품종에 따른 국내산 비트(Beta vulgaris L.)의 항산화 활성 및 페놀 화합물 조성 비교

박서연¹ · 이순희² · 남진식²

¹수원여자대학교 식품분석연구센터 ²수원여자대학교 식품영양과

Comparison of the Antioxidant Properties and Phenolic Compositions of Different Varieties of Beets (*Beta vulgaris* L.) Cultivated in Korea

Seo-Yeon Park¹, Sun Hee Lee², and Jin-Sik Nam³

¹Food Analysis Research Center and ²Department of Food and Nutrition, Suwon Women's University

ABSTRACT This study aimed to evaluate and compare the antioxidant properties and phenolic composition of 80% methanol and aqueous extracts of three different varieties of beet (red, golden, and Chioggia). The yield of extracts was the highest in the 80% methanol extract of the golden beet. The total phenolic and flavonoid content was the highest in the 80% methanol extracts of red beet, 8.24 mg gallic acid equivalent (GAE)/g, and 0.73 mg quercetin equivalent (QE)/g, respectively. The antioxidant properties were measured using four different assays including DPPH and ABTS radical scavenging activity, iron chelating activity, and nitrite scavenging activity. In all the assays except for the ABTS radical scavenging activity, the 80% methanol extract of red beet showed the highest activity. To confirm the presence of antioxidant compounds, the individual phenolic compounds were detected using a high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detection (HPLC-DAD). The main phenolic constituent detected in the extracts was epicatechin, and the 80% methanol extract of red beet showed the highest content of epicatechin at 16.60 mg/100 g. Moreover, gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid, and cinnamic acid were also detected. Gallic acid was highly correlated with nitrite scavenging activity (P<0.001). These results appear to enhance the value of domestic beets as food ingredients exhibiting antioxidant properties.

Key words: beet, Beta vulgaris L., antioxidant property, phenolic composition, extract

서 론

인체의 대사 과정에서 생성되는 활성산소(reactive oxygen species, ROS)는 체내 세포 반응을 조절하는 신호가된다. 그러나 과도하게 생성된 ROS는 산화적 스트레스를유발하여 단백질의 변성과 지질 과산화를 초래하고 세포막의 손상을 촉진시킨다. 이러한 이유로 노화를 촉진하기도하며 고혈압, 동맥경화 등의 심혈관계 질환, 퇴행성 질환, 만성 질환 및 자가면역 질환 등의 다양한 질병이 발생하게된다(Lee 등, 2004). 따라서 ROS를 제거하기 위해 합성 항산화제를 개발하였으나 독성의 문제로 기피하게 되었으며,이를 대체하기 위해 식물에 존재하는 2차 대사산물의 생리

활성 물질을 이용하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다 (Ghasemzadeh 등, 2016; Jain 등, 2019). 페놀 화합물은 과일과 채소에서 발견되는 가장 풍부한 식물성 2차 대사산물로 하나 이상의 하이드록실 치환체가 있는 방향족 벤젠 고리의 구조로 되어있으며, 항산화를 포함한 항알레르기, 항암 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Lorrain 등, 2013). 비트(Beta vulgaris L.)는 명아주과의 두해살이풀로 원산지는 유럽 남부로 알려져 있으며, 비교적 재배가 쉽고 식물전체를 식용할 수 있어서 해외에서 각광받고 있는 작물이다 (Yi 등, 2017). 칼로리가 낮고 각종 미네랄과 비타민이 풍부한 비트는 독특한 색과 쌉쌀한 맛을 나타내기 때문에 샐러드나 장아찌, 주스, 피클 등 다양한 형태의 음식으로 이용되고

Received 5 July 2021; Revised 2 August 2021; Accepted 4 August 2021

Corresponding author: Jin-Sik Nam, Department of Food and Nutrition, Suwon Women's University, 1098, Juseok-ro, Bongdam-eup, Hwasung-si, Gyeonggi 18333, Korea, E-mail: jsnam@swc.ac.kr

Author information: Seo-Yeon Park (Researcher), Sun Hee Lee (Professor), Jin-Sik Nam (Professor)

Copyright © 2021 by The Korean Society of Food Science and Nutrition, All rights Reserved.

This is Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

있다(Jang 등, 2009). 특히 비트에 함유된 천연색소인 베탈 레인은 베타시아닌계의 적색색소와 베타잔틴계의 황색 색소가 혼합되어 있어 품종에 따라 다양한 색을 나타낸다(Stintzing 등, 2002; Gasztonyi 등, 2001). 알칼로이드의일종인 베탈레인은 phenol group과 cyclic amine group으로 구성되어 있어 ROS를 제거하는 데 도움을 주고 DNA 및 지단백질에 대한 산화적 손상을 방지하는 것으로 알려져있다. 또한 심혈관계 질환, 대사성 질환 및 항암 효과가 보고되어 유럽과 미국에서는 비트를 정제하여 건강 기능 식품으로 판매하기도 한다(Kanner 등, 2001).

비트에 관한 국내 선행연구로는 레드비트 뿌리 추출물의 항산화, 항염증 및 항암효과가 있으며(Yi 등, 2017; Jang 등, 2009), 비트에서 추출한 천연색소의 특성 및 안정성 향상을 위한 연구가 있다(Kim 등, 2019; Min 등, 2018). 또한최근 연구에 따르면 비트는 항산화, 항염증, 항암 효과뿐만아니라 트리테르페노이드 사포닌을 포함하고 있어 콜레스테롤 흡수를 저해해 비만 체질을 개선하는 효과가 있음을보고한 바가 있다(Hadipour 등, 2020; Mroczek 등, 2019)

이처럼 비트는 다양한 생리활성을 가지는 식물자원임에 도 불구하고 대부분의 연구가 레드비트에 국한되어 있어 다양한 품종의 국내산 비트 추출물에 관한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 재배된 3종의 비트를 추출하여 만든 추출물의 항산화 활성을 비교하였으며, 항산화 활성을 나타내는 유효성분을 조사하여 비트의 활용도를 높이는데 필요한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 연구는 2019년 6월 경상북도 상주에서 수확한 비트 (Beta vulgaris L.)로 레드비트, 골든비트, 키오자비트를 사용하였다. 구입한 비트 3종은 세척한 후 분쇄기(Blixer, Robot Coupe USA Inc., Jackson, MS, USA)로 분쇄한 후 실험에 이용하였다.

실험에 사용한 Folin-Ciocalteu's reagent, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), 3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-p, p'-disulfonic acid monosodium salt hydrate(ferrozine), griess reagent, gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, epicatechin, p-coumaric acid, ferulic acid, naringin, cinnamic acid, quercetin은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, 이외의 모든 시약은 SamChun Co.(Pyeongtaek, Korea)에서 구입하여 실험에 사용하였다.

시료 추출물 제조 및 수율 계산

비트 추출물을 제조하기 위해 분쇄한 비트를 무게 대비

10배 부피의 증류수 또는 80% 메탄올을 가하여 상온에서 24시간 동안 진탕항온수조(BS-21, JEIO Tech., Seoul, Korea)로 교반 추출하였다. 추출이 끝난 추출물을 원심분리 (Avanti J-26 XPI, Beckman Coulter, Brea, CA, USA)하여 상등액을 취한 후 여과(Whatman No. 1, Whatman International Ltd., Maidstone, UK)하였다. 이 여과액을 감압농축(R-210, Buchi, Flawil, Switzerland)하여 용매를 제거하였으며, 동결건조(FD-5512, Ilshin Lab Co., Ltd., Gyeonggi, Korea)하여 분말화한 것을 항산화 활성 실험에 사용하였다. 추출 수율은 동결건조가 끝난 잔여물의 무게를 원시료 무게로 나는 값을 백분율(%)로 나타내었다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's reagent에 함유 된 페놀성 물질에 전자를 공여하여 청자색 환원물을 측정하는 원리로 Singleton 등(1999)의 방법을 수정하여 측정하였다. 농도별로 제조한 시료 25 μL에 50 μL의 Folin-Ciocalteu's reagent와 150 μL의 20% sodium carbonate 용액을 가하여 15분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 microplate reader(VersaMax, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀의 정량을 위한 표준곡선은 gallic acid를 이용하여 작성하였으며, 총 폴리페놀의 함량은 gallic acid equivalent(mg GAE/g)로 표기하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(1999)의 방법을 일부 변형하여 분석하였다. 시료 추출물 $20~\mu$ L에 diethylene glycol $200~\mu$ L를 혼합한 후 1~N~NaOH~8 액 $20~\mu$ L를 첨가하여 진탕항온수조(JEIO Tech)에서 40° C로 설정하여 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 시료를 420~nm에서 흡광도를 측정하였으며(Molecular Devices), 총 플라보노이드의 정량을 위한 표준 곡선은 quercetin으로 작성하여 함량을 구하였다. 총 플라보노이드 함량은 quercetin equivalent(mg QE/g)로 표기하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

비트 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 Blois(1958)의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료용액 0.1 mL에 0.1 mM DPPH 용액 0.9 mL를 가하여 30분간 암실에서 반응시킨후, microplate reader(Molecular Devices)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS 라디칼 소거능은 Fellegrini 등(1999)의 방법을 수 정하여 측정하였다. ABTS 라디칼 용액을 제조하기 위해 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM K₂S₂O₈ 용액을 혼합하여 암소 에 15시간 방치하여 라디칼을 형성시켰다. 실험에 사용하기

위해 ABTS 라디칼 용액의 흡광도 값이 0.70±0.02가 되도록 에탄올로 희석하였다. 희석한 ABTS 용액 1 mL와 비트 추출물 50 μ L를 혼합하여 빛을 차단하여 10분간 방치한 다음 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

금속 이온(Fe²⁺)에 대한 킬레이트 효과 측정

Ferrozine은 철 이온과 반응하여 자홍색 착화물을 생성하는 시약으로 철 이온에 대한 킬레이트 효과는 Berker 등 (2010)의 방법에 따라 시행하였다. 농도별로 제조한 비트 추출물 1 mL에 2 mM FeCl₂ 용액 25 μL를 첨가한 후 5 mM ferrozine을 넣어 실온에서 10분간 반응시켰다. 반응이끝난 용액을 562 nm에서 microplate reader(Molecular Devices)로 흡광도를 측정하였다.

아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능은 Kato 등(1987)의 변형된 방법에 따라 측정하였다. 시료 추출물 $40~\mu L$ 에 $1~mM~NaNO_2~20~\mu L$ 를 가한 후 pH를 1.2로 조정하기 위해 $0.1~N~HCl~140~\mu L$ 를 혼합하였다. 이 액을 1시간 동안 37° C에서 반응시킨 다음 5% 아세트산 용액 1~mL와 Griess 시약 $80~\mu L$ 를 가하여 15분간 실온에 방치한 후 520~nm에서 흡광도를 측정하였다.

항산화능의 EC50(effective concentration)값 계산

유리라디칼(DPPH, ABTS) 및 아질산염 소거능과 철 킬레이팅 활성은 아래의 식에 의해 산출되었으며, 50%의 활성을 나타내는 시료의 농도를 EC50값으로 표시하였다.

Antioxidant activity (%)= $[1-(absorbance of sample/ absorbance of control)]\times 100$

페놀 화합물 조성

비트 추출물의 페놀 화합물 조성을 정량하기 위해 액체크로마토그래피(Agilent 1200 series, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 이용하였다. 시료 추출물을 50% 메탄올에 희석하여 0.45 μm syringe filter로 여과하여 10 μL를 주입하였으며, Gemini C₁₈ column(3 μm, 150×4.6 mm, Phenomenex, Bologna, Italy)으로 분리하였다.

검출기는 diode-array deteror(DAD)를 이용하여 220 nm 로 설정한 다음 분석하였으며 이동상은 0.2 M phosphoric acid(solvent A)와 acetonitrile(solvent B)을 사용하여 분당 1 mL로 흘려주었다. 용매조건은 B를 0%로 시작하여 20분까지 15%, 40분까지 35%, 50분까지 90%로 증가시킨 후다시 0%로 감소시켜 1시간까지 유지하였다.

통계 분석

모든 실험은 3회 이상 반복 측정하였으며 통계 분석은 SPSS 프로그램(Ver. 10.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 평균과 표준편차로 나타내었다. 시료 간의 유의성을 검정하기 위해 one-way ANOVA(analysis of variation)로 분석한 후 Duncan's multiple range test로 P<0.05수준에서 유의성을 확인하였으며 항산화 활성과 성분과의 상관관계를 분석하였다.

결과 및 고찰

수율, 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석

식물이 함유한 파이토케미컬(phytochemical)을 효율적으로 추출하기 위해서는 추출용매의 선택이 중요하므로 본연구에서는 3종의 비트를 물과 80% 메탄올로 추출하였다(Sarikurkcu 등, 2020). 비트 추출물의 수율, 총 폴리페놀및 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 모든 시료에서 물 추출물보다 80% 메탄올 추출물의 수율이 더높았으며, 골든비트의 80% 메탄올 추출물 수율이 53.47%로 가장 높았다. 그러나 수율이 가장 낮은 레드비트의 물추출물을 제외한 나머지 5개 추출물의 수율은 유의적인 차이가 없었다(P>0.05). 추출물의 수율이 다양한 이유는 식물에 존재하는 화합물의 극성과 추출 용매의 극성에 따라 추출되는 성분이 달라지기 때문에 수율에 차이가 나타나는 것으로 보고되어 있으며, 추출 시간과 온도에도 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Mohdaly 등, 2010).

총 폴리페놀 함량도 수율과 마찬가지로 모든 시료에서 물 추출물보다 80% 메탄올 추출물의 함량이 높은 것으로 확인 되었다. 80% 메탄올 추출물 중 레드비트가 8.24 mg GAE/g 으로 유의적으로 가장 높은 함량을 나타내었으며(P<0.05).

Table 1. Extraction of beets with distilled water and 80% methanol: yield, total phenolic content (TPC), and total flavonoid content (TFC) of extracts

Sar	nple	Yield (%) ¹⁾	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg QE/g)
Red beet	Distilled water	$33.53\pm3.16^{b2)3}$	5.41 ± 0.10^{b}	0.52 ± 0.00^{b}
	80% Methanol	49.73±3.28 ^a	8.24 ± 0.07^{a}	0.73 ± 0.00^{a}
Golden beet	Distilled water	51.98 ± 3.85^{a}	1.10 ± 0.02^{e}	0.15 ± 0.00^{d}
	80% Methanol	53.47 ± 1.00^{a}	$4.34\pm0.05^{\circ}$	$0.27 \pm 0.00^{\circ}$
Chioggia beet	Distilled water	50.40 ± 0.95^{a}	$0.68 \pm 0.07^{\mathrm{f}}$	$0.06\pm0.00^{\rm e}$
	80% Methanol	52.23 ± 4.74^{a}	3.14 ± 0.03^{d}	$0.06\pm0.00^{\rm e}$

The extraction yield was calculated as % yield=(weight of sample extracts/ initial weight of sample)×100.

²⁾Results are presented as mean±SD (n=3).

³⁾Means with different letters in the same column are significantly different at P<0.05.

골든비트(4.34 mg GAE/g)> 키오자비트(3.14 mg GAE/g) 순으로 확인되었다. 국내산 레드비트의 75% 발효주정 추출물을 제조하여 총 페놀 함량을 분석한 결과 10.3 mg GAE/g 이었으며(Min 등, 2018), 70% 에탄올 추출물의 폴리페놀함량이 7.01 mg GAE/g으로 본 연구결과와 차이가 있었다 (Yi 등, 2017).

총 플라보노이드 함량은 레드비트의 80% 메탄올 추출물이 0.73 mg QE/g으로 가장 높았으며, 0.06 mg QE/g으로가장 낮은 함량을 나타낸 키오자비트의 물, 80% 메탄올 추출물과는 10배 이상 차이가 났다. Čanadanović-Brunet 등 (2011)의 연구에 따르면 총 플라보노이드 함량의 범위가 316.30~564.50 mg RE/g으로 나타났으며, 3가지 용매(에 탄올, 아세톤, 물) 중 아세톤이 비트 추출에 가장 효과적인 것으로 확인되었다. 이는 추출 방법 및 표준물질로 rutin (RE, rutin equivalent)을 사용한 측정 방법의 차이에 따른 것이라 생각된다.

이와 같은 결과로 레드비트를 80% 메탄올로 추출할 시 가장 높은 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 나타냈으며, 물에 비해 메탄올이 페놀 화합물을 추출하는데 적합한 용매 임을 확인하였다.

항산화 활성 분석

항산화 활성은 다양한 메커니즘을 기반으로 나타나기 때문에 한 가지 방법으로 측정하기 어렵다(Frankel과 Meyer, 2000). 따라서 본 연구에서는 비트 추출물의 항산화 활성을 측정하기 위해 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능, 철 킬레이팅활성 및 아질산염 소거능 4가지 방법을 통해 확인하였으며, EC50값을 계산한 결과는 Table 2와 같다.

모든 실험에서 6종의 추출물이 유의한 차이(P<0.05)를 보였으며 DPPH 라디칼 소거능에서는 80% 메탄올 추출물이 물 추출물에 비해 우수한 활성을 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능의 EC₅₀값은 레드비트의 80% 메탄올 추출물이 3.18 mg/mL로 가장 높은 라디칼 소거 활성을 나타냈다. 비트 착즙 박 추출물의 활성을 분석한 결과, EC₅₀값의 범위가 0.133~0.275 mg/mL로 나타나 본 연구와 차이가 있었다 (Čanadanović-Brunet 등, 2011). 국내에서 소비되는 채소류의 메탄올 추출물로 DPPH 라디칼 소거능을 조사한 결과,

레드비트의 메탄올 추출물이 감자, 브로콜리 및 배추 메탄올 추출물보다 활성이 좋은 것으로 나타났다(Lee 등, 2005). ABTS 라디칼 소거능은 골든비트의 물 추출물이 가장 효과 적이었으나(EC₅₀=12.93 mg/mL), 레드비트의 80% 메탄올 추출물과 유의적인 차이가 없었다(EC50=13.46 mg/mL, P> 0.05). 이는 ABTS 라디칼이 소수성 물질뿐만 아니라 페놀 화합물과 같은 친수성 물질과도 반응하는 실험적인 특성에 기인한 것으로 판단된다(Stratil 등, 2007). 또한 레드비트의 물 추출물보다 80% 메탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성이 높게 나타났는데 이는 Yi 등(2017)의 연구와 유사하 였다. Min 등(2018)의 연구결과에 따르면 ABTS 라디칼의 50%를 소거하는 레드비트의 에탄올 추출물 농도(IC50)가 513.1 μg/mL로 본 연구와 차이가 있었다. 철 킬레이팅 활성 또한 ABTS 라디칼 소거 활성과 비슷한 경향을 나타냈다. 레드비트의 80% 메탄올 추출물이 5.16 mg/mL로 추출물 중 가장 낮은 EC50값을 나타내 높은 킬레이팅능을 보였으나 골든비트의 물 추출물과 유의적인 차이가 없었다(P>0.05). Lee와 Chin(2012)의 연구에 따르면 레드비트의 물 추출물 이 에탄올 추출물보다 높은 항산화 활성을 나타냈으며, 특히 0.25% 농도의 물 추출물에서 92% 이상의 활성을 보여 높은 철 이온 흡착능을 나타내 항산화 활성이 우수함을 확인하였 다. 아질산염 소거능을 확인한 결과, EC50값이 4.01~87.55 mg/mL로 광범위한 활성을 보여주었다. 다른 실험과 마찬가 지로 레드비트의 80% 메탄올 추출물이 가장 높은 활성을 나타내었으며, 물 추출물이 80% 메탄올 추출물에 비해 5배 이상 높은 EC50값을 가지는 것으로 보아 전반적으로 비트의 물 추출물은 아질산염 소거능이 약한 것으로 확인되었다. 이는 자유라디칼 소거에 반응하는 성분과 금속이온 및 아질 산염 제거에 필요한 성분 간의 메커니즘 차이에 의한 것으로 생각된다(Seo 등, 2008).

따라서 4가지의 항산화 실험을 분석한 결과, 물보다는 메 탄올이 항산화 성분을 용해하는데 효과적이며 레드비트로 제조한 80% 메탄올 추출물이 다른 추출물에 비해 비교적 높은 항산화 활성을 나타낸다는 것을 확인하였다.

페놀 화합물의 조성

비트 추출물의 항산화 활성을 나타내는 성분을 알아보고

Table 2. EC₅₀ values of distilled water and 80% methanol extracts from beets

(mg/mL)

San	nple	DPPH ¹⁾	ABTS	Fe ²⁺	Nitrite
Red beet	Distilled water	$41.26\pm1.40^{c2)3}$	61.72±2.39 ^a	6.11 ± 0.34^{d}	67.08±1.76°
	80% Methanol	3.18 ± 0.10^{e}	13.46 ± 0.10^{e}	5.16 ± 0.09^{e}	4.01 ± 0.24^{f}
Golden beet	Distilled water	103.97 ± 8.46^{a}	12.93 ± 0.39^{e}	5.74 ± 0.25^{e}	87.55 ± 3.20^{a}
	80% Methanol	14.50 ± 0.37^{d}	19.34 ± 0.30^{d}	7.76 ± 0.53^{c}	11.87 ± 0.09^{e}
Chioggia beet	Distilled water	95.76 ± 3.64^{b}	30.09 ± 1.73^{c}	9.59 ± 0.10^{b}	78.49 ± 0.85^{b}
	80% Methanol	17.85 ± 0.24^{d}	40.30 ± 3.28^{b}	11.30 ± 1.11^{a}	15.68 ± 0.17^{d}

¹⁾DPPH: DPPH radical scavenging activity, ABTS: ABTS radical scavenging activity, Fe²⁺: iron chelating activity, Nitrite: nitrite scavenging activity.

²⁾Results are presented as mean±SD (n=3).

³⁾Means with different letters in the same column are significantly different at P < 0.05.

Table 3. Phenolic compositions of distilled water and 80% methanol extracts from beets

(mg/100 g)

		Gallic acid	Chlorogenic acid	Caffeic acid	Epicatechin	<i>p</i> -Coumaric acid	Ferulic acid	Naringin	Cinnamic acid
Red beet	Distilled water		2.01 ± 0.01^{b}	8.33 ± 0.08^{a}	3.49 ± 0.28^{d}	ND	1.72±0.00 ^a	ND	ND
	80% Methanol	$3.06\pm0.05^{a2(3)}$	4.98 ± 0.46^{a}	1.16 ± 0.14^{bc}	16.60 ± 1.36^{a}	ND	1.45±0.07 ^a	ND	1.08 ± 0.01^{ab}
Golden beet	Distilled water	0.88 ± 0.02^{c}	ND	ND	1.63 ± 0.07^{e}	ND	0.34 ± 0.01^{b}	ND	0.21 ± 0.01^{c}
	80% Methanol	3.07 ± 0.40^{a}	1.08 ± 0.07^{c}	1.25 ± 0.13^{b}	8.37 ± 0.35^{c}	ND	1.14±0.21 ^a	ND	1.04 ± 0.01^{b}
Chioggia beet	Distilled water	0.84 ± 0.01^{c}	ND	ND	1.95 ± 0.21^{e}	ND	ND	ND	0.17 ± 0.04^{d}
	80% Methanol	2.67 ± 0.10^{b}	1.09 ± 0.06^{c}	1.26 ± 0.10^{b}	9.63 ± 0.80^{b}	ND	ND	ND	1.10±0.03 ^a

¹⁾ND: not detected.

자 HPLC-DAD를 이용하여 분석한 결과를 Table 3에 나타 내었다. 본 연구에서는 총 8종의 페놀 화합물을 분석하였으 며, 비트 추출물에는 6종인 gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, epicatechin, ferulic acid 및 cinnamic acid가 검출되었다. 모든 비트 추출물에서 검출된 페놀 화합물은 epicatechin으로 1.63~16.60 mg/100 g의 범위로 나타났 으며, 추출물 중 레드비트의 80% 메탄올 추출물이 가장 많 은 양의 epicatechin을 함유하고 있었다. 녹차와 홍차 추출 물에서 주로 발견되는 epicatechin은 식물에 의해 합성된 플라보노이드로 라디칼 소거능과 SOD 활성을 나타내며, 과 산화수소에 의한 세포사멸을 억제하는 것으로 알려져 있다 (Spencer 등, 2001). Caffeic acid와 chlorogenic acid는 각각 레드비트의 물 추출물(8.33 mg/100 g)과 80% 메탄올 추출물(4.98 mg/100 g)에서 가장 많은 양을 함유하고 있었 으며, gallic acid는 골든비트의 80% 메탄올 추출물이 3.07 mg/100 g으로 높은 함량을 나타냈으나 레드비트의 80% 메탄올 추출물과 유의적인 차이가 없었다. Ferulic acid는 레드비트의 물 추출물이 1.72 mg/100 g으로 가장 높은 함 량을 나타냈으며, cinnamic acid는 0.17~1.10 mg/100 g의 범위로 미량 함유되어 있었으나 레드비트의 물 추출물을 제 외한 모든 추출물에서 검출되었다.

Mattila와 Hellström(2007)의 연구에 따르면 레드비트에서 ferulic acid, protocatechuic acid, vanillic acid, p-coumaric acid 등을 함유하고 있었으며, ferulic acid가 25 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타내어 본 연구와 차이가 있었다. Ravichandran 등(2012)은 레드비트가 4-hy-

droxy benzoic acid를 주로 함유하고 있었으며 cinnamic acid, vanillic acid, chlorogenic 및 t-ferulic acid가 검출되었다고 보고하였다. Ben Haj Koubaier 등(2014)은 레드비트에서 5개의 페놀산(ferulic acid, vanillic acid, syringic acid, ellagic acid, caffeic acid)과 3개의 플라보노이드 (quercetin, kampferol, myricetin)를 확인하였다. 식물은 강수량과 일조량 등의 환경적인 요인에 반응하여 생합성을 조절하기 때문에 세포 조직에 포함된 페놀 화합물은 식물이속한 환경에 영향을 받는다(Fernandes 등, 2019). 이러한 이유로 비트는 품종뿐만 아니라 재배환경에 따라 다양한 페놀 화합물의 조성과 함량을 나타냄을 확인하였다.

항산화 성분과 활성 간의 상관관계

이전 연구에 따르면 식물 추출물의 항산화 활성은 페놀화합물과 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Nam 등, 2017). 따라서 비트 추출물의 주요한 페놀 화합물과 항산화 활성간의 상관관계를 분석하였으며, 그 결과를 상관계수(r)로 Table 4에 나타내었다. 페놀 화합물인 gallic acid는 아질산염 소거능과 r값이 0.962로 가장 높은 상관관계(P≺0.001)를 나타내었으며, DPPH 라디칼 소거능과도 높은 상관관계(r=0.846)를 나타내었다(P≺0.001). 또한 epicatechin도 DPPH라디칼 소거능과 r값이 0.953으로 높은 상관관계(P≺0.001)를 나타냈으며, 아질산염 소거능과도 r값이 0.864로 유의적인 관계에 있음을 확인하였다(P≺0.001). 이러한 결과는 본연구에서 아질산염 소거능과 DPPH라디칼 소거능이 높은 상관관계를 나타냈기 때문에(r=0.932, P≺0.001) 페놀 화합

Table 4. Pearson's correlation coefficients (r) among antioxidant components and antioxidant activities of distilled water and 80% methanol extracts from beets

nemanor extracts from occus								
	$DPPH^{1)}$	ABTS	Fe ²⁺	Nitrite	Gallic acid	Epicatechin		
DPPH	1	0.234	0.491*	0.932***	0.846***	0.953***		
ABTS		1	0.400	0.420	0.508^{*}	0.299		
Fe ²⁺			1	0.286	0.254	0.648^{**}		
Nitrite				1	0.962***	0.864*** 0.821***		
Gallic acid					1	0.821***		
Epicatechin						1		

¹⁾DPPH: DPPH radical scavenging activity, ABTS: ABTS radical scavenging activity, Fe²⁺: iron chelating activity, Nitrite: nitrite scavenging activity.

Significant at *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

²⁾Results are presented as mean±SD (n=3).

³⁾Means with different letters in the same column are significantly different at P < 0.05.

물인 gallic acid와 epicatechin이 비슷한 경향을 보인 것으로 생각된다. ABTS 소거능은 gallic acid와 유의적인 관계 (PK0.05)가 있음을 제외하고 어떠한 유의성도 확인할 수 없었다. 이는 항산화 활성을 나타내는 추출물에 함유된 화합물의 구조적인 특징과 밀접한 관련이 있으며, 일부 작용기가 항산화 활성을 방해하거나 강화시킬 수 있다는 보고에 근거한다(Kamat, 2006). 본 연구에서도 폴리페놀과 플라보노이드 외에 추출물에 포함된 다른 활성 성분과의 상호작용에의해 항산화 활성이 다소 다르게 나타난 것으로 생각되며, 생리활성 물질의 조성에 관해 추후 연구가 필요할 것이다. 또한 비트 추출물이 인체 내에서도 항산화 활성을 나타내는지 확인하기 위한 연구(in vivo)가 이뤄져야 할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 국내산 비트 3종인 레드비트, 골든비트, 키오 자비트를 80% 메탄올과 물로 추출하여 항산화 활성과 페놀 화합물의 조성을 비교하고자 하였다. 수율은 골든비트의 80% 메탄올 추출물이 가장 높았으며, 총 폴리페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량은 레드비트의 80% 메탄올 추출물이 각각 8.24 mg GAE/g, 0.73 mg QE/g으로 가장 높았다. 항 산화 활성을 확인하기 위해 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능, 철 킬레이팅 활성과 아질산염 소거능을 이용하여 측정하였 으며, ABTS 라디칼 소거능을 제외한 모든 실험에서 레드비 트의 80% 메탄올 추출물이 가장 높은 활성을 나타냈다. 항 산화 활성과 관련된 성분을 확인하기 위하여 HPLC-DAD를 이용하여 페놀 화합물의 조성을 조사하였다. 모든 추출물에 서 epicatechin이 검출되었으며, 레드비트의 80% 메탄올 추 출물이 16.60 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타내었다. 이외에 gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid 및 cinnamic acid를 함유하고 있었다. 항산화 활성과 항산화 성분 간의 상관관계를 분석한 결과, gallic acid와 아질산염 소거능이 높은 상관관계를 나타낸 것으로 확인되 었다(P<0.001). 이러한 결과는 국내산 비트가 항산화 활성 을 나타내는 식품 소재로서의 활용 가치를 높이는데 도움을 줄 것으로 판단된다.

REFERENCES

- Ben Haj Koubaier H, Snoussi A, Essaidi I, Chaabouni MM, Thonart P, Bouzouita N. Betalain and phenolic compositions, antioxidant activity of Tunisian red beet (*Beta vulgaris L. conditiva*) roots and stems extracts. Int J Food Prop. 2014. 17:1934-1945.
- Berker KI, Güçlü K, Demirata B, Apak R. A novel antioxidant assay of ferric reducing capacity measurement using ferrozine as the colour forming complexation reagent. Anal Methods. 2010. 2:1770-1778.
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 1958. 181:1199-1200.

- Čanadanović-Brunet JM, Savatović SS, Ćetković GS, Vulić JJ, Djilas SM, Markov SL. Antioxidant and antimicrobial activities of beet root pomace extracts. Czech J Food Sci. 2011. 29:575-585.
- Fellegrini N, Ke R, Yang M, Rice-Evans C. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. Meth Enzymol. 1999. 299:379-389.
- Fernandes L, Pereira JA, Saraiva J, Casal S, Ramalhosa E. Extraction solvents' influence on the content of bioactive compounds and antioxidant activity of pansies. Millenium. 2019. 2(8):89-98.
- Frankel EN, Meyer AS. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological anti-oxidants. J Sci Food Agric. 2000. 80:1925-1941.
- Gasztonyi MN, Daood H, Hajos MT, Biacs P. Comparison of red beet (*Beta vulgaris* var *conditiva*) varieties on the basis of their pigment components. J Sci Food Agric. 2001. 81:932-933
- Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Ashkani S, Rahmat A, Juraimi AS, Puteh A, et al. Variation in secondary metabolite production as well as antioxidant and antibacterial activities of *Zingiber zerumbet* (L.) at different stages of growth. BMC Complement Altern Med. 2016. 16:1-10.
- Hadipour E, Taleghani A, Tayarani-Najaran N, Tayarani-Najaran Z. Biological effects of red beetroot and betalains: a review. Phytother Res. 2020. 34:1847-1867.
- Jain C, Khatana S, Vijayvergia R. Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. Int J Pharm Sci Res. 2019. 10:494-504.
- Jang JR, Kim KK, Lim SY. Effects of solvent extracts from dried beet (*Beta vulgaris*) on antioxidant in cell systems and growth of human cancer cell lines. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2009. 38:832-838.
- Kamat JP. Peroxynitrite: a potent oxidizing and nitrating agent. Indian J Exp Biol. 2006. 44:436-447.
- Kanner J, Harel S, Granit R. Betalains A new class of dietary cationized antioxidants. J Agric Food Chem. 2001. 49:5178-5185.
- Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. Agric Biol Chem. 1987. 51:1333-1338.
- Kim JH, Kang JY, Ko E, Kim JY. Enhancement of storage stability of red beet pigment using broccoli extracts. Korean J Food Sci Technol. 2019. 51:610-614.
- Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2004. 3:21-33.
- Lee JH, Chin KB. Evaluation of antioxidant activities of red beet extracts, and physicochemical and microbial changes of ground pork patties containing red beet extracts during refrigerated storage. Korean J Food Sci An. 2012. 32:497-503.
- Lee YA, Kim HY, Cho EJ. Comparison of methanol extracts from vegetables on antioxidative effect under *in vitro* and cell system. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2005. 34:1151-1156.
- Lorrain B, Ky I, Pechamat L, Teissedre PL. Evolution of analysis of polyhenols from grapes, wines, and extracts. Molecules. 2013, 18:1076-1100.
- Mattila P, Hellström J. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. J Food Compos Anal. 2007. 20: 152-160.
- Min JY, Park HY, Kim Y, Hong JS, Choi HD. Antioxidant activity and stability of natural pigment extracted from red beetroot

- (Beta vulgaris L.). J Korean Soc Food Sci Nutr. 2018. 47: 725-732.
- Mohdaly AA, Sarhan MA, Smetanska I, Mahmoud A. Antioxidant properties of various solvent extracts of potato peel, sugar beet pulp and sesame cake. J Sci Food Agric. 2010. 90:218-226.
- Mroczek A, Kapusta I, Stochmal A, Janiszowska W. MS/MS and UPLC-MS profiling of triterpenoid saponins from leaves and roots of four red beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars. Phytochem Lett. 2019. 30:333-337.
- Nam JS, Jang HL, Rhee YH. Antioxidant activities and phenolic compounds of several tissues of pawpaw (Asimina triloba [L.] Dunal) grown in Korea. J Food Sci. 2017. 82:1827-1833.
- Ravichandran K, Ahmed AR, Knorr D, Smetanska I. The effect of different processing methods on phenolic acid content and antioxidant activity of red beet. Food Res Int. 2012. 48:16-20.
- Sarikurkcu C, Andrade JC, Ozer MS, de Lima Silva JMF, Ceylan O, de Sousa EO, et al. LC-MS/MS profiles and interrelationships between the enzyme inhibition activity, total phenolic content and antioxidant potential of *Micromeria nervosa* extracts. Food Chem. 2020. Article ID 126930. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126930
- Seo SJ, Choi Y, Lee SM, Kong S, Lee J. Antioxidant activities and antioxidant compounds of some specialty rices. J Korean

- Soc Food Sci Nutr. 2008. 37:129-135.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Meth Enzymol. 1999. 299:152-178.
- Spencer JPE, Schroeter H, Crossthwaithe AJ, Kuhnle G, Williams RJ, Rice-Evans C. Contrasting influences of glucur-onidation and *O*-methylation of epicatechin on hydrogen peroxide-induced cell death in neurons and fibroblasts. Free Radic Biol Med. 2001. 31:1139-1146.
- Stintzing FC, Schieber A, Carle R. Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. J Agric Food Chem. 2002. 50:2302-2307.
- Stratil P, Klejdus B, Kubán V. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. Talanta. 2007. 71:1741-1751.
- Yi MR, Kang CH, Bu HJ. Antioxidant and anti-inflammatory activity of extracts from red beet (*Beta vulagaris*) root. Korean J Food Preserv. 2017. 24:413-420.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 1999. 64:555-559.