

# 천연 물질의 항균 효과

조춘구, 한창규\*

승실대학교 환경·화학공학과, \*라미화장품 피부과학연구소

## The effect of Natural Antimicrobial Agent

Choon Koo Zhoh, Chang Giu Han\*

Department of Chemical & Environmental Engineering, Soong Sil University

\*Lamy Dermal Scientific Research Institute

### 요 약

천연 물질로 지용성인 뉴질랜드산 차나무 정유(Manuka oil), 그 구성 성분인  $\alpha$ -pinene, Oxy'less clear, 수용성인 자몽 종자 추출물(Citrex) 및 그 구성성분인 R-limonene의 항균력을 측정 평가하여 항균력을 보다 향상시키고 광범위하게 사용할 수 있는 방부제의 처방을 제안하였다.

항균력 측정에는 disk diffusion법이 사용되었으며, 균주로는 그람 음성균인 *Escherichia coli*와 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus*을 사용하였다. Manuka oil과  $\alpha$ -pinene은 항균력이  $10\mu\text{l}/\text{paper disk}$ 일 때에는 큰 차이가 없었으나  $2\mu\text{l}/\text{paper disk}$ 이하의 소량의 시료에서는 Manuka oil이  $\alpha$ -pinene에 비해 월등하게 우수하였다. Citrex가 R-limonene보다 두 균주에 대하여 항균력이 모든 농도에서 우수한 성능을 보였다. Oxy'less clear은 두 균주에 대하여 모든 농도에서 파라벤류 propyl para hydroxybenzoate(PPHB)나 R-limonene보다는 항균효과가 우수하며  $\alpha$ -pinene과는 비슷하게 나타났고, Manuka oil과 Citrex보다 약간 낮게 나타났다. 이상을 종합해 본 결과 Manuka oil과 Citrex가 다른 물질들에 비해 항균력이 가장 우수한 것으로 나타났다. 항균력이 우수한 지용성 물질 Manuka oil과 확산도가 큰

수용성 물질 Citrex를 적절히 혼합하여 항균력을 향상시키고 광범위하게 사용할 수 있는 이상적인 혼합비(Manuka oil : Citrex)를 구하였는데 *Escherichia coli*에 대해서는 75 : 25이었고 *Staphylococcus aureus*에 대해서는 25 : 75 이었다.

## Abstract

Manuka oil named New Zealand's tea tree oil is oil-soluble and comes from nature. Manuka oil and its extract  $\alpha$ -pinene, Oxy'less clear, R-limonene which is one of the component of Citrex extracted from Grapefruit seed and Citrex were used to estimate the antimicrobial activity and to improve the capability of antiseptic. Disk diffusion method was used to measure the antimicrobial activity. *Escherichia coli* which is gram-negative bacteria and *Staphylococcus aureus* which is gram-positive bacteria were used as strain. The antimicrobial activity of Manuka oil and  $\alpha$ -pinene for *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* was similar when the concentration of Manuka oil and  $\alpha$ -pinene are  $10\mu\ell$ /paper disk. However, antimicrobial activity of Manuka oil for *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* was better than that of  $\alpha$ -pinene when the concentration of Manuka oil and  $\alpha$ -pinene was low. Antimicrobial activity of Oxy'less clear is better than that of propyl para hydroxybenzoate(PPHB), R-limonene at all the concentration and is similar to that of  $\alpha$ -pinene. Antimicrobial activity of Oxy'less clear is lower than that of Manuka oil and Citrex. Antimicrobial activity of Citrex is superior to that of R-limonene. As a result, the antimicrobial activity of Manuka oil and Citrex for two strains is better than that of the other antiseptics.

The proper ratio of Maunka oil and Citrex can improve the antimicrobial activity. The proper ratio obtained from this study was 75% of Maunka oil and 25% of Citrex for *Escherichia coli*, 25% of Maunka oil and 75% of Citrex for *Staphylococcus aureus*.

## 1. 서 론

방부제는 식품의 경우 음식물이 공기 중에 노출될 때 산화되는 것을 방지하며 박테리어나 미생물들에 의해 음식물이 부패되는 것을 막아준다. 여기에는 페놀유도체 butylated hydroxyanisole(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT)를 비롯하여 ethylene diamine tetraacetic

acid(EDTA), 프로피온산 칼슘, 벤조산 나트륨, 아질산 나트륨, 소르브산 등이 많이 사용되고 있다.<sup>1-4)</sup> 특히 BHA와 BHT는 킬레이팅의 작용으로 산화방지제로 쓰이지만 방부제로 쓰이기도 한다. 의약·화장품의 경우에는 식품의 경우보다 좀 더 적극적으로 제품에 대한 안전·안정성을 고려하여 방부의 기능과 역할에 알맞은 적절한 성능을 가진 물질을 방부제로 선택해야만 한다.

본 연구에서는 화장품의 방부제로 기존에 널리 사용되었던 파라벤류의 단점인 자극성을 보완할 수 있는 천연물질의 방부체계를 이루고자 화장품 기체의 수용성과 지용성 부분 모두에 대하여 식물성 항균제의 방부능을 비교 검토하고 이를 토대로 하여 보다 우수한 항균제를 찾기 위한 기초자료를 얻으려 한다.

천연항균제는 여러 가지가 알려져 있으나 뉴질랜드 원주민의 전통적인 민간요법에서 치료제로 사용된 물질로서 지용성 물질인 뉴질랜드산 차나무 정유(New Zealand's tea tree oil, INCI Name : *Leptospermum scorparium* oil, trade name : Manuka oil)가 있다. 이 물질은 호주에서도 국소 방부제와 항균제로 사용되어지고 있으며<sup>5-8)</sup> terpene계열과 triketone계열의 복합물질로 구성되어 있다. 뉴질랜드산 차나무 정유의 구성물질 중  $\alpha$ -pinene과  $\beta$ -pinene은 monoterpen계열의 bicyclic terpene이며 분자식은  $C_{10}H_{16}$ 이고 안정적인 물질로서 항균제로 사용하고 있다. 또한 호주에서 자라는 식물인 *Melaleuca alternifolia*(tea tree)의 잎에서 추출한 정유는 근 80여 년 간 패혈증세 등에 광범위하게 사용되고 있다.<sup>9)</sup> 최근의 실험결과에 의하면 이 정유가 propion bacterium성 여드름에 대하여, 그리고 methicillin에 내성이 있는 *Staphylococcus aureus*를 포함하여 광범위한 그람 양성균 및 그람 음성균에 대하여 실험 조건 내에서 효과가 있는 것으로 나타났다.<sup>10-12)</sup> 또한 Oxy'less clear는 Rosemary추출물로 항산화제로 널리 쓰이고 있으며 화장품, 샴푸, 비누에도 쓰이고 있으며 방부 효과도 있는 것으로 알려져 있다.<sup>13)</sup>

한편 방부 효과가 있는 것으로 알려진 수용성 물질로는 자몽 종자에서 추출한 Citrex가 있다. 이 물질은 자연 평형 체계에서 작용하는 유기 조성분들이 다각적으로 작용하여 항균효과를 나타내는 것으로 알려져 있으며<sup>14-16)</sup> 구성 성분 중 R-limonene은 항균제로 사용되고 있다.<sup>17)</sup>

따라서 본 연구에서는 그람 음성균주인 *Escherichia coli*와 그람 양성균주인 *Staphylococcus aureus*에 대한 천연 식물성 물질의 항균력을 측정함으로써 천연 식물성 물질의 방부제로서의 이용 가능성을 알아보았다. 시료로는 천연 식물성 물질 가운데 지용성 물질인 뉴질랜드산 차나무 정유와 그 주요 구성물질인  $\alpha$ -pinene, Oxy'less clear을 사용하였으며 수용성 물질로는 자몽 종자 추출물인 Citrex와 그 주요 성분인 R-limonene를 사용하였다.

연구 방법으로는 이들 물질의 항균력을 측정한 후 이들과 파라벤류 방부제인 propyl para hydroxybenzoate(PPHB)의 성능을 비교하고 나아가 이를 토대로 천연 물질을 이용하여 보다 항균능을 높일 수 있는 방안을 제시하고자 한다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 사용 균주 및 배지

천연 식물성 물질과 파라벤류에 대한 항균력을 조사하기 위해 사용한 균주로는 대표적인 그람 음성균주 *Escherichia coli*(ATCC 11105)와 그람 양성균주 *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)를 사용하였다. 두 균주의 배양은 nutrient broth를 사용하였다. 250ml 삼각 플라스크에 nutrient broth를 100ml씩 넣고 고체 배지에 보관중인 백금이로 두 균주를 접종한 후 30℃, 150rpm의 진탕 배양기에서 24시간 배양하였다. 종균 배양액을 멸균된 배지로 희석하여 O.D.(660 nm) 0.5로 균 농도를 일정하게 조절한 후 접종원으로 사용하였다. 균주는 nutrient agar에 보관하였다.

### 2.2 시약 및 시료조제

실험에 사용한 시약은 Manuka oil(Tairawhiti, New Zealand),  $\alpha$ -pinene(Fluka, Swiss), Oxy'less clear(LIBiol, France), 자몽 종자 추출물 Citrex(Quinabra, Brazil), R-limonene(Fluka, Swiss) 및 PPHB(단일화학, Korea)이다. 각 시약은 분석용 시약을 사용하였으며 물은 초순수를 사용하였다.

Manuka oil, Citrex,  $\alpha$ -pinene, R-limonene 및 Oxy'less clear 원액은 점성이 큰 물질들로 정량적으로 시료를 채취하기가 어렵기 때문에 95%에탄올에 부피비 1 : 1 비율로 혼합한 액을 조제하여 모든 항균 실험에 사용하였다.

95% 에탄올과 각 시료를 1 : 1 비율로 혼합한 시료를 각각 2, 4, 8, 16, 20 $\mu$ l/paper disk를 사용하였다. 또한 Manuka oil과 Citrex를 100 : 0, 75 : 25, 50 : 50, 25 : 75, 0 : 100의 비율로 혼합하여 제조한 혼합시료를 각각 2, 4, 8, 16, 20 $\mu$ l/paper disk씩 사용하였다.

### 2.3 Disk Diffusion법을 이용한 최소 저해 농도 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

Disk diffusion법에 의한 항균 실험은 멸균된 배지로 희석하여 O.D.(660 nm) 0.5로 균농

도를 일정하게 하고 멸균된 nutrient agar petri dish에 O.D.(660 nm) 0.5인 접종원을 50 $\mu$ l씩 도말하고 petri dish 중앙에 직경 8mm인 paper disk를 올려놓은 고체배지에서 수행하였다. 에탄올과 각 시료를 1 : 1로 혼합한 혼합액을 각 disk당 2, 4, 8, 16, 20 $\mu$ l를 paper disk 주변에 골고루 적신 후 petri dish를 parafilm으로 sealing한 후 배양기에서 30 $^{\circ}$ C, 72 시간 배양 한 후, 8mm paper disk 주변에 형성된 원형 발육 저지대의 크기를 측정하였다.

항균 실험에 사용된 Manuka oil,  $\alpha$ -pinene, Oxy'less clear, Citrex 및 R-limonene을 에탄올로 1 : 1 희석한 후 항균 실험을 수행하였기 때문에 blank로 95% 에탄올에 의한 항균 효과를 시료 실험과 동일하게 수행하였다.

### 3. 결과 및 고찰

Manuka oil,  $\alpha$ -pinene, Oxy'less clear, Citrex, R-Limonene 및 Manuka oil과 Citrex의 혼합 시료의 항균효과를 PPHB와 비교하였다. 이들 시료는 그람 음성균 *Escherichia coli*(ATCC 11105)와 그람 양성균 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538) 각 균주에 대하여 disk diffusion 법으로 발육 저지대를 측정하였다.

#### 3.1 Manuka oil과 $\alpha$ -pinene 및 Oxy'less clear의 항균효과

*Escherichia coli*(ATCC 11105)에 대한 에탄올, PPHB, Manuka oil,  $\alpha$ -pinene 및 Oxy'less clear의 항균효과를 disk diffusion법으로 측정하고 시료의 농도별로 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1에서와 같이  $\alpha$ -pinene의 발육저지대 크기는 시료의 양이 1 $\mu$ l/paper disk에서 10 $\mu$ l/paper disk로 증가됨에 따라 5 ~ 10mm로 증가하였으며 PPHB의 경우에는 0 ~ 1mm으로 발육저지대가 거의 형성되지 않았다. Manuka oil과  $\alpha$ -pinene의 *Escherichia coli*(ATCC 11105)에 대한 발육저지대를 비교하면 Manuka oil이 특히 소량의 시료인 1 ~ 2 $\mu$ l/paper disk일 때  $\alpha$ -pinene의 2배 정도의 높은 값을 보이고 있다. 이는 Manuka oil이 terpene 계열의  $\alpha$ -pinene외에 triketone계열과 복합물질을 이루고 있으므로 저농도에서는  $\alpha$ -pinene에 비해 상대적으로 휘발성이 더 낮은 triketone계열의 물질때문에 저해능이 보다 높아진 것으로 보인다. 또한 Manuka oil에 함유된 여러 성분들이 복합적으로 작용하여 그 결과 상승효과로 나타나게 됨으로써 특정 단일 성분인  $\alpha$ -pinene보다 강한 항균력을 보이는 것으로 추측할 수 있으므로 앞으로 좀 더 체계적인 연구가 필요하겠다.

Fig. 2는 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대한 에탄올, PPHB, Manuka oil,  $\alpha$

-pinene 및 Oxy'less clear의 항균효과를 disk diffusion법으로 측정하고 시료의 농도별로 나타낸 그림이다. Fig. 1과 2의 결과에서 Manuka oil과  $\alpha$ -pinene 모두 *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) 균주에 대한 저해능이 *Escherichia coli*(ATCC 11105)의 경우보다 크게 나타났으며 특히 농도가 증가할수록 저해능이 더욱 증가하는 현상을 보였다. 두 균주에 대한 Manuka oil과  $\alpha$ -pinene의 항균효과를 비교하면 그람 음성균주인 *Escherichia coli*(ATCC 11105)보다는 그람 양성균주인 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대한 항균효과가 더 우수함을 알 수 있다. Rosemary 추출물로서 뛰어난 항균 효과가 있는 것으로 알려진 Oxy'less clear는 천연물질로서 지용성이다. 이 물질은 항산화제로 널리 쓰이고 있으며 방부 효과가 있는 것으로 알려져 있다. Fig. 1과 2에서와 같이 Oxy'less clear는 그람 음성균주인 *Escherichia coli*(ATCC 11105)에 대해서 전반적으로 Manuka oil과 비슷한 항균능을 보이지만  $\alpha$ -pinene 보다는 우수하였으며 그람 양성균주인 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538) 대해서는 Manuka oil이나  $\alpha$ -pinene보다 항균능이 부족하였다. 에탄올의 경우 *Escherichia coli*(ATCC 11105)에 대하여 모든 농도 범위내에서 1mm의 발육저지대를 형성하였고 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대해서는 농도가 10 $\mu$ l일 때에만 1mm의 발육저지대를 형성하였으므로 blank의 설정에는 문제가 없는 것으로 판단하여 에탄올에 대한 실험 결과로 설정하였다.

### 3.2 Citrex와 R-Limonene의 항균효과

*Escherichia coli*(ATCC 11105)에 대한 에탄올, PPHB, Citrex 및 R-Limonene의 항균 효과를 disk diffusion법으로 측정하고 시료의 농도별로 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3에서와 같이 시료의 양이 1 $\mu$ l/paper disk에서 10 $\mu$ l/paper disk으로 증가함에 따라 *Escherichia coli*(ATCC 11105) 균주에 대한 Citrex와 R-Limonene의 발육저지대의 크기는 각각 11 ~ 19mm, 1.0 ~ 3.5mm로 증가하였다. Fig. 4는 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대한 에탄올, PPHB, Citrex 및 R-Limonene의 항균 효과를 disk diffusion법으로 측정하여 시료의 농도별로 나타낸 그림이다. Fig. 4를 통하여 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대한 Citrex와 R-Limonene의 발육저지대는 시료의 양이 증가함에 따라 각각 14.0 ~ 22.0mm, 1.0 ~ 3.0mm로 증가함을 알 수 있다. 따라서 Citrex는 그람 음성균주인 *Escherichia coli* (ATCC 11105)보다는 그람 양성균주인 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대하여 우수한 항균 효과를 나타내며 R-limonene는 미미하지만 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)보다는 *Escherichia coli*(ATCC 11105)에 보다 우수한 항균력을 보인다고 할 수 있다. *Escherichia coli*(ATCC 11105)와 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대한 단일 시료의 항균능을 비교

하면 Citrex가 R-Limonene보다 월등히 우수하다고 할 수 있다. 이는 Citrex의 구성 성분 중 항산화력과 저항력을 향상시키는 작용이 있는 것으로 알려진 ascorbic acid, citric acid, bioflavonoids, peptides 등의 상호간의 복합작용으로 인하여 Citrex가 R-Limonene보다 우수한 항균능을 나타낸 것으로 사료된다.

### 3.3 Manuka oil과 Citrex의 혼합 시료의 항균 효과

Fig. 1 ~ 4의 결과로부터 Manuka oil의 농도가 증가하여도 더 이상 발육저지대가 증가하지 않는 것은 지용성인 Manuka oil의 확산 속도가 느리기 때문으로 해석할 수 있다.<sup>18,19)</sup> 반면에 Citrex의 경우 저농도에서 뿐만 아니라 농도가 증가할수록 항균능이 커지는 결과를 보이는데 이는 수용성인 Citrex의 확산능이 우수하기 때문이다. 그러나 Manuka oil과 Citrex는 타시료에 비하여  $1\mu\text{l}/\text{paper disk}$ 의 아주 적은 시료로도 두 균주에 대하여 11 ~ 14mm의 발육저지대를 형성하는 매우 우수한 항균력을 보이는 공통점을 갖고 있다. 따라서 항균력이 좋은 Manuka oil의 장점을 살리고 항균력이 좋으면서 확산성이 좋은 Citrex의 성질을 이용하여 이들을 적당한 비율로 혼합하여 사용하면 보다 항균력을 증진시킬 수 있을 것으로 예측할 수 있다.

Manuka oil과 Citrex의 혼합비율(M/C, 100 : 0, 75 : 25, 50 : 50, 25 : 75, 0 : 100)에 따라 *Escherichia coli*(ATCC 11105)와 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대한 항균 효과를 측정하여 Fig. 5와 6에 각각 나타내었다. Fig 5와 6에서와 같이 시료의 양이  $1\mu\text{l}/\text{paper disk}$ 에서  $10\mu\text{l}/\text{paper disk}$ 로 증가함에 따라 전 혼합 비율에 대한 발육저지대의 크기는 점점 증가함을 알 수 있으며 혼합시료 역시 Manuka oil과 Citrex에서 나타난 결과와 비슷하게 그람 음성균주인 *Escherichia coli*(ATCC 11105)보다는 그람 양성균주인 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대하여 약간 높은 항균력이 있음을 확인할 수 있다. Manuka oil과 Citrex를 일정 비율로 혼합하여 시료로 사용한 경우에 *Escherichia coli*(ATCC 11105) 대해서는 Fig. 5에서와 같이 Manuka oil과 Citrex의 비율(M/C)이 75 : 25일 때 시료의 양이  $1\mu\text{l}/\text{paper disk}$ 일 때에 발육저지대가 14mm로 형성되었으며 다른 혼합비율로 같은 양을 사용했을 때보다 크게 나타남을 볼 수 있다. *Staphylococcus aureus*에 대해서는 Manuka oil과 Citrex의 혼합비(M/C)를 25 : 75로 사용한 경우에 Fig. 6에서와 같이 시료  $1\mu\text{l}/\text{paper disk}$ 에서는 생성된 발육저지대가 13mm로서 다른 혼합비율과 비슷하지만  $8\mu\text{l}/\text{paper disk}$ 일 때에는 24mm,  $10\mu\text{l}/\text{paper disk}$ 일 때에는 26mm로 다른 혼합 비율보다 10 ~ 20% 크게 나타남을 알 수 있다. 이것은 Manuka oil과 Citrex가 혼합되어 생기는 상호작용에 의한 것이라고 볼 수 있기 때문에 Manuka oil과 Citrex를 단독으로 사용할 때 보다 적절히 혼합하여 사용하

면 여러 균주에 대하여 높은 항균효과를 얻을 수 있을 것으로 기대할 수 있다. 앞으로 이에 대한 보다 폭넓은 연구를 수행하면 우수한 항균제의 개발이 가능할 것으로 생각된다.

## 4. 결 론

뉴질랜드산 차나무 정유인 Manuka oil과 그 구성 성분인  $\alpha$ -pinene, Oxy'less clear, 자몽종자 추출물인 Citrex 및 그 구성 성분인 R-limonene의 *Escherichia coli*(ATCC 11105)와 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대한 저해능을 disk diffusion법을 이용하여 측정하였고, 본 실험의 범위 내에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

천연 식물성 제재인 Manuka oil,  $\alpha$ -pinene, Oxy'less clear, Citrex 및 R-limonene의 *Escherichia coli*(ATCC 11105)에 대한 항균능은 기존에 널리 사용되고 있는 파라벤류 PPHB보다 훨씬 우수하였으며 Manuka oil과  $\alpha$ -pinene의 *Escherichia coli*(ATCC 11105)와 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대한 항균력은  $10\mu\text{l}/\text{paper disk}$ 일 때에는 큰 차이가 없었으나  $2\mu\text{l}/\text{paper disk}$ 이하의 낮은 농도에서는 Manuka oil이  $\alpha$ -pinene에 비해 월등하게 우수하였다. Citrex와 R-limonene의 *Escherichia coli*(ATCC 11105)와 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대한 항균력은 Citrex가 R-limonene보다 모든 농도에서 비교할 수 없는 우수성을 보였다. 또한 Oxy'less clear는 두 균주에 대하여 Citrex나 Manuka oil보다 항균능이 떨어지나  $\alpha$ -pinene과 비슷하며 R-limonene보다 우수하였다.

*Escherichia coli*(ATCC 11105)에 대해서는 Manuka oil과 Citrex의 혼합비(M/C)가 75 : 25일 때, *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538)에 대해서는 25 : 75일 때 가장 우수한 항균능을 보였다. Manuka oil과 Citrex를 적절한 비율로 혼합하여 사용하면 지용성과 수용성 모두에 사용할 수 있으므로 광범위한 방부제로 사용할 수 있으며, Manuka oil과 Citrex의 구성비(M/C)에 따라 균주에 대한 항균력의 차이가 있으므로 대상 균주에 대하여 적합한 처방이 필요할 것으로 판단된다.

## 참 고 문 헌

1. Jon J. Kabara, *Cosmetic and Drug Preservation*, Marcel Dekker, New York, 1984, 1, 237-273.



2. Crueger, W., "*Sterile Techniques in Biotechnology*", in R. K. Finn and P. Prave, eds., *Biotechnology Focus 2*, Hanser Publishers, New York, 1990, pp.391-422.
3. Acenzi JM(ed.), *Handbook of Disinfectants and Antiseptics*, Marcel Dekker, New York, 1996.
4. Block SS : 1991. *Disinfection, Sterilization and Preservation*, ed.4, Lea and Febiger, Malvern, Pennsylvania, 1991.
5. Hammer K. A., et al., "In-vitro activity of essential oil, in particular *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) and tea tree oil products against *Candida* spp", *Journal of antimicrob Chemotherapy*, 1998, **42**, 5, 591-595.
6. Basset, I. B., Pannowitz, D. L. and Barnetson, R. S .C., "A comparative of tea-tree oil versus benzoyl peroxide in the treatment of acne", *Medical Journal of Australia*, 1990, **153**, 455-458.
7. Carson C. F., et al., "Efficiency and safety of tea tree oil as a topical antimicrobial agent", *Journal of Hosp. Infect.*, 1998, **40**, 3, 175-178.
8. Carson C. F. and Riley, T. V., A view., "Antimicrobial activity of the essential of *Melaleuca alternifolia*", *Letters in Applied Microbiology*, 1993, **16**, 49-55.
9. Altman, P. M., Australian tea tree oil, *Australian Journal of Pharmacy*, 1988, **69**, 276-8.
10. Carson, C. F. & Riley, T. V., Susceptibility of *Propioni bacterium acnes* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*, *Letters in Applied Microbiology*, 1994, **19**, 24-5.
11. Carson, C. F., Cookson, B. D., Farrelly, H. D. & Riley, T. V., Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1995, **35**, 421-4.
12. Hammer, K. A., Carson, C. F. & Riley, T. V., Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*(tea tree oil), *American Journal of Infection Control*, 1996, **24**, 186-9.
13. Nelson, R. R., In-vitro activities of five plant essential oils against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*., *J Antimicrob Chemother*, 1997, **40**(2), 305-320.
14. 최종덕, 서일권, 조성환, "Grapefruit 종자추출물의 항균성에 관한 연구", *한국수산학회지*, 1990, **23**(4), 297-302.
15. 조성환, 김기욱, 이근희, "천연항균제처리에 의한 과채류의 선도유지 및 병해방지에

대한화장품학회지, 제25권, 3호, 1999

- 관한 연구", *농산물 저장 유통 학회지*, 1994, 1(1), 1-7.
16. 김영록, 조성환, "Grapefruit 종자 추출물의 항균작용 및 미생물 생리기능에 미치는 영향", *농산물 저장 유통 학회지*, 1996, 3(2), 187-193.
  17. Tan, Q., Day, D. F. and Cadwallader, K. R., *Bioconversion of (R)-(+)-limonene by P. digitatum(NRRL 1202)*, *Process Biochem.*, 1998, 33, 29-37.
  18. Murray PR, EJ Baron, MA Pfaller, FC Tenover, RH Tenover(eds.) *Manual of Clinical Microbiology*, ed. 6, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1995.
  19. *Physician's Desk Reference*, Medical Economics Co., Oradell, New Jersey, An annual publication describing drugs in clinical usage, 1996.

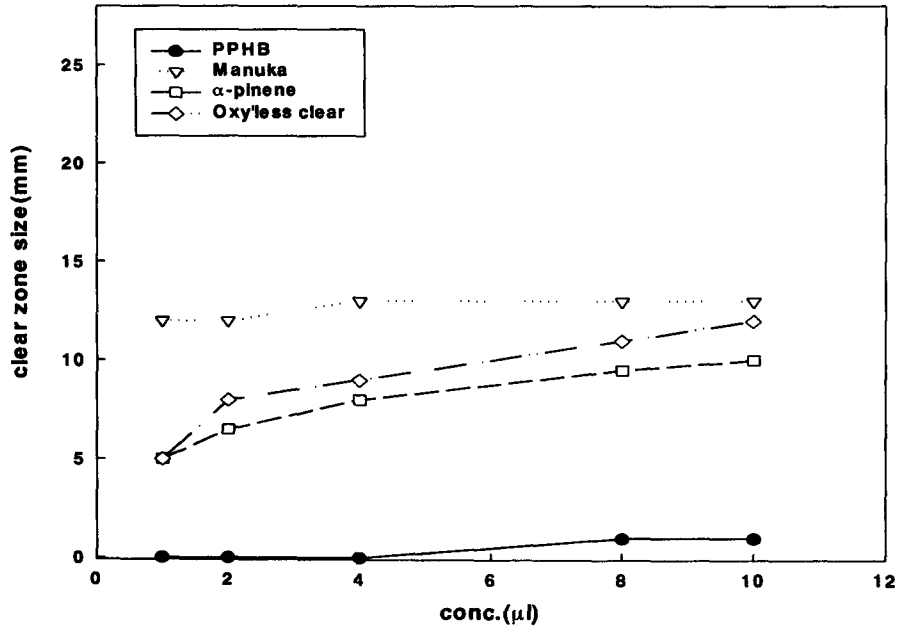


Fig. 1. The clear zone size of *Escherichia coli* (ATCC 11105) for propyl para hydroxybenzoate (PPHB), New Zealand's tea tree oil (Manuka),  $\alpha$ -pinene and Oxy'less clear.

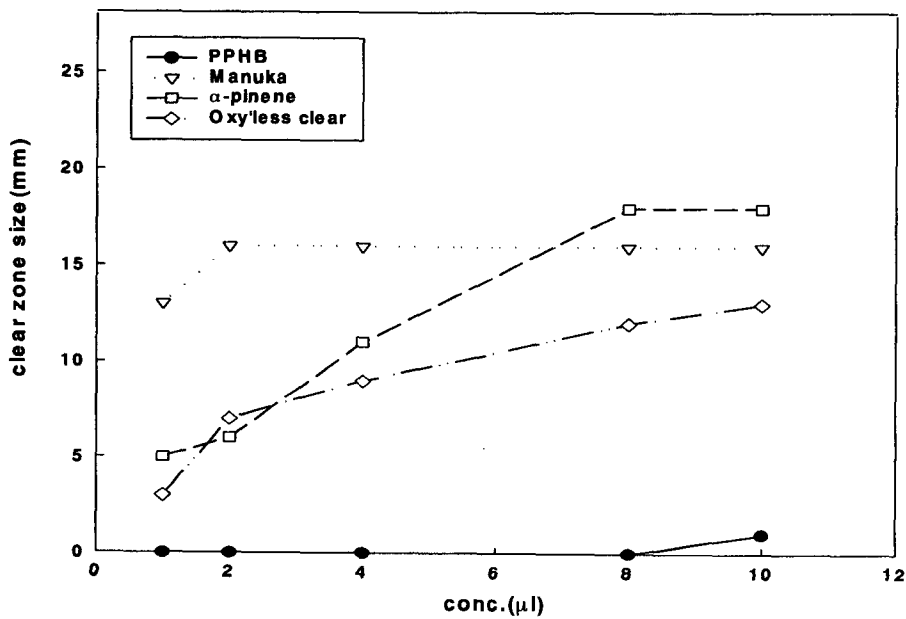


Fig. 2. The clear zone size of *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) for propyl para hydroxybenzoate (PPHB), New Zealand's tea tree oil (Manuka),  $\alpha$ -pinene and Oxy'less clear.

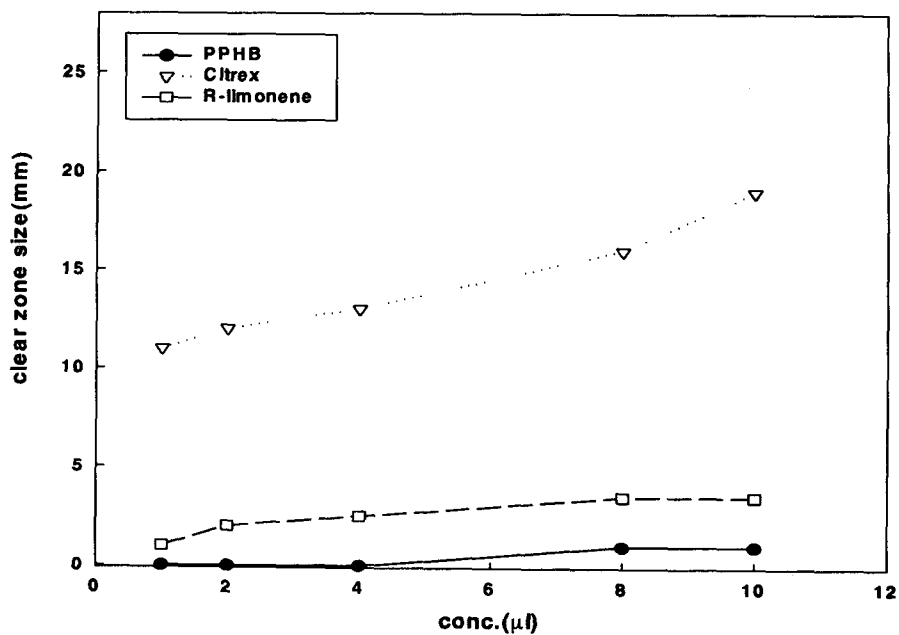


Fig. 3. The clear zone size of *Escherichia coli* (ATCC 11105) for propyl para hydroxybenzoate(PPHB), Grapefruit seed extract(Citrex) and R-limonene.

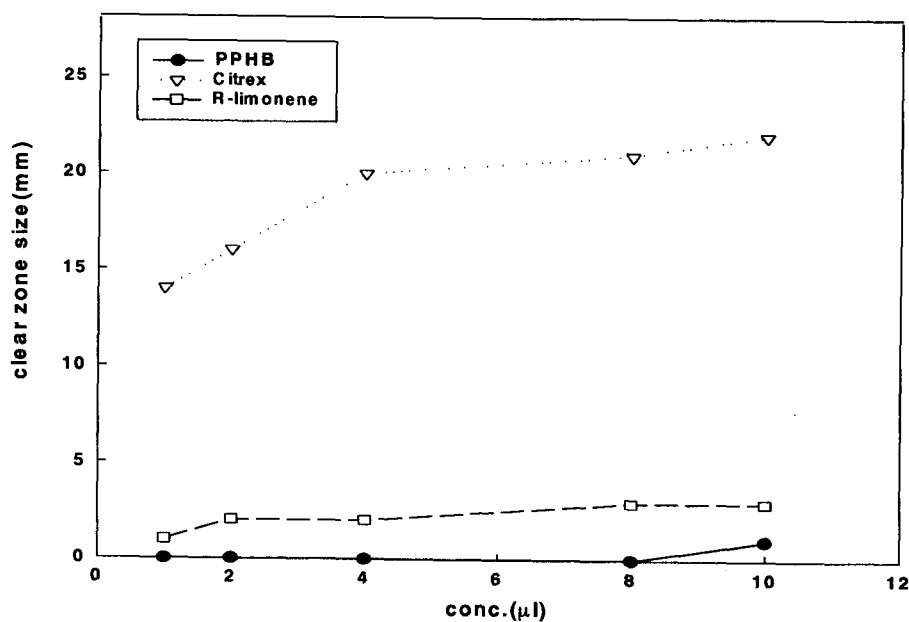


Fig. 4. The clear zone size of *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) for propyl para hydroxybenzoate(PPHB), Grapefruit seed extract(Citrex) and R-limonene.

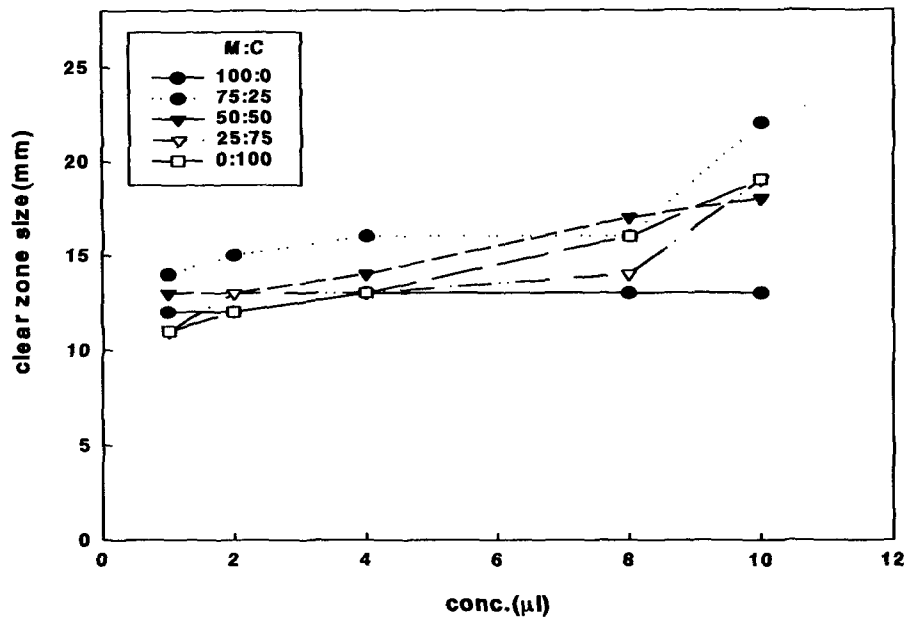


Fig. 5. The clear zone size of *Escherichia coli*(ATCC 11105) for ratio of concentration between New Zealand's tea tree oil(Manuka) and Grapefruit seed extract(Citrex).

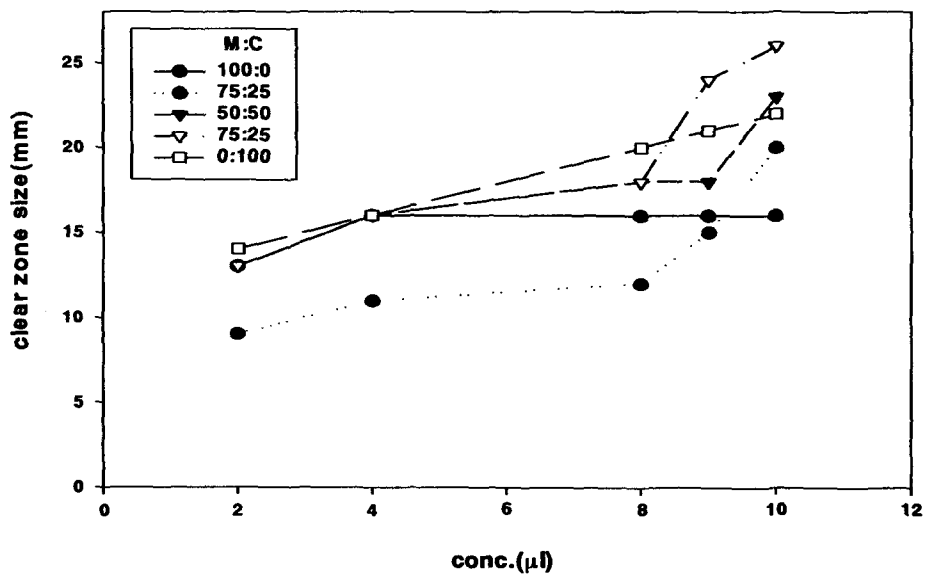


Fig. 6. The clear zone size of *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538) for ratio of concentration between New Zealand's tea tree oil(Manuka) and Grapefruit seed extract(Citrex).

