

## 국내산 아까시나무와 밤나무 유래 propolis의 영양성분 및 페놀성 화합물 분석

송효남\* · 길복임<sup>1</sup>

세명대학교 한방식품영양학과, <sup>1</sup>안양대학교 식품영양학과

### Analysis of Nutritional Composition and Phenolic Compound in Propolis Collected from Falseacacia and Chestnut Tree in Korea

Hyo-Nam Song\* and Bogim Gil<sup>1</sup>

Department of Oriental Medical Food and Nutrition, Semyung University

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Anyang University

Nutritional composition and phenolic compounds of raw propolis collected from falseacacia (*Robinia pseudoacacia* L.) and chestnut tree (*Castanea crenata*), and their 70% ethanol extracts of propolis (EEP) were analyzed. Propolis had high crude lipid content, but no significant differences in general compositions in terms of collection area and plant origins. Mineral contents varied greatly depending on the plant origins, with falseacacia propolis showing the highest mineral content. Sixteen amino acids were analyzed, among which aspartic acid content was the highest at 328.4~410.6 mg% and methionine the lowest at 0~21.1 mg%. Extraction yield for EEP was relatively high at 64.2~81.9%, and total polyphenol and flavonoid contents were 13.9~23.7 and 8.6~10.8%, respectively. HPTLC and HPLC analysis on the phenolic compounds revealed the overall chromatographic patterns were almost equal, showing similar polyphenol compositions between the propolis. About 16 peaks were identified by HPLC analysis, among which 6 peaks of *p*-hydroxy benzoic acid, caffeic acid, ferulic acid, benzoic acid, cinnamic acid, and chrysin were identified.

**Key words:** amino acid, HPLC, HPTLC, mineral, phenolic compound, propolis

## 서 론

기원전 3,000년경부터 오늘날에 이르기까지 인간은 꿀벌들로부터 벌꿀, 로얄젤리, 화분(bee pollen), 밀납 및 봉침 등 여러 가지 봉산물(bee products)을 얻어왔는데, 이러한 봉산물 중 동유럽을 중심으로 오래 전부터 건강보조식품의 소재로 유용하게 이용되는 것중 하나가 바로 propolis이다. Propolis (Bee glue 또는 봉교)란 대부분의 식물들이 자신의 잎, 꽃, 열매 및 새싹 등을 보호하기 위해 분비하는 항균성과 방수성 및 절연성을 가진 수지성의 화합물을 꿀벌들이 채취하여 그들의 타액의 효소와 혼합하여 만든 황갈색 또는 암갈색의 수지상 물질로 여러 가지 약리학적 효과와 생리활성을 지닌 것으로 알려져 있다<sup>(1,2)</sup>. Propolis의 어원은 그리스어에서 유래된 것으로 “Pro”는 “방어시에, 방어를 위해서”, “polis”는 “도시”란 의미를 가져 “도시앞에 있으면서 도시를 지킨다”는

뜻으로 결국 벌집을 지키는 물질로 해석된다<sup>(2,3)</sup>.

Propolis는 벌들에 의해 채집되는 장소, 밀원식물(plant origin)의 종류와 계절에 따라 구성 화합물이 매우 다양한데<sup>(2,4)</sup>, 대다수는 alcohol-soluble resin으로 구성되어 있고, 약 10%는 독특한 향기를 내는 정유성분<sup>(5,6)</sup>이며, 나머지는 alcohol insoluble fraction 또는 밀납과 화분 및 페놀성 화합물(phenolic compounds) 등으로 이루어져 있다<sup>(6,7,8)</sup>. Propolis의 flavonoids와 같은 페놀성 화합물은 밝은 황색에서 암갈색에 이르기까지 다양한 색깔을 부여하며<sup>(4)</sup>, 강력한 항산화효과와 항균 효과 뿐 아니라 항염증 작용, 항궤양 작용<sup>(1)</sup>, 항경련 작용<sup>(2)</sup> 등과 같은 약리학적 효과에도 기여한다. 즉, propolis balsam 중 benzyl caffeate의 항산화 효과<sup>(5)</sup>나 pinocembrin의 항균작용, 살균 및 국소 마취효과 등이 그 예이다<sup>(3)</sup>.

외국의 경우 현재 propolis는 캡슐, 팅크제, 타블렛, 화장품, 치약, 구강청정제 및 일광차단제 등의 재료 및 첨가제로 다양하게 이용된 제품들이 생산되고 있고<sup>(9)</sup>, 일본에서도 1989년 일본암학회 총회에서 효능을 인정받은 이후 관련제품이 쏟아져 나오고 있다. 국내에서는 보건복지부가 1995년 propolis를 건강보조식품의 소재로 허가한 이후 건강보조식품, 껌, 삼푸, 미용제품 등 관련제품들이 수입 또는 제조되고 있다.

\*Corresponding author : Hyo-Nam Song, Semyung University, San 21-1 Shinwol-dong, Jechon-si, Chungbuk 390-711, Korea  
Tel: 82-43-649-1430  
Fax: 82-43-649-1349  
E-mail: hnsong@semyung.ac.kr

Propolis가 광범위하게 이용되고 있는 동구 유럽이나 호주, 브라질 등에서는 이미 오래 전부터 propolis에 대한 기초적이고도 심도있는 수많은 연구가 선행되어 있다. 그러나 국내의 propolis관련 연구는 매우 미진하여 유지의 항산화 효과<sup>(8)</sup>, propolis의 항생활성 범위 검증<sup>(10)</sup> 및 국내산 propolis의 향기 성분<sup>(11)</sup> 등에 관한 몇몇 연구결과가 보고된 정도이다. 따라서 국내산 propolis에 대한 추출물의 특성, 조성 및 생리활성 성분의 분석 등에 대한 체계적인 연구는 매우 부족한 실정이며, 더욱이 벌들이 생산한 propolis는 일반적으로 양봉 관리상 귀찮게 여겨져 버려지는 경우가 대부분이어서 국내에서는 일부 관심있는 양봉원을 제외하면 propolis의 수집이나 활용이 매우 부진한 상태이다.

본 연구에서는 국내에서 채집되는 propolis를 소재로 한 기능성 식품 제조 및 산업화의 전제하에 원료에 대한 기초자료를 얻고자 국내의 주요 밀원 식물인 아까시나무와 밤나무를 밀원으로 하는 봉군 중 경상북도 상주지역과 강원도 원주 두 지역에서 propolis를 덩어리 상태로 채집하여 원료자체와 70% ethanol 추출물의 기본적인 영양성분과 페놀성 화합물을 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

Propolis 원료는 경상북도 상주지역의 아까시나무(*Robinia pseudoacacia* L.) 숲속의 봉군과 강원도 원주지역의 밤나무(*Castanea crenata*)숲의 봉군에서 채집한 propolis를 가공하지 않은 천연 덩어리 상태로 모은 것을 구입하였다. 실험에 사용한 시료는 다음과 같이 두가지 형태로 준비하였다. 즉, 분말시료는 덩어리 상태의 propolis를 작은 입자상태로 마쇄하여 꿀벌의 잔해나 지푸라기 등의 이물질들을 제거하고 8 mesh의 체를 통과시킨 것을 4°C의 암실에서 저장하면서 사용하였고, ethanol 추출물(ethanol extract of propolis; 이하 EEP)은 전보<sup>(12)</sup>에서와 같은 조건에서 70% ethanol로 추출하여 얻은 고형분을 실험의 재료로 사용하였다.

### 일반성분 분석

수분함량은 AOAC의 표준법에 준하여 105°C 상압가열 건조법, 조지방은 Soxhlet법, 조회분은 건식회화법으로 측정하였다. 조단백질은 Keltec Auto Analyzer(Tecator社)를 이용하여 Semimicro-Kjeldahl법으로, 조섬유는 Fibertec System M(Tecator社)을 이용하여 Henneberg-Stohmann을 개량한 AOAC법으로 정량하였고, carbohydrate는 전술한 성분들의 양을 차감한 값으로 계산하였다.

### 무기질 조성분석

주요 무기질 5종의 함량은 시료를 500°C에서 4시간 건식회화하여 얻은 회분에 10방울의 탈이온수를 첨가하고 4 mL의 HNO<sub>3</sub>용액(HNO<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O = 1:1)을 가한 후 hot plate에서 증발, 건조시킨 다음 다시 500°C에서 1시간 동안 회화하고 10 mL의 HCl용액(HCl:H<sub>2</sub>O = 1:1)에 완전히 용해시켜 50 mL로 정용한 후 AOAC법<sup>(13)</sup>에 준하여 고주파플라즈마법(Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrophotome-

ter, Jobin Yvon Co., France)로 정량하였다.

### 아미노산 조성분석

아미노산은 Heinrikson과 Meredith<sup>(14)</sup>의 방법에 따라 Pico-Tag system(Waters, USA)을 이용하여 분석하였다. 시료 약 10 g을 정확히 칭량하여 ampule에 넣은 후 6 N HCl 15 mL를 가한 다음 질소로 치환하여 밀봉한 후 110°C dry oven에서 24시간 동안 가수분해시킨 뒤 분해액을 적당히 희석하고 0.45 μm syringe filter(Millipore Co., USA)로 여과한 후 AccQ·Fluor™ reagent kit(Waters, USA)를 사용하여 형광성 유도체를 만들어 총아미노산을 분석하였다. HPLC 분석시 시료는 5 μL를 주입하여 1 mL/min의 유속으로 gradient mode로 37°C에서 AccQ·Tag column(3.9×150 mm, Waters, USA)을 통과시켜, fluorescence detector(λ<sub>ex</sub>: 250 nm, λ<sub>em</sub>: 395 nm)로 검출하였다. 아미노산 표준물질은 amino acid standard H(Pierce社, USA)를 사용하였다.

### 페놀성 화합물 분석

**Total polyphenol 함량측정:** 페놀성 화합물은 Swain과 Hillis<sup>(15)</sup>의 방법을 수정하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 시료용액 0.1 mL를 증류수 7 mL로 희석하고 AOAC법<sup>(16)</sup>에 따라 제조한 Folin-Denis reagent를 0.5 mL 가하여 진탕하였다. 정확히 3분 후 1 mL의 sodium carbonate 포화용액을 가하고 전체를 10 mL로 정용후 진탕혼합하여 실온에서 1시간 동안 방치시킨 후 Spectrophotometer(Model DU 650, Beckman, USA)로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 tannic acid를 표준물질로 작성하였다.

**Total flavonoids 함량측정:** Propolis의 total flavonoids의 함량은 Naringin method<sup>(17)</sup>로 측정하였고, 표준곡선은 naringin을 표준물질로 작성하였다.

**High-performance thin layer chromatography (HPTLC):** EEP의 페놀성 화합물을 Sabatier 등<sup>(17)</sup>과 Heimler<sup>(18)</sup>의 방법에 따라 RP-18 F254 S HPTLC precoated plate(10×20 cm, 0.25 mm, Merck)에 추출물 10~20 μL를 점적한 후 1 M acetic acid in 60% methanol로 전개하였다. 전개된 spot은 254 nm와 366 nm에서 확인하였고, 각 spot의 relative area%를 CAMAG automatic TLC sampler로 계산하였다.

**HPLC analysis:** EEP의 페놀성 화합물을 Strack과 Krause<sup>(19)</sup> 및 Bankova 등<sup>(1)</sup>에 따라 Hypersil ODS guard column(2 cm×4.6 mm, 5 μm; SUPELCO社)을 장착한 LiChrosorb RP-18 column(125 mm×4 mm, 5 μm; Merck社, Germany)으로 column oven 온도 35°C에서 분석하였다. Mobile phase는 water/methanol/acetic acid(60/75/5)의 혼합용매를 유속 1 mL/min의 isocratic flow로 하였으며, UV 290 nm에서 검출하였다.

## 결과 및 고찰

### 일반성분

아까시나무와 밤나무의 두 종류 밀원식물에서 채집된 propolis 분말과 EEP의 일반성분 분석 결과를 Table 1에 나타내었다. Propolis 분말의 수분함량은 각각 3.6%와 3.9%로

**Table 1. Approximate composition of raw and 70% ethanol extract of propolis (EEP) (%)**

	Falseacacia		Chestnut tree	
	Raw	EEP	Raw	EEP
Moisture	3.9	n.d. <sup>1)</sup>	3.6	n.d.
Crude lipids	81.1	46.4	86.9	64.0
Crude protein	2.5	0.5	2.0	0.2
Crude fiber	4.0	- <sup>2)</sup>	3.5	-
Ash	1.1	0.3	1.5	0.2
Carbohydrates	7.4	-	2.5	-

<sup>1)</sup>Not detected.<sup>2)</sup>Missing data.

밀원식물에 따른 차이는 거의 없었고, 2.0~2.8%의 수분함량을 지닌 것으로 보고된 우루과이와 중국산 propolis보다는 높았다<sup>7)</sup>. EEP의 경우는 제조시 감압농축 과정을 거치는 관계로 수분은 존재하지 않았다. 조지방 함량은 두 종류 모두 분말시료에서 81.1%와 86.9%로 매우 높게 나타났고, EEP에서도 46.4%와 64.0%로 각각 매우 높았다. 이는 조지방 함량에 포함된 지질성분들이 propolis의 순수 지질성분인 밀납 뿐만 아니라 추출용매인 diethyl ether에 용해되는 성분들인 정유, resin 및 기타 지용성 성분들이 함께 추출되었기 때문인 것으로 추측된다. 따라서 propolis의 조지방 함량측정에는 Soxhlet 법 외의 다른 측정법을 적용하여야 좀더 정확한 자료를 얻을 수 있을 것으로 사료되었다. 조단백 함량은 분말 propolis의 경우 밀원식물에 따른 큰 차이는 없었고 EEP에 이행된 단백질량도 각각 0.2%와 0.5%로 매우 적은 것으로 나타났다. 조섬유도 비슷한 함량을 보였고, EEP의 경우 수지성 시료의 물리적 특성 때문에 본 시험법으로는 정량이 불가능하여 측정하지 못하였다. 회분함량은 propolis 분말의 경우 1.1%와 1.5%로 나타나, 일반적으로 알려진 propolis의 회분함량이 보통 2~3%인 것과는 비슷하였으나, 우루과이산 propolis의 경우 무려 21.5%에 이르는 보고<sup>7)</sup>와는 큰 차이가 있었다. 또한, EEP에는 0.2%와 0.3%로 매우 낮은 양의 회분이 함유되어 있는 것으로 나타났다.

본 연구의 일반성분 분석 결과를 보면 밀원식물에 따른 차이는 두드러지지 않고 비슷한 분포를 보이는 것으로 나타났으며, 특히 EEP와 같은 추출물을 제조할 경우 원래 함유되어 있는 성분들의 상당량이 감소되는 것으로 나타나 일반적으로 propolis 가공시 추출가공식품의 형태로 제조될 때 주의하여야 할 사항인 것으로 사료된다.

### 무기질

Propolis 분말과 EEP 시료에 대하여 5가지 주요 무기질 함량의 분석결과를 Table 2에 나타내었다. 전체적으로 아까시나무의 propolis가 무기질 함량이 비교적 많은 특징을 보였고, 시료간 차이가 있었다. 분말시료의 경우 아까시나무 propolis는 Ca의 함량이 155.5 mg%로 가장 많고 Fe의 함량이 21.6 mg%로 가장 낮은 반면, 밤나무는 K의 함량이 78.4 mg%로 가장 많고, Fe의 함량이 33.6 mg%로 가장 낮은 것으로 나타나 Ca, K 및 Fe이 각각 3,360.0 mg%, 114.0 mg% 및 171.0 mg%로 보고된 오<sup>(20)</sup>와 큰 차이를 보였

**Table 2. Major mineral contents of raw and 70% ethanol extract of propolis (EEP) (mg%)**

Mineral	Sample	Falseacacia		Chestnut tree	
		Raw	EEP	Raw	EEP
Sodium		47.9	28.7	58.1	37.6
Potassium		127.9	93.9	78.4	61.4
Calcium		155.5	32.7	51.0	5.6
Magnesium		65.2	17.6	34.0	7.0
Iron		21.6	n.d. <sup>1)</sup>	33.6	0.7

<sup>1)</sup>Not detected.

다. 한편, EEP의 경우는 두 시료 모두 K의 함량이 가장 높았고, 반면 Ca, Mg 및 Fe은 현저히 낮은 것으로 나타났다. 철분함량은 두 시료 각각 21.6 mg%와 33.6 mg%로 가장 낮게 나타났다. 이상과 같이 propolis는 벌들에 의해 생산된다는 특성상 채집 지역의 토양과 분포하는 수종 등의 차이에 따라 무기질의 함량이 서로 다른 것으로 생각되며 따라서 propolis의 무기질 조성 및 함량은 일률적으로 일치된 결과를 얻을 수 없을 것으로 사료된다.

### 아미노산

Propolis 분말시료의 아미노산 분석결과를 Table 3에 나타내었다. 산기수분해법으로 분석한 결과 총 16종의 아미노산이 검출되었고, asparagine, cysteine, glutamine 및 tryptophan은 검출되지 않았다. 특히 밤나무 유래 propolis에서는 methionine도 검출되지 않았다. 검출된 아미노산 중 가장 많은 양을 차지하는 아미노산은 모두 aspartic acid로 아까시나무의 경우 16.3%였고, 다음으로 proline, glutamic acid의 순이었으며, 밤나무는 aspartic acid가 17.6%였고 glutamic acid, proline의 순으로 많이 함유되어 있었다. 가장 적은 함량을 나타낸 아미노산은 0~21.1 mg%의 methionine이었다. 전반적으로는 아까시나무 유래의 propolis가 밤나무 보다 아미노산 함유량이 높은 특징을 보였다. Propolis에 대한 아미노산 조성 및 함량을 측정된 연구결과는 거의 전무한 가운데 오<sup>(20)</sup>의 보고를 비교한 결과 aspartic acid와 glutamic acid를 가장 많이 함유하고 있다는 점과 methionine이 가장 적게 함유되었다는 점에서 본 실험과 일치하는 결과를 보여주었다.

### 페놀성 화합물

**추출수율, 총페놀성화합물 및 플라보노이드 함량:** EEP의 페놀성 화합물을 분석한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 70% ethanol 추출물인 EEP의 추출수율은 아까시나무와 밤나무 유래 propolis가 각각 64.2%와 81.9%로 매우 높은 편으로 나타나 Yamauchi 등<sup>(5)</sup>이 미국, 중국, 일본 및 브라질산의 여러 가지 propolis를 60% methanol로 추출하였을 때 7~42%의 수율을 얻었음을 보고한 것과 큰 차이가 있었다. 따라서 수율은 추출용매에 따라 큰 차이가 있는 것으로 사료된다. 이밖에도 별도의 실험결과 여러 가지 유기용매로 추출한 경우 그 수율은 60~80%에 이르러 propolis는 70% ethanol을 포함한 대부분의 유기용매에 잘 용해되며 물은 propolis의 추출용매로는 매우 부적합한 것으로 확인되었다.

Total polyphenol 함량을 Folin-Denis법으로 측정된 결과

**Table 3. Amino acid composition of raw propolis**

Amino acid	Falseacacia		Chestnut tree		Ref. 22
	Content (mg%)	Ratio (%) <sup>2)</sup>	Content (mg%)	Ratio (%)	Content (mg%)
Asp	410.6	16.3	328.4	16.4	100.0
Ser	185.2	7.3	148.1	7.4	70.0
Glu	321.3	12.7	257.1	12.8	110.0
Gly	201.5	8.0	161.2	8.0	n.d.
His	44.9	1.8	35.9	1.8	20.0
Thr	126.5	5.0	101.2	5.0	50.0
Arg	131.3	5.2	105.1	5.2	40.0
Ala	151.6	6.0	121.3	6.1	70.0
Pro	281.9	11.2	225.6	11.3	60.0
Tyr	56.6	2.2	45.3	2.3	30.0
Val	125.6	5.0	100.5	5.0	60.0
Met	21.1	0.8	n.d. <sup>1)</sup>	0.0	20.0
Lys	85.1	3.4	68.1	3.4	30.0
Ile	126.7	5.0	101.8	5.1	60.0
Leu	172.3	6.8	137.8	6.9	80.0
Phe	83.3	3.3	66.6	3.3	40.0
Trp	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	50.0
Asn	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Gln	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Cys	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	30.0
Total	2,525.5	100.0	2,004.0	100.0	920.0

<sup>1)</sup>Not detected.

<sup>2)</sup>% of total free amino acids.

EEP의 경우 아까시나무 유래 propolis는 13.9%, 밤나무 유래 propolis는 23.7%로 나타나 ethanol로 추출한 외국산 propolis의 polyphenol 함량이 10.1~28.6%<sup>(7)</sup>으로 보고된 것과 매우 유사한 결과로 나타났다. Maxon과 Rooney<sup>(21)</sup>는 추출방법, 실험 절차 및 표준물질에 따라 분석시간의 차이가 크므로 total polyphenol 함량의 단순 비교는 적합치 않다고 지적하였으나, 이를 감안하더라도 일반적인 식품원료인 곡류, 두류, 종실류 및 채소류의 total polyphenol 함량이 0.1~2%<sup>(22)</sup>이고 비교적 phenolic compound가 많은 것으로 알려진 과일류나 감잎에도 각각 0.1~4.6%와 5.8%인 점<sup>(22)</sup>에 비교하면 propolis중의 phenolic compound는 매우 높은 수준인 것으로 사료된다.

Propolis의 phenolic fraction중 대부분을 구성하며 “비타민 P”라 일컬어지는 flavonoids(flavonols, flavones 및 flavanones)는 propolis의 황갈색을 띠게 하는 성분으로 일반적인 식물계에 널리 분포되어 있다. 아까시나무와 밤나무 propolis의 flavonoids 함량을 살펴보면 8.6~10.8%로 나타났고 밤나무 유래 propolis가 다소 높았으며, 중국과 우루과이산 propolis를 99.9% ethanol로 추출했을 때 5% 내외의 flavonoid를 함유<sup>(7)</sup>하고 있는 것과 비교하면 비교적 높은 양인 것으로 보여진다. 또한 꿀벌에 의해 생산되는 봉산물 중 꿀과 화분에 각각 0.005~0.010%와 0.5%수준의 flavonoid가 함유되어 있는 것<sup>(23)</sup>과 비교하면 propolis에 함유된 10%내외의 flavonoids는 매우 높은 수준임을 알 수 있다.

**Propolis 추출물의 HPTLC 패턴**

HPTLC를 이용하여 propolis의 추출물을 RP-18 HPTLC

plate에서 1 M acetic acid를 포함하는 60% methanol로 전개한 후 각 spot의 R<sub>f</sub> 값과 relative area%를 비교한 chromatographic pattern을 Table 4에 나타내었다.

비교적 뚜렷한 7개의 spot이 확인되었고, plate의 하단에 촘촘하게 머물러 있는 성분들이 많았다. 전체적인 분리양상으로 볼 때 두 종류 시료 모두 chromatogram상 거의 동일한 pattern을 보였다. R<sub>f</sub> 값이 hydroxyl group이 치환된 수와 위치에 따라 달라진다는 사실<sup>(19)</sup>로 미루어 볼 때 propolis에는

**Table 4. High-performance thin-layer chromatographic behavior observed under UV light and the relative area% by densitometer for 70% ethanolic extract of propolis on RP-18 plates**

No.	R <sub>f</sub>	Color under UV Light		Relative Area %	
		254 nm	366 nm	Falseacacia	Chestnut tree
1	0.08	Bl <sup>1)</sup>	Y <sup>2)</sup>	32.75	31.91
2	0.14	Bl	Bl	20.26	16.81
3	0.22	V <sup>3)</sup>	Y	4.14	2.16
4	0.31	Bl	Bl	11.27	5.53
5	0.37	Bl	Bl	9.42	4.40
6	0.47	Bl	Bl	3.48	3.03
7	0.65	Bl	Bl	6.03	9.64

\*Eluent was 1M acetic acid in 60% methanol.

<sup>1)</sup>Bl: blue.

<sup>2)</sup>Y: yellow.

<sup>3)</sup>V: violet.

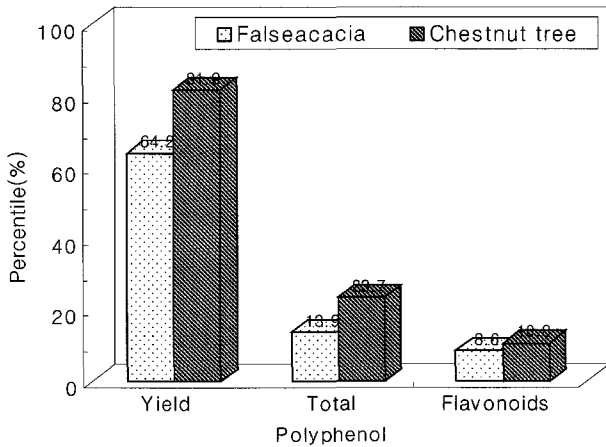


Fig. 1. Extraction yield, total polyphenol and flavonoids content in ethanol extract of propolis.

비교적 다량의 nonpolar group을 치환기로 지닌 성분들이 많고, phenolic acid류와 hydroxyl group을 치환기로 갖는 성분들은 상대적으로 적은 것으로 사료된다. 아까시나무와 밤나무의 시료간의 차이는 거의 없이 구성성분의 분포가 거의 동일하였고, relative area%도  $R_f$  0.08, 0.47의 spot을 제외하면 다소 차이가 있어 국내에서는 propolis의 채집 지역이나 수종에 의한 차이가 polyphenol의 종류에는 거의 영향을 미치지 않으나 양적인 차이는 있는 것으로 사료된다. Johnson 등<sup>(24)</sup>도 미국내 세곳의 지역에서 채집한 propolis를 연구한 결과 지역에 따른 차이뿐 아니라 채집시기 또는 벌집간의 차이에 따라 정성적으로는 거의 차이가 없음을 밝혀 이와 유사함을 나타내었다.

#### Propolis 추출물의 HPLC 분석

Propolis 추출물의 polyphenol 화합물을 LiChrosorb RP-18 HPLC column으로 분석한 chromatogram을 Fig. 2에 나타내었다. HPTLC의 분석 결과와 마찬가지로 EEP와 볼 또는 시료의 종류에 따른 peak의 크고 작은 양적인 차이는 있으나 머무름 시간 5분에서 12분 사이에서 주요 peak로 보이는 성분들이 검출되었고, 전체적인 chromatographic pattern은 동일하여 구성 성분의 종류와는 큰 차이가 없음을 알 수 있었다.

개별 polyphenol 화합물의 동정은 매우 어려운 일종의 하나이며, 특히 표준물질이 확보되어야 확인이 가능한 특성상 HPLC를 이용한 동정작업은 표준품이 상업적으로 시판되지 않는 경우는 동정이 불가능한 한계를 지니고 있다<sup>(25)</sup>. 본 실험에서도 약 40여종의 표준물질을 이용하여, 검출된 약 16개의 peak중 *p*-hydroxy benzoic acid(1), caffeic acid(2), ferulic acid(3)와 benzoic acid(4), cinnamic acid(5) 및 chrysin(6)을 확인할 수 있었다. 이중 caffeic acid와 cinnamic acid 및 ferulic acid는 유럽산 propolis에서도 흔히 발견되는 성분이나, Johnson 등<sup>(24)</sup>이 보고한 미국내 침엽수림과 낙엽수림 및 소나무 숲이 울창한 세 지역에 있는 벌집에서 채취한 propolis에서는 전혀 검출되지 않은 것으로 보고되었다. Chrysin은 유럽산과 프랑스산 propolis에도 함유되어 있는 성분이며<sup>(1,4)</sup>, 분리동정에도 성공하여 *Populus nigra* var. *pyramidalis*의 특징적인 성분임이 밝혀져 있다<sup>(2)</sup>. 이밖에도 지리적 위치에 따른

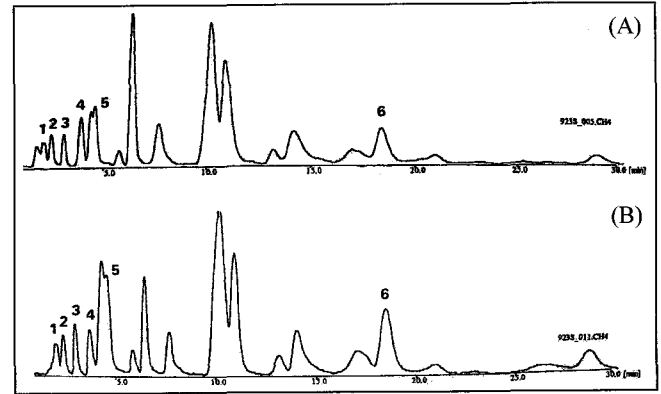


Fig. 2. HPLC profile for the 70% ethanol extract of propolis from falseacacia (A) and chestnut tree (B) separated by a LiChrosorb RP-18 column; peak 1: *p*-hydroxy benzoic acid, peak 2: caffeic acid, peak 3: ferulic acid, peak 4: benzoic acid, peak 5: cinnamic acid, peak 6: chrysin.

성분의 차이에 대한 연구가 비교적 많이 이루어져 있어 70여종 이상의 propolis flavonoids가 밝혀진 유럽산에는 주로 caffeic acid, ferulic acid와 같은 phenolic acid와 galangin, kaempferol, quercetin, chrysin, apigenin, luteolin, acacetin, tectochrysin, pinocembrin, isosakuranetin등이 함유되어 있고, 프랑스산의 경우 galangin과 chrysin, 불가리아산에는 pinocembrin과 galangin이 주요 구성성분으로 함유되어 있는 것으로 보고되어 있어<sup>(4,24)</sup> 일부 동일한 성분 몇 가지를 제외하면 국내산 propolis의 페놀성 화합물과는 대체로 많은 차이가 있는 것으로 사료된다<sup>(1)</sup>.

#### 요 약

국내에서 채집되는 propolis에 대한 기초자료를 얻고자 아까시나무와 밤나무를 밀원 식물로 하여 채집된 propolis와 그의 70% ethanol 추출물(EEP)에 대한 영양성분 및 페놀성 화합물을 분석하였다. 일반성분은 밀원식물에 따른 큰 차이가 비슷한 분포를 보였고, EEP의 경우 propolis 분말에서보다 대부분의 성분들이 상당량 감소되었다. 주요 무기질 5종은 일반성분과는 달리 채집지역과 수종에 따른 차이를 보였고, 대체로 아까시나무의 propolis가 무기물 함량이 많았다. 아까시나무의 propolis에는 칼슘함량이 가장 많았고, 밤나무 propolis는 칼륨이 가장 많이 함유되어 있었다. 반면에 EEP에서는 두 시료 모두 칼륨의 함량이 가장 많았다. 아미노산은 총 16종이 검출되었고, aparagine, cysteine, glutamine 및 tryptophan은 검출되지 않았다. 특히 밤나무 propolis에서는 methionine도 검출되지 않았다. Aspartic acid가 가장 많았고, methionine의 함유량은 극히 적었으며, 아까시나무 propolis가 아미노산 함유량이 전반적으로 더 높았다. 추출수율이 비교적 높게 나타난 EEP의 total polyphenol 함량은 13.9~23.7%였고, propolis의 phenolic fraction중 대부분을 차지하는 성분인 flavonoids 함량은 8.6~10.8%로 나타나 다른 식품재료에 비하여 매우 높은 수준이었다. 고성능 박막크로마토그래피로 페놀성 화합물을 정성분석한 결과 시료종류에 상관없이 거의 동일한 pattern의 chromatogram을 나타내었다. Polyphenol

화합물의 HPLC 분석에서는 약 16개의 peak가 검출되었고, 이중 *p*-hydroxy benzoic acid, caffeic acid, ferulic acid, benzoic acid, cinnamic acid 및 chrysin의 6종을 동정하였다. 시료간의 chromatographic pattern은 동일하여 propolis를 구성하는 페놀성 화합물의 종류는 큰 차이가 없는 것으로 판단되었다.

## 문 헌

- Bankova, V.S., Popov, S.S. and Marekov, N.L. A study on flavonoids of propolis. *J. Natural Prod.* 46: 471-474 (1983)
- Ghisalberti, E.L. Propolis; A review. *Bee World* 60: 59-84 (1979)
- Bone, K. Propolis: A natural antibiotic. *MediHerb Newsletter*, MediHerb Pty Ltd. (1988)
- Cheng, P.C. and Wong, G. Honey bee propolis; prospects in medicine. *Bee World* 77: 8-15 (1996)
- Yamauchi, R., Kato, K., Oida, S., Kanaeda, J. and Ueno, Y. Benzyl caffeate, an antioxidative compound isolated from propolis. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56: 1321-1322 (1992)
- Monti, M., Berti, E., Carminati, G. and Cusini, M. Occupational and cosmetic dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis* 9: 163-164 (1983)
- Bonvehi, 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)
- Lim, D.K., Choi, U., Shin, D.H. and Jeong, Y.S. Antioxidative effect of propolis extract on palm oil and lard. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 622-626 (1994)
- Bianchi, E.M. The preparation of the tincture, the soft extract, the ointment, the soap and other propolis-based products. *Apiacta.* 2: 121-127 (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)
- Song, H.N., Kim, Y.E., Hwang, I.K. and Ahn, S.Y. Volatile flavor characteristics of propolis. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 1153-1158 (1999)
- Song, H.N. Optimization for purification and extraction process of propolis from Sangju for manufacturing functional foods. *Semyung Thesis Collection* 9: 161-173 (2001)
- AOAC. Official Methods of Analysis, 985.01, p. 723, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1990)
- Heinrikson, R.L. and Meredith, S.C. Amino acid analysis by reverse phase high performance liquid chromatography precolumn derivatization with phenylisocyanate. *Anal. Chem.* 136: 65 (1984)
- Swain, T. and Hillis, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.-The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* 10: 63-68 (1959)
- AOAC. Official Methods of Analysis, 952.03, p703, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1990)
- Sabatier, S., Amiot, M.J., Tacchini, M. and Aubert, S. Identification of flavonoids in sunflower honey. *J. Food Sci.* 57: 773-777 (1992)
- Heimler, D. High-performance thin-layer chromatography of selected flavonoid aglycons on ready-for-use layers of silanized silica gel. *J. Chromatogr.* 366: 407-411 (1986)
- Strack, D. and Krause, J. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of naturally occurring mixtures of flavone derivatives. *J. Chromatogr.* 156: 359-361 (1978)
- Oh, Y.J. Propolis Therapy, p. 34. Ewha Press, Seoul (1995)
- Maxson, E.D. and Rooney, L.W. Evaluation of methods for tannin analysis in sorghum grain. *Cereal Chem.* 49: 729 (1972)
- Lee, J.H. and Lee, S.R. Analysis of phenolic substances content in Korean plant foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 310-316 (1994)
- Campos, M.G.R., Sabatier, S., Amiot, M.J. and Aubert, S. Characterization of flavonoids in three hive products: Bee pollen, propolis, and honey. *Planta Med.* 56: 580-581 (1990)
- Johnson, K.S., Eischen, F.A. and Giannasi, D.E. Chemical composition of north american bee propolis and biological activity towards larvae of greater wax moth (Lipidoptera: Pyralidae). *J. Chemical Ecology* 20: 1783-1791 (1994)
- Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. and Venema, D.P. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1591-1598 (1992)

(2002년 3월 15일 접수; 2002년 6월 3일 채택)