KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 45, No. 2, pp. 206~212 (2013)
http://dx.doi.org/10.9721/KJFST.2013.45.2.206

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

©The Korean Society of Food Science and Technology

서양민들레 부위별 추출물의 항산화활성 및 nitric oxide 생성저해효과

민경천 · 주진우*
강원대학교 동물식품응용과학과

Antioxidant Activity and Inhibitory Effect of *Taraxacum officinale* Extracts on Nitric Oxide Production

Kyung-Chun Min and Jin-Woo Jhoo*
Department of Animal Products and Food Science, Kangwon National University

Abstract In the current study, antioxidant properties of extracts from different parts of *Taraxacum officinale* were determined by measuring the radical scavenging activity of 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH) and 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS). The antioxidant activity of aerial and root parts of this plant was measured in extracts obtained from various solvents, e.g., water, 50, 70, 100% ethanol, and hot-water. The hot-water extracts had the highest radical scavenging activities. A further study was conducted to determine the total antioxidant activity of hot-water extract fractions obtained from different solvents, e.g., chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol, and water. The ethyl acetate fraction of this extract displayed the strongest DPPH and ABTS radical scavenging activity and the highest total phenolic contents. The inhibitory effect of individual solvent fractions on the production of nitric oxide in LPS-stimulated RAW 264.7 cells was measured. The results indicated that the ethyl acetate fraction of aerial and roots part extracts significantly reduced nitric oxide productions.

Keywords: antioxidant activity, nitric oxide, radical scavenging activity, RAW 264.7 murine macrophage, *Taraxacum officinale*

서 론

민들레는 국화과(*Compositae*)에 속하는 다년생 초본으로 한방명은 포공영으로 알려져 있으며, 한방에서 강장, 해열, 이뇨, 건위, 거담 등에 이용되어 왔다(1). 서양에서는 민들레를 dandelion이라 부르며 식품 및 약용으로 이용하여 왔으며, 담즙분비촉진, 이뇨, 항류마티스, 항염증 효능을 가지는 주요한 허브로 인식되어 왔다(2). 민들레는 전세계적으로 다양한 종이 자생하고 있으며, 식품의약품안전청에서 제공하는 식품원재료 데이터베이스에서는 그 중 국내에서 식용이 가능한 민들레 종류로 민들레(*Taraxacum platycarpum*), 서양민들레(*Taraxacum officinale*), 털민들레(*Taraxacum mongolicum*), 흰민들레(*Taraxacum coreanu*)로 제시하고 있다(3). 민들레의 phytochemical과 관련된 연구에서 Williams 등(4)은 민들레로부터 hydroxycinnamic acid, chicoric acid, chlorogenic acid, coumarins, luteolin 배당체 등 다양한 폴리페놀 화합물을 확인하였으며, chicoric acid 및 monocaffeyltartaric acid 화합물이 민들레의 주요한 phenolic 화합물로 보고하였다. 민들레의 독특한 고미성분으로 sesquiterpene 화합물인 taraxinic acid β-D-glucopyranoside와 11,13-dihydrotaraxinic acid-D-glucopyranoside가 알려져 있다(5). 또한 민들레 뿌리는 다양한 triterpene과 taraxasterol과 같은 phytosterol 및 이눌린 등을 함유하고 있으며, 식이섬유, 미네랄 및 비타민의 함량이 우수한 것으로 알려져 있다(2,5). 민들레 잎에는 다양한 luteolin-7-*O*-glucoside, luteolin-7-*O*-rutinoside 등의 flavonoid glucoside 등이 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며, 주로 hydrocinnamic acid 유도체 화합물이 잎의 주요한 phenolic 화합물로 알려져 있다(2). 민들레의 다양한 약리학적 기능에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있으며, 항산화(1), 항염증(6), 혈당조절(2), 간보호기능(7), 지질대사조절(8) 등의 다양한 기능성을 가지는 것으로 보고되고 있다.

소비자들의 기능성 식품의 소비에 대한 관심이 높아짐에 따라 산업적 측면에서 천연 항산화물질을 함유하는 소재개발에 대한 관심이 높아지고 있다. 생물체는 대사과정 중 생화학 반응 및 환경적 인자에 의해 생체에 유해한 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 생성된다(9). 생체내 ROS의 형성이 증가된 상태인 산화적 스트레스에 의해 세포내 구성성분인 단백질, 지질 및 DNA 성분이 기능적으로 손상되어 생체기능을 저하시키며, 다양한 질환의 원인으로 보고되고 있다(9,10). 산화적 스트레스에 의한 세포 구성성분의 산화적 손상을 지연시키거나 억제하는 물질인 항산화물질(9)을 다양한 자생식물 및 천연소재로부터 탐색하며, 이들이 가지는 항산화특성을 이용한 기능성소재의 개발에 대한 연구가 진행되어지고 있다. 현재 민들레는 유용한 식물자원으로 국내에서 엑기스, 티백 등의 식품으로 판매되고 있으나 다양한 형태의 가공식품 개발이 아직 미흡한 것으로 판단되어진다. 본 연구에서는 민들레 부위별 시료의 다양한 추출조건에 따른 추출물 및 분획물의 항산화활성과 RAW 264.7 대식세포주를 이용하여 lipopolysaccharide (LPS) 처리에 의해 증가된 nitric oxide의

*Corresponding author: Jin-Woo Jhoo, Department of Animal Products and Food Science, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon 200-701, Korea
Tel: 82-33-250-8649
Fax: 82-33-251-7719
E-mail: jjhoo@kangwon.ac.kr
Received October 27, 2012; revised January 7, 2013;
accepted January 9, 2013

생성억제능을 비교분석하여 기능성소재 개발을 위한 기초자료로 이용하고자 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 이용한 서양민들레는 강원도 양구군 민들레영농조합법인에서 구매하여 사용하였으며, 2010년 5월에 채취한 민들레를 잎 및 줄기의 지상부와 뿌리의 지하부로 구분하여 이물을 제거하고 세척한 후 50°C에서 열풍건조 시켰으며, 이를 40 mesh 크기로 분쇄하여 실험에 사용하였다. 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH), 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), Folin Ciocalteu's reagent, Trolox 및 gallic acid는 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 실험에 이용하였다. 실험에 이용한 에탄올, 메탄올 및 에틸아세테이트는 SK Chemicals (Seongnam, Korea)에서 구입하였으며, *n*-부탄올 및 클로로포름은 Daejung Chemicals & Metals (Siheung, Korea)에서 구입하여 이용하였다. Dulbecco's Eagle modified medium (DMEM)과 fetal bovine serum (FBS), phosphate buffered saline (PBS)은 WelGENE사(Daegu, Korea)의 제품을 이용하였다.

민들레 부위별 추출물 제조

민들레의 줄기 및 잎을 포함하는 지상부와 뿌리를 포함하는 지하부 시료의 추출조건에 따른 수율을 검토하기 위하여 각 부위별 분말시료 10 g을 200 mL의 물, 50% 에탄올 수용액, 70% 에탄올 수용액 그리고 100% 에탄올(purity 96%, SK Chemicals) 용액에 혼합한 후 초음파 추출(DH.D.300H, Daihan, Wonju, Korea)을 30분씩 3회 반복 추출하여 추출액을 얻었다. 이를 No. 2 여과지(Whatman, Kent, UK)를 이용하여 감압여과 후 여과액을 회전감압농축기(N-N Series, Eyela, Tokyo, Japan)를 이용하여 농축하였다. 또한 환류냉각기가 장착된 가열추출장치를 사용하여 시료(10 g)와 200 mL 증류수를 넣은 후 95°C 수조에서 6시간씩 3회 반복 추출하여 추출액을 얻었다. 추출액은 No. 2 여과지(Whatman)를 이용하여 감압여과 후 여과액을 회전감압농축기(N-N Series, Eyela)를 이용하여 농축하였다. 각 부위의 농축액은 동결건조기(FD-1000, Eyela)을 이용하여 동결건조 후 분석시료로 이용하였다.

DPPH 라디칼 소거활성

DPPH 라디칼 소거활성은 Blois 방법(11)에 따라 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl)에 대한 전자공여능(electron donating ability)으로 분석시료에 대한 환원력을 측정하였으며, 민들레 추출물과 분획물이 DPPH 라디칼을 50% 소거하는데 필요로 하는 농도(EC_{50})를 측정하였다. 즉, 민들레 추출물 시료를 농도별로 준비하여 150 μM DPPH용액 1 mL을 혼합한 후 암소에서 30분간 반응 시킨 후 반응액을 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH 라디칼 소거활성을 측정하였다.

ABTS 라디칼 소거활성

ABTS 라디칼 소거활성을 이용한 항산화력 측정은 ABTS cation decolorization assay 방법(12)에 의하여 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM $K_2S_2O_8$를 실온인 암소에서 24시간 반응하여 ABTS 라디칼을 형성시켜 ABTS stock solution을 제조하였으며, 이를 734 nm에서 흡광도 0.70±0.02로 희석시켜 사용하였다. ABTS 용액 1 mL와 민들레 시료를 첨가하여 암실에서 10분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하여 ABTS 라디칼 소거율을 분석하였다. Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) 값을 측정하기 위하여 trolox (Sigma-Aldrich)를 사용하여 농도별 ABTS 라디칼 소거율을 측정하여 표준곡선을 작성하여 slope 값을 얻었으며, 민들레 추출물 및 분획물은 시료농도에 따른 ABTS 라디칼 소거율을 측정하여 각 분석시료에 대한 slope 값을 분석하였다. 각 시료의 TEAC value는 다음의 식과 같이 계산하였다.

$$\text{TEAC value} = \text{slope of sample}/\text{slope of Trolox}$$

총 페놀성 화합물 함량분석

민들레 분획물의 총 페놀성 화합물 함량은 Singleton과 Rossi의 방법(13)을 이용하여 측정하였다. 민들레 시료 40 μL와 증류수 1.56 mL를 첨가한 후 0.1 mL Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich)를 첨가하여 혼합한 후 5분간 실온에서 반응시켰으며, 이후 2 M sodium carbonate 용액 0.3 mL를 첨가하여 40°C에서 30분간 동안 반응시켜 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 gallic acid (Sigma-Aldrich)를 이용하여 농도별 표준곡선을 작성한 후 민들레 분획물의 총 페놀성화합물 함량을 mg gallic acid equivalent (GAE)/g으로 분석하여 나타내었다.

부위별 열수추출물의 분획물 제조

민들레 지상부와 지하부 열수추출물을 분획깔때기에서 극성별 유기용매 클로로포름, 에틸아세테이트, *n*-부탄올을 순차적으로 분획하여 얻은 용액을 감압농축하여 동결건조한 후 분석시료로 이용하였다. 민들레 지상부 및 지하부 분획물의 제조단계 및 수율은 Fig. 1에 나타내었다.

세포배양

마우스의 대식세포 세포주인 RAW 264.7 세포는 ATCC에서 분양을 받아 실험에 이용하였다. RAW 254.7 세포주는 배양용기에 DMEM, 10% FBS, 100 U/mL penicillin 및 100 μg/mL streptomycine (Sigma-Aldrich)을 첨가한 배양액을 이용하여 배양기(HER-Acell 150, Thermo Electron Corp. Waltham, MA, USA)에서 37°C와 5% CO_2를 유지하며 배양하였다.

Nitrite 측정

RAW 264.7 세포를 24-well plate 에 5×10^5/well 이 되도록 분주하고 12시간 배양하였다. 이후 각 well 은 PBS를 이용하여 세척 후 FBS-free DMEM 배지를 이용하여 시료를 처리하였으며, 1시간 배양 후 각 well에 LPS (Sigma-Aldrich) 1 μg/mL 농도로 처리하여 24시간 배양하였다. 배양액내의 nitrite의 농도는 Griess 방법을 이용한 nitric oxide detection kit (iNtRON, Sungnam, Korea)를 이용하여 측정하였다. 민들레 시료가 RAW 264.7 세포의 생육에 미치는 영향을 검토하기 위하여 MTT assay를 실시하였다. RAW 264.7 세포주를 96 well plate에 1×10^4 cells/well의 농도로 200 μL씩 분주하여 24시간 동안 37°C, 5% CO_2 조건으로 incubator에서 배양한 후 시료를 처리하여 다시 24시간 동안 배양하였다. 3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide solution) MTT시약을 5 mg/mL의 농도로 가한뒤 4시간 동안 반응시킨 후 well 바닥에 형성된 formazan이 흩어지지 않게 상등액을 제거하고 DMSO를 200 μL 가하여 30분 방치한 뒤 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 넣지 않은 대조구의 흡광도를 100%로 하여 상대적인 세포생존율을 측정하였다.

통계분석

모든 분석항목은 3회 이상 반복 시험하여 얻은 결과를 평균±표준편차로 나타내었으며, 통계분석을 위하여 SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 ANOVA로 분석하였고, 집단간 비교를 위한 사후분석은 Tukey로 검증하여 $p<0.05$ 이상일 때만 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결과 및 고찰

민들레 부위별 추출물 제조

민들레 부위별 시료의 다양한 추출조건에 따른 추출수율을 비교하기 위하여 물, 50, 70, 100% 에탄올을 추출용매로 사용하는 조건 및 열수추출조건을 포함하는 다섯가지 추출조건을 이용하여 추출수율을 비교분석하였으며 이를 Table 1에 나타내었다. 민들레 지상부는 열수추출법을 이용하는 경우 추출수율이 50.90%로 가장 높았으며, 100% 에탄올을 이용하여 추출할 경우 24.60%로 가장 낮은 추출수율을 나타내었다. 지하부의 경우 물과 열수추출에 의해 얻은 추출물의 수율이 가장 높은 것으로 분석되었다. Koh 등(14)은 민들레 잎의 항산화 활성증진을 위한 추출조건 탐색을 위한 연구보고에서 최적추출온도 83.77°C에서 이때 예측된 추출수율은 38.98%로 제시하였으며, Han 등(15)은 열수추출에 의한 민들레 잎 및 전초의 추출수율을 각각 39.02, 47.22%로 제시한 바 있다. 이러한 결과들로부터 민들레의 경우 열수를 이용한 추출법이 추출수율을 증대시키는데 효과적인 방법으로 확인 할 수 있었다.

민들레 부위별 추출물의 DPPH 라디칼 소거력 분석

민들레 지상부와 지하부 시료의 추출조건을 달리하여 얻은 추출물의 DPPH 라디칼 소거력을 EC_{50} 값으로 분석하여 Table 2에 나타내었다. 민들레 지상부 시료의 경우 열수추출물의 라디칼 소거능이 가장 우수한 것으로 나타났다. 물을 이용하여 추출한 것보다 추출온도를 증가시킨 열수추출조건에서 얻은 추출물의 라디칼 소거능이 약 3.9배 증가하였다. 민들레 지하부도 지상부와 유사한 경향으로 열수추출물이 가장 우수한 라디칼 소거력을 가지는 것으로 분석되었으며, 추출물의 DPPH 라디칼 소거력은 열수추출물 > 70% 에탄올 추출물 > 50% 에탄올 추출물 > 100% 에탄올 추출물 > 물 추출물 순으로 나타났다. 민들레 지상부와 지하부의 DPPH 라디칼 소거능을 비교하면 열수추출물의 경우 지상부의 추출물이 지하부에 비하여 약 2.2배 정도 우수하였다. Koh 등(14)은 민들레 잎을 이용한 최적추출조건을 검토한 연구에서 총 폴리페놀 및 플라보노이드 화합물이 추출온도가 증가함에 따라 증가하는 것을 보고하였으며, 이러한 결과는 열수추출조건이 라디칼 소거력이 우수한 항산화물질을 추출하기 위한 유효한 추출조건임을 확인할 수 있었다. Chon 등(1)은 민들레 꽃, 잎 및 뿌리 등의 메탄올 추출물의 총 플라보노이드 및 페놀성화합물의 함량을 분석한 결과 꽃과 잎에 가장 많은 함량을 가지며 라디칼 소거능 또한 우수한 것으로 보고하였다.

민들레 부위별 추출물의 ABTS 라디칼 소거력 분석

민들레 부위별 다양한 추출조건을 이용하여 얻은 추출물의 ABTS 라디칼 소거력을 trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)로 분석하여 Table 3에 나타내었다. TEAC value는 민들레 추출물 및 분획물 시료의 농도에 따른 ABTS 라디칼 소거율을 측정하여 얻은 회귀식의 slope와 trolox의 표준곡선에서 얻은 slope의 비율로 계산하였으며, 이때 수용성 vitamin E analogue인 trolox의 TEAC value는 1로 나타내었다. 민들레 부위별 추출용매를 달리하여 얻은 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성을 검토한 결과 지상부 및 지하부의 추출물중 열수추출물이 가장 높은 ABTS 라디칼 소거능을 나타낸 반면 물 추출물은 가장 낮은 소거능을 나타내어 DPPH 라디칼 소거능을 분석한 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 50% 및 70% 에탄올 추출물의 라디칼 소거능의 유

Table 1. Extraction yield of different parts of *Taraxacum officinale* with various solvent systems

Parts	Extraction solvents	Yield (%)
Aerial	100% ethanol ext.	24.60±3.54[c]
	70% ethanol ext.	41.10±2.14[b]
	50% ethanol ext.	39.57±1.80[b]
	Water ext.	35.30±1.60[b]
	Hot-water ext.	50.90±3.40[a]
Roots	100% ethanol ext.	13.50±0.92[c]
	70% ethanol ext.	33.50±2.21[b]
	50% ethanol ext.	36.60±1.04[b]
	Water ext.	53.63±0.86[a]
	Hot-water ext.	51.87±6.63[a]

Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments.
[a-c]Means in the same parts with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

Table 2. DPPH radical scavenging activity of different parts of *Taraxacum officinale* extracts (μg/mL)

Extracts	EC_{50}	
	Aerial	Roots
100% ethanol ext.	1223.66±24.14[a]	924.35±2.24[b]
70% ethanol ext.	219.40±1.45[c]	483.62±2.22[d]
50% ethanol ext.	218.53±3.39[c]	517.87±1.30[c]
Water ext.	691.08±11.98[b]	1130.30±13.27[a]
Hot-water ext.	176.99±1.56[d]	384.42±6.32[e]
Ascorbic acid	1.73±0.01	1.73±0.01

Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments.
[a-e]Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

Table 3. ABTS radical scavenging activity of different parts of *Taraxacum officinale* extracts (TEAC value)

Parts	Extracts				
	100% ethanol ext.	70% ethanol ext.	50% ethanol ext.	water ext.	Hot-water ext.
Aerial	0.0057[dB]	0.0207[cA]	0.0216[bA]	0.0048[eA]	0.0394[aA]
Roots	0.0062[cA]	0.0106[bB]	0.0063[dB]	0.0052[eA]	0.0153[aB]

Data are expressed as mean of triplicate experiments.
[a-e]Mean in the same row with different letters differ significantly ($p<0.05$).
[A-B]Mean in the same column with different letters differ significantly ($p<0.05$).

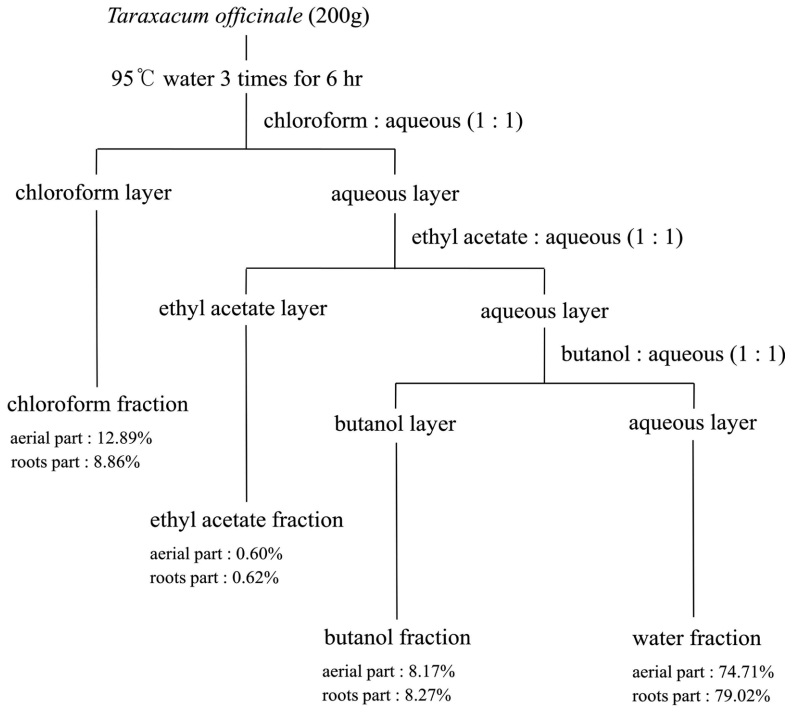

Fig. 1. Extraction and fractionation procedure of different parts of *Taraxacum officinale*.

의적 차이는 나타나지 않았다. 라디칼 소거능이 가장 높은 민들레 열수추출물의 지상부와 지하부의 ABTS 라디칼 소거능을 비교하면 지상부의 추출물이 지하부에 비하여 약 2.7배 우수한 것으로 나타났다.

민들레 부위별 열수추출물의 분획물 제조

민들레 추출물의 항산화특성을 분획별로 검토하기 위하여 다섯가지의 추출조건중 항산화활성이 가장 우수한 것으로 나타난 열수추출물을 이용하여 극성별 유기용매을 이용한 분획물을 얻어 이들의 항산화활성을 검토하였다. 극성별 분획물을 얻기 위한 유기용매로는 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올을 이용하였으며, 추출물을 분획깔때기를 이용하여 극성별 유기용매를 순차적으로 첨가하여 분획물을 얻었으며, 각 분획단계 및 수율은 Fig. 1에 나타내었다.

민들레 열수추출물 분획물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거력

민들레 부위별 열수추출물의 부위별 극성에 따른 유기용매 분획물의 DPPH 라디칼 소거력을 EC_{50}값으로 분석하여 Table 4에 나타내었다. 민들레 지상부 및 지하부 시료의 경우 에틸아세테이트 분획물이 가장 높은 DPPH 라디칼 소거력을 가지는 것으로 분석되었으며, 각 분획물별 라디칼 소거능은 에틸아세테이트 > 부탄올 > 물 ≥ 클로로포름 순으로 라디칼 소거능이 우수한 것으로 나타났다. 지상부와 지하부의 에틸아세테이트 분획물의 소거능을 비교 하였을 때 EC_{50}값이 각각 21.54 및 21.05 μg/mL로 부위별 분획물의 유의적 차이는 나타나지 않았다. 그러나 부탄올, 클로로포름 및 물 분획물의 경우 지상부의 분획물이 지하부 보다 우수한 DPPH 라디칼 소거력을 가지는 것으로 나타났다.

ABTS 라디칼 소거력을 측정한 결과는 Table 5에 나타내었다. 민들레 지상부 및 지하부의 분획물 중 에틸아세테이트 분획물의 ABTS 라디칼 소거력이 가장 우수하였으며, 지하부 분획물이 지상부 보다 라디칼 소거능이 우수한 것으로 나타났다. 각 분획물별 ABTS 라디칼 소거능은 에틸아세테이트 > 부탄올 > 클로로포름 ≥ 물 순으로 분석되었으며, 에틸아세테이트 분획물을 제외한 클로로포름, 부탄올, 물 분획물의 경우 지상부 분획물이 지하부 보다 라디칼 소거능이 우수한 것으로 나타났다. Lee와 Im (16)은 흰민들레(*Taraxacum coreanum*) 분획물의 라디칼 소거능을 검토한 연구에서 에틸아세테이트 및 부탄올 분획물이 현저히 높은 것을 보고하였으며, 종은 다르지만 라디칼 소거능이 우수한 화합물들이 에틸아세테이트 용성 특징을 가지는 것을 확인 할 수 있었다.

Table 4. DPPH radical scavenging activity of fractions from *Taraxacum officinale* hot-water extract (μg/mL)

Fractions	EC_{50}	
	Aerial	Roots
Chloroform fr.	222.91±0.55[b]	382.07±0.92[b]
Ethyl acetate fr.	21.54±0.19[d]	21.05±0.27[d]
Butanol fr.	121.01±1.81[c]	162.10±0.64[c]
Water fr.	226.97±1.19[a]	587.88±3.13[a]

Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments.
[a-d]Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

Table 5. ABTS radical scavenging activity of fractions from *Taraxacum officinale* hot-water extract (TEAC value)

Parts	Fractions			
	chloroform fr.	ethyl acetate fr.	butanol fr.	water fr.
Aerial	0.0243[cA]	0.3081[aB]	0.0423[bA]	0.0233[dA]
Roots	0.0135[cB]	0.3344[aA]	0.0399[bB]	0.0078[dB]

[a-d]Mean in the same row with different letters differ significantly ($p<0.05$).
[A-B]Mean in the same column with different letters differ significantly ($p<0.05$).

Table 6. Total phenolic contents of fractions from *Taraxacum officinale* hot-water extract (mg GAE/g)

Parts	Fractions			
	chloroform fr.	ethyl acetate fr.	butanol fr.	water fr.
Aerial	28.86±0.85^{cA}	326.67±7.98^{aB}	67.87±0.98^{bA}	28.43±0.65^{cA}
Roots	23.09±0.28^{cB}	405.37±16.51^{aA}	57.38±0.30^{bB}	11.01±0.22^{dB}

$^{a-d}$Mean±SD in the same row with different letters differ significantly (p<0.05).
$^{A-B}$Mean±SD in the same column with different letters differ significantly (p<0.05).

민들레 부위별 열수추출물 분획물의 총 페놀성 화합물 함량

민들레 부위별 열수추출물을 용매 분획한 분획물들의 총 페놀성 화합물을 분석하여 Table 6에 나타내었다. 지상부와 지하부의 분획물 중 에틸아세테이트 분획물의 총 페놀성화합물의 함량이 가장 높은 것으로 나타났으며, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거력을 분석한 결과에서 에틸아세테이트 분획물의 라디칼 소거능이 가장 우수하게 나타난 것은 페놀성 화합물이 라디칼 소거에 주요한 역할을 한 것으로 확인 할 수 있었다. 에틸아세테이트 분획물에 함유되어 있는 페놀성 화합물은 다른 분획물에 비하여 지상부의 경우 약 5-11배, 지하부는 약 7-36배 높게 함유되어 있는 것으로 분석되었다. 지상부와 지하부의 분획물별 페놀성 화합물의 함량을 비교하면 에틸아세테이트 > 부탄올 > 클로로포름 ≥ 물 분획물의 순으로 나타났다. 분획물의 수율을 고려하여 지상부와 지하부의 총 페놀성 함량을 분석한 결과 지상부의 페놀성 화합물의 함량이 약 1.8배 많은 것으로 나타났다. 식물체에 함유되어 있는 페놀성 화합물은 라디칼 소거, 금속 킬레이터 및 singlet oxygen quencher 등의 다양한 기능을 가지고 있다(17). Williams 등(4)은 dandelion으로부터 hydroxycinnamic acid, chicoric acid, chlorogenic acid, coumarins, luteolin 배당체 등을 분석하여 다양한 페놀성 화합물들이 함유되어 있는 것을 확인하여 보고하였다. 또한 Chon 등(1)은 민들레의 총 페놀함량을 보고한 연구에서 잎의 페놀함량이 뿌리보다 높은 것으로 보고하였으며, 흰민들레(*Taraxacum coreanum*) 열수추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드를 분석한 연구에서 에틸아세테이트 분획물이 가장 높게 함유하는 것으로 보고하였다(16).

민들레 부위별 열수추출물 분획물의 NO 생성억제

민들레 열수추출물의 분획물이 RAW 264.7 대식세포주에서 LPS 처리에 의한 nitric oxide (NO) 생성에 미치는 영향을 검토하였다. NO는 생체내에서 신호전달, 혈압조절, 혈소판응집 등 다양한 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 특히 pro-inflammatroy cytokine이나 lipopolysaccharide (LPS)는 면역세포에 작용하여 L-arginine으로부터 inducible nitric oxide synthase (iNOS)의 작용에 의해 NO의 생성을 증가시킨다. 과도한 NO의 생성은 만성염증 관여하여 iNOS 활성조절을 통하여 만성염증을 조절하기 위한 선택적 NO 생합성 억제제 개발에 많은 관심을 가지고 있다(18,19). 세포주에 LPS를 처리후 생성되는 NO의 분획물 처리에 의한 생성억제를 분석하여 Fig. 2에 나타내었다. RAW 264.7 세포주에 LPS 단독 처리에 의해 NO의 생성이 증가하는 것을 확인 할 수 있었으며, LPS 처리에 의해 증가한 NO가 분획물의 처리에 의해 이의 생성이 감소하는 것을 확인하였다. 지상부 시료의 경우 에틸아세테이트 분획물 20-200 μg/mL 농도 범위에서 LPS 처리에 의해 증가한 nitric oxide의 생성이 농도의존적으로 감소하는 것을 확인 할 수 있었으며, 20 μg/mL 처리시 LPS 처리에 의해 증가된

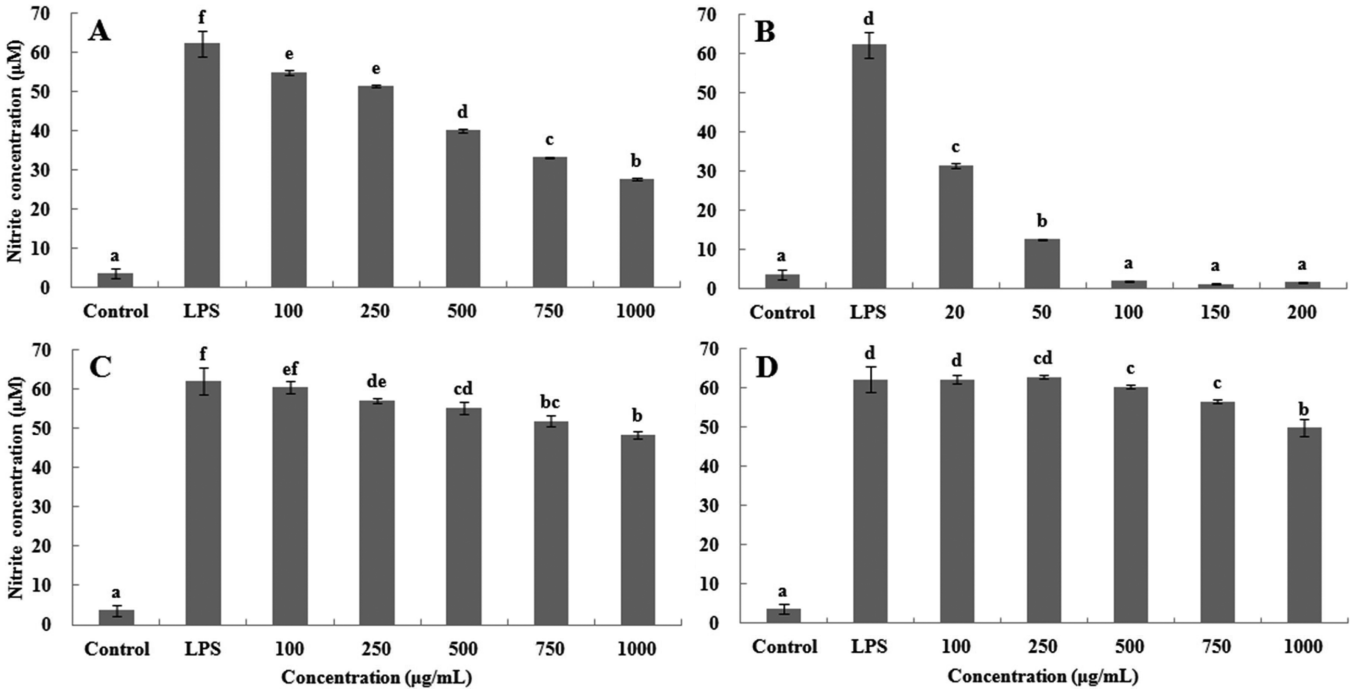

Fig. 2. Inhibitory effect of solvent fractions from aerial part of *Taraxacum officinale* hot-water extract on the production of nitric oxide in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. A, chloroform fraction; B, ethyl acetate fraction; C, butanol fraction; D, water fraction

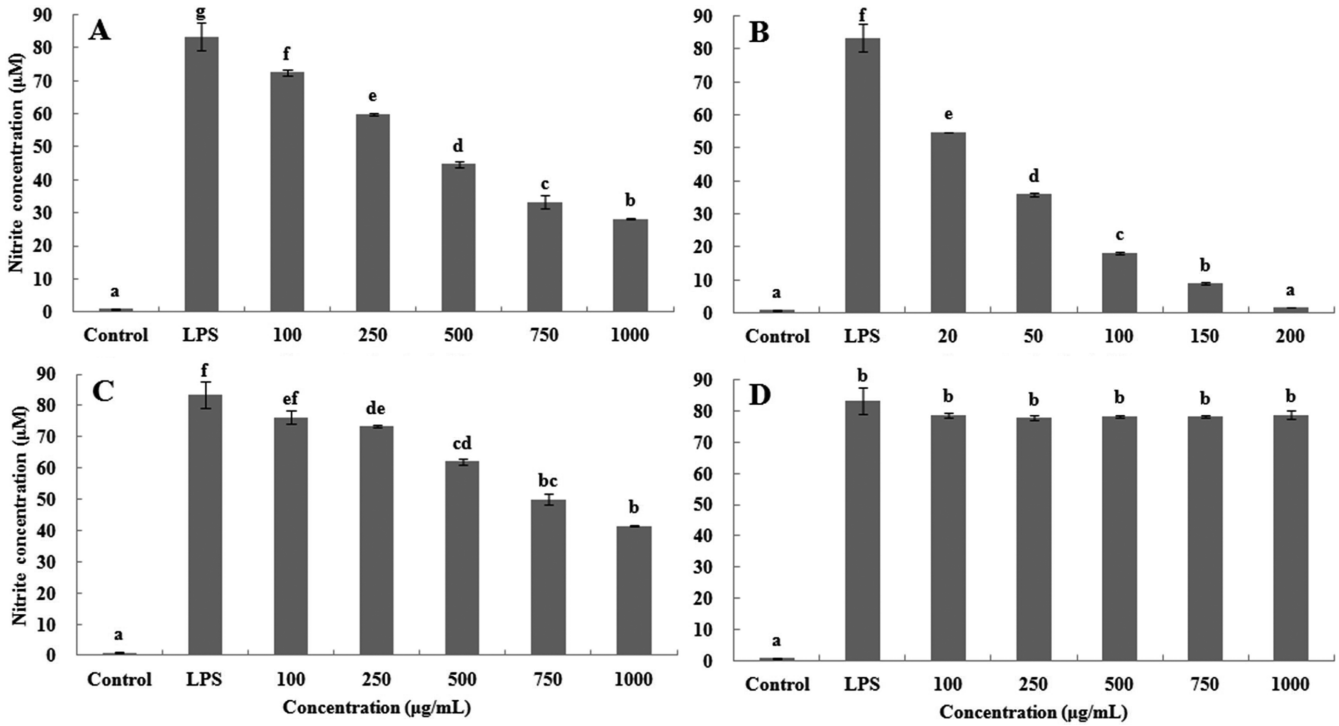

Fig. 3. Inhibitory effect of solvent fractions from root part of *Taraxacum officinale* hot-water extract on the production of nitric oxide in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. A, chloroform fraction; B, ethyl acetate fraction; C, butanol fraction; D, water fraction

NO 생성을 약 50% 저해하는 것으로 나타났다. 지하부의 경우 에틸아세테이트 분획물 20 μg/mL 처리시 nitric oxide 생성을 약 17% 저해하는 것으로 분석되어 NO 생성억제는 지상부 분획물이 우수한 것으로 나타났다. Hu와 Kitts(20)는 민들레 꽃에서 유래한 플라보노이드 화합물인 luteolin과 이의 배당체 화합물이 iNOS의 발현을 억제시키는 것으로 보고한바 있다. 따라서 luteolin 등의 플라보노이드 화합물이 많이 함유되어 있는 에틸아세테이트 분획물이 NO 생성억제에 유효한 효과를 나타낸 것으로 판단된다. 클로로포름, 부탄올 및 물 분획물은 100-1,000 μg/mL 범위에서 NO 생성이 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인하였으며, 에틸아세테이트 분획물에 비하여 NO 생성 억제효과는 낮은 것으로 나타났다. 각 분획물의 시료처리가 세포생존율에 미치는 영향을 검토하기 위하여 100-1000 μg/mL 농도 범위에서 RAW 264.7 세포의 세포생존율을 MTT assay를 실시하여 확인하였다. 각 부위별 4가지 분획물의 cell viability는 약 93-98%로 분석되어 시료의 처리농도에서는 세포독성을 크게 나타내지 않은 것을 확인 할 수 있었다. Lee와 Im(16)은 흰민들레(*Taraxacum coreanum*) 추출물의 에틸아세테이트 및 부탄올 분획물이 우수한 NO 생성 억제 활성을 가지는 것으로 보고하였으며, Koh 등(21)은 민들레의 효소처리를 이용한 항염증 활성이 증진된 추출물 제조조건을 보고한 바 있다. 이러한 연구보고와 본 실험의 결과를 바탕으로 민들레의 기능성 소재개발의 가능성을 확인 할 수 있었다.

요 약

민들레의 부위별 항산화활성을 검토하기 위하여 지상부 및 지하부의 물, 50, 70, 100% 에탄올 용액과 열수추출조건을 이용하여 얻은 추출물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 분석하였다. 민들레 지상부 및 지하부 열수추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 가장 우수한 것으로 분석되었으며, 추출물의 DPPH 라디칼 소거력은 열수추출물 > 70% 에탄올 추출물 > 50% 에탄올 추출물 > 100% 에탄올 추출물 > 물 추출물 순으로 나타났다. 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성을 검토한 결과 지상부 및 지하부의 추출물중 열수추출물이 가장 높은 ABTS 라디칼 소거능을 나타낸 반면 물 추출물은 가장 낮은 소거능을 나타내어 DPPH 라디칼 소거능을 분석한 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 또한 항산화활성이 가장 우수한 것으로 나타난 열수추출물을 이용하여 극성별 유기용매(클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올)을 이용한 분획물을 얻어 이들의 항산화활성을 검토하였다. ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성, 총 페놀성화합물의 함량을 분석한 결과 에틸아세테이트 분획물의 항산화 활성이 가장 우수한 것으로 나타났으며, 에틸아세테이트 분획물을 제외한 클로로포름, 부탄올, 물 분획물의 경우 지상부 분획물이 지하부보다 라디칼 소거능이 우수한 것으로 나타났다. 각 분획물들이 RAW 264.7 대식세포주에서 LPS 처리에 의한 nitric oxide 생성에 미치는 영향을 검토하였다. 지상부 및 지하부의 에틸아세테이트 분획물이 LPS 처리에 의해 증가한 nitric oxide의 생성을 효과적으로 억제하였으며, 지상부 에틸아세테이트 분획물 20 μg/mL 처리시 LPS 처리에 의해 증가된 NO 생성을 약 50% 저해하는 것으로 나타났으며, 이러한 효과는 지하부 에틸아세테이트 분획물보다 우수한 것으로 분석되었다. 본 연구는 민들레 부위별 다양한 추출조건에서 획득한 추출물들의 총 항산화활성을 비교분석하여 제시함으로써 소재개발을 위한 추출조건을 설정하는데 활용될 수 있을 것으로 판단되며, 또한 각 분획물들의 총 항산화활성 및 RAW 264.7 대식세포주를 이용하여 LPS 처리에 의해 증가된 nitric oxide의 생성억제능을 비교분석하여 제시함으로써 기능성 소재개발에 있어서 기초자료로 활용 할 수 있을 것으로 판단된다.

문 헌

1. Chon SU, Bae CH, Lee SC. Antioxidant and cytotoxic potentials of methanol extracts from *Taraxacum officinale* F.H. Wigg. at different plant parts. Korean J. Plant Res. 25: 232-239 (2012)
2. Gonzalez-Castejon M, Visioli F, Rodriguez-Casado A. Diverse biological activities of dandelion. Nutr. Rev. 70: 534-547 (2012)
3. KFDA, Food materials information. Available from: http://fse.foodnara.go.kr. Accessed Jun. 1, 2012.
4. Williams CA, Goldstone F, Greenham J. Flavonoids, cinnamic acids and coumarins from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*. Phytochemistry 42: 121-127 (1996)
5. Schutz K, Carle R, Schieber A. Taraxacum - A review on its phytochemical and pharmacological profile. J. Ethnopharmacol. 107: 313-323 (2006)
6. Jeon HJ, Kang HJ, Jung HJ, Kang YS, Lim CJ, Kim YM, Park EH. Anti-inflammatory activity of *Taraxacum officinale*. J. Ethnopharmacol. 115: 82-88 (2008)
7. You Y, Yoo S, Yoon HG, Park J, Lee YH, Kim S, Oh KT, Lee J, Cho HY, Jun W. In vitro and in vivo hepatoprotective effects of the aqueous extract from *Taraxacum officinale* (dandelion) root against alcohol-induced oxidative stress. Food Chem. Toxicol. 48: 1632-1637 (2010)
8. Cho S, Park J, Oh Y, Jang J, Park E, Kim M. Effect of dandelion leaf extracts on lipid metabolism in rats fed high cholesterol diet. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29: 676-682 (2000)
9. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, New York, NY, USA. pp. 246-350 (1999)
10. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell Biol. 39: 44-84 (2007)
11. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199-1200 (1958)
12. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 26: 1231-1237 (1999)
13. Singleton VL, Rossi JAJ. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. 16: 144-158 (1965)
14. Koh YJ, Cha DS, Choi HD, Park YK, Choi IW. Hot water extraction optimization of dandelion leaves to increase antioxidant activity. Korean J. Food Sci. Technol. 40: 283-289 (2008)
15. Han EK, Lee JY, Jung EJ, Jin YX, Chung CK. Antioxidant activities of water extracts from different parts of *Taraxacum officinale*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 39: 1580-1586 (2010)
16. Lee KI, Im DY. Biological activities of the water extract and its fractions from *Taraxacum coreanum* Nakai. Kor. J. Pharmacogn. 42: 195-200 (2011)
17. Shahidi F, Wanasundara PK. Phenolic antioxidants. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 32: 67-103 (1992)
18. Sharma JN, Al-Omran A, Parvathy SS. Role of nitric oxide in inflammatory diseases. Inflammopharmacol. 15: 252-259 (2007)
19. Korhonen R, Lahti A, Kankaanranta H, Moilanen E. Nitric oxide production and signaling in inflammation. Curr. Drug Targets 4: 471-479 (2005)
20. Hu C, Kitts DD. Luteolin and luteolin-7-*O*-glucoside from dandelion flower suppress iNOS and COX-2 in RAW 264.7 cells. Mol. Cell Biochem. 265: 107-113 (2004)
21. Koh YJ, Park YK, Kim YS, Cha DS, Choi HD. Preparation of hot water extracts of Dandelion leaves to increase anti-inflammatory activity. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 38: 391-395 (2009)