

자건대멸, 칼슘강화소재를 첨가한 우유 및 칼슘강화우유가 흰쥐의 칼슘흡수율과 골대사에 미치는 영향

조진호[†] · 김병기 · 한찬규 · 정은봉 · 조승목
한국식품연구원

Effects of Milk with Boiled-Dried Large Anchovy, Calcium-Fortifying Materials and Fortified-Calcium Milk on Calcium Absorption Rate and Bone Metabolism in Rats

Jin-Ho Jo[†], Byung-Gi Kim, Chan-Kyu Han, Eun-Bong Jung, and Seung-Mock Cho

Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

Abstract

This study was performed to investigate the effect of calcium-rich large anchovy on calcium metabolism in rats for 5 weeks. Experimental animals were randomly assigned to 5 treatments with 14 heads of Sprague Dawley male rats in each group. The experimental diets were as follows; market milk group (M) as control, market milk+calcium-rich large anchovy group (MA), market milk+calcium carbonate group (MC), market milk+calcium lactate group (ML), and enriched-calcium market milk group (M2), which were formulated with commercially semi-purified rat chow (AIN-diet) to maintain the same level of calcium (1%) in all groups. Femur lengths of M and M2 groups were significantly higher than other groups. Bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC) and calcium content of femur were the highest in MA group than other groups. *In vitro* and *in vivo* calcium absorption rates were high in MA group (7.30% vs 27.50%) compared with those of the other groups. Serum total-cholesterol and HDL-cholesterol levels were significantly different between M group and MA group ($p<0.05$). Creatinine levels were significantly higher in M, MA and MC groups than in M2 group ($p<0.05$). Serum calcium, osteocalcin and ALPase activities were higher in calcium-rich large anchovy (MA) group among the treatments, but there was no significant difference. SGOT activity was significantly lower in M2 group than those of M, MA and MC groups ($p<0.05$). These results may indicate that the calcium-rich large anchovy has enforced the BMD, BMC and calcium absorption rates of *in vitro* and *in vivo* compared with the other groups and might be a calcium-enriched food with large anchovy.

Key words: anchovy, calcium-carbonate, calcium-lactate, calcium absorption rate, bone metabolism, rats

서 론

칼슘은 인체에 가장 많이 존재하는 무기질 원소로서 성인의 경우 체중의 약 2%인 1,200 g 정도를 체내에 함유하고 있다. 체내 칼슘의 99%는 골격과 치아를 형성하고, 나머지 1% 정도만이 근육의 수축과 이완, 규칙적 심장박동, 혈액응고, 효소의 활성화, 세포내 자극과 흥분전달과 같은 생리활성기능을 조절한다(1). 국내의 일일 칼슘섭취량을 식품종류별로 보면 채소류가 29.9%로 가장 높고, 어패류와 우유류 및 그 제품은 17.4%와 14.4%로 전체 칼슘섭취량의 61.7%를 채소류, 어패류, 유제품류로 섭취하고 있다. 칼슘섭취의 주요 급원식품으로는 멸치, 우유, 김치 등이며, 이 중 멸치와 우유를 통해서 칼슘섭취가 가장 많았다. 연령대별 주요 급원

식품으로는 어릴수록 우유가 많았고, 연령대가 높아질수록 멸치가 주요 급원식품으로 나타났다. 그러나 2005년 일일 평균 칼슘섭취량을 보면 청소년은 권장량의 55.4%, 성인은 권장량의 83.9%를 섭취하여 일일권장량보다 아직 적은 양을 섭취하는 것으로 나타났다. 이는 2001년의 54.8%, 76.1%보다는 높아졌지만 아직까지 권장량에는 미치지 못하는 것으로 나타났다(2). 칼슘섭취량이 부족하게 되면 뼈의 성장, 유지, 뼈질환, 골다공증, 골절, 순환기계 질환, 고혈압, 고지혈증, 우울증 등의 각종질병에 영향을 주는 것으로 보고된 바 있다(3-6).

주요 칼슘 공급원인 우유는 식중독균인 살모넬라 감염의 감소효과, 항산화효과, 항암효과, 면역증강효과, 간기능증진 등에 관여하는 성분을 함유하고 있다(7-10). 멸치(*Engraulis*

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

japonicus)는 우리나라 연안에서 많은 양이 어획되고 있는 어종으로서(11) 단백질, 철분, 비타민 및 칼슘 뿐 아니라 나이아신, 핵산 및 고도불포화지방산 등을 다량 함유하고 있기 때문에 성장기 어린이, 임산부, 노약자 등 현대인들에게 매우 필요한 수산 식량자원이다(12). 특히, 칼슘함량은 두부와 탈지분유에 비해 각각 2.5배, 1.2배 정도 많다(13). 우리나라에서 수행된 멸치 관련연구는 주로 젓갈류를 대상으로 하였고, 마른멸치에 대해서는 주로 지방산조성(14), 정미성분(15) 및 핵산 관련물질의 함량(16), 저장성을 높이기 위한 항산화제 처리(17), 포장방법(18) 및 탈산소제(19) 첨가 등에 집중되었다. 한편, 멸치 칼슘에 관한 선행연구로는 멸치의 고칼슘화 제조(20)와 체내 칼슘흡수율에 관한 연구(21)가 수행된 바 있다.

본 연구는 국내 식생활에서 칼슘의 주요 공급원인 멸치를 고칼슘화하여 제조한 멸치와 우유를 혼합한 식이 및 칼슘강화소재 및 칼슘강화우유를 첨가한 식이가 흰쥐의 골밀도와 칼슘흡수율 및 혈중 골대사지표 등 체내 칼슘대사에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에서 사용된 자건대멸(체장 7.7 cm, 체중 1.5 g)은 경남 통영에 소재한 기선권현망수산업협동조합에서 구입하였다. 고칼슘화 멸치분말은 Jo 등(20)의 방법에 따라 자건대멸에 7배(w/w)의 주정을 가하여 50°C에서 9시간 동안 처리한 후 구연산을 1% 처리하고, 50°C에서 건조시킨 후 분쇄하여 시료로 사용하였다. 건조분유(전지분유)와 칼슘강화우유는 M사의 시판품을 구입하였고, 칼슘강화소재(calcium carbonate, calcium lactate)는 식품첨가물용 등급을 구입하였다. 칼슘강화우유는 동결건조 후 식이에 첨가하였다.

실험식이

본 실험은 semi-purified diet(AIN-diet, 1977)를 기본식이(basal diet)로 하여 각 시료의 칼슘함량을 고려하여 최종 식이의 칼슘함량이 0.1%가 되도록 첨가하여 건조분유 첨가군을 대조군(M), 건조대멸 첨가군을 멸치첨가군(MA), 탄산칼슘첨가군(MC), 젓산칼슘첨가군(ML) 및 칼슘강화우유첨가군(M2)의 5처리군으로 하여 5주 동안 실험을 실시하였다(Table 1). 실험식이의 배합비와 일반성분은 Table 2, 3과 같다.

실험동물

생후 3주령된 Sprague-Dawley 계 수컷 흰쥐를 공시하여 체중이 85 g 정도 되었을 때 난괴법으로 처리군당 14마리씩 5군으로 배치하여 5주 동안 사육하였다. 사육실 조건은 온도 18±2°C, 명암은 12시간 주기로 유지되도록 하였으며 물과 사료는 제한하지 않았다. 실험기간 중 식이섭취량과 체중변

Table 1. Experimental design

Group (n=14)	Treatment
M	Milk ¹⁾ + AIN-diet
MA	Dried large anchovy + Milk ¹⁾ + AIN-diet
MC	Calcium carbonate + Milk ¹⁾ + AIN-diet
ML	Calcium lactate + Milk ¹⁾ + AIN-diet
M2	Calcium-fortified Milk ²⁾ + AIN-diet

¹⁾Market milk (1,100 mg calcium/100 g of milk powder).

²⁾Calcium-fortified milk (2,200 mg calcium/100 g of milk powder).

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
DL-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, K₂C₆O₇ · 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 (unit: %)

Group	Moisture	Crude ash	Crude protein	Crude fat	Calcium
M	9.5	6.9	20.0	8.2	1.29
MA	8.8	6.9	19.9	8.4	1.19
MC	9.5	7.2	20.0	7.8	1.15
ML	9.4	7.4	19.9	7.8	1.39
M2	10.5	6.9	18.6	7.2	1.52

화는 주 1회씩 측정하였다.

칼슘흡수율

시료의 *in vitro* 칼슘흡수율은 Miller방법(22)에 준하여 멸치함유우유 30 mL에 400 mL의 증류수와 함께 용기에 넣고 6 M HCl 용액을 사용하여 pH를 2로 조정하고 15분간 혼합 후 6 mL의 pepsin(P-7000, from porcine stomach mucosa) 용액을 첨가하여 37°C에서 2시간 동안 shaking incubation 하고 소화된 시료 20 mL을 취하여 0.1 M NaOH pH 7로 적정하여 NaHCO₃의 첨가량을 결정한다. 결정된 NaHCO₃와 증류수 25 mL을 투석막(D9652-100FT, 33 mm×21 mm)에 넣고 용기에 담긴 후 밀봉하여 37°C에서 shaking incubation한다. 30분 후 pH 5에서 0.4 g의 pancreatin(P-1750, from porcine pancreas)과 2.5 g의 bile extract(B-8631, por-

cine)를 0.1 mol/L NaHCO₃ 100 mL에 용해시킨 pancreatin-salts mixture를 5 mL 첨가하고 2시간 동안 37°C에서 incubation 후 투석막을 제거하여 membrane 속의 dialysate의 무게를 측정하고 ICP로 분석한 결과를 이용하여 흡수율을 계산하였다. 시료의 *in vivo* 칼슘흡수율은 실험개시 4주 후 각 실험군에서 상태가 양호한 흰쥐를 4마리씩 취하여 대사 cage에서 24시간 적응시킨 후 3일 동안 대사시험을 실시하였다. 실험기간 중 식이섭취량과 음수량을 측정하였고, 음용수는 2차 증류수를 사용하였으며, 대변은 105°C에서 건조 후 소변과 함께 무게를 측정한 후 ICP를 이용하여 칼슘함량을 측정하였다. 이 때 칼슘흡수율은 쥐가 섭취한 식이의 칼슘함량과 대변과 소변의 칼슘함량을 이용하여 계산하였다.

시료수집 및 분석방법

실험종료 후 실험동물을 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 마취하여 복대동맥으로부터 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 얻었으며 분석 전까지 -20°C에서 냉동보관하였다. 혈액학치 측정용 전혈(whole blood)은 EDTA를 첨가하였다. 혈액 채취 후 장기를 채취하여 생리식염수로 세척 후 여과지로 물기를 제거하고 중량을 측정하였다. 대퇴골은 적출하여 -20°C에서 냉동한 후 골격에 붙어 있는 근육, 인대 및 지방 등을 제거한 후 무게, 길이, 골밀도(bone mineral density, BMD) 및 골무기질 함량(bone mineral contents, BMC)을 측정하였다. 골밀도 및 무기질함량은 방사선골밀도측정기(pDEXA® X-ray bone densitometer, Norland Co., USA)를 사용하여 측정하였다. 혈청칼슘은 colorimetry로 분석하였고, ALP(alkaline phosphatase), glucose, TC(total cholesterol), TG(triglyceride), HDL(high-density lipoprotein cholesterol), LDL(low-density lipoprotein cholesterol)의 농도는 enzyme kit로 비색정량하였다. 간기능치(SGOT(serum glutamic oxaloacetic transaminase), SGPT(serum glutamic pyruvic transaminase))는 IFCC방법으로, BUN(blood urea-nitrogen)은 urease with glutamate dehydrogenase (GLDH) 방법으로(ADVIA 1650), creatinine 농도는 Jaffe reaction으로 분석하였다(autoanalyzer). Osteocalcin(OST)는 면역방사정량법(IRMA)으로 분석하였고, 혈액학치(Complete blood count, CBC)는 혈액자동분석기로 측정하였다.

통계처리

모든 실험결과는 SAS프로그램(Version 8.01, SAS Institute Inc., USA)를 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

성장률

고칼슘대멸, 칼슘강화소재 및 칼슘강화우유를 흰쥐용 사료에 혼합하여 5주 동안 급여한 결과 성장률과 식이효율에 미치는 영향은 Table 4와 같다. 실험종료 시 체중은 대조군(M), 고칼슘대멸군(MA) 및 탄산칼슘군(MC)은 젓산칼슘군(ML)과 칼슘강화우유군(M2)보다 더 무겁게 나타났으며, 대조군, 고칼슘대멸군, 탄산칼슘군 간에는 통계적 유의성이 없었으나, 젓산칼슘군과 칼슘강화우유군은 젓산칼슘군에서 통계적으로 적게 나타났고, 칼슘강화우유군과 젓산칼슘군은 대조군, 고칼슘대멸군, 탄산칼슘군보다는 유의적으로 낮게 나타났다(p<0.05). 실험기간 중 평균 일당증체량은 MC군(7.45 g)과 ML군(6.70 g) 간에 통계적인 차이가 있었고(p<0.05), M군, MA군 및 M2군은 6.94~7.32 g으로 차이가 없이 비슷하였다. 식이섭취량은 M2군(24.9 g)과 ML군(23.52 g) 간에 통계적인 차이가 있었고(p<0.05), M군, MA군 및 MC군은 24.25~24.41 g으로 차이가 없었다. 식이효율(FER)은 M군이 0.38로 가장 높았고, MA군과 ML군이 각각 0.31, 0.32로 통계적으로 유의하게 낮았다(p<0.05). 본 실험 결과는 Lee 등(23)이 젓산칼슘을 공급한 실험군의 증체량과 식이효율이 다른 실험군보다 가장 낮았다고 한 보고와 유사하였다.

골밀도와 골무기질함량

고칼슘대멸, 칼슘강화소재 및 칼슘강화우유를 흰쥐용 사료에 혼합하여 5주 동안 급여한 결과 골밀도와 골무기질 및 칼슘함량에 미치는 영향은 Table 5와 같다. 대퇴골의 건조무게는 칼슘강화우유군이 0.985 g으로 가장 높았고, 칼슘강화소재인 탄산칼슘군과 젓산칼슘군은 같이 0.956 g으로 가장 낮았다(p<0.05). 대퇴골길이는 시유와 칼슘강화우유군이 각

Table 4. Effects of high-calcium large anchovy, calcium-fortifying materials and fortified-calcium milk on weight gain and food efficiency ratio in rats

Group	Initial wt. (g)	Final wt. (g)	Wt. gain (g/day)	Diet intake (g/day)	FER ¹⁾
M	87.1 ± 2.1 ^{ns}	395.0 ± 24.8 ^a	7.24 ± 0.59 ^{ab}	24.41 ± 3.67 ^{ab}	0.38 ± 0.03 ^a
MA	86.7 ± 2.0	391.4 ± 31.0 ^a	7.32 ± 0.86 ^{ab}	24.25 ± 3.50 ^{ab}	0.31 ± 0.07 ^b
MC	86.8 ± 3.4	392.7 ± 22.8 ^a	7.45 ± 0.70 ^a	24.48 ± 3.48 ^{ab}	0.35 ± 0.02 ^{ab}
ML	85.8 ± 1.9	367.7 ± 28.9 ^b	6.70 ± 0.87 ^b	23.52 ± 3.36 ^b	0.32 ± 0.08 ^b
M2	85.2 ± 2.3	376.6 ± 23.3 ^{ab}	6.94 ± 0.85 ^{ab}	24.97 ± 3.30 ^a	0.35 ± 0.02 ^{ab}

Values are means ± SD (n=14). Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at α=0.05. ^{ns}Not significant. ¹⁾Food efficiency ratio.

Table 5. Effects of high-calcium large anchovy, calcium-fortifying materials and fortified-calcium milk on BMD, BMC and calcium content of femur in rats

Group	Dried wt. (g)	Length (cm)	BMD ¹⁾ (g/cm ²)	BMC ²⁾ (g)	Ca (mg/g)
M	0.972±0.029 ^{ab}	3.68±0.07 ^a	0.121±0.008 ^{ns}	0.362±0.023 ^{ns}	126.6±5.57 ^{cd}
MA	0.979±0.058 ^{ab}	3.59±0.03 ^b	0.122±0.008	0.366±0.023	137.1±6.04 ^a
MC	0.956±0.061 ^b	3.58±0.09 ^b	0.119±0.010	0.356±0.029	134.0±4.95 ^{ab}
ML	0.956±0.057 ^b	3.55±0.10 ^b	0.115±0.007	0.345±0.019	123.6±7.28 ^d
M2	0.985±0.062 ^a	3.66±0.12 ^a	0.118±0.008	0.353±0.024	131.1±6.88 ^{bc}

Values are means±SD (n=14). Values within column with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at $\alpha=0.05$. ^{ns}Not significant. ¹⁾BMD (bone mineral density). ²⁾BMC (bone mineral content).

각 3.68, 3.66 cm로 나머지 실험군들보다 길었으며 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p<0.05$). 골밀도 및 골무기질 고칼슘대멸균이 각각 0.122 g/cm², 0.366 g으로 비록 통계적인 차이는 나타나지 않았지만 실험군 중 가장 높았다. 대퇴골의 칼슘함량 역시 고칼슘대멸균이 137.1 mg/g으로 실험군 중 가장 높았으며 젖산칼슘첨가군은 BMD, BMC 및 칼슘함량이 실험군 중 가장 낮았다. 대퇴골의 Ca 함량은 고칼슘대멸균이 가장 높았으며, 모든 처리군간에 통계적으로 유의적인 차이가 났다($p<0.05$). Lee 등(24)은 대퇴골의 칼슘함량은 칼슘섭취량이 증가할수록 증가한다고 한 점을 볼 때, 본 실험에서 일일 칼슘함량이 적은 고칼슘대멸균에서 뼈 중 Ca의 함량이 가장 높게 나타난 것으로 볼 때 우유에 멸치분말을 첨가하는 것이 우유 및 우유에 타 칼슘강화제를 첨가한 것보다 칼슘강화제로서 효과가 더 좋다고 평가할 수 있겠다.

생체내의 칼슘흡수율

고칼슘대멸, 칼슘강화소재 및 칼슘강화우유를 흰쥐용 사료에 혼합하여 5주 동안 급여한 결과 생체내의 칼슘흡수율에 미치는 영향은 Table 6과 같이 통계적인 차이는 나타나지 않았다. 체외(*in vitro*) 칼슘흡수율은 고칼슘대멸균이 7.30%로 가장 높았고, 칼슘강화우유군은 2.88%로 가장 낮았다. 대사실험을 통해 측정된 칼슘섭취량은 고칼슘대멸균과 칼슘강화우유군이 각각 292.7, 452.5 mg/day으로 가장 적거나 많았으며 칼슘강화소재인 탄산칼슘군과 젖산칼슘군은 각각 337.0, 386.3 mg/day로 차이는 없었다. 분을 통한 칼슘배설량은 칼슘강화우유군이 322.3 mg/day로 가장 많았으며 고칼슘대멸균이 207.4 mg/day로 가장 적었다. 오줌을 통한 칼슘배설량은 칼슘강화우유군과 대조군이 각각 26.97, 23.91

mg/day, 고칼슘대멸균이 16.28 mg/day, 칼슘강화소재인 탄산칼슘군과 젖산칼슘군은 각각 12.57, 14.79 mg/day로 차이는 없었다. 생체내(*in vivo*) 칼슘흡수율은 실험군간 차이는 없었지만 고칼슘대멸균이 27.50%로 가장 높았고, 탄산칼슘군이 19.55%로 가장 낮았다. Sung(25)은 대변의 칼슘배출량이 칼슘섭취량에 따라 달라진다고 하였는데 본 실험에서도 Ca섭취량이 증가함에 따라 칼슘의 배출량이 증가하는 경향을 나타내었고, Jung과 Choi(26)는 식이무게당 casein의 함량이 증가할수록 소변으로 배출되는 Ca의 양이 증가한다고 보고하였는데, 본 실험에서 나타난 바와 같이 대조군과 칼슘강화우유군에서 소변을 통한 Ca 배출량이 많았던 이유는 우유에 다량 함유된 casein 단백질 때문으로 사료된다.

혈청 생화학치와 골대사지표

고칼슘대멸, 칼슘강화소재 및 칼슘강화우유를 흰쥐용 사료에 혼합하여 5주 동안 급여한 결과 혈청생화학치와 골대사지표 및 혈액화학치에 미치는 영향은 각각 Table 7, 8과 같다. 혈당치는 93.1~100.8 mg/dL로 고칼슘대멸균이 가장 낮았고, 대조군과 칼슘강화우유군이 높았다. 총콜레스테롤 농도는 대조군(60.7 mg/dL)이 고칼슘대멸균, 젖산칼슘군 및 칼슘강화우유군에 비해 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p<0.05$). 이는 사료중에 포함된 우유의 함량이 대조군이 가장 많기 때문에 우유에 함유되어 있는 유당 및 유지방의 섭취량이 많았기 때문으로 사료된다. 중성지방 농도는 86.4~103.3 mg/dL로 젖산칼슘군이 가장 낮았고, 대조군이 가장 높았다. HDL-콜레스테롤 농도는 대조군이 18.3 mg/dL로 고칼슘대멸균의 16.1 mg/dL과 통계적인 차이가 있었고($p<0.05$), LDL-콜레스테롤 농도는 8.8~9.4 mg/dL로 비슷한 수

Table 6. Effects of high-calcium large anchovy, calcium-fortifying materials and fortified-calcium milk on *in vitro* and *in vivo* calcium absorption rate in rats

Group	<i>in vitro</i> (%)	<i>in vivo</i>			
		Ca intake (mg/day)	Fecal Ca excretion (mg/day)	Urinary Ca excretion (mg/day)	Ca absorption ¹⁾ (%)
M	3.56±0.30 ^{ns}	347.7±27.10 ^{ns}	269.7±29.24 ^{ns}	23.91±15.53 ^{ns}	24.68±7.06 ^{ns}
MA	7.30±0.26	292.7±59.90	207.4±22.32	16.28±14.66	27.50±1.70
MC	3.22±0.32	337.0±13.44	271.9±30.49	12.57±5.46	19.55±7.08
ML	4.60±0.42	386.3±22.43	274.1±28.76	14.79±11.37	25.28±3.85
M2	2.88±0.20	452.5±22.13	322.3±35.98	26.97±9.57	25.82±9.51

Values are means±SD (*in vitro*, n=2; *in vivo*, n=4). ^{ns}Not significant.

¹⁾Ca absorption (%)=(Ca intake-fecal Ca excretion-urinary Ca excretion)/Ca intake×100.

Table 7. Effects of high-calcium large anchovy, calcium-fortifying materials and fortified-calcium milk on hematochemical parameters in rats (unit: mg/dL)

Group	M	MA	MC	ML	M2
Glucose	100.79 ± 12.99 ^{ns}	93.14 ± 8.46	96.57 ± 12.19	97.35 ± 8.73	100.07 ± 14.59
TC ¹⁾	60.71 ± 11.58 ^a	54.07 ± 7.58 ^b	55.07 ± 5.42 ^{ab}	53.93 ± 5.68 ^b	53.07 ± 6.45 ^b
TG ²⁾	103.29 ± 39.49 ^{ns}	102.57 ± 35.93	91.57 ± 25.67	86.36 ± 31.29	89.43 ± 25.66
HDL ³⁾	18.29 ± 3.47 ^a	16.14 ± 2.41 ^b	17.29 ± 1.79 ^{ab}	16.57 ± 2.06 ^{ab}	16.07 ± 1.87 ^b
LDL ⁴⁾	9.36 ± 1.59 ^{ns}	9.00 ± 1.81	8.93 ± 1.53	9.00 ± 1.89	8.78 ± 2.07
Creatinine	0.57 ± 0.05 ^a	0.57 ± 0.05 ^a	0.56 ± 0.05 ^a	0.54 ± 0.05 ^{ab}	0.52 ± 0.06 ^b
BUN ⁵⁾	17.44 ± 2.89 ^{ns}	18.54 ± 2.54	18.66 ± 2.56	18.88 ± 3.54	16.94 ± 1.89
Ca	10.21 ± 0.36 ^{ns}	10.22 ± 0.27	10.16 ± 0.29	10.26 ± 0.20	10.20 ± 0.26
OST ⁶⁾ (ng/mL)	20.21 ± 1.97 ^{ns}	22.72 ± 2.84	18.13 ± 2.19	19.21 ± 1.75	19.26 ± 2.23
ALP ⁷⁾ (L/UD)	207.5 ± 46.5 ^{ns}	226.0 ± 40.9	232.8 ± 35.9	207.4 ± 54.0	222.6 ± 53.7
SGOT ⁸⁾ (L/UI)	159.6 ± 33.2 ^a	151.6 ± 26.7 ^a	150.3 ± 25.8 ^a	143.4 ± 21.6 ^{ab}	124.8 ± 22.6 ^b
SGPT ⁹⁾ (L/UI)	38.21 ± 7.52 ^{ns}	36.86 ± 5.62	40.71 ± 10.44	37.64 ± 9.90	31.57 ± 5.11

¹⁾TC: total cholesterol. ²⁾TG: triglyceride. ³⁾HDL: high-density lipoprotein cholesterol. ⁴⁾LDL: low-density lipoprotein cholesterol. ⁵⁾BUN: blood urea-nitrogen. ⁶⁾OST: osteocalcin. ⁷⁾ALP: alkaline phosphatase. ⁸⁾SGOT: serum glutamic oxaloacetic transaminase. ⁹⁾SGPT: serum glutamic pyruvic transaminase.

Values within row with same superscript are not significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.05. Values are means ± SD (n=14). ^{ns}Not significant.

Table 8. Effects of high-calcium large anchovy, calcium-fortifying materials and fortified-calcium milk on complete blood count in rats

Group	RBC ¹⁾ (×10 ⁶ /mm ³)	WBC ²⁾ (×10 ³ /mm ³)	Platelet (×10 ³ /mm ³)	Hematocrit (%)	Hemoglobin (g/dL)
M	8.05 ± 0.45 ^{ns}	8.20 ± 1.49 ^{ns}	992 ± 133.4 ^{ns}	51.26 ± 2.48 ^{ns}	15.83 ± 0.75 ^{ns}
MA	8.01 ± 0.37	8.96 ± 1.98	987 ± 156.7	50.59 ± 1.85	15.69 ± 0.45
MC	7.91 ± 1.38	8.79 ± 2.22	958 ± 283.4	49.40 ± 8.52	15.11 ± 2.52
ML	8.03 ± 0.46	10.56 ± 2.08	1042 ± 399.6	50.50 ± 2.33	15.64 ± 0.71
M2	7.94 ± 0.39	9.04 ± 2.17	1031 ± 235.4	49.58 ± 2.20	15.92 ± 0.87

Values are means ± SD (n=14). ^{ns}Not significant. ¹⁾RBC: red blood cell. ²⁾WBC: white blood cell.

준으로 나타났다. 신기능지표로서 creatinine 농도는 대조군, 고칼슘대멸군 및 탄산칼슘군이 각각 0.57, 0.57, 0.56 mg/dL로 M2군의 0.52 mg/dL보다 통계적으로 높았다(p<0.05).

요소태질소 농도는 칼슘강화우유군이 16.94 mg/dL로 가장 낮았고, 고칼슘대멸군, 탄산칼슘군 및 젖산칼슘군은 비슷하게 높았다. 칼슘 농도는 10.16~10.26 mg/dL로 차이가 없었다. Alkaline phosphatase(ALP)는 파골세포 및 일부 장기에서 분비되는 당단백질로 가장 흔히 이용되는 골형성지표이고, osteocalcin(OST)은 뼈와 상아질에서만 분포하며 새로 합성된 것 중 약 30%가 혈중으로 방출되기 때문에 골형성지표로 사용되며 OST는 골대사가 활발할수록 혈청내 농도가 증가한다고 보고되어 있다(27). 본 실험에서 ALP 활성은 대조군과 젖산칼슘군에서 각각 207.5, 207.4 IU/L로 낮았고, 고칼슘대멸군과 탄산칼슘군 및 칼슘강화우유군은 222.6~232.8 IU/L로 비슷하였다. OST 농도는 본 실험에서 18.13~22.72 ng/mL로 유의적인 차이는 없었으나, 고칼슘대멸군에서 22.72 ng/mL로 OST의 농도가 가장 높게 나타났다. 이는 단백질과 칼슘의 수준을 달리한 흰쥐에서 OST 농도의 유의적 차이가 없었다는 Yoon과 Hwang(28)의 보고와 비슷한 경향을 나타내었으나, 본 실험에서 고칼슘대멸군에서 OST의 농도가 다른 처리군에 비해 높게 나타난 것과 뼈중 칼슘의 함량이 가장 높은 것을 볼 때 고칼슘대멸군에서 골대

사가 가장 활발하다 사료된다. 간기능치중 SGOT활성은 칼슘강화우유군에 비해 대조군, 고칼슘대멸군 및 탄산칼슘군이 통계적으로 유의하게 높았고(p<0.05), SGPT활성은 칼슘강화우유군이 31.6IU/L로 가장 낮았고, 다른 처리군은 37.6~40.7 IU/L로 비슷하였다(Table 7). 한편 혈액학치(CBC)중 적혈구는 7.94~8.05(×10⁶/mm³), 백혈구는 8.20~10.56(×10³/mm³), 혈소판은 958~1042(×10³/mm³), hematocrit치는 49.40~51.26%, 혈색소는 15.11~15.92 g/dL의 범위로 통계적인 차이는 없었다(Table 8).

요 약

본 연구는 고칼슘대멸치가 흰쥐의 칼슘대사에 미치는 영향을 조사하기 위해 수행되었다. 실험처리는 시유와 칼슘강화우유, 칼슘강화소재(탄산칼슘, 젖산칼슘) 및 고칼슘대멸 등 5처리군으로 하였고, 대멸분말의 칼슘함량을 고려하여 최종 식이의 칼슘함량은 1%가 되도록 semi-purified diet(AIN-diet)에 혼합한 식이를 5주 동안 급여하였다. 대퇴골의 길이는 대조군인 우유군(M)와 칼슘강화우유군(M2)이 실험군 중 통계적으로 유의하게 길었고(p<0.05), BMD, BMC 및 칼슘함량은 고칼슘대멸군(MA)이 실험군 중 가장 높았다. 체외(*in vitro*) 칼슘흡수율은 고칼슘대멸군이 7.30%로 가장 높

있고, 생체내(*in vivo*) 칼슘흡수율은 실험군간 차이는 없었지만 고칼슘대멸균이 27.50%로 가장 높았다. 혈청 중 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 농도는 대조군과 고칼슘대멸균군간에 통계적인 차이가 있었다($p < 0.05$). Creatinine 농도는 대조군, 고칼슘대멸균 및 탄산칼슘군이 칼슘강화우유군에 비해 통계적으로 높았다($p < 0.05$). 칼슘과 osteocalcin 농도 및 ALP활성은 실험군간에 차이가 없었지만 고칼슘대멸균이 높았다. SGOT활성은 칼슘강화우유군에 비해 대조군, 고칼슘대멸균 및 탄산칼슘군이 유의하게 높았다($p < 0.05$). 이상의 결과에서 고칼슘대멸균은 칼슘강화소재와 칼슘강화우유에 비해 대퇴골의 BMD, BMC 및 칼슘함량을 증가시켰으며, 생체내의(*in vivo*, *in vitro*) 칼슘흡수율에서도 다른 처리군보다 높았다. 본 결과는 대멸을 활용한 고칼슘식품 개발에 유용한 평가 자료로 활용될 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부의 수산특정개발과제(MNF12004043-3-2-SB010)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

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, Korea Centers for Disease Control and Prevention. 2007. The Third Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES III).
3. Kim SH. 1993. Ca nutrition and osteoporosis in Korea. *Korean J Nutrition* 26: 203-212.
4. Lee JW, Hwang YS, Hong SN, Im HS. 1993. Effects of dietary calcium levels on blood pressure and calcium metabolism in normotensive female young adults with the hypertension family history. *Korean J Nutrition* 26: 728-742.
5. Lee YS, Kim EM. 2002. Effect of dietary Ca and Na levels on blood pressure and mineral metabolism in spontaneously hypertensive rats fed high fat diet. *Korean J Nutrition* 35: 840-847.
6. Park KS, Lee KA. 2002. A case study on the effect of Ca intake on depression and anxiety. *Korean J Nutrition* 35: 45-52.
7. Baick SC, Chung WH. 2002. Intestinal environmental improvement effect by consumption of milk calcium. *J Korean Dairy Technol Sci* 20: 32-38.
8. Kim HD, Lee HJ, Shin ZI, Nam HS, Woo HJ. 1995. Anticancer effect of hydrophobic peptides derived from a cheese slurry. *Foods Biotechnol* 4: 268-272.
9. Migliore-Samour D, Floch F, Jolles P. 1989. Biologically active casein peptides implicated in immunomodulation. *J Dairy Res* 56: 357-362.
10. Fiat AM, Migliore-Samour D, Jolles P, Drouet L, Sollier CBD, Jean J. 1993. Biologically active peptides from milk proteins with emphasis on two examples concerning antithrombotic and immunomodulating activities. *J Dairy Science* 76: 301-310.
11. The Fisheries Association of Korea. 1998. *Korean Fisheries Yearbook*. Dong-yang Publishing Co, Seoul. p 354-363.
12. Lee EH, Kim SK, Cho GD. 1977. *Nutritional component and health in the fishery resources of the coastal and off-shore waters in Korea*. Youil Publishing Co, Pusan. p 43-46.
13. Lee SH, Chang SO. 1994. Comparison of the bioavailability of calcium from anchovy, tofu and nonfat dry milk (NFDM) in growing male rats. *Korean J Nutr* 27: 473-482.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. Lee EH, Kim JS, Ahn CB, Park HY, Jee SK, Joo DS, Lee SW, Lim CW, Kim IH. 1989. The effect of taieit-F and bac-tokil on retarding lipid oxidation in boiled-dried anchovy. *J Korean Soc Food Nutr* 18: 181-188.
18. Lee EH, Cha YJ. 1985a. 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.
19. Jeong BY, Seo HJ, Moon SK, Pyeon JH. 1995a. 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.
20. 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.
21. Jang HJ, Jung EB, Seong KS, Han CK, Jo JH. 2006. Effect of anchovy treated with ethanol, citric acid and dietary calcium supplements on calcium metabolism in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 860-865.
22. 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.
23. Lee YK, Lee MY, Kim MK, Choe WK, Kim SD. 2004. Effects of calcium lactate and Chungkukjang on calcium status in rat. *J Food Sci Nutr* 9: 45-52.
24. Lee YS, Park MN, Kim EM. 1997. Effect of dietary calcium levels on peak bone mass formation in growing female rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 480-487.
25. Sung CJ. 1995. Effects of calcium intake on calcium, sodium and potassium metabolism in young and adult female rats. *Korean J Nutrition* 28: 309-320.
26. Jung SH, Choi MJ. 1995. Effect of dietary protein level on Ca efficiency in bone mineral density in growing rats. *Korean J Nutrition* 28: 817-824.
27. Kim DY. 1999. Biochemical markers of bone turnover. *Korean J Nuclear Medicine* 33: 314-351.
28. 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.

(2007년 11월 7일 접수; 2008년 3월 19일 채택)