

모발 노화에 따른 물성변화와 외인성 노화모델의 개발

송상훈·최원경·박현섭·임병택·박경란·김영현·박수진·손성길·이상민·강내규[†]

LG생활건강기술연구원

(2019년 5월 23일 접수, 2019년 6월 14일 수정, 2019년 6월 19일 채택)

A New Attempt to Establish the Extrinsic Aging Hair Model to Evaluate The Response to Aging in Physical Property

Sang-Hun Song, Wonkyung Choi, Hyunsub Park, Byung Tack Lim, Kyoung Ran Park, Younhyun Kim,
Sujin Park, Seong Kil Son, Sang-Min Lee, and Nae-Gyu Kang[†]

E10 LG Science Park, LG Household & Health Care Ltd., Seoul 07795, Republic of Korea

(Received May 23, 2019; Revised June 14, 2019; Accepted June 19, 2019)

요약: 인체 조직은 노화 현상을 겪으면 산화로 인한 손상이 진행되어 구조적인 변화가 일어나고 물성 저하를 겪는다. 피부가 겪는 노화 과정은 잘 알려져 있고 많은 평가가 수행되고 있지만 상대적으로 모발(머리카락)의 노화에 의한 평가는 잘 진행되어 있지 않아 모발의 노화를 케어하는 연구가 어려운 실정이다. 이에 본 연구는 모발의 노화 현상을 케어할 효능 기작을 적용할 수 있도록 노화된 모발 샘플을 제작하고 물성을 평가하여 안티 에이징 효능을 확인하는 것을 목적으로 진행하였다. 먼저 내인성 노화가 진행된 모발의 지질량을 외인성 노화를 진행시킨 시료들과 비교한 결과, 펄 1회 처리 모발이 60대의 모발 지질량과 가장 유사함을 발견하였고, 이 모발을 통해서 원자 현미경으로 나노 스케일의 거칠기와 매크로 스케일의 인장강도를 평가하여 내인성 노화 모발과 유사한 물성 값을 가지고 있음을 입증하였다. 실제로 펄 처리를 통해 외인성으로 노화시킨 모발에 카르보디이미드와 펩타이드 결합을 적용하여 DSC로 구조적 변화와 거칠기 및 인장강도를 확인한 결과, 외인성 요인으로 노화된 모발을 에이징 이전의 상태의 물성 쪽으로 개선시키는 효과를 확인할 수 있었다. 뿐만 아니라 내인성 노화에 의해서 소실된 내부 구성 성분을 프로폴리스를 이용하여 보강한 경우에도 외인성 노화가 유도된 모발의 물성이 에이징 이전 상태의 물성으로 회복되는 안티 에이징 효능이 발생함을 확인하였다. 본 연구에서 사용한 외인성 노화 유발 모발 시료 및 평가는 모발의 외인성 노화 연구에 유용하게 적용될 수 있음을 최초로 확인하였다.

Abstract: Human tissue undergoes aging by the oxidant damage via structural change and its physical properties. The skin aging process is well known and many evaluations have been conducted. However, studies on hair aging were relatively few and thus care for aging hair is difficult. This study aims to fabricate an aging hair and identify anti-aging effect with known ingredient in anti-aging. First of all, physical properties of aging hair of age 60s by physiologically intrinsic factors were compared to those of the hair made by various extrinsic factors such as several chemical reactions and iteration numbers of the treatments. The extrinsic aging hair of this study relates to the less amount of lipid and to the hair of perm treated once accordingly, wherein several physical properties, preferably comprise roughness and tensile strength, present a novel concept of the intrinsic aging hair. The penetration of peptide into the aging hair was leading the extrinsic hair towards more structurally directed a younger hair. In addition to the structural change, the penetration of the peptide enhanced texture and tensile strength of the aging hair. These patterns have been also found in addition of propolis. For the first time, these qualitative studies exhibit that indeed our extrinsic aging hair well describes the anti-aging efficacy as a receptor for a cross-linker and the ingredients of human hair.

Keywords: anti-aging, carbodiimide reaction, human hair, propolis, shampoo

[†] 주 저자 (e-mail: ngkang@lghnh.com)
call: 02)6980-1533

1. 서 론

모낭은 성장기, 퇴행기와 휴지기를 가지는 사이클을 반복하는데, 새로운 머리카락이 생성되는 성장기 때 머리카락의 크기 및 길이와 조성물이 결정된다[1]. 두피의 위치에 따라 다른 생체 신호전달은 모낭에 특징적인 유전자 정보를 부여하여 머리카락이 성장하며 가질 물성을 미리 결정지어 놓는다[2]. 하지만 모낭이 위치해 있는 두피의 노화는 생리화학적 작용으로 노화 전 모낭 성장기때 생성되던 머리카락의 물성에 변화를 일으키는데 이것을 내인성 노화라고 한다[3]. 내인성 노화가 진행된 머리카락은 내부 성분 단백질과 지질량의 감소로 인해 탄력 및 경도 감소와 부드러움 저감을 보이게 된다[4].

머리카락은 유연하면서도 강한 빗줄 구조의 케라틴 단백질로 이루어진 큐티클 층으로 둘러 쌓여있다[1]. 특별히 케라틴 단백질 사이에 가교 결합되어 있는 이황화결합은 머리카락의 강도를 결정하는데 중요한 역할을 하는데, 염색 및 펌 처리에 의해 외부에서 투입되는 산화제 또는 열은 케라틴 단백질 사이의 황의 가교 결합을 손상시키고 모발 내부 결합이 약화되는 구조 변화를 일으킴으로써 머리카락 강도를 저감시킨다[5]. 심지어 모발 산화제는 쥐 털의 탈모를 야기시키는 등 생리화학적 문제도 야기함이 밝혀졌다[6]. 세정과 같은 물리적인 자극 또한 머리카락의 인장 강도를 약화시키고 스타일링을 어렵게하고 끊어짐 현상을 야기하는데, 이처럼 시간의 흐름 속에 외부적인 요인으로 머리카락이 손상되어 가는 것을 외인성 노화라고 말한다[3,7].

학술적으로 노화란 나이가 들에 따라 피부나 모발이 산화 자극에 의해 겪는 물성 변화를 말한다[3]. 대개의 경우 외인성과 내인성 노화는 상관지어 물성을 논할 수 있다. 가령, 큐티클 층은 머리카락 내부를 보호하는 방패와도 같은데 두피의 노화가 진행되면 큐티클의 품질과 직경이 인체가 인지할 수 있을 정도로 감소하게 된다[4,7]. 이때 내인성 노화가 진행된 머리카락은 상기 언급한 외부에서 오는 여러 가지 산화 및 물리적인 자극들에 대해 보다 더 쉽게 손상받고 쉽게 끊어지게 된다[4,8]. 즉, 내인성 노화가 진행된 모발은 외인성 노화의 진행이 더 빠르게 일어난다.

자외선은 모발의 산화 손상을 야기시키는 또 다른 요인데 물리적인 자극에 의해 변색되는 것과 같은 모발 색상 변화를 일으킨다[9]. 인류의 50%는 50대에 멜라닌 색소 단위체 수가 절반으로 감소하는데, 머리카락의 멜라닌 세포

는 피부처럼 연속해서 생성되지 않기 때문에, 모낭의 멜라닌 세포 수가 감소하게 되면 머리카락의 색상은 흰머리로 (graying) 변한다[10,11]. 내인성 노화에 의해 생성된 흰머리는 자외선에 더 큰 손상을 겪을 뿐 아니라[10], 모발 산화제에 노출되면 물성 변화를 색소가 있는 모발보다 더 겪는다[12-14]. 이처럼 머리카락 노화는 내인성과 외부 요인에 의한 외인성 노화가 함께 병행 관계를 이루어 진행된다고 볼 수 있다.

결론적으로, 노화가 진행된 머리카락은 내부적으로 지질 농도가 낮으며, 표면에서 보면 큐티클이 뒤틀려 상태가 거칠고, 구조적으로 변화된 케라틴 helix를 가지고 있다[4]. 이 특성은 머리카락의 강도 저하 및 끊어짐 등 여러 가지 문제점을 부여하기 때문에, 머리카락 노화현상(aging)을 극복하는 것은 필요한 과제이다. 하지만 인체 조직 중에서 피부와 달리 머리카락은 노화에 관한 평가가 상대적으로 극히 진행되어 있지 않은 실정이다. 노화 방지 및 노화 케어 효능을 주기 위한 연구를 하는데 있어 가장 큰 문제는 샘플을 공급하는 것이 힘들다는데 있다. 순수하게 내인성 노화가 유도하는 물성 변화를 관찰하기 위해서는 장기간 동안 화학적인 손상에 가해지지 않았고 수급 당일 세정을 하지 않아 두피로부터 지질 공급을 충분히 받은 상태의 모발을 구해서 실험해야 하는데 이것은 현실적으로 결코 쉽지 않다. 이로 인해서 모발 노화에 따른 물성 개선 연구는 실질적으로 전혀 이루어지지 못해왔다.

본 연구에서는 이와 같은 문제점을 해결하기 위하여 안티 에이징 효능 개발을 담당할 수 있는 노화 머리카락 샘플 개발을 최초로 시도하였다. 이를 위해서, 내인성과 외인성 노화가 진행된 머리카락의 물성 연결관계를 통해 랩 스케일에서 운영할 수 있고 다량으로 생성할 수 있는 내인성 노화 머리카락 대체 외인성 노화 머리카락을 평가적 지표로 정하고자 개발하였다. 마침내 이를 통해서 실제 노화에 따른 물성 변화를 방어할 수 있는 안티 에이징 회복 효능 평가에 적용해보았다.

2. 재료 및 방법

2.1. 물질

지방산 (Sigma-Aldrich, USA)은 미리스틱 산, 팔미틱 산, 스테아릭 산, 올레익 산을 사용했다. 클로로포름과 메탄올, 헥산은 HPLC 급으로 대정화학 (Korea)에서 구하였다. 소듐라우레스설페이트(sodium lauryl sulfate, SLES)는 LG생활건강에서 합

Table 1. The Composition of the Formulated Shampoo

Ingredient	Weight (%)
Cationic conditioning polymer	0.5
Sodium lauryl sulfate (SLES)	9.0
Cocamido propyl betaine	4.5
EDTA 4Na, Citric acid	0.1
Danisol-k, Fragrance	0.9
Water	up to 100
Total	100.0

성한 것이며, 양이온 셀룰로오스 폴리머는 KCI (Korea)의 PQ-10 (polyquaternium-10)이나 PQ-7 (polyquaternium-7)을 사용하였다. 코카미도프로필 베테인(cocamidopropyl betaine)은 미원 (Korea)에서 입수하였다. 샴푸 제조에 쓰이는 EDTA-4Na와 Citric acid (Sigma-Aldrich, USA) 외에 peptide-arginine (펩트론, Korea)과 lysine (펩트론, Korea)을 사용하였다.

2.2 모발 처리

외인성 노화 모발 실험은 동양인 흑모 뷰렉스 (해피콜, 한국)를 사용하였고, 내인성 노화 모발 샘플은 20대와 60대 여성들에서 LG생활건강 생명윤리위원회(IRB) 표준지침 제 16조(심의 면제 사유 법규 2항①-라)에 따라 결격 사유가 없는 범위에서 채취하여 실험을 진행하였다.

2.2.1 샴푸 제조

Table 1과 같이 기본 처방으로 샴푸를 제조하였다. 양이온 폴리머 첨가 후 계면활성제를 투입하여 용해시킨 후, EDTA·4Na와 함유구연산을 첨가하여 pH를 중화시켰다. 기타 성분은 방부제, 향료, 분산제, 점도조절제 및 pH 조절제를 상온에서 첨가하여 400 rpm으로 교반하였다. 안티 에이징 효능 성분으로서 카르보다이미드 반응을 일으키는 펩타이드는 0.5%, 아미노산은 0.25% 첨가하였고, 샴푸 교반 후 0.1%로 폴리카르보다이미드 또는 프로폴리스를 Table 1 처방 베이스에 첨가하였다.

2.2.2 세정 처리

모든 모발은 표면의 지질 및 불순물을 제거하기 위해서 모발 중량 대비 10% SLES 용액으로 45 s 동안 거품을 낸 후 2 min 간 행굼을 2회 반복하였다. 모발 트레스는 1.25 g으로 제작 후, 본드로 접착하고 이를 동안 자연건조 시킨 후 윗 부분의 1 cm를 잘라 없앤 후, 전체 길이 25 cm 되게 아랫부분을 잘라내었다. 이렇게 제작하여 1 g으로 만든 트

레스에 상기 Table 1에서 제조한 샴푸 1 mL를 투여하여 거품을 문질러 45 s 간 내고 유속 4 mL/s 흐르는 물로 2 min 간 행굼의 과정을 반복 실시하였다. 처리한 모발은 25 °C 상대습도 50%인 항온항습실에 하룻밤 동안 두었다.

2.2.3 블리치 처리

표백 처리를 위한 1제는 28% 암모니아수 30 mL와 monoethanolamine (MEA) 60 mL, 물 660 mL를 혼합한 것이고, 2제는 35% 과산화수소 128.6 mL와 Turpinal SL (Thermphos Int.) 1.3 mL과 물 620 mL으로 제조하였다.

27% SLES 53.58 g을 물 1500 mL에 넣은 용액에 모발 트레스를 1 h 방치하였다. 다음 트레스를 꺼내어 손빗질 10번을 하고 15번 행구고 드라이어로 2 min 동안 건조한 후, 다시 SLES 세정액에 모발 트레스 2개씩 1제에 30 min 동안 넣었다. 흐르는 물에서 10 min 동안 두고, 다시 2제에 모발을 10 min 동안 담그고 흐르는 물에 5 min 동안 두었다. 15% SLES용액에 넣고 10번 휘저은 후 흐르는 물에 2 min 행구고 드라이어기로 2 min 동안 건조하였다.

2.2.4 염색 처리

모발 1 g 트레스를 SLES 2회 처리하고 엘라스틴 제품 oil blended foam color로 1제와 2제를 1 : 2로 혼합하여 모발 1 g에 2 g씩 골고루 도포하였다. 30 min 후 SLES로 1회 세정하고 드라이어로 2 min 동안 건조하였다.

2.2.5 펴 처리

펌 1제 11% 암모니움 타이글라이코레이트(ammonium sulfanylacetate)를 제조하고 pH를 9.5로 적정하였고 펴 2제로 3% 과산화수소(hydrogen peroxide)를 제조하고 pH를 7.0로 적정하였다. 모발 1g 트레스를 SLES 2회 처리하고, 펴 1제 2 g을 스포이트로 트레스에 골고루 뿌린 후 모발에 균일하게 도포하고 호일로 밀폐하여 20 min 동안 방치하였다. 4 mL/s 흐르는 물에 10 min 동안 행구고 펴 2제 2 g을 골고루 모발에 도포하고 10 min 동안 방치하였다. 흐르는 물에 5 min 동안 행구고 SLES로 세척하고 2 min 동안 드라이어로 건조하였다.

2.3 지질 추출

머리카락에서 추출한 9개 지질의 정량값을 결정하기 위해서 통계를 위한 실험 샘플 개수는 다음과 같았다. 총 6개 모발에서 각 모발마다 모발 묶음을 2번 채취하여 실험

하였고, 각 채취한 모발마다 1 g 묶음 트레스를 2개씩 제작하여 분석한 값을 모두 평균하여 최종적으로 기준값을 정하였다.

유기용제를 사용하여 다음과 같은 다단계추출방법을 이용하였다. 표준물질 용액은 클로로포름과 메탄올을 2 : 1 (v/v)로 혼합하고 1 mg/mL로 하나로 준비하였다. 모발 총 1.2 g을 준비하고 모근에서 10 cm 정도 떨어진 모발 중간 부를 1 mm 이하로 잘게 잘랐다. 잘게 자른 모발 250 mg을 클로로포름과 메탄올의 2 : 1 (v/v) 혼합 용제 30 mL에 넣고 3 h 동안 초음파 시킨 후 상층액을 분리 보관하였다. 계속해서 남은 모발에 추가로 클로로포름 메탄올의 1 : 1 (v/v) 혼합 용제 30 mL을 넣고 3 h 동안 초음파자극을 준 후 상층액을 분리 보관하였다. 다음으로 모발에 클로로포름 메탄올의 1 : 2 (v/v)의 용제 30 mL를 추가한 뒤 3 h 동안 초음파 시킨 후, 3 h 정지하여 상층액을 분리 보관하였다. 최종적으로 모아놓은 상층액을 0.5 mL까지 농축기 (JeioTech, hx-03, Korea)로 농축한 후, 다시 클로로포름과 메탄올의 2 : 1 (v/v) 용매로 3 mL로 표정하고 기기분석을 수행하였다.

2.4 GC/MS 평가

시질을 분석하기 위해서 gas chromatography/mass spectrometer (GC/MS)를 사용하였다. GC/MS는 Agilent 7890A (US)를 사용했고 Agilent detector (5975C MSD)를 붙였다. 각각의 표준물질(Sigma Aldrich, US) 100 mg 을 취하여 10 mL 부피플라스크에 넣고 클로로포름 : 메탄올 2 : 1 (v/v)용제에 녹여 표준원액으로 사용하였으며, 각각의 표준원액의 농도를 10000 mg/L로 제조하였다. 10개의 표준원액을 10 mL 부피플라스크에 각각 1 mL를 분취하고 표선을 맞춰 혼합표준용액으로 사용하였으며, 혼합표준용액의 농도를 1000 mg/L로 맞추었다. 혼합표준용액 1000 mg/L를 calibration range 10 ppm에서 250 ppm까지 6 포인트로 정하여 단계적으로 희석하여 사용하였다.

내부표준물질 O-terphenyl 2000 mg/L는 1 mL로 분취한 표준물질과 시료에 각각 10 μ L 주입하여 분석시료로 하였으며, 이때 내부표준물질의 농도는 20 mg/L로 하였다.

최종 정량 분석값은 다음과 같이 구하였다.

기기결과(ng) X 최종액량(3mL) / 시료량(g) X 기기주입량(1 μ L) = μ g/g

단, 여기서 기기결과는 기기로 분석된 값이며, 최종액량은 시료를 써서 전처리 후 추출한 최종 액량으로 표정한 부피이며, 시료량은 전처리에 사용된 모발의 무게이며, 기기주입량은 기기로 주입된 검액의 양 1 μ L이다.

2.5 DSC

모발 내부 구조를 열 공급으로 나오는 흡열 반응으로 이해하기 위해 differential scanning calorimeter (DSC, Netzsch, DSC204 F1 Phoenix, Germany)로 평가하였다. 잘게 자른 모발 1 g을 min 당 10 $^{\circ}$ C로 상승시키며 건조 모드로 측정하였다.

2.6 AFM 분석

Atomic force microscope (AFM)은 XE-100 (Park Systems, Korea)로 Lateral force microscopy (LFM)로 횡축 방향에서 걸리는 힘을 측정하였다. 팁은 LFM (Nanosensors, US)를 사용하였다. LFM 측정을 위해 한 개의 샘플 처리군 당 모발 3모를 사용하였으며 5 micron 면적 내부의 값을 20개 위치로 정해 값을 매긴 후 평균하였다. 스캔과정에서 오일과 일어나는 점착력에 관한 노이즈를 최소화하기 위해서 scan rate을 0.1 Hz로 유지하였다.

Roughness 값의 수치화 R_q (root mean square)로 각 구역의 LFM 값 Z_n 과 평균값 Z_m 을 2 μ m X 2 μ m에 있는 표본에서 다음 수식으로 계산하였다.

$$R_q = \sqrt{\frac{\sum_{n=1}^N (z_n - z_m)^2}{N-1}}$$

2.7 인장강도

모발 한 가닥의 양쪽 끝에 거리 30 mm로 크립프를 끼우고 프레스로 눌러서 모발 샘플을 준비하였으며, Laser scan micrometer (Mitutoyo, Japan)를 이용하여 모발 단면적을 측정하였다. 모발 단면적이 측정된 각 모발 가닥을 섬유강도 측정기(Diastron, MIT175 Dia tester, UK)를 이용하여 인장강도를 측정하였다.

인장강도 측정기는 홀더가 모터의 회전력을 직진운동으로 변화시켜 이동하면서 모발을 당기게 되고 맞은편 홀더가 로드셀(load cell)의 역할을 하여 모발을 당길 때 걸리는 힘을 측정하여 모니터에 그래프로 기록한다. 홀더 위에 모발 샘플을 올려 20 mm/min의 인장 속도로 모발 샘플을 당

겨주었는데, 모발이 당겨지면서 점차 구조상의 변화가 가해지고 끊어지게 되며 이는 모발이 끊어질 때의 힘의 강도 (break load, gmf)를 의미한다. 최종적으로 모발 면적 당 break load를 계산하여 모발 인장강도(break stress)를 $N = 20$ 으로 평균하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 내인성 노화 모발 특성 분석

내인성 노화가 진행된 모발의 물성 변화를 매개로 내인성 노화 모발과 가장 유사한 외부 자극에 의해 생성된 외인성 노화 모발 모델을 제작하는 것이 본 연구의 목적이다. 이를 위해서 우선적으로 내인성 노화가 진행된다면 일어나는 세 가지 변화를 고려하였다. 내인성 노화가 일어나면, 첫째로 큐티클에 변화가 일어나는데 큐티클이 일어나는 손상보다 전체적으로 깨지는 현상이 증가한다[4]. 이 부분은 외부 표면의 변화이기 때문에 이를 구현한다고 해도 내부 물성 변화를 유도할 수는 없다.

둘째로 모발 구조 변화가 일어나는데 이는 이황화 결합 감소나 α -helix의 변화로 관찰될 수 있다[15]. 하지만 이를 관찰할 수 있는 circular dichroism으로 판단하기 위해 모발 구조 변화를 관찰하였으나 모발 개체간 편차가 크게 발생하여 표준화 할 수가 없었다(data not shown).

세번째 변화는 지질 변화로 45세 이상의 모발에서부터 지방산의 감소가 일어난다[4]. 이 사실을 바탕으로 본 연구에서는 내인성 노화 모발의 지표로 지방산을 선정하여 분석하고, 이를 랩에서 외인성 노화를 진행시킨 모발에서 추출한 지질량과 비교하여 최종적으로 내인성 노화 모발과 가장 유사한 외인성 노화 모발 처리 조건을 알아보기 위해 지질함량 분석을 진행하였다.

3.1.1. 모발 지질 추출 및 정량법 확립

모발에서 지질을 추출하는 방법은 다른 조직에서 지질을 용출하는 방법과 동일한데 보편적으로 클로로포름과 메탄올 용제를 사용한다. 용제를 이용하여 모발 내부의 지질을 용출시키고 이때 과다 사용된 용제를 농축하여 용제 안의 지질 농도를 높인 후 질량 분석법으로 지질량을 정량한다.

이때 용제로 클로로포름과 메탄올은 알칼리 가수분해를 이용한 것으로 가장 많이 쓰이는 추출 용제이다[16-22]. 그런데 모발 지질 추출에 사용된 용제들은 클로로포름 또는 메탄올을 단독으로 사용했거나, 혼합으로 사용하는데 이

혼합 용제도 연구마다 비율이 다를뿐더러 시리즈로 사용하기도 하여서, 어떻게 하는 것이 지질 용출을 최대 시켜서 연구 데이터의 변별력을 높일 수 있는지는 알려져 있지 않다. 따라서 용제에 관하여 정확하게 지질 정량을 비교 분석한 데이터가 필요한 실정이다.

Duvel은 머리카락의 부위별 지질함량을 측정하기 위해서 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 고온에서 혼합용제를 11번 교환하여 포집한 후 최종 표정하여 분석하였다[16]. 가장 정확할 수는 있지만 많은 시간과 노력이 소요된다. KAO의 Masukawa 등은 모발에서 지질을 추출하기 위해서 클로로포름 : 메탄올 혼합 용제 2 : 1, 1 : 1, 1 : 2 (v/v)로 혼합하고 물을 마지막에 첨가하여 용출시키는 시리즈법을 따랐다[17-19]. Unilever의 Wu는 처음으로 헥산을 포함한 다양한 용제들로 비교하여 최대 스쿠알렌을 용출할 수 있는 조건의 용제가 클로로포름과 메탄올 2 : 1 (v/v) 혼합용제임을 밝혔다[20]. 하지만 이 연구는 스쿠알렌에서만 확인된 한계가 있다.

모발뿐만 아니라 다른 생체 조직에서 지질을 추출할 때 연구자들은 어떤 것이 가장 적합한지 모른체 단지 예전에 나온 문헌에서 나온 방법을 무조건적으로 수용할 수밖에 없는 실정이다. 본 연구에서는 처음으로 다양한 용제를 사용하여 지방산을 추출하여 용제별로 지방산 함량을 비교 분석해보았다.

다양한 용제에 대한 지방산의 용출 패턴은 똑같았기 때문에(data not shown) 모발 지방산 중에 가장 함량이 많은

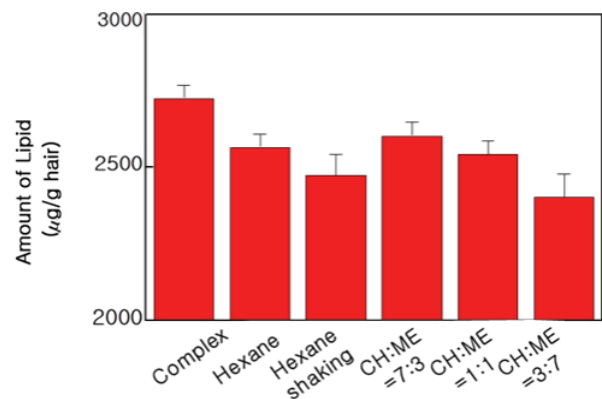


Figure 1. Amount of palmitic acid from human hair extracted with different solvent systems (N = 10). CH: chloroform, ME: methanol. in various solvent. Complex indicates that the chloroform : methanol series of 2 : 1, 1 : 1, and 1 : 2 for 3 hours each with sonication. All extractions were performed for 9 hours.

팔미틱산(C16)을 Figure 1에 대표해서 표기하였다. 모든 용제는 3 h 동안 초음파 세척기에서 초음파를 통해 지질을 용출시켰다. Figure 1에 따르면 혼합용제를 시리즈로 사용할 경우에 가장 많은 지질을 용출시킬 수 있었다.

혼합용제는 클로로포름과 메탄올을 2 : 1과 1 : 1, 1 : 2 (v/v)로 총 3번에 걸쳐서 새 용제로 교환한 조건이다. 지질이 추출되어 있는 용제를 새로운 용제로 교환하게 되면 새 용제(fresh) 용제에 지질이 더 추출되기 쉬워지기 때문에, 용제의 교환 없이 단일 용제로만 추출한 조건은 지질을 추출하는데 더 불리하게 보일 수 있다. 하지만 실제로 추출되는 지질량은 μg 스케일인데 반해 용제의 부피는 300 mL로 용제의 부피가 상대적으로 매우 크기 때문에 용제를 새롭게 교환하지 않아도 지질이 용출될 공간이 충분한 것으로 보인다. 즉, 혼합용제에서 3번 새롭게 용제를 교환한 것이 더 많은 지질을 용출시킨 결과는 다양한 비율의 클로로포름과 메탄올이 다양한 지질을 용출시켜서인 것으로 보인다. 지방산의 용해도는 다른데, 가령 미리스틱산의 용해도는 용해도 22 mg/L이고 스테아릭산은 0.597 mg/L로 알려져 있다[23]. 그런데 이에 비해 다른 지방산의 용해도는 매우 낮다[23]. 메탄올이 많이 함유된 용제는 극성이 상대적으로 높기 때문에 지방산 중에 상대적으로 용해도가 높은 미리스틱산이나 스테아릭산 지방산을 용출시키는데 유리했던 것으로 보인다. 따라서 Figure 1에서는 지질마다 용해도가 다르기 때문에 다양한 용제를 시리즈로 혼합하여 추출하는 것이 더 낫다는 것을 입증하였다.

마침내 GC/MS에서 지표물질이 검출되는 질량 그래프를 Table 2와 같이 얻었으며 이를 바탕으로 모발에서 추출한 지질을 검량하였다. 본 연구에서는 지방산의 retention time 인근 시간에서 검출되며 지방산과 비슷한 감도를 가진 o-Terphenyl를 내부 지표물질로 사용하였다.

Table 2. Retention Time (RT) for The Hair Lipids and The Internal Standard o-Terphenyl

No.	Compound	RT (min)
1	Myristic acid	19.2
2	o-Terphenyl	21.5
3	Palmitic acid	22.6
4	Oleic acid	24.6
5	Stearic acid	25.4
6	18-MEA (methyl ester)	27.2

모발 내부의 지질량을 분석하기 위해서 가장 먼저 모발 표면에 붙어있는 다른 불순물 및 오염물들을 제거할 필요가 있다. 모발 지질 분석 연구의 목적은 모발 내부 지질량을 평가하는 것이기 때문에 모발 표면에 있는 지질을 평가함에 반영해서는 안된다. 그리고 모발 표면에는 지질뿐 아니라 많은 오염물이 있기 때문에 정량 분석을 할 때 방해 줄 수 있다. 따라서 외부에 있는 불순물을 제거하기 위해서 모발 내부에는 영향을 미치지 않는 정도로 가볍게 세정할 필요가 있다.

엑스선 광전자분광법(X-ray photoelectron spectroscopy) 연구에 따르면 계면활성제로 모발을 1회 세정하면 모발 표면에서 2 nm까지의 지질이 용출되고 그 아래는 보존된다[23]. 모발 지질량을 분석한 많은 문헌들에서는 모발 지질 분석에 앞서 SLES를 사용하거나 헥산을 사용하여 표면을 깨끗하게 한다. 하지만 이런 세정이 정확하게 모발에 어떤 영향을 미치는지는 알려져 있지 않았다. 본 연구에서는 처음으로 이런 사전 세정이 모발 지질량에 얼마의 영향을 주는지 정량평가 해보았다.

Figure 2는 머리카락 표면을 세정하고 그 머리카락의 지질을 용출하여 GC/MS로 지방산을 분석한 결과이다. 세정을 하기 전의 모발의 지질량과 SLES로 1회 세정이나 헥산으로 5 min 담근 모발의 내부 지질 함량은 차이가 없었다. 하지만 헥산에 30 min 동안 담글 때는 유의차가 발생하였다. 즉, 헥산에 담그면 모발 내부에서 확산을 통해 지질이 계속 용출되어 나옴을 알 수 있다. 헥산으로 5 min 동안

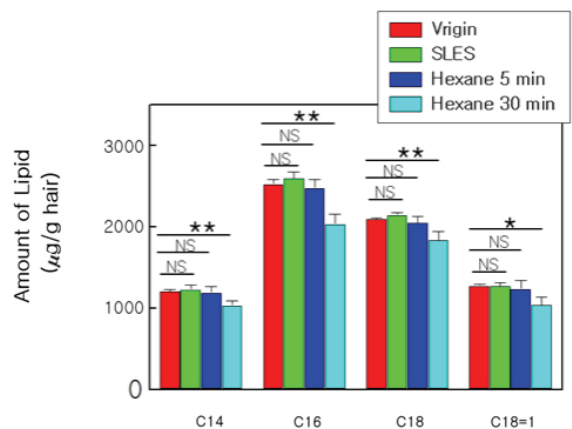


Figure 2. Quantitative comparison of pre-washed hairs. The lines above the bar graph denote a significant difference (N = 4) calculated using Student's t-test. NS – not significant, * $p < 0.05$, and ** $p < 0.01$.

담글 때는 지질량에 변화가 없었으므로 본 실험에서는 핵산 5 min 을 사전 세정 조건으로 결정하였다.

3.1.2. 외부 자극 모발 지질 분석

모발은 모발 중량의 65 ~ 95%를 차지하는 수분 및 단백질과 지질로 이루어져 있다[24]. 지질은 모발 1 g당 24.79 mg 존재하는데[17], 인종과 사람마다 그 함유량이 모두 다르다[25]. 하지만 보편적으로 지질은 다섯 가지로 크게 나뉘는데 58% 지방산, 20% 왁스에스트(Wax ester), 5% 콜레스테롤, 3% 스쿠알렌과 2% 글리세라이드로 구성되어 있다[26]. 이 중에 가장 큰 함량을 차지하는 지방산은 36% 팔미틱산(C16), 18% 올레익산(C18 = 1), 9.5% 미리스틱산(C14), 5%의 스테아릭산(C18)으로 이 네 가지가 대다수를 이룬다. 따라서 본 연구에서는 이 네 가지 지방산을 중심으로 지질량을 분석해 보았다.

Figure 3의 결과는 외부 자극에 의해 모발이 겪는 손상을 실험으로 구현하고 그 모발의 지질량을 정량한 것이다. 외부 자극은 대표적으로 탈색, 염색, 펌의 화학적 손상과 물리적인 세정에 따른 손상으로 나뉘는데 모발 지질 소실 변화를 관찰하기 위해 지방산 함량을 분석하였다. 탈색, 염색, 펌과 세정의 경우 모두에서 처리 횟수가 증가함에 따라 지질량이 감소함을 알 수가 있다.

그런데 (A) 탈색의 경우는 1회차와 2회차의 경우 유의차가 관찰되지 않았다. (B) 염색의 경우도 C18을 제외하면

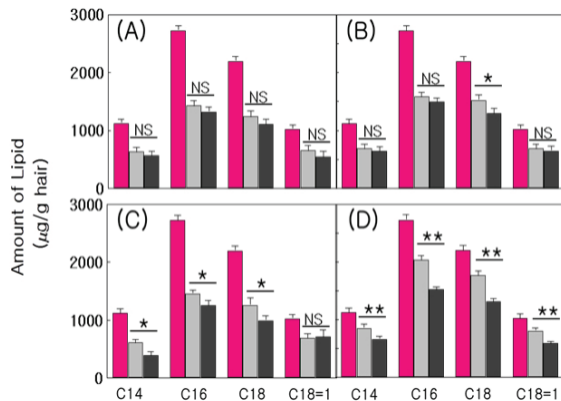


Figure 3. Amount of fatty acids from human hair. (A) Bleach, (B) Dye, (C) Perm, (D) Shaking for 5 min. Pink bar: untreated. Gray bar: treated once; Black bar: treated twice. The lines above the bar graph denote a significant difference (N = 4) calculated using Student's t-test. NS – not significant, * $p < 0.05$, and ** $p < 0.01$.

유의차가 관찰되지 않았다. (C) 펌의 경우는 올레익 산을 제외하고는 유의차가 * $p < 0.05$ 로 관찰되었으며, (D) 세정의 경우 ** $p < 0.01$ 이었는데 화학적 손상에서는 처리횟수가 증가할수록 지질량이 감소하나 대다수의 소실은 1회차 때 소실된 것으로 볼 수 있다. 한편 이 결과들을 볼 때 처리 횟수에 따라 가장 변별력이 있는 지질량 변화는 펌 처리임을 알 수가 있다.

3.1.3. 내인성 노화 모발과 외부 자극 모발 지질량 비교

피지는 피지샘에서 연속해서 분비되는데, 대다수의 머리카락 지질들은 피지샘이 아닌 모낭에서 분비된다[1]. 따라서 한번 머리카락 지질이 소실되면 완전하게 채워지는 것이 어렵다[1]. 이와 같은 이유로, 모낭 또는 피지샘으로부터 지질이 이동하여 cell membrane complex (CMC)를 통해 모발 내에 지질이 최대한 채워진 머리카락을 기준으로 삼기 위해 머리카락 공여 당일 세정을 하지 않은 머리카락을 구하여 지질을 추출함으로써 내인성 노화 머리카락의 객관화를 확보하였다. 그리고 최근 1년간 화학적 손상을 전혀 가하지 않은 공여자의 모낭에서 5 cm ~ 15 cm 구역 머리카락을 구함으로써 외인성 손상이 일어나지 않은 머리카락을 내인성 노화 머리카락으로 삼았다.

Figure 4는 아침에 세정을 하지 않고 1년간 화학적 손상이 없던 20대 여성 모발들과 내인성 노화가 진행되어 있다고 판단되는 60대 여성 모발들에서 추출한 4개 지방산들과 스쿠알렌의 농도를 나타낸 것이다. 이들과 지질 함량을

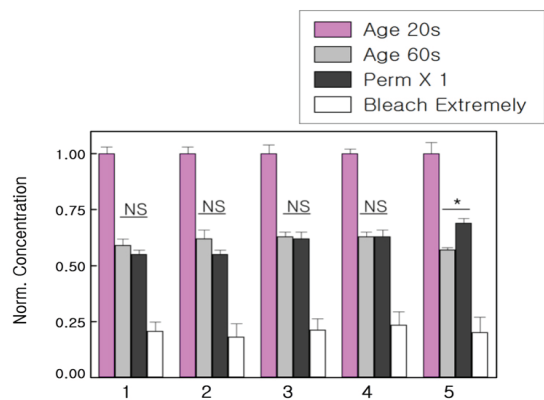


Figure 4. Normalized concentration of lipids from human hairs by GC/MS. 1: Myristic acid; 2: Palmitic acid; 3: Stearic acid; 4: Oleic acid; 5: Squalene. The lines above the bar graph denote a significant difference (N = 2) calculated using Student's t-test. NS – not significant and * $p < 0.05$.

비교하기 위해서 Figure 3에서 외부 자극을 진행시킨 펄 1회 손상모와 탈색 과정을 수회 반복한 모발의 지질 추출량을 평균하여 나타내었다. 다만, 각 지질간 절대값 차이가 크기 때문에 20대 모발을 기준으로 평균(normalization)하여 나타내었다.

여성의 경우 피지샘의 50대의 피지 분비량은 20대 피지 분비량 대비 64%이고 60대는 58%로 조사되어 있다[27]. 이와 유사하게 Figure 4의 GC/MS로 평가한 데이터도 60대 모발에서 추출한 지질량이 20대 모발 추출 지질 대비 57% 내지 63%로 알려진 조사 수치와 유사한 수준으로 평가되었다. 따라서 60대 내인성 노화가 확실하게 진행된 모발의 지질 수준을 20대 지질량 대비 평균 60% 정도로 볼 수 있으며, 본 연구에서 사용한 샘플의 지질값과 정량법으로 연구를 진행하는데 문제가 없음을 알 수가 있다.

펄 1회 내지 3회, 염색 또는 탈색을 1회 내지 3회로 처리한 모발의 지질량을 GC/MS로 분석 비교하였는데, 펄 1회 처리 한 모발의 지질량이 60대 여성 모발 지질량과 가장 유사한 수준으로 평가되었고 특별히 스쿠알렌을 제외하고는 모두 유의차가 없는 것으로 분석되었다. 따라서 본 연구에서는 외부 자극 펄 1회 처리 모발을 내인성 노화 모발의 실험 모델로 삼고 외인성 노화 모발로 채택하였다. 계속해서 펄 1회 외인성 노화 모발의 물성 평가들을 진행해 보았다.

3.2. 외인성 노화 모발 물성 측정

큐티클 손상은 큐티클이 일어나거나 깨지는 형태로 나뉘는데, 40대 이상에서 나타나는 내인성 노화 머리카락에는 큐티클이 깨지는 손상 형태의 비중이 높아지는 것으로 알려져 있다[15]. 큐티클층의 최외곽에는 에피큐티클이 위치하는데 18-메틸아이코사노익 지방산(18-MEA)이 모발 단

백질과 결합되어 있다[1]. 그런데 큐티클이 많이 깨져있는 손상모는 18-MEA의 함량이 낮은 것으로 조사되어 있다[15].

이 18-MEA 지질 소실은 외인성 노화로서 산화제가 침투할 때도 생기는데 18-MEA 지질 소실의 흔적은, 실제로 AFM으로 topography를 관찰할 때, 산화제에 의해 모발 표면에 생성되는 수십 nm 스케일의 구멍으로 관찰된다[28]. 내인성과 외인성 노화가 진행된 머리카락에 공통적으로 나타나는 특징은 큐티클의 거칠기가 증대되는 것이다[4,7]. 따라서 외인성 노화에 의해 발생한 나노스케일의 큐티클 표면 손상에 의한 거칠기의 값은 노화의 지표가 될 수 있다.

나노스케일의 거칠기를 평가하기 위해서 AFM을 이용해서 스캔 방향과 평행하게 걸리는 힘을 측정하기로 하였다. 모발 횡축 방향으로 움직일 때 걸리는 힘을 lateral force 라고 하며 이를 LFM (lateral force microscopy)라고 한다[29]. 이를 이용해서 머리카락에 흡착된 컨디셔닝제나 머리카락들의 거칠기를 판단할 수 있다[30].

Figure 5에서와 같은 LFM 값을 20 군데 지역을 평균화한 LFM의 Rq 값은 20대는 0.47 ± 0.03 , 60대는 0.68 ± 0.11 , 펄 1회 처리 모발은 0.65 ± 0.14 로 평가되었다. 따라서 LFM을 통한 수치 결과는 펄 1회 처리 모발이 60대 내인성 노화가 진행되어 있는 모발과 유사한 표면의 거칠기 수준을 보인다고 볼 수 있다.

Figure 6은 내인성 노화에 의해 감소된 인장강도를 Figure 4와 5에서 수행했던 외인성 요인에 노화된 모발의 인장강도와 비교한 것이다. 60대의 머리카락은 20대 머리카락에 비해 인장강도가 23% 정도로 감소되는 것으로 보고되어 있다[31]. Figure 4와 5에서 살펴 본 펄 1회 처리한 외인성 노화 모발의 인장 강도가 어느 정도 감소시키는 지 실험하였는데 대략 18.2% 감소하는 것으로 나타났다. 이것은 연구문헌[32]의 결과와 크게 차이가 나지 않음을

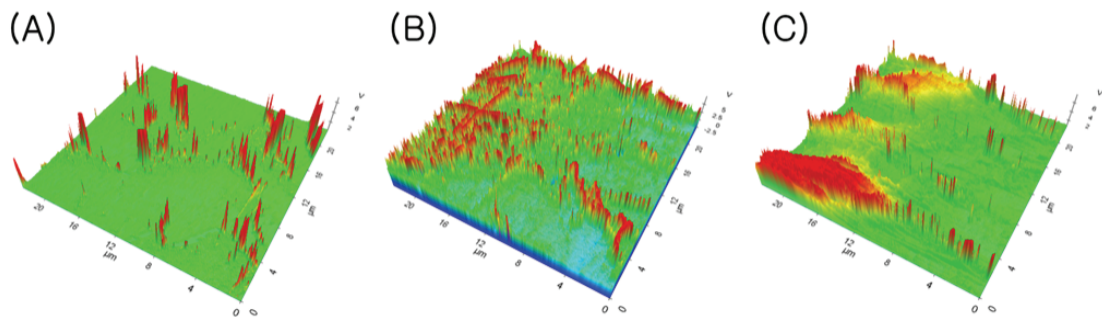


Figure 5. Roughness response to LFM for hair of age 20 s (A), age 60 s (B), and perm treated once (C).

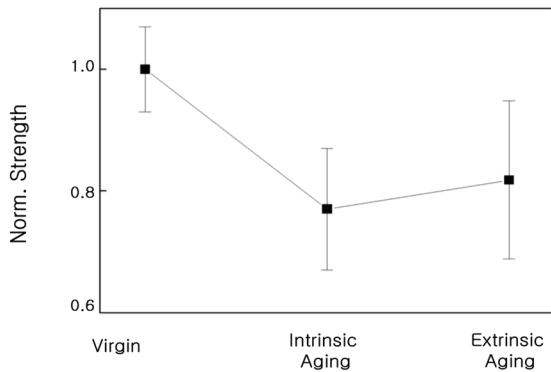


Figure 6. Normalized tensile strength of virgin, aging hair by the intrinsic factor[31], and aging hair by an extrinsic factor same as that from Figure 4 and 5 (N = 20).

알 수 있다.

상기 인용한대로 노화의 두 가지 요인인 외인성과 내인성 노화는 본질적으로 진행되는 원인이 다른 것이지만, 둘 다 유사한 물성 변화를 겪을 뿐 아니라 게다가 둘은 병행해서 노화가 진행되는 관계이다. 따라서 두 가지 노화에 의해 발생된 물성값, 즉 손상 정도로 외인성과 내인성 노화간 상관관계를 매길 수 있다. 본 연구에서는 인위적으로 외부 자극을 가함으로써 내인성 노화가 진행된 모발과 동등한 수준의 물성 샘플을 개발하고자 GC/MS를 이용한 지질 정량 분석(Figure 4)과 AFM을 이용한 표면 거칠기 값(Figure 5)을 평가한 결과 60대 모발 대체제로서 펴 1회 처리 모발이 적합함을 발견하였다.

3.3. 안티 에이징 효능 평가

에이징으로 인해 일어나는 모발 손상 문제를 해결하기 위한 안티 에이징제로 트리트먼트, 항산화제나 광수용체 같은 많은 치료제가 나오고 있다[7]. 본 연구에서는 3.2에서 확정한 펴 1회 처리 모발을 노화 모발로 규정하고 펩타이드를 이용한 카르보디이미드 반응과 프로폴리스를 이용한 내부 성분을 채우는 보강 기술의 효능 평가에 사용하였다.

머리카락에 아미노산 또는 펩타이드를 침투시켜 머리카락과 결합시키는 연구들은 인장 강도나 향 흡착량 증대 등의 목적으로 많이 진행되고 있다[32-34]. 머리카락은 30대 부터 아미노산 및 시스테인 함량 변화와 함께 모발 구조 변화가 시작된다[36]. 본 연구에서는 머리카락에 단백질 펩타이드를 첨가하여 노화로 인해서 줄어든 내부 단백질을 채우고 동시에 카르보디이미드 반응으로 내부 결합을

강화시킴으로써 노화된 모발의 구조에 변화가 일어나는지 관찰하고자 하였다.

머리카락 내부의 카르복실기에 카르보디이미드 반응을 일으켜 모발 내부를 내구성 있게 채우고 동시에 내부간 결합력을 강화시킬 수 있도록 하기 위해서 폴리카르보디이미드와 아민기를 가진 펩타이드 또는 아미노산을 침투시켜 Figure 7A와 같이 반응시켰다. 이렇게 첨가된 펩타이드 또는 아미노산은 모발 내부에서 안정적으로 결합하고 있기 때문에 세정을 하여도 첨가 소재가 내부에서 빠져나오지 않는다[32]. 카르보디이미드 반응은 모발 내부를 치밀하게 채우며 서로 결합하고 있기 때문에 손상받기 전에 존재하던 이황화 구조가 유지하던 결합력을 복원시켜주는 효과가 생기게 되어 인장강도 증대를 유도할 수 있다[32].

DSC는 단백질 내부 구조를 파악하는데 가장 유용한 분석 방법으로서 온도를 올릴 경우 230 ~ 240°C에서 α -helix 구조가 관찰된다[36]. 단백질 helix 구조의 변성(denaturation)은 고온에서 DSC peak의 온도에 shift를 유도한다[37].

Figure 7에서는 펴 1회 처리한 머리카락을 내인성 노화가 진행된 머리카락의 대체제로 사용하였다. DSC 결과를 보면 α -helix를 지칭하는 peak이 232°C에서 생성되었는데 노화가 진행된 머리카락은 peak이 2.5 °C 낮은쪽으로 shift된 것을 볼 수 있다. 노화가 진행된 머리카락, 즉 펴 1회 처리 머리카락에 아미노산과 펩타이드를 함유시켜 카르보디이미드 반응을 시키니 α -helix peak은 231 °C에서 생성되었다. 즉, 노화된 머리카락 내부의 결합력이 강화되어 열 반응 온도가 상승한 것을 알 수 있다. 이것이 내부 강도의 변화를 일으키는 지 살펴보기 위해 계속해서 인장강도 테스트를 해보았다.

Figure 8에서 사용한 노화 모발은 3.1 단락에서 확정한 펴 1회 처리에 의한 외인성 노화를 받은 모발이다. 이 결과에 따르면 펩타이드와 카르보디이미드 반응을 노화 모발에 적용시킨 모발의 인장강도는 노화 모발 대비 9.6% 증대된 것으로 평가되었으며 그 통계적 유의차는 $p < 0.01$ 수준으로 분석되었다. 특별히 외인성 노화 모발(2번)과 카르보디이미드 반응 물질이 함유되지 않은 샴푸로 처리한 모발(3번)의 인장강도 측정치는 유의차가 없는 것으로 나타났다. Figure 7에서 관찰되었던 모발 내부의 구조 및 결합력 변화가 실제 모발의 강도 증대를 유도한 것으로 보이며 이는 안티 에이징 효능을 부여하였다고 볼 수 있다.

다음으로 모발 내부 결합 강화를 유도한 카르보디이미드 결합이 아닌 내부의 구성물을 채우는 효능을 외인성 노

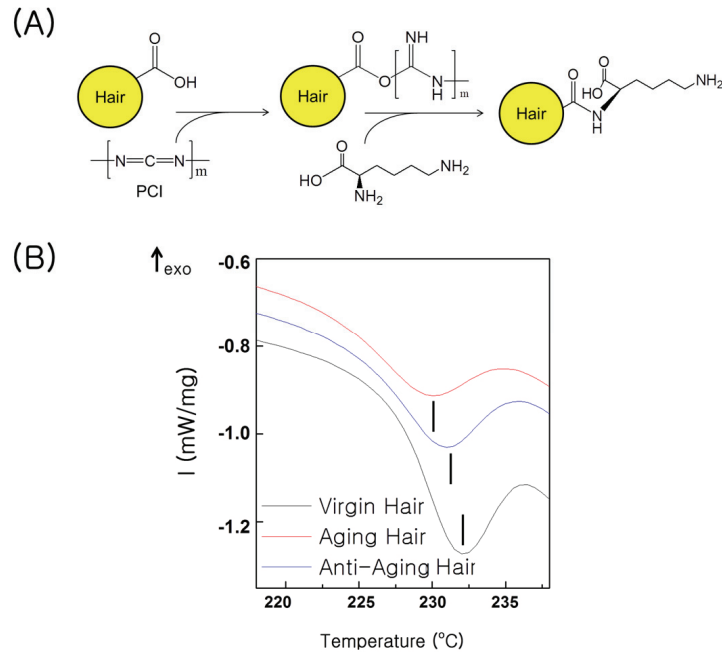


Figure 7. Carbodiimide reaction, a cross-linker of target of hair, has the strongest experimental support as a potential anti-aging therapeutic property in aging hair. (A) Chemical schemes for the procedures of the carbodiimide reaction with a lysine in hair. (B) Structural analysis for anti-aging effect using DSC with a virgin hair, and the aging hair by extrinsic factor, and the hair cared with the carbodiimide chemistry.

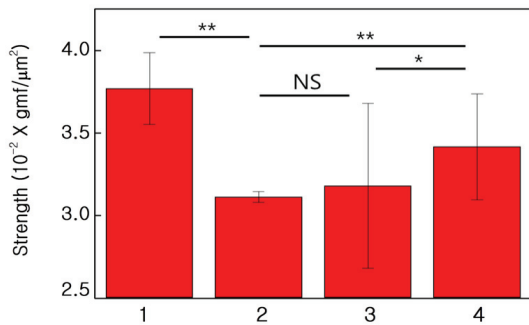


Figure 8. Tensile strength by the penetration of peptide into the hair. The lines above the bar graph denote a significant difference (N = 20) calculated using Student’s t-test. NS – not significant, **p* < 0.05, and ***p* < 0.01. 1: Virgin hair, 2: Perm damaged hair attributed to aging hair, 3: Hair treated with general shampoo without any carbodiimide reagents, 4 : Hair treated with shampoo including carbodiimide reagents based on the formulation of that #3.

화 모발을 대상으로 안티 에이징에 적용시켜 보았다. 꿀벌이 벌집의 흡과 금을 매꾸는데 사용하는 프로폴리스는 식물액과 꿀벌의 왁스와 침 분비물에서 나온 수지를 함유한 레진 계열의 화합물이다[38,39]. 꽃의 구성물과 기후조건 등에 따라 왁스를 포함한 프로폴리스의 조성물은 지역마다 다르지만, 대개 30%의 왁스 에스터와 아미노산과 지방산으로 이루어진 10%의 에셀셜 오일로 이루어져있다 [39,40]. 프로폴리스는 나노 섬유에 잘 침투 및 코팅하여 나노섬유 물성을 변화시킨다[41]. 따라서 본 연구에서는 프로폴리스를 샴푸에 투입하여 모발에 단백질 및 지방산을 공급함으로써 안티 에이징 케어가 되는지 관찰하였다.

Figure 9에 의하면 2번 모발과 비교할 때 4번 또는 5번 모발의 인장강도는 유의차가 *p* < 0.05 수준에서 인장강도가 14% 가량 증대된 것으로 관찰되었다. 즉, 프로폴리스를 모발에 침투시킬 경우 인장 강도가 증대된 것인데, 이는 노화로 인해서 모발 구성 성분 함량이 낮아져 결합이 불안정해 있는 머리카락에 프로폴리스가 함유한 아미노산과 왁스 에스터가 침투함으로써 내부 강도가 안정적으로 유지된 것으로 보인다. 특별히 점도의 제형이 달라진 4번과

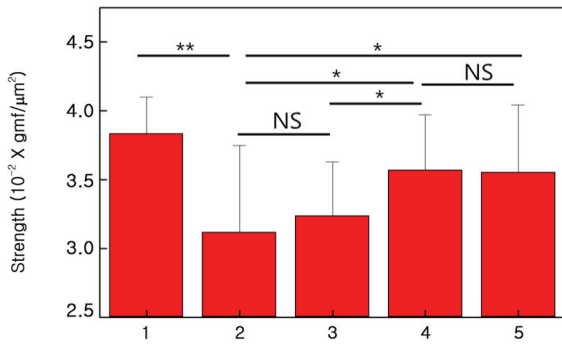


Figure 9. Tensile strength (n=20). 1: Virgin hair; 2: The aging hair; 3: Hair treated with a shampoo does not involve the entire ingredients of the internal reaction and the compensation; 4 and 5: Hair treated with shampoo including propolis. The difference between 4 and 5 is viscosity. The lines above the bar graph denote a significant difference (N = 20) calculated using Student’s t-test. NS – not significant, * $p < 0.05$, and ** $p < 0.01$.

5번에서도 두 사이의 유의차는 없지만 노화 모발과는 유의차는 있는 것으로 파악되어 인장강도의 효능 증대, 즉 안티에이징 효과는 다른 제형에 의해 발생한 것이 아니라

프로폴리스에 의한 것임을 알 수 있다.

마지막으로, 노화 진행으로 소실된 지질이 일으킨 모발 표면의 나노 스케일 크기의 결함을 표면 거칠도로 평가해 보기 위해서 나노스케일로 마찰력을 LFM으로 평가해보았다. 외인성 노화가 진행된 모발에 Figure 8과 9에서 사용한 아미노산과 펩타이드의 카르보디이미드 결합과 프로폴리스를 각각 모발에 적용하여 마찰력 감소를 통한 안티 에이징 효능이 표면에서 일어나는지 관찰하였다.

Figure 10에 따르면 노화가 진행되면 Rq 값은 평균 40% 가량 증대되었다. 하지만 아미노산 및 펩타이드 침투처럼 모발 내부 결합력을 강화시키거나 프로폴리스 침투처럼 내부 성분을 보강해주면 큐티클 층이 안정화되어 모발 외부의 거칠기가 감소하는 것을 알 수 있다. 실제 펩타이드와 프로폴리스는 체감 조사 결과에서도 거칠기 감소를 느끼는 것으로 인식 되었다(data not shown).

따라서 본 연구에서 진행하는데 사용한 펄 1제 처리 모발을 노화 모발로 간주하여 알려진 안티 에이징 효능을 확인한 결과, 그 효능이 노화 전 상태의 모발과 물성이 비슷한 패턴으로 변함을 알게 되었다. 이는 우리가 제시하는 노화 모발 대체제가 안티 에이징 효능을 충분히 반영해주고 있으므로 안티 에이징 실험 평가에 적합하다는 것을 반증해준다.

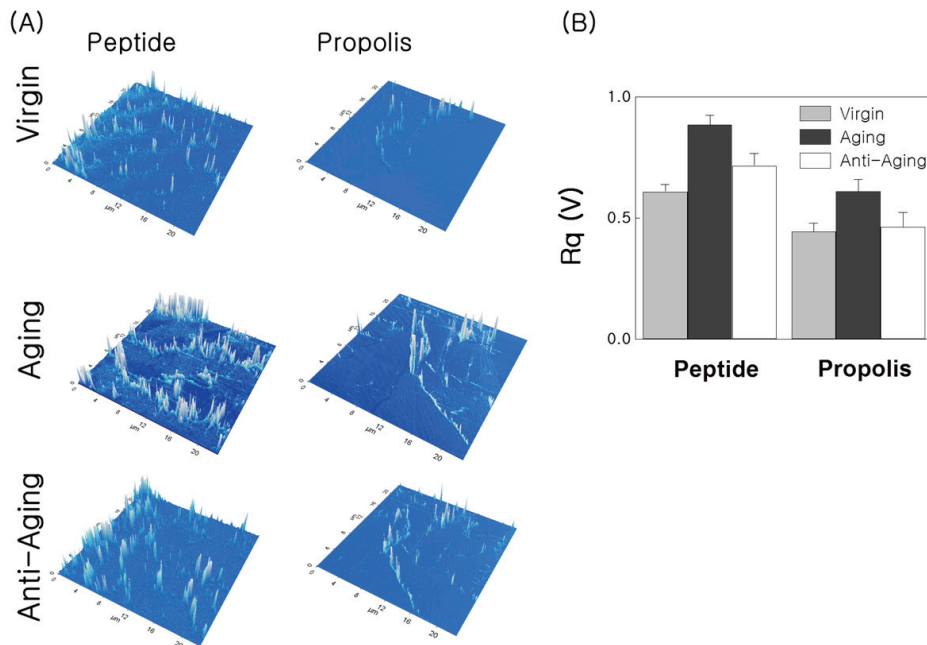


Figure 10. LFM for the hair treated with the carbodiimide reaction (left lane), or propolis as a supplementary constituent (right lane) upon the aging hair. (A) LFM mapping image, (B) Rq values response to LFM.

4. 결 론

본 연구는 모발이 겪는 외인성 노화 현상을 해결하기 위해 안티 에이징 효능 평가 샘플을 구현하고자 진행되었다. 외인성 노화에 의해 나타나는 대표적인 물성 변화는 내부 지질 소실과 거칠기 증대와 강도의 감소이다. 내인성 노화가 진행된 60대 여성의 모발과 산화 손상 처리를 진행시킨 외인성 노화 유도 모발들의 지질량을 정량적으로 비교한 결과 펄 1회 처리 모발이 가장 유사한 내부 지질량을 갖는다는 것을 발견하였다. LFM을 통해 나노 단위로 스캔하며 거칠기를 평가하고 매크로 스케일에서 인장강도를 평가한 결과 펄 1회 모발이 노화 샘플 대체제로 활용하는데 적합하다고 결론지었다.

이를 통해서 외인성 노화가 유도 된 모발에 내부 결합력을 증대시키는 카르보디이미드 결합을 진행시키거나 프로폴리스로 내부 구성 성분을 보강해주는 처리를 한 결과, 실제 모발의 구조 변화가 일어남을 DSC를 통해 확인하였다. 또한 인장 강도의 증가 및 모발 표면의 거칠기 감소 등 물성의 변화가 함께 유발됨을 확인함으로써 안티 에이징 효능을 반영하는데 적합한 노화 모델임을 확인하였다.

Acknowledgment

효능 평가에 도움을 준 윤지선 책임연구원과 DSC 측정에 도움을 준 KAIST 하영훈 박사님에게 고마움을 표합니다. 지질함량 분석에 도움을 주신 성균관대학교 무배출형 환경설비지원센터 김영현 과장님과 오현주씨, 그리고 충남대학교 분석과학기술대학원 안현주 교수님, 서나리씨와 김수민씨, LG생활건강 유해물질분석랩 박홍순 수석연구원님께 감사드립니다.

Reference

1. C. R. Robbins, Chemical and physical behavior of human hair, Ed C. R. Robbins, 94, Springer, Heidelberg (2012).
2. L. R. Setty, Hair patterns of scalp of white and negro males, *Am. J. Phys. Anthropol.*, **33**(1), 49 (1970).
3. R. M. Trueb, Aging of hair, *J Cosmet Dermatol*, **4**(2), 60 (2005).
4. W. Tang, S. G. Zhang, J. K. Zhang, S. Chen, H. Zhu, and S. R. Ge, Ageing effects on the diameter, nanomechanical properties and tactile perception of human hair, *Int J Cosmet Sci*, **38**(2), 155 (2016).
5. J. A. Seo, I. H. Bae, W. H. Jang, J. H. Kim, S. Y. Bak, H. S. Han, Y. H. Park, and K. M. Lim, Hydrogen peroxide and monoethanolamine are the key causative ingredients for hair dye-induced dermatitis and hair loss, *J. Dermatol. Sci.*, **66**(1), 12 (2012).
6. A. D. Bailey, G. Zhang, and B. P. Murphy, Comparison of damage to human hair fibers caused by monoethanolamine and ammonia based hair colorants, *J Cosmet Sci*, **65**(1), 1 (2014).
7. Z. D. Draelos, The biology of hair care, *Dermatol Clin*, **18**(4), 651 (2000).
8. P. Mirmirani, Age-related hair changes in men: Mechanisms and management of alopecia and graying, *Maturitas*, **80**(1), 58 (2015).
9. Z. Lu, T. W. Fischer, S. Hasse, K. Sugawara, Y. Kamenisch, S. Kregel, W. Funk, M. Bemeburg, and R. Paus, Profiling the response of human hair follicles to ultraviolet radiation, *J. Invest. Dermatol.*, **129**(7), 1790 (2009).
10. S. Panhard, I. Lozano, and G. Loussouam, Greying of the human hair: a world wide survey, revisiting the '50' rule of thumb, *Br. J. Dermatol.*, **167**(4), 865 (2012).
11. S. Commo, O. Gaillard, and B. A. Bernard, Human hair greying is linked to a specific depletion of hair follicle melanocytes affecting both the bulb and the outer root sheath, *Br. J. Dermatol.*, **150**(3), 435 (2004).
12. J. M. Wood, H. Decker, and H. Hartmann, Senile hair graying: H₂O₂-mediated oxidative stress affects human hair color by blunting methionine sulfide repair, *FASEB J.*, **23**(7), 2065 (2009).
13. D. J. Tobin, Aging of the hair follicle pigmentation system, *Int J Trichol*, **1**(2), 83 (2009).
14. Y. Shi, L. F. Luo, X. M. Liu, Q. Zhou, S. Z. Xu, and T. C. Lei, Premature graying as a consequence of compromised antioxidant activity in hair bulb melanocytes and their precursors, *PLoS ONE*, **9**(4), e93589 (2014).

15. T. Takahashi, A. Mamada, S. Breakspear, T. Itou, and N. Tanji, Age-depedent changes in damage processes of hair cuticle, *J Cosmet Dermatol*, **14**(1), 2 (2015).
16. L. Duvel, H. Chun, D. Deppa, and P. W. Wertz, Analysis of hair lipids and tensile properties as a function of distance from scalp, *Int J Cosmet Sci*, **27**(4), 193 (2005).
17. Y. Masukawa, H. Narita, and G. Imokawa, Characterization of the lipid composition at the proximal root regions of human hair, *J Cosmet Sci*, **56**(1), 1 (2005).
18. Y. Masukawa, H. Tsujimura, and G. Imokawa, A systematic method for the sensitive and specific determination of hair lipids in combination with chromatography, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **823**(2), 131 (2005).
19. Y. Masukawa, H. Tsujimura, and H. Narita, Liquid chromatography-mass spectrometry for comprehensive profiling of ceramide molecules in human hair, *J. Lipid Res.*, **47**(7), 1559 (2006).
20. Y. Wu, G. Chen, G., C. Ji, M. Hoptroff, A. Jones, L. Z. Collins, and H. G. Janssen, Gas chromatography-mass spectrometry and Raman imaging measurement of squalene content and distribution in human hair, *Anal Bioanal Chem*, **408**(9), 2357 (2016).
21. T. Takahashi, and S. Yoshida, Distribution of glycolipid and unsaturated fatty acids in human hair, *Lipids*, **49**(9), 905 (2014).
22. V. Auwarter, B. Kiebling, and F. Pragst, Squalene in hair – a natural reference substance for the improved interpretation of fatty acid ethyl ester concentrations with respect to alcohol misuse, *Forensic Sci. Int.*, **145**(2-3), 149 (2004).
23. U. Natarajan, and C. R. Robbins, The thickness of 18-MEA on an ultra-high sulfur protein surface by molecular modeling, *J Cosmet Sci*, **61**(6), 467 (2010).
24. R. Dawber, Hair: Its structure and response to cosmetic preparations, *Clin. Dermatol.*, **14**(1), 105 (1996).
25. M. Marti, C. Barba, A. M. Manich, L. Rubio, C. Alonso, and L. Coderch, The influence of hair lipids in ethnic hair properties, *Int J Cosmet Sci*, **38**(1), 77 (2016).
26. P. W. Wertz, and D. T. Downing, Integral lipids of mammalian hair, *Comp. Biochem. Physiol., B*, **92**(4), 759 (1989).
27. T. Wills, Free internal lipids in hair from pre- and post-menopausal women, *IFSCC Magazine*, **7**(4), 293 (2004).
28. T. Takahashi, A. Mamada, S. Breakspear, T. Itou, and N. Tanji, Age-depedent changes in damage processes of hair cuticle, *J. Cosmet. Dermatol*, **14**, 2 (2015).
28. N. Wang, R. Barfoot, M. Butler, and C. Durkan, Effect of surface treatments on the nanomechanical properties of human hair, *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **4**(8), 3063 (2018).
29. P. Cyganik, A. Budkowski, J. Raczkowski, and Z. Postawa, AFM/LFM surface studies of a ternary polymer blend cast on substrates covered by a self-assembled monolayer, *Surf. Sci.*, **507-510**, 700 (2002).
30. S. Son, S. W. Kim, M. K. Park, S. H. Song, S. J. Park, S. L. Hwang, and S. M. Lee, Effect of the coacervate systems in shampoo formulation on hair damage, *J. Cosmet. Sci. Korea*, **44**(2), 141 (2018).
31. S. N. Kim, S. Y. Lee, M. H. Choi, K. M. Joo, S. H. Kim, J. S. Koh, and W. S. Park, Characteristic features of ageing in Korean women's hair and scalp, *Br. J. Dermatol.*, **168**(6), 1215 (2013).
32. S. K. Son, W. Choi, B. T. Lim, S. H. Song, and N. K. Kang, Hair strengthening effect of silane coupling and carbodiimide chemistry, *J. Cosmet. Sci. Korea*, **44**(2), 133 (2018).
33. N. G. Azoia, M. Fernandes, N. Micaelo, C. Soares, and A. Cavaco-Paulo, Molecular modeling of hair keratin/peptide complex, *Proteins*, **80**(5), 1409 (2012).
34. K. A. Gunay, D. L. Berthier, H. A. Jerri, D. Benczedi, H. Klok, and A. Herrmann, Selective peptide-mediated enhanced deposition of polymer, *ACS Appl Mater Interfaces*, **9**(28), 24238 (2017).

35. K. S. Kim, and H. K. Park, Analysis of aging effects on chemical property of human hair by Fourier transform infrared spectroscopy, *Skin Res Technol*, **19**(1), e325 (2013).
36. C. Popescu, and C. Gummer, DSC of human hair: a tool for claim support or incorrect data analysis?, *Int J Cosmet Sci*, **38**(5), 433 (2016).
37. F. J. Wortmann, C. Springob, and G. Sendelbach, Investioations of cosmetically treated human hair by differential scanning calorimetry in water, *J Cosmet Sci*, **53**(4), 219 (2002).
38. N. Kalogeropolos, S. Konteles, E. Troullidou, I. Mourtzinou, and V. T. Karathanosa, Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus, *Food Chem.*, **116**(2), 452 (2009).
39. M. C. Marcucci, Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity, *Apidologie*, **26**(2), 83 (1995).
40. E. L. Ghisalberti, Propolis : A review, *Bee World*, **60**(2), 59 (1979).
41. J. I. Kim, H. R. Pant, H. J. Sim, K. M. Lee, and C. S. Kim, Electrospun propolis/polyurethane composite nanofibers for biomedical applications, *Mater. Sci Eng C MaterBiol Appl*, **44**, 52 (2014).