

가자, 오배자, 계피 추출물을 이용한 화장품 제형에서의 방부효과

조 은 미[†] · 배 준 태 · 표 형 배 · 이 근 수

한불화장품(주) 기술연구소
(2008년 11월 24일 접수, 2008년 12월 5일 채택)

Antimicrobial Plant Extracts as an Alternative of Chemical Preservative: Preservative Efficacy of *Terminalia chebula*, *Rhus japonica* (gallut) and *Cinnmomum cassia* Extract in the Cosmetic Formular

Eun Mi Cho[†], Jun Tae Bae, Hyeong Bae Pyo, and Geun Su Lee

R&D Center, Hanbul Cosmetics Co. Ltd., 72-7, Yongsung-ri, Samsung-myun, Umsung-kun, Chungbuk 369-834, Korea
(Received November 24, 2008; Accepted December 5, 2008)

요약: 본 연구는 천연 식물 추출물을 이용하여 화장품 제형 내에서 천연 방부제로서 효능을 확인하기 위한 목적으로 진행하였다. 선별된 15종의 천연 식물 추출물을 이용하여 병원성 세균(*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*)과 효모균(*Candida albicans*), 곰팡이균(*Aspergillus niger*)에 대한 paper disc법(disc diffusion method)과 최소저해농도측정법(MIC)을 이용하여 항균 활성을 측정하였다. 그 결과 가자, 오배자 추출물은 그람 양성균인 *S. aureus*와 그람 음성균인 *P. aeruginosa*, *E. coli*에 대한 항세균 활성이 우수하였고, 계피 추출물은 효모균인 *C. albicans*와 곰팡이균인 *A. niger*에 대해 우수한 항진균 활성을 나타냈다. 최종 선별된 3종 외 식물추출물은 효과가 없었다. 항균 활성 효과가 우수한 최적 조합비로 구성된 가자, 오배자, 계피 추출물의 혼합 추출물을 화장품 제형에 첨가하여 제형 내 방부 활성을 측정한 결과 상업적으로 널리 사용되고 있는 파라벤 혼합 방부제와 유사한 정도의 방부 활성을 나타냄을 확인하였다. 결론적으로, 화학 방부제를 대신하여 천연 식물 추출물로만 이루어진 넓은 항균 스펙트럼을 갖춘 방부 시스템의 개발이 가능할 것으로 사료되며 최근 다양한 문제가 제기되고 있는 화학 방부제의 단점을 극복한 천연 방부제를 함유한 화장료의 개발에 응용 가능할 것으로 기대된다.

Abstract: This study was carried to investigate the efficiency of antimicrobial plant extracts as natural preservative in the cosmetic formulations. Ethanol extracts of different plants were tested using the disc diffusion (paper disc) method and the minimum inhibitory concentration (MIC) method for their antimicrobial activity against the common poultry pathogens. *Terminalia chebula* and *Rhus japonica* (gallut) extracts exhibited antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *Cinnmomum cassia* extract exhibited antifungal activity against *Candida albicans* and *Aspergillus niger* while the remaining plant extracts showed no activity. A study of the preservative efficacy of the cosmetic formular containing the *T. chebula*, *R. japonica* and *C. cassia* extracts demonstrated sufficient preservative efficacy against bacteria and eukaryotic test microbes. Also, the cosmetic formulations containing antimicrobial plant extracts more effectively inhibited the microorganisms than the mixture of traditional chemical preservatives. These results suggest that the mixture of antimicrobial plant extracts, *T. chebula*, *R. japonica* and *C. cassia* is incorporated as preservative in the cosmetic formulation and the mixture have considerable effect on its efficacy.

Keywords: antimicrobial plant extracts, antimicrobial activity, preservative efficacy, chemical preservatives, cosmetic

[†] 주 저자 (e-mail: mipali@hanmail.net)

1. 서 론

미생물은 공기, 토양, 인체 피부 등 거의 모든 곳에 서식하며, 공기 중으로 포자가 확산되어 수분, 양분 등이 적당한 환경에서 균사체를 형성하여 각종 휘발성 유기산을 분비, 독특한 냄새를 발생시키기도 한다. 미생물에 의한 부패를 막아주고 제품에 대해서도 오랫동안 유지하기 위해서 식품, 의약품 및 화장품 등에 방부제는 필수적이다. 그 중에서 유통기간이 비교적 길며, 그 사용 과정 및 보관 방법에 있어서 미생물과 접촉할 가능성이 매우 높으며, 각종 탄소원과 질소원이 배합되어 있고, 미생물 생장에 필수적인 수분의 함량도 높은 화장품의 경우는 식품보다 방부제 처리에 대한 더 많은 필요성과 문제점을 갖고 있다[1]. 화장품에 사용되는 방부제의 종류는 매우 다양하며 또한 화장품 생산의 증가에 따라 방부제는 더욱 다양해지고 그 사용량도 증가되고 있으나 대부분 화학 방부제로 개발되고 있다. 화학 방부제의 기능은 제품에 미생물의 생육을 저해하여 제품에 안전성과 안정성을 부여하는 것이다. 하지만 동시에 자극 유발의 원인이 되기도 한다[2]. 대표적인 예로 파라벤류(파라옥시안식향산에스텔)의 방부제를 들 수 있다[3]. 파라벤류는 사상균류, 효모류를 포함한 진균류에도 효과적이며, 비교적 독성이 낮으며, 세균류에 대해 매우 넓은 항균 스펙트럼을 갖는 등장점이 많아[4], 전 세계적으로 사용량 및 사용빈도가 가장 높은 방부제이다[5]. 하지만, 다른 대부분의 화학 방부제와 같이 알레르기성 접촉 피부염(allergic contact dermatitis)을 유발하는 경향을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다[6-10]. 또한 환경 호르몬으로서의 가능성[11] 및 내성균 유발이라는 문제점을 가지고 있다. 뿐만 아니라 허용된 기준내의 사용도 불신되고 있고 지속적인 체내 축적으로 인한 급, 만성 독성, 돌연변이 유발 등의 새로운 문제 가능성이 대두되고 있다[12]. 최근 안전 지향의 소비자 경향으로 인해 화장품의 표시성분으로 제품에 표기되는 화학 방부제에 대한 거부감이 크게 증가하고 있고, 방부제의 안전성 확보 및 이에 대한 충분한 검토를 다양한 경로를 통해 업체에 요구하고 있는 실정이다. 이러한 화학 방부제의 단점을 극복하기 위해 최근 천연 방부제나 자체 방부를 가능하게 하는 천연 소재에 관심이 높아지고 있으며, 많은 연구가 발표되고 있다.

본 연구에서도 화학 방부제를 대신할 수 있는 항균 활성을 가진 식물 추출물로 가자, 오배자, 계피를 이용하였다.

가자(*Terminalia chebula*)는 사군자과에 속하는 낙엽 교목인 가자의 열매로 인도가 주산지이며 중국의 광서성

Table 1. List of Plant Material and Type of Extracts Tested

Plants	Parts of plant investigated	Extract type
<i>Terminalia chebula</i>	Fruits	70 % Ethanol
<i>Trachelospermum asiaticum</i>	Branch	70 % Ethanol
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Root	70 % Ethanol
<i>Cinnmomum cassia</i>	Bark	70 % Ethanol
<i>Rumex gmelini</i>	Root	70 % Ethanol
<i>Sinomenium acutum</i>	Stem	70 % Ethanol
<i>Pulsatilla chinensis</i>	Root	70 % Ethanol
<i>Perilla frutescens</i>	Leaves	70 % Ethanol
<i>Rhus japonica</i> L.	gallnut	70 % Ethanol
<i>Evodia officinalis</i>	Fruits	70 % Ethanol
<i>Myrtus Communis</i>	Branch	70 % Ethanol
<i>Achillea sibirica</i>	Leaves	70 % Ethanol
<i>Coptis chinensis</i>	Root	70 % Ethanol
<i>Phellodendrom amurense</i>	Bark	70 % Ethanol
<i>Machilus thunbergii</i>	Bark	70 % Ethanol

등지에서 나며 가을과 겨울에 채취하여 말려서 복용한다. 약리실험 결과 수렴작용, 설사와 기침을 멈추는 효과가 밝혀졌다[13,14]. 주요 성분으로는 탄닌 20 ~ 30%, 갈릭산, 루테오닉산, chebulic acid, ellagic acid로 구성되어 있다[15].

오배자(*Rhus japonica* L.)는 율마과에 속하는 불나무의 잎에 잔털이 자상을 주어 생긴 벌레집을 말하는 데, 우리나라 각지에 분포한다. 약효로는 수렴, 지사, 지혈제로 설사, 가래, 당뇨, 하혈, 빈혈 등에 이용되었으며, 주요 성분으로 탄닌이 50 ~ 60 %, 약간의 몰식자산, 수지, 기름으로 구성되어 있다[16].

계피(*Cinnmomum cassia*)는 중국 및 인도가 원산지이고 녹나무과에 속하는 상록의 교목인 계피나무의 줄기 및 가지의 껍질을 벗기어 코르크층을 다소 제거하여 말린 것이다. 방향성 건위약으로 텅크, 단물, 향기 가루약 등을 만들어 쓰며, 계피유 제조 원료와 식료품 향료로도 사용되며, 주요 성분으로는 정유 1 ~ 3.4 %, 탄닌 2 ~ 3 %, 점액, 탄수화물 등으로 구성되어 있다[16].

본 연구에서는 방부 활성에 있어서 천연 식물 추출물을 적절히 조합한 방부 시스템을 설계하고 이를 이용하여 self-preserving 화장품의 제조 가능성을 검토하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 시료의 준비

본 실험에 사용한 15종의 식물(Table 1)은 서울 소재 마산 한약상에서 구입하여 전문가의 감정을 거친 후 실험 재료로 사용하였으며 증거 표본은 한불 화장품(주) 기술 연구소의 신소재팀에 보관 중이다. Table 1에서 나타난 15종의 식물을 세절하고 blender로 분쇄하여 사용하였다. 분쇄된 각각의 천연물 100 g에 70 % 에탄올 1,000 mL을 첨가한 후 환류 추출 하고 실온에서 1일 동안 냉각시켰다. 0.45 μm 여과지로 여과하여 얻어진 여액을 paper disc법을 이용한 항균성 평가 시료로 사용하였다. 또한 paper disc법에서 우수한 항균성을 나타낸 추출물은 감압 농축기로 농축한 후 동결건조 하여 건조분말을 제조하였으며 이들을 시험 균주에 대한 최소저해농도(MIC)와 화장품 제형 내 방부력 시험에 평가 대상 시료로 사용하였다.

2.2. 기기 및 시약

Rotary vacuum evaporator (EYELA N-1000, Japan), 동결 건조기(Ilshin Lab, Korea), micro plate reader는 ELX 800 (Bio-Tek Instrument Inc. USA)을 사용하였다. 화학 합성 방부제로 사용된 Euxyl K300[®] (phenoxyethanol, methylparaben, ethylparaben, propylparaben)은 Schuke & Mayr (Germany)사에서 구입하여 사용하였다. 그 외 나머지 시약들은 Sigma-Aldrich (USA)사에서 구입하여 사용하였다.

2.3. 사용 균주 및 배지

항균 활성 측정 시험 및 방부력 시험에 사용한 균주는 항세균 활성에 그람 양성균 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC6538P)와 그람 음성균 *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*, ATCC9027)와 *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC8739)를 이용하고, 세균용 배지는 Merck (Germany)사의 tryptic soy agar (TSA)와 tryptic soy broth (TSB)를 사용하였다. 항진균 활성에는 효모류인 *Candida albicans* (*C. albicans* ATCC10231)와 곰팡이균인 *Aspergillus niger* (*A. niger* ATCC22343)를 이용하였으며, 진균용 배지는 Merck (Germany)사의 potato dextrose agar (PDA), potato dextrose broth (PDB)을 사용하였다.

2.4. 항균 활성 탐색

항균 활성을 탐색하기 위하여 항균 활성을 나타내는 저해환의 직경을 측정하는 paper disc법[17]을 이용하였다. 배

Table 2. Composition of The Cosmetic Products

Raw material	Dosage (w/w%)		
	1	2	3
Preservative (Euxyl K300)	0.50	-	-
Plant extract mixture 1	-	0.50	
Plant extract mixture 2	-	-	0.50
Butylene glycol	4.00	4.00	4.00
Cetearyl alcohol	0.50	0.50	0.50
Glyceryl stearate	0.30	0.30	0.30
Polysorbate 60	0.60	0.60	0.60
PEG-20 methyl glucose sequistearate	1.30	1.30	1.30
Acrylate / sodiumacryl amide copolymer	0.10	0.10	0.10
Purified water	92.7	92.7	92.7
Total	100.00	100.00	100.00

양기에서 배양한 균주를 적정 농도로 희석하여(세균류의 경우 1×10^6 cells/mL, 진균류의 경우 1×10^5 cells/mL) 미리 만들어진 고체 배지에 0.5 mL씩 분주하고 말린 다음, 멸균된 paper disc에 추출물을 100 μL 씩 점적, 건조한 후, paper disc를 올린다. 일정 시간 incubator에서 배양한 후(세균류의 경우 32 $^{\circ}\text{C}$, 48 h, 진균류의 경우 25 $^{\circ}\text{C}$, 72 h) 나타난 저해환의 직경 크기로 추출물의 항균 활성을 비교하였다.

2.5. 항균력 측정

Paper disc법에 의하여 항균성이 우수한 것으로 평가된 8종의 추출물의 항균 효과를 파악하기 위하여 최소저해 농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 고체 배지 희석법[18]을 이용하여 측정하였다. MIC 값은 각 시료들을 2배수 농도로 연속적으로 희석하여 한천 배지에 처리한 후 시험 균주들이 한천 배지에서 자라지 않는 최소 저해 농도로 하였다. 8종의 식물 추출물들을 다양한 농도로 10 mL TSA나 PDA 배지에 넣고 잘 섞은 후 petri dish에 부었다. 각 배지가 고체화된 후 5종의 시험 균주들을 백금이를 이용하여 긁은 후 세균은 32 $^{\circ}\text{C}$ incubator에서 48 h, 진균은 25 $^{\circ}\text{C}$ incubator에서 72 h 배양 후 균들의 성장을 관찰하였다. 8종의 식물 추출물 중 항균 활성이 우수한 3종을 선별하여 앞서 진행한 실험 방법과 동일하게 실시하여 최적의 조합비를 검색하였다.

2.6. 시험 제형의 준비

방부 활성 측정을 위하여, Table 2에 나타난 원료를 이

Table 3. Evaluation of Antibacterial Activity, Indicated by Diameter of Inhibition Zone (mm), of Plant Extracts Against Microorganisms

Plants	Diameter of inhibition zone (mm)				
	Gram+	Gram-		Yeast	Mold
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
<i>T. chebula</i>	23	20	22	0	43
<i>T. asiaticum</i>	0	17	0	0	0
<i>G. uralensis</i>	20	13	0	0	35
<i>C. cassia</i>	13	0	0	35	25
<i>R. gmelini</i>	20	15	0	0	25
<i>S. acutum</i>	0	13	0	13	15
<i>P. chinensis</i>	13	18	20	0	20
<i>P. frutescens</i>	12	12	12	0	20
<i>R. japonica</i>	23	18	25	13	30
<i>E. officinalis</i>	0	12	12	0	25
<i>M. Communis</i>	0	14	14	0	0
<i>A. sibirica</i>	12	15	13	0	0
<i>C. chinensis</i>	25	0	0	20	0
<i>P. amurense</i>	13	0	0	0	0
<i>M. thunbergii</i>	12	0	0	0	15

용, O/W 유액 제형을 설계하고, MIC 평가에서 항균성이 우수한 가자, 오배자, 계피 추출물이 최적 조합비로 이루어진 혼합추출물 2종을 선정하여 실험에 사용하였다.

2.7. 방부 활성 확인 시험

방부 활성의 확인은 CTFA의 Microbiology Guidelines의 방법[19]과 DS Orth의 linear regression method[20]를 변형하여 측정하였다. 시험 균은 적절한 시기에 액체 배지에 접종한 후 배양하여 준비하고, 시험용 배지에 희석한 후, 적절한 용기에 담아 준비된 각 방부력 시험 대상 제품에 세균류의 경우 1×10^6 cells/mL, 진균류의 경우 1×10^5 cells/mL이 되도록 접종하였다. 접종한 제품은 접종 직후부터, 접종 2주일 경과 후까지 시간경과에 따라 시료를 채취한 후, 생균수 시험을 수행하고, 세균의 경우 32 °C incubator에서 48 h, 진균의 경우 25 °C incubator에서 72 h 배양한 후 생균수를 측정하였다.

3. 실험결과 및 고찰

3.1. 식물 추출물의 항균 활성 탐색

선별된 15종의 식물 추출물들의 세균, 진균에 대한 항균 활성을 알아보기 위해 paper disc법을 이용한 저해환

측정 결과를 Table 3에 정리하였다.

*S. aureus*에 대한 저해환 크기를 측정한 결과 황련, 가자, 오배자, 감초, 대황의 crude extract 경우 각각 25 mm, 23 mm, 20 mm로 저해 활성이 다른 식물에 비해 우수한 것으로 나타났다. 또한, 그람 음성균인 *E. coli*와 *P. aeruginosa*에 대한 저해환 크기를 측정한 결과 오배자, 가자, 백두옹의 crude extract 경우 각각 25 mm, 20 mm, 18 mm로 저해 활성이 다른 식물에 비해 우수한 것으로 나타났다. 계피의 crude extract는 진균류인 *C. albicans*와 *A. niger* 등에 특이적으로 강한 저해환을 나타내어 진균류의 성장을 억제하는데 우수한 항균 활성을 갖는 것을 확인 할 수 있었다.

3.1.1. 식물 추출물의 항균력(MIC)

저해환 실험에서 우수한 항균 활성을 나타낸 8종의 식물 추출물을 대상으로 시험균에 보다 정확한 항균 활성을 확인하기 위해 최소저해농도(MIC) 측정법을 이용해 항균 활성을 확인하였으며 그 결과를 Table 4에 나타냈다.

8종의 식물 추출물 중 가자와 오배자 추출물의 MIC는 *S. aureus*에 대해 0.05 %, *P. aeruginosa*에 대해 0.05 %, *E. coli*균에 대해서는 각각 0.5 %와 0.2 %로 세균류에 우수한 항균 활성을 나타냈다. 반면에 진균류에는 효과가 없는 것으로 나타났다. 계피 추출물의 경우 진균류에 대

Table 4. MIC of Plant Powders Against Various Microorganisms

Powder of plants	Minimum inhibitory concentration (MIC, w/v%)				
	Gram positive bacteria	Gram negative bacteria		Yeast	Mold
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
<i>T. chebula</i>	0.05	0.05	0.5	ND	ND
<i>G. uralensis</i>	0.05	ND	ND	ND	ND
<i>C. cassia</i>	ND	ND	ND	0.05	0.05
<i>R. gmelini</i>	0.02	ND	0.5	0.1	ND
<i>P. chinensis</i>	0.2	ND	0.2	0.02	ND
<i>R. japonica</i>	0.05	0.05	0.2	ND	ND
<i>E. officinalis</i>	ND	ND	ND	ND	0.01
<i>M. Communis</i>	ND	ND	ND	0.05	ND

(ND = not detected)

Table 5. Screening of Optimal Combination Rate of Antimicrobial Plant Extracts

Plant extract	Combination rate	Minimum inhibitory concentration (MIC, w/v%)				
		Gram positive bacteria	Gram negative bacteria		Yeast	Mold
		<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
<i>T. chebula</i>	1 : 1 : 1	0.5	0.5	ND	ND	ND
:	1 : 2 : 1	0.2	0.5	ND	ND	0.5
<i>R. japonica</i>	1 : 2 : 2	0.2	0.5	ND	0.5	0.5
:	1 : 4 : 2	0.05	0.1	0.3	0.2	0.2
<i>C. cassia</i>	1 : 8 : 4	0.02	0.05	0.3	0.2	0.2
Euxyl K300		0.1	0.2	0.2	0.1	0.1

(ND = not detected)

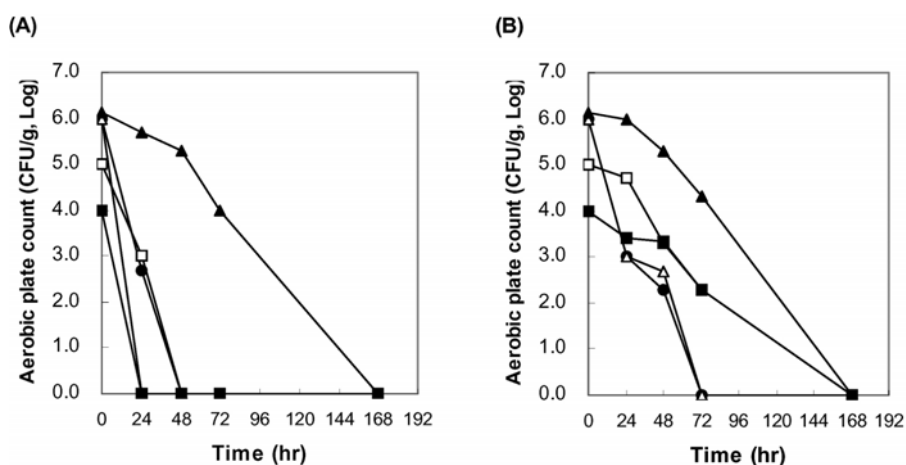


Figure 1. Survival curves of test microorganisms applied in the cosmetic Products. (A) O/W emulsion containing 0.5 % commercial chemical preservative (Euxyl K300), (B) O/W emulsion containing 0.5 % mixture candidate of selected plant extract. ●: *S. aureus*, △: *P. aeruginosa*, ▲: *E. coli*, □: *C. albicans*, ■: *A. niger*.

한 MIC는 0.05 %로 우수한 항균 활성을 나타냈다.

3.1.2. 식물 추출물의 최적 조합비 검색

앞서 실험한 결과, 항균 활성 효과가 우수한 3종의 식물 추출물을 선별하여 화장품 제형에 적용하기 위한 최적 조합비를 결정하는 실험을 진행하여 그 결과를 Table 5에 기술하였다.

가자, 오배자, 계피 추출물의 최적 조합비를 검색한 결과, 가자, 오배자, 계피 추출물이 각각 1 : 8 : 4와 1 : 4 : 2의 비율로 조합될 경우 세균과 진균에 우수한 항균 활성을 가짐을 확인하였다. 이는 화학 방부제인 Euxyl K300과 유사한 정도의 항균 활성을 나타냄을 알 수 있다.

3.2. 식물 추출물을 함유한 화장품 제형의 방부 활성

항균 활성 실험 결과 우수한 항균 활성을 나타낸 가자, 오배자, 계피 추출물로 구성된 혼합 추출물을 첨가한 O/W 제형의 유액을 제조하고, 방부 활성을 측정하였다.

기존 화학 방부제로서, phenoxyethanol과 paraben류가 혼합된 방부제인 Euxyl K300을 0.5 % 첨가한 유액 (Figure 1A)의 경우, *E. coli*를 제외한 모든 시험균에 대해서는 48 h 경과 후 모두 사멸 시키는 방부력을 나타냈고, *E. coli*에 대해서는 72 h 경과 후 접종균의 약 99 %가 사멸하고, 7일 경과 후에 모두 사멸하는 방부활성을 나타냈다.

가자, 오배자, 계피 추출물을 각각 1 : 8 : 4 비율로 혼합한 혼합 추출물을 0.5 % 첨가한 유액 (Figure 1B)의 경우, *S. aureus*와 *P. aeruginosa*를 접종 72 h 경과 후 모두 사멸 시키는 방부 활성을 나타냈고, 진균인 *C. albicans*와 *A. niger*는 접종 72 h 경과 후, 대부분이 사멸되는 우수한 방부활성을 나타내었다. 또한, *E. coli*에 대해서는 7일 경과 후에 모두 사멸하는 방부활성을 나타내어 화학 방부제 Euxyl K300과 유사한 방부 활성을 나타냄을 확인하였다.

3.3. 식물 추출물들의 세포 독성

실험에 사용한 천연물을 피부 이상반응을 간접적으로 확인하고자 세포독성 시험을 수행하여 피부자극 유발 가능성을 확인하였다. 그 결과 가자, 오배자, 계피 추출물의 경우 세포 독성이 없는 것으로 나타났다(data not shown).

4. 결 론

본 연구에서는 자연에 존재하는 수종의 천연물 중 천연 항균 식물을 검색한 후 총 15종의 식물 추출물을 세균류와 진균류에 대한 항균 활성을 측정하여 다음과 같은

결과를 얻었다. 가자와 오배자 추출물은 *S. aureus*, *P. aeruginosa*와 *E. coli*에 대해 우수한 항균 활성을 나타내어 세균에 대한 항균 활성이 우수함을 확인하였고, 계피 추출물은 곰팡이와 효모를 포함하는 진균(*C. albicans*, *A. niger*)에 대해 우수한 항균 활성을 나타냈다.

가자, 오배자, 계피 추출물을 단독으로 사용했을 때는 세균과 진균에 대해 충분한 항균 활성을 갖지 못했지만 3종의 식물 추출물을 조합한 최적 조합비로 구성된 혼합 추출물은 세균과 진균에 대해 상호 보완적인 작용을 하여 시험균주 5종에 대해 우수한 항균 활성을 나타냈다. 또한, 혼합 추출물을 화장품 제형에 첨가하여 제형 내 방부 활성을 측정된 결과, 상업적으로 널리 사용되고 있는 파라벤 혼합 방부제와 유사한 정도의 방부 활성을 나타냄을 확인하였다.

결론적으로, 본 연구를 통하여 기존 화학 방부제를 대신하여 천연 식물 추출물인 가자, 오배자, 계피 추출물로 이루어진 혼합물을 화장품 제형 내에 적용이 가능하며, 식물 추출물로만 이루어진 넓은 항균 스펙트럼을 갖춘 방부 시스템의 개발이 가능할 것으로 사료된다. 이는 최근 다양한 문제가 제기되고 있는 화학 방부제의 단점을 극복한 화학 방부제 무첨가, 천연 방부제를 함유한 화장품의 개발에 응용 가능할 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. K. K. Ok, K. Y. Doo, S. J. Kim, J. D. Kim, S. S. Park, and H. S. Lee, New cosmetic, Donghwa Publishing Company (1997).
2. D. S. Orth and J. J. Kabara, Preservative-free and self-preserving cosmetics and drugs application of hurdle technology, *Cosmet. Toil.*, **113**(4), 51 (1998).
3. E. Esposito, F. Bortolotti, C. Nastrozzi, E. Menegatti, and R. Cortesi, Diffusion of preservatives from topical dosage forms: a comparative study, *J. Cosmet. Sci.*, **54**(3), 239 (2003).
4. D. Steinberg, Z. Hirschfeld, I. Tayeb, S. Ben-Yosef, A. David, and M. Friedman, The effect of parabens in a mouthwash and incorporated into a sustained release varnish on salivary bacteria, *J. Dentistry.*, **27**(2), 101 (1999).
5. D. Steinberg, Frequency of use of preservatives 2001, *Cosmet. Toil.*, **117**(4), 41 (2002).
6. J. Vilaplana and C. Romaguera, Contact dermatitis

- from parabens used as preservatives in eyedrops, *Contact Dermatiti.*, **43**(4), 248 (2000).
7. S. M. Cooper and S. Shaw, Allergic contact dermatitis from parabens in a tar shampoo, *Contact Dermatitis*, **39**(3), 140 (1998).
 8. P. Bonnevie, Overfølsomhed for aetylparaoxybenzoat (Mycoten), *Nordisk Medicin*, **6**, 684 (1940).
 9. L. Sarkany, Contact dermatitis from pafaben, *J. Dermatol.*, **72**(10), 345 (1960).
 10. A. A. Fisher, The paraben paradox, *Cutis*, **12**, 830 (1973).
 11. E. J. Routledge, J. Parker, J. Odum, J. Ashby, and J. P. Sumpter, Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic, *Toxicol. Appl. Pharm.*, **153**(1), 12 (1998).
 12. D. H. Shin, Food science and industry, **23**(4), 68 (1990).
 13. C. Singh, 2 α -Hydroxymicromeric acid, a pentacyclic triterpene from *Terminalia chebula*, *Phytochemistry*, **29**(7), 2348 (1990).
 14. N. N. Barthakur and N. P. Arnold, Nutritive value of the chebolic myrobalan (*Terminalia chebula* Retz.) and its potential as a food source, *Food Chem.*, **40**, 213 (1991).
 15. J. H. Park, Korean drug handbook, 1, Shinilbooks, Seoul (2002).
 16. O. J. Choi, Components and usage of herbs, Ilworlseogak (1999).
 17. D. Kalemba and A. Kunicka, Antibacterial and antifungal properties of essential oils, *Curr. Med. Chem.*, **10**(10), 813 (2003).
 18. S. B. Seo, C. S. Ryu, G. W. Ahn, H. B. Kim, B. K. Jo, S. H. Kim, J. D. Lee, and T. Kajuchi, Development of a natural preservative system using the mixture of chitosan - *Inula helenium* L. extract, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **24**(4), 195 (2002).
 19. Microbial challenge of test material (CTFA method M-3 and M-4).
 20. D. S. Orth and D. Enigl, Preservative efficacy testing by a rapid screening method for estimation of D-values, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **44**, 329 (1993).
 21. A. Nostro, M. A. Cannatelli, I. Morelli, A. D. Musolino, F. Scuderi, F. Pizzimenti, and V. Alonzo, Efficiency of *Calamintha officinalis* essential oil as preservative in two topical product types, *J. Appl. Microbiol.*, **97**, 395 (2004).
 22. D. S. Orth and D. C. Steinberg, The safety factor in preservative efficacy testing, *Cosmet. Toil.*, **118**(44), 51 (2003)
 23. M. Ferrari, L. C. L. Monterio, D. J. A. Netz, and P. A. Rocha-Filho, Identifying cosmetic forms and crystalline phases from ternary systems, *Cosmet. Toil.*, **118**(4), 61 (2003).
 24. R. Gruening, As much as necessary, as little as possible: a simple rule for the use of preservatives in cosmetics, *Cosmet. Toil.*, **113**(4), 61 (1998).
 25. J. I. Yablonski and S. E. Mancuso, Preservation of atypical cosmetic product systems, *Cosmet. Toil.*, **117**(4), 31 (2002).
 26. M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 1199 (1958).
 27. I. D. Trayner, A. P. Rayner, G. E. Freeamn, and R. Farzaneh, Quantitative multiwell myeloid differentiation assay using dichlorodihydrofluorescein diacetate (H₂DCFDA) or dihydrorhodamine 123 (H₂R123), *J. Immunological Methods*, **186**, 275 (1995).
 28. T. Branna, A preservative market update, *Happi*, **5**, 101 (2003).