

## 대추 및 발효대추의 라디칼 소거능 및 모발 성장 촉진 효과

정지은 · 조은주

부산대학교 식품영양학과 및 노인생활환경연구소

### Protective Effects of *Zizyphus jujuba* and Fermented *Zizyphus jujuba* from Free Radicals and Hair Loss

Ji Eun Jung and Eun Ju Cho

Department of Food Science and Nutrition & Research Institute of Ecology for the Elderly,  
Pusan National University

**ABSTRACT** This study investigated the antioxidative and hair growth-promoting activities of *Zizyphus jujuba* (Zj) and fermented Zj with *Aspergillus oryzae*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Saccharomyces cerevisiae* (*Sac. cerevisiae*). Among Zj and fermented Zjs, *Sac. cerevisiae*-fermented Zj (Zj-Y) exerted stronger scavenging activity against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and hydroxyl radicals than others. In addition, total polyphenol content of Zj-Y was higher than that of non-fermented Zj and other fermented Zj. This result indicates that fermentation of Zj by *Sac. cerevisiae* elevated antioxidative activity. Furthermore, using an alopecia model in C57B/6N mice, the hair growth activities of Zj and Zj-Y were investigated. The test samples, EtOH, minoxidil (MXD), Zj, and Zj-Y, were topically treated with 0.2 mL/day for 4 weeks. The experiments involved macroscopic observation and measurement of hair length methods. The results show that regrowth speed of hair was in decreasing order of MXD > Zj-Y > Zj > EtOH. The topical application of MXD and Zj-Y in mice promoted hair regrowth and prevented hair loss compared to the control group. The present study indicates that Zj-Y is a promising treatment for alopecia.

**Key words:** *Zizyphus jujuba*, fermentation, alopecia, antioxidative effect, *Saccharomyces cerevisiae*

## 서 론

탈모는 현대 사회에서의 과도한 업무와 스트레스, 불규칙한 생활습관 등과 관련되어 유병률이 급속히 증가하고 있다. 또한 국민 경제의 향상과 함께 사람들의 외모에 대한 관심이 높아지면서 탈모는 과거 주요 질환에 동반되는 부수적인 증상으로만 여겨지기보다는 하나의 독립된 질병으로 그 중요성이 높아지고 있다. 탈모증은 정상적인 피부에서 비정상적으로 일시적 또는 영구적으로 털이 빠지는 병으로 혈액순환 장애와 신경계통의 이상으로 두피와 모발을 손상시켜 탈모가 발생한다(1). 탈모 요인의 하나로 산화적 스트레스에 의한 염증을 들 수 있으며, 산화적 스트레스는 멜라닌 합성 시에 멜라닌세포의 핵과 미토콘드리아 DNA에 mutation을 초래하여 백모와 탈모가 나타난다고 보고되었다(2,3). 탈모증은 환자수의 증가와 사회적인 관심의 증대에도 불구하고 그 치료 방법이 매우 제한적인 것이 현실이다. 치료약물로는 국소도포제인 미녹시딜과 경구치료제인 프로페시아 등이

처방되고 있으나 수반되는 부작용인 심혈관계 장애, 피부 자극, 성 기능 감소 및 심각한 기형유발 등의 이유로 한계점을 드러내고 있어 보다 안전하고 환자들에게 거부감 없는 천연물 유래의 발모제의 개발이 시급하다(4-6).

대추(*Zizyphus jujuba* MILLER)는 비타민 C의 함량이 높고 노화를 방지하는 효과가 있어 오랫동안 한방에서 생약으로 사용되어 왔으며 또한 진통, 항암, 해열, 진정, 지혈, 자강, 면역증강, 항산화, 항염증 등의 약리적 효능을 갖고 있는 것으로 알려져 있다(7). 대추에는 alkaloid, saponin, triterpenoid, polyphenol 등이 함유되어 있으며 이 중 triterpenoid는 중요한 활성물질의 하나로서 세포독성, 항균, 항염 등의 생물학적 활성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다(8-10).

식품의 발효는 미생물 작용을 통해 식품에 좋은 맛과 향, 조직감 등을 부여하며 식품의 저장성 향상은 물론 발효과정을 통한 독성물질 파괴, 생리활성물질 생산, 소화증진 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(11,12). 식품의 발효에 주로 이용되어지는 균주로는 *Aspergillus oryzae*(*Asp. oryzae*), *Bacillus subtilis*(*Bac. subtilis*), *Bifidobacterium breve*(*Bif. breve*), *Lactobacillus acidophilus*(*Lac. acidophilus*)와 *Saccharomyces cerevisiae*(*Sac. cerevisiae*) 등을 들 수 있다. *Asp. oryzae*는 강한 전분당화력과 단백질 분해력을 가지고 있고  $\alpha$ -amylase, invertase, cellulase 등

각종 효소를 생산하므로 이를 추출하여 소화제에 이용하기도 하며, 청주 및 장류 등의 제조에 중요한 역할을 한다. 또한 *Asp. oryzae*를 이용하여 발효시킨 다시마의 경우 항산화활성이 증진된다고 알려져 있다(13). *Bacillus* 속은  $\alpha$ -amylase, protease를 분비하므로 이들 효소의 생산에 이용되기도 하며, 이를 이용해 발효시킨 식품의 항산화활성이 증가한다는 연구보고도 있다(14). *Lactobacillus* 속과 *Bifidobacterium* 속은 우유제품의 발효나 젖산의 발효생산 등에 이용되며 정장작용이 강하여 오래 전부터 젖산균 제제나 acidophilus milk의 제조에 이용된다(15,16). 또한 *Sac. cerevisiae*는 영양소의 소화율 및 이용을 향상시키고 생화학적 성질이 일정하며 보존성이 우수하여 각종 주류의 제조 및 제빵 등 식품의 발효에 아주 유용한 균주로 알려져 있다(17,18). 대추의 유효성분은 대부분 당이 붙은 고분자로 구성되어 있어 체내 흡수율이 저하될 수 있다. 발효는 미생물을 이용하여 발효시키는 과정에서 기존의 성분 외에 아미노산류, 비타민류 등 각종 기능성 유효성분들을 함께 추출함으로써 효능을 배가시키고 빠르게 흡수되도록 한다(19,20). 따라서 최근 들어 발효과정을 이용해 독성과 부작용이 적은 천연물 유래의 효능이 우수한 미용 두피 제품의 개발이 많은 관심을 끌고 있다. 본 연구에서는 대추 및 이들 균주를 이용하여 제조한 발효대추의 산화적 스트레스에 대한 개선 효과와 모발 성장 촉진 효과를 동물 모델을 이용하여 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 대추 발효 및 추출물의 제조

본 실험에 사용한 대추는 경남 밀양지역에서 생산된 말린 대추를 밀양 대추 산동 영농조합법인에서 구입하여 사용하였다. 대추 추출물은 대추분말 중량의 10배 70% EtOH로 24시간 추출하였고 동일한 과정을 3회 반복하여 얻어진 추출물을 모은 다음 회전식 진공 농축기를 이용하여 농축시킨 후  $-80^{\circ}\text{C}$ 의 냉동고에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 대추 발효에 사용된 균주는 (주)충무발효(울산, 한국)와 한국 미생물보존센터(KCCM, 서울, 한국)에서 분양받아 사용하였다. 대추 발효 추출물은 대추분말의 분량과 동일한 3차 멸균수와 대추분말을 잘 섞어 *Asp. oryzae*( $34^{\circ}\text{C}$ , 48 hr), *Bac. subtilis*( $37^{\circ}\text{C}$ , 24 hr), *Bif. breve*( $36^{\circ}\text{C}$ , 48 hr), *Lac. acidophilus*( $36^{\circ}\text{C}$ , 4 days)와 *Sac. cerevisiae*( $30^{\circ}\text{C}$ , 48 hr)를 각각 1% 접종하여 발효시킨 다음 시료 중량의 10배 70% EtOH로 24시간씩 3회 반복하여 추출물을 모은 후 농축하여 추출물을 얻었다.

### Total polyphenol 함량 측정

Total polyphenol 함량 측정은 Folin-Denis의 방법을 응용하여 측정하였다(21). 시료를 100 mg/mL 농도로 조제한 다음 이 시료액 10  $\mu\text{L}$ 에 증류수 790  $\mu\text{L}$ 를 첨가하고 Folin 시약 50  $\mu\text{L}$ 를 가하여 2분간 혼합시킨 후 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  150

$\mu\text{L}$ 를 넣고 1시간 반응시켜 발색시켰다. 1시간 후 발색된 시약을 UV/visible spectrophotometer(Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 위와 같은 방법으로 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 150  $\mu\text{g}/\text{mg}$  농도의 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

### 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical 소거 효과 측정

농도별로 ethanol에 녹인 시료 100  $\mu\text{L}$ 와 60  $\mu\text{M}$  DPPH 용액 100  $\mu\text{L}$ 를 96 well plate에 혼합하여 30분간 빛을 차단하여 실온에 방치시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 free radical 소거 효과를 백분율(%)로 나타내었다(22).

### Hydroxyl radical( $\cdot\text{OH}$ ) 소거 효과 측정

$\cdot\text{OH}$  소거활성은 Fenton reaction에 의해 생성된  $\cdot\text{OH}$ 을 deoxyribose를 분해하고 이때 생성된 malonaldehyde의 양을 정량하여 시료의  $\cdot\text{OH}$  소거활성을 측정하였다. Fenton 반응에 따라 10 mM  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -EDTA에 10 mM의 2-deoxyribose solution과 농도별 시료용액을 혼합한 후 10 mM의  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 첨가하여  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 동안 배양하였다. 이 혼합액에 2.8% trichloroacetic acid와 1.0% thio-barbituric acid 용액을 각각 첨가하여 10분간 boiling한 후 cooling하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다(23).

### C57BL/6N mouse를 이용한 탈모 예방 효과 및 모발 성장 촉진 효과 실험

5주령의 체중 16~19 g의 C57BL/6N mouse를 (주)오리엔트 바이오(성남, 한국)에서 구입하여 1주일간 일반식이로 안정화시킨 후 실험에 사용하였다. 사육실의 온도와 습도는  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 와  $50 \pm 10\%$ 로 각각 유지하였고, 명암은 12시간 간격으로 light-dark cycle을 유지하였다. 동물 실험은 각 실험군별 5마리를 배치하여 음성 대조군으로는 50% EtOH를, 양성 대조군으로는 3% minoxidil을 도포하였다. 시료처리군으로는 3% 대추 추출물과 3% *Sac. cerevisiae* 발효대추 추출물을 각각 도포하였다. 모든 실험은 부산대학교 동물실험윤리위원회의 승인 하에 수행되었다. C57BL/6N mouse를 이용한 탈모 및 시료처리는 Datta 등(24)의 방법을 응용하여 실시하였다(25). 마우스 등 부위의 털을 소동물용 clipper(WAHL®, Sterling, IL, USA)를 이용하여 깎은 후에 남은 미세한 털은 제모제(니크린, 일동제약, 서울, 한국)를 사용하여 마우스 등판의 피부에 도포하여 털을 깨끗이 제거한 후 흐르는 물로 수세하였다. 24시간 동안 방치하여 미세 상처가 회복되도록 한 후 마우스의 제모된 등 부위에 붓을 사용하여 한 마우스에 200  $\mu\text{L}$ 의 시료를 각 군별로 도포하였다. 시료 처리는 매일 1회씩 4주간 실시하였다. 이후 일주일간 시료를 도포하지 않는 기간을 가진 뒤 자발적인 탈모가

일어나면 매일 1회씩 4주간 시료를 처리하였다. 실험 시작 후 털이 자라는 상태를 육안적으로 확인하기 위하여 주 1회 디지털 카메라를 이용하여 사진촬영을 실시하였다. 또한 5일 간격으로 핀셋을 이용하여 털을 뽑아 그 길이를 측정하였다.

### 통계분석

대조군과 각 시료들로부터 얻은 실험 결과들은 평균±표준편차로 나타내었고, 각 실험 결과로부터 ANOVA(analysis of variance)를 구한 후 Duncan's multiple test를 이용하여 각 군의 평균 간의 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### Total polyphenol 함량 측정

식물은 polyphenol성 화합물을 함유하고 있어 shikimate, mevalonate 그리고 phenylpropanoid pathway를 통해 2차 생성물을 생성하여 세포벽, 리그닌, 단당류나 이당류와 결합하거나 다당류, 지질, 아민 등과 복합체를 형성하여 다양한 구조나 양으로 존재하게 된다(26). 이러한 phenol성 화합물은 phenolic hydroxyl기를 갖기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 쉽게 결합하여 항산화, 항암, 항염증 및 항알레르기 작용 등의 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 또한 이런 phenol성 화합물들은 염증 반응에 관여하는 enzyme activity뿐만 아니라 enzyme expression을 조절하여 항염증 활성을 나타낸다(26,27). 따라서 식물의 폴리페놀 함량의 측정은 항산화 효능을 비롯한 생리활성과 밀접한 관련이 있어 항산화 기능을 미리 예측해 볼 수 있다.

본 실험에서 사용한 대추 및 발효대추의 total polyphenol 함량은 gallic acid를 기준 물질로 하여 측정하였다(Table 1). 대추는 69.18 µg/mg의 polyphenol 함량을 나타낸 반면 대추를 발효한 군에서는 80.29~130.79 µg/mg의 polyphenol 함량을 보였다. 따라서 발효를 통해 총 polyphenol 함량이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 발효에 의한 미생물의 2차 대사과정을 통해 새로운 형태의 물질로 전환되는 등의 과정에 의해 페놀성 화합물의 함량이 증가한 것으

**Table 1.** Total polyphenol contents of Zj and fermented Zj

Samples <sup>1)</sup>	Total polyphenols (mg gallic acid/g extract) <sup>2)</sup>
Zj	69.18±0.82
Zj-Ao	93.76±0.62
Zj-Bs	99.83±0.64
Zj-Bb	80.29±0.56
Zj-La	94.64±0.82
Zj-Y	130.79±0.71

<sup>1)</sup>Zj, *Zizyphus jujuba*; Zj-Ao, fermented Zj by *Asp. oryzae*; Zj-Bs, fermented Zj by *Bac. subtilis*; Zj-Bb, fermented Zj by *Bif. breve*; Zj-La, fermented Zj by *Lac. acidophilus*; Zj-Y, fermented Zj by *Sac. cerevisiae*.

<sup>2)</sup>The concentration of total phenols was expressed in mg gallic acid equivalents per gram of dried extract. Values are mean±SD.

로 사료된다. 기존의 연구에서도 식물자원의 발효 및 발효기간의 증가에 따라 총 페놀성 화합물 함량이 증가한다고 보고한 바 있으며(28), 발효는 생리활성의 증가를 위한 가공방법으로 이용될 수 있는 가능성을 제시하고 있다. 특히 *Sac. cerevisiae*를 이용한 발효대추에서는 130.79 µg/mL의 함량을 나타내, 발효를 통해 total polyphenol의 함량이 발효시키지 않은 대추에 비해 1.9배가량 증가하였다. 효모를 이용한 식품의 발효의 예로 당유자 과피에 함유된 플라보노이드가 효모의 발효과정을 통하여 다른 형태의 새로운 화합물로 전환되었으며 전환된 성분들은 항산화활성들이 증가되어 기능성이 증대되었다는 연구 결과와도 유사한 경향을 보였다(29).

### DPPH radical 소거 효과 측정

DPPH radical은 화학적으로 유도되는 비교적 안정한 radical로서 어떠한 반응계에서 전자를 공여 받으면 고유의 자색이 없어진다. 이 방법은 lipoxxygenase에 의한 지방산화 반응계에서의 항산화활성 측정 결과와도 잘 부합하며 간편하면서도 신뢰성이 높은 장점을 가지고 있어 식품을 비롯한 여러 분야에서 널리 이용되고 있다.

대추 및 발효대추의 항산화활성을 알아보기 위해 DPPH radical 소거 효과를 살펴본 결과(Table 2), 대추 및 발효대추의 추출물 처리농도에 따라 농도 의존적으로 DPPH radi-

**Table 2.** DPPH radical scavenging activity (%) of Zj and fermented Zj

Sample	Concentration (µg/mL)			
	100	250	500	1,000
Zj	20.60±0.35 <sup>a</sup>	27.95±0.62 <sup>b</sup>	32.29±0.52 <sup>c</sup>	36.51±0.30 <sup>d</sup>
Zj-Ao	20.54±0.46 <sup>a</sup>	25.00±0.83 <sup>b</sup>	54.46±0.46 <sup>c</sup>	71.29±0.72 <sup>d</sup>
Zj-Bs	28.96±0.30 <sup>a</sup>	45.30±0.46 <sup>b</sup>	67.57±0.82 <sup>c</sup>	77.48±0.46 <sup>d</sup>
Zj-Bb	25.25±0.49 <sup>a</sup>	30.69±0.55 <sup>b</sup>	53.96±0.60 <sup>c</sup>	73.27±0.49 <sup>d</sup>
Zj-La	12.52±0.28 <sup>a</sup>	23.96±0.39 <sup>b</sup>	36.63±0.34 <sup>c</sup>	59.20±0.62 <sup>d</sup>
Zj-Y	36.32±0.30 <sup>a</sup>	67.08±0.67 <sup>b</sup>	75.43±1.01 <sup>c</sup>	90.26±0.26 <sup>d</sup>

Abbreviations for samples are shown in Table 1.

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in a row are significantly different ( $P<0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

cal의 소거능이 증가됨을 알 수 있었다. 또한 대추에 비해 발효대추가 DPPH radical 소거 효과가 더욱 우수한 것으로 나타났다. 1,000 µg/mL의 농도에서 대추 추출물은 36.51%의 DPPH radical 소거 효과를 나타낸 반면 발효대추 처리군에서는 59.20~90.26%의 소거 효과를 보여 발효과정에 의해 DPPH radical 소거능이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 특히 *Sac. cerevisiae*를 이용하여 발효한 대추가 가장 우수한 DPPH radical 소거능을 나타내 대추의 기능성 증진을 위해 *Sac. cerevisiae*가 가장 적합한 균주인 것으로 사료된다. *Sac. cerevisiae* 다음으로는 *Bac. subtilis*를 이용한 발효대추에서 높은 효과를 보였다. 기존의 연구에서도 비지를 *Bac. subtilis*를 이용하여 전통적인 방법으로 발효시켰을 때 발효기간 증가에 따라 DPPH radical 소거능을 비롯한 항산화활성이 증가한다고 보고되었다(30). DPPH radical은 hydrogen 원자를 공여하는 성향에 있어 polyphenol 성분을 측정하는 Folin-Ciocalteu assay와 상관성이 높다. 본 연구 결과에서 DPPH 라디칼 소거능이 우수한 것으로 나타난 발효균주인 *Sac. cerevisiae*와 *Bac. subtilis*는 Table 1에서 제시한 total polyphenol 함량 또한 높게 나타나 이들 사이에 양의 상관관계가 있음을 알 수 있었다.

**Hydroxyl radical(·OH) 소거 효과**

·OH는 활성산소종 중에서 화학적으로 가장 반응성이 크며 지질산화를 개시하고 DNA 손상을 주거나 돌연변이를 유발하여 인접한 생체 분자에 심각한 손상을 야기하는 물질로 알려져 있다. Macrophages와 백혈구의 식세포 작용 또한 ·OH 생성원인이 되며, 이러한 ·OH는 Fenton 반응에 의해 O<sub>2</sub><sup>-</sup>와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로부터 생성되며 활성질소종인 ONOO<sup>-</sup>의 분해에 의해 생성되기도 한다.

Table 3은 대추와 발효대추의 ·OH 소거 효과를 나타낸 것이다. 대추 및 발효대추에서 ·OH 소거 효과가 농도 의존적으로 상승하였다. 또한 발효를 통해 ·OH의 소거 효과가 증가하는 것을 확인할 수 있었으며 특히 *Sac. cerevisiae*를 이용하여 발효한 경우 가장 우수한 ·OH 소거 효과를 보였다. 1,000 µg/mL의 농도에서 비교해보면 Zj에서는 46.05%의 소거 효과를 보인 반면 Zj-Y에서는 65.11%의 소거 효과를 보였다. 이상의 결과로부터 대추보다는 발효대추가 total

polyphenol 함량과 free radical 소거능이 우수하며 특히 *Sac. cerevisiae*로 발효시킨 대추가 가장 우수한 효과를 나타내, 이를 이용한 모발 성장 촉진 효과를 *in vivo* 실험을 통해 검토하였다. *Saccharomyces* 속은 각종 주류의 제조 및 제빵 등의 식품발효에 가장 대표적인 미생물이다. 특히 *Sac. cerevisiae*는 상면발효모로 맥주, 포도주 등의 각종 주류, 알코올, 빵 등의 제조에 이용되는 등 이용 범위가 넓은 효모로 생화학적 성질이 일정하고 물에 잘 분산되며 자기소화에 대한 내성이 있어서 보존성이 좋고 증식속도가 빨라 높은 수득률을 나타낸다. 또한 *Sac. cerevisiae*로 발효시킨 식품이 항균, 항염 및 항산화활성들이 증가되어 생리활성을 증가한다는 연구보고가 있다(31,32). 본 연구에서도 *Sac. cerevisiae*로 발효시킨 대추의 경우 항산화활성이 증진됨을 알 수 있었다.

**C57BL/6 마우스모델에서의 대추 및 발효대추의 모발 성장 촉진 효과**

본 연구에 사용된 C57BL/6 마우스는 체모가 검정색이고 자연적 탈모가 일어나는 특징이 있으며 melanocyte가 모낭에만 한정적으로 존재하고 melanin 합성이 모발 성장주기와 잘 일치되어 피부색으로 모발의 성장주기를 판정할 수 있는 장점을 가져 모발생리 연구에 널리 이용되고 있다(33). C57BL/6 마우스의 모발 성장주기는 3단계로 구성되는데 모발이 가장 활발하게 성장하는 성장기, 모발의 퇴화가 시작되는 퇴행기 및 모발의 성장이 멈추거나 휴지기에 접어드는 휴지기로 분류하게 된다. 생후 45일 정도 지나면 마우스의 모낭은 2번째 휴지기를 거치게 되며, 이 기간에는 마우스 개체별로 동일한 모낭 주기를 가지고 있기 때문에 모낭주기를 조절하는 즉 휴지기에서 성장기로의 이행을 유도하는 약물의 효과를 측정할 수 있다. 따라서 C57BL/6 마우스가 6주령이 되었을 때부터 시료를 도포하여 휴지기 동안의 발모현상을 관찰하였으며, 시료의 도포를 멈추고 자발적인 탈모를 유발한 후 성장기에 시료를 도포하여 탈모 예방 효과를 살펴 보았다.

**제모시킨 C57BL/6 마우스에서의 모발 성장 촉진 효과**

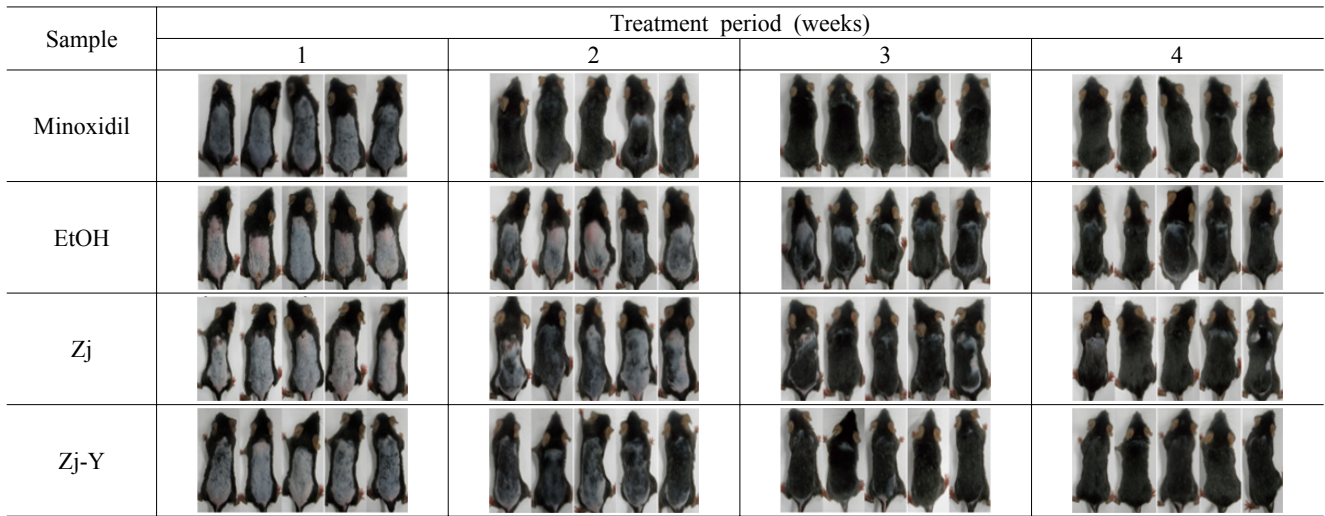
6주령 된 휴지기 마우스의 털을 깎았을 때 체표면의 색이

**Table 3.** Hydroxyl radical scavenging activity (%) of Zj and fermented Zj

Sample	Concentration (µg/mL)			
	100	250	500	1,000
Zj	39.15±0.53 <sup>a</sup>	38.12±0.29 <sup>b</sup>	41.95±0.12 <sup>c</sup>	46.05±0.25 <sup>d</sup>
Zj-Ao	40.47±0.19 <sup>a</sup>	45.65±0.23 <sup>b</sup>	48.44±0.41 <sup>c</sup>	60.89±0.47 <sup>d</sup>
Zj-Bs	43.38±0.11 <sup>a</sup>	45.73±0.23 <sup>b</sup>	48.25±0.27 <sup>c</sup>	60.53±0.15 <sup>d</sup>
Zj-Bb	36.96±0.25 <sup>a</sup>	43.82±0.25 <sup>b</sup>	45.37±0.19 <sup>c</sup>	59.05±0.73 <sup>d</sup>
Zj-La	41.35±0.37 <sup>a</sup>	42.38±0.23 <sup>b</sup>	46.21±0.19 <sup>c</sup>	56.78±0.20 <sup>d</sup>
Zj-Y	43.06±0.35 <sup>a</sup>	44.38±0.65 <sup>b</sup>	51.67±0.27 <sup>c</sup>	65.11±0.43 <sup>d</sup>

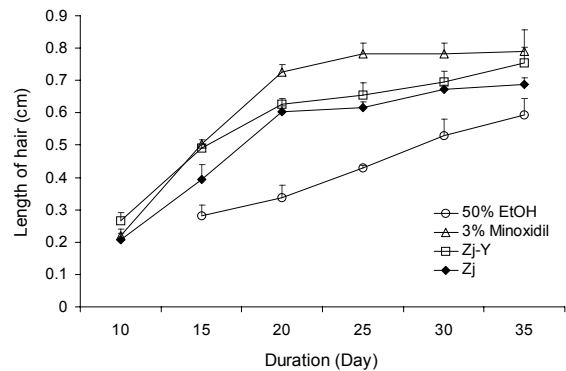
Abbreviations for samples are shown in Table 1.

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in a row are significantly different (P<0.05) by Duncan's multiple range test.



**Fig. 1.** Changes of hair growth under hair-removed alopecia model of C57BL/6 mice. Zj, *Zizyphus jujuba*; Zj-Y, fermented Zj by *Sac. cerevisiae*.

분홍색을 띠었고 실험을 진행함에 따라 체표면색은 검정색으로 변해갔다. 이는 모발주기가 휴지기에서 생성기로 들어감을 뜻한다. 제모 후 도포 일주일째에는 대조군인 50% EtOH군과 Zj 도포군에서는 분홍색을 나타내는 부위가 많았으며 상대적으로 발모현상이 더디게 나타났으나, Zj-Y 도포군에서 전체적으로 회색빛을 나타내며 부분적인 발모가 진행되었다(Fig. 1). 제모 후 도포 2주일째에는 Zj-Y 도포군에서 2/5마리는 전체적인 발모현상이 나타났으며 3/5마리는 부분발모가 나타났고 부분적으로 검은색을 띠었다. 반면 Zj 도포군과 대조군에서는 발모면적이 Zj-Y 도포군에 비해 적게 나타났으며, 양성 대조군인 3% minoxidil 도포군에서는 등 부위 전체적으로 발모가 일어났으며 부분적으로 흰색 털이 자랐다. 제모 후 도포 3주일째에는 대조군인 EtOH군에서는 등 중심부위에 발모현상이 진행되며 주변 부분에서는 아직 회색빛을 보인 반면, Zj 도포군에서는 등 주변 부분에 발모현상이 더디게 진행되는 부분이 있었으나 대조군보다는 그 면적이 적었다. Zj-Y 도포군에서는 꼬리 부분을 제외하고 전체적으로 발모가 활발히 진행되는 것을 볼 수 있었다. 제모 후 도포 4주일째에는 EtOH 도포군에서 등 주변 부분에서 회색빛 부분을 볼 수 있었으나 Zj 도포군에서는 2/5마리는 전체적으로 발모가 일어났고 3/5마리는 목 부분을 제외하고는 전체적인 발모가 일어났으며, Zj-Y 도포군에서는 전체적으로 발모가 진행되어 정상적인 모습을 되찾아가고 있는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 대추 처리군과 *Sac. cerevisiae* 발효대추 처리군은 휴지기에서 성장기로의 이행을 유도하여 발모를 촉진하는 효과를 나타내는 것으로 사료된다. 도포 10일째부터 5일 간격으로 털을 뽑아 그 길이를 측정한 결과는 Fig. 2에 제시하였다. 도포 후 10일 경과 시 털의 길이가 너무 짧아 뽑을 수 없는 50% EtOH 도포군을 제외하고는 모든 군에서 약 0.2 cm 정도로 털이 자라 각 군 간에 차이가 없었으나 도포 15일 경과 후부터는

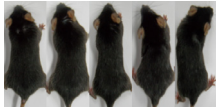
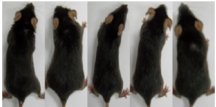
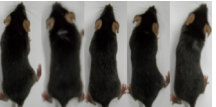
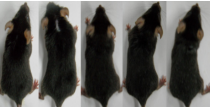
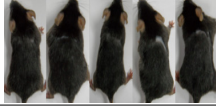
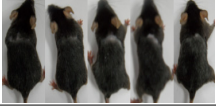
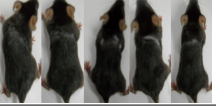
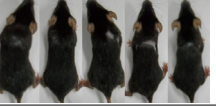
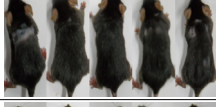
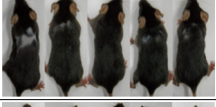
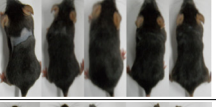
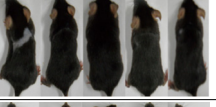
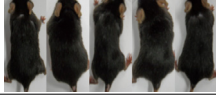
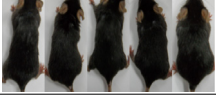
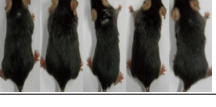
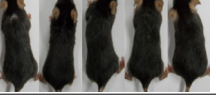


**Fig. 2.** Changes of hair length under hair-removed alopecia model of C57BL/6 mice. Abbreviations for samples are shown in Fig. 1.

각 군마다 모발의 성장 속도가 달라지면서 각 군의 털 길이에서 유의적인 차이가 나타났다. 시료를 도포한 지 20일째 모발의 성장 속도는 minoxidil 도포군 > Zj-Y 도포군 > Zj 도포군 > EtOH 도포군의 순으로 나타났다. 또한 도포 30일째에는 minoxidil 도포군(0.75 cm), Zj-Y 도포군(0.69 cm), Zj 도포군(0.67 cm)에서 대조군인 50% EtOH 도포군(0.53 cm)보다 빠른 성장을 나타내어 대추와 *Sac. cerevisiae* 발효대추의 모발 성장 촉진 효과를 확인할 수 있었다. 이는 육안적인 관찰과 유사한 결과로 *Sac. cerevisiae*로 발효시킨 대추에서 발모 촉진의 효과가 우수한 것으로 나타나 천연 발모 촉진 물질로서의 가능성을 제시하고 있다.

**C57BL/6 마우스의 자발적 탈모에서의 탈모 예방 효과**

자발적인 탈모 마우스에서의 대추 및 *Sac. cerevisiae* 발효대추의 탈모 예방 효과는 Fig. 3에 제시하였다. 자발적인 탈모에 대한 시료의 효과를 살펴보기 위해 일주일 동안 시료를 처리하지 않았을 때 모든 군에서 탈모현상이 조금씩 관찰

Sample	Treatment period (weeks)			
	1	2	3	4
Minoxidil				
EtOH				
Zj				
Zj-Y				

**Fig. 3.** Changes of hair growth under spontaneous alopecia model of C57BL/6 mice. Abbreviations for samples are shown in Fig. 1.

되었으나 EtOH군과 Zj 도포군의 몇몇 마우스에서 확연하게 눈에 띄는 탈모현상이 나타났으며 minoxidil 도포군과 Zj-Y 도포군에서는 상대적으로 탈모현상이 더디게 일어나는 것을 관찰할 수 있었다. 따라서 *Sac. cerevisiae* 발효대추가 탈모에 대한 예방 효과도 있는 것으로 사료된다. 시료 도포 2주째에 EtOH 도포군은 일주일 전보다 탈모 정도가 더 심해져 탈모가 진행되었으나, minoxidil 도포군과 Zj-Y 도포군은 탈모 부위가 점점 작아지는 것을 확인할 수 있었다. 또한 시료 도포 후 3주째에서는 EtOH 도포군에서는 모든 마우스에서 확실한 탈모현상이 진행되었으나, Zj-Y 도포군의 대부분의 마우스들은 탈모현상이 관찰되지 않았다. 도포를 시작한지 4주째에는 minoxidil과 Zj-Y 도포군의 마우스들은 완전히 성숙한 털을 가지고 있었으며 Zj 도포군의 마우스들은 탈모현상이 어느 정도 호전되었다. 반면에 50% EtOH 도포군의 마우스들의 탈모현상은 더욱 진행되었다. 따라서 탈모가 진행되는 성장기에서도 대추와 발효대추는 탈모를 예방할 뿐만 아니라 모발 성장을 촉진시키는 효과가 있는 것으로 나타났다. 또한 대추 및 *Sac. cerevisiae*로 발효시킨 대추의 간독성을 aspartate aminotransferase와 alanine aminotransferase를 측정하여 검토한 결과 모두 정상 범위를 나타내어 독성이 없는 것으로 확인되었다(34). 따라서 대추 및 발효대추는 안전성이 높은 천연 모발 촉진제로서 이용 가능성이 있을 것으로 사료된다.

**요 약**

대추와 5개의 균주로 발효시킨 발효대추의 total polyphenol 함량과 *in vitro*에서의 radical 소거능을 검토한 결과 대추에 비해 발효대추에서의 total polyphenol 함량이 높게 나타났고 DPPH와 ·OH의 소거능이 우수하였으며, 특히 *Saccharomyces cerevisiae*로 발효시킨 대추가 가장 우

수한 효과를 보였다. 이에 대추 추출물과 *Sac. cerevisiae*로 발효시킨 대추 추출물을 이용하여 C57BL/6N 탈모 마우스 실험 모델 하에서 발모 성장 촉진 효과 및 탈모 예방 효과를 검토하였다. 제모 후 EtOH 도포군에서는 거의 발모가 진행되지 않았으나 *Zizyphus jujuba*(Zj) 도포군과 *Sac. cerevisiae*-fermented Zj(Zj-Y) 도포군에서는 전체적으로 발모가 진행되었고, 모발의 성장 속도는 minoxidil 도포군 > Zj-Y 도포군 > Zj 도포군 > EtOH 도포군의 순으로 나타났다. 또한 자발적인 탈모에 대한 예방 효과도 대추, 특히 발효대추 도포군에서 우수함을 관찰할 수 있었다. 본 연구 결과로 대추에 비해 발효대추, 특히 *Sac. cerevisiae*로 발효시킨 대추가 항산화 효능이 뛰어나며, 발모 촉진 효과 및 탈모 예방 효과가 우수함을 알 수 있었다.

**감사의 글**

본 연구는 부산대학교 생물자원 웰빙제품 RIS 사업단(과제 번호: B0011529)의 지원에 의하여 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

**REFERENCES**

1. Kim YS, Kim JY. 2006. A study on hair care of alopecia man and stress. *J Korean Soc Cosmetol* 12: 67-78.
2. Tobin DJ, Paus R. 2001. Graying: gerontobiology of the hair follicle pigmentary unit. *Exp Gerontol* 36: 29-54.
3. Tobin DJ, Hagen E, Botchkarev VA, Paus R. 1998. Do hair bulb melanocytes undergo apoptosis during hair follicle regression (catagen). *J Invest Dermatol* 111: 941-947.
4. Hagemann T, Schlütter-Böhmer B, Allam JP, Bieber T, Novak N. 2005. Positive lymphocyte transformation test in a patient with allergic contact dermatitis of the scalp after short-term use of topical minoxidil solution. *Contact Dermatitis* 53: 53-55.

5. Herman EH, Zhang J, Chadwick DP, Ferrans VJ. 1996. Age dependence of the cardiac lesions induced by minoxidil in the rat. *Toxicology* 110: 71-83.
6. Nguyen KH, Marks JG Jr. 2003. Pseudoacromegaly induced by the long-term use of minoxidil. *Am Acad Dermatol* 48: 962-965.
7. Yu TJ. 1999. *Food Dongeubogam*. Academibook, Seoul, Korea. p 138-140.
8. Kim HK, Joo KJ. 2005. Antioxidative capacity and total phenolic compounds of methanol extract from *Zizyphus jujuba*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 750-754.
9. Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS. 2006. Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujuba* var. *inermis* Rehder. *Korean J Food Sci Technol* 38: 128-134.
10. Lee SM, Park JG, Lee YH, Lee CG, Min BS, Kim JH, Lee HK. 2004. Anti-complementary activity of triterpenoides from fruits of *Zizyphus jujube*. *Biol Pharm Bull* 27: 1883-1886.
11. Hubert J, Berger M, Nepveu F, Paul F, Dayde J. 2008. Effects of fermentation on the phytochemical composition and antioxidant properties of soy germ. *Food Chem* 109: 709-721.
12. Oboh G, Alabi KB, Akindahunsi AA. 2008. Fermentation changes the nutritive values, polyphenol distribution, and antioxidant properties of *Parkia biglobosa* seeds (African locust beans). *Food Biotechnol* 22: 363-376.
13. Park MJ, Han JS. 2013. Protective effects of the fermented *Laminaria japonica* extract on oxidative damage in LLC-PK1 cells. *Prev Nutr Food Sci* 18: 227-233.
14. Chou ST, Chung YC, Peng HY, Hsu CK. 2013. Improving antioxidant status in aged mice by 50% ethanol extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis*. *J Sci Food Agric* 93: 2562-2567.
15. Chung SH, Kim IH, Park HG, Kang HS, Yoon CS, Jeong HY, Choi NJ, Kwon EG, Kim YJ. 2008. Synthesis of conjugated linoleic acid by human-derived *Bifidobacterium breve* LMC 017: utilization as a functional starter culture for milk fermentation. *J Agric Food Chem* 56: 3311-3316.
16. Lima IF, De Dea Lindner J, Soccol VT, Parada JL, Soccol CR. 2012. Development of an innovative nutraceutical fermented beverage from herbal mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) extract. *Int J Mol Sci* 13: 788-800.
17. Nyanga LK, Nout MJ, Gadaga TH, Theelen B, Boekhout T, Zwietering MH. 2007. Yeasts and lactic acid bacteria microbiota from masau (*Zizyphus mauritiana*) fruits and their fermented fruit pulp in Zimbabwe. *Int J Food Microbiol* 120: 159-166.
18. Shen YB, Carroll JA, Yoon I, Mateo RD, Kim SW. 2011. Effects of supplementing *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in sow diets on performance of sows and nursing piglets. *J Anim Sci* 89: 2462-2471.
19. Choi JH, Kim HM, Song YS, Park SG, Kim JJ, Lee CK. 2007. Physiological effects of the cosmetic product containing of *Saccharomyces* fermented modified *Kyungohkgo* extract on human skin. *Korean J Herbol* 22: 227-232.
20. Jung YJ, Han DO, Choi BH, Park C, Lee H, Kim SH, Hahm DH. 2007. Effect of fermented herbal extracts, HP-1 on enzyme activities and gene expressions related to alcohol metabolism in ethanol-loaded rats. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 21: 387-391.
21. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-243.
22. Hatano T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fujita Y, Yasuhara T, Yoshida T, Okuda T. 1989. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem Pharm Bull* 37: 2016-2021.
23. Chung SK, Osawa T, Kawakishi S. 1997. Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *J Biosci Biotech Biochem* 61: 118-123.
24. Datta K, Singh AT, Mukherjee A, Bhat B, Ramesh B, Burman AC. 2009. *Eclipta alba* extract with potential for hair growth promoting activity. *J Ethnopharmacol* 124: 450-456.
25. Sundberg JP, King LE Jr. 1996. Mouse models for study of human hair loss. *Dermatol Clin* 14: 619-632.
26. Duthie G, Crozier A. 2000. Plant-derived phenolic antioxidants. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 3: 447-451.
27. Ferreres F, Gomes D, Valentao P, Goncalves R, Pio R, Chagas EA, Seabra RM, Andrade PB. 2009. Improved loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars: variation of phenolics and antioxidative potential. *Food Chem* 114: 1019-1027.
28. Kim NM, Lee JW, Do JH, Park CK, Yang JW. 2005. Effects of the fermentation periods on the qualities and functionality of the vegetable fermented broth. *Korean J Med Crop Sci* 13: 293-299.
29. Hyon JS, Kang SM, Han SW, Kang MC, Oh MC, Oh CK, Kim DW, Jeon YJ, Kim SH. 2009. Flavonoid component changes and antioxidant activities of fermented *Citrus grandis* osbeck peel. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1310-1316.
30. Zhu YP, Fan JF, Cheng YQ, Li LT. 2008. Improvement of the antioxidant activity of Chinese traditional fermented okara (Meitauza) using *Bacillus subtilis* B2. *Food Control* 19: 654-661.
31. Ahn SC, Kim MS, Lee SY, Kang JH, Kim BH, Oh WK, Kim BY, Ahn JS. 2005. Increase of bioactive flavonoid aglycone extractable from Korean citrus peel by carbohydrate-hydrolysing enzymes. *Kor J Microbiol Biotechnol* 33: 288-294.
32. Hyon JS, Kang SM, Han SW, Kang MC, Oh MC, Oh CK, Kim DW, Jeon YJ, Kim SH. 2009. Flavonoid component changes and antioxidant activities of fermented *Citrus grandis* osbeck peel. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1310-1316.
33. Messenger AG. 1994. The control of hair growth and pigmentation. In *Disorders of Hair Growth*. McGraw-Hill, New York, NY, USA. p 9-58.
34. Jung JE. 2011. Protective effects of *Zizyphus jujuba* and fermented *Zizyphus jujuba* from oxidative stress, recognition impairment and hair loss. *MS Thesis*. Pusan National University, Busan, Korea. p 84-85.