

피부 병원성균에 대한 오배자 천연 복합물의 시너지 항균 효과

김주희[†] · 최연선 · 김왕배 · 박진오 · 임동중[‡]

대봉엘에스(주) 천연물소재응용연구소
(2021년 5월 13일 접수, 2021년 6월 22일 수정, 2021년 6월 24일 채택)

Antimicrobial Synergistic Effects of Gallnut Extract and Natural Product Mixture against Human Skin Pathogens

Ju Hee Kim[†], Yun Sun Choi, Wang Bae Kim, Jin Oh Park, and Dong Joong Im[‡]

Department of Natural Product Laboratory, Daebong LS Co., Ltd., 123,
Neungheodae-ro 649 beon-gil, Namdong-gu, Incheon 21697, Korea
(Received May 13, 2021; Revised June 22, 2021; Accepted June 24, 2021)

요약: 본 연구는 항균 활성을 갖는 천연 소재를 검색하고 화장품의 보존제로써 적용을 위해 진행되었다. 디스크 확산법(disc diffusion method)을 통해 피부 병원성균 3 종(*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa*)과 효모균(*Candida albicans* (*C. albicans*))에서의 천연 항균 소재 9 종을 검색하였다. Inhibition zone 크기를 측정한 결과, 오배자 추출물(*Rhus Semialata* gall (Gallnut) extract), 참나무 목초액(Oak vinegar) 그리고 폴리리신(ϵ -polylysine)은 10 mm 이상으로 다른 추출물에 비해 우수한 항균활성을 나타내었다. 병원성균 3종과 효모균, 곰팡이균(*Aspergillus brasiliensis* (*A. brasiliensis*))에서 최소살균농도(minimum bactericidal concentration, MBC)를 측정한 결과, 오배자 추출물과 참나무 목초액은 5 종의 병원성균에서 10 ~ 20 mg/mL와 20 ~ 40 mg/mL, 폴리리신의 경우 진균류에서 0.5 ~ 2 mg/mL로 살균 작용에 의한 항균효과를 각각 확인하였다. Checkerboard 방법에 따라 오배자 추출물과 참나무 목초액, 오배자 추출물과 폴리리신의 혼합 비율에 따른 시너지 효과(synergistic effect), 부가 효과(additive effect), 무관함(indifferent) 그리고 상쇄 효과(antagonistic effect)를 평가하였다. 그 결과, 단독으로 사용할 때보다 오배자 추출물과 참나무 목초액 복합물은 *E. coli*, *C. albicans*, *A. brasiliensis*를, 오배자 추출물과 폴리리신 복합물은 *C. albicans*, *A. brasiliensis*를 4 배 낮은 농도에서 99.9% 억제하며 항균 시너지 효과를 확인하였다. 오배자 추출물과 참나무 목초액 복합물은 *S. aureus*와 *P. aeruginosa*를 2 배 낮은 농도에서 억제하며 부가 효과가 확인되었다. 이로써, 오배자 천연 복합물은 항균 시너지 효과를 발휘할 수 있음을 입증했을 뿐만 아니라 넓은 항균 스펙트럼을 갖춘 천연 방부 시스템으로써 화장품에서 응용할 수 있을 것으로 기대된다.

Abstract: This study was attempted to investigate natural materials with antimicrobial activity and to apply as natural preservatives in cosmetics. The disc diffusion method was used to search for nine species of natural antibacterial material for three species of skin pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) and *Candida albicans*. As a result of measuring the size of inhibition zone, *Rhus Semialata* gall (Gallnut) extract, Oak vinegar, and ϵ -polylysine were showed strongest antibacterial activities (> 10 mm). The Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of gallnut and oak vinegar ranged from 10 to 20 mg/mL and from 20 to 40 mg/mL against five human skin pathogens.

† 주 저자 (e-mail: jh.kim3@daebongls.co.kr)
call: 032-712-8842

‡ 교신저자 (e-mail: seatoz@gmail.com)
call: 032-712-8891

The MBC of ϵ -polylysine ranged from 0.5 to 2 mg/mL in fungus. The synergic effect of gallnut extract/oak vinegar mixture and gallnut extract/ ϵ -polylysine mixture were evaluated by checkerboard test. Compared to when used alone, the MBC of gallnut extract/oak vinegar mixture were at 4 times lower concentration against *E. coli*, *C. albicans*, and *A. brasiliensis*. Also Furthermore, the MBC of gallnut extract/ ϵ -polylysine mixture were at 4 times lower concentration against *C. albicans* and *A. brasiliensis*. It was confirmed that the combination of gallnut extract with oak vinegar or ϵ -polylysine resulted in synergistic antibacterial effect against three human skin pathogens. Thus, it is expected that gallnut extract and natural product mixture can not only demonstrate antibacterial synergies, but also be applied in cosmetics as a natural preservative system with a wide antibacterial spectrum.

Keywords: anti-bacterial activity, synergic effect, *rhus semialata* gall (gallnut) extract, oak vinegar, ϵ -polylysine

1. 서 론

일반적으로 화장품은 개봉 후 지속적인 손가락이나 사용도구들의 접촉으로 인하여 미생물 오염에 취약하다[1]. 인체에 유해한 병원성균은 대장균(*Escherichia coli*), 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 등의 세균이며, 일반의약품, 한약재, 식품과 화장품에서 비검출 또는 법적 기준 이하로 검출되어야 한다[2]. 미생물에 오염된 화장품은 향취이상, 색상변화, 점도변화, 질감변화 등의 품질 저하 현상을 나타낸다[3]. 따라서 화장품의 안전과 품질을 보장하기 위하여 적절한 보존제를 사용해야 한다.

보존제는 미생물의 증식을 억제하며, 시간 경과와 함께 미생물을 사멸시켜 제품의 품질을 보존한다. 그러나 최근 합성 보존제의 내분비계 교란 등의 위험성이 소비자에게 대중매체를 통해 알려지고, 미국 FDA, 국내 식품의약품안전처 등에서 배합 한도를 규제할 만큼 안전성에 논란이 있기 때문에 천연 항균물질에 대한 많은 연구가 진행 중에 있다[4].

한때, 약용 식물은 주변에서 쉽게 찾아볼 수 있을 뿐만 아니라 많은 종류의 유용 성분이 혼재하고 있어 단일 성분의 화합물로 이루어진 합성품 대비 효과가 복합적이고 인체 부작용이 적다고 알려져 있다[5]. 신체와 피부에 손상을 주지 않는 식품류, 정류, 한약재, 허브 등에서 항균 효과가 보고되고 있다[5-9]. 그러나 진한 색상과 특이 취 그리고 제형부적합성 등의 제품 적용 한계성으로 신규소재 후보 연구가 끊임없이 요구되고 있다. 상용화된 천연 항균제 중 편백 추출물인 히노키틴올(Hinokitiol)은 용해도가 낮고 특유의 냄새를 갖는 휘발성 물질로 사용범위에 제한성이 있으며, 자몽종자추출물 DF-100은 그에 포함된 합성보존료(benzethonium chloride) 때문으로 알려져 있다[3].

본 연구에서는 오배자를 포함한 9 종의 천연 추출물에 대한 비교 평가를 통해 항균활성을 나타내는 소재를 발굴하고, 소재 간 항균 시너지 효과를 확인함으로써 천연 항균제 소재로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료의 준비

본 실험에서 사용된 7 종의 후보 식물은 한약재 판매 업체를 통하여 구입하여 사용하였다(Table 1). 7 종의 천연물 100 g에 발효 주정 에탄올(DAEJUNG, Korea) 1,000 mL을 가하여 70 °C에서 4 h 동안 환류 냉각 추출하고 1.0 μ m 여과지(Whatman, UK)로 여과하여 얻어진 여액을 농축기(rotary evaporator NE-series, Eyela, Japan)를 이용하여 감압 농축하였다. 이 농축물을 동결건조기(Bondiro, Ilshin, Korea)를 이용하여 -80 °C, 48 h 동안 동결건조를 실시하여 분말 시료를 얻었다. 각 분말시료를 100 mg/mL 농도로 정제수에 용해한 후 0.45 μ m (Whatman, UK)로 여과한 것을 시료로 사용하였다.

참나무 목초액은 기계식 제탄장치를 이용, 탄화할 때 발생되는 연기와 수증기를 냉각하여 수득한 것으로, 강원목

Table 1. List of Herb Medicines

Scientific name	Part of plant used	Local name
<i>Rhus Semialata</i>	Gall	오배자
<i>Morus Alba</i>	Bark	뽕나무껍질
<i>Agastache Rugosa</i>	Leaf	배초향
<i>Pinus Densiflora</i>	Leaf	소나무잎
<i>Saururus Chinensis</i>	Whole plant	삼백초
<i>Scutellaria Baicalensis</i>	Root	황금
<i>Thymus Vulgaris</i>	Leaf	타임

초산업(Korea)에서 시판하고 있는 제품을 사용하였다. 폴리리신은 방선균(*Streptomyces albulus*) 유래 강염기성 폴리 아미노산으로 신승하이캡(Korea)에서 구입하여 사용하였다. 양성대조균은 화장품 보존제로 사용되는 프로필파라벤(UENO, Japan)을 4 mg/mL로 희석하여 사용하였다.

2.2. 사용 균주 및 배지

항균 활성 시험에 사용된 균주는 한국생명공학연구원 생물 자원센터(KCTC, Korea)에서 분양 받았다. 그람양성균으로 포도상구균(*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (KCTC1916)), 그람 음성균으로 대장균(*Escherichia coli* (*E. coli*) (KCTC2571))과 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) (KCTC2513))을 이용하고, 세균용 배지는 Difco (USA) 사의 tryptic soy broth (TSB) 와 tryptic soy agar (TSA)를 사용하였다. 항진균 활성에는 효모류인 칸디다(*Candida albicans* (*C. albicans*) (KCTC7965))와 곰팡이균인 흑국균(*Aspergillus brasiliensis* (*A. brasiliensis*) (KCTC6196))을 사용하였으며, 진균용 배지는 Difco (USA) 사의 Potato Dextrose Broth (PDB) 및 Potato Dextrose Agar (PDA)를 사용하였다.

2.3. 항균 활성 측정

항균 활성을 탐색하기 위하여 paper disc법을 이용하였다[10]. 배양기에서 배양한 균주를 세균류 1×10^6 cells/mL, 진균류 1×10^5 cells/mL의 농도로 희석하여 100 μ L씩 취하여 고체 배지에 분주 후 균일하게 도말하였다. 멸균된 6 mm 크기의 paper disc (ADVANTEC, Japan)를 균주로 도말된 고체 배지에 올리고 시료를 20 μ L씩 분주하여 적신 후 세균류의 경우 37 $^{\circ}$ C, 48 h 배양하였고, 진균류의 경우 25 $^{\circ}$ C, 72 h 배양하였다. 배양 후 나타난 저해환의 직경 크기를 자료 측정하여 추출물의 항균 활성을 비교하였다.

2.4. 최소사멸농도(Minimal Bactericidal Concentration Test, MBC)

Paper disc법에 의하여 항균활성이 우수한 것으로 선정된 3 종의 천연 소재의 최소사멸농도를 확인하기 위하여 broth-dilution method를 사용하였다[11,12]. 양성 대조균은 화장품 보존제로 사용되는 프로필파라벤을 사용하였다. 각 실험균은 정제수를 사용하여 2-fold dilution method로 희석하여 well plate에 20 μ L 처리하였다. 각각의 균주는 1×10^5 CFU/mL로 농도로 본 실험에 사용하였다. 균주를 함유한 배지 180 μ L를 각각의 well에 접종한 후 세균은 37 $^{\circ}$ C incubator, 48 h, 진균은 25 $^{\circ}$ C incubator, 72 h 배양하

였다. 배양액 100 μ L를 고체배지에 도말하여 배양 후, 생성된 colony 수를 세어 초기 접종 균수에 비해 사멸된 균수가 99.9%를 넘는 최소 농도를 최소사멸농도로 결정하였다[13].

2.5. 항균 시너지 효과(Antibacterial Synergy Effect)

오배자 추출물과 참나무 목초액 또는 폴리리신의 시너지 효과를 checkerboard 방법으로 확인하였다[14]. MBC assay 와 유사하게 진행하였지만, 각 well에 2 개 물질의 희석액을 20 μ L씩 혼합하였다. 각각의 균주는 1×10^5 CFU/mL로 농도를 맞추어 접종하였으며, 세균은 37 $^{\circ}$ C incubator, 48 h, 진균은 25 $^{\circ}$ C incubator, 72 h 배양하였다. 이후, 접종균이 99.9% 이상 사멸시키는 최소 농도의 배합 농도 비율을 구하였다. 배합 농도 결과를 하기 방정식에 대입하여 부분 억제 농도(fractional bactericidal concentration, FBC)와 FBC 지수(FBC index)를 계산하였다[14].

$$FBC_A = MBC_A \text{ in combination} / MBC_A$$

$$FBC_B = MBC_B \text{ in combination} / MBC_B$$

$$FBC \text{ index} = FBC_A + FBC_B$$

FBC 지수 0.5 이하는 시너지 효과(synergistic effect), 0.5에서 1.0사이는 부가 효과(additive effect), 1.0에서 4.0은 무관함(indifferent) 그리고 4.0 이상일 경우 상쇄효과(antagonistic effect)으로 판단하였다[14].

3. 결 과

3.1. 항균 활성 평가

시험 균주 4 종에 대하여 각각의 시료에서의 항균활성을 알아보기 위하여 paper disc법을 이용하여 inhibition zone 직경을 측정하였고, 그에 따른 결과는 Table 2에 나타내었다. Disc 주변에 형성된 inhibition zone 직경에 따라 +++ (> 15 mm), ++ (≤ 15 mm and > 10 mm), + (≤ 10 mm and > 6 mm), N.D. (≤ 6 mm)로 나누어 평가하였다[15].

오배자 추출물, 참나무 목초액은 4 종의 시험 균주에서 모두 inhibition zone을 형성하였으며, 오배자 추출물은 *S. aureus* 와 *P. aeruginosa* 균주에 합성 항균제인 프로필파라벤과 유사하거나 우세한 항균력을 나타내었다. 참나무 목초액은 오배자 추출물 대비 *C. albicans* 균주에 우수한 항균력을 나타내었다. 뽕나무껍질 추출물은 *S. aureus*과 *C. albicans* 균주에서 inhibition zone을 형성하였고, 배초향, 소나무잎,

삼백초, 황금, 타임에션 inhibition zone이 매우 작거나 관찰되지 않았다. 폴리리신은 *S. aureus*보다 *P. aeruginosa*와 *E. coli*와 *C. albicans* 균주에서 더 높은 항균력을 보였다.

3.2. 최소사멸농도(MBC)

Table 2의 항균 활성 비교를 통하여 선발된 오배자 추출물, 참나무 목초액, 폴리리신의 *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *A. brasiliensis*에 대한 최소사멸농도를 측정 한 결과는 Table 3과 같이 나타났다. 먼저, 오배자 추출물은 *E. coli*, *P. aeruginosa*와 *C. albicans*에 대한 최소사멸농도는 10 mg/mL, *S. aureus*와 *A. brasiliensis*에서는 20 mg/mL으로 나타났다. 참나무 목초액의 최소사멸 농도는 *S. aureus*, *P. aeruginosa*와 *C. albicans*에서는 20 mg/mL, *E. coli*와 *A. brasiliensis*에서는 40 mg/mL로 확인되었다. 특히 폴리리신은 *C. albicans*에서는 0.5 mg/mL, *A. brasiliensis*에서는 2 mg/mL

의 농도에서 살균효과를 확인하였다. 프로필파라벤과 비교하였을 경우 폴리리신은 *C. albicans*에 대해, 보다 낮은 농도에서 99.9% 억제하며 항균력이 우수하게 나타내었다.

3.3. 항균 시너지 효과(Antibacterial Synergy Effect)

피부 병원성균들에 대해 가장 우수한 항균 활성을 지닌 오배자 추출물, 참나무 목초액, 폴리리신의 항균력을 지닌 최적 배합 비율을 결정하기 위해 checkerboard assay을 통한 FBC 지수로 항균 시너지 효과를 연구하였다. 오배자 추출물과 참나무 목초액 복합물은 그람 양성균인 *E. coli*, 효모인 *C. albicans*, 곰팡이인 *A. brasiliensis*에 대해 항균 시너지 효과를 보였다. 또한 오배자 추출물과 폴리리신 복합물은 *C. albicans*와 *A. brasiliensis*에 대해 항균 시너지 효과를 보였다. 특히 *A. brasiliensis*에서 오배자 추출물 5 mg/mL와 참나무 목초액 2.5 mg/mL을 함께 사용할 경우에는

Table 2. Antimicrobial Activities of Several Natural Materials using Paper Disk Method

Materials	Concentration (mg/mL)	Antimicrobial activity			
		Gram(+) bacterial	Gram(-) bacterial		Yeast
		<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
<i>Rhus Semialata</i> gall extract	100	+++*	+++	++	+
Oak vinegar	100	++	+++	++	++
<i>Morus Alba</i> bark extract	100	++	N.D.	N.D.	+
<i>Agastache Rugosa</i> extract	100	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Pinus Densiflora</i> leaf extract	100	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Saururus Chinensis</i> extract	100	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>Scutellaria Baicalensis</i> extract	100	N.D.	N.D.	N.D.	+
<i>Thymus Vulgaris</i> extract	100	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ε-Polylysine	100	+	++	++	++
Propylparaben	4	++	++	++	++

* +++ (> 15 mm), ++ (≤ 15 mm and > 10 mm), + (≤ 10 mm and > 6 mm), N.D. (≤ 6 mm)

Table 3. Minimal Bactericidal Concentration (MBC) of *Rhus Semialata* Gall extract, Oak Vinegar, and ε-Polylysine

Materials	MBC (mg/mL)				
	Gram(+) bacterial	Gram(-) bacterial		Yeast	Mold
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. brasiliensis</i>
<i>Rhus Semialata</i> gall extract	10	10	20	10	20
Oak vinegar	40	20	40	20	20
ε-Polylysine	> 40	> 40	> 40	0.5	2
Propylparaben*	1	1	1	1	1

* Propylparaben used as a control.

FBC 지수 0.38로 가장 우수한 시너지 효과를 나타내었다 (Figure 1).

*E. coli*와 *C. albicans*와 *A. brasiliensis*에 오배자 추출물과 참나무 목초액을 병용 사용하였을 때 FBC값을 계산해 본 결과, FBC_{min}와 FBC_{max}값이 0.5 ~ 1.0의 범위로 나타났다. 오배자 추출물(5 mg/mL)과 참나무 목초액(1 mg/mL)을 병용 사용하였을 때, 단독으로 사용하였을 때보다 4 배 낮은 농도에서 3 종균을 사멸시켰으며 FBC지수는 0.5로 시너지 항균 효과 확인되었다. *S. aureus*, *P. aeruginosa*에서는 오배자 추출물과 참나무 목초액의 병용 사용하였을 때 FBC값을 계산해 본 결

과, FBC_{min}와 FBC_{max}값이 0.63 ~ 1.0의 범위로 나타났다. 오배자 추출물과 참나무 목초액을 병용 사용했을 때, 단독으로 사용하였을 때보다 2 배 낮은 농도에서 2 종의 균을 사멸시키며 항균 부가 효과가 있음을 확인하였다.

*C. albicans*와 *A. brasiliensis*에 오배자 추출물과 폴리리신을 병용 사용하였을 때 FBC값을 계산해 본 결과, FBC_{min}와 FBC_{max}값이 0.5 ~ 1.0의 범위로 나타났다. 오배자 추출물과 폴리리신을 병용 사용하였을 때, 단독으로 사용하였을 때보다 4 배 낮은 농도에서 2 종균을 사멸시켰으며 FBC지수는 0.5로 시너지 항균 효과 확인되었다(Figure 2).

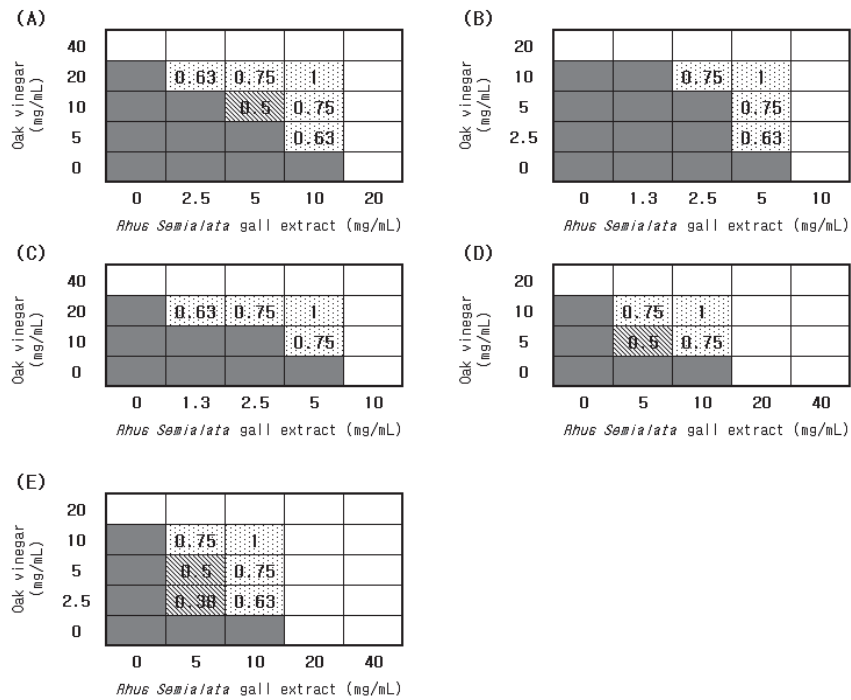


Figure 1. The synergistic antimicrobial effects of oak vinegar and *Rhus Semialata* gall extract against five human skin pathogens. (A) *E. coli*, (B) *P. aeruginosa*, (C) *S. aureus*, (D) *C. albicans*, (E) *A. brasiliensis*. White wells mean no microbial growth and gray wells mean microbial growth. The number in the well is the FBC index. Diagonal patterns indicate the synergistic effect (FBC index \leq 0.5) and dotted patterns indicate an addition effect ($0.5 <$ FBC index \leq 1).

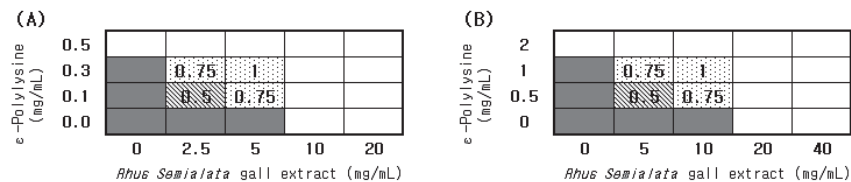


Figure 2. The synergistic antimicrobial effects of ϵ -polylysine and *Rhus Semialata* gall extract against fungus. (A) *C. albicans*, (B) *A. brasiliensis*. White wells mean no microbial growth and gray wells mean microbial growth. The number in the well is the FBC index. Diagonal patterns indicate the synergistic effect (FBC index \leq 0.5) and dotted patterns indicate an addition effect ($0.5 <$ FBC index \leq 1).

4. 결 론

최근 화장품 소재로써 안전하고 위험성이 적은 천연 보존제에 대한 수요가 증가하면서 항균 효과를 가지는 천연 유래 소재 연구의 필요성이 증가하고 있다. 본 연구에서는 천연 화장품 항균 소재로써 활용 가능성을 확인하기 위해 피부 병원성균에 대한 9 종의 천연 소재의 항균 활성을 평가하였다. 항균 활성은 피부 병원성균으로 알려진 그람 양성균인 *S. aureus*, 그람 음성균인 *P. aeruginosa*, *E. coli*, 효모인 *C. albicans*, 곰팡이인 *A. brasiliensis*를 대상으로 측정하였다.

5 종의 피부 병원성균 모두에서 뛰어난 항균 효과를 나타낸 오배자 추출물, 참나무 목초액, 폴리리신을 후보 소재로 선정하였으며, 단일 소재의 항균력 시험에서는 오배자 추출물이 세균류에 대한 최소사멸농도가 10 ~ 20 mg/mL로 비교적 높은 항균 활성을 나타냈고, 진균류의 경우 폴리리신이 0.5 ~ 2 mg/mL 항균력이 가장 우수하였다. 따라서 세균류에 취약한 제형의 경우 오배자 추출물을, 진균류에 취약한 제형의 경우 폴리리신을 첨가하는 것이 용이하다고 사료된다.

항균력을 지닌 오배자 추출물과 참나무 목초액 또는 폴리리신의 병원성균 5 종에 대한 시너지 항균 효과를 확인한 결과, 모두 상호 작용하여 부가 항균 효과를 나타냄을 확인할 수 있었다. 오배자 추출물과 참나무 목초액은 단독으로 사용할 때보다 2 배 낮은 농도에서 *S. aureus*, *P. aeruginosa*를 99.9% 억제하며 항균 부가 효과를 나타내었다. *E. coli*, *C. albicans*, *A. brasiliensis*에서는 단독으로 사용할 때보다 최소사멸농도가 4 배 감소되었고 FBC값이 0.38 ~ 0.5로 항균 시너지 효과를 나타내었다. 또한 오배자 추출물과 폴리리신을 단독으로 사용할 때보다 *C. albicans*, *A. brasiliensis*균에서 최소사멸농도가 4 배 감소되었으며 FBC 값이 0.5로 항균 부가 효과를 나타내었다. 따라서 오배자 추출물(5 mg/mL)과 참나무 목초액(10 mg/mL) 조합의 혼합물을 제형에 처방할 때 5 종의 병원성균을 모두 제어하기에 용이하며, 오배자 추출물(5 mg/mL)과 폴리리신(0.5 mg/mL) 조합으로 제형에 처방할 때 진균류의 병원성 미생물을 제어하기에 용이하다고 판단되었다.

이와 같은 결과를 통하여 오배자 추출물과 폴리리신 또는 오배자 추출물과 참나무목초액 복합물은 5 종의 피부 병원성균에서 단독으로 사용할 때보다 2 ~ 4 배 낮은 농도에서 모두 우수한 항균 효과를 보이며 시너지 항균 효과를 확인하였다. 따라서 차후 미생물에 대한 방부력과 안정

도 및 제형 적합성 등을 검토하여 기존의 화학 보존제를 대체하는 천연 소재로써 화장품 산업에서 응용이 가능할 것으로 판단된다.

References

1. E. M. Cho, J. T. Bae, H. B. Pyo, and G. S. Lee, Antimicrobial plant extracts as an alternative of chemical preservative: Preservative efficacy of *Terminalia chebula*, *Rhus japonica* (gallut) and *Cinnomum cassia* extract in the cosmetic formular, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **34**(4), 325 (2008).
2. Y. A. Jang, B. A. Kim, J. S. Chung, H. J. Hwang, and J. T. Lee, A study on the antimicrobial activity and the pharmacological activities of matrial isolated from *Coptis Radix*, *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, **34**(2), 271 (2017).
3. S. B. Shim, The study of preservative system in cosmetics using botanical antimicrobial, *JKALS*, **9**(5), 1334 (2008).
4. J. E. Ku, H. S. Han, and J. H. Song, The recent trend of the natural preservative used in cosmetics, *Asian. J. Beauty Cosmetol.*, **11**(5), 835 (2013).
5. S. M. An, H. G. Kim, E. J. Choi, H. H. Hwang, E. S. Lee, J. H. Baek, Y. C. Boo, and J. S. Koh, Screening for anti-inflammatory activities in extracts from Korean herb medicines, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **40**(1), 95 (2014).
6. S. J. Song, Master's Thesis Dissertation, Ajou Univ., Suwon, Korea (2012).
7. Y. M. Park, S. J. Kim, K. H. Jo, E. J. Yang, and S. T. Jung, Anticariogenic and antioxidant activities from medicinal herbs, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **35**(3), 10 (2006).
8. J. H. Lim, K. S. Jung, J. S. Lee, E. S. Jung, D. K. Kim, Y. S. Kim, Y. W. Kim, and D. H. Park, The study on antimicrobial and antifungal activity of the wild seaweeds of Jeju island, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **34**(3), 201 (2008).
9. J. H. Kim, M. J. Kim, S. K. Choi, S. H. Bae, S. K. An, and Y. M. Yoon, Antioxidant and antimicrobial effects of lemon and eucalyptus essential oils against skin floras, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **37**(4), 303 (2011).
10. D. Kalemba and A. Kunicka, Antibacterial and antifungal properties of essential oils, *Curr. Med. Chem.*, **10**(10),

- 813 (2003).
11. C. M. Mann and J. L. Markham, A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils, *J. Appl. Microbiol.*, **84**(4), 538 (1998).
 12. J. Q. Yu, J. Lei, H. Yu, X. Cai, and G. Zou, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Scutellaria barbata*, *Phytochem.*, **65**(7), 881 (2004).
 13. L. L. Ji, Y. M. Luo, and G. L. Yan, Studies on the antimicrobial activities of extracts from *Eupatorium lindleyanum* DC against food spoilage and food-borne pathogens, *Food Control*, **19**(10), 995 (2008).
 14. 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 *Aerobacter baumannii*, *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **54**(11), 4678 (2010).
 15. S. H. Han, N. R. Y. Woo, S. D. Lee, M. H. Kang, Antioxidative and antibacterial activities of endemic plants extracts in Korea, *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **14**(1), 49 (2006).