

## A Study of Antibacterial Efficiency according to Direction of UV Irradiation in Cosmetic Case

Jae Young Jeong\*, You Jin Hwang\*

\*Student, Dept. of Biomedical Engineering, Gachon University, Incheon, Korea

\*Professor, Dept. of Biomedical Engineering, Gachon University, Incheon, Korea

### [Abstract]

In this study, we propose an antibacterial efficiency according to the direction of UV irradiation. In the experiment, we measured the effective irradiation angle of UVC using *S.aureus*, a Gram-positive bacterium, and the variation of the antibacterial region according to the distance according to the direction of ultraviolet irradiation. Also, as a method to increase the antibacterial efficiency during horizontal irradiation of ultraviolet rays, we tested reflecting leaking UVC. As a result, the angle of ultraviolet irradiation was measured smaller than the product description, and in the case of the antibacterial area according to the direction of ultraviolet irradiation, the distance from the sample was increased during vertical irradiation, and the antibacterial area was increased as the distance from the sample was closer during horizontal irradiation. In addition, it was confirmed that antibacterial efficiency can be increased by reflecting leaking UVC during horizontal irradiation of UVC.

▶ **Key words:** UV, Vertical, Horizontal Irradiation, Antibacterial, Efficiency, *Staphylococcus aureus*

### [요 약]

본 연구에서는 자외선 조사 방향에 따른 화장품 살균 효율성을 확인하고자 하였다. 실험에는 그람양성균인 *S.aureus*에 대하여 자외선 살균의 실효 조사 각을 측정하였고 자외선 조사 방향에 따른 거리별 살균 영역의 변화를 연구하였다. 그리고 자외선 수평 조사 시 살균 효율을 높일 수 있는 방법으로서 누출 자외선을 반사시키는 방법을 제시해보았다. 그 결과 자외선 조사 각은 제품 설명에 비해 더 작게 측정되었고 자외선 조사 방향에 따른 살균 영역의 경우 수직 조사 시 시료와의 거리가 멀어질수록, 수평 조사 시 시료와의 거리가 가까울수록 살균 영역이 증가하였다. 또한 자외선 수평 조사 시 누출 자외선을 반사시키는 것으로 살균 효율을 높일 수 있는 것을 확인 하였다.

▶ **주제어:** 자외선, 수직, 수평 조사, 살균, 효율, 황색포도상구균

- 
- First Author: Jae Young Jeong, Corresponding Author: You Jin Hwang
  - \*Jae Young Jeong (jini656565@naver.com), Dept. of Biomedical Engineering, Gachon University
  - \*You Jin Hwang (gene@gachon.ac.kr), Dept. of Biomedical Engineering, Gachon University
  - Received: 2020. 12. 31, Revised: 2021. 02. 09, Accepted: 2021. 02. 10.
  - This work was presented at the Summer Conference of the Korea Society of Computer and Information in 2020.

## I. Introduction

오늘날 화장품 산업은 미에 대한 대중들의 관심에 힘입어 고부가가치 상품으로 발전했다[1]. 하지만 이러한 대중들의 관심과는 다르게 화장품의 오염에 대한 위험성과 위생관리에 대한 인식은 크게 달라지지 않았다[1,3].

김선형 등의 연구에 따르면 사용한 크림형 화장품에서 다양한 유해 미생물들을 검출되었고, 사용한 입술화장품에서도 많은 호기성 세균이 검출되었다[2,3]. 또한 김가나 등(2015)의 연구에서는 사용한 쿠션파운데이션의 분첩에서 유해 미생물들이 검출되었다[1]. 검출된 유해 미생물들 중 황색포도상구균은 국내외 미생물 허용 기준치를 초과하는 모습을 보여주었다[1]. 황색포도상구균은 피부 염증을 일으키고 독소를 분비하는데 이 독소는 T 림프구의 면역반응을 일으켜 아토피 피부염과 같은 피부질환을 악화시킨다[4,5]. 따라서 오염된 화장품의 사용은 미생물들에 의한 여러 피부질환을 일으킬 수 있다.

미생물에 대한 오염은 화장품에만 일어나는 것이 아니다. 김가나 등(2015)의 연구에서 분첩 뿐만 아니라 쿠션파운데이션의 스펀지에서 황색포도상구균이 검출되었다[1]. 또한 이미현 등(2018)의 연구에 따르면 피부 접촉을 가장 많이 하는 피부미용도구 7가지(가운, 베드, 타월, 스파츨라, 터번, 해면 및 팩뿏)에 대하여 미생물 오염도를 측정 한 결과 7가지 도구 모두 미생물에 노출되었다[6]. 이는 화장품의 직접적인 오염이 아니더라도 화장 도구에 의한 2차 오염의 가능성을 보여준다. 때문에 화장품 뿐만이 아닌 화장도구에 대한 위생 관리도 필요하다.

이에 대한 방안으로 제시된 방법 중 하나로 자외선을 이용한 살균이 있다[7]. 자외선은 약 100nm에서 400nm까지의 파장을 가지는 전자기파이다[8]. 자외선은 조사 시 미생물 내 핵산 성분에 대사 장애를 일으켜 미생물의 증식능력을 억제함으로써 살균 활성을 일으킨다[9]. 자외선은 핵산의 자외선 흡수율이 높은 파장, 즉 단파장의 자외선에서 살균활성이 가장 활발하게 일어나기 때문에 200nm에서 280nm 부근의 단파장 자외선인 UVC에서 가장 높은 살균 활성을 나타낸다[10,11]. 자외선 파장에 따라 기능이 달라 다양한 방면에서 사용되고 있으며 UVC는 경제성 및 편리성이 뛰어나 위생 및 살균 관리가 필요한 영역에서 유용하게 이용되고 있다[12,13].

하지만 자외선을 화장품 살균에 사용하기 위해서 고려해야 할 점이 있다. 자외선의 경우 기기의 출력이 강해질수록 살균력이 강해진다. 하지만 화장품은 휴대성을 높이기 위해서 케이스의 크기가 작아지고 있는 추세이다. 때문

에 제한된 공간의 화장품 케이스 내에서 사용되는 자외선 기기는 크기가 제한되기 때문에 출력이 제한될 수 있다 [14]. 또한 UV LED 램프의 경우 파장이 좁아 광원이 국부적으로 쏘아지고 광출력이 낮고[7,13] 살균 용도로 사용되는 200nm에서 400nm의 화학적 자외선이기 때문에 일반인이 사용하는데 있어서 출력이 제한된다[15]. 때문에 제품의 성능을 높이기 위해서는 제한된 환경에서 높은 살균 효율을 보여줄 수 있는 조건을 찾을 필요가 있다. 이에 본 연구에서는 제한적인 공간을 가진 화장품 케이스 내에서 높은 효율을 보여줄 수 있는 자외선 조사 방안을 구상해 보고자 하였다.

## II. Materials and methods

### 1. Materials

#### 1.1 Experimental materials

실험에 사용한 UVC 기기는 LEUVK37B0HF00 (LG Innotek, Gangseo-gu, Seoul, Korea)이다. UVC 기기의 특징은 Table. 1에 정리하였다.

Table 1. Characteristics of UVC machine

Characteristics	Value
Wavelength(nm)	278
Forward Voltage(V)	MAX 9
Forward Current(mA)	20
Beam Angle(°)	125
Size(mm)	3.4×3.4×1.62

세균 배양에는 배양기 LCC-150SP (LabTech, Namyangju-si, Korea), 도구 및 배지의 멸균은 고온고압 멸균기 ES-315 (Tomy digital biology, Nerima-ku, Tokyo, Japan), 흡광도 측정은 흡광광도계 Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA)를 사용하였다.

#### 1.2 Experimental reagents

균주의 배양에 사용된 Luria-Bertani(LB) Plate 1은 지름이 90mm인 Petri dish에, LB Plate 2는 지름이 47mm인 Petri dish에 만들어 사용하였다. LB Plate는 3차 증류수에 Sodium Chloride (Sigma Aldrich, Missouri, St.Louis, USA) 1%, Bacto™ Tryptone 1%, Bacto™ Yeast Extract 0.5%, Bacto™ Agar 1.5% (BD DIFCO, New Jersey, Franklin Lakes, USA)의 조성으로 혼합 후 고온고압 멸균하여 사용하였다. LB Broth은 Bacto™

Agar를 제외한 LB Plate의 조성과 같이 혼합 후 고온고압 멸균하여 사용하였다.

Table 2. Solid medium used in the experiment

Name	Diameter(mm)	Used
LB plate 1	90	Method 2.1
LB plate 2	47	Method 2.3

1.3 Bacteria culture

실험에 사용한 황색포도상구균 (ATCC 29213) 은 한국 미생물보존센터 (KCCM: Korean Culture Center of Microorganisms, Seodaemun-gu, Seoul, Korea)에서 분양 받았다. 황색포도상구균은 LB Broth에 접종하여 37°C에서 24시간 진탕배양하였다. 황색포도상구균 배양액은 진탕배양한 황색포도상구균을 200 μl 기준, 595 nm에서 흡광도 0.4가 되도록 LB Broth에 희석하여 사용하였다.

2. Methods

2.1 Measurement of change in antibacterial area by distance according to direction of UV irradiation

본 실험은 자외선 조사 방향에 따른 거리별 살균 영역의 변화를 측정하기 위한 실험이다. 실험군은 조사 방향을 수직과 수평으로 나누고 각각 LB Plate 1로부터의 거리를 10mm부터 30mm까지 10mm 간격으로 조사한 것으로 설정하였다. 대조군은 UVC를 조사하지 않은 표본으로 설정하였다.

실험은 다음과 같이 진행하였다. 황색포도상구균 배양액은 1/1000 비율로 희석하여 200μl를 LB Plate 1에 도말하였다. UVC는 위에 설정한 실험군의 기준으로 황색포도상구균 배양액을 도말한 LB Plate 1에 5분간 조사하였다. UVC를 조사한 LB Plate 1은 배양기(37°C)에서 24시간 균을 배양하였다. 결과는 자를 사용하여 살균 영역의 중앙 폭을 측정하는 방식으로 5회 실시하여 평균값을 도출하였다.

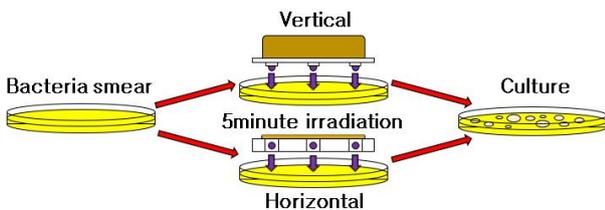


Fig. 1. Method of measurement of change in antibacterial area by distance according to direction of UV irradiation.

2.2 Measurement of effective irradiation angle of UV

본 실험은 실험에 사용한 자외선 기기의 UVC 실효 조사 각을 측정하기 위한 실험이다. 실험군은 UVC를 수직

조사하는 것으로 LB Plate 1로부터의 거리를 10mm부터 30mm까지 10mm 간격으로 조사한 것으로 설정하였다.

실험은 다음과 같이 진행하였다. 황색포도상구균 배양액은 1/1000 비율로 희석하여 200μl를 LB Plate 1에 도말하였다. UVC는 위에 설정한 실험군의 기준으로 황색포도상구균 배양액을 도말한 LB Plate 1에 5분간 조사하였다. UVC를 조사한 LB Plate 1은 배양기(37°C)에서 24시간 균을 배양하였다. 자외선 기기의 조사 각은 배양 후 실험군들의 살균 영역의 너비를 측정하여 다음과 같은 수식으로 계산하는 방식으로 5회 실시하여 평균값을 도출하였다.

$$\text{조사각}(\text{°}) = 2 \times \tan^{-1} \left| \frac{\text{실험군2 항균 영역(mm)} - \text{실험군1 항균 영역(mm)}}{2 \times \text{두 실험군의 높이 차이(mm)}} \right|$$

2.3 Measurement of antibacterial activity according to reflection during horizontal UV irradiation

본 실험은 UVC를 수평으로 조사하였을 때의 효율성을 높이기 위한 방안을 구상하기 위한 실험이다. 실험군 1은 LB Plate 2에 2mm 높이에서 UVC를 수평 조사해주고 실험군 2는 실험군 1에서 알루미늄 포일을 LB Plate2에 원통형으로 둘러 누출 자외선을 반사시켜주는 것으로 설정하였다. 대조군은 UVC를 조사하지 않은 표본으로 설정하였다.

실험은 다음과 같이 진행하였다. 황색포도상구균 배양액은 1/5000 비율로 희석하여 100μl를 LB Plate 2에 도말하였다. UVC는 위에 설정한 실험군의 기준으로 황색포도상구균 배양액을 도말한 LB Plate 2에 5분간 조사하였다. UVC를 조사한 LB Plate 2는 배양기(37°C)에서 24시간 균을 배양하였다. 결과는 평판계수법으로 황색포도상구균의 콜로니 수를 측정하는 방식으로 5회 실시하여 평균값을 도출하였다.

$$\text{항균력}(\%) = \frac{\text{대조군의 콜로니 수}(n) - \text{실험군의 콜로니 수}(n)}{\text{대조군의 콜로니 수}(n)} \times 100$$

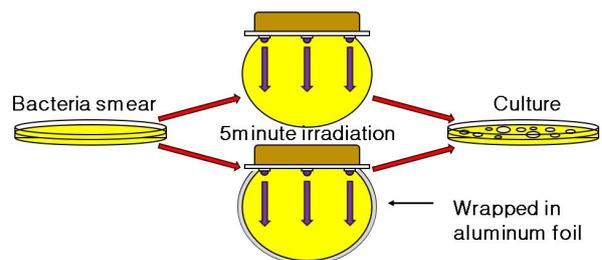


Fig. 2. Method of measurement of change in antibacterial area by distance according to direction of UV irradiation.

### III. Results

#### 1. Measurement of change in antibacterial area by distance according to direction of UV irradiation

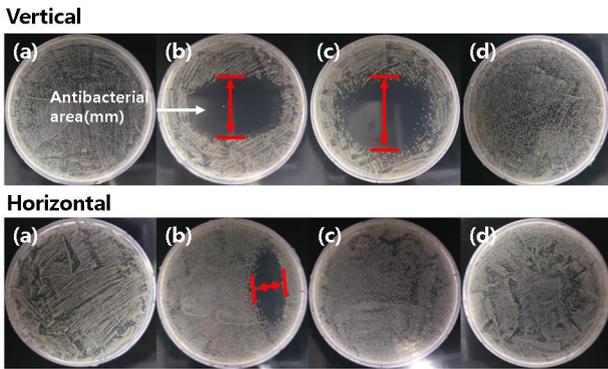


Fig. 3. Results of measurement of change in antibacterial area by distance according to direction of UV irradiation. (a) is the control, (b) is the result of irradiation from 10mm above, (c) is the result of irradiation from 20mm above, (d) is the result of irradiation from 30mm above.

Table 3. Results of measurement of change in antibacterial area by distance according to direction of UV irradiation.

Item	Antibacterial area(mm)	
	Vertical	Horizontal
Control	0.00 (0.00)	0.00 (±0.00)
10mm	35.60 (±0.89)	22.40 (±8.38)
20mm	46.80 (±7.46)	1.20 (±1.79)
30mm	0.00 (±0.00)	0.00 (±0.00)

Fig. 3은 수직 및 수평 조사를 하였을 때 높이 변화에 따른 살균 범위를 나타낸다. 실험 결과 수직 조사를 한 경우 10mm의 높이에서 35.60±0.89mm의 살균 영역을 나타냈으며, 20mm의 높이에서 46.80±7.46mm, 30mm의 높이에서 0.00±0.00mm의 살균 영역을 보여줬다. 수평 조사의 경우 10mm의 높이에서 22.40±8.38mm의 살균 범위를 나타냈으며, 20mm의 높이에서 1.20±1.79mm, 30mm의 높이에서 0.00±0.00mm의 살균 영역을 보여줬다. 본 실험을 통해 수직 조사의 경우 10-20mm의 높이에서 살균 영역이 커지고 30mm부터는 측정되지 않았다. 수평 조사의 경우 10-20mm의 높이에서 살균 영역이 작아지고 30mm부터는 측정되지 않았다. 이는

#### 2. Measurement of effective irradiation angle of UV

Table 4. Results of measurement of effective irradiation angle of UV

Distance	Effective irradiation angle(°)
Spec	125
0-10mm	121.33 (±1.21)
0-20mm	95.90 (±2.91)

자외선 기기의 실효 조사 각은 Fig. 3의 (a), (b)와 (c)의 결과를 바탕으로 계산하였다. 앞서 기재한 식에 측정값을 대입한 결과 대조군(a)와 10mm를 떨어뜨린 (b) 사이에서는 Table. 1에 기재되어 있는 기기의 조사 각인 125°와 근사한 121.33±1.21°가 나왔다. 하지만 대조군(a)와 20mm를 떨어뜨린 (c) 사이에서는 95.90±2.91°가 나왔다. 이를 통해 거리가 멀어질수록 실효 조사 각이 작아진다는 것을 알 수 있었다.

#### 3. Measurement of antibacterial activity according to reflection during horizontal UV irradiation

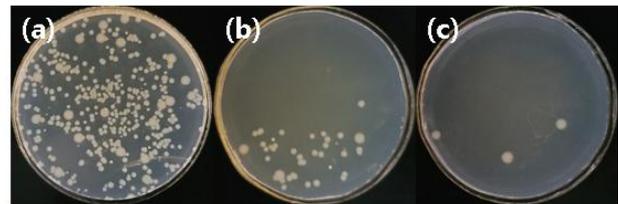


Fig. 4. Results of measurement of antibacterial activity according to reflection during horizontal UV irradiation. (a) is the control, (b) is the result of not reflecting leaking UV, (c) is the result of reflecting leaking UV.

Table 5. Results of measurement of antibacterial activity according to reflection during horizontal UV irradiation

Item	Colony no. (SD)	Reduction rate (%)
Control	450.60 (±44.81)	0
Reflect X	82.00 (±62.58)	80.62 (±17.06)
Reflect O	3.60 (±2.88)	99.23 (±0.60)

실험 결과 Fig. 4와 같이 대조군인 (a)에서는 평균 콜로니 수가 450.60±44.81개, 누출 자외선 반사 없이 수평 조사만 했을 경우는 (b)에서는 82.00±62.58개, 누출 자외선을 반사 하며 수평 조사를 한 (c)에서는 3.60±2.88개의 콜로니가 측정되었다. 이 결과 (b)의 콜로니 감소율은 80.62±17.06%,

(c)의 콜로니 감소율은  $99.23 \pm 0.60\%$ 을 보였다. 본 실험을 통해 누출 자외선을 반사시켰을 시 반사를 하지 않을 때 보다 높은 살균력을 가질 수 있다는 사실을 알 수 있었다.

#### IV. Discussion

본 연구에서는 화장품에 잔존할 수 있는 미생물 중 황색 포도상구균을 대상으로 자외선 조사 방향에 따른 화장품 살균 효율성을 측정해보았다. 자외선은 파장에 따른 다양한 기능을 통해 다방면으로 응용되고 있으며 특히 UVC는 위생 및 살균관리가 필요한 방면에서 유용하게 이용되고 있다[12,13]. 염승훈 등(2020)은 자외선 파장에 따른 살균력을 측정하고 자외선 투과 재질을 선별하여 UVC의 화장품 살균의 가능성을 보여주었다[11]. 하지만 UVC는 LED로 사용할 경우 광변환효율이 떨어지고 광원으로부터 거리가 멀어질수록 급격하게 효과가 떨어지기 때문에 효율적인 사용에 대한 연구가 필요하다[7,13,16]. 하지만 기존 연구 중 해수 살균 효율과 같이 산업 관련 연구는 다양하나 화장품 살균 효율에 연구는 부족하다[16,17]. 또한 살균 자외선의 측정 방법(KS A 5005)[18] 국가표준을 보면 방사 조도나 출력과 같은 부분에 대한 내용은 기재가 되어 있으나 효율성 측정에 관한 내용은 기재되어 있지 않다. 이에 자외선 조사 방향을 중심으로 화장품 살균 효율성을 측정했다.

실험 결과 자외선 조사 방법에 따른 거리별 살균 영역을 측정하였을 때, 수직 조사의 경우 20mm의 높이까지 살균 영역이 커졌으며, 수평 조사의 경우 20mm의 높이까지 살균 영역이 작아졌다[Table. 3]. 자외선 기기의 조사 각은 시료와의 거리가 멀어질수록 조사 각이 작아졌다[Table. 4]. 또한 자외선을 수평 조사 했을 때 누출 자외선을 반사해 주었을 때 반사해 주지 않았을 때보다 더 높은 살균력을 보여줬다[Table. 5].

이를 통해 자외선은 시료와의 거리가 가까울수록 더 큰 살균력을 보인다는 것을 알 수 있었고 자외선 기기와 시료 간의 거리가 가까울수록 살균 영역이 넓어지는 방법은 수평 조사였기 때문에 제한된 공간을 가진 화장품 케이스 내에서는 자외선을 수평 조사해주는 것이 더 높은 살균 효율을 보여준다는 것을 알 수 있었다. 그리고 자외선을 수평 조사 해주었을 때 누출 자외선을 반사시켜주는 것으로 살균 효율을 높여줄 수 있다는 것을 알게 되었다. 또한 자외선 수직 조사는 조사 방향에 해당하는 면만 살균이 가능한 반면 수평 조사는 조사 방향을 중심으로 하는 모든 면을 살균할 수 있기 때문에 활용도가 더 높을 것이라 생각된다.

이와 같은 결과는 자외선의 화장품 살균으로서의 가능성을 보여준다. 하지만 본 연구에서는 황색포도상구균만을 사용하였기 때문에 다른 미생물에 대한 살균력 및 자외선에 의한 시료 변성이나 인체에 대한 위험성과 같은 안전성에 대한 연구가 추가로 필요하리라 생각된다.

#### REFERENCES

- [1] G. Kim, S. Kim, "A Study of Microbial Contamination in Cushion Foundation - Focused on the Sponge and puff -," Journal of the Korean Society of Cosmetology, Vol. 21, No. 6, pp. 1125-1130, 2015.
- [2] S. Kim, J. Cho, "Microbial Contamination of Lip Cosmetic", Journal of the Korean Society of Cosmetology, Vol. 14, No. 2, pp. 544-550, 2008.
- [3] S. Kim, D. Lim, "A Study of the Proper Use of Cosmetics and Microbial Contamination over Time," Journal of the Korean Society of Cosmetology, Vol. 15, No. 3, pp. 1059-1065, Aug. 2009.
- [4] T. Zollner, T. Wichelhaus, A. Hartung, C. Mallinckrodt, and T. Wagner, "Colonization with superantigen-producing Staphylococcus aureus is associated with increased severity of atopic dermatitis," Clin. Exp. Allergy, Vol. 30, No. 7, pp. 994-1000, 2001. DOI : <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2000.00848.x>
- [5] C. Bachert, P. Gevaert, and P. Cauwenberge, "Staphylococcus aureus enterotoxins: a key in airway disease," Allergy, Vol. 57, No. 6, pp. 480-487, Feb. 2002. DOI : <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2002.02156.x>
- [6] M. Lee, M. Yoon, "The Status Microbial Contamination of Skin Care Tools", The Korean Society of Cosmetics and Cosmetology, Vol. 8, No. 3, pp. 467-477, Dec. 2018.
- [7] J. Song, E. Bae, "A Study on Analysis as a Case Study for the Cosmetic Container through the improvement Cosmetics Microorganism Pollution", Journal of the Korean Society Design Culture, Vol. 21, No. 4, pp. 297-307, Dec. 2015.
- [8] C. Mok, N. Lee, "Ultraviolet Inactivation, of Escherichia coli in Stainless Steel Cups," Food Engineering Progress, Vol. 13, No. 2, pp. 122-129, May. 2009.
- [9] J. Jee, W. Yang, E. Park, K. Kim and J. Joo, "Improvement of a UV/Ozone Duplex Sterilizer," Journal of The Korean Institute of Surface Engineering, Vol. 41, No. 2, pp. 76-82, Apr. 2008.
- [10] I. Lee, J. Park, S. Kim, J. Cha, K. Choi, and B. Lee, "Disinfection of Coliform Bacteria, Fungi and Pathogenic Bacteria by UV and Photocatalytic Effects", Korean Society Of Engineers, Vol. 23, No. 3, pp. 473-483, Feb. 2001.
- [11] S. Yum, I. Jung, J. Jeong and Y. Hwang, "A Study of Development Antibacterial Cosmetic Case using UV

- Wavelength”, Journal of the Korea Society of Computer and Information, Vol. 25, No. 5, pp. 179-186, May. 2020. DOI : <https://doi.org/10.9708/jksci.2020.25.05.179>
- [12] H. B. Na and Y. J. Jang, “A Study on Development of Home Knife and Cutting Board Sterilizer Product Design Sterilization Function,” Journal of Cultural Product & Design, Vol. 50, No. 0, pp. 165-178, 2017. DOI : <http://dx.doi.org/10.18555/kicpd.2017.50.15>
- [13] J. Han, C. Park, “Ultraviolet (UV) LED Industry and Market Trends”, The Proceedings of the Korean Institute of Illuminating and Electrical Installation Engineers, Vol. 33, No. 4, pp. 25-29, Jul. 2019.
- [14] Y. Yoo, “Cosmetic Case and Commercialization Factor Analysis”, KISCI, pp. 1-63, 2013.
- [15] C. Na, A. Han, “Ultraviolet (UV) sterilization product safety survey”, KCA, pp. 1-37, 2020.
- [16] S. Cha, D. Park, T. Choi, S. Cheon and G. Kil, “Optimum Layout of UV Light Source for Disinfection Efficacy Improvement”, The Proceedings of the Korean Society of Marine Engineering, pp. 399-400, Oct. 2010.
- [17] K. Jung, D. Park, G. Kil, S. Cheon and W. Kim, “UV-LED Driving Method for Disinfection Efficacy Improvement”, The Proceedings of the Korean Society of Marine Engineering, pp. 405-406, Oct. 2010.
- [18] KS, “Measuring Methods of Ultraviolet Rays for Sterilization”, <https://e-ks.kr/streamdocs/view/sd;streamdocsId=72059199246666190>

## Authors



Jae Young Jeong is majoring in Biomedical Engineering at Gachon University, Korea, since 2016.



You Jin Hwang received the B.S., M.S. and Ph.D. degrees in Biochemistry / Molecular Biology from Inha University, Korea, in 1985, 1990 and 1999, respectively. Dr. Hwang joined the faculty of the Department

of Biomedical Engineering at Gachon University, Incheon, Korea, in 2003. He is currently a Professor in the Department of Health Sciences and Technology, GAIHST and Department of Biomedical Engineering, Gachon University. He is interested in Cancer & Micro environment Molecular Imaging and functional natural substances.