

化粧品에서 無機粉末에 의한 防腐劑의 效能低下

정 광 수

太平洋化學(株) 서울공장

요약 : Polyoxyethylene계 유화제를 이용한 유화계에 있어서 talc 및 TiO_2 에 의한 methyl p-hydroxy benzoate의 흡착과 그에 따른 방부력 감소를 여러가지 분석방법과 미생물 실험을 통하여 측정하였다. 이 유화계에 있어서 methyl p-hydroxy benzoate는 talc 및 TiO_2 에 흡착되어 방부력이 감소함을 알 수 있었으며 방부력 저하에 미치는 영향은 TiO_2 보다 talc가 더 크고, talc에 의한 methyl p-hydroxy benzoate의 흡착량은 $20^\circ C$ 에서 다음과 같은 식으로 나타낼 수 있었다.

즉 $a = 11.511C^{0.747}$

1. 서 론

여러가지 계면활성제를 이용한 유화계에 있어서 이들 유화제는 동식물유 등 각종 영양원을 함유하고 있기 때문에 미생물에 오염되기 쉽다. 이러한 현상을 방지하기 위하여 일반적으로 공업적 유화제품에는 방부제를 적절히 첨가한다. 그러나 첨가된 방부제는 내용물중의 각종 성분들과 상호작용을 일으켜 고유의 항균력이 감소된다고 알려져 있다^{1,2}.

방부제의 효능저하 요인으로는 유화제의 wateroil비 및 그에 따르는 방부제의 분배^{3,4}를 들 수 있는데 이 까닭은 기름층에 녹아 들어간 방부제는 미생물에 직접 항균력을 나타내지 못하며 물층의 free preservative만이 항균력을 나타내기 때문이다. 또한 유화계내의 고분자물질인 polyoxyethylene glycol^{5,7}, gum류⁸, cellulose류^{9,10}, polyvinyl pyrrolidone¹¹ 등과도 복합체를 형성하여 효

능이 저하되며 유화에 필요한 계면활성제와도 micelle을 형성하거나 수소결합에 의해 복합체를 형성하여 방부제 효능이 저하되기도 한다¹²⁻¹⁵. 방부제 효능저하의 또 다른 요인으로는 유화계에 착색을 목적으로 사용한 무기안료에 의한 영향으로 Batuyious 등은¹⁶ talc 및 kaoline에 의한 benzalkoniumchloride와 cetylpyridinium chloride의 흡착에 관한 연구를 하였고 Horn등은¹⁷ talc, kaoline 등이 quaternary ammonium compound의 방부력 감소에 미치는 영향에 대하여 보고하였으며 Yousef등은¹⁸ 무기안료에 의한 방부력의 감소를 미생물 실험으로 확인하였다.

본 연구소에서 polyoxyethylen계 유화제를 이용하여 올레산과 유동 파라핀을 1 : 4의 비율로 혼합한 기름과 물을 유화시켜 무기안료인 talc 및 TiO_2 와 방부제인 methyl p-hydroxy benzoate(methyl paraben)를 혼합하였을 때 방부제의 방부효능 저하를 여러 가지 분석방법과 미생물 실험으로 측정하였다.

2. 실험

2-1. 실험재료

2-1-1. 시약

Methyl p-hydroxy benzoate(이하 methyl paraben)는 국내 단일화학의 상품명 Danisol-M을 사용하였으며, talc는 국내 일신화학의 Talc NA-400을 500°C에서 3시간 회화시켜 사용하였다.

TiO₂는 American Cyanamid사의 TiO₂ UO-220을 500°C에서 3시간 회화시켜 사용하였고 유화제로는 polyoxyethylene sorbitan monooleate인 미국 Atlas chemical Ind.의 Tween-80을, 올레산은 Shinyo Pure Chemicals사의 시약 1급을, 유동 파라핀(이하 L.P)은 미국 Witco Chemical사의 상품명 Carnation을 각각 사용하였다.

Sabouraud Dextrose Broth(이하 S. D. Broth) 및 Sabouraud Dextrose Agar(이하 S. D. Agar)는 Difco사 제품을 사용하였다. 또한 미생물 실험을 위한 균주로는 *Candida albicans* ATCC 1,200을 사용하였다.

2-1-2. 균주조제

S. D. Broth에 *Candida albicans* ATCC 1,200을 백금 loop로 접종하여 incubator에서 32°C로 24시간 배양한 후 접종균액으로 사용하였다.

2-1-3. 균실험 Base조제

Base 1. methyl paraben을 0.06~0.20g까지 0.01g 간격으로 정확히 취하고 S. D. Broth를 가하여 각각 100ml로 한다.

Base 2. methyl paraben 0.12~0.25g까지 0.01g 간격으로 정확히 취하고 Tween-80 1.0g을 가한 후 S. D. Broth를 가하여 각각 100ml로 한다.

Base 3. talc 5.0g, 10.0g, 15.0g에 각각 Tween-80 1.0g을 혼합하고 methyl paraben을 0.02~0.25g까지 0.01g 간격으로 첨가한 후 S. D. Broth를 가하여 각각 100ml로 한다.

Base 4. TiO₂ 5.0g, 10.0g, 15.0g에 각각

Tween-80 1.0g을 혼합하고 methyl paraben을 0.12~0.25g까지 0.01g 간격으로 첨가한 후 S. D. Broth를 가하여 각각 100ml로 한다.

2-2. 사용기기

High performance liquid chromatography(이하 HPLC)는 Hitachi사제 model 635를 사용하였으며 Spectrophotometer로는 Hitachi사제 model 200-10을 autoclave로는 Tomy Seiko사제 model SD-30N을 각각 사용하였다.

2-3. 실험방법

2-3-1. 유화계에서의 Free methyl paraben 측정

계면활성제를 함유하는 유화계 내에서 물 중에 존재하는 free methyl paraben의 농도를 직접 측정하기는 어렵기 때문에 Table 1과 같은 유화계를 만들어 비이온 계면활성제

Table-1. Samples for Experiment

No.	Oil*	Methyl Paraben	Water	unit(g)		
				Tween-80	Talc	TiO ₂
1	20.0	0.2	80.0	—	—	—
2	20.0	0.2	80.0	1.0	—	—
3	20.0	0.2	80.0	1.0	5.0	—
4	20.0	0.2	80.0	1.0	10.0	—
5	20.0	0.2	80.0	1.0	—	5.0
6	20.0	0.2	80.0	1.0	—	10.0
7	20.0	0.2	80.0	1.0	—	15.0

Oil* ; Oleic Acid : Liquid paraffin=1 : 4(v/v)

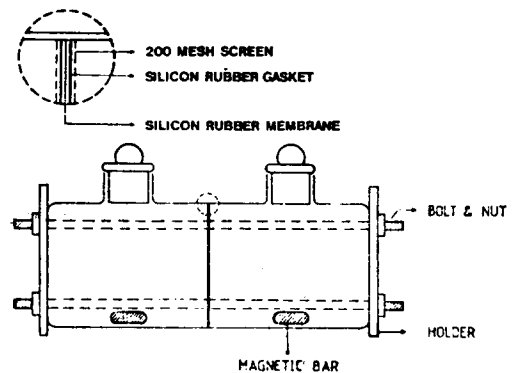


Fig-1. Two-chambered dialysis cell. (volume 240ml)

가 통과하지 않는 silicone rubber membrane (Dow Corning Co.의 Silastic sheeting)¹⁹을 사용하여 equilibrium dialysis법²⁰으로 측정하였다. Fig. 1과 같은 two chambered cell로 20±0.5°C에서 한쪽에는 유화계를 다른 한쪽에는 증류수를 넣어 밀폐한 후 유화계를 magnetic stirrer로 계속 교반하면서 증류수 cell의 시료를 시간별로 취하여 HPLC로 methyl paraben의 농도를 측정하였다.

methyl paraben의 분석방법으로는 spectrophotometer에 의한 방법⁹, gas chromatography에 의한 방법^{21, 22} liquid chromatography에 의한 방법^{23, 24, 25} 등이 보고되어 있으며 본 연구에서는 HPLC를 이용하여 측정하였다. HPLC의 분석조건은 column size 4×150mm, pack material; Lichrosorb RP-18, elute solvent solvent; methyl alcohol:H₂O (50:50v/v), flow rate 1.0ml/min로 하였으며 detector로는 L. C. flow cell을 spectrophotometer에 연결하여 methyl paraben의 U. V. spectrum이 Fig. 2에서와 $\lambda_{max}=254\text{nm}$

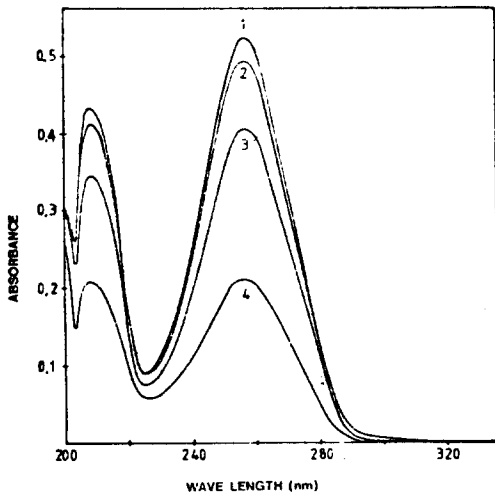


Fig-2. UV spectra of p-hydroxy benzoate.
 1. Methyl p-hydroxy benzoate. (M-P)
 2. Ethyl p-hydroxy benzoate. (E-P)
 3. Propyl p-hydroxy benzoate. (P-P)
 4. n-butyl p-hydroxy benzoate. (B-P)

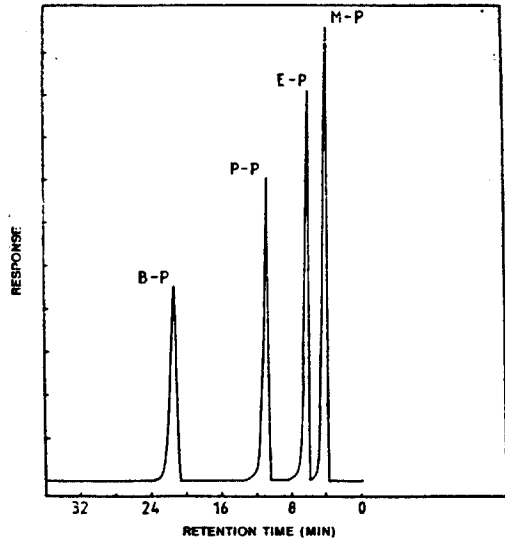


Fig-3. HPLC Chromatogram of p-hydroxy benzoate.

Condition
 Packing ; Lichrosorb RP-18
 Flow rate ; 1.0ml/min
 Column ; 4mm×150mm
 Detector ; UV (254nm)
 Solvent ; MeOH : H₂O (50 : 50v/v)
 Chart Speed ; 0.25m m/min

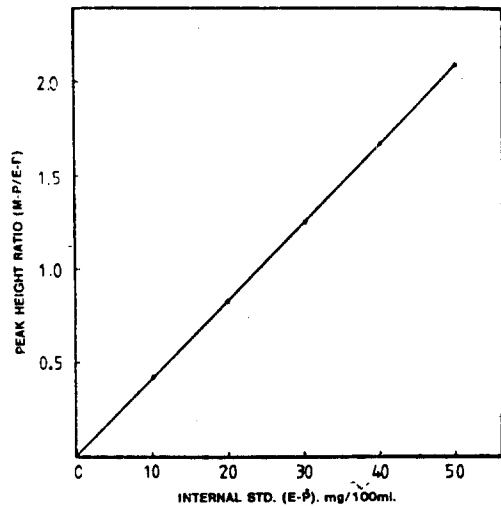


Fig-4. Calibration curve of methyl-paraben.

이므로 U. V. 254nm에서 측정하였으며 내부 표준물로 ethyl paraben을 사용하였다. 위 조건에 의해 p-hydroxy benzoate를 분리한

chromatogram은 Fig. 3과 같으며 methyl paraben 분석의 calibration curve는 Fig. 4와 같다.

2 - 3 - 2. 미생물 실험

조제된 base 1, 2, 3, 4를 시료당 cap tube 5개에 각 10ml씩 넣고 autoclave에서 게이지 압력 1.05kg/cm², 121°C에서 15분간 멸균 처리한 후 shaking incubator (20°C, 30rpm)에서 흡착평행이 되도록 충분히 방치한 후 검체 base (검체 I)로 하여 MBC (Minimum Bactericidal Concentration)²⁶법으로 실험하였다. 즉 검체 I에 ml당 Candida albicans가 10⁶ cells가 되도록 균액을 접종한 후 incubator에서 32°C로 24시간 배양하여 이것을 검체 II로 한다. 사멸 유무 확인방법은 43°C로 유지된 S. D. Agar를 멸균된 페트리 접시에 15ml씩 부어 응고시킨 후 표면에 검체 II를 백금 loop로 streaking하여 접종하고 incubator에서 32°C로 24~48시간 배양하여 사멸 유무를 확인하였다.

2 - 3 - 3. talc 및 TiO₂ suspension에서의 methyl paraben 흡착력 랠

500ml 분액여두에 talc 10.0g을 넣고 각 농도별 methyl paraben 용액을 100ml씩 가하여 20±0.5°C에서 shaker로 진탕하면서 일정시간 간격으로 시료를 취하여 여과하고 HPLC로 여액 중 methyl paraben 농도를 측정하여 흡착량을 구하였다.

3. 결과 및 고찰

3 - 1. 유화계에서의 free methyl paraben 측정

Table 1과 같은 유화계 시료에 대하여 물층에 존재하여 방부력을 나타내는 free methyl paraben 농도를 측정키 위해 Fig. 1과 같은 장치로 dialysis하였을 때 증류수 측으로 이동한 methyl paraben 농도를 시간별로 측정된 결과를 Table 2에 나타내었다. 일반적인 dialysis에서 확산경로에서의 유사 정상 상태 (pseudo steady state)를 가정하면 유화

계에 있어서 물층에 존재하는 methyl paraben 농도와 어떤 시간 t 동안에 증류수 측으로 이동한 methyl paraben 농도와의 관계식은 다음과 같이 나타낼 수 있다²⁰.

$$-aKt = \ln \left(1 - \frac{\alpha C^1}{Cw^0} \right)$$

$$\text{여기서 } \alpha = \frac{1 + Kw\phi_1 + \phi_2}{Kw\phi_1 + \phi_2}$$

이 식을 이용하기 위한 각 parameter 값은 Table 3과 같다. dialysis 상수 K 를 구하기 위하여 기름과 물만으로 이루어진 Table 1의 No. 1 계로부터 $\log \frac{Cw^0}{Cw^0 - 2.12C}$ 의 시

Table-2. Methyl Paraben Concentration in Water.
unit(mg/100ml)

sample No.	unit(mg/100ml)						
	1	2	3	4	5	6	7
2	34.64	29.57	23.55	19.67	24.53	19.46	16.26
4	56.67	45.52	36.86	28.98	38.31	31.86	27.46
6	75.07	57.67	44.69	36.77	49.58	41.53	35.31
8	82.96	63.05	54.86	42.95	57.03	49.29	40.86
10	91.5	66.48	60.17	50.12	63.34	54.10	47.81
12	97.20	67.29	62.48	53.00	65.31	54.15	50.58
14	96.22	67.33	63.69	55.76	66.65	58.43	54.74
16	98.19	71.71	67.07	59.10	73.50	62.96	59.94
18	111.17	75.71	69.77	63.74	75.67	67.22	63.39
20	103.08	72.05	68.64	62.17	73.00	65.81	63.30
22	111.48	73.19	68.50	63.62	74.26	70.41	67.05
24	111.67	80.62	72.71	66.50	77.89	74.66	68.41
26	113.71	75.95	70.67	65.72	75.65	72.43	66.74
28	110.14	76.33	72.81	66.59	75.71	72.48	68.00

Table-3. Parameters Calculated in Equation 12

Sample No.	ϕ_1	ϕ_2	α	K_w
1	0.228	0.772	2.120	0.530
2	0.226	0.776	2.129	0.530
3	0.218	0.741	2.167	0.530
4	0.219	0.742	2.184	0.530
5	0.223	0.794	2.165	0.530
6	0.215	0.729	2.186	0.530
7	0.224	0.761	2.137	0.530

간 t 에 대한 변화율을 Fig. 5에 나타내었으며 이 직선의 기울기로부터 $K=0.084$ 임을 구하였다. 따라서 유허제 내의 물층에 존재하는 methyl paraben 농도와 시간 t 에 있어서 증류수층으로 이동한 methyl paraben 농도의 관계식은 $-0.084 at = \ln \left(1 - \frac{\alpha C^1}{C_w^0} \right)$ 가 된다. 이 식을 이용하여 Table 2의 C^1 , t 의 data 및 Table 3의 각 parameter로부터 C_w^0 즉 유허제 내의 물층에 존재하는 methyl paraben의 농도를 계산하여 평균한 값(C^*)은 Table 4와 같다.

Table-4. Concentration of Free Methyl Paraben unit(mg/100ml water)

Sam-ple No.	1	2	3	4	5	6	7
C^*	234.33	182.37	155.10	127.37	163.40	136.99	117.26

Table 5. Adsorption Amount on Particle Calculated by Dialysis Method.

Sample No.	2	3	4	5	6	7
Decrease Conc. (mg/100ml)	0	27.27	55.00	18.97	45.38	65.11
Adsorption amount (mg/g)	-	4.36	4.4	3.04	3.63	3.47

Table-6. Results of Microbial Experiment

M-P conc. (w/v%)	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	0.17	0.18	0.19	0.20	0.21	0.22	0.23	0.24	0.25
M-P+SD Broth	+	+	+	-	-	-	-	-	-					
M-P+Tween 80 1% SD Broth	+	+	+	+	+	+	+	-	-					
M-P+ Tween 80 1% + Talc+ SD Broth	Talc 5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-
	10%					+	+	+	+	+	+	±	-	-
	15%					+	+	+	+	+	+	±	-	-
M-P+ Tween 80 1% + TiO ₂ + SD Broth	TiO ₂ 5%					+	+	+	+	+	±	-		
	10%					+	+	+	+	+	±	-		
	15%					+	+	+	+	+	±	-		

note ; +growth
-no growth

계면활성제도 일정량의 방부제를 binding 하여 방부제 효능을 저하시킴을 알려져 있는데 Table에서 나타난 결과로 보아 물층에 존재하는 방부제의 22.17%가 계면활성제와 binding됨을 알 수 있었다. 무기안료 첨가에 의한 농도 감소량 및 g당 흡착량은 다음 Table 5와 같다. 같은 중량의 talc와 TiO₂를 비교하면 talc는 TiO₂보다 평균 1.3배의 방부제를 흡착하였다. talc의 g당 흡착량은 평균 3.38mg/g이었다.

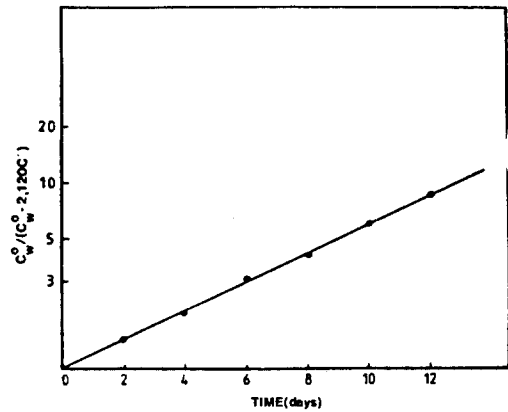


Fig. 5. The plot of dialysis time vs.

$$\log \frac{C_w^0}{C_w^0 - 2.120C^1} \quad (C_w^0 = 234.333 \text{mg/100ml})$$

3 - 2. 미생물 실험

dialysis 방법에 의하여 얻은 talc 및 TiO_2 에 의한 methyl paraben의 흡착결과를 미생물학적인 방법으로 확인하기 위하여 MBC법을 이용하여 실험하였다. talc 및 TiO_2 각 농도에서 methyl paraben의 minimum bactericidal 농도는 Table 6과 같다. Table 6에서 보는 바와 같이 계면활성제 Tween-80을 첨가하지 않았을 때 MBC는 0.15%이나 계면활성제는 첨가하면 MBC는 0.19%가 가되 약 20% 정도의 방부력 효능 저하를 가져왔으며 talc 및 TiO_2 의 함량에 따른 MBC의 차이는 뚜렷하지 않지만 dialysis 방법에 의한 결과와 마찬가지로 talc가 TiO_2 보다 더 방부력 효능저하를 일으킴을 알 수 있었다.

Table 7. Adsorption Amount of Methyl Paraben on Talc.

Concentration of methyl paraben (w/v %)	Adsorption amount (mg/g)
0.009	0.370
0.019	0.602
0.049	1.308
0.068	1.621
0.114	2.107
0.197	3.532

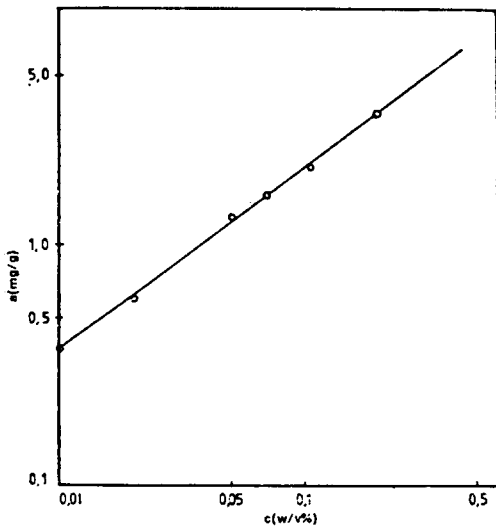


Fig. 6. Adsorption amount of methyl paraben vs. talc concentration.

3 - 3. talc suspension에서의 methyl paraben 흡착량

dialysis 방법에 의한 free methyl paraben 측정으로 무기안료 talc 및 TiO_2 에 의해 methyl paraben이 흡착됨을 알 수 있었으며 이를 뒷받침하기 위하여 talc에 대한 흡착 실험을 하였으며 $20 \pm 0.5^\circ C$ 에서 평형에 달하였을 때 talc g당 methyl paraben의 흡착량은 Table 7과 같다. Table 7을 양대수 좌표에 Fig. 6과 같이 흡착량과 농도에 관하여 도시하면 직선관계가 성립한다. 이러한 사실은 Freundlich 흡착 등온식이 성립함을 의미하며 이 방정식을 최소자승법으로 구하면 $a=11.511C^{0.747}$ 로 표시할 수 있었다. 여기서 a 는 talc g당 methyl paraben의 흡착량 (mg)이며 C 는 흡착평형에서 methyl paraben의 농도이다.

4. 결론

polyoxyethylene계 유화제를 이용한 유화제에 있어서 talc 및 TiO_2 에 의한 methyl p-hydroxy benzoate의 흡착과 그에 따른 방부 효능 감소를 여러가지 분석방법과 미생물 실험을 통하여 얻은 결과는 다음과 같다.

1. Methyl p-hydroxy benzoate는 talc 및 TiO_2 에 의하여 방부효능이 감소되었으며 이는 흡착에 의한 영향으로 생각된다.
2. Methyl p-hydroxy benzoate의 방부 효능 저하에 미치는 영향은 TiO_2 보다 talc가 더 크게 나타났다.
3. Talc에 의한 methyl p-hydroxy benzoate의 흡착량은 $20^\circ C$ 에서 $a=11.5 \cdot 1C^{0.747}$ 의 식으로 나타낼 수 있었다.

Nomenclature

a : adsorption amount (mg/g)

C^* : average of C_w^0

C^1 : concentration of dialyzed methyl paraben to distilled a at time t

C_w^0 : initial concentration of methyl paraben
in water phase for emulsion system

K : modified dialysis constant

t : time

V^1 : volume of distilled water

V_{oil} : volume of oil for emulsion system

V_w : volume of water for emulsion system

K_w : partition coefficient

α : $(1 + K_w\phi_1 + \phi_2) / (K_w\phi_1 + \phi_2)$

ϕ_1 : V_{oil}/V'

ϕ_2 : V_w/V'

References

1. S. M. Blaug and S. S. Ahsan, *J. Pharm. Sci.*, **50**, 441 (1961).
2. M. G. deNavarre, *J. Soc. Cosmetic Chem.*, **8**, 68 (1957).
3. H. S. Bean, S. M. Heman-Ackah, and J. Thomas, *J.S.C.C.* **16**, 15 (1965).
4. H. S. Bean, G. H. Konning and S. A. Malcolm, *J. Pharm. Pharmacol.*, **21**, 173 (1969).
5. G. H. Konning, *Can. J. Pharm. Sci.*, **9**, 103 (1974).
6. D. L. Wedderburn, *J. Soc. Cosmetic Chem.*, **9**, 210 (1958).
7. H. B. Kostenbauder, *Am. Perf. Aromat.* **75**, 28 (1930).
8. P. C. Eisman, J. Cooper and D. Jasconia, *J. Am. Pharm. Ass.*, **46**, 144 (1957).
9. W. J. Tillman and R. Kuramoto, *ibid.*, **46**, 211 (1957).
10. G. M. Miyawaki, N. K. Patel and H. B. Kostenbauder, *ibid.*, **48**, 315 (1959).
11. H. B. Kostenbauder and T. Higuchi, *ibid.*, **45**, 518 (1956).
12. D. Guttman and T. Higuchi, *J. Am. Pharm. Ass., Sci. Edu.* **40**, 390 (1956).
13. B. A. Mulley and A. D. Metcalf, *J. Pharm. Pharmac.*, **8**, 774 (1956).
14. F. W. Goodhart and A. N. Martin, *J. Pharm. Sci.*, **51**, 50 (1962).
15. W.P. Evans, *J. Pharm. Pharmac.*, **16**, 323 (1964).
16. N. H. Batuyious and E. A. Brecht, *J. Am. Pharm. Ass., Sci. Ed.* **46**, 524 (1957).
17. N. R. Horn, T. J. Mc Carthy and E. Ramssted, *Cosmetics & Toiletries*, **95**, 69 (1980).
18. R. T. Yousef, M. A. El-Nakeeb and S. Salama, *Can. J. Pharm. Sci.* **8** 54, (1973).
19. S. J. A. Kazmi and A. G. Mitchell, *J. Pharm. Sci.*, **62**, 1299 (1973).
20. N. K. Patel and J. M. Romanowski, *J. Pharm. Sci.*, **59**, 372 (1972).
21. M. Batcheler, H. Tarlin and G. Williamson, *J. Pharm. Sci.*, **61**, 252 (1972).
22. Marishi Kenichi *et al.*, *Tokushima Bunri Daigaku Kenkyu Kiyu*, **15**, 17 (1976).
23. W. P. King, K. Joseph and P. T. Kissinger, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63**, 137. (1980).
24. F. A. Fitzpatrick, A. F. Summa and A. D. Cooper, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **26**, 377 (1975).
25. D. E. Ott, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **61**, 1465 (1978).
26. G. Robert, M. D. Petersdorf, *et al.*, *Am. Journal of Medicine*, **39**, 766 (1965).

Inactivation of the Preservative in Cosmetic by the Addition of Inorganic Powder.

Kwang Soo Jung

(pacific chemical Ind. Ltd., Seoul plant)

Abstract: The decreased preservative effect by talc and TiO_2 for emulsions obtained with polyoxyethylene surfactant was studied by various analytical methods and biological test. The preservative effect of methyl p-hydroxybenzoate was decreased by the addition of talc and TiO_2 , and this result was attributed to the adsorption of methyl p-hydroxybenzoate on them. Talc exhibited more decreased preservative effect than that of TiO_2 . The amount of the adsorption of methyl p-hydroxybenzoate by talc at 20°C could be represented by the following equation; $a=11.511C^{0.747}$.