pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 31, No. 5, pp. 380~385 (2016)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2016.31.5.380

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

해양 유해세균에 대한 감태 추출물의 항균특성

김지훈[1] · 김세봉[2] · 황혜진[1] · 김영목[1] · 이명숙[3]*
[1]부경대학교 식품공학과, [2]부경대학교 식품산업공학과, [3]부경대학교 미생물학과

Antibacterial Property of *Ecklonia cava* Extract against Marine Bacterial Pathogens

Ji-Hoon Kim[1], Se-Bong Kim[2], Hye-Jin Hwang[1], Young-Mog Kim[1], and Myung-Suk Lee[3]*
[1]*Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan 48547, Korea*
[2]*Department of Food Industrial Engineering, Pukyong National University, Busan 48547, Korea*
[3]*Department of Microbiology, Pukyong National University, Busan 48547, Korea*
(Received June 26, 2016/Revised July 15, 2016/Accepted September 3, 2016)

ABSTRACT - The object of this study was to evaluate antibacterial activity of edible seaweed extracts against marine bacterial pathogens including *Edwardsiella tarda, Streptococcus iniae, Streptococcus parauberis, Vibrio anguillarum, Vibiro harveyi* and *Vibrio scophthalm,* which are associated with human or fish infectious disease. *Ecklonia cava* methanolic extract showed a strong and broad spectrum antibacterial activity against marine bacterial pathogens used in this study. Among solvent-soluble fractions of the *E. cava* extract, the ethyl acetate (EtOAc) soluble fraction showed the strongest antibacterial activity against marine bacterial pathogens tested in this study with MIC in the range of 128-256 μg/mL. Furthermore, HPLC analysis revealed that the soluble fraction contains abundant dieckol, a phlorotannin compound, compared to other solvent soluble fractions, suggesting that phlorotannins including dieckol would be a key antibacterial agent against marine bacterial pathogens.

Key words : antibacterial activity, phlorotannins, *Ecklonia cava*, marine bacterial pathogens

해양 유래세균들 중에는 해산물의 부패를 유발하는 것 뿐만 아니라 사람과 해양동물에게 질병을 유발하는 유해세균들이 많이 있다. 그 중 *Edwardsiella* sp., *Streptococcus* sp. 및 *Vibrio* sp.의 일부 세균은 종종 사람에게 감염증을 유발할 뿐만 아니라 어류 질병을 유발하는 유해세균이다[1,2]. 특히, 어류 질병을 유발하는 세균들의 경우에는 양식산업에 막대한 영향을 미치며, 2010년에서 2013년의 제주도 주요 양식어종인 넙치의 세균성 질병 발생률은 *Vibrio* sp. 와의 혼합감염이 38.7%로, *Streptococcus* sp. 29%, 그리고 *Edwardsiella* sp. 9.6% 인 것으로 보고 되고 있다[3]. 질병에 의한 피해는 폐사에 따른 생산량의 감소뿐만 아니라 치료를 위한 항생제 등의 화학약품 사용 증가로 항생제 잔류 및 항생제 내성균의 증가를 초래한다[4]. 최근 생활 수준 향상으로 소비자들은 동물 사육이나 어류 양식 중에 사용되는 항생제에 대한 우려를 가지고 있으며 종종 축수산물에서 항생제가 잔류기준 이상으로 검출 되어 폐기 되는 등 사회 및 경제적인 이슈가 되고 있다[5,6]. 항생제 등의 화학요법제로 인한 이러한 부작용을 저감화하기 위한 방법으로 상대적으로 안전한 천연 생리활성 물질을 이용한 방법들이 대체방안으로 제시되었다[7,8]. 생리활성 물질이란 일반적으로 생물 체내 물질이 생물 개체나 동종 또는 타종간에 어떤 활성 유발 기능을 가진 화학 물질을 의미하고 다양한 생리 활성 물질 중 식물 유래 추출물의 항균활성은 지방산, flavonoid 등의 phenol 성 물질, 정유 등의 terpenoid, alkaloid 및 배당체 등에 기인한다고 보고되고 있다[9].

해양 생물의 경우, 그 서식처가 육상의 서식환경과 달라 지금까지 알려지지 않았던 생리기능성 물질들을 가지고 있고 현재 보고 되었다[10]. 또한, 해양 유래 천연물들은 새로운 항생제 개발에 대한 많은 가능성을 제시해주고 있으며[11,12], 여러 병원성 세균에 대한 해조류 추출물의 항균활성에 대한 연구도 다수 보고되고 있다[13-16]. 하지만, 사람에 대한 감염증 및 어류 양식에 막대한 피해를 유발하는 해양 유해세균들에 대한 해조류 유래 물질의 항균활성

*Correspondence to: Myung-Suk Lee,
Department of Microbiology, Pukyong National University, 45 Yongso-ro, Nam-gu, Busan 48547, Korea
Tel: 82-51-629-5615, E-mail: leems@pknu.ac.kr

에 대한 연구는 미미한 편이다[13,17]. 이에 본 연구에서는 항생제 등의 화학요법제를 대체 할 수 있는 가능성을 검토하기 위하여 가격이 저렴하고 쉽게 구입할 수 있는 해조류를 이용하여 인체 감염증과 어류 양식 산업에 큰 피해를 가지고 오는 대표적인 해양 유해세균에 대한 해조류의 항균활성을 평가하였다.

Materials and Methods

실험재료

실험에 사용한 해조류는 안전성이 검증된 식용 갈조류(곰피, *Ecklonia stolonifera*; 다시마, *Saccharina japonica*; 미역, *Undaria pinnatifida*)를 기장 등의 재래시장에서 구입하여 각 실험에 사용하였다. 감태(*Ecklonia cava*)의 경우에는 2014년 11월부터 2015년 4월에 걸쳐 제주도 해역에서 채집한 것으로 제주대학교 전유진 교수로부터 시료를 받아 사용하였다.

균주 및 배양 조건

본 연구에서 사용한 균주는 그람 양성균 2종과 그람 음성균 4종으로 한국미생물자원센터[Korean Collection for Type Cultures (KCTC), Daejeon, Korea]와 Colección Española de Cultivos Tipo (CECT)에서 분양 받은 균주를 사용하였다. *Streptococcus parauberis* KCTC 3651와 *Streptococcus iniae* KCTC 3657는 Trypicase Blood Agar (TBA; Difco, Detroit, MI)에 접종하여 24시간 동안 30°C에 배양 시킨 후 전형적인 균 집락을 2% NaCl이 첨가된 Brain Heart Infusion (BHI, Difco) agar에 2회 계대 배양 시킨 후 사용하였다. *Edwardsiella tarda* KCTC 12267는 Xylose Lysine Desoxycholate (XLD, Difco)에 접종하여 24시간 동안 30°C에 배양 시킨 후 전형적인 균 집락을 2% NaCl이 첨가된 BHI agar에 2회 계대 배양시킨 후 사용하였다. *Vibrio anguillarum* KCTC 2711, *Vibiro harveyi* KCTC 12724 그리고 *Vibrio scophthalmi* CECT 5965는 2% NaCl이 첨가된 BHI agar에 접종하여 48시간 동안 30°C에 2회 계대 배양시킨 후 사용하였다.

해조류의 추출

해조류는 구입 후, 수돗물로 충분히 세척하여 탈염시킨 후 60°C에서 건조시켰다. 건조 된 해조류는 분쇄기(HMF-1000A; Hanil Electronics, Seoul, Korea)를 통해 파우더 상태로 분쇄하였다. 각 해조류 분말(500 g)은 70°C에서 3시간 동안 10 L 메탄올로 3회 추출하고 이후 메탄올 추출물을 진공회전농축기(Eyela Co., Tokyo, Japan) 로 농축시켰다[14]. 유기 용매를 이용한 추출을 위하여서는 농축된 메탄올 추출물(76.3 g)에 1 L의 10% 메탄올을 넣고 차례로 1.0 L의 *n*-hexane (Hexane), dichloromethane (DCM), ethyl acetate (EtOAc) 그리고 *n*-butanol (BuOH)로 3회 추출 분획하고, 각 분획물을 진공상태인 45°C에서 진공회전농축기(Eyela Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 증발시켰다[14].

항균활성의 측정

해조류 추출액의 항균활성은 disk diffusion assay를 이용한 정성적인 방법과 minimum inhibitory concentration (MIC) assay를 이용한 정량적인 방법으로 측정하였다[14]. 정성적인 항균활성은 대상 균주를 Tryptic Soy Broth (TSB, Difco; *Streptococcus* sp. 와 *Vibrio* sp. 의 경우에는 2% NaCl 첨가)에 배양한 후, 약 10^4 CFU/mL의 균을 포함하고 있는 배양액 1 mL을 Mueller Hinton agar (MHA, Difco) plate에 도말하고 각각의 추출물을 포함 된 paper disc (6 mm in diameter)를 plate에 loading하고 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양시간이 지나면 억제환의 지름을 측정하여 항균활성을 평가한다. 모든 평가는 3회 진행하였고 중간 값을 결과로 제시하였다.

해조류 추출물의 MIC는 Mueller Hinton broth (MHB, Difco)에서 단계적으로 희석한 추출물을 넣고 37°C에서 20-24시간 배양 후 미생물의 생육억제 정도를 시각적으로 판정하였다. 해조류 추출물의 MIC값은 two-fold serial dilution method법에 의해 판정하였다. 모든 평가는 3회 진행하였고 중간 값을 결과로 제시하였다.

HPLC 분석 조건

해조류 추출물로부터 물질을 식별하기 위해 이전에 기술한 방법에 따라 high performance liquid chromatography (HPLC) 분석을 실시 하였다[18]. 감태에서 분리 정제된 5종의 phlorotannin 화합물과 감태 추출물을 C_{18} reverse-phase column (Shiseido SG300A, 4.6 × 250 mm; Shiseido, Japan)과 Hitachi 2000 series HPLC system (Hitachi Tech, Japan)을 사용하여 분석하였다. 분석에 사용된 이동상 용매는 물과 메탄올을 사용하였고 초기에 10%의 메탄올을 함유하고 있는 물 용액(water with 10% methanol, v/v)을 분당 0.8 mL의 유속으로 흘려주면서 50분 후에는 100% 메탄올을 함유하는 이동상이 되도록 조절하여 230 nm에서 측정하였다.

Results and Discussion

해조류 추출물의 해양 유해세균에 대한 항균활성

인체 감염증 및 어류 양식에 큰 피해를 초래하는 해양 유래 유해세균 6종에 대한 해조류 메탄올 추출물의 항균력을 disk diffusion assay를 이용하여 평가하였다. Table 1에 나타낸 것처럼 본 연구에 사용된 4종의 해조류 중 감태가 해양 유해세균에 대해 항균활성이 가장 좋았으며, 5 mg의 감태 메탄올 추출물은 본 연구에 사용된 6종의 모

Table 1. Antibacterial activities of seaweed methanolic extracts against marine bacterial pathogens

Seaweeds	Zone of inhibition (mm)[a]					
	Edwardsiella tarda KCTC12267	*Streptococcus iniae* KCTC3657	*Streptococcus parauberis* KCTC3651	*Vibrio anguillarum* KCTC2711	*Vibrio harveyi* KCTC271	*Vibrio scophthalmi* CECT5965
Ecklonia cava	12.0	14.5	17.0	18.0	14.5	16.0
Ecklonia stolonifera	-[b]	11.0	11.0	11.0	-	11.0
Saccharina japonica	-	-	-	10.5	15.0	-
Undaria pinnatifida	-	-	-	7.0	8.0	-

[a]Five mg of methanol extract from various samples was loaded onto a disk. [b]no detected antibacterial activity.

Table 2. Antibacterial activity of solvent fractions from *Ecklonia cava* methanolic extract against marine bacterial pathogens

Solvent fractions	Zone of inhibition (mm)[a]					
	Edwardsiella tarda KCTC12267	*Streptococcus iniae* KCTC3657	*Streptococcus parauberis* KCTC3651	Vibrio *anguillarum* KCTC2711	*Vibiro harveyi* KCTC271	*Vibrio scophthalmi* CECT5965
Hexane fraction	-[b]	-	-	-	-	-
CH_2Cl_2 fraction	-	-	-	-	-	-
Ethyl acetate fraction	12.0	10.0	13.0	12.0	7.0	8.0
Butanol fraction	10.0	7.5	9.0	8.0	-	-
Water fraction	-	10.0	-	-	-	-

One mg of each sample was loaded onto a disk. [a]Each solvent fraction was obtain as described in Materials and Methods. [b]no detected antibacterial activity.

든 해양 유해세균에 대해 12-18 mm의 clear zone을 형성하는 것으로 나타났다. 감태와 같은 속의 갈조류인 곰피 메탄올 추출물의 경우에도 다른 연구자들의 보고와 유사하게 우수한 항균활성을 가지고 있는 것으로 나타났으나 본 연구에 사용된 모든 해양유해세균에 대한 항균 효과는 나타나지 않았다[19]. 하지만 그 외의 해조류 추출물들은 일부의 해양 유해세균에 대해서만 항균활성을 나타내었고 감태 추출물보다 항균활성은 미약한 것으로 판단되었다. 이러한 결과는 본 연구에서 사용한 감태 메탄올 추출물에 다른 해조류보다 본 연구에 사용된 해양 유해세균들에 대한 항균물질을 보다 많이 함유하고 있다는 것을 의미한다[13,14,15].

이에 해양 유해세균의 제어를 위해 사용되는 항생제 등의 화학적 요법을 대체할 수 있는 친환경소재로서 감태 메탄올 추출물의 가능성과 그 항균 특성을 조사하기 위하여 유기용매를 이용하여 분획하고 각 유기용매 분획 추출물의 항균활성을 측정하였다. Table 2에 나타낸 것처럼 여러 유기용매 분획 추출물 중 EtOAc 분획 추출물이 disk diffusion assay에서 해양 유해세균들에 대해 가장 강력한 항균활성을 나타냈다. 하지만, EtOAc 분획 추출물 이외에는 모든 해양 유래 세균들에 대해 항균활성을 나타나지는 않았다. BuOH 분획 추출물은 4종의 해양 유해세균(*E. tarda*, *V. anguillarum*, *V. scophthalmi* 및 *S. iniae*)에 그리고 물 분획 추출물은 1종의 해양 유해세균(*S. iniae*)에 대한 항균활성을 나타내었으나 Hexane 및 DCM 분획 추출물의 경우 항균활성이 나타나지 않았다. 이러한 결과는 해양 갈조류 추출물들의 EtOAc 분획 추출물이 다양한 병원균에 대해 가장 뛰어난 항균활성을 나타낸다는 다른 연구자들의 연구 일치하였고 이는 감태 EtOAc 분획 추출물에 해양 유해 세균들에 대해 항균활성을 나타내는 물질이 다량 함유하고 있기 때문으로 판단된다[13,14,15,16].

감태 EtOAc 분획 추출물의 해양 유해세균에 대한 minimal inhibitory concentration (MIC)

해양 유해세균에 대한 감태 추출물의 항균활성에 대한 후속 연구를 위해 유기용매를 이용하여 분획을 하였고, 분획층 중에서 EtOAc 분획 추출물이 disc diffusion assay에서 본 연구에 사용된 6종의 해양 유해세균에 대해 가장 높은 항균활성을 나타내었다(Table 2). 이에 감태 EtOAc 분획 추출물의 항균효과를 보다 정확하게 평가하기 위해 MIC assay를 이용하여 항균활성을 정량적으로 분석 하였다. Table 3에 나타낸 것처럼 6종의 해양 유해세균들에 대한 감태 EtOAc 분획 추출물의 MIC 값은 128 μg/mL에서 256 μg/mL로 나타났으며 상대적으로 *Vibirio* sp. 의 세균들에 대한 생장억제효과가 가장 높은 것으로 나타났다. 이 결과는 감태 추출물중의 EtOAc 분획 추출물이 어병 세균인 *S. parauberis, Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* 및 *Staphylococcus aureus* 등의 병원성 세균에

Table 3. Minimal inhibitory concentration (MIC) of ethyl acetate soluble fraction of *Ecklonia cava* methanolic extract against marine bacterial pathogens

Strains	MIC (μg/mL)
Edwardsiella tarda KCTC12267	256
Streptococcus iniae KCTC3657	256
Streptococcus parauberis KCTC3651	256
Vibrio anguillarum KCTC2711	128
Vibiro harveyi KCTC2717	128
Vibrio scophthalmi CECT5965	128

대해 가장 높은 항균활성을 나타낸다는 이전의 연구 결과와도 일치하고 있다[13,14,16,18].

감태 추출물의 HPLC 분석

이전의 연구결과에 따르면, 감태 EtOAc 분획 추출물이 여러 병원성 세균들에 대한 뛰어난 항균활성을 나타내는 이유들 중의 하나로 EtOAc 분획 추출물에 다량으로 다량 함유되어 있는 phlorotannin 화합물들 때문인 것으로 보고되고 있다[18]. 또한 식중독 등을 유발하는 병원성 세균들에 대한 대황(*Eisenia bicyclis*) 추출물의 항균활성 연구에서도 본 연구에서 얻어진 결과와 마찬가지로 EtOAc 분획물에서 가장 뛰어난 활성을 보고하였고, 대황 EtOAc 분획 추출물에 다량으로 함유되어 있는 phlorotannins 화합물이 항균활성과 관련된 주요 물질이라고 보고되었다[20]. 이에 본 연구에서도 감태 MeOH 추출물 및 유기용매 분획 추출물에서 해양 유해세균들에 대한 항균활성 성분을 파악하기 위하여 HPLC 분석을 실시하였다. 감태 추출물에서 활성물질을 분석하기 위해 이전의 연구에서 감태로부터 분리 정제한 5종의 phlorothanin 화합물(eckol, eckstolonol, dieckol, phloroglucinol; triphlorethol-A)을 대조구로 사용하여 HPLC 분석 조건을 확립하였다(Fig. 1).

감태의 MeOH 추출물과 각 유기용매 분획물의 HPLC 분석 결과, phlorotannin계열 화합물인 diekcol이 MeOH 추출물과 EtOAc 분획 추출물에 다량으로 존재하는 것이 확인 되었다(Fig. 2). Dieckol은 대황, 감태 및 곰피 등의 갈조류의 EtOAc추출물에서 많이 관찰되며 다양한 식중독 세균, 부패세균에 대해 강한 항균활성을 나타낸다고 보고되었다[18,19,20]. Dieckol 이외의 phlorotannin 화합물들은 본 연구의 분석 조건에서는 명확히 확인 되지는 않았지만, 다른 연구자들의 결과를 고려해 보면 EtOAc추출물에 함유되어 있는 이들 phlorotannin 화합물 또한 해양 유해세균들에 대한 항균활성을 가지고 있을 것으로 판단된다[19, 20].

다양한 생리활성을 가지고 있는 phlorotannin 화합물은 해조류의 종류, 채취시기 그리고 채취지역 등에 따라 성분과 함량의 차이가 있다고 보고 되고 있다[21]. 또한 감태와 곰피 등의 갈조류의 경우에는 추출방법에 따라서도

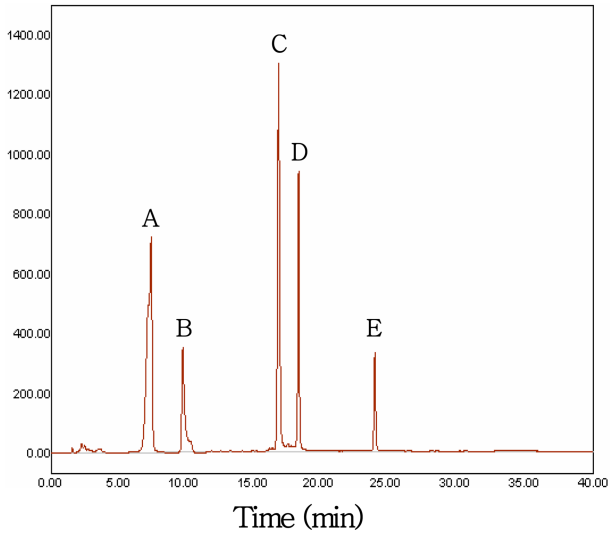

Fig. 1. HPLC profile of standard phlorotannins. Phlorotannins were analyzed by HPLC as described in Materials and Methods. A, phloroglucinol; B, triphlorethol-A; C, eckol; D, dieckol; E, eckstolonol.

phlorotannin 화합물의 함량이 달라진다고 보고하고 있다[21]. 즉, 본 연구에서 사용된 감태 추출물이 같은 속의 곰피 추출물보다 해양 유해세균들에 대해 보다 높은 항균활성을 나타내는 이유는 해양 유해세균들에 대해 강한 항균활성을 나타내는 phlorotannin 화합물을 보다 더 많이 함유하고 있기 때문으로 판단된다.

이상의 결과를 종합하여 판단해 보면, 감태의 EtOAc 분획물이 해양유래 유해세균에 대해 강한 항균 활성을 나타내는 이유 중의 하나는 다양한 병원성 세균에 대해 항균활성을 가지고 있는 것으로 알려진 dieckol 등의 phlorotannin 화합물들을 함유하고 있다는 것이다. 즉, 감태 유래의 phlorotannin 화합물들이 해양 유래 유해세균에 대해서도 강한 항균활성을 나타내는 것으로 판단되며, 이를 보다 명백히 하기 위해서는 향후 정제된 phlorotannin 화합물들을 이용한 MIC 등과 같은 항균활성 평가 연구가 필요할 것으로 판단된다.

Acknowledgement

이 논문은 부경대학교 자율창의학술연구비(2016년)에 의하여 연구되었음.

국문요약

사람과 어류에게 감염증을 유발하는 *Edwardsiella* sp., *Streptococcus* sp. 및 *Vibrio* sp. 의 해양 유해세균에 대한 해조류 추출물의 항균 활성을 조사하였다. 연구에 사용된 4종의 식용 해조류 중에서 감태 MeOH 추출물이 본 연구

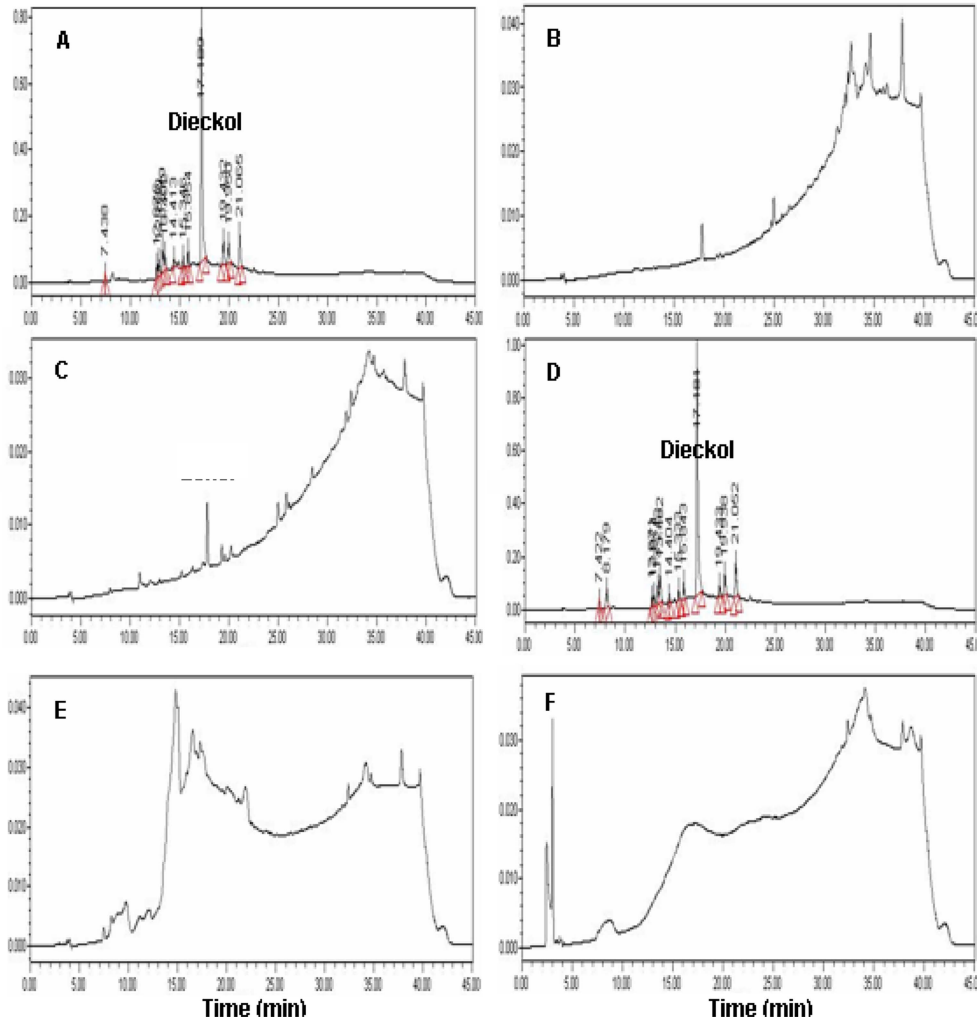

Fig. 2. HPLC profiles of *Ecklonia cava* extracts. The analysis conditions of HPLC were described in Materials and Methods. A, methanolic extract; B, *n*-hexane soluble fraction; C, dichloromethane soluble fraction; D, ethyl acetate soluble fraction; E, *n*-butanol soluble fraction F, water soluble fraction.

에서 사용 된 6종의 모든 해양 유해세균에 대해 넓은 범위의 항균 활성을 나타내었다. 감태의 MeOH 추출물의 유기용매 분획 추출물들 중에서, EtOAc 분획 추출물이 가장 높은 항균활성을 나타내었으며 6종의 해양 유해세균에 대하여 128 μg/mL에서 256 μg/mL의 MIC 값을 나타내었다. 또한, HPLC 분석에 의해 감태 EtOAc 분획 추출물에 phlorotannin 화합물인 dieckol이 다량 존재하고 있는 것이 확인 되었다. 결론적으로, 감태 추출물의 phlorotannin 화합물이 여러 유해세균에 대한 강한 항균활성을 나타내는 것처럼, 해양 유해세균에 대해서도 강한 항균활성을 나타내는 것으로 판단된다.

References

1. Goh, S.H., Driedger, D., Gillett, S., Low, D.E., Hemmingsen, S.M., Amos, M., Chan, D., Lovgren, M., Willey, B.M., Shaw, C. and Smith, J.A.: *Streptococcus iniae*, a human and animal pathogen: Specific identification by the chaperonin 60 gene identification method. *J. Clin. Microbiol.*, **36**, 2164-2166 (1998).
2. Slaven, E.M., Lopez, F.A., Hart, S.M. and Sanders, C.V.: Myonecrosis caused by *Edwardsiella tarda*: a case report and case series of extraintestinal *E. tarda* infections. *Clin. Infect. Dis.*, **32**, 1430-1433 (2011).
3. Kim, S.M., Jun, L.J., Park, M.A., Jung, S.H., Jeong, H.D. and Jeong, J.B.: Monitoring of emaciation disease in cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* in Jeju (2010-2013), Korea. *Korean J Fish Aquat Sci.*, **48**, 719-724 (2015).
4. Kim, M.S., Cho, J.Y., Seo, J.S., Jung, S.H., Choi, H.S. and Park, M.A.: Distribution of MIC value of antibiotics against *Edwardsiella tarda* isolated from olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Korean J. Fish Pathol.*, **25**, 181-188 (2012).
5. Kim, H.Y., Chung, S.Y., Choi, S.H., Lee, J.S., Choi, I.S., Cho, M.J., Shin, M.S., Song, J.S., Choi, J.C., Park, H.O., Ha, S.C., Shin, I.S. and Seo, E.C.: Monitoring of veterinary drug

residues in foods produced in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **42**, 653-663 (2010).
6. Lee, H.J., Kang, Y.W., Lee, S.M., An, K.A., Lee, R.K., Seo, S.C., Lee, J.H., Im, M. H., Lee, J.R., Hong, C.M., Chang, M.I. and Cho, Y.J.: Detection and monitoring of benzylpenicillin residues in livestock and marine products. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **46**, 288-294 (2014).
7. Arora, D.S. and Kaur, J.: Antimicrobial activity of spices. *Int. J. Antimicrob. Agents.,* **12**, 257-262 (1999).
8. Jo, M.R., Kim, J.W. and Kim, D.S.: Antimicrobial effects of natural plant and mushroom, *Dicyophora indusiata* extracts on fish pathogenic bacteria. *Korean J. Fish Pathol.,* **35**, 578-582 (2002).
9. Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L. and Vlietinck, A.J.: Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacol.,* **79**, 213-220 (2002).
10. Samarakoon, K. and Jeon, Y.J.: Bio-functionalities of proteins derived from marine algae- A review. *Food Res. Int.,* **48**, 948-960 (2012).
11. Eom, S.H., Kang, S.K., Lee, D.S., Myeong, J.I., Lee, J., Kim, H.W., Kim, K.H., Je, J.Y., Jung, W.K. and Kim, Y.M.: Synergistic antibacterial effect and antibacterial action mode of chitosan-ferulic acid conjugate against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Microbiol. Biotechnol.,* **26**, 784-789 (2016).
12. Eom, S.H., Lee, D.S., Jung, Y.J., Park, J.H., Choi, J.I., Yim, M.J., Jeon, J.M., Kim, H.W., Son, K.T., Je, J.Y., Lee, M.S. and Kim Y.M.: The mechanism of antibacterial activity of phlorofucofuroeckol-A against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.,* **98**, 9795-9804 (2014).
13. Eom, S.H., Santos, J.A., Kim, J.H., Jung W.K., Kim, D.H. and Kim, Y.M.: *In vitro* Antibacterial and synergistic activity of an *Ecklonia cava* extract against antibiotic-resistant *Streptococcus parauberis*. *Fish. Aquat. Sci.*, **18**, 241-247 (2015).
14. Kim, S.Y., Kim, Y.M., Kim, E. and Lee, M.S.: Synergistic antibacterial activity of *Ecklonia cava* extract against antibiotic resistant *Enterococcus faecalis*. *Korean J. Fish Aquat. Sci.*, **48**, 51-57 (2015).
15. Kim, Y.H., Kim, J.H., Kim, D.H., Kim, S.H., Kim, H.R. and Kim, Y.M.: Synergistic antimicrobial effect of *Sargassum serratifolium* (C. Agardh) C. Agardh extract against human skin pathogens. *Korean J. Food Sci. Technol.,* **48**, 241-246 (2016).
16. Nshimiyumukiza, O., Kang, S.K., Kim, H.J., Lee, E.H., Han, H.N., Kim, Y.H., Kim, D.H., Kim, J.H., Eom, S.H. and Kim, Y.M.: Synergistic antibacterial activity of *Ecklonia cava* (Phaeophyceae: Laminariales) against *Listeria monocytogenes* (bacillales: Listeriaceae). *Fish. Aquat. Sci.*, **18**, 1-6 (2015).
17. Bansemir, A., Blume, M., Schröder, S. and Lindequist, U.: Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, **252**, 79-84 (2006).
18. Eom, S.H., Lim, K.S. and Kim, Y.M.: Potential of *Candida utilis* to ferment *Ecklonia cava* by-product for enhanced antimethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity. *J. Appl. Phycol.,* **25**, 1949-1956 (2013).
19. Lee, D.S., Kang, M.S., Hwang, H.J., Eom, S.H., Yang, J.Y., Lee, M.S., Lee, W.J., Jeon, Y.J., Choi, J.S. and Kim, Y.M.: Synergistic effect between dieckol from *Ecklonia stolonifera* and β-lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureu*. *Biotechnol. Bioprocess Eng.,* **13**, 758-764 (2008).
20. Eom, S.H., Lee, D.S., Kang, Y.M., Son, K.T., Jeon, Y.J. and Kim, Y.M.: Application of yeast *Candida utilis* to ferment *Eisenia bicyclis* for enhanced antibacterial effect. *Appl. Biochem. Biotechnol.,* **171**, 569-582 (2013).
21. Pavia, H. and Toth, G.B.: Influence of light and nitrogen on the phlorotannin content of the brown seaweeds *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus. Hydrobiologia,* **440**, 299-305 (2000).
22. Chowdhury, M.T,, Bangoura, I., Kang, J.Y., Cho, J.Y., Joo, J., Choi, Y.S., Hwang, D.S. and Hong, Y.K.: Comparison of *Ecklonia cava*, *Ecklonia stolonifera* and *Eisenia bicyclis* for phlorotannin extraction. *J. Environ. Biol.,* **35**, 713-719 (2014).