

플라즈마 화장품 용기 적합성

조 하 현^{1,†} · 천 유 연^{1,†} · 허 호 진^{2,†} · 이 상 훈¹ · LeiLei¹ · 김 예 지^{3,†} ·
곽 병 문^{4,†,‡} · 이 미 기^{4,†,‡} · 빈 범 호^{4,†,‡}

^{*}아주대학교 생명과학과, 석사과정 학생

^{**}아주대학교 응용생명공학과, 박사과정 학생

^{***}코스맥스(주) R&I center

^{****}아주대학교 생명과학과, 박사 후 연구원

^{*****}경기도경제과학진흥원

^{*****}아주대학교 생명과학과, 교수

(2023년 10월 13일 접수, 2023년 12월 29일 수정, 2024년 1월 18일 채택)

Plasma Cosmetic Container Suitability

Ha Hyeon Jo^{1,†}, You-Yeon Chun^{1,†}, Hyojin Heo^{2,†}, Sang Hun Lee¹, Lei Lei¹, Ye Ji Kim³,
Byeong-Mun Kwak^{1,†,‡}, Mi-Gi Lee^{4,†,‡}, and Bum-Ho Bin^{1,†,‡}

¹Department of Biological Science, Ajou University, 206, World cup-ro,
Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16499, Korea

²Department of Applied Biotechnology, Ajou University

³COSMAX R&I Center

⁴Bio-Center, Gyeonggido Business and Science Accelerator

(Received October 13, 2023; Revised December 29, 2023; Accepted January 18, 2024)

요 약: 플라즈마 화장품은, 플라즈마의 제형 내 장기 안정성을 확보하는 것이 중요하다. 이번 연구는 효율적인 플라즈마 화장품 개발을 위하여 용기 적합성을 검토하였다. 플라즈마가 닿는 표면적을 달리하여, 4 cm², 25 cm², 75 cm², 175 cm² 용기 별로 화장품 제조용 플라즈마를 주입 후, 질소 플라즈마 주요 활성 종인 nitric oxide (NO)의 양을 추적 분석 하였다. 그 결과, 플라즈마에 노출된 표면적과 안정도는 반비례 경향을 나타내었고, 4 cm² 용기에서 가장 효과적이었다. 추가적으로, 25 mm, 40 mm, 50 mm 바이알 병에 플라즈마를 처리하였고, 그 결과 공기에 노출된 용기의 표면 면적이 작은 25 mm에서 NO의 상대적 장기 안정성이 확보되었다. 화장품 제형으로 수상 미스트(water mist)와 층 분리 미스트(stratified mist)를 선택하여 수상층 부분에 NO 플라즈마를 주입 후 제형의 성상 및 주입한 NO 플라즈마의 상태 변화를 관찰하였다. 두 제형에서 NO 플라즈마의 주입량은 수상 미스트가 층 분리 미스트보다 약 1.5 배 가량 높았으며, 층 분리 미스트는 시간에 따라 점차 감소하여 3 주 후, 소실되는 것이 확인되었다. 저온(4 °C), 실온(25 °C), 고온(37 °C, 50 °C)에서 질소 플라즈마의 안정도를 진행하였다. 그 결과 수상 미스트는 안정도에 영향을 미치지 않는 것을 확인하였지만, 층 분리 미스트는 유상층에서 색 변화를 관찰하였다. 종합적으로, 본 연구는 질소 플라즈마의 용기 적합성을 제시하고 있으며 화장품 제형 내 주입된 질소 플라즈마의 안정성 확보의 중요성을 시사하고 있다.

† 주 저자 (e-mail: gkgus0916@ajou.ac.kr)

call: 031-219-2623

‡ 교신저자 (e-mail: bhb@ajou.ac.kr)

call: 031-219-2623

Abstract: For plasma cosmetics, it is important to ensure the long-term stability of plasma in the formulation. This study examined the suitability of containers for efficient plasma cosmetics development. By varying the surface area covered by the plasma, 4 cm², 25 cm², 75 cm², and 175 cm² containers were injected with cosmetic plasma, and the amount of nitric oxide (NO), the main active species of nitrogen plasma, was analyzed. As a result, the surface area and stability exposed to plasma tended to be inversely proportional, and it was most effective in a 4 cm² container. Furthermore, 25 mm, 40 mm, and 50 mm vials were treated with plasma, which resulted in relative long-term stability of NO at 25 mm, a smaller surface area of the container exposed to air. Water mist and stratified mist were selected as cosmetic formulations, and NO plasma was injected into the water layer to observe the changes in formulation properties and the state of the injected NO plasma. In both formulations, the amount of NO plasma injected was about 1.5 times higher in the water phase mist than in the stratified mist, and the stratified mist gradually decreased with time and was found to disappear after 3 weeks. The stability of the nitrogen plasma was studied at low temperature (4 °C), room temperature (25 °C), and high temperature (37 °C, 50 °C). As a result, it was found that the water mist did not affect the stability, but the stratified mist observed a color change in the oil phase layer. Overall, this study demonstrates the container suitability of nitrogen plasma and suggests the importance of ensuring the stability of injected nitrogen plasma in cosmetic formulations.

Keywords: nitrogen plasma, nitric oxide (NO), water mist, stratified mist, cosmetic formulations

1. 서 론

전자, 이온, 중성입자로 구성되어 있는 상태를 뜻하는 플라즈마는 고체, 입체, 기체에 이온 제 4의 물질 상태를 말한다. 고체 상태의 물질에 에너지를 가하면 액체 상태를 거쳐 기체 상태가 되는데, 이러한 기체 상태의 물질에 적절한 에너지를 가해주면 전자가 원자에서 빠져나와 양이온들이 독립적으로 존재하는 플라즈마를 형성한다. 기체, 액체도 아니지만 그 특성은 기체나 액체처럼 자유롭게 흐르고 확산될 수 있다. 플라즈마의 구성기체는 음전하를 갖는 전자, 양전하를 갖는 이온 및 다른 물질과 산화반응을 잘하는 활성중성기체, 그리고 보통상태의 중성기체들로 구성된 물질이다[1]. 높은 에너지로 주변 기체 분자를 이온화해 반응성이 높은 활성 산소(reactive oxygen species, ROS) 및 활성 질소(reactive nitrogen species, RNS)를 생성한다[2]. ROS 및 RNS는 피부 각질 세포 간 지질과 반응하여 구조를 변화시킴으로써 약물 또는 화장품 유효성분의 침투를 돕는 것으로 알려진 바가 있다[3,4]. RNS의 대표적인 화학종이자 가장 기본이 되는 것은 일산화질소(nitric oxide, NO)이다[5]. NO는 높은 온도에서 O₂와 N₂를 화합하여 만들어지는 무색 무취의 기체를 말한다[6]. 질소가스에 의한 플라즈마가 형성되면서 NO가 O₂와 결합하여 peroxyinitite를 형성하여 직접적인 항균작용을 나타내고 상처치유 촉진, 살균작용과 염증 작용을 조절한다는 연구결과가 있다[7]. 대기압에서 산소-질소 혼합물의 다중 레이저 분해 중

에 오존과 질소 산화물이 생성된다[8,9]. NO는 산화질소 합성 효소(nitric oxide synthase, NOS)를 통해 모든 피부 세포 유형에서 생성될 수 있다[10,11]. 또한 항균특성을 가지고 있어 염증 및 상처치유를 비롯한 다양한 기능에서 전달자 및 조절자 분자로서 중요한 역할을 한다고 알려져 있다[12]. 선행 연구에서 분석한 가스 비율에 따른 NO 플라즈마 생성량 측정을 바탕으로 화장품 분야에 활용될 수 있는 질소 플라즈마 조건을 설정하였다[13]. 본 연구에서는 질소 플라즈마를 주입하여 용기 적합성과 각 미스트 제형에서 NO 함유량 및 제형 성상을 관찰함으로써 플라즈마의 적용 가능성을 확인하고자 한다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1. 실험 기기 및 재료

N₂와 O₂ 가스(한국 에어텍, Korea)를 이용한 plasma generator (CDPS-500, TGT, Korea)을 사용하였다. Sodium nitrite (삼전순약공업, Korea), N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride (Sigma, USA), sulfanilamide (Sigma, USA), phosphoric acid (덕산중합과학, Korea)를 사용하여 NO 플라즈마 생성량 및 NO 플라즈마를 처리한 화장품의 NO 함유량을 평가하였다.

2.2. NO 플라즈마 용기별 측정

용기 안에 남아있는 오존 잔존량을 확인하기 위해 동일한 조건으로 증류수를 10 mL씩 처리하였다. N₂ 가스를 10

cc/min으로 고정한 상태에서 O₂를 2 cc/min 유속으로 4 cm², 25 cm², 75 cm², 175 cm² 용기 별로 NO를 10 min 동안 주입하였다. 2 주 동안 용기 별로 남아있는 오존량을 비교하였다. 추가적으로 25 mm, 40 mm, 50 mm 용기에 NO 플라즈마를 주입한 후 남아있는 오존을 1 주, 2 주 간격으로 확인하였다.

2.3. NO 플라즈마 화장품 제조

수상층에 NO 플라즈마를 처리한 미스트를 제조하였다. 실온에서 첨가제를 투입하여 가온 용해하여 수상층(A+B)만 제조하였다. 층분리 미스트는 가온 용해한 수상층에 유상층(C)을 투입하여 제조하였다. 수상층(A+B)과 유상층(C)에 대한 조성은 아래 도표에 표기하였다(Table 1).

미스트의 수상층 부분에만 NO 플라즈마를 주입한 후 층분리 미스트는 수상층 위에 유상층을 덮어 관찰하였다. 이후, 동일한 용기에 일정량을 담아 실온(37 °C), 저온(4 °C), 고온(37 °C, 50 °C) 조건에서 1 주, 2 주, 3 주 간격으로 화장품 안정성을 검토하였다.

2.4. Griess Solution Assay

Griess solution assay를 통해 화장품 내 NO 플라즈마의 생성량 및 잔존 여부를 측정하였다. 96 well plate에 1 well 당 NO 플라즈마 처리 시료와 Griess 시약을 각각 200 mL씩 3 번 분주하고 30 min 동안 실온에서 반응시켰다. 570 nm 파장의 분광 광도계에서 측정한 값을 sodium nitrite 농도별 표준곡선에 대입하여 NO 플라즈마의 양을 산출하였다.

Table 1. Components of Mist

Ingredients	Phase	Contents (%)
Water		72.044
Dipropylene glycol	A	4
1,2-hexanediol		3
Sodium chloride		0.5
Magnesium sulfate		0.396
Sodium citrate	B	0.1
Disodium EDTA		0.05
Citric acid		0.01
Cyclopentasiloxane		11.8
Isododecane		4
<i>Helianthus annuus</i> (sunflower) seed oil	C	2
Hydrogenated polyisobutene		1
Diisostearyl malate		1
Tocopherol		0.1

2.5. NO 플라즈마 화장품 제형 성상 육안 평가

NO 플라즈마를 처리한化妆품을 동일한 용기에 일정량을 담아 실온(25 °C), 저온(4 °C), 고온(37 °C, 50 °C) 조건에서 3 주 동안 확인하였다. 화장품의 색상 및 향취 변화, 침전물 생성 여부를 중심으로 제형의 성상을 관찰하였다.

2.6. 통계처리

모든 실험에 대한 분석값은 3 회 반복 실험을 통하여 평균값과 표준편차(mean ± SD)로 나타내었다. 통계적으로 유의한 차이는 student's t-test 방법으로 사용하여 $p < 0.05$ 의 신뢰수준에서 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 용기별 NO 함유량 확인

이 전 연구를 토대로 N₂ 가스를 10 cc/min으로 고정한 상태에서 O₂ 가스를 2 cc/min 유속으로 진행하였다[14]. 4 cm², 25 cm², 75 cm², 175 cm² 4 가지 용기에 동일한 조건으로 NO 플라즈마를 처리하였다. 처리한 날로부터 2 주 동안 잔존량을 비교 확인하였다. 그 결과, 4 cm² 용기에서 가장 많은 잔존량이 남아있는 것을 확인하였다(Figure 1).

추가적으로 위 실험과 비교하여 보다 적합한 용기를 확인하기 위해 25 mm, 40 mm, 50 mm용기를 위와 동일한 조건으로 NO 플라즈마를 처리하여 비교하였다. 그 결과, 25 mm 용기에서 가장 많은 잔존량이 남아있었다(Figure 2). 결과적으로 플라즈마 주입 직후 바닥 면적대비 가장 작은 용기의 플라즈마 양이 가장 작았으나, 2 주 후 머금고 있는 잔존량이 많다는 것을 확인하였다.

3.2. NO 플라즈마 처리한 미스트 NO 함유량 확인

Griess solution assay를 통해 NO를 처리한 날로부터 3 주 동안 수상 미스트(water mist)와 층분리 미스트(stratified mist) 수상층의 NO 잔존량을 측정하였다. 추가적으로 기존에 제조하였던 층분리 미스트와 동일한 조건으로 제조하여 유상층과 수상층을 흔들어서 NO양을 비교하였다. 주입 직후 두 제형 수상층의 NO 함량은 비슷하였지만, 3 주 후 층분리 미스트 수상층의 NO 함량이 수상 미스트 수상층에 비해 1.5 배 적은 것을 확인하였다. 수상층과 유상층을 흔들어서 사용한 층분리 미스트(stratified mist shake)의 NO 손실량도 수상 미스트 수상층에 비해 1.5 배 적은 것을 확인할 수 있었다.

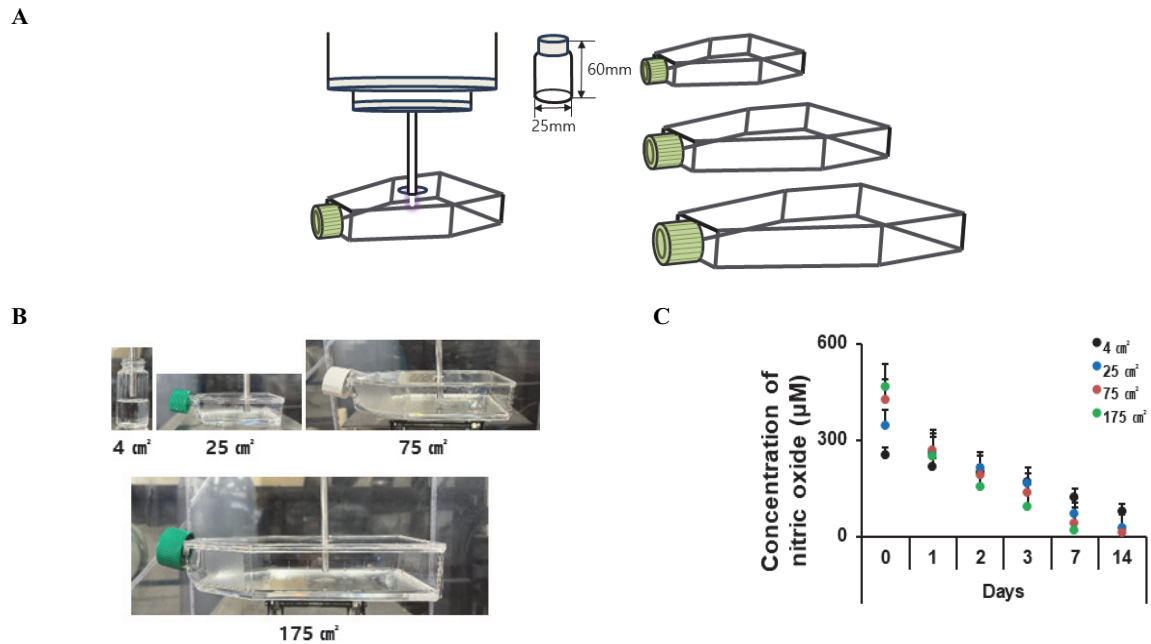


Figure 1. Examination of the surface area-dependent plasma stability of airtight square-containers. O₂ gas was treated in a container at a flow rate of 2 cc/min with N₂ gas fixed at 10 cc/min for 10 min. (A) Containers model, (B) Plasma injection by container, (C) Amount of nitrogen plasma remaining in the container.

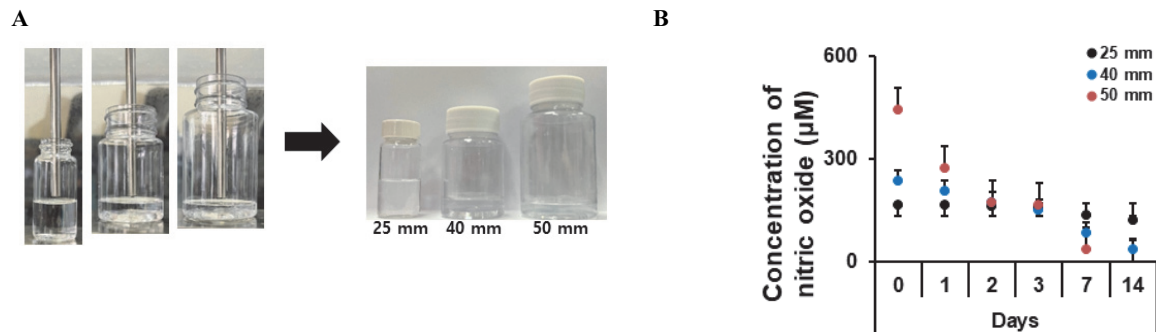


Figure 2. Examination of the surface area-dependent plasma stability of airtight round-containers. O₂ gas was treated in a container at a flow rate of 2 cc/min with N₂ gas fixed at 10 cc/min for 10 min. (A) Injecting nitrogen plasma into a container, (B) Amount of nitrogen plasma remaining in the container.

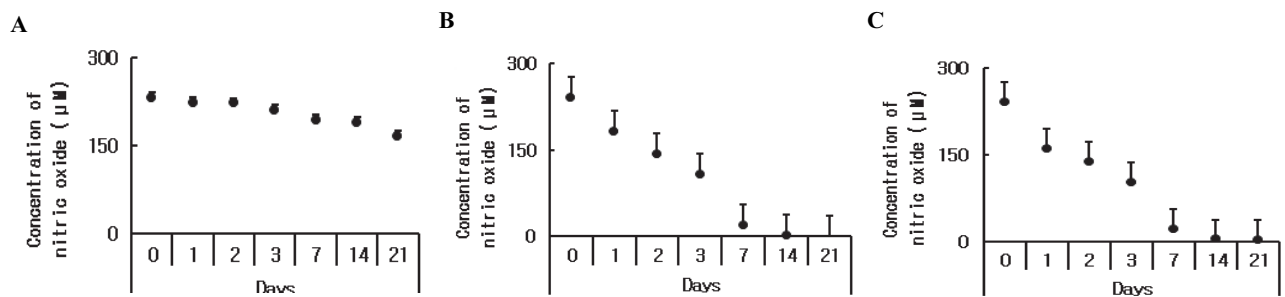


Figure 3. Stability of plasma in formulations. Cosmetics treated with nitrogen plasma were treated with O₂ gas in a container at a flow rate of 2 cc/min and N₂ gas was fixed at 10 cc/min for 10 min. (A) Water mist NO loss, (B) Stratified mist NO loss, (C) Stratified mist shake NO loss.

Period	Water Mist				Stratified Mist			
Immediately after manufacturing								
	pH	RT	4°C	37°C	50°C	RT	4°C	37°C
After 1 day								
	pH	RT	4°C	37°C	50°C	RT	4°C	37°C
After 2 day								
	pH	RT	4°C	37°C	50°C	RT	4°C	37°C
After 3 day								
	pH	RT	4°C	37°C	50°C	RT	4°C	37°C
After 1 week								
	pH	RT	4°C	37°C	50°C	RT	4°C	37°C
After 2 week								
	pH	RT	4°C	37°C	50°C	RT	4°C	37°C
After 3 week								
	pH	RT	4°C	37°C	50°C	RT	4°C	37°C

Figure 4. The stability of NO plasma cosmetic products over time. Water mist and stratified mist were well stable for 3 weeks.

3.3 NO 플라즈마 화장품 안정도 검토

앞서 진행한 griess solution assay를 통해 수상 미스트와 층분리 미스트에서 NO플라즈마가 3 주 동안 존재하는 것을 확인하였다(Figure 4). NO 플라즈마가 존재한 3 주 동안 두 제형이 안정한 상태인지 알아보기 위해 화장품의 성상을 육안으로 비교하였다. 그 결과, 수상 미스트(water mist)는 저온(4 °C), 실온(25 °C), 고온(37 °C, 50 °C)에서 침전물이 생성되지 않았으며, 색상과 향취 모두 안정하였다. 반면, 층분리 미스트(stratified mist)는 침전물과 향취는 나타나지는 않았으나, 2 일부터 고온(37 °C, 50 °C)에서 부분적으로 유상층에 색상과 pH 변화가 있음을 관찰하였다.

4. 결 론

본 연구에서는 plasma generator를 사용하여 화장품 용기별로 질소 플라즈마를 처리 한 후, 남아있는 오존의 양을 확인하여 적합한 용기를 확인하고자 하였다. 4 cm², 25 cm², 75 cm², 175 cm² 용기에 동일한 양의 증류수를 10 mL 씩 첨가하여 질소 플라즈마를 10 min 동안 처리하였다. 2 주 동안 용기별로 오존의 양을 관찰하였더니 4 cm² 용기 안에 가장 많은 오존 잔존량이 남아있는 것을 확인하였다. 추가적으로 적합한 용기를 확인하기 위해 25 mm, 40 mm, 50 mm 용기에 위와 동일한 조건으로 증류수의 양과 질소 플라즈마를 주입하였다. 종합적으로 공기에 노출된 용기의 표면이 작은 25 mm 용기에서 플라즈마 잔존량이 많은 것을 확인하였다. 플라즈마 주입 직후 양을 확인해 보았을 때 노출된 용기의 표면이 작은 용기에서 잔존량이 낮았으나, 시간이 지날수록 손실되는 속도와 면적은 비례하였다.

나아가 층분리 미스트의 수상층에 질소 플라즈마를 주입하고 그 위를 유상층으로 덮으면 남아있는 NO의 양이 수상 미스트보다 많을 것이라고 가정하였다. 이를 검증하기 위해 수상 미스트와 층분리 미스트 화장품을 제조하였고, 3 주 동안 수상층에 남아있는 NO의 양을 griess solution assay로 측정하였다. 층분리 미스트 수상층의 처리한 NO 플라즈마를 유상층이 덮어주어 NO가 더 오래 존재한다는 가정과 달리 유상층을 덮지 않은 수상 미스트의 NO 함유량이 더 많다는 사실을 확인하였다[14].

더불어 용기 조건을 동일하게 하여 NO 플라즈마를 처리한 미스트의 안정성을 관찰하였다. 3 주 동안 확인한 결과 수상 미스트에서는 침전물, 색상과 향취, pH 모두 안정함을

확인하였다. 층분리 미스트의 유상층 부분에서는 2 일부터 고온(37 °C, 50 °C)에서 pH 증가와 색 변화가 있었다. 이는 제조하는 과정에서 첨가된 해바라기 오일의 변화를 원인으로 볼 수 있다[15,16]. 이러한 이유는 플라즈마가 오일의 유기 결합을 파괴하여 구조적 변화를 일으키고, 산화 손상을 주기 때문이다[17-20]. 최종적으로, 질소 플라즈마는 용기에 따라 안정성 차이를 보임으로써 적합한 용기의 중요성을 시사한다. 후속연구에서는 유휴제 및 산화방지제 함유량을 조절한다면 고온에서의 변색을 막아 화장품 제형에 적합한 안정성 있는 용기 확보를 기대할 수 있다.

Acknowledgement

This research was supported by a grant from the Ajou University Research Fund (to B. H. B.) and the Gyeonggi Business & Science Accelerator (GBSA) grant (to B. H. B.).

References

1. U. H. Hwang, S. K. Park, S. D. Kim, and J. H. Kim, A study on the NO decomposition characteristics using non-thermal plasma process, *J. of KSEE*, **23**(11), 1795 (2001).
2. D. G. Lim, Oxidative stress; reactive oxygen species and nitric oxide, *Acute. Critical. Care.*, **19**(2), 81 (2004).
3. M. M. Cals-Grierson and A. D. Ormerod, Nitric oxide function in the skin, *Nitric Oxide*, **10**(4), 179 (2004).
4. Ihn. Han, Plasma devices for cosmetic and aesthetic treatment, *Plasma Biosciences and Medicine*. Singapore, 229 (2023).
5. D. B. Graves, The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology, *J. Phys. D.*, **45**(26) (2012).
6. R. Bruckdorfer, The basics about nitric oxide, *Mol. Aspects. Med.*, **26**(1-2), 3 (2005).
7. C. H. Kim, New conversing technology; plasma medicine, *Korean J Otorhinolaryngology-Head Neck Surg.*, **53**(10), 593 (2010).
8. E. Y. Choi, J. K. Noh, N. Hasan, and J. W. Yoo,

- Antimicrobial mechanisms of nitric oxide and strategies for developing nitric oxide-based antimicrobial agents, *Korean Journal of Microbiology*, **50**(2), 87 (2014).
9. X. Hu, G. B. Zhao, J. J. Zhang, L. Wang, and Maciej Radosz, Nonthermal-plasma reactions of dilute nitrogen oxide mixtures: NO_x-in argon and NO_x+CO-in-argon, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **43**(23), 7456 (2004).
 10. H. Shintani, A. Sakudo, P. Burke, and G. McDonnell, Gas plasma sterilization of microorganisms and mechanisms of action, *Exp. Ther. Med.*, **1**(5), 731 (2010).
 11. M. G. Espey, K. M. Miranda, D. D. Thomas, S. Xavier, D. Citrin, M. P. Vitek, and D. A. Wink, A chemical perspective on the interplay between NO, reactive oxygen species, and reactive nitrogen oxide species, *Ann. N Y Acad. Sci.*, **962**(1), 195 (2002).
 12. C. V. Suschek and C. Oplander, The application of cold atmospheric plasma in medicine: The potential role of nitric oxide in plasma-induced effects, *Clinical Plasma Medicine*, **4**(1), 1 (2016)
 13. S. M. Lee, S. Y. Jung, S. Brito, H. Heo, B. Cha, Lei Lei, S. H. Lee, M. G. Lee, B. H. Bin, and B. M. Kwan, Evaluation of the potential of nitrogen plasma to cosmetics, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **48**(3), 189 (2022).
 14. S. H. In, H. Cho, N. G. Kang, J. S. Han, S. G. Park, and C. K. Lee. Synergistic interaction in W/O and W/S emulsions stabilized by a mixture of powders and surfactant, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea* **42**(1), 15 (2016).
 15. A. V. Butenko, A. B. Snekhter, A. V. Pekshev, A. B. Vagapov, A. L. Fayzullin, N. B. Serejnikova, N. A. Sharapov, V. A. Zaborova, and V. N. Vasilets, Review of clinical applications of nitric oxide-containing air-plasma gas flow generated by Plason device, *Clinical Plasma Medicine*, **19-20**, 100112 (2020).
 16. M. Gavahian, Y. H. Chu, A. M. Khaneghah, F. J. Barna, and N. N. Misra. A critical analysis of the cold plasma induced lipid oxidation in foods, *Trends in Food Science & Technology*. **77**, 32 (2018).
 17. J. V. Durme and J. Vandamme, Non-thermal plasma as preparative technique to evaluate live oil adulteration, *Fod Chemi.*, **208**, 185 (2016).
 18. X. V. Yopez, H. Baykara, L. Xu, and K. M. Keener. Cold plasma treatment of soybean oil with hydrogen gas, *JAOCS*, **98**(1), 103 (2021).
 19. M. Xu and Y. Li. Infected wound healing using plasma activated oil, *IEEE Transactions on Plasma Science*, **47**(11), 4827 (2019).
 20. S. Y. Jung, H. R. Kang, H. J. Yoo, H. Choi, H. Heo, B. Cha, S. Brito, S. M. Lee, H. L. Yeo, S. J. Kang, D. Y. Lee, B. M. Kwak, M. G. Lee, and B. H. Bin, Application of nanoparticles derived from *Artemisia princeps* for cosmetic products, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **47**(3), 265 (2021).