

건조 비트(*Beta vulgaris*) 추출물의 Cell System에서 항산화 및 항암 효과

장주리¹ · 김경근² · 임선영^{1*}

¹한국해양대학교 해양환경생명과학부

²한국해양대학교 기관시스템공학부

Effects of Solvent Extracts from Dried Beet (*Beta vulgaris*) on Antioxidant in Cell Systems and Growth of Human Cancer Cell Lines

Joo Ri Jang¹, Kyung Kun Kim², and Sun-Young Lim^{1*}

¹Division of Marine Environment & Bioscience and

²Division of Marine System Engineering, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea

Abstract

The inhibitory effects of solvent extracts from dried beet (*Beta vulgaris*) on H₂O₂-induced oxidative stress in cell systems and on the growth of cancer cell lines (HT-29 human colon cancer and AGS human gastric adenocarcinoma cells) were investigated. Inhibitory effects of acetone with methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts on the growth of HT-29 and AGS cancer cells increased in a dose dependent manner (p<0.05). The inhibitory effect was more significant on the growth of AGS cells and A+M extracts had a higher inhibitory effect compared to MeOH extracts. The treatments of hexane, 85% aq. methanol, butanol and water fractions significantly inhibited the growth of both cancer cells (p<0.05). Among fractions, hexane and 85% aq. methanol fractions showed higher inhibitory effects. In order to determine the protective effect on H₂O₂-induced oxidative stress, DCHF-DA (dichlorodihydrofluorescein diacetate) assay was conducted. The A+M and MeOH extracts of dried beet appeared to significantly reduce the levels of intracellular (ROS) with dose responses. Among the fractions, 85% methanol fractions showed a higher protective effect on production of lipid peroxides. These results indicate that the intake of dried beet may improve oxidative stress in cell and reduce cancer risk.

Key words: dried *Beta vulgaris*, human cancer cell, growth inhibition, antioxidant, reactive oxygen species

서 론

비트(*Beta vulgaris* L.)는 명아주과의 두해살이풀로 유럽 남부가 원산지이며 비교적 재배가 쉽고 풀 전체를 식용할 수 있어 외국에서는 집에서 손쉽게 재배하는 인기작물이다. 잎에서 형성되어 뿌리에 집적되는 독특한 붉은색과 유기산, 사과산, 포도산, 옥살산 같은 씹쌀한 성분 때문에 중국음식에서는 장식용으로 많이 사용됐으나 최근 새로운 샐러드 식물로도 각광을 받고 있다. 특히 비트가 가진 천연색소인 betalains은 음식의 착색, 화장품용으로 용도가 늘어나고 있어 근래에는 조직배양을 통한 대규모 생산에도 관심을 가지기 시작했다(1). 많은 역학조사 연구들은 녹황색 채소류의 섭취가 여러 종류의 암을 예방(2-5)하고 이들 녹황색 채소류들은 polyphenol계 색소들을 함유하고 있어 생체 내 항산화 활성을 나타낸다고 알려져 있다(6-8). Hung 등(9)은 역학조사에서 과일과 채소의 섭취는 생체를 산화적 스트레스로부터 보호해 준다고 보고하였고, Cao 등(10)은 22종의 채소류들에

의한 peroxy radical과 hydroxy radical 소거능을 검토한 결과 특히 케일, 시금치, 알팔파 및 브로콜리에 의한 라디칼 제거 효과가 높았다고 보고하였다. Bresnick 등(11)은 양배추 식이를 섭취한 쥐는 유방암 발생을 크게 감소시켰으며 유방종양세포가 폐로 전이되는 정도를 감소시켜 암 예방에 십자화과 채소류의 중요성을 보고하였다. Park 등(12)은 26종의 녹황색 채소류에 의한 위암세포 성장 저해효과를 검토한 결과 특히 들미나리와 들깨잎에 의한 저해효과가 높았고, 그 다음으로 콩나물과 미나리였으며 브로콜리, 썩갓, 풋고추, 고추잎, 시금치, 양배추, 고구마에서도 통계적인 유의성으로 위암세포의 증식을 억제시켰다고 보고하였다. Colditz 등(13)은 미국 메사추세츠에 거주하는 66세 이상 주민들 대상 역학 연구에서 녹황색 채소의 규칙적인 섭취는 암으로 인한 사망률을 감소시켰다고 보고하였고, 중국에서도 위암과 관련된 역학 조사에서 채소류의 소비 증대는 위암 발생을 감소시키는 부의 상관관계를 가진다고 보고된 바 있다(14). Kusamran 등(15)은 태국에서 상용되는 15종 채소류는

*Corresponding author. E-mail: sylim@hhu.ac.kr
Phone: 82-51-410-4757, Fax: 82-51-410-3988

afatoxin B₁과 같은 간접돌연변이원에 대한 항돌연변이 활성이 우수하였고 이들 채소류들은 쥐 간의 대사작용 활성 효소를 저해하는 기작으로 돌연변이 유발을 억제시켰다고 보고하였다. 일본의 한 연구에서는 채소류의 섭취는 폐, 위 및 전립선암 발생을 감소시켰다고 보고(16)하였고, 노르웨이 남녀를 대상으로 11년 반 동안 조사한 역학연구에서는 당근과 같은 녹색 채소류에 많이 함유된 비타민 A와 폐암 발생 간에는 부의 상관관계가 있었다고 보고하였다(17).

비트의 뿌리 조직에 있는 대표적인 색소인 betalains은 자유 라디칼 소거능에 매우 효과적이어서 활성 산소 및 자유 라디칼에 의해 유도된 지질과산화물을 예방하는 것으로 알려져 있다(18-20). Kanner 등(6)은 betalains류가 매우 적은 농도로도 지질과산화와 heme decomposition을 저해하고 이러한 능력은 catechins와 다른 flavonoids보다 높다고 보고하였다. Betalains은 수용성으로 tyrosine으로부터 생성되어 진한 붉은색과 자주색을 띠는 betacyanins과 노란색을 띠는 betaxanthins로 크게 구분되고, 다시 betacyanin은 betanin과 isobetanin으로 구별된다. Betanin(C₂₄H₂₆O₁₃N₂-550.48)은 phenolic groups을 가지고 있어 아주 좋은 전자공여자(electron donor)로서 역할을 하여 항산화제로 작용한다고 알려졌다(6). 한 예로 Gliszczynska-Swigło 등(20)은 betanin에 의한 pH 의존 자유 라디칼 소거능에 대해 검토한 결과 pH 4이상에서 가장 우수한 항산화 활성을 나타내었으며 이러한 활성은 anthocyanins에 의한 활성과 비교하였을 때 1.5~2배로 높았다고 보고하였다. 비트는 뿌리 생체의 가식부 100 g당 수분이 86%로 높은 수분함량으로 인해 유통 중 쉽게 변질되어 오랫동안 보존하기 위한 방법이 필요하다. 그에 따라 동결 건조 및 방사선 조사 등의 방법들이 보고되어 있으며(21,22), 본 연구에서는 비트의 저장성을 높이고 영양소의 손실도 최소화 하기 위해 저온 진공 건조 방법을 도입하여 비트를 저온에서 진공 건조 후 분말화하여 실험에 사용하였다. 건조 비트 분말 섭취에 의한 생리활성에 대한 연구로 건조된 비트를 유기용매로 추출하여 비트 추출물과 분획물들에 의한 인체 결장암 및 위암세포에 대한 증식 억제 및 세포 내 활성산소종 억제 효과에 대해 검토하고자 한다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 비트(경남 창녕)는 부산 엄궁 농산물 시장에서 구입하여 적당한 크기로 토막 내어 저온진공건조기를 이용하여 40°C에서 40 torr의 압력으로 24시간 건조하였다.

추출 및 분획

건조된 비트 분말은 실험 사용 전까지 -75°C에 냉동 보관되었다가 유기용매 추출을 위하여 acetone:methylene chloride를 1:1 비율로 혼합하여 비트 분말이 충분히 잠기도록 하여 24시간 방치한 후 추출하였다. 이 과정을 2회 반복하여 얻은 여액은 40°C 수욕 상에서 rotary vacuum evaporator(EYELA, Tokyo, Japan)을 사용하여 농축하여 acetone/ethylene chloride 추출물(A+M)을 얻었다. 남은 잔사에 동량의 methanol을 부어 위와 동일한 방법으로 2회 반복한 후 농축하여 methanol 추출물(MeOH)을 얻었다. 두 추출물을 혼합한 추출물은 용매 극성에 따라 순차적으로 분획하여 hexane, 85% aq. MeOH, butanol(BuOH), water 분획물을 얻었다. 실험에는 각각의 추출물들을 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 실험에 사용하였고 세포배지로 필요한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다. 세포배양에 사용된 DMSO의 최종농도는 0.1% 이하가 되도록 하였다.

MTT assay

한국세포주은행(서울의대)으로부터 인체 결장암세포(HT-29)와 인체 위암세포(AGS)를 분양받아 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. 인체 결장암세포(HT-29)와 인체 위암세포(AGS)는 100 units/mL의 penicillin-streptomycin과 10% FBS가 함유된 RPMI 1640 배지를 사용하여 cell culture dish에서 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 암세포는 96 well plate에 2×10⁴ cells/mL이 되도록 100 μL씩 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 배지는 제거한 뒤 각 시료를 배지로 희석하여 각 well당 시료를 100 μL씩 첨가하고, 대조군에는 시료 대신 PBS를 100 μL씩 첨가하였다. 이 plate를 다시 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 배양 후 MTT assay를 위하여 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 시약 5 mg을 1 mL PBS로 녹인 후, 10% FBS가 함유된 배지 9 mL와 희석하여 100 μL를 첨가하고 3~4시간 동안 더 배양하여 MTT가 환원되도록 한다. 배양종료 후 생성된 formazan 결정을 가라앉힌 후 각 well에 형성된 결정이 흐트러지지 않도록 주의하면서 MTT 시약처리 배지를 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 formazan 결정을 용해시키기 위하여 DMSO를 100 μL씩 분주하여서 5~10분간 반응시켜 96 well plate용 광도계(ELISA reader, Perkin Elmer, Waltham, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다(23). 이 흡광도는 MTT가 세포에 의해서 환원된 양을 나타내며, 따라서 각 well에 존재하는 생존 수와 비례한다.

세포 내 활성산소종(reactive oxygen species) 측정

인체 섬유육종세포인 HT1080세포는 한국세포주은행으로부터 분양받아 배양하여 실험에 사용하였다. 인체 섬유육종세포(HT1080)는 100 units/mL의 penicillin-streptomycin과 10% FBS가 함유된 DMEM 배지를 사용하여 cell culture dish에서 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 세포 내 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate(DCHF-DA) assay로 측

정하였다(24,25). DCHF-DA(Sigma, St. Louis, USA)는 세포 내 활성산소종과 반응하여 형광물질(dichlorofluorescein, DCF)을 만들어 내는 것으로 이 시약을 세포 속에 넣어 발생하는 형광을 측정함으로써 세포 내의 활성산소종을 측정할 수 있다. 세포를 96 well plate에 분주한 후 24시간 배양하고, PBS 완충액으로 씻은 후 20 μ M DCHF-DA를 각 well에 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 20분간 pre-incubation하였다. 각 well에 시료를 처리하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 1시간 incubation한 후, DCHF-DA를 없애고 세포는 다시 PBS 완충액으로 씻은 후 500 μ M H₂O₂를 처리하여 시간별로 DCF fluorescence를 excitation 485 nm, emission 535 nm에서 형광분석기로 측정하였다. 대조군들(blank군과 control군)은 시료 대신 PBS를 처리하며, control군은 500 μ M H₂O₂를 처리를 하고, blank군은 500 μ M H₂O₂ 대신 PBS를 처리하여 측정하였다.

통계분석

실험 결과는 mean \pm SEM(standard error of mean)으로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 one-way ANOVA를 실시하여 p < 0.05 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

암세포 증식억제 효과

건조 비트 추출물과 그 분획물들의 인체 암세포 증식 억제 효과를 조사하기 위해 MTT assay를 행하였다. 실험에는 인체 결장암세포(HT-29)와 인체 위암세포(AGS)가 사용되었으며 Table 1은 건조 비트의 acetone/methylene chloride 추출물(A+M)과 methanol 추출물(MeOH)을 여러 농도로 인체 결장암세포(HT-29)에 처리했을 때 인체 암세포 증식 억제효과를 나타낸 것이다. A+M 추출물은 0.1, 0.25 mg/mL 첨가농도에서는 약 28%의 억제효과를 나타내었으며

Table 1. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts of dried beet on the growth of HT-29 human colon cancer cells

Treatments	Concentration (mg/mL)	Inhibition (%)	IC ₅₀ (mg/mL)
A + M extracts	0.1	27*	0.41
	0.25	28*	
	0.5	65*	
	1	80*	
	2.5	84*	
	5	87*	
MeOH extracts	0.1	9*	2.91
	0.25	11*	
	0.5	12*	
	1	21*	
	2.5	48*	
	5	81*	

*p < 0.05, significant effect between the control and each extract.

0.5 mg/mL 첨가농도에서 65%의 암세포 증식 억제효과를 나타내었다(p < 0.05). MeOH 추출물의 경우, A+M 추출물과 비교하였을 때 전반적으로 낮은 활성을 나타내어 A+M 추출물의 IC₅₀ 농도가 0.41 mg/mL인데 반하여 MeOH 추출물의 경우 2.91 mg/mL 농도로 암세포 증식 억제효과가 낮았음을 살펴볼 수가 있었다. 건조 비트 추출물을 hexane, 85% aq. MeOH, butanol(BuOH), water로 다시 추출하여 얻어진 각각의 분획물들을 농도별로 처리하였을 때 hexane 분획물의 경우 낮은 농도에서부터 활성을 나타내어 0.5 mg/mL 농도에서 76%를 나타내었고, 85% aq. MeOH 분획물도 농도의존적으로 암세포의 증식을 저해하여 첨가농도 0.5 mg/mL 농도에서 82%의 높은 암세포 증식 억제효과를 나타내었다(p < 0.05)(Table 2). BuOH과 water 분획물의 경우 기타 분획물들에 비해 낮은 활성을 나타내었으나 대조군에 비해서는 유의적으로 암세포의 증식을 억제시켰다(p < 0.05). 이들 분획물들의 IC₅₀ 농도는 각각 0.28, 0.30, 1.60, 2.01 mg/mL로 Hexane 분획물의 억제효과가 우수하였다. Table 3은 인체 위암세포(AGS)에 대한 결과를 나타낸 것으로, A+M 추출물은 IC₅₀ 농도가 0.19 mg/mL로 인체 결장암세포(HT-29)의 결과와 비교했을 때 암세포 증식 억제 효과가 높았다(p < 0.05). MeOH 추출물은 A+M 추출물에 비해 낮은 활성을 나타내었으나 IC₅₀ 농도가 1.14 mg/mL로 인체 결장암세포(HT-29)에 비해 다소 높은 암세포 성장 억제효과를 보였다.

Table 2. Effect of solvent fractions of dried beet on the growth of HT-29 human colon cancer cells

Treatment	Concentration (mg/mL)	Inhibition (%)	IC ₅₀ (mg/mL)
Hexane fraction	0.1	32*	0.28
	0.25	42*	
	0.5	76*	
	1	77*	
	2.5	83*	
	5	85*	
85% aq. MeOH fraction	0.1	12*	0.30
	0.25	48*	
	0.5	82*	
	1	78*	
	2.5	80*	
	5	84*	
BuOH fraction	0.1	5*	1.60
	0.25	11*	
	0.5	23*	
	1	45*	
	2.5	77*	
	5	83*	
Water fraction	0.1	8*	2.01
	0.25	9*	
	0.5	11*	
	1	24*	
	2.5	62*	
	5	81*	

*p < 0.05, significant effect between the control and each fraction.

Table 3. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts of dried beet on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells

Treatments	Concentration (mg/mL)	Inhibition (%)	IC ₅₀ (mg/mL)
A+M extracts	0.1	40*	0.19
	0.25	57*	
	0.5	92*	
	1	94*	
	2.5	94*	
	5	93*	
MeOH extracts	0.1	5	1.14
	0.25	12*	
	0.5	28*	
	1	48*	
	2.5	92*	
	5	93*	

*p<0.05, significant effect between the control and each extract.

Table 4는 건조 비트 추출물의 hexane, 85% aq. MeOH, butanol(BuOH), water 분획물들을 농도별로 인체 위암세포 (AGS)에 처리했을 때 암세포 증식 억제효과를 나타낸 것으로 모든 분획물들에서 농도 의존적으로 억제효과가 높은 것을 살펴볼 수가 있었다. 특히 hexane과 85% aq. MeOH 분획물은 IC₅₀ 농도가 각각 0.13, 0.18 mg/mL로 인체 결장암세포 (HT-29)의 결과보다 낮은 농도에서부터 활성이 나타나 0.25 mg/mL 이상의 농도에서 77% 이상의 억제효과가 나타

Table 4. Effect of solvent fractions of dried beet on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells

Treatments	Concentration (mg/mL)	Inhibition (%)	IC ₅₀ (mg/mL)
Hexane fraction	0.1	38*	0.13
	0.25	77*	
	0.5	90*	
	1	93*	
	2.5	93*	
	5	92*	
85%aq. MeOH fraction	0.1	20*	0.18
	0.25	88*	
	0.5	92*	
	1	91*	
	2.5	90*	
	5	92*	
BuOH fraction	0.1	8*	0.66
	0.25	7*	
	0.5	25*	
	1	91*	
	2.5	93*	
	5	95*	
Water fraction	0.1	4	0.60
	0.25	12*	
	0.5	22*	
	1	91*	
	2.5	91*	
	5	93*	

*p<0.05, significant effect between the control and each fraction.

났다. 한편, 인체 위암세포(AGS)에서도 BuOH과 water 분획물의 IC₅₀ 농도는 각각 0.66, 0.60 mg/mL로 분획물들 중 활성이 가장 낮았다. Kada 등(26)은 비트, 시금치, 상추, 양배추 등의 녹황색 채소류를 많이 섭취하면 결장암 및 위암 발생이 크게 예방된다고 보고하였다.

Cell system에서 항산화 효과

생체 내에서 산화적 스트레스는 반응성이 큰 활성산소종들의 생성과 이들을 중화하려는 항산화 방어 시스템 사이의 불균형에 의해 야기된다. 과도한 활성산소종들은 세포 내의 지질, 핵산 및 단백질을 공격하여 세포 및 조직의 산화적 손상을 유발하고 이러한 산화적 스트레스의 축적이 암과 심혈관질환 및 비만과 같은 만성질환의 병리학적 진행과 노화 과정에서는 중요한 요인들로 주목된다(27-29). 따라서 이러한 과잉의 활성산소종의 제거 및 생체 내 항산화 방어 시스템의 증진에 대한 관심이 높아지고 있으며 약물이 아닌 천연 성분에서 그 효능을 찾는 연구가 활발히 이루어지고 있다. 본 연구에서는 건조 비트의 A+M 추출물 및 MeOH 추출물과 각 분획물들에 의한 세포 내 활성산소종 억제효과를 알아보하고자 인체 섬유육종세포(HT1080)를 이용하여 DCHF-DA assay를 행하였다. Fig. 1은 건조 비트 A+M 추출물 및 MeOH 추출물을 농도별로 인체 섬유육종세포(HT1080)에 처리하였을 때 측정시간 120분 동안 control군에 비해 세포 내 활성산소종을 크게 억제시켰다. 건조 비트 추출물을 hexane, 85% aq. MeOH, BuOH, water로 다시 추출하여 얻어진 각 분획물들을 인체 섬유육종세포(HT1080)에 처리했을 때 첨가농도 0.1 mg/mL로 처리하였을 때 BuOH 분획물을 제외한 기타 분획물들의 경우 control군보다 높은 수치를 나타내어 우수한 항산화 활성을 보였다(Fig. 2A). 첨가농도 0.25 mg/mL에서 85% aq. MeOH 분획물은 blank군과 control군에 비해 측정시간 120분 동안 계속적으로 세포 내 활성산소종을 감소시키는데 우수한 능력을 나타내었고 hexane과 BuOH 분획물은 500 μM H₂O₂만을 처리한 control군에

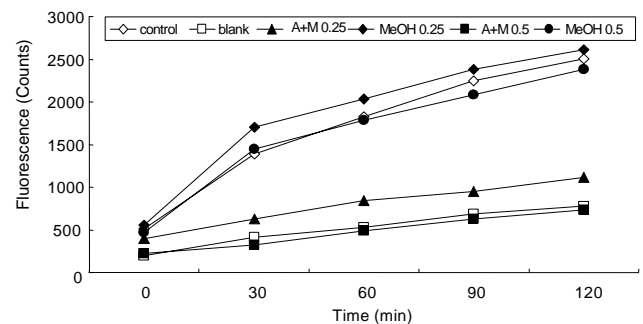


Fig. 1. Inhibitory effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from dried beet on levels of reactive oxygen species in HT1080 cells. A+M 0.25, acetone with methylene chloride extract 0.25 mg/mL; MeOH 0.25, methanol extract 0.25 mg/mL; A+M 0.5, acetone with methylene chloride extract 0.5 mg/mL; MeOH 0.5, methanol extract 0.5 mg/mL.

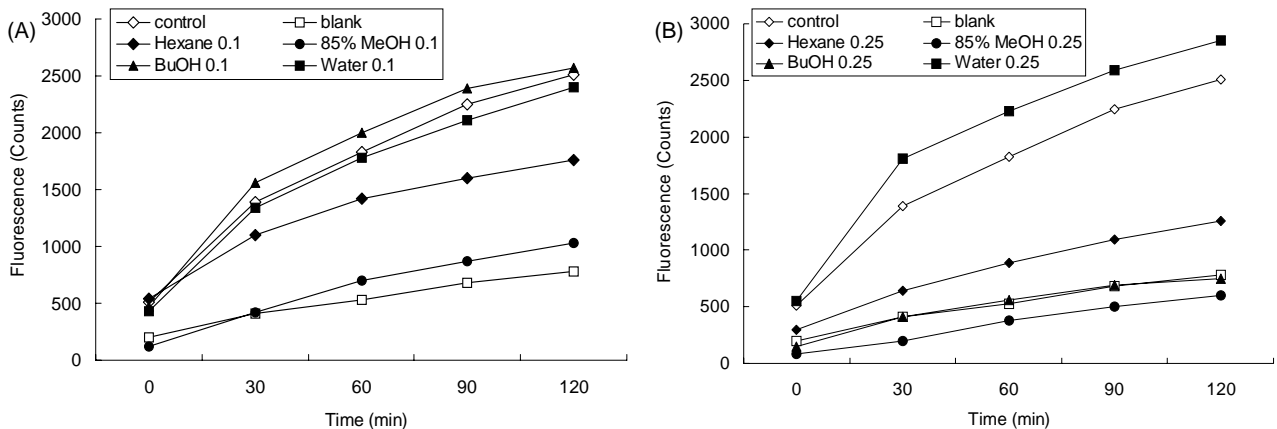


Fig. 2. Inhibitory effect of solvent fractions from dried beet on levels of reactive oxygen species in HT1080 cells. (A) Hexane, hexane fraction 0.1 mg/mL; 85% MeOH, 85% aqueous methanol fraction 0.1 mg/mL; BuOH, butanol fraction 0.1 mg/mL; Water, water fraction 0.1 mg/mL. (B) Hexane, hexane fraction 0.25 mg/mL; 85% MeOH, 85% aqueous methanol fraction 0.25 mg/mL; BuOH, butanol fraction 0.25 mg/mL; Water, water fraction 0.25 mg/mL.

비해서는 활성산소종을 감소시켰다(Fig. 2B). 따라서 세포 내 활성산소종 감소에 의한 항산화 활성은 85% aq. MeOH 분획물에서 높았고 water 분획물의 효과가 가장 낮았음을 살펴볼 수가 있었다. 비만환자들 대상 연구에서 Zielinska-Przyemska 등(30)은 비트 주스와 칩은 neutrophils 내의 활성산소종을 감소시켜 이들 세포의 산화적 손상을 저해하였다고 보고하였고, Pavlov 등(18)은 비트 유래 betalains이 합성항산화제인 butylated hydroxytoluene(BHT)와 비교될 만큼 높은 유리라디칼 소거능을 나타내었다고 보고하였다. 22종의 채소류들의 phenol 함량과 항산화 활성을 비교한 연구에서 콩과류 다음으로 비트 추출물에서 총 phenol 함량이 높았고 그에 따라 항산화능도 우수하였다고 보고되었다(31). Lee 등(32)도 13가지 채소류의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능을 살펴 본 결과 그 중 비트 잎의 라디칼 소거능이 우수하였고 총 페놀 함량도 높아 비트의 항산화 활성과 양의 상관관계가 있음을 보고하였고, LLC-PK1 세포에 radical generator인 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride(AAPH)를 처리하여 산화적 스트레스를 측정 한 결과에서 가지와 켈리플라워 다음으로 비트 뿌리에 의한 높은 세포 생존율을 보여 우수한 산화적 스트레스 개선 효과를 가진다고 보고하였다. Son 등(33)은 당근 젓산 발효 음료의 폴리페놀 함량과 DPPH에 의한 전자공여능은 비트 즙의 첨가량이 증가할수록 높게 나타나는 경향을 나타내었고 비트 즙을 5% 첨가하였을 때 114.27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 폴리페놀 함량과 65.4%의 전자공여능을 나타내었다고 보고하였다. 한편, Oh와 Lee(34)은 한국인이 주로 상용하는 7종의 채소류들에 의한 항돌연변이 활성을 검색한 결과 돌미나리, 깻잎, 부추, 썩갓 및 시금치들에 의한 돌연변이 저해효과가 우수하였고 이들 채소류들에 의한 항산화 효과도 높았으나 측정방법에 따라 다소 차이가 있었다고 보고하였다. 예를 들면 malondialdehyde(MDA)에 대한 단백질 보호 작용에서는 깻잎과 돌나물이 65%로 가장 효과적이었고,

지질과산화억제 활성 실험에서는 돌나물과 돌미나리에 의한 지질과산화 저해율이 높아 유지류의 자동산화 반응에 대한 항산화 효과가 특히 높을 것으로 나타났으며 마지막으로 DPPH 라디칼 소거활성 실험에서는 썩갓과 돌미나리가 70% 이상의 높은 저해활성을 나타내었다고 보고하였다. 채소류의 산화방지 지표로 oxygen radical absorbance capacity(ORAC) 측정방법을 이용한 연구에서 특히 케일, 비트, 옥수수, 시금치 등이 free radical에 의한 산화적 손상으로부터 보호하는 항산화능이 우수하였다고 보고되었다(35). 그러나 비트를 포함하는 22가지 채소류들에 의한 라디칼 소거능을 비교한 연구에서는 케일, 시금치, 알팔파와 브로콜리 등에 의한 항산화 효과가 특히 높았다고 보고하였다(10). 따라서 항산화 활성은 측정 방법에 따라 활성 정도가 다양하므로 몇몇 연구들에서는 비트에 의한 항산화능이 미미하였으나 본 연구에서 살펴 본 세포 내 활성산소종 측정 실험에서는 저온의 진공 조건에서 건조된 비트분말의 MeOH 추출물과 water 분획물을 제외한 다른 분획물들에서 높은 항산화 효과를 살펴 볼 수가 있었으므로 생리활성 물질은 수용성 계열 색소로 여겨지며 향후 분획물의 정제를 통한 생리활성 물질 검색이 필요하다고 사료된다.

요 약

저온 진공 공정으로 건조된 비트를 유기용매로 추출하여 이들 비트 추출물 및 분획물들에 의한 인체 결정암 및 위암 세포에 대한 증식 및 세포 내 활성산소종 억제 효과에 대해 검토하였다. 인체 결정암세포(HT-29)의 경우, A+M 추출물은 0.5 mg/mL 첨가농도에서 65%의 암세포 증식 억제효과를 나타내었고($p < 0.05$), MeOH 추출물은 A+M 추출물과 비교하였을 때 전반적으로 낮은 활성을 나타내었음을 관찰하였다. 건조 비트 추출물을 hexane, 85% aq. MeOH, BuOH, water로 다시 추출하여 얻어진 각각의 분획물들을 농도별로

처리하였을 때 특히 hexane 및 85% aq. MeOH 분획물은 낮은 농도에서부터 활성을 나타내어 0.5 mg/mL 농도에서 76% 이상의 높은 암세포 증식 억제효과($p < 0.05$)를 나타내었다. 인체 위암세포(AGS)에 대한 결과에서 A+M 추출물은 인체 결장암세포(HT-29)의 결과와 비교했을 때 암세포 증식 억제효과가 높았고, MeOH 추출물은 A+M 추출물에 비해 낮은 활성을 나타내었으나 앞서 인체 결장암세포(HT-29)에 비해 다소 높은 암세포 성장 억제효과를 보였다. 건조 비트 추출물의 분획물들을 농도별로 인체 위암세포(AGS)에 처리했을 때 hexane과 85% aq. MeOH 분획물은 앞서의 인체 결장암세포(HT-29)의 결과와 유사하게 낮은 농도에서부터 활성이 나타나 0.25 mg/mL 이상의 농도에서 77% 이상의 억제효과가 나타났다. 인체 섬유육종세포(HT1080) 내 활성산소종 억제 실험에서 건조 비트 A+M 및 MeOH 추출물은 농도 의존적으로 측정시간 120분 동안 500 μ M H₂O₂만을 처리한 control군에 비해 세포 내 활성산소종을 크게 억제시켰다. 건조 비트 분획물들을 인체 섬유육종세포(HT1080)에 처리했을 때 첨가농도 0.1 mg/mL로 처리하였을 때 BuOH 분획물을 제외한 기타 분획물들의 경우 control군보다는 낮은 수치를 나타내어 우수한 항산화 활성을 보였다. 첨가농도 0.25 mg/mL에서 85% aq. MeOH 분획물은 세포 내 활성산소종을 감소시키는데 우수한 능력을 나타내었고 hexane과 BuOH 분획물은 500 μ M H₂O₂만을 처리한 control군에 비해서는 활성산소종을 감소시켰으나 blank 군보다는 높았다. 따라서 세포 내 활성산소종 감소에 의한 항산화 활성은 85% aq. MeOH 분획물에서 높았고 water 분획물의 효과가 가장 낮았음을 살펴 볼 수가 있었다.

감사의 글

본 연구는 한국해양수산기술진흥원 수산기술개발사업 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

문헌

- Constabel F, Nassif-Makki H. 1971. Betalainbildung in beta-calluskulturen. *Ber Dtsch Bot Ges* 84: 629-636.
- MacLennan R, Da Costa J, Day NE, Law CH, Ng YK, Shanmugaratnam K. 1977. Risk factors for lung cancer in Singapore Chinese, a population with high female incidence rates. *Int J Cancer* 20: 854-860.
- Modan B, Cuckle H, Lubin F. 1981. A note on the role of dietary retinol and carotene in human gastrointestinal cancer. *Int J Cancer* 28: 421-424.
- Mettlin C, Granham S. 1979. Dietary risk factors in human bladder cancer. *Am J Epidemiol* 110: 255-263.
- Graham S, Dayal H, Swanson M, Mittelman A, Wilkinson G. 1978. Diet in the epidemiology of cancer of the colon and rectum. *J Natl Cancer Inst* 61: 709-714.
- Kanner J, Harsel S, Granit R. 2001. Betalains—a new class of dietary cationized antioxidants. *J Agric Food Chem* 49: 5178-5185.
- Cai Y, Sun M, Corke H. 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *J Agric Food Chem* 51: 2288-2294.
- Lapidot T, Harel S, Akiri B, Granit R, Kanner J. 1999. pH-dependent forms of red wine anthocyanins as antioxidants. *J Agric Food Chem* 49: 5178-5185.
- Hung HC, Joshipura KJ, Jiang R, Hu FB, Hunter D, Smith-Warner SA, Colditz GA, Rosner B, Spiegelman D, Willett WC. 2004. Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *J Natl Cancer Inst* 96: 1557-1584.
- Cao G, Sofic E, Prior RL. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J Agric Food Chem* 44: 3426-3431.
- Bresnick E, Birt DF, Wolterman K, Wheeler M, Markin RS. 1990. Reduction in mammary tumorigenesis in the rat by cabbage and cabbage residue. *Carcinogenesis* 11: 1159-1163.
- Park KY, Lee KI, Lee SK. 1992. Inhibitory effect of green-yellow vegetables on the mutagenicity in *Salmonella* assay system and on the growth on AZ-521 human gastric cancer cells. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 149-153.
- Colditz GA, Branch LG, Lipnick RJ, Willett WC, Rosner B, Posner BM, Hennekens CH. 1985. Increased green and yellow vegetable intake and lowered cancer deaths in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 41: 32-36.
- Hu JF, Zhang SF, Jia EM, Wang QQ, Liu SD, Liu YY, Wu YP, Cheng YT. 1988. Diet and cancer of the stomach: a case-control study in China. *Int J Cancer* 15: 331-335.
- Kusamran WR, Tepsuwan A, Kupradinun P. 1998. Antimutagenic and anticarcinogenic potentials of some Thai vegetables. *Mutat Res* 402: 247-258.
- Hirayama T. 1979. Diet and cancer. *Nutr Cancer* 1: 67-81.
- Kvale G, Bjelke E, Gart JJ. 1983. Dietary habits and lung cancer risk. *Int J Cancer* 31: 397-405.
- Pavlov A, Kovatcheva P, Tuneva D, Ilieva M, Bley T. 2005. Radical scavenging activity and stability of betalains from *Beta vulgaris* hairy root culture in simulated conditions of human gastrointestinal tract. *Plant Food Human Nutr* 60: 43-47.
- Lee CH, Wettasinghe M, Bolling BW, Parkin KL. 2005. Betalains, phase II enzyme-inducing components from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts. *Nutr Cancer* 53: 91-103.
- Gliszczynska-Swiglo A, Szymusiak H, Malinowska P. 2006. Betanin, the main pigment of red beet: Molecular origin of its exceptionally high free radical-scavenging activity. *Food Addit Contam* 23: 1079-1087.
- Kim KH, Lee SA, Yook HS. 2007. Effects of gamma irradiation on physicochemical properties of red beet and stability of betalin in the red beet (*Beta vulgaris* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 453-457.
- Hong SS. 2000. The drying characteristics of food stuff (beet) by freeze drying. *J Ind Sci Tech Institute* 14: 49-58.
- Denizot F, Lang R. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods* 89: 271-277.
- LeBel CP, Ischiropoulos H, Bondy SC. 1992. Evaluation of the probe 2',7'-dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. *Chem Res Toxicol* 5: 227-231.
- Tsuchiya M, Suematsu M, Suzuki H. 1994. In vivo visualization of oxygen radical-dependent photoemission. *Methods Enzymol* 233: 128-140.

26. Kada T, Inoue T, Morita K, Namiki M. 1986. Dietary desmutagens. *Prog Clin Biol Res* 206: 245-253.
27. Bokov A, Chaudhuri A, Richardson A. 2004. The role of oxidative damage and stress in aging. *Mech Ageing Dev* 125: 811-826.
28. Cavalca V, Cighetti G, Bamonti F, Loaldi A, Bortone L, Novembrino N, De Franceschi M, Belardinelli R, Guazzi MD. 2001. Oxidative stress and homocysteine in coronary artery disease. *Clin Chem* 47: 887-892.
29. Fenster CP, Weinsier RL, Darley-Usmar VM, Patel RP. 2002. Obesity, aerobic exercise, and vascular disease: the role of oxidant stress. *Obes Res* 10: 964-968.
30. Zielinska-Przyjemska M, Olejnik A, Dobrowolska-Zachwieja A, Grajek W. 2009. *In vitro* effects of beetroot juice and chips on oxidative metabolism and apoptosis in neutrophils from obese individuals. *Phytother Res* 23: 49-55.
31. Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 47: 3954-3962.
32. Lee YA, Kim HY, Cho EJ. 2005. Comparison of methanol extracts from vegetables on antioxidant effect under *in vitro* and cell system. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1151-1156.
33. Son MJ, Son SJ, Lee SP. 2008. Physicochemical properties of carrot juice containing *Phellinus linteus* extract and beet extract fermented by *Leuconostoc mesenteroides* SM. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 798-804.
34. Oh SI, Lee MS. 2003. Screening for antioxidative and anti-mutagenic capacities in 7 common vegetables taken by Korean. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1344-1350.
35. Kuhn MA. 2003. Oxygen free radicals and antioxidants: an overview of how antioxidants protect the body from disease. *Am J Nurs* 103: 58-62.

(2009년 3월 16일 접수; 2009년 6월 2일 채택)