

## 식물유래 천연항균제를 이용한 화장품에서의 방부시스템에 관한 연구

심승보<sup>1\*</sup>

### The Study of Preservative System in Cosmetics using Botanical Antimicrobial

Seung-Bo Shim<sup>1\*</sup>

**요약** 본 연구는 고삼추출물과 황금추출물의 항균활성을 스킨케어화장품의 기본제형인 화장수, 로션에 적용, 관찰하여 식물유래의 천연항균제로써의 화장품에서의 방부시스템을 연구하였다. Test group에 고삼추출물 1%와 황금추출물 1%, 0.5%씩의 고삼추출물과 황금추출물을 함유시켜 parabens와 imidazolidinyl urea가 함유된 positive control을 *Escherichia coil*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aures*, *Candida albicans*의 4가지 균에 대하여 실험하였다.

그 결과 고삼추출물과 황금추출물이 함유된 group은 control과 비교하여 4가지균에 대하여 우수한 항균활성을 보였다. 고삼추출물과 황금추출물을 함께 사용하였을 때의 항균활성은 positive control과 비슷하게 나타나므로써 탁월한 항균활성을 보였다.

**Abstract** Anti-microbial activities of *Scutellariae Radix* Extracts and *Sophora flavescens* Extracts was tested by formulation, such as skinsoftener, emulsion for 4 weeks. Control contained no preservative, test group contained 1.00% *Scutellariae Radix* extracts and 1.00% *Sophora flavescens* extracts and positive control contained parabens and imidazolidinyl urea. To determine the anti-microbial activity of these extract, the 4 germs such as *Escherichia coil*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aures*, *Canida albicans* were used.

The test groups showed significant anti-microbial activities against the 4 germs at 2 and 3 weeks as compared with control. Anti-microbial activities of these extracts were similar to positive control. Considering that the *Scutellariae Radix* Extracts and the *Sophora flavescens* Extracts have a significant anti-microbial activities against 4 germs, it is possible as natural preservative in cosmetics.

**Key Words** : Anti-microbial activities, Preservative System, *Scutellariae Radix* Extracts, *Sophora flavescens* Extracts, Cosmetics

## 1. 서론

최근 심신의 안정을 통해 삶의 만족도를 높이려는 웰빙(well-being)문화가 우리사회에 자리잡으면서 화장품에도 화학적 성분을 배제하고 식물유래 원료를 사용하려는 연구경향이 나타나고 있다. 다양한 천연소재를 이용한 화장품의 개발이 이루어져 천연화장품·한방화장품의 전성시대가 도래하고 있다. 화장품에는 다량의 물이 함유되어 있으므로 세균이나 진균에 의한 오염이 일어나기 쉬

우며, 미생물이 오염된 제품은 향취이상, 색상변화, 점도변화, 질감변화, 곰팡이 발생 등의 품질 저하 현상을 나타낼 뿐만 아니라 각막궤양과 같은 심각한 안질환 등 인체에 유해한 질병을 유발 할 수도 있다[1]. 이와 같은 이유 때문에 화장품은 다양한 미생물에 의한 변성을 방지하기 위해 적절한 방부제를 사용하게 된다. 기존의 방부제로서 안전하다고 알려졌으며 화장품, 의약품에 범용적으로 사용되는 파라벤류의 방부제들조차 피부알러지[2] 및 환경호르몬으로서의 가능성[3]이 보고 되어 있어서 식품용 방

<sup>1</sup>한양대학교 대학원 화학공학과

접수일 08년 04월 04일

수정일 08년 04월 18일

\*교신저자:심승보(sfumato72@hanmail.net)

재제확정일 08년 10월 16일

부제들도 허용된 기준내의 사용도 불신되고 있고 지속적인 체내축적은 급·만성독성, 돌연변이 유발등의 새로운 문제가능성이 대두되고 있다. 따라서 화장품에 있어서 안전성과 피부자극의 문제를 해결 하기 위해 천연유래의 방부, 살균제가 필요한 실정이다. 천연항균성 물질에 대한 연구는 많은 연구되었는데 향료, 우유 및 어류등의 식품류, 정유, 한약재등으로부터 많은 천연항균성물질이 보고되었고 알카로이드(alkaloid), 플라보노이드(flavonoid), 피토크세틴(phytoalexin), 항균펩타이드에 대한 것도 보고되었고, 유기산과 지방산 등의 항균성에 대한 것도 보고되었다. 그러나 천연물질로서의 한계성 즉 색상, 냄새, 안정성, 좁은 항균스펙트럼, 제형상의 문제점 때문에 대부분이 상용화 되지 못하고 있으며 그 중 상용화된 천연항균제는 편백추출물인 히노키테올(Hinokitiol), 목련추출물인 마그노놀(Magnonol), 자몽종자추출물 DF-100등이 개발되어 있으나 DF-100의 항균력은 그에 포함된 합성보존료(benzethonium chloride)때문이며 다른 천연항균제도 경제성 및 항균스펙트럼, 사용범위의 제한성이 문제되고 있어 보다 진보된 천연항균제의 연구가 필요하다.

본 연구에서는 화장품의 방부제로 기존에 널리 사용되었던 파라벤류의 단점인 자극성을 보완할 수 있는 천연물질로부터 방부제를 개발하기 위하여 고삼추출물과 황금추출물을 이용하여 두가지 추출물의 방부능을 비교검토하고 이를 토대로 하여 보다 우수한 항균제를 찾기위한 기초자료를 제공하고자 하였다. 본 연구에서는 화장품에 기능이 다른 여러 가지 성분들이 사용되므로 이들에 의해서 고삼추출물과 황금추출물의 항균성분이 어떠한 영향을 받는지, 또한 그람양성균인 *S. aureus*, 그람음성균인 *P. aeruginosa*, *E. coli*와 항진균 효과를 측정하고자 *C. albicans*을 사용하여 각 추출물의 방부력을 비교하고, 두가지 추출물을 모두 사용하였을 때의 방부력을 비교하여 이를 토대로 천연물질을 이용하여 보다 항균능을 높일 수 있는 방안을 제시하고자 한다.

## 2. 실험

### 2.1 실험 재료

본 실험에 사용한 고삼과 황금은 대한한약유통에서 수피를 건조시킨 것을 구입하였다. 불순물을 제거하기 위해 가볍게 2번 수세하여 건조시킨 후 미세하게 파쇄하여 추출용 시료로 이용하였다. 고삼추출물은 고삼200g을 70% 에탄올 1.2L에 넣고, 냉각 콘텐서가 장치된 추출기에 5시간동안 70 ~ 90°C에서 가열하여 추출한후 300mesh로 여

과 한다. 5~10°C에서 10일간 방치하여 수거시킨 후 와트만 5번 여과지로 여과하였다. 이 여액을 65°C에서 회전 감압 증발기로 건조하여, 건조중량 11.85g을 얻었다. 이를 1,3 부틸렌글라이콜에 10% 첨가하여 고삼추출물을 제조하였다. 황금추출물은 황금1,000g을 10% 에탄올 5L에 넣고, 냉각 콘텐서가 장치된 추출기에 3일동안 70 ~ 90°C에서 가열하여 추출한후 300mesh로 여과 한다. 5~10°C에서 10일간 방치하여 수거시킨 후 와트만 5번 여과지로 여과하였다. 이 여액을 65°C에서 회전 감압 증발기로 건조하여, 건조중량 18.6g을 얻었다. 이를 1,3 부틸렌글라이콜에 10% 첨가하여 황금추출물을 제조하였다.

황금추출물과 고삼추출물의 항균실험에 사용한 균주는 Gram(+)세균 1종과 Gram(-)세균 2종, 진균 1종으로 총 4종을 한국과학기술연구원 생명공학연구소에서 분양 받아 사용하였다. 균의 생육배지로는 모든 균주에 대하여 letheen broth(Becton & Dickinson, U.S.A.)를 사용하였고, 항균성 실험에 사용한 고체배지는 tryptic soy agar(Becton & Dickinson, U.S.A.)를 사용하였다.

[표 1] 항균력실험에 사용된 미생물

Strains	
Gram positive bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)
Gram negative bacteria	<i>Escherichia coil</i> (ATCC 8739) <i>Pseudomonas aeruginos</i> (ATCC 9027)
Yeast	<i>Candida albicans</i> (ATCC 16404)

### 2.2 고삼추출물 및 황금추출물의 화장품 제형에 응용

고삼추출물과 황금추출물 각각을 화장수, 로션에 적용시켜 항균효과를 측정하였다. 먼저 가용화제형인 화장수와 유화 제형인 로션에서 Control은 방부제를 첨가하지 않았고, test groups은 3개의 제품에 두개는 황금추출물과 고삼추출물을 각각 1%씩을 첨가하고 하나는 황금추출물과 고삼추출물0.5%씩을 같이 첨가하였다. Positive control은 화장수의 경우는 methyl paraben 0.1%, imidazolidinyl urea 0.1%를 첨가하였고, 로션의 경우는 methylparaben 0.1%, butylparaben 0.1%, imidazolidinyl urea 0.1%를 첨가하였다.

### 2.3 황금추출물, 고삼추출물의 항균활성 측정

이 실험에는 그람음성균인 *Escherichia coil*, *Pseudomonas aeruginos*와 그람양성균인 *Staphylococcus aures*, 진균인 *Candida albicans*를 사용하였다. Tryptic

soy agar에는 *Escherichia coil*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aures*를 접종하고, sabouraud dextrose agar에는 *Candida subtilis*를 접종하였다. 이것을 37°C incubator에서 48시간 배양한 후, 0.8% 생리 식염수로 현탁하여 세균은 10<sup>8</sup> cells/ml, 진균은 10<sup>6</sup> cells/ml가 되도록 하였다.

항균 효과를 시험할 100ml의 화장수, 에멀전에 생리 식염수로 현탁된 균을 첨가하여 균일하게 섞었다. 이것을 1ml를 채취하여 Lethen Broth 9ml에 혼합시켜 10<sup>1</sup> 희석액을 만들고, 단계적으로 희석하여 10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup> 희석액을 만들었다. 10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup> 희석액을 Lethen Agar plate에 1ml씩 접종한 후 37°C incubator에서 72시간 배양시켜 각각의 균수를 측정했다. 미생물이 접종된 스킨, 로션의 샘플을 37°C incubator에 보관하여 4주간 균수의 변화를 측정하였다.

화장품의 방부력 측정방법은, 제품에 미생물을 접종하여 28일간 접종 미생물 수의 증감을 관찰하는 long term method인 CTFA법을 기준으로 하였다. 균의 접종 후 0, 1~3, 7, 14, 21, 28일 후에 시료를 채취하여 세균수를 측정하는 방법으로 세균은 접종 7일 이내 접종균의 99.9% 이상 균수가 감소해야 하며, 시험기간 동안 증식이 없어야 한다. 또한 효모, 곰팡이는 접종 7일 이내 최소 90% 이상 균수 감소해야 하며, 시험기간 동안 증식하지 않아야 한다.

[표 2] 화장수의 처방

Ingredients	Control	Test group			Positive control
		황금	고삼	고삼+황금	
Purified water	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100
Butylene glycol	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
Ethanol	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
PEG-60Hydrogenated castor oil	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Betain	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Glycerin	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Sodium citrate	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Stearyl glycyrrhetinate	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Disodium EDTA	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Perfume	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Citric acid	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
황금추출물		1.00	1.00	0.50	
고삼추출물				0.50	
Methylparaben					0.10
Imidazolidinyl urea					0.10

[표 3] 에멀전의 처방

Ingredients	Control	Test group			Positive control
		황금	고삼	고삼+황금	
Purified water	to 100	to 100	to 100	to 100	to 100
Butylene glycol	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
Sodium Lactate	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Squalane	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Sorbitan stearate/Sucrose cocoate	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Stearic acid	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Glyceryl monostearate	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Cetearyl stearate	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Jojoba oil	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Xanthan gum	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Perfume	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Sodium hyaluronate	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Tocopheryl acetate	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
황금추출물		1.00		0.50	
고삼추출물			1.00	0.50	
Methylparaben					0.10
Butylparaben					0.10
Imidazolidinyl urea					0.10

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 *Escherichia coli*에 대한 항균력

그람음성균인 *Escherichia coli*에 대한 황금추출물과 고삼추출물의 항균력을 측정하였다.

표 4의 (A)화장수에서 방부제를 첨가하지 않은 control에서 3일째에 *Escherichia coli*가 가장 많이 존재하였고, 4주차까지도 생존하였다. 이에 비해 황금추출물의 농도가 1%, 고삼추출물 0.5%+황금추출물 0.5%, Positive control의 경우 1주차부터 균이 사멸되었으나 고삼추출물의 경우 2주차가 되어서야 균이 사멸되는 결과를 보였다. 그러므로 황금추출물이 고삼추출물보다 화장수제형에서 *Escherichia coli*에 대한 항균력이 더 뛰어난 결과를 보인다.

표 4의 (B)로션에서 방부제를 첨가하지 않은 control에서 3일째에 *Escherichia coli*가 가장 많이 존재하였고, 4주차까지도 생존하였다. 이에 비해 황금추출물의 농도가 1%첨가된 시료에서는 1주차까지 균이 생존하였고, 고삼추출물의 농도가 1%첨가된 시료에서는 2주차까지 균이 생존하였다. 고삼추출물 0.5%+황금추출물 0.5%가 첨가된 시료에서는 1주차에 균이 모두 사멸되어 Positive control과 같은 결과를 나타내었다.

이 결과를 통해 에멀전 제형에서 *Escherichia coli*에 대한 항균력은 황금추출물이 고삼추출물보다 더 뛰어나고 황금과 고삼을 같이 로션에 첨가하였을 때 상승효과가 있는 것으로 나타났다.

**[표 4] Escherichia coli에 대한 항균력**  
(A) 화장수

Cell Number(cell/ml)					
Conc. Period	3Days	1 Weeks	2 Weeks	3 Weeks	4 Weeks
Control	2,310,000	3,000	1,000	100	100
황금추출물	1,200,000	0	0	0	0
고삼추출물	1,920,000	100	0	0	0
고삼 + 황금추출물	1,800,000	0	0	0	0
Positive control	1,720,000	0	0	0	0

(B) 에멀전

Cell Number(cell/ml)					
Conc. Period	3Days	1 Weeks	2 Weeks	3 Weeks	4 Weeks
Control	2,280,000	9,600	5,200	100	100
황금추출물	1,800,000	100	0	0	0
고삼추출물	2,080,000	7,200	1,500	0	0
고삼 + 황금추출물	1,720,000	0	0	0	0
Positive control	520,000	0	0	0	0

**3.2 Pseudomonas aeruginosa에 대한 항균력**

그람 음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 황금추출물과 고삼추출물의 항균력을 측정하였다.

**[표 5] Pseudomonas aeruginosa에 대한 항균력**  
(A) 화장수

Cell Number(cell/ml)					
Conc. Period	3Days	1 Weeks	2 Weeks	3 Weeks	4 Weeks
Control	220,000	34,000	9,000	300	0
황금추출물	132,000	100	0	0	0
고삼추출물	136,000	200	0	0	0
고삼 + 황금추출물	116,000	0	0	0	0
Positive control	76,000	0	0	0	0

(B) 에멀전

Cell Number(cell/ml)					
Conc. Period	3Days	1 Weeks	2 Weeks	3 Weeks	4 Weeks
Control	480,000	190,000	36,000	1,000	100
황금추출물	298,000	8,000	1,800	0	0
고삼추출물	310,000	11,000	2,400	0	0
고삼 + 황금추출물	240,000	0	0	0	0
Positive control	100	0	0	0	0

표 5에서 화장수, 에멀전의 3일차 결과는 황금추출물, 고삼추출물, 황금+고삼추출물이 첨가 된 test group이 control에 비해 적은 균이 존재하였다. 그러나 Positive control에 비해서는 사멸된 균이 적었으나, 4주차에 모든 *Pseudomonas aeruginosa*가 사멸되었다. 위의 결과로부터 *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 황금추출물과 고삼추출물에 대한 항균력을 알 수 있었다. 또한, 황금추출물과 고삼추출물을 같이 사용하였을때에 더욱 *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 항균력이 강하다는 것을 알 수 있었다.

**3.3 Staphylococcus aureus에 대한 항균력**

그람 양성균인 *Staphylococcus aureus*에 대한 황금추출물, 고삼추출물, 황금+고삼추출물의 항균력을 화장수, 로션을 이용하여 4주간 측정하였다. 표 6에서 보는 것처럼 화장수의 경우 고삼추출물과 황금추출물, 고삼+황금추출물, Positive control에 대해 1주에서 모든 *Staphylococcus aureus*가 사멸되었다. 그러나 로션의 경우 황금추출물, 황금+고삼추출물, Positive control의 *Staphylococcus aureus*가 1주차에 사멸되었고, 고삼추출물의 경우는 3주차가 되어서야 *Staphylococcus aureus*가 사멸되는 것으로, 고삼추출물과 황금추출물의 항균력을 확인할 수 있었다. 또한 황금추출물의 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균력이 더 우수한 것을 알 수 있었다.

**[표 6] Staphylococcus aureus에 대한 항균력**  
(A) 화장수

Cell Number(cell/ml)					
Conc. Period	3Days	1 Weeks	2 Weeks	3 Weeks	4 Weeks
Control	2,700,000	3,100	500	100	100
황금추출물	1,980,000	0	0	0	0
고삼추출물	2,010,000	100	0	0	0
고삼 + 황금추출물	1,800,000	0	0	0	0
Positive control	500	0	0	0	0

(B) 에멀전

Cell Number(cell/ml)					
Conc. Period	3Days	1 Weeks	2 Weeks	3 Weeks	4 Weeks
Control	2,200,000	14,000	1,100	100	100
황금추출물	1,360,000	0	0	0	0
고삼추출물	1,560,000	4,400	0	0	0
고삼 + 황금추출물	1,320,000	0	0	0	0
Positive control	930,000	0	0	0	0

### 3.4 Candida albicans에 대한 항균력

진균인 *Candida albicans*에 대한 고삼추출물, 황금추출물, 황금+고삼추출물의 항균력을 화장수와 로션에 대하여 4주간 관찰하였다. 표 7에서 보는 것과 같이, control은 스킨, 로션에서 4주차까지 균이 사멸되지 않은 반면, 고삼추출물과 황금추출물, 황금+고삼추출물이 첨가된 test group과 positive control에서는 1주에 모든 *Candida albicans*가 사멸되었다. 위에 결과로부터 고삼추출물과 황금추출물이 *Candida albicans*에 대하여 우수한 항균력을 갖고 있음이 확인되었다.

[표 7] *Candida albicans*에 대한 항균력  
(A) 화장수

Cell Number(cell/ml)					
Conc. Period	3Days	1	2	3	4
		Weeks	Weeks	Weeks	Weeks
Control	190,000	5,300	600	400	200
황금추출물	96,000	0	0	0	0
고삼추출물	84,000	0	0	0	0
고삼 + 황금추출물	73,000	0	0	0	0
Positive control	89,000	0	0	0	0

(B) 에멀전

Cell Number(cell/ml)					
Conc. Period	3Days	1	2	3	4
		Weeks	Weeks	Weeks	Weeks
Control	210,000	4,400	800	100	0
황금추출물	67,000	0	0	0	0
고삼추출물	71,000	0	0	0	0
고삼 + 황금추출물	62,000	0	0	0	0
Positive control	58,000	0	0	0	0

### 4. 결론

본 연구는 화장품에 대해 보다 더 안전하며 위험성이 적은 천연방부제에 대한 수요가 커지면서 한방원료로 사용되는 식물 내에서 항균효과를 가지는 성분들을 조합하여 효능효과를 계속적으로 나타낼 수 있는지를 알아보기 위하여 예로부터 민간과 한방에서 널리 이용되어 온 황금과 고삼을 추출하여 화장품에서 문제가 되는 균에 대하여 항균활성을 연구하였다.

황금추출물과 고삼추출물을 이용하여 *Escherichia coil*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*에 대한 항균 효과를 검토한 결과, 고삼

추출물 1%를 제품에 첨가시킨 경우와 황금추출물 1%를 첨가시킨 화장수와 로션에서, 모두 Positive control보다 약하나, 항균효과를 보였으며, *Escherichia coil*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* 로션에 대해서 3주차 이후 미생물이 모두 사멸한 결과를 보였다. 또한 황금추출물 0.5%와 고삼추출물 0.5%를 함께 제품에 첨가시킨 경우, 2주차부터 4가지 균이 모두 사멸되는 우수한 항균 효과를 나타냈다. 전반적으로 고삼추출물의 항균효과보다 황금추출물의 항균효과가 더 우수하였으며, 두가지 추출물을 병행하여 사용하였을때가 그람음성세균, 그람양성세균, 진균에 대해서도 넓은 스펙트럼을 갖는 결과를 보였다.

이번 연구를 통하여, 황금추출물과 고삼추출물은 항균제로서 개발가능성이 입증되었고, 이들 추출물을 함유시킴으로써 기존 합성방부제 사용량을 줄이거나, 합성방부제의 대체가 가능하다고 사료된다.

### 참고문헌

- [1] 光井武夫, 신화장품학 2판, 南山堂, 267~278(2004)
- [2] Andrea Counti등, Contact Dermatitis, 1997
- [3] Edwin등, Toxicology and Applied Pharmacology, 1998

심 승 보(Seung-bo Shim)

[정회원]



- 2000년2월 : 숭실대학교 화학과 석사
- 한양대학교 대학원 화학공학과 박사과정
- 현 퓨엔코스텍 연구실장
- 현 청운대학교 화장품과학과 겸임교수

<관심분야>  
화장품, 천연물, NT, BT