

## 화장품 성분들의 세균에 대한 항균 시너지 효과 연구

김 소 희<sup>†</sup> · 윤 유 나 · 안 수 선

아모레퍼시픽 기술연구원

(2017년 12월 5일 접수, 2018년 1월 4일 수정, 2018년 1월 18일 채택)

### A Study on Synergistic Antibacterial Activity of Cosmetic Ingredients

So-Hee Kim<sup>†</sup>, Yuna Yun, and Susun An

Amorepacific Co. R&D Unit, 1920, Yonggu-daero, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 17074, Korea

(Received December 5, 2017; Revised January 4, 2018; Accepted January 18, 2018)

**요약:** 본 연구에서는 화장품에 널리 쓰이는 컨디셔닝제이면서 항균력을 가지는 성분들인 1,2-hexanediol, ethylhexylglycerin, glyceryl caprylate를 대상으로, 이들이 화장품 제형 내에서 다양한 제형 원료와 혼합될 때 그람 양성, 음성 세균에 대한 항균력이 어떻게 변화하는지 확인하고자 하였다. 검토할 제형 원료로는 제형 내에서 항균력을 향상시킬 것으로 예상되는 물질 7종(1,3-propanediol, 1,3-butanediol, glycerin, dipropylene glycol, niacinamide, EDTA-2Na, ethanol)을 선정하였으며, checkerboard assay를 이용하여 해당 물질들과 항균력을 지닌 3종 물질에 대한 항균 시너지 효과를 확인하였다. 시험 결과, 세균에 대해 눈에 띄는 항균 시너지 효과를 보인 물질은 ethanol과 EDTA-2Na였으며 특히 ethanol은 항균력을 지닌 컨디셔닝제 3종 모두와 세균에 대해 항균 시너지 효과를 나타냄을 확인할 수 있었다. Glyceryl caprylate는 시험한 물질 7종 모두와 그람 양성균인 *S. aureus*에 대해 항균 부가 및 상승 효과를 나타내었으며, 4종의 폴리올이 첨가된 제형에는 1,2-hexanediol, glyceryl caprylate 조합으로 방부처방을 하는 것이 그람 양성, 음성 세균을 모두 제어하기에 용이하다고 판단되었다. 본 연구는 화장품에서 자주 이용되는 항균력을 지닌 컨디셔닝제와 주요 제형 원료의 항균 시너지 효과를 확인함으로써 항균력을 지닌 컨디셔닝제의 제형 내 항균력을 예측하는 데 기여했다는 점에서 의의가 있다.

**Abstract:** In this study, 1,2-hexanediol, ethylhexylglycerin, and glyceryl caprylate known as skin conditioning agents with antimicrobial activity in cosmetics were investigated for their antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria when combining them with various ingredients in cosmetic formulations. Seven kinds of substances expected to improve the antibacterial activity in formulations were selected to blend with these three compounds; 1,3-propanediol, 1,3-butanediol, glycerin, dipropylene glycol, niacinamide, EDTA-2Na, and ethanol. The checkerboard assay was conducted to confirm the antibacterial synergy of these seven substances and the three skin conditioning agents. Consequently, ethanol and EDTA-2Na were detected as the significant materials with synergistic effect as well as ethanol showed antibacterial synergy with all the three compounds. When seven of selected materials were mixed with glyceryl caprylate, there were synergistic or additive activity against *S. aureus*, gram-positive bacteria and it was suggested that the combination with 1,2-hexanediol and glyceryl caprylate was useful to control both gram-positive and gram-negative bacteria when there were four kinds of polyols. This study is meaningful in that it confirmed the antibacterial synergy of the skin conditioning agents with antimicrobial activity and the main raw materials frequently used in cosmetics, thereby contributing to prediction of the antibacterial activity of the skin conditioning agents in cosmetic formulations.

**Keywords:** 1,2-hexanediol, ethylhexylglycerin, glyceryl caprylate, synergistic antibacterial activity, skin conditioning agents

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: ksh1450@amorepacific.com)  
call: 031)280-5868

## 1. 서 론

화장품은 다량의 수분, 영양분을 포함하고 있기 때문에 미생물이 증식하기에 적합한 환경을 제공한다. 따라서 장기간 소비자가 화장품을 안전하게 사용하기 위해서는 화장품의 방부력 확보가 필수적이다. 화장품의 방부력을 확보하기 위한 방안으로는 제형의 pH 및 수분활성도 조절, 항균/방균 용기 사용, 보존제 첨가가 대표적이며, 이 중에서도 보존제를 첨가하는 방식이 가장 범용적으로 사용되고 있다[1].

화장품 보존제로서는 파라벤, 페녹시에탄올이 가장 대표적으로 사용되어왔는데 최근 파라벤의 생식독성 가능성과 페녹시에탄올의 생식독성 및 발달독성 가능성이 제기되면서 해당 물질들을 대체할 보존제에 대해 연구가 진행되고 있다[2]. 화장품 대체 보존제로 검토되는 대표적인 물질은 항균력을 지닌 컨디셔닝제이며 특히 1,2-alkanediol계 화합물은 1990년대 초반 장업계에 소개된 이후로 지속적으로 사용이 검토되고 있다[3]. 1,2-alkanediol계 화합물 중, 1,2-hexanediol은 화장품 내에서 항균 원료로 사용되는 대표적인 물질로서 사용 허용치의 수십 배 농도에서도 뚜렷한 피부 자극이 없음이 보고되었다[4]. 1,2-hexanediol은 짧은 탄소 사슬을 가진 양친성 물질이기 때문에 화장품 제형 내에서 용해도가 높을 뿐만 아니라, 미생물의 세포막 파괴가 용이하여 화장품의 방부력 향상에 도움을 주는 것으로 알려져 있다[3,5].

Ethylhexylglycerin (3-[(2-ethylhexyl)oxy]-1,2-propanediol)은 glycerol monoalkylether로서 본래 화장품 내에서 데오드란트나 스킨컨디셔닝제로 기능하는데, 최근 항균력을 가졌다는 것이 확인되면서 다기능성 원료로서 널리 이용되고 있다. Ethylhexylglycerin은 hydrophilic-lipophilic balance (HLB)가 7.4이기 때문에 미생물 세포막의 표면 장력을 감소시키고 다른 항균제가 세포막에 접촉하도록 돕는다고 알려져 있으며[1], 특히 페녹시에탄올과의 항균 시너지 효과에 대한 연구가 많이 진행되었다[6,7]. Glycerol caprylate는 화장품 내에서 스킨컨디셔닝제이자 계면활성제로 작용하며, 항균력을 나타내기 때문에 단독으로 또는 다른 항균제와 조합하여 화장품의 방부력 확보를 위해 사용되고 있다. Glycerol caprylate는 친수, 친유성을 모두 가진 구조이기 때문에 미생물 세포 구조를 방해하고 세포막을 파

괴하는 것으로 알려져 있다[8].

일반적으로 항균 물질은 pH와 같은 작용 조건과 조합 물질에 따라 항균력이 달라지는데[9,10] 단순 배지 조건에서 항균력을 보였던 물질들이 화장품 제형 내에서 항균력을 보이지 않거나 반대로 예상보다 훨씬 우수한 항균력을 보이는 까닭은 해당 물질들이 제형에 들어가면서 pH 및 제형 원료의 영향으로 항균력이 변화하였기 때문으로 판단된다. 본 연구에서는 항균력을 향상시킬 것으로 예상되는 제형 원료에 집중하여, 항균력을 지닌 컨디셔닝제로 자주 이용되는 1,2-hexanediol, ethylhexylglycerin, glycerol caprylate와 기타 제형 원료 간의 항균 시너지 효과를 알아보고자 하였다. 제형 원료 중에서는 기존 연구 결과를 참조하여 항균력을 향상시킬 것으로 사료되는 물질 7종(1,3-propanediol, 1,3-butanediol, glycerol, dipropylene glycol, niacinamide, EDTA-2Na, ethanol)을 선정하였고[11~15], 항균력 시험 균주로는 ‘화장품의 방부력 평가법(ISO 11930 (2012))’에 제시된 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus*와 그람 음성균인 *Escherichia coli*를 사용하였다. 본 연구를 통해 제형 원료 7종과 항균력을 지닌 컨디셔닝제인 1,2-hexanediol, ethylhexylglycerin, glycerol caprylate의 *E. coli*와 *S. aureus*에 대한 항균 시너지효과를 확인함으로써 제형 내에서 해당 컨디셔닝제들의 세균에 대한 항균력을 예측할 수 있을 뿐만 아니라 항진균력에 대한 추가 연구를 거쳐 제형의 방부력 향상을 위해 첨가해야 할 제형 원료의 종류와 양을 결정할 수 있을 것으로 기대된다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 기기 및 시약

항균력을 지닌 컨디셔닝제 3종, 제형 원료 7종이 시험에 이용되었다. 컨디셔닝제 3종은 1,2-hexanediol (hydrolite 6 O; Symrise, Germany), ethylhexylglycerin (sensiva SC 50; Schulke & MAYR, Germany), glycerol caprylate (dermosoft GMCY; Dr. Straetmans, Germany), 제형 원료 7종은 1,3-propanediol (fermandiol; 코스만, 한국), 1,3-butanediol (Daicel, Japan), glycerol (LG생활건강, 한국), dipropylene glycol (ADEKA, Japan), niacinamide (DSM Nutritional Products Ltd., Netherlands), EDTA-2Na (Akzonobel, Netherlands), ethanol (Sigma,

USA)을 사용하였다.

2.2. 균주 배양

‘화장품의 방부력 평가법(ISO 11930 (2012))’에 제시된 방부 시험 균주 중, 그람 음성 세균과 그람 양성 세균을 각각 1개씩 선택하여 시험하였다. 그람 음성 간균인 *E. coli*와 그람 양성 구균인 *S. aureus*는 모두 화장품에서 존재하면 안 되는 병원성균으로 분류되는데 *E. coli*는 습한 환경(공기, 물, 토양)으로부터 분리될 수 있으며 배설물 오염의 지표로 알려져 있고(ISO 21150 (2006)), *S. aureus*는 면역 체계가 약해졌을 때에만 발병하는 기회감염균(opportunistic pathogen)으로 알려져 있다(ISO 22718 (2006)).

*Escherichia coli* (*E. coli*; ATCC 8739)와 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*: ATCC 16404)는 tryptic soy broth (TSB; BD Biosciences, USA)에서 32 °C, 24 h 조건으로 배양되었다.

2.3. Minimum Inhibitory Concentration

Minimum inhibitory concentration (MIC) assay는 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003)에 명시된 broth microdilution technique을 따라 수행하였다. 각각의 물질들은 TSB에 특정 농도로 용해되었고 연속적으로 2배 희석되었다. 즉, 96-well plate에 연속적으로 2배 희석한 각 물질의 희석액이 100 µL씩 분주되었으며 negative, positive control wells에도 100 µL TSB가 분주되었다. 시험 wells과 positive control wells에는 10<sup>6-7</sup> CFU/mL으로 희석한 균 현탁액이 10 µL씩 분주되어 각 well당 최종 균 농도가 10<sup>5-6</sup> CFU/mL이 되도록 하였다. 96-well plates는 32 °C incubator에서 48 h 배양되었고, 이후, 균의 증식이 육안으로 관찰되지 않는 최소 농도를 MIC로 결정하였다.

2.4. Synergy Testing by Checkerboard Assay

전반적으로 MIC assay와 유사하게 진행하지만, 각 wells에 2개 물질의 희석액이 50 µL씩 혼합되어 있다는 점이 다르다. 즉, checkerboard test에서 모든 wells은 2개 물질이 각각 다른 농도 조합으로 포함되어 있다. 각 물질별로 2배 희석하여 다양한 농도의 희석액을 만들고 시너지 효과를 보고자 하는 2개 물질을 새로운 96-well plates에 Figure 1과 같이 분주하였다. 시험

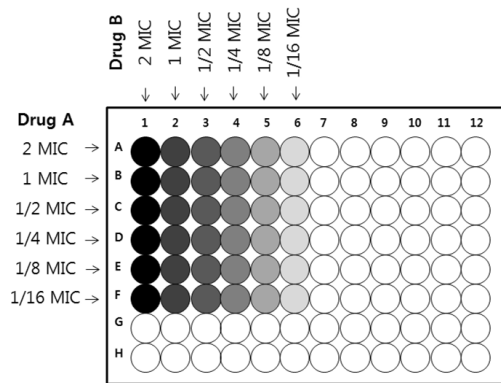


Figure 1. Checkerboard assay where the synergistic activity of two materials, A and B was determined.

wells과 positive control wells에는 10<sup>6-7</sup> CFU/mL으로 희석한 균 현탁액을 10 µL씩 분주하여 각 well당 최종 균 농도가 10<sup>5-6</sup> CFU/mL가 되게 하였으며 negative control wells에는 균을 첨가하지 않고 배지만 존재하도록 하였다. 96-well plates는 32 °C incubator에서 48 h 배양되었고, 이후, 균의 증식이 육안으로 관찰되지 않는 최소 농도의 배합비율을 구하였다. 가장 효율적으로 나타난 배합 농도 결과를 하기 식에 대입하여 부분 억제 농도 (fractional inhibiting concentration, FIC)와 FIC 지수(FIC index)를 계산하였다.

- \* 물질 A의 FIC = (배합물에서의 물질 A의 MIC) / (물질 A를 단독으로 사용하였을 때의 MIC)
- \* 물질 B의 FIC = (배합물에서의 물질 B의 MIC) / (물질 B를 단독으로 사용하였을 때의 MIC)
- \* FIC 지수 = 물질 A의 FIC + 물질 B의 FIC

FIC 지수 ≤ 0.5이면 상승 효과(synergistic effect), 0.5 < FIC 지수 ≤ 1이면 부가 효과(additive effect), 1 < FIC 지수 ≤ 4이면 무관함(indifferenct), FIC 지수 > 4이면 상쇄 효과(antagonistic effect)가 있는 것으로 판단하였다[16].

3. 결과 및 고찰

3.1. 항균력을 지닌 컨디셔닝제와 제형 원료 7종의 단독 MIC 결과

Checkerboard assay를 본격적으로 수행하기에 앞서, 조합하려는 물질들을 각각 단독으로 사용했을 때 MIC

**Table 1.** MIC (%) of Skin Conditioning Agents and Ingredients against *E. coli* and *S. aureus*

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
1,2-Hexanediol	2	2
Ethylhexylglycerin	0.25	0.125
Glyceryl caprylate	0.25	0.0625
1,3-Propanediol	16	16
1,3-Butanediol	16	16
Glycerin	32	32
Dipropylene glycol	16	16
Niacinamide	2	2
EDTA-2Na	2	0.0625
Ethanol	25	25

값을 구하였다. 항균력을 지닌 컨디셔닝제 3종과 제형 원료 7종의 *E. coli*, *S. aureus*에 대한 항균력을 확인한 결과(Table 1), 대체적으로 동일 물질의 경우 *E. coli*, *S. aureus*에 대한 MIC는 유사한 수준으로 나타났고, glyceryl caprylate, EDTA-2Na만 *S. aureus*에 대한 MIC가 *E. coli*의 1/4 이하 수준으로 나타났다. 특히 EDTA-2Na는 *S. aureus*에 대한 MIC가 *E. coli*의 1/32 수준이었는데 이는 EDTA가 그람 음성 세균보다 그람 양성 세균을 더 잘 저해한다는 기존 연구와 맥락을 같이 하였다 [17]. Table 1은 각 물질들의 항균력을 단순 배지 상태에서 본 결과였지만 제형 내에 특정 물질이 MIC 이상으로 첨가되어 있을 경우, 항균력을 발휘할 가능성이 높다고 예상되었다. 가령, 2% 1,2-hexanediol, 0.25% ethylhexylglycerin, 0.25% glyceryl caprylate를 각각 제형에 첨가할 경우 항균력을 발휘할 것이라 예상되었고 폴리에틸렌 글리콜 4종의 경우, 16-32% 첨가하면 특별한 보존제 없이도 우수한 방부력이 유지될 수 있을 것이라 사료되었다.

### 3.2. Checkerboard Assay 결과

각 보존제들이 제형에 따라 다른 항균력을 나타내게 되는 것은 제형 내 다양한 원료들이 보존제의 항균력에 영향을 주기 때문이다. 제형 내 원료들은 그 자체로 직접적인 영향을 주거나, 제형 내 다른 원료와 상호작용하는 과정에서 항균력에 영향을 줄 수 있다. 본 연구에서는 제형 내에서 방부에 긍정적인 영향을 주는 것으로 생각되는 제형 원료 7종과 항균력을 지닌 주요 컨디셔닝제 3종의 항균 시너지 효과를 연구하였고, 이를 통해 항균력을 지닌 컨디셔닝제의 제형 내 항균 효과에 대한 예측력을 높이고자 하였다.

항균력을 지닌 컨디셔닝제 3종과 제형 원료 7종의 조합 항균력 시험 결과, 가장 눈에 띄는 항균 시너지 효과를 보인 것은 ethanol이었다(Table 2, 3). Ethanol은 시험한 컨디셔닝제 3종 모두에 대해 항균 시너지 효과를 보였으며, 그람 음성균인 *E. coli*와 그람 양성균인 *S. aureus*에 모두 효과적인 것으로 나타났다. 특히 ethanol은 단독 사용시, 25%의 농도에서 세균의 증식을 억제하는 것으로 보였으나(Table 1) 컨디셔닝제 3종과 조합하면 그것의 1/4 수준인 6.25% 이하의 농도에서 세균의 증식을 억제하는 것으로 보였다. 특히, 1,2-hexanediol과는 항균 시너지 효과가 매우 우수하여 ethanol을 약 1%만 첨가하면 1,2-hexanediol은 단독 사용시, 균을 억제하기 위해 필요한 농도의 1/4만 첨가하여도 항균력이 나타나는 것으로 확인되었다.

Ethanol 다음으로 우수한 항균 시너지 효과를 보인 제형 원료는 EDTA-2Na였다. EDTA-2Na는 단독으로 사용할 경우에는 그람 양성 세균인 *S. aureus*에 대해서 상대적으로 우수한 항균력을 보였지만, 항균력을 지닌 컨디셔닝제인 ethylhexylglycerin 또는 glyceryl caprylate와 함께 사용할 경우에는 *S. aureus* (FIC index 1, 부가 효과)보다 그람 음성 세균인 *E. coli* (FIC index 0.25 미만, 상승 효과)에 대해서 더 큰 항균력 상승 효과를 나타내었다. 그람 음성 세균에 대한 EDTA-2Na의 항균 시너지 효과는 EDTA-2Na의 항균 메커니즘을 바탕으로 원인을 추정해볼 수 있다. EDTA-2Na의 항균 메커니즘은 크게 2가지, 세포벽의 2가 이온( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ )을 제거하여 세포벽을 불안정화 시킨다는 것과 미생물의 이온 섭취를 감소시켜 증식을 저해한다는 것이 알려져 있다[12,18,19]. 세포 외벽이 존재하는 그람 음성 세균

Table 2. Checkerboard Assay against *E. coli*

A	B	MIC (%) for material combinations		FIC index	Interpretation <sup>1)</sup>
		A	B		
1,2-Hexanediol	1,3-Propanediol	1	4	0.75	A
	1,3-Butanediol	0.5	8	0.75	A
	Glycerin	1	16	1	A
	Dipropylene glycol	0.25	8	0.625	A
	Niacinamide	0.125	2	1.0625	I
	EDTA-2Na	0.125	2	1.0625	I
	Ethanol	< 0.125	< 1.5625	< 0.125	S
Ethylhexylglycerin	1,3-Propanediol	0.015625	16	1.0625	I
	1,3-Butanediol	0.0625	8	0.75	A
	Glycerin	0.125	16	1	A
	Dipropylene glycol	0.125	4	0.75	A
	Niacinamide	0.0625	2	1.25	I
	EDTA-2Na	< 0.0156	< 0.25	< 0.1875	S
	Ethanol	0.0625	6.25	0.5	S
Glyceryl caprylate	1,3-Propanediol	0.03125	16	1.125	I
	1,3-Butanediol	0.125	8	1	A
	Glycerin	0.125	16	1	A
	Dipropylene glycol	0.25	1	1.0625	I
	Niacinamide	0.03125	2	1.125	I
	EDTA-2Na	< 0.03125	< 0.25	< 0.25	S
	Ethanol	0.0625	6.25	0.5	S

1) S: synergy, A: additivity, I: indifference

의 경우, 항균 물질이 세포 내부로 침투하는 것이 쉽지 않은데, EDTA-2Na는 세포 외벽을 불안정하게 함으로써 ethylhexylglycerin이나 glyceryl caprylate와 같은 항균제가 세포 내로 유입되도록 도와주는 역할을 한다. 하지만 1,2-hexanediol의 경우에는 세포 내에서 작용하기 보다는 EDTA-2Na와는 무관한 방식으로 미생물의 세포막을 파괴하는 항균 메커니즘을 가졌기 때문에 EDTA-2Na와 조합하여도 *E. coli*에 대해 우수한 항균 시너지 효과를 보이지 않았다고 판단된다.

폴리올 4종(1,3-propanediol, 1,3-butanediol, glycerin, dipropylene glycol)은 조합하는 컨디셔닝제의 종류 및 균종에 따라 각각 다른 효과를 나타냈다. 폴리올 4종 중, 독립적으로 사용했을 때 가장 항균력이 좋지 않았던 glycerin은 컨디셔닝제 3종과 함께 쓴다면 단독 사용시 MIC의 1/2 농도에서도 항균력을 나타내었다. 하지만 예외적으로, glycerin을 1,2-hexanediol과 함께 적

용할 경우, *S. aureus*에 대한 항균력은 향상되지 않았으며 glycerin 외에 나머지 3종의 폴리올 역시, 1,2-hexanediol과 조합하였을 때, *S. aureus*에 대해서는 항균 부가 효과를 보이지 않았다. 특이한 점은 1,2-hexanediol이 *E. coli*에 대해서는 4종의 폴리올 모두와 항균 부가 효과를 보였다는 것이었다. 이것은 1,2-hexanediol과 폴리올 4종이 *E. coli*를 저해하는 기작은 유사하지만 *S. aureus*를 저해하는 기작은 독립적이었기 때문으로 생각되었다.

미백 기능성 원료인 niacinamide는 컨디셔닝제 3종과 결합하였을 때, glyceryl caprylate를 제외하고는 항균 부가 효과를 나타내지 않았다. 즉, niacinamide가 포함된 제형들의 방부력이 좋은 까닭은 제형 내에 niacinamide가 단독으로 항균력을 발휘하는 농도(2%)만큼 첨가되었기 때문이고, 컨디셔닝제 3종과의 특별한 상호작용은 없는 것으로 보였다. Glyceryl caprylate는 시

Table 3. Checkerboard Assay against *S. aureus*

A	B	MIC (%) for material combinations		FIC index	Interpretation <sup>1)</sup>
		A	B		
1,2-Hexanediol	1,3-Propanediol	0.125	16	1.0625	I
	1,3-Butanediol	0.125	16	1.0625	I
	Glycerin	2	1	1.03125	I
	Dipropylene glycol	0.125	16	1.0625	I
	Niacinamide	0.125	2	1.0625	I
	EDTA-2Na	1	0.03125	1	A
	Ethanol	0.25	1.5625	0.1875	S
Ethylhexylglycerin	1,3-Propanediol	0.0625	16	1.5	I
	1,3-Butanediol	0.0625	16	1.5	I
	Glycerin	0.0625	16	1	A
	Dipropylene glycol	0.00781	16	1.0625	I
	Niacinamide	0.125	0.125	1.0625	I
	EDTA-2Na	0.0625	0.03125	1	A
	Ethanol	< 0.00781	< 1.5625	< 0.125	S
Glyceryl caprylate	1,3-Propanediol	0.03125	8	1	A
	1,3-Butanediol	0.03125	8	1	A
	Glycerin	0.03125	16	1	A
	Dipropylene glycol	0.03125	8	1	A
	Niacinamide	0.03125	1	1	A
	EDTA-2Na	0.03125	0.03125	1	A
	Ethanol	0.00781	3.125	0.25	S

1) S: synergy, A: additivity, I: indifference

험한 7개 제형 원료 모두와 *S. aureus*에 대한 항균 부가 및 상승 효과를 나타내었다. 이것은 glyceryl caprylate가 EDTA-2Na와 구체적인 방법은 다르더라도 궁극적으로 미생물 세포막을 파괴하는 메커니즘을 가지기 때문으로 생각되며 1,2-hexanediol이나 ethylhexylglycerin보다 직접적으로 세포막을 파괴하는 기작을 가질 것으로 예상되었다.

#### 4. 결 론

항균력을 지닌 컨디셔닝제 3종과 제형 원료 7종의 세균에 대한 항균 시너지 효과를 확인한 결과, 제형 원료 7종은 정도의 차이는 있지만 모두 항균력을 지닌 컨디셔닝제 3종과 상호작용하여 항균 부가 효과를 나타냄을 확인할 수 있었다. 1,2-hexanediol은 ethanol이 약 1%만 첨가되면 1/4 MIC에서도 *E. coli*, *S. aureus*에 대해 항균력을 보였고, 4종의 폴리올(1,3-propanediol,

1,3-butanediol, glycerin, dipropylene glycol)이 첨가 되면 *E. coli*에 대해 항균 부가효과를 나타내었다. Ethylhexylglycerin은 1,3-propanediol, niacinamide에 대해서는 전혀 항균 부가 효과를 나타내지 않았지만, ethanol, EDTA-2Na와는 우수한 항균 시너지 효과를 나타내었다. Glyceryl caprylate는 시험한 모든 제형 원료와 *S. aureus*에 대한 항균 부가 및 상승 효과를 나타내었고, 따라서 *S. aureus*에 취약한 제형의 경우, 컨디셔닝제인 glyceryl caprylate를 첨가하는 것이 좋을 것으로 예상되었다.

위 결과를 종합해보면, 4종의 폴리올이 첨가되어 있는 제형에는 1,2-hexanediol, glyceryl caprylate 조합으로 처방을 하는 것이 그람 양성, 음성 세균을 모두 제어하기에 용이하다고 판단되었고, 항균력을 지닌 컨디셔닝제 3종을 첨가하여도 방부력이 미흡한 제형에는 소량의 ethanol을 첨가하는 것이 방부력 향상에 기여할 수 있을 것으로 사료되었다.

## Reference

1. A. Varvaresou, S. Papageorgiou, E. Tsirivas, E. Protopapa, H. Kintziou, V. Kefala, and C. Demetzos, Self-preserving cosmetics, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **31**, 163 (2009).
2. S. J. Jung, Y. S. Hwang, C. M. Choi, A. S. Park, S. U. Kim, H. J. Kim, J. H. Kim, and K. Jung, Examination and quantification of preservatives in cosmetics for children, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **41**(3), 219 (2015).
3. R. Pillai, G. Schmaus, A. Pfeiffer, S. Lange, and A. Trunet, 1,2-Alkanediols for cosmetic preservation, *Cosmet. Toiletries*, **123**(10), 53 (2013).
4. E. Y. Choi, Effect of phenoxyethanol and alkane diol mixture on the antimicrobial activity and antiseptic ability in cosmetics, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, **13**(2), 213 (2015).
5. Yogiara, S. J. Hwang, S. Park, J. K. Hwang, and J. G. Pan, Food-grade antimicrobials potentiate the antibacterial activity of 1,2-hexanediol, *Lett. Appl. Microbiol.*, **60**(5), 431 (2015).
6. S. Langsrud, K. Steinhauer, S. Luthje, K. Weber, P. Gorony-Bermes, and A. L. Holck, Ethylhexylglycerin impairs membrane integrity and enhances the lethal effect of phenoxyethanol, *PLoS One*, doi: 10.1371/journal.pone.0165228 (2016).
7. W. Beilfuss, M. Leschke, and K. Weber, A new concept to boost the preservative efficacy of phenoxyethanol, *SOFW Journal*, **11**(131), 2 (2005).
8. S. Papageorgiou, A. Varvaresou, E. Tsirivas, and C. Demetzos, New alternatives to cosmetics preservation, *J. Cosmet. Sci.*, **61**, 107 (2010).
9. M. Hosseinnejad and S. M. Jafari, Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan, *Int. J. Biol. Macromol.*, **85**, 467 (2016).
10. I. H. N. Bassole and H. R. Juliani, Essential oils in combination and their antimicrobial properties, *Molecules*, **17**, 3989 (2012).
11. H. Berthele, O. Sella, M. Lavarde, C. Mielcarek, A. M. Pense-Lheritier, and Pirnay, Determination of the influence of factors (ethanol, pH and  $a_w$ ) on the preservation of cosmetics using experimental design, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **36**, 54 (2014).
12. S. Finnegan and S. L. Percival, EDTA: an antimicrobial and antibiofilm agent for use in wound care, *Adv. Wound Care*, **4**(7), 415 (2015).
13. A. Lawal, J. A. Obaleye, J. F. Adediji, S. A. Amolegbe, M. O. Bamigboye, and M. T. Yunus-Issa, Synthesis, characterization and antimicrobial activities of some nicotinamide-metal complexes, *J. Appl. Sci. Environ. Manage.*, **18**(2), 205 (2014).
14. T. M. Nalawade, K. Bhat, and S. H. Sogi, Bactericidal activity of propylene glycol, glycerine, polyethylene glycol 400, and polyethylene glycol 1000 against selected microorganisms, *J. Int. Soc. Prev. Community Dent.*, **5**(2), 114 (2015).
15. T. Kinnunen and M. Koskela, Antibacterial and antifungal properties of propylene glycol, hexylene glycol, and 1,3-butylene glycol *in vitro*, *Acta. Derm. Venereol.*, **71**(2), 148 (1991).
16. M. M. Sopirala, J. E. Mangino, W. A. Gebreyes, B. Biller, T. Bannerman, J. M. Balada-Llasat, and P. Pancholi, Synergy testing by Etest, microdilution checkerboard, and time-kill methods for pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **54**(11), 4678 (2010).
17. B. P. Chew, L. W. Joelker, and T. G. Tanaka, *In vitro* growth inhibition of Mastitis causing bacteria by phenolics and metal chelators, *J. Dairy Sci.*, **68**, 3037 (1985).
18. D. H. Qiu, Z. L. Huang, T. Zhou, C. Shen, and R. C. Hider, *In vitro* inhibition of bacterial growth by iron chelators, *FEMS Microbiol. Lett.*, **314**, 107 (2010).
19. T. Fukushima, B. E. Allred, and K. N. Raymond, Direct evidence of iron uptake by the gram-positive siderophore-shuttle mechanism without iron reduction, *ACS Chem. Biol.*, **9**(9), 2092 (2014).