



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

석사학위논문

국내 *Taraxacum*속 식물 2종과
서양금혼초의 생약학적 연구

장 소 회

제주대학교 대학원

차세대융복합과학기술협동과정

2023년 8월

국내 *Taraxacum*속 식물 2종과
서양금혼초의 생약학적 연구

지도교수 배 지 영

장 소 희

이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함

2023년 8월

장소희의 이학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 이 상호 (인)

위 원 안 미정 (인)

위 원 배 지영 (인)

제주대학교 대학원

2023년 8월

Pharmacognostical studies on two native
Taraxacum species and *Hypochaeris radicata*


So-Hee Jang

(Supervised by professor Ji-Yeong Bae)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree
of Master of Science


2023. 08.

This has been examined and approved.

Lee, Sang Ho 

Thesis director, Sang Ho Lee, Dr. of Pharmacology

Ahn, Mi-Jeong 

Bae, Ji-Yeong 

(Name and Signature)

Department of Interdisciplinary Graduate Program in Advanced
Convergence Technology & Science
GRADUATE SCHOOL
JEJU NATIONAL UNIVERSITY

목 차

목차	i
List of Tables	v
List of Figures	vii
List of Abbreviations	ix
Abstract	1
Introduction	2
I. 서 론	5
II. 실험재료 및 방법	7
1. <i>Taraxacum</i> 속 식물의 형태학적 연구	
1.1. 식물재료	7
1.2. 시약	12
1.3. Microscopy	12

1.4. 내부형태학적 연구	12
2. <i>Taraxacum</i> 속 식물의 성분학적 연구	
2.1. 식물재료	14
2.2. 시약 및 기기	14
2.3. HPLC-DAD를 이용한 <i>Taraxacum</i> 속 식물의 성분패턴 분석	14
2.3.1. 시료액의 제조	14
2.3.2. 표준액의 제조	15
2.3.3. HPLC-DAD를 이용한 성분패턴분석	16
3. <i>Taraxacum</i> 속 식물의 생리활성 연구	
3.1. 시약 및 기기	17
3.2. DPPH radical scavenging activity	17
3.2.1. 시약의 제조	17
Ⅲ. 실험 결과 및 고찰	19
1. <i>Taraxacum</i> 속 식물의 형태학적 연구	

1.1. 외부형태학적 특성	19
1.2. 내부형태학적 특성	21
1.2.1. 잎(leaf)의 내부형태학적 특성	21
1.2.2. 꽃대(scape)의 내부형태학적 특성	24
1.2.3. 뿌리(root)의 내부형태학적 특성	26
1.3. 고찰	30
2. <i>Taraxacum</i> 속 식물의 성분학적 연구	
2.1. HPLC-DAD를 이용한 <i>Taraxacum</i> 속 식물의 성분패턴 분석	32
2.1.1. 부위별 성분패턴분석	32
2.1.2. 장소별 성분패턴분석	34
2.2. HPLC-DAD를 이용한 성분 정량분석	45
2.2.1. 부위별 및 종별 성분패턴분석	45
2.2.2. 장소별 성분패턴분석	45
2.2.3. 고찰	47
3. <i>Taraxacum</i> 속 식물의 생리활성 연구	

3.1. <i>Taraxacum</i> 속 식물의 종별 DPPH 라디칼 소거능 비교	48
IV. 종합결론	51
V. 참고문헌	53

List of Tables

Table 1. Information on the plants collected in this study	10
Table 2. HPLC-DAD gradient condition	16
Table 3. External morphological characteristics of <i>H. radicata</i> , <i>T. officinale</i> , <i>T. mongolicum</i>	20
Table 4. Anatomical characteristics of leaves(midribs) from selected three Asteraceae species	23
Table 5. Anatomical characteristics of scapes from selected three Asteraceae species	25
Table 6. Anatomical characteristics of roots from selected three Asteraceae species	27
Table 7. HPLC peak area of chlorogenic acid in five concentration ranges	37
Table 8. HPLC peak area of caffeic acid in five concentration ranges	39
Table 9. HPLC peak area of chicoric acid in five concentration ranges	41
Table 10. HPLC peak area of luteolin in five concentration ranges	43
Table 11. Quantification of 4 Standard in <i>H. radicata</i> , <i>T. officinale</i> and <i>T. mongolicum</i>	46

Table 12. IC50 values of *H. radicata*, *T. officinale* and *T. mongolicum* 50

List of Figures

Fig. 1 Field Photograph of Asteraceae species from Jeju Island	9
Fig. 2 A photograph of Asteraceae species part such as <i>H. radicata</i> , <i>T. officinale</i> , <i>T. mongolicum</i>	11
Fig. 3 Internal morphological characteristics of three Asteraceae species	22
Fig. 4 Scanning Electron Microscope(SEM) Photographs of three Asteraceae species	28
Fig. 5 External morphological characteristic of <i>H. radicata</i> 's leaf	29
Fig. 6 HPLC UV Chromatogram of <i>T. officinale</i> and <i>H. radicata</i> plant parts at 330nm	33
Fig. 7 HPLC UV Chromatogram of <i>T. officinale</i> , <i>T. mongolicum</i> and <i>H. radicata</i> by region whole plant at 330nm	35
Fig. 8 Calibration curve for chlorogenic acid in five concentration ranges	38
Fig. 9 Calibration curve for caffeic acid in five concentration ranges	40
Fig. 10 Calibration curve for chicoric acid in five concentration ranges	42

Fig. 11 Calibration curve for luteolin in five concentration
ranges 44

Fig. 12 DPPH radical scavenging activity of *H. radicata*,*T.*
officinale and *T. mongolicum* 49

List of Abbreviations

ACN: Acetonitrile

BHT: 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol

C: Cambium

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EtOH: Ethanol

FA: Formic Acid

H. radicata: *Hypochaeris radicata*

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

LAA: L-ascorbic acid

MAG: Magnification

MeOH: Methanol

ND: Not Detected

PBS: Phosphate Buffer Saline

PC: Parenchyma Cell

S: Stomata

SEM: Scanning Electron Microscope

T. mongolicum: *Taraxacum mongolicum*

T. officinale: *Taraxacum officinale*

V: Vessel

VB: Vascular Bundle

Abstract

서양금혼초는 국화과 Asteraceae의 다년생 잡초로 우리나라에서 생태계교란종으로 지정되었다. 서양금혼초는 민들레속 식물과의 외부형태학적인 공통적인 특성으로 인해 빈번히 헛갈리고 혼용되기도 하지만 그들과는 엄연히 다른 종이다. 본 연구에서는 개화기에 채집한 서양금혼초와 민들레속 식물 두 종인 서양민들레, 털민들레를 현미경 관찰을 통해 외, 내부형태학적 특성을 비교하였다. 현미경 관찰에서 각 종의 잎, 꽃대, 뿌리를 확인하였는데 두드러진 특징은 서양금혼초와 털민들레에 비해 서양민들레 잎의 주맥에서의 관다발이 상대적으로 연하며 퍼져 있는 모습을 보였다. 또한 이들의 화학적 성분 프로파일도 고성능 액체 크로마토그래피 분석(HPLC ; High Performance Liquid Chromatography)을 통해 확인되었다. 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레 간의 표준품 프로파일을 비교하여 정량할 수 있었다.

DPPH 실험을 통해 항산화 활성 또한 확인하였다. DPPH 결과, 서양금혼초가 서양민들레보다 항산화 활성능력이 뛰어난 것으로 확인되었다. 본 연구의 목적은 각 식물의 확실한 진위여부 판단을 위해 국내 자생하는 *Taraxacum* 속의 두 종 서양민들레, 털민들레와 서양금혼초 간의 종 간 차이점을 규명하는 것이다. 위 연구방법을 통해 국내 자생하는 민들레 종과 유사 귀화식물의 혼용을 방지하는 인증방법을 제시할 수 있으며, 서양금혼초에서의 성분분석을 통해 생태계교란식물의 활용방안을 제안할 수 있다.

Introduction

요즘은 건강에 대한 중요성이 대두되고 있는 시기이며 그와 동시에 생약재에 대한 관심이 높아져 널리 이용까지 가능해지고 있는 시대이다[1]. 생약재의 사용이 많아질수록 안전에 대한 우려가 제기되고 있는데 여전히 우리나라는 '천연물이라 부작용이 없을 것이다' 라는 그릇된 인식이 잔여하고 약용으로 쓰이는 자생식물들도 많기 때문에 오.남용이 발생하기도 한다[2]. 그렇기 때문에 국민건강을 위한 생약 및 한약 제제에 대한 안전성과 철저한 표준화된 관리가 요구되고 있는 실정이다.

국화과의 쌍자엽식물 여러해살이풀로 알려진 민들레속 식물들은 식품 혹은 약용으로 사용되었으며 예로부터 민간에서 쓰여져 왔다. 현재 우리나라를 포함한 전 세계에서 민들레속 식물들은 2,000 여종이 존재하며 주로 비타민과 무기질이 풍부하고 항염, 항균, 항암, 항산화 등과 같은 효능이 보고되어왔다 [3]. 한방에서는 민들레를 '포공영'이라 하며 전초를 해열, 해독제로 사용하기도 하였고, 생즙은 위궤양이나 식도염에 큰 효과가 있다고 알려져 왔다[4]. 기존의 민들레와 관련한 약리학적 연구로는 Han 등은 민들레 추출 분획물이 위장보호에 효과가 있음을 보고하였고[5], Cortes 등은 서양금혼초와 서양민들레 간의 형태학적, 이화학적 비교를 통한 오인의 해결책을 제시하였다[6]. Hu 등은 서양민들레 추출물이 항산화 능력이 있어 자유라디칼 소거 활성이 있음을 보고하였다[7]. 본 연구에서는 서양민들레와 털민들레를 사용하여 서양금혼초와 중간 어떠한 유사점과 차이점이 있는지 밝히고자 한다.

역사적 혹은 환경적인 이유로 우리나라로 유입된 생물종들이 많다. 그 사이에서도 왕성한 번식력으로 생태계에 미치는 영향이 크다고 알려진 생태계 교란식물들이 있는데 이에 서양금혼초가 포함된다. 서양금혼초는 제주 전역에 넓게 분포하고 있으며 서양민들레와 유사한 특성을 갖고 있어 지역 사람들에게

게 '개민들레' 라고도 불린다. 서양금혼초는 항산화, 항암, 항염증 활성이 보고되어 왔으나 가축이 먹을 경우에는 위장병 혹은 신장병을 유발하는 것으로 알려져 사용 시 안전성이 문제가 될 수 있다. 생태적 그리고 환경적으로도 악영향을 끼치고 있는 서양금혼초는 외래침입식물 등급 1순위로 평가되어 지속적인 모니터링과 구제활동의 필요가 요구되고 있는 식물이다.

세계보건기구는 약용식물에 대해 외. 내부형태학적인 특성을 확인하고 분류하는 것을 권고하였다[8]. 그래서 형태학적으로 식별이 가능한 요인을 찾아내는 것은 필요한 단계이다. 서양금혼초와 민들레속 식물은 비슷한 외부형태학적인 특성으로 한눈에 구분하기 어렵다. 육안으로 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레의 외부형태학적인 모습을 비교하였고 광학현미경을 통해 내부형태학적인 특성을 확인하였다. Scanning Electron Microscope(SEM)을 통해서도 세 가지 종의 잎 표면을 밀접하게 관찰하여 각각 구분이 가능한 요인에는 무엇이 있는지 알아보았다.

생약은 자연의 것을 채취하여 얻으므로 채집시기나 보존상태에 따라 유효성분의 함유량이 변화한다. 따라서 구체적인 생약의 품질 안정화를 위해서는 그 기준을 설정하여 생약의 변동성을 조절하고 일관성 확보가 가능한지에 대한 여부를 판단할 수 있어야 한다[9]. 이를 위해서 생약의 지표성분이 무엇인지 화학적인 성질을 이용한 성분학적 평가를 HPLC-DAD를 통해 진행하였고 표준품의 성분 프로파일 비교를 확인한 후 정량값을 계산하였다.

민들레는 오랜 기간 약용식물로 사용되어 왔다. 해열제, 해독제로 이용되기도 하며 식물의 사용 부위에 따라 쓰임이 다르다[10]. 이렇듯 같은 품종에서도 식물 부위나 채집 시기, 채집 장소 등에 따라 약리적인 성분 혹은 생리 활성이 달라질 수 있음을 판단할 수 있다[11]. 민들레는 부위별로 phenolic acid와 비타민류가 함유되어 있는 것으로 보고되어 왔으며 이들과 같이 항염, 항산화와 같은 여러 가지 생리활성이 확인되는 것으로 연구되어 왔다. 이와 같이 항산화 실험을 통해 서양금혼초와 서양민들레의 추출물에서 항산화 활성능력을

평가하고 비교하는 연구를 진행하였다.

이전 연구에서 서양금혼초를 민들레속 식물들과 함께 생약학적 연구방법으로 비교 분석한 결과를 확인하기 어려워 위 연구를 통해 형태학적, 성분학적, 생리활성 비교로 식물 간의 혼용되어 사용되는 것을 방지하고 구분법을 제시하여 국민보건향상에 기여하고자 한다.

본 연구에서는 국내에 자생하는 *Taraxacum* 속 2종과 외래침입식물 1종을 대상으로 식물의 잎, 꽃대, 뿌리의 조직에 대하여 외. 내부형태학적 관찰과 HPLC-DAD를 이용한 성분 프로파일 확인, DPPH를 통한 항산화 활성능력 평가 비교로 종 간의 식물학적 기원을 명확히 하고자 하였다.

제 1장 *Taraxacum*속 식물의 형태학적 연구

I. 서론

본 연구에서 사용된 식물 3종은 국화과의 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레이다. 다음은 이들의 특징이다.

서양금혼초 *Hypochaeris radicata* L.

서양금혼초는 국화과에 속하는 관속식물이며 꽃대는 여러 대가 나오고 높이는 평균 30~50 cm이다. 잎 양면에 털이 관찰되며 개화기는 5~6월 사이이고 노란색의 지름 3 cm 정도의 꽃이 줄기 끝에서 달린다. 유럽 원산의 귀화식물이며 목초지 등에 나는 여러해살이풀로 구분된다. 국내에는 1980년대 초에 목초 종자와 같이 유입되어 제주도 전역으로 확산되었으며, 생태계를 교란하는 식물이다. 다른 말로 개민들레, 민들레야재비라고도 불린다. 우리나라 서울, 전라도, 부산, 제주도 등지에서 발견되며, 북미와 아시아 전역에 귀화하여 분포한다[12].

서양민들레 *Taraxacum officinale* F. H. Wigg.

서양민들레는 국화과에 속하는 관속식물이며 뿌리는 굵고 잎은 모두 뿌리에서 난다. 개화기는 3~9월이며 노란색 꽃이 피고 꽃대는 평균 높이 5~10 cm이다. 서양민들레의 꽃대는 꽃이 진 후에 더 자라는 경우가 많다. 서양민들레는 유럽 원산의 귀화식물이며 들판이나 길가에 흔하게 자라는 여러해살이풀이다. 환경 조건이 나빠지면 단위생식으로 씨를 만든다. 우리나라의 민들레속 식물들과는 달리 서양민들레는 도시에서 흔하게 볼 수 있으며, 꽃이 피는 모양으로 구분되어진다. 어린잎은 식용, 뿌리는 약으로 사용하는 경우가 있다. 다

른 말로 양민들레, 들민들레라고도 불린다. 유럽 원산으로 우리나라 전역에 나
며, 북아메리카, 아시아 등에 귀화하여 분포한다[12].

털민들레 *Taraxacum mongolicum* Hand-Mazz.

털민들레는 국화과이며 숲, 들판, 풀밭 등에서 자라는 여러해살이풀이다. 개
화기는 5~7월에 피는데 노란색이고, 꽃대 끝에 한 개씩 달린다. 우리나라 전
역에 자라며, 중국에 분포한다. 민들레에 비해 총포 바깥에 거미줄 같은 흰 털
이 있어 구분되며 가축사료로 사용된다. 다른 말로 잔잎민들레라고도 불린다
[12].

II. 실험재료 및 방법

1. *Taraxacum*속 식물의 형태학적 연구

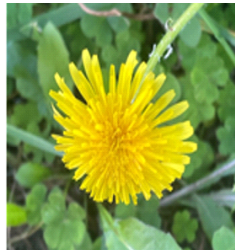
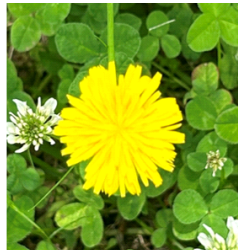
1.1. 식물재료

식물재료로는 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레 각 3가지 종을 잎(주맥 포함), 꽃대, 뿌리로 부위별로 나누어 관찰하였다. **Fig. 1**은 채집장소에서 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레의 모습을 직접 촬영한 사진이다.

본 연구에서 사용한 국화과 식물재료는 제주도 전역 및 경상남도 진주에서 2021~2022년 사이 봄(3~4월), 여름(6월), 가을(9~10월)로 나누어 채집한 후 (**Table 1**) 물로 씻어냈다. 채집한 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레(**Fig. 1**)의 식물을 잎, 꽃대, 뿌리별로 구분(**Table 2**)하여 30% ethanol에 침지시킨 것을 시료로 사용하였다. 세 종의 생육시기는 비슷하며 사용한 식물들의 정보는 **Table 1**과 같다. 서양금혼초는 2021년 6월에 제주도 제주시 아라동에서 채집한 전초를 부위별로 나누어 보관하였고, 2021년 9, 10월에는 제주도 제주시 월평동에서 채집한 전초를 개체별로 보관하였다. 서양민들레는 2021년 3월에 제주도 서귀포시 일과리에서 채집한 전초를 보관하였고 9월에는 제주도 제주시 아라동, 10월에는 제주도 제주시 월평동에서 채집한 전초를 개체별로 보관하였다. 2021년 9월에 채집한 서양민들레는 경상남도 진주시 충무공동에서 채집하였으며 채집한 개체들은 부위별로 나누거나 전초를 건조한 상태로 보관하였다. 털민들레는 2022년 4월에 제주도 서귀포시 서광리, 제주도 서귀포시 서광동리, 제주도 제주시 화북동에서 채집한 전초를 개체별로 보관하였다. 채집한 개체들은 흐르는 물로 세척하거나 붓으로 불순물을 털어낸 후 건조하여 현미경 관찰 및 추출물 제작에 사용하였다. 국화과 3종 식물인 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레는 miDNA 유전체 연구소의 유전자 감별을 받은 후에 사용하

였고, 남은 시료 및 표본은 제주대학교 약학대학 생약학 실험실에 보관중이다.

Fig 1. Field Photograph of Asteraceae species from Jeju Island





Botanical name	<i>H. radicata</i>	<i>T. officinale</i>	<i>T. mongolicum</i>
----------------	--------------------	----------------------	----------------------

Table 1. Information on the plants collected in this study

Korean Name	Botanical name	Code	Plants part	Collection sites	Collection date
시양근 환초	<i>H. radicata</i>	JNUP-2021-21	Root	Ara-dong, Jeju-si	2021.06.19
		JNUP-2021-22	Scape	Ara-dong, Jeju-si	2021.06.19
		JNUP-2021-23	Flower	Ara-dong, Jeju-si	2021.06.19
시양근 환초	<i>H. radicata</i>	JNUP-2021-50	Leaf	Ara-dong, Jeju-si	2021.06.19
		JNUPe-2021-19~31	Whole plant	Wolpyeong-dong, Jeju-si	2021.10.31
		JNUPe-2021-46	Whole plant	Wolpyeong-dong, Jeju-si	2021.09.11
시양근 환초	<i>H. radicata</i>	JNUP-2021-08	Whole plant	Ilgwa-ri, Seogwipo-si	2021.03
		JNUP-2021-166	Leaf	Chungmun-gong-dong, Jinju-si	2021.09.26
		JNUP-2021-167	Scape	Chungmun-gong-dong, Jinju-si	2021.09.26
시양근 환초	<i>T. officinale</i>	JNUP-2021-168	Root	Chungmun-gong-dong, Jinju-si	2021.09.26
		JNUPe-2021-01~18	Whole plant	Chungmun-gong-dong, Jinju-si	2021.09.26
		JNUPe-2021-32~45	Whole plant	Wolpyeong-dong, Jeju-si	2021.10.31
시양근 환초	<i>T. officinale</i>	JNUPe-2021-47~51	Whole plant	Ara-dong, Jeju-si	2021.09.11
		JNUPe-2022-01~05		Seogwang-ri, Seogwipo-si	
		JNUPe-2022-06~17	Whole plant	Seogwang-dong-ri, Seogwipo-si	2022.04.16
털민들레	<i>T. mongolicum</i>	JNUPe-2022-18~26		Hwabuk-dong, Jeju-si	

Fig. 2. A photograph of Asteraceae species part such as *H. radicata*, *T. officinale*, *T. mongolicum*

Korean Name	서양금혼초	서양민들레	털민들레
Botanical Name	<i>H. radicata</i>	<i>T. officinale</i>	<i>T. mongolicum</i>
Leaves			
			
Flower + Leaves			
			
Scapes			
			
Roots			
			

1.2. 시약

식물 관찰 보관용으로는 95% ethanol(Samchun Chemicals, Seoul, Korea)를 사용하여 30% ethanol으로 제작한 용매에 침지시킨 시료를 관찰에 이용하였고, 현미경 관찰에는 chloral hydrate로 Eau de javelle 8 mg/ml를 제작한 용액을 사용하여 잎의 색소와 뿌리의 전분을 뺀 후 관찰하였다. 프레파라트 제작 시 슬라이드글라스 고정용으로는 glycerol(Samchun Chemicals, Seoul, Korea)을 사용하였다. Scanning Electron Microscope(SEM) 촬영을 위한 전처리로 Dulbecco's phosphate buffer saline(Sigma Aldrich, Darmstadt, Germany)와 Glutaric Dialdehyde 50% solution in water(Samchun Chemicals, Seoul, Korea)을 사용하였다. SEM 촬영을 위한 전처리 시 탈수 과정에는 95% ethanol(Samchun Chemicals, Seoul, Korea), 99% ethyl alcohol(Samchun Chemicals, Seoul, Korea), acetone(Daejung Chemicals and Metals Co., Ltd., Shiheung, Korea)을 용매 그대로 혹은 희석하여 실험에 사용하였다.

1.3. Microscopy

내부형태학적인 관찰을 위해 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레를 부위별로 얇게 저민 뒤 프레파라트를 제작하여 세 종의 유사성과 차이점을 확인하였다. 엽록소의 빈도가 높은 잎은 Eau de javelle 수를 5~10 ml 처리하여 관찰하였으며, stainless blade(Dorco, Seoul, Korea)를 이용하여 손으로 section 하였다. 광학현미경은 LEICA DM2000 LED(Leica, Wetzlar, Germany)을 사용하였고 Mosaic 2.2.1 software를 통해 광학현미경 관찰 사진을 얻었다.

1.4. 내부형태학적 연구

서양금혼초, 서양민들레, 털민들레는 생육상태가 유사한 것을 채집하였고 이들의 잎, 꽃대, 뿌리를 blade로 이용하여 손으로 얇게 잘라냈다. 물과 글리세롤

을 1:1로 제작한 용액으로 시료를 고정시켜 제작한 프레파라트를 광학현미경으로 관찰하였다. 잎은 잎의 하면표피를 관찰하였고 잎의 1/2인 지점의 주맥을 선택하여 횡단면을 측정하였다. 꽃대는 1/3인 지점을 선택하였고 뿌리는 끝으로부터 1/2인 지점을 잘라내어 관찰하였다. 잎의 엽록소가 많거나 뿌리의 전분이 많은 경우 Eau de javelle를 처리한 절편을 프레파라트로 제작한 뒤 광학현미경으로 관찰하였다.

서양금혼초, 서양민들레, 털민들레의 건조된 잎을 사용하여 관찰하였다. Scanning Electron Microscope(SEM) 관찰 이전에 필요한 몇 가지 전처리(Hayat, 1989) 과정을 진행하였다. 0.05M phosphate buffer saline(PBS)에 2% glutaraldehyde를 포함하여 제조한 후 30초 동안 초음파 추출한 다음 실온에서 시료를 담아 2시간 동안 고정하였다. 고정이 끝나면 처음 제조했던 2% glutaraldehyde가 포함된 PBS로 10분 동안 3회 세척 후 ethanol series(30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%)를 통해 각각 10분씩 탈수하였다. 탈수된 시료를 100% acetone에 담아 30분 동안 2~3회 처리하여 치환하였다. 이렇게 처리한 시료는 sputter coater를 이용하여 진공상태에서 pt(백금)을 코팅한 후 기기 안 chamber에 담아 SEM 관찰을 진행하였다. 용매의 총 volume은 모두 10 ml로 제작하였다. 관찰에는 TESCAN MIRA3 FE-SEMs(TESCAN, Brno, Czech)을 사용하였고, TESCAN FE-SEM exclusive software을 이용하여 SEM 사진을 얻었다.

2. *Taraxacum*속 식물의 성분학적 연구

2.1. 식물재료

본 연구에 사용한 *H. radicata*, *T. officinale*, *T. mongolicum*의 전초는 2021 ~ 2022년 봄과 가을에 제주 일대에서 채집하여 사용하였다(Table 1). 채집 후 흐르는 물로 불순물을 제거한 뒤 그늘에서 말린 것을 실험에 사용하였다.

2.2. 시약 및 기기

HPLC에 사용한 시약은 WATERS와 SAMCHUN에서 구매하였고, 모두 LC grade를 사용하였다. HPLC 분석에는 methanol(ThermoFisher Scientific Korea Ltd., Seoul, Korea), acetonitrile(ThermoFisher Scientific Korea Ltd., Seoul, Korea), formic acid(ThermoFisher Scientific Korea Ltd., Seoul, Korea)를 사용하였다. HPLC instrument는 Agilent 1260 infinity II HPLC system(Agilent Technologies, Germany)를 사용하였고, HPLC column은 J'sphere ODS-H80 C18 (4.6 x 250mm, 4 μ m)(YMC, Kyoto, Japan)을 사용하여 실험을 진행하였다.

2.3. HPLC-DAD를 이용한 *Taraxacum*속 식물의 성분패턴분석

2.3.1. 시료액의 제조

시료제조로는 국화과 식물 3종을 각각 잘게 분쇄한 후, 70% ethanol로 30분씩 3회 초음파 추출하였다. 추출 이후 감압농축하여 얻은 ethanol 추출

물로부터 10 mg/ml 농도를 stock solution으로 제작하였고, stock solution을 희석한 시료도 실험에 사용하였다. 농도에 맞게 HPLC grade methanol로 시료를 제조하는 데 사용하였다. LC 시료로 제작하기 위해 불순물을 걸러주는 0.45 PTFE Filter를 사용한 후 vial에 담아 냉장보관하였다.

2.3.2. 표준액의 제조

표준품은 10 mg/ml를 stock solution으로 하였고 때때로 희석한 것을 실험에 사용하였다. HPLC grade Methanol로 시료를 제조하였고 calibration curve를 그려 농도 구배가 일정한지 확인하였다. chlorogenic acid와 chicoric acid의 농도는 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL로 calibration curve를 그렸고, caffeic acid와 luteolin의 농도는 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25 µg/mL로 calibration curve를 그렸다. 표준품 시료는 따로 filtering을 거치지 않고 LC vial에 담아 냉장보관하였다.

2.3.3. HPLC-DAD를 이용한 성분패턴분석

물과 Acetonitrile을 전개용매로 하여 **Table 2**와 같은 농도구배 조건 (Discrimination of Taraxaci Herba, 2017)으로 HPLC를 진행하였다. 파장은 330 nm, 측정용 컬럼은 J'sphere ODS H180 (150 × 4.6 mm, 4 µm, YMC, Kyoto, Japan)을 사용하였다. 시료 주입량은 10 µl이며, 데이터 분석에는 chemstation software (Agilent Technologies, USA)를 사용하였다. 각 시료에서 얻은 피크의 면적을 표준용액의 면적과 비교하여 정량하였다. 시료액과 표준액에 대하여 3회 반복하여 측정된 값을 사용하였다.

Table 2. HPLC-DAD gradient condition

Time (min)	A (%)	B (%)
0	90	10
15	85	15
16	80	20
25	75	25
40	40	60
45	40	60

* A : 0.1% FA in DW (%), B : 0.1% FA in ACN (%)

3. *Taraxacum*속 식물의 생리활성 연구

3.1. 시약 및 기기

시약은 DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)(ThermoFisher, USA), MeOH(Samchun, Korea), LAA(L-ascorbic acid)(Sigma, USA), BHT(2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol)(Sigma, USA)를 사용하였다. 기기는 microplate reader(TESCAN, Switzerland)를 사용하였다.

3.2. DPPH radical scavenging activity

3.2.1. 시약의 제조

시약은 DPPH를 MeOH에 녹여 200 μ M의 농도로 만든 후 차광하여 보관하였다. 실험 전 DPPH의 흡광도만을 먼저 확인한 후 실험을 진행하였다.

시료의 stock solution을 1mg/ml로 제작하여 serial dilution을 진행하는데 이 때 흡광도를 찍어보고 농도를 비교하여 조정하였다. DPPH와 methanol을 처리하였을 때 517 nm에서 흡광도가 0.440 정도인 것을 확인하였다. 시료는 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 μ g/ml의 농도구배로 제작되었다.

실험에 사용된 표준물질로는 L-ascorbic acid (LAA)와 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT)이다. LAA의 stock solution 농도는 10 μ g/ml로 하여 농도를 0, 0.3, 0.6, 1.25, 2.5, 5, 10 μ g/ml의 구배로 용액을 만들었고 BHT는 stock solution을 100 μ g/ml로 하여 농도

를 0, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/ml의 구배로 용액을 만들었다.

시료 준비가 다 끝나면 sample 160 µl에 만들었던 DPPH 용액 40 µl를 넣은 후 30분간 차광하여 실온에 보관하였다. 30분 후 517nm의 흡광도에서 측정하여 결과값을 아래 식으로 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = (A_0 - A_t) / A_0 \times 100$$

(A₀: Control의 흡광도, A_t: 샘플의 흡광도)

II. 실험 결과 및 고찰

1. *Taraxacum*속 식물의 형태학적 연구

1.1. 외부형태학적 특성

외부형태학적 특성으로는 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레를 부위별로 나누어 다음과 같은 기준을 정하고 비교하였다(Table 3). *H. radicata*의 전초는 *T. officinale*과 *T. mongolicum*에 비해 길이가 길었다. *H. radicata*의 근생엽 길이는 7~22cm, 폭 0.5~5cm이었다. *T. officinale*의 근생엽 길이는 5~15cm, 폭 0.5~3cm이었다. *T. mongolicum*의 근생엽 길이는 4~18cm, 폭 0.6~3cm이었다. *H. radicata*의 근생엽의 수는 다른 두 종에 비해 평균적으로 많았다. *H. radicata*의 꽃대 길이는 40~45 cm, 폭 0.12~0.3 cm이었다. *T. officinale*의 꽃대 길이는 5~27 cm, 폭 0.05~0.12 cm이었다. *T. mongolicum*의 꽃대 길이는 5~16 cm, 폭 0.3~0.5 cm이었다. *H. radicata*의 꽃대 길이가 *T. officinale*과 *T. mongolicum*에 비해 가장 길었으며 뿌리의 길이도 *H. radicata*가 5~15 cm로 가장 긴 것으로 확인되었으나 직경은 다른 두 종과 비슷한 폭을 보였다.

Table 3. External morphological characteristics of *H. radicata*, *T. officinale*, *T. mongolicum*

parameters	<i>Hypochaeris radicata</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	<i>Taraxacum mongolicum</i>
Total length(cm)	50 ~ 70	28 ~ 35	11 ~ 21
Leaf length(cm)	7 ~ 22	5 ~ 15	4 ~ 18
Leaf width(cm)	0.5 ~ 5	0.5 ~ 3	0.6 ~ 3
Number of Leaf	20 ~ 30	10 ~ 15	5 ~ 20
Scape length(cm)	40 ~ 45	5 ~ 27	5 ~ 16
Scape width(cm)	0.12 ~ 0.3	0.05 ~ 0.12	0.3 ~ 0.5
Root length(cm)	5 ~ 15	4 ~ 8	1 ~ 7
Root diameter(cm)	0.05 ~ 0.5	0.06 ~ 0.25	0.5 ~ 1
Flower length(cm)	1 ~ 1.5	1 ~ 2	2 ~ 3
Flower width(cm)	2 ~ 2.5	0.25 ~ 1	1 ~ 2.5

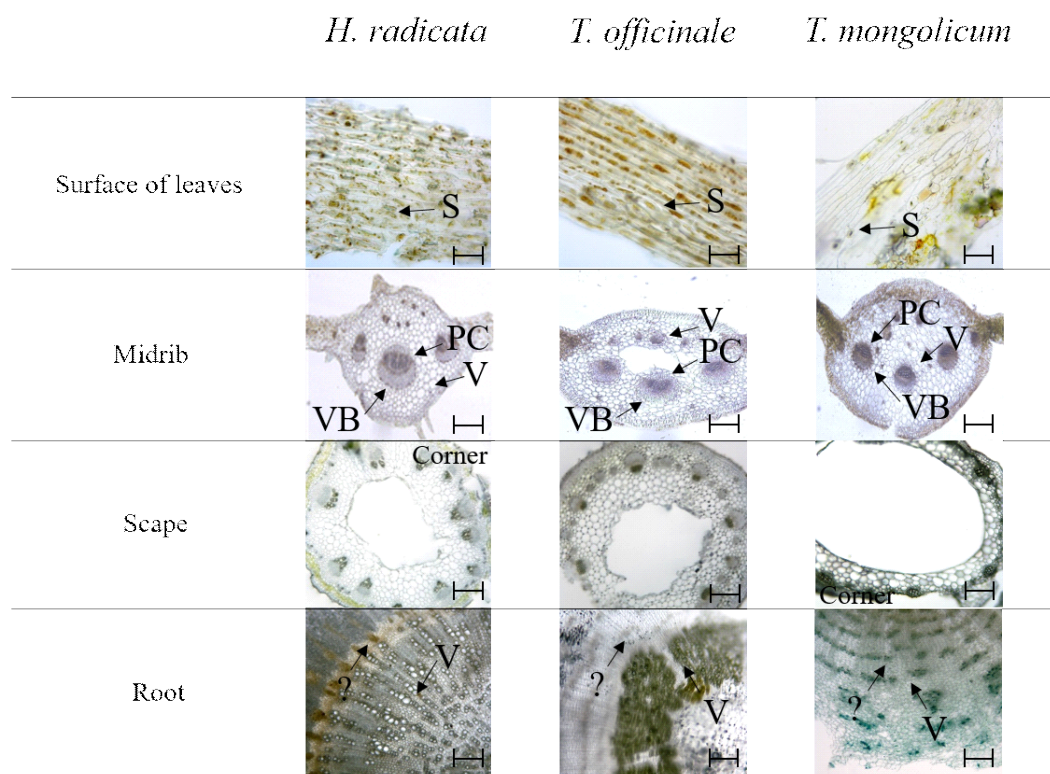
1.2. 내부형태학적 특성

광학현미경을 통한 내부형태학적인 특성으로는 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레의 부위를 잎, 꽃대, 뿌리로 나누어 관찰하였다(Fig. 3).

1.2.1. 잎(leaf)의 내부형태학적 특성

잎(leaf)의 하면표피에서 기공(stomata)을 제일 먼저 확인할 수 있었다(Fig. 3). 기공은 공변세포와 부세포로 구성되며 부세포는 공변세포를 지지하고 균형 유지의 역할을 한다. 부세포는 식물의 종에 따라 위치와 형태가 다르며, 이는 잎의 대표적인 특징이다. 부세포의 분포 양상에 따라 크게 부재형, 부등형, 교차형, 평행형, 방사형 기공으로 나뉜다. 부재형은 특별한 형태의 부세포 없이 표피세포와 유사한 불규칙한 공변세포가 둘러싸고 있고, 부등형은 크기가 다른 3개의 부세포에 둘러싸인 기공으로 부세포 한 개가 다른 부세포들에 비해 월등히 큰 특징을 보인다. 교차형은 부세포가 공변세포와 기공에 대해 수직적으로 분포하는 형태이며 평행형은 부세포가 공변세포와 평행 분포, 방사형은 여러 개의 부세포들이 공변세포 중심으로 방사상 분포하는 기공의 형태를 지닌다[13]. 국화과의 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레의 기공과 부세포 유형은 모두 부재형의 유형을 보이는 것을 확인하였다.

Fig. 3. Internal morphological characteristics of three Asteraceae species



* S : Stomata, VB : Vascular Bundle, PC : Parenchyma Cell, V : Vessel

┆ Scale bar : 100 μ m

Table 4. Anatomical Characteristics of leaves(midribs) from selected three Asteraceae species

parameters	<i>H. radicata</i>	<i>T. officinale</i>	<i>T. mongolicum</i>
Diameter of vascular bundle (μm)	31.53 \pm 12.16	23.47 \pm 2.49	28.22 \pm 0.81
Diameter of vessel (μm)	8.67 \pm 0.83	5.2 \pm 0.62	5.86 \pm 0.47
Diameter of Parenchyma cell in vascular bundle (μm)	27.41 \pm 9.73	19.01 \pm 2.01	22.82 \pm 1.75
Number of druse (in mm^2)	7	8	8
Number of vascular bundle	3	4	6

서양금혼초, 서양민들레, 털민들레의 잎의 주맥(midrib)은 관다발(vascular bundle) 및 도관(vessel)의 직경, 관다발 안 후각세포(parenchyma cell)의 직경, 집정(druse)의 수, 관다발의 수로 비교하였다(**Table 4**). 그 결과, 서양금혼초의 관다발 및 도관의 직경이 서양민들레, 털민들레에 비해 컸으며 도관의 직경도 다른 두 종보다 넓은 것을 확인하였다. 집정의 수는 세 종 모두 비슷한 수를 나타내었지만 관다발의 수는 털민들레가 서양금혼초, 서양민들레에 비해 6개로 높은 빈도수를 보였다(**Fig. 3**).

1.2.2. 꽃대(scape)의 내부형태학적 특성

서양금혼초, 서양민들레, 털민들레의 꽃대(scape)는 꽃대 절편의 모서리(corner) 수, 관다발(vascular bundle)의 수, 도관(vessel)의 직경으로 비교하였다(**Table 5**). 털민들레에서 서양금혼초와 서양민들레에 비해 뚜렷하고 각진 모서리를 관찰하였으며 그 수도 많았다. 반면, 서양민들레의 꽃대는 각진 모양의 모서리가 없이 둥근 모습으로 관찰되었다. 털민들레에서 관다발의 빈도가 6개로 가장 많았으며 서양민들레 도관의 직경이 $22.07 \pm 3.87 \mu\text{m}$ 로 서양금혼초, 털민들레보다 넓은 폭을 보였다(**Fig. 3**).

Table 5. Anatomical Characteristics of scapes from selected three Asteraceae species

parameters	<i>H. radicata</i>	<i>T. officinale</i>	<i>T. mongolicum</i>
Number of corner	8	-	21
Number of vascular bundle	12	8	22
Diameter of vessel (μm)	19.45 \pm 1.59	22.07 \pm 3.87	15.58 \pm 3.17


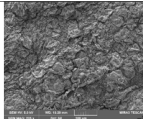
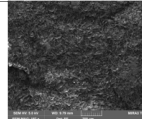

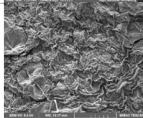
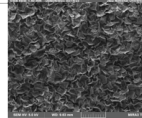
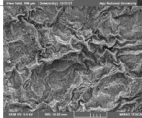
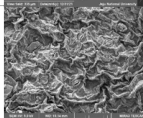
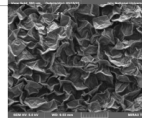

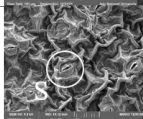
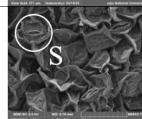
1.2.3. 뿌리(root)의 내부형태학적 특성

서양금혼초, 서양민들레, 털민들레의 뿌리(root)는 도관(vessel)과 형성층(cambium)의 직경으로 비교하였다(**Table 6**). 형성층은 Hoang 등의 이전 연구에서 확인된 부위임을 알 수 있었다[14]. 서양민들레의 도관 직경이 $14.02 \pm 0.44 \mu\text{m}$ 로 서양금혼초, 털민들레보다 작은 폭을 보였다. 형성층 직경은 $19.45 \pm 1.59 \mu\text{m}$ 로 서양금혼초가 가장 넓었다(**Fig. 3**). 또한 SEM 관찰을 통해 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레 3종의 잎을 내부형태학적으로 비교하였다(**Fig. 4**). 다른 종들과는 달리 서양금혼초는 잎의 표면에서 검상모 유형의 털이 존재하는 모습을 보였다.

Table 6. Anatomical Characteristics of roots from selected three Asteraceae species

parameters	<i>H. radicata</i>	<i>T. officinale</i>	<i>T. mongolicum</i>
Diameter of vessel (μm)	22.44 \pm 1.44	14.02 \pm 0.44	22.15 \pm 3.87
Diameter of cambium (μm)	25.78 \pm 1.75	17.58 \pm 0.89	13.04 \pm 2.32

Fig. 4. Scanning Electron Microscope(SEM) Photographs of three Asteraceae species

Magnification	<i>H. radicata</i>	<i>T. officinale</i>	<i>T. mongolicum</i>
X 200			
X 500			
X 1000			
X 2000			

* S : Stomata

Fig. 5. External morphological characteristic of *H. radicata*'s leaf



upper surface of leaf



lower surface of leaf

또한 실체현미경으로 관찰한 서양금혼초의 잎 앞면과 뒷면에서 털이 존재하는 것을 육안으로 확인할 수 있었다(Fig. 5).

광학현미경을 통해 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레 3종을 부위별로 분류하여 형태학적인 특성을 기준으로 나눠 비교하였고 SEM 관찰을 통해 3종의 잎의 표면 중 서양금혼초 잎의 털을 뚜렷하게 관찰할 수 있었다.

1.3. 고찰

세 종의 내부형태학적 특성은 부위별로 나누어 관찰하였으며 주사전자현미경 SEM을 통해서 세 종의 잎 표면을 관찰하였다. 외부형태학적으로 서양금혼초의 전초는 서양민들레, 털민들레에 비해 길이가 길었으며 근생엽의 길이와 꽃대의 길이 및 뿌리의 길이 또한 평균적으로 다른 두 종에 비해 긴 모습을 보였다.

잎의 하면표피를 관찰한 결과, 세 종 잎에서 모두 부재형 유형의 기공을 보였으며 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레의 잎의 주맥은 관다발 및 도관의 직경, 관다발 안 후각세포의 직경, 집정의 수, 관다발의 수로 비교하였더니 서양금혼초의 관다발 및 도관의 직경이 서양민들레, 털민들레에 비해 컸으며 도관의 직경도 다른 두 종보다 넓은 것을 확인하였다. 하지만 관다발의 수는 털민들레가 서양금혼초, 서양민들레에 비해 높은 빈도수를 나타냈다.

서양금혼초, 서양민들레, 털민들레의 꽃대는 꽃대 절편의 모서리 수, 관다발의 수, 도관의 직경으로 비교하였더니, 털민들레에서 서양금혼초와 서양민들레와는 달리 뚜렷하고 각진 모서리를 확인할 수 있었다. 반면, 서양민들레의 꽃대는 각진 모양의 모서리 없이 둥근 모습으로 관찰되었고 털민들레에서는 관다발의 빈도가 6개로 가장 많았으며 서양민들레 도관의 직경이 서양금혼초, 털민들레보다 넓은 폭을 보였다.

서양금혼초, 서양민들레, 털민들레의 뿌리는 도관 vessel과 형성층 cambium의 직경으로 비교하였으며 서양민들레의 도관 vessel 직경이 서양금혼초, 털민

들레보다 작은 폭을 보였다. 형성층 cambium 직경은 서양금혼초가 가장 넓은 것을 확인하였다.

또한 SEM 관찰을 통해 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레 3종의 잎을 내부형 태학적으로 비교한 결과 다른 종들과는 달리 서양금혼초는 잎의 표면에서 겹상모 유형의 털이 존재하는 모습을 보였다. 서양금혼초의 실체현미경 관찰로 잎 상,하면에서 털의 모습을 육안으로 확인할 수 있었다.

2. *Taraxacum*속 식물의 성분학적 연구

2.1. HPLC-DAD를 이용한 *Taraxacum*속 식물의 성분패턴분석

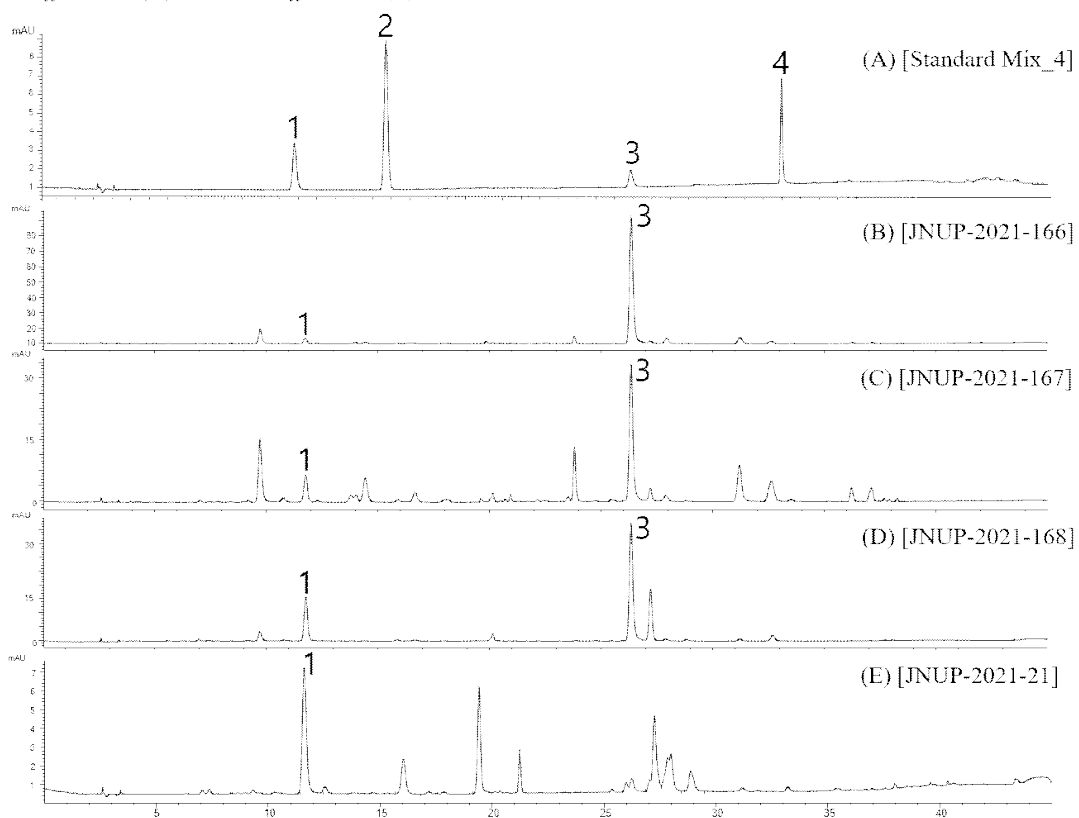
2.1.1 부위 및 종별 성분패턴분석

*Taraxacum*속 식물 2종 서양민들레, 털민들레와 생태계 교란식물인 서양금혼초 간의 성분학적인 차이가 있는지 정확한 확인을 위해 잎, 꽃대, 뿌리 부위별 추출물로 HPLC-DAD를 이용하여 성분패턴분석을 진행하였다.

TCI(Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.)사에서 구입한 4가지 표준품으로 standard mix를 500 µg/mL으로 제작하여 chromatogram profile을 비교하였다.(Fig. 6(A)) chlorogenic acid(1), caffeic acid(2), chicoric acid(3), luteolin(4) 중에서 chlorogenic acid(1)과 chicoric acid(3)가 JNUP-2021-166(서양민들레(잎))(Fig. 6(B)), JNUP-2021-167(서양민들레(꽃대))(Fig. 6(C)), JNUP-2021-168(서양민들레(뿌리))(Fig. 6(D)) *T. officinale*과 JNUP-2021-21(서양금혼초(뿌리))(Fig. 6(E)) *H. radicata*에서 모두 확인되었다. 표준품 chlorogenic acid(1)은 *T. officinale*의 잎, 꽃대, 뿌리 중 JNUP-2021-166에서 가장 많은 함량을 보였고, *H. radicata*인 JNUP-2021-21는 chlorogenic acid만 검출되었다.(Fig. 6)

Standard Mix에서 확인되는 chlorogenic acid(1)는 약 11분, caffeic acid(2)는 약 15분, chicoric acid(3)는 약 26분, luteolin(4)은 약 37분의 RT에서 검출되었다.

Fig. 6. HPLC UV Chromatogram of *T. officinale* and *H. radicata* plant parts at 330nm. (A) A Standard Mix made of chlorogenic acid, caffeic acid, chicoric acid, luteolin, (B) Leaf of *T. officinale*, (C) Scape of *T. officinale*, (D) Root of *T. officinale*, (E) Root of *H. radicata*.



2.1.2. 장소별 성분패턴분석

장소별 성분패턴분석은 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레 전초를 각각 다른 세 장소에서 채취한 시료들로 추출물을 제작하여 추출물의 성분 패턴을 분석하였다. HPLC-DAD 성분분석에 이용한 식물 추출물 번호 및 채집장소의 정보는 **Table 1**과 같다.

Fig. 7. HPLC UV Chromatogram of *T. officinale*, *T. mongolicum* and *H. radicata* by region whole plant at 330nm. Standard 1, chlorogenic acid, 2, caffeic acid, 3, chicoric acid, 4, luteolin

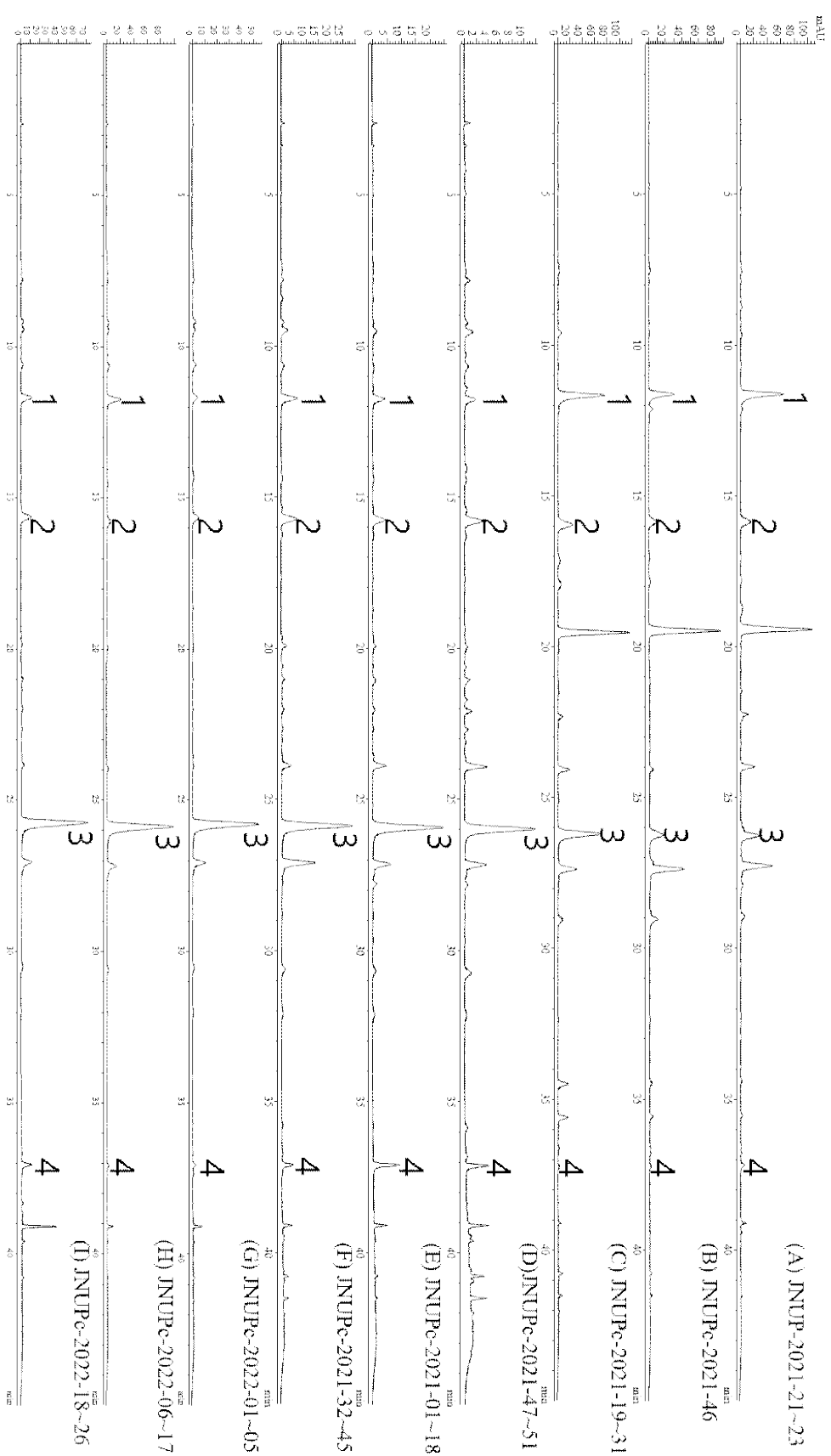


Fig. 7의 chromatogram (A), (B), (C)는 서양금혼초의 채집장소별 전초 성분 프로파일이고, (D), (E), (F)는 서양민들레의 채집장소별 전초 성분 프로파일, (G), (H), (I)는 털민들레의 채집장소별 전초 성분프로파일을 나열한 것이다. 모든 프로파일에서 **Fig. 6**의 표준품 프로파일과 동일한 머무름 시간을 비교하였고 정량이 가능할 정도의 peak이 확인되어 정량평가를 진행하였다.

각 표준품에서 그려진 chlorogenic acid, caffeic acid, chicoric acid, luteolin calibration curve는 다음과 같다.

Table 7. HPLC peak area of chlorogenic acid in five concentration ranges

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Peak area	Calibration curve	R^2
6.25	97.326		
12.5	197.9	$y = 16.544x - 1.5033$	0.9997
25	413.18		
50	845.6		
100	1643.9		

Fig. 8. Calibration curve for chlorogenic acid in five concentration ranges

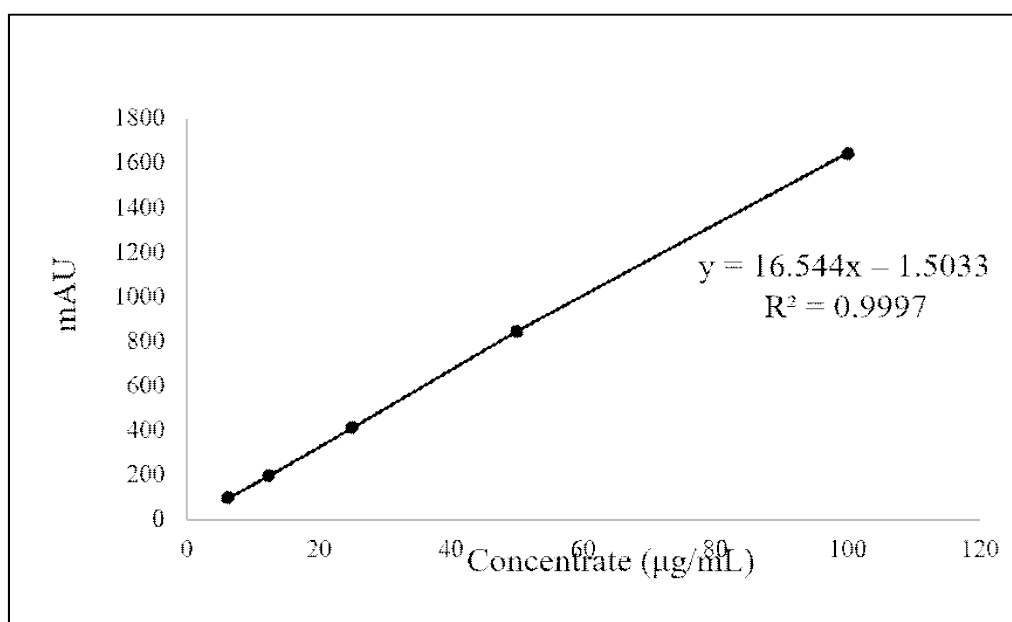


Table 8. HPLC peak area of caffeic acid in five concentration ranges

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Peak area	Calibration curve	R ²
1.56	40.473		
3.12	83.244		
6.25	169.29	$y = 26.841x -$	1
12.5	336.34	0.0583	
25	670.25		

Fig. 9. Calibration curve for caffeic acid in five concentration ranges

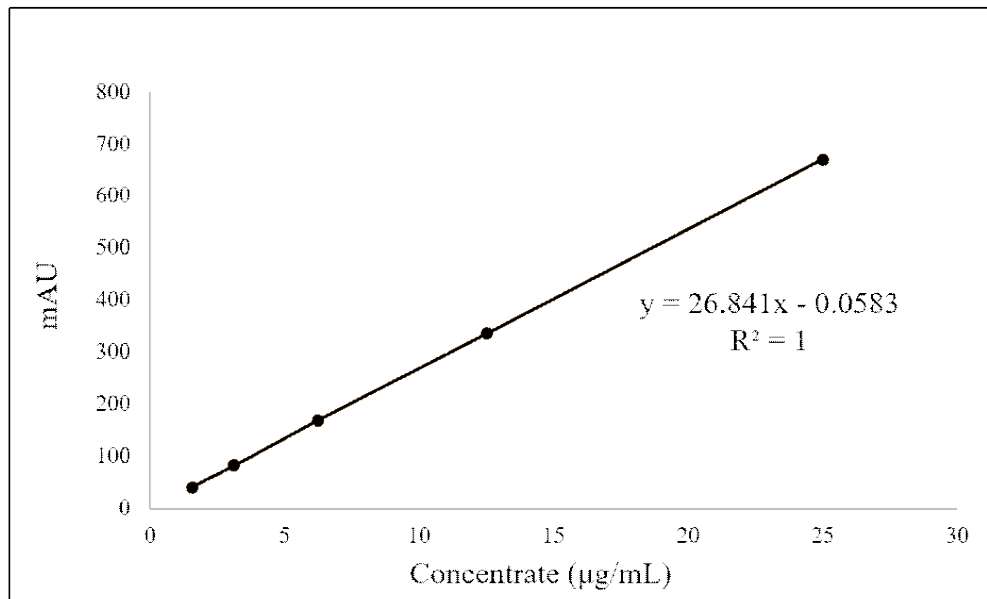


Table 9. HPLC peak area of chicoric acid in five concentration ranges

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Peak area	Calibration curve	R ²
6.25	45.045		
12.5	98.235	$y = 12.753x - 66.477$	0.9959
25	236.74		
50	525.6		
100	1232.8		

Fig. 10. Calibration curve for chicoric acid in five concentration ranges

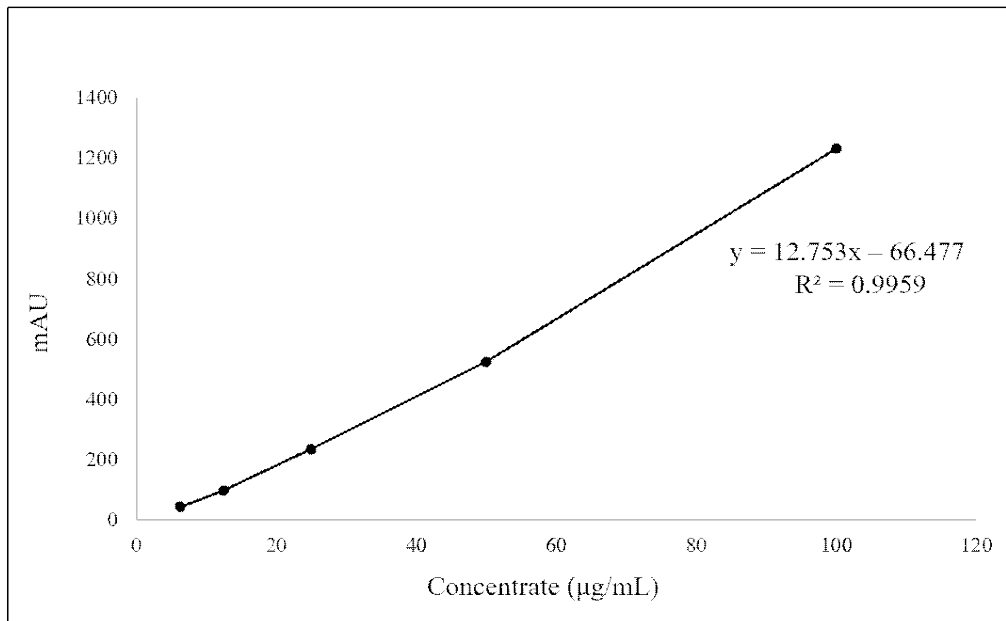
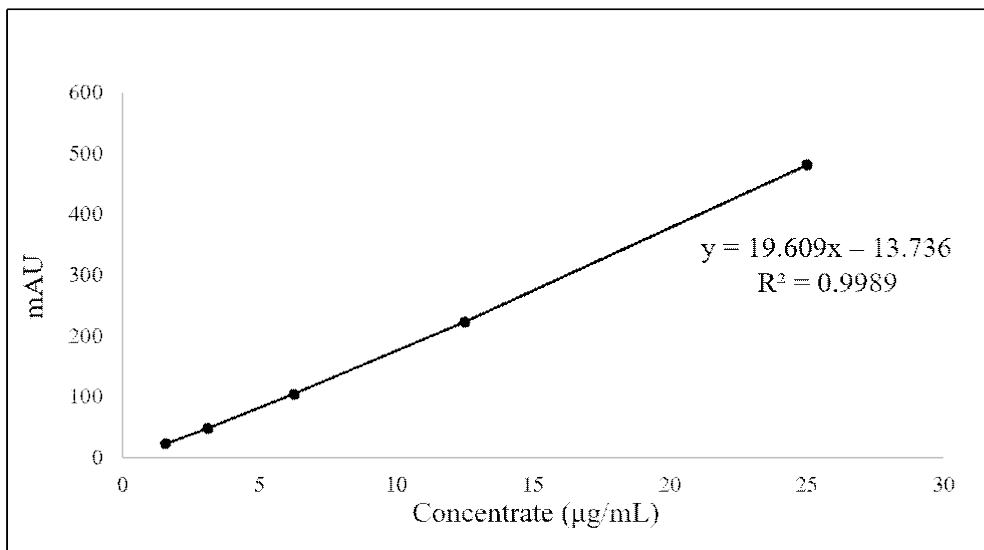


Table 10. HPLC peak area of luteolin in five concentration ranges

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Peak area	Calibration curve	R^2
1.56	23.469		
3.12	48.816		
6.25	104.35	$y = 19.609x -$	0.9989
12.5	223.27	13.736	
25	481.07		

Fig 11. Calibration curve for luteolin in five concentration ranges



2.2. HPLC-DAD를 이용한 성분 정량분석

2.2.1. 부위 및 종별 패턴 분석

검출된 표준품 chlorogenic acid(1)과 chicoric acid(3)은 정량이 가능한 정도의 peak을 나타내어 calibration curve를 그린 후 정량을 진행하였다(Table 13). 서양민들레의 꽃대에서 chlorogenic acid가 0.72 ± 0.0004 mg/g DW로 가장 높은 함량을 보였고, 서양민들레의 잎에서 1.2 ± 0.04 mg/g DW의 chicoric acid(3)가 함유되어 있는 것으로 확인되었다.

2.2.2. 장소별 패턴 분석

표준품 chlorogenic acid(1)은 제주시 월평동에서 채집한 서양금혼초 JNUP-2021-19~31에서 가장 많은 함량을 보였고, 표준품 caffeic acid(2) 또한 서양금혼초 JNUP-2021-19~31에서 가장 많은 함량을 보였다. 표준품 chicoric acid(3)은 털민들레 JNUPc-2022-06~17에서 상당한 함량을 보였으며 표준품 luteolin(4)는 비교적 정량 결과가 다른 표준품들에 비해 편차가 크지 않는 모습을 확인할 수 있었다. 표준품 luteolin(4)는 털민들레 JNUPc-2022-18~26에서 높은 함량을 나타냈다.

Table 11. Quantification of 4 Standard in *H. radicata*, *T. officinale* and *T. mongolicum*

Plant information		Quantification(mg/g D.W)			
Code	Botanical name	Chlorogenic Acid	Caffeic Acid	Chicoric Acid	Luteolin
JNUP-2021-21~23	<i>H. radicata</i>	0.87 ± 0.01	0.16 ± 0.00	0.75 ± 0.06	0.06 ± 0.01
JNUPc-2021-47~51	<i>T. officinale</i>	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.93 ± 0.24	0.09 ± 0.01
JNUPc-2022-01~05	<i>T. mongolicum</i>	0.08 ± 0.00	0.08 ± 0.03	2.48 ± 0.96	0.06 ± 0.01

Table 11는 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레 3종 전초 추출물을 3번 반복한 HPLC 결과를 토대로 정량을 진행한 표이다. 서양금혼초는 chlorogenic acid(1)가 0.868 ± 0.012 mg/g D.W로 표준품 4가지 중 가장 높은 함량을 보였고, 서양민들레는 chicoric acid(3)이 0.929 ± 0.239 mg/g D.W로 가장 높은 함량을 나타냈다. 털민들레는 표준품 사이에서 유독 chicoric acid(3) 함량이 높았으며, 2.475 ± 0.956 mg/g D.W로 서양금혼초, 서양민들레의 chicoric acid(3) 함량보다도 훨씬 많은 함량값을 확인하였다.

2.2.3. 고찰

*Taraxacum*속 식물 2종 서양민들레, 털민들레와 침입식물인 서양금혼초 간의 성분학적인 차이가 있는지 정확한 확인을 위해 잎, 꽃대, 뿌리 부위별 추출물로 HPLC-DAD를 이용하여 성분패턴분석을 진행하였다. 장소별 성분패턴분석은 세 종 전초를 각각 다른 세 장소에서 채취한 시료들로 추출물을 제작하여 추출물의 성분 패턴을 분석하였다.

검출된 표준품 chlorogenic acid(1)과 chicoric acid(3)은 정량이 가능한 정도의 peak를 나타내어 calibration curve를 그린 후 정량을 진행하였다. 서양민들레의 꽃대에서 chlorogenic acid(1)가 가장 높은 함량을 보였고, 서양민들레의 잎에서 chicoric acid(3)이 확인되었다. 표준품 chlorogenic acid(1)은 제주도 월평동에서 채집한 서양금혼초 JNUP-2021-19~31에서 가장 많은 함량을 보였고, 표준품 caffeic acid(2) 또한 서양금혼초 JNUP-2021-19~31에서 가장 많은 함량을 보였다. 표준품 chicoric acid(3)은 털민들레 JNUPc-2022-06~17에서 상당한 함량을 보였으며 표준품 luteolin(4)는 털민들레 JNUPc-2022-18~26에서 높은 함량을 나타냈다.

3. *Taraxacum*속 식물의 생리활성 연구

1. *Taraxacum*속 식물의 종별 DPPH 라디칼 소거능 비교

서양금혼초와 서양민들레, 털민들레의 전초 항산화 활성을 확인한 결과 서양금혼초 80%, 서양민들레 65%, 털민들레 47%로 서양금혼초의 항산화능이 서양민들레, 털민들레보다 높은 것을 확인하였다(Fig. 12). 이로써 서양금혼초의 항산화 활성이 서양민들레, 털민들레에 비해 대체적으로 높은 것을 알 수 있다.

DPPH 결과를 통해 IC₅₀값을 확인할 수 있었다(Table. 12). control인 LAA(L-ascorbic acid)와 BHT(2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol)의 IC₅₀ 값은 각각 $2.86 \pm 0.03 \mu\text{g/ml}$ 와 $1.68 \pm 0.07 \mu\text{g/ml}$ 이다. 서양금혼초의 IC₅₀값은 $2.18 \pm 0.04 \mu\text{g/ml}$ 로 BHT의 IC₅₀값에 근접한 결과를 확인할 수 있었다.

이전 연구에서 서양금혼초의 항산화 연구 혹은 민들레속 식물 간의 항산화 활성능력 평가를 각각 확인한 문헌들은 있지만 서양금혼초와 민들레속 종들의 항산화 활성능력을 비교한 연구결과는 확인하기 어려웠다. 서양금혼초의 항산화 활성능력이 서양민들레, 털민들레보다 높은 결과가 나타난 것으로 보아 DPPH뿐만이 아닌 ABTS와 같은 다른 항산화 연구로도 활성평가를 확인해볼 필요가 있는 것으로 보인다.

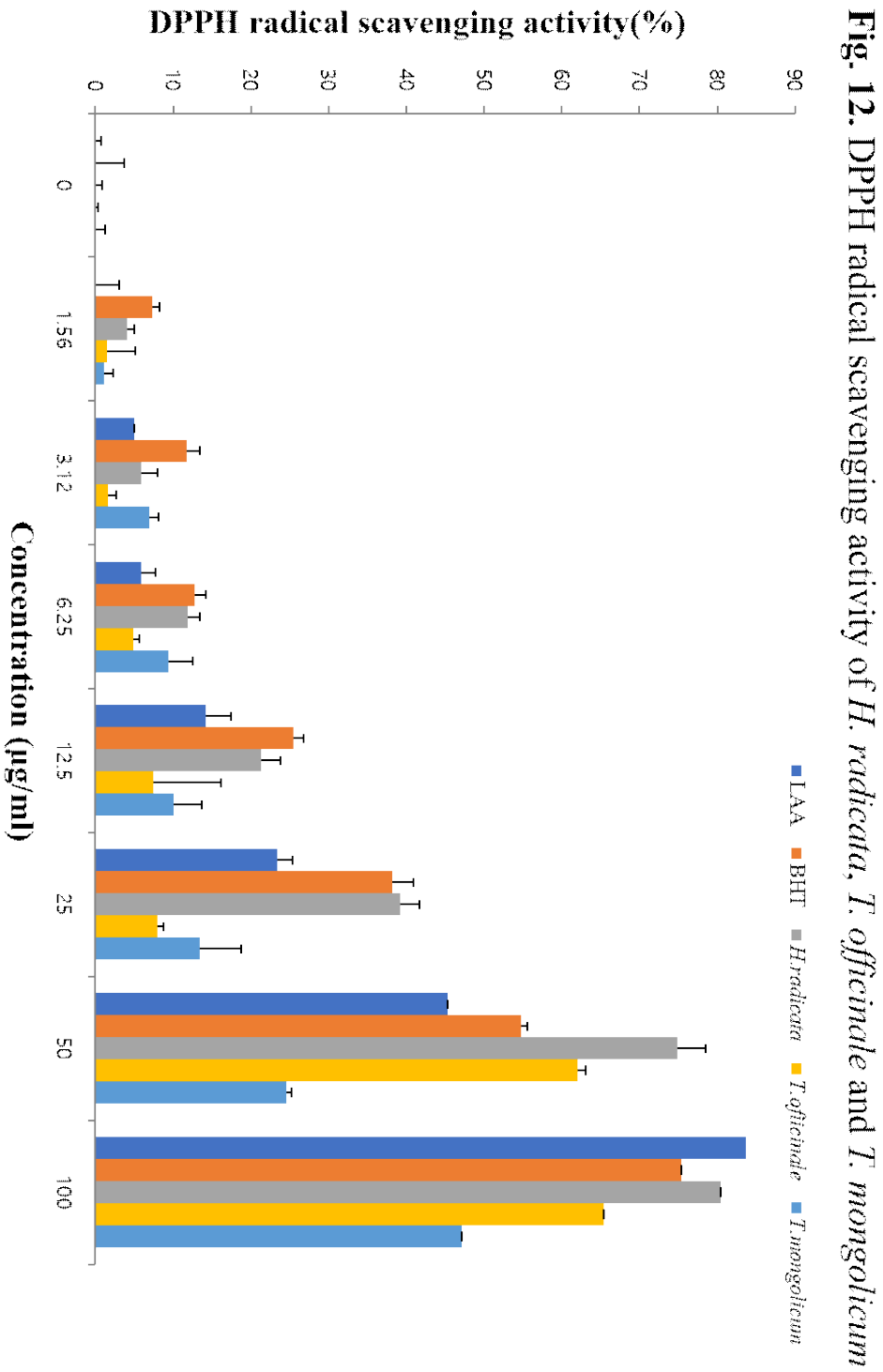


Table 12. IC50 values of *H. radicata*, *T. officinale* and *T. mongolicum*

sample	LAA	BHT	<i>H. radicata</i>	<i>T. officinale</i>	<i>T. mongolicum</i>
IC50($\mu\text{g/ml}$)	2.86 ± 0.03	1.68 ± 0.07	2.18 ± 0.04	17.09 ± 2.38	3.3 ± 0.07

IV. 결론

위 연구는 개화기에 채집한 서양금혼초와 민들레속 식물 두 종인 서양민들레, 털민들레로 형태학적, 성분학적, 항산화 활성평가 연구를 진행하였다. 서양금혼초는 국화과의 다년생 잡초로 우리나라에서 생태계교란종으로 지정되었으며 본 연구를 통해 서양금혼초의 유용성을 파악하고자 하였다.

세 종의 외·내부형태학적 특성은 부위별로 나누어 광학현미경 및 실체현미경으로 관찰하였다. 주사전자현미경 SEM을 통해서 세 종의 잎 표면을 관찰하였다. 외부형태학적인 특성으로 서양금혼초의 전초 크기는 서양민들레, 털민들레에 비해 컸으며 근생엽의 길이와 꽃대 및 뿌리의 길이 또한 평균적으로 다른 두 종에 비해 긴 모습을 보였다. 광학현미경을 통해 잎의 하면표피를 관찰한 결과, 세 종 잎에서 모두 부재형 유형의 기공을 보였다. 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레의 내부형태학적인 특성으로 잎의 주맥, 꽃대, 뿌리를 여러 가지 factor로 구분하여 비교하였다. 또한 주사전자현미경 SEM 관찰을 통해 서양금혼초, 서양민들레, 털민들레 3종의 잎 하면표피를 내부형태학적으로 비교한 결과 다른 종들과는 달리 서양금혼초는 잎의 표면에서 겹상모 유형의 털이 존재하는 모습을 보였다. 서양금혼초의 실체현미경 관찰로 잎 상,하면표피에서 털의 모습을 육안으로 확인할 수 있었다.

서양금혼초와 *Taraxacum*속 식물 2종 서양민들레, 털민들레 간의 성분학적인 차이가 있는지 정확한 확인을 위해 잎, 꽃대, 뿌리 부위별 성분패턴분석과 각각 다른 장소별 성분패턴분석으로 HPLC-DAD를 이용하여 성분패턴분석을 진행하였다. 검출된 표준품 chlorogenic acid(1)과 chicoric acid(3)은 정량이 가능한 정도의 peak을 나타내어 calibration curve를 그린 후 정량을 진행하였다. 표준품 chlorogenic acid(1)은 제주시 월평동에서 채집한 서양금혼초가 가장 많은 함량을 보였고, 표준품 caffeic acid(2) 또한 서양금혼초에서 가장 많은 함량을 보였다. 표준품 chicoric acid(3)은 서귀포시 서광동리에서 채집한 털민

들레에서 상당한 함량을 보였으며 표준품 luteolin(4)는 제주도 화북동에서 채집한 털민들레에서 높은 함량을 확인하였다.

서양금혼초와 서양민들레, 털민들레의 전초 항산화 활성을 확인한 결과 서양금혼초 80%, 서양민들레 65%, 털민들레 47%로 확인되었다. DPPH 결과를 통해 IC50값을 확인한 결과 control인 BHT의 IC50 값은 $1.68 \pm 0.07 \mu\text{g/ml}$ 이다. 서양금혼초의 IC50값은 $2.18 \pm 0.04 \mu\text{g/ml}$ 로 BHT의 IC50값에 근접한 결과를 확인할 수 있었다. 서양금혼초의 항산화능이 서양민들레, 털민들레보다 높은 활성능력을 보였다. 하지만 이전 연구에서 서양금혼초와 민들레속 식물간의 항산화 능력을 확인한 논문을 찾기 어려웠으며 유의미한 결과 확인을 위해서는 다양한 항산화 활성실험을 진행해야 할 것으로 사료된다.

본 연구의 목적은 각 식물의 확실한 진위여부 판단을 위해 국내 자생하는 *Taraxacum* 속의 두 종 서양민들레, 털민들레와 생태계 교란종 서양금혼초 간의 종 간 차이점을 규명하는 것이다. 위 연구방법을 통해 국내 자생하는 민들레 종과 유사 귀화식물의 혼용을 방지하는 인증방법을 제시할 수 있으며, 서양금혼초에서의 성분분석을 통해 생태계 교란식물의 초기 활용방안을 제안할 수 있다.

모든 수치는 평균과 표준편차로 표기하였으며 Microsoft Excel을 이용하였다.

V. 참고문헌

1. 김현구, 기능성식품 소재로서 생물활성 천연물의 국내 연구동향. 한국식품과학회지 1995;28(3):75-105
2. 안병민, 생약재에 의한 간 손상. 대한의사협회지 2005;318-324
3. 천상옥, 서양민들레 부위별 추출물의 항산화 및 세포독성 연구. 한국자원식물학회지 2012; 韓資植誌 25(2):232-239
4. 박종희, 대한약초백과도감. 2012;1382-1387
5. 한소희, 민들레(*Taraxacum mongolicum* H.) 추출분획물이 위장보호에 미치는 효능 평가. 한국식품과학회지 2005;37(1):84-89
6. Natalie Cortés, Microscopical descriptions and chemical analysis by HPTLC of *Taraxacum officinale* in comparison to *Hypochaeris radicata*: a solution for mis-identification. Rev Bras Farmacogn 2014;381-388
7. Chun Hu, Antioxidant, Prooxidant, and Cytotoxic Activities of Solvent-Fractionated Dandelion (*Taraxacum officinale*) Flower Extracts in Vitro. J. Agric. Food Chem 2003(51):301-310
8. WHO, Quality control methods for medicinal plant materials World Health Organization Geneva. 1998:16-27
9. 식품의약품안전처, 생약의 품질자료 작성 가이드라인 2020;6-21
10. 이현화, Cytotoxic and Antioxidant Effects of *Taraxacum coreanum* Nakai. And *T. officinale* WEB. Extracts. 한국약용작물학회지 2008;16(2):79-85
11. 임도연, A Comparative Study on Antioxidative Activity of Extracts from *Taraxacum coreanum* and *Taraxacum officinale*. 한국미용학회지 2011;17(3):544-549
12. 국립생물자원관, 국가생물종정보관리체계구축 2016
13. 이규배, 식물형태학 2021.
14. Nam V. Hoang, Identification of Conserved Gene-Regulatory Networks that Integrate Environmental Sensing and Growth in the Root Cambium. Current Biology 2020; 30, 2887-2900
15. TSUNEO NAMBA, Pharmacognostical Studies on the Chinese Crude Drug "Pu gong ying" (1) The Plant Origin of "Pu gong ying" from Taiwan (I).

- The Japanese journal of pharmacognosy 1987; 41(4), 289~300
16. TSUNEO NAMBA, Pharmacognostical Studies on the Chinese Crude Drug "Pu gong ying" (2) The Plant Origin of "Pu gong ying" from Taiwan (II). The Japanese journal of pharmacognosy 1987; 41(4), 301~307
 17. TSUNEO NAMBA, Pharmacognostical Studies on the Chinese Crude Drug "Pu gong ying" (3) On the General Structure of Underground Parts of *Taraxacum* Plants and the Botanical Origin of "Hokoei" from Shikoku District. The Japanese journal of pharmacognosy 1987; 41(4), 318~325
 18. AKIHITO TAKANO, Pharmacognostical Studies on the Chinese Crude Drug "Pu gong ying"(4) On the Botanical Origin of "Hokoei" from Nagano and Gunma Prefectures. The Japanese Society of Pharmacognosy 1987;41(4):326~332
 19. Tatuyoshi Morita, Phytogeography and speciation of *Taraxacum* (Asteraceae) in East Asia. Kor. J. Plant Tax. 1994;24(3):145-155
 20. 강혜순, 두 외래종 민들레 번식 특성의 계절적 변이. Korean J. Ecol., 1998;21(5-1):475-486
 21. Young-Hee Ahn, Analysis of Genetic Relationship Among Native *Taraxacum* and Naturalized *Taraxacum* species using RAPD. Kor. J. Env. Eco. 2003;17(2):169-176
 22. Hye-Kyoung Moon, Trichome morphology of Fallopia sect. *Reynoutria* (Polygonaceae) in Korea. Korean J. Pl. Taxon. 2011;41(1):51-57
 23. Nyman. Y, The pollen-collecting hairs of *Campanula*(Campanulaceae). I. Morphological variation and the retractive mechanism. Amer. J. Bot. 1993;80:1427-1436
 24. Jun-Ho Song, The systematic consideration of leaf epidermal microstructure in the tribe *Forsythieae* and its related genera (Oleaceae) Korean J. Pl. Taxon. 2013;43(2):118-127
 25. 손여원, 포공영(蒲公英)의 감별자료집. 식품의약품안전평가원 2017
 26. M. Á. ORTIZ, Blackwell Publishing Ltd Phylogeography of the invasive weed *Hypochaeris radicata* (Asteraceae): from Moroccan origin to worldwide introduced populations. Molecular Ecology (2008) 17, 3654-3667

27. Jamuna Senguttuvan, Phytochemical analysis and evaluation of leaf and root parts of the medicinal herb, *Hypochoeris radicata* L. for in vitro antioxidant activities. Asian Pac J Trop Biomed 2014; 4(Suppl 1): S359-S367
28. Yu Zhu, Morphological, physiological, and secondary metabolic responses of *Taraxacum officinale* to salt stress. Plant Physiology and Biochemistry 189 (2022) 71-82
29. Anam Akhtar, Microscopic characterization of petiole anatomy of Asteraceous taxa of Western Himalaya-Pakistan. Microsc Res Tech. 2022; 85:591-606.
30. DOUGLAS M.F. DE SOUZA, Anatomical, phytochemical and histochemical study of *Solidago chilensis* Meyen. Anais da Academia Brasileira de Ciências (2018) 90(2 Suppl. 1): 2107-2120
31. 김옥임, 서양금혼초(*Hypochoeris radicata* L.)의 수용추출물이 사료작물에 미치는 allelopathy 효과. Journal of Life Science 2005 Vol. 15. No. 6. 871-878
32. 김옥임, 서양금혼초(*Hypochoeris radicata* L.) 추출물의 화분과 사료작물에 대한 타감작용 효과 및 phenole 화합물의 조성. Korean Journal of Environmental Agriculture Vol. 24, No 4, pp. 391-397
33. 박남건, 서양금혼초(*Hypochoeris radicata*) 우점 초지에서 제초제 처리 및 파종방법이 목초의 수량 및 식생에 미치는 영향. J. Koream Grassl. Sci. 2001; 21(3) : 123-128
34. 박종희, 한국강활의 생약학적 연구. Kor. J. Pharmacogn. 2007; 38(4):205-307
35. Jin-Won Kim, Distribution of Invasive Alien Species in Korean Croplands. Weed Turf. Sci. 2017;6(2):117~123
36. Dong-Ok Lim, Plant Diversity and Conservation in Oruem of Jeju City. Kor. J. Env. Eco. 2012;26(5):635-653
37. Jae Sin Part, Min-A Song, Young Chull Jeun, Observation of Growth Inhibition of *Elsinoe fawcettii* on Satsuma Mandarin Leaves Pre-treated with Rhizobacterial Strains by a Scanning Electron Microscope, Research in Plant Disease 2016;22(1):1-8
38. Jin-Kyung Kim, The complete chloroplast genomes of two *Taraxacum*

- species, *T. platycarpum* Dahlst. And *T. mongolicum* Hand.-Mazz. (Asteraceae). MITOCHONDRIAL DNA PART B: RESOURCES, 2016;1(1):412-413
39. 박종희, 질경이의 생약학적 연구, Kor. J. Pharmacogn. 1996;27(2):146-154
 40. 박종희, 한국민간약의 기원에 관한 조사보고. 한국생약학회지 1993;24(4):322-327
 41. 김혜진, 위장관질환 천연물치료제로서의 수영(*Rumex acetosa*)의 생약학적 연구. 2018
 42. 김한주, 제주도 약용자원식물에 관한 조사 연구. 2004
 43. Hui-qun Xie, Determination of the species status of *Fallopia multiflora*, *Fallopia multiflora* var. *angulata* and *Fallopia multiflora* var. *ciliinervis* based on morphology, molecular phylogeny, and chemical analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2019;166:406-420
 44. 김옥진, AFLP 분석을 통한 포공영 기원식물 민들레의 유전 다양성 분석. 한국약용작물학회지 2013;21(4):247-254
 45. 신태용, 호남지역 재배 유통 한약재의 품질관리 사업. 2004
 46. Yun Sun Lee, Assessing the genetic and chemical diversity of *Taraxacum* species in the Korean Peninsula .Phytochemistry 2021(181) 112576
 47. Antonio J. Mele'ndez-Martí'nez, HPLC analysis of geometrical isomers of lutein epoxide isolated from dandelion (*Taraxacum officinale* F. Weber ex Wiggers). Phytochemistry. 2006(67):771-777
 48. Vijayasankar Raman, Morpho-anatomical characterization of *Eryngium yuccifolium* ('Rattlesnake-master'). Microsc Res Tech. 2022;85:209-219.
 49. Woo-Sung Park, Anatomical and Chemical Characterization of *Ulmus* Species from South Korea. Plants. 2021,10,2617.
 50. Qian Zhang, Pharmacognostic Study on *Elsholtzia ciliata* (Thumb.) Hyl: Anatomy, Phytochemistry and Pharmacological Activities. Pharmaceuticals 2021;14(11)1152.
 51. Vaishali C. Joshi, Authentication of *Stephania tetrandra* S. Moore (Fang Ji) and differentiation of its common adulterants using microscopy and HPLC analysis. Journal of Natural Medicines. 2008;62:117-121
 52. Atif Ali Khan Khalil, Comparative Inner Morphological and Chemical

Studies on *Reynoutria* Species in Korea. *Plants* 2020, 9, 222

53. Kazi-Marjahan Akter, Comparative Studies of *Fraxinus* Species from Korea Using Microscopic Characterization, Phytochemical Analysis, and Anti-Lipase Enzyme Activity. *Plants*. 2020, 9, 53

Supplementary content

miDNA유전체연구소
Tel : 063-471-5663
E-Mail : Loud2004@naver.com

(보고서 제20230126호)

유전자 분석을 통한 식물의 종 판별 결과보고서

의뢰자	제주대학교 산학협력단	
담당	약학대학 배지영 교수연구실	
시료종류	식물(건조 상태)	
시료수	3개	
시료	1. JNUPc-2021-19~31 2. JNUPc-2021-32~45 3. JNUPc-2022-06~17	
분석방법	DNA 추출, PCR, 염기서열 해독, NCBI blast 검색	

본 miDNA유전체연구소는 귀 기관으로부터 식물 종 확인을 위한 DNA 분석을 의뢰받았으며, 그 분석 결과를 본 보고서로 제출합니다.

- 분석 결과 요약 -

의뢰된 식물에 대해 종별 특이성을 나타내는 핵 속의 ITS와 엽록체의 *trnF*-L DNA를 증폭해 염기서열을 분석하였습니다. 분석된 염기서열을 NCBI 유전자은행에서 이미 보고된 식물 DNA들과 비교해 의뢰된 시료의 종을 확정하였습니다(표).

표. DNA 분석 최종결과

시료 명	DNA 분석을 통해 확정된 종명
1. JNUPc-2021-19~31	<i>Hypochaeris radicata</i> (서양금혼초)
2. JNUPc-2021-32~45	<i>Taraxacum officinale</i> (서양민들레)
3. JNUPc-2022-06~17	<i>Taraxacum mongolicum</i> (털민들레)

1. JNUPc-2021-19~31

염기서열 분석 결과 “JNUPc-2021-19~31”의 ITS DNA는 유전자은행의 EF107656.1번 *Hypochaeris radicata* 와 100% 일치합니다. 엽록체의 *trnF*-L DNA는 NC_044795.1번 *Hypochaeris radicata* 그리고 NC_061360.1번 *Crepis rigescens* 와 100% 일치합니다. 유전자은행 전체에서 ITS와 *trnF*-L DNA 모두에서 공통으로 염기서열 100% 일치하는 식물은 *Hypochaeris radicata* 가 유일합니다. 이와 유전적으로 가장 가까운 종은 *Hypochaeris arachnoides* 이지만 ITS DNA 염기서열이 10개 이상 달라 명확히 구분됩니다.

따라서 시료 “JNUPc-2021-19~31”는 틀림없는 서양금혼초(*Hypochaeris radicata*) 라고 확정할 수 있습니다.

2. JNUPc-2021-32~45

ITS DNA는 유전자은행의 ON685404.1번 *Taraxacum officinale*, KY671129.1번 *Taraxacum obtusifrons*, MT077854.1번 *Taraxacum coreanum* 과 100% 일치, 엽록체의 *trnF*-L DNA는 KX984965.1번 *Taraxacum officinale* 와 100% 일치합니다. 유전자은행 전체에서 ITS와 *trnF*-L DNA 모두에서 공통으로 염기서열 100% 일치하는 식물은 *Taraxacum officinale* 가 유일합니다. 이와 유전적으로 가장 가까운 종은 *Taraxacum coreanum* 이지만 *trnF*-L DNA 염기서열이 1개 이상 달라 구분됩니다.

따라서 시료 “JNUPc-2021-32~45”는 틀림없는 서양민들레(*Taraxacum officinale*)라고 확정할 수 있습니다.

3. JNUPc-2022-06~17

ITS DNA는 유전자은행의 MH711010.1번 *Taraxacum mongolicum* 과 100% 일치, 엽록체의 *trnF*-L DNA 또한 KX984951.1번 *Taraxacum mongolicum* 과 100% 일치합니다. 이와 유전적으로 가장 가까운 종은 *Taraxacum coreanum* 이지만 ITS DNA에서 3개, *trnF*-L DNA에서 1개 이상 염기서열이 달라 구분됩니다.

따라서 시료 “JNUPc-2022-06~17”은 틀림없는 털민들레(*Taraxacum mongolicum*)라고 확정할 수 있습니다.

- DNA 분석 방법 -

1. DNA 추출

분석 의뢰된 시료 약 0.01g을 DNA 추출 시료로 사용하고 CTAB buffer를 이용해 DNA를 추출 했습니다(Phillips & simon, 1995). 시료에 CTAB buffer 500 μ l와 5 μ l β -mercaptoethanol을 혼합하고 65°C에서 30분간 반응을 시켰습니다. CIA(chloroform : Isoamyl alcohol, 24:1)로 2회 처리 후 원심분리해 핵산이 포함된 상층액을 취하고 silica magnetic bead로 핵산을 분리했습니다. Bead를 70% ethanol 500 μ l로 2회 세척하고 건조시킨 후 50 μ l의 TE buffer에 핵산을 용출시켰습니다.

2. DNA 중합효소연쇄반응(PCR)

PCR 반응물의 조성은 주형 DNA 약 1ng, 1 unit hot-start *Taq* polymerase, 2 μ l의 10X PCR buffer, 2mM MgCl₂, 0.2mM dNTP, 각 5 μ M의 primer 쌍을 혼합하고 증류수를 넣어 총량 20 μ l로 했습니다(표 1). ProFlex PCR system에서 94°C에서 10분간 per-denaturation 시킨 후 94°C에서 20초, 55°C에서 20초, 72°C에서 1분으로 설정해 30 cycle 수행하고 72°C에서 10분간 final extension 했습니다. 반응물은 1% 아가로스 젤에서 전기영동을 해 PCR 증폭 여부를 확인했습니다.

표. 1. 실험에 사용된 primer의 염기서열과 반응온도

DNA	Forward 5'-3'	Reverse 5'-3'	Annealing tem.
ITS	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	TCCTCCGCTTATTGATATGC	56°C
<i>trnF-L</i>	CGAAATCGGTAGACGCTACG	ATTTGAACTGGTGACACGAG	56°C

3. 염기서열 해독(sequencing)

젤 정제된 PCR 증폭 DNA 10ng, 2 μ l 5 \times sequencing buffer, 한쪽의 primer 3.75 μ M 그리고 BigDye 3.1을 혼합해 98°C 5초, 50°C 5초, 60°C 4분의 조건으로 25 cycle을 수행했습니다. BigDye cycling PCR 후 Magnesil Green (Promega, USA) 100 μ l를 넣어 정제 후 20 μ l의 증류수에 dye-termination 된 핵산 단편들을 용출시켰습니다. 염기서열 해독에는 3730xl (ThermoFisher scientific, USA) 자동염기서열분석 장치를 사용하였으며 모세관 전기영동 매질은 POP-7™ polymer를 사용하고 36cm 길이의 모세관을 사용해 분석했습니다.

4. 데이터의 분석

염기서열이 해독된 데이터 forward 방향과 reverse 방향의 염기서열을 토대로 하나의 완성된 contig 염기서열을 만든 후 식물 종을 결정하기 위해 유전자은행(NCBI) Blast 검색으로 이미 보고된 식물 종들과 염기서열 일치 정도를 비교분석 했습니다.

- DNA 분석 결과 -

1. 분석시료 확인

분석 의뢰된 시료는 총 3개며 건조 상태로 제공되었습니다(그림 1). 시료에 특별한 이물질은 관찰되지 않았습니다.



(JNUPc-2021-19~31)

(JNUPc-2021-32~45)

(JNUPc-2022-06~17)

그림 1. 분석 의뢰된 시료 사진

2. 유전자 증폭 결과

각 primer를 이용해 PCR 증폭하고 1% 아가로스 젤에서 전기영동 한 결과는 그림 2와 같습니다.

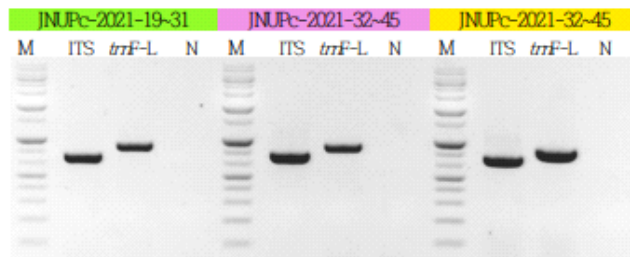


그림 2. 시료의 각 DNA PCR 증폭 결과

M: 1kb(+) 마커, N: 음성대조군

3. 염기서열의 NCBI 유전자은행 검색 결과

1) JNUPc-2021-19~31

염기서열 분석 결과 “JNUPc-2021-19~31”의 ITS DNA는 유전자은행의 EF107656.1번 *Hypochaeris radicata* 와 100% 일치합니다. 엽록체의 *trnF-L* DNA는 NC_044795.1번 *Hypochaeris radicata* 그리고 NC_061360.1번 *Crepis rigescens* 와 100% 일치합니다(표 2). 유전자은행 전체에서 ITS와 *trnF-L* DNA 모두에서 공통으로 염기서열 100% 일치하는 식물은 *Hypochaeris radicata* 가 유일합니다. 이와 유전적으로 가장 가까운 종은 *Hypochaeris arachnoides* 이지만 ITS DNA 염기서열이 10개 이상 달라 명확히 구분됩니다. 따라서 시료 “JNUPc-2021-19~31”는 틀림없는 서양금혼초(*Hypochaeris radicata*) 라고 확정할 수 있습니다.

표 2. 분석된 DNA 염기서열의 NCBI 유전자은행 비교검색 결과

시료 명	DNA	유전자은행 번호	동정 된 학명	유전자 유사도
1. JNUPc-2021-19-31	ITS	EF107656.1	<i>Hypochaeris radicata</i>	672/672(100%)
	<i>trnF-L</i>	NC_044795.1	<i>Hypochaeris radicata</i>	880/880(100%)
		NC_061360.1	<i>Crepis rigescens</i>	880/880(100%)
2. JNUPc-2021-32~45	ITS	ON685404.1	<i>Taraxacum officinale</i>	692/692(100%)
		KY671129.1	<i>Taraxacum obtusifrons</i>	692/692(100%)
		MT077854.1	<i>Taraxacum coreanum</i>	692/692(100%)
	<i>trnF-L</i>	KX984965.1	<i>Taraxacum officinale</i>	870/870(100%)
	3. JNUPc-2022-06~17	ITS	MH711010.1	<i>Taraxacum mongolicum</i>
<i>trnF-L</i>		KX984951.1	<i>Taraxacum mongolicum</i>	889/891(99.78%)

2) JNUPc-2021-32~45

ITS DNA는 유전자은행의 ON685404.1번 *Taraxacum officinale*, KY671129.1번 *Taraxacum obtusifrons*, MT077854.1번 *Taraxacum coreanum* 과 100% 일치, 엽록체의 *trnF-L* DNA는 KX984965.1번 *Taraxacum officinale* 와 100% 일치합니다(표 2). 유전자은행 전체에서 ITS와 *trnF-L* DNA 모두에서 공통으로 염기서열 100% 일치하는 식물은 *Taraxacum officinale* 가 유일합니다. 이와 유전적으로 가장 가까운 종은 *Taraxacum coreanum* 이지만 *trnF-L* DNA 염기서열이 1개 이상 달라 구분됩니다. 따라서 시료 “JNUPc-2021-32~45”는 틀림없는 서양민들레(*Taraxacum officinale*)라고 확정할 수 있습니다.

3) JNUPc-2022-06~17

ITS DNA는 유전자은행의 MH711010.1번 *Taraxacum mongolicum* 과 100% 일치, 엽록체의 *trnF-L* DNA 또한 KX984951.1번 *Taraxacum mongolicum* 과 100% 일치합니다(표 2). 이와 유전적으로 가장 가까운 종은 *Taraxacum coreanum* 이지만 ITS DNA에서 3개, *trnF-L* DNA에서 1개 이상 염기서열이 달라 구분됩니다. 따라서 시료 “JNUPc-2022-06~17”은 틀림없는 털민들레(*Taraxacum mongolicum*)라고 확정할 수 있습니다.

부록. 본 DNA 분석에서 해독된 염기서열

1. "JNUPc-2021-19~31"에서 분석된 ITS DNA 염기서열

```
AAGGATCATTGTGCGAACCCCTGCATGGCAGAACGACCAGTTAACACGTAAATACAACCTGG
GTGATGGGGAGATGGGCCTTGGCTCTTTTCCTTATCCCCTCTCGGTGTGTGTTTGTGATG
CCTCTTTTGGGGCGCCACTGACGTGATGCTGAACCTTAACAAAACCCCGGCACGGCATGT
GCCAAGGAAAAACAAAATCGAGAAGGACGCGTCTTGTGTTGCCCGTTTCGCGGTGTGCAT
GCGGGCCGTGGCCTTTTATAATTACAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCAC
GCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAA
CCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCCGAAGCCATCCGCGCCGAGGGCACGCCCTGCC
TGGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCCCACAAATTTCCAAATCTGGTTGGGGGCGGAGAT
TGGCCTCCCGTACCTGTTGTGGTTGGCCTAAAAAGGAGTCCCTTCGGTGGACACACGA
CTAGTGGTGGTTGAACAGACCCTCGTCTTTATTGTGTGCATGAGCTGCTAGGGAGCCCT
CATCAAAGACCCTTTGTATCGTTTTTCGGACGGTGCCTCGACC GCGACCCAGGTCAGAC
GGGACTACCCGCTGAGTTTAA
```

2. "JNUPc-2021-19~31"에서 분석된 *trnF*-L DNA 염기서열

```
GACTTAATTGGATTGAGCCTTGGTATGGAACTTACTAAGTGATAACTTTCAAATTCAG
AGAAACCCTGGAATTAATAAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCACGTTTTCCGAAAAAC
AAACAAAGGTTTCAGAAAGCGAAAATAAAAAAGGATAGGTGCAGAGACTCGATGGAAGCT
GTTCTAACGAATGGAGTTGATTGTCTTACGTTAGTAGAGGAATCCTTCTATTGAAACTT
CAGAAAAGATGAAGGATAAACCTGTATACATAATACAGAAGAATTTTGTCAATCGATT
CCATATTGAAGAAAGAATCGAATATTCATTGATCAAACCTTACTCCATAATCTGATA
GATCTTTTGAAGAAGTGAATTAATCGGACGAGAATAAAGATAGAGTCCCGTTCACATGT
CAATACCGGCAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAATCCGTCGATTTCAAAAATCGT
GAGGGTTCAAGTCCCTCTATCCCCAAAAAGACCATTTGGCCCCCAATTCCTTATCGTA
TCCTTTTTCTTTATCCTTTTTTTCATTAGCGGCTCAAAAACCTTATCTTTCTCATTCACT
ACTCTTTATACAATGAGCGGAAATGCTGTTCTTATCACATGTAATATATATATGTAC
AAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCTATTTGAATAATTCACGATCGATATTTTTAT
TCATACTGAAACTTACAAAAGTGGTTCTTTTTGACAAAATTATAGGCCCGGGATGGGGCTTT
GCAATACCCCTTCAATTGACATAAACCAAGTTCTCTAGTAAAATGAAAATGAGGATGA
GACATGCGGAATTGTTGGGATAGCTCAGTTGGTAGAGCAGAGGACTGAAAATC
```

3. "JNUPc-2021-32~45"에서 분석된 ITS DNA 염기서열

```
AAGGATCATTGTGCGAACCCCTGCAAGGCAGAACGACCTGTGAACACGTAAATACAACCTGG
GTGATGGGGAGATGGATCTTGGTCTGATCCTCAACACCTCCTAGCGTGCCTGCATGCTT
TCTCTTTTGGGCTATCATGCATGTATTGTTGGAATTTAACAAAACCCCGGCACGGCATG
TGCCAAGGAAAAACAATAAACGAGAAGGACTCGACCTGTTATGCCCGTTTGTGGTGTGC
ATTCTGAGCGTGTCTCCTTTGAATCACAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTC
ACGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTG
AACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCCGAAGCCATCCGTTTCAGGGCACGCCCTG
CCTGGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCCCATCATACTTCCCTTAAGGGTAGTCGTGGTG
ATTGGGAGCGGAGATTGGCTTCCCGTGTCTGTTGTGCGGTTGGTCAAAAATAGGAGTCCC
CTTCGGTGGACACACGGCTAGTGGTGGTTGTAAGACCCCTTTTCTCTGCTGTGTGTTGT
GAGCTGCTAGGGAAACCCTCAAAAAGAACCCAATGTATCGTTCTAGGACGATGCTTCG
ACCGCGACCCAGGTCAGGCGGGACTACCCGCTGAGTTTAA
```

4. "JNUPc-2021-32~45"에서 분석된 *trnF*-L DNA 염기서열

```
GACTTAATTGGATTGAGCCTTGGTATGGAACTTACTAAGTGATAACTTTCAAATTCAG
AGAAACCCTGGAATTAATAAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCACGTTTTCCGAAAAC
AAACAAAGGTTTCAGAAAGCGAAAATAAAAAAGGATAGGTGCAGAGACTCGATGGAAGCT
GTTCTAACGAATGGAGTTTATTGTCTTACGTTAATAGAGGAATCCTTCTATCGAAACTT
CAGAAAAGATGAAGGATATACCTGTAGACATAATGTAGACATAATACAGAAGAATTGTT
GTCAATCGATTCCATATTGAAGAAAGAATCGAATATTCATTGATAAAACCATTCACTCC
ATAATCTGATAGATCTTTGAAGAAGTGAATTAATCGGACGAGAATAAAGATAGAGTCCC
GTTCTACATGTCAATACCGGCAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAAATCCGTCGATT
TCAAAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCTATCCCCAAAAAGACCATTGGCTCCCTAAT
TCTTTATCGTATCCTTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAAACTCCTTTATGACATGTGATATA
TTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTGAAATGATTACGATCAATATTT
TTAGTCATATTATAGGCCCGGGATGAGACTTTGTAATACTCTTTCTATTGACATAGACC
CAAGTTATCTATAAAAATAAAAAATAAGGATGAGACATGAGGAATACCTGGGATAGCTCAG
TCGGTAGAGCAGAGGACTCAAAATCTTTGTGCACCAGTTCGAAATCTGGTTCCTTCAGGA
ATAGTTGGGATAGCTCAGTTGGTAGAGCAGAGGACTGAAAATC
```

5. "JNUPc-2022-06-17"에서 분석된 ITS DNA 염기서열

```
AAGGATCATTGTGCAACCCTGCAAGGCAGAACGACCCGTGAACACGTAAATACAACCGG
GTGATGGGGAGATGGATCCTGGTTTTGATCCTCAGCACCTTCCAGCGTGCCTGCATGCTT
TCTCTTTGGGCTATCATGCTTGTATGTTGGACTTTAACCAAACCCCGGCACGGTATGT
GCCAAGGAAAACAATAATTGAGAAGGACTCGACCTGTTATGCCCGTTTGGTGGTGCA
TTCTGAGCGTGTCTCCTTTGAATCACAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCA
CGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGA
ACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCCGAAGCCATCCGGTTGAGGGCACGCCCTGC
CTGGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCCATCATAGTTCCCTTTAGGGTAGTCGTGGTGATT
GGGAGCGGAAATTGACCTCCCGTGTCTTGTGTGCGGTTGGTCAAAAATACGAGTCCCCTT
CGGTGGACACACGGCTAGTGGTGGTTGTAAGACCCTTTTCTTCTGCTGTGTGCTGAG
CTGCTAGGGAAGCCCTCAAAAAAGACCCATTGTATCGTCTTAGGATGATGCTTCGACC
GCGACCCAGGTCAGGCGGGACTACCCGCTGAGTTTAA
```

6. "JNUPc-2022-06-17"에서 분석된 *trnF*-L DNA 염기서열

```
GACTTAATTGGATTGAGCCTTGGTATGGAACTTACTAAGTGATAACTTTCAAATTCAG
GAGAAACCCTGGAATTAATAAAAAATGGGCAATCCTGAGCCAAATCACGTTTTCCGAAAAC
CAAACAAAGATTTCAGAAAGCGAAAATAAAAAAGGATAGGTGCAGAGACTCGATGGAAGC
TGTTCTAACGAATGGAGTTTATTGTCTTACGTTAATAGAGGAATCCTTCTATCGAAACT
TCAGAAAAGATGAAGGATAAACCTGTAGACATAATACAGAAGAATTGTTGTCAATCGAT
TCCATATTGAAGAAAGAATCGAATATTCATTGATAAAACCATTCACTCCATAATCTGAT
AGATCTTTTGAAGAAGTGAATTAATCGGACGAGAATAAAGATAGAGTCCCCTTCTACATG
TCAATACCGGCAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAAATCCGTCGATTTCAAAAATCG
TGAGGGTTCAAGTCCCTCTATCCCCAAAAAGACCATTGGCTCCCTAATTCTTTATCGT
ATCCTTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAAACTCCTTTATGACATGTGATATATATTAATAATG
AACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTGAAATGATTACGATCCATATTTTTATTTCATA
CTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTATAGGCCCGGGATGAGACTTTGTAAT
ACTCTTTCTATTGACATAGACCCAAGTTATATAAAAAATAAAAAATAAGGATGAGACATG
AGGAATACCTGGGATAGCTCAGTTGGTAGAACAGGGGACTTAAAAATCTTCGGTCACCTG
TTCGAATCTGGCTCCTTCAGGAATAGTTGGGATAGCTCAGTTGGTAGAGCAGAGGACTG
AAAATC
```