

주정과 구연산 및 식이성 칼슘소재를 처리한 멸치분말이 흰쥐의 칼슘대사에 미치는 영향

장해진 · 정은봉 · 성기승 · 한찬규 · 조진호[†]

한국식품연구원

Effect of Anchovy Treated with Ethanol, Citric Acid and Dietary Calcium Supplements on Calcium Metabolism in Rats

Hae-Jin Jang, Eun-Bong Jung, Ki-Seung Seong, Chan-Kyu Han and Jin-Ho Jo[†]

Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

Abstract

This study was performed to investigate the effect of ethanol and citric acid-treated anchovy, caseino-phosphopeptides (CPPs), calcium lactate, and calcium phosphate as dietary calcium supplements on calcium metabolism in rats for 5 weeks. Experimental animals were randomly assigned to five treatments with 15 heads of SD male rats (mean body wt. of 100 g) in each group. The experimental diets were as follows; dried large anchovy powder (C) as control, ethanol+citric acid group (EC), ethanol+citric acid+CPPs group (ECC), calcium lactate group (CL) and calcium phosphate group (CP), which were formulated with commercial semi-purified Chow diet, while maintaining the same level of calcium in all diets (1%) groups. The weight gain of EC group was significantly higher than ECC, CL and CP groups ($p<0.05$), food efficiency (FER) was not different. *In vitro* and *in vivo* calcium absorption rates of ECC group treated with citric acid and CPPs were 20.4 and 28.4%, respectively, and the highest among the experimental groups ($p<0.05$). The blood glucose levels of CL group (105.7 mg/dL) was significantly higher than control group (98.5 mg/dL). In terms of serum lipids, total-cholesterol concentration of EC group (75.1 mg/dL) was significantly higher than CP group (65.6 mg/dL) and triglyceride concentration of CP group (33.5 mg/dL) was the lowest ($p<0.05$). ALP activity and OST level were not different among experimental groups. The serum calcium concentration of control group (C) was the lowest among groups ($p<0.05$). The femur weight of CP group was the lowest ($p<0.05$) and the femur length of ECC group is the longest ($p<0.05$). The bone density of CP group (0.1116 g/cm^2) was the lowest while ECC group (0.1149 g/cm^2) was the highest, and the bone density was increased by added CPPs. These data demonstrated that ECC group significantly increased *in vitro* and *in vivo* calcium absorption rate, serum Ca level, and the length and bone density of femur.

Key words: anchovy, ethanol, calcium supplements, calcium metabolism, rats

서 론

칼슘은 인체에 가장 많이 존재하는 무기질 원소로서 일반 성인의 경우 체중의 약 2%인 1,200 g 정도를 체내에 함유하고 있다. 체내칼슘의 99%는 골격과 치아를 형성하고, 나머지 1% 정도만이 근육의 수축과 이완, 규칙적 심장박동, 혈액 응고, 효소의 활성화, 세포내 자극과 흥분전달과 같은 생리 활성기능을 조절한다(1). 2001년도 국민건강·영양조사의 식품섭취조사에서 우리나라 국민은 대부분의 영양소에 대해 모든 연령층에서 권장량에 근접한 양을 섭취하는 것으로 나타난 반면 칼슘섭취량은 496.9 mg으로 1~2세 연령층을 제외한 모든 연령층에서 상당히 낮은 평균섭취수준으로 집계되었다. 특히 65세이상 노인에서는 칼슘뿐만 아니라 비타

민 A, 리보플라빈의 섭취량도 매우 부족한 것으로 나타났다(2). 이러한 칼슘섭취 부족으로 인한 영양문제는 골격질환뿐 아니라 순환계와 대장질환등 각종 성인병의 발병원인으로 작용하기 때문에(3,4) 칼슘을 다량 함유하는 식품소재의 개발이 절실하다. 칼슘소재의 개발은 전 세계적으로도 다양하게 연구되고 있으며, 국내에서도 우유분(5)이나 난각칼슘(6)에 대한 연구가 수행된바 있고, 칼슘소재를 이용한 식품이 개발되었다(7,8). 이 중 가장 많이 이용되고 있는 우유분은 최근 광우병 파동으로 안전성의 문제가 제기된바 있기 때문에 우유분을 대체할 수 있는 칼슘원의 개발이 시급하다.

멸치(*Engraulis japonicus*)는 우리나라 연안에서 많은 양이 어획되고 있는 어종으로서(9) 단백질, 철분, 비타민 및 칼슘뿐 아니라 나이아신, 핵산 및 고도불포화지방산 등을

[†]Corresponding author. E-mail: jhjo@kfri.re.kr
Phone: 82-31-780-9091, Fax: 82-31-709-9876

다량 함유하고 있기 때문에 성장기 어린이, 임산부, 노약자 등 현대인들에게 매우 필요한 수산 식량자원이다(10). 특히, 칼슘함량은 두부와 탈지분유에 비해 각각 2.5배, 1.2배 정도 많다(11). 우리나라에서 수행된 멸치 관련연구는 주로 것갈류를 주대상으로 하였고, 마른멸치에 대해서는 주로 지방산 조성(12), 정미성분(13) 및 핵산 관련물질의 함량(14), 저장성을 높이기 위한 항산화제 처리(15), 포장방법(16) 및 탈산소제(17) 첨가 등에 집중되었다.

멸치를 비롯한 수산물소재의 가공시 가장 중요하게 제기되는 문제점으로 선택이나 비린내 등이 지적되고 있지만 기존에 수행된 연구의 대부분은 가공이나 저장 등에 집중되고 있을 뿐 관능적인 특성에 대한 연구는 미비하다. 주정이나 구연산의 처리조건과 관련된 저자들의 선행연구(18)로는 대말의 선택 개선과 비린내 제거관련 연구가 있는데 상기의 최적조건에서 제조된 대말의 *in vitro* 칼슘흡수율은 대조군, 주정 처리군 및 구연산 처리군에 비해 주정과 구연산 병행 처리군이 12.3%로 가장 높은 흡수율을 나타내었다.

따라서 본 연구는 선행의 *in vitro* 칼슘흡수율 결과를 *in vivo* 칼슘흡수율로 확인함과 동시에 주정과 구연산을 처리한 자건대말분말과 함께 식이성 칼슘소재 첨가식이 흰쥐의 칼슘과 골격지표대사와 골밀도 등 체내 칼슘대사에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

재료

본 연구에서 사용된 자건대말(체장 7.7 cm, 체중 1.5 g)은 경남 통영에 소재한 기선권현망수산업협동조합에서 구입하였다. 대말의 일반성분은 수분 8.5%, 단백질 61.1%, 지방 12.9%, 회분 15.2% 및 칼슘 1.8%이었다. 자건대말에 7배(w/w)의 주정을 50°C에서 9시간동안 처리하여 수세한 다음, 구연산 1%를 처리하고, 50°C에서 건조하여 50 mesh로 분말화한 후 실험에 사용하였다.

공시동물 및 실험식이

주정과 구연산을 처리한 대말분말이 실험동물의 칼슘대사에 미치는 영향을 조사하기 위하여 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 공시하였다. 실험동물은 1주일간 고품사료를 급여하여 적응기를 거친 다음 평균체중이 100 g 되었을 때 15마리씩 다섯군으로 처리하였다. 실험식은 시료(대말분

말)의 칼슘함량을 고려하여 최종식이의 칼슘함량이 0.1%가 되도록 semi-purified diet(19)에 건조대말분말을 첨가한 대조군(C), 주정-구연산처리군(EC), 주정-구연산+caseinophosphopeptides처리군(ECC), 젖산칼슘첨가군(CL) 및 인산칼슘첨가군(CP)으로 배치하여 5주동안 실험을 실시하였다(Table 1). 실험식의 배합비와 일반성분은 Table 2, 3과 같고 ECC실험군의 경우 caseinophosphopeptides(CPPs)를 음용수에 녹인 후 자유급이(*ad libitum*)하였다.

식이섭취량 및 체중변화

실험식은 1주일에 1마리당 400 g씩 완전 자유급이(*ad libitum*)하였고, 실험기간중 식이섭취량과 체중변화는 주 1회씩 조사하였다.

Table 1. Experimental design

Group (n=15)	Treatments
C	Control group (dried large anchovy)
EC	Anchovy treated with ethanol and citric acid
ECC	Anchovy treated with ethanol, citric acid plus CPPs ¹⁾
CL	Anchovy treated with calcium lactate
CP	Anchovy treated with calcium phosphate

¹⁾CPPs: caseinophosphopeptides.

Table 2. Composition of the basal experimental diet

Ingredient	Contents (%)
Casein (feed grade CP 85%)	20
Corn starch	15
Sucrose	45
Cellulose (fiber)	5
Tallow	5
Safflower oil	5
D,L-Methionine	0.3
AIN-vitamin mixture ¹⁾	1.0
AIN-mineral mixture ²⁾	3.5
Choline bitartrate	0.2
Total	100

¹⁾Contained per kg mixture; thiamin · HCl 600 mg, riboflavin 600 mg, pyridoxine · HCl 700 mg, nicotinic acid 3 g, Vit. A 400,000 IU (retinyl acetate), Vit. E (dL- α -tocopheryl acetate) 5,000 IU, Vit. D₃ 2.5 mg, Vit. K 5.0 mg and sucrose.

²⁾Contained per kg mixture; CaHPO₄ 500 g, NaCl 74 g, K₃C₆O₇ · H₂O 220 g, K₂SO₄ 52 g, MgO 24 g, 48% Mn 3.5 g, 17% Fe 6.0 g, 70% Zn 1.6 g, 53% Cu 0.3 g, KIO₃ 0.01 g, CrK (SO₄)₂ · 12H₂O 0.55 g and sucrose.

Table 3. Composition of experimental diets

Group ¹⁾	Moisture	Crude protein	Crude fat	Crude ash	Carbohydrate	Calcium
C	9.32	27.66	4.35	7.40	51.27	1.13
EC, ECC	9.48	27.01	3.69	6.57	53.25	1.14
CL	9.36	22.47	4.03	6.65	57.49	1.07
CP	9.93	22.78	3.86	7.21	56.22	1.11

¹⁾C, control-dried large anchovy; EC, ethanol and citric acid-treated anchovy; ECC, EC+CPPs; CL, calcium lactate-treated anchovy; CP, calcium phosphate-treated anchovy.

칼슘흡수율

시료의 *in vitro* 칼슘흡수율은 Miller 등의 방법(20)에 준하여 자건대멸분말 6 g을 400 mL의 증류수와 함께 용기에 넣고 6 M HCl용액을 사용하여 pH를 2로 조정하고 15분간 혼합 후 6 mL의 pepsin(P-7000, from porcine stomach mucosa) 용액을 첨가하여 37°C에서 2시간동안 shaking incubation하고 소화된 시료 20 mL를 취하여 0.1 M NaOH pH 7로 적정하여 NaHCO₃의 첨가량을 결정한다. 결정된 NaHCO₃와 증류수 25 mL를 투석막(D9652-100FT, 33 mm×21 mm)에 넣고 용기에 담근 후 밀봉하여 37°C에서 shaking incubation한다. 30분 후 pH 5가 되었을 때 0.4 g의 pancreatin(P-1750, from porcine pancreas)과 2.5 g의 bile extract(B-8631, porcine)를 0.1 mol/L NaHCO₃ 100 mL에 용해시킨 pancreatin-bile salts mixture를 5 mL 첨가하고 2 시간동안 37°C에서 incubation 후 투석막을 제거하여 membrane속 dialysate의 무게를 측정하고 ICP로 분석한 결과를 이용하여 흡수율을 계산하였다. 시료의 *in vivo* 칼슘흡수율은 실험개시 4주 후 각 실험군에서 상태가 양호한 흰쥐를 4마리씩 취하여 3일동안 대사시험을 실시하였다. 실험기간 중 식이섭취량과 음수량을 측정하였고, 대변은 105°C에서 건조 후 소변과 함께 무게를 측정 후, ICP를 이용하여 칼슘함량을 측정하였다. 이 때 칼슘흡수율은 쥐가 섭취한 식이의 칼슘함량과 대변과 소변의 칼슘함량을 이용하여 계산하였다.

시료수집 및 분석방법

실험종료(5주) 후 쥐를 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 마취하여 복대동맥으로부터 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리한 다음 -20°C에서 냉동보관 후 분석하였다. 대퇴골은 적출하여 -20°C에서 냉동한 후 골격에 붙어있는 근육, 인대 및 지방 등을 제거하여 50°C에서 건조시킨 후 무게, 길이, 골밀도(BMD, bone mineral density) 및 골미네랄 함량(BMC, bone mineral contents)을 측정하였다. 골밀도와 골미네랄 함량은 방사선골밀도측정기(pDEXA[®] X-ray bone densitometer, Norland Co., USA)를 사용하여 측정하였다. 혈청 생화학치 중 혈당, 총콜레스테롤 및 중성지방 농도는 assay kit를 이용

하여 enzymatic method(ADVIA 1650, Bayer, Japan), alkaline phosphatase(ALP)활성은 enzymatic method, osteocalcin농도는 면역방사정량법(IRMA: immuno-radiometric assay), 칼슘(Ca)농도는 colorimetric method로 각각 분석하였다.

통계처리

모든 실험결과를 SAS프로그램(Version 8.01, SAS Institute Inc., USA)을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하였다. 각 실험군간의 차이는 one way ANOVA를 사용하여 비교하였고, Duncan's multiple range test로 5% 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

증체량과 식이효율

실험동물은 5주간 사육 후 측정된 체중과 증체량, 식이섭취량 및 식이효율(FER)은 Table 4에 나타내었다. 실험기간 중 일당증체량은 주정으로 지방제거 후 citric acid를 처리한 EC군(8.35 g/day)이 ECC군과 식이성 칼슘소재로 이용되는 젖산칼슘군(CL)과 인산칼슘군(CP)에 비해 통계적으로 높았다($p < 0.05$). 식이섭취량은 단순히 건조대멸을 첨가한 C군이 25.90 g/day로 가장 높았고, ECC군이 24.89 g/day로 가장 낮았고($p < 0.05$), 그 외 EC, CL 및 CP군은 비슷하였는데, 이는 구연산이나 젖산의 신맛에 의해서 식이섭취량 낮아졌기 때문으로 생각된다(21). 그러나 식이효율(FER)은 모든 실험군에서 0.31~0.32로 차이가 없는 것으로 나타났다.

생체내외(*in vitro* & *in vivo*) 칼슘흡수율

주정과 몇가지 식이칼슘소재를 처리한 대멸의 생체내외 칼슘흡수율 결과는 Table 5와 같다. 체외(*in vitro*) 칼슘흡수율은 실험군간에 통계적인 차이가 있었다($p < 0.05$). 즉, citric acid와 CPP를 처리한 ECC군이 20.4%로 단순히 건조대멸을 첨가한 대조군(C)의 2.9%보다 약 7배, CPPs를 첨가하지 않은 EC군의 12.3%보다 약 1.7배 높았다. 식이칼슘소재로 각각 lactate와 phosphate를 첨가한 CL군과 CP군은 대조군에

Table 4. Effect of anchovy treated with ethanol, citric acid and dietary calcium supplements on weight gain, food intake and food efficiency ratio in rats

Group ¹⁾	Initial wt. (g)	Final wt. (g)	Gain wt. (g/day)	Food intake (g/day)	FER ⁴⁾
C	99.35 ± 2.60 ^{2)ns3)}	381.00 ± 14.81 ^{ab4)}	8.04 ± 0.37 ^{ab}	25.90 ± 0.54 ^a	0.31 ± 0.01 ^{ns}
EC	99.43 ± 5.64	391.32 ± 10.98 ^a	8.35 ± 0.35 ^a	25.69 ± 0.58 ^{ab}	0.32 ± 0.01
ECC	97.77 ± 4.31	375.46 ± 14.77 ^b	7.94 ± 0.39 ^b	24.89 ± 1.66 ^b	0.32 ± 0.02
CL	100.21 ± 3.69	376.48 ± 8.54 ^b	7.90 ± 0.25 ^b	25.41 ± 0.53 ^{ab}	0.31 ± 0.01
CP	98.15 ± 2.58	369.25 ± 12.61 ^b	7.74 ± 0.34 ^b	24.97 ± 0.27 ^{ab}	0.31 ± 0.01

¹⁾ Groups are the same as in Table 3.

²⁾ Values are mean ± SD (n=15).

³⁾ Not significant.

⁴⁾ Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at $\alpha = 0.05$.

⁵⁾ Food efficiency = weight gain ÷ food intake.

Table 5. Effect of anchovy treatment with ethanol, citric acid, calcium lactate, calcium phosphate and dietary calcium supplements on *in vitro* and *in vivo* calcium absorption rate in rats

Group ¹⁾	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>			
		Ca intake (mg/day)	Fecal Ca excretion (mg/day)	Urinary Ca excretion (mg/day)	Ca absorption ⁴⁾ (%)
C	2.9±0.2 ^{2)bc3)}	295.5±27.6 ^{ns4)}	263.6±27.4 ^{ns}	1.2±0.2 ^{ns}	10.5±3.0 ^c
EC	12.3±0.2 ^b	309.2±46.7	242.4±42.5	1.2±0.2	21.4±2.9 ^b
ECC	20.4±0.3 ^a	299.5±33.9	212.8±23.5	1.5±0.4	28.4±3.7 ^a
CL	4.8±0.2 ^d	292.6±30.5	253.0±28.2	1.3±0.3	13.0±4.8 ^c
CP	5.2±0.2 ^c	321.7±14.6	282.7±23.8	1.2±0.5	11.8±3.9 ^c

¹⁾Groups are the same as in Table 3.

²⁾Values are mean±SD (n=15).

³⁾Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at α=0.05.

⁴⁾Not significant.

⁵⁾Ca absorption (%)=(Ca intake-Fecal Ca excretion-Urinary Ca excretion)/Ca intake×100.

비해 흡수율이 높았으나, EC군과 ECC군에 비해서는 흡수율이 현저하게 낮았다. 한편, 실험동물을 사용하여 체내(*in vivo*) 칼슘흡수율을 측정된 결과, 체외흡수율에 비해 높은 흡수율이 나타났는데, ECC군이 가장 높은 28.4%로 C군보다 2.7배, EC군보다 1.8배, CL군 및 CP군보다는 각각 2.2배와 2.4배 정도 더 높은 흡수율을 보여 체외흡수율 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 체내칼슘흡수율이 차이를 보이는 것은 변으로 배출된 칼슘량에 기인하는 것으로 다른 실험군들에 비해 ECC군의 배출량(212.8 mg/day)이 낮아 칼슘흡수율이 가장 높게 나타났다. Kim 등(21)은 구연산을 처리한 참다랑어 골분은 무처리구와 젖산칼슘에 비해 유의적인 차이는 없지만 낮은 흡수율을 나타나는 것으로 보고하였으나, 본 연구에서는 주정과 유기산을 처리한 결과 무처리군에 비해 다소 높은 흡수율을 보이는 것으로 나타났다. CPPs의 칼슘흡수율과 관련한 다른 연구에서는 Pointillart와 Guéguen (22)은 돼지의 성장기 CPPs의 섭취는 칼슘흡수율에 영향이 없는 것으로 보고한 반면, 대부분의 다른 보고에서는 CPPs가 칼슘흡수율 및 골밀도 등에 영향이 큰 것으로 나타났다. Hiroshi 등(23)은 CPPs를 급여한 실험군이 대조군에 비해 하루에 7 mg정도 칼슘을 더 많이 섭취하였고, 골밀도 역시 높은 것으로 보고하였고, Sato 등(24)은 우유의 칼슘함량을 높이는 데 효과가 있는 것으로 보고하였다. 또한 CPPs 첨가 함량이 높을수록 칼슘의 흡수율도 높아진다고 보고되었으

며(25), 이러한 결과는 본 연구와 비슷한 결과를 시사하고 있다. CPPs가 칼슘흡수율의 증가에 영향을 주는 것은 칼슘이 섭취된 후 위산에 의해 가용화되어 장관에서 흡수되는데, 이때 위산에 의해 가용화된 칼슘은 소장내부에 존재하는 인산이온들과의 결합에 의해 침전물을 형성하지만, CPPs를 칼슘과 같이 섭취하면 이러한 침전을 방해하여 장내 불용성 칼슘염의 형성이 감소하여 칼슘을 비롯한 미네랄 성분들의 흡수를 촉진하기 때문이다(26,27).

혈청 생화학치와 골대사지표

혈청 생화학지표로서 혈당, 총콜레스테롤(TC)과 중성지방(TG) 및 골대사지표인 alkaline phosphatase(ALP), osteocalcin(OST) 및 칼슘함량은 Table 6에 나타내었다. 혈당치는 CL군(105.7 mg/dL)이 대조군(89.5 mg/dL)보다 통계적으로 높았고(p<0.05), 나머지 실험군에서는 차이가 없었다. TC농도는 EC군이 75.1 mg/dL로 CP군의 65.6 mg/dL에 비해 유의한 차이가 있었고, TG농도는 CP군(33.5 mg/dL)을 제외한 나머지 실험군은 57.1~65.2 mg/dL으로 CP군보다 유의하게 높았다(p<0.05). Glucose와 TC 및 TG농도는 섭취한 영양성분에 따라 달라지는데 대조군, EC군 및 ECC군은 멸치에 함유되어 있는 단백질이나 지방 등의 함량으로 인해 비교적 탄수화물 함량이 적기 때문에 탄수화물에 기인되는 혈당량은 감소하는 반면, TC나 TG함량은 다소 증가한 것으

Table 6. Effect of anchovy treatment with ethanol, citric acid, calcium lactate, calcium phosphate and dietary calcium supplements on haematochemical parameters in rats

Group ¹⁾	Glucose (mg/dL)	TC ²⁾ (mg/dL)	TG ³⁾ (mg/dL)	ALP ⁴⁾ (IU/L)	OST ⁵⁾ (ng/mL)	Ca (mg/dL)
C	89.5±22.2 ⁶⁾⁷⁾	68.7±7.6 ^{ab}	62.7±26.4 ^a	769.3±207.3 ^{ns8)}	0.14±0.01 ^{ns}	10.82±0.26 ^b
EC	96.6±9.1 ^{ab}	75.1±10.0 ^a	65.2±32.1 ^a	775.2±193.9	0.18±0.11	11.13±0.33 ^a
ECC	92.9±23.0 ^{ab}	72.9±11.8 ^{ab}	57.1±12.5 ^a	762.6±132.4	0.13±0.02	11.14±0.41 ^a
CL	105.7±11.1 ^a	68.0±9.8 ^{ab}	57.3±25.5 ^a	778.7±289.3	0.21±0.17	11.07±0.45 ^{ab}
CP	101.4±13.0 ^{ab}	65.6±10.3 ^b	33.5±9.5 ^b	675.9±136.9	0.17±0.16	11.33±0.40 ^a

¹⁾Groups are the same as in Table 3.

²⁾TC: total cholesterol. ³⁾TG: triglycealdehyde. ⁴⁾ALP: alkaline phosphate. ⁵⁾OST: osteocalcin.

⁶⁾Values are mean±SD (n=15).

⁷⁾Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at α=0.05.

⁸⁾Not significant.

Table 7. Effect of anchovy treatment with ethanol, citric acid, calcium lactate, calcium phosphate and dietary calcium supplements on weight, length, bone mineral density and mineral content of femur in rats

Group ¹⁾	Dried weight (g)	Length (cm)	BMD ²⁾ (g/cm ²)	BMC ³⁾ (g)
C	0.59±0.04 ^{4)a5)}	3.48±0.10 ^b	0.1140±0.0042 ^{ab}	0.3309±0.0349 ^{ns6)}
EC	0.59±0.02 ^a	3.53±0.06 ^{ab}	0.1143±0.0017 ^{ab}	0.3326±0.0118
ECC	0.60±0.03 ^a	3.58±0.10 ^a	0.1149±0.0024 ^a	0.3338±0.0316
CL	0.59±0.04 ^a	3.53±0.09 ^{ab}	0.1126±0.0027 ^{ab}	0.3324±0.0239
CP	0.56±0.04 ^b	3.53±0.09 ^{ab}	0.1116±0.0031 ^b	0.3205±0.0245

¹⁾Groups are the same as in Table 3.

²⁾BMD: bone mineral density. ³⁾BMC: bone mineral content.

⁴⁾Values are mean±SD (n=15).

⁵⁾Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at $\alpha=0.05$.

⁶⁾Not significant.

로 사료된다. 뼈형성의 biomaker인 alkaline phosphate(ALP)의 활성은 골생성이 왕성할 때 증가되는데 성인에 비해 소아에서의 정상치가 높고, 골절환자의 경우에도 혈중 활성도가 osteocalcin(OST)와 함께 같이 증가된다고 보고되었다(28, 29). 그러나 본 연구에서 ALP활성은 CP군이 675.9 IU/L로 다른 실험군(762.6~778.7 IU/L)에 비해 가장 낮았다. 어린이의 성장발육을 위한 영양보충용 식품을 개발하기 위해 천연식물성 약재추출물과 조류식품 및 해조칼슘 등의 조성물을 흰쥐를 대상으로 실험한 Han(30)이 보고한 혈중 ALP활성(600~700 IU/L)에 비해 본 실험에서 나타난 ALP활성은 비슷하거나 다소 높았고, Yoon과 Hwang(31)의 보고에 비해서는 활성이 훨씬 높았다. 조골세포의 활성성을 높이고 골형성(osteogenesis) 향진을 나타내는 OST농도는 본 실험에서 CL군(0.21 ng/mL)이 ECC군(0.13 ng/mL)보다 높았지만 통계적인 차이는 없었고 Han(30)이 보고한 44~48 ng/mL과 비교해 볼 때 측정치가 매우 낮았는데 이는 분석 kit를 흰쥐전용시약이 아닌 인체전용시약을 사용함에 따른 assay specificity가 낮아서 나타난 결과로 사료되어진다. 혈중 Ca농도는 칼슘흡수율이 가장 낮은 대조군(C)이 10.82 mg/dL로 통계적으로 가장 낮았으며 EC, ECC 및 CP군은 11.13~11.33 mg/dL로 유의하게 높았다($p<0.05$).

골밀도와 미네랄함량

대퇴골의 건조무게와 길이, 골밀도와 미네랄함량은 Table 7과 같다. 대퇴골무게는 CP군이 0.56 g으로 통계적으로 가장 낮았고($p<0.05$) 나머지 실험군에서는 0.59~0.60 g으로 비슷하였다. 대퇴골길이는 ECC군이 3.58 cm로 가장 길었고, 대조군(C)이 3.48 cm로 가장 짧았다($p<0.05$). 대퇴골 밀도는 CP군이 0.1116 g/cm²로 가장 낮은 반면, ECC군이 0.1149 g/cm²로 가장 높았는데($p<0.05$) 이는 CPPs 첨가에 의해 골밀도의 상승효과가 나타난 것으로 사료되었다. Moon 등(32)은 골밀도가 증가할수록 ALP가 감소하여 골격 및 칼슘대사를 조절하는 것으로 보고하였으나, 본 연구에서는 골밀도가 가장 낮은 CP군이 ALP활성도 낮은 것으로 나타났다. 대퇴골의 미네랄함량은 비록 통계적인 차이는 나타나지 않았으

나 CP군(0.3205 g)에 비해 EC, ECC 및 CL군(0.3326~0.3338 g)이 다소 높았다. 따라서 CPPs를 첨가한 ECC군이 다른 칼슘소스에 비해 대퇴골의 무게와 길이, 골밀도와 미네랄함량에 상승효과를 미친 것으로 사료되었다.

요 약

본 연구는 주정과 구연산을 처리한 대멸분말과 함께 식이성 칼슘소제가 SD계 흰쥐의 칼슘대사에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행되었다. 실험식은 대멸분말의 칼슘함량을 고려하여 식이중의 칼슘함량이 0.1%가 되도록 semi-purified diet(AIN-diet, 1977)에 건조대멸분말을 첨가한 대조군(C), 주정-구연산처리군(EC), 주정-구연산+CPPs처리군(ECC), 젖산칼슘첨가군(CL) 및 인산칼슘첨가군(CP)으로 처리하여 5주동안 실험한 결과는 다음과 같다. 증체량은 EC군이 ECC군과 일반적인 칼슘소재로 이용되는 젖산칼슘군(CL)과 인산칼슘군(CP)에 비해 유의하게 높았고($p<0.05$), 식이효율(FER)은 차이가 없었다. 생체내외(*in vitro & in vivo*) 칼슘흡수율은 CPP를 처리한 ECC군이 각각 20.4%, 28.4%로 실험군중 가장 높았다($p<0.05$). 혈당치는 CL군(105.7 mg/dL)이 대조군(89.5 mg/dL)보다 유의하게 높았고($p<0.05$), TC농도는 EC군(75.1 mg/dL)이 CP군(65.6 mg/dL)보다 높았으며, TG농도는 CP군(33.5 mg/dL)이 통계적으로 가장 낮았다($p<0.05$). ALP활성과 OST농도는 실험군간 차이가 없이 CL군이 대조군보다 다소 높았다. 혈중 Ca농도는 칼슘흡수율이 가장 낮은 대조군(C)이 10.82 mg/dL로 유의하게 낮았고, EC군과 ECC군이 가장 높았다($p<0.05$). 대퇴골무게는 CP군이 가장 낮았고($p<0.05$), 길이는 ECC군이 가장 길었다($p<0.05$). 골밀도는 CP군(0.1116 g/cm²)이 가장 낮았던 반면, ECC군(0.1149 g/cm²)이 가장 높았다. 이상의 결과에서 CPPs를 첨가한 ECC군이 생체내외 칼슘흡수율과 혈중 Ca농도 및 대퇴골의 길이와 밀도 등에 유의한 상승효과를 미친 것으로 나타났다. 향후 본 연구결과는 칼슘흡수율을 높이고 선택의 개선 및 관능이 향상된 기능성제품 개발의 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

문헌

1. Einhorn TA, Levine B, Michel P. 1990. Nutrition and bone. *Ortho Clin Nor Am* 21: 43-50.
2. Ministry of Health and Welfare. 2002. '2001 National Nutrition Survey Report'.
3. Allen JH, Wood RJ. 1994. Calcium and phosphorus. In *Modern Nutrition in Health and Disease*. Shills ME, Olson JA, Shike M, eds. 8th ed. Lea & Febiger, Philadelphia. p 144-163.
4. Heaney RP. 1993. Nutritional factors in osteoporosis. *Annu Rev Nutr* 13: 287-316.
5. Lee YS, Park JH, Cho CW. 1992. Effect of bovine bone powder as a dietary calcium source on mineral bioavailability in rats. *Korean J Rural Living Sci* 3: 17-26.
6. Chang SO. 2003. A study on the calcium bioavailability of egg-shell powder in the growing rats. *Korean J Nutr* 36: 684-690.
7. Kim JW, Hur JW. 2002. Improvement of functional properties of mayonnaise with egg-shell calcium and chitosan. *Food Engineering Progress* 6: 195-200.
8. Shin HS, Kim KH, Yoon JG. 1998. Rheological properties of cooked noodle fortified with organic acids-eggshell calcium salts. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1197-1202.
9. The Fisheries Association of Korea. 1998. *Korean Fisheries Yearbook*. Dongyang Publishing Co., Seoul. p 354-363.
10. Lee EH, Kim SK, Cho GD. 1977. *Nutritional component and health in the fishery resources of the coastal and offshore waters in Korea*. Youil Publishing Co., Busan. p 43-46.
11. Lee SH, Chang SO. 1994. Comparison of the bioavailability of calcium from anchovy, tofu and nonfat dry milk (NFD) in growing male rats. *Korean J Nutr* 27: 473-482.
12. Lee EH, Ahn CB, Oh KS, Lee TH, Cha YJ, Lee KW. 1986. Studies on the processing of low salt fermented sea foods: 9. Processing conditions of low salt fermented small shrimp and its flavor components. *J Korean Fish Soc* 19: 459-468.
13. Lee EH, Kim SK, Jeon JK, Cha YJ, Chung SH. 1981. The taste compounds in boiled-dried anchovy. *Bull Korean Fish Soc* 14: 194-200.
14. Lee EH, Park YH. 1971. Degradation of acid soluble nucleotides and their related compounds in seafoods during processing and storage. *Bull Korean Fish Soc* 4: 31-41.
15. Lee EH, Kim JS, Ahn CB, Park HY, Jee SK, Joo DS, Lee SW, Lim CW, Kim IH. 1989. The effect of taipet-F and bactokil on retarding lipid oxidation in boiled-dried anchovy. *J Korean Soc Food Nutr* 18: 181-188.
16. Lee EH, Cha YJ. 1985. Studies on the processing of low salt fermented sea foods 5. Processing conditions of low salt fermented anchovy and yellow corvenia. *J Korean Fish Soc* 18: 206-213.
17. Jeong BY, Seo HJ, Moon SK, Pyeun JH. 1995. Effect of deoxygenizer on the suppression of lipid deterioration of boiled and dried-anchovy, *Engraulis japonica*. 1. Changes in lipid class composition. *J Korean Fish Soc* 28: 770-778.
18. Jo JH, Jang HJ, Cho SM, Lee YB. 2005. Effects of ethanol and organic acids on color, fishy odor and in vitro absorption rate of calcium of dried large anchovy. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1471-1476.
19. American Institute of Nutrition. 1977. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. *J Nutr* 107: 1340-1348.
20. Miller DD, Schricker BR, Rasmussen RR, Campen DV. 1981. An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. *Am J Clin Nutr* 34: 2248-2256.
21. 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.
22. Pointillart A, Guéguen L. 1989. Absence d'effet de l'incorporation d'un phosphopeptide du lait sur l'utilisation du calcium et du phosphore chez le jeune porc. *Reprod Nutr Dev* 29: 477-486.
23. Hiroshi T, Toshiyuki G, Yoko Y, Tamotsu K. 1995. Calcium and phosphorus availability from casein phosphopeptides in male growing rats. *Nutrition Research* 15: 1657-1667.
24. Sato R, Noguchi T, Naito H. 1986. Casein phosphopeptide (CPP) enhances calcium absorption from the ligated segment of rat small intestine. *J Nutr Sci Vitaminol* 32: 67-76.
25. Erba D, Ciappellano S, Testolin G. 2002. Effect of the ratio of casein phosphopeptides to calcium (w/w) on passive calcium transport in the distal small intestine of rats. *Nutrition* 18: 743-746.
26. Kim GH, Jeon YJ, Byun HG, Lee YS, Lee EH, Kim SK. 1998. Effect of calcium compounds from oyster shell bound fish skin gelatin peptide in calcium deficient rats. *J Korean Fish Soc* 31: 149-159.
27. Kitts DD, Yuan YV. 1992. Casein phosphopeptides and calcium bioavailability. *Trends in Food Sci Technol* 3: 31-35.
28. Lee CK, Choi JS, Jeon YJ, Byun HG, Kim SK. 1997. The properties of natural hydroxyapatite isolated from tuna bone. *Bull Korean Fish Soc* 30: 652-659.
29. Aloia JF, Cohn SH, Vaswani A, Yeh JK, Yuen K, Ellis K. 1985. Risk factors for postmenopausal osteoporosis. *Am J Med* 78: 95-100.
30. Han CK. 2005. Effect of pluskids-calcium formulation on growth and development in growing rats. Korea Food Research Institute Report (I01658-05006). p 21.
31. Yoon GA, Hwang HJ. 2005. Effect of dietary protein and calcium levels on calcium metabolism of the rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 176-180.
32. Moon SJ, Kim JH, Lim SK. 1996. Investigation of risk of low serum 25-hydroxyvitamin D level in Korean menopausal women. *Korean J Nutrition* 29: 981-990.

(2006년 3월 22일 접수; 2006년 7월 15일 채택)