추출용매 및 품종에 따른 땅콩 겉껍질의 기능성분 및 생리활성 비교

김현주¹ · 김민영² · 이병원² · 김미향¹ · 이유영¹ · 이진영¹ · 강문석¹

¹국립식량과학원 중부작물부 수확후이용과

²국립식량과학원 남부작물부 발작물개발과

Comparison of Functional Components and Physiological Activities in Peanut Hull Extracts by Cultivars and Extraction Solvent

Hyun-Joo Kim¹, Min Young Kim², Byong Won Lee², Mihyang Kim¹,
Yu-Young Lee¹, Jin Young Lee¹, and Moon Seok Kang¹

¹Department of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science,

²Department of Southern Area Crop Science, National Institute of Crop Science,
Rural Development Administration

ABSTRACT This study was performed to investigate the functional components and physiological activities of peanut hull extracts (PHEs) from two different cultivars (*Arachis hypogaea* L. cv. Sinpalkwang and cv. K-OI) according to extraction methods. PHEs were extracted using 100% acetone, 50% methanol, and 100% methanol. Extraction using 50% methanol resulted in higher yields from both cultivars compared to other extraction solvents 16.43% (Sinpalkwang) and 12.71% (K-OI). The highest luteolin content (0.65~1.70 mg/g dry weight) and the highest eriodictyol content (0.27~1.23 mg/g dry weight) were observed using 100% methanol extract from Sinpalkwang cultivar. ABTS radical scavenging activity showed its highest value in 50% methanol extract, whereas DPPH radical scavenging activity and FRAP value showed the highest value in 100% methanol extract. The 50% methanol extract of Sinpalkwang cultivar showed α -glucosidase inhibition activity (IC₅₀: 0.74 mg/mL), whereas the 100% acetone extract of Sinpalkwang cultivar showed the most effective angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity (IC₅₀: 7.97 mg/mL). Moreover, the 50% methanol extract of K-OI cultivar showed the most effective anti-tyrosinase activity (IC₅₀: 12.94 mg/mL), whereas the 100% acetone extract of K-OI cultivar was most effective at inhibiting xanthine oxidase (IC₅₀: 3.11 mg/mL). These results suggest that PHE possesses physiological activity and provides valuable information and evidence for the use of peanut byproduct as a functional food and cosmetic material.

Key words: peanut hull, cultivar, extraction solvent, functional components, physiological activity

서 론

땅콩(*Arachis hypogaea* L.)은 장미목(Rosales) 콩과(Fabaceae)에 속하는 1년생 초본 식물로 높은 유지 함량으로 인해 유지 원료 작물로 재배되며, 식용 기름으로 이용되거나 단백질 공급을 위한 식품 급원으로 가공처리를 하지 않은 상태의 땅콩으로 섭취가 이루어지고 있으며, 주된 가공의 형태는 땅콩버터로 전 세계적으로 높은 이용률을 보인다(Woodroof, 1983). 땅콩의 지방 함량은 35.8~54.2%로 이중 불포화 지방산이 80% 이상 차지하며, 단백질은 16.2~36% 범위로 단백질 함량이 높아 유지 원료 작물로서 뿐만

아니라 단백질 식품 원료로 이용되고 있고(Lee 등, 1988; Lim 등, 2004), 최근에는 비타민, 미네랄, resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene), coumaroyl-rhamnose, *p*-coumaric acid 유도체를 비롯한 페놀 화합물이 다량 함유되어 있어 건강식품으로 주목을 받고 있다(Limmongkon 등, 2017).

열매를 맺는 땅콩은 자방의 밑 부분이 토양으로 파고들어 꼬투리를 형성하게 되는데, 땅콩을 감싸고 있는 피땅콩 겉껍질은 습기, 자외선, 미생물 및 해충과 같은 외부의 물리·화학적 공격으로부터 열매를 보호하는 자기방어 기능을 갖는다(Wee 등, 2004). 피땅콩 중량의 35~40%를 차지하는 피땅

Received 1 June 2021; Revised 23 August 2021; Accepted 24 August 2021

Corresponding author: Hyun-Joo Kim, Department of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, 54, Seocho-ro, Gwonseon-gu, Suwon-si, Gyeonggi 16613, Korea, E-mail: tlrtod@korea.kr

Copyright © 2021 by The Korean Society of Food Science and Nutrition. All rights Reserved.

This is Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

콩 겉껍질은 식물성 스테롤, 페놀산 및 플라보노이드 등과 같은 다양한 기능성 물질을 함유하고 있으나 부산물로 인식되어 대부분이 폐기되거나 사료로 활용되고 있다(Qiu 등, 2012). 피땅콩 겉껍질에 함유되어 있는 이소플라본과 식물성 스테롤은 장에서 콜레스테롤 흡수를 저해시켜 체내 콜레스테롤 수준을 저하한다고 알려졌으며(Rim 등, 2005), 폴리페놀류 화합물은 금속이온 흡착, 활성산소종의 소거 및 지질 과산화 반응 종결과 같은 항산화 활성을 나타내어 폴리페놀 화합물 함량 증가를 통한 항암, 항산화 등 다양한 생리활성 증가를 기대할 수 있다(Lee 등, 2013).

현재까지 발표된 땅콩 부산물에 관한 연구로는 겉껍질의 기능성분 최적 추출조건 확립(Gam 등, 2021) 및 종피의 품종별 생리활성 검정에 관한 연구(Kim 등, 2019b) 등이 발표된 바 있으나 국내산 땅콩 겉껍질을 기능성 소재로서 적용하기 위한 품종별 생리활성을 비교한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 땅콩 겉껍질의 품종 및 추출용매에 따른 기능성분과 생리활성을 비교 분석함으로써 땅콩 겉껍질의 기능성 소재로서의 이용을 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

시약

추출용매에 따른 땅콩 겉껍질 추출물의 기능성분 및 생리활성 비교를 위해서 사용한 시약인 angiotensin-converting enzyme(ACE), 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS), dimethyl sulfoxide, 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2,5,6-d₃-L-alanine(DOPA), 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH), ethylacetate, α-glucosidase, hippuryl-L-histidyl-L-leusine(HHL), hydrochloric acid, iron(III) chloride, mushroom tyrosinase, *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside(*p*-NPG), 2,4,6-tris(2-pyridyl)-*s*-triazine(TPTZ), trichloroacetic acid, xanthine oxidase는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

실험재료 및 추출물 제조

본 연구에 사용된 땅콩 겉껍질은 2018년에 농업기술실용화재단에서 구입한 신평광(*Arachis hypogaea* L. cv. Sin-palkwang)과 전라북도 전주 소재의 국립식량과학원에서 생산된 케이올(cv. K-OI) 품종을 사용하였다. 땅콩 겉껍질 추출물을 제조하기 위해 품종별 겉껍질은 분쇄기(Hanil Co., Wonju, Korea)를 사용하여 분쇄하였다. 품종별 분쇄 시료 중량 대비 10배량의 100% 아세톤(v/v), 100% 메탄올(v/v) 및 50% 메탄올(v/v)을 첨가하여 24시간 교반 추출한 다음 여과, 감압 농축 및 동결건조 하였으며 동결건조한 시료를 100 mg/mL의 농도로 dimethyl sulfoxide에 용해한 후 증류수로 희석하여 생리활성 측정용 시료로 사용하였다.

루테올린 및 에리오딕티올 정량 분석

땅콩 겉껍질의 품종 및 추출용매에 따른 기능성분으로 루테올린과 에리오딕티올 함량을 분석하였다. 즉 분쇄한 땅콩 겉껍질에 에탄올을 중량 대비 20배가 되도록 넣은 다음 24시간 교반추출 하였다. 그 후 추출액을 원심분리(9,190×*g*, 10분)하여 얻은 상층액을 0.22 μm syringe filter로 필터하여 HPLC(Hitachi, Tokyo, Japan)로 분석하였다. 분석조건은 Table 1과 같다.

DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성

땅콩 겉껍질 추출물의 품종 및 추출용매에 따른 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성을 측정하였다(Woo 등, 2015). DPPH 라디칼 소거 활성은 0.2 mM DPPH 용액 200 μL에 시료 10 μL를 첨가한 후 520 nm에서 30분 후 분광광도계(UV Spectrophotometer 1601, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. ABTS 라디칼 소거 활성은 ABTS 7.4 mM과 potassium persulfate 2.6 mM을 하루 동안 암소에 방치하여 ABTS 양이온을 형성시킨 후 이 용액을 735 nm에서 흡광도 값이 1.4~1.5가 되도록 몰 흡광계수($\epsilon=3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 에탄올로 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 200 μL에 추출액 10 μL를 가하여 분광광도계(UV Spectrophotometer 1601)를 이용해 흡광도의 변화를 정확히 30분 후에 측정하였다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성은 시료 100 g당 mg Trolox

Table 1. Analysis condition of luteolin and eriodictyol in peanut hull extracts

Instrument	Hitachi Chromaster
Column and temperature	YMC-Triart C18 (150×3.0 mm, 5 μm), 30°C
Injection volume	20 μL
Flow rate	1.0 mL/min
Detector	Diode-array detector (280 nm)
Mobile phase	Solvent A: H ₂ O (0.1% TFA ¹⁾) Solvent B: Acetonitrile (0.1% TFA) 0 min 5% B, 5 min 5% B, 15 min 25% B, 30 min 60% B, 37 min 70% B, 37.1 min 95% B, 40 min 5% B, 45 min 5% B

¹⁾TFA: trifluoroacetic acid.

equivalent(TE) antioxidant capacity로 표현하였다.

FRAP 측정

FRAP(ferric-reducing antioxidant power) 측정은 Benzie와 Strain(1996)의 방법을 인용하였다. 300 mM sodium acetate buffer(pH 3.6) 25 mL를 37°C에서 가온 후 40 mM hydrochloric acid로 용해한 10 mM TPTZ 2.5 mL와 20 mM iron(III) chloride 2.5 mL를 가하여 제조한 FRAP reagent 180 µL에 시료 30 µL와 증류수 90 µL를 넣은 다음 37°C에서 10분간 반응시킨 후 분광광도계(UV Spectrophotometer 1601)를 이용하여 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 계산은 1,000 µM부터 반수 희석으로 25 µM까지 6개 농도로 하여 FeSO₄의 검량식에 대입해 환산하였다.

α-Glucosidase 저해 활성

추출용매에 따른 땅콩 껍질질의 품종별 α-glucosidase 저해 활성을 측정하였다(Tibbot와 Skadsen, 1996). α-Glucosidase와 *p*-NPG를 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.0)로 용해하여 제조하였다. 시료 10 µL에 0.5 unit/mL α-glucosidase 90 µL를 혼합하여 37°C에서 20분간 incubation한 후 1 mM *p*-NPG 용액을 100 µL 가하여 분광광도계(UV Spectrophotometer 1601)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정한 다음, 값을 토대로 저해율(%)을 계산하였으며 이를 기반으로 IC₅₀ 값을 산출하였다.

ACE 저해 활성

땅콩 껍질질 추출물의 항고혈압 활성을 탐색하기 위해 ACE 저해 활성을 Cushman과 Cheung(1971)의 방법으로 분석하였다. HHL 25 mg을 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)에 용해하여 제조한 기질 30 µL에 시료 10 µL를 가하여 37°C에서 10분간 반응하였다. 그다음 시료 대조군에 1 N hydrochloric acid 50 µL 첨가하여 반응을 종료시키고 시료 처리군에는 효소 ACE(0.5 unit/mL) 10 µL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응한 다음 1 N HCl 50 µL 첨가하여 반응을 종료하였다. 그 후, 모든 처리군에 ethylacetate 300 µL를 첨가한 다음 원심분리한 후 상층액 250 µL를 취해서 70°C에서 1시간 동안 방치하였다. 그다음 증류수 300 µL를 첨가하여 교반한 후 분광광도계(UV Spectrophotometer 1601)를 이용하여 228 nm에서 흡광도를 측정한 다음, 값을 토대로 저해율(%)을 계산하였으며 이를 기반으로 IC₅₀ 값을 산출하였다.

Tyrosinase 저해 활성

품종별 땅콩 껍질질의 추출용매에 따른 미백 활성을 검토하기 위해 분석한 tyrosinase 저해 활성 측정 방법은 tyrosinase의 작용결과 생성되는 dopachrome을 비색법(Flurkey, 1991)을 이용하여 측정하였다. Mushroom tyrosinase(100 unit/mL)를 0.2 mL, 기질로서 DOPA 0.4 mL, 0.1

M potassium phosphate buffer(pH 6.8) 0.2 mL의 혼합액에 시료 0.2 mL를 첨가한 후 25°C에서 15분간 반응시켜 분광광도계(UV Spectrophotometer 1601)를 이용하여 475 nm에서 흡광도를 측정하고 dopachrome의 변화를 저해능으로 환산하였으며, 이를 기반으로 IC₅₀ 값을 산출하였다.

Xanthine oxidase 저해 활성

Xanthine oxidase의 활성은 반응 생성물인 요산의 농도를 분광광도계로 측정하는 Stripe와 Corte의 방법(1969)으로 확인하였다. 효소반응은 0.1 M potassium phosphate 완충용액(pH 7.5)에 xanthine을 녹여 2 mM의 농도로 만든 기질용액 1.5 mL를 기반으로 하여 시료구에는 각 추출물 시료 0.1 mL와 0.5 U/mL xanthine oxidase 0.05 mL를 넣었고, 대조구에는 추출물 시료 대신 0.1 mL의 증류수와 0.5 U/mL xanthine oxidase 0.05 mL를 넣었다. 시료구와 대조구 모두 37°C의 항온기에서 5분간 반응시킨 다음 0.5 mL의 20% trichloroacetic acid를 첨가하여 효소반응을 정지시켰다. 반응액은 10분간 원심분리(2,000×*g*)하여 단백질을 제거한 후 분광광도계(UV Spectrophotometer 1601)를 이용하여 292 nm에서 흡광도를 측정함으로써 요산의 생성 억제 정도를 확인하였다. Xanthine oxidase 저해 활성(%)은 $[1 - (\text{시료구} - \text{시료구 blank}) / \text{대조구}] \times 100$ 으로 계산하였으며 이를 기반으로 IC₅₀ 값을 산출하였다.

통계분석

본 시험에서 얻어진 결과는 SPSS 12.0(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 사용하여 각 실험 구간의 유의성을 검증한 후 Duncan's multiple range tests에 의해 실험군 간의 차이를 5% 유의수준에서 분석하였다.

결과 및 고찰

추출용매에 따른 수율, 루테올린 및 에리오딕티올 함량

천연물에 함유된 기능성분을 용출하기 위하여 다양한 종류의 추출용매를 사용하게 되는데, 추출용매에 따라 수율 차이가 나타나며 항산화 활성 등 기타 생리활성에서도 차이가 발생함이 보고되어 있다(Tatiya 등, 2011). 품종별 땅콩 껍질질을 100% 아세톤, 50% 메탄올, 100% 메탄올로 추출한 후 수율을 비교한 결과 두 품종 모두 50% 메탄올로 추출하였을 때 16.43%(신팔광), 12.71%(케이올)로 다른 추출용매에 비해 수율이 높은 것을 확인할 수 있었다(Table 2).

식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물인 플라보노이드 화합물은 효과적인 항산화 성분 중 하나로서 자유라디칼이 안정한 형태를 형성하도록 유도하는 역할을 함으로써 활성산소에 의한 산화를 억제하는 항산화 활성뿐만 아니라 노화 억제, 항암, 항균 작용 등 다양한 생리활성을 가지는 것으로 보고되고 있다(Naeimi와 Alizadeh, 2017). 루테올

Table 2. Extraction yields (%) of peanut hull extracts according to cultivars and extraction solvent

Solvent	Sinpalkwang	K-OI
100% Acetone	7.68±0.56 ^c	3.86±0.14 ^c
50% Methanol	16.43±0.55 ^a	12.71±0.66 ^a
100% Methanol	10.77±0.41 ^b	8.77±0.81 ^b

Value are mean±SD of three replicates. Different small letters in the same items indicate a significant difference ($P<0.05$) among different cultivar and extraction solvent.

Table 3. Luteolin and eriodictyol contents (mg/g dry weight) of peanut hull extracts according to cultivars and extraction solvent

Cultivars	Solvent	Luteolin	Eriodictyol
Sinpalkwang	100% Acetone	0.82±0.04 ^b	0.53±0.02 ^b
	50% Methanol	0.52±0.02 ^c	0.53±0.01 ^b
	100% Methanol	1.70±0.04 ^a	1.23±0.03 ^a
K-OI	100% Acetone	0.31±0.01 ^b	0.10±0.01 ^b
	50% Methanol	0.22±0.01 ^c	0.05±0.01 ^c
	100% Methanol	0.65±0.02 ^a	0.27±0.01 ^a

Value are mean±SD of three replicates. Different small letters in the same items indicate a significant difference ($P<0.05$) among different cultivar and extraction solvent.

린은 플라보노이드 화합물 중의 하나로 올리브, 양상추 등 식물성 재료에서 주로 검출되고 있는데, 식량 작물 중에는 땅콩 겉껍질에 함유되어 있다고 알려져 있다(Pae 등, 2016). 땅콩 겉껍질에는 루테올린과 함께 에리오딕티올 또한 많이 함유되어 있는 것으로 알려져 있어(Pae 등, 2016), 본 연구에서는 추출용매 및 품종에 따른 땅콩 겉껍질 추출물에 함유된 루테올린과 에리오딕티올 함량을 분석하였다. 분석 결과 100% 메탄올 추출 시 루테올린은 0.65~1.70 mg/g dry weight, 에리오딕티올은 0.27~1.23 mg/g dry weight로 가장 높았으며, 신평광이 케이올보다 높은 함량을 보였다(Table 3). 땅콩 겉껍질에 함유한 루테올린 및 에리오딕티올 함량 분석에 관한 연구는 다수 발표된 바 있다. Pae 등(2016)에 따르면 신평광 및 대광 품종의 루테올린 함량을 분석한 결과 각각 3,598 및 1,588 µg/g으로 보고하였으며, Tesio 등(2014)은 땅콩 겉껍질에 함유한 루테올린 함량은 100 g 당 1.18~1.47 g이라고 발표하였다. 발표된 연구마다 루테

올린 및 에리오딕티올 함량이 다른 이유는 품종, 재배조건(산지, 연차 및 기상 변화 등) 및 추출용매 등에 따라 그 함량이 다르게 나타난 것으로 판단되며(Woo 등, 2016), 땅콩 겉껍질에 함유된 기능성분을 이용한 산업 소재 개발을 위해 앞서 언급한 다양한 변수에 따른 함량 변이를 최소화하고, 산업 소재로 적용하기 위한 지속적인 모니터링이 필요하다고 판단된다.

항산화 활성

품종 및 추출용매별 땅콩 겉껍질 추출물의 항산화 활성을 검토하기 위해 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거능과 FRAP 값을 측정된 결과를 Table 4에 제시하였다. 세 실험 모두 신평광이 케이올보다 높은 항산화 활성을 나타냈다. 추출용매에 따른 항산화 활성 차이를 비교한 결과 ABTS 라디칼 소거능의 경우 두 품종 모두 50% 메탄올 추출물에서 가장 높은 값을 보인 반면, DPPH 라디칼 소거능 및 FRAP 값의 경우 100% 메탄올 추출물에서 가장 높은 값을 나타냈다. 이는 추출용매에 따른 땅콩 및 탈지땅콩의 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거능은 메탄올 추출물이 각각 8.44~10.68 및 1.63~2.49 mg ascorbic acid equivalent/extract g으로 아세톤 및 물 등 다른 추출용매보다 높은 항산화 활성을 보였다는 Kim 등(2019a)의 결과와 유사하였다. 또한 Moon 등(2003)의 보고에 따르면 FRAP 법과 DPPH 법은 높은 상관성을 보였다고 하였으며 본 결과도 같은 경향을 보였다. Oki 등(2002)의 보고에 따르면 추출용매에 따른 쌀의 항산화 활성 측정 결과 극성이 높은 메탄올 추출물이 헥산, 에테르, 에틸아세테이트, 아세톤 및 물 추출물보다 높은 항산화 활성을 보였다. Sultana 등(2009)은 약용식물의 메탄올 및 에탄올 추출물의 항산화 활성 측정 결과, 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능과 환원력 등 항산화 활성이 에탄올 추출물보다 높았다고 보고하였다. 또한 추출용매별 귀리 추출물의 항산화 활성에 대한 Ham 등(2016)의 보고에 따르면 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량이 아세톤, 에탄올 및 에틸아세테이트 추출물보다 높게 측정됨에 따라 항산화 활성 또한 높게 나타났다고 발표하였다. 땅콩 겉껍질에 함유한 주요 폴리페놀 화합물인 루테올린과 에리오딕티올 성분과 항산화 활성과의 연관성에 관해서 Choi 등(2014)은 루테올린과 C-gly-

Table 4. Antioxidant activities of peanut hull extracts according to cultivars and extraction solvent

Cultivars	Solvent	Radical scavenging activity (EDA ¹⁾ (%)		FRAP (mM/mL)
		ABTS	DPPH	
Sinpalkwang	100% Acetone	38.89±1.27 ^c	21.08±2.11 ^b	0.66±0.01 ^b
	50% Methanol	69.18±0.24 ^a	19.65±1.37 ^b	0.59±0.01 ^c
	100% Methanol	64.39±0.27 ^b	41.15±1.90 ^a	1.18±0.01 ^a
K-OI	100% Acetone	17.56±0.52 ^f	7.42±0.13 ^c	0.21±0.00 ^f
	50% Methanol	53.41±0.13 ^c	6.90±0.19 ^c	0.24±0.00 ^e
	100% Methanol	40.37±0.17 ^d	22.78±2.9 ^b	0.52±0.01 ^d

¹⁾EDA: electron donating ability.

Value are mean±SD of three replicates. Different small letters in the same items indicate a significant difference ($P<0.05$) among different cultivar and extraction solvent.

coside 결합 위치에 따라 항산화 활성이 다르며, 루테올린 함량이 항산화 활성과 연관되어 있다고 하였다. 본 연구 결과 땅콩 겉껍질 메탄올 추출 시 다른 용매 추출물보다 루테올린 함량이 높게 나타남에 따라(Table 3) 항산화 활성에도 영향을 미치는 것으로 판단된다.

효소 저해 활성

품종 및 추출용매에 따른 땅콩 겉껍질 추출물의 효소 저해 활성을 검토하기 위하여 항고혈압 활성을 알아볼 수 있는 ACE 저해 활성, 항당뇨 활성과 관련 있는 tyrosinase 저해 활성과 통풍 예방효과를 알아볼 수 있는 xanthine oxidase 저해 활성을 측정하였다. 각각의 활성을 측정한 결과를 토대로 IC₅₀ 값을 산출하여 Table 5에 제시하였다.

땅콩 겉껍질 추출물의 ACE 저해 활성에 대한 IC₅₀ 값은 신평광 품종이 2.91~7.97 mg/mL 범위로 나타났지만, 케이올은 추출용매에 상관없이 10 mg/mL 이상으로 매우 낮은 항고혈압 활성을 보였다. ACE 저해 물질은 ACE의 작용을 저해함으로써 angiotensin II의 생성 저해, 부신피질에서 분비되는 스테로이드 호르몬인 알도스테론 분비 감소, 혈관 확장제인 bradykinin의 증가 등의 과정을 통해 신장 혈관을 확장해 나트륨의 배설을 촉진함으로써 혈압을 낮추어 줄 수 있다. 현재까지 땅콩 겉껍질에 대한 항고혈압 활성 관련 연구 결과는 발표된 바 없으나 최근 발표된 Kim 등(2019b)의

보고에 따르면 국내 육성 땅콩 품종 및 추출용매에 따른 ACE 저해 활성을 검토한 결과 다산 품종의 종피에 proanthocyanidin 함량이 높아 ACE 저해 활성(31.37~73.64%)이 다른 품종에 비해 높게 나타난 것으로 판단되며, ACE 저해 활성이 높은 proanthocyanidin은 메탄올로 추출하였을 때 효과적으로 용출되었다고 발표하였다. 땅콩 겉껍질과 종피에 함유된 기능성분이 다르므로 추후 신평광 겉껍질과 어떠한 기능성분에 의해 ACE 저해 활성이 나타나는지에 관한 연구가 필요하다고 판단된다.

α -Glucosidase는 소장 상피세포의 용모 세포막에 존재하며 이당류 또는 다당류를 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 하는 효소로서 α -glucosidase에 대한 저해 활성은 탄수화물 식이 후 혈당 상승을 억제할 수 있어 항당뇨 활성 측정 방법으로 이용된다(Gua 등, 2006). 땅콩 겉껍질 추출물의 항당뇨 활성 여부를 검토하기 위해 α -glucosidase 저해 활성 분석 결과 신평광 품종의 아세톤 및 메탄올 추출물의 IC₅₀ 값이 각각 0.20 및 0.23 mg/mL로 케이올보다 우수하였다. 땅콩 종피의 항당뇨 활성에 대한 국외 연구는 α -glucosidase 및 α -amylase 저해 활성(Tsujita 등, 2013)과 함께 Caco2 소장 세포로의 포도당 유입 저해 활성에 대한 연구가 보고되었으며(Tamura 등, 2015), 땅콩 및 땅콩 종피 추출물의 항당뇨 효능 평가에 대한 de Camargo 등(2017)의 연구에서는 땅콩 종피(peanut skin), 땅콩 종자(whole peanuts), 건조땅콩 종자(dry-

Table 5. Enzyme inhibition activity of peanut hull extracts according to cultivars and extraction solvent

Enzyme	Cultivars	Solvent	Caribration curve	IC ₅₀ (mg/mL)
α -Glucosidase	Sinpalkwang	100% Acetone	$y = 272.1x - 3.1538$ ($r^2 = 0.7094$)	0.20
		50% Methanol	$y = 76.912x - 6.7963$ ($r^2 = 0.9502$)	0.74
		100% Methanol	$y = 255.84x - 7.7202$ ($r^2 = 0.8556$)	0.23
	K-OI	100% Acetone	$y = 135.73x + 48.568$ ($r^2 = 0.5617$)	0.01
		50% Methanol	$y = 154.86x - 12.52$ ($r^2 = 0.9983$)	0.40
		100% Methanol	$y = 175.17x + 33.778$ ($r^2 = 0.6205$)	0.09
Tyrosinase	Sinpalkwang	100% Acetone	$y = 10.194x + 10.048$ ($r^2 = 0.9807$)	3.92
		50% Methanol	$y = 3.3436x + 10.108$ ($r^2 = 0.9630$)	11.93
		100% Methanol	$y = 6.9237x + 6.1673$ ($r^2 = 0.9828$)	6.33
	K-OI	100% Acetone	$y = 6.0125x + 5.8063$ ($r^2 = 0.9002$)	7.35
		50% Methanol	$y = 3.0514x + 10.529$ ($r^2 = 0.9480$)	12.94
		100% Methanol	$y = 4.6674x + 6.2575$ ($r^2 = 0.9403$)	9.37
Angiotensin converting enzyme	Sinpalkwang	100% Acetone	$y = 7.164x - 8.0731$ ($r^2 = 0.9881$)	7.97
		50% Methanol	$y = 7.4279x - 4.858$ ($r^2 = 0.9838$)	7.39
		100% Methanol	$y = 23.429x - 18.237$ ($r^2 = 0.9541$)	2.91
	K-OI	100% Acetone	$y = 0.2782x - 0.3709$ ($r^2 = 0.7500$)	>10
		50% Methanol	$y = 0.6112x - 0.815$ ($r^2 = 0.7500$)	>10
		100% Methanol	$y = 0.8184x - 0.7545$ ($r^2 = 0.9820$)	>10
Xanthine oxidase	Sinpalkwang	100% Acetone	$y = 12.714x + 13.866$ ($r^2 = 0.9996$)	2.84
		50% Methanol	$y = 15.286x + 12.866$ ($r^2 = 0.9443$)	2.43
		100% Methanol	$y = 26.307x + 11.079$ ($r^2 = 0.9704$)	1.48
	K-OI	100% Acetone	$y = 17.209x - 3.5$ ($r^2 = 0.7912$)	3.11
		50% Methanol	$y = 19.275x - 2.5465$ ($r^2 = 0.7112$)	2.73
		100% Methanol	$y = 20.286x + 10.366$ ($r^2 = 0.9328$)	1.95

blanched peanut) 순으로 α -glucosidase 저해 활성을 나타낸다고 하여 땅콩 종피 추출물의 항당뇨 활성에 대해 확인하였다. 국내에서 발표된 연구로는 Kim 등(2019b)은 땅콩 종피를 80% 메탄올 및 에탄올로 추출하였을 때 다안 품종의 α -glucosidase 저해 활성이 각각 65.08% 및 53.99%로 가장 높게 나타났다고 보고하였다. 본 연구를 통해 국내산 땅콩 겉껍질에도 항당뇨 활성을 가지고 있는 것으로 확인되었으며, 지속적인 모니터링을 통해 국내산 땅콩을 활용한 항당뇨 소재 개발을 위한 검토가 꾸준히 이루어져야 한다고 판단된다.

Tyrosinase는 피부 기저층에 있는 멜라닌 세포의 멜라노솜에서 타이로신 또는 DOPA를 기질로 하여 피부 색소 성분인 멜라닌을 생합성 하는데 작용하는 주요 효소이다. 멜라닌은 생물체에 널리 분포되어있는 색소로 퀴논과 하이드로퀴논 단량체 구성단위의 중합체이다. 주로 암갈색 또는 적갈색이며 tyrosinase의 작용에 의한 퀴논 생성이 선행된 후에 아미노산 혹은 단백질과의 중합반응에 의해 합성된다. Tyrosinase 저해 활성은 피부암과 멜라닌 색소침착으로 인한 피부 질환의 치료 능력 때문에 임상학적으로 사용 가능할 뿐만 아니라 자외선에 탄 후 피부의 색소탈색과 미백 능력 때문에 화장품 산업에서 매우 중요하다(Yang 등, 2008). 품종 및 추출용매에 따른 땅콩 겉껍질의 미백 활성을 검토하기 위해 tyrosinase 저해 활성을 분석한 결과 신팔광 품종의 아세톤 추출물의 IC_{50} 값이 3.92 mg/mL로 가장 우수하였다. 이는 플라보노이드와 같은 페놀 화합물이 tyrosinase 저해 활성에 관련된 물질이라고 보고한 Byun 등(2004)의 연구 결과와는 상이하였다. 최근 발표된 Kim 등(2019b)의 보고자료에 따르면 다안 품종의 종피가 다른 품종에 비해 tyrosinase 저해 활성이 높게 나타났으며 이는 안토시아닌과 프로시아니딘 올리고머는 메탄올과 아세톤에 효과적으로 추출된다고 하였다. 땅콩 겉껍질을 화장품 소재에 적용하기 위해서는 본 자료를 기초로 하여 멜라닌 생합성 등과 같은 추가 실험과 함께 땅콩 겉껍질의 미백 활성에 영향을 미치는 기능성분 구명 등 후속 연구가 요구된다.

Xanthine oxidase는 생체 내 퓨린 대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 요산염을 형성하며, 요산염이 혈장 내에서 증가하면 골절에 축적되어 통풍을 일으키는 효소로 알려져 있다(Cho 등, 1993). Xanthine oxidase에 대한 저해 활성은 요산염 형성을 감소시켜 통풍 유발을 억제할 수 있어 통풍 예방 효과 측정 방법으로 활용할 수 있다. 땅콩 겉껍질 추출물의 품종 및 추출용매별 xanthine oxidase 저해 활성에 대한 아세톤 추출물의 IC_{50} 값이 각각 2.84 및 3.11 mg/mL로 케이올이 신팔광보다 높은 값을 보였다. 이는 품종별 케이올 땅콩 및 탈지 땅콩 메탄올 추출물이 다른 용매 추출물 보다 높은 활성을 보였다는 Kim 등(2019a)의 결과와 유사하였다. 일반적으로 galloyl기가 포함된 플라보노이드 또는 폴리페놀 화합물이 xanthine

oxidase 저해 활성과 높은 상관관계를 보인다고 알려져 있어(de Camargo 등, 2017) 케이올 품종의 땅콩 겉껍질 메탄올 추출물의 xanthine oxidase를 경쟁적으로 저해하는 *p*-coumaric acid, ferulic acid, coumaric acid 등과 같은 페놀 화합물의 영향으로 판단되며, 추후에 어떠한 성분에 의해 xanthine oxidase 저해 활성이 높게 나타나는지에 대한 후속 연구가 필요하다고 판단된다.

요 약

본 연구는 땅콩 겉껍질의 기능성 소재로서 다양한 이용을 위한 기초자료를 확보하고자 땅콩 겉껍질 추출용매에 따른 기능성분과 생리활성을 분석하였다. 시료는 신팔광, 케이올 품종의 겉껍질을 이용하였고, 추출용매는 100% 아세톤, 100% 메탄올, 50% 메탄올을 시료 중량의 10배를 가하여 24시간 추출하여 실험에 사용하였다. 추출수율을 비교한 결과 두 품종 모두 50% 메탄올로 추출하였을 때 16.43%(신팔광), 12.71%(케이올)로 다른 추출용매에 비해 수율이 높았다. 품종별 땅콩 겉껍질의 추출용매에 따른 루테올린, 에리오딧티올 함량 분석 결과 100% 메탄올 추출 시 루테올린은 0.65~1.70 mg/g dry weight, 에리오딧티올은 0.27~1.23 mg/g dry weight로 가장 높았으며, 신팔광이 케이올보다 높은 함량을 보였다. 추출용매에 따른 항산화 활성을 분석한 결과 ABTS 라디칼 소거능의 경우 두 품종 모두 50% 메탄올 추출물에서 가장 높은 값을 보인 반면 DPPH 라디칼 소거능 및 FRAP 값의 경우 100% 메탄올 추출물에서 가장 높은 값을 나타냈다. 신팔광 품종의 아세톤 및 메탄올 추출물은 α -glucosidase 저해 활성에 대한 IC_{50} 값이 각각 0.20 및 0.23 mg/mL로 케이올보다 우수하였다. 미백 활성의 경우 신팔광 품종의 아세톤 추출물이 tyrosinase 저해 활성에 대한 IC_{50} 값이 3.92 mg/mL로 가장 우수하였으며, 항고혈압 활성과 연관된 지표인 ACE 저해 활성에 대한 IC_{50} 값은 신팔광 품종은 2.91~7.97 mg/mL 범위로 나타났지만, 케이올은 추출용매에 상관없이 10 mg/mL 이상으로 매우 낮은 항고혈압 활성을 보였다. Xanthine oxidase 저해 활성에 대한 아세톤 추출물의 IC_{50} 값이 각각 2.84 및 3.11 mg/mL로 케이올이 높은 값을 보였다. 따라서 추출용매에 따라 땅콩 겉껍질 추출물의 기능성분 및 생리활성에 차이가 나타나며, 이는 추출용매의 극성에 따라 추출된 생리활성 물질, 특히 폴리페놀 화합물의 용해도 차이로 생각된다. 본 연구 결과는 점차 관심이 높아지고 있는 기능성 소재 개발에 있어 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 AGENDA 연구사업(과제번호: PJ01430301)의 지원에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

- Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996. 239:70-76.
- Byun MW, Jo C, Jeon TW, Hong CH. Effects of gamma irradiation on color characteristics and biological activities of extracts of *Lonicera japonica* (Japanese honey-suckle) with methanol and acetone. *LWT—Food Sci Technol.* 2004. 37: 29-33.
- Cho YJ, Chun SS, Choi C. Inhibitory effect of condensed tannins isolated from Korean green tea against xanthine oxidase. *J Korean Soc Food Nutr.* 1993. 22:418-422.
- Choi JS, Islam N, Ali Y, Kim YM, Park HJ, Sohn HS, et al. The effects of C-glycosylation of luteolin on its antioxidant, anti-Alzheimer's disease, anti-diabetic, and anti-inflammatory activities. *Arch Pharm Res.* 2014. 37:1354-1363.
- Cushman DW, Cheung HS. Spectrometric assay and properties of angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol.* 1971. 20:1637-1648.
- de Camargo AC, Regitano-d'Arce MAB, Shahidi F. Phenolic profile of peanut by-products: antioxidant potential and inhibition of alpha-glucosidase and lipase activities. *J Am Oil Chem Soc.* 2017. 94:959-971.
- Flurkey WH. Identification of tyrosinase in mushrooms by isoelectric focusing. *J Food Sci.* 1991. 56:93-95.
- Gam DH, Hong JW, Yeom SH, Kim JW. Polyphenols in peanut shells and their antioxidant activity: optimal extraction conditions and the evaluation of anti-obesity effects. *J Nutr Health.* 2021. 54:116-128.
- Gua J, Jin YS, Han W, Shim TH, Sa JH, Wang MH. Studies for component analysis, antioxidative activity and α -glucosidase inhibitory activity from *Equisetum arvense*. *J Korean Soc Appl Biol Chem.* 2006. 49:77-81.
- Ham H, Woo KS, Park JY, Lee B, Choi YH, Lee C, et al. Antioxidant and anti-proliferative activities of oats under different solvent extraction conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2016. 45:918-922.
- Kim MY, Kim HJ, Kim MH, Lee JY, Lee YY, Lee BK, et al. Changes in the physiological activities of peanut and defatted peanut extracts according to cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2019a. 48:847-855.
- Kim MY, Kim HJ, Lee YY, Kim MH, Lee JY, Lee B, et al. Enzyme inhibitory and anti-proliferation effects of peanut skin extracts depending on cultivar. *Korean J Food Nutr.* 2019b. 32:511-521.
- Lee CW, Chon HJ, Yoo YJ. A clinical study of flavonoid quercetin-containing cosmetics on the skin improvement. *Kor J Aesthet Cosmetol.* 2013. 11:811-818.
- Lee JI, Park HW, Han ED. Review of the studies on the qualities in peanuts. *Korean J Crop Sci.* 1988. 33:64-85.
- Lim JD, Yang DC, Yun SJ, Chung IM, Sung ES, Kim MJ, et al. Isolation and biological activity of resveratrol-3-O- β -D-glucoside in transgenic *Rehmannia glutinosa* L. transformed by peanut resveratrol synthase gene (RS3). *Korean J Med Crop Sci.* 2004. 12:406-414.
- Limmongkon A, Janhom P, Amthong A, Kawpanuk M, Nopprang P, Poohadsuan J, et al. Antioxidant activity, total phenolic, and resveratrol content in five cultivars of peanut sprouts. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2017. 7:332-338.
- Moon GS, Ryu BM, Lee MJ. Components and antioxidative activities of buchu (*Chinese chives*) harvested at different times. *Korean J Food Sci Technol.* 2003. 35:493-498.
- Naeimi AF, Alizadeh M. Antioxidant properties of the flavonoid fisetin: An updated review of *in vivo* and *in vitro* studies. *Trends Food Sci Technol.* 2017. 70:34-44.
- Oki T, Masuda M, Kobayashi M, Nishiba Y, Furuta S, Suda I, et al. Polymeric procyanidins as radical-scavenging components in red-hulled rice. *J Agric Food Chem.* 2002. 50:7524-7529.
- Pae SB, Hwang CD, Kim SU, Lee MH, Shim KB, Park CH, et al. A new large grain and high-yielding virginia type peanut cultivar 'Sinpalkwang'. *Korean J Breed Sci.* 2016. 48:66-71.
- Qiu J, Chen L, Zhu Q, Wang D, Wang W, Sun X, et al. Screening natural antioxidants in peanut shell using DPPH-HPLC-DAD-TOF/MS methods. *Food Chem.* 2012. 135:2366-2371.
- Rim AR, Jung ES, Jo SC, Lee SC. Effect of far-infrared irradiation and heat treatment on the antioxidant activity of extracts from peanut (*Arachis hypogaea*) shell. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2005. 34:1114-1117.
- Stripe F, Corte ED. The regulation of rat xanthine oxidase. Conversion *in vitro* of enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem.* 1969. 244:3855-3863.
- Sultana B, Anwar F, Ashraf M. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules.* 2009. 14:2167-2180.
- Tamura T, Ozawa M, Kobayashi S, Watanabe H, Arai S, Mura K. Inhibitory effect of oligomeric polyphenols from peanut-skin on sugar digestion enzymes and glucose transport. *Food Sci Technol Res.* 2015. 21:111-115.
- Tatiya AU, Tapadiya GG, Kotecha S, Surana SJ. Effect of solvents on total phenolics, antioxidant and anti-microbial properties of *Bridelia retusa* Spreng. stem bark. *Indian J Nat Prod Resour.* 2011. 2:442-447.
- Tesio AY, Granero AM, Vettorazzi NR, Ferreyra NF, Rivas GA, Fernandez H, et al. Development of an electrochemical sensor for the determination of the flavonoid luteolin in peanut hull samples. *Mircrochem J.* 2014. 115:100-105.
- Tibbot BK, Skadsen RW. Molecular cloning and characterization of a gibberellin-inducible, putative α -glucosidase gene from barley. *Plant Mol Biol.* 1996. 30:229-241.
- Tsujita T, Shintani T, Sato H. α -Amylase inhibitory activity from nut seed skin polyphenols. 1. Purification and characterization of almond seed skin polyphenols. *J Agric Food Chem.* 2013. 61:4570-4576.
- Wee JH, Moon JH, Park KH. Isolation and identification of prateinase with antimicrobial activity from the peanut shells. *Korean J Food Sci Technol.* 2004. 36:643-647.
- Woo KS, Song SB, Ko JY, Kim YB, Kim WH, Jeong HS. Antioxidant properties of adzuki beans, and quality characteristics of sediment according to cultivated methods. *Korean J Food Nutr.* 2016. 29:134-143.
- Woo KS, Song SB, Ko JY, Lee JS, Jung TW, Jeong HS. Changes in antioxidant contents and activities of adzuki beans according to germination time. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2015. 44:687-694.
- Woodroof JG. Peanuts: production, processing, products. 3rd ed. AVI Pub., Co., Westport, CT, USA. 1983. p 1-50.
- Yang B, Zhao M, Jiang Y. Optimization of tyrosinase inhibition activity of ultrasonic-extracted polysaccharides from longan fruit pericarp. *Food Chem.* 2008. 110:294-300.