

식이 중 칼슘수준과 톳 첨가가 난소절제한 흰쥐의 골지표와 혈청 지질 함량에 미치는 영향*

장 승 은 · 천 중 희[§]

인하대학교 생활과학대학 식품영양학과

Effects of Dietary Calcium Level and *Hijikia fusiforme* Supplementation on Bone Indices and Serum Lipid Levels in Ovariectomized Rats*

Jang, Seung-Eun · Chyun, Jong-Hee[§]

Department of Food and Nutrition, Inha University, Incheon 402-751, Korea

ABSTRACT

This study explored the effects of dietary calcium level and *Hijikia fusiforme* supplementation on bone indices and serum lipid levels using 36 female Sprague-Dawley rats as a model. Rats received low Ca diet for 3 weeks after ovariectomy. The rats were then divided into six dietary groups and fed low (0.1% Ca), normal (0.5% Ca) and high (1.5% Ca) Ca diets (CaL, CaN, CaH) and low, normal, high Ca diets with *Hijikia fusiforme* supplementation (CaLH, CaNH, CaHH) for 3 weeks. After each experimental periods, 24 hour urine and/or blood samples, left and right femurs were collected for analysis. Serum Ca concentration showed no significant difference by dietary Ca levels and *Hijikia fusiforme* supplementation. Alkaline phosphatase activity was significantly higher in normal and high Ca group compared to low Ca group. Serum total cholesterol, triglyceride and total lipid were not significantly different among groups. HDL-cholesterol showed no significant difference by *Hijikia fusiforme* supplementation. However, the normal and high Ca groups showed significantly higher HDL-cholesterol compared to the low Ca group. Urinary hydroxyproline and hydroxyproline/creatinine ratio were not significantly different among groups. The wet weight of the femur was significantly higher in low Ca group compared to normal or high Ca group. The dry weight, wet weight/body weight, length and breaking force of the femur were not significantly different among groups. Ash contents/wet weight of the femur was significantly increased as dietary Ca levels up and significantly higher in *Hijikia fusiforme* supplementation groups. The Ca content of the femur were significantly higher in the normal and high Ca groups than the low Ca group. However, there was no significant difference in Ca content by *Hijikia fusiforme* supplementation. (Korean J Nutr 2007; 40 (5): 419~427)

KEY WORDS : dietary calcium level, *Hijikia fusiforme*, bone indices, serum lipid levels, ovariectomized rats.

서 론

폐경 후 여성은 에스트로젠 분비 감소로 인해 골손실이 가속되면서 골다공증이 잘 생기게 된다.¹⁾ 폐경이 골손실을 야기하는 것은 에스트로젠 결핍으로 부갑상선호르몬에 대한 골격 반응도가 높아져 골분해가 증가함으로써 혈청 칼

슘 이온이 증가하고 그 결과 부갑상선호르몬의 분비가 감소되어 1, 25 dihydroxycholecalciferol 생성이 감소하며 이로 인해 위장관의 칼슘이온 흡수가 감소되기 때문이다.²⁾

폐경 후 골손실과 관련이 깊은 내인성 및 외인성 에스트로젠의 생성, 대사 및 배설은 식사의 영향을 받는다.³⁾ 폐경 후 여성에 있어서의 칼슘보충은 골손실 및 골절 위험을 감소시키는 것으로 보고되고 있으며,^{4,5)} 칼슘 보충은 척추에서 골손실을 40% 정도 감소시키고, 전박 (forearm) 및 대퇴경부의 골손실을 최소화한다고 한다.⁶⁾

동물을 대상으로 식이 칼슘 보충 효과를 살펴보면, 성장기의 골다공증 실험모델⁷⁾ 및 난소절제 흰쥐⁸⁾에게 정상수준 이상의 칼슘을 보충 시켰을 때 칼슘 보충 수준에 따른

접수일 : 2007년 6월 5일

채택일 : 2007년 7월 19일

*This research was supported by 2007 grants from Inha University.

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : jhchyun@inha.ac.kr

차이는 없었으나 뼈의 강도 및 무기질 함량이 정상으로 회복되었고, 노령기의 난소절제 흰쥐에게 정상 칼슘을 급여한 경우⁹⁾ 대퇴골의 무게 및 무기질 함량이 정상으로 회복되지 않은 것으로 나타나 연령에 따라 칼슘 보충 효과에 차이를 보이고 있다.

한편 폐경 후 여성에 있어서 심혈관계질환 발병률의 증가¹⁰⁻¹²⁾는 높은 혈청 지질 및 콜레스테롤이 주요위험인자로 인식되고 있다.¹³⁾ 에스트로젠은 LDL-콜레스테롤의 혈중 농도를 저하시키고 HDL-콜레스테롤을 증가시키는 것으로 알려져 있어¹⁴⁾ 폐경 후 여성의 에스트로젠 감소는 HDL-콜레스테롤 및 apolipoprotein A-1을 감소시키고 LDL-콜레스테롤을 증가시킨다.^{15,16)} 또한 폐경기 여성의 혈청 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤수준은 같은 연령의 남성보다도 유의적으로 높다고 보고되었다.^{17,18)}

해조류는 무기질, 비타민 등 미량 영양소의 좋은 공급원이며, 식이 섬유소 성분인 난소화성 다당류를 많이 함유하고 있어 소화흡수율은 낮은 편이지만, 혈관 내 콜레스테롤 침착을 방지하고 장관 운동을 원활하게 하며 중금속의 배출 등에도 효과가 높을 뿐 아니라 항암 작용이 있다고 보고되고 있다.¹⁹⁾

특히 해조류 중 갈조식물 (Phaeophyta)로 모자반과에 속하는 톳 (*Hijikia fusiforme*)에는 식이섬유소와 칼슘 함량이 생톳 100 g당 각각 1.0 g, 157 mg으로 같은 갈조식물인 미역 (0.3 g, 149 mg)이나 다시마 (0.6 g, 103 mg)보다 높은 것으로 나타나,²⁰⁾ 폐경 후 여성의 골다공증 예방과 혈중 지질 개선에 효과가 있을 것으로 사료된다.

본 논문에서는 이러한 자료를 기초로 식이 칼슘 수준과 톳 첨가가 난소를 절제된 흰쥐의 골지표와 혈청 지질 농도에 주는 영향에 대해 연구 하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 실험식이

실험동물로는 7주령된 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐 36 마리를 사용하였다.

실험 식이는 정제 식이로서 AIN-76²¹⁾에 따랐으며 칼슘의 양과 톳의 첨가 유무에 따라 저칼슘식이 (CaL), 정상칼슘식이 (CaN), 고칼슘식이 (CaH)와 세 식이에 각각 톳을 첨가한 저칼슘톳식이 (CaLH), 정상칼슘톳식이 (CaNH), 고칼슘톳식이 (CaHH)로 구성하였다. 식이는 Table 1과 같이 모두 기본 식이 조성에는 차이를 두지 않았고, 인의 결핍이나 과잉이 없으면서 칼슘과 인의 비율이 2 : 1을 넘지 않는 범위에서 칼슘량의 차이를 두기 위해 정상칼슘군의

Table 1. Composition of experimental diet (g/kg diet)

Ingredients	Low Ca	Normal Ca	High Ca
	(0.1%)	(0.5%)	(1.5%)
Corn starch	473.2	468.7	443.9
Sucrose	157.7	156.2	147.9
Casein	200	200	200
Corn oil	50	50	50
α -cellulose	50	50	50
Vitamin mixture ¹⁾	10	10	10
Mineral mixture ²⁾	35	35	35
DL-methionine	3	3	3
Choline-bitartrate	2	2	2
CaHPO ₄ · 2H ₂ O	1.72	12.02	37.74
CaCO ₃	1	5	15
KHPO ₄	16.22	8.08	5.32

1) Composition of vitamin mixture

: 1.0% in diet provide the following vitamins (mg/kg diet)

ThiaminHCl 6 mg, Riboflavin 6 mg, Nicotinic acid 30 mg, Calcium pantothenate 16 mg, Folic acid 2 mg, Cyanocobalamin 10 mg, Biotin 0.2 mg, Vitamin A 4000 I.U., Vitamin D 1000 I.U., Vitamin E 50 I.U., Vitamin K 50 μ g, Pyridoxine HCl 7mg

2) Composition of mineral mixture (Ca & P Free)

: 3.5% in diet provided the following mineral (mg/kg diet)

Sodium (as sodium chloride) 1020, Potassium (as potassium citrate, H₂O) 3600, Magnesium (as magnesium oxide) 500, Manganese (as manganese carbonate) 54, Iron (as ferric chloride) 35, Copper (as cupric carbonate) 6, Zinc (as zinc carbonate) 30, Iodine (as potassium iodine) 0.2, Selenium (as sodium selenite · 5H₂O) 0.1, Chromium (as chrome potassium sulfate · 12H₂O) 2.0, Chloride (as sodium chloride) 1560, Sulfate (as potassium sulfate) 1000

칼슘량을 식이의 0.5%로 설정한후 저칼슘군은 정상수준의 1/5로, 고칼슘군은 정상수준의 3배의 칼슘량이 되도록 하였다.⁸⁾

정상칼슘식이의 칼슘과 인의 함량 비율은 약 1.25 : 1로 하였으며, 저칼슘군에서는 인의 결핍을 배제하기 위해 인의 함량을 0.4%로 하였으며, 고칼슘군에서는 칼슘과의 함량비를 고려해 인을 0.8%로 하였다.²¹⁾

톳 (*Hijikia fusiforme*, 국내산)은 생 시료를 구입하여 수돗물로 씻어서 이물질을 제거한 다음, 전 부분을 동결 건조시킨 후 분쇄기로 갈아 냉동 보관하여 본 실험의 시료로 사용하였다. 식이에 첨가된 톳의 양은 Kim 등²²⁾의 연구에서 고지혈증을 유발시킨 수컷 흰쥐의 혈청 지질 함량을 감소시키는데 사용되었던 1일 톳농축 급여량 10 ml를 생톳의 양으로 환산하여 녹즙액과 같은 양인 분말 상태의 톳으로 매일 2 g씩 식이에 섞어 주었다.

난소 절제 및 실험동물 사육

실험동물은 구입 후 표준사료로 2주간 적응기간을 거친 후 모두 dl-2- (o-chloro-phenyl)-2- (methylamino) cyclohexanone hydrochloride (0.15 ml/100 gBW, 케타라®, 유한양행)와 xylazine hydrochloride (0.1 ml/100 gBW,

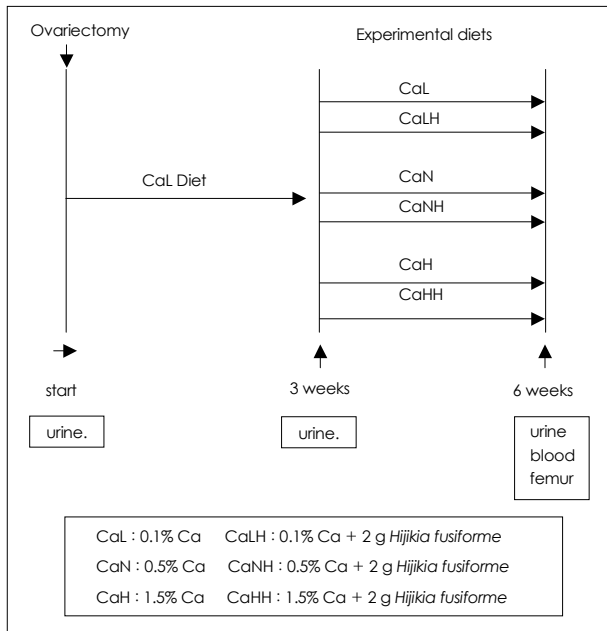


Fig. 1. Outline of experimental design.

럼푼®, 바이엘코리아)를 복강에 주사하여 마취시키고 양쪽 난소를 절제하였다.

난소절제 후 모든 동물에게 저칼슘식이를 3주간 공급하였고 그 후 한 군에 6마리씩 6군으로 나누어 저칼슘식이, 정상칼슘식이, 고칼슘식이, 저칼슘푼식이, 정상칼슘푼식이, 고칼슘푼식이 등 실험 식이를 각각 3주간 공급하였다 (Fig. 1).

식은 매일 20 g씩 공급하였고, 물은 실험기간 동안 마음껏 섭취하도록 하였으며 물은 무기질의 영향을 방지하기 위해서 모두 탈이온수를 공급하였다.

실험동물은 stainless steel cage에서 한 마리씩 분리 사육하였으며 대사 cage와 사육에 사용된 모든 기구들은 무기질 오염 방지를 위해 0.4% EDTA로 씻은 후 탈이온수로 3회 이상 행구어 사용하였다. 사육실의 환경은 실내온도 20~25°C, 명암주기 12시간 cycle (light 06 : 00~18 : 00)로 유지하였다. 식이는 매일 새로운 것을 공급하면서 전날의 식이 섭취량을 측정하였고 체중은 매주 한번씩 측정하였다.

시료의 수집

요는 난소절제 전, 난소절제 후 3주간 저칼슘식이를 공급하고 각 실험식으로 나누기 전, 그리고 실험 식이를 3주간 공급한 후 희생시키기 전에 각각 24시간 요를 채취하였다.

혈액 채취는 실험식이 공급이 끝나고 동물을 희생시키기 전 12시간 동안 금식을 시키고 ethylether로 마취시킨 뒤 개복하여 심상으로부터 7 ml를 채취한 뒤 혈청을 분리하여 -20°C에 냉동 보관하였다.

Table 2. Atomic absorption working conditions

	Calcium
Wave length	422.7 nm
Spectral band pass	0.1 nm
Fuel	Acetylene
Support	Air

대퇴골은 혈액을 채취한 즉시 적출하여 뼈조직에 부착되어 있던 근육, 지방, 인대 등을 전부 제거하였다.

분석 방법

혈액 분석

혈청 칼슘은 atomic absorption spectrophotometer (AAS, Jarrel-Ash, U.S.A)로 측정하였다.²³⁾ AAS의 사용 조건은 Table 2에 나타내었다.

혈청 alkaline phosphatase는 King-Armstrong의 방법²⁴⁾을 사용하여 UV-visible spectrophotometer (HP 89090A, Hewlett Packard, U.S.A)로 402.5 nm에서 측정하였다.

혈청 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤은 효소법을 이용한 kit (영동제약)를 사용하여 측정하였고 중성지방은 Soloni의 비색법²⁵⁾으로 측정하였다. 총지질의 농도는 Frings과 Dunn의 sulfophosphovanillin 방법²⁶⁾으로 측정하였다.

요 분석

수집한 24시간 요는 실험 전 중성이 되도록 pH를 조정 한 후 100 ml로 희석하여 사용하였다. 요 중 hydroxyproline은 Bergman과 Loxley의 방법²⁷⁾으로 분석하였다. Creatinine은 picric acid를 이용한 Folin-Wu의 방법²⁸⁾으로 측정하였다.

대퇴골 분석

대퇴골은 습중량을 측정하였고 길이는 vernier caliper를 사용하여 대전자 (greater trochanter)와 내측과 (medial condyle) 사이를 측정하였으며 뼈의 파단력을 측정 한 후 냉동 건조하여 건중량을 측정하였다.

대퇴골의 파단력은 Instron (UTM Model J16772, HANTEST Co.)을 사용하여 crosshead speed 3 mm/min, load cell 100 kg의 조건하에서 뼈 길이의 중심부위에서 일정하게 측정하였다.

회분은 대퇴골을 냉동 건조 후 550~600°C의 회화로에서 7시간 동안 회화시켜 정량하였고 칼슘함량은 atomic absorption spectrophotometer (AAS, Jarrel-Ash, U.S.A)로 측정하였다.

통계처리

각 실험의 결과는 SAS program을 이용하여 실험군마

다 평균 \pm 표준편차 (means \pm SD)를 계산하였다. 각 식이군 간에는 ANOVA test 후 $P < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 각 군간의 차이에 대해 유의성을 검증하였고, 칼슘 수준과 톳 첨가 유무에 따라서는 2-way ANOVA로 유의성을 검증하였다. 또한, hydroxyproline, creatinine 그리고 hydroxyproline/creatinine의 비 중에서 난소절제전과 난소절제 3주후의 값은 Student t-test를 사용하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

식이 섭취량, 체중증가량, 식이효율

실험 시작 전 초기 체중과 실험식이 섭취 후의 체중 증가량, 실험기간 동안 매일 측정된 식이 섭취량 그리고 이를 이용해 계산한 식이 효율은 Table 3과 같다.

난소 절제를 하기 직전 실험동물의 체중은 239.31 g이었고 그 후 3주간 저칼슘식이를 공급한 후의 체중은 298.67 g에서 315.50 g 범위였으며 실험군간 유의적인 차이가 없었다.

난소를 절제하고 저칼슘식이를 3주간 공급하는 동안 실험동물의 체중은 1일 평균 2.09 g 증가하였다. 그러나 그 후 3주간 6개의 실험 식이로 바꾸어 공급하였을 때 모든 실험군의 체중 증가량이 현저히 낮아지는 경향을 보였다. 이 중 식이 변화가 없었던 저칼슘식이군의 체중증가량 변화가 다른군에 비해 가장 작은 것을 볼때 이는 칼슘 양의 증가와 톳의 첨가로 인한 식이의 변화에 실험동물들이 잘 적응하지 못한 때문인 것으로 사료된다. 특히 분말 톳에 대한 실험동물의 기호가 낮아 톳을 첨가한 군의 식이 섭취량이 약간 낮은 것에도 일부 기인하는 것으로 사료된다.

체중 증가량은 칼슘 수준과 톳 첨가에 따라 유의적 차이 ($p < 0.05$, $p < 0.01$)를 보여 저칼슘군 (0.8 g/day)과 정상칼슘군 (0.7 g/day)이 고칼슘군 (0.2 g/day)보다 체중증가량이 높았고, 또 톳을 첨가하지않은 군 (0.8 g/day)이 톳을 첨가한 군 (0.3 g/day)보다 체중 증가량이 더 높게 나타났다.

식이 효율은 난소 절제 후 저칼슘식이를 3주간 한 경우 0.113으로 나타났고 그 후 3주간 실험 식이를 공급한 후에는 칼슘 수준과 톳 첨가에 따라 유의적 차이 ($p < 0.05$, $p < 0.05$)를 나타내어 저칼슘군 (0.04)과 정상칼슘군 (0.035)이 고칼슘군 (0.007)보다, 또한 톳을 첨가하지않은 군 (0.04)이 톳을 첨가한 군 (0.02)보다 식이 효율이 높게 나타났다.

혈청 칼슘농도와 Alkaline phosphatase 활성도

혈청 칼슘농도와 alkaline phosphatase 활성을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 모든 실험군에 있어서 혈청 칼슘 농도는 흰쥐의 정상적인 칼슘 농도인 7.2~3.9 mg/dl²⁹⁾보다 낮은 값을 보였으며, 식이 칼슘 수준의 차이나 톳 첨가에 따라 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 톳을 첨가하지 않은 군내에서는 유의차는 없었으나 정상칼슘식이과 고칼슘식이에서 높은 편이었고, 톳을 첨가한 군내에서도 정상칼슘톳식이와 유의적 차이는 없었으나 저칼슘톳식이보다 높은 편이었다. 고칼슘톳식이를 급여한 동물의 혈청 칼슘 농도는 정상칼슘톳식이보다 유의하게 낮게 나타났다. 이와 같이 고칼슘톳식이군에서 혈청 칼슘 농도가 낮은 것은 톳의 첨가로 인한 식이의 섭취량 감소로 식이를 통한 칼슘의 보충정도가 계획한 양보다 낮았을 가능성에도 일부 기인하는 것으로 사료된다.

Table 3. Feed intakes, body weight gains and feed efficiency ratios

Group	Initial BW (g \pm SD)	Wt gain (g/day)	Feed intake (g/day)	Feed efficiency ratio
OVX-CaL ¹⁾	239.31 \pm 11.09 ²⁾	2.09 \pm 0.89	18.43 \pm 1.11	0.113 \pm 0.05
CaL	315.50 \pm 14.36 ^{ns3)}	1.13 \pm 0.46 ^{ns}	18.87 \pm 3.53 ^{ns}	0.059 \pm 0.02 ^{ns}
CaN	303.50 \pm 9.14	0.90 \pm 0.37	19.70 \pm 1.60	0.045 \pm 0.02
CaH	299.67 \pm 28.40	0.46 \pm 0.73	18.23 \pm 3.46	0.021 \pm 0.04
CaLH	299.17 \pm 4.71 ^{ns}	0.52 \pm 0.47 ^{ns}	18.10 \pm 3.74 ^{ns}	0.030 \pm 0.03 ^{ns}
CaNH	302.33 \pm 25.77	0.56 \pm 0.47	18.31 \pm 3.50	0.030 \pm 0.02
CaHH	298.67 \pm 13.26	-0.06 \pm 0.64	16.99 \pm 4.64	-0.006 \pm 0.04
2 way-ANOVA ⁴⁾	ns	Hi ^{**} , Ca [*]	ns	Hi [*] , Ca [*]

1) 0.1% Ca diet for 3weeks after ovariectomy

2) Mean \pm SD

3) Not significant within the column by Duncan's multiple range test

4) Significant factor from 2-way ANOVA

Hi: statistically significant in the effect of *Hijikia fusiforme* supplementation

Ca: statistically significant in the effect of dietary Ca level

ns: not significant

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

Alkaline phosphatase의 활성도는 톳첨가에 따른 유의한 차이는 없었으나 식이 칼슘 수준에 따라서는 유의한 차이 ($p < 0.01$)를 보여 정상칼슘군 (31.5 units/l)과 고칼슘군 (26.5 units/l)에 비해 저칼슘군 (18 units/l)에서 낮은 활성도를 보였다. 이는 특히 톳을 첨가하지 않은 식이군에서 더 현저하게 나타났다.

Alkaline phosphatase는 조골세포의 활성을 증가시키는 골격 isoenzyme의 분비를 자극해³⁰⁾ 성장초기와 칼슘 결핍시 증가된다고 하나, Shinha 등³¹⁾은 2개월과 24개월 된 암컷 흰쥐에게 0.2%, 1.0%의 칼슘을 11주간 피하주사한 결과 alkaline phosphatase 활성은 나이가 어릴수록, 칼슘 함량이 높을수록 증가한다고 하여 본 연구와 비슷한 결과를 보이고 있다.

Table 4. Serum calcium and alkaline phosphatase activity

Group	Ca (mg/dl)	Alkaline phosphatase (units/l)
CaL	5.21 ± 0.14 ^{1)ns2)}	15.77 ± 4.39 ³⁾
CaN	5.62 ± 1.11	34.72 ± 8.81 ²⁾
CaH	5.54 ± 0.35	29.18 ± 13.16 ^{ab)}
CaLH	5.51 ± 0.54 ^{ob)}	20.21 ± 7.66 ^{ns)}
CaNH	5.88 ± 0.36 ^{a)}	29.83 ± 8.80
CaHH	4.98 ± 0.44 ^{b)}	24.72 ± 9.22
2-way ANOVA ⁴⁾	ns	Ca**

- 1) Mean ± SD
- 2) Not significant within the column by Duncan's multiple range test
- 3) Values with different superscript within the column are significantly different $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test
- 4) Significant factor from 2-way ANOVA
 Hi: statistically significant in the effect of *Hijikia fusiforme* supplementation
 Ca: statistically significant in the effect of dietary Ca level
 ns: not significant
 *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

혈청 지질 함량

혈청 중의 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 중성지방 및 총지질의 함량은 Table 5에 나타내었다. 총콜레스테롤 함량은 식이 칼슘 수준이나 톳 첨가에 따라 유의한 차이를 보이지 않았다. HDL-콜레스테롤은 톳 첨가에 따른 유의적인 차이는 없었으나 식이 칼슘 수준에 따라서는 유의한 차이 ($p < 0.05$)를 보여 정상칼슘군 (90.5 mg/dl)과 고칼슘군 (88.4 mg/dl)이 저칼슘군 (67.5 mg/dl)보다 높은 값을 보였다.

중성지방의 함량은 식이 칼슘 수준이나 톳 첨가에 의해서 유의한 차이를 보이지 않았으나 저칼슘군이나 정상칼슘군에 비해 고칼슘군에서 낮은 경향을 보였다. 총지질의 함량도 식이 칼슘 수준이나 톳 첨가에 의해서 유의한 차이를 보이지 않았으나 저칼슘군이나 정상칼슘군에 비해 고칼슘군에서 낮은 경향을 보였다.

Kim 등²²⁾은 고지혈증을 유발시킨 수컷 흰쥐에게 톳 녹즙액을 4주간 급여했을 때 톳 녹즙을 급여 받은 군이 급여 받지 않은 군에 비해 HDL-콜레스테롤의 농도가 상승하였고, 중성지방의 농도는 감소하였다고 보고하여 톳이 혈청 중성지질을 감소시키고 HDL-콜레스테롤은 증가시켜 심혈관계 질환을 줄일 수 있는 가능성을 제시하였다. 그러나 본 연구에서는 톳 첨가의 효과가 뚜렷이 나타나지 않았는데 이는 톳을 분말화하여 식이에 섞어 주었기 때문에 즙으로 주었을 때에 비해 연구자가 기대하였던 섭취량보다 적은 양을 섭취하였을 가능성이 있어 뚜렷한 효과가 나타나지 않은 것으로 사료된다.

한편 칼슘 수준이 높을 경우 혈청 중성지방과 총지질은 낮은 경향이었고 반면 HDL-콜레스테롤은 높은 경향이어서 난소를 절제한 쥐에게 칼슘 공급을 증가시켰을 때 혈청 지질 양상을 개선하여 심혈관계 질환을 줄일 수 있는 가능

Table 5. Serum total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride and total lipid concentrations

Group	Total cholesterol (mg/dl)	HDL cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Total lipid (mg/dl)
CaL	104.05 ± 20.26 ^{1)ns2)}	68.34 ± 22.84 ^{ns)}	50.61 ± 33.85 ^{ns)}	451.06 ± 231.99 ^{ns)}
CaN	110.84 ± 29.38	91.21 ± 19.15	54.36 ± 18.71	325.37 ± 135.34
CaH	129.28 ± 30.43	91.23 ± 18.33	43.29 ± 12.51	320.16 ± 121.30
CaLH	121.24 ± 32.80 ^{ns)}	67.43 ± 17.66 ^{ns)}	45.19 ± 17.39 ^{ns)}	375.33 ± 293.77 ^{ns)}
CaNH	116.84 ± 18.99	90.54 ± 17.11	52.51 ± 25.32	396.98 ± 116.02
CaHH	115.66 ± 30.10	85.59 ± 20.02	39.81 ± 21.07	346.88 ± 191.95
2 way-ANOVA ³⁾	ns	Ca*	ns	ns

- 1) Mean ± SD
- 2) Not significant within the column by Duncan's multiple range test
- 3) Significant factor from 2-way ANOVA
 Hi: statistically significant in the effect of *Hijikia fusiforme* supplementation
 Ca: statistically significant in the effect of dietary Ca level
 ns: not significant
 *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

Table 6. Urinary excretion of hydroxyproline and creatinine

Group	Hydroxyproline ($\mu\text{g/day}$)	Creatinine (mg/day)	OHP/Cr ($\mu\text{g/mg}$)
Stock ¹⁾	67.92 \pm 22.33 ^{2)ns3)}	5.89 \pm 1.29 ^{ns}	12.10 \pm 3.53 ^{ns}
OVX-CaL ⁴⁾	65.06 \pm 25.99	5.92 \pm 2.13	11.07 \pm 2.69
CaL	66.86 \pm 15.52 ^{ns5)}	8.26 \pm 1.95 ^{ns}	8.26 \pm 1.95 ^{ns}
CaN	73.16 \pm 32.52	7.27 \pm 1.17	9.77 \pm 2.74
CaH	66.02 \pm 12.99	8.45 \pm 0.65	7.80 \pm 0.73
CaLH	55.65 \pm 28.06 ^{ns}	8.72 \pm 1.39 ^{ns}	6.26 \pm 1.66 ^{ns}
CaNH	73.99 \pm 25.75	8.44 \pm 1.41	8.64 \pm 1.99
CaHH	71.95 \pm 20.69	8.97 \pm 1.14	7.92 \pm 1.41
2 way-ANOVA ⁶⁾	ns	ns	ns

1) Stock diet before ovariectomy

2) Mean \pm SD

3) Not significant by t-test between before and after ovariectomy

4) 0.1% Ca diet for 3weeks after ovariectomy

5) Not significant within the column by Duncan's multiple range test

6) Significant factor from 2-way ANOVA

Hi: statistically significant in the effect of *Hijikia fusiforme* supplementation

Ca: statistically significant in the effect of dietary Ca level

ns: not significant

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

성을 시사하고 있다.

요 Hydroxyproline과 creatinine

요 중 hydroxyproline과 creatinine 함량 그리고 hydroxyproline/creatinine 비는 Table 6에 나타내었다.

Hydroxyproline은 체내 단백질 중 collagen에 주로 존재하며 체내 총 아미노산의 13~14%를 차지하는 imino acid이다. 요로 배설되는 hydroxyproline의 양은 체내 collagen 대사, 특히 골격의 분해 정도를 판정하는데 지표로 사용될 수 있다.^{32,33)}

난소 절제 전 실험 동물의 평균 hydroxyproline 배설량은 67.92 $\mu\text{g/day}$ 이었고, 난소를 절제하고 3주간 저칼슘 식이를 섭취한 후에는 65.06 $\mu\text{g/day}$ 로 난소 절제 전에 비해 약간 감소되었으나 유의적인 차이가 없었다. 이러한 결과는 난소절제 8주 후 hydroxyproline의 배설량이 증가했다는 Cho 등³⁴⁾ 연구와 Kim 등³⁵⁾의 연구 결과와 차이를 보이는데 본 연구에서는 난소절제 후 저칼슘 식이를 공급한 기간이 3주로 이들보다 짧아 골분해가 심하게 일어나지 않았기 때문인 것으로 사료된다. 그리고 칼슘 수준과 톳 첨가를 달리한 실험 식이를 3주간 공급한 후에도 hydroxyproline 배설량은 식이 칼슘 수준이나 톳 첨가에 따라 유의적 차이는 나타나지 않았다.

식이 칼슘 수준은 골격에 영향을 주어 성장기에 고칼슘 식이를 섭취하면 bone turnover가 빨라진다고 보고되었다.³⁰⁾ 또한 Horowitz 등³⁶⁾은 폐경 후 여성에게 식이 칼슘을 보충시키면 요 hydroxyproline 배설이 감소된다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 칼슘 수준과 톳 보충을

달리한 식이에 따른 hydroxyproline 배설량의 차이를 뚜렷이 볼 수는 없었다.

Creatinine의 농도는 난소절제전과 난소를 절제하고 3주간 저칼슘 식이를 공급한 후 각각 5.89 mg/day, 5.92 mg/day로 유의한 차이를 보이지 않았다. 그 후 실험 식이를 3주간 급여한 후에는 전반적으로 creatinine 배설량이 높아지는 경향이었으나, 식이 칼슘 수준의 차이나 톳 첨가에 의해 유의한 차이를 보이지는 않았다. 이는 요중 creatinine의 배설량은 근육량과 관계가 있어 칼슘과 톳의 첨가는 근육량에 대한 영향이 없는 것으로 사료되어진다.

골격 분해 지표인 hydroxyproline/creatinine 비는 난소 절제전과 난소절제 후 3주간 저칼슘 식이를 공급한 후 각각 12.10 $\mu\text{g/mg}$, 11.07 $\mu\text{g/mg}$ 으로 유의적인 차이는 없었으며 실험식이 섭취 후 감소하는 경향을 보였으나 식이 칼슘 수준과 톳 첨가에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다. 그러나 톳을 첨가한 군 (7.60 $\mu\text{g/mg}$)이 톳을 첨가하지 않은 군 (8.61 $\mu\text{g/mg}$)에 비해 더 낮은 경향을 보여 톳 첨가가 골격 분해를 감소시키는데 영향을 줄 가능성도 있는 것으로 사료된다.

대퇴골의 중량, 길이 및 강도

대퇴골의 중량, 길이 및 강도는 Table 7에 나타내었다.

대퇴골 습중량은 식이 칼슘 수준과 톳 첨가에 따라 유의한 ($p < 0.01$, $p < 0.05$) 차이를 보여 저칼슘군 (0.98 g)이 정상칼슘군 (0.91 g)이나 고칼슘군 (0.90 g) 보다 높게 나타났고, 톳 첨가를 하지 않은 군 (0.95 g)이 톳 첨가를 한 군 (0.91 g) 보다 높게 나타났다. 또한 Table 3에

Table 7. Weight, length and breaking force of the femur

Group	Wet weight ¹⁾ (g)	Dry weight ¹⁾ (g)	Wet wt/BW (g/100 g)	Length ²⁾ (cm)	Breaking force ³⁾ (kgf)
CaL	0.99 ± 0.08 ^{4)ns5)}	0.58 ± 0.04 ^{ns}	0.29 ± 0.02 ^{ns}	3.56 ± 0.08 ^{ns}	10.34 ± 2.95 ^{ns}
CaN	0.93 ± 0.06 ^a	0.59 ± 0.03	0.29 ± 0.12	3.63 ± 0.07	9.61 ± 0.95
CaH	0.92 ± 0.05 ^a	0.61 ± 0.04	0.30 ± 0.03	3.60 ± 0.08	8.47 ± 1.94
CaLH	0.97 ± 0.07 ⁶⁾	0.58 ± 0.04 ^{ns}	0.29 ± 0.03 ^{ns}	3.59 ± 0.09 ^{ns}	10.92 ± 1.86 ^{ns}
CaNH	0.88 ± 0.03 ^b	0.58 ± 0.04	0.28 ± 0.02	3.60 ± 0.04	9.27 ± 1.98
CaHH	0.87 ± 0.03 ^b	0.58 ± 0.02	0.29 ± 0.01	3.60 ± 0.06	10.15 ± 0.83
2 way-ANOVA ⁷⁾	Hi*, Ca**	ns	ns	ns	ns

- 1) Mean weight of left and right femur
- 2) Mean length of left and right femur
- 3) breaking force of left femur
- 4) Mean ± SD
- 5) Not significant within the column by Duncan's multiple range test
- 6) Values with different superscript within the column are significantly different at p < 0.05 by duncan's multiple range test
- 7) Significant factor from 2-way ANOVA
 - Hi: statistically significant in the effect of *Hijikia fusiforme* supplementation
 - Ca: statistically significant in the effect of dietary ca level
 - ns: not significant
 - *: p < 0.05, **: p < 0.01, ***: p < 0.001

Table 8. Ash and calcium contents of the femur

Group	Ash (mg)	Ash (mg/g wet wt)	Ash/Length (mg/mm)	Ca (ppm)
CaL	320.40 ± 21.07 ^{1)ns2)}	325.00 ± 24.26 ^{b3)}	9.01 ± 0.67 ^{ns}	36.24 ± 4.14 ^b
CaN	338.54 ± 21.17	363.71 ± 30.64 ^a	9.32 ± 0.44	44.94 ± 0.77 ^a
CaH	344.45 ± 30.81	374.75 ± 24.88 ^a	9.57 ± 0.92	45.02 ± 0.75 ^a
CaLH	331.82 ± 19.92 ±	343.80 ± 9.84 ^b	10.51 ± 3.17 ^{ns}	34.55 ± 5.32 ^b
CaNH	337.98 ± 30.55	385.59 ± 35.50 ^a	9.39 ± 0.89	45.01 ± 0.87 ^a
CaHH	334.93 ± 7.67	386.23 ± 12.83 ^a	9.29 ± 0.29	44.73 ± 0.41 ^a
2 way-ANOVA ⁴⁾	ns	Hi*, Ca***	ns	Ca**

- 1) Mean ± SD
- 2) Not significant by t-test between before and after ovariectomy
- 3) Values with different superscript within the column are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test
- 4) Significant factor from 2-way ANOVA
 - Hi: statistically significant in the effect of *Hijikia fusiforme* supplementation
 - Ca: statistically significant in the effect of dietary Ca level
 - ns: not significant
 - *: p < 0.05, **: p < 0.01, ***: p < 0.001

서 보는 바와 같이 체중 증가량과 비슷한 양상을 보여 체중 증가가 많았던 군이 습증량도 높게 나타났다. 건증량은 식이 칼슘 수준과 톳 첨가에 따라 유의한 차이를 보이지 않았다. 단위 체중당 대퇴골의 습증량은 모든 실험군에서 유의적인 차이없이 비슷하게 나타났다. 그리고 단위 체중당 대퇴골의 습증량은 0.5% 칼슘을 공급한 난소 절제 흰쥐에게 식이 지방을 달리 하여 연구 한 Ahn 등³⁷⁾의 결과에서보다는 크게 나타났다.

대퇴골의 길이 또한 유의적인 차이는 없었고, 모든 실험군에서 비슷하게 나타났다. 4개월 된 흰쥐에게 난소를 절제한 후 칼슘을 보충시켰을 때 칼슘의 섭취 수준과는 무관하게 난소절제군의 대퇴골 길이가 증가했다는 Blanusca 등³⁸⁾의 연구 결과가 있으나 본 연구에서는 유의한 차이가 나타나지 않았으며, Lee³⁹⁾의 연구에서 난소를 절제한 흰쥐에

게 4주간 칼슘결핍식을 공급한 후 측정된 대퇴골의 길이와 비슷한 결과를 보였다.

과단력으로 측정된 뼈의 강도는 식이 칼슘 수준에 따라 유의적 차이는 보이지 않았다. 또한 톳 첨가에 따라서도 유의적인 차이는 없었으나 정상칼슘군을 제외하고 톳을 첨가한 군이 톳을 첨가하지 않은 군에 비해 약간 높은 경향이 있었다. 이는 식이 칼슘이 높을 때 뼈의 강도가 증가하여 과단력이 높아졌다는 다른 연구^{7,40)}들과 차이를 보이고 있다.

대퇴골의 회분 및 칼슘 함량

대퇴골의 회분 및 칼슘 함량은 Table 8에 나타내었다. 대퇴골의 회분 함량은 유의차는 없었으나, 대퇴골의 습증량에 대한 회분량의 무게비는 식이 칼슘 수준과 톳 첨가에 따라 유의적인 (p < 0.001, p < 0.05) 차이를 보여 정상칼슘군 (375 mg/g)과 고칼슘군 (381 mg/g)이 저칼슘

군 (334 mg/g)이 보다 높았으며, 톳을 첨가한 군 (372 mg/g)이 첨가하지 않은 군 (354 mg/g)에 비해서 유의적으로 높게 나타났다.

대퇴골의 칼슘 함량은 식이 칼슘 수준에 따라 유의한 ($p < 0.01$) 차이를 보여 정상칼슘군 (45 ppm)과 고칼슘군 (45 ppm)이 저칼슘군 (35 ppm)보다 높게 나타났다. 그러나 톳 첨가에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이는 난소를 절제한 쥐에게 식이 칼슘수준을 다르게 공급한 O,⁷⁾ Kim,³⁵⁾ Donahue 등⁴¹⁾의 연구에서 식이 칼슘 수준이 높을수록 골격 무게도 무거웠고 회분도 많게 나타난 결과와 일치하고 있다.

따라서 본 연구에서는 식이 칼슘 수준이 높은 경우 대퇴골의 회분비율과 칼슘의 함량이 높아지는 것을 볼 수 있었고, 반면 톳을 첨가한 경우는 대퇴골의 회분 비율은 높아졌으나 칼슘함량에는 큰 영향을 주지 않는 것을 볼 수 있었다.

요약 및 결론

식이 칼슘 수준과 톳 첨가가 골지표와 혈청 지질 농도에 미치는 영향을 보고자 난소를 절제한 Sprague Dawley계 암컷 흰쥐에게 3주간 저칼슘식을 공급한 후 6군으로 나누어 저칼슘식이, 정상칼슘식이, 고칼슘식과 세 식이에 각각 톳을 첨가한 저칼슘톳식이, 정상칼슘톳식이, 고칼슘톳식이 등의 실험 식이를 3주간 급여하고 희생시켰다.

혈청 칼슘의 농도는 칼슘 수준에 따라 유의차는 없었으나 정상칼슘식과 고칼슘식에서 높은 편이었고 톳 첨가군내에서도 정상칼슘식이가 유의적 차이는 없었으나 저칼슘식이보다 높은 편이었다. 그러나 고칼슘군의 칼슘 농도는 정상칼슘식이군보다 유의하게 낮게 나타났다.

Alkaline phosphatase의 활성도는 톳 첨가에 따라 유의한 차이는 없었으나 식이 칼슘 수준에 따라서는 유의한 차이를 보여 정상칼슘군과 고칼슘군이 저칼슘군에 비해 높은 활성도를 보였다.

총콜레스테롤, 중성지방, 그리고 총지질함량은 식이 칼슘 수준이나 톳 첨가에 의해서 유의한 차이를 보이지 않았으나 중성지방과 총지질은 고칼슘군에서 낮은 경향이였다. HDL-콜레스테롤함량은 톳 첨가에 의한 유의적 차이는 없었으나 칼슘수준에 따라서는 유의한 차이를 보여 정상칼슘군과 고칼슘군이 저칼슘군보다 유의하게 높게 나타났다.

요 hydroxyproline과 creatinine, 배설량, Hydroxyproline/creatinine 비는 유의적인 차이가 없었으나, Hydroxyproline/creatinine비는 저칼슘군과 정상칼슘군에서 톳을

첨가한 경우 감소되는 경향이 있었다.

대퇴골 습중량은 저칼슘군과 톳 첨가를 하지 않은 군에서 유의하게 높았으며, 대퇴골의 길이는 식이 칼슘 수준이나 톳 첨가에 따른 유의적인 차이는 없었다. 대퇴골의 파단력은 식이 칼슘 수준과 톳 첨가에 따라 유의적 차이를 보이지 않았으나, 정상칼슘군을 제외하고 톳을 첨가한 군이 톳을 첨가하지 않은 군에 비해 약간 높은 경향이였다.

대퇴골의 습중량에 대한 회분량의 무게비는 식이 정상칼슘군과 고칼슘군이 저칼슘군보다 유의적으로 높았으며, 톳을 첨가한 군이 첨가하지 않은 군에 비해서 유의적으로 높게 나타났다.

대퇴골의 칼슘 함량은 식이 칼슘 수준에 따라 유의한 차이를 보여 정상칼슘군과 고칼슘군이 저칼슘군보다 높게 나타났다. 그러나 톳 첨가에 따라서는 유의한 차이를 나타내지 않았다.

이상의 결과, 난소절제 후 식이 칼슘 수준을 증가시켰을 때 혈청 HDL-콜레스테롤 수준이 유의하게 높아져 식이 칼슘의 증가가 폐경으로 인해 생길 수 있는 고지혈증을 감소시킬수 있을 것으로 사료된다. 또한 식이 칼슘의 증가는 대퇴골의 칼슘 함량과 회분의 무게비를 증가시키고 또한 alkaline phosphatase의 활성을 증가시키는 것으로 보아 식이 칼슘 수준을 높이면 폐경기에 발생할 수 있는 골다공증에도 도움을 줄 수 있을 것이다. 한편 본 연구에서 첨가한 수준의 톳 공급량은 혈청 지질의 감소에는 큰 효과가 없었으나, 대퇴골의 회분의 무게비를 유의하게 증가시키고 골분해지표인 hydroxyproline/creatinine의 비를 낮추는 경향을 보여 폐경 후 증가되는 골분해를 감소시킬 가능성을 보이고 있다.

Literature cited

- 1) Bea CY, Shin DH, Ku ES, Lee JS, Beak JS. A study for osteoporosis of postmenopausal women. *J Korean Acad Fam Med* 1994; 15: 113-120
- 2) Yoo HJ. Nutritional problems in the elderly patients. *Korean J Nutr* 1994; 27(6): 666-674
- 3) Woods MN, Gorbach SL, Longcope C, Rose DP, Boyar AP, Cohen C, Strong LE. Effect of a low-fat diet on hormone levels in women with cystic breast disease. Serum steroids and gonadotropins. *J Natl Cancer Inst* 1987; 79: 623-626
- 4) Dawson-Hughes B. Osteoporosis treatment and the calcium requirement. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 5-6
- 5) Cumming RG, Nevitt MC. Calcium for prevention for osteoporotic fractures in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 1321-1329
- 6) Nieves JW, Komar L, Cosman F, Lindsay R. Calcium potentiates

- the effect of estrogen and calcitonin on bone mass: review and analysis. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 18-24
- 7) O JH, Lee YS. Effects of dietary calcium levels on the reduction of calcium availability in ovariectomized osteoporosis model rats. *Korean J Nutr* 1993; 26(3): 277-285
 - 8) Lee YS, Kim EM. Effect of ovariectomy and dietary calcium levels on bone metabolism in rats fed low calcium diet during growing period. *Korean J Nutr* 1998; 31(3): 279-288
 - 9) Tsuchita H, Goto T, Shimizu T, Yonehara Y, Kuwata T. Dietary casein phosphopeptides prevent bone loss in aged ovariectomized rats. *J Nutr* 1996; 126: 86-93
 - 10) Preuss HG. Nutrition and Diseases of women: Cardiovascular disorders. *J Am Coll Nutr* 1993; 12(4): 417-425
 - 11) Park HS. Effects of soybean foods intake on menopausal symptoms, Serum hormones, Serum lipids and bone metabolism in middle-aged women. Dissertation of Ph D. Ewha Womans University, Seoul; 2003
 - 12) Kannel AB. Metabolic risk factors for coronary heart disease in women: perspective from the Framingham Study. *Atherosclerosis* 1993; 99: 207-217
 - 13) Kannel WB, Castelli W, Gordon T. Serum cholesterol, lipoproteins and risk of coronary heart disease. The Framington Study. *Ann Intern Med* 1971; 74: 1-12
 - 14) Lee JY. Management of Menopausal Women. *The Korean Society of Menopause*; 1994. p.33-67
 - 15) Ross RK, Paganini-Hill A, Mack TM, Henderson BE. Cardiovascular benefits of estrogen replacement therapy. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160: 1301-1306
 - 16) Campos H, Wilson Peter WF, Jimenez D, Mcnaman JR, Ordovas J, Schaefer EJ. Differences in apolipoproteins and low density lipoprotein subfractions in postmenopausal women on and off estrogen therapy: Result from the Framingham offspring study. *Metabolism* 1990; 39(10): 1033-1038
 - 17) Song J, Kim E, Shin C, Kim SS, Lee HK, Jung M, Jung SC, Jo SA, Jo I. Prevalence of the metabolic syndrome among South Korean adults: the Ansan study. *Diabet Med* 2004; 21(10): 1154-1155
 - 18) Carr MC. The Emergence of the Metabolic Syndrome with Menopause. *J Clin Endocrinology Metabolism* 2003; 88(6): 2404-2411
 - 19) Lahaye M. Marine algae as Sources of fibers: Determination of soluble and insoluble dietary fiber contents in some 'sea vegetable' *J Sci Food Agric* 1991; 54: 587-594
 - 20) Recommended Dietary Allowance for Korean. *The Korean Nutrition Society (6th Revision)*; 1995. p.318-323
 - 21) The American Institute of Nutrition. Report of the American Institute of nutrition. Ad Hoc Committee on standards for Nutritional studies. *J Nutr* 1977; 107: 1340-1348
 - 22) Kim HS, Kim GJ. Effects of the feeding *Hijikia fusiforme* (Harvey) Okamura on lipid composition of serum in dietary hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1998; 27(4): 718-723
 - 23) Keiichiro F, Pablo P, Robert M, Bert LV. Determination of zinc biological materials by atomic absorption spectrophotometry. *Analytical Chemistry* 1964; 36(13): 2407-2411
 - 24) John D Bauer. Clinical laboratory methods. 9th ed. Mosby; 1982. p.580-581
 - 25) Felix G. Soloni, Simplified manual micromethod for determination of serum triglycerides. *Clin Chem* 1971; 17: 529-534
 - 26) John D Bauer. Clinical laboratory methods. 9th ed. Mosby; 1982. p.552-553
 - 27) Bergman I, Loxley R. Two improved and simplified method for the spectrometric determination of hydroxyproline. *Anal Chem* 1963; 35: 1967-1965
 - 28) John D Bauer. Clinical laboratory methods. 9th ed. Mosby; 1982. p.489-490
 - 29) Mitruka BM, Rawnsley HM. Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal humans 2ed, Masson, New York; 1987. p.160
 - 30) Pickering RG, Pickering CE. Studies of rat alkaline phosphatase. *Arch Toxicol* 1978; 39: 267
 - 31) Sinha R, Smith JC, Soares JH. The effect of dietary calcium on bone metabolism in young and aged female rats using a short-term in vivo model. *J Nutr* 1988; 118: 1217
 - 32) Dull TA, Henneman PH. Urinary hydroxyproline as an index of collagen turnover in bone. *New Engl J Med* 1963; 268: 132
 - 33) Hodgkinson A, Thompson T. Measurement of the fasting urinary hydroxyproline: creatinine ratio in normal adults and its variation with age and sex. *J Clin Pathol* 1982; 35: 807
 - 34) Cho SY, Jang YA, Lee HS, Kim WY. The effect of dietary protein level on the Ca and bone metabolism in ovariectomized rats. *Korean J Nutr* 1993; 26(8): 915-924
 - 35) Kim WY, Choi HK, Lee HS. The effects of dietary Ca level on Ca and skeletal metabolism in ovariectomized rats of different ages. *Korean J Nutr* 1998; 31(4): 716-728
 - 36) Horowitz M, Need AJ, Philcox JC, Nordin BEC. Effect of calcium supplementation on urinary hydroxyproline in osteoporotic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 857-859
 - 37) Ahn HS, Lee SS. The effects of dietary lipids and ovariectomy on bone mass in rats. *Korean J Nutr* 1999; 32(1): 3-9
 - 38) Blanusa M, Markovic V, Kosrial K. Kinetic parameters of calcium metabolism and femur morphometry in rats. *Pflügers Arch* 1978; 375: 239-244
 - 39) Lee JH, Lee YS. Effect of excess calcium and Iron supplement on loss, nephrocalcium and renal function in osteoporotic model rats. *Korean J Nutr* 2000; 33(2): 147-157
 - 40) Lee YS, Park MN, Kim EM. Effect of dietary calcium levels on peak bone mass formation in growing female rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1997; 26(3): 480-487
 - 41) Donahue HJ, Mazzeo RS, Horvath SM. Endurance training and bone loss in calcium deficient and ovariectomized rats. *Metabolism* 1988; 37: 741-744