Availability of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* Stem Extracts as a Natural Preservative

Mi-hye Lim*, Sejeong Hong

Department of Beauty & Healthcare, Daejeon University, Daejeon, Korea

*Corresponding author: Mi-hye Lim,

Department of Beauty & Healthcare, Daejeon University, 62 Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon 34520, Korea

Tel.: +82 42 280 2387

Fax: +82 42 280 2389

Email: beauty@dju.kr

Received September 20, 2016

Revised November 30, 2016

Accepted December 2, 2016

Published December 30, 2016

Abstract

Purpose: This study was carried out to develop natural cosmetic preservatives in replace of the chemical preservatives. **Methods:** The extracts of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* stem (OFS), which is known for its excellent anti-oxidant properties, were obtained by reflux extraction with 80% ethanol. Its anti-microbial activity was tested using minimal inhibition concentration (MIC) test and its preservative activity was tested by challenge test in mud pack. **Results:** As a result, the MIC of OFS for each strain represented 12.5% of *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), 12.5% of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), 1.5% of *Escherichia coli* (*E. coli*), 20% of *Candida albicans* (*C. albicans*), and 20% of *Aspergillus niger* (*A. niger*). At this time, MIC of 1,2-hexanediol showed 1% of *P. aeruginosa*, 2.5% of *S. aureus*, 1.5% of *E. coli*, 1% of *C. albicans*, and 5% of *A. niger*. In the containing 20% of OFS mud pack, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, and *E. coli* were decreased approximately 99.9999% within 2nd day and this trend was maintained up to 28th day. *C. albicans* was decreased approximately 99.99% within 14th day and this trend was also maintained up to 28th day. *A. niger*, on the other hand, was rapidly decreased within the 21st and the 28th day. The results demonstrated that containing 20% of OFS mud pack has a preservative activity in accordance to the standards of European Pharmacopoeia (EP), United States Pharmacopoeia (USP) and Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association (CTFA). **Conclusion:** Based on the result, if OFSs were to be applied to cosmetics as natural preservatives in the future, it would provide a high commercial value.

Keywords: *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* stem extracts, Cosmetics, Minimal inhibition concentration, Challenge test, Natural preservative

Introduction

2000년대 이후 웰빙(well-being) 붐과 함께 환경 친화적이며 인체 저자극을 표방한 웰리스(wellness) 개념의 보편화는 천연물질에 대한 선호도가 증대됨에 따라 화장품 업계에도 많은 영향을 미치고 있다. 먹는 화장품과 바르는 과일, 스파 서비스 및 스킨케어 등이 구체적인 웰빙 구현 방법들 중 하나이며 웰빙에 따른 자연주의 열풍으로 인해 천연성분을 사용하고 친환경적인 포장의 자연주의 화장품이 각광을 받고 있다(Park & Kim, 2005). 이와 함께 화학적 성분을 배제하고 유기농 원료를 사용하여 순 식물성 성분임을 표방하는 자연주의 화장품들이 폭발적 인기를 얻고 있어 다양한 천연소재를 이용한 화장품의 개발이 이루어져 천연화장품, 한방화장품의 전성시대가 도래하고 있다(Hwang & Park, 2009). 또한 화장품 사용

빈도가 높아지고 있어 위생적인 측면에서의 품질관리 및 안전의식이 요구되고 있어 화장품의 안전성과 보존성 확보를 위해 항균작용을 나타내는 천연 보존제 및 천연물의 탐색 대상이 식품재료나 생약재에 그 초점이 맞추어지고 있고, 이를 실용화하려는 연구가 활발히 진행되고 있다(Kim *et al.*, 1995; Oh *et al.*, 1998).

화장품의 성분은 대부분 유화제제품으로 동·식물유 및 광물유를 비롯하여 지방, 탄수화물들로 구성되어 있으며 이들은 미생물의 영양원으로 이용될 수 있기 때문에 이들 제품을 무균적으로 제조하더라도 장기간 사용하면 소량의 박테리아, 곰팡이 또는 효모 등에 의해 오염되어 제품이 변질되므로 원래의 목적과는 상반되는 자화현상이 일어날 수 있다(Ryu *et al.*, 1992). 따라서 화장품을 제조, 유통, 판매하고 소비자가 사용할 때에 많은 미생물의 침입이 우려되고 그 미생물로부터 화장품을 보호하기 위하여 방부제를 첨가하게 된다.

현재 대부분의 화장품 제제들은 화학적으로 합성된 방부제에 의존하고 있으며, 파라벤류, 퀴터늄-15, 이미다졸리디닐 우레아, 클로페네신, 페녹시에탄올 등이 주로 사용되고 있다(Yang *et al.*, 2012). 그러나 방부제의 대표적인 파라벤류는 알레르기성 접촉성 피부염을 유발하는 경향이 있고(Ahn *et al.*, 2009), 최근에 영국에서 발표한 연구결과에 따르면 유방암세포에서 파라벤의 농도가 정상인들에 비해 월등히 높음을 확인하여 파라벤이 체내의 세포조직 내부에 축적될 수 있다고 보고되었다(Darbre *et al.*, 2004). 이러한 문제를 해결하기 위한 대안으로 가장 활발히 연구되는 화장품 성분은 1,2-hexanediol이다. 1,2-Hexanediol은 분자량이 118.17이고, 6개 carbon chain의 1번, 2번 탄소에 hydroxyl group (-OH)를 갖고 있는 구조로 물에 대한 용해도가 매우 높아 물 또는 알코올에 잘 섞인다. 앞서 언급한 화장품의 방부제로 사용되는 파라벤류 물질에 대한 위험성이 이슈가 되면서 1,2-hexanediol은 방부제가 아니지만 우수한 항균력을 갖고 있는 보습제로서 파라벤의 대안으로 시중에서 유아용품, 목욕용품, 모발, 피부 등 화장품과 개인 미용 및 위생용품에 다양하게 널리 사용되고 있다. 1,2-Hexanediol은 우리나라에서 화장품에 1-2%의 농도로 사용하고 있고, 경구 투여 시 근육과 생식발달에 대한 독성을 나타낸다고 보고되어 있지만(Johnson *et al.*, 2012), 피부에 대한 자극은 나타나지 않았다고 보고되어 있으며 현재까지 1,2-hexanediol은 식약처에서 범용 방부제가 아닌 물질로 분류되고 있다.

화학적 방부제의 부작용을 극복하기 위하여 천연 항균물질과 방부제에 대한 조명이 이루어져 알칼로이드(alkaloid), 플라보노이드(flavonoid), 피토알렉신(phytoalexin) 등과 같은 천연 항균 물질을 천연 방부제로 사용하기 위한 많은 연구들이 진행되어 왔다(Hwang & Park, 2009). 특히 유기산과 지방산 등의 항균성에 대한 보고가 있으며 이들 물질의 항균작용은 산의 pH에 의한 효과 및 킬레이트(chelate)에 의한 효과가 주요한 항균 메커니즘일 것으로 추정되고 있다(El-Shenawy & Marth, 1989). 또한 항생제의 감수성을 높이기 위해 중국정통 약재인 Xinan Huangqin (*Scutellaria amoena* C.H. Wright)으로부터 flavone의 일종인 baicalin을 항생제 내성 균주 등에 처리하였을 때 β -lactam 계열의 항생제의 항생력을 회복시킬 수 있음을 보고한 바 있으며(Liu *et al.*, 2000), 천연에서 분리된 polycationic peptide들이 그람 음성 균주의 lipopolysaccharide층에 친화력을 발휘하여 항생제 내성 균주들의 안정성을 무너뜨림으로써 항균성을 발휘한다는 연구도 보고된 바 있다(Giacometti *et al.*, 2000). 한편 생체 방어 펩타이드(host defense peptide, HDP)는 고부가 기능성 펩타이드로 차세대 항생제로 주목을 받고 있지만 높은 생산비용과 낮은 생체내 안정성, 비특이적 작용 등으로 인해 상용화에 많은 제약이 따르고 있다(Feng *et al.*, 2014). 이러한 배경으로 다양한 항균 스펙트럼을 지니며 안전성과 경제성이 높으며 제품화 개발이 가능한 천연 보존제 및 천연 방부제 개발이 속속 이루어지고 있다.

백년초(*Opuntia ficus-indica* var. *saboten*)는 부채 선인장과에 속하며 줄기가 손바닥처럼 평평한 것으로 손바닥선인장이라고도 불리는데 우리나라 남쪽지방(제주도, 거제도, 남해안)에서 자생하고 있는 귀화식물로 전해지고 있으며 매년 4-5월경에 꽃이 피고 11-12월경에 자주색 열매가 익는다. 백년초는 예로부터 식용이나 식품 대용으로 사용되어 왔으며, 기관지, 천식, 기침, 폐질환, 위염, 변비, 장염, 신장염, 고혈압, 당뇨, 심장병, 신경통 및 관절염 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있고, 민간요법으로는 이뇨효과, 장운동의 활성화, 식욕증진, 피부질환, 류마티스 및 화상치료에 사용되어왔다(Lee *et al.*, 2005).

백년초 열매와 줄기를 동결건조하여 분말로 만들어 일반 성분을 분석한 결과, 주성분은 탄수화물이고 화분은 열매, 줄기에 각각 20%, 12% 정도가 들어있는 것으로 알려져 있다(Lee *et al.*, 1997). 또한 백년초 열매와 줄기의 주된 성분은 무기질(Ca, Mg, Na, K)로 알로에와 비슷하게 풍부하게 함유되어 있으나 vitamin C 함량이 5배나 더 많으며 특히 식이섬유 함량이 높은 것으로 보고되고 있다(Cho & Kim, 2013). 또한 백년초는 pH 4-5에서 안정한 적색의 betanine 색소를 함유하여 식품의 천연 착색제로 이용되고 있으며(Chung & Kim, 1996), 이러한 적색 색소를 함유한 식물의 분말을 비교 분석한 결과, 백년초 분말은 *Vibrio parahaemolyticus* 및 *Staphylococcus aureus* 그리고 *Aspergillus flavus* 등에 상대적으로 항균활성이 있어 화장품 조성물로서의 가능성이 제시된 바 있다(Boo *et al.*, 2012). 이후 Lee *et al.* (2011)은 백년초(*Opuntia ficus-indica*)는 분말 추출액에 비하여 열수 추출액과 70% 및 95% ethanol 추출액이 식중독균과 김치발효 미생물인 젖산균에 대하여 효과적으로 균주 증식을 억제하는 것으로 확인되었을 뿐만 아니라 손바닥선인장 열매가 버섯균사체의 기능성 증진을 위한 배양기질로서 이용될 수 있음을 시사하였다(Moon *et al.*, 2006). 또한 Seo (2012)의 연구에서 신선 절단 사과와 저장 중에 백년초 추출물 100 mg/mL 처리구에서 4일째 황색포도상구균이 검출한계 이하로 관찰되어 생육 억제 및 품질유지에 매우 효과적임을 확인 할 수 있었다. 특히 백년초 열매 추출물에는 quercetin, kaempferol, isorhamnetin 등의 플라보노이드가 함유되어 있는 것으로 알려져 있는 것을 토대로 손바닥선인장 열매의 성분을 분리하여 (+)-trans-dihydrokaempferol과 (+)-trans-dihydroquercetin의 플라보노이드가 동정된 바 있으며(Jeong *et al.*, 1999), 열매와 줄기에는 quercetin, kaempferol, kaempferol 3-methyl ether, quercetin 3-methyl ether, narcissin, (+)-dihydrokaempferol, (+)-dihydroquercetin, eriodictyol 등 8가지 플라보노이드가 함유되어 있다고 보고하였다(Lee *et al.*, 2003). 이러한 플라보노이드는 구조적 특이성으로 인해 항균 효과, 항바이러스 효과, 항산화 효과, 효소 억제 효과, 항암 효과 등이 있는 것으로 알려져 있다(Sakagami *et al.*, 1999). 아울러 Hong & Kim (2011)의 연구에서 백년초 줄기 추출물의 경우 항산화능이 있으며 조성물로 제조될 경우 피부 보습 효과가 있음이 보고된 바 있다.

이러한 연구를 바탕으로 본 연구에서는 백년초(*Opuntia ficus-indica* var. *saboten*) 추출물의 화장품 보존제로서의 가능성을 확인해 보고자 백년초 줄기로부터 추출물을 얻어 항균활성을 확인하고자 최소생육저지농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 측정하였으며 백년초 줄기 추출물이 화장품에서 방부력을 나타낼 수 있는지 확인하기 위하여 백년초 줄기 추출물을 포함한 머드팩을 만들어 방부력 시험을 시행하였다. 이를 통하여 백년초 추출물의 화장품 보존제로서의 가능성을 타진해 보고자 하였다.

Methods

1. 재료

백년초(*Opuntia ficus-indica* var. *saboten*) 줄기는 제주특별자치도 제주시 북제주군 한림읍 월령리 농공단지에 위치한 (주) 제주선인장마을농가(Korea)에서 2015년 7월에 재배한 것을 5 kg 구매하여 사용하였다. 구매한 백년초 줄기는 물로 잘 씻어 흙이나 먼지 등의 이물질을 제거하였고 12 h 동안 그늘에서 말린 후 분쇄기(RT-UF26; Rong Tsong Precision Technology, Taiwan)로 잘게 분쇄하였으며 이 분쇄물 30 g을 80% 에탄올 500 mL에 1:5 (wt%)의 비율로 혼합하여 속시렛추출기(Soxxhlet Device SEW 600; Changshin Science, Korea)에 넣어 24 h 동안 25℃에서 환류 추출하였다. 그 추출물은 정성여과지(Whatman No.2; GE Healthcare Life Sciences, USA)를 이용하여 여과하였으며 회전진공농축기(Rotary vacuum evaporator; Dongjin Science, Korea)에서 감압 및 동결건조하여 파우더 상태의 백년초 줄기 추출물을 얻어 -70℃에서 보관 및 사용하였다.

2. 시험 균주 및 배양

본 실험에서 사용한 *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*; ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*; ATCC 6538), *Escherichia coli* (*E. coli*; ATCC 8739), *Candida albicans* (*C. albicans*; ATCC 10231) 및 *Aspergillus niger* (*A. niger*; ATCC 16404)는 한국미생물보존센터(Korea)에서 분양 받아 사용하였다. *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*는 tryptic soy agar (TSA; Difco™, Becton, Dickinson and Company, USA)에 평판도말하여 37℃ incubator에서 24 h 배양하였으며 검출된 colony 오염 유무를 확인 후 선별된 colony를 다시 평판배지에 추가적으로 다시 동일조건에서 24 h 배양하여 균의 활성도를 높였다. *C. albicans*는 potato dextrose agar (PDA; Difco™, Becton, Dickinson and Company)에 평판도말하고 30℃ incubator에서 48 h 배양한 후 사용하였다. 또한 *A. niger*는 PDA 사면배지에 옮겨 30℃ incubator에서 7일간 배양한 후 사용하였다.

3. 최소생육저지농도 측정

백년초 줄기 추출물의 항균활성을 확인하기 위하여 minimum inhibitory concentration (MIC) test를 실시하였으며 그 방법은 다음과 같다. 활성 배양된 각 균주는 생리식염수에 희석하여 McFarland standards 0.5 (1.5×10^7 cells/mL)의 값으로 조절하여 접종 균액을 만들었다. 이때 각각의 균수는 시험 균액의 control을 만들어 10-fold serial dilution 방법을 통해 실제 투입된 정확한 균수를 측정하였다. 백년초 추출물 및 1,2-hexanediol은 각 배지를 이용하여 2배수씩 희석(two-fold serial dilution)하여 백년초 줄기 추출물이 30%, 25%, 20%, 15%, 12.5%, 10%, 7.5% 및 6.25%

Table 1. Contents of mud pack containing 20% *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* stem extracts

Phase	Raw material	Recipe (g)	
		CON	EXP
I	Dipropylene glycol (DPG FC)	2.50	2.50
	Distilled water	69.65	49.65
II	Natural extract BP20 (aminocoat)	1.00	1.00
	Glycerin	10.00	10.00
III	Veegum HV granules	0.30	0.30
	KELTROL F	0.15	0.15
IV	Bentonite NF BC-670	6.00	6.00
	Dipropylene glycol (DPG FC)	3.50	3.50
V	Stearic acid	3.00	3.00
	KALCOL 6870P	0.50	0.50
VI	Distilled water	2.00	2.00
	L-arginine (F)	0.40	0.40
VII	Kaolin JP-100	1.00	1.00
	<i>Opuntia ficus-indica</i> var. <i>saboten</i> stem extracts	-	20.00

CON, Control group; EXP, Experimental group

포함된 배지에 배양된 균액을 각각 접종하였으며 30%, 25%, 20%, 15%, 12.5%, 10%, 7.5% 및 6.25%의 백년초 줄기 추출물이 포함된 액체 배양액을 test tube에 10 mL씩 조제하여 액상 배지를 사용하였다. 대조군으로는 1,2-hexanediol이 5%, 4%, 3%, 2.5%, 2%, 1.5%, 1.25% 및 1% 포함된 액체 배양액을 test tube에 10 mL씩 조제하여 액상배지를 사용하였고 세균은 37℃에서 24 h 그리고 진균은 30℃에서 72 h 배양한 후 각 균주의 생장을 억제하는 백년초 줄기 추출물의 최소 농도를 확인하여 MIC를 판정하였다.

실험에 사용된 액상배지는 세균은 tryptic soy agar와 진균은 sabouraud dextrose agar (Difco™, Becton, Dickinson and Company)를 사용하였으며 세균은 tryptic soy agar에서 37℃, 24 h 그리고 진균은 sabouraud dextrose agar에서 30℃, 72 h 배양하여 집락형성 유무를 관찰하였고 모든 실험은 2회 반복하였다.

4. 팩의 제조

백년초 줄기 추출물의 화장품 방부효과를 확인하기 위하여 머드팩을 제조하였으며 그 방법은 다음과 같다(Table 1). 각 phase 별로 측량을 한 다음 II에 I을 넣어 잘 섞은 다음 III과 IV를 차례로 넣어 섞으면서 80℃로 온도를 올려 주었다. V를 따로 80℃로 가온한 다음 동일 온도로 가온한 I-IV를 부어 vacuum agitator (Heungbo Tech, Korea)를 이용하여 6,000 rpm에서 5 min 동안 유회한 후 45℃로 냉각하였다. 여기에 VI와 VII을 차례로 첨가하여 균일하게 분산한 다음 상온에서 냉각시켜 이를 머드팩으로 제조하였다. 제조된 머드팩의 제형은 50℃ 항온조(DWB-11; Daehung Science, Korea)에서 7 일간 정치하여 향취나 성상의 변형 유무를 확인하는 안정성 테스트를 시행한 후 다음 실험에 사용하였다.

5. 백년초 줄기 추출물의 방부력 시험

백년초 줄기 추출물이 제조된 머드팩에 대하여 어느 정도 방부력을 나타내는지 확인하고자 The Cosmetic Toiletry and Fragrance Association (CTFA) (Krowka & Bailey, 2007) 기준을 따라 방부력 시험(challenge test)을 수행하였으며(Levy *et al.*, 2009) 그 내용은 다음과 같다.

본 실험에서는 Table 1에 나타난 처방 설계를 바탕으로 시험물질 20%를 첨가한 mud pack 제형과 방부제를 첨가하지 않은 control mud pack을 만들어 사용하였으며 접종할 균액을 다음과 같이 만들어 사용하였다

TSA에서 배양된 *P. aeruginosa*, *S. aureus* 및 *E. coli*의 각 균체는 백금으로 떠서 9 mL의 멸균된 0.85% 생리식염수(JW Pharmaceutical Corporation, Korea)에 접종하였다. 이 때 균의 희석농도는 1.0×10^8 CFU/mL가 되도록 농도를 맞추었으며

McFarland standard 1의 값으로 조절하여 3.0×10^8 CFU/mL가 되도록 농도를 맞추었다.

PDA에서 배양된 *C. albicans* 균체는 백금으로 떠서 9 mL 멸균된 0.85% 생리식염수에 접종하였다. 이 때 균의 희석농도는 1.0×10^5 CFU/mL가 되도록 농도를 맞추었다. PDA 사면배지에서 배양된 *A. niger*는 사면배지 안에 9 mL 멸균된 0.85% 생리식염수를 흘려보낸 후 멸균봉으로 배지 성분이 포함되지 않도록 표면을 긁어서 곰팡이가 생리식염수 안으로 섞이게 하였다. 만들어진 곰팡이 액은 다시 멸균된 깔대기와 거즈를 이용하여 단일 *A. niger* 포자액을 만들었다. 이 때 균의 희석농도는 1.0×10^5 CFU/mL가 되도록 농도를 맞추었다.

균액은 조제에 따라 준비된 머드팩 샘플 안에, 세균배양액은 $1.0 \times 10^{6-7}$ CFU/mL로 접종하였으며 효모 및 곰팡이 배양액은 $1.0 \times 10^{4-5}$ CFU/mL가 되도록 접종한 후 각 상온에서 보관하였다.

균이 접종된 제품은 접종 0일, 2일, 7일, 14일 및 28일에 각각 1 g의 시료를 채취하여 각각의 배양배지에 15% Tween (Samchun Chemical, Korea)을 첨가한 용액으로 10^6 배까지 순차적으로 1 mL씩 분주하면서 10배씩 희석한 희석액을 만들었다.

각각 희석된 제품배양액 중 세균 희석액을 단계별로 1 mL씩 순차적으로 분주하여 1 mL씩 petri dish에 넣은 후, 세균은 45℃로 냉각시킨 lysogeny broth (LB)배지에 2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium chloride (TTC; Sigma-Aldrich, USA) 0.0025%를 넣은 후 각 petri dish안에 15-20 mL씩 분주한 후 잘 흔들어서 전체적으로 섞이게 한 후 32℃ incubator에 3일간 배양하였으며 진균은 PDA배지에 평판도말하여 25℃ incubator에서 5일간 배양하였고 30-300 집락이 형성된 희석농도의 집락수를 세고 희석배수를 곱해서 생존균수를 측정하였다.

백년초 줄기 추출물의 각 균체에 대한 시기별 방부력을 측정하기 위하여 측정된 생존균체수는 log reduction 수치로 환산하여 군사멸율을 확인하였으며 CTFA의 방부기준(7일째까지 초기 접종 균수의 99.9%가 사멸해야 하며 그 후 28일째까지 그 수가 증가하지 않아야 한다)을 따라 백년초 줄기 추출물의 각 균주에 대한 방부력을 분석하였다.

$$\log \text{reduction} = \log_{10} \left(\frac{100}{100\% \text{ of reduction rate}} \right)$$

$$\% \text{ of reduction rate} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

A: The number of microorganisms before treatment

B: The number of microorganisms after treatment

Results and Discussion

1. 백년초 줄기 추출물의 항균활성

MIC test로 백년초 줄기 추출물의 항균활성을 측정해 본 결과, 최소생육저지 농도는 *P. aeruginosa* 12.5%, *S. aureus* 12.5%, *E. coli* 15%, *C. albicans* 20% 그리고 *A. niger*는 20%를 나타내었다. 이때 1,2-hexanediol의 최소생육저지 농도는 *P. aeruginosa* 1%, *S. aureus* 2.5%, *E. coli* 1.5%, *C. albicans* 1% 및 *A. niger* 5%를 나타냈다(Table 2).

이상의 실험 결과로 볼 때, 백년초 줄기 추출물은 효모 및 진균류인 *C. albicans* 및 *A. niger*에 대한 항균활성보다 *P. aeruginosa* 및 *S. aureus*에 대한 항균활성이 높다는 것을 알 수 있다. 그러나 일반적인 방부제로 사용하는 1,2-hexanediol의 MIC 1-5%에는 미치지 못하는 것을 확인 할 수 있었다. Seo et al. (1999)의 선행연구에서 100 mg 백년초 줄기 추출물은 모든 시험 균주(*S. mutans*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *B. subtilis*, *E. coli* O-157)에 대하여 각각 17, 17, 14, 15, 17 및 19 mm의 생육저지환을 보여 대체적으로 넓은 스펙트럼의 항균활성을 보이는 동시에 대체적으로 환류추출법이 상온에서의 진탕추출물보다 조금 강하게 나타났으나 *P. aeruginosa*에 대해서는 진탕추출법에 의한 추출물이, *E. coli* O-157에 대해서는 환류추출법에 의한 추출물이 상대적으로 강한 항균활성을 나타내었다고 보고한 바 있다. 추출물의 추출 방법에 따라라도 균주의 감수성이

달라질 수 있는 점을 감안할 때 백년초의 항균활성을 높이기 위한 방안으로 유기용매 추출법에 의해 추출된 추출물에 대한 비교연구도 필요할 것으로 사료되었다. 또한 유사한 선인장류인 천년초 줄기에서 함유된 항산화 및 항균물질에 대한 연구(Lee et al., 2004)에서 천년초의 생리활성 물질로 판명된 taxifolin은 여러 종류의 병원성균(*B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. fluorescens*)에 대해 강한 항균활성을 보여주었다는 결과로 볼 때 백년초 줄기 추출물에서도 이러한 항균활성을 나타내는 주성분이 존재할 수 있을 것으로 사료되었으며 추후 연구해 보고자 한다.

Table 2의 결과에서와 같이 높은 수치의 항균력을 나타낸 12.5%의 *P. aeruginosa*는 일반적으로 화장품에서 사용되고 있는 1,2-hexanediol과 동일한 1%의 MIC를 보이는 것으로 나타났으며 그 외의 다른 균주들(*S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, *A. niger*)은 백년초 줄기 추출물이 1,2-hexanediol보다 높은 MIC를 보이는 것을 알 수 있었다. 특히 상대적으로 가장 높은 MIC를 보였던 *C. albicans*의 *A. niger*의 경우 20%를 나타냈던 것을 감안하여 제품 내 백년초 줄기 추출물을 20% 함유할 수 있도록 제조하고자 하였다. 또한 기초화장품을 만들 때 천연 추출물을 첨가하여 나타날 수 있는 색, 향취 등을 고려하여 그 함량을 가장 높일 수 있을 것으로 판단되는 머드팩 제형을 만들어 보기로 하였다. 따라서 백년초 줄기 추출물의 방부력은 20% 백년초 줄기 추출물을 함유한 머드팩 내에서 세균 및 진균에 대한 방부력 시험을 시행하고자 하였다.

Table 2. Minimal inhibitory concentration (MIC) of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* extracts against various bacteria, yeast, and fungi

Strains (Inoculum size)	MIC (%)	
	<i>Opuntia ficus-indica</i> var. <i>saboten</i> extracts	1,2-Hexanediol
<i>P. aeruginosa</i> (7.6×10^5 CFU/mL)	12.5	1
<i>S. aureus</i> (1.91×10^6 CFU/mL)	12.5	2.5
<i>E. coli</i> (1.57×10^6 CFU/mL)	15	1.5
<i>C. albicans</i> (6.5×10^4 CFU/mL)	20	1
<i>A. niger</i> (6.8×10^4 CFU/mL)	20	5

Table 3. Requirement for preservative activity of cosmetics in log reduction rate as recommended by each association

Type/ Day	0	2nd	7th	14th	21st	28th
A (USP)	Bacteria	NR	NI	2	NR	NI
	Fungi	NR	NI	NI	NR	NI
B (CTFA)	Bacteria	NR	3	NI	NR	NI
	Fungi	NR	1	NI	NR	NI
C (EP)	Bacteria	2	3	NI	NR	NI
	Fungi	NI	NI	2	NR	NI

NR, Not required; NI, No more than 0.5 log increased versus previous enumeration; USP, United State Pharmacopeia; CTFA, Cosmetic Toiletry and Fragrance Association; EP, European Pharmacopeia

2. 백년초 줄기 추출물의 방부력 시험

20% 백년초 줄기 추출물을 첨가한 머드팩의 방부력을 측정하였으며 각국의 화장품 협회에서 제안하고 있는 가이드라인 Table 3과 비교하여 본 실험을 분석하였고 그 결과는 다음과 같다.

1) *P. aeruginosa*에 대한 방부력 시험

20% 백년초 줄기 추출물을 함유한 머드팩의 *P. aeruginosa*에 대한 방부력을 측정해 본 결과 2.5×10^7 CFU/mL로 접종된 균주는 2일차부터 1.0×10^1 CFU/mL (99,999% 감소)로 급격하게 감소하여 28일까지 지속적으로 감소하였으며 이는 2일차에 99% 사멸해야 한

다는 EP, USP 및 CTFA의 기준을 훨씬 상회하는 것을 알 수 있었다. 이로써 20% 백년초 줄기 추출물을 첨가한 머드팩이 *P. aeruginosa*에 대한 강한 방부력을 나타냄을 Table 4에서 확인하였다. 그러나 방부제가 첨가되지 않은 머드팩의 *P. aeruginosa*에 대한 방부력을 확인해 본 결과 2.5×10^7 CFU/mL로 접종된 균주가 14일차까지 거의 감소하지 않았으며 그 후에도 크게 감소하지 않았던 것으로 확인되었다.

2) *S. aureus*균에 대한 방부력 시험

20% 백년초 줄기 추출물 머드팩의 *S. aureus*에 대한 방부력을

Table 4. Evaluation for the preservative activity of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* stem extracts for *P. aeruginosa* in survival titer and log reduction rate

Day	CON		<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 9027)	
	Survival titer	Log reduction rate	Survival titer	Log reduction rate
0	2.5×10^7	/	2.5×10^7	/
2nd	2.11×10^7	0.07	<10	6.39
7th	3.9×10^6	0.80	<10	6.39
14th	1.4×10^6	1.25	<10	6.39
21st	3.4×10^4	NI	1.0×10	NI
28th	7.48×10^5	NI	<10	NI

CON: Control group NI: No more than 0.5 log increased vs previous enumeration

Table 5. Evaluation for the preservative activity of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* stem extracts for *S. aureus* in survival titer and log reduction rate

Day	CON		<i>S. aureus</i> (ATCC 6538)	
	Survival titer	Log reduction rate	Survival titer	Log reduction rate
0	3.8×10^7	/	3.8×10^7	/
2nd	3.5×10^7	0.03	<10	6.57
7th	2.89×10^7	0.11	<10	6.57
14th	1.47×10^7	0.41	<10	6.57
21st	1.47×10^7	NI	<10	NI
28th	1.02×10^7	NI	1.0×10	NI

CON, Control group; NI, No more than 0.5 log increased versus previous enumeration

Table 6. Evaluation for the preservative activity of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* stem extracts for *E. coli* in survival titer and log reduction rate

Day	CON		<i>E. coli</i> (ATCC 8739)	
	Survival titer	Log reduction rate	Survival titer	Log reduction rate
0	3.2×10^7	/	3.2×10^7	/
2nd	1.4×10^7	0.35	<10	6.50
7th	5.42×10^7	-0.22	<10	6.50
14th	5.25×10^7	-0.21	1.0×10	6.50
21st	2.35×10^7	NI	<10	NI
28th	1.96×10^7	NI	<10	NI

CON, Control group; NI, No more than 0.5 log increased versus previous enumeration

측정해 본 결과 3.8×10^7 CFU/mL로 접종된 균주가 2일차부터 1.0×10^1 CFU/mL (99.9999% 감소)로 급격하게 감소하여 2일차에 99% 사멸해야 한다는 EP, USP 및 CTFA의 기준을 상회하는 것을 알 수 있었다(Table 5). 그러나 방부제가 첨가되지 않은 머드팩은 *S. aureus*에 대해 3.8×10^7 CFU/mL로 접종된 균주가 2일차 3.5×10^7 CFU/mL, 7일차 2.89×10^7 CFU/mL, 14일차 1.47×10^7 CFU/mL로 크게 감소하지 않았던 것으로 확인되었다.

3) *E. coli*균에 대한 방부력 시험

20% 백년초 줄기 추출물 머드팩의 *E. coli*에 대한 방부력을 측정해 본 결과 3.2×10^7 CFU/mL로 접종된 균주는 2일차, 7일차, 14일차에 초기 균수보다 99.9999% 이상 감소하였으며 28일차까지 감소세가 유지되었다. 이상의 결과로 볼 때 2일차에 99% 사멸해야 한다는 EP, USP 및 CTFA의 기준을 상회하는 것을 알 수 있었다(Table 6). 그러나 방부제가 첨가되지 않은 머드팩의 *E. coli*에 대한 방부력을 확인해 본 결과 3.2×10^7 CFU/mL로 접종된 균주는 2일차에는 다소 감소되었으나 7일차부터는 다소 증가하였고 다시 21일차부터는 소폭 감소하였으나 28일차에는 1.96×10^7 CFU/mL로 일정하게 감소하지 않았던 것으로 확인되었다.

4) *C. albicans*균에 대한 방부력 시험

20% 백년초 줄기 추출물 머드팩의 *C. albicans*에 대한 방부력을 측정해 본 결과 2일차에 이미 모든 기준의 허용 범위 내에 있었으며 7일차(99% 감소), 14일차(99.99% 감소) 대폭 감소하였고 이러한 경향성이 28일차까지 유지되는 것이 확인되었던 바 7일차에 90% 감소해야 한다는 CTFA 기준과 14일차에 99% 감소해야 한다는 EP 및 USP 기준에 부합하는 것으로 Table 7에서 확인되었다. 그러나 방부제가 첨가되지 않은 머드팩의 *C. albicans*에 대한 방부력을 확인해 본 결과 3.52×10^5 CFU/mL로 접종된 균주는 2일차, 7일차에 균체수가 증가하였으며 28일차까지 생존균체수가 유지되는 것을 확인할 수 있었다.

5) *A. niger*균에 대한 방부력 시험

20% 백년초 줄기 추출물 머드팩의 *A. niger*에 대한 방부력을 측정해 본 결과 2일차, 7일차 및 14일차까지는 감소세가 둔화하여 가이드라인에 못 미쳤으나 21일차 및 28일차에는 급격히 감소하여 EP, USP 및 CTFA의 기준에 부합하는 것으로 확인되었다(Table 8). 그러나 방부제가 첨가되지 않은 머드팩은 *A. niger*에 대한 방부력을 확인해 본 결과 5.8×10^4 CFU/mL로 접종된 균주는 2일차, 7일차 및 14일차까지 접종 균체수보다 많은 양으로 유지하고 있었으며 21일차에는 오히려 증가하여 28일차까지 유지되는 것을 확인할 수 있었다.

Table 7. Evaluation for the preservative activity of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* stem extracts for *C. albicans* in survival titer and log reduction rate

Day	CON		<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	
	Survival titer	Log reduction rate	Survival titer	Log reduction rate
0	3.52×10^5	/	3.52×10^5	3.52×10^5
2nd	1.6×10^6	NI	2.8×10^4	1.09
7th	1.0×10^7	-1.45	1.62×10^3	2.33
14th	1.33×10^7	-1.57	<10	4.54
21st	1.54×10^7	NI	<10	NI
28th	1.20×10^7	NI	<10	NI

CON, Control group; NI, No more than 0.5 log increased versus previous enumeration

Table 8. Evaluation for the preservative activity of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* stem extracts for *A. niger* in survival titer and log reduction rate

Day	CON		<i>A. niger</i> (ATCC 16404)	
	Survival titer	Log reduction rate	Survival titer	Log reduction rate
0	5.8×10^4	/	5.8×10^4	/
2nd	8.4×10^4	NI	4.0×10^4	NI
7th	7.7×10^4	-0.12	3.3×10^4	0.24
14th	7.0×10^4	-0.08	1.8×10^4	0.50
21st	1.45×10^5	NI	6.9×10^2	1.92
28th	1.04×10^5	NI	3.0×10^3	1.28

CON, Control group; NI, No more than 0.5 log increased versus previous enumeration

최근 화장품 안전성에 대한 관심이 고조되고 있는 가운데 천연 방부제로 대체할 수 있는 천연 추출물에 대한 다양한 연구가 진행되고 있다. Shim (2008)은 황금 및 고삼 추출물이 각각 1%씩 첨가된 skin toner와 skin lotion에서 7일차에 *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* 및 *C. albicans*가 99.9% 사멸하였으며 28일까지 유지됨을 보고한 바 있다. 또한 Yeo & Park (2014)은 황금과 맥문동 추출물을 skin lotion에 사용하였을 때 *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* 및 *C. albicans*을 각각 접종한 경우 1-10% 농도에서 CTFA 기준에 적합한 수준으로 방부력을 나타내며 특히 맥문동이 황금의 방부력을 억제하지 않으면서 보습력을 유지할 수 있음을 보고하였다. 한편 Kim *et al.* (2014)은 5종의 세균과 1종의 효모를 포함한 피부상재균에 대한 감초의 원산지별 추출물의 항생력을 측정하여 다음 감초 주요 성분들의 *Bacillus subtilis*에 대한 방부력을 CTFA 기준에 입각하여 입증함으로써 화장품 보존제로서의 가능성을 제시하였다.

본 연구에서는 20% 백년초 줄기 추출물이 *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* 및 *A. niger*에 대하여 머드팩 내에서 EP, USP 및 CTFA의 기준에 부합하거나 훨씬 상회하는 정도의 방부력을 지닐 수 있었다. 이상의 연구들과 비교해 볼 때 화장품 원료로서 사용하기에 함량이 높은 점이 있는 한편 이전 연구의 경우 CTFA 기준과 일부 균주에 대한 비교를 통하여 화장품 원료로서의 가능성을 제시하는 경향이 있었으며 본 연구에서는 *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* 및 *A. niger* 등 5종의 균주에 대한 방부력을 모두 제시하고자 한 점에서 의미가 있다고 할 수 있다. 또한 세균 및 진균의 생존율 0%가 되는 엄격한 MIC 결과를 토대로 백년초 줄기 추출물 20%를 함유한 머드팩을 제조하여 방부력 시험을 시행한 결과 2일차에 *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*에 대해서는 99.9999% (log reduction rate 6)의 사멸이 이루어져 이러한 세균에 대한 20% 백년초 줄기 추출물의 방부력이 EP, USP 및 CTFA의 기준을 상회하였던 점을 고려해 본다면 추출물의 함량을 낮출 수 있는 여지를 확인하였으며 추후 화장품 내에서 백년초 줄기 추출물의 방부력이 작용할 수 있는 최소 농도를 추적해 보는 것도 의미 있다고 할 수 있겠다.

한편 Hong & Kim (2011)의 연구에 따르면 백년초 줄기 추출물은 항산화 활성이 있으며 이를 이용한 화장품에는 보습효과가 있는 것으로 보고된 바 있다(Park *et al.*, 2013). 또한 Kim *et al.* (2005)의 연구에서는 손바닥선인장 줄기를 메탄올을 이용하여 추출한 후 그 추출물을 이용하여 항균활성을 확인한 결과, 병원균 등 일반 세균에서 항균활성을 확인하였으며 동시에 열처리, 저장온도 및 저장기간이 항균활성에 영향을 미치지 않았으므로 온도 및 기간에 안정함을 확인할 수 있었고 식품 보존제로서의 기능 확인 시험에서도 기존의 식품 보존제보다 안정성이 있는 항균활성 물질로 평가되었다. 따라서 앞으로 천연물에 대한 탐색을 통하여 본 연구의 결과와 같이 높은 함량에서 방부력을 나타낸 백년초 추출물의 문제를 보완하며 시너지를 나타낼 수 있는 또 다른 추출물과의 혼합

을 시도한다면 보습력과 방부력을 겸비한 추출물로서의 가능성을 가지고 있다고 할 수 있다. 이를 통하여 국내산 백년초 줄기 추출물이 천연 방부제 원료로서 제품에의 응용이 확대된다면 화장품 소재로서의 잠재성이 높다고 할 수 있다. 또한 경제적인 면에서도, 국내 백년초 줄기 재배 농업이 기존보다 활성화되고, 수입 대체효과로 국가 경쟁력 강화에 도움이 될 것으로 사료된다.

Conclusion

본 연구에서는 화학적 방부제의 부작용을 극복하기 위하여 백년초 줄기 추출물을 천연 방부제로서 사용하기 위한 대안으로 항균력을 실험하고 머드팩 제형에서의 방부력을 측정함으로써 화장품 제조 분야에 사용되는 기본 화학적 방부제를 천연 방부제로의 대체 가능성을 알아보았다.

각각의 물질에 대한 항균 실험 MIC 결과, 각 물질의 항균효과와 농도에 따라 백년초 줄기 추출물 배양액에서의 결과는 *P. aeruginosa* 12.5%, *S. aureus* 12.5%, *E. coli* 15%, *C. albicans* 20% 및 *A. niger* 20%를 나타내었으며 대조균인 1,2-hexanediol 배양액에서의 결과는 *P. aeruginosa* 1%, *S. aureus* 2.5%, *E. coli* 1.5%, *C. albicans* 1% 및 *A. niger* 5%로 나타났다. 따라서 위의 실험 결과로 볼 때 백년초 줄기 추출물은 세균류인 *P. aeruginosa* 및 *S. aureus*에 대한 항균활성이 효모 및 진균류인 *C. albicans* 및 *A. niger*에 비해 높은 항균활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

백년초 줄기 추출물의 항균효과가 가장 낮았던 *C. albicans* 및 *A. niger*의 MIC농도를 바탕으로 백년초 줄기 추출물 20% 함유된 머드팩을 만들어 CTFA (Krowka & Bailey, 2007)에서 제안한 기준에 따라 방부력 시험을 수행한 결과, 20% 백년초 줄기 추출물을 첨가한 머드팩 제형에서 *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* 및 *C. albicans*는 0, 2, 7, 14, 21 및 28일차에 1.0×10^4 CFU/mL로 효과적인 방부활성을 나타내었으며 *A. niger*는 3.0×10^3 CFU/mL로 초기 균수에 비해서는 확실히 줄어들었고 비교적 안정함을 확인하였다.

이러한 결과를 토대로 백년초 줄기 추출물을 향후 화장품용 천연 보존제 및 천연 방부제 원료로 활용하는데 필요한 기초 자료로 제시하고자 한다.

References

- Ahn HS, Nah WH, Lee JE, Oh YS, Gye MC. Toxicity and endocrine disrupting effect of parabens. *Korean Journal of Environmental Biology*, 27: 323-333, 2009.
- Boo HO, Shin JS, Hwang SJ, Bae CS, Park SH. Antimicrobial effects and antioxidative activities of the cosmetic

- composition having natural plant pigments. *Korean Journal of Plant Resources*, 25: 80-88, 2012.
- Cho AR, Kim NY. Quality characteristics of sponge cake containing Beaknyncho (*Opuntia ficus-indica* var. *saboten*) powder. *Journal of the East Asian Society of Dietary Life*, 23: 107-118, 2013.
- Chung MS, Kim KH. Stability of betanine extracted from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Korean Journal of Food and Cookery Science*, 12: 506-510, 1996.
- Darbre PD, Aljarrah A, Miller WR, Coldham NG, Sauer MJ, Pope GS. Concentrations of parabens in human breast tumours. *Journal of Applied Toxicology*, 24: 5-13, 2004.
- El-Shenawy MA, Marth EH. Inhibition or inactivation of *Listeria monocytogenes* by sodium benzoate together with some organic acids. *Journal of Food Protection*, 52: 771-776, 1989.
- Feng XJ, Xing LW, Liu D, Song XY, Liu CL, Li J, Xu WS, Li ZQ. Design and high-level expression of a hybrid antimicrobial peptide LF15-CA8 in *Escherichia coli*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 41: 527-534, 2014.
- Giacometti A, Cirioni O, Del Prete MS, Barchiesi F, Paggi AM, Petrelli E, Scalise G. Comparative activities of polycationic peptides and clinically used antimicrobial agents against multidrug-resistant nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46: 807-810, 2000.
- Hong SJ, Kim KL. The natural cosmetics affects in skin condition. *Journal of the Korean Beauty Art Society*, 5: 57-64, 2011.
- Hwang SH, Park CH. Preservation of cosmetics by ethanol extract of *Scutellaria baicalensis* George. *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, 24: 347-352, 2009.
- Jeong SJ, Jun KY, Kang TH, Ko EB, Kim YC. Flavonoids from the fruits of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Korean Journal of Pharmacognosy*, 30: 84-86, 1999.
- Johnson W Jr, Bergfeld WF, Belsito DV, Hill RA, Klaassen CD, Liebler D, Marks JG Jr, Shank RC, Slaga TJ, Snyder PW, et al. Safety assessment of 1,2-glycols as used in cosmetics. *International Journal of Toxicology*, 31: 147-168, 2012.
- Kim HJ, Jang HN, Bae JY, Ha JH, Park SN. Antimicrobial activity, quantification and bactericidal activities of licorice active ingredients. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 42: 386-392, 2014.
- Kim HN, Kwon DH, Kim HY, Jun HK. Antimicrobial activities of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* Makino methanol extract. *Journal of Life Science*, 15: 279-286, 2005.
- Kim IH, Kim MH, Kim HM, Kim YE. Effect of antioxidants on the thermostability of red pigment in prickly pear. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 27: 1013-1016, 1995.
- Krowka JF, Bailey JE. CTFA microbiology guidelines. The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association, Washington D.C., p146, 2007.
- Lee EH, Kim HJ, Song YS, Jin C, Lee KT, Cho J, Lee YS. Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Archives of Pharmacal Research*, 26: 1018-1023, 2003.
- Lee KS, Kim MG, Lee KY. Antimicrobial effect of the extracts of cactus Chounnyouncho (*Opuntia humifusa*) against food borne pathogens. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 33: 1268-1272, 2004.
- Lee KS, Oh CS, Lee KY. Antioxidative effect of the fractions extracted from a cactus Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*). *Korean Journal of Food Science and Technology*, 37: 474-478, 2005.
- Lee YC, Hwang KH, Han DH, Kim SD. Compositions of *Opuntia ficus-indica*. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 29: 847-853, 1997.
- Lee YS, Sohn HS, Rho JO. The antibacterial effects of Backryeoncho (*Opuntia ficus-indica* var. *saboten*) extracts as applied to Kimchi fermentation with lactic acid bacteria and food poisoning bacteria. *Korean Journal of Human Ecology*, 20: 1213-1222, 2011.
- Levy SB, Dulichan AM, Helman M. Safety of a preservative system containing 1,2 hexanediol and caprylyl glycol. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 28: 23-24, 2009.
- Liu IX, Durham DG, Richards RM. Baicalin synergy with beta-lactam antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other beta-lactam-resistant strains of *S. aureus*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52: 361-366, 2000.
- Moon SW, Park SY, Choi SY, Hwang JH, Jang MK, Jin YJ, Chung WS, Kim SJ. Utilization of *Opuntia ficus-indica* as a substrate for the growth of mushroom mycelia and the functional properties of its culture extracts. *Journal of*

- Life Science*, 16: 477-484, 2006.
- Oh D, Ham SS, Park BK, Ahn C, Yu JY. Antimicrobial activities of natural medicinal herbs on the food spoilage or foodborne disease microorganisms. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 30: 957-963, 1998.
- Park CM, Kwak BH, Park SH, Kim H, Rhyu DY. Comparison of biological activities of *Opuntia humifusa* and *Opuntia ficus-indica*. *Korean Journal of Plant Resources*, 26: 519-525, 2013.
- Park HW, Kim YS. A study on the naturalistic cosmetics purchasing behavior according to well-being lifestyle of 20–30 aged women. *Journal of the Korean Society of Costume*, 55: 93-106, 2005.
- Ryu MS, Kim JK, Kim NK. Growth of *Pseudomonas aeruginosa* in cosmetics (emulsion-type) and the effect of antiseptics. *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, 7: 118-125, 1992.
- Sakagami H, Oi T, Satoh K. Prevention of oral diseases by polyphenols (review). *In Vivo*, 13: 155-171, 1999.
- Seo KI, Yang KH, Shim KH. Antimicrobial and antioxidative activities of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* extracts. *Korean Journal of Food Preservation*, 6: 345-349, 1999.
- Seo YH. Dual effectiveness of *Opuntia ficus indica* extracts for enzymatic browning inhibition and microbial inactivation on fresh-cut apples. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 27: 401-405, 2012.
- Shim SB. The study of preservative system in cosmetics using botanical antimicrobial. *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, 9: 1344-1348, 2008.
- Yang HG, Kim HJ, Kim HS, Park SN. Antioxidative and antibacterial activities of *Artemisia princeps* Pampanini extracts. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 40: 250-260, 2012.
- Yeo YH, Park CH. Cosmetics preservation and moisturizing effect by methanol extracts of *Scutellaria baicalensis* George and *Liriope platyphylla*. *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, 29: 372-379, 2014.

국문초록

백년초 줄기 추출물의 화장품용 천연 방부제로서의 활용성

임미혜*, 홍세정

대전대학교 뷰티건강관리학과, 대전, 한국

목적: 본 연구는 화장품 천연 방부제 개발을 위한 시도의 일환으로 항산화능이 뛰어난 것으로 알려진 백년초 줄기 추출물을 가지고 기존 화장품 제조분야에서 사용되는 화학적 방부제의 대체 가능성을 알아보았다. **방법:** 백년초 줄기를 80% 에탄올로 환류추출하여 추출물을 얻었으며, minimal inhibition concentration (MIC) test를 이용하여 항균성을 확인하였고 백년초 줄기 추출물로 머드팩을 만들어 방부력 시험을 시행하였다. **결과:** 항균력 시험결과 백년초 줄기 추출물의 최소생육저지농도는 *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) 12.5%, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) 12.5%, *Escherichia coli* (*E. coli*) 1.5%, *Candida albicans* (*C. albicans*) 20% 및 *Aspergillus niger* (*A. niger*) 20%를 나타내었다. 이때 1,2-hexanediol의 최소생육저지농도는 *P. aeruginosa* 1%, *S. aureus* 2.5%, *E. coli* 1.5%, *C. albicans* 1% 및 *A. niger* 5%를 나타냈다. 20% 백년초 줄기 추출물은 머드팩 내에서 *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*에 대하여 2일차에 초기 균수보다 99.9999%이상 감소하였고 28일까지 감소세를 유지하였으며, *C. albicans*는 14일차에 초기 균수보다 99.99%이상 감소하였고 28일까지 감소세를 유지하였다. *A. niger*는 21일차 및 28일차에 급격히 감소하여 EP, USP 및 CTFA의 기준에 부합하는 정도의 방부력을 지님을 알 수 있었다. **결론:** 이러한 결과를 토대로 백년초 줄기 추출물을 향후 화장품용 천연 보존제 및 천연 방부제로 사용한다면 매우 안정성 높은 원료로서의 가치가 있을 것으로 사료된다.

핵심어: 백년초 줄기 추출물, 화장품, 최소생육저지농도, 방부력, 천연 방부제

참고문헌

- 김인환, 김명희, 김홍만, 김영언. 선인장열매 적색색소의 열안정성에 대한 항산화제의 효과. *한국식품과학회지*, 27: 1013-1016, 1995.
- 김해남, 권도훈, 김해윤, 전흥기. 손바닥선인장 줄기 methanol 추출물의 항균활성. *생명과학회지*, 15: 279-286, 2005.
- 김혜진, 장하나, 배정윤, 하지훈, 박수남. 감초 성분의 항균활성, 정량 및 방부력에 관한 연구. *한국미생물·생명공학회지*, 42: 386-392, 2014.
- 문상욱, 박수영, 최수연, 황준호, 장미경, 진영준, 정완석, 김세재. 버섯균사체 배양기질로서의 손바닥선인장의 활용과 그 배양추출물의 기능적 특성. *생명과학회지*, 16: 477-484, 2006.
- 박철민, 광병희, 박시형, 김휘, 류동영. 손바닥선인장의 생리활성 비교 연구. *한국자원식물학회지*, 26: 519-525, 2013.
- 박효원, 김용숙. 20대 - 30대 여성의 웰빙 라이프스타일에 따른 자연주의 화장품 구매행동. *복식*, 55: 93-106, 2005.
- 부희옥, 신지산, 황성진, 배춘식, 박수현. 천연색소 함유 화장품 조성물의 항균효과 및 항산화활성. *한국자원식물학회지*, 25: 80-88, 2012.
- 서권일, 양기호, 심기환. 백년초 추출물의 항균 및 항산화성. *한국식품저장유통학회지*, 6: 345-349, 1999.
- 서영호. 백년초 추출물 처리가 신선절단 사과와 갈변억제와 *Staphylococcus aureus* 증식에 미치는 영향. *한국식품위생안전성학회지*, 27: 401-405, 2012.
- 심승보. 식물유래 천연항균제를 이용한 화장품에서의 방부시스템에 관한 연구. *한국산학기술학회논문지*, 9: 1344-1348, 2008.
- 안혜선, 나원흠, 이재은, 오영석, 계명찬. 파라벤류의 독성과 내분비계장에 효과. *환경생물*, 27: 323-333, 2009.
- 양현갑, 김혜진, 김해수, 박수남. 사자발쑥 추출물의 항산화 및 항균 활성. *한국미생물·생명공학회지*, 40: 250-260, 2012.

- 오덕환, 함승시, 박부길, 안철, 유진영. 식품부패 및 병원성미생물에 대한 천연약용식물 추출물의 항균효과. *한국식품과학회지*, 30: 957-963, 1998.
- 이경석, 김민규, 이기영. 병원성 식중독 미생물에 대한 천년초 선인장 추출물의 항균 활성. *한국식품영양과학회지*, 33: 1268-1272, 2004.
- 이경석, 오창석, 이기영. 천년초 선인장 추출물의 항산화 효과. *한국식품과학회지*, 37: 474-478, 2005.
- 이영숙, 손희숙, 노정옥. 백련초 추출물의 김치발효 젖산균과 식중독균에 대한 항균효과. *한국생활과학회지*, 20: 1213-1222, 2011.
- 이영철, 황금희, 한동휴, 김성대. 손바닥 선인장의 성분 특성. *한국식품과학회지*, 29: 847-853, 1997.
- 정미숙, 김경희. 선인장 붉은 열매에서 추출한 Betanine 색소의 안정성. *한국식품조리과학회지*, 12: 506-510, 1996.
- 정세준, 전기용, 강태현, 고응배, 김윤철. 손바닥선인장 열매의 Flavonoid 성분. *생약학회지*, 30: 84-86, 1999.
- 조아라, 김나영. 백련초 분말을 첨가한 스펀지케이크의 품질 특성. *동아시아식생활학회지*, 23: 107-118, 2013.
- 홍세정, 김금란. 천연화장품이 피부상태에 미치는 영향. *한국미용예술학회지*, 5: 57-64, 2011.

中文摘要

百年草茎提取物作为化妆品天然防腐剂的活用性

林美惠*, 洪世定

大田大學校 健康管理學科, 大田, 韩国

目的: 为了开发天然化妆品防腐剂, 利用具有优秀抗氧化能力的百年草茎, 探索其在化妆品制造中作为天然化妆品防腐剂取代化学防腐剂的可行性。 **方法:** 利用80%乙醇回流提取百年草茎, 测定最小抑菌浓度确定其抗菌功效, 利用百年草茎提取物制造脸部泥浴, 并测定其防腐功效。 **结果:** 抗菌功效实验结果: 百年草茎最小抑菌浓度依次为 *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) 12.5%、*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) 12.5%、*Escherichia coli* (*E. coli*) 1.5%、*Candida albicans* (*C. albicans*) 20%以及*Aspergillus niger* (*A. niger*) 20% 等。同时作为对照群1,2-hexanediol的最小抑菌浓度依次为 *P. aeruginosa* 1%、*S. aureus* 2.5%、*E. coli* 1.5%、*C. albicans* 1%以及*A. niger* 5%等。添加了20%百年草茎提取物的脸部泥浴中, 测定对*P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* 等菌的防腐功效, 其结果显示: 第2日菌数量比最初减少99.9999%, 这种降低趋势一直维持到第28日; 对*C. albicans*的防腐功效, 测定结果显示: 第14日菌数量比最初减少99.99%, 这种降低趋势一直维持到第28日; 对*A. niger*的防腐功效, 测定结果显示: 第21日和28日菌数量急速降低, 符合EP, USP 以及 CTFA的防腐标准。 **结论:** 从以上结果得出, 今后若将百年草茎提取物作为天然化妆品防腐剂广泛用于化妆品制造中, 会成为优秀的商业价值。

关键词: 百年草茎提取物, 化妆品, 最低抑制浓度, 防腐功效, 天然防腐剂