J. Fd Hyg. Safety 18(2), 73-78 (2003)

난각칼슘에 관한 연구 (II)
- 난각칼슘의 흡수율에 관한 연구 -

이숙경† · 김연태
단국대학교 식품공학과

Studies of Egg-Shell Calcium (II)
- A Study on Absorption Rate of Egg-Shell Calcium in Rat -

Sook Kyung Lee† and Youn Tae Kim
Department of Food Engineering, Dankook University, Chonan, 330-714, Korea

ABSTRACT - This study was to investigate interaction between ionization rate and absorption rate of calcium (Ca) in each feeding Ca sources in rats. The results were as follows. 1. The ionized Ca ions fed into rats were absorbed in about two hours while Ca from other sources like powdered egg-shell Ca or precipitable Ca carbonate caused more than five hours to be absorbed. This means that the ionization of Ca is essential for the fast absorption in rat. 2. Absorption rate were increased in the rank order to brown rice vinegar-Ca acetate > brewed vinegar-Ca acetate > precipitated Ca carbonate > egg-shell Ca powder by feeding sources in rat and absorption rate of brown rice vinegar Ca was appeared 4 times highly than egg-shell Ca powder. 3. Absorption rate of brewed vinegar Ca acetate were appeared excellent, 1.4 times highly in case of the brewed vinegar at no ventilation condition than ventilation condition. 4. Ca concentration in blood serum was significantly enhanced the increased ionization rate of Ca in the above experiment rat models regardless of dietary Ca levels.

Key words : ionization rate, absorption rate, brown rice vinegar Ca acetate, brewed vinegar Ca acetate, precipitated Ca carbonate, egg-shell Ca powder

노령인구가 점차 증가함에 따라 골격 칼슘대사의 불균형으로 인한 골다공증을 예방[1]하기 위한 칼슘의 요구량이 점차 증가되고 있는 실정으로 노인 건강의 중요한 문제 중 하나 이다. 가공식품의 소비량이 증가함에 따라 혈액이 산성화되므로 이를 방지[2]하기 위하여 칼슘의 요구량이 증가하고 있다[3]. 이러한 필요성에 칼슘이 부족되기 쉬워 이를 예방하기 위하여 칼슘을 식품이나 약제로 섭취하고 있으나 시판되고 있는 칼슘의 대부분이 불용성이기 때문에 섭취 후 체내에서 거의 흡수되지 않아 그 흡수율이 섭취량에 비해 현저히 낮다는 단점이 있다[4]. 칼슘의 섭취량은 증가하였음에도 부족증상이 심한 것은 칼슘 요구량의 증가와 칼슘대사의 변화 및 흡수율 저하에 관계가 있는 것으로 흡수율은 여러요인에 의하여 영향을 받는 다고 보고하고 있다[5-6]. 이는 피[7] 등의 연구에서 동물성 단백질의 섭취가 체내 칼슘의 배출과 밀접한 관계가 있음을 알 수 있다. 즉 생활 수준의 향상으로 동물성 단백질의 섭취가 증가됨에 따라 칼슘의 섭취량이 증가하여도 그에 비례하여 칼슘의 배출량이 증가하기 때문이라 할 수 있다. 또한 단백질의 섭취와 칼슘의 배출량과의 관계는 적당량의 단백질 섭취는 칼슘흡수의 효율을 높혀 골밀도에 대하여 유리하다고 보고한 정[8] 등의 연구 결과가 있으며 식이 단백질의 섭취 수준에 따라 칼슘섭취가 칼슘대사 및 골격대사에 영향을 미친다는 장[9] 등의 연구 결과도 있다.

현대인들에 있어 칼슘부족 증상을 나타내는 요인 중 칼슘의 흡수율에 관한 보고로는 단백질의 급원과 식이 양에 따른 칼슘의 흡수율에 관한 보고[10]와 칼슘의 급원에 따른 흡수율[11-13]의 보고 및 칼슘급원에 대한 특성과 인체내 이용성에 관하여 보고[14-15] 되어 있을뿐 칼슘의 흡수에 직접적인 영향을 주는 이온화에 따른 칼슘의 혈청 중 보유량(흡수율)과의 관계성에 관한 보고는 없는 실정이다. 또한 현재 모 기업의 라면회사에서는 칼슘첨가 라면을 제조하고 있으며 그 재료로 난각칼슘을 사용하고 있다. 이에따라 본 연구에서는 폐기되는 난각을 천연의 칼슘자원으로 재활용하는 방법을 제시한 전보[16]에 이어 최적의 조건으로 제조한 양조칼슘과 현미칼슘과 기존의 식품첨가물로 사용하고 있는 난각칼슘분과 침강성탄산칼슘[17]의 이온화율과 칼슘의 혈청 중 보유량을 비

†Author to whom correspondence should be addressed.

교 검토하였으며, 이온화율과 칼슘의 혈청 중 보유량의 상관관계에 유의성이 있었기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용한 난각은 단국대학교 구내 식당에서 사용하고 폐기한 것을 수집하여, 분리 선별한 후 사용하였으며 난각초산칼슘의 제조에 사용한 식초는 시판품으로 4% 양조식초와 4% 현미식초를 사용하였다. 흡수율을 비교실험하기 위하여 난각칼슘분은 신[18] 등의 방법에 따라 제조하였으며 침강성탄산칼슘은 (주식회사 화일) 구입하여 사용하였다.

실험방법

난각칼슘분 제조 – 난각칼슘분의 제조는 전보[16]에서와 같이 제조하여 사용하였다.

난각초산칼슘의 제조 – 전보에서 칼슘의 용출량과 이온화율이 우수한 것으로 나타난 식초의 양과 온도의 조건에서 4% 양조식초를 사용하여 난각양조초산칼슘(이하 양조칼슘이라 함)과 4% 현미식초를 사용하여 난각현미초산칼슘(이하 현미칼슘 이라 함)을 제조하였다. 그 이외의 제조조건은 전보에 따랐으며 실험도 전보에서와 같이 수행하였다.

칼슘용출량 분석 – 칼슘농도의 측정은 식품공전의 미량성분시험법[19]에 따라 시험용액을 제조하였으며 제조한 시험용액은 ICP-MS(Model 7500A, Agilent, USA)를 이용하여 각각의 칼슘농도를 분석 조사하였다.

칼슘이온농도 분석 – 제조한 양조칼슘, 현미칼슘 및 난각칼슘분과 침강성탄산칼슘의 칼슘이온농도 분석은 Ion-Meter (Model 920A pH/ISE meter, Orion, USA)를 사용하여 Direct Measurement 방법으로 분석하였다[16].

인농도 분석 – 제조한 양조칼슘, 현미칼슘 및 난각칼슘분과 침강성탄산칼슘의 인농도 분석은 식품공전의 미량성분시험법의 모리브덴청 비색법[20]에 준하여 분석하였다. 흡광도 측정에는 UV-Visible Recording Spectrophotometer(Model UV-160A, Shimadzu, Japan)를 사용하였다.

실험동물 사육 및 식이

실험동물 사육 – 평균 체중이 약 180 g인 9주령의 Sprague-Dawley종 암컷 흰쥐를 (주) 대한바이오링크로부터 구입하여 모두 평균체중이 200 g 이 되도록 사육한 후 9마리씩 6군으로 나누어 분리 사육하였다. 사육실 온도는 22±2°C로 조정하였고, 조명은 매일 광주기, 암주기를 12시간씩 되도록 조절하였으며, 물은 1차 증류수를 사용하였고 식이는 자유섭취방법으로 급여하였다[21-24].

식이 방법 – 식이 칼슘시료인 액체상태의 양조칼슘과 현미칼슘, 고체상태의 난각칼슘분과 침강성탄산칼슘의 흡수율을 알아보고자 식이량은 칼슘함유량에 따라 달리하였으며, 난각칼슘분과 침강성탄산칼슘분은 동량의 칼슘이 함유하도록 하여 각각 1차 증류수에 현탁하여 식이 하였다. 식이 방법은 존대를 이용한 경구투여 방법으로 각 실험군별 일정량의 칼슘을 섭취하도록 하였다[25-29].

칼슘 흡수율 측정

시료 수집 – 섭취조건을 일정하게 유지하기 위하여 실험 최종일에 실험동물을 24시간 절식시킴으로서 사료에 의한 영향을 배제하였으며, 초기채혈을 하고 양조칼슘, 현미칼슘, 난각칼슘분 및 침강성탄산칼슘을 경구투여한 후 1시간 간격으로 9시간 꼬리로 부터 전혈을 3회 채혈하였다. 수집한 혈액은 Cold Lab Chamber(4°C)에서 24시간 동안 정치한 후 2500 rpm으로 20분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 원심분리를 통하여 얻어진 모든 시료는 분석전까지 -20°C에서 냉동 보관하였다[30].

혈청 칼슘농도 분석 – 혈청 칼슘농도는 냉동보관한 시료를 상온에서 용해하고 TCA(Trichloroacetic acid)용액으로 제단백한 후, $LaCl_2$가 1,000 ppm 함유되도록 1N-HCl($LaCl_2$)용액을 조제하였으며 이를 희석하여 ICP-MS를 이용하여 각각의 혈청별 칼슘농도를 분석하였다[16].

통계처리 – 식이 칼슘시료위 종류와 통기조건에 따른 이온화율, 각 실험동물의 칼슘의 혈청 중 보유량과의 상호관계를 계산한 결과는 SAS program을 이용하여 각 실험군마다 평균과 표준편차를 계산하였고, 군간의 차이를 $p<0.05$ 수준에서 ANOVA test 후 Duncan's multiple range test에 의하여 검증하였다[31-36].

결과 및 고찰

실험 동물식이 흡수율 측정

식이칼슘시료 중 칼슘농도와 이온화율 – 식이칼슘시료 중 칼슘(Calcium)농도와 이온화율은 Table 1에서와 같이 5.0% (w/v) 양조칼슘(밀폐)은 29.2±0.6mg/ml의 칼슘농도와 83.6±1.8%의 이온화율을 나타내고 있으며, 5.0%(w/v) 양조칼슘(통기)은 27.5±0.5 mg/ml의 칼슘농도와 85.2±1.5%의 이온화율을 나타내었다. 또한 5.0%(w/v) 현미칼슘(통기)은 30.0±0.9 mg/ml의 칼슘농도와 87.2±1.3%의 이온화율을 나타내었다. 전보에 제시한 방법으로 제조한 난각칼슘분은 958.0±1.6 mg/ml의 높은 칼슘농도를 나타냈으나 이온화율은 0.04±0.02%로 아주 낮게 나타내었다. 침강성탄산칼슘은 400.8±1.3 mg/ml의 칼슘농도와 이온화율은 0.8±0.01%로 아주 낮게 나타

Table 1. Calcium concentration of dietary Sample for rat feeding test

Type	Calcium Concentration (mg/ml)	Ionization Volume (mg/ml)	Ionization Rate (%)
4% brewed vinegar* Ca acetate(no ventilation)	29.2±0.6	24.4±1.1	83.6±1.8
4% brewage vinegar* Ca acetate(ventilation)	27.5±0.5	23.4±1.4	85.2±1.5
4% brown rice vinegar* Ca acetate(ventilation)	30.0±0.9	26.1±1.5	87.2±1.3
Egg-Shell Ca Powder	958.0±1.6	4.0±0.2	0.4±0.02
Precipitated Ca Carbonate	400.8±1.3	3.5±0.1	0.8±0.01

*Processing from 30°C under 72 hour (vinegar volume is 200 m*l*)

Table 2. Phosphorus concentration of dietary sample for rat feeding test

Type	Concentration of Phosphorus (elution volume, mg/ml)
4% brewage vinegar Ca acetate(no ventilation)	0.001
4% brewage vinegar Ca acetate(ventilation)	0.001
4% brown rice vinegar Ca acetate(ventilation)	0.001
Egg-Shell Ca Powder	0.004
Precipitated Ca Carbonate	0.005

났다. 이는 난각칼슘분과 비교시 칼슘의 농도는 50% 정도로 낮았으나 이온화율은 약 2배나 높게 나타내었다.

식이 칼슘시료 중 인농도 – 칼슘의 흡수에 영향을 주는 인자 중 인(Phosphorus)농도는 매우 중요하다고 알려져 있다. 특히 인의 농도가 칼슘과 1 : 1~2의 비율로 존재할때 칼슘의 흡수가 촉진되는 것으로 알려져 있다[37]. 정[38] 등의 보고에 의하면 칼슘과 인의 비율이 1.2% Ca : 0.5% P 일 때 칼슘의 흡수율과 보유율이 가장 높다고 보고하였으며 인의 함량이 칼슘의 흡수에 영향을 준다고 보고하였다. 동물에 사용할 식이 칼슘시료 중 인이 칼슘흡수에 미치는 영향을 알아보기 위하여 인농도를 분석한 결과는 Table 2에 나타내었다.

양조칼슘과 현미칼슘 중 인농도는 각각 0.001 mg/100 g, 난각칼슘분에는 0.004 mg/100 g, 침강성탄산칼슘에는 0.005 mg/100 g 함유되어 있는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 볼 때 본 실험에 사용한 식이 칼슘시료 중 칼슘과 인농도의 비율은 양조칼슘(밀폐)은 12.92% Ca : 0.0001% P, 양조칼슘(통기)은 27.5% Ca : 0.0001% P, 현미칼슘(통기)은 30.0% Ca : 0.0001% P, 난각칼슘분은 95.8% Ca : 0.0001% P, 침강성탄산칼슘은 40.0% Ca : 0.0005% P 으로 나타났다. 이러한 인과 칼슘의 농도비율은 칼슘의 흡수에 직접적인 영향을 미치지 못할 것으로 사료된다.

식이실험에 사용한 흰쥐의 혈청내 칼슘농도 – 실험에 사용한 흰쥐를 사육기간 중 평균체중이 200 g에 도달했을 때 방법 2와 같이 하여 혈청내 칼슘농도를 분석한 결과 8.79±1.27 mg/dl로 나타났으며 이는 정상수준인 흰쥐의 혈청 중 칼슘농도가 7.2~13.9 mg/dl이라는 결과와 일치하는 것으로 보아 실험에 사용한 흰쥐의 건강상태는 정상임을 알 수 있었다.

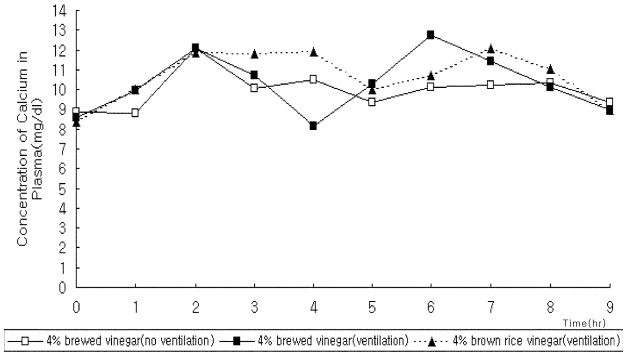

Fig. 1. Concentration of calcium in rat's plasma as a result of feeding calcium materials.

양조칼슘(밀폐)식이 후 혈청 중 칼슘농도 변화 – 양조칼슘(밀폐)의 식이에 따른 흰쥐의 혈청 중 칼슘농도의 변화는 Fig. 1에서와 같이 경구투여 후 증가하다가 2시간 경과 후 초기 칼슘농도에 비하여 2.67±1.2 mg/dl 만큼 높게 증가하는 것으로 나타났다($p<0.05$). 시간의 경과에 따른 변화는 초기 증가 이후 4시간 경과 후 초기 칼슘농도와 가까운 수준으로 감소하였으나 5시간 이후부터 8시간까지 완만한 수준으로 다시 증가하다가 9시간 후에는 초기와 비슷한 수준을 유지하는 것으로 나타났다.

양조칼슘(통기)식이 후 혈청 중 칼슘농도 변화 – 양조칼슘(통기)의 식이에 따른 흰쥐의 혈청 중 칼슘농도의 변화는 Fig. 1의 밀폐조건에서와 같이 경구투여 후 증가하다가 2시간 경과 후 초기 칼슘농도에 비하여 3.18±0.34 mg/dl 만큼 높게 증가하는 것으로 나타났다($p<0.05$). 시간의 경과에 따른 변화는 초기 증가이후 4시간 경과 후 초기 칼슘농도보다

낮은 수준으로 감소하였으나 다시 증가하여 6시간 경과 후 혈청 중 칼슘농도는 최고에 이른 다음 완만하게 감소하다가 9시간 후에는 초기와 비슷한 수준을 유지하는 것으로 나타났다.

현미칼슘(통기)식이 후 혈청 중 칼슘농도 변화 – 현미칼슘(통기)의 식이에 따른 흰쥐의 혈청 중 칼슘농도의 변화(Fig. 1)는 경구투여 2시간 경과 후 초기 칼슘농도에 비하여 3.51±0.46 mg/d*l* 만큼 높게 증가하는 것으로 나타났다($p<0.05$). 시간의 경과에 따른 변화는 초기증가 이후 5시간 경과 후 초기 칼슘농도와 비슷한 수준으로 감소하다가 7시간까지 완만한 수준으로 증가하다가 9시간 후에는 초기와 비슷한 수준을 유지하는 것으로 나타났다.

난각칼슘분 식이 후 혈청 중 칼슘농도 변화 – 난각칼슘분의 식이에 따른 흰쥐의 혈청 중 칼슘농도의 변화는 Fig. 2에서와 같이 경구투여 후 완만하게 증가하다가 5시간 경과 후 초기 칼슘농도에 비하여 3.35±0.24 mg/d*l* 만큼 높게증가하여 최고치를 나타내었다($p<0.05$). 이후 서서히 감소하는 경향을 보이다가 9시간 후에는 초기와 비슷한 수준을 유지하는 것으로 나타났다.

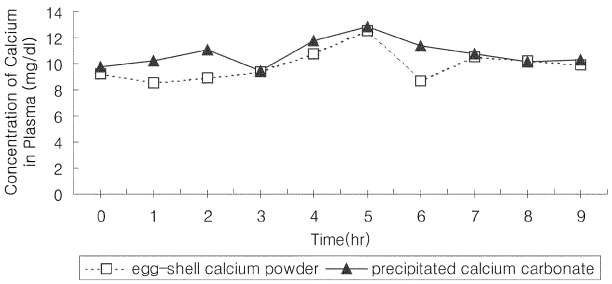

Fig. 2. Concentration of calcium in rat's plasma as a result of feeding egg-shell calcium powder and precipitated calcium carbonate.

침강성탄산칼슘 식이 후 혈청 중 칼슘농도 변화 – 침강성탄산칼슘의 식이에 따른 흰쥐의 혈청 중 칼슘농도의 변화는 Fig. 2에서 같이 경구투여 후 완만하게 증가하다가 5시간 경과 후 초기 칼슘농도에 비하여 3.11±1.36 mg/d*l* 만큼 높게 증가하여 최고치를 나타내었다($p<0.05$). 이후 서서히 감소하는 경향을 보이다가 9시간 후에는 초기와 비슷한 수준을 유지하는 것으로 나타났다.

칼슘의 혈청 중 보유량 – 각 실험군의 실험기간 중 칼슘의 혈청 중 보유량은 Table 3에서와 같이 현미칼슘이 가장 높게 나타났으며 다음으로는 양조칼슘(밀폐), 양조칼슘(통기), 침강성탄산 칼슘, 난각칼슘분 순으로 낮게 나타나 이의 순위는 이온화율의 순위와 일치하였다. 양조칼슘은 밀폐와 통기조건에 따라 유의적 차이가 있었으며 또한 현미칼슘은 양조칼슘(통기)보다 약 1.86배, 양조칼슘(밀폐)보다 약 1.36배, 칼슘의 혈청중 보유량이 높게 유지되는 것으로 나타났다. 난각칼슘분과 침강성탄산칼슘 상호간에는 유의적 차이가 크게 나타내지 않았다($p<0.05$). 칼슘의 혈청 중 보유량은 현미칼슘에 비해 난각칼슘분은 약 28.96%, 침강성탄산칼슘은 약 43.33% 가량 낮게 유지되는 것으로 나타났다. 그러나 이온화율이 높은 현미칼슘, 양조칼슘(밀폐) 및 양조칼슘(통기)과는 유의적인 차이가 크게 나타났다. 칼슘의 혈청 중 보유량 이온화율이 높은 칼슘과 이온화율이 낮은 칼슘간에 유의적 차이를 나타내는 것으로 보아 칼슘의 혈청 중 보유량은 칼슘 섭취 수준에 의한 영향보다는 칼슘이온화율과 밀접한 관련이 있음을 시사하였다.

감사의 글

이 연구는 2003년도 단국대학교 대학연구비의 지원에 의한 것으로 이에 감사드립니다.

Table 3. Concentration of total calcium in plasma during test period

Type	Concentration of Total Calcium in Plasma (mg/d*l*)
4% brewed vinegar – Ca acetate(no ventilation)	15.17±2.53[a)]
4% brewed vinegar – Ca acetate(ventilation)	11.07±1.27[a, c)]
4% brown rice vinega– Ca acetate(ventilation)	20.54±3.63[b)]
Egg-Shell Ca Powder	5.95±1.23[c)]
Precipitated Ca Carbonate	8.90±1.44[c)]

[a), b), c), 1), 2), 3)]Means with the same letter in row are not significant at $P<0.05$ level by Duncan's multiple range test.

국문요약

난각칼슘을 식초에 침지하여 제조한 양조칼슘, 현미칼슘과 난각칼슘분 및 침강성탄산칼슘을 흰쥐에 식이 후 칼슘의 혈청 중 보유량(흡수율)에 관하여 비교시험 결과는 다음과 같다. 1. 이온화율이 높은 양조칼슘(밀폐, 통기)과 현미칼슘의 흡수는 경구투여 2시간 후에 최고치에 이른 것으로 나타났으며 이온화율이 낮은 난각칼슘분이나 침강성탄산칼슘은 이보다 늦은 5시간 후에 최고치에 이른 것으로 나타났다. 이는 이온화율이 높은 칼슘일 수록 흡수가 빠르게 진행되는 것으로 사료된다. 2. 흰쥐에 식이한 칼슘시료의 칼슘의 혈청 중 보유량은 현미칼슘>양조칼슘(밀폐)>양조칼슘(통기)>침강성탄산칼슘>난각칼슘분 순으로 낮게 나타났다. 이는 이온화율의 순과 같았다. 3. 현미칼슘의 혈청 중 칼슘농도가 난각칼슘분에 비하여 약 4배 높은 것으로 나타난 것으로 보아 칼슘의 혈청 중 보유량은 칼슘 섭취수준에 의한 영향보다 칼슘 이온화율과 밀접한 관련이 있는 것으로 사료된다. 4. 제조 조건에 따른 양조칼슘의 칼슘의 혈청 중 보유량은 밀폐조건이 통기조건에 비해 약 1.4배 높은 것으로 나타난 이유를 규명하기 위해서는 연구가 계속 진행되야 할 것으로 본다.

참고문헌

1. Hong, S.M. and Kim, H.J.: Calcium status and Effect of Nutrition of Prevention Osteoporosis in Middle-aged Women. *Journal of the Korean Dietetic Association,* **7(2)**, 159-166 (2001).
2. 이숙경: *식품선택과 건강,* 보문각 (2002).
3. 이숙경 외 2명: *영양화학,* 유림문화사 (1994).
4. 보건복지부: *98국민건강,* 영양조사 (1999).
5. 구재옥, 곽충실, 최혜미: 한국성인 여성의 단백질 섭취수준과 동. 식물성급원이 칼슘 및 인대사에 미치는 영향. *한국영양학회지,* **24**(2), 124-131 (1991).
6. Smith, K.T. and Henders, S.M.: Calcium absorption from a new calcium delivery system(CC). *Calcif. Tissues Int.*. **41**, 351-352. (1987).
7. Pie, J.E. and Paik, H.Y.: The effect of meat protein and soy protein on calcium metabolism in young adult korean women, *Korean J. Nutr.,* **19**(1), 32-40 (1986).
8. Jung, S.H. and Choi, M.J.: Effect of dietary protein level on Ca efficiency in bone mineral density in growing rats, *Korean J. Nutr.,* **28**(9), 817-824 (1995).
9. Chang, Y.E., Chung, H.K., Chang, N.S. and Lee, H.S.: The effects of dietary protein and calcium levels on calcium and bone metabolism in growing rats, *Korean J. Nutr.,* **30**(3), 266-276 (1997).
10. O, J.H., Song, M.H. and Lee, Y.S.: Effects of high protein and calcium intakes on calcium metabolism and renal function in ovariectomized osteoporosis rat model, *Korean J. Nutr.,* **30**(6), 605-613 (1997).
11. Chung, H.K., Chang, N.S., Lee, H.S. and Chang, Y.E.: The effect of various types of calcium sources on calcium and bone metabolism in rats, *Korean J. Nutr.,* **29**(5), 480-488 (1996).
12. Lee, Y.S. and O, J.H.: Effects of bovine bone ash and calcium phosphate on calcium metabolism in postmenopausal osteoporosis model rats, *Korean J. Nutr.,* **28**(5), 434-441 (1995).
13. Lee, S.H. and Chang, S.O.: Comparison of the bioavailability of calcium from anchovy, tofu and nonfat dry milk(NFDM) in growing male rats, *Korean J. Nutr.,* **27**(5), 473-482 (1994).
14. Lee, S.H., Hwangbo, Y.S., Kim, J.Y. and Lee, Y.S.: The Bioavailability of Dietary Calcium Sources, *The Korea Nutrition Society,* **30**(5), 499-505 (1997).
15. Kim, J.S., Choi, J.D. and Kim, D.S.: Preparation of calcium-based powder from fish bone and its characteristics, *J. Agri. Chem. Biotechnology,* **41**(2), 147-152 (1998).
16. Lee, S.K. and Park, J.H.: 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(4)**, 183-187 (2002).
17. 오기종, 이화영, 김성규: 침강성 탄산칼슘, *화학공업기술,* **12(5)**, 379-385 (1994).
18. Shin, H.S. and Kim, K.H.: Preparation of calcium powder from eggshell and use of organic acid for enhancement of calcium ionization, *J. Agri. Chem. Biotechnology,* **40**(6), 531-535 (1997).
19. 식품의약품안전청: *식품공전(별책),* 문영사, 272-274 (2000).
20. 식품의약품안정청: *식품공전(별책),* 문영사, 272, 274 (2000).
21. Lee, S.H., Hwangbo, Y.S., Kim, J.Y. and Lee, Y.S.: A study on the bioavailability of dietary calcium sources, *Korean J. Nutr.,* **30**(5), 499-505 (1997).
22. Sung, C.J.: Effects of calcium intake on Calcium, sodium and potassium metabolism in young and adult female rats, *Korean J. Nutr.,* **28**(4), 309-320 (1995).
23. Kim, K.H., Choi, M.J. and Lee, I.K.: The effect of dietary calcium level on bone mineral density and bone mineral content in ovariectomized female rats, *Korean J. Nutr.,* **29**(6), 590-596 (1996).

24. Chio, M.J. and Jo, H.J.: Effect of chloride suppliementation on bone metabolism in rats consuming a low calcium diet, *Korean J. Nutr.,* **29**(10), 1096-1104 (1996).
25. Do, J.C. and Huh, R.S.: Changes of the blood chemistry, lipid and protein components in blood and liver tissue according to the time lapsed of the rat after aral administration of caffeine, *Korean J. Vet. Res.,* **36**(4), 795-807 (1996).
26. Do, J.C: Determination of sulfamethazine residues in liver, kidney and muscle according to the time lapsed after oral administration of sulfamethazine sodium to rats, *Korean J. Vet. Res.,* **36**(3), 571-575 (1996).
27. Choi, M.D., Kim, D.H., Kim, J.H. and Kim, S.H.: Short-term oral toxicity test of the pine needle extracts in rat, *Korean J. Food Sci. Technol.,* **5**, 1401-1404 (1999).
28. Park, R.J., Kim, N.J., Lee, K.T. and Seo, S.H.: Comparative studies on concentration of decursinol in plasma after oral administration of angelicae gigantis radix extract and combined use of decursin and cnidii rhizoma extract or bupleuri radix extract in rats, *Kor. J. Pharmacogn.,* **32**(1), 72-78 (2001).
29. Park, S.C. and Yun, H.I.: Bioavailability and comparative pharmacokinetics of two enrofloxacin formulations in broiler chickens, *Korena J. Vet Clin Med.,* **14**(2), 195-200 (1997).
30. O, J.H. and Lee, Y.S.: Effects of dietary calcium levels on the reduction of calcium availability in ovariectomized osteoporosis model rats, *Korean J. Nutr.,* **26**(3), 277-285 (1993).
31. Chang, S.H., Cho, S.Y. and Park, M.L.: Effect of calcium and magnesium on the lipid and mineral composition of serum and tissues in cholesterol-fed rats, *J. Korean Soc. Food Nutr.,* **17**(2), 176-183 (1988).
32. Lee, K.H., Choi, I.S., Lee, S.S., Oh, S.H.: Effects of nondigestable substances and calcium on lipid metabolism in rats, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.,* **26**(5), 927-935 (1997).
33. Lee, S.H. and Lee, Y.S.: Effects of late-harvested green tea extract on lipid metabolisn and ca absorption in rats, *Korean J. Nutr.,* **31**(6), 999-1005 (1998).
34. Lee, J.S. and Cho, S.Y.: Effects of dietary protein and calcium levels on Ca, Fe, Cu, Zn and Mg level of the tissues of the Pb-administered rats, *J. Korean Soc. Food Nutr.,* **22**(2), 109-115 (1993).
35. Lee, J.S., Hong, H.O. and Yu, C.H.: A study on the effect of caffeine intake on calcium and phosphorus metabolism in ovariectomized rats, *Korean J. Nutr.,* **29**(9), 950-957 (1996).
36. 송문섭, 조진섭: *통계자료분석,* 자유아카데미, 서울 (1998).
37. 이숙경: *아름다운 피부와 영양,* 보문각 (2002).
38. Jeong, H.K., Kim, J.Y., Lee, H.S. and Kim, J.Y.: The effect of dietary calcium and phosphate level on calcium and bone metabolism in rats, *Korean J. Nutr.,* **30**(7), 813-824 (1997).