

파라옥시 안식향산 유도체가 유화계의 계면활성제 및 무기 분말재료에서 방부효능 저하에 관한 연구

성기천 · 김기준

대진대학교 이공대학 화학공학과
(1999년 7월 29일 접수 ; 1999년 9월 9일 채택)

A Study on The Preservation Efficacy Reduction of Parahydroxybenzoic Acid Derivatives in Surfactant and Inorganic Powder Materials of Emulsion System

Sung, Ki-Chun · Kim, Ki-Jun

Dep. of chemical engineering, Dae Jin University, Po-chun, Korea
(Received July 29, 1999 ; Accepted September 9, 1999)

Abstract : In this study, the relation of the preservation efficacy reduction with methyl paraben of parahydroxybenzoic acid derivatives was investigated using the dialysis membrane method with tween-80 of surfactant and TiO₂/Talc of inorganic powder material from emulsion system.

It was found that the preservation efficacy of tween-80 and TiO₂/Talc from emulsion system was reduced due to the adsorption of methyl paraben. According to the microbe test, In case of tween-80, MBC appeared in 0.19 w/v% and in case of TiO₂/Talc, MBC appeared in 0.22w/v% / 0.23w/v%. In general, the equation of Talc's adsorption weight(A · W) has a tendency to show in $A \cdot W = 11.5C^{0.745}$

I. 서론

식품이나 의약품, 그리고 공산품이나 화장품등에 널리 이용되고 있는 파라옥시 안식향산의 유도체에는 메틸, 에틸, 프로필 그리고 부틸이 있으며 제품의 유통이나 장기보관으로 인한 미생물의 오염이나 변질을 막아주는 매우 중요한 재료이다.

그러나 유화계의 제품에는 동·식물에 대한 영양원이 다량 첨가되고 각종 성분과의 상호작용으로 인하여 방부력이 감소되는 경우가 있으며, 이들 유화계의 제품에 사용되고 있는 파라옥시 안식향산 유도체의 방부효과는 Table-1과 같다.

일반적으로 방부효능의 저하에 대한 원인^{1,2)}은 유화계의 경우 수분과 유분의 배합비율에 따라 방부제의 분배^{3,4)} 등을 들 수 있는데 유분층에 분산된 방부제는 직접 미생물에 대한 항균력을 나타내지 못했고 수분층에 분산된 방부제는 직접 미생물에 대한 항균력을 나타냈기 때문이다. 둘째로 고분자 재료^{5,6)}로 사용되고 있는 Polyoxyethylene glycol류, Cellulose류, Gum류, Polyvinylpyrrolidone류등이 파라옥시 안식향산 유도체와 복합체를 형성할 경우

Table 1. 파라옥시 안식향산 유도체의 방부효과

방부효과 미생물	파라옥시 안식향산 유도체의 농도(W/V%)				비고
	Methyl	Ethyl	Propyl	Butyl	
Staphylo-coccus	0.1-0.4	0.05-0.1	0.05-0.1	0.1	
Pseudomonas	0.2	0.1	0.05-0.1	0.05-0.4	
Aspergillus	0.2	0.05	0.05	0.05	

방부효능이 저하되는 경우가 있다.

셋째로 유화계에 배합된 계면활성제가 Micell을 형성하거나 수소결합에 의해 복합체^{7,8)}를 형성할 경우 방부효능이 저하될 수도 있다.

그리고 방부효능 저하의 또다른 요인으로는 유화계에서 파라옥시 안식향산 유도체가 계면활성제 및 무기분말재료에 대한 흡착관계로 인하여 방부효능이 저하되는 경우가 있다.

Batuyous⁹⁾등은 계면활성제인 Polyoxyethylene Sorbitan Mono-Oleyl ether(Tween-80) 또는 Benzal konium chloride에 무기분말재료인 Titanium dioxide(TiO₂) 또는 Kaoline에 파라옥시안식향산 유도체를 분산시켜 흡착관계를 연구하였고 Hom¹⁰⁾등

은 계면 활성제인 Polyoxyethylene Sorbitan Mono-Oleyl ether(Tween-80) 또는 Quarternary ammonium compound에 무기분말재료인 Talc 또는 Kaoline을 흡착, 반응시켜 방부효능저하에 미치는 영향을 보고하였으며, Yousef¹¹⁾ 등은 파라옥시안 식향산 유도체가 무기안료에서 흡착관계로 인하여 방부효능이 감소되는 이유를 미생물실험으로 확인하였다.

일반적으로 유화계에서 파라옥시 안식 향산유도체는 방부작용으로 계면활성제 또는 무기분말재료 등에서 미생물의 성장이나 번식을 억제시켜주는 역할을 한다. 그러나 미생물의 성장 및 발육에 영향을 미치는 인자로는 습도¹²⁾(Humidity), 온도¹³⁾(Temperature) 그리고 산성도¹⁴⁾(Acidity)로서 대부분의 미생물은 수분을 필요로 하며 수분없이 자체 발육이나 성장을 지속할 수 없다.

Larkin¹⁵⁾ 등은 고온과 저온에서 미생물의 저항온도와 최적온도에 대하여 연구하였는바 최적온도는 미생물의 성장과 발육에 중요한 요소로 최적온도에 따라 자연계에서는 많은 미생물이 존재하고 있다.

또한 미생물은 pH가 4.5이하 8.5이상에서는 증식이 불가능한 것으로 보고¹⁶⁾되어 있는바 미생물에 대한 pH의 발육 및 최적조건은 Table-2와 같다.

Table 2. 미생물에 대한 pH의 발육 및 최적조건

미생물	조건	pH		비고
		발육	최적	
Staphyococcus		5.0-9.6	6.5	
Streptococcus		5.7-9.2	7.6-8.0	
E. Coli		4.8-9.6	7.0-8.0	

본 연구는 유화계에서 계면활성제를 이용하여 Liquid paraffine과 Stearic acid를 일정비율로 배합하여 수분과 유분을 유화시키고 무기분말재료인 TiO₂/Talc를 분산시켰을 경우 파라옥시 안식향산 유도체가 흡착되어 방부효능관계를 미생물실험을 통하여 확인하였다.

II. 실험

II-1. 실험 재료

II-1-1 시약

본 실험에서 Parahydroxybenzoic acid derivatives (이하 methyl paraben)는 국내 Il-chil chemical 제품을 I급 시약에 준하여 사용하였고 TiO₂는 American Cyanamid 제품과 Talc는 국내 Il-shin

chemical 제품을 각각 150℃에서 약 1시간정도 회화시켜 사용하였다.

그리고 계면활성제인 polyoxyethylene sorbitan mono-oleyl ether(이하 Tween-80)는 미국 Atlas chemical제품과 Liquid paraffine은 미국 Witco chemical 제품을 각각 사용하였다.

미생물시험에서 Sabouraud Dextrose Broth(이하 S.D.Broth)와 Sabouraud Dextrose Agar(이하 S.D.Agar)는 미국 Difco chemical 제품을 사용하였고 미생물시험을 하기위한 균주는 미국 Candida Albicans ATCC-1200을 구입하여 사용하였다.

II-1-2 균주조제

S.D.Broth에 Candida Albicans ATCC-1200을 petri-dish에 백금 loop로 접종하여 Incubator에서 36℃, 24시간 배양한 후 접종균주로 미생물 시험에 직접 사용하였다.

II-1-3 미생물시험 Base조제

· Base-1. Methyl paraben을 0.14~0.25g까지 0.01g 간격으로 취한 다음 S.D.Broth를 가하여 100ml로 하였다.

· Base-2. 계면활성제인 Tween-80 0.80g에 Methyl paraben을 0.14~0.25g까지 0.01g 간격으로 첨가한 다음 S.D.Broth를 가하여 100ml로 하였다.

· Base-3. 계면활성제인 Tween-80 0.80g에 TiO₂ 5.0g, 10.0g, 15.0g을 각각 혼합하고 Methyl paraben을 0.14~0.25g까지 0.01g간격으로 첨가한 다음 S.D.Broth를 가하여 각각 100ml로 하였다.

· Base-4. 계면활성제인 Tween-80 0.80g에 Talc 5.0g, 10.0g, 15.0g을 각각 혼합하고 Methyl paraben을 0.14~0.25g 간격으로 첨가한 다음 S.D.Broth를 가하여 각각 100ml로 하였다.

II-2. 실험기기

본 실험에 사용된 분석기기는 High Performance Liquid Chromatography(Young In M-910)와 U.V-Spectrophotometer(Uvikon-920)를 각각 사용하였고 미생물시험에는 Autoclave(Japan), Incubator(국산), Shaking Incubator(국산), Furnace(국산), Microscope(Japan), Colony Counter(국산)등을 각각 사용하였다.

II-3. 실험방법

II-3-1. 유화계에 유리된 Methyl paraben 측정 계면활성제가 함유된 유화계내에서 수상중에 유리된 Methyl paraben의 농도를 측정하기가 매우

어렵기 때문에 Table-3와 같이 유화계를 만들어 계면활성제가 통과할수 없도록 Silicone rubber membrane(SilasticSheeting)을 제작하여 equilibrium movement dialysis법¹⁷⁾에 의해 측정하였다.

본 실험에서 유리된 Methyl paraben의 농도를 측정하기 위하여 Fig-1과 같이 제작한 Two chambered dialysis membrane에 한쪽은 유화계를 넣고 다른 한쪽은 증류수를 일정량씩 넣어 밀폐시킨후 20°C에서 membrane을 통과한 증류수층을 시간별로 취하여 Methyl paraben의 농도를 측정하였다.

Methyl paraben의 분석방법은 IR-Spectrophotometer에 의한 방법, Gas Chromatography에 의한 방법¹⁸⁾등이 보고되어 있으나 본 연구에서는 HPLC를 이용하여 측정하였다.¹⁹⁾

HPLC분석조건은 Column Size 4×150mm, Packed material; Lichrosorb, elute solvent;

Table 3. Experiment Sample in Emulsion System

Samples	Oil*	Methyl paraben	Water	Tween-80	TiO ₂	Talc
1	20.0	0.2	79.8	-	-	-
2	20.0	0.2	79.0	0.8	-	-
3	20.0	0.2	74.0	0.8	5.0	-
4	20.0	0.2	69.0	0.8	10.0	-
5	20.0	0.2	64.0	0.8	15.0	-
6	20.0	0.2	74.0	0.8	-	5.0
7	20.0	0.2	69.0	0.8	-	10.0
8	20.0	0.2	64.0	0.8	-	15.0

[Oil* = Stearic acid : Liquid paraffine = 1 : 4(V/V)]

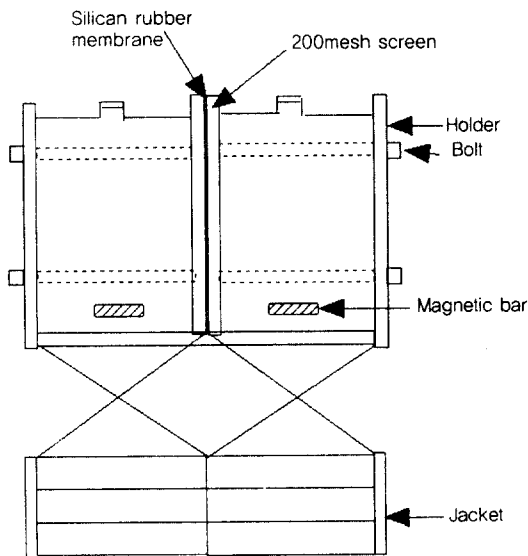
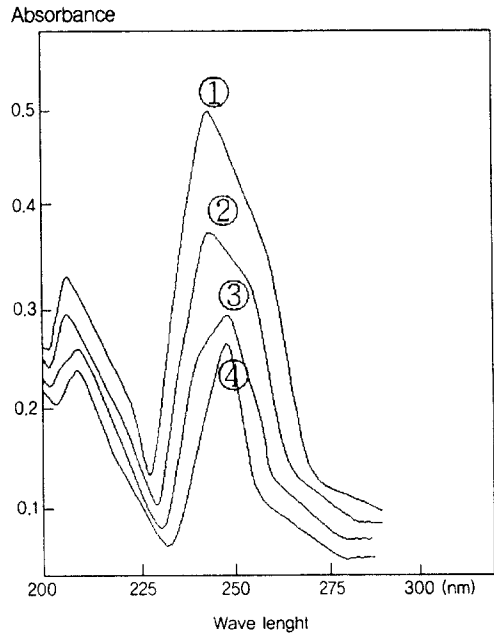


Fig-1. Two-chambered dialysis membrane(Volume=200ml).

Methyl alcohol과 H₂O(50:50V/V), Flow rate: 1.0ml/min로 하였고 Detector는 LC flow cell를 UV-Spectrophotometer로 연결하여 Fig-2에서와 같이 Methyl paraben의 UV-Spectrum에서 λ_{max}=254nm이므로 UV파장 254nm를 기준으로 parahydroxybenzoic acid derivatives를 HPLC로 분리한 결과 Fig-3과 같



- ① Methyl parahydroxybenzoic acid (Methyl paraben)
- ② Ethyl parahydroxybenzoic acid (Ethyl paraben)
- ③ Propyl parahydroxybenzoic acid (Propyl paraben)
- ④ Butyl parahydroxybenzoic acid (Butyl paraben)

Fig 2. UV-Spectra of parahydroxybenzoic acid derivatives.

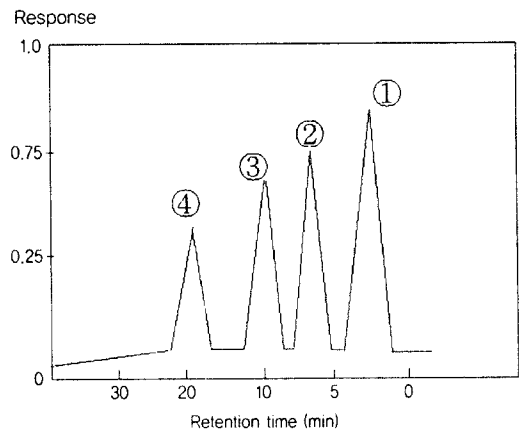


Fig 3. HPLC chromatogram of parahydroxybenzoic acid derivatives.

으며 Methyl paraben의 농도(10ppm, 20ppm, 30ppm, 40ppm, 50ppm)에 대한 흡광도치를 calibration하여 그래프로 나타내면 Calibration Curve는 Fig-4와 같다.

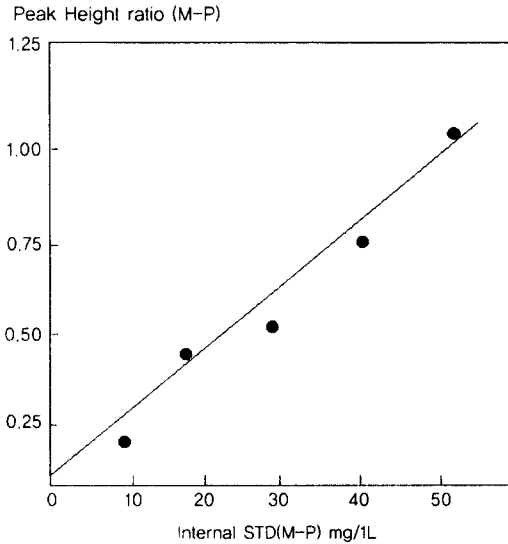


Fig 4. Calibration curve of methyl paraben.

II-3-2. TiO₂/Talc Suspension에서 Methyl paraben 측정

TiO₂/Talc를 5.0g, 10.0g, 15.0g을 각각 500ml의 분액여두에 넣고 각 농도별 Methyl paraben용액을 100ml씩 가하여 20°C에서 Shaking Incubator로 교반 및 Suspension시키면서 일정시간 간격으로 시료를 취하여 여과한 다음 여액중 Methyl paraben의 농도를 HPLC로 측정하여 흡착량을 구하였다.

II-3-3. 미생물 시험

조제한 Base 1, 2, 3, 4를 시료당 petri-dish 4개에 10ml씩을 각각 넣고 Autoclave에서 압력 1.05kg/cm², 온도 150°C에서 약 15분간 멸균처리한 후 Shaking Incubator(20°C, 35RPM)에서 평형이 되도록 충분히 교반하여 이것을 검체-A로 하고 Minimum Bactericidal Concentration(이하 MBC)법²⁰⁾에 의해 미생물 시험을 실시하였다.

검체-A에 ml당 Candida Albicans가 10³ CFUS가 되도록 균주를 접종한 후 Incubator에서 36°C, 24시간 배양하여 이것을 검체-B로 한다. 멸균여부 확인 방법은 42°C로 유지된 S.D.Agar를 Autoclave로 멸균한 petri-dish에 15ml씩 넣고 상온에서 응고시킨 표면에 검체-B를 백금 loop로 접종하여 Incubator에서 36°C, 24-48시간 배양한 다음 멸균여부를

Coloney Counter로 확인하였다.

III. 결과 및 고찰

III-1. 유화계에 유리된 Methyl paraben측정

Table-3의 각 시료로 유화계를 만들어 equilibrium movement dialysis법에 따라 증류수층내에 분리된 Methyl paraben의 농도를 일자별로 측정한 결과 Table-4와 같이 나타났다.

Table 4. Methyl Paraben Concentration in Water Phase (Unit : mg/L)

Sample No. Days	1	2	3	4	5	6	7	8
1	1.73	1.47	1.06	0.98	1.23	0.97	0.81	0.76
2	2.83	2.37	1.84	1.44	1.91	1.59	1.37	1.26
3	3.75	2.86	2.23	1.83	2.47	2.07	1.76	1.47
4	4.24	3.15	2.74	2.14	2.85	2.46	2.04	1.86
5	4.57	3.32	3.00	2.50	3.16	2.75	2.39	2.00
6	4.86	3.36	3.12	2.65	3.26	2.75	2.57	2.29
7	4.81	3.36	3.18	2.78	3.33	2.92	2.73	2.56
8	4.90	3.58	3.35	2.45	3.67	3.14	2.99	2.77
9	5.15	3.60	3.37	3.17	3.78	3.36	3.16	3.01
10	5.55	3.78	3.43	3.10	3.65	3.78	3.11	3.02

일반적으로 dialysis membrane을 통한 확산과정에서 증류수층내 분리된 Methyl paraben의 농도(C)와 시간(t)과의 관계를 식²¹⁾으로 나타내면 다음과 같다.

$$\alpha Kt = \ln(1 - CW'/CW^0)^{-1} \quad (1)$$

여기서,

$$\alpha = (1 + KW\phi_1 + \phi_2) / (KW\phi_1 + \phi_2)$$

K = Dialysis Constant

이식에 대한 각 parameter값을 나타내면 Table 5와 같다.

Table 5. Parameter Calculated in Equation(1)

Sample No.	α	Kw	ϕ_1	ϕ_2
1	1.060	0.265	0.114	0.376
2	1.065	0.270	0.114	0.374
3	1.084	0.270	0.113	0.370
4	1.082	0.270	0.110	0.371
5	1.083	0.270	0.109	0.380
6	1.083	0.270	0.111	0.378
7	1.092	0.270	0.113	0.365
8	1.105	0.275	0.112	0.363

수분과 유분으로 이루어진 유화계에서 분리된 Methyl paraben의 시간(t)에 대한 농도(C)의 변화율은 Fig-5와 같이 직선으로 나타나며 이 직선의 기울기로부터 K값을 구하면 K(Dialysis Constant) = 0.045이었다.

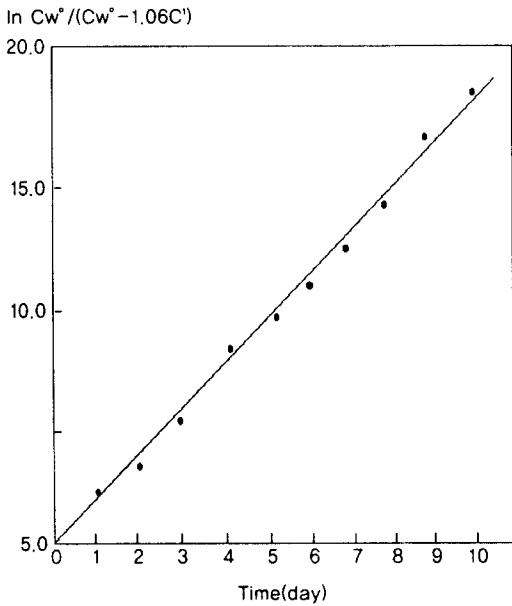


Fig 5. The plot of dialysis time VS concentration.

유화계에서 증류수층에 존재하는 Methyl paraben의 농도(C)와 시간(t)와의 관계에서 Dialysis membrane을 통하여 증류수층으로 이동한 Methyl paraben의 관계식은 다음과 같다.

$$0.045 \text{ at} = \ln \frac{C W^0}{C W^0 - 1.06 C} \quad (2)$$

상기 식(2)에서 C'과 CW⁰는 시간(t)에서 증류수층에 유리된 Methyl paraben의 농도와 시간(0)에서 수상층에 유리된 Methyl paraben의 초기농도로 Table 5에서 구할 수 있다.

그리고 유화계에서 증류수층에 분리된 Methyl paraben의 평균 농도치(C*)는 Table-6과 같다.

Table 6. Equilibrium concentration of Methyl paraben (unit : mg/L-water)

Sample No	1	2	3	4	5	6	7	8
C*	1.17	0.92	0.78	0.64	0.82	0.68	0.60	0.52

일반적으로 유화계에서 계면활성제나 무기분말 재료등에 Methyl paraben을 혼합하여 반응할 경우 Table-7과 Fig-6에서와 같이 농도의 감소현상을

보였는바 이는 방부효능에 영향이 있음을 알 수 있다.

Table 7. Adsorption Amount on Particle Calculated by Dialysis Method

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7
Concentration Decrease (mg/L)	0	0	1.36	2.75	0.94	2.47	3.26
Adsorption Weight(mg/kg)	0	0	2.18	2.20	1.52	1.82	1.74

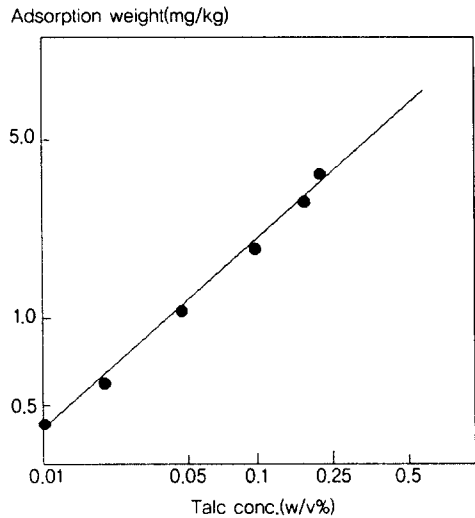


Fig 6. Adsorption weight of methyl paraben vs. Talc concentration.

III-2. TiO₂/Talc Suspension에서의 Methyl paraben 측정

유화계에 TiO₂/Talc 분산시킬 경우 Fig-1의 Two Chambered Dialysis Membrane 분리과정에서 Methyl paraben의 농도가 현저하게 낮아졌으며 이는 Fig-6에서 나타난바와 같이 Talc에 대한 흡착실험을 20℃에서 평형상태에 도달하였을 때 Methyl paraben의 흡착량은 Table-8과 같으며 양대수 좌표

Table 8. Adsorption Amount of Methyl Paraben on Talc

Concentration of methyl paraben (W/V%)	Amount (mg/kg)
0.01	0.40
0.02	0.65
0.05	1.10
0.15	2.00
0.25	4.20
0.30	4.80

에서 Fig-6과 같이 농도와 흡착량과의 관계를 도시하면 직선관계가 성립되며, 이는 Freundlich의 흡착동온식²⁰⁾이 성립됨을 의미하며 이 방정식을 최소자승법으로 구하면 흡착량(A·W)는 11.5C^{0.745}로 표시할 수 있다.

여기서, C는 흡착평형상태에서 Methyl paraben의 농도이다. 따라서 TiO₂/Talc를 유화계에 분산시킬 경우 평형상태에서 Methyl paraben의 농도의 감소현상은 방부효능에 영향이 있음을 알 수 있다.

III-3. 미생물 시험

유화계에서 계면활성제인 Tween-80, 무기분말재료인 TiO₂/Talc를 각각 혼합하여 분산시킨 다음 Fig-1에서와 같이 Two Chambered Dialysis Membrane법으로 증류수층에 분리된 Methyl paraben의 흡착성분에 대하여 미생물시험을 하였다.

Table-3에 표시된 유화계에서 Tween-80, TiO₂/Talc의 각 농도에서 Methyl paraben의 농도에 따라 미생물의 성장여부를 Table-9에 나타내었으며 보는바와 같이 계면활성제인 Tween-80을 혼합하지 않을 경우 MBC는 0.19%이상에서 미생물이 소멸되었고 계면활성제인 Tween-80과 무기분말재료인 TiO₂/Talc를 각각 5, 10, 15%Sol으로 혼합하였을 경우 MBC는 0.22%와 0.23%에서 미생물이 소멸된 것으로 나타났다.

유화계에서 TiO₂와 Talc의 혼합에 따른 MBC는 거의 유사하게 나타났으나, Talc가 TiO₂ 보다 높게 나타났음을 알 수 있으며 TiO₂와 Talc의 함량에 따라 MBC는 크게 영향이 있음을 알 수 있다.

유화계에서 계면활성제, 무기분말재료등의 성분이 다량첨가하면 할수록 Methyl paraben의 흡착량도 증가되며, 이는 유화계에서의 방부효능에 영향이 있음을 알 수 있다.

IV. 결론

본 실험은 유화계에서 계면활성제인 Tween-80과 TiO₂/Talc를 각각 분산시킨후 Two Chambered Dialysis Membrane을 이용하여 Parahydroxy-benzoic acid derivatives(Methyl paraben)의 방부효능 관계를 미생물시험을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 유화계에 계면활성제를 혼합할 경우 Methyl paraben의 농도가 시간경과에 따라 비교적 크게 떨어졌고, 미생물시험결과 MBC가 0.19%(W/V)이상에서 미생물이 소멸되는 것으로 나타났으며, 이는 계면활성제에 의한 Methyl paraben의 흡착관계로 방부효능이 저하됨을 알 수 있다.

2. 유화계에 TiO₂/Talc를 각각 혼합하여 분산시켰을 경우 MBC가 0.22%(W/V)와 0.23%(W/V)이상에서 미생물이 소멸되는 것으로 나타났으며, 이는 TiO₂/Talc에 의한 Methyl paraben의 흡착관계로 인하여 방부효능이 크게 감소함을 알 수 있으며, Talc가 TiO₂보다 비교적 높게 나타났다.

3. Talc에 대한 Methyl paraben의 흡착량(A·W)은 20°C에서 A·W=11.5C^{0.745}의 식으로 나타낼 수 있었다.

기호

A·W = Adsorption Weight(mg/g)

C' = Concentration of dialyzed methyl paraben at time(t)

CW° = Initial Concentration of methyl paraben in water phase for emulsion system

C* = Average of CW°

Table 9. Results of Microbial Experiment

M-P Conc(W/V%)		Samples											
		0.14	0.15	0.16	0.17	0.18	0.19	0.20	0.21	0.22	0.23	0.24	0.25
M-P + SD-Broth		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M-P + Tween-80 + SD-Broth		+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
M-P + Tween-80 + TiO ₂ + SD-Broth	TiO ₂ 5%	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	10%	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	15%	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
M-P + Tween-80 + Talc + SD-Broth	Talc 5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	10%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	15%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

* 참고: + 미생물 성장, - 미생물 소멸

CFUS = Coloney Formation Units
 K = Modified dialysis constant
 Kw = Partition coefficient
 Loop = Round ring
 MBC = Minimum Bactericidal Concentration
 V' = Volume of distilled Water
 Vw = Volume of Water for emulsion system
 Voil = Volume of oil for emulsion system
 $\alpha = (1+Kw\phi_1+\phi_2)/(1+Kw\phi_1+\phi_2)$
 $\phi_1 = Voil/V'$
 $\phi_2 = Vwater/V'$
 t = Time

References

1. S. M. Blang and S. S. Ahsan, J. pharm., Sci., 50, 441(1961)
2. M. G. deNavarre, J. SOC. Cosmetic Chem., 8, 68(1975)
3. H. S. Bean, S. M. Heman-AcKah, and J. Thomas, J S C C, 16, 15(1965)
4. H. B. Bean, G. H. Konning and S. A. Malcolm, J. pharm., pharmacol., 21, 173(1969)
5. H. B. Kostenbauder, Am. perf., Aromat., 75, 28(1960)
6. P. C. Eisman, J. Cooper and D. Jasconia, J. Am. pharm., Ass., 46, 144(1957)
7. F. W. Goodhart and A. N. Martin., J. pharm., Sci., 51, 50(1956)
8. W. P. Evans, J. pharm., pharmac., 16, 323(1964)
9. N. H. Batuyous and E. A. Brecht., J. Am. pharm. ASS., Sci., Ed., 46, 524(1957)
10. N. R. Horn, T. J. McCarthy and E. Ramsted, Cosmetics & Toiletries, 96, 69(1980)
11. R. T. Yousef, M. A. El-Nakeeb and S. Salama, Can. J. pharm., Sci., 854(1973)
12. G. Sykes, "Disinfection and Sterilization", p. 243, E. F. N. Spon LTD., London(1958)
13. D. Smith, etal., "Zinsser Bacteriology", 11th, p.97., Appleton Century-Crofts DNC., N. Y.(1957)
14. G. F. Reddish, "Antiseptics Disinfectants, Fungicides and Chemical and physical sterilization", 2nd Ed., p. 147, 422, Lea & Febiger, philadelphia(1957)
15. J. M. Larkin, J. L. Stokes, J. Bact., 91, 1667(1966)
16. 관근정기외 7명, Handbook, "Drug & Cosmetics material, Nikkol chemical co., p. 606-683(소화 35)
17. S. J. A. Kazmi and A. G. Mitchell, J. pharm. Sci., 62, 1299(1973)
18. M. Bztcheler, H. Tarlin and G. Williamson, J. phalm., Sci., 61, 252(1972)
19. F. A. Fitzpatrick, A. F. Summa and A. D. Cooper, J. SOC., Cosmet Chem., 26, 377(1975)
20. G. Robert. M. D. Petersdorf, etal., Am. Jour. of Medicine, 39, 766(1965)
21. N. K. Patel and J. M. Romanowski, J. pharm., Sci., 59, 372(1972)
22. 이화영외 2명, 단위조작, 회중당, 제 5판, 712 (1995)