

碩士學位論文

물리화학적 방법에 의한  
말뚝 중의 칼슘 추출 및 가용화



濟州大學校 大學院

食品工學科

秋 昇 完

2010年 2月

물리화학적 방법에 의한  
말뚝 중의 칼슘 추출 및 가용화

指導教授 姜 永 周

秋 昇 完

이 論文을 工學 碩士學位 論文으로 提出함

2010年 2月

秋昇完의 工學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 任 尙 彬 印

委 員 河 璉 桓 印

委 員 姜 永 周 印

濟州大學校 大學院

2010年 2月

**Calcium Extraction and Solubilization  
from Horse Bone  
by Physical and Chemical Treatments**

**Seung-Wan Choo**

**(Supervised by Professor Yeung-Joo Kang)**

**A thesis submitted in partial fulfillment of the  
requirement for the degree of Master of Engineering**

**2010. 2.**

**Department of Food Science and Engineering  
GRADUATE SCHOOL  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY**

# 목 차

Summary	iii
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	3
1. 실험재료	3
2. 실험방법	3
1) 물리적 방법에 의한 칼슘추출	3
2) 화학적 방법에 의한 칼슘의 추출	4
3) 물리적 및 화학적 방법을 병행한 칼슘의 추출	5
4) 각 추출 조건에 따른 칼슘의 가용화율 측정	5
5) 일반성분	6
6) 아미노산조성	6
7) 무기질 분석	6
8) 칼슘함량 측정	6
III. 결론 및 고찰	8
1. 물리적 방법에 의한 칼슘의 추출	8
1) 증류수에 의한 칼슘의 추출	8
2) 에탄올을 이용한 칼슘의 추출	9
(1) 80℃에서 40%, 60%, 80% 에탄올을 이용한 칼슘의 추출	9
(2) 90℃에서 40%, 60%, 80% 에탄올을 이용한 칼슘의 추출	10
(3) 100℃에서 40%, 60%, 80% 에탄올을 이용한 칼슘의 추출	11
2. 화학적 방법을 이용한 칼슘의 추출	12
1) Lactic acid를 이용한 칼슘의 추출	12
2) Malic acid 이용한 칼슘의 추출	13
3) Citric acid 이용한 칼슘의 추출	14

4) Ascorbic acid 이용한 칼슘의 추출.....	15
5) 각 추출 용매량에 따른 추출율의 변화.....	16
<b>3. 물리적, 화학적 방법을 병행한 칼슘의 추출.....</b>	<b>17</b>
1) 120℃에서 lactic acid 을 이용한 칼슘의 추출.....	17
2) 120℃에서 malic acid를 이용한 칼슘의 추출.....	18
3) 120℃에서 citric acid를 이용한 칼슘의 추출.....	19
4) 120℃에서 ascorbic acid를 이용한 칼슘의 추출.....	20
<b>4. 각 추출 조건에 따른 칼슘의 가용화율 측정.....</b>	<b>21</b>
1) 120℃ 증류수로 추출한 칼슘의 가용화율 .....	21
2) Lactic acid로 추출한 칼슘의 가용화율 .....	22
3) Malic acid 로 추출한 칼슘의 가용화율 .....	23
4) Citric acid로 추출한 칼슘의 가용화율 .....	24
5) Ascorbic acid로 추출한 칼슘의 가용화율 .....	25
6) 각 용매량 에 따른 칼슘의 가용화율.....	26
7) 120℃에서 lactic acid 로 추출한 칼슘의 가용화율.....	27
8) 120℃에서 malic acid 로 추출한 칼슘의 가용화율.....	28
9) 120℃에서 citric acid 로 추출한 칼슘의 가용화율.....	29
10) 120℃에서 ascorbic acid 로 추출한 칼슘의 가용화율.....	30
<b>5. 말뚝의 일반성분 및 무기질 분석.....</b>	<b>31</b>
<b>6. 아미노산 조성.....</b>	<b>32</b>
<b>IV. 요약 .....</b>	<b>33</b>
<b>V. 참고 문헌.....</b>	<b>34</b>

## Summary

Calcium was extracted from horse bone by distilled water, ethanol and organic acids solutions, and extraction yields of total calcium (TC) and soluble calcium (SC) were measured.

Extraction yield of TC increased as the extraction temperature increased such as 1,153.04 mg/kg at 120°C, 491.46 mg/kg at 100°C, and 93.18 mg/kg at 80°C. SC (%) were 8.3, 7.6, and 6.9% at 120, 100 and 80°C, respectively.

Horse bone was also extracted by 40–80% EtOH at 80, 90, and 100°C. extraction yields of TC were 82.93 mg/kg with 40% EtOH/100°C, 39.65 mg/kg with 60% EtOH/100°C, and 25.48 mg/kg with EtOH/100°C.

Horse bone was also extracted by organic acids solutions (10–40% lactic acid, malic acid, citric acid, and ascorbic acid). Extraction yields of TC were 32.5 g/kg with 40% lactic acid, 27.9 g/kg with 40% citric acid, 22.4 g/kg with 40% malic acid, and 2.7 g/kg with 40% ascorbic acid. SC were 17.2% with 40% citric acid, 14.8% with 40% lactic acid, 12.1% with 40% malic acid, and 8.9% with 40% ascorbic acid.

## I. 서 론

현대는 경제성장과 더불어 늘어나는 맞벌이 부부, 홀로 사는 사람의 증가와, 더불어 교통체증과 함께 바쁘게 살다보니 즉석으로 이용 가능한 가공 식품의 수요가 늘어나고 있고 빠르게 증가하고 있어 이로 인하여 칼슘 등과 같은 유용 무기 성분 및 비타민 등과 같은 미량 성분이 결핍되기 쉽다(1-2).

칼슘은 체내에서 가장 많이 존재하는 무기질로, 보통 성인 체중의 1.5~2%인 1,000~1,500g 정도를 체내에 보유하고 있다. 체내 칼슘의 99% 정도는 골격과 치아를 형성하고 있으며 나머지 1% 정도만이 근육의 수축과 이완, 규칙적인 심장 박동 혈액의 응고, 효소의 활성화, 세포내 자극과 흥분의 전달과 같은 생리활성 조절 기능을 담당하고 있다(3).

이와 같이 다양한 생리활성 조절기능을 가지고 있는 칼슘은 체내에서 항상 일정한 농도(약 10mg/100ml) 로 유지되어야 하는데, 만일 장기간 동안 칼슘 섭취가 부족해지면 골다공증, 구루병, 테타니(tetany)와 같은 결핍증이 유발될 뿐만 아니라 골격과 관련된 질환 이외에 순환기 계통 질환, 대장 질환, 고혈압 등 각종 성인병과 관련지어져 그 중요성이 강조되고 있다(4).

또한, 미국에서는 이러한 골다공증을 치료하기 위하여 매년 소모되는 비용이 100~200억 달러에 달할 정도로 치료비가 많이 드는 질병이다. 때문에 이러한 것들이 환자들의 재정압박으로 작용하여 사회문제가 되고 있다(5).

상용 칼슘제로서는 탄산칼슘, 인산칼슘 등의 불용성칼슘과 염화칼슘, 구연산칼슘, 젖산칼슘, 글루콘산칼슘 등 수용성 유기산염의 형태로 공급되어 왔다. 천연칼슘 소재로서는 우골 및 돈 골분을 이용한 단순한 분쇄형태와 유기산 처리에 의한 형태(6-8), 어 골분(9-12)을 이용한 소성및 유기산 처리에 의한 형태, 난각을 이용한 난각 칼슘(13-14) 소성에 의한 패각분(15) 등 분쇄 및 소성에 의한 단순 가공 형태의 불용성 칼슘제가 널리 공급되어왔다.



그러나 최근에는 수산동물의 골편과 껍질 및 난각 등을 이용한 수용성 염인 유기산 칼슘의 제조를 위한 방법으로서 감오징어 갑과 다슬기 회분을 이용한 초산칼슘 (calcium acetate)과 타조알 껍질을 이용한 젖산칼슘의 제조방법이 있다(16). 또한 민태 어뼈로부터 물리, 화학적(유기산) 방법에 의한 수용성 칼슘 추출방법이 연구되어 지고 있다(17).

과거 우리나라에서는 말은 승용 (乘用), 식용 (食用) 으로 사용되어 왔으며, 최고의 재산 가치로 계산되었다(18). 말고기는 일부 유럽국가 일본 등지에서 중요한 식품자원으로 이용되고 있으며, 허준의 동의보감에 의하면 “백마의 육 (肉)은 성질이 차고 맛은 맵고 쓰며 독이 약간 있으니 근골 (筋骨)을 기르고 요 (腰) 와 척(脊)을 강하게 하여 장건 (壯健) 해진다.” 고 하였다(19).

제주의 말 사육 두수는 1990년의 9,597 두에서 2005년에는 16,487 두로 크게 증가하는 추세이며, 말 도축수는 2002년 209두에서 2007년에는 1500두로 급성장하고 있다. 이는 경주마로써의 활용과 사육두수의 증가로 자연스레 말고기 산업의 확장을 가져왔다. 이는 말고기의 식용과 연관되어 지고 그에 따라 말기름, 말뼈 등 부산물을 이용한 상품개발도 병행하고 있으며, 그중에서도 말뼈이용 활용 방안 필요성이 높아지고 있다(20).

그러나 말과 관련한 연구는 주로 유럽에서 진행되었으며, 말고기의 영양적 및 식육적 가치에 관한 연구가 주를 이루고 말뼈에 대한 연구는 미미한 실정이다(21). 말뼈와 소뼈의 무기질 함량 비교에 대한 자료를 참고하면, 말뼈의 무기질 함량은 소뼈에 비해 칼슘, 구리 등에서 함량이 높았고, 인과 마그네슘 함량이 낮게 나타났다(22). 이러한 결과는 기존의 소뼈를 이용한 무기질 공급보다 더 나은 무기질 공급원으로 이용될 수 있음을 시사한다(21).

이에 본 연구에서는 물리, 화학적 처리에 의해 말뼈로부터 칼슘을 추출하고 그 가용화에 대해 실험하여 천연칼슘 공급원으로서의 가능성에 대해 검토하였다.



## II. 재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 연구에 사용된 말뼈는 제주특별자치도 제주시 외도동에 위치한 J사에서 제공 받아 말뼈를 약 5cm 크기로 절편한 후 70~100℃의 열수에 30분간 침지시켜 육과 피 등 불순물을 제거하고 뼈는 깨끗한 물에 수세하여 자연 건조시켜 Waring blender(Model 33BL79, New Hartford, CT, USA)로 분쇄(40mesh)한 것을 실험재료로 사용하였다. 유기산(lactic acid, malic acid, citric acid, ascorbic acid)은 Sigma(Sigma Chemical Co, USA)에서 구입하여 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 물리적 방법에 의한 칼슘추출

고온의 조건하에서 증류수와 에탄올을 추출용매로 말뼈 추출율을 조사 하였다. 추출조건은 증류수인 경우는 말뼈 20g에 200 mL의 증류수를 가하고 증탕기를 이용하여 80℃, 100℃(1atm) 및 120℃(1.5atm)에서 각각 6, 12, 18, 24시간 동안 추출 하였다. 에탄올인 경우는 80℃, 90℃, 100℃에서 말뼈 20g에 40%, 60%, 80%, 에탄올용액 200 mL를 각각 가하고 6, 12, 18, 24시간 동안 추출하였다. 이때의 추출 조건은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Extraction conditions of horse bone by physical treatment

Solvent(%, v/v)	Extraction temp(°C)	Extraction time(hr)
Distilled water	80, 100, 120	6, 12, 18, 24
40		
Ethanol	80, 90, 100	6, 12, 18, 24
80		

2) 화학적 방법에 의한 칼슘의 추출

유기산(lactic acid, malic acid, citric acid, ascorbic acid)을 이용하여 다음과 같은 방법으로 칼슘을 추출하였다. 각각의 농도로 제조한 유기산용액 20 mL에 말뼈 2g을 넣고 37°C의 water bath(SKWB-1, SKSC)에서 1, 3, 5, 7 시간 추출한 후 각각의 추출물을 습식 분해하고 증류수로 정용(100 mL)하여 유도결합플라즈마 분광광도계(Inductively coupled plasma spectrophotometer, ICP, Atomscan 25,TJA)로 칼슘 함량을 측정하였다. 각 유기산에 의한 칼슘추출 조건은 Table 2 나타내었다.

Table 2. Extraction conditions of horse bone by chemical treatments at 37°C

Organic acid	Concentration(w/v)	Extraction time(hr)
Lactic acid	10, 20, 30, 40	1, 3, 5, 7
Malic acid		
Citric acid,		
Ascorbic acid		
Lactic acid	10, 25, 50, 100	5
Malic acid		
Citric acid,		
Ascorbic acid		

3) 물리적 및 화학적 방법을 병행한 칼슘의 추출

두 가지 방법을 병행하여 말뼈로부터 칼슘을 추출하였다. 즉 물리적인 추출 조건 중 최적의 조건에서 각각의 농도로 제조한 유기산을 첨가하여 1, 3, 5, 7시간 추출, 추출물을 습식 분해하고 증류수로 정용(100 mL)하여 유도결합플라즈마 분광광도계(Inductively coupled plasma spectrophotometer, ICP, Atomscan 25, TJA)로 칼슘 함량을 측정 하였다.

칼슘추출 조건은 Table 3에 나타내었다.

Table 3. Extraction conditions of horse bone by both physical and chemical treatment at 120°C

Organic acid	Concentration(v/v)	Extraction time(hr)
Lactic acid		
Malic acid	10, 20, 30, 40	1, 3, 5, 7
Citric acid,		
Ascorbic acid		

4) 각 추출 조건에 따른 칼슘의 가용화율 측정

가용화도는 각각의 방법으로 추출한 시료용액 0.5 mL에 10mM Na<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> 1 mL를 첨가한 후, 4mM CaCl<sub>2</sub> 0.25 mL를 가하여 37°C에서 3시간동안 반응시키고 원심분리(1,520×g, 10min)하여 상층액의 칼슘농도를 유도결합플라즈마 분광광도계 (Inductively Coupled Plasma Spectrophotometer, ICP, Atomscan 25, TJA)로 측정한다. 다음 식을 이용하여 가용화 칼슘 비율을 계산하였다(26).

$$\text{가용화 칼슘 비율 (\%)} = \frac{\text{상층액의 칼슘량}}{\text{총 칼슘량}} \times 100$$

5) 일반성분

건조된 말뼈의 수분, 조단백, 조지방 및 회분을 측정하였다. AOAC 방법(23)과 식품공전(24)에 준하여 수분함량은 0.003g 이하의 유의차를 향량으로 하여 105°C 상압가열건조법으로 측정하였고, 조지방은 Soxhlet추출법으로 측정하였으며 조단백질 함량은 Micro Kjeldahl방법으로 측정하였으며, 그리고 회분함량은 건식법으로 측정하였다.

#### 6) 아미노산조성분석

아미노산조성은 Mason(25)의 방법을 다소 수정하여 측정하였으며, 시료 50~100mg을 정량하여 ampoule에 넣고 6N HCl 2 mL를 가하여 봉한 후 110°C에서 24시간동안 산 가수분해하였다. 분해액을 glass filter로 여과하고 감압건고하고 HCl을 제거한 후 citric acid buffer(pH 2.2)로 25 mL되도록 정용하였다. 이 중 일부를 아미노산 정량분석기(L-8900, Hitachi, Japan)를 이용하여 측정하였다.

#### 7) 무기질 분석

무기질 분석은 시료를 회화 도가니에 취하여 550~600°C의 온도에서 24시간 가열하여 백색-회백색의 회분이 얻어질 때까지 건식 회화한다. 이 회분을 방냉 후 35%염산과 증류수를 1:1(v/v)로 희석한 액 약 10 mL를 가해 수욕상에서 완전 증발건고 시킨다. 이 건고물에 묽은 염산과 증류수를 1:4(v/v)로 혼합한 용액 약 10 mL를 가해 4-6분 가열 후 상온에서 냉각시켜 NO. 43 여과지(Whatman international Ltd, England)로 여과한 후 100 mL로 정용하고 유도결합플라즈마 분광광도계(Inductively Coupled Plasma Spectrophotometer, ICP, Atomscan 25, TJA)로 무기질 함량을 측정 하였다.

#### 8) 칼슘함량 측정

여러 가지 추출방법으로 추출한 시료의 칼슘함량 측정은 식품공전(24) 방법 중 습식 분해 방법에 따라 시료를 300 mL분해 플라스크에 취하고, 60%질산 5 mL를 가하여 서서히 약하게 가열하였다. 질산이 휘산되어 내용물이 거의 건고 되면 70% 과염소산 10 mL를 가하여 가열 하여, 고형물이 완전히 용해되고 액이 무색이 될 때까지 가열, 분해 후 냉각하고 소량의 물로 희석한 후 증발건조 하여 과염소산을 증발시킨다. 이 증발건조된 시료에 35%염산과 증류수를 1:1(v/v)로 희석하여 약 10 mL를 가해 수욕상에서 완전히 녹인 후 증류수로 정용(100 mL) 하여 유도결합플라즈마 분광광도계(Inductively coupled plasma spectrophotometer ICP, Atomscan 25,TJA)로 칼슘함량을 측정 하였다.

이때 무기질 분석을 위한 ICP 기기 조건은 Table 4와 같다.

Table 4. ICP/MS analysis conditions

Item	Parameters	Setting range
Gas flow(L/min)	Plasma flow(L/min)	16.5-18.5
	Auxiliary flow (L/min)	1.45-1.55
	Sheath gas flow(L/min)	0.22-0.25
	Nebulizer flow(L/min)	1.0
RF power(kw)	RF power(kw)	1.4
CRI gases(L/min)	Skimmer(with H <sub>2</sub> )	0.085-0.090
	Scan mode	peak hopping
	Dwell time(ms)	20
Quadrupole scan	Points per peak	1
	Scan/Replicate	50
	Replicates/Sample	3

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 물리적 방법에 의한 칼슘의 추출

##### 1) 증류수에 의한 칼슘의 추출

추출온도(80℃, 100℃, 120℃)와 추출시간(6, 12, 18, 24 hr) 별로 말뼈로부터 칼슘을 추출한 결과를 Fig. 1에 나타내었다.

추출온도 80℃, 100℃, 및 120℃에서 24시간 추출하였을 때 추출수율은 각각 93.18 mg/kg, 491.46 mg/kg, 1153.04 mg/kg으로 가장 많이 추출되었으나, 80℃, 100℃에서의 추출수율은 미미하였고, 120℃추출율은 말뼈 내의 칼슘량 즉 약 10.9 g/100g 과 비교해서 1% 내외의 추출율을 나타내어, 어뼈를 증류수로 추출했을 때의 5% (17)비해 낮은 추출율을 나타내었다. 이 결과로부터 말뼈로부터 증류수에 의해 추출된 칼슘함량은 추출온도에 따라 큰 차이가 있는 것을 확인할 수 있었다.

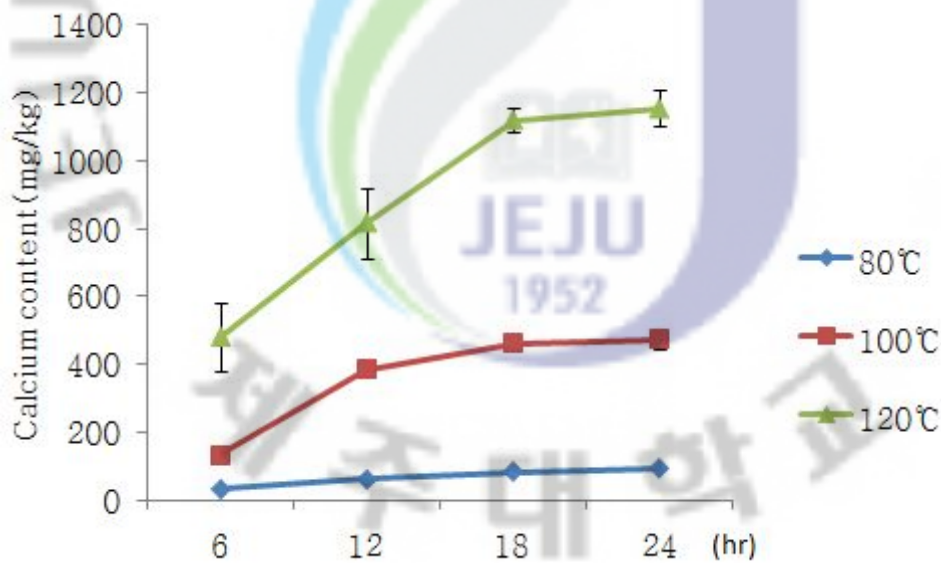


Fig. 1. Calcium content extracted from horse bone by distilled water at 80℃, 100℃ and 120℃.

## 2) 에탄올을 이용한 칼슘의 추출

### (1) 80℃에서 40%, 60%, 80% 에탄올에 의한 칼슘의 추출

추출온도 80℃에서 추출용매로 에탄올 농도를 40%, 60%, 80%로 달리하여 시간별로 각각의 칼슘 추출수율을 측정하여 그 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 추출 시간이 24시간 일때 제일 많이 추출되었으며 에탄올 농도40%, 60%, 80%에서 각각 69.11 mg/kg, 35.65 mg/kg, 21.82 mg/kg으로 나타나, 에탄올 농도가 높을수록 칼슘 추출함량이 낮게 나타났는데, 이는 에탄올에 대한 칼슘의 용해도가 낮기 때문인 것으로 추정된다.

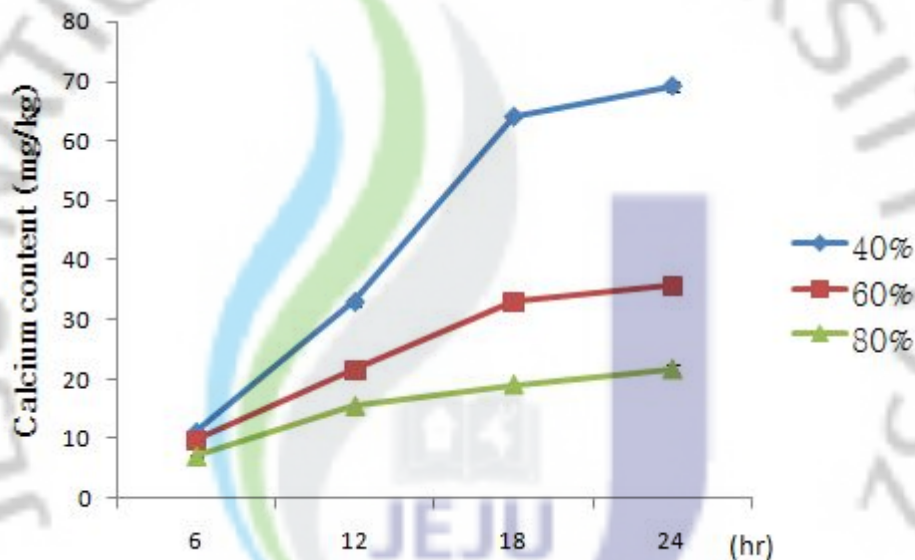


Fig. 2. Calcium content extracted from horse bone by 40%, 60%, 80% of ethanol at 80℃.



(2) 90℃에서 40%, 60%, 80% 에탄올을 이용한 갈숨의 추출

90℃에서 40%, 60%, 80%의 에탄올을 추출용매로 추출시간에 따른 갈숨추출량을 측정하여 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 90℃ 에서도 24시간 추출하였을 때 가 추출율이 가장 높았으며 40%, 60%, 80%에서 각각 72.77 mg/kg, 36.98 mg/kg, 23.48 mg/kg으로 나타났으나, 80℃에서 에탄올의 추출형태와 똑같이 용매인 에탄올 농도가 높을수록 추출효율이 떨어지는 것을 확인할 수 있었다. 또 80℃에서 추출한 것에 비하면 최고추출량이 더 높게 나타난 것을 볼 수 있었는데, 이는 온도의 차이에 따른 결과로 생각된다.

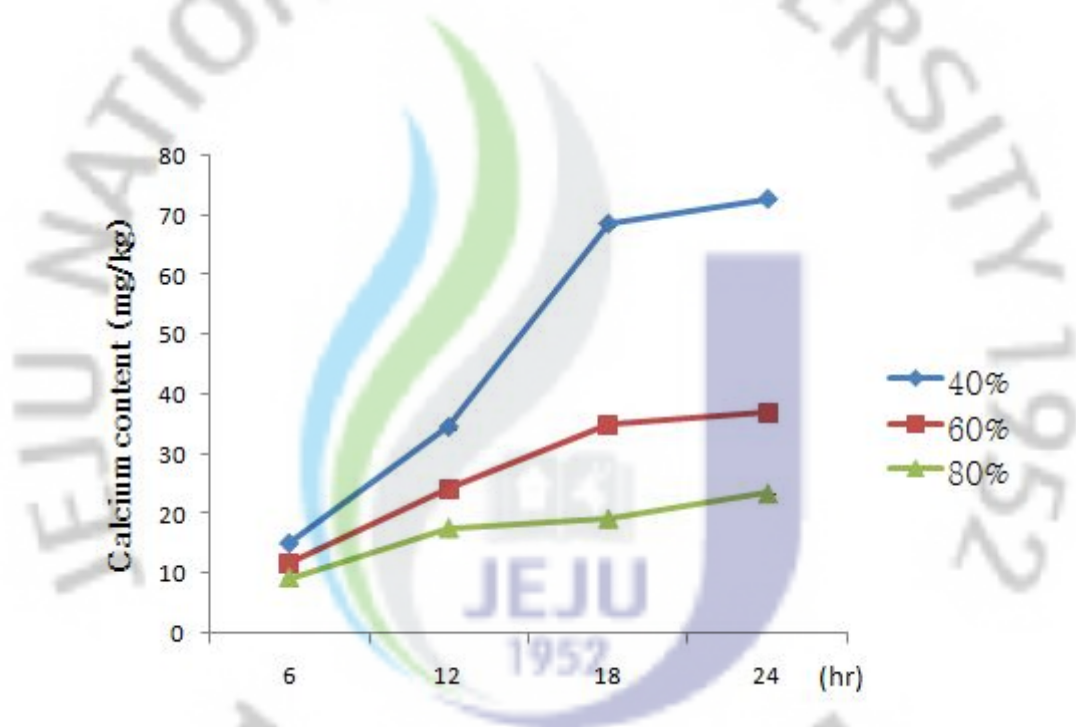


Fig. 3. Calcium content extracted from horse bone by 40%, 60%, 80% of ethanol at 90℃.

(3) 100℃에서 40%, 60%, 80% 에탄올 이용한 갈숨의 추출

100℃에서 각각 40%, 60%, 80%의 에탄올을 추출용매로 하여 추출시간 별로 갈숨함량을 측정하여 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 100℃에서 24시간 추출하였을 때 각 농도별로 추출율이 가장 높아 40% 60%, 80%에서 각각 82.93 mg/kg, 39.65 mg/kg, 25.48 mg/kg을 나타냈다. 그러나 이 결과도 증류수로 추출한 것에 비하면 낮아서 증류수 추출수율 중 가장 낮은 80℃에서의 추출율 93.18 mg/kg보다도 낮은 값이었다.

추출온도는 높을수록, 추출용매의 농도는 낮을수록 그리고 추출시간은 길수록 추출율이 높음을 알 수 있었다. 또한 유기용매인 에탄올보다 증류수로 추출하는 것이 효율이 높은 것으로 나타났다.

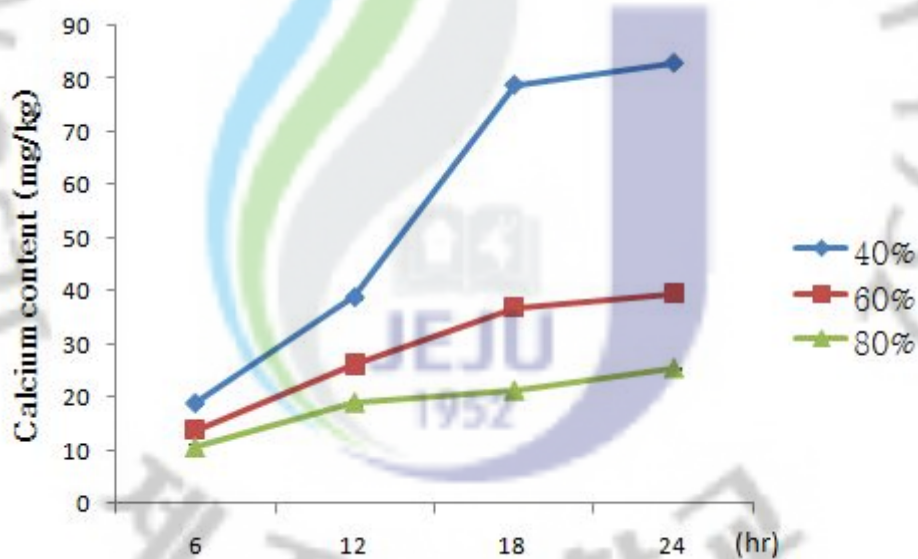


Fig. 4. Calcium content extracted from horse bone by 40%, 60%, 80% of ethanol at 100℃.

## 2. 화학적 방법에 의한 칼슘의 추출

### 1) Lactic acid를 이용한 칼슘의 추출

말뼈로부터 유기산을 사용하여 칼슘을 추출하고자 하였다. lactic acid를 10%, 20%, 30%, 40%단계의 농도로 제조한 후 각각의 시간별로 추출한 칼슘함량을 Fig. 5에 나타내었다.

전체적으로 lactic acid의 농도가 높을수록 그리고 추출시간이 길어질수록 칼슘 함량이 높았으며 7시간 추출 했을때 10%, 20%, 30%, 그리고 40%농도에서 각각 18.2 g/kg, 20.1 g/kg, 25 g/kg과 32.5 g/kg으로 가장 높은 추출율을 나타내었다. 또 모든 농도에서 5시간 까지는 꾸준히 추출량이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 추출량이 거의 일정하였다. 말뼈 내 칼슘량과 비교하면 최고 추출율은 약 33% 로 어류뼈의 칼슘 추출율의 28%보다는 높았다(17).

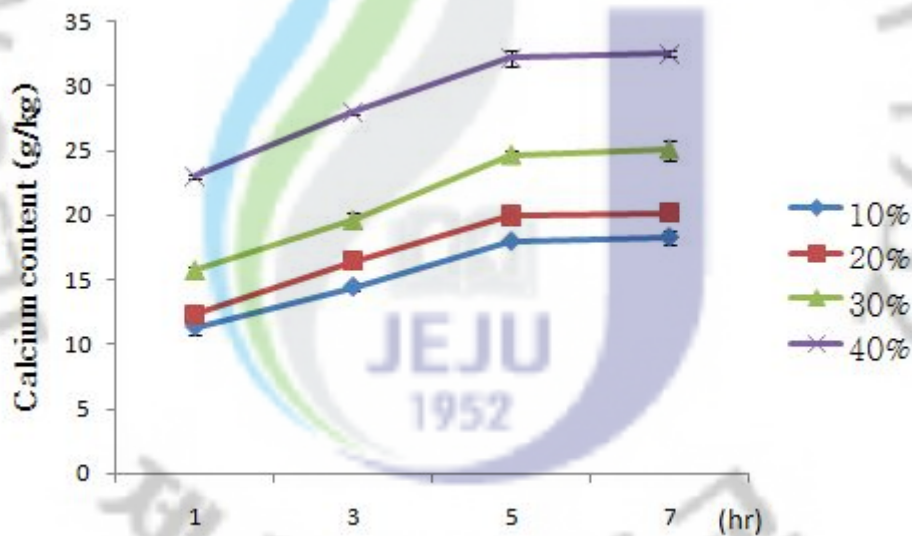


Fig. 5. Calcium content extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of lactic acid at 37°C.

## 2) Malic acid 이용한 칼슘의 추출

Malic acid를 10%, 20%, 30%, 40%의 농도로 제조한 후 시간에 따른 칼슘추출 결과를 Fig. 6에 나타내었다.

malic acid의 농도가 높을수록 그리고 추출시간이 길어질수록 칼슘함량이 높았으며 7시간 추출 했을때 10%, 20%, 30%, 그리고 40%농도에서 각각 12.57 g/kg, 15.67 g/kg, 19.26 g/kg, 22.45 g/kg으로 가장 높은 추출율을 나타내었다. 또 모든 농도에서 5시간까지는 꾸준히 추출량이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 추출량이 거의 일정하였다. 말뼈 내 칼슘량과 비교하면 최고추출율은 약 22%로 어류뼈의 칼슘 추출율 18%에 (17)비해 다소 높은 추출율을 나타내었다.

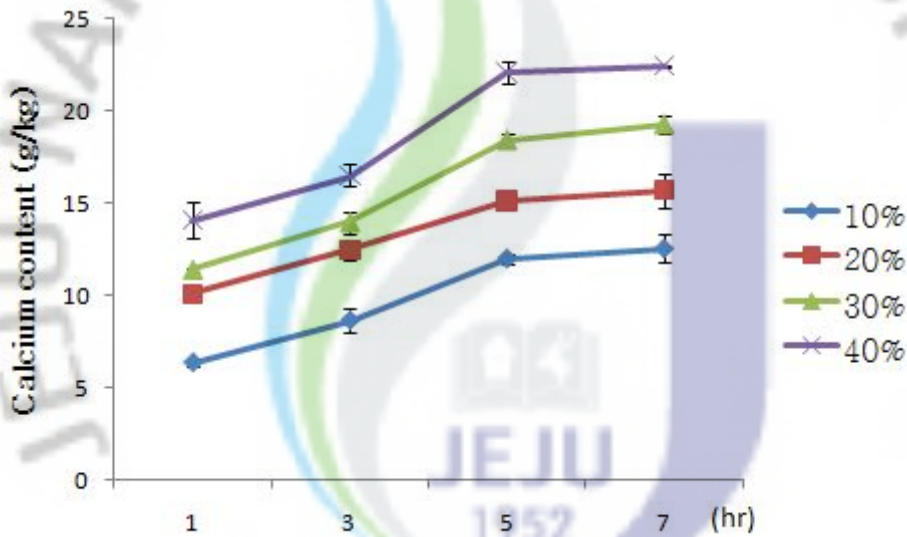


Fig. 6. Calcium content extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of malic acid at 37°C.

### 3) Citric acid 이용한 칼슘의 추출

Citric acid을 10%, 20%, 30%, 40%의 농도로 제조한 후 시간에 따른 칼슘추출 결과를 Fig. 7에 나타내었다.

전체적으로 citric acid의 농도가 높을수록 그리고 추출시간이 길어질수록 칼슘 함량이 높았으며 7시간 추출 했을때 10%, 20%, 30%, 그리고 40%농도에서 각각 15.78 g/kg, 18.77 g/kg, 24.4 g/kg, 27.99 g/kg 으로 가장 높은 추출율을 나타내었다. 모든 농도에서 5시간 까지는 꾸준히 추출량이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 추출량이 거의 일정하였는데, 말뼈 내 칼슘량과 비교하면 최고 추출율은 약 28%로 어류뼈의 칼슘 추출율이 54%라는 (17)에 비해 현저히 낮은 추출율을 나타내었다. 위의 결과로 추출시료에 따라서 같은 유기산으로 추출한 결과가 다르다는 것을 확인할 수 있었다.

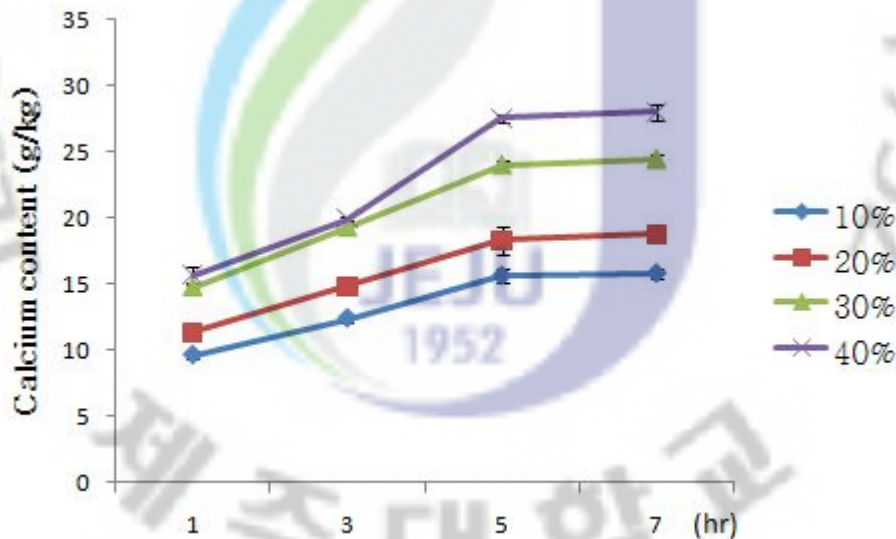


Fig. 7. Calcium content extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of citric acid at 37°C.

#### 4) Ascorbic acid 이용한 칼슘의 추출

Ascorbic acid를 10%, 20%, 30%, 40%의 농도로 제조한 후 시간에 따른 칼슘 추출결과를 Fig. 8에 나타내었다.

전체적으로 ascorbic acid의 농도가 높을수록 그리고 추출시간이 길어질수록 칼슘함량이 높았으며 7시간 추출 했을때 10%, 20%, 30%, 그리고 40%농도에서 각각 1.4 g/kg, 1.69 g/kg, 1.89 g/kg, 2.69 g/kg으로 가장 높은 추출율을 나타내었다. 앞선 3가지의 유기산과는 다르게 추출율이 현저히 떨어지는 것을 확인할 수 있었다. 말뼈 내 칼슘량에서 칼슘 추출율은 2.7%내외로 나타났다.

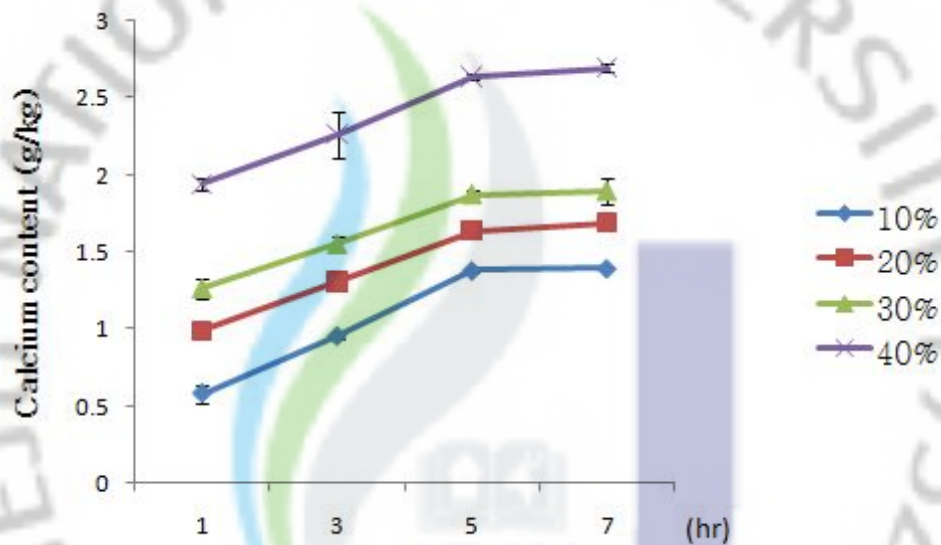


Fig. 8. Calcium content extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of ascorbic acid at 37°C.



5) 각 추출 용매량에 따른 추출율의 변화

4가지의 유기산으로 칼슘을 추출한 결과 모든 유기산에서 농도가 높을수록 추출율이 가장 높았다. 그래서 각 유기산에서 추출율이 가장 좋은 5시간, 40% 농도를 기준으로 말뼉: 유기산의 양(1:10, 1:25, 1:50, 1:100)의 비로 하여 칼슘을 추출한 결과를 Fig. 9에 나타내었다.

40% lactic acid는 32.49-89.49 g/kg, 40% malic acid는 22.45-73.8 g/kg, 40% citric acid는 27.99-86.9 g/kg, 40% ascorbic acid는 2.69-31.7 g/kg으로, 용매량이 많을수록 즉 1:100(w/v)에서 가장 높은 추출량을 확인되었으나, 용매량이 1:25, 1:50 과 비교해 추출율의 차이가 적으므로 용매량이 가장 적은 1:25가 적당하리라 판단된다. 용매종류에서는 lactic acid의 추출율이 가장 높은 것을 확인할 수 있었다. 말뼉 내의 칼슘량과 비교하면 40% lactic acid는 30-90%, 40% malic acid는 22-74%, citric acid는 27-87%, ascorbic acid는 2.7-32%의 추출율을 보였다. 어뼈를 유기산으로 추출했을 때 40% lactic acid, malic acid, citric acid의 추출율은 각각 28-81%, 18-82%, 54-91%와 비슷하여 (17)시료에 관계없이 유기산의 양에 따라 칼슘의 추출량이 변화는 것을 확인할 수 있었다.

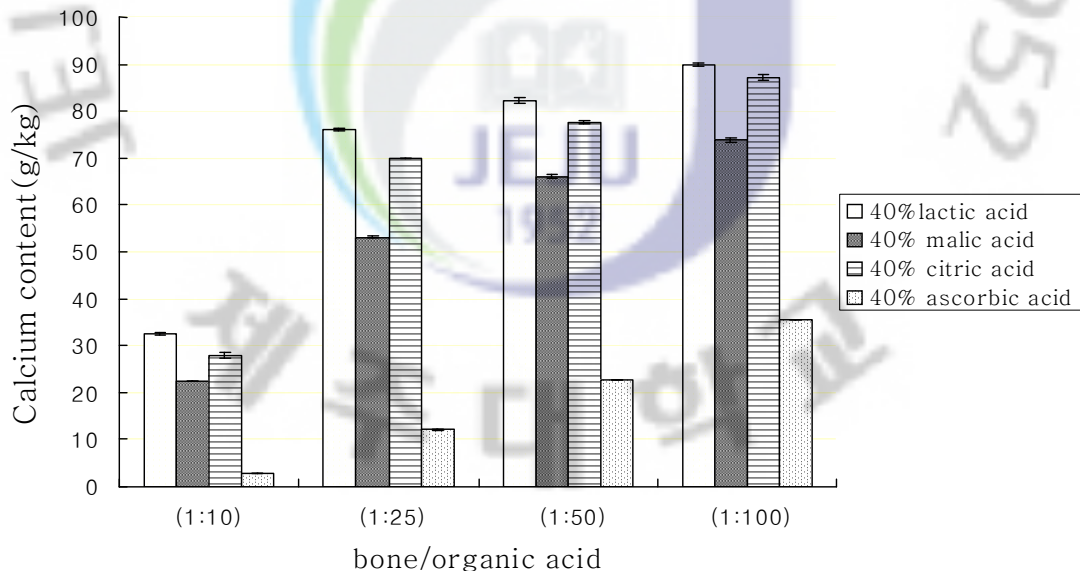


Fig. 9. Calcium content extracted from horse bone by 40% of various organic acids (1:10, 1:25, 1:50, 1:100)(w/v).



### 3. 물리적, 화학적 방법을 병행한 칼슘의 추출

#### 1) 120°C에서 lactic acid을 이용한 칼슘의 추출

칼슘 추출을 위한 두 방법인 물리적, 화학적 방법으로 칼슘을 추출하여 여기에서 물리적 방법 중에서 가장 추출효율이 좋은 120°C에 화학적 방법에서의 각 유기산을 가지고 두 가지 방법을 병행하여 칼슘 추출량을 비교하였다. 120°C에서 lactic acid의 농도를 다르게 하면서 칼슘 추출을 한 결과를 Fig. 10에 나타내었다.

각 농도별 최고 칼슘 추출량은 10%는 19.58 g/kg, 20%는 22.1 g/kg, 30%는 27.4 g/kg, 40%는 35.12 g/kg으로 40%에서 가장 높은 추출량을 나타내어 농도가 높을수록 추출효과가 높은 것으로 나타났으며, 화학적 추출에 비해 전반적으로 높은 추출량을 확인할 수 있었고, 3시간까지는 꾸준히 추출량이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 추출량이 큰 변화 없이 화학적 방법에서의 추출에서 보다 빠르게 추출량이 평형에 도달하였다. 말뼈 내 칼슘량과 비교해서 최고추출율은 35%로 어뼈의 추출율 31%에 비해 높은 값을 나타냈다(17).

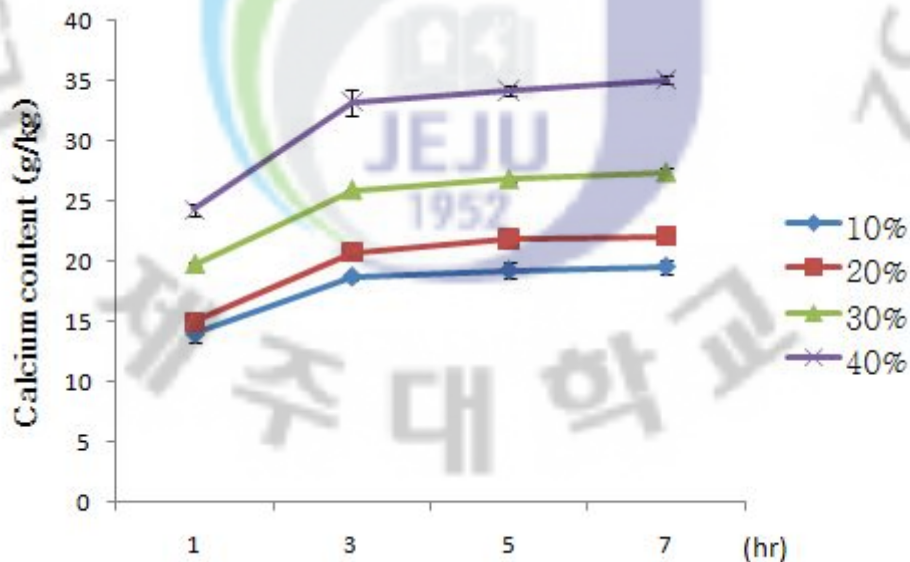


Fig. 10. Calcium content extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of lactic acid at 120°C.

2) 120°C에서 malic acid를 이용한 칼슘의 추출

120°C에서의 malic acid의 양을 다르게 하여 칼슘을 추출한 결과를 Fig. 11에 나타내었다.

각 농도별 최고 칼슘 추출량은 10%는 15.9 g/kg, 20%는 18 g/kg, 30%는 21.7 g/kg, 40%는 24.12 g/kg으로 40%에서 가장 높은 추출량을 나타내어 농도가 높을수록 추출효과가 높은 것으로 나타났으며, 화학적 추출에 비해 전반적으로 높은 추출량을 확인할 수 있었고, 3시간까지는 꾸준히 추출량이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 추출량이 일정하여 화학적 방법에 의한 추출에서 보다 빠르게 추출량이 평형에 도달하였다. 말뼈 내 칼슘량과 비교해서 최고추출율은 24%로 확인되었고, 어류뼈의 추출율 22%에 비해 비슷하거나 조금 높은 결과를 나타내었다(17).

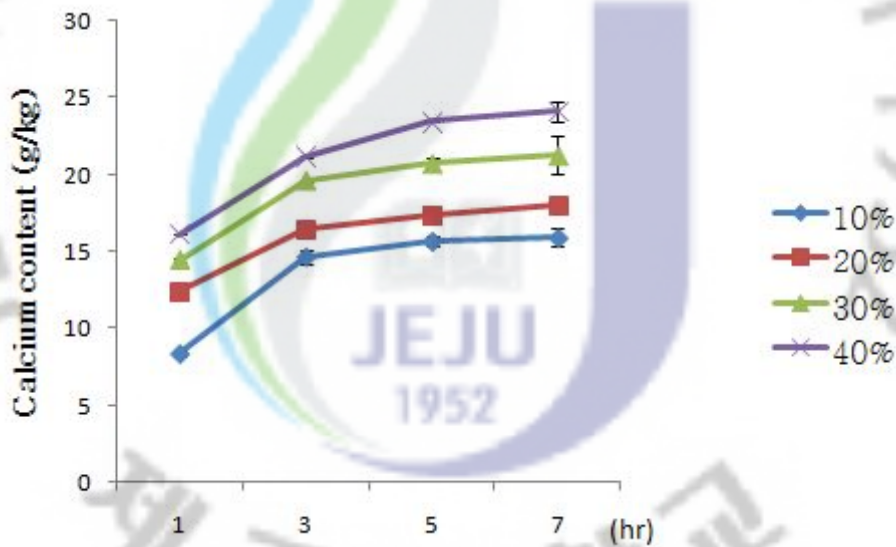


Fig. 11. Calcium content extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of malic acid at 120°C.

3) 120℃에서 citric acid를 이용한 칼슘의 추출

120℃에서 citric acid의 양을 다르게 하여 칼슘 추출을 한 결과를 Fig. 12에 나타내었다.

각 농도별 최고 칼슘 추출량은 10%, 20%, 30%, 그리고 40% 농도에서 각각 18.4 g/kg, 20.4 g/kg, 25.07 g/kg, 29.32 g/kg으로 40%에서 가장 높은 추출량을 나타내어 농도가 높을수록 추출효과가 높은 것으로 나타났으며, 화학적 추출에 비해 전반적으로 높은 추출량을 확인할 수 있었고, 3시간까지는 꾸준히 추출량이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 추출량이 서서히 증가하였는데 화학적 방법에 의한 추출에서 보다 빠르게 평형에 도달하였다. 말뼈 내 칼슘량과 비교해서 최고 추출율은 30%로 어뼈 추출율 60%에 비하면 말뼈의 추출율은 크게 모자란 것을 확인할 수 있었다(17).

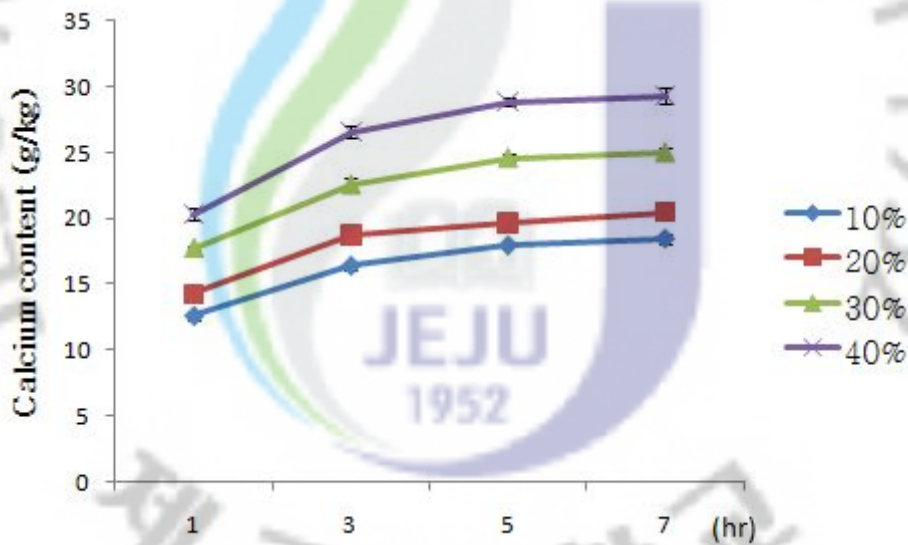


Fig. 12. Calcium content extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of citric acid at 120℃.

4) 120°C에서 ascorbic acid를 이용한 칼슘의 추출

120°C에서 ascorbic acid의 양을 다르게 하여 칼슘을 추출 한 결과를 Fig. 13에 나타내었다.

각 농도별 최고 칼슘 추출량은 10%, 20%, 30%, 그리고 40% 농도에서 각각 1.69 g/kg, 1.92 g/kg, 2.76 g/kg, 3.16 g/kg 으로 다른 유기산에서와 마찬가지로 40%에서 가장 높은 추출량을 나타내어 농도가 높을수록 추출효과가 높은 것으로 나타났다으며, 화학적 추출에 비해 전반적으로 높은 추출량을 확인할 수 있었다. 또 3시간까지는 꾸준히 추출량이 증가하는 경향을 나타내다가 추출량이 큰 변화가 없어 화학적 방법에서의 추출에서 보다 빠르게 추출량이 안정화 되었으나 앞선 3가지의 유기산보다는 현저히 떨어지는 추출율을 보였다.

말뼈 내 칼슘량 에서 칼슘 추출율은 3.16%내외로 나타났으며 각 농도별 추출율의 차이도 앞선 유기산들에 비해 크지 않았다.

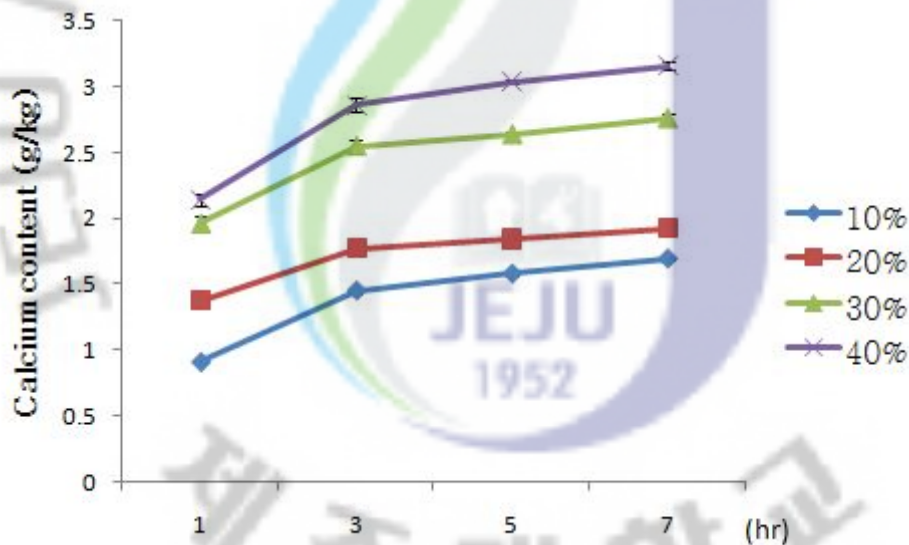


Fig. 13. Calcium content extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of ascorbic acid.

#### 4. 각 추출 조건에 따른 칼슘의 가용화율 측정

##### 1) 120℃ 증류수로 추출한 칼슘의 가용화율

물리적인 칼슘 추출 방법 중 증류수를 이용하여 80℃, 100℃, 및 120℃에서 추출한 칼슘 결과를 바탕으로 가용화에 대해 시험을 한 결과를 Fig .14에 나타내었다.

가용화율은 80℃, 100℃ 그리고120℃에서 각각 6.9%, 7.6%, 8.3%으로 나타나 가용화율 또한 칼슘 추출율과 마찬가지로 시간이 길어질수록 가용화가 증가하는 경향과 높은 온도에서 보다 더 가용화가 증가하는 패턴을 볼 수 있었다. 어뼈 에서의 증류수에 의한 가용화율은 7%로 본 실험의 결과도 이와 비슷하였다(17).

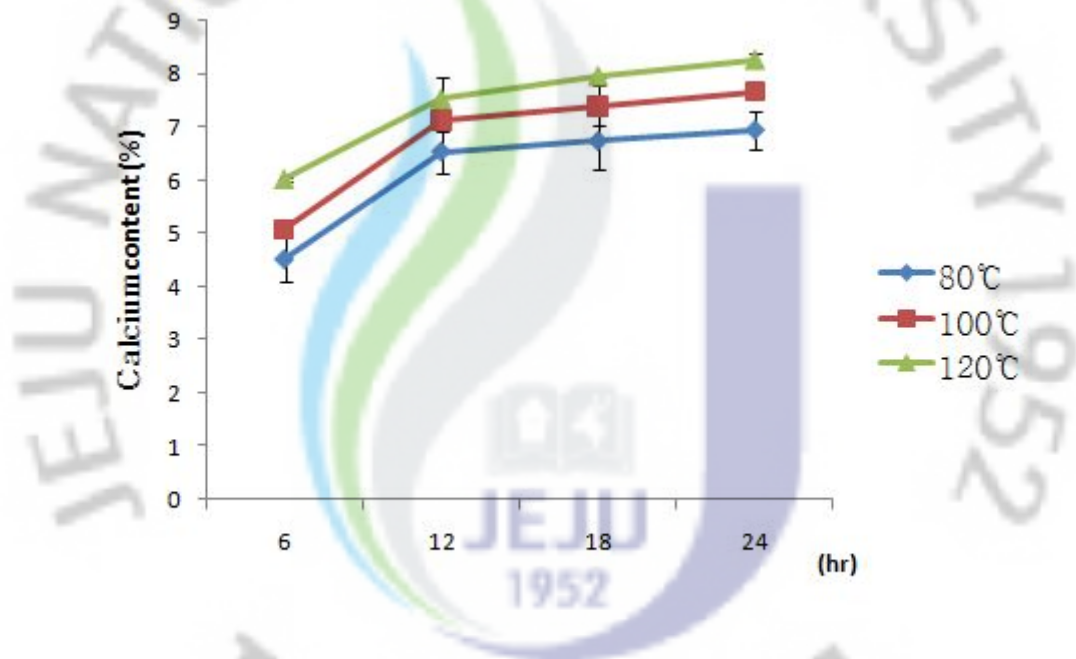


Fig. 14. Soluble calcium extracted from horse bone by distilled water at 80℃, 100℃ and 120℃

## 2) Lactic acid로 추출한 칼슘의 가용화율

화학적 추출방법 중 말뼈 내에 있는 칼슘을 유기산을 이용해서 칼슘을 추출하였다. 칼슘 추출율이 중요하지만 칼슘의 인체 내에서의 흡수율 또한 매우 중요하기 때문에 lactic acid를 이용한 칼슘 추출물을 시료로 각 시간별로 가용화율에 대하여 실험한 결과를 Fig. 15에 나타내었다.

각 농도별 최고의 칼슘 가용화율은 10%, 20%, 30%농도에서 각각 11.6% 12.4% 그리고 13.7%였으며 40%에서는 14.8%로 추출량과 마찬가지로 40%에서 가장 높은 가용화율을 나타내어 농도가 높을수록 가용화 효과가 높은 것으로 나타났다. 모든 농도에서 5시간까지는 꾸준히 가용화율이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 가용화율이 일정하였다. 어류뼈의 가용화율은 10% 정도였다(17).

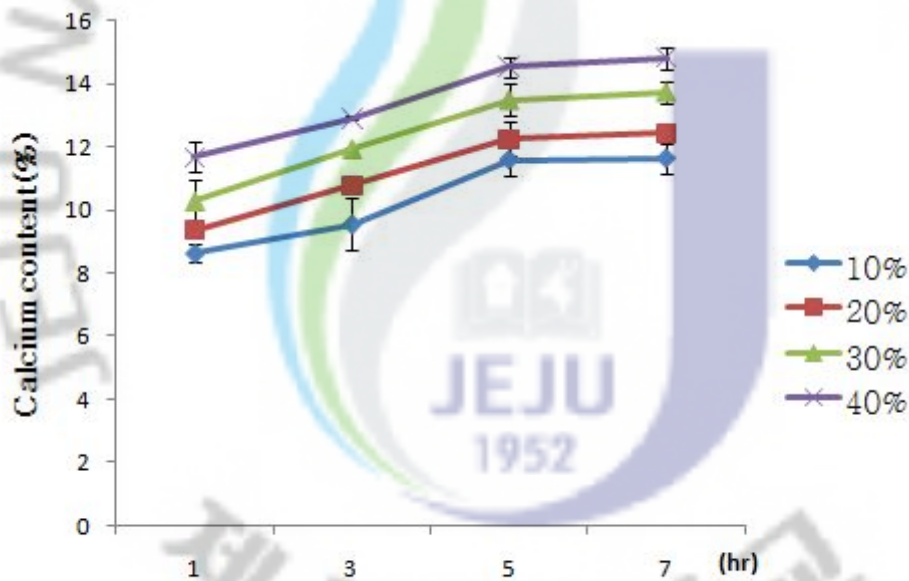


Fig. 15. Soluble calcium extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of lactic acid.



### 3) Malic acid로 추출한 칼슘의 가용화율

Malic acid의 각각의 추출량을 바탕으로 가용화율에 대한 실험결과를 Fig. 16에 나타내었다.

각 농도별 최고의 칼슘 가용화율은 10%, 20%, 30%, 40%의 malic acid농도에  
서 각각 19%, 10.3%, 11.6%와 12.1%를 나타내어 앞선 결과와 마찬가지로 40%  
에서 가장 높은 가용화율을 나타내었으며 농도가 높을수록 가용화 효과가 높은  
것으로 나타났고, 모든 농도에서 5시간까지는 꾸준히 가용화율이 증가하는 경향  
을 나타내다가 이후에는 가용화율이 거의 일정함을 확인할 수 있었다. 이 경우  
어류뼈의 가용화율은 11%라고 보고한 바 있다(17).

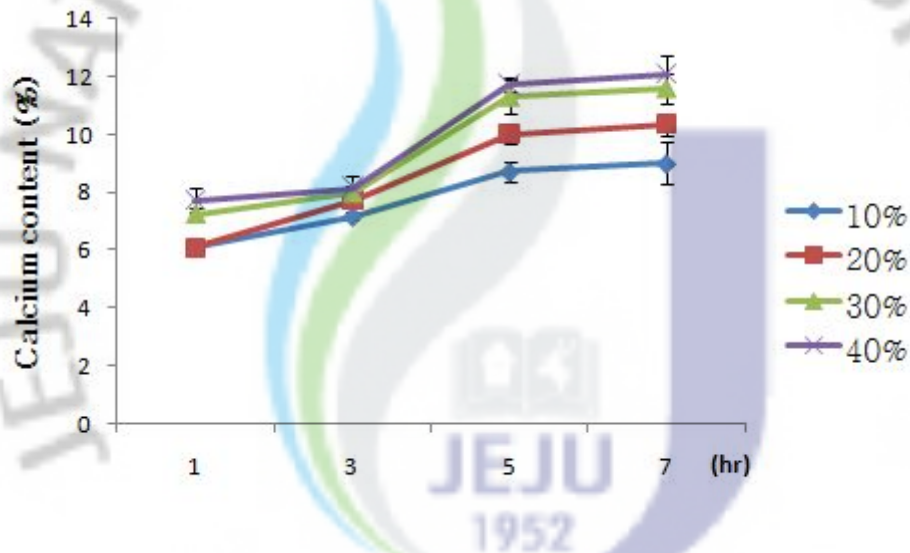


Fig. 16. Soluble calcium extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of malic acid.



#### 4) Citric acid로 추출한 칼슘의 가용화율

Citric acid 의 농도에 따라 추출한 각각의 칼슘량을 바탕으로 가용화율에 대한 시험을 한 결과를 Fig. 17 에 나타내었다.

각 농도별 최고의 칼슘 가용화율은 10%, 20%, 30%, 40%의 citric acid농도에 서 각각 14.5%, 14.8%, 15.7%와 17.2%를 나타내어 앞선 결과와 마찬가지로 40%에서 가장 높은 가용화율을 나타내었으며 농도가 높을수록 가용화 효과가 높은 것으로 나타났고, 모든 농도에서 5시간까지는 꾸준히 가용화율이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 가용화율이 거의 일정함을 확인할 수 있었다. citric acid로 추출한 칼슘은 4가지 유기산 중에서 가장 높은 가용화율을 나타내었다. 이와 같은 결과는 어뼈는 가용화율이 19%라는 결과 (17)보다는 조금 낮은 것을 확인할 수 있었다.

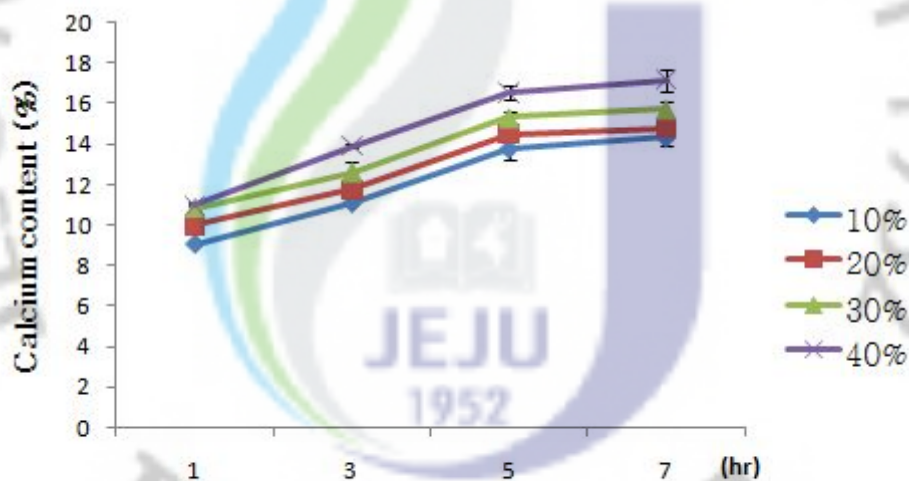


Fig. 17. Soluble calcium extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of citric acid.

5) Ascorbic acid로 추출한 칼슘의 가용화율

Ascorbic acid의 농도에 따라 추출한 각각의 칼슘량을 바탕으로 가용화율에 대한 시험을 한 결과를 Fig. 18에 나타내었다.

각 농도별 최고의 칼슘 가용화율은 10%, 20%, 30%, 40%의 ascorbic acid농도에서 각각 5.5%, 6.4%, 7.8% 와 8.4%를 나타내어 앞선 결과와 마찬가지로 40%에서 가장 높은 가용화율을 나타내었으며 농도가 높을수록 가용화 효과가 높은 것으로 나타났고, 모든 농도에서 5시간까지는 꾸준히 가용화율이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 가용화율이 거의 일정함을 확인할 수 있었다. ascorbic acid로 추출한 칼슘은 4가지의 유기산 중에서 가용화율이 가장 낮았다.

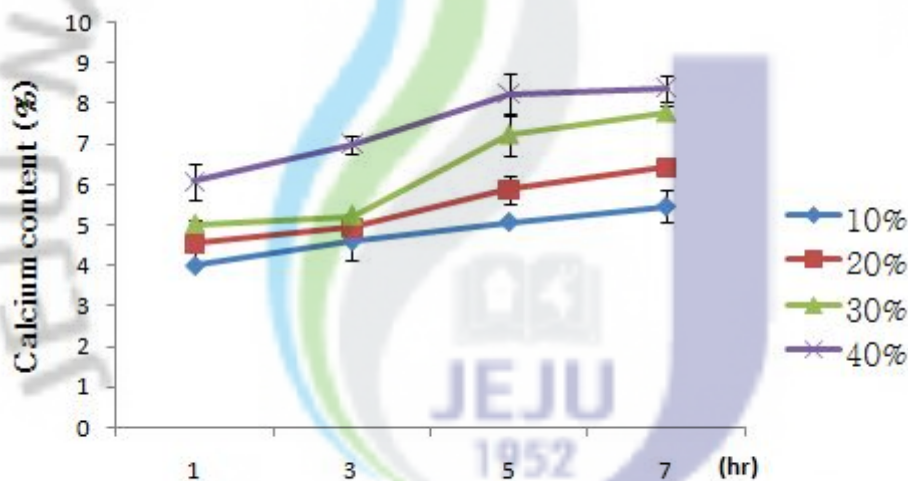


Fig. 18. Soluble calcium extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of ascorbic acid.

6) 각 용매량에 따른 칼슘의 가용화율

유기산의 양에 따른 칼슘추출량을 바탕으로 가용화율에 대한 실험 결과를 Fig. 19에 나타내었다.

40% lactic acid는 각각 18.4%-25.9%, 40% malic acid는 16.4%, 18.4%-23.6%, 40% citric acid는 21.5%-28.5%, 40% ascorbic acid는 11.4%-16.2%의 가용화율을 보여 추출량과 마찬가지로 유기산의 양이 많을수록 가용화율 또한 증가하는 것으로 확인되었다. 1:100(w/v)용매량에서 가장 높은 가용화율이 확인 되었으나 용매량이 1:25(w/v), 1:50(w/v)과 비교해 가용화율이 큰 차이가 없으므로 용매량이 경제적인 1:25가 효과적이라고 판단된다. 용매종류에서는 citric acid의 가용화율이 가장 높은 것을 확인할 수 있었다. 어뼈의 가용화 실험에서 40% lactic acid는 17-22%, 40% malic acid는 19-24%, 40% citric acid는 19-26%의 가용화율을 보고한 바 있는데(17) 본 실험도 이와 비슷한 결과를 나타내었다. 가용화율 또한 시료에 대한 미묘한 차이는 있지만 유기산의 양이 많을수록 가용화율 또한 증가하는 것으로 생각된다.

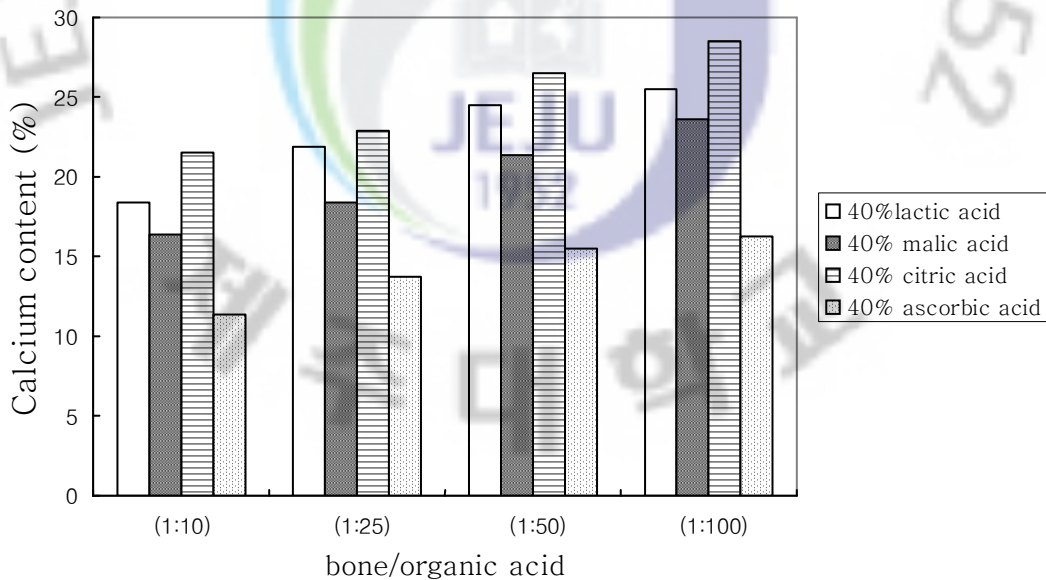


Fig. 19. Soluble calcium extracted from horse bone by 40% of various organic acids(1:10, 1:25, 1:50, 1:100)(w/v).

7) 120°C에서 lactic acid로 추출한 칼슘의 가용화율

물리적 방법 중에서 가장추출효율이 좋은 120°C와 화학적 방법 중 lactic acid를 이용하는 두 가지 방법을 병행하여 칼슘추출 결과를 바탕으로 가용화율에 대한 실험을 한 결과를 Fig. 20에 나타내었다.

각 농도별 최고 칼슘 가용화율은 lactic acid농도 10%, 20%, 30% 그리고 40%에서 각각 13.9%, 15%, 16.03%, 17.16%로 확인 되었다. 추출량과 마찬가지로 lactic acid농도 40%에서 가장 높은 가용화율을 나타내어 농도가 높을수록 가용화 효과가 높은 것으로 나타났으며, 화학적 방법에서의 가용화율에 비해 조금 높은 결과를 나타냈고, 앞선 추출결과와 마찬가지로 모든 농도에서 3 시간까지는 꾸준히 가용화율이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 거의 일정함을 확인할 수 있었다. 어뼈의 가용화율은 14%였다(17).

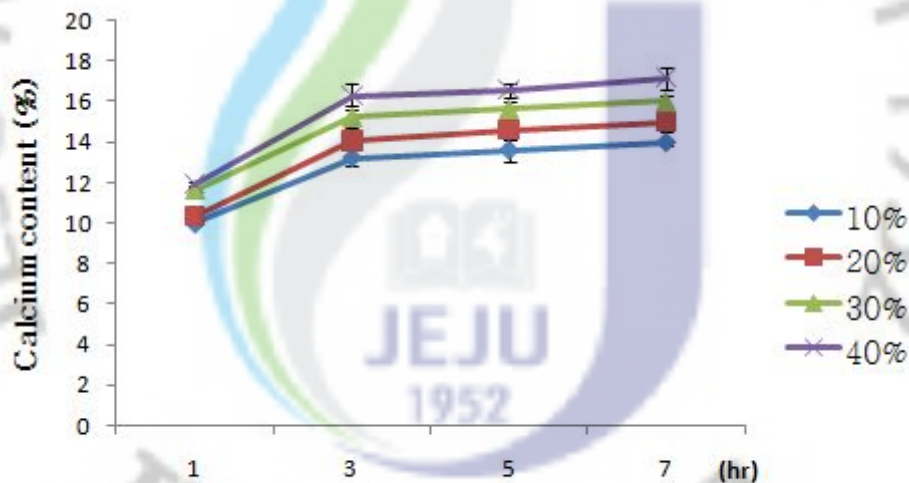


Fig. 20. Soluble calcium extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of lactic acid.

8) 120°C에서 malic acid로 추출한 칼슘의 가용화율

120°C와 화학적 방법 중 malic acid를 이용하는 두 가지 방법을 병행하여 칼슘을 추출한 결과를 바탕으로 가용화율에 대해 실험한 결과를 Fig. 21에 나타내었다.

각 농도별 최고의 칼슘 가용화율은 malic acid농도 10%, 20%, 30% 그리고 40%에서 각각 11.6%, 12.2%, 13.2%, 13.9%로 확인되었다. 추출량과 마찬가지로 malic acid농도 40%에서 가장 높은 가용화율을 나타내어 농도가 높을수록 가용화 효과가 높은 것으로 나타났고, 화학적 방법에서의 가용화율에 비해 조금 높은 결과를 나타내었으며, 앞선 추출결과에서 마찬가지로 모든 농도에서 3시간까지는 꾸준히 가용화율이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 가용화율이 일정함을 확인할 수 있었다. 어류뼈의 가용화율은 13%로 비슷한 결과였다(17).

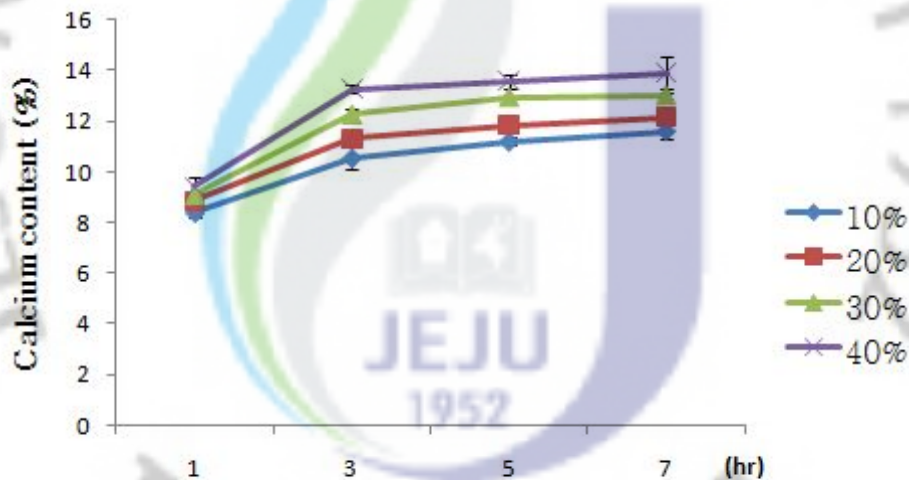


Fig. 21. Soluble calcium extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of malic acid.

9) 120°C에서 citric acid로 추출한 칼슘의 가용화율

온도를 120°C로 하고 화학적 방법 중 citric acid를 이용하는 두 가지 방법을 병행하여 칼슘을 추출한 결과를 바탕으로 가용화율에 대해 실험한 결과를 Fig. 22에 나타내었다.

각 농도별 최고의 칼슘 가용화율은 citric acid농도 10%, 20%, 30% 그리고 40%에서 각각 16.1%, 17.4%, 18.4%, 19.8%로 확인되었다. 추출량과 마찬가지로 citric acid농도 40%에서 가장 높은 가용화율을 나타내어 농도가 높을수록 가용화 효과가 높은 것으로 나타났고, 화학적 방법에서의 가용화율에 비해 조금 높은 결과를 나타내었으며, 앞선 추출 결과에서 마찬가지로 모든 농도에서 3시간까지는 꾸준히 가용화율이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 가용화율이 일정함을 확인할 수 있었다. 이 방법은 4가지의 유기산 중에서 화학적 추출에 의한 가용화율과 같이 가장 높았다. 이와 같은 결과는 어뼈는 가용화율이 20%라는 보고 (17)와는 비슷한 것을 확인할 수 있었다.

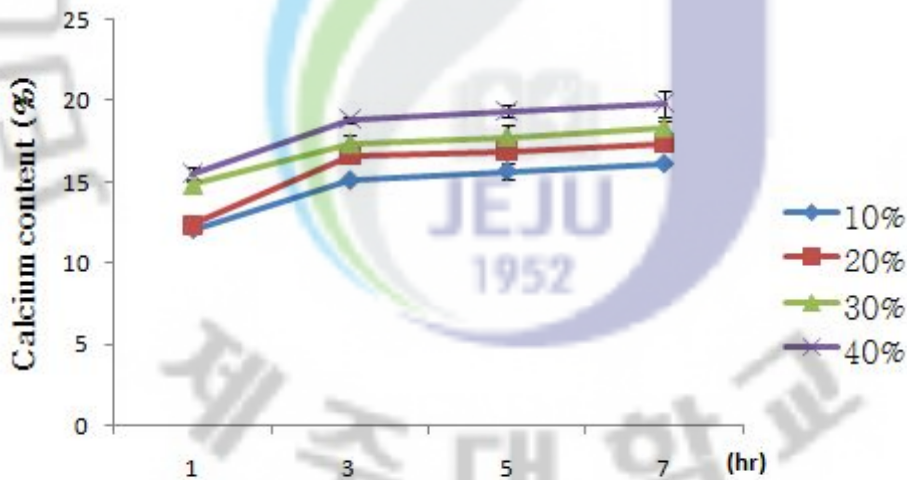


Fig. 22. Soluble calcium extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of citric acid.



10) 120℃에서 ascorbic acid로 추출한 칼슘의 가용화율

추출수율이 우수한 온도조건인 120℃에서 유기산인 ascorbic acid를 이용하여 칼슘을 추출한 결과 Fig. 23에 나타내었다.

추출물에 대한 가용화율에 대해 살펴본 결과 ascorbic acid농도 10%, 20%, 30% 그리고 40%에서 각각 7.9%, 8.8%, 9.8%, 10.8%로 다른 유기산보다 낮은 가용화율을 나타내었다. 추출량과 마찬가지로 ascorbic acid농도 40% 에서 가장 높은 가용화율을 나타내어 농도가 높을수록 가용화 효과가 높은 것으로 나타났고, 화학적 방법에서의 가용화율에 비해 조금 높은 결과를 나타내었으며, 앞선 추출 결과에서 마찬가지로 모든 농도에서 3시간까지는 꾸준히 가용화율이 증가하는 경향을 나타내다가 이후에는 가용화율이 일정함을 확인할 수 있었다.

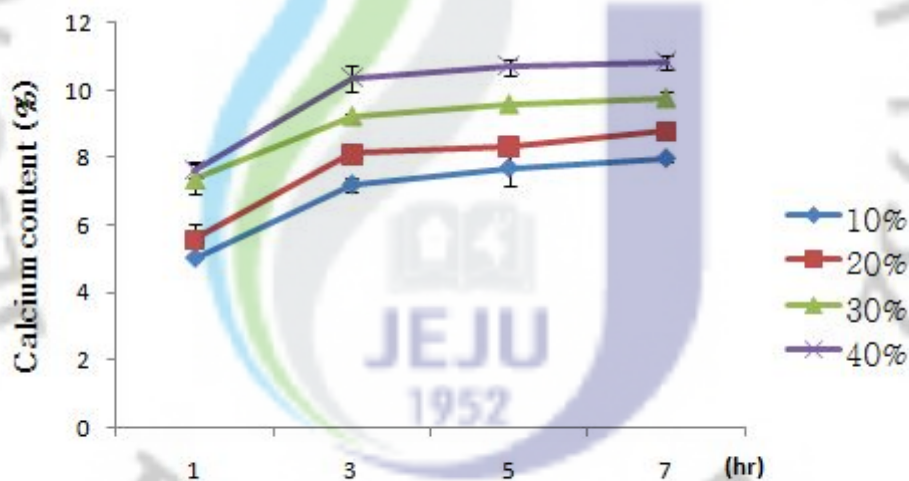


Fig. 23. Soluble calcium extracted from horse bone by 10%, 20%, 30%, 40% of ascorbic acid.



## 5. 말뼈의 일반성분 및 무기질 분석

원료에서 육을 제거시킨 말뼈의 일반성분 분석결과는 Table 5에 나타내었다. 말뼈의 일반성분 중 수분은 2.36%, 조단백질은 23.79%, 조회분은 64.74%, 조지방은 9.11%였다. 말뼈의 경우 육이 모두 제거된 상태임에도 불구하고 단백질 함량이 23.79%로 나타났는데, 어류뼈의 19% 는(17)등에 비하면 말뼈의 단백질 함량이 높은것으로 확인 되었다. 이것은 말뼈내부에서 칼슘과 결합하고 있는 단백질 때문인 것으로 생각된다. 이러한 단백질의 가수분해물들은 칼슘과 결합함으로써 수용성 칼슘을 만들 수 있을 것이라 판단된다(18).

Table 6에서는 말뼈의 무기질(6종)함량에 대해 나타내었다. 말뼈에 함유된 칼슘의 양은 10.9 g/100g, 무기인 양은 5.3 g/100g, 칼륨 0.9 g/100g, 마그네슘 0.14 g/100g등으로 나타났다. 이 결과는 Lee 등의(22) 말뼈의무기질 분석결과와 유사하였고, 또한 소뼈에 비해서도 칼슘량이 많은것을 확인할 수 있었다.

Table 5. Proximate composition of horse bone

Sample	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Horse bone	2.36±0.12	23.79±0.31	9.11±0.51	64.74±3.52

Table 6. Mineral compositions of horse bone

Sample	P(g/100g)	K(g/100g)	Ca(g/100g)	Mg(g/100g)	Fe(ppm)	Cu(ppm)
Horse bone	5.3±0.02	0.9±0.04	10.9±1.21	0.14±0.02	32.7±1.2	19.3±0.3

## 6. 아미노산 조성

말뼈의 구성아미노산 분석 결과는 Table 7에 나타내었다. 함량이 많은 아미노산은 proline, leucine, hydroxyproline, alanine, taurine 순으로 각각 2.57 g/100g, 2.19 g/100g, 1.93 g/100g, 1.83 g/100g 그리고 1.64 g/100g로 전체아미노산의 52.97%를 차지하였으며, histidine, methionine과 aspartic acid는 그 함량이 적었다.

Table 8. Amino acid compositions of horse bone

Amino acid	g amino acid/100g	% amino acid/total amino acids
Aspartic acid	0.19	0.96
Theronine	0.77	4.01
Taurine	1.64	8.55
Serine	0.78	4.07
Glutamic acid	1.01	5.27
Glycine	1.10	5.74
Valine	1.57	8.18
Methionine	0.17	0.89
Isoleucine	0.80	4.17
Leucine	2.19	11.42
Tyrosine	0.45	2.35
Phenylalanine	0.73	3.81
Lysine	0.85	4.33
Histidine	0.16	0.83
Arginine	0.44	2.29
Alanine	1.83	9.54
Hydroxyproline	1.93	10.06
Proline	2.57	13.40
Imino acids <sup>a</sup>	4.50	23.46
Total	19.18	100.00

<sup>a</sup>Imino acids mean proline and hydroxyproline.

#### IV. 요약

말뚝을 이용하여 물리적, 화학적 및 물리, 화학적 병행한 방법으로 말뚝로부터 칼슘추출량을 비교하였고, 이에 따른 각 추출 조건에 따라 가용화율에 대해 비교 분석하였다.

물리적 방법으로 증류수의 온도를 각각 80℃, 100℃, 120℃로 달리하여, 칼슘을 추출한 결과 120℃에서 가장 높은 추출량을 확인할 수 있었으며, 말뚝 내의 칼슘추출량은 1%내외인 것으로 나타났다. 또 에탄올을 첨가하여 온도를 각각 80℃, 90℃, 100℃로 하고 각 온도에 에탄올 양을 40%, 60%, 80%로 달리하여 칼슘을 추출한 결과 100℃, 40%에탄올에서 가장 높은 추출율을 나타내었으나 말뚝 내의 칼슘량과 비교했을 때 추출량은 0.01%로, 물리적 방법으로 칼슘을 추출한 결과 낮은 추출효율을 보인것을 확인할 수 있었다. Lactic acid농도를 달리하여 추출한 결과, 40% lactic acid에서 가장 높은 추출율을 나타내었고, 말뚝 내의 칼슘량과 비교 했을때 최고 추출량은 32-33%로 확인할 수 있었다. Malic acid, citric acid, ascorbic acid에서도 농도가 40%일 때 그 추출율이 가장 높았으며, 최고추출량이 각각 22%, 28%그리고 2.7%였다. 용매량을 달리하였을 때 15-90%의 추출량을 보였다. 물리, 화학적 방법을 병행한 결과는 화학적 결과와 큰 차이는 없었지만, 추출량이 최고량에 도달하는 시간이 3시간으로 단축되어지고, 그 후에는 추출량이 일정한 것을 확인할 수 있었다. 각 방법에서 추출한 칼슘을 가지고 가용화율을 조사한 결과 물리적 방법으로 추출한 칼슘의 가용화율은 큰 변화없이 6-8%내외로 나타났고, 화학적 방법으로 추출한 칼슘의 가용화율은 lactic acid는 약 15%, malic acid는 12%, citric acid는 17%, ascorbic acid는 8%로 확인되었다. 유기산중 가용화율이 가장 높은것은 citric acid에서 가장 높았고, 용매량을 달리하여 칼슘가용화율을 실험한 결과는 11%-28%가용화율을 보였다.

## V. 참고 문헌

1. Kazuhiro A. Intestinal calcium absorption food and development. J. Japan. Nutri. 33: 9-11 (1998)
2. Tomio I. On intake of calcium. New Food Ind. 29: 4-7 (1987)
3. Allen LH. Calcium and phosphorus. In: Shills ME, Shilk M. Modern Nutrition in Health and Disease, 8th ed. pp. 144-163 (1994)
4. Einhorn TA, Michel P. Nutrition and bone. Ortho. Clin. Nor. Am. 21: 43-50 (1990)
5. National Research Council, In Diet and health, Natl. Acad. Press (1989)
6. Lee YS, Park JH, Cho CW. Effect of bovine bone powder as a dietary calcium source on mineral bioability in rats. J. Korean Rural Living Sci. 3: 26-27 (1992)
7. Han JS, Lee MH, Kim MS, Minamide T. The study for utilization of pork bone as calcium reinforcement diet. J. East Asian Soc. Dietary Life 10: 153-159 (2000)
8. Kim JS, Choi JD, Kim DS. Preparation of calcium based powder from fish bone and its characteristics. Agric. Chem. Biotechnol. 41: 147-152 (1998)
9. Kim JS, Choi JD, Koo JG. Component characteristics of fish bone as a food source. Agric. Chem. Biotechnol. 41: 67-72 (1998)
10. Kim JS, Yang SK, Heu MS. Component characteristics of cooking tuna bone as a food resource. J. Korean Fish. Soc. 34: 38-42 (2000)
11. Kim YM, Ji KY, Manufacturing tuna bone powder and estimation of its bioavailability in relation to bone metabolism. J. Korean Fish. Soc. 35: 483-487 (2005)
12. Cho ML, Heu MS, Kim JS. Food component characteristics of cuttlebone as a mineral source. J. Korean Fish. Soc. 34: 478-482 (2001)

13. Shin HS, Kim KH. Preparation of calcium powder from eggshell and use of organic acids for enhancement of calcium ionization. *Agric. Chem. Biotechnol.* 40: 531-535 (1997)
14. Shin HS, Kim KH, Yoon JR. Rheological properties of cooked noodle fortified with organic acid-eggshell calcium salts. *J. Korean Food Sci. Technol.* 30: 1197-1202 (1998)
15. Ko MK, No HK. Studies on characteristics of ostrich egg shell and optimal ashing conditions for preparation of calcium lactate. *J. Korean Food Sci. Nutr.* 31: 236-240 (2002)
16. Ko MK, No HK. Preparation of calcium lactate from ostrich egg shell. *J. Korean Food Sci. Nutr.* 31: 214-245 (2002)
17. Kim SK, Kim HJ. Isolation of fish bone from fish frame and recovery of calcium from the bone by physical and chemical treatment. *J. Korean Fish. Soc.* 34: 15-50 (2001)
18. Kim JS. Research on the raising of horses and its symbolic status in the ancient Shilla society. *J. Korean Study. Soc.* 123: 21-53 (2003)
19. Park NS, Chong EL. Effect of horse meat content on the quality and characteristics of press ham. *J. Korean Food Sci. Ani. Resour.* 28: 9-13 (2008)
20. Lee JY, Sung PN. Nutrition effect of horse meat and characteristics of horse meat. *J. Korean Food Sci. Ani. Resour.* 24: 6-11 nutrition (2007)
21. Kim YB, Jeon KH. Physicochemical properties of loin and rump in the native horse meat from Jeju. *J. Korean Food Sci. Ani. Resour.* 25: 365-372 (2005)
22. Lee JY, Sung PN. Horse bone and bovine bone comparison of characteristics. *J. Korean Food Sci. Ani. Resour.* 29: 8-11 nutrition (2006)

23. AOAC. Official Methods of Analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. USA (1984)
24. Korea Food and Drug Administration. Korea Food Industry Association. Seoul Korea Food Standards Code: 676-677 (2007)
25. Mason VC. Metabolism of nitrogen compound in the large gut. Proc. Nutr. Soc. 43: 45-52 (1984)
26. Naito H. Calcium absorption mechanism of phosphopeptide in the hydrolyzes casein. J. Japan. Nutr. 39: 433-439 (1986)





## 감사의 글

먼저 이 논문이 완성되기까지 부족한 저에게 끝없는 지도와 보살핌을 아끼지 않으신 강영주 교수님께 진심으로 감사드립니다.

언제나 큰 가르침을 주신 하진환 교수님, 임상빈 교수님, 김수현 교수님, 고영환 교수님, 김광표 교수님께도 감사의 마음을 전합니다.

또한 일하면서 학업까지 할 수 있게 도와주신 작은 아버지 추창수 사장님과 제주 바이오 세상 직원들에게도 고마움을 전합니다.

항상 멀리서 나를 응원해주는 나의 영원한 친구 미중, 상철, 기주, 종화형 고맙다. 학부 2년, 대학원 2년뿐만 아니라, 나의 제주 생활에서 가장 날 믿어준 정택이, 형님 노릇 못하는데 잘 따라준 해원이, 재호, 승남, 정수 ,그리고 대학원 동기인 정환이, 병돈, 재성 논문 쓰느라 고생했고, 식품가공학실험실 식구들, 식품생명공학과와 인연을 맺은 모든 이에게 감사의 마음을 전합니다.

마지막으로 항상 뒤에서 응원을 아끼지 않으신 아버지, 어머님 진심으로 고맙습니다. 그리고 큰아버지, 큰어머니께도 감사의 마음을 전하며, 누나, 동생 승재 그리고 제수씨 그리고 우리 시연이 모두들 감사하고 사랑 합니다.