

와송 에틸아세테이트 분획물의 항균효능 평가에 관한 연구

임은경* · 양재찬†

*목원대학교 테크노과학대학 대학원 화학과, 석사

†목원대학교 테크노과학대학 화장품뷰티학과, 교수

(2021년 3월 31일 접수: 2021년 4월 28일 수정: 2021년 4월 29일 채택)

A Study on the Evaluation of Antimicrobial Effect of *Orostachys Japonicus A. Berger* Ethyl Acetate Fraction

Eun Kyung Im* · Jae Chan Yang†

*Mokwon University, College of Sciences & Technology, Department of Cosmetic & Beauty,
Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 302-729 Korea*

(Received March 31, 2021; Revised April 28, 2021; Accepted April 29, 2021)

요 약 : 본 연구에서 와송 에틸아세테이트 분획물을 항균활성 및 화장품 소재로 활용하기 위해 연구를 진행하였다. 와송 에틸아세테이트 분획물의 항균활성을 측정된 결과 Paper disc method에서 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* 균의 생육을 저해하였으며, 특히 *S. aureus*에 대한 생육저해환은 0.5 g/mL농도에서 18.35 ± 1.5 mm로 대조군인 methyl paraben(16.83 ± 1.0 mm)보다 우수한 항균활성을 나타내었다. MIC 측정을 통한 최소저해농도를 평가에서는 *Candida. A*를 제외한 나머지 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* *P. aeruginosa* 균주에서 17.5 mg/mL의 최소저해농도를 보였으며 화장품 에멀션 제형에 적용하여 Challenge test를 통해 방부 효능을 평가한 결과, *S. aureus*에 대하여 와송 에틸아세테이트 분획물을 0.3% 첨가한 에멀션에서 7일 후 100.0%균의 생장을 사멸시켜 화장품에 적용 시 우수한 방부효능을 나타내었다.

주제어 : 와송, 항균, 생육저해환, 최소저해농도, 켈린지테스트

Abstract : In this study, a study was conducted to utilize *Orostachys japonica A. Berger* EtOAc fraction extract as an antibacterial activity and cosmetic ingredient. As a result of measuring the antimicrobial activity of *Orostachys japonica A. Berger* EtOAc, the growth of *S. aureus*, *S. epidermidis*, and *P. aeruginosa* was inhibited. Among them, *S. aureus* was an extract of 18.35 ± 1.5 mm *Orostachys japonica A. Berger* EtOAc fraction at a concentration of 0.5 g / mL, showing superior antibacterial activity than methyl paraben (16.83 ± 1.0 mm), and was shown as a positive control. As a result of evaluating the MIC of the *Orostachys japonica A. Berger* EtOAc fraction extract through MIC measurement, the remaining strains excluding *Candida. A* showed a MIC of 17.5 mg/mL. As a result of evaluating the cosmetic preservation effect through the challenge test applied to the cosmetic

†Corresponding author

(E-mail: rabbit@mokwon.ac.kr)

emulsion formulation, the growth inhibitory effect of *S. aureus* in the emulsion containing 0.3% *Orostachys japonica* A. Berger EtOAc fraction extract 7 days after microbial inoculation was 100%.

Keywords : *Orostachys japonica* A. Berger, preservative, antimicrobial, Growth inhibition, Minimum inhibition concentration, Challenge test

1. 서론

화장품에는 물과 기름성분 외에도 글리세린, 솔비톨과 같은 탄소원 또는 아미노산 유도체, 단백질 등 다양한 질소원을 함유하고 있어 이를 영양원으로 한 미생물이 급격히 증식하기 좋은 환경을 가지고 있다[1]. 소량의 미생물에 의한 오염 가능성 또한 존재하며 특히 오염된 원료의 사용과 제조·포장과정 중 일차오염(primary contamination)이나 소비자가 손가락, 사용도구 등을 이용하여 화장품을 사용하는 과정에서 이차 오염(secondary contamination)이 발생한다. 미생물에 대한 오염을 방지하기 위한 방법으로는 자외선을 조사하거나, 염 또는 당분의 농도를 높이는 삼투압 증가에 의한 물리적인 방법과 보존제 첨가에 의한 화학적 방법이 존재한다[2,3]. 화장품 제조 시에는 주로 화학적 방법의 일종인 보존제 사용으로 미생물에 대한 오염을 방지하며, 보존제는 미생물의 세포막을 파괴하거나 세포 구조 방해를 통해 외부로부터 오염된 미생물에 대한 증식을 억제하여 시간이 경과됨에 따라 사멸시킴으로써 제품의 변질을 방지하는 목적으로 사용된다[2].

현재 화장품 산업에서는 보존제 대체 원료로 항균력을 지닌 컨디셔닝제가 주로 사용되고 있으며 다가 알코올류에 속하는 1,2-헥산디올(hexanediol), 카프릴글라이콜(caprylyl glycol), 에틸헥실글리세린(ethylhexylglycerin)을 대표적인 예로 들 수 있다. 이들은 탄소 체인의 길이가 길수록 방부력이 증가하지만 피부자극 증가와 제형 안에서 피부 흡수력을 감소시키는 단점이 있고, 특히 1,2-hexanediol은 2% 이상으로 사용할 경우 피부 부작용을 일으킬 수 있다[4].

본 연구에 활용된 와송(*Orostachys japonica* A. Berger)은 이전 연구에서 와송 dichloromethane층은 NO, iNOS, IL-1, TLR4, COX-2의 생성을 현저히 감소시켰으며[5], Chloroform층은 인체 대장암 세포주인 SW480 세포에서 핵의 응축, apoptotic bodies 생성으로 인한 암세포

증식 억제효과를 나타내었다[6]. 또한 n-butyl alcohol층과 ethylacetate층에서는 *Listeria monocytogenes*, *Malassezia furfur* 균주에서 항생제인 kanamycin보다 높은 생육저해환을 형성하였으며, 폐암(Calu-6)세포주와 유방암(MCF-7) 세포주에서 우수한 암세포 증식 억제활성을 나타내었다[7]. 이와 같은 와송 유래의 지방산, 폴리페놀화합물은 항균 및 암세포 증식을 억제하는 다양한 생리활성이 존재한다고 알려진바 있으나[8], 화장품 소재로서 항균활성 또는 에틸아세테이트 분획물을 연구한 사례는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* 균주에서 생육저해환(Clear zone)과 MIC(minimum inhibitory concentration)를 확인하여 와송 에틸아세테이트 분획물의 천연 보존제로서의 활용 가능성을 검토하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 실험기기 및 시약

추출용매로 사용한 94% ethyl alcohol, n-hexane, n-butanol, ethyl acetate는 DUKSAN (Korea)에서 구입하여 사용하였다. 항균활성 실험에 사용한 배지 Tryptic Soy Agar (TSA), Tryptic Soy Broth (TSB), Potato Dextrose Agar (PDA)와 Potato Dextrose Broth (PDB)는 Difco Lab. (USA)에서 구입하였고 Petri dish (90 × 15 mm)는 SPL life science (Korea) 사 제품을 사용하였다. 실험에 사용한 기기로는 디지털 인큐베이터(H2200-H, Benchmark Scientific, China), Autoclave (Hanbaek scientific Co. Korea)를 사용하였다.

2.2. 와송 에틸아세테이트 분획물 제조

본 실험에 사용한 와송은 유성구 세포로 일대

에서 채취되어 건조된 것을 제공받아 사용하였으며 믹서로 분쇄한 후 추출에 사용하였다. 건조된 와송 300g에 70% ethanol를 1 : 2 (v/v)의 비율로 가하여 실온에서 24h 동안 교반추출 하였으며 5 μ m filter paper (TY2-110, ADVANTEC®, Japan)를 사용하여 aspirator (ASP-13, Iwaki Co. Ltd, Tokyo, Japan)로 압압 필터링을 진행하였다. 이 여과액을 회전식 압압 농축기(EYELAN-1110, EYELA, Korea)를 이용하여 50 °C에서 농축하였으며, 농축된 추출물을 증류수에 현탁한 다음 극성이 낮은 n-hexane으로 비극성 성분을 제거한 후에 ethyl acetate, n-butanol, water 순으로 극성에 따라 분획물을 제조하였다. 분리된 ethyl acetate층은 압압농축을 통해 용매를 완전히 제거하여 실험에 사용하였다.

2.3. 항균활성

2.3.1. 사용균주 및 배양조건

본 연구에 사용된 균주는 그람 양성균 2종과 그람 음성균 2종 및 진균으로 총 5종의 균주이다. *Staphylococcus aureus* (KCTC 1927), *Staphylococcus epidermidis* (KCTC 1917), *Escherichia coli* (KCTC 2571), *Pseudomonas aeruginosa* (KCTC 2513), *Candida albicans* (KCTC 7270)는 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC, Korea)에서 구입하여 Incubator 에서 배양 후 사용하였다. 모든 균주는 호기성 균주로 사용한 균주의 배양조건은 Table 1에 나타내었다.

2.3.2. 생육저해환 측정(Paper disc method)

와송 에틸아세테이트 분획물(*Orostachys japonica*

A. Berger EtOAc fraction extract, OJ(EA))의 항균활성은 시험 균주를 대상으로 paper disc method를 이용하여 측정하였다. 각 균주에 알맞은 액체배지에 배양시킨 균주를 세균의 경우 1×10^6 cell/mL, 진균 1×10^5 cell/mL이 되도록 접종하여 멸균된 면봉으로 세균은 TSA, 진균은 PDA 평판배지에 고르게 도포한 다음 8 mm paper disc (Advantec, Japan)를 밀착시켜 농도별로 희석한 분획물을 35.0 μ L씩 분주하였다. 양성 대조군으로는 메칠파라벤(methyl paraben) 0.1 g/mL, 음성 대조군으로는 DMSO를 사용하였다.

2.3.3. 최소저해농도(Minimum inhibitory concentration, MIC) 측정

와송 에틸아세테이트 분획물에 대한 최소저해농도는 broth-dilution method[9]를 이용하여 측정하였다. 시료는 96-well plate에 각 well당 최종 농도가 0.028, 0.14, 0.70, 3.50, 17.50 mg/mL이 되도록 분주하였으며 대조군인 methyl paraben의 경우 0.008, 0.04, 0.20, 1.0, 5.0 mg/mL이 되도록 각각 100 μ L씩 분주하였다. *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Candida. A* 배양액은 액체배지에 세균의 경우 1×10^6 cell/mL, 진균 1×10^5 cell/mL이 되도록 접종하여 시료를 분주한 well에 100 μ L씩 처리하였다. 이를 37 °C에서 총 48시간 동안 배양하였으며 16, 24, 48 시간마다 microplate reader를 이용하여 595 nm에서 흡광도 측정을 통해 생육이 저해된 농도를 최소저해농도(MIC)로 하였다.

Table 1. List of strains and cultivation condition used for antimicrobial experiment

Strains	Media	Temperature (°C)	Time (h)
<i>S. aureus</i> KCTC 1927	TSA ¹⁾ , TSB ²⁾	37	24
<i>S. epidermidis</i> KCTC 1917	TSA, TSB	37	24
<i>E. coli</i> KCTC 2571	TSA, TSB	37	24
<i>P. aeruginosa</i> KCTC 2513	TSA, TSB	37	24
<i>C. albicans</i> KCTC 7270	PDA ³⁾ , PDB ⁴⁾	25	48

¹⁾ Tryptic Soy Ager/ ²⁾ Tryptic Soy Broth

³⁾ Potato Dextrose Ager/ ⁴⁾ Potato Dextrose Broth

2.3.4. 와송 에틸아세테이트 분획물을 함유한 에멀션의 제조

실험에 사용된 에멀션은 Table 2와 같이 제조하였다. 와송 에틸아세테이트 분획물은 propylene glycol에 용해하여 stock solution 제조 후 실험에 사용하였으며, 수상(water phase)과 유상(oil phase)을 계량하여 각각 75 °C에서 가열용해한 다음 homo mixer를 이용하여 수상에 유상을 조금씩 투입하면서 4,500 rpm에서 4분간 유화 후 28 °C까지 냉각하였다. 와송 에틸아세테이트 분획물을 함유한 에멀션은 분획물의 변성을 방지하기 위하여 4분간 유화 후 45 °C이하에서 분획물

을 첨가하여 다시 2분간 추가 유화 후 28 °C까지 냉각시킨 에멀션을 실험에 사용하였다.

2.3.5. 와송 에틸아세테이트 분획물을 함유한 에멀션의 방부력 시험(Challenge test)

와송 에틸아세테이트 분획물의 화장품 제제에 대한 방부력 시험은 Challenge test를 이용하여 한국 산업표준의 KS M ISO 11930, 화장품-미생물학-화장품의 방부력 평가를 일부 변형하여 수행하였다[10]. 시험물질이 첨가된 에멀션 20g에 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*의 경우 1×10^6 CFU/mL, *Candida*.

Table 2. Formulation of the O/W emulsion containing *Orostachys japonica* A. Berger EtOAc fraction extract

INCI name	(wt,%)			
	Negative control	Positive control	A	B
D.I water		to 100		
Glycerin	3.00	3.00	3.00	3.00
Propylene glycol	4.00	4.00	4.00	4.00
Panthenol	0.30	0.30	0.30	0.30
Methyl paraben	-	0.30	-	-
Ethylene diamine tetraacetic acid tetrasodium salt	0.03	0.03	0.03	0.03
Acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer	0.15	0.15	0.15	0.15
Xanthan gum	0.03	0.03	0.03	0.03
Triethanolamine	0.15	0.15	0.15	0.15
Cetostearyl alcohol	0.60	0.60	0.60	0.60
Glyceryl stearate	1.00	1.00	1.00	1.00
PEG-100 stearate	0.80	0.80	0.80	0.80
Polyglyceryl-3 methyl glucose distearate	1.50	1.50	1.50	1.50
N. Squalane	4.50	4.50	4.50	4.50
Caprylic/capric triglyceride	2.00	2.00	2.00	2.00
Cetearyl isononanoate	2.00	2.00	2.00	2.00
Dimethicone 200cs	0.30	0.30	0.30	0.30
<i>Orostachys japonica</i> A. Berger EtOAc fraction extract	-	-	0.10	0.30

A는 1×10^5 CFU/mL이 되도록 균주를 접종하였으며 균주가 접종된 에멀션은 25 °C 항온조에 보관하여 실험에 사용하였다. 균이 접종된 에멀션을 1 mL 취해 1 : 9 비율로 액체배지에 10배 희석하여 균질화 한 뒤 고체배지에 100 μ L씩 분주하여 멸균 spreader (SPL life science, Korea)로 고르게 도포한 다음 세균은 37 °C에서 24시간 동안, 진균은 25 °C에서 48시간 배양하였다. 0, 1, 7, 14, 21, 28일까지 형성된 균의 집락수(colony)를 측정하여 경과 일에 따른 접종 균의 사멸로 방부력을 측정하였다.

2.4. 통계처리

본 연구의 실험은 각각 3회 실시하여 평균값으로 나타내었으며, Student's t-test를 이용하여 $p < 0.05$ 유의수준에서 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 와송 에틸아세테이트 분획물의 항균활성

3.1.1. 생육저해환 측정(Paper disc method)결과

본 실험에서는 와송 에틸아세테이트 분획물의 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Candida. A*에 대한 항균 효능을 평가하기 위하여 paper disc method를 이용하여 항균활성을 측정하였다(Figure 1). 그 결과 *S. aureus* 균에서 농도 의존적으로 11.63 ± 0.5 , 15.21 ± 1.0 , 18.35 ± 1.5 mm의 항균 활성을 나타내었으며 *P. aeruginosa* 에서도 각각 10.49 ± 1.4 , 11.86 ± 0.1 , 12.72 ± 0.8 mm의 항균 활성을 나타내었다. 반면 *E. coli*, *Candida. A* 균에서는 항균 활성이 나타나지 않았으며, *S. epidermidis* 에서는 0.5 g/mL에서 11.89 ± 0.6 mm의 항균 활성을 나타내었다(Table 3).

동일 농도에서 *S. aureus*에 대한 와송 에틸아세테이트 분획물의 항균 활성을 다른 식물추출물과 비교하였을 때 Jang(2011)등은 0.1 g/mL농도의 황금 추출물에서 11.0 ± 1.1 mm의 항균 활성을 나타내었고 D. Sekar(2012)등은 깨풀속에 속하는 *Acalypha indica*의 경우 10 mm, 에탄올과 아세톤으로 추출한 *Datura metel*(흰독말풀)에

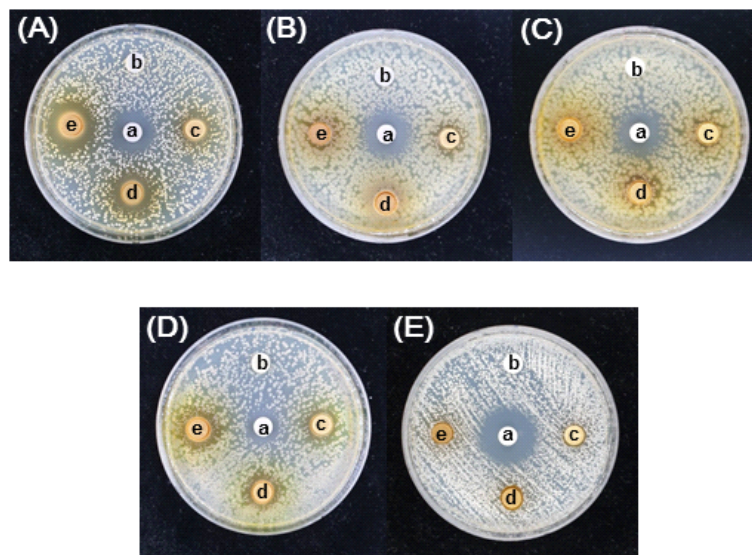


Fig. 1. Antimicrobial activity of *Orostachys japonica* A. Berger EtOAc fraction extract. OJ(EA): *Orostachys japonica* A. Berger EtOAc fraction extract, (A): *S. aureus*, (B): *S. epidermidis*, (C): *E. coli*, (D): *P. aeruginosa*, (E): *Candida. A*. (a): Methyl paraben (M.P), (b): DMSO, (c): OJ(EA) 0.1 g/mL, (d): OJ(EA) 0.3 g/mL, (e): OJ(EA) 0.5 g/mL.

Table 3. Measurement of inhibition zone diameter of OJ(EA) against bacteria. Data are shown as the mean \pm SD of three independent experiments performed in duplicate* : $p < 0.05$, *** : $p < 0.005$

Strains	Concentration(g/mL)			M.P
	0.1	0.3	0.5	
<i>S. aureus</i>	11.63 \pm 0.5* ¹⁾	15.21 \pm 1.0	18.35 \pm 1.5*	16.83 \pm 1.0
<i>S. epidermidis</i>	- ²⁾	-	11.89 \pm 0.6***	19.03 \pm 1.2
<i>E. coli</i>	-	-	-	19.21 \pm 2.2
<i>P. aeruginosa</i>	10.49 \pm 1.4*	11.86 \pm 0.1*	12.72 \pm 0.8	14.31 \pm 0.6
<i>Candida. A</i>	-	-	-	24.28 \pm 1.6

¹⁾ : inhibition zone diameter (mm), ²⁾ : no inhibition

Table 4. Minimum inhibitory concentration of OJ(EA) against bacteria

Strains	MIC (mg/mL)	
	M.P	<i>Orostachys japonica</i> A. Berger EtOAc fraction extract
<i>S. aureus</i>	0.20	17.50
<i>S. epidermidis</i>	0.20	17.50
<i>E. coli</i>	0.20	17.50
<i>P. aeruginosa</i>	0.04	17.50
<i>Candida. A</i>	0.20	- ¹⁾

¹⁾ no inhibition

서는 각각 7 mm, 11 mm의 항균활성을 보고하였다[11,12]. 이는 와송 에틸아세테이트 분획물이 다른 천연물에 비해 높은 항균 활성을 나타내었음을 알 수 있으며 특히 *S. aureus*의 경우 0.5 g/mL농도에서 양성 대조군인 methyl paraben (16.83 \pm 1.0 mm)과 비교하였을 때 높은 생육 저해환을 나타낸 것으로 보아 추후 다른 천연물과의 시너지 방부 효과를 통해 합성보존제를 대체할 가능성이 있을 것으로 사료된다.

3.1.2. 최소저해농도(Minimum inhibitory concentration, MIC) 측정 결과

본 실험에서는 96-well plate를 이용하여 와송 에틸아세테이트 분획물의 최소저해농도를 측정하였으며 그 결과는 Table 4과 같다. 먼저 대조군인 methyl paraben의 경우 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Candida. A* 균주에서 0.20 mg/mL의 최소저해농도를 나타내었으며 *P. aeruginosa*에서는 0.04 mg/mL으로 다른 균주에

비해 가장 낮은 농도에서 항균 활성을 나타내었다. 와송 에틸아세테이트 분획물에서는 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* 그리고 *P. aeruginosa* 균에서 17.50 mg/mL의 최소저해농도를 나타낸 반면 진균인 *Candida. A* 균주에 대해서는 효과가 없는 것으로 보아 와송 에틸아세테이트 분획물은 주로 세균류에 우수한 항균 활성을 나타내는 것으로 사료된다(Table 4). 와송 에틸아세테이트 분획물이 *E. coli* 균주에 대해 paper disc method와 상이한 결과를 나타낸 것은 MIC는 액체배지상에서 균주와 시료가 혼합되어 항균 활성을 측정하는 반면, paper disc method는 고체배지상에서 균주에 대한 항균 활성을 확인하는 두 실험방법의 차이로 인해 생육의 억제 정도에 영향을 끼친 것으로 사료된다. 또한 두 실험방법에서 시료의 확산정도에 따른 차이에 의한 가능성도 배제할 수 없으며 이는 M. Tabak 등(1996)의 연구 결과에서도 paper disc method에서는 나타나지 않았던 항균 활성이

액체배양법인 MIC에서는 항균 활성이 우수하게 나타난 것과 유사한 결과로서 본 실험결과를 뒷받침 한다[13].

3.1.3. 와송 에틸아세테이트 분획물을 함유한 에멀션의 방부력 시험(Challenge test) 결과

와송 에틸아세테이트 분획물을 제형에 첨가하였을 때에도 동일한 방부효능을 나타내는지 확인하기 위하여 methyl paraben이 첨가되지 않은 에멀션을 음성대조군, methyl paraben이 0.3% 첨가된 에멀션을 양성대조군으로 하여 와송 에틸아

세테이트 분획물을 각각 0.1, 0.3% 첨가한 에멀션과 비교하였다(Table 5). 양성대조군의 경우 *S. aureus*를 제외한 모든 시험균주에 대해 7일 경과 후 100.0%의 감소율을 보였고, 와송 에틸아세테이트 분획물을 0.1% 첨가한 에멀션의 경우 음성대조군 대비 7일 동안 균의 감소가 크지 않음을 확인하였다. 마찬가지로 와송 에틸아세테이트 분획물을 0.3% 첨가한 에멀션의 경우에도 *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Candida. A*에서 감소율이 크게 나타나지 않았으나 *S. aureus*에서는 100.0%의 감소율을 나타내어 상업적으로 널리 사용되고 있는 합성 보존제인

Table 5. Increase and decrease rate from emulsion challenge test containing OJ(EA) on several microorganism

Strains	Sample	Colony number		
		0	7	ER(%) ¹⁾
<i>S. aureus</i>	Control (-)	TNTC ²⁾	759.0	87.4
	Control (+)	TNTC	14.0	99.8
	OJ(EA) ³⁾ 0.1%	TNTC	TNTC	0.0
	OJ(EA) 0.3%	TNTC	2.7	100.0
<i>S. epidermidis</i>	Control (-)	TNTC	476.7	92.1
	Control (+)	TNTC	NA ⁴⁾	100.0
	OJ(EA) 0.1%	TNTC	1094.0	81.8
	OJ(EA) 0.3%	TNTC	819.7	86.3
<i>E. coli</i>	Control (-)	TNTC	316.0	94.7
	Control (+)	TNTC	NA	100.0
	OJ(EA) 0.1%	TNTC	768.0	87.2
	OJ(EA) 0.3%	TNTC	1349.0	77.5
<i>P. aeruginosa</i>	Control (-)	1764.0	TNTC	0.0
	Control (+)	179.0	NA	100.0
	OJ(EA) 0.1%	TNTC	TNTC	0.0
	OJ(EA) 0.3%	TNTC	TNTC	0.0
<i>Candida. A</i>	Control (-)	1075.0	TNTC	0.0
	Control (+)	1107.7	NA	100.0
	OJ(EA) 0.1%	1016.0	TNTC	0.0
	OJ(EA) 0.3%	797.0	TNTC	0.0

¹⁾ Elimination rates

²⁾ Too numerous to count

³⁾ *Orostachys japonica* A. Berger EtOAc fraction extract

⁴⁾ Not applicable

methyl paraben이 첨가된 에멀션(99.8%)보다 우수한 방부력을 나타내었음을 확인하였다. 이는 접종된 균수에 대해 7일 후 99.9% 이상 감소해야 하는 CFTA (Cosmetic, Toiletry & Fragrance Association, USA)법의 기준에 부합하며[14] 추후 *S. aureus* 에서는 다소 약한 항균 활성을 나타내지만 *P. aeruginosa*, *Candida. A*에 대해 강한 항균 활성을 갖는 황금 추출물[15] 또는 *B. subtilis*, *P. acnes*, *E. coli*에 강한 항균 활성을 나타내는 한국산 감초추출물과[16]의 혼합사용을 통해 합성 보존제인 파라벤류를 대체할 수 있는 천연보존제로서 응용 가능성이 있을 것으로 사료된다.

4. 결론

현재 와송(*Orostachys japonica A. Berger*)유래 지방산, 폴리페놀화합물은 항염, 항암작용 등 다양한 생리활성이 존재한다고 보고된 바 있지만, 와송 에틸 아세테이트 분획물을 이용한 화장품 소재로서 항균활성에 대한 연구사례는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Candida. A* 균주에 대한 항균활성을 측정하였으며 그 결과 *E. coli*, *Candida. A*를 제외한 나머지 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* 균주에서 효과적으로 생육을 저해 활성을 나타내었다. 특히 0.5 g/mL농도에서 *S. aureus*에 대한 항균활성이 대조군인 methyl paraben 보다 우수한 것을 확인하였으며, 각 균주별 최소저해농도(MIC)는 *Candida. A*를 제외한 나머지 균주(*S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*)에서 각각 17.5 mg/mL로 나타나 진균보다는 세균류에 높은 활성을 보였다. 또한 화장품 에멀션에 적용하여 Challenge test를 통해 방부효능을 평가한 결과에서는 균 접종 7일 후 와송 에틸아세테이트 분획물을 0.3 g/mL 첨가한 에멀션에서 100.0%의 감소율을 보여 methyl paraben을 첨가한 대조군 에멀션(99.8%) 대비 우수한 방부력을 확인하였다.

References

1. E. J. Doh, S. H. Baek, G. S. Lee,

- "Comparison of Antimicrobial Activity of Specific Korean Medicinal Prescription for Natural Preservatives", *The Society of Korean Herbal Medicine Information*, Vol. 3, No. 1, pp. 1-6, (2015).
2. G. K. Lee, Y. S. Song, "Cosmetic Component Science", pp. 87-89, Hyeonmunsa. (2011)
3. M. S. Ryu, J. K. Kim, N. K. Kim, "Growth of *Pseudomonas aeruginosa* in Cosmetics(Emulsion-type)and the Effect of Antiseptics", *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal* Vol. 7. No. 2. pp. 118-125, (1992).
4. H. W. Kim, H. N. Jo, B. W. Yoo, J. H. Kim and T. B. Lee, "Biological Activity and Cosmetic Preservative Effects of *Rosa multiflora* Ethanol Extracts", *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, Vol. 26, No.4, pp. 308-316, (2018).
5. H. S. Lee, D. S. Ryu, G. S. Lee, D. S. Lee, "Anti-inflammatory effects of dichloromethane fraction from *Orostachys japonicus* in RAW 264.7 cells: Suppression of NF- κ B activation and MAPK signaling", *Journal of Ethnopharmacology* Vol. 140, No. 2, pp. 271-276, (2012).
6. J. Y. Kim, E. J. Jung, Y. S. Won, J. H. Lee, D. Y. Shin, and K. I. Seo, "Cultivated *Orostachys japonicus* Induces Apoptosis in Human Colon Cancer Cells", *Korean Society of Food Science and Technology*, Vol. 44, No. 3, pp. 317-323, (2012).
7. S. M. Kim, J. H. Park, H. O. Boo, S. G. Song and H. Y. Park, "In vitro Comparison of Biological Activities of Solvent Fraction Extracts from *Orostachys japonicus*", *Korean Journal of Plant Resources*, Vol. 30, No. 2. pp. 133-143, (2017).
8. S. Y. Choi, "Effect of *Orostachys japonicus* extracts on antioxidative activity and N-nitrosodimethylamine formation", Dissertation, University of Gyeongsang, (2006).

9. J. S. Song, E. H. Bae, "A Study on Analysis as a Case Study for the Cosmetic Container through the improvement Cosmetic's Microorganism Pollution", *Journal of the Korean Society of Design Culture*, Vol. 21, No. 4, pp. 297-307, (2015).
10. ISO 11930, Cosmetics - Microbiology - Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product, (2012).
11. Y. M. Lee, J. H. Bae, H. Y. Jung, J. H. Kim, and D. S. Park, "Antioxidant Activity in Water and Methanol Extracts from Korean Edible Wild Plants", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol. 40, No. 1, pp. 29-36, (2011).
12. D. Sekar, K. Kolanjinathan, P. Saranraj and K. Gajendiran, "Screening of Phyllanthus amarus, Acalypha indica and Datura metel for its antimicrobial activity against selected pathogens", *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, Vol. 3, No. 5, pp. 1231-1235, (2012).
13. M. Tabak, R. Armon, I. Potasman and I. Neeman, "In vitro inhibition of Helicobacter pylori by extracts of thyme", *Journal of Applied Bacteriology*, Vol. 80, pp. 667-672, (1996).
14. Personal Care Products Council (PCPC - formerly the Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association), CTFA Microbiology Guidelines, (2007).
15. S. H. Hwang, "Preservation of *Scutellariae Radix* Extract for Cosmetics", *The Korean Society For Biotechnology And Bioengineering*, Vol. 24, pp. 2-3, (2009).
16. H. J. Kim, J. Y. Bae, H. N. Jang, S. N. Park, "Comparative Study on the Antimicrobial Activity of *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra* Extracts with Various Countries of Origin as Natural Antiseptics", *Korean Journal. Microbiol. Biotechnology Letters*, Vol. 41, No. 3, pp. 358-366, (2013).