

모발 개선을 위한 Transglutaminase의 적용

김 윤 석[†] · 박 수 진

LG생활건강 기술연구원

(2012년 8월 2일 접수, 2012년 10월 17일 수정, 2012년 12월 13일 채택)

Application of Transglutaminase for Hair Revitalization

Yun Seog Kim and Su Jin Park[†]

LG Household & Healthcare Research Park, 84, Jang-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-342, Korea

(Received August 2, 2012; Revised October 17, 2012; Accepted December 13, 2012)

요약: 단백질을 연결시키는 효소인 transglutaminase는 모발에서 다양한 효과를 나타낼 수 있는 가능성이 있는데 이 중에는 모발의 단단함을 증가시키는 작용도 포함된다. 여러 transglutaminase 효소 중 *Streptomyces mobaraensis*로부터 분리된 미생물 유래 효소를 손상된 모발에 사용한 후 인장강도를 평가한 결과 초기에 비해 15.64%까지 증가되는 것이 확인되었다. 이러한 효과는 transglutaminase가 샴푸를 사용하여 세정하는 과정에서의 모발 손상을 복구시킬 수 있다는 것을 의미한다. 또한 transglutaminase를 이용해 모발 표면의 특성을 개선 시킴으로써 모발의 윤기를 증가시키고 표면의 마찰력을 감소시키는데 유용하게 이용될 수 있었다.

Abstract: The use of protein-crosslinking enzyme, transglutaminase, as a biocatalyst in the processing of hair offers a variety of exciting and realistic possibilities which include improving the rigidity of hair fibers. Among the transglutaminases from many different living organisms, the microbial enzyme prepared from *Streptomyces mobaraensis*, significantly increased the tensile strength of hair by 15.64% compared to a control when it was applied to damaged hair. This indicates that transglutaminase can restore the negative effects of washing hair with shampoo. Also transglutaminase improved the characteristics of hair surface, which could be useful for increase of luster and reduction of friction force of hair surfaces.

Keywords: transglutaminase, hair, enzyme, cosmetic, tensile strength

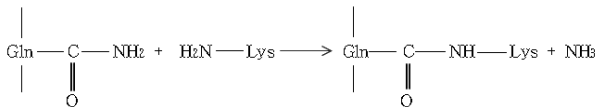
1. 서 론

일반적으로, 모발은 케라틴(keratin)이라는 단백질로 구성되어 있으며, 그 중에서도 구체적으로 20종의 아미노산 중에서 시스테인(cysteine)을 14 ~ 18% 함유하는 단백질이다. 이들 케라틴(keratin) 단백질은 물 또는 중성 용매와 같은 온화한 조건에서는 매우 강한 단백질의 일종이지만, 일상생활에서 일어나는 빗질, 드라이의 열, 염색, 퍼머 등과 같은 모발에 대한 물리 화학

적 처리에 의해서 쉽게 손상될 수 있다. 또한 최근에는 잦은 파마, 염색 등 물리적, 화학적 또는 환경적인 다양한 요인에 의하여 모발이 손상됨으로써 모발 내부의 단백질이 용출되어 다공성화 됨으로써 모발이 거칠어지고 윤기를 잃어 부드러움과 유연효과가 떨어지게 되고, 마찰력이 증가하여 모발 손질이 어려워지며, 모발이 쉽게 잘리거나 끝이 갈라지는 등의 문제와 더불어 모발이 가늘어지고 탄력을 잃어 생기 없고 쳐지면서 볼륨감이 없어지는 문제점이 발생하고 있다. 이러한 문제점들을 해결하고자 세정 시 혹은 세정 후 모발의 부드러움을 개선하고 손상된 모발을 회복시키

[†] 주 저자 (e-mail: yskim@lgcare.com)

고 강화시키기 위한 모발 화장품에 대한 끊임없는 연구가 계속되어 왔다. 그 결과, 강하고 지속적인 모발 컨디셔닝 효과를 부여할 수 있도록 하기 위한 다양한 방법들이 시도되고 있다. 새로운 모발 회복 물질로 검토되고 있는 transglutaminase (TGase, E.C 2.3.2.1.3)는 모발 내, 외부에 존재하는 또는 외부로부터 공급되는 펩타이드 또는 단백질을 교차 결합하는 효소로 동물, 식물, 미생물 등 자연계에 널리 분포되어 있다[1-3]. 사람의 피부나 hair follicle 등 다양한 기관에서도 발견되는 transglutaminase는 단백질 간의 교차 결합에 의해 insoluble하고 견고한 구조를 이루게 하여 외부로부터의 안정된 보호막을 형성하도록 한다[1,3-7]. 이들 transglutaminase가 단백질이나 펩타이드에 작용할 경우, 아실 교환반응, 교차반응, 탈아미노 반응 등에 의해서 글루타민(glutamine)과 라이신(lysine) 간의 교차 결합을 형성할 수 있다[3,8,9].



Transglutaminase는 이러한 결합에 의하여 모발에, 윤기, 탄력, 굵기 증대, 유연, 부드러움, 보습 등의 유익한 특성을 제공할 수 있다. Transglutaminase에 의한 단백질 간의 결합을 육류 가공에 이용해 보고자 하는 연구가 시작된 것이 1980년 초로, 이때는 human이나 다른 동물의 plasma (원형질)로부터 분리된 transglutaminase가 이용되었다. 1990년대 들어 미생물로부터 생산된 transglutaminase가 상업화되기 시작하면서 본격적인 산업적 응용이 검토되었고[8-10], 상업적 생산이 가능했던 1990년대부터 인체 내에서의 transglutaminase의 기능에 근거하여 피부 조직이나 모발의 단백질을 개선시킬 수 있다는 점에 착안하여 화장품용 원료로서 transglutaminase의 응용이 검토되어졌다[1,11-15]. 본 연구에서는 이러한 transglutaminase를 모발 제품에 적용하고자 효소 사용에 의한 모발의 인장 강도 증가 및 모발 표면개선 효과 확인 등 다양한 효능을 검증하였다.

2. 재료 및 실험

2.1. 시약 및 재료

Transglutaminase는 일본 아지노모토사 제품을 구입하여 사용하였고, 실험에 사용된 모발(Phenixkorea, Korea)은 블리치제를 사용하여 2회 블리치하여 손상시킨 상태의 동일한 모발로 만들어진 12 cm, 3 g의 헤어트레스(hair tress)를 이용하였다. 실험에 이용된 각종 시약은 sigma-aldrich 제품과 이에 준하는 GR급 시약을 사용하였다.

2.2. FT-IR을 이용한 모발 표면 변화 확인

실험에 이용된 모발의 초기트랜스글루타미나아제 처리 전후 모발 표면을 FT-IR (Fourier Transform Infrared spectroscopy, Nicolet AVRTAR 320, Thermo, USA)로 평가하였다. 이때 효소 처리 전 모발은 peptide 결합에 의한 amide peak와 amine peak의 일정 비율(CONH/NH₂)이 나타나게 되는데, transglutaminase 처리 후에는 새로이 isopeptide 결합이 생성되고, 상대적으로 amine peak의 양은 감소하는 현상이 일어나 CONH/NH₂의 비율이 정상 모발에 비해 증가하게 된다. 따라서 표면의 CONH/NH₂ 비율을 평가함으로써 transglutaminase 처리 전후와 세정 후의 표면 상태 변화를 확인할 수 있다. 모발의 효소 처리는 transglutaminase (500 µg/mL)를 이용하여 37 °C에서 2 h 반응시킨 후 각각 물과 샴푸로 세정하고 헤어드라이로 건조시킨 후 평가하였다.

2.3. 모발 처리 및 인장 강도 평가

효소 단독 사용에 의한 인장 강도 변화는 transglutaminase (50 µg/mL)를 50 mM 인산완충용액(pH 6.5)에 용해시키고 헤어트레스 전체를 담가 37 °C에서 2 h 반응시킨 후 흐르는 물에서 1 min 이상 세정하여 헤어드라이로 건조하였다. 사용된 모발은 정상 모발과 bleaching 모발을 사용하였고, 준비된 헤어트레스(hair tress) 중 먼저 30가닥의 모발 인장강도를 측정하여 30개의 평균치를 초기 모발 인장강도 기준(100)으로 하였다. 효소 처리 후에 물 또는 샴푸를 이용하여 세정된 모발을 헤어드라이어 열을 이용하여 건조시키고 처리된 모발

30가닥을 취하여 인장 강도를 측정하고, 30개의 평균치를 처리 후 모발 인장강도 값으로 하였다. 데이터의 처리는 처리 전 초기 모발 30가닥의 인장강도 평균값에 대하여 처리 후 모발 인장강도 증가율을 구했다. 반응 전후의 인장 강도는 한국의류시험 연구원(FITI)에 의뢰하여 평가하였다. 또한 효소의 농도 및 반응 시간에 따른 모발의 인장 강도변화를 평가하기 위해 효소 반응에 사용했던 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 과 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 효소를 이용하여 상온에서 10, 30, 60 min을 반응시킨 후 인장 강도의 변화를 측정하였다.

2.4. 모발 표면 윤기 및 마찰력 평가

모발의 초기모발 표면 촬영 및 마찰력 변화 평가는 AFM (Atomic Force Microscope, Park systems, Korea)을 이용하였고, 윤기 증가는 SAMBA Hair System (Bossa Nova Tech., USA)를 이용하였다. 윤기 평가 시 모발은 0.1% (w/v)의 transglutaminase를 사용하여 1 h 반응시킨 후 일반 샴푸를 이용하여 10회 세정하였다. 이때 윤기 평가는 하나의 트레스에 대해 총 6회 측정하여 평균을 이용하였고, 총 3개의 헤어트레스(hair tress)를 이용하여 반복하여 평균값을 구하였다. 모발 표면 관찰은 AFM의 non-contact scanning mode를 이용하였고, 평가 면적은 30 $\mu\text{m} \times 30 \mu\text{m}$ 로 하였다. 효소 처리된 모발이 샴푸 처리로 인한 손상으로부터 보호되는 효과를 평가하기 위해서는 각각의 헤어트레스(hair tress)를 윤기 평가 시와 동일한 조건으로 효소 사용하여 처리한 후 각각 5회, 10회 샴푸를 이용하여 세정하였고, 건조 후 마찰력 평가는 AFM의 contact scanning mode를 이용하였고, 모발 표면을 움직이는 cantilever tip에 걸리는 평면의 마찰력 변화를 측정하여 얻어지는 평균값인 Rq값을 이용하였다. 평가 면적은 1 $\mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$ 로 하였다. 마찰력 평가는 같은 모발 가닥에서 2 군데 이상, 총 6가닥 이상의 모발을 이용하여 총 20 회 이상 평가하여 평균을 내었다.

2.5. Transglutaminase의 활성 평가

Transglutaminase는 기질인 CBZ-Gln-Gly (N-Carbo-

benzoyl-Gln-Gly, Sigma, USA)와 Hydroxylamine (Sigma, USA)의 결합에 의해 CBZ-Gln-Gly-Hydroximate가 형성되는 반응을 이용하여 평가하였다. CBZ-Gln-Gly 120 μg 에 1 M Tris 완충용액(pH 6.0, Sigma, USA) 2 mL와 Hydroxylamine과 Glutathione (Sigma, USA)을 혼합하여 각각 최종 농도 200 mM과 20 mM로 한 용액 5 mL을 첨가한 후 1 M NaOH 용액을 이용하여 pH 6.0으로 조정된 후 최종 부피를 10 mL로 만들기 위해 deionized water를 첨가한다. 이 반응혼합액 0.2 mL과 효소 용액 0.03 mL를 혼합하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 10 min 반응시킨 후 12% Trichloroacetic acid (Sigma, USA) 0.5 mL로 반응을 정지시키고, 5% FeCl_3 용액을 0.5 mL 첨가한다. 최종 용액의 흡광도를 525 nm에서 측정한다. 공실험의 흡광도는 효소 반응을 진행하지 않은 상태에서 TCA를 바로 첨가한 용액의 흡광도를 이용한다. 반응 시간과 반응 온도는 효소의 양이 적을 경우 상대적 비교를 위해 흡광도가 나타날 수 있도록 조절한다(50 $^{\circ}\text{C}$, 2 h). 이 효소의 활성 단위는 unit를 사용하며, 1 unit는 1 분당 1.0 μm 의 hydroximate가 생성되는 효소의 양을 의미한다.

2.6. 통계처리

모발 인장 강도, 윤기 및 마찰력 평가는 실험 방법에서와 같이 평균값과 표준오차를 구하였고, Student's *t*-test에 의하여 *p*-value가 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 모발 표면 변화 평가

Transglutaminase에 의한 모발 표면의 단백질 내 결합 형성을 FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)로 평가하였다(Figure 1). 효소 처리 전에 비해 처리 후 CONH/NH₂의 비율이 증가하여, 상대적으로 isopeptide가 증가되었음을 알 수 있었고, 이렇게 변화된 큐티클 표면은 세정 후에도 큰 변화 없이 상태가 유지됨을 확인하였다.

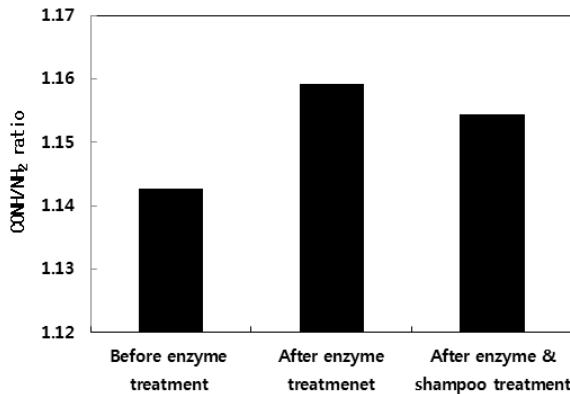


Figure 1. CONH/NH₂ ratio of hair surface before and after transglutaminase treatment.

3.2. 모발 인장 강도 평가

실험에 이용된 모발의 초기 인장 강도 비교 결과 bleaching 또는 모발 손상으로 정상모에 비해 약간 감소한 상태였으나, transglutaminase를 사용한 경우 정상모는 3.6% 증가되었고, bleaching모는 14.9% 정도 증가되는 것으로 확인되었다(Figure 2). 특히 bleaching모만을 비교할 경우 15.6% 증가됨을 알 수 있었고 이러한 결과로 transglutaminase에 의해 모발 단백질 간에 결합이 형성되어 모발이 더욱 단단해졌음을 추정할 수 있었고, 손상된 모발의 경우 이러한 효과가 더욱 뚜렷하게 나타나 효소를 사용할 경우 모발 보호 효과뿐만 아니라 손상된 모발의 회복에도 큰 효과를 기대할 수 있을 것으로 판단되었다. 또한 정상모 처리군과 bleaching모 처리군의 이러한 실험 결과를 통계적 분석을 통해 검증한 결과 $p < 0.05$ 로 통계적으로 유의한 수준의 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

3.3. Transglutaminase 농도 및 반응 시간에 따른 인장 강도 변화

Transglutaminase의 양을 조절할 경우와 반응 시간을 조절하는 경우 효소 농도 및 시간에 따라 효소의 효과가 달라질 수 있는지를 인장 강도 측정을 통해 평가하였다. 일반적으로 효소의 반응은 일정 농도에서 효소가 기질에 의해 포화될 경우 최대 반응 속도를 나타낸다. Transglutaminase와 모발 사용 시에는 이러한 기질에 의한 포화를 가정할 수 없고 필요한 시간에 일정

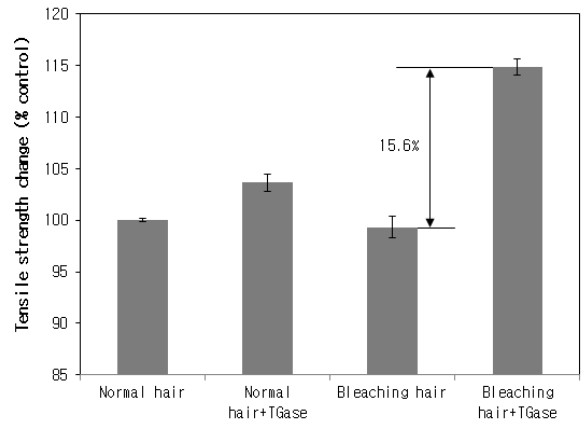


Figure 2. Tensile strength changes of hair before and after transglutaminase treatment.

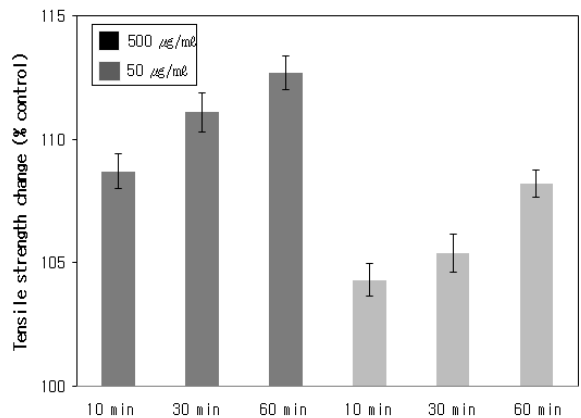


Figure 3. Tensile strength changes of hair before and after transglutaminase treatment.

수준이상의 기대 효과를 나타내기 위한 효소의 양과 반응에 필요한 시간을 정량화할 필요가 있다. 효소 반응에 사용했던 50 µg/mL과 500 µg/mL의 효소를 이용하여 상온에서 10, 30, 60 min 반응시킨 후 인장 강도의 변화를 측정된 결과 효소의 농도가 증가되거나 반응 시간이 길어짐에 따라 비례적으로 인장강도가 늘어남을 확인할 수 있었다(Figure 3). 이러한 인장강도의 효소 농도 및 시간에 따른 변화와 상관관계를 통계 분석을 통해 검증한 결과, $p < 0.05$ 로 유의성을 확인할 수 있었다. 모발이 두피에 존재하기는 하나 상당 부분은 상온에 노출될 것으로 보고 상온에서 반응시켜보았으며, 높은 온도에서 보다 인장 강도 증가가 상대적으로 적을 수 는 있으나 증가 폭은 비례하였다.

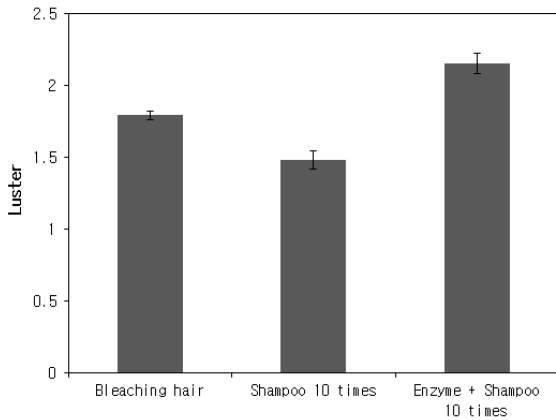


Figure 4. Luster of hair before and after transglutaminase treatment with shampoo.

3.4. 모발 윤기 변화 평가

모발 표면의 윤기는 Figure 4에서와 같이 일반적으로 샴푸 등의 세정을 하면 감소되는 현상이 나타나나, transglutaminase를 사용하였을 경우 세정 후에도 다소 증가되는 현상이 나타났다. 이러한 현상은 transglutaminase가 모발 표면을 변화시켜 세정에 의한 손상을 방지할 뿐만 아니라 표면의 손상을 복구하여 처리 전보다 양호한 상태로 전환시킬 수 있음을 의미한다. AFM (Atomic Force Microscope)의 non-contact scanning mode를 통해 촬영된 모발 표면의 영상으로 미루어 이러한 transglutaminase에 의한 모발 개선 효과를 확인할 수 있으며(Figure 5), 이렇게 개선된 모발 표면은 세정을 반복하더라도 손상이 적게 나타나는 효과가 있음을 알 수 있었다.

3.5. Transglutaminase에 의한 모발 마찰력 변화 평가

모발 표면의 마찰력 변화는 AFM의 contact mode를 이용하여 평가하였다. 이때 모발 표면의 마찰력은 세정이 거듭됨에 따라 손상이 커지면서 증가되는 것으로 확인되었다(Figure 6). 그러나 transglutaminase에 의해 처리된 모발은 윤기 변화 측정 결과에서와 마찬가지로 샴푸를 이용한 세정이 거듭되어도 낮은 마찰력을 유지하고 있었으며, 이러한 효과는 transglutaminase에 의한 모발 보호 효과로 설명될 수 있다. 또한 효소 처리군과 비처리군의 실험 결과를 통계적 분석을 통해 검증한 결과 $p < 0.05$ 로 마찰력 변화에 유의적 상

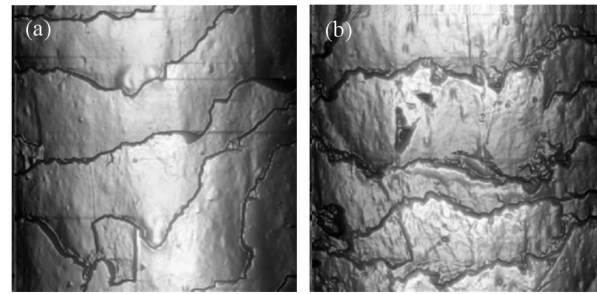


Figure 5. AFM (Automatic Force Microscope) image of hair surface after (a) transglutaminase + washing 10 times and (b) washing 10 times only with shampoo.

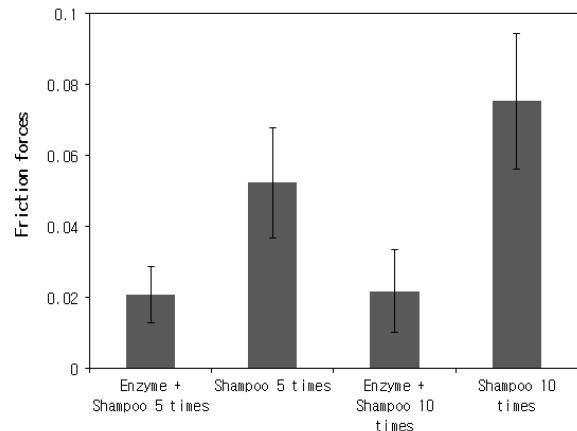


Figure 6. Friction forces of hair surface before and after transglutaminase treatment with shampoo.

관관계가 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 모발 표면의 변화는 AFM의 non-contact scanning mode를 이용한 image를 통해 보다 정확히 확인할 수 있었다(Figure 5). Transglutaminase를 처리한 모발 표면의 경우 세정 후에도 표면이 매끄럽고 손상된 부분이 거의 없으나(Figure 5(a)), 효소를 처리하지 않은 모발을 세정한 경우 표면의 손상도가 크게 증가된 것을 확인할 수 있었다(Figure 5(b)). 샴푸를 이용한 세정을 반복할 경우 계면활성제 등에 의해 모발 표면이 계속 손상되는데 효소가 처리된 모발의 경우에는 transglutaminase가 모발 표면에 있는 단백질 간의 결합을 통해 모발을 보다 단단하게 만들어 세정 등의 손상에 강해졌음을 실험적으로 확인할 수 있었다.

4. 결 론

1) Transglutaminase를 손상된 모발에 적용하여 인장 강도를 평가한 결과 효소 처리를 하지 않은 모발에 비해 15.6% 향상된 것으로 확인되었다. 이와 더불어 모발 표면의 CONH/NH₂의 비율을 FT-IR (Fourier Transform Infrared spectroscopy)로 확인한 결과 isopeptide 형성에 의해 이 비율이 증가되었음을 확인할 수 있었다.

2) 이러한 transglutaminase에 의한 모발의 변화는 효소 농도나 적용 시간에 비례하여 증가되는 것으로 나타났다. 이 효소의 경우 고온성 효소이기 때문에 상온 보다 온도가 상승됨에 따라 더 우수한 효과를 나타낼 수 있을 것으로 예측되었다. 또한 반응 시간이 길어짐에 따라 효과도 증대되는 특성을 이용하여 에센스와 같은 오랜 시간 사용되는 제품에 적용하는 것이 유리할 것으로 판단되었다.

3) Transglutaminase를 사용할 경우 물리적 강도 증가뿐만 아니라 모발 표면의 상태도 개선시켜 표면의 윤기 증가 및 마찰력을 낮춤으로써 모발이 보다 매끄럽고 윤기 있게 되는 것으로 AFM (Automic Force Microscope)를 이용하여 확인하였다.

4) 이러한 transglutaminase의 인장 강도 향상, 표면 마찰력 감소, 윤기 증가 등 다양한 효과는 transglutaminase가 단백질간의 새로운 공유 결합을 유도하는 작용에 의한 것으로 샴푸, 린스, 에센스와 같은 제품에서 세정 후 손상된 모발의 큐티클을 회복시키거나, 세정에 의한 손상을 방지하는 등 모발 보호 효과를 나타낼 수 있는 유용한 효소임을 확인할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. A. Daniel and P. Mats, Protein cross-linking enzymes in tissues and body fluids, *Thrombosis & Haemostasis*, **71**(4), 402 (1994).
2. S. Yoo, W. S. Shin, G. T. Chun, Y. S. Kim, and Y. S. Jeon, The separation of transglutaminase produced from *Streptomyces mobaraensis* and its application on model food system, *Korean J. Food Sci., Technol.*, **35**(2), 260 (2003).
3. L. Lorand, G. E. Siefring, Jr, and L. Lowe-Krentz, Formation of γ -Glutamyl- ϵ -Lysine bridges between membrane proteins by a Ca²⁺-regulated enzyme in intact erythrocytes, *J. Supramolecular Structure*, **9**, 427 (1978).
4. R. Collighan, J. Cortez, and M. Griffin, The biotechnological applications of transglutaminases, *Minerva Biotech.*, **14**, 143 (2002).
5. L. Lorand and R. M. Graham, Transglutaminases : Crosslinking enzymes with pleiotropic functions, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **4**, 140 (2003).
6. M. Griffin, R. Casadio, and C. M. Bergamin, Transglutaminase : Nature's biological glues, *Biochem. J.*, **368**, 377 (2002).
7. K. Mehta, R. U. Rao, and R. Chandrashekar, Transglutaminases of the lower organisms, Across the link between life and death, *Minerva Biotech.*, **14**, 129 (2002).
8. G. Zhang, Y. Matsumura, S. Matsumoto, Y. Hayashi, and T. Mori, Effects of Ca²⁺ and sulfhydryl Reductant on the polymerization of soybean glycinin catalyzed by mammalian and microbial transglutaminase, *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 236 (2003).
9. M. Motoki and K. Seguro, Transglutaminase and its use for food processing, *Food Sci. Technol.*, **9**, 204 (1998).
10. K. A. Soeta, Study of new protein ingredient by transglutaminase, *Shouhin Kougok*, **12**, 18 (1997).
11. World Patent 0,207,707 (2002).
12. J. Cortez, P. L. R. Bonner, and M. Griffin, Application of transglutaminases in the modification of wool textiles, *Enzyme & Microbial Technol.* **34**, 64 (2004).
13. J. Cortez, P. L. R. Bonner, and M. Griffin, Transglutaminase treatment of wool fabrics leads to resistance to detergent damage, *J. Biotechnology* **116**, 379 (2005).
14. U. S. Patent 0,151,685 A1 (2004).
15. U. S. Patent 5,490,980 (1996).
16. C. Kuraishi, J. Sakamoto, and T. Soeda, In: Biotechnology for improved foods and flavors, eds. C. Kuraishi and T. Soeda, 29, American Chemical Society, Washington D.C. USA (1996).
17. J. E. Folk, Transglutaminase, *Annu. Rev. Biochem.* **49**, 517 (1980).