

참가시나무 추출물의 항균 활성 및 크림 안정성 평가

구현아, 김해수, 박수남*

서울과학기술대학교 정밀화학과 나노바이오화학제품연구실, 화장품종합기술연구소

Received: February 5, 2014 / Revised: March 12, 2014 / Accepted: March 12, 2014

Antibacterial Activity and Cream Stability of *Quercus salicina* Blume Extract

Hyun A Gu, Hae Soo Kim, and Soo Nam Park*

Department of Fine Chemistry, Nanobiocosmetic Laboratory, and Cosmetic R&D Center, Seoul National University of Science and Technology, Seoul 139-743, Republic of Korea

The antibacterial effect of *Quercus salicina* Blume extract was investigated and then the stability of a cream containing its best performing fraction, the ethyl acetate fraction, was evaluated. The antibacterial effect was evaluated on the skin microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Propionibacterium acnes*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Among the *Q. salicina* Blume extract fractions, the ethyl acetate fraction demonstrated the lowest minimum inhibitory concentration against *S. aureus* (1,200 µg/ml), *B. subtilis* (2,500 µg/ml), *P. acnes* (1,200 µg/ml) and *P. aeruginosa* (312 µg/ml). Therefore, a cream containing 0.25% ethyl acetate fraction of *Q. salicina* Blume extract was prepared and evaluated for stability. The pH, viscosity, and absorbance of the cream were measured under various temperatures (4, 20, 37, 45°C) and sun light during a 12 week period. The changes in viscosity, absorbance and pH of the cream did not change significantly during the term of the experiment when compared with a placebo cream. In addition, any change in color or odor of the cream was not observed during the 12 weeks. These results indicate that the ethyl acetate fraction of *Q. salicina* Blume extract has a high antibacterial effect and is stable as a cream. There is therefore some potential for its use in cosmetic materials.

Keywords: *Quercus salicina* Blume, antibacterial activity, stability, cosmetic

서론

피부는 자외선, 미생물, 공해와 같은 다양한 환경적 요인에 항상 노출되어 있다. 특히, 자외선은 피부에 활성 산소종(reactive oxygen species)을 발생시키며 피부의 항산화 방어막인 효소적 항산화제와 비효소적 항산화제를 파괴시킨다. 결과적으로 산화적 스트레스에 의한 세포손상이 야기되어 피부노화가 가속화된다고 보고되었다[1, 8, 9, 15]. 또한, 피부에 존재하는 피부 상재균은 피부질환을 발생시키고 화장품을 오염시키는 등의 악영향을 초래한다고 보고되었다[8]. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Propionibacterium acnes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* 등이 대표적인 피부 상재균이다. 이중 혐기성

피부 상재균인 *P. acnes*는 모낭내에 상주하며, 지질분해 효소인 lipase를 분비하여 피지의 주성분인 중성지방을 유리 지방산으로 분해하고 염증 부위를 더욱 확장시켜 여드름을 유발한다고 알려져 있다[6]. 또한, 호기성 피부 상재균은 염증의 일차적 원인은 아니지만, 염증 발생 부위를 더욱 확장시켜, 여드름이 악화되는데 영향을 주는 것으로 밝혀져 있다[4]. 따라서, 화장품 분야에서는 이를 막기 위해 paraben류의 방부제가 사용되고 있다. 그러나 최근 paraben류의 안전성 문제가 제기되면서 이를 대체할 수 있는 천연 방부제 연구가 활발히 진행되고 있다[2].

참가시나무(*Quercus salicina* Blume)는 참나무과에 속하는 상록의 작은 교목으로 일본과 우리나라 제주도, 울릉도 및 남쪽 섬에 분포한다. *Quercus* 종은 민간에서 설사, 피부염, 출혈 치료 등에 사용되고 있으며 이 중 참가시나무는 이노제, 항염제, 결석 치료제로 사용되어 왔다. 참가시나무의 주요 성분으로는 tannin, methyl galate, quercetin, galic acid, ellagic acid 등이 보고되어 있다[7, 14, 15].

*Corresponding author

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

E-mail: snpark@seoultech.ac.kr

© 2014, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

본 논문에 앞서 저자들은 참가시나무 향산화, 활성성분 분석에 대하여 이미 보고한 바 있다[12]. 보고된 논문에서 참가시나무 에틸아세테이트 분획(9.28 µg/ml)과 아글리콘 분획(8.25 µg/ml)의 free radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 소거활성(FSC₅₀)은 비교물질로 사용된 (+)-α-tocopherol(8.98 µg/ml)과 비슷한 활성을 보여주었다. 참가시나무 추출물은 라디칼 소거활성 외에도 총 향산화능 및 활성산소에 대한 세포보호 활성이 매우 높게 나타났고 미백활성에도 효과를 나타냈다. 따라서 본 논문에서는 참가시나무 추출물의 항균 활성 및 참가시나무 추출물을 함유한 크림 안정성을 평가하여 화장품 소재로서 참가시나무 추출물의 활용가능성을 확인하고자 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 JHP01B를 사용하였으며, 참가시나무 추출 및 크림 제조에 사용한 증류수는 Barnstead, US/NANO PURE (USA)에 통과시킨 것을 사용하였다. pH 표준용액은 Dae Jung Chemical & Metals사 제품을 사용하였고, 에탄올(EtOH), 에틸아세테이트(EtOAc) 등 각종 용매는 특급시약을 사용하였다. 실험에 사용한 건조된 참가시나무는 2010년 9월 경동시장에서 구입하여 사용하였다.

참가시나무 추출물제조

건조된 참가시나무 100 g을 잘게 자른 후 50% 에탄올 2 L를 이용하여 하루 동안 침적시킨 후 여과하였다. 이 여액을 감압 건조하여 파우더를 얻고 이를 실험에 사용하였다. 또한 50% 에탄올 추출물은 감압 농축한 후 hexane을 이용하여 엽록소 등의 비극성 성분을 제거하였고, 이후 에틸아세테이트로 분획 후 감압·농축하여 파우더를 얻었다. 에틸아세테이트 분획에서 얻은 파우더 일부는 산 가수분해 반응을 통하여 당 제거 후 아글리콘 파우더를 얻어 실험에 사용하였다[19].

항균 활성 측정에 사용한 균주와 배지 및 배양조건

사용균주: 본 실험에 사용된 균주는 피부상재균인, Gram (+) 균주 3종, Gram (-) 균주 2종으로 총 5종이다. 혐기성 Gram (+)으로 여드름의 원인균인 *P. acnes* (ATCC6919), 호기성 Gram (+)으로 *S. aureus* (ATCC6538), *B. subtilis* (ATCC19659), 호기성 Gram (-)으로 *E. coli* (ATCC23736),

P. aeruginosa (ATCC29336)를 한국 미생물 보존센터(KCCM)에서 분양받아 사용하였다.

배지 및 배양조건: *P. acnes*의 배양배지는 reinforced clostridial(RC) 배지(Merck, Germany)를 사용하였으며 anaerobic jar에서 gaspack system (Merck Anaerocult® Gaspack system, Germany)을 사용하였고 밀봉 상태로 37°C에서 72시간 동안 혐기성 배양하였다. 호기성 Gram (+) 균주인 *S. aureus*, *B. subtilis*와 Gram (-) 균주인 *E. coli*, *P. aeruginosa*는 Mueller-Hinton 배지(Merck, Germany)를 사용하였으며 균을 접종한 후 37°C 항온조에서 24시간 배양하였다.

Disc diffusion assay에 의한 항균활성 측정

각 추출물의 항균활성은 각 균주를 대상으로 disc diffusion assay로 측정하였다. 배양된 균주는 1×10^7 CFU/ml로 조절한 후 본 실험에 사용하였다. 평판배지에 배양된 각 균주를 멸균 면봉을 이용하여 100 µl씩 도말하여 준비하였고, 시료를 disc 당 0.63, 1.25, 2.50 mg이 되도록 paper disc (지름 8 mm, Roshikaisha, Ltd., Tokyo, Japan)에 천천히 흡수시킨 뒤, 건조과정을 거쳐 용매를 휘발시켰다. 각각의 시료가 흡수된 paper disc를 도말한 평판배지 위에 밀착시킨 상태로 배양한 후 disc 주변에 생성된 저해환(clear zone, mm)을 측정하여 항균활성을 비교하였다.

최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 측정

Paper disc 실험을 통해서 강력한 항균력을 나타낸 참가시나무 추출물에 대한 정확한 최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 조사하기 위하여 agar-dilution method를 사용하여 수행되었다[2]. 각각의 균주는 1×10^7 CFU/ml로 조절한 후 본 실험에 사용하였다. 참가시나무 분획물과 대조균으로써 화장품에 방부제로 사용되는 methyl paraben을 DMSO를 사용하여 2배 희석법을 이용하여 농도를 희석하였다. 그 후에 샘플을 1 ml씩 함유한 배지 10 ml를 petri dish에 주입하였고, 시험균을 평판배지 위에 100 µl씩 도말하여 배양하였다. 육안으로 관찰하였을 때, 각각의 균들이 증식되지 않는 농도를 MIC로 결정하였다.

참가시나무 추출물 함유 크림의 제조

안정성 평가에 사용된 참가시나무 추출물은 높은 향산화 및 항균 활성을 나타낸 에틸아세테이트 분획을 사용하였다[12]. 참가시나무 추출물은 stock solution (ethanol : 1,3-butylene glycol (1 : 4)) 용액에 25%가 되도록 만들고 처방에는 이 용액이 1.0%가 되도록 가하여 최종 참가시나무 추

출물 0.25%를 함유(고형분기준)한 크림을 제조하여 시험군으로 사용하였다. 비교군(control)은 참가시나무 추출물 없이 동일 양의 stock solution만을 1.0% 첨가하여 크림을 제조하였다.

참가시나무 추출물 함유 크림의 안정성 평가실험

2월-4월에 걸쳐 12주 동안 다양한 온도(4, 20, 37, 45°C)와 태양광선 하에서 참가시나무 추출물을 함유한 크림의 물리·화학적 특성을(pH, 점도, 흡광도, 분리 침전형성) 파악하였고 변취 및 변색을 관찰함으로써 안정성을 종합적으로 평가하였다. 초기부터 8주까지는 2주 간격, 8주에서 12주까지는 4주 간격으로 크림의 점도와 크림 속 참가시나무 추출물의 pH, 흡광도를 측정하였다.

pH 측정법: pH 측정은 온도별 저장 및 태양광선 노출 하에 있는 참가시나무 추출물 함유 크림을 매회 1g을 취하여 증류수로 15 ml 채운 후 sonicator로 1시간 동안 추출시킨 후 pH를 측정하였다. 측정 시 온도는 25 ± 1°C로 유지하였다.

점도 측정법: 실험에 사용된 크림은 유동성 점성 액체이므로 일정한 가속도로 회전하는 spindle에 움직이는 크림의 점성저항 torque 값을 측정하여 확인하였다 (Brookfield). 온도 별로 저장되어 있는 크림은 항온조에서 꺼낸 뒤 3시간 후에 측정하였다. 본 실험에서 사용한 spindle의 종류와 회전수는 spindle D, 94 rpm이며 각 실험은 15초 간격으로 5번 측정 후 평균과 편차값을 구하였다.

흡광도 측정법: 에탄올에 용해시킨 참가시나무 추출물은 270 nm에서 최대 흡수스펙트럼을 나타낸다(Fig. 2). 크림은 매 회 1g을 취하여 에탄올 5 ml을 첨가 하고 sonicator로 1시간 동안 추출하였다. 추출한 크림 속 참가시나무 추출물은 여과 후 흡광도를 측정하였다. 또한 크림 속에서의 에탄올 용액 속에서의 참가시나무 추출물의 흡광도 변화를 비교하기 위해 0.25% 참가시나무 추출물이 함유된 에탄올

용액을 태양광선 하에서 4주간 보관하였다.

변색 및 변취 관찰: 여러 조건하에 있는 참가시나무 추출물 함유 크림 및 함유하지 않은 크림은 4주간 변색 및 변취 여부를 육안으로 관찰하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복하였고, 통계 분석은 5% 유의 수준에서 student's *t*-test를 행하였다.

결과 및 고찰

참가시나무 추출물의 항균활성

Disc diffusion assay에 의한 항균활성: 참가시나무 추출물에 대한 항균활성은 *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. acnes*와 같은 3종의 Gram (+) 세균과 *E. coli*, *P. aeruginosa*와 같은 2종의 Gram (-) 세균으로 구성된 5종의 피부상재균을 disc 확산법으로 확인하였다(Table 1). 참가시나무 추출물의 세가지 분획은 공통적으로 Gram (-) 세균인 *E. coli*에서는 항균 활성이 떨어지는 반면에 *P. aeruginosa*균에서는 가장 높은 항균활성을 나타내었다. 그러나 Gram (+) 세균인 *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. acnes*에서는 각기 다른 항균활성을 나타내었다. 참가시나무 추출물의 세가지 분획 중 50% 에탄올 추출물은 고농도인 1.25 mg/disc, 2.50 mg/disc에서만 높은 항균활성을 나타내었고 아글리콘 분획은 *P. acnes* 균에는 항균활성이 없지만 *S. aureus*, *B. subtilis* 균에서는 낮은 농도인 0.63 mg/disc에서도 항균 활성을 보였다. 전체적으로 에틸아세테이트 분획이 세가지 균 모두에서 높은 항균활성을 나타내었으며 이는 화장품에 방부제로 사용되고 있는 methyl paraben보다 높은 것을 확인하였다.

최소저해농도(MIC): Disc diffusion assay의 결과를 바탕으로 참가시나무 추출물의 높은 항균활성을 나타내었던

Table 1. Antibacterial activities of *Q. salicina* Blume extract against various bacteria.

Bacterial strains	Size of clear zone (diameter, mm)												
	Control conc. (mg/disc)			Fraction conc. (mg/disc)									
	DMSO	Methyl paraben		Extract			Ethyl acetate			Aglycone			
	0.63	1.25	2.5	0.63	1.25	2.5	0.63	1.25	2.5	0.63	1.25	2.5	
Gram positive bacteria													
<i>P. acnes</i>	- ^a	-	-	6	-	2.5	4	1	2	4	-	-	-
<i>S. aureus</i>	-	-	-	4	-	4.3	7.3	4.3	7	10.2	0.7	3.3	6.3
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	3	1.1	1.7	2.5	3.5	4.8	6	0.6	1.8	3.2
Gram negative bacteria													
<i>E. coli</i>	-	2	6	10	-	-	-	-	-	4.3	-	-	1
<i>P. aeruginosa</i>	-	2	6.3	10	4.3	7	8.5	9	11.8	13.3	3.3	5.7	7.7

^aNO inhibition.

Table 2. Minimum inhibitory concentration (MIC) of *Q. salicina* Blume extract against various bacteria.

Strain	MIC (mg/ml)				
	Control		Extract	Ethyl acetate	Aglycone
	DMSO	Methyl paraben			
<i>P. acne</i>	- ^a	2,500	2,500	2,500	-
<i>S. aureus</i>	-	1,250	12,500	1,250	1,250
<i>B. subtilis</i>	-	2,500	6,250	1,250	625
<i>P. aeruginosa</i>	-	2,500	78	312	312

^aNO inhibition.

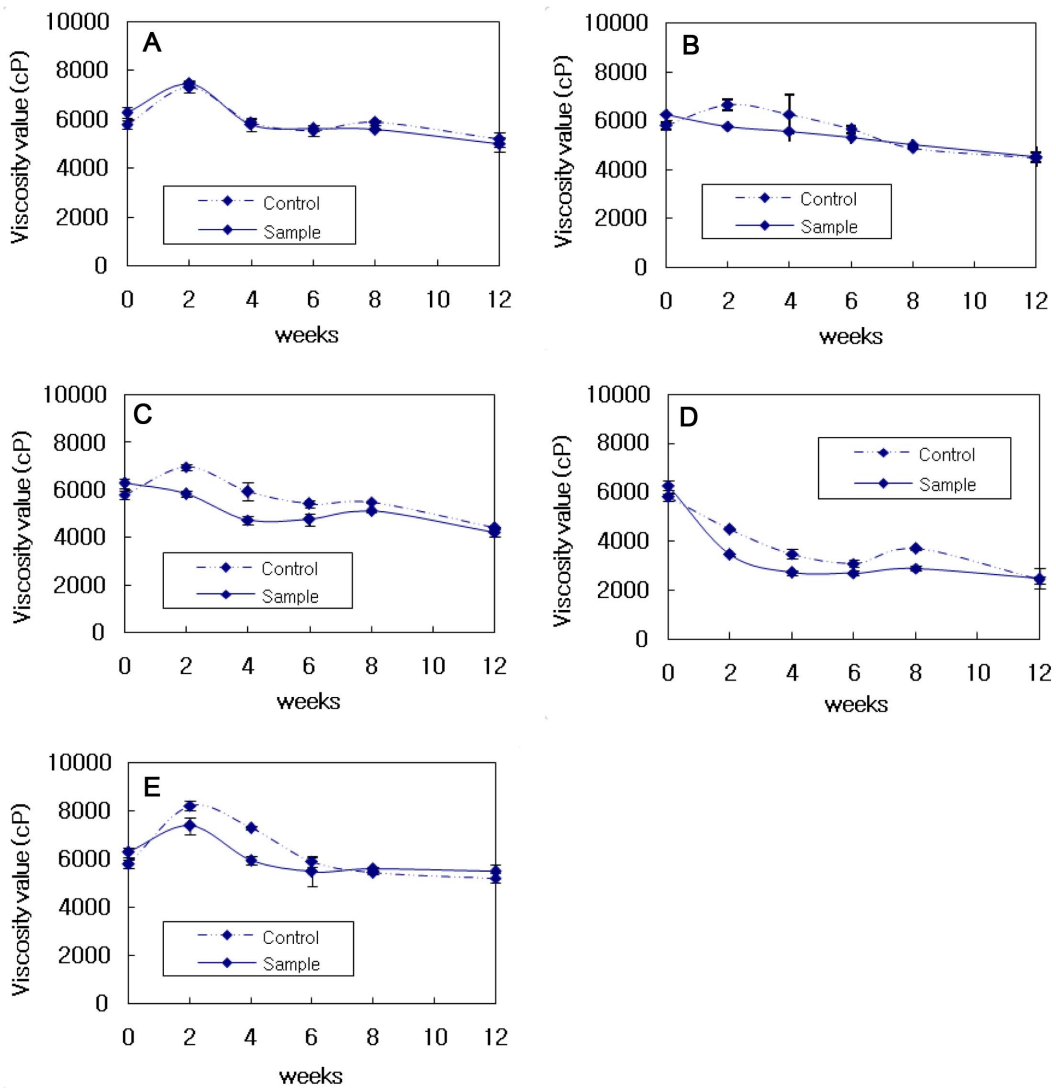


Fig. 1. Changes of viscosity under various conditions for 12 weeks. (A) 4°C, (B) 25°C, (C) 37°C, (D) 45°C, (E) under sun.

Gram (+) 세균인 *P. acnes*, *S. aureus*, *B. subtilis*와 Gram (-) 세균인 *P. aeruginosa* 총 4가지 균주를 바탕으로 최소저해농도를 측정하였다(Table 2). 비교균인 methyl

paraben의 최소저해농도가 Gram (+)인 *S. aureus* (1,250 µg/ml), *P. acne* (2,500 µg/ml), *B. subtilis* (2,500 µg/ml) 이었고 Gram (-)인 *P. aeruginosa* (2,500 µg/ml)이었다.

참가시나무 에틸아세테이트 분획은 Gram (+) 세균에서 최소저해농도는 *S. aureus* (1,250 µg/ml), *P. acne* (2,500 µg/ml), *B. subtilis* (1,250 µg/ml)이었고, 특히 Gram (-) 세균인 *P. aeruginosa* (312 µg/ml)에서 비교군인 methyl paraben (2,500 µg/ml) 보다 8배 높은 최소저해농도를 나타내었다. 실험 결과 참가시나무 에틸아세테이트 분획이 높은 항균 활성을 나타내었고 2,500 µg/ml이 네가지 균 모두에 대한 최소저해농도 임을 확인하였다.

참가시나무 추출물 함유 크림의 안정성 평가

pH 변화: 참가시나무 추출물의 항균 활성 측정 결과 세 가지 분획물 중 에틸아세테이트 분획이 가장 효능이 좋은 것을 확인하였다. 따라서 최소저해농도 측정 결과 참가시나무 에틸아세테이트 분획물이 2,500 µg/ml에서 4가지 균 모두에 대한 항균 활성을 보였으므로 0.25% 참가시나무 추출물을 함유한 크림을 제조하여 안정성을 평가하였다. 제조한 크림은 12주 동안 다양한 온도(4, 20, 37, 45°C) 조건과 태양광 아래에서 pH 변화를 비교하였다(Table 3). 대조군의 초기 pH는 7.06였고 4, 20, 37, 45°C, 태양광선 아래에서 12주 후에 각각 6.21, 6.69, 6.77, 5.97, 6.16로 변화했다. 실험군은 초기 pH 7.06에서 12주 후에 5.87, 6.25, 6.18, 5.8, 5.88로 변화했다. 실험 결과 공통적으로 실험군과 대조군 모두 4, 45°C, 태양광선 아래에서 pH가 좀 더 감소한 것을 알 수 있었다. 그러나 참가시나무를 함유한 실험군 제형과 대조군 제형의 pH 변화는 큰 차이가 없는 것으로 보아 참가시나무 추출물이 크림의 pH 변화에 크게 기여하지 않는 것으로 판단된다. 또한, pH 변화는 피부의 산성도 (pH 4.5-6.5)인 약산성 범위임으로 피부에 유해하지 않는 것으로 판단된다[13].

점도 변화: 0.25% 참가시나무 추출물 함유 크림과 함유하지 않은 크림의 점도를 측정하였다(Fig. 1). 0주차에 대조군 크림 제형과 실험군 크림 제형은 각각 5660 cP와 5040 cP로 실험군 제형에서 더 낮은 값을 나타냈지만 큰 차이는 없었다. 12주 동안 점도 변화에서도 실험군과 대조군

Table 3. pH Changes of cream stored at various temperatures and under the sun for 12 weeks.

	0 week (pH)	12 week (changes of pH)	
		Placebo cream	Experimental cream
4°C	7.06	-0.85 ± 0.03	-0.92 ± 0.03
25°C	7.06	-0.37 ± 0.07	-0.53 ± 0.04
37°C	7.06	-0.29 ± 0.04	0.61 ± 0.05
45°C	7.06	-1.09 ± 0.04	-0.99 ± 0.05
Under sun	7.06	-0.90 ± 0.07	-0.91 ± 0.03

이 비슷한 변화 양상을 나타내었다. 온도에 따른 점도 변화를 각각 살펴 보았을 경우 45°C에서 점도가 크게 감소한 것을 확인할 수 있었다. 이는 열에너지에 의해 크림의 점도가 감소한 것으로 판단된다. 결론적으로 대조군 크림과 참가시나무 추출물 함유 크림 둘 다 모든 조건에서 비슷한 경향으로 변화가 일어났으므로 참가시나무 추출물은 크림 제형에서 점도 변화에는 큰 영향을 끼치지 않는 것을 확인할 수 있었다.

흡광도 변화: 태양광선 하에서 참가시나무 에틸아세테이트 분획의 흡광도 변화를 확인하기 위해 0.25% 참가시나무 에틸아세테이트 분획을 에탄올에 녹인 후 4주간 보관하였다(Fig. 2). 그 결과, 최대 흡수파장(270 nm)에서 0주차에 0.924로 높은 흡광도를 나타내었지만 4주 후 0.301로 흡광도가 0주에 비해 67.42% (0.623) 감소하였다. 이는 에탄올에 있는 참가시나무 추출물이 태양광선을 직접적으로 흡수하기 때문에 참가시나무 추출물 성분이 파괴되어 흡광도가 크게 감소한 것으로 보인다[5]. 다음으로 크림속 참가시나무 에틸아세테이트 분획의 흡광도 변화를 확인하였다. 0.25% 참가시나무 추출물 함유 크림과 함유하지 않은 크림을 에탄올로 추출한 후 12주 동안 흡광도를 측정 하였다(Fig. 3). 12주 차에 대조군과 실험군의 평균 흡광도는 0.133, 0.199로 0주차(0.317, 0.605)에 비해 61.51%, 67.05% 정도 감소하였다. 0주차는 크림속 참가시나무 추출물로 인해 흡광도 차이가 큰 것으로 판단되며 12주차에서는 비슷한 결과 값을 나타내었다. 태양광선 하에서 방치한 크림속 참가시나무 추출물의 흡광도와 에탄올속 참가시나무 추출물의 흡광도를 비교하였다. 0주차에 각각의 흡광도는 0.605, 0.924으로 크림 속 참가시나무 추출물의 흡광도가 낮았으나 4주 후 흡광도 변화를 비교한 결과 크림속 참가시나무 추출물

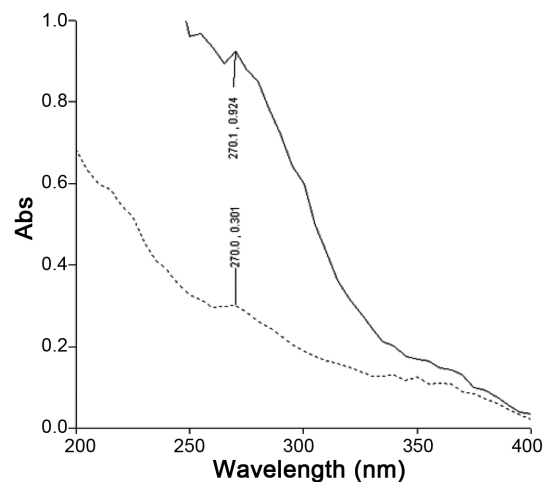


Fig. 2. A change in absorbance of ethyl acetate fraction from *Q. salicina* Blume for 4 weeks.

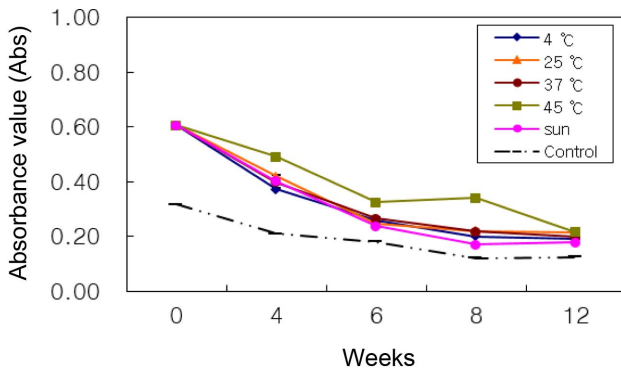


Fig. 3. Changes in absorbance of sample and control cream at 270 nm. Each value represents the mean \pm S.D (n = 6).

의 흡광도는 33.17%(0.404) 정도 감소하였고 이는 에탄올 용액속 참가시나무 추출물의 흡광도 변화(67.42%) 보다 2배 정도 적었다. 결론적으로 크림속 참가시나무 추출물은 태양광선으로부터 보호되어 흡광도의 감소폭을 줄였으며 12주 후 참가시나무 추출물 함유 크림은 대조군과도 큰 차이가 없는 것으로 보아 참가시나무 추출물이 크림의 흡광도 변화에 큰 영향을 주지 않은 것을 알 수 있었다.

변색 및 변취: 0.25% 참가시나무 추출물 함유 크림과 대조군 크림을 비교했을 경우, 37, 45°C의 고온에서 참가시나무 추출물 함유 크림의 색이 약간 진해지는 현상이 관찰되었고 냄새에 어떠한 큰 변화는 없었다. 크림링, 응집, 층 분리와 같은 이상 현상도 관찰되지 않았다.

요약

본 연구에서는 참가시나무 추출물의 항균 활성을 측정 후 참가시나무 추출물 함유 크림을 제조하여 안정성을 평가하였다. 항균활성은 피부상재균인 Gram (+)균 *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. acnes*와 Gram (-)균 *E. coli*, *P. aeruginosa*로 실험 하였다. 참가시나무 추출물의 세가지 분획은 공통적으로 Gram (-) 세균인 *E. coli*에서는 항균 활성이 낮으며 Gram (-)균 *P. aeruginosa*에서 모두 높은 항균 활성을 나타내었다. 특히 참가시나무 에틸아세테이트 분획은 *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. acnes*, *P. aeruginosa*균에서 1,200 μ g/ml, 2,500 μ g/ml, 1,200 μ g/ml, 312 μ g/ml으로 낮은 최소저해 농도를 가졌다. 따라서 참가시나무 에틸아세테이트 분획 0.25% 함유한 크림을 제조한 후 크림 안정성을 평가 하였다. 크림은 4개의 서로 다른 온도(4, 20, 37, 45°C)와 태양 광선 하에서 12주 동안 보관 한 후 점도, pH 및 흡광도를 측정하였다. 추출물 함유 크림과 대조군 크림의 점도와 흡광도는 위에 언급된 여러 가지 온도 하에서 유의적인 차이를 나타내지는 않았다. pH는 피부의 약산성도 범위(pH 4.5-6.5) 값을 가졌다. 12주 동안 크림의 변색이나 변취는

관찰되지 않았으며 크림링이나 응집과 같은 물리적인 변화도 관찰할 수 없었다. 결과적으로 참가시나무 에틸아세테이트 분획은 항산화 및 항균 활성이 높으며 이를 함유한 크림은 다양한 온도와 태양광선 하에서 안정함을 확인하였다.

Acknowledgments

This study was supported by a grant of the Korean Health Technology R & D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (Grant No. HN10C0001).

References

- Allen RG, Tresini M. 2000. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic. Biol. Med.* **28**: 463-499.
- Chae KY, Kim JE, Park SN. 2012. Antibacterial activity of *Hippophae rhamnoides* leaf extract and the stability of a cream with the extract. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **40**: 250-260.
- Han SB, Gu HA, Kim SJ, Kim HJ, Kwon SS, Kim HS, et al. 2013. Comparative study on antioxidative activity of *Glycyrrhiza uralensis* and *glycyrrhiza glabra* extracts by country of origin *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **39**: 1-8.
- Han SM, Lee KG, Yeo JH, Kim WT, Park KK. 2009. Antimicrobial property of honeybee (*Apis mellifera* L.) venom against *Propionibacterium acnes* and aerobic skin flora. *Korean J. Pharmacogn.* **40**: 173-177.
- Jeon SM, Ahn JY, Park SN. 2007. A study on the stability test for the cream containing *Suaeda asparagoides* extract. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **33**: 231-238.
- Kim HJ. 2011. Antimicrobial effects of extracts of *Teraxacum officinale* H. on acne strains. MS. Thesis. Kyonggi University. Korea.
- Kim JI, Kim HH, Kin SU, Lee KT, Ham IH, Whang WK. 2008. Antioxidative compounds from *Quercus salicina* Blume Stem. *Arch. Pharm. Res.* **31**: 274-278.
- Kim JH, Kim MJ, Choi SK, Bae SH, An SK, Yoon YM. 2011. Antioxidant and antimicrobial effects of lemon and eucalyptus essential oils against skin floras. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **37**: 303-308.
- Kim SY, Won DH, Lim MS, Park SN. 2010. Cellular protective effect and component analysis of *Euphorbia humifusa* extracts. *Korean J. Pharmacogn.* **41**: 264-269.
- Kohen R. 1999. Skin antioxidants: their role in aging and in oxidative stress - new approaches for their evaluation. *Biomed. Pharmacother.* **53**: 181-192.
- Lee, HJ, Lim GN, Park MA, Park SN. 2011. Antibacterial and antioxidative activity of *Lespedeza cuneata* G. Don extracts. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **39**: 63-69.
- Lee HJ, Park SN. 2011. Antioxidative effect and active component analysis of *Quercus salicina* Blume extracts *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **37**: 143-152.
- Moon SJ. 2005. Influence of the improvement on acne skin

- with the essential oils, clinical demonstration with lavender, teatree, chamomile roman oil on treatment of skin. MS Thesis, Choong Ang University, Seoul, p 43.
14. Jung MS, Kang KA, Zhang R, Chae SW, Yoo BS, Yang YT, *et al.* 2006. Protective activity against ionizing radiation of antioxidative plants indigenous to Korea. *Nat. Prod. Sci.* **12**: 1-7.
 15. Sokmen M, Angelova M, Krumova E, Pashova S, Ivancheva S, *et al.* 2005. *In vitro* antioxidant activity of polyphenol extracts with antiviral properties from *Geranium sanguineum* L. *Life Sci.* **76**: 2981-2993.
 16. Park SN. 1997. Skin aging and antioxidant. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **23**: 75-132.
 17. Park SN. 1999. Effects of natural products on skin cells action and suppression of reactive oxygen species. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **25**: 77-127.
 18. Won DH, Gu HA, Kim HJ, Han SB, Park JH, Park SN. 2013. Antibacterial and antioxidative activities of *Epimedium koreanum* Nakai extracts. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **41**: 284-291.
 19. Yang HG, Kim HJ, Kim HS, Park SN. 2012. Antibacterial and antioxidative activities of *Artemisia princeps* Pampanini extracts. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **40**: 250-260.