

천연방부제로서 향균오일의 향균력 비교

김 미 진[†] · 정 택 규 · 홍 인 기 · 윤 경 섭

㈜사임당화장품 기술연구소
(2006년 1월 26일 접수, 2006년 2월 10일 채택)

Comparison of Anti-microbial Oils as Natural Preservatives

Mi Jin Kim[†], Taek Kyu Jung, In Gi Hong, and Kyung-Sup Yoon

R&D Center, Saimdang Cosmetics Co., Ltd., 805-5, Gyesan-ri, Yeongdong-eup,
Yeongdong-gun, Chungcheongbuk-do 370-802, Korea
(Received January 26, 2006; Accepted February 10, 2006)

요 약: 티트리오일 2종과 편백나무에서 추출한 천연오일을 합성방부제인 methylparaben과 향균력을 비교하였다. 대상 균주로 그람양성균인 *S. aureus* (KCTC 1916)와 그람음성균인 *E. coli* (KCTC 2571)와 *P. aeruginosa* (KCTC 2513)를 사용하였으며, 진균류인 *C. albicans* (KCTC 7965)와 *A. niger* (KCTC 6911), 그리고 여드름균인 *P. acnes* (KCTC 3314)를 사용하였다. 그람양성균의 향균력실험에서 천연오일은 합성방부제보다 우수한 향균활성을 보였으며, 그람음성균에서는 유사한 정도의 활성을 나타내었다. 특히, 진균과 여드름균에 대해서는 합성물질에 비해 천연오일에서 월등한 활성을 볼 수 있었다. 실험군에서 향균력은 티트리오일 > methylparaben > 편백정유의 순으로 나타났다. 또한, DPPH 법에 의한 항산화실험과 lipoxygenase를 이용한 항염증실험을 통해 천연오일의 항산화 및 항염증 효과를 볼 수 있었다. 실험결과, 천연오일은 널리 사용되고 있는 화학적인 방부제나 항산화제를 충분히 대체할 수 있으리라 기대된다.

Abstract: Natural essential oils showed anti-microbial activity on relatively broad spectrum of bacterial and fungal species. These materials had much more intensive anti-microbial activities than synthetic preservatives on *C. albicans*, *A. niger*, and *P. acnes*, especially. In the experimental group, anti-microbial activity was order of tea tree oil (from *Melaleuca alternifolia*) > methylparaben > phytoncide (from *Chamaecyparis obtusa*). Also, natural essential oils had anti-oxidative and anti-inflammatory effects. These results suggest that natural essential oils can be useful as good cosmetic ingredients such as natural preservatives and anti-oxidants.

Keywords: anti-microbial, essential oil, preservative, *Melaleuca alternifolia*, *Chamaecyparis obtusa*, anti-oxidative, anti-inflammatory

1. 서 론

일반적으로 식물에는 다른 식물 또는 균류를 포함한 각종 미생물에 스트레스의 일종으로, 여러 가지 휘발성 살균물질, 수목 정유를 발산한다. 이러한 물질의 발산은 식물과 미생물 사이의 방해작용으로 나타나고 이러한 현상을 식물의 방어가작이라고 하며[1], 이를 통칭해 피톤치드(phytoncide)라 부른다. 피톤치드는 1930년 러시아의 레닌그라드대학(현 상트페테르부르크대학) 토킨(Tokin) 교수가 발견해 낸 것으로, 라틴어의 식물(phyto)과 러시아어의 죽이다(cide)가 결합된 단어이다. 이들 휘발성분들은

수십 종에서 많은 것은 200여 종에 달하는 phenolics, terpenoid, alkaloid, phenylpropane, acetogenin, steroid 등의 화합물로 구성되어 있으며[2-4], 이와 같은 방향성 물질을 주위 환경으로 발산함으로써 다른 식물 또는 미생물 등에게 직접, 간접으로 해를 입힌다. 이러한 현상은 식물의 방어가작으로 인지되며 알레로파시(allelopathy)라고 한다[5]. 알레로파시 현상은 식물들 사이에서는 매우 일반적인 현상으로 밝혀졌으며, 식물 상호간에 그리고 식물과 미생물간에 일어나는 일종의 화학전쟁(chemical warfare)이라고 한다[6].

편백(*Chamaecyparis obtusa*)은 현재 일본과 대만 등에서 자생하고 있는 측백나무과 편백나무속의 상록 침엽

[†] 주 저자 (e-mail: sberry9@dreamwiz.com)

교목으로 줄기의 독특한 향기는 잘 알려져 있으며, 견재 등에 사용되고 있다. 대표적 피톤치드로서 편백정유(essential oil from *Chamaecyparis obtusa*)는 향료, 살충제 그리고 방향제 등에 이용되고 있다.

이와 더불어, 티트리(herb)의 일종으로 1770년 경 영국의 제임스 쿡(James Cook)이 호주에서 발견한 이후, 티트리오일(tea tree oil, essential oil from leaves of *Melaleuca alternifolia*)은 100여 가지 테르펜 및 테르펜 관련 알코올들이 서로 상호작용을 하여 강한 치료력과 살균소독 특성으로 주목받았으며, 2차 대전 중에는 피부 창상의 치료제로서 사용되기도 하였다. 항감염, 항바이러스, 살균, 살충, 소독, 비뇨기 계통 감염, 피부질환 완화 등의 효과가 있으며[7-14], 심리적으로도 마음을 상쾌하게 하고 활력을 회복시키는 효과도 있다고 알려져 있다.

정유의 생리활성에 대한 보고로는 항균력에 대한 효과가 보고된 바 있다[15-17]. 최근 아로마테라피(aromatherapy) 개념의 도입과 함께 정유의 스트레스 완화에 의한 진정효과를 보고한 연구도 활발하다[18-20].

화장품은 다양한 재료의 혼합을 원인으로 하는 그 성분 및 제형상의 특성이 있기 때문에 미생물로부터 오염되기 쉽다. 미생물에 오염되면 제품의 품질이 떨어질 뿐만 아니라 그 고유의 기능도 저하될 수 있어 보존상의 문제점을 해결하기 위하여 방부제를 사용한다[21]. 화장품에서 사용하고 있는 방부제는 거의 대부분 화학적으로 합성된 방부제에 의존하고 있다. 이는 피부에 자극을 줄 뿐만 아니라 알레르기과 같은 부작용을 유발시키는 사례가 많이 발생하고 있다.

본 연구에서는 티트리오일과 편백정유와 같은 천연오일 등의 항균효과, 항염 및 항산화작용 등을 비교 실험하여 천연성분으로서 합성 방부제나 항산화제의 대체 가능성을 검토하였다. 실험에 사용된 균주는 공기 중에 흔히 존재하며 화장품의 주요 오염원이 되는 그람음성균인 *E. coli*와 *P. aeruginosa*, 그람양성균인 *S. aureus* 그리고 여드름균인 *P. acnes*를 사용하였다. 그 외에도 *C. albicans*와 *A. niger*를 사용하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 미생물 및 배양조건

본 실험에 사용한 균주는 *Escherichia coli* (KCTC 2571), *Staphylococcus aureus* (KCTC 1916), *Pseudomonas aeruginosa* (KCTC 2513), *Candida albicans* (KCTC 7965), *Aspergillus niger* (KCTC 6911), *Propionibacterium acnes* (KCTC 3314)를 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC, Daejeon)에서 분양받은 균주를 사용하였다.

각각의 균주를 Table 1의 조건으로 배양하여 UV-VIS

Table 1. Media and Condition of Various Microorganisms

Strains	Media	Condition
<i>E. coli</i>	Tryptic soy broth	35°C, aerobic
<i>S. aureus</i>	Tryptic soy broth	35°C, aerobic
<i>P. aeruginosa</i>	Tryptic soy broth	35°C, aerobic
<i>C. albicans</i>	Sabouraud dextrose broth	25°C, aerobic
<i>A. niger</i>	Sabouraud dextrose broth	25°C, aerobic
<i>P. acnes</i>	Brain heart infusion broth	35°C, anaerobic

Spectrophotometer (UV-1601, Shimadzu, Japan)를 이용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하여 활성이 가장 우수한 시간대의 균주를 paper disc 법에 사용하였다. 최소억제농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 측정에는 배양된 각 균액을 $1 \times 10^{5-6}$ CFU/mL이 되도록 조정하여 균액의 최종 농도가 1%가 되도록 접종하였다.

2.2. 시료의 준비

천연오일로는 편백정유(phytoncide, Enbita, Korea), melaleucol (SNP Natural Product, Australia), Soluble tea tree oil (G. R. Davis, Australia)를 사용하였다. Melaleucol과 soluble tea tree oil은 모두 *Melaleuca alternifolia* (tea tree)의 잎에서 추출된 정유로서, 티트리오일의 주성분인 terpinen-4-ol이 melaleucol에서는 96% 이상이며 soluble tea tree oil에서는 melaleucol의 약 1/2 이하의 수준이다.

방부력이 있는 비교 원료로는 dermosoft octiol (caprylyl glycol, Dr. Staetmans, Germany), D-M (methylparaben, 한빛화학)을 사용하였으며, 여드름균에 대한 실험을 위해서 살리실산(salicylic acid, 덕산화학)을 사용하였다. 비교 원료로서 항산화실험에서는 BHT (butylated hydroxytoluene, Sigma)와 항염증실험에서는 프로폴리스추출물(propolis liquid extract, 10% in propylene glycol, Paninkret, Germany)를 사용하였다.

2.3. 최소억제농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 측정

균들을 각각의 배양배지와 조건에서 전배양한 후, 시료를 배지에 serial dilution하여 준비하고, 전배양한 균액을 $10^5 \sim 10^6$ CFU/mL이 되도록 조절하여 최종 농도가 1%가 되도록 접종하였다. 각각의 배양조건에서 배양한 후 미생물 증식 여부를 확인하여, 균이 증식되지 않는 최소 농도를 MIC로 결정하였다.

2.4. Paper Disc Method에 의한 측정

각각의 배양배지와 조건에서 배양된 대수 증식기의 활성화된 균을 적절히 희석하여 균액 1 mL을 페트리접시

에 접종한 후, 45~50°C까지 식힌 배지를 주입하여 골고루 분산시켜 건조시켰다. 멸균된 6 mm filter paper disc에 시료를 각각 20 µL씩 흡수시킨 후 미생물이 골고루 접종된 고체배지 위에 놓아 배양조건에 따라 배양한 후 filter paper disc 주위의 clear zone의 직경크기를 측정하였다. 실험에 사용된 D-M과 살리실산은 각각 buthylene glycol과 propylenglycol에 10%로 하여 사용하였다. 형성된 clear zone (mm)은 다음 식에 따라 계산하였다.

$$W = (T-D2)$$

W : Clear zone (mm)

T : 시료와 저지대의 전체 지름

D : 시료의 지름

2.5. 항산화효과 측정

프리라디칼 소거능은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)의 환원성을 이용하여 시료의 항산화력 정도를 측정하였다. 메탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH radical (Sigma) 용액 1 mL에 시료를 각 농도별로 2 mL 첨가하여 상온에서 10 min간 반응시켰다. UV-VIS Spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 프리라디칼소거활성은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{프리라디칼소거활성}(\%) = [1-(C-D)/(A-B)] \times 100$$

A : 대조용액의 517 nm에서 흡광도

B : 대조용액 블랭크의 흡광도

C : 시료용액의 흡광도

D : 시료용액 블랭크의 흡광도

2.6. Lipoxygenase 활성 저해효과 측정

1 mM 리놀렌산(linolenic acid, Sigma) 1 mL, 시료 0.1 mL, 0.1 M의 인산나트륨 버퍼(0.1 M sodium phosphate buffer, pH 7.0)에 용해시킨 0.9 mL lipoxygenase (50,000 units/mL, Sigma)를 넣어 잘 혼합하였다. 25°C의 수욕조

에서 10 min 동안 반응시켰다. 0.5 mL 20%(w/v) 트리클로로아세트산(trichloroacetic acid, Kanto Chemical Co.)을 넣어 반응을 종결시킨 후, 1 mL 0.6%(w/v) TBA (thioarbituric acid, Lancaster, England)를 넣은 후 끓는 물에서 10 min 동안 발색시켰다. 그 후 얼음물에 2 min간 냉침시키고, n-butanol 2 mL을 넣고 진탕 혼합하였다. 3,000 rpm으로 15 min 동안 원심분리하여, 상층(n-butanol 층)을 취하여 UV-Visible Spectrophotometer로 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Lipoxygenase 활성저해율}(\%) = [1-(C-D)/(A-B)] \times 100$$

A : 대조용액의 535 nm에서 흡광도

B : 대조용액의 블랭크의 흡광도

C : 시료용액의 흡광도

D : 시료용액 블랭크의 흡광도

3. 결과 및 고찰

3.1. 항균효과(MIC 측정)

항균효과를 파악하기 위하여, 그람양성균(*S. aureus*), 그람음성균(*E. coli*, *P. aeruginosa*), 진균(*C. albicans* 및 *A. niger*) 그리고 여드름균(*P. acnes*)에 대하여 천연오일 및 합성방부제를 농도별로 처리한 후 최소저해농도를 측정하여 그 결과를 Table 2에 정리하였다.

피톤치드는 기대했던 바와는 달리, 그람음성균과 진균에 대해서는 강한 항균활성을 나타내지는 못했으며, *P. acnes* > *S. aureus* > *C. albicans* > *A. niger* > *P. aeruginosa* > *E. coli*의 순으로 그람양성균과 여드름균에 대해서 우수한 항균활성을 보였다. 특히, 여드름균에 대해서는 널리 이용하고 있는 살리실산보다 우수한 효과를 나타내었다.

티트리오일은 실험에 사용된 다양한 모든 균주에서 기존 합성방부제들보다 월등한 항균활성을 보였다. Melaleucol은 진균에, soluble tea tree oil은 그람양성균과 여드

Table 2. MIC (Minimum Inhibitory Concentration) of Natural Essential Oil against Various Microorganisms

Strains	MIC (%)					
	Phytoncide	Melaleucol	S. tea tree oil	Salicylic acid	D-M	Dermosoft octiol
<i>E. coli</i>	2.67 ± 0.29	0.12 ± 0.03	0.47 ± 0.06		0.20 ± 0.00	0.20 ± 0.00
<i>S. aureus</i>	0.13 ± 0.06	0.13 ± 0.03	0.02 ± 0.01		0.30 ± 0.00	0.30 ± 0.00
<i>P. aeruginosa</i>	0.87 ± 0.11	0.10 ± 0.00	0.30 ± 0.00		0.28 ± 0.03	0.27 ± 0.06
<i>C. albicans</i>	0.60 ± 0.17	0.08 ± 0.03	0.10 ± 0.00		0.17 ± 0.06	0.23 ± 0.03
<i>A. niger</i>	0.67 ± 0.29	0.05 ± 0.00	0.20 ± 0.00		0.12 ± 0.02	0.17 ± 0.03
<i>P. acnes</i>	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.05 ± 0.00	0.13±0.06		

S. tea tree oil : Soluble tea tree oil

The results were represented in triplicate experiments.

Table 3. Size of Clear Zone of Various Microorganism after Applying Natural Essential Oils

Strains	Clear Zone (mm)					
	Phytoncide	Melaleucol	S. tea tree oil	Salicylic acid (10%)	D-M (10%)	Dermosoft octiol
<i>E. coli</i>	1.25 ± 0.25	8.25 ± 1.52	2.00 ± 0.25		4.25 ± 0.25	6.08 ± 0.14
<i>S. aureus</i>	1.75 ± 0.25	8.33 ± 1.52	4.67 ± 0.29		2.58 ± 0.29	2.50 ± 0.66
<i>P. aeruginosa</i>	1.33 ± 0.58	8.58 ± 0.95	2.42 ± 0.14		3.58 ± 0.52	3.08 ± 0.14
<i>C. albicans</i>	1.42 ± 0.52	> 20.00	4.67 ± 0.29		6.33 ± 1.61	7.50 ± 0.00
<i>A. niger</i>	2.75 ± 0.00	> 20.00	6.00 ± 1.52		6.50 ± 0.50	11.50 ± 0.50
<i>P. acnes</i>	2.08 ± 1.66	3.25 ± 0.00	6.58 ± 0.14	1.67 ± 0.29		

S. tea tree oil : Soluble tea tree oil

The results were represented in triplicate experiments.

를균에 아주 탁월한 항균 및 방부제로서의 가능성을 보였다.

이상 천연오일의 항균활성 결과에서, 피톤치드는 살리실산을 대체할 수 있는 여드름균에 대한 항균제로, 티트리오일은 합성방부제를 대체할 수 있으리라 기대된다.

3.2. 항균효과(Paper Disc 방법)

각각의 시료에서 배양된 각 균주에 따라 형성된 clear zone의 직경을 측정하여 그 결과를 Table 3에 정리하였다.

각각 시료의 각 균주에 대한 clear zone 형성 결과는 최소화농도 실험에서와 유사한 결과를 얻었다. 티트리오일의 경우, 피톤치드나 합성방부제들에 비해 월등한 항균활성을 나타내었다. Melaleucol은 합성방부제에 비해 세균류에 대해 약 1.5~2배, 그리고 진균에 대해서는 약 2.5~4배의 항균활성을 보였으며, 특히, 진균에 대해서는 대부분의 배양된 균주가 사멸할 정도의 강한 활성을 보였다. Soluble tea tree oil은 10% 살리실산과 비교해 볼 때, 여드름균에 대해 약 4배 정도의 우수한 활성을 나타냈다.

3.3. 항산화효과

프리카디칼 소거능은 DPPH의 환원성을 이용하여 천연오일의 항산화력 정도를 측정하였다. DPPH 용액에 시료를 혼합하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군에 대한 시료 흡광도의 감소 비율로 나타내어 Table 4에 정리하였다. 비교대조군으로 합성항산화제로 알려진 BHT를 사용하였다.

천연오일 중 피톤치드의 DPPH 소거율은 IC₅₀ (50% 소거농도) 값이 약 5.0%로 합성항산화제로 알려진 BHT (IC₅₀ 17.7%)와 비교하여 약 3배 정도 우수하였다. 그 외 티트리오일 0.2 mL는 약 5% 이하(melaleucol), 약 30% (soluble tea tree oil)로 약간의 DPPH 소거율을 보였다.

Table 4. Comparison of Anti-oxidative Activity by DPPH Method from Natural Essential Oils

Sample	Inhibition rate (%)	
Phytoncide (0.2 mL)	> 90%	
Melaleucol (0.2 mL)	30%	
Soluble tea tree oil (0.2 mL)	< 5%	
IC ₅₀ (%)	Phytoncide	5.083%
	BHT	17.754%

Table 5. Comparison of Anti-inflammatory Activity

Sample	IC ₅₀ (μL)
Phytoncide	9.012
Melaleucol	3.068
Soluble tea tree oil	17.815
Propolis liquid extract	5.563

3.4. Lipoyxygenase 활성 저해효과

천연오일의 항염증효과를 알아보기 위해 염증의 발생 경로 중 효소의 활성에 의한 염증 생성요인으로 작용하는 lipoyxygenase의 활성 저해효과를 측정하여, Table 5에 나타내었다. 비교대조군으로는 항염증효과에 알려진 프로폴리스추출물을 사용하였다.

천연오일의 lipoyxygenase를 이용한 항염증실험 결과, 실험군 각각의 IC₅₀ (50% 저해농도) 값은 피톤치드가 약 9.0 μL, melaleucol은 3.1 μL, soluble tea tree oil은 17.8 μL, 비교대조군으로 사용한 프로폴리스추출물은 5.6 μL로 나타났다. 위의 결과로 볼 때, 실험에 사용된 천연오일은 항염증효과를 나타내었으며 특히, melaleucol은 항염증에 효과적으로 알려진 프로폴리스추출물에 비해 약 2배의 효과를 나타내었다.

4. 결 론

본 연구에서 나타난 결과에 의하면 사용된 천연오일은 대부분의 균주에 대해 합성방부제에 뒤지지 않는 향균활성을 나타내었으며, 각각의 균주에 따라 다른 향균활성을 나타내기도 하였다. 피톤치드는 여드름균에 향균활성을 나타내었으며, melaleucol은 진균류, soluble tea tree oil은 그람양성균과 여드름균에 활성을 보였다. 또한 다른 균주들에 대해서도 합성방부제와 비교하여 유사하거나 우수한 향균활성을 볼 수 있었다.

본 실험에 사용된 천연오일은 향균활성 뿐만 아니라, 항산화활성을 알아보는 DPPH 소거활성에서도 피톤치드는 합성항산화제로 알려진 BHT보다 우수한 소거율을 보였다. 항염증효과를 알아보는 lipoygenase의 활성저해 실험에서도 천연오일은 효과를 나타내었다. 천연오일 중 melaleucol은 프로폴리시스추출물에 비해 약 2배 정도의 항염증효과를 나타내었다.

본 실험의 결과로 볼 때, 천연오일은 향균 효과 특히, 항진균, 항여드름 효과와 항산화 및 항염증 효과를 기대할 수 있었다. 따라서 천연오일 및 천연오일과 함께 사용될 수 있는 다른 천연물의 개발은 화장품의 합성방부제 및 합성항산화제 등의 대체가 가능하며, 이들에 의해 기인되는 부작용을 완화시킬 수 있으리라 사료된다.

참 고 문 헌

1. J. V. Lovett, Y. Ryuntyu, and D. L. Liu, Allelopathy chemical communication and plant defense, *J. Chem. Ecol.*, **15**, 1193 (1989).
2. 편백으로부터 추출된 향균, 향진균효과를 갖는 정유의 추출방법, 한국공개특허 출원번호 10-1999-0006185 (1999).
3. 강하영, 이성숙, 최인규, 침엽수 수엽 정유의 향균성에 관한 연구, *한국임산에너지학회지*, **13**(2), 71 (1993).
4. R. H. Whittaker and P. P. Feeny, Allelochemicals, chemical interactions between species, *Science*, **171**, 757 (1971).
5. C. H. Meller, Allelopathy as a factor in ecological process, *Vegetatio.*, **18**, 348 (1969).
6. Z. A. Patrick, Allelopathy mechanism and their exploitation for biological control, *Canadian J. Plant Pathol.*, **8**, 225 (1986).
7. C. F. Carson, B. D. Cookson, H. D. Farrelly, and T. V. Riley., Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **35**, 421 (1995).
8. K. A. Hammer, C. F. Carson, and T. V. Riley, Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), *Am. J. Infect. Control*, **24**, 186 (1996).
9. K. A. Hammer, C. F. Carson, and T. V. Riley, *In vitro* susceptibility of *Malassezia furfur* to the essential oil *Melaleuca alternifolia*, *J. Med. Vet. Mycol.*, **35**, 375 (1997).
10. K. A. Hammer, C. F. Carson, and T. V. Riley, *In vitro* activity of essential oils, in particular *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and tea tree oil products, against *Candida spp.*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **42**, 591 (1998).
11. C. Brand, A. Ferrante, R. H. Prager, T. V. Riley, C. F. Carson, J. J. Finlay-Jones, and P. H. Hart, The water-soluble components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) suppress the production of superoxide by human monocytes, but not neutrophils, activated *in vitro*, *Inflamm. Res.*, **50**, 213 (2001).
12. I. B. Bassett, D. L. Pannowitz, and R. S. C. Barnetson, A comparative study of tea tree oil versus benzoylperoxide in the treatment of acnes, *Med. J. Aust.*, **153**, 455 (1990).
13. A. Jandourda, J. K. Vaishampayan, and J. A. Vazquez, Efficacy of melaleuca oral solution for the treatment of fluconazole refractory oral candidiasis in AIDS patients, *AIDS*, **12**, 1033 (1998).
14. 안정엽, 이성숙, 강하영, 편백(*Chamaecyparis obtusa*) 정유의 향균, 항염, 항산화 효과, *대한화장품학회지*, **30**(4), 503 (2004).
15. 향균 효과를 주는 천연정유를 함유한 가습기 세정제 조성물, 한국공개특허 출원번호 10-2004-0016836 (2004).
16. S. Gocho, The factors affecting antibacterial action of FDA vapor, *Int. J. Antimicrob. Agent*, **19**(8), 389 (1991).
17. 천연 에센셜 오일을 함유한 방향제 조성물, 한국공개특허 출원번호 10-2001-0000913 (2001).
18. 무독성 편백정유의 향미생물 탈취제로의 이용방법, 한국공개특허 출원번호 10-2003-0057559 (2003).
19. 노택우, 윤석신, 삼림욕 향기 성분 분석, *대한화장품학회지*, **17**, 29 (1991).
20. D. K. Brannan and J. C. Dille, Type of closure prevents microbial contamination of cosmetics during consumer use, *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 1476 (1990).
21. 이현옥, 백승화, 한동민, 편백정유의 향균효과, *한국미생물공학학회지*, **29**(4), 253 (2001).