

## 부지화 미숙과 에센셜 오일의 항산화 및 항균 활성 효과

김상숙<sup>†</sup> · 현주미 · 김광식 · 박경진 · 박석만 · 최영훈

농촌진흥청 국립원예특작과학원 감귤시험장

### Influence of Essential Oil in ‘Shiranuhi’ Immature Fruit on Antioxidant and Antimicrobial Activities

Sang Suk Kim<sup>†</sup>, Ju Mi Hyun, Kwang Sik Kim, Kyung Jin Park, Suk Man Park and Young Hun Choi

Citrus Research Station, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Jeju 697-943, Korea.

**ABSTRACT :** This study was designed to analyze the chemical composition of essential oil in ‘Shiranuhi’ immature fruit and to test their biological activities. ‘Shiranuhi’ immature essential oils (SIEO) were obtained by steam distillation from fruits collected from Jeju Island and were analyzed using gas chromatograph (GC)-flame ionization detectors (FID) and GC-MS. Fourteen components were identified in the essential oil. Limonene (75.21%) and terpineol (8.68%) were the major components in SIEO. Since acne vulgaris is the combined result of a bacterial infection and the inflammatory response to that infection, we examined whether SIEO possessed antibacterial against skin pathogens. As a result, SIEO showed excellent antibacterial activities against drug-susceptible and -resistant *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*, which are acne-causing bacteria. In this study, SIEO was examined on DPPH radical scavenging activities, which showed moderate antioxidant activity (SC<sub>50</sub>, 15.36 μL/mL). In order to determined whether SIEO can be safely applied to human skin, the cytotoxicity effects of SIEO were determined by colorimetric MTT assays in normal human fibroblasts and keratinocyte HaCaT cells. They exhibited low cytotoxicity at 0.5 μL/mL in both celllines. Based on these results, we suggest the possibility that essential oil of ‘Shiranuhi’ maybe considered as an antibacterial and antioxidant agent.

**Key Words :** Shiranuhi, Antioxidant Activity, Antimicrobial Activity, Skin Pathogen

## 서 언

최근 생활수준이 향상됨에 따라 천연 유래 제품에 대한 소비자들의 선호 경향이 높아지고 천연물 유래의 활성물질 탐색 관련 연구가 집중되고 있으며, 자원의 재생산이 용이한 식물체를 대상으로 식용 및 약용자원으로의 활용가능성과 생리활성에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다 (Mitscher *et al.*, 1980; Jeong *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2011). 여러 가지 천연 물질들의 항균, 항산화, 미백, 보습 및 피부노화 억제 효과 등에 대한 활성이 과학적으로 입증되면서 이들에 대한 연구가 주목받고 있다 (Kim *et al.*, 2008; 2011, 2012; Park *et al.*, 2012).

그 중 현대의 환경오염과 잘못된 식습관 등 주위 환경의 영

향으로 발병되고 있는 여러 종류의 피부 질환은 주로 피부 상재균에 의해서 발생되며 여드름균과 포도상 구균 등이 대표적이다 (Park *et al.*, 2010). 여드름의 발병 원인은 피지의 과다 형성, 비정상적인 모낭각화증, 프로피오니박테리움 아크네스 (*Propionibacterium acnes*)의 증식 및 염증 등에 기인하며, 그 외 호르몬이나 면역학적 요소가 관여할 수 있다 (Burton and Shuster, 1971; Cunliffe *et al.*, 2004). 특히 모낭 내에 정체된 피지는 모낭을 막아 공기의 순환을 차단하게 되어 모낭 내부에 상주하는 혐기성 세균이 잘 자랄 수 있는 환경이 된다. 이렇게 생성된 면포는 *P. acnes*, 스태필로코커스 에피더미디스 (*Staphylococcus epidermidis*) 등의 미생물이 자랄 수 있는 환경을 조성하게 된다. 이들 미생물들은 지방 친화적이며, *S. epidermidis*는 호기성으로 외모낭 또는 모낭의 중간에서 성장

<sup>†</sup>Corresponding author: (Phone) +82-64-730-4153 (E-mail) sskim0626@korea.kr

Received 2013 September 6 / 1st Revised 2013 September 26 / 2nd Revised 2013 October 12 / 3rd Revised November 5 / 4th Revised 2013 December 1 / Accepted 2013 Revised December 2

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

하고, *P. acnes*는 혐기성이므로 모낭의 안쪽에서 성장하게 된다 (Lim *et al.*, 1995; Ahn *et al.*, 2002; Ki *et al.*, 2005). 이러한 피부 상재균 및 기타 세균에 의한 피부질환의 발생을 감소시키고 피부를 보호하기 위해 방부제 및 항균제의 사용은 필수적이지만 기존에 사용되고 있는 염증성 여드름 치료에 사용되는 triclosan, benzyl peroxide, tetracyclin 등은 피부 건조증과 과민증을 유발하거나, 항생제 내성 발생으로 지속적인 사용이 어려운 것으로 알려져 있다. 따라서 항균 효과를 가지면서 부작용이 없는 천연 소재 개발 연구가 활발히 이루어지고 있다. 특히, 많은 식물 중에 존재하는 알칼로이드 (alkaloids), 플라보노이드 (flavonoids), 타감물질 (allelochemicals), 페놀 화합물 (phenol compounds), 퀴논 (quinones) 및 휘발성 향기 성분 등의 이차산물 혹은 그 유도체들이 항균활성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다 (Mitscher *et al.*, 1980). 휘발성 향기 성분인 에센셜오일은 기름 분비선 주변 세포들의 광합성 작용 부위에서 합성되며, 이때 합성된 에센셜오일은 세포벽을 통과하여 분비선 내부로 전달된다고 한다 (Kwon *et al.*, 2008). 에센셜오일의 성분은 거의 모든 분자가 탄소, 수소와 산소로 이루어져 있는 탄소화합물이며, 화학성질은 대개 추출 과정과 식물에 의한 구성분자의 생합성 과정에서 결정된다고 알려져 있다 (Lavabre, 1990). 감귤 에센셜오일은 감귤껍질 flavedo (과피 색소층)에 산재되어 있는 무수한 유효 층에 약 1%가 함유되어 있는 방향성분으로, 동일 감귤 종 (species)내에서도 기후, 풍토, 과실의 숙도, 저장기간 등에 따라 성분의 변화가 있다 (Kimball, 1991). 본 연구에 사용된 부지화 ('Shiranuhi': (*Citrus unshiu* Marc × *C. sinensis* Osbeck) × *C. reticulata* Blanco)는 1972년 일본 농림수산성 과수시험장 구지진 지장에서 청견 ('Kiyomi')과 폰칸 ('Ponkan')을 교배하여 만들어진 품종으로 제주도에서 많이 재배되고 있는 고품질 감귤이다. 본 연구에서는 고품질 감귤인 부지화의 미숙과 과피에서 수증기증류법을 이용하여 추출한 에센셜오일의 성분을 분석하고 항균 활성과 항산화 활성을 조사하여 새로운 천연 유래 생리 활성물질의 개발 가능성을 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 에센셜 오일 추출 및 수율

본 연구에 사용된 부지화 ('Shiranuhi': (*C. unshiu* Marc × *C. sinensis* Osbeck) × *C. reticulata* Blanco)는 제주도 서귀포 농가에 식재된 9년생 나무에서 수확하였고, 재배 방법은 무가온 하우스에서 재배되었다. 수확시기는 2011년 11월에 무가온 하우스에서 육안으로 색상이 발현되지 않은 청과를 수확하여 사용하였고, 특히 상품성이 없다고 판단되는 상처과나 과실형태가 정형과로 이루어지지 않은 과실을 위주로 수확하였다. 준비된 시료는 증류정유추출장치를 사용하여 6시간 동안 추출

한 후 추출된 에센셜오일은 갈색병에 담아 4°C 보관하여 실험에 사용하였다.

### 2. GC-MS 분석

에센셜 오일의 성분분석은 gas chromatography spectrometric detector (Agilent technologies 7890A GC system/5975C inert XL MSD with triple-axis detector, USA)로 분석하였다. GC Column은 DB-1HT (0.1 μm × 30 m × 0.32 mm), carrier gas는 He을 사용하여 유속 1.5 mL/min으로 하였다. 검출기 온도는 270°C, 온도 프로그램은 40°C에서 5분간 유지한 후, 100°C까지 5°C/min 속도로 승온시켰다. 100°C까지 승온시킨 후 5분간 유지한 다음, 230°C까지 5°C/min으로 승온시켜 230°C에서 5분간 유지하였다. GC/MSD 분석은 GC와 동일한 조건에서 수행하였으나 MSD의 온도는 312°C로 유지하였다. GC/MSD에 의해 분석된 에센셜오일의 성분은 기기의 Wiley 138 database를 이용하여 분석하였다.

### 3. DPPH 라디칼 소거 활성 검색

DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)를 이용하여 에센셜오일의 라디칼 소거 효과로 항산화 활성을 측정하였다 (Blois, 1958). DPPH는 광범위하게 쓰이는 간단한 항산화 검색방법으로 특히 phenol과 aromatic amine의 항산화 활성의 측정에 많이 사용하는 방법이다. DPPH 라디칼 소거 활성 실험은 Blois 방법으로 다음과 같이 실행하였다. 0.2 mM DPPH를 조제한 후, 다양한 농도로 시료의 활성을 측정하였다. 준비된 0.2 mM DPPH와 시료를 섞고 실온에서 10분간 방치한 후 ELISA reader (Bio-Tek Instruments, Inc, Winooski, VT, USA)를 사용하여 값을 측정하였다.

DPPH의 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 농도 (SC<sub>50</sub>)로 표시 하였으며, 각 시료는 3회 반복실험을 실시하여 평균값을 구하였다. 이때 ascorbic acid를 대조구로 사용하였다.

$$\text{Scavenging effect (\%)} = \{1 - (B - C/A)\} \times 100$$

A; DPPH 흡광도, B; DPPH와 시료 반응액의 흡광도,

C; 시료자체의 흡광도

### 4. Paper disc 확산법

부지화 에센셜오일의 항균활성 측정을 위해 *Propionibacterium acnes* CCARM 0081, CCARM 9009, CCARM 9010과 *Staphylococcus epidermis* CCARM 3709, CCARM 3710, CCARM 3711 균주를 항생제내성균주은행으로부터 분양받아 사용하였다. 분양받은 균주에 대한 항균 활성 측정은 paper disc법으로 생육 억제율을 측정하였다. *P. acnes*는 한천 0.7%를 포함하는 GAM 배지 8 mL에 *P. acnes*를 0.5 MacFarland로 넣어 한천 1.5%를 포함하는 GAM 배지위에 붓는다. 배지

가 균으면 시료 용액을 포함하는 직경 8 mm paper disc를 올려 37°C에서 48시간 혐기 배양한 다음 디스크 주변에 형성된 원형 발육 저지 환의 크기를 측정하였다.

*S. epidermidis*는 TSA 배지를 사용하여 37°C에서 24 h 동안 배양하여 형성된 원형 발육 저해환을 측정하였다. 각 시료는 3회 반복실험을 실시하여 평균값을 구하였다.

## 5. 최소억제농도 측정

최소억제농도 (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) 측정은 액체배지희석법 (broth dilution method)을 변형하여 사용하였다. *P. acnes*와 *S. epidermidis*는 각각의 배양배지와 조건에서 배양한 후 균 현탁액을 농도가 약  $10^5 \sim 10^6$  CFU/mL로 희석하여 사용하였다. 배양한 균주에 다양한 농도의 시료를 처리하고 각각 균주의 생육 적온에서 배양 후, 균 증식이 나타나지 않는 최소농도를 MIC로 정하였다.

## 6. 세포 배양

Human fibroblast cell인 CCD986sk, keratinocyte cell인 HaCaT cell과 B16F10 melanoma 세포는 penicillin-streptomycin 100 units/mL과 10% fetal bovine serum (FBS)이 함유된 DMEM 배지(GIBCO, Grand Island, USA)를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>항온기에서 배양하였으며, 3일에 한 번씩 계대 배양을 시행하였다.

## 7. 세포독성 평가

세포독성 평가는 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide) 분석 방법을 사용하였다. 24 well plate에  $5 \times 10^4$  cell/mL으로 24시간 전 배양 후 시료를 농도 별로 처리하였다. Sample을 여러 농도 별로 처리하여 2 일간 배양 후 500 µg/mL 의 MTT 시약을 well 당 20 µL를 첨가하였다. 시약 처리 후 5시간 동안 37°C에서 정치한 후, DMSO (dimethyl sulfoxid)로 formazan을 녹여 내어 570 nm에서 흡광도 값을 측정하였다.

## 8. 통계분석

모든 실험은 3회 이상 반복하여 이루어졌으며, 실험 결과는 각 항목에 따라 평균과 표준편차로 나타내었다. 실험군과의 차이는 SAS package (Statistical Analysis Program, version 9.1)을 사용하여 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)로 평균을 비교하여 나타내었고,  $p < 0.05$  수준에서 통계적 유의성을 검정하였다.

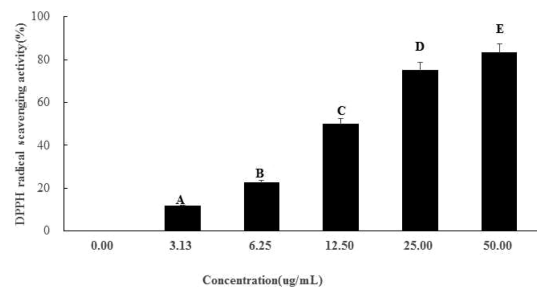
## 결과 및 고찰

### 1. 부지화 미숙과 과피 에센셜 오일 (SIEO)의 화학 조성

부지화 미숙과 과피에서 추출된 에센셜 오일의 수율은 약

**Table 1.** Chemical composition (%) of 'Shiranuhi' immature essential oils.

Retention Time (min)	Constituents	Area Identification (%)	
		Immature	Mature
8.8	Alpha-pinene		0.46
11.0	Sabinene	0.14	1.13
11.6	Beta-myrcene	0.74	1.39
12.6	Alpha-terpinene	0.83	
13.0	dl-Limonene	75.21	90.19
13.1	Isocineol	0.41	
13.9	Beta-ocimene	0.77	0.20
14.5	Gamma-terpinene	1.16	
15.6	Alpha-terpinolene	0.57	
16.2	Linalool	0.47	0.53
18.5	Cyclohexanol	0.88	
19.7	4-terpineol	5.56	0.13
20.7	Alpha-terpineol	8.68	
31.4	Alpha-farnsene		0.24
Total		95.42	94.27



**Fig. 1.** Free radical-scavenging activity of 'Shiranuhi' immature essential oil evaluated by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay. Values are means  $\pm$  SD (n = 3). Different superscript letters show significant differences at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

1.4%였다. 얻어진 SIEO는 GC/MSD를 이용하여 16종류의 화학적 조성을 분석하였다 (Table 1). 분석된 성분에는 항염과 항균 활성 (Yoon *et al.*, 2010)이 우수한 것으로 알려진 limonene이 75.21%로 주요 성분을 확인할 수 있었고, 다음으로  $\alpha$ -terpineol (8.68%), 4-terpineol (5.56%)이 높게 함유되어 있음을 확인할 수 있었다. 특히 항균활성이 우수한 것으로 알려진 terpineol의 함량이 성숙과 (0.13%)와 비교하였을 때 미숙과 (8.68%)에서 높은 것으로 보아 부지화 미숙과의 경우 성숙기를 거치면서  $\alpha$ -terpineol의 함유량이 줄어들고 limonene의 함량이 늘어나는 것을 알 수 있었다 (Song *et al.*, 2005).

### 2. 부지화 미숙과 과피 에센셜 오일 (SIEO)의 항산화 활성

DPPH법은 안전한 유리기로 항산화 효과를 측정하는 대표적인 방법으로 항산화 물질이 유리기와 반응하여 유리기를 소거하고, 활성 라디칼에 전자를 공여하여 항산화 효과, 항염증

효과, 인체에 노화를 억제시키는 척도로 이용되고 있다 (Bonde *et al.*, 1997).

SIEO의 항산화 활성을 측정하기 위해 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 µL/mL의 농도로 처리한 결과 Fig. 1에서와 같이 농도 의존적으로 DPPH 라디칼 소거 활성을 보이는 것을 확인할 수 있었으며, SIEO의 SC<sub>50</sub>값은 15.36 µL/mL로 나타났다. 대조구인 ascorbic acid의 SC<sub>50</sub>값은 8.6 µg/mL로 나타났다 (테이 터 미제시). 대조구인 ascorbic acid 보다 우수하지는 않지만 SIEO가 강한 항산화 활성을 보이는 것은 SIEO에 포함되어 있는 76% 이상의 monoterpene류에 의한 것으로 여겨지며, 정유에 많이 들어 있는 monoterpene은 음식보존제 역할 (Baratta *et al.*, 1998; Ruberto and Baratta, 2000)과 항산화 역할 (Yanishlieva *et al.*, 1999), 또한 monoterpene류로 알려진 limonene과 perrillyl alcohol은 여러 가지 암의 생성을 억제하는 것으로 알려져 있다 (Crowell, 1999).

**3. 부지화 미숙과 과피 에센셜 오일 (SIEO)의 항균활성**

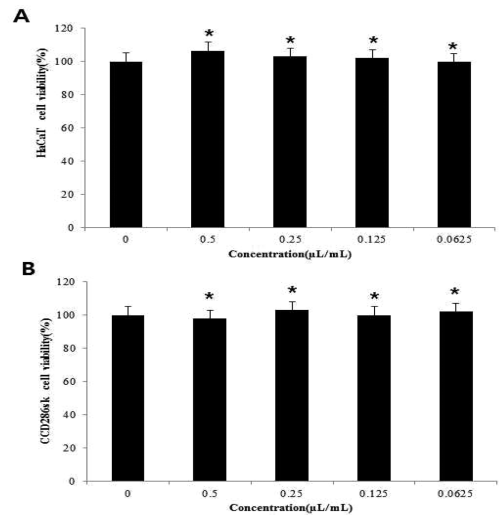
여드름의 발생은 일반적으로 피지생산 증가, *P. acnes*의 모낭 증식, 호르몬분비 등의 여러 인자가 복합적으로 작용하며, 여드름 발생에 관여하는 미생물도 *P. acnes* 뿐만이 아니라 *S. aureus*, *S. epidermidis*등과 같은 피부 상재균들이 알려져 있다. SIEO의 항균 활성측정은 paper disc 확산법과 최소억제 농도 측정 (MIC)으로 확인하였다. 항균활성 실험에는 여드름을 유발하는 *S. epidermidis*와 *P. acnes*를 사용하였고, 사용한 균주 중 *S. epidermidis* CCARM3710과 3711, *P. acnes* CCARM 9009와 9010은 항생제 내성 균주로 현재 여드름 치료제로 사용되고 있는 항생제들의 남용으로 생기는 내성균주에 대한 항균 활성도 확인하고자 사용하였다. 현재 여드름 치료에는 triclosan, azelic acid, tetracyclin 등의 항생제가 사용되고 있으나, 피부건조증이나 과민증 유발, 특히 항생제에 대한 내성 발생 등의 부작용이 알려져 지속적인 사용이 어려운 실정이다. 따라서 많은 연구에서 항균효과가 있으면서 부작용이 없고, 내성이 생기지 않는 천연물 유래 여드름 치료제를 개발하려고 노력중이다. 천연물 유래 에센셜 오일의 경우 팔마로사와 제라늄의 주요 성분인 geranol 등이 우수한 항균력을 보인다고 보고되어 있다 (Kim *et al.*, 2011).

SIEO의 항균 활성 결과는 Table 2에서와 같이 *S. epidermidis*와 *P. acnes* 모두에서 생육 저해환을 생성하였으며, 항균활성의 정도를 알아보기 위해 최소억제농도를 측정하여 확인하였다 (MIC: 10 µL/mL, 10 µL/mL). 특히 여드름 유발균 중 *S. epidermidis* 중에서 erythromycin, clindamycin, chloramphenicol 내성균인 *S. epidermidis* CCARM3710 (MIC: 20 µL/mL)과 *S. epidermidis* tetracycline 내성균인 3711 (MIC: 20 µL/mL)에서도 우수한 항균 활성을 보였으며, *P. acnes*에서는 clindamycin 내성균주인 *P. acnes* CCARM9009 (MIC:

**Table 2.** Antibacterial activity of ‘Shiranuhi’ immature essential oil (SIEO).

Strains	Drug-resistance patterns of skin pathogens (MIC; µg/mL)	Immature fruit	
		Disc paper (mm)	MIC values (µL/mL)
<i>S. epidermidis</i> CCARM 3709	Susceptible	11 ± 0.25	10 ± 0.13*
<i>S. epidermidis</i> CCARM 3710	Erythromycin (> 32), Clindamycin (> 16), Chloramphenicol (64)	10 ± 0.53	20 ± 0.76
<i>S. epidermidis</i> CCARM 3711	Tetracycline (> 32)	9 ± 0.31	20 ± 0.47
<i>P. acnes</i> CCARM 0081	Susceptible	12 ± 0.42	10 ± 0.21
<i>P. acnes</i> CCARM 9009	Clindamycin (64)	11 ± 0.33	10 ± 0.37
<i>P. acnes</i> CCARM 9010	Clindamycin (64)	13 ± 0.14	10 ± 0.11

\*Values are means ± SD (n = 3).



**Fig. 2.** Assessment of SIEO cytotoxicity in HaCaT keratinocyte (A) and human dermal fibroblast CCD986sk (B). MTT assay was performed after incubation of human dermal fibroblast CCD986sk and HaCaT keratinocytes treated with various concentration of SIEO for 24 h at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub> atmosphere. Absorbance was measured at 570 nm using with a spectrophotometer. Values are expressed as means ± SD (n = 3). \*Asterisk indicates a significant difference compared with control at p < 0.05.

10 µL/mL)와 *P. acnes* CCARM9010 (MIC: 10 µL/mL) 에서도 우수한 항균 활성을 보여 향장품 및 식품에 천연 항균 소재로서의 적용 가능성을 확인할 수 있었다.

**4. 부지화 미숙과 과피 에센셜 오일 (SIEO)의 세포독성 평가**  
 MTT 분석방법을 이용하여 천연 항균 소재로서 적용을 위

해 Human cell line에 대한 세포독성을 확인하였다. 사용된 세포는 human fibroblast cell, CCD986sk와 human keratinocyte cell인 HaCaT 세포로 피부관련 세포이다. 세포 독성에 대한 결과는 Fig. 2에서와 같이 농도별로 처리하여 0.5  $\mu\text{L/mL}$ 까지 농도를 높여도 세포에 독성을 보이지 않아 여드름 관련 향장품 소재로서의 적용이 가능할 것으로 기대된다.

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 차세대 바이오그린 21사업(과제번호: PJ009510022013)의 지원에 의해 수행된 연구결과로 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Ahn YG, Kim SK, Shin CS and Min JH. (2002). Inhibitory effects of wax gourd extract on melanin formation and acne-forming bacterial growth. *The Korean Journal of Food and Nutrition*. 15:137-143.
- Baratta MT, Dorman HJ, Deans SG, Biondi DM and Ruberto G. (1998). Chemical composition antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. *Journal of Essential Oil Research*. 10:618-627.
- Blois MS. (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 181:1199-200.
- Bonde V, Brand-Williams W and Berset C. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Food Science and Technology*. 30:609-615.
- Burton JL and Shuster S. (1971). The relationship between seborrhea and *Acne vulgaris*. *British Journal of Dermatology*. 84:600-604.
- Crowell PL. (1999). Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. *Journal of Nutrition*. 129:775-778.
- Cunliffe WJ, Holland DB and Jeremy A. (2004). Comedone formation: Etiology, clinical presentation, and treatment. *Clinics in Dermatology*. 22:367-374.
- Jeong SJ, Lee JH, Song NH, Seong SN, Lee SE and Baeg NI. (2004). Natural products, organic chemistry: Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *Journal of Korean Society Applied Biological Chemistry*. 27:135-140.
- Ki HG, Yun SJ, Lee JB, Kim SJ, Lee SC and Won YH. (2005). Microorganism isolated from acne and their antibiotic susceptibility. *Korean Journal of Dermatology*. 33:437-444.
- Kim SS, Kim JE, Hyun CG and Lee NH. (2011). *Neolitssea aciculata* essential oil inhibits drug-resistant skin pathogen growth and *Propionibacterium acnes*-induced inflammatory effects of human monocyte leukemia. *Natural Product Communications*. 6:1193-1198.
- Kim JE, Kim SS, Hyun CG and Lee NH. (2012). Antioxidative chemical constituents from the stems of *Cleya japonica* Thunberg. *International Journal of Pharmacology*. 8:410-415.
- Kim HS, Lee HY, Lee JN, Joo CG and Choe TB. (2011). The effect of antimicrobial properties of Manuka oil and improvement of acne. *Journal of the Korean Society of Cosmetology*. 17:245-256.
- Kim YS, Hwang YI and Kim KH. (2008). Anti-wrinkle activity of ziyuglycoside I isolated from a *Sanguisorba officinalis* root extract and its application as a cosmeceutical ingredient. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 72:303-311.
- Kwon SY, Kim SE, Kim EJ and Yoo KM. (2008). The complete guode to aromatherapy of *Salvatore battaglia*. Hyumoonsa publishers. Seoul, Korea. p.23-31.
- Lavabre M. (1990). Aromatherapy workbook. Healing Art Press. Rochester. VT, USA. p.38-56.
- Lim YS, Myung KB, Chung NE and Chung WS. (1995). A study on the MIC of antibiotics for *Propionibacterium acnes* in patients with acnes. *Korean Journal of Dermatology*. 34:265-272.
- Mitscher LA, Park YH, Clark D and Beal JL. (1980). Antimicrobial agents from higher plants, antimicrobial isoflavonoids and related substances from *Glycyrrhiza glabra* L. var. *typica*. *Journal of Natural Products*. 43:259-327.
- Park SH, Oh TH, Kim SS, Kim JE, Lee SJ and Lee NH. (2012). Constituents with tyrosinase inhibitory activities from branches of *Ficus erecta* var. *sieboldii* King. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 27:390-394.
- Park SN, Kim SY and Won DH. (2010). Antibacterial activity and component analysis of *Persicaria perfoliata* extracts. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*. 38:278-282.
- Ruberto G and Baratta MT. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model system. *Food Chemistry*. 69:167-174.
- Song HS, Park YH and Moon DG. (2005). Volatile flavor properties of Hallabong grown in open field and green house by GC/GC-MS and sensory evaluation. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 34:1239-1245.
- Yanishlieva NV, Marinova EM, Gordon MH and Raneva VG. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of tymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*. 64:59-66.
- Yoon WJ, Lee NH and Hyun CG. (2010). Limonene suppresses lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide, prostaglandin E2, and pro-inflammatory cytokine in RAW 264.7 macrophages. *Journal of Oleo Science*. 59:415-421.