

不同防腐剂对皮肤常驻菌的抑制作用研究

滕 贇¹, 刘雅丹^{2*}

(1. 内蒙古自治区药品检验研究院, 呼和浩特 010010; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629)

摘要: **目的** 测定在不同的防腐剂的作用下, 皮肤常驻菌的抑制效果。**方法** 结合采集的实时数据先计算出最小抑菌浓度 (Minimum inhibitory concentration, MIC) 值, 设定初始的约束条件后进行菌体的培养, 多周期对比菌落数量的变化状态, 并测算菌落变动平均值, 判定分析此时菌体的处理效果。逐批逐次对测试的溶液进行稀释, 针对水溶液、膏状化妆品、粉状化妆品以及液态化妆品四种测试目标的对比, 计算出菌体的抑制灭杀对数值。**结果** 在不同的采样样品浓度下, 对皮肤的常驻菌进行灭杀与抑制, 经过多层级的计算, 最终得出的灭杀对数值较高, 均可以达到 7.5 以上。**结论** 防腐剂浓度的增加对皮肤常驻菌的抑制效果基本上处于正向的变化关系, 防腐剂的浓度越高, 形成的抑制效果越好, 反之, 防腐剂的浓度越低, 形成的抑制效果会相对较差。

关键词: 不同防腐剂; 皮肤常驻菌; 抑制分析; 作用核证; 防腐处理; 皮肤管理

Study on the inhibitory effect of different preservatives on resident bacteria of skin

TENG Yun¹, LIU Ya-Dan^{2*}

(1. Institute for Inner Mongolia and drug testing, Hohhot 010010, China; 2. China Institute for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

ABSTRACT: Objective To determine the inhibitory effect of skin resident bacteria under the action of different preservatives. **Methods** Combined with the collected real-time data, the minimum inhibitory concentration value (MIC) was calculated first, the initial constraint conditions were set, and then the bacteria were cultured. The change state of the number of colonies was compared in multiple cycles, and the average value of colony change was calculated to determine and analyze the treatment effect of the bacteria at this time. The test solution was diluted batch by batch, and the inhibition and killing pairs of bacteria were calculated according to the comparison of four test targets: aqueous solution, paste cosmetics, powder cosmetics and liquid cosmetics. **Results** Under different sample concentration, the resident bacteria of skin were killed and inhibited. After multi-level calculation, the final killing pair value was higher, which could reach more than 7.5. **Conclusion** The inhibitory effect of increasing the concentration of preservatives on resident bacteria in the skin is basically in a positive change relationship. The higher the concentration of preservatives, the better the inhibitory effect will be formed; conversely, the lower the concentration of preservatives, the relatively poor inhibitory effect will be formed.

KEY WORDS: preservative; skin resident bacteria; inhibition analysis; function verification; anti-corrosion treatment; skin management

0 引言

随着个人护理产品市场的日益繁荣, 化妆品中的防腐剂作为确保产品稳定性和延长其保质期的重要成分, 其安全性与有效性一直备受关注^[1]。特别是, 防腐剂对皮肤常驻菌的影响, 成了近年来皮肤微生态和化妆品科学研究的热点之一。皮肤作为人体最大的器官, 不仅承担着保护内部组织免受外界侵害的

功能, 还维持着一个复杂而微妙的微生物群落——皮肤微生态。其中, 皮肤常驻菌作为这一微生态的重要组成部分, 对于皮肤的健康状态具有不可忽视的影响。然而, 随着消费者对于产品天然性和安全性关注的提升, 以及科学技术的深入创新, 人们开始意识到传统化学防腐剂可能对皮肤常驻菌产生不利影响, 进而破坏皮肤微生态平衡, 引发各种皮肤问题^[2]。皮肤常驻菌^[3], 又称固有性细菌, 是皮肤表面持久存在的微生物, 它们与

* 通信作者: 刘雅丹, 硕士, 副主任药师, 研究方向: 质量管理与风险评估。E-mail: liuyadan@nifdc.org.cn

*Corresponding author: LIU Ya-Dan, Master, Deputy Chief Pharmacist, China Institute for Food and Drug Control, Beijing 102629, China. E-mail: liuyadan@nifdc.org.cn

皮肤共同形成了一个动态的平衡系统, 对于皮肤屏障功能的维护、皮肤 pH 值的调节以及油脂分泌的控制等方面均发挥着重要作用。然而, 随着化妆品的广泛使用, 其中的防腐剂可能会对皮肤常驻菌产生不同程度的抑制作用, 进而影响皮肤微生态的平衡, 甚至可能引发一系列皮肤问题。不同的防腐剂会对皮肤常驻菌形成对应的抑制作用, 所以此次结合真实的背景, 对其进行验证分析与对比研究。在核验的过程中, 针对多类型防腐剂的化学结构、作用机制及其在化妆品中的应用情况^[4], 多阶段对比, 接着, 通过对比不同防腐剂对皮肤常驻菌的抑制效果, 分析其可能的作用机制及影响因素, 为行业的可持续发展提供借鉴^[5-7]。

1 材料与方法

1.1 材料准备

结合实际的实验要求及测定目标, 对不同防腐剂^[8-10]对皮肤常驻菌的抑制作用展开对比性测定研究。根据基础的抑制需求, 准备痤疮丙酸杆菌 ATCC6919、己二醇 (纯度 $\geq 99.89\%$)、白色念珠菌 CMCC (B) 98001 以及部分可以进行后期培养的表皮葡萄球菌 CMCC (B) 26069。需要注意的是, 为确保最终测试结果的真实与可靠, 在进行测试之前, 必须确保所选择的所有常驻菌为标准菌株, 且以菌群的形式存在。与此同时, 还需要准备一定的戊二醇 (纯度 $\geq 99.87\%$), 并选择干酪乳杆菌 ATCC 334 作为辅助菌体。接下来, 选择测试仪器; 恒温培养箱、精准智能菌种储存柜、智能厌氧系统以及压力蒸汽灭菌器等。辅助试剂选择: 沙氏葡萄糖琼脂培养基 SDA、脑心浸液肉汤 (BHI)、脑-心浸萃琼脂培养基、双料 BHI 肉汤、胰酪大豆胨琼脂培养基 TSA 等。至此, 完成基础的测试准备。

1.2 测试布置

根据上述准备的实验材料, 接下来, 在测试之前, 需要对菌群进行一段时间的稳定培养, 确保其处于安全稳定的状态, 同时过程中不断明确、调整其培养的条件, 增加后续测试的针对性。具体如表 1 所示:

表 1 试验菌株培养实况表
Table 1 Experimental strain cultivation status table

菌株序号	名称	培养基	预设实时培养标准条件
1	痤疮丙酸杆菌	脑-心浸萃琼脂培养基	33°C, 24 h, 厌氧培养
2	干酪乳杆菌	TSA 培养基	30°C, 12 h
3	白色念珠菌	SDA 培养基	23°C, 48 h
4	表皮葡萄球菌	TSA 培养基	33°C, 24 h

表 1 主要是对试验菌株培养实况的采集与分析。接下来, 可以在当前的培养皿中加入 5 mL 的双料肉汤, 0.2 mL 的适当浓度菌悬液, 将其混合在一起, 需要注意的是, 当前的菌悬液浓度必须进行定向控制, 浓度在 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL 即可。除此之外, 还可以在混合样本之中增加一定的水溶液, 稳定器皿内的菌群, 一般情况下, 自身的浓度控制在 0.05%~0.15% 之间, 当前将测试的样本静置 48 h, 温度保持平衡即可, 至此完成对基础测试环境的设置与搭建。

1.3 实验方法与过程

当前, 将上述调整布置的测试样本中划分为均匀的 3 份, 每一份都是均等的, 但是菌群的种类偏重不同。首先, 测定出

当前的抑菌浓度值, 根据样本的实际菌群种类偏重, 设定 0.05%、0.15% 和 0.25% 三种对应的浓度, 但是需要注意的是, 最高的浓度最好不要超过限值标准, 一般为 0.55% 以内即可。当前, 选定水溶液、膏状化妆品、粉状化妆品以及液态化妆品作为测试的目标对象, 结合皮肤的变化周期和常驻菌群特征, 进行具体测定。将上述经过处理的测试样本进行菌群状态的测定, 结合菌群此时的特征, 在此加入适量的菌悬液, 并在 2、6、12、24 h 四个时间节点之中分别测定此时菌群的异常状态, 随后将其放置在恒温培养箱之中, 以待后续使用。此时结合采集的测试数据以及信息, 需要计算出当前的最小抑菌浓度 (Minimum inhibitory concentration, MIC) 值。见公式 (1):

$$F = (1 + \beta)^2 \times \sum_{m=1} \delta m - t \quad (1)$$

式 (1) 中: F 代表最小抑菌浓度值, β 代表基础浓度值, δ 代表菌群量, m 代表菌群单元数量, t 代表重复抑制位置, 根据当前的测定需求, 将计算出的最小抑菌浓度值设置为一致的约束限制标准。在此基础之上, 经过一段时间的静置培养之后, 在当前的采样器皿中加入 BHI 肉汤进行混合搅动, 与此同时, 采用吹打均匀的方式, 促使器皿中的菌落全部吸收, 置于预设的化妆品之中, 进行实时的阴性对比, 在设定的时间节点之中, 测定出此时的菌落数量。这部分可以预设多个测试周期, 共 6 天, 每一天需要对菌群数量的变化进行记录和对比, 见图 1。

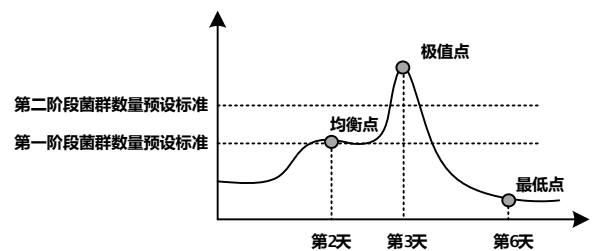


图 1 多周期菌落数量对比图示

Fig.1 Comparison chart of colony count in multiple cycles

图 1 还对多周期菌落数量对比分析, 接下来, 基于实时菌落数量的变化, 对当前的多周期菌落数量变化趋势进行具体的验证。当菌落数量达到一定的标准之后, 化妆品中防腐剂也会对皮肤造成不同程度的负担与影响, 所以, 结合多个周期菌落的变动情况, 计算出此时的菌落变动平均值, 见公式 (2)。

$$P = \rho^2 - \frac{\rho}{G} \quad (2)$$

式 (2) 中: P 代表菌落变动平均值, ρ 代表预设菌落总量, ρ 代表菌落数量限值, G 代表预设平衡点。根据当前计算, 针对各个周期菌落变动平均值趋势的转换基本可以判定出此时实验测试的菌落的生长情况。随后, 在当前的测试样本加入适当浓度的己二醇和戊二醇水溶, 分别是 0.1 mL 和 0.3 mL。但是将上述的溶液加入试管中之后, 需要进行 10 min 的搅拌, 使其充分融合之后, 分三个批次加入采样的试管溶液之中。

此时根据当前的测定要求, 设定菌悬液终浓度, 一般结合实际抑制的标准, 尽量控制在 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL, 当此时的菌落总数确定之后, 需要对测试的溶液进行适当的稀释但是这部分需要注意的是, 当前针对溶液的稀疏标准并不是固定的, 可以结合实际的整合与抑制要求, 采用阶梯式、层次式的方法, 逐次逐批地对测试的溶液进行稀释。这样做的目的是由于当前的溶液成分较为复杂, 如果同时稀疏, 难以精准地达到预期的稀

疏标准和差值。逐次逐批地稀释方式可以针对多个标准进行处理,稀释的过程较为可控,也形成了一个基础的过渡结构,给后期的抑制处理奠定基础条件与更为精准的参考数据。但是这部分需要结合一致的覆盖范围及程度进行深度,计算出实际的稀释倍数,见公式(3)。

$$i = g + \sqrt{(1-l)} \quad (3)$$

式(3)中: i 代表稀释倍数, g 代表混匀度, l 代表实时浓度。按照计算得出的稀释倍数对测试的溶液进行稀释处理,同时取出1.5 mL接种倾注放置在生物菌群安全存储柜之中,同时使用压力蒸汽灭菌器进行基础性处理与调整,消除掉此时多余或者异常的菌种。此时经过测定可以得知,每个稀释度都可以接种2个平板,可以结合培养的菌株自身的特性来调整实时的温度以此来实现定向的恒温培养。结合随机选定的痤疮丙酸杆菌、干酪乳杆菌、白色念珠菌以及表皮葡萄球菌四个菌群的变化,针对上述水溶液、膏状化妆品、粉状化妆品以及液态化妆品四种化妆品进行对比测定。此时,将当前的菌群数量与初始的菌群数量进行对比,计算出灭杀对数值,见公式(4)。

$$L = \frac{\phi + X}{D - \sum_{U=1} \phi U + V} + \mathfrak{R}X \quad (4)$$

式(4)中: L 代表灭杀对数值, ϕ 代表基础菌群数量和实际菌群数量, ϕ 代表可生产菌群限值, U 代表灭杀耗时, ϕ 代表抑制菌群数量, V 代表扩展抑制数量, \mathfrak{R} 代表平均灭杀值。结合当前计算得出的测试结果,进行对比性测试核验,实现测试结果的分析。

2 结果与分析

结合上述测定,对最终的测试结果对比验证。首先,不同的化妆品内部所添加的防腐剂含量存在极大的差异,水溶液、膏状化妆品、粉状化妆品以及液态化妆品四种化妆品在不同的采样样品浓度下,所形成的对皮肤常驻菌的抑制效果也存在极大的差异,具体得出的数据见表2。

表2 不同防腐剂对皮肤常驻菌抑制测试效果对比表
Table 2 Comparison of the inhibitory effects of different preservatives on resident bacteria on the skin

防腐剂类型	浓度	灭杀对数值
水溶液	0.35	7.6
膏状化妆品	0.46	7.9
粉状化妆品	0.57	8.2
液态化妆品	0.59	8.5

对不同防腐剂对皮肤常驻菌抑制测试效果进行核验与对比分析。此次针对选定的水溶液、膏状化妆品、粉状化妆品以及液态化妆品四种化妆品,在不同的采样样品浓度下,对皮肤的常驻菌进行灭杀与抑制,经过多层级的计算,最终得出的灭杀对数值较高,均可以达到7.5以上,结合上述测定获取的实验结果,展开更加完整、具体的讨论研究,凸显出最终的抑菌作用。

3 讨论与结论

针对上述采集的测试数据以及最终的测定结果信息,基于当前的实验要求,进行最终的测定讨论研究:将水溶液、膏状化妆品、粉状化妆品以及液态化妆品四种化妆品设定为不同的防腐剂测试样本,不同状态下的化妆品内部所添加的防腐剂含

量也是不同的,在不同的采样样品浓度测定影响下,此次针对皮肤上的常驻菌群在单元时间的范围之内,测定得出的菌群灭杀对数相对较好,均可以达到7.5以上,抑制作用评价均可以达到明显与强烈的等级。这说明防腐剂浓度的增加对皮肤常驻菌的抑制效果基本上处于正向的变化关系,防腐剂的浓度越高,形成的抑制效果越好,反之,防腐剂的浓度越低,形成的抑制效果会相对较差。但是当防腐剂的浓度达到了预设的标准限值之后,也会对皮肤形成一定的负担与影响,所以在进行添加的过程中,也需要尽量进行最佳标准的设定与计算,确保抑制效果的平衡、稳定和安全,具有实际的应用价值。本研究不仅具有重要的理论意义,还具有一定的实际应用价值。通过深入探讨不同防腐剂对皮肤常驻菌的抑制作用,有望为化妆品行业的发展提供新的思路和方法,为消费者带来更加安全、有效的个人护理产品。

本研究对不同防腐剂对皮肤常驻菌抑制作用的深入探讨,揭示了防腐剂在化妆品及个人护理产品中的双刃效应。在保障产品安全性的同时,也应关注其对皮肤微生态的潜在影响。此次在真实的测试背景下,结合现代人皮肤的特征,采用多角度、多层次、多目标的方式进行抑制效果的测验,经过对比之后,总结出具体抑制特征,为更多天然、高效且对皮肤友好的新型防腐剂的研发提供和参考,以满足市场对于更安全、更健康化妆品的需求。

参考文献

- [1] 师晶.化妆品中防腐剂的应用与发展趋势[J].精细与专用化学品,2023,31(09):46-49.
- [2] 崔生辉,陈怡文,路勇.化妆品防腐剂使用与皮肤微生物的关系[J].卫生研究,2022,51(01):153-156.
- [3] 宋静.醇类防腐剂对皮肤常驻菌的抑制作用[J].生物化工,2021,7(02):33-35,39.
- [4] 朱海荣,孙胜敏,张娟,等.化妆品中防腐剂的应用现状及检测技术研究进展[J].日用化学工业(中英文),2023,53(06):679-685.
- [5] 吕昊,邓秀英,朱思阳,等.化妆品中防腐剂检测的HPLC与UPLC方法转换[J].日用化学品科学,2023,46(02):24-30,38.
- [6] 张静,刘绪平,易路遥,等.化妆品微生物污染状况及其防腐剂使用情况分析[J].日用化学工业,2020,50(10):698-703,710.
- [7] 范培浩,张冉冉,杜玉兰,等.化妆品中含羟基类防腐剂性质的研究与分析[J].广东化工,2020,47(07):133-136.
- [8] 贺晓蓉.化妆品防腐剂应用综述[J].中国洗涤用品工业,2023,(11):43-52.
- [9] 李和伟,魏国志,代颖.化妆品防腐剂苯氧乙醇和对羟基苯甲酸丙酯的皮肤安全性和暴露量[J].香料香精化妆品,2024,(03):212-217.
- [10] 高梦雅.化妆品中防腐剂对细菌存活的影响研究[J].中国标准化,2024,(11):267-269.

作者简介

滕贻, 硕士, 主管技师, 研究方向: 微生物学。

刘雅丹, 硕士, 副主任药师, 研究方向: 质量管理与风险评估。