

난소절제 골다공증 흰쥐모델에서 유기태 칼슘보충제가 칼슘 이용성과 생리기능에 미치는 영향

조수정¹ · 박미나¹ · 김희경² · 김재홍² · 김민호² · 김완식² · 이연숙^{1*}

¹서울대학교 식품영양학과/생활과학연구소
²매일유업(주)중앙연구소

Effects of Organic Ca Supplements on Ca Bioavailability and Physiological Functions in Ovariectomized Osteoporotic Model Rats

Su-Jung Cho¹, Mi-Na Park¹, Hee-Kyong Kim², Jae-Hong Kim², Min-Ho Kim²,
Wan-Sik Kim², and Yeon-Sook Lee^{1*}

¹Dept. of Food and Nutrition, Research Institute of Human Ecology,
Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

²R&D Center, Maeil Dairies Co. Ltd., Gyeonggi 452-861, Korea

Abstract

We evaluated the effects of organic Ca supplements chelated with milk protein (CaMP) in ovariectomized osteoporotic rats. Eight week-old Sprague-Dawley female rats were ovariectomized and fed a low CaCO₃ diet (0.1%) for 4 weeks to create an osteoporotic model. At that point, L4-CaCO₃ rats were sacrificed and the rest of the rats were divided into 4 groups, each of which was fed an experimental diet for 4 weeks: low-CaCO₃ (0.1%; L8-CaCO₃) and CaMP at 3 Ca levels: low (0.1%; L8-CaMP), normal (0.5%; N8-CaMP), and high (1.5%; H8-CaMP). Daily weight gain, serum ALP, weight and breaking force of femurs, Ca content of the lumbar, and Ca absorption were measured. Daily weight gain increased in the N8-CaMP and H8-CaMP groups compared to the low Ca groups. The ALP activity in the CaMP-fed rats was significantly lower than in the CaCO₃-fed rats. Both breaking force and femur weight were higher in the N8-CaMP and H8-CaMP groups compared to the L8-CaCO₃ group. Ca content of the lumbar increased dose-dependently with Ca intake levels of CaMP. Ca absorption rates of the CaMP-fed rats increased more than that of the rats fed low Ca levels of CaCO₃. These results demonstrate that the CaMP supplement had positive effects on bone metabolism and Ca bioavailability in ovariectomized osteoporotic rats. Therefore, CaMP may be recommended as a useful Ca supplement to prevent bone loss in osteoporosis.

Key words: organic Ca supplement, milk protein, bioavailability, physiological function, osteoporosis

서 론

칼슘은 인체 내에서 가장 중요한 다량 무기질 중의 하나로서, 골격과 치아의 형성뿐만 아니라, 근육 수축, 혈액 응고, 특정 효소의 활성화 및 세포막의 투과성 등 조직과 세포수준에서 다양한 생리적인 반응을 조절한다(1). 이러한 기능유지를 위해 일생 동안 지속적이고 충분한 칼슘 섭취가 중요하지만, 칼슘은 우리나라 국민들이 영양소 권장 섭취량에 비해 가장 낮게 섭취하고 있는 영양소 중의 하나이며, 칼슘 섭취의 부족은 거의 모든 연령층에서 나타나고 있다. 2008년 국민건강영양조사에 의하면, 한국인의 평균 칼슘 섭취량은 권장량의 66% 정도이며 특히, 50세 이상 성인 여성의 경우 권장 섭취량 대비 55% 수준으로 낮게 보고되었다(2). 50세

이상 성인 여성은 칼슘 섭취 저하와 폐경에 의한 에스트로겐 분비 감소로 인해 골 손실이 증가됨에 따라 골다공증 발병율이 높게 나타난다. 골다공증은 골 대사성 질환으로 노령화로 인해 골밀도가 감소되고 골질의 감수성이 증가된 상태를 말한다. 주요 발병 원인으로 첫째, 연령의 증가로 칼슘 흡수율이 감소됨에 따라 혈청 칼슘 농도 또한 감소하고 parathyroid hormone(PTH)의 분비가 상승하여 뼈의 용출이 증가되고 둘째, 폐경 후 에스트로겐의 분비 및 신체 활동이 감소에 따른 뼈의 용출 증가를 들 수 있다(3). 그 밖에 연령 증가에 따른 혈중 비타민 D 농도의 감소 등이 골다공증 발병율을 증가시키는 원인으로 파악된다. 2008년 국민건강영양조사 결과에서 50세 이상 골다공증 유병율은 19%를 차지하며 남성(5%)에 비해 여성(33%)이 6배 높게 나타나(2) 폐경

*Corresponding author. E-mail: lysook@snu.ac.kr
Phone: 82-2-880-6832, Fax: 82-2-884-0305

후 골다공증은 심각한 여성의 영양문제임이 드러났다.

골다공증을 예방하기 위해서는 성인기에 도달하는 최대 골질량을 높게 유지할 필요가 있으며, 이를 위해 지속적이고 충분한 양의 칼슘 섭취가 중요하다. 그러나 우리나라의 식습관 상 칼슘의 체내 이용성이 높게 평가되는 우유 및 유제품의 섭취가 높지 않고, 칼슘의 급원을 식물성 식품에 의존하기 때문에 충분한 칼슘 섭취는 어려운 실정이다. 그러므로 골다공증 예방을 위해서는 칼슘 보충제를 통한 권장량 수준의 칼슘 섭취의 필요성이 제안되고 있다. 현재 시판되고 있는 칼슘 보충제로는 탄산칼슘(CaCO_3), 구연산칼슘, 구연산-말산 칼슘(CCM), 인산칼슘, 황산칼슘, 젖산칼슘, 글루콘산칼슘 등으로 다양하지만, 칼슘염의 종류에 따라 칼슘의 함량과 용해도가 달라서 섭취 시 체내 이용성에 있어서도 차이를 보인다.

칼슘 보충제가 기능성식품으로서 권장되기 위해서는 소장세포막에서 흡수율이 높아야 한다. 그러나 칼슘은 흡수율이 높지 않은 영양소로 칼슘의 형태 및 섭취량뿐만 아니라 유전적, 생리적 조건에 따라 변할 수 있으며, 일반적으로 성인의 칼슘 흡수율은 25~30% 수준으로 알려져 있다(4). 일반적으로 칼슘은 소화관 내에서 인산, 피틴산, 옥살산, 과잉 지방 등과 불용성염을 형성함으로써 이용성이 저하되는 것으로 평가되어 왔으며, 단백질의 가수분해물인 oligopeptide나 CPP(casein phosphopeptide)와 같이 소장 내 칼슘의 가용화를 촉진시킬 수 있는 물질이 칼슘의 흡수를 증진시키는 물질로 알려져 왔다(5,6). Ashmead(7)는 칼슘염과 아미노산이 킬레이트된 칼슘이 소장 내에서 수용성 상태가 되어 유기태 칼슘보다 흡수가 우수하다고 보고하였다. 이러한 내용을 바탕으로 유기태 칼슘의 소재에 대한 연구가 진행되어 왔으며, 선행연구에서 Choi(8)는 대두 펩타이드와 칼슘이 킬레이트된 유기태 칼슘이 소장세포내로 칼슘의 흡수가 증가되는 것을 확인하였고, Ken 등(9)은 유청 단백질이 파골세포(osteoclast)의 형성과 뼈의 재흡수를 억제하고, 난소 절제된 쥐에서 뼈의 강도를 증가시켜 골격대사에 영향을 준다고 하였다. 본 연구에서는 유기태 칼슘 보충제의 소재로서 이미 제조된 유청 단백질과 킬레이트된 칼슘(Maeil Dairies Co. Ltd., Phungtaek, Korea)이 소화관 내에서 가용화가 촉진되어 소장세포막으로 효율적으로 흡수되어 체내 이용성이 높을 것으로 예측되며, 골다공증 예방 및 치료를 위해 이용될 경우 체내 이용성과 골격대사에 긍정적인 영향을 줄 것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 난소절제와 저칼슘 식이로 유도된 골다공증 모델 흰쥐를 이용해 유기태 칼슘을 수준별로 급여하여 유기태 칼슘의 생체 이용성 및 생리적 기능에 미치는 효과를 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

실험설계와 동물 사육

8주령 된 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley) 35마리를 오리엔

트바이오사(Seongnam, Korea)로부터 구입하여 평균 체중이 약 240 g 되었을 때 난소절제술을 실시하고, 저칼슘 식이(0.1%, CaCO_3)를 4주간 급여하여 골다공증 모델을 설정하였다. 군당 7마리씩 5군으로 임의배치한 후, 한 군을 희생시켰다(L4- CaCO_3). 나머지 4군은 각각 탄산칼슘 또는 유청 단백질-칼슘 킬레이트 칼슘(CaMP)을 칼슘의 급원으로 포함한 실험식이를 4주간 더 급여하였다. 즉 실험군은 탄산칼슘-저칼슘(L8- CaCO_3), 유기태 칼슘-저칼슘(L8-CaMP), 유기태 칼슘-정상칼슘(N8-CaMP), 유기태 칼슘-고칼슘(H8-CaMP)으로 설정하였다. 실험식이와 식수는 자유급여법(*ad libitum*)으로 급여하였고, 실험동물 사육실 환경은 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $65 \pm 5\%$ 로 유지하였으며, 명암은 12시간 주기(light: 06:00~18:00)로 조절하였다. 실험동물의 구입과 사육의 모든 과정은 서울대학교 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee; IACUC)의 승인을 받고 규정에 따라 실행하였다.

실험식이

실험에 사용된 식이는 AIN-93G 패턴을 따른 정제식으로 조제되었다(Table 1). 실험식이 중 칼슘급원으로는 CaCO_3 (Samchun Chemical Co. Ltd., Phungtaek, Korea)과 유기태 칼슘(Maeil Dairies Co. Ltd., Phungtaek, Korea)을 이용하였다. 비타민 혼합물(AIN-93-VX; G-bio Co. Ltd., Gwacheon, Korea)은 구입하여 사용하였고, 칼슘과 인을 제외한 무기질 혼합물(AIN-93G-MX- Ca, P free)은 조제하여 사용하였다. 개발된 유기태 칼슘의 주요 조성은 단백질 43%, 지방 22% 및 칼슘 8%였다. 모든 실험식이의 질소함량은 첨가되는 유기태 칼슘의 단백질 함량을 고려하여 총 단백질의 함량이 20%가 되도록 동일하게 조정하였다. 지방 급원으로는 기본 대두유와 함께 유기태 칼슘에 함유된 지방 함량을 고려하여 무염버터(Maeil Dairies Co. Ltd.)를 첨가하여 총 지방의 함량이 7%가 되도록 하여, 각 실험식이에서 칼슘을 제외한 조성면에서 거의 차이가 없도록 하였다.

시료수집

희생시키기 전 하룻밤 절식 후, 0.1% Zoletil(Virbac, Carros, France)로 근육 내 주사(0.04 mL/100 g B.W.)로 마취하여 시료를 채취하였다. 경동맥에서 혈액을 채취하여 4°C 에서 보관하였다가, 3,000 rpm에서 20분간 원심분리(Inverter union 5KR, Hanil Co., Anyang, Korea) 하여 혈청을 분리하였으며, 분석 전까지 -70°C 에서 보관하였다. 양쪽 대퇴골과 요추골 L2-L4를 적출한 후, 부착되어 있는 근육, 지방, 인대 등 부착물을 모두 제거한 다음 무게는 전자천평으로, 길이는 vernier caliper로 측정하고, 냉동보관 하였다. 분변은 4일간 매일 동일한 시간에 수집하였으며, 수집된 분변은 중량을 측정 후 -70°C 에서 보관하였다.

시료분석

혈액의 칼슘 농도, alkaline phosphatase(ALP) 활성은 혈

Table 1. Composition of experimental diets¹⁾

Ingredient	(g/kg diet)				
	Low Ca (0.1%)			Normal Ca (0.5%)	High Ca (1.5%)
	L4-CaCO ₃ ⁵⁾	L8-CaCO ₃	L8-CaMP ⁶⁾	N8-CaMP	H8-CaMP
Cornstarch	520.0	520.0	515.21	486.05	434.61
Casein	200	200	194.6	173.1	119.4
Sucrose	100	100	100	100	100
Soybean oil	28.7	28.7	31.5	42.5	28.7
Unsalted butter	41.3	41.3	38.5	27.5	- ⁷⁾
Fiber	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
Min. mix. ²⁾ (Ca, P free)	35.0	35.0	35.0	35.0	35.0
Vit. mix. ³⁾	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Calcium source ⁴⁾	2.5	2.5	12.5	62.5	187.5
KH ₂ PO ₄	6.98	6.98	7.15	7.81	29.25
L-cysteine	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
TBHQ	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008

¹⁾Experimental diets were prepared according to AIN-93G composition.

²⁾Mineral mix (Ca, P free): AIN-93G-MX.

³⁾Vitamin mix: AIN-93-VX.

⁴⁾Calcium source: CaCO₃ and CaMP.

⁵⁾L4-CaCO₃: low Ca diet for 4 weeks, CaCO₃ (0.1%); L8-CaCO₃: low Ca diet for 8 weeks, CaCO₃ (0.1%); L8-CaMP: low Ca diet for 4 weeks, CaCO₃ (0.1%)+low CaMP (0.1%) for 4 weeks; N8-CaMP: low Ca diet for 4 weeks, CaCO₃ (0.1%)+normal CaMP (0.5%) for 4 weeks; H8-CaMP: low Ca diet for 4 weeks, CaCO₃ (0.1%)+high CaMP (1.5%) for 4 weeks.

⁶⁾CaMP: calcium chelated with milk protein. It contains protein 43%, fat 22%, calcium 8% and etc.

⁷⁾It meets the 7% of fat in AIN-93G diet without unsalted butter by adding to threefold of CaMP than Normal to meet high Ca contents.

액자동분석기(Fully Automated Dry Chemistry System; SPOTCHEM; Daiichi Kagaku Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 대퇴골 및 요추골의 칼슘의 함량은 각 조직을 600°C 회화로에서 건식 회화시킨 다음, 식혀서 시료가 젖을 정도로 질산용액을 넣은 후, 다시 3시간 동안 회화하여 얻은 회분을 6 N HCl 용액으로 용해하였다. 이 용액을 2% LaCl₃·7H₂O로 희석하여 원자흡광광도계(Automic absorption spectrophotometer; 210 VGP, Buck Scientific, Inc., East Norwalk, CT, USA)로 422.7 nm 파장에서 측정하였다. 인의 전처리에는 칼슘의 경우와 동일하며, 폴리브덴 색소법을 이용한 무기인 측정 kit(Bio Clinical system Corporation, Anyang, Korea)를 사용하여 파장 650 nm에서 Spectrophotometer(Beckman DU-530, Life science UV/Vis, Fullerton, CA, USA)로 비색정량 하였다. 분은 4일간 동결건조 하여 조직의 전처리와 동일한 방법으로 측정하였다. 대퇴골의 파단력은 materials-testing machine(Zwick Z010, Zwick GmbH, Ulm, Germany)를 이용하여, 하중속도는 1 mm/min, 지단거리(span)는 13.98 mm로 측정하였다. 시료수집과 분석에 이용된 모든 초자기구는 10% 염산용액에 24시간 담갔다 3차 탈이온수에 3회 이상 세척하여 사용하였다.

통계분석

실험결과는 SPSS 17.0(Statistical Package for Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준오차(mean±SE)로 제시하였다. 4주와 8주의 저 탄산칼슘군간의 분석은 p<0.05 수준에서 t-test로 분석하고, 8주에서 칼슘급원과 수준에 따른 군 간의 차이는 one-way

ANOVA(analysis of variation)로 분석한 뒤 Duncan's multiple range test에 의해 검증하였다(p<0.05).

결과 및 고찰

성장 및 식이섭취량

난소절제와 4주간 저칼슘의 탄산칼슘식이로 유도된 골다공증 모델 흰쥐에게 저칼슘 수준의 탄산칼슘을 대조군으로 급여하고, 유기태 칼슘을 저칼슘, 정상칼슘, 고칼슘의 3가지 수준으로 4주간 급여한 후 식이섭취량 및 체중증가에 대한 결과를 Table 2에 제시하였다. 실험동물의 최종 무게는 칼슘 섭취 수준에 따라 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 식이섭취량은 탄산칼슘군보다 유기태 칼슘군에서 유의적으로 증가하였고, 칼슘 섭취 수준 증가에 의해 유의적으로 높아졌다. O 등(10)의 연구에서는 골다공증 모델 흰쥐가 칼슘 섭취 수준에 의한 영향으로 저칼슘식이(0.06%)를 섭취한 군에서 유의적으로 식이섭취량이 감소하였다.

체중 증가는 정상 및 고수준의 유기태 칼슘을 섭취한 군에서 유의적으로 높았으며, 8주 저탄산 칼슘군의 체중 증가가 가장 낮았다. 이러한 결과는 칼슘 섭취가 증가하면 체중증가량이 감소하였다는 연구 결과와 차이를 보였다(11,12). 이것은 본 연구에서 사용된 유기태 칼슘보충제가 유청 단백질과 칼슘을 결합시키는 방법에 의해 제조되었기 때문에 칼슘 이외의 다른 유기 영양소에 의한 것으로 사료된다.

혈청의 칼슘 농도 및 ALP의 활성

골다공증 모델 흰쥐에게 4주간 유기태 칼슘을 수준별로

Table 2. Body weight, food intake and weight gain of osteoporotic rats fed experimental diet for 4 weeks

Groups ¹⁾	Initial weight (g) ²⁾	Final weight (g)	Food intake (g/day)	Weight gain (g/day)
L4-CaCO ₃	242.7±4.8 ³⁾	317.1±4.1*	16.8±0.4	2.7±0.2*
L8-CaCO ₃	243.2±5.7	362.4±8.4	16.4±0.3 ^{b4)}	2.1±0.1 ^c
L8-CaMP	243.1±5.8	368.1±4.9	17.8±0.3 ^a	2.6±0.2 ^b
N8-CaMP	243.1±5.6	371.5±10.3	18.0±0.4 ^a	3.1±0.1 ^a
H8-CaMP	243.4±7.1	372.5±12.1	18.3±0.3 ^a	3.1±0.2 ^a

¹⁾See Table 1. ²⁾Measured at 8 weeks. ³⁾Values are mean±SE of 7 rats per group.

⁴⁾Values within the same column with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

*p<0.05 between L4-CaCO₃ and L8-CaCO₃ by *t*-test.

Table 3. The concentration of Ca, P and the activity of alkaline phosphatase (ALP) in serum of the osteoporotic rats fed experimental diets for 4 weeks

Groups ¹⁾	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	ALP (IU/L)
L4-CaCO ₃	12.3±0.1 ²⁾	7.5±0.2	189.3±13.2
L8-CaCO ₃	12.4±0.2 ^{a3)}	7.5±0.3 ^b	198.8±8.1 ^a
L8-CaMP	12.2±0.1 ^{ab}	7.9±0.3 ^b	141.3±4.4 ^b
N8-CaMP	12.0±0.2 ^{ab}	8.3±0.4 ^{ab}	126.7±15.0 ^b
H8-CaMP	11.7±0.2 ^b	9.0±0.3 ^a	147.8±12.9 ^b

¹⁾See Table 1.

²⁾Values are mean±SE of 7 rats per group.

³⁾Values within the same column with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

급여한 후 혈청 칼슘 농도 및 ALP 활성에 대한 결과를 Table 3에 제시하였다. 혈청 칼슘의 농도는 고수준의 유기태 칼슘을 섭취한 군이 8주 탄산칼슘군에 비해 유의적으로 감소하였으나, 혈청 인의 농도는 반대로 증가하였다. 이러한 결과는 유기태 칼슘 제조 시 무기질 킬레이팅 관련 기능기인 인의 영향으로 유기태 칼슘의 섭취가 증가함에 따라 인의 흡수도 증가된 것으로 보인다. Thomas 등(13)은 암컷 흰쥐를 난소 절제 후 6주간 저칼슘과 정상칼슘식을 급여한 결과 두 군의 혈청 칼슘 농도에는 유의적인 차이가 없다고 보고하였다. 그러나 Kalu 등(14)의 연구에서는 7개월 된 wister rats의 난소를 절제한 후 7개월간 정상칼슘 식이를 주었을 때 저칼슘 식이보다 혈청 칼슘의 농도가 감소하였다. 본 실험에서 모든 군의 혈청 칼슘 농도는 정상범위(7.2 ~ 12.6 mg/dL) 내에 있었으며(15), 일반적으로 혈청 칼슘의 농도는 칼슘의 섭취량이 달라져도 PTH, calcitriol, calcitonin과 같은 호르몬에 의해서 신장, 뼈, 소장에서 흡수와 배설이 조절되는데(16), 유기태 칼슘 섭취에 따른 영향은 없었다.

골격 형성 지표로 사용되는 ALP는 조골세포에 뼈 무기질의 침착을 촉진시키는 요소로, 여러 연구들에서 폐경기 골다공증 환자와 난소제거 후 ALP의 활성이 증가한다고 하였다(17,18). 본 실험에서 ALP의 활성은 4주와 8주 저탄산 칼슘군 간에 통계적 유의성은 없었으나 8주 저탄산 칼슘군이 증가하는 경향을 보였다. 한편 ALP 활성은 유기태 칼슘군이 탄산칼슘군에 비해 유의적으로 낮아졌다(p<0.05). 이것은 지속적인 저수준의 탄산칼슘식은 ALP의 활성을 증가시

키나 칼슘 섭취 수준에 관계없이 유기태 칼슘을 섭취한 경우 ALP의 활성이 감소되어, 난소제거에 의한 골 교체율의 증가를 감소시킨 것으로 보인다. 또한 난소절제 후 에스트로겐의 결핍은 골 교체율의 증가를 초래하여 ALP의 활성을 증가시키나(19) 유기태 칼슘은 탄산칼슘과는 달리 이러한 효과를 상쇄시켰다. Patwardhan 등(20)은 흰쥐를 대상으로 여러 종류의 칼슘염을 보충하여 ALP의 활성을 비교한 실험에서 탄산칼슘과 젖산칼슘을 보충한 군이 인산칼슘을 보충한 군에 비해 낮았음을 보고하였다. 본 실험에서는 유기태 칼슘의 섭취는 탄산칼슘보다 ALP의 활성을 낮춤에 따라 골다공증 예방 및 치료를 위한 칼슘보충제로서 뼈의 대사에 긍정적인 영향을 줄 수 있음을 시사한다.

간 및 신장기능 혈액 지표

간과 신장기능 지표를 Table 4에 제시하였다. 간기능 혈액 지표인 GOT 및 GPT는 간세포의 세포질에 있는 효소로 간세포 손상 시 혈액으로 유리되어 정상보다 많이 증가하게 된다(21). GOT 및 GPT의 활성은 4주 저탄산 칼슘군에 비해 유기태 칼슘군에서 증가하는 경향을 보였으나, 모두 정상범위(GOT: 58~173 IU/L, GPT: 20~94 IU/L) 내에 있었다(22). 신장기능 혈액 지표인 BUN, creatinine 및 uric acid 함량은 4주 저탄산 칼슘군에 비해 8주 저탄산 칼슘군에서 유의적으로 증가하였으나, 유기태 칼슘군에서 감소하는 경향을 보였다. 이것은 유기태 칼슘의 섭취가 탄산칼슘에 비해 신장기능 지표가 유의적으로 감소함에 따라 신장 기능에 부정적인 영향이 없는 것으로 사료된다. BUN과 uric acid의 농도는 L4-CaCO₃군에 비해 유기태 칼슘군에서 감소하였으나, creatinine의 농도는 유기태 칼슘군이 L4-CaCO₃군보다 높은 수준을 나타냈으나 모두 정상 범위의 수준이었다.

이상의 결과로 유기태 칼슘의 섭취는 탄산칼슘보다 GOT, GPT 활성 및 BUN, creatinine 및 uric acid의 농도를 감소시키는 경향이 있어 간 및 신장의 기능을 손상시키지는 않는 것으로 사료된다.

대퇴골 및 요추골의 무게, 길이 및 파단력

대퇴골 및 요추골의 무게, 길이 및 대퇴골의 파단력을 Table 5에 제시하였다.

골다공증 모델 흰쥐에게 실험식을 급여한 결과 대퇴골의 무게는 군별로 통계적 유의성은 인정되지 않았으나, 충분

Table 4. The effect of organic Ca on parameters of liver and kidney function in serum of osteoporotic rats fed experimental diets for 4 weeks

Groups ¹⁾	GOT ²⁾ (IU/L)	GPT (IU/L)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Uric acid (mg/dL)
L4-CaCO ₃	108.5±7.1*	27.8±2.6 ³⁾	14.0±0.4*	0.80±0.00*	2.2±0.0*
L8-CaCO ₃	142.5±5.0	31.0±2.0	15.7±0.5 ⁴⁾	1.08±0.03 ^{a)}	2.4±0.1 ^{a)}
L8-CaMP	138.2±7.1	35.3±8.2	12.3±0.5 ^{b)}	1.01±0.05 ^{ab)}	2.1±0.1 ^{b)}
N8-CaMP	136.3±1.7	27.0±2.6	12.3±0.6 ^{b)}	0.87±0.04 ^{c)}	2.1±0.1 ^{b)}
H8-CaMP	140.5±4.6	40.4±6.1	12.4±0.2 ^{b)}	0.90±0.03 ^{bc)}	1.8±0.1 ^{c)}

¹⁾See Table 1.

²⁾GOT: glutamic oxaloacetic transaminase, GPT: glutamic pyruvic transaminase.

³⁾Values are mean±SE of 7 rats per group.

⁴⁾Values within the same column with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

*p<0.05 significant difference between L4-CaCO₃ and L8-CaCO₃ by t-test.

Table 5. Weight and length of femur and lumbar (L2-L4) and breaking force in femur of osteoporotic rats fed of experimental diet for 4 weeks

Groups ¹⁾	Femur			Lumbar	
	Wet weight ²⁾ (mg)	Length (mm)	Breaking force (kg)	Wet weight (mg)	Length (mm)
L4-CaCO ₃	808.0±22.3 ³⁾	35.6±0.3*	11.3±0.3	1078.0±11.5*	24.1±0.1*
L8-CaCO ₃	839.1±19.5	37.2±0.3	11.1±0.3 ⁴⁾	959.3±26.6 ^{b)}	22.6±0.5
L8-CaMP	839.6±24.7	36.9±0.4	11.7±0.3 ^{b)}	1061.3±37.1 ^{ab)}	23.2±0.3
N8-CaMP	856.9±18.2	37.1±0.3	12.5±0.2 ^{a)}	1088.8±44.7 ^{a)}	23.7±0.4
H8-CaMP	907.0±25.3	37.3±0.2	12.7±0.2 ^{a)}	1093.3±38.8 ^{a)}	23.6±0.5

¹⁾See Table 1.

²⁾Average values of both femurs.

³⁾Values are mean±SE of 7 rats per group.

⁴⁾Values within the same column with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

*p<0.05 between L4-CaCO₃ and L8-CaCO₃ by t-test.

량의 유기태 칼슘 섭취에 따라 대퇴골의 무게가 증가하는 경향을 보였다. 8주 저탄산 칼슘군에 비해 유기태 정상칼슘군은 약 2%, 유기태 고칼슘군은 약 8%의 대퇴골의 무게가 증가하였다. Chen 등(23)에 의하면 어린 암컷 흰쥐에게 칼슘 섭취 수준을 달리하여 식이를 급여했을 때 칼슘함량이 0.1%보다 1.2%와 2.0% 함유한 식이를 섭취한 군에서 대퇴골의 무게가 증가하였다고 보고하였다. 본 실험의 결과에서 정상 수준 이상의 유기태 칼슘의 섭취는 대퇴골의 무게를 증가시켜 뼈의 대사에 긍정적인 영향을 미쳤다.

대퇴골의 길이는 4주군에 비해 8주 저탄산 칼슘군에서 유의적으로 길이가 증가하였으나, 유기태 칼슘의 섭취 증가는 대퇴골의 길이에 영향을 주지 않았다. 성장기간이 길수록 대퇴골의 길이는 증가하였으나, 8주간 탄산칼슘과 유기태 칼슘을 섭취한 군 간의 대퇴골의 길이는 유의적인 차이가 없었다. 따라서 대퇴골의 길이 성장은 칼슘 섭취 기간에 의한 영향을 받으며, 칼슘의 종류와 섭취수준에 영향을 받지 않았다. Bell과 Orr(24)의 연구에서도 칼슘의 급원 및 섭취 수준이 골격의 길이에 영향을 주지 못한다고 하였다. Park 등(25)은 임신과 수유기간 동안 칼슘 수준을 달리한 실험식을 섭취한 어미쥐에서 태어난 새끼쥐의 대퇴골의 길이는 칼슘의 섭취수준에 영향을 받지 않는다고 하였다.

대퇴골의 파단력은 4주군과 8주 저탄산 칼슘군 간에 유의적인 차이가 없었고, 정상 수준 이상의 유기태 칼슘을 섭취한 군에서 유의적으로 증가하였다. Thomas 등(13)은 이유

한 쥐에게 성 성숙기 동안 저칼슘과 정상칼슘을 공급한 결과 정상 칼슘군에서 뼈의 강도가 더 높았다고 보고하였으며, Takada 등(26)은 난소 절제한 쥐에게 정상칼슘식이에 유청 단백질을 첨가하여 급여한 결과 대조군에 비해 대퇴골의 파단력이 증가함을 보고하였다. 따라서 본 실험에서 대퇴골의 파단력은 칼슘 섭취 수준 및 유기태 칼슘을 구성하는 유청 단백질에 영향을 받은 것으로 보인다.

요추골의 무게는 4주군보다 8주 저탄산 칼슘군이 11% 정도 유의적으로 감소한 반면, 유기태 저칼슘군에서 약 2% 가량 감소되었는데, 이는 탄산칼슘에 비해 유기태 칼슘군에서 보다 적은 뼈 손실이 일어난 것으로 볼 수 있다. 유기태 정상 및 고칼슘군의 요추골의 무게는 8주 저탄산 칼슘군에 비해 각각 13.5%, 13.9% 유의적으로 증가하여, 칼슘의 섭취 수준 역시 요추골의 무게 증가에 영향을 주었다. Kim 등(27)의 연구에서 성장기 흰쥐에게 저칼슘 식이를 급여하고 난소 절제한 경우, 요추골의 무게는 칼슘 섭취 수준에 영향을 받지 않았다고 하였다. 그러나 본 실험은 성숙기 암컷 흰쥐에게 저칼슘 식이를 급여하였으므로, 칼슘 섭취 수준과 급원에 유의적인 영향을 받은 것으로 사료된다.

요추골의 길이는 4주군에 비해 8주 저탄산 칼슘군이 유의적으로 감소하여, 골다공증 질환에서 지속적인 저칼슘의 섭취는 요추골의 길이에 영향을 주었다. 또한 요추골의 길이는 유기태 칼슘의 섭취 수준에 의해 영향을 받지 않았다. 따라서 골다공증이 진행된 후에는 칼슘의 섭취가 증가하여도 요

Table 6. Ash, Ca and P contents in femur and lumbar (L2-L4) of osteoporotic rats fed experimental diet for 4 weeks (mg/g wet wt)

Groups ¹⁾	Femur			Lumbar		
	Ash ²⁾	Ca	P	Ash	Ca	P
L4-CaCO ₃	395.0±5.3 ³⁾	119.3±1.8	54.4±2.1	262.4±3.4	69.8±1.5	32.1±0.8
L8-CaCO ₃	410.9±6.1 ^{b4)}	122.2±1.6	58.4±1.6 ^a	265.8±5.1	71.7±5.4 ^b	32.1±1.7
L8-CaMP	418.5±8.5 ^{ab}	127.5±3.3	53.8±1.6 ^{ab}	272.3±6.8	75.4±2.7 ^{ab}	33.1±0.6
N8-CaMP	437.1±7.2 ^a	126.8±2.6	51.5±1.6 ^b	283.4±7.9	81.9±2.1 ^{ab}	34.6±0.9
H8-CaMP	422.2±5.4 ^{ab}	131.3±5.4	52.8±1.7 ^b	273.0±5.4	83.6±1.2 ^a	35.3±1.0

¹⁾See Table 1.

²⁾Average values of both femurs.

³⁾Values are mean±SE of 7 rats per group.

⁴⁾Values within the same column with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

* $p < 0.05$ between L4-CaCO₃ and L8-CaCO₃ by *t*-test.

추골 길이의 감소를 회복시키지 못하는 것으로 나타났다.

이상의 결과에서 유기태 칼슘의 섭취 증가는 대퇴골 및 요추골의 무게 증가 및 대퇴골의 파단력을 증가시킴에 따라 골다공증을 위한 칼슘 보충제로서 충분한 기능을 할 수 있을 것으로 보인다.

대퇴골 및 요추골의 회분, 칼슘 및 인의 함량

대퇴골 및 요추골의 회분, 칼슘 및 인의 함량을 Table 6에 제시하였다.

대퇴골의 회분 함량은 4주군과 8주 저탄산 칼슘군 간에 유의적인 차이는 없었고, 정상수준의 유기태 칼슘섭취군에서 회분량이 증가하는 경향을 보였다. 즉, 유기태 칼슘 섭취가 증가함에 따라 8주 저탄산 칼슘군에 비해 각각 1.9%, 6.4%, 2.8%의 회분량이 더 증가하였다. 칼슘 급원이 골격에 미치는 영향을 살펴보면, 비타민 D 결핍 모델 쥐에게 소뼈 회분과 탄산칼슘을 보충하여 회복 효과를 본 Okano 등(28)은 소뼈회분이 뼈 중 회분 무게와 무기질 밀도에서 더 빠른 회복을 보였다고 하였다.

대퇴골의 칼슘 함량은 칼슘의 급원과 섭취 수준에 따라 각 군별로 유의적인 차이가 없었으나, 8주 저탄산 칼슘군에 비해 저, 정상, 고칼슘 수준의 유기태 칼슘군에서는 각각 4.3%, 3.8%, 7.5%의 칼슘함량이 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 유기태 칼슘의 섭취 수준이 증가함에 따라 대퇴골의 칼슘 함량이 증가하였기 때문이며, Donahue 등(29)은 10~11개월 된 흰쥐에게 0.02%, 1.0%의 칼슘을 주었을 때 1.0%의 칼슘을 준 경우 대퇴골의 회분 및 칼슘함량이 더 증가했다고 하였다.

대퇴골의 인 함량은 4주군과 8주 저탄산 칼슘군 간에 유의적인 차이는 없었으나, 유기태 칼슘군이 8주 저탄산 칼슘군에서 비해 인의 농도가 낮았고, 특히 정상과 고수준의 유기태 칼슘군에서는 유의적으로 감소하였다. 칼슘의 섭취가 증가할수록 대퇴골의 칼슘함량은 증가하고, 인의 함량은 감소하는 경향이 나타났다. 이러한 결과는 유기태 칼슘 섭취 수준이 증가할수록 혈청의 칼슘농도는 감소하고 인의 농도는 증가하는데, 이것은 대퇴골과 혈액사이에 칼슘과 인의 항상성을 맞추기 위한 결과로 사료된다.

요추골의 회분량은 8주 저탄산 칼슘군에 비해 유기태 칼슘군이 증가하는 경향을 보였고, 정상수준의 유기태 칼슘군에서 높았다. 요추골의 칼슘 함량은 탄산칼슘군 간에 유의적인 차이가 없었지만, 유기태 칼슘의 섭취 수준이 증가할수록 칼슘의 함량이 증가하는 경향을 보였다. 특히 유기태 고칼슘군이 8주 저탄산 칼슘군보다 칼슘의 함량이 유의적으로 증가함에 따라 유기태 칼슘은 요추골의 칼슘 침착에 긍정적인 영향을 끼침을 알 수 있었다.

요추골의 인의 함량은 칼슘의 급원 및 수준에 따라 유의적인 차이가 없었으나, 유기태 칼슘의 섭취 수준에 따라 요추골의 인의 함량도 증가하는 경향을 보였다.

위의 결과에서 유기태 칼슘 섭취는 대퇴골 및 요추골의 회분량 및 칼슘의 함량을 증가시켰다. 그러므로 유기태 칼슘이 골다공증으로 인해 악화되는 뼈의 대사에 긍정적인 영향을 주는 것으로 보인다.

칼슘의 섭취량과 흡수율

칼슘의 섭취량 및 흡수율을 측정된 결과를 Table 7에 제시하였다.

칼슘의 섭취량 및 분변 중의 배설량은 식이 칼슘 수준이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다. 칼슘의 섭취량은 유기태 저칼슘군에 비해 유기태 정상 및 고칼슘군에서 각각 5배, 15배 높게 나타났으며, 칼슘 배설량은 각각 5배, 21배 증가하였다. 분 중의 칼슘 배설량은 4주군과 8주 저탄산 칼슘군 간에 유의적인 차이를 나타내어 이는 성장 정도에 따른 흡수율 저하를 반영한 것이라고 본다. 그러나 유기태 저칼슘군이 탄산칼슘군보다 분변 중으로 배설되는 칼슘의 양이 상대적으로 적었으나, 칼슘의 섭취 수준이 증가함에 따라 분으로 배설되는 칼슘의 양은 증가되었다.

칼슘의 흡수율은 4주군에 비해 8주 저탄산 칼슘군의 흡수율이 약 47%로 감소한 반면, 유기태 저칼슘군에서 16%가 감소되었는데, 이는 탄산칼슘에 비해 유기태 칼슘이 체내 이용성이 높기 때문인 것으로 볼 수 있다. 또한 칼슘의 흡수율은 유기태 정상 및 고칼슘군의 경우 유기태 저칼슘군에 비해 각각 5배, 10배 정도 증가하였다.

칼슘의 흡수율은 8주 저탄산 칼슘군이 43%, 유기태 저칼

Table 7. Daily Ca intake, fecal Ca excretion, daily and apparent Ca absorption of osteoporotic rats fed experimental diet for 4 weeks

Groups ¹⁾	Ca intake (mg/day)	Fecal Ca excretion (mg/day)	Apparent absorption (mg/day)	Apparent absorption rate (%)
L4-CaCO ₃	16.4±0.5 ²⁾	4.3±0.6 [*]	12.7±0.4 [*]	74.9±3.4 [*]
L8-CaCO ₃	16.4±0.3 ³⁾	9.6±0.6 ^c	6.7±0.4 ^c	42.7±2.6 ^b
L8-CaMP	18.3±0.6 ^c	8.4±0.5 ^c	10.7±0.8 ^c	58.1±2.7 ^a
N8-CaMP	88.4±2.4 ^b	42.4±1.4 ^b	51.0±2.0 ^b	54.5±1.4 ^a
H8-CaMP	275.5±10.0 ^a	173.0±13.3 ^a	102.4±2.6 ^a	37.7±0.9 ^b

¹⁾See Table 1.

²⁾Values are mean±SE of 7 rats per group.

³⁾Values within the same column with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

^{*}p<0.05 between L4-CaCO₃ and L8-CaCO₃ by t-test.

슘군과 정상칼슘군은 각각 58%, 55%의 흡수율을 보여, 탄산칼슘보다 유기태 칼슘의 섭취가 칼슘의 흡수율을 증가시킨 결과를 나타냈다. 이것은 소장에서 유기태 칼슘의 가용화가 촉진되어 흡수율이 증가한 것으로 생각된다. 또한 유기태 고칼슘군에서는 칼슘 흡수율이 유의적으로 감소하였는데 이는 칼슘의 섭취량의 증가하면서 배설량도 증가하였기 때문이다. 따라서 유기태 칼슘의 섭취는 칼슘의 흡수율과 흡수량을 함께 고려했을 때 정상수준의 섭취가 적정할 것으로 보인다. Jang 등(30)의 연구에서는 성장기 수컷 흰쥐에게 주정과 구연산 및 식이성 칼슘소재를 처리한 멀치 분말을 급여한 결과 대조군에 비해 주정과 구연산 및 CPP를 첨가한 군에서 유의적으로 칼슘의 흡수율이 높아 칼슘의 급원에 따른 차이를 나타냈다고 보고되어 있다. 최근 노인성 골질환 개선을 위해 칼슘의 이용율을 증가시키는 물질에 대한 관심이 증가하고 있다. 그중 oligofructose 형태의 fructan은 대장에서 미생물에 의해 발효되어 pH를 낮춤에 따라 칼슘의 흡수율을 증가시킨다고 알려져 있다. Holloway 등(31)은 폐경기 여성이 fructan을 6주간 섭취한 결과 칼슘의 흡수가 증가됨을 보고한 바 있다. 본 실험의 결과에서 유기태 칼슘의 섭취는 탄산칼슘보다 칼슘의 흡수율을 증가시켜 골다공증 질환의 예방 및 치료제로서 그 기능이 효과적일 것으로 생각된다. 따라서 향후 연구에서는 유기태 칼슘이 골질환 개선제로서 임상적인 평가가 필요할 것으로 보인다.

본 실험의 결과에서 칼슘 섭취 수준이 증가함에 따라 분변으로 배설되는 칼슘의 양은 증가하여 칼슘의 흡수율이 크게 감소되었다. 그러나 유기태 칼슘의 섭취는 탄산칼슘보다 유의적으로 칼슘 흡수율이 증가하였는데, 이것은 유기태 칼슘제가 체내 이용성면에서 탄산칼슘에 비해 우수한 칼슘 보충제임을 증명하는 결과로 해석된다.

요 약

본 연구는 유청 단백질과 칼슘이 킬레이트된 새로운 유기태 칼슘 보충제를 난소절제와 저칼슘 식이로 유도된 골다공증 모델 흰쥐에게 급여하여 유기태 칼슘 보충제의 칼슘 이용성과 생리기능에 미치는 영향을 평가하기 위해 수행되었다.

실험은 8주령 된 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 난소절제술을 실시한 후, 저수준(0.1%)의 탄산칼슘을 4주간 급여하여 골다공증 모델을 설정하고, 탄산칼슘의 함량이 저수준(0.1%), 유기태 칼슘의 함량이 저수준(0.1%), 정상수준(0.5%), 고수준(1.5%)으로 한 실험식을 4주간 급여하였다. 식이섭취량 및 체중, 혈청의 칼슘 및 ALP 활성, 대퇴골과 요추골의 무게, 길이, 회분양, 칼슘과 인의 함량, 대퇴골의 파단력 및 칼슘의 체내 이용성 등을 측정하였다. 그 결과 유기태 칼슘군의 식이섭취량은 8주 저탄산 칼슘군에 비해 유의적으로 증가하였고, 체중 증가는 유기태 정상 및 고칼슘군에서 유의적으로 높았다. 혈청 칼슘 농도는 유기태 칼슘의 섭취량이 증가할수록 감소하였다. 혈청 ALP의 활성은 유기태 칼슘군에서 유의적으로 낮아졌다. 유기태 칼슘 섭취수준이 증가할수록 대퇴골의 무게가 증가하는 경향을 보였다. 대퇴골의 파단력은 유기태 정상칼슘군 및 고칼슘군에서 유의적으로 높았다. 대퇴골의 회분양은 유기태 정상칼슘군에서 유의적으로 증가하였고, 칼슘 함량은 칼슘 섭취가 증가할수록 높은 경향을 나타냈다. 요추골의 무게는 유기태 칼슘의 섭취 수준에 따라 증가하였다. 대퇴골의 길이는 4주군에 비해 8주 저탄산 칼슘군이 유의적으로 증가한 반면, 요추골의 경우는 유의적으로 감소하였다. 요추골의 회분양은 유기태 정상칼슘군에서 가장 높았으며, 칼슘 함량은 유기태 고칼슘군에서 유의적으로 증가하였다. 칼슘의 섭취량 및 분 중의 칼슘 배설량은 칼슘섭취 수준이 증가함에 따라 증가하였다. 칼슘의 흡수량은 유기태 저칼슘군에 비해 유기태 정상 및 고칼슘군이 각각 5배, 10배 증가하였고, 칼슘의 흡수율은 유기태 저칼슘 및 정상칼슘군에서 유의적으로 증가하였다. 결론적으로 유기태 칼슘 섭취 수준에 따라 정상 혈청 칼슘 농도는 유지되었으나, 혈청 ALP의 활성은 유의적으로 낮아지는 결과를 보였다. 또한 유기태 칼슘의 섭취가 증가할수록 대퇴골, 요추골의 무게 및 칼슘 함량이 증가하였고, 대퇴골의 파단력이 유의적으로 증가하였다. 칼슘 흡수율은 유기태 저칼슘군과 정상칼슘군이 유의적으로 높게 평가되었다. 따라서 유청 단백질과 킬레이트된 유기태 칼슘소재가 골격 대사면에서 골다공증의 예방 및 치료를 위해 새로운 칼슘 보충제의 급원으로 추천할 만하다고 본다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임(과제번호: 108154-02-2).

문헌

- Allen LH. 1982. Calcium bioavailability and absorption: a review. *Am J Clin Nutr* 35: 783-808.
- Korean Health Industry Development Institute/Ministry of Health and Welfare. 2009. *2008 national health and nutrition survey report*.
- Heaney RP. 1989. Nutritional factors in bone health in elderly subjects: methodological and contextual problems. *Am J Clin Nutr* 50: 1182-1189.
- Louie DS. 1996. Intestinal bioavailability and absorption of calcium. In *Calcium and Phosphorus in Health and Disease*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. p 45.
- Ebra 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. *Nutr* 18: 743-746.
- Kitt DD, Yuan YV. 1992. Casein phosphopeptides and calcium bioavailability. *Trends in Food Sci Technol* 3: 31-35.
- Ashmead HD. 1991. Comparative intestinal absorption and subsequent metabolism of metal amino acid chelates and inorganic metal salts. ACS Symposium Series 45. p 306-319.
- Choi SY. 2002. Final report of production of soybean phosphopeptide calcium. Ministry of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. p 1-178.
- Ken K, Yasuhiro T, Hiroaki M, Junichi Y, Yashuhiro M, Hiroshi K, Akira I, Masayoshi K, Seiichiro A, Yukihiko T. 2000. Milk basic protein enhances the bone strength in ovariectomized rats. *J Food Biochem* 24: 467-476.
- O JH, Song MH, Lee YS. 1997. Effects of high protein and calcium intakes on calcium metabolism and renal function in ovariectomized osteoporosis rat model. *Korean J Nutr* 30: 605-613.
- Zemel MB. 2002. Regulation of adiposity and obesity risk by dietary calcium: mechanisms and implications. *J Am Coll Nutr* 21: 146-151.
- Rajpathak SN, Eric BR, Bernard R, Willett WC, Frank BH. 2006. Calcium intake, body composition, and lipoprotein-lipid concentrations in adults. *Am J Clin Nutr* 83: 559-566.
- Thomas ML, Simmons DJ, Kidder L, Ibarra MJ. 1991. Calcium metabolism and bone mineralization in female rats fed diets marginally sufficient in calcium: effects of increased dietary calcium intake. *Bone Miner* 12: 1-14.
- Kalu DN, Hardin RR, Cockerhan R. 1984. Evaluation of the pathogenesis of skeletal changes in ovariectomized rats. *Endocrinology* 115: 507-512.
- Mitruka BM, Rawnsley HM. 1981. *Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal humans*. 2nd ed. Masson Publishing USA, Inc., New York, NY, USA. p 160-166.
- Lobaugh B. 1996. Blood calcium and phosphorus regulation. In *Calcium and Phosphorus in Health and Disease*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. p 32-37.
- Armandi BH, Bimbaum RS, Juma S, Barengolts E, Kukreja SC. 2000. The synthetic phytoestrogen, ipriflavone, and estrogen prevent bone loss by different mechanism. *Calcif Tissue Int* 66: 61-65.
- Ostrowska Z, Kos-Kudla B, Marek B, Kajdaniuk D, Ciesielaska-Kopacz N. 2002. Dynamic pattern of IGF-I and chosen biochemical markers of bone metabolism in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *Endocr Regul* 36: 9-10.
- Raisz LG. 2005. Pathogenesis of osteoporosis: concept, conflict, and prospects. *J Clin Invest* 115: 3318-3325.
- Patwardhan UN, Pahuja DN, Samuel AM. 2001. Calcium bioavailability: an in vivo assessment. *Nutr Res* 21: 667-675.
- Achliya GS, Wadodkar SG, Dorle AK. 2004. Evaluation of hepatoprotective effect of *Amalkadi Ghrita* against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats. *J Ethnopharmacol* 90: 229-232.
- Kang BH, Son HY, Ha CS, Lee HS. 1995. Reference values of hematology and serum chemistry in Ktc: Sprague-Dawley rats. *Korean J Lab Sci* 11: 141-145.
- Chen H, Hayakawa D, Emura S, Ozawa Y, Okumura T, Shoumura S. 2002. Effect of low or high dietary calcium on the morphology of the rat femur. *Histol Histopathol* 17: 1129-1135.
- Bell GH, Orr J. 1941. Strength and size of bone in relation to calcium intake. *J Physiol* 100: 299-317.
- Park MN, Kim EA, Lee YS. 2004. Effects of Ca supplementation on mineral metabolism during pregnancy and lactation of calcium deficient young adult rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 958-964.
- Takada Y, Maysuyama H, Kato K, Kobayashi N, Yamamura J, Yahiro M, Aoe S. 1997. Milk whey protein enhances the bone breaking force in ovariectomized rats. *Nutr Res* 17: 1709-1720.
- Kim EM, Jang YK, Lee YS. 1999. Effect of ovariectomy and dietary calcium levels on bone metabolism in rats fed high calcium diet during growing period. *Korean J Nutr* 32: 150-157.
- Okano T, Kimura T, Tsugawa N, Fujiwara M, Yamamoto M, Kobayashi T. 1994. Bioavailability of calcium from bovine-bone-marrow calcium and calcium carbonate in vitamin D-deficient rats. *Food Chem* 51: 61-67.
- Donahue HJ, Mazzeo RS, Horavth SM. 1988. Endurance training and bone loss in calcium deficient and ovariectomized rats. *Metabolism* 37: 741-744.
- 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.
- Holloway L, Moynihan S, Abrams SA, Kent K, Hsu AR, Friedlander AL. 2007. Effects of oligofructose-enriched inulin on intestinal absorption of calcium and magnesium and bone turnover markers in postmenopausal women. *Br J Nutr* 97: 365-372.

(2011년 1월 3일 접수; 2011년 4월 21일 채택)