

## 불나무 열매 추출물의 항균효능 평가에 관한 연구

장덕영 · 양재찬<sup>†</sup>

목원대학교 테크노과학대학 생의약화학부, 교수  
(2020년 2월 3일 접수: 2020년 2월 27일 수정: 2020년 2월 28일 채택)

### A Study on the evaluation of antimicrobial activity of extracts from *Rhus javanica* L fruit

Deok-Young Jang · Jae-Chan Yang<sup>†</sup>

*Mokwon University, College of Sciences & Technology, Division of Biomedical & Cosmetics,  
Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 302-729 Korea  
(Received February 3, 2020; Revised February 27, 2020; Accepted February 28, 2020)*

**요 약 :** 본 연구에서는 불나무 열매 Ethanol extract(ET)과 Ethyl acetate fraction(EA) 및 Butanol fraction(BT)을 천연보존제로서의 활용 가능성을 평가하기 위하여 항균활성을 측정 하였다. 항균활성은 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis*(*S. epidermidis*), *Escherichia coli*(*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa*(*P. aeruginosa*), *Candida Albicans*(*Candida. A*)에 대하여 Paper disc법으로 생육 저해환과 최소저해농도(MIC)를 평가하였다. Paper disc법으로 생육저해환을 측정한 결과 ET, EA, BT 모든 시료에서 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* 균주에서 생육저해환이 관찰되었고 BT에서는 *Candida. A* 균주에 대한 생육저해환이 추가로 관찰 되었다. MIC 측정결과 EA 시료가 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* 대하여 가장 낮은 농도를 보였다. 따라서 본 연구의 결과는 불나무 열매 추출물이 다양한 항균스펙트럼을 가지고 있어 화장품에서 천연보존제로 활용 가능성이 높다고 사료 된다.

**주제어 :** 불나무 열매, 용매분획, 천연보존제, 생육저해환, 최소저해농도

**Abstract :** In this study, the antimicrobial activity was tested by Ethanol extract(ET), Ethyl acetate fraction(EA) and Butanol fraction(BT) of *Rhus javanica* L fruit as natural preservatives. The antimicrobial activity were tested by Paper disc method and minimum inhibitory concentration (MIC) for microorganisms (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida Albicans*). As a result of the antimicrobial activities of *P. aeruginosa* fruit extracts have shown the clear zone that *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, and *P. aeruginosa*. In BT, additional clear zones were observed for the *Candida*. The MIC results showed that EA samples showed the lowest concentrations for *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, and *P. aeruginosa*. Accordingly, it can be

<sup>†</sup>Corresponding author  
(E-mail: rabbit@mokwon.ac.kr)

concluded that these *Rhus javanica* L fruit extracts have the potential for antimicrobial materials for the cosmetic industry.

*Keywords* : *Rhus javanica* L fruit, Solvent fraction, Natural preservatives, Growth inhibition, Minimum inhibition concentration

## 1. 서론

인류의 보편적인 가치를 추구하는 로하스는 친환경 소비자들로 하여금 친환경적인 소비의식을 확산시켰고 제품이 비싸더라도 친환경적인 제품에 대한 수요가 증가하는 추세이다. 웰빙과 로하스 가치관이 확산되면서 기존의 화장품시장에는 천연화장품 또는 친환경화장품 분야가 부상하고 있으며 화장품시장의 변화는 화장품 원료로 기존에 사용하던 화학원료의 사용을 최소화하고 천연의 식물성 원료를 사용한 천연화장품과 화장품 천연 원료의 기능탐색, 화장품 기술의 개발 등으로 천연물을 활용한 고기능성 화장품을 중점으로 전세계적으로 꾸준한 성장추세를 이어가고 있다 [1-3].

화장품은 매우 다양한 형태의 제품으로 구성된다. 로션, 크림, 파운데이션과 같은 유화 형태, 스킨이나 일부 에센스와 같은 가용화 형태, 페이스 파우더 등의 파우더 형태, 아이섀도, 트윈케이크 등의 팩트 형태, 립스틱 같은 스틱 등이 있다. 화장품은 물과 오일이 주성분이며 글리세린과 솔비톨과 같은 탄소원, 아미노산과 단백질과 같은 질소원이 추가로 배합되어 미생물이 생장할 수 있는 기본 조건을 갖추고 있다[4]. 화장품에 보존제가 첨가되지 않을 경우에는 오염된 미생물이 면역력이 약한 사람, 어린이 또는 상처 등을 통해 인체에 유입될 때 염증이나 피부 질환을 일으킬 수 있으며, 병원성 미생물이 오염되어 있는 경우에는 인체에 심각한 해를 유발할 수도 있다. 또한 화장품이 미생물에 의해 변질되어 제품의 색이나 향이 변하거나 현탁 또는 점도가 떨어지는 제품의 물성 변화가 일어날 수 있다. 이런 물성 변화는 제품의 상품 가치를 떨어뜨리게 된다. 따라서 일정량의 보존제를 화장품에 첨가하게 된다 [5].

화장품에서의 미생물의 오염은 원료의 오염, 제조 및 포장 공정에서의 오염, 불충분한 방부 시스템 등에서의 1차 오염과 사용자의 손이 제품

에 접촉되거나 뚜껑을 열어놓아 공기 중에 장기간 방치되는 등에서의 2차 오염이 있다. 이렇게 오염된 화장품은 면역력이 약한 사람, 어린이 또는 상처 등을 통해 인체에 유입될 경우 염증이나 피부질환을 유발하며 심각할 경우 병원성 미생물에 오염되어 질병을 유발할 수 있다. 또한, 화장품에 미생물이 오염되면 물질대사로 인한 pH변화와 제품의 변색, 변취, 점도저하 등 제품의 물성 변화를 동반하며 이는 상품의 가치를 저하하는 요인이 된다. 따라서 제품의 미생물에 대한 안정성 확보와 소비자의 안전을 확보하기 위해 적절한 방부시스템의 확립이 중요하다[6].

현재 대부분의 화장품은 합성보존제에 의존하고 있으며 그 기능은 제품 내에 미생물의 생육을 저해함으로써 제품에 안전성과 안정성을 부여하는 것이다[7]. 합성보존제의 종류로는 파라벤(Paraben)류, 쿼터늄-15(Quaternium-15), 이미다졸리디닐우레아(Imidazolidinylurea), 클로로페네신(Chlorphenesin), 페녹시에탄올(Phenoxyethanol) 등이 있다[8]. 이들 합성보존제는 우수한 항균활성과 더불어 가격에 대한 경쟁력이 있는 반면 장기간 고농도로 사용 시 피부 자극이나 인체 독성을 나타낼 수 있어 천연항균물질을 주요 성분으로 함유한 천연보존제의 개발을 위한 연구들이 진행되고 있으며, 식물 유래의 천연성분에 대한 인식이 높아짐에 따라 인체에 부작용이 적은 생리활성물질을 다량 함유하는 각종 천연물 특히 한방 천연물을 이용한 연구가 활발히 이루어지고 있다[9-10].

불나무(*Rhus javanica* L)는 옷나무과에 속하는 낙엽소교목으로 한국, 일본, 중국, 대만, 인도 등 아시아 대륙에 분포한다. 불나무는 열대아열대와 같이 더운 지방에서 기원하며, 우리나라에서는 각 지역의 산기슭 및 산골짜기에서 분포한다[11]. 불나무 열매의 표면에 흰색 소금 결정은 독성이 없어 민간에서 소금대용으로 사용하였으며, 소금을 구하기 어려운 산간지역에서 두부를 만드는 간수로 이용하기도 하였다[12]. 또한, 마른 열매는 가

루로 만들어 가려움, 습진, 건선 등의 피부염에 사용하였다. 염부수백피(줄기)는 고열감기, 황달, 자궁출혈방지에 사용하였다. 오배자는 이질, 설사, 치질, 당뇨, 구내염 등 수렴지사제로 사용하였다[13]. 붉나무의 대표적인 지표 성분으로 gallic acid와 methyl gallate가 있고 항산화 활성, 항염증, 항균활성이 있다고 보고되어있다[14]. 본 연구에서는 천연 보존제로서 붉나무 열매의 활용 가능성을 확인하고자 Ethanol추출물과 그 분획에 대한 항균활성을 측정하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 재료 및 시약

본 시험에 사용된 붉나무 열매는 한국 장뇌산삼 영농조합법인 붉나무 연구회에서 제공 받아 수행하였다. 용매추출에 사용된 Ethanol과 분획추출에 사용된 Hexane, Chloroform, Ethyl acetate, Butanol은 DUKSAN(KOREA)에서 구입하였다. 시험에 사용된 균주는 *Staphylococcus aureus*(KCTC 1927), *Escherichia coli*(KCTC 2571), *Staphylococcus epidermidis*(KCTC 1917), *Pseudomonas aeruginosa*(KCTC 2513), *Candida albicans*(KCTC 7270)는 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC, Korea)에서 구입하여 배양 후 사용하였다. 균주 활성화 및 배양에 사용한 액체배지 Tryptic Soy Agar(TSA), Tryptic Soy Broth(TSB), Potato Dextrose Agar(PDA), Potato Dextrose Broth(PDB)는 Difco Lab.(Sparks, MD., USA)에서 구입하여 사용하였다.

### 2.2. 시료의 추출

본 실험에 사용된 붉나무 열매는 건조하여 믹서로 분쇄하여 사용하였다. 붉나무 열매 97.08 g에 10배량의 Ethanol 970.8 g을 가하여 50 °C에서 24시간 동안 추출하였다. 용매 추출물은 filter paper(TY2-110, ADVANTEC®, Japan)를 사용하여 감압 필터 한 뒤 회전식 감압 농축기(EYELA N-1110, EYELA, Korea)를 사용하여 50 °C에서 농축하여 추출물 14.01 g을 얻었다. 이 중 일부(12.63 g)를 용매의 극성에 따라 단계적으로 분획하여 Hexane층(0.01 g), Chloroform층(0.48 g), Ethyl acetate층(2.77 g), Butanol층(6.09 g), H<sub>2</sub>O층(3.28 g)을 얻었다.

### 2.3. 생육저해한 측정(Paper disc method)

붉나무 열매의 생육저해한은 Kim[15]의 방법을 변형하여 Paper disc method를 이용하여 측정하였다. 시험에 사용된 균주는 37 °C에서 24시간 동안 배양하여 활성화시킨 뒤 새 액체배지에 1 loop를 희석하여 사용하였다. 멸균된 면봉을 이용하여 균 배양용 한천평판배지(agar plate)에 균 희석액을 고르게 도말하고 8 mm Paper disc(Advantec, Japan) 위에 농도별 추출물을 35 µL씩 분주한 다음 37 °C의 incubator에서 24시간 배양하여 Paper disc 주위에 생성된 생육저해한(Clear zone, mm)의 직경으로 각 균에 대한 추출물의 항균력을 측정하였다.

### 2.4. 최소저해농도 측정(Minimum inhibitory concentration, MIC)

붉나무 열매의 최소저해농도는 broth-dilution method[16]를 이용하여 측정하였다. 시험에 사용한 균주는 37 °C에서 24시간 동안 배양하여 활성화시킨 뒤 새 액체배지에 1 loop를 희석하여 사용하였다. 시험에 사용된 시료농도는 각 추출물의 용해도에 따라 5 % DMSO 용액에 용해하여 stock solution을 제조한 후 액체배지와 serial dilution 하여 사용하였다. 96-well plate에 각 well당 최종 농도가 10.0, 5.0, 1.0, 0.5, 0.1 mg/mL 이 되도록 시료 100 µL를 분주하고 균 희석액 100 µL를 첨가한 후 Micro plate reader(BioTek, USA)를 이용해 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 96-well plate를 37 °C에서 48시간 동안 배양하며 배양 시작을 기준으로 12, 24, 48시간에 흡광도를 측정하였으며 흡광도의 증가가 나타나지 않는 농도를 MIC로 설정하였다.

### 2.5. 통계처리

본 연구의 실험은 각각 3회 실시하여 평균값으로 나타내었으며, Student's t-test를 이용하여  $p < 0.05$  유의수준에서 검증하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 생육저해한 측정(Paper disc method)

화장품의 주성분인 정제수와 오일은 미생물의 영양원이 되어 미생물 증식의 원인이 되며, 사용자의 접촉으로 인해 미생물의 증식이 일어날 수

있다. 따라서 화장품에서 보존제는 빠져서는 안 되는 성분이며 독성이 강한 합성보존제보다는 인체에 안전한 천연보존제의 개발이 요구되고 있다 [17-18].

50.0, 100.0, 150.0 mg/mL 농도의 Ethanol extract(ET), Ethyl acetate fraction(EA), Butanol fraction(BT)를 Paper disc법으로 항균력을 측정 한 결과 Ethanol extract(ET)와 Ethyl acetate fraction(EA)에서는 *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* 균주에서 생육저해환을 관찰하였다(Fig. 1, 2). Ethanol extract(ET)에서 *S. aureus*의 경우 50.0, 100.0, 150.0 mg/mL의 농도에서 각각 13.9, 16.6, 20.0 mm, *E. coli*의 경우 각각 10.0, 10.4, 10.8 mm *S. epidermidis*의 경우 각각 17.0, 18.8, 23.6 mm, *P. aeruginosa*의 경우 각각 12.0, 14.0, 15.7 mm의 생육저해환이 관찰되었다(Table 1). Ethyl acetate fraction(EA)에서 *S. aureus*의 경우 50, 100, 150 mg/mL의 농도에서 각각 19.3, 22.4, 23.5 mm, *E. coli*의 경우 각각 11.2, 12.2, 16.2 mm *S. epidermidis*의 경우 각각 19.4, 21.1,

24.7 mm, *P. aeruginosa*의 경우 각각 12.0, 18.5, 20.7 mm의 생육저해환이 관찰되었다(Table 2). Butanol fraction(BT)에서는 *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* 및 *Candida. A* 균주에서 생육저해환을 관찰하였다(Fig. 3). *S. aureus*의 경우 50.0, 100.0, 150.0 mg/mL의 농도에서 각각 8.6, 12.2, 17.1 mm, *E. coli*의 경우 각각 8.9, 10.7, 12.1 mm, *S. epidermidis*의 경우 각각 8.5, 11.5, 16.3 mm, *P. aeruginosa*의 경우 각각 11.0, 11.2, 12.9 mm, *Candida A*의 경우 각각 10.6, 11.3, 13.3 mm의 생육저해환이 관찰되었다(Table 3).

Ethanol extract(ET), Ethyl acetate fraction(EA), Butanol fraction(BT)의 생육저해환의 크기를 비교하였을 때 EA에서 가장 큰 생육저해환을 관찰할 수 있었고 *S. epidermidis* > *S. aureus* > *P. aeruginosa* > *E. coli* 순으로 항균 효과를 나타내었다. 또한 Butanol fraction(BT)에서 Ethanol extract(ET)와 Ethyl acetate fraction(EA)에서 관찰된 4종 균주와 효과가 없었던 *Candida. A* 균주에서 효과를 나타내었다.

Table 1. Diameter of clear zone measurement of Ethanol extract(ET) after 24 hours

Sample	Clear zone diameter(mm)					
	Concentration (mg/mL)	Organisms				
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Candida. A</i>
Methyl Paraben	100.0(mg/mL)	19.7 ± 2.4	19.9 ± 2.0	21.6 ± 0.1	15.5 ± 0.4	33.4 ± 0.1
DMSO		-	-	-	-	-
150.0		20.0 ± 1.5	10.8 ± 0.5***	23.6 ± 0.6*	15.7 ± 0.4	-
100.0		16.6 ± 1.4	10.4 ± 1.5**	18.8 ± 0.2***	14.0 ± 0.6*	-
50.0		13.9 ± 1.0*	10.0 ± 0.8***	17.0 ± 0.2***	12.0 ± 0.8**	-

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.005$

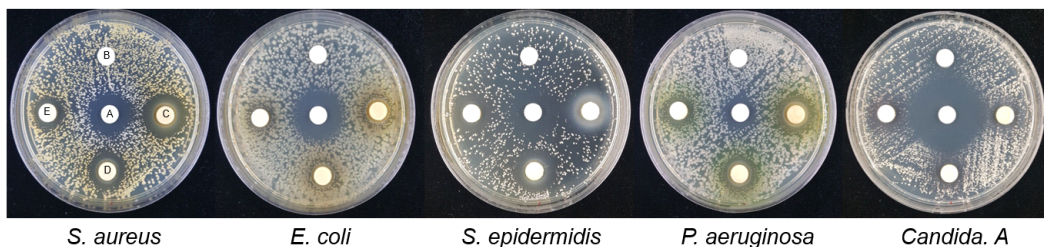


Fig. 1. The antimicrobial activity of Ethanol extract(ET) determined to clear zone of *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *Candida. A*. (A : Methyl Paraben, B : DMSO, C : 150.0 mg/mL, D : 100.0 mg/mL, E : 50.0 mg/mL)

Table 2. Diameter of clear zone measurement of Ethyl acetate fraction(EA) after 24 hours.

Sample	Clear zone diameter(mm)					
	Concentration (mg/mL)	Organisms				
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Candida. A</i>
Methyl Paraben	100.0(mg/mL)	19.7 ± 2.4	19.9 ± 2.0	21.6 ± 0.1	15.5 ± 0.4	33.4 ± 0.1
DMSO		-	-	-	-	-
150.0		23.5 ± 2.0	16.2 ± 1.8	24.7 ± 0.8*	20.7 ± 0.5***	-
100.0		22.4 ± 1.7	12.2 ± 1.3*	21.1 ± 1.3	18.5 ± 0.7*	-
50.0		19.3 ± 1.2	11.2 ± 1.5*	19.4 ± 0.7*	12.0 ± 0.5**	-

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.005$

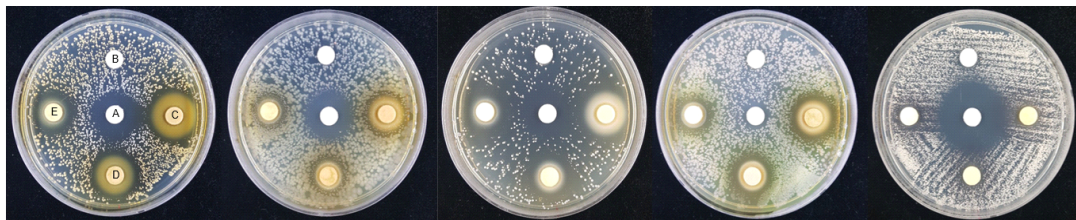


Fig. 2. The antimicrobial activity of Ethyl acetate fraction(EA) was determined to clear zone of *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *Candida. A*. (A : Methyl Paraben, B : DMSO, C : 150.0 mg/mL, D : 100.0 mg/mL, E : 50.0 mg/mL)

Table 3. Diameter of clear zone measurement of Butanol fraction(BT) after 24 hours.

Sample	Clear zone diameter(mm)					
	Concentration (mg/mL)	Organisms				
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Candida. A</i>
Methyl Paraben	100.0(mg/mL)	19.7 ± 2.4	19.9 ± 2.0	21.6 ± 0.1	15.5 ± 0.4	33.4 ± 0.1
DMSO		-	-	-	-	-
150.0		17.1 ± 1.3	12.1 ± 1.7*	16.3 ± 0.6**	12.9 ± 0.4**	13.3 ± 0.5***
100.0		12.2 ± 1.8*	10.7 ± 1.2*	11.5 ± 0.2***	11.2 ± 0.3***	11.3 ± 0.3*
50.0		8.6 ± 0.6*	8.9 ± 0.5**	8.5 ± 0.5***	11.0 ± 0.4***	10.6 ± 0.3*

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.005$

### 3.2. 최소저해농도 측정(Minimum inhibitory concentration, MIC)

붉나무 열매의 세균에 대한 항균력을 최소저해농도 측정을 통해 평가하였으며 그 결과는 Table 4와 같다. 최소저해농도인 MIC는 세균 발육 저지에 필요한 최소농도를 말한다[19]. Ethanol

extract(ET) 와 Ethyl acetate fraction(EA)의 *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*균에 대한 MIC는 0.5 mg/mL이며 *Candida. A* 균주에서는 뚜렷한 생육저해농도를 보이지 않았다. Butanol fraction(BT)의 *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *Candida. A* 균주에

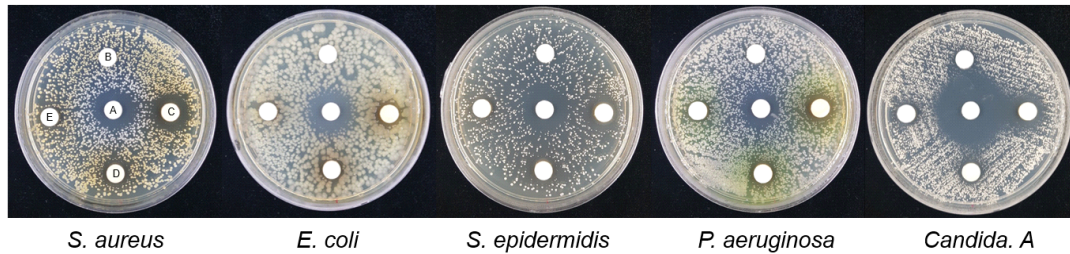


Fig. 3. The antimicrobial activity of Butanol fraction(BT) was determined to clear zone of *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *Candida*. A(A : Methyl Paraben, B : DMSO, C : 150.0 mg/mL, D : 100.0 mg/mL, E : 50.0 mg/mL)

Table 4. Minimum inhibitory concentration of *Rhus javanica* L fruit extracts and fractions for microbial(*S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *Candida*. A)

Strains	MIC (mg/mL)		
	ET	EA	BT
<i>S. aureus</i>	0.5	0.5	1.0
<i>E. coli</i>	0.5	0.5	1.0
<i>S. epidermidis</i>	0.5	0.5	0.5
<i>P. aeruginosa</i>	0.5	0.5	10.0
<i>Candida</i> . A	-	-	10.0

대한 MIC는 각각 1.0, 1.0, 0.5, 10.0, 10.0 mg/mL로 관찰되었다.

#### 4. 결론

본 연구에서는 붉나무 열매를 Ethanol로 추출하고 이를 Ethyl acetate, Butanol 용매로 분획하여 시료를 제조하였고 항균활성을 측정하여 천연 보존제로서 사용될 수 있는 가능성을 평가하였다.

1. Paper disc법으로 생육저해환을 측정한 결과 Ethanol extract(ET), Ethyl acetate fraction(EA), Butanol fraction(BT) 모든 시료에서 *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* 균주에서 생육저해환이 관찰되었고 Butanol fraction(BT)에서는 *Candida*. A 균주에 대한 생육저해환이 추가로 관찰 되었다.
2. 붉나무 열매의 항균력에 대하여 Paper disc법으로 평가한 결과 Ethanol extract(ET),

Ethyl acetate fraction(EA), Butanol fraction(BT)시료에서 농도 의존적으로 항균 활성이 나타났으며 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* 균주에서는 합성 보존제인 Methyl Paraben(MP)보다 더 우수한 항균력을 보였다.

3. Ethanol extract(ET), Ethyl acetate fraction(EA), Butanol fraction(BT)의 생육저해환의 크기를 비교하였을 때 EA에서 가장 큰 생육저해환을 관찰할 수 있었고 *S. epidermidis* > *S. aureus* > *P. aeruginosa* > *E. coli* 순으로 항균효과를 나타내었다.
4. 붉나무 열매의 MIC를 측정한 결과 Ethyl acetate fraction(EA)에서 가장 낮은 농도로 *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* 4종 균주의 생장을 억제하였으며, MIC는 0.5 mg/mL로 측정 되었다. Butanol fraction(BT)는 Paper disc법으로 평가한 결과와 같이 *Candida*. A 균주에서 MIC가 10.0 mg/mL로 측정 되었다.

이상의 결과는 산수유 추출물의 방부효능에 대한 연구와 [20] 천연 추출물의 항균효과 등 [21-23]과 비교하였을 때 붉나무 열매의 추출물은 우수한 항균효과를 나타내어 천연보존제로서의 활용 가능성을 확인 하였으며 기존에 우수한 항균효과가 있다고 알려진 천연추출물과 혼합하여 사용하면 시너지 효과를 나타낼 수 있다고 사료된다. 또한 항균효과에 대한 본 연구 결과를 바탕으로 항균효과에 대한 추가적인 평가와 더불어 안전성 및 안정성에 대한 세부적인 평가 결과를 통하여 추후 화장품에 응용될 수 있는 천연보존제의 하나로서 합성보존제를 대체 할 수 있는 소재로 개발 가능성이 높다고 할 수 있다.

### 감사의 글

이 논문은 2018년도 목원대학교 연구년 지원에 의하여 연구되었음

### References

1. S. S. Kim, "Effects of Evaluation Criteria for Natural Cosmetics on Purchase and Word-of-mouth Intentions according to the LOHAS Class", *Korean J Community Living Sci*, Vol.26, No.1, pp. 145-154, (2015).
2. H. J. Kim, I. H. Lee, "The Effect of Consumption Value of Eco-Friendly Cosmetics on Norm in Female Coludlege Stents", *Journal of the Korean Society Cosmetology*, Vol.25, No.5, pp. 1119-1130, (2019).
3. M. K. Kim, "Comparison of Physiological Activities Between Hot-water and Ethanol Extracts *Ecklonia cava* as Cosmetic Ingredient", *J Invest Cosmetol*, Vol.15, No.4, pp. 371-378, (2019).
4. H. S. Cho, S. W. Kang, J. H. Kim, H. W. Yu, E. Park, H. S. Chun, "Antioxidant and Antimicrobial Activities of Combined Extracts of *Galla rhois*, *Achyranthes japonica* Nakai, *Terminalia chebula* Retz and *Glycyrrhiza uralensis*", *Korea Society for Biotechnology and Bioengineering*, Vol.21, No.1, pp. 29-35, (2014).
5. H. S. Kim, K. W. Cho, D. K. Lee, "A Study on the Antimicrobial Activity and Preservative Effect of Thiamine Dilauryl Sulfate in Cosmetics", *Korean Applied Science and Technology*, Vol. 22, No. 3, pp. 212-218, (2005).
6. S. H. Kim, D. Y. Lim, "A Study of the proper Use of Cosmetics and Microbial Contamination over Time", *J Kor Soc Cosm*, Vol.15, No.3, pp. 1059-1065, (2009).
7. E. M. Cho, J. T. Bae, H. B. Pyo, 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", *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*", Vol.34, No.4, pp. 325-331, (2008).
8. S. Y. Yang, H. O. Boo, "Phenolic Compounds, Antimicrobial Effects and Tyrosinase Inhibition Activities of Cucumber Grown Greenhouse According to Cultivars and Growth Stages", *Korean J Plant Res*, Vol.26, No.5, pp. 645-651, (2013).
9. J. E. Ku, H. S. Han, J. H. Song, "The Recent Trend of the Natural Preservative Used in Cosmetics", *Kor. J. Aesthet Cosmetol*, Vol.11, No.5, pp. 835-844, (2013).
10. C. G. Son, E. S. Jang, S. K. Lee, K. J. Barng, "Consumer Perception and Evaluation of Cynanchi Atrati Radix Fermented Oriental Cosmetics for Skin Whitening", *J. fash. bus*, Vol.23, No.5, pp. 137-150, (2019).
11. J. S. Choi, S. D. Han, T. W. Jang, S. H. Lee, J. H. Park, "Antioxidant and anti-inflammatory activity of parts of *Rhus javanica* L", *The Korean Society for Applied Biological Chemistry*, Vol.62, No.2, pp. 195-202, (2019).

12. D. S. An, S. J. Seo, N. W. Kim, Y. S. Lee, "Anti-aging and Anti-inflammatory Activity of *Rhus javanica* Branches Extracts", *J Invest Cosmetol*, Vol.13, No.2, pp. 103-111, (2017).
13. D. S. Lee, T. S. Min, D. S. Lee, "Antiviral activity of methanol extract from *Rhus chinensis* gall", *J Appl Biol Chem*, Vol.61, No.4, pp. 379-382, (2018).
14. J. Y. Oh, U. Choi, Y. S. Kim, D. H. Shin, "Isolation and Identification of Antioxidative Components from Bark of *Rhus javanica* Linné", *Korean J Food Sci Technol*, Vol.35, No.4, pp. 726-732, (2003).
15. H. J. Kim, J. W. Lee, Y. D. Kim, "Antimicrobial Activity and Antioxidant Effect of *Curcuma lomga*, *Curcuma aromatica* and *Curcuma zedoaria*", *The Korean Society of Food Preservation*, Vol.18, No.2, pp. 219-225, (2011).
16. M. R. Jang, J. E. Seo, J. H. Lee, M. S. Chung, G. H. Kim, "Antibacterial action against Food-Borne Pathogens by the volatile Flavor of Essential oil from *Chrysanthemum morifolium* Flower", *The Korean Society of Food and Nutrition*, Vol.23, No.2, pp. 154-161, (2010).
17. S. Y. Kang, B. S. Chang, "Ultrastructural Characteristics of Talcs Including General Cosmetics", *The Journal of Cosmetological Science*, Vol.6, No.4, pp. 381-387, (2010).
18. J. S. Song, E. H. Bae, "A Study on Analysis as a Case Study for the Cosmetic Container Through the improvement Cosmetics Microorganism Pollution", *The Korean Society of Design Culture*, Vol.21, No.4, pp. 297-307, (2015).
19. J. S. Ko, "Antimicrobial Coating Agent", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.30, No.1, pp. 96-115, (2013).
20. J. C. Yang, "A Study on the Cosmetic Preservative Effects of *Cornus officinalis* seed Extracts", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.33, No.2, pp. 333-341, (2016).
21. J. Y. Lee, J. N. Lee, G. T. Lee, K. K. Lee, "Development of Antimicrobial Plant Extracts and its Application to Cosmetics", *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, Vol.38, No.2, pp. 171-179, (2012).
22. J. H. Kim, E. J. Do, G. M. Lee, "Investigation of Anti-microbial Activity of Herbal Medicines Used as Natural Preservatives Based on the Analysis of Papers and Patents", *J Physiol & Pathol Korean Med*, Vol.29, No.1, pp. 101-113, (2015).
23. E. J. Doh, S. H. Baek, G. M. Lee, "Comparison of Antimicrobial Activity of Specific Korean Medicinal Prescription for Natural Preservatives", *Korean Herb. Med. Inf*, Vol.3, No.2, pp. 1-6, (2015).