

난소절제 쥐에서 봉소보충과 식이 칼슘 수준이 체내 칼슘 및 골격대사에 미치는 영향

정혜경[§] · 이현숙* · 최창숙

호서대학교 자연과학대학 식품영양전공, 한림대학교 생명과학부 식품영양전공*

Effect of Dietary Boron Supplementation and Calcium Levels on Calcium and Bone Metabolism in Ovariectomized Female Rats

Chung, Hae Kyung[§] · Lee, Hyun Sook* · Choe, Chang Suk

Department of Food and Nutrition, College of Science, Hoseo University, Asan 336-795, Korea
Division of Life Sciences and Institute of Environment & Life Science, * Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea

ABSTRACT

This study was designed to investigate the effect of dietary boron supplementation and calcium levels on calcium and bone metabolism in ovariectomized female rats. The experimental group classified ovariectomized group(O) and sham operation group(S). The two groups were then each randomly divided into four sub-groups and fed experimental diets consisting in two levels of calcium and at each level of calcium, there were boron supplemented group and non-supplemented group. Calcium levels were either 0.2% (low calcium group: L) or 1.2% (high calcium group: H). The level of boron in the diet for the boron supplemented groups(B) was 100µg/g diet. The experimental period was six weeks. The average food intake were not statistically significantly different in all of eight groups. The increase in weights of rats was observed only in ovariectomized and sham control rats (low ca without boron supplemented). The rest of the groups lost weight significantly during the experimental period ranging from 26.94g to 44.34g. Significant higher calcium intakes were observed in high calcium groups, regardless of boron supplementation during experimental period. Urinary calcium excretion was not affected either by ovariectomy or diets on the first, third and sixth week of feeding. Apparent calcium absorption rates were not different among the groups on first week, whereas noticeable increase was observed in low calcium groups at third and sixth weeks. Femur wet and dry weight, and calcium contents of femur were higher in low calcium groups, whereas femur bone density was higher low calcium with boron supplementation groups than low calcium groups. Scapular density did not show any significant differences among all groups. Despite there were no differences in the activities of alkaline phosphatase by boron supplementation, boron supplement appeared to cause higher femur density. These results suggest that in both of sham-operated and ovariectomized rats low calcium did not influence greatly bone status of rats and boron increased bone density. (*Korean J Nutrition* 34(8) : 887~895, 2001)

KEY WORDS: boron supplementation, calcium intake, ovariectomy, bone status.

서 론

봉소는 식물에 있어 필수적인 미량무기질로 알려져 있다. 또한 상업적으로는 유리제품, 세정제, 농약을 포함한 생산품의 제조에 사용된다.¹⁾ 봉소의 하루 섭취량은 0.3~41mg/일로 다양하다.²⁾ 하루 5mg정도의 봉소는 과일, 견과류, 광엽채소 그리고 콩류를 먹음으로써 섭취될 수 있다. 봉소와 같은 음이온 미량원소는 일상적으로 위장관을 통해 흡

수되며, 봉산의 경우에는 갈라진 상처 그리고 심한 충치를 통해 흡수되기도 한다. 배설은 뇨, 담즙, 땀 그리고 호흡을 통해서 일어나게 된다.³⁾

봉소는 모든 조직에 소량으로 분포되어 있으며 그 농도는 0.04mg/kg · BW로 추정된다. 사람에게 있어 추정되는 봉소함량은 3~20mg정도인데, 조직과 장기에 따라 함량이 달라서 피부에는 7.8mg, 골격에는 2.1mg, 간에는 7.8mg, 심장에는 0.2mg, 혈선에는 0.1mg, 신장에는 0.1mg의 봉소가 포함되어 있는 것으로 조사되었다.²⁾

최근 봉소가 식물뿐만 아니라 동물에게도 필수 영양소가 될 수 있다는 증거들이 축적되고 있다. 봉소가 칼슘, 콜레칼시페롤(cholecalciferol), 마그네슘, 칼륨, 아르기닌 그리고

접수일 : 2001년 8월 13일

체택일 : 2001년 11월 13일

*To whom correspondence should be addressed.

메티오닌과 반응을 보이며, 봉소 부족상태로 인해 골격, 신장 그리고 뇌를 포함한 몇몇 신체 시스템의 기능이나 조성에 영향을 미치는 것은 분명한 것 같다.³⁾

Nielsen 등은 폐경기 여성에게 0.25mg/일의 봉소를 119일 동안 공급하고 나서 이후 48일 동안 3mg/일의 봉소를 공급했다. 이와 동시에 7명에게는 저마그네슘(116mg/2000kcal)식이를 공급했다. 나머지 5명에게는 적당한 마그네슘(200mg Mg/일)을 공급했다. 봉소보충은 총 혈장 내 칼슘농도 및 뇌중 칼슘과 마그네슘 배설량을 감소시켰으며, 17 β -estradiol과 테스토스테론의 혈장 내 농도를 증가시켰다. 이러한 증가는 더 낮은 마그네슘 식이를 할 때 더 렬하게 나타났다. 이러한 결과들은 과일이나 채소에서 많이 발견되는 봉소의 양과 더불어 소량의 봉소보충으로 칼슘손실과 골격 무기질감소를 일으키는 폐경기 이후 여성에게 바람직한 변화를 유도해 볼 수 있다는 것을 시사해준다.^{4,6)}

또한 비타민 D 부족 식이에 봉소를 보충해 줄으로써 칼슘, 마그네슘, 인과 같은 무기질의 흡수와 균형을 가져올 수 있다는 것이 측정되었으며, 봉소섭취량이 높은 쥐에서 칼슘과 인에 대한 흡수와 균형치가 현격히 높은 것으로 관찰되었다.⁷⁾

45세 이상의 남성과 여성을 대상으로 한 실험에서는 저마그네슘, 저구리 그리고 하루 3.23mg의 봉소식사를 했을 때 혈장 칼슘 이온과 비타민 D₂의 농도를 증가시켰고, 혈청 칼시토닌과 오스테오칼신을 감소시켰다.⁸⁾ 그리고 흰쥐를 대상으로 저마그네슘, 저메티오닌 그리고 3mg B/g diet의 식이로

사육한 결과 성장을 감소와 골격내 마그네슘 농도 감소의 원인이 되는 메티오닌과 마그네슘 부족 증상을 완화시켰다.⁹⁾

일반적인 식사를 하던 폐경기 여성에게 3주 동안 저봉소식이(0.33mg/일)를 공급했을 때 뇌내로 배출되는 칼슘함량이 급격히 증가되었다는 Beattie 등¹⁰⁾의 연구에서도 봉소가 골격대사에 미치는 영향을 살펴볼 수 있었다.

이와 같이 봉소는 칼슘뿐만 아니라 다른 성분들과 상호보완적인 관계를 성립하면서 체내 칼슘 및 골격대사에 영향을 미칠 수 있음을 알 수 있다. 그러나 이미 보고한 바와 같이 성장기 숫컷 흰쥐를 대상으로 한 연구에서는 기대했던 것과는 달리 봉소보충이 영향을 미치지 못하는 것으로 관찰되었다.¹¹⁾ 즉, 연령과 성별에 따라 봉소에 대한 반응의 정도가 달라 질 수 있는 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 난소절제를 통해 폐경을 유도한 암컷 흰쥐를 대상으로 하여 봉소보충이 체내 칼슘 대사 및 골격대사에 미치는 영향을 살펴보고자 실시되었다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 동물의 사육 및 식이

본 연구는 체중이 200g 정도인 6주령된 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley 종)를 구입하여 4주 동안 고형사료로 적응시켰다. 그 다음 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 두 군으로 나누어 난소 절제 수술(ov-

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredient	Groups ¹⁾		Ovx				Sham			(g/kg diet)
	OL	OLB	OH	OHB	SL	SLB	SH	SHB		
Corn starch	687.17	687.07	668.18	668.08	687.17	687.07	668.18	668.08		
Casein	150	150	150	150	150	150	150	150		
Corn oil	100	100	100	100	100	100	100	100		
Salt mix ²⁾	14.72	14.72	14.72	14.72	14.72	14.72	14.72	14.72		
Vit mix ³⁾	10	10	10	10	10	10	10	10		
CaCO ₃	2.20	2.20	21.19	21.19	2.20	2.20	21.19	21.19		
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ H ₂ O	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9		
Na ₂ P ₂ O ₁₀ H ₂ O	26.01	26.01	26.01	26.01	26.01	26.01	26.01	26.01		
Choline chloride	2	2	2	2	2	2	2	2		
DL-methionine	3	3	3	3	3	3	3	3		
Boron	0	0.1	0	0.1	0	0.1	0	0.1		

1) OL: 0.2% Ca diet for 6weeks + ovariectomy, OLB: 0.2% Ca diet for 6weeks + ovariectomy + boron supplement(100 μ g/g diet), OH: 1.2% Ca diet for 6weeks + ovariectomy, OHB: 1.2% Ca diet for 6weeks + ovariectomy + boron supplement(100 μ g/g diet), SL: 0.2% Ca diet for 6weeks + sham operation, SLB: 0.2% Ca diet for 6weeks + sham operation + boron supplement(100 μ g/g diet), SH: 1.2% Ca diet for 6weeks + sham operation, SHB: 1.2% Ca diet for 6weeks + sham operation + boron supplement(100 μ g/g diet)

2) Salt mixture ingredients(mg/kg mixture): MgCO₃ 6900, ZnCO₃ 96, FeSO₄ · 7H₂O 124, MnSO₄ · 5H₂O 150, CuSO₄ · 5H₂O 20, KI 1.3, NaCl 2300, Na₂CO₃ 1600, K₂CO₃ 3530, Na₂SeO₃ 0.22, Sucrose, finely powdered to make 1000.

3) AIN(American Institute of Nutrition vitamin mixture ingredients(per kg mixture): Thiamin-HCl 600mg, Riboflavin 600mg, Pyridoxin · HCl 700mg, Nicotinic acid(nicotinamide is equivalent) 3g, D-Calciumpantothenate 1.6g, Folic acid 200mg, D-Biotin 20mg, Cyanocobalamin (vitamin B12) 1mg, Retinylpalmitate(vitamin A)-as stabilized powder to provide 400,000IU vitamin activity or 120,000 retinol equivalents, DL- α -Tocopherylacetate (vitamin E)-as stabilized powder to provide 5,000IU vitamin E activity, Cholecalciferol 2.5mg(100,000 IU. May be powder form), Menaquinone(vitamin K) 5.0mg, Sucrose, finely powdered to make 1,000g

arectomy)을 하였고, 대조군에게는 sham-operation을 실시하였다. Table 1에서와 같이 실험식이는 American Institute of Nutrition¹²⁾을 참고하여 인의 함량을 0.5%로 같게 조정해 주고, 식이내 칼슘수준을 0.2%와 1.2%로 달리하여 조제하였다. 봉소는 봉소결정체(boron crystalline, Aldrich)를 사용하여 0μg과 100μg으로 보충수준을 달리한 식이로 6주간 사육하였다.

즉 난소절제 - 저칼슘군(OL, 8마리), 난소절제 - 저칼슘 - 봉소 보충군(OLB, 5마리), 난소절제 - 고칼슘군(OH, 6마리), 난소절제 - 고칼슘 - 봉소 보충군(OHB, 7마리), Sham - 저칼슘군(SL, 9마리), Sham - 저칼슘 - 봉소 보충군(SLB, 5마리), Sham - 고칼슘군(SH, 5마리), Sham - 고칼슘 - 봉소 보충군(SHB, 8마리)의 8군으로 나누었다.

Table 2. Total food intake and body weight gain of the rats¹¹⁾

Group	Total food intake (g/6week)	Body weight (g)	Weight gain (g/6week)
OL	671.05 ± 180.06 ^a	288.14 ± 28.55 ^a	2.86 ± 28.73 ^a
OLB	670.34 ± 201.79	286.15 ± 19.93 ^a	-44.34 ± 16.80 ^b
OH	589.09 ± 154.34	284.78 ± 19.47 ^a	-37.71 ± 27.56 ^b
OHB	700.47 ± 211.97	285.50 ± 19.93 ^a	-28.47 ± 19.44 ^b
SL	570.18 ± 212.96	267.57 ± 18.62 ^b	5.59 ± 12.84 ^a
SLB	760.66 ± 244.94	265.44 ± 17.59 ^b	-41.84 ± 21.93 ^b
SH	675.64 ± 157.14	268.23 ± 15.16 ^b	-27.61 ± 14.95 ^b
SHB	777.51 ± 189.01	268.04 ± 14.58 ^b	-26.94 ± 22.93 ^b
Ovx ³⁾	NS	*	NS
Feed	NS	NS	**

1) Mean ± Standard deviation

2) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple-range test.

3) Significant factor(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, NS: Not significant), Ovx: Main effect of ovariectomy, Feed: Main effect of Ca level and boron supplement

Table 3. Liver, kidney, thymus and spleen weight for group¹¹⁾

Group	Liver		Kidney		Thymus		Spleen	
	(g)	(g/100g BW)	(g)	(g/100g BW)	(g)	(g/100g BW)	(g)	(g/100g BW)
OL	7.72 ± 1.06 ^a	2.51 ± 0.32 ^b	2.02 ± 0.20	0.66 ± 0.96 ^b	0.61 ± 0.11 ^a	0.19 ± 0.03 ^a	0.25 ± 0.13 ^a	0.08 ± 0.03 ^a
OLB	5.71 ± 1.29 ^b	2.56 ± 0.72 ^b	2.15 ± 0.22	0.97 ± 0.20 ^a	0.35 ± 0.16 ^c	0.16 ± 0.07 ^b	0.16 ± 0.06 ^b	0.07 ± 0.03 ^{ab}
OH	6.09 ± 2.92 ^{ab}	2.79 ± 1.04 ^b	2.25 ± 0.27	0.90 ± 0.07 ^a	0.45 ± 0.17 ^b	0.18 ± 0.06 ^b	0.12 ± 0.07 ^b	0.06 ± 0.03 ^{ab}
OHB	6.75 ± 2.08 ^a	2.89 ± 0.37 ^a	2.27 ± 0.45	0.95 ± 0.25 ^a	0.49 ± 0.21 ^{ab}	0.21 ± 0.06 ^a	0.13 ± 0.08 ^b	0.05 ± 0.02 ^b
SL	7.43 ± 1.19 ^a	2.77 ± 0.36 ^b	2.08 ± 0.39	0.78 ± 0.14 ^b	0.63 ± 0.09 ^a	0.24 ± 0.04 ^a	0.28 ± 0.02 ^a	0.11 ± 0.09 ^a
SLB	5.36 ± 0.91 ^b	2.38 ± 0.31 ^b	2.19 ± 0.14	1.02 ± 0.18 ^a	0.27 ± 0.09 ^c	0.12 ± 0.03 ^b	0.10 ± 0.09 ^b	0.06 ± 0.04 ^{ab}
SH	6.00 ± 0.49 ^{ab}	2.51 ± 0.06 ^b	2.10 ± 0.35	0.89 ± 0.20 ^a	0.42 ± 0.15 ^b	0.17 ± 0.05 ^b	0.15 ± 0.06 ^b	0.06 ± 0.03 ^{ab}
SHB	7.53 ± 1.29 ^a	3.31 ± 0.52 ^a	2.26 ± 0.25	0.97 ± 0.21 ^a	0.56 ± 0.14 ^{ab}	0.23 ± 0.04 ^a	0.10 ± 0.05 ^b	0.04 ± 0.02 ^b
Ovx ³⁾	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Feed	**	*	NS	**	**	**	**	*

1) Mean ± Standard deviation

2) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple-range test.

3) Significant factor(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, NS: Not significant), Ovx: Main effect of ovariectomy, Feed: Main effect of Ca level and boron supplement

모든 실험식이와 탈이온수(ultrapure water)는 자유선파방법으로 공급하였고 스테인레스 재질의 사육장에 한 마리씩 분리하여 사육하였다. 식이 섭취량과 체중 변화는 매주 1회 일정시간에 측정하였다(Table 1).

2. 시료의 채취 및 골격의 밀도 측정

사육기간 중 1주, 3주 및 6주에 뇌와 대변을 채취하였다. 채취한 뇌와 변은 즉시 냉동 보관하였다가 분석에 사용하였다.

사육기간이 끝난 후에는 희생시키기 전에 12시간을 끊긴 후 ethyl ether로 마취시킨 후 복개하여 heart puncture에 의해 혈액을 채취하였다. 혈액 채취 직후에 해부하여 간, 신장, 비장, 흉선을 떼어 내어 무게를 측정하였고 골격은 체중의 영향을 받는 뼈로서 대퇴골과 견갑골은 근육, 지방, 인대 등을 제거하여 습중량을 측정하였다. 골격의 부피는 Archimedes의 원리¹³⁾에 의해 측정하였으며, 이후 105±5°C의 건조기에서 일정한 무게가 될 때까지 건조시켜 마른 무게를 재고 골격의 길이는 캘리퍼를 사용하여 재었다. 그 다음 800°C의 전기회화로에서 12시간 회화시켜 회분함량을 측정하고 1N HCl로 녹인 후 각 무기질 함량을 분석하였다.

3. 생화학적 분석

뇌중 hydroxyproline 함량은 Blumenkrantz and Asboe-hansen방법¹⁴⁾에 의해 측정하였다. 먼저 일정량의 뇌에 6N HCl을 넣고 118°C의 오븐에 넣어 12시간 동안 가수분해시킨 후 완전히 증발시킨 다음 증발된 sample에 1ml의 증류수를 넣고 여기에 1M periodic acid와 extraction solution을 첨가하여 2000rpm에서 원심분리시켰다. 그 중 유

기성층(organ phase)을 취하고 여기에 Erhlich reagent를 침가하여 565nm에서 비색정량하였다.

혈청, 뇨, 대변 중 칼슘함량은 모두 AAS(Atomic Absorption Spectrometer)로 422.7nm에서 흡광도를 측정하였다. 회화를 마친 변과 골격은 1N HCl에 녹인 후 각각 일정량의 0.5% La₂O₃ 용액으로 희석하여 흡광도를 측정하였다. 뇨와 혈청의 칼슘도 각각 0.1% La₂O₃ 용액으로 희석하여 분석에 사용하였다.

혈청과 뇨의 크레아틴함량은 Jaffe 반응의 변법¹⁵⁾을 이용

한 kit(영동제약)를 사용하였으며 혈청의 alkaline phosphatase 활성은 Kind King 비색법¹⁶⁾을 이용한 kit(영동제약)을 이용하여 측정하였다.

뇨와 혈청의 인 함량은 인몰리브덴산 색소법¹⁷⁾을 이용한 kit(영동제약)을 이용하였다. 골격과 대변의 인 함량은 Molybdenum blue 흡광도법¹⁸⁾을 이용하여 측정하였다.

4. 자료의 처리

실험결과는 SAS package program을 이용하여 각 실험

Table 4. Daily calcium intake, fecal and urinary Ca excretions and apparent absorption¹⁾

Group	Intake (mg/day)	Fecal excretion (mg/day)	Urinary excretion (mg/day)	Apparent absorption(%)
<u>1 week</u>				
OL	84.63 ± 5.45 ^{b2)}	68.63 ± 15.85 ^b	1.75 ± 1.16	18.96 ± 4.38
OLB	81.88 ± 8.13 ^b	65.51 ± 24.07 ^b	1.53 ± 0.75	20.10 ± 5.38
OH	131.75 ± 7.41 ^a	104.08 ± 19.48 ^a	1.68 ± 0.81	20.90 ± 6.89
OHB	126.74 ± 4.11 ^a	101.40 ± 33.52 ^a	1.67 ± 0.72	20.41 ± 10.40
SL	93.13 ± 5.94 ^b	77.30 ± 34.24 ^b	1.58 ± 0.59	17.10 ± 4.47
SLB	79.99 ± 5.80 ^b	62.99 ± 46.53 ^b	1.37 ± 1.23	21.26 ± 8.92
SH	156.18 ± 2.26 ^a	124.21 ± 21.18 ^a	1.37 ± 0.64	20.58 ± 3.15
SHB	123.43 ± 1.94 ^a	99.66 ± 46.23 ^a	1.61 ± 0.87	21.69 ± 6.61
Ovx ³⁾	NS	NS	NS	NS
Feed	**	**	NS	NS
<u>3 week</u>				
OL	89.95 ± 16.75 ^b	42.25 ± 20.95 ^b	0.49 ± 0.10	52.47 ± 18.81 ^a
OLB	79.07 ± 23.87 ^b	34.46 ± 17.55 ^b	0.40 ± 0.07	54.51 ± 8.14 ^a
OH	168.19 ± 48.93 ^a	101.35 ± 18.16 ^a	0.51 ± 0.22	37.94 ± 9.83 ^b
OHB	190.84 ± 39.25 ^a	109.59 ± 37.08 ^a	0.44 ± 0.12	40.44 ± 6.75 ^b
SL	85.35 ± 22.10 ^b	33.66 ± 11.23 ^b	0.48 ± 0.17	56.09 ± 8.91 ^a
SLB	104.51 ± 55.66 ^b	60.63 ± 24.65 ^b	0.42 ± 0.11	54.04 ± 9.83 ^a
SH	135.40 ± 79.38 ^a	82.90 ± 17.08 ^a	0.50 ± 0.25	40.25 ± 3.94 ^b
SHB	183.37 ± 57.19 ^a	110.56 ± 45.87 ^a	0.43 ± 0.12	39.76 ± 5.38 ^b
Ovx	NS	NS	NS	NS
Feed	**	**	NS	**
<u>6 week</u>				
OL	83.97 ± 13.91 ^b	30.73 ± 9.39 ^c	0.63 ± 0.23	58.84 ± 9.95 ^a
OLB	75.29 ± 21.18 ^b	39.30 ± 7.51 ^b	0.69 ± 0.26	47.70 ± 2.86 ^b
OH	133.52 ± 46.18 ^{ab}	54.42 ± 7.81 ^b	0.64 ± 0.21	48.08 ± 5.34 ^b
OHB	179.27 ± 81.44 ^a	80.54 ± 23.07 ^a	0.69 ± 0.31	49.94 ± 5.21 ^b
SL	83.83 ± 33.36 ^b	28.91 ± 6.42 ^c	0.62 ± 0.18	59.33 ± 7.34 ^a
SLB	101.20 ± 22.30 ^b	44.20 ± 13.24 ^{bc}	0.65 ± 0.64	46.48 ± 1.93 ^b
SH	120.78 ± 65.04 ^{ab}	59.91 ± 10.77 ^b	0.65 ± 0.25	47.93 ± 5.27 ^b
SHB	188.13 ± 87.82 ^a	96.78 ± 62.88 ^a	0.60 ± 0.56	47.47 ± 8.32 ^b
Ovx	NS	NS	NS	NS
Feed	**	**	NS	**

1) Mean ± Standard deviation

2) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple-range test.

3) Significant factor(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, NS: Not significant), Ovx: Main effect of ovariectomy, Feed: Main effect of Ca level and boron supplement

군의 평균과 표준편차를 계산하였다. 난소절제와 식이 내 칼슘 및 봉소 수준에 따른 차이는 General Linear Model procedure에 의해 검증하였으며, Duncan's multiple range test를 이용하여 $\alpha=0.05$ 수준에서 각 군간의 차이를 검증하였다.

실험결과 및 고찰

1. 식이 섭취량, 체중 증가량 및 장기 무게

난소절제 및 칼슘과 봉소급여 수준에 따른 체중의 변화와 식이섭취량은 Table 2와 같다. 총 식이섭취량은 난소절제와 식이내 칼슘 및 봉소수준에 따른 각 군간의 유의적인 차이가 없었다. 난소절제 이후 측정한 체중은 난소를 절제하지 않은 군에 비해 난소를 절제한 군에서 유의적으로 높았다. 이것은 에스트로겐의 분비 감소로 인한 체지방 축적 때문이라 생각된다.¹⁹⁾ 그러나 체중증가량은 저칼슘 섭취군이 다른 군들에 비해 점차적으로 증가하였다.

Table 3과 같이 장기의 무게는 간, 비장, 흉선의 무게가 저칼슘 섭취군에서 가장 높게 나타났다. 체중 100g당 간의 무게는 고칼슘식이에 봉소를 섭취했을 때 높은 경향을 보였으며, 체중 100g당 신장의 무게는 저칼슘식이군이 다른 군들에 비해 낮은 것으로 관찰되었으며 난소절제의 유무에 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 비장과 흉선의 경우에는 식이의 영향을 받아 저칼슘식이군이 높은 것으로 측정되었다(Table 2, 3).

2. 칼슘 대사

실험식이를 공급한지 1주, 3주, 그리고 6주에 걸쳐 측정한 칼슘 섭취량, 대변 칼슘 배설량, 뇌 칼슘 배설량, 칼슘 흡

수율을 Table 4에 나타내었다.

식이 칼슘 섭취량은 1주, 3주, 6주 모두 난소절제의 유무와 상관없이 식이 내 칼슘과 봉소수준에 따른 유의적인 차이를 보였다. 1주에는 고칼슘섭취군이 다른 군들에 비해 식이 칼슘섭취량이 높았으며 3주째에도 고칼슘섭취군과 고칼슘 + 봉소보충군의 섭취량이 높았다. 6주째에는 고칼슘 + 봉소보충군의 섭취량이 가장 높은 것으로 나타났다.

대변 칼슘 배설량은 1주, 3주, 6주 모두 난소절제의 유무에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 식이 내 칼슘 및 봉소 수준에 따른 영향을 받았다. 1주, 3주 째에는 고칼슘군과 고칼슘 + 봉소보충군의 칼슘배설량이 높았으며, 6주 째에는 고칼슘 + 봉소보충군의 칼슘배설량이 높았다. 칼슘 배설량을 살펴보았을 때 1주에 비해 3주, 6주째에 난소절제군과 Sham군의 배설량이 감소되는 것을 볼 수 있었다. 고칼슘식이군 보다 고칼슘 + 봉소보충군의 칼슘배설량이 높은 것으로 보아 봉소에 따른 영향을 받지 않은 것으로 보여진다.

뇌 칼슘 배설량은 난소절제와 식이 내 칼슘 및 봉소 수준에 따른 유의적 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 하지만 3주째에 OH군과 OHB군을 비교해 보면 OHB군의 뇌칼슘 배설량이 OH군의 배설량에 비해 낮았음을 관찰할 수 있었다. 이것으로 볼 때 봉소가 난소절제시 고칼슘식이를 섭취했을 경우 뇌칼슘배설량에 있어 일정부분 영향을 미친 것으로 보여진다.

Beattie 등¹⁰⁾은 저봉소식이를 섭취한 폐경기 여성에게 있어 뇌로 배출되는 칼슘배설량이 높았다고 보고했고 저봉소식이를 섭취함으로 인해 뇌로 배설되는 칼슘과 마그네슘의 양이 증가되었다고 Bock 등²⁰⁾이 보고했다. 본 연구와 이들 연구결과들로 볼 때, 봉소는 뇌칼슘 배설량을 감소시키는

Table 5. Ca, P, creatinine content and alkaline phosphatase activity in serum¹¹⁾

Group	Alkaline phosphate (KA)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
OL	18.54 ± 7.31	8.91 ± 1.07	4.59 ± 0.82 ^{b2)}	2.21 ± 2.02
OLB	16.70 ± 8.25	7.18 ± 1.36	9.78 ± 5.36 ^a	2.54 ± 0.45
OH	19.50 ± 8.89	8.16 ± 1.62	6.36 ± 2.13 ^b	1.94 ± 2.53
OHB	15.97 ± 13.09	8.20 ± 1.48	6.82 ± 4.49 ^b	2.07 ± 0.57
SL	18.78 ± 9.35	8.04 ± 1.21	7.16 ± 5.53 ^b	2.01 ± 2.55
SLB	16.52 ± 8.72	7.50 ± 1.34	11.21 ± 4.65 ^a	2.03 ± 5.11
SH	15.19 ± 5.41	8.01 ± 1.61	7.98 ± 3.79 ^b	1.81 ± 2.30
SHB	16.81 ± 4.88	8.43 ± 1.14	5.59 ± 1.66 ^b	2.29 ± 3.43
Ovx ³⁾	NS	NS	NS	NS
Feed	NS	NS	*	NS

1) Mean ± standard deviation

2) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple-range test.

3) Significant factor(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, NS: Not significant), Ovx: Main effect of ovariectomy, Feed: Main effect of Ca level and boron supplement

기능이 있을 것으로 사료된다.

칼슘 흡수율은 3주째부터 식이 내 칼슘 및 봉소수준에 따른 영향을 받아 현격히 증가한 것으로 나타났으며 고칼슘군과 고칼슘+봉소보충군에 비해 저칼슘군과 저칼슘+봉소보충군의 흡수율이 높았다. 또한 6주째에는 저칼슘군의 칼슘 흡수율이 가장 높은 것으로 판찰되었다. 주목해야 할 부분은 3주째에 저칼슘군 보다 저칼슘+봉소보충군이 칼슘 흡수율이 높았다는 것이다. 이것은 저칼슘 식이에 봉소를 보충해 줌으로써 칼슘 흡수율이 증가될 수 있다는 것을 보여주는 것이다. Brown 등²¹⁾의 연구에서도 봉소보충이 칼슘 흡수를 증가시킨 것으로 보고된 바 있다(Table 4).

3. 혈청 칼슘, Alkaline phosphatase, 인, 크레아티닌 수준

사육기간이 끝난 후 측정한 혈청 칼슘, 혈청 alkaline phosphatase(ALP), 인, 크레아티닌 수준은 Table 5에 제시하였다.

혈청 alkaline phosphatase는 난소절제와 식이에 따른 각 군간의 유의적인 차이가 없었다. 난소절제 훈취에게 있어 식이 칼슘 수준이 골격대사에 미치는 영향을 연구한 최의 연구²²⁾에서도 혈청 alkaline phosphatase의 활성이 식이 칼슘 수준에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 성장기에 있어 식이 봉소가 골격대사에 미치는 영향을 보고한 연구²³⁾에서도 각 군간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 봉소가 alkaline phosphatase 활성에 영향을 미치지 않았다는 결과는 Nielsen의 연구에서도 찾아볼 수 있다.²³⁾

혈청 칼슘함량에 있어서도 alkaline phosphatase와 마찬가지로 난소절제와 식이에 따른 영향을 받지 않은 것으로 판찰되었다. 위의 결과를 놓고 보았을 때 봉소가 혈청내 골격대사와 관련된 인자에 영향을 미치지 못했다. 혈청 Cr-creatinine 수준은 식이와 난소절제 유무에 영향을 받지 않았다(Table 5).

4. Hydroxyproline과 Urinary creatinine

실험기간 동안 1주, 3주, 6주 3차례에 걸쳐 측정한 뇌 hydroxyproline과 뇌 creatinine 배설량은 Table 6에 제시하였다.

1주에 hydroxyproline은 난소절제나 식이의 영향을 받지 않았으나, 3주, 6주째에는 식이 내 칼슘 및 봉소수준에 따른 유의적인 차이를 보였다. 3주째에는 저칼슘에 봉소를 보충한군이 뇌 hydroxyproline 배설량이 높은 것으로 나타났으며, 6주째에는 저칼슘+봉소보충군과 고칼슘식이군에서 배설량이 높았다. 보통 hydroxyproline은 주로 골격 및 연조직에 존재하는 콜라겐의 주성분으로 콜라겐이 분해되면 뇌 내 hydroxyproline 배설량이 증가하기 때문에 골격

용출 지표로 이용되고 있으며 난소를 절제한 동물에서 높은 것으로 알려져 있다.¹⁹⁾

그런데 본 연구에서는 6주째 뇌에서 난소절제군 뿐만 아니라 Sham군에서도 저칼슘+봉소보충군에서 hydroxyproline 배설량이 높은 반면 고칼슘+봉소보충군에서는 낮아서 hydroxyproline 배설량에 봉소보충이 미치는 영향이 식이칼슘 섭취량에 따라 달라짐을 볼 수 있었다. 즉 식이 칼슘 섭취량이 높을 때 골격용출을 방지하는 봉소보충의 효

Table 6. Hydroxyproline and creatinine in urine¹⁾

Group	Hydroxyproline (mg/dl)	Urinary creatinine (mg/day)
1 week		
OL	2.34 ± 1.61	6.25 ± 2.65
OLB	2.50 ± 1.38	6.23 ± 5.11
OH	2.46 ± 1.36	6.03 ± 3.12
OHB	2.99 ± 1.63	5.97 ± 6.01
SL	2.43 ± 1.60	6.04 ± 6.32
SLB	2.15 ± 0.75	5.87 ± 3.54
SH	2.96 ± 0.58	6.17 ± 6.11
SHB	2.53 ± 1.78	6.13 ± 2.77
Ovx ³⁾	NS	NS
Feed	NS	NS
3 week		
OL	1.54 ± 0.85 ^{ab}	6.98 ± 1.85
OLB	2.18 ± 0.94 ^a	6.89 ± 1.77
OH	1.25 ± 0.48 ^b	6.59 ± 2.49
OHB	1.49 ± 0.51 ^{ab}	7.05 ± 1.80
SL	1.52 ± 0.98 ^{ab}	6.96 ± 1.73
SLB	2.15 ± 0.92 ^a	6.90 ± 2.54
SH	1.43 ± 0.49 ^b	7.03 ± 1.90
SHB	1.58 ± 0.70 ^{ab}	7.15 ± 1.81
Ovx	NS	NS
Feed	*	NS
6 week		
OL	1.42 ± 0.40 ^{c2)}	7.84 ± 3.15 ^a
OLB	3.72 ± 0.62 ^a	4.46 ± 2.38 ^b
OH	3.08 ± 4.11 ^a	5.09 ± 5.41 ^b
OHB	2.38 ± 0.45 ^b	6.20 ± 4.50 ^{ab}
SL	1.72 ± 0.39 ^c	6.85 ± 6.01 ^a
SLB	3.83 ± 1.09 ^a	5.47 ± 2.53 ^b
SH	3.49 ± 1.47 ^a	6.01 ± 2.33 ^b
SHB	1.99 ± 1.23 ^b	6.21 ± 3.04 ^{ab}
Ovx	NS	NS
Feed	**	*

1) Mean ± standard deviation

2) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple-range test.

3) Significant factor(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, NS: Not significant), Ovx: Main effect of ovariectomy, Feed: Main effect of Ca level and boron supplement

Table 7. Length, wet weight, dry weight, density, Ca, P contents, Ca/weight and P/Ash of femur and scapular¹⁾

Group	Length (mm)	Wet weight (mg)	Dry weight (mg)	Density (mg/cm ³)	Ca (mg)	P (mg)	Ca/weight (%)	P/Ash (%)
<u>Femur</u>								
OL	36.38 ± 0.69	741.25 ± 41.77 ^a	562.13 ± 26.67 ^a	3.00 ± 0.27 ^b	209.33 ± 4.05 ^a	67.39 ± 5.96 ^a	38.03 ± 0.94	18.36 ± 1.76
OLB	35.62 ± 0.79	616.00 ± 56.67 ^b	431.20 ± 34.54 ^b	3.78 ± 0.29 ^a	165.63 ± 11.23 ^b	54.52 ± 4.90 ^b	38.12 ± 1.51	19.31 ± 0.90
OH	35.86 ± 0.39	692.23 ± 72.30 ^b	477.50 ± 31.32 ^b	3.20 ± 0.20 ^a	176.11 ± 9.54 ^b	55.85 ± 4.79 ^b	37.26 ± 2.86	18.60 ± 0.85
OHB	35.64 ± 0.61	667.57 ± 49.80 ^b	467.29 ± 36.73 ^b	3.46 ± 0.38 ^a	179.99 ± 13.84 ^b	56.00 ± 3.94 ^b	38.25 ± 1.37	19.06 ± 0.96
SL	35.80 ± 0.78	698.33 ± 59.11 ^a	506.89 ± 55.55 ^a	3.11 ± 0.19 ^b	201.38 ± 19.08 ^a	63.90 ± 8.04 ^a	39.01 ± 3.21	19.80 ± 1.25
SLB	35.60 ± 0.70	660.00 ± 63.58 ^b	459.60 ± 49.61 ^b	3.52 ± 0.21 ^a	176.96 ± 15.64 ^b	54.97 ± 5.96 ^b	38.40 ± 1.63	18.56 ± 0.34
SH	35.30 ± 0.42	624.20 ± 34.49 ^b	455.00 ± 30.75 ^b	3.27 ± 0.31 ^a	174.75 ± 13.25 ^b	61.95 ± 5.92 ^b	38.07 ± 1.33	20.83 ± 2.76
SHB	35.55 ± 0.51	673.13 ± 34.57 ^b	469.75 ± 21.68 ^b	3.29 ± 0.21 ^a	176.89 ± 10.52 ^b	56.17 ± 3.40 ^b	37.98 ± 1.08	18.56 ± 0.83
Ovx ³⁾	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Feed	NS	**	**	*	**	**	NS	NS
<u>Scapular</u>								
OL	28.80 ± 1.33 ^a	210.75 ± 28.17 ^a	160.50 ± 15.55 ^a	2.89 ± 0.56	54.15 ± 2.73 ^a	18.86 ± 3.03 ^a	31.28 ± 3.51 ^b	18.46 ± 0.95 ^a
OLB	28.06 ± 1.04 ^b	174.80 ± 15.80 ^b	143.60 ± 10.01 ^b	3.02 ± 0.30	47.50 ± 4.24 ^c	13.75 ± 6.51 ^b	35.04 ± 2.63 ^a	14.66 ± 6.84 ^b
OH	28.07 ± 0.41 ^b	208.67 ± 39.30 ^{ab}	148.35 ± 14.28 ^b	2.82 ± 0.14	50.19 ± 3.23 ^b	17.58 ± 1.16 ^b	32.11 ± 1.74 ^b	18.54 ± 1.01 ^{ab}
OHB	28.43 ± 0.99 ^{ab}	194.57 ± 29.42 ^{ab}	149.71 ± 10.31 ^b	2.96 ± 0.13	49.84 ± 2.00 ^{bc}	15.02 ± 5.73 ^b	32.00 ± 1.13 ^b	17.07 ± 6.71 ^{ab}
SL	28.78 ± 0.58 ^a	210.55 ± 20.54 ^a	167.78 ± 11.07 ^a	3.06 ± 0.47	51.11 ± 3.04 ^a	18.44 ± 2.69 ^a	32.03 ± 4.15 ^b	19.46 ± 2.68 ^a
SLB	27.68 ± 0.74 ^b	184.20 ± 27.84 ^b	145.00 ± 15.94 ^b	3.04 ± 0.19	47.69 ± 2.83 ^c	13.40 ± 6.25 ^b	34.88 ± 2.10 ^a	15.29 ± 6.96 ^b
SH	27.88 ± 0.79 ^b	196.60 ± 11.04 ^{ab}	146.40 ± 10.92 ^b	3.09 ± 2.19	48.89 ± 1.91 ^b	15.39 ± 2.38 ^b	31.93 ± 1.49 ^b	16.77 ± 2.25 ^{ab}
SHB	28.34 ± 0.45 ^{ab}	202.50 ± 15.83 ^{ab}	153.00 ± 11.95 ^b	3.05 ± 0.32	48.76 ± 2.00 ^{bc}	14.59 ± 5.21 ^b	32.71 ± 0.99 ^b	17.04 ± 3.04 ^{ab}
Ovx	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Feed	*	*	**	NS	**	*	*	*

1) Mean ± Standard deviation

2) Values with a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncans's multiple-range test.3) Significant factor*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, NS: Not significant, Ovx: Main effect of ovariectomy, Feed: Main effect of Ca level and boron supplement

과가 나타나는 것으로 사료된다.

Urinary creatinine은 hydroxyproline 배설량과 마찬가지로 1, 3주째에는 난소절제와 식이에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다가 6주째에는 식이의 영향을 받았다. 저칼슘 식이군에서는 봉소를 섭취했을 때 높은 creatinine 배설량이 적었으며 고칼슘 식이군에서는 봉소보충에 따른 유의적인 차이가 없었다. 이러한 결과를 보아 저칼슘식이에 있어 봉소를 보충해 줌으로써 신장의 기능에 봉소가 부담을 주지 않는다는 것을 알 수 있었다(Table 6).

5. 골격 구성 성분

6주간의 사육기간이 끝난 후 채취한 대퇴골, 견갑골의 구성성분에 대한 결과는 Table 7에 제시하였다.

대퇴골의 길이는 난소절제의 유무와 식이의 영향을 받지 않았으며 습중량과 건중량에 있어서는 저칼슘식이군이 높은 것으로 측정되었다. 대퇴골의 골밀도는 저칼슘식이에 봉소를 보충해 주었을 때 골밀도가 높은 것을 관찰할 수 있었는데 이것은 봉소보충이 골격의 무기질화에 영향을 미친 것으로 보여진다.

견갑골의 길이, 습중량 그리고 건중량은 식이 내 칼슘 및 봉소보충의 영향을 받아 저칼슘식이군이 높은 것으로 나타났다. 견갑골의 골밀도에 있어서는 난소절제와 식이의 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, 난소절제군에서 저칼슘군 보다 저칼슘 + 봉소보충군의 골밀도가 높은 경향을 보였다.

골격내 칼슘함량은 대퇴골, 견갑골 모두 난소절제의 유무와 상관없이 식이내 칼슘 및 봉소수준에 영향을 받은 것으로 관찰되었다. 대퇴골의 칼슘함량은 저칼슘식이군이 다른 군들에 비해 높았으며, 견갑골은 저칼슘식이를 섭취한 군에서 칼슘함량과 인함량이 높은 것으로 관찰되었다. 견갑골에서 골격무게에 대한 칼슘함량은 저칼슘식이에 봉소를 보충해주었을 때 그 비율이 높은 것을 볼 수 있었다. 이것은 저칼슘식이를 할 경우 봉소보충이 견갑골 내 칼슘의 축적에 영향을 미친 것으로 보여진다.

Table 6에서 높은 hydroxyproline 배설량은 고칼슘 + 봉소보충군이 저칼슘 + 봉소보충군 보다 낮아 골격용출 방지를 위해서는 봉소보충 외에 칼슘섭취량이 중요함을 볼 수 있었다. 그런데 견갑골의 골격무게에 대한 칼슘 함량은 저칼슘 + 봉소보충군에서 높아 골격형성과 분해에 봉소가 미치는 영향과 그 작용기전이 다른 가능성을 보여주었다. 이것은 후속연구를 통해 그 기전을 규명할 수 있을 것으로 사료된다(Table 7).

요약 및 결론

본 연구는 폐경기 이후 여성에게 있어 칼슘과 봉소 수준이 체내 칼슘 대사와 골격대사에 미치는 영향을 알아보기 위해 계획되었다. 이를 위해 체중 200g인 6주령의 암컷 흰쥐를 이용하여 난소절제 시술을 통해 폐경을 인위적으로 유도한 후 저칼슘(0.2%), 저칼슘 + 봉소보충(100μg/g diet), 고칼슘(1.2%), 고칼슘 + 봉소보충 식이를 주어 6주간 사육하였다.

식이섭취량은 각 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 체중증가량은 저칼슘 섭취군에서 가장 커다. 장기를 체중 100g에 대한 비율로 나타냈을 때는 고칼슘에 봉소를 섭취했을 때 간의 무게가 가장 무거운 것으로 나타났으며, 신장은 식이 내 칼슘 및 봉소 수준에 영향을 받아 저칼슘식이군이 가장 낮은 것으로 관찰되었다.

칼슘대사에 있어서는 대변으로 배설되는 칼슘의 양이 사육한지 3주째에 첫 주에 비해 배설량이 감소되었으며 고칼슘군 보다 고칼슘 + 봉소보충군의 칼슘배설량이 높았다. 그리고 6주째에는 봉소를 보충한군이 그렇지 않은 군에 비해 배설량이 높은 것으로 관찰되었다. 칼슘흡수율에 있어서도 3주를 기점으로 현격히 증가하는 것을 볼 수 있었다. 혈청 alkaline phosphatase의 활성과 칼슘함량 그리고 크레아티닌함량은 난소절제와 식이에 따른 유의적인 차이가 없었다. Hydroxyproline의 배설량은 마지막주에 저칼슘 + 봉소보충군과 고칼슘 + 봉소보충군을 비교했을 때 고칼슘 + 봉소보충군의 배설량이 낮았는데 이것은 칼슘수준에 따른 봉소의 영향력이 달라질 수 있음을 보여주는 것이라 사료된다. 대퇴골의 골밀도는 저칼슘식이에 봉소를 보충해주었을 때 저칼슘식이군에 비해 높은 것으로 관찰되었으며 견갑골의 무게에 대한 칼슘함량비 또한 저칼슘식이에 봉소를 보충해 주었을 때 유의적으로 높았다.

이와 같이 봉소를 보충해 주었을 때 골격형성의 지표라 할 수 있는 alkaline phosphatase의 활성을 높이거나 칼슘의 흡수율을 현격히 상승시키지는 못했다. 그러나 골격의 무기질화에 있어서 저칼슘식이에 봉소를 보충해주었을 때 대퇴골의 골밀도가 높았고 견갑골의 무게에 대한 칼슘함량비가 유의적으로 높았다는 부분은 폐경기 이후 여성에게 있어 칼슘뿐만 아니라 봉소의 보충으로 골격의 무기질화에 바람직한 영향을 나타낼 수 있음을 보여주는 것으로 볼 수 있다. 본 연구에서 골격 형성과 분해에서 칼슘섭취 수준에 따라 봉소가 미치는 영향이 다르게 나타났으므로 이 부분의

기전을 규명하기 위한 후속연구가 이루어지면 붕소의 골격 대사에 미치는 영향이 좀더 확실해지리라 기대된다.

Literature cited

- 1) Butterwick L, de Oude N, Raymond K. Safety assessment of boron in aquatic and terrestrial environments. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 17: 339-371, 1989
- 2) Mohammad RN. The role of boron in nutrition and metabolism. *Progress in Food and Nutrition Science* 17: 331-349, 1993
- 3) Nielsen Forrest H. Nutrition requirements for boron, silicon, vanadium, nickel, and arsenic: current knowledge and speculation. *FASEB J* 5: 2661-2667, 1991
- 4) Nielsen Forrest H, Hunt Curtiss D, Mullen Loanne M, Hunt Janet R. Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. *FASEB J* 1: 394-397, 1987
- 5) Nielsen Forrest H. Facts and Fallacies about Boron. *Nutrition Today* 92: 6-12, 1992
- 6) Nielsen Forrest H. Boron-An Overlooked element of potential nutritional importance. *Nutrition Today* 23: 4-7, 1988
- 7) Hegsted Maren, Keenam MJ, Siver F, Wozniak P. Effect of boron on vitamin D deficient rats. *Biological Trace Element Research* 28: 243-255, 1991
- 8) Nielsen FH, Mullen LM, Gallagher SK. Effect of boron depletion and repletion on blood indicators of calcium status in human fed ad magnesium-low diet. *Journal of Trace Element Experimental Medicine* 3: 45-54, 1990
- 9) Nilesen FH, Shuler TR, Zimmerman TJ, Uthus EO. Magnesium and methionine deprivation affect the response of rats to boron deprivation. *Biological Trace Element Research* 17: 91-107, 1988
- 10) Beattie John H, Peace HS. The influence of a low-boron diet and boron supplementation on bone, major mineral and sex steroid metabolism in postmenopausal women. *British Journal of Nutrition* 69: 871-884, 1993
- 11) Chung HK, Lee HS, Kim JY. Effect of boron supplementation on Ca and bone metabolism in rats during growth. *Korean J Nutr* 31(6): 1039-1048, 1998
- 12) The American Institute of Nutrition. Report of the American Institute of Nutrition. Ad Hoc Committee on standards for Nutritional studies. *J Nutr* 107: 1340-1348, 1977
- 13) Cho SY, Jang YA, Lee HS, Kim WY. The effect of dietary protein level on the Ca and bone metabolism in ovariectomized rat. *Korean J Nutr* 26: 915-924, 1993
- 14) Horowitz M, Need AJ, Philcox JC, Nordin BEC. Effect of calcium supplementation on urinary hydroxyproline in osteoporotic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 39: 857-959, 1984
- 15) Bonsnes RW, Taussky HH. On the colorimetric determination of creatinine by the jaffe reaction. *J Biol Chem* 158: 581-591, 1945
- 16) Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolyzed phenol with amino antipyrine. *Am J Clin Pathol* 24: 322-326, 1954
- 17) Helrich K. Official Method of Analysis of the Association of official analytical chemists, pp.1112-1113, 1990
- 18) Helrich K. Official Method of Analysis of the Association of official analytical chemists, pp.56, 1990
- 19) Kim KH, Choi MJ, Lee IK. The effect of dietary calcium level on bone mineral density and bone mineral content in ovariectomized femal rats. *Korean J Nutr* 29(6): 590-596, 1996
- 20) Bock MA, Powey M, Ortiz M. Fecal and urinary excretion of calcium, magnesium and manganese in female rats fed high and low levels of calcium and boron. *FASEB J* 4: A520, 1990
- 21) Brown TF, McCormick ME, Morris DR. Effect of dietary boron on mineral balance in sheep. *Nutrition Research* 9: 503-512, 1989
- 22) Kim WY, Choi HK, Lee HS. The effect of dietary Ca levels on Ca and skeletal metabolism in ovariectomized rats of different ages. *Korean J Nutr* 31(4): 716-728, 1998
- 23) Nielsen FH, Shuler TR. Studies of the interaction between boron and calcium, and its modification by magnesium and potassium, in rats. *Biological Trace Element Research* 35: 225-237, 1992