

죽염을 함유한 에멀젼의 안정성과 피부 자극성 완화

조완구[†] · 송영숙*

전주대학교 대체의학대학 기초의과학과

*LG 생활건강 화장품연구소

(2010년 4월 16일 접수 ; 2010년 6월 19일 채택)

Stability of Emulsions containing a Bamboo Salt and its Relaxing Effect against a Skin Irritation

Wan-Goo Cho[†] · Young-Sook Song*

[†]College of Alternative Medicine, Jeonju University,
Hyoja-dong, Wansan-gu, Jeonju, 560-759, Korea

*Household & Health Care R&D Center, LG H&H Ltd, Jang-Dong,
Yuseong-Gu, Daejon 305-343, Korea

(Received April 16, 2010 ; Accepted June 19, 2010)

Abstract : Various research on the surface of the skin and the relationship between epidermis and composition of ion have been performed. Traditionally, bamboo extract was used as an important material for enhancing healthy condition of a skin. Bamboo salt is well known as one of the most famous traditional medical treatments. In this study, we investigated the stability of P/S (Polyol-in-Silicone) emulsions containing a fair amount of bamboo salt in the range of 0.5~5.0 wt%. For improving the stability of emulsions, we varied the quantity of fatty alcohol and wax ester in emulsions and the stability was checked using DSC (Differential Scanning Calorimeter). We also studied the efficacy of treating the P/S emulsions containing bamboo salt. From the experiment, the emulsions show the mitigation of stimuli, enhancing the skin hydration and improving the appearance of the skin.

Keywords : emulsion, bamboo salt, stability, skin hydration, skin roughness

1. 서 론

인체의 혈액 내에는 0.9 %의 나트륨염이 존재하며 고대로부터 동서양을 막론하고 소금은 일상생활에 귀중하게 사용되어 왔다[1]. 한의학에서는 소금을 약제로 사용하고 있으며 본초강

목과 동의보감에서는 소금의 피부 효능으로 피부병 및 가려움증 치료, 통증 진정, 살균작용, 건조피부에 윤택성 부여와 피부보호 기능 등이 기록되어 있다[2].

최근에는 아토피 피부염 또는 건선 환자의 표피 이온 조성이 건강한 사람과는 다름이 보고되어 있으며 피부 표면의 물성과 각질층 및 표피의 이온 조성의 관계에 대한 연구도 진행되고 있다[3~7]. 또한 손상된 피부에서 각종 이

[†]주저자 (E-mail : wgcho@jj.ac.kr)

온들이 피부 손상에 대한 신호 전달 역할을 하며 피부를 회복시킨다는 연구 보고도 있다[8,9]. 특히 소금에 의한 손상 피부 회복 및 지질막 유지와 피부 질환 개선 등 다양한 연구도 진행되었다[10-12].

소금의 종류는 천일염, 정제염, 암염 등으로 구분되며 천일염은 태양열, 바람 등 자연을 이용하여 제조함으로 다양한 이온을 함유하고 있다. 정제염은 해수를 여과조에 담아 나트륨 이온과 염소 이온만을 전기분해하고 농축 함수를 증발관에 넣어 수분을 증발 시켜 원심 분리 과정과 건조로 제조된다. 그 외도 소금은 죽염·재제염 등과 같이 다양한 방법으로 가공되어 사용되고 있다.

일반적으로 죽염은 대나무 속에 천일염을 넣고 입구를 황토로 막고 철제 가마에 넣은 후 소나무 장작으로 물을 끼서 소금을 제조한다. 불이 다 꺼지고 가마가 식으면 대나무는 타서 재가 되고 소금은 녹으면서 굳어 하얀 막대기처럼 가공된다. 이것을 가루로 만들어서 다시 대통 속에 넣고 다시 구운 후 같은 방법으로 아홉 번을 되풀이해서 굽는데 마지막 아홉 번째 구울 때는 1,000 °C가 되게 온도를 올리면 소금이 녹아 용암처럼 흘러내린다. 이것을 잘게 부수어 알갱이를 만들거나 가루를 내어 사용하는데 이것이 죽염이라고 하고, 죽염은 대나무의 유효 성분과 천일염의 미량 원소 등에 의해 건강을 증진시킨다고 알려져 있다[13]. 따라서 일반적인 소금 대신에 음식을 조리할 때 사용하거나 마사지·비누·치약·화장품 등 미용재료의 원료로 사용한다. 민간에서는 비염이나 축농증, 기관지염, 잇몸질환 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

에멀젼의 안정성은 이온의 첨가에 따라 다양한 거동을 보이며 이온성 계면활성제를 유화제로 사용하는 에멀젼의 경우는 이온의 첨가가 유화제의 HLB 변화에 큰 영향을 나타내는 것으로 보고되고 있으며[14], 비이온계면활성제를 사용하는 경우에는 높은 농도의 이온 또는 염을 첨가할 경우 에멀젼의 안정성을 저하시키는 것으로 보고되고 있다[15].

본 연구에서는 죽염을 에멀젼에 첨가할 경우의 에멀젼 안정성에 미치는 영향과 죽염을 함유한 에멀젼의 피부 적용 효능에 대해 실험하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기기

사용된 시료는 Table 1에 나타낸 것과 같은 화장품용 등급의 원료를 사용하였다. 중류수는 Milli Q (Millipore Co., Milford, MA, USA) 장치를 통과시킨 것을 사용하였다.

유화 장치로는 일반 유화기로 Robomics (Tokushu Kika, Japan)를 사용하였으며 에멀젼 입자 측정은 입자측정기 (DLS, ESLZ, Photol, Japan)를 사용하였다. 피부 보습효과의 측정은 코네오미터 (Corneometer, Model 820, Courage + Khazaka, Germany))를 사용하였다. 마찰력 측정기는 Vitrodyne (LG H&H Ltd, Taejon, Korea)를 사용하였다. DSC (differential scanning calorimeter 4100, CSC, USA) 가열은 -15 °C에서 80 °C까지 1 °C min⁻¹ 속도로 측정되었고 피크와 기준선 사이의 면적은 적분치로서 열량단위(cal g⁻¹)로 환산하였다.

2.2. 에멀젼의 제조 및 보관 안정성 시험

죽염을 함유한 O/W (oil-in-water) 에멀젼과 죽염을 다양한 농도로 함유한 W/S (water-in-silicone) 에멀젼을 Table 2와 같은 혼합 비율로 사용하였으며 교반속도는 5,000 rpm으로 50 mL min⁻¹의 속도로 W/S 타입은 오일상에 수용액상을 첨가하고 O/W은 수용액상에 오일상을 첨가하였다. 이때 유화는 80 °C 실온에서 실시하였으며 5 분간 실시하였다.

안정성 평가는 시료를 0, 25, 40와 45 °C의 항온조에 넣고 5 주간에 걸쳐 분리 정도를 육안으로 확인하였다. 또한 TF/C (Freeze-Thaw cycle, -10 °C~45 °C 24시간 1회) 시험도 병행 실시하였다.

2.3. 피부 자극성 평가

피부 1차 자극성 평가는 인체의 팔 안쪽에 상처가 없는 건강한 피시험자를 선별하여 Finn chamber에 15 mL의 시료를 도포하여 시험 부위에 24시간 부착한 후 제거하고 2시간 경과 후 피부 자극성을 ICDRG(International Contact Dermatitis Research Group) 기준에 따라 아래와 같이 판정하여 자극도를 나타내었다.

피부 따끔거림 (sting) 평가는 실험 전 피시험자를 비누 세안을 실시한 후, 약 15분 동안 항온 향습실 (25 °C, 67 % 상대습도) 조건에서

Table 1. Materials for Experiments

INCI name	Trade name	Producer/distributer
Glycerin	ELOGLYN R980	LG H&H(Korea)
Propylene glycol	PG	DOW (USA)
POE retinamide	Medimin A	LG H&H (Korea)
Sorbitan stearate	Arlacel 60	Unichema (Germany)
PEG 40-stearate	Myrij 52	Unichema (Germany)
Cetostearyl alcohol	Lanett O	Cognis (Germany)
Glyceryl stearate	GMS 205	Kwangil (Korea)
Glyceryl stearate/PEG 100-stearate	Arlacel 165	Unichema (Germany)
Stearic acid	Emersol 132	Emery (USA)
4-Methyl hydroxybenzoate	Methyl paraben	Nipa(Japan)
4-Propyl hydroxybenzoate	Propyl paraben	Nipa(Japan)
Sodium chloride	Bamboo Salt	Dohae (Korea)
Carboxy vinyl polymer	Carbopol 934	BF Goodrich (USA)
Triethanolamine	TEA	Koreacatalyst(Korea)
Cyclopentasiloxane	DC 245	Dow Corning (USA)
Cyclomethicone	DC 344	Dow Corning (USA)
PEG 10-dimethicone	KF 6017	Shin Etsu (Japan)
Sorbitan sesquioleate	Arlacel 83	Unichema (Germany)
Behenyl alcohol	Behenyn 70	Koku Alcohol(Japan)
Ceteareth 20	Ceteareth 20	Unichema (Germany)
Octyl dodecanol	Eutanol G	Cognis (Germany)
Paraffin	Paraffin wax	Ross (USA)
Hydrogenated castor oil	Castor wax	Ross (USA)

적응시키고 350~400 μl 의 시료를 20초간 양 볼에 적용 후 부직포를 제거한다. 시간대 (10초, 2.5분, 5분, 8분)별로 sting 결과를 피시험자의 주관적 판정으로 기록하였다.

2.4. 피부 표면 평가

시료 도포 전 하박부위에서 피부주형을 획득하고, 시료도포 완료 후 같은 부위에서 피부주형을 획득하였다. 도포 전과 후 피부주형 영상을 CCD 카메라로 획득한 후 Image Pro를 이용하여 피부 표면 상태를 평가하였다.

2.5. 수분 보유능 측정

수분 보유능은 코네오미터를 사용하여 측정하였다. 항온 항습실 (25°C , 67 % 상대습도)에서 성인 남·여 10 명을 대상으로 수행하였다. 먼저 피시험자를 항온 항습실에서 30분 정도

유지시킨 후 하박부의 4 cm × 4 cm 면적 부분에 각각 사용 전과 사용 후 10분 간격으로 2시간 동안 120 mL의 시료를 도포한 후 피부의 수분함량을 측정하였다. 각각 시험 부위를 3회 측정하여 평균값을 활용하였다.

2.6. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였고 통계분석은 5 % 유의수준에서 Student's *t*-test를 행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 에멀젼의 안정성

시료1의 O/W 에멀젼과 시료 2 ~ 5의 W/S 제형인 경우 Table 3에 나타낸 바와 같이 O/W 제형은 안정성 평가에서 1주일 이내에 분리 현

Table 2. Formulations of Emulsions

Product name	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 Deionized water	75.93	64.85	64.35	62.35	60.35	64.35	61.85	-	-	-
2 Glycerin	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	30.0	30.0	30.0
3 Propylene glycol	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	38.0	38.0	36.0
4 Sorbitan stearate	1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5 PEG 40-stearate	1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 Cetostearyl alcohol	2.5	-	-	-	-	-	-	3.0	-	-
7 POE retinamide	-	-	-	-	-	0.5	0.5	-	-	-
8 Glyceryl stearate	1.0	-	-	-	-	-	-	1.0	1.0	1.0
9 Glyceryl stearate/ PEG 100-stearate	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 Stearic acid	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11 4-Methyl hydroxybenzoate	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-	-	-
12 4-Propyl hydroxybenzoate	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	-	-	-
13 Sodium chloride	3.0	0.5	1.0	3.0	5.0	0.5	3.0	20.0	20.0	20.0
14 Carboxy vinyl polymer	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15 Triethanolamine	0.12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16 Cyclopentasiloxane	-	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	-	-	-
17 Cyclomethicone	-	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	-	-	-
18 PEG 10-dimethicone	-	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	-	-	-
19 Sorbitan sesquioleate	-	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	-	-	-
20 Behenyl alcohol	-	-	-	-	-	-	-	3.0	3.0	-
21 Ceteareth 20	-	-	-	-	-	-	-	3.0	3.0	3.0
22 Octyl dodecanol	-	-	-	-	-	-	-	3.0	3.0	3.0
23 Paraffin	-	-	-	-	-	-	-	2.0	2.0	2.0
24 Caster wax	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.0

상이 나타났으며, W/S 제형은 죽염의 농도에 관계없이 3개월간 지속적인 제형 안정성을 유지하였다. Fig. 1에서는 동일한 함량의 죽염을 함유한 시료 1 (O/W 에멀젼)과 시료 4 (W/S 에멀젼)의 F/TC에서의 유효 안정성 결과를 나타내었다. O/W 에멀젼은 1일 경과 후 오일상과 수용액상의 분리 현상을 보였으나 W/S 에멀젼에서는 3개월 후에도 분리 현상이 관찰되지 않았다. O/W 에멀젼은 죽염이 계면활성제의 수상의 용해도를 현격히 감소시켜 제형의 안정성을 유지할 수 없는 것으로 사료된다. W/S 에멀젼에서는 죽염의 전해질로 인한 저온 안정성이 강화되고 입자 크기가 작아져 입자간의 뭉침이나 응집의 현상을 방지하여 에멀젼의

안정성을 유지할 수 있었을 것으로 생각된다 [16].

용해되지 않은 죽염의 피부 마찰에 의한 각질 제거 등의 에멀젼 피부 표면 변화에 대한 기효를 위해 죽염의 용해도가 높은 물이 에멀젼에 함유되지 않는 에멀젼의 시료 (8~10)를 준비하였다. 일반적으로 물 대신에 폴리올 등이 함유되는 에멀젼으로 비수 유화물이라 부르기도 하며 죽염의 입자 알갱이에 의한 마찰 효과에 의한 피부 노폐물 제거 혈행 촉진, 정균 효과 및 피부 청정효과를 높일 수 있을 것으로 기대된다. 시료 8~10에 대한 고온 (45도) 안정성 결과 및 DSC 분석 결과를 Table 4 및 Fig. 2에 나타내었다. 시료 8의 경우 3일 만에 고형

의 죽염이 침전되고 비수유화 에멀젼이 분리되었다. 이는 에멀젼의 녹는점이 낮기 때문에 고온에서 크림상의 유화물이 녹으면서 고형의 천일염이 침전되면서 분리된 것으로 생각되며 시료 9에서는 녹는점을 45 °C 까지 높였으나 2주차에서 고형 천일염이 침전되는 현상을 나타내었다. 이는 제품의 변화 열함량 (ΔH)을 크게 하는 것이 가장 중요한 요인인 것으로 판단되었다. 그러나 녹는점을 47 °C로 상승시킨 경우는 45 °C 항온조에서 2개월간 분리 현상이 관찰되지 않았다.

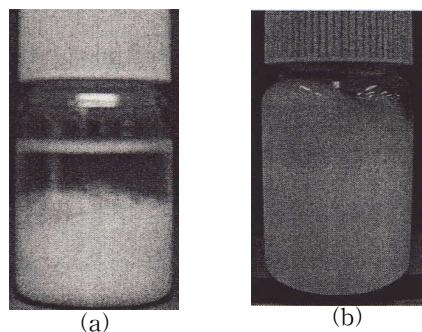


Fig. 1. (a) Stability of sample 1 after 3 days at freeze thaw cycle; (b) stability of sample 5 after 3 months at freeze thaw cycle.

3.2. 피부 자극 평가

죽염의 피부 자극 완화 정도를 평가하여 Fig. 3에 나타내었다. 자극도 0.23의 종류수에 죽염 0.6 % 함유시켜 자극도 0.09의 약 60 % 자극완

화효과를 가져왔으며, 0.18의 자극을 나타내는 계면활성제를 함유한 가용화 타입 제형에서도 죽염 0.6 % 함유로 자극도 0.06의 약 67 % 자극완화를 나타내었다. 또한, 자극원으로 SLS (sodium lauryl sulfate) 0.05 %를 사용할 때 자극도는 0.3을 나타내었으나, 죽염 0.6 % 함유로 자극도를 0.14로 약 50 %의 자극완화 효과를 나타내었다. 종류수에서의 자극은 피부의 수분 보유능 저해, 각질층의 지질 제거, 캐라틴 단백질의 변성, 각질층의 단계적인 탈락 등에 의해 나타난다[13]. 죽염의 함유는 여러 가지 미네랄에 의해 손상피부회복 및 지질막 항상성 유지와 피부 질환개선 등 다양하게 보고된[8-10] 효과에 의해 자극완화 효과가 나타낸 것으로 생각된다. 죽염이 함유된 가용화 타입 제형이나, SLS 0.05 %도 동일한 효과에 의해 자극완화 효과를 나타낸 것으로 생각된다.

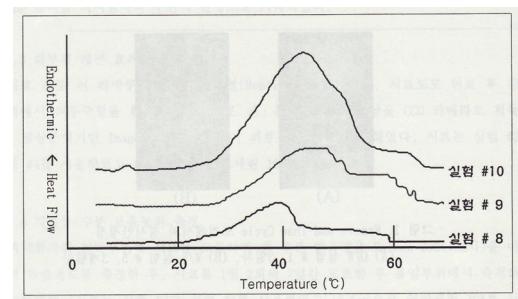


Fig. 2. Heat flow of emulsions against temperature.

Table 3. Stability of Emulsions Against Temperature for 3 Months

Sample Number	1	2	3	4	5
0 °C	Separation (1 week)	Stable	Stable	Stable	Stable
25 °C	Separation (1 week)	Stable	Stable	Stable	Stable
30 °C	Separation (3 days)	Stable	Stable	Stable	Stable
45 °C	Separation (3 days)	Stable	Stable	Stable	Stable
Freeze/Thaw cycle	Separation (3 days)	Stable	Stable	Stable	Stable

Table 4. Stability of Emulsions against Temperature, DH and Melting Point of Emulsions

Sample Number	8	9	10
Stability (45 °C)	Separation (1 week)	Separation (1 week)	Separation (1 week)
DH (Jg^{-1})	13.2	24.9	50.2
Melting point (°C)	38	45	47

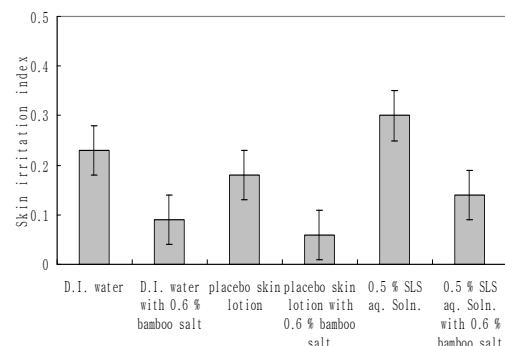


Fig. 3. Skin irritation index of samples.

3.0 %의 죽염에 대한 피부 따끔거림 완화 효과를 시험하여 평가한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 3.0 % 죽염을 첨가한 시료는 2.5 분의 따끔거림 점수가 1.4로 같은 시간대의 젖산 sting 점수인 2.1 보다 낮은 따끔거림 점수를 보여 약 33 %의 완화 효과를 보였다. 이는 죽염 내 함유된 금속 이온들이 젖산에 의한 따끔거림을 완화 시킬 가능성이 있을 것으로 생각된다.

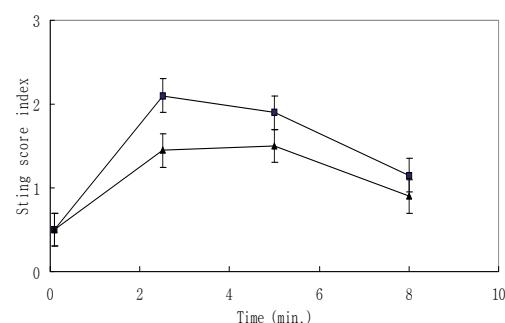


Fig. 4. Anti-sting effects against time. ■: with 3.0 % of lactic acid, ▲: with 3.0 % of lactic acid and 3.0 % of bamboo salt.

3.4. 피부 표면 평가

피부의 수분 보유능력 측정과 동일 한 시료로 피부 표면 상태를 평가한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 일반적으로 피부 표면의 미세피부결의 구조가 치밀할수록 외관상 건강한 피부와 상관성이 높다고 보고되어 있다[17]. 본 연구에서는 죽염이 0.5 % 함유된 시료 2는 다른 시료에 비해 미세 피부결을 회복시키는 정도가 유의차 있게 우수한 것으로 나타났다. 그러나 죽염이 3.0 % 함유된 시료 4의 경우, 미세 피부결을 악화시키는 결과를 나타냈다. 이러한 결과는 시료 2에서는 수용액상 천일염의 농도가 피부 생리식 염수의 농도와 동일한 농도인 0.9 %의 농도와 유사하여 피부에 부담 없이 작용되어 전해질에 의한 피부결 개선효과를 나타내었으나, 죽염이 3.0 %가 함유된 시료 4에서는 피부 생리식 염수의 농도보다 진해 피부 표면에서 염에 의한 수분의 삼투압 현상으로 각질층의 수분이 피부 밖으로 빠져나오기 때문에 미세 피부결을 형성시키지 못하였을 것으로 사료된다.

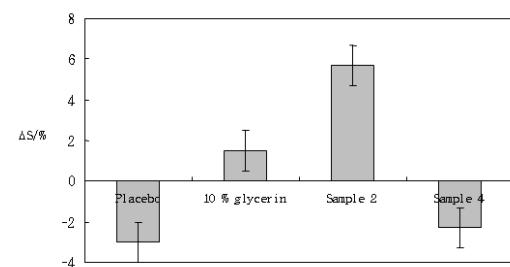


Fig. 5. Changes of skin texture applying samples.

3.5. 각질층 수분 보유능력 평가

안정적으로 죽염을 함유할 수 있는 W/S 앤 멀전에서 죽염의 함량이 0.5 %인 시료 2와 3.0

%인 시료 4를 통해 죽염이 함유된 제품의 피부의 보습능력을 평가하여 단기 (6 시간) 평가를 Fig. 6에 나타내었고, 장기 (7 일) 평가를 Fig. 7에 나타내었다. 시료 도포 후 시간별로 각 제품의 단기 보습능력을 보면 적용 6 시간까지 거의 일정한 경향을 보였다. 높은 순서대로 보면 시료 2, 시료 4, 10.0 % 글리세린 수용액 순으로 나타났지만 시료간의 유의차는 보이지 않았다. 이후 7일 동안 적용한 장기 보습능력의 경우, 단기 보습능과 결과가 유사했으며, 역시 특정 시료가 유의차 있게 우수하지 않았다.

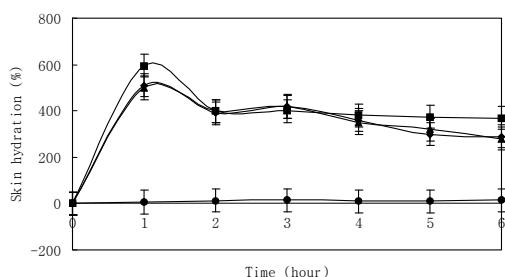


Fig. 6. Change of skin hydration applying samples to the skin within 6 hours.
■, sample 2; ◆, sample 4; ▲, 10 % glycerin aq. solution; ●, placebo.

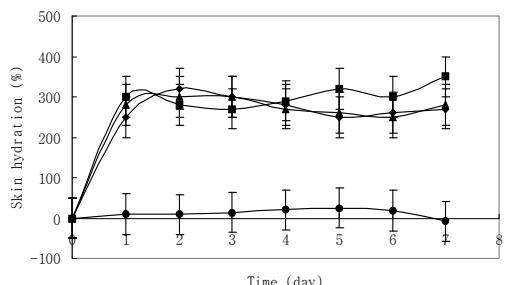


Fig. 7. Change of skin hydration applying samples to the skin within 7 days.
■, sample 2; ◆, sample 4; ▲, 10 % glycerin aq. solution; ●, placebo.

4. 결 론

죽염을 안정하게 에멀젼에 함유시키기 위해서는 O/W제형 보다 W/S제형이 상대적 안정성

이 우수하였다. 또한 죽염의 입자 알갱이에 의한 스크립(scrub)의 마찰 효과를 나타내기 효과적인 제형은 비수유화 제형으로 죽염의 비수유화 제형 내에 안정적으로 존재하기 위해서는 고온에서의 안정성 확보가 중요하며 변화 열 함량 (ΔH)이 비교적 높은 캐스터 왁스를 1.0 % 사용하여 제형의 변화 열 함량을 약 2배 향상시켜 고온에서의 지속적인 안정성을 확보할 수 있었다. 죽염의 피부 장벽에서 피부 표면 물성의 향상은 증류수, 스킨, 및 SLS 0.05 %의 피부 자극을 죽염을 함유시켜 자극 완화 효과를 나타냈으며, 젖산의 피부 따끔거림 완화도 약 33 % 정도의 개선효과를 보였다.

각질층 수분 보유능력은 대조군과의 유의차는 없었다. 그러나 생리식염수와 유사 농도를 가진 죽염 0.5 % 함유 에멀젼은 미세 피부결을 개선시켰으나, 죽염 3.0 %함유로 생리식염수의 농도보다 진한 에센스는 오히려 미세 피부결을 악화시키는 결과를 나타내었다.

참고문헌

- M. J. Cork, D. Robinson, Y. Vasilopoulos, A. Ferguson, M. Moustafa, A. M. Gowan, S. J. Ward and R. Tazi-Ahnini, Predisposition to sensitive skin and atopic eczema, *Community practitioner*, **78**(12), 440 (2005).
- T. G. Grundin, G. M. Roomans, B. Forslind, M. Lindberg and Y. Werner, X-Ray microanalysis of psoriatic skin, *J. Invest. Dermatol.*, **85**(4), 378 (1985).
- A. D. Benedetto, R. Agnihotri, L. Y. McGirt, L. G. Bankova and L. A. Beck, Atopic dermatitis: A disease caused by innate immune defects?, *J. Invest. Dermatol.*, **129**(1), 14 (2009).
- M. Denda, S. Fuziwara and K. Inoue, Influx of calcium and chloride ions into epidermal keratinocytes regulates exocytosis of epidermal lamellar bodies and skin permeability barrier homeostasis, *J. Invest. Dermatol.*, **121**, 362 (2003).
- M. Denda and N. Kumazawa, Negative electric potential induces alteration of ion

- gradient and lamellar body secretion in the epidermis, and accelerates skin barrier Recovery After Barrier Disruption, *J. Invest. Dermatol.*, **118**, 65 (2001).
6. T. Mauro, G. Bench, E. Sidderas-Haddad, K. Feingold, P. Elias and C. Cullander, Acute Barrier Perturbation Abolishes the Ca^{2+} and K^+ Gradients in Murine Epidermis: Quantitative Measurement Using PIXE, *J. Invest. Dermatol.*, **111**(6), 1198 (1998).
 7. Y. Yoshizawa, H. Tanojo, S. J. Kim, H. I. Maibach, Sea water or its components alter experimental irritant dermatitis in man, *Skin Res & Tech.*, **7**(1), 36 (2001).
 8. G. E. Rhie, M. H. Shin, J. Y. Seo, W. W. Choi, K. H. Cho, K. H. Kim, K. C. Park, H. C. Eun and J. H. Chung, Aging and photoaging-dependent changes of enzymic and nonenzymic antioxidants in the epidermis and dermis of human skin *in vivo*, *J. Invest. Dermatol.*, **117**, 1212 (2001).
 9. M. Denda, S. Fuziwara and K. Inoue, Influx of calcium and chloride ions into epidermal keratinocytes regulates exocytosis of epidermal lamellar bodies and skin permeability barrier homeostasis, *J. Invest. Dermatol.*, **121**, 362 (2003).
 10. R. R. Warner, M. C. Myers, D. A. Taylor, Electron probe analysis of human skin: element concentration profiles, *J. Invest. Dermatol.*, **90**, 78 (1987).
 11. A. Abbott, Animal testing: More than a cosmetic change, *Nature*, **438**, 144 (2005).
 12. M. P. Aronson and M. F. Petko, Highly concentrated water-in-oil emulsions: influence of electrolyte on their properties and stability, *J. Colloid Interface Sci.*, **159**, 134 (1993).
 13. T. F. Tsai and H. I. Maibach, How irritant is water? An Overview, *Contact Dermatitis*, **41**, 311 (1999).
 14. S. A. Gundersen, O. Saether, J. Sjoblom, Salt effects on lignosulfonate and Kraft lignin stabilized O/W-emulsions studied by means of electrical conductivity and video-enhanced microscopy, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **186**, 141 (2001).
 15. A. A. Kulmyrzaeva and H. Schubert, Influence of KCl on the physicochemical properties of whey protein stabilized emulsions, *Food Hydrocolloids*, **18**, 13 (2004).
 16. A. Macierzanka and H. Szelag, Microstructural behavior of water-in-oil emulsions stabilized by fatty acid esters of propylene glycol and zinc fatty acid salts, *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng. Aspects*, **281**, 125 (2006).
 17. B. Fink, K. Grammer and R. Thornhill, Human (*Homo sapiens*) facial attractiveness in relation to skin texture and color, *J. of Comparative Psychology*, **115**(1), 92 (2001).