

화장품(에멀전형)에서 *Pseudomonas aeruginosa*의 성장과 방부살균제효과

류 미 숙·김 장 규·김 남 기
성균관대학교 화학공학과

Growth of *Pseudomonas aeruginosa* in Cosmetics(Emulsion-type) and the Effect of Antiseptics

Mi Sook Ryu, Jang Kyu Kim and Nam Ki Kim
Dept. of Chemical Engineering, Sung Kyun Kwan University

ABSTRACT

Most of cosmetics are emulsion-type products which contain the sources of nutrition, i.e., vegetable oil, mineral oil and carbohydrate etc.. These additives are usually very susceptible to the contamination by microorganisms. The purpose of this study is to obtain the data necessary not only to prevent dermatopathia occurred by microbials but also to maintain the quality. In this experiment we observed the growth of *P. aeruginosa* in the cosmetics with or without antiseptics so as to prevent contamination. During the contamination period, the phase became unstable and creaming phenomina was happened together with some discoloration and bad smell. The pH of cosmetic was decreased from 7.6 to 6.0 and the concentration was increased from 1.443 to 1.453 in terms of refractive index during 40 days incubation. By adding antiseptics to the cosmetics, the number of *P. aeruginosa* from the challenge test method were decreased from 10^8 cell/ml to 5×10^3 cell/ml. For the antibacterial effect against *P. aeruginosa*, p-hydroxy benzoic acid propyl ester in phosphoric acid buffer solution showed the best result.

서 론

화장품의 성분은 대부분 유화제품으로서 동식물유 및 광물유를 비롯하여 지방, 탄수화물들로 구성되어 있으며 이들은 미생물의 영양원으로 이용될 수 있기 때문에 이들 제품을 무균적으로 제조하더라도 장기간 사용하면 소량의 박테리아, 곰팡이 또는 효모등에 의해 오염되어 제품이 변질되므로 원래의 목적과는 상반되는 資化현상이 일어날 수 있다(1-3). 따라서 제품의 성분, 조성, 상태등을 위생적인 측면에서의 품질, 성능 및 안정성으로 평가하는 품질관리가 요구되고 있다.

화장품이 미생물에 의하여 오염이 되면 화장품의 표면이나 내용물속에서 미생물이 증식하고 화학작용(호흡작용, 대사작용, 효소작용 등) 및 생분해작용으로(4) 침전물, 혼탁상태, pellicle 등이 형성된다. 곰팡이의 경우는 표면에 colony를 형성하게 되어 미생

물의 대사에 의해 pH가 변하고 오염미생물이 분비하는 색소에 의하여 변색이 일어나기도 한다(5-6). 또는 고분자물질(특히 가용제)이나 당분의 소모, 입자의 응고에 의하여 점도가 변하거나 층이 분리되기도 하며 액상에서는 기우려 보이면 점막이 있는 것처럼(7) 느낄 수도 있다.

화장품중 크림 및 유액등의 에멀전제품은 미생물의 영양원이 되는 물질들이 다수 포함되어 있고 비이온계면활성제도 비교적 다량이 함유되고 있으므로 미생물에 의해 쉽게 오염되므로 자체방부가 곤란한 제품이다(8). 이러한 유화제품들을 오염현상으로 부터 방지하기 위해 방부살균제를 사용하고 있으며, 첫째목적은 원료로부터 제품을 제조하여 용기에 충전하는 공정에서 유래되는 미생물과 소비자가 사용하는 과정에서 오염되는 미생물을 살균하고 증식을 저지하여 미생물 오염으로 인한 화장품의 변질을 방지하기 위한 제품의 방부에 있고, 둘째목적은 피부

상에 존재하는 호기성미생물을 살균하여 피부를 청결하게 유지시키고, 미생물에 의하여 발생하는 피부 trouble을 방지하기 위한 피부상의 유해균을 살균하는데 있다(9).

일반적으로 미생물의 증식을 저해하는 현상을 antimicrobial action이라고 하며 bacteriostatic action, fungistatic action, virustatic action을 포함한 미생물발육 정지작용(germistatic action)과 bactericidal action, fungicidal action, viricidal action을 포함한 살미생물작용(germicidal action)으로 구분할(10) 수 있다.

화장품의 미생물오염 방지법(11)에는 물리적인 살균방법으로 자외선을 쬐이거나, 염 또는 당분의 농도를 높여 삼투압을 증가시키는 방법과, 화학적방법으로 방부제를 사용하는 방법이 있다. 유화제품에는 화학적방법인 방부살균제를 많이 사용하고 있으며 방부살균제는 불특정 다종의 미생물인 *Escher-ichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* 등에 효력을 발생하여야 한다. FDA (Food and Drug Administration)에 의하면, 화장품에 배합이 허가된 방부제는 약 159종류(12) 이상이다. 그러나 방부살균제는 미생물이나 생물포자에 기습하여 생존을 억제하는 물질이고 사람세포에 대해서도 본질적으로는 무해하나 다량으로 사용하면 피부를 자극하여 피부문제를 발생하므로 적당한 배합이 요구되고 있다.

본 실험의 목적은 *P. aeruginosa*의 오염이 화장품의 품질에 미치는 영향을 연구하고 온도, pH, 화장품원료 배합조건에 따른 최적성장조건과 *P. aeruginosa*에 의한 화장품의 오염방지대책으로서 보다 효과적인 살균작용을 추구하는 효율적인 방부살균제를 얻으며 이로 인한 화장품의 수명을 최대한 유지시켜 제품의 품질유지 및 *P. aeruginosa*에 의해 발생하기 쉬운 피부문제를 방지하는 데에 필요한 기본자료를 얻는 것이다.

실험방법 및 재료

균주와 배양조건

본 실험에 사용된 미생물은 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027로서 한국종균협회(KFCC)로부터 구입하여 사용하였다.

배양액은 autoclave에서 1Kgf/cm² gauge, 121℃로 15분간 멸균시켰으며, 균체는 30℃에서 24시간

동안 활성화시킨 후 실험에 사용하였다(13-14).

사용균체의 배양액 조성은 Table 1에 나타내었다. 균주의 배양은 agar slant에서 백금이(白金耳)로 단일균체를 취하여 배양액 10ml에 직접 접종한 후, 30℃에서 4시간 배양하고 90ml의 배양액에 다시 접종하여 30℃에서 4시간 배양하였다(15-16). 배양 후 900ml의 배양액에 재접종하고 위와 같은 조건으로 배양하여 사용하였다. 이들은 모두 균일한 배양을 위해 자동온도조절 교반장치로 천천히 교반해 주었다.

Table 1. Composition of seed culture medium.(17)

Component	Weight
Beef extract	10g
Peptone	10g
Sodium chloride	5g
Distilled water	1000ml

화장품 시료의 배합조건

본 실험에 사용된 화장품시료는 화장품성분 조성상 *P. aeruginosa*에 의해 오염되기 쉬운 에멀전형의 로션을 선택하였다. 시료는 표준치방설계에(18) 따라 물과 오일(oil)을 90 : 10 (sample 1), 80 : 20(sample 2), 70 : 30(sample 3), 50 : 50(sample 4), 30 : 70(sample 5)의 부피비로 혼합하여 사용하였으며 그 조성은 Table 2에 나타내었다.

분석 및 측정방법

<총균수의 측정>

균수측정방법으로는(10) 현미경을 써서 counting chamber 속의 균수를 혈구계산의 경우와 같은 식으로 전균수를 측정하는 방법과 한천평판을 사용하여 생균수를 측정하는 방법이 있다. 본 실험에서는 생균과 사균 모두가 구분없이 모든 균의 수를 Thoma hemacytometer에 의한 전균수 측정방법으로 측정하였다. 균수측정을 위한 현미경배율은 1000배이며 유침법에(19)에 의하여 관찰하였다.

<제조된 유화액 농도와 pH의 측정>

*P. aeruginosa*에 의한 화장품의 資化로 인하여 시간이 경과할 수록 전체농도가 변화되므로 각 성분의 개별적인 농도변화 보다는 제품의 품질을 종합적으로 고찰하였다. 제품의 변질현상을 측정하기 위하여 Abbe 굴절계로 일정온도에서 유화액의 굴절률의 변

Table 2. Formulas of laboratory prepared cosmetics.

Component	Sample No.	Prepared cosmetics(water : oil)				
		1 (90 : 10)	2 (80 : 20)	3 (70 : 30)	4 (50 : 50)	5 (30 : 70)
Stearic Acid		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Cetostearyl alcohol		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Glyceryl monostearate selfemulsifying		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Microcrystalline wax		0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
POE(20) Sorbitan monostearate		1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Sorbitan sesquioleate		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Mineral oil		1.5	4.5	7.5	13.5	19.5
Squalane		1.0	3.0	5.0	9.0	13.0
Caprylic/Capric triglyceride		1.5	4.5	7.5	13.5	19.5
Lanolin oil		1.0	3.0	5.0	9.0	13.0
Tocopheryl acetate		0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Di-Water*		67.7	57.7	47.7	27.7	7.7
Glycerine*		10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Triethanolamine*		0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Carbomer 941 (1%)*		12.0	12.0	12.0	12.0	12.0

(*표는 water phase로, 나머지는 oil phase로 구분 한다)

화로 전체농도 변화를 측정하였다. *P. aeruginosa*가 증식됨에 따라 화장품은 산성화되어 pH가 저하된다. 따라서 실험이 진행된 후 pH값이 인체허용 범위 내의 값을 갖는가를 보기위해 pH meter(Chemtrix Inc., U.S.A.)를 사용하여 시료의 pH를 측정하였다.

〈균체배양 및 방부력 측정〉

화장품 시료에 있어서 *P. aeruginosa* 증식과 유화액의 종류에 의한 환경인자들 즉, pH, 농도 및 온도와의 관계를 알기 위하여 균체배양액 1ml를 300ml 삼각플라스크내의 유화액 100ml에 접종한 후 각 조건별로 경과일에 따른 균수의 변화를 측정하였다.

Thoma hemacytometer로 균수측정시는 채취된 시료를 1000배로 희석하여 사용하였으며, 온도는 *P. aeruginosa*의 최적증식온도 범위로 알려진 20℃와 인체의 온도에 해당하는 37.5℃로 하여 각각 실험하였다.

유화형 화장품의 경우에는 그 사용성 때문에 pH가 보통 5~7이므로 *P. aeruginosa*의 생육이 가능한 pH 범위이다. 따라서 pH의 변화는 고려하지 않았다.

제품의 방부력 측정으로 선택균주를 제품내에 접종하고 일정한 기간 동안 항온배양하면서 제품의 방부력을 조사하는 challenge test를 (20) 실시하였다.

방부살균제를 이용한 challenge test에서 시료 100ml에 방부살균제 농도가 100, 200, 400ppm이 되도록 조제한 후 균체배양액 1ml(균수 약 5×10^4 개)를 접종하여 경과일에 따른 균수의 증가여부와 품질의 안정성을 측정하였다.

본 실험에 사용한 화장품시료에 배합되는 방부살균제의 선택은 다음의 요령을 참고하였다(8).

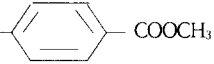
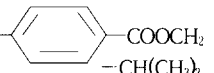
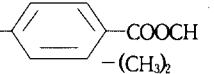
- 1) 저농도에서 다종의 효과가 있어야 한다.
- 2) 수용성 또는 통상 사용되는 원료에 쉽게 용해되어야 한다.
- 3) 독성 및 피부자극이 없어야 한다.
- 4) 처방중의 각종 원료로부터 항균효과가 감소되어서는 안된다.
- 5) 화학적반응이 일어나지 않아야 한다.
- 6) 광범위한 온도·pH 범위에서 안정하며 지속적인 항균효과가 있어야 한다.
- 7) 구입이 용이하고 경제적이어야 한다.

위와 같은 조건들을 고려하여 화장품의 특수배합한도고시에서(21-22) 그 사용이 허용되고 있으며 방부살균제로 작용할 것으로 보이는 6종류의 anti-septic 물질들을 사용하였다. Table 3에 명시한 것과 같은 p-hydroxy benzoic acid methyl ester, p-hydroxy benzoic acid butyl ester, p-hydroxy benzoic acid propyl ester, acetic acid buffer

solution, phosphoric acid buffer solution, potassium chloride sodium hydroxide buffer solution 6가

지의 방부살균제를 synergism을 응용하여 본 실험에 사용하였다.

Table 3. The specifics and physical properties of antibiotics.(22-23)

No.	Specifics	Chemical formular	Permit volume	Physical properties
1	p-hydroxy benzoic acid methyl ester	HO -  - COOCH ₃	0.1%	<ul style="list-style-type: none"> • low toxicity and high stability • typical antiseptic and the efficacy range : pH 4~8 • the longer chain length, the lower solubility, but anti-microbial action increase • mixed ester have synergism
2	p-hydroxy benzoic acid butyl ester	HO -  - COOCH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	0.1%	
3	p-hydroxy benzoic acid propyl ester	HO -  - COOCH ₂ -CH ₂ -CH ₃	0.1%	
4	acetic acid buffer solution	CH ₃ COOH + CH ₃ COONa		• buffer pH : 3.6~5.6
5	phosphoric acid buffer solution	NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O + Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O		• buffer pH : 5.6~8.0
6	potassium chloride sodium hydroxide buffer solution	KCl + NaOH		• high antimicrobial action for bacteria, yeast, and fungi

결과 및 고찰

평균적 제도가 불가능한 화장품에 대하여 방부실험이 행해지는데 이러한 방부실험에 쓰이도록 규정(USP)하고 있는 미생물의 종류와 그외 방부실험에 쓰이고 있는 미생물의 종류를(8) table 4에 나타내었다. 이들 미생물들은 생육조건이나 환경인자의 변화에 따라 활성과 증식속도에 차이가 나타나게 되는데 사용균주인 *P. aeruginosa*는 배양을 위한 최적조건이 pH 7.0~8.0, 온도 15~25℃로 알려져 있다(10). 그러므로 이들 환경인자들인 온도, 농도, pH 등의 제반조건이 균주의 증식에 미치는 영향에 대하여 실험하였다.

〈온도변화에 의한 영향〉

*P. aeruginosa*가 조제 유화액에서의 증식을 위한 온도조건별 실험은 incubator 안에서 온도를 20℃, 37.5℃로 조절하여 경과일수에 따른 균수를 측정하였으며 *P. aeruginosa*의 집중은 균체배양액 1ml(균수 약 5×10^4 개)로 하였다.

실험조건중에서 pH는 초기 pH인 7.6을 조절없이 사용하였고 이에 대한 실험결과를 Fig. 1에 나타내었다.

Table 4. The specifics of microbial cells growing in cosmetics(8).

Specific	Microbial cell's name
Bacteria	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>
	<i>Streptococcus faecalis</i>
	<i>Micrococcus sp.</i>
Fungi & Yeast	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	<i>Apergillus niger</i>
	<i>Penicillium citrinum</i>
	<i>Trichoderma viride</i>
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	<i>Candida albicans</i>

Fig. 1에서 보여지듯이 일반적으로 저온성균으로 알려져 있는 *P. aeruginosa*는 균체증식에 있어 37.5℃보다 20℃에서 다소 높은 대수증식기와 정지기를 갖는 것으로 나타났다. 이로써 실온에 보관된 화장품이 오염될 경우에 대비한 품질관리가 더욱 필요한 것으로 보여졌다.

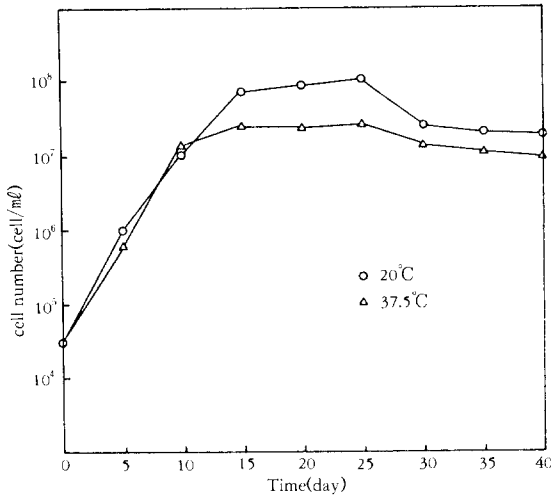


Fig. 1. Effect of temperature on the growth of *P. aeruginosa*.

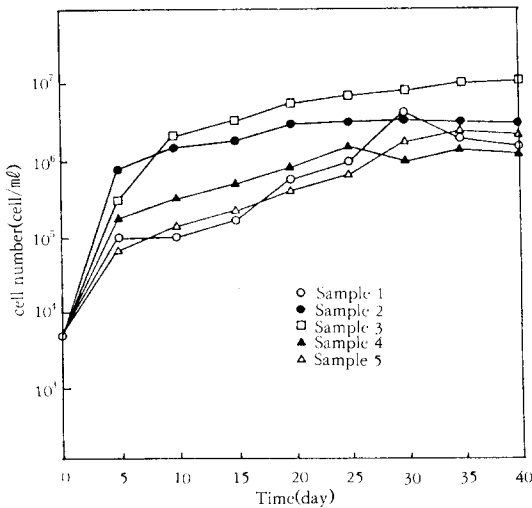


Fig. 2. Growth of *P. aeruginosa* in prepared cosmetics at 20°C.

〈화장품 유허액의 배합농도에 따른 영향〉

*P. aeruginosa*의 최적성장온도에서 각각의 시료에 균체배양액 1ml(균수 약 7×10^4 개)를 시료 100ml에 접종시킨 후 경과일수에 따른 균수의 변화를 incubator에서 배양하여 측정하였다.

화장품시료의 배합농도가 미생물의 증식에 미치는 영향은 Fig. 2에 나타내었다. sample 3, sample 2, sample 5, sample 1, sample 4의 순으로 균체증식 경향이 나타났다. 각 시료들은 조금씩 다른 대수증

식과정을 거쳐 정지기에 이르는 것을 보이고 있다. 이러한 차이는 화장품시료의 조성성분에 기인되는 것으로 각각의 시료들은 같은 영양원을 함유하고 있더라도 그 조성농도가 각각 다르며 물과 오일의 조성농도도 또한 다르기 때문이다. 영양원의 증가에 비례하여 증식되는 경향을 나타내었고 sample 3 (70 : 30)에서와 같이 증식에 있어 최적비율이 있는 것으로 보인다. 단 화장품 유허액의 농도가 너무 진하면 세포막을 통한 기질의 전달현상 저조 및 기질이 inhibitor로 작용된 것으로 보여진다.

한편 균체증식에 의한 환경인자의 pH, 영양원의 농도변화 및 균수의 증가를 고찰하기 위하여 sample 1~5의 5개 시료 100ml에 균체배양액 1ml를 접종시킨 후 20°C의 incubator내에 정지한 후, 40일간 5일 간격으로 외관관찰, pH, 굴절률, 균수의 변화를 측정하였다.

Fig. 3에는, 실험결과에서 균체의 수가 많이 증식되었던 sample 3에 대하여 나타내었다. *P. aeruginosa*가 접종된 sample 1~5의 시료들을 40일간 정지했을 때, 시료의 pH가 7.6에서 6.0까지 증가하였고 전반적으로 sample 3과 같은 정도의 차이로 굴절률이 증가되는 경향을 보였다. pH의 저하는 대사과정중의 영양원 분해 및 생성물로 인하여 이루어졌다. 굴절률 증가는 균증식에 따른 수분의 사용, 유허안정성 파괴, 영양원의 선택적사용 등의 복합적인 원인에 따른 것으로 생각되어진다. 균체의 80~90%에 달하는 수분은 영양원으로 공급되어진 유기물의 분해생성물 이외의 수분을 더욱 필요로 하게되며 시료중의 수분사용으로 굴절률 증가를 가져왔다. 또

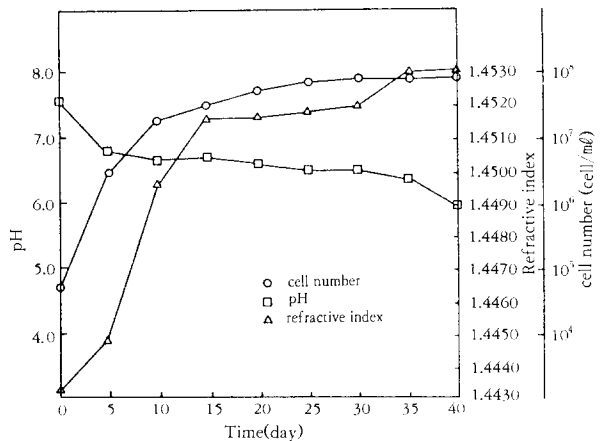


Fig. 3. Variation of pH, refractive index and cell number vs. time in sample 3.

한 시료의 성분중 stearic acid(1.4299), squalane (1.4530), caprylic acid(1.4280), capric acid(1.4288) 등의 비교적 낮은 굴절률을 갖는 유제성분과 mineral oil (1.47) 등의 비교적 낮은 굴절률을 갖는 유제성분과 mineral oil(1.47), glycerine(1.4735), triethanolamine(1.4852) 등의 상대적으로 높은 굴절률을 가지는 유제성분들중에서 *P. aeruginosa*는 영양원으로 사용이 용이한 저굴절률의 기질에 대하여 선택적으로 사용되어 굴절률의 상승을 가져온 것으로 보인다. 오염이 진행되는 동안 creaming과 응집 현상은 상의 안정성 파괴를 가져왔다. 이때의 유화액의 상태는 약간의 악취가 있으며 이와함께 물과 오일의 부피비의 차이가 클수록 에멀전이 파괴되어 안정성이 더욱 저하되었으며 20~25일 경과시부터 creaming과 응집현상이 발생하였다. 30일 경과후 *P. aeruginosa*가 접종된 sample 3의 SEM 촬영결과 오염이 안된 상태에서는 거의 균일한 상태로 나타났으나 30일 경과후는 오염정도가 심하여 군데군데 뭉쳐진 상태인 응집현상을 나타내었다.

따라서 이러한 점들을 고려하여 화장품시료들의 오염상태를 고찰해 보면 pH는 큰 변화가 없었으나 각 시료들의 굴절률은 다소 차이를 보였다. 품질면에 있어서도 榭의 안정성이 파괴되어 층이 분리 되었고, creaming 및 응집현상이 발생하여 피부 trouble를 일으킬 수도 있다.

방부살균제의 항균력 실험

방부살균제의 미생물에 대한 항균작용은 그 메카니즘이 복잡해서 아직 밝혀지지 않은 것이 많으나 일반적으로 다음과 같이 나눌 수 있다.

- 1) 산화작용 ; H₂O₂, KMnO₄, NaOCl 등
- 2) 환원작용 ; H₂SO₄, HCHO 등
- 3) 단백질 변성작용 ; HgCl₂, AgNO₃, CuSO₄, Phenol 등
- 4) 표면장력 저하작용 ; 삼투압을 이용한 세포막의 파괴.

세균의 증식을 저해하는 inhibitor의 종류에는 세포의 구조를 파괴 또는 손상시키는 약제, 미생물의 에너지생성대사를 방해하는 약제, 그리고 생합성 및 성장을 저해하는 약제 등이 있다.

본 실험에는 세균의 증식을 저해하는 억제제 중에서 현재 널리 사용되고 있는 방부살균제들을 혼합하여 사용하였으며, 허용농도에 제한이 없고 피부문제를 발생하지 않는 완충용액도 함께 사용하였다. 이런 응용으로 인하여 두 가지 방부제의 synergism에

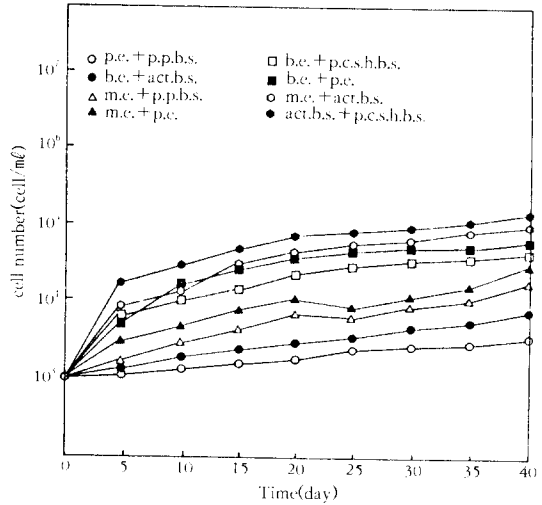


Fig. 4. Effect of inhibition when antiseptics (400ppm) were added into sample 3.

의한 상승효과를 볼 수 있다.

실험은 가장 오염정도가 심했던 sample 3에 대해서만 실시하였다. 초기 pH 7.6으로하여 방부살균제를 각각 100, 200, 400ppm이 되도록 첨가한 후 균체배양액 1ml(균수 10³개)를 시료 100ml에 접종한 후 20°C의 incubator에서 40일간 정치하며 균수의 증가여부를 관찰하는 challenge test를 실시하였다. Fig. 4는 방부살균제 400 ppm이 첨가된 시료의 실험결과이며, 100ppm, 200ppm 시료의 결과는 Fig. 4와 경향을 같이하고 있다.

실험결과 *P. aeruginosa*의 증식을 가장 잘 억제시키고 있는 물질은 100, 200, 400 ppm 공히 p-hydroxy benzoic acid propyl ester + phosphoric acid buffer solution > p-hydroxy benzoic acid buthyl ester + acetic acid buffer solution > p-hydroxy benzoic acid methyl ester + phosphoric acid buffer solution > p-hydroxy benzoic acid methyl ester + p-hydroxy benzoic acid propyl ester > p-hydroxy benzoic acid buthyl ester + potassium chloride sodium hydroxide buffer solution > p-hydroxy benzoic acid buthyl ester + p-hydroxy benzoic acid propyl ester > p-hydroxy benzoic acid methyl ester + acetic acid buffer solution > acetic acid buffer solution + potassium chloride sodium hydroxide buffer solution의 순으로 항균력이 나타났다. 그리고 첨가량별 실험에 있

어서는 400ppm을 첨가한 경우에 방부살균효과가 가장 큰 것으로 나타났다.

방부살균제를 첨가한 시료들은 40일 경과후에도 모두 pH 7.0이고 각 시료들의 굴절률 또한 초기상태와 큰 차이를 보이지 않았으며 에멀전의 파괴 및 creaming과 응집현상도 심하지 않았다. 한편 방부살균제를 첨가하지 않은 경우는 40일 경과시 균수가 10^8 개/ml였으나, 가장 양호한 항균력을 나타낸 p-hydroxy benzoic acid propyl ester + phosphoric acid buffer solution의 경우는 100ppm 첨가시 8×10^3 개/ml이며 200ppm 및 400ppm을 첨가했을 때는 균수가 각각 7×10^3 개/ml, 5×10^3 개/ml로 나타났다. 따라서 방부살균제를 첨가하지 않은 경우보다 현저한 항균력을 나타내고 있음을 알 수 있었다. 그러나 이상과 같은 고찰 외에도 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans* 등에 대한 영향과 pH의 저하를 방지하기 위한 pH향상제 또는 buffer solution에 대한 고찰이 앞으로 더 구체적으로 연구되어야 할 사항이라고 생각된다.

요 약

1. 에멀전형 화장품시료의 오염정도는 *P. aeruginosa*의 증식을 촉진하는 fatty acids, waxes, oils, steroids 등의 유기물에 의존하였다.

2. 오염의 결과, 물성의 변화로서 화장품시료의 pH가 40일 경과시 7.6에서 6.0으로 변화되었다. *P. aeruginosa*의 영양원으로는 상대적으로 낮은 굴절률을 갖는 물질들이 소모되어 화장품시료(물 : 오일 = 70 : 30)의 굴절률이 1.4430에서 1.4530으로 변화되었다.

3. 오염이 진행되는 동안 화장품시료의 상의 안정성이 파괴되었으며, 약간의 변색, 변취와 함께 creaming 및 응집현상이 나타났다.

4. *P. aeruginosa*의 최적증식조건인 pH7.0, 온도 20°C에서, 물과 오일의 부피비에 의한 균증식은 70 : 30, 80 : 20, 30 : 70, 90 : 10, 50 : 50의 순서로 되었다.

5. 방부살균제를 첨가하여 challenge test를 한 결과, *P. aeruginosa*의 증식이 억제되었으며 40일 경과시 균수는 방부살균제를 첨가하지 않은 경우 10^8 개/ml에서 p-hydroxy benzoic acid propyl ester + phosphoric acid buffer solution 첨가로 5×10^3 개/ml로 감소되었다.

6. 시험균주인 *P. aeruginosa*에 대한 항균력은 p-hydroxy benzoic acid propyl ester + phosphoric acid buffer solution > p-hydroxy benzoic acid buthyl ester + acetic acid buffer solution > p-hydroxy benzoic acid methyl ester + phosphoric acid buffer solution > p-hydroxy benzoic acid methyl ester + p-hydroxy benzoic acid propyl ester > p-hydroxy benzoic acid buthyl ester + potassium chloride sodium hydroxide buffer solution > p-hydroxy benzoic acid buthyl ester + p-hydroxy benzoic acid propyl ester > p-hydroxy benzoic acid methyl ester + acetic acid vbuffer solution > acetic acid buffer solution + potassium chloride sodium hydroxide buffer solution의 순으로 우수하였으며 pH, 농도, 균수등은 양호한 수준을 유지하였다.

참고 문헌

1. Komagato, K., Nagase, T. & Katsuya, N., (1964), J. Gen. Appl. Microbial., **10**, 313.
2. Walker, J. D. & Colwel, P. R., (1975), J. Gen. Appl. Microbial., **1**, 27.
3. Scheda, R. & Bos, P., (1966), Nature, **211**, 660.
4. Smart, R. & Spooner, D.F., (1972), J. Soc. Cos. Chem., **23**, 721.
5. Scott, (1973), J. Soc. Cos. Chem., **24**, 65.
6. 鄭教民, (1979), 한국화장품학회지, **7**, 44.
7. Baker, (1959), J. Soc Cos. Chem., **10**, 133.
8. 日本防菌防微學會, (1986), 防菌防微 핸드ブック, p.232, 技報堂出版.
9. 岡谷吉雄, (1984), Adv. フレグランス, ジャーナル, 臨時増刊 No. 5, p. 121.
10. 김기호 외, (1979), 약품미생물학, p.89, 進明出版社.
11. Wedderburn, (1964), Adv. pharm. soci., **1**.
12. Raymond L., Decker, Jr., (1985), Cosmetics & Toiletries, Vol. 100, 65.
13. コツロ化学工業株式会社 技術研究所 報告書, (昭和 59년), “油劑劣化に半ほち酵母の影響”, 51, 2.1. c, 日本.
14. 홍재식, (1985), 응용미생물학, 185, 學文社.
15. P. L. Roger, K. J. Lee and D. E. Tribe, (1979), Biotech. Letters, **1**, 165

16. A. Fiecher, (1982), Advances in Biochemical Eng., **23**, 37, Springer velag, Berlin.
17. Microbiological Tests, USP XXI, 1151.
18. 최상숙, (1987), Master Thesis, Jungang Univ., Seoul.
19. Henry C. Vogel, (1983), Fermentation and Biochemical Eng. Handbook, 24.
20. Martin M. Reger, (1985), Surfactants in cosmetics, Vol. 16. p.211, Marcel Dekker Inc..
21. 보건사회부고시, (1987), 화장품원료지정 및 특수원료 배합한도.
22. EARL L. Richardson, (1981), Cosmetics & Toiletries, Vol. 96, 91.
23. 문성명, (1987), 화학약품사전, 570, 학원출판공사.