

1100~2200 nm 파장 영역의 휴대용 근적외선 분광분석기를 이용한 사람피부의 수분측정

안지원 · 서은정 · 우영아*# · 김효진
동덕여자대학교 약학대학, *스펙트론테크(주)
(Received April 15, 2003; Revised June 5, 2003)

Determination of Human Skin Moisture in the Near-Infrared Region from 1100 to 2200 nm by Portable NIR System

Jhii-Weon Ahn, Eun-Jung Suh, Young-Ah Woo*# and Hyo-Jin Kim
College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea
*Spectrontech. Co., Ltd., Kwangju-City, Kyunggi-Do 464-892, Korea

Abstract — Skin moisture is an important factor in skin health. Measurement of moisture content can provide diagnostic information on the condition of skin. In this study, a portable near-infrared (NIR) system was newly integrated with a photo diode array detector that has no moving parts, and this system has been successfully applied for the evaluation of human skin moisture. Diffuse reflectance spectra were collected and transformed to absorbance using 1 nm step size over the wavelength range of 1100 nm to 2200 nm. Partial least squares regression (PLSR) was applied to develop a calibration model. For practical use for the evaluation of human skin moisture, the PLS model for human skin moisture was developed *in vivo* using the portable NIR system on the basis of the relative water content values of stratum corneum from the conventional capacitance method. The PLS model showed a good correlation. The calibration with the use of PLS model predicted human moisture with a standard error of prediction (SEP) of 3.5 at 1120~1730 nm range. This study showed the possibility of skin moisture measurement using portable NIR system.

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

피부는 표피(epidermis), 진피(dermis), 피하조직(subcutaneous tissue)의 다층구조로 이루어져 있으며 신체를 외부환경과 분리해 주는 보호막 역할을 한다. 피부 표면의 유연성 및 탄력성 등의 성질은 인체를 보호하거나 신체의 운동이 원활하게 일어날 수 있도록 하는 주요한 인자이다.¹⁾ Fig. 1은 각질층(stratum corneum), 과립층(stratum granulosum), 유극층(prickle layer), 그리고 멜라닌 세포를 포함하고 있는 기저층(basal layer)으로 이루어져 있는 표피의 구조를 나타낸 것이다. 위에서 언급한 피부 표면의 유연성 및 탄력성 등의 성질은 표피의 각질층에 함유되어 있는 수분량에 의존하고 있거나 각질층의 보호막 기능과 수분 유지 기능에 의해 조절되고 있다. 이러한 각질층은 표피세포의 분화한 각질 세포가 쌓여 신체 부위에 따라 차이가 있지만 두께가 약 20 μm 정도로 쌓인 얇은 막을 말한다. 이 세포간에는

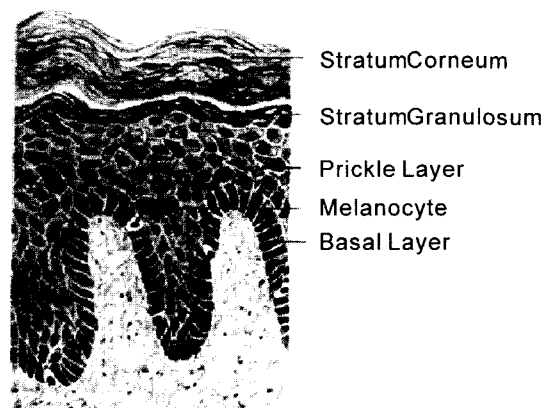


Fig. 1 – Cross section of epidermis.

각질 세포간 지질이라고 불리는 지질 혼합물이 존재하고 있어 보호막을 형성한다. 이러한 지질 혼합물은 세라마이드, 콜레스테롤, 유리지방산, 콜레스테롤 설페이트 등으로 이루어져, 표피세포가 과립층으로부터 각질층으로 이행하는 때 세포간의 층판과

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-940-4305 (팩스) 02-943-9578
(E-mail) wooy@dongduk.ac.kr

립으로부터 분비되어 각질세포간에 형성되는 것으로 알려져 있다. 외부환경 변화나 병적인 인자에 의해 정상적인 각질층을 이루지 않는 경우에는 보호기능과 함께 수분 유지 기능이 저하되기 때문에, 각질층 내의 수분을 충분히 유지하지 않으면 피부표면은 건조되어 거칠어지고 쉽게 갈라지게 된다. 그러므로 각질층에 적당한 수분을 유지하는 것이 피부건강에 중요한 인자라고 할 수 있다.

피부 수분을 측정하는데 있어서 사용되고 있는 고전적인 방법은 전기전도도법,^{2,5)} TEWL(trans-epidermal water loss),⁶⁾ ATR(attenuated total reflectance)을 이용한 적외선 분광분석법(infrared spectroscopy: IR)^{7,8)} 등이 있다. TEWL은 피부 표면으로부터 수분의 증발율을 측정하는 방법으로, 외부환경에 매우 민감하고 안정한 측정값을 얻기 위해서 평형시간이 요구된다. 적외선 분광분석법은 일정 수분대역의 파장에서 직접 수분의 함량을 측정하는 방법인데, 전반사 흡수법을 이용하여 푸리에 변환 적외선 분광분석기를 이용하므로 상당한 고가의 장비인데다가 조작성 또한 좋지 않으므로 상업용 기기로는 거의 활용되고 있지 않다. ATR 측정법은 환경조건에 의해 결과가 좌우되며 윗부분의 각질층에 국한하여 측정한다. 현재까지는 전기전도도법을 적용한 기기가 가장 광범위하게 사용되고 있다. 이 기기는 수분이 전기전도도성의 성질을 가진다는 원리를 이용한 것이다. 여기에 일정 주파수의 교류전류를 흘려주는 경우 전기 전도도를 측정하고, 측정된 전기 전도도와 포함되어 있는 수분량의 상관성으로 피부표면의 수분량을 측정하는 것이다. 그러나 이와 같은 전기전도도법은 피부 수분 측정 시 외부의 기온, 특히 습도에 의해 상당한 영향을 받아 환경이 변하면 재현성 있는 값을 나타내기가 어렵다. 또한 피부 측정 시 피부에 존재하는 전해질의 영향을 많이 받는다는 단점이 있다.

수분에 의한 신호가 민감한, 근적외분광분석법을 이용한 피부 수분 측정은 국외 여러 그룹에서 발표되고 있다. Sowa 등⁹⁾은 수술 후에 나타나는 조직의 hydration 현상을 근적외분광분석법으로 연구하였고, Martin 등은 근적외분광분석법을 이용한 피부 수분 측정에 관한 연구를 자유수와 결합수에 대한 파장 정보와 함께 발표하였다.¹⁰⁾ Rigal 등¹¹⁾은 건조한 피부에 대한 특성 연구를 근적외선을 이용하여 새롭게 접근하였다. 또한 근적외선 영역에서의 빛을 피부에 조사했을 때 신호로 나타나는 흡광도와 수분 함량과의 정량적 상관성을 밝히고 피부수분 측정에 근적외분광 분석기를 사용할 수 있는 가능성을 시사하는 연구들이 발표되고 있다.^{12,13)} 그러나 지금까지 발표된 연구는 scanning type spectrometer를 사용하고 피부 검체 측정에는 적분구(integrating sphere)라는 장치를 이용한다. 그러므로 측정시간이 오래 걸리고 또한 피부 검체를 측정하는 장치가 실험실적인 형태로 고정시켜야 하고 그 크기 또한 커서 피부의 정보를 가지는 흡수 스펙트럼을 용이하게 얻기가 어렵다. 최근, 빛을 이용한 임상적 연구에

서는 광섬유 프로브를 이용한 손쉬운 검체 접근법에 대한 논문이 발표되었다.^{14,15)} 광섬유 프로브는 일반적으로 주로 반사 형태를 가지는데, 광원으로부터의 빛을 검체에 조사하는 프로브와 조사되어 검체에 대한 정보를 가지고 있는 변형된 빛을 다시 검출기로 이동시키는 검출 프로브로 이루어져 있다. 그리고 이러한 조사 프로브와 검출 프로브의 간격에 따라 피부를 침투하는 빛의 거리가 조절이 된다는 연구 보고가 나오고 있다.¹⁶⁾

본 연구에서는 주로 연구실이나 실험실에서만 측정과 분석이 가능하였던 scanning type NIR spectrometer의 단점을 보완하여 개발한 portable NIR system을 이용하여 사람 피부의 수분을 측정하였다. 사람의 피부 수분에 대한 모델은 수분함량과 NIR 흡광도와의 관계를 이용하여 부분최소자승회귀분석법(partial least squares regression : PLSR)을 사용하여 작성하였다. 이를 바탕으로 PLS model과 portable NIR system을 사용하여 사람의 피부수분을 비파괴적이며 신속하고 안정하게 측정할 수 있는지 알아보고자 하였다.

실험방법

검체

사람 5명의 팔의 안쪽 피부로부터 200개의 피부수분 NIR 스펙트럼을 얻었다. 전기전도도법에 의해 수분량을 측정하는 Corneometer CM 825(Courage-Khazaka, Koln, Germany)를 이용하여 사람 피부의 상대 수분량을 측정하여 이를 기준으로 사용하였다(Fig. 2). 전기전도도법에 의해 얻은 전체 검체의 상대 수분량 범위는 20.7~52.3이다. NIR 반사 스펙트럼과 Corneometer CM 825를 사용한 기준값은 팔의 각각 동일한 부위에서 측정되었다. 전기전도도법이 환경에 민감하기 때문에 안정된 기준값을 얻기 위해서 실험은 20°C, 45% 상대습도 하에서 이루어졌다.

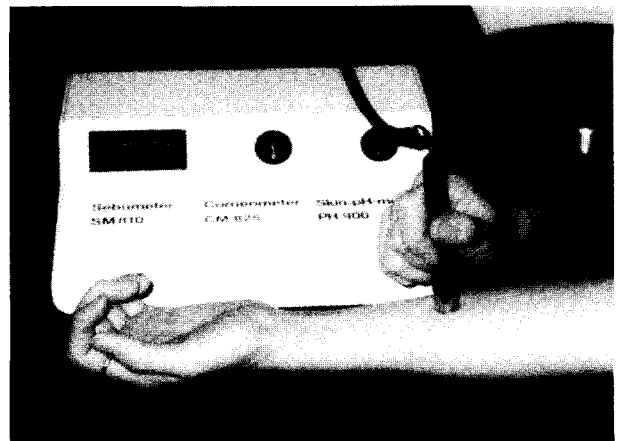


Fig. 2 - Photograph of electronic conductance measuring devices and skin measurement.

기기

휴대용 근적외선 분광분석기는 NearIRSTA HN2200(SpectronTech Co., Ltd., Korea)을 사용하였다(Fig. 3). 이 system은 광원으로 tungsten-halogen lamp를 사용하였고, InGaAs photodiode array를 검출기로 사용하였다. 피부 수분을 반사법에 의해 측정하기 위하여 광섬유 프로브(microParts, Germany)를 사용하였다(Fig. 4). 광섬유 프로브는 총 9개의 광섬유를 가지고 있고 이 중 주위의 8개의 광섬유는 검체에 광을 조사하기 위해서 광원으로부터 빛이 들어오는 경로이고, 중심에 있는 한 개의 광섬유는 검체의 정보를 읽어들이기 위해 검출기로 빛이 되돌아가는 경로이다. 효과적으로 빛을 받아들이고 피부 표면에 직접적으로 프로브가 닿는 것을 피하기 위해서 holder를 사용하여 프로브 말단과 피부 표면과의 사이에 0.3 mm 간격을 유지하였다. 검체의 반사 스펙트럼에서 데이터를 얻기 위한 반사값의 표준으로서 세라믹을 사용하였다. 각각의 반사 스펙트럼은 1100~2200 nm 파장 범위에서 7번 측정하여 이것을 평균하여 한 개의 스펙트럼으로 나타내도록 설정하였다. 스펙트럼당 1 nm 간격으로 데이터

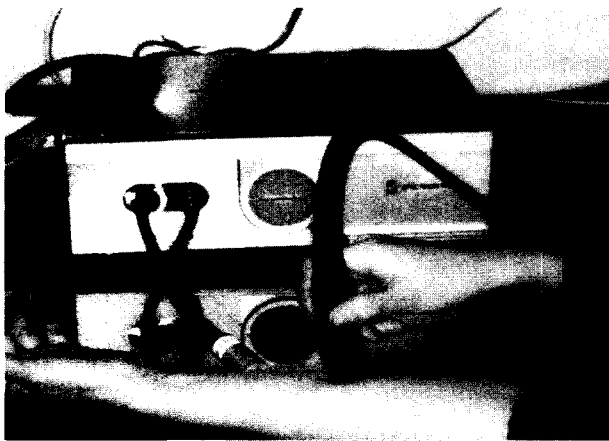


Fig. 3 - Photograph of portable NIR system and skin measurement.

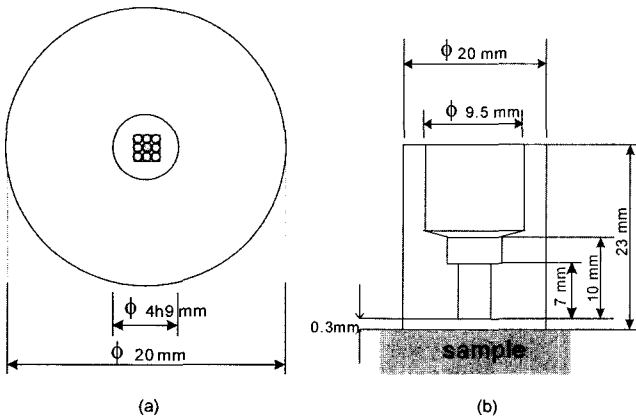


Fig. 4 - Schematic diagram of fiber optic probe that was used (a) terminal view (b) lateral section view.

포인트를 얻었다. 스펙트럼은 ChemoHN2200 소프트웨어(SpectronTech Co., Ltd., Korea)를 이용하여 기록하고, 이 소프트웨어 내의 PLSR법에 의해 데이터를 분석하였다.

NIR 모델 평가

측정한 스펙트럼은 모델을 만들기 위한 calibration set과 만들어진 모델을 평가하기 위한 prediction set으로 소프트웨어상의 선택기능을 이용하여 무작위로 나누었다. Prediction set에는 calibration에 사용되지 않은 스펙트럼을 사용하였다. 각각의 NIR 모델은 calibration set의 오차인 SEC(standard error of calibration), prediction set의 오차인 SEP(standard error of prediction)에 의해 평가된다.

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (C_{pred,i} - C_{ref,i})^2}{n - k}}$$

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (C_{pred,i} - C_{ref,i})^2}{p}}$$

위의 수식에서 n은 calibration set의 개수, k는 PLS factor의 개수, p는 predicted set의 개수, C_{pred,i}는 i번째 샘플의 predicted 농도, C_{ref,i}는 i번째 샘플의 reference 농도이다.

반복성 시험(repeatability test)

사람 피부의 NIR 스펙트럼 측정 시, portable NIR system의 스펙트럼 측정에 대한 반복성 시험을 하였다. 광섬유 프로브를 사용하여 피부에 대한 6개의 스펙트럼을 연속적으로 얻었다. 측정한 스펙트럼에 대한 변동계수(coefficient of variation: CV)를 1120~1730 nm 영역과 1120~2170 nm 영역에서 계산하였다.

결과 및 고찰

근적외선 분광 스펙트럼

Fig. 5는 1100~2200 nm 파장 영역을 가지는 portable NIR system을 사용하여 얻은 사람 피부에 대한 흡광도(log 1/R) 스펙트럼이다. 1450 nm와 1900 nm 부근에서 물에 의한 뚜렷한 특징이 나타남을 볼 수 있다. Fig. 6은 흡광도 스펙트럼에서 나타나는 바탕선 이동을 제거하고 넓은 밴드에서 뚜렷한 스펙트럼 특징을 얻기 위해서 1차 미분을 실시한 스펙트럼이다. 스펙트럼에서 1450 nm와 1900 nm 부근의 커다란 밴드는 각각 O-H stretching의 first overtone에 의한 것과 O-H stretching과 deformation의 결합에 의해 나타나는 것이다.

파장의 양쪽 끝 부분은 검출기 성능의 특성상 신호가 약해지

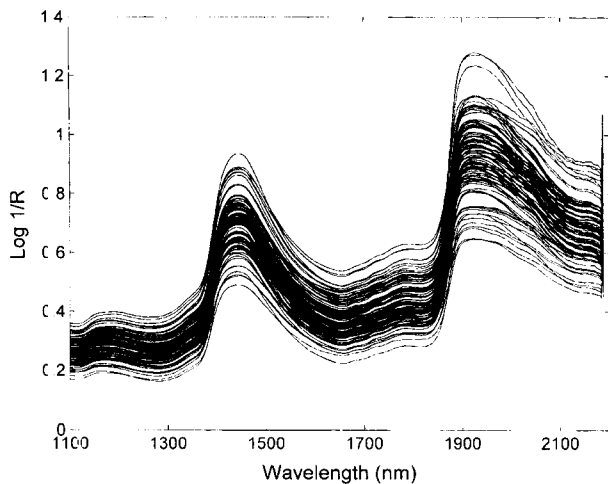


Fig. 5 - NIR spectra of human skin.

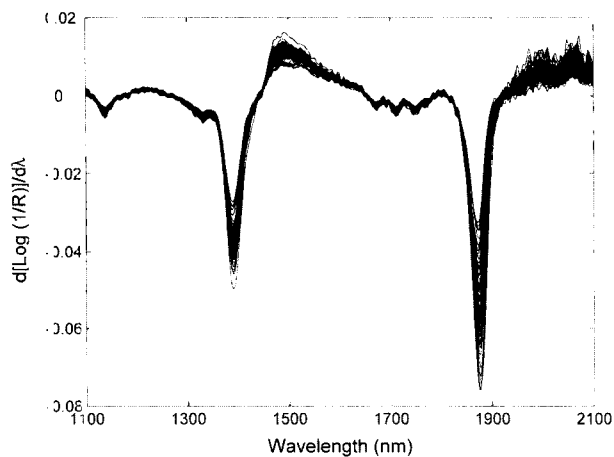


Fig. 6 - First derivative NIR spectra of human skin.

는 부분이므로 calibration은 1130~2170 nm 영역 내에서 실행하였다.

정량모델 작성 및 결과

피부는 복합적인 검체 조직이기 때문에 피부의 수분함량을 구하는데 있어서 고전적인 단변량 분석법을 사용하는 것은 적합하지 않다. 또한 피부 표면의 산란에 의한 영향과 같이 NIR 스펙트럼에서 피부의 다른 복합물들에 의한 간섭이 존재하기 때문에 수분함량과 관계된 하나 또는 몇 개의 파장을 찾는 것이 용이하지 않다. 그러므로 피부의 수분함량에 대한 calibration 모델을 작성하기 위해서 부분최소사승회귀분석법(PLSR)을 사용하였다. 이 방법은 검체가 복합 조직일 때도 적용이 가능하다. 총 100개의 시료에 대한 스펙트럼 중에서 60개를 무작위 선택하여 calibration mode을 작성하고, calibration model 작성에 사용하지 않은 40개를 calibration model 평가를 위한 prediction set으로 사용하였다. 가장 적합한 모델 작성을 위한 파장 영역을 찾기 위하여

Table I - Calibration results of the relative water content of human skin using a portable NIR system

Spectral range (nm)	Spectral treatment	No. factors	SEC ¹⁾	SEP ²⁾
1120~1730	none	8	4.2	5.0
	first derivative	7	2.6	3.5
	second derivatives	6	2.5	4.0
1120~2170	none	10	3.3	5.3
	first derivative	6	2.6	3.8
	second derivatives	5	2.2	4.0
1300~1500	none	12	3.5	4.4
	first derivative	8	3.6	4.7
	second derivatives	7	3.9	5.9
1800~2000	none	8	5.4	6.5
	first derivative	4	6.6	6.6
	second derivatives	4	5.2	7.1

¹⁾SEC : standard error of calibration.

²⁾SEP : standard error of prediction.

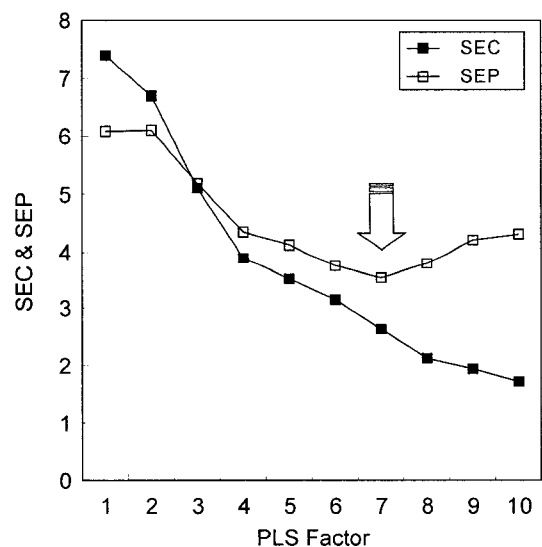


Fig. 7 - Effect of the number of PLS factors on the SEC and SEP

1120~1730 nm, 1120~2170 nm, 1300~1500 nm, 그리고 1800~2000 nm의 네 종류의 파장 영역을 사용하였다. 또한 바탕선 이동을 제거하고 스펙트럼의 특징을 부각시키기 위해서 미분법을 사용하여 모델을 작성하였다. 각각의 파장 영역에서의 log 1/R, 1차 미분, 2차 미분 스펙트럼을 사용하여 PLS 모델을 작성한 결과를 Table I에 나타내었다. 모델 작성에 있어 최적의 factor 개수를 결정하기 위하여 SEC, SEP에 따른 factor수의 변화를 알아보았다. Fig. 7은 SEC, SEP와 PLS factor와의 영향을 도식화한 것이다. SEC는 factor가 커짐에 따라 계속 감소하는 반면 SEP는 적당한 factor 이상이 되면 값이 다시 증가한다. 따라서 최적의 PLS factor는 SEP가 최소값을 가지는 factor로 하였다. SEP를 기준으로 하여 over-fitting을 피하는 최적의 factor를 구할 수 있다.

1120~1730 nm 영역과 1120~2170 nm 영역에서 모두 1차 미분을 적용하였을 때 개선된 결과를 나타내었으며, 1120~1730 nm 영역의 분석결과가 더 양호하게 나타났다. 이에 반하여 1300~1500 nm 영역과 1800~2000 nm 영역에서의 분석 결과에서는 미분을 실시하였을 때 뚜렷한 개선점을 보이지 않았으며 결과 또한 좋지 않았다.

1450 nm 부근의 peak는 O-H stretching의 first overtone에 의한 것으로 적당한 세기의 흡수를 보인다. 반면 1900 nm 부근의 peak는 O-H stretching과 deformation의 결합에 의해 나타나는 것으로, 강한 흡수를 보이며 매우 민감하여 쉽게 saturation 된다. 본 연구에서 사람피부의 상대 수분량의 기준값으로 사용한 전기전도도법은 피부표면의 수분량을 측정하는 방법이므로 강한 흡수를 나타내는 1900 nm 부근의 peak보다 적절한 흡수를 하는 1450 nm 부근의 peak와 더 좋은 상관성을 나타내므로 두 종류의 O-H peak를 포함하는 영역의 결과보다 1450 nm의 O-H peak를 포함하는 1120~1730 nm의 분석결과가 더 양호하게 나타나는 것으로 생각된다. 사람의 피부수분에 대한 PLS modeling을 수행함에 있어 1120~1730 nm 영역에서 1차 미분한 스펙트럼을 사용하였을 때 SEC 2.6, SEP 3.5의 가장 양호한 calibration, prediction 결과를 얻었다. Fig. 8은 가장 양호한 PLS 모델을 이용하여 NIR predicted value와 피부 수분함량 사이의 상관관계를 나타내는 그래프이다. Calibration과 prediction 데이터는 사람피부의 상대 수분함량과 좋은 상관관계를 보여준다.

반복성 시험

사람 피부의 NIR 스펙트럼을 6회 연속 측정 후 변동계수를

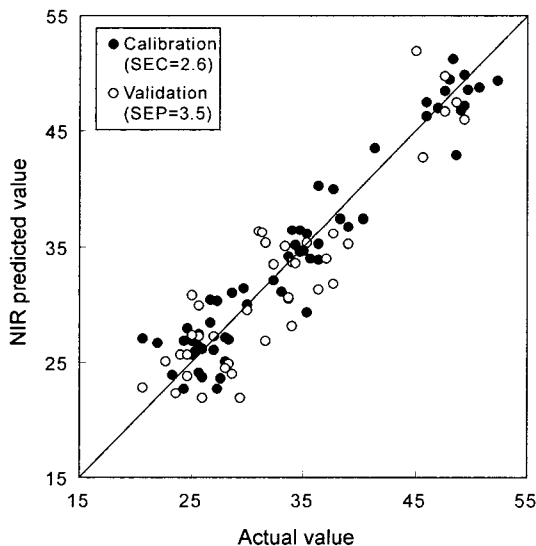


Fig. 8 – Scatter plot showing the correlation between the NIR value and the reference value for the water content of human skin using the 1120~1730 nm range.

Table II – Results of spectra repeatability test for skin using portable NIR system

Spectral range (nm)	CV* (%)
1120~1730	0.097±0.013
1120~2170	0.099±0.015

*CV : coefficient of variation.

계산하였다. Table II에 나타낸 것과 같이 1120~1730 nm 영역에서의 변동계수(CV)의 평균값은 0.097±0.013%이었고, 1120~2170 nm 영역에서의 CV의 평균값은 0.099±0.015%이었다. 1120~1730 nm 영역에서의 CV의 평균값이 더 작아, 안정적임을 알 수 있다.

결 론

1100~2200 nm 파장 영역을 갖는 portable NIR system을 이용하여 사람피부의 상대 수분량을 측정 한 결과 1120~1730 nm의 파장 영역에서의 calibration 결과가 actual value와 가장 상관성 있게 나타났다. 또한 스펙트럼의 반복성 시험에서 CV가 0.1% 이내로 매우 안정함을 확인할 수 있었다.

Portable NIR system을 이용하여 안정적인 사람 피부의 스펙트럼을 얻을 수 있었고, 스펙트럼 측정시간도 2초 이내로 매우 신속하여 사람의 피부 수분량의 calibration에 있어서 효과적이고 실용적이었다. 또한 portable NIR system은 온도나 습도와 같은 외부환경에 민감한 전기전도도법에 비해 어디에서나 사용 가능한 안정성을 갖추고 있음을 확인하였다.

문 헌

- 1) Obata, M. and Tagami, H. J. : A rapid *in vitro* test to assess skin moisturizers. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **41**, 235 (1990).
- 2) Elsner, P., Berardesca, E. and Maibach, H. : *Bioengineering of the Skin: Water and the stratum corneum*, CRC Press, Boca Raton, FL, Chapter 14 (1994).
- 3) Martinsen, O. G., Grimnes, S. and Karlson, J. : Electrical methods for skin moisture assessment. *J. Skin Pharmacol.* **8**, 237 (1995).
- 4) Salter, D. C. : Examination of stratum corneum hydration state by electrical methods. *Skin Bioeng.* **26**, 38 (1998).
- 5) Tagami, H. : Quantitative measurements of water concentration of the stratum corneum *in vivo* by high-frequency current. *Acta Derm. Venereol. Suppl. (Stockh.)* **185**, 29 (1994).
- 6) Potts, R. O. : Stratum corneum hydration: Experimental techniques and interpretation of results. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **37**, 171 (1986).
- 7) Prash, 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) Włochowski, 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).
- 9) Sowa, M. G., Payette, J. R. and Mantsch, H. H. : Near-infrared spectroscopic assessment of tissue hydration following surgery. *J. Surg. Res.* **86**, 62 (1999).
- 10) Martin, K. : Direct measurement of moisture in skin by NIR spectroscopy. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **44**, 249 (1993).
- 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**, 249 (1993).
- 12) Walling, P. L. and Dabney, J. M. : Moisture in skin by near-infrared reflectance spectroscopy. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **40**, 151 (1989).
- 13) Martin, K. : *In vivo* measurements of water in skin by near-infrared reflectance. *Appl. Spectrosc.* **52**, 1001 (1998).
- 14) Heise, H. M. : *In infrared and raman spectroscopy of biological materials*, H. U. Gremlich, B. Yan, Eds.; Marcel Dekker, New York (2000).
- 15) Woo, Y. A., Ahn, J. W., Ghun, 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).
- 16) Kumar, G. and Shumitt, J. M. : Optimal probe geometry for near-infrared spectroscopy of biological tissue. *Appl. Optics* **36**, 2286 (1997).