

난각 칼슘염의 종류와 난막의 존재유무가 흰쥐의 칼슘대사에 미치는 영향

노경희 · 이상현 · Ma Jie · Zhou Yusi · 김재철 · 김묘정 · 송영선[†]

인제대학교 의생명공학대학 식품생명과학부, 식품과학연구소 및 바이오헬스소재 연구센터

Effect of Types of Egg Shell Calcium Salts and Egg Shell Membrane on Calcium Metabolism in Rats

Kyung-Hee Noh, Sang-Hyun Lee, Jie Ma, Yusi Zhou, Jae-Cherl Kim,
Myo-Jeong Kim and Young-Sun Song[†]

School of Food and Life Sciences, Food Science Institute, and Biohealth Product
Research Center, Inje University, Gyeongnam 621-749, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate the effect of egg shell calcium salt types and egg shell membrane on calcium metabolism in rats. Sprague-Dawley male rats, 4 weeks of age, were fed on free-calcium diets for 2 weeks after adjustment period. Rats weighing approximately 247 ± 2.3 g were divided into 6 groups and were fed on the experimental diets containing 0.2% calcium for 4 weeks. Experimental groups were as follows; {ES(M+)} (egg shell powder diet with egg shell membrane), {ES(M-)} (egg shell powder diet without egg shell membrane), {AC(M+)} (egg shell calcium acetate diet with egg shell membrane), {AC(M-)} (egg shell calcium acetate diet without egg shell membrane), {GC(M+)} (egg shell calcium glucuronate diet with egg shell membrane) and {GC(M-)} (egg shell calcium glucuronate diet without egg shell membrane). Bone length of femur was significantly different by the types ($p < 0.05$) of egg shell calcium salts. Bone mineral density of femur showed the highest level in AC(M-) group. Calcium content of femur and calcium absorption rate were higher in egg shell calcium salt groups than in egg shell powder groups. Calcium absorption rate and retention were significantly different ($p < 0.05$) among the types of egg shell calcium salts and were higher in the AC(M-) group than in the other groups. Alkaline phosphatase activity, parathyroid hormone and osteocalcin levels of serum showed no significant difference among the experimental groups. From the above results, it is concluded that bioavailability of calcium is higher in groups of egg shell calcium salts compared to those in egg shell powder, even though egg shell membrane has no effect on calcium metabolism. Thus, these findings suggest the possibility of using egg shell calcium salts as a functional food material related to calcium metabolism.

Key words: calcium metabolism, egg shell powder, calcium salts, egg shell membrane

서 론

인체의 무기질 중 가장 많이 존재하는 칼슘은 치아와 골격의 형성뿐 아니라 근육의 수축과 이완, 혈액응고, 신경자극 전달 등 생리적 기능을 수행하는 중요한 영양소이다. 2001년도 국민영양건강조사에 따르면 한국인에게 가장 결핍도가 높은 영양소는 칼슘으로 한국인의 칼슘섭취량은 권장량의 73% 수준이며 권장량의 75% 미만 섭취 가구비율이 64%로 매우 저조한 것으로 조사되었다(1). 이러한 칼슘 섭취의 부족은 골다공증뿐만 아니라 순환기계 질환과 암 등 각종 만성 질환의 위험요인이 되므로(2-5) 칼슘함유식품의 섭취증대는 한국인에게 제일 시급하다 하겠다. 칼슘은 섭취량보다는

흡수율이 골질량에 영향을 미치므로 칼슘이 흡수세포로 얼마나 통과되는가 하는 것이 중요하다. 칼슘의 체내이용률은 최대 60%를 넘지 않으며(6) 보통성인의 칼슘흡수율은 25~30%로 알려져 있으며, 식이내의 여러 인자에 의해 조절된다(6,7). 그러나 노인이나 갱년기 여성의 경우에는 칼슘의 흡수율이 더 낮아지는 것으로 알려져 있어 골절 및 골다공증을 더욱 심각하게 만든다.

칼슘급원식품의 체내이용성에 대한 국내연구로는 미꾸라지, 들깨, 미역, 팥잎 등의 칼슘이용성에 대한 연구(8), 소뼈 회분과 인산칼슘의 칼슘대사에 미치는 영향에 대한 연구(9) 그리고 참다랑어 골분의 효과에 대한 연구(10)가 있다. 국외에서의 난각칼슘에 대한 연구로는 난각분과 정제된 탄산칼

[†]Corresponding author. E-mail: fdsnsong@inje.ac.kr
Phone: 82-55-320-3235. Fax: 82-55-321-0691

숨을 건강한 여성에게 12개월간 섭취시켰을 때 난각을 섭취한 여성의 골밀도가 탄산칼슘을 섭취한 여성보다 유의적으로 증가하였다는 보고(11)가 있다.

난각은 전체 중량의 약 11%의 무게비율을 차지하는데 난각의 발생량은 전국적으로 하루 144톤에 이른다. 현재까지 난각의 대부분은 그대로 폐기되고 있으며 발생량의 극히 일부가 비료나 양계용 사료로 사용되고 있으며 폐수처리를 위한 흡착제 등의 용도로서의 사용가능성이 타진되고 있는 정도이다. 난각에는 약 1,700개의 기공이 있으며 이들 기공은 외부로부터의 미생물 침입을 막기 위하여 단백질 섬유가 matrix를 형성하고 그 사이에 탄산칼슘 결정체로 채워져 있다. 또한 난각은 40%의 칼슘을 CaCO_3 의 형태로 함유하고 있으며, 칼슘의 흡수를 도우거나 골형성을 도우는 촉진인자인 Sr(10), glycine 및 arginine 그리고 transforming growth factor β_1 , calcitonin, progesterone 등을 소량 함유하고 있으나 독성성분인 Pb, Al, Cd과 Hg 등은 거의 함유하지 않는 것으로 나타나서(12,13) 난각은 인체에 유해한 성분이 없는 훌륭한 칼슘급원이라 할 수 있다. 뿐만 아니라 난각에는 건 조중량당 0.15 $\mu\text{g/g}$ 의 galactosaminoglycan uronic acid를 함유하고 있으며 이것은 주로 chondroitin sulfate-dermatan sulfate와 복합체(20~30%)를 이루고 있다(12). Chondroitin sulfate와 dermatan sulfate는 결합단백을 구성하는 주요성분으로 뼈의 활동을 도와주는 점탄성 물질이다. 무기물로부터 생성된 칼슘보다 유기체로부터 추출 제조된 칼슘화합물은 칼슘의 흡수율이 증진된다는 보고가 있으며 이것은 유기체에 존재하는 활성물질이 칼슘의 생체 내 흡수를 촉진시키기 때문으로 설명된다(14). 칼슘급원으로서의 가치는 그 함량뿐만 아니라 체내로의 흡수율과 유용성에 의해 판정된다. 따라서 난각에 풍부한 탄산칼슘(이하 CaCO_3)을 어떠한 형태로 가공하느냐 하는 것은 난각 칼슘의 흡수율과 유용성을 증진하는데 큰 영향을 미칠 수 있다(15). 흡수된 칼슘은 소화관에서 이온화되어야만 흡수가 되며 이온화도가 높은 칼슘급원일수록 그 흡수율이 높아진다. 최근 국내·외에서는 여러 가지 칼슘염을 이용한 칼슘보충제가 개발 시판되고 있으며, 우리나라에서는 체내흡수율이 낮은 우골분, 껍각분말, 난각분말 등을 이용한 칼슘급원이 시판되고 있다. 그러나 칼슘급원으로 현재 많이 사용되고 있는 CaCO_3 의 문제점은 섭취 후 CO_2 와 같은 가스 생성으로 인하여 복부팽만감과 위장장애 등을 유발하는 것으로 알려져 있다. 따라서 난각에 들어있는 탄산칼슘이 이온화되기 쉬운 형태로 가공된다면 난각 중의 칼슘흡수율은 더욱 높아질 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 난각에 존재하는 칼슘이 흡수가 잘 될 수 있도록 난각에서 탄산칼슘을 용해시켜 난각 칼슘염의 형태로 제조하였고, 난각 칼슘염의 종류와 난각의 존재유무가 칼슘대사에 미치는 영향을 평가하여 경제적이고 효과적인 칼슘보충제 개발에 응용하고자 한다.

재료 및 방법

난각분과 난각 칼슘염의 조제

본 연구에 사용한 난각분은 2004년 3~5월에 경남 김해시 어방동 소재 음식점에서 사용하고 폐기한 것을 수집하여 사용하였다. 난각 미분리 시료는 수집한 난각을 초음파 세척기(25°C, 강, 10 min)로 세척한 후, 흐르는 물에서 10분간 세척하였다. 세척이 끝난 후 60±5°C에서 5시간 건조하여 난각을 분쇄한 후 Standard testing sieve를 이용하여 100 mesh를 통과한 난각분을 취하였다. 난각 분리시료는 초음파 세척 후 난각에서 난각을 제거한 후 난각 미분리 시료의 제조방법과 동일하게 제조하였다. 난각 칼슘염의 조제는 초산염은 시중에서 판매되고 있는 식초(초산 함유 6~7%, 오투기)를, 글루쿠론산염은 59% glucono- δ -lactone을 제조하여 난각 분리 난각분과 난각 미분리 난각분을 각각의 유기산에 용해·포화시킨 후 3분간 탈기시켜 난각 미분리 초산염과 난각 분리 초산염 및 난각 미분리 글루쿠론산염과 난각 분리 글루쿠론산염으로 조제하였다. 난각분 및 난각 칼슘염의 칼슘함량은 AOAC법(16)으로 측정하였다.

실험동물 관리 및 식이조성

4주령의 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐에게 2주간의 적응기를 거쳐 2주간의 무칼슘 식이를 급여한 후 평균 체중 247.2±2.3 g인 실험동물을 완전임의배치로 한 군당 10마리씩 6군으로 나누어 stainless steel wire cage에서 사육하였다. 사육실의 온도는 20~25°C로 유지하였으며 명암은 12시간 간격으로 점등 및 소등하였다. 실험식이 중 칼슘급원으로는 난각을 분리한 난각과 난각을 분리하지 않은 난각을 유기산에 각각 용해시켜 제조한 난각 칼슘염(초산염, 글루쿠론산염)을 칼슘급원으로 사용하였다. 즉, 1군은 난각 미분리 난각분(ES(M+))을, 2군에게는 난각 분리 난각분(ES(M-))을, 3군에게는 난각 미분리 초산염(AC(M+))을, 4군에게는 난각 분리 초산염(ACM(-))을, 5군에게는 난각 미분리 글루쿠론산염(GC(M+))을, 6군에게는 난각 분리 글루쿠론산염(GC(M(-)))을 칼슘농도 0.2%로 조정하여 4주간 급여하였다. 무 칼슘 식이조성은 단백질 20%, 지방 5%, 비타민 1%, 무 칼슘 무기질 4%, 섬유소 5%, 전분 64.5%, methionine 0.3%와 choline chloride 0.2%가 되도록 조정하였다. 실험식은 Table 1과 같은 조성으로 혼합한 후 pellet화하여 급여하였으며, 식이제조에 사용한 vitamin mixture(AIN-76A), Ca free mineral mixture, α -cellulose, vitamin free casein, DL-methionine, choline chloride 등은 ICN Biochemicals (ICN Aurora, Ohio, USA), 옥수수 전분(두산), 옥수수유(제일제당) 제품을 사용하였다. 실험식이와 탈이온수는 자유섭취방법(ad libitum)으로 급여하였으며 사육에 필요한 모든 기구는 0.4% EDTA로 씻은 후 탈 이온수로 헹구어 사용하였다. 실험동물의 식이섭취량과 체중은 각각 1주일에 3회와 1회씩 정기적으로 측정하였다.

Table 1. Composition of the experimental diets (g/kg)

	Group ¹⁾					
	ES		AC		GC	
	M+	M-	M+	M-	M+	M-
Casein ²⁾	200	200	200	200	200	200
Corn oil	50	50	50	50	50	50
Vitamin mixture ³⁾	10	10	10	10	10	10
Mineral mixture ⁴⁾	40	40	40	40	40	40
α-Cellulose	50	50	50	50	50	50
Corn starch	639.05	639.65	645	645	645	645
DL-Methionine	3	3	3	3	3	3
Choline chloride	2	2	2	2	2	2
ES	M+	5.95	-	-	-	-
	M-	-	5.35	-	-	-
AC	M+	-	-	221.7*	-	-
	M-	-	-	-	182.0*	-
GC	M+	-	-	-	-	352.7*
	M-	-	-	-	-	311.0*

¹⁾ES(M+): 0.2% egg shell powder diet with egg shell membrane, ES(M-): 0.2% egg shell powder diet without egg shell membrane, AC(M+): 0.2% egg shell calcium acetate diet with egg shell membrane, AC(M-): 0.2% egg shell calcium acetate diet without egg shell membrane, GC(M+): 0.2% egg shell calcium glucuronate diet with egg shell membrane, GC(M-): 0.2% egg shell calcium glucuronate diet without egg shell membrane.

²⁾Casein (vitamin free): ICN. ³⁾Vitamin mixture: AIN-76A.

⁴⁾Mineral mixture (Ca free): ICN. *mL/kg.

시료수집

실험종료 전 실험동물을 하룻밤 절식시킨 후 dry ice로 마취시킨 후 심장에서 채혈하였다. 채취된 혈액은 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 분리된 혈청을 -20°C에서 냉동보관하였다. 혈액채취 후 즉시 간장과 신장 및 좌우 대퇴골을 적출하였다. 간장 및 신장조직은 부착되어 있는 지방이나 근육을 깨끗이 제거한 후 0.9% NaCl로 세척하여 혈액을 제거한 다음 여과지로 물기를 제거하고 무게를 측정하였다. 대퇴골은 적출하여 골격에 붙어있는 근육, 인대, 지방 등을 제거하여 무게를 측정한 후 -70°C에서 보관하며 골밀도와 골 길이를 측정하였다. 요와 변은 실험종료 1주일 전 대사장에서 2일간 적응시킨 후 24시간동안 채취하였으며 이 때 식이에 의한 시료의 성분이 오염되는 것을 방지하기 위해 식이그릇을 대사장에 넣어주지 않았으며 물은 이 기간 중에 자유롭게 섭취시켰다. 요는 100 mL가 되도록 증류수로 희석한 후 분석하였으며 변은 105±5°C에서 3시간 건조시켜 분말로 만들었다.

골밀도, 골부피 및 골길이

대퇴골의 밀도와 부피는 Archimedes의 원리(17)를 이용하여 측정하였다. 즉, 증류수가 담긴 비커를 Mettler balance의 weighing pan 위에 놓고 한쪽 끝이 구부러진 철사를 천정으로부터 매달았다. 그리고 물이 담긴 비커에 철사가 잠긴 상태에서 뼈를 넣고 물속에서의 뼈의 무게를 측정한 후 뼈의 물기를 제거한 후 weighing pan 위에 놓고 1분후에 무게를

측정하였다. 뼈의 부피(cm³)는 뼈의 공기 중의 무게(mg)에서 물속에서의 무게(mg)를 뺀 값을 25°C에서의 물의 밀도로 나누었으며 뼈의 밀도(mg/cm³)는 뼈의 무게(mg)를 뼈의 부피(cm³)로 나눈 값으로 계산하였다(18).

$$V = \frac{M_A - M_w}{D_w} \quad D = \frac{M}{V}$$

M: wet weight (mg)

V: volume of bone (cm³)

D: density of bone (mg/cm³)

M_A: wet weight in air (mg)

M_w: weight in water (mg)

D_w: water density at 25°C

대퇴골의 길이는 califer를 사용하여 측정하였다.

대퇴골의 Ca 함량

대퇴골은 70±5°C에서 건조시킨 후 건조무게를 측정하여 550~600°C에서 5~6시간 회화시켜 회분함량을 측정하였다. 회화된 회분은 HCl과 HNO₃를 이용하여 분해한 후 자동분석기(Hitachi U-2000)를 사용하여 칼슘함량을 측정하였다.

혈액 및 요와 변의 생화학적 분석

혈액 중의 호르몬인 parathyroid hormone(이하 PTH)는 Rat intact PTH ELISA kit(Immunotopics, Inc., San Clemente, CA 92673, USA)를 사용하여 분석하였으며, Osteocalcin은 Rat osteocalcin EIA kit(Biomedical Technologies Inc., Stoughton, MA 02072, USA)를 사용하여 측정하였다. 뼈 형성 biomarker인 alkaline phosphatase(이하 ALP)의 활성은 Kind와 King(19)의 비색법을 토대로 Daichi 시약을 이용한 kit(영동제약)를 사용하였으며 혈액과 요의 칼슘함량은 자동분석기(Hitachi U-2000)를 이용하여 분석하였다. 변의 칼슘함량은 대퇴골과 같은 방법으로 처리하여 칼슘함량을 측정하였다.

통계분석

실험결과는 SPSS PC⁺ package를 이용하여 각 실험군의 평균±표준오차로 표시하였고 one-way ANOVA를 사용하여 비교하였으며 Duncan's multiple range test에 의해 각 실험군 간의 유의성을 p<0.05수준에서 검정하였다. 그리고 각 실험인자인 난각 칼슘염의 종류와 난막유무의 영향 및 이 두 가지 인자들의 상호작용에 의한 영향(interaction)은 p<0.05 수준에서 two-way ANOVA로 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

체중변화와 식이효율

실험군의 체중증가와 식이효율은 Table 2에서 보는바와 같다. 난막 미분리 칼슘염의 종류는 체중에 영향을 미쳐 초

Table 2. Body weight, body weight gain, and food efficiency ratio in the experimental groups

		Group ¹⁾	
		M+	M-
Initial BW (g)	ES	244.8±10.4 ^{2)NS3)}	247.4±5.5 ^{NS}
	AC	247.9±5.3	247.9±4.8
	GC	247.5±6.9	247.5±8.8
Final BW (g)	ES	363.9±7.3 ^{b4)}	356.6±7.0 ^{NS}
	AC	354.4±5.1 ^b	334.8±11.2 [*]
	GC	326.3±3.7 ^a	348.8±5.4
	SF ⁵⁾	A	
Weight gain (g/week)	ES	28.0±5.75 ^a	27.3±3.37 ^{NS}
	AC	29.5±5.60 ^a	21.7±3.05
	GC	20.2±3.19 ^b	23.1±6.21
Food intake (g/week)	ES	165.9±12.0 ^b	187.3±13.5 ^{NS}
	AC	199.9±17.1 ^a	196.7±15.3
	GC	193.2±16.2 ^a	183.8±20.6
	SF	A	
FER ⁶⁾	ES	0.16±0.04 ^a	0.15±0.03 ^a
	AC	0.15±0.03 ^a	0.11±0.02 ^{b*}
	GC	0.10±0.01 ^b	0.13±0.06 ^{a*}
	SF	A, A*B	

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Mean±SE. ^{3)NS}: not significant.

⁴⁾Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.05.

⁵⁾Statistical significance of experimental factors was calculated based on 2-way ANOVA. A: Effect of kind of calcium salts was significant at p<0.05, B: Effect of egg shell membrane was significant at p<0.05, A*B: Interaction of kind of calcium salts and egg shell membrane was significant at p<0.05.

⁶⁾FER: food efficiency ratio.

*Effect of egg shell membrane of same calcium salt was significant at p<0.05 by t-test.

산염군에서 가장 많이 증가하였으나 난막 분리 칼슘염은 체중증가에 영향을 미치지 않았다. 식이섭취량은 난막 미분리 난각분에서 유의적으로 칼슘염에 비해 높은 경향을 보였으며 칼슘염에 따른 interaction이 있는 것으로 나타났다. 식이효율은 난막유무에 상관없이 칼슘염의 종류에 따라 각 군 간의 유의적인 차이를 보였으며 칼슘염 형태보다는 난각분에서 더 높은 경향을 보였다. 특히 식이효율은 초산염군과 글루쿠론산염군 간의 난막유무에 따라 각각 유의적인 차이를 보였다. 난각 칼슘염의 종류가 식이효율에 영향을 미쳤으며, 난각 칼슘염과 난막유무의 두 가지 인자간의 interaction이 있는 것으로 나타났다.

대퇴골의 무게와 길이 및 골밀도

대퇴골의 건조 전의 습윤무게는 Table 3에서 보듯이 난막 미분리군에서 초산염군에서 가장 높은 경향을 보였으며 난막유무에 상관없이 난각분과 초산염군이 글루쿠론산염군보다 상대적으로 높은 경향을 보였다. 체중 100 g당 대퇴골의 습윤무게는 난막 분리 초산염군이 가장 높은 경향을 보였고 글루쿠론산염이 가장 낮았으며 각 군 간의 유의적인 차이는 보이지 않았다. 그러나 대퇴골의 습윤무게는 난각 칼슘염의

Table 3. Weight of femur in experimental groups

		Group ¹⁾	
		M+	M-
Wet weight (g)	ES	0.97±0.05 ^{2)a3)}	0.98±0.06 ^{NS4)}
	AC	0.99±0.03 ^a	0.98±0.07
	GC	0.82±0.02 ^b	0.91±0.06
	SF ⁵⁾	A	
Wet weight (g/100 g BW)	ES	0.28±0.01 ^{NS}	0.28±0.02 ^{NS}
	AC	0.28±0.01	0.30±0.03
	GC	0.26±0.02	0.26±0.03
	SF	A	
Dry weight (g)	ES	0.60±0.02 ^a	0.56±0.00 ^a
	AC	0.59±0.01 ^a	0.56±0.03 ^a
	GC	0.52±0.02 ^b	0.51±0.02 ^b
	SF	A	
Dry weight (g/100 g BW)	ES	0.17±0.00 ^{NS}	0.16±0.01 ^{NS}
	AC	0.17±0.03	0.17±0.03
	GC	0.16±0.01	0.15±0.01

¹⁻⁵⁾Refer to Table 2.

종류가 영향을 미치는 것으로 나타났으나 난막유무는 영향을 미치지 않았으며 또한 두 인자간의 상호영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

건조시킨 대퇴골의 무게는 난막유무에 상관없이 칼슘염의 종류에 따라 유의적인 차이를 보였으며 난막 미분리군이 난막 분리군보다 다소 높은 경향을 보였다. 체중 100 g당 건조시킨 대퇴골의 무게는 칼슘염의 종류와 난막유무에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았으나 초산염군이 다소 높은 경향을 보였고 글루쿠론산염군이 가장 낮은 경향을 보였다. 난각 칼슘염 중 초산염군이 글루쿠론산염군보다 대퇴골의 무게를 향상시켰으며 난막존재 시 대퇴골 무게가 다소 증가하는 경향을 보였다. 그러나 난각 칼슘염의 종류와 난막유무에 따른 interaction은 없었다. Chung 등(14)은 칼슘염의 종류를 달리한 식이를 제공받은 성장기 쥐에서 Ca-G의 골무게가 가장 낮은 경향을 보였다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

대퇴골의 부피는 Table 4에서 보는바와 같이 난막 미분리군은 칼슘염의 종류에 따라 유의적인 차이를 보였으나 난막 분리군은 칼슘염에 따른 유의적인 차이는 없었다. 난막유무에 상관없이 글루쿠론산염군이 가장 높은 경향을 보였으며 칼슘염의 종류가 대퇴골의 부피에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 대퇴골의 길이는 난막 미분리군에서는 칼슘염의 종류에 따라 유의적인 차이를 보였으나 난막 분리군에서는 칼슘염의 종류에 따른 차이가 없었다.

대퇴골의 길이성장에 칼슘염의 종류가 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 난막유무에 따른 영향은 없었으나 난막 분리군에서 난막 미분리군보다 골 길이의 성장이 다소 높은 경향을 보였다. 칼슘염의 종류를 달리한 식이를 제공받은 성장기 쥐에서 대퇴골의 길이가 큰 군은 습윤무게에도 큰 영향을 보이는 것으로 나타났다는 보고(14)가 있으며 이러한 결과는 본 연구 결과와 유사하였다.

Table 4. Bone mineral density and bone length of femur in experimental groups

		Group ¹⁾	
		M+	M-
Bone volume (cm ³)	ES	178.8±13.3 ²⁾³⁾	187.7±16.4 ^{NS4)}
	AC	205.2±15.5 ^b	196.5±14.2
	GC	255.8±11.0 ^a	234.7±39.4
		SF ⁵⁾	A
Bone length (cm)	ES	3.73±0.04 ^a	3.76±0.03 ^{NS}
	AC	3.73±0.02 ^a	3.78±0.05
	GC	3.62±0.03 ^b	3.68±0.03
		SF	A
BMD ⁶⁾ (mg/cm ³)	ES	4.38±0.22 ^{NS}	4.57±0.17 ^{NS}
	AC	4.28±0.20	4.74±0.38
	GC	3.91±0.14	3.94±0.23

¹⁾⁻⁵⁾Refer to Table 2.

⁶⁾BMD: bone mineral density.

대퇴골의 골밀도는 난각 칼슘염의 종류와 난막유무에 의한 유의적인 차이를 보이지 않았으나 대퇴골의 밀도는 난막 분리군이 난막 미분리군보다 높은 경향을 보였다. 글루쿠론산염군은 골 무게에 비해 부피가 상대적으로 커 골밀도가 가장 낮은 경향을 보여 Chung 등(14)의 연구와 유사한 결과를 보였다.

성장기의 쥐를 대상으로 실시한 골격대사의 여러 연구들에서 식이에 의한 변화가 잘 나타나지 않는 것으로 보고 (10,14,20-22)되고 있는 점을 미루어 볼 때 본 연구에서는 비교적 단기간의 실험기간에도 불구하고 난각 칼슘염의 종류에 따른 골격대사를 확인할 수 있었으며 난각분말 형태에 비해 난막이 분리된 난각 칼슘염의 형태가 칼슘대사에 효과적인 것으로 보여진다.

대퇴골의 회분과 Ca함량

대퇴골의 회분과 Ca함량은 Table 5에서 보는바와 같다. 회분함량은 난막 미분리와 난막 분리의 경우 난각 칼슘염의 종류에 따른 각 군 간의 유의적인 차이는 보이지 않았으나 난각분의 경우 난막유무에 따라 유의적인 차이를 보여 난막 미분리군이 난막 분리군보다 다소 높은 수준을 보였다. 체중 100 g당 대퇴골의 회분함량은 난막 미분리 칼슘염군이 난막 분리 칼슘염군에 비해 높은 경향을 보였으며 난막 미분리 글루쿠론산염군에서 가장 높은 경향을 보였다. 난막 미분리군 경우 칼슘염의 종류에 따른 유의적인 차이를 보였으나, 난막 분리군인 경우 칼슘염의 종류에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 난각분과 글루쿠론산염군은 난막유무에 따라 유의적인 차이가 있었다. 체중 100 g당 회분함량은 난막유무에 영향을 받는 것으로 나타났으며 그리고 두 인자간의 interaction이 있는 것으로 나타났다. 대퇴골의 Ca 함량은 난막유무에 따라 유의적인 차이를 보이지 않았으며 난막 미분리 난각 초산염군에서 가장 높은 수준이었으며 난각분에서 가장 낮았다. 체중 100 g당 Ca함량은 난막 미분리군에서는 난각 칼슘염의 종류에 따른 유의적인 차이를 보여

Table 5. Ash and calcium content of femur in experimental groups

		Group ¹⁾	
		M+	M-
Ash (mg)	ES	328.3±0.01 ^{2)NS3)}	295.2±0.01 ^{NS*}
	AC	315.6±0.01	300.4±0.01
	GC	329.2±0.0	294.0±0.01
		SF ⁵⁾	B
Ash (mg/100 g BW)	ES	90.8±0.001 ^{b4)}	82.6±0.003 ^{NS*}
	AC	88.3±0.002 ^b	87.4±0.003
	GC	102.7±0.01 ^a	84.0±0.002 [*]
		SF	B, A*B
Ca (mg)	ES	96.1±5.27 ^{NS}	96.3±4.85 ^{NS}
	AC	110.5±2.82	99.0±3.51
	GC	101.2±3.87	99.1±2.67
Ca (mg/100 g BW)	ES	26.5±1.70 ^b	27.9±1.68 ^{NS}
	AC	30.0±0.86 ^{ab}	29.7±1.23
	GC	32.0±1.25 ^a	28.3±0.91 [*]

¹⁾⁻⁵⁾Refer to Table 2.

^{*}Effect of egg shell membrane of same calcium salt was significant at p<0.05 by t-test.

글루쿠론산염군에서 높은 수준을 보인 반면 난각분에서 가장 낮았다. 난막 분리군에서는 난각 칼슘염 간의 유의적인 차이는 없었으나 칼슘염이 난각분말 형태에 비해 다소 높은 경향을 보였다. 체중 100 g당 대퇴골의 Ca함량은 난막 미분리군에서는 GC(M+)>AC(M+)>ES(M+)의 순이었으며 난막 분리군에서는 AC(M-)>GC(M-)>ES(M-)의 순으로 나타났다.

이상의 결과들로 미루어 볼 때 난각분말 형태에 비해 난각 칼슘염 형태가 대퇴골의 Ca침착에 더 유리한 것으로 사료된다. 이러한 결과는 성장기의 비교적 짧은 기간에 난각 칼슘염의 형태가 골격의 칼슘함량을 변화시킬 수 있음을 보여주며 따라서 성장기 이후의 골격대사에도 영향을 미칠 가능성을 보여주는 것으로 칼슘을 보충해줄 경우 난각분보다는 난각 칼슘염의 형태가 효과적인 것으로 사료된다.

Ca 섭취량과 배설량의 균형

Ca 섭취량과 변으로의 Ca 배설량은 Table 6에서 보는바와 같이 난막유무에 관계없이 각 군 간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 난각분에서의 요로 통한 Ca 배설량은 난막 미분리군에서는 초산염군이 가장 낮은 경향을 보인 반면 난각분에서 가장 높은 경향을 보였다. 난막 분리군의 요로 통한 Ca 배설량은 글루쿠론산염군이 유의적으로 가장 낮았다. Ca 흡수율과 보유량은 난막 미분리군에서는 GC(M+)>AC(M+)>ES(M+)의 순서였으며 난막 분리군에서는 AC(M-)>GC(M-)>ES(M-)의 순으로 난각분말 형태보다는 난각 칼슘염의 형태에서 높은 수준을 보여 난각 칼슘염의 형태가 Ca 흡수율과 보유량을 상승시키는 것으로 나타났다. Ca 흡수율과 보유량은 난막유무에 관계없이 각 군 간의 유의적인 차이가 없었으며 난각 칼슘염의 종류가 영향을 미쳤으나 난막유무에 따른 유의적인 차이는 없었고 두 가지 인자간의

Table 6. Calcium intake, apparent Ca absorption rate and Ca retention in experimental groups

		Group ¹⁾	
		M+	M-
Ca intake (mg/day)	ES	47.4±0.84 ^{2)NS3)}	53.5±3.76 ^{NS}
	AC	57.1±3.57	56.2±3.52
	GC	55.2±6.46	52.5±1.17
Fecal Ca excretion (mg/day)	ES	12.9±1.60 ^{NS}	11.4±0.71 ^{NS}
	AC	10.9±1.30	8.3±1.14
	GC	9.0±0.73	9.8±1.60
Urinary Ca excretion (mg/day)	ES	4.10±0.91 ^{NS}	3.82±0.74 ^{b4)}
	AC	2.02±1.68	4.09±1.04 ^b
	GC	3.03±0.49	0.94±0.04 ^{a*}
Apparent Ca absorption rate ⁶⁾ (%)	SF ⁵⁾	A, A*B	
	ES	72.9±3.25 ^{NS}	78.0±2.47 ^{NS}
	AC	80.5±2.74	85.3±1.81
	GC	83.3±2.16	80.7±4.15
Ca retention ⁷⁾ (mg/day)	SF	A	
	ES	30.4±2.26 ^{NS}	38.3±4.61 ^{NS}
	AC	42.7±3.51	45.1±2.82
	GC	43.2±6.23	41.8±4.68

¹⁾⁻⁵⁾ Refer to Table 2.

⁶⁾ Ca absorption rate (%) = ((Ca intake - fecal Ca excretion) / Ca intake) × 100

⁷⁾ Ca retention (mg/day) = Ca intake - fecal Ca excretion - urinary Ca excretion.

*Effect of egg shell membrane of same calcium salt was significant at p<0.05 by t-test.

interaction도 없는 것으로 나타났다. Sheikh 등(23)의 연구에 의하면 칼슘염의 형태에서 Ca-G군의 체내흡수율이 가장 낮았다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

혈액 속의 Ca대사 관련 지표

골격형성의 생화학 지표인 ALP의 활성은 Table 7에서 보는바와 같이 난막유무에 관계없이 각 군 간에는 유의적인 차이는 없었으나 글루쿠론산염의 형태가 가장 높은 활성을 보인 반면 초산염의 형태가 가장 낮은 경향을 보였다. ALP는 부갑상선 호르몬(이하 PTH)의 표적효소에 속하며 조골세포(osteoblast)에서 분비되는 당단백질로 임상에서 가장 흔히 이용되는 골 형성지표이며 골다공증, 골절 환자와 성장기 초기 그리고 칼슘결핍 시와 고칼슘을 공급받을 때 증가한다는 보고(24)가 있다. Moon 등(25)은 ALP와 PTH는 골밀도가 증가할수록 유의하게 감소함으로써 골격 및 칼슘대사를 조절하는 요인임을 보고하였고, Aloia 등(26)의 연구에서 ALP 활성도는 골질량과 음의 상관관계를 보였다고 하였으며 본 연구에서도 골밀도가 가장 낮은 글루쿠론산염에서 ALP 활성이 가장 높게 나타났다.

칼슘 항상성을 조절하는 PTH와 골격형성에 관여하는 다른 생화학 지표인 osteocalcin 농도는 난막유무에 관계없이 각 군 간의 유의적인 차이가 없었다. PTH 농도는 초산염의 형태가 높은 반면 글루쿠론산염의 형태가 가장 낮은 수준을 보였다. PTH는 파골세포(osteoclast)의 작용을 통해 혈액중

Table 7. ALP activity, PTH, osteocalcin and Ca levels of serum in experimental groups

		Group ¹⁾	
		M+	M-
ALP ⁴⁾ (Units/L)	ES	154.5±9.53 ^{2)NS3)}	151.3±8.78 ^{NS}
	AC	148.2±8.11	150.6±6.37
	GC	171.9±8.42	175.2±8.86
PTH ⁵⁾ (pg/mL)	ES	2085.5±223.2 ^{NS}	2059.1±186.3 ^{NS}
	AC	2215.1±231.6	2223.8±211.3
	GC	1951.0±239.4	1988.2±220.6
Osteocalcin (ng/mL)	ES	78.3±0.36 ^{NS}	77.8±1.09 ^{NS}
	AC	79.4±0.63	78.4±0.50
	GC	75.6±0.98	77.9±0.79
Ca concentration (mg/dL)	ES	10.1±0.89 ^{NS}	9.91±0.66 ^{NS}
	AC	9.71±0.87	9.28±0.48
	GC	10.9±0.28	10.4±0.55

¹⁾⁻³⁾ Refer to Table 2.

⁴⁾ALP: alkaline phosphatase. ⁵⁾PTH: parathyroid hormone.

의 Ca농도를 유지하며 조골세포의 작용을 통해 PTH의 제반 기능이 매개되고 있는 것으로 사료된다. PTH는 뼈의 흡수 뿐 아니라 생성에도 관여하며 골격의 인산화 반응에 관여하여 뼈세포의 성장, 증식 및 활성대사 반응에 관여한다(27). Osteocalcin의 농도는 글루쿠론산염의 형태가 가장 낮은 수준을 보인 반면 초산염의 형태가 가장 높은 수준을 보였다. Osteocalcin은 조골세포에서 생성된 것 중 약 30%가 혈중으로 방출되므로 골 형성의 정도를 예측할 수 있는 생화학 지표로 사용(28)되고 있으며 본 연구에서는 군 간의 차이를 보이지 않았다.

혈장의 Ca농도는 난막유무에 관계없이 글루쿠론산염군에서 높은 수준을 보였으나 모든 군에서 9.28~10.9 mg/dL로 정상범위에 속하였다. 또한 난각 칼슘염의 종류나 난막의 존재유무에 의해 영향을 받지 않았으며 따라서 실험군간에 유의적 차이를 보이지 않았다.

요 약

본 연구는 난각 칼슘염의 종류와 난막의 존재유무가 칼슘대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 난각에서 탄산칼슘을 용해시켜 난각 칼슘염의 형태로 제조하였고 난각염의 종류와 난막의 존재유무에 따른 칼슘급원으로서의 생리적 유용성을 확인하여 경제적이고 효과적인 칼슘보충제를 개발하고자 본 연구를 실시하였다. 실험동물은 4주령의 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 사용하였으며 실험식은 난각분을 유기산에 용해시켜 제조한 난각 칼슘염(초산염, 글루쿠론산염)과 난각분을 각각 난막 분리과 난막 미분리로 나누어 급여하였다. 1군은 난막 미분리 난각분(ES(M+))을, 2군에게는 난막 분리 난각분(ES(M-))을, 3군에게는 난막 미분리 초산염(AC(M+))을, 4군에게는 난막 분리 초산염(AC(M-))을, 5군에게는 난막 미분리 글루쿠론산염(GC(M+))을, 6군에게는 난막 분리 글루쿠론산염(GC(M-))을 칼슘농도 0.2%

로 조정하여 4주간 급여하여 사육하였다. 칼슘염 중 초산염이 글루쿠론산염보다 대퇴골의 무게를 향상시켰으며 난막 존재 시 대퇴골 무게가 다소 증가하는 경향을 보였다. 그러나 난각 칼슘염의 종류와 난막유무에 따른 interaction은 없었다. 대퇴골의 체중 100 g당 Ca함량은 난막 미분리군에서는 난각 칼슘염의 종류에 따른 유의적인 차이를 보였으며, 체중 100 g당 대퇴골의 Ca함량은 난막 미분리군에서는 글루쿠론산염군에서 가장 높은 수준이었으며, 난막 분리군에서는 초산염군으로 나타났다. 난막 분리군에서는 난각 칼슘염 간의 유의적인 차이는 없었으나 칼슘염이 난각 분말 형태에 비해 높은 경향을 보였다. Ca 흡수율과 보유량은 난막 미분리군에서는 GC(M+)>AC(M+)>ES(M+)의 순서였으며 난막 분리군에서는 AC(M-)>GC(M-)>ES(M-)의 순서로 난각분말 형태보다는 난각 칼슘염의 형태에서 높은 수준을 보여 난각 칼슘염의 형태가 Ca 흡수율과 보유량을 상승시키는 것으로 나타났다. ALP의 활성은 난막유무에 관계없이 각 군 간에는 유의적인 차이는 없었으나 글루쿠론산염의 형태가 가장 높은 활성을 보인 반면 초산염의 형태가 가장 낮은 경향을 보였다. 이상의 결과들을 미루어 볼 때 난각분으로 공급하기보다는 난각 칼슘염 형태로 공급하는 것이 칼슘대사에 유리하게 작용하는 것으로 사료된다. 따라서 난각의 CaCO₃를 이온화하여 칼슘급원으로 공급하거나 다양한 식품에 첨가하여 기능성을 부가한 건강증진 제품으로 개발하는 것은 한국인의 칼슘섭취수준을 향상시키고 칼슘부족으로 인한 질병예방 및 개선에 도움이 될 뿐만 아니라 폐자원에서부터 고부가가치제품을 개발함으로써 농가 소득 및 국가경제 향상에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 보건의료기술진흥사업(0405-FS00-05-1-0039)의 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 연구비를 지원해주신 보건복지부에 감사드립니다.

문 헌

1. Ministry of Health and Welfare. 2003. 2001 National Nutrition Survey Report.
2. Allen JH, Wood RJ. 1994. Calcium and phosphorus. In *Modern Nutrition in Health and Disease*. 8th ed. Shills ME, Olson JA, Shike M, eds. Lee & Febiger, Philadelphia. p 144-163.
3. Heaney RP. 1993. Nutritional factors in osteoporosis. *Ann Rev Nutr* 13: 187-366.
4. Anderson JJB. 1990. Dietary calcium and bone mass through the life cycle. *Nutrition Today* March/April: 9-14.
5. Scalmati A, Lipkin M, Newmark H. 1992. Calcium, vitamin D and colon cancer. In *Clinics in Applied Nutrition*. Chernoff R, Heaney RP, eds. Andover Med, Minnesota. p 67-74.
6. Miller GD, Jarvis JK, McBean LD. 2001. The importance of meeting calcium needs with foods. *J Am Coll Nutr* 20:

- 168-185.
7. Phillips F. 2004. Diet and bone health. *Nutrition Bulletin* 29: 99-110.
8. Lee SH, Hwangbo YS, Kim JY, Lee YS. 1997. A study on the bioavailability of dietary calcium sources. *Korean J Nutr* 30: 499-505.
9. Lee YS, Oh JH. 1995. Effects of bovine bone ash and calcium phosphate on calcium metabolism in postmenopausal osteoporosis model rats. *Korean J Nutr* 28: 434-441.
10. Kim YM, Yoon GA, Hwang HJ, Chi GY, Son BY, Bae SY, Kim IY, Chung JY. 2004. Effect of bluefin tuna bone on calcium metabolism of the rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 101-106.
11. Reynolds SJ, Mand R, Tilgar V. 2004. Calcium supplementation of breeding birds: direction for future research. *Ibis* 146: 601-614.
12. Nakano T, Ikawa N, Ozimek L. 2002. Galctosaminoglycan composition in chicken eggshell. *Poult Sci* 81: 709-714.
13. Eeva T, Lehtikoinen E. 2004. Rich calcium availability diminishes heavy metal toxicity in Pied Flycatcher. *Functional Ecology* 18: 548-553.
14. Chung HK, Chang NS, Lee HS, Chang YE. 1996. The effect of various types of calcium sources on calcium and bone metabolism in rats. *Korean J Nutr* 29: 480-488.
15. Recker RR, Bammi A, Barger-Lux J, Heaney RP. 1988. Calcium absorbability from milk products, and imitation milk and calcium carbonate. *Am J Clin Nutr* 47-95.
16. AOAC. 2000. *Official Method of Analysis of AOAC Intl*. 17th ed. AOAC International, Maryland. p 40-49.
17. Bray DL, Briggs CM. 1984. Decrease in bone density in young male guinea pigs fed high levels of ascorbic acid. *J Nutr* 114: 920-928.
18. Choi SJ, Kim MK. 2003. Effect of grape intake on cadmium metabolism of rats during aging. *Korean J Nutr* 36: 997-1012.
19. Longlands MG, Wiener K. 1978. Anomalous behavior of control sera in automated versions of the Kind and King alkaline phosphatase method. *Ann Clin Biochem* 15: 164-167.
20. Ismail F, Epstein S, Fallon MD. 1988. Serum sobe Gla protein and the vitamin D endocrine system in the ovariectomized rats. *Endocrinology* 122: 624-630.
21. Kochanowski BA. 1990. Effect of calcium citrate-malate on skeletal development in young growing rats. *J Nutr* 120: 876-881.
22. Perterson CA, Eurell JAC, Erdman JW. 1992. Bone composition and histology of young growing rats fed diets of varied calcium bioavailability: Spinach, nonfat dry milk, of calcium carbonate added to casein. *J Nutr* 122: 137-144.
23. Sheikh MS, Anta Ana CA, Nicar MJ. 1987. Gastrointestinal absorptions of calcium from milk and calcium salts. *N Engl J Med* 317: 532-536.
24. Lim SK. 1994. Clinical significance and application of bone turnover marker. *Korean J Bone Metabolism* 1: 1-11.
25. Moon SJ, Kim JH, Lim SK. 1996. Investigation of risk of low serum 25-hydroxyvitamin D levels in Korean menopausal women. *Korean J Nutr* 29: 981-990.
26. Aloia JF, Cohr SH, Vaswani A, Yeh JK, Yuen K, Ellis K. 1985. Risk factors for postmenopausal osteoporosis. *Am J Med* 78: 95-100.
27. Chung CK, Ha KS. 1995. Effect of parathyroid hormone and calcitonin on the enzyme and mineral metabolism of bone cells and phosphorylation. *Korean J Nutr* 28: 737-748.
28. Price PA, Pathermore JG, Doftos LJ. 1980. New biochemical marker for bone metabolism. *J Clin Invest* 66: 878-883.

(2006년 6월 5일 접수; 2006년 8월 4일 채택)