

발 간 등 록 번 호
-------------

11-1543000-000115-01
----------------------

죽염의 기능 및 안전성 규명  
(Identification of the function and safety of  
bamboo salt)

농 립 축 산 식 품 부

# 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “죽염의 기능 및 안전성 규명”에 대한 최종보고서로 제출합니다.

2013 년 06 월 30 일

경희대학교 산학협력단

# 연 구 진

연구기관명 : 경희대학교 산학협력단

연구책임자 : 김형민

책임연구원 : 김형민

연 구 원 : 정현자

연 구 원 : 윤재성

연 구 원 : 문필동

연구보조원 : 한나라

연구보조원 : 오현아

연구보조원 : 남선영

책임연구원 : 박건영

연 구 원 : 문숙희

연 구 원 : 정옥상

연 구 원 : 김영옥

연구보조원 : 조 혼

연구보조원 : 송가락

연구보조원 : 주재현

연구보조원 : 치용카이

연구보조원 : 홍예지

연구보조원 : 최메이지

연구보조원 : 김성민

연구보조원 : 김성균

연구보조원 : 조윤정

연구보조원 : 김희영

연구보조원 : 김선미

# 요 약 문

연구과제명	죽염의 기능 및 안전성 규명			
연구책임자	소 속	경희대학교 한의과대학	성 명	김형민
연구목표	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 죽염의 알레르기 비염 조절 기능 및 혈압에 미치는 영향 연구</li> <li>○ 죽염의 항암, 항비만 활성 연구</li> <li>○ 죽염의 안전성, 표준화 연구 및 물리화학적 특성규명</li> </ul>			
연구내용	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 연구개발의 목적 및 필요성 정제염과는 달리 우리나라 전통음식인 죽염은 여러 기능성이 있는 것으로 연구되고 있으며, 이러한 죽염의 새로운 기능 확인 및 그 기전을 밝힘으로써 조금 더 구체적이고 직접적인 기초 자료를 바탕으로 세계에 알릴 수 있음.</li> <li>- 연구개발 내용 및 범위 &lt;1세부&gt; <ul style="list-style-type: none"> <li>○ OVA 유도 알레르기 비염 동물 모델에서 죽염의 조절 기능 확인 및 그 기전 규명</li> <li>○ 아나필락시스 동물모델에서 죽염의 조절 기능 확인 및 그 기전 규명</li> <li>○ 호산구, 비만세포 단핵구 등의 알레르기 관련 염증 세포에서의 죽염의 기능 및 그 기전 규명</li> <li>○ 죽염이 혈압에 미치는 영향 확인</li> </ul>                     &lt;2 세부&gt; <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 죽염의 in vitro/ in vivo 모델에서의 항암효과 연구</li> <li>○ 죽염의 in vitro/ in vivo 모델에서의 항비만 효과 연구</li> <li>○ 죽염의 표준화와 특성 규명 '전통적 죽염 제조 방법 탐색과 공정의 표준화 연구' '죽염의 구조 X-ray 분석'</li> </ul> </li> <li>- 연구개발결과 전통적인 방식에 준거해 생산된 죽염은 알레르기 질환뿐만 아니라 소화기계통의 암에 대한 항암효능을 지니며, 아울러 항비만 효과까지 지니는 것으로 나타남. 또한 이러한 기능성은 죽염의 원재료인 천일염의 품질과 죽통의 규격 등의 영향을 받으며, 특히 굵는 횡수에 비례해 그 기능성이 강화되는 것으로 나타남. 또한 죽염은 NaCl 이외에도 Fe, S, K, Ca 등의 미량원소가 함유되어 있고 이들에 의한 항암효능이 일부 입증되었으며, 알칼리성으로 인한 황산화 효능 역시 나타남. 더욱이 정제염과는 다르게 죽염의 경우 혈압에 영향을 주지 않는 것으로 타나남.</li> <li>- 연구 성과 및 성과활용 계획 이상의 결과로써 table salt로서의 죽염은 물론 발효식품 등에 적용할 염분으로서의 죽염을 홍보하는 데 도움이 될 것으로 여겨짐. 또한 향후 죽염 내 미량원소의 항알레르기 및 항암 효능을 포함한 여타 기능성을 정밀하게 규명함으로써 그 성과의 기반을 공고히 할 수 있을 것으로 여겨짐.</li> </ul>			
기대효과	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 우리나라 고유 죽염의 기능성 규명으로 고품격 한식 소비 촉진과 가능한 대외 홍보 콘텐츠 소재 등을 제공할 수 있음.</li> <li>○ 신뢰도 높은 저널에 연구논문 게재하여 향 후 임상시험을 통한 건강기능식품 개별인증형 소재로 허가받을 수 있음.</li> <li>○ 과학적인 실험 보고가 있음에도 불구하고, 아직 민간요법으로 널리 알려져 있는 죽염의 건강기능성을 과학적으로 규명하고, 죽염의 생산 공정을 표준화하여 국민건강과 한국 소급의 세계화에 이바지함.</li> </ul>			

# SUMMARY

Research title	Identification of the function and safety of bamboo salt
Research objectives	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Effects of Bamboo salt on the allergic rhinitis and blood pressure control function</li> <li>○ Effects of Bamboo salt on anti-cancer and anti-obesity activity.</li> <li>○ Stability, standardization, and physical and chemical properties of Bamboo salt</li> </ul>
Research	<p>- The purpose and necessity of research and development</p> <p>Our traditional food, Bamboo salt has been reported to have multiple functions. In this study, we study the new function and its mechanism of Bamboo salt. It will be introduced to the world based on much more detail and direct basic data on Bamboo salt.</p> <p>- Content and scope of research</p> <p>&lt;part 1&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Bamboo salt on the OVA-induced allergic rhinitis in vivo model</li> <li>○ Bamboo salt on the anaphylaxis in vivo model</li> <li>○ Bamboo salt on the allergy related eosinophil, mast cell, and monocyte cell lines</li> <li>○ Bamboo salt on blood pressure</li> </ul> <p>&lt;part 2&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Anti-cancer effects of Bamboo salt</li> <li>○ Anti-obesity effects of Bamboo salt</li> <li>○ Standardization and identification of characterization of Bamboo salt.</li> </ul> <p>‘Search for classical manufacturing methods and standardization of process of Bamboo salt’</p> <p>‘X-ray analysis of Bamboo salt’</p> <p>- Result of research</p> <p>Bamboo salt, when manufactured by the traditional method, is shown to have an anti-allergy effect on allergic rhinitis and anaphylaxis model, anti-cancer effect on gastrointestinal cancer and to have an anti-obesity effect both in vitro and in vivo. And such functionalities are found to be affected by many specifications of manufacture such as quality of sun-dried salt, baking times. Also, bamboo salt contains iron, sulfur, potassium and calcium, and its unique chemical properties and physical structure are partially found to elucidate such functionalities. In addition bamboo salt does not cause high blood pressure. This result is different from refined salt.</p> <p>- Research utilization and its plan</p> <p>Perhaps Bamboo salt can promote as a beneficial table salt and fermented food materials. Also, through the more study on functionalities of micro minerals derived from bamboo salt will fortify our results in future.</p>
Benefits	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Korean food is going to be high class by using our results on Bamboo salt.</li> <li>○ Through the publication in the reliable Journal and clinical trials, it can be licensed as individual authentication-type material.</li> <li>○ Despite scientific experiments reported, yet the bamboo salt remedies known to the scientific identification of the health and functional, bamboo salt to standardize the production process of the globalization of public health and contribute to the traditional Korean salt.</li> </ul>

# CONTENTS

Research abstract.....	8
1 <sup>st</sup> year research activities.....	9
1.Research objectives.....	9
2.Research study and perform a range.....	9
3.Research result.....	10
- Established animal model of allergic rhinitis.....	10
- Anti-allergic rhinitis effects of bamboo salt.....	12
- Effect of bamboo salt in hypertension.....	19
- Anti-cancer effects of bamboo salt (inhibition of cancer metastasis).....	23
- Anti-obesity effects of bamboo salt.....	34
- Hazardous material analysis of bamboo salt and its stability.....	40
- Physiochemical properties of bamboo salt.....	46
4.Presentation of the Research.....	51
5.1 <sup>st</sup> year statement of research funds.....	54
2 <sup>nd</sup> year research activities.....	56
1.Research objectives.....	56
2.Research study and perform a range.....	56
3.Research result.....	58
- Anti-allergy effect of bamboo salt in vitro.....	58
- Anti-allergy effect of bamboo salt in vivo.....	62
- Anti-cancer effects of bamboo salt.....	69
- Anti-obesity effects of bamboo salt.....	77
- Hazardous material analysis of bamboo salt and its stability.....	84
- Physiochemical properties of bamboo salt.....	93
4.Presentation of the Research.....	98
5.2 <sup>nd</sup> year statement of research funds.....	101

## 연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 죽염의 기능 및 안전성 규명		
	(영문) Identification of the function and safety of bamboo salt		
연 구 기 관	경희대학교 산학협력단	연 책 임 자	(소속) 경희대학교
참 여 기 관	(주) 태성식품		(성명) 김형민
연 구 비	계	349,000,000원	총 연 구 기 간
			2011. 07. ~ 2013. 06. (2 년)
참 여 연 구 원	명 (연구책임자: 1 명, 책임연구원: 2 명, 연구원: 5 명, 연구보조원 8 명)		

### ○ 연구개발 목표 및 내용

- 죽염의 알레르기 비염 조절 기능 연구
- 죽염의 항암, 항비만 활성 연구
- 죽염의 안전성, 표준화 연구 및 물리화학적 특성규명

### ○ 연구 결과

- 동물 모델을 이용한 죽염의 알레르기 비염 조절 기능 규명
- 세포를 이용한 죽염의 알레르기 비염 조절 기전 및 기능 규명
- 동물 모델에서 죽염이 고혈압에 미치는 영향
- 세포 및 동물 모델을 이용한 죽염의 항암효과
- 세포 및 동물 모델을 이용한 죽염의 항비만 효과
- 죽염의 유해물질 분석 및 생산 공정 표준화 연구
- 죽염의 물리화학적 특성 규명

### ○ 연구 성과 달성도 및 성과활용 계획

구분	연구논문	학술발표	지식재산권	기술이전/제품화	기타	계	전체 달성도
1차년도	2(2)	8(4)	1(1)	1(1)	9(2)	21(10)	210%
2차년도	8(3)	10(6)	2(1)	0(2)	3(4)	23(16)	143%

( )연구 성과 목표

- 본 과제의 연구결과를 바탕으로, 각 연구분야에서 죽염의 효능과 안전성을 입증하여, 식품의약품 안전청에서 기능성 원료로 인정받아 다양한 분야에서 죽염의 응용 가능성을 제시할 것임.

# I. 1차년도 연구실적

## 1. 연구 목표 및 연구 수행내용

### 1. 연구개발 최종 목표 및 주요 내용

- 죽염의 알레르기 비염 조절 기능 연구
- 죽염의 항암, 항비만 활성 연구
- 죽염의 안전성, 표준화 연구 및 물리화학적 특성규명

### 2. 세부과제별 연구 목표 및 내용

#### <1 세부>

- 죽염의 알레르기 비염 조절 기능 규명

#### [ in vivo 알레르기 비염 모델 ]

- Ovalbumin 유도성 마우스 비염 모델에서 죽염의 염증 반응 관련 인자 조절 기능 규명
- Ovalbumin 유도성 마우스 비염 모델에서 죽염의 염증세포의 침윤 조절 기능 규명
- Ovalbumin 유도성 마우스 비염 모델에서 죽염의 신규 알레르기 비염 원인 인자 조절 기능 규명

- 실험동물에서 죽염의 고혈압 유도 기능 검증

- 랫드 등에서 죽염의 부작용으로 예상되는 고혈압에 미치는 영향 관찰

#### <2 세부>

- 죽염의 항암 효과

- in vitro 간암 및 위암세포를 이용한 항암 효과 및 in vivo 실험계에서 암전이 억제 효과 연구

- in vivo 간염 및 간경변(간암) 실험계에서 죽염의 효과 연구 및 Sarcoma 180 cell transplantation에 의한 항암 효과 연구

- 죽염의 항비만 기능성 규명

- 지방 세포에서의 지방 생성 억제 효과 분석과 C57BL/6 mice를 이용한 항비만 기능성 효과 및 기작 연구

- 죽염의 유해물질 분석 및 생산 공정 표준화 연구

- 죽염 제조 중 안정성 규명 및 조제 단계별 (1×, 3×, 9×) 제조방법에 따른 특성과 기능성 연구

- 전통적 죽염 제조 방법 탐색과 공정의 표준화 연구 (이산화황, 다이옥신, 벤조피렌 등 유해 물질 저감화 제조공정 개발)

- 죽염의 물리화학적 특성 규명

- 죽염의 구조 X-ray 분석과 향산화성 특성 규명 및 XRD, XPS, IR 등 이용한 죽염의 특성 연구

## 2. 연구범위 및 연구수행 방법

### <1세부>



연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
항알레르기 조절 효과	OVA 유도 알레르기 비염 동물 모델에서 죽염의 조절 기능 확인 및 그 기전 규명	<ul style="list-style-type: none"> <li>• OVA로 유도한 마우스 알레르기 모델 <ul style="list-style-type: none"> <li>- Rubs score (코, 눈, 귀 등을 긁는 행동을 점수화)를 이용하여 알레르기 조절 효과 분석</li> <li>- 마우스 혈청에서 histamin, OVA-specific IgE level 등 분석</li> <li>- 마우스 비장에서 IFN-<math>\gamma</math>, IL-4 level 등 분석</li> <li>- 마우스 혈청과 코 조직에서 IL-1<math>\beta</math> 와 TSLP 생성 및 발현 연구</li> <li>- 마우스 코 조직에서 Caspase-1 기전 분석</li> </ul> </li> <li>• 죽염이 고혈압에 미치는 영향 분석 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 랫드 동물모델에서 혈압 변화 관련 확인</li> </ul> </li> </ul>

## <2세부>

연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
죽염의 항암 효과	<i>In vitro</i> 및 <i>in vivo</i> 실험 이용 암세포, 간염 모델 쥐, 누드 마우스, 전이억제실험 등	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 간암, 위암세포 등과 간염 모델 쥐, 누드 마우스, colon-26-M 3.1 세포를 이용한 전이억제실험</li> <li>- Sarcoma-180을 이용한 항암실험</li> </ul>
죽염의 항비만 기능성 규명	<i>In vitro</i> 및 <i>in vivo</i> 상에서 항비만 효과 및 그 기작 연구	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 3T3-L1 세포를 이용한 지방분해</li> <li>- C57BL/6 마우스를 이용한 항비만 및 기작 연구</li> </ul>
죽염의 유해물질 분석 및 생산 공정 표준화 연구	제조방법에 따른 기능성 및 유해물질 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 황토 및 소금 종류에 따라 제조된 죽염의 기능성</li> <li>- 다이옥신 및 벤조피렌 등 유해물질 정량</li> </ul>
죽염의 물리화학적 특성 규명	죽염의 X-ray 분석과 XRD, XPS, IR 등을 이용한 죽염 특성	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 죽염의 물리화학적 특성, 알칼리성의 증가</li> <li>- 주석착물의 가수분해에 죽염이 미치는 효과</li> </ul>

## 3. 세부연구수행 결과(구체적으로 기술)

### < 1 세부>

#### ○ 알레르기 비염 동물 모델 확립

- 다양한 알레르기 비염모델 검토 수행 후 다음 그림 1과 같은 알레르기 비염 모델 최종 확립

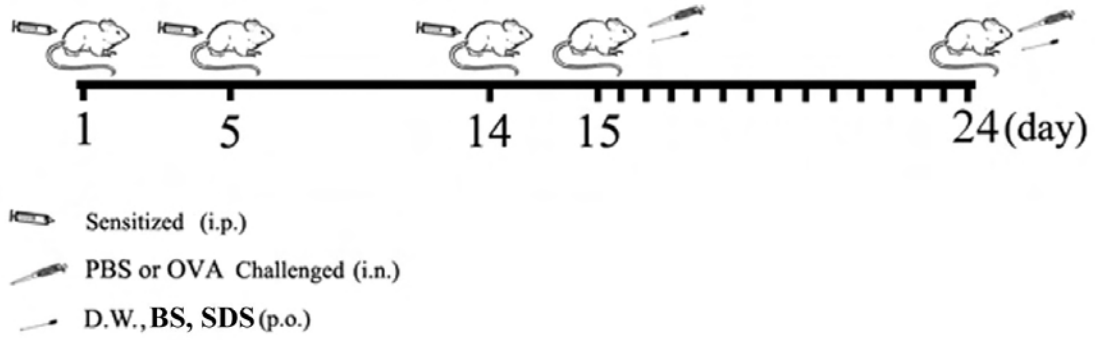


그림 1. 알레르기 비염 동물 모델 확립

- 확립한 모델에서 알레르기 비염인자들 분석 (그림 2)  
 :혈청에서 히스타민, IgE, TH1/TH2사이토카인, 염증성 사이토카인 분석

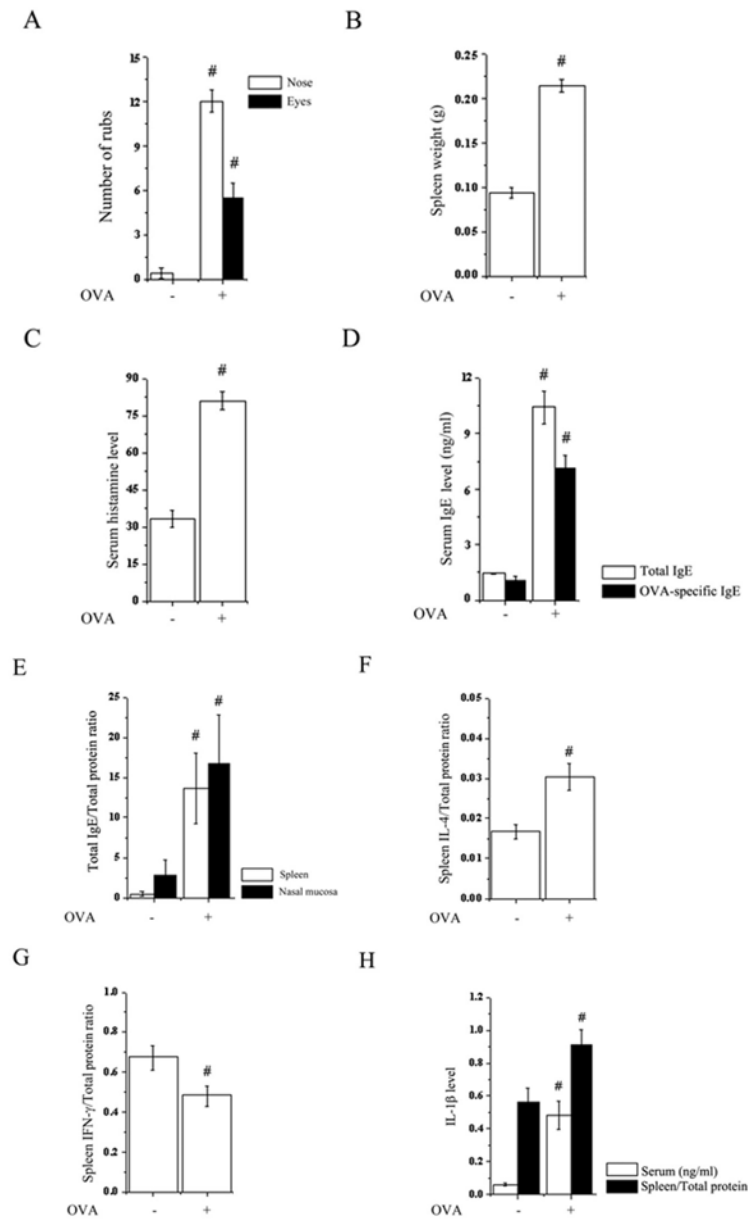


그림 2. 알레르기 인자 분석

: 코 조직에서 염증관련 단백질 발현 분석 (그림 3)

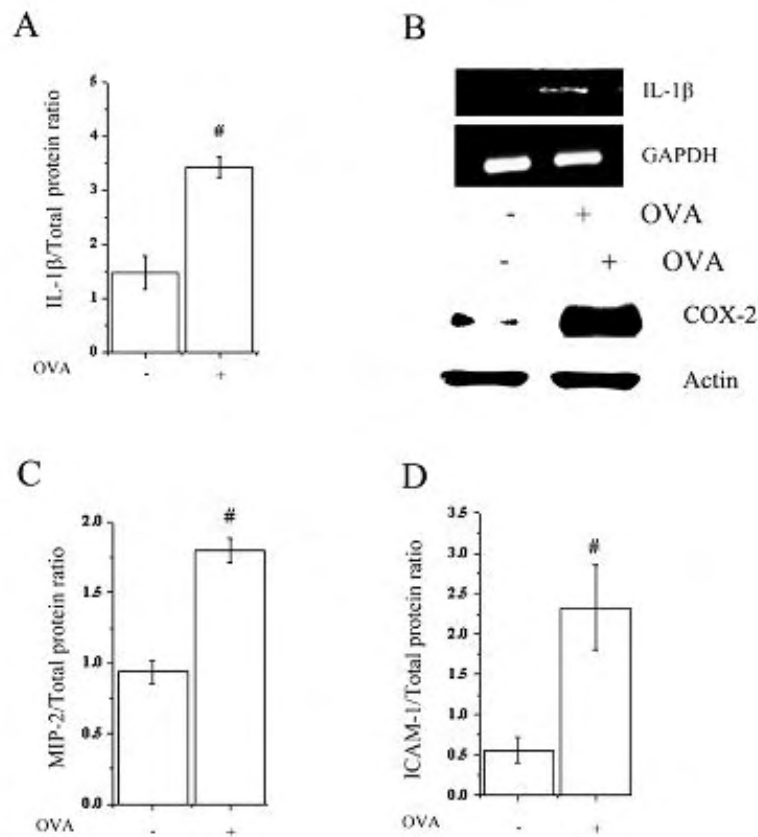


그림 3. 염증관련 단백질 분석

: 코 조직에서 염증관련 세포들의 침윤 관찰: 코조직의 염증관련세포 (호염구, 비만세포, 대식세포, 호중구) 염색 분석 (그림 4)

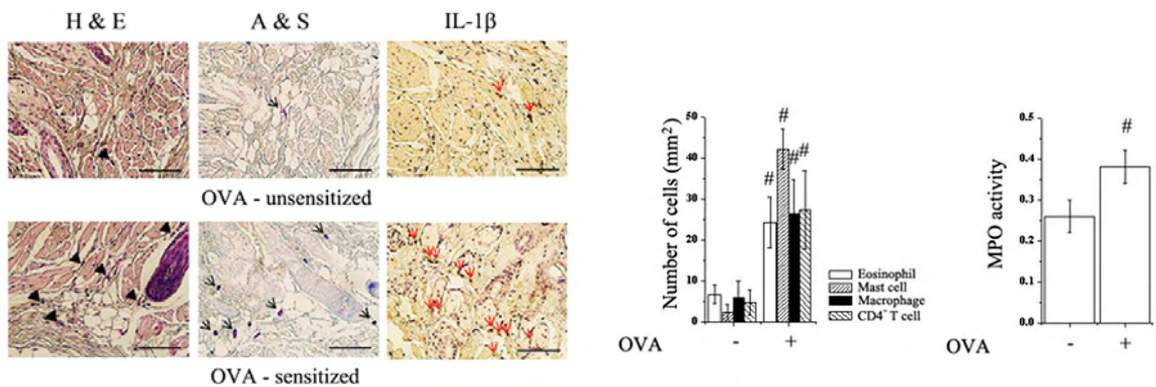


그림 4. 염증세포 분석

### ○ 죽염의 항알레르기 기능 및 그 기전 규명

- OVA 자극 9, 10일째 Rubs scoring 시행하였을 때, 3회 죽염의 중 (M) · 고농도 (H) 그룹, 코에 직접 투여시킨 그룹 (N)과 9회 죽염 투여 그룹에서 유의적인 감소 효과 나타났으며 천일염 (SDS)과 NaCl 투여 그룹에서는 죽염그룹보다 늦은 10일째 자극하였을

때 감소효과 나타남 (그림 5).

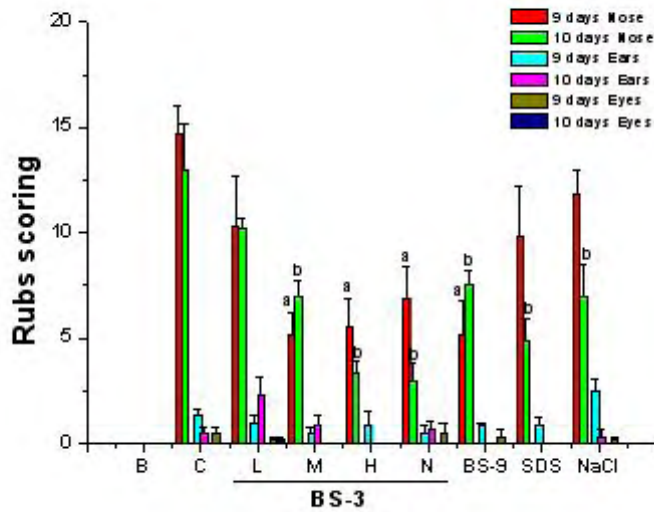


그림 5. Rubs scoring. a:  $p < 0.05$ ; 투여 9일째 코 긁은 회수를 C 그룹과 비교; b:  $p < 0.05$ ; 투여 10일째 코 긁은 횟수를 C 그룹과 비교

- 죽염의 항알레르기 기능 기전 규명을 위해, OVA 모델 마우스의 혈청에서 histamine level을 분석한 결과, 3회 죽염의 중·고농도 투여 그룹과 NaCl 투여 그룹에서 유의적인 감소 확인 하였으나 천일염의 경우 유의적인 차이가 없었음 (그림 6).

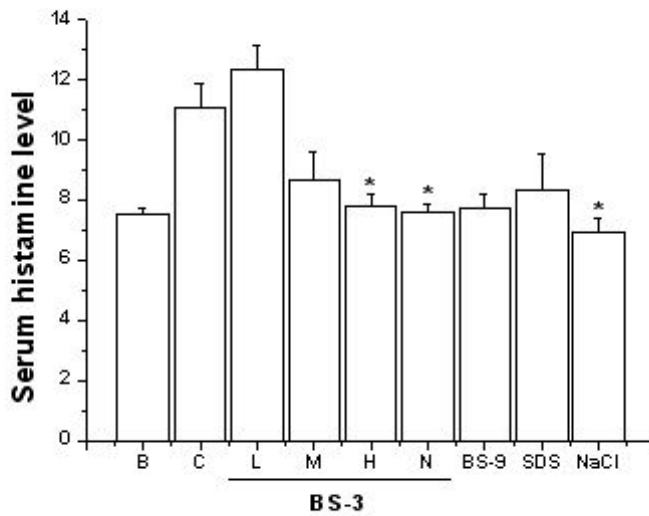


그림 6. 혈청 히스타민 분석. \* $p < 0.05$  compared with control group

- OVA 모델 마우스의 혈청에서 OVA-specific IgE level을 정량한 결과 3회 죽염, 9회 죽염 그리고 NaCl 투여 그룹에서 모두 유의적인 감소 효과 관찰. 그러나 천일염 투여 그룹에서는 유의적인 감소효과가 나타나지 않음. 조직에서 IgE level을 측정하기 위해, 코 조직에서 Total IgE level을 측정한 결과, 3회 죽염의 저농도 투여 그룹, 코에 직접 투여한 그룹과 NaCl 그룹에서 유의적인 감소 효과를 관찰할 수 있었음 (그림 7).

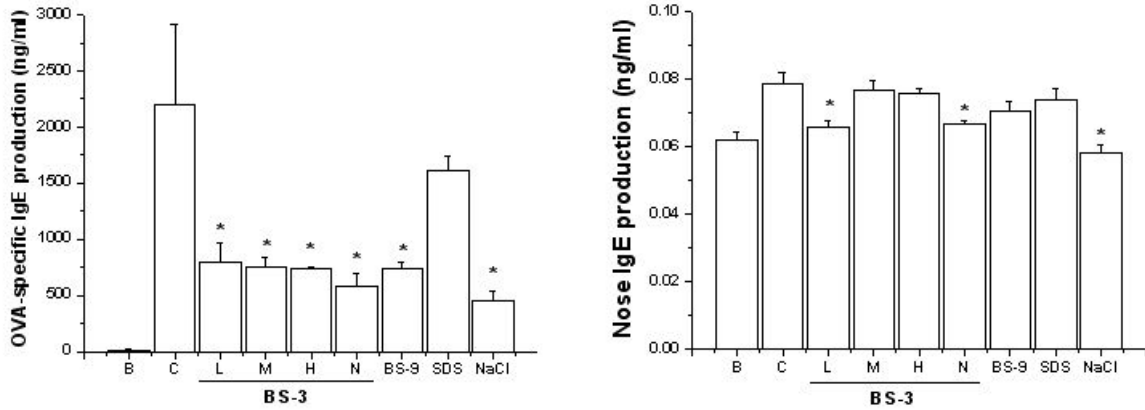


그림 7. 혈청과 비강조직에서 IgE 레벨 분석. \*p < 0.05 compared with control group.

- OVA 모델 마우스에서 죽염의 면역조절에 대한 영향을 살펴보기 위해, 비장 조직에서 인터페론(IFN)- $\gamma$ 와 IL-4 level을 정량하였음. 3회 죽염 경구 투여 그룹에서 IFN- $\gamma$  level이 증가되는 양상은 보였지만 유의적이진 않았음. 반면에 직접 코에 3회 죽염을 투여시킨 그룹에서 IFN- $\gamma$  level이 유의적으로 증가됨을 관찰할 수 있었음. IL-4 level의 경우, 3회 죽염을 직접 코에 투여한 그룹을 제외한 나머지 그룹들이 모두 감소되는 경향을 보였지만 유의적인 차이를 관찰할 수는 없었음. 이에 관련하여 반복 실험을 통해 정확한 결과를 확인할 예정임 (그림 8).

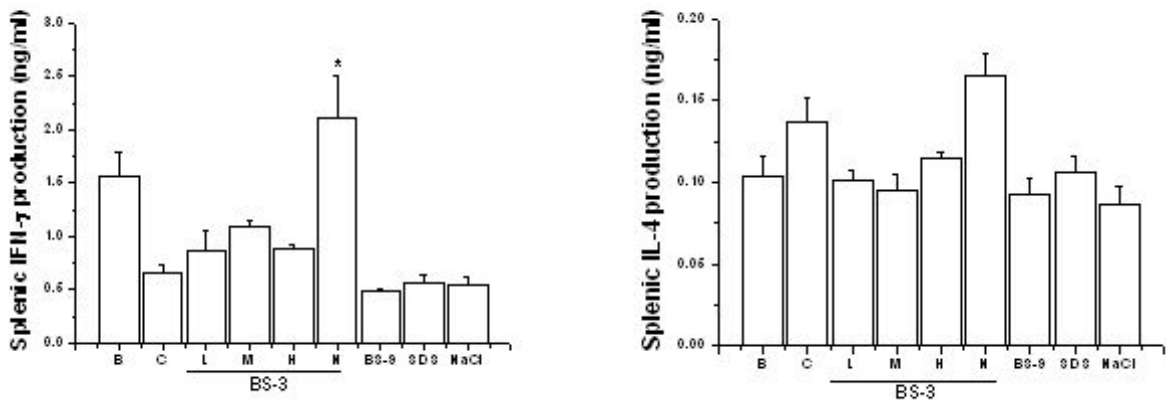


그림 8. 비장조직에서 싸이토카인 분석. \*: p < 0.05 compared with control group.

- OVA 모델 마우스에서 염증성 사이토카인에 대한 죽염의 효과를 규명하기 위해, IL-1 $\beta$  level을 혈청과 코 조직에서 측정함. 혈청에서의 IL-1 $\beta$  level은 3회 죽염 투여 그룹에서 농도 의존적으로 유의적 감소를 나타냈으며, 코에 직접 투여한 그룹 역시 유의적인 감소를 보임. 9회 죽염에서도 유의적인 감소를 나타냄. 코 조직에서 IL-1 $\beta$  level을 정량한 결과, 3회 죽염 고농도 투여 그룹과 NaCl 그룹에서 유의적인 감소 효과를 나타냄. 또한 코 조직에서 IL-1 $\beta$  mRNA 발현 (RT-PCR)이 control group에 비해 3회 죽염 및 9회 죽염을 투여하였을 때 감소되는 것을 확인함. 이러한 감소 현상은 천일염과 NaCl 투여 그룹에서도 관찰됨 (그림 9).

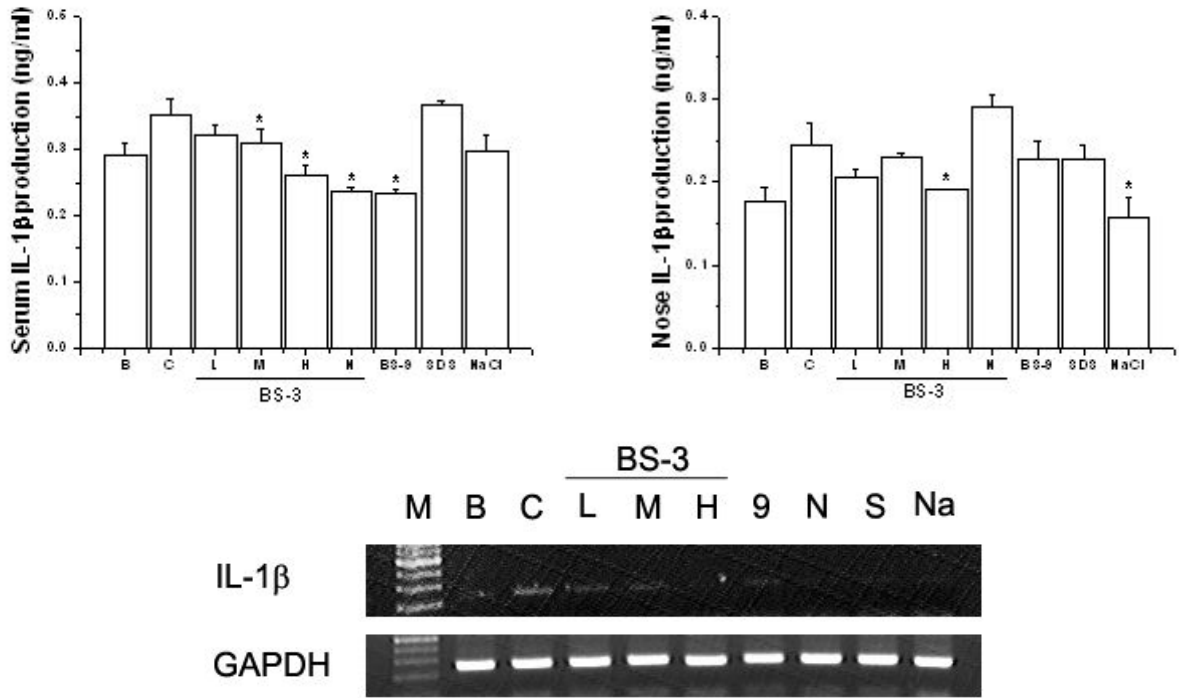


그림 9. 혈청과 비강조직에서의 IL-1 $\beta$  생성과 비강조직에서 IL-1 $\beta$ 의 mRNA 발현 측정.  
\*: p < 0.05 compared with control group.

- OVA 모델 마우스의 코 조직에서 염증세포의 이동과 부착에 관여하는 염증단백질인 ICAM-1과 대식세포에서 생산되는 염증단백질인 MIP-2의 생성에 죽염이 미치는 영향 관찰. 그 결과 3회 죽염 저·고농도 투여 그룹, 천일염 그룹과 NaCl 그룹에서 ICAM-1 생성을 억제하는 것을 관찰함. MIP-2 생성과 관련해서 3회 죽염 고농도 투여 그룹과 NaCl 억제 그룹이 유의하게 억제함을 알 수 있었음. 천일염의 경우 억제 유의성이 없음 (그림 10).

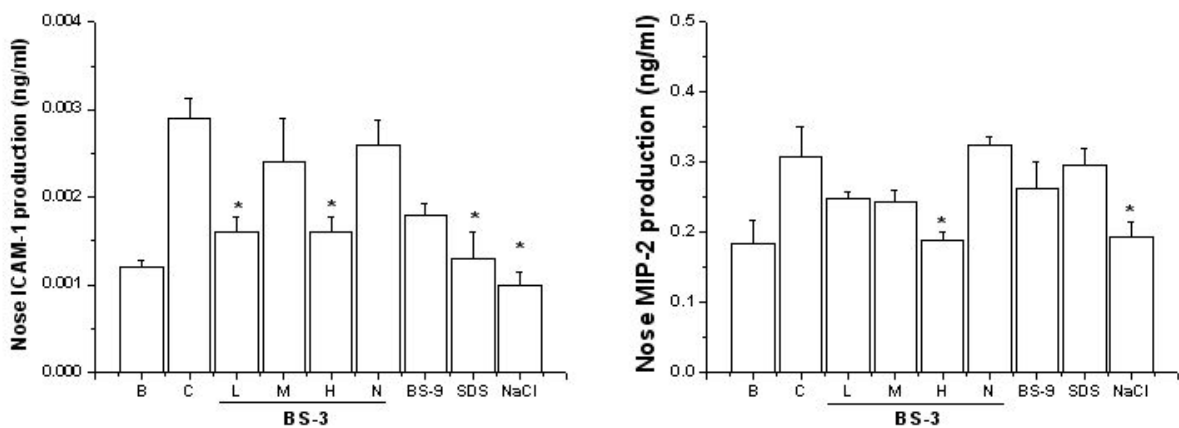


그림 10. 비강조직에서 ICAM-1, MIP-2 생성 분석. \*: p < 0.05 compared with control group.

- 죽염 투여한 OVA 모델 마우스의 혈청과 코 조직에서 알려지 관련 새로운 바이오마커인 TSLP를 정량함. 그 결과, 죽염 및 NaCl 투여 그룹에서 감소하는 경향은 관찰할 수

있었지만 통계학적 유의차를 관찰할 수 없었음.

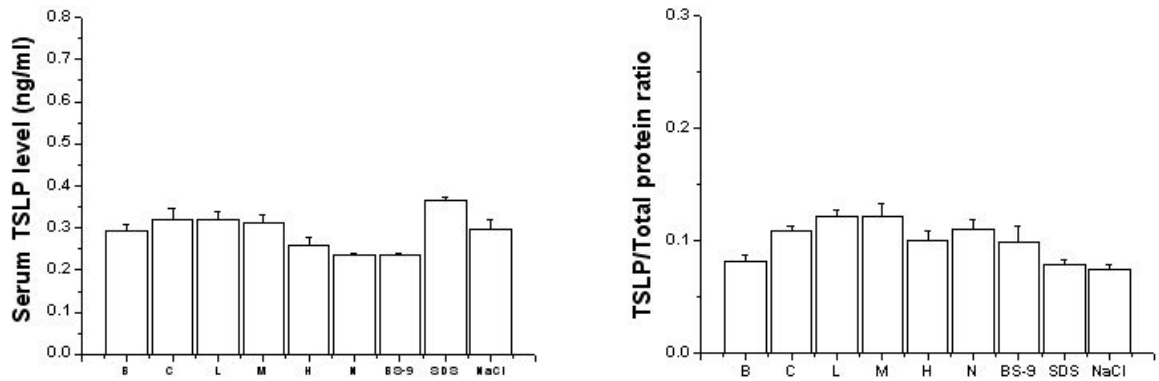
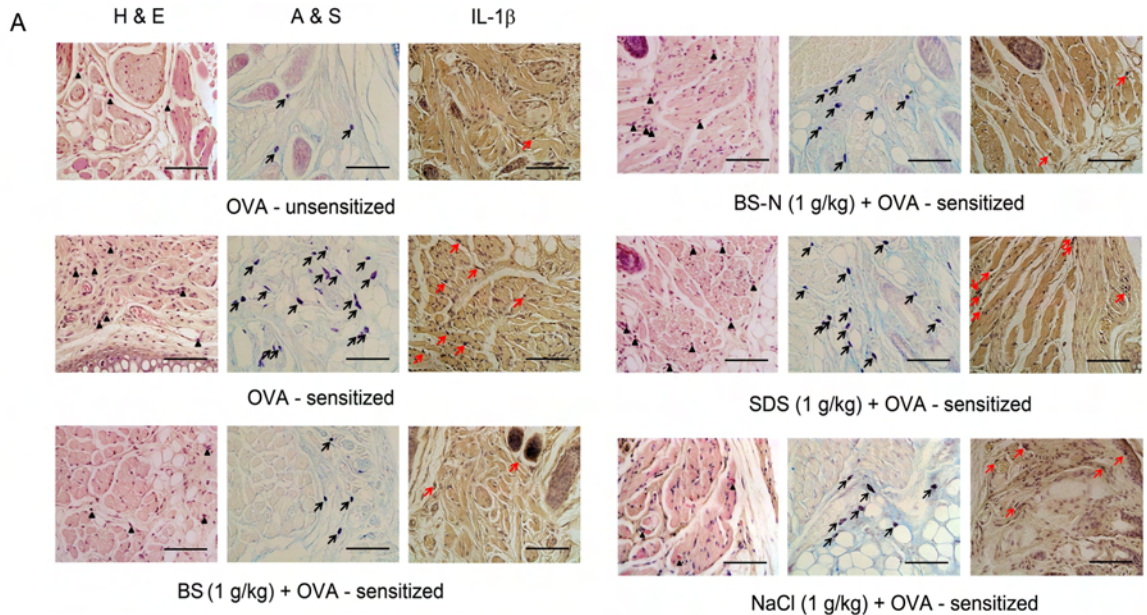


그림 11. 혈청과 비강에서 TSLP 생성 분석.

- OVA 모델에 약물 투여 후 각 그룹의 코 조직에서 염증세포의 침윤을 알아보기 위해 면역염색법을 시행함. 염증세포인 호산구 (H&E 염색)와 비만세포 (A&S)를 염색한 결과 OVA 모델에서 침윤된 호산구와 비만세포의 수가 유의적으로 증가되는데, 이렇게 증가된 세포침윤을 죽염 투여한 그룹에서 억제되는 것을 관찰함. 이러한 현상은 천일염에서는 유의적인 차이가 없었고, NaCl 그룹에서는 호산구의 침윤만 억제되는 것을 관찰함 (그림 12).



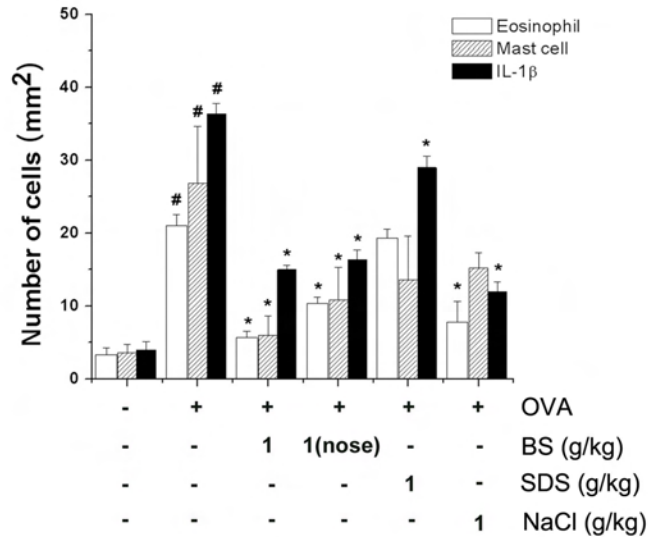


그림 12. 비강조직에서 염증세포 침윤과 IL-1 $\beta$  발현 분석. #p < 0.05, significantly different from the OVA-unsensitized mice. \*p < 0.05, significantly different from the OVA-sensitized mice (original magnification x 400).

- 죽염의 OVA 모델 조절 기전을 규명하기 위해 OVA 실험 모델 생쥐의 코 조직에서 Caspase assay를 통해 Caspase-1 활성을 측정함. 그 결과, OVA로 유도된 Caspase-1 활성이 죽염 고농도 1 g/kg 그룹, 고농도 비강투여 그룹과 NaCl 1 g/kg 투여 그룹에서 유의적인 억제 효과를 관찰함. 천일염의 그룹에선 억제효과를 확인하지 못함 (그림 13).

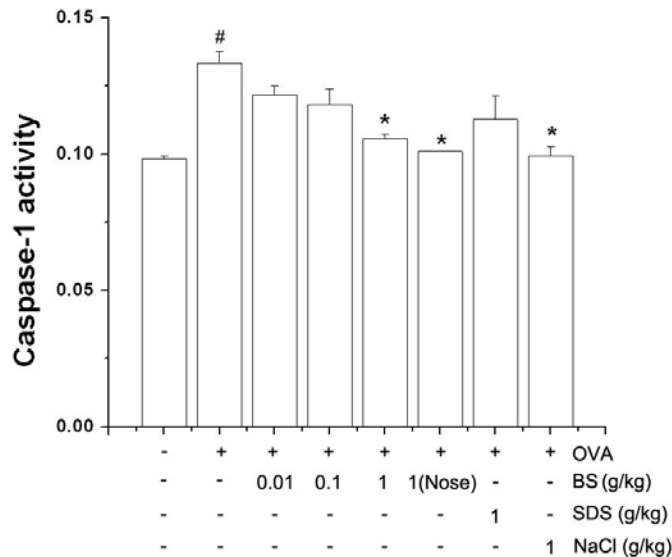


그림 13. 비강조직에서 caspase-1 활성 분석. #p < 0.05, significantly different from the OVA-unsensitized mice. \*p < 0.05, significantly different from the OVA-sensitized mice; n = 6.

- 비만세포주 (HMC-1)에서 죽염의 항알러지 효과를 분석하기 위해, 각 유효농도에서 세포독성을 MTT assay를 통해 검증함. 그 결과, 대조군과 유의적인 차이가 없었음 (그림 14).



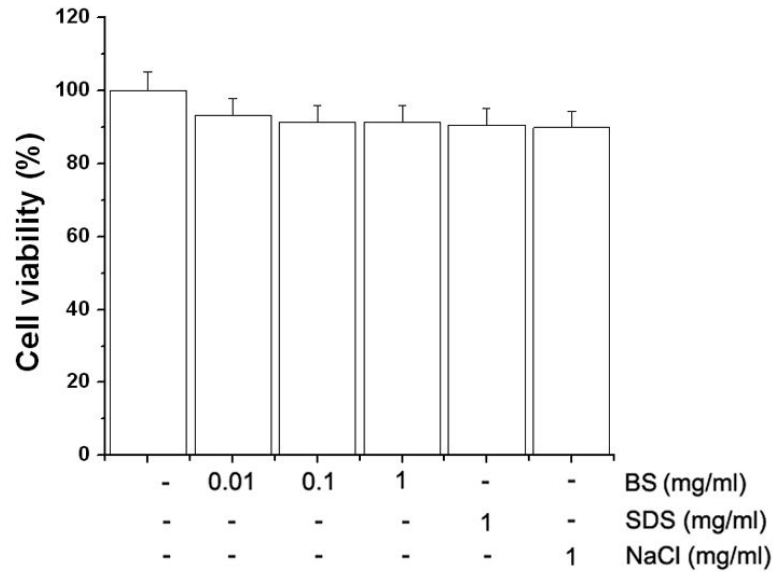


그림 14. 인간 비만세포 주에서 죽염의 세포 독성 분석.

- PMACI로 자극시킨 HMC-1 세포주에서 죽염, 천일염 및 NaCl의 조절 효과를 분석하기 위해, IL-1 $\beta$ 와 TSLP 사이토카인 생성량을 ELISA법을 이용하여 정량함. 그 결과, 죽염 고농도 (1 mg/ml) 처리 그룹에서 PMACI로 자극된 IL-1 $\beta$  생성을 억제하였고, 모든 죽염 처리 그룹 (0.01, 0.1, 1 mg/ml)과 NaCl (1 mg/ml) 처리 그룹에서 유의적인 억제 효과를 관찰함 (그림 15).

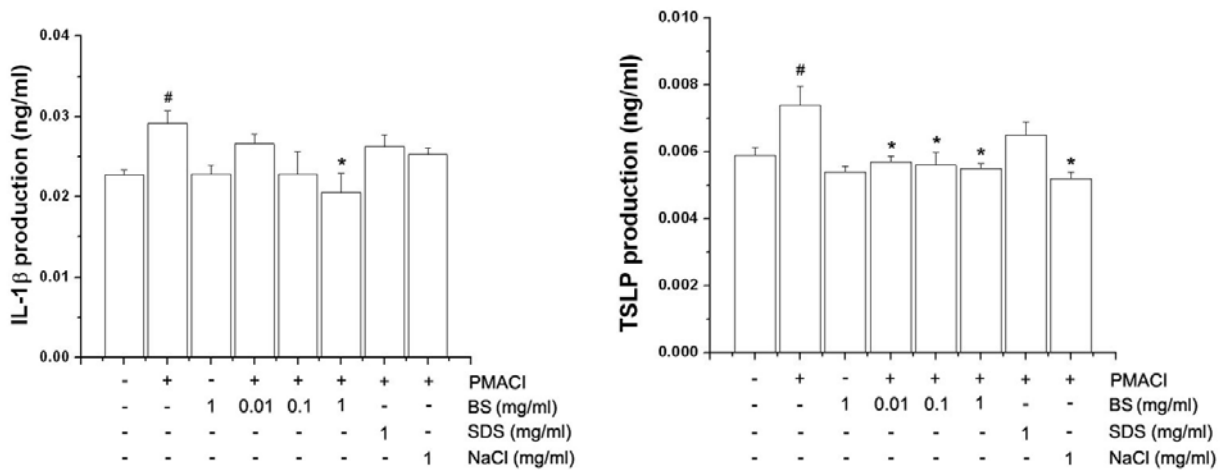


그림 15. 인간 비만 세포주에서 IL-1 $\beta$ 와 TSLP 생성 측정. <sup>#</sup>p < 0.05: significantly different from the unstimulated cells. <sup>\*</sup>p < 0.05: significantly different from the stimulated cells.

- PMACI로 자극한 HMC-1 세포주에서 IL-1 $\beta$ 와 TSLP의 mRNA 발현을 RT-PCR법으로 분석한 결과, 죽염 처리 결과 IL-1 $\beta$  mRNA 발현이 농도의존적으로 억제되었지만, TSLP mRNA 발현에는 영향을 미치지 않았음. 천일염과 NaCl 처리 그룹에서는 유의적인 변화가 나타나지 않았음 (그림 16).

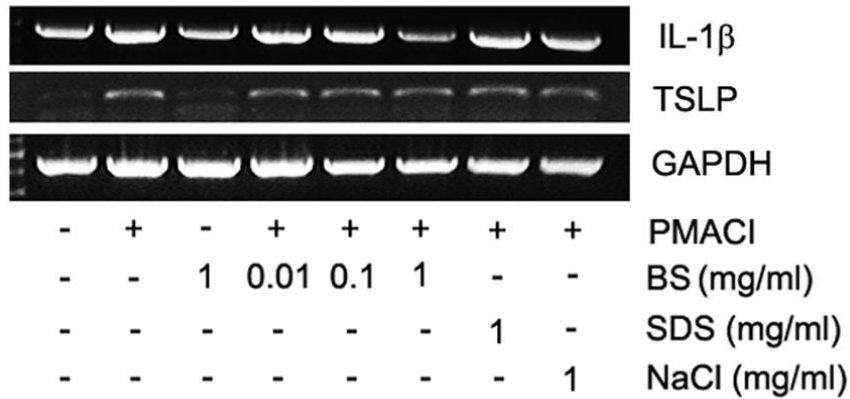


그림 16. 인간 비만 세포 주에서 IL-1β, TSLP mRNA 발현 측정.

- PMACI로 자극시킨 HMC-1 세포주에서 죽염의 항알러지 기전을 알아보기 위해 caspase-1 및 procaspase-1의 단백질 발현을 Western Blotting 방법으로 분석함. 그 결과, 죽염 고농도 처리 그룹과 NaCl 처리 그룹에서 caspase-1 발현이 감소되는 것을 확인함. 그러나 천일염 처리 그룹에서는 단백질 발현에 차이가 없었음 (그림 17).

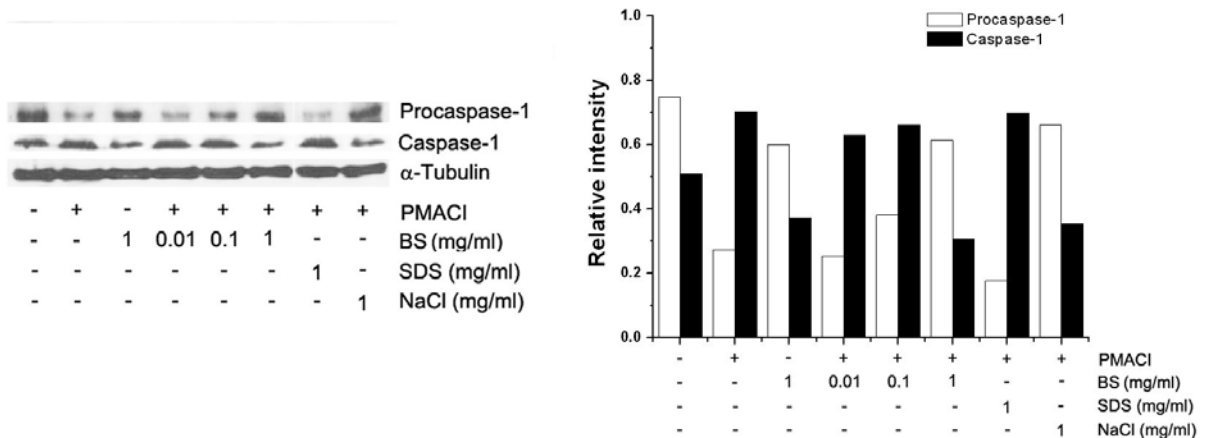


그림 17. 인간 비만 세포 주에서 caspase-1의 활성 측정. #p < 0.05: significantly different from the unstimulated cells. \*p < 0.05: significantly different from the stimulated cells.

### ○ 죽염이 고혈압에 미치는 영향 분석

- 체중은 그림 18과 같이 변화하였음. 소금 투여군 들이 D.W.군과 비교해 몸무게가 적게 나가는 듯하나, 유의성을 가지진 못했음.

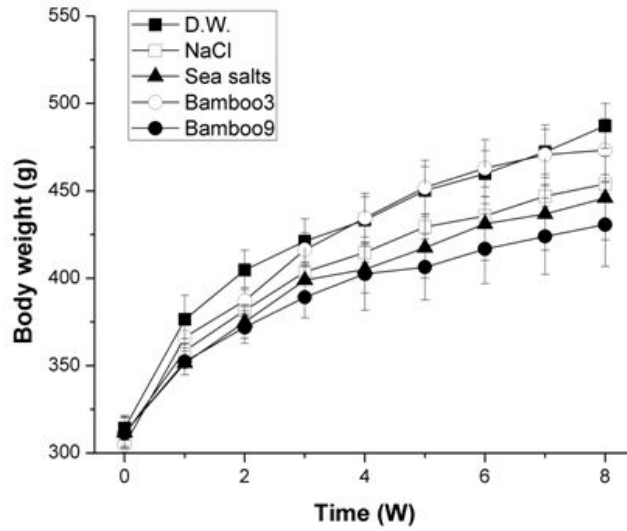


그림 18. 체중 변화량 (g)

- 각 군당 몸무게가 같지 않으므로, 사료량에 몸무게를 나눠 kg당 섭취량으로 비교함. 소금 투여로 인한 사료 양은 크게 변하지 않았음을 확인 (그림 19).

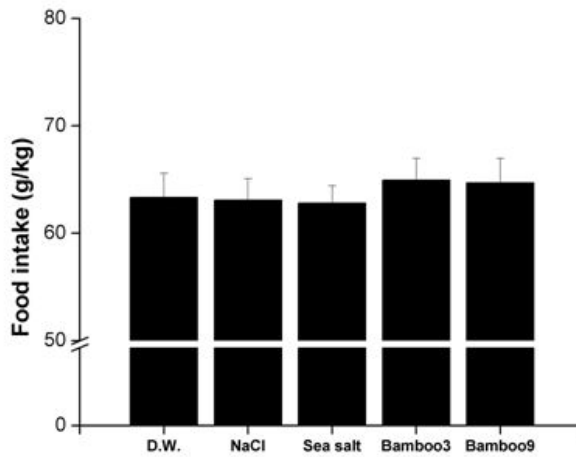


그림 19. 사료섭취량 (g)

- 수분 섭취량 역시 균등한 비교를 위해 kg당 음수량으로 계산했음. 염분섭취 군들이 수분을 많이 섭취하는 것을 확인할 수 있었고, 특히 죽염을 투여한 군이 정제염 투여군에 비해 유의하게 많이 섭취함을 관찰할 수 있었음 (그림 20).

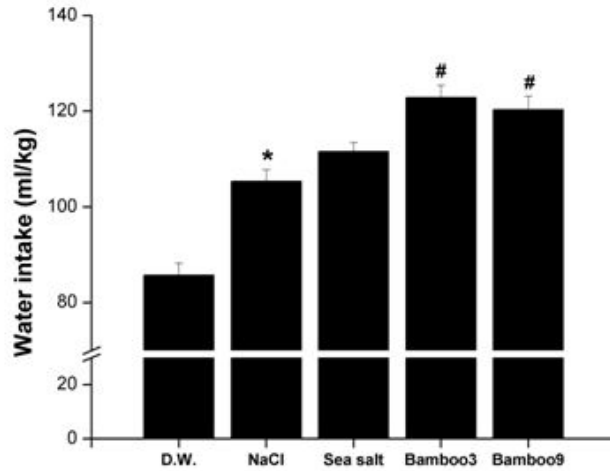


그림 20. 평균 물 섭취량 ml/kg.

- 마취 후 external iliac artery에서 관을 삽입하여 혈압을 측정했으며, 1ml dw 경구 투여 전 (pre), 투여 후 최고혈압 (high) 과 투여 후 안정화된 혈압 (stable) 을 각 1분씩 평균을 내었음 (그림 21).

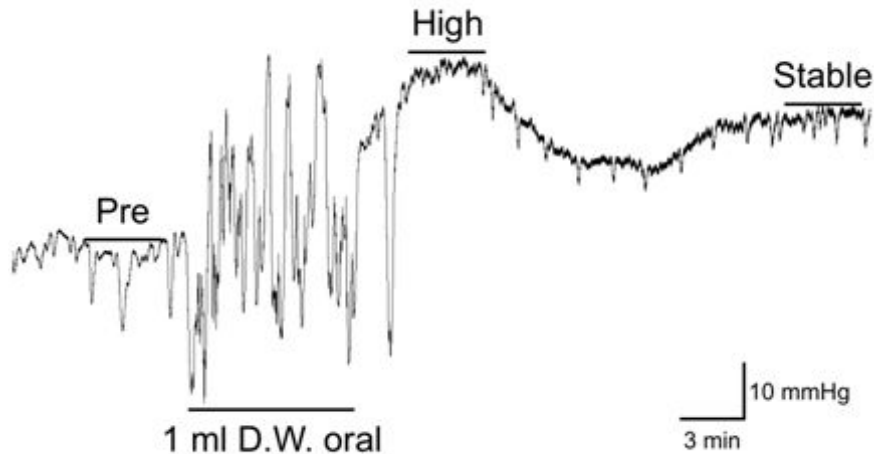


그림 21. 혈압변화를 측정하는데 있어서의 측정구간

- 쥐 개체차가 pre 상황에서 80~140 mmHg로, 개체별로 차이가 커서 pre값을 1로 한 상대값으로 변환. high로 가는데 수분~십수분 정도로 개체간 차이가 컸고, 또한 1ml dw 투여 후 안정적인 혈압상황을 보이는 시간도 쥐마다 1분 이내~10분 이상 등 다양했음. 그러나 stable 혈압은 대개 high 이후 15~25분 이내로 비교적 균일했었음. 죽염3은 n 수가 적어 fig.5 에서 제외했으나, 기본적으로 dw 군과 비슷했었음. 최대치 high는 정제염>천일염>DW>죽염 순이었으며, 안정화 구간인 stable에서는 NaCl=천일염>DW=죽염9 순으로, 죽염이 혈압변화량이 가장 적었고 정제염이 혈압변화량이 가장 컸음 (그림 22).

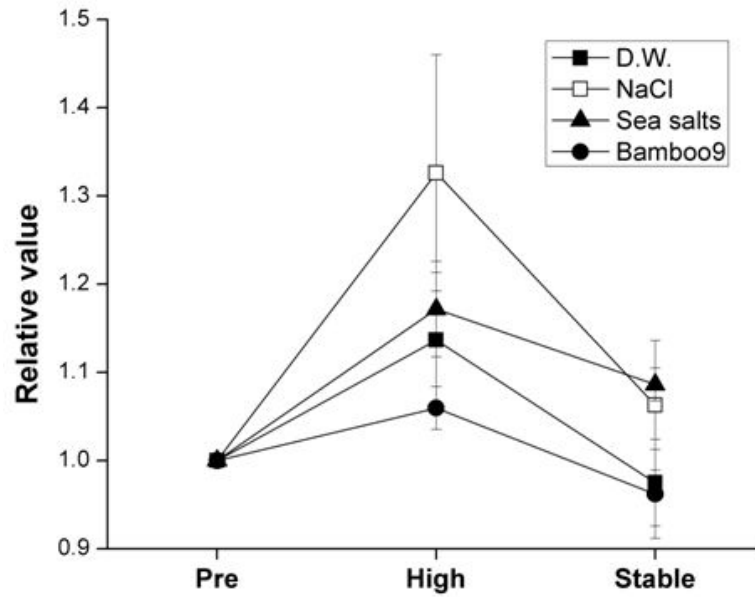


그림 22. 혈압변화를 측정하는데 있어서의 측정구간

- 보다 정확한 비교를 위해 NCC/actin의 상대값을 구해서 비교했음. 정제염 군이 dw 군보다 발현량이 증가했으며, 천일염은 dw군과 비슷하게 발현되었다. 그러나 죽염의 경우 dw군보다 더 낮은 발현 상대값을 보여주었으며, 혈압과 마찬가지로 정제염>천일염>죽염 순으로 발현이 적게 되었음 (그림 23, 24).

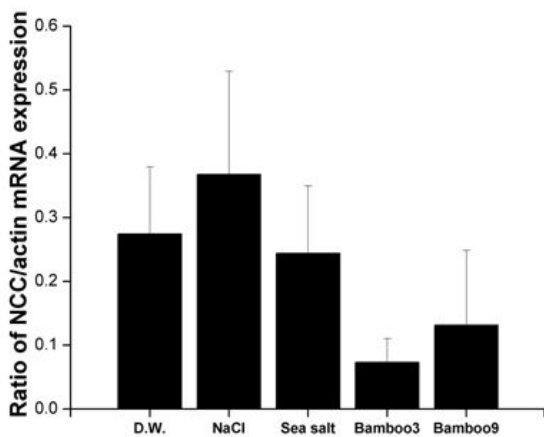


그림 23. NCC/actin mRNA 발현 상대값

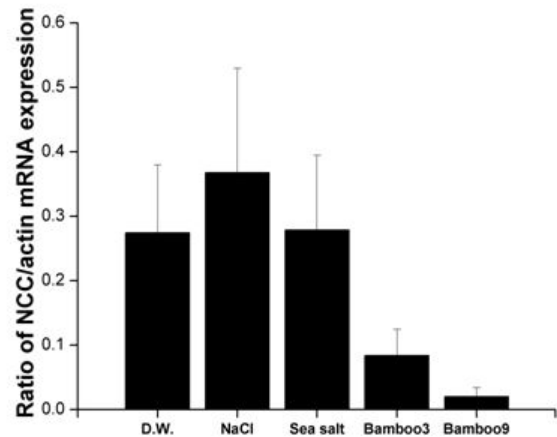


그림 24. NCC/actin mRNA 발현 상대값

- 이상의 결과를 종합하면, 섭취 염분의 종류에 따른 몸무게 변화는 의미가 없었음. 그러나 염분 종류에 따라 kg 당 수분 섭취량은 변했으며, 죽염이 가장 많이 수분을 섭취하는 것으로 나왔음. 또한 혈압에서 음수 후 최고혈압 및 안정화 혈압은 정제염>천일염>죽염의 순이었으며, 또한 염분 재흡수를 촉진해 혈압을 올리는데 결정적인 역할을 하는 NCC mRNA 발현 상대값도 정제염>천일염>죽염 순으로 혈압과 같은 순서를 보임.

<2 세부>

○ 죽염의 항암효과

죽염의 in vitro 항암효과 및 in vivo 암전이 억제효과

: 간암 세포

- HepG2 인체 간암 세포

죽염의 암세포 성장 억제 효과 정도를 비교해 보고자 HepG2 인체 간암 세포를 이용하였다. HepG2 인체 간암 세포에 시료를 1% 농도로 첨가한 실험군 중에서는 9회 죽염이 65%, 3회 죽염이 48%, 1회 죽염이 40%의 높은 저해율을 보였지만 천일염과 정제염은 29%와 25%의 저해율을 보였다. 따라서 5가지 소금의 암세포성장 억제 효과를 비교해본 결과 9회 죽염, 3회 죽염, 1회 죽염, 천일염과 정제염의 순으로 항암효과가 있는 것으로 나타났다.

Table 1. Inhibitory effect of aqueous solutions from different kinds of salt products on the growth of HepG2 human hepatoma cells in 3-(4,5-dimethyl-thiazol)-2,5-diphenyl tetrazolium (MTT) assay

Treatment	OD <sub>540</sub> (%)	
	0.5	1
Control	0.581±0.004 <sup>a A</sup>	
Purified salt	0.523±0.008 <sup>b</sup> (10) <sup>1)</sup>	0.436±0.010 <sup>B</sup> (25)
Solar salt	0.500±0.011 <sup>c</sup> (14)	0.413±0.007 <sup>C</sup> (29)
Bamboo salt (1×)	0.459±0.013 <sup>d</sup> (21)	0.349±0.007 <sup>D</sup> (40)
Bamboo salt (3×)	0.442±0.012 <sup>e</sup> (24)	0.302±0.010 <sup>E</sup> (48)
Bamboo salt (9×)	0.395±0.009 <sup>f</sup> (32)	0.203±0.012 <sup>F</sup> (65)

1) The values in parentheses are the inhibition rates (%).

<sup>a-f, A-F</sup> Means with the different letters in the same column are significantly different (p < 0.05) by Duncan's multiple range test.

- HepG2 간암세포를 이용해서 RT-PCR과 Western blot을 진행한 결과 apoptosis에 관련한 유전자 Bax의 증가에 따라 항암 효과가 증가하고 유전자 Bcl-2의 감소에 따라 항암 효과가 증가한다. 9회 죽염은 대조군에 비하여 Bax이 증가하였고 Bcl-2가 감소하였다. 따라서 죽염은 정제염과 천일염에 비해 항암 효과가 전반적으로 우월했으며, 특히 9회 죽염의 in vitro 항암 효과가 우수하였다.

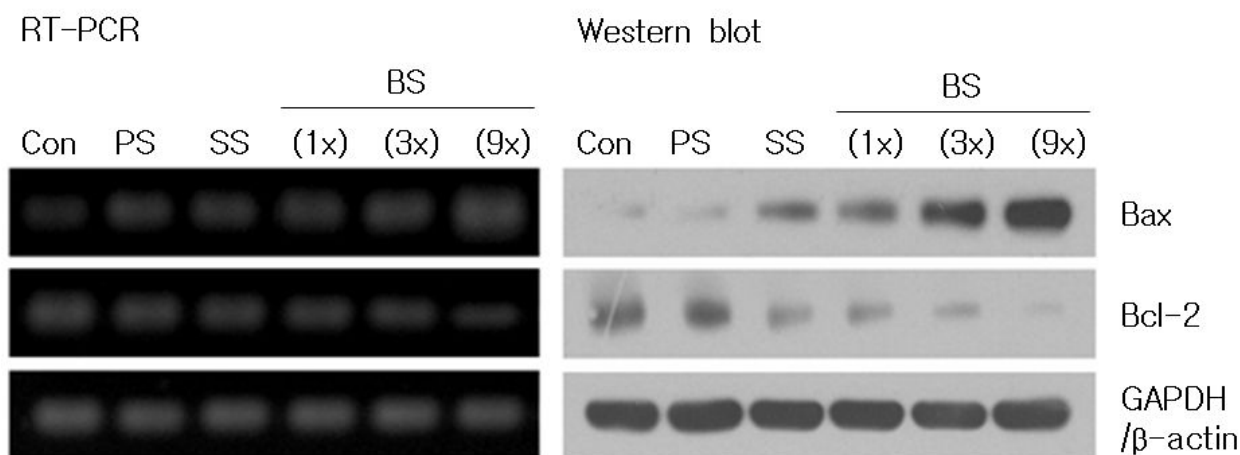


Fig. 1. Effects of salt samples (1%) on mRNA and protein expressions of Bax and Bcl-2 in HCT-116 cells. Con: Control, PS: Purified salt, SS: Solar salt, BS: Bamboo salt

: 위 및 대장암 세포에서의 세포성장률 억제기능 분석

- AGS 인체 위암세포

죽염의 암세포 성장 억제 효과(MTT assay) 정도를 비교해 보고자 AGS 인체 위암세포를 이용하였다. AGS 위암세포에 시료를 첨가하여 조사한 결과, 높은 농도 (1%)에서는 9회 죽염이 51%, 3회 죽염이 41%, 1회 죽염이 36%의 높은 저해율을 보인 반면 천일염과 정제염은 20%와 15%의 저해율을 보였다. 따라서 5가지 소금의 암세포성장 억제 효과를 비교해본 결과, 9회 죽염, 3회 죽염, 1회 죽염, 천일염과 정제염의 순으로 위암세포에서도 항암효과가 있는 것으로 나타났다(Table 2)

Apoptosis 유도과 관련된 Bax의 발현은 소금을 처리함으로써 증가하였으며, 정제염, 천일염, 1회 죽염, 3회 죽염에 비해 9회 죽염의 Bax 발현양상이 뚜렷한 것으로 나타났다. Apoptosis 억제에 관련이 있는 Bcl-2의 발현을 살펴 본 결과, 9회 죽염은 시료를 처리 하지 않은 암세포(control)에 비하여 크게 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 2).

Table 2. Inhibitory effect of aqueous solutions from different kinds of salt products on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells in MTT assay

Treatment	OD <sub>540</sub> (%)	
	0.5	1
Control	0.498±0.002 <sup>a A</sup>	
Purified salt	0.473±0.006 <sup>b</sup> (5) <sup>1)</sup>	0.423±0.006 <sup>B</sup> (15)
Solar salt	0.458±0.007 <sup>c</sup> (8)	0.398±0.005 <sup>C</sup> (20)
Bamboo salt (1×)	0.428±0.010 <sup>d</sup> (14)	0.319±0.007 <sup>D</sup> (36)
Bamboo salt (3×)	0.398±0.009 <sup>e</sup> (20)	0.294±0.014 <sup>E</sup> (41)
Bamboo salt (9×)	0.374±0.011 <sup>f</sup> (25)	0.244±0.008 <sup>F</sup> (51)

1) The values in parentheses are the inhibition rates (%).

a~f, A~F Means with the different letters in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

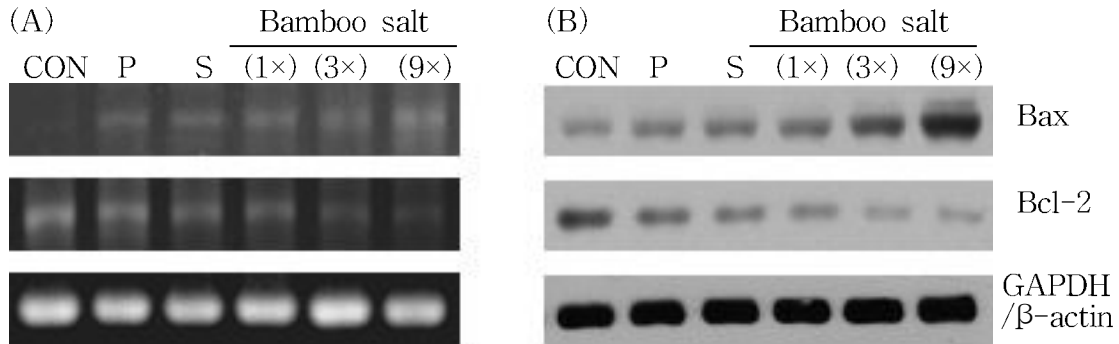


Fig. 2. Effects of salt samples (1%) on mRNA (A) and protein expressions (B) of Bax and Bcl-2 in AGS cells

- HCT-116 인체 결장암 세포

죽염의 암세포 성장 억제 효과(MTT assay) 정도를 비교해 보고자 HCT-116 인체 결장암 세포를 이용하였다. HCT-116 인체 결장암 세포에 시료를 1% 처리하여 조사한 결과, 높은 농도에서는 9회 죽염이 53%, 3회 죽염이 44%, 1회 죽염이 41%의 높은 저해율을 보였지만 천일염과 정제염은 각각 22%와 18%의 저해율을 보였다. 따라서 5가지 소금의 암세포성장 억제 효과를 비교해 본 결과, 9회 죽염, 3회 죽염, 1회 죽염, 천일염과 정제염의 순으로 항암효과가 있는 것으로 나타났다(Table 3).

Apoptosis 유도에 관련이 있는 Bax의 발현은 소금 처리에 의하여 다소 증가하였으며, 정제염, 천일염, 1회 죽염, 3회 죽염에 비하여 9회 죽염의 Bax 발현이 뚜렷한 것으로 나타났다. Apoptosis 억제에 관련이 있는 Bcl-2의 발현을 살펴 본 결과, 9회 죽염은 시료를 처리 하지 않은 암세포(control)에 비하여 현저히 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 3).

Table 3. Inhibitory effect of aqueous solutions from different kinds of salt products on the growth of HCT-116 human colon carcinoma cells in MTT assay

Treatment	OD <sub>540</sub> (%)	
	0.5	1
Control	0.485±0.005 <sup>a A</sup>	
Purified salt	0.460±0.022 <sup>b (6)<sup>1)</sup></sup>	0.401±0.009 <sup>B (18)</sup>
Solar salt	0.447±0.004 <sup>c (8)</sup>	0.381±0.011 <sup>C (22)</sup>
Bamboo salt (1×)	0.413±0.007 <sup>d (16)</sup>	0.290±0.008 <sup>D (41)</sup>



Bamboo salt (3×)	0.385±0.017 <sup>e</sup> (21)	0.271±0.013 <sup>E</sup> (44)
Bamboo salt (9×)	0.348±0.016 <sup>f</sup> (29)	0.228±0.005 <sup>F</sup> (53)

<sup>1)</sup> The values in parentheses are the inhibition rates (%).

<sup>a-f, A-F</sup> Means with the different letters in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

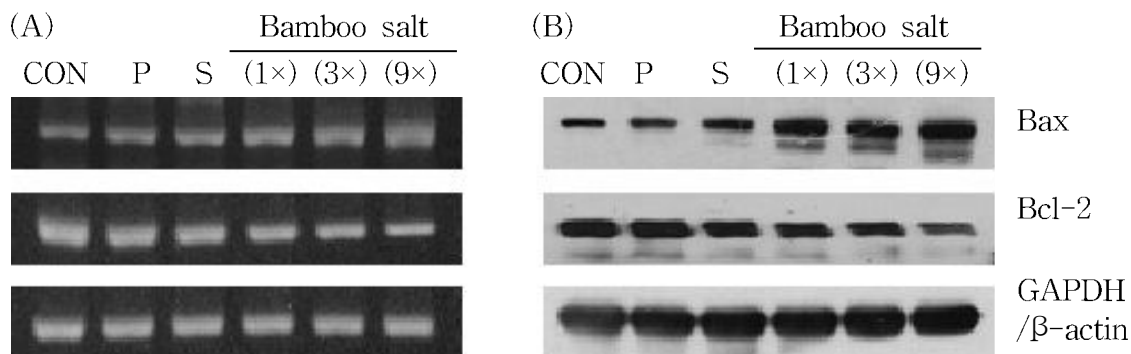


Fig. 3. Effects of salt samples (1%) on mRNA (A) and protein expressions (B) of Bax and Bcl-2 in HCT-116 cells. P: Purified salt S: Solar salt.

- HT-29 인체 결장암 세포

시료를 1%의 농도로 처리한 결과, 9회 죽염이 57%로 가장 높은 저해율을 보였고 3회 죽염, 1회 죽염, 천일염과 정제염이 46%, 42%, 25%와 21%의 저해율을 보였다 ( $p < 0.05$ ). 이 실험에서 9회 죽염의 암세포 성장 저해 효과가 가장 큰 것으로 나타났다 (Table 4). Apoptosis 유발에 관련이 있는 Bax과 Bcl-2의 발현 경향은 HCT-116 세포 결과와 비슷하다(Fig. 4).

Table 4. Inhibitory effect of aqueous solutions from different kinds of salt products on the growth of HT-29 human colon carcinoma cells in MTT assay

Treatment	OD <sub>540</sub> (%)	
	0.5	1
Control	0.517±0.003 <sup>a</sup> A	
Purified salt	0.476±0.011 <sup>b</sup> (8) <sup>1)</sup>	0.408±0.006 <sup>B</sup> (21)
Solar salt	0.450±0.008 <sup>c</sup> (13)	0.388±0.004 <sup>C</sup> (25)
Bamboo salt (1×)	0.424±0.005 <sup>d</sup> (18)	0.300±0.007 <sup>D</sup> (42)
Bamboo salt (3×)	0.403±0.008 <sup>e</sup> (22)	0.279±0.006 <sup>E</sup> (46)
Bamboo salt (9×)	0.357±0.010 <sup>f</sup> (31)	0.222±0.007 <sup>F</sup> (57)

1) The values in parentheses are the inhibition rates (%).

a~f, A-F Means with the different letters in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

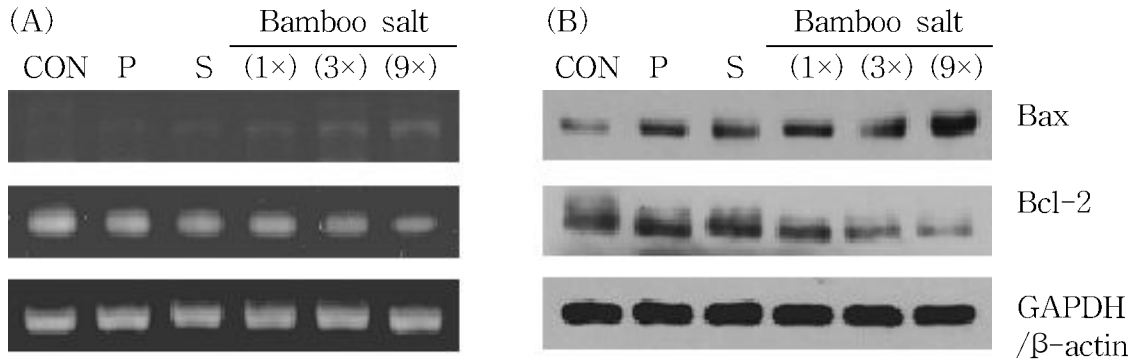
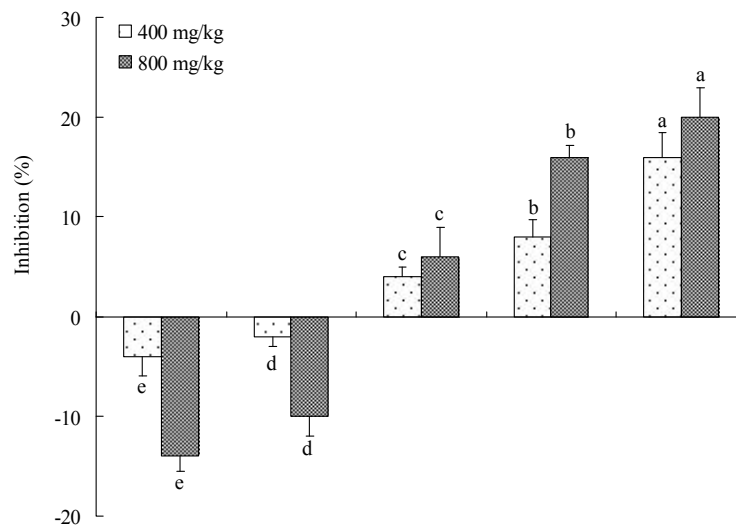


Fig. 4. Effects of salt samples (1%) on mRNA (A) and protein expressions (B) of Bax and Bcl-2 in HT-29 cells

#### *In vivo*에서 colon 26-M3.1 세포를 이용한 암전이 억제효과

: *in vivo* 실험계에서 암전이 억제 효과 연구

400과 800 mg/kg 농도로 Balb/c mouse에 투여한 결과 정제염과 천일염을 투여한 실험군에서는 전이가 발견된 반면 죽염 투여 군에서는 colon 26-M3.1 세포의 전이를 억제하는 효과가 나타났다. 400 mg/kg 투여 농도에서 정제염과 천일염은 -4%와 -2%의 전이 효과를 나타냈으며, 1회, 3회, 9회 죽염은 각각 4%, 8%, 16%의 항전이 효과를 보였다. 투여 농도를 800 mg/kg로 높인 실험에서 정제염(-14%)과 천일염(-10%)의 전이 효과는 더욱 증가하였고 1회, 3회, 9회 죽염의 항전이 효과는 6%, 16%, 20%로 증가하였다. 이상의 결과로 볼 때 죽염은 천일염 및 정제염과 달리 암의 전이를 억제하는 효과를 보였으며, 특히 9회 죽염의 경우 전이를 억제하는 효과가 더욱 강력한 것을 알 수 있었다.



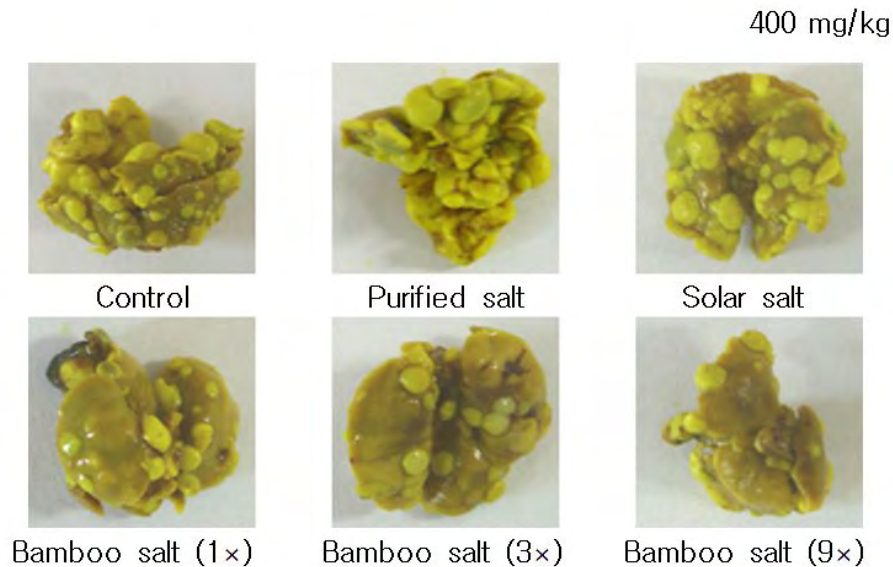


Fig. 5. Inhibitory effect of salt samples on tumor metastasis produced by colon 26-M3.1 cells in Balb/c mice\*.

<sup>a-e</sup> Means with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test

\* The mice were administered with the indicated dose of salt by SC injection and then inoculated intravenously with colon 26 M-3.1 cells with  $2.5 \times 10^4$ /mouse after 2d. Eight mice were assigned to each group.

- Control군의 종양 개수는 1회, 3회 죽염 처리군보다 많이 있었고 9회 죽염 처리군은 가장 낮은 개수를 나타냈고 항진이 결과를 보면 9회 죽염의 항진이 효과가 보통죽염(1× 및 3×), 천일염과 정제염보다 높게 나타났다. 반면 정제염과 천일염은 대조군에 비해 암 전이를 더 많이 일으키는 것으로 나타나 이에 대한 지속적인 연구가 필요하다(Fig. 5).

### ***In vivo* 간염 및 간암 실험계에서 죽염의 효과 및 Sarcoma 180 세포를 이용한 항암효과 연구**

: *In vivo* 간염 억제연구

- AST, ALT 측정결과

사염화탄소의 투여로 유발된 간 장애 흰쥐의 혈청 중 AST, ALT 활성도에 미치는 죽염의 효과를 연구하였다(Table 5). 흰쥐에 사염화탄소를 처치하면(Control군) 혈중의 aspartate amino transferase(AST) 활성은 정상군(Normal군)에 비하여 유의한 AST증가를 보였다.

정제염, 천일염과 죽염(1회, 9회) 투여 군에서의 AST결과는 각각  $1654.2 \pm 61.7$  IU/L,  $1285.8 \pm 155.9$  IU/L,  $1076.7 \pm 111.4$  IU/L,  $1038.3 \pm 73.7$  IU/L의 순으로 대조군( $1693.8 \pm 113.7$  IU/L)에 비해 감소효과를 나타내었다. AST의 활성 억제는 9회 죽염 투여군이 가장 좋았으며 1회 죽염, 천일염, 정제염 순으로 나타나 9회 죽염이 AST의 가장 높은 억제효과를 보였다.

혈청 중 alanine transaminase(ALT) 활성 또한 앞선 AST결과와 유사하였다. 사염화탄소

비 처치군 정상군(Normal군)의 45.7±6.3 IU/L에 비하여 사염화탄소 처치 대조군(Control군)은 1438.3±213.1 IU/L로 유의한 ALT활성의 상승효과를 보였다. 1, 9회 죽염 투여 군에서는 각각 790.4±14.5 IU/L, 634.9±34.0 IU/L로 정제염과 천일염(998.4±98.4 IU/L과 804.9±139.7 IU/L)보다 더 높은 ALT효소활성의 상승억제 효과를 보였으며, 앞선 AST활성과 같은 양상을 보였다.

그러므로 이상의 연구결과에서 9회 죽염은 가장 좋은 억제효과를 보였고 1회 죽염은 정제염과 천일염보다도 효과가 좋았다.

Table 5. Effect of bamboo salt (400 mg/kg) on AST (Aspartate aminotransferase) levels and ALT (Alanine aminotransferase) levels in rats treated with CCl<sub>4</sub>

Group	AST(U/L)	ALT(U/L)
Normal	169.6±12.0 <sup>e</sup>	45.7±6.3 <sup>e</sup>
Control	1693.8±113.7 <sup>a</sup>	1438.3±213.1 <sup>a</sup>
Purified salt	1571.5±32.6 <sup>b</sup>	998.4±98.4 <sup>b</sup>
Solar salt	1285.8±155.9 <sup>c</sup>	804.9±139.7 <sup>c</sup>
Bamboo salt (1×)	1076.7±111.4 <sup>d</sup>	775.3±14.5 <sup>c</sup>
Bamboo salt (9×)	1038.3±73.7 <sup>d</sup>	634.9±34.0 <sup>d</sup>

\* Values are means±SE of 7 rats per group. Between the groups, values with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

- LDH 측정결과

사염화탄소 투여로 유발된 간장해 흰쥐의 혈청 중 lactate dehydrogenase(LDH) 함량에 미치는 효과를 제시하였다. 사염화탄소로 처치한 대조군의 혈청 중 LDH농도는 6742.2±538.0 IU/L로 정상군 1173.6±106.5 IU/L에 비하여 유의한 효소활성도의 증가를 관찰할 수 있었다(Table 6).

앞서 살펴본 AST, ALT측정결과와 마찬가지로 9회 죽염군과 1회 죽염군에서 정제염군과 천일염군에 비해 유의하게 억제효과가 관찰되었다.

Table 6. Effect of bamboo salt (400 mg/kg) on LDH (Lactate dehydrogenase) levels in rats treated with CCl<sub>4</sub>

Group	LDH(U/L)
Normal	1173.6±106.5 <sup>f</sup>
Control	6742.2±538.0 <sup>a</sup>
Purified salt	5869.7±287.1 <sup>b</sup>
Solar salt	5443.3±362.3 <sup>c</sup>
Bamboo salt (1×)	4779.9±231.0 <sup>d</sup>
Bamboo salt (9×)	3890.7±112.9 <sup>e</sup>

\* Values are means±SE of 7 rats per group. Between the groups, values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

- Triglyceride 및 total cholesterol 측정결과

사염화탄소 투여로 유발된 간 장애 흰쥐의 혈청 중 Triglyceride (TG)와 Total cholesterol (TC) 함량에 미치는 효과를 제시하였다 (Table 7). 혈청 중 TG의 농도는 정제염, 천일염, 1회 죽염과 9회 죽염 순서로 감소하였다. 특히 9회 죽염은 LDH 활성을 낮추었고 TG함량도 가장 낮았다.

사염화탄소로 처치한 대조군의 혈청 중 TC함량은 정상군에서의 TC함량 보다 크게 낮았다. 죽염군들 및 처리군들은 대조군에 비해 TC함량이 감소하였으며, 9회 죽염에서 가장 높았다 ( $p < 0.05$ ).

Table 7. Effect of bamboo salt (400 mg/kg) on Triglyceride and total cholesterol levels in rats treated with  $CCl_4$

Group	Triglyceride(mg/dL)	Total cholesterol(mg/dL)
Normal	75.2±5.4 <sup>b</sup>	120.3±20.9 <sup>a</sup>
Control	92.1±8.3 <sup>a</sup>	54.9±15.1 <sup>b</sup>
Purified salt	85.5±8.8 <sup>b</sup>	60.4±14.4 <sup>bc</sup>
Solar salt	84.2±4.1 <sup>b</sup>	69.8±10.2 <sup>bc</sup>
Bamboo salt (1×)	84.0±14.3 <sup>b</sup>	74.2±21.9 <sup>b</sup>
Bamboo salt (9×)	77.1±3.1 <sup>b</sup>	80.2±15.0 <sup>bc</sup>

\* Values are means ± SE of 7 rats per group. Between the groups, values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

- 간조직의 염증 유전자 분석결과

RT-PCR과 Western blot 결과, 염증에 관련한 gene의 감소에 따라 항염증 효과가 증가하였다. 9회 죽염과 1회 죽염은 대조군에 비하여 염증에 관련한 iNOS, COX-2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  gene들이 감소시키기 때문에 현저한 항염증 효과가 나타났다. 9회 죽염은 1회 죽염과 비교하여 사염화탄소에 의한 흰 쥐의 간 손상을 억제하였으며, 또한 9회 죽염이 1회 죽염에 비하여 유의성 있게 억제능력이 높았다 (Fig. 6).

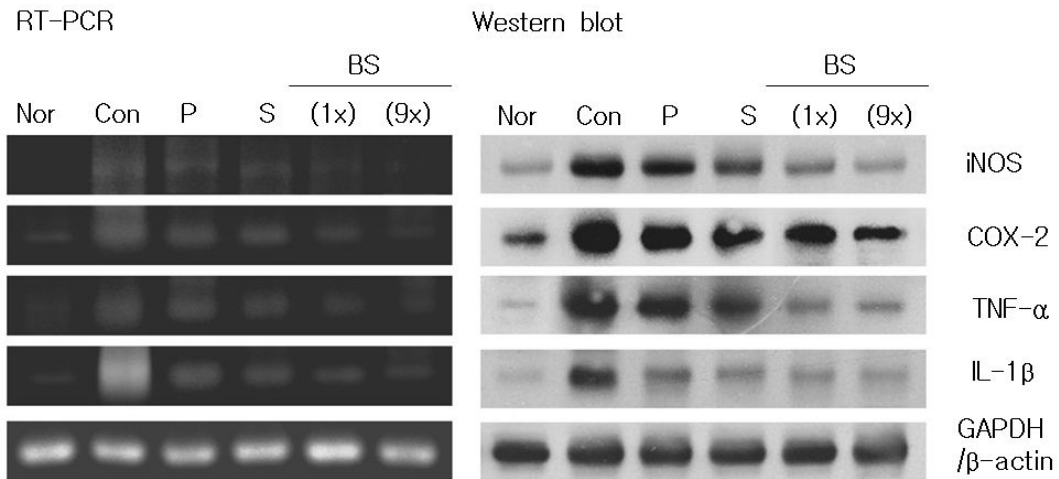


Fig. 6. Effects of bamboo salt (400 mg/kg) on mRNA and protein expressions of iNOS, COX-2, TNF-α and IL-1β in liver of rats treated with CCl<sub>4</sub>

P: Purified salt, S: Solar salt, BS: Bamboo salt

: 마우스 간암 모델에서 죽염에 대한 항암효력규명.

- 당해 실험계에서는 예비실험을 통해 간암 세포주를 선정하며 간암의 동물모델을 확립하고자 하였으며, 그 실험으로써 확립된 간암 동물모델을 이용하여 죽염의 항암효력을 규명하고자 하였다.

- 1차 예비실험에서 간암세포주는 Hep3B로 선정하였으며, 이에 따라 간암 실험을 위한 동물 모델을 확립하였다.



< Hep3B inj 21일차 동물사진 >

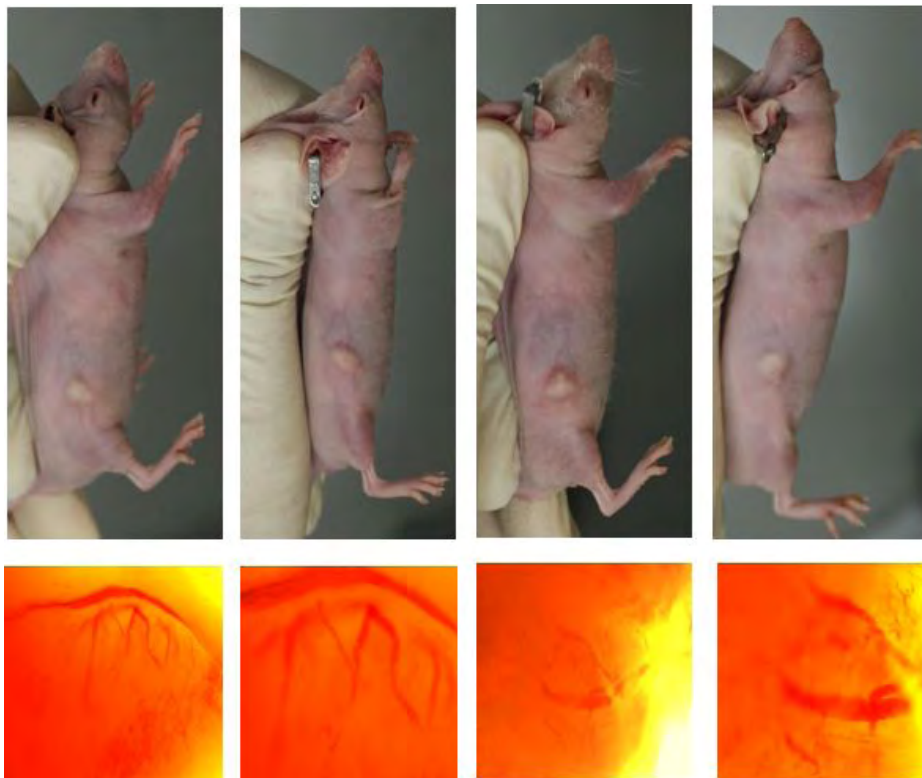
- Hep3B cell injection 후 21일째 촬영한 사진으로서 cell injection point는 명확했으나, 종양 형성은 이루어지지 않았음을 확인하였다.



< Hep3B inj 28일차 동물사진 >

- 두 번째 Hep3B cell injection 후 28일째 촬영한 사진으로서 injection은 마우스 오른쪽 겨드랑이 부근으로 선정하였다. Cell injection point는 명확하였으나 종양형성이 이루어지지 않았으며, 몇몇 형성된 종양은 검게 괴사의 형태를 나타났음을 확인하였다.

- 2차 예비실험에서는 간암 세포주를 Huh-7로 선정하여 이전 예비실험과 동일하게 주사함으로써 간암 동물모델을 확립하였다.



< Huh-7 inj 8일차 동물사진, 종양현미경촬영사진 >

- 2차 예비실험에서는 간암동물모델에 종양형성의 적절한 환경을 만들어주고자 Matrigel™을 사용하였다. 간암세포주 Huh-7 cell과 Matrigel™을 1:1 비율로 섞어 주사하였으며, 그 결과 위 동물사진과 종양의 현미경 촬영사진에서 나타난 바와 같이 Huh-7 cell injection후 8일차에 cell injection point가 명확해진 것을 확인하였으며, 제거한 종양을 현미경으로 관찰한 결과 종양에 과도한 혈관들이 형성되고 있음을 확인하였다.

- 확립된 간암동물모델의 종양형성을 관찰하며, 종양조직의 크기가 50mm<sup>3</sup> 정도 됐을 때 실험군을 분할하여 죽염의 농도별 항암효력을 알아보는 예비실험을 진행할 예정이다.

: Sarcoma 180 cell transplantation에 의한 항암 효과 연구

매일 400 mg/kg 농도의 소금을 섭취한 mice군은 모두 sarcoma-180세포만 투여한 대조군(4.1 g)보다 고행염의 무게가 유의적으로 작았으며 정제염과 천일염이 3.5와 2.8으로 고행염의 무게가 높게 나타났고, 9회 죽염군이 2.2 g으로 고행염의 크기가 가장 작았다(Table 8).

Table 8. Effect of various kinds of salt in tumor bearing Balb/c mouse with sarcoma-180 cell

Group	Tumor Weight (g)
Control	3.8±0.4 <sup>a</sup>
Purified salt	3.5±0.6 <sup>ab</sup> (8)
Solar salt	2.8±0.2 <sup>b</sup> (26)
Bamboo salt (9×)	2.1±0.3 <sup>c</sup> (45)

1) Inhibition rate (%), <sup>a-c</sup> Means with different letters are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test

Sarcoma-180세포가 이식된 마우스의 비장에서 NK세포를 분리하여 target cell인 Yac-1 세포에 대한 세포파괴활성을 비교하였다. 정제염군과 천일염군의 Yac-1 세포에 대한 세포파괴활성 20정도로 낮았고 9회 죽염군은 38%의 세포파괴활성을 보여 면역활성증강효과를 나타냈다(Fig. 7).

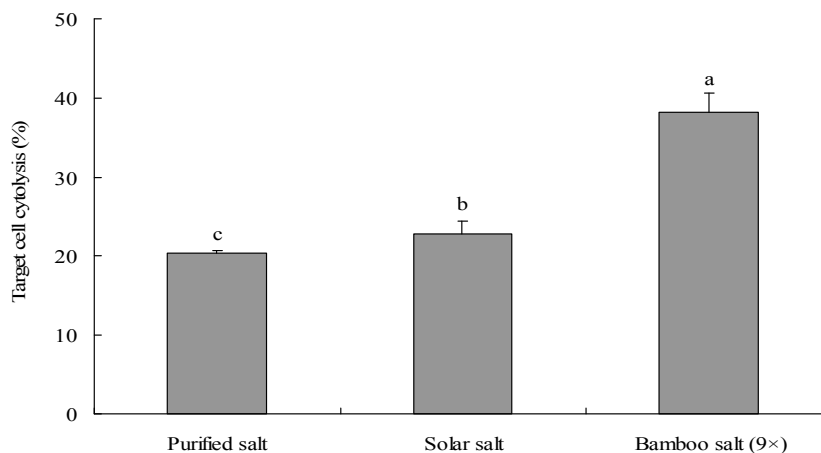




Fig. 7. Changes in target cell cytolysis upon treatment of salt samples.

죽염의 세포파괴활성이 확인된바 향후 죽염 생산공정에 따라 차이의 효과를 계속 연구할 예정이고 여러 가지 실험을 이용하여 자세한 분석 실험을 진행할 예정이다.

### ○ 죽염의 항비만 기능성 규명

: 3T3-L1 cell 상의 항비만 효과 및 분비된 glycerol 측정

- 3T3-L1 adipocyte를 DMEM(10% BCS) 하에서 36.5℃, 5% CO2로 맞춰진 배양기에 넣어 배양하였으며, confluent(충만)해지면 분화유도를 실시하였다. 분화배지(DM)는 DMEM(10% FBS)에 Insulin, dexamethasone, IBMX를 첨가해 제작하였다. 분화를 유도한 날로부터 격일로 feeding media(FM)을 첨가하였으며, FM에는 DMEM(10% FBS)에 Insulin을 첨가하여 조제하였다. 분화 6일차(D+6)에 9회 죽염을 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5%로 첨가하여 24시간 추가배양을 실시하였다.

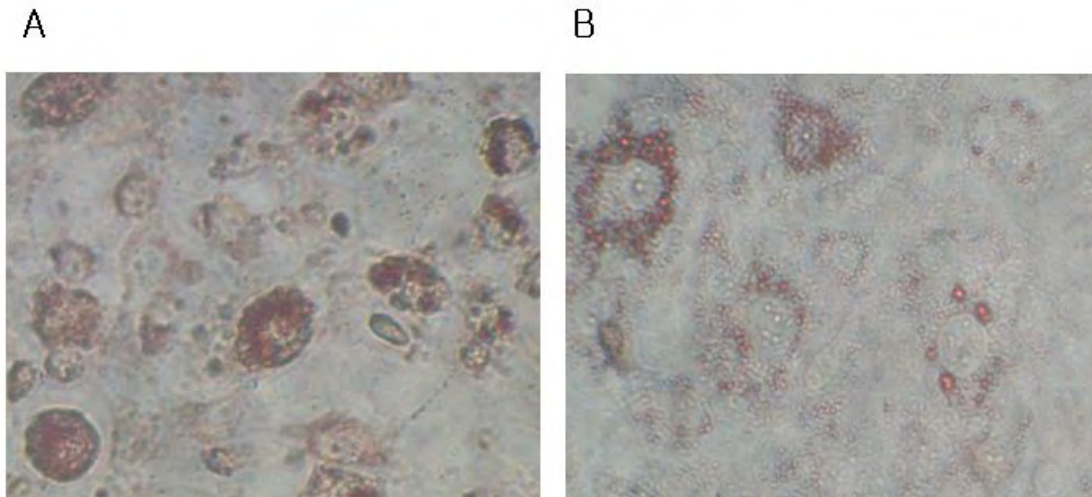


Fig. 8 Image of 3T3-L1 cells stained by oil-red O solution. The untreated control (A) and treatment of 0.5% 9x bamboo salt (B).

- 시료처리가 끝난 세포를 PBS로 3회 세척한 후 Formaldehyde(3.8%)로 1시간 고정하였다. 고정이 끝난 세포는 다시 PBS로 3회 세척한 후 Oil-red O 용액으로 1시간 염색하여 지방구의 양상을 관찰하였다. 또한 염색이 끝난 후 isopropanol로 탈염하고 그 액체를 96-well plate에 넣고 ELISA reader로 595nm의 광선을 조사해 TG의 상대적인 양을 분석하였다. 0.01% 처리군을 비롯해 전반적으로 TG의 양이 유의적으로 감소한 것을 알 수 있었다(Fig 8).

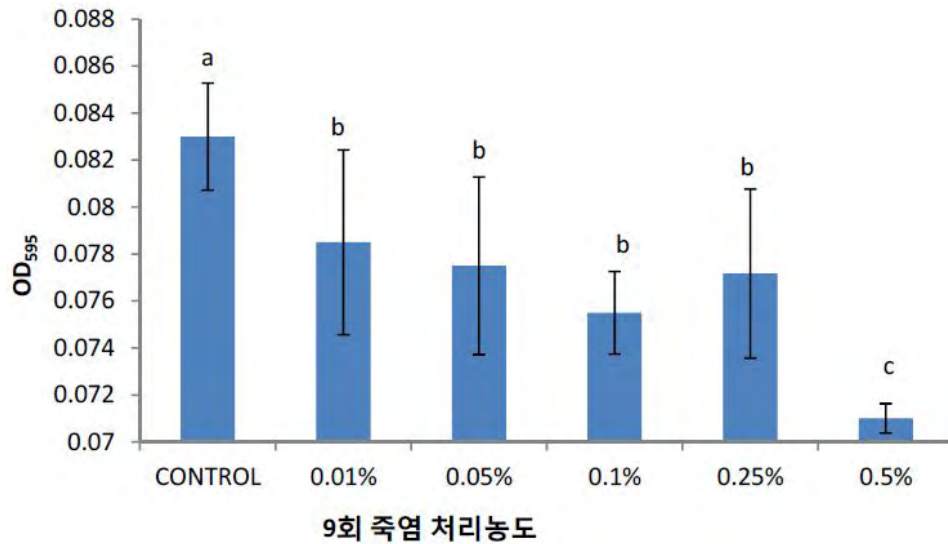


Fig. 9. Changes in OD<sub>595</sub> upon treatment of 9x bamboo salt in different concentrations.

- Oil-red O를 진행한 set에서 배양액을 덜어 glycerol 분석을 실시하였다. 96-well plate 상에 3uL의 배양액을 넣고 100uL의 glycerol reagent와 배합한 다음 상온에서 15분 방치하고 595nm의 광선을 조사해 상대적인 양을 분석하였다(Fig. 10).

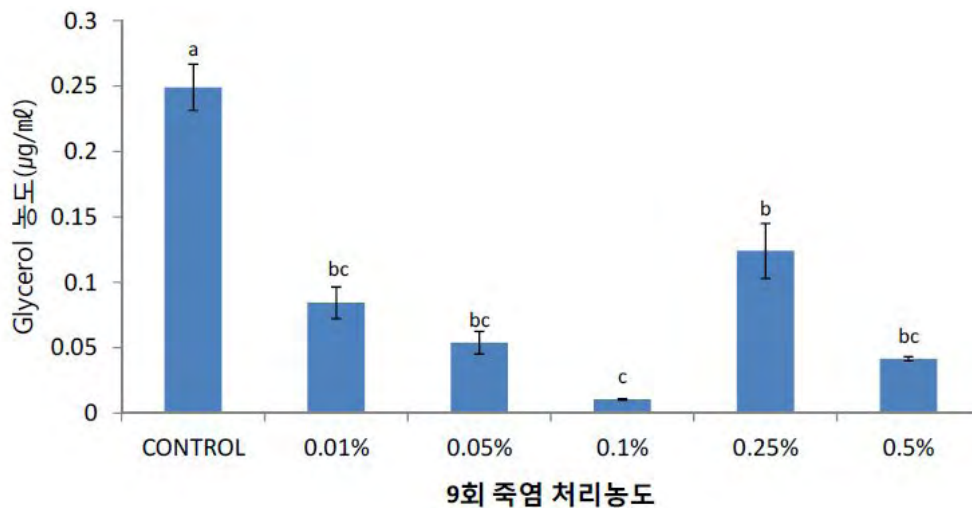


Fig. 10. Changes in glycerol secretion upon treatment of 9x bamboo salt in different concentrations.

- 이상의 실험결과로 고찰해 볼 때 oil-red O 분석과정에서 명백히 TG의 함량이 감소하여 항비만 효과가 나타나고 있었다. TG가 fatty acid와 glycerol로 분해되면서 세포 밖으로 검출되는 특성상 glycerol 분석에서는 oil-red O의 경우와 달리 농도에 따라 분비량이 증가하는 것이 일반적이다. 그러나 본 실험에서는 배양액 상의 glycerol 함량이 오히려 감소한 것으로 나타나 있다. 따라서 이러한 특이사항에 대해 죽염을 처리함으로써 glycerol의 합성이 억제된 정도 혹은 glycerol의 분해가 향진된 정도를 GPDH1, GPDH2 및 PEPCK-C 등의 인자들로써 부가적으로 규명할 필요가 있을 것으로 여겨진다. 또한 이러한 항비만 효과를 분자생물학적인 기반으로 더욱 세세히 조사할 필요가 있을 것으로 여겨진다.

: C57BL/6 mice를 이용한 항비만 기능성 분석

- 김 등의 연구에 의하면 죽염은 랫트 기준으로 최고 3000mg/kg/day 농도로 장기간 투여하였음에도 독성학적 반응을 보이지 아니하였음이 이미 나타나 있다. 따라서 이를 기반으로 동물실험을 우선적으로 진행하였다(근거논문: 김준규, 서경원, 이봉훈, 박미경, 박창원, 신동환, 홍충만, 한범석, 김윤정, 조대현. 죽염에 대한 3개월 반복투여 독성시험연구. 한국독성학회지 18:149-157. 2002.).
- 실험군 구성은 아래와 같았으며, 1개군 당 7마리의 C57BL/6 mice를 사용하였다.

Table 9. A configuration of experimental groups.

항비만 효능	
normal diet	
High-fat diet	
저농도 <sup>(*1)</sup>	정제염
	천일염
	1회 죽염
	3회 죽염
	9회 죽염
중농도 <sup>(*1)</sup>	정제염
	천일염
	1회 죽염
	3회 죽염
	9회 죽염
고농도 <sup>(*1)</sup>	정제염
	천일염
	1회 죽염
	3회 죽염
	9회 죽염

\*1) 고농도 모드는 ml 당 300mg, 중농도는 150mg, 저농도는 75mg로 산정됨.

- 당해 농도로 조제하여 매일 1회 200uL씩 경구투여하였으며, 이러한 1회 투여량은 체중 22그램의 mouse 기준으로 각각 2727, 1363, 682 mg/Kg의 농도가 된다(Table 9). 이는 체중 60kg의 성인의 섭취량으로 환산할 시 1일 10, 5, 2.5그램에 해당하며, 특히 중농도 모드는 WHO의 고혈압 예방을 위한 식이요법(DASH)을 위한 권장량에 근접하는 수치가 된다.
- 6주령의 C57BL/6 mice를 도입해 1주의 순화기간을 거친 다음 normal diet group을 제외한 모든 실험군에 40% fat 고지방 식이(D12450)를 공급하였다. 시료는 지정된 실험군에 한하여 위 지정된 투여량에 따라 경구 강제투약을 실시하였으며, 총 투약기간은 8주간이었다.
- 투여 후에는 절식 없이 부검을 실시하였으며(절식을 할 경우 지방합성과 관련된 전사인자인 SREBP의 반응이 감소한다는 연구결과가 있어 SREBP 및 이와 연결된 여타 인자들의 반응성에 대한 유의적인 결과를 내는 데 악영향을 미칠 우려가 있음), 부검시 채혈과 장기적출을 실시하였다(근거논문: Horton JD, Bashmakov Y, Shimomura I, Shimano H. Regulation of sterol regulatory element binding proteins in livers of fasted and refed

mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 5987-5992 (1998)).

[채혈] 복대정맥에서 실시하며, 채혈 즉시 혈액을 4°C에 일시 보관해 두었다가 13,000rpm 4°C하에서 centrifugation을 실시해 serum을 분리하였다. 채취한 serum은 TG, 총 콜레스테롤 및 HDL 콜레스테롤의 함량을 측정하는 데 일부 사용하였으며, 향후 ELISA 등으로서 cytokine 분석 등을 실시하는 데도 사용할 예정이다.

[장기 적출] 정소지방 및 간의 무게를 측정하고 액체질소로 급속 냉동하였으며, 후에 TriZol 혹은 protein extraction buffer 등에 담가 homogenization을 행하여 단백질 및 DNA 분석을 실시할 예정이다.

- 실험동물의 체중 변화량(Fig. 11) 및 식이효율(Fig. 12)은 다음과 같았다.

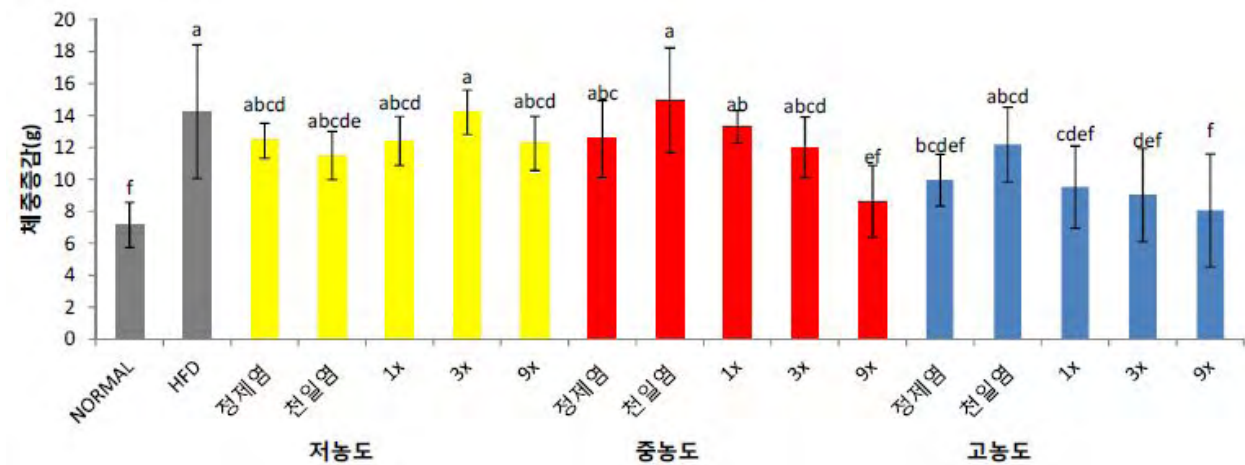


Fig. 11. Changes in average weight of mice upon treatments of salt samples.

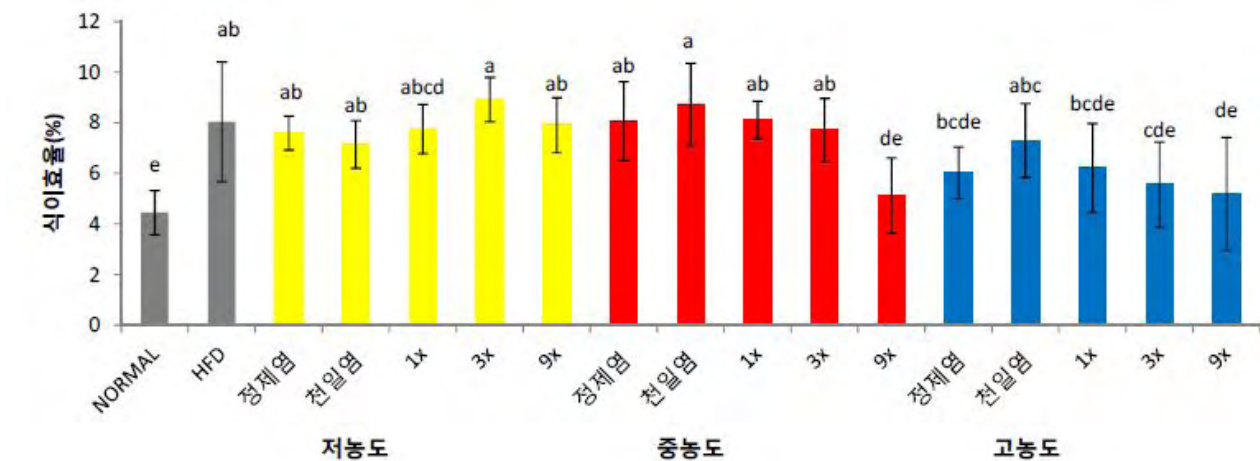


Fig. 12. Changes in average food efficiency ratio upon treatments of salt samples.

체중의 증감폭은 저농도 염분투여군 사이에서는 명백한 패턴이 나타나지 않았으나, 중농도 및 고농도 염분투여군에서는 천일염>정제염>1회죽염>3회죽염>9회죽염의 순으로 나타났다. 또한 식이효율 역시 체중의 증감폭과 비슷한 양상으로 나타났으며, 특히 죽염 실험군의 경우 죽염의 구운 횟수에 따라 체중 감소효과가 두드러지는 것을 알 수 있었다.

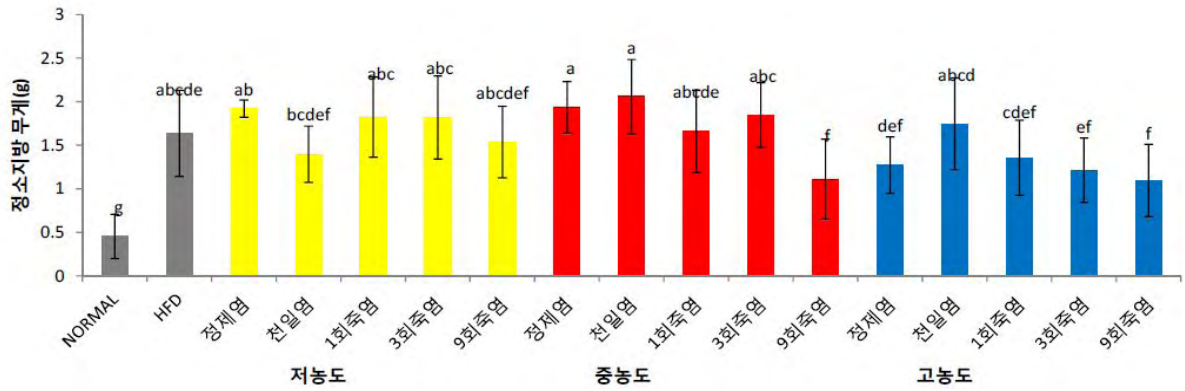


Fig. 13. Changes in average weight of epididymal adipose tissue upon treatments of salt samples.

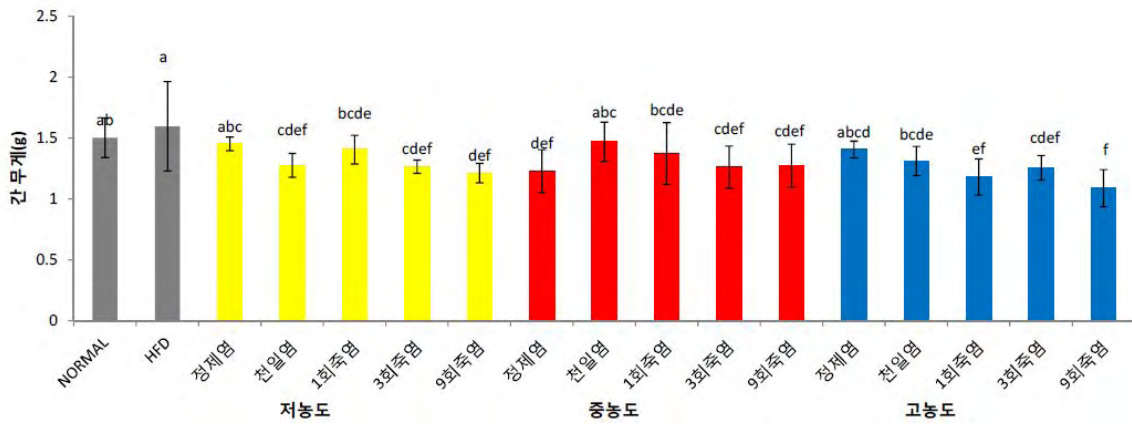


Fig. 14. Changes in average weight of liver upon treatments of salt samples.

HFD 급여군의 정소지방 무게는 normal diet group의 경우에 비해 유의적으로 증가한 것으로 나타났으며, 염분섭취군 중 9회주염 고농도 및 중농도 투여군의 정소지방 무게는 HFD 급여군과 대비하여 유의적인 감소양상을 보였다(Fig. 13). 그러나 간의 무게는 실험군간의 명백한 유의성이 나타나지 않았다(Fig. 14).

- 실험동물에서 채취한 serum으로써 TG의 함량을 분석한 결과 HFD 급여군에 비해 염분투여군의 TG 농도가 전반적으로 유의성있는 감소양상을 보였으며, 이는 체중증가폭의 변화추이와 유사하였다. TG의 함량은 다음과 같다(Fig. 15).

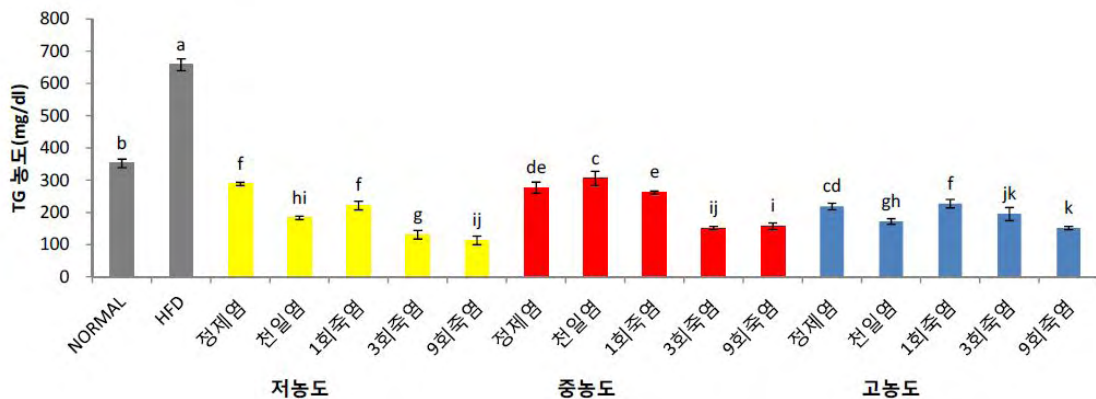


Fig. 15. Changes in average weight of triacylglycerol upon treatments of salt samples.

- 이러한 체중저감 및 지질량 감소에 간독성을 포함한 다른 요소가 영향을 미치지 않았는지 검증하기 위해 ALT/AST 및 BUN을 확인하였다.

ALT의 경우 염분투여군 전체가 HFD 급여군 및 대조군에 비해 전반적으로 유의성있는 감소양상을 보였으며(Fig. 16), AST 역시 ALT와 비슷한 양상으로 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다(Fig. 17). BUN 역시 염분투여군 모두 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다(Fig. 18).

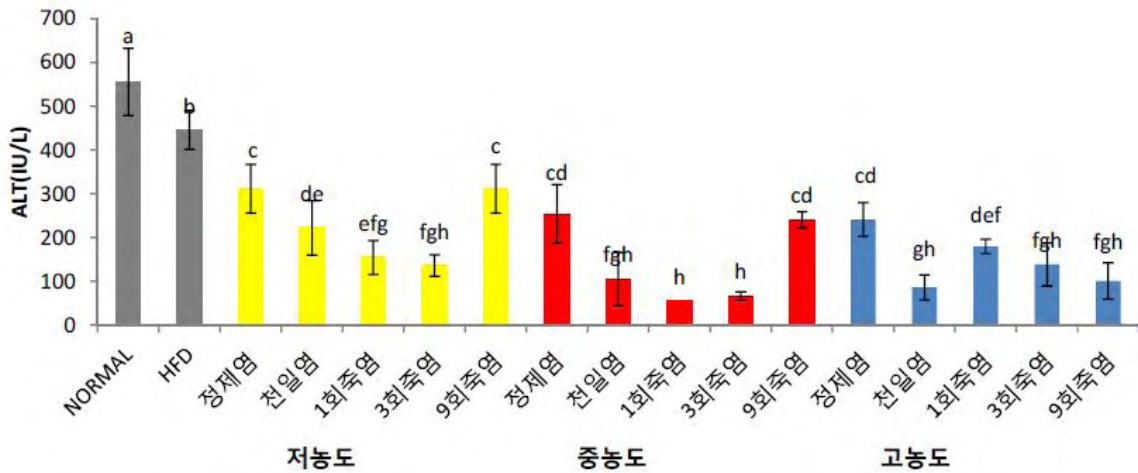


Fig. 16. Changes in average concentration of ALT upon treatments of salt samples.

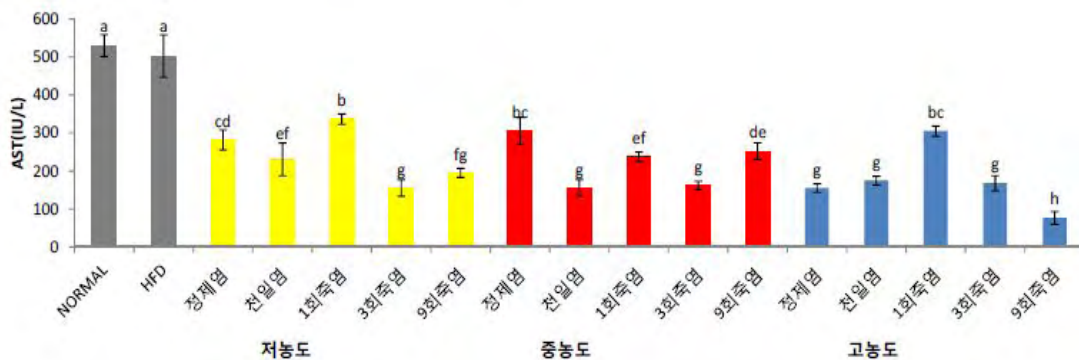


Fig. 17. Changes in average concentration of AST upon treatments of salt samples.

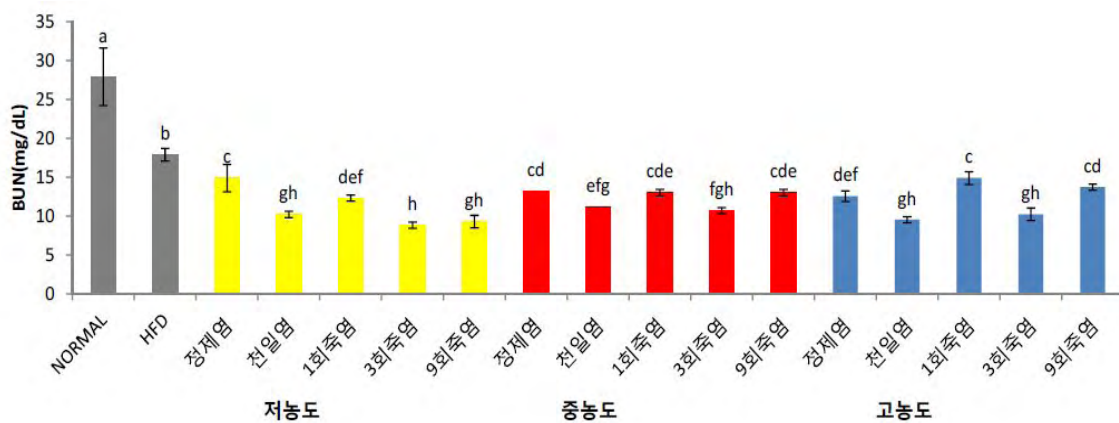


Fig. 18. Changes in average concentration of BUN upon treatments of salt samples.

이상의 결과로써 볼 때 죽엽의 체중저감 효과는 순전한 항비만 효과에 의한 것으로서 간독성 및 신장독성 등의 독성학적인 반응에 의하지 아니한 것으로 여겨진다. 특히 본 실험에서는 인간의 1일 섭취량으로 환산하여 저농도 2.5그램, 중농도 5그램, 고농도 10그램에 준하여 투약을 진행하였던 바, 차후 실험에서는 그 이상의 높은 농도로 투약해 진행할 예정이다. 또한 본 실험에서 적출해 낸 간 및 정소지방에 대해 분자생물학적인 분석을 진행할 예정이다.

○ 죽엽의 유해물질 분석, 안전성 규명 및 생산공정 표준화

- 원료준비

1. 원료 중 천일염은 국내산 1등급 이상의 양질의 천일염만을 사용한다. 이때 간수는 제거하여 사용하며 완벽히 제거되지 않더라도 굵는 과정에서 자연스럽게 유해성분이 제거된다.
2. 원료 중 대나무는 국내산 대나무만을 사용하는데 만 3~4년생 대나무만을 사용한다. 대나무는 죽엽을 만드는데 가장 중요한 원료로서 너무 크거나 연차(年差)가 오래된 대나무는 노쇠하여 약효가 줄어 대나무의 성분이 소금 깊숙이 스며들지 못하기 때문이며 자른 지름의 단면이 6~7cm 되는 것이 가장 적당하다. 또한 베어낸 지 30일 이상 되면 수액이 부족해지기 때문에 베어내서 바로 사용하는 것이 가장 좋다. 대나무는 천연유황정과 백금 기운을 얻는다.
3. 원료 중 황토지장수를 뿌리는 것은 황토의 기운을 전사시키기 위함이며, 소나무 장작으로 불을 피워 굵는 것은 소나무 송진속의 거약생신작용 등을 합성하기 위함이다. 이때 소나무 장작은 잘 마른 소나무 장작이라야 하며, 철의 기운을 전사시키기 위하여 철제 그릴을 사용한다.

- 제조공정

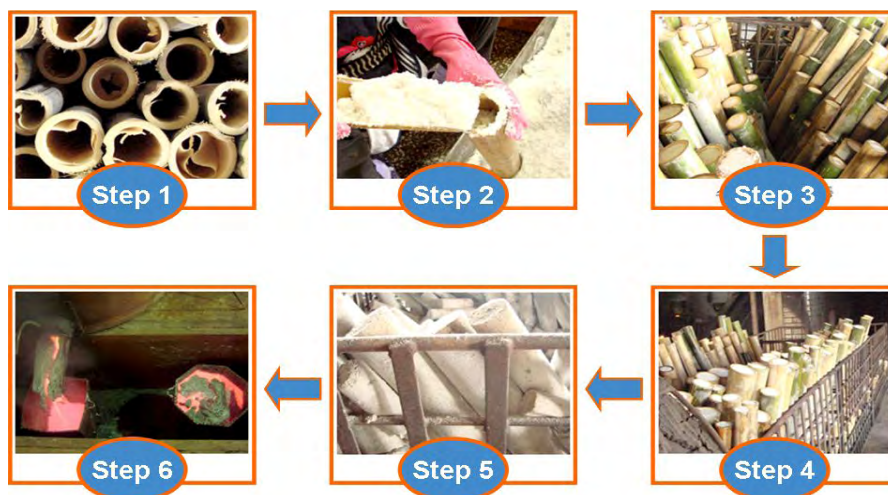


Fig. 19. A procedure of manufacture of bamboo salt.

1. 국내산 천일염을 3~5년생 국내산 생대나무통에 잘 다져넣고 황토지장수를 뿌린 다음 황토가마 속에 넣고 소나무 장작을 때면서 약 850℃의 온도로 약 6~8시간 이상을 굵는다. 이 과정에서 소금속의 유해성분은 제거되고 대나무가 타면서 대나무의 수액(천연유황성

분, 기타 미네랄 등)이 소금기둥 속에 스며들게 된다.

2. 소금 기둥을 파쇄(소금 size) 제분한다.

3. 구워진 죽염을 생대나무통에 넣고 굽기를 8회 반복하여 작업한다. 이때 2회부터 8회까지는 약 3~4시간 이상을 굽는다.

4. 8회까지 구워진 죽염기둥을 용융로에 적재하여 소나무 장작불에 송진가루를 더해 열을 가해 1500도 이상의 극강한 열을 가해 용융한다. 죽염을 1,500℃ 이상의 극강한 고온에서 용융시키는 것은 소금의 유해물질을 완전히 제거함은 물론 대나무, 소나무, 황토, 송진 기운이 합성 될 수 있도록 열처리하여 이로운 것은 생하고 나쁜 것은 멀하여지는 과정을 통해 얻어지는 고파동 에너지 물질이다.

5. 열이 식은 죽염을 파쇄 및 제분하여 포장화 작업한다(Fig. 19).

이상의 과정을 표준화하기 위해 죽염공장에서는 소금의 종류에 따른 시료, 지장수 및 황토이용에 대한 시료, 대나무 종류에 따른 시료 등을 준비하여 기능성 등을 평가하므로 이에 대한 표준화 공정을 진행하여 특허로 제출하고 참여 죽염회사에 기술을 이전할 예정이다(6월 30일까지).

#### - 안전성 규명

상기와 같이 죽염은 생대나무통에 넣어 소나무 장작을 때면서 850℃ 이상의 온도로 가공하는 만큼 제조과정 상에서 다이옥신, 벤조피렌 등의 유해성분이 검출될 가능성이 제기될 수 있다. 따라서 본 프로젝트에서는 이상의 주안점을 염두에 두고 죽염의 안전성을 규명하였다.

#### [벤조피렌 분석]

식품공전에 죽염 중 벤조피렌 기준 및 시험법이 명시되어 있지 않아 식품의약품안전평가원에서 제작한 “식품 중 벤조피렌 분석법” 중 IV. 건조제품에 따라 시험하였다. 표준 용액과 시험용액의 제법은 아래와 같았다(Table 10).

Table 10. A procedure of benzo(a)pyrene analysis.



<p>STD</p> <p>Benzo[a]pyrene (purity 97.4%) 10.3 mg 取</p> <p>↓ ACN 加 to 100 mL (100.0 mg/L)</p> <p>↓ ACN으로 희석</p> <p>↓ IS (100 ug/L) 1 mL 取</p> <p>↓ ACN 加 to 10 mL</p> <p>↓</p> <p>STD (0.5, 1.0, 2.0, 5.0, ug/L)</p> <p>↓</p> <p>표준용액</p>	<p>SPL</p> <p>검체 약 5 g 取</p> <p>↓ 증류수 50 mL 加</p> <p>↓ 분액깔대기에 옮김</p> <p>↓ IS 1mL+Hex 100mL 加</p> <p>↓ 흔들어 섞은 후 정치</p> <p>↓ hex 층 분리</p> <p>↓ 물층에 hex 50 mL 加</p> <p>↓ hex 층 분리</p> <p>↓ hex 층을 합하고 증류수로 50mL로 2회세척</p> <p>↓ Hexane 층을 취해</p> <p>↓ sodium sulfate로 탈수 여과</p> <p>↓ 약 2 mL로 감압농축 (40°C 이하)</p> <p>후로리실 카트리지를 활성화</p> <p>↓ DCM 10 mL 및 hexane 20 mL 흘려 줌</p> <p>↓ 시료농축액 loading</p> <p>↓ Hexane 5 mL, Hexane:DCM(3:1) 15 mL 로 용출</p> <p>↓ 농축</p> <p>↓ 잔류물에 ACN 1mL 加</p> <p>↓ 0.45 um 멤브레인필터로 여과</p> <p>시험용액</p>
<p>※ Internal STD</p> <p>3-methylcholantrene(purity 99.7%) 10 mg 取</p> <p>↓ ACN 加 to 100 mL (100 mg/L)</p> <p>↓ ACN으로 희석</p> <p>100 ug/L</p> <p>↓ 1 mL 取</p> <p>↓ ACN 加 10 ug/L</p>	

HPLC의 분석조건 및 사용한 시약은 아래와 같았다(Table 11).

Table 11. Technical specifications of benzo(a)pyrene analysis.

컬럼 : Supelcosil LC-PAH (4.6×250 mm, 5 μm, Supelco)  
 컬럼온도 : 40°C  
 이동상 : Acetonitrile : Water (80:20, v/v)  
 검출 : 형광검출기 (Ex 294 nm, Em 404 nm)  
 주입량 : 10 μl  
 유속 : 1.0 mL/min

시약명	제조회사 및 순도
Benzo[a]pyrene	Sigma, 97.4%
3-methylcholantrene	Supelco, 99.7%
Hexane	Burdick & Jackson, 99.9%

Dimethylformamide	Merck
Sodium sulfate	Merck, ≥99.0%
Dichloromethane	Junsei, 98.0%
ACN	Merck, 99.9%
Florisil cartridge	Strata FL-PR Florisil, 1000 mg/6 mL

Benzopyrene(0.5 ppb)을 표준용액으로 사용하여 분석한 결과는 아래와 같았다(Table 12).

Table 12. Results of benzo(a)pyrene analyses from various salts.

검체명	검체량 (g)	결과
천일염	5.0459	불검출
삼보 1회 죽염	5.0487	불검출
삼보 3회 죽염	5.0945	불검출
삼보 9회 죽염	5.0179	불검출

벤조피렌은 식품 등을 태울 때 발생하는 연기에 함유된 것으로 알려진 발암물질로서 죽염 역시 최고 9회까지 열처리를 하는 만큼 그 문제에 직면할 가능성을 배제할 수 없다. 그러나 본 실험에 쓰인 삼보 1회, 3회 및 9회 죽염의 경우 벤조피렌이 검출되지 않았으며, 이는 그만큼 죽염의 안전성을 주장할 수 있는 강력한 근거가 될 수 있겠다.

### [다이옥신]

본 연구에서는 천일염, 삼보 1회 죽염, 3회 죽염, 9회 죽염에 대해 분석을 실시하였다. 추출 및 정제 공정은 식품의약품안전청공고 제2007-23호 식품등 중 기준규격미설정 물질의 시험방법(안)에 준거하여 다음과 같이 진행하였으며, 분석 공정은 환경부 고시 제 2010-11호 잔류성유기오염물질 공정시험법에 준해 진행하였다.

추출: 검체 약 20g을 취하여 500ml 분액여두에 넣고 증류수 100ml로 녹인 다음 묽은 염산을 사용하여 pH를 2로 조정하였다. 공시료 및 시료에는 동위원소 표준물질을 첨가하고, 회수율 측정용 시료에는 동위원소 표준물질 및 대용표준물질을 첨가하여 디클로로메탄 (100ml)를 넣어 진탕기로 5분간 심하게 흔들어서 섞은 후 정치하여 디클로로메탄층을 취하였다. 물 층에 각각 디클로로메탄 100ml 및 50ml를 넣어 위와 같이 되풀이하여 디클로로메탄층을 위의 디클로로메탄층에 합친 후, 디클로로메탄을 무수황산나트륨으로 탈수한 다음 40°C 이하의 수욕상에서 감압하여 날려 보내고 잔사에 hexan 적당량을 가하여 녹였다.

정제: 실리카겔 칼럼에 위의 추출액을 가하여 hexan으로 용출시키고 그 용출액을 알루미늄 칼럼에 가한 후 2% 디클로로메탄 함유 hexan으로 방해물질을 제거한 다음 50% 디클로로메탄 함유 hexan으로 다시 용출시켰다. 이 알루미늄칼럼에 용출액을 카본칼럼에 가하고 50% 에틸초산 함유 벤젠 및 hexan의 순으로 방해물질을 정제한 다음 톨루엔으로 역유출하여 농축했다. 농축액에 실린지 첨가용 내부표준물질을 첨가한 후 시험용액으로

삼았다.

분석:

정성분석: 크로마토그램상의 peak와 준용액 peak의 retention time과 일치하는지 확인하여 당해 시료가 준용액 상의 성분을 보유하고 있는지 확인하였다. 또한 측정된 선택이온 2개의 이온세기 비율이 이론값에 대하여  $\pm 15\%$  이내에 있는지 확인하였다. 단, 모든 신호 대 잡음(S/N)비는 2.5보다 커야 하며, 정량용  $^{13}\text{C}_{12}$  및  $^{37}\text{C}_{12}$ 의 경우는 10보다 커야 한다.

정량분석: 정성시험과 동일한 조건에서 얻어진 시험결과에 의해 검출된 각각의 다이옥신류에 대해 이에 대응하는 정량용  $^{13}\text{C}_{12}$ 체 및  $^{37}\text{C}_{12}$ 체 표준물질로 상대검량선법으로 정량하였다. 또한 동위원소 표준물질  $^{37}\text{C}_4$ 체-2,3,7,8-TCDD와  $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8 등 15종의 내부표준물질에 대한 농도를 절대검량선법으로 구하여 회수율을 계산하였다.

결과:

천일염의 다이옥신 분석결과는 아래와 같다(Table 13).

Table 13. Results of dioxin analysis with Sambo sun-dried salt used for making the bamboo salts.

No.	화합물	독성등가 환산계수 (I-TEF)	실측값 (pg)	실측농도 (pg/g)	독성등가 환산농도 (pg-TEQ/g)
1	2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
2	1,2,3,7,8-P <sub>5</sub> CDF <sup>3)</sup>	0.050	6.3494	0.7937	0.0397
3	2,3,4,7,8-P <sub>5</sub> CDF	0.500	5.5121	0.6890	0.3445
4	1,2,3,4,7,8-H <sub>6</sub> CDF <sup>3)</sup>	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
5	1,2,3,6,7,8-H <sub>6</sub> CDF	0.100	3.0615	0.3827	0.0383
6	2,3,4,6,7,8-H <sub>6</sub> CDF	0.100	4.1244	0.5156	0.0516
7	1,2,3,7,8,9-H <sub>6</sub> CDF	0.100	5.1142	0.6393	0.0639
8	1,2,3,4,6,7,8-H <sub>7</sub> CDF	0.010	2.6519	0.3315	0.0033
9	1,2,3,4,7,8,9-H <sub>7</sub> CDF	0.010	2.9131	0.3641	0.0036
10	O <sub>8</sub> CDF	0.001	0.0000	0.0000	0.0000
11	2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDD	1.000	0.0000	0.0000	0.0000
12	1,2,3,7,8-P <sub>5</sub> CDD	0.500	0.0000	0.0000	0.0000
13	1,2,3,4,7,8-H <sub>6</sub> CDD	0.100	4.5880	0.5735	0.0574
14	1,2,3,6,7,8-H <sub>6</sub> CDD	0.100	2.8069	0.3509	0.0351
15	1,2,3,7,8,9-H <sub>6</sub> CDD	0.100	4.8484	0.6061	0.0606
16	1,2,3,4,6,7,8-H <sub>7</sub> CDD	0.010	8.5062	1.0633	0.0106
17	O <sub>8</sub> CDD	0.001	7.5811	0.9476	0.0009
	SUM		58.057	7.257	<b>0.710</b>

1회죽염에서는 다이옥신이 검출되지 아니하였으며 그 결과는 아래와 같다(Table 14).

Table 14. Results of dioxin analysis with Sambo bamboo salt (1x; single-baked).

No.	화합물	독성등가 환산계수 <sup>1)</sup>	실측값 (pg)	실측농도 (pg/g)	독성등가 환산농도 <sup>2)</sup> (pg-TEQ/g)
-----	-----	-------------------------	----------	-------------	------------------------------------

		(I-TEF)			
1	2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
2	1,2,3,7,8-P <sub>5</sub> CDF <sup>3)</sup>	0.050	0.0000	0.0000	0.0000
3	2,3,4,7,8-P <sub>5</sub> CDF	0.500	0.0000	0.0000	0.0000
4	1,2,3,4,7,8-H <sub>6</sub> CDF <sup>3)</sup>	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
5	1,2,3,6,7,8-H <sub>6</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
6	2,3,4,6,7,8-H <sub>6</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
7	1,2,3,7,8,9-H <sub>6</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
8	1,2,3,4,6,7,8-H <sub>7</sub> CDF	0.010	0.0000	0.0000	0.0000
9	1,2,3,4,7,8,9-H <sub>7</sub> CDF	0.010	0.0000	0.0000	0.0000
10	O <sub>8</sub> CDF	0.001	0.0000	0.0000	0.0000
11	2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDD	1.000	0.0000	0.0000	0.0000
12	1,2,3,7,8-P <sub>5</sub> CDD	0.500	0.0000	0.0000	0.0000
13	1,2,3,4,7,8-H <sub>6</sub> CDD	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
14	1,2,3,6,7,8-H <sub>6</sub> CDD	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
15	1,2,3,7,8,9-H <sub>6</sub> CDD	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
16	1,2,3,4,6,7,8-H <sub>7</sub> CDD	0.010	0.0000	0.0000	0.0000
17	O <sub>8</sub> CDD	0.001	0.0000	0.0000	0.0000
	SUM		0.000	0.000	0.000

3회죽염의 다이옥신 분석결과는 아래와 같다(Table 15).

Table 15. Results of dioxin analysis with Sambo bamboo salt (3x; triple-baked).

No.	화합물	독성등가 환산계수 (I-TEF)	실측값 (pg)	실측농도 (pg/g)	독성등가 환산농도 (pg-TEQ/g)
1	2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
2	1,2,3,7,8-P <sub>5</sub> CDF <sub>3</sub> )	0.050	0.0000	0.0000	0.0000
3	2,3,4,7,8-P <sub>5</sub> CDF	0.500	1.1482	0.1435	0.0718
4	1,2,3,4,7,8-H <sub>6</sub> CDF <sub>3</sub> )	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
5	1,2,3,6,7,8-H <sub>6</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
6	2,3,4,6,7,8-H <sub>6</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
7	1,2,3,7,8,9-H <sub>6</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
8	1,2,3,4,6,7,8-H <sub>7</sub> CDF	0.010	0.0000	0.0000	0.0000
9	1,2,3,4,7,8,9-H <sub>7</sub> CDF	0.010	0.0000	0.0000	0.0000
10	O <sub>8</sub> CDF	0.001	0.0000	0.0000	0.0000
11	2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDD	1.000	0.0000	0.0000	0.0000
12	1,2,3,7,8-P <sub>5</sub> CDD	0.500	0.0000	0.0000	0.0000
13	1,2,3,4,7,8-H <sub>6</sub> CDD	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
14	1,2,3,6,7,8-H <sub>6</sub> CDD	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
15	1,2,3,7,8,9-H <sub>6</sub> CDD	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
16	1,2,3,4,6,7,8-H <sub>7</sub> CDD	0.010	0.0000	0.0000	0.0000
17	O <sub>8</sub> CDD	0.001	0.0000	0.0000	0.0000
	SUM		1.148	0.144	<b>0.072</b>

9회죽염에서는 다이옥신이 검출되지 아니하였으며 그 결과는 아래 표와 같다(Table 16).

Table 16. Results of dioxin analysis with Sambo bamboo salt (9x; nine-time-baked).

No.	화합물	독성등가 환산계수 <sup>1)</sup> (I-TEF)	실측값 (pg)	실측농도 (pg/g)	독성등가 환산농도 <sup>2)</sup> (pg-TEQ/g)
1	2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
2	1,2,3,7,8-P <sub>5</sub> CDF <sup>3)</sup>	0.050	0.0000	0.0000	0.0000
3	2,3,4,7,8-P <sub>5</sub> CDF	0.500	0.0000	0.0000	0.0000
4	1,2,3,4,7,8-H <sub>6</sub> CDF <sup>3)</sup>	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
5	1,2,3,6,7,8-H <sub>6</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
6	2,3,4,6,7,8-H <sub>6</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
7	1,2,3,7,8,9-H <sub>6</sub> CDF	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
8	1,2,3,4,6,7,8-H <sub>7</sub> CDF	0.010	0.0000	0.0000	0.0000
9	1,2,3,4,7,8,9-H <sub>7</sub> CDF	0.010	0.0000	0.0000	0.0000
10	O <sub>8</sub> CDF	0.001	0.0000	0.0000	0.0000
11	2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDD	1.000	0.0000	0.0000	0.0000
12	1,2,3,7,8-P <sub>5</sub> CDD	0.500	0.0000	0.0000	0.0000
13	1,2,3,4,7,8-H <sub>6</sub> CDD	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
14	1,2,3,6,7,8-H <sub>6</sub> CDD	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
15	1,2,3,7,8,9-H <sub>6</sub> CDD	0.100	0.0000	0.0000	0.0000
16	1,2,3,4,6,7,8-H <sub>7</sub> CDD	0.010	0.0000	0.0000	0.0000
17	O <sub>8</sub> CDD	0.001	0.0000	0.0000	0.0000
	SUM		0.000	0.000	0.000

당해 식품 검체 20그램에 대한 다이옥신의 기준치가 5 pg인 것을 참작할 때 천일염과 3회 죽염에서 각각 0.71 pg, 0.072 pg이 검출된 데 그쳤고, 1회 및 9회죽염에서 불검출로 나타난 것은 그만큼 죽염의 안전성을 주장할 수 있는 근거가 될 수 있겠다. 천일염 (0.71pg)에 있던 다이옥신이 죽염제조 상의 열처리 과정을 통해 0-0.072pg 수준으로 제거되는 것도 중요한 점이라 할 수 있겠다.

#### ○ 죽염의 물리화학적 특성 분석

: Scanning electron microscope (SEM) - 주사전자현미경은 전자선이 시료면 위를 주사할 때 시료에서 발생하는 여러 가지 신호 중 그 발생확률이 가장 많은 이차전자(secondary electron) 또는 반사전자(back scattered electron)를 검출하는 것으로 대상 시료를 관찰하였다.

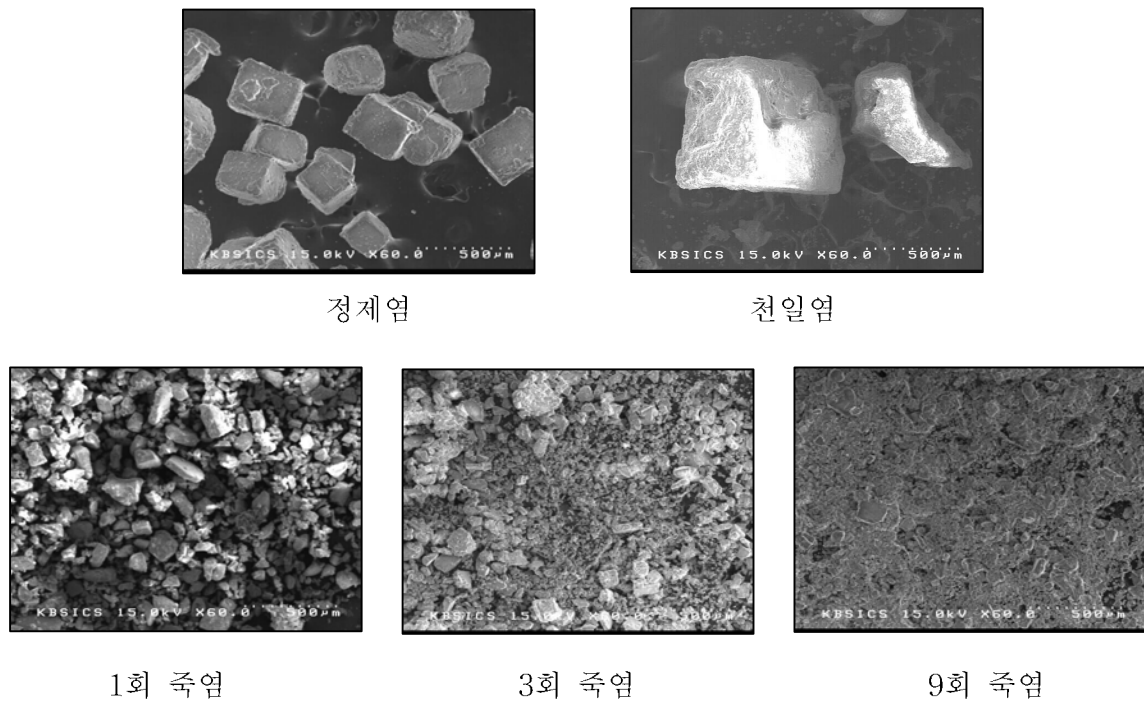


Fig. 20. The photograph of 5 different kinds of salts in SEM method (×60)

Fig. 20에서 보는 바와 같이 정제염은 일정한 규격을 갖는 결정형이었고, 천일염은 불규칙적이며 결정이 크게 나타났다. 한편, 1회, 3회, 9회 구운 죽염은 입자가 작으며 소금이 용융되어 있는 형태를 보이고 있다. 결정구조는 부드럽고 결정과립도 천일염과 한주소금보다 매우 작다.

: Ray Diffraction (XRD) - 분해능이 12"인 Ge(220) 결정을 이용하는 2축 회절기로서, XRD 스펙 트럼 모사에는 SLS의 구조와 측정된 SSP 간격으로부터 간단히 단일 주기의 평균두께를 구할 수 있는 상용 초격자 분석 프로그램 (PeakSplit, K.M. Software)이 이용된다. 아래 그림에서 NaCl의 표준도를 보면 X선의 각도(2θ)는 31도에서 peak가 가장 강도가 큰 것을 알 수 있는데, 샘플로 사용한 8가지의 소금의 X선회절 스펙트럼 결과 이와 같음을 알 수 있었다. 따라서 5가지 소금의 주요 성분은 NaCl이라고 할 수 있다. 한주소금과 천일염의 주요 peak는 X선의 각도(2θ)의 31도, 45도에서 peak를 강하게 나타냈고 그 peak는 NaCl의 주요 peak이다. 따라서 한주소금, 천일염 및 죽염의 주요 물질은 NaCl을 함유하고 있다고 하겠다. 죽염의 각도(2θ)는 45도와 31도에서외도 56, 66, 75, 83도에서 peak를 나타낸다. 그래서 죽염은 NaCl 이외의 다른 물질도 함유하고 다른 소금보다 미량 원소를 많이 함유하고 있다. 그 미량원소로는 Fe, Ca, K 등을 다른 소금보다 많이 함유하고 있다고 하겠다(Fig. 21).

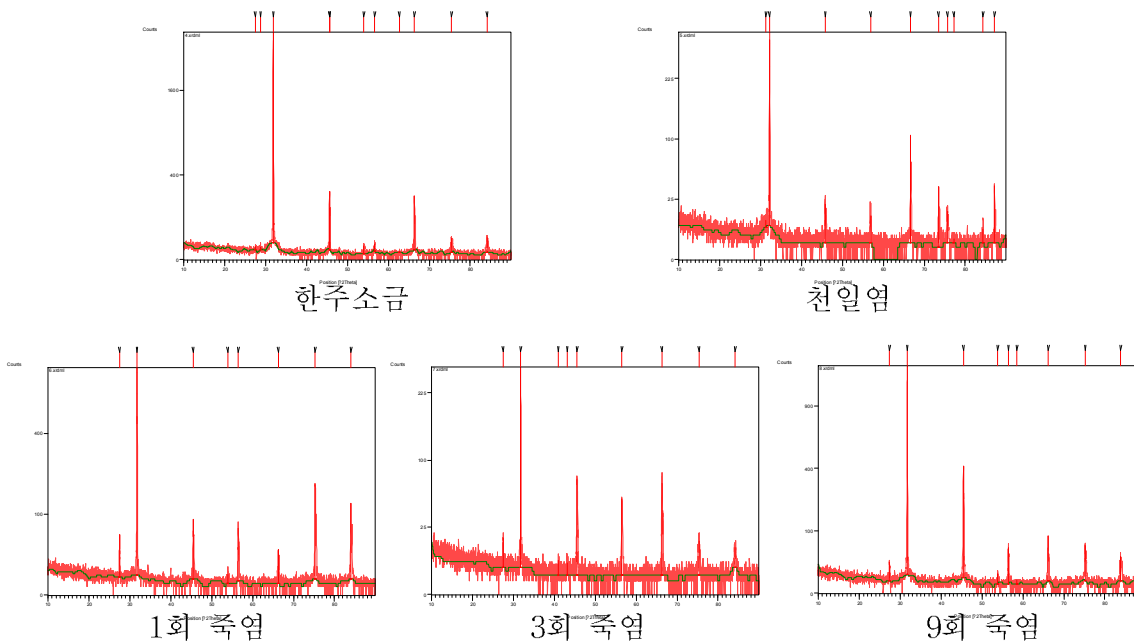


Fig. 21. Chromatograms of XRD in 5 kinds of salts

○ ICP(Inductively coupled plasma)를 이용한 죽염의 미량 원소 조성 분석

- 9회 구워 제조한 죽염과 시판중인 천일염과의 차이를 분석·비교한 결과는 다음과 같다;

죽염: Si (72.01 ppm), Al (15.57 ppm), Fe (145.97 ppm), S (0.27 ppm)

천일염: Si (0.50 ppm), Al (1.84 ppm), Fe (1.84 ppm), S (0.39 ppm)

Si, Al, Fe의 조성이 증가한 원인은 죽염의 제조시 사용된 황토에서 유입되어 천일염보다 높은 수치를 나타내는 것으로 사료되며, 반면에 S의 조성은 죽염이 천일염보다 낮은 수치를 보이는데 이는 죽염 제조시 SO<sub>2</sub> 가스의 증발에 의한 것으로 사료된다.

- S원소의 경우, 촉매의 표면상태와 황원자의 산화상태를 알아보기 위하여 VG Scientific의 ESCA;AB MK-111를 사용하여 XPS 측정을 실시하였으며, 이를 통해(168.38 eV), Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>와 같은 화학종으로 존재하는 것으로 판단된다. 현재 당해 내용은 Journal of Agricultural and Food Chemistry에 투고예정이다.

: 죽염의 항산화성 특성

정제염, 천일염과 죽염의 OH함량을 FT-IR 기계를 이용하여 비교하였다 (Fig. 22). FT-IR 피크의 높이는 대략적으로 수분이 충분한 상태에서 OH함량을 표시한다. Wavelength 3429 cm<sup>-1</sup>에서 정제염과 천일염의 peak는 0.05과 0.138 absorbance unit을 나타냈고 죽염은 0.323 absorbance unit을 나타냈다. 따라서 죽염이 천일염과 정제염과 비교하여 OH기를 많이 함유하고 있음을 나타내었으며, 이 높은 OH기는 죽염의 항산화능력과 연관이 있으리라고 사료된다.

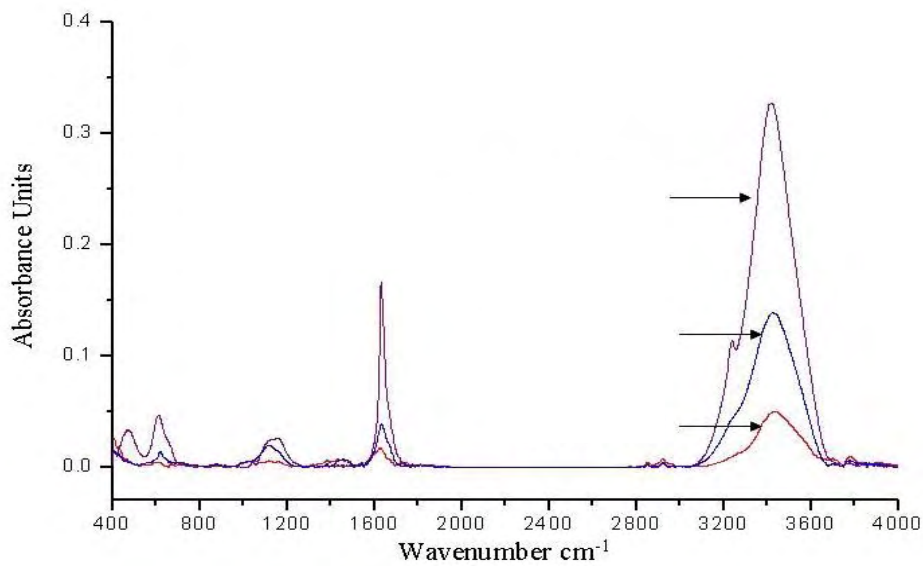


Fig. 22. FT-IR (Fourier transform infrared spectroscopy) in purified salt, solar salt and bamboo salt

DPPH radical 소거 활성법은 소금 시료의 free radical 소거 능력이나 수소 공여능력을 평가하는 방법으로써 안정적이고 간단하며, 재현성이 높아 널리 사용된다. Fig. 23에서는 소금농도 1%부터 25%농도까지 정제염, 천일염과 죽염의 항산화 실험결과를 나타내고 있다. 정제염과 천일염은 25%의 높은 농도에서도 2.0와 5.0%만의 소거 효과를 나타내었다. 죽염은 1~25%농도에서 농도에 따라 활성산소 소거 효과도 증가하였고 25% 농도에서는 81.4%의 높은 radical 소거 효과를 나타냈었다 ( $p < 0.05$ ). 따라서 천일염과 정제염은 free radical 소거능이 거의 나타나지 않았고 죽염은 농도 의존적으로 항산화 효과가 증가되어 소금으로서의 역할뿐 아니라 산화 및 노화 억제제로서 효과가 있는 건강소금으로 나타났다.

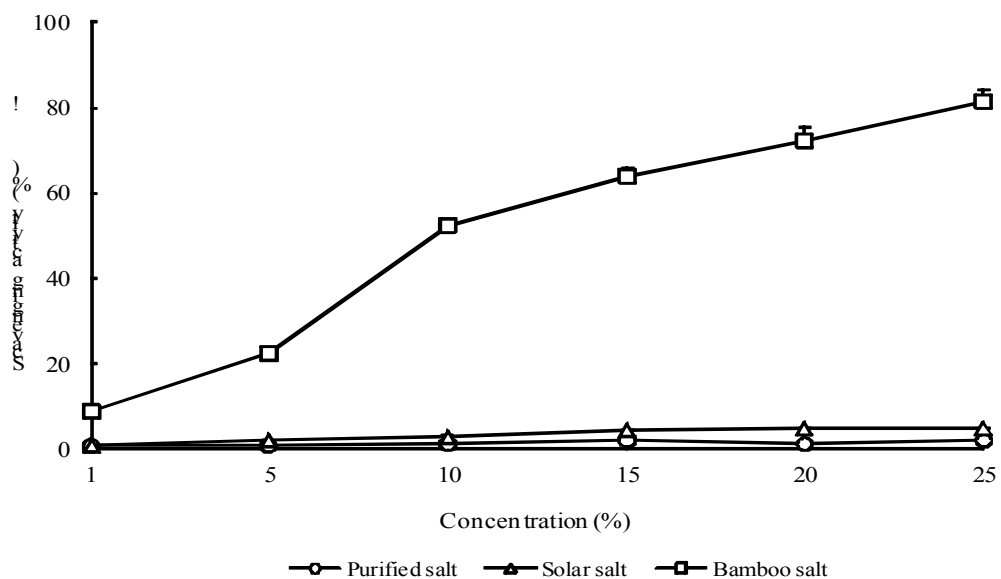


Fig. 23. DPPH radical scavenging activity of purified salt, solar salt and bamboo salt



○ 에스테르를 포함하는 주석(IV) 착물의 가수분해에 죽염이 미치는 영향

- 9회 구워 제조한 죽염, 시판중인 천일염 및 시약 등급의 염화나트륨에 대한 pH를 측정한 결과는 다음과 같다;

10.00-10.90 (죽염), 8.20-8.40 (천일염), 7.00-7.30 (염화나트륨)

즉, 죽염은 약 알칼리성을 나타냄을 알 수 있었다.

- 앞서의 pH측정 결과를 이용하여 에스테르를 포함하는 주석(IV) 착물(PVC 안정제로 큰 관심을 받고 있으며, 포유류에 대해 낮은 독성을 나타냄)의 가수분해 반응의 조절에 응용하였다. 특히  $\text{CH}_3\text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{SnCl}_3$  주석(IV) 착물에 대하여 NMR(Nuclear magnetic resonance)을 이용하여 모니터링 결과, 아래의 그림과 같이  $\text{Cl}^-$  음이온과 에스테르 작용기가 2단계로 가수분해 되는 현상을 발견할 수 있었다(Fig. 24).

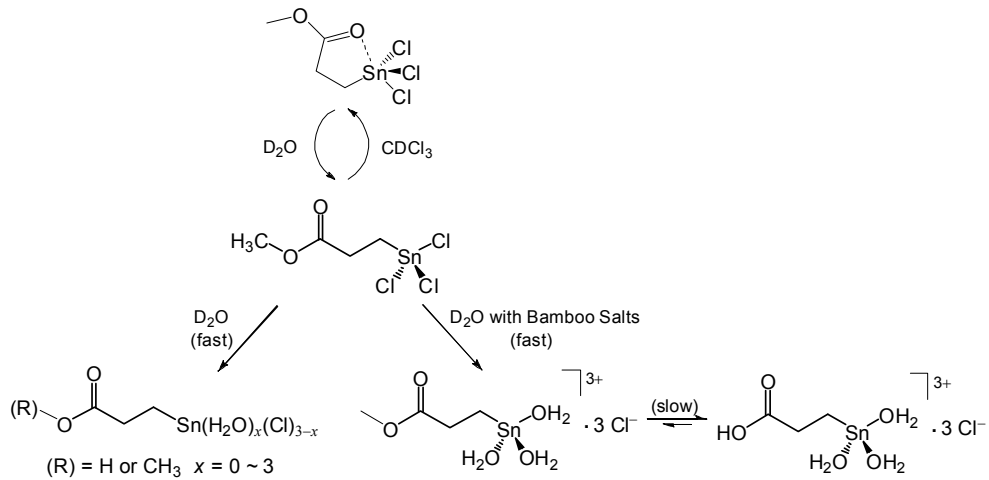


Fig. 24. Hydrolysis of chlorine ion and ester functional group with or without bamboo salt.

- 금속 할로젠(metal halides)을 죽염 수용액과 적절히 처리하면 나노입자 금속 산화물의 제조에도 이용가능하다.

\*위의 주석(IV) 착물의 가수분해 연구 결과는 Bulletin of the Korean Chemical Society (SCI) *in press*.

#### 4. 연구성과

가. 기술적 연구성과 기재

○ 연구성과(건수로 표기)

구분	연구논문	학술발표	지식재산권	기술이전/제품 화	기타	계
1년도	2 <sup>(1)</sup>	8 <sup>(2)</sup>	1(진행중; <sup>3)</sup>	1(진행중; <sup>4)</sup>		

\*1)

<1세부>

출간 1건: “Bamboo salt reduces allergic responses by modulating the caspase-1 activation in an OVA-induced allergic rhinitis mouse model“ (Food and Chemical Toxicology)

<2세부>

출간 1건: “Bamboo salt effects on hydrolysis of estertin(IV) complex.”(Bulletin of the Korean Chemical Society)

\*2)

<1 세부>

**국내발표: 4건** (oral presentation: 2건, poster presentation 2건)

2011 소금박람회 심포지움

갯벌천일염의 명품화 전망 학술대회:

(2011.09.02. 전라남도 신안군 증도면 신안갯벌센터 3층 유네스코 홀 Oral 발표)

1. 자숙염의 약리학적 효과 연구 (Oral)

2011 International Symposium & Annual Meeting of the KSABC

(2011.10.20.-10.22 제주 ICC Poster 발표)

1. Purple Bamboo-Salt Prevents Apoptosis of Auditory Hair Cell through the Blockade of Caspase-1 Activation (Poster)

2011 한국식품영양과학회

Functional Fusion and Systemic Approaches to Future Foods 학술대회:

(2011.10.31-11.02 부산 BEXCO-Oral and Poster 발표)

1. Protective Effect of Bamboo Salt on Cochlear Hair Cell Loss (Oral)

2. The Effect of Purple Bamboo Salt on a Mice Model of Allergic Rhinitis (Poster)

<2 세부>

국내 발표: 4건 (oral presentation 1건: poster presentation 3건)

- The 21<sup>st</sup> International Conference of the Korean Society for Gerontology(2011.7)에서 포스터 발표  
“Antioxidation and antiinflammation effects of bamboo salt”

- 제40차 한국식품영양과학회(2011.10)에서 구두 발표 “죽염 및 죽염발효식품의 암예방효과”

포스터 발표 “Protective effect of bamboo salt on hepatitis in SD-rats” “Antimutagenic and anticancer effects of bamboo salt”

\*3) 죽염 제조방법에 따른 건강기능성 증진 및 유해성 억제에 대한 실험이 진행중이며 6월 말에 완성 예정

\*4) 특허실험 결과로 기술이전예정

나. 경제·사회적 연구 성과 기재(정책활용, 홍보, 교육지도 등)

○ 정책활용

<1세부>

2011소금 박람회 심포지움, 2011 International Symposium & Annual Meeting of the KSABC 학술대회회, 및 2011년 한국식품영양과학회 Functional Fusion and Systemic Approaches to Future Foods 학술대회에서 죽염의 다양한 기능에 대해 발표함으로써 죽염의 항알레르기, 청각보호, 항비만, 및 항암 기능성을 발표-홍보하였으며, 당해 죽염의 메커니즘 규명에 대한 연구를 지속적으로 진행하고 있음.

<2세부>

죽염의 항암기능성에 대해 2011년 한국식품영양과학회 Functional Fusion and Systemic Approaches to Future Foods 학술대회 중 소금 Session(죽염 및 죽염발효식품의 암예방효과-구두발표)에서 죽염과 죽염 발효식품의 항암기능성에 대해 발표함으로써 죽염의 항암기능성을 발표-홍보하였고, 이러한 메커니즘의 규명이나 다른 실험계에서의 확인 등을 정확하게 지속적으로 진행하고 있음. 죽염의 항암성, 항비만성, 안전성 및 과학적 제조방법 등이 규명됨으로써 소금의 세계화에 이 결과들이 그대로 사용될 수 있음.

○ 언론홍보 및 대국민교육

- 주관연구책임자인 김형민교수가 회장으로 역임한 바 있는 대한자죽염연구학회에서 본과제의 수행결과를 발표함.

언론홍보 내용

1. 죽염, 굵는 횡수 증가할수록 염증 관련 유전자 발현 억제(2011년 12월간 식품저널)
2. 부산대 연구팀, “죽염, 암 억제 효과 탁월” (2011년 12월 25일 연합뉴스)
3. 소금보다 죽염..... 음식에 넣으면 암 억제효과 (2011년 12월 26일 메디컬투데이)
4. 죽염 항암효과 천일염 2배 넘어 (2011년 12월 26일 중앙일보)
5. ‘음식에 소금 대신 죽염 넣으세요..... 암 억제효과 탁월’ (2011년 12월 26일 이투데이)
6. 죽염, 암-염증 억제효과 탁월(2011년 12월 25일 세계일보)
7. 죽염, 암-염증 억제효과 탁월(2012년 1월 18일 농민신문)
8. 부산대 연구팀 “죽염, 암 억제효과 탁월” (2011년 12월 25일 매일신문)

다. 기타

국외발표 (예정):

England Nutrition Society Summer Meeting 2012

2012년 7월 16일~19일 영국 Queen’s University

1. Increased in vitro anticancer activity in HepG2 human hepatoma cells and in vivo hepatitis protective effect of bamboo salt.

라. 1차년도 연구성과 달성도

구 분	연구성과 목표	연구성과	달성도 (%)
연구 논문	2	2	100%
학술발표	4	8	200%
지식재산권	1	1	100%
기술이전/제품화	1	1	100%
기타	2	9	450%

5. 1차년도 용역연구비 집행내역서

(단위 : 천원)

비 목	용역연구비	계	1세부과제	2세부과제	비고
인건비 소계	53,580		22,950	30,630	
책임연구원					
연구원	14,700		7,350	7,350	기업체 인건비 현물 14,700,000원
연구보조원	38,880		15,600	23,280	
보 조 원					
경비소계	113,460		43,160	70,300	
경 비	국내여비	1,674.92	1,000	674.92	
	국외여비	3,320.3		3,320.3	
	유인물비	4,265.1	3,000	1,265.1	
	전산처리비	2,548	2,000	548	
	시약 및 재료비	93,816.78	33,660	60,156.78	1세부 기업체 부담금 5백만원 및 현물 3백만원 포함  2세부 기업체 부담금 5백만원 및 현물 8백8십만원 포함
	회의비	7,834.9	3,500	4,334.9	
	임차료				
	교통통신비				
	감가상각비				
	일반관리비	7,460		3,240	4,220
계	174,500		69,350	105,150	총 현물: 26,500

## 6. 중요 연구변경 사항

### [2세부과제]

- 안정민 연구원의 석사과정 수료 및 졸업으로 인해 김성민 연구원으로 교체(2012년).

[재정관련 사항] 상기 재정정보는 5월 30일 현재 내역을 반영한 것임.

- 국외여비의 경우 결제가 이루어진 상태에서 전산처리가 계류되어 있으므로 시일이 다소 걸릴 수 있음. 또한 원래 미국 샌디에이고에서 있던 학회에 참석할 예정이었으나 2차년도 의 첫 달인 7월 중순의 영국 학회에 참석하는 것으로 일정을 변경하였으며, 이에 대해 항공료 2,668,600원 및 숙박비 325유로를 금년도 국외여비에서 결제하였기에 이러한 변경사항에 대해 신고를 마칠 예정임.
- 재료비 내역에는 현물 8,800,000원 상당의 죽염 시료가 포함되어 있음.
- 재료비 부족으로 인해 5월 11일 부로 아래와 같이 예산변경을 시행하였음.  
국내여비: 당초 예산 1,600,000원에서 674,920원으로 감액  
전산처리비: 당초 예산 1,100,000원에서 548,000원으로 감액  
이상의 조정으로써 재료비를 당초 예산 49,879,700원에서 51,356,780원으로 증액
- 유인물비 부족으로 인해 5월 25일 부로 아래와 같이 예산변경을 진행하였음.  
회의비: 당초 예산 4,500,000원에서 4,334,900원으로 감액  
이상의 조정으로써 유인물비를 당초 예산 1,100,000원에서 1,265,100원으로 증액
- 경비 중 당해 지출항목을 집행하다 발생한 잔액은 상기의 특별한 경우를 제외하고 5월 이전까지 전액 집행 예정이며, 인건비 내역은 5월 집행분까지만 반영되어 있어 6월에 집행이 종료될 예정임.

## II. 2차년도 연구실적

### 1. 연구 목표 및 연구 수행내용

#### 1. 연구개발 최종 목표 및 주요 내용

- 죽염의 알레르기 비염 조절 기능 연구
- 죽염의 항암, 항비만 활성 연구
- 죽염의 안전성, 표준화 연구 및 물리화학적 특성규명

#### 2. 세부과제별 연구 목표 및 내용

##### <1 세부>

#### ○ 죽염의 알레르기 비염 조절 기능 규명

[ in vitro 알레르기 비염 모델 ]

- EoL-1 등 폐세포주에서 알레르기 비염 관련 전사인자 조절 효능 규명
- monocyte 등 면역세포에서 알레르기 비염 관련 전사인자 조절 효능 규명
- EoL-1 등 폐 세포주에서 신규 알레르기 비염 원인 인자의 조절 효능 및 기전 규명
- monocyte 등 면역세포에서 신규 알레르기 비염 원인 인자의 조절 효능 및 기전 규명

##### <2 세부>

#### ○ 죽염의 항암 기능

- Sarcoma 180 cell transplantation에 의한 항암 효과 연구
- AOM-DSS를 처리한 대장암 억제효과

#### ○ 죽염의 항비만 기능성 규명

- 비만 세포에서의 지방 생성 억제 효과 분석 및 C57BL/6 mice를 이용한 항비만 기능성 효과 및 기작 연구

#### ○ 죽염의 유해물질 분석 및 생산 공정 표준화 연구

- 죽염 제조 중 안정성 규명 (이산화황, 다이옥신, 벤조피렌 등 유해 물질 저감화 제조공정 개발)
- 전통적 죽염 제조 방법 탐색과 공정의 표준화 연구

#### ○ 죽염의 물리화학적 특성 규명

- 죽염의 구조 X-ray 분석
- SEM, TEM, XRF, IR 등 다양한 기법을 이용한 죽염의 특성 연구

### 2. 연구범위 및 연구수행 방법

#### <1세부>

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
항알레르기 조절 효과	생체의 실험 모델과 여러 알레르기 반응 동물 모델에서 죽염의 항알레르기 기능 기전 규명	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 죽염의 상세한 알레르기 비염 조절 기능 기전 규명 <ul style="list-style-type: none"> <li>- EoL-1 등 폐세포주에서 알레르기 비염 관련 전사인자 조절 기능 규명</li> <li>- monocyte 등 면역세포에서 신규 알레르기 비염 원인 인자의 조절 기능 규명</li> </ul> </li> <li>○ 죽염과 진피의 혼합물의 여러알레르기 동물 모델에서의 비염 조절기능 규명 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 여러 알레르기 동물모델에서 항알레르기 기능 규명</li> <li>- HMC-1 등 비만세포주에서 알레르기 비염 관련 인자 조절 기능 규명</li> </ul> </li> </ul>

<2세부>

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
죽염의 항암 효과	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sarcoma 180 cell transplantation에 의한 항암 효과 연구</li> <li>- AOM-DSS를 처리한 대장암 억제효과</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sarcoma 180 암세포 이식 마우스에서 항암효과, ConA로 처리하였을 때 splenocyte의 증식 강화효과</li> <li>- Balb/c mice를 이용한 AOM-DSS 대장암 예방효과(AOM-DSS 처리 완료되어 분석중)</li> </ul>
죽염의 항비만 효과	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 실험동물(C57BL/6) 기반의 항비만 효과 연구</li> <li>- 지방세포(3T3-L1) 기반의 항비만 효과 연구</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- C57BL/6 mice를 이용한 죽염의 항비만 효과 및 적출된 간 및 지방조직의 genetic profile 분석</li> <li>- 3T3-L1 상의 지질 축적량 검증</li> </ul>
죽염의 유해 물질 분석 및 안정성 규명	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 죽염 제조 중 안정성 규명</li> <li>- 죽염의 생산공정 표준화</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 본 실험에 사용되는 S사 죽염은 안전성에 문제가 없었으나 타사 죽염의 안전성은 어떠한지 확인하고자 함 (다이옥신, 벤조피렌 등)</li> <li>- 공정의 표준화를 위해 사용되는 지장수, 죽통, 소금 등의 무기물 양을 측정</li> <li>- 원료소금과 제조공정 및 원료소금을 달리 하여 제조한 죽염의 항암기능성 측정</li> </ul>
죽염의 물리화학적 특성	죽염에 대한 정량-정성분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 소금 표면의 미네랄 함량을 XPS로 분석</li> <li>- 기타 물리화학적 특성</li> </ul>



### 3. 세부연구수행 결과(구체적으로 기술)

#### < 1 세부 >

##### ○ 생체의 모델에서 죽염의 항알레르기 기능 및 그 기전 규명

- IL-32로 자극한 단핵구 세포주 THP-1세포에서 죽염의 항알레르기 기전을 확인함. 죽염을 처리한 군 (BS)에서 정제염 투여 군 (NaCl)보다 (A) TSLP와 (B) IL-1 $\beta$ 의 생성이 크게 감소된 것을 확인함. 또한 (C) TSLP, (D) IL-1 $\beta$ 의 mRNA 발현도 억제 하는 것을 확인함 (그림 1).

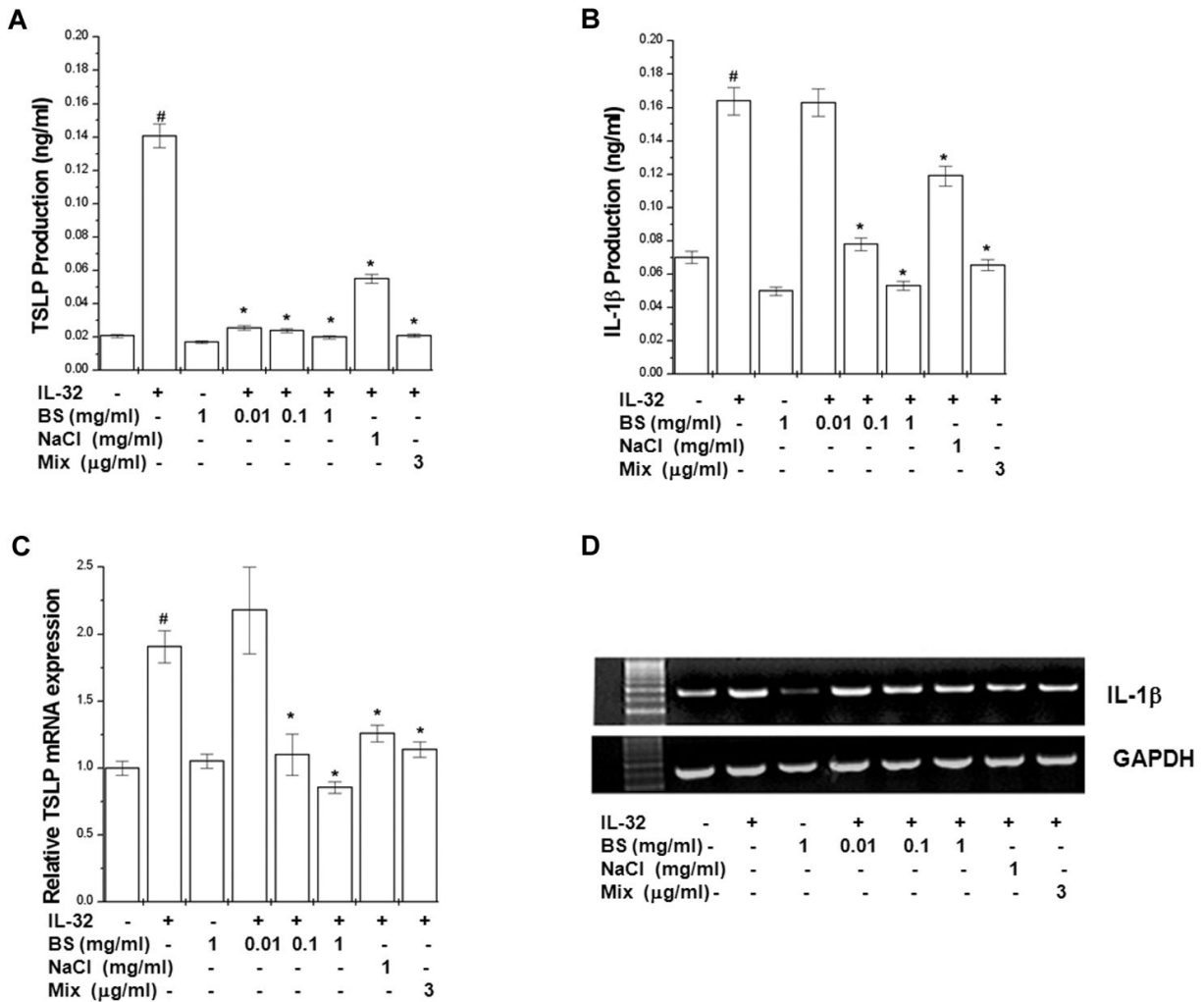


그림 1. IL-32 자극 THP-1에서 IL-1 $\beta$ 와 TSLP 생성과 발현 측정

- IL-32로 자극한 단핵구 세포주 THP-1세포에서 죽염의 항알레르기 기전을 확인함. 죽염을 처리한 군 (BS)에서 정제염 투여 군 (NaCl)보다 IL-8과 TNF- $\alpha$ 의 생성이 크게 감소된 것을 확인함 (그림 2).

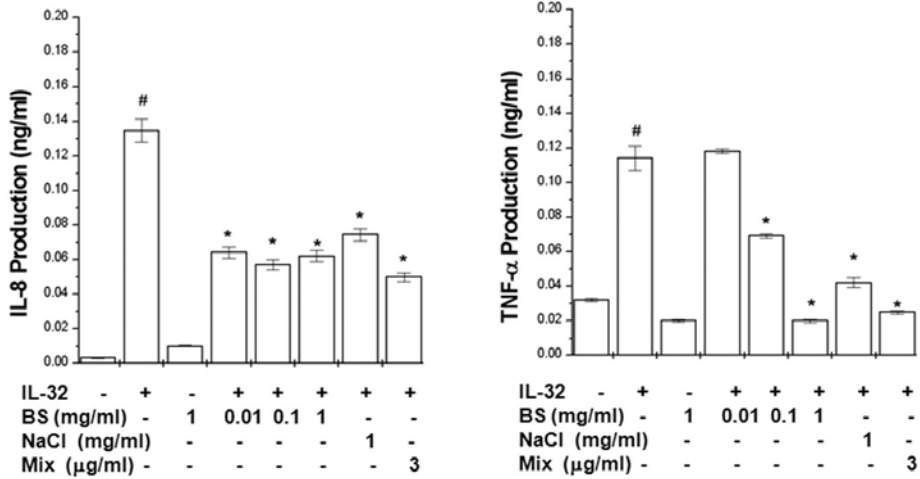


그림 2. IL-32 자극 THP-1에서 IL-8과 TNF-α 생성 측정

- IL-32로 자극한 단핵구 세포주 THP-1에서 죽염의 항알레르기 기전을 확인 하기위해 p38의 단백질 활성을 확인한 결과 (A) pp38이 죽염 (BS)의 처리로 억제 되는 것을 보아 p38의 활성이 억제된 것을 확인함. 또한 (B) 죽염 (BS)의 처리로 염증성 사이토카인의 전사 인자 NFκB가 활성화되어 핵 내로 유입되는 것이 억제 된 것을 확인하였으며, IκB 또한 활성이 억제된 것을 확인함. (C) 그러나 THP-1에서 IL-32의 자극으로 증가된 caspase-1의 활성은 죽염 (BS)을 처리한 군에서 억제되는 양상을 확인 할 수 있으나 유의하지 않았음. 정제염 처리군 (NaCl)의 경우 pp38, NFκB와 IκB모두 활성을 억제하지 않았으며, caspase-1의 활성은 유의하진 않았지만 증가되는 양상을 확인 할 수 있었음 (그림 3).

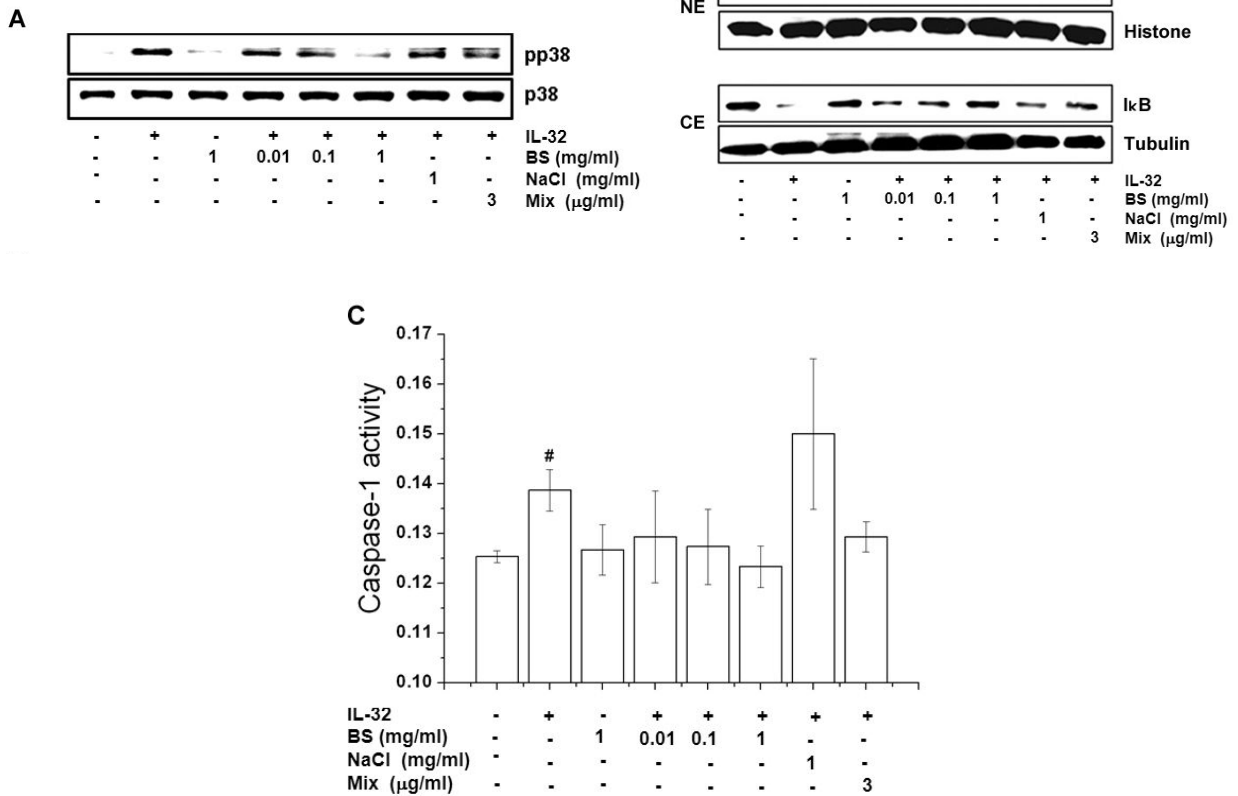


그림 3. IL-32 자극 THP-1에서 pp38, NFκB, IκB와 caspase-1 활성 측정.

- IL-32로 THP-1을 자극하여 알레르기반응을 유도 하였을 때, 대식세포의 지표인자인 CD11b와 CD14의 (A) mRNA 발현과 (B) 단백질 발현이 증가 하고, 죽염 (BS)를 처리하였을 때, 감소하는 것을 확인함. THP-1이 IL-32의 자극으로 인해 대식세포로 분화하는 것을 확인하였으며, 죽염 (BS)을 처리 하였을 때 이러한 대식세포로의 분화를 억제하는 반면에 정제염 NaCl의 경우 분화를 억제하지 못함 (그림 4).

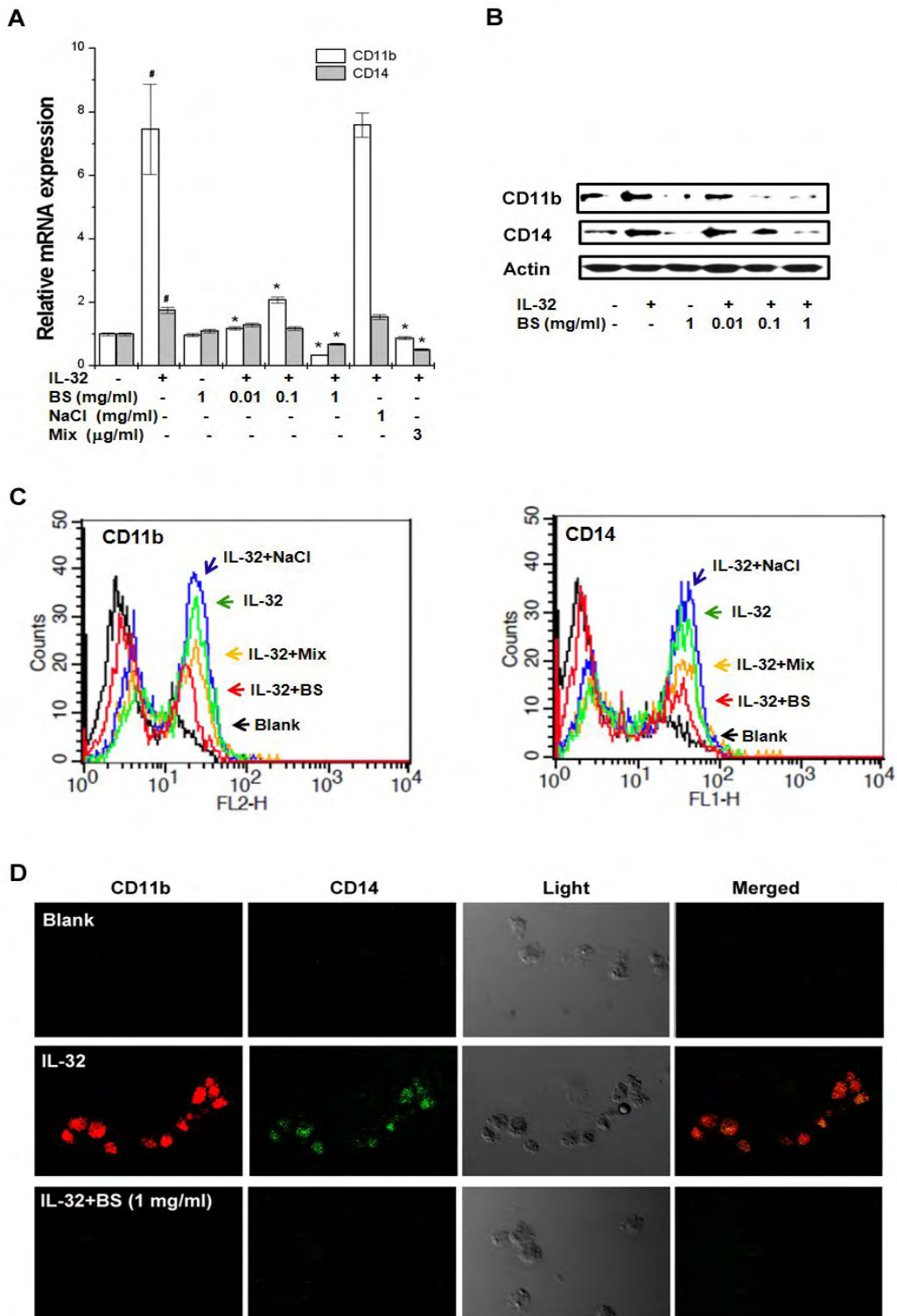


그림 4. IL-32 자극 THP-1의 대식세포로의 분화를 확인.

- THP-1을 IL-32로 자극하여 대식세포로 분화 시킨 후, LPS로 자극하여 항알레르기 기전을 확인함. 죽염 (BS)를 처리한 그룹에서 염증성 사이토카인 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8,와 TNF- $\alpha$ 의 생성을 억제 하였으며, iNOS와 COX-2의 발현 또한 억제하는 것을 확인함. 정제염 처리군 (NaCl)의 경우 IL-6와 TNF- $\alpha$ 의 억제만 확인됨 (그림 5).

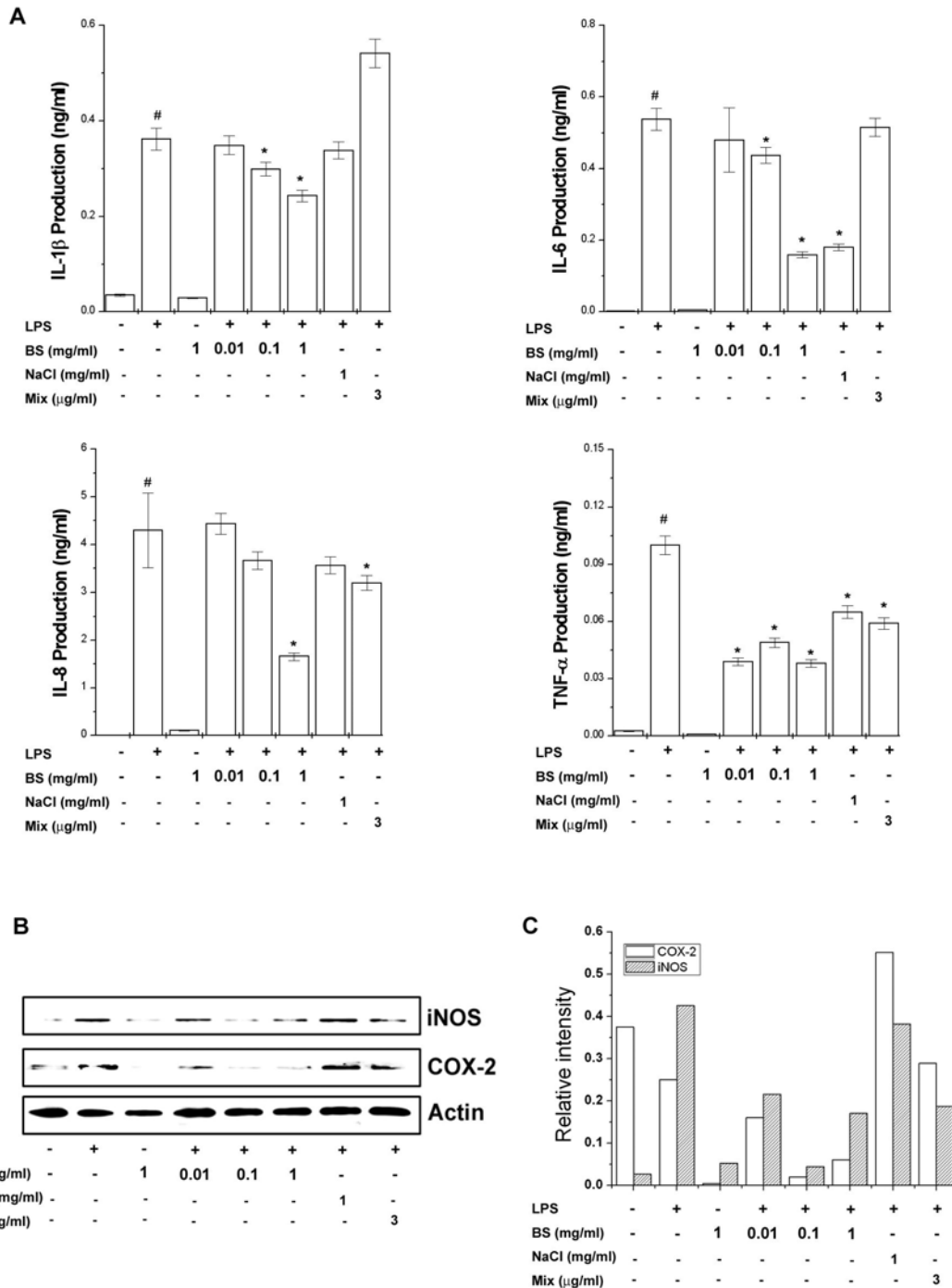


그림 5. 분화된 대식세포에 LPS 자극 후 사이토카인 측정.

- 인간 호산구 세포주인 Eo1-1에 GM-CSF로 자극한 후 죽염의 항알레르기 기전을 확인함.

GM-CSF의 자극으로 증가한 IL-32와 IL-8의 생성과 mRNA 발현이 죽염 (BS)을 처리한 그룹에서 억제된 것을 확인함 정제염 처리군 (NaCl)보다 억제된 것을 확인함 (그림 6).

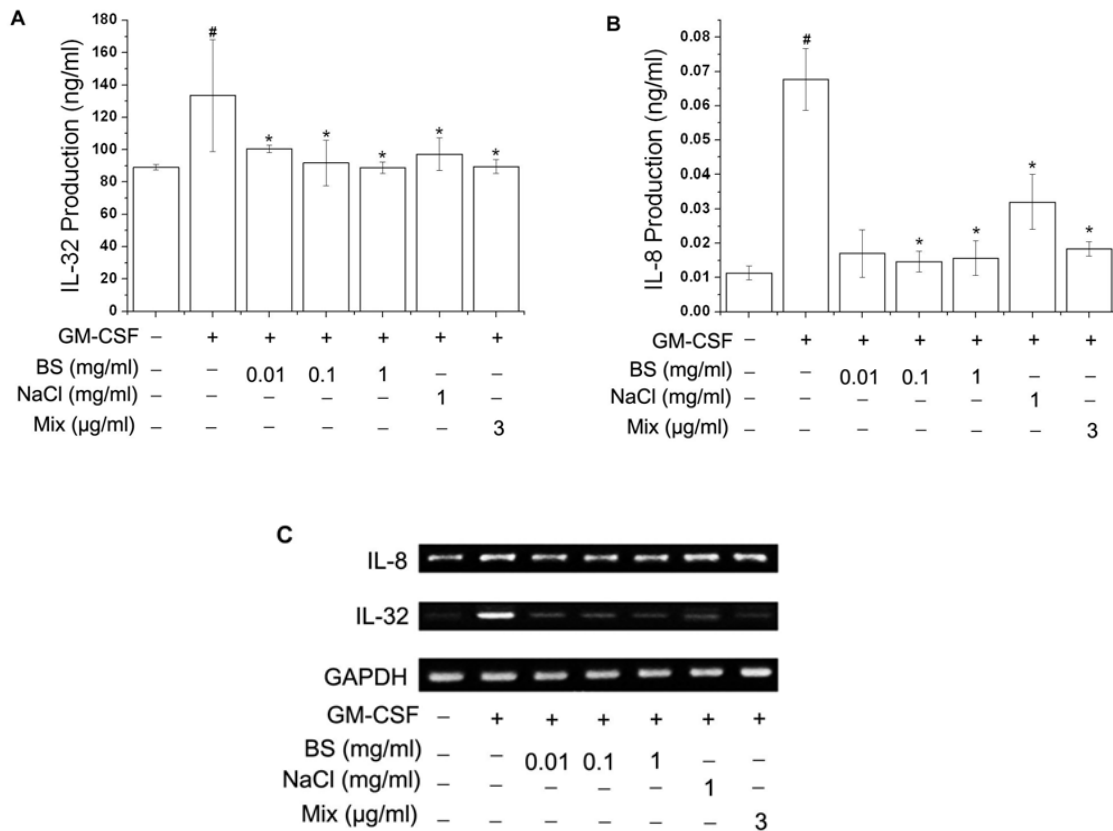


그림 6. GM-CSF 자극 Eo1-1에서 IL-8과 IL-32 측정.

○여러 알레르기 동물 모델과 생체외 모델에서 죽염의 항알레르기 기능 및 그 기전 규명

- K-ALL은 태성식품에서 공급 (한국, 전라북도). *Citrus sunki* (100 g)을 증류수를 넣어 2시간 30분 동안 달인 후 건조함. 달인 *Citrus sunki*를 필터, 동결건조 한 후 4°C에 보관함. 가루 *Citrus sunki*를 0.9% 죽염에 용해한 후 0.22-µm로 필터 함. K-ALL의 희석은 0.9% 죽염을 이용함. K-ALL을 chromatography 측정을 진행 하여 높은 반응을 보인 성분을 선택하였음 (Naringin7.00±1.72mg/g)
- 랫트 복강에서 추출한 비만세포에서 COM 48/80으로 자극하여 히스타민을 유도 하였을 때, K-ALL과 죽염이 히스타민의 분비를 억제하는 것을 확인함. 죽염 (BS), 진피 (CS), 진피의 성분 (NG)를 처리하였을 때 보다 죽염과 진피의 혼합물 (K-ALL)의 경우 더욱 억제됨을 확인함 (그림 7).

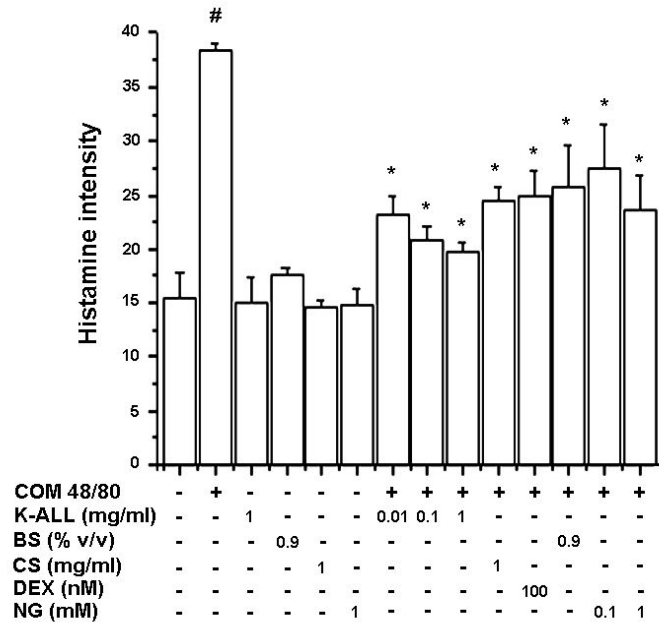


그림 7. 렫트 복강 비만세포에서 히스타민의 분비 측정.

- 전신 아낙필락시스 동물 모델에서 죽염과 진피의 혼합물 (K-ALL)을 처리한 그룹과 진피의 성분 (NG)를 처리한 그룹에서 사망률이 감소하였으며, K-ALL을 처리한 그룹에서 더 큰 감소를 확인함. 또한, 전신 아낙필락시스 동물 모델의 혈액에서 히스타민을 측정된 결과 K-ALL을 처리한 그룹과 NG그룹에서 억제된 것을 확인 할 수 있으며, K-ALL그룹에서 더 큰 억제를 확인함 (그림 8).

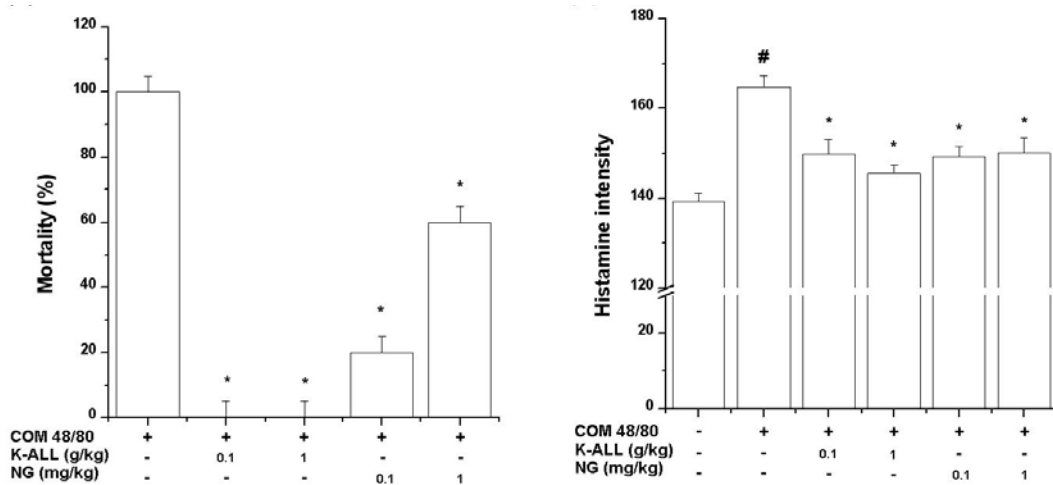


그림 8. 전신 아낙필락시스 동물 모델에서 죽염과 진피의 혼합물 (K-ALL)을 처리하여 사망률과 히스타민의 분비 측정.

- 국소 아낙필락시스 모델에서 죽염과 진피의 혼합물 (K-ALL), 진피의 성분 (NG)를 처리하여 알레르기 반응을 측정된 결과 (a) K-ALL과 NG를 처리한 그룹에서 모두 알레르기의 반응이 억제된 것을 확인함. 또한 (b) 국소 아낙필락시스 모델의 혈액에서 IL-1 $\beta$ , IL-6, TSLP, TNF- $\alpha$ 를 측정된 결과 IL-6에서 유의하게 감소한 것을 확인함 (그림 9).

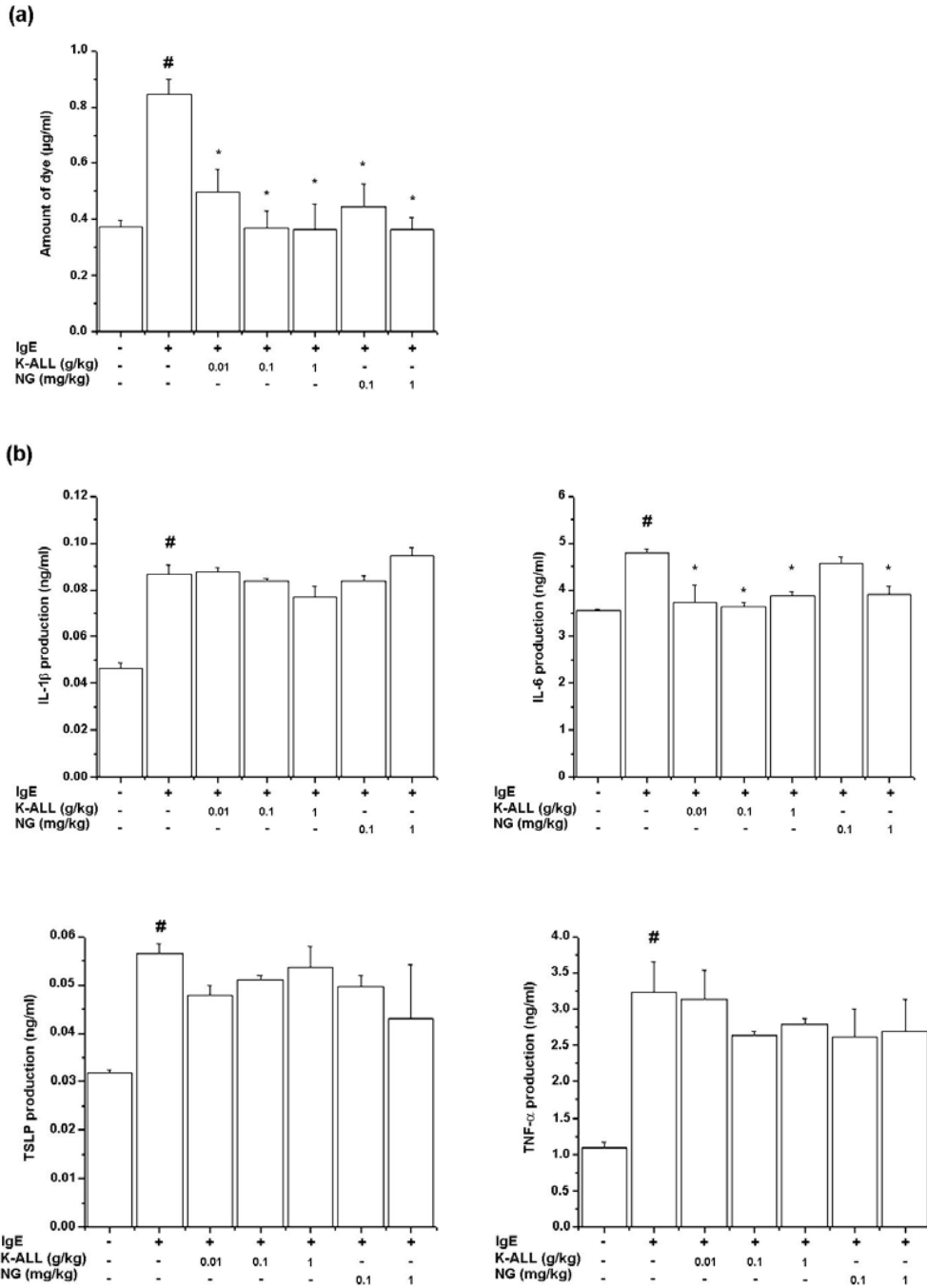


그림 9. 국소 아나필락시스 모델에서 K-ALL을 처리하여 항알레르기 반응과 혈액에서 사이토카인 측정.

- 휴먼 비만세포 세포주인 HMC-1에 PMACI를 처리하여 자극하였을 때 죽염과 진피의 혼합물 (K-ALL), 죽염 (BS), 진피 (CS), 진피의 성분 (NG)의 염증성 사이토카인의 억제를 확인함. (a) IL-1 $\beta$ , IL-6, TSLP, TNF- $\alpha$  모두 유의하게 억제 하였으며, 특히 K-ALL그룹의 경우 큰 억제를 확인함. (b) mRNA 발현또한 억제한 것을 확인함. (c) K-ALL, BS, CS, NG 모두 세포 독성이 없는 것을 확인함 (그림 10).

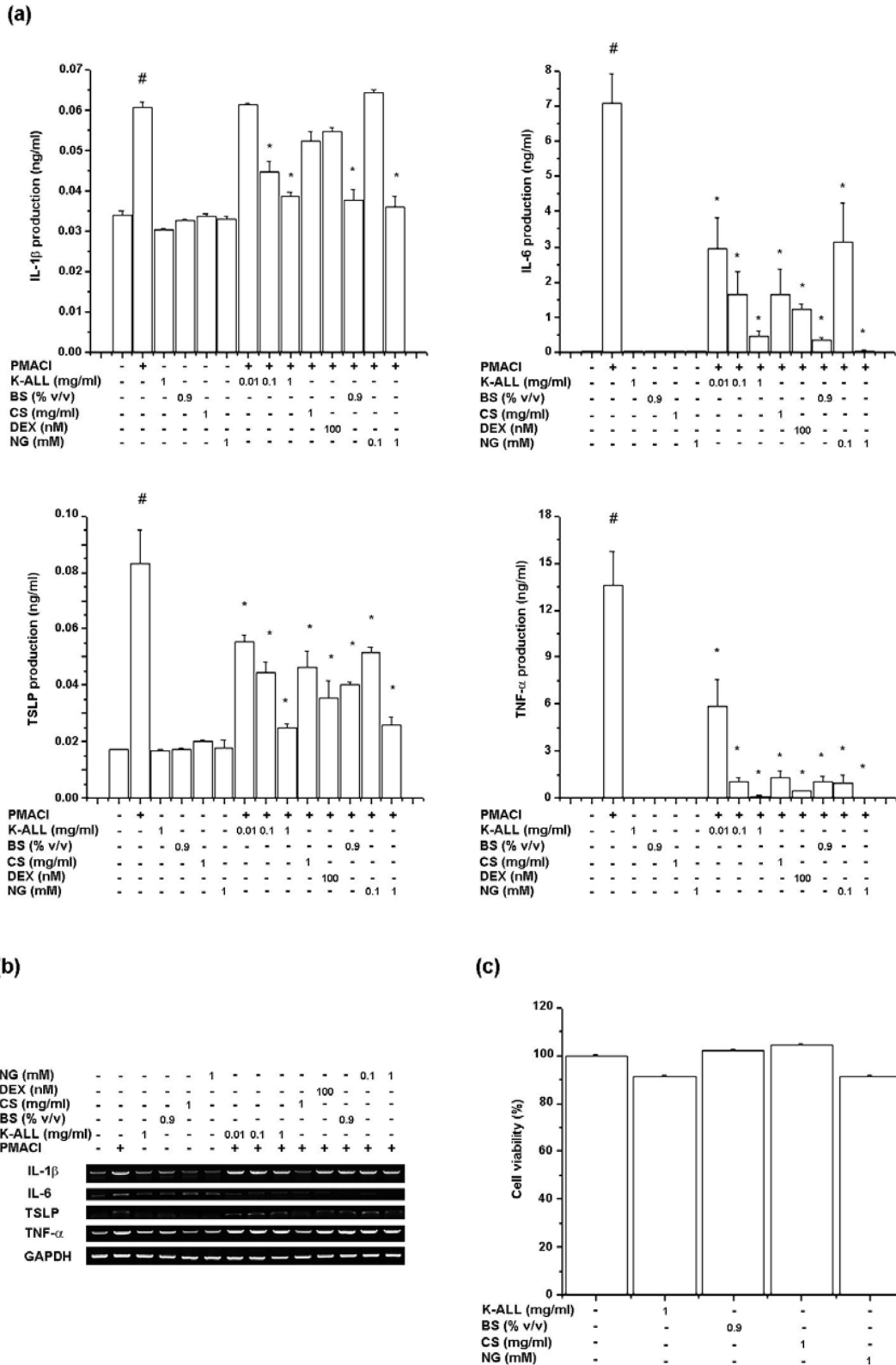


그림 10. 인간 비만 세포주에서 싸이토카인의 생성과 mRNA 발현 측정.

- OVA로 유도한 알레르기 비염 동물 모델에서 죽염과 진피의 혼합물 (K-ALL), 진피의 성분 (NG)의 항알레르기를 확인함. (a) K-ALL을 OVA 유도 전에 처리하였을 경우



(Pre-treatment)에 K-ALL을 경구투여와 직접적으로 코에 도포한 경우 모두 알레르기 비염의 증상이 감소하는 것을 확인할 수 있으며, OVA 유도 후 K-ALL을 처리한 (Post-treatment)의 경우에도 비염의 증상이 감소하는 것을 확인함. (b) K-ALL을 경구투여 하였을 때, 비장의 무게가 정상과 같은 무게로 감소하는 것을 확인함. (c) 혈액에서 히스타민을 측정된 결과 K-ALL을 경구 투여한 그룹과 코에 직접 도포한 경우 히스타민의 분비가 크게 감소한 것을 확인함. 또한 (d) 혈액에서 IgE의 레벨이 감소함 (그림 11).

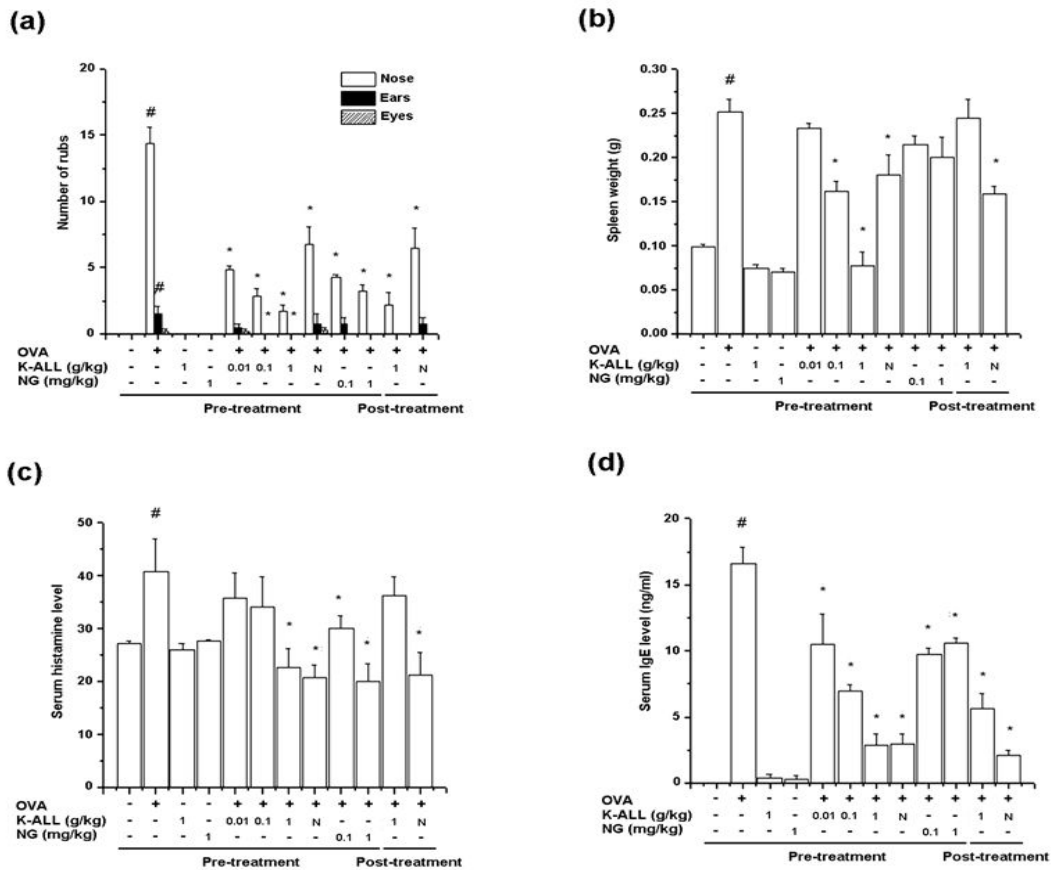


그림 11. OVA 유도 알레르기 비염 모델에서 비염의 증상과 비장의 무게, 혈액에서의 히스타민과 IgE를 측정.

- OVA로 유도한 알레르기 비염 동물 모델에서 죽염과 진피의 혼합물 (K-ALL), 진피의 성분 (NG)의 항알레르기를 확인함. (e) 혈액에서 IL-1 $\beta$ , (f) IL-6, (g) TSLP를 측정된 결과 K-ALL을 처리한 군에서 싸이토카인의 억제를 확인함. (h, i) OVA 유도 알레르기 비염 동물 모델의 비장에서 IL-4와 IFN- $\gamma$ 를 확인한 결과, IL-4의 유의적 감소와 IFN- $\gamma$ 의 유의적 증가를 확인함 (그림 12).

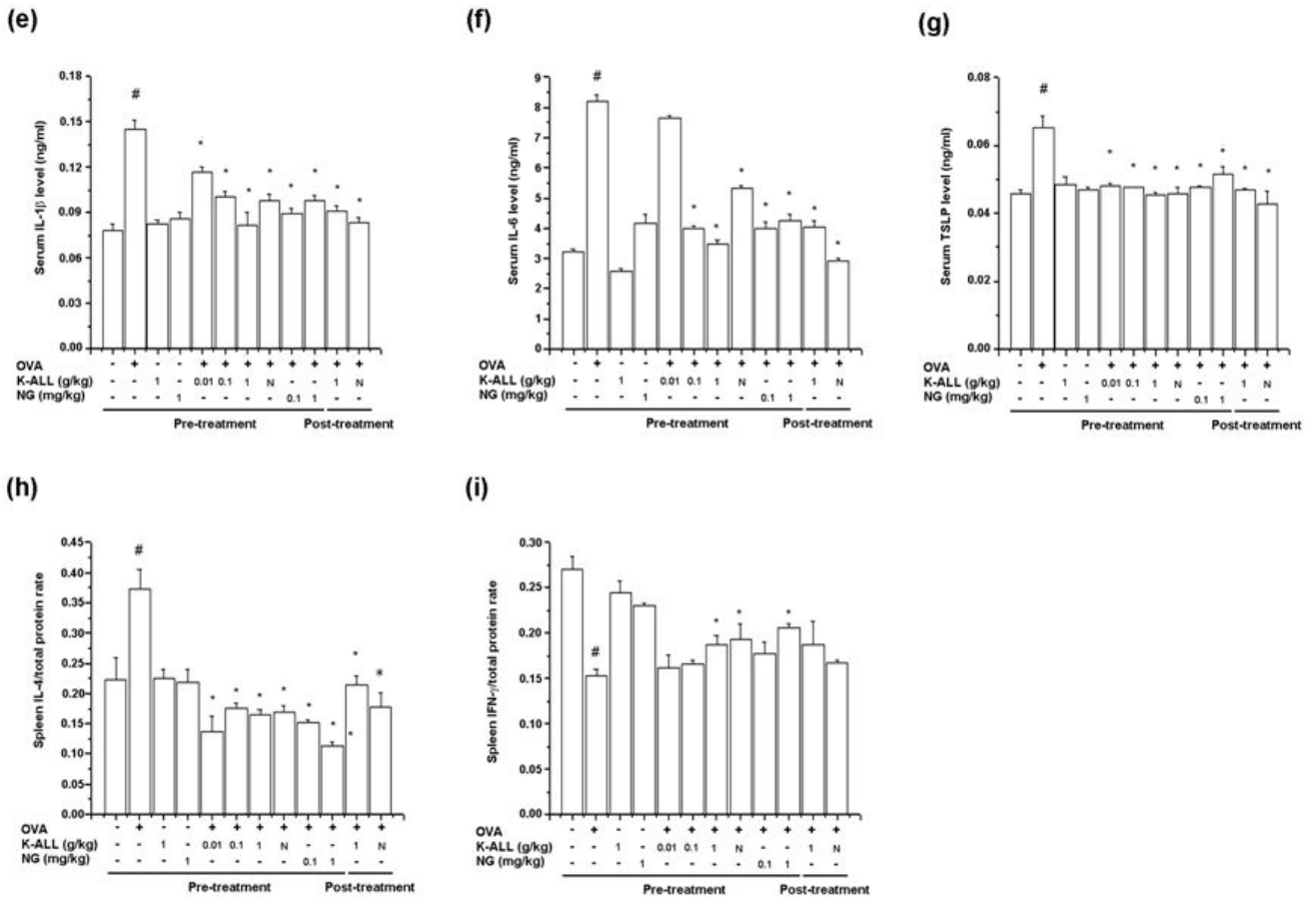


그림 12. OVA 유도 알레르기 비염 모델에서 혈액에서 IL-1 $\beta$ , IL-6, TSLP, 비장에서 IL-4, IFN- $\gamma$  측정.

- OVA로 유도한 알레르기 비염 동물 모델에서 죽염과 진피의 혼합물 (K-ALL), 진피의 성분 (NG)의 항알레르기 비염을 확인함. 비강조직에서 (a) IL-1 $\beta$ , (b) IL-6, (c) TSLP의 레벨이 억제 되었으며, (d) MIP-2, (e) ICAM-1 또한 억제 된 것을 확인함. 게다가 (f) COX-2의 발현도 억제된 것을 확인함 (그림 13).

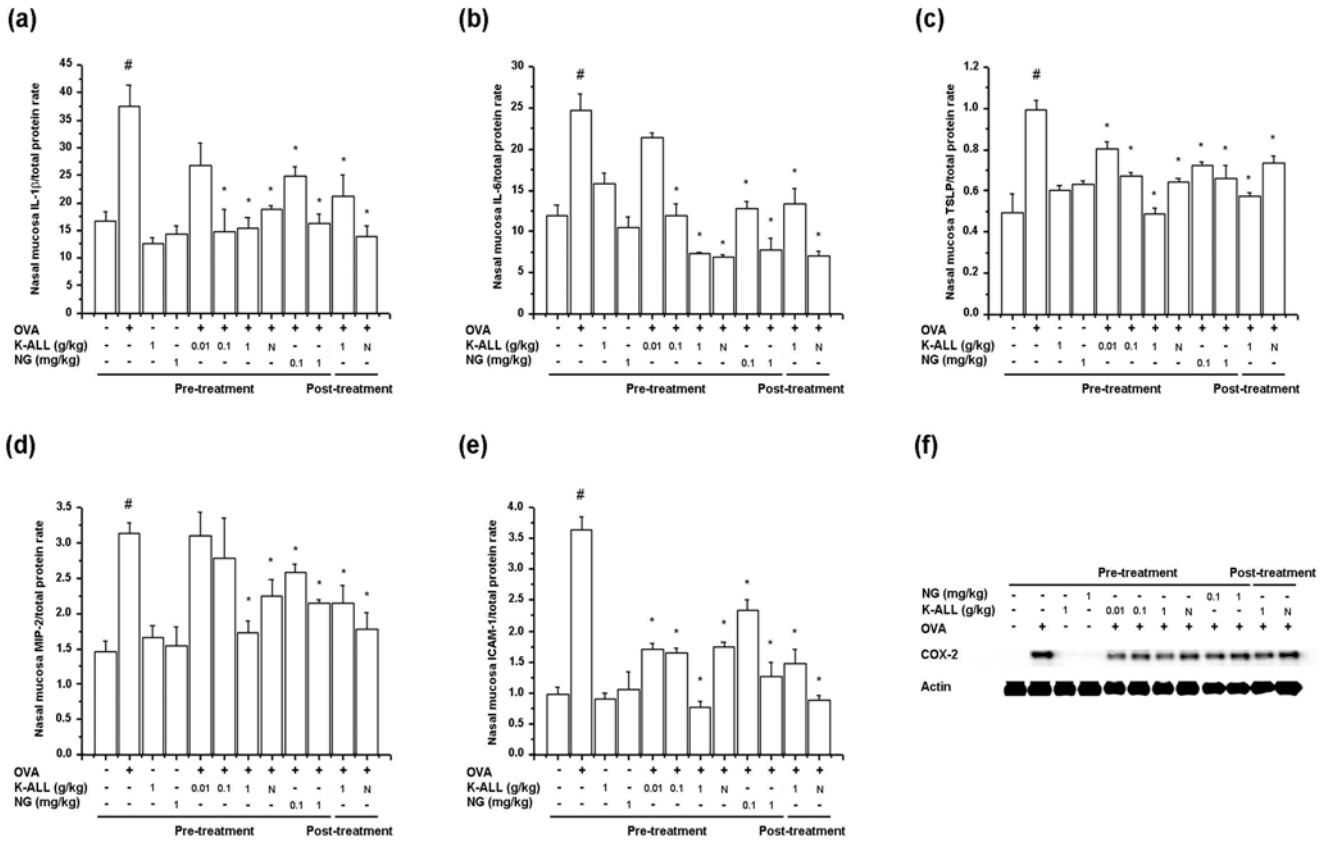
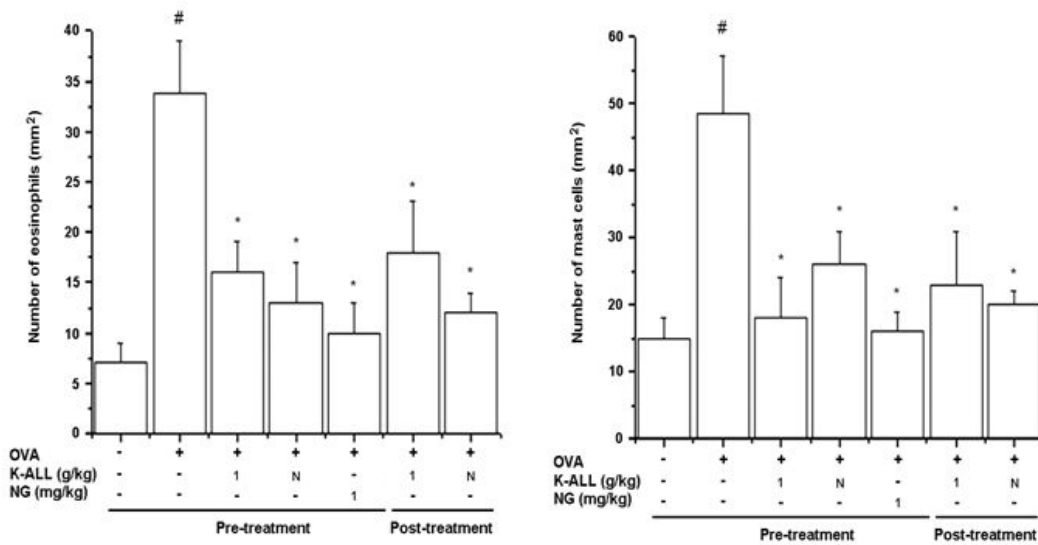


그림 13. OVA 유도 알레르기 비염 모델에서 비강조직에서 IL-1 $\beta$ , IL-6, TSLP, MIP-2, ICAM-1 및 COX-2 측정.

- OVA로 유도한 알레르기 비염 동물 모델에서 죽염과 진피의 혼합물 (K-ALL), 진피의 성분 (NG)의 항알레르기를 확인함. 염증성 세포인 호산구와 비만세포의 비강세포로의 침윤을 확인한 결과, K-ALL과 NG가 염증성 세포의 침윤을 억제 하는 것을 확인함 (그림 14).



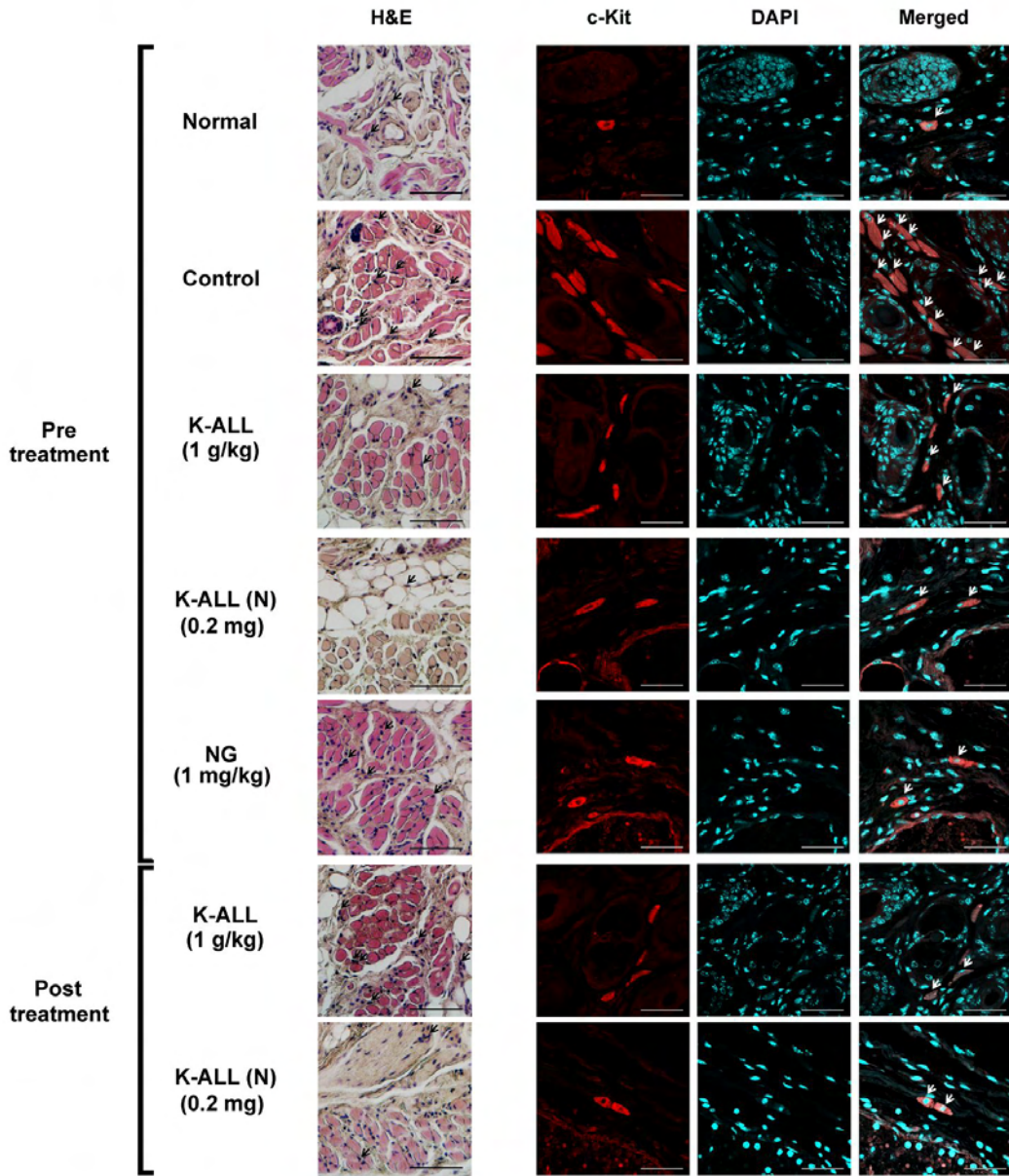


그림 14. OVA 유도 알레르기 비염 모델 비강조직 호산구, 비만세포 확인.

## < 2 세부 >

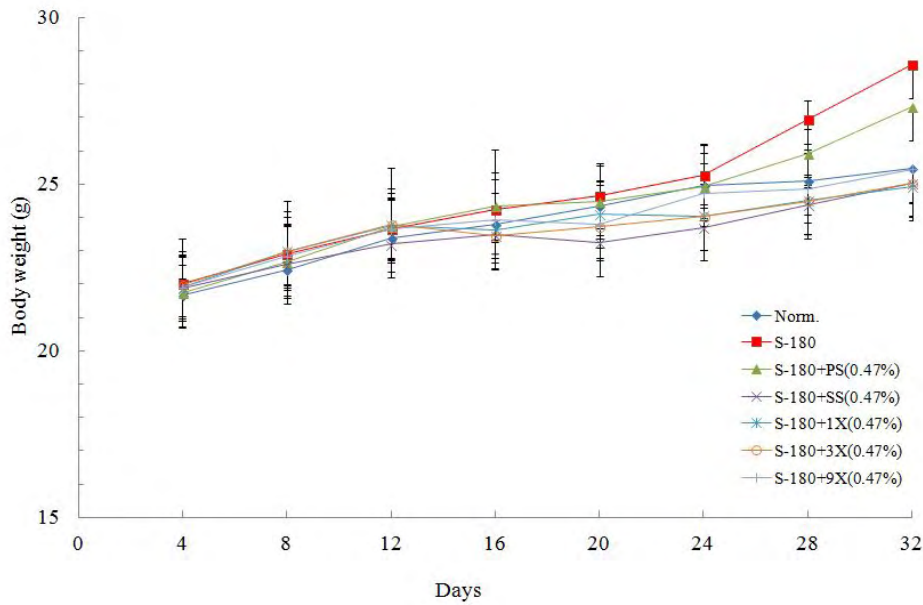
### ○ 죽염의 *in vivo* 항암 기능성

#### \* Sarcoma 180 transplantation에 의한 항암효과 연구

- Sarcoma 180은 전이성을 보이지 않고 주사한 장기에 국한하여 종양을 유도하는 종양세포로서 암과 관련된 동물실험에서 범용되는 cell line이다. 본 실험에서는 이를 이용해 죽염의 항암효능을 검증하고자 하였다.

- 1주의 순화기간을 마친 male Balb/c mice에 Sarcoma 180 종양세포를 서혜부에 4주간 피하 주사하였으며, 각 0.47% 농도로 식이상에 정제염, 천일염, 죽염(1회, 3회, 9회)을 배합해 급여

하였다. 체중 변화는 아래와 같았다.



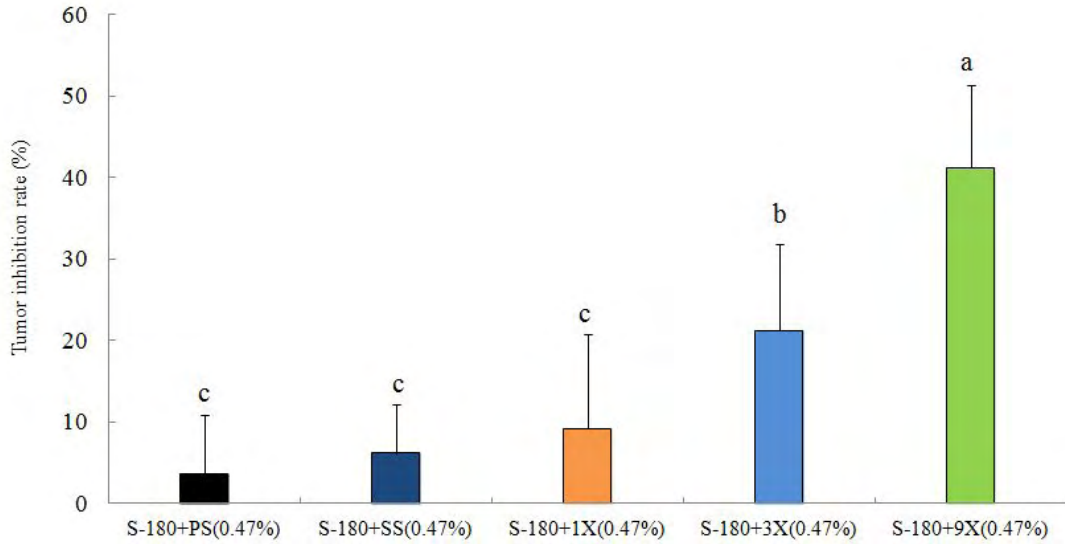
- 종양 유도과 식염 투여를 마친 후 부검을 하였으며, 상대적인 장기 무게 및 종양 무게는 아래와 같았다. 특히 종양의 무게를 조사한 결과 control군에 비해 3회 및 9회죽염 투여군의 종양 무게가 유의적으로( $p < 0.05$ ) 감소하였음을 알 수 있었다.

Treatment	No. of mice	body weight (g)	tumor weight (g)	Relative organ weight (g/100 g body weight)	
				liver	kidney
Normal	7	25.5 ± 0.9 <sup>abc</sup>	N.D.	3.9 ± 0.7 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.0 <sup>b</sup>
S-180	7	28.6 ± 0.6 <sup>a</sup>	4.4 ± 0.6 <sup>a</sup>	3.6 ± 0.6 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.4 <sup>a</sup>
S-180+PS (0.47%)	7	27.3 ± 0.7 <sup>abc</sup>	4.2 ± 0.3 <sup>ab</sup>	4.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.4 ± 0.1 <sup>a</sup>
S-180+SS (0.47%)	7	25.0 ± 0.6 <sup>bc</sup>	4.1 ± 0.6 <sup>ab</sup>	4.6 ± 0.7 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.1 <sup>a</sup>
S-180+1X (0.47%)	7	24.9 ± 0.7 <sup>c</sup>	4.0 ± 0.4 <sup>ab</sup>	4.4 ± 0.9 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.3 <sup>a</sup>
S-180+3X (0.47%)	7	25.0 ± 0.8 <sup>c</sup>	3.4 ± 0.5 <sup>b</sup>	4.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.1 <sup>a</sup>
S-180+9X (0.47%)	7	24.9 ± 1.3 <sup>abc</sup>	2.6 ± 0.5 <sup>c</sup>	4.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.1 <sup>a</sup>

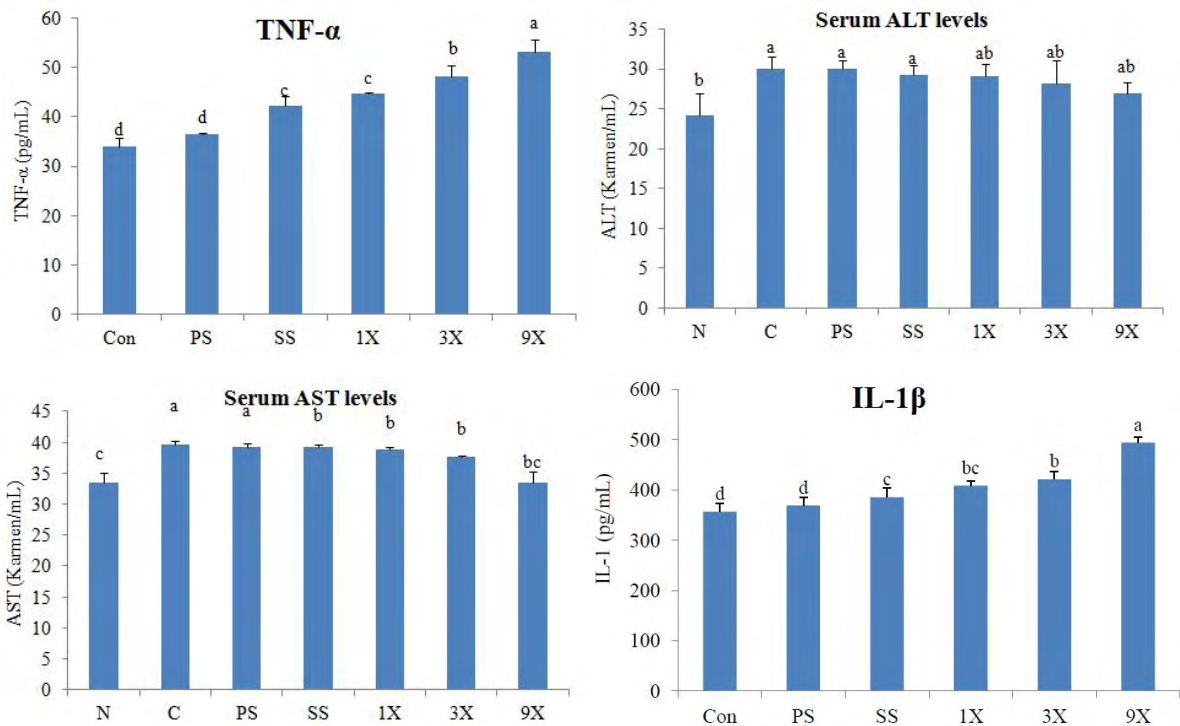
\* Mean ±SD. <sup>a-d</sup> Means with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

N.D.: No detected

- Control군과 비교한 종양 억제율을 검증한 결과 3회 및 9회죽염 투여군의 종양억제율이 정제염의 경우에 비해 유의적으로( $p < 0.05$ ) 높았다.

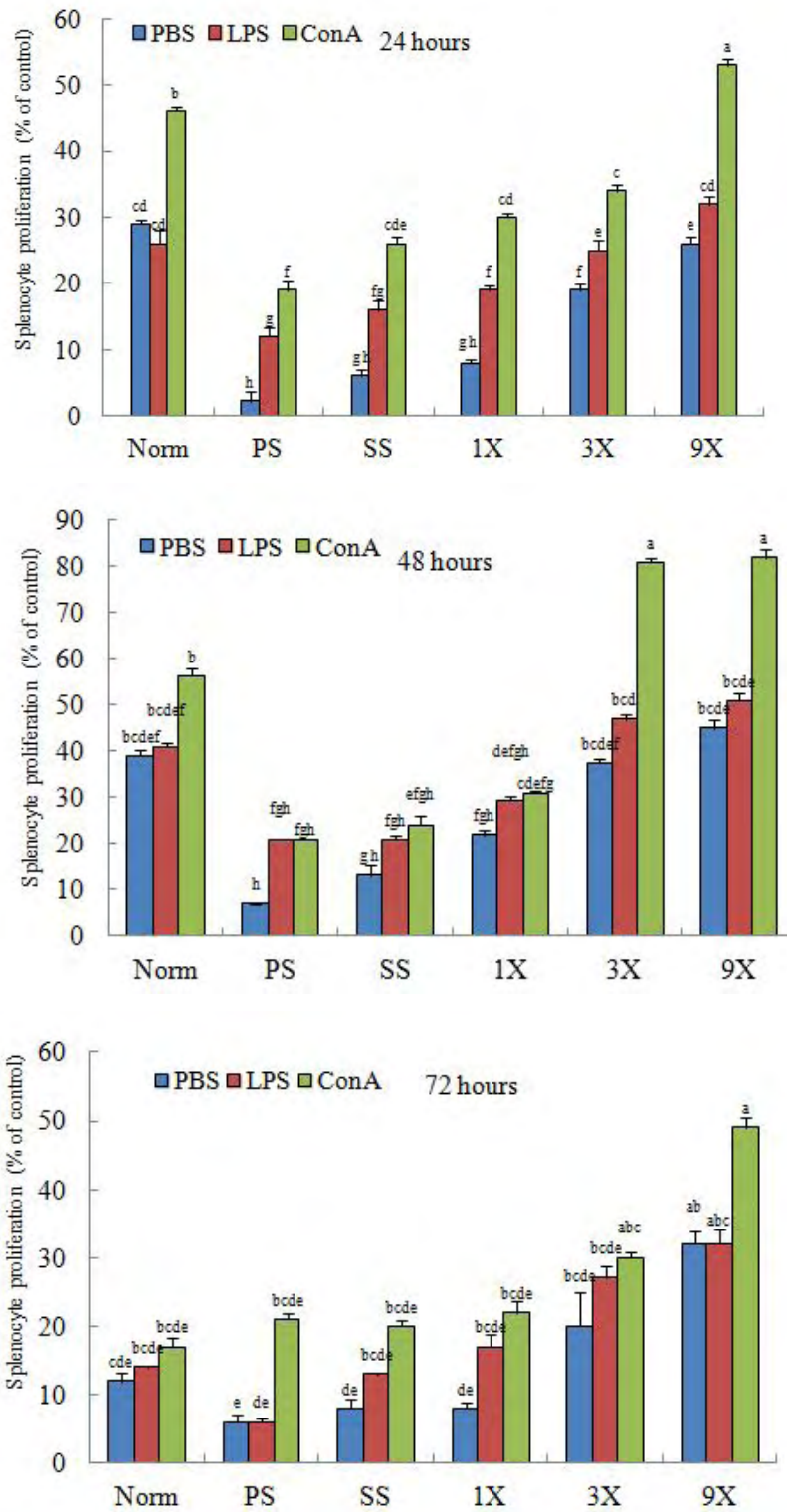


- 또한 TNF- $\alpha$  및 IL-1의 혈청농도, 혈청 상의 간수치(ALT, AST) 변화는 아래와 같았다. TNF- $\alpha$  및 IL-1은 Th1 계열의 cytokine으로서 세포성 면역의 유도에 지대한 영향을 미친다. TNF- $\alpha$ 과 IL-1의 경우 모든 죽염투여군에서 control군에 비해 발현량이 유의적으로 증가하였다. 또한 AST 수치의 경우 9회죽염 투여군의 control군에 비해 유의적으로 낮았으며, normal(sarcoma 180 미접종군)과 유사한 수준으로 나타났다. ALT 수치의 경우 모든 죽염 투여군에서 normal과 유사한 수준으로 나타났다.



이상의 결과로 보았을 때 식이에 죽염을 첨가함으로써 TNF- $\alpha$  및 IL-1의 발현량은 증가하여 항암효능이 증가된 반면, 정상적인 간기능에는 영향을 미치지 아니하였음을 알 수 있었다.

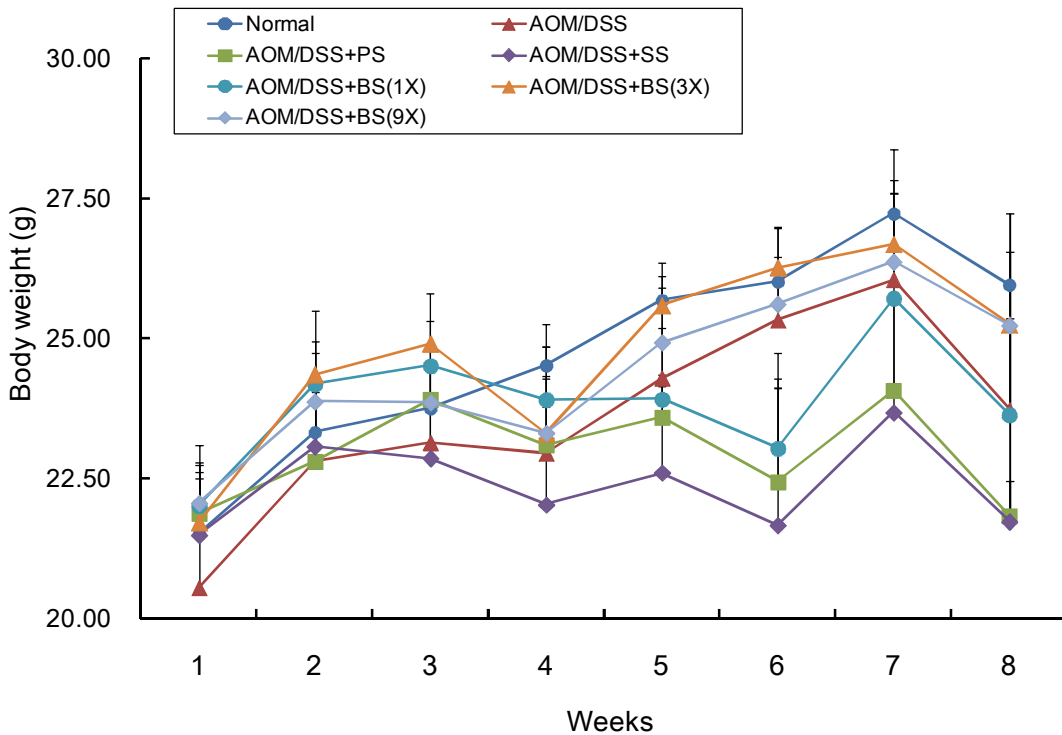
- 부검단계에서 비장을 채취해 24시간, 48시간, 72시간 동안 primary culture를 실시하였으며, control 대비 splenocyte의 증식 정도를 확인하였다. LPS를 처리함으로써 Th2 B-cell의 생성이, ConA를 처리함으로써 Th1 T-cell의 생성이 촉진되는 것을 이용하였으며 그 결과는 아래와 같았다.



이상의 결과로 볼 때 LPS나 ConA에 의한 splenocyte의 증식이 죽염 투여로써 전반적으로 향상됨을 알 수 있었으며, 이는 면역활성의 증강으로써 종양의 억제에 도움을 줄 수 있을 것으로 여겨진다.

**\* AOM-DSS를 처리한 대장암 억제효과**

- 죽염의 대장암 예방효능에 대해 in vivo 실험을 진행하였다. 1주 순화과정을 마친 male C57BL/6 mouse에 AOM을 10mg/Kg로 1회 복강주사한 후 2주 휴약, DSS를 음수에 2% 농도로 첨가해 1주간 급여한 후 2주 휴약, 이후 같은 농도로 DSS수용액을 1주간 급여하였다. 죽염을 포함한 소금 시료를 첨가한 식이는 첫 번째 DSS 투약과 동시에 급여하였다. 해부 후 TNF- $\alpha$  IL-1 $\beta$ , IL-6와 같은 주요 inflammatory cytokine에 대한 분석을 진행하고, 또한 당해 cytokine이 대장 조직 상에서 발현하는 정도를 PCR 등의 기법으로써 검증하였으며, 아울러 대장 조직에 대한 병리검사를 진행하였다.



- 동물의 체중 변화를 관찰한 결과 AOM/DSS군, 천일염(SS), 정제염(PS), 1회 죽염(BS1X)을 투여한 군의 체중이 정상군(Normal)들에 비하여 크게 감소하였으나, 그 외의 3회 죽염(BS3X) 및 9회 죽염(BS9X)군들에서는 차이가 없었다.



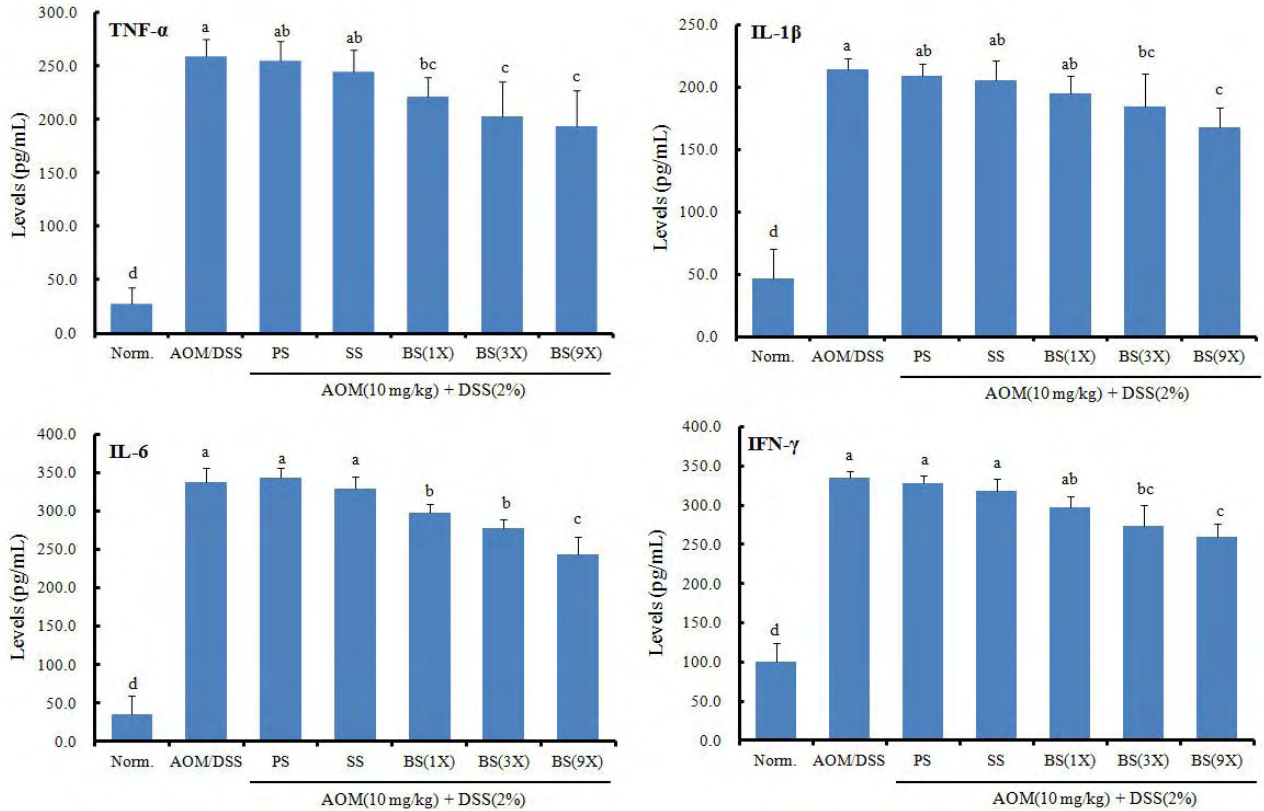
Groups	Colon length (cm)	Colon weight/length (mg/cm)	Tumor numbers
Normal	9.19±0.95 <sup>a</sup>	18.00±5.12 <sup>c</sup>	ND
AOM/DSS	7.78±0.37 <sup>b</sup>	64.63±17.25 <sup>a</sup>	18.3±3.3 <sup>a</sup>
AOM/DSS+PS	7.81±1.08 <sup>b</sup>	60.49±17.80 <sup>a</sup>	18.0±2.7 <sup>a</sup>
AOM/DSS+SS	8.00±0.49 <sup>b</sup>	59.53±5.18 <sup>a</sup>	17.8±2.8 <sup>a</sup>
AOM/DSS+BS(1X)	7.90±0.87 <sup>b</sup>	44.60±10.49 <sup>b</sup>	10.3±1.6 <sup>b</sup>
AOM/DSS+BS(3X)	8.20±0.90 <sup>b</sup>	38.61±7.70 <sup>b</sup>	9.3±1.5 <sup>bc</sup>
AOM/DSS+BS(9X)	9.00±0.53 <sup>a</sup>	33.90±9.76 <sup>b</sup>	7.9±2.0 <sup>c</sup>

\*Data represent mean ± SD.

<sup>a~c</sup> Means with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range tests.

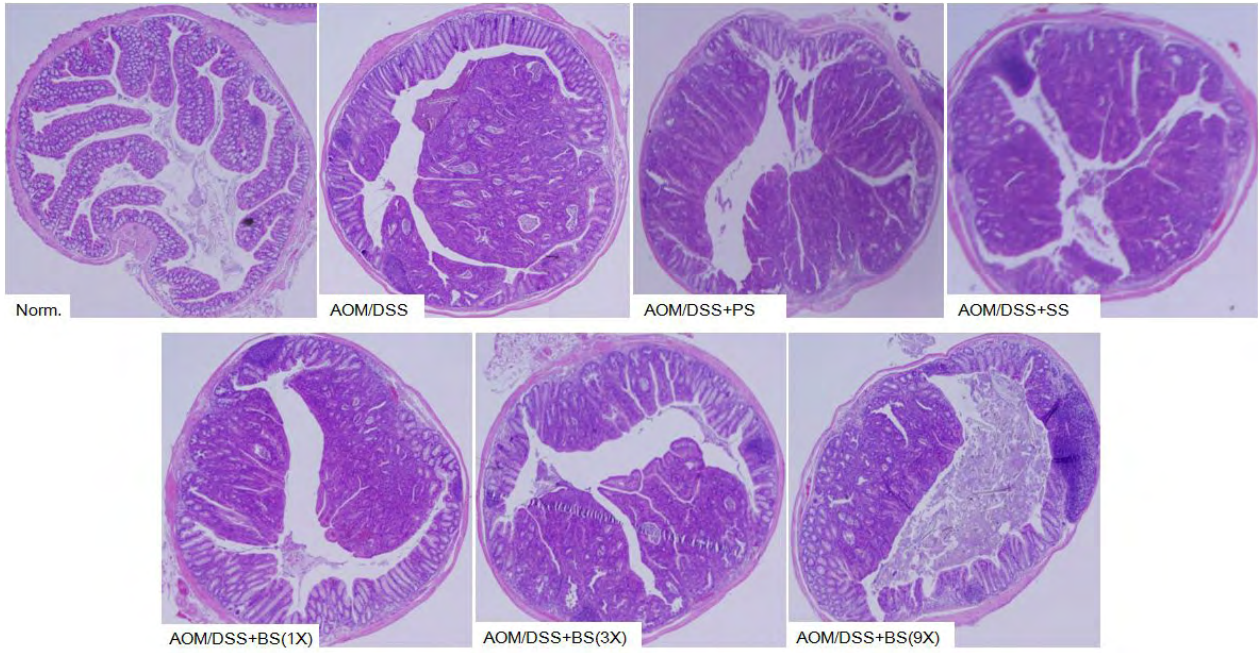
ND: Not detected

- 시험물질이 AOM/DSS 유발 마우스 대장암에 미치는 영향을 위 도표에 나타내었다. AOM/DSS를 이용하여 대장암을 유발한 마우스의 대장을 적출하여 길이와 무게를 측정함으로써 염증과 관련된 대장암으로 인한 장기의 변화를 관찰하였다. 14주 동안 AOM/DSS군은 7.78 cm로 normal군 9.19 cm인 것에 비해 길이가 유의적으로 감소함을 확인한 바 AOM/DSS의 투여로써 궤양성 대장암이 유발되었음을 알 수 있었다. 시료 별로 소금을 제공한 군의 대장 길이는 정제염군(PS)에서 7.81 cm, 천일염군(SS)에서 8.00 cm, 1회 죽염(BS1X)에서 7.90 cm, 3회 죽염 군 (BS3X)에서 8.20 cm, 9회 죽염군(BS9X)에서 9.00 cm로 나타났으며, 특히 9회 죽염 군에서 효과가 가장 강력하게 나타났다.
- 대장의 무게/길이 비율은 AOM/DSS군에서는 64.63 mg/cm로 나타났다. 정제염군, 천일염군, 1회 죽염 군, 3회죽염군 및 9회 죽염군의 대장의 무게/길이 비율은 60.49, 59.53, 44.60, 38.61 및 33.90 mg/cm로 나타났고, 9회 죽염 군에서 효과가 가장 좋게 나타났다.
- AOM/DSS에 의해 유발된 대장암이 유발된 대장 조직 내의 종양 개수는 Table 1에 나타내었다. AOM/DSS군은 평균 18.3개로 가장 많은 개수를 나타내었다. 정제염군, 천일염군, 1회 죽염 군, 3회 죽염 군 및 9회 죽염군의 대장 내 종양 개 수는 18.0, 17.8, 10.3, 9.3 및 7.9개로 나타났다.

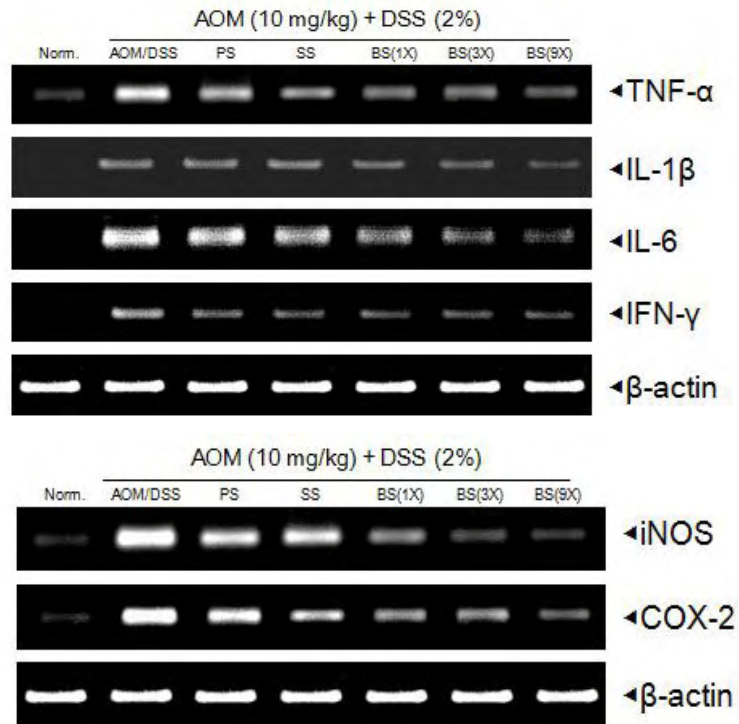


<sup>a~d</sup> Means with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range tests.

- 염증성 cytokines(TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  등)수준은 항상 대장염, 대장암 발생 및 진행 과정과 가장 관련성이 높다. 본 실험에서 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 및 IFN- $\gamma$ 의 발현량을 측정된 결과 Normal군에서 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 및 IFN- $\gamma$ 의 농도는 각각  $28.0 \pm 14.8$ ,  $46.3 \pm 23.7$ ,  $35.4 \pm 24.9$ ,  $100.6 \pm 22.3$  pg/mL이었고, AOM/DSS군에서는 각각  $258.4 \pm 16.3$ ,  $214.7 \pm 8.4$ ,  $337.7 \pm 19.2$ ,  $334.9 \pm 9.8$  pg/mL로 나타나 모든 cytokine의 농도가 normal군에 비해 상승하였다. 정제염 및 천일염군의 경우 염증성 cytokines(TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 및 IFN- $\gamma$ ) 발현 수준은 AOM/DSS군과 비슷한 값을 나타내었다. 대장암과 관련된 가장 중요한 cytokines로 알려진 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6의 수준 측정 결과 죽염을 제공한 모든 군에서 AOM/DSS군에 비하여 낮은 수치를 나타내었으며, 특히 9 회 죽염군(각각 TNF- $\alpha$ :  $193.2 \pm 33.7$ ; IL-1 $\beta$ :  $167.5 \pm 16.3$ ; IL-6:  $242.9 \pm 24.1$  pg/mL)에서 유의적으로 가장 낮은 수치를 나타냄에 따라 9회 죽염이 대장암 발생 및 진행을 억제시킴을 확인할 수 있었다. 또한 IFN- $\gamma$ 에서도 비슷한 경향을 나타내어 9회 죽염군에서 가장 높은 억제효과를 나타내었다.



- 조직학적 소견으로는 정상적인 장 조직의 장샘(intestinal glands) 세포들이 사라지고 점막의 종양을 나타내며 조직 내 암세포들이 침윤하였다. AOM/DSS군은 normal군에 비해 종양의 발생과 암세포들의 침윤 정도가 높게 나타났다. 소금 샘플 처리군들 중에서 전제염 및 천일염군의 마우스 대장 조직내 정상 장세포의 암세포화 및 암세포의 침윤 능력은 1회 죽염군과 3회, 9회죽염군 보다 더 높았다. 특히 9회 죽염의 장 상피세포 변형이 가장 약하게 나타나 암세포 침윤 억제능력이 가장 좋았음을 확인할 수 있었다.



- RT-PCR 실험 결과 대장 조직내 pro-inflammatory cytokines의 mRNA 발현 수준은 Fig. 4,

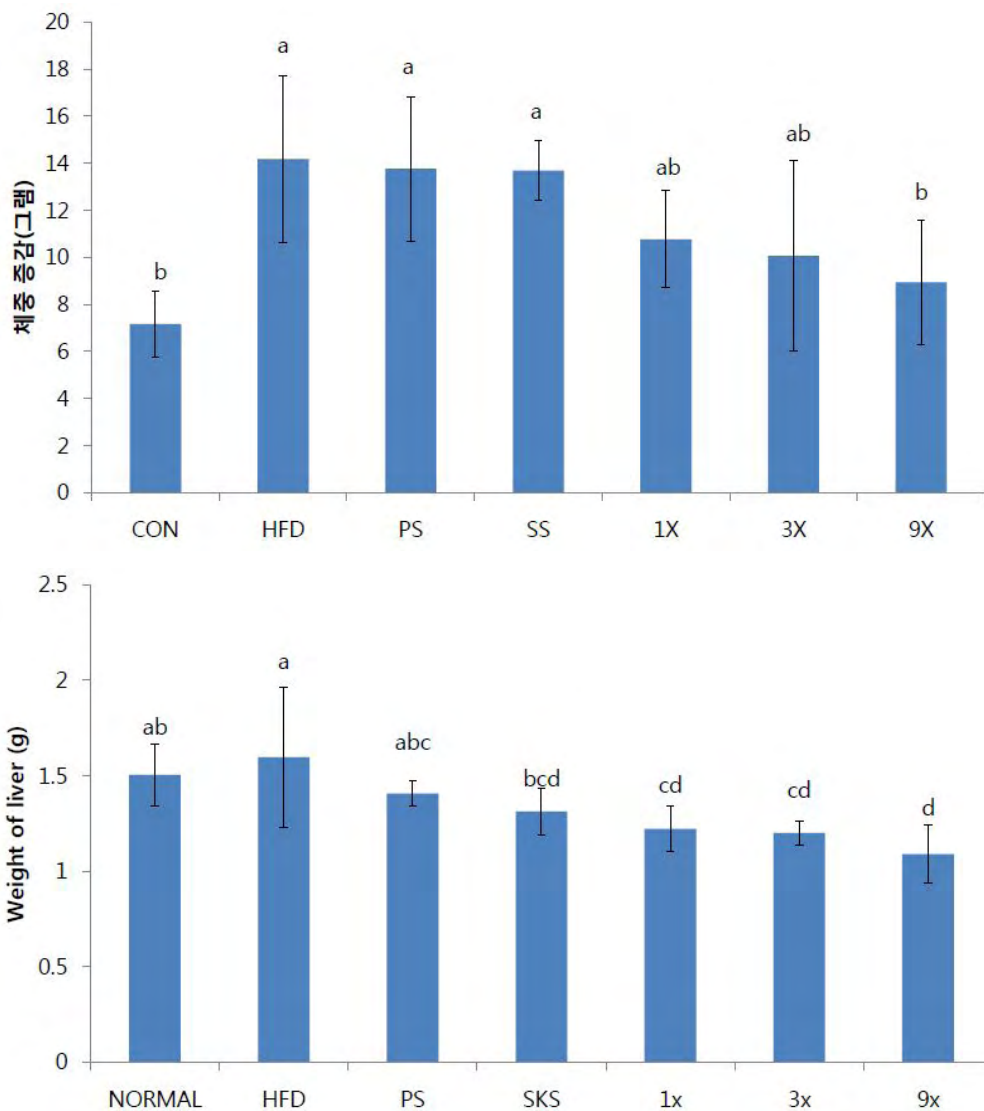
5에 나타내었다. AOM/DSS군은 normal군보다 모든 cytokine의 mRNA 발현 수준이 증가하였다. 정제염과 천일염을 제공한 군에서 AOM/DSS군에 비하여 염증성 cytokines의 mRNA 발현 수준이 비슷하게 나타내었으며, 죽염군들에서 특히 3회, 9회 죽염군을 가장 낮은 발현 수준을 나타냄에 따라 죽염의 구운 횟수가 많아질수록 대장암 발생 및 진행을 그만큼 억제시킴을 확인할 수 있었다. 한편 inflammation 관련 효소(iNOS, COX-2)의 발현 수준 또한 비슷한 결과를 나타냈다. 특히 9회 죽염군에서 대장암 발생 및 진행을 억제시킴을 확인할 수 있었다.

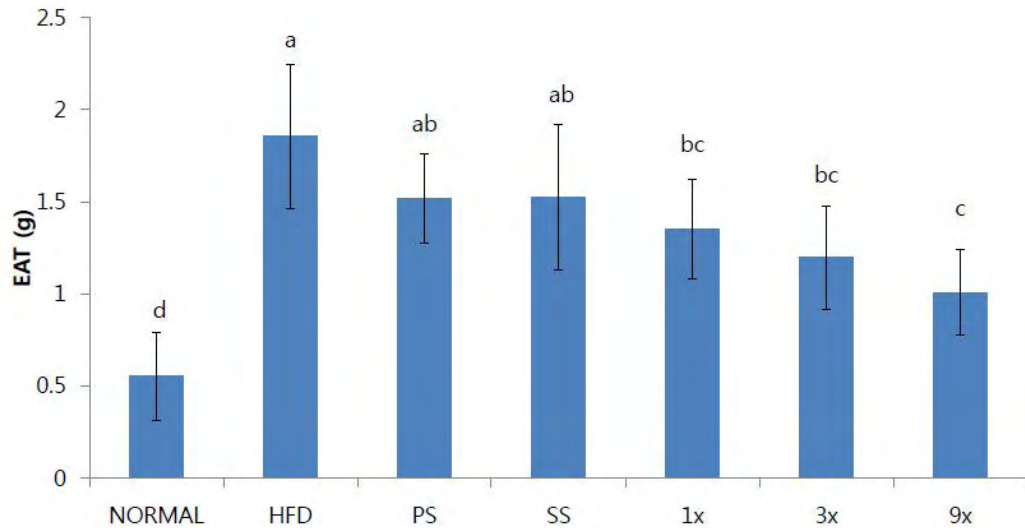
○ 죽염의 항비만 효과

\* 실험동물(C57BL/6) 기반의 항비만 효과 연구

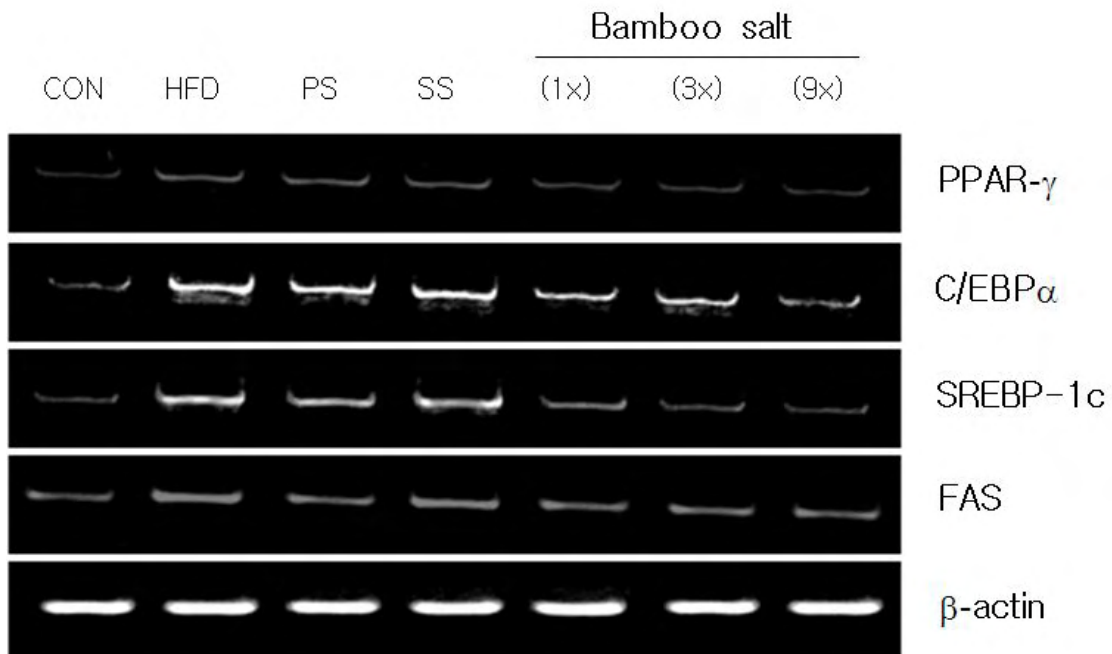
[동물실험 1. 고지방식으로 비만을 유도하면서 비만을 감소 연구]

\* 1차년도 동물실험에서 체중의 변화폭, 간 무게, 그리고 정소지방조직(EAT; epididymal adipose tissue)의 무게는 아래와 같이 나타났다.

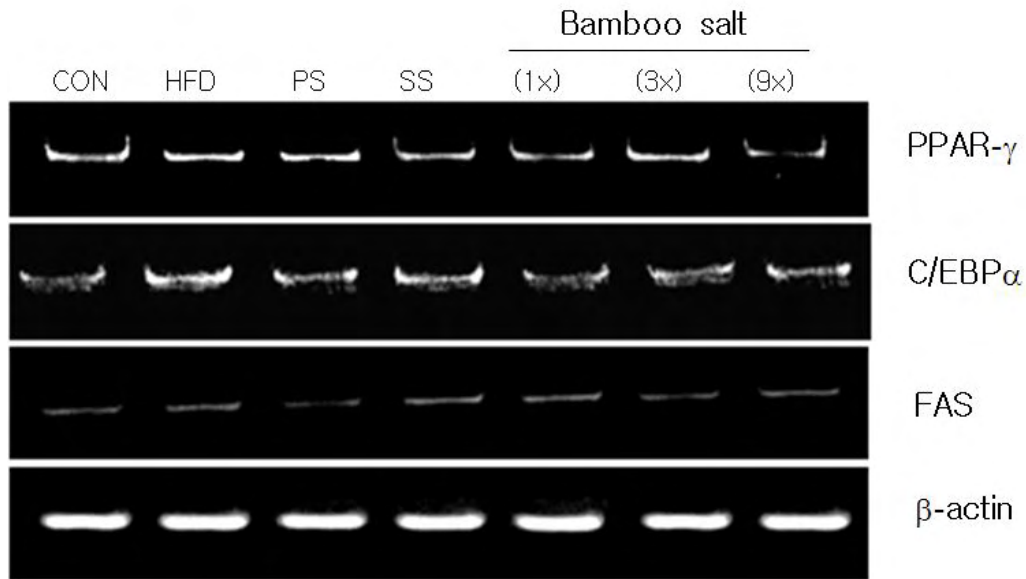




- 이상의 사실에 근거하여 1차년도 실험에서 적출한 간 및 정소지방에서 mRNA를 추출해 PCR을 진행하였으며 그 결과는 아래와 같았다.
- 간조직으로 분석한 결과 SREBP-1c, C/EBP $\alpha$ 와 PPAR- $\gamma$ 의 발현이 9회죽염 투여군에서 억제되었음을 알 수 있었으며, 특히 SREBP-1c의 경우 죽염을 투여함으로써 그 발현량이 저감되었음을 알 수 있었다.



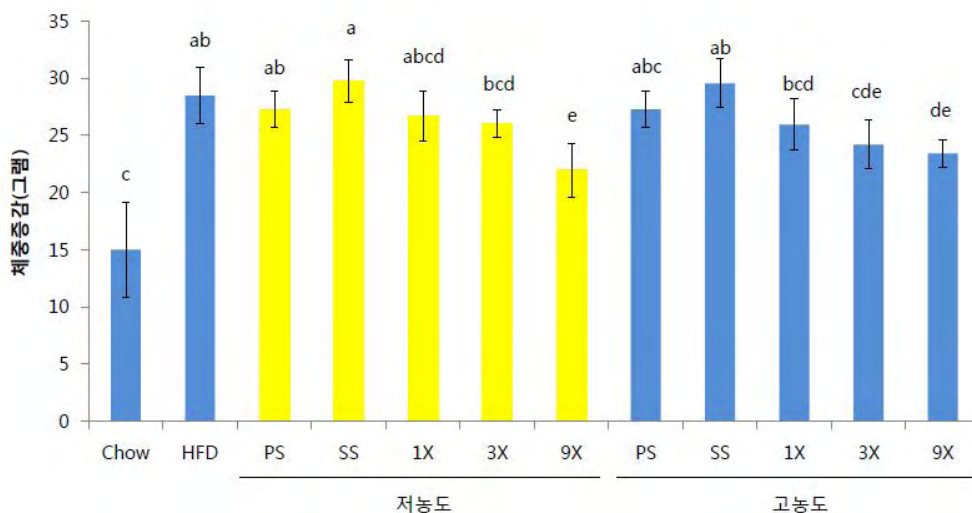
- 지방조직으로 분석한 결과 PPAR- $\gamma$  및 C/EBP $\alpha$ 의 발현이 9회죽염 투여군에서 억제되었음을 알 수 있었다.



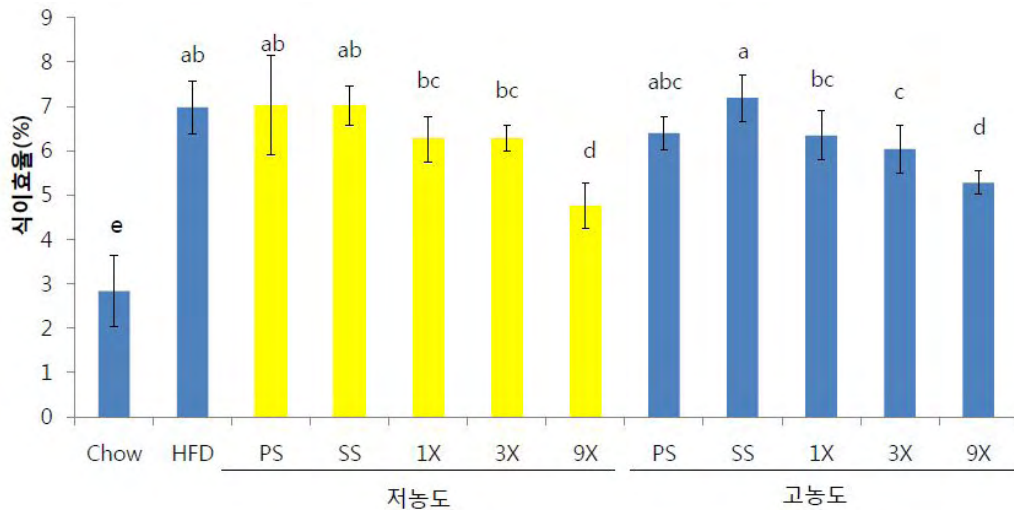
[동물실험 2. 고지방식이로 비만을 8주간 유도한 후 염분배합 식이에 의한 8주간 비만을 감소 연구]

- 2차 동물실험에서는 C57BL/6 96마리를 이용, 크게 일반 식이군(chow diet), 고지방 식이군 (HFD), 고농도(4%) 염분 배합군과 저농도(0.47%) 염분 배합군으로 분할하였으며, 각 염분 배합군은 정제염, 천일염, 1회죽염(1X), 3회죽염(3X), 그리고 9회 자죽염(9X)로 분할해 진행하였다. 실험 초기부터 염수를 강제투약했던 1차 동물실험과 달리, 2차 실험에서는 45% HFD를 급여해 8주간 비만을 유도한 다음 염분을 배합한 HFD로 교체해 8주간 실험을 추가적으로 진행하였다. 사육을 종료한 후에는 절식 없이 부검을 실시하였고, 이후 혈액 채취와 장기 적출을 진행하여 분석을 진행하였다.

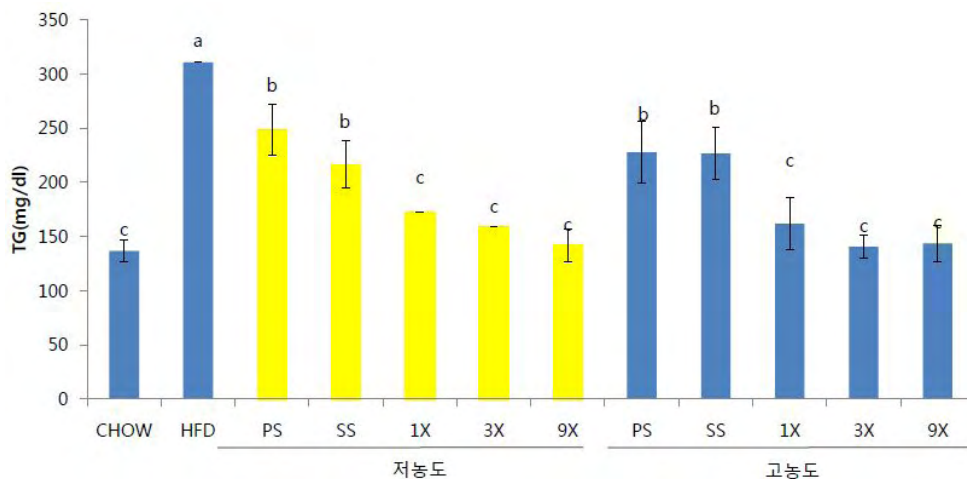
- 전체 실험군의 체중증감 양상에서 저농도의 9회 자죽염 처리군을 제외하고는 실험군 간의 유의성이 적었다. 그러나 저농도 투여군의 경우 천일염의 체중증가가 유의적으로 높게 나타났으며, 9회 자죽염이 천일염과 chow diet 군의 중간 수준으로 유의적인 차이를 보였다. 그러나 죽염 투여군 상에서의 유의성은 적었다.



- 식이효율의 경우 체중증감에 비해 그 증감폭과 유의성 양상이 더욱 명확하게 나타났다. 특히 9회 자숙염의 식이효율이 HFD 군은 물론 천일염 배합군에 비해 유의적으로 낮은 식이효율을 보이는 것으로 나타났다. 고농도 배합군의 경우 식이효율의 변화주기에 염분 간의 유의성이 적게 나타났으나, 9회 자숙염 배합군은 천일염 및 HFD 급여군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 저농도 배합군의 경우 HFD 군과 정제염-천일염 배합군의 식이효율이 유의수준 이내에서 유사하게 나타난 반면 9회 자숙염 배합군의 식이효율이 HFD와 정제염-천일염 배합군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다.

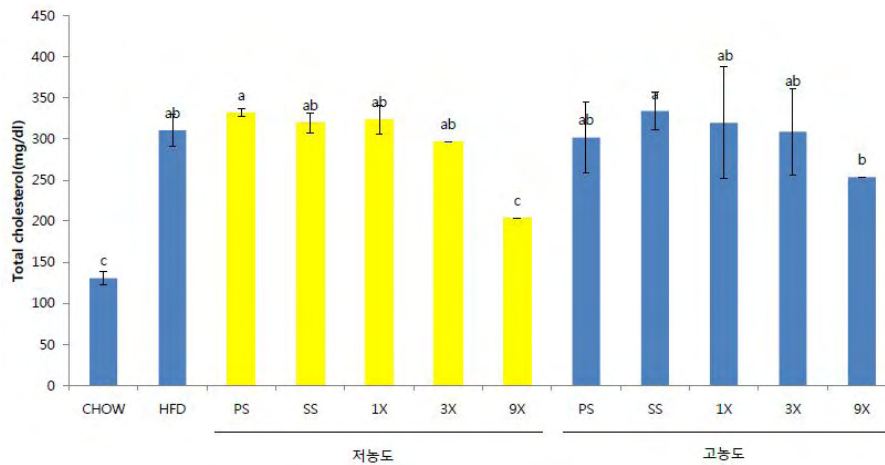


- 혈청 상의 중성지방 함량을 전체 실험군으로 보았을 때 정제염 및 천일염 군은 HFD 군에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 그러나 죽염 처리군은 전반적으로 chow diet 군은 물론 HFD 군과 유사한 수준으로 중성지방 함량이 저감되었음을 알 수 있었다.

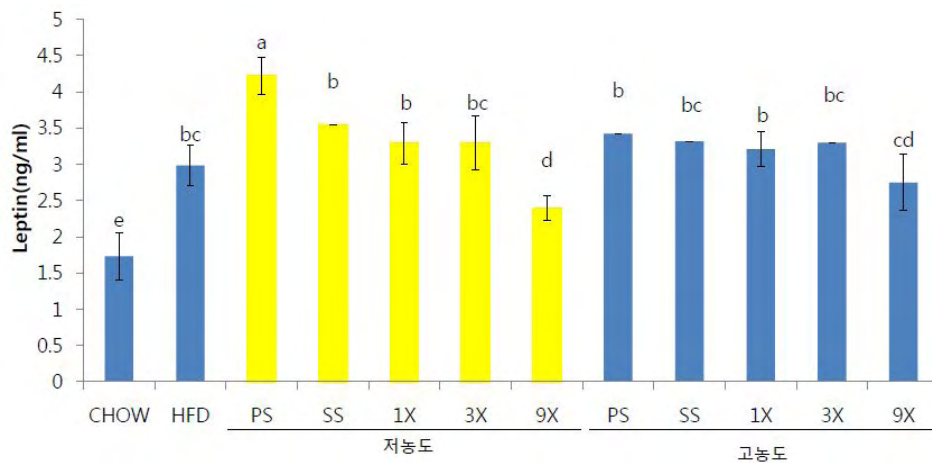


- 총 콜레스테롤 함량의 경우 전반적으로 정제염 및 천일염 배합군에서 높게 나타났으나 HFD와의 유의성이 적었다. 죽염 급여군의 경우, 고농도 배합군만을 놓고 볼 때 1회 및 3회죽염 배합군에서 천일염에 비해 유의적으로 낮은 콜레스테롤 함량을 나타냈다. 또한 저농도 배합군의 경우에는 9회 자숙염 배합군의 혈중 콜레스테롤 함량이 chow diet군에 필적할 만큼 저

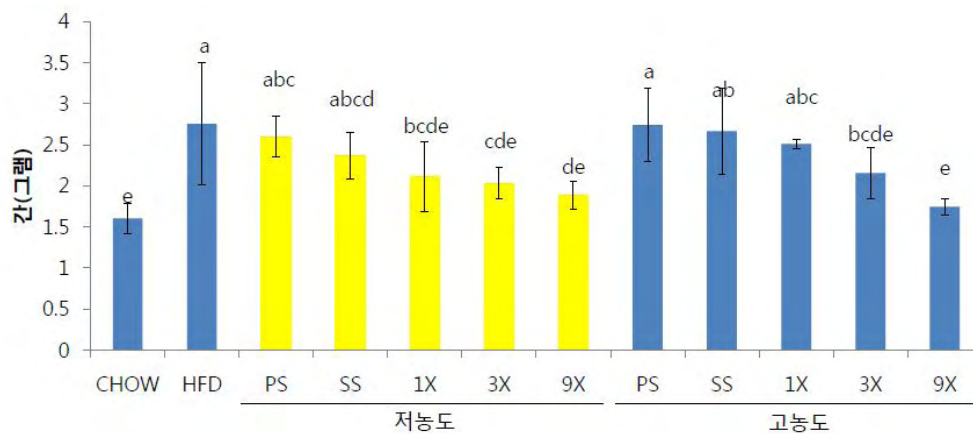
감된 것을 알 수 있었다.



- Leptin의 경우 고농도 배합군에서는 HFD군에 비해 정제염, 천일염, 죽염 배합군에서 leptin 이 더 많이 분비된 것으로 나타났으나 군간의 유의성은 적었다.

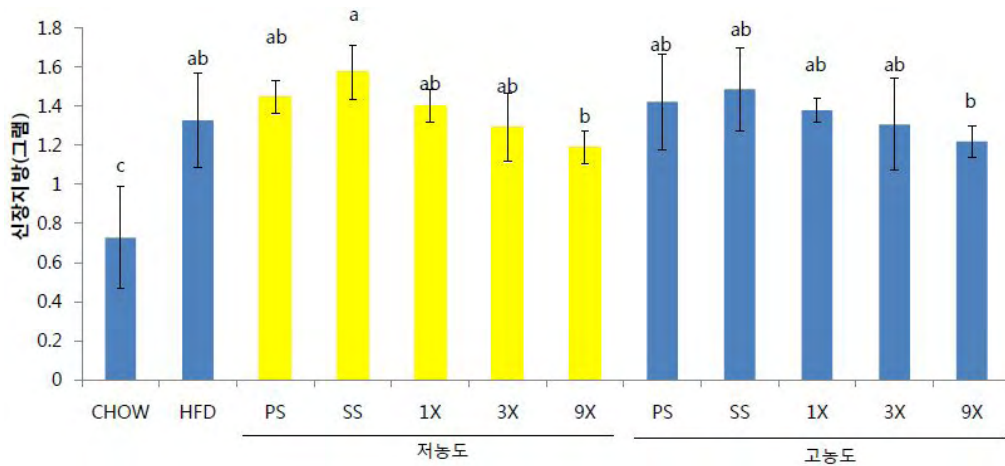


- 간의 무게를 측정한 결과, 전반적으로 9회 자숙염 배합군의 경우 HFD 급여군에 비해 유의적으로 간의 무게가 적게 나타났으며, 이는 chow diet군의 경우와 유사하였다.

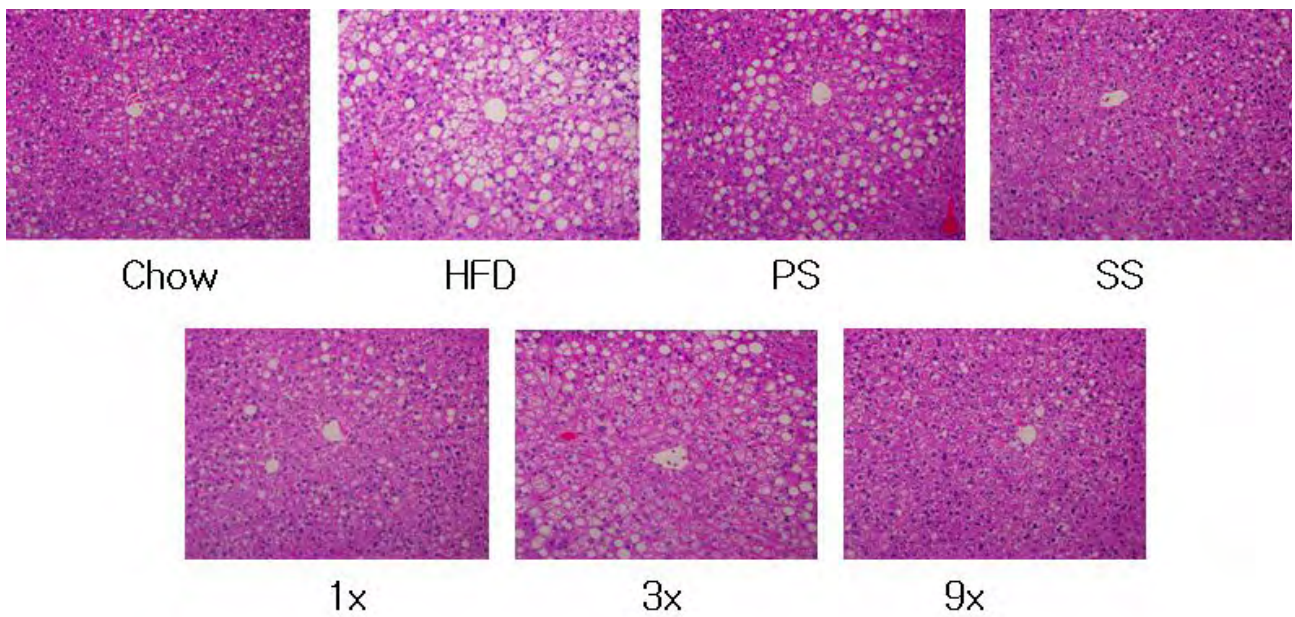




- 신장에 부착된 지방을 내장지방으로서 적출하여 계중한 결과, 비록 유의성은 적었으나 정제염 및 천일염 배합군에서 적출한 신장지방이 HFD의 것보다 많은 것으로 나타났고 죽염을 배합한 실험군은 천일염 배합군에 비해 신장지방의 생성이 억제된 것을 알 수 있다. 특히 저농도 배합군 중 9회 자죽염 배합군은 천일염 배합군에 비해 유의적으로 신장지방의 비대를 억제한 것으로 나타났다.

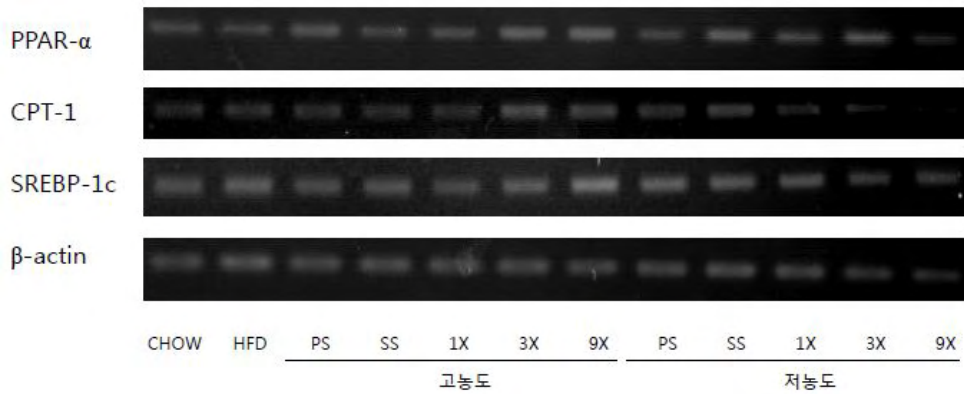


- 적출한 간을 단편화하고 H&E 염색을 한 후 조직 상의 지방구 단면적을 계측하였다. Chow diet 군의 간 조직과 비교했을 때 HFD군의 간 조직에서는 상대적으로 지방구가 크게 나타났으며, 정제염 배합군의 지방구는 이보다 다소 작게 나타난 반면 천일염 배합군의 지방구는 HFD와 유사한 규모로 나타났다. 반면 죽염 배합군의 경우 1, 3, 9회 모두 지방구가 HFD 및 정제-천일염 배합군에 비해 작게 나타났으며 chow diet군과 유사한 수준이었다.



- 고농도 배합군에서 SREBP-1c는 전 실험군을 통틀어 일정하게 발현되었다. 반면  $\beta$ -oxidation에 연관된 전사인자인 PPAR- $\alpha$ 와 그 전사적 제어를 받는 인자인 CPT-1은 3회죽

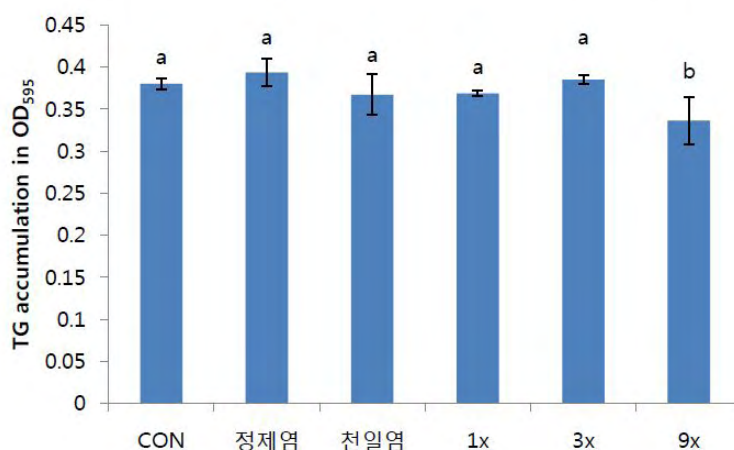
염 및 9회 자죽염 배합군에서 그 발현이 항진됨을 알 수 있다. 또한 저농도 배합군에서는 지질합성인자를 전사하도록 지령하는 전사인자인 SREBP-1c의 발현량이 현저히 감소하는 것으로 나타났다.



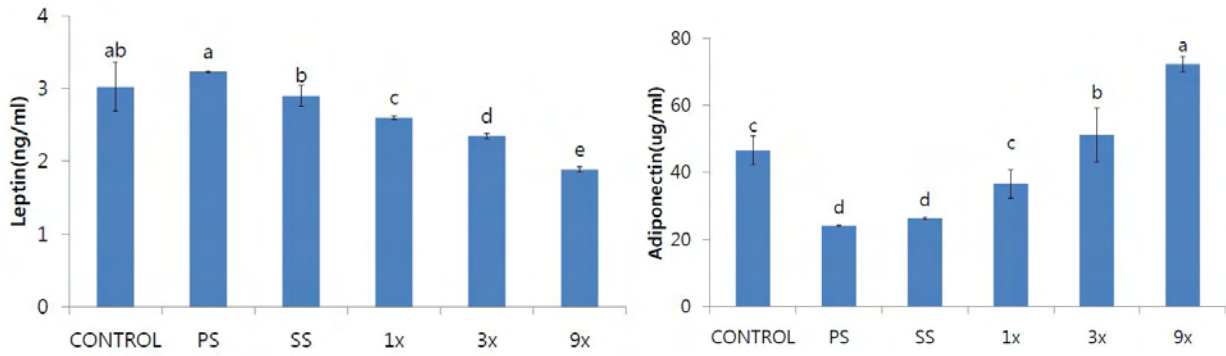
- 이상의 결과들으로써 볼 때 죽염은 지방세포와 간에 직접 작용하여 β-oxidation을 강화하는 반면 지질 합성을 억제하는 기전을 지니는 것으로 나타났다. 이로 인해 체중의 증가가 억제되고 지질대사의 개선을 상당 수준 이룸으로써 비만의 예방효과와 일부 치료효과를 발휘할 수 있을 것으로 기대된다.

**\* 지방세포 기반의 항비만 효과 연구**

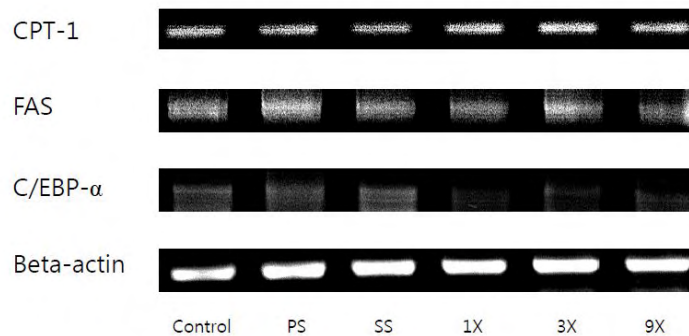
- 분화된 3T3-L1을 분화 8일차에 최종농도 0.1%의 정제염, 천일염, 죽염(1회, 3회, 9회)으로 처리하였으며, Oil-red O로 염색한 후 isopropanol로 탈염하여 595nm 하에서 흡광도를 측정함으로써 세포 내 TG의 축적량을 검증하였다. 그 결과 9회죽염 처리군의 TG 축적량이 control군에 비해 유의적으로 적게 나타났다.



- Leptin 및 adiponectin의 분비량을 ELISA로써 검증하였으며 그 결과는 아래와 같다.



- Adiponectin과 leptin은 서로 상반되는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 즉, leptin은 지방세포 상의 지방구 용량에 따라 그 분비량이 비례해 증가하는 반면 adiponectin은 지방구의 축적이 가중될수록 도리어 감소한다. 9회 자죽염 처리군의 leptin 분비량은 정제염은 물론 미처리군에 비해서 유의적으로 저감되었음을 알 수 있었으며, 분비량은 정제염>천일염>1회죽염>3회죽염>9회 자죽염 순으로 나타났다. 또한 동일한 실험군의 배양액으로 adiponectin의 발현량을 분석한 결과 정제염 및 천일염 처리군의 adiponectin 분비량은 미처리군에 비해 낮게 나타난 반면 1회죽염 처리군은 유의수준 이내에서 미처리군과 비슷한 분비량을 나타냈으며, 3회죽염과 9회 자죽염의 경우 굵는 횟수에 비례해 adiponectin의 분비량을 증강시킨 것으로 나타났다.



- 0.1% 처리군의 세포에서 RNA를 채취해 그 발현량을 PCR로 분석한 결과 죽염처리군의 C/EBPα의 발현량은 미처리군 및 정제염-천일염 처리군에 비해 낮게 나타났다. FAS(fatty acid synthase)의 경우 1회 및 9회 자죽염 처리군에서 발현량이 낮게 나타났으며, CPT-1의 경우 죽염 처리군 상의 발현량이 정제염 및 천일염 처리군의 경우보다 높게 나타났다.

- 이상의 내용을 종합해 볼 때, 죽염은 *in vitro* 상에서 비만세포의 분화상태를 유지하고 지질을 합성하는 인자는 억제하는 반면 지질을 분해하는 인자의 발현을 촉진하는 역할을 한다고 볼 수 있다.

○ 죽염의 유해물질 분석 및 안전성 규명

\* 죽염 제조 중 안정성 규명

- 죽염은 그 제조 특성상 죽통에 천일염을 넣어 1000℃ 이상의 열을 가하므로 그만큼 다이옥신과 같은 유해물질 문제에 항상 연루되어 왔다. 따라서 본 연구진은 실험에 사용되는 S사의 죽염을 포함해 5개 회사의 9회 자죽염의 유해물질을 분석하였다.
- 죽염 제품 내 다이옥신을 분석한 결과는 아래와 같았다. 5개 회사 제품 모두 다이옥신이 검출되지 않은 것으로 나타났다.

Dioxins	GA죽염	I죽염	GB죽염	K죽염	S죽염
1368TCDD	0	0	0	0	0
1379TCDD	0	0	0	0	0
2378TCDD	0	0	0	0	0
12378P5CDD	0	0	0	0	0
123478H6CDD	0	0	0	0	0
123678H6CDD	0	0	0	0	0
123789H6CDD	0	0	0	0	0
1234678H7CDD	0	0	0	0	0
O8CDD	0	0	0	0	0
1278T4CDF	0	0	0	0	0
2378T4CDF	0	0	0	0	0
12378P5CDF	0	0	0	0	0
23478P5CDF	0	0	0	0	0
123478H6CDF	0	0	0	0	0
123678H6CDF	0	0	0	0	0
123789H6CDF	0	0	0	0	0
234678H6CDF	0	0	0	0	0
1234678H7CDF	0	0	0	0	0
1234789H7CDF	0	0	0	0	0
O8CDF	0	0	0	0	0

(단위: pg/g)

- PCB(polychlorine biphenyl)는 살충제, 소화약제는 물론 절연체 등에 쓰여 왔으나, 1970년대 생물체에 독성이 축적되는 문제가 발견되어 사용이 금지되었다. 그럼에도 불구하고 기존의 PCB가 공기나 해수를 통해 인체에 도입-축적되는 문제가 지적되어 온 바 본 연구진은 죽염 제품 내 PCB의 잔류량을 검증하여 아래와 같은 결과를 얻어냈다. PCB류는 일부 검출되기도 하였으나, WHO에서 규정한 독성등가치수 (TEF)값을 적용할 경우 분석시료 모두에서 dioxins 및 PCBs류의 식품중 잔류량은 0.000으로 나타나 사실상 5개회사 제품 모두 불검출로 볼 수 있다.

PCBs	GA측염	I측염	GB측염	K측염	S측염
33'44'-T4CB(#77)	0	0	0	0	0
344'5-T4CB(#81)	0	0	0	0	0
33'44'5-P5CB(#126)	0	0	0	0	0
33'44'55'-H6CB(#169)	0	0	0	0	0
233'44'-P5CB(#105)	0.0000	0.0000	0.0000	0.0291	0.0000
2344'5-P5CB(#114)	0.0000	0.0183	0.0000	0.0097	0.0000
23'44'5-P5CB(#118)	0.0147	0.0044	0.1521	0.0652	0.0152
2'344'5-P5CB(#123)	0.0081	0.0104	0.0666	0.0083	0.0450
233'44'5-H6CB(#156)	0.0000	0.0214	0.0794	0.0817	0.0699
233'44'5'-H6CB(#157)	0.0000	0.0000	0.0000	0.0619	0.0000
23'44'55'-H6CB(#167)	0.0000	0.0000	0.0250	0.0318	0.0365
233'44'55'-H7CB(#189)	0.0000	0.0034	0.0241	0.0173	0.0000
22'33'44'5-H7CB(#170)	0.0660	0.0774	0.1693	0.0548	0.1674
22'344'55'-H7CB(#180)	0.0638	0.2583	0.7026	0.1997	0.3996

(단위: pg/g)

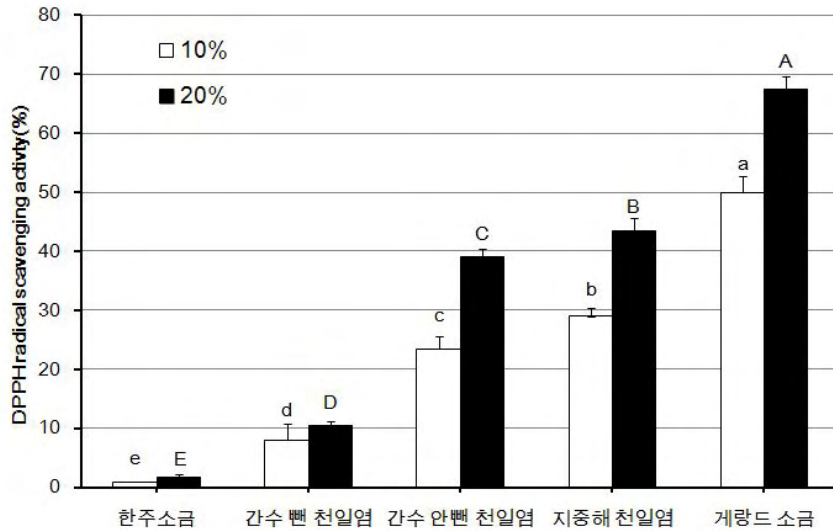
- PAHs(polycyclic aromatic hydrocarbons)는 벤조피렌을 포함하는 유해물질로 알려져 있으며, 수십종 이상의 유도체들이 존재하지만, 식품에서는 벤조피렌만 표시한다. 5개 회사 자측염에 대해 분석 가능한 주요 PAH의 함량을 분석하여 아래와 같은 결과를 도출했다. 분석시료 모두 벤조피렌은 검출되지 않았으며, EPA에서 규정한 독성등가치수(TEQ)값으로 검출된 나프탈렌의 함량을 벤조피렌함량으로 환산하여도 잔류량은 0으로 나타났다.

PAHs	삼보죽염	인산가	개암죽염	차죽염	Korea salt
Naphthalene	0	0	0.985	0	0
Acenaphthylene	0	0	0	0	0
Acenaphthene	0	0	0	0	0
Fluorene	0	0	0	0	0
Phenanthrene	0	0	0	0	0
Antracene	0	0	0	0	0
Fluoranthene	0	0	0	0	0
Pyrene	0	0	0	0	0
Benz(a)anthracene	0	0	0	0	0
Chrysene	0	0	0	0	0
Benzo(b)fluoranthene	0	0	0	0	0
Benzo(k)fluoranthene	0	0	0	0	0
Benzo(a)pyrene	0	0	0	0	0
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	0	0	0	0	0
dibenz(a,h)anthracene	0	0	0	0	0
benzo(g,h,i)perylene	0	0	0	0	0
EPA-TEQ	0	0	0	0	0

(단위: ng/g)

**\* 죽염의 생산공정 표준화 연구**

- 본 실험에서는 한주소금(정제염), 간수를 뺀 천일염, 간수를 빼지 않은 천일염, 지중해 천일염, 계랑드 소금을 이용하여 진행하였으며, 다음과 같은 가공방법을 사용하였다.
- 위의 소금 종류를 다르게 하여 제조한 죽염(1회 죽염)
- 죽염 1회~3회까지 황토를 입구에 막는 방법, 지장수를 뿌리는 방법, 아무것도 처리하지 않은 방법
- 죽염 제조시 내화 벽돌과 stainless steel을 이용하여 제조하는 방법(9회죽염)
- 소금의 원료에 따른 죽염의 기능성 변화를 알아보기 위해 소금 원료를 다르게 하여 제조된 죽염(1회 죽염)으로 DPPH 소거능을 검증하였다. 죽염 20%의 농도에서 계랑드 소금으로 제조한 죽염이 67%의 가장 높은 소거 효과를 나타내었다. 간수 안 뺀 천일염도 38%의 높은 효과를 나타냈고 지중해 천일염은 42%의 효과를 나타내었다.



- HT-29 인체 결장암세포에서의 항암 효과를 보았는데, 소금 시료를 0.5%의 농도로 처리한 결과, 게랑드 소금이 20%로 가장 높은 저해율을 보였고 간수 안 뺀 천일염과 지중해 천일염이 각각 16%와 13%의 저해율을 보였으며 간수 뺀 천일염과 한주소금은 11%와 5%의 저해율을 나타내었다( $p < 0.05$ ).

Treatment	OD <sub>540</sub> (concentration of sample, %)	
	0.5	1.0
Control (untreated)	0.623 ± 0.011 <sup>a,A</sup>	
한주소금	0.585 ± 0.009 <sup>b</sup> (5) <sup>1)</sup>	0.560 ± 0.008 <sup>B</sup> (9)
간수 뺀 천일염	0.549 ± 0.003 <sup>c</sup> (11)	0.511 ± 0.024 <sup>C</sup> (17)
간수 안 뺀 천일염	0.518 ± 0.020 <sup>d</sup> (16)	0.451 ± 0.014 <sup>D</sup> (27)
지중해 천일염	0.536 ± 0.027 <sup>cd</sup> (13)	0.509 ± 0.007 <sup>C</sup> (17)
게랑드 소금	0.492 ± 0.006 <sup>e</sup> (20)	0.375 ± 0.032 <sup>E</sup> (39)

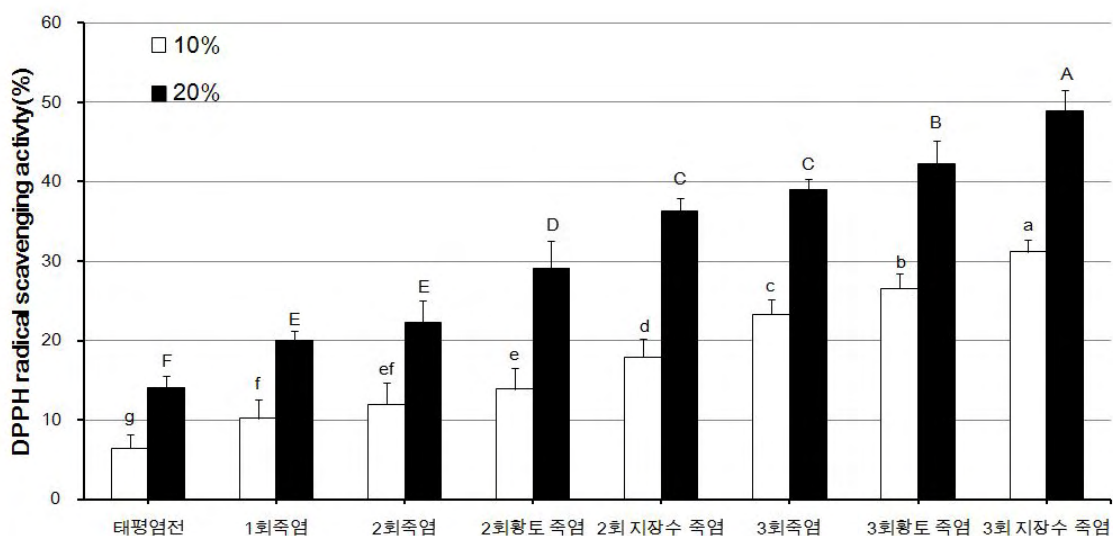
<sup>1)</sup> The values in parentheses are the inhibition rates (%).

<sup>a-f, A-F</sup> Mean values with different letters in the column are significantly different ( $p < 0.05$ ) according to Duncan's multiple range test.

- 죽염의 원료가 되었던 다섯 가지 종류의 소금 속에 존재하는 생리 활성을 가지는 미네랄의 상대적인 함량을 ICP-MS를 이용하여 측정하였으며 그 결과는 아래 도표와 같았다.

Test item	Ca	Fe	K	Mg	Mn	P
한주소금	281.6	ND	677.3	110.3	ND	2.9
간수 뺀 천일염	604.0	0.7	1292.7	1372.6	ND	3.7
간수 안 뺀 천일염	1115.1	ND	2391.1	8788.7	ND	5.5
지중해 천일염	751.2	ND	1544.3	6293.8	1.1	3.8
계랑드 소금	1326.1	ND	2905.0	7741.3	2.2	3.0

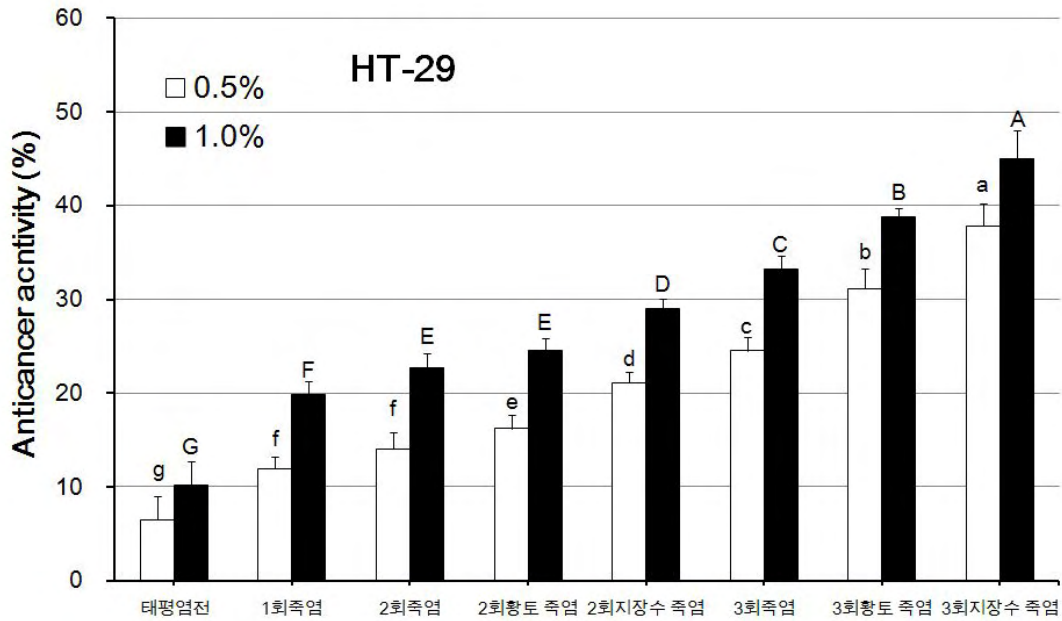
- 정제염의 NaCl 함량은 99.8%이었으나 Ca, K, Mg 등이 천일염보다 많이 적었다. Ca의 함량은 계랑드 소금이 1326 ppm으로 가장 높았고, 간수 안 뺀 천일염은 계랑드 소금보다 조금 낮았다(1115 ppm). K의 함량은 계랑드 소금과 간수 안 뺀 천일염이 각각 2905와 2391 ppm으로 다른 소금보다 많이 함유하고 있었다. Mg의 함량은 간수 안 뺀 천일염이 8789 ppm으로 가장 높았고, 계랑드 소금과 지중해 천일염은 6000~7000 ppm으로 높은 함량을 함유하고 있었으며 간수 뺀 천일염과 정제염의 Mg 함량은 낮았다. 한편 여러 종류의 소금의 Mn과 P의 함량은 낮게 나타났다.
- 이상의 결과로 볼 때 죽염을 제조하는 소금은 미네랄이 많고, 품질이 좋은 천일염이 우수한 것으로 볼 수 있었다.
- 제조 방법(황토와 지장수 사용)에 따른 죽염의 기능성을 검증하기 위해 태평염전 소금으로 만든 다양한 죽염의 DPPH 소거능을 검증하였다. 아래 도표와 같이 10% 농도에서 태평염전 소금으로 만든 3회 지장수 죽염이 31.2%로 가장 높은 저해율을 보였고, 3회 황토 죽염과 3회 죽염이 각각 26.6%와 23.3%의 소거능을 보였다.



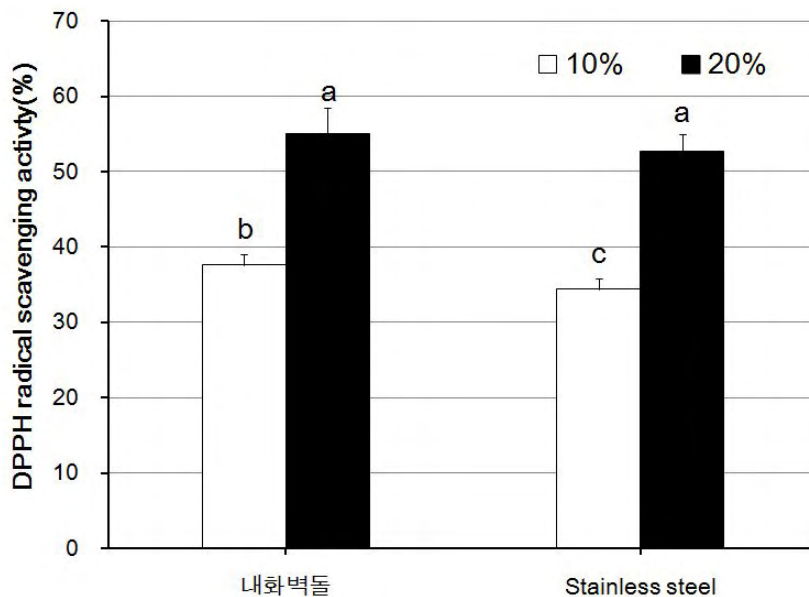
- 또한 태평염전 소금으로 만든 다양한 종류의 죽염을 HT-29 인체 결장암세포에서 0.5%의 농도로 처리한 결과, 태평염전 천일염 소금으로 만든 3회 지장수 죽염이 38%로 가장 높은 저



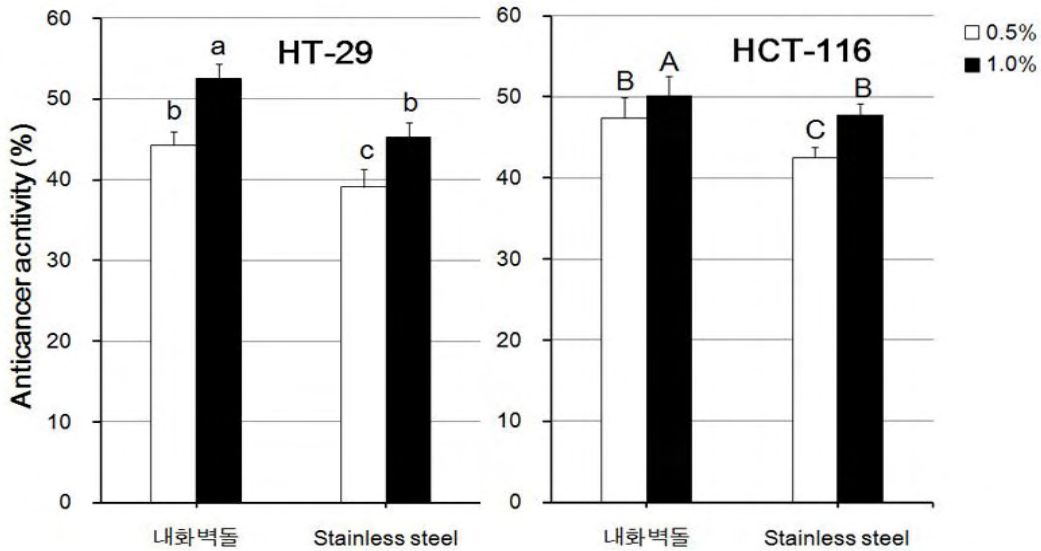
해율을 보였고, 3회 황토 죽염과 3회 죽염이 각각 31%와 25%의 저해율을 보였다.



- 이상의 결과로 볼 때 죽염의 생산공정 상에서 지장수를 첨가하였을 때 항산화 및 항암 효능이 가장 강력했으며, 황토를 사용하였을 때 나온 죽염과 무첨가 상태로 만든 죽염이 뒤를 이었다.
- 죽염 제조 용기에 따른 죽염(9회)의 기능성을 검증하기 위해 제조 용기를 달리하여 만든 9회죽염의 DPPH 소거능을 검증하였다. 10% 농도에서 내화벽돌에서 제조된 9회 죽염이 37.6%, stainless steel로 만든 9회 죽염이 34.4%의 DPPH 소거능을 보였다. 이러한 경향은 20% 농도에서도 유사하게 나타나고 있었다.



- 또한 제조 용기 별로 제조된 9회 죽염을 HT-29 및 HCT-116 인체 결장암세포에서 0.5%의 농도로 처리하고 MTT assay로 검증한 결과, 내화벽돌로 제조된 죽염이 44.3%와 47.4%, stainless steel으로 만든 9회 죽염이 39.1%와 42.5%의 암세포 성장 저해율을 나타내어 내화 벽돌에 의한 기능성 향상이 stainless steel 용기의 경우에 비해 유의성있게 나타났다. 이러한 경향은 1% 농도로 처리하였을 때도 유사하게 나타났다.



- 이상의 결과로 볼 때, 죽염 제조과정 상에서 사용하는 용기 소재로서는 내화 벽돌이 stainless steel보다 적합한 것으로 여겨진다.
- 죽통 및 황토, 지장수의 무기물 분석결과는 아래와 같았다.

	칼슘	철	마그네슘	망간	인	나트륨	칼륨
죽통1(규격내)	106	<20	228	7.76	420	87.6	6060
죽통2(규격외)	386	<20	301	91.2	199	59.4	2030
황토	306	25000	3210	124	93.7	92	3100
지장수	3.66	<0.1	1.84	<0.1	<0.01	8.01	1.38
분석방식	ICP	AAS	ICP	AAS	ICP		AAS

(도표 상의 모든 단위는 ppm으로 나타나 있음)

- 시중에서 판매되는 5개사의 자죽염과 그 원료가 된 천일염의 무기물 분석결과는 아래와 같았다.

	Na	K	S	Mg	Ca	Mn	Fe	P
	Concentration (%)			Concentration (ppm)				
I죽염-천	32.384	0.463	0.699	7248.998	696.319	0.012	0.037	0.045
I죽염-자	35.937	1.747	1.122	0.180	0.914	0.000	0.121	0.382
S죽염-천	32.413	0.523	0.568	6650.564	1076.421	0.000	0.019	0.057
S죽염-자	32.884	1.620	0.675	3.529	1.047	0.000	0.111	1.099
GB죽염-천	32.442	0.477	0.509	6336.653	921.565	0.000	0.028	0.044
GB죽염-자	35.693	1.379	0.627	0.095	1.444	0.000	0.254	0.786
GA죽염-천	33.888	0.137	0.211	1444.079	785.420	0.000	0.015	0.059
GA죽염-자	33.704	2.620	1.025	7.629	1.077	0.000	0.037	0.413
K죽염-천	28.994	0.706	0.628	7895.895	705.715	0.087	0.026	0.062
K죽염-자	39.134	2.368	0.602	0.927	1.546	0.000	0.086	1.505

- 또한 5개사의 자죽염과 그 원료 천일염을 각각 1.0% 농도로 AGS 위암세포에 처리한 후 MTT로 항암효능을 검증하였으며 그 결과는 아래와 같았다. S죽염의 원료 천일염은 전체 천일염 중 항암효능이 가장 좋은 것으로 나타났으며(억제율 41%), GB죽염의 천일염(35%)과 K죽염의 천일염(29%)이 뒤를 이었다. 이러한 천일염이 자죽염으로 가공된 경우 GA죽염의 항암효능이 71%로 가장 높게 나타났으며, 그 다음으로 S죽염이 68%의 항암효능을 기록했다.

Treatment	OD <sub>540</sub> (concentration of sample)			
	Solar	salt	Purple	bamboo salt
Control (untreated)	0.446 ± 0.005 <sup>aa</sup>			
S죽염	0.263	± 0.007 <sup>f</sup> (41) <sup>1)</sup>	0.143	± 0.009 <sup>CD</sup> (68)
GA죽염	0.352	± 0.006 <sup>b</sup> (21)	0.129	± 0.011 <sup>D</sup> (71)
I죽염	0.330	± 0.008 <sup>c</sup> (26)	0.178	± 0.011 <sup>B</sup> (60)
GB죽염	0.290	± 0.010 <sup>e</sup> (35)	0.152	± 0.007 <sup>C</sup> (66)
K죽염	0.317	± 0.006 <sup>d</sup> (29)	0.169	± 0.006 <sup>B</sup> (62)

<sup>1)</sup> The values in parentheses are the inhibition rates (%).

<sup>a-f, A-D</sup> Mean values with different letters in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) according to Duncan's multiple range test.

- 그리고 같은 5개사 자죽염과 그 원료 천일염을 각각 1.0% 농도로 HT29 대장암세포에 처리한 후 MTT로 항암효능을 검증하였으며 그 결과는 아래와 같았다. S죽염의 원료 천일염은 전체 천일염 중 항암효능이 가장 좋은 것으로 나타났으며(37%), GB죽염의 천일염(30%)과 K죽염의 천일염(25%)이 뒤를 이었다. 이러한 천일염이 자죽염으로 가공된 경우 GA죽염의 항암효능이 64%로 가장 높게 나타났으며, 그 다음으로 S죽염이 61%의 항암효능을 기록했다.

Treatment	OD <sub>540</sub> (concentration of sample)			
	Solar	salt	Purple	bamboo salt
Control (untreated)	0.472 ± 0.007 <sup>aA</sup>			
S죽염	0.297	± 0.011 <sup>f(37)</sup> <sup>1)</sup>	0.184	± 0.006 <sup>D(61)</sup>
GA죽염	0.368	± 0.008 <sup>c(22)</sup>	0.170	± 0.008 <sup>E(64)</sup>
I죽염	0.392	± 0.012 <sup>b(17)</sup>	0.231	± 0.009 <sup>B(51)</sup>
GB죽염	0.330	± 0.008 <sup>e(30)</sup> <sup>1)</sup>	0.189	± 0.004 <sup>D(60)</sup>
K죽염	0.354	± 0.005 <sup>d(25)</sup>	0.212	± 0.006 <sup>C(55)</sup>

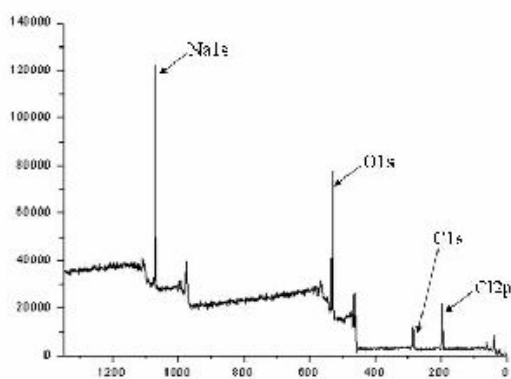
<sup>1)</sup> The values in parentheses are the inhibition rates (%).

<sup>a-f, A-D</sup> Mean values with different letters in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) according to Duncan's multiple range test.

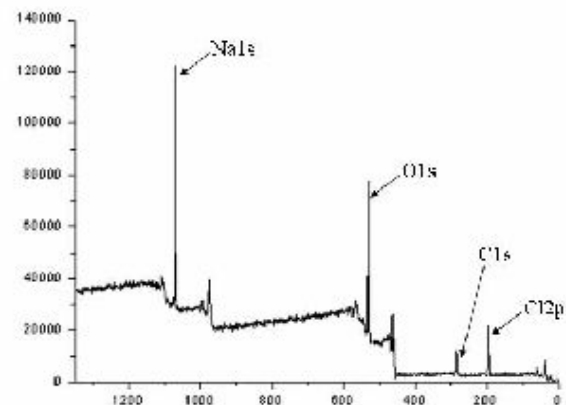
- 이상의 결과로 종합해 볼 때, 규격에 맞춰진 죽통(만 3-4년생으로서 베어낸 지 30일 이내인 절단면 직경 6-7cm의 대나무)에 천일염을 넣고 지장수를 첨가한 후 진흙으로 막아 내화벽돌 가마 속에서 구워내는 전통적인 방식의 가공법이 죽염의 기능성을 최적화할 수 있는 것으로 여겨지며, 이러한 공정으로써 나타나는 무기질 조성이 죽염의 기능성에 영향을 미치는 것으로 여겨진다.

### ○ 죽염의 물리화학적 분석

- 죽염을 포함한 소금 표면 상의 미네랄 함량을 XPS로 분석하였다.



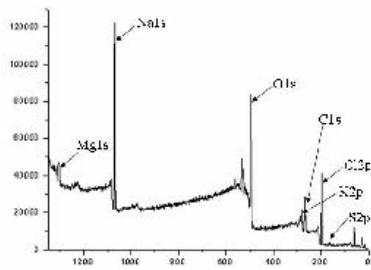
정제염의 XPS



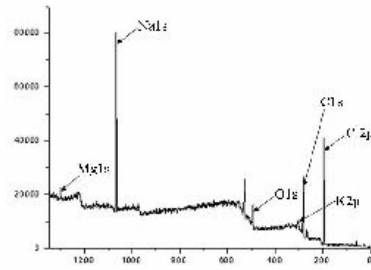
천일염의 XPS

- 정제염을 XPS로 조사한 결과 ESCA Cl2p 스펙트럼의 peak는 196.3 eV으로 나타났으며, Cl의 peak는 3개였다. 그러나 Na1s peak는 1070.9 eV였다. 이는 정제염 상의 표면에 퇴적된 NaCl의 양상을 그대로 보이는 결과라 하겠다.
- 천일염의 경우도 크게 다르지 않아 Cl2p peak가 197.1 eV였으며 Na1s peak 역시 1070.4

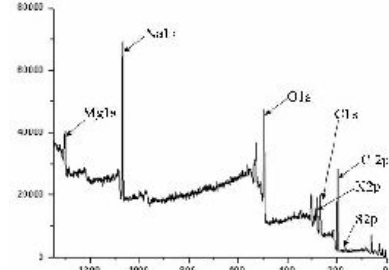
eV로 나타났다. 단, 정제염과 달리 미미한 Mg1s peak가 1302.3 eV를 기록하였으며, 이로써 정제염 표면은 순수한 염화나트륨으로 구성된 반면 천일염은 여기에 소량의 염화마그네슘이 더해져 있음을 알 수 있었다.



1회죽염의 XPS



3회죽염의 XPS



9회죽염의 XPS

○ 죽염 내 NaCl의 선택적 제거

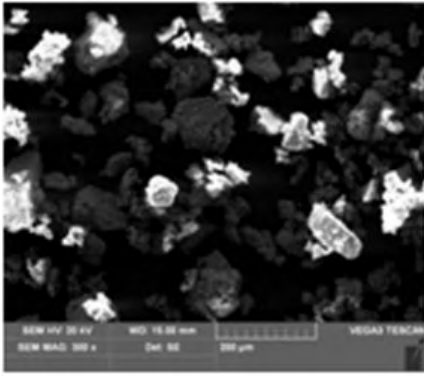
- 순수한 NaCl은 강산(HCl)과 강염기(NaOH)의 중화반응에 의한 염으로 수용액에서 중성을 나타낸다. 따라서 본 연구에 있어서 죽염이 나타내는 다양한 특성들은 죽염의 제조과정 상 포함되는 NaCl을 제외한 미량의 잔류물에 의한 것으로 판단된다. 이러한 점에서 제조된 죽염 내 NaCl을 선택적으로 제거하고 남은 물질을 이용한 다양한 연구를 진행하는 것이 필요하다.
- EDX 분석 결과, 자죽염이 포함하고 있는 NaCl의 함량은 약 93.7%이며 나머지 6.3%는 마그네슘, 칼슘, 철 등을 포함한 다양한 잔류물이다. 이 자죽염 내 NaCl이 선택적으로 제거된 물질은 아래와 같은 방법으로 제조하였다.

<Preparation>

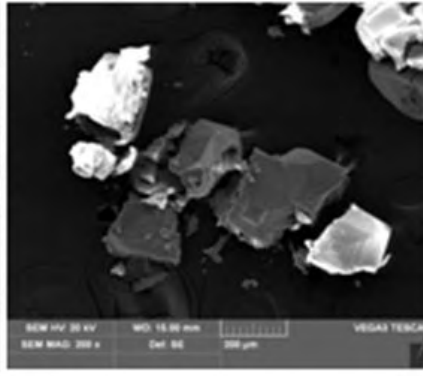
- [1] 자죽염 1.5g을 3차 증류수 5.0mL에 녹임
- [2] 깨끗하게 걸러낸 수용액에 아세톤 5mL를 천천히 적가함
- [3] 실온에서 24시간 방치하면 물/아세톤 혼합용액에서 순수한 NaCl결정이 생성되며 그 양은 222.6mg이었다.
- [4] 순수한 NaCl결정을 걸러낸 여액을 Rotary evaporator를 이용하여 용액을 건조한 후 이를 분석한다.
- [5] [2]의 단계에서, 아세톤 15mL를 사용하면 순수한 NaCl결정은 688.8mg 생성된다.

	무게 (mg)	NaCl함량	
		(mg)	(wt%)
자죽염	1,500.0	1,406.2	<b>93.7</b>
아세톤 5mL 사용시	966.0	851.0	<b>88.1</b>
아세톤 15mL 사용시	663.6	305.2	<b>46.0</b>

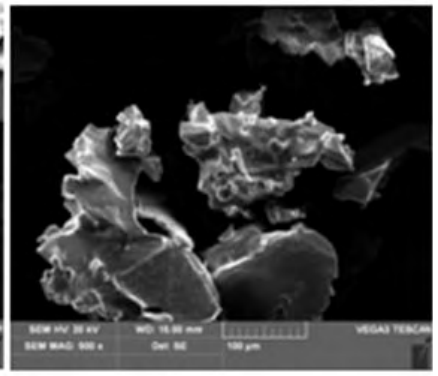
- 이후 고형 잔류물을 SEM 및 EDX로 분석한 결과는 아래와 같다.



9회 자죽염



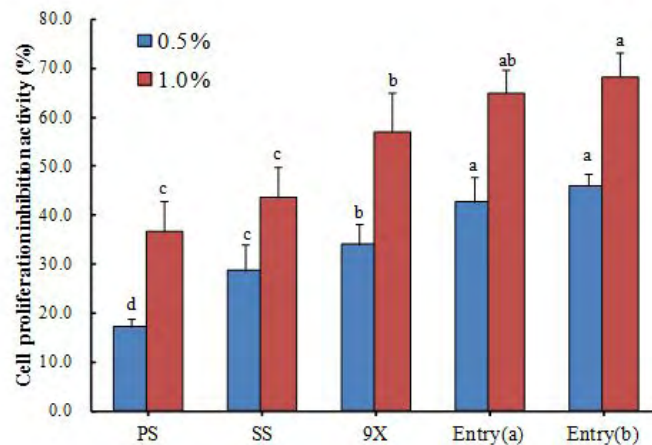
Entry A



Entry B

Element	죽염	Entry (a)	Entry (b)
C	7.365	8.957	8.591
Na	45.160	42.366	30.246
Mg	0.401	0.072	0.250
Al	0.051	0.069	0.452
Si	0.069	0.074	0.298
S	0.434	0.528	15.011
Cl	45.060	46.563	23.527
K	0.963	1.035	21.429
Ca	0.390	0.243	0.000
Mn	0.073	0.049	0.085
Fe	0.033	0.044	0.110
total	100.00	100.00	100.00

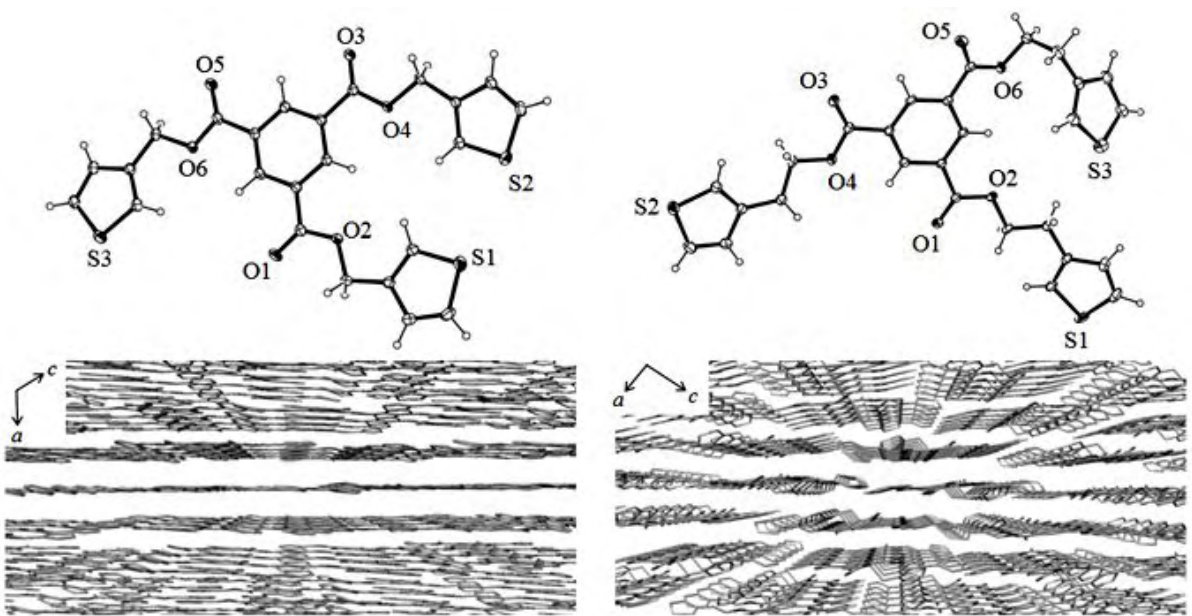
- 위의 결과로 볼 때 자죽염에는 나트륨, 칼륨, 마그네슘과 아울러 황, 탄소, 칼슘 등이 함유되어 있음을 알 수 있으며, 아세톤을 사용하여 NaCl을 일정량 제거한 고체에서는 황과 알루미늄, 규소, 철 등의 성분이 농축되었음을 알 수 있었다. 또한 전자현미경으로 관찰한 결과, 죽염 및 그 잔여물은 이러한 성분들의 비정질(amorphous) 복합체임을 알 수 있었다. 또한 아세톤을 적가하는 양을 조절하여 죽염 내 NaCl의 함량을 원하는 대로 조절할 수 있음을 확인하였다.



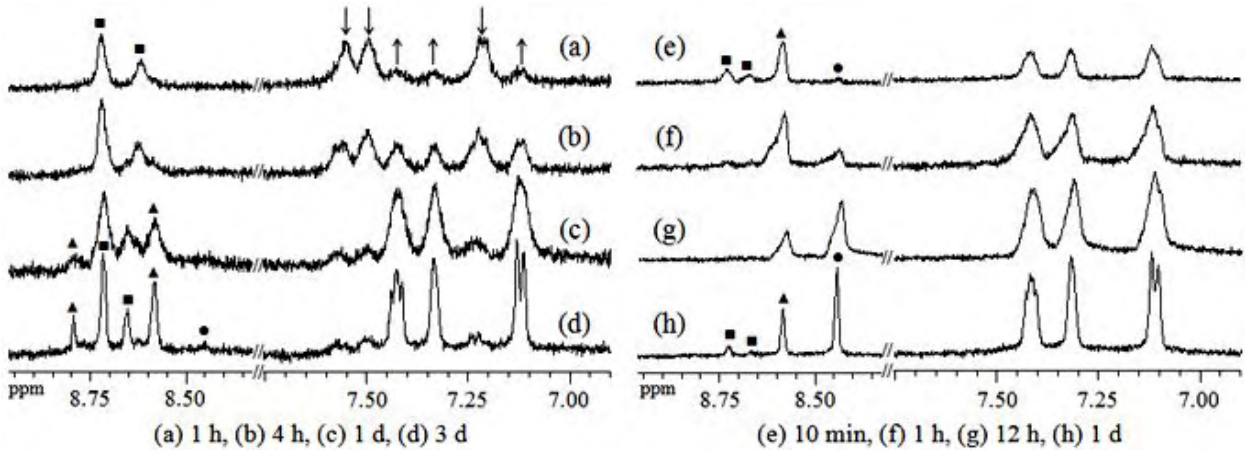
- 전술(前述)한 9회 자죽염에서 NaCl을 뺀 화합물(Entry(a) 및 entry (b))의 항암 효능을 확인하기 위해 정제염, 천일염, 9회 자죽염과 아울러 HT-29 대장암 세포에 각각 처리하였으며, 이를 MTT assay로 분석하여 위와 같은 결과를 얻어냈다. 0.5 및 1%로 처리하였을 경우 entry(a) 및 entry(b)는 기존의 정제염, 천일염, 자죽염에 비해 암세포의 증식을 유의적으로 억제하는 효과를 보였다. 이는 여타 소금 시료보다 entry(a)와 entry(b)가 S, K, Fe 등의 무기질 성분을 많이 함유하고 있기 때문으로 여겨지며, 향후 이러한 무기질의 항암기전에 대한 연구가 필요하다.

○ 죽염의 가수분해 기능

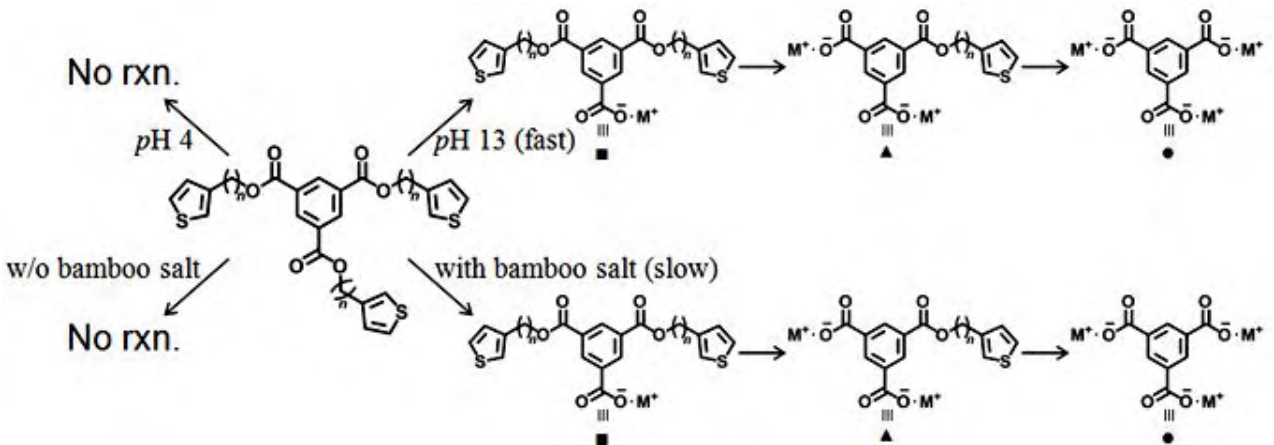
- 유기 에스테르 화합물은 자연계에 매우 널리 존재하고, 특히 향수 및 조미료 산업 등에서 매우 중요하게 사용되는 물질이다. 또한 지방(Fats) 역시 글리세롤과 지방산으로 이루어진 tri-ester 화합물이다. 따라서 음식물의 소화와 관련하여 유기 에스테르 화합물의 가수분해에 죽염이 미치는 영향에 대한 연구는 매우 중요하고 필수불가결하다.
- 본 연구진은 길이가 서로 다른 새로운 유기 tri-ester 화합물 두 종류를 합성하였고 X-ray 구조 분석을 통해 아래와 같은 구조임을 밝혔다. 또한 IR, NMR, 원소분석 등 다양한 측정을 통해 원하는 화합물이 높은 수득률로 합성되었음을 확인하였다.



-  $^1\text{H}$  NMR은 용액상에서의 분자의 움직임을 효과적으로 관찰할 수 있는 측정 방법이며, 특히 생체 내 대부분의 물질들이 수용액상에서 존재하기 때문에 생체 내 신진대사와 관련된 연구를 진행함에 있어서 NMR 측정은 매우 중요하다. 따라서 위와 같이 합성한 유기 tri-ester 화합물을 가수분해 매커니즘을 NMR을 통해 관찰하였다.



- 위의  $^1\text{H}$  NMR 데이터는  $\text{D}_2\text{O}$ 와  $\text{CD}_3\text{OD}$  혼합용액에서 측정하였으며, 유기 tri-ester 화합물이 각각 죽염(좌)과 강염기성을 띠는  $\text{NaOH}$ ( $\text{pH}$  13, 우)를 통해 가수분해되는 과정을 관찰하였다. 죽염을 이용한 유기 tri-ester 가수분해 반응은 세 개의 작용기가 수 시간에 걸쳐 서서히 분해되고 있음을 관찰할 수 있었는데 이를 통해 tri-ester 화합물은 아래와 같이 순차적으로 가수분해됨을 확인하였다. 반면에  $\text{NaOH}$ 를 통한 가수분해 반응은 한 시간 이내에 대부분 종료됨을 관찰하였고, 죽염을 통한 가수분해보다 매우 즉각적이고 강력하게 진행되었다.



- 반면,  $\text{pH}$  4 정도의 산성용액( $\text{HCl}$ )을 사용하거나, 혹은 아무런 처리도 하지 않은 tri-ester 화합물은 가수분해 반응이 진행되지 않고 그 자체로 안정하게 구조를 유지하고 있음을 함께 관찰하였다. 본 연구를 통해 에스테르기를 포함한 유기화합물의 가수분해 반응을 수용액상에서  $\text{pH}$ 에 매우 민감함을 알 수 있었으며, 특히 약염기성을 띠는 죽염은 이러한 가수분해 반응의 속도 조절에 유용함을 확인할 수 있었다.



#### 4. 연구성과

##### 가. 기술적 연구성과 기재

○ 연구성과(건수로 표기)

구분	연구논문	학술발표	지식재산권	기술이전/제품화	기타	계
2년도	8 <sup>(1)</sup>	7 <sup>(2)</sup>	2 <sup>(3)</sup>			15

\*1)

##### <1 세부>

출간 1건: “Surprisingly, traditional purple bamboo salt, unlike other salts does not induce hypertension in rats” (TANG)

투고 중 2건:

‘The Anti-Allergic Mechanisms of K-ALL (a Traditional Korean Medicine) in an Allergic Rhinitis Model’ (SCI 급 저널에 심사 중)

‘Inhibition of IL-32 Signaling by Bamboo Salt Diminishes the TSLP Production and Macrophage Differentiation in Human Monocyte Cell Line, THP-1 cells’ (SCI 급 저널에 심사 중)

##### <2 세부>

출간 5건: “Alkaline and Antioxidant effects of bamboo salt” (J Korean Soc Food Sci)

“Antimutagenic activity and in vitro anticancer effects of bamboo salt on HepG2 human hepatoma cells” (J Environ Pathol Toxicol Oncol)

“Bamboo salt has in vitro anticancer activity in HCT-116 cells and exerts anti-metastatic effects *in vivo*” (J med Food)

“Bamboo salt attenuates CCl4-induced hepatic damage in Sprague-Dawley rats” (Nutr Res Pract. In press)

“Insight into bamboo salt effects on hydrolysis of organic tri-esters” (Bull Korean Chem Soc)

\*2)

##### <1 세부>

국내발표: 3건 (Oral presentation: 2건, Poster presentation 1건)

2012 한식세계화 심포지엄 (한식 우수성, 기능성 연구사업의 성과와 발전방향)  
(2012.09.21. aT센터 5층 대회의장 Oral 발표)

1. 죽염의 알레르기 비염 억제기능 (Oral)

2012 Quality of life: Food industry and health

(2012.10.31.-11.02 제주 ICC Oral and Poster 발표)

1. Allergy and Bamboo salt (Oral)

2. Inhibition of IL-32 signaling by Bamboo salt diminishes the TSLP production and macrophage differentiation in human monocyte cell line, THP-1 cells (Poster)

<2 세부>

국내발표: 4건 (Oral presentation: 1건, Poster presentation 3건)

2012 한국식품영양과학회 정기학술대회

(2012.10.31. 제주 ICC Oral and Poster 발표)

1. Salt and health Anticancer and antiinflammation effects of bamboo salt. (Oral)

2. Antimutagenic activity and in vitro anticancer effects of bamboo salt on HepG2 human hepatoma cells. (Poster)

3. Anti-obesity effect of bamboo salt in vivo. (Poster)

2012 대한암예방학회 정기학술대회

(2012,11.09. 성신여자대학교 Poster 발표)

1. Chemical properties, antioxidant and in vivo gastric injury preventive effects of bamboo salt. (Poster)

국외발표: 3건 (Poster presentation 3건)

England Nutrition Society Summer Meeting 2012

(2012. 7.16; 영국 Queen's University Poster 발표)

1. Increased in vitro anticancer activity in HepG2 human hepatoma cells and in vivo hepatitis protective effect of bamboo salt. (Poster)

Experimental Biology 2013

(2013.4.20; Boston Convention & Exhibition Center, Boston MA, USA Poster 발표)

1. Anticancer effects of bamboo salt on human cancer cells and on buccal mucose cancer in mice. (Poster)

2. Anti-obesity effect of bamboo salt in vivo. (Poster)

\*3)

<1 세부>

특히 출원: K-ALL ‘알레르기용 약제, 알레르기 치료제’

출원번호: 40-2011-0057456

공고번호: 40-2012-0035979

등록일: 2012년 08월 21일

존속기간 만료일: 2022년 8월 21일

<2 세부>

특허 출원: 항산화 또는 항암 활성이 증대된 기능성 죽염 및 이의 제조방법.

출원번호: 10-2012-0158579

출원 일자: 2012년 12월 31일

특기사항: 심사청구 (유) 공개신청 (무)

나. 경제·사회적 연구 성과 기재(정책활용, 홍보, 교육지도 등)

○ 정책활용

<1 세부>

2012 한식세계화 심포지움, 및 2012 Quality of life: Food industry and health 학술대회에서 죽염의 다양한 기능에 대해 발표함으로써 죽염의 알레르기 비염 억제 기능, 항알레르기, 및 알레르기 질환 관련 염증 세포로의 분화 억제 기전을 발표-홍보하였으며, 이는 죽염의 중요성과 알레르기 질환의 근본적 치료 효과와 연관될 수 있음.

<2 세부>

죽염의 항암기능성에 대해 2012년 한국식품영양과학회 “Quality of Life (QOL): Food Industry and Health” 학술대회 중 소금 Session(죽염 및 죽염발효식품의 암예방효과 구두 발표)에서 죽염과 죽염 발효식품의 항암기능성에 대해 발표함으로써 죽염의 항암기능성을 발표-홍보하였고, 이러한 메커니즘의 규명이나 다른 실험계에서의 확인 등을 정확하게 계속적으로 진행하고 있음.죽염의 항암성, 항비만성, 안전성 및 과학적 제조방법 등이 규명됨으로써 소금의 세계화에 이 결과들이 그대로 사용될 수 있음.

○ 언론홍보 및 대국민교육

- 주관연구책임자인 김형민교수가 회장으로 역임한 바 있는 대한자죽염연구학회에서 본과제의 수행결과를 발표함.

언론홍보 내용

1. 죽염은 건강소금으로 한식세계화의 부가가치를 높이고 암을 예방하는 기능성을 증진시킬 수 있음을 홍보 하였다. (2012년 11월 29일 KBS-1TV 아침마당)
2. ‘죽염, 굵는 횡수 증가할수록 항암효과 증가’라는 주제로 건강소금으로서의 죽염의 항암 및 항염증 효과를 홍보하였다. (2012년 12월 Vol. 185 식품저널)

다. 2차년도 연구성과 달성율

구 분	연구성과 목표	연구성과	달성도 (%)
연구 논문	3	8	270%
학술발표	6	10	170%
지식재산권	1	2	200%
기술이전/제품화	2	0	0%
기타	4	3	75%

5. 2차년도 용역연구비 집행내역서

(단위 : 원)

비 목	용역연구비	계	1세부과제	2세부과제	비고
인건비 소계	53,580,000		22,950,000	30,630,000	
책임연구원					
연구원	14,700,000		7,350,000	7,350,000	기업체 인건비 현물 14,700,000원
연구보조원	38,880,000		15,600,000	23,280,000	
보 조 원					
경비소계	112,398,474		43,173,504	69,224,970	
경 비	국내여비	3,358,440	1,000,000	2,358,440	
	국외여비	3,186,830		3,186,830	
	유인물비	4,000,000	3,000,000	1,000,000	
	전산처리비	3,000,000	2,000,000	1,000,000	
	시약 및 재료비	91,339,700	33,660,000	57,679,700	1세부 기업체 부담금 5백만원 및 현물 3백만원 포함  2세부 기업체 부담금 5백만원 및 현물 8백8십만원 포함
	회의비	7,513,504	3,513,504	4,000,000	
	임차료				
	교통통신비				
	감가상각비				
	일반관리비	8,160,000		3,240,000	4,920,000
계	174,138,474		69,363,504	104,774,970	총 현물: 26,500

## 6. 중요 연구변경 사항

### <1 세부>

#### 1. 참여인력 변동

김형민 교수팀의 참여인력의 변동(문필동 박사 참여 2012.09.06)

사유: 김형민 교수와 정현자 연구원의 타 프로젝트 참여에 의한 변동

#### 2. 예산 변동

김형민 교수팀의 유인물비 예산 변경(당초 예산 1,500,000원에서 3,000,000원으로 증액) 및  
재료비 예산 변경(당초 예산 35,160,000원에서 33,660,000원으로 감액)

사유: 보험증권 및 위탁정산 수수료 부족

- 재료비 내역에는 현물 8,800,000원 상당의 죽염 시료가 포함되어 있음.

### <2 세부>

#### 1. 참여인력 변동

박건영 교수팀의 참여인력의 변동(조흔→송가락, 치용카이→홍예지, 김희영→김선미  
2012.08)

사유: 조흔 박사의 박사후 과정 종료 및 여타 연구원의 타 프로젝트 참여에 의한 변동

박건영 교수팀의 참여인력의 변동(홍예지→최메이지; 2013.03)

사유: 홍예지 연구원의 석사과정 종료

정옥상 교수팀의 참여인력의 변동(김성민→김정균, 조윤정; 2012.10)

사유: 김성민 연구원의 졸업 및 이에 따른 학사과정 학생 영입

#### 2. 예산 변동

박건영 교수팀의 국내여비 예산 변경(당초 예산 1,600,000원에서 2,600,000원으로 증액) 및  
재료비 예산 변경(당초 예산 49,879,000원에서 48,879,000원으로 감액)

사유: 잦은 출장으로 인한 국내여비 부족

- 재료비 내역에는 현물 8,800,000원 상당의 죽염 시료가 포함되어 있음.

#### 3. 국외여비 행선지 변경(2013. 7.14-20 영국 → 2013.4.20.-4.24 미국)

영국에서 개최되는 Nutrition Society Annual Summer Meeting 2013(2013. 7.14-20)에 참  
여하기로 한 당초 여정을 미국에서 개최된 Experimental Biology 2013 (2013.4.20.-24)에  
참여하는 것으로 변경하였음



## Bamboo salt reduces allergic responses by modulating the caspase-1 activation in an OVA-induced allergic rhinitis mouse model

Kyu-Yeob Kim<sup>a</sup>, Sun-Young Nam<sup>a</sup>, Tae-Yong Shin<sup>b</sup>, Kun-Young Park<sup>c</sup>, Hyun-Ja Jeong<sup>d,\*</sup>, Hyung-Min Kim<sup>d,\*</sup>

<sup>a</sup>Department of Pharmacology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Republic of Korea

<sup>b</sup>College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 565-701, Republic of Korea

<sup>c</sup>Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Republic of Korea

<sup>d</sup>Biochip Research Center, Hoseo University, Asan, Chungnam, Republic of Korea

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 31 March 2012

Accepted 12 July 2012

Available online 20 July 2012

#### Keywords:

Bamboo salt

Allergic rhinitis

IL-1 $\beta$

TSLP

Caspase-1

### ABSTRACT

Bamboo salt (BS) is a specially processed salt according to the traditional recipe using sun-dried salt (SDS) and bamboo in Korea. The present study investigated the effects and mechanism of BS, SDS, NaCl, or mineral mixture (containing zinc, magnesium, and potassium) on ovalbumin (OVA)-induced allergic rhinitis (AR) animal model. The increased number of rabs was inhibited by the oral administration of BS, SDS, NaCl, mineral mixture, or nose inhalation of BS. The increased levels of IgE, histamine, and interleukin (IL)-1 $\beta$  in serum were reduced by BS. The level of interferon- $\gamma$  was increased, whereas the level of IL-4 was reduced on the spleen tissue of BS-treated mice. In the BS-treated mice, the number of eosinophils and mast cells infiltration increased by OVA-sensitization were also decreased. Protein levels of inflammatory cytokines were reduced by BS or NaCl administration in the nasal mucosa of the AR mice. In addition, BS inhibited caspase-1 activity in the nasal mucosa tissue. In activated human mast cells, BS significantly inhibited the production of IL-1 $\beta$  and thymic stromal lymphopoietin and activation of caspase-1. Our data indicate that BS has anti-allergic and anti-inflammatory effects by regulating of caspase-1 activation in AR mice and in vitro models.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Allergic rhinitis (AR) is broadly defined as inflammation of the nasal mucosa. It is a common disorder that affects up to 40% of the population (Small et al., 2007). Although not life-threatening, AR can deteriorate the quality of life and can be a major risk (Oh et al., 2012). Most of the clinical symptoms of patients with AR, including rhinorrhea, nasal itching, sneezing, and nasal congestion, cause a lot of pain (Stokes et al., 2011). AR is frequently involved in acute and chronic airway diseases such as bronchial asthma, which is also caused by hypersensitivity to antigens, resulting in greater local inflammation as well as bronchoconstriction, vasomotor change, and mucus hypersecretion (Smolensky et al., 2007). Among immune cells, mast cells play critical roles in the pathogenesis of allergic responses in AR. Activated mast cells can release a wide variety of inflammatory mediators, including interleukin (IL)-1 $\beta$ , and thymic stromal lymphopoietin (TSLP) (Moon and Kim, 2011).

T helper (Th)1 and Th2 are two of many distinct subsets of Th lymphocytes, as defined by various functions and cytokine characterizations (Mosmann and Coffman, 1989; Paul and Seder, 1994). An imbalance of Th1/Th2 is thought to contribute to the pathogenesis of autoimmune diseases and important for autoimmune AR (Kirmaz et al., 2005). Th1 cells and Th2 cells has been considered important for homeostasis of the immune system in the whole body (Mosmann et al., 1986). Various diseases caused by a imbalance between Th1 and Th2. Especially, Th2 cells may play some important roles in the development of AR, and the suppression of Th2 lymphocytes could have the potential to be new therapeutic targets for the treatment of AR (Shirasaki et al., 2011). AR is an IgE-mediated inflammatory disease of the nasal mucous membranes due to the interaction of allergen characterized by a Th2-immunologic pattern with mast cells and an inflammatory infiltrate made up of eosinophils, which release several mediator, chemokines and cytokines, such as IL-1 $\beta$  (Pawankar et al., 2011).

Mast cells contribute to the induction and/or maintenance of eosinophilic inflammation by a variety of mechanisms, including IgE-dependent and IgE-independent processes (Pawankar et al., 2007). Chemotactic and activation signals in mast cells induced the recruitment of these cells to inflammatory sites (Bournazou et al., 2010). Mast cells release pro-inflammatory cytokines that

\* Corresponding authors. Address: Department of Pharmacology, College of Oriental Medicine, Institute of Oriental Medicine, Oriental Medical Science Center, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Republic of Korea. Tel.: +82 2 961 9448; fax: +82 2 968 1085.

E-mail addresses: [hjeong@hoseo.edu](mailto:hjeong@hoseo.edu) (H.-J. Jeong), [hmkim@khu.ac.kr](mailto:hmkim@khu.ac.kr) (H.-M. Kim).

## Surprisingly, traditional purple bamboo salt, unlike other salts does not induce hypertension in rats

Young-Sick Kim<sup>1,\*</sup>, Eun-Hee Lee<sup>2</sup>, Hyung-Min Kim<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Kyung Hee University, 1 Hoegi-dong, Dongdaemun-gu, Seoul 130-701, Republic of Korea; <sup>2</sup>Division of Beauty Arts, Jeonbuk Science College, Jeongeup, Jeonbuk, Republic of Korea

### Abstract

Hypertension induces many of the social costs related by cardiovascular diseases. Sodium is known as a crucial factor in inducing type I hypertension. In traditional Korean medicine, bamboo salt (BS) has been used in the attenuation of salts toxic coldness and nowadays it has shown various therapeutic effects. It contains mostly sodium chloride (about 91.7% of BS); however, the effect of BS on hypertension is still not completely understood. Thus, we investigated the effect of BS on blood pressure for the first time. Two groups of BS, sun-dried salt (SDS), NaCl, or distilled water (DW, vehicle control) was administered orally for 8 weeks. Although BS had no effect on body weight and food intake, it increased water intake ( $p < 0.05$ ). The BS groups, in terms of blood pressure, was similar to the DW group; whereas the SDS and NaCl groups showed significantly increased blood pressure levels ( $p < 0.05$ ). BS also decreased sodium-chloride cotransporter (NCC) mRNA expression, unlike SDS or NaCl. These observations indicate that BS may be a promising strategy for the prevention of various diseases including salt-related diseases.

**Key words** hypertension, blood pressure, sodium chloride, bamboo salts, sodium-chloride cotransporter

### INTRODUCTION

Hypertension means high arterial blood pressure in general. About 90% of over 55-year-old people are near or have higher stage 1 hypertension ( $> 140/90$  mmHg), it seemed to be natural rising blood pressure with aging. And stage 2 ( $> 160/100$  mmHg) hypertension is lower than stage 1 ( $> 140/90$  mmHg) hypertension people in over 70-year-old people (Vasan et al., 2002). Hypertension is divided into primary or essential hypertension and secondary hypertension; primary hypertension is used to describe 90 - 95% of the hypertension cases and occurs due to unclear medical causes, and secondary hypertension is the rest (5 - 10%) of the cases and occurs due to clear medical causes (Carretero and Oparil, 2000). In terms of public health and social costs, hypertension contributes to the occurrence of stroke, myocardial infarction and kidney failure, and finally to death (Mu et al., 2011). A high salt or sodium intake is a major cause of hypertension. Salt increases peripheral vascular resistance and arterial constriction (Blaustein et al., 2012).

The sodium ion is one of the essential ions for human survival, and it is ubiquitous in human fluid. Sodium is usually taken through water and food intake. Most water supplies contain less than 20 mg/l of sodium but its range is 0.4 - 1900 mg/l, and food including vegetables to manufactured food contains sodium from 10 mg/kg up to 20 g/kg in a survey in the USA in 1963 - 1966. In a low-sodium diet, sodium intake needs to be less than 2 g/d and it is recommended 20 mg/l water 2 l/d by the World Health Organization (WHO). LD50 in an acute

exposure of sodium is 1572 mg/kg, 1180 mg/kg, and 3147 mg/kg in mice, rats, and rabbits, respectively. Also, it has been demonstrated clearly that long-term exposure of high sodium intake induces hypertension in different species of animals including experimental animals such as rats. In contrast, long-term exposure of a low-sodium diet, such as 157 mg/kg of salt in the diet, did not show blood pressure change. The major sodium supplement is salts, and they are usually used as seasoning in cooking or in food manufacturing (WHO, 1996).

In Korea, bamboo salts (BS) are mainly ingested for health because they are produced using processes that lead to decreased toxicity and the conversion of acidity to strong alkalinity when compared to sun-dried salts (SDS). According to traditional medical theory, temper of salts is cold and attenuates its cold temper by bamboo's hot temper through baking. In this reason, BS production by traditional method has mean as traditional material. The production of BS is usually as follows: SDS are stuffed inside bamboo and covered with yellow mud, the products are then baked with pine wood and pine resin at about 1000 to 1500°C for 8 - 10 h in a kiln, and then powdered. It is a maximum eight times repeatedly stuffed inside the bamboo and baked. Finally, it is baked at about 1300 to 2000°C. Especially, the nine-time baked bamboo salt is called purple bamboo salts (PBS) for emphasizing, and less than eight-time baked salt called normal BS. PBS changes composition compared with SDS. The contents of iron, silicon, potassium, and phosphate were higher, whereas the sulfate content was lower in the PBS (Shin et al., 2004). BS is reported to have various therapeutic effects on diseases (Huh et al., 2001; Kim et al., 1993; Min et al., 1995; Yang et al., 1999). Here, we demonstrated the effect of BS on blood pressure.

### MATERIALS AND METHODS

#### Animals

\*Correspondence: Young-Sick Kim, Hyung-Min Kim  
E-mail: sepherot@khu.ac.kr (Y.S. Kim); hmkim@khu.ac.kr (H.M. Kim)  
Received February 7, 2013; Accepted May 27, 2013; Published May 31, 2013  
doi: <http://dx.doi.org/10.5667/tang.2013.0005>  
©2013 by Association of genuine traditional medicine  
TANG / [www.e-tang.org](http://www.e-tang.org)



## Notes

## Bamboo Salt Effects on Hydrolysis of Estertin(IV) Complex

Sung Min Kim, Jae-Hyun Ju,<sup>†</sup> Ok-Sang Jung, Suk-Hee Moon,<sup>‡</sup> and Kun-Young Park<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Department of Chemistry and <sup>†</sup>Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea  
\*E-mail: [kunypark@pusan.ac.kr](mailto:kunypark@pusan.ac.kr)<sup>‡</sup>Department of Food and Nutrition, Kyungnam College of Information and Technology, Pusan 617-701, Korea

Received April 16, 2012, Accepted April 28, 2012

**Key Words** : Alkaline, Bamboo salts, Hydrolysis, Estertin(IV) complexes

In Korea, bamboo salt has been sometimes ingested as supplementary health-food and remedy since it has been known to exhibit various therapeutic effects on inflammation, viral disease, diabetes, circulation disorders and cancer,<sup>1-5</sup> even though its effects are not completely understood. Actually, it has been used as additives for face cream, tooth paste, cosmetics, food additives, cleaning materials, and antibacteria.<sup>6,7</sup> Thus, both food and pharmaceutical scientists are interested in research of bamboo salt in order to illuminate its either therapeutics or effects. Bamboo salt has been known to contain various trace ions and to exhibit basic pH.<sup>1</sup> However, to date, its task-specific application to pure chemistry remains unexplored. On the other hand, the chemistry of 'estertin(IV) chlorides' has attracted considerable attention because of a PVC stabilizer with low mammalian toxicities<sup>8-12</sup> and interesting coordination chemistry since Akzo chemists discovered a convenient synthetic route.<sup>13</sup> Earlier systematic investigations on the estertin(IV) chlorides suggest that their chemistry and bonding modes are very sensitive to environment.<sup>8,14,15</sup> Thus, this paper reports a preliminary result on the bamboo salt effects on the hydrolysis of 3-methoxy-3-oxopropyltin(IV) trichloride, [CH<sub>3</sub>OOCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SnCl<sub>3</sub>] that shows a penta-coordinated Sn(IV) geometry with the intramolecular carbonyl oxygen-to-tin coordination.<sup>10</sup>

According to inductively coupled plasma (ICP) analyses, Si (72.01 ppm), Al (15.57 ppm), and Fe (145.97 ppm) contents of bamboo salt increase significantly compared to those (Si = 0.50, Al = 1.84, and Fe = 1.84 ppm) of natural sodium chloride salt (Supporting Information), presumably coming from muds during the preparation of the bamboo salt. In contrast, sulfur contents (0.27 wt %) of the bamboo salt significantly decrease compared to the natural salt (0.39 wt %) by elemental analysis, presumably owing to formation and evaporation of SO<sub>2</sub>. The XPS signal (168.38 eV) on the sulfur species of bamboo salt is very similar to that (168.4 eV) of Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Supporting Information).<sup>16</sup> The carbon contents (bamboo salt = 0.12 wt %; natural sodium chloride salt = 0.09 wt %) relatively increase. Aqueous solutions of reagent grade NaCl (Aldrich), natural salt (Taesung Food Inc.), and

bamboo salt (Taesung Food Inc.) at room temperature are in the range of pH = 7.00-7.30, 8.20-8.40, and 10.00-10.90, respectively. In the case of bamboo salt, 2.65 wt % of the bamboo salt is insoluble in water. The insoluble precipitate was analyzed by SEM-EDX: magnesium species significantly increase (Supporting Information), presumably owing to formation of less water-soluble Mg(OH)<sub>2</sub> during the preparation of bamboo salt.

0.1 mmol (0.31 g) of [CH<sub>3</sub>OOCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SnCl<sub>3</sub>] was dissolved in the 1.0 M aqueous solution (10 mL) of bamboo salt to take <sup>1</sup>H NMR spectra (Figure 1) for the hydrolysis effects of bamboo salt. At initial stage of the <sup>1</sup>H NMR, three groups of signals at 1.78 (triplet), 2.80 (triplet), and 3.75 (singlet) ppm were observed in the solution. The -OCH<sub>3</sub> (3.75 ppm) signal shows an upfield shift by 0.25 ppm compared to that (4.0 ppm) of the complex or the known carbonyl oxygen-to-tin coordinated complexes,<sup>8,14,15</sup> indicating that the carbonyl oxygen-to-tin coordination is dissociated in aqueous solution. Such a fact may be ascribed to the replacement of chlorides with aqua ligands in aqueous solution. The dissociation of chloride anions in aqueous solution was also confirmed by the reaction of [CH<sub>3</sub>OOCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SnCl<sub>3</sub>] with AgNO<sub>3</sub> in water which promptly gives rise to the white precipitate of AgCl, indicating that the estertin(IV) complex produces [CH<sub>3</sub>OOCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Sn(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>3+</sup> species in water. The triplet chemical shifts at 1.78 and 2.80 ppm are unambiguously the signals of ethylene group. As the time goes, the ethylene signals decrease whereas another set of ethylene signals (1.69 and 2.60 ppm) are growing. Furthermore, the -OCH<sub>3</sub> signal decreases along with appearance of new signal at 3.42 ppm which is the resonance of CH<sub>3</sub>OH in the solution. Finally, after 24 h, the original chemical shifts were replaced by new set of chemical shifts. Such facts can be explained by two steps hydrolysis of [CH<sub>3</sub>OOCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SnCl<sub>3</sub>]. The first step is that [CH<sub>3</sub>OOCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SnCl<sub>3</sub>] was fast hydrolyzed to [CH<sub>3</sub>OOCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Sn(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]Cl<sub>3</sub>, and the second step is that [CH<sub>3</sub>OOCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Sn(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]Cl<sub>3</sub> was changed to [HOOCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Sn(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]Cl<sub>3</sub> and CH<sub>3</sub>OH. In contrast, the <sup>1</sup>H NMR of [CH<sub>3</sub>OOCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SnCl<sub>3</sub>] in aqueous solution without bamboo salt showed a different pattern.

## Insight into Bamboo Salt Effects on Hydrolysis of Organic Tri-esters

Woosik Hong, Jae-Hyun Joo,<sup>†</sup> Ok-Sang Jung, Suk-Hee Moon,<sup>‡</sup> and Kun-Young Park<sup>†,\*</sup><sup>†</sup>Department of Chemistry and <sup>‡</sup>Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea  
\*E-mail: kunypark@pusan.ac.kr<sup>‡</sup>Department of Food and Nutrition, Kyungnam College of Information and Technology, Pusan 617-701, Korea

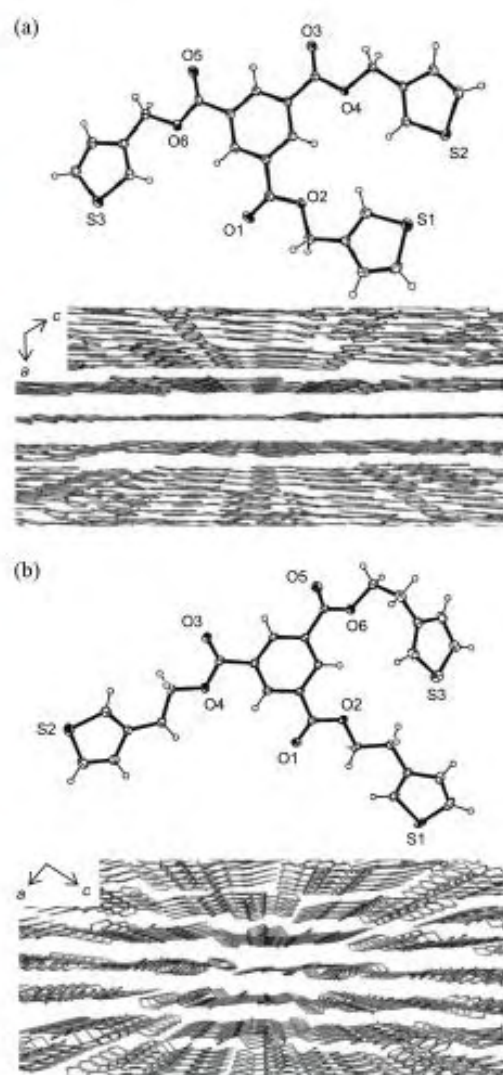
Received March 19, 2013, Accepted March 27, 2013

**Key Words** : Alkaline pH, Bamboo salts, Hydrolysis, Organic tri-esters

Korean bamboo salts have been taken as both a popular health-food and a folk remedy because they have proven various therapeutic effects on inflammation, viral disease, diabetes, circulation disorders, and cancer,<sup>1-5</sup> even though its efficacy is not completely understood. Recently bamboo salt has been utilized as diverse additives for face cream, tooth paste, cosmetics, food additives, cleaning materials, and antibacterials.<sup>6,7</sup> Thus, food scientists are interested in basic research of bamboo salt effects. Bamboo salt has been known to contain various trace ions and to exhibit basic pH,<sup>2,8</sup> but, to date, its task-specific applications to chemical reactions remains unexplored except our previous report.<sup>8</sup> In order to investigate exact bamboo salt effects on hydrolysis process, the hydrolysis of new organic tri-esters using bamboo salt was achieved. This paper reports the bamboo salt effects on hydrolysis process of new organic tri-esters. The organic esters are widespread in nature and are widely used in the fragrance and flavor industry. Fats are also tri-ester compounds derived from glycerol and fatty acids.<sup>9</sup> Several billion kilograms of polyesters are produced annually, important products being polyethylene terephthalate, acrylate esters, and cellulose acetate.<sup>10</sup>

New tris(3-thiophenylmethyl)trimeric ester (L1) and tris(3-thiophenylethyl)trimeric ester (L2), were synthesized in high yields. They were recrystallized in a mixture of chloroform and methanol to obtain crystalline solids suitable for X-ray single crystallography. X-ray crystal structures along with their packing diagrams are shown in Figure 1. Each compound is a discrete molecule in solid state. The L1 approximates to a planar structure, and thus, packing diagram shows a layer-by-layer structure. In contrast, L2 was deviated from a planar plane owing to the longer ethylene chain. Their compositions and structures in solution were confirmed by chemical analysis, IR, <sup>1</sup>H NMR, and <sup>13</sup>C NMR. The products are soluble in common organic solvents such as acetone, chloroform, *N,N*-dimethylformamide, and dimethyl sulfoxide, but are insoluble in water, methanol, and ethanol. All products are stable even in solutions.

The morphologies of the bamboo salt and its recrystallized salt were designated in Figure 2, and their elemental analyses results *via* SEM-EDX were listed in Table S1. The bamboo salt effects on hydrolysis were carried out relative to those of strong acids, bases, and without-bamboo salt. The



**Figure 1.** ORTEP drawings (top) and packing diagrams (bottom) of L1 (a) and L2 (b). The hydrogen atoms in each packing diagram were omitted for clarity.

## 죽염의 알칼리성 및 항산화 효과

- 연구노트 -

조 혼<sup>1</sup> · 정옥삼<sup>2</sup> · 박건영<sup>1\*</sup>  
<sup>1</sup>부산대학교 식품영양학과  
<sup>2</sup>부산대학교 화학과

### Alkaline and Antioxidant Effects of Bamboo Salt

Xin Zhao<sup>1</sup>, Ok-Sang Jung<sup>2</sup>, and Kun-Young Park<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Nutrition and <sup>2</sup>Dept. of Chemistry,  
Pusan National University, Busan 609-735, Korea

#### Abstract

Mineral contents of various salts were determined by the ICP-OES method. Bamboo salt (baked 9 times) contained more potassium, calcium, magnesium, and manganese, compared to purified and solar salts. Bamboo salt had a pH of 11.04, higher than those of purified (6.29) and solar (9.13) salts. Contents of [OH<sup>-</sup>] were measured by using the FT-IR spectra. Bamboo salt exhibited higher reduction potential and contained more OH groups than purified and solar salts. The reduction peak of bamboo salt was observed to be about three times broader than that of solar salt in terms of redox potential amperometry. At a salt concentration of 25%, bamboo salt showed higher radical scavenging activities (81.4%) than solar (5.0%) and purified (2.0%) salts, as evaluated by DPPH assay. Bamboo salt revealed alkaline property, more OH groups and antioxidative activity.

Key words: bamboo salt, FT-IR, amperometry, DPPH, antioxidation

#### 서 론

소금의 종류로는 천일염, 정제소금(꽃소금), 정제소금, 가공소금 등이 있으며, 크게 천일염과 정제염 및 가공염으로 나누어진다(1). 죽염은 우리나라 전통 건강소금으로 예로부터 제조되어 왔는데, 일반적으로 대나무 통에 천일염을 넣고 진흙으로 봉하여 800~1200°C 이상에서 1회에서 9회까지 구운 제품이 만들어진다(2). 현재까지는 1회, 3회 및 9회 구운 죽염이 주로 상품화가 되어있다. 9회 죽염은 암 등 질병 예방에 쓰이는 민간약재로 많이 쓰이고 있으며 9회를 구우면 자색의 죽염(자죽염)이 된다. 자죽염이 만들어지는 과정은 일반 흰색죽염이나 회색죽염이 만들어지는 과정을 9번으로 해서 마지막 9번째 용융과정을 거친 후 죽염은 자색의 소금이 결정화되는 것이다. 죽염도 식염과 마찬가지로 주성분은 Na와 Cl이지만 제조과정에서 대나무 성분 등 많은 다른 성분을 포함하게 되어, 어두운 회색을 띄고 유효성분이 나는 것이 특징이다(3). 죽염은 특히 천연 나트륨과 칼륨, 칼슘뿐만 아니라 철, 마그네슘 등의 풍부한 천연 미네랄을 함유하고 있어, 인체의 미량원소 균형에도 유용한 물질로 알려져 있으며, 죽염을 다양한 형태로 복용하기 위한 식·의약품으로써의 형태 개발에 많은 시도가 이뤄지고 있는 상황이다. 그런데

이 죽염은 정제염뿐 아니라 천일염 또는 어느 가공 소금보다도 생리적 기능에 우수한 효과를 가져 암 예방 등에 가능성이 있는 것으로 보고되고 있다(4).

인체 정상혈액은 pH 7.4의 약알칼리성을 띠고 있으며, 혈액의 pH는 건강상의 측면에서 매우 중요하고(5) OH가 증가되면 pH 수치가 높은 알칼리성이 된다. 또한 식품을 통해서 혈액의 pH를 조절할 수 있으며 알칼리성 식품은 대부분은 항산화 효능이 있다(6). 항산화 식품은 인체 속의 유해 산소를 제거하는데 도움을 준다. 유해산소는 체내 에너지를 만드는 과정에서 생기는 부산물로 활성산소라고도 한다. 많으면 세포와 유전자를 손상시켜 노화를 촉진시키고 다양한 질병을 일으키기도 한다. 항산화 식품은 유해산소를 제거해 세포 손상을 막고, 세포가 정상적으로 성장하고 분화하도록 유도한다(7,8).

본 연구에서는 죽염과 일반 소금의 알칼리성과 OH기 함량을 pH 측정, ICP-OES법, FT-IR spectrometry와 redox potential amperometric 분석 등 화학적 방법으로 비교하였다. 또한 DPPH radical 소거활성 측정 실험을 통하여 죽염 및 천일염, 정제염의 항산화 기능성을 비교하고자 하였다.

\*Corresponding author. E-mail: kunypark@pusan.ac.kr  
Phone: 82-51-510-2839, Fax: 82-51-514-3138

## Bamboo Salt Has *In Vitro* Anticancer Activity in HCT-116 Cells and Exerts Anti-Metastatic Effects *In Vivo*

Xin Zhao,<sup>1,2</sup> So-Young Kim,<sup>3</sup> and Kun-Young Park<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan, South Korea.

<sup>2</sup>Department of Biological and Chemical Engineering, Chongqing University of Education, Chongqing, China.

<sup>3</sup>Functional Food and Nutrition Division, Department of Agrofood Resources, National Academy of Agricultural Sciences (NAAS), Rural Development Administration, Suwon, South Korea.

**ABSTRACT** Bamboo salt is a traditional food widely used in Korea. The *in vitro* anticancer effects of this salt were evaluated in HCT-116 human colon cancer cells using a 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. A 1% salt concentration of bamboo salt baked nine times (9×) inhibited the growth of HCT-116 cells by 53%, which was higher than salt baked three times (3×) or once (1×; 44% and 41%, respectively) and much higher than solar sea salt (Korean sea salt) and purified salt (22% and 18%, respectively). To elucidate the inhibitory mechanisms underlying the anticancer effect of the salt samples in cancer cells, expression of genes associated with apoptosis, inflammation, and metastasis was measured with reverse transcription–polymerase chain reaction and Western blotting. Bamboo salt (9×) significantly induced apoptosis in cancer cells ( $P < .05$ ) by upregulating *Bax*, *caspase-9*, and *caspase-3*, and downregulating *Bcl-2*. The expression of genes associated with inflammation (*NF-κB*, *iNOS*, and *COX-2*) was significantly downregulated ( $P < .05$ ) by 9× bamboo salt, demonstrating its anti-inflammatory properties. The 9× bamboo salt also exerted a greater anti-metastatic effect on cancer cells than the other salts as demonstrated by decreased mRNA expression of MMP genes and increased expression of tissue inhibitors of metalloproteinases, which was confirmed by the inhibition of tumor metastasis induced in colon 26-M3.1 cells in BALB/c mice. In contrast, purified and solar salts increased metastasis in the mice. Our results demonstrated that 9× bamboo salt had the most potent *in vitro* anticancer effect, induced apoptosis, had anti-inflammatory activities, and exerted *in vivo* anti-metastatic effects. Additionally, the anticancer, anti-inflammatory, and anti-metastatic effects of the 1× and 3× bamboo salts were stronger than those of the purified and solar salts.

**KEY WORDS:** • anticancer • antimetastasis • apoptosis • bamboo salt

### INTRODUCTION

**B**AMBOO SALT is a medicinal food originating from Korea and widely used in East Asia. This salt was first produced by Jin-pyo yul-sa (a famous Buddhist priest) during his meditation period at the Busa-Uibang Buddhist retreat located atop Mt. Byun-san about 1300 years ago. Its production and use as a folk medicine has been passed on mainly by Buddhist priests.<sup>1</sup> A form of bamboo salt known as solar salt is made by placing the salt into a young bamboo joint case produced by plants that grow for only 3 years, sealing the case with natural red clay at both ends, and baking at 1000°C–1500°C using pine for fuel.<sup>2,3</sup> Both bamboo leaves and roots have been used as medicine.<sup>4</sup> According to oriental medical literature, bamboo is highly efficacious for curing stomachaches, inhibiting gastric

bleeding, discharging phlegm, and controlling stroke, diabetes, headache, hypertension, dizziness, pre-nuptial anemia, infantile/juvenile convulsions, epilepsy, insomnia, ebriety, eye pain, and fatigue.<sup>5,6</sup> Pharmaceutical research has concentrated on the beneficial activities of bamboo salt, such as its anticancer and antiviral effects.<sup>7</sup> Bamboo salt contains more than 70 essential minerals and micronutrients. Types with a high sulfuric content (*i.e.*, ones from the bamboo trunk) may help decrease blood pressure. Bamboo salt contains minerals absorbed from the bamboo and mud, and it was reported that bamboo salt used in doenjang, a traditional Korean soybean paste, enhances anticlastogenic and anti-mutagenic effects.<sup>8</sup>

Apoptosis induction in cancer cells is initially identified by morphological changes, including cell shrinkage, membrane blebbing, chromatin condensation, and nuclear fragmentation.<sup>9</sup> Apoptosis is an important defense against cancer. This process involves the elimination of potentially harmful cells. Many diseases have been associated with dysregulated apoptotic processes, ultimately leading to the inhibition of cell death and propagation of diseases, such as

Manuscript received 9 April 2012. Revision accepted 19 September 2012.

Address correspondence to: Kun-Young Park, PhD, Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, 30 Jangjeon-dong, Geumjeong-gu, Busan 609-735, South Korea, E-mail: kuyppark@pusan.ac.kr

## Antimutagenic Activity and In Vitro Anticancer Effects of Bamboo Salt on HepG2 Human Hepatoma Cells

Xin Zhao,<sup>1,2</sup> Jae-Hyun Ju,<sup>1</sup> Hyung-Min Kim,<sup>3</sup> Kun-Young Park<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, South Korea; <sup>2</sup>Department of Biological and Chemical Engineering, Chongqing University of Education, Chongqing 400067, People's Republic of China; <sup>3</sup>Department of Pharmacology, College of Oriental Medicine, Institute of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul 130-701, South Korea

\*Address all correspondence to: Kun-Young Park, Professor, Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, 30 Jangjeon-dong, Geumjeong-gu, Busan 609-735, South Korea; Tel.: 82-51-510-2839; Fax: 82-51-514-3138; E-mail: kunypark@pusan.ac.kr

**ABSTRACT:** Bamboo salt is a traditional Korean baked solar salt processed by packing the solar salt in bamboo joint cases and heating it several times to high temperatures. The antimutagenic activity and *in vitro* anticancer effects of bamboo salt on HepG2 human hepatoma cells were investigated and compared to those of other salt samples. Although solar salt and purified salt exhibited comutagenicity with *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) in the *Salmonella typhimurium* TA100 strain, bamboo salt was associated with a lower degree of comutagenicity or antimutagenic activity. Bamboo salt baked nine times (9×) showed a greater increase in antimutagenic activity than salts baked once (1×) or three times (3×). At a concentration of 1%, the growth rate of HepG2 cells treated with 9× bamboo salt determined by a 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay was reduced by 65%; this rate of inhibition was higher than that achieved with 1× baked bamboo salt (40%). Purified and solar salts had relatively lower inhibitory effects on growth rate (25% and 29%, respectively). Compared to the other salt samples, 9× bamboo salt significantly ( $p < 0.05$ ) induced apoptosis as determined by 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) staining and flow cytometry analysis. It also upregulated the expression of Bax, caspase-9 and caspase-3; and downregulated Bcl-2 expression. The bamboo salts, especially 9× bamboo salt, also significantly ( $p < 0.05$ ) downregulated the expression of inflammation-related NF- $\kappa$ B, iNOS, and COX-2, and upregulated the gene expression of I $\kappa$ B- $\alpha$  compared to the other salt sample.

**KEY WORDS:** bamboo salt; antimutagenicity; anticancer; apoptosis; anti-inflammation

### I. INTRODUCTION

Bamboo salt was first produced by the famous Buddhist priest Jin-pyo Yul-sa in Korea 1300 years ago.<sup>1</sup> The main raw materials of bamboo salt are solar salt (natural salt obtained from a salt pond by sun drying) and 3-year-old bamboo. Solar salt is put into a bamboo joint case (approximately 8 cm in diameter and approximately 30 cm in length), sealed with natural red clay, and baked at 1000–1500°C using pine for fuel. Bamboo salt baked once (1×) can be used as table salt. When the solar salt is baked in the bamboo case three times (3×) or nine times (9×), the salt absorbs minerals from the bamboo and clay; it melts into a liquid during the baking process. The quality and medicinal properties of bamboo salt are increased by additional rounds of baking.

The 9× bamboo salt has been used as a traditional folk medicine in Korea.<sup>3</sup> Pharmaceutical research

efforts have concentrated on evaluating the beneficial activities of bamboo salt such as anticancer and anti-ulcer effects.<sup>4</sup> There are more than 70 essential minerals and micronutrients found in bamboo salt.<sup>5</sup> It was reported that when bamboo salt is used for making *doenjang* and *kimchi* (instead of purified or solar salts), the antimutagenic and anticancer effects of the foods are significantly increased.<sup>6,7</sup>

In our previous study, NaCl was found to act as a weak base-pair substitution mutagen and to enhance the effect of mutagenicities (a comutagenic effect) induced by MNNG (*N*-methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine) and aflatoxin B<sub>1</sub>.<sup>8</sup> However, 1× bamboo salt was found to have weak comutagenicity or antimutagenicity properties. KCl-mixed bamboo salt optimized the effects of the salts. Furthermore, the ratio of K and Na atoms was found to be an important factor for reducing comutagenicity or increasing the antimutagenicity of the salts, as measured by a mutagenicity test.<sup>9</sup>

Journal of Food Science - Manuscript JFDS-2013-0874

보낸사람: (jfs@ift.org) 수신록추가 수신차단

13-06-27 20:58

27-Jun-2013

Dear Prof. Jeong,

Your manuscript

"Inhibition of IL-32 Signaling by Bamboo Salt Diminishes the TSLP Production and Macrophage Differentiation in Human Monocyte Cell Line, THP-1 cells"

has been successfully submitted to

through ScholarOne Manuscripts.

**\*IMPORTANT NOTICE\***

BY SUBMITTING THIS MANUSCRIPT, YOU WARRANT THAT:

-This article is an original work, has not been published before and is not being considered for publication elsewhere;

-You have obtained permission from the copyright holder to reproduce in the article any material not owned by you, and that you have acknowledged the source(s);

-Your article contains no violation of any existing copyright or other 3rd party right or any material of an obscene, indecent, libelous, or otherwise unlawful nature and that to the best of your knowledge, the article does not infringe the rights of others;

-In the case of a multi-authored article, you have obtained authorization to make these warranties on behalf of all co-authors, and that they have read and agreed to the terms of IFT's Copyright Assignment Form.

**\*IF YOU CANNOT WARRANT THE ABOVE OR HAVE QUESTIONS ABOUT IFT'S PUBLICATIONS ETHICS POLICY, PLEASE CONTACT ME AT AFERGUSON@IFT.ORG\***

As contact author for review, the submitting author (and ONLY the submitting author) will receive future communications via e-mail. If your e-mail address or any other contact information changes at any time during the review or publication process, please contact me immediately, via e-mail, and I will update our database. Failure to do so can only lead to loss of time and possible withdrawal of your manuscript if we are unable to reach you.

Your manuscript number is JFDS-2013-0874. Please note this number and include it in ALL future communications, and when labeling all electronic files involved with this paper.

The submitting author can track your manuscript anytime, from anywhere, by logging on to ScholarOne Manuscripts (<http://mc.manuscriptcentral.com/jfs>), where the status will be displayed in the submitting author's Author Center.

Thank you for your interest in IFT's scientific journals.

Amanda Ferguson  
Associate Director, IFT Scientific Journals  
(312) 604-0276  
aferguson@ift.org

1305-RM-173 - Receipt of New Paper by Experimental Biology and Medicine

보낸사람: (cbm@allantrack.net) 수신록추가 수신차단

13-05-16 22:51

Dear Dr. Oh,

You are listed as a co-author on a manuscript which has recently been submitted to Experimental Biology and Medicine by Prof. Jeong, "The Anti-Allergic Mechanisms of K-ALL (a Traditional Korean Medicine) in an Allergic Rhinitis Model".

If you have seen and approved the submission of this manuscript, no action is necessary. If you have not seen and approved its submission to EBM, please let us know as soon as possible.

Please refer to the 1305-RM-173- listed above in any correspondence.

Sincerely,

Nancy E. Blake  
Administrative & Editorial Assistant, SEBM / EBM  
344 Maple Avenue West  
#134  
Vienna, VA 22180-5612  
201-962-3519 phone  
201-962-3522 fax

투고 중 2건

○ 학술 발표

찾아오시는 길

서울에서 오실 경우

광주에서 오실 경우

국립목포대학교 천일염 및 염생식물 산업화 사업단  
534-729, Korea Mokpo National University, Solar Salt & Halophyte R&D Center  
Tel. 82-61-450-6324 / Fax. 82-61-450-6325

초대합니다

지방기술혁신사업 지자체주도연구개발사업  
천일염 및 염생식물 산업화 사업단 제4차 심포지움

2011' SOLAR SALT FAIR SYMPOSIUM

# 2011' 소금박람회 심포지움

- 갯벌천일염의 명품화 전망

I·N·V·I·T·A·T·I·O·N

일시 | 2011. 09. 02(금) pm 13:30~18:00  
장소 | 신안군 중도면 신안갯벌센터 3층 유네스코 홀  
주관 | 전라남도 · 신안군 · 국립목포대학교  
주최 | 국립목포대학교 천일염 및 염생식물 산업화 사업단  
후원 | 전라남도 · 신안군 · 목포시 · 영광군

2011' SOLAR SALT FAIR SYMPOSIUM INVITATION

## 모시는 글

세계 최고 품질 갯벌천일염의 우수성을 널리 홍보하고 판매와 수출 촉진으로 주민소득 창출을 증대함과 동시에 신기술과 신제품 정보교류를 통한 천일염 산업의 경쟁력 제고를 위하여 "2011년 소금박람회"를 개최하게 됨을 대단히 기쁘게 생각합니다. 이와 함께 본 국립목포대학교 천일염 및 염생식물 산업화 사업단에서는 "갯벌천일염의 명품화 전망" 이란 주제로 제4차 심포지움을 개최하고자 합니다.

2011년 소금박람회의 관련행사로 개최되는 본 심포지움에서는 정책·제도분과로서 농림수산식품부의 천일염 발전 방안 및 수출정책을 설명하고, 천일염의 품질관리 및 발전 방향, 천일염 품질검사 제도 운영 현황과 제도에 대해 토의 하며, 연구분과로서 생명유지에 필수적인 소금의 품질등급화를 위한 원산지별 품질특성, 천일염을 이용한 전통 발효식품, 고부가가치 제품 연구를 토론함과 동시에 천일염을 이용한 가공소금(자숙염)의 악리학적 효과에 대해서도 세밀하게 논의하는 중요한 계기가 될 것입니다. 본 심포지움에서는 갯벌천일염에 대한 명품화·세계화를 위해서 정책, 제도 및 이를 뒷받침할 수 있는 연구결과를 발표하게 됨으로서 중요한 학술토론의 장이 될 것임을 믿어 의심치 않습니다.

바쁘신 일정이지만 본 2011년 제4차 심포지움에 참석하시어 열띤 토론의 장이 될 수 있도록 하여 주시고, 한국의 갯벌천일염이 세계속의 천일염으로 발돋움할 수 있도록 많은 도움 주시길 바랍니다. 감사합니다.

2011. 09. 02  
국립목포대학교 천일염 및 염생식물 산업화 사업단장 김인철

2011' SOLAR SALT FAIR SYMPOSIUM

## Program I

사회 : 김학렬 (국립목포대학교)

13:00~13:30 등록  
13:30~14:00 식전행사  
- 국민악예  
- 개회사 : 김인철 (천일염 및 염생식물 산업화 사업단장)  
- 환영사 : 고석규 (국립목포대학교 총장)  
- 격려사 : 박준영 (전라남도지사)  
- 축사 : 박우량 (신안군수)

Session I 좌장 : 박양균 (국립목포대학교)

14:10~14:40 농림수산식품부 천일염 발전 방안 및 수출정책  
- 전한영 (농림수산식품부 식품산업진흥과장)  
14:40~15:10 천일염의 품질관리 및 발전방향  
- 이세은 (한국식품연구원 책임연구원)  
15:10~15:40 소금검사 현황 및 제도  
- 이인수 (국립수산과학원 소장)  
15:40~16:00 Coffee break

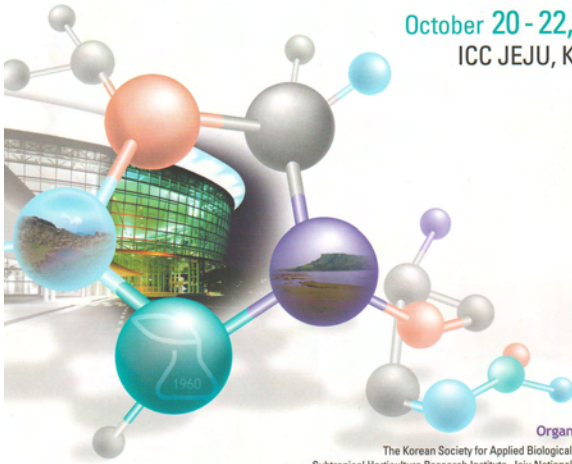
Session II 좌장 : 이명렬 (조선대학교)

16:00~16:30 국산 천일염의 품질 등급화를 위한 원산지별 소금의 특성 연구  
- 김정봉 (농촌진흥청)  
16:30~17:00 자숙염의 악리학적 효과 연구  
- 정현자 (홍익대학교 바이오칩 연구센터 부소장)  
17:00~17:30 천일염과 전통식품  
- 장해춘 (조선대학교 식품영양학과 교수)  
17:30~18:00 천일염 및 부산물을 응용한 고부가가치 제품 연구  
- 마승진 (목포대학교 식품공학과 교수)  
18:00~ 폐회

Oral 발표 1건

# 2011 International Symposium & Annual Meeting of the KSABC

October 20 - 22, 2011  
ICC JEJU, Korea



Organized by

The Korean Society for Applied Biological Chemistry  
Subtropical Horticulture Research Institute, Jeju National University  
The National Center for GM Crops (RDA)

Supported by

Korean Federation of Science and Technology Societies  
BK21 Project Team at Graduate School of Biotechnology (Kyung Hee University)  
School of Biotechnology and Environmental Engineering (Myongji University)  
Center for Nutraceutical & Pharmaceutical Materials (RDA)  
Systems & Synthetic Agrobiotech Center (RDA)  
The Export Promotion Research Organization for Korean Citrus, Jeju National University



The Korean Society for Applied Biological Chemistry

Primary Lecture | Award Lectures | Invited Lectures | Poster Session

PBM-65

### Regulation of Allergic Reaction by Using Traditional Korean Medicine Theory

Hyung-Min Kim<sup>1</sup>, Na-Ra Hye<sup>2</sup>, Phil-Dong Moon<sup>1</sup>, Sun-Young Nam<sup>1</sup>, Young-Bick Kim<sup>1</sup>, Hyun-Ja Jeong<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Department of Pharmacology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, The City Research Center, Haeju University

Digestive tract disease is closely associated with allergic reaction. To study the traditional Korean medicine (TCM) theory-based regulatory allergic reaction, we investigated whether Pyeongwee-San (KMP6), a TCM, which has been used for the treatment of digestive tract disease could have anti-asthmatic dermatitis (AD) effect on 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB)-induced atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. The administration of KMP6 inhibited the scratching number in DNFB-induced AD model. The mRNA expressions of IL-4, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , and CCR3 were significantly reduced by KMP6. The levels of IgE, histamine, and IL-4 were significantly reduced by KMP6 in serum of DNFB-induced AD model. KMP6 significantly decreased the productions of IL-4, IFN- $\gamma$ , and TNF- $\alpha$  in anti-CD3 plus anti-CD28 antibodies-stimulated splenocytes. Furthermore, KMP6 inhibited compound 48/80-induced systemic anaphylactic reaction and ear swelling response as well as histamine release, intracellular calcitonin level, and tryptase release from rat peritoneal mast cells (RPMCs). KMP6 inhibited the activity and expression of HDC from stimulated human mast cell line cells. In addition, KMP6 inhibited passive cutaneous anaphylaxis (PCA) reaction induced by anti-DNP IgE as well as the levels of IgE, IL-4, and TNF- $\alpha$  in serum from mice under PCA. Therefore, KMP6 may be a potential therapeutic agent for AD and allergic reaction besides just a medicine for the stomach and bowels.

PBM-66

### Protective Role of Tartary Buckwheat from A $\beta$ <sub>25-35</sub>-induced Cognition Impairment

Ji-Hyun Chai<sup>1</sup>, Han-Song Lee<sup>1</sup>, Jeong-Min Lee<sup>1</sup>, Young-Ho Yoon<sup>1</sup>, Eun-Ju Cho<sup>2</sup>, Sanghwan Lee<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-732, Korea; <sup>2</sup>Department of Integrative Plant Science, Chung-Ang University, Anseong 456-756, Korea; <sup>3</sup>Hillside Agriculture Research Center, National Institute of Crop Science, Pyeonggang 232-953, Korea

Alzheimer's disease (AD), the most common neurodegenerative disorder in elderly, is characterized by progressive memory deficits, cognitive impairment and personality changes. Under amyloid-beta<sub>25-35</sub> (A $\beta$ <sub>25-35</sub>)-induced AD model, the protective effects of extract from tartary buckwheat was investigated. The damage of recognition ability injected A $\beta$ <sub>25-35</sub> into brain was found under female test, object recognition test and Morris water maze test. However, the results on behavior tests under AD model using ICR mouse. Showed that the oral administration of tartary buckwheat extract (100 and 200 mg/kg body weight/day for 7 days) after A $\beta$  injection improved impairments of cognition and memory function. Furthermore, the groups administered tartary buckwheat extract inhibited significantly and dose-dependently lipid peroxidation and NO production in tissue elevated by injection of A $\beta$ <sub>25-35</sub>. The present study indicated that administration of tartary buckwheat played the protective role from memory deficits and cognition impairment caused from A $\beta$ <sub>25-35</sub>-induced AD. \*Acknowledgments: This research was supported by Rural Development Administration Research Grant (P3007799) in 2010.

PBM-67

### Effect of Antioxidant and Physiological Activities of Extracts from *Cantua crenata* Inner Shell

Gae-Seon Kim<sup>1</sup>, Seung-A Lee<sup>2</sup>, Gi-Dong Lee<sup>2</sup>, Jin-De Lee<sup>2</sup>, Soon-Ju Chon<sup>3</sup>, Hyo-Gwon Im<sup>1</sup>, Dae-Jun Kwon<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>Department Faculty of Environmental Studies, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea; <sup>2</sup>Department Biotech Convergence Center, Daegu Technopark, Daegu 704-801, Korea; <sup>3</sup>Department Convergence Science, Daegu Hanyang University, Gyeongsan 712-713, Korea

This study was carried out to compare the antioxidant activities and function for physiological activity of ethanol, water extract from *Cantua crenata* Inner Shell. Chonnam inner shell, which had been extracted, concentrated, and freeze drying with water and ethanol, have been used for the experiment. The effects on electronic donating ability, ABTS radical scavenging assay, Xanthine oxidase inhibition, nitric oxide inhibition have been investigated in the physiological activity measurement of function experiment. The content of total phenol compound of ethanol extract was 144.02mg/L higher than water extraction was 108.21mg/L, respectively. The content of total flavonoid compound of Ethanol and water extract was 37.43mg/L, 18.54mg/L. Under thermal oxidation conditions, the ethanol extract showed stronger antioxidant activity than water extract. In the anti-inflammatory test, the water extract and ethanol extract inhibited the generation of nitric oxide. These results indicated that extract of *Cantua crenata* Inner Shell can be used as a natural ingredients with biological function.

PBM-68

### Purple Bamboo-salt Prevents Apoptosis of Auditory Hair Cell through the Blockade of Caspase-3 Activation

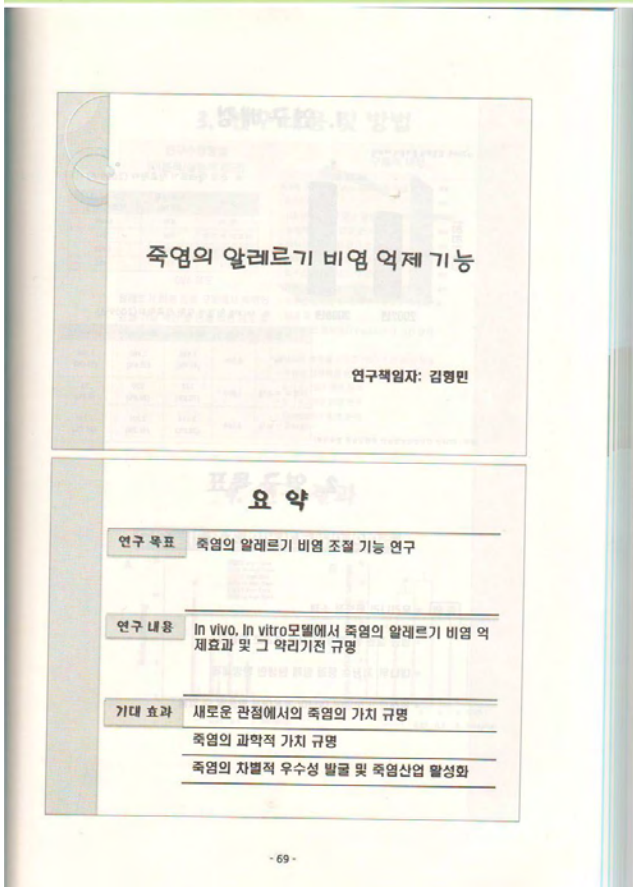
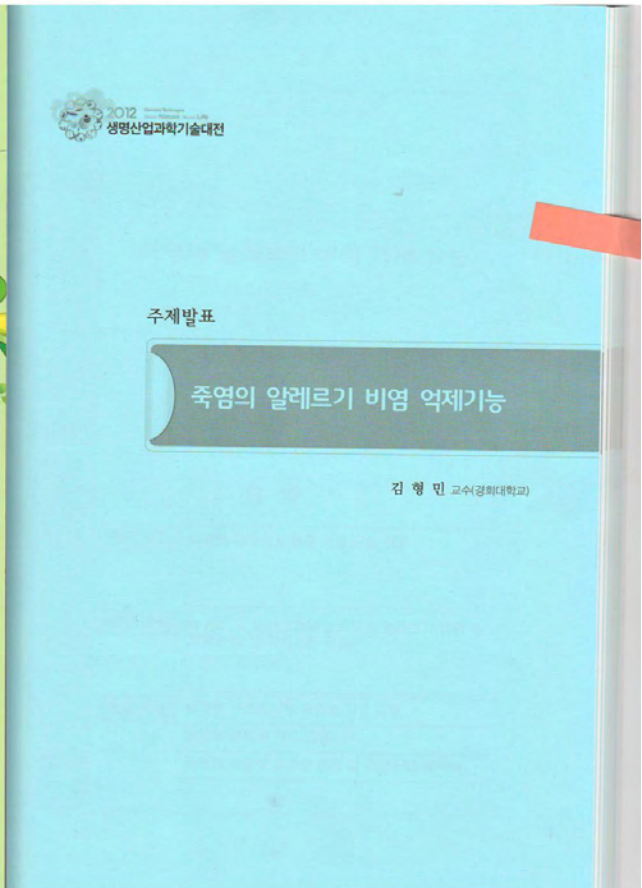
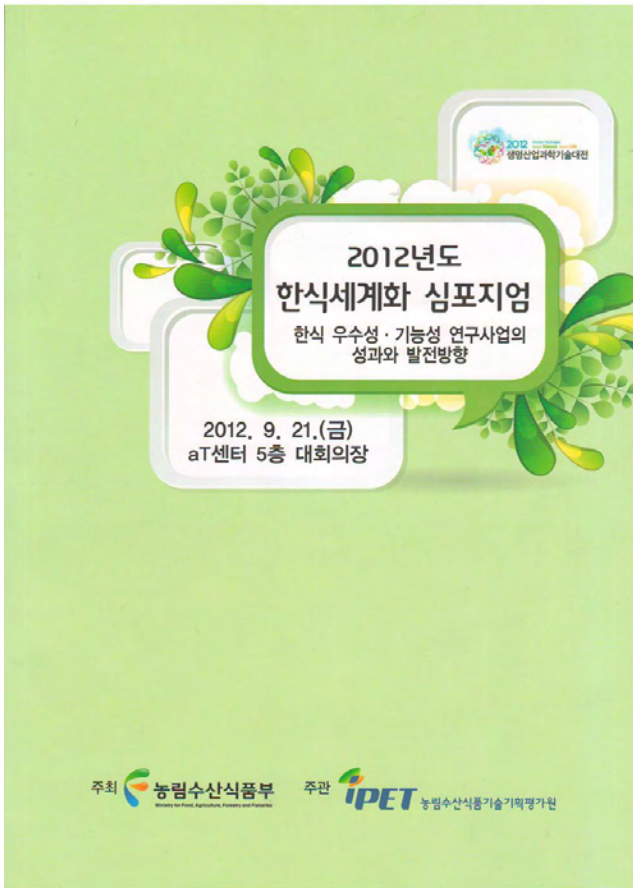
Hyun-Jik Joo<sup>1</sup>, Hyung-Min Kim<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Basic Research Center, Haeju University; <sup>2</sup>Department of Pharmacology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

Cisplatin is a highly effective chemotherapeutic agent but with significant ototoxic side effects. Apoptosis is an important mechanism of cochlear hair cell loss following exposure to an ototoxic level of cisplatin. The present study investigated the effects of purple bamboo-salt (BS) on cisplatin-induced apoptosis. We demonstrated that apoptosis induced by cisplatin was inhibited by treatment with BS in a dose-dependent manner. Activation of caspase-3, caspase-8, and caspase-9 was observed within cisplatin-treated HEI-OC1 cells. BS inhibited the activation of caspase-3, caspase-8, and caspase-9. BS also inhibited the release of cytochrome c and translocation of apoptosis-inducing factor. BS inhibited the cisplatin-induced reactive oxygen species production. Lastly, BS suppressed the cisplatin-induced caspase-1 activation. In conclusion, these findings show that BS blockage of a critical step in apoptosis may be useful strategy to prevent harmful side effects of cisplatin ototoxicity in patients undergoing chemotherapy.

Poster 발표 1권







Oral 발표 1건

수신자 김형민 교수님 귀하  
(경유)

제 목 2012년 한국식품영양과학회 정기학술대회 특별강연 의뢰

1. 귀하의 견승을 기원합니다.
2. 본 학회는 1971년 창립되어 약 41년 동안 식품, 영양 및 위생에 관한 학문의 발전과 산학연·연구 활동에 매진하고 있는 보건복지부 산하의 사단법인 학회입니다. 현재 학회의 정회원인 1,400여 명이며, 식품분야의 모든 학회 중 유일하게 SCI 저널을 발간하는 학회로 연 3~4회 산업심포지엄과 연 1회(2박3일) 국제심포지엄 및 정기학술대회를 개최하고 있습니다. 또한, 국문지 연 12회, 영문지 2종 각각 연 12회 및 연 4회, 산업지 연 2회를 발간하는 등 국민건강증진, 식생활 개선, 식품산업 및 관련 학문의 발전을 위해 많은 활동을 경주하고 있습니다.
3. 본 학회에서는 2012년 10월 31일(수)~11월 2일(금), 제주국제컨벤션센터에서 'Quality of Life (QOL): Food Industry and Health'(삶의 질 향상을 위한 식품산업과 미래전략)라는 주제로 '국제심포지엄 및 정기학술대회'를 개최하고자 합니다. 이에 '소금이나 산화 스트레스와 Alzheimer Disease에 관련된 단백질발현에 미치는 영향'(Session No.12) 세션에서 아래와 같은 제목의 연사로 귀하를 초빙하오니 허락하여 주시고, 학술대회 Proceeding에 게재할 발표요약(A4, 2~3 pages 내외)과 간단한 소개약력(1 page)을 9월 28일(금)까지 학회 e-mail (kfn2@kfn.or.kr)로 보내주시기 바랍니다. Proceeding 발표요약원고는 첨부된 작성요령을 참조하시어 작성해주시기 바랍니다.

4. 아래 발표제목은 일부 변경이 가능하오며, 변경 시에는 9월 21일까지 학회로 연락주시기 바랍니다. 발표시간은 질의시간을 포함하여 30분입니다.

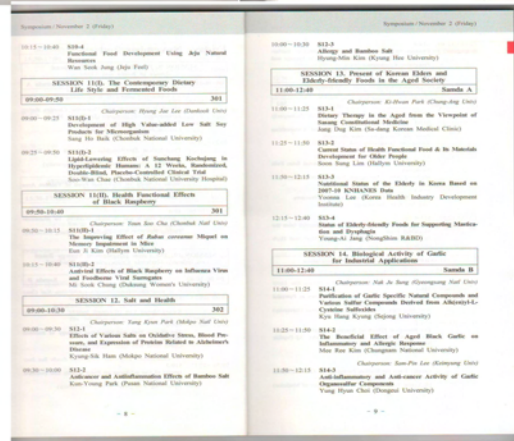
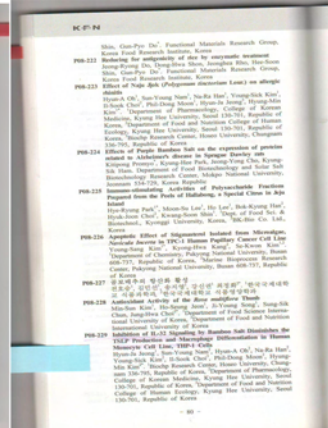
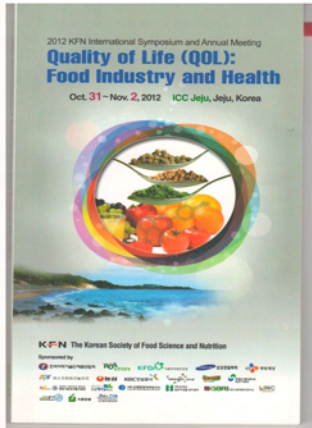
○ 발표제목: 알레르기과 죽염.

붙임: 원고작성요령, 일정표 각1부, 끝.

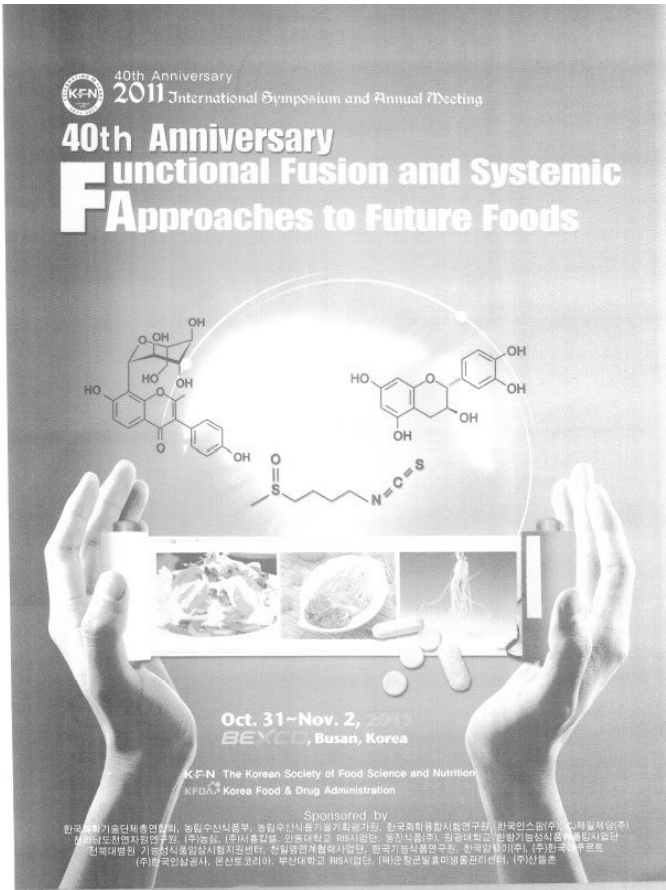
한국식품영양과학회장



사무원 김연명 사무국장 이명진 총무간사 이종화 감사장 류기형 회 장 황한준  
시 행 환식영과 2012-59 (2012. 9. 14) 접 수  
우 611-820 부산시 연제구 연산4동 587-8 SK View 103-1307 / http://www.kfn.or.kr  
전 화 051-866-3693, 4 전 송 051-866-3695 / kfn@kfn.or.kr



Oral 발표 1건, Poster 발표 1건



S11-3

죽염 및 죽염발효식품의 암예방효과

박건명\*, 조 혼

부산대학교 식품영양학과

죽염은 우리나라 전통 건강소금으로 예로부터 제조되어 왔는데, 일반적으로 대나무통에 천일염을 넣고 진흙으로 봉하여 800-1200℃ 이상에서 구워 1회에서 9회까지의 재봉이 만들어진다. 그런데 이 죽염은 정제염 뿐 아니라 천일염 또는 어느 가공 소금보다도 생리적 기능에 우수한 효과를 가져 암 등의 성인병 예방에 민간 치료 약제로도 사용되어왔다. 최근 연구에 의하면 죽염은 항산화 효과 뿐 아니라, 아토피, 비염, 면역증강, 암예방, 항암효과 등에까지 그 가능성이 있는 것으로 보고되고 있다.

본 발표에서는 죽염과 죽염을 이용한 발효식품의 암예방 효과에 대해 연구 해왔던 내용을 발표하고자 한다. 정제염의 pH는 6을, 천일염은 9를 나타내었지만 죽염은 다른 소금에 비해 pH를 상승시켜 10-11을 나타내었다. Redox potential amperometric analysis와 FT-IR spectrometry를 사용하여 측정된 결과 죽염은 OH기를 많이 함유하고 있었고 DPPH 등의 실험에서도 높은 항산화 능력을 나타내었다.

죽염은 1회, 3회, 9회로 굽는 횟수가 증가될수록 항돌연변이 활성과 *in vitro* 및 *in vivo*에서의 항암 활성이 증진되었다.

*Salmonella typhimurium* TA100을 이용한 Ames test에서 MNNG (N-Methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine) 발암물질과 함께 두어 되었을 때 죽염은 항돌연변이 활성이 있었지만 정제염과 천일염은 보돌연변이 활성을 나타내었다. 다른 소금은 MNNG 의 돌연변이 활성을 많이 일으키도록 하였지만, 죽염은 항돌연변이 활성이 있었다. 한편 HCT-116 인체 대장암세포에서 죽염 처리는 Bax의 발현은 증가시키고 Bcl-2 단백질의 발현은 감소시켜 암세포의 apoptosis를 유도하였으나 정제염과 천일염, 특히 정제염 처리는 그런 효과가 나타나지 않았다(Fig. 1).

또한 암증유발과 관련된 iNOS와 COX-2의 단백질발현에 있어서도 비슷한 경계 활성을 보여 죽염은 굽는 회수의 증가에 따라 암증 관련 유전자의 발현을 유의적으로 억제하였지만 정제염과 천일염은 그 효과가 낮았다(Fig. 2).

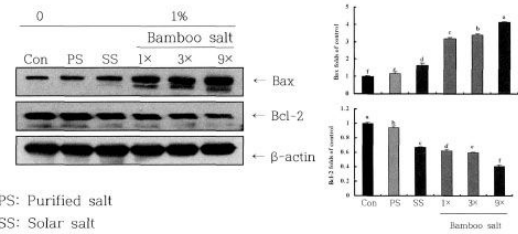


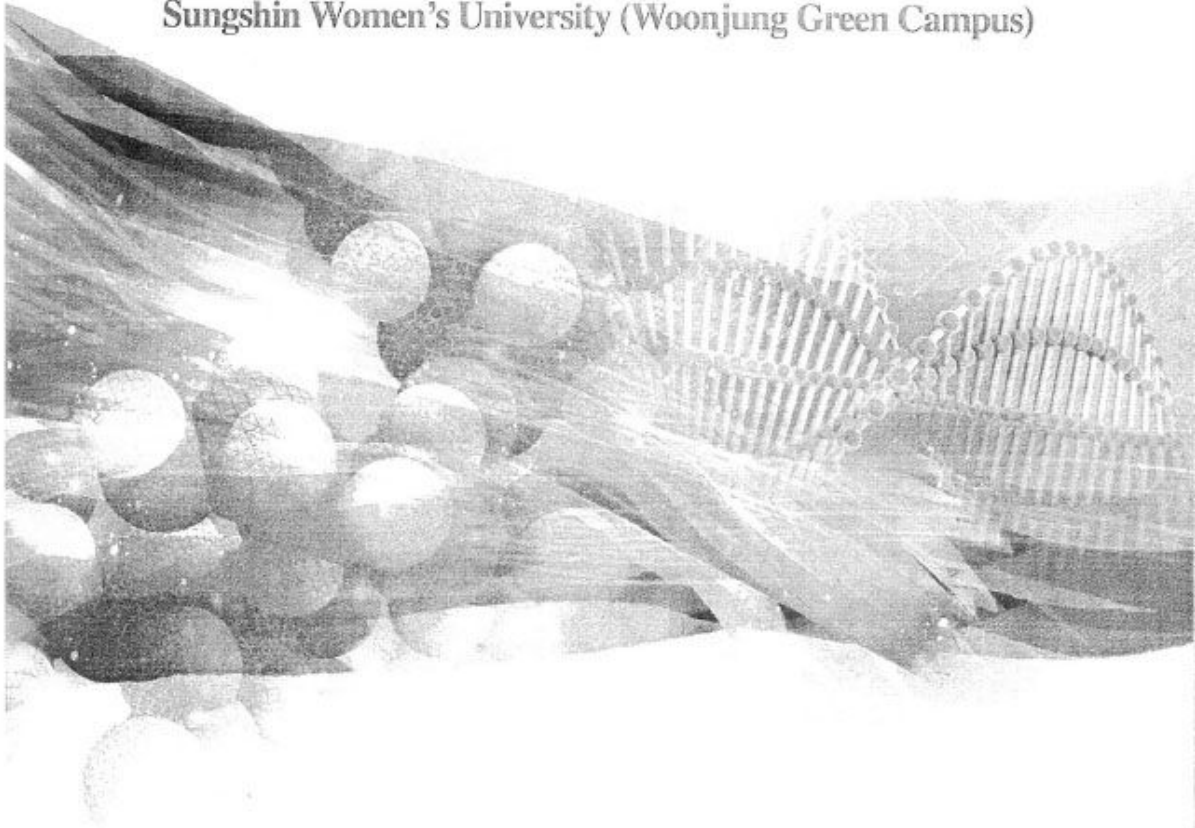
Fig. 1. Effects of bamboo salt samples on protein expressions of Bax and Bcl-2 in HCT-116 human colon carcinoma cells.









# The 17<sup>th</sup> Annual Meeting of Korean Society of Cancer Prevention

Nov. 9 (Fri) ~ 10 (Sat), 2012

Sungshin Women's University (Woonjung Green Campus)



**Organized by**  Korean Society of Cancer Prevention  
 Life and Culture Research Institute, Sungshin Women's University  
 CHA Research Institutes, CHA University

**Sponsored by**  Clinical Trial Center, Chonbuk National University Hospital & Medical school  
 National Cancer Center  
 National Research Foundation of Korea

## Chemical Properties, Antioxidant and in Vivo Gastric Injury Preventive Effects of Bamboo Salt

Xin Zhao<sup>1,2</sup>, Kun-Young Park<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, South Korea, <sup>2</sup>Department of Biological and Chemical Engineering, Chongqing University of Education, Chongqing 400067, PR China

Mineral contents of various salts were determined by the ICP-OES method. Bamboo salt (9 times baked) contains more potassium, calcium, magnesium, and manganese than those of purified salt or solar salt. From the XRD and XPS analysis, bamboo salt showed a complex structure materials which include NaCl, KCl and MgCl<sub>2</sub>. Bamboo salt showed a complex construction, and with the more baked times the construction were more complex. The bamboo salt has a pH of 11.04, higher than those of purified (6.29) and solar (9.13) salts. The contents of [OH<sup>-</sup>] were measured by using the FT-IR spectra. The bamboo salt exhibited a higher reduction potential and contained more OH group than purified and solar salts. The reduction peak of bamboo salt was observed to be about 3 times broader than that of solar salt in redox potential amperometry. At a salt concentration of 25%, bamboo salt showed the better radical scavenging activities (81.4%) than solar (5.0%) and purified (2.0%) salts evaluated by DPPH assay. The bamboo salt was also shown to have in vivo gastric injury preventive activities in a rodent model. Additionally, 1× and 9× bamboo salts contained many minerals and had stronger anti-inflammatory effect on gastric injury than both the purified and solar salts. Bamboo salt revealed an alkaline characteristic, antioxidative and in vivo anti-inflammatory activity.

**Key Words:** Bamboo salt, FT-IR, Amperometry, Antioxidation, Anti-inflammation

# Program

www.experimentalbiology.org

Experimental  
Biology  
2013<sup>100</sup>

# EB2013

Experimental Biology BOSTON

## Annual Meeting of:

American Association of Anatomists (AAA) **CELEBRATING 125 YEARS**  
The American Physiological Society (APS)  
American Society for Biochemistry and Molecular Biology (ASBMB)  
American Society for Investigative Pathology (ASIP) **CELEBRATING 100 YEARS**  
American Society for Nutrition (ASN)  
American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics (ASPET)

April 20-24, 2013

Boston Convention & Exhibition Center

## NUTRITION

- D209 I 630.17 Association between abdominal adipose tissue mass with anthropometric and cardiometabolic variables in a subgroup of males and females from the Canola Oil Multicentre Intervention Trial. X. Liu, P.M. Kris-Etherton, S.G. West, B. Lamarche, D.J. Jenkins, J.A. Fleming and P.J. Jones, Penn State, Laval Univ., Canada, Univ. of Toronto and Univ. of Manitoba.
- D210 II 630.18 Adenovirus36 E4orf1 and lithium inhibit GSK3 $\beta$  but only E4orf1 increases glucose uptake in fat cells. N.V. Dhurandhar, S.H. Park, H.-J. Jeon, O. Dubulsson, V. Hegde, R. Krishnapuram, H.-N. Na and J.-H. Nam, Pennington Biomed. Res. Ctr., Baton Rouge and The Catholic Univ. of Korea.
- D211 I 630.19 Anti-obesity effect of bamboo leaf in vivo. K.Y. Park, J.-H. Ju and J. Song, Pusan Natl. Univ., South Korea.
- D212 II 630.20 The changes of chemerin and chemerin receptor to regulate lipid metabolism in liver and pituitary gland. S. Roh, S. Kitayama, A. Ardyaniti, Y. Suzuki, E. Yamauchi, D. Kato, K. Yi, K. So, A. Hagino and K. Kato, Grad. Sch. of Agr. Sci., Tohoku Univ., Japan.
- D213 I 630.21 Anti-diabetic effects of anthocyanins isolated from Korean purple sweet potato. Shinzami, H.H., Jang, S.-M., Kim, S.-H., Kim, J.-B., Kim and Y.-M. Lee, Natl. Acad. of Agr. Sci., Suwon, South Korea.
- D214 II 630.22 Hypolipidemic effect of *Saururus chinensis* Ball in obese mice. H.-N. Chol and J.-I. Kim, Inje Univ., South Korea.
- D215 I 630.23 Hepatoprotective effect of *Saururus chinensis* Ball in obese diabetic mice. H.-N. Chol, A.-R. Kim, M.-J. Kang and J.-I. Kim, Inje Univ. and Changwon Natl. Univ., South Korea.
- D216 II 630.24 Is exposure to bisphenol-A and phthalates associated with obesity, metabolic disturbances and insulin resistance among U.S. adults? H. Beydoun, S. Khanal, A.B. Zonderman and M. Beydoun, Eastern Virginia Med. Sch. and NIA, NIH, Baltimore.

## 631. PROTEIN AND AMINO ACID METABOLISM

- Poster  
(Sponsored by: Energy and Macronutrient Metabolism RIS)  
Sun, 7:30 AM—BOSTON CONVENTION & EXHIBITION CENTER, EXHIBIT HALLS A-B  
Presentation time: 12-45 PM-1:45 PM (I); 1:45 PM-2:45 PM (II)
- D217 I 631.1 Energy intake modulates intramuscular mTORC1 signaling and ubiquitin-mediated proteolysis during energy deficit independent of dietary protein variations. J.W. Carbone, L.M. Margolis, J.P. McClung, J.-I. Cao, A.J. Young and S.M. Pasiakos, Sch. of Hlth. Sci., Eastern Michigan Univ., U.S. Army Res. Inst. of Envrn. Med., Natick, MA and USDA, Grand Forks.
- D218 II 631.2 Plasma glutathione resettement by oral glutamine supplementation is associated with glycine normalization in HIV+ treated patients. R.C. Burrill, M.D., Borges-Santos, F. Moreto and Y. Ming-Yu, Botucatu Sch. of Med., Brazil and Shiners Burns Hosp., Boston.
- D219 I 631.3 Branched chain amino acid plus glucose supplement reduces exercise-induced delayed onset muscle soreness. D.T. Leahy and S.J. Pintauro, Univ. of Vermont.

## SUNDAY

- D220 II 631.4 Individual amino acids and insulin sensitivity: relationships determined by race and gender. K.S. Ingram, A. Thalacker-Mercer and W.T. Garvey, Tennessee State Univ., Cornell Univ., Univ. of Alabama at Birmingham and Birmingham VA Med. Ctr.
- D221 I 631.5 Post-feeding serum metabolic responses to extensively hydrolyzed whey (WPH) or native whey concentrate (WPC) in rats. M.D. Roberts, C. Cruikshank, C. Lockwood, K. Pappan, J.M. Company, J.E. Brown and F.W. Booth, Univ. of Missouri-Columbia, AP Nutr., Missouri and Metabolon Inc., Research Triangle Park.
- D222 II 631.6 Flood-primed continuous tracer infusion complies with the precursor-labeling assumptions for measuring the muscle fractional synthesis rate using a single biopsy approach. S. Pfelelseder, K. Diderksen, R.H. Nielsen, M. Kjer and L. Holm, Bispebjerg Hosp. Inst. of Sports Med., Copenhagen.
- D223 I 631.7 Cholanemia induces skeletal muscle wasting despite stimulation of translation initiation, decreased autophagy, activation of Yes Associated Protein and proteasomal signal activation in mice. M.S. Desai, S.-J. Koo, Z. Eblimiti, A. Suryawan, J.A. Coss-Bu, T.C. Nguyen, T. Davis and R.A. Orellana, USDA, Baylor Col. of Med.
- D224 II 631.8 Muscle recovery after immobilization is improved by dietary supplementation with alpha-hydroxyisocaproic acid. C.H. Lang, H. Magna, E. Offord and D. Breuille, Penn State Col. of Med. and Nestlé Res. Ctr., Lausanne.
- D225 I 631.9 Divergent intramuscular mTORC1 signaling responses to habitual consumption of milk- and soy-based energy restricted diets. N.E. Murphy, G.G. Lin, C.R. Wulff, E. Gaffney-Stomberg, A.J. Young, J.P. McClung and S.M. Pasiakos, U.S. Army Inst. of Envrn. Med., Natick, MA.
- D226 II 631.10 High protein diets enhance body composition in rats: a comparative analysis of milk- and soy-based energy-restricted diets. S.M. Pasiakos, C.R. Wulff, N.E. Murphy, E. Gaffney-Stomberg, A.J. Young and J.P. McClung, U.S. Army Res. Inst. of Envrn. Med., Natick, MA.
- D227 I 631.11 Leucine-enriched essential amino acid mixture suppresses muscle soreness induced by eccentric exercise in rats. H. Kato, M. Mimura, H. Suzuki, Y. Inoue, H. Sugita, K. Suzuki and H. Kobayashi, Ajinomoto Co. Inc., Kawasaki, Japan.
- D228 II 631.12 Increasing the meal frequency does not promote exercise-induced muscle hypertrophy in rats. C. Tanaka, T. Fujii, A. Nakashima, M. Xu, T. Bonou and H. Okamura, Osaka Univ. of Hlth. and Sport Sci.
- D229 I 631.13 Dietary cod protein improves the IGF1-Akt/FKB signaling pathway in rat skeletal muscle during recovery from injury. J. Dort, N. Leblanc, C.H. Odé and F. Jacques, CHUQ Res. Ctr., Laval Univ., Canada.
- D230 II 631.14 Dietary supplementation with L-arginine between days 14 and 25 of gestation enhances litter size in gilts. X. Li, F. Bazer, G. Johnson, R. Burghardt, J. Frank, Z. Dai, J. Wang, I. Shinzato and G. Wu, Texas A&M Univ. and Ajinomoto Co., Tokyo.
- D231 I 631.15 Precursors for ornithine and citrulline synthesis in neonatal pigs. J.C. Marini, B. Stoll, L.C. Didelle and D.G. Burrin, USDA, Baylor Col. of Med.
- D232 II 631.16 Removal of glutamate from diet suppresses fat oxidation and promotes fatty acid synthesis in rats. H. Nakamura, Y. Kawamata, T. Kuwahara, H. Uneyama and R. Sakai, Ajinomoto Co. Inc., Kawasaki, Japan.



- D362 I **638.9** Ontogenic expression of retinoid homeostatic genes in principal vitamin A storage organs. **S.A. Owusu and C. Ross.** Penn State.
- D363 II **638.10** Carotenoids and health. **H.M. Jamieson.** Walden Univ., TX.
- D364 I **638.11** Effect of lycopene supplementation on lung carcinogenesis induced by tobacco carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in ferrets. **K. Alzawa, S. Veeramachaneni, C. Liu, D. Smith, L.M. Ausman and X-D. Wang.** USDA at Tufts Univ.
- D365 II **638.12** Tomato powder, not tomato extract or lycopene, attenuates alcohol-induced hepatic inflammatory foci and steatosis in rats. **C.P. Stice, C. Liu, A.S. Greenberg, L.M. Ausman and X-D. Wang.** USDA and Friedman Sch. of Nutr. Sci. and Policy at Tufts Univ.
- D366 I **638.13** Lycopene concentrate supplementation decreases plasma values for C-reactive protein and oxidized LDL. **R.A. DiSilvestro, E. Joseph and D. DiSilvestro.** The Ohio State Univ.
- D367 II **638.14** Astaxanthin supplementation lowers plasma triglyceride concentrations in diet-induced obese C57BL6J mice. **Y. Yang, T. Pham, C. Wegner, B. Kim, C.S. Ku, Y-K. Park and J-Y. Lee.** Univ. of Connecticut.
- D368 I **638.15** Individual genetic variations of  $\beta$ , $\beta$ -carotene monooxygenase-1 are associated with changes in total cholesterol in young Mexican adults. **C. Marques, M. Teran-Garcia, J.W. Erdman, Jr., J.M. Vargas-Morales, C. Aradillas-Garcia and U. Group.** Univ. of Illinois at Urbana-Champaign and Autonomous Univ. of San Luis Potosi, Mexico.
- D369 II **638.16** Increases in plasma lutein and zeaxanthin by egg intake is associated with the formation of larger HDL particles in participants with metabolic syndrome. **C.N. Blesso, C.J. Andersen, B. Bolling and M.L. Fernandez.** Wake Forest Univ. and Univ. of Connecticut.
- D370 I **638.17** Lutein and zeaxanthin for the prevention and treatment of age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. **R. Vishwanathan, S. Berger and E.J. Johnson.** Tufts Univ., Boston.
- D371 II **638.18** The relationship of lutein and DHA in cognitive function. **E. Mohn, R. Vishwanathan, A.H. Lichtenstein, N. Matthan, D.B. Hausman, J.L. Woodard, A. Davey, M.A. Johnson, L.W. Poon, R.C. Green, M. Gearing and E.J. Johnson.** Tufts Univ., Boston, Univ. of Georgia, Wayne State Univ., Temple Univ., Harvard Univ., Boston and Emory Univ.
- D372 I **638.19** Fortification of sorghum *Sorghum vulgare* with carrot *Daucus carota* in the production of sorghum flour. **I.O. Banjoko, T.O. Oyelola, T.T. Onanuga and F.M. Kujore.** Yaba Col. of Technol., Lagos and Fed. Ministry of Hlth., Abuja, Nigeria.
- D373 II **638.20** Bioaccessibility of carotenoids from transgenic provitamin A biofortified sorghum. **T.E. Lipkie, F.F. De Moura, Z-Y. Zhao, M.C. Albertsen, P. Che, K. Glassman and M.G. Ferruzzi.** Purdue Univ., HarvestPlus, Washington, DC and DuPont Pioneer, Johnston, IA.
- D374 I **638.21** Bioavailability of iron (Fe) and zinc (Zn) from Fe and Zn biofortified pearl millet. **K.M. Hambidge, R.M. Bellad, N.S. Mahantshetti, B.S. Kodkany, E. Boy, J.E. Westcott, K.N. Rai, B. Cherian, L.V. Miller and N.F. Krebs.** Univ. of Colorado Sch. of Med., Jawaharlal Nehru Med. Col., India and HarvestPlus, Washington, DC.
- D375 II **638.22** Retention of provitamin A carotenoid in biofortified maize after processing, cooking and storage in Zambia. **L. Mugode, A. Kaunda, S. Phiri, T. Sikombe, R. Mutale, E. Simpungwe, S. Schmaelzle, S. Tanumiharjo and F.F. De Moura.** NISIR, ZARI and HarvestPlus, Lusaka, Zambia, Univ. of Wisconsin-Madison and HarvestPlus, Washington, DC.
- D376 I **638.23** Malaria is associated with decreased nutrient intake in Zambian children fed provitamin A biofortified maize. **K. Bresnahan, J. Chileshe and S. Tanumiharjo.** Univ. of Wisconsin-Madison and Trop. Dis. Res. Ctr., Ndola, Zambia.
- D377 II **638.24** Community mobilization activities for the Zambia 2012 orange maize efficacy trial. **C. Kaliwile, S.A. Arscott, C. Masi and S.A. Tanumiharjo.** Zambia Natl. Food and Nutr. Commission, Lusaka and Univ. of Wisconsin-Madison.
- D378 I **638.25** Linking agriculture to nutrition – the harvest is near and how do we measure impact? **B.M. Gannon and S.A. Tanumiharjo.** Univ. of Wisconsin-Madison.

## 639. DIET AND CANCER: MOLECULAR TARGETS

## Poster

(Sponsored by: Diet and Cancer RIS)

SUN, 7:30 AM—BOSTON CONVENTION &amp; EXHIBITION CENTER, EXHIBIT HALLS A-B

Presentation time: 12:45 PM-1:45 PM (I); 1:45 PM-2:45 PM (II)

- D379 I **639.1** Regulation of AMPK-beta-catenin pathway via GSK3beta dependently or independently in Hep3B cancer cell growth and apoptosis control with selenium. **S.H. Park, Y-K. Lee, Y-M. Kim and O.J. Park.** Hannam Univ., South Korea and SUNY Downstate Med. Ctr.
- D380 II **639.2** Anti-cancer effects of *Cnidium officinale* Makino extract mediated through apoptosis and cell cycle arrest in human colorectal cancer cell line (HT-29). **J.F. de Cruz, G.D. Kim and S.G. Hwang.** Hankyong Natl. Univ., South Korea and Seoul Natl. Univ.
- D381 I **639.3** Apoptosis induction in Hep3B cell line by Lu-Do-Huang. **J-H. Yang, T-Y. Chien, C-H. Tsai and H-H. Huang.** Shih Chien Univ., Taiwan.
- D382 II **639.4** Anticancer effects of bamboo salt on human cancer cells and on buccal mucosa cancer in mice. **X-P. Park, X. Zhao and S-H. Mun.** Pusan Natl. Univ., Chongqing Univ. of Educ. And Kyungnam Col. of Info. and Technol., South Korea.
- D383 I **639.5** The role of Aurora-A in curcumin-enhanced chemosensitivity of human breast non-metastatic cancer MCF-7 and highly metastatic MDA-MB-231 cells. **C. Su, C. Yen and H. Liu.** Natl. Taiwan Normal Univ., Taiwan, Col. of Med. and Natl. Cheng Kung Univ., Taiwan.
- D384 II **639.6** Boric acid activated pathways in prostate DU-145 cells. **C. Eckhart, S. Kobylewski, K. Henderson and K. Yamada.** UCLA.
- D385 I **639.7** Apigenin and naringenin decrease cell number in a dose dependent manner in non-transformed young adult mouse colonocytes (YAMC) but not in those expressing a dominant negative p53-mutant (mp53-YAMC). **W.D. Daniels, K.F. Allred, C.D. Allred, B.S. Patil and N.D. Turner.** Texas A&M Univ.
- D386 II **639.8** Biotinylation of the c-myc promoter binding protein MBP-1 decreases c-myc expression in mammary carcinoma MCF-7 cells. **J. Zhou, S.S.K. Wijerathne and J. Zempleni.** Univ. of Nebraska-Lincoln.

2012 KFN International Symposium and Annual Meeting  
**Quality of Life (QOL): Food Industry and Health**  
 Oct. 31 ~ Nov. 2, 2012 ICC Jeju, Jeju, Korea



**KFN** The Korean Society of Food Science and Nutrition

Sponsored by



S12-2

**죽염의 함양 및 항염증효과**

박건영, 조훈

부산대학교 식품영양학과

죽염은 우리나라 전통 건강식품으로 예로부터 제조되어 왔는데, 일반적으로 대나무통에 천일염을 넣고 밀줄으로 봉하여 800-1200°C 이상에서 구워 1회에서 9회까지의 재질이 만들어 진다. 그런데 이 죽염은 정제된 분이나 천일염 또는 어느 가공 소금보다도 생리적 기능에 우수한 효과를 가져 알과 임종 등의 성인병 예방에 민간 치료 약제로도 사용되어왔다. 최근 연구에 의하면 죽염은 항산화 효과 뿐 아니라, 아토피, 비염, 면역증강, 암예방, 항암 및 항염증 효과 등에까지 그 가능성이 있는 것으로 보고 있다.

본 발표에서는 죽염의 함양과 항염증효과에 대해 그동안 연구해 왔던 내용을 발표하고자 한다. 죽염은 1회, 3회, 9회로 굽는 횟수가 증가될수록 *in vitro* 항암활성(HCT 인체 대장암세포 및 HepG2 인체 간암세포) 및 *in vivo*에서도 항암효과가 있었고, *in vivo*(SD-rats) 항위염 활성도 증진되는 것으로 나타났다. HCT-116 암세포 및 HepG2 암세포에서 죽염의 sub-G1 DNA함양(apoptotic cells)이 1회, 3회 죽염을 처리한 경우보다 9회 죽염을 처리했을때 apoptosis 유발 효과가 증가하여 굽는 횟수의 증가에 따라 유도활성이 높아졌다. 그러나 정제염과 천일염은 그 활성이 낮았다(Fig. 1).

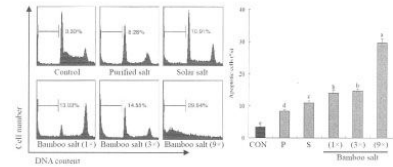


Fig. 1. The level of apoptosis induced by various salts. The DNA content of sub-G1(apoptotic cells) in HCT-116 human colon carcinoma cells was evaluated using a flow cytometer. Apoptosis was monitored by staining with annexin-V FITC. CON: Control P: Purified salt S: Solar salt

또한 apoptosis 유발과 관련된 Bcl-2 family의 Bcl-2 및 Bax 와 caspases의 발현을 감소 또는 증가시켜 조절하므로 죽염은 굽는 횟수의 증가에 따라 apoptosis 관련 유전인자 발현을 증가시키므로 항암 효과를 나타내었다. 이렇게 죽염은 항암 효과가 유익하므로 증가되었지만 정제염과 천일염은 그 효과가 낮았다(Fig. 2).

죽염을 투여한 SD rat 항위염 실험에서 9회 죽염을 투여한 rat의 위염상윤은 매우 낮았고 항위염 효과가 가장 높게 나타났다. 반면 정제염과 천일염의 위염 억제 효과는 낮았다(Fig. 3).

이러한 결과로부터 소금 종류에 따른 기능을 비교하였을 때, 죽염이 가장 항암 및 항위염 효과가 높았고 천일염 그리고 정제염 순이었다. 죽염은 또한 1회 죽염보다 3회 죽염 그리고 9회 죽염으로 더 구워진 죽염이 효과가 높았다. 그리고 죽염을 이용하여 제조한 된장, 청국장, 간장과 김치 등 발효식품의 함양 및 항염증 효과 또한 일반 정제염과 천일염으로 만든 것들보다 좋게 나타났다.



RESERVATION CONFIRMATION: Your reservation is confirmed.

Your confirmation number and reservation details are shown on this page.

Make a note of your reservation reference number, alternatively print this page. Your reservation details together with your unique password will be sent to the email address displayed.

You will need your reservation reference number and password should you wish to amend or cancel your reservation using this system.

Please be aware of the hotel cancellation policy for your hotel & ensure you cancel your reservation in advance to avoid cancellation charges.

Please Note your credit card has been used only to secure the booking. No payment will be taken or charged prior to your stay. Your details are used as a guarantee of payment only and on arrival at the venue you may pay by another method if you wish. Non-arrivals or failure to cancel a reservation may be subject to a cancellation charge.

**Booking Ref**

BLF152243

**Booking contact**

Mr Kun-Young Park  
Pusan National Univ  
Room #407 Dept of Food Sci&Nutrition,  
609 - 735  
Korea (South)  
+82-51-514-3138

kunypark@pusan.ac.kr  
+82-10-3872-2839  
+82-10-3872-2839

**Payment method**

Credit/debit card guarantee  
Mastercard  
KUNYOUNGPARK  
11/16  
\*\*\*\*\*4001

**Booking total**

£ 325.00

The Crescent Townhouse  
13 Lower Crescent  
Belfast  
BT7 1NR  
02890323349

**Cancellation policy**

6 weeks prior to the conference

Mr Kun-Young Park  
Non smoking  
Room guest 2: Mr Kun-Young Park  
Sun 15 Jul 2012 Double £ 65.00  
Mon 16 Jul 2012 Double £ 65.00  
Tue 17 Jul 2012 Double £ 65.00  
Wed 18 Jul 2012 Double £ 65.00  
Thu 19 Jul 2012 Double £ 65.00

Print

Increased *in vitro* anticancer activity in HepG2 human hepatoma cells and *in vivo* hepatitis protective effect of bamboo salt. By K.Y. Park, X. Zhao, Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

Bamboo salt as a functional food was originated in Korea. Bamboo salt was evaluated for the anticancer effect in human cancer cells and determined preventive effects on hepatitis in SD rats. The solar salt was filled in the internodes of young bamboo, and sealed using the natural red clay, then baked at 1000 °C–1500 °C<sup>(1,2)</sup> using pine as fuel. *In vitro* anticancer effect of the bamboo salt was evaluated in HepG2 human hepatoma cells using MTT assay (Table 1). At 1% of salts treated HepG2 cells, showed growth inhibitory effects of bamboo salt (9×, 9 times baked) was 65%, which was higher than that of bamboo salt (1×), solar salt and purified salt (Hanju Corporation, Ulsan, Korea).

**Table 1.** Inhibitory effect of aqueous solutions from different kinds of salt products on the growth of HepG2 cells in 3-(4,5-dimethyl-thiazol)-2,5-diphenyl tetrazolium (MTT) assay.

Treatment	OD <sub>550</sub> (% inhibited compared with control)	
	0.5	1
Control	0.381±0.004*	
Purified salt	0.523±0.008 <sup>(10)</sup>	0.436±0.019 <sup>(25)</sup>
Solar salt	0.509±0.011 <sup>(14)</sup>	0.413±0.007 <sup>(19)</sup>
Bamboo salt (1-)	0.459±0.013 <sup>(21)</sup>	0.349±0.007 <sup>(40)</sup>
Bamboo salt (9-)	0.391±0.009 <sup>(32)</sup>	0.203±0.012 <sup>(65)</sup>

**Table 2.** Plasma AST, ALT and LDH levels.

	Plasma levels (IU/L)		
	AST	ALT	LDH
Normal	169.5±12.3 <sup>†</sup>	45.7±5.6 <sup>†</sup>	1173.5±77.2 <sup>†</sup>
Control	1693.8±74.2 <sup>**</sup>	1438.2±62.2 <sup>**</sup>	6742.6±45.6 <sup>**</sup>
Purified salt	1513.1±34.5 <sup>**</sup>	998.4±65.2 <sup>**</sup>	5875.2±44.2 <sup>**</sup>
Solar salt	1285.3±45.2 <sup>**</sup>	804.9±34.5 <sup>**</sup>	5432.9±32.7 <sup>**</sup>
BS (1-)	1077.0±21.7 <sup>**</sup>	790.2±27.6 <sup>**</sup>	4776.4±51.2 <sup>**</sup>
BS (9-)	1038.1±14.2 <sup>**</sup>	634.4±22.5 <sup>**</sup>	3877.8±37.6 <sup>**</sup>

\*†† Means with different letters on the bars are significantly different (p < 0.05) by Duncan's multiple range test (n=5).

To determine the inhibitory mechanisms of apoptosis and anti-inflammatory effect of bamboo salt samples in HepG2 cells the expressions of Bax, Bcl-2 and iNOS, COX-2 genes were determined by RT-PCR. The bamboo salt (9×) induced a stronger anticancer effect than the other salts (Fig. 1). We also evaluated whether bamboo salt exhibits hepatoprotective effects in SD-rats. Bamboo salt effectively prevented CCl<sub>4</sub> induced hepatitis in the rats (n=36, 7-week-old, 400 mg/kg bw of salt dissolved in water for 2 weeks). Expressions of inflammation related genes in the livers of the rats were tested. Bamboo salt (9×) significantly decreased mRNA expressions of COX-2, iNOS, TNF-α and IL-1β (Fig 2). Bamboo salt (9×) showed the lowest levels of plasma AST, ALT and LDH levels (Table 2). Accordingly, bamboo salt (9×) can be expected to contribute to prevention of hepatitis, bamboo salt (1×) also revealed better hepatitis preventive effects than solar salt and purified salt. On the whole, bamboo salt showed much better *in vitro* anti-cancer activity than solar salt and purified salt in HepG2 cells and the hepatitis induced in SD rats was effectively prevented by bamboo salt.



Fig. 1. Gene expressions (cells)

Fig. 2. Gene expressions (livers)

- Shin HY, Na HJ et al. (2004). *Food Ind Nutr* 9, 36-45.
- Chun H, Yung Z et al. (2000). *J. Agr Food Chem* 48, 3170-3176.

Acknowledgement: this study was supported by the research grant (#911004-02-1-HD110) from the projects for the 'Globalization of Korean Foods', which is gratefully appreciated.

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2012.05.03  
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)  
 출원번호 10-2012-0046913 (접수번호 1-1-2012-0354310-14)  
 출원인명칭 주식회사 상보죽염(1-1995-011301-1)  
 대리인성명 노준태(9-2005-000438-7)  
 발명자성명 김인석  
 발명의명칭 진피추출물 및 죽염을 포함하는 알러지 비염의 예방 또는 치료용 의약 조성물, 의약부외품 및 건강기능식품

특허청장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.  
※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.  
※ 특허포(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 국내출원건을 외국에도 출원하고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정 받을 수 있습니다.  
※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12월, 상표·디자인은 6월 이내  
※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적고환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.  
※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

등록사항      등록원부신청      출력

※ 본 사이트를 통해 "조회" 또는 "출력"된 등록정보는 법적증빙자료로 사용할 수 없고 단지 정보로만 활용할 수 있으며, 데이터 이관에 따른 소요기간(1일)으로 인하여 특허청 등록원부와 일부 차이가 발생할 수 있음을 알려드립니다.  
 ※ 법적증빙자료로 활용하시려면 특허청에서 제공하는 온라인제증명신청을 통해 등록원부를 발급받아 사용하시기 바랍니다.

상표 등록번호      40-0931389-0000

권리란

표시번호	사항
1번	출원 연월일 : 2011년 10월 20일      출원 번호 : 40-2011-0057456 공고 연월일 : 2012년 06월 05일      공고 번호 : 40-2012-0035979 등록결정(심결)연월일 : 2012년 08월 16일      상품류구분수 : 1 지정상품 또는 지정 서비스업      제05류 : 알레르기용 약제, 알레르기 치료제 존속기간(예정)만료일 : 2022년 08월 21일 2012년 08월 21일 등록

상표권자란

순위번호	사항
1번	(등록권리자) 김형민 서울특별시 동대문구 천장산로**길 **, 삼성래미안아파트 ***-**** (이문동) 2012년 08월 21일 등록

※ 신상정보 보호를 위하여 주소 일부는 제한하여 제공하고 있습니다.  
 ※ 본 사이트에서는 일부(전용실시권, 통상실시권, 부기 등) 정보를 제공하지 않고 있으므로, 해당 정보는 특허청에서 제공하는 등록원부를 발급받아 확인하시기 바랍니다.

등록료란

제 1 - 10 년분	금액	211,000 원	2012년 08월 22일	납입
-------------	----	-----------	---------------	----

관인생략  
출원번호통지서

출원일자 2012.12.31  
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)  
출원번호 10-2012-0158579 (접수번호 1-1-2012-1097856-36)  
출원인명칭 부산대학교 산학협력단(2-2004-004484-3)  
대리인성명 이덕록(9-1998-000461-7)  
발명자성명 박건영 조흔 송가락 주재현 김인석  
발명의명칭 향산화 또는 향양 활성이 증대된 기능성 죽염 및 이의 제조방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.  
※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.  
※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.  
※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드  
※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내  
※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교원허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.  
※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

## 죽염, 굵는 횡수 증가할수록 염증 관련 유전자 발현 억제

2011년 12월 16일 (금) 16:05:03

식품저널 ✉️ foodinfo@foodnews.co.kr

### 죽염 및 죽염발효식품의 알 예방 효과

박건영 · 조흔

부산대학교 식품영양학과

죽염은 일반적으로 대나무통에 천일염을 넣고 진흙으로 봉하여 800~1200℃ 이상에서 1회에서 9회 까지 구워 만든다.

생리적으로도 우수한 효과를 가져 알 등의 성인병 예방을 위한 민간 치료약제로도 사용돼 왔으며, 항산화 효과 뿐 아니라, 아토피, 비염, 면역증강, 알예방, 항암효과 등의 기능성이 있는 것으로 보고되고 있다.

정제염의 pH는 6을, 천일염은 pH9를 나타냈지만 죽염은 pH 10~11을 나타냈다.

Redox potential amperometric analysis와 FT-IR spectrometry를 사용하여 측정한 결과, 죽염은 OH기를 많이 함유하고 있었고, DPPH 등의 실험에서도 높은 항산화 능력을 나타냈다.

죽염은 굵는 횡수가 증가할수록 항돌연변이 활성과 in vitro 및 in vivo에서의 항암 활성이 증진되었다.

Salmonella typhimurium TA100을 이용한 Ames test에서 MNNG (N-Methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine) 발암물질과 함께 투여되었을 때, 죽염은 항돌연변이 활성이 있었지만, 정제염과 천일염은 보돌연변이 활성을 나타냈다.

한편 HCT-116 인체 대장암세포에서 죽염 처리는 Bax의 발현은 증가시키고, Bcl-2 단백질의 발현은 감소시켜 암세포의 apoptosis를 유도하였으나, 정제염과 천일염, 특히 정제염 처리는 효과가 나타나지 않았다.

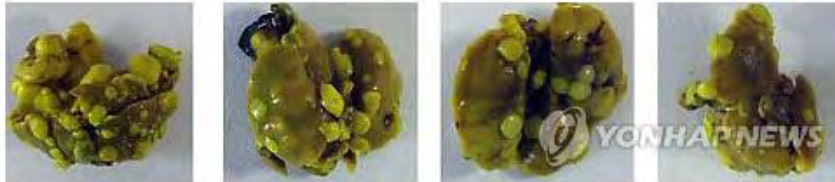
또한 염증유발과 관련된 iNOS와 COX-2의 단백질 발현에 있어서도 비슷한 저해 활성을 보여 죽염은 굵는 횡수의 증가에 따라 염증 관련 유전자의 발현을 유의적으로 억제하였지만 정제염과 천일염은 그 효과가 낮았다.

죽염을 사용해 제조한 김치와 된장, 간장에서도 비슷한 경향이 관찰되었고 천일염, 구운소금, 죽염 등으로 제조된 김치에서 콜론 26-M3.1 암세포를 이용한 마우스 전이 실험에서 죽염으로 제조된 김치가 가장 전이 억제 효과가 높게 나타났다.



## 부산대 연구팀 "죽염, 암 억제 효과 탁월"

연합뉴스 | 기사입력 2011-12-25 07:35 | 최종수정 2011-12-25 11:00



"죽염, 암-염증억제 효과 탁월" (부산=연합뉴스)= 부산대 식품영양학과 박건영 교수 연구팀이 실험용 쥐의 꼬리에 종양세포를 투여한 결과, 2주 후 일반 쥐의 폐(맨 왼쪽)에는 많은 종양이 생겼다. 그러나 1회, 3회, 9회 구운 죽염(왼쪽 두번째부터)을 먹인 쥐의 폐에 생성된 종양은 눈에 띄게 줄었다. << 지방기사 참고, 부산대 박건영 교수 연구팀 제공 >> 2011.12.25 youngkyu@yna.co.kr

식품영양학과 박건영 교수, 조흔 박사 연구논문

(부산=연합뉴스) 민영규 기자 = 소금을 대나무 속에서 구워 만든 죽염이 암과 염증을 억제하는 효과가 탁월하다는 실험결과가 나왔다.

25일 부산대 식품영양학과 박건영 교수, 조흔 박사 연구팀의 '죽염 및 죽염 발효 식품의 암 예방 효과' 논문에 따르면 죽염의 대장암 세포 억제율은 41-53%, 위암 세포 억제율은 36-51%로 각각 나타났다.

1차례 구운 죽염보다 전통에 따라 9차례 구운 죽염의 효과가 더 좋았다.

같은 실험에서 천일염과 정제염의 항암효과는 각각 20-22%, 15-18%에 그쳤다.



"죽염, 암-염증억제 효과 탁월" (부산=연합뉴스)= 부산대 식품영양학과 박건영 교수 연구팀이 실험용 쥐에 위염을 일으키는 물질을 투여한 결과, 일반 쥐의 위(맨 왼쪽)는 염증으로 뒤덮였으나 1-9회 구운 죽염을 먹인 쥐에서는 염증이 거의 발견되지 않았다. << 지방기사 참고, 부산대 박건영 교수 연구팀 제공 >> 2011.12.25 youngkyu@yna.co.kr

특히 실험용 쥐 꼬리에 종양세포(colon 26-M3.1)를 투여한 결과, 일반 쥐의 폐에는 많은 종양이 생겼으나 2주간 죽염을 먹인 쥐의 폐에 생성된 종양은 눈에 띄게 줄었다.

죽염에 암이 다른 장기로 퍼지는 것을 막는 효과가 있다는 뜻이다.

또 염증억제 효과를 알아보려고 실험용 쥐에 1주일간 위염을 일으키는 물질(HCL, 에탄올)을 투여한 결과, 소금을 먹이지 않은 쥐의 위를 뒤덮은 염증이 죽염을 섭취한 쥐에서는 거의 발견되지 않았다.

이들 실험에서 천일염과 정제염은 별다른 도움이 안 되는 것으로 나타났다.

**칼럼** 소금보단 '죽염'..."음식에 넣으면 암 억제 효과"

메디컬투데이 이슬기(s-report@mdtoday.co.kr) 기자

입력일 : 2011-12-26 15:43:01

[메디컬투데이 이슬기 기자] 소금을 대나무 속에 구워 만든 죽염이 암과 염증을 억제하는 효과가 탁월하다는 실험결과가 나왔다.

부산대 식품영양학과 박건영 교수팀은 '죽염 및 죽염 발효 식품의 암 예방 효과'에 대한 연구결과 죽염의 대장암 세포 억제율은 41~53%, 위암 세포 억제율은 36~51%로 각각 나타났다고 26일 밝혔다.

연구팀에 따르면 특히 1차례 구운 죽염보다 전통에 따라 9차례 구운 죽염의 효과가 더 좋은 반면 천일염과 정제염의 항암효과는 각각 20~22%, 15~18%에 그쳤다.


또한 실험용 쥐 꼬리에 종양세포를 투여한 결과 일반 쥐의 폐에는 많은 종양이 생겼으나 2주간 죽염을 먹인 쥐의 폐에 생성된 종양은 눈에 띄게 줄었다. 이는 죽염에 암이 다른 장기로 퍼지는 것을 막는 효과가 있다는 뜻이라고 박 교수는 설명했다.

박건영 교수는 "염증억제 효과를 알아보려고 실험용 쥐에 1주일간 위염을 일으키는 물질을 투여한 결과 소금을 먹이지 않은 쥐의 위를 뒤덮은 염증이 죽염을 섭취한 쥐에서는 거의 발견되지 않았다"며 "이들 실험에서 천일염과 정제염은 별다른 도움이 안 됐다"고 설명했다.

아울러 박 교수는 "김치, 된장 등을 세계화 하는데 항상 소금이 항상 나쁜 효과를 가져다 준다는 해를 한류화에 항상 걸렸으나 우리 선조들이 많은 시간과 비용을 들여 죽염을 만든 이유가 과학적으로 입증됐다"며 "소금의 부가가치를 높여서 선조들의 지혜를 잘 사용하면 한류품에 좋은 효과를 가져올 것"이라고 덧붙였다.

메디컬투데이 이슬기 기자(s-report@mdtoday.co.kr)

<건강이 보이는 대한민국 대표 의료, 건강 신문 © 메디컬투데이, 무단전재 및 재배포금지>

 프린터



### 죽염 항암효과 천일염 2배 넘어

[중앙일보] 입력 2011.12.26 00:58 / 수정 2011.12.26 00:58

박건영 부산대 교수 논문  
"실험결과 암세포 억제율 53%"



소금을 대나무 속에서 구워 만든 죽염이 암과 염증을 억제하는 효과가 탁월하다는 연구결과가 나왔다.

25일 부산대 식품영양학과 박건영(사진) 교수, 조흔 박사 연구팀의 '죽염 및 죽염 발효 식품의 암 예방 효과' 논문이 따르면 죽염의 대장암 세포 억제율은 41~53%, 위암 세포 억제율은 36~51%로 각각 나타났다. 한편 구운 죽염보다 전통에 따라 9차례 구운 죽염의 효과가 더 좋았다. 천일염과 정제염의 항암효과는 각각 20~22%, 15~18%에 그쳤다.

특히 실험용 쥐 꼬리에 중앙세포(colon 26-M3.1)를 투여한 결과, 일반 쥐의 폐에는 많은 중앙이 생겼으나 2주간 죽염을 먹인 쥐의 폐에 생성된 중앙은 눈에 띄게 적었다. 연구팀은 죽염에 암이 다른 장기로 퍼지는 것을 막는 효과가 있는 것으로 보고 있다. 또 염증억제 효과를 알아보고 실험용 쥐에 1주일간 위염을 일으키는 물질(HCL, 에탄올)을 투여한 결과, 죽염을 먹인 쥐에서는 거의 발견되지 않았다. 이들 실험에서 천일염과 정제염은 별다른 도움 안 되는 것으로 나타났다.

박건영 교수는 "우리 선조가 많은 공을 들여 죽염을 만든 이유가 과학적으로 입증된 것"이라며 "김치, 된장, 청국장 등 전통 발효 식품도 죽염을 쓸 때 천일염이나 정제염을 썼을 때보다 기능이 뛰어난 것으로 확인됐다"고 밝혔다.

김상진 기자

▶ 맛, 뜨거...후 실내온도 빨리 식히려면?



#### 이 시각 주요뉴스

- 北축구단 "호텔 로비에 신문 치워달라"
- 마수라강 현장 "뒤로 더 더" 교관 말에...
- '집 없는 억만장자' 다 팔아도 남겨둔 세 가지
- 세계수영대회 유치한 광주, 총리 사인 위조해...
- 술 마시면 살찐다? 13년간 규칙적으로 마셨다
- "수영복 심사 때 가슴을..." 미스코리아 비법 폭
- 미야자키 히마오 "아빠, 생각 모자란 인간"
- 순종, 금발 친구 머리만지며 "이건 금이야?"
- 한때 美 '3대 도시' 역사상 최고액 부채로 파산
- 박 대통령, 기독교 지도자 오찬서 '막달, 정말...'
- '혹구는 관심밖' 중년남자의 응급한 시선
- 최악 비난 들었던 대표팀, 오늘 꼴명보 스타일로
- 올 누드로 해변 뛰어드는 나체주의자들
- 미혼여성, 분노졸 부위중 '이곳' 가장 많이 봐
- "대학생인 내김정은 어동생, 등교할때..."

비즈링크

- 의료실비보험 유리하게 가입하는 방법?
- ▶ 62kg 주부 47kg 짝~뺐어요~
- 미인혜, 영머학습기 암기율97% 화제!
- 팔자주름 치료비 얼마(이지엔..강남)
- [사라덕] 성형비 얼마나 들까??
- 국민보험이 된 의료실비 가입꼭주!

모두투어  
총 25800

뉴스홈 > 산업 > 건강

기사보기 >

댓글보기 >

승인쇄 + 크게 - 작게

## “음식에 소금 대신 죽염 넣으세요...암억제 효과 탁월”

박건영 부산대 교수·조흔 박사 연구팀 논문 발표

산업 최종수정 : 2011-12-26 08:58

이진영 기자 mint@

기자의 다른기사 보기 >

**BIG SALE**  
2013.07.07~07.31

클렌징오일+딤 품  
₩30,000 **₩15,000**

한선화의뷰티시크릿  
더스킨하우스  
the SKIN HOUSE  
SINCE 1979

평소 음식을 만들 때 일반 소금 대신 죽염을 활용하는 것도 건강을 지키는 한 방법이 될 수 있을 것으로 보인다. 이번에 소금을 대나무 속에 구워 만든 죽염이 암과 염증을 억제하는 효과가 탁월하다는 실험결과가 나온 것.

26일 부산대 식품영양학과 박건영 교수, 조흔 박사 연구팀의 ‘죽염 및 죽염 발효 식품의 암 예방 효과’ 논문에서 죽염의 대장암 세포 억제율은 41~53%, 위암 세포 억제율은 36~51%로 각각 나타났다.

특히 1차례 구운 죽염보다 전통에 따라 9차례 구운 죽염의 효과가 더 좋았다.

반면 천일염과 정제염의 항암효과는 각각 20~22%, 15~18%에 그쳤다.

또 실험용 쥐 꼬리에 종양세포(colon 26-M3.1)를 투여한 결과, 일반 쥐의 폐에는 많은 종양이 생겼으나 2주간 죽염을 먹인 쥐의 폐에 생성된 종양은 눈에 띄게 줄었다. 이는 죽염에 암이 다른 장기로 퍼지는 것을 막는 효과가 있다는 뜻이다.

염증억제 효과를 알아보려고 실험용 쥐에 1주일간 위염을 일으키는 물질(HCL, 에탄올)을 투여한 결과, 소금을 먹이지 않은 쥐의 위를 뒤덮은 염증이 죽염을 섭취한 쥐에서는 거의 발견되지 않았다.

LG블로그  
사랑해요 LG GO!

많이본 기사

경제

연예

- 1 미 디트로이트 "파산 신청도 어렵네"...연금 문제 얽혀 난항  
세계 자동차 산업의 중심지 미국 미시간주 디트로이트 시의 미래에 먹구름이 짙어지고 있
- 2 [종합]중국 서우두 국제공항서 폭발 사고...용의자 부상·추가 사...  
중국 베이징 서우두(수도) 국제공항에서 20일(현지시간) 사제 폭발물을 이용한 자폭사건
- 3 태안 캠프사고, 빈소 찾은 일부 교사 헌바
- 4 유럽 이상고온, 일주일 넘었다..영국서
- 5 "태안 학생들 바다에 빠졌을 때 교장은 울
- 6 [2보] 중국 베이징 서우두 국제공항서 폭
- 7 [1보] 중국 베이징 서우두국제공항서 폭
- 8 중국 대출금리 자유화...대출금리 하한선
- 9 캠프 사고 유가족 "아이들 한풀어 달
- 10 이 닻기가 싫다구요? 암범새가 심하다구

온라인 단독세일  
**BIZ T-SHIRTS**  
비즈니스 웨어도 잘 어울리는 마인드브릿지 여/남/티/셔츠

**돌출입수술 전** **돌출입수술(ASO)은 오렌지성형외과의원에서 자연스러운 입매를 위해~** **돌출입수술 후 3개월**

※부작용:간혹 감염이나 출혈등

120330 중-27407 아주 짧은 돌출입수술(ASO) 시간

- 로또1등당첨 비밀패턴 밝혀져 충격!
- 대명리조트 여름 성수기 특별분양!
- 하루5분 질수축~ 등돌린 남편 꼭잡아~
- 댁니, 40만원으로 받쳐없이, 투명하게 해결
- 남편이 피하는 그 곳 뽀새.. 알고보니?
- [초보번역가] 취업,미직,은퇴 걱정 썩~

문화 건강·의료 입력 2011.12.25 (일) 14:47, 수정 2011.12.25 (일) 15:14

## "죽염, 암·염증억제 효과 탁월"

f 추천 0 Tweet 0 미투 59 +1 0

07월 20일자  
지면보기

<<< [화제] "생활고에 시달리던" A양 27억당첨!!

부산대 박건영 교수팀 밝혀



소금을 대나무 속에서 구워 만든 죽염이 암과 염증을 억제하는 효과가 탁월하다는 실험결과가 나왔다.

부산대 식품영양학과 박건영 교수 연구팀이 실험용 쥐에 위염을 일으키는 물질들 투여한 결과, 일반 쥐의 위(왼쪽)는 염증으로 뒤덮였으나 1~9회 구운 죽염을 먹인 쥐의 위에서는 염증이 거의 발견되지 않았다. (부산대 박건영 교수 연구팀 제공)

☞ "화성인" 3년전 100억 번 주식.. 지금

☞ 충격, 만성 아토피 치료시기 놓치면..

25일 부산대 식품영양학과 박건영 교수, 조흔 박사 연구팀의 '죽염 및 죽염 발효 식품의 암 예방 효과' 논문에는 따르면 죽염의 대장암 세포 억제율은 41~53%, 위암 세포 억제율은 36~51%로 각각 나타났다.

현대대림 다이어트론

### 나의대출한도 얼마나 늘었을까?

신용도 향상없이 한도 조회하기 >

1차례 구운 죽염보다 전통에 따라 9차례 구운 죽염의 효과가 더 좋았다.

같은 실험에서 천일염과 정제염의 항암효과는 각각 20~22%, 15~18%에 그쳤다.

특히 실험용 쥐 꼬리에 종양세포를 투여한 결과, 일반 쥐의 폐에는 많은 종양이 생겼으나 2주간 죽염을 먹인 쥐의 폐에 생성된 종양은 눈에 띄게 줄었다.

LH

## 전세금으로 내 집 마련

이시각 주요뉴스

종합 정치 경제 사회 국제 연예 스포츠

- "해병캠프 사고 보고 받고도... 교장 술 마셨
- 미아지키 하야오 70배, 위안부 문제 사죄해
- "너무 좋아" 백도날드서 결혼식 피로연
- '위암 투병' 엄마 '20년 후 결혼하는 딸들에
- 위험한 중국 시골 길, "도망 못가게 다리부
- 고시원서 강간살인?... "건물 밖으로 내던져졌
- 이동국, 결승등이 애매했다 "10만분의 1 확
- 심지호 20일 결혼, 하루 전 깜짝 발표.. 왜?
- 하유미 "자연 유산 후 공황장애 시달려"
- 에일리 "미국가 부르다 눈을 흘려"... 왜?

세계일보 뉴스스탠드 설정하기

생활정보AD

실시간정보

- 1mad
- 딱 7일만에 10kg 빼는 화제의 다이어트
  - 소개팅 성공녀! 전날 머하나 왔더니?
  - 딱 7일만에 10kg 빼는 화제의 다이어트
  - "노스페이스" 공장폐업, 80% 눈물의 명처리
  - 40대 실직男, 집에서 3년만에 150억 벌어
  - 로또 "140억" 28세 女.. 인터뷰 "충격"
  - 트루고 하경 9mm면 알고보니 "스하셔해하스"

### 죽염, 암·염증 억제효과 탁월

부산대 연구팀 밝혀

소금을 대나무 속에서 구워 만든 죽염이 암과 염증을 억제하는 효과가 탁월하다는 실험결과가 나왔다.

부산대 식품영양학과 박건영 교수, 조흔 박사 연구팀이 최근 발표한 '죽염 및 죽염 발효 식품의 암 예방 효과' 논문에 따르면 죽염의 대장암 세포 억제율은 41~53%, 위암 세포 억제율은 36~51%로 각각 나타났다.

1차례 구운 죽염보다 전통에 따라 9차례 구운 죽염의 효과가 더 좋았다. 같은 실험에서 천일염과 정제염의 항암효과는 각각 20~22%, 15~18%에 그쳤다.

또 염증 억제 효과를 알아보기 위한 실험에서 실험용 쥐에 1주일간 위염을 일으키는 물질을 투여한 결과 소금을 먹이지 않은 쥐의 위를 뒤덮은 염증이 죽염을 섭취한 쥐에서는 거의 발견되지 않았다. 이를 실험에서 천일염과 정제염은 별다른 도움이 안 되는 것으로 나타났다.

부산=정진수 기자

view

< 이전글 목록 다음글 >

#### Hot! 클릭 + 더보기

- 1 노인 기초연금, 소득낮은 70~80%에만 ..
- 2 축산농가 참여 저조...통계 정확성도 도..
- 3 현장과 일치 '농지정보' 구축, 위성..
- 4 한중 FTA 1단계 협상 막바지...중국 ..
- 5 서민적 농민신문 시장 별세
- 6 "농자재산업계와 협력체계 강화"
- 7 역경 이겨낸 성공농업인(21)전남 순천 ..
- 8 [이사람] 딸기재배 권위자 권현갑씨 아..
- 9 유전자변형 버 개발 본격화
- 10 돼지고기 이력제 전면 시행

#### 농view



고향의 맛 오일장 풍경

#### 어린이동산

호기심 충족 · 창의력 쑥쑥 · 읽는 재미 만점



#### BOOK STORE 농민신문 영농서적물



#### 조합에서 만들어가는 입점장 소평물 장리한마당



### 부산대 연구팀 "죽염, 암 억제 효과 탁월"

부산대 연구팀 "죽염, 암 억제 효과 탁월"

소금을 대나무 속에서 구워 만든 죽염이 암과 염증을 억제하는 효과가 탁월하다는 실험결과가 나왔다.

25일 부산대 식품영양학과 박건영 교수, 조훈 박사 연구팀의 '죽염 및 죽염 발효 식품의 암 예방 효과' 논문에 따르면 죽염의 대장암 세포 억제율은 41~53%, 위암 세포 억제율은 36~51%로 각각 나타났다.

1차례 구운 죽염보다 전통에 따라 9차례 구운 죽염의 효과가 더 좋았다.

같은 실험에서 천일염과 정제염의 항암효과는 각각 20~22%, 15~18%에 그쳤다.

특히 실험용 쥐 꼬리에 종양세포(colon 26-M3.1)를 투여한 결과, 일반 쥐의 폐에는 많은 종양이 생겼으나 2주간 죽염을 먹인 쥐의 폐에 생성된 종양은 눈에 띄게 줄었다.

죽염에 암이 다른 장기로 퍼지는 것을 막는 효과가 있다는 뜻이다.

또 염증억제 효과를 알아보려고 실험용 쥐에 1주일간 위염을 일으키는 물질(HCL, 에탄올)을 투여한 결과, 소금을 먹이지 않은 쥐의 위를 뒤덮은 염증이 죽염을 섭취한 쥐에서는 거의 발견되지 않았다.

이들 실험에서 천일염과 정제염은 별다른 도움이 안 되는 것으로 나타났다.

박건영 교수는 "우리 선조가 많은 시간과 비용을 들여 죽염을 만든 이유가 과학적으로 입증된 것"이라며 "김치, 된장, 청국장 등 전통 발효 식품도 죽염을 쓸 때 천일염이나 정제염을 썼을 때보다 가능성이 뛰어난 것으로 확인됐다"고 밝혔다.

연합뉴스

매일신문 공식트위터 @dgtwt / 온라인 기사 문의 [maeil01@msnet.co.kr](mailto:maeil01@msnet.co.kr)  
기사 작성일 : 2011년 12월 25일





대한민국 유일 식품산업 종합지

# 식품지널 Food Journal

문화체육관광부 선정 2011 우수콘텐츠 잡지

## 특집 장류산업

전분겔의 노화 방지를 위한  
정제 말토스의 응용

KBS 스페셜 「달콤한...」은  
맛과 향에 대한 오해에서 출발

## 국제 식품산업 트렌드 스낵 · RTD Coffee

맛춤식품 개발과 영양유전체 활용기술  
열대과일 아티초크 · 롱빈 · 오크라



# 12

2012 vol.185

OEM · ODM  
제조 문의 · 상담

**erom**

www.foodnews.co.kr  
트위터 @FoodJournalNews  
페이스북 facebook.com/FoodNews

Fruit Sugar  
LOW  
**GI**  
19

핀란드 결정과당

## 소금과 건강

한국식품영양과학회는 10월 31일부터 11월 2일까지 제주 국제컨벤션센터에서 1,600명의 식품관련학자들이 참석한 가운데 2012 학술대회를 개최했다. 한국농어촌공사 후진, 목포대학교 천일염생명과학연구소 주관으로 열린 '소금과 건강'이란 주제 세션에서 △여러 종류의 소금이 신화스트레스·혈압·알츠하이머병 관련된 단백질의 발현 △죽염의 항암·항염증효과와 스알레키와 죽염 등의 주제 발표가 있었다. 이 날 발표된 주요 내용을 요약·소개한다.

### 죽염은 혈압을 거의 물리지 않는다

여러 종류의 소금이 신화스트레스·혈압·알츠하이머병 관련 단백질의 발현

항암시 목표대 식품공학과 교수

여러 종류의 천일염 중에서 채 한국산 천일염과 프랑스 계장드 소금 등 일부 천일염만 미네랄이 높는지 그 원인을 밝혔다. 앞으로 이 원리를 이용하여 미네랄 함량을 어느 정도 조절하는 것이 가능하다. 한편 신화스트레스는 고혈압·성인당뇨·동맥경화·일부 암 등 여러 질환발병의 원인이 되고 있는데, 미네랄 함량이 높은 한국산 천일염과 정제염을 동물에 먹었을 때 염량이 다르다.

또한 한국산 천일염을 가공한 구운 소금, 죽염의 경우 신화스트레스가 더욱 줄어든다는 결과가 나왔다. 한국산 천일염과 정제염, 죽염이 혈압에 미치는 영향을 정상 동물모델, 염에 민감한 동물모델 등 여러 경우에서 살펴보고, 이에 대한 기전을 연구했다.

죽염은 혈압을 거의 물리지 않았는데, 이 원인의 상당부분은 죽염이 엔도텔린(엔도텔린ACE) 억제활성을 갖기 때문이라는 것이 새롭게 발견되었다.

여태까지 식물에 존재하는 레놀리핀, 퀴나이드와 같은 유기물이 ACE 억제활성을 갖는 것으로 알려졌는데, 식물에 있는 무기물이 ACE 억제활성을 갖는다는 발표는 이번이 처음이다. 지베의 70%가 알츠하이머가 원인인데 소금종류에 따라 알츠하이머 발생에 관련되는 단백질 발현이 다르다는 결과가 나왔다.

### 죽염, 굵은 핏수가 증가할수록 항암효과 증가

죽염의 항암 및 항염증 효과

박건영 부산대학교 식품영양학과 교수

죽염은 우리나라 전통 건강소금으로 예로부터 제조되어 왔다. 일반적으로 대나무통에 천일염을 넣고 건조로 분하여 800~1200°C 이상에서 9회에서 9회까지의 계층이 만들어진다. 죽염은 정제염 뿐 아니라 천일염 또는 어느 가금 소금보다도 생리적 기능에 우수한 효과를 가지 알과 염증 등의 성인병 예방에 민간 치료 약재로 사용되어왔다. 최근 연구에 의하면 죽염은 항산화 효과 뿐 아니라, 아토피·비염·민력증·알레르기·항암 및 항염증 효과 등에 까지 그 기능성이 있는 것으로 보고 있다.

죽염의 항암 및 항염증 효과에 대해 연구한 결과, 죽염은 1회·3회·9회로 굵은 핏수가 증가할수록 *in vitro* 항암활성(CT 인체 대상세포 및 HepG2 인체 간암세포) 및 *in vivo*에서도 항암효과가 있었고, *in vivo*(SD-*rats*) 항염증 활성도 증진되는 것으로 나타났다.

HCT-116 암세포 및 HepG2 암세포에서 죽염의 anti-G1 DNA항암(apoptotic cells)이 1회, 3회 죽염을 처리한 경우보다 9회 죽염을 처리했을 때 apoptosis 유발 효과가 증가하여 굵은 핏수의 증가에 따라 유도활성이 높아졌다. 그러나 정제염과 천일염은 그 활성이 낮았다.

또한 apoptosis 유발과 관련된 Bcl-2 family의 Bcl-2 및 Bax 와



죽염은 항산화 효과 뿐 아니라, 아토피·비염·민력증·알레르기·항암 및 항염증 효과 등에까지 그 기능성이 있는 것으로 보고 있다. 사진은 이번 구운 자염염 제품

소금 종류에 따른 기능을 비교하였을 때, 죽염이 가장 항암 및 항염증 효과가 높았으며, 천일염, 정제염 순이었다. 죽염을 이용하여 제조한 된장, 청국장, 간장과 김치 등 발효식품의 항암 및 항염증 효과 또한 일반 정제염과 천일염으로 만든 것들보다 좋게 나타났다.

caspases의 발현을 감소 또는 증가시켜 조절하므로 죽염은 굵은 핏수가 증가할수록 apoptosis 관련 유전인자 발현을 증가시키므로 항암 효과를 나타냈다. 이렇게 죽염은 항암 효과가 유익적으로 증가하였지만 정제염과 천일염은 그 효과가 낮았다.

죽염을 투여한 SD rat 항염증 실험에서 9회 죽염을 투여한 rat의 위 손상률은 매우 낮았고 항염증 효과가 가장 높게 나타났다. 반면 정제염과 천일염의 위염 억제 효과는 낮았다.

결과적으로 소금 종류에 따른 기능을 비교하였을 때, 죽염이 가장 항암 및 항염증 효과가 높았으며, 천일염, 정제염 순이었다. 죽염은 또한 1회 죽염보다 3회 죽염, 그리고 9회 죽염이 더 효과가 높았다. 죽염을 이용하여 제조한 된장, 청국장, 간장과 김치 등 발효식품의 항암 및 항염증 효과 또한 일반 정제염과 천일염으로 만든 것들보다 좋게 나타났다.

### 죽염, 알러지 비염에 효과적

김형진 경희대 한의대 교수

죽염이 최근 급증하고 있는 알러지 비염 조절에 효과적일 수 있는 근거가 있다. 죽염은 알러지 비염 동물모델(오발부민, ovalbumin으로 유도에서 천일염, NaCl, NaCl을 제외한 미네랄릭스체아민, 마그네슘, 칼륨 등) 보다 효과적으로 알러지 비염 증상(코비비기, 재채기 등)을 줄이는 것을 확인했다.

또한 죽염은 혈장에서 증가된 IgE/히스타민 수준과 염증성 사이토카인 수준도 감소시켰다. 더욱이 죽염은 케세이즈(caspase)-1 활성 조절 및 thymic stromal lymphopoietin의 분비도 억제했다. 이런 결과들은 죽염이 우수한 알러지 비염 치료약물들과 함께 그 효능을 증대시킬 수 있는 가치 있는 토종 소재임을 의미한다.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 한식세계화 용역연구사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 한식세계화 용역연구사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.