

RAW 264.7 세포에서 레드비트의 항산화 및 항염증 등의 생리활성 연구

지중구[†]

중부대학교 한방보건제약학과, 교수
(2021년 2월 2일 접수: 2021년 2월 26일 수정: 2021년 2월 28일 채택)

The Study on the Physiological Activities of *Beta vulgaris* such as Antioxidant and Anti-inflammatory in RAW 264.7 cells

Joong-Gu Ji[†]

Department of Herbal Health & Pharmacy, Joongbu University
(Received February 2, 2021; Revised February 26, 2021; Accepted February 28, 2021)

요 약 : 본 연구는 침출차 원료로 레드비트를 활용하기 위해서 세포독성, 항염증 및 항산화 등의 활성을 조사하고자 설계되었다. 항산화 효능은 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성을 분석하여 평가하였다. RAW 264.7 세포를 통해 MTT 분석으로 세포 생존율을 평가하고 LPS로 유도하여 활성산소종과 염증 매개체(일산화질소, TNF- α , IL-6 등)의 생성량을 확인하였다. 그 결과, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성은 농도 의존적으로 증가하였으며, 모든 농도에서 세포독성이 없음을 확인하였다. 또한, LPS로 유도한 RAW 264.7 세포에서 활성산소종(ROS)과 일산화질소(NO), IL-6, TNF- α 생성량을 유의적으로 감소시켰다. 따라서 이러한 결과는 레드비트가 안전한 항산화 및 항염증 효과를 가진 침출차의 원료로서 높은 잠재력을 가지고 있음을 시사한다.

주제어 : 레드비트, 레드비트 침출차, 생리활성, 항산화, 항염증

Abstract : This study was designed to examine the cell cytotoxic, anti-inflammatory, and antioxidant activity for raw material of *Beta vulgaris* tea. Antioxidative ability was evaluated by bioassays using DPPH and ABTS radical scavenging activity. Cell viability was assessed by MTT assay using RAW 264.7 cells, and investigated production levels of reactive oxide speies, and inflammatory meditors(i.e., nitric oxide, tumor necrosis factor- α , and interleukin-6) in LPS-induced RAW 264.7 cells. As a results, DPPH and ABTS raidcal scavenging activity were increased in a dose-dependent manner, and confirmed no cytotoxicity in all concentration. Also, it was significantly decreased level of ROS, NO, IL-6, and TNF-a in LPS-induced RAW 264.7 cells.

[†]Corresponding author
(E-mail: jjg1970@joongbu.ac.kr)

Therefore these results suggest *Beta vulgaris* has considerable potential as a raw material of leached tea with safe anti-oxidative and anti-inflammatory effects.

Keywords : *Beta vulgaris*, *Beta bulagaris leaching tea*, *physiological activities*, *antioxidant*, *anti-inflammatory*

1. 서론

산업 및 의료기술의 발달로 건강과 아름다움에 관한 욕구가 증가함에 따라 질병 예방과 노화를 억제할 수 있는 건강 지향적인 식생활의 관심이 커지고 있다[1,2]. 이에 따라 식품 시장에서는 친환경 소재를 활용한 생리활성 기능을 탐색을 근거로 소비자 맞춤형 제품 제작을 위해 효능이 우수한 원료 개발과 기능성 식품 개발에 많은 연구가 진행되고 있다[3,4]. 이 중에서 열처리 과정을 통해 성분과 성질, 향, 색 등에 많은 영향을 미치게 되는 것으로 알려진 침출차는 풍미가 높고 원료가 가진 다양한 기능성을 동시에 섭취할 수 있어서 원료의 효능을 근거로 기호와 건강증진에 초점을 두고 섭취되고 있다[5-7]. 침출차 섭취의 대부분은 열처리 과정에서 발생하는 항산화 및 항염증 등의 활성 물질이 증가하고 제조 시간이 짧고 구매 비용이 적은 장점을 통해 많은 소비가 이루어지는 식품 중 하나이므로 과학적으로 안전성과 효능이 입증된 침출차의 원료는 다양한 질환을 예방할 수 있다[8,9].

인체에 발생하는 질환과 신체변화의 병리학적 기전을 살펴보면, 감염원과 병원균과 같은 물질이 체내에 침투 시 이를 신속히 인지하고 제거하는 방어 체계를 갖게 되는데, 대식세포는 반응성이 높은 독성 물질인 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 생산하여 살균작용을 진행하게 된다[10]. 활성산소종은 역할이 종료된 후에 올바르게 소거되지 않아 정상 세포에 영향을 미치게 되면 암, 피부 노화, 심혈관질환, DNA 산화 등을 유발하게 된다[11]. 이와 같은 과정에서 인체는 면역과 항염증 작용을 위해 일산화질소(nitric oxide, NO)와 사이토카인(cytokine) 등을 생성하게 되는데[12]. 이 두 가지 물질 역시 활성산소와 마찬가지로 과량 생성이 진행되면, 파킨슨, 뇌막염, 천식, 아토피피부염, 류마티스관절염과 같은 질환이 야기되므로 항산화와 항염증 작용을 통해 인체의 면역기능을 높여주는 원료 탐색 연구가

꾸준히 진행되고 있다[12].

그 중에서 레드비트(*Beta vulgaris*)는 명아주과의 두해살이풀로 칼로리가 낮고 각종 미네랄과 비타민 함량이 높으며, 안토시아닌(anthocyanin)과 베타닌(betain) 등의 색소 성분이 항산화 및 항암 효과가 높은 것으로 알려져 셀러드, 피클, 돈육패티 등의 재료와 첨가제로 활용되고 있다[13-15]. 현재까지 진행된 국내연구의 동향을 살펴보면, 상황버섯, 브로콜리, 고삼, 맨드라미 등과 혼합한 형태의 연구가 활발히 진행되었고[16-19], 레드비트 소재의 단일연구는 식용 가능한 용매가 아닌 hexan, MeOH, BuOH 등의 분획을 통해 이루어져 실제로 음용이 가능한 침출차 원료로서의 연구는 보고된 바가 없는 실정이다[3,13]

따라서 본 연구에서는 DPPH, ABTS radical 소거 활성 평가와 더불어 마우스 대식세포인 RAW 264.7 세포를 활용하여 세포독성, 활성산소 및 일산화질소, 사이토카인 등의 감소 등을 측정하여 레드비트 침출차 효능에 관한 기초적인 자료를 제공하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료

레드비트는 비트농원(Korea)에서 구매하여 껍질을 깎아 물로 씻은 후 채갈을 이용하여 채를 찢은 후 40°C에서 건조하였다. 건조된 레드비트는 농도($\mu\text{g}/\text{ml}$) 설정을 위해 분쇄기로 분말화 작업을 진행하고 상온에 보관하며 실험에 사용하였다.

2.2. 시약 및 기기

시약은 dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS : Welgene, Korea), Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM : Gibco BRL Co., U.S.A.), 우태아혈청 (fetal bovine serum, FBS : Invitrogen Co., U.S.A.),

penicillin/streptomycin (Gibco BRL Co., U.S.A.), cell viability assay kit (Daeillab sevice, Korea), lipopolysaccharide (LPS : Sigma Co., U.S.A.), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH : Sigma Co., U.S.A.), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS : Sigma Co., U.S.A.), Milliplex map mouse cytokine/chemokine magnetic bead panel-immunology multiplex assay (Sigma Co., U.S.A.), Nitric oxide assay kit (Intron Co., Korea) 등을 사용하였다. 또한, 기기는 CO₂ incubator (Forma scientific Co., U.S.A.), clean bench (Vision scientific Co., Korea), autoclave (Sanyo Co., Japan), vortex mixer (Vision scientific Co., Korea), centrifuge (Sigma Co., U.S.A.), ice-maker (Vision scientific Co., Korea), ELISA reader (MolecularDevices Co., U.S.A.), Luminex (Merck Co., U.S.A.), 유세포 분석기 (BD co., U.S.A.) 등을 사용하였다.

2.3. DPPH radical 소거 활성

시료의 최종 농도가 1, 10, 100, 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 희석한 시료 100 μl 에 에탄올로 용해시킨 0.2 mM의 DPPH 용액 150 μl 을 혼합하여 세포배양기 (37°C, 5% CO₂)에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 대조군에 증류수를 넣었고 DPPH 용액의 대조군으로써는 에탄올을 넣어 보정 값을 얻은 후 DPPH 자유라디칼 소거율을 아래의 식에 따라 계산하여 백분율로 나타내었다.

소거율(%) =

$$\left(\frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \right) \times 100$$

2.4. ABTS radical 소거 활성

시료의 최종 농도가 1, 10, 100, 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 희석한 시료 5 μl 에 7.4 mM ABTS (2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))와 2.6 mM potassium persulphate를 제조한 후, 암소에 하루 동안 방치하여 양이온 (ABTS⁺)을 형성시킨 다음 732 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 값이 1.5 이하가 나오도록 희석

한 ABTS⁺ 용액 95 μl 를 혼합하여 실온에서 10분간 반응시켰다. 이후 732 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조군에 증류수를 넣고 대조군에 대한 ABTS 라디칼 소거율을 아래의 식에 따라 계산하여 백분율로 나타내었다.

소거율(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \right) \times 100$$

2.5. RAW 264.7 세포독성 검사

RAW 264.7 세포를 96 well plate에 1.5×10^5 cells/well로 분주하여 세포 배양기 (37°C, 5% CO₂)에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 새로운 배양액으로 교체하고 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 시료를 처리한 후, 다시 24시간 동안 세포 배양기에서 배양하였다. 배양 후 10 μl 의 WST solution을 첨가하여 세포 배양기에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 450 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군에 대한 세포 생존율을 백분율로 표시하였다.

2.6. 활성산소(ROS) 생성량 측정

RAW 264.7 세포를 12 well plate에 2×10^5 cells/well로 분주하여 세포 배양기 (37°C, 5% CO₂)에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 새로운 배양액으로 교체하고 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도의 시료에 LPS를 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리한 후, 다시 24시간 동안 세포 배양기에서 배양하였다. 배양 후, 1,200 rpm에서 5분간 원심 분리하여 모은 세포를 차가운 PBS로 2회 세척하고, DCF-DA은 10 μM 이 되도록 첨가하여 15분 동안 암소, 상온에 두었다. 염색 후 차가운 PBS를 넣어 1,200 rpm에서 5분간 원심분리 한 다음 상정액을 제거하고 다시 PBS 400 μl 를 부유시켜 유세포 분석기를 이용하여 형광강도의 세기에 따른 변화를 분석하였다.

2.7. 일산화질소(NO) 생성량 측정

RAW 264.7 세포를 12 well plate에 2×10^5 cells/well로 분주하여 세포 배양기 (37°C, 5% CO₂)에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 새로운 배양액으로 교체하고 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도의 시료에 LPS를 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리한 후, 다시 24시간 동안 세포 배양기에서 배양하였

다. 이후, 키트에 동봉된 N1 buffer와 N2 buffer를 각각 10분간 반응 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite standard의 농도별 표준곡선을 이용하여 배양액의 NO 농도를 결정하였다.

2.8. 사이토카인(cytokine) 생성량 측정

RAW 264.7 세포를 12 well plate에 2×10^5 cells/well로 분주하여 세포 배양기 (37°C, 5% CO₂)에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 새로운 배양액으로 교체하고 1, 10, 100 µg/ml의 농도의 시료에 LPS를 1 µg/ml의 농도로 처리한 후, 다시 24시간 동안 세포 배양기에서 배양하였다. 이후, 원심분리하여 상청액을 획득하여 제거하고 Milliplex map mouse cytokine/chemokine magnetic bead panel-immunology multiplex assay kit에 구성된 물품을 이용하여 다음과 같이 측정하였다. 96 well plate에 상청액 25 µl씩 분주하고 assay buffer 및 matrix buffer, antibody-immobilized beads를 각 25 µl씩 가하여 혼합한 후 2시간 동안 실온에서 반응시키고 washing 완충 용액을 이용하여 2회 세척하였다. 이를 다시 25 µl의 detection antibody을 가하여 1시간 동안 실온에서 암소 반응시키고 추가로 25 µl의 Streptavidin-Phycoerythrin을 가하여 30분 동안 실온에서 반응시킨 후 washing 완충 용액을 이용하여 2회 세척하였다. 세척 후 PBS를 150 µl 넣고 5분 간 shaking한 후 Luminex를 이용하여 측정하였다.

2.8. 통계처리

모든 실험 결과는 평균값 ± 표준편차(mean ± S.D)로 표시하였다. 그룹별 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA) 방법을 이용하였고, student's t-test를 사용하여 통계적 유의성을 검증하였다(** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$).

3. 결과 및 고찰

3.1. DPPH 및 ABTS radical 소거 활성

산소를 이용하고 있는 모든 생명체는 필연적으로 산화적 대사과정 중에 자유 라디칼(free radical)을 생성하는데, 정상적인 신체 대사과정 중에 생성된 한 개 이상의 비공유전자를 가진 불안정한 상태의 이온으로 DNA 손상을 일으키고 단백질의 과산화물을 생성하며, 지질 과산화를 유

발하고 염증 반응을 통해 노화, 조직 손상 등으로 이어지게 된다[20]. 이러한 자유라디칼의 소거 활성을 평가하기 위해 주로 활용되는 연구 방법에는 신속한 평가가 가능한 DPPH 및 ABTS radical 소거 활성 측정이 대표적이다[21]. 이 중 DPPH radical은 산화된 형태에서 free radical을 가지고 있어 전자공여체인 항산화제와 만나면 전자를 얻어 환원이 되며, 항산화 효능이 클수록 탈색의 정도가 크게 나타난다고 알려져 있다[22,23]. 또한, ABTS radical은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS free radical이 추출물 내의 항산화 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법이다[24,25].

본 연구에서 radical 소거 활성을 확인한 결과, 레드비트는 DPPH 및 ABTS radical 소거 활성이 대조군으로 사용한 증류수의 흡광도 값을 기준으로 보정하였을 때, 1, 10, 100, 1000 µg/ml로 농도가 올라갈수록 증가하는 결과가 나타났다(Fig. 1). 이와 같은 결과는 유사 연구인 레드비트의 분획물을 통한 ABTS radical 소거 활성 결과와의 비교 시 EtOAc, BuOH 층 보다는 낮은 결과가 나타났으나, 70% EtOH, Hexane 층 보다 높은 활성을 보였고 식용이 가능한 침출차라는 점에서 레드비트의 섭취가 노화와 조직 손상 등의 예방이 가능한 항산화제로서의 활용 가치를 보여주고 있다고 판단된다[3].

3.2. 세포독성 평가

인체의 다양한 세포 중 면역세포는 감염원과 해로운 물질이 침입할 경우, 탐식, 항원 제시, 이물질 인식, 항체 생산, 이상세포 살해 등과 같은 역할을 통해 질병의 발생을 방어하게 된다[10]. 이 중 대식세포는 선천면역의 주요 세포이자 T세포와의 활성 조절하는 역할로도 후천 면역계에도 관여하므로 인체 면역을 담당하는 백혈구를 구성하는 세포이다[26].

본 연구에서 레드비트 침출차의 세포독성을 평가한 결과, 시료를 처리하지 않은 대조군 대비 모든 농도에서 100% 이상의 생존율을 나타내어 독성이 나타나지 않았다(Fig. 2). 이와 같은 결과는 식·의약품에서 가장 중요하다고 할 수 있는 안전성이 확보되어 침출차로써의 역할이 가능하며, 비록 추출 용매의 차이를 보이지만 이전 연구인 건조 비트 추출물이 인체 암세포 증식 억제 효과를 나타냈다는 점에서 볼 때, 안전

성을 기반으로 암 예방의 효능도 기대할 수 있을 것으로 판단되나 재배지역과 제조 공정의 차이가 있어 이는 추후 연구를 통해 확인하고자 한다 [13].

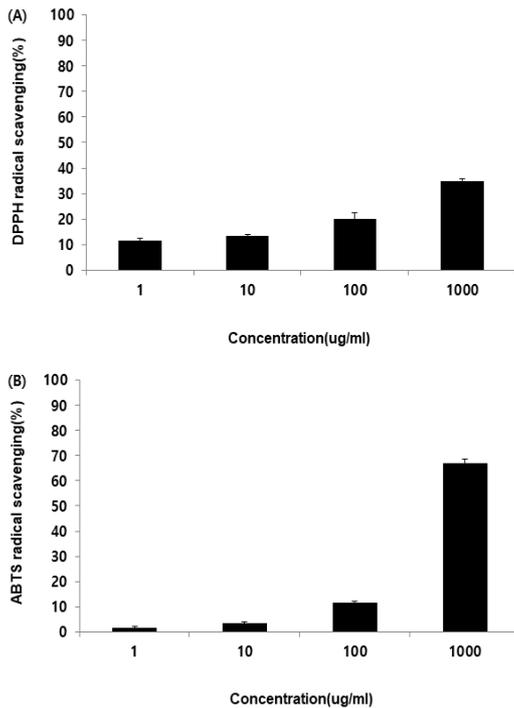


Fig. 1. Effects of *Beta vulgaris* on the DPPH(A) and ABTS(B) radical scavenging. The measured levels were expressed as the mean ± standard deviation.

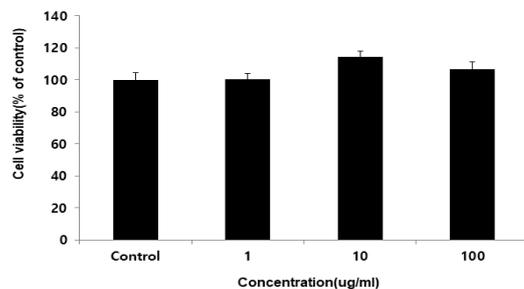


Fig. 2. Effects of *Beta vulgaris* on the cell cytotoxic in RAW 264.7 cells. The measured levels were expressed as the mean ± standard deviation.

3.3. 활성산소 생성량

대식세포는 생체 방어 시 우선으로 활성산소의 살균작용과 세포 상해작용을 통해 진행하게 되는데, 방어 후 효과적으로 제거되지 않아 정상 세포에 작용하면 피부 세포 및 조직 손상을 주도한다[27]. 이는 항산화 효소와 비효소적 항산화제로 구성된 피부 항산화 방어망을 파괴함으로써 멜라닌 생성반응 촉진, DNA 산화와 같은 생체 구성분들의 손상을 준다[11]. 이로 인해 피부에 염증을 유발하고, 피부의 면역기능이 저하되어 탄력 감소와 주름, 기미, 주근깨 등으로 피부 노화가 가속화된다[11,28,29]

본 연구에서 레드비트의 활성산소 생성량을 확인한 결과, LPS로 활성산소 생성량이 높아진 음성대조군 대비 약 10~20%의 생성을 억제하였으며, 10, 100 ug/ml 농도에서 유의성을 보였다 (Fig. 3). 이와 같은 결과는 과생성된 활성산소를 레드비트 침출차의 섭취를 통해 억제할 수 있는 항산화 식품으로서의 가능성을 나타내고 있으며, 나아가 독성 평가를 통해 언급되었던 암세포 증식 억제에 관한 효능이 활성산소 생성 저해와도 관련이 있다고 생각된다. 따라서 레드비트 침출차는 노화와 암 예방 등의 가능성을 가지는 식품으로서의 개발이 가능할 수 있을 것으로 보여진다.

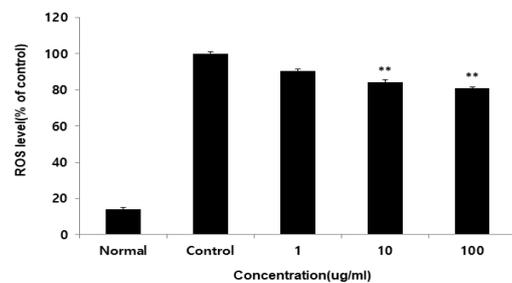


Fig. 3. Effects of *Beta vulgaris* on the reactive oxide species level in LPS-induced RAW 264.7 cells. The measured levels were expressed as the mean ± standard deviation. ** $p < 0.01$ indicates a significant difference from the control group. Normal: non treated cell, Control: only LPS treated cell.

3.4. 일산화질소 및 사이토카인 생성량

일산화질소(NO)와 사이토카인(cytokine)은 인체의 면역에 관여하는 대표적 물질로 알려져 있

다[12]. 적당한 생성의 일산화질소는 혈압조절과 혈액 응고 기능, 암세포에 대한 면역기능 등 순기능을 보이지만, 과량으로 존재할 경우 역으로 유해한 작용을 보이게 되어 세포 손상, 염증 반응 등을 통해 난치성 질환으로 분류된 질환의 원인이 된다[30-32]. 또한, 대식세포가 만들어 내는 사이토카인 중 interleukin(IL)-6와 tumor necrosis factor(TNF)- α 는 대표적 염증성 사이토카인으로 IL-6는 감염이나 조직 손상 등에서 급성 반응을 보이고 아토피피부염, 류마티스관절염과 같은 질환에서 높은 생성을 나타내는 매개체이며, TNF- α 역시도 과생성 시 전신성 염증을 일으켜 화학주성으로 염증 연관 세포의 활성화를 유도하는 것으로 알려져 있다[33-35].

본 연구에서 레드비트의 NO 및 사이토카인 생성량을 확인한 결과, LPS로 일산화질소와 사이토카인 생성량이 높아진 음성대조군 대비 일산화

질소는 약 18~20%, IL-6는 약 5~12%, TNF- α 는 10~20%의 생성을 억제하였으며, 일산화질소와 TNF- α 생성은 모든 농도에서, IL-6 생성은 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 유의성을 보였다(Fig. 4). 이와 같은 결과는 대표적인 염증 매개체인 일산화질소와 사이토카인 생성을 레드비트 침출차의 섭취를 통해 효과적인 억제가 가능하며, 항산화와 항염증 역할을 근거로 노화를 비롯하여 면역질환 예방이 가능한 식품 소재임을 보여주고 있다.

4. 결론

본 연구는 레드비트가 침출차로서의 활용 가능성을 객관적으로 평가하고자 세포독성, 항산화 및 항염증 등의 연구를 진행한 결과는 다음과 같다.

레드비트는 DPPH 및 ABTS radical 소거 활성

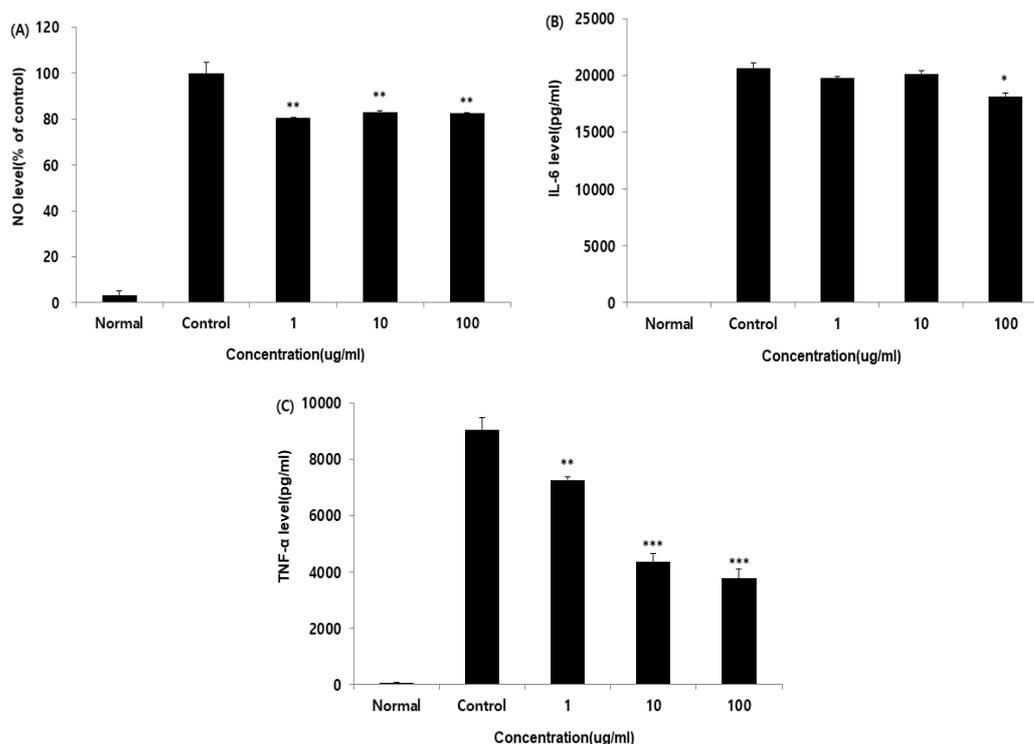


Fig. 4. Effects of *Beta vulgaris* on the nitric oxide(A), IL-6(B), and TNF- α (C) level in LPS-induced RAW 264.7 cells. The measured levels were expressed as the mean \pm standard deviation. *** p <0.001, ** p <0.01, * p <0.05 indicates a significant difference from the control group. Normal: non treated cell, Control: only LPS treated cell.

이 농도 의존적으로 증가하였고 RAW 264.7 세포 독성 평가에서 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 대조군 대비 100% 이상의 생존율을 나타내었다. 이를 근거로 진행한 동일한 농도에서의 활성산소와 일산화질소, 사이토카인 등의 생성량을 확인한 결과, LPS로 생성을 유도한 음성대조군 대비 활성산소 생성은 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서, 일산화질소 및 TNF- α 생성은 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서, IL-6 생성은 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 유의성 있게 억제하였다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 레드비트는 세포 독성 평가를 통해 안전성이 확보되었으며, DPPH, ABTS radical 소거 활성과 활성산소 생성량을 통해 항산화 효능이 확인되었다. 또한, 항염증 효능인 일산화질소와 사이토카인 생성 역시 효능을 나타냄에 따라 항산화 및 항염증 효능을 가진 안전한 식품 소재임이 과학적으로 증명되었다. 이는 유사 질환을 유도한 동물을 통해 추가로 입증될 점이 남아있지만, 본 연구에서 확인한 바이오마커의 병리학적 기전을 근거로 노화, 아토피피부염, 류마티스관절염, 천식 등의 예방이 가능한 식품으로서의 기초적 자료 근거와 동시에 실제 임상에서의 활용 가치가 높을 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2020년도 중부대학교 학술연구비 지원에 의하여 이루어진 것임.

References

1. M. L. Cho, J. S. Lee, M. K. Kim, H. Y. Shin, S. Lee, B. J. Kim, J. Yeo, J. Y. Kim, "Effect of Heat Treatment on the Quality and Antioxidant Activity of Leached *Artemisia capillaris* Thunb. Beverage Product", *Journal of The Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.47, No.6, pp. 669-674, (2018).
2. S.B. Song, J. Y. Ko, J. I. Kim, J. S. Jung, T. W. Jung, K. Y. Kim, D. Y. Kwak, I. S. Oh, K. S. Woo, "Changes in physicochemical characteristics and antioxidant activity of adzuki bean and adzuki bean tea depending on the variety and roasting time", *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.45, No.3, pp. 317-324, (2013).
3. M. R. Yi, C. H. Kang, H. J. Bu, "Antioxidant and anti-inflammatory activity of extracts from red beet (*Beta vulgaris*) root", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.24, No.3, pp. 413-420, (2017).
4. K. Azuma, M. Nakayama, M. Koshioka, K. Ippoushi, Y. Yamaguchi, K. Kohata, H. Higashio, "Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L.", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.47, No.10, pp. 3963-3966, (1999).
5. J. H. Park, J. S. Han, H. K. Choi, "Effect on quality of pan-fired green tea by 1st pan-firing time", *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, Vol.7, No.2, pp. 101-106, (1999).
6. H. S. Chung, K. J. Kim, K. S. Youn, "Effects of roasting temperature on phytochemical properties of Job's tears (*Coix lachryma jobi* L. var *ma-yeun*) powder and extracts", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.13, No.4, pp. 477-482, (2006).
7. S. K. Yoon, W. J. Kim, "Effects of roasting conditions on quality and yields of barley tea", *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.21, No.4, pp. 575-582, (1989).
8. K. J. Song, E. S. Hwang, "Quality characteristics and antioxidant activities of Sikhye added with *Artemisia capillaris* extracts", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.45, No.11, pp. 1630-1637, (2016).
9. S. H. Lee, I. G. Hwang, Y. R. Lee, E. M. Joung, H. S. Jeong, H. B. Lee, "Physico-chemical characteristics and antioxidant activity of heated radish (*Raphanus sativus* L.) extracts", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.38, No.4, pp. 490-495, (2009).

10. J. W. Kim, B. Y. Sim, H. J., Choi, H. J. Lee, D. H. Kim, "The study on biological activities of Yeosan Ogye listed on dong-ui-bo-gam", *The Korea Journal of Herbology*, Vol.30, No.5, pp. 23-28, (2015).
11. H. S. Jung, Y. S. Song, K. H. No, Y. H. Jo, J. Y. Park, C. Y. Choi, T. Y. Kwon, "Effect of buchu (*Allium tuberosum*) on lipid peroxidation and antioxidative defense system in streptozotocin-induced diabetic rats". *Journal of Life Science*, Vol.13, No.3, pp. 333-342, (2003).
12. S. H. Byun, C. H. Yang, S. C. Kim, "Inhibitory effect of *Scrophulariae Radix* extract on TNF- α , IL-1 β , IL-6 and nitric oxide production in lipopolysaccharide activated Raw 264.7 cells", *The Korea Journal of Herbology*, Vol.20, No.2, pp. 7-16, (2005).
13. J. R. Jang, K. K. Kim, S. Y. Lim, "Effects of solvent extracts from dried beet (*Beta vulgaris*) on antioxidant in cell systems and growth of human cancer cell lines", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.38, No.7, pp. 832-838, (2009).
14. B. H. Park, E. R. Jeon, S. D. Kim, H. S. Cho, "Changes in the quality characteristics of lotus root pickle with beet extract during storage", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.38, No.8, pp. 1124-1129, (2009).
15. J. H. Lee, K. B. Chin, "Evaluation of antioxidant activities of red beet extracts, and physicochemical and microbial changes of ground pork patties containing red beet extracts during refrigerated storage", *Food Science of Animal Resources*, Vol.32, No.4, pp. 497-503, (2012).
16. M. J. Son, S. J. Son, S. P. Lee, "Physicochemical properties of carrot juice containing *Phellinus linteus* extract and beet extract fermented by *Leuconostoc mesenteroides* SM", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.37, No.6, pp. 798-804, (2008).
17. M. H. Kim, "Antioxidant and Antibacterial Activity of Extracts from *Brassica juncea* czerniak et coss., *Celosia cristata* L., and *Beta vulgaris* L", *Journal of the Korean Society of Food Culture*, Vol.27, No.6, pp. 719-729, (2012).
18. J. H. Kim, J. Y. Kang, E. Ko, J. Y. Kim, "Enhancement of storage stability of red beet pigment using broccoli extracts", *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.51, No.6, pp. 610-614, (2019).
19. S. H. Jung, "Comparison of the antioxidant effects of *sophora flavescens* aiton and *beta vulgaris* extracts", *Korean academy of basic medicine&health science*, Vol.13, No.2, pp. 118-121, (2020).
20. D. Bagchi, O. R. Carryl, M. X. Tran, M. Bagchi, A. Garg, M. M. Milnes, C. B. Williams, J. Balmoori, D. J. Bagchi, S. Mitra, S. J. "Stohs, Acute and chronic stress-induced oxidative gastrointestinal mucosal injury in rats and protection by bismuth subsalicylate", *Molecular and cellular biochemistry*, Vol.196, No.1, pp. 109-116, (1999).
21. Y. J. Joung, Y. M. Kim, Y. A. Jang, "Studies on the antioxidant and whitening effects of *chamaecyparis obtusa* extract", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.37, No.6, pp. 1496-1506, (2020).
22. H. Lim, K. H. Son, H. W. Chang, S. S. Kang, H. P. Kim, "Effects of anti-inflammatory biflavonoid, ginkgetin, on chronic skin inflammation", *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, Vol.29, No.5, pp. 1046-1049, (2006).
23. J. J. Zimmerman, "Redox/radical repertoire rapport: Pathophysiology and therapeutics", *Acta Anaesthesiol Scand*. Vol.42, No.1, pp. 1-3, (1998).
24. I. T. Kim, Y. M. Park, J. H. Won, H. J. Jung, H. J. Park, J. W. Choi, K. T. Lee, "Methanol extract of *Xanthium strumarium*

- L. possesses anti-inflammatory and anti-nociceptive activities”, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, Vol.28, No.1, pp. 94-100, (2005).
25. H. Tsukahara. *Pathophysiological roles of nitric oxide in inflammatory diseases. Current Advances in Pediatric Asthma and Other Allergic Diseases*. Jomo Newspaper, (2002).
26. V. M. Ripoll, N. A. Meadows, L. J. Raggatt, M. K. Chang, A. R. Pettit, A. I. Cassady, D. A. Hume, “Microphthalmia transcription factor regulates the expression of the novel osteoclast factor GPNMB”, *Gene*, Vol.413, No.1, pp. 32-41, (2008).
27. Choi BK, Jung SY, Park KS, Jo JH. *Reactive Oxygen Substances and Diseases*. SinllBooks, (2004).
28. S. M. Park, “Effect of Natural Products on Skin Cells -Action and Suppression of Reactive Oxygen Species-”, *The Society of Cosmetic Scientists of Korea*, Vol.32, No.10, pp. 77-127, (1999).
29. H. J. Lee, H. J. Lim, M. H. Lim, “Effect of *Aucklandia lappa* Decne extract on antioxidant”, *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.37, No.6, pp. 1545-1555, (2020).
30. H. T. Chung, H. O. Pae, B. M. Choi, T. R. Billiar, Y. M. Kim, “Nitric oxide as a bioregulator of apoptosis”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol.282, No.5, pp. 1075-1079, (2001).
31. H. S. Han, “Effect of Fermented *Artemisiae Argyi Folium* on Human Hepatoma Cell Line HepG2 Activity”, *The Korea Journal of Herbology*, Vol.28, No.3, pp. 107-113, (2013).
32. H. K. Oh, “Antioxidant and anti-inflammatory activities of different parts of *Ixeris dentata* according to extract methods”, *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.37, No.6, pp. 1567-1574, (2020).
33. M. J. Tak, M. R. Tak, K. H. Kang, W. S. Ko, H. J. Yoon, “The Inhibitory effects of Yang Geouk San Hwa-Tang on LPS-stimulated inflammation in RAW264.7 macrophage cells”, *The Journal of Korean Medicine Ophthalmology and Otolaryngology and Dermatology*, Vol.23, No.1, pp. 118-134, (2010).
34. C. Gabay, “Interleukin-6 and chronic inflammation”, *Arthritis Research & Therapy*, Vol.8, No.2, pp. 1-3, (2006).
35. Y. Zhang, B. F. Ramos, B. A. Jakschik, “Neutrophil recruitment by tumor necrosis factor from mast cells in immune complex peritonitis”, *Science*, Vol.258, No.5092, pp. 1957-1959, (1992).