

녹차 열수 추출물이 콩단백질을 급여한 흰쥐의 칼슘 대사와 골격강도에 미치는 영향

원 향 레
상지대학교 식품영양학과

The Effect of Hot Water Soluble Extract from Green Tea on Metabolism of Calcium and Bone Strength in rats fed Soy Protein Diet

Won, Hyang Rye
Department of Food and Nutrition, Sangji University, Wonju, Korea

ABSTRACT

This study is to find out effects of hot water soluble extract from green tea, one of the Korean favorites, on the calcium metabolism and bone strength in body. To do so, calcium, phosphate, creatinine concentration and ALP activity in blood and the content of calcium and ash in the organ, the length, weight, strength in bone were measured. In addition, to find the calcium metabolism, the level of calcium intake, excretion, retention were measured. Twenty male Sprague-Dawley rats were divided into two groups and isolated soy protein was provided as the source of protein and CaCO_3 was provided as the source of calcium. 0.5% hot water soluble extract from green tea was provided to the green tea groups and for the control group deionized water was provided. The results are as follows ; 1. There is no difference between the experimental groups in diet intake, weight gain, and the feed intake. 2. Feed efficiency ratio was low in the group which hot water soluble extract from green tea was provided. 3. There is no difference between groups the level of calcium, phosphorus, creatinine and ALP activity in serum. 4. There is no difference between groups weight, contents of ash and calcium in kidney and liver. 5. There is no difference between groups in calcium intake, absorption, excretion, and retention. 6. There is no difference between groups weight, length and strength in bone. In summary, when hot water soluble extract from green tea was provided with the amount of 150-200mg, which is taken when people generally drink as favorite tea, weight gain was reduced due to the decrease of feed efficiency ratio. However, it did not affect the availability of calcium in body at all. Thus, even if a big quantity of green tea powder or solid of hot green tea extract is not provided, the quantity obtained when people drink green tea lowers the feed efficiency ratio without reducing availability of calcium in body.

Key words: green tea, metabolism of calcium, bone strength

I. 서 론

탄닌은 체내에서 일반적으로 칼슘과 같은 금속이온과 복합형을 이루어(Lee & Shin 1993) 흡수되기 어려운 형태로 만든다는 점을 고려할 때 녹차의 섭취는 지질대사에 긍정적인 효과가 있다는 면만 강조할 것이 아니라 무기질 특히 우리나라에서 가장 부족한 영양소 중의 하나(The Korean Nutrition Society 1998)인 칼슘의 체내 이용성에 대한 연구도 필요할 것으로 본다. 우리나라 성인기 생활 패턴은 동물성 단백질의 섭취가 과거에 비해 늘어나긴 했어도 아직도 식물성 단백질 섭취가 많은 부분을 차지하고 있는 실정이다(Ministry of Health and Welfare 2002). 지금까지의 칼슘의 이용성을 검토한 연구들은 동물성 단백질, 특히 카제인을 공급한 조건에서 칼슘이용성을 주로 보고하고 있다(Lee et al. 1997; Lee & Lee 1999; Chung et al. 1966). 따라서 본 연구에서는 한국인의 생활 내용 중 식물성 단백질의 섭취가 많은 점을 고려하여 단백질 중 식물성 식품에 함유된 콩단백질을 단백질의 급원으로, 칼슘의 급원으로는 CaCO₃를 공급하고 동시에 기호식품으로 그 소비가 큰 신장세를 보이고 있는(Kim 1996) 녹차를 열수 추출하여 흰쥐에 공급하여 체내 칼슘대사와 골격강도에 미치는 영향을 보고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이

체중 약 180g의 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 환경 조절된 실험동물 사육실(온도 22±2°C, 상대습도 65±5%, 조명 06:00Am~18:00Pm)에서 Stainless-steel wire cage에 한 마리씩 분리 사육하였으며, 실험군은 체중에 따라 완전 임의 배치하였다. 모든 실험식이와 탈이온수를 자유 섭취 방법(ad libitum)으로 급여하며 대사 cage와 사육에 사용된 모든 기구는 무기질 오염을 막기 위해 0.4% EDTA로 씻은 후 탈이온수로 헹구어 사용하였다. 3주간의 실험기간 동안 체중과 식이섭취량은 2일에 한번씩 일정시간에 측정하였다.

실험식이는 정제식이(semipurified diet)로서 무기질은 Ca과 P를 제거한 무기질 AIN-93 mixture을 모든 실험군에 공급하고 칼슘의 보충제로서 CaCO₃를 식이의 0.5%를 공급해 주었으며, 단백질은 식물성 단백질인 isolated soy protein(ICN Co.)을 식이의 14%로 제공하였다. 녹차 열수 추출물은 시중에서 구입한 녹차(태평양 화학 Co.)를 환류 증류장치를 이용하여 0.5% 용액으로 추출하였으며 대조군은 실험식이와 3차 증류수, 녹차군은 실험식이와 녹차 열수 추출물을 공급하였다. 모든 실험군에 식이, 3차 증류수, 녹차 열수 추출물은 ad libitum으로 공급하였다. 실험식이는 Table 1과 같다.

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredients	g/kg	Ingredients	g/kg
Starch	708.21	min. mix. ²⁾	35
Isolated soy protein	140	(Ca&P fee)	
soybean oil	40	L-cystine	1.8
Fiber	50	Choline bitartrate	2.5
Vit. mix. ¹⁾	10	CaCO ₃	12.49

1)Vitamin mixture(IU/g mix): Vitamin A palmitate, 2500 ; Cholecalciferol, 200 ; Thiamin HNO₃, 1 ; Riboflavin, 1.5 ; Niacin, 10 ; Pyridoxine HCl, 1 ; Folic acid, 0.5 ; Vitamin K₃, 1 ; Vitamin B₁₂, 0.001 ; Ascorbic acid, 33.7 ; Calcium pantothenate, 5 ; Di-I-tocopherol, 1 ; Biotin, 0.4

2)Calcium and phosphate-free(g/kg mix): NaCl, 250.6 ; MgSO₄ · 7H₂O, 99.8 ; Fe-citrate, 6.23 ; CuSO₄ · 5H₂O, 1.56 ; MnSO₄ · 7H₂O, 1.21 ; ZnCl₂, 0.2 ; KI, 0.005 ; (NH₄)₆Mb · 7O₂₄4H⁺O, 0.025 ; and sucrose, 640.37

2. 시료수집 및 분석방법

1) 시료의 수집

(1) 혈액

식이섭취 조건을 일정하게 하기 위하여 도살하기 전 하룻밤 절식시킨 후, ethyl ether로 마취한 후 경 동맥혈을 채취하였다. 채취한 혈액은 냉장고(4°C)에서 하룻밤동안 방치한 후, 3,000rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 얻었으며 분석 전까지 냉동보관 하였다.

(2) 간, 신장 및 뼈조직

혈액 채취 후 즉시 간, 신장, 대퇴골(femur)을 적출하였다. 간과 신장조직은 부착되어 있는 지방이나 근육을 깨끗이 제거한 후 냉장 생리식염수(0.9% NaCl용액)로 세척하여 혈액을 제거한 다음 여과지로 물기를 닦고 무게를 측정하였다. 뼈조직은 부착되어있는 근육, 지방, 인대 등을 전부 제거한 후 무게와 길이를 측정한 후, 강도(breaking force)를 측정하였다. 모든 시료는 회화 처리 전까지 냉동 보관하였다.

(3) 변, 뇨

변과 뇨는 실험식이 급여기간 중 실험 종료전 4일간 plastic metabolic cage에서 수집하였으며, 변은 그대로, 뇨는 여과지에 걸른 후 총량을 측정 후 분석할 때까지 냉동보관하였다.

2) 시료분석

(1) 혈액, 조직, 변 및 뇨중의 칼슘과 인함량

혈액의 칼슘과 인의 함량은 생화학 자동분석기(PRIME Automatic Photometer., Bio SED Co., Italy)를 사용하여 측정하였으며, 조직, 변 및 뇨중의 칼슘의 함량은 O와 Lee(1993)가 사용한 방법으로 분석하였다. 혈청은 TCA(trichloroacetic acid)용액으로 제단백한 후, 1% LaCl₂ 용액으로 희석하여 ICP(Inductively Coupled Plasma; VISTA MPX VARIAN Co., USA)로 측정하였으며 간, 신장, 대퇴골은 냉동건조 후, 550-600℃회화로에서 6-8시간 회화하여 얻은 회분을 HCl(1N) 용액으로 용해한 후, 1% LaCl₂ 용액으로 희석하여 ICP로 칼슘 함량을 정량하였다.

변 중의 칼슘의 함량 측정은 뼈조직과 동일한 방법으로, 뇨의 칼슘은 혈액의 분석과 동일한 방법으로 정량했다.

(2) 뼈의 강도 측정

뼈의 강도(breaking force)는 Instron (Universal Testing Instrument, Model 1000)을 이용하여 길이의 일정 부위 즉, 상부와 하부 두 부위에서 두번씩 측정하였다.

3. 통계처리

실험결과는 SPSS Program을 이용하여 평균과 표준오차를 계산하였고, 군 간의 차이를 Student's t-test로 유의성을 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중 증가량, 식이섭취량, 음료섭취량 및 식이효율

실험 기간 동안 흰쥐의 체중 증가량, 식이섭취량, 음료섭취량 및 식이효율은 Table 2와 같다. 실험식이 섭취에 따른 체중 증가량, 식이섭취량과 음료섭취량은 차이가 없었으나 사료효율은 대조군에 비해 낮은 것으로 나타났다(P<0.05). 이것은 녹차 섭취가 체중이 200g 이상의 성장한 흰쥐에서는 유의적이지는 않았지만 체중증가 및 식이효율에 영향을 주었다는 연구(Chung & Yoo 1995; Muramatsu et al. 1986)와 유사하게 나타났다. Muramatsu 등(1986)은 50~60g의 성장기 흰쥐에게 녹차를 급여하였을 때 성장저하 효과가 유의적으로 나타났다고 보고하였다. 본 연구에서는 체중이 200g 이상의 성장한 흰쥐를 재료로 3주간의 실험기간을 통해 나타난 결과는 체중 증가량과 식이섭취량은 유의적이지는 않았지만 녹차를 공급한 실험군에서 낮은 경향을 보여주었고 사료효율은 녹차군이 유의적으로 낮게(P<0.05) 나타난 것으로 보아 실험기간을 좀더 연장하였다면 성장 중인 흰쥐에게 나타난 기존의 연구결과와 유사할 것으로 보여 진다.

Table 2. Weight gain, feed intake, fluid intake and FER

Group	Weight gain(g/day)	Feed intake (g/day)	Fluid intake (ml/day)	FER ¹⁾
Control	4.67 ±0.32	16.99 ±0.51	58.72 ±5.26	0.27 ±0.02
Green tea	4.14 ±0.76	16.14 ±0.50	57.24 ±8.14	0.25 ±0.01 ^{*)}

All values are mean±SE of 10rats per group

¹⁾ FER : Weight gain/Feed intake

^{*)} significantly different from control group at P>0.05 by student's t-test

2. 혈청의 칼슘과 Creatinine 농도와 Alkaline Phosphatase 활성

혈청의 칼슘과 creatinine 농도와 alkaline Phosphatase 활성은 Table 3과 같다.

Table 3. Concentration of calcium, phosphorus creatinine and ALP(alkaline Phosphatase) activity in serum

Group	Ca(mg/dl)	P(mg/dl)	creatinine (mg/dl)	ALP(k-A)
Control	9.77±0.47	6.32±0.13	47.92±4.68	0.90±0.09
Green tea	9.81±0.87	6.46±0.31	48.45±3.72	0.97±0.06

All values are mean±SE and not different significantly

실험군 간 혈청의 칼슘, 인, 크레아티닌의 농도와 ALP의 활성은 실험군 간의 차이가 없으므로 나타났고 실험군, 대조군 모두 칼슘의 범위가 9.77~9.81 ml/dl로 정상 수준을 유지하고 있었다.

3. 간과 신장의 회분과 칼슘농도

실험군의 간과 신장의 무게가 회분, 칼슘함량은 Table 4와 같다.

간과 신장의 무게와 회분 칼슘함량은 실험군에 따라 차이가 없는 것으로 나타났다.

4. 칼슘대사

칼슘의 섭취량, 배설량 및 흡수율과 보유율은 Table 5와 같다.

Table 5에서 보는 바와 같이 칼슘의 섭취량, 배설량, 흡수량, 체내 보유율이 모두 실험군 간에

유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 녹차섭취가 철이나 망간과 같은 미량 무기질의 흡수율을 낮추었던 점(Disler et al. 1975; Shin et al. 1995)으로 보아 캡슐형태와 같은 녹차 추출물의 과잉섭취는 체내 무기질 대사에 영향을 줄 수 있다고 생각된다. 본 연구에서 공급된 녹차의 실제 양은 음료 섭취량을 기준으로 계산해 볼 때 녹차의 열수추출고형물이 식이의 0.02%에 해당되는 양이므로 무기질의 흡수율을 유의적으로 낮추었던 다른 연구(Lee & Lee 1998)에서 사용한 양(사료의 0.5~5%)보다는 월등히 낮은 함량이 연구결과와의 차이를 설명할 수 있는 주요 요인으로 사료된다. 그러나 본 연구에서 공급된 녹차의 열수추출물은 40~50kg인 보통 사람이 시중에서 판매하는 1.2g의 녹차 티백으로 우려내었을 때의 5잔에 해당하는 양으로 보통 사람이 기호식품으로 상용하는 녹차의 1일 사용량과 비슷한 양으로 보여진다. 따라서 건강보조식품으로 사용하는 고농도의 캡슐형태의 녹차분말보다는 기호식품으로 사용하는 차 형태의 녹차이용이 무기질 특히 체내 칼슘 이용성을 낮추지 않는 것으로 나타났다. 그러나 칼슘의 흡수율을 낮추는 것으로 알려진 탄닌성분(Yugarany et al. 1992)이 녹차의 종류와 섭취 수준, 동물의 연령과 식이조건에 따라 달라질 수 있을 것으로 보이며 이에 대한 연구가 좀더

Table 4. Weight, ash and calcium contents in liver and kidney

Group	Liver			Kidney		
	wt.(g)	ash (mg/g)	calcium(µg/g)	wt.(g)	ash (mg/g)	calcium(µg/g)
Control	8.88±0.20	307.73±5.94	42.24±6.68	2.05±0.07	269.58±13.93	135.91±15.50
Green tea	8.51±0.26	296.82±4.72	41.61±7.62	2.14±0.06	271.41±12.62	126.72±7.12

Values are mean±SE and not different significantly

Table 5. Ca intake, Ca excretion, Ca absorption and Ca retention

Group	Ca intake (mg/day)	Fecal Ca excretion (mg/day)	Urinary Ca excretion (mg/day)	Apparent Ca absorption (mg/day)	Apparent Ca absorption (%)	Ca retention (mg/day)	Ca retention (%)
Control	42.48±1.73	23.01±4.33	0.19±0.06	19.46±2.96	46.59±8.09	19.27±2.96	46.14±8.09
Green tea	38.72±3.61	20.6±4.71	0.18±0.04	18.14±2.87	46.78±6.41	17.96±3.14	45.98±7.14

All values are mean±SE and not different significantly

Table 6. Wet weight, length, breaking force, ash and calcium contents of femur

Group	Wet wt (g)	water (%)	Length(cm)	Breaking force(kg/g)	Ash (mg/g)	Ca (mg/g)	Ca% (Ca/ash×100)
Control	0.80±0.01	30.20±2.36	3.51±0.04	10.28±0.34	449.61±7.34	129.46±2.01	28.84±0.66
Green tea	0.76±0.02	30.21±3.17	3.50±0.03	10.53±0.28	446.48±5.72	128.54±3.04	29.61±0.72

Values are mean±SE and not different significantly

정기적으로 세분화된 실험조건 아래 실행되어 분석되어져야 할 것으로 사료된다.

5. 대퇴골의 중량, 길이 및 강도와 회분과 칼슘함량

대퇴골(femur)의 중량, 길이 및 강도는 Table 6에 나타나 있다.

대퇴골의 길이, 중량, 강도는 실험군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. Won과 O(2002)는 단백질 급원으로 콩단백식을 급여하고 4 종류의 칼슘 보충제를 흰쥐에 공급하였을 때 calcium lactate군이 다른 세군에 비해 뼈 중량, 강도, 칼슘의 함량이 낮게 나타났다. 다시 말해 뼈의 칼슘 함량이 높은 calcium carbonate, calcium phosphate, calcium citrate군이 calcium lactate군에 비해 뼈의 중량이 무거웠고, 뼈의 길이, 강도도 높게 나타났다. 이는 뼈의 칼슘함량과 강도는 양의 상관관계를 보인다는 많은 보고들과 일치하고 있었다(Lee & Kim 1998 ; Lee & Lee 1999 ; Lee & Lee 2000).

Chung 등(1996)은 뼈의 무게, 칼슘함량, 회분함량이 모두 양의 상관관계에 있다고 보고 하였다. O 등(1993)은 뼈의 강도와 칼슘, 회분함량이 양의 상관관계가 있다고 하였으나 본 연구에서는 뼈의 중량, 길이 및 강도에 유의성을 보이지 않았다. 이 이유도 앞서 언급한 것과 같이 본 연구에서 공급된 녹차의 실제양은 음료 섭취량을 기준으로 계산해 볼 때 추출고형물이 식이의 0.02%에 해당되는 양이므로 무기질의 흡수율을 유의적으로 낮추었던 다른 연구에서 사용한 양보다는 월등히 낮은 함량이 연구결과의 차이를 설명할 수 있는 주요 요인으로 사료된다. 이는 실제로 사람들이 기호식품으로 상용하는 녹차의 1일 사용량과 비슷한 양으로 추산된다.

IV. 결론 및 요약

본 연구는 기호식품으로 많이 이용되고 있는 녹차가 우리나라에서 가장 부족한 영양소의 하나인 칼슘의 체내 이용성에 미치는 효과를 알아보기 위하여 행해졌다. 한국인의 주요 단백질 급원인 콩 단백질을 급여한 식이에 일반적으로 칼슘과 같은 금속이온과 복합형을 이루어 흡수되기 어려운 형태로 만든다는 물질로 알려진 탄닌을 함유한 녹차열수추출물을 공급하여 칼슘대사와 골격강도에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 체중이 약 180g 되는 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐 20마리를 두 그룹으로 나눈 후 단백질 급원으로는 isolated soy protein을, 칼슘급원으로는 CaCO₃를 공급하였다. 녹차열수추출물은 0.5% 용액을 3차 증류수 대신 실험군에 공급하였으며 대조군은 3차 증류수를 공급하였다. 3주간 실험식으로 사육한 후 혈액의 칼슘과 인 함량, 크레아티닌 농도, ALP의 활성, 뼈의 칼슘과 회분의 함량, 길이, 무게, 강도와 칼슘의 이용성을 측정하였다. 그 결과는 다음과 같다.

결과는 다음과 같다.

1. 식이섭취량, 체중증가량, 음료섭취량은 실험군 간의 차이가 없었다.
2. 식이효율은 녹차열수추출물을 공급한 군에서 낮게 나타났다(P<0.05).
3. 혈청 중의 칼슘 농도, 인 농도, 크레아티닌 농도, ALP 활성은 실험군 간의 차이를 보이지 않았다.
4. 간과 신장의 무게, 회분, 칼슘함량은 실험군 간의 차이를 보이지 않았다.
5. 칼슘의 섭취, 흡수, 배설, 흡수율, 보유율도 실험군 간의 차이를 보이지 않았다.
6. 뼈의 칼슘과 회분의 함량, 길이, 무게, 강도

도 실험군 간의 차이를 보이지 않았다.

이상의 결과를 요약하면 실험동물에게 녹차의 열수추출물을 보통 사람이 기호식품으로 상용하는 양(150~200mg/kg)에 해당되는 양을 공급하였을 때는 식이효율은 떨어뜨려 체중을 감소시키는 효과가 있었으나 체내의 칼슘 이용성에는 아무런 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 따라서 식이에 과량의 녹차 분말이나 열수 추출 고형물을 공급하지 않고 기호식품인 차로 음용하는 정도의 양은 무기질의 이용성을 떨어뜨리지 않고 식이효율은 낮추는 것으로 나타났다.

참고문헌

- Chung HC, Yoo YS(1995) Effects of aqueous green tea extracts with 2-tocopherol and lecithin on the lipid metabolism in serum and liver of rats, Korea J Nutr 28(1), 15-2.
- Chung HK, Chang NS, Lee HS, Chang YE(1966) The effect of various types of calcium source on calcium and bone metabolism in rats. Korean J Nutr 29(5) 480-488.
- Disler PB, Lynch SR, Charlton RW, Torrance JD, Bothwell TH, Walker RB, Mayet E(1975) The effect of tea on iron absorption. Gut 16, 193- 200.
- Kim JT(1996) Science and Culture of teas. Borimsa pp.322.
- Lee JW, Shin HS(1993) Antioxidant effect of aqueous extract obtained from green tea. Korean J Food Sci Technol 25(6), 759-763.
- Lee SH, Hwangbo YS, Kim JY, Lee YS(1997) A Study on the bioavailability of dietary calcium sources. Korean J Nutr 30(5), 499-505.
- Lee SH Lee YS(1998) Effect of late-harvested green tea extract on lipid metabolism and Ca absorption in rats. Korean J Nut 31(6), 999-1005.
- Lee YS, Kim EM(1998) Effect of ovariectomy and dietary calcium levels on bone metabolism in rats fed low calcium diet during growing period. Korean J Nutr 31(3), 279-288.
- Lee YS, Lee JH(1999) Effect of calcium and iron loading on bioavailability of minerals in normal and Ca/Fe-deficient rats. Korean J Nutr 32(3), 248-258.
- Lee JH, Lee YS(2000) Effect of excess calcium and iron supplement on bone loss, nephrocalcinosis and renal function in osteoporotic model rats. Korean J Nutr 33(2), 147-157.
- Ministry of Health and Welfare(2002) Report on 2001 national health and nutrition survey(Ⅱ). Seoul.
- Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y(1986) Green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. J Nutr Sci Vitaminol 32, 613-622.
- O JH, LEE YS(1993) Effects of calcium levels on the reduction of calcium availability in ovariectomized osteoporosis model rat. Korea J Nutr. 26(3), 277-285.
- Shin MK, Chang MK, Seo ES(1995) Chemical properties on the quality of marketed roasting green teas. Korean J Soc Food Sci 11(4), 356-361.
- The Korean Nutrition Society(1998) Recommended dietary allowances for Koreans. 7th Revision.
- Won HR, O JH(2002) Effect of calcium supplement on bioavailability of calcium in rats fed soy protein diet. The Korean J of Community Living Science. 13(2), 53-61.
- Yoo YH, Lee SJ(1994) Effects of Korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the antioxidative detoxification in rat poisoned with cadmium. Korean J Nutr 27(10), 1007-1017.
- Yugarany T, Tan BK, Teh M, Das NP(1992) Effect of polyphenolic natural products on the lipid profiles of rats of rats fed high fat diet. Lipids 27, 181.