

고온건조 환경에 따른 한국 여성의 피부 특성인자와 피부 바이오 마커를 활용한 피부 지수 개발

맹 지 혜¹ · 남 개 원^{2,†}

*㈜유로핀즈씨알에이

**서원대학교 바이오코스메틱학과, 교수

(2023년 10월 31일 접수, 2023년 11월 29일 수정, 2023년 12월 7일 채택)

Development of a Skin Index Using Skin Characteristic Factors and Skin Biomarkers of Korean Women According to High Temperature and Low Humidity Environments

Jihye Maeng¹ and Gaewon Nam^{2,†}

¹Eurofins CRA Inc., 2018, Cheongnam-ro, Seowon-gu, Cheongju-si,
Chungcheongbuk-do 28790, Korea

²Department of Bio-cosmetic Science, Seowon University

(Received October 31, 2023; Revised November 29, 2023; Accepted December 7, 2023)

요약: 본 연구에서는 20 ~ 50 대 한국 여성을 대상으로 일시적 고온건조 환경 조성 전후 피부 수분량, 피부 유분량, 피부 멜라닌, 피부 붉은기, 피부 붉은기 이미지 분석, 경피수분손실량, 피부 각질량을 측정하여 기초 피부 특성 데이터를 수집하였으며, 측정시기 별 각질 채취를 진행하여 피부 바이오마커 중 총단백질량, 카르보닐화 단백질, 중성 지질, 지질 과산화물을 분석하였다. 해당 결과를 기반으로 고온건조 환경 조성 전후의 차이를 확인하고, 피부 특성과 피부 바이오마커의 상관성을 확인하였으며, 이를 기반으로 신규 피부 지수를 만들었다. 신규 피부 지수는 제품 효능평가에 반영이 가능하며 추가연구를 통한 신규 인체적용시험법 구성 및 피부 바이오마커 발굴 연구 활용 가능성을 확인하였다.

Abstract: In this study, basic skin characteristic data was measured by measuring skin hydration, skin sebum secretion rate, skin melanin index, skin redness index, skin redness image analysis, transepidermal water loss (TEWL), and amount of stratum corneum before and after creating a temporary high temperature and low humidity environments targeting Korean women in their 20s to 50s. Stratum corneum by tape stripping was collected at each measurement and skin biomarkers including total protein content, carbonylated protein, neutral lipid, and lipid peroxidation were analyzed. Based on the results, the differences before and after creating a high temperature and low humidity environments were confirmed, the correlation between skin characteristics and skin biomarkers was confirmed, and a new skin index was created based on this. The new skin index can be used in product efficacy evaluation, and the possibility of constructing a new clinical study method and using skin biomarker discovery research through additional research was confirmed.

Keywords: skin index, skin characteristics, skin biomarker, clinical study, customized cosmetic

† 주 저자 (e-mail: skarod@gmail.com)
call: 043-299-8494

1. 서 론

피부는 인체 최외곽에서 환경적 스트레스 요인(물리적, 화학적, 생물학적)으로부터 피부를 보호하는 주요 장벽 기능을 한다. 환경적 스트레스 요인은 내부 요인과 결합되어 피부 노화의 원인이 될 뿐만 아니라, 피부에 부정적인 영향을 미쳐서 피부질환의 위험을 증가시킨다[1]. 가장 대표적인 환경적 스트레스 요인은 태양광(자외선, 적외선 포함), 온도, 대기오염, 수면부족, 영양상태, 스트레스 등이 있다[2]. 그 중 지구온난화와 연관되는 온도의 경우, 급격한 온도 상승 시, 자극을 받은 피부 세포가 히스타민을 방출하여 혈관과 신경에 자극을 주고, 온열 두드러기를 유발하기도 한다[3]. 온도는 단독으로 영향을 줄 뿐만 아니라, 습도와도 같이 피부에 영향을 주기도 한다. 일반적으로 습도는 공기의 수분함량을 측정하는 것으로 특정온도에서 공기가 보유할 수 있는 최대 양과 비교하여 공기 중 수증기(수분)의 양을 백분율로 표시하는 상대습도를 사용하는 것이 일반적이다[4]. 거주 공간 내의 습도 수준은 60%를 초과해서는 안되는 것으로 여겨지며, 습도가 약 30% 이하로 떨어지면 사람들은 불편함을 느끼기 시작한다고 알려져 있다[4]. 특히 건조한 환경은 피부를 물리적 또는 화학적 스트레스에 더욱 민감하게 만들고 염증을 일으키기 쉽게 만드는 다양한 메커니즘을 통해 피부 장벽에 영향을 미칠 수 있는 것으로 알려져 있다[3].

피부 장벽을 구성하는 각질층에서는 다양한 바이오마커 분석이 가능하다. 한국 여성을 대상으로 피부 측정인자와 생물인자에 대한 연구가 있으며[5], 대표적인 산화 변형 중 하나인 단백질 카르보닐화의 경우[6], 노화 지표 중 하나로 활용되며, 각질 내 카르보닐화 단백질을 분석하여 주름 관련 피부특성과 같이 연구한 결과가 있다[7]. 또한 각질 채취 후 각질량 분석과 BCA assay를 통해 연구한 결과가 있다[8]. 또한 Nile red 염색을 통한 각질층 연구도 있으며[9], 각질 분석을 통한 지질 과산화 연구도 존재한다[10,11]. 이러한 바이오마커는 외부물질 또는 조건에 따른 연구뿐만 아니라, 피부 특성과 연계한 연구도 가능하다.

본 연구에서는 이전 연구에서 300 명 이상을 대상으로 피부특성연구를 진행했던 것에서 확장하여 일시적 고온건조 환경을 조성하여 20 ~ 50 대까지 한국여성 44 명을 대상으로 환경조성 전후의 피부특성 및 바이오마커의 변화를 연구하였으며, 고온건조 환경 조성 전후의 결과를 기반으로 측정인자간 상관성을 연구하고, 신규 피부 지수를 도출하였다.

2. 실험 방법

2.1. 고온건조 환경 조성 전후 인체적용시험

식품의약품안전처 화장품 인체적용시험 및 효력시험 가이드라인(민원인 안내서, 2021.10)을 준수하여 한국여성에게 대한 고온건조 환경 조성 전후 피부 특성 측정 인체적용시험을 수행하였다. 시험 대상자는 한국 여성이며, 20 ~ 29 세 여성 11 명, 30 ~ 39 세 여성 11 명, 40 ~ 49 세 여성 11 명을 포함한 총 44 명(평균나이: 38.8 ± 11.71)을 대상으로 고온건조 환경 조성 전후 피부 측정을 진행하였다. 피부 특성에 대한 균질성 및 표본 수의 영향을 최대한 배제하기 위하여 피험자의 성별은 기준을 하나로 통일하여 여성으로 선발하였다. 피험자 선정 제외 기준으로는 감염성 피부 질환이 있는 자, 민감성, 과민성 피부를 가진 자, 시험부위에 점, 여드름, 홍반, 모세혈관 확장 등의 피부 이상소견이 있는 자로 하였다. 시험부위는 얼굴이며, 피험자들이 시험장소를 방문하여 시험부위 세정 후 30 min 이상 대기하여 피부 안정화를 진행 후 기기 측정 및 피부 특성 관련 설문평가를 진행하였다. 고온건조 환경 조성은 적외선 조사기(Infralux 300, Korea)를 이용하여 시험부위와 30 cm 떨어진 거리에서 20 min 동안 피험자의 얼굴에 적외선을 조사하여 측정부위에 대해 온도 40 ± 2 °C, 습도 $22 \pm 2\%$ 의 고온, 건조한 환경을 조성하였다. 기기 측정 항목은 피부 수분량, 경피수분손실량 평가, 피부 유분량 평가, 피부 붉은기, 피부 멜라닌, 사진촬영 및 피부 각질 채취 및 각질량 평가이다. 전기용량(capacitance)을 바탕으로 측정하는 Skin-O-Mat[®] (Cosmomed, Germany)을 통해 피부 수분량을 측정하였고, 경피수분손실량은 측정기기를 피부에 밀착하여 측정하는 Vapometer (Delfin, Finland)를 이용하여 측정하였다. 피부 유분량은 sebumeter cassette의 반투명 지질 흡수 테이프의 빛 투과도를 이용하여 유분량을 측정하는 기기인 Skin-O-Mat[®] sebumeter (Cosmomed, Germany)를 이용하여 측정하였으며, 3 개의 특정 광 파장을 방출하고 수신기에 흡수되는 빛의 양을 계산하여 피부 멜라닌, 피부 붉은기 값을 측정하는 Mexameter[®] MX 18 (MDD4, Courage+Khazaka electronic GmbH, Germany)를 이용해 피부 멜라닌과 피부 붉은기 값을 측정하였다. 피부 붉은기 이미지 분석은 VISIA CR[®] (Canfield Scientific, Inc., USA)를 이용하여 동일한 조건에서 안면 사진을 촬영하고, Image J software (NIH, USA)를 이용하여 영역 지정 후 red area를 분석하였다. 피부 각질은 D-Squame[®] standard sampling disc (D100,

Clinical and Derm LLC., USA)을 이용하여 측정 시기별로 뺨 아래쪽에 붙여 D-Squame[®] Pressure Instrument (D500, Clinical and Derm LLC., USA)을 이용하여 일정한 압력을 가해준 뒤 떼어내어 각질을 채취하여, SquameScan[™] 850A (Clinical and Derm LLC., USA)를 이용하여 피부 각질량을 측정하였다. 본 연구는 (주)씨알에이코리아 임상윤리위원회에 의해 연구 수행 이전에 승인되었다(승인번호: 2020021201-202301-HR-004-01).

2.2. 피부 바이오마커 분석

피부 바이오마커 분석을 위한 각질은 D-Squame[®] standard sampling disc을 이용하여 유해환경 조성 전 후 뺨 아래쪽에 붙여 D-Squame[®] Pressure Instrument 을 이용하여 일정한 압력을 가해준 뒤 떼어내어 각질을 채취하였다. 채취한 각질은 SquameScan[™] 850A를 이용하여 피부 각질량을 측정 한 후 밀봉하여 피부 바이오마커 분석에 이용하였다. 각질 내 단백질량을 분석하기 위하여 BCA assay를 진행하였다. 채취한 각질에 T-Per[™] Tissue Protein extraction Reagent (Thermo scientific, USA)를 이용하여 단백질을 추출한 후, Micro BCA Protein assay Kit (Thermo scientific, USA)를 이용하여 BCA assay를 진행하였다. 음성대조군은 T-Per[™] Tissue Protein extraction reagent를 이용하였으며, 시료 및 음성대조군, standard curve용 BSA 시료 150 μ L를 96 well plate에 넣고, micro BCA working reagent 150 μ L를 넣은 후 37 $^{\circ}$ C에서 2 h 동안 반응시킨다. 그 후, 562 nm에서 흡광도

를 측정하였으며, T-Per[™] Tissue Protein extraction Reagent의 흡광도 값과 사전에 측정한 각질량을 보정하여 standard curve에 대입하여 단백질량을 계산하였다. 각질 내 카르보닐화 단백질을 분석하기 위하여 FTZ 염색을 진행하였다. 채취한 각질을 슬라이드 글라스에 고정시킨 후, 0.2 μ M FTZ (fluorescein-5-thiosemicarbazide, Sigma, USA)를 이용하여 형광 염색 후 형광 현미경인 CKX53 inverted microscope (Olympus, Japan)으로 촬영하였다. 분석에 사용한 소프트웨어는 Image J software로 이를 이용하여 분석하였다. 지질 분석은 중성 지질을 염색하는 Nile red 염색을 진행하였다. 채취한 각질이 있는 D-squame을 잘게 자른 후, dissociation buffer에 넣은 후 95 $^{\circ}$ C에서 15 min boiling을 진행하였다. 그 후, 7,000 \times g로 10 min 동안 원심분리하여 상층액을 제거한 후, 같은 과정을 3 번 반복하여 각질을 분리한다. 분리한 각질은 슬라이드 글라스에 놓은 후, 아세톤을 이용하여 -20 $^{\circ}$ C에서 10 min 고정시킨 후 각질 분석에 이용한다. Nile red (3 μ g/mL, Invitrogn, USA) 용액을 적용하여 염색한 후 PBS로 washing 진행 후 형광 현미경을 이용하여 관찰 후 이미지 분석을 진행하였다. 지질 과산화 분석은 의 경우 세포나 조직의 산화 스트레스 지표로 사용되는 malondialdehyde (MDA) 검출을 위해 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS assay)를 이용해 분석하였다. 채취한 각질을 에탄올에 넣고 1 min vortexing을 하여 각질에서 지질을 추출한 후, TBARS assay kit (10009055, Cayman, USA)를 이용하여 MDA 정량을 진행하였다.

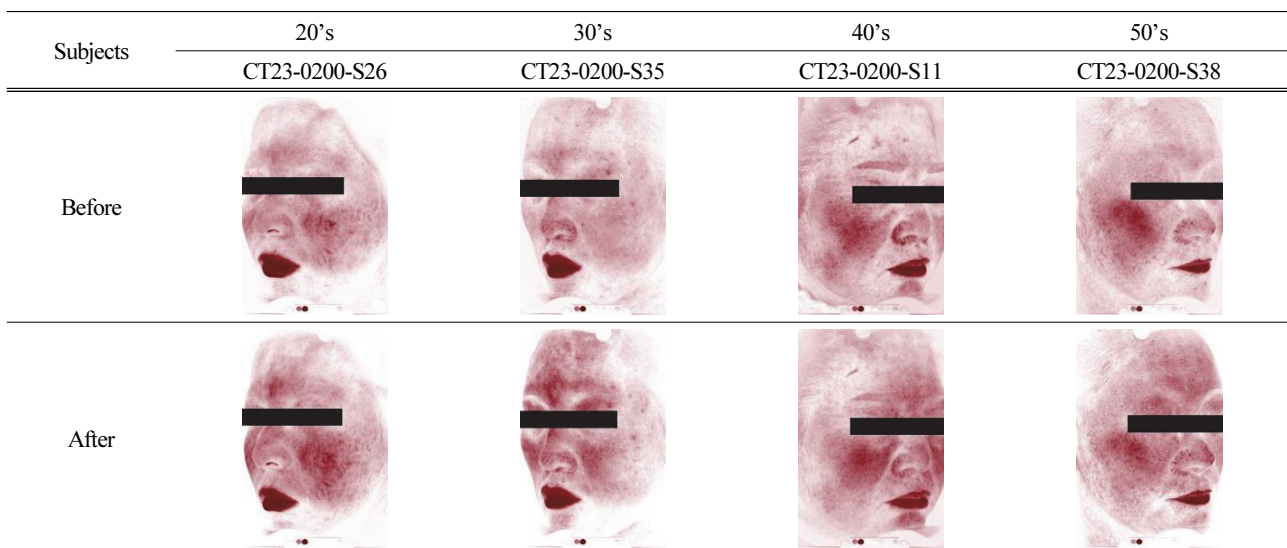


Figure 1. Representative images of skin redness (Red image analysis) results.

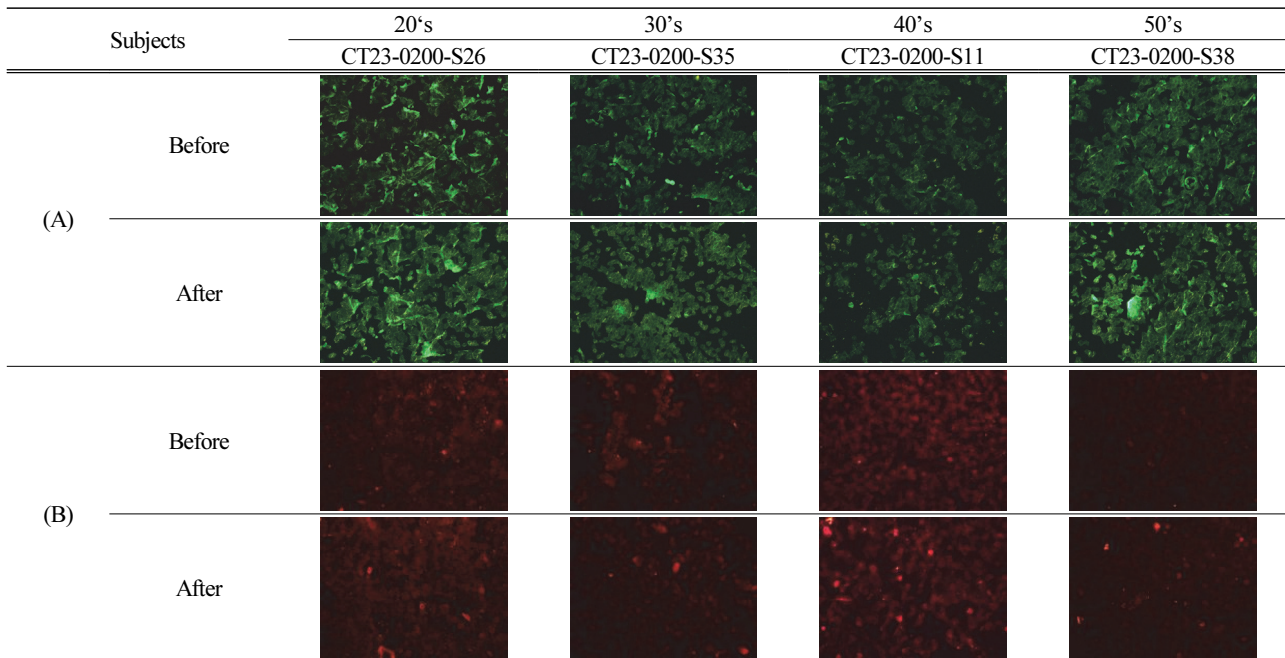


Figure 2. Representative images of skin biomarker analysis results by age group ((A) Carbonylated protein, (B) Lipid).

2.3. 통계 분석

인체적용시험의 기기 측정은 피부 유분량 측정을 제외하고 3 회 반복 측정을 진행하여 평균값을 구하였다. 통계 분석 결과는 95% 신뢰구간에서 유의성 여부를 확인하였다. 결과값에 대한 정규성 검정은 Kolmogorov-Smirnov 방법으로 실시하였다. 정규성 검정 진행 후 정규성을 충족하면 paired *t*-test를 실시하였다. 정규성을 충족하지 못할 경우 Wilcoxon signed-rank test를 진행하였다. 통계분석 프로그램은 SPSS 29.0 (IBM SPSS Statistics, USA)을 사용하였으며, $p < 0.05$ 미만의 값은 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

2.4. 고온건조 환경 조성 전후 측정인자 및 바이오마커 분석 결과를 기반으로 한 신규 피부 지수 도출

44 명의 고온건조 환경 조성 전후의 기기 측정 결과, 바이오마커 분석 결과의 상관성을 확인하기 위해 SPSS 29.0을 이용하여 Spearman correlation test를 진행하였다. 상관성 분석 후, 유해환경과 상관성이 통계적으로 유의한 항목을 index화 하였다. 항목간의 다중공선성(multi-collinearity)을 검토하여 항목 간 variance inflation factors (VIF, 분산팽창인자) 지수를 확인하였다. 항목간 다중 공선성이 발생하는 경우 단계적 회귀분석(Stepwise Regression)을 통하여 최종적으로 각 파라미터를 활용한 피부 건강 지수 모형을 도출하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 고온건조 환경 조성 전후 한국인 여성 피부 특성 인자 측정 결과

44 명의 한국인 여성을 대상으로 진행한 고온건조 환경 조성 전후 피부 특성인자 측정 결과는 Table 1과 같다. 전체 피험자에 대하여 고온건조 환경 조성 전후 비교 결과, 피부 수분량은 고온건조 환경 조성 후 통계적으로 유의하게 낮게 나타났으며 ($p < 0.001$), 피부 유분량, 피부 붉은기, 경피수분손실량, 피부 각질량은 통계적으로 고온건조 환경 조성 후 통계적으로 유의하게 높게 나타났다($p < 0.001$). 피부 멜라닌의 경우, 고온건조 환경 조성 전후 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다.

3.2. 고온건조 환경 조성 전후 한국인 여성 피부 바이오마커 분석 결과

44 명의 한국인 여성을 대상으로 진행한 고온건조 환경 조성 전후 피부 바이오마커 분석 결과는 Table 2와 같다. 전체 피험자에 대하여 고온건조 환경 조성 전후 비교 결과, 단백질, 카르보닐화 단백질, 지질, 지질 과산화 항목 모두 고온건조 환경 조성 전보다 통계적으로 유의하게 높게 나타났다($p < 0.001$).

Table 1. Analysis Results of Skin Characteristics Measurement Before and After Creating a High-temperature and Low Humidity Environments for 44 People (Average ± SD) in Their 20s to 50s, Before vs. After, Paired *t*-test or Willcoxon Signed-rank Test, Significant *** *p* < 0.001

Index	Before	After	Change rate (%)	<i>p</i> value	
Skin hydration	50.370 ± 10.7199	42.392 ± 12.6720	▼ 16.58	< 0.001***	
Sebum secretion rate	40.523 ± 38.0523	80.614 ± 63.3463	▲ 98.93	< 0.001***	
Melanin index	137.273 ± 30.2446	135.924 ± 9.6222	▼ 0.87	0.094	
Skin redness	Erythema index	236.583 ± 43.8831	323.485 ± 51.7272	▲ 23.38	< 0.001***
	Red image	89610.727 ± 124506.7882	372560.614 ± 273618.9834	▲ 315.75	< 0.001***
TEWL	17.120 ± 4.8660	22.663 ± 5.8476	▲ 33.77	< 0.001***	
Stratum corneum	14.465 ± 2.5435	15.783 ± 3.1411	▲ 9.11	< 0.001***	

Table 2. Analysis Results of Skin Biomarkers Analysis Before and After Creating a High-temperature and Low Humidity Environments for 44 People (Average ± SD) in their 20s to 50s, Before vs. After, Paired *t*-test or Willcoxon Signed-rank Test, Significant ** *p* < 0.01, *** *p* < 0.001

Index	Before	After	Change rate(%)	<i>p</i> value
Protein-BCA	2.661 ± 1.2790	6.190 ± 4.6351	▲ 132.60	< 0.001***
Carbonylated protein-FTZ	60150.523 ± 90384.1419	104010.682 ± 134250.8860	▲ 72.92	< 0.001***
Lipid-Nile red	7749.455 ± 7196.1561	14810.250 ± 14789.6377	▲ 91.11	< 0.001***
Lipid peroxidation- TBAR assay	7.552 ± 6.6063	18.091 ± 20.9890	▲ 139.55	0.006**

3.3. 피부 특성과 피부 바이오마커의 상관성 분석

고온건조 환경 전후 전체 측정 결과를 기반으로 각 항목에 대한 상관성을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 분석 결과 피부 각질량과 카르보닐화 단백질의 상관계수가 0.838로 통계적으로 유의한 수치가 나왔다(*p* < 0.001). 피부 각질량과 카르보닐화 단백질 분석 결과에 대하여 상관성 분석을 하여 R²값을 구한 결과, Figure 3과 같이 0.702가 나타났다.

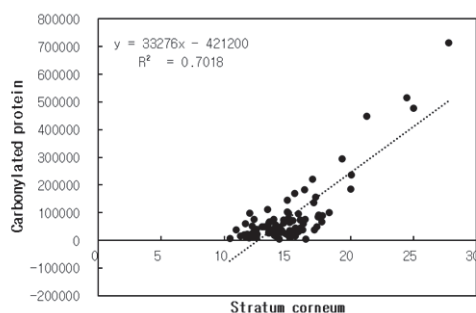


Figure 3. Graph of correlation analysis results between Stratum corneum and Carbonylated protein.

Table 3. Skin Characteristic Indicators and Skin Biomarkers with Simple Correlation with High-temperature and Low Humidity Environments in Data of 44 People. Correlation analysis, * *p* < 0.05, ** *p* < 0.01, *** *p* < 0.001

Parameter	Coefficient of correlation	<i>p</i> -value
Skin hydration	-0.325	< 0.001***
Sebum secretion rate	0.362	< 0.001***
Melanin index	-0.023	0.417
Skin redness	Erythema index	0.534 < 0.001***
	Red image	0.558 < 0.001***
TEWL	0.462	< 0.001***
Stratum corneum	0.227	0.017*
Protein-BCA	0.465	< 0.001***
Carbonylated protein-FTZ	0.190	0.038*
Lipid-Nile red	0.294	0.003**
Lipid peroxidation-TBAR assay	0.324	< 0.001**

Table 4. Results of Regression Analysis on Skin Characteristics and Skin Biomarker of High-temperature and Low Humidity Environments Setting

Dependent variable	Independent variable	Unstandardized coefficients (B)	Std. error	Standardized coefficients (β)	t	Sig	VIF
High-temperature and low humidity environments	(Constant)	-.262	.452		-.580	.563	
	Skin hydration	-.009	.003	-.226	-2.750	.007	1.738
	TEWL	.008	.007	.094	1.077	.285	1.962
	Erythema index	.003	.001	.315	4.565	< .001	1.218
	Sebum secretion rate	.001	.001	.137	1.830	.071	1.429
	Red image	5.588E-7	.000	.283	3.730	< .001	1.478
	Stratum corneum	.057	.022	.328	2.619	.011	4.028
	Protein-BCA	.018	.011	.138	1.668	.099	1.746
	Carbonylated protein-FTZ	-1.373E-6	.000	-.316	-2.486	.015	4.156
	Lipid-Nile red	1.025E-5	.000	.246	3.355	.001	1.384
Lipid peroxidation-TBAR assay	.005	.002	.174	2.374	.020	1.385	

$R^2 = 0.700$, Adjusted $R^2 = 0.661$, $F = 17.953$, $p < 0.001$, Durbin-Watson = 1.267

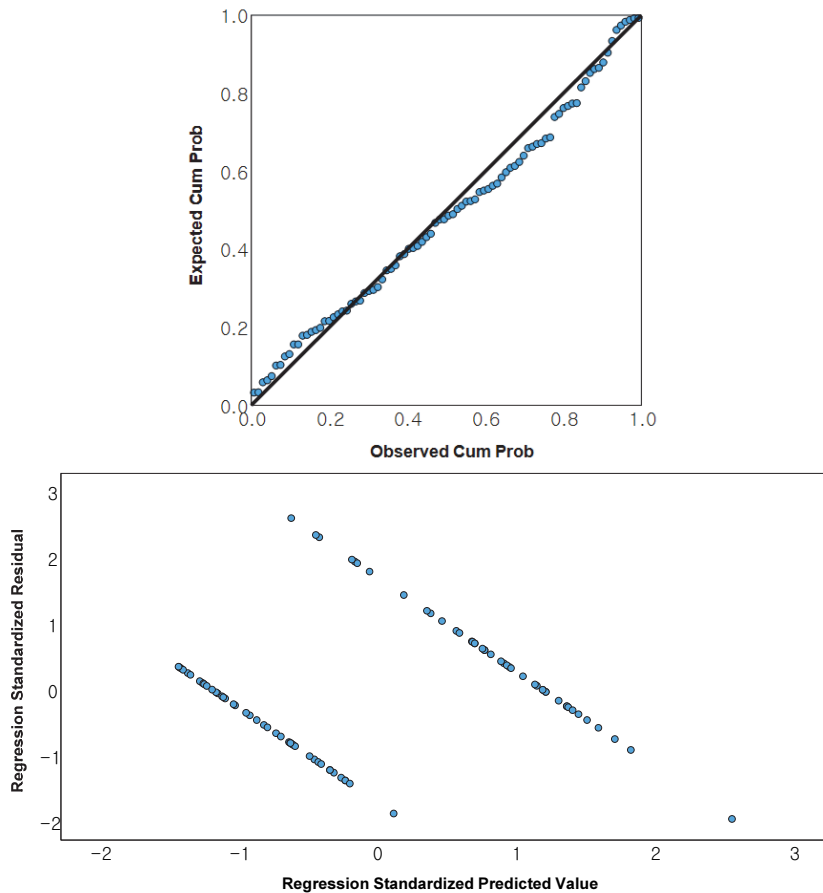


Figure 4. Results of checking the normality and equal variance of the residuals for the skin index.

3.4. 고온건조 환경 조성 전후 결과를 기반으로 한 피부 건강 지수 모형 도출

고온건조 환경 조성 전후와 피부 특성인자, 피부 바이오 마커의 상관성 분석 결과, 피부 멜라닌을 제외한 모든 항목에서 통계적으로 유의한 상관계수가 나타났다. 이를 기반으로 하여 고온건조 환경 조성을 종속 변수로 설정하고 피부 특성인자 측정 결과, 피부 바이오마커 측정 결과를 이용하여 회귀분석을 진행하여 index 모형을 만들었다(Table 3). Index 모형에서 R^2 값은 0.700, 수정된 R^2 값은 0.661이 나왔으며, 이 식의 유의성은 $p < 0.001$ 로 통계적으로 유의하게 나타났다. 또한 VIF가 15 미만으로 다중공선성에 문제가 없다고 판단할 수 있으며, 잔차의 정규성과 등분산성도 확인하였다(Figure 4).

4. 결 론

비건화장품, 클린화장품 등 사회 이슈에 민감한 화장품 시장의 특성을 고려하여 유해환경에 대응할 수 있는 화장품 또는 지수 개발도 가능하다. 본 연구에서는 유해환경과 연관된 신규 피부 지수의 필요성을 인지하고 이에 대한 개발을 위해 20 ~ 50 대 한국여성 44 명을 대상으로 유해 환경 조건 중 하나인 고온건조 환경을 조성하여 조성 전후 피부 특성인자 측정 및 피부 바이오마커를 분석하여 고온 건조 환경에 영향을 받는 인자들을 분석하여 피부 지수 모형을 구축하였다.

20 ~ 50 대 한국여성 44 명을 대상으로 기초 피부 특성인자 측정을 진행한 결과, 피부 수분량은 고온건조 환경 조성 후 통계적으로 유의하게 낮게 나타났으며 ($p < 0.001$), 피부 멜라닌 지수 외에 피부 유분량, 피부 붉은기, 경피수 분손실량, 피부 각질량은 고온건조 환경 조성 후 통계적으로 유의하게 높았다($p < 0.001$). 이를 통해 고온건조 환경 조성 전후 뚜렷한 피부특성 인자의 변화를 확인할 수 있었다. 바이오마커 분석 결과, 단백질, 카르보닐화 단백질, 지질, 지질과산화 모두 고온건조환경 조성 후 통계적으로 유의하게 높게 나타났($p < 0.001$). 이를 통해 해당 바이오마커들은 추후 피부 손상 지표 활용 가능성을 보여주었다.

피부 특성인자 및 바이오마커 간 상관성을 확인한 결과, 피부 각질량과 카르보닐화 단백질의 상관계수가 0.838로 통계적으로 유의하였다($p < 0.001$). 또한 피부 특성인자와 바이오마커들에 대하여 고온건조 환경조성을 종속 변수로 설정하여 회귀분석을 진행하여 index 모형을 도출한 결과,

R^2 값은 0.700, 수정된 R^2 값은 0.661이 나왔으며, 이 식의 유의성은 $p < 0.001$ 로 통계적으로 유의하게 나타났다.

본 연구를 통해 유해환경 조성에 따른 피부 특성인자, 피부 바이오마커의 변화를 확인하였다. 특히 피부 바이오마커의 경우 이전 연구들에서 제품 적용 또는 환경 변화로 인한 개선 연구 결과들에서 더 나아가, 피부 스트레스를 확인할 수 있는 지표로 활용 가능성을 확인하였다. 또한 피부 특성인자와 피부 바이오마커의 상관성을 분석하였으며 이를 활용한 피부 지수를 만들었다. 이 지수는 인체 적용시험에도 활용이 가능하며, 거꾸로 피부특성과 바이오마커의 변화로 자신의 피부 손상 정도를 확인하는 용도로 활용이 가능하다. 추후 다른 피부특성 또는 바이오마커와 연계하여 피부 진단기술, 맞춤형 화장품 개발에도 기여할 수 있는 가능성을 확인하였다.

Acknowledgement

본 연구는 2022년도 중소벤처기업부의 재원으로 중소기업기술정보진흥원의 지원을 받아 수행된 창업성장기술개발사업(디딤돌)의 결과로(S3308700) 이에 감사를 드립니다.

References

1. C. Parrado, S. Mercado-Saenz, A. Perez-Davo, Y. Gilaberte, S. Gonzalez, and A. Juarranz. Environmental stressors on skin aging. Mechanistic insights, *Front Pharmacol.*, **10**, 759 (2019).
2. J. Krutmann, A. Bouloc, G. Sore, B. A. Bernard, and T. Passeron, The skin aging exposome, *J Dermatol Sci.*, **85**(3), 152 (2017).
3. K. A. Engebretsen, J. D. Johansen, S. Kezic, A. Linneberg, and J. P. Thyssen, The effect of environmental humidity and temperature on skin barrier function and dermatitis, *J Eur Acad Dermatol Venereol.*, **30**(2), 223 (2016).
4. N. Goad and D. J. Gawkrödger, Ambient humidity and the skin: the impact of air humidity in healthy and diseased states, *J Eur Acad Dermatol Venereol.*, **30**(8), 1285 (2016).
5. J. C. Cho and G. Nam, A study of skin biophysical parameters and biomarkers related to the anatomical site

- and age in Korean women, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **41**(4), 413 (2015).
6. A. Rodríguez-García, R. García-Vicente, M. L. Morales, A. Ortiz-Ruiz, J. Martínez-López, and M. Linares, Protein carbonylation and lipid peroxidation in hematological malignancies, *Antioxidants(Basel)*, **9**(12), 1212 (2020).
 7. Y. Lee and G. Nam, Relationship between stratum comeum carbonylated protein (SCCP) and skin, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **45**(2), 131 (2019).
 8. M. L. Clausen, H. C. Slotved, K. A. Krogfelt, and T. Agner, Tape stripping technique for stratum comeum protein analysis, *Sci Rep.*, **6**, 19918 (2016).
 9. D. Guneri, R. Voegeli, S. J. Gurgul, M. R. Munday, M. E. Lane, and A. V. Rawlings, A new approach to assess the effect of photodamage on corneocyte envelope maturity using combined hydrophobicity and mechanical fragility assays, *Int J Cosmet Sci.*, **40**(3), 207 (2018).
 10. C. Alonso, C. Barba, L. Rubio, S. Scott, A. Kilimnik, L. Coderch, J. Notario, and J. L. Parra, An *ex vivo* methodology to assess the lipid peroxidation in stratum comeum, *J Photochem Photobiol B.*, **97**(2), 71 (2009).
 11. C. R. Seo, T. H. Ha, J. Y. Moon, J. M. Kim, B. K. Park, J. W. Lee, J. O. Park, and J. H. Shin, Protective effect of cosmetics containing red beet against cigarette smoke-induced oxidative damage in human skin, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **44**(2), 111 (2018).