

방사선 조사 및 녹차 폴리페놀을 첨가한 화장품의 항균효과

안봉전* · 박태순 · 이진영 · 현석준 · 박근혜 · 조영제¹ · 김세기²

대구한의대학교 화장품약리학과, ¹상주대학교 식품공학과, ²(주)이지함 화장품

Anti-microbial Effect of Irradiated Green Tea Polyphenol Addition into Cosmetic Composition

Bong-Jeun An*, Tae-Soon Park, Jin-Young Lee, Sok-Jun Hyun, Gun-Hye Park, Young-Je Cho¹, and Se-Gie Kim²

Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

¹Department of Food Engineering, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

²LeeJiHam Cosmetics Ltd., Seoul 135-892, Korea

Received May 8, 2007; Accepted July 19, 2007

Cosmetic products including skin and essence were manufactured to analyze the effect of green tea polyphenols addition. In addition, irradiation was applied to remove an undesirable color of green tea polyphenol(GTP), which may cause a problem in the marketing, of a final product; moreover, comparative studies were conducted with the cosmetic products on whether or not antiseptics were treated to verify its use for the development of non-antiseptic cosmetic products. Growth inhibition zones were shown in the microbial study except for *Candida albicans*. The minimum inhibitory concentration(MIC) of *E. coli* and *C. albicans* was 2,500 ppm but that of *S. aureus* was 1,000 ppm. The numbers of *E. coli* and *S. aureus* were reduced to undetected levels when 10,000 and 5,000 ppm of polyphenol were added, respectively. Results indicate that the addition of irradiated green tea polyphenol provides a good method to manufacture functional cosmetics including skin and essence with various biological activities such as antimicrobial activity without antiseptics.

Key words: anti-microbial activity, green tea polyphenol, non-antiseptic cosmetic products

서 론

화장품이 미생물에 의하여 오염이 되면 화장품의 표면이나 내용물속에서 미생물의 이화작용과 동화작용 및 생분해 작용으로 침전물, 혼탁상태, 박막(pellicle) 등이 형성된다¹⁾. 표면에 colony를 형성하는 곰팡이의 경우는 대사산물에 의해 pH가 변하고 미생물이 분비하는 색소에 의하여 변색이 일어나기도 한다²⁾. 또한 고분자물질이나 당분의 분해, 입자의 응고에 의하여 점도가 변하거나 층이 분리되기도 하며, 액상 상태에서는 점막이 있는 것처럼 느낄 수도 있다³⁾. 크림 및 유액 등의 유화형 화장품의 성분은 식물유 및 광물유를 비롯하여 지방, 탄수화물 등의 각종 미생물의 영양원을 함유하고 있으며, 비이온계면활성제도 비교적 다량이 함유되어 있으므로 미생물에 의해 쉽게 오염되며 자체방부가 곤란한 상태이다⁴⁾. 이들 제품을 무균적으로 제조한다고 해도 장기간 사용하면 박테리아, 곰팡이 또는 효

모 등에 의해 오염되며 화장품 원료 중의 일부를 탄소원으로 이용하여 증식하기 때문에 제품의 조성이 변화될 수 있으며 제품이 원래의 목적과는 상반되는 자화현상이 일어날 수 있으므로⁵⁻⁷⁾, 제품의 성분, 조성, 상태 등을 품질, 성능 및 안정성으로 평가하는 위생적 측면의 품질관리가 요구되고 있다. 화장품에 배합이 허가된 방부제는 약 159종류⁸⁾를 넘지만 일반적으로 방부살균제는 미생물이나 생물포자에 기습하여 생존을 억제하는 물질이고 사람세포에 대해서도 본질적으로는 무해하나 다량으로 사용하면 피부를 자극하여 피부문제를 발생하며, 알러지와 같은 부작용을 유발시키는 사례가 많이 발생하고 있어 적절한 양의 배합이 요구되고 있다. 또한 최근에는 미생물 제어기술을 보완·대체해줄 수 있는 새로운 방법으로 제시된 것이 바로 방사선 조사에 의한 미생물의 살균 기술이며 현재 식품 및 공중보건산물의 살균에 감마선 조사가 유용하게 사용되고 있다. 식품 및 공중보건산물의 방사선 조사 효과에 대한 연구는 크게 대상 물질의 물리·화학적 변화, 생화학적 활성 변화, 살충 또는 살균과 같은 생물학적 효과와 안정성의 분야에서 다양하게 진행되어 왔다⁹⁾.

녹차에는 특이적인 성분으로 폴리페놀류를 함유하고 있는데,

*Corresponding author
Phone: 82-53-819-1429; Fax: 82-53-819-1429
E-mail: anbj@dhu.ac.kr

이는 동일분자 속에 수산기(-OH)를 두개 이상 갖는 페놀성 물질로 구조가 다양하다. 녹차의 폴리페놀류는 catechin으로 알려진 flavanols, flavandiols, flavonoid, phenolic acid를 포함하는 flavonol류 등으로서, 그 중 카테킨류는 주로 유리형의 epicatechin (EC), epigallocatechin(GC)과 ester형인 epicatechingallate(ECG), epigallocatechingallate(EGCG)이며 catechin과 gallocatechin이 소량 함유되어 있다. 또한 이들 폴리페놀류는 혈중 콜레스테롤을 저하시키고¹⁰⁾, 항산화 작용¹¹⁻¹³⁾, 항암작용¹⁴⁾, 해독작용¹⁵⁾, 항균작용¹⁶⁾, 충치예방작용¹⁷⁾, 노화억제작용¹⁸⁾, 미백작용¹⁹⁾, 향기성분²⁰⁾ 및 중금속제거효과²¹⁾ 등이 보고되고 있다.

따라서 본 연구에서는 여러 가지 효능을 가진 녹차 폴리페놀을 이용하여 스킨과 에센스를 제조하고, 방사선 조사하여 방부제를 첨가하지 않았을 때의 항균효과 및 방부효과를 검증하여 무방부제 화장품 첨가제로서 녹차 폴리페놀 이용 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

시약. 항균력 검색 실험에서 사용한 공시 균주는 피부 상재균으로서 *Staphylococcus aureus* KCTC 1621, *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917 및 *Escherichia coli* KCTC 1039를 계대 배양하여 사용하였으며, 구강내 세균으로서 *Streptococcus mutans* KCTC 3065 및 *Candida albicans* KCTC 7965를 계대 배양하여 사용하였다. 전 배양 및 본 배양을 위한 액체 배지는 nutrient broth(NB), tryptic soy broth(TSB), brain heart infusion(BHI) 및 YM broth(YMB)를 Difco Lab.(Sparks, MD, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 생육 저해 및 생균수 측정을 위한 고체배지는 nutrient agar(NA), tryptic soy agar (TSA), brain heart infusion agar(BHIA) 및 YM agar(YMA)를 Difco Lab.(Sparks, MD, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외의 기타 시약은 특급 시약을 사용하였다.

시료 제조. 차(10 kg)를 추출 탱크에서 60% 아세톤(50 l)에 침지하여 실온에서 24시간 방치 한 후 8,000 g에서 원심 분리(Hitachi, CR21, Tokyo, Japan)하여 상층액을 취했다. 침전물을 다시 60% 아세톤을 가하여 위와 같은 추출 과정을 3회 반복하여 상층액을 모은 다음 농축(N-N SERIES, Eyela, Tokyo, Japan) 여과(No. 2, Advantec, Tokyo, Japan)하여 클로로필을 제거한 여액을 회수하여 분리용 시료로 사용하였다. 분리용 Sephadex LH-20 column에 시료를 loading 하고, 전개 용매로는 methanol을 사용하여 methanol : Deionizedwater(0 : 1 → 1 : 0)로 전개하여 분리시켰다. 각 분획물의 폴리페놀을 silicagel thin layer chromatography(TLC)로 전개 시켜 발색시약으로 발색유무를 확인한 후 동결건조하여 (+)-catechin을 표준품으로 high performance liquid chromatograph(HPLC)를 이용하여 폴리페놀 함량을 정량하여 사용 하였다 (Fig. 1).

폴리페놀 첨가 화장품의 방사선 조사. 방사선 조사는 한국원자력 연구소 내 선원 10만 Ci, Co-60 방사선 조사 시설을 이용하여 분당 83.3 Gy의 선량율로 조사하였다. 선량은 5, 10, 20 kGy의 총 흡수선량을 얻어 본 실험의 시료로 사용하였다.

폴리페놀을 첨가한 스킨 및 에센스 제조 처방 및 방법. 녹차

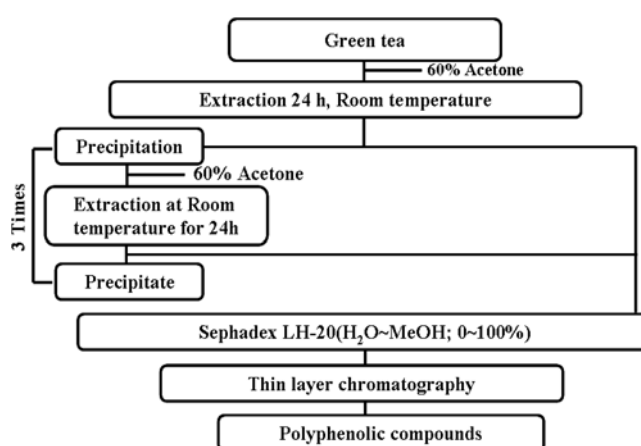


Fig. 1. Purification procedure for the polyphenol isolated from green tea.

Table 1. The experimental formulation of the skin containing polyphenol

No.	Technical Name	INCI Name	Contents % (W/W)
1	D.I. water	Deionized Water	to 100
2	Glycerin	Glycerin	2
3	1,3-B.G	1,3-Butylene Glycol	3
4	Preservatives	Methyl (ethyl, propyl) paraben, Phenoxyethanol	Q.S. ¹⁾
5	Ethanol	Alcohol	5
6	Cremophor RH 40	PEG-40 Hydrogenated Castor Oil	0.8
7	Citric Acid	Citric Acid	0.04
8	Sodium Citrate	Sodium Citrate	0.1
9	Polyphenols	Polyphenols	2

¹⁾Quantum sufficient: Proper quantity

폴리페놀을 첨가한 스킨은 Table 1의 처방에 따라 제조하였다. 수상에는 보습제인 glycerin, 1,3-butylene glycol를 넣었으며, 에탄올상에는 가용화제인 PEG-40 hydrogenated castor oil을 넣고 각각 핸드믹싱한 후 혼합하였다. 혼합한 후 pH 조절제인 citric acid와 sodium citrate를 넣고, 녹차 폴리페놀 2%를 첨가하여 본 실험에 사용하였다.

녹차 폴리페놀을 첨가한 에센스는 Table 2의 처방에 따라 제조하였다. 수상에는 보습제인 glycerin, betain, polyethylene glycol 1500과 방부제를 넣어 80°C까지 가열하여 용해시킨 후, homo mixer(T.K. Homo Mixer Mark II, Tokushu kika kogyo Co. Ltd., Osaka, Japan)를 이용하여 3,000 rpm에서 2분간 유회하고, 미리 분산한 lubrajel DV와 점증제인 carbopol 940을 넣고 2분간 유회하였다. Triethanolamine(TEA)를 넣고 3분간 더 유회한 후, 에탄올상인 PEG-40 hydrogenated castor oil을 넣어 1분간 유회하고, 녹차 폴리페놀 2%를 넣어 2분간 유회한 후 30°C까지 냉각하고 탈기하여 본 실험에 사용하였다.

항균력 측정

균배양. *Streptococcus mutans*와 *Candida albicans*의 배양을 위한 액체배지로는 brain heart infusion(BHI) 및 YM broth (YMB)를 각각 사용하였으며, *Escherichia coli* 및 *Staphylococcus*

Table 2. The experimental formulation of the essence containing polyphenol

No.	Technical Name	INCI Name	Contents % (W/W)
1	D.I. water	Deionized Water	to 100
2	Glycerin	Glycerin	5
3	Aminocoat	Betain	7
4	PEG-1500	Polyethylene Glycol 1500	2
5	Preservatives	Methyl (ethyl, propyl) paraben, Phenoxyethanol	Q.S. ¹⁾
6	Lubrajel DV	Polyglyceryl methacrylate/propylen	3
7	Carbopol 940	Carboxyvinylpolymer	0.3
8	T.E.A	Triethanolamine	0.3
9	thanol	Alcohol	4
10	Cremonophor RH 40	PEG-40 Hydrogenated Castor Oil	0.5
11	Polyphenols	Polyphenols	2

¹⁾Quantum sufficient: Proper quantity

*epidermidis*의 액체배지로는 nutrient broth(NB)를 사용하였고, *Staphylococcus aureus*의 액체배지로는 tryptic soy broth(TSB)를 사용하였다. 고체배지는 상기 액체배지에 agar를 첨가하여 본 실험에 사용하였다. *Streptococcus mutans*균은 CO₂ incubator에, 그 외 균주는 BOD incubator에서 37°C로 배양하였다.

생육 저해환(Clear zone) 측정. 항균력 측정은 paper disc²²⁾을 이용하여 측정하였다. 즉, 평판배지에 배양된 각 균주를 1백금이 취해서 액체배지 10 ml에서 18~24시간 배양하여 증균 배양 시킨 후 다시 액체배지 10 ml에 균액을 0.1 ml 접종하여 3~6시간 분 배양한 후 평판배지 1개당 균수가 약 1×10^7 cells 되게 접종하여 멸균 면봉으로 균일하게 도말하였다. 멸균된 filter paper disc(Tokyo, 8mm, Japan)를 고체 평판배지에 올려놓은 다음 0.05 ml/disc가 되도록 시료를 농도별로 흡수시켜 37°C에서 18~24시간 배양하여 disc 주위의 clear zone(cm)의 직경을 측정하였다.

최소저해농도 결정. 각 균에 대한 최소저해농도(MIC: minimum inhibitory concentration)를 측정하기 위하여 각 시료를 농도별로 혼합 분주한 액체배지에 활성화된 각 균주의 전 배양액을 1백금이량 취하여 접종한 후, 37°C에서 48시간 배양하여 육안으로 미생물의 증식이 확인되지 않은 농도로 결정하였다²³⁾.

최소살균농도 결정. 각 균에 대한 최소살균농도(MBC: minimum bactericidal concentration) 측정은 각 시료를 농도별로 혼합 분주한 액체배지에 활성화된 각 균주의 전 배양액을 1백금이량 취하여 접종한 후, 37°C에서 48시간 배양하여 평판배지에 계대배양하여 균의 생존율이 99.9% 이상의 균이 감소되는 살균제의 농도로 결정하였다²⁴⁾.

생균수 측정. 생균수의 측정은 액체배지 희석법^{25,26)}을 이용하여 측정하였다. 평판 배지에 배양된 각 균주를 1백금이량 취해서 액체배지 10 ml에서 18~24시간 배양시켰다. 녹차 폴리페놀과 폴리페놀이 첨가된 스킨 및 에센스의 농도가 *S. aureus*는 1,000 ppm, *E. coli*는 5,000 ppm, *C. albicans*는 10,000 ppm의 농도로 첨가된 액체배지에 균액을 약 10^5 cells/ml가 되게 접종

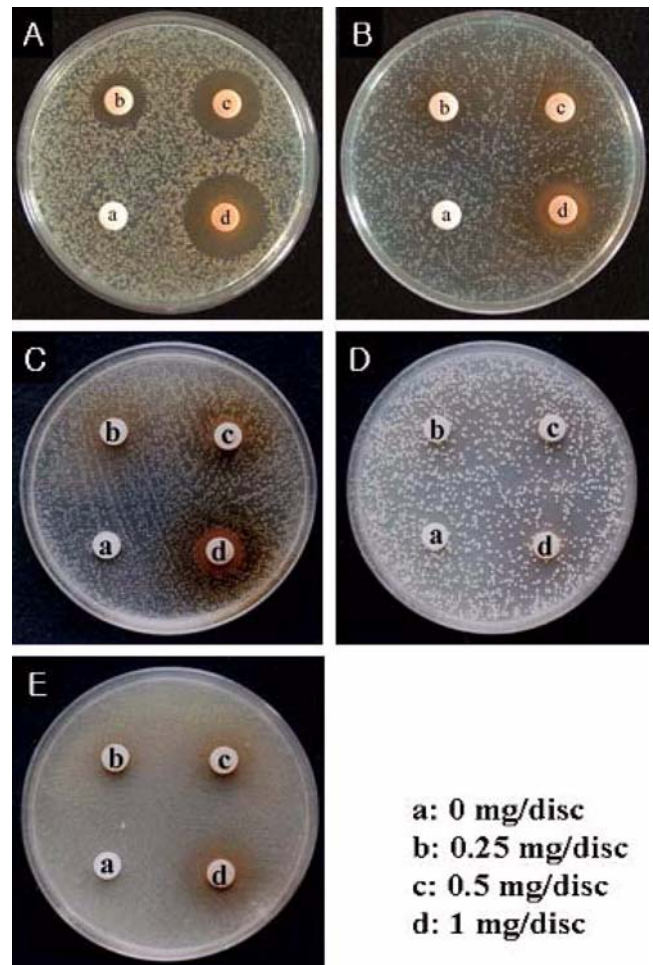


Fig. 2. Antimicrobial activity of irradiated polyphenol isolated from green tea on several microorganisms. A: *Staphylococcus aureus*, B: *Staphylococcus epidermidis*, C: *Escherichia coli*, D: *Candida albicans*, E: *Streptococcus mutans*.

하여 0~48시간 배양하면서 일정 시간간격으로 평판배지에 희석수로 적당히 희석한 후 균액을 0.1 ml/도말하여 35°C의 incubator에서 24시간 동안 배양한 후 나타난 colony 수를 colony forming unit(log CFU/ml)로 나타내었다.

통계처리. 결과 통계처리는 SPSS 10.0 for windows program을 사용하였으며, 유의차 검증은 분산분석(ANOVA: analysis of variance)을 한 후 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan의 다중검증법(DMRT: Duncan's multiple range test)에 따라 분석하였다.

결 과

생육 저해환(Clear zone) 확인. 녹차 폴리페놀과 폴리페놀을 첨가한 스킨 및 에센스, 폴리페놀 무첨가 스킨 및 에센스의 방사선 조사구 및 비조사구의 항균 효과 및 방사선 조사에 따른 영향력을 검토하기 위하여, 피부상재균인 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* 및 *Staphylococcus epidermidis*와 구강내 세균인 *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*에 대한 clear zone 형성을 관찰한 결과 Fig. 2~4, Table 3, 4와 같이 나타내었다. 방사선 조사구와 비조사구의 항균력 측정 결과 모든 균주에 대

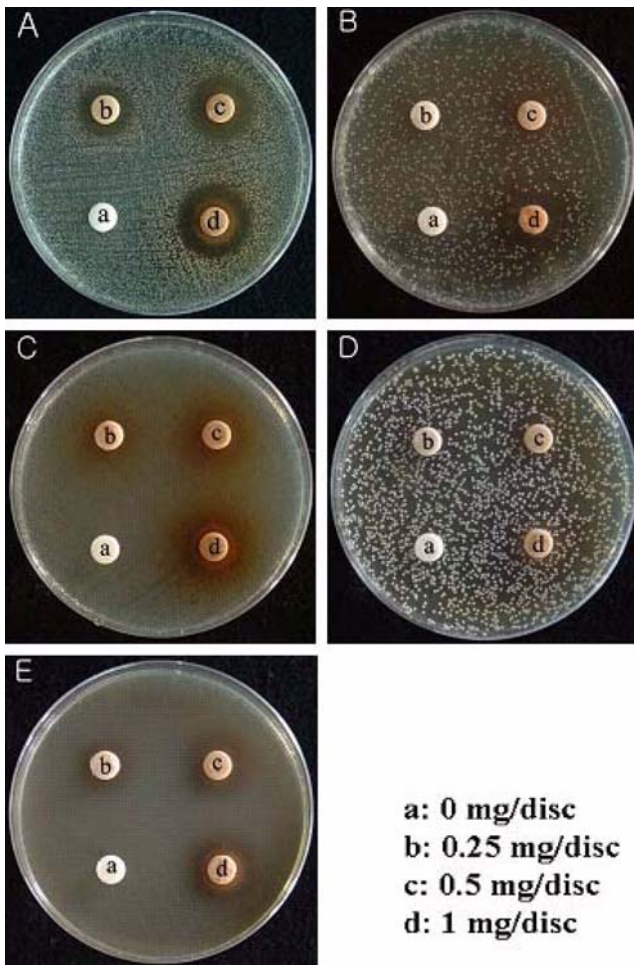


Fig. 3. Antimicrobial activity of non-irradiated skin containing polyphenol on several microorganisms. A: *Staphylococcus aureus*, B: *Staphylococcus epidermidis*, C: *Escherichia coli*, D: *Candida albicans*, E: *Streptococcus mutans*.

해 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 녹차 폴리페놀을 첨가한 에센스보다 스킨의 항균력이 높게 나타났다. 녹차 폴리페놀의 1 mg/disc의 경우 *E. coli*는 11.3 mm, *S. aureus*는 22.5 mm, *S. epidermidis*는 10.5 mm, *S. mutans*는 9.3 mm를 각각 나타내었다. 폴리페놀이 첨가된 스킨의 조사구와 폴리페놀이 첨가된 에센스의 비조사구에서는 *S. aureus*가 다른 균주에 비해 가장 큰 저해환을 나타내었다. 이는 Bae 등의 지치 추출물²⁷⁾의 항균 효과와 비교하여 녹차 폴리페놀과 폴리페놀을 첨가한 스킨 및 에센스의 항균효과를 확인할 수 있었다. 따라서 녹차 폴리페놀

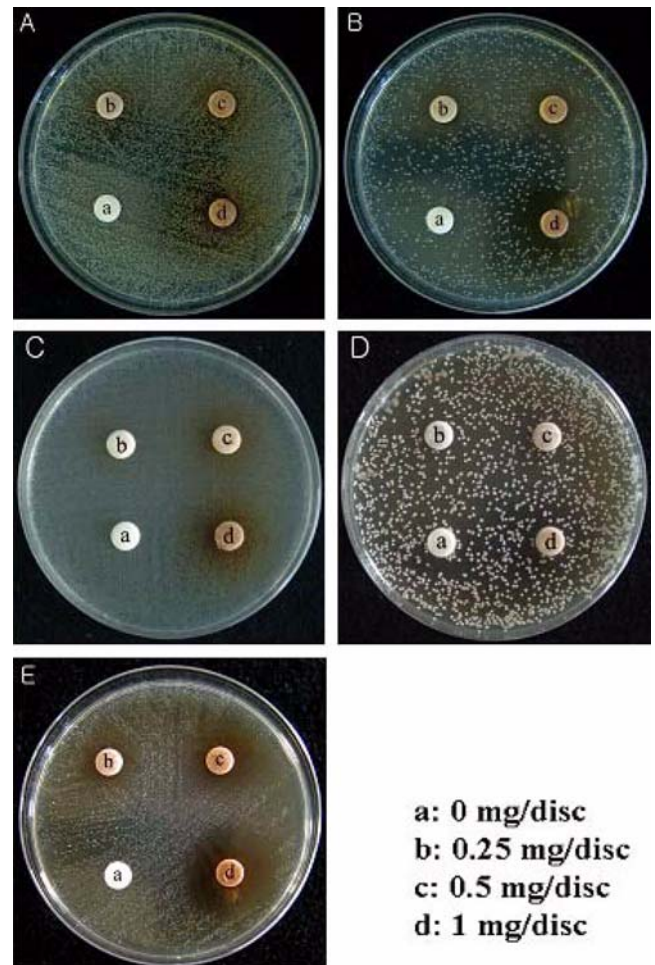


Fig. 4. Antimicrobial activity of non-irradiated essence containing polyphenol on several microorganisms. A: *Staphylococcus aureus*, B: *Staphylococcus epidermidis*, C: *Escherichia coli*, D: *Candida albicans*, E: *Streptococcus mutans*.

을 식품 및 화장품의 보조 방부제 및 피부상재균주에 대한 항균제로서 사용이 가능할 것이며, 방사선 조사량과 관계없이 유의성 있는 항균효과를 보여 방사선 조사량의 증가에도 안정함을 나타내었다.

최소저해농도 결정. 녹차 폴리페놀과 폴리페놀이 첨가된 스킨 및 에센스의 최소저해농도(MIC: minimum inhibitory concentration)를 측정하기 위하여 gram(+)세균인 *S. aureus*와 gram(-)세균인 *E. coli* 및 yeast로서 *C. albicans*를 사용하여 측정한 결과 Table 5와 같이 나타내었다. 즉, *E. coli*, *C.*

Table 3. Antimicrobial activity of polyphenol isolated from green tea on several microorganisms

Strains	polyphenol (mg/disc)		
	0.25	0.5	1
<i>Escherichia coil</i> KCTC 1039	- ¹⁾	8.3±0.53 ²⁾	11.3±0.3
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1621	17.0±0.9	19.3±1.53	22.5±2.12
<i>Staphylococcus epidermidis</i> KCTC 1917	-	8.6±0.2	10.5±0.5
<i>Streptococcus mutans</i> KCTC 3065	-	-	9.3±0.29
<i>Candida albicans</i> KCTC 7965	-	-	-

¹⁾No inhibition

²⁾Mean±SD: Inhibition zone diameter (mm)

Table 4. Antimicrobial activity of cosmetics containing polyphenol on several microorganisms

Strains	polyphenol skin (mg/disc)			polyphenol essence (mg/disc)		
	0.25	0.5	1	0.25	0.5	1
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1039	- ¹⁾	-	12.0±0.29 ²⁾	-	-	1.30±0.76 ²⁾
			12.0±0.35 ³⁾			17.0±0.68 ³⁾
			12.0±0.83 ⁴⁾			18.0±0.52 ⁴⁾
			13.0±0.88 ⁵⁾			15.0±0.48 ⁵⁾
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1621	14.0±0.87 ²⁾	17.0±0.29 ²⁾	21.0±0.50 ²⁾	-	-	12.0±1.00 ²⁾
	15.0±0.58 ³⁾	18.0±0.32 ³⁾	21.0±0.47 ³⁾	-	-	12.0±0.87 ³⁾
	12.0±0.47 ⁴⁾	15.0±0.21 ⁴⁾	20.0±0.43 ⁴⁾	-	-	12.0±0.82 ⁴⁾
	14.0±0.72 ⁵⁾	17.0±0.92 ⁵⁾	20.0±0.51 ⁵⁾	-	-	12.0±0.89 ⁵⁾
<i>Staphylococcus epidermidis</i> KCTC 1917	-	11.3±1.53 ²⁾	14.0±2.12 ²⁾	-	-	-
		12.0±0.53 ³⁾	20.0±0.28 ³⁾			
		13.0±0.97 ⁴⁾	18.0±2.12 ⁴⁾			
		12.0±0.29 ⁵⁾	15.0±0.12 ⁵⁾			
<i>Streptococcus mutans</i> KCTC 3065	11.0±0.49 ²⁾	13.0±0.68 ²⁾	15.0±0.29 ²⁾	-	- ²⁾	14.7±1.04 ²⁾
	12.0±0.28 ³⁾	13.0±0.87 ³⁾	16.0±0.46 ³⁾	-	12.0±0.57 ³⁾	18.0±0.14 ³⁾
	12.0±0.74 ⁴⁾	14.0±0.66 ⁴⁾	16.0±0.36 ⁴⁾	-	10.0±0.59 ⁴⁾	15.0±0.68 ⁴⁾
	11.0±0.73 ⁵⁾	12.0±0.12 ⁵⁾	14.0±0.34 ⁵⁾	-	10.0±0.12 ⁵⁾	18.0±0.04 ⁵⁾

¹⁾No inhibition.

²⁾Mean ± SD: Non-irradiated inhibition zone diameter (mm).

³⁾Mean ± SD: 5kGy-irradiated inhibition zone diameter (mm).

⁴⁾Mean ± SD: 10kGy-irradiated inhibition zone diameter (mm).

⁵⁾Mean ± SD: 20kGy-irradiated inhibition zone diameter (mm).

Table 5. Minimum inhibitory concentration (MIC) & Minimum bactericidal concentrations (MBC) on several microorganisms

Strains	MIC (ppm)			MBC (ppm)		
	PP ¹⁾	PS ²⁾	PE ³⁾	PP	PS	PE
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1039	2,500	2,500	2,500	10,000	10,000	10,000
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1621	1,000	1,000	1,000	5,000	5,000	5,000
<i>Candida albicans</i> KCTC 7965	2,500	2,500	2,500	n.d ⁴⁾	n.d	n.d

¹⁾PP: Polyphenol.

²⁾PP: Polyphenol skin.

³⁾PP: Polyphenol essence.

⁴⁾Not determined.

*albicans*에 대하여 MIC가 2,500 ppm에서 나타났으며, *S. aureus*는 1,000 ppm에서 MIC를 나타내었다. 이와 같이 gram(+)균이 gram(-)균보다 낮은 농도에서 MIC가 나타났다. Lee 등²⁸⁾은 동백나무 부위별 methanol 추출물의 gram(+)균과 gram(-)균의 MIC 측정결과 *Bacillus subtilis*, *S. aureus*와 같은 gram(+)균에 대하여 1 mg/ml, 10 mg/ml에서 MIC를 나타내었고, *E. coli*와 *Pseudomonas aeruginosa*와 같은 gram(-)균에 대하여 10 mg/ml, 15 mg/ml에서 MIC를 나타내는 것을 보고한 바 있다. 이와 같은 결과는 Nakamura 등²⁹⁾이 보고한 바와 같이 gram(+)균의 세포벽은 peptidoglycan층이 표면에 노출되어 항균활성 물질의 공격을 받기 쉽지만, gram(-)균은 lipopolysaccharide를 주성분으로 하는 외막이 peptidoglycan층을 보호하는 역할을 하기 때문에 항균활성 물질의 공격이 어려운 것에 기인할 것으로 사료된다.

최소살균농도 결정. 녹차 폴리페놀과 폴리페놀이 첨가된 스킨 및 에센스의 최소살균농도(MBC; minimum bactericidal concentration)를 측정하기 위하여 gram(+) 세균인 *S. aureus*와 gram(-) 세균인 *E. coli* 및 yeast인 *C. albicans*를 사용하여 측정된 결과 Table 5와 같이 나타내었다. 녹차 폴리페놀은 *S.*

*aureus*에 대하여 5,000 ppm, *E. coli*에 대하여 10,000 ppm에서 최소살균농도를 나타내었으며, 폴리페놀을 첨가한 스킨 및 에센스도 같은 농도에서 *S. aureus*와 *E. coli*에 대해 최소살균농도를 나타내었다. 한편 *C. albicans*에 대해서는 최소살균농도를 측정할 수 없었다.

생균수 측정. 생육 저해환, MIC 및 MBC에서 나타난 결과를 토대로 하여 녹차 폴리페놀 및 폴리페놀이 첨가된 스킨 및 에센스의 시간에 따른 생균수를 측정 한 결과 Fig. 5~7과 같이 나타났었다. *S. aureus*에 대하여 시료 농도 1,000 ppm, *E. coli*는 5,000 ppm, *C. albicans*는 10,000 ppm에서 측정된 결과 6시간 뒤부터 생육저해가 나타남을 확인할 수 있었고, *S. aureus*와 *E. coli*의 경우 12시간대에서 대조군과 비교하였을 때 시료 모두 4.63, 4.82의 log cycle의 차이를 나타내었고, *C. albicans*는 12시간대에서 대조군과 비교하였을 때 시료 모두 6.05의 log cycle 감소현상을 나타내어 뚜렷한 성장 억제 효과를 확인할 수 있었다. Oh 등³⁰⁾은 황련의 ethanol추출물의 silica gel column 분획물을 이용하여 *L. monocytogenes*와 *S. aureus*에 대하여 생균수를 측정 결과 1,000 ppm에서 균의 성장을 억제한다고 보

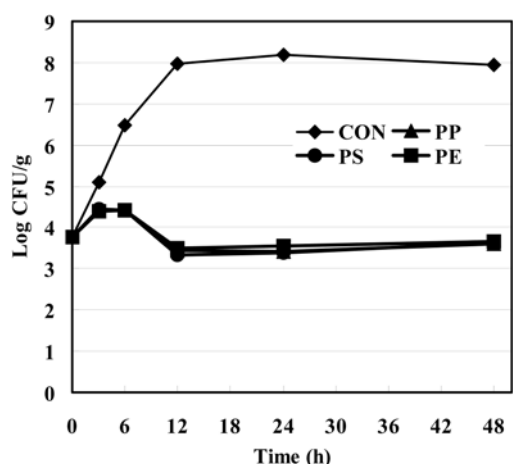


Fig. 5. Growth inhibition of polyphenol isolated from green tea and cosmetics containing polyphenol on the *staphylococcus aureus* at 1,000 ppm. CON: control, PP: polyphenol, PS: polyphenol skin, PE: polyphenol essence.

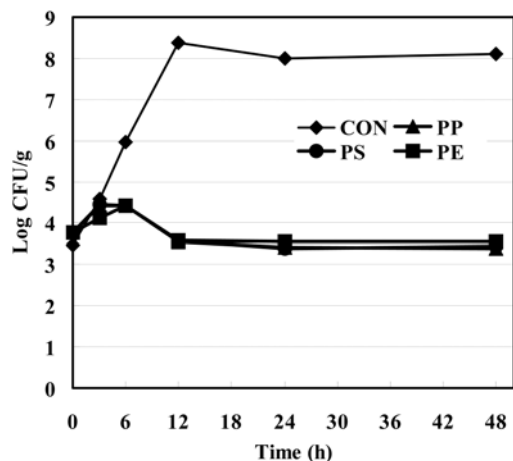


Fig. 6. Growth inhibition of polyphenol isolated from green tea and cosmetics containing polyphenol on the *Escherichia coli* at 5,000 ppm. CON: control, PP: polyphenol, PS: polyphenol skin, PE: polyphenol essence.

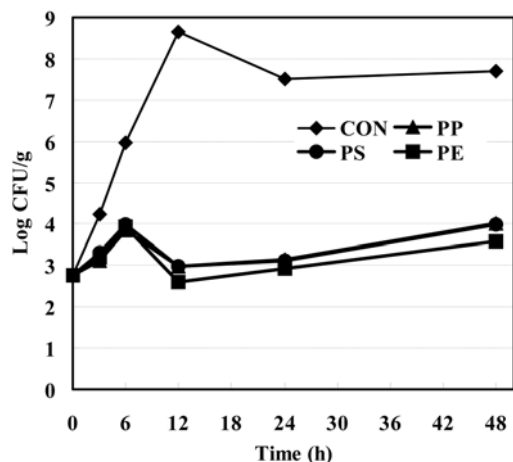


Fig. 7. Growth inhibition of polyphenol isolated from green tea and cosmetics containing polyphenol on the *Candida albicans* at 10,000 ppm. CON: control, PP: polyphenol, PS: polyphenol skin, PE: polyphenol essence.

고하여 녹차 폴리페놀 및 폴리페놀이 첨가된 스킨 및 에센스와 유사한 결과를 나타내었으며, Bae³¹⁾ 등은 물푸레 ethyl acetate 추출물에 gram(+) 세균인 *S. aureus*와 gram(-) 세균인 *shigella dysenteriae*을 72시간 배양하면서 일정시간 간격으로 성장 정도를 측정하고, *S. aureus*와 *S. dysenteriae*에 대하여 4,000 ppm에서 24시간 까지 증식이 억제되고, 그 후부터 급속한 균 증식을 볼 수 있었다.

초 록

방사선 조사한 녹차 폴리페놀을 스킨과 에센스에 첨가하여 방부제를 첨가하지 않았을 때의 항균효과 및 방부효과를 검증하고 무방부제 화장품으로서의 가능성을 검토하였다. 항균력 측정 결과, *C. albicans*를 제외한 모든 균주에서 항균효과가 나타났으며, 피부상재균인 *S. aureus*에서 항균효과가 높게 나타났다. MIC 측정 결과, *E. coli*와 *C. albicans*의 경우 2,500 ppm에서, *S. aureus*의 경우 1,000 ppm에서 저해농도를 나타내었으며, MBC 측정 결과, *C. albicans*를 제외한 모든 균주에서 측정이 가능하였으며, *E. coli*의 경우 10,000 ppm, *S. aureus*의 경우 5,000 ppm에서 모든 균이 사멸하였다. 시간에 따른 생균수 측정 결과, 시간이 지남에 따라 균의 증식을 억제하여 항균력이 뛰어난 것을 알 수 있었다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 녹차 폴리페놀은 스킨과 에센스에 첨가 시 항균효과가 우수하여 화장품 첨가제로 이용이 가능할 것으로 사료된다.

Key words: anti-microbial activity, green tea polyphenol, non-antiseptic cosmetic products

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역산업 중점기술 개발사업의 지원으로 수행 되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Spooner, D. F. (1973) Microbiology training and pharmaceutical production. *Bull Parenter Drug Assoc.* **27**, 257-265.
2. Gonzalez, C. F. and Gryczka, A. J. (1988) Derived nisin producing microorganisms, method of production and use and products obtained thereby: a assigned to Microlife Technics Inc. *Biotechnology Advances.* **6**, 236.
3. Janssens, L., De Pooter, H. L., Schamp, N. M. and Vandamme, E. J. (1992) Production of flavours by microorganisms. *Process Biochem.* **27**, 195-215.
4. Orth, D. S. (1980) Use of parabens as cosmetic preservatives. *Int. J. Dermatol.* **19**, 504-505.
5. Tomita, T., Hitomi, S., Nagase, T., Matsui, H., Matsuse, T., Kimura, S. and Ouchi, Y. (2000) Effect of ions on antibacterial activity of human beta defensin 2. *Microbiol. Immunol.* **44**, 749-754.
6. Walker, J. D. and Colwell, R. R. (1976) Enumeration of petroleum-degrading micro-organisms. *Appl. Environ. Microbiol.*

- 31, 198-207.
7. Scheda, R. and Bos, P. (1996) Hydrocarbons as substrates of yeast. *Nature*. **211**, 660.
 8. Duke, A. M. (1978) Inclusion of antimicrobial agents as preservatives in cosmetic products. *J. Appl. Bacteriol.* **44**, 35-42.
 9. Yook, H. S., Kim, D. H., Jo, C. U., Kim, Y. J. and Byun, M. W. (2003) Radiation Sterilization of Food and Hygienic Products. *Korean J. Food Preserv.* **10**, 584-597.
 10. Cho, Y. J., An, B. J. and Choi, C. (1993) Inhibition effect of against angiotensin converting enzyme of flavan-3-ols isolated Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **25**, 238-242.
 11. Ho, C. T., Chen, Q., Shi, H., Zhang, K. Q. and Rosen, R. T. (1992) Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. *Prev. Med.* **21**, 520-525.
 12. Park, C. O., Jin, S. H. and Ryu, B. H. (1996) Antioxidant activity of green tea extracts toward human low density lipoprotein. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 850-858.
 13. Kim, H. K., Kim, Y. E., Do, J. R., Lee, Y. C. and Lee, B. Y. (1995) Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plant. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 80-85.
 14. Michels, K. B., Holmberg, L., Bergkvist, L. and Wolk, A. (2002) Coffee, tea, and caffeine consumption and breast cancer incidence in a cohort of Swedish women. *Ann. Epidemiol.* **12**, 21-26.
 15. Lee, S. R., Choi, S. I. and Lee, J. H. (1994) Effect of green tea beverage for the removal of cadmium and lead by animal experiment. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 745-749.
 16. Fukai, K., Ishigami, T. and Hara, Y. (1991) Antibacterial activity of tea polyphenols against phytopathogenic bacterial. *Agric. Biol. Chem.* **55**, 1895-1897.
 17. Cao, J. (1995) External test and clinical observation and evaluation of the caries preventive effect of tea. *The 3rd International Symposium on Green Tea, Seoul, Korea.* **28**, 59-63.
 18. Chung, H. Y. and Yokozawa, T. (1995) Studies on antioxidative and antimutagenic mechanism of epicatechin 3-O-gallate isolated from green tea. *The 3rd International Symposium of Green Tea, Seoul, Korea.* **3**, 65-81.
 19. Kim, J. K., Cha, W. S., Park, J. H., Oh, S. L., Cho, Y. J., Chun, S. S. and Choi, C. (1997) Inhibition effect against tyrosinase of condensed tannins from Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 173-177.
 20. Choi, S. H. and Moon, S. H. (1997) Antimutagenic effect of the volatile aroma compounds identified from green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **6**, 83-86.
 21. Choi, S. I., Lee, J. H. and Lee, S. R. (1994) Effect of Green Tea Beverage on the Removal of Cadmium and Lead by Membrane Filtration. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 740-744.
 22. Conner, D. E. and Beuchat, L. R. (1984) Sensitivity of heat-stressed yeasts to essential oils of plants. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**, 229-233.
 23. Park, Y., Lee, D. G., Kim, P. I., Woo, E. R., Cheong, G. W., Choi, C. H. and Hahm, K. S. (2003) A Leu-Lys-rich antimicrobial peptide: activity and mechanism. *Biochem. Biophys. Acta* **1645**, 172-182.
 24. Hindler, J. (1994) Non-traditional approaches for quality control of antimicrobial susceptibility tests. *Adv. Exp. Med. Biol.* **349**, 67-85.
 25. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1993) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 3rd ed. Approved standard M7-A3. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa.
 26. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1994) Performance standards for antimicrobial susceptibility tests. Fifth informational supplement M100S5. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa.
 27. Bae, J. H. (2004) Antimicrobial effect of *Lithospermum erythrorhizon* extracts on the food-borne pathogens. *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**, 823-827.
 28. Lee, S. Y., Hwang, E. J., Kim, G. H., Choi, Y. B., Lim, C. Y., Kim, S. M. (2005) Antifungal and antioxidant activities of extracts from leaves and flower of *Camellia japonica* L. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **13**, 93-100.
 29. Nakamura, S., Kato, A. M. and Kobayashi, K. (1991) New antimicrobial characteristics of lysozyme-dextran conjugate. *J. Agric. Food Chem.* **39**, 647-650.
 30. Oh, D. H., Ham, S. S., Park, B. K., An, C. and Yu, J. Y. (1998) Antimicrobial activities of natural medicinal herbs on the food spoilage or foodborne disease microorganisms. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 957-963.
 31. Bae, J. H. (2004) Antimicrobial effect of *Fraxinus rhynchophylla* extracts on food-borne pathogens. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **32**, 277-281.