

KCl 혼합죽염의 보돌연변이감소 및 항돌연변이효과

부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소

정근옥 · 이선미 · 이숙희 · 박건영

Reduced Comutagenic and Antimutagenic Effects of Bamboo Salt Prepared with KCl and NaCl

Keun-Ok Jung, Seon-Mi Lee, Sook-Hee Rhee and Kun-Young Park

Department of Food Science and Nutrition, and Kimchi Research Institute,
Pusan National University, Busan, Korea

To reduce the effect of salt on mutagenicity, the KCl mixed (chunil salt : KCl=3~7 : 7~3) bamboo salt (BS) was developed. Comutagenic/antimutagenic effects of KCl mixed BS were investigated in Ames test, SOS chromotest and micronucleus test. All the salts studied showed comutagenic effects on the N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) in *Salmonella typhimurium* TA100. One time heat treated BS1× K7 (chunil salt : KCl=3 : 7) exerted the lowest comutagenic activity among the salts. In SOS chromotest using *E. coli* PQ37, Guwoon salt (GS), 9 times heat treated BS and the KCl mixed BS samples blocked the SOS response induced by MNNG, while purified salt (PS) increased the SOS induction factor. One time heat treated BS1× K7 exhibited the highest antimutagenic activity among the KCl mixed BS. The induction of chromosome aberrations by mitomycin C was increased by pre-treatment with salt. However, GS and 9 times heat treated BS significantly decreased the frequency of micronucleated reticulocytes compared to the PS ($p < 0.05$). One time heat treated BS had more suppressive effects on chromosome aberration than KCl and the mixture of chunil salt and KCl (3 : 7). These result indicated that the KCl mixed BS1× K7 showed the lowest comutagenic effects among the salts and the ratio of K and Na was important factor to reduce comutagenicity or to increase antimutagenicity of salt in the mutagenicity test system.

Key Words: KCl, Bamboo salt, Comutagenicity, Antimatagenicity

서 론

소금은 생명 유지를 위해서 불가결의 물질로 체액 중에서 신경의 자극 전달, 근육의 탄성 유지, pH와 삼투압을 조절하는 중요한 역할을 하며,

염분이 결핍되면 소화액의 분비가 부족하게 되어 식욕감퇴가 일어나고, 전신 무력, 권태, 피로나 정신 불안 등이 일어난다. 뿐만 아니라 소금은 거의 모든 식품의 조리에 사용되어 저장성과 풍미를 높이고 식탁염으로 사용되어 가장 일상적으로 섭취

취되고 있는 중요한 조미료라 할 수 있다.¹⁾

그러나 과량의 소금섭취는 위암 발생의 원인으로 추측되고 있고, 우리나라의 경우 전통발효음식(된장, 간장, 고추장, 김치류, 젓갈류 등)으로부터의 소금 섭취량이 많으며 이로 인해 짜게 먹는 식습관에 잘 적응되어 있어 위암발생률이 높다고도 볼 수 있다.^{2~5)} 소금은 위암 발생의 개시와 촉진 단계에 관여하는 것으로 알려져 있는데 선행연구에서 소금의 보돌연변이성을 실험한 결과 *Salmonella typhimurium* TA100 균주와 발암 물질로는 MNNG에 대해 가장 강한 보돌연변이성이 확인되었다. 또한 소금의 처리 농도와 종류에 따라 보돌연변이 활성이 영향을 받는다고 보고된 바 있다.^{6~8)}

외국에서는 혼합염(KCl)을 이용한 소금이나 식품을 이용하고 있는데, 식염의 일부를 식품에 존재하면서 일반적으로 많은 양이 소비되고 있는 KCl로 혼합하여 식염 함량을 낮추는 연구가 있으며, 미국의 식품영양위원회 FNB에서는 Na : K의 비를 1 : 1.7로 추천하였다. Jansson^{9,10)}은 K⁺ : Na⁺의 비가 높은 식이는 암을 예방할 수 있으며, 체내 K⁺의 level이 높아지면 암의 발생빈도도 감소시킬 수 있다고 하였다. 이런 견해를 뒷받침하는 결과들이 역학조사^{11~13)}에서 보고되었는데 Australia에서의 population-based case-control study에서 K⁺ : Na⁺의 비가 높은 식이는 통계적으로 유의성 있게 대장암을 예방하는 것으로 나타났다. K가 여러 가지 messenger, transport 그리고 cell surface activity에 영향을 주어 세포의 증식과 성장에 영향을 준다는 보고가 있으며,¹⁴⁾ transformed cells에는 K가 감소되어 있고,¹⁵⁾ 대장암에 걸린 rat에서 K의 배설이 증가되었다던가,¹⁶⁾ premalignant cell과 cancer cell에서 세포 내 K⁺ : Na⁺의 비가 낮았다는 보고도 있다.^{17,18)} 이 결과는 식이 내 K⁺ : Na⁺의 비가 높으면 gastrointestinal cancer의 발생률이 낮다는 역학조사의 결과와도 일치한다.

따라서 본 연구에서는 전통 발효식품의 제조나 식탁염으로 이용할 때 가장 안전한 소금을 개발하기 위해 여러 가지 소금 중 보돌연변이 유발성이 가장 낮다고 보고된 바 있는 죽염과 KCl을 혼합한 KCl 혼합 죽염을 제조한 다음 Ames test와 SOS chromotest 및 마우스의 말초혈을 이용한 소핵실험으로 보/항돌연변이성을 측정하였다.

재료 및 방법

1) 소금 시료

(1) **소금 종류:** 시료로는 천일염((주)산내들), 정제염((주)한주), 구운소금((주)산내들), 죽염((주)고려식품) 및 KCl ((주)미화)을 사용하였다.

(2) **9회 구운 죽염:** 대나무 속에 천일염을 넣고 진흙으로 봉한 후 소나무 장작불로 구워서 1,000~1,300°C로 가열하여 태우기를 여덟 번 반복한 후, 마지막으로 송진가루를 장작 위에 뿌려 1,300~1,700°C로 가열하여 용융시킨 다음 식혀 생긴 결정을 마쇄하여 사용하였다.

(3) **1회 구운 KCl 혼합죽염:** 대나무 속에 KCl과 천일염의 혼합염(K7; 천일염 : KCl=3 : 7, K5; 천일염 : KCl=5 : 5, K3; 천일염 : KCl=7 : 3)을 넣고 진흙으로 봉한 후 소나무 장작불로 구워서 제조하였다.

(4) **2회 구운 KCl 혼합죽염:** 대나무 속에 1회 구운 KCl 혼합죽염 K7 (천일염 : KCl=3 : 7), K5 (천일염 : KCl=5 : 5), K3 (천일염 : KCl=7 : 3)를 넣고 진흙으로 봉한 후 소나무 장작불로 구워서 제조하였다.

2) Ames 돌연변이 유발 실험

(1) **실험균주 및 돌연변이 유발물질:** *Salmonella typhimurium* TA100은 *Salmonella typhimurium* LT-2의 histidine 요구성 균주로서 미국 California대학의 B. N. Ames박사로부터 제공받아 정기적으로 histidine 요구성, deep rough (*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하면서 실험에 사용하였다. 돌연변이 유발물질인 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)는 Aldrich Chemical Co. (USA)로부터 구입하여 증류수에 녹여 실험에 사용하였다.

(2) **시료의 독성실험 및 돌연변이 유발물질의 농도 결정:** 균주에 대한 시료의 독성유무를 살펴보기 위해서 실험에 사용하기 전에 독성실험을 행하여 독성이 나타나지 않는 범위 내에서 시료의 농도를 결정하였다. 먼저 멸균된 cap test tube에 top agar 2 ml를 분주한 후, 균주 100 μ l (1~2 $\times 10^9$ cells/ml)와 시료를 첨가하고 가볍게 vortex

한 후 nutrient agar plate에 분주, 고화시켜서 37°C에서 24시간 배양시킨 다음, 그 독성유무를 판정하였다.^{19,20)}

(3) **보돌연변이 유발 실험:** 보돌연변이 유발 실험은 preincubation mutagenicity test²¹⁾를 이용하여 미리 건열 멸균시킨 cap test tube에 0.2 M phosphate buffer (pH 7.4) 0.5 ml, 하룻밤 배양된 균주 0.1 ml ($1 \sim 2 \times 10^9$ cells/ml)와 돌연변이 유발물질 (50 μ l) 및 희석된 소금 시료(50 μ l)를 가하여 37°C에서 20분간 예비 배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar (45°C) 2 ml씩을 가하고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant 숫자를 계수하였다.

돌연변이 억제효과의 정도(inhibition rate)는 아래 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = 100 \times [(a-b)/(a-c)]$$

여기서 a는 돌연변이원에 의해 유도된 복귀돌연변이수, b는 시료를 처리하였을 때의 복귀돌연변이의 수이며, c는 돌연변이원과 시료가 없을 경우의 자연 복귀돌연변이의 수이다.

3) SOS chromotest

(1) **돌연변이 유발물질:** Direct mutagen인 N-methyl-N'-nitro-N-nitroso guanidine (MNNG)는 Aldrich Chemical Co. (USA)에서 구입하여 증류수에 녹여 실험에 사용하였다.

(2) **항돌연변이 효과 실험:** Quillardet의 방법을 변형시킨 백과 함²²⁾의 방법을 사용하였다. 냉동 보관된 균주 50 μ l를 5 ml의 L medium에 접종하고 37°C에서 흡광도가 0.3~0.4에 이를 때까지 2시간 동안 진탕 배양시킨 후, 여기서 얻은 균주를 L medium에 1/10로 희석하였다. 각 농도별로 준비된 시료와 돌연변이 유발물질이 혼합된 것 20 μ l를 미리 분주해 둔 96 well plate의 각 well에 위의 희석된 균주 100 μ l씩 분주하고 90분간 37°C에서 진탕 후 SOS 반응을 유도한 후 한쪽에는 β -galactosidase의 활성 측정을 위해 ONPG (o-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside) 100 μ l, 다른 쪽에는 alkaline phosphatase의 활성측정을 위해 PNPP (p-

nitrophenyl phosphate disodium) 100 μ l를 첨가하였다. 발색시간은 10분으로 하였으며 β -galactosidase는 1.5 M Na₂CO₃ 100 μ l, alkaline phosphatase는 1 M HCl 50 μ l로 효소에 의한 발색반응을 정지시키고 5분 후, alkaline phosphatase쪽에 50 μ l의 2 M Tris buffer를 첨가하여 HCl을 중화한 다음 spectrophotometer로 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 O.D. 420 nm값은 Miller²³⁾의 공식에 의해 enzyme unit (Eu)값을 구하였다.

$$\text{Eu} = \frac{(1000 \times \Delta \text{abs})}{t(\text{min.})}$$

4) 말초혈의 망상적혈구를 이용한 in vivo 소핵 실험

(1) **실험동물:** 본 실험에 사용한 동물은 6~7주령의 웅성 ICR계 마우스(한국화학연구소, 대전)로, 체중이 35 g 전후의 것을 사용하였으며, 사료는 표준사료((주)삼양사)로 사육하였다. 사육 시 물과 사료는 충분한 양을 공급하였고, 동물실험실은 온도 22 \pm 1°C, 습도 55 \pm 5%를 유지하였으며, 12시간 간격으로 light-dark cycle을 조절하였다.

(2) **시료의 조제 및 투여:** 양성대조군인 mitomycin C (MMC, 0.1 mg/ml)는 미국 Sigma 회사에서 구입하여 생리식염수에 용해시켜 0.1 ml/10 g body weight가 되도록 복강주사하였다. 시료는 멸균된 증류수를 사용하여 조제하였으며 MMC투여 6시간 전에 경구로 투여하였다.

(3) **Acridine orange-coated slide의 제작:** 70°C에서 미리 가열시킨 slide glass의 중앙에 증류수에 1 mg/ml의 농도로 녹인 acridine orange 용액 10 μ l를 떨어뜨린 후 유리막대로 균일하게 도말하여 건조시킨 후 밀봉하여 사용할 때까지 상온에서 보관하였다.

(4) **표본 제작 및 관찰:** MMC 투여 48시간 후에 마우스의 꼬리혈관으로부터 혈액 5 μ l를 취하여 acridine orange-coated slide에 떨어뜨린 후 cover glass로 덮은 다음, 2시간 동안 4°C에 방치하여 세포와 acridine orange가 충분히 반응하게 하였다.^{24,25)} Slide는 형광현미경(Olympus, model U-ULH, Japan)으로 40 \times 10배에서 관찰하였으며 망

상적혈구는 I형에서 III형까지 2,000개를 계수하고, 그 중 소핵을 지니는 망상적혈구를 계수하여 소핵유발빈도를 결정하였다.

5) 통계분석

실험 data로부터 ANOVA를 구한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계분석을 행하였다.

결 과

1) Ames 실험계에서 보돌연변이 유발 효과

Ames 실험계에서 KCl 대체 죽염의 항돌연변이 효과를 검토한 결과 모든 처리 군에서 MNNG에 대해 보돌연변이성이 관찰되었으나 구운소금과 KCl 대체 죽염은 다소 낮은 보돌연변이 효과를 보였다(Table 1). KCl은 가장 낮은 보돌연변이성을 보여 10 mg/plate의 농도에서도 1,020±44개의 복귀돌연변이수를 나타내었으나 정제염인 한주소금은 1.5 mg/plate의 농도에서도 1,407±17개의 복

보였다. KCl 대체죽염은 원료소금에 대체한 KCl의 양이 많을수록 보돌연변이 효과가 낮았는데 천일염과 KCl의 비를 3 : 7로 하여 1회 구운 죽염이 낮은 복귀돌연변이수를 나타내었다. 1회 구운 죽염과 2회 구운 죽염은 보돌연변이성에 큰 차이를 보이지 않았다.

2) SOS chromotest에서 보/항돌연변이 효과

SOS chromotest에서 보/항돌연변이 효과를 살펴 보기 위해 *E. coli*의 변이주인 PQ37을 이용하여 MNNG에 대한 보돌연변이 실험을 하였다(Table 2). 정제염인 한주소금은 100µg/well의 첨가농도에서 각각 2.56의 높은 SOS induction factor를 나타내어 가장 높은 보돌연변이성을 보였으며, 독성에 의해 alkaline phosphatase의 활성이 크게 낮아진 것을 관찰할 수 있었다. 구운소금과 죽염은 오히려 항돌연변이 효과를 나타내었는데 1회 구운 죽염이 2회 구운 죽염보다 돌연변이 유발억제효과가 높았으며, 천일염과 KCl의 비를 3 : 7로 하

Table 1. Effect of various kinds of salt on the mutagenicity induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG; 0.4µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Sample	Revertants/plate		
	1.5 mg/plate	5 mg/plate	10 mg/plate
Spontaneous	135±6	135±6	135±6
Control (MNNG)	541±21 ^e	541±21 ⁱ	541±21 ^f
Purified salt (NaCl)	1407±17 ^a	1859±41 ^a	1932±36 ^a
KCl	579±13 ^c	857±29 ^b	1020±44 ^c
Guwoon salt ¹⁾	958±12 ^c	1307±20 ^{de}	1652±28 ^b
Bamboo salt ²⁾ (BS)	845±31 ^d	1270±11 ^{ef}	1475±7 ^d
BS1× ³⁾ K7 (Chunil salt : KCl=3 : 7)	878±42 ^d	1150±36 ^g	1439±13 ^d
BS1× K5 (Chunil salt : KCl=5 : 5)	973±18 ^c	1272±25 ^{ef}	1495±14 ^d
BS1× K3 (Chunil salt : KCl=7 : 3)	1046±33 ^b	1376±5 ^c	1666±31 ^b
BS2× ⁴⁾ K7 (Chunil salt : KCl=3 : 7)	843±29 ^d	1242±8 ^f	1442±36 ^d
BS2× K5 (Chunil salt : KCl=5 : 5)	944±29 ^c	1354±25 ^{cd}	1553±35 ^c
BS2× K3 (Chunil salt : KCl=7 : 3)	975±7 ^c	1444±39 ^b	1667±39 ^b

1) Baked natural salt(from sea water) in ceramic vessel, 2) 9 times heat treated natural salt with bamboo stub and yellow clay, 3) 1× heat treated bamboo salt, 4) 2× heat treated bamboo salt

^{a-i} Means with the different letters in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test

귀돌연변이수를 나타내어 높은 보돌연변이성을

Table 2. SOS response of various kinds of salt (100µg/well) against N-methyl-N'-nitro-N- nitrosoguanidine (MNNG; 40 ng/assay) in *E. coli* PQ37

Sample concentration	β-Glucosidase (β)		Alkaline phosphatase (p)		(β)/(p)	SOS induction factor
	OD ₄₂₀	Unit	OD ₄₂₀	Unit		
Spontaneous Control	0.549±0.01	18.3	0.538±0.01	17.9	1.02	1.00
Purified salt (NaCl)	1.318±0.01	43.9	0.505±0.01	16.8	2.61	2.56
KCl	1.324±0.02	44.1	0.586±0.01	19.5	2.26	2.22
Guwoon salt ¹⁾	1.313±0.01	43.8	0.588±0.01	19.6	2.23	2.19
Bamboo salt ²⁾ (BS)	1.279±0.01	42.6	0.593±0.01	19.8	2.16	2.12
BS1× ³⁾ K7 (Chunil salt : KCl=3 : 7)	1.309±0.01	43.6	0.624±0.01	20.8	2.10	2.06
BS1× K5 (Chunil salt : KCl=5 : 5)	1.315±0.01	43.8	0.592±0.01	19.7	2.22	2.18
BS1× K3 (Chunil salt : KCl=7 : 3)	1.334±0.01	44.5	0.551±0.01	18.4	2.42	2.37
BS2× ⁴⁾ K7 (Chunil salt : KCl=3 : 7)	1.276±0.01	42.5	0.553±0.02	18.4	2.31	2.26
BS2× K5 (Chunil salt : KCl=5 : 5)	1.320±0.01	44.0	0.564±0.01	18.8	2.34	2.29
BS2× K3 (Chunil salt : KCl=7 : 3)	1.332±0.01	44.4	0.549±0.01	18.3	2.43	2.38

¹⁻⁴⁾ The explanation is the same as shown in Table 1.

여 1회 구운 죽염이 가장 높은 항돌연변이 효과를 나타내었다.

3) 소핵유발 촉진/억제 효과

In vitro 돌연변이유발 실험계에서 정제염인 한주소금보다 가공염인 구운소금과 죽염이 유리한 것으로 나타나²⁷⁾ 이를 *in vivo*에서 확인하기 위해 마우스의 말초혈을 이용한 micronucleus assay를 하였다. MMC 1 mg/kg을 복강투여하기 6시간 전에 한주소금, 구운소금, 죽염을 각각 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg, 3,000 mg/kg을 경구로 투여하여 소금이 소핵유발에 미치는 영향을 살펴본 결과(Fig. 1) 한주소금은 모든 농도에서 소핵유발을 크게(p < 0.05)촉진하였다. 반면 구운소금과 죽염은 1,000 mg/kg에서는 대조군과 비슷한 소핵유발 빈도를 보였고 2,000 mg/kg에서는 유의성 있는(p < 0.05) 소핵유발 억제효과를 보여 적당한 농도에서는 종류에 따라 달라질 수 있으나 소금이 유리하게 작용할 수 있음을 알 수 있었다. 3,000 mg/kg 농도에서도 구운소금과 죽염은 한주소금보다는 유의적(p < 0.05)으로 낮은 소핵유발빈도를 나타내어 돌연변이유발 억제 측면에서 정제염보다는 가공염

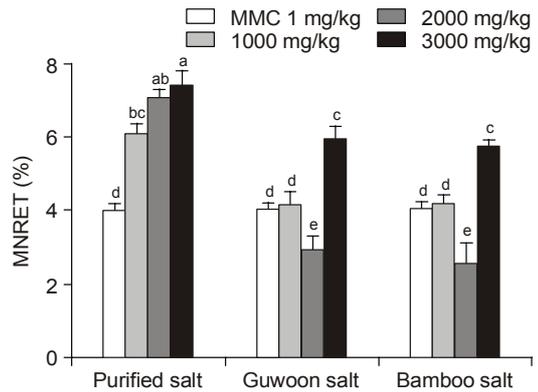


Fig. 1. Frequencies of micronucleated reticulocyte (MNRET) in the mice peripheral blood after administration of various salt followed by mitomycin C (MMC) treatment. Guwoon salt: Baked natural salt (from sea water) in ceramic vessel, Bamboo salt: 9 times heat treated natural salt with bamboo stub and yellow clay. ^{a-c} Means with the different letters are significantly different (p < 0.05) by Duncan's multiple range test.

이 식탁염 및 김치 절임염으로 유리할 것으로 생각된다.

KCl 혼합죽염이 돌연변이 유발에 미치는 효과

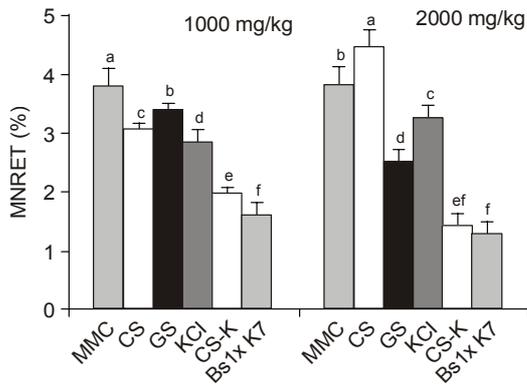


Fig. 2. Frequencies of micronucleated reticulocyte (MNRET) in the mice peripheral blood after administration of various salt followed by mitomycin C (MMC, 1 mg/kg) treatment. CS: Chunil salt, GS: Guwoon salt, CS-K: Chunil salt : KCl=3 : 7, BS1× K7: 1 time heat treated bamboo salt (Chunil salt : KCl=3 : 7)

를 *in vivo*에서 확인하기 위해 마우스의 말초혈을 이용한 micronucleus assay를 하였다(Fig. 2). MMC 1 mg/kg을 복강투여하기 6시간 전에 KCl, 천일염과 KCl의 혼합염(천일염 : KCl=3 : 7), 천일염, 구운소금, 1회 구운 KCl 혼합죽염(천일염 : KCl=3 : 7)을 각각 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg씩 경구로 투여하여 소핵유발빈도를 측정된 결과 천일염은 1,000 mg/kg 투여 군에서는 소핵유발 억제효과를 보였으나 2,000 mg/kg의 투여로 소핵유발이 크게($p < 0.05$)축진되었다. KCl 자체보다는 천일염과 KCl을 3 : 7로 혼합한 소금이 유의적($p < 0.05$)으로 낮은 소핵유발빈도를 나타내었고, 1회 구운 KCl 혼합죽염(천일염 : KCl=3 : 7)이 가장 높은 소핵유발 억제효과를 보였다.

고찰

소금은 거의 모든 식품의 조리에서 사용되어 저장성과 풍미에 영향을 주거나 식탁염으로 사용되어 가장 일상적으로 섭취되고 있는 조미료이다. 이러한 소금은 생리적으로 산과 알칼리의 균형을 이루며 신경과 근육의 흥분성을 유지시키는 중요한 무기질 중 하나이다. 그러나 짠 음식 및 염장된 식품의 다량 섭취가 위암 및 뇌졸중 발생의 원

인이 된다고 알려져 있을 뿐 아니라 소금은 암 발생을 돕는 역할을 한다는 보고도 있어왔다¹⁻⁵. 본 실험실에서 행해진 연구에서 이미 소금의 보돌연변이성을 Ames test를 이용하여 실험보고 한 바 있고 특히 *Salmonella typhimurium* TA100 균주와 발암물질로는 MNNG에 대해 가장 강한 보돌연변이성을 갖는다고 확인되었으며 소금의 처리 농도와 종류에 따라 보돌연변이 활성이 영향을 받는다고 보고된 바 있다.^{7,8)}

한편 Jansson^{9,10)}은 $K^+ : Na^+$ 의 비가 높은 식이는 암을 예방할 수 있으며, 체내 K^+ 의 level이 높아지면 암의 발생빈도도 감소시킬 수 있다고 하였다. Jacobs²⁶⁾는 DMH (1,2-dimethylhydrazine)에 의해 흰쥐 소장의 종양을 유도시킨 실험에서 40% KCl을 함께 처리했을 때 유의적($p < 0.05$)으로 종양의 형성을 감소시켰으며 K 보충급수의 농도는 혈액검사에서 전혀 독성을 나타내지 않았다고 하였다.

이에 본 연구에서는 보돌연변이 유발성이 가장 낮았던 죽염의 제조 시 천일염과 KCl을 혼합한 죽염을 제조하여 이 소금이 돌연변이 유발실험계에서 돌연변이 유발에 미치는 영향을 검토하였다. 먼저 Ames 실험계에서 KCl 혼합죽염이 돌연변이 유발에 미치는 영향을 검토한 결과 죽염 제조시에 혼합되는 KCl의 양이 많은 죽염이 보돌연변이성이 낮아 천일염과 KCl을 3 : 7로 섞어 1회 또는 2회 구운 죽염이 가장 적은 복귀돌연변이수를 나타내었다. 특히 이들 죽염은 9회 구운 죽염과 비슷한 보돌연변이성을 나타내었다. 하와 박⁸⁾은 소금의 종류와 농도에 따라 돌연변이 유발성이 다를 수 있다고 하였는데 Ames 실험계에서 소금의 종류를 달리하여 보돌연변이 효과를 비교한 결과 낮은 농도인 3%에서는 보돌연변이 효과가 낮았으나 고농도인 15%와 25%에서는 보돌연변이 효과가 높았다고 하였다. 또한 순수한 NaCl이 가장 돌연변이 유발성이 높았고 가공염인 구운소금과 9회 구운 죽염의 보돌연변이 효과가 가장 낮았다고 하였다.

따라서 가공염이 정제염이나 천일염보다 보돌연변이 유발성이 낮으며, 보돌연변이 유발성이 가장 낮은 가공염인 죽염의 제조 시 KCl을 혼합할 경우 보돌연변이 유발성이 더 감소되는 것으로

보인다.

SOS chromotest에서 가공염인 구운소금과 9회 구운 죽염은 항돌연변이 효과를 나타내었으며, 천일염과 KCl을 3 : 7로 혼합하여 1회 구운 죽염은 이들 소금보다 높은 항돌연변이 효과를 보였다. 하와 박⁸⁾은 SOS 실험계에서 소금의 보돌연변이 효과가 전반적으로 낮았는데 NaCl 보다는 천일염, 생소금이, 또 천일염보다는 가공한 구운소금, 생금이 보돌연변이 유발효과가 낮았으며, 9회 구운 죽염은 항돌연변이 효과를 나타내었다고 하였다.

In vitro 돌연변이 실험계에서 소금의 보/항돌연변이성을 검토하기 위해 마우스의 말초혈을 이용한 소핵실험을 하였다. 정제염인 한주소금은 모든 농도에서 소핵유발 빈도를 크게 증가시켜 보돌연변이성을 보였다. 반면 구운소금과 9회 구운 죽염은 3,000 mg/kg의 농도에서는 소핵유발빈도를 증가시켰으나 2,000 mg/kg의 농도에서는 소핵유발빈도를 감소시켜 항돌연변이 효과를 보였다. 따라서 *in vivo* 돌연변이 유발실험계에서도 가공염인 구운소금과 죽염이 정제염보다 돌연변이유발 촉진효과가 낮았으며 소금의 저리 농도에 따라 항돌연변이 효과를 나타낼 수도 있는 것으로 보인다.

In vitro 돌연변이 유발실험계에서 가장 보돌연변이 효과가 낮았던 1회 구운 KCl 혼합죽염(천일염 : KCl=3 : 7)과 이 죽염의 제조에 사용되는 원료인 KCl과 천일염 그리고 천일염과 KCl의 혼합염(천일염 : KCl=3 : 7)을 구운소금과 비교하여 소핵실험을 하였다. KCl이나 천일염보다는 천일염과 KCl의 혼합염(천일염 : KCl=3 : 7)이 소핵유발 억제효과가 높았으며 이것을 구운 1회 구운 KCl 혼합죽염(천일염 : KCl=3 : 7)이 가장 낮은 소핵유발빈도를 나타내었다. 따라서 1회 구운 KCl 혼합죽염의 낮은 돌연변이 유발성은 Na와 K의 적절한 비율과 죽염의 제조 시 사용하는 대나무와 진흙의 성분 때문인 것으로 보인다.

결 론

이 연구에서는 KCl 혼합죽염을 제조하여 Ames test와 SOS chromotest 및 마우스의 말초혈을 이용

한 소핵실험에서 보돌연변이 감소 및 항돌연변이 효과를 검토하였다. Ames 실험계에서 KCl 혼합죽염의 항돌연변이 효과를 검토한 결과 모든 처리군에서 MNNG에 대해 보돌연변이성이 관찰되었으나 구운소금과 KCl 혼합죽염은 다소 낮은 보돌연변이 효과를 보였다. SOS chromotest에서 정제염은 가장 높은 보돌연변이성을 보였으며, 천일염과 KCl의 비를 3 : 7로 하여 1회 구운 죽염이 가장 높은 항돌연변이 효과를 나타내었다. 소핵실험에서 정제염은 모든 농도에서 소핵유발을 크게 촉진하였으나 구운소금과 죽염은 2,000 mg/kg의 농도에서 유의성($p < 0.05$) 있는 소핵유발 억제효과를 보였다. 또한 KCl 자체보다는 천일염과 KCl을 3 : 7로 혼합한 소금이 유의적으로($p < 0.05$) 낮은 소핵유발 빈도를 나타내었고, 1회 구운 KCl 혼합죽염(천일염 : KCl=3 : 7)이 가장 높은 소핵유발 억제효과를 보였다. 따라서 죽염 제조 시 원료 소금으로 천일염과 KCl을 3 : 7로 혼합하여 1회 구운 죽염은 경우 소금의 보돌연변이성을 감소시키고 항돌연변이성을 증가시키는 것으로 보이며, 이에 대한 *in vivo* 실험 등의 연구와 그 작용 기작에 대한 연구가 계속되어야 하리라고 본다.

감사의 글

이 연구는 농림부에서 시행한 농림수산 특장 연구사업의 연구결과에 의한 것으로 연구지원에 감사드립니다.

참고 문헌

- 1) 박건영. 김치의 영양학적 평가와 항돌연변이 및 항암효과. 한국영양식량학회지 1995; 24: 169-182.
- 2) 박찬경, 최 면, 주진순. 위암 환자 가족과 정상인 가족간의 Na 섭취 패턴 비교. 한국영양식량학회지 1992; 21: 648-654.
- 3) Joossens JV, Kesteloot H. Salt and stomach cancer. In: eds, by Reed PI and Hill MJ *Gastric carcinogenesis*, p.105, Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1988.
- 4) Tatematsu M, Takahashi M, Fukushima S, Hananouchi M, Shirai T. Effects in rats of sodium chloride on experimental gastric cancers induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine or 4-nitroquinoline-1-oxide.

- J Natl Cancer Inst* 1975; 55: 101-106.
- 5) Shirai T, Imaida K, Fukushima S, Hasegawa R, Tate-matsu M, Ito N. Effects of NaCl, Tween 60 and a low dose of N-ethyl-N'-nitrosoguanidine on gastric carcinogenesis of rat given a single dose of N-methyl-N'-nitrosoguanidine. *Carcinogenesis* 1982; 3: 1419-1422.
 - 6) Takahashi M, Kokubo T, Furukawa F, Kurokawa Y, Tatematsu M, Hayashi Y. Effects of high salt diet on rat gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Gann* 1983; 74: 28-34.
 - 7) Kim SH, Park KY, Suh MJ. Comutagenic effect of sodium chloride in the *Salmonella* /mammalian Microsome Assay, *Foods Biotech* 1995; 4: 264-267.
 - 8) 하정옥, 박건영. 소금의 종류에 따른 과산화 효과와 보돌연변이성 비교. *대한암예방학회지* 1999; 4: 44-51.
 - 9) Jansson B. Seneca country, New York. An area with low cancer mortality rates. *Cancer* 1981; 48: 2542-2546.
 - 10) Jansson B. Geographic cancer risk and intracellular potassium/sodium ratios. *Cancer Detect Prev* 1986; 9: 171-194.
 - 11) Kune GA, Kune S, Watson LF. Dietary sodium and potassium in take and colorectal cancer risk. *Nutr Cancer* 1989; 12: 351-359.
 - 12) Tuyns AJ. Salt and gastrointestinal cancer. *Nutr Cancer* 1988; 11: 229-232.
 - 13) Graham S, Dayal H, Swanson M, Mittelman A, Wilk-son G. Diet in the epidemiology of cancer of the colon and rectum. *J Natl Cancer Inst* 1978; 61: 709-714.
 - 14) Newmark P. Events at the cell surface. *Nature* 1985; 317: 380-383.
 - 15) Cameron IL, Smith KR, Pool TB, Sparks RL. Intra-cellular concentration of sodium and other elements as related to mitogenesis and oncogenesis *in vivo*. *Cancer Res* 1980; 40: 1493-1500.
 - 16) Tutton PJM, Karkla DH. The influence of dibutylryl adenosine cyclic monophosphate on cell proliferation in the epithium of the jejunal crypts, the colonic crypts and colonic carcinoma of rat. *Clin Exp Phar-macol Physiol* 1980; 7: 275-283.
 - 17) Newmark HD, Wargovich MJ, Bruce WF, Boybon AL, Kleine LP. Ions and neoplastic development. In: *Large Bowel Cancer*, pp.102-130, New York, Praeger, 1985.
 - 18) Zs-Nagy I, Lustyik G, Lukacs G, Zs-Nagy V. Balazs G. Corrlation of malignancy with the intracellular Na^+/K^+ ratio in human thyroid tumors. *Cancer Res* 1983; 43: 5395-5402.
 - 19) Maron DM, Ames BN. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 1983; 113: 173-215.
 - 20) Ames BN, McCann J, Yamasaki E. Methods for de-tecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat Res* 1975; 31: 347-364.
 - 21) Matsushima T, Sugimura T, Nagao M, Yahagi T, Shirai A, Sawamura M. Factors modulating mutage-nicity in microbial test, In: Norphth KH, Gamer RC, eds. *Short terms for detecting carcinogens*. Berling, Springer, 1980; pp 273-285.
 - 22) 백창원, 함승시. SOS chromotest에 의한 사과 효소 갈변반응 생성물의 항돌연변이 효과. *한국식품과학회 지* 1990; 22: 618-624.
 - 23) Miller J. *Experiments in molecular genetics*. Cold spring harbor laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1972.
 - 24) Hayashi M, Tice RR, MacGregor JT, Anderson D, Blakey DH, Kirsh-Volder M, Oleson Jr FB, Pacchierotti F, Romagna F, Shimada H, Sutou S, Vannier B. *In vivo* rodent erythrocyte micronucleus assay. *Mutat Res* 1994; 312: 293-304.
 - 25) Hayashi M, Morita T, Kodama Y, Sofuni T, Ishidate Jr M. The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutat Res* 1990; 245: 245-249.
 - 26) Jacobs MM. Potassium inhibition of DMH-induced small intestinal tumors in rats. *Nutr Cancer* 1990; 14: 95-101.