



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2014년 8월

박사학위논문

시판 에센셜오일의 성분 분석
및 생리활성 효과

조선대학교 대학원

보완대체의학과

유영월

시판 에센셜오일의 성분 분석 및 생리활성 효과

Chemical Composition and Biological Activity of
Commercially Available Essential Oils

2014년 8월 25일

조선대학교 대학원

보완대체의학과

유영월

시판 에센셜오일의 성분 분석 및 생리활성 효과

지도교수 이 미 자

이 논문을 보완대체의학박사학위신청 논문으로
제출함.

2014년 4월

조 선 대 학 교 대 학 원

보완대체의학과

유 영 율

유영월의 박사학위논문을 인준함

위원장	조선대학교	교수	문경래	印
위 원	조선대학교	교수	유진철	印
위 원	조선대학교	교수	양남웅	印
위 원	광주대학교	교수	김 승	印
위 원	조선대학교	교수	이미자	印

2014년 6월

조선대학교 대학원

목 차

표 목차	ii
도 목차	iii
ABSTRACT	1
I. 서 론	3
II. 연구재료 및 방법	5
A. 재료 및 시약	5
B. 균주	5
C. 성분분석(GC, GC-MS)	6
D. 항미생물 활성측정	6
E. DPPH 라디칼 제거 효능 검색	7
F. 환원력 측정	7
G. 세포주 배양	8
H. MTT assay	8
I. Lactate dehydrogenase (LDH) 측정	8
J. 세포내 활성산소(Reactive oxgen species, ROS) 측정	9
III. 결과	10
A. 에센셜오일의 구성 성분 분석	10
B. 에센셜오일의 항미생물 활성 평가	16
C. 에센셜오일의 항산화 효능 평가	28
D. 에센셜오일에 의한 세포 생존율 변화	31
E. 에센셜오일의 세포 손상 억제 평가	33
F. 에센셜오일의 세포내 활성산소 생성 억제 효과 평가	35
IV. 고 찰	37
V. 결 론	39
참 고 문 헌	40

표 목차

Table 1. Chemical composition of lemongrass	11
Table 2. Chemical composition of manuka	12
Table 3. Chemical composition of ravensara	13
Table 4. Chemical composition of tea tree	14
Table 5. Chemical composition of thyme	15
Table 6. Minimum inhibitory concentration of essential oils lemongrass against various bacterial strains	18
Table 7. Minimum inhibitory concentration of essential oils manuka against various bacterial strains	20
Table 8. Minimum inhibitory concentration of essential oils ravensara against various bacterial strains	22
Table 9. Minimum inhibitory concentration of essential oils tea tree against various bacterial strains	24
Table 10. Minimum inhibitory concentration of essential oils thyme against various bacterial strains	26

도 목차

Figure 1. DPPH radical scavenging activities of essential oils.

Figure 2. Reducing powers of essential oils.

Figure. 3. Effects of essential oils on cell viability in SH-SY5Y cells.

Figure 4. Effect of essential oils on rotenone-induced cytotoxicity in SH-SY5Y cells.

Figure 5. Effects of essential oils on rotenone-induced reactive oxygen species (ROS) generation in SH-SY5Y cells.

ABSTRACT

Chemical Composition and Biological Activity of Commercially Available Essential Oils

Yu, Yeong Wol

Advisor : Prof. Lee, Mi Ja

Department of Complementary and Alternative Medicine,
Graduate School of Chosun University

The essential oils, well-known aroma compounds, have extensively been used in health care or pharmacology field. This study was studied the chemical compositions of five kinds of commercially available essential oils in Korea and their antimicrobial and antioxidant activities. The chemical compositions of oils were analysed by gas chromatography and mass-spectrometry (GC-MS), their antimicrobial activities against forty bacterial strains by tube dilution method, antioxidant activities by 1,1-diphenol-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay and the measurement of reducing power, and the further elucidation of cell protective effect of essential oils by lactate dehydrogenase (LDH) assay.

The minimum inhibitory concentrations (MIC) were in the ranges of 0.0625-0.5% (v/v) for lemongrass; 0.0625-1.0% for manuka; 0.025-1.0% for tea tree; 0.0625-1.0% for thyme and 1-4% for ravensara. This study showed that, among the essential oils tested, lemongrass and thyme oil had broad antimicrobial spectrum against infectious bacteria. Antioxidant activities of the essential oils were determined by DPPH and reducing power. Thyme oil showed the strongest antioxidant activity among 5 oils, compared with ascorbic acid. Thyme pre-treated SH-SY5Y cells showed slightly decreased release of LDH in the concentration of 5 $\mu\text{g/ml}$ solely among five oils. Thyme also attenuated

somewhat rotenone-induced intra-cellular reactive oxygen species (ROS) production in cells in a concentration-dependent manner.

This study will be the report on the chemical composition of commercially available essential oils in Korea and on antimicrobial activities against gram positive or negative standard strains and multi-drug resistant (MDR) bacterial strains isolated in domestic area.

Key Words: Essential oil, Antioxidant, Antimicrobial, Reactive oxygen species

I. 서 론

수천 년 전부터 다양한 종의 방향식물에서 추출된 에센셜오일을 정신적, 육체적인 치료 목적으로 널리 사용되어 왔으며, 현재 화장품, 식품 등에 이용되고 있다[1]. 일반적으로 에센셜오일은 허브, 꽃, 나무껍질 등에서 추출할 수 있으며[2], 다양한 추출법들을 이용하여 얻을 수 있는 방향성, 휘발성의 특징을 갖는 유기물질이다. 에센셜오일은 오랫동안 천연 향균 방부제 및 보존제로 사용되어 왔으며, 이전의 여러 연구에 의해 에센셜오일의 향균작용, 부패, 산화방지 등의 효과가 보고된 바 있다[3-5]. 또한 에센셜오일은 향균, 항산화 효과 외에도 항염증, 항알러지 및 항암 효과를 가지는 것으로 알려져 있어 그 유용성이 주목되고 있다[6-9]. 최근에는 아로마테라피와 천연물에 대한 관심이 증대함에 있어 단순한 향유, 공기 정화의 기능뿐 아니라 다양한 치료 목적에도 이용범위가 확대됨에 따라 그 사용량이 매년 증가하는 추세에 있다. 특히 항생제 내성균 발생빈도가 증가함에 따라 천연 향균제의 중요성이 부각되고 에센셜오일의 향균 효능에 대한 연구도 활발히 진행되고 있는 실정이다[10-12]. 또한 최근 티트리(*Melaleuca alternifolia*), 라벤더(*Lavandula angustifolia*), 타임(*Thymus vulgaris*), 로즈마리(*Rosmarinus officinalis*), 유칼립투스(*Eucalyptus globulus*), 오레가노(*Origanum vulgare*) 등의 추출물에서 여러 균종에 대한 항균효과가 보고되었다[13-15].

노령인구의 증가, 스트레스 및 환경독소의 증가에 따라 신경퇴행성 질환 환자의 수가 급격하게 증가하고 있어 심각한 사회문제로 대두되고 있다. 이러한 신경퇴행성 질환은 불과 몇 년 전까지만 하더라도 노령인구에서 주로 발생하였기 때문에 노인층에서만 발생하는 질병으로 여겨져 왔다[16-18]. 하지만 최근에는 40대 뿐 만 아니라 20, 30대에서도 발생하고 있다. 신경퇴행성 질환의 기전들 중 산화적 스트레스는 대기 오염물질 및 농약, 살충제와 같은 다양한 화학물질에 대한 노출에 의하여 증가하는 것으로 알려져 있다. 산화적 스트레스의 증가는 세포 내에서 활성산소의 발생을 증가시키며, 이는 미토콘드리아 기능장애 초래 및 세포자멸사 유도, 조직손상 등을 증가시켜 신경세포의 사멸을 초래하게 한다. 산화적 스트레스에 의한 기전은 파킨슨병 뿐 만 아니라 알츠하이머, 위축삭경화증,

헌턴톤병과 같은 다양한 신경퇴행성 질환의 진행과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다[19-21]. 대부분의 치료제가 약물에 대한 내성 및 부작용을 가지고 있어 항산화 활성을 가지는 천연물로부터 보다 안전하고 신경세포 보호 효과가 뛰어난 치료제의 개발이 요구되고 있으며 이를 위해 다양한 천연물을 이용한 연구들이 진행되고 있다[22-24].

현재 수많은 에센셜오일의 화학적·생리적 활성이 연구되고 있으며, 국내 에센셜오일의 사용량이 꾸준히 증가하는 추세에 있으나, 각 에센셜오일 성분에 대한 정확한 성분의 구성 및 함량에 대한 정보가 부족하여 에센셜오일 성분의 올바른 이용에 제한요소가 되고 있다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 시판 중인 대표적인 에센셜오일 5종을 선정하여, 그 화학성분을 가스크로마토그래피-질량분석(Gas chromatograph - mass spectrometry, GC-MS)을 이용하여 분석하였고, 최근 국내에서 분리한 다약제 내성균과 그람양성균, 그람음성균에 대한 항미생물 활성 평가 및 항산화 효과를 조사하여 비교 분석하였다. 또한 에센셜오일 성분이 가지고 있는 항산화 활성을 이용하여 산화적 스트레스에 의한 신경세포 사멸을 억제시킬 수 있는지를 확인하고자 하였다.

II. 연구재료 및 방법

A. 재료 및 시약

실험을 위해 사용한 에센셜오일은 총 5가지로 레몬그라스(lemongrass) 오일, 마누카(manuka) 오일, 라벤자라(ravensara) 오일, 티트리(tea tree) 오일, 타임(thyme) 오일을 선정하였으며, 선정된 에센셜오일은 G.R. Davis Pty. Ltd. (GR Davis Pty Ltd, Queanbeyan, Australia)사의 제품을 사용하였다.

1,1-diphenol-2-picrylhydrazyl (DPPH), ascorbic acid, potassium ferricyanide, trichloroacetic acid, ferric chloride, 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5 -Diphenyltetrazolium Bromide (MTT), 2',7'-Dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA) 및 RIPA buffer는 Sigma (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)사의 제품을 사용하여 실험하였다. 연구에 사용된 모든 용매들은 Wako (Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan)사로부터 구입하여 사용하였다. Tissue culture dish, 96 well plate는 SPL (SPL Life Sciences Co., Pocheon-si, Korea)에서 구입하였고, 세포배양을 위한 Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F12), Fetal bovine serum (FBS), Trypsin-EDTA, penicillin-streptomycin은 Gibco (Gibco BRL Co., Grand Island, NY, U.S.A)에서 구입하였다. Cytotoxicity detection Kit (LDH)는 Roche (Roche Applied Science, Penzberg, Upper Bavaria, Germany)에서 구입하였다.

B. 균주

그람양성균으로 *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Enterococcus cloacae* (ATCC 13047), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Enterococcus faecium* (ATCC 8043), *Micrococcus luteus* (ATCC 9341), *Mycobacterium smegmatis* (ATCC 9341), *Staphylococcus aureus* (KCTC 1928), *Staphylococcus aureus subsp. aureus* (ATCC 10537), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538p)를 사용하였고, 그람음성균으로

Alcaligenes faecalis (ATCC 1004), *Escherichia coli* (KCTC 1923), *Pseudomonas aeruginosa* (KCTC 1637), *Salmonella typhimurium* (KCTC 1925)를 사용하였으며, 다약제 내성균으로 메티실린 저항성 황색 포도알균 (methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), 반코마이신 내성 장알균 (vancomycin resistant enterococci, VRE), carbapenemase 생성 imipenem 내성 세균 (*Pseudomonas sp.*, IMP), 광범위 베타-락탐계 생성세균 (*Klebsiella pneumoniae*, ESBL)을 순천대학교 생물학과 미생물학 실험실에서 분양을 받아 사용하였다.

C. 성분분석(GC, GC-MS)

에센셜오일의 주요 구성성분을 분석하기 위해서 가스크로마토그래피(Agilent 7890A gas chromatograph, GC)를 사용하였다. 컬럼은 DB-5계열 (30m×0.25mm i. d., J&W Scientific, DB-5 crosslinked 5% phenylmethyl silicone)을 사용하였으며, 컬럼 온도는 50℃에서 5분간 유지한 후 250℃까지 분당 4℃씩 승온시켰다. 주입구 및 검출기의 온도는 각각 300℃와 230℃로 맞추어 사용하였고, 헬륨을 운반기체로 사용하여 분당 1 ml의 유속을 유지하여 분석하였다. 컬럼에 의해 분리된 유기성분의 정성분석을 위해 질량 분석기(mass spectrometry detector, 5975C, Agilent, USA)를 사용하여, 이온화된 전자를 전자충격이온화(electron ionization, EI) 분석 모드에서 질량 분석하였다. 에센셜오일의 성분 확인을 위해 이온화된 전자 분포(spectrum)를 얻은 후 NIST & Wiley library search data system 및 문헌상의 mass spectral data에 따라 각 성분의 보존지수(retention indices, RI)를 구하고 이를 문헌상의 RI와 비교하여 동정하였다.

D. 향미생물 활성 측정

에센셜오일의 향미생물 활성 효과를 측정하기 위하여 시험관 희석법을 사용하였다[25]. 먼저 에센셜오일을 메탄올과 Tween 80을 용매로 사용하여 용해한 후, syringe filter로 여과 멸균하고, 멸균된 Mueller-Hinton broth (DIFCO)에 0.031-4.0% (v/v)가 되게 계단 희석하였다. 시험균주는 MH broth에 배양하여 최종 균수가 10^6 CFU/ml이

되도록 MH broth로 희석하고 희석된 에센셜오일을 함유한 MH broth에 접종하였다. 36°C에서 24 시간 배양한 후, 육안으로 관찰하여 배양액의 혼탁도가 없는 에센셜오일의 최저 농도를 minimum inhibitory concentration (MIC)로 정하였다.

E. DPPH 라디칼 제거 효능 검색

에센셜오일의 항산화 활성은 DPPH법을 이용하여 측정하였다[5]. DPPH 라디칼 소거능 측정은 안정한 유해산소(free radical) 화합물인 DPPH를 기질로 하여 시료의 항산화 능력을 측정하였으며, 517 nM에서 광흡수를 나타내는 화합물인 DPPH는 항산화 물질에 의해 전자공여 작용으로 탈색되어 흡광도가 감소하고 감소된 흡광도의 변화를 통하여 항산화 물질의 활성을 측정하였다. 에센셜오일 성분을 100% 메탄올에 녹인 후 희석하여 사용하였으며, 각기 다른 농도의 시료에 0.15 mM DPPH 용액 100 μ l을 첨가하여 잘 혼합하여 30분 후 517 nM에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 대조군은 시료대신 메탄올을 첨가하여 흡광도 변화의 정도를 측정하였으며 유해산소 소거능은 아래의 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{유해산소 소거능} = (\text{시료의 흡광도} / \text{대조군의 흡광도}) \times 100$$

F. 환원력 측정

에센셜오일 시료 1 ml에 200 mM sodium phosphate buffer (pH 6.6)와 10% potassium ferricyanide를 각각 1 ml씩 차례로 첨가한 다음 50°C에서 20분간 반응시켰다. 반응 액에 10% trichloroacetic acid를 1 ml 첨가하여 10,000 g에서 10분간 원심분리를 하고 상층 액 1 ml에 0.1% ferric chloride 1 ml을 첨가한 후 700 nM에서 흡광도를 측정하여 환원력을 평가하였다[26].

G. 세포주배양

사람신경모세포종, SH-SY5Y는 American Type Culture Collection (ATCC)로부터 분양받아 사용하였다. DMEM/F12 mixture 내에 10% FBS 및 1% penicillin-streptomycin이 첨가되어져 있는 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였으며, 72시간을 주기로 배지를 교체하였다. 또한 세포 밀도가 80%에 이르렀을 때 Trypsin-EDTA로 처리하여 계대배양 하였다.

H. MTT assay

세포생존율 변화를 측정하기 위해 MTT assay를 이용하였다[27-28]. SH-SY5Y 세포는 1×10^4 cell/well로 96 well plate에 seeding한 후 24시간 동안 5% CO₂ 배양기에 배양하였다. 세포에 각 농도별로 처리한 후 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 배지를 제거하고 5 mg/ml 농도로 녹인 MTT 용액 10 μ l 씩 첨가하고 다시 4시간 동안 37°C에서 배양한 후 각 well 당 DMSO (dimethyl sulfoxide) 100 μ l를 처리하여 형성된 결정체를 녹였다. 이후 흡광도를 microplate reader (ELISA reader, molecular device, USA)로 540 nM에서 흡광도를 측정하게 된다. 대조군 세포수를 100%로 하였을 때 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다.

I. Lactate dehydrogenase (LDH) 측정

SH-SY5Y 세포를 1×10^4 cells/well로 96 well plate에 분주하여 CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 시료를 전 처리 후, 6-hydroxydopamine (6-OHDA)을 처리하여 24시간 배양한 다음, 배양액을 새로운 96-well plate에 100 μ l 씩 분주하였다. 실험과정은 kit 에서 제공된 매뉴얼에 따라 진행하였다. 이 배양액에 LDH reagent를 100 μ l 씩 첨가하여 상온에서 25분간 반응시켰다. 반응시킨 뒤 stop solution인 1 N HCl을 100 μ l 씩 첨가하여 반응을 중지시키고 ELISA reader를 이용하여 490 nM에서 흡광도를 측정하였다. 살아남은 세포의 LDH 측정을 위해 배양액을 제거한 후, 0.1% Triton X-100 용액을 50 μ l 첨가하여 40 rpm으로 10분 동안 진탕배양시켜 세포벽을 깨트린 다음, 같은

방법으로 LDH reagent 50 μ l를 첨가하여 반응시키고, 반응이 끝나면 반응 정지액을 넣은 뒤, 540 nM에서 흡광도를 측정하였다. LDH에 의한 세포독성의 백분율은 배양액과 살아있는 세포에서 유리된 총 LDH에 대한 배양액으로부터 유리된 LDH의 값으로 계산하여 무처리 대조군과 비교한 값을 나타내었다.

J. 세포 내 활성산소(Reactive oxygen species, ROS) 측정

세포 내 ROS 측정은 DCF-DA가 세포 내로 투과된 후 아세틸기가 유리된 2',7'-dichlorofluorescein (DCFH)의 상태에서 ROS와 반응하여 형광 물질을 생성하는 성질을 이용하였다[29]. SH-SY5Y 세포를 96 well plate에 1×10^4 cells/well cell이 되도록 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 각 시료를 전 처리한 다음 rotenone를 6시간 동안 처리하였다. 배지를 제거하고 10 μ m DCFH-DA로 다시 30분간 처리한 후 fluorescence microplate reader를 이용하여 excitation 485 nM, emission 535 nM에서 형광을 측정하였다.

III. 결과

A. 에센셜오일의 구성 성분 분석

레몬그라스 오일의 성분을 분석한 결과, Terpene aldehyde 계열의 향기 물질인 cis-citral (40.97%)이 주성분으로 확인되었고, monoterpene인 camphene (4.84%) 및 ester 성분인 geraniol acetate (4.99%)가 확인되었다. Caryophyllene도 에센셜오일 성분 내에 존재함을 확인하였다(Table 1).

마누카 오일의 성분을 분석한 결과, α -Terpinene, γ -terpinene, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyclohexen-1-ol, α -copaene, α -gurjunene 등을 확인할 수 있었다(Table 2).

라벤자라 오일의 성분을 분석한 결과, 1r- α -pinene, 4(10)-thujene, β -pinene, eucalyptol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyclohexene-1-ol, 4-allyl anisole, α -caryophyllene, β -caryophyllene, methyleugenol 등을 확인할 수 있었다(Table 3).

티트리 오일의 성분을 분석한 결과, α -terpinene, γ -terpinene, 1-terpinen-4-ol, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, (-)-alloaromadendrene, viridiflorol 등을 확인할 수 있었다(Table 4).

타임 오일의 성분을 분석한 결과, γ -terpinene, (+)-sabinene, (+)-3-carene, (+)-linonene, 4-allylanisole, eugenol, (+)-longifolene, caryophyllene 등을 확인할 수 있었다(Table 5).

Table 1. Chemical composition of lemongrass

Compound	Relative (%)
camphene	4.84
6-methyl-5-hepten-2-one	4.26
1-methyl-4-(1-methylethyl)-cyclohexene	1.11
4-nonanone	2.89
3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol	1.83
cis-citral	40.97
geraniol acetate	4.99
caryophyllene	1.68

Table 2. Chemical composition of manuka

Compound	Relative (%)
2,6,6-trimethyl-bicyclo[3.1.1]hept-2-ene	1.52
1r- α -pinene	1.23
6,6-dimethyl-2-methylene-bicyclo[3.1.1]heptane	1.02
α -terpenene	5.26
γ -terpenene	4.70
1-methyl-4-(1-methylethylidene)-cyclohexene	1.89
4-methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyclohexen-1-ol	9.48
(-)-(1s,2r,4r)- β -fenchol	1.36
α -copaene	4.13
α -gurjunene	7.40

Table 3. Chemical composition of ravensara

Compound	Relative (%)
1r- α -pinene	14.33
4(10)-thujene	5.24
β -pinene	7.21
(+)-3-carene	2.21
eucalyptol	19.68
γ -terpinene	2.51
β -linalool	3.46
4-methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyclohexene-1-ol	5.90
4-allyl anisole	5.18
methyleugenol	3.73
β -caryophyllene	2.58
α -caryophyllene	1.24

Table 4. Chemical composition of tea tree

Compound	Relative (%)
1r- α -pinene	5.87
β -l-pinene	3.48
α -terpinene	11.25
γ -terpinene	11.79
α -terpinolen	3.99
l-terpinen-4-ol	21.38
1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene	1.81
(-)-alloaromadendrene	5.06
viridiflorol	1.58

Table 5. Chemical composition of thyme

Compound	Relative (%)
γ -terpinene	3.21
(+)-sabinene	3.87
(+)-3-carene	3.64
(+)-linonene	10.79
4-allylanisole	7.03
geraniol	4.30
cis,trans-citral	1.04
eugenol	20.57
1,3,4-eugenol	1.47
(+)-longifolene	5.18
caryophyllene	3.69

B. 에센셜오일의 항미생물 활성 평가

그람양성균, 그람음성균, 다약제 내성균들을 대상으로 에센셜오일 5가지의 항미생물 활성 효능을 평가하여 결과를 정리하였다(Table 6~10).

오일 5종 모두 그람양성균, 그람음성균에 고른 항균 분포도를 보였다.

레몬그라스 오일의 경우 5종의 그람음성균에 대해 0.0625-0.25% (v/v)의 MIC 값을 보였으며, MRSA, VRE, IMP, ESBL에 대해 0.125-0.5% (v/v)의 고른 항균 분포도를 보였다. 마누카 오일의 경우에는 그람음성균에는 MIC가 0.0625-1% (v/v)이었으며, *E. cloacae*에서는 1% (v/v) 이상의 MIC 값을 보였다. 마누카 오일은 MRSA, VRE와 일부 IMP 균주에서 0.0625-0.25% (v/v)의 고른 항균 분포도를 보였다. 라벤자라 오일의 경우에는 모든 시험 균주에서 1-4% (v/v)의 높은 MIC 값을 보여주었으며, 특히 VRE, ESBL 균주에서는 MIC 값이 4% (v/v) 이상으로 나와 항균활성을 보이지 않았다. 티트리 오일의 경우에는 시험 균주 중 그람음성균 및 ESBL에서는 0.5% (v/v)의 MIC 값을 나타내었으며, MRSA와 VRE 균주에 대해 0.025-1% (v/v) 범위의 MIC 값을 보여주었다. 타임 오일은 모든 시험 균주에 대해 항균활성을 나타내어 가장 항균 범위가 넓은 것으로 확인되었다. 그람음성균에 대해서는 0.125-0.5% (v/v)의 MIC 값을 보였으며, MRSA와 VRE에 0.25-0.5% (v/v), IMP에 대해서는 0.125-0.5% (v/v), ESBL에 대해서는 0.5-1% (v/v)의 고른 MIC 값을 나타내었다.

5가지의 에센셜오일을 비교 분석한 결과, 레몬그라스 및 타임 에센셜오일의 항균 범위가 가장 넓었고, 마누카 오일의 경우에는 최근 분리한 임상 균주인 MRSA 및 VRE에 대해 가장 낮은 MIC 수치를 보였다. 티트리 오일에는 항균성분인 terpinene-4-ol (21.38%), α -terpinene (11.25%), γ -terpinene (11.79%)이 높은 함유량을 보였으며, 라벤자라 오일에는 eucalyptol (19.68%)이 높은 함유량을 보였다. 마누카오일, 레몬그라스 오일 및 타임 오일과 비교 시에는 다약제 내성균에 대해 높은 MIC 값을 보였다. 티트리 오일의 성분 중에는 1r- α -pinene, α -terpinene 및 terpinene-4-ol이 확인되었는데, 이들 성분들의 상승효과로 다약제 내성균에 대해 높은 항균활성을 나타내는 것으로 보여진다. 타임 오일은 항균성분인 Eugenol (20.57%), γ -terpinene (3.21%) caryophyllene (3.69%), (+)-3-carene (3.64%)을 함유하고 있었으며 5종의 에센셜오일 중에서 가장 넓은 항균 분포도를 보여줌을 확인

할 수 있었다.

Table 6. Minimum inhibitory concentration of essential oils lemongrass against various bacterial strains

Strains	%(v/v)
<i>Alcaligenes faecalis</i> (ATCC 1004)	0.0625
<i>Enterococcus cloacae</i> (ATCC 13047)	0.25
<i>Salmonella typhimrium</i> (KCTC 1925)	0.125
<i>Escherrichia coli</i> (KCTC 1923)	0.125
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KCTC 1637)	0.0625
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	0.125
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC 8043)	0.25
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	0.031
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)	0.031
<i>Mycobacterium smegmatis</i> (ATCC 9341)	0.031
<i>Staphylococcus aureus</i> (KCTC 1928)	0.0625
<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> (ATCC 10537)	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538p)	0.5
MRSA 693E	0.125
MRSA 4-5	0.125
MRSA 5-3	0.125
MRSA S1	0.25
MRSA S3	0.25
MRSA U4	0.25
MRSA P8	0.25
MRSA B15	0.25
VRSA (MRSA2-32)	0.25
VRE 82	0.25
VRE 89	0.25
VRE 98	0.25
VRE 2	0.125
VRE 3	0.125
VRE 4	0.125
VRE 5	0.125
VRE 6	0.25

Strains	%(v/v)
IMP 100	0.25
IMP 102	0.25
IMP 120	>1
IMP 123	>1
IMP 129	0.125
ESBL LMH-B1	0.25
ESBL LMH-P3	0.25
ESBL LMH-S1	0.25
ESBL LMH-U4	0.25
ESBL LMH-W1	0.25

Table 7. Minimum inhibitory concentration of essential oils manuka against various bacterial strains

Strains	%(v/v)
<i>Alcaligenes faecalis</i> (ATCC 1004)	0.5
<i>Enterococcus cloacae</i> (ATCC 13047)	>1
<i>Salmonella typhimrium</i> (KCTC 1925)	1
<i>Escherichia coli</i> (KCTC 1923)	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KCTC 1637)	0.0625
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	0.0625
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC 8043)	>1
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	0.125
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)	0.0625
<i>Mycobacterium smegmatis</i> (ATCC 9341)	1
<i>Staphylococcus aureus</i> (KCTC 1928)	0.0625
<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> (ATCC 10537)	0.0625
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538p)	0.125
MRSA 693E	0.0625
MRSA 4-5	0.0625
MRSA 5-3	0.0625
MRSA S1	0.0625
MRSA S3	0.0625
MRSA U4	0.0625
MRSA P8	0.0625
MRSA B15	0.0625
VRSA (MRSA2-32)	0.0625
VRE 82	0.0625
VRE 89	0.0625
VRE 98	0.0625
VRE 2	0.125
VRE 3	0.125
VRE 4	0.125
VRE 5	0.125
VRE 6	0.125

Strains	%(v/v)
IMP 100	0.25
IMP 102	0.25
IMP 120	>1
IMP 123	>1
IMP 129	0.125
ESBL LMH-B1	0.25
ESBL LMH-P3	0.25
ESBL LMH-S1	0.25
ESBL LMH-U4	0.25
ESBL LMH-W1	0.25

Table 8. Minimum inhibitory concentration of essential oils ravenara against various bacterial strains

Strains	%(v/v)
<i>Alcaligenes faecalis</i> (ATCC 1004)	4
<i>Enterococcus cloacae</i> (ATCC 13047)	>4
<i>Salmonella typhimrium</i> (KCTC 1925)	4
<i>Escherrichia coli</i> (KCTC 1923)	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KCTC 1637)	4
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	4
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC 8043)	>4
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	2
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)	2
<i>Mycobacterium smegmatis</i> (ATCC 9341)	2
<i>Staphylococcus aureus</i> (KCTC 1928)	4
<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> (ATCC 10537)	1
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538p)	1
MRSA 693E	2
MRSA 4-5	1
MRSA 5-3	2
MRSA S1	4
MRSA S3	4
MRSA U4	2
MRSA P8	2
MRSA B15	2
VRSA (MRSA2-32)	2
VRE 82	2
VRE 89	2
VRE 98	2
VRE 2	4
VRE 3	>4
VRE 4	>4
VRE 5	>4
VRE 6	>4

Strains	%(v/v)
IMP 100	2
IMP 102	2
IMP 120	4
IMP 123	4
IMP 129	4
ESBL LMH-B1	>4
ESBL LMH-P3	>4
ESBL LMH-S1	>4
ESBL LMH-U4	>4
ESBL LMH-W1	>4

Table 9. Minimum inhibitory concentration of essential oils tea tree against various bacterial strains.

Strains	%(v/v)
<i>Alcaligenes faecalis</i> (ATCC 1004)	0.5
<i>Enterococcus cloacae</i> (ATCC 13047)	0.5
<i>Salmonella typhimrium</i> (KCTC 1925)	0.5
<i>Escherrichia coli</i> (KCTC 1923)	0.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KCTC 1637)	0.5
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	>1
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC 8043)	0.5
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	0.125
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)	0.5
<i>Mycobacterium smegmatis</i> (ATCC 9341)	0.25
<i>Staphylococcus aureus</i> (KCTC 1928)	0.5
<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> (ATCC 10537)	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538p)	0.5
MRSA 693E	0.025
MRSA 4-5	0.025
MRSA 5-3	0.025
MRSA S1	1
MRSA S3	1
MRSA U4	0.025
MRSA P8	1
MRSA B15	1
VRSA (MRSA2-32)	1
VRE 82	1
VRE 89	1
VRE 98	1
VRE 2	0.5
VRE 3	0.5
VRE 4	0.5
VRE 5	0.5
VRE 6	1

Strains	%(v/v)
IMP 100	0.0625
IMP 102	0.0625
IMP 120	>1
IMP 123	1
IMP 129	0.5
ESBL LMH-B1	0.5
ESBL LMH-P3	0.5
ESBL LMH-S1	0.5
ESBL LMH-U4	0.5
ESBL LMH-W1	0.5

Table 10. Minimum inhibitory concentration of essential oils thyme against various bacterial strains

Strains	%(v/v)
<i>Alcaligenes faecalis</i> (ATCC 1004)	0.25
<i>Enterococcus cloacea</i> (ATCC 13047)	0.5
<i>Salmonella typhimrium</i> (KCTC 1925)	0.125
<i>Escherrichia coli</i> (KCTC 1923)	0.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KCTC 1637)	0.5
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	0.25
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC 8043)	0.5
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	0.0625
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)	0.0625
<i>Mycobacterium smegmatis</i> (ATCC 9341)	0.0625
<i>Staphylococcus aureus</i> (KCTC 1928)	0.125
<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> (ATCC 10537)	0.25
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538p)	0.25
MRSA 693E	0.25
MRSA 4-5	0.25
MRSA 5-3	0.25
MRSA S1	0.5
MRSA S3	0.5
MRSA U4	0.5
MRSA P8	0.5
MRSA B15	0.5
VRSA (MRSA2-32)	0.25
VRE 82	0.5
VRE 89	0.5
VRE 98	0.5
VRE 2	0.25
VRE 3	0.5
VRE 4	0.5
VRE 5	0.5
VRE 6	0.5

Strains	%(v/v)
IMP 100	0.125
IMP 102	0.125
IMP 120	0.125
IMP 123	0.5
IMP 129	0.25
ESBL LMH-B1	0.5
ESBL LMH-P3	0.5
ESBL LMH-S1	1
ESBL LMH-U4	0.5
ESBL LMH-W1	1

C. 에센셜오일의 항산화 효능 평가

Figure 1에서 보여지는 바와 같이 5종의 에센셜오일은 DPPH 유효산소의 저해 활성을 나타냈으며, 농도 의존적으로 활성이 증가되었다. 레몬그라스 오일(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 56.7%), 마누카 오일(200 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 44.4%), 라벤자라 오일(500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 39.8%) 및 티트리 오일(500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 14%)은 ascorbic acid에 비해서는 현저히 낮은 억제 활성을 나타냈으나, 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 DPPH 유효산소 저해도를 비교했을 때, 타임 오일(44.14%)은 ascorbic acid (40.9%)와 유사한 항산화능을 보임을 확인할 수 있었다.

환원력 실험을 통해 에센셜오일의 항산화능을 측정된 결과는 Figure 2에서 보여지는 바와 같다. 오일은 농도 의존적인 환원력을 보였으며, 환원력의 크기는 타임 오일 > 마누카 오일 > 레몬그라스 오일 = 티트리 오일 > 라벤자라 오일 순으로 확인할 수 있었다. 에센셜오일 5종 모두 대조군으로 사용된 ascorbic acid와 비교할 때 높은 환원력을 보여줌을 확인할 수 있었다.

레몬그라스 오일은 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서, 라벤자라 오일 및 티트리 오일은 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서는 50 μg ascorbic acid eq./ml에 해당하는 환원력을 나타냈으며, 마누카 오일은 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서는 100 μg ascorbic acid eq./ml에 해당하는 환원력을 나타내었다. 타임 오일의 경우에는 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서는 500 μg ascorbic acid eq./ml에 해당하는 환원력을 보여 에센셜오일들 중에서 가장 높은 환원력을 보였다.

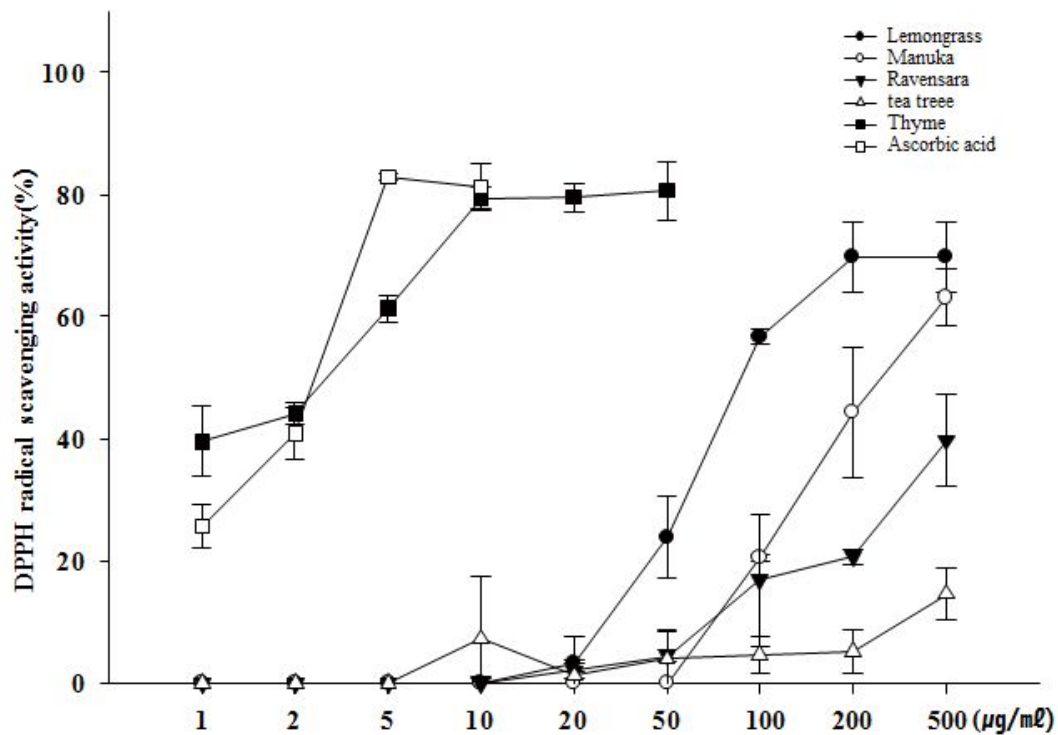


Figure 1. DPPH radical scavenging activities of essential oils.

Ascorbic acid was taken as the standard antioxidant. Samples were taken from the range of 10-1,000 $\mu\text{g/ml}$ Each value is expressed as mean \pm SD (n=3).

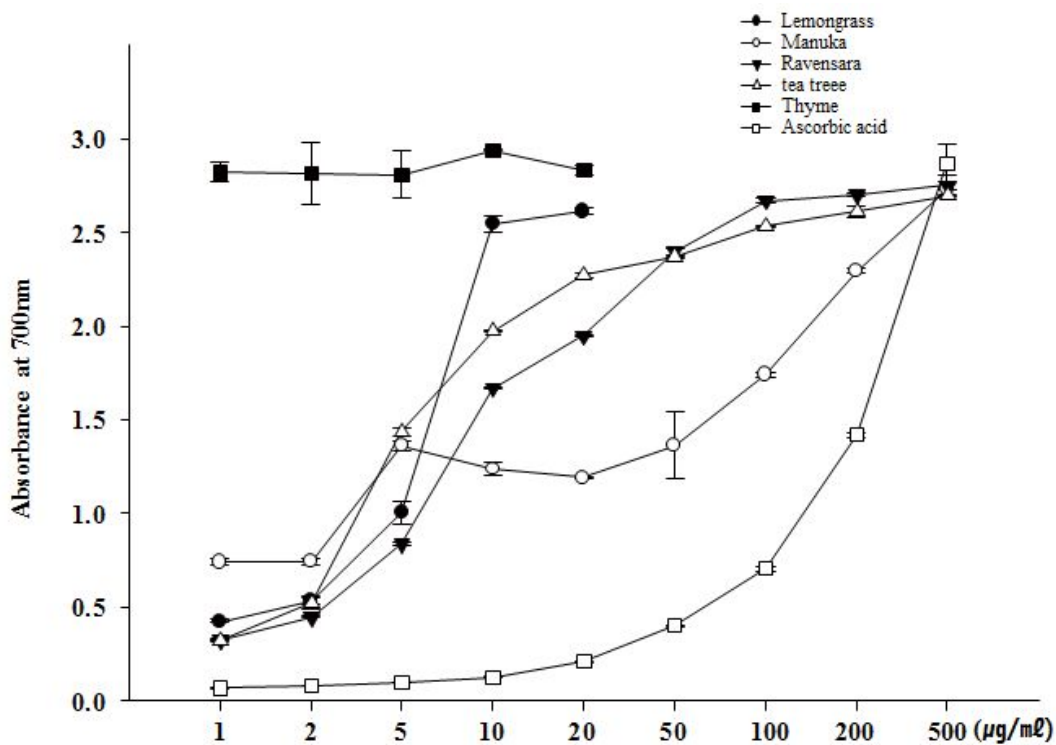


Figure 2. Reducing powers of essential oils.

The absorbance (700 nM) was plotted against concentration of the samples. All values are mean±SD of triplicates. (n=3).

D. 에센셜오일에 의한 세포 생존율 변화

에센셜오일 5종의 세포 독성을 알아보기 위하여 세포주를 이용하여 MTT assay를 수행하였다. 세포 주를 96 well에서 배양한 후 0, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 3, 5, 10, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 희석하여 24시간 동안 처리한 후 세포 생존율 변화를 관찰하였다. 모든 에센셜오일에서 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지는 세포 생존율에서 큰 변화를 나타내지는 않았다. 그러나 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 농도에서는 농도가 증가할수록 세포 생존율이 급격하게 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Figure 3).

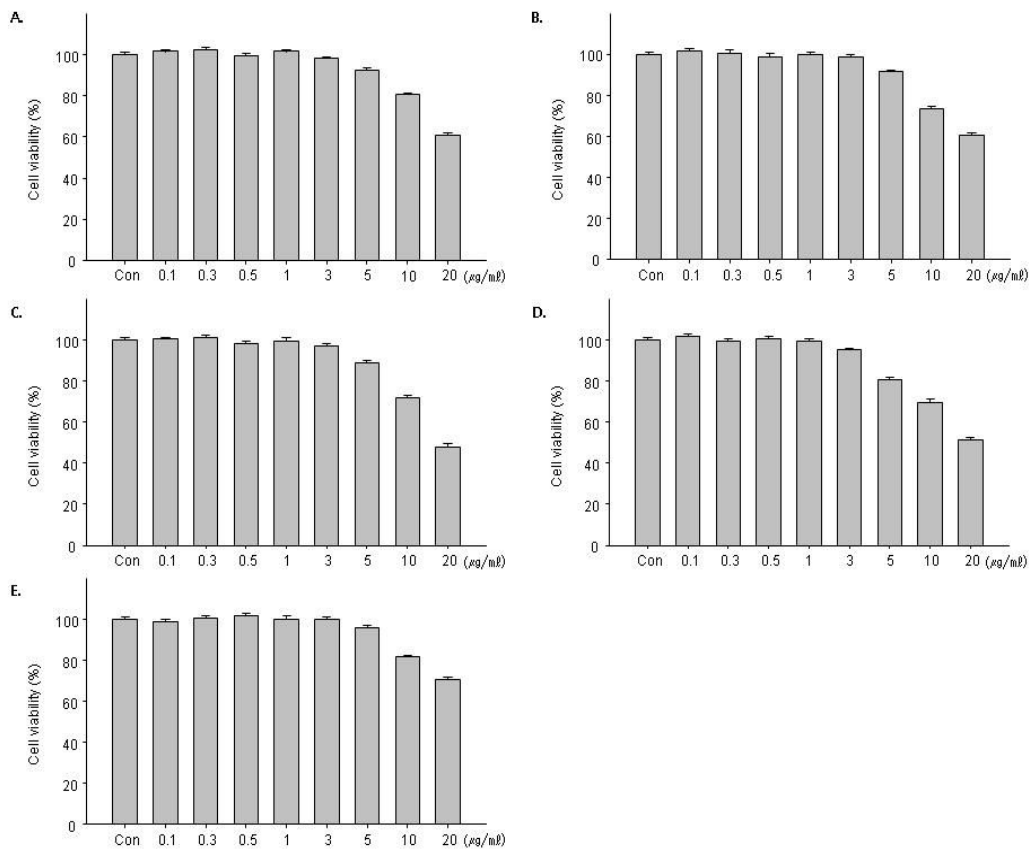


Figure. 3. Effects of essential oils on cell viability in SH-SY5Y cells.

The cells were incubated with essential oil (final concentration: 0, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 3, 5, 10 $\mu\text{g/ml}$) for 24 hrs in 5% CO_2 incubator at 37°C. The amount of living cells was measured using MTT. The data are represented as means \pm SD of three independent experiments.

A. lemongrass: B. manuka: C. ravensara: D. tea tree: E. thyme

E. 에센셜오일의 세포 손상 억제 효과

에센셜오일 5종이 rotenone에 의해 유도된 산화적 스트레스 상태에서 SH-SY5Y 세포에 대한 보호효과를 나타내는지를 알아보기 위해 에센셜오일 5종을 2시간 전 처리한 후 5 μ m의 rotenone을 24시간 동안 처리한 결과는 Figure 4와 같다. 정상 세포에 비해 rotenone이 처리된 세포에서는 약 50% 정도로 LDH 방출량이 증가됨을 확인 할 수 있었다. 타임 오일과 마누카 오일이 처리 된 세포에서는 농도가 증가할 수록 LDH의 방출량이 감소됨을 확인할 수 있었지만 레몬그라스 오일, 라벤자라 오일, 티트리 오일에서는 LDH 방출량이 감소하지 않았다. 이 결과들은 에센셜오일 (타임 오일, 마누카 오일)이 rotenone에 의한 SH-SY5Y 신경세포의 손상을 억제한다는 것을 나타내고 있다.

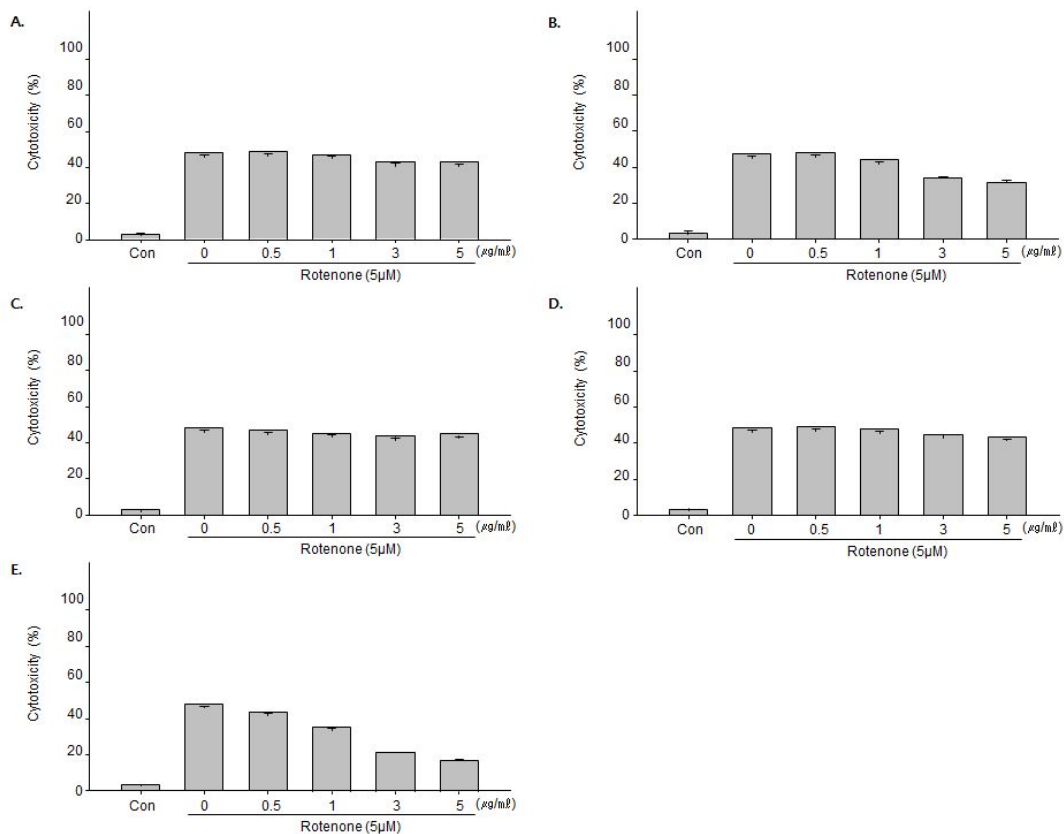


Figure 4. Protective effect of essential oils on Rotenone-induced cytotoxicity in SH-SY5Y cells.

The cells were pretreated with various concentrations of essential oils for 2hrs before exposure to rotenone for 24hrs. The cell viability was determined by LDH assay. The data are represented as means±SD of three independent experiments.

A. lemongrass: B. manuka: C. ravensara: D. tea tree: E. thyme

F. 에센셜오일의 세포내 활성산소 생성 억제 효과 평가

활성산소(ROS)는 다양한 세포들에서 핵속핵산분해효소(endonuclease)를 활성화시켜 DNA 손상을 유도하여 세포자멸사를 야기한다고 보고되어 있다[30].

DCFH-DA는 세포내 DCFH로 전환되며 세포 내에 축적되어 세포 내 존재하는 ROS와 반응하여 형광물질로 전환된다. Figure 5는 에센셜오일을 2시간 전 처리한 후 rotenone을 처리하였을 때, SH-SY5Y 세포 내의 ROS 생성에 미치는 영향을 DCFHDA를 이용하여 측정된 결과를 나타냈다. 5 μ m의 rotenone만 처리한 세포에서는 대조군 (100%)에 비하여 약 250%로 ROS의 생성이 증가하였다. 에센셜오일을 처리한 결과, 타임 오일과 마누카 오일이 처리 된 세포에서는 농도가 증가할수록 ROS의 생성이 감소됨을 확인할 수 있었지만 레몬그라스 오일, 라벤자라 오일, 티트리 오일에서는 농도가 증가하여도 ROS의 생성이 감소되지 않음을 확인할 수 있었다. 이 결과는 에센셜오일 (타임 오일, 마누카 오일)이 rotenone에 의해 유도된 ROS에 의한 신경세포 사멸에 대해 보호작용이 있음을 나타내고 있다.

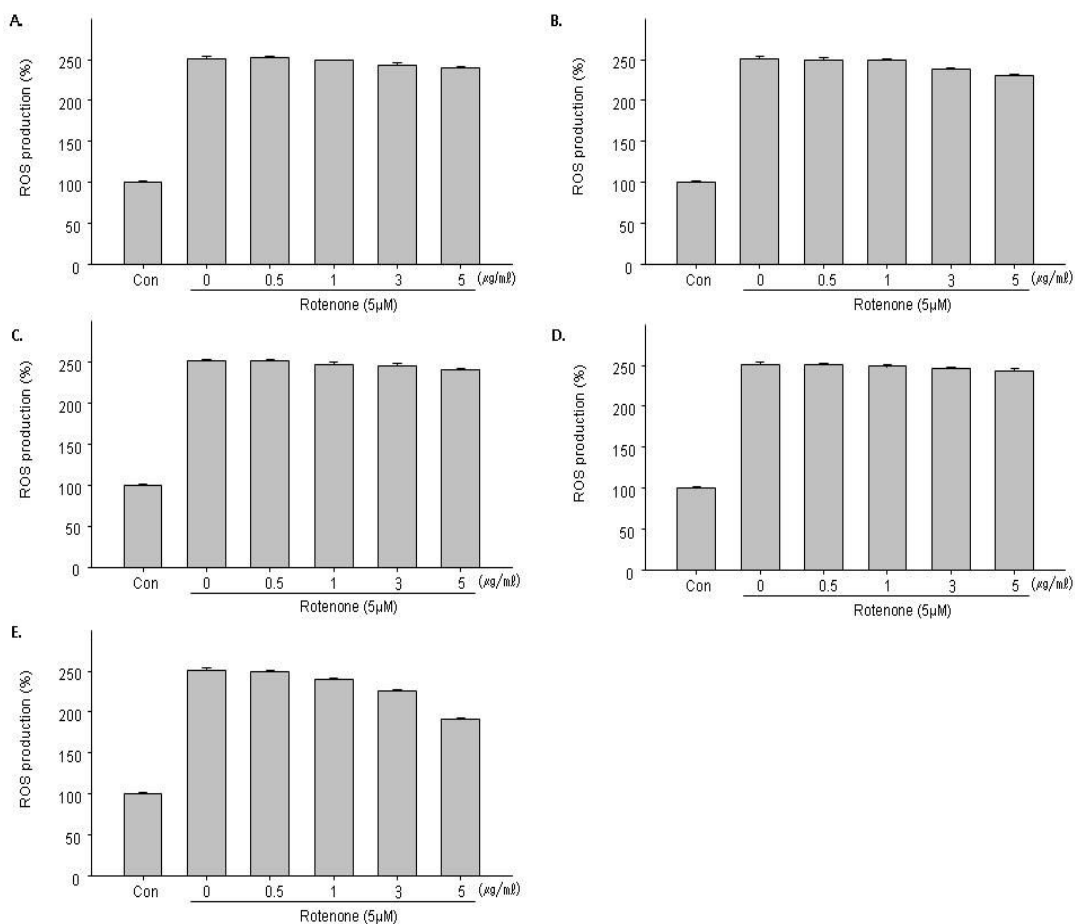


Figure 5. Effects of essential oils on rotenone-induced reactive oxygen species (ROS) generation in SH-SY5Y cells.

The cells were pretreated with various concentrations of essential oils for 2hrs before exposure to rotenone for 6hrs. The ROS production was determined using DCFDA, and the DCF fluorescence was expressed as folds of the control. The data are represented as means±SD of three independent experiments.
 A. lemongrass: B. manuka: C. ravensara: D. tea tree: E. thyme

IV. 고 찰

레몬그라스 오일의 주성분인 citral은 Lemon myrtle (90-98%), Litsea citrata (90%), Litsea cubeba (70-85%), lemongrass (65-85%), lemon tea-tree (70-80%), Ocimum gratissimum (66.5%), Linderia citriodora (65%), Calypranthes parriculata (62%) 등에 널리 함유되어 있으며 항균 활성을 가지는 것으로 보고되어 있다 [31-34].

마누카 오일은 *Leptospermum scoparium*에서 추출한 에센셜오일로서, 항균 및 항염증 등의 효과를 가지는 것으로 알려져 있으며 구성 성분으로 cubebene, copaene, slemene, gurjunene, caryophyllene, selinene, calamenene 및 cadinene계 물질 등이 알려져 있다[35-37]. 또한 라벤자라 오일에는 항균 활성을 가지는 물질로 1r- α -pinene, 4(10)-thujene, -pinene, eucalyptol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyclohexene-1-ol, 4-allyl anisole, α -caryophyllene, β -caryophyllene, methyleugenol 등이 알려져 있다[38].

Lis-Balchin 등[39]은 에센셜오일의 성분 중에 α -pinene, terpinene-4-ol, α -terpinene, β -terpinene, γ -terpinene 등이 그람음성 세균 및 그람양성 세균에 넓은 항균활성을 가지고 있는 것으로 보고하였으며, terpinene 중에서 α -terpinene와 β -terpinene의 항균력이 우수하며 γ -terpinene는 낮은 항균활성을 가지는 것으로 보고하였다. Terpinene-4-ol 및 1.8-cineol도 다양한 병원 미생물에 항균활성을 가지는 것으로 보고되었다. 마누카 오일에 함유된 α -copaene은 *B. subtilis*, *S. aureus* 등의 세균에 항균활성을 보이는 것으로 보고되고 있다[40-41]. 라벤자라 오일의 성분 중에서 1r- α -pinene, 4(10)-thujene, α -caryophyllene, β -caryophyllene이 항균 효과와 관련이 있는데, β -caryophyllene의 항균 활성에 대해서 많은 보고가 있고, 특히 광산화된 β -caryophyllene은 그 항균 활성이 증가하는 것으로 보고되고 있다[42]. Eugenol은 그람양성 및 음성 세균에 대하여 광범위한 항균활성을 가지는 것으로 보고되어 있으며, 다양한 물질들과 함께 사용할 경우에 항균활성이 상승되는 것으로 알려져 있다[43-44]. (+)-3-carene과 β -linalool은 *S. aureus*, *E.*

coli, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia* 및 *C. albicans*에 대해서 항균활성이 있는 것으로 보고되어 있다[19, 43,-45.]. 그러나 본 연구에서는 라벤자라 오일이 다른 오일들에 비하여 항균활성이 높지 않은 것으로 나타났다(Table 6). 티트리 오일의 성분 중에서 항균활성을 가진 1r- α -pinene (5.87%), α -terpinene (11.25%) 및 terpinene-4-ol (21.38%)이 확인되었는데(Table 4), 이들 성분들의 상승효과로 다약제 내성균에 높은 항균활성을 나타내는 것으로 보여진다(Table 6). 타임 오일은 항균성분인 Eugenol (20.57%), γ -terpinene (3.21%), caryophyllene (3.69%), (+)-3-carene (3.64%)을 함유하고 있었으며 5종의 에센셜오일 중에서 가장 넓은 항균 스펙트럼을 나타내었다(Table 6). 황색포도상구균은 병원감염의 중요한 원인균 중의 하나이며, 1961년 영국에서 MRSA (메티실린 내성 황색포도알균)가 출현한 이후 항생제 치료에 비상이 걸렸다. 2006년 한 해 동안 미국에서 9만 4천명이 MRSA에 감염되어 그 중에서 1만 9천명 이상이 사망한 것으로 알려졌다. 이어서 1996년에 일본에서 항생제 중에서 가장 강력하다고 알려진 반코마이신에 내성을 보이는 VRSA (반코마이신 내성 황색포도알균)가 출현하였다[46]. 이 균은 면역력이 약해진 인체에 감염될 경우 어떤 항생제도 듣지 않아 결국 패혈증을 유발시켜 생명을 위협하는 초강력 세균이므로 이를 슈퍼박테리아라고 부르고 있다. Enterococcus는 *E. faecalis*, *E. faecium* 등 19 종이 알려져 있다. 인체에서 검출되는 장알균은 *E. faecalis*가 가장 흔하다. *E. faecium*은 *E. faecalis*에 비해 항생제 내성 정도가 더 심하여 병원 감염 측면에서 더 중요하다. 항생제의 내성은 새로운 항생제의 개발 속도보다 훨씬 빨라서 항생제 내성균의 치료에 심각한 문제를 야기하고 있다. 따라서 내성 균주에 의한 감염질환의 치료를 위해서 항생제가 아닌 천연 물질의 개발에 연구자들의 관심이 쏠리고 있다. 본 연구에서는 라벤자라오일을 제외한 레몬그라스 오일, 마누카 오일, 티트리 오일, 타임 오일등에 함유된 유기화합물들이 항생제 내성을 갖는 메티실린 내성 황색포도알균 (MRSA), 반코마이신 내성 장구균 (VRE), *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* 및 *E. faecalis* 등에 광범위한 항균작용을 나타낸다는 것을 확인하였다. 따라서 이들 에센셜오일이 항생제 내성 균주에 의한 감염을 예방할 수 있는 소재로서의 충분한 가능성을 제시하였다. 또한 에센셜오일 성분의 항산화능을 확인함으로써 에센셜오일 성분이 세균성질환의 예방 및 치료에 유효할 뿐 아니라 노화, 산패 억제에도 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구에서는 시판중인 에센셜오일 5종을 GC-MS 분석을 통하여 성분을 분석하였다. 또한 일반세균 및 다약제 내성 세균에 대한 항균활성과 항산화능을 평가하였다. 레몬그라스 오일의 경우에는 일부 IMP를 제외한 모든 시험 균주에서 고른 항균 스펙트럼을 보였으며 MIC 값은 0.0625-0.25%였다. 마누카 오일은 레몬그라스 오일과 비슷한 항균활성을 가지고 있음을 확인하였다. 라벤자라 오일은 고른 항균 분포도를 나타내었지만, 다른 오일들과 비교 시에는 낮은 MIC 값 (1-4%)을 보여주었다. 티트리 오일은 0.025-1% 범위에서 *E. faecalis* ATCC 29212 및 IMP 120 균주를 제외한 모든 균주에서 항균력을 보여주었다. 타임 오일은 모든 시험균주에 감수성을 가지고 있었으며 MIC 값은 0.0625-1%였다. 항산화 효능평가 결과, 5종의 에센셜오일 모두 농도 의존적으로 DPPH 유해산소 저해 및 환원력을 가지고 있었으며, 타임 오일이 가장 높은 항산화능을 보였다.

이상의 결과를 종합하였을 때 5종의 에센셜오일들은 모두 고른 항균 및 항산화능을 가지고 있음을 확인할 수 있었고, 이 중 타임 오일이 가장 높은 항균활성 및 항산화능을 가지고 있어 천연 항균 항산화제로써의 가치가 있다고 생각되었다. 본 논문에서는 GC-MS 분석을 통해 에센셜오일 속에 존재하는 다양한 항균활성을 나타내는 물질을 확인하였다. 향 후 정확한 항균활성 물질들 간의 상승효과를 규명하기 위해서는 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 또한 5종의 에센셜오일의 항산화 활성이 산화적 스트레스에 의한 신경세포 사멸에 억제에 영향을 미치는지를 알아본 결과, 가장 높은 항산화능을 가지고 있는 타임 오일이 신경세포 사멸 억제 효과를 나타냈으며, 레몬그라스 오일, 라벤자라 오일, 티트리 오일에서는 나타나지 않았다.

본 연구는 국내 시판중인 에센셜오일 5종의 성분분석, 향미생물 및 항산화 활성을 처음으로 비교 분석한 연구 논문으로써 향 후 아로마테라피스트의 에센셜오일의 치료적 이용에 학문적으로 뒷받침이 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Cho SJ (2006) The miracle of aromatherapy. Se-kyung press, Seoul, South Korea.
2. Tisserand R & Balacs T (1996) Essential oil safety: A guide for health care professionals. pp. 5-23, Churchill Livingstone, Oxford,UK.
3. Raman A, Weir U, & Bloomfield SF (1995) Antimicrobial effects of tea-tree oil and its major components on *Staphylococcus aureus*, *Staph. epidermidis* and *Propionibacterium acnes*. *Letters in applied microbiology* 21(4):242-5.
4. Rashid S, Rather MA, Shah WA, & Bhat BA (2013) Chemical composition, antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil of *Artemisia indica* Willd. *Food chemistry* 138(1):693-700.
5. Wang J, et al. (2010) Antimicrobial and antioxidant activities of the root bark essential oil of *Periploca sepium* and its main component 2-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde. *Molecules* 15(8):5807-17.
6. Caldefie-Chezet F, et al. (2004) Anti-inflammatory effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on human polymorphonuclear neutrophils and monocytes. *Free radical research* 38(8):805-11.
7. Medeiros R, et al. (2007) Effect of two active compounds obtained from the essential oil of *Cordia verbenacea* on the acute inflammatory responses elicited by LPS in the rat paw. *British journal of pharmacology* 151(5):618-27.
8. Su YC & Ho CL (2013) Composition, in-vitro anticancer, and antimicrobial activities of the leaf essential oil of *Machilus mushaensis* from Taiwan. *Natural product communications* 8(2):273-5.
9. Sylvestre M, Pichette A, Longtin A, Nagau F, & Legault J (2006) Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. *Journal of ethnopharmacology* 103(1):99-102.

10. Carson CF, Cookson BD, Farrelly HD, & Riley TV (1995) Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 35(3):421-4.
11. Muthaiyan A, et al. (2012) Antimicrobial effect and mode of action of terpeness cold-pressed Valencia orange essential oil on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of applied microbiology* 112(5):1020-33.
12. Nostro A, et al. (2004) Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS microbiology letters* 230(2):191-5.
13. Blackwell R (1991) An insight into aromatic oils lavender and tea tree. *Phytotherapy* 2(1):25-30.
14. Yoo WY, Lee HJ, Kim S, Bae MS, Lee MJ, Shim JH, Cho SS. (2014) Chemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of commercially available essential oils against multidrug resistant bacteria. *Journal of Life Science* 24(3):266-73.
15. 유미경 (2002) 허브 추출물의 항균 특성에 관한 연구. 부경대학교 산업대학원.
16. Emerit, J., M. Edeas, and F. Bricaire (2004) Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Biomed. Pharmacother.* 58, 39-46.
17. Migliore, L. and Copped, F. (2009) Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. *Mutat. Res.* 31, 73.
18. Breitenbach M, Ralser M, Perrone GG, Iglseder B, Rinnerthaler M, Dawes IW. (2013) Oxidative stress and neurodegeneration: the yeast model system. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 18:1174-93.
19. Didry N, Dubreuil L, & Pinkas M (1994) Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. *Pharmaceutica acta Helvetiae* 69(1):25-8.
20. Choi BS, Kim H, Lee HJ, Sapkota K, Park SE, Kim S, Kim SJ. (2014) Celastrol from 'Thunder God Vine' protects SH-SY5Y cells through the preservation of mitochondrial function and inhibition of p38 MAPK in a

- rotenone model of Parkinson's disease. *Neurochem Res.* 39(1):84–96.
21. Persson T, Popescu BO, Cedazo-Minguez A. (2014) Oxidative Stress in Alzheimer's Disease: Why Did Antioxidant Therapy Fail? *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:427318.
 22. Olanow, C. W., Watts, R. L. and Koller, W. C. (2001) An algorithm (decision tree) for the management of Parkinson's disease treatment guidelines. *Neurology* 56, 1
 23. Cheng, N., Maeda, T., Kume, T., Kaneko, S., Kochiyama, H., Akaike, A., Goshima, Y. and Misu. (1996) Differential neurotoxicity induced by L-DOPA and dopamine in cultured striatal neurons. *Brain Res.* 16, 278.
 24. Park SE, Sapkota K, Choi JH, Kim MK, Kim YH, Kim KM, Kim KJ, Oh HN, Kim SJ, Kim S. (2014) Rutin from *Dendropanax morbifera* Leveille protects human dopaminergic cells against rotenone induced cell injury through inhibiting JNK and p38 MAPK signaling. *Neurochem Res.* 39:707 - 718.
 25. CLSI (2007) Clinical and Laboratory Standards Institute : Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventh informational supplement. 27, pp98-114, USA
 26. Hazra B, Biswas S, & Mandal N (2008) Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. *BMC complementary and alternative medicine* 8:63.
 27. Ma R, Xiong N, Huang C, Tang Q, Hu B, Xiang J, Li G. (2009) Erythropoietin protects PC12 cells from beta-amyloid(25 - 35)-induced apoptosis via PI3K/Akt signaling pathway. *Neuropharmacology* 56(6 - 7):1027 - 34.
 28. Zhang Z, Cao X, Xiong N, Wang H, Huang J, Sun S, Liang Z, Wang T. (2010) DNA polymerase-beta is required for 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced apoptotic death in neurons. *Apoptosis* 15(1):105 - 15.
 29. Koopman G, Reutelingsperger CP, Kuijten GA, Keehnen RM, Pals ST, van

- Oers MH: Annexin V for flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on B cells undergoing apoptosis. *Blood* 1994, 84(5):1415 - 20.
30. Choi I (2013). Reactive oxygen species and cancer. *Hanyang Medical Reviews*, 33(2), 118-122
 31. Fenaroli G, Furla, T.E., Bellanca, N., *Handbook of Flavor Ingredients*. 6th ed, CRC press, Florida, USA.
 32. Lawless J., *The Illustrated Encyclopedia of Essential Oils*. pp. 167, Element Books Ltd, Rockport MA, USA.
 33. Migliore, L. and Copped, F. (2009) Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. *Mutat. Res.* 31, 73.
 34. Stevens KL, Jurd L, King AD, Jr., & Mihara K (1971) The antimicrobial activity of citral. *Experientia* 27(5):600-2.
 35. Maddocks-Jennings W, Wilkinson JM, Cavanagh HM, & Shillington D (2009) Evaluating the effects of the essential oils *Leptospermum scoparium* (manuka) and *Kunzea ericoides* (kanuka) on radiotherapy induced mucositis: a randomized, placebo controlled feasibility study. *European journal of oncology nursing : the official journal of European Oncology Nursing Society* 13(2):87-93.
 36. Onawunmi GO (1989) Evaluation of the antimicrobial activity of citral. *Letters in applied microbiology* 9(3):105-8.
 37. Porter NG & Wilkins AL (1999) Chemical, physical and antimicrobial properties of essential oils of *Leptospermum scoparium* and *Kunzea ericoides*. *Phytochemistry* 50(3):407-15.
 38. Schmidt, E., Jirovetz, L., Buchbauer, G., Denkovac, Z., Stoyanov, A., Murgovc, I. and Geissler, M (2005) Antimicrobial Testings and Gas Chromatographic Analyses of Aroma Chemicals. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 8(1):99-106.
 39. Lis-Balchin M, Hart SL, & Deans SG (2000) Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils (*Melaleuca alternifolia*,

- Leptospermum scoparium or Manuka and Kunzea ericoides or Kanuka), originating in Australia and New Zealand. *Phytotherapy research* : PTR 14(8):623-9.
40. Iscan G, et al. (2012) Biotransformation of (-)-(R)-alpha- phellandrene: antimicrobial activity of its major metabolite. *Chemistry & biodiversity* 9(8):1525-32.
 41. Solís, C., Becerra, J., Flores, C., Robledo, J. and Silva, M (2004) Antibacterial and antifungal terpenes from *Pilgerodendron uviferum* (D. DON) FLORIN. *Journal of the Chilean Chemical Society* 49(2):157-61.
 42. Kim YS, et al. (2008) Antibacterial compounds from Rose Bengal- sensitized photooxidation of beta-caryophyllene. *Journal of food science* 73(7):C540-545.
 43. Narayanan A, Neera, Mallesha, & Ramana KV (2013) Synergized antimicrobial activity of eugenol incorporated polyhydroxybutyrate films against food spoilage microorganisms in conjunction with pediocin. *Applied biochemistry and biotechnology* 170(6):1379-88.
 44. Shah B, Davidson PM, & Zhong Q (2013) Nanodispersed eugenol has improved antimicrobial activity against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in bovine milk. *International journal of food microbiology* 161(1):53-9.
 45. Bevilacqua A, Corbo MR, & Sinigaglia M (2010) In vitro evaluation of the antimicrobial activity of eugenol, limonene, and citrus extract against bacteria and yeasts, representative of the spoiling microflora of fruit juices. *Journal of food protection* 73(5):888-94.
 46. Jae Hoon Song (2011) Antimicrobial resistance in gram-positive cocci : past 50 years, present and future 43(6):443-449