

프로폴리스와 허브에센셜오일을 이용한 천연방부제형의 특성

신광준* · 정노희†

충북대학교 화학공학부 공업화학전공

* (주)허브그린 부설연구소

(2007년 1월 2일 접수 ; 2007년 5월 8일 채택)

Characterization of Natural Antiseptic System Utilized Propolis and Herb Essential Oil

Kwang-Jun Shin* · Noh-Hee Jeong†

† *Department of Industrial Engineering Chemistry, School of Chemical Engineering, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea*

* *Herbgreen Co., Ltd, 94-1 Oesammi-dong, Osan-si, Gyeonggi-do, Korea*

(Received Jan. 2, 2007 ; Accepted May 8, 2007)

Abstract : The cosmetic and toiletries are necessary health care & household for common life. However we need antiseptic which is effecting harmlessly to the human body. There are propolis, Lavender, Lemon, essential oil in the natural antiseptic materials. This work proceeded design Natural-antiseptic system with three materials as above-mentioned. Natural-antiseptic system was accomplished with propolis (2%), Lavender essential oil (0.3%), Lemon essential oil (0.3%) safety out of Polysorbate 20 (0.5%), Polysorbate 80 (0.5%), PEG (60) hydrogenated castor oil (0.45%), ethanol (5%). The antimicrobial test was experimented on *E. coli* and *Bacillus stearothermophilus*. In this antimicrobial test, we found that the effect of antiseptics against *E. coli* and *Bacillus stearothermophilus* with propolis 0.3%, Lavender essential oil 0.045% and Lemon essential oil 0.045% was improved. Therefore could expect Natural-antiseptic system product for moisturizing skin toner for face, nourishing essence and wet tissue for clean other things.

Keyword : Herb, Propolis, Antiseptic, cosmetic, toiletries

1. 서론

화장품과 세제는 기름이나 물을 주성분으로 하며 특히 화장품은 미생물의 탄소원이 되는 글리세린이나 솔비톨 등, 질소원으로는 아미노

산 유도체, 단백질 등이 배합되어 있어서 곰팡이나 세균 등의 미생물이 침투하기 쉽다. 그리고 식품과 비교하여 화장품은 사용기간이 수년 이상 되는 것도 있어 미생물에 의한 변화의 위험은 식품에 비할 바가 아니다. 사용 중 손가락 등으로부터 오염되어 미생물이 일으키는 변패, 변취 등으로부터 화장품을 장기간 보호하기 위하여 방부제를 사용할 수밖에 없다[1].

† 주저자 (e-mail : nhjeong@cbucc.chungbuk.ac.kr)

방부제는 미생물의 증식을 억제하며, 시간경과와 함께 사멸시켜 제품의 변화를 방지한다. 하지만 미국 FDA, 일본 후생성, 국내의 식품의약품안전청 등에서 배합한도를 규제할 만큼 안전성에 논란이 있고, 뉴스 미디어에 방부제의 해로움이 보도될 정도로 많은 문제점을 안고 있으며 이에 따른 국민들의 불안이 가중되고 있다. 게다가 이러한 문제점에도 불구하고 방부제를 쓰지 않을 때 제품의 변질과 미생물의 오염, 나아가 인간에게 해로운 병균의 오염 등, 더욱더 큰 문제점이 발생하기 때문에 해로움을 알면서도 사용할 수 밖에 없는 현실이 지속되고 있다[2].

따라서 인체에 해가 없으면서도 방부효과를 가진 물질들이 요구되고 있으며, 이러한 재료로 알려진 천연물질 중에 몇 가지가 프로폴리스(propolis)라는 천연 왁스상의 추출물과, Lavender, Lemon, Teatree, Eucalyptus, Pine 등의 허브(herb) 에센셜오일(essential oil)(精油)이 있다.

벌집에서 얻어지는 지용성 복합체인 프로폴리스(*pro* = before + *polis* = city)[3]는 여러가지 꽃봉오리와 수목들의 성장점을 보호하기 위하여 분비하는 봉교(蜂膠)를 꿀벌들이 모아 벌 자신의 침샘 분비물과 혼합하여 만드는 수지성, 점착성, 고무상 의 물질로 벌집의 출입구 또는 빈틈을 메워서 벌집 내부를 보강하기도 하고, 강력한 살균력으로 인하여 벌집 속을 무균상태로 만들며 유해한 미생물의 침입을 방지하는 물질로 사용한다[4]. 천연년전부터 민간에서 약으로 쓰여 왔으며 항균, 항종양작용, 항염증작용, 활성산소 제거능등 매우 다양한 기능을 갖고 있다[5,6].

구성성분은 점성류 수지가 약 50~55%, 왁스류 약 30%, 정유(精油) 약 8~10%, 화분에스테르류 약 5~10%, 아미노산, 페르페노이드류(terpenoids) 약 20여종의 Flavonoid가 포함되어 있다[7,8].

현재 프로폴리스는 건강식품에 주로 이용되고 있고 비누와 화장품등에도 항균 원료로 이용되고 있다. 하지만 *Bacillus subtilis*(*B. subtilis*), *Proteus vulgaris* 및 *Bacillus alvei*에는 강한 항균작용을 나타내고, *Salmonella gallinarum*, *S. dublin*에도 효과가 있으나, *Escherichia coli*(*E. coli*)에는 거의 효과가 없다고 보고되어, 방부효과를 이용하기 위해 단독

으로 쓰기에는 무리가 있다[9]. 또한 향취가 강하여 화장품이나 세제에 혼합하기에는 그 역한 냄새로 인해 사용하기가 꺼려지는 단점이 존재한다.

허브는 식물 중에 식용, 미용, 약용, 방향제, 방충제, 방부제, 소취제등 이로움을 주는 녹색 식물의 총칭이다. 이러한 도움을 주는 식물에서 기름을 채취하여 그 식물이 갖는 고유한 성질을 이용할 수 있는데 이 기름을 에센셜오일이라 한다. 에센셜오일 중에는 위에서 열거한 여러 가지 효과를 가지는 것들이 많으며 그중에 Lavender와 Lemon은 매우 다양하게 이용되고 있다.

Lavender는 향이 순하고 부드러워 허브의 여왕이라는 별칭이 있을 정도로 많이 쓰이고 있으며, Lavender 에센셜오일은 일반적으로 향원료로써 비누와 화장품, 향수 등에 이용되고 있고, 아이스크림, 캔디, 빵이나 껌 등 식품에서의 이용도 무척 많다[10]. 게다가 항균성, 항진균성, 살균등의 효과가 있다고 알려져 있다[11].

Lemon은 실생활에 매우 많이 이용되는 시트러스(citrus)계열의 과일로 맛은 매우 시고 향취는 매우 상큼하다. 껍질에서 짜낸 에센셜오일은 화장품과 세제에서 향 원료로 사용되고 있으며 세정력이 있어 세정제의 원료로도 사용되고 있다. 또한 *E. coli*에 대한 항균성을 가지고 있어 항균제로써의 한 역할도 하고 있다[12].

본 연구에서는 프로폴리스, Lavender 에센셜오일, Lemon 에센셜오일의 항균성질과 방향성성질을 이용하여 화장품 중 가용화방식으로 제조되는 화장품과 세제를 배합한도가 정해져 있는 일반적으로 쓰이는 방부제를 사용하지 않고도 방부효과를 가지는 제형을 제조하여, 천연방부성분을 이용한 생활용품 및 화장품 제형에 대해 기본적인 자료로서의 활용성을 검토하고자 한다.

2. 실험

2.1. 실험재료

천연방부제형에 보습효과를 주기 위하여 Uniqema사의 Sodium Coco PG-Dimonium Chloride Phosphate 와 1,3-butylene glycol를 사용하였고 피부에 emolient효과를 주기 위하여 Uniqema사의 Linoleamidopropyl

PG-Dimonium Chloride Phosphate를 사용하였다. 가용화제는 동남합성의 Polysorbate 20과 Polysorbate 80을 이용하였고 Lavender와 Lemon 에센셜오일은 이탈리아의 향료회사 A.C.E.F사의 것을 사용하였다. 프로폴리스는 서울프로폴리스(주)의 Propolis EEP100 모델을 사용하였다. 가용화제인 PEG (60) hydrogenated castor oil은 Nihon Emulsion사 제품을 사용하였으며, 미생물중 *E. coli* 배양용으로 Sigma사의 LB 배양배지를 사용하고 *Bacillus stearothermophilus* 배양용으로 Sigma사의 *Bacillus stearothermophilus* 배양배지를 사용하였다. ethanol은 한국알콜사의 95%를 사용하였고 물은 정제수 제조장치를 통한 정제수를 사용하였다. *E. coli*는 아주대학교 생명공학과에 보관중인 균주를 이용하였고 *Bacillus stearothermophilus* 역시 아주대학교 생명공학과에 보관중인 균주를 이용하였다. 실험에 사용된 원료 및 시약을 Table 1에 나타내었다.

2.2. 실험장치

본 실험에서 가용화를 시키기 위해 교반기를

사용하였으며, 가용화에 의한 제형의 탁도는 Lamotte사의 Turbidimeter 2020을 사용하여 측정하였다. 균주의 Optical density는 Shimadzu사의 UV/VIS Spectrophotometer, UV-2550 모델을 사용하여 측정하였다. *E. coli*와 *Bacillus stearothermophilus*를 배양하기 위해 두리과학의 Shaking Incubator DF-94BU 모델을 사용하였으며, Disc diffusion method를 실험하기 위해 지시코사의 J-100S 모델의 Incubator를 사용하였다. 균주의 저장은 Sanyo사의 MDF-236 모델의 Deep Freezer를 이용하였고, 실험기구를 멸균하기 위해 Jisico사의 J-NAS4 모델의 Autoclave를 사용하였고, J-CBW2 모델의 Cleanbench를 사용하였다. 실험에 사용된 장치를 Table 2에 나타내었다.

2.3. 천연방부제형 제조

200ml 비이커에 상온에서 정제수 83.1 g을 투입하고 교반기를 천천히 가동한다. 수상원료인 Sodium Coco PG-Dimonium Chloride Phosphate를 1 g, Linoleamidopropyl PG-Dimonium Chloride Phosphate를 0.3 g 투입한 후 상이 투명해 질 때까지 교반한다. 1.3-

Table 1. Material Description

Materials	Purity	Purpose	Manufacture
Sodium Coco PG-Dimonium Chloride Phosphate	99%	Humactant	Uniqema
Linoleamidopropyl PG-Dimonium Chloride Phosphate	99%	Emolient	Uniqema
1,3-Butylene Glycol	99%	Humactant	Uniqema
Polysorbate 20	100%	Solubilizer	Dong nam
Polysorbate 80	100%	Solubilizer	Dong nam
Lavender essential oil	100%	Active matter	A.C.E.F
Lemon essential oil	100%	Active matter	A.C.E.F
Propolis EEP100	100%	Active matter	Seoul Propolis
PEG (60) hydrogenated castor oil	99%	Solubilizer	Nihon Emulsion
LB culture	100%	Microbial cultivation reagent	sigma
B. stearothermophilus culture	100%	Microbial cultivation reagent	sigma
Ethanol	95%	solvent	Hankook alcohol

Table 2. Used in The Experimental Instruments

Experimental Instruments	Product NO.	Purpose	Manufacture
UV/VIS Spectrophotometer	UV-2550	Analysis	Shimadzu
Turbidimeter	2020	Analysis	Lamotte
Shaking Incubator	DF-94BU	Microbial cultivation	Doori science
Incubator	J-100S	Microbial cultivation	Jisico
Deep Freezer	MDF-236	Microbial store	Sanyo
Autoclave	J-NAS4	Sterilization	Jisico
Cleanbench	J-CBW2	Microbial working bench	Jisico
Mixer	PI-ss41D	Mixing	Poonglim

butylene glycol을 1 g, Polysorbate 20을 0.5 g, Polysorbate 80을 0.5g을 투입한 후 상이 투명해 질 때까지 교반한다. 50 ml 비커에는 알콜 상으로, 상온에서 95%의 ethanol을 5 g, Lavender 에센셜오일을 0.3 g, Lemon 에센셜오일을 0.3 g 투입 후 균일상이 될 때까지 교반한다.

PEG (60) hydrogenated castor oil을 별도의 항온기에서 40 °C를 유지시켜 용융시킨 후 Table 3과 Table 4의 10종류의 조성비에 변화량에 맞게 투입하고 균일상이 될 때까지 약 교반속도 50 rpm, 5 분간 작동한다. 균일상 확인 후 Propolis EEP100 2 g을 투입하여 균일상이 될 때까지 교반한다. 수상원료를 교반중인 200

Table 3. Natural-antiseptic Formula 1, 2, 3, 4, 5

No.	Materials	Formula (Wt. %)				
		1	2	3	4	5
1	Di-Water	89.10	89.05	89.00	88.95	88.90
2	Sodium Coco PG-Dimonium Chloride Phosphate	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
3	Linoleamidopropyl PG-Dimonium Chloride Phosphate	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
4	1,3-Butylene Glycol	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
5	Polysorbate 20	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
6	Polysorbate 80	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
7	Ethanol	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
8	Lavender essential oil	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
9	Lemon essential oil	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
10	PEG (60) hydrogenated castor oil	-	0.05	0.10	0.15	0.20
11	Propolis EEP100	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Total		100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Table 4. Natural-antiseptic Formula 6, 7, 8, 9, 10

No.	Materials	Formula (Wt. %)				
		6	7	8	9	10
1	Di-Water	88.85	88.80	88.75	88.70	88.65
2	Sodium Coco PG-Dimonium Chloride Phosphate	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
3	Linoleamidopropyl PG-Dimonium Chloride Phosphate	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
4	1,3-Butylene Glycol	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
5	Polysorbate 20	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
6	Polysorbate 80	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
7	Ethanol	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
8	Lavender essential oil	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
9	Lemon essential oil	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
10	PEG (60) hydrogenated castor oil	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45
11	Propolis EEP100	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Total		100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

ml 비커에 알콜상인 50 ml 비커의 내용물을 조금씩 투입하고 균일상을 확인하면서 다시 조금씩 투입하는 가용화를 실시한다. 투입 완료 후 교반속도 50 rpm을 유지하면서 5 분정도 지속한다. 가용화가 끝나면 교반을 중지하고 제형제조를 완료한다[13,14]. 본 천연방부제형의 제조 공정도를 Fig. 1에 나타내었다.

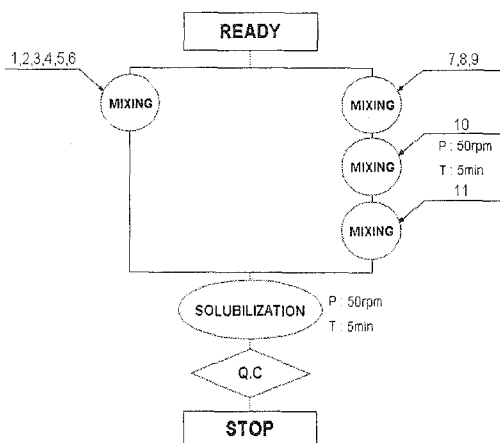


Fig. 1. Schematic diagram of Natural-antiseptic.

2.4. 방부력테스트

방부력 테스트는 아가 배양배지에 균을 고르게 바른 후 테스트할 샘플을 접종하는 disc diffusion method와[15,16] 액체에 배양하여 UV/VIS Spectrophotometer로 optical density를 측정하는 방법[17]을 이용하였다.

2.4.1. E. coli에 대한 disc diffusion method

LB agar plate에 대수증식기에 있는 E. coli 배양액을 적정량 떨어뜨린 후 spreader로 골고루 문질러 spreading한다. 그다음 멸균된 paper disk를 각 자리에 놓는다. 놓여진 paper disk에 각각의 test samples을 적정량 떨어뜨려 흡수시킨다. 37°C Incubator에서 12시간 배양 후 억제환의 생성여부와 억제환의 크기를 측정한다.

2.4.2. E. coli에 대한 optical density 측정

LB liquid 배지에 test samples을 각각 5,10,15%로 희석한다. 대수증식기의 배양액을 1%접종한다. 37°C shaking Incubator에서 배양하면서 4시간 마다 UV/VIS spectrophotometer로 optical density를 측정하여 각 농도에 대한 미생물의 생육억제를 비교해본다.

2.4.3. *Bacillus stearothermophilus*에 대한 disc diffusion method

Bacillus stearothermophilus 배양 고체 배지에 대수증식기에 있는 *Bacillus stearothermophilus* 배양액을 적정량 떨어뜨린 후 spreader 로 골고루 문질러 spreading한다. 멸균된 paper disk를 각 자리에 놓는다. 그리고 놓여진 paper disk를 각각의 test samples을 동일량 떨어뜨려 흡수시킨다. 37°C Incubator에서 12시간 배양 후 억제환의 생성여부와 억제환의 크기를 측정한다.

2.4.4. *Bacillus stearothermophilus*에 대한 optical density 측정

Bacillus stearothermophilus 배양배지에 test samples을 각각 5, 10, 15%로 희석한다. 그리고 대수증식기의 *Bacillus stearothermophilus* 배양액을 1% 접종한다. 그후 37°C Shaking Incubator에서 배양하면서 4시간마다 UV/VIS spectrophotometer로 optical density를 측정하여 각 농도에 대한 미생물의 생육억제를 비교해본다.

3. 결과 및 고찰

본 실험에서는 프로폴리스와 Lavender 에센셜오일, Lemon 에센셜오일을 가용화하고 프로폴리스의 역한 향취를 개선하였으며 일반 방부제를 투입하지 않고 방부효과를 가지는 가용화류의 화장품과 세제의 기본 제형을 제조하였다. 화장품과 식품에 방부효과 확인실험에서 일반적으로 쓰이는 *E. coli*를 사용하였으며 또다른 균주이고 역시 화장품과 식품에 방부효과 확인 실험에서 일반적으로 쓰이는 종인 *Bacillus stearothermophilus*를 사용하였다.

3.1. 프로폴리스와 허브 에센셜오일의 가용화

Propolis EEP100은 벌집에서 노란 왁스상을 떼어내어 알콜에 침출, 여과한 것이다. 많은 종류의 혼합물 덩어리 이며 Ethanol에는 잘 섞이지만 물과 기름에는 잘 섞이지 않는다.

Lavender 에센셜오일은 습식증류방식으로 추출한 순수한 오일상의 혼합물이다. Lemon 에센셜오일은 냉각압착방식으로 추출한 역시 순수한 오일상의 혼합물이다. 두 에센셜오일 역시

물에는 섞이지 않으며 기름에는 종류에 따라 잘 섞이거나 섞인 후 비중차에 따라 뜨거나 가라앉는 경우가 있다.

이 세가지의 물질을 잘 섞이게 하기 위하여 Polysorbate 20, Polysorbate 80, PEG (60) hydrogenated castor oil, Ethanol의 네가지 물질을 사용했으며 이밖에 1,3-butylene glycol등의 나머지 물질도 가용화에 영향을 준다. Fig. 2에 PEG (60) hydrogenated castor oil의 양에 따른 탁도변화를 그래프로 나타내었다. 실험결과 프로폴리스 2%와 Lavender 에센셜오일 0.3%, Lemon 에센셜오일 0.3% 일때 Polysorbate 20 0.5%, Polysorbate 80 0.5%, Ethanol 5%, PEG (60) hydrogenated castor oil 0.45% 이상부터 상이 일정해짐을 확인할 수 있다. PEG (60) hydrogenated castor oil은 페이스트상으로 제형에 매우 큰 영향을 미치는 물질이다. 일반적으로 양이 늘어남에 따라 가용화도가 좋아지지만 피부에 바르는 사용감은 그만큼 뻣뻣해지는 단점이 있다.

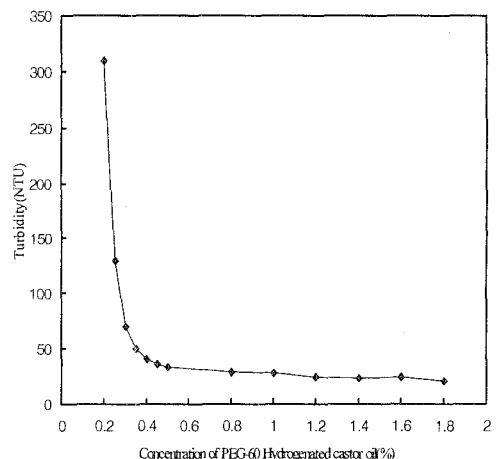


Fig. 2. Turbidity change followed quantity of PEG (60) Hydrogenated castor Oil.

3.2. *E. coli*에 대한 천연방부제형의 방부력

본 실험에서는 프로폴리스 한가지가 아닌 Lavender, Lemon 에센셜오일과 1,3-butylene glycol등의 혼합물 전체에 대한 방부력 테스트 이므로 비교구를 천연방부제형에 혼합되어 있는 알콜의 양과 같은 5%의 ethanol과 95%의 정제수의 혼합물을 선정하였고 또 한가지는 별

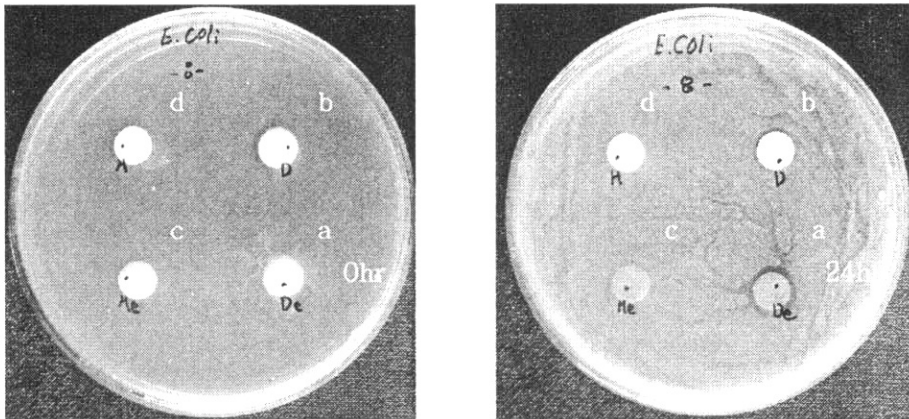


Fig. 3. Disc diffusion method of *E. coli*, (a) Natural-antiseptic, (b) Ethanol 5%, (c) Mathylparaben 0.2%, (d) Control

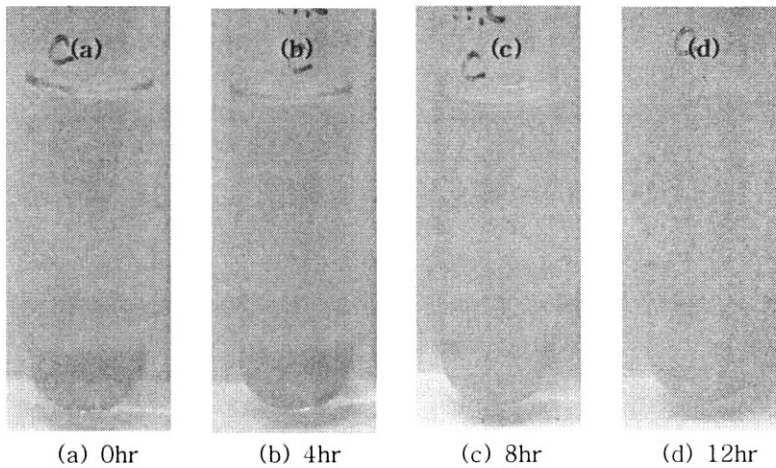


Fig. 4. Phase change followed proliferation of Microbial in liquid culture.

도로, 일반적으로 쓰이는 방부제인 메칠파라벤과 비교를 하기 위하여 0.2%의 메칠파라벤과 99.8%의 정제수의 혼합물을 비교하였다.

Fig. 3은 disc diffusion method로 테스트한 결과이다. disc diffusion method는 paper disk 주위로 미생물이 사멸하면서 아가가 투명하게 되는 것을 확인하는 것으로 일반적으로 점점 더 그 환은 커지게 된다. 24 시간 후에 균이 사멸한 정도를 보아 천연방부제형이 나머지 비교구보다 효과가 좋은 것을 알 수 있다. 하지만 실험결과에서는 *E. coli*가 사멸된 투명한 환 부분이 더 이상의 확장이 없는 것으로 보아 이 실험만으로는 방부의 효력을 확신하기에는 무

리가 있어 *E. coli*를 액체 배양하여 UV/VIS spectrophotometer로 620nm부위의 optical density를 측정하여 의 *E. coli*생육정도를 조사하였다. 이 optical density측정방법은 미생물의 세포벽에서 620nm[19]파장 부분을 흡수하는 원리를 이용한 것으로 미생물이 많을 수록 optical density는 높게 나온다. Fig. 4에 미생물의 성장에 따른 상의 변화를 사진으로 나타내었다. Fig. 5, 6, 7은 천연방부제형을 각각 5%, 10%, 15%로 증류수에 희석하여 optical density를 측정한 그림이다. Fig. 7에서 메칠파라벤 0.2%(■), Ethanol 5%(▲), Control(water 100%)(*)은 시간이 지남에 따라 optical

density가 급하게 상승한 후 4시간 후부터 거의 일정한 것을 볼 수 있다.

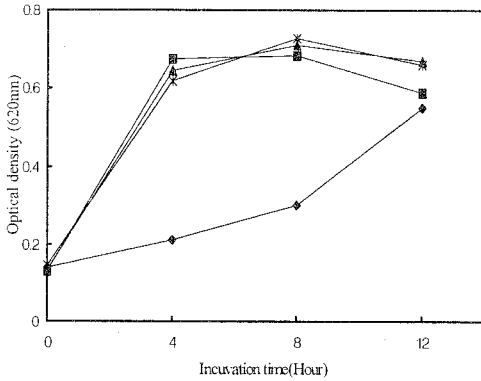


Fig. 5. *E. coli* test for 5% aqueous solution of liquid, culture. Natural-antiseptic(◆), Methylparaben 0.2%(■), Ethanol 5% (▲), Control(*).

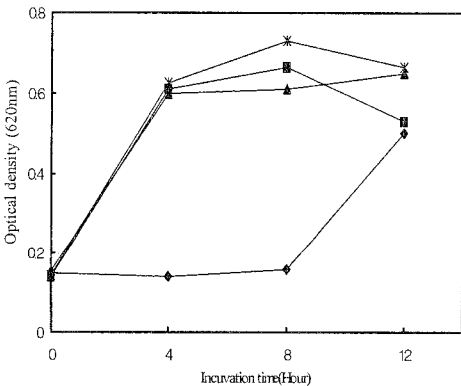


Fig. 6. *E. coli* test for 10% aqueous solution of liquid culture. Natural-antiseptic(◆), Methylparaben 0.2%(■), Ethanol 5% (▲), Control(*).

이것은 *E. coli*가 이미 다 성장한 것을 의미한다. 하지만 천연방부제형은 12시간 후에도 일정한 것을 볼 수 있다. 균이 자라지 못하므로 방부효과가 있음을 알 수 있다. 천연방부제형 희석액 20% 이후는 천연방부제형 희석액 15%와 같은 결과가 나오는데 이와 같은 이유로 15%이상에서 100%까지는 방부효과가 좋다는 것을 알 수 있다. Fig. 5, 6에서는 비교구와 대조했을 때 *E. coli*억제효과는 있지만 결국 *E. coli*가 번식하는 것을 알 수 있다. 따라서 천연

방부제형을 100%이용하는 것은 물론 이 제형이 15%정도로 희석되더라도 방부효과가 유지되는 것을 알 수 있다. 천연방부제형에서의 프로폴리스와 Lavender 에센셜오일, Lemon 에센셜오일의 양을 역산 하여 보면 프로폴리스 0.3%, Lavender 에센셜오일 0.045%, Lemon 에센셜오일 0.045%에서도 방부효과가 발휘된다고 할 수 있다. 서론에 선행논문에서 밝혔듯이 프로폴리스만으로는 *E. coli*의 생육억제정도가 좋지 않지만 Lavender, Lemon 에센셜오일의 시너지 효과로 인해 *E. coli*의 생육억제정도가 상승한 것을 알 수 있다.

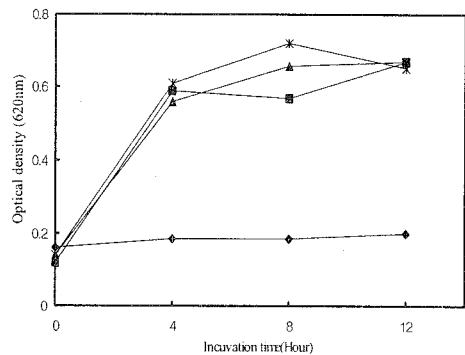


Fig. 7. *E. coli* test for 15% aqueous solution of liquid culture. Natural-antiseptic(◆), Methylparaben 0.2%(■), Ethanol 5% (▲), Control(*).

3.3. *Bacillus stearothermophilus*에 대한 천연방부제형의 방부력

Fig. 8은 disc diffusion method로 *Bacillus stearothermophilus*의 항균력을 테스트한 결과이다. 그림에서 보는 것 과 같이 균을 접종하고 24시간이 흘렀을 때 비교구보다 천연방부제형이 *Bacillus stearothermophilus*에 대해 더욱더 좋은 방부효과를 지니고 있음을 확인할 수 있다. 그러나 *E. coli*방부테스트와 마찬가지로 환의 크기가 더 이상 크지 못하고 있는 것으로 보아 더 자세한 실험결과를 얻기 위해 UV/VIS spectrophotometer로 620nm부위의 optical density를 측정하였다.

Fig. 9, 10, 11은 천연방부제형을 각각 5%, 10%, 15%로 희석한 후 optical density를 측정 한 것이다. 역시 천연방부제형 희석액 15%이후로 100%까지는 Fig. 11 그래프와 대동소이 했

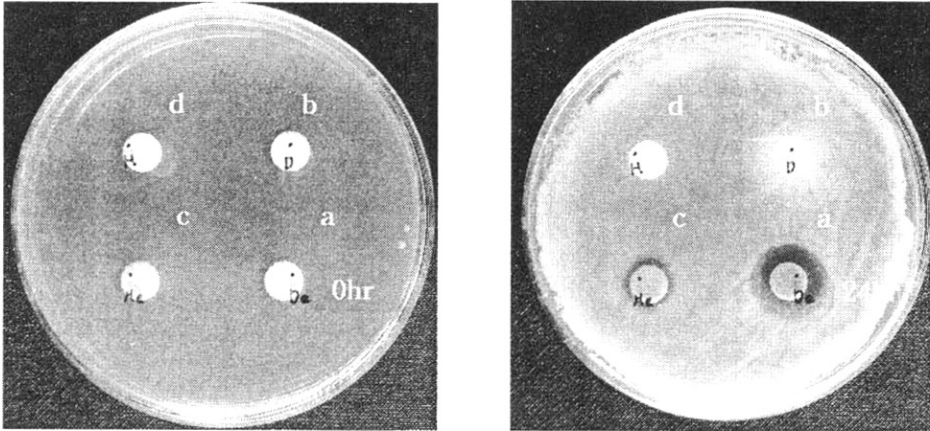


Fig. 8. Disc diffusion method of *B. stearothermophilus*.
 (a) Natural-antiseptic (b) Ethanol 5%
 (c) Methylparaben 0.2% (d) Control.

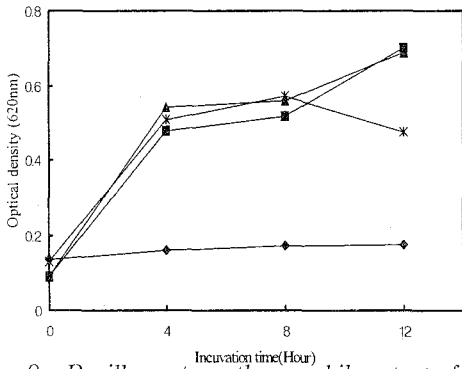


Fig. 9. *Bacillus stearothermophilus* test for 5% aqueous solution of liquid culture. (5%dilution). Natural-antiseptic(◆), Methylparaben 0.2%(■), Ethanol 5% (▲), Control(*).

나와 천연방부제형 희석액 5%까지 관찰하였다.

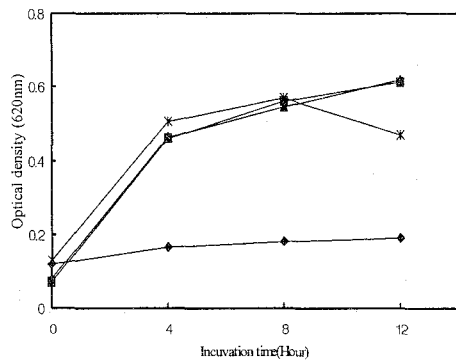


Fig. 10. *Bacillus stearothermophilus* test for 10% aqueous solution of liquid culture. Natural-antiseptic(◆), Methylparaben 0.2%(■), Ethanol 5%(▲), Control(*).

다. Fig. 11의 optical density를 보면 다른 비교구는 시간에 따라 *Bacillus stearothermophilus*가 매우 활발히 생육하는 것을 볼 수 있지만 천연방부제형에서는 optical density의 변화가 거의 없는 것을 알 수 있다. 따라서 방부효과가 있는 것을 알 수 있다. 또한 Fig. 9, 10의 그래프도 15%의 그래프와 큰 변화가 없는 것으로 보아 천연방부제형 희석액 5%에서도 방부효과가 있는 것을 알 수 있다. 그러나 이미 *E. coli* 방부력 test에서 천연방부제형 희석액 5%와 10%는 생육억제를 하지 못하는 것으로 결과가

4. 결론

본 연구 결과 얻은 결론은 다음과 같다.

1. 프로폴리스 2%와 Lavender 에센셜오일 0.3%, Lemon 에센셜오일 0.3% 조성으로 이루어진 천연방부제형을 제조하였고, 제형에 사용감과 가용화력에 영향을 미치는

- PEG (60) hydrogenated castor oil의 최적 점을 찾고 조성비를 결정하였다.
2. 방부효과실험에 의하여 프로폴리스 0.3%, Lavender 에센셜오일 0.045%, Lemon 에센셜오일 0.045%에서 *E. coli* 와 *Bacillus stearothermophilus*에 대하여 방부효과가 있음을 확인하였다.
 3. 본 실험에서 제조한 천연방부제형의 조성은 화장품에 이용하기 힘든 프로폴리스의 독특한 향취를 해결하고 사용감과 제형형태, 품질에 큰 영향을 미치는 가용화제의 함량비를 조절하였다.
 4. 화장품과 세제에서 일반적인 배합한도가 정해져있는 방부제를 사용하지 않고 천연물질로 방부효과를 가지는 제형의 제조가 가능하며 이를 토대로 여성의 얼굴에 보습효과를 주는 Skin toner, 영양성분을 공급하는 Essence등과 손 및 기타물건을 닦는 물티슈 등의 새로운 제품을 개발하는데 천연방부제형이 응용이 기대된다.

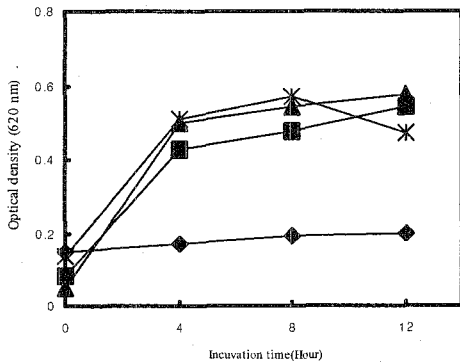


Fig. 11. *Bacillus stearothermophilus* test for 15% aqueous solution of liquid culture. Natural-antiseptic(◆), Methylparaben 0.2%(■), Ethanol 5%(▲), Control(*).

감사의 글

이 논문은 2006학년도 충북대학교 학술연구 지원사업의 연구비지원에 의하여 연구되었음

참고문헌

1. C.N. Smith, B.R. Alexander, *Toxicology in Vitro*, **19**, 963~969 (2005).
2. Shinshi Oishi, *Food and Chemical Toxicology*, **42**, 1845~1849 (2004).
3. Scott R. Gregory, M.S.I.I., et al., *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, **8(1)**, 77-83 (2002).
4. Hee-Jae Kim, Sik Hwangbo, and Soo-Won Lee, *Korean J. Food SCI. ANI. Resour*, **22(1)**, 77~80 (2002).
5. F.A. Santos, E.M.A.F. Bastos, et al., *Anaerobe*, **5**, 479~481 (1999).
6. M.I. Isla, M.I. Nieva Moreno, A.R. Sampietro, M.A. Vattuone, *Journal of Ethnopharmacology*, **76**, 165~170 (2001).
7. Murat Kartal, Sulhiye Yildiz, Serdar Kaya, Semra Kurucu, Gülaçtı Topçu, *Journal of Ethnopharmacology*, **86**, 69~73 (2003).
8. V. Bankovaa, U. R. Christov, et al., *Fitoterapia*, **70**, 190~193 (1999).
9. Soo-Won Lee, Sik Hwangbo and Hee-Jae Kim, *Korean J. Food SCI. ANI. Resour*, **22(1)**, 66~71 (2002).
10. F. Chemat, M.E. Lucchesi, et al., *Analytica Chimica Acta*, **555**, 157~160 (2006).
11. E. Barocellia, F. Calcinaa, et al., *Life Sciences*, **76**, 213~223 (2004).
12. M.R. Moreiraa, A.G. Ponceb, et al., *LWT*, **38**, 565~570 (2005).
13. The Editorial Department, Personal Care Formulas 2nd edition, Allured publishing corporation, Illinois, 3~95, (2004).
14. S. Inouye, K. Yamagami, et al., *The International Journal of Aromatherapy*, **15**, 199~204 (2005).
15. M.I. Nieva Moreno, M.I. Isla, N.G. Cudmani, et al., *Journal of Ethnopharmacology*, **68**, 97~102 (1999).
16. A.C. Seydim, G. Sarikus, *Food Research International*, **39**, 639~644 (2006).
17. Takeshi Nagaia, Mizuho Sakaia, et al., *Food Chemistry*, **75**, 237~240 (2001).