

개조개(*Saxidomus purpuratus*) 패각분말로부터 젖산칼슘의 제조 및 특성

윤인성 · 이균우 · 이현지 · 박성환 · 박선영¹ · 이수광¹ · 김진수¹ · 허민수*

경상대학교 식품영양학과/해양산업연구소, ¹경상대학교 해양식품공학과/해양산업연구소

Characterization of Calcium Lactate Prepared from Butter Clam *Saxidomus purpuratus* Shell Powder

In Seong Yoon, Gyoon-Woo Lee, Hyun Ji Lee, Sung Hwan Park, Sun Young Park¹, Su Gwang Lee¹,
Jin-Soo Kim¹ and Min Soo Heu*

Department of Food and Nutrition/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

¹Department of Seafood Science and Technology/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea

To facilitate the effective use of butter clam shell as a natural calcium resource, we determined the optimal conditions for calcium lactate (BCCL) preparation with high solubility using response surface methodology (RSM). The polynomial models developed by RSM for pH, solubility and yield were highly effective in describing the relationships between factors ($P < 0.05$). Increased molar ratios of calcined powder (BCCP) from butter clam shell led to reduced solubility, yield, color values and overall quality. The critical values of multiple response optimization to independent variables were 1.75 M and 0.94 M for lactic acid and BCCP, respectively. The actual values (pH 7.23, 97.42% for solubility and 423.22% for yield) under optimization conditions were similar to the predicted values. White indices of BCCLs were in the range of 86.70–90.86. Therefore, organic acid treatment improved color value. The buffering capacity of BCCLs was strong, at pH 2.82 to 3.80, upon the addition of less than 2 mL of 1 N HCl. The calcium content and solubility of BCCLs were 6.2–16.7 g/100 g and 93.6–98.5%, respectively. Fourier transform analysis of infrared spectroscopy data identified BCCL as calcium lactate pentahydrate, and the analysis of microstructure by field emission scanning electron microscopy revealed an irregular form.

Key words: Butter clam shell, Calcined powder, Calcium lactate, FT-IR, FESEM

서론

개조개(*Saxidomus purpuratus*)는 백합목 백합과에 속하는 종으로 2013년에는 2,199톤이 우리나라 여수, 남해 및 마산 연안에서 생산되었고, 향과 감칠맛이 뛰어나며 지방이 적고 단백질이 풍부한 고가의 자연산 식용 패류이다(Ministry of Ocean and Fisheries, 2014). 최근 수산물 섭취 증가에 따라 가공 및 조리 중에 다양한 가공부산물 발생하고 있으며, 특히 패류의 경우 2013년에 346,000톤 정도가 생산되었고, 육질을 채취하고 버려지는 패각은 패류 생산량의 50% 정도인 연간 173,000톤 정도 발생하는 것으로 추정된다(Ministry of Ocean and Fisheries, 2014). 지금까지 패각은 토양개량, 비료첨가제, 사료첨가

제(Seco et al., 2014; Oliveira et al., 2013), 폐수정화, 수질정화(Kwon et al., 2009) 등 한정된 분야에서 국한적으로 이용되었다.

패각은 중량 당 95-99%가 탄산칼슘으로 이루어져 있어(Barros et al., 2009; Kim et al., 2015), 고부가가치 칼슘소재로의 이용 가능성이 높다. 현재 우리나라의 식품첨가물공전에는 칼슘 강화용 화학 합성품으로 유기산을 이용하여, 가용성을 높인 구연산 칼슘, L-글리세로인산칼슘, 글루콘산 칼슘, 제일(이, 삼)인산칼슘, 젖산칼슘 등이 허용되고 있다. 특히 젖산칼슘은 무독성의 수용성(Maekawa et al., 1991)으로 현재 제빵(Ranhotra et al., 1997), 두유(Prabharaksa et al., 1989), 오렌지쥬스(Sharma et al., 2001), 요구르트(Pirkul et al., 1997) 및 높은 흡수율을 가

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2016.0301>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 49(3) 301-309, June 2016

Received 11 February 2016; Accepted 26 April 2016

*Corresponding author: Tel: +82. 55.772.1440 Fax: +82. 55.772.1430

E-mail address: heu1837@dreamwiz.com

지는 칼슘 보충제(Lee et al., 1988)로써 식·의약 산업에서 널리 사용되고 있으며, 다양한 농작물과 절임식품들의 조직 강화제(Wang et al., 1999)로도 사용되고 있다. 또한 젖산칼슘의 기능으로는 항균작용(Shelef, 1994), 골밀도 증진(Mizunuma et al., 1996), 항충치능(Shrestha et al., 1982), 항발암 물질(Reshef et al., 1990; Wargovich et al., 1990)로의 사용 등이 보고되었다.

불용성의 탄산칼슘(CaCO_3 , 패각분말의 주성분) 또는 산화칼슘(CaO , 소성분말)은 유기산과 반응하여 산성에서 용해도가 높아질 뿐만 아니라, 흡수율 또한 개선이 된다(Gurthrie, 1971; Lee et al., 2015; Park et al., 2015). 유기산 중에서 젖산은 식품, 섬유산업, 화장품 및 제약 산업과 같은 다양한 산업에 적용 가능하여(Xu and Xu, 2014), 가용성과 흡수율이 개선된 유기산 칼슘을 제조하는데 이용이 가능하다. 이를 이용한 젖산칼슘의 제조는 일정 농도의 젖산용액과 탄산칼슘 또는 산화칼슘을 첨가한 뒤 반응시키면 무색 결정의 5수화염(calcium lactate pentahydrated salt)이 생성된다(Lee and Kim, 2003).

앞서의 연구(Kim et al., 2015)에서 XRD 분석으로 개조개의 패각분말은 calcite 및 aragonite로, 소성분말은 portlandite로 확인되어 천연칼슘소재로의 이용이 가능하다고 하였다. 따라서, 본 연구에서는 개조개 패각분말을 고부가가치의 고순도 칼슘제로 활용하고자, 반응표면분석법을 통해, 유기산인 젖산을 사용하여 패각의 불용성 소성분말로부터 가용성 젖산칼슘 제조의 최적 조건을 검토하고 이의 특성에 대하여 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

시약

본 실험에 사용한 시판 산화칼슘(CaO , calcium oxide, M.W.=56.08)은 Junsei Chemical사(Tokyo, Japan) 제품을, 젖산($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$, lactic acid, M.W.=90.08)은 Tedia Company사(Fairfield, California, USA)의 분석 시약급을 구입하여 사용하였다.

개조개 패각분말(SP, shell powder) 및 소성분말(CP, calcined powder)의 제조

개조개(BC, butter clam) SP 및 CP는 Kim et al. (2015)의 방법에 따라 제조하였다. 먼저 개조개 패각에 부착된 이물질 제거를 위한 수세 및 건조(45°C , 26시간)과정을 거친 다음, 이를 분쇄(HMF-1000A, Hanil Electric, Seoul, Korea) 및 체가름(256 mesh)하여 패각분말(SP)을 제조하였다. 소성분말(CP)은 패각분말(SP)을 800°C , 8시간 동안 회화로(FH-08, Wisetherm digital muffle furnace, Daihan Scientific Co. Ltd, Seoul, Korea)내에서 소성 처리하여 제조하였다.

가용성 개선 젖산칼슘 제조를 위한 중심합성계획

개조개 CP로부터 가용성 젖산칼슘(BCCL, butter clam calcium lactate)의 제조는 반응표면분석법(RSM, response surface

methodology)을 사용하여 최적 처리조건을 구명하고자 하였다. 즉, 중심합성계획(central composite design)에 따른 독립변수(X_1)는 젖산(lactic acid, M.W.=90.08)의 농도($0.86\text{--}1.80\text{ M}$, X_1)와 산화칼슘(CaO , M.W.=56.08)의 농도($0.29\text{--}1.70\text{ M}$, X_2)를 5단계로 부호화한 다음(Table 1), factorial design (4), star point (4) 및 central point (3)로 구성된 11개의 실험구로 설정하여, 액상의 젖산칼슘 반응물을 제조하였다. 이 11개의 액상 젖산칼슘을 감압여과장치(WJ-15, circulating aspirator, Sibata Scientific Technology Ltd., Tokyo, Japan)와 여과지(Advantec No.2, Toyo Roshi Kaishi Ltd., Tokyo, Japan)를 이용해 불순물 및 미 반응물을 제거하고, 여과액을 건조기(SWOF-105, Daihan Scientific, Seoul, Korea)로 105°C 에서 24시간 동안 건조하여 시제 분말 BCCLs를 제조하였다. 또한 종속변수(Y_n)는 pH(Y_1), 용해도(Y_2) 및 수율(Y_3)로 하였으며, 이를 3회 반복 측정하여 그 평균값을 회귀분석에 사용하였다. 회귀분석에 의한 예측 및 확인은 MINITAB 프로그램(Minitab version 14 Korean, Minitab Inc., State College, PA, USA)을, 독립변수와 종속변수간의 상관관계는 Maple 프로그램(Maple software version 12 Korean, Waterloo Maple Inc., Ontario, Canada)을 이용하였다. 회귀분석 결과, 임계점(critical point)이 최대점(maximum) 또는 최소점(minimum)이 아닌 안장점(saddle point)일 경우에는 능선분석(ridge analysis)을 하여 최적점을 구하였다.

Table 1. Experimental range and values of the independent variables in the central composite design for preparation of calcium lactate from butter clam *Saxidomus purpuratus* calcined powder

| Independent variable | Symbol | Range levels | | | | |
|----------------------|--------|--------------|------|------|------|--------|
| | | -1.414 | -1 | 0 | +1 | +1.414 |
| Lactic acid (M) | X_1 | 0.86 | 1.00 | 1.33 | 1.67 | 1.80 |
| CaO (M) | X_2 | 0.29 | 0.50 | 1.00 | 1.50 | 1.70 |

pH, 용해도 및 수율

11개 액상 BCCLs의 pH는 pH meter (744, Metrohm, Herisau, Switzerland)를 사용하여 측정하였으며, 용해도(solubility, %)는 각 조건 별 액상 BCCLs에 대해 감압여과 한 후, 불용성의 잔사를 건조(105°C , 5시간)하여 중량을 측정하고, 이를 각 시료 중량으로부터 공제한 값의 백분율로 구하였다.

$$\text{Solubility (\%)} = (\text{Sample, g} - \text{Residue, g}) / \text{Sample, g} \times 100$$

수율(Yield, %)은 각 조건별 액상 BCCLs에 대해 감압여과 한 여과액을 건조하여(105°C , 5시간) 얻어진 가용성 분말의 무게를 측정 후, 시료 중량의 백분율로 구하였다.

$$\text{Yield (\%)} = \text{Dried filtrate, g} / \text{Sample, g} \times 100$$

색차(Hunter's color value) 및 White index

시제 BCCLs의 색차는 명도(L, lightness), 적색도(a, redness; -a, greenness), 갈색도(b, brownness; -b, blueness)에 대해 직시색차계(ZE-2000, Nippon Denshoku Industries Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 색차계는 사용하기 전 calibration plate (L=96.92, a=-0.38, b=0.64)를 이용하여 보정하였다. 또한 백색도는 다음 식으로부터 구하였다.

$$\text{White index} = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$

완충능

완충능은 Cho et al. (2001a)의 방법을 다소 수정한 Lee et al. (2015)의 방법에 따라 측정하였다. 일정량의 젓산칼슘 시료(1 g)를 탈이온수(20 mL)에 용해시키고, 2,000 g에서 15분간 원심분리한 후, 상층액(10 mL)에 대해 1 N HCl을 0.1 mL씩 첨가하면서 pH의 변화를 측정하였다.

무기질 분석

무기질 분석 시료는 Kim et al. (2015)의 방법에 따라 0.1 g의 BCCLs에 5 mL의 6 N HCl을 가하여 습식분해를 2회 반복한 후, 0.1 N HCl을 사용하여 10 mL를 정용하여 조제하였다. 분석용 시료는 ICP (inductively coupled plasma spectrophotometer, Optima 4300 DV, PerkinElmer, Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하여 223 ± 1 kPa 및 0.8 L/min의 조건에서 분석하였다.

칼슘 용해도

칼슘의 용해도(calcium solubility, %)는 Lee et al. (2015)의 방법에 따라, 20 mL의 탈이온수에 각각 5 g의 시판 CaO 및 BCCLs를 첨가 후 상온에서 3시간동안 진탕하면서 용해한 후, 원심분리(2,000 g, 15 min) 하였다. 그 다음 불용성의 잔사를 건조(105°C, 5시간)하여 중량을 측정하고, 이를 각 시료 중량으로부터 공제한 값의 백분율로 구하였다.

$$\text{Calcium solubility (\%)} = \frac{(\text{Sample, g} - \text{Residue, g})}{\text{Sample, g}} \times 100$$

FT-IR 및 미세구조 분석

BCCL의 구조 분석은 Kim et al. (2015)의 방법에 따라, FT-IR (Fourier transform infrared spectrometer, Smart-APEX II Ultra, Bruker Optics Inc., Billerica, MA, USA)을 사용하여 4,000-400 cm⁻¹ 영역에서 측정하였으며, 미세구조의 분석은 시료를 금 코팅(gold coating) 처리한 다음, 15 KV, 2,000배 비율로 전계방출형 주사전자 현미경(FESEM, Field Emission Scanning Electron Microscope, Philips XL-30S FEG, Eindhoven, Netherlands)으로 분석하였다.

결과 및 고찰

중심합성계획에 의한 젓산칼슘 제조

반응표면분석법의 중심합성계획에 따라 독립변수는 젓산 농도(X₁, M) 및 산화칼슘(CaO, CP) 농도(X₂, M)로 하고, 11개의 실험구로 설정하여 시료(factorial design, 4개 실험구; star point, 4개 실험구; central point, 3개 실험구)를 제조한 다음, 종속변수로서 pH, 용해도(%) 및 수율(%)에 대한 결과를 Table 2에 나타내었다.

4개의 factorial design 실험구(Code 1-4)의 경우, 상대적으로 CP의 첨가 비율이 높은 Code 3은 pH (10.89), 용해도 (23.10%) 및 수율(170.54%)이 첨가비율이 낮은 다른 3개의 실험구(Code 1, 2 및 4)에 비해 용해도(92.08-97.68%) 및 수율 (237.20-663.04%)이 현저히 낮은 수준이었다. 4개의 star point 실험구(Code 5-8)의 경우에는, 상대적으로 젓산첨가 비율이 높은 실험구(Code 6 및 7)의 용해도(각각 95.00 및 93.13%)와 수율(각각 413.75 및 845.31%)은 CP첨가 비율이 높은 Code 5와 8에 비해 높은 경향을 나타냈다. 또한 3개의 central point 실험구(Code 9-11)는 모두 동일한 code level로 제조된 결과로 pH는 10.73-11.21, 용해도는 71.07-79.46%, 수율은 314.02-318.39%이었다.

Lee et al. (2015)은 개조개 소성분말로부터 반응표면분석법을 이용하여 제조한 초산칼슘의 용해도는 25.36-84.55% 범위로, 본 실험의 젓산칼슘(23.10-97.68%)이 다소 높은 경향이였다. 또한 Cho et al. (2001a) 및 Kim et al. (2003)은 갑소징어 갑소성분말은 용해도가 낮고, pH는 12.9 부근으로 알칼리성이어서 식용으로 이용하기에는 제약이 많아 유기산(초산 및 젓산) 처리를 통해 pH를 낮추면서 가용성은 개선된다고 하였고, 아울러 초산으로 처리한 것이 젓산으로 처리한 것에 비하여 중성 부근의 유지가 용이하다고 보고하였다. Ko and No (2002a)는 타조알 껍질분말, 소성분말 및 젓산칼슘의 용해도는 각각 0.58%, 3.43% 및 97.7%라고 하였으며, 소성처리 및 젓산처리 과정을 통해 각각 약 6배 및 168배가량의 용해도가 개선되었으며, 유기산 처리가 칼슘제로서의 체내 이용률을 높일 수 있다고(Cho et al., 2001b) 하였다. Kang et al. (2005)은 꼬막 폐각 소성분말로 부터 제조한 젓산 처리 농도별 젓산칼슘의 수율은 373-393%라고 하였으며, 젓산농도와 꼬막 폐각 소성분말의 비율에 따른 큰 차이를 나타내지는 않는다고 보고하였다.

이상의 실험 결과와 관련한 연구들에서 폐기되는 칼슘자원(난각, 폐각, 뼈)으로부터 칼슘원으로 이용하기 위해서는 유기물 제거를 위해 소성처리 과정이 필수적이며, 가용성 개선을 위해서는 적정 유기산 처리 조건의 최적화가 필요할 것으로 판단되었다.

개조개 CP와 젓산처리 농도의 최적화를 위해, pH, 용해도 및 수율의 결과(Table 2)에 대하여 MINITAB 통계 프로그램으로 RSREG (response surface analysis by least-squares

Table 2. Central composite design and responses of dependent variables for preparation calcium lactate from butter clam *Saxidomus purpuratus* calcined powder to independent variables

| Code | Coded levels of variable | | Response | | | Coefficients Assessed by |
|------|--------------------------------|------------------------|-------------------|-------------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| | X ₁ Lactic acid (M) | X ₂ CaO (M) | Y ₁ pH | Y ₂ Solubility (%) | Y ₃ Yield (%) | |
| 1 | -1 (1.00) | -1 (0.50) | 4.34 | 97.68 | 451.96 | Factorial design (4 points) |
| 2 | 1 (1.67) | -1 (0.50) | 3.32 | 93.75 | 663.04 | |
| 3 | -1 (1.00) | 1 (1.50) | 10.89 | 23.10 | 170.54 | |
| 4 | 1 (1.67) | 1 (1.50) | 10.68 | 92.08 | 237.20 | |
| 5 | -1.414 (0.86) | 0 (1.00) | 11.27 | 35.71 | 200.36 | Star points (4 points) |
| 6 | 1.414 (1.80) | 0 (1.00) | 5.66 | 95.00 | 413.75 | |
| 7 | 0 (1.33) | -1.414 (0.29) | 3.21 | 93.13 | 845.31 | |
| 8 | 0 (1.33) | 1.414 (1.70) | 10.88 | 32.21 | 192.84 | |
| 9 | 0 (1.33) | 0 (1.00) | 10.73 | 78.75 | 314.73 | Central points (3 points) |
| 10 | 0 (1.33) | 0 (1.00) | 11.07 | 71.07 | 318.39 | |
| 11 | 0 (1.33) | 0 (1.00) | 11.21 | 79.46 | 314.02 | |

regression)를 실시한 후, 1차항(linear; X₁, X₂), 이차항(quadratic; X₁², X₂²) 및 교차항(cross-product; X₁X₂)과 같은 회귀방정식의 계수들과 이들의 유의성은 5% 수준에서 유의성이 인정되어(데이터 미제시), 이를 정리하여 작성한 pH (Y₁), 용해도(Y₂), 및 수율(Y₃)에 대한 반응모형 방정식은 각각 11.0033-1.1455X₁+3.0946X₂-1.3810X₁²-2.0910X₂², 76.427+18.612X₁-20.300X₂+18.228X₁X₂ 및 315.71+72.44X₁-203.75X₂+93.59X₂²이었다.

3개의 종속변수(Yn)에 대한 반응 모형방정식의 결정 계수(R²)는 pH (Y₁), 용해도(Y₂), 수율(Y₃)의 경우 모두 88.1% 이상으로 적합한 모델이라고 판단되었으며, P-value 또한 0.004 이하로 유의성이 인정되었다(데이터 미제시). 반응 모형 방정식을 토대로 구한 독립변수(젖산 및 CP의 농도)와 이에 따른 개별 종속변수(각각 pH, 용해도, 수율)의 예측 값은 Table 3에 나타내었다.

Table 3. Optimal conditions of multiple responses for preparation of calcium lactate from butter clam *Saxidomus purpuratus* calcined powder using MINITAB program

| Dependent variables | Independent Variables | Critical value | | Predicted value |
|----------------------------------|-----------------------|----------------|---------|--|
| | | Coded | Uncoded | |
| Y ₁ pH | X ₁ | 0.9329 | 1.64 | 7.00 |
| | X ₂ | -0.4170 | 0.79 | |
| Y ₂ Solubility (%) | X ₁ | 0.3387 | 1.45 | 95.00 |
| | X ₂ | -1.4142 | 0.29 | |
| Y ₃ Yield (%) | X ₁ | 0.0000 | 1.33 | 400.00 |
| | X ₂ | -0.3556 | 0.82 | |
| Multiple response optimization | X ₁ | 1.2502 | 1.75 | Y ₁ : 7.00 Y ₂ : 95.65 Y ₃ : 416.71 |
| | X ₂ | -0.1149 | 0.94 | |

pH (Y₁)에 대한 젖산농도(X₁)와 CP농도(X₂)의 부호화된 값(code value)의 경우, 각각 0.9329, -0.4170이었고, 이를 실제 값(uncoded value)으로 환산하면, 각각 1.64 M, 0.79 M이었다. 이 조건에서 제조한 BCCL의 pH는 7.00으로 예측되었다. 용해도(solubility, Y₂)에 대한 젖산농도(X₁) 및 CP농도(X₂)의 실제 값(uncoded value)은 1.45 M 및 0.29 M이었으며, 이 조건에서의 용해도는 95.00%로 예측되었다. 또한, 수율(yield, Y₃)의 경우, 실제 값(uncoded value)은 각각 1.33 M 및 0.82 M이었고, 이 조건에서의 예측 수율은 400.00%이었다. 한편, BCCL의 pH, 용해도 및 수율을 모두 충족할 수 있는 최적 젖산농도(X₁)와 CP농도(X₂)의 부호화된 값(code value)은 각각 1.2502 및 -0.1149으로, 이를 실제 값(uncoded value)으로 환산하면 각각 1.75 M과 0.94 M이었다. 이들 최적 조건을 적용하여 BCCL을 제조한 다음 pH, 용해도 및 수율을 측정된 결과(Table 4)는 각각 pH 7.23, 97.42%, 423.22%로 이들의 예측치인 pH 7.00, 용해도 95.65%, 수율 416.71%에 비하여 3.3% 이내의 오차범위를 나타내었다.

Table 4. Experimental and predicted results of verification in preparation of calcium lactate from butter clam *Saxidomus purpuratus* calcined powder under optimized conditions

| Dependent variables | Predicted values | Experimental values |
|-------------------------------|------------------|---------------------|
| Y ₁ pH | 7.00 | 7.23±0.32 |
| Y ₂ Solubility (%) | 95.65 | 97.42±1.42 |
| Y ₃ Yield (%) | 416.71 | 423.22±0.23 |

Experimental values are mean of three determinations.

색차(Hunter's color value) 및 White index

시제 BCCLs의 색차는 Table 5에 나타내었으며, 먼저 젖산

Table 5. Hunter's color values and white index of calcium lactate from butter clam *Saxidomus purpuratus* calcined powder

| Code | L | a | b | white index |
|-------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------|
| ¹ BCSP | 81.26 ± 0.01 | 1.38 ± 0.01 | 3.15 ± 0.01 | 80.95 |
| ¹ BCCP | 87.33 ± 0.03 | 0.32 ± 0.01 | 5.39 ± 0.01 | 86.23 |
| 1 | 87.52 ± 0.01 ⁱ | 0.21 ± 0.01 ^d | 4.44 ± 0.01 ^c | 86.75 |
| 2 | 87.80 ± 0.02 ⁱ | 1.38 ± 0.00 ^a | 3.28 ± 0.01 ^d | 87.29 |
| 3 | 88.59 ± 0.04 ^g | 1.05 ± 0.01 ^b | -0.06 ± 0.01 ^j | 88.54 |
| 4 | 90.20 ± 0.02 ^d | 0.22 ± 0.01 ^d | 1.29 ± 0.01 ^g | 90.11 |
| 5 | 88.65 ± 0.02 ^f | -0.36 ± 0.01 ^h | 2.48 ± 0.01 ^e | 88.38 |
| 6 | 91.34 ± 0.02 ^a | -1.62 ± 0.02 ⁱ | 9.11 ± 0.01 ^a | 87.32 |
| 7 | 88.16 ± 0.02 ^h | 0.14 ± 0.01 ^e | 6.06 ± 0.00 ^b | 86.70 |
| 8 | 90.50 ± 0.02 ^c | -0.10 ± 0.01 ^g | 0.88 ± 0.01 ^h | 90.46 |
| 9 | 91.08 ± 0.02 ^b | -0.03 ± 0.01 ^f | 2.00 ± 0.01 ^f | 90.86 |
| 10 | 89.04 ± 0.04 ^e | 1.00 ± 0.01 ^c | 0.30 ± 0.00 ⁱ | 88.99 |

¹Date were quoted from our previous paper (Kim et al., 2015).

Values represent the mean±SD of n=3. Means with different letters within the same column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range tests.

칼슘 제조의 주재료인 개조개 패각분말(BCSP, butter clam shell powder)과 개조개 소성분말(BCCP, butter clam calcined powder)의 명도(81.26 및 87.33), 적색도(1.38 및 0.32), 갈색도(3.15 및 5.39) 그리고 white index는 80.95 및 86.23 이었다(Kim et al., 2015). 시제 BCCLs의 명도를 나타내는 L값은 87.52-91.34범위로, BCSP와 BCCP에 비해 개선된 것으로 확인되었다. 적색도는 시제 BCCLs의 값은 BCSP보다 낮은 -1.62-1.38 범위였다. 갈색도(b, brownness; -b, blueness)의 경우, Code 6 및 7의 갈색도는 각각 9.11, 6.06로서 BCCP보다 높은 값을 나타낸 반면, 이를 제외한 나머지 8개의 시제 BCCLs의 갈색도는 -0.06-4.44의 범위였다. 이상의 색차 값으로부터 산출한 시제 BCCLs의 백색도(white index)는 86.70-90.86 범위로서 소성처리 및 유기산 처리과정을 통해 백색도는 개선되었다. 한편, 가다랑어 뼈(Kim et al., 2000a), 갑오징어 갑(Cho et al., 2001b), 타조알 껍질(Ko and No, 2002b)의 소성처리를 통해 백색도가 개선되었다고 하였으며, 갑오징어 갑 초산칼슘(Kim et al., 2003), 개조개 초산칼슘(Lee et al., 2015), 바지락 초산칼슘(Park et al., 2015), 꼬막 젓산칼슘 및 구연산칼슘(Kang et al., 2005)의 경우도 유기산처리를 통한 칼슘제의 제조과정에서 백색도가 개선됨을 확인할 수 있었다.

완충능

시판 산화칼슘(CaO)과 중심합성계획에 따라 제조한 시제 BCCLs의 완충능은 Fig. 1에 나타내었다. 시제 BCCLs 용액(5%, w/v)의 pH는 젓산농도/CP 첨가비율에 따라 pH 3.26-12.20 범위였으며, 이는 젓산농도에 비하여 CP의 첨가 비율이 상대적으로 높을수록 pH는 높아지는 경향이였다. 한편 시판 산화칼슘의 경우, pH는 12.75였으며, 0.8 mL의 1 N HCl 첨가

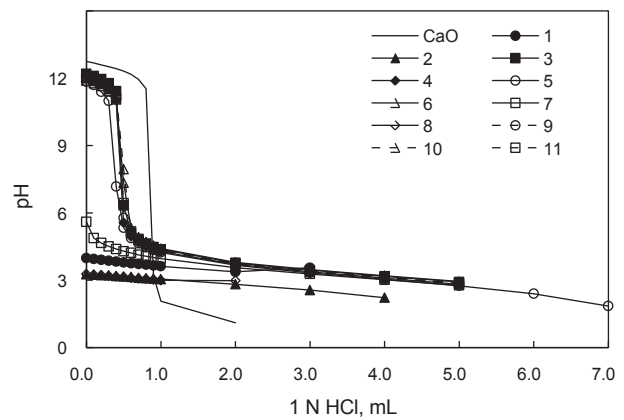


Fig. 1. Buffering capacity of calcium lactate prepared from butter clam *Saxidomus purpuratus* calcined powder.

시 11.54로 강한 완충능을 알칼리 영역에서 나타내었다. 시제 BCCLs에 대하여 1 N HCl을 0.1 mL 단위로 첨가하면서 pH의 변화를 검토한 완충능은 초기 0.1 mL의 첨가에서 pH 3.24-12.10 범위를 나타내었으며, 1.0 mL의 첨가에서는 pH 3.00-4.41 범위로 완만한 pH 감소를 나타내었으며, 약산성 영역에서 완충능을 나타내었다. 아울러 2 mL의 첨가에서도 pH 2.82-3.80 범위를 나타내어 완충능이 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 시제 BCCLs 칼슘 강화소재로서 다양하게 응용 가능할 것으로 판단되었다.

무기질 분석

앞서의 연구결과(Kim et al., 2015)에서 BCCP의 칼슘함량은 51,140 mg/100 g이었으며, 이를 사용하여 중심합성계획

에 따라 제조한 시제 BCCLs의 무기질 함량은 Table 6과 같다. 먼저 칼슘(Ca)함량의 경우, Code 2 (6,485 mg/100 g)와 7 (6,200 mg/100 g)을 제외하면, 9개의 시제 BCCLs의 칼슘함량은 11,201-16,659 mg/100 g의 범위였다. 칼륨(K)의 함량은 11개의 시제 BCCLs는 30.78-81.98 mg/100 g으로 젖산농도와 BCCP첨가량 조건에 따라 칼륨 함량에 차이를 나타내었다. 이는 젖산농도에 비해 상대적으로 BCCP의 첨가량이 많은 경우, 높은 함량을 보여 이에 따른 차이라 추정되었다. 시제 BCCLs의 마그네슘(Mg)의 함량은 0.00-10.98 mg/100 g이었으며, 나트륨(Na)의 경우, 152.74-444.03 mg/100 g을 나타내었다.

가다랑어 뼈 소성분말(Kim et al., 2000b)의 칼슘은 36,300 mg/100 g, 갑오징어 갑 소성분말(Cho et al., 2001b)의 칼슘이 약 70,518 mg/100 g, 타조알 껍질 소성분말(Ko and No, 2002b)의 경우는 49,980 mg/100 g, 그리고 바지락 소성분말(Kim et al., 2015)의 칼슘 함량은 44,890 mg/100 g으로 시료의 종류에 따라 칼슘함량에 차이가 있었다. 한편, 다슬기 소성 분말로부터 식초를 사용하여 제조한 초산칼슘(Lee et al., 2004)의 칼슘함량은 사용한 식초의 종류 따라 16,310-27,150 mg/100 g의 범위였으며, 개조개 초산칼슘(Lee et al., 2015)의 경우, 20,671-22,769 mg/100 g 범위, Kim et al. (2003)은 갑오징어 갑 소성분말로부터 제조한 초산 및 젖산칼슘의 칼슘함량은 각각 21,320-25,700 mg/100 g 및 12,060-12,650 mg/100 g 범위, 타조알 껍질 젖산칼슘(Ko and No, 2002a)의 칼슘함량은 39,700 mg/100 g이라고 보고하였다. 이상의 결과와 연구보고에서 가용성 개선을 위하여 소성 처리하는 경우 칼슘함량이 증가하는 것은 고온가열 처리에 의해 이물질 및 유기물의 제거 이외에도 주성분인 탄산칼슘으로부터 이산화탄소가 휘발하여 산화칼슘이 되어 칼슘이 차지하는 비율이 상대적으로 증가하기 때문이다. 또한, 이의 유기산 처리를 통해 유기산과 산화칼슘인 소성분말간의 물 농도 비에 따른 화학반응으로 일정 칼슘함량 수준의 유기산 칼슘이

생성되는 것이 확인되었다.

칼슘 용해도

중심합성계획에 따라 제조한 11개의 시제 BCCLs와 시판 CaO의 20% (w/w) 용액에 대한 칼슘 용해도는 Fig. 2와 같다. 시판 CaO의 칼슘 용해도는 4.5%이었으며, 시제 BCCLs의 경우에는 93.6-98.5% 범위의 칼슘 용해도를 나타내었다. 본 실험에서는 100 mL의 탈이온수에 시판 CaO는 0.9 g, 시제 BCCLs는 18.7-19.7 g이 용해되었다. 따라서, 불용성의 산화칼슘에 비하여, 유기산 처리과정을 통한 젖산칼슘의 용해도는 약 21.8배 개선되었다. 한편, 산화칼슘(M.W. 56.08)과 젖산칼슘(M.W. 308.29)의 분자량을 고려한 순 칼슘용해도(net calcium solubility, %)는 시판 CaO가 0.63%, 그리고 시제 BCCLs는 2.43-2.56%로 환산됨으로써, 순 칼슘용해도는 약 3.8배 개선된 것으로 나타났다. 앞서의 연구(Lee et al., 2015)에서 개조개 20%

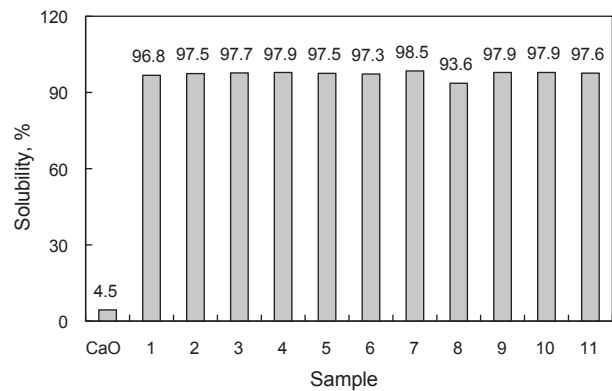


Fig. 2. Comparison of calcium solubility of calcium lactate from butter clam *Saxidomus purpuratus* calcined powder.

Table 6. Minerals content (mg/100 g sample) of calcium lactate from butter clam *Saxidomus purpuratus* calcined powder

| Code | Ca | K | Mg | Na |
|------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| 1 | 15191.35 ± 114 ^b | 32.55 ± 1.89 ⁱ | 10.98 ± 0.10 ^a | 190.56 ± 1.41 ^h |
| 2 | 6485.15 ± 106 ^h | 50.10 ± 1.80 ^f | 7.40 ± 0.11 ^c | 189.06 ± 1.91 ^h |
| 3 | 16659.20 ± 203 ^a | 40.90 ± 0.96 ^g | 1.74 ± 0.06 ^e | 444.03 ± 11.92 ^a |
| 4 | 14756.94 ± 14 ^c | 30.78 ± 0.47 ⁱ | 0.87 ± 0.00 ^g | 176.61 ± 1.75 ^j |
| 5 | 12917.50 ± 20 ^e | 81.98 ± 1.37 ^a | 0.28 ± 0.02 ^j | 358.75 ± 2.48 ^b |
| 6 | 14562.50 ± 27 ^c | 53.98 ± 1.13 ^d | 10.55 ± 0.07 ^b | 211.38 ± 1.37 ^f |
| 7 | 6200.10 ± 45 ⁱ | 50.62 ± 0.87 ^{df} | 6.21 ± 0.04 ^d | 152.74 ± 1.47 ^j |
| 8 | 12105.30 ± 10 ^f | 64.20 ± 0.60 ^b | 0.00 ± 0.01 ^k | 325.07 ± 2.58 ^c |
| 9 | 13465.57 ± 30 ^d | 60.48 ± 0.21 ^c | 0.45 ± 0.01 ⁱ | 242.02 ± 2.62 ^e |
| 10 | 16590.00 ± 324 ^a | 52.98 ± 1.70 ^{de} | 1.05 ± 0.07 ^f | 290.25 ± 2.38 ^d |
| 11 | 11201.49 ± 258 ^g | 38.06 ± 2.57 ^h | 0.60 ± 0.05 ^h | 202.04 ± 3.16 ^g |

Values represent the mean±SD of n=3. Means with different letters within the same column are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range tests.

(w/w) 초산칼슘 용액의 칼슘용해도는 97.0-99.6%이었으며, 분자량을 고려한 순 칼슘 용해도는 4.27-4.38%라고 하였다. 본 실험의 개조개 젖산칼슘은 개조개 초산칼슘에 비하여 단순 용해도는 비슷한 수준이었으나, 순 칼슘용해도에서는 55.5-60.0% 수준으로 초산칼슘에 비해 상대적으로 칼슘의 가용성이 낮은 것으로 나타났다. 이는 갑오징어갑 소성분말로 제조한 초산 및 젖산칼슘의 순 칼슘 용해도가 각각 5.27-5.30%와 1.35-1.38% (w/v)를 나타내어 초산칼슘의 용해도가 젖산칼슘 용해도 보다 높다고 한 보고와 유사하였다(Kim et al., 2003). 이상의 결과와 연구보고에서 소성분말로부터 유기산처리는 획기적으로 칼슘의 가용성을 높였으며, 사용 유기산의 분자량이 작을수록 순 칼슘 용해도가 높다는 것이 확인 되었다.

FT-IR 및 SEM 분석

최적조건에서 제조한 BCCL의 FT-IR을 이용한 결정구조 분석(Fig. 3)에서, 시제 BCCL의 spectrum은 C-X 흡수밴드인 547 cm⁻¹, C-H 흡수밴드인 672, 766, 859 및 2984 cm⁻¹, C-O 흡수밴드인 1031, 1281 cm⁻¹, C=C 흡수밴드인 1,438 cm⁻¹, C=C/C-H 흡수밴드인 1484 cm⁻¹, C=O 흡수밴드인 1,578 cm⁻¹, O-H 흡수밴드인 3,375 cm⁻¹가 검출되었으며, 젖산칼슘 5 수화물(calcium lactate pentahydrate)로 동정되었다. 한편, 앞서의 연구(Kim et al., 2015)에서 BCCP의 spectrum은 C-H 흡

수밴드인 703, 875 cm⁻¹, C-O 흡수밴드인 1,141 cm⁻¹, C=C/C-H 흡수밴드인 1,484 cm⁻¹, C=O bond 흡수밴드인 1,781 cm⁻¹ 및 O-H bond 흡수밴드인 3,614 cm⁻¹가 검출되어, portlandite (수산화칼슘)로 동정되었다. Park et al. (2008)은 탄산칼슘의 polymorphs로서 calcite와 aragonite를 이용한 젖산칼슘의 FT-IR 스펙트럼 특징은 3,000-3,500 cm⁻¹ 범위에서 강한 O-H 결합과 1,500-1,750 cm⁻¹ 범위에서의 카르보닐 결합이라고 하였으며, Lee and Kim (2003)의 다슬기 분말 젖산칼슘의 FT-IR 분석에서도 젖산칼슘의 전형적인 특징인 O-H 결합, C=O 결합, C-H 결합이 각각 3,000-3,500 cm⁻¹, 1,500-1,750 cm⁻¹, 1,300-1,400 cm⁻¹ 파장범위에서 나타난다고 하여, 본 연구결과와 일치하는 경향이였다. 주사 전자 현미경(FESEM)에 의한 개조개 CP의 미세구조(Kim et al., 2015)는 다공성이 없는 1-10 μm의 비정형의 결정 구조로 확인되었으며, 개조개 소성분말로 제조한 BCCL의 미세구조(Fig. 3)에서도 마찬가지로 비정형 결정(irregular crystal)으로 관찰되었다. 한편, 침강성 탄산칼슘으로 제조한 젖산칼슘의 SEM 관찰을 통해 판상형의 결정이라고 하여 본 실험결과와는 형태상에서 차이를 나타내었다(Park et al., 2008). 이러한 차이는 젖산칼슘의 제조에 있어, 칼슘원의 차이(산화칼슘과 침강성 탄산칼슘)에 기인하는 것으로 판단되었다. 패류의 대표적인 가공부산물인 패각은 칼슘소재뿐만 아니라, 칼슘 용해도를 높인 유기산 칼슘의 제조를 통한 칼슘강화 식품

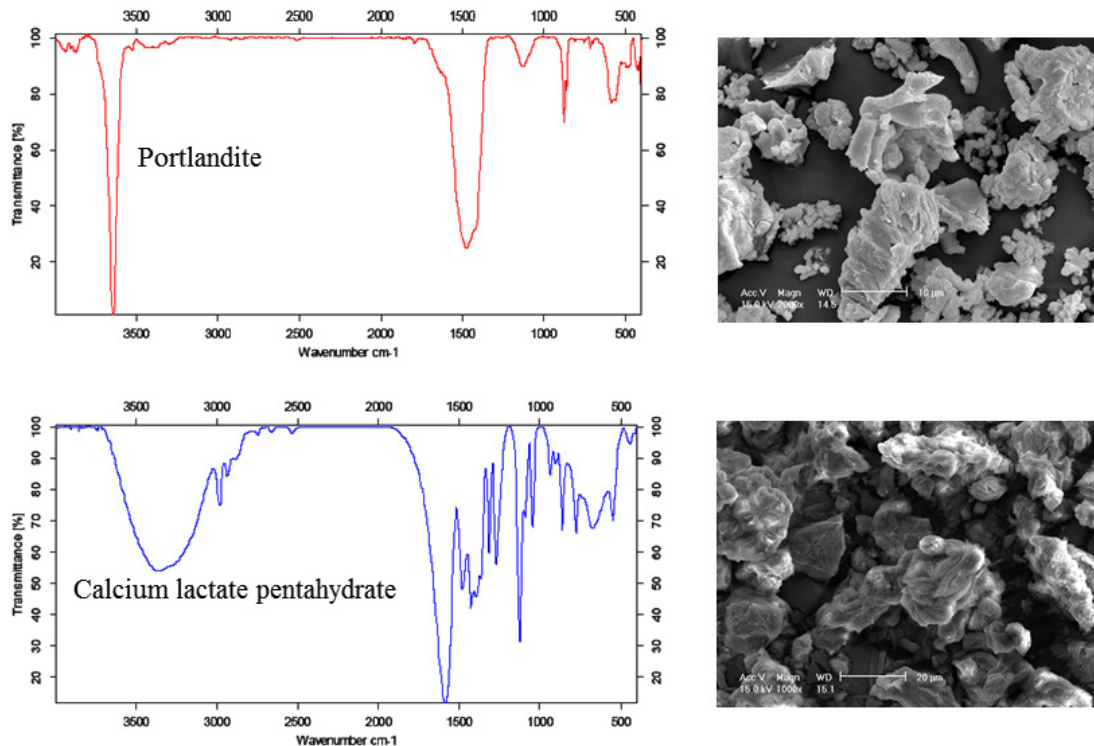


Fig. 3. FT-IR Spectra (Left) and Scanning electron micrograph (×2,000) (Right) of calcined powder (BCCP, Up) and calcium lactate (BCCL, Bottom).

소재로의 이용 가능성이 높다고 판단되었다.

References

- Barros MC, Bello PM, Bao M and Torrado JJ. 2009. From waste to commodity: transforming shells into high purity calcium carbonate. *J Cleaner Prod* 17, 400-407. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2008.08.013>.
- Cho ML, Heu MS and Kim JS. 2001a. Food component characteristics of cuttle bone as a mineral source. *J Korean Fish Soc* 34, 478-482.
- Cho ML, Heu MS and Kim JS. 2001b. Study on pretreatment methods for calcium extraction from cuttle bone. *J Korean Fish Soc* 34, 483-487.
- Guthrie HA. 1971. *Introductory Nutrition*, 2nd edn. Mosby, Saint Louis, U.S.A., 109-111.
- Kang MS, Soh GS and Shin DH. 2005. Purity improvement of calcium lactate and calcium citrate prepared with shell of *Anadarc tegillarca granosa*. *J Fd Hyg Safety* 20, 128-133.
- Kim HS, Lee MY and Lee SC. 2000b. Characteristics of sepia os as a calcium source. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29, 743-746.
- Kim JS, Cho ML, Heu MS, Cho TJ, An HJ and Cha YJ. 2003. Solubility improvement of cuttle bone powder using organic acids. *J Korean Fish Soc* 36, 11-17. <http://dx.doi.org/10.5657/kfas.2003.36.1.011>.
- Kim JS, Cho ML and Heu MS. 2000a. Preparation of calcium powder from cooking skipjack tuna bone and its characteristics. *J Korean Fish Soc* 33, 158-163. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2007.36.6.766>.
- Kim JS, Jung NY, Jang SJ, Lee HJ, Park SH, Kim MJ and Heu MS. 2015. Characteristics of the shells and calcined powders from the butter clam *Saxidomus purpuratus* and littleneck clam *Ruditapes philippinarum* as a natural calcium resource. *Korean J Fish Aquat Sci* 48, 168-177. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2015.0168>.
- Ko MK and No HK. 2002a. Preparation of calcium lactate from ostrich egg shell. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31, 241-245. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2002.31.2.241>.
- Ko MK and No HK. 2002b. Studies on characteristics of ostrich egg shell and optimal ashing conditions for preparation of calcium lactate. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31, 236-240. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2002.31.2.236>.
- Kwon YT, Lee CW and Yun JH. 2009. Development of vermicast from sludge and powdered oyster shell. *J Clean Prod* 17, 708-711. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2008.11.014>.
- Lee GK, Kim YM and Min YC. 1988. The production of calcium lactate by *Lactobacillus sporogenes*. II. Production of calcium lactate. *Korean J Food Nutr* 1, 102-107.
- Lee HJ, Jung NY, Park SH, Song SM, Kang SI, Kim JS and Heu MS. 2015. Characteristics and preparation of calcium acetate from butter clam (*Saxidomus purpuratus*) shell powder by response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44, 888-895. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2015.44.6.888>.
- Lee MY, Lee YK and Kim SD. 2004. Quality characteristics of calcium acetate prepared with vinegars and ash of black snail. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33, 593-597.
- Lee YK and KIM SD. 2003. Preparation and characteristics of calcium lactate from black snail. *Nutraceuticals Food* 8, 166-172.
- Maekawa A, Matsushima Y, Onodera H, Shibutani M, Yoshida J, Kodama Y, Kurokawa Y and Hayashi Y. 1991. Long-term toxicity/carcinogenicity study of calcium lactate in F344 rats. *Food Chem Toxcol* 29, 589-594.
- Ministry of Ocean and Fisheries. 2014. Yearbook of marine resource. [Internet] Retrieved from <http://www.mof.go.kr/article/view.do?articleKey=5197&boardKey=32&menuKey=396¤tPageNo=1> on Jun 2015.
- Mizunuma H, Okano H, Soda MY, Tokizawa S, Kagami I, Miyamoto S, Honjo SI and Ibuki Y. 1996. Calcium supplements increase bone mineral density in women with low serum calcium levels during long-term estrogen therapy. *Endocr J* 43, 411-415. <http://dx.doi.org/10.1507/endocrj.43.411>.
- Oliveira DA, Benelli P and Amante ER. 2013. A literature review on adding value to solid residues: egg shells. *J Clean Prod* 46, 42-47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.09.045>.
- Park JW, Cho KH, Park JK, Ahn JW and Han C. 2008. A study on the synthesis of calcium lactate using precipitated calcium carbonate. *J Korean Ind Eng Chem* 19, 173-178.
- Park SH, Jang SJ, Lee HJ, Lee GW, Lee JK, Kim YJ, Kim JS and Heu MS. 2015. Optimization of calcium acetate preparation from littleneck clam (*Ruditapes philippinarum*) shell powder and its properties. *Korean J Food Sci Technol* 47, 321-327. <http://dx.doi.org/10.9721/kjfst.2015.47.3.321>.
- Pirkul T, Temiz A and Erdem YK. 1997. Fortification of yoghurt with calcium salts and its effect on starter microorganisms and yoghurt quality. *Inter Dairy J* 7, 547-552. [http://dx.doi.org/10.1016/s0958-6946\(97\)00030-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0958-6946(97)00030-7).
- Prabharaksa C, Olek AC and Steinkraus KH. 1989. Enrichment of soybean milk with calcium. *Acta Biotechnol* 9, 9-16. <http://dx.doi.org/10.1002/abio.370090103>.
- Ranhotra GS, Gelroth JA, Leinen SD and Schneller FE. 1997. Bioavailability of calcium in breads fortified with different calcium sources. *Cereal Chem* 74, 361-363. <http://dx.doi.org/10.1094/cchem.1997.74.4.361>.
- Reshef R, Rozen P, Fireman Z, Fine N, Barzilai M, Shasha SM and Shkolnik T. 1990. Effect of a calcium-enriched diet on the colonic epithelial hyperproliferation induced by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrodo guanidine in rats on a low calcium and fat diet. *Cancer Res* 50, 1764-1767.
- Seco N, Fernandez-Sanjurjo MJ, Nunez-Delgado A and Alvarez E. 2014. Spreading of mixtures including wastes from the mussel shell treatment industry on an acid soil: effects on the dissolved aluminum species and on pasture produc-

- tion. *J Clean Prod* 70, 154-163. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.02.038>.
- Sharma M, Beuchat LR, Doyle MP and Chen J. 2001. Survival of *Salmonellae* in pasteurized, refrigerated calcium-fortified orange juice. *J Food Prot* 64, 1299-1304.
- Shelef LA. 1994. Antimicrobial effects of lactates: a review. *J Food Prot* 57, 445-415.
- Shrestha BM, Mundorff SA and Bibby BG. 1982. Preliminary studies on calcium lactate as an anticaries food additive. *Caries Res* 16, 12-17. <http://dx.doi.org/10.1159/000260570>.
- Wang L, Sondi I and Matijevic E. 1999. Preparation of uniform needle-like aragonite particles by homogeneous precipitation. *J. Colloid Interface Sci* 218, 545-553. <http://dx.doi.org/10.1006/jcis.1999.6463>.
- Wargovich M, Allnutt D, Palmer C, Anaya P and Stephens LC. 1990. Inhibition of the promotional phase of azoxymethane-induced colon carcinogenesis in the F344 rat by calcium lactate: Effect of simulating two human nutrient density levels. *Cancer Lett* 53, 17-25. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-3835\(90\)90005-i](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3835(90)90005-i).
- Xu K and Xu P. 2014. Efficient calcium lactate production by fermentation coupled with crystallization-based in situ product removal. *Bioresour Technol* 163, 33-39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.002>.