

식육부산물에서의 Chondroitin Sulfate 추출방법간의 비교

임동균 · 오동훈 · 설국환 · 이무하

서울대학교 동물생명공학전공

Comparison of Extraction Methods of Chondroitin Sulfate from Meat By-products

D. G. Lim, D. H. Oh, K. H. Seol and M. Lee

Department of Animal Science and Biotechnology, Seoul National University

ABSTRACT

Chondroitin sulfate(CS) has been used in cosmetics, medicine and food as an ingredient. Some difficulties of the extraction procedure have caused the low availability of this material. This study was carried out to compare the extraction methods of CS from meat by-products such as kidney, liver and trachea of cattle, swine or chicken. The yields and quantities of CS were compared among 3 different extraction methods (control, hot water extraction and enzymatic hydrolysis methods). The yields of CS by hot water extraction and enzymatic hydrolysis were significantly higher than those of the control ($P<0.05$). The highest yield of CS was obtained by enzymatic hydrolysis and the yields were 81.46 ± 0.90 , 81.12 ± 1.53 and $80.80\pm 1.05\%$ on chicken trachea, bovine trachea and bovine liver, respectively. The highest quantity of CS was $21.19\pm 1.82\%$ obtained from the enzymatic hydrolysis of bovine trachea. Ethanol concentration during extraction influenced the yields of CS. In enzymatic hydrolysis, the yields of CS were increased as the ethanol concentration increased. In conclusion, the enzymatic hydrolysis method was the best procedure among the methods to extract the CS from meat by-products.

(Key words : Chondroitin sulfate, Hot water extraction, Enzymatic hydrolysis, Yield, Quantity)

I. 서 론

현재 우리나라는 간, 신장, 내장류 등 쇠고기와 돼지고기 부산물을 해외로부터 다량 수입하여 오고 있는데 국내 통계자료에 의하면 2007년 현재 소 1900만 kg, 돼지 3940만 kg 정도의 식육 부산물이 수입되었다(Meat Journal, 2007). 국내 식육부산물에서의 기능성 신소재의 추출 및 개발은 생산자의 이윤획득과 소비자의 건강

증진에 도움을 줄 수 있을 것이다. 근래 들어 기능성 신소재로 부각되고 있는 것이 콘드로이틴 제제이다. 콘드로이틴은 생리활성기능(Asher 등, 2001; Sanne 등, 1994; Volpi 등, 1995)으로 최근 각광받고 있으며, 이미 미국, 일본 등 여러 나라에서 의약품, 화장품 등으로 사용되고 있고 국내에서도 의약용으로 사용되고 있다. 콘드로이틴은 황산기의 비율이 12-15%인 황산 콘드로이틴(chondroitin sulfate)과 황산기의 비율

Corresponding author : M. Lee, San 56-1, Sillim-Dong, Gwanak-Gu, Animal science and biotechnology, College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Seoul, 151-742, Korea
Tel : 02-880-4804, Fax : 02-873-4804, E-mail : moohalee@snu.ac.kr

이 2% 내외로 낮은 콘드로이틴(chondroitin)으로 나뉜다. 황산콘드로이틴은 점질성 다당류(muco-polysaccharide)로 동물의 체기관, 결합조직, 체액 등에 광범위하게 분포하고 있는데(Dietrich 등, 1976; Mourao and Dietrich, 1979) 소의 기관이나 돼지의 귀, 상어 연골 등에 많이 함유되어 있다(Garnjanagoonchorn 등, 2007). 점질성 다당류는 생체 내에서 단백질과 공유결합하여 단백질-당 복합체(protein-carbohydrate complex)로 존재하며 결합조직의 점질성 다당류는 대부분 2당 단위 구조가 반복되는 긴 사슬상의 복합다당으로 황산기와 카르복실기에 의해 산성 뮤코다당이라고도 한다. 황산콘드로이틴은 포유동물의 동일조직에서는 동일한 형태 및 비율로 존재(Toledo 등, 1977)하며 나이가 증가함에 따라 조직 내 황산콘드로이틴의 함량은 감소하는 것으로 밝혀졌다. 황산콘드로이틴은 피부노화를 억제하고 세포외액의 대사에 관여하며 동맥경화억제 및 예방, 항혈액응고작용(Mourao 등, 2001), 안구건조증 예방 등의 효과가 있다고 한다. 또한 유럽의 경우 임상실험을 통하여 황산콘드로이틴의 기능성화장품 및 식품의 역할에 따른 노화방지효과가 인정되어 의사의 처방을 통한 관절염 치료제 및 화장품(로션, 스킨, 에센스, 팩, 주름개선제) 등에 이용되고 있고(Hungerford, 2003), 글루코사민과 황산콘드로이틴이 임상실험을 통해 골관절염치료에 매우 유효한 것으로 알려져 있다(Hungerford and Jones, 2003; McAlindon 등, 2000). 황산콘드로이틴의 추출방법으로 지금까지 사용되어온 방법은 주로 흡광분석(이와 강, 1994)에 의해 이루어지는데 흡광분석은 다른 방법에 비해 소요되는 시간이 적고 비용이 저렴한 장점이 있지만 오차가 클 수 있어 숙련된 기술을 요한다. 따라서 열수추출(hot water extraction), 효소가수분해(enzymatic hydrolysis) 방법 등을 이용하여(Lignot 등, 2003; Park 등, 2001; Jo 등, 2005) 저급 부산물의 황산콘드로이틴의 추출방법을 비교해 보고자 하였다. 본 연구는 소, 돼지, 닭으로부터 생산되는 신장, 간, 기관지로부터 열수추출 및 효소가수분해방법을 적용하여 황산콘드로이틴의 수율을 극대화할 수 있는 최적조

건을 탐색하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시재료 및 처리

소의 간, 신장, 기관은 오산의 도축장에서, 돼지의 간, 신장, 기관은 수원의 도축장에서 구입하였으며, 닭의 기관은 용인의 도계장에서 구입하였다. 구입한 시료는 -18°C 에서 냉동보관한 후 가시 지방을 제거하고 hexane 으로 세척한 다음 Freeze dryer (Deep Freezer, Ilsin Lab, Korea)를 이용하여 동결건조하여 시료로 사용하였다.

2. 일반성분 분석

수분함량은 AOAC (1995)법에 준하여 10 g의 시료를 채취하여 Freeze Dryer (Deep Freezer, Ilsin Lab, Korea)에서 24시간 동결 건조 후에 건조된 시료의 무게를 측정하여 수분 양을 계산하였다. 조단백질 함량은 Kjeldahl 법을 이용하였으며, 조지방 함량은 Folch 방법을 이용하였다. 회분 함량은 AOAC (1995)법에 준하였다.

3. pH 분석

시료 10g에 증류수 90ml를 가하여 Homogenizer (Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik, Germany)로 8,000 rpm에서 2분간 균질화한 다음 pH-meter (Digi-Sense, Cole-parmer Instrument Company, USA)를 이용하여 5회 반복 측정된 평균값을 구하였다.

4. 추출물의 제조

추출물의 제조는 Park 등(2001)과 Jo 등(2005)의 방법 그리고 유 등(1995)의 방법을 수정하여 제조하였다. 대조구(control)로는 균질한 시료를 $1,400 \times \text{g}$ 에서 30분 동안 원심분리한 후 불용분을 제거하고 상층액을 분리하는 일반추출방

법을 이용하였다. 열수 추출물은 시료에 10배 양의 증류수를 가한 후 2시간동안 가열하면서 조직 중의 당단백질을 100℃의 열수로 추출하고, 1,400×g에서 30분 동안 원심분리한 후 상층액을 농축, 건조하여 제조하였다. 효소가수분해 추출물은 균질한 시료에 papain을 2% (dry basis, w/w) 첨가한 뒤 10배의 완충용액을 가한 다음 최적 활성조건인 25℃, pH 6.2에서 가수분해하였다. 가수분해 후 1,400×g에서 30분간 원심분리하고 건조하여 제조하였다.

5. 콘드로이틴 함량분석

콘드로이틴의 함량은 식품공전(2001)에 준하여 분석하였다. 시료 약 10 g을 분쇄 혼합하고 그 중 3 g을 취하여 증류수를 가하여 100 ml을 만든 후 4 ml을 취하여 증류수를 가하여 20 ml로 하고 정량분석용 여지를 사용하여 여과하여 시료용액을 만들었다. 표준곡선을 그리기 위해 표준용액은 증류수에 glucuronic acid를 각각 0, 0.005, 0.01, 0.02, 0.031, 0.044, 0.059 mg 녹여 시료와 같은 처리를 하였다. 2개의 비색관에 봉산나트륨황산 5 ml씩 취하여 얼음물로 냉각하고 각각에 시료용액과 표준용액을 1 ml씩을 넣고 냉각하면서 혼합하고 수욕 상에서 10분간 가열 후 얼음물로 냉각하였다. 각각에 카바졸 시액 0.2 ml을 가하여 혼합하고 수욕 상에서 15분간 가열한 후 냉수로 실온까지 냉각하였다. 이 두 액과 증류수 1 ml을 사용하여 동일하게 조작한 것을 대조액으로 하여 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선을 이용하여 시료의 glucuronic acid의 양을 구한 후 콘드로이틴 함량(%)을 다음 식에 대입하여 구하였다.

$$\begin{aligned} \text{Chondroitin sulfate (\%)} &= \text{glucuronic acid (\%)} \times 2.593 \\ &= \frac{A/B \times C (0.04g) \times 1.1023}{D(0.3g) \times 4} \times 100 \times 2.593 \end{aligned}$$

A : The absorbance of sample solution,
 B : The absorbance of standard solution,
 C : Glucuronolactone, D : sample weight
 2.593 : molecular weight of CS / molecular weight of glucuronic acid
 1.1023 : molecular weight of glucuronic acid / molecular weight of glucuronolactone

6. 추출물의 분별침전

추출물의 분별침전은 Jo 등(2005)의 방법에 따라 수행하였다. 추출물을 30%, 60%, 90%의 에탄올과 교반하여 1시간을 정체시킨 후 상층액을 버리고 건조하여 침전물을 얻었다. 각각의 침전물은 원 시료의 건물량에 대한 %로 수율을 측정하였다.

7. 통계분석

통계분석은 SAS (2003) 프로그램을 이용하여 분산분석을 수행하였다. 평균간 유의성 검정은 Duncan의 Multiple range test로 처리간의 유의성을 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 일반성분

시료의 일반성분을 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다. 소, 돼지의 간은 신장에 비해 조단

Table 1. Proximate compositions of meat by-products (unit : %)

	Moisture	Crude. Protein	Crude. Fat	Crude. Ash
Bovine kidney	74.67 ± 3.21	16.63 ± 1.05	1.95 ± 0.43	1.02 ± 0.11
Bovine liver	75.72 ± 1.41	19.22 ± 1.03	1.33 ± 0.07	1.23 ± 0.09
Pork kidney	73.54 ± 2.07	17.41 ± 0.83	2.12 ± 0.20	1.08 ± 0.31
Pork liver	74.99 ± 4.77	19.70 ± 3.90	1.74 ± 0.57	0.97 ± 0.04

Values are mean ± S.D.

백질 함량은 많았고 조지방의 함량은 적었다. 소의 간의 경우 75.72%의 수분을 가지며 19.22%의 조단백 함량과 1.33%의 조지방 그리고 1.23%의 조회분 함량을 나타내었다. Rivera 등 (2000) 등은 돼지 신장이 조단백질 16.25%, 수분 77.74%, 조지방 4.05% 및 조회분 1.21%로 구성되어 있다고 보고하였다. 본 연구에서 소, 돼지, 닭 부산물의 일반성분을 분석한 결과 모든 처리구간에 유의적인 차이는 없었다($P > 0.05$).

2. pH

근육조직은 사후 글리코젠이 ATP 생성을 위해 젖산을 생성하며 이는 근육조직에 축적되어 근육의 pH를 낮추게 된다. 간과 신장의 경우는 사후 해당 작용이 일어나지 않아 젖산이 축적되지 않으므로 pH의 저하가 없으며, 항상성에 의해 생체의 pH와 유사한 pH를 가진다 (Hui, 등, 2001). 더욱이 간은 젖산을 분해하는 기능

을 가지므로 pH의 저하는 보이지 않는다. Table 2는 소와 돼지의 간과 신장의 pH 측정 결과를 나타낸 것으로, 앞서 보고된 바와 같이 식육(pH 5.2-5.5)에 비해 높은 값을 보여주고 있는데 간과 신장의 차이나 축종간의 유의성은 나타나지 않았다. Rivera 등(2000)은 돼지의 신장의 pH는 7.06으로 본 실험결과보다 약간 높은 것으로 보고한 바 있다.

3. 추출물의 수율측정

액화조건을 향상시키기 위해 시료의 추출방법에 따른 추출물의 수율을 Table 3에 나타내었다. 시료로부터 콘드로이틴의 추출을 위하여 일반추출, 열수추출(hot water extraction), 효소가수분해에 의한 추출(enzymatic hydrolysis) 방법이 이용되었다. 이들 방법은 core protein에 강하게 결합되어있는 당단백질의 분리를 위해 이용되었다. 추출방법간의 비교에 있어 돼지의 간과 신장을 제외한 모든 시료에서 일반 추출

Table 2. pH of meat by-products (unit : %)

	Bovine kidney	Bovine liver	Porcine kidney	Porcine liver
pH	6.76 ± 0.05	6.56 ± 0.07	6.77 ± 0.01	6.37 ± 0.06

Values are mean ± S.D.

Table 3. Yield of meat by-product extracts by different extraction methods (unit : %)

	Control	Hot water	Enzymatic Hydrolysis
Bovine kidney	70.24 ± 2.96 ^{Bbc}	79.92 ± 1.58 ^{Aa}	78.28 ± 4.48 ^A
Bovine liver	73.52 ± 1.46 ^{Bab}	80.48 ± 0.82 ^{Aa}	80.80 ± 1.05 ^A
Bovine trachea	68.13 ± 2.84 ^{Cc}	76.30 ± 1.07 ^{Bb}	81.12 ± 1.53 ^A
Porcine kidney	76.26 ± 3.64 ^a	79.59 ± 1.12 ^a	78.87 ± 1.18
Porcine liver	78.14 ± 1.99 ^a	80.00 ± 0.41 ^a	76.55 ± 3.02
Porcine trachea	74.25 ± 2.34 ^{Bbc}	74.68 ± 2.58 ^{ABb}	77.27 ± 1.64 ^A
Chicken trachea	78.26 ± 1.97 ^{Ba}	80.19 ± 0.93 ^{ABa}	81.46 ± 0.98 ^A

^{A-C} Mean ± S.D with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

^{a-c} Mean ± S.D with different superscripts in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

에 비해 열수추출이나 효소가수분해 추출에 의해 얻어지는 수율이 높게 나타났다($P < 0.05$). 일반추출에서는 닭의 기관이 유의적으로 높게 나타났다(78.26 ± 1.97) 가장 낮은 값은 소의 기관(68.13 ± 2.84)이었다($P < 0.05$). 열수추출은 고온의 상태에서 단백질의 분화에 의해 이루어지는데 열수추출의 경우 가장 높은 값은 소의 간(80.48 ± 0.82) 이었고 돼지의 기관(74.68 ± 2.58)이 가장 낮은 값을 보였다($P < 0.05$). 열수추출물의 경우 가열로 인해 고분자화합물이 파괴되어 일반추출시보다 수율이 높게 나타나는 것으로 사료된다.

4. 콘드로이틴 함량 측정

Table 4는 시료로부터 각각의 추출방법을 통해 얻어진 콘드로이틴의 함량을 나타낸 것이다. 추출방법간의 비교에 있어 모든 시료에서 일반추출에 비해 열수추출이나 효소가수분해한 시료가 콘드로이틴 함량이 유의적으로 높게 나왔다($P < 0.05$). 또한 소의 기관에서의 콘드로이틴의 함량은 모든 추출방법에서 각각 14.64 ± 2.88 , 19.79 ± 1.63 , $21.19 \pm 1.82\%$ 로 다른 장기에 비해 유의적으로 높게 나타났다($P < 0.05$). 닭의 기관은 열수추출물의 경우 돼지의 기관과 비슷한 수준을 보여 가능성을 보여주었다. glycos-

aminoglycan 이라고도 불리우는 황산콘드로이틴은 D-glucuronic acid, N-acetyl-D-galactosamine, sulfate가 등량의 몰수로 구성되어 있는 점질성 다당류(mucopolysaccharide)이다(이와 강, 1994). 이 황산콘드로이틴사슬은 proteoglycan의 단백질의 핵과 연결되어 있어 생물학적 중합체 역할을 하게 되는데, 추출방법간의 황산콘드로이틴 함량의 차이는 다양한 동물의 조직으로부터 glycosaminoglycan 이란 고분자가 여러 다양한 추출방법이나 처리방법을 통해 proteoglycan 단백질의 sulfate 기의 위치가 변화하기 때문이다(Kitagawa 등, 1995). 해삼의 콘드로이틴 함량이 20~25% 수준인 것을 감안할 때 버려지는 돼지의 기관이나 닭의 기관은 상업적인 활용의 가치가 있다고 보이며 닭의 기관 외의 부산물도 조사해볼 가치가 있는 것으로 생각된다. 소의 경우는 돼지나 닭에 비해 상대적으로 가격이 비싸고, 우리나라에서는 소의 도축 시 도체에 신장을 붙여 나가므로 구입이 용이하지 않은 단점이 있다. 그러나 타 축종에 비해 높은 함량을 보이므로 시료의 선택 및 관리가 제대로 이루어진다면 높은 활용 가치가 있을 것으로 사료된다.

Table 4. Comparison of chondroitin sulfate (CS) contents extracted by different extraction methods (unit : %)

	Control	Hot water	Enzymatic hydrolysis
Bovine kidney	4.47 ± 1.55^{Bcd}	6.74 ± 0.89^{ABcd}	7.81 ± 1.24^{Abc}
Bovine liver	9.83 ± 1.39^b	9.87 ± 2.52^b	9.29 ± 1.24^b
Bovine trachea	14.64 ± 2.88^{Ba}	19.79 ± 1.63^{Aa}	21.19 ± 1.82^{Aa}
Porcine kidney	1.10 ± 0.82^{Be}	4.27 ± 0.89^{Ade}	3.61 ± 1.93^{ABe}
Porcine liver	1.35 ± 1.91^e	3.41 ± 1.79^e	3.90 ± 1.39^{de}
Porcine trachea	6.57 ± 1.18^{Bc}	8.51 ± 0.80^{Abc}	9.99 ± 0.51^{Ab}
Chicken trachea	3.49 ± 0.79^{Cde}	8.43 ± 0.96^{Abc}	6.21 ± 0.87^{Bcd}

^{A-C} Mean±S.D with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

^{a-c} Mean±S.D with different superscripts in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

Table 5. Yield of precipitates extracted by different concentrations of ethanol (unit : %)

Ethanol conc. (%)	Control			Hot water			Enzymatic hydrolysis		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90
Bovine kidney	1.17±0.14	1.24±0.14	1.93±0.15	1.07±0.06	1.41±0.35	1.94±0.55	1.32±0.10	0.87±0.72	2.14±0.17
Bovine liver	0.95±0.36	1.18±0.14	1.83±0.28	1.07±0.31	1.35±0.07	2.61±0.71	1.55±0.48	1.43±0.32	2.23±0.26
Bovine trachea	2.06±0.10	2.16±0.26	2.90±0.71	2.49±0.34	1.82±0.19	3.34±0.50	2.57±0.39	2.40±0.52	3.26±0.14
Porcine kidney	0.79±0.34	0.78±0.33	1.18±0.15	1.16±0.22	1.32±0.58	1.58±0.38	1.26±0.13	1.83±0.77	2.21±0.37
Porcine liver	1.00±0.19	1.16±0.16	1.71±0.34	0.89±0.19	1.47±0.21	1.84±0.22	0.84±0.73	1.59±0.37	1.84±0.67
Porcine trachea	1.43±0.35	1.48±0.25	2.39±0.65	1.32±0.27	1.55±2.76	2.76±0.77	1.94±0.09	2.71±0.40	2.99±0.37
Chicken trachea	1.26±0.70	1.52±0.54	1.83±0.43	1.33±0.25	1.56±0.30	2.15±0.65	1.69±0.15	1.83±0.59	2.13±1.15

Values are mean ± S.D.

5. 분별침전의 수율측정

Table 5는 각각의 추출방법에 의해 얻어진 추출물을 다양한 농도의 에탄올을 이용해 침전시켜 좀 더 효과적인 수율을 얻기 위해 실험을 수행한 결과이다. 전체적인 시료에 있어 소의 기관이 가장 높은 값을 나타내었으며, 앞서 제시된 결과와 유사한 결과를 나타내었는데 열수추출물과 효소가수분해 추출물이 대조구에 비해 많은 침전을 하였다. 시료별로 볼 때 에탄올 농도가 90%일 때 돼지의 간이 가장 낮은 값(1.71±0.34, 1.84±0.22, 1.84±0.67)을 나타냈고 소의 기관이 가장 높은 값(2.90±0.71, 3.34±0.50, 3.26±0.14)을 나타내었다. 에탄올 농도별로 살펴보면 모든 시료에서 30%, 60%의 경우에 비해 90%의 농도일 때 결과가 더 우수하였으나 모든 처리구간에 유의적인 차이는 없었다.

IV. 요약

본 연구는 소, 돼지, 닭의 부산물인 신장, 간,

기관으로부터 황산콘드로이틴을 추출하고 추출 수율을 극대화할 수 있는 추출조건을 탐색하고자 실시하였다. 추출방법은 일반추출방법, 열수추출방법 및 효소가수분해 추출방법을 이용하였으며 각 추출방법에 따른 수율 및 추출물내의 황산 콘드로이틴의 양을 측정하였다. 추출방법간의 비교에서 일반추출법(대조구) 보다 열수추출과 효소가수분해 추출의 수율이 더 높게 나타났으며 유의적인 차이를 보였다(P<0.05). 효소가수분해 추출에서 식육부산물 중 가장 높은 값을 나타낸 것은 닭 기관, 소 기관, 소 간 순이었다(P<0.05). 모든 추출방법 간에 있어서 소기관의 황산콘드로이틴 함량이 가장 높았으며 효소가수분해 추출방법에 의한 소기관의 황산콘드로이틴 함량이(21.19±1.82) 가장 높은 수치를 나타내었다(P<0.05). 추출물의 수율에 영향을 미치는 에탄올에 의한 추출물 분별침전에서는 에탄올 농도가 증가할수록 황산콘드로이틴 수율이 증가하였다. 결론적으로 식육부산물로부터 황산콘드로이틴을 추출하는데 있어 효소가수분해방법이 가장 좋은 결과를 나타내었다.

V. 사 사

본 연구는 농림기술개발 사업과제 수행결과
의 일부로 연구비 지원에 감사드립니다.

VI. 인 용 문 헌

1. AOAC. 1995. Official methods of analysis. 16th ed, Association Official Analytical Chemists, Washington, DC.
2. Asher, R. A., Morgenstern, D. A., Moon, L. D. F. and Fawcett, J. W. 2001. Chondroitin sulfate proteoglycans:inhibitory components of the glial scar. *Progress in Brain Research*. 132:611-619.
3. Dietrich, C. P., Sampaio, L. O. and Olga, M. S. 1976. Characteristic distribution of sulfated mucopolysaccharides in different tissues and in their respective mitochondria. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 71:1-10.
4. Garnjanagoonchorn, W., Wongekalak, L. and Engkagul, A. 2007. Determination of chondroitin sulfate from different sources of cartilage. *Chemical Engineering. Proc.* 46:465-471.
5. Hui, Y. H., Nip, W. K., Rogers, R. W. and Young, O. A. 2001. Meat science and applications. Marcel Dekker, Inc., New York.
6. Hungerford, D. 2003. The role of Chondroitin sulfate in the management of osteoarthritis. [//www.slackinc.com/bone/ortoday/supp/0603/symposium.htm](http://www.slackinc.com/bone/ortoday/supp/0603/symposium.htm).
7. Hungerford, D. and Jones, L. C. 2003. Glucosamine and Chondroitin sulfate are effective in the management of osteoarthritis. *The Journal of arthroplasty* 18(3):1.
8. Jo, J. H., Do, J. R., Kim, Y. M., Kim, D. S., Lee, T. K., Kim, S. B., Cho, S. M., Kang, S. N. and Park, D. C. 2005. Optimization of shark cartilage hydrolysis for the preparation of Chondroitin sulfate. *Food sci. biotechnol.* 14(5): 651-655.
9. Kitagawa, H., Tanaka, Y., Tsuchida, K., Goto, F., Ogawa, T., Lidholt, K., Lindahl, U. and Sugahara, K. 1995. N-acetylgalactosamine transfer to the common carbohydrate- protein linkage region of sulfated glycosaminoglycans-identification of UDP-GalNAc: chondro-oligosaccharide a N-acetylgalactosaminyltransferase in fetal bovine serum. *J. Bio. Chem.* 270:22190-22195.
10. Lignot, B, Lahogue, V. and Bourseau, P. 2003. Enzymatic extraction of Chondroitin sulfate from skate cartilage and concentration-desalting by ultrafiltration. *Journal of biotechnology* 103:281-284.
11. McAlindon., T. E., Lavalley, M. P., Gulin, J. P. and Felson, D. T. 2000. Glucosamine and Chondroitin for treatment of osteoarthritis; a systematic quality assessment and meta-analysis. *J. Am. Med. Assoc.* 283:1469-1475.
12. Mourao, P. A. S., Boisson-Vidal, C., Tapon-Bretaudiere, J. Drouet, B., Fischer A. B. and Marie, A. 2001. Inactivation of Thrombin by a Fucosylated Chondroitin Sulfate from Echinoderm. *Thrombosis Research.* 102:167-176.
13. Mourao, P. A. S. and Dietrich, C. P. 1979. Chondroitin sulfates of the epiphysial cartilages of different mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology.* 62:115-117.
14. Park, D. C., Gu, Y. S., Ji, C. I. and Kim, S. B. 2001. Enzymatic hydrolysis conditions for preparation of sea cucumber hydrolysates containing Chondroitin Sulfate. *Food sci. biotechnol.* 10(6): 686-689.
15. Rivera, J. A., Sebranek, J. G., Rust, R. E. and Tabatabai, L. B. 2000. Composition and protein fractions of different meat by-products used for petfood compared with mechanically separated chicken. *Meat sci.* 55:53-59.
16. SAS. 2003. SAS/STAT Software for PC. Release 6.11, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
17. Sanne, V., Larnkjoer, A., Østergaard, P., Nielsen, J. I. and Nordfang, O. 1994. Characterization of the binding between tissue factor pathway inhibitor and glycosaminoglycans. *Thrombosis*

- Research. 75:173-183.
18. Toledo, M. Olga, M. S. and Dietrich, C. P. 1977. Tissue specific distribution of sulfated mucopolysaccharides in mammals. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 498:114-122.
 19. Volpi, N., Rita, F. and Venturelli, T. 1995. Activity of chondroitin ABC lyase on dermatan sulfate partially degraded by cupric-ion-mediated free-radical treatment. *J. Chromatography B: Biomed. Sci. and Applications*. 669:197-205.
 20. 유익중, 김정환, 류화정. 1995. 쇠고기 열수추출 잔사를 이용한 산 가수분해물의 생산조건에 관한 연구. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 15(1):58-62.
 21. 이영근, 강정미. 1994. Spectrophotometer 및 HPLC에 의한 식용달팽이의 황산콘드로이틴 분석. *한국영양식량학회*. 23(6):945-949.
 22. 한국식품공전. 2001. Mucopolysaccharide protein food. *Korean food industry association*. p. 352-355.
 23. *Meat Journal*. 2007. 3월호. 국내통계. (접수일자 : 2007. 6. 15. / 채택일자 : 2007. 8. 20.)