

## 쭈민들레 (*Taraxacum hallaisanense* Nakai) 추출물의 항산화 및 항염증 활성 효과

난리\* · 추병길\*\*

### Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of *Taraxacum hallaisanense* Nakai Extracts

Nan, Li · Choo, Byung-Kil

*Taraxacum hallaisanense* (*pr*), a species of the family Compositae is a perennial herb plants that inhabit to Jeju Island. In the study, we performed to determine the anti-inflammatory effects in LPS-induced RAW 264.7 cells and antioxidant activity of ethanol extracts from *T. hallaisanense* whole plants. The antioxidant activity of extracts was measured by contents of polyphenol and flavonoid, DPPH radical scavenging, and reducing power activity. The anti-inflammatory effect of *T. hallaisanense* extracts was measured by NO and IL-1 $\beta$  production inhibitory activity and the expression of pro-inflammatory in lipopolysaccharide (LPS)-induced Raw 264.7 cells. Also, the expression of pro-inflammatory genes such as iNOS, COX-2 and NF-kB protein were reduced. In the cytotoxicity measurement by cytotoxicity kit, the extract was exhibited Raw 264.7 cell viabilities as nontoxic result in concentration of 25~400  $\mu$ g/ml. These results indicated that ethanol extracts of *T. hallaisanense* whole plants expected development possibility as nutrial additives through high anti-inflammatory effects and antioxidant activity.

Key words : *anti-inflammatory, antioxidant, nutrial additives, Taraxacum hallaisanense*

\* First author, 전북대학교 농업생명과학대학 작물생명과학과

\*\* Corresponding author, 전북대학교 농업생명과학대학 작물생명과학과(bkchoo@jbnu.ac.kr)

## I. 서 론

최근 동물성 식품 생산에 있어 가축의 성장과 면역 증진을 위해 항생제 및 산화아연 및 황산구리 등이 수십 년 동안 사용되어 왔으나 항생제 내성과 중금속 잔류물질 생성으로 인해 이용이 제한되어 오고 있으며 문제의 발생률이 높아짐에 따라 소비자 및 생산자 모두 안전한 사료 첨가제에 대한 관심이 증대되고 있다(Kim and Patterson, 2004; Smith et al., 2011; Su et al., 2018). 식물은 다양한 생리활성을 나타내는 페놀 화합물 등을 다량으로 함유하고 있고 예로부터 식용 또는 전통 의약제로 이용되어 왔으며 식물 유래의 추출물 및 활성 성분의 항산화 작용 및 항염증 활성 등에 대한 많은 연구가 수행되고 있다(Hyang et al., 2014; Wang et al., 2016; Nho et al., 2018). 또한, 이러한 식물이 가지고 있는 기능성을 활용하기 위해 첨가 선식을 비롯한 첨가 쿠키분말, 첨가 사료제, 애완동물 영양 보조식품 등에 대한 연구가 보고되고 있다(Ra and Kim, 2014; Byeon et al., 2017; Park et al., 2010; Di Cerbo et al., 2018).

좁민들레(*Taraxacum hallaisanense*)는 국화과(Compositae), 민들레속(*Taraxacum*)에 속하는 다년생 초본식물로서 우리나라 특산 식물에 해당하며 제주도 지역의 해발 1000 m 이상 고산지대에 자생한다(Whang et al., 1994). 민들레속 식물은 한방에서 포공영이라고 불리우며 항염증, 간질환 등에 이용되었고 최근 항산화 및 항염증, 간암 등(Jung et al., 2015; Lu et al., 2018)의 다양한 건강 증진 효과로 인해 영양공급 및 치료 목적으로 사용되고 있다(Mo et al., 2017). 또한, 비 독성 식물로서 기능성 식품 분야에서 민들레 복합추출물을 첨가한 선식의 품질 특성과 미생물적 안전성에 대한 연구 결과가 보고되었고(Ra et al., 2014), 빵잎과 민들레 추출물의 급여가 육계의 생산성 및 혈액성상에 미치는 영향에 대한 연구가 진행된 바 있으며(Park et al., 2010) Di Cerbo 등에 의해 서양민들레 추출물이 함유된 영양 보조 식품에 의한 고양이의 만성 신장 질환 개선효과가 보고되었다. 또한 가축의 질병 예방과 생산성 향상을 위한 효율적인 사료 및 영양 보조 식품 개발이 필요하며, 첨가제로서의 안전성과 기능성을 갖춘 식물성 천연 물질 개발을 위해 식물 자원에 대한 지속적인 생리활성 연구가 필요하다.

따라서 본 연구에서는, 민들레속 식물들의 우수한 생리활성에도 불구하고 연구가 전무한 좁민들레의 기능성 첨가제로의 활용 가능성을 평가하기 위해 폴리페놀 및 플라보노이드 함량, DPPH와 ABTS radical 소거능, 환원력 측정을 통한 항산화 활성과 세포 생존율 측정을 통한 독성 평가, 염증 반응 물질 및 염증성 단백질 발현량 측정을 통해 항염증 활성을 검증하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험 재료 및 추출

국내에서 자생하는 좁민들레(*Taraxacum hallaisanense*)는 제주도 일대에서 채집하여 사용하였다. 좁민들레의 전초를 세척하여 50°C에서 건조하였고 분쇄 시료 10 g에 70% 에탄올 100 mL 넣고 2시간 동안 3회 추출하였다. 추출물을 여과한 뒤 50°C 수온에서 Rotary Vacuum Evaporator (JP/N-1000X, EYELA)를 사용하여 감압농축 하였으며 동결건조 후 -20°C에서 보관하여 연구용 시료로 사용하였다.

### 2. 총 폴리페놀 함량 분석

총 폴리페놀 함량 분석은 Folin-Denis법(Veloglu et al., 1988)을 응용하여 실시하였다. 용해된 추출 시료 25 µL와 10% folin-Ciocalteu's phenol reagent 500 µL를 혼합하여 실온에서 5분간 반응시킨 후 10% sodium carbonate 500 µL를 더하여 37°C에서 90분 반응시킨 뒤 725 nm에서 흡광도(Multiscan spectrum, Thermo Scientific)를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 사용하여 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

### 3. 총 플라보노이드 함량 분석

총 플라보노이드 함량 분석을 위해 Davis 법을 응용한 방법(Chae et al., 2002)에 따라 측정하였다. Diethylene glycol 600 µL에 용해된 추출 시료 300 µL를 넣고 1N NaOH 용액 10 µL를 혼합 한 뒤 37°C 60분 반응 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 rutin을 이용하여 표준곡선을 작성한 뒤 함량을 구하였다.

### 4. DPPH radical 소거활성

좁민들레의 radical에 대한 소거능 측정을 위해 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)법(Blois, 1958)을 이용하였다. 0.2 mM DPPH 용액 100 µL에 추출 시료 100 µL를 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH free radical 소거활성은 시료 무처리구와 시료 처리구의 흡광도 차를 백분율로 표시하였다.

$$\text{DPPH radical 소거능} = [(Ab - As) / Ab] \times 100$$

Ab: 대조구(시료 무처리구), As: 시료 처리구의 흡광도

## 5. ABTS radical 소거활성

ABTS radical을 이용한 항산화력은 Re 등(1999)의 방법을 응용하여 측정하였다. ABTS+ 형성을 위해 7 mM 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)용액과 2.4 mM의 potassium persulfate를 혼합하여 암소 상태에서 반응 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.70 ( $\pm 0.02$ )이 되도록 ethanol로 희석하였다. 희석 용액 900  $\mu$ L에 시료 100  $\mu$ L를 가하여 흡광도를 측정하였고 각 시료 추출물의 radical 소거활성은 시료를 처리하지 않은 대조구와 시료 처리구의 흡광도 차를 백분율로 표시하였다.

## 6. 환원력 측정

환원력은 Oyaizu (1986)의 방법을 변형하여 측정하였다. 용해된 추출시료 100  $\mu$ L와 200 mM sodium phosphate buffer (pH 6.6) 100  $\mu$ L를 혼합하여 반응시킨 후 1% potassium ferricyanid 100  $\mu$ L를 넣고 50°C에서 20분간 열처리하였다. 반응 후, 10% trichloroacetic acid (TCA) 100  $\mu$ L를 넣고 0분 동안 원심분리(12000 rpm, 20°C)하여 상층액 100  $\mu$ L와 증류수 100  $\mu$ L를 혼합한 뒤 0.1% ferric chloride 10  $\mu$ L를 넣고 700 nm에서 측정하였다. 환원력 비교를 위해 표준물질로 rutin 1 mM을 사용하였다.

## 7. 세포 배양

마우스 대식 세포주 Raw 264.7 cell을 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, USA)로부터 구입하여 배양하였다. Raw 264.7 cell은 10% Fetal Bovine Serum (FBS)와 1% penicillin/streptomycin이 첨가된 Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM)배지를 이용하여 37°C, CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다.

## 8. 세포 독성 평가

좀민들레 추출물의 Raw 264.7 cell에 대한 독성 유무를 평가하기 위해 Cytotoxicity kit (Dogenbio, Seoul, Korea)를 이용하여 세포 생존율을 측정하였다. 96 well plate에 배양된 세포에 Lipopolysaccharide (LPS)와 추출 시료를 각 농도별로 처리한 후, 24시간 동안 배양하여 cytotoxicity kit 처리 후 Elisa (Multiscan spectrum, Thermo Scientific, Waltham, USA)를 이용하여 분석하였다.

## 9. Nitric Oxide 생성량 측정

Raw 264.7 cell을 96 well plate에  $1 \times 10^6$  cells/mL 분주한 후 37°C, CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양된 세포에 LPS 1 µg/mL 처리 후 1시간 뒤, 각 농도별 추출물을 처리하여 24시간 동안 배양하였고 분비된 Nitric Oxide (NO)는 상층액을 이용하여 Griess reaction (Green et al., 1982)에 기초한 NO colorimetric assay (R&D System Inc., Minneapolis, USA)로 분석하였고 Sodium Nitrate를 이용해 표준곡선을 작성한 후 NO 함량을 정량하였다.

## 10. 사이토카인 생성량 측정

염증성 사이토카인인 Interleukin-1 beta (IL-1 β)의 생성량 변화는 LPS 1 µg/mL와 각 농도별 추출물을 처리하여 배양한 세포의 상층액을 이용하여 ELISA kit (Mouse ELISA set, BD Bioscience, San Jose, CA, USA)를 통해 측정하였다.

## 11. Western blotting

Raw 264.7 cell을 6 well plate에  $5 \times 10^6$  cells/mL 분주한 후 LPS 1 µg/mL 각 농도별 추출 시료 처리 후 24시간 동안 37°C, CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양된 plate에서 상층액을 제거한 뒤 1X phosphate-buffered saline (PBS)으로 세척 후 세포를 회수하여 원심분리한 뒤, cell lysis buffer를 첨가하여 세포 단백질을 추출하였다. 단백질 정량을 위해 BSA protein kit (Bio-Rad, CA, USA)를 이용하여 정량 후 전기영동을 위한 시료로 사용하였다. 각 처리구의 단백질 시료는 10%와 12% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 이용해 전기영동하였으며 membrane에 전사 후 5% skim milk가 포함된 1X PBS-1% Tween 20에 1시간 30분 동안 blocking 하였다. 1차 항체로는 inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2), nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha (I $\kappa$ B- $\alpha$ ) 및 nuclear factor-kappaB (NF- $\kappa$ B)는 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CZ, USA)로부터 구입하여 1:1000으로 희석하여 사용하였고 2차 항체는 anti-mouse IgG와 anti-rabbit IgG (Santa Cruz Biotechnology) 1:10000으로 희석하여 1시간 30분 동안 반응 후 PBST로 세척하여 Chemi Doc<sup>TM</sup> MP imaging system (Bio-Rad, USA)을 이용하여 정량하였다.

## 12. 통계처리

모든 실험구의 결과는 SPSS 프로그램을 이용하여 Analysis of variance (ANOVA) 분석 및

평균과 표준편차로 나타내었으며, 실험군 간의 차이는 Student's t-test를 실시하여 통계적으로 유의성을 나타내었고,  $p < 0.05$  값인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판단하여 결과분석 하였다.

### Ⅲ. 결과 및 고찰

#### 1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

페놀성 화합물은 천연물 및 식물에 다양하게 함유되어 있으며 폴리페놀 및 플라보노이드의 함량은 항산화 활성에 기인한다고 알려져 있다(Chang et al., 2011). 쯤민들레 추출물의 폴리페놀 함량을 측정된 결과,  $94.95 \pm 0.02$  mg/g으로 정량되었다(Table 1). Chon (2012)의 연구에서는 흰민들레, 민들레, 서양민들레의 페놀 함량을 측정된 결과 각각 42.5, 50.1, 26.1 mg/g으로 민들레가 가장 높게 나타났으며 Chang 등(2011)은 민들레 열수 추출물에서 68.21 mg/g, 에탄올 추출물에서 75.60 mg/g을 함유하고 있다고 보고하였고 Seo and Kim (2012)은 민들레 추출물에서 33.65 mg/g의 총 페놀 함량을 확인하였다. 이러한 연구 결과와 비교하였을 때 민들레속 식물 중 쯤민들레 추출물에서 폴리페놀 함유량이 높은 경향으로 나타났다. 플라보노이드 함량 측정결과,  $86.33 \pm 0.00$  mg/g으로 측정되었다(Table 1). 이는 민들레, 흰민들레, 서양민들레의 개별 플라보노이드 함량이 각각 4.6, 2.2, 3.0 mg/g으로 나타난 Chon (2012)의 연구결과와 Seo and Kim (2012)의 연구결과에서 보여진 민들레의 플라보노이드 함량(4.45 mg/g)에 비해 매우 높은 것으로 확인되었다.

Table 1. Total polyphenol contents and flavonoid contents of *Taraxacum hallaisanense*

| <i>T. hallaisanense</i><br>(1 mg/mL) | Total polyphenol (mg/g) | Total flavonoid (mg/g) |
|--------------------------------------|-------------------------|------------------------|
|                                      | $94.95 \pm 0.02$        | $86.33 \pm 0.00$       |

#### 2. DPPH and ABTS 소거활성

DPPH는 자유라디칼 소거 활성을 평가하는데 주로 사용되는 안정된 구조물로서 항산화 활성이 높을수록 DPPH 감소가 유도된다(Yangui and Abderrabba, 2018). 쯤민들레 추출물의 DPPH radical 소거활성을 평가하기 위해 추출물 50, 100, 200, 400  $\mu$ g/mL의 농도로 처리하여 측정된 결과(Fig. 1a), 농도 유의하게 소거활성이 증가하였으며 100  $\mu$ g/mL의 농도에서 50% 이상의 활성을 나타냈다. 이는 추출물 1000 mg/kg에서 각각 60.9, 72.1, 61.3%의 소거

능을 보인 흰민들레, 민들레, 서양민들레의 활성보다 높은 소거활성을 보였으며(Chon, 2012), IC<sub>50</sub> 값이 203.50 µg/mL으로 나타난 Seo and Kim (2012)의 연구 결과와 비교하였을 때 높은 경향으로 나타났다.

전자공여능을 측정하는 방법 중 하나인 ABTS radical 소거활성을 평가하기 위해 쑥민들레 추출물을 50, 100, 200, 400 µg/mL의 농도로 처리하여 측정한 결과이다(Fig. 1b). 쑥민들레 추출물에 의해 농도 유의하게 소거활성이 증가하였으며 200 µg/mL의 농도에서 50% 이상의 활성을 보였다. Seo and Kim (2012)는 민들레 추출물이 50% 이상의 ABTS 억제효과를 가지는 농도가 646.04 µg/mL라고 보고하였으며 이와 비교하였을 때 쑥민들레의 추출물은 200 µg/mL 농도에서 50% 이상의 억제효과를 보여 항산화 활성이 높은 것으로 사료된다.

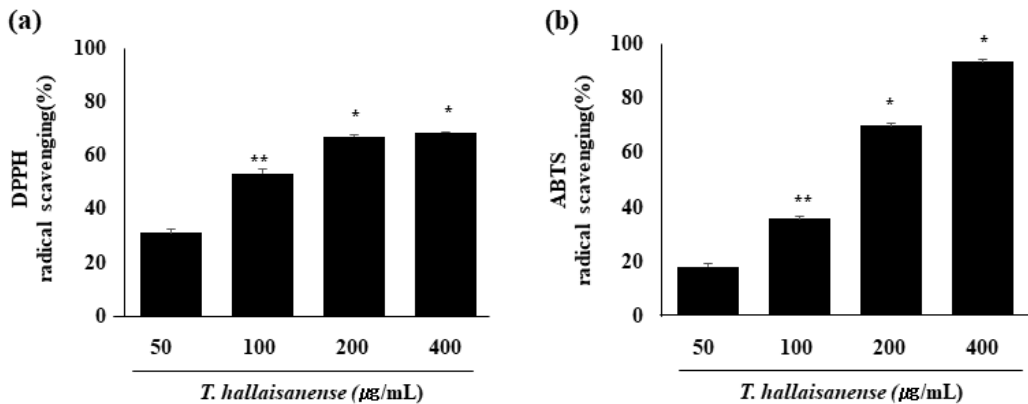


Fig. 1. The results of measuring DPPH and ABTS radical scavenging activities of *Taraxacum hallaisanense*.

Each value is mean S.D.; \*p<0.05 and \*\*p<0.01 compared with control.

### 3. 환원력

항산화 활성은 환원력과 직접적인 관련이 있으며 항산화 활성이 높을수록 환원력이 강하게 나타난다(Dou et al., 2015). 쑥민들레 추출물의 항산화 활성을 평가하기 위해 추출물을 125, 250, 500, 1000 µg/mL의 농도로 처리하여 환원력을 측정하였다. 측정 결과, 쑥민들레 추출물에 의해 농도 유의하게 환원력이 증가하였으며 항산화제인 rutin 100 mM과 비교하였을 때 1000 µg/mL의 농도에서 50% 이상의 환원력을 나타냈다(Fig. 2).

이와 같이, 쑥민들레 추출물은 높은 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 나타냈으며 DPPH, ABTS radical 소거능과 환원력 측정에서 유의한 활성을 보였다. 이러한 측정 결과는 쑥민들레 추출물의 높은 항산화 활성에 기인할 것으로 사료된다.

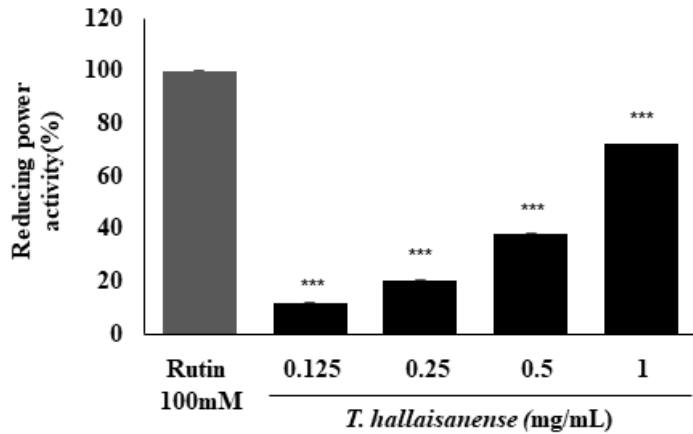


Fig. 2. The results of measuring reducing power activity of *Taraxacum hallaisanense*.

Each value is mean S.D.; \*\*\* $p < 0.001$  compared with control.

#### 4. 세포독성 평가

좁민들레 추출물의 Raw 264.7 cell에 대한 독성 유무를 판단하기 위해 lipopolysaccharide (LPS) 1  $\mu\text{g/mL}$  처리 후 추출물을 100, 200, 400  $\mu\text{g/mL}$ 로 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 상층액 분리 후 세포에 Cell cytotoxicity kit를 이용하여 세포 생존율을 측정한 결과, LPS 처리에 의한 독성이 나타나지 않았으며 추출물을 처리하였을 때 모두 90% 이상의 생존율을 나타내어 세포에 대한 독성이 없음을 확인하였다(Fig. 3a). 예로부터 민들레는 비 독성 식물로 알려져 왔으며 Jeon 등(2017)의 연구에서도 민들레 추출물은 세포에 대한 독성이 없음을 확인하였다.

#### 5. Nitric Oxide 생성량

좁민들레 추출물에 의해 염증 반응 시 생성되는 물질인 NO 생성량 변화를 확인하기 위해 LPS 1  $\mu\text{g/mL}$  처리 후 추출물을 100, 200, 400  $\mu\text{g/mL}$ 로 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 그 결과, LPS 처리에 의한 염증반응으로 NO 생성량이 증가하는 경향을 보였으며 LPS 처리 후 좁민들레 추출물을 처리하였을 때 농도 의존적으로 NO 생성량이 감소하였고 400  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 50% 이상의 NO 생성 억제율을 보였다(Fig. 3b). 이러한 결과는 민들레 추출물을 0.25, 0.5, 1.0 mg/ml의 농도로 처리하였을 때 농도 의존적으로 유의하게 NO 생성을 억제하였으며 0.5 mg/ml의 농도에서 50% 이상의 억제율을 나타낸 Jeon 등(2008)의 연구 결과와 유사한 경향을 보이는 것으로 나타났다.



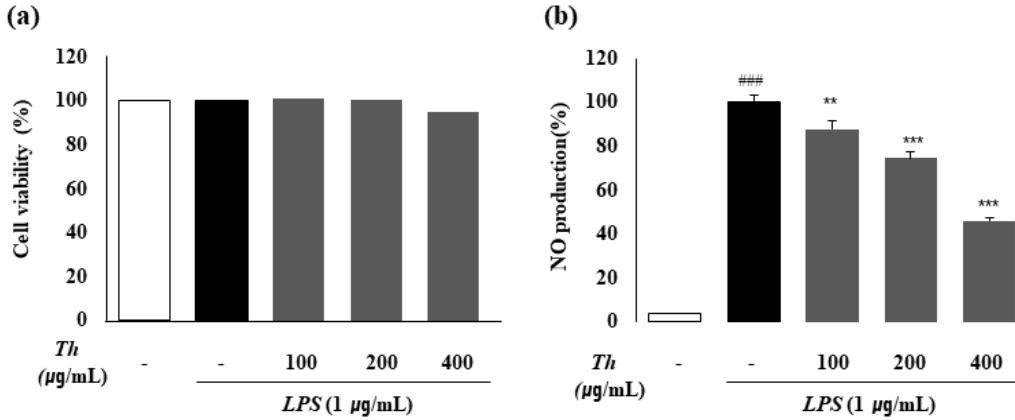


Fig. 3. Cell viability (a) and NO production (b) of *Taraxacum hallaisanense* treated with LPS (1 µg/mL) on Raw 264.7 cells.

Each value is mean S.D.; ###p<0.001 compared with normal control, \*\*p<0.01 and \*\*\*p<0.001 compared with LPS control.

### 6. IL-1β 사이토카인 생성량

LPS는 세포 또는 조직에서의 염증반응을 유도하며 이로 인해 IL-1β와 같은 염증성 사이토카인 분비량이 증가하게 된다(Zong et al., 2012). 쑥민들레 추출물 처리에 의한 염증성 사이토카인의 분비량 억제효과를 확인하기 위해 LPS 1 µg/mL와 추출물을 100, 200, 400 µg/

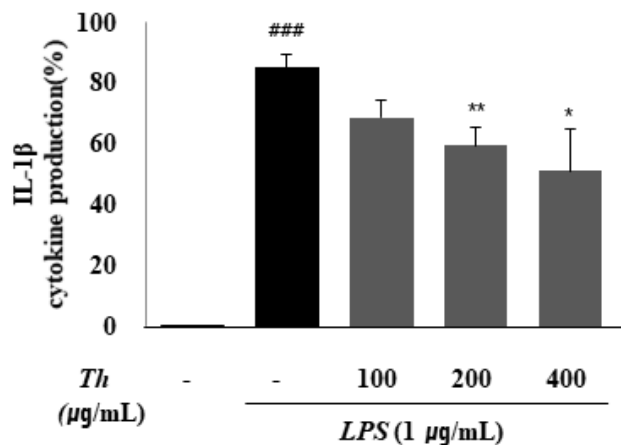


Fig. 4. IL-1β cytokine production of *Taraxacum hallaisanense* treated with LPS (1 µg/mL) on Raw 264.7 cells.

Each value is mean S.D.; ###p<0.001 compared with normal control, \*p<0.05 and \*\*p<0.01 compared with LPS control.

mL로 처리한 후 IL-1 $\beta$  정량 kit를 이용하여 측정된 결과, 대조구에 비해 LPS 처리구에서 IL-1 $\beta$  생성량이 유의하게 증가함을 관찰할 수 있었다(Fig. 4). 그러나 쯔민들레 추출물을 농도별로 처리함으로써 LPS 처리구에 비해 농도 의존적으로 IL-1 $\beta$ 의 생성량이 감소하였으며 400  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 49% 이상의 억제율을 보였다.

7. 염증성 단백질 발현량

NF-kBp65는 LPS 자극에 의해 IkB $\alpha$ 와 함께 인산화 되며 핵 내로 이동한 p-NF-kBp65는 활성화 되어 NF-kB 신호 기전 조절을 통해 inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2) 등의 염증성 단백질 생산을 유도할 수 있다(Ghosh and Hayden, 2008). 따라서 쯔민들레 추출물에 의한 염증 억제 반응을 확인하기 위해 LPS로 염증이 유도된 Raw 264.7 cell에 추출물을 처리하여 세포 내 염증성 단백질 발현량을 측정하였다. 그 결과 iNOS 단백질 발현량은 LPS 처리에 의해 증가하였고 400  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 유의하게 억제

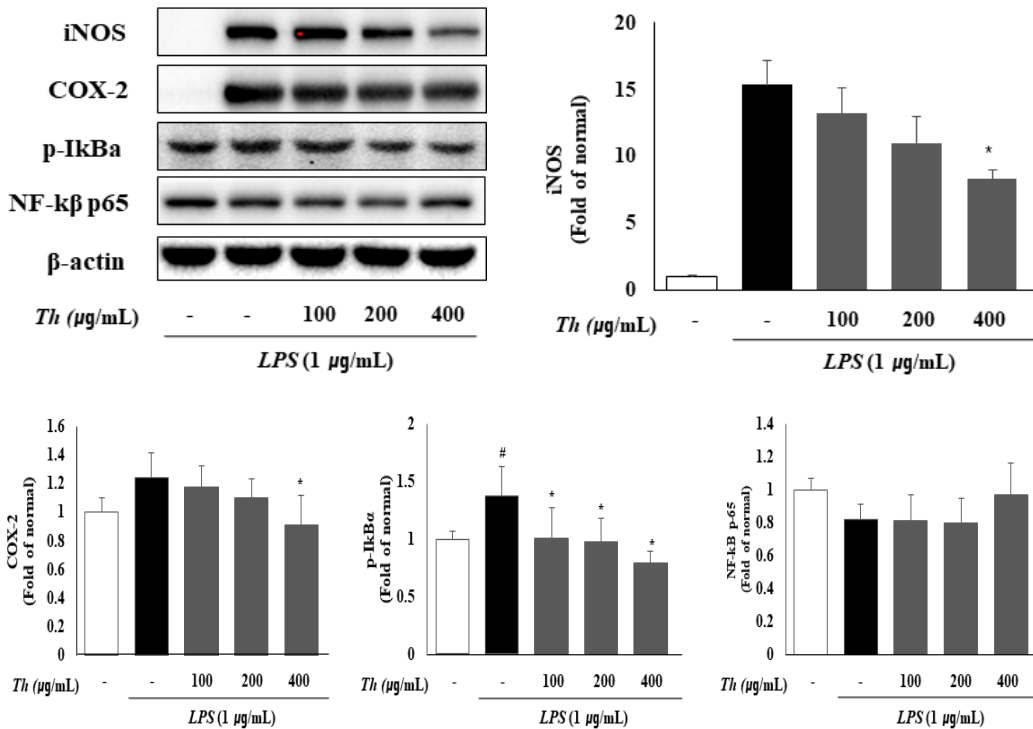


Fig. 5. Expression of the inflammatory proteins of *Taraxacum hallaisanense* treated with LPS (1  $\mu\text{g/mL}$ ) on Raw 264.7 cells.

Each value is mean S.D.; #p<0.001 compared with normal control, \*p<0.05 compared with LPS control.

되었다(Fig. 5). COX-2 단백질 발현량 측정 결과, LPS 처리구에 비해 400 µg/mL의 농도로 처리하였을 때 염증성 단백질 발현량이 억제됨을 확인하였다. 또한, LPS에 노출된 세포에서 p-IκBa의 단백질 수준은 유의하게 증가하였으나 좁민들레 추출물 처리에 의해 농도의존적으로 감소하는 경향을 보였으며 400 µg/mL의 농도에서 가장 높은 억제활성을 보였다. p65의 경우 LPS 처리에 의해 발현 수준이 감소된 것으로 확인되었는데 이는 염증 반응으로 인해 인산화된 NF-κB가 핵 내로의 이동으로 인해 나타난 것으로 사료되며 Cai 등(2018)에서 보고된 연구 결과와 유사한 경향으로 나타났다. 따라서, 좁민들레 추출물은 유의한 항염증 활성을 가지고 있는 것으로 확인되었다.

#### IV. 적 요

본 논문은 가축의 면역 증진을 위한 천연 첨가제로서 좁민들레의 활용 가능성을 검토하고자 항산화 및 항염증 활성 평가를 실시하였다. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 94.95, 86.33 mg/g으로 나타났고 DPPH, ABTS radical 소거능은 각각 100, 200 µg/mL의 농도에서 50%의 억제율을 보였으며, 1000 µg/mL에서 50%의 환원력을 나타냈다. LPS와 함께 처리한 Raw 264.7 cell에서는 좁민들레에 의한 세포 독성이 나타나지 않았으며 염증 매개 인자 NO와 염증성 사이토카인 IL-1β의 생성량을 유의하게 감소시켰다. 또한 염증성 단백질 발현량을 측정하기 위해 western blotting을 통해 확인한 결과, 400 µg/mL으로 처리하였을 때 LPS 처리구에 비해 염증성 단백질 발현 수준을 유의하게 감소시킨 것으로 확인되었다.

본 연구 결과, 좁민들레 추출물은 세포에 대한 독성이 없이 유의한 항산화 활성과 항염증 활성을 나타냄으로써 가축의 질병예방을 위한 면역 증진 및 생산성 향상에 기여할 수 있는 안전한 대체 천연 첨가제로 이용될 수 있다고 생각된다.

[Submitted, June. 25, 2018 ; Revised, July. 23, 2018 ; Accepted, August. 2, 2018]

#### References

1. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181: 1198-1200.
2. Byeon, Y. S., H. N. Ra, and H. Y. Kim. 2017. Antioxidant activity and sensory characteristics of rice cookies containing dandelion complex powder. *Korean J Food Cookery Sci*.

- 49(2): 173-180.
3. Cai, B., K. J. Seong, S. W. Bae, C. Chun, W. J. Kim, and J. Y. Jung. 2018. A synthetic diosgenin primary amine derivative attenuates LPS-stimulated inflammation via inhibition of NF- $\kappa$ B and JNK MAPK signaling in microglial BV2 cells. *Int Immunopharmacol.* 61: 204-214.
  4. Chae, S. K., G. S. Kang, S. J. Ma, K. W. Bang, M. W. Oh, and S. H. (2002). *Standard food analysis*. Paju, Korea. pp. 381-382.
  5. Chang, M. S., M. J. Park, M. C. Jeong, D. M. Kim, and G. H. Kim. 2011. Antioxidative and Antibrowning Effects of *Taraxacum platycarpum* and *Chrysanthemum indicum* Extracts as Natural Antibrowning Agents. *Korean J Food Preserv.* 18(4): 584-589.
  6. Chon, S. U. 2012. Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Different *Taraxacum* Species in Korea. *Korean J Crop Sci.* 57(1): 51-59.
  7. Di Cerbo, A., T. Iannitti, G. Guidetti, S. Centenaro, S. Canello, and R. Cocco. 2018. A nutraceutical diet based on *Lespedeza* spp., *Vaccinium macrocarpon* and *Taraxacum officinale* improves spontaneous feline chronic kidney disease. *Physio Rep.* 6(12): e13737.
  8. Dou J., Y. H. Meng, L. Liu, D. Y. Ren, and Y. R. Guo. 2015. Purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from thinned-young apple. *Int J Bio Macromol.* 72: 31-40.
  9. Ghosh, S, and M. S. Hayden. 2008. New regulators of NF-kappa B in inflammation. *Nat Rev Immunol.* 8: 837-848.
  10. Green, L. C., D. A. Wagner, J. Glogowski, P. L. Skipper, J. S. Wishnok, and S. R. Tannenbaum. 1982. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem.* 126(1): 131-138.
  11. Huang B. P., C. H. Lin, Y. C. Chen, and S. H. Kao. 2014. Anti-inflammatory effects of *Perilla frutescens* leaf extract on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. *Molecular medicine reports.* 10: 1077-083.
  12. Jeon D., S. J. Kim, and H. S. Kim. 2017. Anti-inflammatory evaluation of the methanolic extract of *Taraxacum officinale* in LPS-stimulated human umbilical vein endothelial cells. *BMC Complement Altern Med.* 17(1): 508.
  13. Jeon H. J., H. J. Kang, H. J. Jung, Y. S. King, C. J. Lim, Y. M. Kim, and E. H. Park. 2008. Anti-inflammatory activity of *Taraxacum officinale*. *J Ethnopharmacol.* 115(1): 82-88.
  14. Jung, H. J., H. M. Sung, K. M. Kim, Y. R. Shin, and J. H. Wee. 2015. Comparison of Antioxidant Activities of Water Extract from Dandelion (*Taraxacum officinale*) Aerial Parts, Roots, and Their Mixtures. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 44(8): 1157-1164.

15. Kim, W. K., and P. H. Patterson. 2004. Effects of Dietary Zinc Supplementation on Broiler Performance and Nitrogen Loss from Manure. *Poult Sci.* 83(1): 34-8.
16. Lu, X., G. Wo, B. Li, C. Xu, J. Wu, C. Jiang, and J. Wei. 2018. The anti-inflammatory NHE-06 restores antitumor immunity by targeting NF- $\kappa$ B/IL-6/STAT3 signaling in hepatocellular carcinoma. *Biomed Pharmacother.* 102: 420-427.
17. Mo, E. J., J. H. Ahn, Y. H. Jo, S. B. Kim, B. Y. Hwang, and M. K. Lee. 2017. Inositol Derivatives and Phenolic Compounds from the Roots of *Taraxacum coreanum*. *Molecules.* 22(8): e1349.
18. Nho, J. H., D. E. Jung, H. K. Jung, M. J. Lee, J. H. Jang, M. O. Sim, J. K. Jung, and H. W. Cho. 2018. Inhibitory Effect of an Ethanol Extract of Inulae Flos on Nitric Oxide Production, Oxidative Stress and Human Colorectal Cancer Cell Lines. *Korean J Medicinal Crop Sci.* 26(1): 19-25.
19. Oyaizu, M. 1999. Studies on products of browning reaction : Antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Eiyogaku zasshi.* 44(6): 307-315.
20. Park, C. I., J. C. Joong, and Y. J. Kim. 2010. Effects of Dietary Supplementation of Mulberry Leaves and Dandelion Extracts on Performance and Blood Characteristics of Chickens. *Korean J Poult Sci.* 37(2): 173-180.
21. Ra, H. N., and H. Y. Kim. 2014. Quality Characteristics and Microbial Safety of Sunsik with Dandelion (*Taraxacum platycarpum*) Complex Extract Powder (AF-343) for Home Meal Replacement. *Korean J Food Cookery Sci.* 30(5): 642-649.
22. Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine.* 26: 1231-1237.
23. Seo J. E., and G. H. Kim. 2012. Antioxidant Activity and Differentiation Effect of *Taraxacum mongolicum* Extracts against Hydrogen Peroxide-induced Oxidative Damage of MC3T3-E1 Osteoblast Cells. *Korean J Food Cookery Sci.* 28(3): 311-318.
24. Smith, A. G., J. V. O'Doherty, P. Reilly, M. T. Ryan, B. Bahar, and T. Sweeney. 2011. The effects of laminarin derived from *Laminaria digitata* on measurements of gut health: selected bacterial populations, intestinal fermentation, mucin gene expression and cytokine gene expression in the pig. *Br J Nutr.* 105(5): 669-677.
25. Su, G., X. Zhou, Y. Wang, D. Chen, G. Chen, Y. Li, and J. He. 2018. Effects of plant essential oil supplementation on growth performance, immune function and antioxidant activities in weaned pigs. *Lipids Health Dis.* 17(1): 139.
26. Velioglu, Y., G. Mazza, L. Gao, and B. Oomach. 1998. Antioxidant activity and total

- phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4113-4117.
27. Wang, P., Q. Qiao, J. Li, W. Wang, L. P. Yao, and Y. J. Fu. 2016. Inhibitory effects of geraniin on LPS-induced inflammation via regulating NF- $\kappa$ B and Nrf2 pathways in RAW 264.7 cells. *Chemico-Biological Interactions.* 253: 134-142.
28. Whang, W. K., I. S. Oh, M. T. Lee, D. S. Yang, and I. H. Kim. 1994. Pharmaco-constituents of *Taraxacum hallaisanensis*(L)-Phenolic Compounds from Aerial Part of *Taraxacum hallaisanensis*- *Kor J Pharmacogn.* 25(3): 209-213.
29. Yangui, A. and M. Abderrabba. 2018. Towards a high yield recovery of polyphenols from olive mill wastewater on activated carbon coated with milk proteins: Experimental design and antioxidant activity. *Food Chem.* 262: 102-109.
30. Zong, Y., L. Sun, B. Liu, Y. S. Deng, D. Zhan, Y. He, J. Liu, Z. J. Zhang, J. Sun, and D. Lu. 2012. Resveratrol inhibits LPS-induced MAPKs activation via activation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in murine RAW 264.7 macrophage cells. *PLoS One.* 7(8): e44107.