

자외선 조사에 의한 모발구조의 형태학적 변화

김정환* · 이옥섭** · 한지숙** · 신성연** · 백두현** · 하병조[†]

을지대학교 피부관리학과, *을지대학교 식품과학부, **아모레퍼시픽 기술연구원
(2008년 10월 8일 접수, 2008년 11월 3일 채택)

Morphological Changes of Hair Structure by UV Irradiation

Jung Hoan Kim*, Ok-Sub Lee**, Ji-Sook Han, Sung-Yeon Shin**, Doo-Hyun Baek**, and Byung-Jo Ha[†]

Department of Dermatic Health Management, Eulji University, Yangji-dong, Soojung-gu, Sunghnam-si 461-250, Korea

*School of Natural Food Science, Eulji University

**AmorePacific R&D Center,

(Received October 8, 2008; Accepted November 3, 2008)

요약: 본 연구에서는 모발의 내부 및 외부구조에 자외선이 미치는 영향에 관하여 조사를 수행하였다. 자외선이 조사된 모발의 형태학적 및 화학적 구조의 변화를 알아보기 위해 주사전자현미경(SEM), 투과전자현미경(TEM), 공초점레이저주사현미경(CLSM) 등을 사용하였다. SEM상에서 자외선이 조사된 모발은 자외선에 의한 화학적 산화반응에 의해 표면이 거칠고 부풀어진 형태를 보였다. 이황화결합(disulfide bond)의 산화에 의한 시스테인산(cysteic acid)의 분해로 팽윤부위가 관찰되었다. 또한 자외선 조사에 의해 표면색의 변화를 나타내었다. TEM 분석결과 버진헤어(virgin hair)의 경우에는 매끄러운 표면구조를 나타내었지만, 자외선 조사모발에 있어서는 거칠고 모수질층이 갈라진 형태를 보여주었다. 모피질층에 존재하는 멜라닌 입자의 크기가 감소하고 소실되는 것이 관찰 되었다. CLSM에 의해 3차원적 구조의 입체영상을 얻을 수 있었으며, 광학분할에 의해 버진헤어는 강한 형광을 나타내었지만, 자외선 조사모발은 낮은 형광을 보여주었다. 이는 버진헤어의 경우 자동형광을 나타낼 수 있는 방향족 아미노산이 많이 존재하는데 비해 자외선 조사모발은 방향족 아미노산이 파괴되어 낮게 나온 것으로 여겨진다.

Abstract: In this study, we have investigated the effects of ultraviolet (UV) irradiation on the external and internal structure of human hair. For changes in morphological and chemical structure of UV-exposed hair, we utilized several microscopic techniques such as scanning electron microscope (SEM), transmission electron microscope (TEM), confocal laser scanning microscope (CLSM), and etc. The SEM showed the scales of UV-exposed hair appeared to be rough and bulkier because of chemical oxidation during UV irradiation. Small bulgy area of UV-exposed hair surface was appeared as a result of the decomposition in cysteic acid. In the TEM picture, the UV-exposed hair showed the cleaved aperture of hair and destruction of melanin granules. Three dimensional topographical images were obtained by using CLSM. In the optical single section, high fluorescent intensity appeared in virgin hair. In the case of UV-exposed hair, low fluorescence intensity appeared. This means the aromatic amino acids in virgin hair were more abundant than UV-exposed hair.

Keywords: UV-exposed hair, SEM, TEM, CLSM, morphological changes

1. 서 론

모발은 모표피, 모피질, 모수질로 구성되어 있으며 가

장 바깥층인 모표피는 모발 내부를 보호하는 역할을 한다. 이는 투명한 얇은 케라틴 단백질로 비늘 모양으로 되어 있으며 5 ~ 10개가 밀착하여 겹쳐져 있고, 모발에 윤기와 광택을 준다. 모발의 대부분을 차지하고 있는 모피질에는 다수의 멜라닌 입자가 존재하고 있어서 모발의

[†] 주 저자 (e-mail: bjha@eulji.ac.kr)

색상을 부여하는 역할을 한다[1-3].

모수질은 모발의 중심으로 다수의 공포가 존재하는 것으로 알려져 있다. 이들 중 화장품과 미용의 대상이 되는 것은 주로 모표피와 모피질로 이들은 케라틴 단백질을 구성하는 아미노산의 조성에 있어서 다소 차이가 있다. 모표피의 시스틴 함량은 모피질에 비해 비교적 높게 나타나며, 또한 모표피는 소수성 잔기를 갖는 아미노산의 조성이 많아 모피질에 비해 상대적으로 친유성이 높다. 이러한 아미노산 중에는 불포화결합을 가지고 있는 것이 다수 존재하며 이들은 피부의 단백질이나 불포화지방과 마찬가지로 활성산소의 공격을 받기 쉽다. 활성산소종 중에서 1O_2 및 $\cdot OH$ 은 생체의 광손상에 있어서 특히 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

자외선 중 UV-A (320 ~ 400 nm)와 가시광선은 흡수되어 화학결합을 파괴할 정도의 에너지를 가지지 못하기 때문에 직접적으로 모발에 손상을 주지 않는다. 반면 UV-B는 모발 단백질에 흡수되어 화학결합을 파괴하여 모발 손상의 요인으로 작용한다. 이러한 모표피의 손상은 모발의 겉모습이나 촉감을 나쁘게 하고 윤기를 저하시키므로 미용적으로 바람직하지 않다.

한편, 그동안 생체시료의 형태학적 분석을 위해 광학현미경, 전자현미경, 형광현미경이 주로 사용되어 왔으나 최근 들어 confocal laser scanning microscope (CLSM)이 주목받고 있다[4-6]. 이는 시료에 손상을 주지 않고 비침습적(non-invasive)인 방법으로 내부구조의 입체적인 관찰이 가능하고 3차원적 분석을 가능하게 하기 때문이다.

CLSM은 레이저에서 조사된 일정 파장의 광선이 시료에 닿고 그에 의해 유발되어 방출된 빛을 이용하여 분석하는 원리이다. CLSM은 광학현미경에 형광장치를 부착하고 레이저를 광원으로 이용한 것으로, 레이저 광선이 시료 내부로 투영되어 시료가 여러 개의 얇은 단면으로 주사될 수 있다. 일반 형광현미경으로 볼 수 없는 XZ영상(XY면의 직각방향)의 이미지 관찰이 가능하며 삼차원 영상으로 구축하여 돌려가면서 원하는 방향의 영상을 관찰할 수 있다. 즉, CLSM은 광학현미경과 전자현미경이 가지는 단점을 보완하는 동시에 시료의 절편 없이 광학적인 절편영상을 만들 수 있는 장점이 있다. 시료 또는 조직 속의 형광물질이나 인위적으로 표지한 여러 종류의 형광을 이용하면 서로 다른 색상으로 내부나 표면의 상태를 관찰할 수 있다. 그동안 CLSM은 주로 면역세포 등 생물학이나 의학 분야의 연구에 널리 사용되어 왔으며, 모발 미용분야에 대해서는 연구가 미미하다[7].

따라서 본 연구에서는 기존의 SEM, TEM과 CLSM을 통해 자외선 조사모발에 대해 형태학적 및 화학적 변화를 살펴보았다.

2. 재료 및 실험

2.1. 모발시료

20세 한국인 여성의 모발(길이 15 ~ 20 cm)로 염색이나 퍼머와 같은 화학적 시술을 한 번도 하지 않은 버진헤어(virgin hair)를 사용하였다. 모발의 직경은 약 100 ~ 200 μm 였으며 본 연구에서는 140 ~ 160 μm 의 비교적 굵은 모발을 사용하였다. 모발의 표면에 부착된 오염물을 제거하기 위해 모발 1 g 당 1 % Triton X-100 (polyethylene glycol *tert*-octylphenyl ether, Sigma, USA) 50 mL에 넣어서 10 min 동안 고르게 흔들어서 세정하였다. 세정 후 세정액에서 거품이 나지 않을 때까지 흐르는 증류수로 수세하고 실온에서 24 h 자연건조한 후 UV-B에 해당하는 자외선을 조사하였다. 자외선 조사는 미국 Vilber Lourmat사의 VLX-3W UV meter를 사용하여 모발 시료에 총 553.54 J/cm²의 에너지를 가한 후 시료로 사용하였다.

2.2. 전자현미경 관찰

주사전자현미경과 투과전자현미경은 Hitachi (Japan)사의 Model S-4700, Model 7600을 각각 사용하였다. 각각의 해상도(resolution)는 0.37 nm, 1.5 nm로 하였다. 주사전자현미경 시료는 전처리과정에서 버진헤어와 자외선 조사 모발을 각각 stub에 고정시키고 Pt-Pd ion coater (JFC-1100, Jeol, Japan)로 5 ~ 10 nm 두께로 코팅하였다. 표면 촬영 확대비율은 각각 500, 2,000배의 배율로 하였다. 투과전자현미경 관찰을 위해 버진헤어와 자외선 조사모발을 각각 2.5 % *p*-formaldehyde와 2 % glutaraldehyde의 혼합용액으로 2 h 전고정하고 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 3번 세척한 다음 1 % OsO₄ 로 1 h 후 고정 하였다. 단계별로 농도 기울기로 에탄올에 통과시켜 서서히 탈수시킨 다음 propylene oxide로 치환하고, EPON 812 (EMS, USA)로 포배한 다음 60 °C 진공오븐에서 48 h 중합반응 시켰다. 포배된 시료는 ultramicrotome (UCT, Leica, Germany)로 준초박절편을 제작하였다. 이어서 초박절편을 제작하여 copper grid에 부착시킨 다음 uranyl acetate와 lead acetate로 이중 염색한 다음 투과전자현미경으로 관찰하였다.

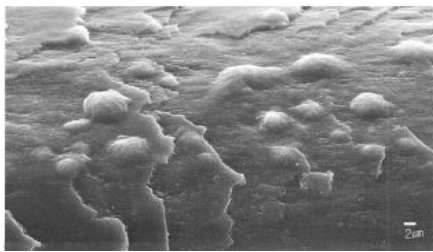
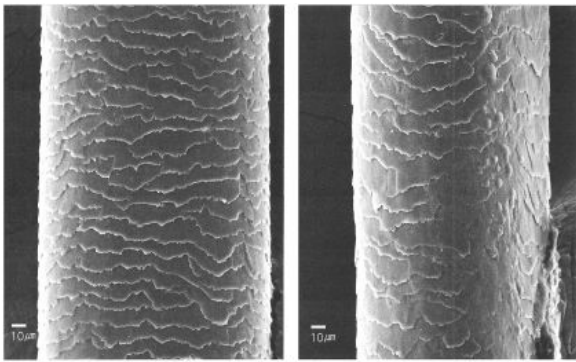


Figure 1. SEM pictures of virgin hair and UV-exposed hair. (left) virgin hair, (right) UV-exposed hair, (center) UV-exposed hair.

2.3. CLSM 관찰

버진헤어와 자외선 조사모발에 대한 CLSM 관찰은 비침습적인 방법으로 실시하였다. CLSM은 Carl Zeiss (Germany)사의 Model LSM 510을 사용하였다. 광원은 488 nm을 방출하는 아르곤 레이저를 이용하였고, 이미지는 515 nm filter를 이용하여 3차원으로 관찰하였다. 화상의 해상도는 1024 × 1024 였다.

2.4. 표면색 측정

버진헤어와 자외선조사 모발의 표면색을 미국 X-rite사의 색도색차계(Model SP 60)에 4 mm 구멍의 target window를 장착하여 측정하였다. 색도색차계를 이용하여 2° 관찰자와 C 광원으로 고정하여 1976년 국제조명위원회(CIE)에서 규정한 Hunter 표색법에 의한 L*, a*, b* 값을 구하였다. 이로부터 색상 차 ΔE 값은 다음과 같이 구하였다.

$$\Delta E = [(L_1 - L_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2]^{1/2}$$

3. 결과 및 고찰

지구상에 도달하는 태양광선에는 적외선, 가시광선 외에 자외선이 있다. 자외선은 파장에 따라 UV-A, UV-B

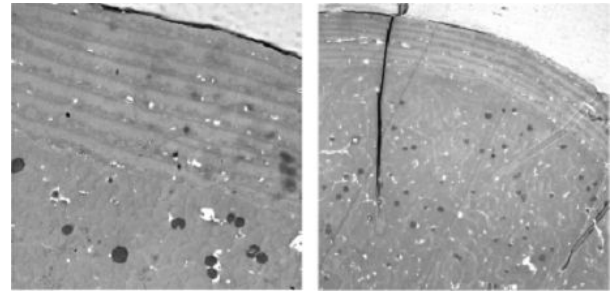


Figure 2. TEM picture of virgin hair and UV-exposed hair. (left) virgin hair (× 2,500), (right) UV-exposed hair (× 1,000).

와 UV-C로 구분되며 이 중 UV-C는 오존층에 대부분 흡수되므로 실제 지구상에 도달하는 것은 UV-A, UV-B이다. 계절별로 볼 때 UV-A는 생활자외선이라고도 할 정도로 계절에 관계없이 도달한다고 볼 수 있지만 UV-B는 늦은 봄과 여름철에 특히 강하다. 실험에 이용한 자외선(UV-B)는 여름철 태양광선에서 6일 동안 조사한 양에 해당한다. 본 연구에서는 이들 UV-B가 모발에 미치는 영향을 알아보기 위해 먼저 SEM으로 표면상태의 변화를 살펴보았다. Figure 1에서 보는 바와 같이 자외선을 조사한 후에는 모발의 표피층이 약간씩 들뜨는 현상을 보였고, 군데군데 솟아나온 부분을 확인 할 수 있었다. 이 부분을 2,000배로 확대해서 관찰한 결과 직경 1 ~ 10 µm 크기의 팽윤부분이 나타났다. 이는 자외선 조사에 의해 삼중항 산소(³O₂)가 야기되고 이로부터 생성된 일중항산소(¹O₂)가 모발 케라틴 단백질의 가교(cross-link)에 참여하고 있는 이황화결합(disulfide bond)을 산화시켰기 때문이다. 즉, 활성산소에 의해 이황화결합은 모노설피옥사이드(monosulfoxide), 디설피옥사이드(disulfoxide)를 거쳐 시스테인산(cysteic acid)으로 변하게 되고, 이는 최종적으로 분해되어 이산화황(SO₂), 삼산화황(SO₃) 등의 기체로 변해 모발의 표면으로 이탈한 결과로 해석된다. 실제 관능테스트를 실시한 결과 자외선 조사모발에서는 모발이 타는 듯한 냄새가 나는 것으로 느껴졌는데, 이는 광산화에 의해 발생한 산화황의 존재 때문으로 생각된다. Pande 등은 295 ~ 315 nm의 자외선을 조사하였을 때 단백질의 구성아미노산 중 트립토판(tryptophan)의 방향족 곁사슬인 인돌(indol)기에 활성산소가 결합해 광분해를 일으키고 이로 인해 케라틴단백질의 구조에 화학적 변화가 일어난다고 보고한 바 있다[8]. Chang 등(2006)은 자외선 조사를 받아 손상된 모발의 원소분석을 에너지분산분광광도계(EDX)를 통해 확인한 결과 버진헤어보다 자외선조사

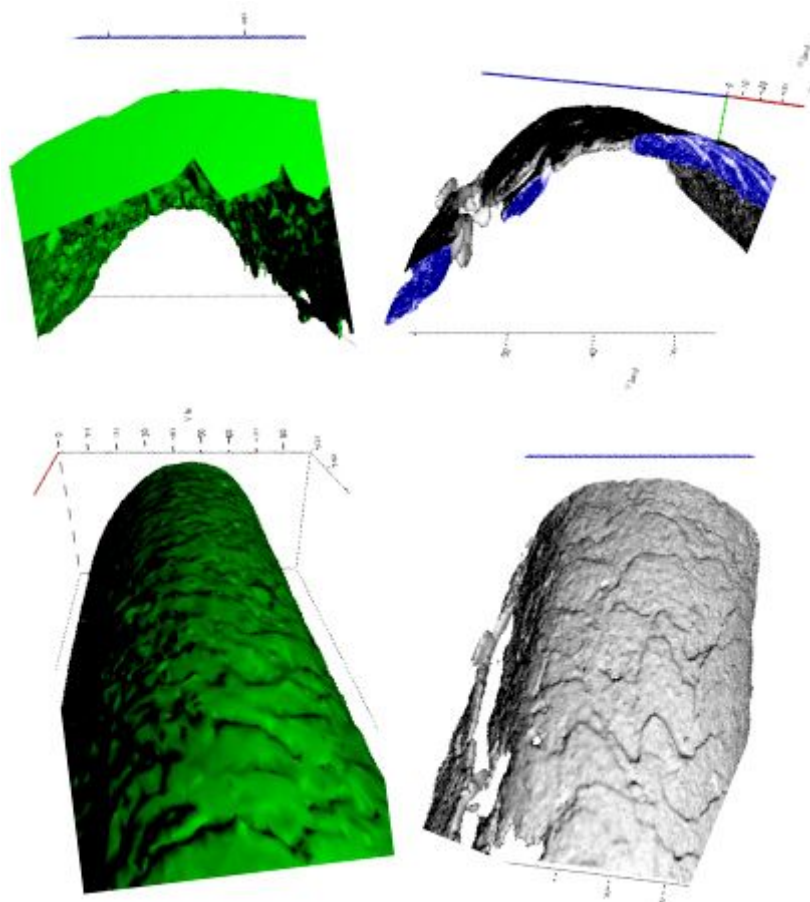


Figure 3. CLSM images of virgin hair and UV-exposed hair. (above left) Side view of virgin hair, (below left) Surface view of virgin hair, (above right) Side view of UV-exposed hair, (below right) Surface view of UV-exposed hair (× 400).

모발의 산소비율이 높게 나타났고, 황의 비율은 줄어든다는 사실을 보고한 바 있다[9]. 이는 활성산소가 이황화결합을 파괴시키면서 이로 인해 모발의 구조변화가 일어난 것으로 볼 수 있으며, 이는 본 연구의 결과와도 일치한다.

Figure 2에는 버진헤어와 자외선조사모발의 TEM 사진을 나타내었다. 자외선 조사 후 모표피층 사이에 빈공간의 틈이 생겼으며 모피질층의 멜라닌 입자가 점차 파괴되어 작아졌음을 알 수 있다. 모피질층에는 흑갈색의 크기가 비교적 큰 입자형의 유멜라닌(eumelanin)과 적황색의 비교적 작은 분사형의 페오멜라닌(pheomelanin)이 혼합되어 있는데, 황인종의 모발은 백인종에 비해 상대적으로 유멜라닌의 비율이 높다.

Hunter의 CIE Lab 색차계에서 L*은 명도를 나타내며, 흑색을 0으로 하고 백색을 100으로 표시한다. a*값이 (+)이면 적색도를 나타내며 (-)이면 녹색도를 의미하

Table 1. Changes of L*, a*, and b* Value of Human Hair

CIE L*a*b*value	Sample	Virgin hair	UV-exposed hair
L*		19.8	22.7
a*		+ 2.8	+ 3.2
b*		+ 1.5	+ 3.3
ΔE		-	3.44

고, b*값이 (+)이면 황색도를, (-)이면 청색도를 나타낸다. 따라서 Table 1에서 보듯이 버진헤어의 경우 자외선 조사 후 명도가 밝아졌으며 황색이 약간 증가 되었다. 그러나 적색도의 상승은 미미한 수준이었다.

이는 모피질층에 존재하는 멜라닌의 차이에 기인한다. 황적색의 페오멜라닌은 시스테인에 의해 단단하게 결합된 형태로 존재하므로 광산화에 비교적 안정하다. 이는

UV-B가 유멜라닌을 비교적 많이 파괴시켰음을 의미한다. 티로신의 산화로부터 얻어진 dihydroxyphenylalanine (DOPA)가 시스테인과 반응하여 시스테인일도파퀴논(cystenyl DOPA quinone)을 만들고 이로부터 최종적으로 생성된 페오멜라닌은 도파크롬(DOPA chrome)을 거쳐 생성된 유멜라닌에 비해 화학적으로 안정되어 있기 때문이다. 따라서 자외선 조사를 실시하게 되면 흑갈색의 유멜라닌이 산화작용으로 파괴되고 그 이후에 서서히 페오멜라닌이 파괴되는 것을 증명하는 결과라고 할 수 있다. 자외선 조사에 따른 색차(ΔE)는 3.44로 측정되어 National Bureau of Standard (NBS) 감각표현 단위 기준으로 차이가 있는 수준(appreciable level)이었다. ΔE 값의 경우 0 ~ 0.5이면 색차가 거의 없으며, 0.5 ~ 1.5는 근소한 차이, 1.5 ~ 3.0은 감지할 수 있을 정도의 차이, 3.0 ~ 6.0은 현저한 차이, 6.0 ~ 12.0은 극히 현저한 차이, 12 이상이면 다른 계통의 색으로 평가 하는 것으로 보고되고 있다[10].

Figure 3에는 공초점레이저주사현미경(CLSM)사진을 나타내었다. 공초점레이저주사현미경 기술은 최근에 면역학 분야와 세포와 조직의 생화학 및 형태학적 연구에 많이 이용되고 있다. 이는 비침습적인 3차원적 구조 해석을 가능하게 해준다. CLSM 관찰결과 광단층절편(optical single section)에 있어 버진헤어의 형광강도는 자외선조사 모발에 비해 높게 나타났다. 표면에 있어서도 동일한 결과를 나타내었는데, 이는 버진헤어의 모표피층에서 활성산소가 모발단백질의 구성물질인 각종 아미노산들과 결합하여 화학적 구조변화를 일으킨 것으로 여겨진다.

특히, 히스티딘(histidine), 트립토판(tryptophane), 페닐알라닌(phenylalanine), 티로신(tyrosine) 등의 방향족 결사슬을 갖는 아미노산과 시스틴(cystine), 시스테인(cysteine), 메티오닌(methionine) 등의 산소와 결합되기 쉬운 함황 아미노산은 활성산소와 결합이 잘 일어난다.

UV-A와 가시광선은 직접적으로 모발에 손상을 주지는 않는다. 이는 이들이 직접적으로 모발 단백질에 흡수되지 않기 때문이다. 반면, UV-B는 모발 단백질에 흡수되어 이중결합을 파괴시킨다고 보고되어 있다[8].

CLSM 분석결과 아미노산의 광산화 반응은 주로 모표피층에서 일어남을 알 수 있다. 즉, 모표피층에서는 UV-B에 의해 멜라닌 입자가 먼저 산화됨으로써 모발 단백질의 파괴가 일어나지 않는데 비해 모표피에서는 멜라닌이 존재하지 않기 때문에 UV-B가 직접적으로 모발 단백질에 흡수되어 활성산소를 발생시키고 그 결과 방향

족 결사슬을 갖는 아미노산과 함황 아미노산을 산화시킨 것을 볼 수 있다. 방향족 아미노산은 자가형광(auto-fluorescence)을 발생시키므로 이로 인해 파괴가 적은 버진헤어는 형광강도가 높게 나타났는데 비해서 자외선 조사모발은 낮게 나타난 것으로 여겨진다.

4. 결 론

자외선으로부터 모발 내부와 외부의 형태학적 변화를 SEM, TEM과 CLSM 등을 통해 관찰하였다. SEM상에서 자외선이 조사된 모발은 자외선에 의한 화학적 산화반응에 의해 표면이 거칠고 부풀어진 형태를 보였다. 이 황화결합(disulfide bond)의 산화에 의해 생성된 시스테인산(cysteic acid)의 분해로 팽윤부위가 관찰되었다. 또한 자외선 조사에 의해 표면색의 변화를 나타내었다. TEM 분석결과 버진헤어(virgin hair)의 경우에는 매끄러운 표면구조를 나타내었지만, 자외선 조사모발에 있어서는 거칠고 모수질층이 갈라진 형태를 보여주었다. 또한 멜라닌 입자의 소실을 관찰 할 수 있었다. CLSM에 의해 3차원적 구조의 입체영상을 얻을 수 있었으며, 광학분할에 의해 버진헤어는 강한 형광을 나타내었지만, 자외선 조사모발은 낮은 형광을 보여주었다. 이는 버진헤어의 경우 자동형광을 나타낼 수 있는 방향족 아미노산이 많이 존재하는데 비해, 자외선 조사모발은 방향족 아미노산이 파괴되어 낮게 나온 것으로 여겨진다.

감 사

본 논문은 (주)아모레퍼시픽의 연구비 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. C. R. Robbins, Chemical and physical behavior of human hair, Springer Verlag, New York (1994).
2. R. D. B. Fraser, T. P. MacRae, and G. E. Rogers, Keratins : their composition, structure, and biosynthesis, thomas C. C., Springfield II, New York (1982).
3. A. H. Powitt, Hair structure and chemistry simplified, Milady Publishing Corp., New York (1970).
4. P. Corcuff, P. Gremillet, M. Jourlin, Y. Duvault, F. Leroy, and J. L. Leveque, 3D reconstruction of

- human hair by confocal microscopy, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **44**, 1 (1993).
5. M. Rajadhyaksha, S. Gouzalez, J. M. Zavislan, R. R. Anderson, and R. H. Webb, *In vivo* confocal scanning laser microscopy of human skin II, *J. Invest. Dermatol.*, **113**, 293 (1999).
 6. M. Rajadhyaksha, S. Gouzalez, D. Esterowitz, R. H. Webb, and R. R. Anderson, *In vivo* confocal scanning laser microscopy of human skin, melanin provides strong contrast, *J. Invest. Dermatol.*, **104**, 946 (1995).
 7. M. Lagarde, P. Peyre, D. Redoules, D. Black, M. Briot, and Y. Gall, Confocal microscopy of hair, *J. Cell Biol. Toxicol.*, **10**(5), 301 (2004).
 8. C. M. Pande and J. Jachowicz, Hair photodamage measurement and prevention, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **44**, 109 (1993).
 9. B. S. Chang, S. K. Na, and G. Y. Lee, Study on the physicochemical change of human hair shaft following radiation with ultraviolet, *Korean J. Electron Microscopy*, **36**(2), 109 (2006).
 10. K. H. Kang, B. S. Noh, J. H. Suh, and W. D. Huh, Food analysis, Sungkyunkwan University Publishing department, Seoul (1998).