

해삼(*Apostichopus japonicus*) 자원 유형의 일반성분 특성과 콘드로이틴 황산 추출 공정 비교

박정현 · 조범수¹ · 신지영¹ · 양지영^{1*}

엔에이치바이오, ¹국립부경대학교 식품공학과

Comparison of Proximate Composition Characteristics of Sea Cucumbers *Apostichopus japonicus* Resource Types and Chondroitin Sulfate Extraction Processes

Joung-Hyun Park, Beom-Su Cho¹, Jiyoung Shin¹ and Ji-Young Yang^{1*}

NHBio, Busan 47247, Republic of Korea

¹Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

Establishing appropriate process selection criteria for chondroitin sulfate extraction requires consideration of both the proximate composition characteristics of sea cucumber *Apostichopus japonicus* resource types and the resulting extraction performance. Accordingly, this study evaluated various extraction and hydrolysis processes for preparing chondroitin sulfate (CS)-containing extracts from sea cucumber. Various physical, chemical, and enzymatic extraction processes including hot-water extraction, autoclaving, acid hydrolysis, alkali hydrolysis, and enzymatic hydrolysis, were systematically compared using extraction yield and CS content as common evaluation indices. Non-enzymatic methods demonstrated varying extraction efficiencies under different processing conditions, whereas enzymatic hydrolysis generally resulted in higher extraction yields with comparable CS recovery. Among the tested methods, enzymatic hydrolysis using alcalase provided a balanced outcome in terms of extraction yield and chondroitin sulfate recovery, suggesting its viability as a standardized process for CS extraction. This study provides practical insights into process selection for the industrial utilization of sea cucumber-derived functional materials.

Keywords: Chondroitin sulfate, Enzymatic hydrolysis, Extraction process, Proximate composition, Sea cucumber

서론

해삼(sea cucumber *Apostichopus japonicus*)은 극피동물문(Phylum Echinodermata), 해삼강(Class Holothuroidea)에 속하는 대표적인 해양 무척추동물로 한국 연안에서 주로 서식하는 종은 청해삼 종류이며, 이 외에도 홍해삼 및 흑해삼이 나타나고 있으나 이들은 동일 종(species)으로 분류되는 해삼 자원이다(Kim et al., 2024). 해삼은 해양 기원의 생리활성 다당체를 함유하는 자원으로 주목받아 왔는데 그중에서도 푸코실화 콘드로이틴황산(fucosylated chondroitin sulfate, FCS)은 콘드로이틴 황산(chondroitin sulfate, CS) 골격에 푸코오스 잔기가 결합된

독특한 구조를 가지며 항응고, 항염증 등 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Farrag et al., 2023; Ustyuzhanina et al., 2023). 최근의 연구들은 해삼 유래 황산화 다당체의 건강 기능적 및 치료적 가능성을 강조하면서 그 구조적 다양성과 기능적 범위를 보고하고 있다. 이에 따라 CS/FCS를 안정적이고 재현성 있게 추출·농축할 수 있는 추출·가수분해 기반 공정 기술 개발의 필요성이 제기되고 있다(Ustyuzhanina et al., 2020; Yin et al., 2022). 1990년대 후반에서 2000년대 초 사이에 해삼 체벽 및 조직에 CS/FCS가 존재한다는 사실이 보고되었으며(Gu et al., 1999; Landeira-Fernandez et al., 2000; Park et al., 2001), 이후 추출물 및 정제된 고분자 수준에서 생리활성

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5828 Fax: +82. 51. 629. 5824

E-mail address: jyyang@pknu.ac.kr



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.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2026.0036>

Korean J Fish Aquat Sci 59(1), 36-42, February 2026

Received 31 December 2025; Revised 28 January 2026; Accepted 4 February 2026

저자 직위: 박정현(대표), 조범수(대학원생), 신지영(연구원), 양지영(교수)

이 구명되었다(Ogushi et al., 2005). 2000년대 초반의 연구들은 해삼 황산화 다당체의 생리학적 효과를 제시하며 CS/FCS 추출의 필요성을 뒷받침하였고, 이어진 구조 연구들을 통해 다양한 종에서 FCS의 구조적 특성이 구명되면서 해삼이 일관된 CS/FCS의 공급원임이 확립되었다(Ustyuzhanina et al., 2023; Thinh et al., 2024).

현재까지 해삼으로부터 CS/FCS를 추출하는 방법은 크게 열수 추출(hot-water extraction), 가압 열처리(autoclaving), 산 또는 알칼리 가수분해, 그리고 효소 가수분해 등으로 구분된다. 전통적인 열수 및 가압 추출법은 조직의 분해를 유도하나 고온 처리로 인한 성분 변형과 갈변의 가능성이 있고, 화학적 처리법은 공정 효율성은 높을 수 있으나 잔류 화학물질 및 구조 손상의 우려가 따른다. 반면 효소 가수분해법은 비교적 온화한 조건에서 다당체를 방출할 수 있어 CS/FCS 구조 보존에 유리하며, 최근에는 효소 처리와 이온교환 분리법을 결합하거나 친환경 추출 접근법으로 평가되는 사례가 보고되고 있다(Sang et al., 2024; Shi et al., 2024; Li et al., 2025).

해삼 유래 CS 회수를 위한 열수, 가압 열수, 산-알칼리 처리 및 효소 가수분해 기반 추출 공정은 이미 다양한 선행연구에서 보고되어 왔다(Vázquez et al., 2013; Shen et al., 2023; Sang et al., 2024; Chamika et al., 2025). 그러나 이러한 공정들을 해삼의 전처리 및 추출 단계에 적용하고, 공정 결과물의 추출 수율과 CS 함량을 동일 지표 체계에서 체계적으로 비교·평가한 연구는 제한적이다. 한편, 오징어 연골 등 다른 해양생물자원을 대상으로 한 연구에서는 초음파-효소 병용법이 CS 회수율을 향상시킬 수 있음을 보고한 바 있으나(Tsai et al., 2023), 이와 같은 접근을 해삼을 대상으로 한 추출 공정 조건(온도, 압력, 시간, pH 및 효소계)에 직접 적용하여 공정 간 성능을 비교한 사례는 아직 충분히 축적되지 않았다. 이에 본 연구에서는 해양생물자원의 고도이용을 위한 소재화 관점에서, 해삼을 대상으로 효소적 및 비효소적 추출 공정을 적용하고, 각 공정에서 얻어진 추출물을 추출 수율과 CS 함량이라는 동일 지표로 비교·평가함으로써, 기존에 축적된 공정 정보를 CS 회수 관점에서 비교 가능한 형태로 정리하여 공정 검토를 위한 비교 자료를 제공하고자 한다. 이는 산업적 CS 회수 공정 설계 시 공정 선택의 정량적 근거를 제공하기 위함이다.

재료 및 방법

실험 재료

본 연구에 사용된 해삼 시료는 외형적 형태학적 특징을 기준으로 동일 종인 *A. japonicus*로 동정하였으며, 체색에 따른 당시의 유통 명칭을 기준으로 홍해삼, 청해삼 및 흑해삼으로 분류하였다. 각 시료는 부산광역시 영도구 인근 해역에서 동일 유통 시점에 확보된 것으로, 일반성분 분석 및 비교 분석을 수행하기에 충분한 양을 대상으로 하였다. 시료는 냉장 상태로 운반한 후

수세하였으며 육과 내장을 분리하여 균질화한 뒤, -20°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

수율의 측정

시료의 수율은 원 시료에서 추출 후, 잔사 양을 뺀 양을 원 시료량에 대한 백분율로 나타내었다. 즉, 시료를 가수분해 혹은 추출 후, 원심분리(1,400 g, 30분)하여 얻은 불용 잔사와 원 시료의 무게 차를 구하여 추출 전·후 시료의 무게 백분율로써 수율을 구하였다.

콘드로이틴황산의 정량

황산기 정량법

CS은 Nishino and Nagumo (1991)의 방법에 따라 가수분해하고, Dodgson and Price (1962)의 방법에 따라 측정하여 황산기를 정량하는 방법으로 정량하였다. 즉, teflon-lined cap이 있는 reaction vial에 일정량의 시료(SO₄²⁻의 함량이 0–200 mg)와 90% formic acid 0.5 mL를 넣고 질소로 치환한 다음 100°C에서 6시간 동안 1차 가수분해한다. 가수분해 후, 다시 증류수 2.5 mL를 첨가하여 희석시키고 질소로 치환한 후, 100°C에서 2시간 2차 가수분해하여 시험용액으로 사용하였다. 시험용액 0.2 mL에 4% TCA용액 3.8 mL 및 BaCl₂-gelatin 시약(증류수 400 mL에 gelatin 2 g을 넣고 65°C에서 녹여 4°C에서 하룻밤 방치한 후 이 액에 BaCl₂ 2 g을 넣어 녹인 후, 2–3시간 방치 후 사용) 1 mL를 첨가하여 교반한 다음, 20분간 방치하고 360 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량선은 K₂SO₄를 이용하여 작성하였다.

CS의 함량은 측정된 황산기(BaSO₄ 등가량)에 분자량 비를 고려한 환산 계수 2.2를 적용하여 산출하였다.

글루쿠론산 정량법

글루쿠론산 정량에 의한 CS의 정량은 건강기능식품공전(제 4. 3-28)에 준하여 실시하였다. 즉, 검체 약 10 g을 수분이 흡수되지 않도록 빨리 분쇄 혼합하고 0.3 g을 정밀히 달아 물을 가하여 혼합한 것을 정확히 100 mL로 하였다. 이 액 4 mL를 정확히 취하여 물을 가해 정확히 20 mL로 하고 정량분석용 여지(5종 C)를 사용하여 여과한 것을 검액으로 하였다. 별도 2개의 비색관에 붕산나트륨황산 5 mL씩을 정밀히 달아 취하여 얼음물로 충분히 냉각하였다. 각각에 검액과 표준용액을 정확히 1 mL씩을 취해 시액 위에 주의하여 가하고 냉각하면서 혼합하고 수욕상에서 10분간 가열한 후, 즉시 얼음물로 냉각하였다. 각각에 카바졸시액 0.2 mL를 정확히 가하여 혼합하고 수욕상에서 15분간 가열하고 얼음물로 실온까지 냉각하였다. 이들의 액에 대하여 물 1.0 mL를 사용하여 동일하게 조작한 것을 대조액으로 하여, 530 nm에서 흡광도를 분광광도계로 측정하고 다음 식에 따라 CS의 함량을 구하였다.

$$\text{콘드로이틴황산의 함량} = \text{글루쿠론산(\%)} \times 2.593$$

$$\text{콘드로이틴황산의 함량(\%)} = \frac{\frac{\text{검액의 흡광도}}{\text{표준액의 흡광도}} \times \text{표준품(g)} \times 1.1023 \times 20}{\text{시료의 양(g)} \times 4} \times 100 \times 2.593$$

여기서 2.593: 콘드로이틴의 분자량/글루쿠론산의 분자량
1.1023: 글루쿠론산의 분자량/δ-글루쿠로노락톤의 분자량

열수 추출물의 제조

시료 일정량에 10배 량의 증류수를 가한 후 100°C에서 가열 시간별(30, 60, 90, 120, 180 및 240분) 열수 추출하였다. 해삼 유래 생리활성 성분의 회수를 위한 열 기반 추출은 기존 연구에서도 적용된 바 있다(Sang et al., 2024; Chamika et al., 2025).

Autoclave에 의한 추출물의 제조

시료 일정량에 10배 량의 증류수를 가하고 autoclave (121°C, 1.5 kgf/cm²)내에서 시간별(30, 60, 90, 120 및 180분) 처리하였다. 고온·고압 환경을 활용한 열수 기반 추출 공정은 해삼 유래 성분 회수 연구에서 보고된 바 있다(Chamika et al., 2025).

산 가수분해물의 제조

시료 일정량에 10배 량의 0.1 N HCl (pH 1.2)을 가한 후 100°C에서 시간별(30, 60, 90, 120 및 180분)로 산 가수분해를 수행하였다. 콘드로이틴황산의 제조 및 정제를 위한 산 처리 공정은 다양한 선행 연구에서 보고되어 왔다(Shen et al., 2023).

알칼리 가수분해물의 제조

시료 일정량에 10배 량의 0.1 N NaOH (pH 9.0)를 가한 후 100°C에서 시간별(60, 90, 120, 180 및 240분) 알칼리 가수분해를 수행하였다. 해양 부산물로부터 다당류 성분을 회수하기 위한 알칼리 처리 공정 또한 보고된 바 있다(Vázquez et al., 2013).

효소 가수분해물의 제조

효소 가수분해는 해삼 유래 CS 추출을 위해 기존 연구에서도 주로 사용되어 온 방법으로, 본 연구에서는 공정 간 성능을 비교·평가하기 위한 기준 공정(reference process)으로 설정하여 적용하였다. 효소 가수분해물의 제조에는 alcalase, 복합효소(complex enzyme), α-chymotrypsin 및 papain을 사용하였다. Alcalase와 복합효소는 고수율 지향 효소군으로, α-chymotrypsin과 papain은 완화된 분해 효소군으로 구분하여 가수분해를 수행하였다. 균질화한 시료 10 g에 단백질 분해효소를 2% (dry basis, w/w)의 농도로 첨가하고 10배 량의 완충용액을 가한 다음 각 효소의 최적 활성 조건에서 가수분해하였다. 즉, α-chymotrypsin (25°C, pH 7.8; Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), papain (25°C, pH 6.2; Sigma CO.), complex-enzyme (50°C, pH 7.0; Amorepacific Co., Seoul, Korea) 및 alcalase (55°C, pH 9.0; Alcalase 0.6 L; Novo Nor-

disk, Bagsvaerd, Denmark)를 사용하여 가수분해하였다. 효소 반응 종료 후 효소를 실행시키기 위하여 95°C 탕욕 중에서 10분 간 처리하였다. 이후 시료는 공정간 비교를 위해 공통 후처리 과정을 거쳐 효소 가수분해물로 제조하였다.

추출물 및 가수분해물의 공통 후처리

각 추출물 및 가수분해물(열수, autoclave, 산·알칼리 가수분해물 및 효소 가수분해물)은 처리 공정 종료 후 원심분리(1,400 g, 30분)를 통해 불용분을 제거하였다. 상층액은 회수하여 농축한 뒤, 모든 시료에 대해 동일한 조건에서 건조하여 분말 시료로 제조하였다.

통계 처리

본 연구의 자료에 대한 통계처리는 R statistical software program (R version 4.4.1)을 이용하여 수행하였으며, 각 집단별 측정 항목에 대해 평균±표준편차(mean±SD)를 산출하였다. 일반성분 분석 결과는 시료의 기초적 조성 특성을 파악하기 위하여 평균값과 표준편차로 제시하였다. 효소 가수분해 및 추출 공정 비교 실험에 대해서는 one-way ANOVA와 Duncan's multiple range test를 적용하였다. 모든 통계적 유의성 검정은 P<0.05 수준에서 수행하였다.

결과 및 고찰

원료의 선정

해삼(*A. japonicus*)의 공식 명칭은 돌기해삼(*A. japonicus*; MABIK, 2025)이다. 소비자들은 육 조직의 색에 따라 홍해삼, 청해삼, 흑해삼으로 구분하고 있는데 이들 3종 해삼의 육과 내장 부위를 구분하여 각각의 일반성분을 분석하고 비교하였다(Table 1). 그 결과, 건조물 기준 육 부위에서 조단백질 함량은 홍해삼(42.93±2.72%)이 비교적 높았으며 다음으로 흑해삼(37.98±0.17%)과 청해삼(32.9±1.30%)의 순이었다. 한편 탄수화물은 흑해삼(10.69%)이 비교적 높은 함량을 보였으며 다음으로 청해삼(9.32%)과 홍해삼(8.52%)의 순이었다. 황산다당류의 일종인 CS는 구조적으로 탄수화물 계열 성분에 해당하므로, 일반성분 중 탄수화물 함량은 원료 내 다당류 기반 성분 특성을 간접적으로 반영하는 지표로 해석할 수 있다. 일반성분 분석 결과, 해삼 육의 탄수화물 함량은 색상 유형간 큰 차이를 보이지 않았으며, 건조물 기준으로 흑해삼과 홍해삼 사이의 범위에 해당하는 비교적 안정적인 수준을 나타내었다. 본 연구에서는 성분 변동성이 제한적인 원료를 대상으로 추출 공정 간 성능을 비교·평가하고자 하였으며, 이러한 성분적 특성과 더불어 국내 유통 및 양식 가능성을 고려하여 청해삼을 CS 추출 공정 평가를 위한 대표 원료로 선정하였다.

물리·화학적 방법에 의한 추출 공정 비교

해삼으로부터 CS 소재를 제조하기 위해 100°C에서 열수 추

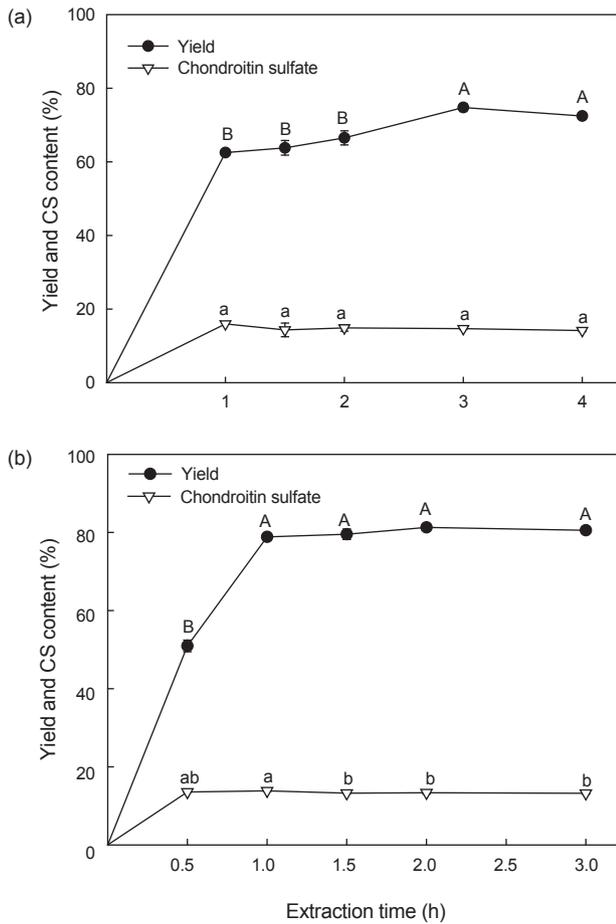


Fig. 1. Changes in yield and chondroitin sulfate (CS) content of water soluble extracts from sea cucumber homogenate according to heating (a) and autoclave (b) treatment time. The homogenates were extracted with 10 volumes per weight (v/w) of water (pH 6.8) at 100°C and 1 kgf/cm² or at 121°C and 1.5 kgf/cm² for various time intervals. Different letters indicate significant differences within each parameter (P<0.05).

출하여 추출시간에 따른 추출물의 수율과 CS 함량을 Fig. 1a에 나타내었다. 그 결과, 수율은 추출 2시간까지는 62.5–66.5%를 보였으나, 3시간 가열하였을 때는 약 74.8%로 증가하였다 (P<0.05). CS의 함량은 추출 1시간째 약 16% 수준을 보였으며 가열시간에 따른 차이는 크지 않았다. 따라서, 해삼을 열수 추출할 때는 3시간 추출하면 비교적 높은 수율(74.8%)을 얻을 수 있었다. 해삼을 autoclave의 조건인 고온(121°C) 및 고압(1.5 kgf/cm²) 하에서 추출시간에 따른 수율과 CS 함량을 Fig. 1b에 나타내었다. 그 결과, 수율은 추출 30분에 약 51%에서 추출 1시간에 78.9%로 증가한 후 추출 3시간까지 뚜렷한 증감 없이 80% 수준을 보였다. CS의 함량은 가열시간에 따른 뚜렷한 증감 없이 16–17%의 수준을 보였다. 고온 고압 하 추출에서의 CS 함량은 추출 1시간째 약 13.9%를 보였으나 이후 뚜렷한 증감 없이 13% 이상의 함량을 보였다. 가열시간과 경제성을 고려할 때 해삼의 autoclave 추출은 1시간에서 수율과 CS함량이 동시에 높게 나타났다.

해삼으로부터 CS 소재를 제조하기 위해 0.1 N HCl (pH 1.2)을 사용하여 100°C에서 산가수분해를 하고 가열시간에 따른 가수분해물의 수율과 CS의 함량을 측정하여 Fig. 2a에 나타내었다. 그 결과, 수율은 가열시간 30분에서 81.0%로 나타났고, 60분 가열하였을 때는 유의적으로 89.3%로 증가하였다(P<0.05). 그 이후 가열시간 90분에서 180분까지는 90–94%로 그 증가가 둔화되는 경향을 보였다. 또한, CS의 함량은 15–17% 내외로 가열시간에 따른 큰 차이는 나타나지 않았으며, 60분 가열하였을 때 17.4%로 30분의 14.9% 대비 유의적으로 높았다 (P<0.05). 따라서, 해삼을 산 가수분해할 때는 가수분해 시간을 60분으로 할 때, 수율(89.3%)과 CS 함량(17.4%)의 측면에서 상대적으로 높은 수율을 보였다.

해삼으로부터 CS 소재를 제조하기 위해 증류수에 0.1 N NaOH를 첨가하여 pH 9.0으로 조정할 알칼리 액으로 100°C에서 가수분해하고 가수분해물의 수율과 CS의 함량을 측정하여 Fig. 2b에 나타내었다. 그 결과, 수율은 추출 120분일 때 69.1%에서 180분일 때 73.3%로 유의적으로 높은 수율을 보

Table 1. The proximate composition of sea cucumbers *Apostichopus japonicus*

| Items | Color-based morphotype of sea cucumber | | | | | |
|-------------------------------|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | Red | | Blue | | Black | |
| | Meat | Intestine | Meat | Intestine | Meat | Intestine |
| Moisture (%) | 93.02±0.08 | 91.84±0.10 | 94.62±0.04 | 90.37±0.03 | 94.10±0.15 | 92.18±0.13 |
| Crude protein (%) | 3.00±0.19 (42.93±2.72) ¹ | 4.13±0.06 (59.20±0.86) | 1.77±0.07 (32.9±1.30) | 5.34±0.07 (55.43±0.72) | 2.24±0.01 (37.98±0.17) | 3.89±0.06 (49.70±0.77) |
| Crude lipid (%) | 0.84±0.1 (11.97±1.39) | 1.66±0.05 (20.34±0.6) | 0.69±0.1 (12.74±1.77) | 1.71±0.29 (17.76±3.02) | 0.46±0.01 (7.69±0.09) | 1.53±0.03 (19.51±0.33) |
| Crude ash (%) | 2.35±0.07 (23.97±0.02) | 1.45±0.05 (14.75±0.05) | 2.30±0.02 (23.46±0.02) | 1.65±0.05 (16.84±0.01) | 1.94±0.02 (19.78±0.02) | 1.56±0.00 (19.78±0.02) |
| Carbohydrate (%) ² | 0.60 (8.52) | 0.70 (8.58) | 0.51 (9.32) | 0.88 (9.26) | 0.62 (10.69) | 0.71 (9.09) |

¹Numbers in parenthesis mean dry values. ²100-(crude protein+crude lipid+crude ash).

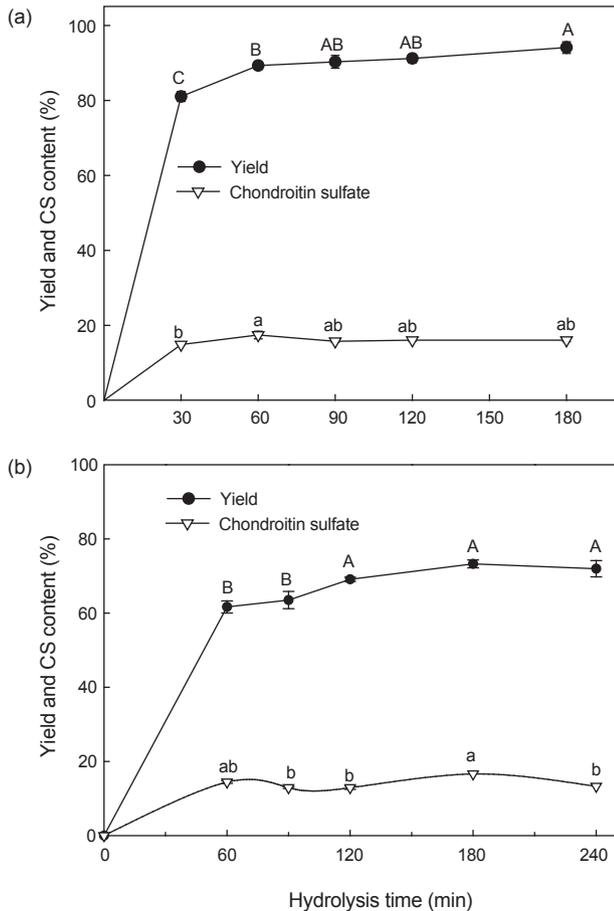


Fig. 2. Changes in yield and chondroitin sulfate (CS) content according to hydrolysis time under acid (a) and alkali (b) treatments. The homogenate was mixed with 0.1 N HCl (pH 1.0) or water adjusted to pH 9.0 with 0.1 N NaOH at a 1:10 (v/w) ratio and hydrolyzed at 100°C. Different letters indicate significant differences within each parameter ($P < 0.05$).

였으나($P < 0.05$) 추출 240분까지 큰 증감없이 72–73%를 보였다. CS의 함량은 추출 180분에 16.6%로 유의적으로 높았으나($P < 0.05$) 가열시간에 따른 큰 변화 없이 대체로 13–16% 수준이었다. 따라서, 해삼을 알칼리 가수분해할 때는 가수분해 시간을 180분으로 할 때가 수율(73.3%)과 CS의 함량(16.6%)의 측면에서 효과적인 것으로 나타났다.

효소 가수분해에 따른 추출 특성

해삼의 CS는 단백질과 결합된 상태로 존재한다. 그러므로, CS 소재를 제조하기 위해서는 단백질의 효율적인 가수분해가 필요하므로 고수율 지향 효소군과 온화한 분해 효소군을 이용하여 해삼을 효소 농도 2%, 각 효소의 최적조건에서 4시간 가수분해하고 가수분해물의 수율과 CS를 측정하였다(Table 2). 그 결과, 수율에서는 alcalase ($76.9 \pm 1.3\%$) 및 α -chymotrypsin

($75.4 \pm 1.3\%$)으로 가수분해했을 경우 유의적으로 높았으며 황산기 및 CS 함량에서는 alcalase ($6.8 \pm 0.5\%$; $14.96 \pm 1.1\%$) 및 complex-enzyme ($6.7 \pm 0.5\%$; $14.74 \pm 1.1\%$)이 유의적으로 높은 수준을 보였다($P < 0.05$). Alcalase 이외에 complex-enzyme도 황산기 및 CS 함량에서는 대체로 효과가 있었으나 alcalase의 76.9%보다 수율이 55.3%로 낮았다. 따라서, alcalase는 시험한 효소 중에서 비교적 높은 추출 수율과 CS 함량을 동시에 나타내어 공정 선택의 기준 효소로 활용 가능성을 보여주었다.

Alcalase는 선행 연구(Park et al., 2001)에서 가수분해도를 기준으로 비교적 높은 가수분해도와 CS 회수를 보인 효소로 보고된 바 있으며, 본 연구에서는 해당 효소를 공정 간 성능 비교를 위한 기준 효소로 적용하여, 55°C에서 가수분해를 수행하고 반응시간에 따른 가수분해물의 추출 수율과 CS 함량을 Fig. 3에 나타내었다. 기존 연구가 주로 가수분해도의 변화에 초점을 맞춘 반면, 본 연구에서는 효소적 및 비효소적 추출 공정 전반에서의 물질 회수를 반영할 수 있는 실질적인 지표로서 추출 수율을 채택하고, 이를 CS 함량과 함께 비교·평가하였다. 그 결과, 수율은 반응 4시간까지 94.3%로 유의적으로 급속히 증가한 이후 48시간까지는 반응시간에 따른 유의적 차이는 나타나지 않았다($P < 0.05$). 특히 반응 20시간에서 약 99%로 가장 높은 수율을 보였으며, 전반적으로 94–99% 범위의 높은 수율을 유지하였다. CS의 함량은 반응 2시간에서 16.4%로 유의적으로 가장 높았으나($P < 0.05$) 이후 반응 시간 증가에 따라 13–15% 수준으로 큰 변화 없이 유지되는 경향을 보였다. 따라서, 해삼을 alcalase로 4시간 가수분해하였을 때 나타난 수율(94.3%)과 CS 함량(13.3%)은 추출 수율과 CS 회수 수준을 동시에 확보하면서 반응시간에 따른 경제성을 고려할 때, 효소 가수분해 공정을 평가하기 위한 공정 선택의 참고 기준으로 활용 가능성을 시사한다.

추출 공정 조건별 수율 및 콘드로이틴황산 함량 비교

이상의 연구 결과, 본 연구에서는 해삼을 대상으로 CS를 보존하면서 효과적으로 회수하기 위한 추출법으로서 물리·화학적

Table 2. Yield, sulfate ester content¹ and chondroitin sulfate content of sea cucumber *Apostichopus japonicus* hydrolysates² obtained by various proteases

| Enzymes | Yield (%) | Sulfated ester (%) | Chondroitin sulfate (%) ³ |
|------------------------|------------------|--------------------|--------------------------------------|
| α -chymotrypsin | 75.4 ± 1.3^a | 4.0 ± 0.3^c | 8.8 ± 0.66^c |
| Papain | 38.7 ± 0.5^c | 5.6 ± 0.4^b | 12.32 ± 0.88^b |
| Complex-enzyme | 55.3 ± 0.8^b | 6.7 ± 0.5^{ab} | 14.74 ± 1.1^a |
| Alcalase | 76.9 ± 1.3^a | 6.8 ± 0.5^a | 14.96 ± 1.1^a |

¹Moisture free basis. ²Sea cucumber was hydrolyzed under the optimal conditions of each enzyme for 4 h. ³Chondroitin sulfate content was obtained by applying a conversion factor of 2.2, representing the molecular weight ratio between chondroitin sulfate and barium sulfate.

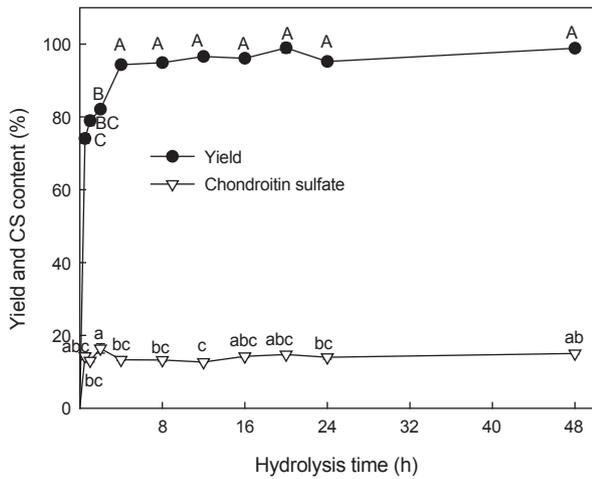


Fig. 3. Changes in yield and chondroitin sulfate (CS) content of sea cucumber extracts according to reaction time during alkalase hydrolysis. The homogenate was mixed with water at 10 volumes per weight (v/w) of the homogenate and hydrolyzed with 2% (v/w, substrate dry basis) alkalase at 55°C, pH 9.0. Different letters indicate significant differences within each parameter (P<0.05).

방법과 효소적 방법에 의한 추출 공정을 비교하였다. 물리적 추출방법으로 흔히 사용되는 열수 추출과 이를 개량한 autoclave에 의한 추출 및 화학적 추출법으로 산 가수분해와 알칼리 가수분해 그리고 효소 가수분해로 alcalase에 의한 가수분해를 각각 하여 각 추출 방법을 공정 결과물의 수율과 CS 함량을 동시에 고려한 동일 지표 체계에서 비교하여, CS 추출 공정 선택을 위한 정량적 기준을 제시하였다. 즉, 추출 수율과 CS 함량을 기준으로 각 처리 방법에서 상대적으로 높은 값을 나타낸 반응 시간은 열수 추출 3시간, autoclave 1시간, 산 가수분해 1시간, 알칼리 가수분해 3시간, 그리고 alcalase 처리의 경우 4시간이었다. 각 방법에서 해당 반응 시간에 얻어진 해삼 추출물의 수율과 CS의 함량을 비교하여 Fig. 4에 제시하였다. 그 결과, 열수 추출 3시간의 경우, 수율은 74.8%, CS 함량은 14.7%이었으며, autoclave 1시간일 때, 수율은 78.9%, CS 함량은 13.9%, 100°C에서 0.1 N HCl로 1시간 산가수분해한 경우, 수율은 89.3%, CS 함량은 17.4%, 알칼리가수분해 3시간의 경우는 수율이 69.1%, CS 함량은 12.9%이었으며, 2% (dry basis) alcalase로 4시간 가수분해한 경우, 수율이 94.3%이었고, CS 함량은 13.3%였다. 그러므로, 이들 추출방법 중에서는 alcalase에 의한 가수분해와 산가수분해가 각각 94.3% 및 89.3%로 90% 내외의 높은 수율을 보였고, CS의 함량은 각각 13.3과 17.4%로 나타났다. 이는 추출 수율이 높다고 해서 반드시 CS 회수 효율이 높은 것은 아니며, 높은 수율에도 불구하고 CS 함량이 비교적 낮은 현상이 확인되었다. 이는 고온·가수분해 처리 과정에서 CS의 구조적 손상 또는 비특이적 용출 성분 증가가 동시에 발생할 수 있음을 시사한다. 한편 산가수분해의 경우는 잔존 염산과 염을 제거해

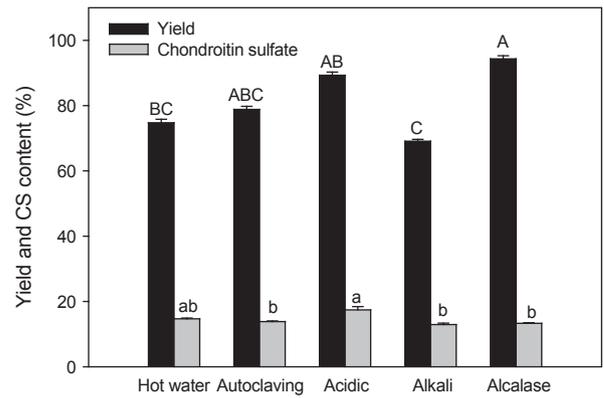


Fig. 4. Comparison of yield and chondroitin sulfate (CS) content of sea cucumber extracts under the optimal conditions of each extraction method. Tissue homogenates were extracted by hot water at 100°C for 3 h; autoclaving at 121°C for 1 h; 0.1 N HCl at 100°C for 1 h; 0.1 N NaOH at 100°C for 3 h; and 2% (v/w, substrate dry basis) alcalase at 55°C for 4 h. Different letters indicate significant differences within each parameter (P<0.05).

야 하는 추가 공정이 필요하다. 이러한 결과는 추출 공정의 성능 평가 시 단일 지표만으로는 충분하지 않으며, 추출 수율과 CS 함량을 동시에 고려한 종합적 평가가 필요함을 보여준다. Park et al. (2001)은 alcalase를 사용한 효소 반응의 효율을 가수분해도로 평가한 반면, 본 연구에서는 효소적 및 비효소적 추출 공정을 추출 수율과 CS 함량을 공통 지표로 적용하여 공정 간 직접 비교를 수행하였다. 이에 따라 본 연구는 해삼 자원 유형별 일반 성분 특성 비교를 통해 추출 공정 평가에 적합한 원료를 선정하고, 공정 결과 지표로서의 추출 수율과 CS 함량을 함께 고려하여 효소적 및 비효소적 추출 공정을 종합적으로 비교하였다. 이러한 접근은 일반 성분 특성을 CS 함량과 직접적으로 연계하기 보다는, 황산다당류인 CS가 구조적으로 탄수화물 계열 성분에 해당한다는 점을 고려하여 원료 내 다당류 기반 성분 분포의 상대적 경향을 파악하고, 이를 통해 추출 공정 평가에 사용할 원료 선택의 타당성을 확보하는 데 의의가 있다. 아울러 일반 성분 분석 결과를 바탕으로 한 원료 특성의 이해는 이후 수행된 추출 공정 간 수율 및 CS 함량 비교 결과를 해석하는데 있어 신뢰성을 높이는 보조적 근거로 활용될 수 있다. 결론적으로 본 연구 결과는 해삼 유래 CS 추출 공정을 평가하고 선택하기 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

사 사

본 논문은 기업이 기존 보유하고 있던 연구 자료를 기반으로 정리·분석한 결과이며, 해당 자료의 정리 및 분석을 통한 논문화 과정은 2025년도 교육부 및 부산시의 재원으로 부산RISE혁신원의 지원을 받아 수행된 지역혁신중심대학지원체계(RISE)의 연구

연계 성과임(2025-RISE-02-001-021).

References

- Chamika WAS, Ho TC, Park JS, Marasinghe CK, Je JY and Chun BS. 2025. Thermally optimized subcritical water hydrolysis for green extraction of bioactive compounds from sea cucumber *Stichopus japonicus*. *Food Chem* 484, 144368. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.144368>.
- Dodgson KS and Price RG. 1962. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. *Biochem J* 84, 106-110. <https://doi.org/10.1042/bj0840106>.
- Farrag M, Dwivedi R, Sharma P, Kumar D, Tandon R and Pomin VH. 2023. Structural requirements of *Holothuria floridana* fucosylated chondroitin sulfate oligosaccharides in anti-SARS-CoV-2 and anticoagulant activities. *PLoS One* 18, e0285539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285539>.
- Gu YS, Park DC, Lee SH, Ahn JK, Park JH, Kim IS, Lee TG, Park YB and Kim SB. 1999. Contents of sulfated mucopolysaccharides of some aquatic invertebrates. *Food Sci Biotechnol* 8, 267-269.
- Kim SW, Kim GH, Kim BC, Lee YB, Lee GB, Gal SW, Kim CH, Bang WY and Bang KH. 2024. Examination of antioxidant and immune-enhancing functional substances in fermented sea cucumber. *J Life Sci* 34, 485-492. <https://doi.org/10.5352/JLS.2024.34.7.485>.
- Ladeira-Fernandez AM, Aiello KR, Aquino RS, Silva LCF, Meis LD and Mourão PA. 2000. A sulfated polysaccharide from the sarcoplasmic reticulum of sea cucumber smooth muscle is an endogenous inhibitor of the Ca²⁺-ATPase. *Glycobiology* 10, 773-779. <https://doi.org/10.1093/glycob/10.8.773>.
- Li C, Sun H, Gu X, Long W, Zhu G, Wu X, Wang Y, Li P, Sha L, Zhang J, Sun W, Gao N, Zuo Z and Zhao J. 2025. Exploring the inhibitory effects of fucosylated chondroitin sulfate oligosaccharide isolated from *Stichopus horrens* on P-selectin. *Mar Drugs* 23, 236. <https://doi.org/10.3390/md23060236>.
- MABIK (National Marine Biodiversity Institute of Korea). 2023. *Apostichopus japonicus* (spiky sea cucumber). Marine Biodiversity Information System. Retrieved from <https://www.mbris.kr> on Nov 7, 2025.
- Nishino T and Nagumo T. 1991. Sulfate-content dependence of the anticoagulant activity of a fucan sulfate from the brown seaweed *Ecklonia kurome*. *Carbohydr Res* 214, 193-197. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)90542-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90542-1).
- Ogushi M, Yoshie-Stark Y and Suzuki T. 2005. Cytostatic activity of hot water extracts from sea cucumber in Caco-2 cells. *Food Sci Technol Res* 11, 202-206. <https://doi.org/10.3136/fstr.11.202>.
- Park DC, Gu YS, Ji CI and Kim SB. 2001. Enzymatic hydrolysis conditions for preparation of sea cucumber hydrolysates containing chondroitin sulfate. *Food Sci Biotechnol* 10, 686-689.
- Sang X, Guan X, Tong Y, Wang F, Zhou B, Li Y and Zhao Q. 2024. Sulfated polysaccharides from sea cucumber cooking liquid prevents obesity by modulating gut microbiome, transcriptome, and metabolite profiles in mice fed a high-fat diet. *Foods* 13, 2017. <https://doi.org/10.3390/foods13132017>.
- Shen Q, Guo Y, Wang K, Zhang C and Ma Y. 2023. A review of chondroitin sulfate's preparation, properties, functions, and applications. *Molecules* 28, 7093. <https://doi.org/10.3390/molecules28207093>.
- Shi C, Deng Y, An X, Chen Y, Lv X and Liu Q. 2024. Extraction, physicochemical properties and *in vitro* antioxidant activities of chondroitin sulfate from bovine nose cartilage. *Int J Food Sci* 2024, 6328378. <https://doi.org/10.1155/2024/6328378>.
- Thinh PD, Cao HTT, Dinh TT, Duong KM, Cao TQ, Tran TTV, Zueva AO, Ermakova SP and Nguyen TD. 2024. Fucosylated chondroitin sulfate from *Bohadschia ocellata*: Structure analysis and bioactivities. *Processes* 12, 2108. <https://doi.org/10.3390/pr12102108>.
- Tsai MF, Huang CY, Nargotra P, Tang WR, Liao KT, Lee YC, Lin CM, Lin C, Shieh CJ and Kuo CH. 2023. Green extraction and purification of chondroitin sulfate from jumbo squid cartilage by a novel procedure combined with enzyme, ultrasound and hollow fiber dialysis. *J Food Sci Technol* 60, 1711-1722. <https://doi.org/10.1007/s13197-023-05701-7>.
- Ustyuzhanina NE, Bilan MI, Dmitrenok AS, Silchenko AS, Grebnev BB, Stonik VA, Nifantiev NE and Usov AI. 2020. Fucosylated chondroitin sulfates from the sea cucumbers *Paracaudina chilensis* and *Holothuria hilla*: Structures and anticoagulant activity. *Mar Drugs* 18, 540. <https://doi.org/10.3390/md18110540>.
- Ustyuzhanina NE, Bilan MI, Anisimova NY, Nikogosova SP, Dmitrenok AS, Tsvetkova EA, Panina EG, Sanamyan NP, Avilov SA, Stonik VA, Kiselevskiy MV, Usov AI and Nifantiev NE. 2023. Fucosylated chondroitin sulfates with rare disaccharide branches from sea cucumbers *Psolus peronii* and *Holothuria nobilis*. *Pharmaceuticals* 16, 1673. <https://doi.org/10.3390/ph16121673>.
- Vázquez JA, Rodríguez-Amado I, Montemayor MI, Fraguas J, González MDP and Murado MA. 2013. Chondroitin sulfate, hyaluronic acid and chitin/chitosan production using marine waste sources: Characteristics, applications and eco-friendly processes: A review. *Mar Drugs* 11, 747-774. <https://doi.org/10.3390/md11030747>.
- Yin R, Pan Y, Cai Y, Yang F, Gao N, Ruzemaimaiti D and Zhao J. 2022. Re-understanding of structure and anticoagulation of fucosylated chondroitin sulfate from sea cucumber *Ludwigothurea grisea*. *Carbohydr Polym* 294, 119826. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119826>.