

Improved Antibacterial Effect of Blending Essential Oils

Pil Seung Kwon¹, Dae-Jung Kim², Ho Park¹¹Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science University, Iksan, Korea²Department of Laboratory Medicine, Bundang Jesaeng Hospital, Seongnam, Korea

블렌딩 에센셜오일의 항균효과 증진

권필승¹, 김대중², 박 호¹¹원광보건대학교 임상병리과, ²분당재생병원 진단검사의학과

Essential oil from herb is known to exert pharmacological effects on the human body. In this study we investigated the antibacterial activity of 4 essential oils (teetree, rosemary, melisa, and lavender), as well as the blended mixture oil of teetree, rosemary, and melisa (TRM) on three bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Antibacterial analysis was performed using the standard disk diffusion method, and minimum inhibition concentration was determined by the broth microdilution method with different concentrations of essential oils (0.5, 1, 2 and 3 mg/mL). After incubation at 37°C for 24 h, the antibacterial activity was assessed by measuring the zone of growth inhibition surrounding the disks. Herb oil with the inhibition zones showed varied values ranging from 6 to 25 mm. However, the components of herb oil of TRM are as highly active as the teetree oil against pathogens, generating large inhibition zones for both gram negative and positive bacteria (13~22 mm and 8 mm inhibition zones). In the analysis for MIC, TRM showed growth-inhibitory effects at 0.0625% for *S. aureus* and *E. coli*, and 1.25% for *P. aeruginosa*. This result demonstrated that the anti-microbial activity of TRM was greater than a single herb oil, including oxacillin, rosemary, and teetrea. As a single herb oil, both rosemary and teetrea also had an anti-microbial effect by itself, and we can expect that the blended oil mixture may exert a synergistic effect against multidrug resistant bacteria, suggesting its future application in natural preservative agents for health food and cosmetics.

Key words: Essential oil, Antibacterial activity, Growth-inhibition, Blended mixture oil

Corresponding author: Pil Seung Kwon
Department of Clinical Laboratory Science,
Wonkwang Health Science University, 514
Iksandae-ro, Iksan 54538, Korea
Tel: 82-63-840-1212
Fax: 82-63-840-1219
E-mail: pskwon@wu.ac.kr

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2017 The Korean Society for Clinical Laboratory Science. All rights reserved.

Received: May 18, 2017
Revised 1st: May 23, 2017
Revised 2nd: May 29, 2017
Revised 3rd: June 10, 2017
Revised 4th: June 16, 2017
Revised 5th: June 19, 2017
Accepted: June 19, 2017

서론

에센셜 오일(Essential Oil)은 식물의 2차 대사산물 중 인체에 약리효과를 나타내는 성분으로 이루어진 휘발성 유기화합물로, 주로 식물의 내분비선에서 분비되며 식물체내에서 생합성되어 생성된다. 식물종이나 부위에 따라 여러 가지 향기나 특성이 다르고 수증기 증류법, 용매추출법, 압착법 등에 의해 추출한

다. 오일은 수소, 탄소, 산소 등이 화학물질이 기본구조이며 테르펜류, 에스테르, 알데하이드, 옥사이드, 케톤, 알콜, 등의 다양한 성분과 함량이 존재한다[1].

로즈마리는 *Rosemarinus officinalis* 학명으로 유럽에서 오랜세월 동안 기억을 증진시키기 위한 상정처럼 여겨지며[2], 로즈마리 입은 항 인간면연결바이러스[3], 항염증[4], 항 종양[5]과 항산화[6]를 포함하여 다양한 생리활성인자에 관여하는

것으로 알려져 있다. 티트리(*Melaleuca alternifolia*) 학명으로 감염된 상처부위에 탁월한 효과가 있으며, 항균효과가 있다고 알려져 있다[7]. 라벤더는 *Lavandula angustifolia* 학명으로 여러 가지 용도로 사용되는 것으로 스트레스, 불면, 우울, 향산화에 효과가 있다고 알려져 있다[8,9]. 멜리사는 *Melissa officinalis* 학명으로 가장 오래되고 여전히 흔히 사용되는 것으로 평온, 항경련효과, 항균제, 항바이러스제, 항염증제, 항산화제 및 신경안정 효과가 있는 것으로 보고 되었다[10]. *Staphylococcus aureus*는 그람양성알균으로 사람의 피부와 호흡기에서 발견되며, 항생제 내성과 조직 침투력이 강하고 기회주의적 병독성을 가진다[11,12]. *Escherichia coli*는 유당 발효성을 가진 그람 음성막대균으로 주로 비뇨기 감염을 일으키며, 이질과 같은 유사 감염과 발열의 원인으로 빈번하게 감염을 일으키기도 한다[12].

*Pseudomonas aeruginosa*는 그람음성막대균이며, 극성단모균으로 화상환자의 상처감염이 흔하며, 종종 패혈증, 요도와 호흡기 감염을 일으키는 다제내성균이다[13]. 최근 천연물질의 자연치유능력에 대한 관심도가 높아짐에 따라 식물에서 추출한 에센셜 오일의 효과에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[14]. 에센셜오일을 이용한 연구는 2009년 Lodhia 등[15]은 *S. aureus*와 *Escherichia coli*에 라벤더(*Lavandula angustifolia*), 팔마로사(*Cymbopogon martini*), 튜브로즈(*Polianthus tuberosa*) 에센셜 오일의 항균효과를 보고하였고, 국내에도 2010년 Chae 등[16]은 *S. aureus*에 라벤더 오일의 항균효과를 보고 하였다. 아로마 테라피는 식물에서 추출한 에센셜 오일을 인체에 적용하여 각종 질병 예방에 도움을 주는 수단중의 하나로 사용되고 있으며, 이런 아로마 테라피의 상승효과(synergistic effect)를 위해 임상전문가들은 대개 2~3가지의 에센셜 오일의 블렌딩 오일(blending oil)을 추천하고 있다[17]. 지금까지 상승효과를 연구한 논문들은 대부분 오일의 구성성분 중 1~2가지의 대표성분을 추출하여 항균효과들을 입증해 왔다[18]. 하지만 실제로 각 질환마다 적용할 수 있고 완벽한 시너지효과를 보이는 블렌딩 오일의 과학적 증거들이 불충분하다[19]. 따라서, 본 연구에서는 화농성질환과 병독성질환 비뇨기계통 감염에 나올 수 있는 병원성세균을 대상으로 천연 허브 오일 중에 비교적 많이 알려져 있는 오일인 라벤더(lavender), 티트리(tea tree), 로즈마리(rosemary), 멜리사(melisa)오일 4종류의 단일오일과 티트리와 로즈마리, 멜리사를 블렌딩하였을 때 실제로 항균력의 상승효과를 연구하였다.

재료 및 방법

1. 대상균주

Staphylococcus aureus (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) 균 3종류를 tryptic soy broth에 접종 후 사용하여 산소성 배양기 (Vision scientific, VS1203P1, Daejeon, Korea)에서 37°C로 18~24시간 배양을 하였다.

2. 에센셜오일

오일의 추출은 수증기 증류(steam distillation) 법으로 추출하였으며, 티트리(teetree), 로즈마리(rosemary), 멜리사(melisa), 라벤더(lavender)와 티트리:로즈마리:멜리사(TRM)를 1:1:1로 블렌딩한 오일 5종류를 사용하였다[20]. 오일은 원광대학교 해부학교실로부터 제공받아 사용하였다.

3. 디스크 확산법 측정

CLSI 가이드라인 M07-A10 [21]에 따라 대상균주를 Mueller Hinton agar에 직접 제조하여 계대 한 후 37°C 배양기(Vision scientific, VS1203P1, Daejeon, Korea)에서 18~24시간 동안 배양 한 후 집락을 취하여 Mueller Hinton broth 2 mL에 현탁시킨 다음 1.5×10^8 cell/mL가 되는 0.5 MacFarland 표준 값을 densicheck 탁도계(bioMerieux, Marcy L'Etoile, France)로 측정 한 후 Mueller Hinton agar에 멸균된 면봉으로 고루 분주 하였다. 각각의 허브오일 5종류를 멸균된 6 mm 종이디스크를 멸균된 페트리디쉬에 세 개씩 담은 다음 수증기추출법으로 추출한 100% 허브 오일을 각 10 μ L 씩 분주한 뒤 15분간 흡수시킨 후 또 10 μ L씩 분주한 후 1시간을 건조시킨 후 Mueller Hinton agar에 멸균된 핀셋으로 가볍게 올려 놓은 후 살짝 눌러준 후 배지 뚜껑을 밀어서 산소성 배양기에서 35°C로 18~24시간 배양을 하였다. 이때 총 분주량은 20 μ L가 되며, 대조를 위해 항균제디스크 Oxacillin 10 μ g (Bectone dickinson, Sensi-DISC, USA)와 Ciprofloxacin 5 μ g (Bectone dickinson, Sensi-DISC, USA) 디스크를 동시에 시행하였다. 18~24시간 배양 후 디스크 주위의 억제대 직경(mm)을 측정하였다. 이와 같은 실험은 3회 반복 시행하여 평균을 내었다.

4. 최소억제농도(minimum inhibition concentrations, MIC) 측정

CLSI 가이드라인 M07-A10 [21]에 따라 배양된 각 균주의 단일 colony를 Mueller Hinton broth 2 mL에 현탁시킨 다음 1.5

× 10⁸ cell/mL가 되는 0.5 MacFarland 표준값을 densicheck 탁도계(bioMerieux, Marcy L'Etoile, France)로 측정 한 후 실험균주를 1/10 씩 계단희석 하여 0.5×10⁵ cell/mL로 사용하였다. 862 µg/mL인 항균제 분말을 사용하여 역가가 1,280 µg/mL인 표준용액 1 mL을 만들 때의 식을 이용하여 Oxacillin 분말 0.00148 g와 증류수 900 µL와 함께 희석하여 첫 번째 웰에 최종농도는 128 µg/mL부터 2배 계단희석 되었다. Ciprofloxacin 은 0.1 N NaOH와 멸균된 증류수를 1:1 희석한 용액에 효력이 980 µg/mL인 항균제 분말을 사용하여 역가가 1,280 µg/mL인 표준용액 1 mL 만들 때 Ciprofloxacin 파우더를 0.0013g을 희석하여 사용하였다. 첫 번째 웰에 최종농도는 16 µg/mL 부터 2 배 계단희석 되었다. 에센셜 오일 100 µL 와 멸균된 증류수 900 µL 를 Vortex mixer를 이용하여 혼합하여 사용하였다. 균주 부유액 100 µL 씩을 96 well plate에 분주하고 희석된 에센셜 오일은 100 µL 를 혼합한 후 계단희석을 하였다. plate는 파라핀 필름으로 테두리를 막은 후 35°C 산소성 배양기에서 18~24시간 배양을 한 후 육안적으로 억제된 농도를 판독하였다.

결 과

1. 디스크 확산법의 결과

각 에센셜 오일의 디스크 확산법에 의한 항균력 결과는 Table 1과 같은 억제대 지름을 나타내었으며, 티트리와 블렌딩오일의 항균효과가 가장 우수한 것으로 나타났다. 이 중 티트리는 가장 우수한 항균력을 나타내어 *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* 균주에서 각각 21, 25, 13 mm의 억제대가 측정되었고, 블렌딩 오일은 균에 따라 각각 18, 22, 13 mm가 측정되었다. 멜리사는 균에 따라 각각 14, 21, 9 mm가 측정되었고, 로즈마리는 균에 따라 각각 6, 20, 6 mm의 억제대가 나타났다. 라벤더는 균에 따라 각각 15, 14, 6 mm가 측정되었다. CLSI 가이드라인 M100-S22 [22]에 따라 그람양성알균에 사용되는 oxacillin 1 µg 디스크의 억제대를 측정한 결과 *S. aureus*(ATCC 25923) 그람양성균주는 22 mm 가 나와 CLSI 가이드라인에 제시하는 범위인 18~24 mm 안에 들어가 검사의 정도관리를 확인하였으며, *Escherichia coli*(ATCC 25922)와 *P. aeruginosa* (ATCC 27853) 그람음성막대균도 ciprofloxacin 5 µg 디스크의 억제대를 측정한 결과 균주에 따라 각각 39, 32 mm 억제대를 나타내어 CLSI 가이드라인에 제시하는 범위인 30~40 mm 과 25~33 mm 안에 들어가 검사의 정도관리를 확인하였다(Figure 1~3).

Table 1. Antimicrobial activity of 20 µL of essential oils determined by disc diffusion method

Bacteria	Inhibition Zone (mm)						
	Teetree	Rosemary	Melisa	Lavender	Blending oil	Oxacilin	Ciprofloxacin
<i>S. aureus</i>	21	6	14	15	18	22	ND*
<i>E. coli</i>	25	20	21	14	22	ND	39
<i>P. aeruginosa</i>	13	6	9	6	13	ND	34

Abbreviation: ND, not detected.

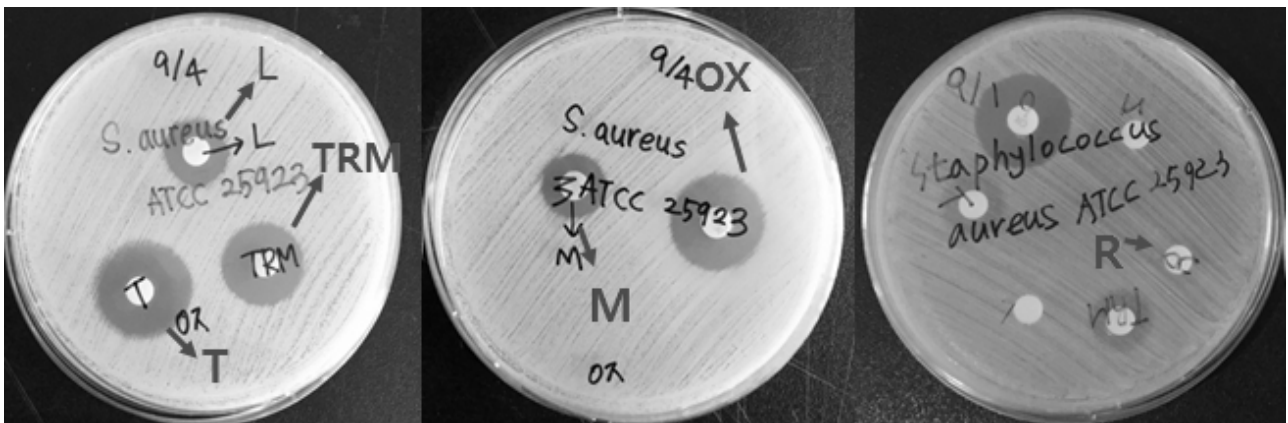


Figure 1. Antibacterial inhibition zone of essential oils against *S. aureus*. (A) M, melisa; OX, Oxacillin, (B) T, teetree; L, Lavender, (C) R, rosemary.

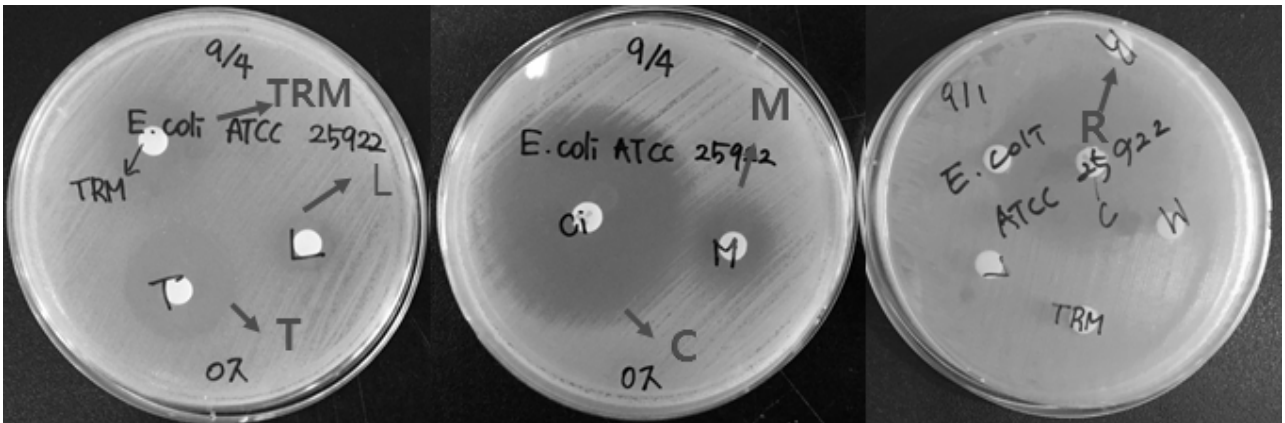


Figure 2. Antibacterial inhibition zone of essential oils against *E. coli*. (A) M, melisa; OX, Oxacillin, (B) T, teetree; L, Lavender, (C) R, rosemary.

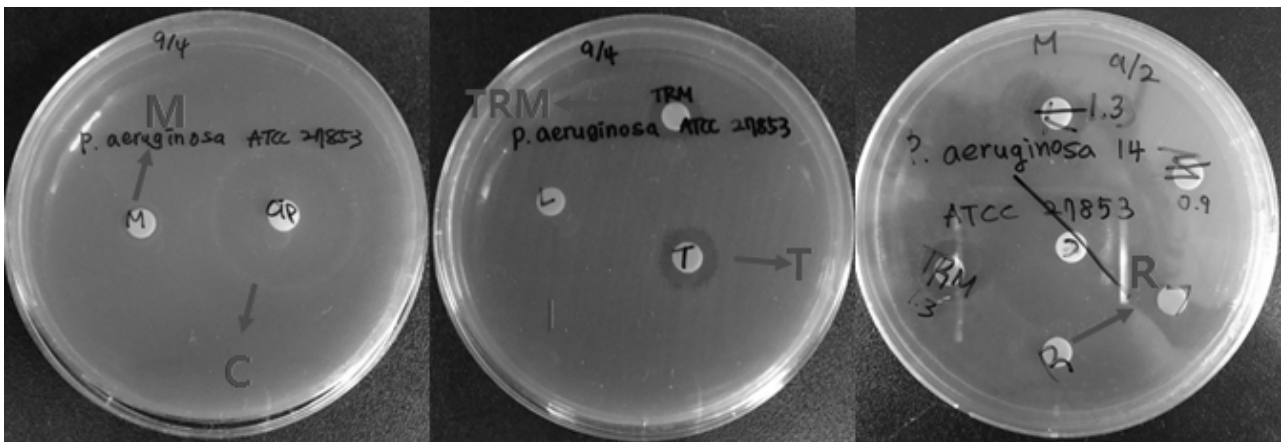


Figure 3. Antibacterial inhibition zone of herb oils against *P. aeruginosa*. M, melisa; C, ciprofloxacin; T, teetree ; L, Lavender , R, rosemary.

Table 2. Minimum inhibition concentrations (MIC) of essential oils determined by broth dilution method

Bacteria	MIC of each essential oil (%)					MIC (µg/mL)	
	Teetree	Rosemary	Melisa	Lavender	Blending oil	Oxacillin	Ciprofloxacin
<i>S. aureus</i>	0.3125	0.625	2.5	2.5	0.3125	0.25	ND*
<i>E. coli</i>	2.5	5	5	2.5	0.3125	ND	0.008
<i>P. aeruginosa</i>	1.25	2.5	5	5	1.25	ND	0.25

Abbreviation: 'See Table 1'.

2. MIC 측정결과

MIC는 그람음성균은 *E. coli*, *P. aeruginosa*, 그람양성균은 *S. aureus*에 대한 티트리, 로즈마리, 멜리사, 라벤더, 블렌딩(티트리, 로즈마리, 멜리사)의 최소억제농도를 알아보기 위하여 허브오일의 농도는 각각 0.0, 0.15, 0.3, 0.625, 1.25, 2.5, 5%로 계단희석 하였으며, 대조군으로 그람양성균에는 Oxacillin, 그람음성균에는 Ciprofloxacin으로 실험하였다. MIC에 의한 항균

력 결과는 Table 2와 같이 블렌딩오일의 항균효과가 가장 우수한 것으로 나타났다.

블렌딩 오일은 *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* 균주에서 각각 0.3125, 0.3125, 1.25%에서 최소억제농도를 나타내었고, 티트리 오일은 균에 따라 각각 0.3125, 2.5, 1.25%가 측정되었다.

로즈마리는 균에 따라 각각 0.625, 5, 2.5%가 측정되었고, 라벤더는 균에 따라 각각 2.5, 2.5, 5%에서 최소억제농도를 나타내었다. 멜리사는 균에 따라 각각 2.5, 5, 5%가 측정되어 가장 낮

은 항균력을 나타내었다. CLSI 가이드라인 M100-S22 [18]에 따라 그람양성알균에 사용되는 oxacillin 최소억제농도는 *S. aureus* (ATCC 25923) 그람양성균주는 0.25 µg/mL 가 나와 CLSI 가이드라인에 제시하는 범위인 0.12~0.5 µg/mL 안에 들어가 검사의 정도관리를 확인하였으며, *Escherichia coli* (ATCC 25922)와 *P. aeruginosa* (ATCC 27853) 그람음성막대균도 ciprofloxacin 최소억제농도를 측정된 결과 균주에 따라 각각 0.008, 0.25 µg/mL 억제농도를 나타내어 CLSI 가이드라인에 제시하는 범위인 0.004~0.015 µg/mL과 0.25~2 µg/mL 안에 들어가 검사의 정도관리를 확인하였다.

고 찰

항균성이 알려진 천연물질로는 주로 lysozyme, polylysine, protamine, conalbumin, avidin, 유기산, polyphenol 물질 등이 대표적이다[19-27]. Chae 등[28]에 의하면 로즈마리와 라벤더의 *S. aureus* 균주의 디스크확산법에서 15, 12 mm 억제대를 보였으며, *E. coli*에서 17, 12 mm 억제대를 보였다. 그리고 항균물질인 폴리페놀함량이 로즈마리가 가장 높고 라벤더도 비교적 높은 것으로 보고되었다. Son 등[29]은 6 mm paper disc를 사용하여 로즈마리 에탄올 추출물이 *S. aureus* 균에 미치는 영향을 살펴 본 결과 8.3 mm로 페퍼민트, 스테비아 추출물보다 뛰어난 효과를 보였으며, Chung 등 [30]은 로즈마리 추출물로 실험한 결과 *S. aureus* 균에서 14 mm, *E. coli* 균에서는 9 mm로 나타났다. 본 연구의 결과에도 Table 2와 같이 로즈마리와 라벤더가 항균력이 좋은 것은 일치하였지만, 원내감염균이며, 창상감염에 주요원인균인 *P. aeruginosa*에는 항균효과가 없었다. Table 2의 결과로 Oxacillin 10 µg/mL와 비슷한 항균효과를 낸 허브오일은 티트리와 로즈마리로 확인되었으며, 특히 블렌딩 오일(티트리, 로즈마리, 펠리사)은 Oxacillin과 로즈마리, 티트리보다 항균효과가 우수한 것으로 증명되어 허브의 블렌딩을 활용하면 시너지효과를 발휘할 수 있음을 입증하였다. 본 연구에서는 항균효과만 관찰하였지만, 차후 건강식품과 식품첨가물 등의 활용을 목적으로 항산화효과를 입증하는 것도 필요하다고 할 수 있다. 본 연구에서 디스크확산법의 경우 1940년부터 발전되었으며[31], 많은 임상검사실에서 박테리아와 진균의 항균제 감수검사에 사용되고 있다[17,18]. 이 검사법에는 CLSI 표준에 의해 접종균액의 양과 배양시간, 온도, 성장 배지들이 결정되고, 항균제 감수성의 양상은 감수성(susceptible), 중등도 내성(intermediate), 내성(resistant)의 카테고리로 제공되고 있다[32]. 그러므로 그것은 검사된 미생물의

내성표현형을 바탕으로 두고 제공되고 임상 의사가 부분적, 경험적 치료의 적합한 약제선택의 목적에 기초를 두고 있다. 디스크 확산법은 미생물의 성장이 억제된 것이며, 미생물의 사멸을 뜻하지는 않는다. Balouiri 등[33]에 의하면 우무디스크 확산법은 최소억제농도를 결정하는데는 적절하지가 않고, 항균제의 양을 정량 하기에는 불가능하나 그럼에도 불구하고 디스크 확산법은 다른 방법보다 간단하고, 저렴한 비용과 많은 축적된 미생물 및 항균제수의 결과가 제공된 결과를 쉽게 해석할 수 있는 장점은 있다. 그러나 본 실험은 누적된 항균제가 아닌 정제된 에센셜오일의 사용으로 천연물의 효과에 대한 결과해석이 표준화되지 않은 접종준비와 기술접근, 접종크기, 성장배지, 배양조건 및 최종적인 해석이 어렵다고 알려져 있으며, 디스크 법은 주로 간단하고 저렴한 비용의 장점으로 식물추출물, 에센셜오일 및 기타 약제의 항균력을 보기위한 예비시험으로 많이 사용된다 [34]. 본 실험결과에서 디스크확산법은 티트리가 조금 더 우수한 결과를 보였지만, 그에 반해 MIC 값은 비록 *S. aureus*와 *P. aeruginosa*에서는 큰 차이가 없었지만, *E. coli*의 경우 티트리는 2.5%로 측정되었으나 블렌딩오일에서는 0.3125%로 9배의 계단희석차이가 나타나 확실한 증진효과를 입증하였다. 그러므로, 스크리닝 방법으로 사용된 디스크법은 에센셜오일의 접종과 기술접근의 차이가 있어 오차가 있을 수 있다고 생각되지만, MIC은 균주부유액에 직접 에센셜오일을 희석하는 방법에서 정량이 가능하고 신빙도가 높다고 할 수 있다. 항균효과 결과를 그람양성균과 음성균으로 구별해보면, 세균의 구조차이는 있어 항균효과의 차이를 예상할 수 있겠지만, Table 2의 결과와 같이 음성균인 *E. coli*는 양성균인 *S. aureus*와 디스크 확산법에서는 큰차이가 나지 않으나 *P. aeruginosa*에서는 로즈마리와 라벤더가 항균효과가 없는 것으로 나와 양성균과 음성균의 차이에 따른 항균력의 차이는 논하기가 힘들고 균종별 항균력의 차이가 있는 것으로 보인다. 허브오일의 항균활성은 Nguetack 등[35]에 의하면 그람음성균의 세포막의 침투성증가와 ATP감소로 LPS방출로 사멸하거나 Bouhdid 등[36]은 칼륨의 유출로 세포손상이 오고 세포벽의 구조와 성분의 변화가 사멸을 유도한다고 알려져 있으나 앞으로 좀 더 많은 허브오일의 살균메커니즘에 관한 연구가 필요하다고 사료된다. 그람음성균에서 디스크확산법과 MIC법의 다소 항균력의 차이를 보이는 것은 허브오일을 10배 희석후 MIC를 시행하여 결과가 차이가 있는 것으로 사료된다. 시료의 추출방법에서도 수증기증류법으로 추출하였지만 천연물로부터 정유를 추출하는 방법 중에 성분의 파괴없이 고순도 정유추출법인 초임계 추출법으로 사용하였다면, 더 좋은 항균효과가 있을 거라 예상되고 추출방법별 항균효

과의 비교도 앞으로 연구가 필요하다고 할 수 있다. 따라서, 본 연구의 결과로 블렌딩한 허브오일의 시너지효과를 입증하였고, 단독으로는 로즈마리와 티트리와 항균효과가 좋았으며, 향후 천연보존제 뿐만 건강기능성 식품이나 화장품 등에 활용가능 할 것으로 사료된다.

요 약

식물로부터 유래되는 휘발성 유기 화합물인 에센셜 오일은 인체에 약리효과를 나타낸다고 알려져 있다. 본 연구에서는 화농성 질환과 병독성 질환 비노기계통 감염에 나올 수 있는 병원성 세균 *Staphylococcus aureus*(그람양성알균), *Escherichia coli*(그람음성막대균), *Pseudomonas aeruginosa*(그람음성막대균, 극성단모균)을 대상으로 천연 허브 오일 중에 비교적 많이 알려져 있는 라벤더(lavender), 티트리(tea tree), 로즈마리(rosemary), 멜리사(melisa) 4종류의 단일 오일과 비교해, 티트리와 로즈마리, 멜리사를 블렌딩하였을 때 항균력이 상승되는 효과가 있는지 연구하였다. 그 결과 디스크 확산법에서 블렌딩 오일(티트리, 로즈마리, 멜리사)의 경우 단독의 허브오일보다 *S. aureus*에서 18 mm, *E. coli*에서 22 mm 와 *P. aeruginosa*는 13 mm의 우수한 항균능력을 확인할 수 있었다. 뿐만 아니라 블렌딩 오일의 경우 최소억제농도(Minimum Inhibitory Concentrations, MIC) 분석에서 *S. aureus*, *E. coli*에서는 0.3125%에서, *P. aeruginosa*는 1.25%에서 성장억제효과가 확인되었다. 따라서 본 실험에서는 블렌딩 오일이 Oxacillin과 로즈마리, 티트리보다 항균효과가 우수한 것으로 증명되어 단독의 허브오일보다 블렌딩 오일이 우수한 항균력을 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 그러므로 허브의 블렌딩을 활용하면 다제 내성균에 대한 항균시너지효과를 발휘할 수 있음을 입증했을 뿐만 아니라 향후 천연보존제와 건강기능성 식품 및 화장품에 활용 가능성을 기대해본다.

Acknowledgements: 이 논문은 2016년도 원광보건대학교 교내연구비 지원에 의해서 수행됨.

Funding: None

Conflict of interest: None

REFERENCES

- Rapper S, Kamatou G, Viljoen A, van Vuuren S. The in vitro antimicrobial activity of lavandula angustifolia essential oil in combination with other aroma-therapeutic oils. Evid Based Complement Alternat Med. 2013;2013:852049.
- Mehdi JH, Rudabeh SM, Hassan S. Analysis of iranian rosemary essential oil: application of gas chromatography-mass spectrometry combined with chemometrics. J Chromatogr A. 2011;1218(18):2569-2576.
- Aruoma OI, Spencer JP, Rossi R, Aeschbach R, Khan A, Mahmood N, et al. An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and Provençal herbs. Food Chem Toxicol. 1996;34(5):449-456.
- Altinier G, Sosa S, Aquino RP, Mencherini T, Della Loggia R, Tubaro A. Characterization of topical antii-nflamatory compounds in rosmarinus officinalis L. J Agric Food Chem. 2007; 55(5):1718-1723.
- Singleton K, Macdonald C, Wallig M. Inhibition by rosemary and carnosol of 7.12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and in vivo DMBA-DNA adduct formation. Cancer Lett. 1996;104(1):43-48.
- Richheimer SL, Bernart MW, King GA, Kent MC, Bailey DT. Antioxidant activity of lipid soluble phenolic diterpenes from rosemary. J Am Oil Chem Soc. 1996;73(4):507-514.
- Hammer KA, Carson CF, Riley TV. In-vitro activity of essential oils, inparticular melaleuca alternifolia (tea tree) oil and tea tree oil products, against candida spp. J Antimicrob Chemother. 1998;42(5):591-595.
- Kazemzadeh R, Nikjou R, Rostamnegad M, Norouzi H. Effect of lavender aromatherapy on menopause hot flushing: A cross-over randomized clinical trial. J Chin Med Assoc. 2016;79(9): 489-492.
- Sadeghzadeh J, Vakili A, Bandegi AR, Sameni HR, Zahedi Khorasani M, Darabian M. Lavandula reduces heart injury via attenuating tumor necrosis factor-alpha and oxidative stress in a rat model of infarct-like myocardial injury. Cell J. 2017; 19(1):84-93.
- Mimica-Dukić N, Božin B, Soković M, Simin N. Antimicrobial and antioxidant activities of Melissa officinalis L. J Agric Food Chem. 2004;52(9):2485-2489.
- Nicole L. Kavanaugh, Katharina Ribbeck. Selected antimicrobial essential oils eradicate pseudomonas spp. and staphylococcus aureus biofilms. Appl Environ Microbiol. 2012; 78(11):4057-4061.
- Fortino Solórzano-Santos, Maria Guadalupe Miranda-Novales. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. Current Opinion in Biotechnology. 2012;23(2):136-141.
- Rosina Khan, Barira Islam, Mohd Akram, Shazi Shakil, Anis Ahmad, S. Manazir Ali, et al. Antimicrobial activity of five herbal extracts against multi drug resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. Molecules. 2009;14(2):586-597.
- Park YS. A meta-analysis of the effects of aromatherapy hand massage. Journal of Digital Convergence. 2015;13(1):469-479.
- Lodhia MH, Bhatt KR, Thaker VS. Antibacterial activity of essential oils from palmarosa, evening primrose, lavender and tuberose. Indian J Pharm Sci. 2009;71(2):134-136.
- Chae IG, Kim HJ, Yu MH, Kim HI, Lee IS. Antioxidant and antibacterial activity of commercially available herbs in Korean markets. J Korean Soc Food Sci and Nutr. 2010;39(10):1411-1417.
- Battaglia S. The complete guide to aromatherapy. 2nd ed. Brisbane: The international center of holistic aromatherapy;

2003. p17-21.
18. Bassolé IH, Juliani HR. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*. 2012; 217(4):3989-4006.
 19. Lee YJ, Park SJ. The effects of strength note program on mental health of university students in convergence age. *Journal of Digital Convergence*. 2015;13(7):223-228.
 20. Kim BY, Lee CT. Production of phytoncide from korean pine cone waste by steam distillation. *Appl chem eng*. 2015;26(6): 648-658.
 21. Clinical Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard-12th ed, M07-A10. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2015. p27-47.
 22. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Approved standard 26th ed, M100-S22. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2015. p170-180.
 23. Kubo I, Muroi H, Kubo A. Structural functions of antimicrobial long-chain alcohols and phenols. *Bioorg Med Chem*. 1995;3(7): 873-880.
 24. Sakanaka S, Juneja LR, Taniguchi M. Antimicrobial effects of green tea polyphenols on thermophilic sporeforming bacteria. *J Biosci Bioeng*. 2000;90(1):81-85.
 25. Cho MH, Bae EK, Ha SD, Park JY. Application of natural antimicrobials to food industry. *Food Sci Ins*. 2005;38(2):36-45.
 26. Lee JH, Lee SR. Some physiological activity of phenolic substances in plant foods. *Korean J Food Sci Technol*. 1994;26(3): 317-323.
 27. Topisirovic L, Kojic M, Fira D, Golic N, Strahinic I, Lozo J. Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation. *Int J Food Microbiol*. 2006;112(3):230-235.
 28. Chae IG, Kim HJ, Yu MH, Kim HI, Lee IS. Antioxidant and antibacterial activity of commercially available herbs in Korean markets. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2010;39(10):1411-1417.
 29. Son SY, Choi HR, Choi EH. Effect of herbs on the growth-inhibition of lactic acid bacteria and quality characteristics of Dongchimi. *Korean J Food Sci Technol*. 2005;37(2):241-246.
 30. Chung DO, Park ID, Jung HO. Evaluation of functional properties of onion, rosemary and thyme extracts in onion kimchi. *Korean J Soc Food Cookery Sci*. 2001;17(3):218-223.
 31. Heatley NG. A method for the assay of penicillin. *Biochem J*. 1944;38(1):61-65.
 32. Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis*. 2009;49(11):1749-1755.
 33. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharmaceutical Analysis*. 2016;6(2):71-79.
 34. Das K, Tiwari RKS, Shrivastava DK. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents: current methods and future trends. *J Med Plants Res*. 2010;4(2):104-111.
 35. Nguefack J, Budde BB, Jakobsen M. Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: their antibacterial activity and ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of *Listeria innocua* examined by flow cytometry. *Letters in Applied Microbiology*. 2004;39(5):395-400.
 36. Bouhdid S, Abrinin J, Zhiri A, Espuny MJ, Munresa A. Investigation of functional and morphological changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Origanum compactum* essential oil. *Journal of Applied Microbiology*. 2009;106(5):1558-1568.