

## 소금이 마우스에서 고형암의 성장과 면역활성 및 지질과산화에 미치는 영향

부산대학교 식품영양학과, <sup>1</sup>국립한경대학교 식품공학과

정근옥 · 이강윤<sup>1</sup> · 이성갑<sup>1</sup> · 박건영

### Effects of Various Kinds of Salt on the Tumor Formation, NK Cell Activity and Lipid Peroxidation in Sarcoma-180 Cell Transplanted Mice

Keun-Ok Jung, Kang-Youn Lee<sup>1</sup>, Seong-Kap Rhee<sup>1</sup> and Kun-Young Park

*Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea*

<sup>1</sup>*Department of Food Science and Technology, Hankyong National University, Anseong, Kyongki 456-749, Korea*

There are several types of salts, which are classified into raw salt (Chunil salt, CS), purified salt (PS) and processed salts (Gueun salt, Bamboo salt) in Korea. Gueun salt (GS) is made by baking CS in the ceramic vessel at 800°C. Bamboo salt (BS) is produced by baking CS, bamboo and mud in an oven at 1,300°C. In this study, effects of these salts on tumor formation, NK (natural killer) cell activity and lipid peroxidation in kidney and heart were investigated in the sarcoma-180 cell transplanted mice. Sarcoma-180 cells were transplanted subcutaneously into the left groin of Balb/c mice. Then, various kinds of salt, including 1 time heat treated KCl mixed BS-A (CS:KCl=3:7) and B (CS:KCl=5:5), supplemented diet at concentrations of 10% were fed for 21 days from 24 hours following transplantation. The body weight decreased when 10% salt added diet was fed to the sarcoma-180 cell treated Balb/c mice. The body weights of CS, PS and GS treated groups were lower than their initial weights (19~20 g). Spleen and liver index were lower in the mice administered PS and GS than sarcoma-180 cell treated control group. KCl mixed BS-A reduced the tumor formation by 46% (36% inhibition/body weight) compared with the control group, resulting in the smallest tumor weight. The NK cell activity of splenocytes from the mice fed with PS and GS decreased compared to the controls while the effects of the KCl mixed BS-A and B on the NK cell activity in sarcoma-180 cell treated mice were higher than that of the control group. KCl mixed BS-A and B reduced the content of malondialdehyde (MDA) in the kidney and heart that increased by the injection of sarcoma-180 cells. The feeding of PS in the diet increased the levels of MDA in the kidney and heart of sarcoma-180 treated mice compared to the control group. These results exhibited that KCl mixed BS could suppress

책임저자 : 박건영, ☎ 609-735, 부산시 금정구 장전동 30, 부산대학교 식품영양학과

Tel: 051-510-2839, Fax: 051-514-3138, E-mail: kunypark@pusan.ac.kr

접수일 : 2002년 4월 10일, 게재승인일 : 2002년 5월 14일

the growth of tumors, increase NK cell activity and inhibit lipid peroxide production in the mice.

**Key Words:** Salt (NaCl), Tumor, NK cell, Lipid peroxidation

## 서 론

소금은 생명유지를 위해서 필수적인 물질로 체액 중에서 신경 자극의 전달, 근육의 탄성 유지, pH와 삼투압을 조절하는 중요한 역할을 한다. 이러한 소금이 결핍되면 소화액의 분비가 부족하게 되어 식욕감퇴가 일어나고, 진신무력, 권태, 피로나 정신 불안 등이 일어나게 된다. 뿐만 아니라 소금은 거의 모든 식품의 조리에 사용되어 저장성과 풍미를 높이고 식탁염으로 사용되어 가장 일상적으로 섭취되고 있는 중요한 조미료라 할 수 있다.<sup>1)</sup>

소금의 종류는 다양한데 KS규격에 따라 크게 천일염과 정제염으로 나누어지고 정제염은 기계염과 가공염으로 분류되고 있다.<sup>2)</sup> 천일염은 서해안의 해수를 모아 태양열과 바람에 의해 수분을 증발시킨 것으로, 최근에는 천일염에 함유된 풍부한 무기질은 보존하면서 해수 오염과 쓴맛이 있는 간수를 제거한 생소금, 알칼리소금 등도 시판되고 있다. 이 보다 매우 정제된 기계염은 이온교환막을 이용하여 바닷물에서 NaCl만을 추출한 것으로 기계적인 대량생산을 한다. 가공염은 가열공정을 거쳐 가공하는 방법이 공통적인데, 천일염을 세라믹 반응로에서 800°C 이상 고온으로 2번 구워 불순물과 간수, 유해성분을 제거한 구운 소금과 1,300°C 이상 고온으로 3번 구운 생금, 죽염 등이 있다. 죽염의 제조 원료는 천일염, 대나무, 소나무, 진흙으로 우선 대나무 속에 천일염을 넣고 진흙으로 봉한 후 소나무 장작불로 구워서 제조한다. 죽염은 천일염을 대나무 속에 넣어 1,000~1,300°C로 가열하여 태우기를 여덟 번 반복한 후, 마지막으로 송진가루를 장작 위에 뿌려 1,300~1,700°C로 가열하여 용융되어 식으면 죽염의 결정이 된다. 죽염의 주성분도 식염과 마찬가지로 Na와 Cl이지만 제조과정에서 대나무 성분 등 많은

다른 성분을 포함하게 되어, 어두운 회색을 띠고 유황냄새가 나는 것이 특징이다.<sup>3,4)</sup> 민간에서 죽염은 암을 치료한다고 주장되고 있으며, 중국의 이<sup>5)</sup>는 죽염이 랫드의 미란성위염에 대해 예방 및 개선효과가 있다고 발표한 바 있다.

외국에서는 대체염(KCl)을 이용한 소금이나 식품이 시판되고 있는데, 미국의 식품영양위원회 FNB에서는 Na:K의 섭취비를 1:1.7로 추천하였다. K<sup>+</sup>:Na<sup>+</sup>의 섭취비율은 오늘날이 구석기시대보다 16배나 낮으며, 이러한 감소는 오늘날의 암발생빈도의 증가와도 관련이 있다고 추정되고 있다.<sup>6)</sup> 여러 역학조사에서 K<sup>+</sup>:Na<sup>+</sup>의 비가 높은 식이는 암을 예방할 수 있으며, 체내 K<sup>+</sup>의 level이 높아지면 암의 발생빈도도 감소시킬 수 있다고 하였다.<sup>7-11)</sup> K가 여러 가지 messenger, transport 그리고 cell surface activity에 영향을 주어 세포의 증식과 성장에 영향을 준다는 보고가 있으며,<sup>12)</sup> transformed cells에는 K가 감소되어 있고,<sup>13)</sup> 대장암에 걸린 rat에서 K의 배설이 증가되었다하며,<sup>14)</sup> pre-malignant cell과 cancer cell에서 세포내 K<sup>+</sup>:Na<sup>+</sup>의 비가 낮았다는 보고도 있다.<sup>15,16)</sup>

이에 선행연구에서 천일염과 KCl을 혼합한 죽염을 제조하여 *in vitro* 및 *in vivo* 돌연변이 유발 실험계에서 돌연변이유발성을 검토한 결과 천일염과 KCl을 3:7로 혼합하여 1회 구운 죽염의 경우 소금의 보돌연변이성을 감소시키고 항돌연변이성을 증가시키는 것으로 나타났다.<sup>17)</sup> 본 연구에서는 *in vivo* 항암실험계에서 죽염의 원료로 천일염과 KCl을 혼합한 KCl 혼합죽염의 작용을 검토하기 위해 sarcoma-180 종양세포를 투여한 Balb/c마우스의 식이에 천일염, 한주소금, 구운소금, 9회 구운 죽염, 1회 구운 KCl 혼합죽염 A (NaCl:KCl=3:7)와 B (NaCl:KCl=5:5)를 각각 10% 첨가하여 21일간 먹인 후 치사하여 고형암성장지연효과, 비장면역기능의 변화, 신장과 심장에서의 지질과산화

의 변화를 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 1) 실험동물

본 실험에 사용한 동물은 웅성 Balb/c mouse (한국생명공학센터, 대구)로 체중이 19~20 g에 속하는 것을 사용하였으며, 사료는 표준사료로 사육하였다. 사육 시 물과 사료는 충분한 양을 공급하였고, 동물실험실은 온도 22±1°C, 습도 55±5%, 12 시간 간격의 light-dark cycle을 유지하였다.

### 2) 종양세포

마우스의 복강내에 1주일 간격으로 계대배양하여 보존하고 있는 sarcoma-180 세포를 실험용 종양세포로 사용하였다. 즉 실험동물의 복강 내에서 1주일간 배양된 sarcoma-180 세포를 복수와 함께 취하고, phosphate buffered saline (PBS)와 함께 원심분리(1,200 rpm, 10 min.)하여 종양세포를 분리하였다. 분리된 세포를 다시 PBS에 부유시켜 재차 원심분리하여 상등액을 제거한 후 sarcoma-180 세포, 1.0×10<sup>6</sup> cells/ml가 되도록 종양세포 부유액을 만들어 1 ml 씩을 복강 주사하여 이식 보존하면서 실험에 사용하였다.

### 3) 시료의 조제

표준사료를 대조군으로 하여, 각각의 소금을 표준사료 중량의 10% 첨가한 식이를 제조하여 분말로 공급하였다. 소금 시료로는 천일염((주)산내들), 정제염((주)한주), 구운소금((주)산내들), 죽염((주)고려식품)을 사용하였다. 9회 구운 죽염과 1회 구운 KCl 혼합죽염은 전보<sup>17)</sup>와 같은 방법으로 제조하였다.

### 4) 고형암 성장 저지 실험

실험동물을 각 군당 9마리씩으로 하여 실험실에서 1주일 간격으로 계대 보관중인 종양세포 부유액 0.2 ml (6×10<sup>6</sup> cells/mouse)씩을 실험동물의 왼쪽 서혜부(left groin)에 피하 이식한 후 21일간 매일 소금첨가식이를 공급하였다. 종양세포 이식 22일째 되는 날 치사시켜 생성된 고형암을 적출하고 그 무게를 측정할 후 체중의 증감을 고려하

여 다음 식에 따라 종양 성장 저지 백분율(tumor growth inhibition ratio, I.R.; %)을 계산하였다.<sup>18)</sup>

$$I.R. (\%) = \frac{C - T}{C} \times 100$$

C: 대조군의 평균 종양무게/대조군의 평균체중

T: 처리군의 평균 종양무게/처리군의 평균체중

### 5) 비장 및 각 장기의 중량변화

종양세포이식 22일째 되는 날 마우스를 경추탈골법에 의하여 치사시키고 체중을 측정할 후 비장을 적출하여 무게를 측정하였고, 체중에 대한 비장 및 각 장기의 비율을 계산하였다.<sup>18)</sup>

### 6) 마우스 비장의 *in vivo* natural killer (NK) 세포 활성 측정

(1) 마우스 비장 림프구의 분리: Balb/c 마우스의 비장을 clean bench 내에서 무균적으로 적출하여 penicillin (100 U/ml), streptomycin (100µg/ml)를 함유한 5 ml의 RPMI 1640 배지로 3회 세척한 후 곱게 마쇄하였다. 이 세포부유액을 70µm nylon mesh로 여과하고 원심분리하여 림프구를 모은 다음 배지에 부유시킨 후 histopaque-1077을 이용하여 원심분리(500×g, 30 min, 18°C)하여 림프구를 분리하였다.

(2) Effector cell의 준비: 위의 방법으로 준비된 세포를 10% FCS, 2 mM L-glutamine, penicillin (100 U/ml), streptomycin (100µg/ml)를 함유한 RPMI 1640 배지에 재현탁시키고, 이것을 37°C, CO<sub>2</sub> incubator에서 1~2시간 배양시켜서 세포가 배양 플라스크(60 mm dish)에 부착되도록 하였다. 비부착성 NK cell을 원심분리를 통해서 수집하여 배양배지에 재현탁시킨 다음 적정 세포수를 계수하여 사용하였다.

(3) NK cell의 활성 측정: NK cell의 활성 측정은 MTT 방법을 이용하였다.<sup>19,20)</sup> Yac-1 mouse lymphoma cell을 target cell로 사용하였는데, Yac-1 세포는 10% FCS, 2 mM L-glutamin, penicillin (100 U/ml), streptomycin (100µg/ml)를 함유한 RPMI 1640 배지에 5×10<sup>4</sup> cells/ml의 밀도가 되도록 희석한 후, 각 well에 50µl씩 첨가하였다. NK cell은 1×

10<sup>7</sup> cells/ml의 밀도로 현탁시켜 50μl씩을 96well plate-bottomed microtire plate에 첨가하였다. 이것을 37°C, CO<sub>2</sub> incubator 안에서 3일간 배양시킨 후 MTT(5 mg/ml)용액을 10μl씩 각 well에 가한 다음 37°C에서 4시간 배양하였다. 여기에 SDS (10% in 0.02N HCl)을 25μl 첨가하여 실온에서 30분간 발색시킨 후에 540 nm에서 OD를 측정하였다. Cell cytotoxicity percentage는 아래 공식에 의해서 계산하였다.

$$\text{Cell cytotoxicity (\%)} = \frac{\text{OD of non-lysed target cells} - \text{OD of effector cell}}{\text{OD of target cell alone}} \times 100$$

**7) TBARS 측정**

신장과 심장의 조직 1 g당 potassium phosphate buffer (pH 7.4) 10 ml을 가하여 빙냉하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. TBARS solution (0.4% Thiobarbituric acid, 15% trichloroacetic acid, 2.5% HCl 함유액) 2 ml에 조직 균질액 1 ml을 가하여 95~100°C water bath에서 20분간 반응시킨 후, 뜨거운 시료를 vortex해서 기포를 제거하고 찬 물에서 식힌 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 상등액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료 중의 TBARS 농도는 malondialdehyde (MDA)

다.<sup>21)</sup>

**8) 통계분석**

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

**결 과**

**1) 식이섭취량 및 식이섭취효율**

Balb/c마우스의 서혜부에 sarcoma-180 종양세포를 투여한 다음 날부터 소금이 10% 첨가된 식이를 21일간 섭취시키면서 식이섭취량을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 하루평균 식이섭취량을 비교했을 때 정제소금군과 구운소금군이 가장 식이섭취량이 낮았으며, 1회 구운 KCl 혼합죽염 A (NaCl:KCl=3:7)와 B (NaCl:KCl=5:5)군이 유의적으로 식이섭취량이 많았다(p<0.05). 소금첨가 식이군은 정상군과 sarcoma-180 종양세포를 투여한 대조군보다 체중증가량이 낮았으며 1회구운 KCl 혼합죽염 A와 B를 제외한 다른 소금섭취군은 모두 체중이 감소하여 식이섭취효율(FER)이 음의 값을 나타내었다.

**2) 각 장기의 중량변화**

소금을 첨가한 식이를 섭취한 군은 정상군이나 sarcoma-180세포만 투여한 대조군에 비해서 체중

**Table 1.** Effect of various kinds of salts added diet on food intake, weight gain and food efficiency ratio (FER) of Balb/c mouse after 21 days

Group	Food intake (g/day)	Weight gain (g)	FER
Control (Normal)	22.6±2.0 <sup>bc</sup>	4.1±1.8 <sup>a</sup>	0.18±0.02 <sup>a</sup>
Sarcoma-180	22.6±0.6 <sup>bc</sup>	4.8±0.8 <sup>a</sup>	0.21±0.01 <sup>a</sup>
Sarcoma-180+Chunil salt	21.6±1.9 <sup>c</sup>	-2.1±4.2 <sup>c</sup>	-0.10±0.02 <sup>c</sup>
+Purified salt	17.4±1.9 <sup>d</sup>	-3.6±4.1 <sup>d</sup>	-0.20±0.02 <sup>d</sup>
+Gueun salt	19.2±0.5 <sup>cd</sup>	-4.8±3.3 <sup>d</sup>	-0.25±0.01 <sup>c</sup>
+BS9 <sup>1)</sup> (Chunil salt)	21.2±3.2 <sup>c</sup>	-2.4±1.0 <sup>c</sup>	-0.23±0.03 <sup>de</sup>
+BS1 <sup>2)</sup> -A (NaCl:KCl=3:7)	29.7±1.3 <sup>a</sup>	2.0±1.2 <sup>b</sup>	0.07±0.01 <sup>b</sup>
+BS1-B (NaCl:KCl=5:5)	25.5±2.5 <sup>b</sup>	1.5±2.1 <sup>b</sup>	0.06±0.02 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> 9×heat treated bamboo salt <sup>2)</sup> 1×heat treated bamboo salt. <sup>a-c</sup> Means with the different letters are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

표준곡선으로부터 MDA의 nmole로서 나타내었

이 유의적으로 낮았는데(p<0.05) 1회 구운 KCl

혼합죽염 A (NaCl:KCl=3:7)와 B (NaCl:KCl=5:5)군을 제외한 다른 군은 모두 처음 체중(19.0~20.0 g)보다도 낮았다(Table 2). 정제소금과 구운소금 첨가군은 비장자체의 무게가 정상군의 1/2도 되지 않았다. 간의 중량비에서도 소금섭취군은 정상군이나 sarcoma-180세포만 투여한 대조군보다 크게 낮았으며 특히 정제소금군, 천일염군, 구운소금군이 낮았다. 한편 심장이나 신장의 중량비는 큰 차이를 보이지 않았다.

### 3) 고형암 성장 저지 효과

소금첨가식이 섭취군은 모두 sarcoma-180세포만 투여한 대조군(3.9 g)보다 고형암의 무게가 유의

적으로 작았으며( $p < 0.05$ ) 정제소금군이 3.3 g으로 소금 섭취군 중에서 고형암의 무게가 가장 높았고, 9회 구운죽염군과 1회 구운 KCl 혼합죽염 A (NaCl:KCl=3:7)군이 2.1 g으로 고형암의 크기가 가장 작았다(Table 3). 또한 고형암의 무게를 체중에 대한 중량비로 환산하였을 때 9회 구운 죽염과 1회 구운 KCl 혼합죽염 섭취군이 대조군보다 유의적으로 낮은 값(25%, 36% 저해)을 보여 죽염의 섭취는 고형암의 형성억제효과가 있는 것으로 나타났다.

**Table 2.** Effects of various kinds of salt on the spleen, liver, heart and kidney weight of Balb/c mouse after 21 days

Sample	Body wt. (g)	Spleen/body wt. (%)	Liver/body wt. (%)	Heart/body wt. (%)	Kidney/body wt. (%)
Control (Normal)	23.6±0.9 <sup>c</sup>	0.4±0.1	6.7±0.2	0.4±0	1.3±0.1
Sarcoma-180	24.3±1.0 <sup>c</sup>	0.8±0.1	8.2±0.2	0.4±0	1.7±0.1
Sarcoma-180+Chunil salt	17.4±1.2 <sup>c</sup>	0.5±0.1	3.2±0.2	0.6±0	1.4±0.1
+Purified salt	15.9±0.5 <sup>ab</sup>	0.3±0.1	3.1±0.2	0.6±0	1.4±0.1
+Gueun salt	14.7±0.9 <sup>a</sup>	0.2±0.1	3.1±0.2	0.7±0	1.2±0.1
+BS9 <sup>1)</sup> (Chunil salt)	17.1±0.3 <sup>bc</sup>	0.6±0.1	4.7±0.3	0.6±0	1.3±0.1
+BS1 <sup>2)</sup> -A (NaCl:KCl=3:7)	21.5±0.2 <sup>d</sup>	0.5±0.1	5.8±0.2	0.5±0	1.6±0.1
+BS1-B (NaCl:KCl=5:5)	21.0±0.8 <sup>d</sup>	0.5±0.1	5.7±0.2	0.5±0	1.3±0.1

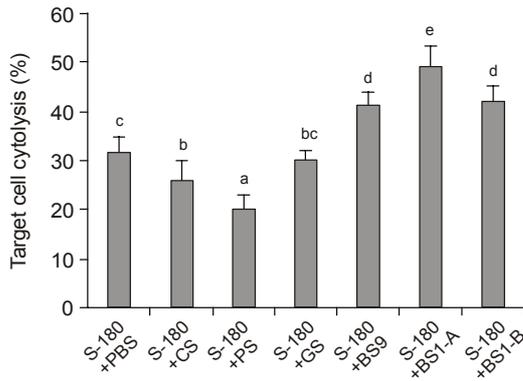
<sup>1)</sup> 9×heat treated bamboo salt <sup>2)</sup> 1×heat treated bamboo salt. <sup>a-c</sup> Means with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

**Table 3.** Effects of various kinds of salt in tumor bearing Balb/c mouse with sarcoma-180 cell after 21 days

Group	Tumor wt. (g)	Tumor weight/body weight
Sarcoma-180 (Control)	3.9±0.5 <sup>a</sup>	0.16±0.02 <sup>b</sup>
Sarcoma-180+Chunil salt	2.8±0.2 <sup>bc</sup> (28) <sup>1)</sup>	0.16±0.01 <sup>b</sup> (-) <sup>2)</sup>
+Purified salt	3.3±0.2 <sup>b</sup> (15)	0.20±0.01 <sup>a</sup> (-25)
+Gueun salt	2.7±0.2 <sup>c</sup> (31)	0.18±0.02 <sup>ab</sup> (-13)
+BS9 <sup>3)</sup> (Chunil salt)	2.1±0.3 <sup>d</sup> (46)	0.12±0.02 <sup>c</sup> (25)
+BS1 <sup>4)</sup> -A (NaCl:KCl=3:7)	2.1±0.3 <sup>d</sup> (46)	0.10±0.01 <sup>c</sup> (36)
+BS1-B (NaCl:KCl=5:5)	2.6±0.2 <sup>cd</sup> (33)	0.12±0.01 <sup>c</sup> (25)

<sup>1)</sup>Inhibition rate (%), <sup>2)</sup>Inhibition rate (%) =  $\frac{C-T}{C} \times 100$ . C: tumor weight of control/body weight of control,

T: tumor weight of salt fed group/body weight of salt fed group, <sup>3)</sup>9×heat treated bamboo salt, <sup>4)</sup>1×heat treated bamboo salt. <sup>a-c</sup> Means with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.



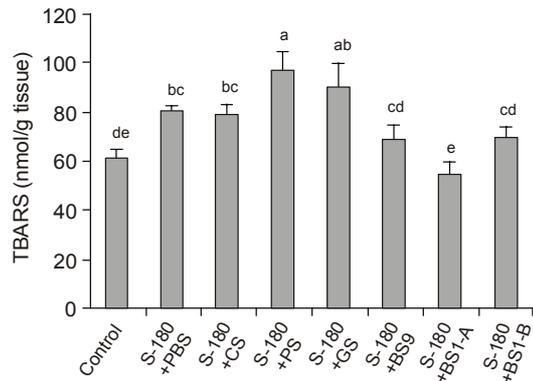
**Fig. 1.** The influence of various kinds of salt on the natural killer(NK) cell activity of mouse splenic lymphocytes after 21 days. (C; Chunil salt, P; Purified salt, G; Gueun salt, BS9; 9×heat treated bamboo salt, BS1-A; 1×heat treated bamboo salt (NaCl:KCl=3:7), BS1-B; 1×heat treated bamboo salt (NaCl:KCl=5:5), <sup>a~e</sup> Means with the different letters are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

**4) In vivo 면역활성 증강효과**

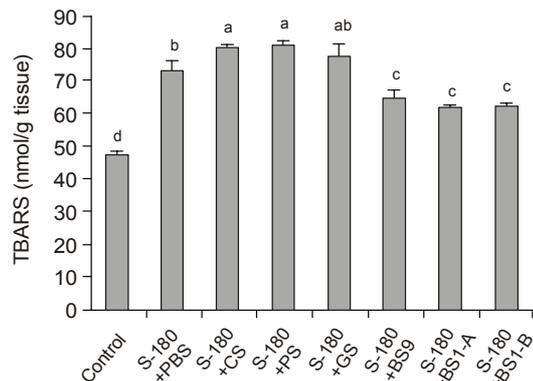
Sarcoma-180세포가 이식된 마우스의 비장에서 NK 세포(자연살해세포)를 분리하여 target cell인 Yac-1 세포에 대한 세포파괴활성을 비교하였다 (Fig. 1). 정제소금군과 구운소금군은 비장의 중량 비가 낮은 만큼 분리된 NK세포의 수가 다른 군의 1/3정도로 적었으며, Yac-1 세포에 대한 세포파괴 활성 역시 30% 이하로 낮았다. 반면 9회 구운 죽염군과 1회 구운죽염 A (NaCl:KCl=3:7)와 B (NaCl:KCl=5:5)군은 40% 이상의 세포파괴활성을 보여 오히려 면역활성증강효과를 나타내었다.

**5) 신장과 심장에서의 지질과산화물가 측정**

신장의 과산화물가(nmol/g tissue)는 정상군이 61.2로 가장 낮았고 천일염군은 sarcoma-180세포만 이식된 대조군과 비슷한 78.7이었으며, 정제소금군과 구운소금군은 90 이상의 높은 값을 나타내었다(Fig. 2). 그러나 9회 구운 죽염군과 1회 구운죽염 A (NaCl:KCl=3:7)와 B (NaCl:KCl=5:5)군은 모두 sarcoma-180세포만 이식된 대조군보다 과산화물가가 낮았으며 특히 1회 구운죽염 A (NaCl:KCl=3:7)군은 정상군과 비슷한 값을 보여 지질과



**Fig. 2.** Effect of various kind of salt on the TBARS concentration of kidney in normal and sarcoma-180 cell treated Balb/c mice after 21 days. The explanation is the same as shown in Fig 1.



**Fig. 3.** Effect of various kind of salt on the TBARS concentration of heart in normal and sarcoma-180 cell treated Balb/c mice after 21 days. The explanation is the same as shown in Fig 1.

산화를 촉진하지 않는 것으로 나타났다. 심장에서 정상군의 과산화물가가 47.4로 가장 낮았으며 천일염군, 정제소금군, 구운소금군은 sarcoma-180 세포만 이식된 대조군보다 높은 값을 보여 지질과산화가 이들 소금에 의해 촉진된 것을 볼 수 있었다(Fig. 3). 9회 구운 죽염군과 1회 구운죽염 A (NaCl:KCl=3:7)와 B (NaCl:KCl=5:5)군은 모두 sarcoma-180세포만 이식된 대조군보다 과산화물가가 낮았다.

## 고 찰

우리나라에서 시판되고 있는 소금은 제조방법에 따라 천일염, 기계염 그리고 가공염으로 분류되는데, 그 주성분은 NaCl이지만 다양한 무기질을 함유하고 있는 해수를 원료로 하기 때문에 소금의 종류에 따라 함유하고 있는 무기질이 다르다.<sup>2)</sup> 정제염은 99.8%의 NaCl을 함유하고 있으나 천일염과 가공염은 92.4~94.4%의 NaCl과 Ca, K, Mg 및 S와 같은 많은 다른 무기질을 함유하고 있다.<sup>22)</sup> Ca, K, Mg는 모두 혈압의 항상성 유지에 중요한 역할을 하며,<sup>23)</sup> 다른 소금보다 죽염에 특히 많이 함유되어 있는 K는 혈액검사에서 독성을 나타내지 않으면서 종양생성을 억제하는 것으로 보고되어 있다.<sup>24)</sup> Jansson<sup>7,8)</sup>은 체내 Na<sup>+</sup> 농도가 증가되면 암발생률이 높아지나 K<sup>+</sup>의 수준이 증가되면 암의 발생빈도가 낮아져서, 식이내에 K<sup>+</sup>:Na<sup>+</sup>의 비가 높아지면 암을 예방할 수 있다고 하였다.

이에 선행연구에서 천일염과 KCl을 혼합한 죽염을 제조하여 *in vitro* 및 *in vivo* 돌연변이 유발 실험계에서 돌연변이유발성을 검토한 결과 천일염과 KCl을 3:7로 혼합하여 1회 구운 죽염의 경우 소금의 보돌연변이성을 감소시키고 항돌연변이성을 증가시키는 것으로 나타났다.<sup>17)</sup>

1998년 국민건강·영양조사 자료처리 및 분석(식품섭취부분) 결과보고서<sup>25)</sup>에 따르면 우리나라의 전국평균 1일 식품섭취량은 1,290 g, NaCl 섭취량은 4.5 g으로, 이를 건조중량으로 환산하여 NaCl의 섭취비율을 계산했을 때 1% 정도였다. 그러나 일반적으로 과량의 소금이 암발생을 촉진한다고 알려져 있으므로 본 실험에서는 고행암의 성장에 소금이 미치는 영향을 측정하기 위해 10%의 소금을 마우스에 공급하였다. 이 실험에서 과량의 소금을 첨가한 식이의 식이효율(FER)은 매우 낮게 나타났으나 KCl 혼합죽염군의 식이효율은 유의적으로 높았다( $p < 0.05$ ). 한편소금을 첨가한 식이를 섭취한 군들은 정상군이나 sarcoma-180 세포만 투여한 대조군에 비해서 체중이 유의적으로 낮았는데( $p < 0.05$ ) 1회 구운죽염 A (NaCl:KCl=3:7)와 B (NaCl:KCl=5:5)군을 제외한 다른 군들은

모두 처음 체중보다도 낮았다. 그러나 소금첨가식이 섭취군은 모두 sarcoma-180세포만 투여한 대조군보다 고행암의 무게가 유의적으로 작았으며( $p < 0.05$ ) 9회 죽염군과 1회 구운죽염 A (NaCl:KCl=3:7)군이 고행암의 크기가 가장 작았다. 그러나 몸무게당 종양무게로 환산하면 정제염과 구운소금은 대조군보다 높았고 죽염첨가식이 처리시에는 대조군보다 낮게 나타나 소금의 종류에 따라 종양생성에 다르게 영향을 끼침을 알 수 있다.

Watanabe등<sup>26)</sup>은 1% NaCl을 식이로 공급한 경우 X-선 조사에 의한 위에서의 이형성(metaplasia)이 증가되었고 10% NaCl 섭취는 오히려 조직이형성을 감소시켰다고 하였다. 또한 이 실험에서 10% 소금투여군은 체중이 유의적으로 감소하였는데, 과잉의 NaCl 공급에 의한 식이섭취량 감소로 영양결핍상태를 초래하여 체중이 감소되고 종양형성이 억제된 것으로 분석하였다. 위암 발생이 소금이 미치는 영향을 검토한 다른 연구에서도 과량의(5~10%) NaCl은 모두 체중을 감소시켰으며 rat의 경우 다른 장기의 무게에는 큰 영향을 받지 않는 것으로 보고되어 있다.<sup>27,28)</sup> 또한 영양결핍상태는 mouse tumor의 형성을 억제하며 에너지 제한식이 유방암이나 대장암의 발생빈도를 감소시킨다고 보고된 바 있다.<sup>29~31)</sup> 위의 결과로 볼 때 본 실험의 경우 소금섭취군에서 체중이 감소되고 고행암의 크기가 감소한 것은 식이섭취량감소 및 식이섭취효율 감소 등에 의한 것으로도 볼 수 있다. 그러나 정상군이나 대조군보다 식이섭취량이 많았던 1회 구운 KCl 혼합죽염투여군에서도 고행암의 형성이 억제된 것은 KCl에 의한 종양형성 억제효과로 보인다. 하와 박<sup>22)</sup>의 분석 결과에 따르면 특히 죽염은 K이 11,136 ppm으로 다른 천일염과 가공염보다 함량이 많았고, Jacobs<sup>24)</sup>은 DMH (1,2-dimethylhydrazine)에 의해 흰쥐 소장의 종양을 유도시켰을 때 KCl (0.5%) 보충급수로 인해 종양생성율이 유의적( $p < 0.05$ )으로 감소되었으며 K 보충급수의 농도는 혈액검사에서 전혀 독성을 나타내지 않았다고 하였다.

소금첨가식은 면역관련 장기 중의 하나인 비장의 중량과 NK세포의 수 및 세포과괴활성을 감소시켰다. 그러나 9회 구운 죽염과 1회구운 KCl 혼합죽염 A와 B를 투여한 군에서는 NK세포의 활

성이 sarcoma-180세포를 주사하지 않은 정상군보다 높게 나타나 이들 소금이 비장의 면역활성을 증가시키는 것으로 보인다.

또한 과량의 소금섭취는 지질과산화를 증가시켜 세포증식에 관여한다고 알려져 있는데,<sup>32,33)</sup> 본 실험에서도 소금섭취군은 대체로 신장과 심장의 지질과산화를 촉진하였으나, 1회구운 KCl 혼합죽염 A 투여군은 정상군과 비슷한 TBARS값을 보여 지질과산화를 촉진하지 않는 것으로 나타났다.

따라서 절임식품이 많아 과잉의 소금섭취가 우려되는 우리나라의 경우 KCl을 혼합한 죽염은 암 발생에 있어 다른 소금에 비해 다소 유리하게 작용할 것으로 사료되며 이에 대한 지속적인 연구가 필요하다.

## 결 론

본 연구에서는 sarcoma-180 종양세포를 투여한 Balb/c마우스를 이용하여 *in vivo* 항암실험계에서 죽염의 원료로 천일염과 KCl을 혼합한 KCl 혼합죽염의 영향을 검토하였다. 소금을 첨가한 식이를 섭취한 실험군은 정상군이나 sarcoma-180세포만 투여한 대조군에 비해서 체중이 유의적으로 낮았는데( $p < 0.05$ ) 1회 구운죽염 A (NaCl:KCl=3:7)와 B (NaCl:KCl=5:5)군을 제외한 다른 군은 모두 처음 체중보다도 낮아 과량의 소금섭취는 식이섭취 효율을 낮추는 효과가 있었었는데 KCl 첨가는 이를 개선하는 효과가 있었다. 또한 소금첨가식이 섭취군은 모두 sarcoma-180세포만 투여한 대조군보다 고형암의 무게가 유의적으로 작았으며( $p < 0.05$ ), 9회 죽염군과 1회 구운죽염 A군이 고형암의 크기가 가장 작았다. 또한 체중당 종양 무게도 죽염 처리군이 가장 낮아 이들은 종양 생성도 억제하는 것으로 나타났다. 그리고 9회 죽염군과 1회 구운죽염 A와 B군은 비장의 NK세포의 면역활성을 증가시켰으며 sarcoma-180세포만 이식된 대조군보다 신장과 심장의 과산화물가가 낮았다. 결국 소금의 종류에 따라 *in vivo*에서 종양생성, 면역활성 및 지질과산화물 생성에 차이를 보였는데 죽염과 KCl을 첨가한 소금은 상기의 활성들을 조정하여, 종양생성을 억제시키고 면역활성은 높이며 지질과산화물 생성은 억제시키는 효과를 나타

내었다. 그러나 이에 관련된 지속적인 연구가 필요하다 하겠다.

## 감사의 글

본 연구는 과학기술부, 한국과학재단지정 대구대학교 농산물 저장·가공 및 산업화 연구센터의 지원에 의한 것입니다.

## 참고 문헌

1. 박건영. 김치의 영양학적 평가와 항돌연변이 및 항암효과. 한국영양식량학회지 1995; 24: 169-182.
2. 소금에 관한 보고서. 주(비락) 비락연구실 1995.
3. 열처리 조건에 따른 Sodium chloride 결정의 물리화학적 및 열적변화에 따른 성분규명과 인체에 미치는 위생학적 영향에 따른 연구. 열처리된 Sodium chloride (Rock salt) 구조분석 및 위생학적 연구의 결과 보고서, 한서대학교 식품생물공학과, 1995.
4. 김윤세. 죽염요법. 광제원, 1993; pp 58.
5. 이수민. 한국인산죽염에 의한 흰쥐 미란성 위염의 예방과 치료작용 관찰. 한국인산죽염 임상 및 기초실험 연구보고 논문집, 1993; pp 79.
6. Eaton SB, Konner M. Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *N Engl J Med* 1985; 312: 283-289.
7. Jansson B. Seneca country, New York. An area with low cancer mortality rates. *Cancer* 1981; 48: 2542-2546.
8. Jansson B. Geographic cancer risk and intracellular potassium/sodium ratios. *Cancer Detect Prev* 1986; 9: 171-194.
9. Kune GA, Kune S, Watson LF. Dietary sodium and potassium in take and colorectal cancer risk. *Nutr Cancer* 1989; 12: 351-359.
10. Tuyns AJ. Salt and gastrointestinal cancer. *Nutr Cancer* 1988; 11: 229-232.
11. Graham S, Dayal H, Swanson M, Mittelman A, Wilkson G. Diet in the epidemiology of cancer of the colon and rectum. *J Natl Cancer Inst* 1978; 61: 709-714.
12. Newmark P. Events at the Cell surface. *Nature* 1985; 317: 380-383.
13. Cameron IL, Smith KR, Pool TB, Sparks RL. Intracellular concentration of sodium and other elements as related to mitogenesis and oncogenesis *in vivo*. *Cancer Res* 1980; 40: 1493-1500.
14. 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 Pharmacol Physiol* 1980; 7: 275-283.
15. Newmark HD, Wargovich MJ, Bruce WF, Boybon AL, Kleine LP. Ions and neoplastic development.: Large Bowel Cancer, New York, Praeger, 1985; pp 102-130.
  16. 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.
  17. 정근옥, 이선미, 이숙희, 박건영. KCl 혼합죽염의 보들연변이 감소 및 항돌연변이 효과. *대한암예방학회지* 2001; 6: 140-147.
  18. 이영숙, 김동석, 류병호, 이성호. 파래와 곤피에서 추출한 당단백질의 sarcoma-180 cell에 대한 항암효과 및 면역활성. *한국영양식품학회지* 1992; 21: 544- 550.
  19. Bowlin TL, Rosenberger A, Stemerick D, Edwards ML. Potentiation of natural killer cell activity and tumor immunity by diacetylputrescine. *Cancer Res* 1990; 50: 5460-5463.
  20. Denis M. Activated murine natural killer cells control growth of *Mycobacterium lepraemurium* in mouse macrophages; *in vitro* and *in vivo* evidence. *Int J Immunopharm* 1991; 13: 881-887.
  21. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymol* 1978; 52: 302-310.
  22. 하정옥, 박건영. 소금의 종류별 미네랄 함량과 외형구조 비교연구. *한국식품영양과학회지* 1998; 27: 413-418.
  23. Kuriyama H, Yushi I, Suzuki I, Kitamura K, Itoh T. Factors modifying contraction-relaxation cycle in vascular smooth muscles. *Am J Phisiol* 1982; 243: H641.
  24. Jacobs MM. Potassium inhibition of DMH-induced small intestinal tumors in rats. *Nutr Cancer* 1990; 14: 95-101.
  25. 한국보건산업진흥원. 1998년도 국민건강·영양조사 자료처리 및 분석(식품섭취부문) 결과보고서. 보건복지부, 1999; pp 107-109.
  26. Watanabe H, Okamoto T, Takahashi T, Ogundigie PO, Ito A. The effects of sodium chloride, miso or ethanol on development of intestinal metaplasia after X-irradiation of the rat glandular stomach. *Jpn J Cancer Res* 1992; 83: 1267-1272.
  27. Watanabe H, Takahashi T, Okamoto T, Ogundigie PO, Ito A. Effects of sodium chloride and ethanol on stomach tumorigenesis in ACI rats treated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine: a quantitative morphometric approach. *Jpn J Cancer Res* 1992; 83: 588-593.
  28. Shirai T, Fukushima S, Ohshima M, Masuda A, Ito N. Effects of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, and NaCl on gastric carcinogenesis initiated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in F344 rats. *J Natl Cancer Inst* 1984; 72: 1189-1198.
  29. Rous P. The influence of diet on transplanted and spontaneous mouse tumors. *J Exp Med* 1914; 20: 433-451.
  30. Klurfeld DM, Welch CB, Lloyd LM, Kritchevsky D. Inhibition of DMBA-induced mammary tumorigenesis by caloric restriction in rats fed high-fat diet. *Int J Cancer* 1989; 43: 922-925.
  31. Reddy BS, Wang C-X, Maruyama H. Effect of restricted caloric intake on azoxymethane-induced colon tumor incidence in male F344 rats. *Cancer Res* 1987; 47: 1226-1228.
  32. Takahashi M, Hasegawa T, Furukawa F, Okamiya H, Shinoda K, Imaida K, Toyoda K, Hayashi Y. Enhanced lipid peroxidation in rat gastric mucosa caused by NaCl. *Carcinogenesis* 1991; 12: 2201-2204.
  33. Wang JY, Viar MJ, Johnson LR. Transglutaminase in response to hypertonic NaCl-induced gastric mucosal injury in rats. *Gastroenterology* 1993; 104: 65-74.