

## 바지락(*Ruditapes philippinarum*) 패각 소성분말로 제조한 젖산칼슘의 특성

이균우 · 윤인성 · 이현지 · 이정석<sup>1</sup> · 김진수<sup>1</sup> · 허민수\*

경상대학교 식품영양학과/해양산업연구소, <sup>1</sup>경상대학교 해양식품공학과/해양산업연구소

## Properties of Calcium Lactate Prepared from Calcined Littleneck Clam *Ruditapes philippinarum* Shell Powder

Gyoon-Woo Lee, In Seong Yoon, Hyun Ji Lee, Jung Suck Lee<sup>1</sup>, Jin-Soo Kim<sup>1</sup> and  
Min Soo Heu\*

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

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

Clamshells, which comprise more than 50% of a clam's weight, are a major byproduct of the clam industry and are mainly composed of insoluble calcium carbonate. This study investigates the use of clamshells as a natural calcium resource. Highly soluble powdered calcium lactate (LCCL) was prepared from the calcined powdered shells of little-neck clams (LCCP) using response surface methodology (RSM) to predict optimum conditions. These conditions, as derived from pH, solubility, and yield of 11 LCCLs manufactured according to the RSM model, were 1.80 M lactic acid and 1.13 M LCCP. The actual values of pH (6.98), solubility (93.99%), and yield (351.23%) under the optimized conditions were as predicted. The derived LCCL exhibited a strong buffering capacity in the range of pH 2.78-3.90 when combined with less than 2 mL of 1 N HCl. The ranges of calcium content and solubility of LCCL were 7.7-17.5 g/100 g and 96.6-98.9%, respectively. Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) of the LCCL identified it as calcium lactate pentahydrate, and field emission scanning electron microscopy (FESEM) revealed an irregular and rod-like microstructure. These results confirm the potential use of clamshells, converted to highly soluble organic acid calcium, as an additive to enhance calcium content in food ingredients.

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

### 서 론

바지락(Littleneck clam, *Ruditapes philippinarum*)은 백합목(Veneroida), 백합과(Veneridae)에 속하며, 그 분포는 한국과 일본, 중국뿐만 아니라 스페인, 미국 북서부 연안에서도 다량 서식하고 있는 것으로 알려져 있다(Anderson, 1982). 우리나라에서 굴, 전복 다음으로 생산 및 소비가 많은 패류로서, 바지락 생산량은 1990년 74,581톤을 정점으로 점차 감소되어, 2013년에는 18,145톤으로 급격히 감소 하였으나, 이런 추세 속에 바지락 수입량은 2000년 2,092톤을 시작으로 2014년 35,621톤을

수입하는 등 수입량이 매년 증가하고 있다(Ministry of Ocean and Fisheries, 2015).

수산물 소비 증가에 따라 가공 및 조리 중에 다양한 가공부산물 발생하고 있으며, 특히 패류의 경우, 2014년에 419,000톤 정도가 생산 및 수입되어, 육질을 채취하고 버려지는 패각은 생산량의 50%정도인 연간 209,500톤 정도 발생하는 것으로 추정된다(Ministry of Ocean and Fisheries, 2015). 지금까지 패각은 토양개량, 비료첨가제, 사료첨가제(Seco et al., 2014; Oliveira et al., 2013), 폐수정화, 수질정화(Kwon et al., 2009) 등 한정된 분야에서 국한적으로 이용되었다.

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2016.0436>



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(4) 436-444, August 2016

Received 28 April 2016; Accepted 20 June 2016

\*Corresponding author: Tel: +82. 55. 772. 1440 Fax: +82. 55. 772. 1430

E-mail address: heu1837@dreamwiz.com

한편, 한국인의 평균 칼슘 섭취량은 76.3% (05년)에서 68.7% (14년)로 10년간 약 7% 감소하였으며, 연령과 상관없이 3세 이상 모든 군에서 평균필요량 미만 섭취자의 비율이 60%이상이었다(Korea Health Statistics, 2014). 칼슘 섭취는 식품을 통하는 것이 가장 바람직하나(Miller et al., 2001), 식품을 통해 충분한 섭취가 어려울 경우에는 칼슘 보충제 및 칼슘 강화제가 이용될 수 있다. 최근 비만, 골다공증, 고혈압, 고지혈증 등 만성질환에 대한 칼슘의 역할이 강조되면서 무기질보충제 또는 건강기능식품을 위한 다양한 유형의 칼슘급원의 시장규모가 증가하고 있다(Chang, 2003).

현재 우리나라의 식품첨가물공전에서 허용되고 있는 칼슘강화용 화학합성품으로 구연산 칼슘, L-글리세로인산칼슘, 글루콘산 칼슘, 제일(이, 삼) 인산칼슘, 젖산칼슘 등이 있다. 특히 젖산칼슘은 무독성의 수용성(Maekawa et al., 1991)으로 제빵(Ranhotra et al., 1997), 두유(Prabharaksa et al., 1989), 오렌지 주스(Sharma et al., 2001), 요구르트(Pirkul et al., 1997) 및 칼슘 보충제(Lee et al., 1988)로써 식·의약 산업 및 다양한 농작물과 절임식품들에도 조직 강화제(Wang et al., 1999)로서 농업분야에도 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.

패각의 주성분으로서 불용성의 탄산칼슘(CaCO<sub>3</sub>) 및 이의 소성분말인 산화칼슘(CaO)은 유기산과 반응하여 산성에서 그 용해도가 높아질 뿐만 아니라, 흡수율 또한 개선이 된다(Gurthrie, 1971; Park et al., 2015; Yoon et al., 2016). 유기산 중에서 젖산은 식품, 섬유, 화장품 및 제약 산업에 적용 가능하여(Xu and Xu, 2014), 가용성과 흡수율이 개선된 유기산 칼슘을 제조하는데 이용이 가능하다. 이를 이용한 젖산칼슘의 제조는 일정 농도의 젖산용액에 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 패각 및 소성분말의 특성, 그리고 반응표면 분석법을 통한 최적 초산칼슘(Lee et al., 2015; Park et al., 2015)의 제조 및 특성에 대하여 보고한 바 있다.

본 연구에서는 바지락 패각을 부가가치가 높은 칼슘자원으로 활용하고자, 산업적으로 유용하게 사용 되는 유기산인 젖산을 이용하여 가용성을 높인 젖산칼슘을 효과적으로 제조할 수 있는 최적 조건을 반응표면분석법을 이용하여 검토하고, 이의 특성에 대해 살펴보았다.

### 재료 및 방법

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

바지락(littleneck clam, LC)SP 및 CP는 Kim et al. (2015)의

방법에 따라 제조하였다. 먼저 바지락 패각에 부착된 이물질 제거를 위한 수세 및 건조(45℃, 26시간)과정을 거친 다음, 이를 분쇄(HMF-1000A, Hanil Electric, Seoul, Korea) 및 체가름(256 mesh)을 통하여 패각분말(SP)을 제조하였다. CP는 SP(패각분말)를 800℃에서 8시간 동안 회화로(FH-08, Wisetherm digital muffle furnace, Daihan Scientific Co. Ltd, Seoul, Korea)에서 소성 처리하여 제조하였다.

### 중심합성계획에 따른 가용성 개선 젖산칼슘 제조

바지락 CP로부터 가용성 젖산칼슘(littleneck clam calcium lactate, LCCL)의 제조는 Yoon et al. (2016)의 개조개 젖산칼슘 제조를 위해 설정한 조건을 적용하여 반응표면분석법(RSM, response surface methodology)을 통해 최적의 제조조건을 구명하고자 하였다. 즉, 중심합성계획(central composite design)에 따른 독립변수(X<sub>1</sub>)는 젖산의 농도(X<sub>1</sub>)와 바지락 CP (CaO, M.W.=56.08)의 농도(X<sub>2</sub>)를 5단계로 부호화한 다음(Table 1), factorial design (4개), star point (4개) 및 central point (3개)로 구성된 11개의 실험구로 설정하여 제조하였다. Table 1의 조건의 따라 제조한 11개의 액상 젖산칼슘은 감압여과장치(WJ-15, circulating aspirator, Sibata Scientific Technology Ltd., Tokyo, Japan)와 여과지를 이용해 불순물을 제거하고, 이 여과액을 건조기(SWOF-105, Daihan Scientific, Seoul, Korea)로 105℃에서 24시간 동안 건조하여 시제 분말 LCCLs를 제조하였다. 또한 종속변수(Y<sub>n</sub>)는 pH (Y<sub>1</sub>), 용해도(Y<sub>2</sub>) 및 수율(Y<sub>3</sub>)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.

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

Independent variable	Symbol	Range levels				
		-1.414	-1	0	+1	+1.414
Lactic acid (M)	X <sub>1</sub>	0.86	1.00	1.33	1.67	1.80
CaO (M)	X <sub>2</sub>	0.29	0.50	1.00	1.50	1.70

### pH, 용해도 및 수율

Table 1에 제시한 각 반응 조건에 따라 제조한 11개 실험구의 pH는 pH meter (744, Metrohm, Herisau, Switzerland)를 사용하여 측정하였으며, 용해도(solubility, %)는 각 실험구를 감압여과한 후, 불용성의 잔사를 건조(105℃, 5시간)하여 중량을 측정하여, 다음의 식으로 구하였다.

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

수율(Yield, %)은 각 조건별 실험구를 감압여과 한, 여과액을 건조하여(105℃, 5시간) 얻어진 가용성 분말의 무게를 측정 한 후, 시료 중량의 백분율로 구하였다.

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

색차(Hunter's color value) 및 White index

시제 LCCLs의 색차는 명도(L, lightness), 적색도(a, redness; -a, greenness), 갈색도(b, brownness; -b, blueness)에 대해 직 시색차계(ZE-2000, Nippon Denshoku Industries Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 사용 전 calibration plate (L=96.92, a=0.38, b=0.64)를 이용하여 보정하였다. 또한 백색 도는 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. 20 mL의 탈이온수에 1 g의 LCCLs를 용해시키고, 2,000 g에 15분간 원심분리한 후, 상층액(10 mL)에 대해 1 N HCl을 0.1 mL씩 첨가하면서 pH의 변화를 측정하였다.

무기질 분석

5 mL의 6 N HCl에 0.1 g의 LCCLs를 가하여 습식분해를 2 회 반복한 후, 0.1 N HCl을 사용하여 10 mL를 정용하고, ICP

(inductively coupled plasma spectrophotometer, Optima 4300 DV, PerkinElmer, Inc., Waltham, MA, USA)로 분석하였다.

칼슘 용해도

칼슘의 용해도(calcium solubility, %)는 Lee et al. (2015)의 방법에 따라, 20 mL의 탈이온수에 각각 5 g의 시판 CaO 및 바지락 LCCLs를 가하여 상온에서 3시간동안 진탕하면서 용해한 후, 원심분리(2,000 g, 15 min) 한 다음, 불용성의 잔사를 건조 (105℃, 5시간)하여 중량을 측정하여, 다음의 식으로 구하였다.

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

FT-IR, 미세구조 분석

시제 LCCL의 구조 분석은(Yoon et al., 2016) FT-IR (Fourier transform infrared spectrometer, Smart-APEX II Ultra, Bruker Optics Inc., Billerica, MA, USA)을 사용하여 4,000-400 cm<sup>-1</sup> 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 젓산칼슘의 제조

Table 2는 반응표면분석법의 중심합성계획에 따라 독립변수를 젓산농도(X<sub>1</sub>, M) 및바지락 CP 농도(X<sub>2</sub>, M)로 하고, 11개의 실험구로 설정하여 각각의 시료(factorial design, 4개; star

Table 2. Central composite design and responses of dependent variables for preparation of calcium lactate from littleneck clam *Ruditapes philippinarum* calcined powder to independent variables

Run no.	Coded levels of variable		Response			Coefficients Assessed by
	X <sub>1</sub> Lactic acid (M)	X <sub>2</sub> CaO (M)	Y <sub>1</sub> pH	Y <sub>2</sub> Solubility (%)	Y <sub>3</sub> Yield (%)	
1	-1 (1.00)	-1 (0.50)	4.03	97.86	396.07	Factorial design (4 points)
2	1 (1.67)	-1 (0.50)	3.24	97.14	714.11	
3	-1 (1.00)	1 (1.50)	11.45	31.85	166.96	
4	1 (1.67)	1 (1.50)	11.10	73.21	260.06	
5	-1.414 (0.86)	0 (1.00)	11.43	50.18	213.04	Star points (4 points)
6	1.414 (1.80)	0 (1.00)	4.84	98.30	417.68	
7	0 (1.33)	-1.414 (0.29)	2.99	92.19	869.69	
8	0 (1.33)	1.414 (1.70)	11.35	40.26	193.32	
9	0 (1.33)	0 (1.00)	11.08	74.55	302.14	Central points (3 points)
10	0 (1.33)	0 (1.00)	11.14	83.48	338.39	
11	0 (1.33)	0 (1.00)	11.11	82.23	332.41	

point, 4개; central point, 3개)를 제조한 다음, 종속변수인 pH, 용해도(%) 및 수율(%)에 대한 결과이다. 4개의 factorial design 실험구(code 1-4)의 경우, CP의 첨가비율이 높은 code 3은 pH 11.45, 용해도는 31.85% 그리고 수율 166.96%로 CP첨가비율이 낮은 다른 3개의 실험구(Code 1, 2 및 4)에 비해 용해도(73.21-97.86%) 및 수율(260.06-714.11)이 현저히 낮았다. Star point 실험구(code 5-8)의 경우에는, 젖산첨가비율이 CP첨가비율에 비해 높은 실험구(code 6 및 7)의 용해도(각각 98.30 및 92.19%)와 수율(각각 417.68 및 869.69%)은 code 5와 8에 비해 높은 경향을 나타냈다. 이어서 3개의 central point 실험구는 모두 동일한 code level로 제조된 결과로서 pH는 11.11 부근, 용해도는 74.55-83.48% 범위였으며, 수율은 302.14-338.39% 이었다.

Lee et al. (2015)은 개조개 소성분말로부터 반응표면분석법을 이용하여 제조한 각 조건별 11개의 시제 초산칼슘의 용해도는 25.36-84.55% 범위라고 하였으며, 바지락의 경우(Park et al., 2015), 46.61-99.46% 범위로 동일 제조조건에서 바지락이 개조개에 비하여 용해도가 높은 경향이였다. 또한, 개조개의 젖산칼슘(Yoon et al., 2016)의 용해도는 23.10-97.68%의 범위로서, 본 실험의 바지락 젖산칼슘(31.85-98.30%)이 다소 높은 경향을 나타내었으며, 이상의 보고와 실험결과에서 초산에 비하여 젖산으로 제조한 유기산 칼슘의 용해도가 높은 경향을 보였다. 한편, 타조알 껍질분말, 소성분말 및 젖산칼슘의 용해도가 0.58%, 3.43% 및 97.7%로, 소성처리 및 젖산처리 과정을 통해 약 6배 및 168배가량의 용해도가 개선되었으며(Ko and No, 2002a), Cho et al. (2001b)은 유기산 처리가 칼슘제로서의 체내 이용률을 높일 수 있다고 하였다. Kang et al. (2005)은 꼬막 폐각 소성분말로부터 제조한 젖산칼슘의 수율은 373-393%라고 하였으며, 젖산농도와 꼬막 폐각 소성분말의 비율에 따른 큰 차이를 나타내지는 않는다고 보고하였다. 이상의 실험 결과와 관련한 연구들에서 폐기되는 칼슘자원으로부터 칼슘원으로 이용하기 위해서는 유기물 제거를 위해 소성처리 과정이 필요하고, 불용성 탄산칼슘이나 산화칼슘의 가용성 개선을 위해서는 적정 유기산 처리 조건의 최적화가 필요할 것으로 판단되었다.

11개 실험구의 시제 LCCLs의 pH, 용해도 및 수율의 결과 (Table 2)에 대하여 MINITAB software로 RSREG (response surface analysis by least-squares regression)를 실시한 후, 1차항(linear;  $X_1, X_2$ ), 이차항(quadratic;  $X_1^2, X_2^2$ ) 및 교차항(cross-product;  $X_1X_2$ )과 같은 회귀방정식의 각 계수들의 유의성은 5%

수준( $P<0.05$ )에서 유의한 것으로 확인되어(데이터 미제시), 이를 정리하여 작성한 pH, 용해도 및 수율에 대한 반응모형 방정식은 Table 3과 같다. pH ( $Y_1$ ), 용해도( $Y_2$ ) 및 수율( $Y_3$ )의 종속변수( $Y_n$ )에 대한 반응 모형방정식의 결정계수는 각각 0.862, 0.922 및 0.938로서 모두 1에 가까워 적합한 모델이라고 판단되었다( $P<0.01$ ). 한편, 반응모델의 적합성 여부를 나타내는 적합결여검증(lack of fit test)의  $P$ -value는 0.001-0.006 범위로서 적합성은 결여된 것으로 나타났으나, 유의성은 인정됨( $P<0.05$ )으로서 pH, 용해도 및 수율에 대한 반응모형 방정식은 완전하지는 않지만, 적합한 것으로 판단되었다(데이터 미제시).

바지락 CP로부터 젖산칼슘 제조 최적조건을 구명하기 위한 종속 변수인 pH, 용해도, 수율에 대한 반응 모형 방정식의 결과(Table 3)로부터 MINITAB 통계 프로그램을 구동하여 이들 종속변수를 동시에 최적화하는 독립변수 조건과 이의 조건에 예상되는 종속변수들의 예측치를 Table 4에 나타내었다. 예상 pH가 7.00을 충족하는 pH ( $Y_1$ )에 대한 젖산의 농도( $X_1$ )와 CP 농도( $X_2$ )의 부호화된 값(coded value)의 경우 각각 0.8834와 -0.4075이었으며, 이를 실제 값(uncoded value)으로 환산하면 각각 1.63 M과 0.80 M 이었다. 용해도(solubility,  $Y_2$ )에 대한 젖산의 농도( $X_1$ )와 CP농도( $X_2$ )의 부호화된 값은 각각 -0.1230과 -1.0637이었고, 이의 실제 값은 1.29 M과 0.47 M이었다. 이 조건에서 예상 용해도는 95.00%이었다. 예상 수율이 350%일 때의 수율(yield,  $Y_3$ )에 대한 젖산의 농도( $X_1$ )와 CP농도( $X_2$ )의 부호화된 값의 경우 각각 1.1261과 0.2216이었으며, 이를 실제 값으로 환산하면 각각 1.71 M 및 1.11 M이었다. 한편, LCCL의 pH, 용해도 및 수율을 모두 충족하는 최적 젖산의 농도( $X_1$ )와 CP농도( $X_2$ )조건의 부호화된 값은 각각 1.4142과 0.2633이었고, 이를 실제 값으로 환산하면 각각 1.80 M과 1.13 M이었다.

이들 최적 조건을 적용하여 LCCL을 제조하여 pH, 용해도, 수율을 측정할 결과(Table 5)는 각각 pH 6.98, 93.99% 및 351.23%로, 이들의 예측치인 pH 7.00, 용해도 97.80%, 수율 338.56%에 비해 4.1% 이내의 오차범위를 나타내었다. 이렇게 제시된 반응표면 모델은 바지락 폐각분말을 이용한 젖산칼슘 제조를 위한 최적의 모델이라 판단되었다.

색차(Hunter's color value) 및 white index

11개의 시제 바지락 LCCLs의 색차에 대한 결과는 Table 6에 나타내었다. 먼저 명도를 나타내는 L값을 중심으로 살펴보면, 시제 LCCLs의 L값은 87.46-92.17 범위이었으며, 젖산칼슘

Table 3. Response surface model for preparation of calcium lactate from littleneck clam *Ruditapes philippinarum* calcined powder

Response	Quadratic polynomial model	R <sup>2</sup>	P-value
Y <sub>1</sub>	11.1100-1.3075X <sub>1</sub> +3.3879X <sub>2</sub> -1.5369X <sub>1</sub> <sup>2</sup> -2.0194X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0.862	0.006
Y <sub>2</sub>	80.087+13.586X <sub>1</sub> -20.423X <sub>2</sub> +10.520X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.922	0.002
Y <sub>3</sub>	324.31+87.57X <sub>1</sub> -204.96X <sub>2</sub> +93.81X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0.938	0.001

Y<sub>1</sub> = pH, Y<sub>2</sub> = solubility (%), Y<sub>3</sub> = yield (%)

Table 4. Optimal conditions of multiple responses for preparation of calcium lactate from littleneck clam *Ruditapes philippinarum* calcined powder using MINITAB program

Dependent variables	Independent variables	Critical value		Predicted value
		Coded	Uncoded	
Y <sub>1</sub> pH	X <sub>1</sub>	0.8834	1.63	7.00
	X <sub>2</sub>	-0.4075	0.80	
Y <sub>2</sub> Solubility(%)	X <sub>1</sub>	-0.1230	1.29	95.00
	X <sub>2</sub>	-1.0637	0.47	
Y <sub>3</sub> Yield(%)	X <sub>1</sub>	1.1261	1.71	350.00
	X <sub>2</sub>	0.2216	1.11	
Multiple response optimization	X <sub>1</sub>	1.4142	1.80	Y <sub>1</sub> : 6.98
	X <sub>2</sub>	0.2633	1.13	Y <sub>2</sub> : 93.99 Y <sub>3</sub> : 351.23

Table 5. Experimental and predicted results of verification in preparation of calcium lactate from littleneck clam *Ruditapes philippinarum* calcined powder under optimized conditions

Dependent variables	Predicted values	Experimental values
Y <sub>1</sub> pH	6.98	7.00±0.00
Y <sub>2</sub> Solubility, (%)	93.99	97.80±0.22
Y <sub>3</sub> Yield, (%)	351.23	338.56±7.88

Experimental values are mean of three determinations.

Table 6. Hunter's color values and white index of calcium lactate prepared from littleneck clam *Ruditapes philippinarum* calcined powder

Code	L	a	b	white index
<sup>1</sup> LCSP	75.52±0.01	1.53±0.01	7.22±0.01	71.55
<sup>1</sup> LCCP	79.29±0.01	0.17±0.01	6.05±0.01	78.42
1	87.46±0.02 <sup>k</sup>	0.60±0.02 <sup>f</sup>	8.97±0.01 <sup>b</sup>	84.57
2	92.17±0.02 <sup>a</sup>	-0.88±0.03 <sup>h</sup>	5.21±0.01 <sup>d</sup>	90.55
3	89.22±0.04 <sup>f</sup>	-0.35±0.01 <sup>g</sup>	2.86±0.01 <sup>f</sup>	88.84
4	88.89±0.02 <sup>h</sup>	2.18±0.01 <sup>b</sup>	2.72±0.01 <sup>h</sup>	88.36
5	89.40±0.02 <sup>e</sup>	1.24±0.01 <sup>d</sup>	1.96±0.01 <sup>k</sup>	89.15
6	90.72±0.01 <sup>b</sup>	-2.75±0.02 <sup>i</sup>	10.88±0.01 <sup>a</sup>	85.44
7	89.71±0.01 <sup>c</sup>	2.67±0.01 <sup>a</sup>	5.58±0.05 <sup>c</sup>	87.99
8	89.61±0.02 <sup>d</sup>	0.81±0.01 <sup>e</sup>	3.11±0.00 <sup>e</sup>	89.12
9	88.50±0.03 <sup>i</sup>	0.61±0.01 <sup>f</sup>	2.82±0.00 <sup>g</sup>	88.14
10	88.93±0.02 <sup>g</sup>	1.32±0.01 <sup>c</sup>	2.38±0.01 <sup>j</sup>	88.60
11	88.09±0.02 <sup>j</sup>	0.62±0.01 <sup>f</sup>	2.55±0.01 <sup>i</sup>	87.81

<sup>1</sup>Date were quoted for our previous paper (Kim et al., 2015). LCSP, Littleneck clam shell powder. LCCP, Littleneck clam calcined powder. Values represent the mean±SD of n=3. Means with different letters within the sample column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range tests.

제조를 위한 주 재료인 LCSP (75.52)와 LCCP (79.29)에 비해 개선되었다(Kim et al., 2015). 적색도를 나타내는 a값의 경우, code 2 (-0.88), code 3 (-0.35) 및 code 6 (-2.75)은 음(-)의 값으로 나타난 반면, 나머지 실험구는 양(+)의 값을 나타냄으로써 CP첨가비율에 비해 상대적으로 젖산의 첨가비율이 높은 것이 기인한 것으로 판단되었다. 갈색도(b, brownness; -b, blueness)의 경우, 시제 LCCLs은 CP농도에 대하여 상대적으로 젖산농도의 첨가비율이 높은 code 1, 6의 경우, LCSP (7.22)와 LCCP (6.05)에 비하여 높은 수치를 보인 반면 code 1, 6을 제외한 나머지 9개 시제 LCCLs의 갈색도는 2.0-5.2의 범위로 LCSP와 LCCP에 비하여 개선이 되었다.

패각분말(LCSP) 및 소성분말(LCCP)의 백색도는 각각 71.55 및 78.42이었으나, 시제 LCCLs의 백색도는 84.57-90.55 범위로, 소성처리 및 유기산 처리과정을 통하여 백색도가 개선됨을 알 수 있었다. 이는 개조개 시제 젖산칼슘(Yoon et al., 2016)의 백색도 86.70-90.86와 거의 차이가 없는 것으로 확인되었다.

한편, 소성처리를 통한 백색도 개선은 가다랑어 뼈(Kim et al., 2000a), 갑오징어 갑(Cho et al., 2001b), 타조알 껍질(Ko and No, 2002b)등의 보고에서도 확인되었으며, 초산처리과정을 통하여 갑오징어 갑(Kim et al., 2003), 개조개(Lee et al., 2015), 및 바지락 초산칼슘(Park et al., 2015)과 젖산처리에 의한 개조개(Yoon et al., 2016)와 꼬막 젖산칼슘 및 구연산칼슘(Kang et al., 2005)의 연구결과에서도 칼슘제의 백색도가 개선됨을 확인되었다.

### 완충능

Fig. 1은 시판 산화칼슘(CaO)과 중심합성계획에 따라 제조한 11개 시제 LCCLs의 완충능에 대해 나타낸 것이다. 시판 CaO 용액(5%, w/v)의 pH는 12.75이었으며, 11개의 시제 LCCLs 용액(5%, w/v)의 pH는 젖산농도/CP 첨가비율에 따라 pH 3.24-12.32 범위였다. 젖산농도에 비하여 LCCP의 첨가비율이 상대적으로 높을수록 pH는 높아지는 경향이였다. 이들 각 용액에

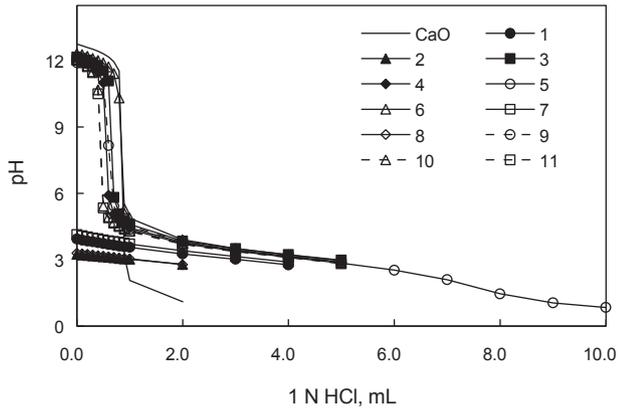


Fig. 1. Buffering capacity of calcium lactate prepared from little-neck clam *Ruditapes philippinarum* calcined powder.

대하여 1 N HCl을 0.1 mL 단위로 첨가하면서 pH의 변화를 검토한 완충능은 0.1 mL의 첨가에서 pH 3.22-12.7 범위를 나타내었으나, 2.0 mL의 첨가로 시제 LCCLs 모두 pH 2.78-3.90 범위에서 완충능을 나타내었다. 11개의 시제 LCCLs은 약산성 영역의 pH에서 강한 완충능을 나타내는 것으로 보아 칼슘강화소재로서 이용 가능성이 높다고 판단되었다.

개조개 초산칼슘(Lee et al., 2015)의 경우 0.1 mL 첨가 시 pH 6.16-6.37, 2.0 mL 첨가 시 pH 4.88-4.92였으며, 바지락 초산칼슘(Park et al., 2015)의 경우, 0.1 mL 첨가 시 pH 6.15-6.44 범위, 2.0 mL 첨가 시 pH 4.89-4.92 범위로 본 시제 LCCLs보다 강한 완충능을 나타내었다. 한편, 젖산으로 처리한 개조개 젖산칼슘(Yoon et al., 2016)의 경우 0.1 mL 첨가 시 pH 3.24-12.10 범위, 2.0 mL 첨가 시 pH 2.82-3.80 범위로 시제 LCCLs와 유사하였다. Cho et al. (2001a) 및 Kim et al. (2003)은 갑오징어 갑소성분말은 용해도가 낮고, pH 12.9 부근으로 알칼리성이어서

식용으로 이용하기에는 제약이 많으나, 유기산(초산 및 젖산) 처리를 통해 pH를 낮추게 되면 가용성은 개선된다고 하였다. 이상의 보고와 결과로 미루어 유기산 처리를 통해 가용성이 개선되었으며, 초산으로 처리하는 경우가 젖산으로 처리한 것에 비하여 중성 부근의 유지에 조금 더 용이한 것으로 확인되었다.

무기질

시제 LCCLs의 무기질 함량에 대해 분석한 결과는 Table 7과 같다. 먼저, LCCLs의 칼륨(K)함량의 범위는 22.88-89.67 mg/100 g이었으며, 이 중 code 5 (89.67 mg/100 g)의 값이 가장 높은 것으로 확인되었으며, code 3 (49.38 mg/100 g) 및 8 (46.78 mg/100 g)과 같이 LCCP의 첨가비율이 높은 시제 LCCL의 칼슘함량이 높은 경향이였다. 개조개 젖산칼슘(Yoon et al., 2016)의 경우에서도 code 5 (81.98 mg/100 g)가 가장 높은 것으로 나타나, 본 실험결과와 유사하였다. 칼슘(Ca)의 경우는 LCCP 첨가비율이 상대적으로 아주 낮은 code 2 (7,651.89 mg/100 g)와 code 7 (9,736.06 mg/100 g)을 제외한 9개의 시제 LCCLs의 칼슘함량은 11,442.20-17,480.14 mg/100 g의 범위를 나타내었으며, 개조개 젖산칼슘(Yoon et al., 2016)의 경우에서도 일치하는 결과를 나타내어, 칼슘원이 되는 LCCP 첨가비율이 최종 시제품의 칼슘함량에 영향을 주는 것으로 판단되었다. 시제 LCCLs의 마그네슘(Mg) 함량은 0.25-14.67 mg/100 g 범위로, 젖산과 LCCP 간의 첨가비가 1.8배 이상인 code 1 (14.67 mg/100 g), code 2 (7.27 mg/100 g), code 6 (13.30 mg/100 g) 및 code 7 (9.26 mg/100 g)에서 높은 마그네슘 함량을 나타내었고, Yoon et al. (2016)의 개조개 젖산칼슘 제조에 관한 연구에서도 본 실험결과와 일치하였다. 나트륨(Na) 함량은 82.69-320.00 mg/100 g 범위였고, code 3 (320.00 mg/100 g), code 5 (230.91 mg/100 g) 및 code 8 (262.46 mg/100 g)을 제외하면 200 mg/100 g 이하의 수준이었으며, 개조개 젖산칼슘

Table 7. Minerals content of calcium lactate prepared from littleneck clam calcined *Ruditapes philippinarum* powder (mg/100 g)

Code	K	Ca	Mg	Na
1	30.30 ± 0.51 <sup>f</sup>	14,023.90 ± 67.23 <sup>g</sup>	14.67 ± 0.18 <sup>a</sup>	150.65 ± 1.58 <sup>h</sup>
2	26.94 ± 0.28 <sup>g</sup>	7,651.89 ± 39.09 <sup>j</sup>	7.27 ± 0.07 <sup>d</sup>	82.69 ± 0.66 <sup>k</sup>
3	49.38 ± 1.91 <sup>b</sup>	16,957.50 ± 69.75 <sup>b</sup>	0.25 ± 0.01 <sup>ef</sup>	320.00 ± 1.20 <sup>a</sup>
4	30.82 ± 0.19 <sup>f</sup>	15,896.93 ± 84.99 <sup>c</sup>	0.37 ± 0.01 <sup>e</sup>	199.23 ± 1.61 <sup>d</sup>
5	89.67 ± 1.22 <sup>a</sup>	17,480.14 ± 61.57 <sup>a</sup>	0.32 ± 0.00 <sup>ef</sup>	230.91 ± 0.39 <sup>c</sup>
6	31.59 ± 0.99 <sup>f</sup>	14,548.40 ± 118.26 <sup>f</sup>	13.30 ± 0.14 <sup>b</sup>	153.57 ± 1.58 <sup>g</sup>
7	31.05 ± 0.91 <sup>f</sup>	9,736.06 ± 29.38 <sup>i</sup>	9.26 ± 0.13 <sup>c</sup>	102.94 ± 1.17 <sup>j</sup>
8	46.78 ± 0.85 <sup>c</sup>	15,899.80 ± 68.54 <sup>c</sup>	0.20 ± 0.00 <sup>f</sup>	262.46 ± 1.87 <sup>b</sup>
9	33.75 ± 0.30 <sup>e</sup>	11,422.20 ± 90.19 <sup>h</sup>	-	121.88 ± 0.54 <sup>i</sup>
10	36.96 ± 0.75 <sup>d</sup>	15,665.50 ± 114.16 <sup>d</sup>	0.02 ± 0.01 <sup>g</sup>	184.40 ± 1.28 <sup>e</sup>
11	22.88 ± 1.15 <sup>h</sup>	15,212.08 ± 141.47 <sup>e</sup>	-	169.16 ± 1.14 <sup>f</sup>

- Not detected. Values represent the mean ± SD of n=3. Means with different letters within the sample column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range tests.

(Yoon et al., 2016)에서도 마찬가지로 code 3 (444.03 mg/100 g), code 5 (358.75 mg/100 g) 및 code 8 (325.07 mg/100 g)를 제외하면 300 mg/100 g 이하의 나트륨 함량을 나타내었다. 이 실험구들은 LCCP 첨가비율보다 상대적으로 높은 경우에 해당하는 것으로 보아, 칼슘원인 소성분말(LCCP)에 존재하는 나트륨에서 유래한 것이라 판단된다.

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, 개조개 및 바지락 소성분말(Kim et al., 2015)의 칼슘 함량은 각각 51,140 및 44,890 mg/100 g으로 시료의 종류에 따라 칼슘함량이 차이가 있었다. 이상의 결과와 연구보고에서 소성분말의 경우, 칼슘함량이 다양한 것은 산화칼슘에서 공기 중의 이산화탄소나 수분이 흡착하여 탄산칼슘이나 수산화칼슘으로 일부 전환됨으로써 상대적 칼슘함량에 차이가 생기기 때문이며, 이는 앞서의 연구(Kim et al., 2015)에서도 시판 산화칼슘은 탄산칼슘인 calcite와 수산화칼슘 형태인 portlandite가 혼재되어있는 것으로, 개조개 및 바지락의 소성분말은 수산화칼슘으로 XRD분석 결과 확인되었다. 한편, 다슬기 소성분말을 이용하여 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, 바지락 초산칼슘(Park et al., 2015)의 경우는 18,997.5-23,003.5 mg/100 g의 범위, Kim et al. (2003)은 갑오징어 갑 소성분말로 제조한 초산 및 젖산칼슘의 칼슘함량은 각각 21,320-25,700 mg/100 g 및 12,060-12,650 mg/100 g 범위, 타조알 젖산칼슘(Ko and No, 2002a)의 칼슘함량은 39,700 mg/100 g, 그리고 개조개 젖산칼슘(Yoon et al., 2016)의 칼슘함량은 6,200.10-16,659 mg/100 g이라고 보고하였다. 소성분말의 유기산 처리를 통해 제조한 유기산 칼슘은 유기산과 소성분말간의 몰 농도비에 따른 화학반응 일정 칼슘함량 수준의 유기산 칼슘이 생성되었으며(Yoon et al., 2016), 초산칼슘이 젖산 칼슘에 비하여 칼슘의 함량이 높은 것으로 본 실험결과와 연구보고를 통해 확인되었다. 이는 소성분말과 반응하는 초산의 분자량(M.W. 60.05)이 젖산의 분자량(M.W. 90.08)보다 작아, 반응 후, 생성되는 초산칼슘 중의 칼슘함량이 상대적으로 젖산칼슘에 비해 약 24%정도 높기 때문이다.

### 칼슘 용해도

시판 CaO 및 시제 LCCLs의 20% (w/w) 용액에 대한 칼슘 용해도는 Fig. 2와 같다. 시판 CaO의 경우, 4.5%의 용해도를, 시제 LCCLs의 경우에는 96.61-98.92% 범위의 칼슘 용해도를 나타내었다. 본 실험에서는 100 mL의 탈이온수에 시판 CaO는 0.9 g 그리고 시제 LCCLs는 19.3-19.8 g이 용해되었다. 따라서 불용성의 산화칼슘에 비하여, 유기산 처리과정을 통한 젖산칼슘의 용해도는 약 22배 개선되었다. 한편, 산화칼슘 및 젖산

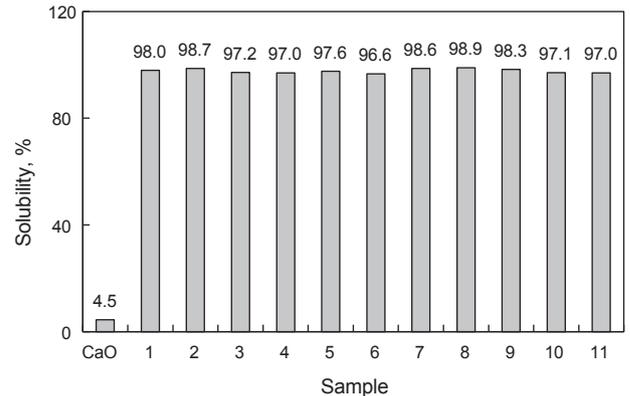


Fig. 2. Comparison of calcium solubility of calcium lactate prepared from littleneck clam *Ruditapes philippinarum* calcined powder.

칼슘의 분자량을 고려한 순 칼슘용해도(net calcium solubility, %)는 시판 CaO는 0.63% 그리고 시제 LCCLs는 2.51-2.57%로 환산됨으로써, 순 칼슘용해도는 약 4배 개선된 것으로 나타났다. Yoon et al. (2016)은 개조개 20% (w/w) 젖산칼슘의 칼슘용해도는 93.6-98.5%이었으며, 분자량을 고려한 순 칼슘 용해도는 2.43-2.56%로 환산되어 본 실험결과와 거의 일치하였다. 한편, 앞서의 연구(Lee et al., 2015)에서 개조개 20% (w/w) 초산칼슘의 칼슘용해도는 97.0-99.6%이었고, 분자량을 고려한 순 칼슘 용해도는 4.27-4.38%라고 하여, 젖산칼슘은 초산칼슘에 비하여 단순 용해도는 비슷한 수준이었으나, 순 칼슘용해도에서는 약 56-58% 수준으로 초산칼슘에 비해 상대적으로 칼슘의 가용성이 낮은 것으로 나타났다. 이는 갑오징어 갑 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(Yoon et al., 2016).

### FT-IR 및 SEM 분석

중심합성계획에 따라 최적조건에서 제조한 LCCL의 결정구조 분석 결과는 Fig. 3과 같다. 먼저, FT-IR에 의한 분석결과(Fig. 3, Left)에서, 시제 젖산칼슘(LCCL)의 spectrum은 C-X 흡수밴드인 546  $\text{cm}^{-1}$ , C-H 흡수밴드인 687, 765, 859와 2,984  $\text{cm}^{-1}$ , C-O 흡수밴드인 1,031, 1,093, 1,125, 1,265 및 1,296  $\text{cm}^{-1}$ , C=C 흡수밴드인 1,421 및 1,468  $\text{cm}^{-1}$ , C=O 흡수밴드인 1,578  $\text{cm}^{-1}$ , 그리고 O-H 흡수밴드인 3,359  $\text{cm}^{-1}$ 가 검출되었으며, 젖산칼슘 5 수화물(calcium lactate pentahydrate)로 동정되었다. 이상의 결과는 개조개 젖산칼슘의 FT-IR 흡수 spectrum과 젖산칼슘 5수화물이라고 동정된 것과 일치하였다(Yoon et

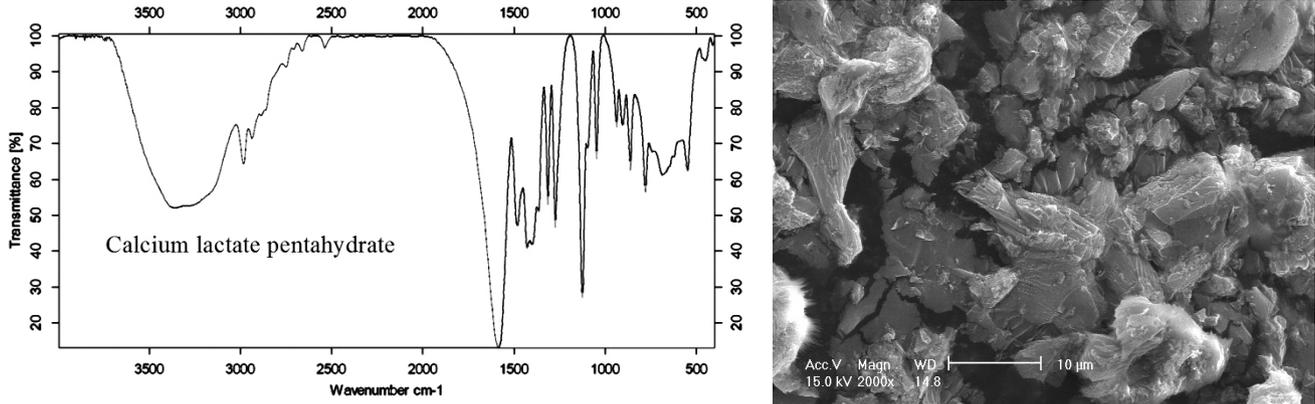


Fig. 3. FT-IR spectra (Left) and Scanning electron micrograph ( $\times 2,000$ ) (Right) of littleneck clam *Ruditapes philippinarum* calcium lactate.

al., 2016). Park et al. (2008)은 탄산칼슘의 polymorphs로서 calcite와 aragonite를 이용한 젖산칼슘의 FT-IR 스펙트럼 특징은 O-H 흡수밴드인  $3,000\text{-}3,500\text{ cm}^{-1}$  범위에서와  $1,500\text{-}1,750\text{ cm}^{-1}$  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  $3,000\text{-}3,500\text{ cm}^{-1}$ ,  $1,500\text{-}1,750\text{ cm}^{-1}$ ,  $1,300\text{-}1,400\text{ cm}^{-1}$  파장범위에서 나타난다고 하여, 본 연구결과와 일치하는 경향이였다.

주사 전자 현미경(FESEM)에 의한 LCCP의 미세구조(Kim et al., 2015)는 다공성이 없는  $1\text{-}10\text{ }\mu\text{m}$ 의 비정형의 결정 구조로 확인되었으며, LCCP로 제조한 LCCL의 미세구조(Fig. 3, Right)에서도 마찬가지로 비정형 결정(irregular crystal)으로 관찰되었다. 한편, 개조개 젖산의 미세구조도 비정형의 결정으로 본 실험의 결과와 유사하였으나(Yoon et al., 2016), 침강성 탄산칼슘으로 제조한 젖산칼슘의 SEM 관찰을 통해 판상형의 결정이라고 한 보고(Park et al., 2008)와는 형태상에서 차이를 나타내었다. 이러한 차이는 젖산칼슘의 제조에 있어, 칼슘원의 차이(산화칼슘과 침강성 탄산칼슘)에 기인하는 것으로 판단되었다. 이상의 실험결과와 연구보고에 미루어 보아 칼슘원의 종류(소성분말)는 다르지만, 같은 유기산으로 제조한 유기산칼슘은 구조적으로나 형태적으로는 거의 동일한 것이 결정구조 및 미세구조 분석을 통해 확인되었다. 패류의 대표적인 가공부산물인 패각은 칼슘소재뿐만 아니라, 칼슘 용해도를 높인 유기산칼슘의 제조를 통한 칼슘강화 식품소재로의 이용 가능성이 높다고 판단되었다.

## References

Anderson GJ. 1982. Comments on the settlement of Manila clam spats (*Tapes philippinarum*) at Filucy Bay, Washington, U.S.A., *J Shellfish Res* 2, 115.  
Chang SO. 2003. A study on the calcium bioavailability of egg-shell powder in the growing rats. *J Nutr Health* 36, 684-690.

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 *Anadara tegillarca granosa*. *J Fd Hyg Safety* 20, 128-133.  
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>.  
Kim JS, Yang SK and Heu MS. 2000a. Component characteristics of cooking tuna bone as a food resource. *J Korean Fish Soc* 33, 38-42.  
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>.  
Korea Health Statistics. 2014. Korea National Health and Nu-

- trition Examination Survey. Retrieved from <http://knhanes.cdc.go.kr> on Apr 2016.
- 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 Sic 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. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2004.33.3.593>.
- Lee YK and KIM SD. 2003. Preparation and characteristics of calcium lactate from black snail. *Nutraceuticals Food* 8, 166-172. <http://dx.doi.org/10.3746/jfn.2003.8.2.166>.
- 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 Toxicol* 29, 589-594. [http://dx.doi.org/10.1016/0278-6915\(91\)90139-x](http://dx.doi.org/10.1016/0278-6915(91)90139-x).
- Miller GD, Jarvis JK and McBean LD. 2001. The importance of meeting calcium needs with foods. *J Am Coll Nutr* 20, 168S-185S. <http://dx.doi.org/10.1080/07315724.2001.10719029>.
- Ministry of Ocean and Fisheries. 2015. Yearbook of marine resource. [Internet] Retrieved from <http://www.mof.go.kr/article/view.do?articleKey=10708&boardKey=32&menuKey=396&currentPageNo=1> on Apr 2016.
- 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*-nitrodoguanidine 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 production. *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 Matijevec E. 1999. Preparation of uniform needle-like aragonite particles by homogeneous precipitation. *J Colloid 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>.
- Yoon IS, Lee GW, Lee HJ, Park SH, Park SY, Lee SG, Kim JS and Heu MS. 2016. Characterization of calcium lactate prepared from butter clam *Saxidomus purpuratus* shell powder. *Korean J Fish Aquat Sci* 49, 301-309. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2016.0301>.