The Journal of the Convergence on Culture Technology (JCCT)
Vol. 5, No. 4, pp.445-450, November 30, 2019. pISSN 2384-0358, eISSN 2384-0366

http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2019.5.4.445
JCCT 2019-11-56

천연유래 에센셜 오일을 활용한 화장품 방부제 개발

Development of Cosmetics Preservatives using Natural Essential Oil

김보애*

Bo-Ae Kim*

요 약 최근 화장품을 사용하는 소비자들이 원료 안전성에 관심이 크다. 그 중에서도 천연방부제에 대한 관심이 증가하고 있으며 파라벤류 방부제를 배제한 화장품에 대한 수요가 증가함에 따라 합성 방부제를 항균성의 에센셜 오일로 대체하는 방안이 고려되고 있다. 에센셜 오일의 항균 효과는 주요 활성 화합물 사이의 성분, 농도 및 상호작용에 따라 달라진다. 효과적인 방부제는 최소 농도에서도 광범위한 균주에 대한 항균 활성이 있어야 한다. 모든 방부제는 농도가 증가할수록 피부 자극, 알레르기 반응을 일으킬 수 있음을 고려해야 한다. 소비자들은 천연 유래 에센셜 오일은 안전하다고 인지하고 있으나, 일부는 접촉 알레르기나 광독성 반응을 일으킬 수 있으므로 주의해야 한다. 이처럼 천연방부제 또한 최대의 방부효과와 낮은 독성의 균형을 잡는 것이 중요하며, 본 논문은 항균 특성에 초점을 맞춘 에센셜 오일에 대한 특징, 화장품 방부제로서의 효능과 안전성에 대해 기술한다.

주요어 : 방부제, 에센셜 오일, 항균 활성, 화장품

Abstract Recently, consumers using cosmetics have a great interest in raw material safety. Among them, interest in natural preservatives is increasing, and as the demand for cosmetics excluding paraben preservatives increases, a method of replacing synthetic preservatives with antibacterial essential oils is being considered. The antibacterial effect of essential oils depends on the components, concentrations and interactions between the main active compounds. Effective preservatives should have antimicrobial activity against a wide range of strains even at minimal concentrations. All preservatives should be considered to increase skin concentration and cause skin irritation and allergic reactions. Consumers recognize that essential oils from nature are safe, but some should be careful because they can cause contact allergies or phototoxic reactions. As such, it is important to balance natural preservatives with maximum preservative effects and low toxicity. This paper describes the characteristics of essential oils focused on antibacterial properties, efficacy and safety as cosmetic preservatives.

Key words : preservative, essential oil, antibacterials, cosmetics

*정회원, 목원대학교 생의약화장품학부 조교수
접수일: 2019년 9월 26일, 수정완료일자: 2019년 10월 24일
게재확정일자: 2019년 11월 2일

Received: September 26, 2019 / Revised: October 24, 2019
Accepted: November 2, 2019
*Corresponding Author: kba@mokwon.ac.kr
Division. of Biomedicinal&Cosmetics, Technology,
Mokwon Univ, Korea

Ⅰ. 서 론

화장품의 미생물 오염은 제품 저하를 초래할 수 있고 피부 건강을 약화시킬 수 있다. 현대 화장품의 다양한 성분과 수용성 물질은 미생물의 성장을 증가시키는 요인이 된다. 따라서 오염될 가능성이 높고 소비자의 건강에 대한 위험성을 고려할 때, 방부제의 사용은 필수적이다. 특히 물을 포함하는 화장품은 방부제를 배제할 수 없다. 화장품의 오염은 일반적으로 화장품제형의 물리적, 화학적 특징을 변화시켜 상(phase) 분리, 변색, 변취 등을 초래한다. 방부 시스템은 원료, 화장품 공장에서의 제조 과정, 보관에서 발생하는 1차 오염 및 소비자 사용 중에 발생하는 2차 오염 모두를 충족해야 한다. 화장품은 멸균상태에서 제조하는 것이 힘들기 때문에 다양한 상황에서 쉽게 오염이 이루어지고, 유통기한, 제품 용기 및 생산 및 포장 시스템과 같은 모든 환경을 고려해야 한다. 방부 시스템에는 일반적으로 광범위한 박테리아와 균류에서 작용하는 다양한 화학 생물체의 조합이 포함된다. 방부제를 과량으로 포함할 경우 제품의 유통기한을 연장할 수는 있겠으나 피부자극을 일으킬 수 있다.

파라벤 방부제는 화장품에서 가장 널리 쓰이는 방부제다. 적정 이하 농도에서는 안전성에 문제가 없다는 의견이 있으나, 높은 농도의 Imidazolidin과 diazolidin urea와 같은 파라벤 방부제는 피부 자극을 일으키고 알레르기 반응을 유발한다[1]. 이 밖에도 각종 유해성이 야기되고 있는데 그 중에서도 파라벤이 에스트로겐 유사 성질을 가지고 있다는 것이 발표되었으며[2], 유방 종양 세포와 주변 조직에서 파라벤이 발견되는 등 파라벤 안전성의 평가에 대한 논란이 크다[3]. 그러나 다른 독성 연구에서는 파라벤이 비발암성[4]이라는 것으로 발표되었으나, 이미 소비자들은 파라벤에 대해 불신하고 있는 상황이다. 또한, 다양한 합성 방부제에서 미생물 내성에 대한 우려가 있어 천연방부제가 확대되는 계기가 되었다.

에센셜 오일의 활성은 진통, 항염, 항균, 항산화, 진정효과 등 등에 이르기까지 다양하다. 에센셜 오일이 화장품에 사용하는 주된 이유는 기분 좋은 향기 때문일 것이다. 화장품의 생산 과정에 사용되는 지방산, 지방유, 계면활성제와 같은 원료는 그 자체로 불쾌한 냄새가 있는데 에센셜 오일을 함유함으로써 마스킹할 수 있는 장점이 있다.

천연유래 에센셜 오일은 수증기 증류법, 압착법, 침적법, 용매 추출법, 초임계유체추출물법 등 다양한 추출방법으로 얻을 수 있다. 에센셜 오일은 단순한 항균력 외에도 대체의학으로서의 잠재력 때문에 화장품과 제약업계의 관심을 끌고 있다. 에센셜오일은 화장품이나 식품에서 중요한 방부제로 일부 활용되고 있으며, 다양한 연구가 이루어지고 있다. 수천개 이상의 에센셜 오일이 상업적으로 활용되며 식품의 품미를 향상시키고 화장품 산업에서는 활성성분 또는 향료로 사용되는 것으로 추정된다[5].

Ⅱ. 2장 에센셜 오일의 항균 메커니즘

에센셜 오일은 합성성분을 혼합하여 위조되는 경우가 있다. 에센셜 오일은 여러 가지 제품에 있어서 아름다움을 부각시킬 수 있고 판매와 홍보에 강한 마케팅 이점이 있지만, 천연 에센셜 오일의 가격은 합성 오일 보다 매우 비싸다[6]. 그래서 여러 가지 방법으로 값싼 오일과 혼합하여 순수한 에센셜 오일처럼 위조되기도 한다[7]. 에센셜 오일의 순도를 확인하기 위해 테스트할 수 있다. 에센셜 오일의 모든 분석과 그 혼합물을 에센셜 오일에 대한 표준물질과 비교하는 것은 매우 중요하다. 에센셜 오일은 일반적으로 완전히 밀폐된 용기여야 하며 광선으로부터 보호되어야 한다[8].

에센셜 오일의 화합물 구성과 비율은 재배 지역의 기후 및 환경, 수확 시기, 추출 방법, 화학 구조에 따라 달라진다[9]. 에센셜 오일은 주로 테르페노이드(terpenoids)가 있는 테르펜(terpenes)으로 구성되는 천연 화합물이며, 분자량이 작은 방향성 및 지방족 화합물(aliphatic compounds)로 구성되며 모노테펜(monoterpenes)은 가장 흔히 발견되는 분자로 에센셜 오일의 생물학적 특성을 결정한다[1][10].

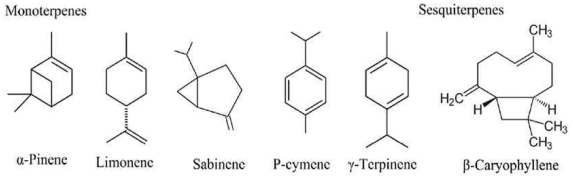

그림 1. 에센셜 오일의 테르페노이드 화학적 구조
Figure 1. Chemical structure of terpenoids by essential oil

라벤더, 로즈마리, 레몬글라스, 민트, 타임, 티트리 등의 에센셜 오일이 천연방부제로 제시되고 있다. 이들은 부생(腐生) 세균과 곰팡이균에 모두 효과가 있는데, 부생 세균(Aereomonas 속, Bacillus 속, Micrococcus sp., Acinetobacter sp., Aspergillus sp.)은 화장품 오염의 주요 원인이다. 또한 병원균(Stapylococococcus sp., Striptoccus sp., Candida)에 대한 항균 활성이 높아 미생물증식에 의한 피부질환을 억제한다.

Thymus vulgaris의 항균 활성은 주로 thymol, carvacrol, ɣ- terpinene, p-cymene [11]에서 유래하며, Melaleuca alternifolia는 terpinen-4-ol [12], Rosmarinus officinalis oil은 1,8-cinee, α-pinene[13]이 주요 항균 성분이다. 이처럼 에센셜 오일의 단일 성분에 대한 연구는 다양하게 이루어지고 있다. 또한 페놀 화합물(phenolic compounds)의 가장 강력한 항균 활성은 페놀 구조에서 하이드록실 그룹(hydroxyl group)이 존재하기 때문이다[14]. 하이드록실 그룹은 세포내 ATP의 감소과 더불어 K+에 대한 세포막의 투과성을 증가시켜 박테리아 세포의 사멸시킨다.

카바크롤(carvacrol)과 티몰(thymol)의 항균 메커니즘에 대한 최근 연구에서 대장균(E. coli)의 세포막 투과성 증가, 프로톤과 칼륨 이온의 약화현상을 유도함으로서 항균력을 나타내었다[15]. 카바크롤과 티몰에는 자유하이드록실 그룹(free hydroxyl group)이 존재하여 세포막의 분극 및 전위에 영향을 주어 항균력을 나타낸다. 에센셜 종류에 따란 항균 메커니즘이 다르게 나타나는데 한 예로 타임(Thyme), 카바크롤(carvacrol)과 티몰(thymol)은 세포막을 약화시켜 항균력을 나타내지만, 시나몬(cinnamon)은 세포막의 손상없이 항균력을 나타내는데 계피 오일의 주요 활성 성분인 유제놀(eugenol)은 메톡실 그룹(methoxyl group)을 가지고 있어 OH 그룹이 프로톤을 쉽게 내놓을 수 없게 한다[16].

앞서 설명한것처럼 에센셜 오일의 항균 활성은 자유하이드록실 그룹이 핵심적 역할을 하는데 그 밖에도 에센셜 오일의 항균 활성에서 또 다른 작용 메커니즘이 있다. 테르펜과 테르페노이드는 세포막을 통과하는 화합물로서 세포막의 구조를 무너트리고 약화시킨다. 세포막 투과에 의해 이온 변화, 막 전위의 감소, 프로톤 펌프 억제, ATP 고갈로 세포사멸과 같은 일련의 반응을 일으킨다. 화학적으로 Functional group을 가진 일부 테르페노이드들은 세포호흡과 관련된 효소활성을 감소시킴으로서 세포의 기능을 방해한다[14].

세균에 존재하는 유출 펌프(efflux pump)는 자신에게 유해한 물질을 제거하기 위해 사용하는 방어 메커니즘이다. 유출 펌프가 손상된 녹농균(Pseudomonas aeruginosa) 돌연변이는 온전한 유출펌프를 가진 녹농균 보다 낮은 농도의 멜랄루카 알터리폴리아(Melaleuca alternifolia) 오일과 일부 모노테르펜에 더 취약하다[17].

천연유래 에센셜 오일은 다양한 균류에서 항균활성을 나타내며, 특히 곰팡이를 효과적으로 제어할 수 있는 것이 큰 장점이다. 특히 칸디다 종(Candida sp.)과 아스페질러스(Aspergillus sp.)에 대해 가장 높은 항균 메커니즘을 나타내는데[18], 스테롤 생합성을 억제하는데 그 중에서도 에르고스테롤(Ergosterol)은 효모세포막의 특정 스테롤 성분이다. 스테롤 생합성의 억제는 세포질막(cytoplasmic membrane)을 약화시켜 항곰팡이(antifungal) 작용을 나타내는 것이다. 미토콘드리아 호흡의 문제와 ROS 축적은 세포사멸의 신호로 이어진다. 천연유래 에센셜 오일은 미생물 내부의 ROS 증가와 함께 미토콘드리아 막 손상, 전자 흐름을 변화시켜 항균력을 나타낼 수 있다. 그러나 반드시 막의 손상으로서만 설명되기 어려우며 막의 손상을 수반하지 않는 다른 항곰팡이 활성이 있어 정확한 분자 메커니즘은 지속적인 연구가 필요하다[19].

에센셜오일은 강력한 항바이러스 효과를 나타낸다. 특히 단순포진 바이러스(Herpes simplex viruses), 거세포 바이러스(cytomegalovirus) 리노바이러스(rhinovirus), 코로나바이러스(coronavirus)및 아데노바이러스(adenovirus)[20]에 대해 다양한 에센셜 오일에서 모노테펜의 항바이러스 활성이 확인되었다. 항바이러스 작용의 메카니즘은 아주 명확하다고 할 수 없으나 바이러스 외피(viral envelopes)를 붕괴시켜 항바이러스 활성을 나타내는 것으로 여겨진다. 그러나 외피가 없는 아데노바이러스가 유칼립투스 오일에 대해 반응을 나타내지 않은 경우도 있었다[21].

티트리(tea tree) 오일의 항바이러스 활성은 terpinen-4-ol, terpineol, terpinolene 화합물에 의해 나타낸다. α-pinen and α-terpinen을 단일로 처리한 그룹에서 높은 항바이러스 활성을 보였지만, 천연 티트리 에센셜 오일에 혼합하는 것이 10배 더 효과적이었다[22]. 즉 에센셜 오일의 항균 활성은 주된 활성 화합물의 존재뿐만 아니라 같이 포함되어 있는 다른 성분들 간의 상호작용

에서 비롯된다고 볼 수 있다. 또한 에센셜 오일과 단일 화합물을 혼합하였을 때 항균력이 증가되는 경우가 있다. 예를들어 티몰 또는 카바크롤에 우제놀을 포함시켰을 때 시너지 효과가 증가하는 것으로 알려져 있다[23]. 에센셜 오일의 항균 활성은 많은 화합물들의 활성과 복잡한 상호작용의 결과물이며 주요 활성 화합물 종류, 농도 및 상호작용과 미생물의 민감성에 따라 달라진다.

III. 화장품 방부를 위한 에센셜 오일의 응용

O/W 에멀젼 (oil in water emulsion) 제조에서 라벤더, 로즈마리 에센셜 오일이 미생물 오염을 감소시킨다[24]. EDTA는 방부력을 나타내는 물질과 혼합할 시 박테리아와 균류의 생존가능성을 감소시킬 수 있는데 에센셜 오일 뿐만 아니라 파라벤류 방부제와 혼합하여 사용하면 방부시스템을 극대화할 수 있다. EDTA는 세포막을 약화시켜 상대적으로 낮은 농도의 방부제를 함유한 화장품이라 하더라도 높은 방부력을 나타날 수 있도록 도와준다.

화장품 크림 제형에 칼라민타 오피니날리스(Calamintha officinalis) 에센셜 오일(1.0%)과 2mM EDTA를 결합하면 방부제 활성이 증가하하였는데, 항균성 에센셜 오일과 함께 박테리아 세포막을 약화시켜 방부제를 효과적으로 침투시키는 EDTA를 추가함으로써 효과적인 방부력을 나타낸 것이다. 또한 칼라민타 오피니날리스 에센셜 오일(1%와 2%)을 크림과 샴푸 제조에 단독으로 적용했다[25]. 유칼립투스(Eucalyptus globulus), 샐비어(Salvia esperialis) 에센셜 오일(0.025%, 0.0125%)는 카보폴 크림(O/W), 카보폴 하이드로겔 화장품 제형에서 합성방부제와 혼용하여 사용할 시 파라벤류와 같은 합성방부제의 양을 최대 20배 이상 낮게 사용할 수 있음을 나타냈다[26]. 그러나 파라벤류 방부제와 두세 가지 에센셜 오일이 조합된 방부제는 우수한 방부력을 나타냈으나 미생물에 대해서 항균력을 나타내지 못한다. 그래도 복합 에센셜 오일의 적용으로 화장품 조제 시 합성 방부제의 양을 상당히 줄일 수 있다는 것이 입증되었다. 에센셜 오일과 합성 방부제 또는 계면활성제를 포함한 복합 방부제에 많은 연구가 이루어지고 있다. 라벤더, 티트리, 레몬 에센셜 오일의 효능과 합성 방부제(1-3-dimetylol-5,5-dimethylhylantoin, 3-iodo-2-propynnyl butyl carbamate)가 결합된 복합 방부제에서도 긍정적인 연구 결과를 나타내었는데, 최대 8.5배까지 합성 방부제양을 줄일 수 있었다. 라벤더와 티트리 오일(각각 0.5%)과 합성 방부제를 0.1% 농도로 혼합한 실험에서도 높은 방부 효과가 있다. 티트리 에센셜 오일 단독으로는 방부력이 감소하는데 티트리 오일 0.5%에 5%의 용해제(폴리소르베이트 80)를 첨가한 결과 세균성 활성이 증가했지만 충분한 항진균 효과를 나타내지 못했다. 그러나 합성 방부제(0.3%)가 함께 처방된 경우에는 방부력이 충족되었다[27].

허브 추출물, 에센셜 오일(Lavandulla officinalis, Melaleuca alternifolia and Cinnamonium zeylannicum) 및 메틸파라벤의 에멀젼 방부 효과를 비교한 연구에서 에센셜 오일의 억제 효과가 더 높은 것으로 나타났는데, Cinammon 오일(2.5%)은 S. aureus, E. coli and C. albicans의 성장을 효과적으로 억제했고 경우에 따라 에센셜 오일의 항균활성(2.5%)이 메틸파라벤(0.4%)보다 3.5배 강한 경우도 있었다[28].

상기의 연구결과는 에센셜 오일이 제형 처방에서 합성방부제를 대체하거나 합성방부제의 함량을 감소시킬 수 있다는 것을 의미한다. 그러나 여러 가지로 야기되는 단점을 극복하기 위해서는 많은 연구가 필요하다. 가장 많이 문제가 되는 것은 합성방부제에 비해서 많은 양이 제형내에 포함되어야 만족할만한 방부력을 나타낸다는 것이다. 또한 제형 안정성 하락에 영향을 미치게 되는 화합물들의 구성으로 수상과 유상의 분리, 점도 감소, 변색, 변취와 같은 많은 문제를 해결해야 한다. 천연유래 성분이라고는 하지만 양이 증가할수록 피부에 자극이나 알러지 반응의 원인이 될 수 있다. 일랑일랑, 티트리, 레몬그라스, 페퍼민트, 라벤더 [29] 및 그 밖의 많은 것들이 문헌에 보고되었다. 또한 5-Methoxypsoren(5-MOP, Bergapten)은 버가못 오일의 성분으로 UVA 광선에 의해 유도되는 피부암을 유도할 수 있으며[78], 버가못 아로마테라피 오일에 접촉한 후 48시간에서 72시간 사이에 광독성 피부반응을 일으킨 환자에 대한 보고가 있다[30]. 광독성 외에도, 항암제 활성과 관련된 보고서도 있다[31]. Dulgeone, safrole, methylugenol, estragole과 같은 에센셜 오일의 다른 성분들은 in vitro 테스트와 동물연구에서 발암성 특성이 있다. 그러나, 이들 실험은 동물실험을 수행한 것으로서 사람에 대한 충분한 데이터는 부족한 상황이다. 그러므로 적은 양의 에센셜오일을 화장품에 방부제로서 적합하게 적용하기 위해서는 합성

방부제를 혼합함으로서 합성방부제의 총량을 줄일 수 있다는 점을 잘 활용하는 것이 바람직하겠다. 또한 에센셜오일의 농도가 낮아지면 천연향료로 겸할 수 있기 때문에 합성향료를 제외한 제형 처방이 가능하고, 경우에 따라서는 화장품 원료의 특유한 취(臭)를 마스킹(masking effect)할 수 있다.

Ⅳ. 결 론

요즈음, 많은 소비자들이 화학 방부제의 안전성에 의문을 제기하고 있다. 전통적으로 사용되는 방부제는 종종 피부 자극을 일으키고 알레르기 반응을 유발한다. 합성 방부제가 배제된 화장품에 대한 수요가 증가함에 따라 합성 방부제를 항균성의 천연 화합물로 대체하는 아이디어가 이슈화되고, 천연소재를 활용하는 것은 화장품에 긍정적인 이미지를 부여한다[32]. 방부제로 적합한 에센셜 오일로는 라벤더, 티트리, 시나몬, 타임, 레몬그라스가 있으며, 이는 광범위한 그람양성균(gram positive bacteria) 및 그람음성균(gram negative bacteria)에 항균 활성을 보이며 Pseudomanas eruginosa를 제외 대부분의 균주에서 MIC가 1% 미만이다. 에센셜 오일은 향, 유효성, 항균력 등 다목적 기능을 갖고 있지만 많은 양이 포함될 경우 제형 안정성 하락, 안전성 문제와 같은 원하지 않는 특성을 화장품에 나타날 수 있는 혼합물이라는 점에 유의해야 한다. 다만 에센셜 오일이 합성 방부제를 완전히 대체하기는 어렵지만 합성방부제와 혼합함으로써 합성 방부제의 총량을 줄이면서도 천연향료, 생리활성 성분으로 동시에 활용될 수 있다.

References

[1]1. F. Fransway, J. BS, Parabens, Dermatitis, Vol. 30, No. 1, pp. 3-31, 2019. doi: 10.1097/DER.0000000000000429
[2] J. Carney, R. White, Synthesis of 3, 5-substituted Parabens and their Antimicrobial Properties, INCITE, 2019. digitalcommons.longwood.edu
[3] X. Shen, J. Liang, L. Zheng, H. Wang, Z. Wang, Q. Ji, Q. Chen, Q. Lv, Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry for determination of parabens in human breast tumor and peripheral adipose tissue, Journal of Chromatography B, Vol. 1096, pp. 48-55, 2018.
[4] F. Alan Andersen, Final amended report on the safety assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, and Benzylparaben as used in cosmetic products, Int J Toxicol, Vol. 27, No. 4, pp. 1-82, 2008.
[5] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar, Biological effects of essential oils. Food Chem Toxicol, Vol. 46, No. 2, pp. 446-475, 2008.
[6] G. De, E. Schmidt, Essential Oils: Contact Allergy and Chemical Composition, CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 1st, pp. 17-20, 2016.
[7] S. Mestri, Adulteration of Essential Oils and Detection Techniques. Available online: https://www.linkedin.com, 2017.
[8] European Pharmacopoeia. Essential Oils-Aetherolea, 9th ed.; Verlag Österreich, Press: Vienna, Austria, pp. 1241-1250, 2016.
[9] A. Jelena, D. Milica, S, Ivan, J. Radosav, Z. Jelena, R. Slavica, M. Dorde, M. Zoran, Comparison of essential oils and hydromethanol extracts of cultivated and wild growing Thymus pannonicus All., Industrial Crops and Products, Vol. 130, pp. 162-169, 2019.
[10] O. Sticher, J. Heilmann, I. Zündorf, Sticher Pharmakognosie-Phytopharmazie, 10th ed.; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Press: Stuttgart, pp. 666-667. 2015.
[11] S. Hamad Aljabeili, B. Hassan, A. Hassan, R. Abdel, Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of Thyme Essential Oil (Thymus vulgaris), Food and Nutrition Sciences, Vol. 9, No. 5, pp. 433-446, 2018. https://doi.org/10.4236/fns.2018.95034
[12] Z. Xiaofeng, G. Yanjun, G. Liying, J. Hui, and J. Qianhua, In Vitro Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Melaleuca alternifolia Essential Oil, BioMed Research International, pp. 8, 2018. https://doi.org/10.1155/2018/2396109
[13] W. Wang, M. Luo, Y. Zu, T..Efferth, Antibacterial activity and anticancer activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil compared to that of its main components, Molecules, Vol. 17, No. 3, pp. 2704-2713, 2012.
[14] N. Filomena, F. Florinda , D. M. Laura, C. Raffaele. D. F. Vincenzo, Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria, Pharmaceuticals, Vol. 6,

No. 12, pp. 1451 - 1474, 2013, doi: 10.3390/ph6121451

[15] J. Xu, F. Zhou, B. P. Ji, R. S. Pei, N. Xu, The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against Echerichia coli. Lett Appl Microbiol, Vol. 47, No. 3, pp. 174-179, 2008.

[16] D. Mariola, W. Karolina, Application of essential oils as natural cosmetic preservatives, Herba Polonica, Vol. 59: No. 4, pp. 142-156, 2013. DOI: 10.2478/hepo-2013-0030

[17] J. Chelsea, Longbottom, F. Christine Carson, A. Katherine Hammer, J. Mee, V. Thomas, Tolerance of Pseudomonas aeruginosa to Melaleuca alternifolia (tea tree) oil is associated with the outer membrane and energy-dependent cellular processes, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Vol. 54, No. 2, pp. 386 - 392, 2004.

[18] E. Pinto, C. Pina-Vaz, L. Salgueiro, M. J. Goncalves, S. Costa-de-Oliveira, C. Cavaleiro, A. Palmeira, A. Rodrigues, J. Martinez-de-Oliveira, Antifungal activity of the essential oil of Thymus pulegioides on Candida, Aspergillus and dermatophyte species, J Med Microbiol, Vol. 55, No. 10, pp. 1367-1373, 2006.

[19] I. O. Lima, F. O. Pereira, W. A. Oliveira, E. O. Lima, E. A. Menezes, F. A. Cunh , F. Formiga, M. Melo Diniz, Antifungal activity and mode of action of carvacrol against Candida albicans strains, J Essent Oil Res, Vol. 25, No. 2, pp.138-142, 2013.

[20] A. Akram, R. Jürgen, and S. Paul, Screening for Antiviral Activities of Isolated Compounds from Essential Oils, Evid Based Complement Alternat Med. 2011. doi: 10.1093/ecam/nep187

[21] C. Cermelli, A. Fabio, G. Fabio, P. Quaglio. Effect of eucalyptus essential oil on respiratory bacteria and viruses. Curr Microbiol, Vol. 56, No. 1, pp. 89-92, 2008.

[22] A. Garozzo, R. Timpanaro, A. Stivala, B. Bisigano, A. Castro, Activity of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Influenza virus A/PR/8:Study on mechanism of action. Antivir Res, Vol. 89, No. 1, pp. 83-88. 2011.

[23] R. S. Pei, F. Zhou, B. P. JI, J..Xu, Evaluation of Combined Antibacterial Effects of Eugenol, Cinnamaldehyde, Thymol, and Carvacrol against E. coli with an Improved Method. J Food Sci, Vol. 74, No. 7, pp. 379-383, 2009.

[24] C. Sonam, S. Kanika, and G. Sanjay, Antimicrobial Activity of Some Essential Oils— Present Status and Future Perspectives, Medicines (Basel). Vol. 4, No. 3, pp. 58, 2017. doi: 10.3390/medicines4030058

[25] A. Nostro, M. A. Cannatelli, I. Morelli, A. D. Musolino, F. Scuderi, F. Pizzimenti, V. Alonzo, Efficiency of Calamintha officinalis essential oil as preservative in two topical product types, J Appl Microbiol, Vol. 97, No. 2, pp. 395-401, 2004.

[26] A. M. Maccioni, C. Anchisi, A. Sanna, C. Sardu, S. Dessi, Preservative systems containing essential oils in cosmetic products, Int J Cosmetic Sci, Vol. 24, No. 1, pp. 53-59, 2002.

[27] A. Kunicka-Styczyńska, M. Sikora, D. Kalemba, Antimicrobial activity of lavender, tea tree and lemon oils in cosmetic preservative system, J Appl Microbiol Vol. 107, No. 6, pp. 1903-1911, 2009.

[28] A. Herman, A.P. Herman, B. W. Domagalska, A. Mlynarczyk, Essential oils and herbal extracts as antimicrobial agents in cosmetic emulsion. Indian J Microbiol Vol. 53, No. 2, pp. 232-237, 2013.

[29] M. Sugiura, R. Hayakawa, Y. Kato, K. Sugiera, R. Hashimoto, Results of patch testing with lavender oil in Japan. Contact Dermatitis, Vol. 43, pp. 157 - 160, 2000.

[30] A. Oakley, R. Post, Allergic Contact Dermatitis, 2017. https://www.dermnetnz.org

[31] C. Celia, E. Trapassoc, M. Locatellia, Navarrad M, Venturad CA, Wolframb J, Carafaf M, Morittuc VM, Brittic M, L. Di Marzioa, D. Paolino, Anticancer activity of liposomal bergamot essential oil (BEO) on human neuroblastoma cells. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2013. http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.017

[32] B. Sosung, L. Hanul, K. Kyung Ah, The Effects of Character Characteristics of Collaboration Cosmetics on Consumer Preferences, Vol.4, No.4, pp.1-10, 2018.