 생산한 녹용과의 차별화를 시도하고 있다.¹⁷⁻¹⁸⁾ 따라서 각종 사료에 따른 녹용의 품질을 뒷받침 할 수 있는 과학적인 자료가 필요한 실정이다.

본 연구에서는 일반사료에 세 가지의 다른 사료자원을 처리한 후 녹용의 사료처리에 따른 녹용의 품질을 비교할 목적으로 녹용의 세 부위(상대, 중대, 하대)의 생화학적 성분(글리코사미노글리칸류, 우론산, 시알산, 총지질, 지방산 조성, 회분, 무기이온)의 함량과 조성을 측정 비교 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 실험에 사용한 사슴의 품종은 엘크(*Cervus canadensis*)^o이고 뽕나무(group A), 구기자(group B), 혼합 한약재(group C)를 일반사료에 첨가하여 투여한 사슴의 녹용

과 일반사료(control)를 투여한 시슴의 녹용을 상대, 중대 및 하대로 나누어서 사용하였다.

실험사료는 일반사료(농후사료, 갈잎건초, 각종 풀사료 등)에 group A의 경우 뽕나무 사일리지를 사슴 1두당 1일 약 1kg을 매일 급여하였고, group B의 경우에는 구기자 경엽을 실험사슴 1두당 1일 약 500g을 매일 급여하였으며, group C의 경우는 농후사료 3kg과 한약재(육모초, 인진쑥, 횡귀, 천궁)을 동일 비율로 혼합하여 무제한으로 급여하였다.

실험사료의 급여는 전년도 녹용수확 후 묵은 뿔자리(육경)가 탈락되는 낙각시기부터 절각시까지 지속적으로 실시했으며 녹용의 수확은 낙각후 80일 전후에 절각작업을 실시하여 채취하였다. 수확된 녹용은 전체 녹용의 길이를 균등하게 3등분 한 뒤 각각의 부위에서 가장 상층부를 500g씩 채취하여 성분분석을 위한 시료로 확보하였다. 확보된 녹용시료는 -70°C에서 냉동시켜 동결건조기를 이용하여 건조 후 분말화해서 분석 시기까지 -20°C에서 보관하여 사용하였다.

시약 및 기기 – 실험에 사용한 표준품으로서 sialic acid, D-glucuronic acid, chondroitin sulfate(상어연골)와 지방산 조성분석에 사용한 표준 지방산 methyl ester로서 tridecanoic acid (C13 : 0), myristic acid (C14 : 0), pentadecanoic acid (C15 : 0), palmitic acid (C16 : 0), palmitoleic acid (C16 : 1), heptadecanoic acid (C17 : 0), stearic acid (C18 : 0), oleic acid (C18 : 1), linoleic acid (C18 : 2), linolenic acid (C18 : 3)는 Sigma사로부터 구입하였다. 기타 시약들은 특급 시약을 구입하여 사용하였다. 기기는 HP mass spectrometer (model 5989B)와 HP gas chromatograph (model 5890)을 사용하였으며, UV분광계 (Jasco, Japan), 회화로 (Sam Hung, Korea), 원심분리기 (Hanil, Korea) 동결건조기(Hanil, Korea) 등을 사용하였다.

회분 및 무기이온의 분석 – AOAC (Association of Official Analytical Chemists)¹⁹⁾에 따라 도가니를 600°C의 회화로에서 1시간 동안 방치한 후 데시케이터에 옮겨 실온까지 냉각하고 중량을 측정해서 도가니의 중량변화가 없는지 확인하였다. 확인한 후에 분말녹용 일정량을 취하여 600°C 회화로에서 5시간 회화시켰다. 데시케이터에서 실온까지 냉각하고 중량을 측정하였다. 회분중의 금속이온을 정량하기 위해 위에서 얻은 회분을 농질산에 완전히 녹인 후에 중류하고 다시 2% 질산에 녹여 원자흡광광도계(기초과학지원연구원, 서울분소)에 의하여 무기이온을 각각 분석하였다. 무기이온의 함량은 녹용분말 g에 대한 mg의 양으로 표기하였다.

총지질 – Soxhlet을 이용한 ether 추출법에 의하여 분말 녹용의 총지질을 구하였다.²⁰⁾ 녹용분말 1g을 사용하여 추출 후 ether에 녹아있는 지질을 질소를 사용하여 농축하였다. 함량은 녹용분말에 대한 %로 표기하였다.

지방산 조성 분석 – 위에서 얻은 총지질에 염산 methanol과 benzene을 첨가하고 100°C에서 2시간 30분동안 반응시켜 methyl 에스테르화한 다음 n-hexane과 2% KHCO₃를 첨가하여 hexane층을 얻어 GC-MS로 분석을 하였다.²¹⁻²²⁾ Column은 HP-5MS capillary column (30 m×0.25 mm)을 사용하였다. 초기 column 온도는 120°C에서 3분간 시작하여 120°C에서 250°C까지 10°C/min으로 증가시키면서 최종 온도는 250°C에서 10분 동안 고정시켰다. 각 지방산의 검출은 지방산 표준품의 유리 시간의 일치와 Mass 데이터 베이스에 의해 수행하였다. 각 지방산의 비율은 검출된 모든 지방산의 peak의 적분면적을 합산하여 이에 따른 비율로 나타내었다.

우론산의 분석 – 녹용분말을 조밀, 4°C에서 0.5M EDTA·2Na(pH 7.4)로 틸칼슘화하고 crude papain을 5 mM EDTA와 5 mM cystein·HCl를 포함하는 0.1 M phosphate buffer (pH 6.5)와 혼합하여 65°C 30분 동안 papain을 활성화 한 후에 활성화된 papain으로 65°C에서 16시간 동안 단백질을 분해시켜서 carbazole 반응에 의해 530 nm에서 측정하였다.²³⁻²⁴⁾ 함량은 녹용분말에 대한 %로 표기하였다.

글리코사미노글리칸류의 분석 – 위에서 papain으로 분해시킨 것을 dimethylmethylen blue dye binding 방법에 의해 540 nm에서 측정하였다.²⁵⁾ 함량은 녹용분말에 대한 %로 표기하였다.

시알산의 분석 – 녹용분말을 80°C에서 1 h동안 0.1 N 황산으로 가수분해한 후에 Warren 방법에 의해서 549 nm에서 측정하였다.²⁶⁾ 함량은 녹용분말에 대한 %로 표기하였다.

통계처리 – SAS system (version 8)을 이용하여 one-way ANOVA와 two-way ANOVA를 이용하여 처리하였다. 유의성 검정은 Student's *t*-test를 이용하여 *p*<0.05 및 *p*<0.01에서 실시하였다.

결과 및 고찰

Table I에 녹용의 사료처리에 따른 군에 따라 각종 성분을 분석하고 그 결과를 건조 녹용중량의 백분율로서 종합하여 표시하였다. Table II에서 보는바와 같이 지질 함량은 대조군에 비해 group B와 C에서 증가하는 것을 볼 수 있으나 개체별 오차에 의해 유의성은 관찰하지 못했다. 생리활성에 중요한 역할을 하는 우론산, 글리코사미노글리칸, 시알산의 탄수화물들은 대조군에 비해 일반사료에 구기자를 첨가한 group B의 상대에서 특이적으로 증가하였다 (*p*<0.05) (Fig. 1). 녹용의 세로 길이 성장은 endochondral 골형성과정 (ossification)에 의해 이루어진다.²⁷⁾ 황산 글리코사미노글리칸은 일반적으로 단백질과 연결되어 프로테오글리칸

Table I. Weights and chemical analysis of each section of antlers

group	Item Section	Lipid	UA	GAGs	SA	Ash	Ca	Mg	P
Control	T	2.81±0.13 ^a	1.52±0.02 ^a	2.34±0.08 ^a	0.16±0.00 ^a	27.56±0.83 ^a	48.80±0.00 ^b	1.18±0.00 ^b	21.10±0.00 ^b
	M	2.63±0.19 ^a	0.77±0.00 ^a	0.23±0.13 ^a	0.10±0.00 ^a	33.83±0.40 ^a	59.60±0.00 ^b	1.24±0.00 ^b	23.90±0.00 ^b
	B	1.92±0.09 ^a	0.72±0.03 ^a	0.51±0.13 ^a	0.03±0.00 ^a	52.73±2.33 ^a	108.0±0.00 ^b	2.31±0.00 ^b	46.20±0.00 ^b
A	T	3.30±0.29 ^a	1.16±0.08 ^a	1.83±0.08 ^a	0.16±0.01 ^a	32.18±0.39 ^a	22.92±0.00 ^b	0.46±0.00 ^b	11.92±0.00 ^b
	M	2.16±0.15 ^a	0.29±0.03 ^a	0.46±0.06 ^a	0.10±0.00 ^a	47.78±2.07 ^a	36.36±0.01 ^b	0.70±0.00 ^b	18.08±0.00 ^b
	B	1.74±0.13 ^a	0.15±0.04 ^a	0.27±0.06 ^a	0.03±0.00 ^a	61.89±0.71 ^a	38.38±0.00 ^b	0.79±0.00 ^b	19.49±0.00 ^b
B	T	3.76±0.63 ^a	1.89±0.02 ^a	3.78±0.32 ^a	0.29±0.04 ^a	22.19±0.78 ^a	13.23±0.89 ^b	0.39±0.03 ^b	8.05±0.61 ^b
	M	2.53±0.57 ^a	0.24±0.09 ^a	0.40±0.14 ^a	0.09±0.01 ^a	39.05±3.47 ^a	23.87±4.47 ^b	0.58±0.06 ^b	15.01±1.99 ^b
	B	2.10±0.64 ^a	0.13±0.09 ^a	0.22±0.16 ^a	0.04±0.01 ^a	53.99±1.20 ^a	39.86±3.83 ^b	0.89±0.13 ^b	22.55±4.97 ^b
C	T	3.74±0.92 ^a	1.33±0.14 ^a	1.98±0.13 ^a	0.20±0.05 ^a	24.38±5.21 ^a	16.32±5.63 ^b	0.45±0.10 ^b	11.60±2.75 ^b
	M	2.83±0.62 ^a	0.21±0.02 ^a	0.39±0.04 ^a	0.10±0.01 ^a	36.47±2.77 ^a	26.29±1.88 ^b	0.61±0.04 ^b	14.04±1.06 ^b
	B	1.84±1.08 ^a	0.26±0.02 ^a	0.52±0.06 ^a	0.05±0.01 ^a	51.52±8.91 ^a	37.90±5.20 ^b	0.87±0.10 ^b	20.44±3.08 ^b

^a% of dry material, ^bmg/(g of dry material)

UA : uronic acid, SA : sialic acid, T : top section, M : middle section, B : bottom section.

Table II. Fatty acid composition of each section of antlers^{a)}

Group	Control			A			B			C			
	section fatty acid	T	M	B	T	M	B	T	M	B	T	M	B
C14:0		2.53	3.59	3.83	6.86	6.14	5.31	3.27	5.45	6.27	5.00	7.02	6.75
C15:0		1.99	3.06	3.50	7.65	6.89	5.54	3.28	5.75	6.84	6.68	9.19	8.55
C16:1		2.83	1.24	2.22	1.89	1.98	2.19	3.34	1.24	2.00	4.02	3.80	3.94
C16:0		31.00	39.03	37.65	18.46	19.27	22.61	25.29	26.39	24.65	20.70	17.57	21.74
C17:0		1.90	2.32	3.01	5.3	5.16	3.84	2.04	3.32	4.99	5.38	7.28	6.18
C16:0 ^{b)}		4.80	13.27	12.78	18.31	15.34	13.18	12.07	16.54	15.76	11.17	12.52	11.73
C18:2		10.04	4.93	5.93	5.84	3.63	6.50	9.78	6.18	6.21	9.19	6.02	7.38
C18:1		22.42	10.23	8.99	12.29	14.66	14.57	21	8.10	7.37	13.33	9.25	10.33
C18:0		18.42	16.35	16.87	10.32	11.73	12.54	13.06	12.91	10.27	11.04	9.63	11.86
C19:0		1.15	1.87	1.03	3.58	5.05	5.39	1.64	4.45	3.94	3.86	5.87	5.00
C20:0		0.89	1.27	1.38	3.36	3.62	3.35	1.72	3.10	2.71	3.70	4.22	2.08
C21:0		1.31	2.19	2.20	4.69	4.97	3.59	2.67	4.88	4.40	3.89	4.61	3.11
C22:0		0.58	0.57	0.56	1.38	1.53	1.37	0.76	1.59	1.84	1.92	2.92	1.29

^{a)}The content is expressed as the percentage of total fatty acid.^{b)}2-hydroxy hexadecanoic acid

T : Top, M : Middle, B: Bottom

(proteoglycan) 형태로 존재하는데 proteoglycan은 endochondral 골형성과정에서 골화 과정을 억제한다고 알려져 있다.²⁸⁾ 따라서 사료처리에 따른 황산 글리코사미노글리칸의 증가는 녹용의 품질을 높이는 하나의 자료로 반영할 수 있다. 또 녹용의 새로운 지표물질로 알려져 있는 강글리오사이드(ganglioside)의 종류를 결정하는 시알산의 경우에도 구기자를 섭취한 group B에서 특이적으로 증가한다. 강글리오사이드는 세포의 신호 전달계에 매우 중요한 기능적 역할을 한다. 특히, 강글리오사이드는 성장, 분화, 부착과 같은 세

포의 일련의 과정에서 중요한 역할을 한다.²⁹⁾ 따라서 group B에서의 시알산의 특이적인 증가는 주목할 만하다. 회분함량은 사료처리에 따른 유의성이 보이지 않았다. 회분의 성분으로 Ca의 함량이 가장 높았고, 다른 무기 이온들은 모두 대조군에 비해 낮은 함량을 보였다 ($p<0.01$).

지방산 조성 분석 – Table II에 녹용의 사료처리에 따른 군에 따라 지방산의 조성을 분석·비교 종합하여 나타내었다. 결과를 통계 처리한 결과 각종 사료에 따라 녹용의 지방산 조성이 영향을 받는다는 것을 확인하였다 ($p<0.01$). 지

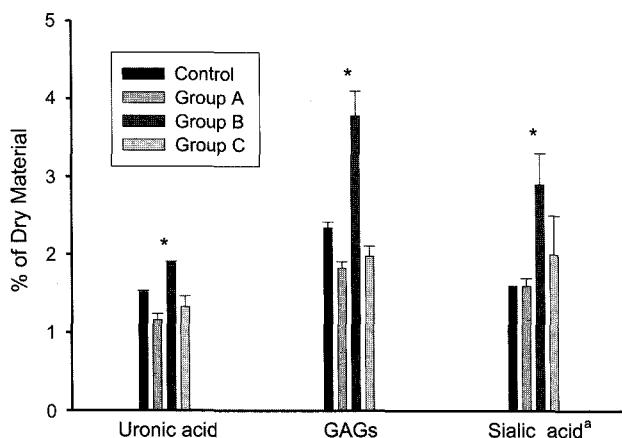


Fig. 1. Comparison of carbohydrate amount in the top sections of antlers after treatment of special fodder.

Group A: mulberry, Group B: Lycii Fructus, Group C: Complex of herbs; ^{a)}% of dry material $\times 10$, * : $p < 0.05$.

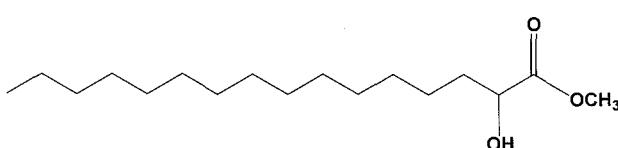


Fig. 3. Structure of 2-hydroxyhexadecanoic acid.

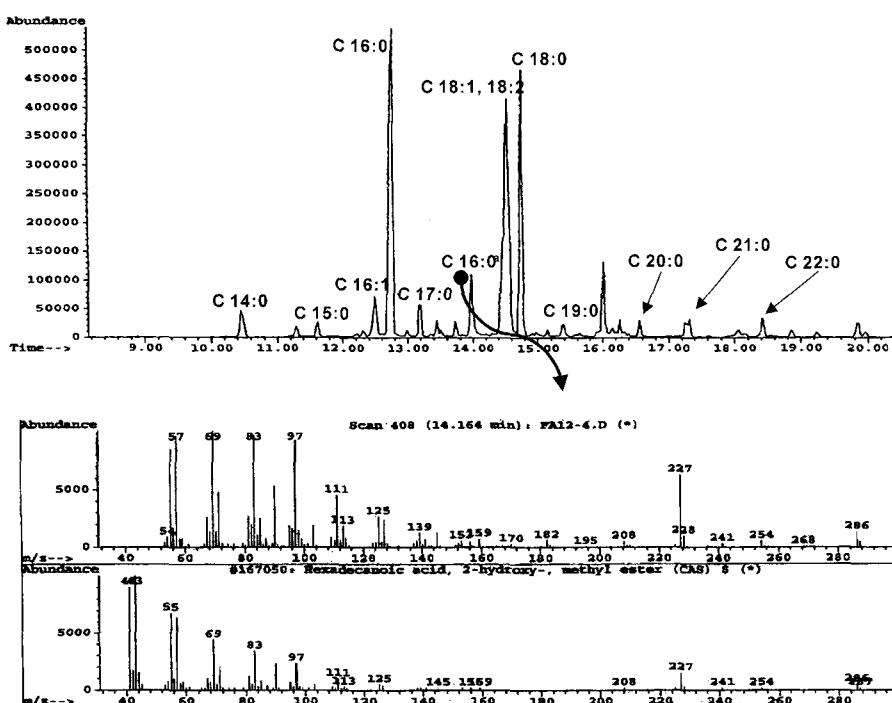


Fig. 2. Gas chromatography of fatty acids from antler and mass spectrum of 2-hydroxyhexadecanoic acid.
C14:0 (myristic acid), C15:0 (pentadecanoic acid), C16:0 (palmitic acid), C16:1 (palmitoleic acid), C17:0 (heptadecanoic acid), C16:0a (2-hydroxy hexadecanoic acid), C18:0 (stearic acid), C18:1 (oleic acid), C18:2 (linoleic acid), C19:0 (nonadecanoic acid), C20:0 (arachidic acid), C21:0 (heneicosanoic acid), C22:0 (behenic acid).

방산의 종류는 C16:0, C16:0^a, C18:0, C18:1가 10% 이상이었다. 각 개체에 따라 조성 변화의 크기가 달랐지만 그 중 palmitic acid는 약초를 첨가한 모든 group에서 감소하였다 ($p < 0.05$). 본 결과에서 녹용의 지방산 조성중 흥미롭게도 전에 보고가 되지 않았던 2-hydroxyhexadecanoic acid를 확인하였으며 모든 group의 녹용의 상대부분에서 증가하는 것을 볼 수 있었다 ($p < 0.05$) (Figs. 2, 3) (Table II).

결 론

녹용의 품질 증가를 목적으로 사료에 각종 약초를 첨가해서 키워 얻은 녹용에 대하여 성분 분석을 통하여 비교하였다. 공통적으로 나타나는 결과는 녹용의 상대, 중대 및 하대에 있어서 총지질, 글리코사미노글리칸, 우론산, 시알산의 양은 상대에서 높게 나타났다. 한편 회분, 무기이온들은 하대에서 높게 나타났다. 구기자를 함께 처리한 군에서의 글리코사미노글리칸, 우론산, 시알산의 특이적인 증가는 주목할 만하다. 또 현재까지 녹용에서 보고되지 않았던 2-hydroxyhexadecanoic acid도 주목할 필요가 있다. 결론적으로 특정사료의 처리는 녹용의 생화학성분 조성에 영향을 나타내는 것으로 보여진다. 특히, 구기자를 함께 처리 한 경

우에 다른 군에 비해 특이적인 변화를 나타낸다. 이러한 결과를 토대로 구기자를 투여하여 얻은 녹용 시료의 총지질에서 지질에 대한 계통분석과 ganglioside에 대한 함량 비교도 함께 수행할 예정이다.

감사의 말씀

본 연구는 농림기술개발연구사업 (과제번호 2001731-03-2-HD-110) 지원에 의하여 수행되었음에 감사를 드립니다.

인용문헌

1. Kim, J. G and Xiao, P. G. (1995) Traditional drugs of the east, 450-451. Young Lim Sa.
2. 신국현, 이은방, 김재현, 정명숙, 조성익(1989) 분말녹용의 약물활성 연구(I). 생약학회지 **20**: 180-187.
3. 용재익 (1964) 實驗的 家兔貧血에 미치는 鹿茸投與의 影響. 약학회지 **8**: 6-11.
4. Wang, B., Zhao, X., Qi., Yang, X., Kaneko, S., Hattori, M., Namba, T. and Nomura, Y. (1988) Stimulating effect of deer antler extract on protein synthesis in senescence-accelerated mice *in vivo*. *Chem. Pharm. Bull.* **36**: 2593-2598.
5. Wang, B., Zhao, X., Qi., Yang, X., Kaneko, S., Hattori, M., Namba, T. and Nomura, Y. (1988) Effect of repeated administration of deer antler extract on biochemical changes related to aging in senescence- accelerated mice. *Chem. Pharm. Bull.* **36**: 2587-2592.
6. 허금, 최숙현, 이하빈, 정규찬, 고돈이(1960) 鹿茸에 關한 研究(第2報): 鹿茸이 實驗用 白鼠의 成長에 미치는 影響에 對하여. 약학회지 **5**: 10-15.
7. 김영은, 이승기, 윤웅찬, 김정숙(1975) 녹용의 약효 성분에 관한 연구(I): 녹용, 녹각, 고래 코 연골, 상어 척수 연골의 화학조성에 관하여. 한국생화학회지 **8**: 89-107.
8. 김영은, 이승기, 유희자(1976) 녹용의 약효 성분에 관한 연구(II): 녹용의 Acid Mucopolysaccharide 성분에 관하여. 한국생화학회지 **9**: 153-164.
9. 김영은, 이승기, 이명희, 신승언(1976) 녹용의 약효 성분에 관한 연구(III): 녹용 및 Pantocrin의 지방산 조성에 관하여. 한국생화학회지 **9**: 215-236.
10. 김영은, 이승기, 이명희(1977) 녹용의 약효 성분에 관한 연구(IV): 녹용 벨瀕 « 프로스타그란딘의 검출. 한국생화학회지 **10**: 1-12.
11. 김영은, 임동구, 심승언(1977) 녹용의 약효 성분에 관한 연구(V): 녹용 및 판토크린의 당지질과 인지질의 조성에 관하여. 한국생화학회지 **10**: 153-164.
12. Scott, J. E and Hughes, E. W. (1981) Chondroitin sulfate from fossilized antlers. *Nature*. **291**: 580-581.
13. Sunwoo, H. H., Nakano, T., Hudson, R. J., Sim, J. S. (1998) Isolation, characterization and localization of glycosaminoglycans in growing antlers of wapiti (*Cervus elaphus*). *Comp Biochem Physio B*. **120**: 273-283.
14. Pathak, N. N., Pattanaik, A. K., Patra, R. C., Arora, B. M. (2001) Mineral composition of antlers of three deer species reared in captivity. *Small Ruminant Res.* **42**: 61-65.
15. Sunwoo, H. H., Nakano, T., Hudson, R. J. and Sim, J. S. (1995) Chemical Composition of Antlers from wapiti(*Cervus elaphus*). *J. Agric. Food Chem.* **43**: 2846-2849.
16. 신국현, 임순성, 정하숙, 백인범(1999) 꽃사슴 녹용의 생화학적성분의 조성 및 함량. 생약학회지 **30**: 314-319.
17. 전병태, 김경훈, 김운식, 이상무, 김창원(1995) 사료급여형 태를 중심으로 한 충북지역 사슴사육 실태조사. 韓營飼誌 **19**: 235-241.
18. Kwak, W. S., Kim, K. H., Kim, C. W., Jeon, B. T and Lee, S. M (1994) Deer farming in Korea : On-farm survey in Kyung-kee and Chung-Bk provines. *Asia-Austr. J. Anim. Sci.* **7**: 347-355.
19. William Horwitz (2000) Official Methods of Analysis of AOAC International. **2**: Ch4, 40-41. AOAC International. Maryland, USA.
20. Christie, W. W. (1976) Lipids Analysis. Pergamon Press. New York.
21. Christie, W. W. (1990) *Lipid Technology*. **2**: 48-49.
22. Christie, W. W. (1995) Are methyl esters of fatty acids the best choice for gas chromatographic analysis? *Lipid Technology*. **7**: 64-66.
23. Scott, J. E. (1960) Aliphatic ammonium salts in the assay of acidic polysaccharides from tissues. *Methods Biochem. Anal.* **8**: 145-197.
24. Kosakai, M., Yoshizawa, Z. (1979) A partial modification of the cartilage method of Bitter and Muir for quantitation of hexuronic acids. *Anal. Biochem.* **93**: 295-298.
25. Farndale, R. W., Sayers, C. A., Barett, A. J. (1982) A direct spectrophotometric assay for sulfated glycosaminoglycans in cartilage cultures. *Connect. Tiss. Res.* **9**: 247-248.
26. Warren, L. (1959) The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *J. Biol. Chem.* **234**: 1971-1975.
27. Banks W. J. (1974) The ossification process of the developing antler in the white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Calcif Tiss Res.* **14**: 257-274.
28. Dean D. D., Schwartz, Z., Bonewald, L., Muniz O. E., Morales, S., Gomez, R., Brooks, B. P., Qiao, M., Howell D. S., Boyan, B. D. (1994) Matrix vesicles produced by osteoblast-like cells in culture become significantly enriched in proteoglycan-degrading metalloproteinases after addition of b-glycerophosphate and ascorbic acid. *Calcif Tissue Int.* **54**: 399-408.
29. Hakomori S (2000) Traveling for the glyco-sphingolipid path. *Glycoconj. J.* **17**: 627-647.

(2003년 3월 5일 접수)