

## Investigation of Antimicrobial Activity of Rutaceae Fruit Ethanol Extracts Against Microorganisms-induced Skin Inflammation

Mee-Kyung Kim\*

\*Professor, Dept. of Bio-Cosmetic Science, Seowon University, Cheongju, Korea

### [Abstract]

This study investigated the Antimicrobial activity of Rutaceae fruit ethanol extracts against microorganisms-induced skin inflammation in cosmetic materials. Rutaceae fruits were separated in two parts of whole fruit (pulp, pulp segment membrane, peel) and peel, and extracted with 70% ethanol. The results demonstrated that Rutaceae fruit ethanol extracts showed antimicrobial activity in 5 strains except *Staphylococcus aureus*. In particular, the antimicrobial activity against *Staphylococcus epidermidis* was the best in fresh lemons whole fruit. The antimicrobial activity against *Escherichia coli* was shown only in fresh lemon peel and fresh trifoliolate peel. Additionally, antimicrobial activity against *Propionibacterium acnes* was shown only in the dried lemon peel. In the results of antimicrobial activity against *Pityrosporum ovale*, in the case of fresh fruits, citron whole fruits showed the highest effect, followed by lemon whole fruits and mandarin orange peel. And in the case of dried fruits, orange peel showed the highest effect, followed by trifoliolate peel, mandarin orange peel and lemon peel. Therefore, it is considered that lemon, which shows antimicrobial activity against all skin inflammation-causing microorganisms, can be used as a natural material for improving skin inflammation in cosmetics.

▶ **Key words:** Antimicrobial activity, Rutaceae fruits, microorganisms-induced skin inflammation

### [요 약]

피부 염증 개선용 화장품 천연소재를 탐색하고자 피부 염증 유발 미생물 6종에 운향과 과실류 에탄올 추출물을 농도별로 처리하여 항균력을 비교 조사하였다. 운향과 과실류는 전과와 과피로 나누어 70% 에탄올로 추출하여 파우더 형태로 만들어 사용하였다. 그 결과 *Staphylococcus aureus* 균주를 제외한 5종의 균주에서는 항균활성을 확인할 수 있었고, 특히, *Staphylococcus epidermidis* 균주에 대한 항균활성이 생 레몬 전과에서 가장 우수하였다. *Escherichia coli* 균주에서는 생 레몬 전과와 생 탕자 과피에서만, *Propionibacterium acnes* 균주에서는 건조 레몬 전과에서만 항균활성이 확인되었다. *Pityrosporum ovale* 균주에 대한 항균활성은 생과의 경우 유자 전과, 레몬 전과, 밀감 껍질 순으로 항균활성을 확인할 수 있었고 건과 중에서는 오렌지 껍질, 탕자 껍질, 밀감 껍질, 레몬 껍질 순으로 항균활성을 확인할 수 있었다. 본 연구의 결과 운향과 과실류 중에서 피부 염증 유발과 관련된 피부 상재균에 대해 전반적으로 높은 항균활성을 나타낸 것으로 확인된 레몬이 피부 염증 개선용 화장품 천연소재로서 사용 가능성이 높을 것으로 사료된다.

▶ **주제어:** 항균활성, 운향과 과실류, 피부 염증 유발 미생물

- First Author: Mee-Kyung Kim, Corresponding Author: Mee-Kyung Kim
- Mee-Kyung Kim (kim5179@hanmail.net), Dept. of Bio-Cosmetic Science, Seowon University
- Received: 2021. 10. 07, Revised: 2021. 11. 07, Accepted: 2021. 11. 08.

## I. Introduction

피부는 신체 부위 중 가장 바깥층에 위치한 장기로서 외부의 자극과 환경오염물질, 자외선 등으로부터 신체를 보호하는 1차 방어기관이다[1],[2]. 또한 외부의 미생물과 여러 가지 화학물질의 흡착 및 침투에 대응하는 면역학적 장벽이다. 그러나 피부에 존재하는 피지, 땀 등의 대사물질이 외부환경에 노출되면 공기 중의 산소, 미생물, 각종 화학물질을 포함한 미세먼지 및 물리적 자극에 의해 염증반응이 일어나기 쉽다. 특히, 알레르기성 접촉피부염은 피부에 접촉하는 물질에 의해 일어나는 염증성 질환으로 산업화가 진행될수록 증가하고 있다[3]. 최근에 산업의 발전으로 인해 발생하는 미세먼지와 초미세먼지, 황사 등의 대기오염물질이 피부에 흡착해서 피부의 장벽 약화 및 각질층 기능 저하로 인해 피부의 조직 손상을 유발하여 염증과 노화를 촉진하는 것으로 알려져 있다[4]. 대기오염물질의 주된 성분인 중금속, 방향족 탄화수소 등이 피부에 흡착함에 따라 피부의 재생력 저하, 탄력 감소, 주름이나 검버섯 등이 나타날 수 있고 이에 가려움, 피부 건조 등을 동반함으로써 아토피, 여드름 등의 각종 피부염 증상을 악화시킬 수 있다[5]. 이에 성인 여성 소비자는 미세먼지와 같은 대기오염물질, 코로나 19로 인해 장시간 마스크 착용에 의해 발생하는 피부염증 예방 및 치료에 관심이 높아지고 있음에 따라 피부로부터 미세먼지를 막아주거나 깨끗이 씻겨 나가게 해주는 화장을 필요로 하고 있다.

피부에는 다양한 균들이 존재하고 있으며, 그 균들 중 일부는 땀에서 분비되는 면역항체와 결합하여 피부 면역 작용을 하지만 체내에서 배출된 피지, 땀 및 여러 가지 화학물질 등은 피부 상재균에 의해 염증 유발물질로 분해되어 피부 트러블을 일으키게 된다. 피부에 염증을 유발하는 대표적인 상재균은 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*가 있으며, 지루성 피부염과 비듬 유발 효모균인 *Pityrosporum ovale* 등이 있다[6],[7]. 건강한 피부의 경우 유익균과 유해균이 8 : 2 비율을 유지하며 pH 5.5의 약산성을 이룬다. 그러나 인체 바이오플로마와 생리적 변화에 의한 과도한 피지 분비와 모낭벽 세포에 이상각화현상으로 모낭구가 막혀 피지가 원활하게 배출되지 못할 때는 혐기성균, 호기성 구균, 진균 등의 유해균이 증식하게 되어 지루성 피부염, 가려움, 여드름, 비듬 등의 피부 염증을 유발하게 된다[8],[9],[10].

최근엔 사회적으로 이슈인 미세먼지, 코로나 19로 인해 장시간 마스크 착용에 따른 피부 손상이 가속화되고 있어

서 클렌징 및 기초 화장품에 관한 관심이 점차 높아지는 추세이다. 이에 화장품 기업은 변화하는 화장품 시장의 트렌드 변화 및 소비자 니즈가 반영된 피부 염증 개선 맞춤형 제품을 개발하기 위해 합성물질인 parabens류, 에틸알코올 등의 화학물질을 대체할 만한 천연물로 향신료, 고분자 화합물, 식물의 추출물 등에서 분리해 내기 위한 연구가 진행되고 있으며[11],[12], 특히 천연소재를 이용한 피부염증 질환을 개선할 수 있는 천연화장품 개발에 초점을 맞추고 있는 실정이다[13],[14].

운향과 식물에 속하는 과실류는 귤, 감귤, 밀감, 오렌지, 자몽, 레몬, 유자, 탕자 등이며, 유기산과 당분의 향미와 과즙을 풍부하게 지니고 있어 주로 생과 및 과즙 음료의 원료로 널리 이용되고 있다. 주로 우리나라와 일본에서 주로 재배되고 있으며 우리나라는 세계에서 두 번째로 많이 재배되고 있다. 이러한 운향과 식물의 과실류는 동양의학에서 오래전부터 과실과 과피를 약재의 원료로 사용되어 왔고 현재는 유럽에서도 소화불량에 효과가 있다고 하여 사용되고 있다[15],[16]. 이들 과실류에는 carotenoid 류, coumarin류, flavonoid류, limonoid류 및 phenylpropanoid 류 등의 성분이 함유하고 있으며[17],[18], 이들 성분은 항산화 작용, 항암 작용, 항염증, 항알레르기, 면역증강 등의 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 보고되고 있다[19],[20]. 최근 식품 분야에서는 보존 기간 연장 및 안전성 확보를 위하여 감귤류와 탕자의 추출물 및 에센셜 오일을 이용한 병원성 미생물에 대한 항균 활성에 대한 연구[21],[22]를 하고 있으나 화장품의 기능성 소재 및 피부염증 개선을 위한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 일반적으로 화장품 규제대상 균으로 *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *B. subtilis* 등을 보고[23]한 자료를 바탕으로 본 연구에 사용할 피부 상재균을 선별하였다. 이에 운향과 과실류를 이용하여 피부염증 개선용 화장품 천연소재의 개발 가능성을 확인하고자 밀감, 레몬, 오렌지, 유자, 자몽, 탕자의 전과와 과피로 나누어 건조 처리한 후 에탄올로 추출하여 피부 상재균 중 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. acnes* 및 *P. ovale* 균에 대한 항균력을 각각 비교 분석하였다.

## II. Methods

### 1. Material

본 실험에 사용한 재료는 유자(고흥군), 자몽(캘리포니아), 레몬과 오렌지(칠레), 밀감(제주 서귀포), 탕자(영동군)

이고, 이들을 구입하여 냉장 보관하면서 사용하였다. 시료들의 학명은 Table 1과 같다.

Table 1. Scientific name of Rutaceae fruits

Rutaceae fruits	Scientific name
Citron (유자)	<i>Citrus junos</i> Siebold ex Tanaka
Grapefruit (자몽)	<i>Citrus paradisi</i> Macf.
Lemon (레몬)	<i>Citrus limon</i> L. Burm. f.
Mandarin orange (밀감)	<i>Citrus unshiu</i> S. Marcov
Orange (오렌지)	<i>Citrus sinensis</i> L.
Trifoliolate (탱자)	<i>Poncirus trifoliata</i> Rafin

## 2. Extract Preparation

본 실험에 사용한 6종의 운향과 식물 과실류를 세척하여 물기를 제거한 후 전과(과육, 양낭막, 과피)와 과피로 구분하여 세절한 후 열풍건조기(LD-918G, L'EQUIP, Hwaseong, Korea)를 이용하여 50°C에서 24시간 동안 건조하여 실험 재료로 사용하였다. 생 과실류와 건조 과실류는 각각 70% 에탄올을 시료 중량대비 10배의 양이 되게 가하여 실온에서 24시간 동안 교반 추출한 후 상등액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 각각의 추출물은 여과한 후 감압농축기(EYELA, Germany)를 이용하여 감압농축하고 다시 농축액을 동결건조하여 실험에 사용하였다.

## 3. Microorganisms and medium

항균력 검색 실험에 사용한 공시균주는 피부 상재균으로서 *Staphylococcus aureus* (KCTC 1621), *Staphylococcus epidermidis* (KCTC 1917), *Escherichia coli* (KCTC 1039) 및 *Propionibacterium acnes* (KCTC 3314)를 선정하여 한국생명공학연구원 생물자원센터에서 분양받아 사용하였고 *Pityrosporum ovale* (KCCM 11894)는 한국미생물보존센터에서 분양받아 사용하였다. *S. aureus*, *S. epidermidis* 및 *E. coli*는 37°C, nutrient broth (DB, USA)에서, *P. ovale*는 30°C, pityrosporum broth에서, *P. acnes*는 37°C, GasPack EZ Anaerobic Container System (BD, USA)을 이용하여 혐기성 환경에서 Reinforce Clostridial broth에서 배양하였다. 균주는 사면배지에 배양된 각각의 균주를 백금으로 취해 10 mL 액체배지에 접종하고 각 균주의 생육 적온에서 일정 간격으로 계대 배양하면서 균의 활성을 유지하였다.

## 4. Antimicrobial activity measurement

항균활성 측정은 paper disc법[24]에 의하여 실시하였다. 즉, 평판배지에 배양된 각 균주를 1 백금이를 취해서

액체배지 10 mL에서 18~24시간 배양하여 활성화시킨 후 다시 액체배지 10 mL에 균 배양액을 0.1 mL 접종하여 3~6시간 본 배양한 후 평판배지 1개당 균 수를 약 10<sup>7</sup> cells 되게 접종하여 멸균 면봉으로 균일하게 도말하였다. 멸균된 filter paper disc (Tokyo, 8 mm, Japan)를 고체 평판배지에 올려놓은 다음 0.05 mL/disc가 되도록 시료를 농도별로 흡수시켜 37°C에서 18~24시간 배양하여 disc 주위의 clear zone의 직경을 측정하였다.

## 5. Data Analysis

본 실험결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 실험에 대한 통계처리는 IBM SPSS Stataistics 23 프로그램 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다. 유의차 검증은 분산분석(ANOVA: analysis of variance)을 한 후 α=0.05 수준에서 Duncan의 다중검증법(DMRT: Duncan's multiple range test)에 따라 분석하였다.

## III. Research Results

### 1. Antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*

Table 2. Antimicrobial activity of ethanol extracts from Rutaceae fruits against *S. aureus*

Rutaceae fruits		Clear zone on plate (mm) <sup>1)</sup>				
		Concentration (mg/mL)				
		0.5	1	2	4	
Fresh	Citron	Whole	- <sup>2)</sup>	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Grapefruit	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Lemon	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Mandarin orange	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Orange	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Trifoliolate	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
Dried	Citron	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Grapefruit	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Lemon	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Mandarin orange	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Orange	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Trifoliolate	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-

<sup>1)</sup> Diameter, <sup>2)</sup> No inhibitory zone was formed  
All values are mean±SD of triplicate experiments.

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)는 사람, 동물 등 자연계에 널리 분포되어있는 포도 모양을 가진 그람 양성 황색포도상 구균으로서 피부 모공, 코, 방광 등에 화농성 질환을 유발하는 원인균으로 알려져 있다[25]. 또한 피부의 모낭이나 피지샘을 감염시켜 여드름을 유발하는 것으로도 알려져 있다[26].

운향과 과실류 6종을 생 과실류와 건조 과실류로 구분한 후 전과(과육, 양낭막, 과피)와 과피로 나누어 에탄올로 추출한 추출물을 농도별(0.5, 1, 2, 4 mg/mL)로 *S. aureus* 균주에 대한 생육저해환 형성을 관찰한 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 모든 시료에서 항균활성을 확인할 수 없었다.

**2. Antimicrobial activity against *Staphylococcus epidermidis***

*Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*)는 피부질환의 발생 원인이 되는 표피 포도상 구균이고, 원발성 피부의 질환과 균의 콜로니 형성에 의한 염증 유발로 여드름에 관여하는 것으로 알려져 있다[27]. 이 균주에 의해 발생된 여드름을 치료하기 위해 항생제의 사용이 증가하면서 항생제에 대한 내성이 생겨 여드름의 치료가 어려운 실

정이다[28],[29].

운향과 과실류 6종을 생 과실류와 건조 과실류로 구분한 후 전과(과육, 양낭막, 과피)와 과피로 나누어 에탄올로 추출한 추출물을 농도별(0.5, 1, 2, 4 mg/mL)로 *S. epidermidis* 균주에 대한 생육저해환 형성을 관찰한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 6종의 과실류 모두는 농도 0.5 mg/mL에서는 생육저해환이 나타나지 않았으며, 자몽, 밀감 및 오렌지 추출물의 경우는 모든 처리군에서 생육저해환이 나타나지 않았다. 유자와 레몬 추출물은 전과에서만 항균력을 나타내었으나, 탱자 추출물은 전과에서도 항균력을 나타내었을 뿐만 아니라 건조 과피의 농도 4 mg/mL에서도 12.5 mm의 항균력을 나타내었다. *S. epidermidis* 균주에 대한 생육저해환은 생 레몬의 전과가 11.5~23.0 mm로 가장 높은 항균력을 나타내었고(Fig. 1) 그 다음으로 건조 유자 전과, 건조 레몬 전과, 건조 탱자 전과 순으로 항균활성을 확인할 수 있었다.

**3. Antimicrobial activity against *Escherichia coli***

*Escherichia coli* (*E. coli*)는 사람이나 동물의 장내세균으로 주위에 주모성 편모로 인해 운동성을 지닌 그람 음성 간균이다. 주로 사람과 동물의 분변에 존재하고 토양

Table 3. Antimicrobial activity of ethanol extracts from Rutaceae fruits against *S. epidermidis*

Rutaceae fruits			Clear zone on plate (mm) <sup>1)</sup>			
			Concentration (mg/mL)			
			0.5	1	2	4
Fresh	Citron	Whole	- <sup>2)</sup>	-	-	11.0±0.5 <sup>h</sup>
		Peel	-	-	-	-
	Grapefruit	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Lemon	Whole	-	11.5±0.5 <sup>gh</sup>	18.0±0.5 <sup>d</sup>	23.0±0.5 <sup>a</sup>
		Peel	-	-	-	-
	Mandarin orange	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Orange	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
Trifoliolate	Whole	-	-	11.0±0.9 <sup>h</sup>	13.0±0.9 <sup>f</sup>	
	Peel	-	-	-	-	
Dried	Citron	Whole	-	9.5±0.6 <sup>i</sup>	15.0±0.5 <sup>e</sup>	21.0±1.0 <sup>b</sup>
		Peel	-	-	-	-
	Grapefruit	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Lemon	Whole	-	11.0±0.2 <sup>h</sup>	16.0±0.5 <sup>e</sup>	20.5±1.0 <sup>bc</sup>
		Peel	-	-	-	-
	Mandarin orange	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Orange	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
Trifoliolate	Whole	-	9.5±0.5 <sup>i</sup>	18.0±0.3 <sup>d</sup>	19.5±0.5 <sup>c</sup>	
	Peel	-	-	-	12.5±0.5 <sup>fg</sup>	

<sup>1)</sup> Diameter, <sup>2)</sup> No inhibitory zone was formed

All values are mean±SD of triplicate experiments and those with different alphabet letters for each microorganisms are significantly different at p<0.05(a>b>c>d>e>f>g>h>i).

중에 오래 생존하는 병원성균이 지닌 그람음성 간균이다. 주로 사람과 동물의 분변에 존재하고 토양 중에 오래 생존하는 병원성균이다. 이 균은 포도당, 유당, 맥아당을 분해하여 산과 가스를 생산하고, 점막 표면과 전신을 통해 감염될 수 있으며 요로감염, 패혈증, 수막염, 설사 질환 등을 가져온다[30],[31].

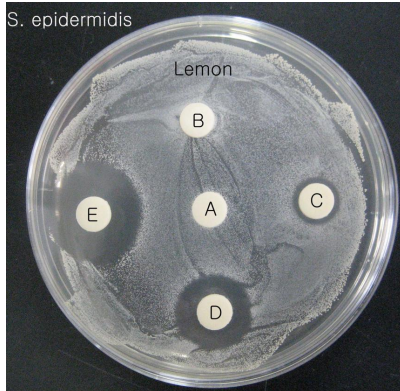


Fig. 1. Inhibitory effect of ethanol extracts from fresh lemon whole fruit against *S. epidermidis*.

A : control      B : 0.5 mg/mL  
C : 1 mg/mL      D : 2 mg/mL  
E : 4 mg/mL

운향과 과실류 6종을 생 과실류와 건조 과실류로 구분한 후 전과(과육, 양낭막, 과피)와 과피로 나누어 에탄올로 추출한 추출물을 농도별(0.5, 1, 2, 4mg/mL)로 *E. coli* 균주에 대한 항균력을 측정된 결과 Table 4에서 보는 바와 같이 생 레몬 전과에서 11.0 mm (Fig. 2), 생 탕자 과피에서 10.0 mm의 항균활성을 나타내었을 뿐 다른 과실 에탄올 추출물에서는 항균 활성을 확인할 수 없었다.

#### 4. Antimicrobial activity against *Propionibacterium acne*

*Propionibacterium acnes* (*P. acnes*)는 혐기성 세균으로 지방분해효소(lipase)를 분비하여 피지, 세포 파편 및 신진대사 부산물 등으로부터 과량의 글리세롤과 지방산을 생성한다[32]. 이 물질들에 의해 모낭벽이 자극을 받아 모낭에 염증을 유발하고, 이로 인해 모낭염, 여드름 등의 피부 질환을 일으킨다[33],[34].

운향과 과실류 6종을 생 과실류와 건조 과실류로 구분한 후 전과(과육, 양낭막, 과피)와 과피로 나누어 에탄올로 추출한 추출물을 농도별(0.5, 1, 2, 4 mg/mL)로 *P. acnes* 균주에 대한 항균력을 측정된 결과 Table 5에서 보는 바와 같이 건조 레몬 전과에서만 항균 활성을 나타내었으며, 농도 4 mg/mL 에서 10.0 mm의 생육 저해환을 나타내었다(Fig. 3).

Table 4. Antimicrobial activity of ethanol extracts from Rutaceae fruits against *E. coli*

Rutaceae fruits		Clear zone on plate (mm) <sup>1)</sup>			
		Concentration (mg/mL)			
		0.5	1	2	4
Citron	Whole	- <sup>2)</sup>	-	-	-
	Peel	-	-	-	-
Grapefruit	Whole	-	-	-	-
	Peel	-	-	-	-
Fresh Lemon	Whole	-	-	-	11.0±0.5 <sup>a</sup>
	Peel	-	-	-	-
Mandarin orange	Whole	-	-	-	-
	Peel	-	-	-	-
Orange	Whole	-	-	-	-
	Peel	-	-	-	-
Trifoliolate	Whole	-	-	-	-
	Peel	-	-	-	10.0±0.5 <sup>ab</sup>
Dried Citron	Whole	-	-	-	-
	Peel	-	-	-	-
Dried Grapefruit	Whole	-	-	-	-
	Peel	-	-	-	-
Dried Lemon	Whole	-	-	-	-
	Peel	-	-	-	-
Dried Mandarin orange	Whole	-	-	-	-
	Peel	-	-	-	-
Dried Orange	Whole	-	-	-	-
	Peel	-	-	-	-
Dried Trifoliolate	Whole	-	-	-	-
	Peel	-	-	-	-

<sup>1)</sup> Diameter, <sup>2)</sup> No inhibitory zone was formed.

All values are mean±SD of triplicate experiments and those with different alphabet letters for each microorganisms are significantly different at p<0.05 (a>b).

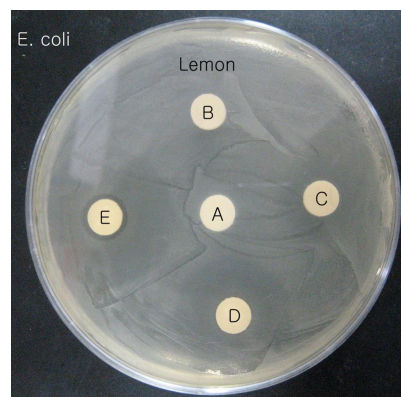


Fig. 2. Inhibitory effect of ethanol extracts from fresh lemon whole fruit against *E. coli*.

A : control      B : 0.5 mg/mL  
C : 1 mg/mL      D : 2 mg/mL  
E : 4 mg/mL

Table 5. Antimicrobial activity of ethanol extracts from Rutaceae fruits against *P. acnes*

Rutaceae fruits		Clear zone on plate (mm) <sup>1)</sup>				
		Concentration (mg/mL)				
		0.5	1	2	4	
Fresh	Citron	Whole	- <sup>2)</sup>	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Grapefruit	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Lemon	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Mandarin	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Orange	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Trifoliolate	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
Dried	Citron	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Grapefruit	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Lemon	Whole	-	-	-	10.0±0.5
		Peel	-	-	-	-
	Mandarin	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Orange	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-
	Trifoliolate	Whole	-	-	-	-
		Peel	-	-	-	-

<sup>1)</sup> Diameter, <sup>2)</sup> No inhibitory zone was formed. All values are mean±SD of triplicate experiments.

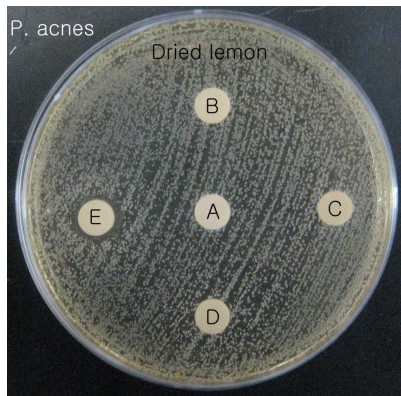


Fig. 3. Inhibitory effect of ethanol extracts from dried lemon whole fruit against *P. acnes*.  
 A : control      B : 0.5 mg/mL  
 C : 1 mg/mL      D : 2 mg/mL  
 E : 4 mg/mL

**5. Antimicrobial activity against *Pityrosporum ovale***

*Pityrosporum ovale* (*P. ovale*)은 곰팡이균으로서 일명 말라세시아균(*Malassezia furfur*)으로 알려져 있으며, 두피나 안면 피부, 모공에 존재하여 모낭염, 비듬, 아토피 피부염, 건선 피부질환에 관여하는 것으로 알려져 있다

[35],[36]. 주로 사람과 동물 상호 간의 감염원이 되어 피부 감염질환을 유발하고, 기후나 식습관 및 스트레스로 인하여 비듬, 지루성 피부염으로 발전할 가능성이 높다[37].

운향과 과실류 6종을 생 과실류와 건조 과실류로 구분한 후 전과(과육, 양낭막, 과피)와 과피로 나누어 에탄올로 추출한 추출물을 농도별(0.5, 1, 2, 4 mg/mL)로 *P. ovale* 균주에 대한 항균력을 측정된 결과 Table 6에서 보는 바와 같이 생과 중에서는 유자 전과가 12.5~19.5 mm로 가장 우수한 항균 활성을 나타내었고(Fig. 4) 그 다음으로는 레몬 전과(9.0~ 15.0 mm), 밀감 껍질(9.0~14.0 mm) 순으로 항균력을 나타내었다. 건과의 경우 6종 모두 껍질에서만 항균 활성을 보였으며 생 과실류와 건과의 껍질을 비교하였을 때 유자를 제외한 5종의 과실류는 건과 껍질에서 높은 항균 활성을 보였다. 건과 중에서는 오렌지 껍질이 12.2~17.2 mm로 우수한 항균 활성을 나타내었고 그 다음으로는 탕자 껍질(9.0~14.0 mm), 밀감 껍질(10.0~13.1 mm), 레몬 껍질(9.5~13.0 mm) 순으로 항균 활성을 확인할 수 있었다.

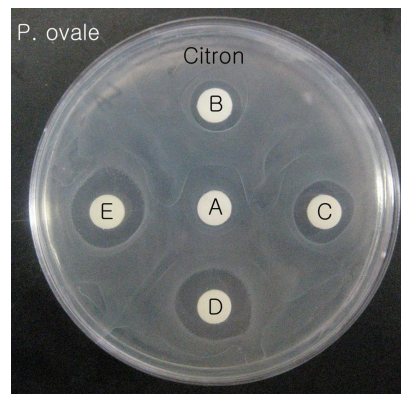


Fig. 4. Inhibitory effect of ethanol extracts from fresh citron whole fruit against *P. ovale*.  
 A : control      B : 0.5 mg/mL  
 C : 1 mg/mL      D : 2 mg/mL  
 E : 4 mg/mL

**IV. Conclusions**

본 연구에서는 오래전부터 과실과 과피를 약재 원료로 사용되어온 운향과 과실류를 피부 염증 개선용 화장품 조성물과 이너뷰티푸드 등의 천연 소재로서의 적용 가능성을 제시하는 기초자료로 제공하고자 실시하였다. 운향과 과실류인 밀감, 레몬, 오렌지, 유자, 자몽, 탕자의 전과와 과피로 나누어 건조 처리한 후 에탄올로 추출하여 농도별 (0.5, 1, 2, 4 mg/mL)로 피부 상재균으로서 염증을 유발

Table 6. Antimicrobial activity of ethanol extracts from citrus fruits against *P. ovale*

Rutaceae fruits		Clear zone on plate (mm) <sup>1)</sup>					
		Concentration (mg/8mm paper disc)					
		0.5	1	2	4		
Fresh	Citron	Whole	12.5±0.5 <sup>gh</sup>	18.5±0.5 <sup>b</sup>	19.1±0.6 <sup>ab</sup>	19.5±0.9 <sup>a</sup>	
		Peel	8.5±0.5 <sup>op</sup>	9.0±0.5 <sup>no</sup>	12.0±0.5 <sup>hi</sup>	13.0±0.5 <sup>fg</sup>	
	Grapefruit	Whole	- <sup>2)</sup>	-	9.5±1.0 <sup>mno</sup>	10.0±0.5 <sup>lmn</sup>	
		Peel	-	8.5±0.5 <sup>op</sup>	10.0±0.5 <sup>lm</sup>	11.0±0.5 <sup>jk</sup>	
	Lemon	Whole	-	9.0±0.5 <sup>no</sup>	10.0±0.5 <sup>lmn</sup>	15.0±0.5 <sup>d</sup>	
		Peel	-	9.0±0.5 <sup>no</sup>	10.0±0.5 <sup>lmn</sup>	12.5±0.5 <sup>gh</sup>	
	Mandarin orange	Whole	-	-	-	-	
		Peel	9.0±0.5 <sup>no</sup>	10.0±0.5 <sup>lmn</sup>	11.0±0.5 <sup>jk</sup>	14.0±0.3 <sup>e</sup>	
	Orange	Whole	-	-	-	-	
		Peel	-	-	10.5±0.5 <sup>kl</sup>	13.1±0.4 <sup>fg</sup>	
	Trifoliolate	Whole	-	-	-	10.0±0.5 <sup>lm</sup>	
		Peel	-	8.5±0.5 <sup>op</sup>	9.0±0.5 <sup>no</sup>	10.0±0.5 <sup>klm</sup>	
	Dried	Citron	Whole	-	-	-	-
			Peel	9.5±0.3 <sup>mno</sup>	9.5±0.6 <sup>lmno</sup>	10.0±0.5 <sup>lmn</sup>	12.0±0.5 <sup>hi</sup>
Grapefruit		Whole	-	-	-	-	
		Peel	9.0±0.5 <sup>no</sup>	10.0±0.6 <sup>lm</sup>	11.5±0.5 <sup>ij</sup>	12.0±0.4 <sup>hi</sup>	
Lemon		Whole	-	-	-	-	
		Peel	9.5±0.3 <sup>mno</sup>	11.0±0.4 <sup>jk</sup>	12.5±0.4 <sup>gh</sup>	13.0±0.3 <sup>fg</sup>	
Mandarin		Whole	-	-	-	-	
		Peel	10.0±0.5 <sup>lmn</sup>	12.0±1.0 <sup>hi</sup>	12.5±0.5 <sup>gh</sup>	13.1±0.4 <sup>fg</sup>	
Orange		Whole	-	-	-	-	
		Peel	12.2±0.3 <sup>ghi</sup>	13.6±0.4 <sup>ef</sup>	17.0±0.5 <sup>c</sup>	17.2±0.3 <sup>c</sup>	
Trifoliolate		Whole	-	-	-	-	
		Peel	9.0±0.5 <sup>no</sup>	12.0±0.5 <sup>hi</sup>	13.0±0.5 <sup>fg</sup>	14.0±0.6 <sup>e</sup>	

1) Diameter, 2) No inhibitory zone was formed

All values are mean±SD of triplicate experiments and those with different alphabet letters for each microorganisms are significantly different at p<0.05(a>b>c>d>e>f>g>h>i>j>k>l>m>n>o>p).

하는 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. cnes* 및 *P. ovale* 균에 대한 항균력을 비교 분석하였다. 그 결과 화농성 질환 및 여드름 유발균인 *S. aureus* 균주를 제외한 5종의 균주에서는 항균활성을 확인할 수 있었고, 특히, 원발성 피부의 질환과 염증 유발로 여드름에 관여하는 *S. epidermidis* 균주에 대한 항균 활성이 생 레몬 전과(11.5~23.0 mm)에서 가장 우수하였다. *E. coli* 균주에 대한 항균활성은 생 레몬 전과(11.0 mm)와 생 탱자 과피(10.0 mm)에서만 나타났고 모낭염과 여드름을 유발시키는 *P. acnes* 균주에 대한 항균 활성은 건조 레몬 전과(10.0 mm)에서만 나타났다. 모낭염, 비듬, 아토피 피부염, 건선 피부질환에 관여하는 *P. ovale* 균주에 대한 항균 활성은 생과의 경우 유자 전과(12.5~19.5 mm), 레몬 전과(9.0~15.0 mm), 밀감 껍질(9.0~14.0 mm) 순으로 항균 활성을 확인할 수 있었고 건과 중에서는 오렌지 껍질(12.2~17.2 mm), 탱자 껍질(9.0~14.0 mm), 밀감 껍질(10.0~13.1 mm), 레몬 껍질(9.5~13.0 mm) 순으로 항균 활성을 확인할 수 있었다. 본 연구의 결과 운향과 과실류 중에서 레몬이 피부 염증 유발 피부 상재균 6종 모두에서 항균 활성을 나타낸 것으로 확인되어 피부 염증 질환 개선에 효과가 있을 것으로 사료된다. 따라서 향후 본 연구의

기초자료를 토대로 피부 염증 질환 개선 가능성이 있는 유자, 레몬, 밀감, 탱자의 추출물에 대한 항염증 메카니즘, 주요 생리활성물질의 분리정제, 안전성 등에 관한 연구가 이루어져야지만 피부 염증 질환 개선용 화장품 및 이너뷰티푸드의 천연 소재로서 적용이 가능할 것으로 판단된다.

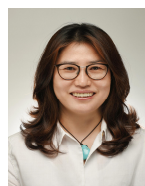
## REFERENCES

- [1] K.L. Kim, and J.S. Kim, "The effect of sebum and moisture condition of skin on the facial pigmentation", Korean Journal of Aesthetic Society, Vol. 7, No. 1, pp. 101-113, March 2009.
- [2] Y.M. Ha, B.B. Lee, H.J. Bae, K.M. Je, S.R. Kim, J.S. Choi, and I.S. Choi, "Anti-microbial activity of grapefruit seed extract and processed sulfur solution against human skin pathogen", Journal of Life Science, Vol. 19, No. 1, pp. 94-100, December 2009.
- [3] E.G. Mathias, "Occupational dermatoses", Journal of the American Academy of Dermatology, Vol. 19, No. 6, pp. 1107-1114, December 1988. DOI: 10.1016/s0190-9622(98) 80005-4
- [4] D.H. Won, H.A. Gu, H.J. Kim, S.B. Han, J.O. Park, and S.N. Park, "Antibacterial and antioxidative activities of Epimedium koreanum Nakai extracts", Korean Journal of Microbiology and

- Biotechnology, Vol. 41, No. 3, pp. 284-291, May 2013. DOI: <https://dx.doi.org/10.4014/kjmb.1212.12001>
- [5] J.A. Hyun, J.H. Lee, E.B. Kang, H.J. Kim, D.I. Kim, G.E. Park, K.S. Kwak, and B.J. An, "Validation of pharmacological activity and anti-pollution effect of ethanol extract of *Azadirachta indica* leaf", Korean Journal of Food Preservation, Vol. 27, No. 3, pp. 393-406, June 2020. DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2020.27.3.393>
- [6] K.W. Martin, and E. Ernst, "Herbal medicines for treatment of bacterial infections: a review of controlled clinical trials", Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Vol. 51, pp. 241-246, January 2003. DOI: 10.1093/jac/dkg087
- [7] J.D. Park, Y.H. Lee, N.I. Baek, S.I. Kim, and B.Z. Ahn, "Isolation of antitumor agent from the heartwood of *Dallbergia ororifera*", Korean Journal of Pharmacognosy, Vol. 26, No. 4, pp. 323-326, December 1995.
- [8] T. Knor, "The pathogenesis of acne", Acta Dermatovenereologica Croatica, Vol. 13, No. 1, pp. 44-49, June 2004.
- [9] S.K. Brown, and A.R. Shalita, "Acne vulgaris", The Lancet, Vol. 351, No. 9119, pp. 1871-1876, June 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)01046-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)01046-0)
- [10] H.S. Kim, and H.J. Beom, "Beauty Science", Chungkupublisher, pp. 26-30, 2007.
- [11] T.H. Youm, and H.B. Lim, "Antimicrobial activities of organic extracts from fruit of *Thuja orientalis* L.", Korean Society of Medicinal Crop Science, Vol. 8, No. 5, pp. 315-322, October 2010.
- [12] K.D. Kim, and S.J. Kim, "The study on the efficacy of herbal plant extracts by the part and solvent extraction", Journal Society Cosmetic Scientists Korea, Vol. 33, No. 2, pp. 127-135, June 2007.
- [13] M.K. Kim, and I.C. Lee, "Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of extracts from blueberry(*Vaccinium ashei*) Leaf", Journal of the Korean Society of Beauty and Art, Vol. 15, No. 2, pp. 109-120, December 2014.
- [14] Y.J. Cho, "Characteristics of cosmetic withwhitening compounds from *Phellodendron amurense*" Journal of Applied Biological Chemistry, Vol. 54, No. 2, pp. 108-113. June 2011.
- [15] M.T. Monforte, A. Trovato, S. Kirjavainen, A. M. Forestieri, E.M. Galati, and R.B. Lo Curto, "Biological effects of hesperidin a citrus flavonoid: hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rat", Pharmacology, Vol. 50, No. 9, pp. 595-599, September 1995. DOI: <https://doi.org/10.3839/jabc.2011.019>
- [16] J.E. Seo, H.J. Lim, Y.H. Chang, H.R. Park, B.K. Han, J.K. Jeong, K.S. Choi, S.B. Park, H.J. Choi, and J.a. Hwang, "Effects of jeju citrus unshiu peel extracts before and after bioconversion with cytolase on anti-inflammatory activity in RAW264.7 cells", Korean Society of Food Science and Nutrition, Vol. 44, No. 3, pp. 331-337, December 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2015.44.3.331>
- [17] J.E. Noh, S.R. Yoon, A.K. Lim, H.J. Kim, D. Huh, and D.I. Kim, "A study on the yield of functional components of citrus peel extracts using optimized hot water extraction and enzymatic hydrolysis", Korean Journal of Food and Cookery Science, Vol. 28, No. 1, pp. 51-55, February 2012.
- [18] R.L. Rousff, S.F. Martin, and C.O. Youtsey, "Quantitative survey of narirutin, naringin, hespeidin and neohesperidin in citrus", Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 35, No. 6, pp. 1027-1030, November 1987.
- [19] Y.D. Kim, W.J. Ko, K.S. Koh, Y.J. Jeon, and S.H. Kim, "Composition of flavonoids and antioxidative activity from juice of jeju native citrus fruits during maturation", Korean Journal Nutrition, Vol. 42, No. 3, pp. 278-290, April 2009.
- [20] K. Kawaguchi, T. Mizuno, K. Aida, and K. Uchino, "Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas", Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, Vol. 61, No. 1, pp. 102-104, June 1997.
- [21] M. Viuda-Martos, Y. Ruiz-Navajas, J. Fernández-Lo'pez, and J. Pe'rez-A'lvarez, "Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils", Journal of Food Safety, Vol. 28, No. 4, pp. 567-576, October 2008. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2008.00131.x>
- [22] H.S. Oh, W.B. Park, Y.S. An, M.C. Oh, C.K. Oh, and S.H. Kim, "Antimicrobial activity of extracts from citrus seeds", Korean Journal of Culinary Research, Vol. 9, No. 4, pp. 69-80, November 2003.
- [23] Ministry of Food and Drug Safety, "Microbial limit standards and test method guidelines for cosmetics", p. 16, 2006.
- [24] R.S. Farag, Z.Y. Daw, F.M. Hewedi, and G.S.A. Ei-Baroty, "Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils", Journal of Food Protection, Vol. 52, No. 9, pp. 665-667, September 1989. DOI: 10.4315/0362-028X-52.9.665
- [25] H.S. Yoon, "Molecular and biological characterization of *Staphylococcus aureus* isolated clinically", Sungshin Womens's University Graduate School Ph.D., p. 1, 2001.
- [26] M.Y. Kim, and K.S. Ko, "Study on cosmeceutical activities of *Moutan cortex radices* extracts", Journal of The Korean Society of Cosmetology, Vol. 19, No. 6, pp. 1119-1126, December 2013.
- [27] D.Y. Kim, and M.K. Kim, "Study on the Bioactive Characteristics of Barley Sprout Extracts as a Raw Material for Beauty Products", Journal of The Korean Society of Beauty and Art, Vol. 17, No. 4, pp. 143-155, December 2016. <http://dx.doi.org/10.18693/jksba.2016.17.4.143>
- [28] Y.S. Kim, Y.H. Yoon, H.S. Lee, and K.Y. Kim, "Investigation of antibacterial activities of *Smilax china* Folium extracts and fractions against cutaneous microorganisms as a natural cosmetics

- material", Journal of The Korean Society of Cosmetology, Vol. 19, No. 3, pp. 557-564, June 2013.
- [29] J.Y. Ahn, W.B. Kim, D.W. Lee, K.W. Lee, S.H. Choi, I.S. Kim, and C.H. Seo, "A study of the *mecI*, *mecA* and *femA* genes of methicillin-resistant *Staphylococci*", Korean Journal Clinical Pathology, Vol. 19, No. 1, pp. 62-69, November 1999.
- [30] W.H. Ewing, "Edwards and Ewing's identification of Enterbacteriaceae", International Journal of Systematic Bacteriology, Vol. 36, No. 4, pp. 581-582, October 1986. DOI: <https://doi.org/10.1099/00207713-36-4-581>
- [31] J.P. Nataro, and J.B. Kaper, "Diarrheagenic *Escherichia coli*", Clinical Microbiology Reviews, Vol. 11, No. 1, pp. 142-201, January 1998. DOI: 10.1128/CMR.11.1.142
- [32] H.G. Ki, S.J. Yun, J.B. Lee, S.J. Kim, S.C. Lee, and Y.H. Won, "Microorganisms isolated from acne and their antibiotic susceptibility", Korean Journal of Dermatology, Vol. 43, No. 7, pp. 871-875, December 2005.
- [33] C.C. Zouboulis, "Acne and sebaceous gland function", Clinical Dermatology, Vol. 22, No. 5, pp. 360-366, October 2004. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2004.03.004
- [34] A.C.S. Yu, J.F.C. Loo, S. Yu, S.K. Kong, and T.F. Chan, "Monitoring bacterial growth using tunable resistive pulse sensing with a pore-based technique", Applied microbiology and biotechnology, Vol. 98, No. 2, pp. 855-862, November 2014. DOI:10.1007/s00253-013-5377-9
- [35] S. Ljubojevic, M. Skerlev, J. Lipozencic, and A. Basta- Juzbasic, "The Role of *Malassezia furfur* in Dermatology", Clinics Dermatology, Vol. 20, No. 2, pp. 179-182, April 2002. DOI: 10.1016/s0738-081x(01)00240-1
- [36] K.J. McGinley, J.J. Leyden, R.R. Marples, and A.M. Kligman, "Quantitative microbiology of the scalp in non-dandruff and seborrheic dermatitis", The Journal of Investigative Dermatology, Vol. 64, No. 6, pp. 401-405, June 1975. DOI: 10.1111/1523-1747.ep12512335
- [37] I. Choi, "Antimicrobial activity of *Rhus javanica* extracts against animal husbandry disease-related bacteria", Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, Vol. 32, No. 8, pp. 1214-1220, October 2003.

## Authors



Mee-Kyung Kim received the Ph.D. degree in Department of Food Science and Technology from Daegu Catholic University, Korea. Dr. Kim is currently an assistant professor of Dept. of Bio-Cosmetic Science at Seowon University.

She is interested in cosmetic professional training course, customized cosmetic manufacturing manager trainin course and development of cosmetic functional materials.