

## 땅콩 껍질 추출물의 주름개선 효능 및 화장품 제형에서 추출물의 안정성 평가

한 나 래<sup>\*</sup> · 이 진 영<sup>\*</sup> · 김 미 향<sup>\*</sup> · 최 은 영<sup>\*\*</sup> · 안 봉 전<sup>\*\*</sup> · 이 유 영<sup>\*</sup> · 강 문 석<sup>\*</sup> · 김 현 주<sup>†</sup>

<sup>\*</sup>국립식량과학원 증부작물부 수확후이용과

<sup>\*\*</sup>대구한의대학교 화장품약리학과, 교수

(2023년 6월 9일 접수, 2023년 8월 23일 수정, 2023년 8월 27일 채택)

### Evaluation of Anti-wrinkle Effect of Peanut Shell Extract and Stability of the Extract in Cosmetic Products

Narae Han<sup>1</sup>, Jin Young Lee<sup>1</sup>, Mihyang Kim<sup>1</sup>, Eun Young Choi<sup>2</sup>, Bong-Jeun An<sup>2</sup>,  
Yu-Young Lee<sup>1</sup>, Moon Seok Kang<sup>1</sup>, and Hyun-Joo Kim<sup>1,†</sup>

<sup>1</sup>Department of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science,  
Rural Development Administration, 54, Seoho-ro, Gwonseon-gu, Suwon, 16613, Korea

<sup>2</sup>Department of Cosmetic Science and Technology, Daegu Haany University

(Received June 9, 2023; Revised August 23, 2023; Accepted August 27, 2023)

**요약:** 본 연구는 땅콩의 부산물로 폐기되는 껍질의 기능성 화장품 소재 활용 가능성을 검토하고자 수행하였다. 땅콩 껍질 추출물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능 및 SOD 유사활성 IC<sub>50</sub>값은 각각 75.00, 46.33, 및 472.83 µg/mL로 조사되었다. 땅콩 껍질 추출물 처리에 따른 MMP-1, MMP-3, 및 procollagen의 단백질 발현 정도를 측정된 결과, 농도 의존적으로 MMPs 단백질 발현량이 감소하였고, procollagen 단백질은 정상대조군 수준을 유지하였다. 주름 억제 효능을 검정한 결과, 추출물의 elastase 및 collagenase 저해활성 IC<sub>50</sub> 값은 각각 0.30 및 0.09 mg/mL로 양성대조군보다 낮았다. 땅콩 껍질 추출물에서 분리한 eriodictyol과 luteolin의 elastase 및 collagenase 저해 활성을 분석한 결과, 0.1 mg/mL 처리농도에서 eriodictyol과 luteolin은 각각 53.8 및 98.0%의 elastase 저해 활성을 보였으며, collagenase 저해 활성은 각각 60.1 및 72.5%로 조사되었다. 이를 통해 땅콩 껍질 추출물의 주름억제활성 유효성분은 luteolin일 것으로 사료되었다. 또한, 땅콩 껍질 추출물이 함유된 로션 및 크림 제형의 온도 조건 및 온도 순환에 따른 pH 및 점도를 측정된 결과, 유의미한 변화 없이 안정적인 제형임을 확인하였다. 이를 통해 땅콩 껍질 추출물이 주름 억제를 위한 화장품 소재로 적용 가능할 것으로 판단되었다.

**Abstract:** This study was conducted to investigate the possibility of peanut shell, a by-product of peanut, as a functional cosmetic ingredient. Peanut shell extract showed high antioxidant activity with IC<sub>50</sub> values of 75.00, 46.33, and 472.83 µg/mL for DPPH and ABTS radical scavenging and SOD-like activity, respectively. Furthermore, peanut shell extract was efficiently decreased the MMP-1 and MMP-3 protein level in the UVB treated-HaCaT cell and maintained procollagen protein level similar to normal control. Similar to anti-wrinkle related protein expression assay, the IC<sub>50</sub> value of elastase and collagenase inhibition in peanut shell extract was lower as 0.30 and 0.09 mg/mL, respectively, than that of the positive control. Additionally, eriodictyol and luteolin, which are isolated from peanut shell extract, showed 53.8 and 98.0% elastase inhibition rate, respectively, and 60.1 and 72.5% collagenase inhibition rate, respectively, at a concentration of 0.1 mg/mL.

† 주 저자 (e-mail: tlrtod@Korea.kr)  
call: +82-31-695-0614

Thus, luteolin was assumed to be the effective ingredient for wrinkle inhibition in peanut shell extract. As a result of stability evaluation of lotion and cream formulations containing peanut shell extract, it was confirmed to be a stable formulation with no significant changes. Therefore, it is considered that peanut shell extract can be applied as a cosmetic ingredient for wrinkle inhibition.

**Keywords:** *arachis hypogaea*, *by-product*, *collagenase*, *elastase*, *functional compounds*

## 1. 서 론

우리나라는 2026년 초고령사회(super aged society)가 예측되는 만큼 항노화에 대한 관심이 증대되고 있으며, 이에 따라 화장품 산업은 지속적 시장 창출이 기대되는 시장으로 부각되고 있다. 이와 더불어 웰빙 및 자연주의의 확산으로 천연성분을 함유한 기능성화장품에 대한 소비가 증가함에 따라 피부 효능을 갖는 천연 소재의 개발을 위한 많은 연구가 진행되고 있다[1]. 기능성 화장품은 일반 화장품에 효능이 첨가된 화장품을 말하며, 일반적으로 미백, 주름 개선 및 자외선 보호 제품 등으로 분류된다. 특히 주름 개선 제품의 주요 효능으로는 콜라겐의 합성을 촉진하고 피부의 탄력을 강화하며 표피의 신진대사와 섬유아세포의 생성을 촉진하는 것으로 알려져 있다[2]. 기능성 화장품의 원료물질로는 주로 약용식물이나 허브 추출물의 천연 항산화 물질을 중심으로 많이 개발되고 있으나, 식량작물이나 작물의 부산물을 활용하는 연구는 전무한 실정이다.

인간의 피부는 표피, 진피, 피하지방으로 이루어져 있으며, 표피층에는 피부색에 관여하는 멜라닌세포가 분포하고, 진피층에는 피부의 탄력에 관여하는 콜라겐과 엘라스틴 섬유조직이 존재한다[3]. 피부노화는 크게 자외선 노출에 의한 광노화와 자연스럽게 발생하는 내인성노화로 구분되며, 대표적인 증상으로 피부 탄력저하와 주름이 있다[4]. 피부층 내 콜라겐 분해효소(collagenase) 및 엘라스틴 분해효소(elastase)는 콜라겐 및 엘라스틴 섬유의 분해를 유발하며, 결과적으로 피부의 탄력이 감소하고 주름의 생성이 촉진된다[5]. 따라서 주름개선을 위한 화장품 개발을 위해 콜라겐 및 엘라스틴 분해효소의 활성을 억제하고, 콜라겐의 합성을 촉진하며 엘라스틴의 분해를 억제하는데 관여하는 소재 발굴이 중요하다.

땅콩(*Arachis hypogaea* L.)은 장미목 콩과에 속하는 식물로 전 세계적으로 널리 재배되고 있으며, 유지 함량이 높아 주로 식용 기름으로 주로 이용되었다[6]. 최근에는 땅콩

의 영양성분뿐만 아니라 기능성분에 대한 연구가 알려지면서 건강식품으로 주목받고 있다. 땅콩 전체 중량의 약 30%에 해당하는 땅콩 겉껍질(peanut shell)은 땅콩 생산 과정 중에 폐기되는 부산물로, 전 세계적으로 버려지는 땅콩 겉껍질의 양은 연간 약 1,100 만 톤에 이른다[7]. 따라서 부산물로 폐기되고있는 땅콩 겉껍질의 부가가치 창출을 위한 활용 방안에 대한 모색이 필요한 실정이다. 땅콩 겉껍질은 외부환경의 스트레스로부터 열매를 보호하기 위해 페놀화합물과 같은 2차대사산물을 함유하고 있으며, 이러한 기능성물질에 의해 항산화, 항염, 항노화, 및 면역력 개선 등의 다양한 생리활성을 갖는 것으로 보고된 바 있다[6,8]. 따라서 생리활성을 갖는 천연 항산화제의 공급원으로서 땅콩 겉껍질은 안전하고 건강한 화장품 성분에 대한 소비자 요구에 부합한 기능성 화장품 원료로 활용 가능성이 있다. 이에 본 연구는 폐기되는 땅콩 겉껍질의 활용 범위를 확대하고자 하는 목적에서 수행되었으며, 땅콩 겉껍질의 유용성분을 이용하여 항산화 및 주름 개선 효능을 검증하고 화장품 제형의 안정성을 검토하고자 수행하였다.

## 2. 실험방법

### 2.1. 땅콩 겉껍질 추출물 제조 및 물질 분리

실험에 사용한 땅콩은 전라북도 고창군(Korea)에서 수확한 싹팔광 품종을 이용하였다. 수확한 땅콩은 수돗물로 세척하였고, 3 일 동안 상온에서 건조하였다. 건조된 땅콩은 파쇄하여 알땅콩과 겉껍질을 분리하였고, 겉껍질을 분쇄기로 분쇄하여 추출에 이용하였다. 겉껍질 분말에 70% 에탄올(1 : 10, w/v)을 가한 후 25 °C에서 24 h 동안 교반추출하였다. 추출액은 원심분리(10,000 rpm, 20 min)하여 상등액을 취한 후, 감압 농축하였다. 추출물의 성분 및 활성 검증용 시료는 dimethyl sulfoxide (DMSO)로 재용해 하여 제조(10 mg extract/mL)하였고, 물질 분리용 시료는 100% 에탄올로 재용해 하여 제조(5 mg extract/mL)하였다. 땅콩 겉껍질 추출물의 주요 폴리페놀화합물인 eriodictyol과 luteolin의

분리 및 정제는 preparative-liquid chromatography (K-Prep LAB 300, YMC Europe GmbH, Germany)로 하였다. 본 연구에서 사용한 모든 시약은 Sigma-Aldrich (USA)의 제품을 구입하여 사용하였다.

2.2. 유용성분 분석

땅콩 겉껍질 추출물을 DMSO를 이용하여 1 mg/mL로 희석하여 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정하였고, 모든 분석은 3 회 반복 수행하였다. 총 폴리페놀 함량을 조사하기 위해, 추출물 10  $\mu$ L에 2% sodium carbonate 200  $\mu$ L와 50% Folin-Ciocalteu 시약 10  $\mu$ L를 가하여 반응시켰다. 상온에서 30 min 반응 후, 반응액의 흡광도를 750 nm에서 측정하였다. 표준물질(gallic acid)의 흡광도를 농도별로 측정하여 검량선을 구한 후, 총 폴리페놀 함량을 계산하였다. 총 플라보노이드 함량을 조사하기 위해, 추출물 75  $\mu$ L에 증류수 300  $\mu$ L와 5% sodium nitrite 22.5  $\mu$ L를 가한 후 5 min 동안 반응시켰다. 반응액에 10% aluminum chloride 45  $\mu$ L를 추가하여 6 min 동안 반응시킨 후, 1 M sodium hydroxide 150  $\mu$ L를 추가하였다. 상온에서 11 min 동안 반응 후, 반응액의 흡광도를 510 nm에서 측정하였다. 표준물질(catechin)의 흡광도를 농도별로 측정하여 검량선을 구한 후, 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

2.3. 항산화 활성 분석

항산화 활성 분석을 위해 땅콩 겉껍질 추출물을 1, 0.5, 0.1, 0.05 및 0.01 mg/mL 농도로 DMSO를 이용하여 희석 한 후, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)과 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin- 6-sulfonic acid) (ABTS) 라디칼 소거능 및 SOD 유사활성을 측정하였다. 항산화활성은 시료의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 계산하였다. DPPH 라디칼 소거능을 측정하기 위해, 각 농도별 추출물 20  $\mu$ L에 0.2 mM DPPH solution 200  $\mu$ L를 가하여 반응시켰다. 상온에서 30 min 동안 반응 후, 반응액의 흡광도를 520 nm에서 측정하였다. ABTS 라디칼 소거능을 측정하기 위해, 각 농도별 추출물 10  $\mu$ L에 7.4 mM ABTS solution 200  $\mu$ L를 가하여 반응 시켰다. 상온에서 30 min 동안 반응 후, 반응액의 흡광도를 735 nm에서 측정하였다. SOD 유사활성을 측정하기 위해, 각 농도별 추출물 100  $\mu$ L에 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 8.5) 100  $\mu$ L와 7.2 mM pyrogallol 100  $\mu$ L를 가하여 반응시켰다. 상온에서 10 min 동안 반응 후, 반응액의

흡광도를 420 nm에서 측정하였다.

2.4. Western Blot을 통한 MMP-1, MMP-3, 및 Procollagen 단백질 발현 측정

피부각질형성세포인 HaCaT cell (ATCC, Manassas, USA)을 37  $^{\circ}$ C 온도조건의 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 4  $\times$  10<sup>4</sup> cell/well이 되도록 24 h 동안 배양하였다. 추출물을 농도별로 처리한 배지에서 24 h 배양 시킨 후 배지를 제거하고 PBS를 첨가한 다음 UVB (40 mJ/cm<sup>2</sup>)를 조사하였다. 주름 생성에 관련된 matrix metalloprotease (MMP)-1, MMP-3, 및 procollagen의 단백질 발현 정도는 Yang 등의 방법에 따라 측정하였다[9].

2.5. 주름 억제 관련 효소 활성 분석

땅콩 겉껍질의 주름 개선 효과를 검토하기 위해 elastase 및 collagenase 저해 활성을 분석하였다. 땅콩 겉껍질 추출물 및 분리물질(eriodytyol 및 luteolin)은 assay buffer를 이용하여 1, 0.5, 0.1, 0.05, 및 0.01 mg/mL로 희석 한 후 분석에 이용하였고, 효소 활성은 시료의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 계산하였다. Younis 등의 방법을 따라 양성대조군으로 epigallocatechin gallate (EGCG)를 사용하였다 [10]. Elastase 저해 활성을 측정하기 위해, 각 농도별 시료 10  $\mu$ L에 50 mM Tris-HCl buffer 70  $\mu$ L와 porcine pancreatic elastase type IV (0.45 units/mL) 5  $\mu$ L를 가한 후 상온에서 10 min 동안 반응시켰다. 반응액에 2 mM N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide 20  $\mu$ L를 가하여 30 min 동안 반응시킨 후, 반응액의 흡광도를 405 nm에서 측정하였다. Collagenase 저해 활성을 측정하기 위해, 각 농도별 시료 50  $\mu$ L에 0.2 mg/mL collagenase from *Clostridium histolyticum* type I 75  $\mu$ L를 가하여 상온에서 5 min 동안 반응시켰다. 반응액에 0.4 mg/mL 4-phenylazobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg 125  $\mu$ L를 가하여 37  $^{\circ}$ C에서 30 min 동안 반응 시킨 후, 25 mM citric acid 0.25 mL을 가하여 반응을 종료시켰다. Ethyl acetate 1.2 mL을 반응액과 혼합한 후 상온에서 10 min 동안 정치 시켜 안정적으로 층이 분리되면, 상등액을 취하여 320 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.6. 땅콩 겉껍질 추출물 함유 로션 및 크림의 안정성 평가

땅콩 겉껍질 추출물(1 mg/mL)을 첨가한 로션 및 스킨은 Table 1과 같이 제조하였다. 온도에 따른 안정성을 평가하기 위해 로션과 크림을 각각 0, 25, 및 45  $^{\circ}$ C에 10 주 동안

보관하면서 경시적 변화에 따른 물리적 특성(변색, 변취, 분리, 및 침전)을 육안으로 관찰하였고, 화학적 변화인 pH와 점도를 측정하였다. 온도순환에 따른 안정성 시험은 -5, 0, 및 50 °C에서 각각 24 h 보관하여 이를 1 cycle로 하여 14 일 동안 물리적 및 화학적 변화를 조사하였다. pH는 pH meter (SevenCompact, Mettler Toledo, USA)를 이용하여 측정하였고, 점도는 Brookfield viscometer (Brookfield LV, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., USA)를 이용하여 50 rpm에서 2 min 동안 측정하였다.

**Table 1.** Formulation of the Lotion and Cream Containing Peanut Shell Extract

| Ingredients                    | Contents % (w/w) |       |
|--------------------------------|------------------|-------|
|                                | Lotion           | Cream |
| Peanut shell extract (1 mg/mL) | 2.00             | 2.00  |
| Purified water                 | 69.38            | 57.18 |
| Glycerin                       | 1.00             | 5.00  |
| Butylene glycol                | 4.00             | 3.00  |
| Disodium EDTA                  | 0.02             | 0.02  |
| Panthenol                      | 1.00             | -     |
| Triethanolamine                | 0.20             | 0.15  |
| Methylparaben                  | 0.20             | -     |
| 1,2-Hexanediol                 | -                | 4.00  |
| Cetearyl alcohol               | 1.30             | 3.00  |
| Glyceryl stearate SE           | 1.00             | 2.00  |
| Beeswax                        | 1.00             | -     |
| Polysorbate 60                 | 1.20             | -     |
| PEG-60 Sorbitan stearate       | 1.20             | 1.50  |
| PEG-100 Stearate               | 1.20             | 1.50  |
| Squalane                       | 4.00             | 2.00  |
| Triethylhexanoil               | 3.00             | 7.00  |
| Cyclopentasiloxane             | 1.00             | 2.00  |
| Tocopheryl acetate             | 0.20             | 1.00  |
| Petrolatum                     | -                | 2.00  |
| Hydrogenated jojoba oil        | -                | 0.50  |
| Polysorbate 40                 | -                | 1.00  |
| Fragrance                      | -                | 0.10  |
| Carbomer (2%)                  | 7.00             | 3.00  |
| Hyaluronic acid (1%)           | -                | 2.00  |
| Xanthan gum (2%)               | -                | 0.05  |
| Perfume                        | 0.10             | -     |

## 2.7. 통계분석

통계분석은 SigmaPlot 프로그램(ver. 14.0, Systat Software Inc., USA)을 이용하여 평균과 표준편차를 산출하고, 처리간의 차이는 Duncan's multiple range ( $p < 0.05$ )를 사용하여 유의성을 검정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

식물 내 폴리페놀 및 플라보노이드는 2차대사산물로 천연 항산화제로서의 활성을 가지고 있어 인체 건강에 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다[11]. 땅콩 겉껍질 추출물의 추출수율을 약 1.48% 였다(data not shown). 땅콩 겉껍질 추출물의 항산화력에 미치는 영향을 조사하기 위해 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 분석하였고, 각각의 함량은 110.31 mg GAE/g 및 72.84 mg CE/g으로 측정되었다(Table 2). 선행 연구에서 땅콩 겉껍질 추출물에 함유된 페놀화합물은 항산화 및 항노화 활성에 관여한다고 보고된 바 있다[12]. 본 연구의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 결과를 통해 땅콩 겉껍질은 천연 항산화제로서 활용 가치가 있을것으로 판단되며, 추후 땅콩 겉껍질의 페놀화합물 조성에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

### 3.2. 항산화 활성

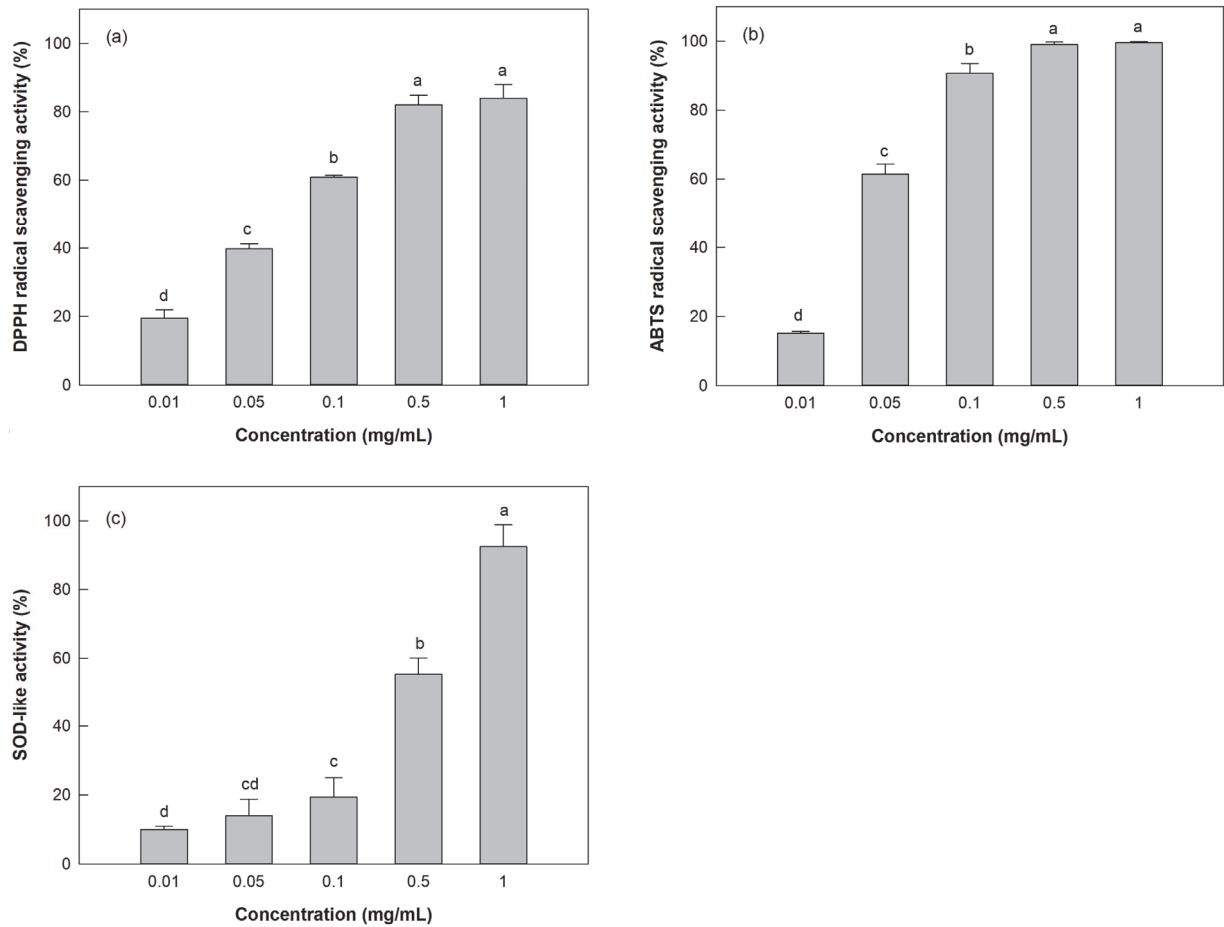
DPPH 라디칼은 안정화된 상태에서 짙은 자주색을 보이다가 시료 첨가에 의해 환원되면 520 nm에서 흡광도가 감소하며, 이러한 흡광도의 변화로 항산화 활성을 측정하게 된다[13]. ABTS 라디칼 또한 안정화 상태에서 청록색을 보이다가 시료 첨가에 의해 환원되면 연한 녹색으로 탈색되며, 이러한 흡광도의 변화로 항산화 활성을 측정하게 된다[14]. SOD는 대표적인 활성산소 저해제로, SOD 유사활성은 superoxide와 반응하여 갈변되는 pyrogallol의 산화반응을 측정하는 방법이다[15]. 땅콩 겉껍질 추출물의 농도

**Table 2.** Total Polyphenol and Flavonoid Contents of Peanut Shell Extract

| Contents             | Total polyphenol (mg GAE/g extract) | Total flavonoid (mg CE/g extract) |
|----------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Peanut shell extract | 110.31 ± 5.56 <sup>1)</sup>         | 72.84 ± 4.05                      |

<sup>1)</sup> The values represent the mean with standard deviation of three replicates.





**Figure 1.** DPPH (A) and ABTS radical scavenging activity (B) and SOD-like activity (C) of peanut shell extracts. The values are presented as the mean with standard deviation of three replicates. Different letters in the graph indicate a significant difference between extract concentrations according to Duncan’s multiple range test at  $p < 0.05$ .

별 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능과 SOD 유사활성을 분석한 결과는 Figure 1과 같다. 땅콩 겉껍질 추출물의 항산화 활성은 농도 의존적으로 증가하였고, 0.5 mg/mL 처리에서 라디칼 소거능은 약 80% 이상, SOD 유사활성은 약 50% 이상의 활성을 보였다. 산화 정도를 50% 억제시키는 IC<sub>50</sub>의 양을 분석한 결과 ABTS 라디칼 소거능은 46.33 µg/mL로 가장 낮은 값을 보였고, 그 다음이 DPPH 라디칼 소거능으로 75.00 µg/mL이었으며 SOD 유사활성은 472.83 µg/mL였다. Kim 등[16]의 연구에서 주름 억제 활성 우수한 약용식물(*Isatis indigotica* leaf)의 DPPH 및 ABTS의 IC<sub>50</sub> 값이 0.46 및 0.48 mg/mL로 보고된 것과 비교해보면, 땅콩 겉껍질 추출물은 상대적으로 우수한 라디칼 소거능을 지니고 있어 항산화 관련 기능성 소재로서의 활용가치가 높을 것으로 사료된다.

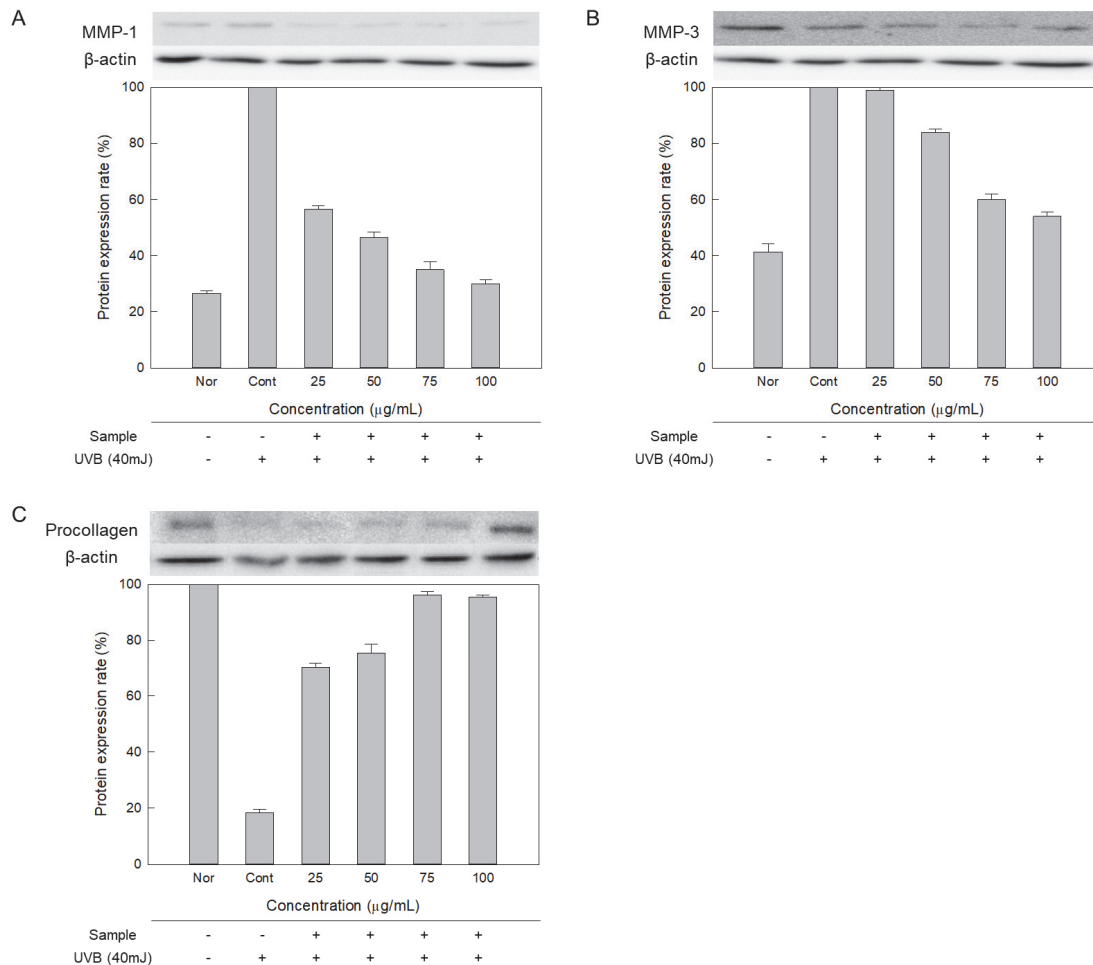
### 3.3. MMP-1, MMP-3, 및 Procollagen 단백질 발현

피부각질형성세포인 HaCaT는 피부의 각질을 형성하여 장벽의 기능을 담당하며, UV에 의한 면역반응을 조절하는 생리조절물질을 생성하고 분비하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다[9]. HaCaT 세포에 UV를 조사하면 염증반응이 유도되고 이로인한 MMPs가 증가하게 된다. 따라서 HaCaT 세포에 UVB를 조사한 후 collagen에 영향을 주는 생화학적 지표(MMP-1, MMP-3, 및 procollagen)들의 변화를 측정함으로써 땅콩 겉껍질 추출물이 피부 노화에 대한 방어 효과를 나타내는지 확인하고자 하였다. HaCaT 세포에 땅콩 겉껍질 추출물을 농도별로 24 h 처리하였을 때, 100 µg/mL 농도까지는 세포 성장에 영향을 주지 않았다(data not shown). 따라서 추출물의 최대 농도를 100 µg/mL로 설정한 후 농도별 MMP-1, MMP-3, 및 procollagen의 단백질 발현

정도를 측정하였다(Figure 2). HaCaT 세포는 UVB 조사로 인해 MMP-1 및 MMP-3 단백질이 각각 약 3.77 및 4.42 배 증가하였다. 땅콩 겉껍질 추출물을 처리한 경우 농도 의존적으로 MMPs 단백질 발현량이 감소하였으며 특히 100  $\mu\text{g/mL}$  농도 처리 시 정상대조군과 비슷한 수준으로 감소하였다(Figure 2A, B). 또한, procollagen 단백질은 UVB 조사 시 단백질 발현량이 81.6% 감소하였으나, 땅콩 겉껍질 추출물을 75  $\mu\text{g/mL}$  이상 처리한 경우 감소하지 않고 정상대조군 수준을 유지하였다(Figure 2C). 따라서 땅콩 겉껍질 추출물은 UVB에 노출된 피부세포에서 콜라겐 손상을 억제하고 생성을 촉진하는데 효과가 있음을 확인하였다.

### 3.4. Elastase 및 Collagenase 저해 활성

Elastin과 collagen은 피부의 강도, 유연성, 및 탄력성에 관여하는 기질 단백질로, 각각 elastase와 collagenase에 의해 섬유 조직이 분해되면 피부의 탄력성이 저하되고 주름이 발생하는 등 피부의 노화가 진행되는 것으로 알려져 있다[12]. 따라서 elastase 및 collagenase 저해 활성 분석은 주름 억제 효과를 측정하는 대표적인 방법으로 이용되고 있다[17]. 땅콩 겉껍질 추출물의 elastase 저해 활성을 분석한 결과, 1 mg/mL 처리에서 저해 활성이 99.0%로 대조군으로 사용한 EGCG (62.9%)보다 높은 저해 활성을 보였다(Figure 3A). Collagenase 저해 활성의 경우 1 mg/mL 처리에서 땅콩 겉껍질 추출물과

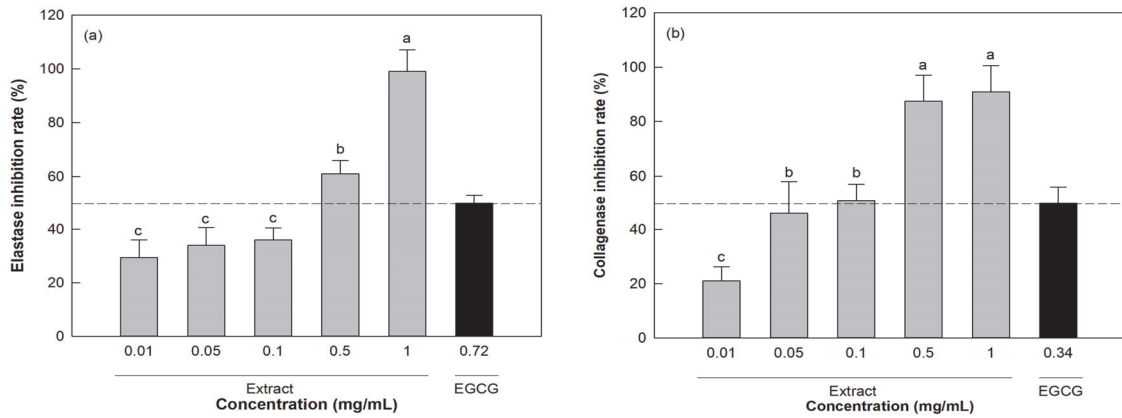


**Figure 2.** Recovery effect of peanut shell extract on MMP-1 (A), MMP-3 (B), and procollagen (C) protein levels in UVB-induced HaCaT cell. Cells were treated with peanut shell extract for 24 h, exposed to UVB (40  $\text{mJ/cm}^2$ ) and the culture medium and the cell were collected at 48 h incubation. The values are presented as the mean with standard deviation of three replicates. Nor, non-treated; Cont, treated with UVB.

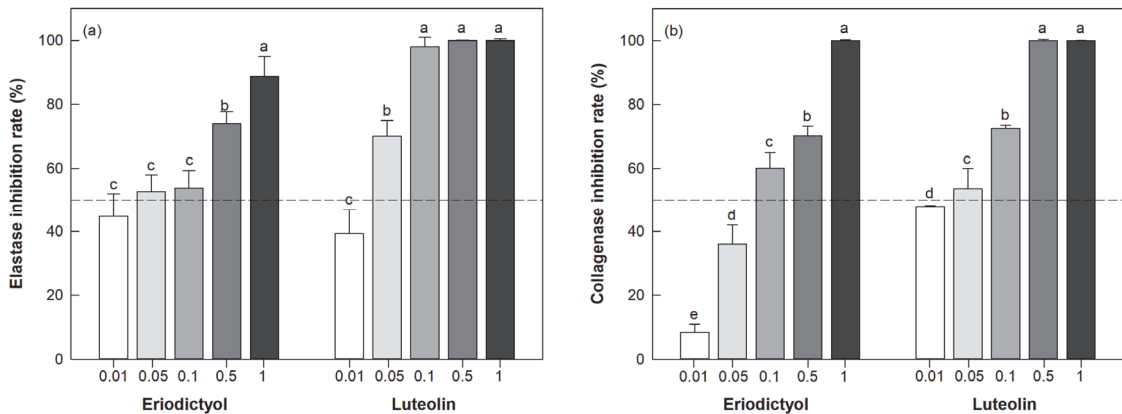
EGCG 각각 90.9 및 92.0%로 비교적 높은 활성을 보였고, 0.1 mg/mL 처리에서 땅콩 겉껍질 추출물의 저해 활성이 51.2%로 대조군(20.3%)보다 높았다(Figure 3B). 효소 활성을 50% 저해 시키는 IC<sub>50</sub>의 양을 분석한 결과, 땅콩 겉껍질 추출물의 elastase 및 collagenase IC<sub>50</sub> 값은 각각 0.30 및 0.09 mg/mL로 대조군(각각 0.72 및 0.34 mg/mL)보다 낮았다. 이를 통해 땅콩 겉껍질 추출물이 elastase 및 collagenase의 활성을 저해함으로써 피부의 주름 생성을 억제할 것으로 판단되며, 기능성 화장품 소재로서 이용 가능성이 높을 것으로 판단된다.

땅콩 겉껍질 추출물의 생리활성에 관여하는 주요 폴리페놀성 화합물은 5,7-dihydroxychromone, eriodictyol, 3,4,7-

trihydroxyflavonone, 및 luteolin으로, 땅콩 겉껍질에는 luteolin 및 eriodictyol이 다량 함유된 것으로 알려져 있다[12,18]. 땅콩 겉껍질 추출물이 높은 주름 억제 활성을 보임에 따라, 관련 물질을 확인하고자 추출물에 다량 함유된 eriodictyol과 luteolin을 분리하여 효소 저해 활성을 분석하였다(Figure 4). 선행 연구에서 신평광 땅콩 겉껍질 추출물의 eriodictyol 및 luteolin의 함량은 각각 30.85 및 71.70 mg/g extract로 보고된 바 있다[12]. Eriodictyol의 elastase 저해 활성을 평가한 결과, 0.01, 0.1, 및 1 mg/mL 처리 농도에서 각각 44.8, 53.8, 및 88.7% 억제 활성을 보였다. Luteolin은 0.1 mg/mL 이상의 처리 농도에서 elastase 활성을 98% 이상 억제하였으며,



**Figure 3.** Elastase (A) and collagenase (B) inhibitory effects of peanut shell extract. The values are presented as the mean with standard deviation of three replicates. Different letters in the graph indicate a significant difference between extract concentrations according to Duncan’s multiple range test at  $p < 0.05$ . Epigallocatechin gallate (EGCG) was used as a positive control in the anti-elastase (IC<sub>50</sub> = 0.72 mg/mL) and anti-collagenase (IC<sub>50</sub> = 0.34 mg/mL) assay. The horizontal dashed-line denotes the 50% inhibitory rate.



**Figure 4.** Elastase (A) and collagenase (B) inhibitory effects of eriodictyol and luteolin isolated from peanut shell extract. The values are presented as the mean with standard deviation of three replicates. Different letters in the graph indicate a significant difference between concentrations according to Duncan’s multiple range test at  $p < 0.05$ . The horizontal dashed-line denotes the 50% inhibitory rate.

0.01 및 0.05 mg/mL 처리 농도에서 각각 39.3 및 70.1% 저해 활성을 보였다. Collagenase의 경우 eriodictyol과 luteolin 모두 농도 의존적으로 효소 억제 활성이 증가하였으며, 0.1 mg/mL 처리 농도에서 각각 60.1 및 72.5% 저해 활성을 보였다. 종합적으로 luteolin이 eriodictyol보다 elastase 및 collagenase 저해 활성이 높았으며, 이를 통해 luteolin이 땅콩 겉껍질 추출물의 주름 억제 활성에 관여하는 유효 성분으로 판단되었다.

3.5. 온도에 따른 안정성 평가

화장품은 품질에 변화가 생길 경우 물리적 및 화학적 변화가 관찰되며, 이러한 현상은 품질 열화의 원인이 되므로 품질 수명을 보증하기 위한 안정성 검토가 필요하다[2]. 따라서 물리적 및 화학적 안정성을 평가하기 위한 온도 별

정온 실험을 수행한 결과, 땅콩 겉껍질 추출물 함유 크림 및 로션 모두 10 주 동안 변색, 변취, 분리, 및 침전 등의 외관상 변화 없이 안정성을 보였다. 크림과 로션의 pH는 각각 6.77 ~ 6.82 및 5.87 ~ 5.92 범위였으며, 점도는 7210 ~ 7560 및 13500 ~ 14500 cPs 범위로 안정함을 보였다(Figure 5).

온도순환(cycle)에 따른 안정성 평가는 화장품의 저온 및 고온의 온도변화 및 보관 조건에 따른 변화를 확인하기 위해 수행된다. 안정성이 떨어지는 제품은 가수분해 현상(고온)이나 계면막 손상 및 침전(저온) 등의 변화가 관찰된다[2]. 땅콩 겉껍질 추출물 함유 크림 및 로션 제형을 -5, 0, 및 50 °C에서 각각 24 h 보관 후 온도 보관에 따른 안정성을 관찰한 결과, 14 cycle 모두 변색, 변취, 분리, 및 침전 없이 안정하였으며, pH와 점도의 변화율이 0.5% 미만으로 안정한 것을 확인하였다(Figure 6).

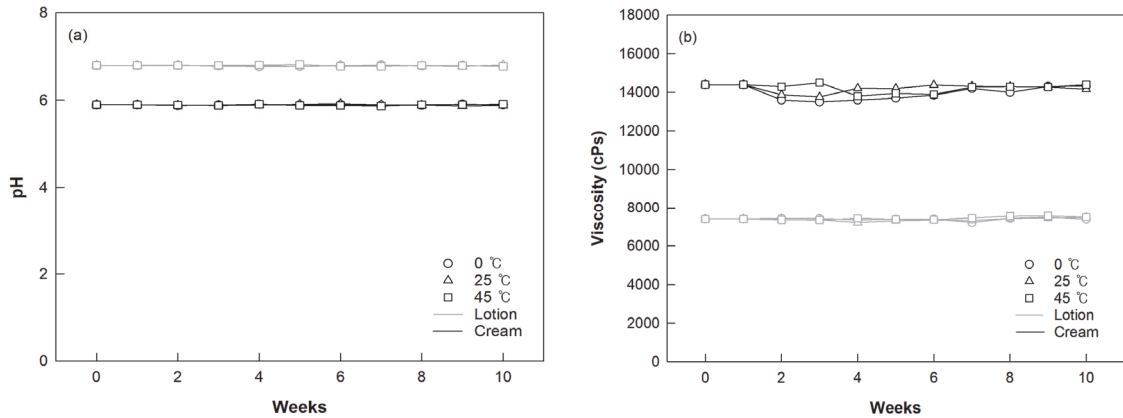


Figure 5. pH value (A) and viscosity (B) change of lotion and cream containing peanut shell extracts at 0, 25, and 45 °C temperature during 10 weeks.

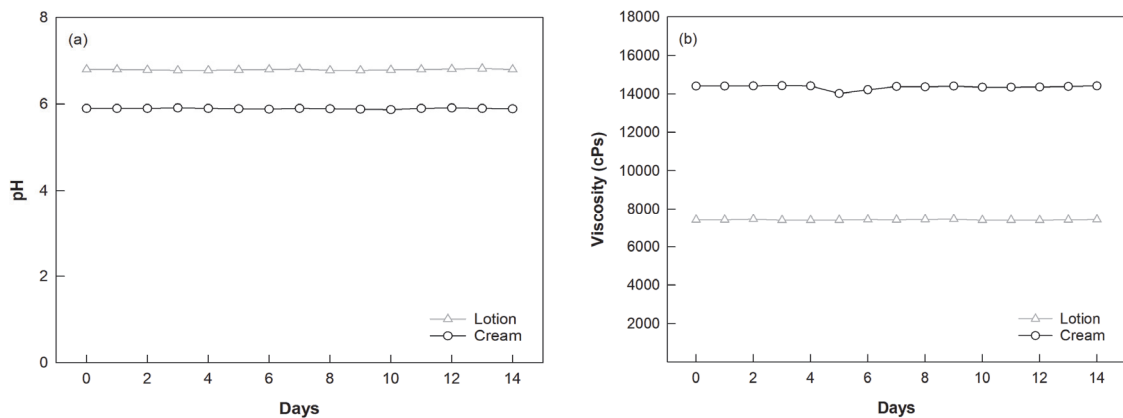


Figure 6. pH value (A) and viscosity (B) change of lotion and cream containing peanut shell extracts in temperature cycle condition (-5, 0, and 50 °C) during 14 days.



종합적으로 본 연구에서는 땅콩 껍질 추출물의 항산화 활성과 주름개선 활성 분석을 통해 생리활성이 우수함을 확인하였으며, 땅콩 껍질 추출물을 함유한 화장품(크림 및 로션 제형)을 제조하여 안정성 평가를 통해 기능성 화장품으로의 활용 가능성을 확인 할 수 있었다.

#### 4. 결 론

본 연구는 부산물로 폐기되는 땅콩 껍질 추출물의 화장품 소재 활용 가능성을 검토하고자 땅콩 껍질 추출물의 주름 억제 효능을 검정하였고, 화장품 제형(로션 및 크림)에서 땅콩 껍질 추출물의 안정성을 평가하였다. 땅콩 껍질 추출물의 라디칼 소거능(DPPH 및 ABTS) 및 SOD 유사활성 검정을 통해 추출물의 우수한 항산화활성을 확인하였다. Collagen의 분해(MMP-1 및 MMP-3) 및 합성(procollagen)에 관여하는 단백질 발현정도를 분석한 결과, 땅콩 껍질 추출물 처리는 MMPs 단백질의 발현을 감소시키고, procollagen 단백질의 발현을 증가시켰다. 또한 땅콩 껍질 추출물은 주름 관련 효소의 활성(elastase 및 collagenase)을 효과적으로 억제하였고, 이때 주름억제에 관여하는 땅콩 껍질 추출물의 유효성분은 luteolin일 것으로 판단되었다. 땅콩 껍질 추출물이 화장품 제형의 안정성을 평가한 결과, 온도 조건 및 온도 순환에 따른 pH 및 점도의 변화가 없어 안정적인 제형임을 확인하였다. 이를 통해 땅콩 껍질 추출물이 주름 억제를 위한 화장품 소재로 활용가치가 높을 것으로 판단되며, 후후 땅콩 껍질의 폐놀화합물 조성에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

#### Acknowledgement

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ014303012023) 및 2023년도 농촌진흥청 국립식량과학원 전문연구원 과정 지원사업에 의해 이루어진 것임.

#### References

1. J. Y. Lee and J. M. Lee. Analysis of recent research trends in development of functional cosmetic materials for wrinkle improvement, *J. Converg. Inf. Technol.*, **11**(6), 181 (2021).
2. Y. J. Cho, Characteristics of cosmetic with whitening

- compounds from *Phellodendron amurense*, *J. Appl. Biol. Chem.*, **54**(2), 108 (2011).
3. S. J. Kim, W. J. Oh, S. P. Kwon, and G. Nam, Studies on anti-wrinkle and whitening effects of liposomes containing acerola extract mixture, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **47**(4), 341 (2021).
4. J. H. Lee, J. I. Kim, H. J. Choi, and J. H. Lee, Anti-wrinkle effect of *Schizandra chinensis* balioun fermented with *Lactobacillus plantarum*, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **40**(4), 365 (2014).
5. E. Moon, J. Jeon, G. Lee, M. Baik, and D. W. Lee, Effect of isoquercitrin-containing *Nelumbo nucifera* leaves extract on skin wrinkle improvement, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **44**(2), 191 (2018).
6. R. Bodoria, M. C. Cittadini, Y. Rossi, M. Montenegro, N. Martínez, and D. Maestri. An overview on extraction, composition, bioactivity and food applications of peanut phenolics, *Food Chem.*, **381**(1), 132250 (2022).
7. FAOSTAT. FAO Statistical Databases; FAOSTAT: Rome, Italy (2014).
8. M. Y. Kim, H. J. Kim, M. H. Kim, J. Y. Lee, Y. Y. Lee, and B. K. Lee, Changes in physiological activities of peanut and defatted peanut extracts according to cultivars, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **48**(8), 847 (2019).
9. J. Yang and C. Kwak, Inhibitory effect of *Aralia elata* ethanol extract against skin damage in UVB-exposed human keratinocytes and human dermal fibroblasts, *J. Nutr. Health.*, **49**(6), 429 (2016).
10. M. M. Younis, I. M. Ayoub, N. M. Mostafa, M. A. El Hassab, W. M. Eldehna, S. T. Al-Rashood, and O. A. Eldahshan, GC/MS profiling, anti-collagenase, anti-elastase, anti-tyrosinase and anti-hyaluronidase activities of a *Stenocarpus sinuatus* leaves extract, *Plants(Basel)*, **11**(7), 918 (2022).
11. N. Y. Park, D. G. Han, GE-GE, M. J. Bae, H. J. Kim, S. G. Kim, E. Y. Choi, and B. J. An, Verification of antioxidant activity from velvet bean (*Mucuna pruriens*) extract, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **49**(1), 9 (2023).
12. N. Han, J. Kim, J. H. Bae, M. Kim, J. Y. Lee, Y. Y. Lee, M. S. Kang, D. Han, S. Park, and H. J. Kim, Effect of atmospheric-pressure plasma on functional compounds

- and physiological activities in peanut shell, *Antioxidants*, **11**(11), 2214 (2022).
13. J. H. Oh, E. H. Kim, J. L. Kim, Y. I. Moon, Y. H. Kang, and J. S. Kang, Study on antioxidant potency of green tea by DPPH method, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **33**(7), 1079 (2004).
  14. Y. E. Kim, J. W. Yang, C. H. Lee, and E. K. Kwon, ABTS radical scavenging and anti-tumor effects of *Tricholoma matsutake* Sing. (pine mushroom), *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **38**(5), 555 (2009).
  15. H. K. Kim, G. M. Na, S. H. Ye, and H. S. Han, Extraction characteristics and antioxidative activity of *Schiznadra chinensis* extracts, *Korean J. Food Culture.*, **19**(5), 484 (2004).
  16. J. H. Kim, D. Gao, W. S. Jeong, C. T. Kim, S. W. Cho, H. M. Kim, and J. S. Kang, Anti-wrinkle effect of *Isatisindigotica* leaf extract: Evaluation of antioxidant, anti-inflammation, and clinical activity, *Antioxidants*, **10**, 1339 (2021).
  17. H. Mechqoq, S. Hourfane, M. El Yaagoubi, A. El Hamdaoui, J. R. G. da Silva Almeida, J. M. Rocha, and N. El Aouad, Molecular docking, tyrosinase, collagenase, and elastase inhibition activities of argan by-products, *Cosmetics*, **9**(1), 24 (2022).
  18. J. Qiu, L. Chen, Q. Zhu, D. Wang, W. Wang, X. Sun, X. Liu, and F. Du, Screening natural antioxidants in peanut shell using DPPH-HPLC-DAD-TOF/MS methods, *Food Chem.*, **135**(4), 2366 (2011).