

카페인 섭취수준이 연령이 다른 흰쥐의 체내 칼슘 이용에 미치는 영향

최미경 · 이윤신* · 승정자*

충남산업대학교 식품영양학과, 숙명여자대학교 식품영양학과*

Effects of Caffeine Intake on Calcium Utilization in Rats of Different Age and Sex

Choi, Mi Kyeong · Lee, Yoon Shin* · Sung, Chung Ja*

Department of Food and Nutrition, Chungnam Sanup University, Hongsung, Korea
Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul, Korea*

ABSTRACT

The purpose of this research was to investigate the effect of caffeine levels on calcium utilization in rats of different age and sex. Calcium utilization was compared in rats of different age(4 weeks and 10 months) and sex that were fed various levels of caffeine(0, 3.5 and 7mg/100g body weight) for 3 weeks. There was no significant difference in feed intake, serum calcium level, and ash content in tibia among the groups. Fecal calcium excretion was lower in young rats than in adults. Urinary calcium excretion was significantly higher in the caffeine groups than that in the no-caffeine group. Daily retention and apparent absorbability of calcium in young rats were higher than those in adult rats. However, there was no significant difference among groups of different sex and caffeine levels. The results of this study suggest that caffeine consumption promotes urinary calcium excretion. (*Korean J Nutrition* 30(8) : 911~919, 1997)

KEY WORDS : caffeine · calcium · age · sex.

서 론

근래 우리나라는 경제적 발전과 개방화 물결에 따라 식생활에도 많은 변화를 초래하여 식품의 선택기준이 서구화되고 영양적 가치와 더불어 기호적 특성에 큰 비중을 두게됨으로써 커피, 차, 콜라 등과 같이 카페인을 많이 함유하고 있는 기호음료의 소비가 급격히 증가하고 있다¹⁾.

카페인(Caffeine)은 냄새가 없고 쓴맛을 내는 알카로이드계 화합물(1, 3, 7-trimethyl-xanthine)로서 생체내 여러 생리적, 약리적 영향을 주고 있다²⁾. 급성적인

채택일 : 1997년 9월 1일

카페인 섭취는 혈압, 혈장의 catecholamine과 renin의 활성, 지방산 수준 및 노랑을 상승시키고 위산분비를 촉진하며, 중추신경계에 대해서는 수면, 감각작용, 일의 수행능력, 정서반응 등의 행동변화를 초래한다³⁾. 이와같이 카페인의 다양한 생리적, 약리적 영향이 밝혀짐에 따라 카페인과 영양소대사와의 관련성에 관심을 갖게 되었다. 카페인이 위액분비를 촉진하고 노랑을 증가시킨다는 생리적인 영향으로 카페인과 무기질대사와의 관련성에 관심을 갖게되었으며, 여러 가지 무기질 중에서도 카페인 섭취시 칼슘대사에 관한 연구가 역학조사⁴⁾, 인체 대사실험⁵⁾, 동물실험⁶⁾ 및 생체외실험⁷⁾을 통해 활발히 이루어지고 있으나 지금까지 일관성 있는 결론을 얻어내지 못하고 있다.

카페인이 칼슘대사에 미치는 영향은 연령에 따라 차이가 있는 것으로 보고되고 있다⁸⁾. 즉, 젊었을 때는 카페인에 의한 칼슘손실에 대한 적응으로 장에서의 칼슘흡수를 증가시켜 보상하지만, 노인은 이러한 적응이 잘 이루어지지 않아 카페인의 영향이 더 크다고 한다. 또한 칼슘대사도 연령에 따라 차이가 있어 노년기에 이르면 칼슘의 배설량이 증가하며, 이를 보충하기 위해 뼈의 손실이 일어나 심하면 골다공증(osteoporosis)이 유발될 수 있다⁹⁾. 특히, 폐경기 이후의 여성은 에스트로겐(estradiol) 분비감소에 기인하여 뼈의 손실속도가 빨라 골다공증의 위험이 매우 높다¹⁰⁾. 이와같은 연령증가에 따른 칼슘대사의 변화를 고려한다면 카페인의 영향은 여자노인에서 더 큼 것으로 사료되지만 이를 비교관찰한 연구는 부족한 실정이다.

1993년 우리나라 국민영양조사 보고서¹¹⁾에 의하면 칼슘 섭취량은 권장량의 84% 수준이며, 전체 조사대상자 중 권장량의 70% 이하밖에 섭취하지 못하는 가구비율이 전국적으로 47.2%에 달해 칼슘 섭취부족이 아직도 심각한 것으로 나타났다. 미국의 식품섭취 보고서¹²⁾에 의하면 미국 10대의 1/3가량이 우유 대신에 soft drink를 섭취하고 있으며 칼슘 섭취량도 권장량에 미치지 못하고 있는 것으로 보고되었는데, 이에 대한 문제로 soft drink 섭취증가로 인해 점차 우유를 통한 칼슘공급의 기회가 감소된다는 점과 카페인 섭취에 의한 칼슘손실이 증가된다는 점을 지적하고 있다. 이러한 사실은 우리나라에서도 간과할 수 없으며, 카페인을 함유한 기호음료와 soft drink의 섭취가 증가하고 있는 현 시점에서 카페인이 칼슘대사에 미치는 영향에 대한 연구는 무엇보다 필요하다고 생각한다.

따라서 본 연구에서는 암수의 생후 4주된 어린쥐와 10개월된 성숙쥐를 대상으로 체중 100g당 0, 3.5, 7mg의 카페인을 3주간 공급하여 체내 칼슘함량을 측정함으로써 카페인이 체내 칼슘이용에 미치는 영향과 이러한 영향이 연령과 성별에 따라 다른지를 밝혀보고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물의 사육

실험동물은 Sprague-Dawley계 암컷과 숫컷 흰쥐로, 생후 4주된 약 80g의 어린쥐 60마리와 10개월된 약 350g의 성숙쥐 60마리를 고형사료로 1주일간 적응시킨 후 성별, 연령 및 카페인 섭취수준에 따라 임의 배치법으로 각각 10마리씩 12군으로 나누어 3주간 사육하였다. 사육실의 조건은 온도 24±2°C, 습도 55~60%를 항상 유지시켜 주었으며, 모든 사료와 물(2차 종류수)

은 매일 같은 시각에 공급한 후 자유급식시켰다. 사육 및 실험에 사용할 모든 기구들은 무기질의 오염을 방지하기 위하여 깨끗이 씻은 후 플라스틱 제품인 경우에는 0.4% EDTA용액에, 유리제품일 경우에는 질산원액에 24시간 이상 담갔다가 2차 종류수로 3번 이상 세척하고 건조기에서 습기를 제거한 다음에 사용하였다.

2. 실험동물의 식이

실험식이의 배합은 NRC¹³⁾와 AIN-76¹⁴⁾을 참고로 하였으며, 배합구성비율은 Table 1과 같다. 카페인(Junsei chemical Co., Japan)은 체중 100g당 3.5mg과 7.0mg으로 계산한 양을 2차 종류수에 녹여 oral needle zone을 사용하여 매일 같은 시각에 위내로 투여하였으며, 비카페인군도 동량의 종류수를 카페인군과 같은 방법으로 투여하였다. 체중 100g당 3.5mg의 카페인은 metabolic body weight(kg^{0.75})¹⁵⁾을 사용하여 계산했을 때 체중 70kg인 성인남자가 476.30mg의 카페인을 섭취하는 양이며, 한컵의 커피에 80mg의 카페인이 함유되어 있다고 가정하면 1일 6컵의 커피를 마시는 양에 해당한다.

3. 식이섭취량과 체중증가량 측정

식이섭취량은 매일 같은 시각(오전 11시)에 측정하였으며, 전날 채워둔 사료통의 무게에서 그날의 무게를

Table 1. Formulation of experimental diet

Ingredient	Composition(%)
Casein	20.0
DL-Methionine	0.3
Corn starch	15.0
Sucrose	50.0
Cellulose	5.0
Corn oil ¹⁾	5.0
Mineral mixture ²⁾	3.5
Vitamin mixture ³⁾	1.0
Choline bitartrate	0.2

1) Butylated hydroxytoluene as antioxidant was added 0.0125%/kg oil.

2) Mineral mixture :

Calcium phosphate · dibasic 500g, sodium chloride 74g, potassium citrate · monohydrate 220g, potassium sulfate 52g, magnesium oxide 24g, manganese carbonate 3.5g, ferric citrate 6g, zinc carbonate 1.6g, cupric carbonate 0.3g, potassium iodate 0.01g, sodium selenite 0.01g, chromium potassium sulfate 0.55g : sucrose finely powdered to make 1,000g.

3) Vitamin mixture :

Thiamin · HCl 600mg, riboflavin 600mg, pyridoxine · HCl 700mg, nicotinic acid 3g, D-calcium pantothenate 1.6g, folic acid 200mg, D-biotin 20mg, cyanocobalamin 1mg, vitamin A 400,000IU, dl- α -tocopherol acetate 5,000IU, cholecalciferol 2.5mg, menaquinone 5mg : sucrose finely powdered to make 1,000g.

뺀 값으로 섭취량을 계산하였다. 체중도 매일 같은 시각(오후 1시)에 측정하였고, 식이섭취로 인한 일시적인 체중변화를 막기 위하여 측정하기 1시간 전에 식이통을 제거한 후에 실시하였으며, 측정한 체중으로 매일 카페인 투여량을 계산하여 공급하였다. 식이효율은 일주일 간의 체중증가량을 식이섭취량으로 나눈 값으로 계산하였다.

4. 시료의 채취

3주간의 사육 종료전 3일동안 실험쥐를 대사장에 옮겨 대변과 소변을 채취하였다. 채취한 대변은 체모를 제거하고 총량을 측정한 후 냉동보관하였으며, 소변은 부폐를 방지하기 위하여 toluene을 소량 넣은 채취병에 담아 잘 흔들어 섞은 후 총량을 측정하고 원심분리하여 그 상등액을 냉동보관하였다. 3주간의 사육이 끝난 후 15시간 정도 절식시키고 개체별로 체중을 측정하여 ketamine으로 마취시켜 해부를 실시하였다. 혈액은 복부 대동맥에서 채취하여 1시간 정도 방치한 후 3,000rpm에서 20분간 원심분리시켜 혈청을 얻어 분석시까지 냉동보관하였으며, 혈액을 채취한 후 간장, 신장, 원쪽 경골(tibia)을 떼어내어 생리식염수로 표면에 묻은 혈액을 씻어내고 지방을 깨끗이 제거한 다음 무게를 측정하고 냉동보관하였다.

5. 시료의 분석방법

1) 간장, 신장 및 대변의 음식분해

간장, 신장 및 대변은 잘 분쇄하여 50ml 분해용 플라스크에 1g 취하고 nitric acid 15ml를 넣어 250°C의 hot plate에서 갈색연기가 없어질때까지 분해한다. 여기에 perchloric acid 5ml를 첨가한 후 분해액이 약 1ml정도 남을 때까지 다시 분해한다. 분해가 완료되면 냉각시키고 50ml mass flask에 여과자(No. 6)를 놓고 뜨거운 증류수를 가해 분해용기 내부를 깨끗이 씻어 내리면서 표선을 채운다.

2) 경골의 건식분해

채취한 경골은 70°C 건조기에서 2일간 건조하여 Soxhlet 장치에서 탈지한 후 60°C 건조기에서 2시간 이상 건조하고 평량하여 fat free dry weight을 측정한다. 그후 600°C 회화로에서 5시간 동안 회화시키고 2배로 회석한 hydrochloric acid-nitric acid 혼합용액(1:1)을 3ml 가하여 200°C의 hot plate에서 10분간 가열한 후 50ml mass flask에 여과자를 놓고 뜨거운 증류수를 가해 분해용기 내부를 깨끗이 씻어 내리면서 표선을 채운다.

3) 분해시료의 칼슘함량 측정과 칼슘평형 산출

혈청, 소변 및 전처리하여 준비한 간장, 신장, 대변 및 경골 분해액의 칼슘함량은 원자흡광광도계(Atomic absorption spectrophotometer, Hitachi Z6000, Japan)로 측정하여 각 시료중의 칼슘함량을 측정하였다. 칼슘 섭취량과 분석한 대변과 소변의 칼슘 배설량을 이용하여 칼슘의 1일 보유량과 겉보기 흡수율을 산출하였다

6. 자료의 통계처리

본 실험에서 얻어진 모든 결과는 성별, 연령, 카페인 섭취수준에 따른 각 군별 평균치와 표준편차를 계산하였다. 성별, 연령 및 카페인 섭취수준의 영향을 알아보기 위하여 SAS program을 사용하여 $2 \times 2 \times 3$ 분산분석을 하였고, 유의적인 영향이 나타났을 때는 각 군별 차이를 관찰하기 위하여 Duncan's multiple range test로 $\alpha=0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다¹⁶⁾.

실험결과 및 고찰

1. 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율

암쥐와 숫쥐의 어린쥐와 성숙쥐를 대상으로 카페인을 체중 100g당 0, 3.5, 7mg 수준으로 3주간 공급한 후 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율을 살펴본 결과는 Table 2와 같다. 식이섭취량은 성별, 연령 및 카페인 섭취수준에 따른 각 군별 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 체중증가량은 성별, 연령 및 성별과 연령 상호작용의 유의적인 영향을 받아($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$) 암쥐가 숫쥐보다 낮았으며, 어린쥐가 성숙쥐보다 높았다. 식이효율은 성별, 연령 및 성별과 연령 상호작용의 유의한 영향을 받아($p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.01$) 암쥐가 숫쥐보다 낮았으며, 어린쥐가 성숙쥐보다 높았다.

카페인이 식이섭취량에 미치는 영향에 관한 연구에서 Bukowiecki 등¹⁷⁾은 암쥐에게 0.057%와 0.2%의 카페인 용액을 9주간 자유롭게 공급했을 때, Yeh 등⁶⁾은 숫쥐에게 매일 체중 100g당 2.5mg과 100mg의 카페인을 2주간 공급했을 때 식이섭취량이 대조군과 유의적인 차이가 없다고 보고하였다. 또한 Munoz 등¹⁸⁾도 암쥐에게 1.2%의 커피용액을 21일동안 자유급식시켰을 때 식이섭취량에 유의적인 변화가 없다고하여 본 연구와 일치하였다. 그러나 Reinmann¹⁹⁾은 1일 1.5에서 1.8g의 카페인을 섭취한 여성에게서 식욕감퇴가 현저했다고 하며, 김²⁰⁾과 이²¹⁾는 커피 첨가군의 사료섭취량이 대조군보다 오히려 증가하였다고하여 카페인과 커피가

Table 2. Feed intake, body weight gain and feed efficiency ratio

Group ¹⁾	Feed intake g/day	Body weight gain g/day	FER
FYC0	23.40±2.26 ²⁾	3.40±0.90 ^{b,3)}	0.14±0.03 ^b
FYC3.5	22.14±0.76	3.44±0.70 ^b	0.16±0.03 ^b
FYC7	18.54±3.76	3.00±0.62 ^b	0.17±0.06 ^{ab}
FAC0	15.57±0.62	-0.73±0.99 ^c	-0.05±0.06 ^c
FAC3.5	20.30±5.36	-1.19±1.00 ^{cd}	-0.06±0.06 ^c
FAC7	19.80±2.45	-0.92±0.79 ^c	-0.05±0.04 ^c
MYC0	26.80±0.85	5.87±1.53 ^a	0.22±0.05 ^{ab}
MYC3.5	24.67±1.70	5.03±1.19 ^a	0.20±0.05 ^{ab}
MYC7	22.60±4.34	5.23±1.35 ^a	0.24±0.07 ^a
MAC0	21.36±6.39	-0.83±1.95 ^c	-0.05±0.10 ^c
MAC3.5	19.63±7.21	-2.44±2.45 ^d	-0.17±0.16 ^d
MAC7	19.31±0.06	-1.28±2.44 ^d	-0.07±0.13 ^c
Significance	N.S. ⁴⁾	p < 0.001	p < 0.001
A(sex)	N.S.	p < 0.001	p < 0.05
B(age)	N.S.	p < 0.001	p < 0.001
C(caffeine)	N.S.	N.S.	N.S.
Anova	A × B	N.S.	p < 0.001
	A × C	N.S.	N.S.
	B × C	N.S.	N.S.
	A × B × C	N.S.	N.S.

1) In the abbreviated names, F, M, Y, A and C, indicate female, male, young, adult and caffeine level, respectively.

2) Mean±standard deviation.

3) Means with different letters(a, b, c, d) within a column are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ as determined by Duncan's multiple range test(a>b>c>d).

4) No significance.

식이섭취량에 영향을 미친다는 연구들이 보고되고 있으나, 그 영향에 대해서는 서로 상반된 결과를 보이고 있어 좀 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

카페인이 체중증가에 미치는 영향에 대해서는 본 연구결과 카페인에 의해 유의적인 영향을 받지않은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 숫쥐에게 매일 체중 100g 당 2.5mg과 10mg의 카페인을 2주간 공급했을 때 체중증가가 대조군과 유의한 차이가 없었다는 Yeh 등⁶⁾의 보고와 일치하였다. 그러나 많은 연구에서는 다른 결과를 보이고 있어 Nakamoto와 Shaye²²⁾는 체중 100g 당 2mg의 카페인을 쥐에게 15일간 공급했을 때 공급 7일째부터 체중증가량이 대조군보다 유의하게 낮았다고 하였으며, Bukowiecki 등¹⁷⁾, Fears²³⁾, Cheung 등²⁴⁾, Naismith 등²⁵⁾, 서 등²⁶⁾의 연구에서도 카페인이 흰쥐의 체중을 감소시킨다고 하였는데, 이는 카페인이 지방분해 증가로 저장지방 감소를 초래하고 에너지 소비증가로 체중증가를 억제하기 때문이라고 하였다. 또한 Achenson 등²⁷⁾과 Dulloo 등²⁸⁾도 정상인의 카페인과 커피에 대한 대사율과 이용에 관한 연구에서 카페인 투여시 유리지방산의 이동과 대사율의 증기를 가져와 체중을 감소시키는 효과가 있음을 보고하였다.

2. 혈청, 간장, 신장의 칼슘농도

암쥐와 숫쥐의 어린쥐와 성숙쥐를 대상으로 카페인을 체중 100g당 0, 3.5, 7mg 수준으로 공급했을 때 혈청, 간장, 신장의 칼슘농도에 대한 결과는 Table 3과 같다. 혈청 칼슘농도는 숫쥐의 경우 어린쥐가 성숙쥐보다 높은 경향을 보였으나 성별, 연령 및 카페인에 의한 유의적인 영향을 받지 않았다. 간장의 칼슘농도는 성별, 연령, 카페인(p < 0.001, p < 0.001, p < 0.001) 및 이들 상호작용의 유의적인 영향을 받아 암쥐가 숫쥐보다 낮았다. 암쥐는 연령이나 카페인에 따른 유의한 차이가 없었으나 숫쥐의 경우에는 어린쥐가 성숙쥐보다 높았으며, 어린 숫쥐의 경우 고카페인군의 간장 칼슘농도가 비카페인군이나 중정도의 카페인군보다 유의하게 낮았다(p < 0.05). 신장의 칼슘농도는 성별, 성별과 연령 상호작용의 유의한 영향을 받아(p < 0.001, p < 0.001) 어린쥐의 경우 암쥐가 숫쥐보다 낮았다.

실험쥐를 대상으로 카페인을 경구투여했을 때²⁹⁾와 피하로 정맥투여했을 때⁶⁾ 혈청, 간장, 신장의 칼슘농도는 카페인 섭취수준에 따라 유의적인 차이가 없었다고 한다. 이러한 결과는 사람을 대상으로 실시한 연구³⁰⁾에서도 나타나고 있어 16명의 건강한 폐경전 여성에게 1일

Table 3. Calcium levels in serum, liver and kidney

Group ¹⁾	Serum	Liver	Kidney
	mg/dl	μg/dl	μg/g
FYCO	11.95±1.06 ^{2)ab3)}	46.06±14.95 ^b	65.23±13.15 ^d
FYC3.5	11.54±0.86 ^{ab}	48.74±9.51 ^b	49.00±7.62 ^{de}
FYC7	11.94±0.82 ^{ab}	46.26±3.08 ^b	37.96±11.76 ^e
FAC0	11.78±0.74 ^{ab}	46.37±7.37 ^b	89.11±5.86 ^{bc}
FAC3.5	11.75±1.18 ^{ab}	45.00±4.73 ^b	104.45±13.27 ^{abc}
FAC7	12.23±3.19 ^{ab}	50.26±4.15 ^b	92.38±16.58 ^{bc}
MYC0	13.38±0.91 ^a	73.75±9.93 ^a	118.83±19.18 ^a
MYC3.5	13.17±0.82 ^a	76.46±11.27 ^a	112.38±19.17 ^{abc}
MYC7	11.90±2.14 ^{ab}	44.78±5.21 ^b	114.70±16.54 ^{ab}
MAC0	12.02±3.54 ^{ab}	44.86±6.06 ^b	87.85±26.52 ^c
MAC3.5	10.50±1.09 ^b	47.75±7.64 ^b	97.47±20.46 ^{abc}
MAC7	11.83±1.44 ^{ab}	41.95±5.89 ^b	94.01±16.23 ^{abc}
Significance	N.S. ⁴⁾	p < 0.001	N.S.
A(sex)	N.S.	p < 0.001	p < 0.001
B(age)	N.S.	p < 0.001	N.S.
C(caffeine)	N.S.	p < 0.001	N.S.
Anova	A×B	p < 0.05	p < 0.001
	A×C	N.S.	p < 0.001
	B×C	N.S.	p < 0.001
	A×B×C	N.S.	p < 0.01

1) In the abbreviated names, F, M, Y, A and C, indicate female, male, young, adult and caffeine level, respectively.

2) Mean±standard deviation.

3) Means with different letters(a, b, c, d, e) within a column are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ as determined by Duncan's multiple range test(a>b>c>d>e).

4) No significance.

400mg의 카페인을 19일 동안 공급했을 때 혈청 칼슘 농도는 대조군과 유의한 차이가 없었다고 보고하였다. 본 연구에서도 카페인이 혈청과 신장의 칼슘함량에 유의적인 영향을 주지않아 위의 연구들과 일치하였다. 혈청 중의 칼슘은 이온화된 형태(50%), 단백질과 결합된 형태(40%), 유기산이나 무기산과 결합된 형태(10%)로 존재하며, 이들 3가지 형태는 체내 칼슘의 흡수와 배설에 영향을 미치는 다양한 인자에 노출되어도 부갑상선 호르몬이나 calcitonin 및 여러 가지 요인의 조절 작용에 의해 빠르게 항상성을 유지하기 때문에¹⁰⁾ 카페인에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않은 것으로 사료된다.

3. 경골의 칼슘상태

암취와 솟취의 어린취와 성숙취를 대상으로 카페인을 체중 100g당 0, 3.5, 7mg 수준으로 3주간 공급한 후 경골의 칼슘상태를 살펴본 결과는 Table 4와 같다. 경골의 지방체거 건조무게는 연령, 성별과 연령 상호작용의 유의한 영향을 받아(p < 0.001, p < 0.05) 어린취가 성숙취보다 낮았다. 단위 경골당 회분함량은 성별, 연령 및 카페인에 따른 유의한 차이가 없었다. 단위 경골

당 칼슘함량은 카페인의 유의한 영향을 받아(p < 0.05) 카페인 함량이 높을수록 단위경골당 칼슘함량이 낮았다. 특히 성숙한 솟취의 경우 고카페인군이 비카페인군보다 유의하게 낮았다(p < 0.05).

사람을 대상으로 실시한 많은 역학연구³¹⁾³²⁾에서 카페인 섭취와 골절과의 상관성이 나타남에따라 이러한 상관성을 증명하려는 생체외 연구를 통해 카페인이 직접적으로 뼈의 칼슘을 유리시킨다는 연구⁷⁾가 보고되고 있으며, 쥐⁶⁾와 사람³³⁾³⁴⁾을 대상으로 실시한 대사실험에서 카페인은 칼슘의 배설을 증가시키고 카페인에 의한 칼슘배설 증가는 만성적인 카페인 섭취로도 감소하지 않는다고 하기 때문에 계속적인 카페인 섭취는 칼슘손실로 인한 체내 칼슘을 유지하기 위해 뼈의 칼슘함량 감소를 초래할 것으로 사료된다. 본 연구에서 3주간 카페인 투여는 경골의 무게와 회분 함량에는 영향을 주지 않았지만 칼슘함량에는 유의적인 영향을 주어 성숙한 솟취의 경우 고카페인군의 경골 칼슘함량이 비카페인군보다 유의하게 낮았다. 이와같은 결과는 카페인이 직접적으로 뼈의 칼슘을 유리시킨다는 연구⁷⁾나 카페인 섭취와 골절과의 상관성을 보고한 많은 역학연구들³¹⁾³⁵⁾을 뒷받침할 수 있을 것으로 생각한다. 그러나 쥐는 칼슘

Table 4. Fat free dry weight, ash and calcium contents in tibia

Group ¹⁾	FFDW ²⁾ mg	Ash/FFDW mg/g	Ca/FFDW mg/g
FYC0	130.00±14.14 ^{3)b4)}	577.38± 8.41	199.95±10.73 ^{ab}
FYC3.5	130.00± 5.00 ^b	614.02±53.35	169.24±22.28 ^{ab}
FYC7	125.00± 7.07 ^b	599.36±22.66	168.81±30.53 ^{ab}
FAC0	240.00±28.28 ^a	645.11±12.37	178.16±5.26 ^{ab}
FAC3.5	233.33± 5.77 ^a	643.12±46.22	150.06± 0.30 ^{ab}
FAC7	240.00±10.00 ^a	626.28±57.86	158.02±19.50 ^{ab}
MYC0	145.00± 7.07 ^b	585.71±20.20	165.87±30.69 ^{ab}
MYC3.5	150.00±28.28 ^b	601.81±19.19	155.89±22.37 ^{ab}
MYC7	146.67± 5.77 ^b	569.84±91.88	135.52± 0.86 ^b
MAC0	235.00± 7.07 ^a	616.85±11.53	209.76±35.76 ^a
MAC3.5	240.00±10.00 ^a	623.41±57.41	154.68±16.24 ^{ab}
MAC7	260.00±14.14 ^a	614.82±20.95	132.76± 2.00 ^b
Significance	p < 0.001	N.S. ⁵⁾	N.S.
A(sex)	N.S.	N.S.	N.S.
B(age)	p < 0.001	N.S.	N.S.
C(caffeine)	N.S.	N.S.	p < 0.05
Anova	A × B	p < 0.05	N.S.
	A × C	N.S.	N.S.
	B × C	N.S.	N.S.
	A × B × C	N.S.	N.S.

1) In the abbreviated names, F, M, Y, A and C, indicate female, male, young, adult and caffeine level, respectively.

2) Fat free dry weight

3) Mean±standard deviation.

4) Means with different letters(a) within a column are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ as determined by Duncan's multiple range test(a>).

5) No significance.

이나 비타민 D 부족에 따른 구루병이나 골다공증에 방어하는 능력이 사람보다 훨씬 크기 때문에³⁶⁾ 좀더 정확한 결과를 얻기 위해서는 쥐 이외의 실험동물을 이용한 장기간에 걸친 골대사에 미치는 카페인의 영향을 살펴보아야 할 것으로 사료된다.

4. 칼슘평형

암쥐와 숫쥐의 어린쥐와 성숙쥐를 대상으로 카페인을 체중 100g당 0, 3.5, 7mg 수준으로 3주간 공급했을 때 칼슘평형에 대한 결과는 Table 5와 같다. 1일 칼슘섭취량은 연령에 의한 유의적인 영향을 받아(p < 0.05) 어린쥐가 성숙쥐보다 높았으나 성별과 카페인에 의한 유의적인 차이는 없었다. 1일 대변을 통한 칼슘 배설량은 연령에 따른 유의적인 차이가 있어(p < 0.001) 어린쥐가 성숙쥐보다 낮았으나 성별과 카페인에 의한 유의적인 차이는 없었다. 1일 소변을 통한 칼슘 배설량은 카페인(p < 0.001)과 각 변수간의 상호작용에 의한 유의한 영향을 받아 카페인의 섭취량이 높을수록 증가하였다. 1일 칼슘 보유량은 성별과 연령에 의한 유의한 영향을 받아(p < 0.05, p < 0.001) 암쥐가 숫쥐보다 낮

았으며, 어린쥐가 성숙쥐보다 높았다. 칼슘의 절보기 흡수율은 연령에 의한 유의한 차이가 있어(p < 0.001) 어린쥐가 성숙쥐보다 높았으나 성별과 카페인에 의한 유의적인 차이는 없었다.

건강한 성인의 경우 식품을 통해 섭취한 칼슘의 약 20~30%가 소장 상부에서 흡수되며 나머지 70~80%는 대변을 통해 배설된다고 한다¹⁰⁾. 대변 중의 칼슘 배설량을 측정함으로써 결정되는 칼슘의 흡수율은 많은 내적, 외적 요인의 영향을 받기 때문에 여러 요인에 의한 칼슘대사의 변화를 살펴보는데 중요한 지표가 되고 있다. 그러나 대변중 칼슘 배설량에는 내인성 칼슘 배설량(endogenous fecal Ca excretion)도 포함되어 있어 순수 칼슘 흡수율을 결정하는 것이 어렵고 칼슘대사에 영향을 미치는 요인은 대변의 총 칼슘 배설량보다 내인성 배설량과 더욱 밀접한 관계가 있다고 한다¹⁰⁾. Yeh 등⁶⁾은 실험쥐에게 매일 체중 100g당 2.5mg과 10mg의 카페인을 2주간 공급했을 때 10mg 섭취군의 대변중 총 칼슘 배설량은 유의하게 감소하고 내인성 칼슘 배설량과 칼슘 흡수량은 유의하게 증가하였다고 하면서, 이것은 카페인으로 인한 뇨중 칼슘배설과 대변중

Table 5. Calcium balance

Group ¹⁾	Ca intake	Ca excretion		Ca retention ²⁾	Apparent Ca absorability ³⁾
		Feces	Urine		
	mg/day	mg/day	mg/g	mg/day	%
FYCO	120.75±11.67 ^{aab5)}	16.84±3.88 ^{bcd}	0.86±0.04 ^{ef}	103.05±10.84 ^{abc}	86.30±3.26 ^a
FYC3.5	114.22±3.90 ^{ab}	12.86±1.20 ^d	1.11±0.04 ^{dc}	100.24±3.68 ^{abc}	88.06±1.34 ^a
FYC7	95.67±19.41 ^{ab}	12.54±2.47 ^d	1.16±0.20 ^{cde}	81.97±11.13 ^{bcd}	86.91±0.82 ^a
FAC0	80.32±3.17 ^b	23.13±10.57 ^{abcd}	0.76±0.05 ⁱ	56.42±11.10 ^d	71.15±13.39 ^b
FAC3.5	104.75±18.83 ^{ab}	24.94±2.27 ^{abc}	0.75±0.23 ^j	79.06±12.07 ^{cd}	76.04±2.39 ^{ab}
FAC7	102.14±12.66 ^{ab}	29.83±2.77 ^a	2.22±0.18 ^a	70.09±6.36 ^d	70.79±1.05 ^b
MYC0	138.29±4.38 ^a	16.59±3.31 ^{cd}	0.86±0.27 ^{cf}	120.84±6.12 ^a	87.97±2.65 ^a
MYC3.5	127.30±8.75 ^a	18.50±2.31 ^{bc}	1.48±0.13 ^{bc}	107.32±4.29 ^{ab}	85.50±1.25 ^a
MYC7	116.62±22.41 ^{ab}	16.85±3.48 ^{bcd}	1.30±0.36 ^{bcd}	98.47±14.59 ^{abc}	85.53±2.58 ^a
MAC0	110.19±32.95 ^{ab}	31.00±2.06 ^a	0.73±0.02 ^f	78.46±22.09 ^{cd}	71.19±4.91 ^b
MAC3.5	101.29±37.22 ^{ab}	22.00±2.45 ^{abcd}	1.60±0.11 ^b	77.68±27.81 ^{cd}	76.90±8.54 ^{ab}
MAC7	99.64±0.30 ^{ab}	28.12±15.33 ^{ab}	1.19±0.05 ^{cd}	70.33±15.38 ^d	71.77±15.38 ^b
Significance	N.S. ⁶⁾	p < 0.01	p < 0.001	p < 0.01	p < 0.01
A(sex)	N.S.	N.S.	N.S.	p < 0.05	N.S.
B(age)	p < 0.05	p < 0.001	N.S.	p < 0.001	p < 0.001
C(caffeine)	N.S.	N.S.	p < 0.001	N.S.	N.S.
Anova	A × B	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	A × C	N.S.	N.S.	p < 0.001	N.S.
	B × C	N.S.	N.S.	p < 0.001	N.S.
	A × B × C	N.S.	N.S.	p < 0.001	N.S.

1) In the abbreviated names, F, M, Y, A and C, indicate female, male, young, adult and caffeine level, respectively.

2) Ca retention=Ca intake-Ca excretion in feces and urine.

3) Apparent Ca absorability=[(Ca intake-Ca excretion in feces)/Ca intake]×100.

4) Mean±standard deviation.

5) Means with different letters(a, b, c, d, e, f) within a column are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ as determined by Duncan's multiple range test(a>b>c>d>e>f).

6) No significance.

내인성 칼슘 배설 증가에 따른 보상으로 장에서의 칼슘 흡수가 증가된 결과라고 해석하였다. 이러한 결과는 숙취에게 4% 인스턴트 커피를 3주간 공급했을 때 대변 중 내인성 칼슘 배설량이 증가하였다는 보고³⁷⁾와 중년여성에 있어 카페인 섭취는 장에서의 칼슘 분비와 정의 상관성이 있었다는 연구³⁸⁾에서도 나타나고 있어 카페인이 장에서의 내인성 칼슘 배설에도 영향을 미치는 것으로 생각되지만, Barger-Lux 등³⁰⁾은 16명의 건강한 폐경 전 여성에게 1일 400mg의 카페인을 19일 동안 공급했을 때 대변을 통한 내인성 칼슘 배설량은 유의한 변화가 없었다고 하여 이에 대한 좀더 정확한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다. 본 연구에서는 카페인이 대변을 통한 칼슘 배설량과 겉보기 소화율에 유의적인 영향을 주지 않은 것으로 나타났지만 내인성 칼슘 배설량을 측정하지 못해 카페인이 칼슘의 흡수나 위장관계에 미치는 직접적인 영향을 설명하기 어렵다. 따라서 앞으로 이를 규명하기 위해서는 대변의 내인성 칼슘 배설량도 측정하여 연구하는 것이 필요하다고 생각한다.

카페인이 뇨중 칼슘 배설에 미치는 영향에 대한 연구

에서 Yeh 등⁶⁾, 여와 승²⁹⁾, Whiting과 Whitney³⁹⁾는 어린취와 성숙취에 있어 카페인 섭취는 뇨를 통한 칼슘 배설량을 유의하게 증가시켰다고 보고하였다. 본 연구에서도 카페인 섭취에 의해 뇨중 칼슘 배설량이 유의하게 증가하여 같은 결과를 보였다.

칼슘의 섭취량, 대변과 소변의 배설량을 통해 칼슘평형을 살펴보았을 때 카페인에 따라 뇨중 칼슘 배설량은 유의하게 증가하였지만 칼슘보유량은 유의한 영향을 받지 않아 Yeh 등⁶⁾의 결과와 일치하였다. 본 연구에서 칼슘 보유량과 겉보기 흡수율은 연령에 따른 차이가 있어 어린취보다 성숙취에서 낮았는데, 이러한 결과는 연령증가에 따라 칼슘의 흡수율이 감소하고 그에 따라 칼슘평형이 감소한다는 보고들^{40,41)}과 일치하고 있다.

요약 및 결론

본 연구에서는 카페인 섭취가 계속 증가하고 있는 현 시점에서 연령과 성별에 따른 체내 칼슘이용에 미치는 카페인의 영향을 알아보기 위하여 암수의 생후 4주된

어린쥐와 10개월된 성숙쥐를 대상으로 체중 100g당 0, 3.5, 7mg의 카페인을 3주간 공급하여 체내 칼슘함량을 측정하였으며, 이에 대한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 식이섭취량은 성별, 연령 및 카페인 섭취에 따른 각 군별 유의적인 차이가 없었으나, 체중증가량과 식이효율은 암쥐와 어린쥐가 숫쥐나 성숙쥐보다 유의하게 낮았다.

2) 혈청 칼슘농도는 성별, 연령 및 카페인 섭취수준에 따른 각 군별 유의한 차이가 없었으나, 간장 칼슘농도는 어린 숫쥐의 경우 고카페인군이 비카페인군보다 낮았다.

3) 단위 경골당 회분함량은 성별, 연령 및 카페인에 따른 유의적인 차이가 없었으나, 칼슘 함량은 성숙한 숫쥐의 경우 카페인군이 비카페인군보다 유의하게 낮았다.

4) 1일 대변을 통해 배설된 칼슘량은 어린쥐가 성숙쥐보다 낮았으나 성별과 카페인에 의한 유의적인 차이는 없었다.

5) 1일 소변을 통한 칼슘 배설량은 암수의 어린쥐와 성숙쥐 모두 카페인군이 비카페인군보다 유의하게 높았다.

6) 1일 칼슘 보유량과 겉보기 흡수율을 통해 평가한 칼슘평형은 어린쥐가 성숙쥐보다 높았으나 성별과 카페인에 의한 유의적인 차이는 없었다.

이상의 연구결과를 종합해 볼 때 카페인은 소변을 통한 칼슘손실을 초래하여 체내 칼슘이용을 감소시키는 것으로 나타났다. 따라서, 카페인의 섭취수준이 점차 증가하고 있는 현 시점에서 체내 칼슘이용을 감소시키는 카페인의 영향을 줄일 수 있는 방안에 대한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Literature cited

- 1) 경제기획원 조사통계국. 산업생산연보, 1995
- 2) Graham DM. Caffeine-its identity, dietary sources, intake and biological effects. *Nutr Rev* 36 : 97-102, 1978
- 3) Curatolo PW, Robertson D. The health consequences of caffeine. *Ann Intern Med* 98 : 641-653, 1983
- 4) Kiel P. Caffeine and the risk of hip fracture : the Framingham study. *Am J Epidemiol* 132 : 675-684, 1990
- 5) Hollingbery PW, Bergman EA, Massey LK. Effect of dietary caffeine and aspirin on urinary calcium and hydroxyproline excretion in pre-and postmenopausal women. *Fed Proc* 43(5) : 1149, 1985
- 6) Yeh JK, Aloia JF, Semla HM, Chen SY. Influence of injected caffeine on the metabolism of calcium and the retention and excretion of sodium, potassium, phosphorus, magnesium, zinc and copper in rats. *J Nutr* 116 : 273-280, 1986
- 7) Tassinari MS, Gerstenfeld LC, Stein GS, Lian JB. Effect of caffeine on parameters of osteoblast growth and differentiation of a mineralized extracellular matrix in vivo. *J Bone Miner Res* 6 : 1029-1036, 1991
- 8) Massey LK, Wise KJ. Impact of gender and age on urinary water and mineral excretion responses to acute caffeine doses. *Nutr Res* 12 : 605-612, 1992
- 9) Bulusu L, Hodkinson A, Nordin BEC, Peacock M. Urinary excretion of calcium and creatinine in relation to age and body weight in normal subjects and patients with renal calculi. *Clin Sci* 38 : 601-612, 1970
- 10) Nordin BEC. Calcium in human biology, Springer-Verlag, Heidelberg, 1988
- 11) 보건복지부. 93국민영양조사결과보고서. 남성문화사, 서울, 1995
- 12) Guenther PM. Beverages in the diets of American teenagers. *J Am Dietet Assoc* 86 : 493-499, 1986
- 13) NRC Food and Nutrition Board. Nutrient requirements of the laboratory rat, pp.7-27, Nat Aca Sci, Washington DC, 1978
- 14) American Institute of Nutrition. Report of the American institute of nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 107 : 1340-1348, 1978
- 15) Waynfirth HB, Flecknell PA. Experimental and surgical technique in the rat, Academic Press, London, 1992
- 16) 김충련. SAS라는 통계상자-통계분석 및 시장조사기법을 중심으로, pp.247-352, 테이터리서치, 서울, 1993
- 17) Bukowiecki LJ, Lupien J, Folla N, Jahjah L. Effects of sucrose, caffeine, and cola beverages on obesity, cold resistance, and adipose tissue cellularity. *Am J Physiol* 244 : R500-R507, 1983
- 18) Munoz L, Keen CL, Lönnnerdal B, Dewey KG. Coffee intake during pregnancy and lactation in rats : maternal and pup hematological parameters and liver iron, zinc and copper concentration. *J Nutr* 116 : 1326-1333, 1986
- 19) Reinmann HA. Caffeine a cause of long-continued, low-grade fever. *J Am Med Assoc* 202 : 1150, 1967
- 20) 김영심 · 김미경. 단백질의 종류를 달리한 식이에 첨가했을 때 흰쥐의 지방대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 19 : 224-232, 1986
- 21) 이혜원. Coffee를 단백질의 수준과 종류를 달리한 식이에 첨가했을 때 흰쥐의 지방대사에 미치는 영향. 이화여자대학교 대학원 석사학위논문, 1984
- 22) Nakamoto T, Shaye R. Effects of caffeine on the growth of mandible and long bone in protein-energy malnourished newborn rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 177 : 56-61, 1984

- 23) Fears R. The hypercholesterolaemic effect of caffeine in rats fed on diets with and without supplementary cholesterol. *Br J Nutr* 39 : 363-374, 1978
- 24) Cheung WT, Lee CM, Ng TB. Potentiation of the antilipolytic effect of 2-chloroadenosine after chronic caffeine treatment. *Pharmacol* 36 : 331-339, 1988
- 25) Naismith DJ, Akinyanju PA, Yudkin J. Influence of caffeine containing beverages on the growth, food utilization and plasma lipids of the rat. *J Nutr* 97 : 375, 1968
- 26) 서 강. Coffee식이가 흰쥐의 혈청 및 간 효소력과 화학성 분에 미치는 영향. 전국대학교 대학원 석사학위논문, 1992
- 27) Achenson KJ, Zahorska-Markiewicz B, Anantharaman K, Jéquier E. Caffeine and coffee : their influence on metabolic rate and substrate utilization in normal weight and obese individuals. *Am J Clin Nutr* 33 : 989-997, 1980
- 28) Dulloo AG, Geissler CA, Horton T, Collins A, Miller DS. Normal caffeine consumption : influence on thermogenesis and daily energy expenditure in lean and postobese human volunteers. *Am J Clin Nutr* 49 : 44-50, 1989
- 29) 여성숙·승정자. 단백질과 카페인의 섭취수준이 나이가 다른 흰쥐의 칼슘, 인, 나트륨 및 칼륨 대사에 미치는 영향. *한국영양식량학회지* 23 : 13-22, 1994
- 30) Barger-Lux MJ, Heaney RP, Stegman MR. Effects of moderate caffeine intake on the calcium economy of premenopausal women. *Am J Clin Nutr* 52 : 722-725, 1990
- 31) Harris SS, Dawson-Hughes B. Caffeine and bone loss in healthy postmenopausal. *Am J Clin Nutr* 60 : 573-578, 1994
- 32) Cooper C, Atkinson EJ, Wahner HW, O'Fallon WM, Riggs BL, Judd HL, Melton LJ. Is caffeine consumption a risk factor for osteoporosis? *J Bone Miner Res* 7 : 465-471, 1992
- 33) Massey LK, Hollingberg PW. Acute effects of dietary caffeine and sucrose on urinary mineral excretion of healthy adolescent. *Nutr Res* 8 : 1005-1012, 1988
- 34) Bergman EA, Massey LK, Wise KJ, Sherrard DJ. Effect of dietary caffeine on renal handling of minerals in adult women. *Life Sci* 47 : 557-564, 1990
- 35) Hernandez-Avila M, Colditz GA, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer FE, Willett WC. Caffeine, moderate alcohol intake, and risk of fracture of the hip and forearm in middle-age women. *Am J Clin Nutr* 54 : 157-163, 1991
- 36) Storey E. Bone changes associated with cortisone administration in the rat. *Br J Exp Pathol* 41 : 207-213, 1960
- 37) Yeh JK, Aloia JF. Effect of coffee feeding on the duodenal transport and bile excretion of calcium in the rat. *Nutr Res* 8 : 1369-1377, 1988
- 38) Heaney RP, Recker RR. Effect of nitrogen, phosphorus and caffeine on calcium balance in women. *J Lab Clin Med* 99 : 46-55, 1982
- 39) Whiting SJ, Whitney HL. Effect of dietary caffeine and theophylline on urinary calcium excretion in the adult rat. *J Nutr* 117 : 1224-1228, 1987
- 40) Armbrecht HJ. Effect of age on calcium and phosphate absorption. *Miner Electrolyte Metab* 16 : 159-166, 1990
- 41) Bronner F, Richelle LJ, Saville PD, Nicholas JA, Cobb JR. Quantitation of calcium metabolism on postmenopausal osteoporosis and in scoliosis. *J Clin Invest* 42 : 898-905, 1963