

물푸레 추출물의 식중독성 미생물에 대한 항균효과

배지현*

계명대학교 식품영양학과

Antimicrobial Effect of *Fraxinus rhynchophylla* Extracts on Food-Borne Pathogens. Bae, Ji-Hyun*. Department of Food Science and Nutrition, Keimyung University, Daegu 705-701, Korea – This study was performed to investigate the antimicrobial effect of the *Fraxinus rhynchophylla* extracts against food-borne pathogens. First, the *Fraxinus rhynchophylla* was extracted with methanol at room temperatures, and fractionation of the methanol extracts from *Fraxinus rhynchophylla* was carried out by using petroleum ether, chloroform, and ethyl acetate, and methanol respectively. The antimicrobial activity of the *Fraxinus rhynchophylla* extracts was determined using a paper disc method against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. The ethyl acetate extracts of *Fraxinus rhynchophylla* showed the highest antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae*. The synergistic effect has been found in combined extracts of *Fraxinus rhynchophylla* and *Portulaca oleracea* as compared to each extracts alone. Finally, the growth inhibition curve was determined using ethyl acetate extracts of *Fraxinus rhynchophylla* against *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae*. The ethyl acetate extract of *Fraxinus rhynchophylla* showed strong antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* at the concentration of 4,000 ppm. The 4,000 ppm of ethyl acetate extract from *Fraxinus rhynchophylla* retarded the growth of *S. aureus* more than 24 hours and *Shigella dysenteriae* up to 36 hours. The ethyl acetate extracts of *Fraxinus rhynchophylla* has been shown the antimicrobial effect against *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae*.

Key words: *Fraxinus rhynchophylla*, antimicrobial activity, food-borne pathogens

최근 가공식품의 소비가 증가함에 따라 이들의 저장기간의 연장시키기 위한 식품보존제가 활발하게 이용되고 있는데, 소비자들의 화학적 첨가물에 대한 기피현상과 더불어 천연 식품보존제의 개발에 대한 관심이 고조되고 있다. 또 생활의 서구화나 다양화와 더불어 단체급식이나 외식의 기회가 증대되고 있는데 단체급식에서 가장 문제가 되고 있는 것은 위생문제로서 식중독 발생이 대형화되고 있는 추세이다. 우리나라 식중독 발생의 경우, 주 원인균으로 살모넬라균이나 포도상구균, 세균성 이질균 등을 들 수 있는데[10] 이와 같은 식중독 유발세균에 대한 천연 식물의 항균효과를 과학적으로 검증하고자 하는 연구가 활발히 진행 중이다[6, 12]. 천연재료로서 물푸레나무의 껍질은 해열, 진통, 소염에 효능이 있으며 특히 세균성 이질에 특효라고 알려져 있는데[14] 본 연구에서는 물푸레나무의 껍질을 이용하여 항균성 및 천연 식품보존제로서의 이용가능성을 검색하여 보았다.

물푸레나무(*Fraxinus rhynchophylla*)는 물푸레나무속에 속하는 낙엽 활엽수로서 우리나라 전국의 산기슭이나 중턱의 골짜기에 자생하고 있다. 물푸레나무의 목질부는 매우 단단

하고 쉽게 부러지지 않기 때문에 높은 강도를 요구하는 농기구 등의 부품으로 많이 이용되어 왔다. 물푸레나무의 수피는 한방에서 진피라고도 불리며 성질은 차고 독이 없으며, 이질이나 소염, 설사, 결막염 등에 특효약으로 쓰이고 있다[8]. 이들이 포함하고 있는 추출성분 중 방향족 화합물로 구성되는 flavonoid 및 coumarin류는 비교적 최근에 관심이 집중되고 있는 화합물로서 수목이나 식물체내에서 균류나 박테리아 등의 침입을 막아주는 기능을 담당하고 있는 것으로 알려져 있다[3]. 뿐만 아니라 이 성분들은 각종 약리작용을 가지고 있어 다양한 질병의 억제에 효과를 보이고 있으며, 사람이나 동물의 소화기능을 보조하여 영양효율을 증진하므로 식품의 첨가제로 이용될 수 있다는 가능성이 밝혀지고 있다[15]. 특히 추출성분 중에 항암효과가 있는 것이 밝혀져 이와 관련된 연구도 활발하게 진행되고 있는 중이다[11]. 본 연구에서는 우리나라의 산림에 널리 분포되어 있으나 특별한 용도의 개발이 미비하여 그 이용도가 미약한 물푸레나무를 좀 더 실용적인 고부가가치 자원으로 활용하기 위한 방법을 모색하고자 그것의 항균효과를 검정해 보았다.

*Corresponding author
Tel. 82-53-580-5875, Fax: 82-53-580-5885
E-mail: jhb@kmu.ac.kr

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에서 사용한 항균성 시험 대상 식물인 물푸레나무는 한국산으로, 대구시 중구 남성로 약전 골목에서 2003년 12월, 수피를 건조시킨 것을 구입하였다. 불순물을 제거하기 위해 가볍게 2번 수세하여 건조시킨 후, 미세하게 마쇄하여 추출용 시료로 사용하였다.

사용 균주 및 배지

물푸레 추출물의 항균실험에 사용한 균주는 Gram(+)세균 2종과 Gram(-)세균 7종으로 총 9종을 한국과학기술연구원 생명공학연구소에서 분양 받아 사용하였다(Table 1). 균의 생육배지로는 모든 균주에 대하여 Tryptic Soy Broth(Difco, USA)를 사용하여 37°C, incubator에서 18~24시간 배양하였다. 항균성 실험에 사용한 고체배지는 Tryptic Soy Agar(Difco, USA)였다.

항균성 물질의 추출

건조시킨 물푸레 500 g에 대해 물푸레 중량의 2배 분량인 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol을 사용하여 항균성 물질을 추출하였다. 추출관에 마쇄시킨 물푸레를 넣고 1 L의 methanol을 넣은 후 실온에서 6시간 방치한 후, Whatman No.2(Whatman international Ltd., England)에 여과하여 불순물을 제거하였다. 여과된 용액은 감압농축기(EYELA, N-N. Series. Japan)를 사용하여 45°C에서 감압농축하였으며 농축한 methanol 추출물은 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate 및 methanol을 각각 사용하여 용매별로 순서대로 계통 분획하였다. 이 때 methanol 추출물과 각종 유기용매를 분별 깔대기에 넣고 5분간 수작업으로 흔들어서 혼합한 후, 15분간 실온에 방치시킨 후 분리하였다. 물푸레의 열수추출물은 유기용매로 추출하고 남은 잔사에 1차 증류수를 넣고 100°C에서 30분간 끓인 후 동일한 방법으로 여과하였다. 여과된 용액은 감압농축기(EYELA, N-N. Series. Japan)를 사용하여 45°C에서 감

Table 1. List of microorganisms used for antimicrobial activity test.

	Strains
Gram positive bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 27348
Gram negative bacteria	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028
	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076
	<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931
	<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9199
	<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022

압·농축하였으며 적당한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

물푸레 추출물의 항균효과 검색

항균성 물질을 검색하기 위해 본 실험에서는 paper disc 방법을 사용하였다[4]. Tryptic Soy Broth(TSB)배지에 배양한 세균을 분광광도계(Nontron instruments, Italy) 620 nm에서 O.D값 0.4로 흡광도를 조절하고 pour-plate method에 따라 Tryptic Soy Agar(TSA)배지가 분주된 배양접시에 균 일하게 섞은 후 실온에서 굳혔다. 이 배지 위에 멸균된 paper disc를 시료 수에 맞게 올리고 밀착시킨 후 물푸레의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol, 열수추출물을 각각 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm 및 1,000 ppm으로 희석하여 20 µl씩 천천히 흡수시켰다. Control로 물푸레 추출물이 들어 있지 않은 70% ethanol을 실험군과 동일한 방법으로 점적 하였다. 준비된 모든 plate는 37°C에서 24시간 배양한 후 disc 주변에 생성된 clear zone(mm)의 크기를 측정하여 각 분획물의 항균 활성 정도를 측정하였다.

항균력의 상승효과 측정

물푸레 추출물을 다른 항균성 식물 추출물과 혼합했을 시 항균력의 상승 여부를 확인하고자 쇄비름 추출물과의 혼합을 시도하였다. 본 실험의 예비 실험에서 항균력이 있음이 입증된 물푸레의 ethyl acetate 추출물과 쇄비름의 ethyl acetate 추출물을 각각 250 ppm씩 섞고, 물푸레의 ethyl acetate 추출물 500 ppm 및 쇄비름의 ethyl acetate 추출물 500 ppm과 항균력을 비교하였다. 대상 균주는 *Staphylococcus aureus*와 *Shigella dysenteriae*를 사용하고 대조군으로 70% ethanol을 각 시료와 동일한 양인 20 µl씩 분주하여 검증하였다.

미생물의 생육곡선 측정

물푸레의 ethyl acetate 추출물을 membrane filter(0.2 µm, pore size. Toyoroshi kaisha. Ltd., Japan)로 제균시키고, 액체배지에 각 추출물을 1,000 ppm, 2,000 ppm, 및 4,000 ppm 농도별로 첨가하였다. 여기에 O.D값을 0.4로 맞춘 세균 배양액을 109배 희석한 후 무균적으로 접종하여 37°C에서 72시간 배양하고, 12시간마다 세균 배양액의 증식 정도를 620 nm, 분광광도계에서 측정하였다. 물푸레의 ethylacetate추출물은 Gram 양성균인 *S. aureus*과 Gram 음성균인 *S. dysenteriae*을 사용하여 각 균주에 대한 증식억제를 검정하는데 사용하였고 각각의 O.D값을 비교하여 추출물의 농도별 미생물 증식 정도를 확인하였다[7].

결과 및 고찰

물푸레의 항균활성 검색

Paper disc 방법으로 물푸레의 각종 유기용매 분획물 및

열수추출물을 각종 식품부패균 및 식중독균에 적용시켜 항균 활성을 실험해 본 바 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다. Gram 양성균에 대한 물푸레의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol 추출물 및 열수추출물의 항균활성은 Table 2와 같이 나타나 disc에 점적한 물푸레의 각종 추출물의 농도가 증가할수록 항균 활성이 크게 나타났다. 즉 농도가 증가할수록 항균 활성을 나타내는 inhibition zone의 크기가 증가하여 ethyl acetate 추출물의 경우 *S. aureus*에 대해 1,000 ppm 농도에서 23 mm로 가장 큰 활성도를 나타내었다. 물푸레 추출물의 종류 및 농도에 따라 각 균주들에 대한 다른 활성을 나타내 균의 종류에 따라 각기 다른 항균활성을 나타내, 물푸레의 petroleum ether 추출물은 *S. aureus*에 대해 주된 항균 활성을 나타내었고, 물푸레의 chloroform 추출물은 *S. dysenteriae*에서 가장 큰 활성을 나타내었다. 물푸레의 ethyl acetate 추출물은 본 실험에 사용한 모든 균주에 대해 항균활성을 나타내었고 250 ppm 농도에서도 항균효과가 나타났다. 예로부터 한방에서 주요한 약재로 사용되고 있는 목재수종의 대부분은 활엽수로서 이들이 포함하고 있는 추출성분은 침엽수의 성분과 비교해 볼 때, 그 종류가 다양하고 복잡하여 많은 약용성분을 포함하고 있다. Bae[1]는 Blackjack oak 수피로부터 flavan과 procyanidin을 분리하고 이들의 기능을 보고한 바 있다. 본 연구에 사용된 물푸레나무에는 coumarin과 flavonoid류 등이 많이 함유되어 있는데 특히 coumarin류는 α -pyrone환이 benzene과 결합된 C6-C3화합물을 기본 골격으로 하는 배당체 형태로 존재하고 있고, 이들이 항균성을 나타내는 것으로 알려져 있다[3]. 한방에서 많이 사용된 식물이나 수목의 약리효과에 대한 관심이 높아지면서 그러한 성분들을 추출하고, 이들의 각종 생리활성을 조사하고자 하는 연구가 널리 진행되어 왔는데 Markham[9]은 Kaempferol에 결합된 glucose를 규명하였으며, Sen[13]은 *Calotrips gigantea*로부터 flavonol glycoside를 분리하고 이들의 기능을 설명한 바 있

다. 본 실험에 사용한 각종 물푸레 추출물의 Gram 음성균에 대한 항균력 검색 결과는 Table 3과 같이 나타나, 물푸레의 ethyl acetate 추출물이 모든 균주에 대해 강한 항균력을 나타내었다. 이 중 *S. dysenteriae*가 가장 민감하게 반응해 물푸레의 ethyl acetate 추출물 1,000 ppm에서 20 mm의 clear zone을 나타내었다. 이 처럼 물푸레의 ethyl acetate 추출물은 Gram 양성균과 Gram 음성균에 대해 폭넓은 항균력을 지니고 있음을 알 수 있었다. 한편 본 실험에 사용한 물푸레 추출물의 농도가 100 ppm 이하인 경우에는 항균 효과를 검증할 수 없었고, 물푸레의 petroleum ether 추출물과 열수추출물의 경우도 모든 균주에 대해 그다지 큰 항균활성을 나타내지 않았다. 식물의 ethyl acetate 추출층에는 사포닌 성분, 유기산류, 탄닌, 당, 배당체 및 기타 알칼로이드류가 주로 용출되는 것으로 알려져 있는데, 본 실험에서 가장 높은 항균력을 보인 물푸레의 ethyl acetate 추출물에도 이와 유사

Table 2. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Fraxinus rhynchophylla* against Gram positive bacteria.

Strains	Clear zone on plate (mm) ¹⁾					
	Fraction conc. (ppm)	PE	C	EA	M	W
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	- ²⁾	-	-	-	-
	250	10	6	12	5	-
	500	10	8	18	9	4
	1,000	12	10	23	12	4
<i>Bacillus cereus</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	-	12	6	3
	500	9	8	13	8	3
	1,000	10	9	15	10	4

¹⁾ Diameter, ²⁾ No inhibitory zone was formed
PE: Petroleum ether extract; C: Chloroform extract; EA: Ethyl acetate extract; M: Methanol extract; W: Water extract.

Table 3. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Fraxinus rhynchophylla* against Gram negative bacteria.

Strains	Clear zone on plate(mm) ¹⁾					
	Fraction conc.(ppm)	PE	C	EA	M	W
<i>Escherichia coli</i>	100	- ²⁾	-	-	-	-
	250	-	-	10	5	-
	500	-	7	12	6	-
	1,000	-	8	14	8	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	-	11	-	-
	500	-	10	12	4	5
	1000	-	11	13	5	6
<i>Salmonella typhimurium</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	-	8	-	-
	500	-	6	9	3	3
	1,000	-	8	11	5	4
<i>Salmonella enteritidis</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	-	7	-	3
	500	7	7	9	3	4
	1,000	9	8	13	4	5
<i>Shigella sonnei</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	-	7	4	-
	500	6	8	9	5	4
	1,000	8	9	10	6	6
<i>Shigella dysenteriae</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	10	14	-	-
	500	7	14	18	5	4
	1,000	9	16	20	8	5
<i>Shigella flexneri</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	7	6	-	-
	500	6	9	8	8	5
	1,000	8	10	10	9	7

¹⁾ Diameter, ²⁾ No inhibitory zone was formed
PE: Petroleum ether extract; C: Chloroform extract; EA: Ethyl acetate extract; M: Methanol extract; W: Water extract.

Table 4. Antimicrobial activity of combined extracts from *Fraxinus rhynchophylla* and *Portulaca oleracea*.

Strains	Clear zone on plate (mm) ¹			
	control	<i>Fraxinus rhynchophylla</i> (500 ppm)	<i>Portulaca oleracea</i> (500 ppm)	Both ³ (each 250 ppm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	- ²	18	20	26
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	17	22	28

¹ Diameter, ² No inhibitory zone was formed, ³ *Fraxinus rhynchophylla* and *Portulaca oleracea*

한 성분들이 함유되어 있을 것으로 사료된다.

물푸레 추출물과 쇠비름 추출물의 상승 효과

물푸레의 ethyl acetate 추출물과 쇠비름의 ethyl acetate 추출물을 섞었을 경우 나타나는 항균효과는 Table 4와 같이 나타났다. 본 실험에서 가장 민감한 항균효과를 보였던 *S. aureus*에 대한 두 식물 추출물의 항균력은 물푸레 추출물과 쇠비름 추출물을 혼합했을 경우 더 크게 나타나, 물푸레의 ethyl acetate 추출물만을 단독으로 500 ppm 준 경우(18 mm)보다 물푸레의 ethyl acetate 추출물 250 ppm에 쇠비름의 ethyl acetate 추출물 250 ppm을 섞어 준 경우가 더 큰 항균력을 보였다(26 mm). *S. dysenteriae*균에 대해서도 두 추출물을 각각 250 ppm씩 섞어 투여한 경우가 물푸레의 ethyl acetate 추출물 500 ppm을 단독으로 준 경우보다 높은 항균력을 보였다. 전통적으로 서양에서는 식물이나 수목에서 추출한 생약 성분에 대해 그것의 안전성이나 신뢰성을 부여하고 있지 않기 때문에 수목의 추출성분을 이용한 약리효과 및 기능성에 관한 연구가 활발히 수행되고 있지 않으나, 각종 천연물이 함유하고 있는 유효 성분들의 상승효과를 이용함으로써 효과적인 식품보존제 등의 개발도 가능하리라 사료된다.

물푸레의 ethyl acetate 추출물이 Gram 음성 및 Gram 양성균의 증식에 미치는 영향

물푸레의 ethyl acetate 추출물을 농도별로(0, 1,000, 2,000 및 4,000 ppm) TSB배지에 첨가하고, Gram 양성균인 *S. aureus*와 Gram 음성균인 *S. dysenteriae*에 각각 접종시켜 72 시간 배양하면서 일정 시간 간격으로 균주의 성장 정도를 측정해 본 바, Fig. 1 및 Fig. 2와 같은 증식곡선을 얻을 수 있었다. *S. aureus*의 경우, 물푸레의 ethyl acetate 추출물을 첨가하지 않은 대조구의 경우 배양 후 12시간 후부터 급속한 균의 증식을 볼 수 있었고, 4,000 ppm 농도를 첨가하였을 경우 균의 증식이 완만하게 이루어져 균의 성장이 24시간까지 억제됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). Chung[2]은 *S. aureus*에 대해 손바닥 선인장 ethanol 추출물이 3.0 mg/ml 이상에서 증식이 지연되었다고 보고한 바 있으며, Jeon 등[5]은 질경이의 methanol 추출물이 *S. aureus*의 성장을 억제한다고 보고한 바 있는데, 본 실험에서도 물푸레의 ethyl acetate 추출물이 *S. aureus*의 증식에 억제 효과를 보였다. 한

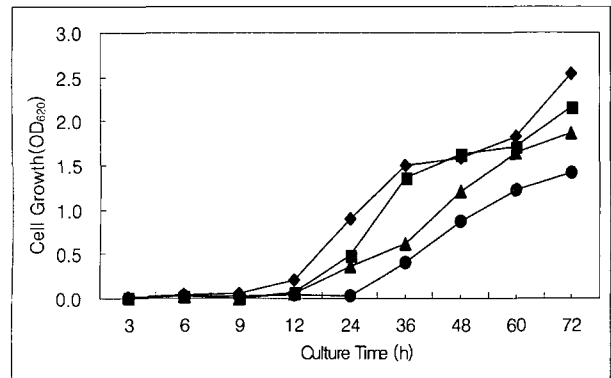


Fig. 1. Effect of ethyl acetate extracts of *Fraxinus rhynchophylla* against the growth of *Staphylococcus aureus*. Concentration of ethyl acetate extracts : (◆), control; (■), 1000 ppm; (▲), 2000 ppm; (●), 4000 ppm.

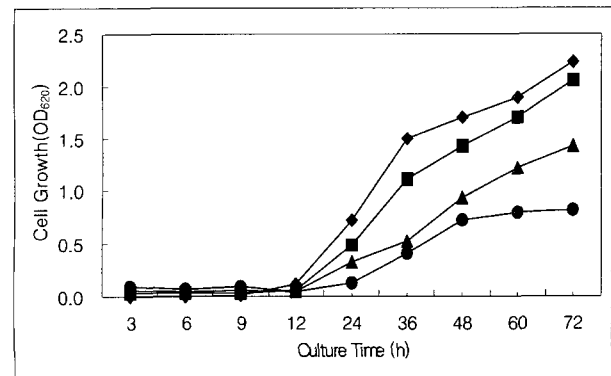


Fig. 2. Effect of ethyl acetate extracts of *Fraxinus rhynchophylla* against the growth of *Shigella dysenteriae*. Concentration of ethyl acetate extracts : (◆), control; (■), 1000 ppm; (▲), 2000 ppm; (●), 4000 ppm.

편 식중독 가운데 이질에는 세균성 이질과 아메바성 이질이 있는데 식품위생상 문제가 되고 있는 이질은 세균성 이질이다. 주로 10세 이하의 연령층에서 초여름에 많이 발생하며 원인균으로는 *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei* 등이 있는데 우리나라의 경우 *S. flexneri*가 대부분을 차지하며 *S. dysenteriae*에 의해 감염된 경우는 중증을 유발한다[10]. 물푸레의 ethyl acetate 추출물이 *S. dysenteriae*에 대해 미치는 생육 저해 정도를 동일한 방법으로 72시간 동안 살펴본 바 Fig. 2와 같은 결과를 얻을 수 있었다. 물푸레의 ethyl

acetate 추출물을 넣지 않은 대조구 배지에서 배양했을 시 12 시간 이후부터 급격한 증가를 보여 빠른 성장이 일어남을 관찰할 수 있었으나 물푸레의 ethyl acetate 추출물 4,000 ppm을 첨가한 배지에서는 균의 증식이 36시간까지 지연되는 것을 확인할 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 식중독 유발세균에 대한 항균활성이 우수한 천연 항균성 물질을 검색하기 위해 예로부터 민간과 한방에서 널리 이용되어 온 물푸레를 각종 유기용매로 추출하여 식중독 유발세균에 대한 항균활성을 조사해 보았다. 물푸레를 methanol로 추출한 후, petroleum ether, chloroform, ethyl acetate를 이용하여 실온에서 각각 용매별로 계통 분획하고, 열수추출물을 얻은 후, 9종의 식중독 유발세균 (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*)에 대하여 항균효과를 조사하였다. 물푸레 추출물의 농도별 항균 활성 검색에서는 물푸레의 ethyl acetate 추출물이 가장 큰 항균 효과를 보였으며 *S. aureus*와 *S. dysenteriae*가 가장 민감하게 반응하는 균주였다. 물푸레의 ethyl acetate 추출물과 쇠비름의 ethyl acetate 추출물을 혼합하여 항균력을 측정해 본 결과 두 추출물을 섞어 첨가했을 경우가 단독으로 사용했을 때 보다 상승효과를 나타내었다. 또한 물푸레의 ethyl acetate 추출물이 식중독 유발세균의 성장에 미치는 효과를 검정하기 위해 *S. aureus* 및 *S. dysenteriae*의 배양액에 물푸레의 ethyl acetate 추출물을 각각 4,000 ppm 농도로 첨가했을 때, *S. aureus*의 생육이 24 시간 이상까지 억제됨을 관찰할 수 있었고, *S. dysenteriae*의 생육도 36시간까지 지연시킬 수 있었다. 이상의 결과 물푸레의 ethyl acetate추출물은 *S. aureus*와 *S. dysenteriae*의 성장을 억제하는 것을 알 수 있었다.

REFERENCES

1. Bae, Y. S., J. F. W. Burch, J. P. Steinberg, D. Ferreira, and R. W. Hemingway. 1994. Flavan and procyanidin glycosides from the bark of blackjack oak. *Phytochemistry* **35**: 473-478.
2. Chung, H. J. 2000. Antioxidative and antimicrobial activities of *Opuntia ficus indica* var. saboten. *Kor. J. Soc. Food Sci.* **16**: 164-169.
3. Hahn, D. R., C. J. Kim, J. H. Kim, and S. K. Hong. 1976. Coumarin glycoside of *Fraxinus chiisanensis*, *Kor. J. Pharmacog.* **7**: 195-198.
4. James, G. C. and J. Sherman. 1987. Chemotherapeutic agent in Microbiology, A laboratory manual chemical agents of control, pp. 247-254. 2nd ed. Prentice Hall, New Jersey, USA.
5. Jeon, Y. O., K. H. Kim, S. I. Kim, and Y. S. Han. 1998. Screening of antimicrobial activity of the plantain (*Plantago asiatica* L.) extract. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **14**: 39-45.
6. Kang, S. K. 1995. Isolation and antimicrobial activity of antimicrobial substance obtained from leaf mustard(*Brassica juncea*). *Kor. J. Food Sci. Technol.* **24**: 697-698.
7. Karapinar, M. 1990. Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. *Int'l J. Food Microbiol.* **10**: 193-200.
8. Kwon, Y. S. and C. M. Kim. 1996. A study on the chemical constituents from leaves of *Fraxinus rhynchophylla*, *Kor. J. Pharmacogn.* **27**: 347-349.
9. Markham, K. R., H. Geiger, and H. Jaggy. 1992. Kaempferol-3-o-glucosylrhamnoside from *Ginkgo biloba* and a reappraisal of other glucorhamnoside structures, *Phytochemistry* **31**: 1099-1101.
10. Moon, B. S. 2003. *Food Sanitation*, pp.75-116. 2nd ed. Shinkwang Publishing Co. Seoul, Korea.
11. Park, J. W. and K. S. Ryu. 1974. Pharmacological studies on the stem bark of *Fraxinus densata* NAKAI, *Bull. K. H. Pharma. Sci.* **2**: 45-51.
12. Park, S. K., J. R. Park, S. W. Lee, K. I. Seo, S. K. Kim, and K. H. Shim. 1995. Antimicrobial activity and heat stability of water-pretreated extract of leaf mustard dolsan (*Brassica juncea*). *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **24**: 710-715.
13. Sen, S., N. P. Sahu and S. B. Mahato. 1992. Flavonol glycosides from *Calotropis gigantea*, *Phytochemistry* **31**: 2919-2921.
14. Yook, C. S. 1989. *Coloured Medicinal Plants of Korea*, pp. 431. Academic Publishing Co. Seoul, Korea.
15. Yook, C. S., I. H. Kim, and C. J. Kim. 1993. The chemical constituents and their pharmacological activities of endemic medicinal plants in Korea - pharmacologically active constituents of *Fraxinus* species, *Kor. J. Pharmacog.* **24**: 245-248.

(Received May 28, 2004/Accepted Sep. 9, 2004)