



피톤치드 정유(Essential Oil)의 항산화 및 항균 효과 비교

김태희¹ · 오지혜² · 이가연³ · 한서희⁴ · 황석연^{5†}

Comparison of the Antioxidant and Antimicrobial Effects of Phytoncide Essential Oils

Tae Hee Kim¹, Ji Hye Oh², Ga Yeon Lee³, Seo Hee Han⁴, and Seock Yeon Hwang^{5†}

Received: 2026 March 14
1st Revised: 2026 March 21
2nd Revised: 2026 April 02
3rd Revised: 2026 April 21
Accepted: 2026 April 21
Published: 2026 June 30

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



ABSTRACT

Background: The potential toxicity of synthetic antioxidants such as butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA) and the emergence of antibiotic-resistant microorganisms owing to antibiotic misuse have caused increased interest in natural alternatives. Plant-derived essential oils (EOs), particularly those rich in monoterpene compounds such as α -pinene, limonene, and 1,8-cineole, have been widely reported to exhibit antibacterial, antioxidant, and anti-inflammatory activities through mechanisms including cell membrane disruption and free radical scavenging. This study aimed to investigate the antioxidant and antibacterial effects of 11 plant-derived EOs, including coniferous and herbal species, and explore blending strategies to maximize antibacterial efficacy as a scientific basis for the development of natural functional materials.

Methods and Results: Antioxidant activity of 11 EOs and four blending oils (BOs) was evaluated by determining their radical scavenging activity using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), elucidating the production of intracellular reactive oxygen species (ROS) using 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA), and confirming their cytotoxicity using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. Antibacterial activity was assessed against 13 reference strains using paper-disk diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC). Although EO No. 9 (Hinoki-JP) exhibited the highest antioxidant activity, it showed high cytotoxicity. EO No. 5 (tea tree) exhibited the most potent antibacterial activity at multiple concentrations. Among the BOs, BO No. 2 (peppermint) maintained effective antibacterial activity, even at lower concentrations.

Conclusions: Among the EOs tested, EO No. 9 (Hinoki-JP) showed the most potent antioxidant activity, whereas EO No. 5 (tea tree) exhibited the highest antibacterial activity. The cytotoxicity of individual oils can be modulated by blending; BO Nos. 2 (peppermint) and 4 (tea tree) maintained significant antibacterial activity, even at lower concentrations. These findings indicate that plant-derived EOs and their blends can be applied as natural functional materials in the food preservation, cosmetics, and pharmaceutical industries as alternatives to synthetic antioxidants and antimicrobial agents.

Key Words: Essential Oil, Phytoncide, Antioxidant, Antibacterial, Blending Oil

서 언

현대 사회에서 의약 및 식품, 화장품 등의 발전을 통해 제품의 품질과 안정성이 까다로운 환경에서의 내구성과 수명을 늘리고자 항균 및 항산화에 관심이 쏠리고 있다. 특히 소비자들에게 전달되기까지 저장 및 포장 그리고 유통과정이 길어질수록 산화 반응에 의한 품질 저하와 미생물 오염으로 인한 부패를 효과적으로 억제하는 것이 뛰어난 합성 항산화제 및 항생제의 사

용이 증가하고 있다 (Sharma and Rajput, 2023; Pang *et al.*, 2025; Global Industry Analysts, 2026). 그러나 일부 합성 항산화제는 장기간 섭취 시 잠재적인 독성 및 발암 가능성이 제기되고 있으며, 항균제의 지속적인 사용은 항생제 내성 미생물의 출현을 증가시키는 주요 요인으로 보고되고 있다. 현재 널리 사용되고 있는 합성 항산화제로는 BHT (butylated hydroxytoluene)와 BHA (butylated hydroxyanisole)가 있으며, 높은 가용성과 상대적으로 저렴한 비용으로 인해 많이 사용되어왔지만 (Bouffira,

[†]Corresponding author: (Phone) +82-42-280-2902 (E-mail) syhwang@dju.kr

¹대전대학교 보건의료대학 임상병리학과 학부생 / Bachelor's degree student, Department of Biomedical Laboratory Science, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea

²대전대학교 보건의료대학 임상병리학과 박사 / Doctor, Department of Biomedical Laboratory Science, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea

³대전대학교 보건의료대학 임상병리학과 석사 / Master, Department of Biomedical Laboratory Science, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea

⁴대전대학교 보건의료대학 임상병리학과 석사 / Master, Department of Biomedical Laboratory Science, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea

⁵대전대학교 보건의료대학 임상병리학과 교수 / Professor, Department of Biomedical Laboratory Science, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea

2023; Global Industry Analysts, 2026), 이들은 지속적인 섭취 시 암의 원인 혹은 약물 독성 강화 위험을 내재하고 있어 인체에 부작용이 없고 안전한 천연 추출물이 새로운 대안으로 떠오르고 있다 (Choe and Yang, 1982; Im and Doo, 2021). 합성 항생제의 오남용으로 인해 항생제 내성이 확산됨에 따라 (Korea Disease Control and Prevention Agency, 2025), 이를 대체할 수 있는 식물 유래 성분의 천연 항균성 물질의 개발이 활발히 연구되고 있다 (Ji *et al.*, 2007). 또한 식품 방부제로서 미생물에 의한 음식물 부패를 방지하고, 의약·화장품 방부제로서의 활용 가능성에서도 식물성 항균제에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다 (Cho and Han, 1999).

합성 항산화제나 방부제를 대체하는 천연 추출물을 제공하는 식물들의 대부분은 피톤치드 (phytoncide)를 방출한다. 피톤치드란 식물 (phyton)과 죽이다 (cide)의 합성어로 식물이 내뿜는 살균작용을 가진 휘발성, 비휘발성 물질로 주로 식물을 수증기로 분류하거나 압축하여 얻을 수 있는 정유 (Essential Oil, EO)의 형태로 추출된다. 피톤치드는 항산화, 항염증, 살균, 신경안정 등에 뛰어난 효과를 보인다고 알려져 있으며 특히 EO 형태일 때 피톤치드의 주요 항균 물질은 테르펜이다. 테르펜의 주 성분은 모노테르펜 (monoterpene, $C_{10}H_{16}$)과 세스퀴테르펜 (sesquiterpene, $C_{15}H_{24}$)으로 특히 모노테르펜은 구조에 따라 쇠상, limonene과 같은 1환성, pinene과 같은 2환성으로 분류가 되며 그중에서도 α -피넨 (α -Pinene)이 세포막을 교란 및 파괴함으로써 항균 효과가 있는 것 밝혀졌다 (Kim *et al.*, 2006; Kim and Kim, 2010; Lee *et al.*, 2023).

선행 연구들에서는 오일의 종류에 따라 항균 혹은 항산화능이 있는지를 확인하는 수준에 머물렀으며 (Shin *et al.*, 2012; Park and Kang, 2020), 단일 EO와 혼합 EO의 항균 및 항산화능을 통합적 비교한 연구는 부족한 실정이다. 이에 본 연구는 침엽수 및 허브류를 포함한 11종의 식물 유래 EO가 가진 항균

및 항산화능을 통합적으로 평가한다. 더 나아가 선행 연구에서 리모넨 오일 40%를 베이스로 각 허브 오일을 30% 주성분으로 하는 혼합 비율이 유의미한 항균 활성을 보임을 확인하였으며 (Park and Kang, 2020), 이를 기반으로 혼합 EO (Blending Oil, BO)가 단일 EO보다 항균능을 극대화하는 방안을 모색하고, 천연 물질을 이용한 기능성 소재로의 활용과 임상실험의 기초과학적 토대를 마련하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1.1. 실험 물질

실험 물질 중 단독 오일은 Cypress oil (EO A), Eucalyptus oil (EO B), Lavender oil (EO C), Peppermint oil (EO D), Tea tree oil (EO E), Pine Siberian oil, Pine Sylvestris oil, Korean pine oil, Hinoki oil (일본산, Hinoki-JP), Limonene, Hinoki oil (한국산, Hinoki-KR)의 11종을 사용하였다 (Table 2). 각 시료들은 동일 식물 종을 대상으로 한 선행 연구에서 α -pinene, limonene 등의 모노테르펜 계열 화합물이 주요 성분으로 확인된 바 있다 (Shin *et al.*, 2012; Selim *et al.*, 2014; Hwang *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2022; Altun, 2023; Nový *et al.*, 2023). 이들 성분은 세포막 교란을 통한 항균 활성 및 자유라디칼 소거를 통한 항산화 활성에 기여하는 것으로 알려져 있어 (Bakkali *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2012), 본 연구의 시료로 선정하였다 (Table 1). BO는 항균 활성 비교를 목적으로 한 실험 설계에 따라 값을 설정하였다. EO의 주요 구성 성분인 테르펜 계열 화합물과 높은 친화성을 가지며 (Pagliaro *et al.*, 2023), 단환형 모노테르펜 탄화수소로서 세포막과의 상호작용을 통해 세포 내 침투를 촉진해 혼합 EO의 항균 및 항산화능을 극대화할 수 있는 (Bassolé and Juliani, 2012) 리모넨 오일 40%를 베이스로 라벤더, 페퍼민트, 유칼립

Table 1. Major chemical compounds of essential oils used in this study.

No.	EOs	Major Compounds	Reference
1	Cypress Oil (<i>Cupressus sempervirens</i>)	α -pinene (48.6%), δ -3-carene (22.1%), limonene (4.6%), α -terpinolene (4.5%)	Selim <i>et al.</i> , 2014
2	Eucalyptus Oil (<i>Eucalyptus globulus</i>)	1,8-cineole (63.1%), p-cymene (7.7%), α -pinene (7.3%), limonene (6.9%)	Nový <i>et al.</i> , 2023
3	Lavender Oil (<i>Lavandula angustifolia</i>)	linalyl acetate (48.0%), linalool (18.6%), β -ocimene (6.9%)	Shin <i>et al.</i> , 2012
4	Peppermint Oil (<i>Mentha piperita</i>)	menthone (27.28%), L-menthol (23.71%), limonene (7.48%)	Altun, 2023
5	Tea Tree Oil (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	4-terpineol (35.22%), γ -terpinene (19.63%), α -terpinene (10.73%)	Shin <i>et al.</i> , 2012
6	Pine Siberian Oil (<i>Pinus sibirica</i>)	α -pinene, β -pinene, δ -3-carene, limonene, bornylacetate	Liu <i>et al.</i> , 2022
7	Pine Sylvestris Oil (<i>Pinus sylvestris</i>)	α -pinene, δ -3-carene, limonene, β -caryophyllene	Liu <i>et al.</i> , 2022
8	Korean Pine Oil (<i>Pinus koraiensis</i>)	α -pinene (19.38%), 3-carene (10.21%), camphene (9.82%), limonene (9.00%)	Hwang <i>et al.</i> , 2014
9	Hinoki Oil (JP/KR) (<i>Chamaecyparis obtusa</i>)	dl-limonene (20.45%), γ -terpinene (14.36%), α -terpinene (7.62%)	Shin <i>et al.</i> , 2012
10	Limonene (d-Limonene)	d-limonene ($\geq 99\%$)	Pagliaro <i>et al.</i> , 2023

Table 2. EOs list.

No.	Name	Supplier	Remarks	Purchase date
1	EO A	Charabot	Cypress Oil	2012. 11. 05
2	EO B	Charabot	Eucalyptus Oil	2012. 10. 23
3	EO C	Charabot	Lavender Oil	2012. 10. 23
4	EO D	Charabot	Peppermint Oil	2012. 10. 23
5	EO E	FKA	Tea tree Oil	2012. 10. 31
6	Pine Oil	Charabot	Pine Siberian	2012. 10. 23
7	Pine Oil	서울향료	Pine Sylvestris	2012. 10. 16
8	잣솔방울 오일	Solgo	Korean pine Oil	2012. 10. 16
9	일본산 편백오일	Kiso	Hinoki Oil	2012. 10. 16
10	Limonene	Florida chemical	Limonene	2012. 10. 16
11	한국산 편백오일	GnG	Hinoki Oil	2012. 10. 16

Table 3. BOs list.

EOs	1	2	3	4
Limonene Oil	40	40	40	40
Lavender Oil	30	10	10	10
Peppermint Oil	10	30	10	10
Eucalyptus Oil	10	10	30	10
Tea Tree Oil	10	10	10	30
Total (%)	100	100	100	100

투스, 티트리 오일을 각각 주성분 30% 및 보조성분 10%로 혼합하여 총 4종의 BO를 제조하였다 (Table 3). 본 실험은 2012년 11월 23일부터 12월 7일까지 2회에 걸쳐 수행되었으며, 사용된 모든 EO는 실험 시작 직전에 구입하여 사용하였다 (Table 2).

1.2. 공시 균주

항균 활성 평가에 활용된 공시 균주는 그람양성균 7종, 그람 음성균 5종 및 진균 1종을 포함한 총 13종으로 구성되었으며, 모든 균주는 한국중균협회로부터 분양받아 실험에 사용하였다 (Table 4). 공시 균주는 그람 양성균·음성균·진균에 대한 광범위 항균 스펙트럼을 평가하고 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* 등 WHO 지정 다제내성 병원균을 포함하여 임상적 유용성을 종합적으로 검토하기 위해 선정하였다 (Chouhan *et al.*, 2017; Boskovic *et al.*, 2024).

2. 항산화 활성 평가

2.1. 세포독성 측정 (MTT assay)

세포독성 평가는 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-

Table 4. 13 Reference strains used in this study.

Gram positive bacteria	ATCC
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14990
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	49619
<i>Bacillus cereus</i>	14579
MRSA	33591
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212
<i>Enterococcus faecium</i>	29212
Gram negative bacteria	ATCC
<i>Escherichia coli</i>	25922
<i>Enterobacter cloacae</i>	700323
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13883
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853
<i>Acinetobacter baumannii</i>	15150
Fungus	ATCC
<i>Candida albicans</i>	10231

Itetrazolium bromide) assay를 이용하였다. RAW 264.37 세포를 96 well plate에 5×10^4 cells/well에 분주 후 24시간 동안 배양하였다. 이후 기존 배지를 신선한 배지로 교체하고, 11종의 EO를 0.1% 및 1% 농도로 각각 처리한 후 24시간 추가 배양하였다. 배양 완료 후 WST (water-soluble tetrazolium) solution 10 μ L를 각 well에 반응시키고 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 30분 간 발색 반응을 진행하였다. 최종적으로 450 nm 파장에서 흡광도를 측정하였으며, 대조군 대비 세포 생존율 (%)을 산출하였다.

2.2. DPPH 소거능 측정 (DPPH assay)

항산화 활성 평가는 DPPH (di(phenyl)-(2,4,6-trinitrophenyl) iminoazanium) 라디칼 소거능을 측정하였다 (Blois, 1958). 에탄올에 용해한 0.2 mM DPPH 용액 150 μ L에 에탄올로 조제한 10% EO 시료 100 μ L를 혼합하였으며, 차광 조건의 37°C에서 30분간 반응을 유도하였다. 대조군은 EO 대신 동량의 증류수를 에탄올에 혼합하여 사용하였고, DPPH 용액 대신 에탄올을 사용하여 보정값을 산출하였다. 라디칼 소거율은 대조군과 시료 처리군 간의 흡광도 차이를 기반으로 계산하였다.

2.3. 세포 내 ROS 생성 측정

RAW 264.7 세포에서의 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS) 생성 수준을 평가하기 위해 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA) 형광 염료를 활용하였다. 12 well plate에 RAW 264.7 세포를 5×10^5 cells/well의 밀도로 접종하고 24시간 안정화 배양하였다. 이후 11종의 EO를 0.1% 및 1% 농도로, LPS는 1 μ g/

mL 농도로 각각 처리하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24시간 추가 배양하였다. 배양 완료 후 원심분리로 세포를 수집하고 차가운 PBS로 2회 세척하였다. 세척된 세포에 DCF-DA의 최종 농도가 10 µM이 되도록 PBS를 첨가하여 차광 조건의 상온에서 15분간 염색하였다. 염색 완료 후 차가운 PBS로 세척하고 1,200 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 이후 PBS 400 µL를 넣어 다시 부유시킨 뒤 유세포 분석기 (flow cytometer, BECTON Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)를 이용하여 형광강도 변화를 분석하였다.

3. 항균 활성 평가

3.1. Paper disc (disk diffusion) 확산법

에센셜오일의 항균 활성 평가는 paper disc 확산법을 이용하였다. 공시 균주를 Mueller-Hinton agar 배지에 균일하게 도말한 후, 직경 8 mm의 멸균 paper disc (Advantec Filter Paper, Toyo Roshi Kaisha Ltd., Japan)에 원액 및 5단계 농도 (100%, 80%, 70%, 50%, 30%)의 시료와 음성 대조군으로 알코올 15 µL를 흡수시켰다. 용매를 충분히 휘발시킨 뒤 disc를 배지 표면에 밀착 부착하고 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양 완료 후 형성된 clear zone의 직경을 측정해 항균력을 평가하였다.

3.2. 최소억제농도 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)와 최소사멸농도 (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) 측정

에센셜오일의 MIC 결정은 Broth Dilution Method를 적용하여 수행하였다. EO, 지표물질 및 항생물질은 99% 알코올을 용매로 하여 0~20 µg/mL로 희석하였으며, 각 균주는 탁도계를 통해 농도를 조정 후 100배 희석하였다. 멸균된 Kahn tube 내 MHB (Mueller-Hinton broth) 500 µL에 오일 500 µL를 희석한 뒤, 균이 희석된 액 500 µL를 순차적으로 첨가하였다. 이후 37°C에서 18~22시간 배양하였으며, 배양 완료 후 육안으로 탁도를 확인하고 음성 및 양성 대조군과 비교하여 균 생장이 확인되지 않는 최저 농도를 MIC로 결정하였다.

MBC 측정을 위해 MIC 결정 과정의 각 시간대별 배양액 100 µL를 취하여 해당 균주의 선택배지에 도말하고 37°C에서 24~48시간 배양하였다. 형성된 colony 수를 계수하여 목적 균주를 99% 이상 완전 사멸시키는 최저 농도를 MBC로 설정하였다. 모든 실험은 독립적으로 3회 반복 수행하여 결과를 도출하였다.

4. 통계처리

실험 결과는 SPSS 26.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA)을 이용하여 분석하였다. RAW 264.7 세포에 대한 세포독성, DPPH 라디칼 소거능 및 LPS에 의해 유도된 ROS 생성에 미치는 영향은 Student's t-test를 실시하였으며, $p < 0.05$, $p < 0.01$ 및 $p < 0.001$ 수준에서 유의성을 검정하였다. Paper disc 확산법을 이용

한 항균 활성 평가에서는 비모수 검정을 적용하여 11종 EO 간 항균력 비교 및 농도별 항균력 변화는 Kruskal-Wallis 검정을 실시하였으며, 유의한 차이가 확인된 경우 Bonferroni 수정을 통한 사후검정을 실시하였다. 그람양성균과 그람음성균 간 항균력 차이는 Mann-Whitney U 검정을 이용하여 비교하였다. Kruskal-Wallis 검정 및 Mann-Whitney U 검정의 유의수준은 $p < 0.05$ 로 검정하였다.

결 과

1. RAW 264.7 세포에 대한 11종 Essential oil의 세포독성에 미치는 영향

0.1% 농도에서는 세포독성이 나타나지 않았지만, 1% 농도에서는 오일 간 세포독성에 차이가 나타났으며, 대부분의 EO는 80% 이상의 세포 생존율을 유지하여 비교적 낮은 독성을 나타낸 반면, 9 (Hinoki-JP)번 오일은 약 30%의 세포 생존율을 나타내어 다른 EO에 비해 현저히 높은 세포독성을 보였다. 1 (Cypress), 2 (Eucalyptus), 8 (Korean pine)번 오일은 약 80%, 4 (Peppermint)번 오일은 약 70%의 세포 생존율을 나타내어 중간 수준의 세포독성을 보였으며, 나머지 오일들은 90% 이상의 세포 생존율을 유지하여 세포독성이 거의 없는 것으로 확인되었다 (Fig. 1).

2. EO 11종이 DPPH 소거능에 미치는 영향

10% 오일 농도에서 자유 라디칼 소거능을 확인한 결과, 9 (Hinoki-JP)번 오일이 약 105%로 가장 높은 소거능을 나타내어 2 (Eucalyptus)번 오일 (약 10%)에 비해 현저히 우수한 항산화 활성을 보였다. 침엽수 유래 오일 중에서는 8 (Korean pine)번 (약 90%)과 1 (Cypress)번 (약 80%) 오일이 상대적으로 높은 소거능을 나타낸 반면, 10 (Limonene)번과 11 (Hinoki-KR)번 오

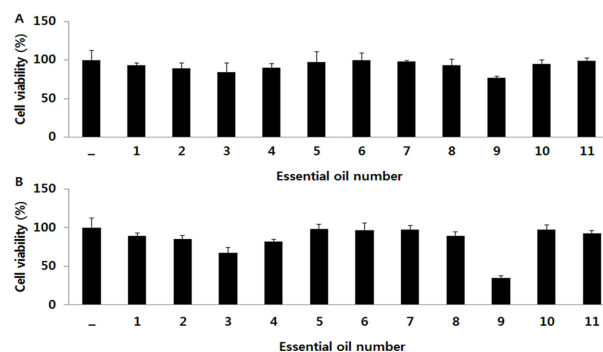


Fig. 1. Cell viability of essential oils treatment on RAW 264.7 cells. Cells were treated with 0.1 and 1 (%) of essential oils for 24h. Cell toxicity was measured using an MTT assay. Each value represent the mean $\pm$ S.D. from 3 independent experiments. (A), essential oils 0.1%; (B), essential oils 1%.

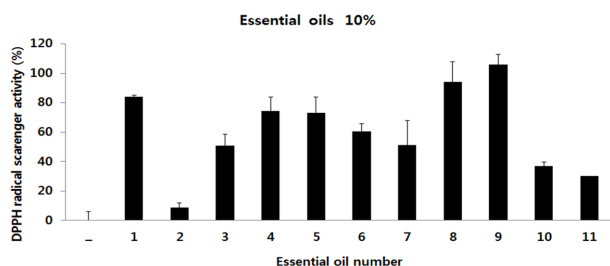


Fig. 2. DPPH free radical scavenging activity of essential oils at various concentration. Extracts were incubated with DPPH solution at 37°C for 30 mins. Activities were determined by measurement of absorbance at 517 nm. The results are expressed as mean $\pm$ S.D. from three independent experiments.

일은 약 30~35%로 동일 침엽수 계열임에도 낮은 활성을 보여 오일 종류에 따른 차이가 확인되었다. 허브류 오일 중에서는 4 (Peppermint)번과 5 (Tea tree)번 오일이 약 75%로 3 (Lavender) 번 및 7 (Pine Sylvestris)번 오일 (약 50%)에 비해 높은 소거능을 나타내었다 (Fig. 2).

3. 11종의 EO이 LPS에 의해 유도된 ROS 생성에 미치는 영향

LPS에 의해 유도된 ROS 생성에 대한 EO의 억제 효과는 농도 및 오일 종류에 따라 뚜렷한 차이를 보였다. 0.1% 농도에서는 대부분의 오일에서 효과가 미미한 반면, 3 (Lavender)번과 10 (Limonene)번 오일이 약 10%, 7 (Pine Sylvestris)번 오일이 약 20%의 ROS 생성률 감소를 나타내어 저농도에서도 일부 효과

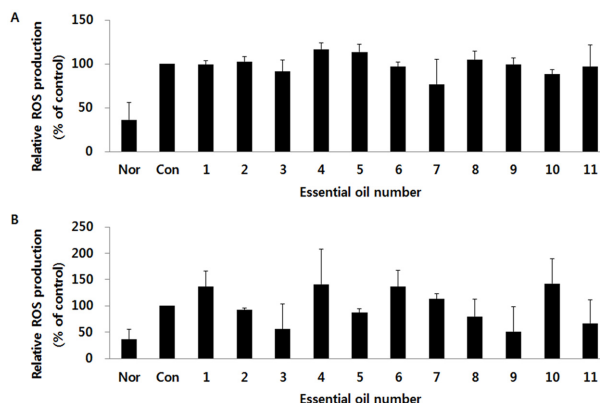


Fig. 3. Influence of essential oils on intracellular ROS generation in RAW 264.7 cells. RAW 264.7 cells were simultaneously exposed to varying concentrations of essential oils alongside LPS (1 μ g/mL) for a 24-hour treatment period. Intracellular ROS accumulation was subsequently quantified via flow cytometric analysis (FACS). All data are expressed as mean $\pm$ S.D. calculated from three independent experimental replicates. Nor, normal control (without LPS treatment); Con, positive control (LPS-treated without essential oil treatment). A; 0.1% essential oils treatment group, B; 1% essential oils treatment group.

가 확인되었다. 1% 농도에서는 전반적으로 억제 효과가 증가하였으며, 특히 3 (Lavender)번, 9 (Hinoki-JP)번, 11 (Hinoki-KR)번 오일이 약 50%의 감소율을 보여 2 (Eucalyptus)번, 5 (Tea tree)번, 8 (Korean pine)번 오일 (약 25%)에 비해 유의하게 높은 억제 효과를 나타내었다. 이러한 결과는 ROS 억제 효과가 농도 의존적이며, 오일의 화학적 조성에 따라 그 효과가 다를 수 있다 (Fig. 3).

4. 13 균종별 11종의 에센셜 오일에 대한 paper disk diffusion 결과

Paper disc 확산법을 이용하여 11종의 EO에 대한 항균 활성을 평가하였다. Kruskal-Wallis 검정 결과 11종 EO 간 항균력에 유의한 차이가 있었으며 ($H = 89.546, p < 0.001$), Bonferroni 사후검정에서 5 (Tea tree)번 오일이 가장 높은 항균력을 나타내어 대부분의 EO에 비해 유의하게 우수한 항균 활성을 보였다 ($p < 0.05$).

그람양성균과 그람음성균 간 억제환을 비교한 결과, 그람양성균의 평균 억제환이 그람음성균에 비해 전 농도에 걸쳐 유의하게 높게 나타났다 (Fig. 5). 그람양성균에서는 5 (Tea tree)번과 4 (Peppermint)번 오일이 Pine류 및 편백류 오일에 비해 유의하게 높은 항균력을 보인 반면 (Fig. 4), 그람음성균에서는 5 (Tea tree)번 오일만이 대부분의 EO에 비해 유의하게 높은 항균력을 나타내어 그람음성균에는 다소 효과가 없는 것으로 확인되었다 (Table 5).

농도별 비교에서는 오일 농도가 증가할수록 억제환이 유의하게 증가하는 경향을 보였으며, 이러한 경향은 그람양성균에서 더욱 두드러지게 나타났다 (Fig. 5).

진균인 *C. albicans*에 대해서는 100% 농도에서 1~5번 오일 모두 35 mm의 억제환을 형성하였으며, Pine류 및 편백류 오일

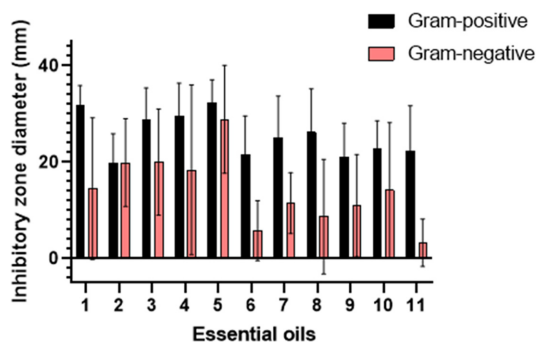


Fig. 4. Comparison of inhibitory zone diameters of 11 essential oils against Gram-positive and Gram-negative bacteria at 100% concentration. Mean $\pm$ SD. 1, Cypress oil (EO A); 2, Eucalyptus oil (EO B); 3, Lavender oil (EO C); 4, Peppermint oil (EO D); 5, Tea tree oil (EO E); 6, Pine oil-Charabot (Pine C); 7, Pine oil-Seoul (Pine Sylvestris); 8, Korean pine oil; 9, Hinoki oil, Japan (Hinoki-JP); 10, Limonene; 11, Hinoki oil, Korea (Hinoki-KR). Significant differences among 11 essential oils were determined by Kruskal-Wallis test with Bonferroni post-hoc test ($p < 0.05$).

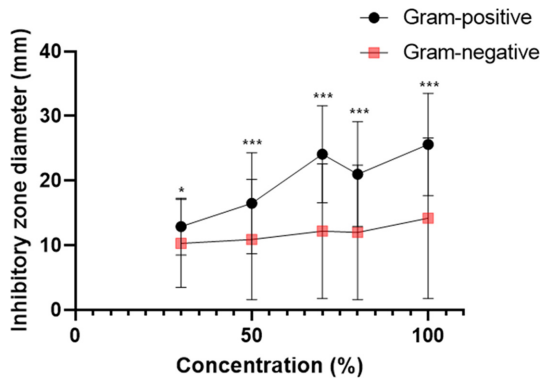


Fig. 5. Inhibitory zone diameters of essential oils against Gram-positive and Gram-negative bacteria at different concentrations. Mean±SD. Gram-positive bacteria showed significantly higher inhibitory zone diameters than Gram-negative bacteria at all concentrations (Mann-Whitney U test; 30%: * $p < 0.05$, 50%-100%: *** $p < 0.001$).

에 비해 전반적으로 높은 항진균 활성이 관찰되었다 (Table 5).

5. 최소억제농도 (MIC)와 최소사멸농도 (MBC) 측정 결과

MIC 및 MBC 결과를 오일 간 비교한 결과, 5 (Tea tree)번 오일이 MIC 평균 0.1 $\mu\text{g/mL}$, MBC 평균 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 로 11종 중 가장 낮은 농도에서 항균 및 사멸 활성을 나타내어 항균력이 가장

우수하였다. 2 (Eucalyptus)번 오일은 MIC 평균 0.2 $\mu\text{g/mL}$, MBC 평균 0.3 $\mu\text{g/mL}$ 로 5번 오일에 이어 두 번째로 높은 항균력을 보였으며, 두 오일 모두 나머지 오일에 비해 현저히 낮은 농도에서 유효한 활성을 나타내었다. 반면 4 (Peppermint)번과 9 (Hinoki-JP)번 오일은 MIC 및 MBC 모두 3.0 $\mu\text{g/mL}$ 이상으로, 5번 오일에 비해 약 30배 이상 높은 농도에서 활성이 나타나 항균력이 가장 낮았다. 그 외 3 (Lavender)번, 7 (Pine Sylvestris)번, 10 (Limonene)번 오일은 MIC 0.4~0.5 $\mu\text{g/mL}$, MBC 0.7~1.1 $\mu\text{g/mL}$ 로 중상위 수준의 항균 활성을 보인 반면, 1 (Cypress)번, 6 (Pine Siberian)번, 8 (Korean pine)번, 11 (Hinoki-KR)번 오일은 MIC 1.3~2.2 $\mu\text{g/mL}$, MBC 1.0~2.6 $\mu\text{g/mL}$ 로 중간 수준의 항균력을 나타내었다 (Table 6 and 7).

6. Blending 후 Oil 4종의 항균 실험 결과

10 (Limonene)번 오일 40%를 베이스로 하고 Lavender, Peppermint, Eucalyptus, Tea tree 오일을 주성분 (각 30%) 및 보조성분 (각 10%)으로 Blending한 4종의 오일에 대해 Disc diffusion, MIC 및 MBC 실험을 실시하였다.

Disc diffusion 결과, 농도가 높아 질수록 억제환이 증가하는 경향을 보였으며, 100% 농도에서 BO 4 (Tea tree)번 BO이 평균 억제환 직경 25.2 mm로 가장 높은 항균 활성을 보인 반면, 1 (Lavender)번 BO은 23.8 mm로 가장 낮은 활성을 보였다. 모

Table 5. Inhibitory zone diameters (mm) of 11 essential oils against 13 microbial strains at 100% concentration.

EOs 100%	Microorganism	EO A	EO B	EO C	EO D	EO E	Pine oil-Charabot	Pine oil-서울향료	жатл방울 오일	일본산 편백오일	Limonene	한국산편 백오일
Gram-positive	<i>S. aureus</i>	29.00	18.00	19.00	27.00	32.00	14.00	16.00	20.00	16.50	24.00	33.00
	<i>S. epidermidis</i>	35.00	26.50	35.00	35.00	35.00	25.50	27.00	33.00	28.00	28.50	23.00
	<i>S. pneumoniae</i>	26.00	14.00	24.00	16.00	22.00	21.00	18.00	30.00	14.00	17.00	17.00
	MRSA	35.00	24.00	30.50	29.50	32.00	18.00	15.00	10.50	17.00	17.50	13.00
	<i>B. cereus</i>	27.00	26.00	34.50	35.00	35.00	35.00	35.00	33.00	30.50	31.50	24.50
	<i>E. faecalis</i>	35.00	11.00	24.00	30.00	35.00	26.00	29.00	22.00	15.00	18.00	11.00
	<i>E. faecium</i>	35.00	20.00	35.00	35.00	35.00	11.00	35.00	35.00	27.00	24.00	35.00
Gram-negative	Mean	31.70	19.90	28.90	29.60	32.30	21.50	25.00	26.20	21.10	22.90	22.40
	SD	4.20	6.00	6.50	6.80	4.80	8.10	8.70	9.00	7.00	5.70	9.30
	<i>E. coli</i>	26.00	26.50	31.00	35.00	35.00	12.50	10.00	20.50	11.00	27.00	5.50
	<i>E. cloacae</i>	0.00	14.00	13.00	0.00	33.00	0.00	10.00	0.00	28.00	0.00	0.00
	<i>K. pneumoniae</i>	14.50	17.00	22.00	22.00	32.50	4.50	10.50	0.00	0.00	15.00	0.00
	<i>P. aeruginosa</i>	0.00	10.00	5.00	0.00	9.00	0.00	5.00	0.00	5.00	0.00	0.00
	<i>A. baumannii</i>	32.00	32.00	29.00	35.00	35.00	12.00	22.00	23.00	11.00	29.00	11.00
Fungi	Mean	14.50	19.90	20.00	18.40	28.90	5.80	11.50	8.70	11.00	14.20	3.30
	SD	14.70	9.10	11.00	17.60	11.20	6.20	6.30	11.90	10.60	14.00	4.90
Fungi	<i>C. albicans</i>	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00	28.00	31.00	33.50	25.00	33.50	25.00

Table 6. Minimum inhibitory concentration (MIC) results of 11 essential oils against 13 bacterial strains ($\mu\text{g/mL}$).

균종 \ 종류	EO A	EO B	EO C	EO D	EO E	Pine Oil charabot	Pine Oil 서울향료	잣솔 방울오일	일본산 편백오일	Limonene	한국산 편백오일
<i>S. aureus</i>	0.06	0.25	0.06	0.06	0.06	0.06	0.25	0.25	0.06	0.13	0.25
<i>S. epidermidis</i>	8.00	0.13	0.06	0.06	0.06	0.06	0.13	0.13	0.06	0.13	0.06
MRSA	0.06	0.25	0.06	0.06	0.06	0.06	1.00	0.50	0.06	0.06	0.06
<i>B. cereus</i>	0.06	0.13	0.06	16.00	0.06	0.06	0.13	0.06	0.06	0.06	0.06
<i>E. faecalis</i>	0.25	0.25	0.06	0.06	0.06	0.13	0.25	0.25	-	0.13	0.06
<i>E. faecium</i>	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.25	-	0.13	0.06
<i>E. coli</i>	0.13	0.06	0.06	0.06	0.06	0.13	0.25	0.06	1.00	0.06	0.50
<i>E. cloacae</i>	4.00	0.25	0.50	8.00	0.13	8.00	0.50	8.00	-	1.00	4.00
<i>K. pneumoniae</i>	4.00	0.25	2.00	8.00	0.06	8.00	0.25	8.00	8.00	0.13	4.00
<i>P. aeruginosa</i>	2.00	0.50	1.00	16.00	1.00	2.00	1.00	2.00	4.00	4.00	8.00
<i>A. baumannii</i>	0.50	0.13	0.25	2.00	0.06	8.00	1.00	4.00	-	0.50	4.00
<i>C. albicans</i>	0.25	0.50	0.06	0.06	0.06	0.25	0.50	0.25	4.00	0.06	0.06

Table 7. Minimum bactericidal concentration (MBC) results of 11 essential oils against 13 bacterial strains ($\mu\text{g/mL}$).

균종 \ 종류	EO A	EO B	EO C	EO D	EO E	Pine Oil charabot	Pine Oil 서울향료	잣솔방울 오일	일본산 편백오일	Limonene	한국산 편백오일
<i>S. aureus</i>	0.06	0.25	1.00	0.06	0.06	0.06	0.25	0.25	1.00	0.25	0.13
<i>S. epidermidis</i>	0.25	0.25	0.13	0.06	0.06	0.13	0.25	0.25	0.06	0.25	0.06
MRSA	0.50	0.25	0.06	0.06	0.25	0.50	4.00	0.50	1.00	0.25	0.50
<i>B. cereus</i>	0.06	0.13	0.13	4.00	0.13	0.06	0.25	0.13	0.06	0.06	0.06
<i>E. faecalis</i>	0.25	0.50	0.06	0.06	0.06	0.13	0.50	0.50	-	0.25	0.06
<i>E. faecium</i>	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.25	-	0.50	0.06
<i>E. coli</i>	0.13	0.06	0.06	0.06	0.06	0.13	0.25	0.06	0.50	0.06	0.50
<i>E. cloacae</i>	4.00	0.25	0.50	8.00	0.13	8.00	0.50	8.00	-	1.00	4.00
<i>K. pneumoniae</i>	2.00	0.25	2.00	8.00	0.06	4.00	0.25	2.00	8.00	0.13	4.00
<i>P. aeruginosa</i>	4.00	0.50	8.00	16.00	1.00	8.00	1.00	4.00	16.00	8.00	16.00
<i>A. baumannii</i>	0.50	0.13	0.50	2.00	0.06	8.00	1.00	8.00	-	1.00	4.00
<i>C. albicans</i>	0.25	0.50	0.13	0.06	0.13	0.25	0.50	0.25	-	0.06	0.13

Table 8. Disk diffusion results of four blended essential oils against 13 microbial strains.

종류 \ 실험	Disc diffusion(mm)						MIC ($\mu\text{g/mL}$)	MBC ($\mu\text{g/mL}$)
	Oil 원액	Oil 80%	Oil 70%	Oil 50%	Oil 30%	M		
Blending Oil 1	23.80	19.40	20.90	20.50	15.30	20.00	1.09	1.24
Blending Oil 2	24.90	20.90	22.80	22.80	15.80	21.50	0.70	0.70
Blending Oil 3	24.50	19.50	18.20	20.90	14.70	19.60	0.70	0.78
Blending Oil 4	25.20	20.90	24.80	21.60	15.50	21.60	0.64	1.02

든 BO는 베이스 오일인 10 (Limonene)번 오일의 100% 농도에
서 평균 22.9 mm 억제환과 동일하거나 높은 항균 활성을 보였다.

MIC 측정 결과, BO 2 (Peppermint)번과 3 (Eucalyptus)이

0.70 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 낮은 MIC를 나타내었으며, BO 4 (Tea tree)
번이 0.64 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 우수한 항균력을 보였다. 베이스 오일
인 10 (Limonene)번 오일과 단독 비교 시 BO의 MIC가 다소 높

Table 9. Fractional inhibitory concentration (FIC) index of four blended essential oils against 12 microbial strains.

Microorganism	BO 1		BO 2		BO 3		BO 4	
	FIC	Interaction	FIC	Interaction	FIC	Interaction	FIC	Interaction
<i>S. aureus</i>	12.64	An	8.12	An	6.44	An	7.42	An
<i>S. epidermidis</i>	13.08	An	8.40	An	7.28	An	7.68	An
MRSA	16.13	An	10.36	An	8.68	An	9.47	An
<i>B. cereus</i>	14.83	An	7.29	An	8.40	An	8.71	An
<i>E. faecalis</i>	12.64	An	8.12	An	6.44	An	7.42	An
<i>E. faecium</i>	12.64	An	8.12	An	6.44	An	7.42	An
<i>E. coli</i>	17.44	An	11.2	An	11.2	An	10.24	An
<i>E. cloacae</i>	2.41	I	1.29	I	1.83	I	2.18	I
<i>K. pneumoniae</i>	5.85	An	3.7	I	4.24	An	5.42	An
<i>P. aeruginosa</i>	0.77	Ad	0.36	S	0.63	Ad	0.45	S
<i>A. baumannii</i>	4.85	An	2.62	I	3.67	I	4.38	An
<i>C. albicans</i>	15.91	An	10.22	An	8.26	An	9.34	An

FIC index was calculated as the sum of (MIC of each component in blend $\times$ proportion) / MIC of each component alone. S, Synergistic (FIC $\leq$ 0.5); Ad, Additive (0.5 < FIC $\leq$ 1.0); I, Indifferent (1.0 < FIC $\leq$ 4.0); An, Antagonistic (FIC > 4.0). *Synergistic effect was observed against *P. aeruginosa* with BO 2 and 4.

게 나타냈다 (Table 8).

Blending 효과를 정량적으로 평가하기 위해 FIC index를 계산한 결과, *P. aeruginosa*에 대해 2 (Peppermint)번과 4 (Tea tree)번 BO에서 synergistic effect (FIC $\leq$ 0.5)가 확인되었으며, 1 (Lavender)번과 3 (Eucalyptus)번 BO에서는 additive effect (FIC $\leq$ 1.0)가 관찰되었다. 그러나 대부분의 균종에서는 antagonistic effect (FIC > 4.0)가 나타나 블렌딩이 전반적인 항균력 향상에 기여하지 못하며, 이는 구성 성분 간의 상호작용이 특정 균종에 선택적으로 작용함을 시사한다 (Table 9).

고 찰

EO는 식물에서 나오는 방향성의 휘발성 이차 대사 산물로, 그 중에서 핵심적인 성분은 테르펜 (Terpenes)과 테르페노이드 (Terpenoids) 화합물이다 (Bakkali *et al.*, 2008). 선행 연구에서 피톤치드 (Phytoncide)의 주요 모노테르펜 (α -Pinene 등)은 소나무, 편백나무 등 침엽수 유래 EO에서 흔히 발견되며 강력한 생리 활성을 지닌 것으로 알려져 있다. 이는 미생물의 세포막에 대한 높은 친화력을 바탕으로 세포막의 구조적 통합성을 교란하고 투과성을 변화시킴으로써 미생물의 성장을 억제하거나 사멸을 유도하는 기전을 갖는다 (Silva *et al.*, 2012). 본 연구에서 사용된 EO 역시 이러한 피톤치드의 특성이 실험에서 일관되게 확인되었다.

실험 결과, 9 (Hinoki-JP)번 오일은 10% 농도에서 약 90~110%

의 높은 DPPH 소거능을 보였으며, 1% 농도에서 ROS 생성률을 약 50% 감소시켰다. 그러나 동일한 1% 농도에서 9 (Hinoki-JP)번 오일은 약 70%의 높은 세포독성을 나타냈다는 점에서 ROS 생성 감소가 진정한 항산화 효과에 의한 것인지, 세포 사멸로 인한 ROS 생성 자체의 감소에 기인한 것인지 명확히 구분하기 어렵다. 선행 연구에서 *C. obtusa* EO는 caspase-3 활성화 및 세포주기 관련 단백질 발현 변화를 통해 세포독성을 유발하는 것으로 보고된 바 있어 (Kang *et al.*, 2020), 동일 농도에서 관찰된 ROS 감소가 세포 사멸에 의한 영향일 가능성을 배제할 수 없다. 따라서 현 실험 조건에서 9 (Hinoki-JP)번 오일을 항산화 소재로서 평가하기 위해서는 세포독성이 나타나지 않는 농도 범위에서의 추가 실험을 통한 재검증이 선행되어야 한다. 항균 측면에서는 5 (Tea tree)번 오일이 100% 원액뿐만 아니라 70~80%의 희석 농도에서도 11종의 오일 중 가장 높은 활성을 보였다. 특히 다른 오일들이 낮은 활성을 보인 그람양성균주들에 대해서도 30 mm 이상의 높은 활성을 일관되게 유지하였다. 그람양성균이 그람음성균에 비해 높은 항균 감수성을 보인 결과는 세포벽 구조의 차이에 기인한다. 그람양성균은 두꺼운 펩티도글리칸 층으로 구성되어 EO의 소수성 성분이 비교적 용이하게 세포막에 접근할 수 있는 반면, 그람음성균은 지질다당류 (LPS)를 포함하는 외막이 추가로 존재하여 소수성 분자의 침투를 막음으로써 EO에 대한 내성이 더 높게 나타난다 (Gyawali and Ibrahim, 2014).

그러나 9 (Hinoki-JP)번 오일이 보여준 70%에 달하는 높은 세

포도성은 향후 천연 소재의 임상적 적용 및 제품화 단계에서 해결해야 할 중요한 과제이다. 특히 동일한 편백나무 (Hinoki) 유래 오일임에도 불구하고 원산지에 따라 오일의 화학적 성분과 생리활성이 다를 수 있다는 점을 연구해 볼 필요가 있다. 이러한 원산지별 성분 차이를 규명하기 위해서는 향후 GC-MS 분석을 통한 성분 비교 연구가 필요하다.

이와 더불어, 본 연구에서 시도한 4종의 BO 실험 결과는 고독성 단일 오일의 문제점을 해결할 수 있는 대안 중 하나이다. 실험 결과 BO 2 (Peppermint)변과 BO 4 (Tea Tree)변은 단일 EO만 사용했을 때보다 낮은 농도 (50% 이하)에서도 유의미한 항균 활성을 유지하였다. 특히 BO 4 (Tea Tree)변은 균의 증식 억제능이 우수하였고, BO 2 (Peppermint)변은 더 낮은 농도에서 실제 균을 사멸시키는 MBC 값을 나타내었다. 또한 BO의 항균 상호작용을 정량적으로 평가하기 위해 FIC index를 산출한 결과, *P. aeruginosa*에 대해 BO 2 (Peppermint)변과 4 (Tea tree)변에서 synergistic effect ($FIC \leq 0.5$)가 확인되었으나, 대부분의 균종에서는 antagonistic effect ($FIC > 4.0$)가 나타났다. 이는 BO의 상호작용이 균종에 따라 선택적으로 작용함을 시사하며, 향후 균종별 최적 블렌딩 비율 도출을 위한 추가 연구가 필요하다.

이러한 결과는 선행 연구에서 EO의 효과가 주요 성분에 의해서만 결정되는 것이 아니라 여러 성분이 복합적으로 작용한다는 것을 보여준다는 보고와 일치한다 (Galindo *et al.*, 2010). 즉, 강한 항균 및 항산화능을 가졌으나 세포독성이 우려되는 고독성 오일을 적절한 비율로 블렌딩함으로써, 세포에 가해지는 부담은 최소화하면서도 항균 및 항산화 효능은 극대화하는 혼합 비율을 도출할 수 있다 (Sharma *et al.*, 2020; Leigh-de Rapper *et al.*, 2021). 그러나 우려되는 점으로는, 각 오일의 미량 성분이 주요 성분의 활성을 촉진하는 과정에서 세포독성을 증가시킬 수 있는 위험이 있다 (Altun, 2023). 이같은 우려 속에서 최근에는 EO의 각 성분을 PLGA 나노입자에 캡슐화했을 시 세포독성을 제거한다는 연구 결과가 보고된 바 있다 (Adeyemi *et al.*, 2023). 향후, 본 연구 결과를 바탕으로 항균 및 항산화능이 뛰어나지만 고독성을 나타내어 복합사용이 어려운 오일을 나노캡슐화 같은 최신 기술을 접목하여 인간 피부세포 등을 이용한 *in vitro* 연구 환경에서의 안전성을 검증하는 후속 연구는 충분한 가치를 지닐 것으로 보인다. 또한, 향후 천연 소재 기반 기능성 소재 개발 및 임상 적용을 위한 기초 과학적 근거를 마련하는 데 기여할 것으로 판단된다.

다만 본 연구에서는 몇 가지 한계점이 있어 향후 연구에서의 보완이 필요하다. 첫째, 각 EO의 주요 성분을 GC-MS로 분석하지 않아 주요 활성 성분과 항산화 및 항균 효과 간의 직접적인 상관관계를 규명하지 못하였다. 둘째, 본 연구에서 DPPH 소거능 및 세포독성 실험의 시료 농도를 mg/mL 단위가 아닌 희석농도 (%)로 표현하였는데, EO는 종류에 따라 밀도가 상이하

므로 동일한 희석농도라 하더라도 오일 종류마다 실제 포함된 유효 성분의 질량이 달라져 객관적인 비교에 한계가 있다 (Hulankova, 2024). 셋째, EO의 점성으로 인해 마이크로피펫을 이용한 시료 취급 시 피펫 팁 벽면에 오일이 묻어나는 피펫팅 오류 가능성이 있으며, 이로 인해 실제 투여된 시료의 양이 설계값과 다를 수 있다 (Hulankova, 2024). 넷째, DPPH 소거능 및 세포독성 실험에서 BHA, BHT 등의 합성 항산화제를 양성 대조군으로 설정하지 않아 표준 항산화제와의 직접적인 비교가 이루어지지 않았으며, 이는 향후 연구에서 보완이 필요하다.

REFERENCES

- Adeyemi SB, Akere AM, Orege JI, Ejeromeghene O, Orege OB and Akolade JO. (2023). Polymeric nanoparticles for enhanced delivery and improved bioactivity of essential oils. *Heliyon*. 9:1-18.
- Altun M. (2023). *In vitro* evaluation of the antioxidant, antibacterial, antibiofilm, and cytotoxic activity of *Mentha piperita* essential oil, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12:1-5.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D and Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46:446-475.
- Bassolé IHN and Juliani HR. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*. 17:3989-4006.
- Blois MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181:1199-1200.
- Boskovic M, Zdravkovic N, Ivanovic J, Djordjevic J, Glamoclija N, Baltic MZ. (2024). Comprehensive review of the combined antimicrobial activity of essential oil mixtures and synergism with conventional antimicrobials. *Natural Product Communications*. 20:1-22.
- Bouftira I. (2023). Natural butylated hydroxytoluene(BHT): A review. *Quantum Journal of Medical and Health Sciences*. 25:1-13.
- Cheon J. S. (2007). Concept of ageing. *Korean Journal of Biological Psychiatry*. 13:129-137.
- Cho CK and Han CG. (1999). The effect of natural antimicrobial agent. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*. 25:87-99.
- Choe SY and Yang KH. (1982). Toxicological studies of antioxidants, butylated hydroxytoluene(BHT) and butylated hydroxyanisole(BHA). *Korean Journal of Food Science and Technology*. 14:283-288.
- Chouhan S, Sharma K, Guleria S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines* 4:58.
- Galindo LA, Pultrini Ade M and Costa M. (2010). Biological effects of *Ocimum gratissimum* L. are due to synergic action among multiple compounds present in essential oil. *Journal of Natural Medicines*. 64:436-441.
- Global Industry Analysts, Inc. (2026). Synthetic Antioxidants - Global Strategic Business Report. Global Industry Analysts, Inc. San Jose, California, USA. p.1-288.
- Gyawali R and Ibrahim SA. (2014). Effect of essential oils on

- pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* 6:1451-1474.
- Hulankova R.** (2024). Methods for determination of antimicrobial activity of essential oils *in vitro* — A review. *Plants* 13:2784.
- Hwang HJ, Yoo JS, Lee HY, Kwon DJ, Han W, Heo SI and Kim SY.** (2014). Evaluations on deodorization effect and anti-oral microbial activity of essential oil from *Pinus koraiensis*. *Korean Journal of Plant Resources*. 27:1-10.
- Im DY and Doo YT.** (2021). A study on the physiological activity of coffee tree leaf extract as a cosmetic material. *Journal of Business Convergence*. 6:63-68.
- Ji YJ, Lee JW and Lee IS.** (2007). Antimicrobial activity of medicinal plants against antibiotic resistant strains. *Journal of Life Science*. 17:412-419.
- Kang JH, Lee BY, Oh SH, Cho SH, Kim MJ.** (2020). Cytostatic effects of plant essential oils on human skin and lung cells. *Experimental and Therapeutic Medicine* 19:1909-1919
- Kim MJ, Jung TK, Hong IG and Yoon KS.** (2006). Comparison of anti-microbial oils as natural preservatives. *Journal of Society of cosmetic scientists of Korea*. 32:99-103.
- Kim, U.H. and Kim, Y.Y.** (2010). Phytocine extraction and processing technology and current status. *Dyeing and Finishing*. 12:71-82.
- Korea Disease Control and Prevention Agency(KDCA).** (2025). 3rd National Action Plan on Antimicrobial Resistance(2026-2030). Korea Disease Control and Prevention Agency. Cheongju, Korea. p.1-51.
- Lee JK, Yang HG, Seo JY, Baek SB, Sim MS, Ren SR, Lee JS, Chung ES and Cho HD.** (2023). A study on the antimicrobial and antioxidant activity of phytoncide extract. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*. 21:83-92.
- Leigh-de Rapper S, Viljoen A, van Vuuren S.** (2021). Essential oil blends: The potential of combined use for respiratory tract infections. *Antibiotics*. 10:1-20. <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/12/1517> (cited by 2026 Apr 02).
- Liu Y, Wei S and Liao M.** (2022). Chemical composition, total phenolic content, and antioxidant activity of the essential oils extracted from the needle of ten *Pinus* taxa. *Journal of Chemistry*. 2022:1-12.
- Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V.** (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* 6:1451-1474.
- Nový P, Better S, Hanáček P, Džupková M, Večeřová R, Sehnalová M, Zouharová M and Hollerová A.** (2023). Chemical composition and biological activities of *Eucalyptus globulus* essential oil. *Plants*. 12:1076.
- Pagliari M, Fabiano-Tixier AS and Ciriminna R.** (2023). Limonene as natural product extraction solvent. *Green Chemistry*. 25:5796-5806.
- Pang D, Ni Y, Li H, Zhou G, Li Y and Xu B.** (2025). Antimicrobial mechanism of typical microbial preservatives and its potentiation strategy by photodynamic inactivation: A review. *Food Microbiology*. 132:104833.
- Park SN and Kang YJ.** (2020). The effect of essential oils on antimicrobial activity. *Journal of Convergence for Information Technology*. 10:104-114.
- Selim SA, Adam ME, Hassan SM and Albalawi AR.** (2014). Chemical composition, antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil and methanol extract of the *Mediterranean cypress*. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 14:179.
- Sharma H and Rajput R.** (2023). The science of food preservation: A comprehensive review of synthetic preservatives. *Journal of Current Research in Food Science*. 4:25-29.
- Sharma K, Guleria S, Razdan VK and Babu V.** (2020). Synergistic antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of some selected medicinal plants in combination and with synthetic compounds. *Industrial Crops and Products*. 154:1-11
- Shin YH, Kim HJ, Lee JY, Cho YJ and An BJ.** (2012). Major compound analysis and assessment of natural essential oil on anti-oxidative and anti-microbial effects. *Journal of Life Science*. 22:1344-1351.
- Silva ACRd, Lopes PM, Azevedo MMBd, Costa DCM, Alviano CS, Alviano DS.** (2012). Biological activities of α -pinene and β -pinene enantiomers. *Molecules*. 17:6305-6316. <https://www.mdpi.com/1420-3049/17/6/6305> (cited by 2026 Apr 02).