

中華民國第 62 屆中小學科學展覽會  
作品說明書

---

高級中等學校組 植物學科

第三名 探究精神獎

052104

蒲公英萃取物之抗氧化評估與抗肺炎應用

學校名稱：嘉義市私立嘉華高級中學

作者： 高一 葉育成 高一 陳秉強 高一 陳盈璉	指導老師： 鍾慧容
-----------------------------------	--------------

關鍵詞：蒲公英、抗氧化、抗肺炎

## 摘要

自疫情爆發以來，各國都相繼研發新型冠狀病毒的藥物。蒲公英為一種傳統中草藥，具有抗氧化、抗發炎等生物活性。本研究以蒲公英為試驗植物。為了瞭解蒲公英的抗氧化及抗肺炎能力，我們使用磨粉後的蒲公英進行水和甲醇的過濾萃取物，將蒲公英水萃取物及甲醇萃取物分別進行試管清除DPPH自由基實驗、ABTS抗氧化實驗及總酚含量測定實驗，並進一步確定蒲公英萃取物的抗氧化能力。另外，我們還進行肺細胞發炎移動及遷移能力測試。最後發現甲醇萃取物的抗氧化效果比水萃取物佳。我們以脂多醣LPS誘導肺細胞發炎，運用顯微鏡觀察，發現甲醇萃取物有明顯抑制肺細胞發炎移動及遷移現象。經由以上實驗結果證明，蒲公英甲醇萃取物對抗氧化及抑制肺炎具有效果。

## 壹、前言

### 一、研究背景

#### (一)西洋蒲公英簡介

西洋蒲公英(*Taraxacum officinale*)，別名黃花地丁、婆婆丁、華花郎、蒲公英，為菊目菊科蒲公英屬，分布於溫帶至亞熱帶，花季為4~5及8~9月。

#### (二)蒲公英的功效

在北美、歐亞，文獻指出，蒲公英的根、莖、葉、花部位之天然物萃取物，具有保肝、抗菌、抗腸炎、抗關節炎、抗癌功效。

#### (三)研究動機

因應新冠疫情，臺灣的中醫團隊推出中藥「清冠一號」，內含了總共十種的中藥材，因此我們針對蒲公英天然萃取物，進行研究抑制肺部的發炎反應，具有研究創新性，與主題的重要性。

### 二、研究目的

(一)探討蒲公英水萃取物和甲醇萃取物之抗氧化活性(清除 DPPH 自由基能力、ABTS 抗氧化實驗及總酚試驗)。

(二)探討蒲公英甲醇萃取物之抑制肺細胞發炎移動及遷移能力之效果。



▲ 圖 1. 蒲公英在生活當中的樣貌

## 貳、研究設備及器材

### 一、實驗設備：

電子天平、抽濾漏斗、研磨機、電動攪拌器、二次水製造機、真空抽濾機、超聲波震盪儀、無菌操作台、倒立式顯微鏡，UV燈。

### 二、實驗器材：

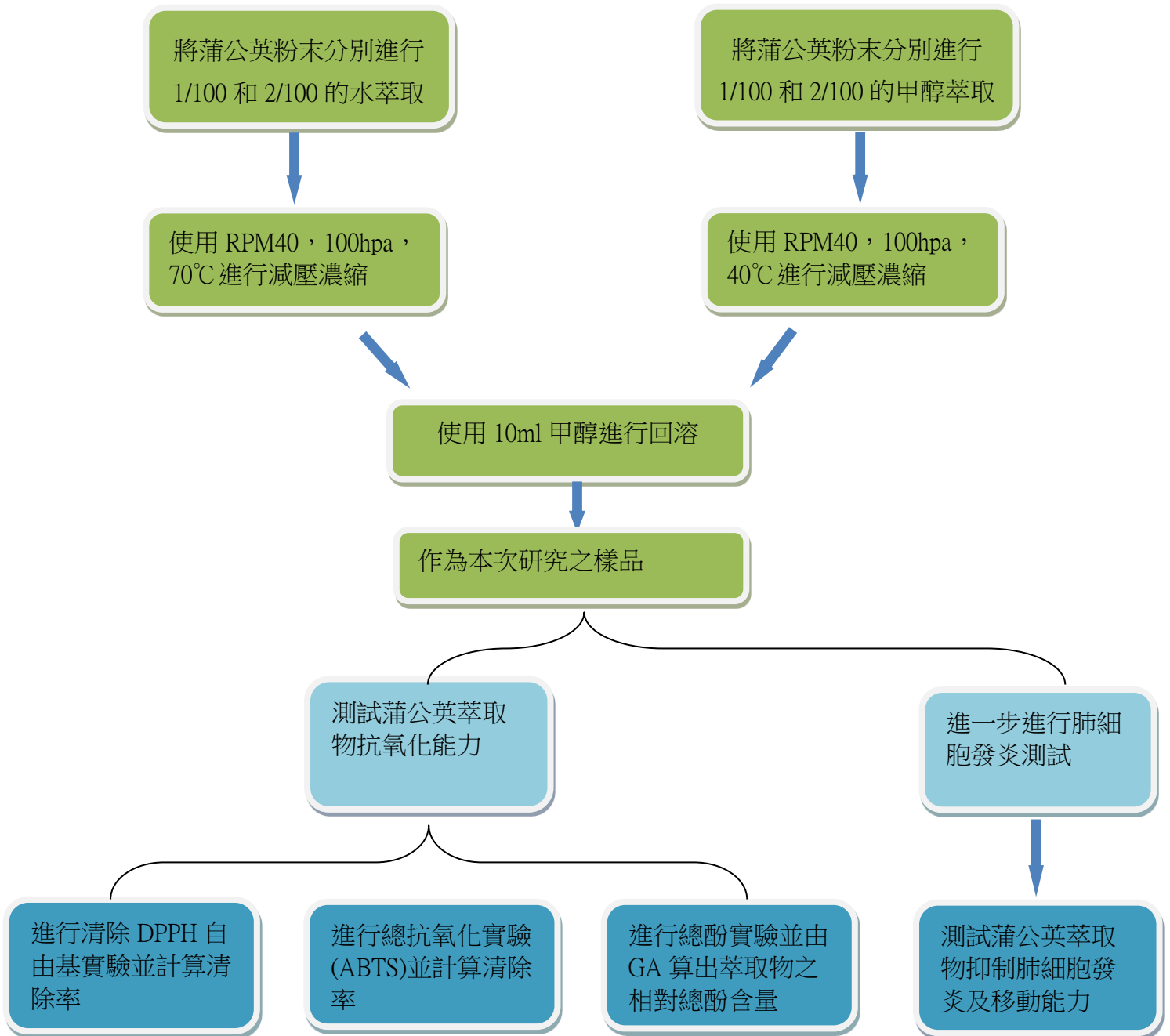
西洋蒲公英(*Taraxacum officinale*)、A549 肺細胞(腺癌性人肺上皮細胞)、DPPH 試劑、ABTS 試劑、福林酚試劑、Gallic acid(沒食子酸)、Trolox(維生素 E)、LPS(脂多醣)、PBS(磷酸鹽緩衝溶液)、BSA(胎牛血清)、DAPI(螢光染劑)、甲醇乙醇、甲醛、二次過濾水、針頭過濾器、分光光度計、微量吸管、濾紙、冷凝機、離心機、96 孔盤、滴管、燒杯、電腦。

		
a. 蒲公英粉末	b. 熱迴流裝置	c. 電子天平
		
d. 微量吸管	e. 研磨機	f. 離心機
		
g. 真空抽濾機	h. 減壓濃縮機	i. 烘箱
		
j. DPPH 試劑	k. ABTS 試劑	l. 福林酚試劑
		
m. 分光光度計	n. 水浴鍋	o. BSA 胎牛血清

▲ 圖 2. 儀器設備及實驗藥品

## 參、研究過程及方法

### 一、研究流程規劃 (圖 3)



▲ 圖 3. 蒲公英萃取物及主要試驗製作流程

## 二、蒲公英的萃取(水萃取及甲醇萃取)

### (一)實驗說明：

本實驗主要先將蒲公英全株進行烘乾，放入研磨機內進行研磨後得到蒲公英粉末，並以水及甲醇當做溶劑來記錄 1.00g 的蒲公英粉末溶於分別為 100.0ml 的水和甲醇，使用迴流系統加熱一小時來確保粉末充分溶於溶劑中，藉由過濾來推算實際溶進溶劑的蒲公英粉末，最後再進行減壓濃縮，並算出其濃度。

### (二)實驗步驟：(圖 4)



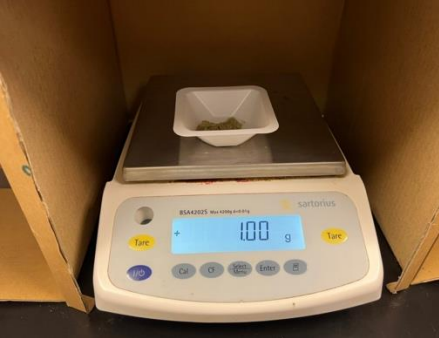
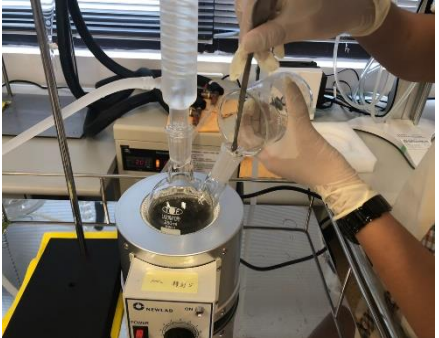


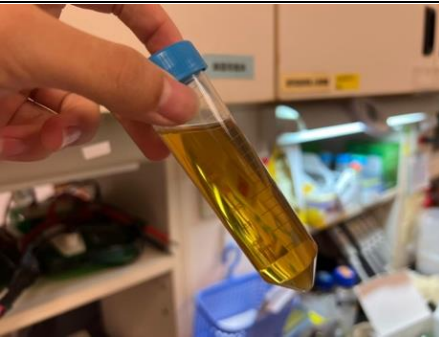

#### 1. 蒲公英粉末的製備：

- (1)將蒲公英全株放入烘箱烘至乾燥。
- (2)將乾燥後的蒲公英放入研磨機中進行研磨。
- (3)研磨後得實驗用蒲公英粉末。

#### 2. 1%水萃和 1%甲醇萃步驟：

- (1)秤量蒲公英粉末 1.00g，及二次水 100.0ml。
- (2)混合倒入圓底燒瓶並連接冷凝機達成循環。
- (3)插入溫度計觀察溶液溫度。
- (4)待溶液開始沸騰時計時 1hr，待其萃取。
- (5)使用紗布、濾紙及針筒過濾器進行三次過濾。
- (6)放入減壓濃縮機濃縮至乾(水萃 100hpa，水浴鍋 70°C)。
- (7)加入 10ml 甲醇進行回溶，並放入水浴鍋進行充分混合(水浴鍋 37°C，30min)。
- (8)使用針筒過濾器進行最後一次過濾，並計算水萃取物濃度。
- (9)甲醇萃(100hpa，水浴鍋 40°C)如上 1~8 步驟。

(三)實驗操作情形：(圖 4)

	
<p>a. 烘乾後的蒲公英</p>	<p>b. 研磨後的蒲公英粉末</p>
	
<p>c. 秤重蒲公英粉末 1.00g</p>	<p>d. 倒入圓底燒瓶連接冷凝機達成循環</p>
	
<p>e. 濾紙過濾</p>	<p>f. 放入減壓濃縮機濃縮</p>
	
<p>g. 過濾後得到水萃取物成品</p>	<p>h. 過濾後得到甲醇萃取物成品</p>

▲ 圖 4. 蒲公英萃取物實驗操作情形

### 三、蒲公英萃取物清除 DPPH 自由基實驗

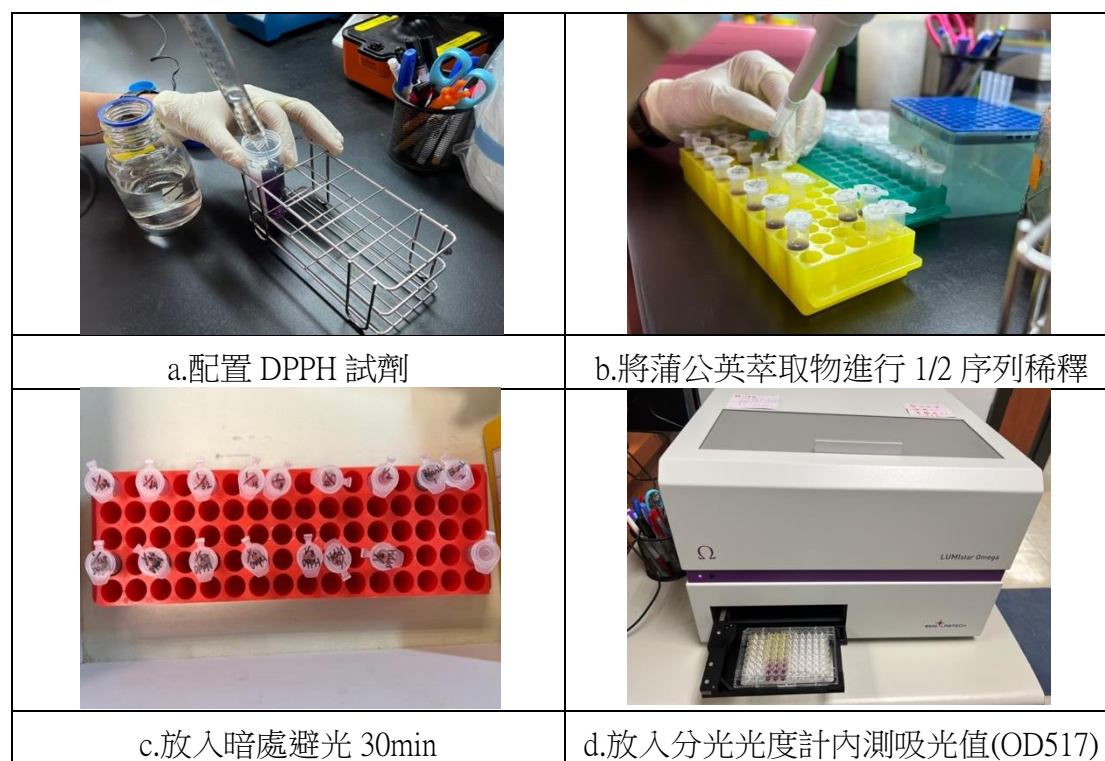
#### (一)實驗說明：

本實驗主要是以有自由基清除劑存在的是否，來觀察 DPPH 的單電子被捕捉而使其顏色變淺，在最大光吸收波長處的吸光值下降且下降程度呈線性關係，吸光度水平的降低表明抗氧化性的增加，從而評價試驗樣品的抗氧化能力<sup>[1]</sup>。此抗氧化能力用清除率來表示，清除率越大，抗氧化性越強<sup>[2]</sup>。本實驗則以 Trolox 為標準品，用來觀察蒲公英萃取物的相對濃度。

#### (二)實驗步驟：

- 1.配置 DPPH 溶液並進行抗氧化實驗(清除自由基)。
  - (1).使用 0.0098g 的 DPPH 加入 50ml 的乙醇(DPPH 試劑濃度為 0.5M)。
  - (2).至於超聲波振盪器中震盪 30min，確認其底部無殘留物即可使用。
- 2.將蒲公英萃取物樣品進行 1/2 序列稀釋(1/2~1/256)。
- 3.將樣品或標準品和 DPPH 以 1:1 的比例混和均勻並避光 30min。
- 4.取 200ul 至 96 孔盤中並測 OD517。
- 5.畫出 Trolox 檢量線並使用相應公式算出樣品相對 Trolox 濃度(ug of Trolox /mg extract)。

#### (三)實驗操作情形：(圖 5)



▲ 圖 5. 蒲公英萃取物 DPPH 實驗操作情形



## 四、蒲公英萃取物總抗氧化(ABTS)實驗

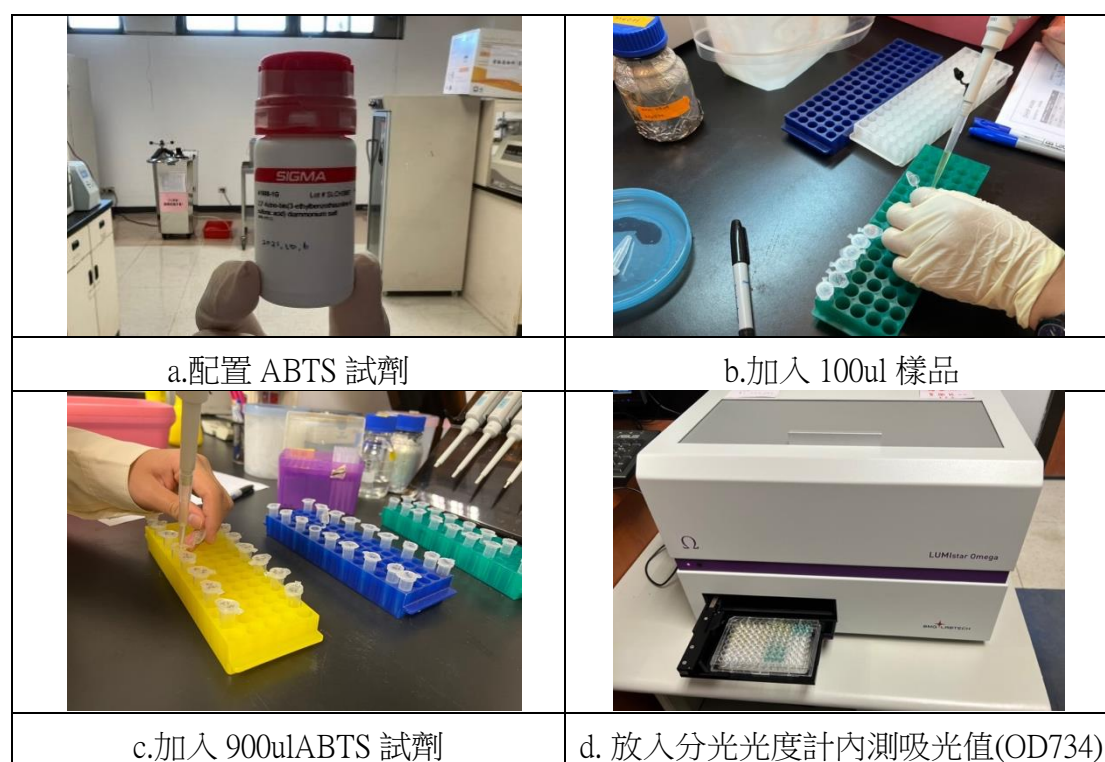
### (一)實驗說明：

ABTS 經  $K_2S_2O_8$  催化後形成  $ABT^+$ ，呈現穩定藍綠色，在 734 nm 下有強的吸光值。當抗氧化物 (AH) 參與反應， $ABT^+$  得以還原成 ABTS 而抑制藍綠色生成 ( $ABT^+ + AH \rightarrow ABTS + A \cdot + H^+$ )，因此可藉由 734 nm 吸光值的變化來評估各物質抗氧化能力，吸光值越低時表示樣品抗氧化能力越佳。本實驗則以 Trolox 為標準品，用來計算蒲公英萃取物的相對濃度。

### (二)實驗步驟：

1. 先配置 ABTS 試劑 (10ml 7mM ABTS + 10ml 2.45 mM  $K_2S_2O_8$  並避光 12~16 小時)。
2. 實驗前用二次水校正 OD734， $0.7 \pm 0.02$ 。
3. 使用 100ul 樣品加入 ABTS 900ul 試劑進行 6min 常溫避光。
4. 取 200ul 至 96 孔盤中並測 OD734。
5. 畫出 Trolox 檢量線並使用相應公式算出樣品相對 Trolox 濃度 (ug of Trolox / mg extract)。

### (三)實驗操作情形：(圖 6)



▲ 圖 6. 總抗氧化 ABTS 實驗操作情形

## 五、蒲公英萃取物在總酚實驗下的抗氧化曲線

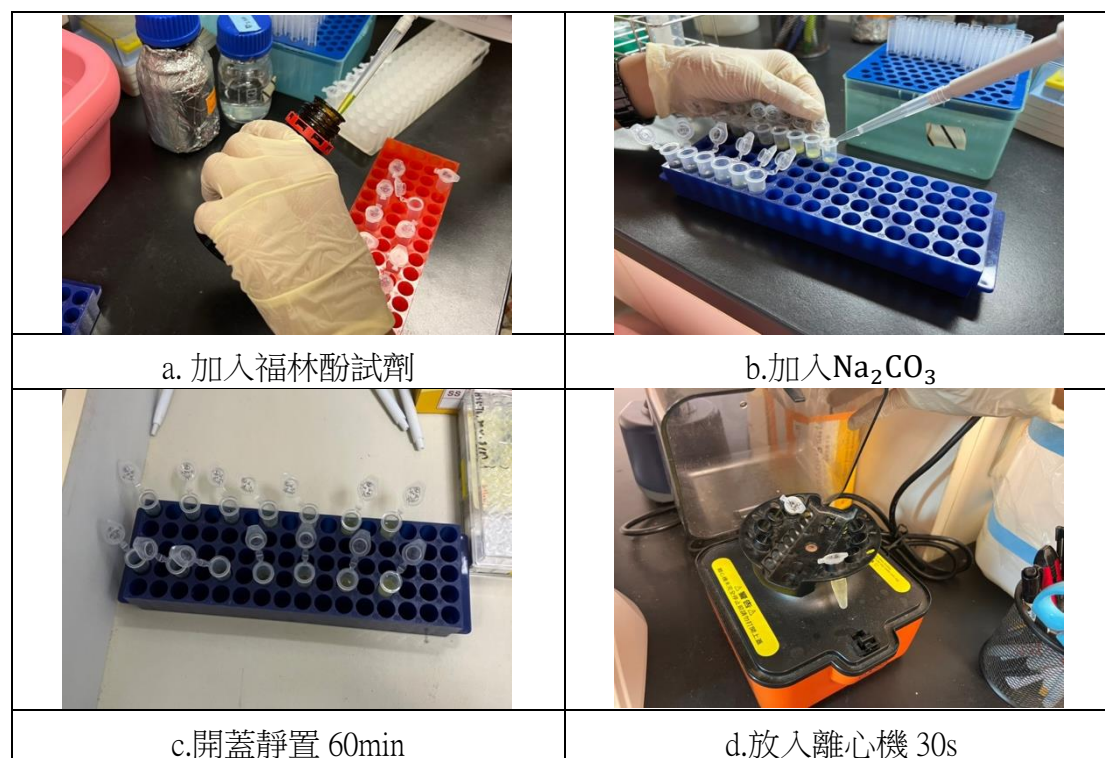
### (一)實驗說明：

總酚含量測定：酚類化合物為二次代謝物，大多為醇溶性，是植物體內常見的成分，總酚含量通常與抗氧化作用有正相關，本實驗將萃取物與福林酚試劑混勻後，再加 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 進行反應測定吸光值，我們則以常見酚類化合物沒食子酸 (Gallic acid) 溶液為對照標準品，其總酚含量則以 Gallic acid 當量表示<sup>[8]</sup>。

### (二)實驗步驟：

1. 將 250 ul F-C reagent(2N) +250 ul GA or sample 混合均勻。
2. 在常溫下靜置 3min。
3. 加入 500ul 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  混合均勻(必須緩慢加入會產氣需小心)。
4. 在常溫下靜置開蓋 60 min。
5. 直接離心 30s (會有沈澱物，要確實離心，尤其是含有甲醇樣品)。
6. 取 200ul 至 96-well，立刻測 OD735。
7. 畫出 GA 檢量線並使用相應公式算出樣品相對 GA 濃度(ug of GA/mg extract)。

### (三)實驗操作情形：(圖 7)



▲圖 7. 總酚實驗操作情形

## 六、蒲公英萃取物抑制肺細胞發炎遷移能力試驗

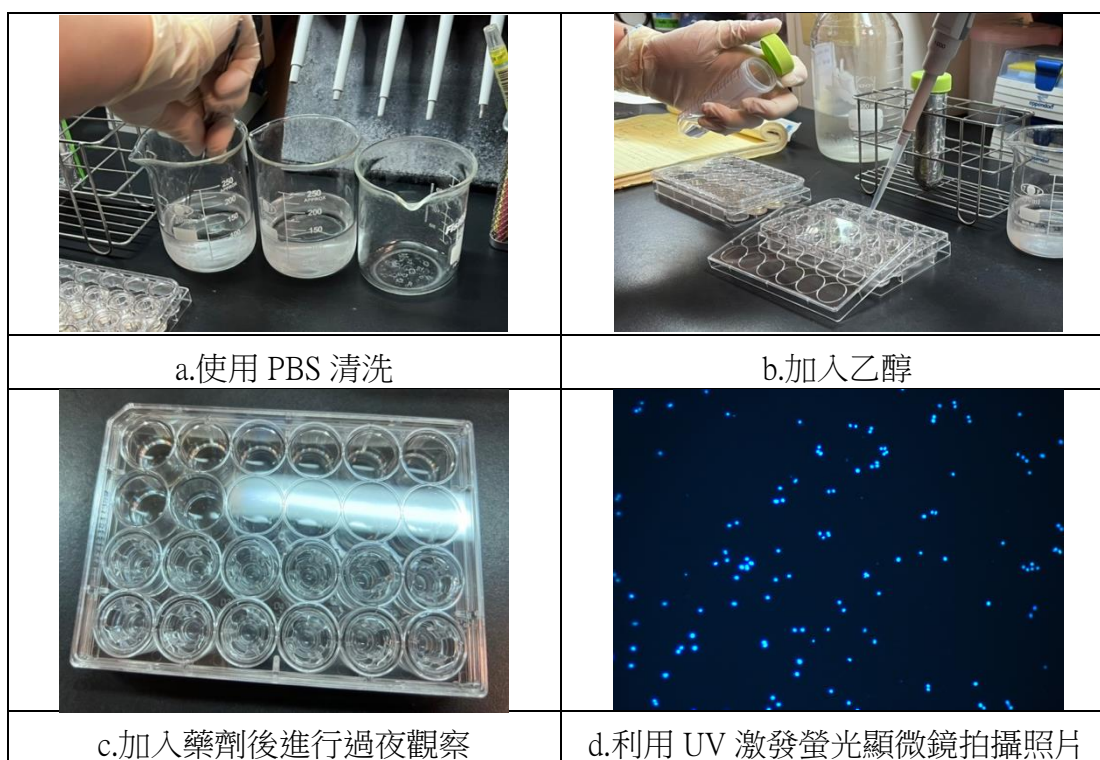
### (一)實驗說明：

本實驗使用 MH-S 肺細胞進行細胞穿透實驗，細胞遷移(Cell Migration) 現象是指細胞離開原始地方因為其他的生理因素遷移到其他特殊地點，本實驗利用營養液引誘細胞穿透薄膜至下層較營養之細胞培養夜，進而證明肺細胞具有遷移的效果。

### (二)實驗步驟：

- 1.以 PBS 清洗 2 次
- 2.加入 4%甲醴固定 15 分鐘。
- 3.再以 PBS 清洗 2 次。
- 4.加入乙醇打洞 20 分鐘(方便染色)。
- 5.再以 PBS 清洗 2 次。
- 6.加入 LPS 0.5ug/ml 和蒲公英甲醇萃取物(0.1mg/ml 及 0.3mg/ml)進行過夜觀察。
- 7.加入 DAPI 0.1ug/ml (螢光染劑藍色 UV) 在 37 度避光作用 30 分鐘。
- 8.用棉花棒擦除上層細胞後以 PBS 清洗 2 次。
- 9.使用倒立式顯微鏡並開啟 UV 燈激發 DAPI 藍色螢光觀察拍照。

### (三)實驗操作情形：(圖 8)



▲ 圖 8. 細胞遷移試驗操作情形

## 七、蒲公英萃取物抑制肺細胞發炎移動能力試驗

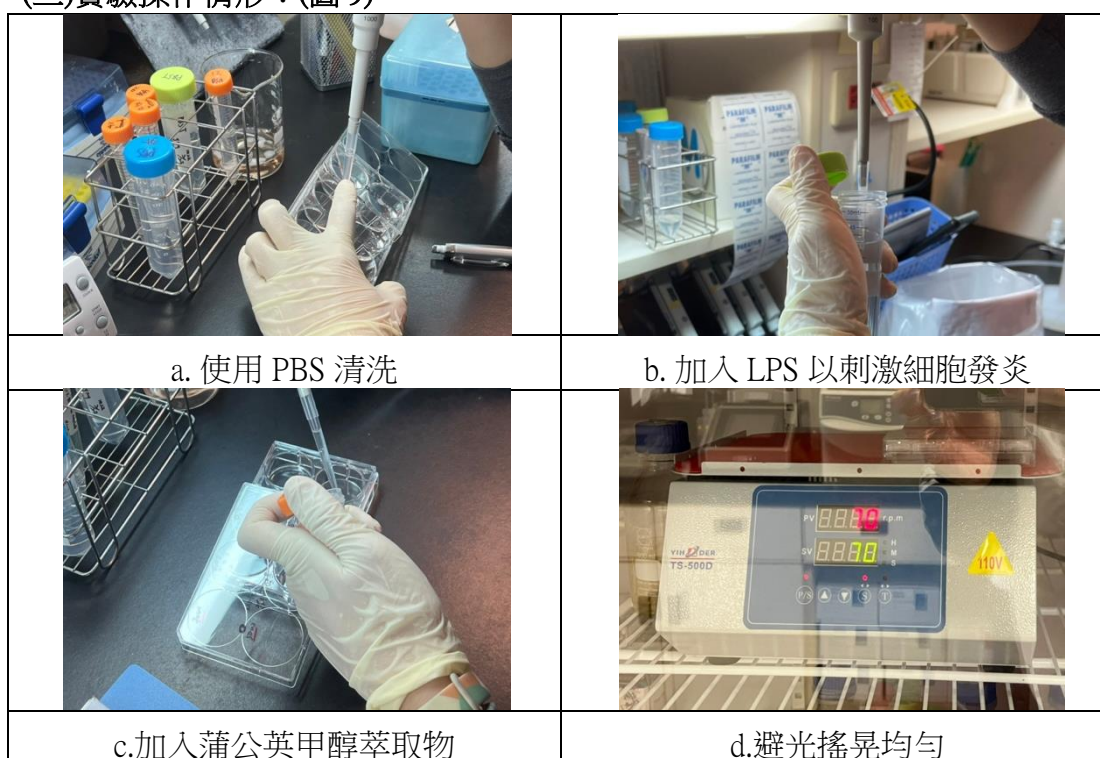
### (一)實驗說明：

本實驗利用細胞的移動性，使用創傷癒合實驗來觀察肺細胞的移動情形，可測量肺細胞的移動，我們利用裝置矽膠上移除出一條直線以模擬缺口，誘導細胞遷移並縮小縫隙。而 LPS 脂多醣則會使細胞產生發炎反應，讓遷移速度大幅增加，這時如果加入抑制發炎物質，就可發現細胞遷移速度變慢，達到緩解發炎效果<sup>[7]</sup>。

### (二)實驗步驟：

1. 實驗前將  $6 \times 10^4$  cell/well 的肺細胞培養於試驗裝置。
2. 於 5% CO<sub>2</sub> 的 37°C 培養箱中培養 12 小時。
3. 利用裝置矽膠上移除出一條直線以模擬缺口。
4. 將細胞以使用 PBS 沖洗，並補充新鮮的細胞培養液，於 5%CO<sub>2</sub> 的 37°C 培養箱中培養至傷口癒合。
5. 加入 LPS 0.5ug/ml 和蒲公英甲醇萃取物(0.3mg/ml 及 0.5mg/ml)進行觀察。
6. 使用倒立式顯微鏡下以 100 倍分別拍照 0、3、6、12 及 24 小時之細胞遷移率與細胞修復情形，並利用顯微鏡測量不同時間點面積。

### (三)實驗操作情形：(圖 9)

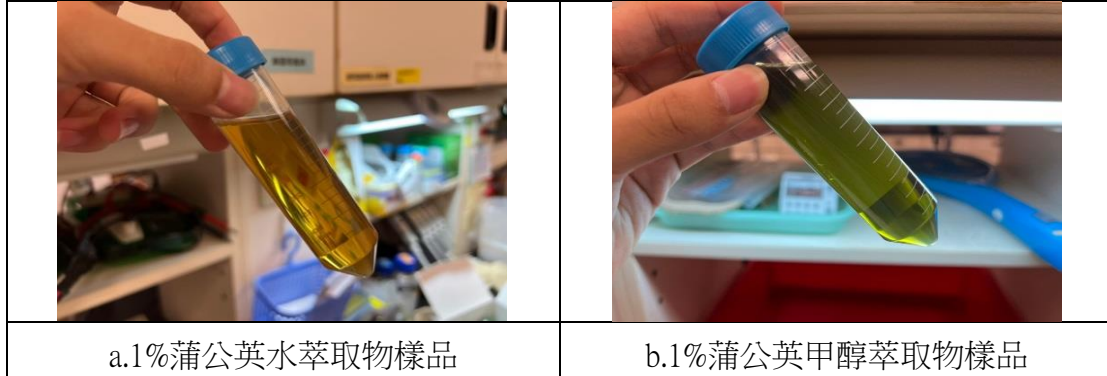


▲ 圖 9. 創傷癒合試驗操作情形

## 肆、實驗結果

### 一、實驗用蒲公英萃取物樣品

蒲公英水萃取物及甲醇萃取物樣品：(圖 10)



▲ 圖 10. 蒲公英在不同溶劑下的萃取物樣品

### 二、各種蒲公英萃取物進行三種抗氧化實驗

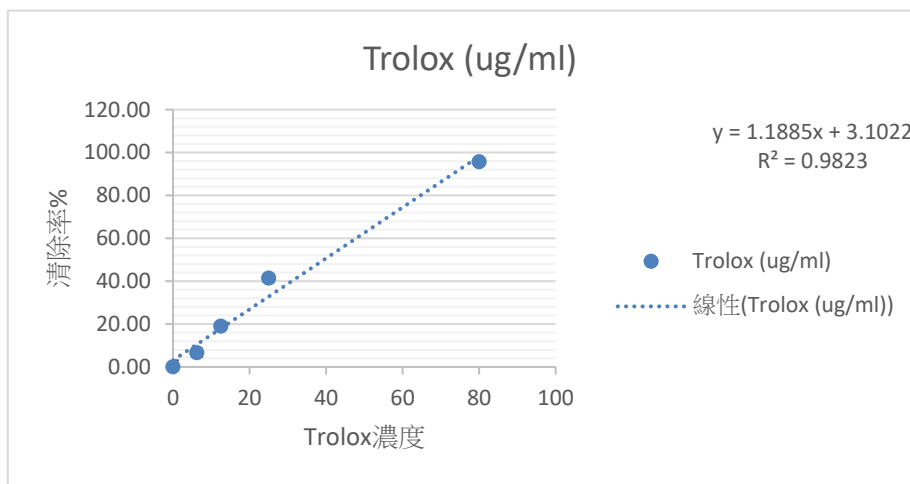
(一)1%水萃取物及 1%甲醇萃取物清除 DPPH 自由基實驗(以 Trolox 為標準品)吸光值及相對 Trolox 濃度：

表 1. 1%水萃取物清除 DPPH 自由基實驗數據

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(517)			平均吸光值	清除率%
1/16	0.124	0.133	0.133	0.13(±0.005)	93.53(±0.34)
1/32	0.402	0.421	0.413	0.412(±0.010)	75.28(±0.62)
1/64	1.007	1.062	1.063	1.044(±0.032)	34.37(±2.70)
1/128	1.371	1.418	1.443	1.411(±0.037)	10.61(±2.37)
Blank(甲醇+DPPH)	1.547	1.586	1.593	1.575(±0.025)	

表 2. 標準品 Trolox 清除 DPPH 自由基實驗數據

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(517)			平均吸光值	清除率%
std1(100)	0.092	0.097	0.099	0.096(±0.004)	96.15(±0.22)
std2(25)	0.957	1.007	1.011	0.992(±0.030)	41.38(±1.82)
std3(12.5)	1.329	1.385	1.363	1.359(±0.028)	18.95(±1.70)
std4(6.25)	1.524	1.585	1.575	1.561(±0.033)	6.60(±1.98)
std5(0)	1.611	1.693	1.703	1.669(±0.050)	0
Blank (乙醇+DPPH)	1.639	1.706	1.719	1.669(±0.050)	



▲ 圖 11. Trolox 標準品清除 DPPH 自由基檢量線

表 3. 1%水萃取物清除 DPPH 清除率相對 Trolox 濃度(ug of Trolox/mg extract) 實驗數據

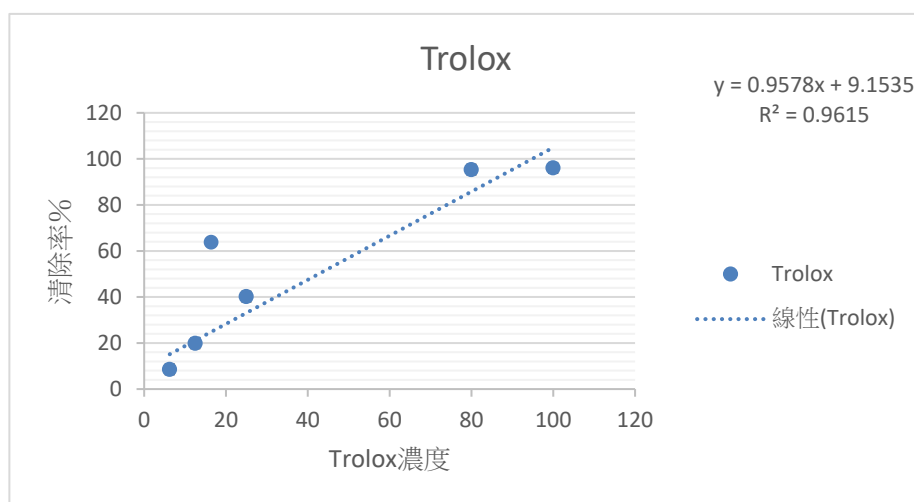
1%水 萃取物 濃度	稀釋 濃度	平均每 倍數	平均 ml 有多 少 mg	平均 OD517	清除率%	代公式 算相對 Trolox	ug of Trolox/mg extract	平均
75(mg /ml)	1/16	16	4.6875	0.13	93.53	76.08	16.23	18.84
	1/32	32	2.34375	0.412	75.28	60.73	25.91	
	1/64	64	1.171875	1.044	34.37	26.31	22.45	
	1/128	128	0.585938	1.411	10.61	6.32	10.79	

表 4. 1%甲醇萃取物清除 DPPH 自由基實驗數據

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(517)			平均吸光值	清除率%
1/16	0.161	0.165	0.165	0.164(±0.002)	91.81(±0.14)
1/32	0.163	0.167	0.173	0.168(±0.005)	91.56(±0.30)
1/64	0.801	0.802	0.836	0.813(±0.020)	50.91(±1.19)
1/128	1.209	1.27	1.27	1.25(±0.035)	23.40(±2.10)
Blank (甲醇+DPPH)	1.572	1.645	1.647	1.621(±0.043)	

表 5.標準品 Trolox 清除 DPPH 自由基實驗數據

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(517)			平均吸光值	清除率%
std1(100)	0.092	0.097	0.098	0.096(±0.003)	96.15(±0.19)
std2(80)	0.104	0.109	0.11	0.108(±0.003)	95.66(±0.19)
std3(25)	1.009	1.039	1.055	1.034(±0.023)	41.38(±1.39)
std4(12.5)	1.349	1.376	1.399	1.374(±0.025)	18.95(±1.49)
std5(6.25)	1.506	1.562	1.624	1.564(±0.059)	6.60(±3.52)
std6(0)	1.659	1.714	1.750	1.708(±0.047)	0
Blank (乙醇+DPPH)	1.657	1.715	1.751	1.708(±0.047)	



▲圖 12. 標準品 Trolox 清除 DPPH 自由基檢量線

表 6. 1%甲醇萃取物清除 DPPH 清除率相對 Trolox 濃度 (ug of Trolox/mg extract) 實驗數據

1%甲 醇萃取 物濃度	稀釋 濃度	稀釋 倍數	平均每 ml 有多 少 mg	平均 OD517	清除率%	代公式 算相對 Trolox	ug of Trolox/mg extract	平均
50(mg /ml)	1/16	16	3.125	0.164	91.81	86.30	27.61	44.14
	1/32	32	1.5625	0.168	91.56	86.04	55.07	
	1/64	64	0.78125	0.813	50.91	43.60	55.81	
	1/128	128	0.390625	1.25	23.40	14.87	38.07	

**結果說明：**1%水萃取物及甲醇萃取物清除 DPPH 自由基實驗

我們以 Trolox(維生素 E)作為抗氧化對照組，檢測完後帶入 excel 內計算公式，並計算各濃度清除率，進而推出相對 Trolox 濃度，即為相對抗氧化能力(Trolox equivalent antioxidant capacities, TEAC)，分別為甲醇萃取 44.14 > 水萃取 18.84 (單位為 ug of Trolox/mg extract)，結果為甲醇萃取的效果較佳。

**(二)、1%水萃取物及 1%甲醇萃取物測定 ABTS 總抗氧化吸光值(以 Trolox 為標準品)及相對 Trolox 濃度：**

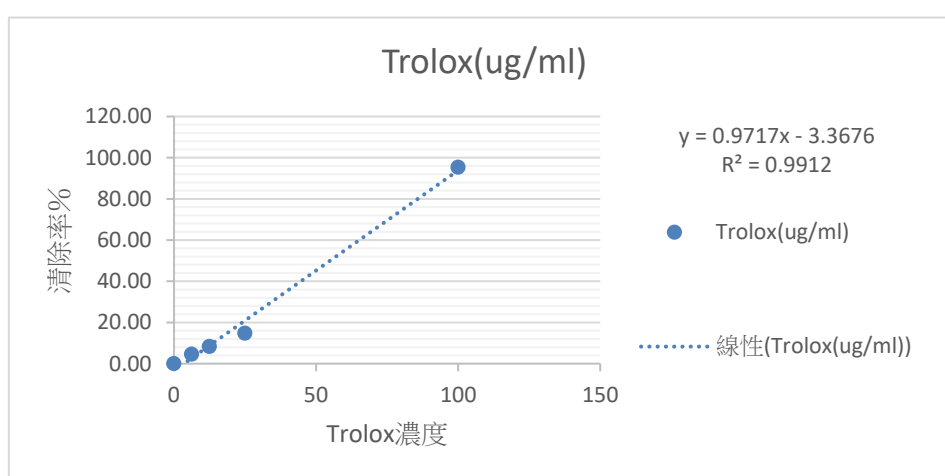
表 7. 1%水萃取物 ABTS 總抗氧化實驗數據：

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(734)			平均吸光值	清除率%
1/16	0.275	0.22	0.192	0.229(±0.042)	63.77(±6.68)
1/32	0.385	0.378	0.394	0.386(±0.008)	38.92(±1.27)
1/64	0.5	0.505	0.502	0.502(±0.003)	20.57(±0.40)
1/128	0.563	0.567	0.565	0.565(±0.002)	10.60(±0.32)
1/256	0.604	0.605	0.596	0.602(±0.005)	4.75(±0.78)
Blank(甲醇)	0.637	0.635	0.623	0.632(±0.008)	



表 8. 標準品 Trolox 總抗氧化(ABTS)實驗數據

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(734)			平均吸光值	清除率%
std1(100)	0.03	0.031	0.029	0.030(±0.001)	95.31(±0.16)
std2(25)	0.554	0.545	0.548	0.545(±0.005)	14.71(±0.73)
std3(12.5)	0.59	0.586	0.587	0.586(±0.002)	8.29(±0.33)
std4(6.25)	0.623	0.61	0.613	0.610(±0.007)	4.54(±1.08)
std5(0)	0.648	0.639	0.635	0.639(±0.007)	0
Blank(乙醇)	0.640	0.647	0.635	0.639(±0.007)	



▲ 圖 13.標準品 Trolox 總抗氧化(ABTS)檢量線

表 9. 1%水萃取物對 ABTS 總抗氧化清除率相對 Trolox 濃度

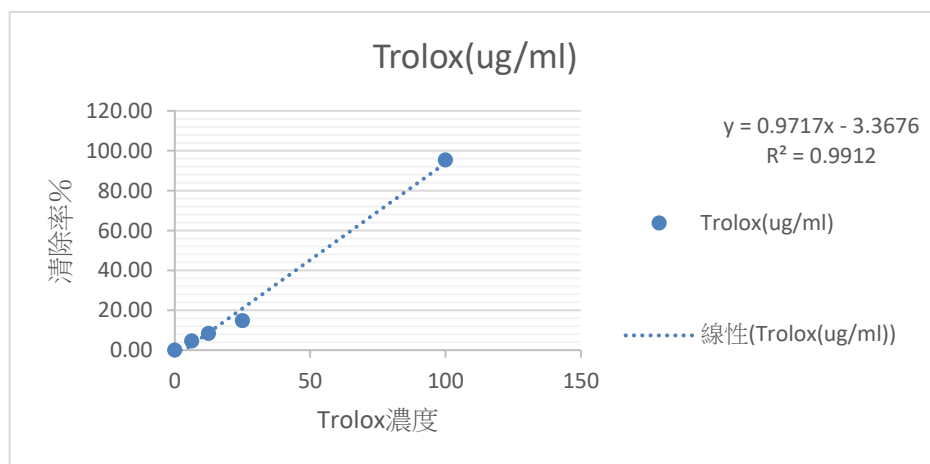
1%水 萃取物 濃度	稀釋 濃度	稀釋 倍數	平均每 ml 有多 少 mg	平均 OD734	清除率%	代公式 算相對 Trolox	ug of Trolox/mg extract	平均
75(mg /ml)	1/16	16	4.6875	0.229	63.77	69.09	14.74	21.74
	1/32	32	2.34375	0.386	38.92	43.52	18.57	
	1/64	64	1.171875	0.502	20.57	24.63	21.02	
	1/128	128	0.585938	0.565	10.60	14.38	24.53	
	1/256	256	0.292969	0.602	4.75	8.35	28.50	

表 10. 1%甲醇萃取物對 ABTS 總抗氧化實驗數據

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(734)			平均吸光值	清除率%
1/16	0.102	0.107	0.117	0.108(±0.008)	82.91(±1.21)
1/32	0.34	0.348	0.344	0.344(±0.004)	45.57(±0.63)
1/64	0.484	0.485	0.48	0.483(±0.003)	23.58(±0.42)
1/128	0.551	0.561	0.547	0.553(±0.007)	12.50(±1.14)
1/256	0.583	0.584	0.582	0.583(±0.001)	7.75(±0.16)
Blank(甲醇)	0.635	0.636	0.624	0.632(±0.008)	

表 11. 標準品 Trolox 總抗氧化(ABTS)實驗數據

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(734)			平均吸光值	清除率%
std1(100)	0.03	0.031	0.029	0.030(±0.001)	95.31(±0.16)
Std2(25)	0.554	0.545	0.548	0.545(±0.005)	14.71(±0.73)
Std3(12.5)	0.59	0.586	0.587	0.586(±0.002)	8.29(±0.33)
Std4(6.25)	0.623	0.61	0.613	0.610(±0.007)	4.54(±1.08)
Std5(0)	0.648	0.639	0.635	0.639(±0.007)	0
Blank(乙醇)	0.640	0.647	0.635	0.639(±0.007)	



▲ 圖 14. 標準品 Trolox 總抗氧化 ABTS 檢量線

表 12. 1%甲醇萃取物在 ABTS 總抗氧化下相對 Trolox 濃度(ug of Trolox/mg extract)

1%甲 醇萃取 物濃度	稀釋 濃度	稀釋 倍數	平均每 ml 有多 少 mg	平均 OD734	清除率%	代公式 算相對 Trolox	ug of Trolox/mg extract	平均
50(mg /ml)	1/16	16	3.125	0.108	82.91	88.79	28.41	39.31
	1/32	32	1.5625	0.344	45.57	50.36	32.23	
	1/64	64	0.78125	0.483	23.58	27.73	35.49	
	1/128	128	0.390625	0.553	12.50	16.33	41.80	
	1/256	256	0.195313	0.583	7.75	11.44	58.60	

**實驗結果說明：**1%水萃取物及 1%甲醇萃取物 ABTS 總抗氧化

我們以 Trolox(維生素 E)作為抗氧化對照組，檢測完後帶入 excel 內計算公式，並計算各濃度抑制率，進而推出各濃度相對 Trolox 濃度，即為相對抗氧化能力 (Trolox equivalent antioxidant capacities, TEAC)，分別為 1%甲醇萃取物 39.31>1%水萃取物 21.74(單位為 ug of Trolox/mg extract)。結果為甲醇萃取的效果較佳。

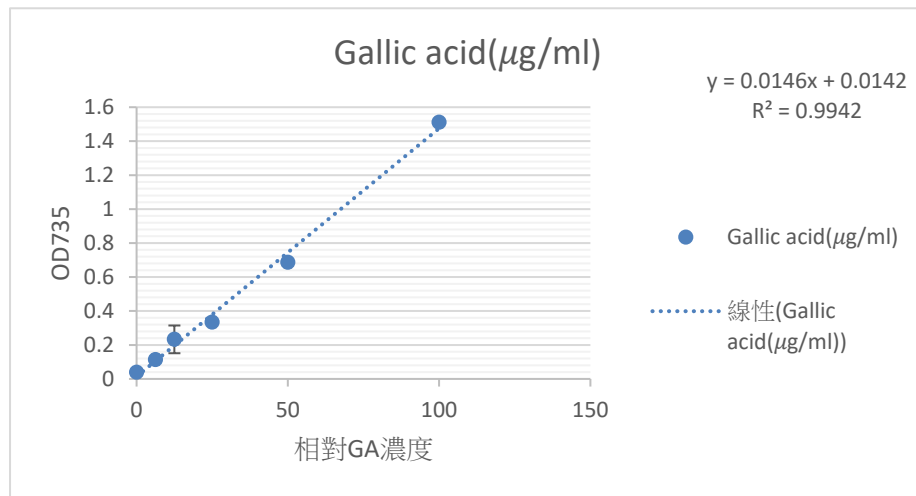
**(三)、1%水萃取物及 1%甲醇萃取物總酚實驗(以 Gallic acid 為標準)並算出萃取物之相對總酚含量：**

表 13. 1%水萃取物總酚實驗數據：

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(735)			平均吸光值
1/8	1.194	1.192	1.227	1.204(±0.020)
1/16	0.632	0.637	0.644	0.638(±0.006)
1/32	0.345	0.374	0.368	0.362(±0.015)
1/64	0.199	0.203	0.216	0.206(±0.009)
1/128	0.122	0.136	0.172	0.144(±0.026)
Blank(甲醇)	0.035	0.040	0.039	0.038(±0.003)

表 14. Gallic acid 標準品實驗數據：

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(735)			平均吸光值
std1(100)	1.508	1.518	1.508	1.511(±0.006)
std2(50)	0.699	0.693	0.667	0.686(±0.017)
std3(25)	0.326	0.339	0.337	0.334(±0.007)
std4(12.5)	0.186	0.185	0.327	0.233(±0.082)
std5(6.25)	0.113	0.113	0.115	0.113(±0.001)
std6(0)	0.038	0.041	0.037	0.039(±0.002)



▲ 圖 15. Gallic acid 標準品檢量線

表 15. 1%水萃取物總酚實驗相對 GA 濃度(ug of GA/mg extract)實驗數據：

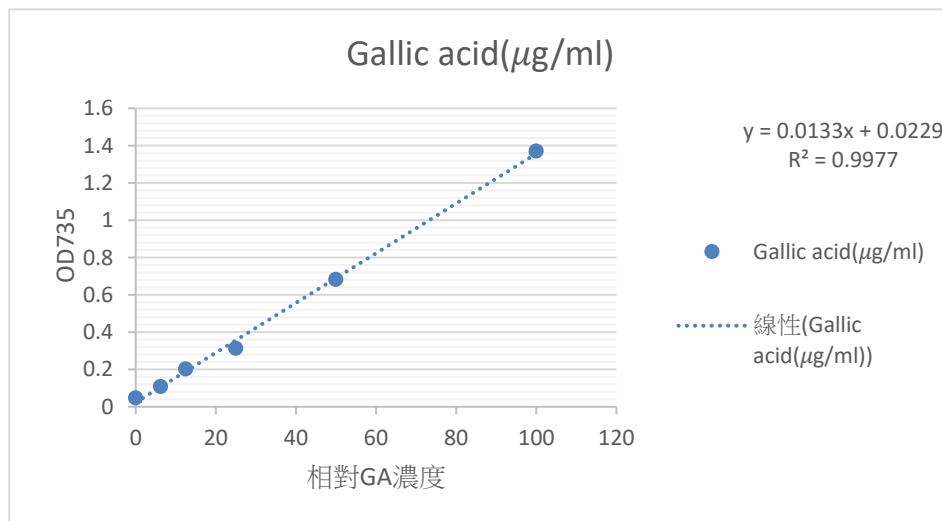
1%水 萃取物 濃度	稀釋 濃度	稀釋 倍數	平均每 ml 有多 少 mg	平均 OD735	扣掉溶 劑 MeOH 背景值	代公式 算相對 GA	ug of GA/mg extract	平均
75(mg /ml)	1/8	8	9.375	1.204	1.166	78.89	8.41	9.15
	1/16	16	4.6875	0.638	0.6	40.12	8.56	
	1/32	32	2.34375	0.362	0.324	21.22	9.05	
	1/64	64	1.171875	0.206	0.168	10.53	8.99	
	1/128	128	0.585938	0.144	0.106	6.29	10.73	

表 16. 1%甲醇萃取物總酚實驗數據：

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(735)			平均吸光值
1/16	1.128	1.173	1.085	1.128(±0.044)
1/32	0.4	0.391	0.413	0.401(±0.011)
1/64	0.213	0.237	0.256	0.236(±0.022)
1/128	0.152	0.156	0.198	0.168(±0.025)
1/256	0.09	0.1	0.153	0.114(±0.034)
Blank(甲醇)	0.037	0.038	0.035	0.037(±0.002)

表 17. Gallic acid 標準品總酚實驗數據：

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(735)			平均吸光值
std1(100)	1.371	1.375	1.365	1.37(±0.005)
std2(50)	0.681	0.684	0.682	0.682(±0.002)
std3(25)	0.311	0.311	0.316	0.313(±0.003)
std4(12.5)	0.203	0.201	0.201	0.202(±0.001)
std5(6.25)	0.105	0.109	0.108	0.108(±0.002)
std6(0)	0.034	0.072	0.036	0.047(±0.021)



▲圖 16. Gallic acid 標準品總酚實驗檢量線

表 18. 1%甲醇萃取物總酚實驗相對 GA 濃度(ug of GA/mg extract)：

1%甲 醇萃取 物濃度	稀釋 濃度	稀釋 倍數	平均每 ml 有多 少 mg	平均 OD735	扣掉溶 劑 MeOH 背景值	代公式 算相對 GA	ug of GA/mg extract	平均
50(mg /ml)	1/16	16	3.125	1.128	1.091	80.31	25.70	20.14
	1/32	32	1.5625	0.401	0.364	25.65	16.41	
	1/64	64	0.78125	0.236	0.199	13.24	16.95	
	1/128	128	0.390625	0.168	0.131	8.13	20.81	
	1/256	256	0.195313	0.114	0.077	4.07	20.83	

**結果說明：** 1%水萃取物及 1%甲醇萃取物總酚實驗(以 Gallic acid 為標準品)

我們使用 Gallic acid(沒食子酸)作為抗氧化對照組，檢測完後帶入 excel 內計算公式，並計算各濃度之總酚含量，分別為 1%甲醇萃取物 20.14>1%水萃取物 9.15(單位為 ug of GA /mg extract)，得知甲醇萃取物的效果較佳。

### 三、各種蒲公英在萃取物進行清除 DPPH 自由基表現

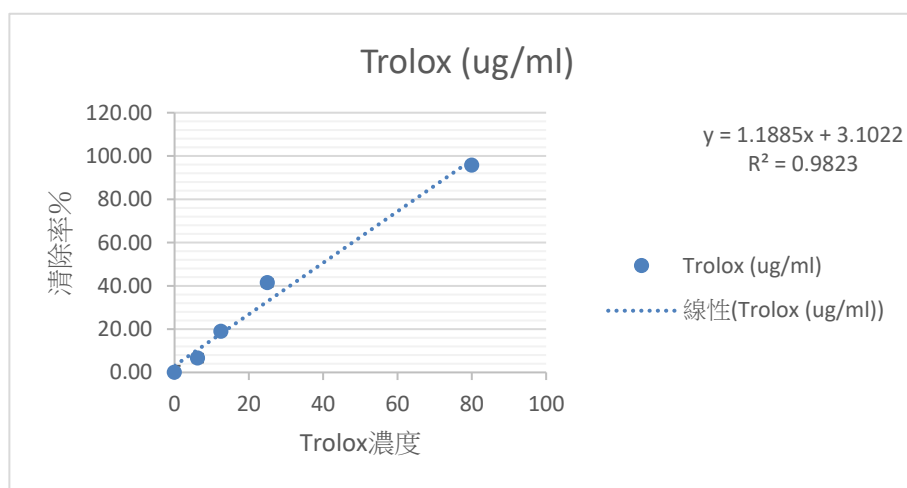
(一) 2%水萃取物及 2%甲醇萃取物清除 DPPH 自由基實驗(以 Trolox 為標準品)吸光值及相對 Trolox 濃度：

表 19. 2%水萃取物清除 DPPH 自由基實驗數據：

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(517)			平均吸光值	清除率%
1/32	0.13	0.137	0.139	0.135(±0.005)	93.20(±0.31)
1/64	0.583	0.6	0.612	0.599(±0.015)	63.17(±0.94)
1/128	1.181	1.206	1.218	1.202(±0.019)	24.14(±1.22)
1/256	1.37	1.482	1.46	1.437(±0.059)	8.93(±3.84)
Blank(甲醇+DPPH)	1.547	1.586	1.593	1.575(±0.025)	

表 20. Trolox 標準品清除 DPPH 自由基實驗數據：

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(517)			平均吸光值	清除率%
std1(100)	0.092	0.097	0.099	0.096(±0.004)	96.15(±0.22)
Std2(25)	0.957	1.007	1.011	0.992(±0.030)	41.38(±1.82)
Std3(12.5)	1.329	1.385	1.363	1.359(±0.028)	18.95(±1.70)
Std4(6.25)	1.524	1.585	1.575	1.561(±0.033)	6.60(±1.98)
Std5(0)	1.611	1.693	1.703	1.669(±0.050)	0
Blank 1(乙醇+DPPH)	1.639	1.706	1.719	1.669(±0.050)	



▲ 圖 17. Trolox 標準品清除 DPPH 自由基檢量線

表 21. 2%水萃取物在清除 DPPH 自由基相對 Trolox 濃度(ug of Trolox/mg extract)

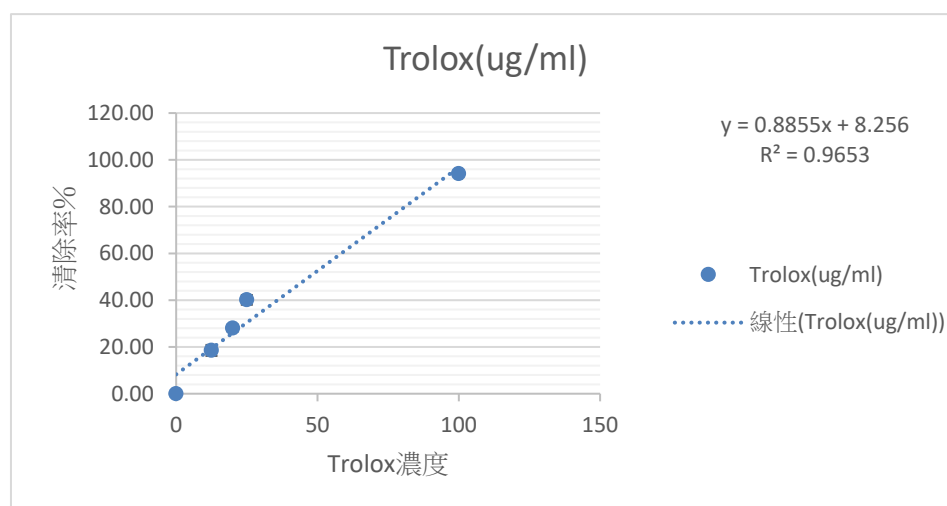
2%水 萃取物 濃度	濃 度	稀釋 倍數	平均每 ml 有多 少 mg	平均 OD517	平均 清除率%	代公式 算相對 Trolox	ug of Trolox/mg extract	平均
108	1/32	32	3.375	0.135	93.2038	75.81	22.46	21.26
	1/64	64	1.6875	0.599	63.1715	50.54	29.95	
	1/128	128	0.84375	1.202	24.1423	17.70	20.98	
	1/256	256	0.421875	1.437	8.932	4.91	11.63	

表 22. 2%甲醇萃取物清除 DPPH 自由基實驗數據：

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(517)			平均吸光值	清除率%
1/32	0.222	0.232	0.232	0.228(±0.006)	86.03(±0.36)
1/64	0.831	0.861	0.859	0.85(±0.017)	47.42(±1.06)
1/128	1.192	1.269	1.292	1.251(±0.052)	22.53(±3.31)
1/256	1.333	1.451	1.463	1.416(±0.072)	12.29(±4.54)
Blank(甲醇+DPPH)	1.532	1.641	1.67	1.614(±0.073)	

表 23. Trolox 標準品清除 DPPH 自由基數據

稀釋濃度(ug/ml)	Raw Data(517)			平均吸光值	清除率%
std1(100)	0.143	0.147	0.149	0.146(±0.003)	94.06(±0.19)
Std2(25)	1.032	1.088	1.093	1.017(±0.034)	40.12(±2.10)
Std3(20)	1.175	1.218	1.212	1.202(±0.023)	28.05(±1.44)
Std4(12.5)	1.312	1.383	1.371	1.356(±0.038)	18.51(±2.35)
Std5(0)	1.581	1.696	1.688	1.655(±0.062)	0
Blank(乙醇+DPPH)	1.584	1.698	1.683	1.655(±0.062)	



▲ 圖 18. Trolox 標準品清除 DPPH 自由基檢量線



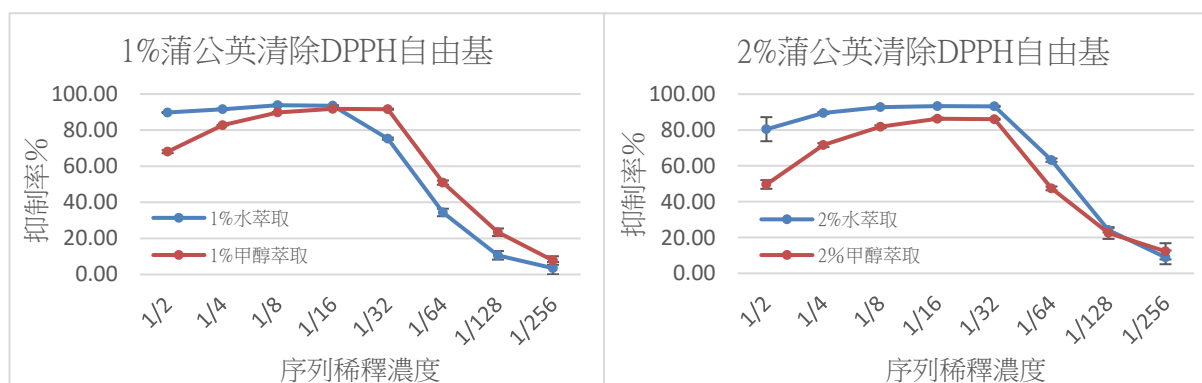
表 24. 2%甲醇萃取物清除 DPPH 自由基相對 Trolox 濃度(ug of Trolox/mg extract)

2%甲 醇萃取 物濃度	濃 度	稀釋 倍數	平均每 ml 有多 少 mg	平均 OD517	清除率%	代公式 算相對 Trolox	ug of Trolox/mg extract	平均
97	1/32	32	3.03125	0.228	86.03	87.83	28.98	22.87
	1/64	64	1.515625	0.85	47.42	44.23	29.18	
	1/128	128	0.757813	1.251	22.53	16.12	21.28	
	1/256	256	0.378906	1.416	12.29	4.56	12.02	

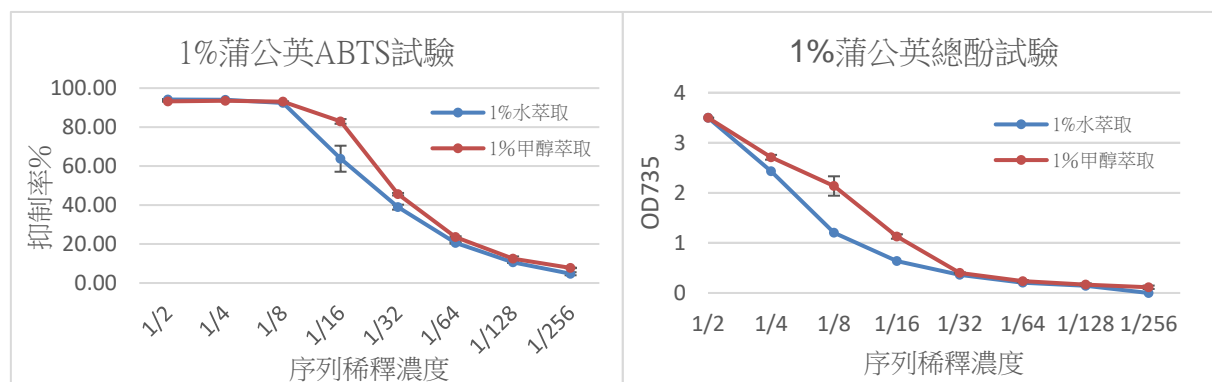
### 結果說明：2%水萃取物及甲醇萃取物清除 DPPH 自由基實驗

我們以 Trolox(維生素 E)為抗氧化對照組，檢測完後帶入 excel 內計算公式，並計算各濃度抑制率，進而推出各濃度相對 Trolox 濃度，即為相對抗氧化能力 (Trolox equivalent antioxidant capacities, TEAC)，分別為 2%甲醇萃取物 22.87>2%水萃取物 21.26，(單位為 ug of Trolox/mg extract)，得知 甲醇萃取物的效果較佳。

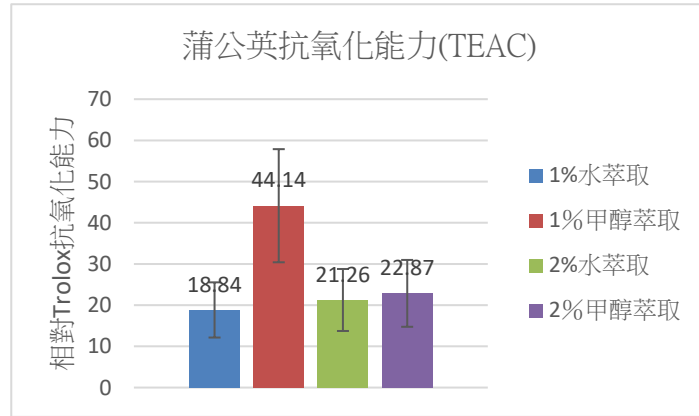
## 四、蒲公英在不同溶劑中三種抗氧化實驗總表比較



▲ 圖 19. 1%及 2%蒲公英濃度清除 DPPH 自由基之實驗結果比較



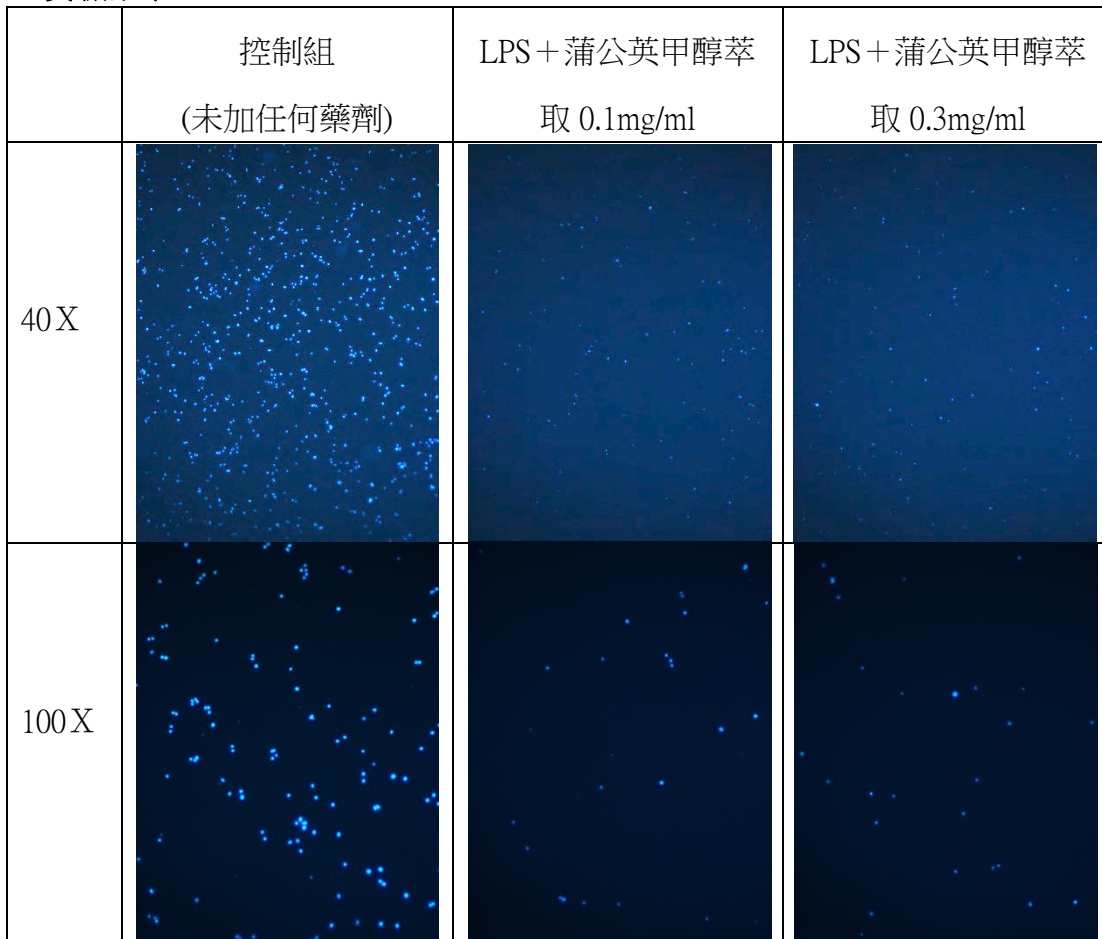
▲ 圖 20. 1%蒲公英對 ABTS 總抗氧化及總酚之實驗結果比較



▲ 圖 21. 各種蒲公英在清除 DPPH 自由基之 TEAC 比較

## 五、蒲公英萃取物抑制肺細胞發炎遷移能力試驗

### 1. 實驗結果：



▲ 圖 22. 肺細胞遷移試驗結果

### 2. 結果說明：

我們使用 MH-S 肺細胞測試蒲公英甲醇萃取物是否能減緩發炎肺細胞遷移，細胞部分則採用 DAPI 染劑在 UV 燈照射下拍攝，經細胞產生螢光後觀察發現，

蒲公英甲醇萃取物在 0.1mg/ml 及 0.3mg/ml 的濃度下相較於控制組具有明顯抑制發炎肺細胞遷移的實驗效果。

## 六、蒲公英萃取物抑制肺細胞發炎移動能力試驗

1. 實驗結果：

	控制組 (未加任何藥劑)	對照組 (LPS0.5ug/ml)	LPS + 蒲公英甲 醇萃取 0.3mg/ml	LPS + 蒲公英甲 醇萃取 0.5mg/ml
0h				
3h				
6h				
12h				
24h				

▲圖 23. 肺細胞發炎移動能力試驗結果

2. 結果說明：

我們採用 A549 肺細胞測試蒲公英甲醇萃取物是否具有抵抗肺細胞發炎移動能力，在加入 LPS 脂多醣刺激發炎後，相較於控制組在 12hr 時有較明顯發炎移動效果，而蒲公英甲醇萃取物在 0.3mg/ml 及 0.5mg/ml 的濃度時，細胞均只有些微移動情形，藉此能證明蒲公英對肺細胞發炎具有明顯抑制效果。

## 伍、討論

### 第一部分：蒲公英萃取物及抗氧化能力檢測

- 一、在本實驗中，我們對蒲公英全株進行烘乾萃取並使用不同溶劑進行比較，在經過 1hr 的萃取後，得萃取液濃度分別為 1%水萃取為 75mg/ml，1%甲醇萃取為 50mg/ml，2%水萃取為 108mg/ml，2%甲醇萃取為 97mg/ml。
- 二、在 1%水萃取物及 1%甲醇萃取物進行清除 DPPH 自由基實驗中，結果為甲醇萃取物清除 DPPH 能力較水萃取物佳，但是在 1/2~1/16 稀釋濃度下是水

萃取物的效果比較好，我們覺得是因為蒲公英萃取物的顏色背景干擾(測量吸光值波段 517nm 和可見光綠色波段較為相近)而造成的，也有可能已經達到飽和濃度，所以才造成在稀釋濃度較少的情況下甲醇萃取物清除 DPPH 能力反而較水萃取物效果來得差。

- 三、在 1%水萃取物及 1%甲醇萃取物進行 ABTS 總抗氧化實驗中，我們發現稀釋濃度在 1/2~1/8 時，兩者清除率接近，我們推測是因為兩者達到飽和濃度而造成兩者差距不大，而在稀釋濃度在 1/16~1/256 時，則開始出現甲醇萃取物清除率略大於水萃取物的情形。
- 四、在 1%水萃取物及 1%甲醇萃取物進行總酚試驗中，我們發現雖然甲醇萃取物的相對總酚含量依舊優於水萃取物，但其中只有稀釋濃度 1/4~1/16 的差距較明顯，其他稀釋濃度則差異不大。
- 五、藉由 2%水萃取物及 2%甲醇萃取物清除 DPPH 自由基實驗中我們發現，2%的水萃取物效果有些微提升，而甲醇萃取物的相對抗氧化力則反而降低了，我們猜測同時因為有達到飽和濃度和甲醇萃取了大多數的色素成分而導致實驗上有較大的偏差值，進而產生了甲醇萃取物的效果和水萃取物抗氧化能力趨近相同。
- 六、如圖 21，各種蒲公英萃取物相對於 Trolox(維生素 E)的抗氧化能力(TEAC)，結果為 1%甲醇萃取效果最佳，根據文獻顯示，相對抗氧化能力 TEAC 最具有公信力，根據實驗結果顯示，1%甲醇萃取物效果優於 1%水萃取物、2%水萃取物、及 2%甲醇萃取物。

## 第二部分：蒲公英對肺細胞發炎之影響

### 一、肺細胞介紹

本研究使用 A549 肺細胞及 MH-S 肺細胞兩種細胞株，進行肺細胞 LPS 誘導發炎遷移及移動實驗。

### 二、利用細胞試驗了解蒲公英甲醇萃取物抑制肺細胞發炎之影響

#### (一)使用細胞遷移實驗測試蒲公英抑制肺細胞發炎效果

經由實驗結果得知，在加入 LPS 脂多醣進行刺激後，加入蒲公英甲醇萃取物 0.1mg/ml 及 0.3mg/ml 的濃度，細胞遷移數量均明顯減少，由此可得知蒲公英甲醇萃取物對於 LPS 刺激肺細胞發炎遷移具有明顯抑制效果。

#### (二)使用細胞移動實驗判斷蒲公英抑制肺細胞發炎效果

經由實驗結果得知，在加入 LPS 脂多醣進行刺激後加入蒲公英甲醇萃取物 0.3mg/ml 及 0.5mg/ml 的濃度觀察 24hr 後，均只有零星肺細胞散布，無明顯細胞移動現象，相較於控制組及對照組有明顯差異，由此可得知蒲公英甲醇萃取物對於抑制肺細胞發炎移動具有明顯效果。

## 陸、結論

一、在本次研究中，我們先將蒲公英分為水萃取及甲醇萃取，在 1%及 2%清除 DPPH 自由基實驗和 Trolox(維生素 E)標準品做比較、在 ABTS 總抗氧化實驗中和 Trolox (維生素 E) 標準品做比較、在總酚試驗中和 GA(沒食子酸)標準品做比較，結果都顯示為甲醇萃取物的抗氧化能力效果，相較於水萃取物較佳。

二、藉由細胞遷移試驗及細胞移動試驗，可觀察蒲公英甲醇萃取物在被 LPS 刺激過的發炎肺細胞中，有減緩細胞遷移及移動效果，由此可得知，蒲公英甲醇萃取物具有明顯抑制肺細胞發炎效果。

三、未來我們可以運用管柱狀層析法，進行 1%蒲公英甲醇萃取液成分鑑定，屬於何種類黃酮、多酚酸，並分別探討當中何種成分具抑制肺細胞發炎遷移及移動能力，可望可以輔助治療肺細胞發炎患者，為提供新冠肺炎患者新的選擇。

## 柒、參考資料

1. 王柏森，黃明星，十三種中草藥水萃物的抗氧化與抗發炎評估，嘉南藥理科技大學：藥物科技研究所。
2. 許月明，趙一龍，張爽，蒲公英抗氧化活性初步研究，《皖西學院學報》2012 年第 5 期 98-100 頁，共 4 頁。
3. 張濡惠，蒲公英醇萃物之抗氧化及抑制非小細胞肺癌細胞生長及移行之研究，輔仁大學食品科學系，2012。
4. 谷肄靜，王立娟，蒲公英總黃酮的提取及其抑菌性能，東北林業大學學報 35 (8), 43-45, 2007。
5. 李喜鳳，郝哲，杜雲鋒，蒲公英的生物活性研究進展，中藥材 32 (5)，823-826，2009。
6. A comprehensive review of the benefits of Taraxacum officinale on human health，Agnes Di Napoli and Pietro Zucchetti，2021。
7. 呂苡瑄，蒲公英醇減緩巨噬細胞發炎反應，長庚科技大學。健康產業科技研究所，2020。
8. 洪思朋，組培台灣蒲公英其抗發炎、抗菌以及奈米包埋技術之探討，國立中興大學，食品暨應用生物科技學系所 2013。

## 【評語】 052104

1. 本研究主要目的在對蒲公英萃取物之抗氧化效果進行評估與其抗肺炎應用性之探討。
2. 研究結果發現蒲公英透過甲醇萃取物的抗氧化效果比水萃取物佳。此外亦發現甲醇萃取物有明顯抑制肺細胞發炎移動及遷移之現象。由結果推論，蒲公英甲醇萃取物具有對抗氧化及抑制肺炎之效果。
3. 實驗結果的數值資料收集完整，並能具體呈現，團隊表達亦佳。
4. 本研究在蒲公英萃取物能抗肺炎的結論上，較缺文獻探討，並宜有更精確的實驗加以驗證。

## 作品簡報



# 蒲公英萃取物之抗氧化評估與抗肺炎應用

科別：植物學科

組別：高級中等學校組



# 壹、前言

## 一、研究背景

### (一)西洋蒲公英簡介

西洋蒲公英(*Taraxacum officinale*), 別名黃花地丁、婆婆丁、華花郎、蒲公英, 為菊目菊科蒲公英屬, 分布於溫帶至亞熱帶, 花季為4~5及8~9月。

### (二)蒲公英的功效

在北美、歐亞, 文獻指出, 蒲公英的根、莖、葉、花部位之天然的萃取物, 具有保肝、抗菌、抗腸炎、抗關節炎、抗癌功效。

### (三)研究動機

因應新冠疫情, 臺灣的中醫團隊推出中藥「清冠一號」, 內含了總共十種的中藥材, 因此我們針對蒲公英天然萃取物, 進行研究抑制肺部的發炎反應, 具有研究創新性與主題的重要性。

## 二、研究目的

### (一)探討蒲公英水萃取物和甲醇萃取物之抗氧化活性

(清除DPPH自由基能力、ABTS抗氧化實驗及總酚試驗)。

### (二)探討蒲公英甲醇萃取物之抑制肺細胞發炎移動及遷移能力之效果。



*Taraxacum officinale* Web

Botanica  
1820/1821

## 貳、研究過程及方法

### 實驗流程圖

#### Part1: 抗氧化實驗

DPPH清除自由基實驗  
測吸光值OD517

ABTS總抗氧化實驗  
測吸光值OD734

總酚試驗  
測吸光值OD735

#### Part2: 細胞抗發炎實驗

肺細胞發炎遷移能力試驗

肺細胞發炎移動能力實驗

# 參、研究結果與討論

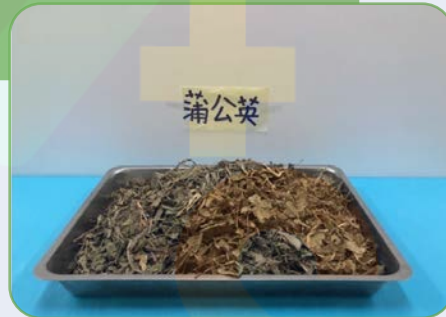
## 一、蒲公英的萃取(水萃取及甲醇萃取)

原料

蒲公英全株



烘乾



磨粉



萃取

熱迴流



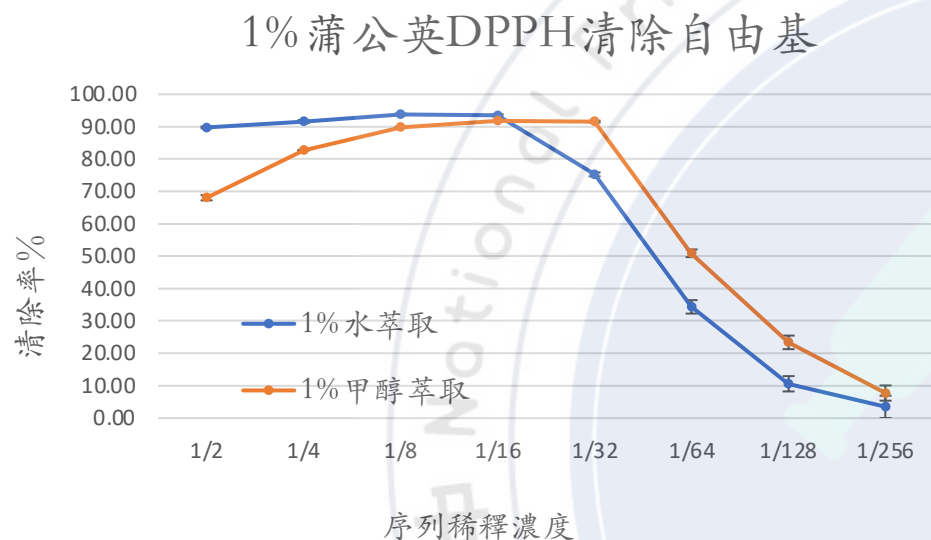
減壓濃縮



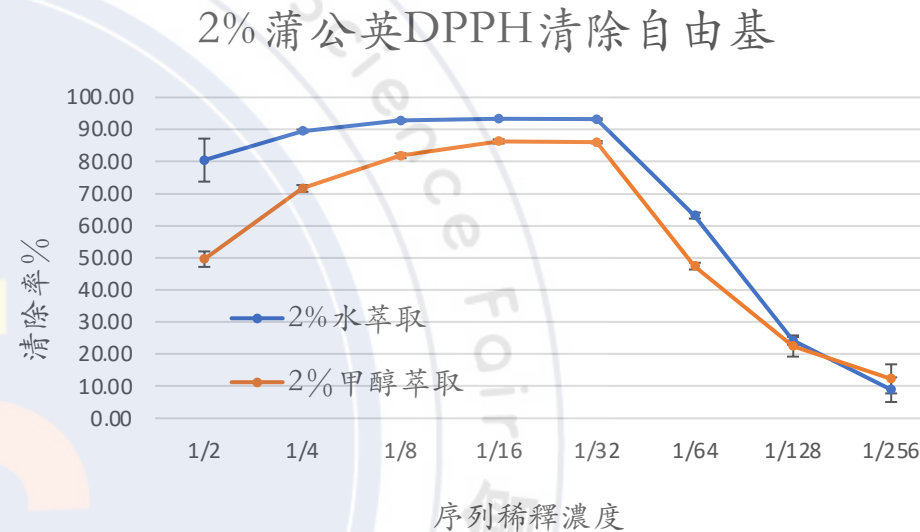
過濾



## 二、各種蒲公英萃取物進行DPPH清除率



▲ 1% 蒲公英對DPPH清除率的實驗結果

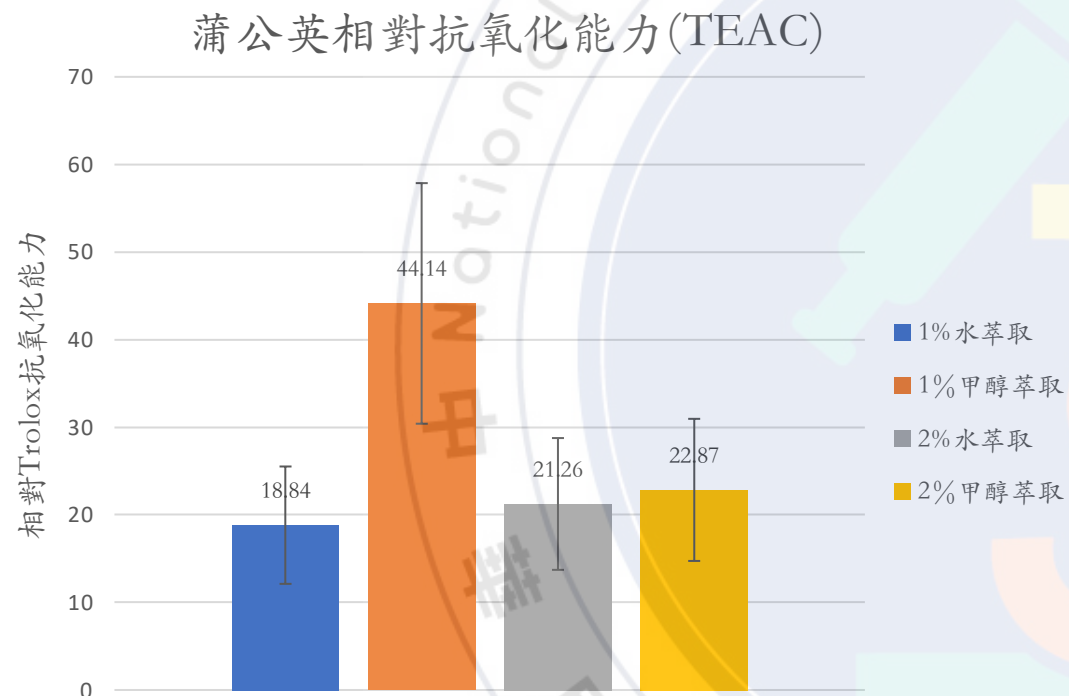


▲ 2% 蒲公英對DPPH清除率的實驗結果

**結論：** 蒲公英萃取物清除DPPH自由基實驗結果說明：

- (一) 1% 蒲公英與2% 蒲公英萃取液對DPPH清除率相當。
- (二) 1% 蒲公英甲醇萃取物的效果較佳。
- (三) 1%/2% 蒲公英萃取物將進一步相對抗氧化能力比較(TEAC)。

### 三、各種蒲公英對清除DPPH自由基中相對抗氧化能力比較(TEAC)



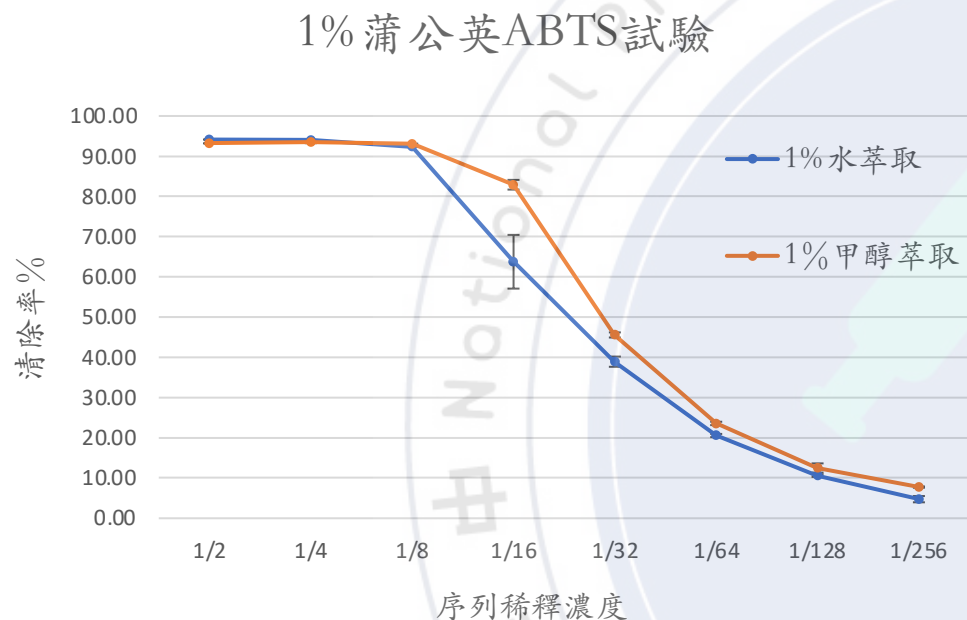
TEAC: 全名為Trolox equivalent antioxidant capacities, 為相對維生素E的等價抗氧化能力

#### 結論:

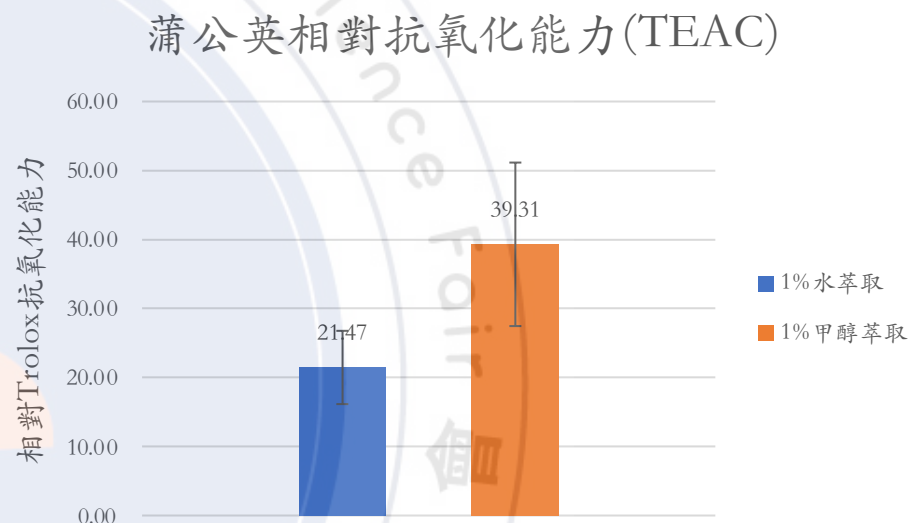
由此表可得知, 在和維生素E的相對抗氧化能力比較下, 1%和2%的甲醇萃取都較水萃取效果較佳。

▲ 各種蒲公英在DPPH清除自由基下的TEAC比較

#### 四、各種蒲公英萃取液對ABTS總抗氧化力之比較



▲ 1% 蒲公英對ABTS總抗氧化力的實驗結果比較

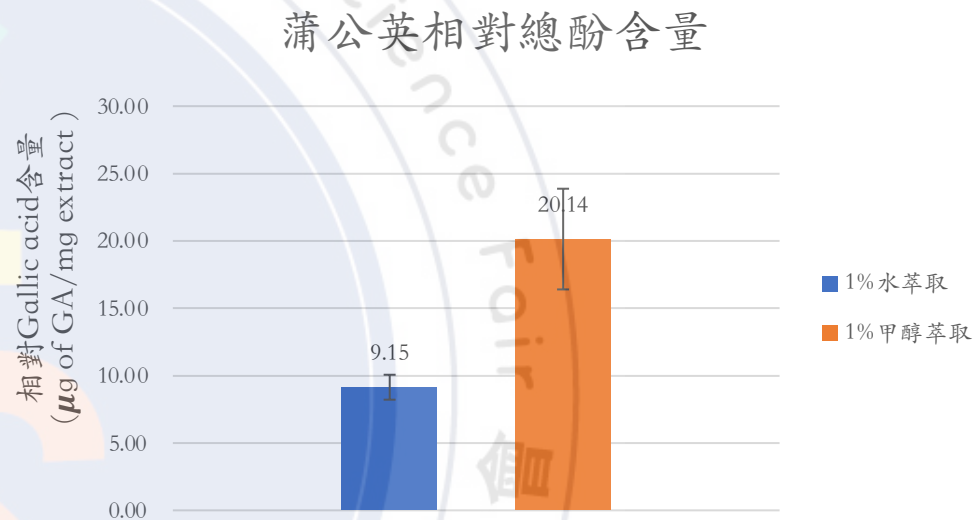
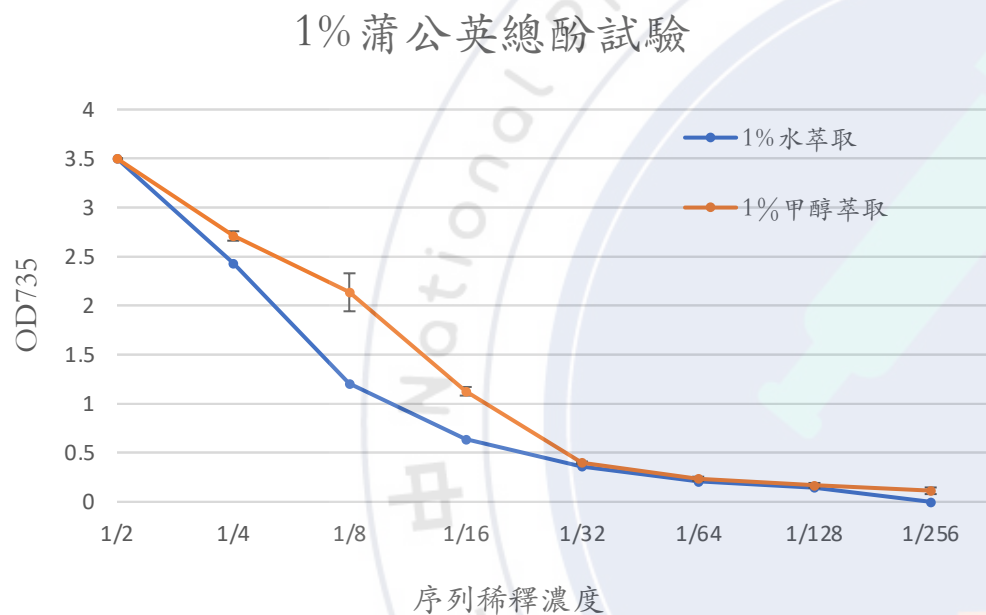


▲ 1% 蒲公英在ABTS總抗氧化力的TEAC比較

**結論：**1% 蒲公英萃取物ABTS總抗氧化實驗結果說明：

我們以Trolox(維生素E)作為抗氧化對照組，推出各濃度相對Trolox濃度，結果為甲醇萃取的效果較佳。

## 五、蒲公英的總酚含量比較



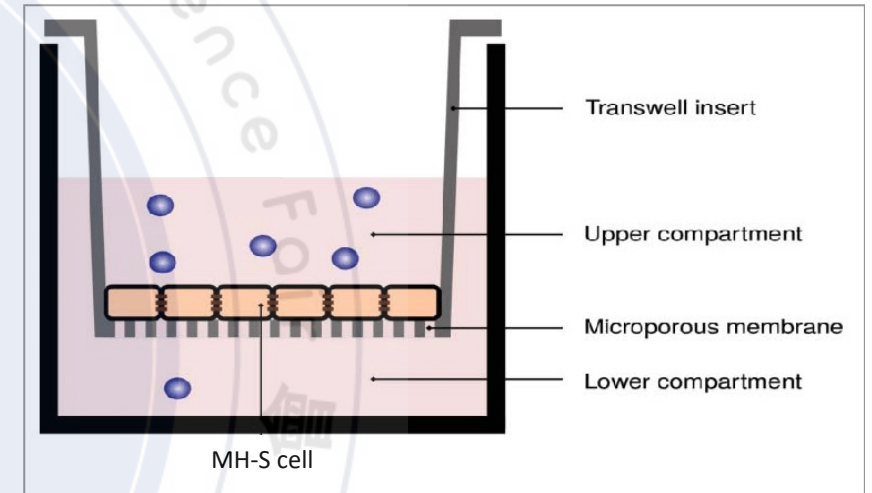
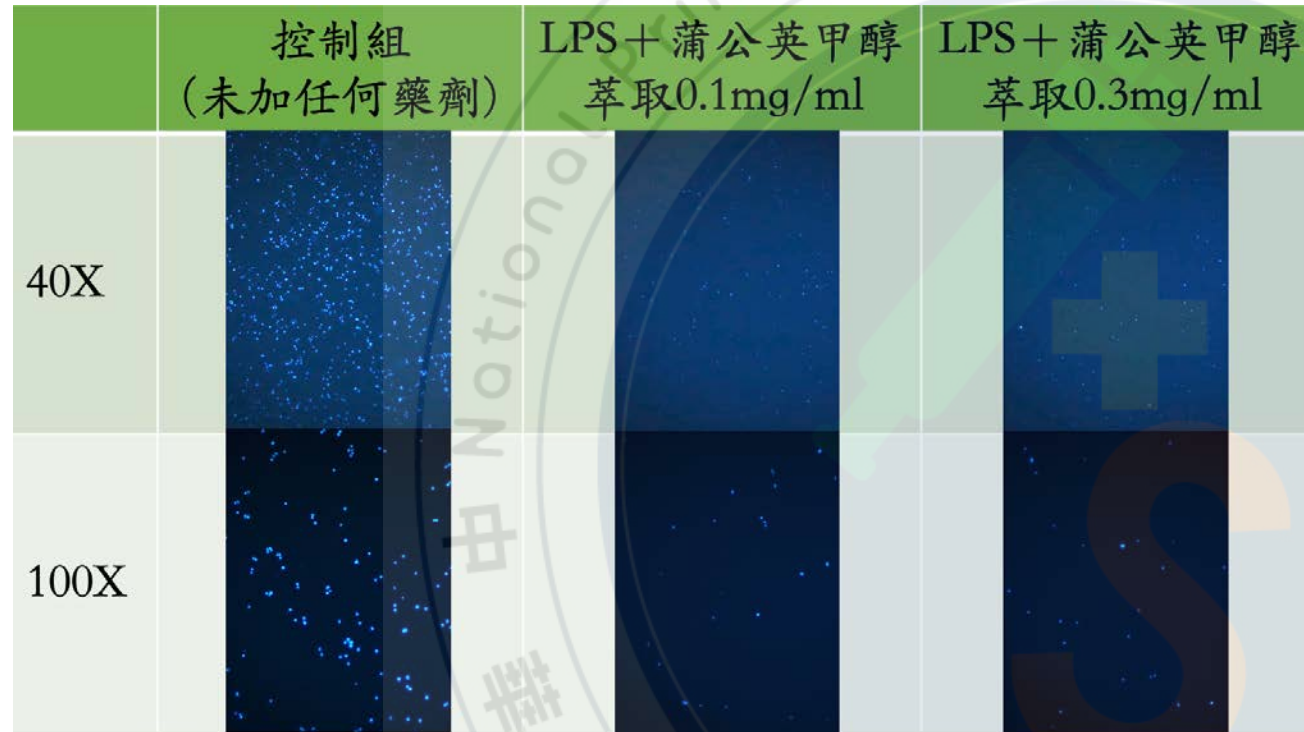
▲ 1% 蒲公英在總酚試驗下的實驗結果比較

▲ 1% 蒲公英在總酚試驗中的總酚含量比較

**結論：** 蒲公英萃取物總酚實驗(以Gallic acid為標準)結果說明：

我們使用Gallic acid(沒食子酸)作為標準品，計算各濃度內總酚含量，結果為甲醇萃取物的含量較高。

## 六、蒲公英萃取物抑制肺細胞發炎遷移能力試驗



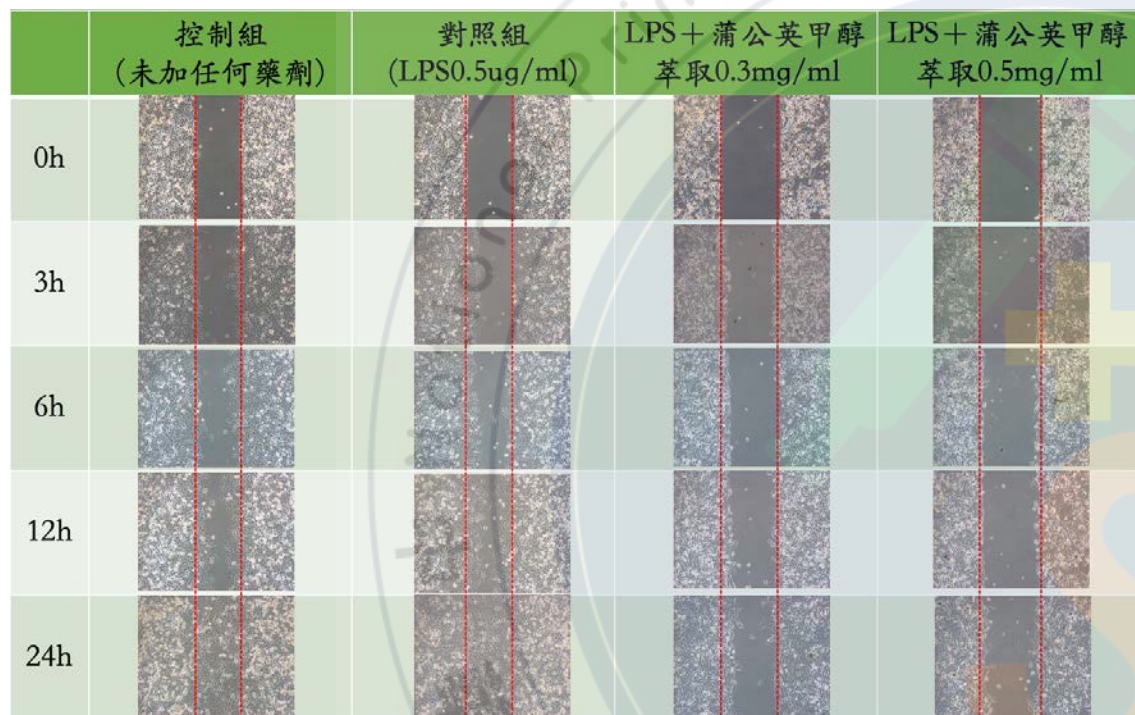
▲ 肺細胞遷移試驗結果

### 結論：

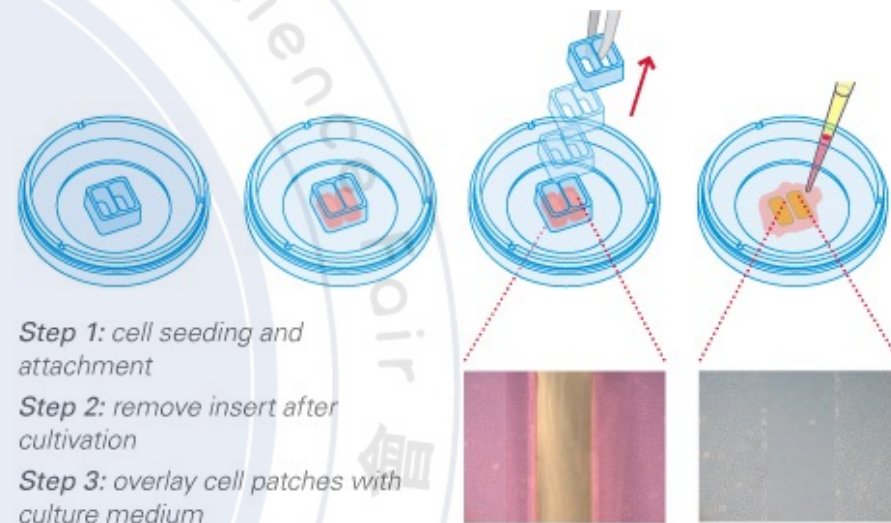
我們使用MH-S肺細胞測試蒲公英甲醇萃取物是否能減緩發炎肺細胞遷移，細胞部分則採用DAPI染劑在UV燈照射下拍攝，經細胞產生螢光後觀察發現，蒲公英甲醇萃取物在0.1mg/ml及0.3mg/ml的濃度下相較於控制組具有明顯抑制發炎肺細胞遷移的實驗效果。



## 七、蒲公英萃取物抑制肺細胞發炎移動能力試驗



▲ 肺細胞發炎移動能力試驗結果



**結論：**  
我們採用A549肺細胞測試蒲公英甲醇萃取物是否具有抵抗肺細胞發炎移動能力，在加入LPS脂多醣刺激發炎後，相較於控制組在12hr時有較明顯發炎移動效果，而蒲公英甲醇萃取物在0.3mg/ml及0.5mg/ml的濃度時，細胞均只有些微移動情形，藉此能證明蒲公英對肺細胞發炎具有明顯抑制效果。

## 肆、結論

一、在本次研究中，我們先將蒲公英分為水萃取及甲醇萃取，在1%及2%DPPH清除自由基實驗下和Trolox(維生素E)標準品做比較、在ABTS總抗氧化實驗中和Trolox(維生素E)標準品做比較、在總酚試驗中和GA(沒食子酸)標準品做比較，結果都顯示為**甲醇萃取物的抗氧化能力效果，相較於水萃取物較佳。**

二、藉由細胞遷移試驗及細胞移動試驗，可觀察蒲公英甲醇萃取物在被LPS刺激過的發炎肺細胞中，有減緩細胞遷移及移動效果，由此可得知，**蒲公英甲醇萃取物具有明顯抑制肺細胞發炎效果。**

三、未來我們可以運用管柱狀層析法，進行1%蒲公英甲醇萃取液成分鑑定，屬於何種類黃酮、多酚酸，並分別探討當中何種成分具抑制肺細胞發炎遷移及移動能力，可望可以輔助治療肺細胞發炎之患者，為提供新冠肺炎患者新的選擇。

## 伍、參考資料

- 1.王柏森，黃明星，十三種中草藥水萃物的抗氧化與抗發炎評估，嘉南藥理科技大學：藥物科技研究所，2010。
- 2.許月明，趙一龍，張爽，蒲公英抗氧化活性初步研究，《皖西學院學報》2012年第5期。
- 3.張濡惠，蒲公英醇萃物之抗氧化及抑制非小細胞肺癌細胞生長及移行之研究，輔仁大學食品科學系，2012。
- 4.谷肄靜，王立娟，蒲公英總黃酮的提取及其抑菌性能，東北林業大學學報 35 (8), 43-45, 2007。
- 5.李喜鳳，郝哲，杜雲鋒，蒲公英的生物活性研究進展，中藥材 32 (5) ， 823-826，2009。
- 6.A comprehensive review of the benefits of Taraxacum officinale on human health, Agnese Di Napoli and Pietro Zucchetti, 2021。
- 7.呂苾瑄。蒲公英醇減緩巨噬細胞發炎反應。長庚科技大學。健康產業科技研究所，2020。
- 8.洪思朋，組培台灣蒲公英其抗發炎、抗菌以及奈米包埋技術之探討，國立中興大學，食品暨應用生物科技學系所2013。