

“乳化製品에서의 微生物生育과 防腐效果에 影響을 미치는 物理化學的 要因에 關하여”

(On the physico-chemical factors influencing the microbial growth and the effectiveness of preservatives in cosmetic emulsions)

李 炳 純

(太平洋化學(株) 研二部三科長)

Synopsis

The physico-chemical factors influencing the microbial growth and the effectiveness of preservatives in cosmetic emulsions are described. Among the several kinds of factors that affect the microbial growth, such as the water volume, pH, degree of aeration, kinds or concentration of nutrients, particularly the most important is what's the type of emulsion.

And the effectiveness of preservatives is largely influenced by the concentration of free preservative in water phase, which is closely related with the physico-chemical condition of emulsion system like pH, the volume ratio, and the kinds or concentration of macromolecules in aqueous phase, those of oil components and surfactants.

序 論

化粧品은 그 製造方法이 非無菌的일 뿐 아니라 使用期間이 長期的이기 때문에 製造中(1次 汚染) 또는 使用時(2次 汚染) 微生物의 汚染이 可能하다. 설사 無菌的으로 製造한다해도 使用中에 發生되는 2次汚染問題는 排除할 수 없다.

그러므로 各國의 化粧品關係法規에는 皮膚反應에 安全한 適當量의 防腐劑 使用이 認定되고 있는 實情이다.

化粧品에서 微生物의 汚染은 Smart등⁽¹⁾이 說明하듯이, 그 安全 및 安定性에 큰 影響을 미친다. 더우기 微生物의 防腐劑 耐性問題와 더불어 化粧品 處方에 있어 皮膚作用에 보다 效果的인 高級原料等의 使用趨勢는 微生物의 生育力을 높일 것이며, 따라서 防腐問題는 더욱 重要할 것이다.

本人은 化粧品의 防腐問題中 乳化製品에서의 微生物 生育과 防腐劑 活性에 影響을 미치는 物理化學的 要因을 說明코저 한다.

本 論

微生物生育에 影響을 미치는 要因

① 水/油比率 및 乳化型態

水分은 모든 生命體의 構成成分으로서 이들의 生育(growth)에 반드시 必要한 要素이다.

Bullock등⁽²⁾은 *Streptococcus faecalis*와 *Bacillus subtilis*의 胞子가 數種의 油에서 長期間 生存(survival)함을 報告하였으며, de Gray등⁽³⁾은 어떤 곰팡이와 細菌은 水分이 전혀 없는 hydrocarbon에서 6個月以上 生存할 수는 있으나 生育은 不可能한 것으로 報告하였다.

또한 Bennett⁽⁴⁾는 乳化系에서의 水分량과 微生物의 生育關係 實驗에서, *Pseudomonas aeruginosa*를 一定量씩 水/油의 比率를 달리한 各 乳化系에 接種하여 水分량의 增加에 따라 菌數가 增加함을, 그리고 곰팡이 *Alternaria*는 水分량 50%이하의 크립이나 로손에서는 生育할 수 없다고 보고하였다⁽⁶⁾.

이들 報告를 綜合해 볼때 乳化製品에서 微生物 生育은 水相에서만 可能하며, 그 活性은 水分량이 많을수록 높고 또한 많은 種類의 微生物이 生育할 수 있다.

乳化型態別로는 大多數 種類의 微生物 生育에 適合한 것은 o/w乳化型이다. 이型에서는 1次汚染된 微生物은 勿論, 外相이 水相이므로 2次汚染된 微生物도 生育할 수 있다.

반면, w/o乳化型에서는 製造時 水相에 汚染된 一部 細菌은 生育可能하나 外相이 油相이므로, 2次汚染된 微生物中 一部만도 油相에서 生存할 수는 있으나 生育은 困難하다. 그러나 微生物은 界面活性劑를 分解할 수도 있으며^(6,7), 動, 植物油는 勿論 石油等の 鑛物油를 營養源으로 生育하는 種도 많으므로⁽⁸⁻¹¹⁾ 이 乳化型에서의 防腐는 別途의 問題이다.

② 水相의 pH

普通 水溶液의 pH는 微生物에 있어 酵素生成度, 細胞內로의 營養分 利用등 그 生理活性에 큰 影響을 미친다.

大部分의 微生物은 pH 5~7에서 가장 生育活性이 높으나, 強한 酸性 또는 鹼性에서만 生育할 수 있는 種도 있다.

微生物은 대체로 pH에 適應力을 갖고 있다. 예를 들면 鹼性에서는 deaminase를 作用시켜 케토산으로, 산성에서는 decarboxylase를 作用시켜 아민으로 아미노산을 變化시켜 生育에 더욱 適當한 pH로 誘導시킨다.

乳化型 化粧品의 경우에는 그 使用性 때문에 pH가 普通 5~7이므로 大部分의 微生物 生育에 는 아주 좋다.

③ 表面張力

液相의 表面張力은 微生物 種類에 따라 그 生

育에 큰 影響을 미친다.

大多數의 Gram negative 細菌과 Coliform 들은 表面張力이 어느 程度 낮아도 生育하나 Gram positive 細菌들은 表面張力이 50 dyne/cm 以下에서는 잘 生育하지 못한다.

普通 乳化型 化粧品은 表面張力이 낮으므로 皮膚에 常在하는 *Corynebacterium*, *Staphylococcus* 등 Gram positive 細菌에 의한 汚染은 적다.

④ 參透壓

微生物 細胞膜은 半透膜으로 되어있기 때문에 外部 參透壓의 變化에 依하여 細胞는 膨潤하여 破裂될 수도 있으며, 脫水되어 死滅될 수도 있다. 예를 들면, glycerin은 낮은 濃度에서는 微生物의 養分이 되어 生育을 促進하나 40~50% 以上의 高濃度에서는 沮害要因이 된다든가, 高濃度의 電解質도 같은 效果를 갖는 것 等이다.

대체로 細菌, 特히 病原性細菌들이 여기에 抵抗이 弱하며 곰팡이는 比較的 強한 便이다.

⑤ 營養度

大部分의 微生物은 從屬營養菌(heterotrophs)으로서 生育에 有機物을 必要로 한다.

普通은 水溶性의 炭素 및 窒素有機物을 要하나 不溶性의 高分子炭素, 窒素物도 分解하여 利用하는 種도 매우 많다. 細菌中 特히 *Pseudomonas*는 養分이 거의 없는 이온交換水에서 生育하기도 하며, 鑛物油만을 炭素源으로 하는 種⁽⁸⁻¹¹⁾, 또한 메탄, 메타놀만을 炭素源으로 生育하는 種^(12,13,14)등도 있다.

化粧品에 있어서는, Yanagi등⁽¹⁵⁾의 實驗報告에 依하면 化粧品에서 分離한 微生物 大部分이 化粧品에 흔히 使用하는 하이드로카본類, 多價 알콜類, 에스터類 等を 炭素源으로 生育한다고 했다.

化粧品에 흔히 使用되는 原料中 微生物 生育에 좋은 營養分으로 그 生育을 促進하는 것들은 다음과 같다.⁽¹⁶⁾

㉠ carbohydrates & glycosides: natural gums, pectins, starch, dextrin, sugar.

㉡ alcohol: glycerol, sorbitol, fatty alcohol.

⊖ fatty acids & their esters: animal & vegetable fats, oils, waxes.

⊖ steroids: cholesterol, ergosterol.

⊖ proteins, peptides, & amino acids

⊖ vitamins

⑥ 酸素度

微生物中에는 yeast 같이 酸素에 큰 影響을 받지 않고 生育할 수 있기도하며, 酸素가 전혀 없는 상태에서만 生育할 수 있는 細菌도 있다. 그러나 大部分의 細菌과 곰팡이는 그 生育에 酸素를 必要로 한다.

乳化型 化粧品에서 모든 條件이 同一하다면 水相의 溶存酸素량이 많을수록 細菌과 곰팡이의 生育에 더 適當할 것이다. 그러므로 外部空氣과 接觸可能한 外相이 水相인 o/w乳化型에서 이들의 生育活性은 더 높다.

防腐效果에 影響을 미치는 要因

① 解離 및 pH

이 問題에 關한 實驗研究는 지난 30年間 行하여져 오고 있으며, 特히 弱酸 및 알카리性 防腐

(Table 1) Undissociated preservative% at different pH's & its K_a (22, 23)

Preservatives	K_a	pH				
		3	4	5	6	7
Sorbic acid	1.73×10^{-5}	98	86	37	6	0.6
Benzoic acid	6.3×10^{-5}	94	60	13	6.5	0.15
Dehydro acetic acid	5.3×10^{-6}	100	95	65	16	2

防腐劑 選擇時 이 問題는 매우 重要하며, 化粧品에서 흔히 使用하는 防腐劑들의 pH에 따른 그 效果範圍에 對하여는 Wallhausser(24)가 詳細히 나타내고 있다.

② 分配

서로 混合되지 않는 液相의 二相系에서 理論的인 水相의 防腐濃度는 分配理論에 依하여 다음 數式으로 表示할 수 있다.

$$C_w = \frac{C(\phi+1)}{K_o^w\phi+1} \quad (25)$$

이때 C_w = Concentration in the water phase (% w/v)

劑의 防腐效果는 水溶液에서 그 pH에 크게 影響을 받음이 많은 研究者들에 依해 報告되었다.

Rohn등(17) 및 von Schelhorn(18)은 水溶液에서 이들 防腐劑는 非解離體가 그 效果가 있음을, 그리고 Garrett등(19)은 二相界에서도 같은 效果를 報告하였으며, Simon(20)은 水溶液의 pH가 이들 防腐劑의 P_{ka} 보다 낮을 때는 影響이 적으나 반대일 경우에는 매우 크다고 했다.

Kostenbauder(21)은 이 關係를 數學的으로 다음과 같이 接近시키고 있다.

즉,

$$\text{Undissociated acid} = (\text{Total}) \times \frac{(H^+)}{(H^+) + K_a}$$

(K_a : 解離常數)

이 數式에서 알 수 있듯이 H^+ 濃度가 클수록 즉 pH가 낮을수록 防腐劑의 非解離濃度가 크며 또한 防腐劑의 K_a 가 작을수록 pH에 따른 防腐活性 變化는 적다.

몇 種類의 弱酸性 防腐劑의 K_a 와 pH에 따른 活性關係를 表示하면 다음 (Table 1)과 같다.

C = overall concentration (% w/v)

K_o^w = oil: water partition coefficient

ϕ = oil: water ratio

또한 乳化劑가 包含된 乳化系에서는 乳化劑와 防腐劑의 結合要因이 存在함으로 다음 數式으로 表示된다.

$$C_w = \frac{C(\phi+1)}{K_o^w\phi+R}$$

이때 R = total: free preservative ratio

그러나 防腐劑와 相互作用하는 乳化劑는 勿論, 高分子物質, 電解質, 香料 등 防腐劑와의 相互作用이 있는 여러 要因이 存在하는 現在의 複雜

한 化粧品 乳化系에서 위 數式만으로는 不足한 點이 많다. 또한 本人의 資料로서는 위의 主要因들이 存在하는 乳化系에서의 C_w 를 數式化한 報告는 없는 듯하다.

그러나 위 數式에서의 諸般變數 및 일찌기 Hibbott 등⁽²⁶⁾의 各 오일의 防腐劑 溶解度와 各 오일을 包含한 乳化系에서 방부제의 K_w 는 比例한다는 簡單한 實驗 結果는 複雜한 乳化系에서의 防腐關係에 도움은 될 것이다.

③ 界面活性劑와의 相互作用

Hampil⁽²⁷⁾의 sodium oleate가 페놀의 防腐活性를 減少시킨다는 報告이래, Bean 등⁽²⁸⁾은 soaps等 陰이온界面活性劑에 依해 溶解된 防腐界에서 防腐活性는 全系에 溶解된 防腐濃도가 아닌, 물에 溶解될 수 있는 濃도에 依한다고 하였으며, 여러 報告에 依하면^(29,30) soaps等 陰이온界面活性劑의 防腐劑 活性 低下 機作은 界面活性劑의 미셀 形成으로 因한 防腐劑의 미셀內相 溶解 現象 때문인 것 같다. 때문에 soaps等 陰이온界面活性劑의 濃도가 C.M.C.(critical micelle concentration) 以下일 때는 그 影響이 없으나 C.M.C. 以上에서는 防腐活性가 減少된다고 한다.

이보다, 現在의 乳化型 化粧品 處方 構成에서 그 比重이 큰 非이온界面活性劑와의 關係에서 이 影響에 對한 機作은 다음 두 理論이 支配의 이다.

첫째, 界面活性劑의 미셀 形成으로 因한 防腐劑의 미셀內相 溶解現象,

둘째, 페놀性 防腐劑의 페놀의 하이드록시 그룹과 界面活性劑의 에틸렌옥사이드가 附加된 에틸 그룹의 酸素와의 水素結合에 依한 콤프렉스 形成.

따라서 soaps等 陰이온界面活性劑보다 水溶液에서의 C.M.C. 濃도가 훨씬 낮은 非이온界面活性劑가 防腐劑 不活性 程度가 크며, 非이온界面活性劑中 特히 폴리옥시에틸렌 그룹의 것이 페놀性 防腐劑에 미치는 影響은 실로 크다.

Patel 등⁽³¹⁾은 Tween 80과 파라벤의 實驗報告에서 5% Tween 80 溶液에서 메틸파라벤은 78

%, 그리고 프로필파라벤은 95.5%가 不活性되며, 10%溶液에서는 메틸파라벤 88%가 不活性된다고 했다.

이 機作들과는 別度로, Beckett 등^(32,33,34)은 非이온界面活性劑는 防腐劑의 微生物에 對한 吸收作用을 妨害한다고도 했다.

이와같이 여러 研究者들의 報告를 綜合해 보면 soaps等 陰이온界面活性劑보다 防腐劑 不活性度가 큰 非이온界面活性劑에서의 그 程度는 防腐劑 種類와 界面活性劑의 形態 및 그 濃도에 크게 支配되는 것 같다.

④ 水溶性 高分子物質과의 相互作用

이들과 各種 防腐劑와의 作用에 依한 防腐活性 低下에 關한 研究報告는 매우 많으며, 그 機作은 防腐劑와의 水素結合에 依한 콤프렉스 形成, 物理的 吸着 등에 依하는 것 같다. 紙面關係上 他防腐劑와의 關係는 省略하고 化粧品에 흔히 使用되는 파라벤과의 關係만 說明코져 한다.

㉠ Polyethyleneglycol (carbawax)

Wedderburn⁽³³⁾은 메틸파라벤과의 關係實驗에서 分子量 2,000 以下の 것은 별 影響이 없으나 이 以上의 것은 不活性化한다고 하였으며, de-Navarre 등⁽³⁵⁾은 2% P.E.G. 4,000은 거의 影響이 없다고 했으나 Kostenbauder 등⁽³⁶⁾, Barkley⁽³⁷⁾에 依하면 影響이 있는 듯 하다. 따라서 이 關係는 P.E.G의 分子量 및 그 濃도에 크게 支配되는 듯 하다.

㉡ Gum tragacanth

Eisman 등⁽³⁸⁾은 파라벤과의 實驗에서 界의 처음 狀態에서는 약간의 影響이 있었으나 經時的으로 오히려 回復된다고 했다. 이는 物理的 吸着이 作用된 것으로 본다. 그러나 Miyawaki 등⁽³⁹⁾은 影響이 없는 것으로 報告하고 있다.

㉢ Methyl Cellulose 및 Carboxy Methyl Cellulose

Tillman 등⁽⁴⁰⁾은 일찌기 메틸셀룰로즈와 파라벤 關係實驗에서 콤프렉스 形成을 報告하였으며 Miyawaki 등⁽³⁹⁾은 透析方法으로 이를 確認하였으나 그 程度는 적다고 하였다. Kostenbauder

등⁽³⁶⁾, Barkley⁽³⁷⁾도 비슷한 報告를 하고 있다.

다음, 카복시메틸셀룰로오즈와의 關係 報告는 별로 없으나 Miyawaki등⁽³⁹⁾에 依하면 거의 相互作用이 없는 것으로 보인다.

㊸ Poly Vinyl Pyrrolidone

Kostenbauder등⁽⁴¹⁾은 P.V.P.의 아마이드 그룹과 페놀性 物質과의 콤플렉스 可能性을 시사 하였으며, Miyawaki등⁽³⁹⁾, Kostenbauder⁽³⁶⁾ Barkley⁽³⁷⁾의 實驗에서도 그 程度는 큰 것으로 報告하고 있다.

이상으로, 水溶性 高分子物質의 파라벤 不活性 關係에 對한 報告들을 소개한 바, 그 主된 作用機作은 이들 分子內 functional 그룹間的 水素結合에 依한 콤플렉스 形成때문이며, 그 程度는 高分子物質의 分子量 및 그 濃度 또한 이들 分子間的 functional 그룹 種類에 크게 支配되는 것 같다.

그러나 이 程度는 폴리옥시에틸렌系 非이온界面活性劑가 파라벤에 미치는 影響에 比하면 훨씬 적은 便이다.

이들 報告를 要約 表示하면 다음 <Table 2>와 같다.

<Table 2> Degree of inactivation of Paraben by various macromolecules

macromolecules 2% w/v	methyl-paraben	propyl-paraben
	inactivation%	inactivation %
P.E.G. 4000	16	19
M.C.	9	13
P.V.P.	22	16

macromolecules 5% w/v	methyl-paraben	propyl-paraben.
	inactivation %	inactivation %
P E.G. 4000	33	41
M.C.	20	—
P.V.P.	—	—

結 論

以上으로, 乳化型 化粧品에서 微生物生育과 防腐效果에 影響을 미치는 物理化學的 諸般 要因을 살펴본 바

乳化系에서 微生物의 生育은 水相에서만 可能하며 그 活性은 水相의 水分量, pH, 營養物質 種類 및 그 濃度, 溶存酸素量 등에 따라 變化하며 特히 乳化形態에 따른 差異는 매우 크다.

또한 微生物에 作用하는 防腐劑의 防腐效果는 水相에 分子狀態로 溶解된 그 濃度에 依하는데 이는 水相의 pH, 高分子物質, 油相의 構成成分, 乳化劑等的 種類 및 그 濃度等 乳化系의 物理化學的 條件에 크게 支配된다.

그러나 實際 化粧品의 防腐問題에 있어서는 이러한 要因들 외에도 內容物容器 및 使用中 混入되는 異物質과의 防腐劑 相互作用등의 要因은 勿論, 防腐劑 耐性 微生物의 出現, 製造中 1次 汚染, 그리고 使用者에 依한 2次 汚染이 이에 미치는 影響은 더욱 크다.

이러한 諸般問題는 業界의 不斷한 努力과 使用者들의 衛生的인 製品取扱 및 使用의 協助로 서 큰 成果를 거둘 것으로 確信한다.

參 考 文 獻

- (1) Smart, R. & Spooner, D.F.: J. Soc. Cos. Chem., 23, 721 (1972)
- (2) Bullock, K. & Keepe, W.G.: Pharm. J., 167, 188 (1951)
- (3) deGray, R.J. & Killian, L.N.: Development in Industrial microbiology, vol. 3, p. 296, Plenum Press, N.Y. (1962)
- (4) Bennett, E.O.: Development in Industrial Microbiology, vol. 3, p.273, Plenum Press, N.Y. (1962)
- (5) Balsam, M.S. & Sagarin, E.: Cosmetic Sci. & Tech. (2ed.), vol. 3, p.401, Wiley Interscience Pub. (1974)

- (6) Baker, J.H.: *J. Soc. Cos. Chem.*, 10, 133 (1959)
- (7) Barr, M. & Tice, L.F.: *J. Am. Pharm. Asso.*, 46, 442 (1957)
- (8) Komagata, K., Nagase, T. & Katsuya, N.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 10, 313 (1964)
- (9) Walker, J.D. & Colwel, P.R.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 1, 27 (1975)
- (10) Sceda, R. & Bos, P.: *Nature*, 211, 660 (1966)
- (11) Karkovetz, A.J. & Allen, J.E.: *Appl. Microbiol.*, 16, 487 (1968)
- (12) Brown, N.R. & Strawinskii, R. J.: *Can. J. Microbiol.*, 10, 791 (1964)
- (13) Stocks, P.K. & McCleskey, C.S.: *J. Bacteriol.*, 88, 1071 (1964)
- (14) Ogata, K., Nishikawa, H. & Tochikura, T.: *J. Ferm. Tech.*, 48, 389 (1970)
- (15) Yanagi, M. & Onishi, G.: *J. Soc. Cos. Chem.*, 22, 851 (1971)
- (16) Balsam, M.S. & Sagarin, E.: *Cos. Sci. & Tech.* (2nd ed.), vol. 3, p. 399 Wiley Interscience Pub. (1974)
- (17) Rahn, O. & Cohn, J.E.: *Ind. & Eng. Chem.* 36(2), 185 (1944)
- (18) von Schelhorn: *Food Tech.*, 7(3), 97 (1953)
- (19) Garrett, E.R. & Wood, O.R.: *J. Am. Pharm. Asso.*, 42, 736 (1953)
- (20) Simon, J.: *New Phytol.*, 51, 163 (1952)
- (21) Kostenbauder, H.B.: *Development in industrial microbiology*, vol. 3, p.286, Plenum Press, N.Y. (1962)
- (22) Harry, R.G.: *Harry's Cosmeticology* (6th ed), vol. I, p.665, Chemical Publishing Co., N.Y. (1973)
- (23) Rosen, W.E. & Berke, P.A.: *J. Soc. Cos. Chem.*, 24, 663 (1973)
- (24) Wallhausser, K.H.: *Parfüm. u. Kosmet.*, 56, 121 (1975)
- (25) Bean, H.S., Konning, G.H. & Tomas, J.: *Amer. Perf. & Cosm.*, 85 (3), 61 (1970)
- (26) Hibbott, H. W. & J. Monks: *J. Soc. Cos. Chem.*, 12, 2 (1961)
- (27) Hampil, B.: *J. Bacteriol.*, 16, 287 (1928)
- (28) Bean, H.S. & Berry, H.: *J. Pharm. Pharm.* 3, 639 (1951)
- (29) Allawala, N.A. & Riegelman, S.: *J. Am. Pharm. Asso.*, 42, 267 (1953)
- (30) Bean, H.S. & Berry, H.: *J. Pharm. Pharm.*, 5, 632 (1953)
- (31) Patel, N.K. & Kostenbauder, H.B.: *J. Am. Pharm. Asso.*, 47, 289 (1958)
- (32) Beckett, A.H., Patti, S.J. & Robinson, A. E.: *Nature*, 181, 712 (1958)
- (33) Wedderburn, D.L.: *J. Soc. Cos. Chem.*, 9, 210 (1958)
- (34) Judis, J.: *J. Pharm. Sci.*, 51, 261 (1962)
- (35) deNavarre, M.C. & Bailey, H.E.: *J. Soc. Cos. Chem.*, 7, 427 (1956)
- (36) Kostenbauder, H.B.: *Am. Perfumer Aromat.*, 75, 1, 28 (1960)
- (37) Barkley, E.L.: *Am. Perfumer Aromat.*, 73, 1, 33 (1958)
- (38) Eisman, P.C., Cooper, J. & Jasconia, D.: *J. Am. Pharm. Asso.*, 46, 144 (1957)
- (39) Miyawaki, G.M., Patel, N.K. & Kostenbauder, H.B.: *J. Am. Pharm. Asso.*, 48, 315 (1959)
- (40) Tillman, W.J. & Kuramoto, R.: *J. Am. Pharm. Asso.*, 46, 211 (1957)
- (41) Kostenbauder, H.B. & Higuchi, T.: *J. Am. Pharm. Asso.*, 45, 518 (1956)