

천연칼슘소재의 이온화 특성 및 *In vitro* 칼슘 이용률

장세영 · 정용진[†]

계명대학교 식품가공학과 및 (주)KMF

Calcium Ionization Characteristics and *In vitro* Bioavailability Derived from Natural Calcium Sources

Se-Young Jang and Yong-Jin Jeong[†]

Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University and KMF Co., Ltd., Daegu 704-701, Korea

Abstract

This study examined the characteristics of ionized calcium and *in vitro* calcium bioavailability rate of calcium from four natural sources: shellfish shell, oyster shell, starfish, egg shell. The levels of dissolved calcium and calcium ions increased at different concentrations of natural calcium (up to 8.0% (w/v)). However, there were insignificant differences in the levels of dissolved calcium and calcium ions between samples at calcium concentrations above 8.0% (w/v). In addition, no significant differences were observed (depending on the calcium source and concentration) with an ionization yield of about 90%. The temperature of the solutions also had little influence on the ionization of calcium. The highest calcium ion content was observed when solutions were left to dissolve calcium for 18 hours. The highest *in vitro* calcium bioavailability rate achieved among the different calcium solutions was BS (67.3%), with overall bioavailability rates about two times higher than the rates observed in commercially sold calcium supplements and natural calcium. In addition, the *in vitro* calcium bioavailability rate for ionized calcium in market milk, soy milk, and orange juice was more than twice as high as calcium carbonate. Overall, we expect a high and diverse bioavailability of ionized calcium from natural resources.

Key words: calcium sources, ionization, *in vitro* calcium bioavailability, calcium ion

서 론

국내에서 상용되고 있는 칼슘제는 탄산칼슘, 젖산칼슘 및 구연산칼슘 등의 화학적 합성품과 해조칼슘과 유청칼슘 등의 천연칼슘제가 대표적이며, 전체 칼슘 시장의 80% 이상을 점유하고 있다. 최근 웰빙(well-being) 영향과 소비자의 인지변화로 화학적 합성품의 기피현상으로 천연칼슘소재에 대한 소비자 수요가 증가하고 있다(1). 국내에서 천연칼슘소재로 활용 가능한 패각, 굴각, 불가사리 및 난각류가 매년 막대한 양이 수거되고 있으나, 활용도가 매우 낮고 막대한 처리비용 및 환경오염 등이 발생하여 활용방안이 절실히 필요한 실정이다(2-4). 현재까지 패각을 이용하여 고급 침강성 탄산칼슘의 제조(5), 난각을 이용한 난각칼슘분 제조(3) 및 불가사리를 이용한 인산칼슘 제조(6)에 관한 연구가 보고되었으나 불용성의 문제점으로 인해 활용도가 낮아서 상용화가 어려운 실정이다. 불용성 천연칼슘제의 단점을 보완하기 위해 수용화 기술을 중심으로 갑오징어 갑(7,8), 타조알(9,10) 및 다슬기(11)를 이용하여 수용성 유기산 칼슘제 제조 방법에 관한 연구가 보고되었다. 하지만 천연칼슘소재를 이

용한 유기산 칼슘제 제조과정에서 고온의 소성공정을 거쳐야 할 뿐 아니라 불순물의 함량이 높아(12) 대부분 화학적 탄산칼슘을 이용하여 유기산 칼슘제를 제조하고 있는 실정이다.

현대인들의 칼슘 섭취량은 증가하였음에도 불구하고 여전히 칼슘 부족증이 심각한 것으로 나타났다. 부족한 칼슘을 보충하기 위해서는 칼슘급원식품의 섭취를 늘리거나, 칼슘 보충제 또는 칼슘이 강화된 가공식품을 섭취하는 방법 등이 있다(13). 그러나 시판되는 칼슘의 대부분은 불용성으로 섭취 후 체내에서 대부분 흡수가 되지 않고 그 흡수율이 섭취량에 비해 현저히 낮아서(14), 칼슘 섭취는 양적인 면도 중요하지만 질적 측면에서 섭취된 후 체내 이용도가 높아야 한다(15). 음식물이나 칼슘제로 섭취한 칼슘화합물이 체내로 흡수되기 위해서는 먼저 위장 내에서 위산에 의해 용해되고, 소장 내 점막세포를 통과할 때 반드시 가용화 형태로 존재해야 흡수된다(16). 최근 유기산 칼슘제 중 구연산칼슘과 젖산칼슘이 용해도가 높은 특성으로 이온화 칼슘소재로 널리 사용되고 있는 실정이다. 하지만 Sheikh 등(17)은 소장에서 칼슘흡수율을 조사한 결과 탄산칼슘이 유기산 칼슘제보다 높

[†]Corresponding author. E-mail: yjjeong@kmu.ac.kr
Phone: 82-53-580-5557, Fax: 82-53-580-6477

있다고 보고한 바 있으며, Heaney 등(18)은 구연산칼슘이 탄산칼슘과 제3인산칼슘에 비해서 용해도는 매우 높으나 흡수율은 낮게 나타나 단순히 용해도만을 높인 유기산 칼슘제로는 칼슘의 흡수율을 증진시킬 수 없다고 보고하였다. Smith 등(19)은 칼슘의 흡수율이 섭취한 칼슘의 체내 붕괴 속도와 용해도에 영향을 받게 되고 칼슘의 붕괴 속도와 용해 속도가 빠르고 이온화 정도가 높을수록 그 흡수율이 높아진다고 예측하였으며, 칼슘 용해에 따른 칼슘의 이온화 정도가 칼슘 흡수율에 미치는 영향이 매우 높을 것으로 예상하고 있지만 이에 대한 연구는 미미한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 국내에서 생산되는 대표적 천연칼슘소재 4종을 이용하여 체내 흡수율이 높은 천연칼슘으로 개발하기 위하여 칼슘소재의 이온화 특성 및 *in vitro* 칼슘 이용률을 비교 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 천연칼슘소재 패각(칼슘함량 38% 이상)과 굴각(칼슘함량 38% 이상)은 수산시장에서 수거하였으며, 불가사리(칼슘함량 35% 이상)는 (주)삼광약업(Seoul, Korea)에서, 난각 분말(칼슘함량 30.0% 이상)은 (주)풍림산업(Seoul, Korea)에서 각각 구입하여 사용하였다. 패각, 굴각 및 불가사리는 분쇄기(MC-811C, Samsung Co., Ltd., Seoul, Korea)로 분쇄한 후 standard testing sieve(No. 18, Chung Gye Sang Gong Sa, Seoul, Korea)를 이용하여 1 mm 이하의 분말을 제조하여 사용하였다. 시판되는 화학적 합성품인 탄산칼슘(칼슘함량 38% 이상, Sankyo Seifun Co., Ltd., Tokyo, Japan), 초산칼슘(칼슘함량 22% 이상, Duksan Pure Chemical Co., Ltd., Seoul, Korea), 구연산칼슘(칼슘함량 21% 이상, Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan) 및 젯산칼슘(칼슘함량 12% 이상, Duksan Pure Chemical Co.)은 extra pure 등급을 사용하였다. 우유, 두유, 오렌지 주스 및 양조식초(총산 6% 이상)는 할인매장에서 구입하여 10°C 이하에서 보관하면서 사용하였다. *In vitro* 칼슘 이용률에 사용된 pepsin(P-7000, from porcine stomach Mucosa, EC 3.4.23.1), pancreatin(P-1750, from porcine pancreas) 및 bile extract(B8631 porcine)는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 투석막(12,000~14,000 Da pore size, flat width 25 mm, diameter 16 mm, Spectrum Laboratories Inc., Fort Lauderdale, FL, USA)은 Spectra/Por[®] 4를 사용하였다.

천연칼슘소재의 이온화 특성

천연칼슘소재인 패각(A), 굴각(B), 불가사리(C) 및 난각(D)의 이온화 특성을 조사하기 위하여 양조식초(총산 6% 이상)에 칼슘소재를 각각 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 및 10.0%(w/v) 첨가하여 30°C에서 200 rpm으로 18시간 용해하였다. 용해온

도를 20, 30 및 40°C로 하고 칼슘소재를 8%(w/v)씩 첨가하여 온도에 따른 영향을 조사하였으며, 용해시간은 3, 6, 9, 12, 15 및 18시간으로 하여 영향을 조사하였다. 천연칼슘소재를 용해한 후 여과지(Whatman No. 3, Whatman International Ltd., Maidstone, UK)로 여과하여 패각 칼슘액(AS, shellfish shell calcium solution), 굴각 칼슘액(BS, oyster shell calcium solution), 불가사리 칼슘액(CS, starfish calcium solution) 및 난각 칼슘액(DS, egg shell calcium solution) 4종을 각각 제조하였다. 이온화 특성으로 칼슘용해량, 칼슘이온함량 및 이온화율을 조사하였으며(용해도도 칼슘용해량과 칼슘이온함량과 비례하여 제외함), 이온화 특성의 이온화율은 용해된 칼슘에서 이온화 된 정도를 백분율(%)로 환산하여 나타내었다.

시판 칼슘제, 천연칼슘소재 및 칼슘액의 *in vitro* 칼슘 이용률

시판 칼슘제(탄산칼슘, 젯산칼슘, 구연산칼슘 및 초산칼슘) 4종과 천연칼슘소재(패각, 굴각, 불가사리 및 난각) 4종은 증류수에 각각 1%(w/v) 첨가하여 칼슘 현탁액을 제조하였다. 천연칼슘소재로 제조한 칼슘액 4종은 증류수에 식품공전 규격의 고칼슘 표시 기준(칼슘함량 105 mg% 이상)(20)으로 하여 각각 5%(v/v) 첨가하여 *in vitro* 칼슘 이용률을 분석하였다.

우유, 두유 및 오렌지 주스의 함유 칼슘의 *in vitro* 이용률 현재 우유, 두유, 오렌지 주스에 사용되는 탄산칼슘의 문제점을 산업적으로 대체하기 위하여 시판 우유, 두유 및 오렌지 주스에 천연칼슘소재 4종으로 제조한 칼슘액은 6%(w/w), 탄산칼슘은 0.275%(w/w)를 각각 첨가하여 식품공전 규격의 고칼슘 표시 기준(칼슘함량 105 mg% 이상)(20)으로 조정하였으며, 대조구는 시판 고칼슘 우유(칼슘함량 235 mg%), 고칼슘 두유(칼슘함량 220 mg%) 및 고칼슘 오렌지 주스(칼슘함량 125 mg%)로 표기된 제품을 구입하여 비교하였다.

In vitro 칼슘 이용률 분석

In vitro 칼슘 이용률은 Miller 등(21)의 방법으로 실험하였다. Pepsin 용액은 0.1 N HCl에 pepsin 16%를 첨가하여 제조하였으며, pancreatin-bile extract mixture는 0.1 M NaHCO₃에 pancreatin 0.4%와 bile extract 2.5%를 첨가하여 제조하였다. Pepsin-HCl digestion에서는 6 N HCl로 시료의 pH를 2로 보정한 후 pepsin 용액을 0.5%(w/w) 첨가하여 37°C 진탕수용조에서 2시간 소화시켰다. 물 25 mL와 0.5 N NaHCO₃를 넣은 투석막(Spectra/Por[®] 4, Spectrum Laboratories Inc.)을 시료가 담긴 비커에 넣고 37°C에서 pH 5가 되도록 진탕시킨 후 pancreatin-bile extract mixture를 5 mL 첨가하고 2시간 더 진탕시켰다. 이때 0.5 N NaHCO₃ 첨가량은 시료에 pancreatin-bile extract mixture를 5 mL 첨가한 후 0.5 N KOH로 pH를 7.5로 보정할 때 첨가한 양과

동일 양을 첨가하였다. 진탕 종료 후 투석막 안의 투석액을 membrane filter(pore size 0.45 μm , Advantec MFS, Tokyo, Japan)로 여과하여 ion chromatography(Metrohm IC, Metrohm Ltd., Herisau, Switzerland)를 이용하여 칼슘이온 함량을 측정하였다. *In vitro* 칼슘 이용률은 시료의 칼슘 총량 중 투석된 칼슘이온의 함량을 백분율(%)로 나타내었다.

pH

pH는 pH meter(Metrohm 691, Metrohm Ltd.)를 사용하여 측정하였다.

칼슘 총량 및 칼슘이온 함량

천연 칼슘액과 칼슘 투석액 10 g을 600°C에서 6시간 소성시킨 후 6 N HCl을 10 mL 가하여 하루 동안 용해시켰다. 여과지(Whatman No. 3, Whatman International Ltd.)로 여과한 후 100 mL로 정용하고, membrane filter(pore size 0.45 μm , Advantec MFS)로 여과하여 분석하였다. 칼슘 총량은 inductively coupled plasma-atomic emission spectrometer (ICP-AES, JY38S, HORIBA Jobin-Yvon, Longjumeau, France)를 이용하여 plasma gas flow rate 12.0 L/min, sheath gas flow rate 0.2 L/min, sample flow rate 1.0 mL/min으로 하여 분석하였다(22). 칼슘이온함량은 ion chromatography(Metrohm IC, Metrohm Ltd.)를 이용하여 mobile phase는 4.0 mM tartaric acid, 1.0 mM dipicolinic acid를 사용하여 flow rate 1.0 mL/min, injection volume 20.0 μL , conductivity detector(Metrohm 731 IC, Metrohm Ltd.)

로 하여 분석하였다.

통계처리

본 연구의 실험결과는 3회 반복하여 실험군당 평균과 표준편차로 나타내었다.

결과 및 고찰

첨가농도에 따른 천연칼슘소재의 이온화 특성

양조식초에 패각(A), 굴각(B), 불가사리(C) 및 난각(D)을 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 및 10.0%(w/v)씩 각각 첨가하여 천연칼슘소재 첨가농도에 따른 이온화 특성을 조사하였다. 그 결과 Table 1과 같이 칼슘용해량은 천연칼슘소재 첨가농도가 높을수록 높게 나타났으며, 4종의 천연칼슘소재 모두 8.0%(w/v) 농도까지는 증가하였으나 그 이상의 농도에서는 칼슘 첨가량에 비해 칼슘용해량은 더 이상 크게 증가하지 않았다. 칼슘용해량은 패각과 굴각에서 약 2,400~2,500 mg%로 높게 나타났으며, 난각은 약 2,300 mg%, 불가사리는 약 2,000 mg%로 가장 낮게 나타나 칼슘 소재에 따라서 칼슘용해 정도에 차이가 나타났다. 칼슘이온 함량은 칼슘용해 정도와 비슷한 경향으로 8.0%(w/v) 농도까지 증가하다가 이후 비슷한 함량을 나타내었으며, 칼슘용해량이 높은 패각과 굴각에서 칼슘이온 함량도 높게 나타났다. 이온화율은 약 90%로 천연칼슘소재와 첨가농도에 따른 차이는 크게 없었으며, 양조식초에 용해된 칼슘 중 90%가 칼슘이온으로 해리된 것으로 나타났다. 상기 결과에서 천연칼슘소재의 농도 8.0%(w/v)에

Table 1. Changes in dissolved calcium content, calcium ion content and ionization yield of calcium solutions by calcium concentration

Calcium conc. (% w/v)	Kind of calcium ¹⁾	Dissolved calcium content (mg%)	Calcium ion content (mg%)	Ionization yield (%) ²⁾
2.0	A	854.5±2.0 ³⁾	726.0±6.8	85.0±0.6
	B	840.5±23.3	725.9±3.3	86.4±2.8
	C	761.0±0.6	672.4±2.5	88.4±0.4
	D	1,003.4±8.6	885.2±39.6	88.2±4.3
4.0	A	1,651.5±22.3	1,430.4±7.9	86.6±1.7
	B	1,630.5±58.6	1,464.6±13.9	89.9±2.4
	C	1,535.3±14.3	1,326.2±29.1	86.4±1.1
	D	1,804.2±41.6	1,615.6±21.7	89.5±3.0
6.0	A	2,338.0±31.7	2,030.2±51.8	86.8±1.0
	B	2,350.3±63.1	2,092.4±68.4	89.0±0.5
	C	1,954.7±32.8	1,692.6±9.3	86.6±1.0
	D	2,209.9±8.7	1,945.7±46.5	88.0±2.5
8.0	A	2,470.5±12.9	2,159.6±17.0	87.4±0.2
	B	2,460.7±54.2	2,143.0±27.4	87.1±0.8
	C	2,020.5±3.8	1,792.4±9.6	88.7±0.6
	D	2,324.5±49.0	2,067.2±59.6	88.9±0.5
10.0	A	2,433.3±36.1	2,085.2±4.5	85.7±1.5
	B	2,535.6±58.1	2,182.4±37.9	86.1±0.5
	C	2,064.7±13.6	1,769.2±2.3	85.7±0.5
	D	2,301.8±7.4	2,054.5±11.0	89.2±0.2

¹⁾A, shellfish shell; B, oyster shell; C, starfish; D, egg shell.

²⁾Ionization yield (%)=calcium ion content/ dissolved calcium content×100.

³⁾Values are mean±standard deviation (n=3).

Table 2. Changes in dissolved calcium content, calcium ion content, and ionization yield of calcium solutions by solution temperature

Solution temp. (°C)	Kind of calcium ¹⁾	Dissolved calcium content (mg%)	Calcium ion content (mg%)	Ionization yield (%) ²⁾
20	A	2,549.5±2.1 ³⁾	2,288.7±27.6	90.0±1.4
	B	2,467.3±34.5	2,345.5±60.1	94.6±0.9
	C	2,017.3±37.8	1,810.3±22.8	89.7±0.7
	D	2,292.3±20.4	2,129.2±67.8	92.9±2.1
30	A	2,551.5±37.5	2,268.3±34.6	89.5±0.1
	B	2,460.7±27.8	2,276.3±32.5	92.5±1.5
	C	1,976.3±40.6	1,777.7±21.1	90.0±0.8
	D	2,336.5±5.2	2,101.1±47.2	89.9±1.8
40	A	2,484.7±12.5	2,226.4±9.4	89.6±0.1
	B	2,492.7±30.5	2,260.2±23.0	91.2±0.8
	C	1,927.5±41.7	1,745.8±11.2	91.0±1.4
	D	2,440.1±32.8	2,139.5±18.0	87.7±1.9

¹⁾A, shellfish shell; B, oyster shell; C, starfish; D, egg shell. Natural calcium sources of concentration was 8% (w/v).

²⁾Ionization yield (%)=calcium ion content/ dissolved calcium content×100.

³⁾Values are mean±standard deviation (n=3).

서 칼슘용해도 및 이온화율이 가장 적합한 것으로 나타났다.

용해온도에 따른 천연칼슘소재의 이온화 특성

양조식초에 4종의 천연칼슘소재를 각각 8.0%(w/v) 첨가한 후 20, 30 및 40°C에서 용해하여 칼슘 이온화 특성에 미치는 용해온도의 영향을 조사하였다. 그 결과 Table 2와 같이 칼슘용해량과 칼슘이온 함량은 용해온도에 따른 큰 차이는 없었으며, 폐각(A)과 굴각(B)에서 다소 높게 나타났다. 이온화율은 89~94%로 나타나 용해된 칼슘의 약 90%가 칼슘이온으로 전리되었다. 이러한 결과는 Lee와 Park(23)이 난각을 양조식초 종류 및 산도별(3~4%)로 용해할 때 용해온도가 높을수록 칼슘용해량이 증가하지만 이온화율은 30°C에서 가장 높고 20°C, 40°C 순으로 나타난다고 보고한 것과는 차이를 나타내어, 양조식초 종류 및 초기 산도에 따라 이온화 특성에 차이가 나타난 것으로 생각된다. 상기 결과 설정된 범위에서 온도는 칼슘용해량과 칼슘이온 함량에 큰 영향을 미치지 않으므로, 본 실험에서는 용해온도를 30°C로 설정하였다.

용해시간에 따른 천연칼슘소재의 이온화 특성

양조식초에 4종의 천연칼슘소재를 각각 8.0%(w/v) 첨가한 후 30°C에서 18시간 동안 용해하면서 3시간 간격으로 칼슘 이온화 특성을 조사하였다. 그 결과 Table 3과 같이 용해 3시간째 대부분의 칼슘이 용해되어 칼슘이온으로 해리되었다. 이때 용해시간이 경과됨에 따라 칼슘용해량과 칼슘이온 함량은 점차 증가하여 18시간째 가장 높았으며 그 이후에는 큰 변화가 나타나지 않았다. 천연칼슘소재인 폐각(A), 굴각(B), 불가사리(C) 및 난각(D)을 양조식초에 용해하였을 때 칼슘용해량은 2,000 mg% 이상, 칼슘이온 함량은 1,800 mg% 이상이며, 이온화율(용해 12시간 이후)이 약 90%로 나타났다. Shin과 Kim(24)은 소성한 난각을 젖산 0.5%(w/v) 농도에서 용해하면 칼슘이온 함량이 420 mg%로 가장 높았다고

하였으며, Lee와 Park(23)은 난각의 이온화 최적조건에서 칼슘용해량은 300 mg%, 칼슘이온 함량 262 mg%, 이온화율 약 87%라고 보고한 바 있다. 한편 Jang 등(22)은 해조칼슘은 7.0%(w/v), 탄산칼슘은 6.0%(w/v)를 양조식초(산도 6% 이상)에 첨가하여 18시간 이상 용해하면 각각 2,234 mg%, 2,490 mg%의 칼슘이 용해된다고 보고한 바 있어 이때 사용된 양조식초의 산도, 칼슘첨가량 및 용해조건에 따라 칼슘용해도에 차이가 나타나는 것으로 판단된다. 따라서 천연칼슘소재는 양조식초에 8.0%(w/v) 첨가한 후 30°C에서 18시간 동안 용해하면서 칼슘용해량과 칼슘이온 함량이 높은 칼슘액을 제조할 수 있는 것으로 나타났다.

시판 칼슘제, 천연칼슘소재 및 칼슘액의 *in vitro* 칼슘 이용률

시판 칼슘제와 천연칼슘소재 4종 및 천연칼슘소재로 제조한 폐각 칼슘액(AS), 굴각 칼슘액(BS), 불가사리 칼슘액(CS), 난각 칼슘액(DS) 4종의 *in vitro* 칼슘 이용률을 조사하였다. 그 결과 Table 4와 같이 탄산칼슘의 *in vitro* 칼슘 이용률은 34.9%로 시판 칼슘제 중 가장 높게 나타났으며, 유기산 칼슘제인 초산칼슘은 34.4%, 구연산칼슘 30.6%, 젖산칼슘은 29.9%로 나타났다. 천연칼슘소재 중 난각은 34.8%로 시판 탄산칼슘과 비슷하게 나타났으나, 그 외 칼슘 소재는 24% 이하로 낮게 나타났다. 이러한 결과는 Sheikh 등(17)이 위장의 소화 조건하에서 칼슘의 흡수를 조사한 결과 탄산칼슘은 39%이며, 초산칼슘 32%, 젖산칼슘 32%, 구연산칼슘 30%라고 보고한 것과 비슷한 경향으로 칼슘 소재와 종류에 따라 *in vitro* 칼슘 이용률은 다소 차이가 있었다. 칼슘액 BS의 *in vitro* 칼슘 이용률은 67.3%로 가장 높게 나타났으며, AS는 62.4%, DS는 57.9%, CS는 57.5%로 시판 칼슘제 및 천연칼슘소재에 비해서 약 2배 정도 높게 나타났다. 음식물이나 제재로 섭취한 칼슘이 체내로 흡수되기 위해서는 위장 내에서 위산에 의해 먼저 붕괴되고 용해되어 칼슘이온으로 전리

Table 3. Changes in dissolved calcium content, calcium ion content and ionization yield of calcium solutions by solution time

Solution time (hr)	Kind of calcium ¹⁾	Dissolved calcium content (mg%)	Calcium ion content (mg%)	Ionization yield (%) ²⁾
3	A	2,321.4±36.0 ³⁾	2,056.5±31.8	88.6±0.0
	B	2,424.5±53.0	2,215.5±64.3	91.4±0.7
	C	1,904.0±24.0	1,753.5±47.4	92.1±3.7
	D	2,010.5±5.4	1,829.5±55.9	91.0±3.0
6	A	2,396.5±30.3	2,125.5±47.4	88.7±0.9
	B	2,487.0±21.2	2,259.5±17.7	90.9±1.5
	C	1,951.6±9.3	1,792.0±5.7	91.8±0.1
	D	2,063.1±6.0	1,867.0±45.3	90.5±1.9
9	A	2,376.6±12.4	2,166.0±2.8	91.1±0.6
	B	2,517.5±62.9	2,297.5±60.1	91.3±0.1
	C	1,959.0±14.1	1,805.5±4.9	92.2±0.9
	D	2,111.2±21.4	1,870.5±44.5	88.6±1.2
12	A	2,452.8±5.7	2,221.5±31.8	90.6±1.5
	B	2,516.0±66.5	2,292.0±56.6	91.1±0.2
	C	1,958.0±8.5	1,798.0±82.0	91.8±4.6
	D	2,090.6±63.8	1,904.0±52.3	91.1±0.3
15	A	2,511.0±59.2	2,264.0±35.4	90.2±0.7
	B	2,611.0±62.2	2,352.5±75.7	90.1±0.8
	C	2,003.9±67.9	1,818.8±62.2	90.8±0.1
	D	2,157.5±6.3	1,944.5±19.1	90.1±0.6
18	A	2,580.5±25.7	2,301.0±26.9	89.2±0.2
	B	2,621.0±21.2	2,359.5±62.9	90.0±3.1
	C	1,992.5±17.7	1,780.6±32.5	89.4±2.4
	D	2,192.2±31.6	1,977.0±4.2	90.2±1.1

¹⁾A, shellfish shell; B, oyster shell; C, starfish; D, egg shell.

²⁾Ionization yield (%)=calcium ion content/ dissolved calcium content×100.

³⁾Values are mean±standard deviation (n=3).

Table 4. *In vitro* calcium bioavailability rate of commercial calcium, natural calcium sources and natural calcium solution

Kind of calcium ¹⁾	Total calcium content (mg%)	Calcium ion content of dialysate (mg%)	<i>In vitro</i> calcium bioavailability rate (%) ²⁾	
Commercial calcium	Calcium carbonate	495.9±0.2 ³⁾	139.8±0.7	34.9±0.2
	Calcium acetate	226.3±0.9	77.9±1.7	34.4±0.9
	Calcium citrate	210.0±2.3	64.3±3.2	30.6±1.7
	Calcium lactate	130.0±1.2	38.9±3.7	29.9±3.6
Natural calcium sources	A	420.0±5.7	102.5±2.8	24.4±0.5
	B	412.7±3.0	67.8±5.7	16.4±1.8
	C	378.9±3.7	81.4±3.2	21.4±0.9
	D	380.0±6.7	132.6±7.1	34.8±1.8
Natural calcium solution	AS	91.5±1.4	57.1±0.4	62.4±0.7
	BS	90.6±1.6	61.0±0.9	67.3±0.3
	CS	90.9±1.1	52.3±1.5	57.5±1.3
	DS	98.9±0.9	57.2±1.0	57.9±0.7

¹⁾A, shellfish shell; B, oyster shell; C, starfish; D, egg shell; AS, shellfish shell calcium solution; BS, oyster shell calcium solution; CS, starfish calcium solution; DS, egg shell calcium solution.

²⁾*In vitro* calcium bioavailability rate (%)=calcium ion content of dialysate/ total calcium content of sample×100.

³⁾Values are mean±standard deviation (n=3).

되어야 한다(16). Heaney 등(18)은 구연산칼슘의 용해도가 탄산칼슘에 비해 약 50배, 제3인산칼슘에 비해 약 8배 높지만 체내 흡수율은 낮다고 보고한 바 있어 칼슘의 체내 흡수율을 높이기 위해서는 칼슘제의 용해도보다 칼슘이온화가 중요한 것으로 판단된다. 칼슘액은 이온화율이 90% 이상으로 *in vitro* 칼슘 이용률이 높아 체내 흡수율이 높은 다양한 고칼슘 제품 개발 소재로 활용이 기대된다.

칼슘강화 우유의 *in vitro* 칼슘 이용률

시판 우유에 식품공전 규격의 고칼슘 기준으로 탄산칼슘과 칼슘액을 각각 첨가하여 *in vitro* 칼슘 이용률을 조사하였다. 그 결과 Fig. 1과 같이 시판 고칼슘 우유의 *in vitro* 칼슘 이용률은 18.3%로 나타났으며, 탄산칼슘을 첨가한 우유는 19.2%로 유사한 수준이었다. 이는 시판 고칼슘 우유는 탄산칼슘을 사용하기 때문에 탄산칼슘과 *in vitro* 칼슘 이용률이

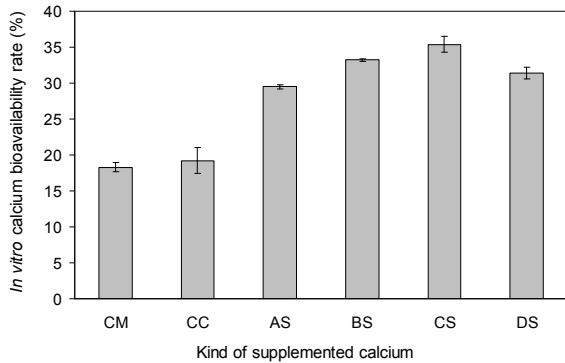


Fig. 1. *In vitro* calcium bioavailability rate of calciums supplemented milk. CM, commercial high-calcium milk; CC, calcium carbonate; AS, shellfish shell calcium solution; BS, oyster shell calcium solution; CS, starfish calcium solution; DS, egg shell calcium solution. *In vitro* calcium bioavailability rate (%)=calcium ion content of dialysate/ total calcium content of sample×100. Values are mean±standard deviation (n=3).

비슷하게 나타난 것으로 생각된다. 이러한 결과는 Roig 등(25)이 시판 우유의 *in vitro* 칼슘 이용률이 20.2%이며, Shen 등(26)이 19.6%라고 보고한 것보다는 조금 낮게 나타났다. CS를 첨가한 우유의 *in vitro* 칼슘 이용률은 35.4%로 가장 높게 나타났으며, BS에서 33.2%, DS에서 31.4%, AS에서 29.5%로 가장 낮게 나타났다. 칼슘액을 첨가한 우유는 시판 고칼슘 우유나 탄산칼슘 첨가 우유에 비해서 *in vitro* 칼슘 이용률이 약 1.6~1.9배 높게 나타났다. 칼슘액을 이용하면 체내 칼슘 이용률이 높은 고칼슘 우유의 개발이 기대된다. 다만 살균과정에서 유단백질과 칼슘이온이 결합하여 응고·침전현상이 발생하는 것을 억제할 수 있는 추가적인 연구가 요구되었다.

칼슘강화 두유의 *in vitro* 칼슘 이용률

시판 두유에 식품공전 규격의 고칼슘 기준으로 탄산칼슘과 칼슘액을 각각 첨가하여 *in vitro* 칼슘 이용률을 조사하였다. 그 결과 Fig. 2와 같이 시판 고칼슘 두유의 *in vitro* 칼슘

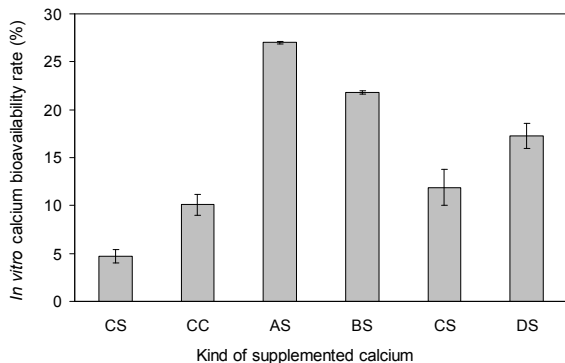


Fig. 2. *In vitro* calcium bioavailability rate of calciums supplemented soymilk. CS, commercial high-calcium soymilk; CC, calcium carbonate; AS, shellfish shell calcium solution; BS, oyster shell calcium solution; CS, starfish calcium solution, DS: egg shell calcium solution. *In vitro* calcium bioavailability rate (%)=calcium ion content of dialysate/ total calcium content of sample×100. Values are mean±standard deviation (n=3).

이용률은 4.7%로 매우 낮게 나타났으며, 탄산칼슘을 첨가한 두유의 *in vitro* 칼슘 이용률은 10.1%로 나타났다. 이러한 결과는 Weingartner 등(27)이 탄산칼슘과 tricalcium phosphate를 첨가하여 제조한 고칼슘 두유의 *in vitro* 칼슘 이용률이 19%라고 보고한 것보다 낮게 나타났으며, 이는 두유 제조방법 및 칼슘 첨가 방법 등에 따른 것으로 생각된다. 칼슘액 중 AS를 첨가한 두유의 *in vitro* 칼슘 이용률은 27%로 가장 높게 나타났으며, BS는 21.8%, DS는 17.3%이고 CS는 11.9%로 나타났다. 칼슘액을 첨가한 두유의 *in vitro* 칼슘 이용률이 탄산칼슘 첨가 두유와 시판 고칼슘 두유에 비해서는 높게 나타났으나, 우유에 비해서는 전반적으로 낮게 나타났다. 이러한 결과는 칼슘액을 우유에 첨가하였을 때 응고현상이 없었으나 두유에서는 첨가 즉시 대두 단백질과 칼슘이온이 결합하여 불용성 형태로 변환되어 *in vitro* 칼슘 이용률이 감소한 것으로 생각된다. 두유는 우유 대체식품으로서 가치를 인정받고 있지만 탄산칼슘과 같은 불용성 칼슘제 첨가에 따른 침전, 응고의 문제점이 있으며(28), 칼슘이온은 대두단백질과 칼슘이온을 빠르게 결합하여 응고됨으로 이에 따른 공정 개선이 요구된다. Jeong 등(29)은 콩 단백질을 효소로 가수분해하면 칼슘내인성이 증가하여 칼슘이온과 대두 단백질이 결합되지 않아 응고를 방지할 수 있다고 보고한 바 있어 두유를 제조할 때 효소 가수분해 방법을 이용하면 칼슘액을 첨가한 칼슘강화 두유의 개발이 가능할 것으로 생각된다.

칼슘강화 오렌지 주스의 *in vitro* 칼슘 이용률

시판 오렌지 주스에 고칼슘 기준으로 탄산칼슘과 칼슘액을 각각 첨가하여 *in vitro* 칼슘 이용률을 조사하였다. Fig. 3과 같이 시판 고칼슘 오렌지 주스의 *in vitro* 칼슘 이용률은 34.5%로 시판 고칼슘 우유와 두유에 비해 높게 나타났다. 탄산칼슘과 칼슘액을 첨가한 오렌지 주스의 *in vitro* 칼슘 이용률은 50% 이상으로 우유와 두유에 비해 매우 높게 나타

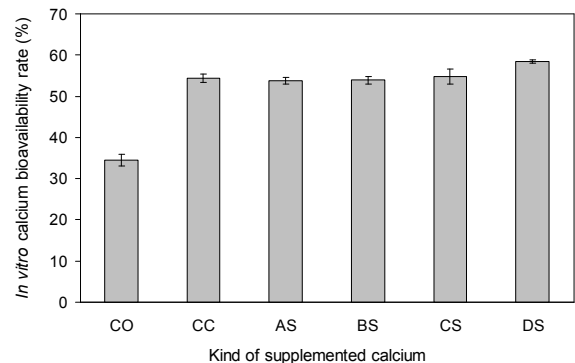


Fig. 3. *In vitro* calcium bioavailability rate of calciums supplemented orange juice. CO, commercial high-calcium orange juice; CC, calcium carbonate; AS, shellfish shell calcium solution; BS, oyster shell calcium solution; CS, starfish calcium solution; DS, egg shell calcium solution. *In vitro* calcium bioavailability rate (%)=calcium ion content of dialysate/ total calcium content of sample×100. Values are mean±standard deviation (n=3).

났다. Mehansho 등(30)은 CCM(calcium citrate maltate)을 물과 오렌지 주스에 각각 첨가하여 쥐에 식이 한 결과 오렌지 주스에서 칼슘생체이용률은 42.8%로 물에서의 33.0%보다 유의적으로 더 높다고 보고한 바 있으며, Jo 등(31)은 멸치에 1% 구연산을 처리하면 무처리구에 비해 *in vitro* 칼슘 이용률이 4.15배 증가하고, Lucarini 등(32)은 케일(*Brassica oleracea* L.)에 함유된 구연산과 사과산이 *in vitro* 칼슘 이용률을 높여준다고 보고한 바 있다. 따라서 오렌지 주스의 구연산에 의해 칼슘이 용해되어 탄산칼슘 첨가 구간에서도 *in vitro* 칼슘 이용률이 칼슘액을 첨가한 구간과 비슷하게 나타난 것으로 생각된다. 현재 고칼슘 오렌지 주스 제조공정에서 용해되지 않은 칼슘제가 침전·응고되어 품질 저하의 주요한 원인이 되고 있다. 칼슘액은 고칼슘 오렌지 주스의 침전·응고현상을 방지할 수 있는 제조방법으로 사용이 기대된다.

요 약

본 연구에서는 4종의 천연칼슘소재를 이용하여 칼슘 이온화 특성 및 *in vitro* 칼슘 이용률을 조사하였다. 천연칼슘소재는 8.0%(w/v) 첨가농도까지 칼슘용해량과 칼슘이온 함량은 증가하였으나 이상의 농도에서는 큰 변화는 없었다. 또한 이온화율은 약 90%로, 칼슘소재와 첨가농도에 따른 큰 차이는 나타나지 않았다. 칼슘의 이온화에 용해온도는 큰 영향이 없었으며, 용해 18시간째 가장 높은 칼슘이온 함량을 나타냈다. 칼슘액 중 BS의 *in vitro* 칼슘 이용률은 67.3%로 가장 높게 나타났으며, AS는 62.4%, DS는 57.9%, CS는 57.5%로 시판 칼슘제 및 천연칼슘소재에 비해서 약 2배 정도 높게 나타났다. 시판 우유, 두유 및 오렌지 주스의 *in vitro* 칼슘 이용률을 조사한 결과 탄산칼슘보다 이온화 칼슘액을 첨가한 구간에서 2배 이상 높게 나타났다. 따라서 천연칼슘소재의 이온화 칼슘은 생체 이용률이 높은 다양한 식품소재로 활용이 기대된다.

문 헌

- Lee BJ, Kim SK. 2005. Research trend of calcium materials and development of water-soluble natural calcium agents with phosphorylated peptide from fish bone. *Food Industry and Nutrition* 10(2): 40-45.
- Lee HS. 2004. A study on calcination characteristics of *Corbicula japonica* and *Ostrea virginica*. *Kor J Env Hlth* 30: 427-431.
- Shin HS, Kim KH, Yoon JR. 1998. Rheological properties of cooked noodle fortified with organic acids-eggshell calcium salts. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1197-1202.
- Park HY. 2003. Development of industrialization technology with starfish. *Food Industry and Nutrition* 8(3): 18-22.
- Kang JH, Kim JH, Lee HC. 1996. A study on the development of manufacturing process of high grade precipitated calcium carbonate from oyster shell. *J Korean Solid Wastes Engineering Society* 13: 320-327.
- Go CH, Song HS, Yun J, Kwak JP. 2002. Fabrication of calcium phosphates from starfish. *J Advanced Materials* 14: 71-76.
- Cho ML, Heu MS, Kim JS. 2001. Calcination condition for recovery of calcium from cuttle bone and characteristics of calcined cuttle bone powder. *J Korean Fish Soc* 34: 600-604.
- Kim JS, Cho ML, Heu MS, Cho TJ, An HJ, Cha YJ. 2003. Solubility improvement of cuttle bone powder using organic acids. *J Korean Fish Soc* 36: 11-17.
- Ko MK, No HK. 2002. Preparation of calcium lactate from ostrich egg shell. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 241-245.
- Ko MK, No HK. 2002. 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.
- Lee MY, Lee YK, 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.
- Kang MS, Soh GS, 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.
- NIH Consensus Development Panel on Optimal Calcium Intake. 1994. Optimal calcium intake: NIH Consensus conference. *JAMA* 272: 1942-1948.
- Ministry of Health and Welfare. 1999. Report on 1998 national health and nutrition survey. Ministry of Health and Welfare, Seoul, Korea.
- Greger JL. 1988. Calcium bioavailability. *Cereal Foods World* 33: 796-799.
- Calvo MS. 1994. The effects of high phosphorous intake on calcium homeostasis. *Adv Nurt Res* 9: 183-207.
- Sheikh MS, Santa Ana CA, Nicar MJ, Schiller LR, Fordtran JS. 1987. Gastrointestinal absorption of calcium from milk and calcium salts. *N Engl J Med* 317: 532-536.
- Heaney RP, Recker RR, Weaver CM. 1990. Absorbability of calcium sources: the limited role of solubility. *Calcif Tissue Int* 46: 300-304.
- Smith KT, Heaney RP, Flora L, Henders SM. 1987. Calcium absorption from a new calcium delivery system (CCM). *Calcif Tissue Int* 41: 351-352.
- Chung HR. 2003. Dietary supplements and food labeling. *Food Industry and Nutrition* 8(2): 60-65.
- Miller DD, Schricker BR, Rasmussen RR, Van Campen D. 1981. An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. *Am J Clin Nutr* 34: 2248-2256.
- Jang SY, Baek CH, Jeong KH, Park NY, Jeong YJ. 2005. Effect of vinegar on the solubility of calcium. *Korean J Food Preserv* 12: 112-116.
- Lee SK, Park JH. 2002. Studies of egg-shell calcium (I) - The effects of elution condition of egg-shell calcium on elution quantity and ionization rate-. *J Fd Hyg Safety* 17: 183-187.
- Shin HS, Kim KH. 1997. Preparation of calcium powder from eggshell and use of organic acids for enhancement of calcium ionization. *Agric Chem Biotechnol* 40: 531-535.
- Roig MJ, Alegria A, Barberá R, Farré R, Lagarda MJ. 1999. Calcium bioavailability in human milk, cow milk and infant formulas-comparison between dialysis and solubility methods. *Food Chem* 65: 353-357.
- Shen LH, Luten J, Robberecht H, Bindels J, Deelstra H. 1994. Modification of an *in-vitro* method for estimating the bioavailability of zinc and calcium from foods. *Z Lebensm Unters Forsch* 199: 442-445.
- Weingartner KE, Nelson AI, Erdman Jr JW. 1983. Effects of calcium addition on stability and sensory properties of soy beverage. *J Food Sci* 48: 256-257.

28. Hirotsuka M, Taniguchi H, Narita H, Kito M. 1984. Calcium fortification of soy milk with calcium-*lecithin* liposome system. *J Food Sci* 49: 1111-1112.
29. Jeong KH, Seo JH, Kim JH, Kim KS, Jeong YJ. 2006. Monitoring on characteristics of soybean flour hydrolyzed by various proteolytic conditions. *Korean J Food Preserv* 13: 71-76.
30. Mehansho H, Kanerva RL, Hudepohl GR, Smith KT. 1989. Calcium bioavailability and iron-calcium interaction in orange juice. *J Am Coll Nutr* 8: 61-68.
31. Jo JH, Jang HJ, Cho SM, Lee YB. 2005. Effects of ethanol and organic acids on color, fishy odor and *in vitro* absorption rate of calcium of dried large anchovy. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1472-1477.
32. Lucarini M, Canali R, Cappelloni M, Di Lullo G, Lombardi-Boccia G. 1999. *In vitro* calcium availability from *brassica* vegetables (*Brassica oleracea* L.) and as consumed in composite dishes. *Food Chem* 64: 519-523.

(2012년 11월 26일 접수; 2013년 3월 8일 채택)