

## 세토카 가지 정유의 성분 분석 및 생리 활성

현 주 미 · 김 정 은 · 염 현 숙 · 송 정 민 · 김 미 량\* · 이 남 호<sup>†</sup>

제주대학교 화학 · 코스메틱스학과, \*(주)파라제주  
(2016년 7월 12일 접수, 2016년 8월 8일 수정, 2016년 8월 23일 채택)

### Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil from ‘Setoka’ Branches

Ju Mi Hyun, Jung Eun Kim, Hyun Sook Yeum, Jung-Min Song, Mi Ryang Kim\*, and Nam Ho Lee<sup>†</sup>

Department of Chemistry and Cosmetics, Jeju National University, 102 Jejudaehak-ro, Jeju-si, Jeju-do 63243, Korea

\*PARAJEJU, Jeju-do 63243, Korea

(Received July 12, 2016; Revised August 8, 2016; Accepted August 23, 2016)

**요약:** 본 연구에서는 세토카 가지 정유의 주요 성분을 분석하고 이들의 항균, 항염 및 세포독성 실험을 진행하였다. 세토카는 제주도에서 널리 재배되고 있는 감귤류의 품종이다. 세토카 나무의 가지는 간벌 작업으로 인해 대부분 폐기되고 있고, 이러한 폐자원의 활용은 최근 많은 관심을 받고 있다. 정유 성분은 세토카 가지의 에탄올 추출물을 호호바오일로 처리하여 얻었다. 세토카 정유의 주요 성분은 ethyl linoleate (64.1%), ethyl palmitate (16.5%), neophytadiene (11.1%) 및  $\beta$ -citronellol (5.1%)임을 확인하였다. 이들의 항균활성을 확인하기 위하여 피부 관련 미생물에 대한 paper disc 확산법을 실시한 결과 *Staphylococcus aureus* 및 *Propionibacterium acnes*에서 좋은 항균활성을 보였다. 또한 항염활성을 확인하기 위해 lipopolysaccharide (LPS)로 염증이 유도된 대식세포에서 nitric oxide (NO) 생성량을 측정된 결과 세토카 정유 성분은 농도의존적으로 NO 생성을 저해하였다. WST-1 분석법을 이용하여 세포독성을 측정된 결과 RAW 264.7 macrophage 및 HaCaT 각질형성세포에서 세포생존율이 무처리 대조군과 비슷한 결과를 보였다. 이러한 결과를 바탕으로 세토카 가지 정유는 세포독성이 없으면서 염증억제 및 항균효과가 있음을 확인하였으며, 이를 응용한 화장품소재로서의 개발이 가능할 것으로 여겨진다.

**Abstract:** This study was designed to analyze the chemical compositions of ‘Setoka’ branch essential oils (SEBO) and to test their biological activities. ‘Setoka’ is a *Citrus* species widely cultivated in Jeju Island. At the present, ‘Setoka’ branches produced by thinning process were mostly discarded as a waste. Therefore, utilization of this branch waste has received much attention. ‘Setoka’ branch essential oils (SEBO) were prepared by treatment of its ethanol extracts with jojoba oil. SEBO were chemically analyzed using gas chromatograph-mass spectrometry (GC-MS), and following components were identified; ethyl linoleate (64.14%), ethyl palmitate (16.50%), neophytadiene (11.06%) and beta-citronellol (5.09%). The anti-inflammatory activity in the SEBO was examined using RAW 264.7 murine macrophage cells stimulated with LPS. As a result, the SEBO inhibited nitric oxide (NO) productions with a dose-dependent manner. In addition, SEBO showed good anti-microbial activities against drug-susceptible and -resistant skin pathogens such as *Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes*, which are acne-causing bacteria. Based on these results, we suggest that SEBO has the possibility for use as an anti-inflammatory and anti-microbial agent in cosmetic applications.

**Keywords:** essential oil, *Citrus*, setoka, anti-microbial, anti-inflammatory

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: namho@jejunu.ac.kr)  
call: 064)754-3548

## 1. 서 론

최근 약용식물의 생리활성에 대한 연구 증가와 더불어 식물 정유(精油, essential oil)에 대한 관심도 높아지고 있다. 식물 정유는 식품 분야에서는 향신료로써 음식의 맛과 향을 증진시키고, 화장품 및 에스테틱 분야에서는 향료 혹은 기능성 소재로써 널리 이용되고 있다. 휘발성 정유의 경우 생활용품 분야에서 냄새 제거를 위한 소취제로도 활용되고 있다. 의학적 관점에서도 소화촉진, 항균, 강장, 소염, 살균 등의 효능에 근거하여 민간요법에서 활용되고 있다[1].

식물의 정유 성분은 휘발성 성분으로서 식물체가 주위의 외부환경으로부터 자신을 지키기 위해 발산하는 일종의 방어물질이라 할 수 있다. 예를 들면, 소나무속의 침엽수들은 모든 부위(wood, bark, needles)에서 여러 가지 병원균과 초식 곤충들을 방어하기 위해서 많은 양의 balsam을 생산한다. 나무가 해충의 공격을 받으면 이들 벌레가 싫어하는 성분을 잎에 축적하여 갇아 먹히지 않도록 하고 있다[2]. 화학 구조 면에서 정유는 대부분 탄소수 10 ~ 20개로 이루어진 탄소화합물이며, 화학성질은 추출 과정에 따른 구성 성분의 차이 및 구성 분자의 생합성 경로에 따라 결정된다고 알려져 있다[3]. 이러한 정유는 강력한 항균력을 가졌을 뿐만 아니라 스트레스 해소, 긴장완화, 구충, 이뇨, 거담, 혈압강하 효과 등이 있다고 보고되고 있다[4].

본 연구에 사용된 세토카(Setoka)는 감귤의 교배 품종((*Citrus unshiu* × *C. sinensis*) × (*C. reticulata*) × (*C. reticulata* × *C. sinensis*))이다. 세토카는 일본 과수연구소에서 청견(Kiyomi)과 앙코르(Encore No. 2)의 교잡 과실에 머코트(Murcott)를 교배하여 육성한 품종으로 국내에서는 천혜향이라는 상품명으로 출하되고 있다. 즙이 많고 독특한 맛과 향을 지니고 있어 2001년부터 한국에 본격적으로 도입되면서 재배면적이 꾸준히 증가하고 있다[5]. 이러한 세토카는 만감류에 속하는 과실로써 과잉생산 및 고품질 감귤생산을 위해 간별 작업을 실시한다. 이를 통하여 수만 톤의 가지(branch)가 발생되는데 이는 대부분 폐기되고 있는 실정이다. 따라서 감귤 재배 과정에서 다량으로 발생하는 세토카 나무 가지에 대한 활용 방안이 필요한 실정이다.

본 연구에서는 세토카 가지에서 정유를 추출하여 성분을 확인하고 항염 및 항균활성을 검색하였다. 이를

통하여 화장품 산업 분야에서 세토카 가지의 소재 활용 가능성을 검토하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 세토카 가지 정유의 추출

실험에 사용된 세토카 가지는 2015년 8월 제주도 한림읍 월림리 농가에서 채집하였다. 세토카 가지 2.2 kg을 70% 에탄올 7 L에 30일간 실온에서 침출하였고, 여과 후 감압농축기를 사용하여 농축하였다. 농축액과 호호바오일(30 mL)을 혼합한 후 초음파장치(ultrasonication)로 처리하여 분산 용해하였다. 분액 깔때기를 이용하여 호호바오일 층 성분(Setoka branch essential oil, SBEO)을 분리하여 얻었다. 호호바오일에 가용성인 정유 성분을 에탄올과 dimethylsulfoxide (DMSO)를 동일한 비율로 섞은 용매에 용해하여 실험에 사용하였다.

### 2.2. 정유의 성분 분석

정유는 gas chromatography mass spectrometry detector (GC-MSD, Agilent technologies 7890A GC system/5975C inert XL MSD with triple-axis detector, USA)로 분석하였다. Column은 DB-1HT (0.1  $\mu\text{m}$  × 30 m × 0.32 mm, Agilent, USA), carrier gas는 He을 사용하여 유속 1.5 mL/min으로 하였다. 검출기 온도는 270  $^{\circ}\text{C}$ , 온도 프로그램은 40  $^{\circ}\text{C}$ 에서 5 min 유지하고, 230  $^{\circ}\text{C}$ 까지 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 으로 승온 시킨 후 5분간 유지하였다. GC / MSD 분석은 GC와 동일한 조건에서 수행하였고, MSD의 온도는 312  $^{\circ}\text{C}$ 로 유지하였다. GC / MSD에 의해 분석된 정유 성분은 기기의 Wiley 138 database를 이용하여 분석하였다[6]. 추출에 사용된 호호바오일에 대해 동일한 방법으로 분석하여 활성 실험 결과에 영향을 미치는지 확인하였다.

### 2.3. 세포주 및 세포배양

염증 활성 실험에 사용된 murine macrophage RAW 264.7과 사람 각질형성세포인 HaCaT 세포는 1% penicillin/streptomycin (P/S)과 10% fetal bovine serum (FBS)이 함유된 DMEM (Gibco, USA) 배지를 사용하여 37  $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  항온기에서 배양하였으며, 2 ~ 3일 간격으로 계대배양을 시행하였다. 대식세포의 염증유도에

사용된 lipopolysaccharide (LPS, *Escherichia coli* serotype 0111: B4)는 Sigma (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

#### 2.4. 세포독성 측정(WST-1 Assay)

RAW 264.7 및 HaCaT 세포를 24-well plate에  $1.5 \times 10^5$  cells/mL로 18 h 전 배양 후 시료를 여러 농도별로 처리하여 24 ~ 48 h 동안 배양하였다. 배양된 세포에 WST-1 (EZ-CyTox, DOGEN, Korea) 시약을 10% (v/v)를 첨가하고 30 min 후 440 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 2.5. 항염증 효과 측정

24-well plate에 RAW 264.7 cell을  $1.5 \times 10^5$  cells/mL로 18 h 전 배양 후, 염증 유도 인자인 LPS를  $1 \mu\text{g/mL}$ 와 시료를 농도별로 처리하여 24 h 동안 배양하였다. 생성된 NO의 양은 Griess reagent (Sigma, USA)를 이용하여 세포배양액 중에 존재하는  $\text{NO}_2^-$  형태로 측정하였다. 세포배양 상등액  $100 \mu\text{L}$ 와 Griess reagent  $100 \mu\text{L}$ 를 혼합하여 96-well plate에서 10 min 동안 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다[7].

#### 2.6. 미생물배양

피부상재균에 대한 항균활성 확인을 위하여 사용된 공시 균주는 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, CCARM 0027, 3707, 3708), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*, CCARM 3709, 3710, 3711) 및 *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*, CCARM 0081, 9009, 9010)을 사용하였으며 항생제내성균주은행(CCARM, Seoul Women's University, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 균주를 배양하기 위한 배지로 luria bertani agar, tryptic soy agar 및 gifu anaerobic medium을 Difco La. (Sparks, MD, USA)에서 구입하여 사용하였다. *S. aureus* 및 *S. epidermidis*의 경우 37 °C 호기 조건에서 배양 하였고 24 h 마다 계대 배양을 실시하였다. *P. acnes*는 37 °C 혐기성 조건에서 배양하였으며 24 ~ 48 h 마다 계대 배양하여 실험에 사용하였다.

#### 2.7. 피부상재균에 대한 항균활성 확인

세토카 가지 정유의 항균활성을 확인하기 위하여 paper disc 확산법을 수행하였으며 추출물이 나타내는 생육저해환(clear zone, mm)을 측정하여 항균활성을 확

인하였다. Agar 0.8%를 포함하는 각각의 배지에 균주를 0.5 MacFarland로 넣어 agar 1.5%를 포함하는 배지 위에 붓고 배지가 굳으면 시료  $20 \mu\text{g}$ 을 직경 8 mm paper disc (Roshi Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)를 올려 37 °C에서 24 h 배양한 다음 disc 주변에 형성된 생육저해환의 직경을 측정하여 항균활성을 확인하였다. 대조균으로는 추출에 사용된 호호바오일을 동일한 방법으로 수행하였다.

#### 2.8. 통계처리

모든 실험은 3회 반복 실시하였고 통계분석은 평균±표준편차로 나타내었으며, Student's *t*-test법을 이용하여 *p*-value가 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 세토카 가지 정유 성분(SBEO)의 화학 조성

본 실험에서 사용된 SBEO는 세토카 가지의 에탄올 추출물을 호호바오일로 재처리하여 얻었다. 따라서 SBEO는 세토카 유래 호호바오일 가용성분이다. SBEO의 수율은 건조된 나무 가지 기준 약 0.5%로 계산되었다. 얻어진 SBEO는 GC / MSD를 분석하였으며, ethyl linoleate (64.14%), ethyl palmitate (16.50%), neophytadiene (11.06%) 그리고  $\beta$ -citronellol (5.09%) 성분을 확인하였다(Table 1). 정유 제조에 사용된 호호바오일의 성분은 분석에서 제외하였다. 주성분인 ethyl linoleate와 ethyl palmitate는 지방산 에스터 화합물이다. 그리고, neophytadiene와  $\beta$ -citronellol은 각각 diterpene 및 monoterpene 화합물이다. Ethyl linoleate는 항염[8] 및 미백활성[9]이 우수한 것으로 알려져 있고, ethyl palmitate 및 neophytadiene는 항염활성[10]이 우수하다고 알려져 있다. Ethyl palmitate 및 ethyl linolenate는 중국 산뽕나무(Chinese mulberry) 정유에 각 20.6%, 18.9%, 신선초 정유에 각 14.0%, 36.2%가 함유되어 있다고 보고[11]되어 있다. 또한 항균활성[12]이 뛰어난 것으로 알려진  $\beta$ -citronellol가 SBEO에 함유되어 있음을 확인할 수 있었다.

#### 3.2. 세토카 가지 정유(SBEO)의 Nitric Oxide (NO) 억제 활성

NO는 자유 라디칼인 활성질소종(reactive nitrogen

**Table 1.** Chemical Composition (%) of 'Setoka' Branches Essential Oils (SBEO)

	Retention time (min)	Constituents	Area identification (%)
1	21.9	$\beta$ -citronellol	5.1
2	46.9	Ethyl palmitate	16.5
3	49.2	Neophytadiene	11.1
4	50.5	Ethyl oleate	2.2
5	51.4	Ethyl linoleate	64.1
Total			99.0

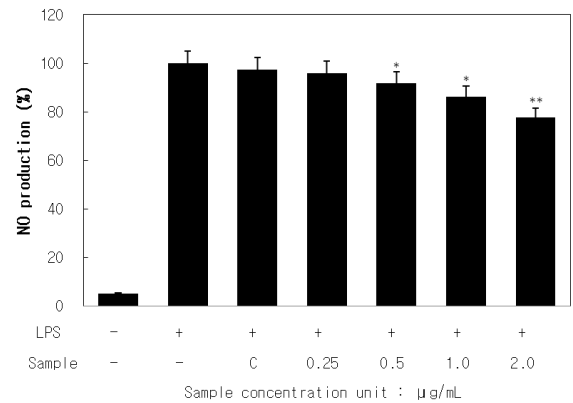
species, RNS)의 일종으로 NO synthase (NOS)에 의해 L-arginine이 citrulline으로 산화될 때 발생하는 반응성이 매우 높은 것으로 알려져 있다, 정상적인 농도로 존재하는 NO는 면역계의 전달 물질로써 신경전달물질을 운반하거나 중양을 억제하는 작용 등 매우 다양한 기능을 가지는 물질로 알려져 있다. 그러나 과도하게 발현된 NO는 독성 라디칼로 작용하여 인체에 유해한 영향을 주는 세포 손상뿐만 아니라 염증 반응을 비롯한 퇴행성 질환에 중요한 요인으로 작용하는 것으로 보고되어 있다[13].

세토카 가지 정유(SBEO)의 NO 생성 억제에 미치는 영향을 확인하기 위하여 RAW 264.7 세포를 이용하여 NO 생성 억제 효과를 측정하였다(Figure 1). 대식세포를 이용한 NO의 생성 정도는 사이토카인이나 내독소의 영향을 받아 생성되며 생성된 NO를 시료에 의해 억제되는 정도를 통해 염증 억제 작용을 확인할 수 있다.

추출에 사용된 호호바오일은 NO를 저해하는 데 큰 영향을 주지 않았으며 세토카 가지 정유를 0.25, 0.5, 1.0, 2.0  $\mu\text{g/mL}$  농도로 각각 처리한 실험군의 세포 배양액을 이용하여 NO 생성량을 측정한 결과 Figure 1과 같이 농도 의존적으로 NO 생성이 저해됨을 확인하였다.

### 3.3. 세토카 가지 정유(SBEO)의 세포독성 평가

WST-1 분석은 세포 내의 미토콘드리아 탈수소효소에 의해 tetrazolium salt가 formazan으로 환원되며 세포 생존율을 측정하는 시험 방법이다. RAW 264.7 murine macrophage와 사람 각질형성세포인 HaCaT 세포에 대한 세포 독성을 측정한 결과 Figure 2, 3과 같이 2.0  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서도 세포생존율이 95% 이상으로 나타난 것으로 확인되었으며 염증 관련 화장품 소재로서 적용이 가능할 것으로 기대된다.



**Figure 1.** Effect of SBEO on LPS-induced NO production in RAW 264.7 macrophage cells. The cells were treated with various concentrations of samples (C: control, jojoba oil only). The results were expressed as the average of triplicate samples. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  compared with control.

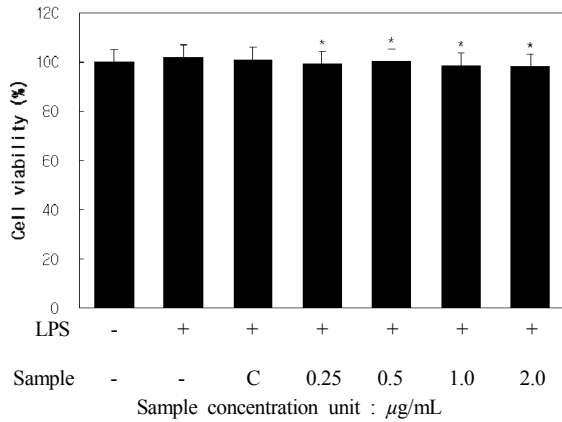
### 3.4. 세토카 가지 정유(SBEO)의 항균활성

여드름은 모낭-피지선에서 발생하는 피부질환으로, 피지선에서 피지 분비가 증가하거나 피지선의 모공이 좁아지든지 막혀서 피지가 배출되지 못함에 따라 세균이 증식하여 염증이 생기는 것이다. 사춘기 나이에 분비되기 시작하는 안드로젠은 피지 분비를 촉진시키고, 표피의 과각화를 일으키며, 이로 인해 피지의 분비 증가와 표피 과각화로 모낭-피지선에서 피지가 정체되어 모낭이 막힘에 따라 모낭 내부가 *P. acnes*를 비롯한 혐기성 세균이 잘 자랄 수 있는 환경이 된다[14,15]. 동시에 *S. epidermidis*와 같은 다른 세균들이 모낭 주위에서 여드름과 여드름 합병증을 일으키는데 역할을 한다[16]. 다시 말해서, 여드름의 발생은 일반적으로 피지 생산 증가, *P. acnes*의 모낭 증식, 호르몬분비 등의 여러 인자가 복합적으로 작용하며, 여드름 발생에 관여하는 미생물도 *P. acnes* 뿐만 아니라 *S. aureus*, *S. epi-*

**Table 2.** Anti-microbial Activities of SBEO

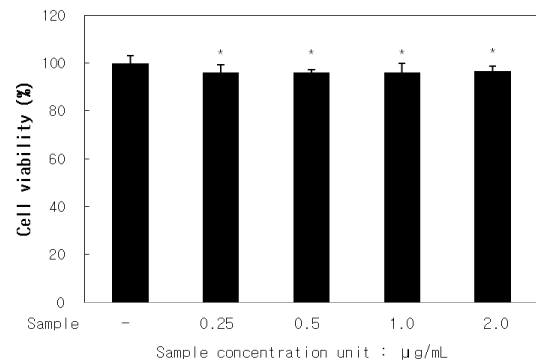
Microorganisms		Clear zone diameter (mm)
<i>S. aureus</i>	CCARM 0027	10.17 ± 0.24 <sup>1)</sup>
	CCARM 3707	9.27 ± 0.21
	CCARM 3708	9.23 ± 0.21
<i>S. epidermidis</i>	CCARM 3709	N.D. <sup>2)</sup>
	CCARM 3710	N.D.
	CCARM 3711	N.D.
<i>P. acnes</i>	CCARM 0081	8.93 ± 0.33
	CCARM 9009	9.83 ± 0.24
	CCARM 9010	9.17 ± 0.24

- 1) Results indicate mean ± S.D. of triplicate determinations.
- 2) not detected
- 3) disc size: 8 mm



**Figure 2.** Cell viability of SBEO on RAW 264.7 macrophage cells by WST-1 assay. The cells were treated with various concentrations of samples (C: control, jojoba oil only). The results were expressed as the average of triplicate samples. \**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01 compared with control.

*dermidis* 등과 같은 피부 상재균들이 알려져 있다. SBEO의 항균활성 측정은 paper disc 확산법으로 확인하였고, 항균활성 실험에는 여드름을 유발하는 *S. aureus*, *S. epidermidis* 및 *P. acnes*를 사용하였다. 현재 여드름 치료에는 triclosan, azelaic 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



**Figure 3.** Assessment of SBEO cytotoxicity in HaCaT keratinocyte. WST-1 assay was performed after incubation of HaCaT keratinocyte treated with various concentration of SBEO for 24 h at 37 °C in a 5% CO<sub>2</sub> atmosphere. Absorbance was measured at 440 nm using with a spectrophotometer. The results were expressed as the average of triplicate samples. \**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01 compared with control.

노력 중이다. 천연물 유래 에센셜 오일의 경우 팔마로사와 제라늄의 주요 성분인 geranol 등이 우수한 항균력을 보인다고 보고되어 있다[11].

SBEO의 항균활성 실험 결과 추출에 사용된 호호바오일은 큰 영향을 미치지 않았으며 Table 2에 나타난 바와 같이 *S. aureus* 및 *P. acnes*에서 생육억제환을 형성하였다. 이는 세토카 가지 정유 성분에 약 5% 정도 함유되어있는 β-citronellol의 영향일 것으로 예상된다.

## 4. 결 론

본 연구에서는 세토카 가지에서 정유 성분을 추출 및 분석하고, 항염 및 항균 효과를 확인하였으며, 이들에 대한 세포독성실험을 관찰하였다. 정유의 성분 분석 결과 ethyl linoleate가 64.1%로 주요 성분임을 확인할 수 있었고, ethyl palmitate, neophytadiene 및  $\beta$ -citronellol이 16.5, 11.1, 5.1%가 함유되어 있음을 알 수 있었다. 이들은 주로 항염, 미백 및 항균활성이 우수하다고 알려져 있었고, 이러한 결과로 세토카 가지 정유는 항염 및 항균활성이 좋을 것으로 판단된다.

세토카 가지 정유의 항염활성을 확인하기 위해 LPS로 염증이 유도된 대식세포에서 NO 생성량을 측정하고 결과 농도의존적으로 NO 생성이 저해됨을 확인하였다. 또한 세토카 가지 정유의 세포 독성을 WST-1 방법을 이용하여 측정한 결과 RAW 264.7 macrophage 및 HaCaT 각질형성세포에서 세포 독성이 나타나지 않음을 확인하였다.

여드름 유발에 관여하는 미생물들에 대한 세토카 가지 정유의 항균활성을 paper disc 확산법으로 확인한 결과 *S. aureus* 및 *P. acnes*에서 생육억제환을 형성하였으며 이는 세토카 가지 정유 성분에 약 5% 정도 함유되어있는  $\beta$ -citronellol의 영향일 것으로 예상하였다. 모든 실험에는 추출에 사용된 호호바오일을 같은 조건으로 실험하였다. GC / MSD 성분 분석 결과 호호바오일의 성분은 세토카 가지 정유에서 검출되지 않았으며 활성 실험 결과에는 추출에 사용된 호호바오일은 전혀 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다.

이상의 연구결과들로부터 세토카 가지 정유는 세포 독성이 없으면서 염증억제 및 항균효과를 기대할 수 있을 것으로 생각되며, 향후 기능성 화장품 소재로서의 개발이 가능할 것으로 여겨진다.

## Acknowledgement

본 논문은 중소기업청에서 지원하는 2015년도 산학협력 기술개발사업(No. C0301847)의 연구수행으로 인한 결과물임을 밝힙니다.

## Reference

1. B. A. Kim, Anti-oxidant and anti-inflammatory activities of *Zanthoxylum schinifolium* essential oil, *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, **31**, 440 (2014).
2. R. Mumm, T. Tiemann, S. Schulz, and M. Hilker, Analysis of volatiles from black pine (*Pinus nigra*): significance of wounding and egg deposition by a herbivorous sawfly, *Phytochemistry*, **65**(24), 3221 (2004).
3. M. Lavabre, Aromatherapy workbook, Healing Art Press, Rochester VT (1990).
4. J. R. Lazutka, J. Mierauskienė, G. Slapsyte, and V. Dedonyte, Genotoxicity of dill (*Anethum graveolens* L.), peppermint (*Mentha piperita* L.) and pine (*Pinus sylvestris* L.) essential oils in human lymphocytes and *Drosophila melanogaster*, *Food Chem. Toxicol.*, **39**(5), 485 (2001).
5. D. H. Hyun, W. S. Yang, and S. J. Oh, Cultivation technology of 'Setoka', Jungeum Press, Jeju (2012).
6. S. S. Kim, J. M. Hyun, K. S. Kim, K. J. Park, S. M. Park, and Y. H. Choi, Influence of essential oil in 'Shiranuhi' immature fruit on antioxidant and antimicrobial activities, *Korean J. Med. Crop Sci.*, **21**(6), 493 (2013).
7. H. J. Lee, G. J. Kang, W. J. Yoon, H. K. Kang, Y. S. Kim, S. M. Kim, and E. S. Yoo, Anti-inflammatory effect of unripe fruit of *Citrus grandis* Osbeck in RAW 264.7 and HaCaT cells, *Korean J. Pharmacogn.*, **37**(2), 74 (2006).
8. H. M. Park, M. W. Son, D. H. Kim, S. H. Kim, S. H. Kim, K. C. Kwon, and S. Y. Kim, Fatty acid components of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta*) as IL-4 production inhibitor, *Biomol. Ther.*, **19**(1), 126 (2011).
9. M. O. Kim, Master's Thesis Dissertation, Sookmyung Women's Univ., Seoul, Korea (2010).
10. N. M. Saeed, E. El-Demerdash, H. M. Abdel-Rahman, M. M. Algardaby, F. A. Al-Abbasi, and A. B. Abdel-Naim, Anti-inflammatory activity of methyl palmitate and ethyl palmitate in different ex-

- perimental rat models, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **264**(1), 84 (2012).
11. E. J. Lee, Master's Thesis Dissertation, Konkuk Univ., Seoul, Korea (2010).
  12. H. S. Kim, H. Y. Lee, J. N. Lee, C. G. Joo, and T. B. Choe, The effect of antimicrobial properties of manuka oil and improvement of acne, *J. Kor. Soc. Cosm.*, **17**(2), 245 (2011).
  13. Y. J. Kim and D. Y. Son, Inflammatory mediator regulation of the *Zizyphus jujube* leaf fractions in the LPS-stimulated RAW 264.7 mouse macrophage, *Korean J. Food Preserv.*, **21**(1), 114 (2014).
  14. J. C. Harper, An update on the pathogenesis and management of acne vulgaris, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **51**(1), 36 (2004).
  15. D. M. Thiboutot, Acne: an overview of clinical research findings, *Dermatol. Clin.*, **15**(1), 97 (1997).
  16. S. Nishijima, I. Kurokawa, N. Katoh, and K. Watanabe, The bacteriology of acne vulgaris and antimicrobial susceptibility of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from acne lesions, *J. Dermatol.*, **27**(5), 318 (2000).