

비타민나무 잎 추출물의 항균 활성 및 크림의 안정성

채교영 · 김정은 · 박수남*

서울과학기술대학교 정밀화학과, 화장품종합기술연구소

Received : January 30, 2012 / Revised : February 16, 2012 / Accepted : February 20, 2012

Antibacterial Activity of *Hippophae rhamnoides* Leaf Extract and the Stability of a Cream with the Extract. Chae, Kyo Young, Jung Eun Kim, and Soo Nam Park*. Department of Fine Chemistry, and Cosmetic R&D Center, Seoul National University of Science and Technology, Seoul 139-743, Korea – In this study, we investigated the antibacterial activity and stability of a cream containing *Hippophae rhamnoides* leaf extract. The MIC values of ethyl acetate fraction from an *H. rhamnoides* leaf on *Escherichia coli*, *Pityrosporum ovale*, *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus* were 0.5%, 0.25%, 0.25% and 0.06%, respectively. Stability evaluations, pH, viscosity and absorbance of the cream containing 0.25% ethyl acetate fraction of *H. rhamnoides*, were performed. The cream was measured under 4 different temperature conditions under sunlight at 2-week intervals for 12 weeks. The viscosity and pH were measured by a comparison of the experimental cream with a similar control cream. The *H. rhamnoides* extract was found to have contributed to the stability of the emulsion product via a protective effect in maintaining the viscosity of the cream against sunlight. The absorbance variations of the experimental cream at 270 nm were, under sunlight; 45°C, 37°C, 25°C, and 4°C. In addition, any change in color or smell was not observed through the 12 weeks of the experimental period. These results indicated that the cream containing 0.25% ethyl acetate fraction of *H. rhamnoides* leaf extract was stable. Accordingly, this suggests that further study is needed to provide additional information for manufacturers, who are seeking the application of the extract to improve anti-oxidant and antibacterial activities and the stability of cosmetic products.

Keywords: *Hippophae rhamnoides* leaf, antibacterial activity, stability test, cosmetics

서 론

피부는 항상 외부환경에 노출되어 있어 자연 노화 외에도 자외선에 의한 광노화와 세균, 공해 등의 환경인자에 의해 영향을 받는다. 그 중에서도 얼굴 피부는 직접적인 질병에 노출되어 있어 그렇지 않은 피부보다 노화현상이 쉽게 발생되는데 피부 상재균은 많은 피부질환을 발생시키며 피부 상재균의 종류에는 여드름균, 비듬균 등이 대표적이다[12]. 여드름균은 일반적으로 호르몬과 외부적 영향에 의해 피지가 모낭관 밖으로 배출되지 못하여 피부 모공이 막힌 경우 증식하여 여드름의 원인이 되며[11], 비듬균은 등, 목덜미와 같은 피부에서 이상적으로 증식하여 지루성 피부염을 유발한다[4]. 피부 상재균 외에도 화장품을 변질시키는 세균이 피부에 악영향을 미치므로 이를 사멸하기 위하여 다양한 종류의 방부제나 항균제가 사용되고 있다. 화장품에 이용되는 방부제나 항균제는 필수적이지만 기존에 사용되고 있는 합성

물질들은 피부에 알러지를 유발할 수 있으므로 비교적 인체에 무해한 물질을 사용하는 것이 중요하다[6].

이러한 피부노화를 방지하거나 개선하고자 항산화, 항노화 및 항균 소재를 개발하는 연구들이 활발히 진행되고 있으며 최근에는 친환경적이고 자연 지향적인 추세에 따라 화장품에 사용되는 유효성분들도 식물유래의 천연물을 기반으로 한 기능성 천연 소재 개발 연구가 다양하게 이루어지고 있다. 특히 한방이나 민간요법에서 사용되고 있는 여러 가지 천연 물질들의 항균, 항산화, 미백, 보습 및 피부노화 억제 효과 등이 과학적으로 입증되면서 이들에 대한 연구가 주목 받고 있다[3, 7, 10, 13, 14, 16].

비타민나무는 중국, 몽골 등이 원산지인 보리수과(Elaeagnaceae)에 속하는 낙엽성 관목으로 러시아, 유럽, 캐나다, 중국, 몽골 등에 폭넓게 자생하고 있다. 비타민나무의 열매에는 폴리페놀류(polyphenols), 토코페놀(tocopherols), 카로티노이드(carotenoids), 플라보노이드(flavonoids) 등이 함유되어 뛰어난 항산화 효과를 나타내는 것으로 보고되었으며 피부질환 및 상처, 화상, 염증치료에서도 효과를 확인한 것으로 알려졌다. 잎에서는 quercetin, gallic acid, tannin 등의 생리활성물질이 함유되어 약리효과, 세포독성, 항암 등에

*Corresponding author

Tel: +82-2-970-6451, Fax: +82-2-972-9585

E-mail: snpark@seoultech.ac.kr

효과적인 연구 결과가 보고되었다[1, 5, 8, 9, 17].

본 논문에 앞서 저자들은 비타민나무 잎 추출물의 항산화, 항노화, 세포보호 효과에 대하여 이미 보고한 바 있다 [8]. 보고된 논문에서 비타민나무 잎 추출물 에틸아세테이트 분획물의 free radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 소거활성(FSC₅₀)은 50% 에탄올 추출물이나 당을 제거한 아글리콘 분획물 보다 두 배 정도 높은 라디칼 소거활성이 나타났고 비교물질로 사용된 (+)- α -tocopherol 보다 큰 라디칼 소거활성을 보여주었다. 비타민나무 잎 추출물은 라디칼 소거활성 외에도 총 항산화능 및 활성산소에 대항한 세포 보호 활성이 매우 높게 나타났고 미백활성에도 효과를 나타냈다. 따라서 비타민나무 잎 추출물 에틸아세테이트 분획은 자외선에 노출된 피부에서 항산화제뿐만 아니라 미백화장품의 기능성 화장품원료로서 응용이 가능할 것으로 판단되었다.

본 논문에서는 이와 같은 비타민나무 잎 추출물의 에틸아세테이트 분획을 화장품에 이용할 목적으로 피부 상재균에 대한 항균작용을 조사하였으며 함께 온도별 및 태양광선 노출 조건에서 분획물 함유 크림의 유효 안정성을 평가하기 위하여 pH, 점도, 흡광도의 변화를 측정하여 화장품 소재로서의 가능성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

기기 및 시약

UV-visible spectrophotometer는 Varian (Australia)사의 Cary 50, pH meter는 Istek (Korea), 점도 측정은 Brookfield (DV-E viscometer, USA)사의 기계를 사용하였다. 시료를 보관한 항온조는 JISICO (Korea)사의 J-HR01B를 사용하였으며, 비타민나무 잎 추출 및 크림 제조에 사용한 증류수는 Barnstead, US/NANO PURE(USA)에 통과시킨 것을 사용하였다. pH 표준 용액, 에탄올, 노말렉산, 에틸아세테이트 등 각종 용매는 Dae Jung Chemical & Metals사 제품을 사용하였다. 실험에 사용한 비타민나무 잎은 2010년 강원도 춘천시 동면에서 재배되어 건조시킨 것을 강원 비타민나무 영농조합으로부터 제공받아 사용하였다.

비타민나무 잎의 분획 및 추출

2010년 강원 비타민나무 영농조합으로부터 제공받은 건조된 비타민나무 잎을 사용하여 추출하였다. 비타민나무 잎 100 g을 잘게 자른 후, 50% 에탄올 2 L를 이용하여 일주일 동안 침적시킨 후 여과하였다. 이 중 50% 에탄올 추출물을 감압·농축한 후 노말렉산을 이용하여 지방, 엽록소 등 비극성 성분을 제거하였다. 이후, 에틸아세테이트로 플라보노이드를 추출한 분획을 감압·농축하여 얻은 파우더를 실험에 사용하였다.

항균 활성 측정에 사용한 균주와 배지 및 배양조건

본 실험에 사용된 균주는 여드름의 원인균인 *P. acnes* ATCC6919와 비듬균인 *P. ovale* ATCC12078, 호기성 Gram (+) 균주인 *S. aureus* ATCC6538, 호기성 Gram (-) 균주인 *E. coli* ATCC23736를 한국 미생물 보존센터에서 분양 받아 사용하였다.

*P. acnes*의 배양 배지는 Reinforced clostridial (RC) 배지 (Merck, Germany)를 사용하였으며 4°C에서 보관하면서 실험 72 h 전에 활성화 시켰다. 균을 배양 배지에 접종한 후 anaerobic jar에서 Gaspack system(Merck Anaerocult® Gaspack system, Germany)을 이용하여 밀봉 후 37°C에서 72 h 동안 혐기성 배양하였다. 호기성 균주인 *S. aureus*와 *E. coli*는 Mueller-Hinton 배지 (Merck, Germany)를 사용하였으며 균을 접종한 후 37°C incubator에서 24 h 배양하여 사용하였다. 또한 비듬균인 *P. ovale*는 Pityrosporum 배지(Malt extract agar 6%, ox-bile 2%, tween 40 1%, glycerol mono-oleate 0.25%)를 사용하였으며 균을 접종한 뒤 30°C에서 24 h 동안 배양하여 사용하였다.

최소억제농도 (Minimum inhibitory concentration: MIC)

최소억제농도(MIC)는 한천배지 확산법을 이용하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 각각의 분획물들을 2 mL씩 함유한 배지 20 mL를 petri dish에 주입하였고, 시험균을 평판 배지 위에 0.1 mL 접종하였다. *P. acnes*는 37°C에서 72 h 후, *S. aureus*와 *E. coli*는 37°C에서 24 h 후, *P. ovale*는 30°C에서 24 h 후에 육안으로 관찰하였을 때, 각각의 균들이 증식되지 않는 농도를 MIC로 결정하였다[2].

비타민나무 잎 추출물 함유 크림의 제조

안정성 평가에 사용된 비타민나무 잎 추출물은 높은 항산화 활성을 나타내는 에틸아세테이트 분획물을 사용하였다. 실험에 사용한 크림 처방은 Table 1과 같다. 비타민나무 잎 분획물은 에탄올 : 1,3-부틸렌글리콜 (1 : 4) 용액에 25%가 되도록 stock solution 을 만들고 처방에는 stock solution 1%가 되도록 제조하여 최종 비타민나무 잎 추출물의 에틸아세테이트 분획물이(건고물 기준) 0.25% 함유한 크림을 시험크림(experimental cream)으로 사용하였다. 대조크림(control cream)은 비타민나무 잎 분획물 없이 크림에 에탄올 : 1,3-부틸렌글리콜 (1 : 4) 용액을 1% 되도록 가하여 크림을 제조하였다.

비타민나무 잎 분획물 함유 크림의 안정성 평가 방법

온도에 따른 안정성을 평가하기 위해 4°C, 25°C, 37°C, 45°C 및 태양광(일광조사) 조건으로 시험크림과 대조크림에 따른 안정성을 평가하기 위해 2011년 8월~11월 12주 동안 각 조건에 노출 시켰으며, 태양광에서의 평균 온도는 8월과 9월 23.5°C였으며 10월, 11월에는 13.25°C로 온도변화가 있

Table 1. The experimental formula of the cream containing ethyl acetate fraction of *H. rhamnoides* leaf extracts.

Component	Content (%)	
	Control cream	Experimental cream
D.W	Up to 100	Up to 100
Glycerine	7.0	7.0
1,3-BG	5.0	5.0
Xanthan gum (Keltrol-F)	0.1	0.1
TEA	0.2	0.2
Methyl paraben	0.1	0.1
Ceto-stearyl alcohol (Lanette-o)	2.0	2.0
Stearic acid	1.0	1.0
Glyceryl-stearate/PEG-100 stearate (Alracel #165)	1.5	1.5
Bees wax	1.0	1.0
Glyceryl monostearate (GMS-205)	1.0	1.0
Squalane (Pripure R 3795)	8.0	8.0
Caprylic capric triglyceride	5.0	5.0
Paraffin wax	2.5	2.5
Dimethicone (Si-200/100 CS)	0.3	0.3
EtOH : 1,3-BG (1 : 4)	1.0	1.0
<i>H. rhamnoides</i> leaf Extracts (EtOAc fraction)	-	0.25

었다. 실험기간 동안 2주 간격으로 비타민나무 잎 분획물이 함유된 크림의 pH와 점도, 흡광도를 측정해 물리화학적 특성을 파악하였으며 변취 및 변색을 관찰함으로써 안정성을 종합하였다.

pH 측정법

pH 측정은 온도별 저장 및 태양광선 노출 하에 있는 비타민나무 잎 추출물 함유 크림을 매회 1 g씩 취하여 증류수를 15 mL 채운 후 sonicator로 1 h 동안 sonication 시킨 후 pH를 측정하였다. pH 표준 용액으로 측정 전 pH 보정에 정확성을 기하였고 측정 시 온도를 25±1°C로 유지하였다.

점도 측정법

실험에 사용된 크림은 유동적 점성 액체이므로 T-bar spindle을 이용하여 Brookfield 점도계로 측정하였다. 크림을 일정한 가속도로 회전하는 spindle에 움직이는 크림의 점성 저항 torque값을 측정하여 점도변화를 평가하였다. 본 실험에서는 spindle의 종류와 회전수를 spindle D, 94 rpm으로 15 sec 간격으로 3회 측정하여 평균과 편차 값을 구하였고 온도별로 저장되어 있는 시료의 점도를 측정 시 시료가 보관된 항온조에서 시료를 꺼낸 후 상온에서 3시간 경과 후 시료의 점도가 유동성이 없을 때 수행하였다.

흡광도 측정법

에탄올에 용해시킨 비타민나무 잎 추출물은 270 nm에서

최대 흡수 스펙트럼을 나타낸다. 흡광도 측정 실험은 크림으로부터 매 회 1 g을 취한 후 에탄올로 추출하여 크림 속의 비타민나무 잎 추출물을 추출한 후 여과하여 그 여액의 흡광도를 270 nm에서 측정하였다. 또한 0.25% 비타민나무 잎 추출물이 함유된 에탄올 용액을 만들어 4주 동안 태양광선 하에 보관하면서 크림 속에서의 에탄올 용액 속에서의 비타민나무 잎 추출물의 변화를 흡광도를 통해 측정하여 비교하였다.

관능검사

12주 동안 시료를 다양한 실험조건하에서 보관하면서, 2주 간격으로 크림의 변색 및 변취를 관찰하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복하였으며 통계분석은 5% 유의수준에서 student's t-test를 행하였다.

결과 및 고찰

비타민나무 잎 추출물의 항균 활성

비타민나무 잎 추출물의 피부 상재균에 대한 항균활성을 측정한 결과는 Table 2에 나타내었다. 비타민나무 잎 추출물의 에틸아세테이트 분획에 대한 *E. coli*의 MIC는 0.5%로 화장품에 주로 사용되는 항균제인 methyl paraben (0.13%)과 천연 플라보노이드 성분인 quercetin (0.06%)에 비해서 낮은 항균성이 나타났으며 *P. ovale*에 대해서 MIC 0.25%로 낮은 활성을 보였다. *P. acnes*에 대한 MIC는 0.25%로 methyl paraben (0.25%)과 비교하였을 때는 비슷한 항균력 활성을 나타냈다. 피부염의 핵심 증상인 습진의 주원인으로 작용하는 Gram (+) 균주 *S. aureus*에 대한 비타민나무 잎 추출물의 에틸아세테이트 분획물의 MIC는 0.06%로 methyl paraben (0.25%)과 quercetin (0.15%)보다 약 2배 정도의 높은 항균 활성을 보였다. 결과적으로 비타민나무 잎 추출물은 0.5%에서 *E. coli*, 0.25%에서 *P. ovale* 및 *P. acnes*, 0.06%에서 *S. aureus*에 대한 항균 활성을 확인하였으며 이러한 결과를 통해 합성 항균제를 사용하는 것보다 항피부염에 유효한 소재 및 화장품 개발에 비타민나무 잎 추출물의 응용가능성을 시사한다.

Table 2. Minimum inhibitory concentration (MIC, %) of *H. rhamnoides* leaf extracts fraction against various bacteria.

Strains	<i>H. rhamnoides</i> extract (50 % EtOH)	<i>H. rhamnoides</i> extract (EtOAc fraction)	Methyl paraben	Quercetin
<i>E. coli</i>	-	0.50	0.13	0.06
<i>P. ovale</i>	0.50	0.25	0.13	0.15
<i>P. acnes</i>	0.50	0.25	0.25	0.30
<i>S. aureus</i>	0.13	0.06	0.25	0.15

현재 화장품에는 제품의 변질이나 오염을 예방하기 위해 다양한 종류의 방부제나 항균제가 평균적으로 0.2~0.4% 정도의 농도 범위 내에서 사용되고 있다. 이를 감안하면 비타민나무 잎 추출물이 세가지 균주(*P. ovale*, *P. acnes*, *S. aureus*)에 대하여 항균성을 나타내는 농도(0.25%)에서 천연 방부제, 항균제 및 항산화제로서 역할이 충분히 기대된다.

비타민나무 잎 추출물을 함유한 크림의 저장 온도에 따른 pH 변화

일반적으로 사람의 피부 표면은 pH 4.5~6.5로 약산성과 중성에 맞추어져 있으나 피부가 알칼리성이 되면 저항력이 약해지고 세균의 번식에 의해 피부병이 생기기 쉽다. 따라서 피부에는 중성에서 약산성의 화장품을 사용하는 것이 좋으며 이때 pH의 변화는 크지 않고 안정해야 한다[15]. 이를 확인하기 위하여 본 연구에서는 12주 동안 다양한 온도별 저장과 태양광선 노출에서 시험크림과 대조크림의 pH 변화를 측정함으로 추출물을 함유한 제품의 안정성을 조사하였다(Fig. 1).

대조크림의 초기 pH는 7.61이었고 온도별 저장 조건에서 12주 후 4°C, 25°C, 37°C, 45°C, 태양광선에서 각각의 pH는 7.58, 7.69, 7.28, 6.24, 7.33를 확인하였다. 따라서 대조크림의 pH는 25°C범위에서만 0.08 증가하고 나머지 조건에서는 모두 감소하였으며 그 중 45°C에 보관한 크림에서 가장 큰 감소폭을 보였다.

시험크림의 초기 pH는 7.22 이었고 4°C, 25°C, 37°C, 45°C, 태양광선에서 12주 후 각각의 pH가 7.14, 6.99, 6.70, 5.88, 6.49로 측정되었다. 시험크림의 pH는 모든 조건에서 감소하였지만 4°C에서 pH 변화가 적은 것으로 보아 가장 안정했으며 45°C에서 pH가 1.34 감소하여 가장 큰 변화를 확인하였다. 하지만 이러한 결과는 대조크림과 비교하여 비슷한 pH 변화를 나타낸 것으로 보아 비타민나무 잎 추출물에 의한 크림 제형의 변화로 보기는 힘든 것으로 판단된다.

결과적으로 비타민나무 잎의 에틸아세테이트 추출물을 함

유한 크림은 화장품으로의 이용이 가능한 것으로 사료된다.

비타민나무 잎 추출물을 함유한 크림의 저장 온도에 따른 점도 변화

화장품은 직접 또는 간접적으로 태양광선이나 주위환경의 온도에 의해 물리·화학적으로 품질의 특성이 변할 가능성이 있으므로 이를 파악하기 위해 점도를 이용한 안정성 실험을 실시하였다(Fig. 2).

시험크림의 초기 점도는 4,704 cP로 대조크림 보다 2,096 cP 낮았다. 4°C에서 비교크림의 점도는 대조크림과 비슷한 경향으로 4주 동안 일정하였으나 6주 후 증가하여 12주 후엔 최종적으로 534 cP 증가하여 대조크림이 120 cP 증가한 것 보다 약 4.5배 정도 증가하였다. 25°C에 보관된 시험크림은 전체적으로 대조크림과 비슷한 경향성을 나타내었지만 12주 후엔 대조 제형이 574 cP 감소한 것에 비해 시험크림은 248 cP 증가하였다. 37°C, 45°C에서 시험크림은 대조크림과 비슷하게 점도가 감소하였지만 시험크림의 감소 폭은 더욱 적었다.

따라서 비타민나무 잎 추출물을 함유한 시험크림은 4°C, 25°C, 37°C, 45°C 에서 대조크림과 비슷한 경향성을 확인하였으며 12주 후 대조크림 보다 적은 폭의 점도 변화를 확인하였다.

태양광선에서 시험크림의 점도는 초기 점도보다 1160 cP 증가하였고 대조크림이 1817 cP 감소하여 서로 상반되는 경향을 나타냈다. 이것은 태양광선에 의해 크림에서 점도에 영향을 미치는 성분들의 물리·화학적 변화에 기인된 것으로 사료된다. 그러나 시험크림의 점도가 상승한 것은 크림에서 비타민나무 추출물이 제품을 안정화시키는 역할을 하는 것으로 보인다.

결과적으로 온도별 조건에서 비타민나무 추출물에 의한 점도변화는 발생하지 않았고 태양광선 존재 하에서 비타민나무 잎은 점도를 계속 유지시켜 제품을 안전화시키는데 기여한 것으로 판단된다.

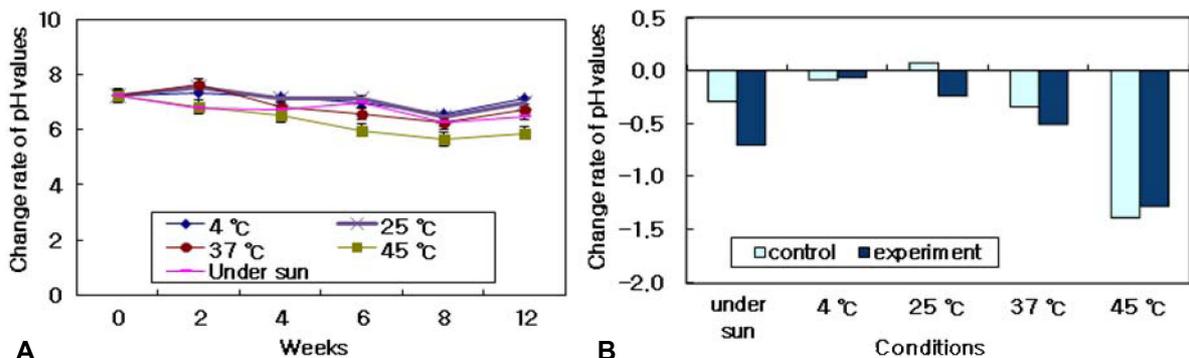


Fig. 1. pH value of *H. rhamnoides* cream. (A) pH value changes of sample (containing 0.25% *H. rhamnoides* ethyl acetate fraction) and control cream stored at 4°C, 25°C, 37°C, 45°C, under sun. (B) pH variations of cream stored at various temperatures and under the sun after 12 weeks.

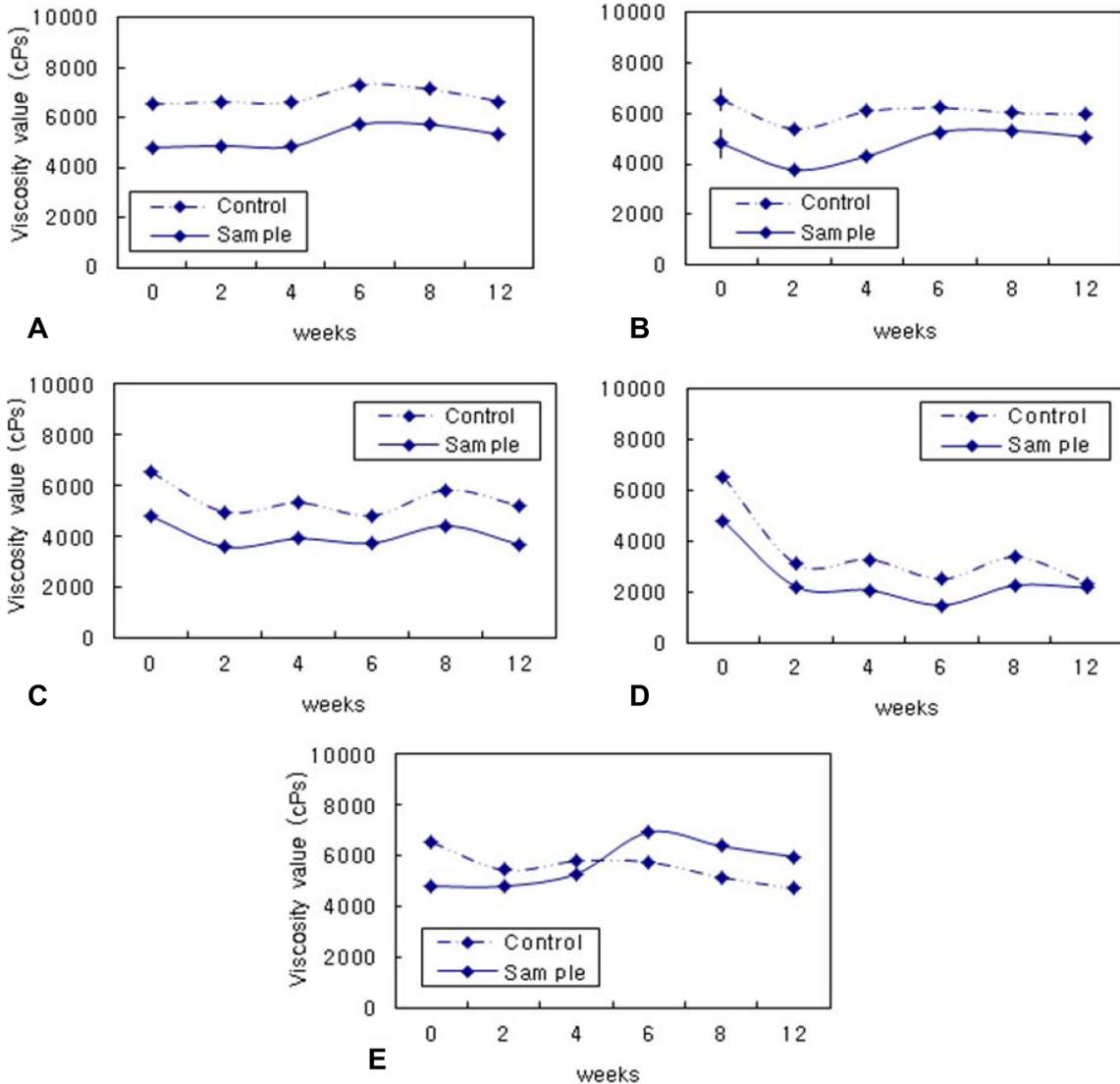


Fig. 2. Variation of viscosity under various conditions (A: 4°C, B: 25°C, C: 37°C, D: 45°C, E: under the sun) of ethyl acetate fraction from *H. rhamnoides* leaf extract.

흡광도 변화

에탄올에 함유된 0.25% 비타민나무 잎 추출물의 흡광도 변화: 0.25% 비타민나무 잎 추출물을 에탄올에 용해시킨 용액을 태양광선에 4주 동안 노출시킨 후 최대 파장인 270 nm에서 흡광도를 측정된 결과, 흡광도가 0.941에서 4주 후 0.538로 약 43% 가량 감소하였다(Fig. 3). 크림보다 에탄올에 용해된 비타민나무 잎 추출물은 직접적으로 태양광선을 흡수할 수 있기 때문에 비타민나무 잎 추출물의 성분이 파괴되어 흡광도가 크게 감소한 것으로 보여진다.

비타민나무 잎 추출물을 함유한 크림의 흡광도 변화: 시험크림과 대조크림을 에탄올로 추출하여 크림 속에서 추출물의 안정성을 흡광도 변화로 측정하였다(Fig. 4).

온도별 저장 조건에서 시험크림의 초기 흡광도는 0.709이었고, 12주 후 태양광선, 4°C, 25°C, 37°C, 45°C에서 0.443,

0.665, 0.676, 0.549, 0.514로 측정되어 변화폭은 태양광선 > 45°C > 37°C > 25°C > 4°C 순으로 나타났다. 태양광선에 노출시킨 시험크림의 경우 직접적인 태양광선과 날씨로 인한 영향 때문에 온도의 영향만 받은 다른 시험크림에 비해 추출물의 산화가 빠르게 일어난 것으로 생각된다. 이것은 에탄올 용액 속의 0.25% 비타민나무 잎 추출물의 흡광도가 태양광선에서 약 43% 감소한 것에 비해 시험크림의 흡광도가 약 5~37% 감소한 것으로 보아 비타민나무 잎 추출물이 안정한 상태로 유지되는 것으로 사료된다.

관능검사

비교크림의 온도별 저장 조건에 따른 안정성을 평가하기 위하여 육안으로 층분리 및 응집 여부, 변색 및 변취 등을 검토하였다. 12주 동안 각 저장 조건(4°C, 25°C, 37°C,

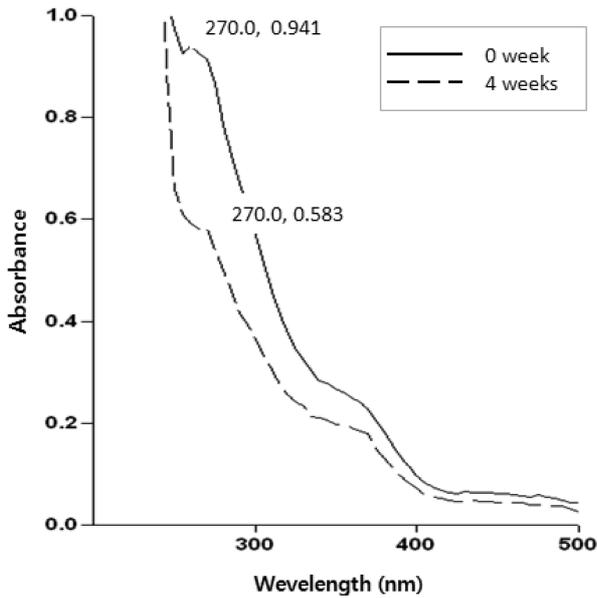


Fig. 3. Variation in absorbance of ethyl acetate fraction from *H. rhamnooides* leaf extract after 4 weeks.

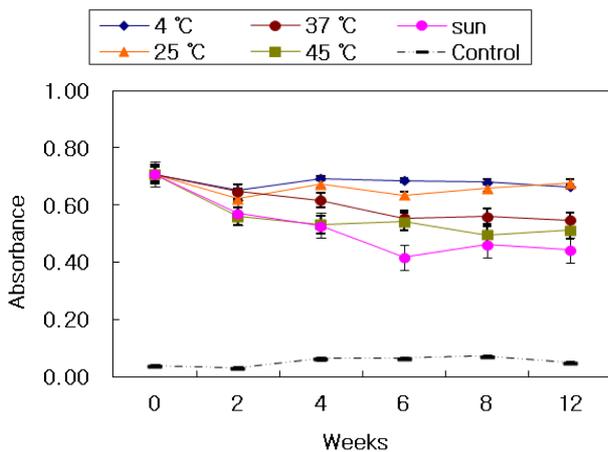


Fig. 4. The cream was measured under 4 different temperature conditions (4, 25, 37, 45°C) and under the sun light at 2 week intervals for 12 weeks. Variation in absorbance of experimental cream and control cream at 270 nm. Each value represents the mean ± S.D. (n = 6).

45°C 및 태양광선)에서 보관한 크림을 관찰한 결과 크림링이나 응집, 합일과 같은 분리 현상이 관찰되지 않았으며, 산화에 의한 특이취도 관찰되지 않았다.

요 약

비타민나무 잎 추출물 에틸아세테이트 분획물의 항균활성(MIC)을 측정한 결과 피부염의 원인인 *S. aureus*에서 0.06%로 methyl paraben(MP)의 0.25% 및 quercetin의 0.15%와 비교하여 큰 항균활성을 나타내었으며, 여드름균인 *P. acnes*는 0.25%로 MP의 0.25% 및 quercetin 0.30%와 비슷한 항

여드름균 활성을 나타내었다.

0.25% 비타민나무 잎 추출물을 함유한 크림의 12주 동안 온도별 저장(4°C, 25°C, 37°C, 45°C) 및 태양광선 노출에서 pH 결과는 0.08, 0.23, 0.52, 1.34, 0.70 감소하여 안정적인 순서는 4°C > 25°C > 37°C > 태양광선 > 45°C로 측정되었다.

온도별 저장 조건에서 비교크림의 점도는 초기 점도보다 2,096 cP 낮은 값이었지만 저장 기간동안 점도의 변화가 대조크림의 변화보다 적은 감소폭을 나타내었으며 태양광선에 노출시킨 크림의 영향을 제외하고는 모두 대조크림과 비슷한 경향성을 나타내었다. 태양광선에서 대조크림의 점도가 감소하는 것과 비교해서 비교크림 점도의 증가는 비타민나무 잎 추출물이 태양광선에 대항하는 보호제로 크림의 점도를 유지시켜 제품을 안정화시키는데 기여한 것으로 사료된다.

비타민나무 잎 추출물의 에틸아세테이트 분획물을 에탄올에 용해시켜 4주 동안 저장 하였을 때 비타민나무 잎 추출물의 최대 흡수파장인 270 nm에서 관찰시 초기 흡광도에 비해 약 43% 감소하였고, 비교크림을 온도별로 저장하였을 때는 4°C, 25°C에서 흡광도 변화는 각각 6%, 5%로 거의 변화가 없었다고 보여지며 37°C, 45°C, 태양광선에 저장한 비교크림은 22%, 27%, 37% 감소하였다.

크리밍이나 응집, 합일과 같은 분리 현상이나 산화에 의한 특이취도 관찰되지 않았다.

이러한 결과들로부터, 비타민나무 잎의 에틸아세테이트 분획물은 0.25%에서 *P. ovale*, *P. acnes*, *S. aureus*에 대한 항균활성 나타내며 이에 따른 결과를 참고하여 비타민나무 잎 추출물을 0.25% 함유한 크림은 비교적 안정함을 확인하였다. 향후 제품에 응용 시 사전 연구에서[8] 나타난 항산화 및 미백과 주름개선에 대한 효과를 발휘할 수 있도록 보완 연구가 이루어 진다면 화장품의 제품화가 가능할 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Chauhan, S., P. S. Negi, and R. S. Ramteke. 2007. Antioxidant and antibacterial activities of aqueous extract of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seeds. *Fitoterapia*. **78**: 590-592.
2. Choi, Y. H., S. G. Chae, J. H. Kim, S. J. Gang, N. I. Baeg, and J. T. Han. 2003. Isolation of an Antifungal compound from aerial parts of *Platycarya strobilacea*. *J. Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **46**: 268-270.
3. Choi, S. J., S. Y. Kim, Y. J. Jeong, C. S. Ku, Buonghip Ha, and H. J. Chae. 2011. Stability Evaluation of the Cosmetics Containing Lotus Leaf Extract. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **26**: 83-86
4. Gemmer, C. M., Y. M. DeAngelis, B. Theelen, T. Boekhour, and T. L. Dawson. 2002. Fast, non-invasive method for molecular detection and differentiation of *Malassezia* yeast

- species on human skin and application of the method to dandruff microbiology. *J. Clin. Microbiol.* **40**: 3350-3357
5. Geetha, S., M. SaiRam, V. Singh, G. Ilavazhagan, and R. C. Sawhney. 2002. Antioxidant and immunomodulatory properties of seabuckthorn an in-vitro study. *J. Ethnopharmacology.* **79**: 373-378.
 6. Ha, Y. M., B. B. Lee, H. J. Bae, K. M. Je, S. R. Kim, J. S. Choi, and I. S. Choi. 2009. Anti-microbial activity of grapefruit seed extract and processed sulfur solution against human skin pathogens. *J. Life Science,* **19**: 956-962.
 7. Kim, J. Y. and S. N. Park, 2008. Anti-oxidative activities of *Castanea crenata* leaf extract fractions and application on cosmetics (I). *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.* **34**: 259-268.
 8. Kim, J. E., K. Y. Chae, and S. N. Park. Antioxidative and inhibitory activity on tyrosinase of *Hippophae rhamnoides* Leaf extracts. *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.* **37**: 265-273.
 9. Kim, K. M., M. H. Park, K. H. Kim, S. H. Im, Y. H. Park, and Y. N. Kim. 2009. Analysis of chemical composition and in vitro anti-oxidant properties of extracts from sea buckthor. *J. Appl. Boil. Chem.* **52**: 58-64.
 10. Lee, S. H. and J. S. Lee. 2007. Antidandruff compound from *Chrysanthemum zawadskii*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **35**: 220-225.
 11. Miyazawa, M. and N. Tamur. 2007. Inhibitory compound of tyrosinase activity from the sprout of *Polygonum hydropiper* L.(Benitade). *Biol. Pharm. Bull.* **30**: 595-597.
 12. Peng, Z. F., D. Strack, A. Baumert, R. Subramaniam, N. K. Coh, T. F. Chia, S. N. Tan, and L. S. Chia. 2003. Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L. *Phytochemistry.* **62**: 219-228
 13. Park, S. N. 2003. Protective effect of isoflavone, genistein from soybean on singlet oxygen induced photohemolysis of human erythrocytes. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **35**: 510-518.
 14. Park, S. N. 2003. Antioxidative properties of baicalein, component from *Scutellaria baicalensis* G. and its application to cosmetics (I). *J. Kor. Ind. Eng. Chem.* **14**: 657-666.
 15. Wilkinson, J. B. and R. J. Moore. 1982. Harry's cosmetology. Chemical Publishing Co., Inc, New York. 749.
 16. Yang, H. J. and S. N. Park. 2008. Component analysis of *Suaeda asparagoides* extracts. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea.* **34**: 157-165.
 17. Yang, B., K. Kalimo, R. Tahvonen, L. Mattila, J. Katajisto, and S. Kallio. 2000. Effect of dietary supplementation with sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) seed and pulp oils on the fatty acid composition of skin glycerophospholipids of patients with atopic dermatitis. *J. Nutr Biochem.* **11**: 338-340.