

## 잘피(*Zostera marina*) 추출물의 항균효과에 대한 연구

이소연<sup>1</sup> · 김보애<sup>1</sup> · 신동철<sup>2</sup> · 박관순<sup>3</sup> · 양재찬<sup>1,†</sup>

<sup>†,1</sup>목원대학교 테크노과학대학 생의약화장품학부

<sup>2</sup>(주)엔에스텍 중앙연구소

<sup>3</sup>(주)마린에코텍 기업부설연구소

(2016년 2월 24일 접수; 2016년 3월 23일 수정; 2016년 3월 25일 채택)

## A Study of Antimicrobial Effect of *Zostera marina* Extracts

So-Yeon Lee<sup>1</sup> · Bo-Ae Kim<sup>1</sup> · Dong-Chul Shin<sup>2</sup>  
Kwan-Soon Park<sup>3</sup> · Jae-Chan Yang<sup>1,†</sup>

<sup>†,1</sup>*Mokwon University, College of Sciences & Technology, Division of Biomedical & Cosmetics,  
Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 302-729, Korea,*

<sup>2</sup>*Nstech R&D Center,*

*270 Beon-Gil 28, Namdongseo-Ro, Namdong-Gu, Incheon, Korea,*

<sup>3</sup>*Marine & Eco Technology,*

*410 Ewha Officetel 50, Doryeong-ro, Jeju-si, Jeju-do 690-802, Korea*

(Received February 24, 2016; Revised March 23, 2016; Accepted March 25, 2016)

**요약** : 본 연구는 잘피 추출물의 화장품 소재로서 활용가능성을 평가하기 위해 건조된 잘피 전체, 뿌리, 잎·줄기를 70% 에탄올로 추출하여 항균활성을 확인하였다. 잘피 추출물의 항균활성은 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Propionibacterium acnes* 균주로 disc diffusion 방법을 통해 생육저해환(clear zone)을 측정하였다. 그 결과 잘피 뿌리 추출물처리군에서 *Staphylococcus epidermidis*의 clear zone이  $13.00 \pm 0.50$ mm로 확인되었고, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*의 clear zone은 각각  $11.75 \pm 0.25$ mm,  $12.00 \pm 0.50$ mm,  $12.25 \pm 0.25$ mm로 확인되어 잘피 추출물의 항균 효능을 확인할 수 있었다.

주제어 : 잘피, 항균력, 생육저해환, 포도상구균

**Abstract** : This study was conducted to investigate the antimicrobial activities of ethanol extracts (70%, v/v) from Whole, Root and Leaf-stem part of dried *Zostera marina*. In order to use *Zostera marina* extract as a basic material of cosmetic component. The extracts of *Zostera marina* conducted an antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*,

<sup>†</sup>Corresponding author

(E-mail: kba@mokwon.ac.kr, rabbit@mokwon.ac.kr)

*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Propionibacterium acnes* by disc diffusion method and measure clear zone. As a result, clear zone(mm) of *Staphylococcus epidermidis* was confirmed at  $13.00 \pm 0.50$ mm and *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa* have measured  $11.75 \pm 0.25$ mm,  $12.00 \pm 0.50$ mm,  $12.25 \pm 0.25$ mm from Root extract part of *Zostera marina*. A *Zostera marina* extract is expected to have antimicrobial effects.

**Keywords :** *Zostera marina*, antimicrobial activity, clear zone, *Staphylococcus*

## 1. 서론

피부는 외표를 덮는 신체 기관으로 가장 외각부터 표피층, 진피층 및 피하 조직으로 구성되어 있다. 화학적, 물리적, 생물학적 환경에 직접적으로 영향을 받으며 피부장벽 역할을 수행하며 생체의 일차적인 방어 기능을 담당하는 기관이다 [1]. 표피층 최외각에 위치한 각질층에는 트리글리세라이드, 지방산, 스쿠알렌과 같은 지질을 분비하여 공기 중으로 수분증발을 막는 역할을 하며 지방산등의 피지는 피부 표면의 pH를 약산성 (pH 5.5)으로 유지하여 미생물의 번식을 막는 기능을 한다. 또한 표피의 가장 안쪽에 있는 유극층에는 면역을 담당하는 링게르한스 세포가 존재하며 이물질의 침입에 민감하게 반응하여 미생물을 차단하고 면역반응을 일으킨다. 항원이 진피에 도달한 경우에는 대식세포가 항원 제지의 역할을 맡는다.[2]

피부에 존재하는 상재 구균들은 땀에서 분비되는 면역항체와 결합하여 피부면역력을 높여준다. 건강한 피부에서는 유익균 80%, 유해균 20%의 비율이 유지되며 약산성을 이루며 균형을 유지한다. 이때 잘못된 세정습관이나 과도한 유지공급, 신체의 리듬과 불안정한 호르몬생성은 과도한 피지분비를 유도하여 항상성을 깨지게 한다. 이로 인한 피지선의 막힘은 모낭내의 미생물을 번식하기에 알맞은 조건을 형성하며 혐기성균, 호기성균, 진균 등이 번식하게 된다. 특히 혐기성균인 *Propionibacterium acnes*는 lipase를 분비하여 피지성분의 중성지방을 유리지방산으로 변화시킨다. 유리지방산은 백혈구를 모낭 주위에 모이게 하여 모낭벽을 자극한 후, 파괴시켜 모낭 내용물이 진피 내로 유입 되어 염증을 일으키며[3] 피부에 구진, 농포, 낭종, 결절 및 반흔(scar)을 형성하게 한다[4]

미생물의 자극으로 인해 생성된 체내의 Reactive Oxygen Species(ROS)는 미생물 및 오염물질을 제거하는데 중요한 역할을 하지만 superoxide, lipid peroxy radical, hydrogenperoxide등 이 포함되어있는 과량의 ROS가 발생될 경우 세포의 신호전달 과정에서 interleukin-1(IL-1), interleukin-6(IL-6), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )등 다양한 cytokine(pro-inflammatory cytokine)의 생산과 분비를 촉진시키고[5], 조직 손상을 유발하여 피부세포에 과도한 염증반응을 유발하며 피부에 손상을 입히며 이로 인한 피부장벽의 손상은 미생물의 2차 감염을 일으킬 수 있다[6]. 또한 진피와 표피에서의 collagen 분해 효소인 MMPs(Matrix Metallo proteinase)의 발현을 촉진하고 진피 세포인 fibroblast의 collagen 유전자 발현을 방해하여 피부내 탄력을 저하시키고 주름이 생성되면서 피부노화가 진행된다고 알려져 있다[7].

최근 현대의학의 발달로 인류의 수명이 늘어나면서 수명만큼 건강하고 만족스러운 삶을 사는 것에 대한 중요성이 부각되고 있다. 그에 따라 화장품 및 식품, 의약품 등 다양한 분야에서 소비자의 삶의 질을 향상시키는 연구개발에 초점이 맞춰지고 있으며 여러 식물자원에 대한 연구가 진행되고 있다. 특히 식물자원 유래 추출물은 항균[8], 항염증[9], 항산화[10]등의 효능평가 연구가 활발히 이루어지고 있으며 안전성과 기능성을 겸비한 소재로서 소비자들에게 다가서고 있다[9]. 그 중에서 미생물에 대한 방어는 위에서 언급한 바와 같이 염증과 그에 따른 상흔, 미생물 방어시 생성되는 ROS들로 인한 노화를 늦춰주어 건강과 아름다움을 유지하는데 필요한 연구이다.

바다로 둘러싸인 한국은 다양한 해양자원을 활용하는데 유리하며 최근 산업어서는 경제적 가치가 있는 해양자원을 적극 활용하고 있다[11]. 해

양생물은 식용 및 제약, 화장품등 다양한 산업에 이용되고 있으며 특히 미역, 다시마, 김, 청각, 파래, 툯 등의 해조류는 식품재료 및 약재로 향산화, 티로시나아제 저해활성, 항암, 항염증 등 많은 연구가 진행되고 있다[12,13].

본 연구에 사용된 잘피(*Zostera marina*)는 바다 식물 가운데 유일하게 뿌리로 영양을 흡수하고 햇빛을 받아 꽃을 피우는 현화식물로, 해양생물의 산란 및 보육장 구실을 한다. 잘피는 바다 속에서 광합성작용으로 용존산소량을 증가시키므로 어류의 먹이인 플랑크톤을 풍부하게 하여 어장 형성에 큰 기여를 하는 해양식물이다[14]. 때문에 전 세계적으로 경제적 가치가 상승하고 있으며 우리나라에서는 해양생물 보호종으로 지정되어 잘피 양식을 통해 인공적으로 잘피 군락을 형성하고 있다.

잘피의 지표성분으로 잘 알려져 있는 Luteolin은 항산화, 항염증, 미백 효능 등을 갖는 것으로 알려져 있으며[15,16,17] Luteolin유도체의 항우울 효과에 대한 연구 또한 발표된바 있다[18] 또한 잘피에는 높은 항산화능과, 항염효능을 갖는 카페인산과 로즈마린산을 함유되어 있는 것으로 알려져 있다[19]. 잘피 관련 연구로는 항산화활성, 항염증, 암세포 증식 억제 효과가 밝혀졌으며 인체 암세포에 대한 세포독성 효과가 보고된바 있다[20, 21]. 그러나 이러한 연구들은 식품 분야에 국한하여 연구가 이루어져 왔으며 피부에서의 생리활성 검증 혹은 화장품 소재로서의 연구는 부족한 실정이다.

본 실험에서는 잘피의 항균활성을 다양하게 연구하고자 전체(*Zostera marina* Whole), 뿌리(*Zostera marina* Root), 잎줄기(*Zostera marina* Leaf-stem)로 부위를 나누어 실험을 진행 하였으며 피부에 염증과 질병을 일으키는 피부상재균, 대장균, 녹농균, 진균, 여드름균을 이용하여 잘피 부위별 추출물의 항균 활성을 확인하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 실험 재료

#### 2.1.1. 시료, 시약 및 기기

본 실험에서 사용한 잘피는 (주)마린에코텍에서 제공받았으며, 인천 옹진군 대청면 대청리에서 2015년 06월에 채취하였고 10일간 건조한 잘피

를 전체, 뿌리, 잎·줄기로 나누어 밀봉한 뒤 제공 받았다. 에탄올은 주정판매월드(주)(Korea)에서 구입하여 사용하였고 실험에 사용된 배지 Tryptic soybean broth(TSB)와 Tryptic soybean agar(TSA), Potato dextrose broth(PDB), Potato dextrose agar(PDA)는 BD Difco(USA)에서 구입하였고 Differential reinforced clostridial broth(DRCM), Reinforced clostridia agar(RCA)는 Merck(German)에서 구입하여 사용하였다. 혐기성균 배양조는 Gaspak system(BD Ltd., U.S.A)과 anaerogen(Oxoid Ltd., England)를 이용하였고 기기는 microplate reader(Molecular Devices, U.S.A), Rotary vacuum evaporator (Eyela Co., JAPAN), 항온조(S&T Co.,Ltd, Korea) 등을 이용하였다.

#### 2.1.2. 실험 균주

시료의 항균 효능을 평가하기 위해 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis*(*S. epidermidis*), *Escherichia coli*(*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa*(*P. aeruginosa*), 병원성 진균인 *Candida albicans*(*Candida A.*), *Propionibacterium acnes*(*P. acnes*)를 한국생명공학연구원 생물자원센터 (KCTC, Korea)에서 구입하여 계대배양하며 사용하였다.

#### 2.1.3. 시료 추출

건조된 잘피를 전체, 뿌리, 잎·줄기 부분으로 나누어 분쇄한 다음 이를 70% 에탄올에 상온에서 24시간 동안 침지 추출하였고 여과지로추출물을 2회 감압 여과한 후 회전증발농축기로 55℃에서 감압 농축하여 4℃에서 보관하여 실험에 사용하였다.

## 2.2. 실험 방법

#### 2.2.1. 균주 배양

전 배양 및 본 배양을 위한 배지는 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*는 각각 TSB, TSA를 사용하였으며, *Candida A.* 는 PDB, PDA를 사용하였다. *P. acnes*의 배지는 각각 DRCM, RCA를 사용하였고 모든 균주는 항온조에서 37℃ 로 배양하였다. 각 미생물의 생육배지는 121℃에서 15분동안 고압멸균하여 사용하였고 항균시험을 위한 고체배지는 멸균된 배지액을

petri dish에 15ml씩 분주하여 응고시킨 후 사용하였다. 여드름균인 *P. acnes*는 Gaspak system에 anaerogen을 넣은 후, 밀봉하여 37 °C incubator에서 72 시간 동안 혐기 배양하였다. 단일 균의 집락 1 개를 루프로 취하여 액체배지에 접종하여 37°C에서 24시간, *P. acnes*는 72시간 동안 배양하였다. 고체배지를 멸균하여 50°C로 냉각한 다음, 액체배지에 세균은  $1 \times 10^8$ CFU/ml, 진균은  $1 \times 10^5$ CFU/ml 이 포함되도록 균액을 접종하여 현탁시켰다. 균액의 세포수는 microplate reader로 흡광도(Optical density, O.D=595)를 측정하였으며 세균의 경우 O.D값을 0.20, 진균의 경우 O.D 값을 0.10로 고정하여 실험을 진행하였다.

### 2.2.2. 미생물 생육저해환(Clear zone) 측정

추출물의 항균력 측정을 하기 위해 disc diffusion방법을 이용하였다. 세균  $1 \times 10^6$  CFU/ml, 진균  $1 \times 10^5$ CFU/ml 이 포함되도록 현탁시킨 액체배지를 멸균한 면봉으로 고체배지 표면에 균일하게 도말하였다. 고체 배지 위에 멸균 된 paper disc를 밀착시킨 후 잘피 전체, 뿌리, 잎·줄기 추출물을 각각 25, 50, 100, 200mg/ml 농도로 처리하였으며 35 $\mu$ l씩 흡수시켰다. 대조군으로 화장품 방부에 사용되는 합성방부제 Methylparaben을 사용하였다. 배양 후 disc 주변에 생성된 clear zone의 직경을 측정하여 각 추출물의 항균활성을 비교 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 항균활성 결과

화장품은 물과 고분자성 지질로 구성되어 세균

및 진균에 탄소원과 질소원을 제공하기 때문에 보관을 잘못할 경우 미생물에 오염되기 쉽다. 오염된 화장품은 미생물의 대사산물에 의해 지방산과 탄화수소, 아미노산 유도체들이 변성되어 변취, 변색, 물성을 변화시켜 상품가치를 떨어뜨린다. 또한 화장품을 사용 중에 오염이 된다면 지속적으로 사용하는 화장품의 특성상 피부에 미생물이 감염되어 질병을 일으킬 수 있다.

본 실험에 사용된 균주는 피부염을 일으키는 균주로서, 그람양성균인 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. acnes*, 그람 음성균으로는 *E. coli*, *P. aeruginosa*, 병원성 진균인 *Candida. A* 로 실험을 진행 하였다. *S. aureus*의 경우 상처를 통해 화농, 부스럼, 종기의 원인균이며 모공, 땀샘이 막힐 경우 피부에 침입하여 발병되며 아토피 피부염의 요인으로서 정상인은 10%, 아토피 환자 90%가 피부에서 발견되고 있다 *S. epidermidis* 또한 정상인 피부에서도 관찰되지만 모공이 막힌 경우 급격하게 증식하여 염증을 유발하는 것으로 알려져 있다[22]. *P. aeruginosa*와 *E. coli*는 항온동물의 이나 토양, 물, 사람의 피부 등 주변에서 흔히 발견되나 *E. coli*의 O157:H7 같은 strain의 경우 식중독을 유발하는 것으로 알려져 있다[23]. *Candida. A*는 효모류로 구강과 성기에 칸디다증을 일으키는 병원균이며 *P. acnes*는 혐기성 세균으로 여드름의 주 원인균이며 lipase와 leukocyte chemotatic인자들로 인한 자극으로 염증이 생기고 여드름을 형성한다[24].

본 실험에서는 잘피 부위별 추출물의 항균 효능을 확인하기 위해 각 균주의 생육저해환을 측정하여 Table 1, Table 2, Table 3.과 같이 나타내었다.

Table 1. Antimicrobial activity of *Zostera marina* Whole extracts on several microorganisms

	<i>Zostera marina</i> Whole Concentrations(mg/ml)					
	0	25	50	100	200	Control
<i>S. aureus</i>	- <sup>a</sup>	-	-	-	-	17.25±0.25
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	-	-	18.50±0.50
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	19.00±0.50
<i>Candida. A</i>	-	-	-	-	-	27.25±0.25
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	29.00±0.50
<i>P. acne</i>	-	-	-	-	-	14.63±0.63

a : No inhibition

Table 2. Antimicrobial activity of *Zostera marina* Root extracts on several microorganisms

<i>Zostera marina</i> Root						
Concentrations(mg/ml)						
	0	25	50	100	200	Control
<i>S. aureus</i>	-	-	10.75±0.25	11.50±0.5	11.75±0.25	17.25±0.25
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	10.25±0.25	13.00±0.50	18.50±0.50
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	19.00±0.50
<i>Candida. A</i>	-	-	-	-	-	27.25±0.25
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	12.25±0.25	29.00±0.50
<i>P. acne</i>	-	-	-	10.0±0.50	12.0±0.50	14.63±0.63

b : Inhibition zone diameter (mm)

Table 3. Antimicrobial activity of *Zostera marina* Leaf-stem extracts on several microorganisms

<i>Zostera marina</i> Leaf-stem						
Concentrations(mg/ml)						
	0	25	50	100	200	Control
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	17.25±0.25
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	-	-	18.50±0.50
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	19.00±0.50
<i>Candida. A</i>	-	-	-	-	-	27.25±0.25
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	29.00±0.50
<i>P. acne</i>	-	-	-	-	-	14.63±0.63

*Zostr Marina* Root

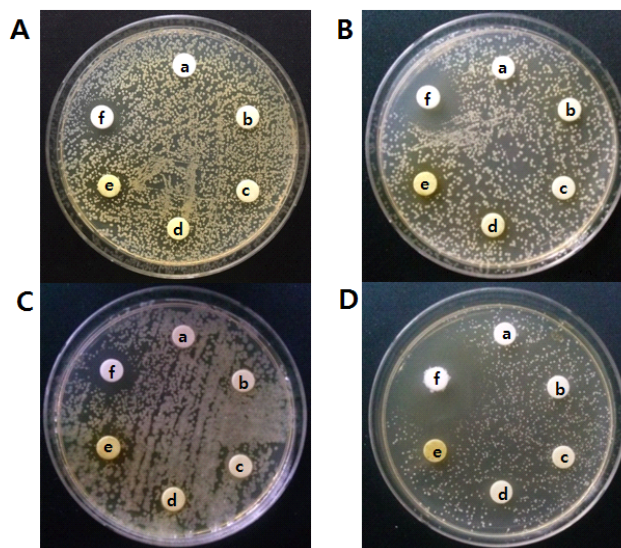


Fig. 1. Antimicrobial activity of *Zostera Marina* Root extract. a : control(-), b : 25mg/ml, c : 50mg/ml, d : 100mg/ml, e : 200mg/ml, f : control(+).  
 A : *Staphylococcus aureus*, B : *Staphylococcus epidermidis*, C : *Pseudomonas aeruginosa*, D : *Propionibacterium acnes*.

잘피 부위별 추출물을 농도별로 처리한 결과 잘피 뿌리에서 농도 의존적으로 *S. epidermidis*에서 최대  $13.00 \pm 0.50$ mm clear zone을 형성하여 높은 항균활성을 나타내었다. *S. aureus*에서는 최대농도에서  $11.75 \pm 0.25$ mm의 clear zone을 형성하였으며 농도 의존적인 항균활성을 나타내었고, *P. acnes*에서도 최대농도에서  $12.0 \pm 0.50$ mm로 농도 의존적으로 clear zone을 형성하였으며 50mg/ml 이하에서는 항균활성을 나타내지 않았다. *P. aeruginosa*에서는 최대농도에서  $12.25 \pm 0.25$ mm의 clear zone을 형성하였으며 *E. coli*, *Candida A.*에서는 항균활성을 관찰할 수 없었다. 나머지 잘피 전체, 잎·줄기 추출물의 경우 6개의 균주에 항균활성을 보이지 않았다.

#### 4. 결론

본 연구는 잘피를 부위별로 나누어 70% 에탄올로 추출한 추출물의 항균 효능을 확인하기 위해 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Candida A.*, *P. acnes* 균주들을 이용하여 실험을 진행하였으며 항균효과가 있는 화장품 조성물로서의 가능성을 평가하였고 그 결과는 다음과 같다.

1. 잘피 뿌리 추출물에서는 *S. epidermidis* 200mg/ml 농도에서  $13.00 \pm 0.50$ mm clear zone을 형성하여 높은 항균활성을 나타내었고 *S. aureus*, *P. acnes*, *P. aeruginosa*에서는 200mg/ml 농도에서 각각  $11.75 \pm 0.25$ mm,  $12.0 \pm 0.50$ mm,  $12.25 \pm 0.25$ mm의 clear zone을 나타내어 잘피 뿌리 추출물의 항균 활성을 확인하였다.
2. 잘피 전체, 잎·줄기 추출물에서는 6가지 균주에 대한 항균활성을 보이지 않는 것을 확인하였다.

#### 감사의 글

본 연구는 한국산업단지공단 생산기술사업화 지원사업의 지원으로 연구되었으며 이에 감사드립니다.

#### References

1. R. J. Scheuplein, I. H. Blank, Permeability of the skin, *Physiol Rev.*, 51(4), 702 (1971).
2. M. A. Pathak, Sunscreens : topical and systemic approaches for protection of human skin against harmful effects of solar radiation, *J. Am Acad Dermatol*, 7(3), 285 (1982).
3. Jeremy AH1, Holland DB, Roberts SG, Thomson KF, Cunliffe WJ., Inflammatory events are involved in acne lesion initiation, *J Invest Dermatol*, 121(1), 20 (2003).
4. A. M. Layton, A review on the treatment of acne vulgaris, *Int. j. Clin. Pract.*, 60(1), 64 (2006).
5. J. C. Ansel, T. A. Luger, Lowry, D. Lowry, P. Perry, D. R. Roop, J. D. Mountz, The expression and modulation of IL-1(imurine keratinocytes). *J. Immunol.*, 140(7), 2274 (1988).
6. G. M. Halliday, Inflammation, gene mutation and photoimmunosuppression in response to UVR induced oxidative damage contributes to photocarcinogenesis. *Mutation Research.*, 571(1-2), 107 (2005).
7. Diffey BL, Tanner PR, Matts PJ, Nash JF, *in vitro* assment of the broad-spectrum ultra violet protection of sunscreen products. *J.Am.Acad.Dermatol.*, 43(6), 1024 (2000).
8. J. S. Kim, J. E. Gang, Y. H. Yu, J. G. Hwan, G. S. Mun, H. R. Lee, Antimicrobial and Immunological activities of Vinca minor Extracts, *Journal of the Korean Oil Chemists' Society*, 32(1), 108 (2015).
9. E. S. Kim, N. H. Jung, Anti-Inflammatory Effect of Germinated Mung Bean and Hairdye Applications, *Journal of the Korean Oil Chemists' Society*, 31(1), 23 (2014).

10. D. H. Shin, J. S. Jo, S. T. Jung, Study on Antioxidant Effects of Acorn(*Quercus acutissima* CARRUTHERS) Components:II. Antioxidant Effect of Acornic Compound, *Journal of the Korean Oil Chemists' Society*, 10(1), 103 (1993).
11. D. W. Kim, M. J. Kim, T. S. Shin, S. J. Kim, B. M. Jung, Application of hydrogen peroxide on the bacterial control of seaweed *Capsosiphon fulvescens*(Mesaengi). *Kor. J. Food Preserv*, 15, 169 (2008).
12. N. Y. Lee, Antioxidant Effect and Tyrosinase Inhibition Activity of Seaweeds Ethanol Extracts, *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 42(12), 1893 (2013).
13. K. J. Cho, Y. S. Lee, B. H. Ryu, Antitumor Effect and Immunology Activity of Seaweeds toward Sarcoma - 180, *Fisheries and Aquatic Sciences*, 23(5), 345 (1990).
14. Short F. T, McRoy C. P, Nitrogen uptake by leaves and roots of the seagrass *Zostera marina* L, *Bot. Mar.*, 27, 547 (1984).
15. G. H. Kim, N. Y. Kim, S. H. Kang, H. J. Lee, Phytochemicals and Antioxidant Activity of *Codonopsis lanceolata* Leaves, *Journal of the Korean Society of Food Science and Technology*, 47(5), 680 (2015).
16. M. G. Kim, D. Y. Kim, Anti-inflammatory effect of barley leaf ethanol extract in LPS-stimulated RAW264.7 macrophage, *Korean Journal of Food Preservation*, 22(5), 735 (2015).
17. A. R. Kim, S. A. Park, J. H. Ha, S. N. Park, Antioxidative, and Inhibitory Activities on Melanogenesis of *Vitex negundo* L. Leaf Extract, *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, 41(1), 135 (2013).
18. K. H. Hwang, N. K. Lee, G. H. Kim, Structure-Activity Relationship for Antidepressant Effect of Luteolin and Its Related Derivatives Isolated from *Taraxacum mongolicum*, *Natural product sciences*, 19(1), 8 (2013).
19. Y. R. Lee, Y. J. Lee, K. H. Row, Extraction of Caffeic Acid and Rosmarinic Acid from *Zostera marina* Based on Ionic Liquids and Deep Eutectic Solvent, *Korean Chemical Engineering Research*, 52(4), 481 (2014).
20. M. J. Kim, N. Y. Bae, K. B. W. R. Kim, J. H. Park, S. H. Park, Y. J. Cho, D. H. Ahn, Anti-inflammatory Effect of *Zostera marina* Ethanolic Extract on LPS-induced RAW264.7 Cells and Mouse Model, *KSBB Journal*, 30(4), 182 (2015).
21. J. H. Kim, Y. H. Cho, S. M. Park, K. E. Lee, J. J. Lee, B. C. Lee, H. B. Pyo, K. S. Song, H. D. Park, Y. P. Yun, Antioxidants and inhibitor of matrix metalloproteinase-1 expression from leaves of *Zostera marina* L., *Archives of Pharmacal Research*, 27(2), 177 (2004).
22. Melich ME, Staphylococci, Streptococci and the skin, *Semin Dermatol*, 1, 101 (1982).
23. E. S. Lim, O. K. Koo, Contamination of Green Vegetable Juice by *E. coli* O157:H7 during Storage, *Korean Society of Food Science and Technology*, 47(4), 446 (2015).
24. U. Jappe, E. Ingham, J. Henwood, K.T. Holland, *Propionibacterium acnes* and inflammation in acne; *P. acnes* has T-cell mitogenic activity, *British Journal of Dermatology*, 146(2), 202 (2002).