

Photo Diode Array형의 휴대용 근적외 분광기와 FT 근적외 분광기를 이용한 Hairless Mouse 피부 수분 정량

서은정 · 우영아*·# · 김효진

동덕여자대학교, 약학대학, *(주)스펙트론테크

(Received April 16, 2004; Revised January 12, 2005)

Quantification of Skin Moisture in Hairless Mouse by using a Portable NIR System and a FT NIR Spectrometer

Eun-Jung Suh, Young-Ah Woo*·# and Hyo-Jin Kim

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Wolgok-Dong 23-1, Sungbuk-Gu, Seoul 136-714, Korea

*Spectrontech, Co., Ltd.

Abstract — In this study, the performance of a portable NIR system and a FT NIR spectrometer were compared to determine water content of hairless mouse skin. The stratum corneum parts were separated from the epidermal tissues by trypsin solution. NIR diffuse reflectance spectra of hairless mouse skin were acquired using a fiber optic probe. In the near infrared, water molecules show two clear absorption bands at 1450 nm from first overtone of O-H stretching and 1940 nm from the combination involving O-H stretching and O-H deformation. It was found that the variations of O-H absorption band according to water content. Partial least squares regression (PLSR) was applied to develop a calibration model. The PLS model showed a good correlation between NIR predicted value and the absolute water content of separated hairless mouse skin, *in vitro*, for both the portable and the FT NIR spectrometer. These studies showed the possibility of a rapid and nondestructive skin moisture measurement using NIR spectroscopy. The portable NIR spectrometer with a photodiode arrays-microsensor could be more rapidly applied for the determination of water content with comparable accuracy with the performance of a FT spectrometer.

Keywords □ skin moisture, near infrared, partial least squares regression (PLSR)

피부는 신체의 표면을 덮고 있는 조직으로 표피(epidermis), 진피(dermis) 및 피부하조직(subcutaneous tissue)으로 이루어진다. 피부 모발, 조갑, 한선, 피지선과 같은 부속 기관 역시 피부에서 관찰된다. 성인의 피부 표면적은 1.6 m^2 이고 두께는 부위, 나이, 성별에 따라 다르다. Fig. 1은 각질층(stratum corneum), 투명층(stratum lucidum), 과립층(stratum granulosum), 가시층(stratum spinosum), 그리고 멜라닌 세포를 포함하고 있는 기저층(stratum basale)으로 이루어져 있는 표피의 구조를 나타낸 것이다.¹⁾ 각질층(stratum corneum)은 표피 세포가 각화된 각질 세포가 쌓여 20~25개의 층을 이루고 있는 피부 가장 바깥층을 말한다. 각질층 사이에는 세포간 지질 성분이 존재하여 각질층 사

이가 단단하게 결합될 수 있도록 해주고 수분의 손실을 억제해 준다. 세포간 지질성분은 주로 세라마이드로 되어 있는데, 이 물질은 각질층 사이에서 총상의 라멜라 구조로 존재한다. 또한 각질층에는 천연보습인자(natural moisturizing factor, NMF)가 있어 10~20%의 수분이 함유되어 있는데, 각질층에 포함되어 있는 수분은 피부 표면의 유연성과 탄력성을 조절하는 중요한 역할을 한다.²⁾ 즉 각질층은 외부의 손상으로부터 피부를 보호하고 내부 환경의 항상성을 유지한다. 특히 수분의 투과성이 낮아 탈수를 자연시키며 유해물질의 침투를 방지하는 역할을 한다. 외부 환경 변화나 병적인 인자에 의해 정상적인 각질층을 이루지 않는 경우에는 보호기능과 함께 수분 유지 기능이 저하되기 때문에, 각질층내의 수분을 충분히 유지하게 하지 않으면 피부 표면은 건조되어 거칠어지고 쉽게 갈라지게 된다. 그러므로 각질층의 적당한 수분을 유지하는 것이 피부 건강과 피부 질병의 예방 차원에서 매우 중요한 인자라 할 수 있고, 피부 수분의 양을

*본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-940-4305 (팩스) 02-943-9578
(E-mail) wooy@spectrontech.com

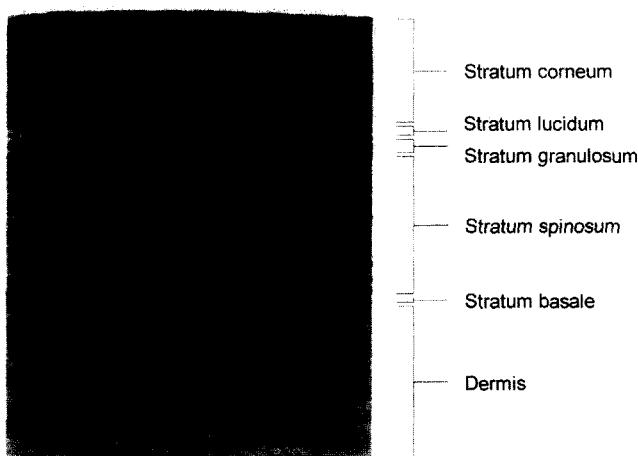


Fig. 1 – Epidermis structure.

정확하게 비파괴적으로 측정할 수 있는 방법이 필요하다.

피부 수분을 측정하는 방법은 transepidermal water loss (TEWL)^{3,4)} 전기전도도법^{5,6)}, 분광학적인 방법(attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy(ATR-FTIR)^{7,9)} 등이 있다. TEWL은 피부 표면으로부터 수분의 증발율을 측정하는 방법으로, 외부 환경에 따라 피부 표면 상태가 변하기 때문에 외부 환경 변화에 매우 민감하고, 안정한 측정을 위하여 수분의 평형시간이 요구된다. 적외선 분광분석법(infrared spectroscopy)은 일정 파장 영역에서 직접 수분의 함량을 측정하는 방법으로 장비가 매우 고가일 뿐만 아니라 조작이 어려워 상업용 기기로는 거의 활용되고 있지 않다. 또한 외부 환경에 의한 영향이 크고 매우 낮은 투과율을 보이므로 측정 부위가 각질층 윗부분에 국한된다. 현재 가장 광범위하게 사용되는 기기는 전기전도도법을 사용하는 기기이다. 이 기기는 피부에 일정 주파수의 교류전류를 흘려주고 전기전도성을 측정하여 피부 표면의 수분 함량을 얻는다. 그러나 이 기기는 외부의 온도와 습도, 피부 습도 및 피부에 존재하는 전해질의 양, 피부에 접촉하는 프로브의 상태, 측정시 피부에 가하는 압력에 의하여 영향을 받는다는 단점이 있다.

근적외 영역은 중적외 영역에서 나타나는 O-H의 기본 진동수의 overtone과 combination 밴드가 가장 두드러지게 나타난다. O-H의 진동이 매우 크기 때문에 다른 밴드에 비하여 큰 intensity를 보이고, O-H에 의하여 근적외 스펙트럼이 broad해지거나 이동한다.¹⁰⁾ 이와 같이 수분에 의한 신호에 민감한 근적외 분광분석법을 이용한 피부 수분 연구가 활발히 진행되어 근적외 영역의 빛을 피부에 조사하였을 때 나타나는 흡광도와 피부 수분 함량이 정량적 상관성을 가지고 있음을 밝혔다.¹¹⁻¹⁴⁾ 그러나 integrating sphere가 장착된 기존의 근적외 분광분석기는 이동과 조작이 어렵다는 단점이 있어 최근 광섬유 프로브를 이용하여 확산반사법으로 보다 용이하게 검체를 측정하는 연구가 발표

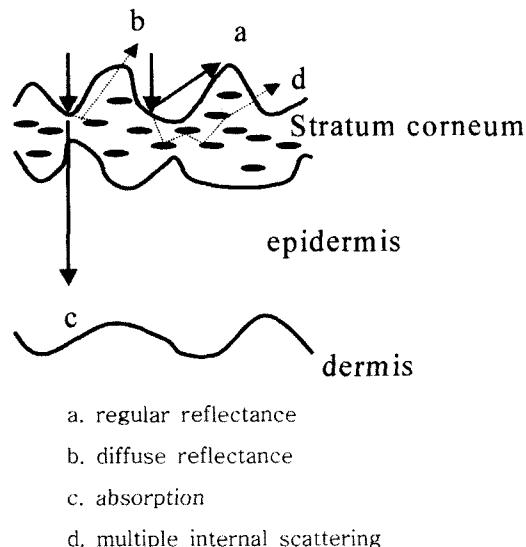


Fig. 2 – Schematic diagram of skin showing possible interactions with light.¹⁴⁾

되고 있다.^{15,16)} 광섬유 프로브는 광원에서 나온 빛을 검체에 도달시키는 발광부와 검체에 도달하고 시료에 흡수된 나머지 빛을 검출기에 도달시키는 수광부로 이루어져 있다. Kumar 등은 광섬유 프로브의 발광부와 수광부의 간격에 따라 피부에 침투하는 빛의 거리가 조절된다는 것을 연구하였다.¹⁷⁾

본 연구에서는 근적외 분광분석법 중 광섬유 프로브를 이용한 확산 반사법을 이용하여 피부 수분을 측정하였다. Fig. 2는 근적외선을 피부에 조사하여 흡수, 투과, 반사, 산란될 때 가능한 빛의 경로를 나타낸 것으로¹⁴⁾ 본 연구에 사용된 확산 반사에 의한 빛의 경로를 알 수 있다. Hairless mouse 피부는 0.5% trypsin을 사용하여 각질층을 분리하여 검체로 하였고, 측정기는 1초 이내로 매우 신속한 측정과 휴대가 가능한 photodiode arrays 형의 휴대용 근적외 분광기와 기존의 정밀성이 뛰어난 FT 형태의 근적외 분광기를 사용하였다. 피부 수분에 대한 모델은 수분 함량과 근적외 흡광도의 관계를 이용하여 PLSR을 사용하여 작성하였고, 각 기기의 수분 정량 모델을 비교하여 휴대용 근적외 분광기의 피부 수분 정량의 적용 가능성을 검토하였다.

실험 방법

검체

암컷 hairless mouse의 등과 배 피부를 사용하였다. 떼어낸 hairless mouse 피부를 각질층이 위로 향하도록 하여 여과지 위에 놓았다. 0.5% trypsin(ICN Biomedicals, INC.) 용액을 여과지에 스며들게 하여 37°C에서 3시간 방치한 후 표피층을 벗겨내었다. 다시 각질층이 위로 향하도록 하여 여과지 위에 놓은 후 0.5% trypsin 용액을 여과지에 스며들게 하여 37°C에서 2시간

방치하였다. 그 다음 spatula를 이용하여 기저세포, 가시세포, 과립세포를 벗겨내었다.¹⁸⁾ 이를 각각 4개의 조각으로 잘라 A~H로 라벨링 하였다. 등 피부의 크기는 $2 \times 2 \text{ cm}^2$ 이고, 두께는 $250 \mu\text{m}$ 이다. 배 피부의 크기는 $1.5 \times 1.5 \text{ cm}^2$ 이고, 두께는 $200 \mu\text{m}$ 이다. 각각의 hairless mouse 피부 조각을 1시간 동안 물에 침지 시켜 피부의 수분함량이 최대가 되도록 하였다. 1시간 동안 침지 시킨 피부 조각의 중량을 측정하고 이를 실리카겔이 들어 있는 데시케이터에서 건조시키면서 30분, 60분, 75분, 90분, 105분, 120분, 150분, 180분에 중량을 측정하였다. 180분이 경과한 후부터는 105°C 로 세팅한 드라이 오븐에서 건조시키면서 8시간, 9시간, 10시간에 중량을 측정하고, 그 후에는 hairless mouse 피부 조각의 절대 수분량을 알기 위하여 30시간 동안 105°C 드라이 오븐에서 건조시켰다. Portable 근적외 분광기과 FT 근적외 분광기를 이용하여 각 피부 조각의 근적외 스펙트럼을, 중량을 측정한 바로 직후에 측정하였다. 측정은 광섬유 프로브를 이용하여 확산반사법으로 측정하였다. 이러한 방법으로 피부 수분량 1.60~74.07% 범위의 96개 hairless mouse 근적외 스펙트럼을 얻었다.

기기

Portable 근적외 분광기 – 휴대용 근적외 분광기는 HandHeld HN1100(SpectronTech, Co., Ltd., Korea)를 사용하였다. Tungsten-halogen lamp 광원과 lithography 방식의 microchip 기술로 제작된 photodiode arrays 형태의 InGaAs 검출기를 사용하였다. 이 분광기는 휴대용으로 충전하여 6시간 동안 전원 없이 작동이 가능하며, $320 \times 100 \times 255(\text{w} \times \text{h} \times \text{d})$ 크기로 운반이 용이하다. Y자 형태의 두 갈래로 나뉜 광섬유 반사 프로브(microParts, Germany)를 이용하여 hairless mouse의 피부 윗면에 프로브의 끝을 직접 접촉시켜 측정하였다. 프로브의 끝은 각각 광원, 검출기, 측정부위와 연결된다. Fig. 3의 a)는 측정부위에 닿는 프로브 말단을 보여주는 것이다. Fig. 3의 b)에서 보는 바와 같이 광원에서 나온 빛은 프로브의 한 끝으로 이동해 6개의 발광부를 통해 측정부위에 도달한다. 시료에 흡수된 후, 나머지 빛이 1개의 수광부를 통해 검출기와 연결된 프로브의 끝으로 들어가 검출기에 도달하면 검출기에서 흡수된 빛을 산출하여 스펙트럼으로 보여준다. 효과적으로 빛을 받아들이고 피부 표면에 프로브 말단이 직접 접촉하는 것을 방지하기 위하여 holder를 사용하여 프로브 말단과 피부 표면 사이에 0.3 mm 간격을 유지하였다. 1100~1750 nm의 파장 범위에서 매 회 70번 측정하여 평균 스펙트럼을 얻었다. 스펙트럼 당 2 nm 간격으로 326 data points를 수집하도록 설정하였다. 99% ceramic을 측정해 reference spectrum으로 하여 검체 측정 직전에 측정한 후, hairless mouse 피부를 측정하였다. 근적외선 분광분석의 측정은 ChemoHN1100 software(SpectronTech Co., Ltd., Korea)를 이용하여 기록하였다.

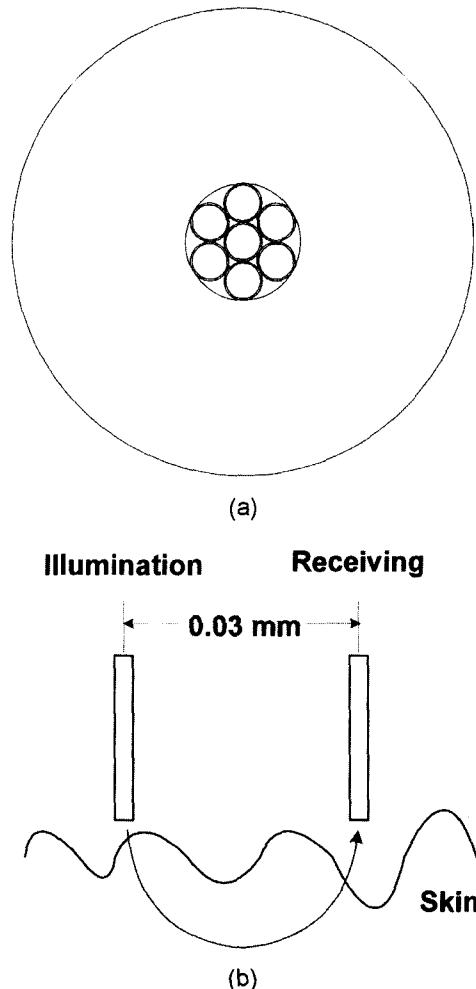


Fig. 3 – a) Schematic diagram of fiber optic probe terminal view, b) Diffuse reflectance measurement on the skin.

FT 근적외 분광기 – FT 근적외 분광기는 VECTOR22/N FT 근적외 분광기(Bruker Optik GmbH, Germany)를 사용하였다. 이 분광기는 광원으로 tungsten-halogen lamp를 사용하고, Ge diode 검출기를 사용한다. 근적외 반사 스펙트럼은 광섬유 반사 프로브를 이용하여 833~2498 nm 영역에서 1 nm 간격으로 정보를 수집하였다. 각 검체의 스펙트럼은 16번 측정해서 이를 평균하여 한 개의 스펙트럼으로 나타내도록 설정하였다. 모든 스펙트럼은 테플론 반사 표준값과 관련하여 $\log(1/R)$ 로써 기록되었다. 스펙트럼은 OPUS(Bruker optik GmbH, Germany)를 이용하여 기록하였다.

근적외 분광분석법에 의한 모델의 평가

얻어진 스펙트럼 정보들은 calibration set과 validation set의 두 개의 set으로 나누어진다. Calibration set은 스펙트럼과 기지의 피부 수분 함량을 이용하여 흡수 스펙트럼과 피부 수분 함량의 수학적인 관계식 또는 모형을 추정하는데 사용된다. Validation

set은 calibration set으로부터 얻은 추정 모델을 가지고 스펙트럼 정보를 적용시켜 수분 함량을 예측해서 모델을 검정하는데 사용된다. Calibration set의 오차는 SEC(Standard errors of calibration)로, validation set의 오차는 SEP(Standard errors of prediction)로 나타내었고 그 식은 아래와 같다.

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_{pred,i} - C_{ref,i})^2}{n-k}}$$

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_{pred,i} - C_{ref,i})^2}{p}}$$

n : number of calibration set

k : number of PLS factor

p : number of validation set

$C_{pred,i}$: predicted concentration of ith sample

$C_{ref,i}$: reference concentration of ith sample

결과 및 고찰

근적외 분광 스펙트럼 및 정량 모델 개발

Portable 근적외 분광기 – Fig. 4는 시간에 따른 hairless mouse 피부의 수분 변화량을 보여준다. 피부의 수분 함량을 최대로 하기 위하여 1시간 동안 침지하였으므로 모든 검체는 침지 직후의 수분 함량이 가장 높다. 각각의 hairless mouse 피부 조각은 180분 후까지 실리카겔이 들어있는 데시케이터에서 수분 함량이 감소하였다. 건조 180분 후에는 수분 함량이 10% 내외로 점차 건조 속도가 감소함에 따라, hairless mouse 피부 조각을 105°C

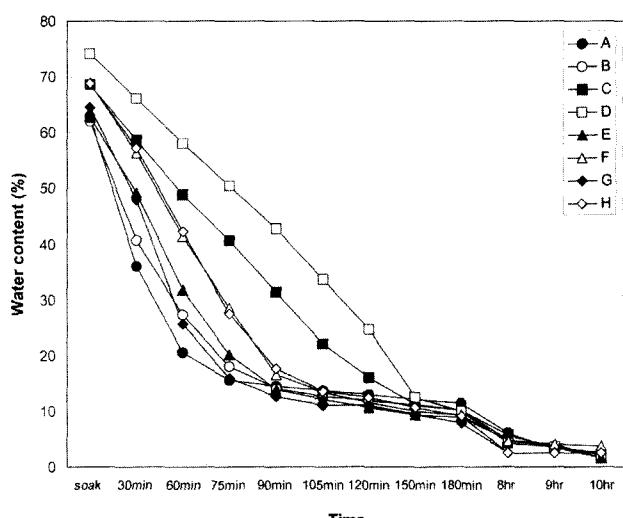


Fig. 4 – Water content changes of hairless mouse skin.

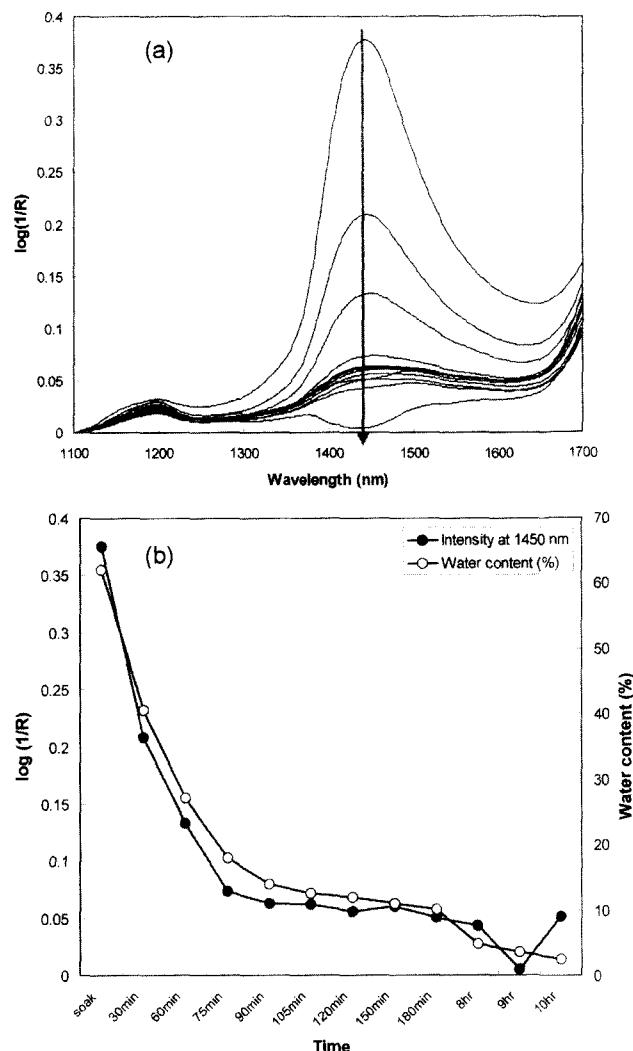


Fig. 5 – a) NIR spectra of hairless mouse skin using portable NIR system. b) Comparison water content (%) and peak intensity at 1450 nm.

드라이 오븐에서 건조하여 수분 함량이 계속적으로 감소하였다. 이러한 과정을 통하여 넓은 범위의 hairless mouse 피부 수분 함량과 근적외 스펙트럼을 얻을 수 있었다.

Fig. 5의 a)는 전체 건조 과정에서 얻은 조각 하나의 근적외 스펙트럼을 각 스펙트럼간의 명확한 차이를 보기 위하여 1100 nm에서 바탕선 보정을 한 것이다. 스펙트럼의 1450 nm 부근에 나타나는 큰 밴드는 물의 O-H stretching의 first overtone에 의한 것이다. 물 밴드의 크기가 수분 함량 변화에 따라 감소하고 있다. Fig. 5의 b)는 근적외 스펙트럼 물 밴드의 크기 변화와 수분 함량 변화를 자세히 관찰하기 위하여 1450 nm의 피크 강도와 수분 함량 변화를 비교한 것이다. 수분 함량이 감소함에 따라 1450 nm의 피크 강도가 순차적으로 감소하고 있다. 그러나 150분과 10시간 후에 측정한 스펙트럼의 피크 강도는 120분과 9시간 후

에 측정한 스펙트럼의 피크 강도에 비하여 크다. 이는 120분과 150분, 9시간과 10시간 사이의 수분 함량 차이가 $1.0 \pm 0.1\%$ 로 작기 때문이다.

이와 같이 1450 nm 부근에 나타나는 물 밴드와 수분 함량 변화가 상관성을 보이고 있지만 hairless mouse 피부 근적외 스펙트럼의 바탕선이 피부 표면의 산란 효과에 의하여 심하게 이동하고, 피부가 수분뿐만 아니라 단백질, 지방 등 여러 가지 성분을 포함하고 있는 복합적인 조직이기 때문에 피부 수분 함량을 구하는데 있어서 고전적인 단변량 분석법을 이용하는 것은 적합하지 않다. 또한 피부 표면의 산란 효과뿐만 아니라 피부 내 다른 복합 성분에 의한 간섭으로 인하여 수분 함량과 관련된 하나 또는 몇 개의 파장을 찾는 것이 어렵다.

그러므로 부분최소자승회귀분석법(PLSR)을 사용하여 피부 수분 함량의 calibration 모델을 작성하였다. PLSR은 여러 분야에서 널리 쓰이는 다변량 분석법의 하나로 분광분석을 통해 얻은 스펙트럼 정보뿐만 아니라 농도 자료에 대해 각각 인자분석을 실시하여 이들 간의 상관관계를 포함한 모델을 얻고 이에 대해서 회귀분석을 실시하는 분석법으로 보다 정확한 모델을 얻을 수 있고 검체가 복합 조직일 때에도 적용이 가능하다. 본 연구에서는 피부의 수분 상태를 측정하기 위한 PLS 모델의 개발에 The Usrambler®(Camo, Norway)를 사용하였다.

총 96개의 스펙트럼을 소프트웨어 자체 내에서 무작위 선택하여 58개의 calibration set과 38개의 validation set으로 나누었다. PLS 모델을 개발하기 위하여 1150~1700 nm와 1250~1650 nm 파장 범위의 스펙트럼이 사용되었다. 바탕선 이동을 제거하고 중첩되어 있는 신호를 부각시키기 위하여 1차 미분, 2차 미분과 같은 전처리를 사용하였다. 1150~1700 nm와 1250~1650 nm 파장 영역에서의 $\log(1/R)$, 1차 미분, 2차 미분 스펙트럼을 사용하여 PLS 모델을 작성한 결과를 Table I에 나타내었다. Hairless mouse 피부의 수분 함량에 대한 PLS 모델을 작성함에 있어 1150~1700 nm 영역의 1차 미분 스펙트럼을 사용하였을 때, SEC 5.07%, SEP 5.17%의 가장 양호한 calibration, prediction 결과를 얻었다. Fig. 6은 $\log(1/R)$ 스펙트럼을 1차 미분하여 나타낸 것이다. Fig. 7은 가장 양호한 PLS 모델을 이용하여 근적외로 예

Table I – Calibration results of the water content of hairless mouse skin in the 1150~1700 nm and 1250~1650 nm wavelength range using the portable NIR system

Wavelength (nm)	Spectral treatment	No. PCs	SEC (%)	SEP (%)
1150~1700	none	9	4.08	5.93
	1D	5	5.07	5.17
	2D	4	5.25	5.68
1250~1650	none	8	5.29	5.48
	1D	5	5.53	5.78
	2D	4	5.35	5.98

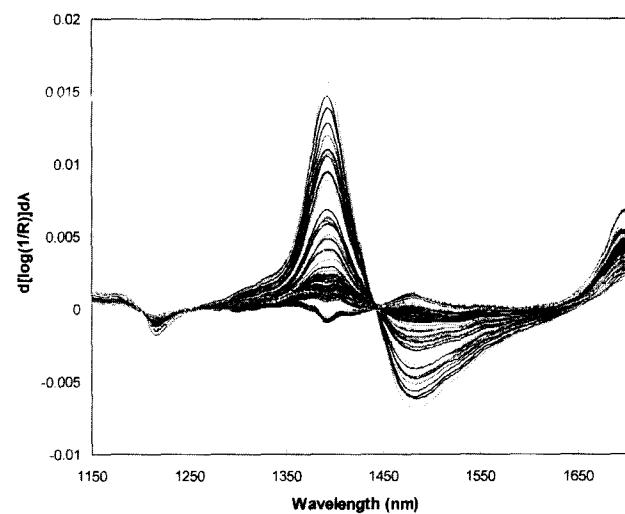


Fig. 6 – First derivative NIR spectra of hairless mouse skin using portable NIR system.

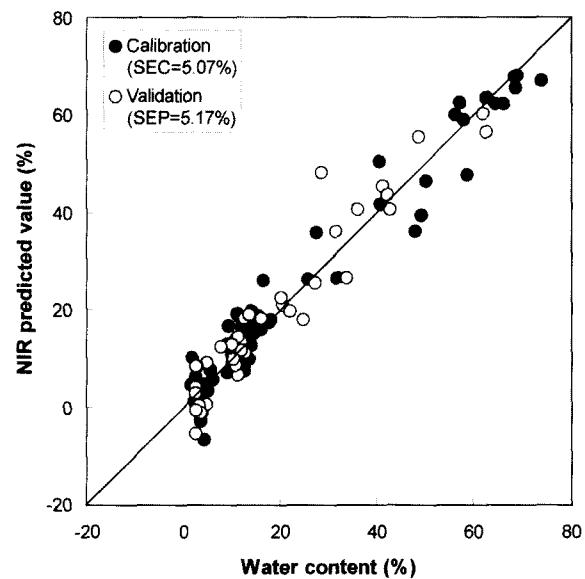


Fig. 7 – Scattering plot showing the correlation between the NIR value and water content of hairless mouse skin using the 1150~1700 nm range (portable NIR system).

측된 결과와 수분 함량 사이의 상관관계를 나타내는 그래프이다. Calibration과 prediction 결과는 hairless mouse 피부의 절대 수분 함량과 좋은 상관관계를 보여준다.

FT 근적외 분광기 – FT 근적외 분광기는 833~2498 nm의 넓은 파장 영역을 가진다. Fig. 8은 FT 근적외 분광기를 사용하여 전체 건조 과정에서 얻은 조각 하나의 스펙트럼의 바탕선을 보정한 것이다. 1450 nm와 1940 nm 부근의 물에 의한 밴드는 각각 O-H stretching의 first overtone과 O-H stretching과 deformation의 조합에 의해 나타나는 결과이다. 1450 nm와 1940 nm 부근의 물 밴드 크기가 수분 함량의 변화에 따라 감소하고 있다.

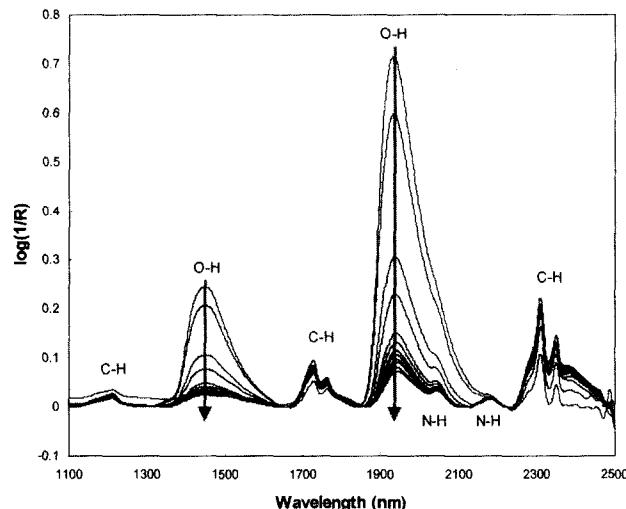


Fig. 8 – NIR spectra of hairless mouse skin using FT NIR spectrometer.

수분 함량이 감소함에 따라 나타나는 2050 nm와 2180 nm 부근의 약한 피크는 피부 단백질의 N-H 결합에 의한 것으로 보인다. 1220 nm, 1730 nm, 2310 nm의 피크는 피부 지방과 단백질에 의한 C-H 결합의 second overtone과 first overtone, 그리고 C-H stretching과 deformation의 조합에 의해 나타난다.

총 96개의 스펙트럼을 소프트웨어 자체 내에서 무작위 선택하여 20개의 군으로 나누고 교차검증하였다. 전체 영역인 1150~2250 nm 파장 영역과 portable 근적외 분광기 분석에 사용한 영역인 1150~1700 nm와 1250~1650 nm, 그리고 1940 nm 부근의 흡수 밴드만을 포함하는 1750~2250 nm 파장 영역을 분석에 사용하였다. 그 결과 1150~2250 nm 영역에서 1차 미분 스펙트럼을 사용하였을 때 SEC 4.26%, SEP 5.10%의 가장 양호한 calibration 결과를 얻었다(Table II). Fig. 9는 가장 양호한 PLS

Table II – Calibration results of the water content of hairless mouse skin in the 1150~2250 nm, 1150~1700 nm, 1250~1650 nm, and 1750~2250 nm wavelength range using the FT NIR spectrometer.

Wavelength (nm)	Spectral treatment	No. PCs	SEC (%)	SEP (%)
1150~2250	none	4	5.84	6.16
	1D	4	4.26	5.10
	2D	4	4.09	5.68
1150~1700	none	1	6.56	6.87
	1D	4	4.77	5.31
	2D	2	4.75	5.11
1250~1650	none	5	4.83	5.63
	1D	3	5.04	5.47
	2D	2	4.85	5.18
1750~2250	none	5	5.39	6.05
	1D	3	5.00	6.11
	2D	3	4.46	6.14

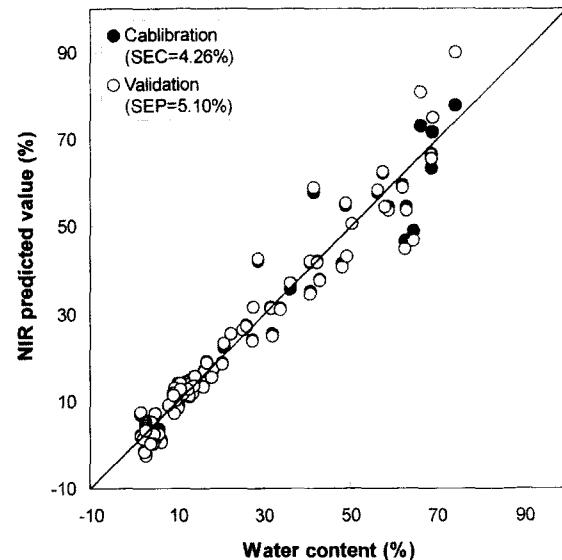


Fig. 9 – Scattering plot showing the correlation between the NIR value and water content of hairless mouse skin using the 1150~2250 nm range (FT NIR spectrometer).

모델을 사용하여 근적외 분광분석법으로 예측된 결과와 수분 함량 사이의 좋은 상관관계를 보여준다.

결 론

본 연구에서는 portable 근적외 분광기와 FT 근적외 분광기, 그리고 광섬유 반사 프로브를 이용하여 hairless mouse 피부의 근적외 확산 반사 스펙트럼을 측정하였다. Hairless mouse 피부는 0.5% trypsin 용액을 사용하여 각질층을 분리하여 검체로 하였다. 근적외 스펙트럼의 바탕선을 보정한 결과 hairless mouse 피부의 수분 함량 변화에 따른 O-H 밴드의 변화를 관찰할 수 있었다. PLSR을 실시하여 피부 수분 정량 모델을 개발한 결과 두 기기 모두 근적외 분광분석법으로 예측된 결과와 수분 함량 사이에 좋은 상관관계를 보여주었다. 이는 과거 본 실험실에서 scanning type NIR spectrometer를 이용하여 개발한 hairless mouse 피부 수분 정량 모델보다 더 양호한 결과이다.^{19,20)} 이상의 연구 결과를 통하여 photodiode arrays형 휴대용 분광기의 정량 결과가 FT 근적외 분광기의 정량 결과와 유사함을 알 수 있었다. FT 형태는 크기, 중량, 무빙 미러(moving mirror)와 같이 예민한 장치로 인해 휴대용으로 사용하기에는 무리가 있으므로, photodiode arrays 형의 휴대용 분광기가 앞으로 진행될 인간의 피부 수분의 측정에 있어서 장점이 있을 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R03-2002-000-00020-

0) 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) Mitsui, Takeo : *New Cosmetic Science*, Elsevier Science B. V., The Netherlands, p. 13 (1997).
- 2) Obata, M. and Tagami, H. : A rapid *in vitro* test to assess skin moisturizers. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **41**, 235 (1990).
- 3) Potts, R. O. : Stratum corneum hydration : Experimental techniques and interpretations of results. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **37**, 171 (1986).
- 4) E. Berardesca, P. Elsner, K. Wilhelm, H. Maibach, *Bioengineering of the Skin : Methods and Instrumentation*, CRC Press, Boca Ranton, FL, chapter 1 (1995).
- 5) Serup, J. and Jemec, G. B. E. : *Handbook of Non-invasive Methods and the Skin*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA p. 159 (1995).
- 6) Elsner, P., Berardesca, E. and Maibach, H. : *Bioengineering of the Skin : Water and the stratum corneum*, CRC, Press, Boca Ranton, FL, chapter 14 (1994).
- 7) Prasch, T. H., Knubel, G., Schmidt-Fonk, K., Ortanderl, S., Nieveler, S. and Forster, T. H. : Infrared spectroscopy of the skin : influencing the stratum corneum with cosmetic products. *Int. J. Cos. Sci.* **22**, 371 (2000).
- 8) Gerald W. Lucassen, Gerard N. A. Van Veen, and Jan A. J. Jansen : Band analysis of hydrated human skin stratum corneum attenuated total reflectance fourier transform infrared spectra *in vivo*. *J. Biomed. Optics* **3**, 267 (1998).
- 9) Wichrowskin, K., Sore, G. and Khaiat, A. : Use of infrared spectroscopy for *in vivo* measurement of the stratum corneum moisturization after application of cosmetic preparations. *Int. J. Cosmet. Sci.* **17**, 1 (1995).
- 10) Walling, P. I. and Dabney, J. M. : Moisture in skin by near-infrared reflectance spectroscopy. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **40**, 151 (1989).
- 11) Rigal, J., Losch, M. J., Bazin, R., Camus, C., Sturelle, C., Descamps, V. and Leveque, J. L. : Near-infrared spectroscopy : A new approach to the characterization of dry skin. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **44**, 197 (1993).
- 12) Sowa, M. G., Payette, J. R. and Mantsch, H. M. : Near-infrared spectroscopic assessment of tissue hydration following surgery. *J. Surg. Res.* **86**, 62 (1999).
- 13) Martin, K. A. : Direct measurement of moisture in skin by NIR spectroscopy. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **44**, 249 (1993).
- 14) Martin, K. A. : *In vivo* measurements of water in skin by near-infrared reflectance. *Appl. Spectrosc.* **52**, 1001 (1998).
- 15) Heise, H. M. : *Clinical Applications of Near- and Mid- infrared Spectroscopy, in Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Materials*, H. U. Gremlich, B. Yan, Eds. Marcel Dekker, New York (2000).
- 16) Marbach, R. and Heise, H. M. : Optical diffuse reflectance accessory for measurements of skin tissue by near-infrared spectroscopy. *Appl. Optics* **34**, 610 (1995).
- 17) Kumar, G. and Schmitt, J. M. : Optimal probe geometry for near-infrared spectroscopy of biological tissue. *Appl. Optics* **36**, 2286 (1997).
- 18) Yamamura, Tatsuo and Tezuka, Tadashi : The water-holding capacity of the stratum corneum measured by ¹H-NMR. *The Journal of Investigative Dermatology* **93**, 160 (1989).
- 19) Woo, Y. A., Ahn, J. W., Chun, I. K. and Kim, H. J. : Development of a method for the determination of human skin moisture using a portable near-infrared system. *Anal. Chem.* **73**, 4964 (2001).
- 20) Ahn, J. W. : Determination of Skin Moisture Using Near-Infrared Spectroscopy, Dongduk Women's University, Master's thesis (2002).