

# 화장품의 유효성, 안전성시험법의 현황과 전망

김종일

(태평양기술연구원 피부과학연구소)

## Perspective Views of Evaluation Methods of Cosmetic Safety and Efficacy

Jongil Kim

(Pacific R&D Center, Institute of Skin Biology)

### 요 약

인체에 안전하고 유효한 화장품을 개발하고 제품의 질을 평가하기 위하여 표준화된 안전성 및 유효성 시험방법이 필요하며, 기능성 화장품 등 제품의 개발 환경에 맞추어 신규 시험방법의 개발이 요구되고 있다. 또한 유럽에서부터 시작되고 있는 화장품 영역에서의 동물실험을 줄이려는 경향에 따라 동물대체 실험법도 동시에 요구되고 있는 실정이다. 이에 일반화장품 및 기능성 제품 개발에 필요한 피부에서의 안전성 및 유효성 시험법에 대한 현황과 표준화의 필요성에 대한 제안과 새로운 시험법의 개발 전망에 대하여 알아보고, 동물 대체실험법에 대한 연구 동향과 전망에 관해 기술하였다.

### 서 론

오늘날 화장품은 우리들의 일상생활과 밀접한 관계가 있다고 할 수 있다. 많은 사람들이 화장품을 사용하고 있으며, 그 소비량도 아주 많아졌고 특히 화장품

은 여성들의 일상생활에서 꼭 필요한 제품이 되었다. 화장은 주로 여성의 아름다움에의 본능적 소망과 결부되어 있어 기원전부터 화장품이 만들어져 사용되어 왔는데 그 시대의 사회적 관습과 가치관에 의하여 영향을 받아 성격을 달리해 왔다. 이제 화장품은 “hope in the jar”만을 제공하는 제품이 아니다(1). 한편 기술의 진보와 더불어 고령화 시대로 돌입하게 됨에 따라 화장품에서도 큰 변화가 필요하게 되었고 화장품이 효과적이며 유용성이 있는 것으로 기대되어 왔다. 이런 needs에 부응하기 위해서 기능성 제품의 개발이 요구되어져 왔으며, 기능성 제품은 피부에 대한 물리적 작용뿐만 아니라 생리적, 의학적 기능도 갖고 있는 원료를 바탕으로 한 제품들이다. 기능성 제품에는 현재 market size가 증가해 가는 욕모용, 미백용이나 노화 방지용 제품을 비롯하여 저자극 화장품을 예로 들 수 있다. 인체에 안전하고 유효한 기능성 화장품을 개발하고 제품의 질을 평가하기 위하여 표준화된 안전성 및 유효성 시험방법이 필요하며, 제품의 개발 환경에 맞추어 신규 시험방법의 개발이 요구되고 있다. 또한 유럽에서부터 시작되고 있는 화장품 영역에서의 동물실험을 줄이려는 경향에 따라 동물대체 실험법도 동시에 요구되고 있는 실정이다(2).

본고에서는 일반화장품 및 기능성 제품 개발에 필요한 피부에서의 안전성 및 유효성 시험법에 대한 현황과 표준화의 필요성에 대한 제안과 새로운 시험법의 개발 전망에 대하여 알아보고, 동물 대체실험법에 대한 연구동향과 전망에 관해 기술하고자 한다.

## 화장품과 안전성 시험법

피부를 청결하고 건강하게 유지하기 위해서 외용제품으로서 이용되는 화장품은 일반적으로 건강한 사람의 피부에 반복해서 장기간에 걸쳐 이용된다. 화장품은 불특정 다수의 사람들에게 사용되고 게다가 그 사용 방법은 기본적으로 사용자에게 위임된다는 것이 전제가 되므로 화장품에는 절대적인 안전성이 확보되어야 한다. 화장품을 포함한 피부 외용제에 의해 유발되는 피부 반응은 급성접촉성 피부염, 자극성 접촉피부염, 알러지성 접촉피부염, 광독성 피부염, 광알러지성 접촉피부염, 접촉성 담마진 및 염증반응의 육안적 소견 없이 피부에 불쾌감을 유발하는 현상인 주관적 자극감과 여드름, 피부색 변화, 국부 부작용, 전신성 부작용 등으로

나눌 수 있다(3,4). 현재까지 화장품 원료 및 제품의 안전성을 확보하기 위한 수단으로 인체 피부를 이용한 시험 및 동물을 이용한 시험이 보편적으로 수행되어 왔다. 인체 피부를 이용한 시험의 경우 실제 사용 조건에서의 피부 자극을 예견할 수 있다는 장점이 있으나 많은 시간의 소요, 시험대상자 간의 개체 차이, 시험자의 주관적인 요인이 개입될 수 있다는 점, 시험대상자에게 고통을 주는 점 및 자극 수준이 낮은 물질들간을 비교할 때 반복 노출이 아닌 일차 노출에 의해서는 그 차이가 명확하지 않다는 제한 요소 때문에 동물을 이용한 시험이 인체를 이용한 시험 이전 단계로서 수행되어져 왔다(5). 그러나化妆품을 개발하는 단계에서의 동물 시험은 환경 및 동물 보호 차원에서 사회적 비난에 직면하고 있고, 또한 유럽의 ECCD(European Community Cosmetics Directive)의 6차 개정안에서는 1998년부터 원료 및 제품에 대한 동물 시험을 중지하고 적용 가능한 대체시험법을 이용하기로 결정하였다. 동물 시험을 줄이고자 하는 노력에 의하여 in vitro 대체 시험법에 대한 관심이 증대되고, 실제로 현재까지 안점막과 피부에 관한 자극 반응 기작이 응용된 in vitro 시험법이 개발되어 왔으며 이러한 방법을 실제 제품 개발에 활용하기 위한 각국간의 확인 연구가 계속 진행되어 오고 있다(2). 따라서 화장품 등의 개발을 위해 현재까지 활용되어지고 있는 피부에 대한 안전성 시험법 설명과 적용 그리고 동물대체 시험법의 연구 현황 및 전망에 대하여 논하고자 한다.

## 피부자극시험법

1차 피부 자극을 일으킬 수 있는 물질은 우리 주변에 쉽게 찾아 볼 수 있으며 강한 자극성을 나타내는 물질은 피부에 단 1회 적용으로도 자극반응을 나타낼 수 있다. 자극성이 약한 물질은 여러 번 되풀이하여 적용함으로써 자극의 유발정도가 평가될 수 있는데 이것을 누적자극에 의한 반응이라고 한다. 피부에 독성을 야기시키는 물질을 검색하는데 있어서 우선 동물을 이용하여 피부 독성을 예견하는 전임상시험단계를 실시하고 인체첨포시험을 통하여 피부 안전성 여부를 최종 확인한다. 자극성피부염을 예측하는 전임상 시험법으로는 Draize test가 1차 자극 유발 물질을 찾아내는데 가장 널리 인정되어 사용되는 방법이며 그밖에 guinea pig immersion test, Formalin-Trypan blue test, Mouse Ear Test 등이 있다.

Draize법(Animal skin primary irritation test)은 백색 토끼의 등부위를 제모한 피부에 비찰과부위(intact skin)와 찰과부위(abraded skin)를 만들고 여기에 시료를 첩포시키는 것이다. 평가방법은 홍반, 가피형성과 부종형성으로 나누어 각각에 대하여 0에서 4까지 등급을 분류하고 그 정도에 따라 점수를 환산하여 일차 자극 지수를 구한다(6). 시험동물로는 대부분 New Zealand 백색 토끼가 비교적 높은 피부 감수성을 보여 OECD(Organization for Economic Cooperation and Development) guideline(7) 등에서 권하고 있으나 일부에서는 Hartley계 guinea pig가 조작성 용이성과 인체 피부와의 유사성 때문에 이용되기도 한다..

### 안점막자극시험법(Eye irritation test)

안점막자극시험법은 눈이 외부 물질에 노출되어 점막에 자극을 일으킬 소지가 있는 물질을 미리 확인하는 수단으로 실시되고 있다. 주로 백색 토끼를 이용하는데, 이는 눈이 크고 각막 표면과 안구와 결막의 경계 부위의 면적이 넓고 쉽게 관찰된다는 점 이외에 홍채 혈관의 관찰이 용이하다는 장점을 갖고 있기 때문이다. 토끼 눈에 시험물질을 적용한 후 각막의 혼탁과 그 범위, 홍채의 반응, 결막의 발적, 부종, 배출물의 정도 등을 관찰하고 등급을 이용하여 판정한다(8). 근래에 와서는 시험 과정 중에 발생하는 동물에 대한 고통 등 때문에 대체시험법의 개발이 요구되었으며, 제품의 경우 실제 인체시험을 행하는 경우도 있다.

### 인체첩포시험(Human patch test)

인체첩포시험은 일차자극물질을 검색하기 위한 방법으로 널리 사용되고 있으나(9), 피부과적으로는 알레르기성 접촉피부염의 진단을 위한 첩포시험(Diagnostic patch test)을 말한다. 통상적으로는 자극성을 검색하기 위해서는 먼저 동물 시험을 행하며 안전성이 확인되면 인체에 적용한다. 특수 용기(chamber)에 시험물질을 담아 등 또는 전박부에 붙여 48시간 후에 이를 제거하여 30분 후에 판독하고 2일 후 다시 한 번 판독하며 보통 4일까지 양성이면 알레르겐으로 판정한다. 반응은 홍반과 부종의 정도에 따라 숫자로 나타내며, 판정기준은 국제접촉피부염 연구위원회(International Contact Dermatitis Research Group; ICDRG)의 기준에 준한다(10). 화장품은 장기간 연용하는 제품으로 대체적으로 자극이 낮은 경우가 많기

때문에 피부일차자극시험으로 검색이 안되는 경우가 많다. 이를 검색하기 위해서는 반복노출에 의한 누적자극성시험을 행한다. 가장 많이 이용하고 있는 방법으로는 Shelanski & Shelanski 방법(11), Jordan의 Draize 방법(12), Kligman의 Maximization 방법(13)이 있다.

### 인체사용성시험(Controlled use test)

사용성시험은 자극, 알러지 등의 잠재성을 조사하여 얻은 안전성에 대한 최종 확인 시험이다. 이 시험의 목적은 제품을 정상적으로 사용하거나 혹은 과도하게 사용할 경우에 이전의 시험들에서 발견되지 않았던 어떠한 부작용이 발생할 가능성을 감지하고자 하는데 있다. 사용성 시험을 수행할 때 고려해야할 것으로 시험 제품의 사용빈도, 사용의 주기성, 사용량, 사용부위 등이 있다. 시험 조건은 실제 제품이 사용하는 것보다 과도하게 사용하며 시험기간은 대개 1 - 4 주정도 시행한다. 실제의 사용 조건과 동일하게 시험을 진행할 경우에는 보다 긴 시험기간과 많은 인원이 요구된다(14).

### 피부감작성시험법(Skin sensitization test)

특정물질의 알레르기를 유발하는 정도를 평가하기 위한 시험법으로는 세포면역학적 연구를 기반으로 인체시험 결과와 상관성에 제한성이 있음에도 불구하고 기니픽을 이용한 guinea pig maximization test(GPMT) 법 등 여러 시험법이 개발, 제안되어오고 있다. OECD guideline에 의해 인정된 guinea pig를 이용한 여러 시험법 중 maximization법이 높은 민감도 때문에 가장 선호되고 있으며 미국에서는 maximization법에서 사용하는 피내주사법을 사용하지 않고 피부 도포에 의해서 평가하는 Buehler 법이 화장품 영역에서 보다 널리 사용되고 있다. Guinea pig를 이용한 모든 알레르겐 검색법은 FCA(Freund's complete adjuvant)의 사용 여부에 따라 나누기도 하나 일반적으로 시험하고자 하는 물질을 감응시키는 방법에 따라 다음 세가지 군으로 분류할 수 있다.

제1군:경피도포형(Buehler 법(15), Open epicutaneous test 법(16))

제2군:피내주사형(Draize test 법(17), Freund's complete adjuvant test 법(16),

Optimization test 법(18))

제3군:경피도포및피내주사 혼합형(Maguire split adjuvant 법(19), GPMT 법(20))  
이중 가장 일반적인 GPMT에 대하여 간략히 살펴보면, GPMT방법은 감작유도(induction)와 감작 성립후의 감작 유발(challenge)의 2단계로 구성된다. 감작 유도에서는 털을 깎은 동물의 등 상부에 1). 유화 시킨 FCA의 면역 보조제(FCA: Freund's complete adjuvant : 결핵 사균, 유동파라핀, 계면 활성제의 혼합물), 2). 시험물질, 3). 시험물질과 같은 양의 FCA와의 유화물 세 종류의 물질을 등 상부 좌우에 피내 주사한다. 감작능을 높이기 위해서 피내 주사 7일째에 동일부위에 SLS(Sodium lauryl sulfate) 10%를 전 처리한 후 시험물질을 다음날 동일부위에 첩포 , 48시간 적용한다. 감작 유발은 첩포 2주후 털을 깎은 동물의 배부와 복부에 시험물질을 24시간 적용하고, 첩포제거 후 24시간 및 48시간째의 홍반과 가피형성, 부종형성 유무등 피부 반응을 바탕으로 감작성 유발 유무를 평가한다.

Guinea pig에서 1차적으로 알레르기 유발 능력이 검증된 물질을 사람에게 적용할 때에는 첫째로 기질의 농도, 제품의 조성, 접촉빈도, 접촉부위, 노출시간 등을 고려하여야 하며 둘째로 guinea pig와 사람에서의 피부 투과도 차이를 고려하여야 하고 셋째 투여용량과 반응강도 간의 정량적 관계를 검토하여야 한다. 또한 guinea pig를 이용한 시험법에 있어서 오랜 시험 기간, 복잡성, 시험비용의 과다 등이 해결해야할 과제이며, 동물을 사용하지 않고 알레르겐 유무를 검색할 수 있는 시험법이 요구되고 있다. 일부 guinea pig를 이용한 시험결과를 통하여 그 유용성이 입증되고 있으나, 사람에게 알레르기를 유발하는 물질이 guinea pig에서는 알레르기를 유발하지 않는다는 보고도 있다(21, 22).

### 광독성시험법(Phototoxicity test)

화학물질 중에는 광선에 의해서 피부 자극 반응을 일으키는 물질을 광독성 물질이라고 하며 이와 같은 성분을 포함하는 제품을 바르고 태양을 쬐면 도포 부위에 홍반이 일어나고 차갈색의 색소침착이 되기도 한다. 광독성 여부를 검색하기 위해서는 태양 광선이 바람직하나, 현실적으로 그 에너지나 파장의 분포는 계절이나 하루 시간대에서 현저한 차이가 있으므로 실험적으로는 Xenon lamp나 시판되는 black lamp등을 이용한다. 염증반응을 일으키는 광선의 파장역은 물질에 따라 다르기 때문에 광선의 선택이 중요하다. 일반적으로 자외선의 영역에 흡수대를 가

지는 물질에 대해서 검토된다. 따라서 장파장의 자외선(UVA), 또는 홍반을 일으키지 않는 정도의 중파장의 자외선(UVB)을 이용하는 것이 일반적이지만 가시광선에 의한 광독성 유발가능성도 배제할 수 없다. 실험 동물로서는 guinea pig나 토끼가 이용된다. 털을 깎은 동물의 배부 피부에 실험물질을 바르고 광선 조사 부위와 비조사 부위와의 반응의 차이에서 광독성의 유무를 평가한다. 최근에는, *in vitro* alternatives가 동물시험 대체용으로 사용되고 있는데, *Candida albicans*, *Salmonella typhimurium mutants*(23), red blood cell, human fibroblast 등의 세포를 이용한 방법이 이용되고 있다.

### 광감작성시험법(Photosensitization test)

광알레르기 반응은 광에 의해 생기는 알레르기 반응이다. 일상적으로 화장품을 사용하고, 실외에서 활동하는 것은 일반적이며 화장품이나 그 원료에 광감작성이 없음을 확인하는 것은 중요하다. 특히 강한 태양 광선 하에서 사용되는 자외선 차단제품이나 자외선흡수제의 경우 광감작성시험을 행하는 것이 중요하다. 실험 동물로는 mouse 및 guinea pig가 이용되고 있다. 어떤 경우에도 접촉감작성 시험의 경우와 마찬가지로 물질을 적용후 광조사에 의한 광감작유도와 일정 기간후의 물질 적용 및 광조사(광감작 유발)로 이루어진다. 감작반응을 증가시키기 위해 adjuvant를 사용하기도 한다. 광감작 유발에서 광조사 부위와 비조사 부위와의 피부 반응을 관찰하고 그 차이로 광감작성의 유무를 평가한다.

### 새로운 원료 또는 제품의 안전성 평가 프로세스

최근 들어 화장품 과 생활용품의 개발에 동물을 사용하는 문제에 있어서 동물애호가들에 의해 많은 비난이 일고 있으며 새로운 물질의 증가로 보다 빠른 검색방법이 요구되고 있다. 한편 피부에서 감작성 유발에 미치는 요인으로 검색하고자 하는 물질이 가지고 있는 피부 침투력과 피부단백질과의 결합력 등과 피부 알레르기 유발가능성과의 상관관계가 알려짐으로서 시험법의 발전 가능성이 제시되고 있다(24). 이에 따라 Gerberick 등(25)은 다음과 같은 5단계의 방법을 제안하고 있다. 먼저 1단계로 기존에 알려진 피부 알레르겐과 신 원료 또는 제품을 비교함으로써 물리화학적인 정보를 획득하는 단계로 DEREK(for Deductive Estimation

of Risk from Existing Knowledge, 알레르겐에 대한 데이터베이스) 0시스템(26)과 MultiCase(Multiple Computer Automated Structure Evaluation)(27) 등의 활용을 들 수 있다. 다음 단계로 전임상시험(동물 또는 *in vitro*)을 수행한다. 기존 방법에 의하면 guinea pig를 이용한 방법이 사용되어 왔으나 최근에는 mouse를 이용한 LLNA(Local lymph node assay)나 MEST(Mouse ear swelling test)법을 수행하고(15) 보안시험으로서 Buehler 법 또는 GPMT 법을 수행한다(22). 세번째 단계로서는 임상시험으로 인체접포시험, 누적자극시험(Human repeat insult patch test)을 수행하여 안전한 원료 및 제품으로 확인된다면 실제 사용조건에 의한 사용성 시험을 네 번째 단계로 수행한다. 네 번째 시험 결과 아무런 문제점이 발견되지 않으면 비로소 시장에 제품으로 출시하며 다섯 번째 단계로서 출시된 제품의 사후관리 및 부작용 등의 사례를 종합하여 그 결과를 반영하는 단계를 거친다.

화장품 등에 사용되는 대부분의 신 원료는 이러한 다단계의 안전성 확인 단계를 거쳐 실제 사용 가능 여부를 확인하며 최종적인 안전성 확인은 물질 자체의 독성 및 기존의 알려진 독성 물질과의 상대적인 실험 자료에 의해 판단되어야 할 것이다.

## 화장품 안전성 평가의 동물대체시험법

### 현 황

동물을 이용한 *in vivo* 시험법으로 화장품에 대한 안전성을 검토하는 문제에 있어서 3R's(Reduction, Replacement, Refinement)로 표현되는 움직임이 대두된 이래 대체시험법이나 *in vitro* 시험법의 검토와 활용에 대한 연구가 많이 진행되었다. 대체법의 개발에 관한 노력은 외국에서는 비교적 일찍부터 행해져 왔다. 예를 들어 영국에서는 1973년에 「의학 실험용 동물 대체기금」(FRAME : The Fund for Replacement of Animals in Medical Experiments)이 동물 실험 대체법의 기술 개발을 위해 설립되었고 EU에서는 1993년 ECVAM(European Centre for the Validation of Alternative Methods)이 조직되어 동물대체시험법을 개발하려는 노력을 하고 있다. 또한 미국에서는 1981년에 화장품업계의 자금지원을 바탕으로 John Hopkins 대학에 대체시험법 검토를 위한 장좌인 CAAT(Center for Alternatives to Animal Testing)가 세워 졌다. 일본에



서도 1989년 일본 동물실험 대체법 학회가 발족되었다. 화장품 안전성의 평가에 범용되고 있는 Draize의 안자극성 시험에 대한 대체시험법을 시작으로 각종 안전성 시험의 대체법 개발을 위한 연구가 진전되고 있으며 많이 이용되고 있는 대체 시험법의 종류를 알아보면 다음과 같다.

- 1). 배양된 세포를 이용하여 시험 물질이 세포의 viability에 미치는 영향을 알아보는 방법 : Neutral red uptake assay(29), MTT assay(30)
- 2). 염증 반응의 지표물질이나 효소의 활성을 측정하는 방법 : LDH (Lactic dehydrogenase) assay(31)
- 3). 12일 된 유정란의 장노막에서 시험 물질에 의한 혈관 및 막의 변화로 독성을 평가하는 방법 : CAM assay(Chorioallantoic membrane assay) CAMVA (Chorioallantoic membrane vascular assay)(32)
- 4). 생체표적물질과 독성물질 간의 반응을 응용한 kit를 이용하여 평가하는 방법 : Skintex<sup>TM</sup>(33), Eytex<sup>TM</sup>(34)
- 5). 사람의 피부세포를 3차원적으로 배양한 조직을 이용하는 방법 : LDE(Living Dermal Equivalent)(35)
- 6). 배양한 각막 세포를 이용하여 안점막 자극을 알아보는 방법
- 7). 하등 동물을 이용한 독성 평가 : Yeast를 이용한 광독성시험법, Photobacteria의 발광 정도로 독성을 평가하는 방법

### *In vitro* 시험법의 장점과 개발 필요성

사람에 대한 임상시험 및 동물시험 전 단계의 시험방법 또는 대체 가능한 방법으로서 많은 *in vitro* 시험법이 제안, 연구되고 있으며 이러한 시험법은, 첫째 실험실간에 실험조건을 일정하게 조절할 수 있다는 점, 둘째 정량적인 결과를 얻을 수 있다는 점, 셋째 보다 신속하며 저렴한 비용으로 결과를 얻을 수 있다는 장점을 갖고 있다. 또한 *in vivo* 시험결과의 발생 기작을 이해할 수 있는 독성 유발의 기작에 대한 더 많은 정보를 *in vitro* 시험에서 얻을 수 있으며, *in vitro* 시험의 효율적 시험에 의해 동물 사용을 줄일 수 있다(33).

## 안전성 시험법의 전망

특정물질에 대한 안전성 평가의 기본 논리는 의약품 혹은 화장품에 따라 변함은 없다. 안전성 평가를 위해 많은 생물학적 연구가 필요하며 이에선 임상에 대한 역학 조사와 기관, 조직, 세포 및 분자 수준에서 실험동물을 이용한 독성 연구 등이 포함된다(36). 화장품 특성상 사람에서의 문제를 일으킬 수 있는 부위는 주로 피부조직에 국한되므로 화장품의 안전성 평가를 위해 피부에 주안점을 둔 연구가 필요하다. 그러므로 보다 철저한 안전성 평가를 위해 제품이 사용되는 부위, 농도, 횟수가 검토되어야 하며, 피부 구성 성분과의 결합, 피부에서의 잔류력, 대사, 증발 속도 등도 중요 고려 요소이며 뿐만 아니라 피부를 통한 흡수 역시 배제 대상이 될 수 없다.

외국에서는 화장품 원료 및 제품에 대한 안전성 평가를 위한 시험 방법 및 프로세스에 대한 연구가 독성학 측면에서 활발히 진행되어 왔으나 국내에서는 매우 미진한 상태이다. 또한 화장품관련 법의 개정, 제조물책임법 등의 제정으로 안전성을 확보하지 않으면 안되는 실정에 있다. 그러므로 국민 보건 과 국내 화장품 산업을 위하여 많은 투자와 연구가 필요하며, 산, 학, 관의 조화와 국제 교류를 통해 세계시장에서 어깨를 나란히 할 수 있어야 하겠다. 다행히 1997년부터 보건복지부에서 실시한 보건의료기술연구개발사업(60)에 화장품 영역을 포함시킨 것을 시발점으로 하여 국가 차원에서 추진함으로써 국내의 화장품 산업의 미래는 매우 밝다고 하겠다.

화장품 개발단계에서의 동물시험을 금지시키려는 움직임으로 볼 때 앞으로의 안전성 평가는 동물대체시험법 과 인체를 대상으로 하는 평가 방법이 주로 이용될 것이라 전망된다. 향후 동물대체시험법을 개발하여 실제 화장품 개발에 적용하는 연구 및 사람에 대한 임상 시험의 강화로 야기될 수 있는 문제들에 대한 연구가 진행되어질 것으로 전망된다(37). 그러나, 아직 완전히 대체할 수 있는 시험법 개발이 늦어지고 있어 당분간 *in vitro*, 동물, 인체를 이용한 시험이 병행될 것으로 여겨진다.

## 화장품과 유효성 시험법

화장품은 피부를 미화하고, 청결 보호하는 기능을 갖고 있으며 주름억제, 미백, 육모 등 약리적 기능도 갖고 있다. 그러므로 소비자의 needs에 맞추어 화장품

을 개발하기 위해서는 화장품의 유효성을 객관적으로 측정할 수 있는 방법의 개발이 뒤따라야 하겠다. 화장품의 유효성 시험법은 시험 재료에 따라 *in vitro*, 동물, 인체 시험 등으로 나누어질 수 있으며 인체를 대상으로 하는 시험의 경우 관능시험을 통한 주관적 방법과 기기를 통한 객관적 측정법인 skin bioengineering techniques로 구분할 수 있다. 기기적 측정법은 피부 상태를 계측하는 방법에 따라 물리화학적 측정법(광학적 측정법, 역학적 측정법 등), 피부 생리학적 측정법(피부 각질수분량 측정법, 피부 수분 증발량 측정법, 피부 보습 효과 측정법, 피지 분비량 및 피지선 기능측정법, 피부 pH 측정법, 각질 turnover 측정법, 피부 온도 측정법 등), 말초순환 측정법(피부 혈류량 등) 등으로 구분할 수 있다(38). 이종본고에서는 제품의 실질적 유효성 검증에 필요한 인체를 대상으로 하는 skin bioengineering techniques (noninvasive techniques)에 대한 원리와 유용성을 알아보고 발전을 위한 방법과 전망에 대해 기술하고자 한다(39,40).

## 피부보습력(Skin hydration)측정법

화장품의 가장 중요하고 기본적으로 갖추어야 할 기능은 보습력이나 피부의 수분 보유량과 화장품이 갖고 있는 보습능은 주로 두가지 전기적 방법을 이용하여 측정하고 있다.

### 1. 전기전도도 (Conductance)(41)

피부가 수화된 피부각질층의 전기적 성질이 변화되는데 건조된 각질층은 약한 전기전도도를, 수화된 각질층은 유전상수(dielectric constant)의 증가로 강한 전기전도도를 갖게된다. 이런 피부의 전기적 성질은 전기저항(ohm) 혹은 전기전도도( $I, \text{mho} : I/\text{ohm}$ )로 측정된다. 유전상수의 증가는 impedance를 감소시키고 conductance와 capacitance를 증가시켜 일반적으로 피부 conductance와 capacitance는 서로 비례적 관계를 갖고 있다. 일반적으로 conductance를 외부환경 등에 의해 각질층의 정확한 전기적 성질을 측정할 수 없었으나 3.5MHz의 고주파 전류를 사용하므로써 피부 각질층의 수분에 따른 전기적 성질을 보다 정확하게 측정할 수 있게 되었다.

Hardware : SKICON 200 (IBS. Co. Ltd. Japan)

### 2. 전기용량 (Capacitance)(42)

유전(dielectric)으로 작용하는 매체 (진공, 유리, 플라스틱, 공)에 의해 금속판 양면이 절연되어있는 물체를 capacitor라고 하며 양면에 전기를 걸어주면 전기를 담을 수 있게 된다. Dielectric 성질이 증가할수록 capacitor의 전기용량은 증가하며 물은 매우 큰 dielectric 성질을 갖고 있으며 피부의 수분은 그 피부의 전기용량과 비례하게 된다. 이 방법은 보다 간편하며 신속하고 그리고 정확하게 피부의 수분량 및 제품의 보습능을 측정할 수 있으며 가장 보편적으로 이용되고 있다.

Hardware : Corneometer CM820PC(Courage & Khazaka Electronic GmbH,  
Germany)

### 3. 기타

고정된 전류를 사용하는 SKICON 혹은 낮은 범위의 가변주파(40-70KHz)를 사용하는 Corneometer와 달리 교류와 가변주파를 사용하며 impedance based capacitance를 측정하는 NOVA<sup>TM</sup> Dermal Phase Meter(Nova Technology Corp., USA)(43) 와 피부 그리고 점막의 수분량을 측정할 수 있는 다주파 impedance를 기초로 하는 Surface-Characterizing Impedence Monitor (SCIM)(44)가 최근에 개발 이용되고 있다.

피부 수분 측정법은 probe의 피부와의 접촉에 있어서 모발 혹은 피부에 대한 압력 등으로 피부 수분 측정에 불확실성을 부여할 수 있으므로 주의를 요하며 피부의 수분은 주위 환경 즉 온도, 습도에 많이 영향을 받으므로 측정시 항온 항습 조건에 피검자가 적응된 후에 측정되어야 한다.

### 피부수분증발량(Transepidermal Water Loss : TEWL)측정법(45)

TEWL 측정법은 피부 각질층을 통한 수분 증발 정도를 측정하는 방법으로서 피부의 장벽기능을 가장 잘 표현해주고 있다. 그러므로 피부자극시험, 피부건조증 등 피부질환에 대한 피부제제의 유효성을 측정하여 많이 이용되고 있다. TEWL은 Closed chamber method, Ventilated Chamber method, Open chamber method등 probe의 조건에 따라 3가지 방법으로 측정할 수 있으며 open chamber method가 가장 보편적으로 이용되고 있다. 피부 수분 측정법과 마찬가지로 TEWL 측정은 환경, 온도, 습도 그리고 공기의 흐름에 영향을 많이 받기 때문에 항온 항습실에서 측정되어야 하고, 측정하고자 하는 피부의 땀샘, 각질층의 두께

등에도 영향을 받으므로 측정시 주의를 기울여야 한다. Open chamber method에 의한 TEWL은 피부에 접촉된 probe에 의해 water vapor pressure gradient를 평가하므로써 계산될 수 있다. 그러므로 TEWL은 단위면적, 단위시간당 증발되는 수증기량으로 측정된다.

Hardware : EVAPORIMETER EP1 (Servo Med AB, Sweden)

TEWAMETER TM210 (Courage & Khazaka Electronic GmbH,  
Germany)

### 피부혈류량측정법(Cutaneous blood flow : CBF)(46)

피부 말초 혈류는 피부 생리적 과정에 매우 중요한 역할을 하며 여러 병리적 조건에 따라 달라질 수 있다. 피부에서의 CBF 측정은 주로 피부자극 시험뿐만 아니라 피부 혈로 개선 등 약리효과를 측정하는데 이용되어져 왔다. CBF의 측정을 위해 Photoplethysmography, Venous occlusion plethysmography 그리고 <sup>133</sup>Xenon clearance 같은 직접적인 방법과 피부온도, transcutaneous pO<sub>2</sub> 측정과 같은 간접적 방법이 이용되어져 왔으나 새로운 noninvasive technology 로는 Laser Doppler Velocimetry 혹은 Flowmetry(LDF)가 개발되어 최근 가장 많이 이용되고 있다. LDF는 다른 방법에 비해 비파괴적이며 지속적인 측정이 가능하다는 장점을 갖고 있다. LDF 측정에는 low power laser에 의해 방사되는 coherent, monochromatic light가 움직이는 물체 즉 적혈구 등에 조사되어 반사된 빛은 Doppler frequency shifting 되어 이를 photodetector로 검출하여 혈류량 및 혈류 속도를 지속적으로 측정하는 원리가 된다. LDF는 매우 복잡한 원리를 이용한 방법이지만 그 측정은 매우 간단하다. LDF의 응용은 전신적 혹은 국부적 vasoactivity, 항염증효과, 그리고 피부자극, 알레르기도 측정하는데 매우 유용하게 사용될 수 있다. 그러나 매우 민감하기 때문에 환경적 조건, probe의 위치, 피검자의 자세를 알맞게 하여야 정확한 측정을 할 수 있다. 최근에는 LD(Laser Doppler) imaging이라는 skin perfusion을 computer를 이용하여 2차원적으로 측정할 수 있는 방법이 개발되어 새로운 피부 혈류량 측정 방법 개선의 전기를 만들었다.

Hardware : Periflux 4001 Master (Perimed AB, Sweden)

Laserflo BPM (Vasamedics Inc, USA)

Microvascular Perfusion Monitor 3S (Oxford Optronix Ltd, UK)

MBF 3 (MOOR Instruments, Ltd., UK)

## 피부색(Skin color)측정법(47)

피부에 대한 여러 물리적 parameters 중 피부색은 임상적으로 가장 중요한 요소이며 피부에 존재하는 melanin과 blood에 의해 결정된다. 피부색은 넓게 redness 와 darkness로 구분할 수 있으며 redness 는 주로 피부 자극 정도 혹은 알레르기를 나타내는 홍반을 측정하기 위해 darkness 는 미백효과를 측정하는데 사용되어 있다. 피부색은 시험자에 의해 눈으로 grading될 수 있으나 주관적이며, 통계적으로는 민감도가 떨어져 정량적인 측정방법이 필요하게 되었다. Reflectance spectrophotometers를 이용한 객관적 기기적 측정은 주로 첫째 Commission Internationale de l'Éclairage(CIE)에서 제공하는 XYY Color System 이나 L\*a\*b\* color space(CIE LAB)를 사용하며, L\*은 lightness, a\*는 green-red, b\*는 blue-yellow 로 색을 표시하는 방법으로 이용하고 있다. 이의 측정은 첫째 범용적 기기인 Minolta System으로 이용되고 있으며, 둘째 피부 darkness 혹은 redness 만을 측정하기 위해 red 와 green light를 피부에 조사하여 melanin 과 blood 의 흡수, 반사 spectrum을 이용한 피부 측정기가 이용되고 있다. 즉 Erythema Index =  $\text{Log}_{10} (\text{Intensity of reflected red light}) / (\text{Intensity of reflected green light})$ , Melanin Index =  $\text{Log}_{10} (\text{Intensity of reflected red light})$ 을 측정하는 system으로 Dermaspectrometer, Erythema Meter, Mexameter 등이 상업적으로 이용되고 있다. 피부색 측정은 피부 타입을 결정하기 위한 용도로 자외선에 의해 야기되는 erythema 와 pigmentation을 측정하는데 이용되고 있으나 시험자의 주관적 평가와 함께 이용되어야 보다 정확한 피부색을 측정할 수 있다.

## 피부거칠기 및 주름(Skin roughness and wrinkle) 측정법

피부는 주름을 갖고 있고 노화됨에 따라 피부 건조도에 따라 피부의 표면 topography가 변하게 된다. 피부거칠기나 주름을 평가하는 방법은 첫째 사진을 찍고 시험자에 의한 grading 방법이 주관적으로 이용되고 있으나 역시 통계적으

로 덜 민감하다. 이에 computer 의 발달과 더불어 피부의 topography를 정량적이며 객관적으로 기기를 이용하는 방법이 발달되어 왔으며 이는 profilometry, image analysis를 이용한 optical methods 등이 이용되어 왔다.

#### 1. Profilometry(48)

피부표면에 대한 replica를 epoxy 수지로 제조하여 그 표면의 굴곡을 stylus 로 측정하는 방식으로 이 방법은 매우 정확하나 시간이 많이 걸리고 positive replica 제조에 따른 artifacts로 부정확한 측정이 이루어질 수 있다.

#### 2. Optical Methods

##### 1). Shadowing Methods(49)

피부의 silicone replica 에 경사진 빛을 조사하여 피부 형태에 따라 형성된 replica 의 굴곡에 생긴 그림자의 크기 및 모양을 화상분석을 통하여 계량하여 간접적으로 피부의 거칠기를 측정하는 방법이다.

##### 2). Confocal microscopy(49)

피부의 silicone replica의 표면 topography를 confocal microscopy와 화상분석 장치를 이용하여 피부의 주름의 크기, 깊이등을 측정하는 방법이다.

##### 3). Opticoprofilometry(50)

반투명 피부 replica 는 피부의 주름에 따라 그 두께가 달라진다. 이런 두께의 차이를 계산하기 위해 일정 빛을 조사한 후 투과된 빛의 세기를 CCD camera 와 computer로 분석하여 피부의 거칠기 혹은 주름의 크기를 간접적으로 정량화 하는 방법이다.

대부분 기능성 화장품은 대부분 주름은 줄어준다는 유효성을 제시하고 있기 때문에 이를 객관적으로 정확히 측정한다는 것은 제품 개발에 중요한 검증단계가 된다. 그러나 이들 방법 모두 피부 replica를 제조, 측정하기 때문에 많은 artifacts가 생겨날 수 있으며 제품을 장기간 사용해야만 그 효과가 나타날 수 있기 때문에 제품 사용전과 사용후의 replica를 제조한 부위를 정확히 찾을 수 없기 때문에 생길 수 있는 부정확 때문에 많은 경험이 필요하게 된다.

#### 피부 탄력(Skin elasticity)측정법

피부는 외부의 물리적 압력이나 인장에 대하여 복원하려는 물리적 성질을 갖

고 있으며 피부가 건조하거나 노화되면 복원하려는 물리적 성질은 약화된다. 화장품은 피부에 수분을 공급하므로 또한 피부의 collagen 등 합성을 촉진하는 생리적 변화를 주어 피부의 물리적 성질 즉 피부를 보다 탄력 있게 하는 작용을 갖고 있다. 그러므로 피부 자체의 탄력성과 기능성 제품의 효능을 평가하기 위해 피부를 분자 물질처럼 stress-strain 관계로 물리적 성질을 평가할 수 있다. 피부 탄력 측정법은 1차원적으로 압력을 주거나 빨아들여 그 복원 정도를 보는 unidirectional 방법과 피부를 비틀어 복원 정도를 보는 bidirectional 방법이 있다.

#### 1. Suction method(51)

피부 표면에 작은 구멍을 갖고 있는 probe를 수직으로 접촉시켜 피부를 흡입함으로써 피부가 변형되는 정도를 측정하는 방법으로 가장 보편하게 이용되고 있다.

Hardware : CUTOMETER SEM474(Courage & Khazaka Electronic GmbH,  
Germany)

DERMAFLEX A(Cortex Technology Aps, Denmark)

#### 2. Twistometry(52)

접착제가 붙어 있는 동심원의 두 disc를 피부에 부착시켜 한 disc를 고정시키고 다른 disc를 회전시킬 때 생기는 torque를 측정하여 피부의 물리적 성질을 측정하는 방법이다.

Hardware : DERMAL TORQUE METER(Diastron Ltd., USA)

#### 3. Indentometry(53)

피부에 일정한 압력을 가한 후 피부가 복원되는 정도를 정량적으로 측정하는 방법으로 특히 진피의 상태 변화에 따라 많은 변화가 있다는 특징을 갖고 있다.

#### 4. Ballistometry(54)

피부에 어떤 물체를 충돌시켰을 때 그 물체가 rebound되는 세기와 횟수를 측정하여 피부의 물리적 성질을 측정하는 방법이다.

피부의 탄력 측정은 앞서 언급한 것처럼 다양한 방법으로 측정될 수 있으나 방법에 따라 해석 방향이 달라질 수 있으므로 probe의 형태 stress의 크기, 방향 그리고 stress를 받는 부위를 시험의 목적에 따라 정해야 한다.



## 피부영상법(Skin imaging techniques)

피부를 손상시키지 않고 피부 구조를 biopsy한 것처럼 분석할 수 있는 방법이 존재한다면, 피부의 상태 혹은 유효성 및 안전성을 평가하는데 매우 편리한 방법이 될 수 있다. 현재 의공학 분야에서 사용하고 있는 초음파, 핵자기공명 기술의 발달과 더불어 많은 연구자에 의해 피부를 비파괴적으로 영상화하여 분석할 수 있는 방법이 사용되고 있으며 계속 발전되고 있다. 피부의 영상기술은 첫째, CCD sensor와 몇 가지 복합렌즈 그리고 조명장치를 이용하여 피부표면을 확대 관찰 할 수 있으며 모발의 표면 구조, 여드름, 기미 등을 관찰하고 영상을 저장할 수 있는 videomicroscope, 둘째 high frequency ultrasonic imaging 기술(55)을 응용한 기술, 셋째 핵자기공명영상법(Magnetic resonance imaging)(56)을 피부과 영역에 적용시켜 피부의 구조 뿐만 아니라 피부 내에 존재하는 여러 생체 분자들의 활동을 분석할 수 있는 기술로 이루어져 있으며 앞으로 계속 발전되리라 여겨진다. 특히 이 분야는 의공학의 진단 분야의 발전에 의존될 수 있으며 컴퓨터기술의 발전과 함께 미래의 피부 상태 측정 기술로 각광 받을 것이라 전망된다.

Hardware : DERMASCAN C(Cortex Technology Aps, Denmark)

## 피부피지량(Skin sebum)측정법(57)

피부의 장벽 기능은 각질층에 존재하는 intercellular lipids 와 피지에 의존된다. 피부에 존재하는 피지는 피지선에서 분비하는 lipids, keratins, cellular membrane으로 구성되어 있는 혼합물이다. 피지의 분비는 피부의 수분 상태 여드름 등의 질병과 연관되어 있어 피지량의 측정은 화장품의 기능 중 피지분비조절 능력을 분석하는데 이용되고 있다. 일반적으로 이용되고 있는 측정법은 cigarette paper나 bentonite 등을 피부에 일정 시간 접촉시켜 무게가 변한 정도를 중량법으로 측정하거나 추출하여 지질 분석을 하는 화학적 방법이 있으나 복잡하다는 단점을 갖고 있다. 편리한 방법으로는 반투명 혹은 불투명의 친유성 film을 피부에 일정시간 접촉시킨 후 피지에 의해 film이 투명화된 정도를 계산하여 피지분비량을 측정하는 방법이 사용되고 있다. Film의 투명도를 측정하는 방법으로는 불투명한 Sebutape를 피부에 일정시간 접촉시켜 피지에 의해 투명화된 정도를 눈이나 화상분석장치 그리고 spectrophotometer를 이용 측정한다.

Hardware : SEBUTAPE(CuDerm Corporation, USA)

SEBUMETER SM 410PC(Courage & Khazaka Electronic GmbH,  
Germany)

### 피부pH와 ions 측정법(57)

피부의 표면은 피지와 땀 등에 의해 일정한 pH를 갖고 있으며, 피부의 건강 상태에 따라 pH의 변화가 생기고 세제의 사용에 의해 피부 pH가 변하게 된다. 피부 pH는 주로 colorimetric method를 사용하여 왔으나 쉽게 측정할 수 있는 피부용 electrode가 개발되어 일반 pH 측정과 마찬가지로 피부 pH를 측정할 수 있는 방법이 이용되고 있다.

Hardware : Skin pH METER PM910PC(Courage & Khazaka Electronic GmbH  
Germany)

### SUN PROTECTION FACTOR(SPF)측정법(58, 59)

자외선차단제품은 태양광의 자외선을 막아 피부가 노화되고 피부암이 생기지 않도록 하는 기능을 갖고 있어 현재에도 차단제품에 SPF 지수를 표기하고 있다. SPF의 측정은 태양광이나 인공자외선 조사장치를 이용하여 인위적으로 피부에 홍반을 발생시키는 원리를 이용하여

$$\text{SPF} = \frac{\text{제품도포시 최소홍반량}}{\text{미도포시 최소홍반량}} \quad \text{를}$$

(최소홍반량: 피부홍반을 일으킬 수 있는 최소 자외선량 혹은 시간)

측정하게 된다. SPF 측정은 주로 자외선 B 차단 효과를 측정하는 방법으로 피부의 노화의 중요한 요인 중의 하나인 자외선 A의 차단 효과를 측정하는 방법이 되지 못한다. 최근 들어 자외선 A를 차단하는 방법이 개발되고 자외선 A 차단 능력을 표시하는 제품도 판매되고 있다. 자외선 A 차단 측정법 역시 인공 자외선 A 조사 장치로 피부가 검게되는 현상을 이용하여 PFA(Protection of UVA)를

$$\text{PFA} = \frac{\text{제품도포시 최소흑화량}}{\text{미도포시 최소흑화량}}$$

(최소흑화량: 자외선 A를 조사하였을 때 2시간이상 흑화가 지속되는데 필요한 자

외선 A량)

측정하게 된다.

Hardware : SOLAR SIMULATOR MULTIPORT 600(Solar light Co. Ltd.,  
USA)

## 유효성 시험법의 전망

화장품은 art 와 science의 종합 산물로 이에 대한 유효성을 평가하기 위해서는 in vitro, 동물 시험보다는 실제 인체에 도포 되었을 때 그 유효성이 어느 정도인지 검증하는 것이 매우 중요하다. 그러나 화장품 대상의 임상 시험은 아직 초보적 수준에 머물러 있으며 세계적으로도 정해진 방법이 자외선차단지수 측정법 등 일부에 한정되어 있다. 그 이유는 화장품의 유효성이 아직 인정하고 있지 않기 때문이다. 최근 세계적으로 기능성제품 혹은 cosmeceuticals 영역의 필요성이 법적인 차원에서 논의되고 있어, 유효성시험법 확립이 요구되고 표준화 작업이 이루어질 것이다. 화장품 등의 피부에 도포 되는 제제의 유효성 검사는 주로 visual examination에 의존하고 있지만 visual examination의 주관적 제한성 때문에 발생할 수 있는 불확실성을 줄이기 위해 많은 노력을 기울여 왔다. 첫째 graded scales를 이용하고, 둘째 이중맹검법 혹은 대조군을 이용, placebo를 비교하여 주관적 평가에 의한 불확실성을 줄여 왔다. 한편 Multi-center design, 적당한 통계분석법을 적용하여 결과의 신뢰성을 높이려고 하고 있다. 또 다른 한편에서는 visual examination의 근본적인 문제인 주관성을 배제하기 위해 계측 가능한 기기를 이용하는 방법이 만들어지고 있다. 특히 1979년 Dr. Kligman, Dr. Serup 등이 주축이 된 International Society for Bioengineering of the Skin(ISBS)이 결성되어 피부과 의사 화장품과학자 공학기술자, 컴퓨터기술자가 함께 어울려 기기적 측정의 방법을 표준화하고 새로운 방법을 개발하며 각 연구자간의 data 상관성을 분석하는 연구들이 진행되고 있다(40, 61). 1991년에는 International Society for Skin Imaging(ISSI, 전에는 International Society for Ultrasound and the skin), 1992년에는 Society for Digital Imaging of Skin(SDIS)라는 학술 단체가 결성되고 1995년 Skin Research and Technology라는 학술지가 발행되어 이들 연구에 박차를 가하고 있는 실정이다(62). 그러나 국내에서는 1996년부터 대한화장품학회

가 주관이 되어 자외선차단지수측정법을 통일화하려는 첫 시도가 있었을 뿐이었다. 그러므로 업계 차원에서 많은 관심을 갖고, 화장품 관련 법을 정리 개정하고, 협회 학회 차원에서 유효성시험법 정하는 노력을 통하여 국내 화장품 산업 발전에 커다란 전기를 마련할 수 있으며, 무분별한 수입화장품의 범람을 막을 수 있고 나아가서는 세계시장을 차지할 수 있을 것이다.

화장품에 있어서 임상시험은 기기적 측정법 뿐만아니라 피검자를 대상으로 하는 관능적 평가도 매우 중요한 측정법이므로, 기기적 측정법과 서로 보완을 하여 화장품 유효성 평가에 사용되어야 할 것이다. 임상시험에서는 피검자의 조건(성별, 나이, 인종, 부위), 환경조건(계절, 온도, 습도), 통계적 분석법, 피검자의 수, 그리고 측정에 사용된 기기의 종류 및 상태, 시험자의 경험 등이 시험 결과에 영향을 미칠 수 있으므로, 이런 조건이 전체적으로 규정된 SOP(Standard operation procedure), GCP(Good clinical practice)를 제정 준수하는 것이 좋은 유효성 평가 방법의 기초라 하겠다(40).

## 결 론

화장품의 유효성 안전성 시험법은 화장품 품질 향상과 직결된 사항이다. 그러나 앞서 언급한 것처럼 국내에서는 국민 보건에 중요한 화장품에 대한 시험법의 구체적인 연구와 활동이 매우 미진한 상태이며 일부 기업 연구소나 피부과에서만 부분적으로 이루어지고 있다. 그러나 유럽, 미국, 일본에서는 COLIPA(The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association), EEMCO(The European Group on Efficacy Measurement of Cosmetics and Other Topical Products)(63), CTFA 등 단체가 결성되어 기존 방법에 대한 통일화를 이루고 측정자간의 결과의 유사성을 분석하며 보다 정확하고 신뢰할 수 있는 방법의 개발에 노력하고 있다. 그러므로 국내에서도 국내 실정과 국제화에 맞는 유효성 안전성시험법을 제정하고 집행하려는 시도가 필요하며 이를 위해서는 산, 학, 관, 이 서로 조화를 이루어 국가적인 차원에서 한국인의 피부 특성을 분석하거나 시험법을 검토하여 우리에게 맞는 시험법을 정하는 연구 활동을 하는 조직체가 결성되어야 한다고 여겨진다. 뿐만 아니라 피부과 병원과 함께 국내에 필요한 임상시험을 실시할 수 있는 임상 전문 기관의 설립이 필요하다고 생각된다. 끝으로 시대에

맞는 시험법의 개발은 많은 투자와 연구가 요구되며 이는 사회과학과 자연과학 등 전반적 학문의 발전과 함께 이루어질 수 있다고 하겠다.

## 참 고 문 헌

1. Sparacio R., Noninvasive Evaluations of Cosmetic Products, *Cosmetics & Toiletries*, 111, 47, 1996
2. Gettings SD et al., The CTFA evaluation of alternatives program: An evaluation of *In Vitro* alternatives to the Draize primary eye irritation test (Phase III). Surfactant-based formulations, *Fd. Chem. Toxic.*, 34(1), 79, 1996
3. Berne B., Bostrom A., Grahnen AF., Tammela M., Adverse effects of cosmetics and toiletries reported to the Swedish Medical Products Agency 1989-1994, *Contact Dermatitis*, 34, 359, 1996
4. Berne B., Lundin A., Enander MI., Side effects of cosmetics and toiletries in relation to use. A retrospective study in Swedish population, *European Journal of Dermatology*, 4, 189, 1994
5. Basketter DA., Griffiths HA., Wang XM., Wilhelm KP., McFadden J., Individual, ethnic and seasonal variability in irritant susceptibility of skin: the implications for a predictive human patch test, *Contact Dermatitis*, 35, 208, 1996.
6. Guillot JP., Gonnet JF., Clement C., Caillard L. and Truhaut R., Evaluation of the cutaneous-irritation potential of 56 compounds, *Fd. Chem. Toxic.* , 20, 563, 1982.
7. OECD Guidelines for Testing of Chemicals. 1992. No..406.
8. OECD Guidelines for Testing of Chemicals. 1981. No..406.
9. Matsumura H., Oka K., Umekage K., Akita H., Kawai J., Kitazawa Y., Suda S., Tsubota K., Nimomiya Y., Hirai H., Miyata K., Morikubo K., Nakagawa M, Okada T., Kawai K., Effect of occlusion on human skin, *Contact Dermatitis*, 33, 231, 1995.
10. Aberer W., Anderson KE., White IR., Should patch testing be restricted to

dermatologists only?, *Contact dermatitis*, 28, 1, 1993.

11. Shelanski HA., Shelanski MV., A new technique of human patch tests, *Proc. Sci. Sect. Toilet Good Assn*, 19, 46, 1953.

12. Jordan WP., King SE., Delayed hypersensitivity in females, *Contact Dermatitis*, 3,19, 1977.

13. Kligman AM., Epstein W., Updating the maximization test for identifying contact allergens, *Contact Dermatitis*, 1, 231, 1975..

14. Robinson MK., Stotts J., Danneman PJ., Nusair TL., A risk assessment process for allergic contact sensitization, *Fd. Chem. Toxic*, 27(7), 479, 1989.

15. Buhler EV., Delayed contact hypersensitivity in the guinea pig, *Arch. Dermatol.*, 91, 171, 1965.

16. Klecak G., Gerleick H., Frey JR., Screening of fragrance materials for allergenicity in the guinea pig. I. Comparison of four testing methods, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 28, 53, 1977.

17. Draize JH., Woodgard G., Calvery HO., Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 82, 377, 1944.

18. Maurer T., The optimization test, *Curr. Probl. Dermatol.*, 14, 114, 1985.

19. Magure HC., Guinea pig maximization test performs "best overall" of five methods of identifying weak contact allergens, FDA-contracted comparative study finds. FDA Reports, Toiletries, Fragrances and Skin Care. "*The Rose Sheet*" Sept., 8, 3, 1980

20. Magnusson B., Kligman AM., The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximization test, *J. Invest. Dermatol.* , 52, 268, 1969.

21. Basketter DA et al., An alternative strategy to the use of guinea pigs for the identification of skin sensitization hazard, *Fd. Chem. Toxic.*, 33(12), 1051, 1995.

22. Botham PA., Classification of chemicals as sensitizers based on new test

- methods, *Toxicology Letters*, 64/65, 165, 1992.
23. Maron DM. and Ames BM., Revised methods for the salmonella mutagenicity test, *Mutation Research*, 113, 173, 1983.
25. Gerberick GF et al., Assessment of new chemicals and product ingredients, *Am. J. Cont. Derm.*, 4(4), 205, 1996.
26. Barratt MD., Basketter DA., Chamberlain M., Adams GD, Longowski JJ., An expert system rulebase for identifying contact allergens, *Toxicology in Vitro*, 8, 1053, 1994.
27. Gealy R et al., Evaluating clinical case report data for SAR modeling of allergic contact dermatitis, *Human & Experimental Toxicology*, 15, 489, 1996.
28. Frazier JH., Interdisciplinary approach to toxicity test development and validation, *Toxicology. in Vitro*, 9, 845, 1995.
29. Reader SJ., Blackwell V., O'Hara R., Clothier RH., Griffin G., Balls M., A vital dye release method for assessing the short-term cytotoxic effects of chemicals and formulation, *ATLA*, 17, 28, 1989.
30. Borenfreund E., Babich H., Martin-alguacil N., Comparisions of two *in vitro* assay-the neutral red (NR) and tetrazolium MTT tests, *Toxicology in Vitro*, . 2, 1, 1988.
31. Shin DS., Kim DB., Ryu SR., Lee SH., Kim PY., Koh JS., Park WJ., *In vitro* alternatives to skin irritation skin-irritation test, *Cosmetics & Toiletries*, 111, 61, 1996.
32. 고재숙, 박종호, 안수선, CAMVA (Chorioallantoic membrane vascular assay) 를 이용한 계면 활성제의 자극 평가에 관한 연구, *대한화장품학회지*, 21(1), 67, , 1995.
33. Gordon VC., Kelly CP., Bergamn HC., Evaluation of "SKINTEX", and *in vitro* method for determining dermal irritation, *Toxicology*, 10(1), 78, 1990.
34. Gordon VC., Bergman HC., EYTEX: an *in vitro* method for evaluation of ocular irritancy. *In Vitro Toxicology-Approaches to Validation*. In: Goldberg AM, (ed.), *Alternative Methods in Toxicology*, New York; Mary Ann Liebert,

293-302, 1991.

35. Gay R., Swiderek M., Nelson D., Stephens TJ., The living dermal equivalent as an *in vitro* model for predicting ocular irritation, *Journal of Toxicology Cutaneous and Ocular Toxicology*, 11, 47, 1992.

36. Lotti M., Mechanism of toxicity and risk assessment, *Toxicology Letters*, 77, 9, 1995.

37. Walker AP. et al., Test guidelines for assessment of skin compatibility of cosmetic finished products in man, *Fd. Chem. Toxic.*, 34, 651, 1996.

38. Tagami, H., Prospective and prospective views of bioengineering of the skin, *Fragrance Journal*, 21(10), 11, 1993.

39. *Bioengineering of the skin; Methods and Instrumentation*, Berardesca, H., Elsner P., Wilhelm K., Maibach H., Ed., CRC Press, New York, 1995.

40. *Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin*, Serup, J., Jemec G.B.E., Ed., CRC Press, New York, 1995.

41. Tagami H., Ohi M., Iwatsuki K., Kanamaru Y., Yamada M., and Ichijo B., Evaluation of the skin surface hydration *in vivo* by electrical measurement, *J. Invest. Dermatol.*, 75, 500, 1980.

42. Courage W., Hardware and measuring principle; Corneometer, in *Bioengineering of the skin : water and the Stratum Corneum*, Elsner P., Berardesca E.,and Maibach,H., Eds., CRC Press, Boca Raton, Fl, 1994.

43. Campbell M., DPM 9003 brochure, NOVA Technology Corporation, Gloucester MA.

44. Ollmar S. and Emtestam L., Electrical impedance applied to non-invasive detection of irritation in skin, *Contact Dermatitis*, 27, 37, 1992.

45. Pinnagoda,J., Tuper R.A., Agner T. and Serup J., Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement, *Contact Dermatitis*, 122, 164, 1990.

46. Nilsson G.E., Perimed's LDV flowmeter, in *Laser Doppler Blood Flowmetry*, Shepherd, A.P. and Oberg, P.A., Eds., Kluwer, Dordrecht, 1990,



Chap.4.

47. Lahti A., Kopola H., Harila A., Myllala R. and Hannuksela M., Assessments of skin erythema by eye, laser Doppler flowmeter, spectroradiometer, two-channel erythema meter and Minolta Chromameter, *Arch. Dermatol. Res.*, 285, 278, 1993.
48. Cook T. et. al., Quantification of the skin's topography by skin profilometry, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 4, 192, 1982.
49. Kim J.I., Lee JH., Lee YY., Kim C.K., TSRLM Image Analysis : Evaluating Cosmetic Effects on Skin Contours, *Cosmetics & Toiletries*, 106, 83, 1991.
50. Ha JH., Jo NS., Kim JI., Lee BG., Park W.J., The Pigmentation Effect of a New Material Extracted from Paper Mulberry and its Comparison by Three Colorimetric Instruments, the 19th *IFSCC Proceedings*, 1996
51. Vogel H.G., Age dependence of mechanical and biochemical properties of human skin, *Bioeng Skin*, 3, 141, 1987.
52. Leveque J.L., De Rigal J., *In vivo* measurement of the stratum corneum elasticity, *Bioeng Skin*, 1, 13, 1985
53. Robert C., Blac M., Lesty C., Dikstein S. and Robert L., Study of skin ageing as a function of social and professional conditions : modification of the rheological parameters measured with noninvasive method-indentometry, *Gerontology*, 34, 284, 1988.
54. Tosti A., Giovanni C., Fazzini M.L. and Villardita S., A ballistometer for the study of the plastoelastic properties of skin, *J. Invest. Dermatol.*, 69, 315, 1977.
55. De Rigal, J., Escoffier C., Querleux B., Faivre B., Agache P., Leveque J.L., Assessment of aging of the human skin in vivo. Ultrasound imaging, *J. Invest. Dermatol.*, 93, 621, 1989.
56. 이동훈, 김종일, 이해광, 정상 및 비정상 피부층에 대한 자기공명현미영상법, *의용생체공학회 proceedings*, 1997.

57. Braun-Falco O. and Korting H.C., Der normale pH-Wert der menschlichen Haut, *Hautarzt*, 37, 126, 1986.
58. FDA, Sunscreen Drug Products for Over-the-Counter Human Use, Tentative Final Monograph, Proposed rule, 1993.
59. COLIPA, Sun Protection Test Method, ref, 94/289, 1994.
60. 보건복지부, 보건의료기술 연구개발사업안내, 1997.
61. Leveque J.L., Noninvasive methods ... 20 years later, *Skin Research and Technology*, 2, 147, 1996.
62. Serup J., Editor's Introduction, *Skin Research and Technology*, 1, 1, 1995.
63. Masson P., EEMCO(The European Group on Efficacy Measurement of Cosmetics and Other Topical Products, *Skin Research and Technology*, 1, 99, 1995.