

Propolis 에탄올 추출물의 품질특성 및 기능성

서권일[†] · 오인석* · 오동환* · 최성희** · 손미예** · 문주석***

순천대학교 식품영양학과, *순천대학교 동물자원과학과
한국전통발효식품 연구소, *한국보건산업진흥원

Quality Characteristics and Functional Properties of Ethanol Extract of Propolis

Kwon-Il Seo[†], In-Suk Oh*, Dong-Hwan Oh*, Seong-Hee Choi**,
Mi-Yae Shon** and Ju-Seok Moon***

Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

*Dept. of Animal Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

**Korea Fermented Food Research Institute, Sanchung 660-960, Korea

***Korea Health Industry Development Institute, Seoul 156-050, Korea

Abstract

Quality characteristics and functional properties of four kinds of propolis collected from 4 different regions were compared. Ethanol extract of propolis (EEP) showed high absorbance of UV at 208~212 nm and at 292~294 nm. Total flavonoid contents of 4 propolis were at a range of 16.30~21.87 mg/g. However, no significant difference in the flavonoid content was observed among four kinds of sample. All EEP showed the high antimicrobial activities, especially against *Salmonella typhimurium*. Hydrogen donating activities of the EEP were high appear 65.94 to 78.67% in all samples. The EEP from Suncheon showed the highest activity of hydrogen donation among samples. All extracts had the higher nitrite-scavenging activity than 0.1% BHT. Compared to control, a significant decrease in lipid oxidation was found in all 4 extracts.

Key words: propolis, quality characteristics, antimicrobial activity, antioxidative effect

서 론

Propolis는 꿀벌이 꿀을 보전하기 위하여 벌집의 틈새 등 방을 튼튼하게 하는 데 사용되는 물질로 나무에서 수집한 단단한 수지와 밀랍 및 각종효소를 함유한 꿀벌의 타액분비물(침)부터 만들어지는데, 꿀벌들의 집안에서는 다른 곤충과는 달리 해로운 세균, 바이러스 등을 전혀 발견할 수 없으며, 이는 꿀벌들이 집을 출입할 때 반드시 몸이 propolis에 접촉되므로 알지 못하는 사이에 병원균 바이러스를 살균하게 된다(1,2). 이와같은 사실에 근거하여 propolis의 항미생물적 특성에 대한 가능성을 알게 되었으며, 이외에도 여러 가지 약리효과가 있는 것으로 알려져 예로부터 세계 도처에서 알레르기 비염, 천식 및 피부염 등의 치료에 민간요법으로 사용되어 왔다(2-5).

Propolis는 계피와 바닐라를 합한 것 같은 특유한 향기가 있으며, 주요 구성성분은 resin, balsam 및 phenol 화합물인데, phenol화합물의 주된 성분은 flavonoids임이 밝혀지고 있고, 그 구성성분은 채취장소에 따라 차이가 있

다(6-8). 현재 propolis의 항균 및 항산화효과에 대한 연구결과가 보고되고 있고, 식품 보존제로의 이용 가능성에 대한 연구가 진행되고 있으며(9,10) 일부 회사에서 건강식품으로 생산 판매되고 있는 실정이다. 그러나 상품화된 원료의 대부분을 수입에 의존하고 있고, 우리나라의 propolis에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이므로 본 연구에서는 우리나라에서 생산된 propolis 3종과 수입원료인 시판 propolis 1종에 대한 품질특성과 항균, 항산화 및 아질산염 소거능 등의 기능성에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 그 추출물 조제

본 연구에 사용한 propolis는 S사 제품(수입원료)과 문경, 산청 및 순천 지역에서 채취하여 Park 등의 방법(11)에 준하여 시료의 10배에 해당하는 80% ethanol을 사용하여 환류 냉각장치를 이용 2시간 추출한 후 여과(what-

[†]To whom all correspondence should be addressed

man No. 2)하여 실험에 사용하였다.

Propolis ethanol 추출물의 흡수 spectra

Propolis ethanol 추출물 흡수 spectra는 Park과 Ikegaki의 방법(12)에 준하여 200~400 nm에서 UV-spectrophotometer로 scanning하였다.

총 flavonoid의 함량 측정

총 flavonoid의 함량은 Park 등의 방법(11)에 준하여 측정하였다.

항균력 측정

Propolis ethanol 추출물에 대한 항균력 측정은 Farag의 방법(13)을 변형하였다. 즉, agar 1.5%가 함유되어 있는 생육배지를 petri dish의 밑면에 얇게 깔고, 0.6%의 agar와 균주를 혼합하여 생육배지를 부어 2중으로 만들고, 0.8 cm paper disc에 propolis 추출물을 30 µL 점적하여 평판배지 위에 놓고, 균주 별로 최적온도, 최적시간 배양하여 생육 저해환으로 항균력을 측정하였다.

수소공여능 측정

시료에 대한 수소공여능은 α, α -diphenyl- β -picrylhydrazine(DPPH)의 환원성을 이용하여 UV/Vis-spectrophotometer로 516 nm에서 측정하였다. 즉, 각 추출물과 대조구를 사용한 BHT의 농도를 0.1%되게 조제하여 조제시료 1 mL와 4×10^{-4} M DPPH용액 5 mL를 5초동안 vortex mixer로 혼합하여 증류수에 대한 흡광도(516 nm)를 측정하고, 대조구는 시료대신 에탄올 1 mL를 첨가하여 대조구에 대한 흡광도의 감소 비율로 나타내었다(14).

아질산염 소거능

Propolis ethanol 추출물에 대한 아질산염소거의 효과는 Gray와 Dugan의 방법(15)에 준하여 측정하였다. 즉, 1 mM NaNO₂ 1 mL에 추출시료를 첨가하고, 여기에 0.1 N HCl을 사용하여 pH 1.2로 조정된 반응용액을 10 mL로 하여 37°C에서 1시간 반응시킨 후, 반응액 1 mL를 취하고 2% 초산 용액 5mL를 첨가한 다음 Griess 시약 0.4 mL를 가하여 혼합하고 15분간 정치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Linoleic acid에 대한 항산화력 측정

Propolis ethanol 추출물에 대한 항산화 효과를 linoleic acid의 과산화물가로 측정하여 *in vitro*로 탐색하였다(16). 즉 삼각플라스크에 linoleic acid 1 g, ethanol 10 mL 및 소정의 propolis 추출물을 첨가한 후 0.2 M인 산 완충용액 25 mL를 가하여 37°C에서 일정기간 저장한 다음 반응용액을 분액 깔대기에 옮겨 chloroform 25 mL를 가하여 2~3회 반복 추출한 후, chloroform 추출액에 acetic acid 25 mL와 포화 KI용액 1 mL를 가하여 암소에서 5분간 방치한 후 증류수 50 mL를 가하여 0.01 N Na₂S₂O₃ 용액으로 적정하였다.

결과 및 고찰

Propolis ethanol 추출물 흡수 spectra

Propolis 에탄올 추출물의 흡수파장을 측정된 결과 Fig. 1과 같이 최대흡수파장은 208~212 nm이었고, 다음으로 292~294 nm에서도 큰 흡수파장을 나타내었는데, 국내에서 채취한 3종류의 시료와 수입산 원료와도 거의

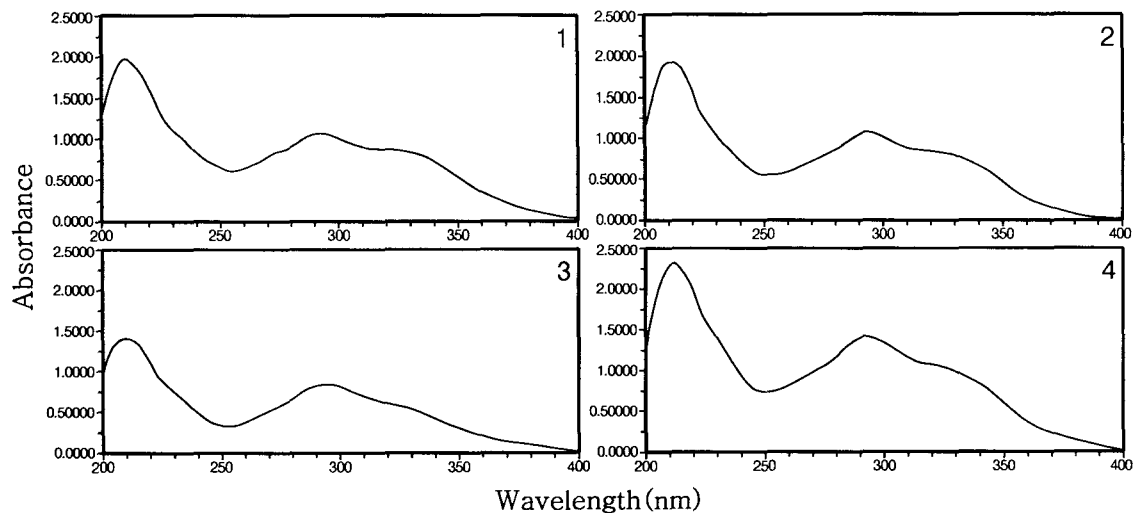


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectra of ethanol extracts of propolis from different regions. 1. S company, 2. Sunchon, 3. Sancheong, 4. Munkyung

유사하였다.

또한 본 결과는 Park 등(11,12)이 보고한 propolis 에탄올 추출물의 최대흡수파장과 비슷한 결과를 보였으며 시료간 큰 차이는 없었으며, 이는 propolis를 식품으로 인정하기 위한 자외선 최대흡수파장 범위(290+20 nm) 안에 포함되었다.

Total flavonoid의 함량

본 실험에 사용된 4종류의 propolis의 flavonoid 함량은 Table 1과 같이 S사 제품 21.87 mg/g, 순천 19.00 mg/g, 산청 16.30 mg/g 및 문경 19.50 mg/g으로 나타나 지역간에 미량의 함량 차이가 있었지만 큰 차이는 없었으며, 특히 우리나라에서 채취한 3종류의 시료와 수입원료와는 큰 차이가 없는 것으로 판단된다.

Park 등(11)이 남동부 브라질 6개 지역에서 채취한 propolis의 flavonoid 함량을 조사하였는데, 그 범위는 8.9~18.3 mg/g으로 우리나라 경우와 비교하여 지역간에 함량 차이가 조금 나타났으나 그리 큰 차이는 아니었다.

Propolis 에탄올 추출물의 항균활성

항생제 ampicillin을 대조구로 하여 각 시험 균주에 대한 4종의 Propolis 에탄올 추출물의 항균활성을 측정할 결과는 Table 2와 같이 *Streptococcus mutans*에 대하여는 11.5~12.0 mm, *Pseudomonas aeruginosa*에 대하여는 13.0~14.5, *E. coli*에 대하여는 14.5~16.5 mm 및 *Salmonella typhimurium*에 대하여는 15.5~17.0 mm로 대체로 *Salmonella typhimurium*균주에 가장 강한 항균활성을 나타내었으며 균주간에 따라 시료간에 약간의 차이는 있었지만 큰 차이는 없었다.

Table 1. Flavonoid contents of propolis from different regions (mg%)

Samples	Flavonoid contents
S company	21.87 ± 4.17
Sunchon	19.00 ± 1.50
Sancheong	16.30 ± 4.50
Munhyung	19.50 ± 0.33

The values are mean ± SD of 3 replications.

Table 2. Antimicrobial activities of ethanol extracts of propolis from different region (mm)

Strains	Control ¹⁾	Samples ²⁾			
	Ampicillin	S company	Sunchon	Sancheong	Munhyung
<i>Streptococcus mutans</i>	23.5	12.0	12.0	11.5	12.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14.0	13.0	14.0	14.5	14.0
<i>Escherichia coli</i>	27.0	16.5	16.0	14.5	14.5
<i>Salmonella typhimurium</i>	15.0	15.5	16.0	17.0	17.0

¹⁾Control disc contained ampicillin of 5 µg.

²⁾Sample discs contained 30 µL extracts equivalent to 3 mg propolis.

또한 본 실험결과 한국에서 채취한 3종류의 propolis 모두는 Park 등(11)이 보고한 브라질산 propolis의 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균활성과 비교하여도 이에 못지 않은 강한 항균활성이 나타내었다.

수소공여능 및 아질산염 소거능

Propolis 에탄올 추출물의 수소공여능 및 아질산염 소거능은 Table 3에서 보는 바와 같이 65.94%~78.67%로 합성항산화제인 0.1% BHT의 수소공여능 53.10%보다도 더 효과가 있었으며 특히 순천산 propolis 에탄올 추출물의 수소공여능은 78.67%로 나머지 3종류의 propolis 에탄올 추출물에 비하여 더 높은 효과를 보였다. 또한 각 시료의 아질산염소거능은 62.93%~83.24%의 범위였으며, 순천 및 산청 시료는 80.3%의 효과를 보인 0.1% BHT와 비슷한 효과를 보였으며, 우리나라에서 채취한 3종류의 시료가 수입시료보다 수소공여능 및 아질산염 소거능이 모두 높게 나타났다.

Park 등(11)은 propolis로부터 quercetin을 비롯한 7종의 flavonoid물질을 동정하였는데, 본 실험의 수소공여능 및 아질산염 소거능은 이와 같은 물질에 기인된 것으로 생각된다.

Linoleic acid에 대한 항산화력

Propolis의 항산화 효과를 조사하기 위하여 propolis 에탄올 추출물을 첨가하지 않은 대조구와 0.1% BHT를 첨가한 구와 지역별 4종의 propolis 에탄올 추출물을 각각 50 µL를 linoleic acid에 첨가하여 50°C에서 7일간 저장하면서 과산화물가를 측정할 결과는 Fig. 2에서와 같다.

Table 3. Hydrogen donating activities and nitrite-scavenging effects of ethanol extracts of propolis from different regions (%)

Samples	Hydrogen donating activities	Nitrite-scavenging effects
S company	65.94 ± 4.27	72.00 ± 5.23
Sunchon	78.67 ± 3.52	83.24 ± 1.93
Sancheong	76.08 ± 2.41	79.19 ± 3.23
Munhyung	75.28 ± 2.94	62.93 ± 1.71
0.1% BHT	53.10 ± 1.54	80.30 ± 1.31

The values are mean ± SD of 3 replications.

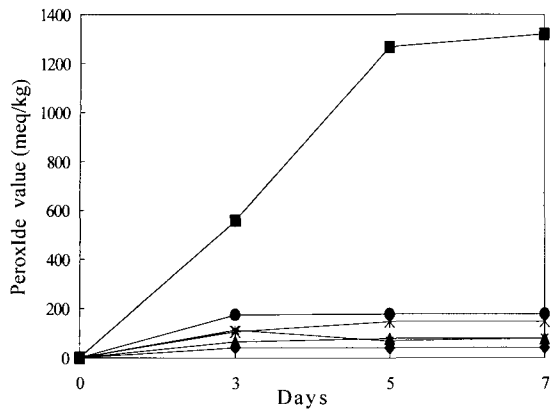


Fig. 2. Changes in peroxide value of linoleic acid emulsion added propolis ethanol extract during autoxidation at 50°C for 7 days.

■: D.W., ◆: BHT, ▲: S. Company, ×: Suncheon, * : Sancheong, ●: Munkyoung

Propolis 에탄올 추출물을 첨가하지 않은 대조구의 과산화물가는 저장 3, 5 및 7일 후에 561, 1270 및 1320 meq/kg으로 급격히 증가한 반면에 0.1% BHT 첨가구는 42, 40, 40 meq/kg, S 제품은 67, 80, 80 meq/kg, 순천시료는 68, 70, 80 meq/kg, 산청시료는 107, 150, 150 meq/kg 및 문경시료는 177, 180, 180 meq/kg으로 대조구에 비해 현저히 적게 나타났다.

Lim 등(10)은 palm 및 lard에 대하여 propolis의 각종 용매 추출물의 항산화력을 보고하였는데 그중 propolis 메탄올 추출물이 다른 용매 추출물에 비하여 항산화활성이 높았다고 보고하여 이와 같은 결과 본 실험결과를 통하여 볼 때 propolis에는 상당한 항산화 효과가 인정되었으며, 이들은 상기의 Park과 Ikegaki(12)의 결과에 근거하여 propolis에 함유된 flavonoid물질에 기인된 것으로 생각된다.

따라서 상기의 모든 결과를 종합하여 볼 때 우리나라에서 생산되는 propolis원료를 이용하여 propolis식품을 제조하여도 수입원료에 조금도 손색이 없는 제품을 생산할 수 있으리라 생각한다.

요 약

Propolis의 품질특성 및 기능성을 알아보기 위하여 우리나라 원료 3종(문경, 산청 및 순천)과 수입원료 1종(S사 제품)의 propolis를 80% 에탄올로 추출하여 최대흡수파장과 total flavonoid함량을 측정하고, 항균, 수소공여능, 아질산염소거능 및 linoleic acid에 대한 과산화물가를 측정하였다. Propolis 추출물의 최대흡수파장은 208~212 nm이었으며, 다음으로 292~294 nm에서도 큰 흡수파장을 나타내었다. 문경, 산청 및 순천지역의 total flavonoid함량은 16.30~21.87 mg/g이었으나, 시료간에는 함량차이가 크게 나타나지 않았다. 4종의 시험균주에 대한 항균 test 결과 시험균주 모두에서 강한 항균활성을

나타내었고, 그중 특히 *Salmonella typhimurium* 균주에 대하여 가장 강한 항균활성을 나타내었으며, 시료간에는 큰 차이는 없었다. 수소공여능은 65.94~78.67%로 대체로 0.1% BHT보다 높게 나타났고, 아질산염소거능은 62.93~83.24%로 나타났으며, 우리나라에서 채취한 3종의 시료가 수입시료인 S사 제품에 비하여 수소공여능 및 아질산염소거능 모두 높게 나타났다. Linoleic acid에 대한 과산화물가는 대조구에 비하여 현저히 낮게 나타나 수입원료 1종과 우리나라 채취 3종의 제품 모두 항산화 효과가 우수한 것으로 확인할 수 있었다.

문 헌

- Greenaway, W., Scaysbrook, T. and Whatley, F.R.: The composition and plant origins of propolis. *Bee World*, **71**, 107-118 (1990)
- 오유진: 질병을 고치는 프로폴리스 요법. 이화문화출판사, 서울 (1995)
- Bonhevl, J.S., Coll, F.V. and Jorda, R.E.: The composition, active components and bacteriostatic activity of propolis in dietetics. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **71**, 529-532 (1994)
- Ghisalberti, E.L.: Propolis. A review. *Bee World*, **60**, 59-84 (1979)
- Bankova, V., Popov, S. and Marekov, N.L.: Isopentenyl cinnamates from poplar buds and propolis. *Phytochemistry*, **28**, 871-873 (1989)
- Bankova, V., Christov, R., Stoev, G. and Popov, S.: Determination of phenolics from propolis by capillary gas chromatography. *J. Chromatogr.*, **607**, 150-153 (1992)
- Popravko, S.A., Gurevich, A. and Kolosov, M.N.: Flavonoid components of propolis. *Khimiya Prir. Soedin.*, **5**, 476-480 (1969)
- Rapta, P., Misik, V., Stasko, A. and Vrabel, I.: Redox intermediates of flavonoids and acid esters from propolis. *Free Radical Biology and Medicine*, **18**, 910-918 (1995)
- Park, H.Y., Oh, H.W., Park, D.S. and Chang, Y.D.: Antimicrobial activities of honeybee propolis extracts in Korea. *Korean J. Apiculture*, **10**, 53-56 (1995)
- Lim, D.K., Choi, U., Shin, D.H. and Jeong, Y.S.: Antioxidative effect of propolis extract on palm oil and lard. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **26**, 622-626 (1994)
- Park, Y.K., Koo, M.H., Masaharu, I. and Contado, J.L.: Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arq. Biol. Technol.*, **40**, 97-106 (1997)
- Park, Y.K. and Ikegaki, M.: Evaluation of ethanolic extracts of propolis from Brazil and Korea by physicochemical and biological methods. *Korean J. Apiculture*, **13**, 27-34 (1998)
- Farag, R.S.: Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J. Food Prot.*, **52**, 665-668 (1989)
- Bois, M.S.: Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, **26**, 1199-1204 (1958)
- Gray, J.I. and Dugan, L.R.: Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.*, **40**, 981-986 (1975)
- AOAC: *Official Method of Analysis*. 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., p.223 (1980)

(2000년 7월 28일 접수)