

# 작약 종자 오일 및 유박 추출물의 생리활성 비교를 통한 작약 부산물의 잠재적 이용 가치 평가

이하민<sup>1,2</sup>, 박경태<sup>1,2</sup>, 허희진<sup>2,3</sup>, 이준수<sup>4,5</sup>, 김광엽<sup>5</sup>, 조주성<sup>4,6\*</sup>

<sup>1</sup>충북대학교 원예과학과, 대학원생, <sup>6</sup>교수, <sup>2</sup>충북대학교BK21생물건강산업교육연구단, 대학원생, <sup>4</sup>교수,  
<sup>3</sup>충북대학교 식품생명공학과, 대학원생, <sup>5</sup>교수

## Assessing the Potential Utilization Value of Peony Byproducts: Comparative Evaluation of Bioactivities in Peony Seed Oil and Cake Extract

Hamin Lee<sup>1,2</sup>, Kyungtae Park<sup>1,2</sup>, Huijin Heo<sup>2,3</sup>, Junsoo Lee<sup>4,5</sup>, Kwang-Yup Kim<sup>5</sup> and Ju-Sung Cho<sup>4,6\*</sup>

<sup>1</sup>Graduate Student and <sup>6</sup>Professor, Major in Horticulture, Division of Animal, Horticultural and Food Sciences, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

<sup>2</sup>Graduate Student and <sup>4</sup>Professor, Brain Korea 21 Center for Bio-Health Industry, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

<sup>3</sup>Graduate Student and <sup>5</sup>Professor, Department of Food Science and Biotechnology, Chungbuk National University, Cheongbuk 28644, Korea

**Abstract** - This study aimed to assess the potential use of *Paeonia lactiflora* Pall. seed cake (PSC). The extraction yield of the PSC extract ranged from 22% to 45%, depending on the extraction solvent used. The PSC extract showed significantly higher levels of total polyphenols and flavonoids contents, and radical scavenging compared to the *P. lactiflora* seed oil (PSO) extract. The antibacterial activity of the PSC extract was superior to that of the positive control and remained effective for up to 48 hours. Furthermore, when the PSC extract was applied, it significantly reduced the inflammatory response induced by LPS, demonstrating the anti-inflammatory activity of PSC. This study confirmed the effective bioactivity not only in PSO, but also in the PSC extract, highlighting the potential of PSC as a bio-health ingredient.

**Key words** – Anti-bacterial, Anti-inflammatory, Antioxidant, Bio-health, *Paeonia lactiflora* Pall., Sustainability

## 서 언

화장품 및 식품 분야에서 천연물 기능성 소재에 대한 중요성이 대두됨에 따라 소재 개발 연구가 급증하고 있다. 이러한 연구들은 식물의 전초 뿐만 아니라 줄기, 근경, 꽃 및 종자에 이르기까지 다양한 식물소재가 연구에 활용되고 있다(Alkhalaf *et al.*, 2019; Chan *et al.*, 2012; Jahanban-Esfahlan *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2016). 천연물 소재 개발 연구는 기존에 이용되던 식물 외에도 생리활성이 우수하고 고부가가치 작물로 활용될 수 있

는 식물에 대한 관심을 증가시켰다. 또한 나고야의정서에 의한 타국의 유전자원 사용에 대한 규제에 의해 국내 자원식물에 대한 가치는 높아졌으며, 이는 높은 가치를 갖는 국내 자원식물의 활용에 기회가 될 수 있다.

작약(*Paeonia lactiflora* Pall.)은 미아리아재비과(Ranunculaceae)에 속하는 다년생 초본식물로 작약속(*Paeonia* spp.)에는 전세계적으로 약 30여 종이 있으며(Lee *et al.*, 2022c), 우리나라에는 작약, 백작약[*Paeonia japonica* (Makino) Miyabe & Takeda] 및 산작약(*Paeonia obovata* Maxim.) 등이 자생하고 있다(Kim *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2022b). 작약은 꽃이 크고 화려하여 관상용으로 가치가 높으며 뿌리는 paeoniflorin,

\*교신저자: E-mail jsc@chungbuk.ac.kr

Tel. +82-43-261-2529

albiflorin, oxipaeoniforin 및 benzolipaeoniforin 등의 약효 성분이 포함되어 항산화, 항암 및 항염증 활성이 우수한 약용식물이다(Eo *et al.*, 2021; Shu *et al.*, 2014). 최근에는 식물뿐만 아니라 작약의 종자에서도 항균, 항염증 및 심혈관질환 예방과 같은 건강상의 이점으로 많은 연구가 진행되었다(Wu *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2016).

종자 내에는 탄수화물, 단백질, 지질과 같은 필수 영양소가 풍부할 뿐만 아니라 폴리페놀, 카로티노이드 및 비타민 등 다양한 생리활성화합물이 함유되어 있다(Karlsen *et al.*, 2016). 이러한 이점으로 인하여 *Daucus carota*, *Hibiscus cannabinus*, *Momordica charantia*, *Salvia hispanica*, *Vitis vinifera*와 같은 다양한 종자의 생리활성화합물을 이용한 미백, 항균, 항염증, 항산화, 보습 및 노화방지 등에 대한 효과가 보고되었으며(Dhar *et al.*, 2015; Dias, 2014; Gupta *et al.*, 2020; Tak *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022), 식품, 의약 및 화장품 산업에서 종자 오일 또는 추출물로 이용되고 있다(Ahangari *et al.*, 2021). 특히 *Paeonia* species의 종자 오일에는 올레산, 리놀레산, 리놀렌산과 같은 불포화 지방산이 풍부하여 고부가가치 소재로 활용될 수 있다(Liu *et al.*, 2017)

종자로부터 오일을 추출하는 과정은 다양한 방법이 있으며, 모든 오일 추출과정에서 유박이 발생하게 된다. 이전에는 폐기물로 간주되었지만 최근 연구에서는 생리활성 측면에서 유박의 잠재력이 인정받고 있다(Rakita *et al.*, 2023; Sunil *et al.*, 2015). 유박에는 추출되지 않은 단백질, 탄수화물, 미네랄 및 지질이 잔존하며(Ramadan, 2020), 유박에서 추출한 파이토케미칼은 항산화, 항균 및 건강증진 특성을 나타내어 식품, 제약 및 화장품 산업에서 잠재적으로 응용할 수 있다(Nie *et al.*, 2021; Terpin *et al.*, 2012). 따라서 이를 활용하는 것은 천연물 소재 개발에 있어 새로운 소재를 발견하고, 소재의 재활용적인 측면에서도 큰 이점을 줄 수 있다.

따라서 본 연구는 작약 종자 오일과 유박 추출물의 항산화, 항균 및 항염증 활성을 비교하여 작약 부산물의 잠재적인 효능을 확인하는 것을 목표로 하였다. 이러한 우리의 연구는 작약 종자 유박의 재활용을 통한 지속가능한 농업의 실천과 새로운 천연물 기능성 소재로의 활용 가능성에 대한 정보를 제공하고자 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

2021년 9월 안동에서 채종한 작약 종자를 상온에서 건조시킨

뒤 49℃ 이하로 설정된 저온압착기(NF-80, Karaerler, Ankara, Turkey)로 추출하여 종자 오일 및 유박을 획득하였다. 추출된 오일은 감압여과펌프(N810, KNF Neuberger, Inc., Freiburg, Germany)와 여과지(Qualitative Filter Paper, Cytiva, Freiburg, Germany)로 불순물을 제거한 뒤 순수한 오일만을 수집하였다. 유박은 분쇄기(Tube Mill Control, IKA Work, Inc., Staufen, Germany)를 사용하여 분쇄하고, -80℃에 보관하면서 추출물 제조에 사용하였다.

### 작약 유박 추출물 제조

작약 종자 유박(1 g)는 각 80% 에탄올, 80% 메탄올, 80% 아세트론 및 메탄올:아세트론:증류수(7:7:6, v:v:v)를 이용하여 초음파 수조(Power Sonic 510, Emerson Electric Co., Ferguson, MO, USA)에서 30분간 초음파 추출하였다. 각 추출물은 감압여과펌프와 여과지를 사용하여 여과하였으며, 추출 용매를 이용하여 최종 농도를 50 mL로 정량하였다. 각 추출물은 회전감압농축기(Eyela N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축한 뒤, DMSO (dimethyl sulfoxide)로 재용해하여 항균 및 항염증 분석에 사용하였다. 용매에 따른 추출 수율 및 가용성 고형분은 다음과 같이 계산하였다.

추출 수율(%) =  $\frac{[\text{농축 후 플라스크의 무게}(\text{mg}) - \text{빈 플라스크의 무게}(\text{mg})]}{\text{추출 용매의 양}(\text{mL})} \times 100$

가용성 고형분( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) =  $\frac{[\text{농축 후 플라스크의 무게}(\text{mg}) - \text{빈 플라스크의 무게}(\text{mg})]}{\text{추출 용매의 양}(\text{mL})}$

### 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

총 폴리페놀 함량 분석은 Folin-Ciocalteu (Boussetta *et al.*, 2011) 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 0.1 mL에 2%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2 mL를 혼합한 뒤 3분 후 50% F-C시약을 0.1 mL 첨가하여 30분간 암상태로 반응시켰다. 흡광도는 분광광도계(Libra S22, Biochrom Ltd., Cambridge, UK)를 이용하여 750 nm에서 측정하였으며, 표준물질로 gallic acid를 사용하여 표준곡선을 계산하였다.

총 플라보노이드 함량 분석은 diethylene glycol colorimetric (Min *et al.*, 2023) 방법에 따라 시료 0.2 mL에 DEG 2 mL 및 1 N NaOH 0.2 mL를 혼합한 뒤 37℃의 항온수조(BW3-10G, JEIO Tech. Co., Ltd., Daejeon, Korea)에서 1시간 동안 반응시켰다. 이후 분광광도계를 이용하여 420 nm에서 반

응물의 흡광도를 측정하였으며, 표준물질로는 quercetin을 사용하여 표준곡선을 계산하였다.

### 항산화 활성

ABTS radical 소거능은 decolorization assay 방법인 Lee *et al.* (2022a)의 방법을 응용하여 수행하였다. 2.6 mM potassium persulfate 12.31 mL와 ABTS 50 mg을 암조건의 상온에서 24시간 동안 반응시켜 ABTS radical을 형성한 뒤 24시간 후 시약의 흡광도 값이 732 nm에서  $0.70 \pm 0.03$ 이 되도록 농도를 조절하여 사용하였다. 이후 희석된 ABTS용액 950  $\mu$ L 시료 50  $\mu$ L를 혼합하여 vortexing하였으며, 암조건의 상온에서 10분 동안 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출물의 ABTS radical 소거활성은 희석농도 별 전자공여능[Electron Donating Ability (EDA), %]은 아래의 식을 참고하여 계산하였으며, EDA를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도[Reduction concertation of 50% ( $RC_{50}$ ),  $mg \cdot mL^{-1}$ ]를 확인하였다.

$$\text{전자공여능(EDA, \%)} = [(\text{공시험 흡광도} - \text{시료의 흡광도}) / \text{공시험 흡광도}] \times 100$$

DPPH radical 소거능은 Blois (1958)의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 0.2 mL에 0.2 mM DPPH 용액 0.8 mL를 혼합하여 암실에서 30분 동안 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 조사하였다. ABTS radical 소거활성과 동일한 방법으로 계산하여  $RC_{50}$ 으로 나타내었다.

### 항균 활성

실험에 사용된 균주는 생물자원센터(KCTC, Korean Collection for Type Cultures, Jeongeup, Korea)에서 분양 받은 그람 양성균 *Escherichia coli*와 그람음성균 *Staphylococcus aureus*를 tryptic soy broth배지에 3일간  $37 \pm 1^\circ C$ 에서 계대배양한 후 실험에 사용하였다. 항균 활성 agar diffusion법을 이용하여 측정하였으며, O.D. 값이 1.0으로 조절된 미생물 배양액을 tryptic soy agar에 1% 농도로 접종한 뒤, 패트리디쉬(10090, SPL Life Science Co. Ltd., Pocheon, Korea)에 분주하였다. 분주 후 경화된 배지에 40  $\mu$ L의 시료를 주입한 disc (10614651, Advantec Toyo Roshi International Inc., Utsunomiya, Japan)를 치상하였으며, 이후  $4^\circ C$ 에서 1시간동안 반응 후  $37^\circ C$  incubator (VS-2180C, Vision, Daejeon, Korea)에서 48시간동안 배양하였다. 추출물의 항균 활성은 disc 직경을 포함한 생육 억제환

(clear zone, mm)의 크기를 배양 후 24 및 48시간에 측정하였다. 추출물의 음성대조군으로 DMSO를 사용하였으며, 양성대조군은 *E. coli*에서 0.005% triclosan 및 10% lactic acid, *S. aureus*에서 10% phenoxyethanol 및 5% methylparaben 를 사용하였다.

### 항염증 활성

한국세포주은행(KCLB, Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)에서 분양 받은 RAW 264.7 대식세포는  $100 \text{ unit} \cdot mL^{-1}$  penicillin,  $100 \mu g \cdot mL^{-1}$  streptomycin 및 10% FBS이 포함된 DMEM 배지를 사용하여  $37^\circ C$ , 5%  $CO_2$  조건의 incubator (MCO-170AIC-PE, PHCbi, Osaka, Japan)에서 배양하였다.

이후 추출물의 세포 독성을 확인하기 위하여 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay를 수행하였다. 96-well plate에 6시간동안 배양한 RAW 264.7 대식세포( $1.5 \times 10^5 \text{ cells} \cdot \text{well}^{-1}$ )와  $10 \mu g \cdot mL^{-1}$ 의 시료를 처리하여 동일한 챔버에서 18시간동안 반응시켰다. 이때, 양성대조군으로는 25  $\mu M$ 의 quercetin을 사용하여 동일하게 실험을 진행하였다. 이후 배지를 제거하고 well당 10  $\mu$ L의 MTT 용액을 첨가하여 1.5시간동안 반응시켰다. 반응 후 생성된 formazan crystal은 DMSO로 녹여 microplate reader (EPOCH-SN, Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 정상세포에 대한 세포생존율을 백분율로 표시하였다.

RAW 264.7 세포를 이용한 nitric oxide (NO) 생성 저해는 Lee *et al.* (2015)의 실험방법을 응용하여 측정하였다. 배양된 RAW 264.7 ( $1.5 \times 10^5 \text{ cells} \cdot \text{well}^{-1}$ )에 추출물( $10 \mu g \cdot mL^{-1}$ )과 LPS ( $1 \mu g \cdot mL^{-1}$ )를 처리한 후 18시간 동안  $37^\circ C$ , 5%  $CO_2$  incubator에서 배양하였다. 100  $\mu$ L의 RAW 264.7 대식세포 배양액에 100  $\mu$ L의 griess 시약을 혼합하여 10분간 반응시켰다. 상기 반응물은 550 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도 값을 이용하여 sodium nitrate의 표준곡선으로 NO 생성량을 계산하였다.

### 통계분석

추출 용매에 따른 수율, 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석 및 항산화 활성 분석 실험은 3회 반복하였으며, 항균 및 항염증 활성 분석은 각 4반복 및 6 반복하여 수행하였다. 모든 실험에서 조사된 모든 측정값들에 대해 평균과 표준오차를 구하였으며, SAS 프로그램(version 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 분산분석(one-way ANOVA)을 수행하

고, Tukey's HSD test를 통해  $P < 0.05$  수준에서 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 추출용매별 작약 유박 추출물의 수율 비교

본 실험에서 작약 유박의 추출은 Teh *et al.* (2014)의 방법을 참고하여 80% 에탄올, 80% 메탄올, 80% 아세톤 및 MAW를 용매로 하여 진행하였다. 추출용매별 작약 유박 추출물은 22.05–45.14%의 수율을 보였으며, 그 중 80% 아세톤 추출물에서 45.14%로 가장 높은 수율이 나타났다(Table 1). 추출용매별 작약 유박 추출물의 가용성 고형분의 함량은 4.47–9.0 mg · mL<sup>-1</sup>으로 아세톤 > 메탄올 > MAW > 에탄올 순으로 확인되었다.

### 작약 유박 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 비교

작약 유박 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 작약 종자 오일에 비해 유의적으로 높았으며, 추출 용매에 따른 차이를 나타냈다(Fig. 1). 추출 용매별 작약 유박의 폴리페놀 함량

은 35.23–40.25 mg GAE · g<sup>-1</sup>이었으며, 특히, 아세톤(40.25 mg GAE · g<sup>-1</sup>) 및 MAW (39.02 mg GAE · g<sup>-1</sup>) 추출물에서 다른 처리구에 비해 유의적으로 높은 폴리페놀 함량을 보였다(Fig. 1A). 총 플라보노이드 함량 분석 결과, 작약 종자 오일, 에탄올, 메탄올, 아세톤 및 MAW 추출물에서 각 2.45, 4.17, 5.67, 7.16 및 6.49 mg QE · g<sup>-1</sup>으로 측정되었으며, 총 폴리페놀 함량과 동일하게 아세톤 및 MAW 추출물에서 유의적으로 높은 플라보노이드 함량을 나타냈다(Fig. 1B). 항산화 화합물의 함량은 식물 부위에 따라 차이를 보일 수 있으며, 수용성 페놀은 내부조직(과육, 종자의 배 및 배유) 보다 외부조직(과피 및 종피)에 더 높은 농도로 존재한다(Sultana *et al.*, 2009). 본 연구 결과에 따르면 기존의 종자 오일의 추출 과정은 종피에 존재하는 항산화 물질이 충분히 추출되지 않았을 가능성이 있다. 따라서 종자 유박이 다양한 바이오헬스 응용 분야에 활용될 수 있는 풍부한 파이토케미칼 공급원의 역할을 할 수 있음을 시사한다. 그러나 항산화 물질의 함량은 추출에 사용되는 용매의 극성에 따라 달라질 수 있으므로 적합한 용매를 선정하는 것이 요구된다(Phuyal *et al.*, 2020). 작약 유박 추출물은 용매에 따라 총 폴리페놀 및 플라보

Table 1. Extraction yield and soluble solid contents of *Paeonia lactiflora* Pall. cake extract by extraction solvents

Extraction solvent	Extraction yield (%)	Soluble solid (mg · mL <sup>-1</sup> )
80% Ethanol	22.05 ± 1.304b <sup>y</sup>	4.47 ± 0.240b
80% Methanol	27.11 ± 1.719b	5.47 ± 0.353b
80% Acetone	45.14 ± 4.121a	9.00 ± 0.808a
M:A:W <sup>z</sup>	26.17 ± 0.982b	5.27 ± 0.176b

<sup>z</sup>M:A:W, methanol:acetone:distilled-water (7:7:6). <sup>y</sup>Different letters indicate a significant difference using Tukey's HSD test at  $P < 0.05$  (n = 3).

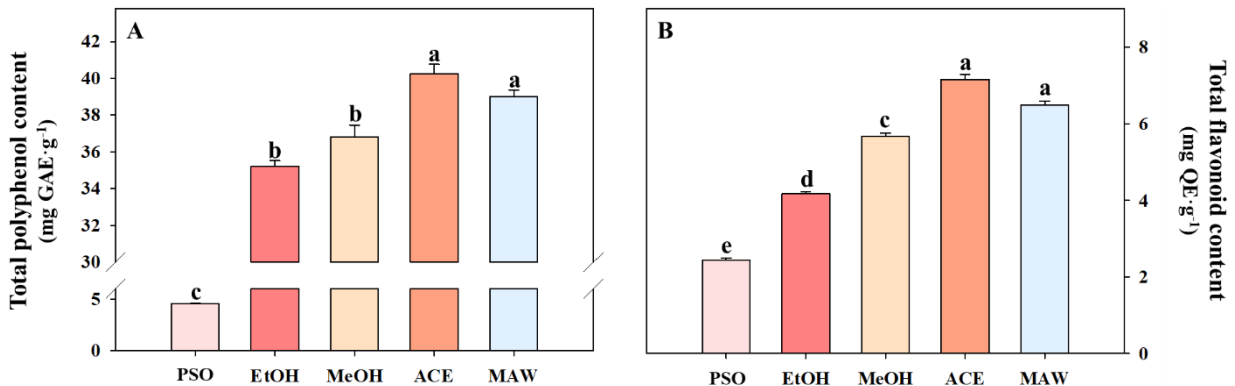


Fig. 1. Total polyphenol (A) and flavonoid (B) contents of *Paeonia lactiflora* Pall. seeds oil and cake depending on the extraction solvents. Different letters indicate a significant difference using Tukey's HSD test at  $P < 0.05$  (n = 3). ACE, acetone; PSO, *P. lactiflora* seed oil; EtOH, ethanol; MAW, methanol:acetone:distilled-water (7:7:6); MeOH, methanol.

노이드 함량에서 차이를 보였다. 이는 각 용매의 극성 정도에 따라 항산화 물질을 추출하는데 있어 상이한 결과를 나타낸 것으로 생각된다.

**작약 유박 추출물의 항산화 활성 비교**

항산화 활성을 확인하기 위해 ABTS 및 DPPH radical 소거능을 측정하였다. ABTS radical 소거능 측정 결과, 작약 종자 오일에 비해 유박 추출물의 항산화 활성이 약 31.8-87.6배 우수하였으며, 추출 용매에 따른 차이는 없었다(Fig. 2A). 추출 용매별 유박 추출물의 DPPH radical 소거활성은 아세톤(RC<sub>50</sub>, 2.27 mg · L<sup>-1</sup>) > MAW (RC<sub>50</sub>, 3.49 mg · L<sup>-1</sup>) > 메탄올(RC<sub>50</sub>, 4.77 mg · L<sup>-1</sup>) > 에탄올(RC<sub>50</sub>, 6.23 mg · L<sup>-1</sup>) 순으로 높은 활성을 보였으며, 모든 유박 추출물은 작약 종자 오일(RC<sub>50</sub>, 13.13 mg · mL<sup>-1</sup>)에 비해 유의적으로 높은 활성을 보였다. 본 연구에서 ABTS 및 DPPH radical 소거능 모두 작약 종자 오일에 비해 높은 활성을 보였는데, 이러한 결과는 폴리페놀 및 플라보노이드 함량의 결과와 일치하였다. 식물과 과일의 항산화 능력은 다양한 파이토케미칼과 관련이 있으며, 특히 플라보노이드를 비롯한 페놀성 화합물은 항산화 효과와 함께 많은 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Zheng and Wang, 2001). 따라서 유박 추출물의 radical 소거능은 작약 종자 오일에 비해 높은 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량에 기인한 것일 수 있다. 또한 이전 연구에서 종자 유박은 다양한 극성의 항산화 화합물이 존재하며, 이는 추출 용매에 따라 항산화 능력의 차이를 보인다고 보고된 바 있다(Zhou and Yu, 2004). 마찬가지로 작약 유박 추출물의 DPPH radical 소거능은 용매에 따른 차이를 보였는데, 이는 각 추출 용매의 극성 차이로 인해 추출된 항산화 화합물이 달라 항산화

능력에 영향을 준 것으로 생각된다.

**작약 유박 추출물의 항균 활성 비교**

이 연구에서 공시균으로 사용된 *E. coil* 및 *S. aureus*에 대한 작약 유박 추출물의 항균효과를 확인할 수 있었다(Fig. 3). 그 중 에탄올 추출물(24시간: 13.41 mm 및 48시간: 13.14 mm)은 다른 처리구와 비교하여 *E. coil*에 대한 유의미한 항균효과를 나타냈으며, 합성항균제인 트리클로산 (24시간: 13.29 mm 및 48시간: 12.91 mm) 보다 유의적으로 우수한 생육억제 활성을 나타냈다(Fig. 3A). *S. aureus*에 대한 작약 유박 추출물은 추출용매에 관계없이 항균효과를 보였으며, 추출용매에 관계없이 합성항균제인 페녹시에탄올 보다 높은 억제율이 조사되었다(Fig. 3B). 작약 유박 추출물은 *E. coil* 및 *S. aureus*에 대한 항균활성에서 추출 용매에 따른 유의적인 차이를 보였지만, 두 균주에서 모두 작약 종자 오일 보다 우수한 활성을 나타냈다. 이전 연구에서 작약 추출물은 *Bacillus anthracis*, *B. subtilis*, *Candida albicans*, *S. aureus*, *Streptococcus muntans* 및 *Clostridium perfringens*에 대한 항균 효과가 나타났다(Boo *et al.*, 2011; Lu *et al.*, 2022; Park *et al.*, 2007). Choi and Kang (2022)의 연구에 따르면 작약 추출물에 포함된 폴리페놀 및 플라보노이드가 균에서 생성된 radical을 소거하여 항균활성을 나타냈다. 본 연구 결과, 작약 종자 오일에 비해 유박 추출물의 높은 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량으로 인해 항균 활성에도 효과적인 것으로 판단된다. 이러한 이유로 작약 종자 오일에 비해 유박 추출물은 천연 항균제로서 잠재적인 이용가능성을 시사한다.

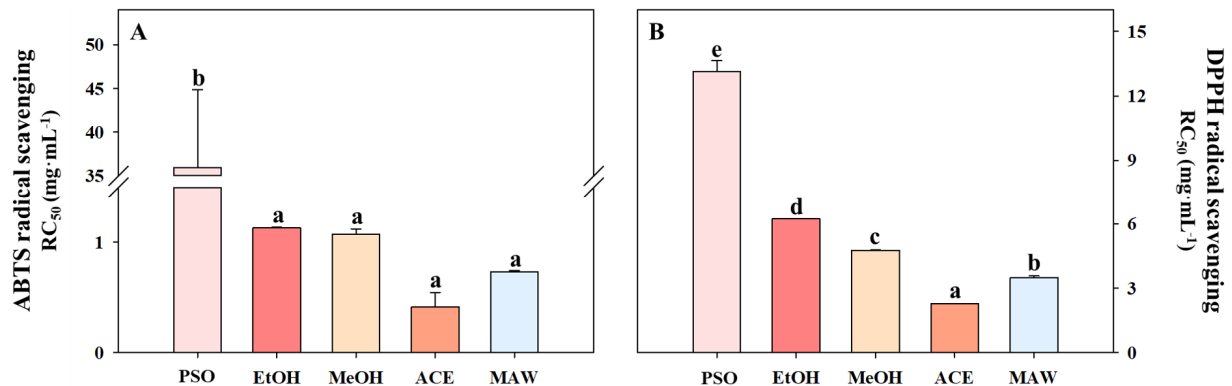


Fig. 2. ABTS (A) and DPPH (B) radical scavenging of *Paeonia lactiflora* Pall. seeds oil and cake depending on the extraction solvents. Different letters indicate a significant difference using Tukey’s HSD test at *P* < 0.05 (*n* = 3). ACE, acetone; PSO, *P. lactiflora* seed oil; EtOH, ethanol; MAW, methanol:acetone:distilled-water (7:7:6); MeOH, methanol.

**작약 유박 추출물의 항염증 활성 비교**

RAW 264.7 대식세포에 대한 추출 용매별 작약 유박 추출물의 세포독성을 확인하기 위해 MTT assay를 수행하였다. 유박 추출물을 10  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  농도로 처리한 결과, 모든 처리구에서 80% 이상의 cell viability가 확인되어 세포독성이 없는 것으로 간주하였다(Fig. 4A). 따라서 독성이 나타나지 않는 10  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 로 농도를 설정하고, NO 생성 저해 효과를 확인하였다. NO는 염증매개 인자로, LPS나 pro-inflammatory cytokine 등 외부 자극으로 inducible NOS (iNOS)가 발현되어 염증을 유발하는 것으로 알려져 있다(Azab *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2015). 본 연구에서 LPS를 처리시 정상세포의 경우 NO 생성량이 9  $\mu\text{M}$ 에서 42  $\mu\text{M}$ 로 크게 증가하였으나 작약 유박 추출물은 NO 생성을 유

의하게 억제하였다(Fig. 4B). LPS 처리구는 LPS를 처리하지 않은 세포보다 NO의 생성량이 증가하였는데, 이는 LPS가 산화적 스트레스를 유발한다는 보고와 일치하였다(Paranhu *et al.*, 2002; Wang and Mazza, 2002). 최근에는 작약의 주성분인 paeoniflorin은 LPS로 자극된 RAW 264.7 대식세포에서 NO와 Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)의 생성을 억제하는 효과가 있는 것으로 밝혀져 작약이 항염증 소재로서 큰 잠재력을 보였다(Xin *et al.*, 2019).

이러한 작약 종자 및 유박의 다양한 생리학적 효능은 기존의 약용하던 뿌리의 효과와 유사하였다. 전통적인 약용부위인 뿌리는 한 번 채집하기 위해서는 3년 이상의 성숙한 뿌리를 이용하며(Choung, 2002), 채취할 때 식물을 손상시키거나 심할 경우

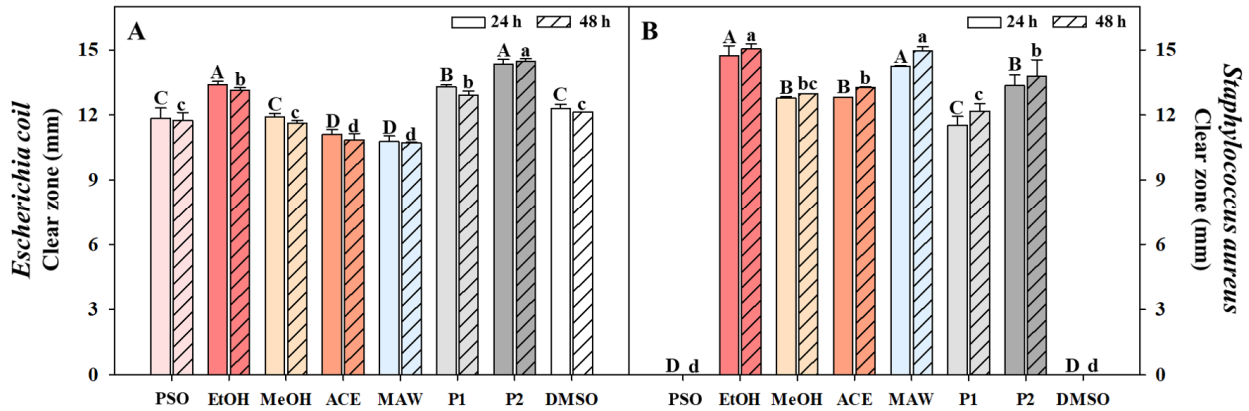


Fig. 3. Antibacterial activity of *Paeonia lactiflora* Pall. seeds oil and cake depending on the extraction solvent. Different letters indicate a significant difference using Tukey’s HSD test at  $P < 0.05$  ( $n = 4$ ). ACE, acetone; PSO, *P. lactiflora* seed oil; EtOH, ethanol; MAW, methanol:acetone:distilled-water (7:7:6); MeOH, methanol.

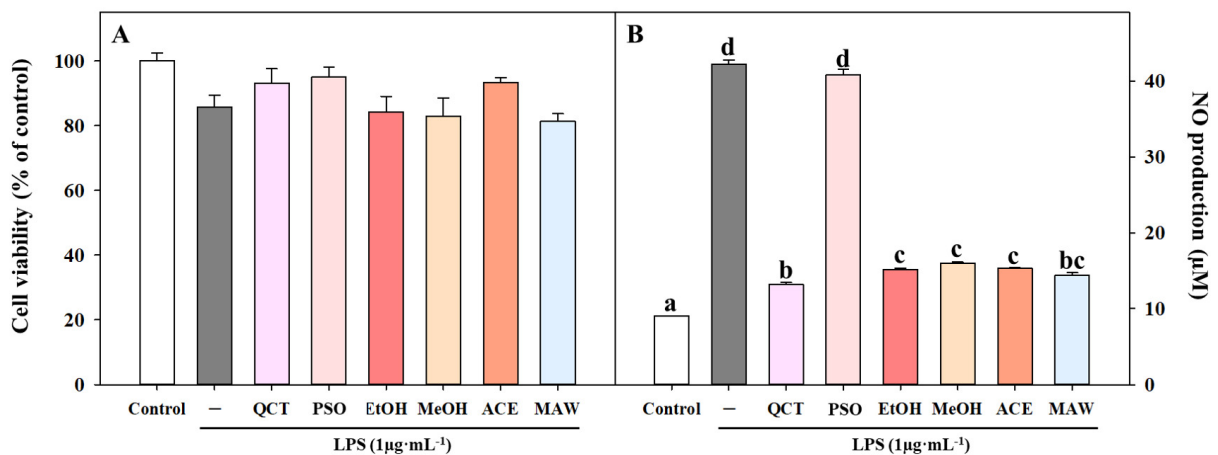


Fig. 4. Effect of *Paeonia lactiflora* Pall. seeds oil and cake extract on cell viability and NO production in LPS-induced RAW 264.7 cells. Different letters indicate a significant difference using Tukey’s HSD test at  $P < 0.05$  ( $n = 6$ ). ACE, acetone; PSO, *P. lactiflora* seed oil; EtOH, ethanol; MAW, methanol:acetone:distilled-water (7:7:6); MeOH, methanol; QCT, 25  $\mu\text{M}$  quercetin.

전체적으로 이용할 수 없으며(Tong *et al.*, 2021), 다시 재배하기 위해 많은 시간이 소요된다. 따라서 항산화, 항균 및 항염증에 효과적인 작약 종자 바이오헬스 소재로 이용하면 매년 종자를 채종할 수 있으며, 더불어 종자 뿐만 아니라 종자유 추출 후 남은 유박의 활용을 통해 지속가능한 농업을 실천할 수 있다.

## 적 요

본 연구에서는 작약(*Paeonia lactiflora* Pall.) 종자 오일과 유박의 생리활성의 비교를 통해 작약 종자 유박 활용에 가능성을 평가하고자 수행되었다. 작약 종자 유박 추출물의 추출 수율은 22~45%로 추출용매에 따른 차이를 보였다. 총 폴리페놀 및 플라보노이드와 radical소거능은 오일보다 유박 추출물에서 유의하게 높았다. 작약 유박 추출물의 항균활성은 양성대조군에 비해 우수하였으며, 이는 48시간까지 지속되었다. 또한 LPS로 유도된 염증 반응은 유박 추출물 처리시 현저하게 감소하여 작약 종자 유박의 항염증 활성이 입증되었다. 본 연구를 통해 작약 종자 오일 뿐만 아니라 유박 추출물의 우수한 항산화, 항균 및 항염증 활성을 나타내어 바이오헬스 소재로서 작약 종자 유박의 활용 가능성이 확인되었다.

## 사 사

이 논문은 충북대학교 국립대학육성사업(2022)지원을 받아 작성되었음.

## Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

## References

- Ahangari, H., J.W. King, A. Ehsani and M. Yousefi. 2021. Supercritical fluid extraction of seed oils - A short review of current trends. *Trends Food Sci. Technol.* 111:249-260.
- Alkhalaf, M.I., W.S. Alansari, E.A. Ibrahim and M.E. ELhalwagy. 2019. Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-cancer activities of avocado (*Persea americana*) fruit and seed extract. *J. King Saud Univ. Sci.* 31(4):1358-1362.
- Azab, A., A. Nassar and A.N. Azab. 2016. Anti-inflammatory activity of natural products. *Molecules* 21(10):1321.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200.
- Boo, K.H., D. Lee, J.K. Woo, S.H. Ko, E.H. Jeong, Q. Hong, K.Z. Riu and D.S. Lee. 2011. Anti-bacterial and anti-viral activity of extracts from *Paeonia lactiflora* roots. *Appl. Biol. Chem.* 54:132-135.
- Boussetta, N., E. Vorobiev, V. Deloison, F. Pochez, A. Falcimaigne-Cordin and J.L. Lanoisellé. 2011. Valorisation of grape pomace by the extraction of phenolic antioxidants: Application of high voltage electrical discharges. *Food Chem.* 128:364-370.
- Chan, C.H., G.C. Ngoh and R. Yusoff. 2012. A brief review on antidiabetic plants: Global distribution, active ingredients, extraction techniques and acting mechanisms. *Pharmacogn Rev.* 6(11):22.
- Choi, Y.R. and M.K. Kang. 2022. Evaluation of cytotoxic and antibacterial effect of methanolic extract of *Paeonia lactiflora*. *Medicina* 58(9):1272.
- Choung, M.G. 2002. Variation of bioactive component contents in plant parts of *Paeonia lactiflora* Pall. *Korean J. Med. Crop Sci.* 10(5):392-398.
- Dhar, P., C.S. Kar, D. Ojha, S.K. Pandey and J. Mitra. 2015. Chemistry, phytotechnology, pharmacology and nutraceutical functions of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) and roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seed oil: An overview. *Ind. Crop. Prod.* 77:323-332.
- Dias, J.C.S. 2014. Nutritional and health benefits of carrots and their seed extracts. *Food Sci. Nutr.* 5(22):2147.
- Eo, H.J., Y. Park, G.H. Park, J.A. Kim, Y. Kang, K. Kim, J.H. Jang and H.J. Kim. 2021. Study on the correlation between the soil properties and albiflorin, paeoniflorin contents of *Paeonia lactiflora* Pall. *Korean J. Plant Res.* 34(4):384-394.
- Gupta, M., S. Dey, D. Marbaniang, P. Pal, S. Ray and B. Mazumder. 2020. Grape seed extract: Having a potential health benefits. *J. Food Sci. Technol.* 57:1205-1215.
- Jahanban-Esfahlan, A., A. Ostadrahimi, M. Tabibiazar and R. Amarowicz. 2019. A comparative review on the extraction, antioxidant content and antioxidant potential of different parts of walnut (*Juglans regia* L.) fruit and tree. *Molecules* 24(11):2133.
- Karlsen, M.C., G.S. Ellmore and N. McKeown. 2016. Seeds-Health benefits, barriers to incorporation, and strategies for practitioners in supporting consumption among consumers. *Nutr. Today* 51(1):50-59.
- Kim, S., J. Park and K. Kim. 2006. Change of medicinal com-



- ponents by different species, plant parts and growth stage of *Paeonia* spp. Korean J. Crop Sci. 51(3):215-219 (in Korean).
- Lee, H., B. Ji, B.K. Jang, K. Park, S.Y. Lee, K. An and J.S. Cho. 2022a. Effect of hydropriming and light quality treatments on sprout growth and antioxidant activity in *Brassica oleracea* var. *capitata* seeds. Korean J. Hortic. Sci. Technol. 40(2): 242-252.
- Lee, M.S., H.J. Jeong, S.H. Park, H. Chung, J.T. Jeong, M.K. Kim, J.S. Gil, J.B. Lee, S.R. Kim, K.H. Yun and Y. Lee. 2022b. Development of a chloroplast-based InDel marker that discriminates between *Paeonia suffruticosa* and *P. lactiflora*. Korean J. Medicinal. 30(6):430-439 (in Korean).
- Lee, S.M., L. Li, J. Sung, J. Yang, Y. Kim, H.S. Jeong and J. Lee. 2015. Anti-inflammatory activities of methanolic extracts from different rose cultivars. Korean J. Food Nutr. 28:551-557 (in Korean).
- Lee, Y.J., M.S. Choi and P.S. Choi. 2022c. Optimal conditions for adventitious root organogenesis from peony root explant callus cultures. J. Plant Biotechnol. 49(3):207-212 (in Korean).
- Liu, P., Y. Xu, X. Gao, X. Zhu, M. Du, Y. Wang, R. Deng and J. Gao. 2017. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of oil from the seed kernels and isolation of monoterpene glycosides from the oil residue of *Paeonia lactiflora* Pall. Ind. Crop. Prod. 107:260-270.
- Liu, Q., D. Li, W. Wang, D. Wang, X. Meng and Y. Wang. 2016. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils and methanol extracts of different parts from *Juniperus rigida* Siebold & Zucc. Chem. Biodivers. 13(9): 1240-1250.
- Lu, J., Z. Huang, Y. Liu, H. Wang, M. Qiu, Y. Qu and W. Yuan. 2022. The optimization of extraction process, antioxidant, whitening and antibacterial effects of fengdan peony flavonoids. Molecules 27:506.
- Min, H.J., D.H. Kim and K.I. Seo. 2023. Biological activity of *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb. wing extracts. Korean J. Food Preserv. 30(2):358-368 (in Korean).
- Nie, R., Y. Zhang, Q. Jin, S. Zhang, G. Wu, L. Chen, H. Zhang and X. Wang. 2021. Identification and characterisation of bioactive compounds from the seed kernels and hulls of *Paeonia lactiflora* Pall by UPLC-QTOF-MS. Food Res. Int. 139:109916.
- Paranhu, K., F. Zamamiri-Davis and J.B. Stewart. 2002. Selenium deficiency increases the expression of inducible nitric oxide synthase in RAW 264.7 macrophage: role of nuclear factor-KB in up-regulation. Biochem. J. 366:203-209.
- Park, H.S., K.J. Min, C.G. Cha, J.W. Song and J.C. Son. 2007. Antimicrobial activities against oral microbes and growth-inhibitory effect on oral tumor cell by extract of *Paeonia lactiflora*. J. Environ. Health Sci. 33(1):21-29 (in Korean).
- Phuyal, N., P.K. Jha, P.P. Raturi and S. Rajbhandary. 2020. Total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activities of fruit, seed, and bark extracts of *Zanthoxylum armatum* DC. Sci. World J. 2020:1-7.
- Rakita, S., B. Kokić, M. Manoni, S. Mazzoleni, P. Lin, A. Luciano, M. Ottoboni, F. Cheli and L. Pinotti. 2023. Cold-pressed oilseed cakes as alternative and sustainable feed ingredients: A review. Foods 12(3):432.
- Ramadan, M.F. 2020. Introduction to cold pressed oils: Green technology, bioactive compounds, functionality, and applications. In Ramadan, M.F. (ed), Cold Pressed Oils: Green Technology, Bioactive Compounds, Functionality, and Applications, Academic Press, Cambridge, MA (USA). pp. 1-5.
- Shu, X., W. Duan, F. Liu, X. Shi, Y. Geng, X. Wang and B. Yang. 2014. Preparative separation of polyphenols from the flowers of *Paeonia lactiflora* Pall. by high-speed counter-current chromatography. J. Chromatogr. B. 947:62-67.
- Sultana, B., F. Anwar and M. Ashraf. 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules 14(6):2167-2180.
- Sunil, L., P. Appaiah, P.K.P. Kumar and A.G.G. Krishna. 2015. Preparation of food supplements from oilseed cakes. J. Food Sci. Technol. 52:2998-3005.
- Tak, Y., M. Kaur, R. Kumar, C. Gautam, P. Singh, H. Kaur, A. Kaur, S. Bhatia, N.K. Jha, P.K. Gupta and R. Amarowicz. 2022. Repurposing chia seed oil: A versatile novel functional food. J. Food Sci. 87(7):2798-2819.
- Teh, S.S., A.E.D. Bekhit and J. Birch. 2014. Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: effect of solvents. Antioxidants 3(1):67-80.
- Terpinč, P., B. Čeh, N.P. Ulrih and H. Abramovič. 2012. Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. Ind. Crop. Prod. 39:210-217.
- Tong, N.N., X.Y. Zhou, L.P. Peng, Z.A. Liu and Q.Y. Shu. 2021. A comprehensive study of three species of *Paeonia* stem and leaf phytochemicals, and their antioxidant activities. J. Ethnopharmacol. 273:113985.
- Wang, H., X. Shuai, S. Ye, R. Zhang, M. Wu, S. Jiang, Y. Li, D. Wu and J. He. 2022. Recent advances in the development of bitter melon seed oil: from chemical composition to potential



- applications. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 1-13.
- Wang, J. and G. Mazza. 2002 Inhibitory effects of anthocyanins and other phenolic compounds on nitric oxide production in LPS-IFN  $\gamma$ -activated RAW 264.7 macrophages. J. Agr. Food Chem. 50:850-857.
- Wu, G., Y. Shen, R. Nie, P. Li, Q. Jin, H. Zhang and X. Wang. 2020. The bioactive compounds and cellular antioxidant activity of Herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall) seed oil from China. J. Food Sci. 85(11):3815-3822.
- Xin, Q., R. Yuan, W. Shi, Z. Zhu, Y. Wang and W. Cong. 2019. A review for the anti-inflammatory effects of paeoniflorin in inflammatory disorders. Life Sci. 237:116925.
- Zhao, D.D., L.L. Jiang, H.Y. Li, P.F. Yan and Y.L. Zhang. 2016. Chemical components and pharmacological activities of terpene natural products from the genus *Paeonia*. Molecules 21(10):1362.
- Zheng, W. and S.Y. Wang. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. J. Agr. Food Chem. 49(11):5165-5170.
- Zhou, K. and L. Yu. 2004. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. LWT-Food Sci. Technol. 37(7):717-721.

(Received 21 July 2023 ; Revised 14 August 2023 ; Accepted 14 August 2023)