

에틸 알코올로 추출한 프로폴리스의 이화학적 특성

김종태* · 김철진 · 조용진 · 최애진 · 신원선
한국식품개발연구원

Characteristics of Propolis Extracts from Ethanol Extraction

Chong-Tai Kim*, Chul-Jin Kim, Yong-Jin Cho, Ae-Jin Choi and Weon-Son Shin
Korea Food Research Institute

Propolis was extracted using various concentrations of ethanol at different solvent-sample ratios. Volatile flavor components of propolis were detected by GC/MS, and the principal components were analysed. The content of total flavonoids (TF) in propolis extract increased 2 to 14% with increasing concentration of ethanol in the extraction solvent from 20 to 50%, but decreased slightly between of 60 and 70%. The 70% ethanol extract of propolis had the strongest antimicrobial activities to *E. coli*, *L. plantarum* and *S. cerevisiae*. Propolis ethanol extracts (2 to 14%) showed higher antioxidative activities when added to soybean oil during storage at 37°C.

Key words: propolis, ethanol extraction, antimicrobial activity, antioxidative activity, flavonoids

서 론

프로폴리스(propolis)는 벌이 나무, 꽃, 잎, 잎눈 등으로부터 수집하는 beewax와 수지(resin) 물질을 타액과 혼합시켜 만든 물질로서, 항균, 항박테리아, 항바이러스, 항산화, 면역기능 등과 같은 생리활성적 효과를 제공하는 것으로 알려져 있어⁽¹⁻⁵⁾, 최근 식품 및 의약분야에서 새로운 소재로 활용하기 위한 연구가 시도되고 있는 단계이다. 프로폴리스는 보통 60~70°C 범위에서 액체상태가 되며, 100°C 이상에서는 용융되는 성질을 갖는다. 프로폴리스는 수지와 왁스물질로 이루어져 있기 때문에 효과적으로 사용하기 위하여 적정 용매로 추출하여 사용하게 되는데, 가장 많이 이용되는 용매는 에탄올, 에테르, 글리콜 및 물 등이나, 대부분의 항박테리아 성분은 주로 물과 알콜에 잘 용해한다. 프로폴리스를 구성하고 있는 성분은 150~180여 개의 휘발성 물질과 꽤늘게 화합물인데 주로 flavones, flavanones, flavonols과 같은 화합물이다^(6,7). Shigemi 등⁽⁸⁾은 프로폴리스로부터 7개의 p-coumaric acid 유도체, 4개의 flavonoids, 1개의 prenylated phenolic acid, 4개의 diterpenoic acid, 1개의 lignan, 2개의 p-coumaric acid ester, 5개의 cinnamic acid 유도체 등을 분리 확인하였다. 또 Tomoki 등⁽⁹⁾은 프로폴리스의 수용성 성분으로부터 macrophage

의 확장과 운동성을 높여 주는 caffeoylquinic acid 유도체를 분리 확인하였고, Katsuhiko 등⁽¹⁰⁾은 강력한 항산화 작용을 갖는 3,4-dihydroxy-5-prenylcinnamic acid를 분리한 결과를 보고하고 있다. 프로폴리스의 이용중 화장품 분야에는 프로폴리스의 박테리아 및 곰팡이균 저해효과를 이용한 피부치료 및 화장품 형태가 가장 많고⁽¹¹⁾, 의약분야에는 심장, 혈관 및 내외과 질환의 광범위한 치료와 예방용 소재⁽¹²⁾로 이용되고 있다. 한편, 식품분야에는 보존성 증진을 위한 식품포장 재료로의 이용^(13,14), 냉동생선의 저장수명 연장⁽¹⁵⁾, 양계산업에서 달걀생산량 및 체중 증가⁽¹⁶⁾ 등의 효과를 위한 첨가제로 활용하였으며, 김 등⁽¹⁷⁾은 식빵 제조시 프로폴리스를 천연보존제로서 활용할 수 있는 응용연구를 통하여 프로폴리스의 첨가가 식빵의 저장수명 연장과 품질유지에 크게 영향을 미치는 연구결과를 보고하였다. 프로폴리스의 활성은 추출방법에 따라서 크게 다른 특성을 보이는데, 쿠바산 프로폴리스의 항균활성에 대한 연구에서 용매에 대한 침지시간, 온도, 농도, 교반형태 등에 따라 다른 보고⁽¹⁸⁾를 하고 있으며, Debuyser⁽¹⁹⁾는 70% 알콜을 사용한 추출물이 대체의약의 일환으로 병원균 치료에 가장 좋은 활성을 보인다고 하였다. 이같은 보고들은 프로폴리스가 제공하는 활성도는 산지와 수중에 따라서 특성이 크게 차이가 나며, 적용분야가 다를 경우 추출조건이 추출물의 활성을 크게 좌우한다. 그러므로 추출농도와 사용된 특성을 구명하는 것은 중요한 사항중의 하나이다. 또한, 국내에서 사용되고 있는 프로폴리스 추출물의 경우 대부분이 에틸알코올로 추출된 제품이 유통되고 있으나, 추출에 사용한 용매와 최종 추출액의 농도가 정확하게 제시되거나 품질관리가 제대로 이루어지고 있지 않은 실정이다. 따라서

*Corresponding author : Chong-Tai Kim, Biosystems Engineering Team, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyundong, Bundangku, Songnam, Kyonggido 463-736, Korea
Tel: 82-31-780-9138
Fax: 82-31-780-9257
E-mail: ctkim@kfri.re.kr

본 연구에서는 프로폴리스를 식품분야에 있어서 기능성 소재로 효율적인 활용을 할 수 있는 자료를 제공하기 위하여 국내산 프로폴리스 원료의 추출조건별 추출특성과 추출물의 항균 및 항산화 효과를 살펴보았다.

재료 및 방법

재료

프로폴리스 원료는 (주)일진약품(서울, 한국)으로부터 경북 상주산 원료를 구입하여 이물질을 제거 후 실험에 사용하였다.

무기질 함량

프로폴리스에 함유된 무기질 함량의 분석은 건식회화법⁽²⁰⁾을 이용하였다. 시료를 550°C에서 4시간 동안 회화시킨 후 0.2 N-HNO₃ 용액에 용해하여 100 mL로 정용하였다. 다음 여과하여 ICP(Inductively coupled plasma, Jobin-Yvon Model JY 38 Plus, France)를 사용하여 분석하였으며, 분석조건은 power 1 kW, nebulizer 압력 3.5 bar, aerosol 유속 0.3 L/min, 보조가스 유입속도 0.3 L/min 및 냉각가스 유입속도 12 L/min 이었다.

향기성분 분석

향기성분의 추출은 purge and trap concentrator(Model LSC 2000, Tekmar, Cincinnati, Ohio, USA)를 이용한 dynamic headspace 농축법을 사용하였다. 고체 프로폴리스 30 g을 마쇄하여 200 mL 시료병(Schott Glas, Mainz, Germany)에 담고 시료병은 water bath를 이용하여 70°C로 가열하며 유도관을 통하여 질소를 분당 50 mL씩 공급하여 headspace에 휘산된 휘발성 향기성분을 30분간 purge하였다. 향기 성분은 Tenax GC가 충전된 1/4"×300 mm의 stainless steel 관을 사용하여 포획하였으며 purge가 끝난 다음 1분간 dry purge를 실시하였다. GC의 분석조건이 준비되면 trap을 180°C로 가열하여 향기성분을 탈착하고 유도관을 통해 GC injector로 이송하여 분석을 실시하였다. 이때 GC의 분석조건은 시료 주입구의 온도를 120°C, FID의 온도는 300°C로 고정하였으며, column oven의 온도를 30°C에서 2분간 유지한 다음 분당 2.0°C의 비율로 200°C까지 상승시키며 분석을 실시하였다. 분리에 사용된 column의 지름은 0.32 mm으로서 cross-linked polyethylene glycol이 coating된 Hewlett-Packard(Palo Alto, CA, USA)의 FFAP fused silica capillary column을 사용하였으며, column의 길이는 30 m였다. 향기성분의 양적인 변화비교는 GC 검출기로 사용된 FID의 response(area count)를 자동적분기(HP3396A, Hewlett-Packard, USA)로 측정하여 상대적인 값으로 나타내었다. 자동적분기의 조작조건은 zero = 5, attenuation = 7, chart speed = 0.5 cm/min, area rejection = 50,000, threshold = 5, peak width = 0.04로 하였다.

향기성분의 동정

GC에 의하여 분리된 향기성분의 동정은 gas chromatograph-mass spectrometric detector(GC/MSD: Hewlett-Packard 5972 System, PA, USA)를 이용하였다. 향기성분의 추출 및 주입은 전술한 GC 분석방법과 동일하게 하였다. 시료 도입을 위

한 interface 온도는 300°C, ionization voltage는 70 eV, resolution은 1000, mass range는 30~300 m/e로 하였으며 그 밖의 조건은 향기성분의 분리를 위한 GC 분석방법과 동일한 조건으로 실시하였다. GC의 검출기로 사용한 FID에서 얻어진 chromatogram과 MSD에서 얻어진 total ion chromatogram(TIC)을 상호 비교하기 위한 표준 index 물질로서 탄소수가 6인 hexane으로부터 33인 tri-tricontane까지의 n-alkane 혼합물을 사용하였다. 먼저 n-alkane을 GC에 주입하였을 때 얻어지는 chromatogram으로부터 각각의 n-alkane에 대한 머무름 시간을 구하고 이들 시간을 n-alkane의 탄소수 × 100으로 치환하였다. 다음 시료에서 얻어진 각 성분의 머무름 시간을 n-alkane의 시간대에 따라 1차 함수로 대입하여 linear retention index(LRI)를 구하였다(식 1). 한편, 동일한 n-alkane 혼합액을 GC/MSD에 주입하고 TIC로부터 얻어지는 머무름 시간을 먼저와 동일하게 탄소수 × 100으로 대치하고 시료의 TIC에서 얻어진 각 성분의 머무름 시간에 대한 LRI를 구한 다음 이를 GC의 FID에 의한 chromatogram을 각 성분의 LRI와 비교하여 GC의 chromatogram에 분리된 각 성분의 peak와 GC/MSD의 TIC에 나타난 각 성분의 peak를 확인하였다.

$$LRI = \left[\frac{RtC - RtN}{Rt(N+1) - RtN} + N \right] \times 100 \quad (1)$$

RtN: retention time of the n-alkane eluting before the component

Rt(N+1): retention time of the n-alkane eluting after the component

RtC: retention time of the component

N: carbon number of n-alkane eluting before the component

프로폴리스 추출물의 제조

에틸알코올의 농도별에 따른 프로폴리스 추출물의 제조는 10, 20, 30, 40, 50, 60 및 70% (v/v)의 에틸알코올의 용액 250 mL에 12%(w/v)에 해당하는 프로폴리스를 넣고 실온에서 6시간 동안 교반 후 추출 및 여과하여 시료로 하였다. 프로폴리스의 함량별 추출물은 70% (v/v) 에틸알코올 용액 250 mL에 4, 6, 8, 10, 12, 14%(w/v)에 해당하는 프로폴리스를 넣고 실온에서 6시간 동안 교반 후 추출 및 여과하여 시료로 하였다.

프로폴리스 추출물중 총플라보노이드 함량

프로폴리스 추출물중의 총플라보노이드 함량은 식품공전에 제시된 방법에 의하여 측정하였다. 프로폴리스 추출물 80 mg에 상당하는 양에 90% 에틸알코올 20 mL를 가하고 증류수를 대조액으로 하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 질산알루미늄용액 대신 물 0.1 mL를 가한 것의 흡광도를 뺀 흡광도 차를 이용하여 총플라보노이드(mg/mL)를 산출하였다. 이 때의 표준곡선은 quercetin을 이용하여 작성하였다.

프로폴리스 추출물의 항균 특성

프로폴리스 추출물의 항균력은 paper disc법으로 검정하였

Table 1. Chemical composition of propolis (%)

Moisture	Crude protein	Crude fat	Ash	Carbohydrate
3.0	0.7	90.9	0.2	5.3

Table 2. Mineral contents in propolis¹⁾

Fe	Mg	Ca	Zn	K	Na	Ge	Cd	Pb	Se
11.5	12.8	38.9	1.6	76.8	21.3	ND ²⁾	ND	ND	ND

¹⁾Results expressed as mg/100g propolis

²⁾ND: Not detected

다. 멸균된 agar 배지를 멸균 petridish에 5 mL 분주하여 균 일한 층이 형성되도록 균현 후 37°C에서 24시간 배양하여 오염여부를 확인하였다. *Escherichia coli*(KFRI 25922), *Lactobacillus plantarum*(KFRI 815) 및 *Saccharomyces cerevisiae*(KFRI 268)의 전 배양된 균액을 희석한 후 농도별로 각각 0.1 mL씩 접종하여 spreading하였다. 그 위에 원형의 여지 (paper disc, Ø8 mm, Toyo)를 놓고 1 mg/mL 농도의 프로폴리스 추출물을 50 µL씩 흡수시키고 각 균의 최적 활성 온도의 incubator에서 24시간 배양한 후 clear zone의 지름을 caliper로 측정 비교하였다. 대조구는 프로폴리스 추출 분획물 대신 70% 에틸알코올을 사용하였다.

프로폴리스 추출물의 항산화 특성

70% 에틸알코올로 추출한 프로폴리스 추출물을 시판 대두유에 2.6%(v/v) 첨가한 처리군과 첨가하지 않은 대조군을 37°C 항온기에서 18주간 저장하면서 과산화물가(peroxide value)를 측정하였다.

결과 및 고찰

프로폴리스의 일반성분 및 무기질 함량

본 실험에 사용한 프로폴리스의 일반성분 분석은 Table 1에 나타난 것과 같이 조지방 90.9, 탄수화물 5.3, 조단백질 0.7, 회분 0.2, 수분 3.0%이었다. 프로폴리스의 무기질 함량을 분석한 결과를 Table 2에 나타내었다. K>Ca>Na>Mg>Fe 순으로 76.8, 38.9, 21.3, 12.8, 11.5 mg의 함량을 나타내고 있으며, Ge, Cd, Pb, Se 등은 검출되지 않았다. 이같은 결과는 프로폴리스를 함유하는 다양한 형태 즉, tablets, capsules, ampoules, syrup 등과 같은 건강보조제에 있어서도 미량원소 중 K, Ca, Na, Mg 등이 주성분을 차지하는 보고⁽²¹⁾와 일치하고 있어 프로폴리스중에 함유된 미량원소의 구성성분을 예측할 수 있는 자료로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

프로폴리스의 향기성분

프로폴리스, 벌꿀, 화분 등과 같은 양봉산물의 향기성분은 ester류, 지방족과 방향족 alcohol류, aldehyde류, ketone류 및 산류 등과 같은 다양한 60여개의 물질들이 함유되어 있는 것으로 보고되고 있다⁽²²⁾. 본 연구에 사용한 프로폴리스의 향기 성분 분석결과를 Table 3에 나타내었는데, ester류는 4-pentene-1-yl acetate, 3-methyl-2-buten-1-ol acetate 및 benzyl acetate, alcohol류는 2-methyl-3-buten-2-ol, 3-methyl-3-buten-1-ol, 2-

methyl-2-buten-1-ol, benzyl alcohol 및 phenylethyl alcohol, aldehyde류는 2-methyl-2-butenal, pentenal, 및 benzaldehyde, 산류는 acetic acid, dimethyl-propanedioc acid, 2-methyl-hexanoic acid 및 2-methyl-2-butenic acid 등이 중요 향기성분 물질로 존재하였다. 한편, 벌꿀과 프로폴리스에는 수집과정에서 일부 소량성분의 혼입이 이루어 지기 때문에 많은 향기성분이 두 물질에 공존하게 되며, 이러한 이유로 acetone, furfural, benzaldehyde 등이 벌꿀과 프로폴리스 및 화분에 있어서 주된 향기성분인 것으로 보고되고 있다⁽²³⁾.

추출조건에 따른 총플라보노이드 함량

프로폴리스의 항균활성은 추출방법에 의하여 큰 영향을 받는데, Debuyser⁽¹⁹⁾는 70% 에틸알코올 수용액에 의한 추출물이 가장 높은 활성을 제공한다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 이를 근거로 수용성 에틸알코올의 농도가 프로폴리스 추출물의 총플라보노이드 함량에 미치는 영향을 살펴 보기 위하여 프로폴리스의 용매에 대한 첨가농도를 12%로 하여 수용성 에틸알코올 수용액 농도의 범위 20, 30, 40, 50, 60, 70%에서 프로폴리스의 추출실험을 통하여 농도에 따른 총플라보노이드의 함량변화를 Table 4에 나타내었다. 프로폴리스 추출물중 총플라보노이드 함량은 수용성 알코올 용액의 농도 20~50%까지는 증가하였으나, 60과 70%에서는 약간씩 감소하였다. 수용성 에틸알코올의 농도가 70%인 경우 프로폴리스 추출물중 총플라보노이드의 함량은 약간 낮았지만, 높은 항균활성을 제공하는 연구보고를 바탕으로 70%(v/v) 수용성 에틸알코올 용매에 대한 프로폴리스의 첨가량비(% w/v)에 따른 프로폴리스 추출물중에 함유된 총플라보노이드의 함량을 Table 5에 나타내었다. 프로폴리스의 농도가 수용성 에틸알코올에 대하여 2%에서 14%로 증가하면서 추출물중의 총플라보노이드 함량은 비례적으로 증가하여 프로폴리스를 에틸알코올 수용액에 대하여 12% 농도로 첨가하여 추출하였을 경우 총플라보노이드의 함량이 최대로 많았으며, 14%로 추출할 경우 총플라보노이드 함량이 약간 감소하는 경향을 보였다. 따라서 본 연구에 사용한 프로폴리스 원료와 추출실험에 있어서 70% 수용성 에틸알코올에 프로폴리스를 용해하여 총플라보노이드 함량이 최대로 함유된 프로폴리스 추출물을 얻기 위한 수용성 에틸알코올 용매에 대한 프로폴리스의 농도는 12%가 적절함을 알 수 있는 결과로 판단된다.

프로폴리스의 항균 특성

수용성 에틸알코올의 농도에 따른 프로폴리스 추출액의 항균력을 측정된 결과를 Table 6에 나타내었다. *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*에 대하여 수용성 에틸알코올 10%, 20%, 30% 농도에서 추출한 프로폴리스의 항균활성을 살펴 본 결과 이들 균에 대하여는 전혀 활성을 나타내지 않았으며, 수용성 에틸알코올의 농도가 40% 이상으로 높아질수록 항균활성이 서서히 증가하는 경향을 보였다. 70% 수용성 에틸알코올에서의 프로폴리스 추출액은 가장 높은 항균활성을 보였으며, 수용성 에틸알코올 40% 농도 이상에서 프로폴리스 추출액의 균의 종류에 따른 항균력은 *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*의 순으로 높은 경향을 보였다. 그리고 모든 균에

Table 3. Volatile compounds and their relative composition in propolis

No	R.T. ¹⁾	Compounds	Area (10 ⁶)	Area (%)
1	5.01	2-methyl-3-buten-2-ol	15191	11.47
2	6.10	2-methyl-2-butenal	5087	3.84
3	8.59	1,4-pentadien	371	0.28
4	8.86	1-limonene	466	0.35
5	9.61	1,8-cineole	1729	1.31
6	10.24	4-pentene-1-yl acetate	2969	2.24
7	11.05	pentenal	2582	1.95
8	12.53	styrene	895	0.68
9	12.75	3-methyl-2-buten-1-ol acetate	2776	2.10
10	13.07	isoprene	1822	1.38
11	16.12	3-methyl-3-buten-1-ol	11961	9.03
12	17.59	6-methyl-5-hepten-2-one	985	0.74
13	18.73	4-methyl-1-pentanol	421	0.32
14	19.56	2-methyl-2-buten-1-ol	14073	10.63
15	19.90	1,2-pentadiene	9913	7.49
16	20.97	2-methoxy toluene	292	0.22
17	24.51	cis-linalool	536	0.40
18	24.86	trimethyl-keto-vinyltetrahydropyran	187	0.14
19	25.65	bis(1-methylethyl) benzene	968	0.73
20	26.25	acetic acid	11584	8.75
21	27.80	2-ethyl-1-hexanol	152	0.11
22	28.63	benzaldehyde	5879	4.44
23	29.08	β -caryophyllene	291	0.22
24	30.18	linalool	174	0.13
25	31.31	propionic acid	1737	1.31
26	32.61	dimethyl-propanedioc acid	6698	5.06
27	33.09	β -cyclocitral	667	0.50
28	34.27	tetrahydro cycloprop(a)indene	794	0.60
29	36.13	acetophenon	376	0.28
30	36.31	butyric acid	665	0.50
31	37.09	α -selinene	124	0.09
32	37.73	2-hydroxy-benzaldehyde	177	0.13
33	38.30	2-methyl-hexanoic acid	7490	5.66
34	39.64	2-methyl-2-propenoic acid	380	0.29
35	40.78	benzyl acetate	4480	3.38
36	43.78	β -phenylethyl formate	327	0.25
37	44.36	cis-calamenene	136	0.10
38	45.44	acetic acid, 2-phenylethyl ester	742	0.56
39	47.57	4-phenyl-2-butanone	607	0.46
40	48.12	2-methyl-2-butenic acid	4534	3.42
41	49.50	benzyl alcohol	7791	5.88
42	51.14	phenylethyl alcohol	3370	2.55

¹⁾R.T.: retention time (min)

대하여 항균효과를 보인 40~70% 농도의 수용성 에틸알코올에서 추출한 프로폴리스 추출물의 항균활성은 대조구인 70% 에틸알코올 보다 월등하게 높은 결과를 보였다. 따라서 프로폴리스는 식품산업 분야에서 천연 항균제로 활용할 수 있는 가능성이 충분하며 부가가치 있는 기능소재로 개발하기 위한 다양한 용도개발과 활용기술을 위한 체계적인 후속연구가 요구된다. 프로폴리스의 수용성 에틸알코올에 대한 첨가농도에 따른 프로폴리스 추출액의 항균활성은 프로폴리스의 첨가농도가 2~14%로 증가할수록 *Escherichia coli*, *Lactoba-*

cillus plantarum, *Saccharomyces cerevisiae*의 모든 균에 대하여 항균활성이 증가하는 결과를 보였다. 프로폴리스 추출물의 농도가 6%인 경우 *Escherichia coli*에 대한 항균효과가 대조구에 비하여 2배정도, *Lactobacillus plantarum*와 *Saccharomyces cerevisiae*에 대하여는 10%인 경우가 2배정도의 높은 결과를 보였으며, 프로폴리스의 첨가농도 12%와 14%간에 항균활성은 큰 차이를 보이지 않았다(Table 7). 이러한 프로폴리스의 항균특성은 손쉽게 확보할 수 있는 천연소재라는 장점을 제공한다고 할 수 있다. 이에 일부 연구자들은 프로폴

Table 4. Effect of concentration of ethyl alcohol on the extraction yield of total flavonoids

Ethyl alcohol (%)	20	30	40	50	60	70
Total flavonoids (%)	0.1	3.0	4.5	4.6	4.6	4.9

Table 5. Effect of the ratio of propolis to 70% ethyl alcohol on the extraction yield of total flavonoids

Propolis (%)	6	8	10	12	14
Total flavonoids (%)	3.7	3.8	4.5	4.8	4.9

리스의 항균특성을 이용한 식품보존용 포장재^(13,14), 생선의 선도연장⁽¹⁵⁾, 미생물 오염억제⁽²⁴⁾ 등과 같은 목적으로 활용할 수 있는 연구결과를 보고하고 있다.

프로폴리스의 항산화 특성

프로폴리스 추출물의 항산화 특성을 살펴보기 위하여 70% 수용성 에틸알코올로 프로폴리스의 함유농도가 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14%로 되게 추출한 추출물을 대두유에 4%(v/v) 첨가하여 37°C 항온기에서 18주간 저장하면서 과산화물가를 측정할 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 프로폴리스 추출물이 첨가되지 않은 대두유는 5주 저장후 과산화물가가 61.5 meq/kg 을 갖는 유효기간을 갖는 반면에 프로폴리스 추출물의 함유농도가 8, 10, 12, 14%인 추출물을 첨가한 경우 대조구와 비슷한 과산화물가를 나타내는 유효기간에 도달하는 기간은 15 주이었다. 또한, 프로폴리스 추출물의 함유농도가 2, 4, 및 6%인 추출물 처리구는 각각 11, 12 및 14주가 경과되어 대조구와 비슷한 유효기간에 도달하였다. 이러한 결과로 볼 때 본 실험에 사용한 프로폴리스 추출물의 농도 2~14%는 대두유의 산화방지에 대조구에 비하여 2~3배이상 효과가 있는 것으로 판단할 수 있다. 따라서 프로폴리스 추출물은 식용유지의 품질유지에 사용할 수 있는 천연 항산화제로서의 가치가 크다고 할 수 있다.

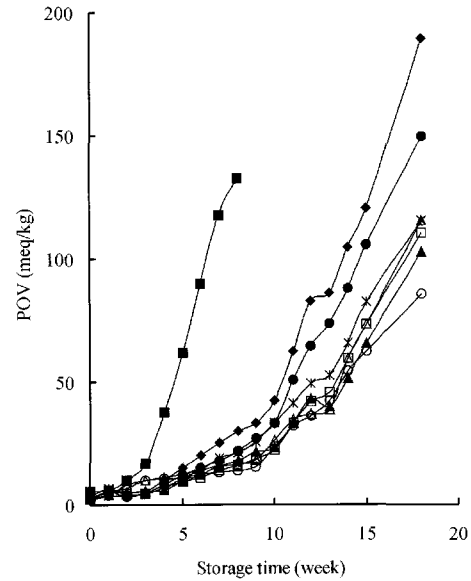


Fig. 1. Changes in peroxide value of soybean oil at various concentrations of propolis extract (PE) during storage at 37°C. -■-; Soybean oil without PE, -◆-; PE 2%, -●-; PE 4%, -*; PE 6%, -□-; PE 8%, -▲-; PE 10%, -○-; PE 12%, -△-; PE 14%

요 약

프로폴리스 추출물을 에틸알코올 용매의 농도와 프로폴리스 농도에 따라서 추출하였다. 프로폴리스 추출물중 총플라보노이드 함량은 알코올 용액의 농도 20~50%까지는 증가하였으나, 60과 70%에서는 약간씩 감소하였다. 70% 에틸알코올 용매에 2~14% 함량의 프로폴리스를 첨가하여 추출물중의 총플라보노이드 함량을 분석한 결과 농도가 높아짐에 따라서 비례적으로 증가하였다. 70% 에틸알코올로 추출한 프로폴리스 추출액은 *E. coli*, *L. plantarum*, *S. cerevisiae*의 모든 균에 대하여 높은 항균활성을 보였다. 프로폴리스의 농도가 2~14%인 추출물을 대두유에 첨가하였을 때 37°C에서 저장기간 동안 산화방지 효과가 높게 나타났다.

Table 6. Antimicrobial activities of propolis extracts prepared by different concentrations of ethyl alcohol (% , v/v) against various microorganisms (Unit: cm)

	Control	10	20	30	40	50	60	70
<i>E. coli</i>	0.35	-	-	-	0.55	0.70	0.70	0.85
<i>L. plantarum</i>	0.40	-	-	-	0.40	0.70	0.80	0.85
<i>S. cerevisiae</i>	0.40	-	-	-	0.70	0.80	0.90	1.0

Table 7. Antimicrobial activities of propolis extracts prepared by different concentration of propolis (% , w/v) against various microorganisms (Unit: cm)

	Control	2	4	6	8	10	12	14
<i>E. coli</i>	0.35	0.75	0.75	0.85	0.90	0.90	0.95	1.05
<i>L. plantarum</i>	0.40	0.45	0.65	0.65	0.70	0.80	0.90	0.95
<i>S. cerevisiae</i>	0.40	0.60	0.65	0.70	0.70	0.75	0.85	0.90

감사의 글

본 연구는 농림부에서 수행한 1999/2001년도 농림특정연구 개발사업(첨단기술개발사업)의 연구지원비에 의하여 수행한 결과의 일부분이며 연구지원에 감사드립니다.

문헌

- Rubio, O.C., Cuella, A.C., Rojas, N., Castro, H.V., Rastrelli, L. and Aquino, R. A polyisoprenylated benzophenone from Cuban propolis. *J. Nat. Prod.* 62: 1013-1015 (1999)
- Grange, J.M. and Davey, R. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J. Roy. Soc. Medicine* 83: 159-160 (1990)
- Chernyak, N.F. On synergistic effect of propolis and some anti-bacterial drugs. *Antibiotiki* 18: 259-261 (1973)
- Scheller, S., Wilczok, T., Imielski, S., Krol, W., Gabrys, J. and Shani, J. Free radical scavenging by ethanol extract of propolis. *Int. J. Radiat. Biol.* 57: 461-465 (1990)
- Dimov, V., Ivanovska, N., Bankova, V. and Popov, S. Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against Gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivative. *Vaccine* 12: 1-7 (1992)
- Walker, P. and Crane, E. Constituents of propolis. *Apidologie* 18: 327-334 (1987)
- Greenway, W., May, J., Scaysbrook, T. and Whatley, F.R. Identification by gas chromatography-mass spectrometry of 150 compounds in propolis. *Zeitschrift fur Naturforschung* 46: 111-121 (1990)
- Shigemitsu, T., Tsutomu, W. and Tadataka, N. Studies on the constituents of Brazilian propolis. II. *Chem. Pharm. Bull.* 47: 1388-1392 (1999)
- Tomoki, T., Noboru, I., Tsunetaka, O., Shigeyuki, A., Masao, I. and Masashi, K. Isolation and identification of compounds from Brazilian propolis which enhance macrophage spreading and mobility. *Biol. Pharm. Bull.* 19: 966-970 (1996)
- Katsuhiko H., Sadaaki, K., Noriko, I., Nobuko, O. and Kunio, Y. Isolation of antioxidative compounds from Brazilian propolis: 3,4-Dihydroxy-5-prenylcinnamic acid, a novel potent antioxidant. 47: 1521-1524 (1999)
- Lejeune, B., Pourrat, A. and Dehmouche, H. Propolis utilization en democosmetologie. *Parfums, Cosmetique, Aromes* 82: 73-77 (1988)
- Krell, R. Value-added Products from Beekeeping. pp. 161-166. FAO, Rome, Italy (1996)
- Mizuno, M. Propolis- or its extract-containing resin compositions. Japanese Patent JP 01 245 058 [89 245 058] (1989)
- Mizuno, M. Food packaging materials containing propolis as a preservative. Japanese Patent JP 01 243 974 [89 243 974] (1989)
- Donadieu, Y. La Propolis. pp. 36. Edition Malonie, Paris, France (1979)
- Bonomi, A., Marletto, F. and Bianchi, M. Use of propolis in the food of laying hens. *Revista di Avicoltura* 45: 43-55 (1976)
- Kim, C. T., Lee, S. J., Hwang, J. K., Kim, C. J. and Ahn, B. H. Effect of propolis addition on the shelf-life and staling of white bread. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 982-986 (1997)
- Obregon, F.A.M. and Rojas, H.N. Antimicrobial action of alcoholic extracts of propolis. *Revista Cubana de Farmacia* 24: 34-44 (1990)
- Debuyser, E. These pour diplome de docteur en pharmacie, pp. 34-41. In: La Propolis, Fac. Pharmacie, Nantes, France (1984)
- AOAC. Method of Analysis for Nutrition Labelling. 1st. ed. AOAC International, Arlington, VA, USA (1993)
- Rodriguez, E.G., Abellan, B., Villanueva, M.T.O. Macroelements in dietetic products containing propolis. *Food Chem.* 66: 15-19 (1999)
- Aparna, A.R. and Rajalakshmi, D. Honey-its characteristics, sensory aspects, and applications. *Food Rev. Int.* 15: 455-471 (1999)
- Radovic, B.S., Careri, K., Mangia, A., Musci, M., Gerboles, M. and Anklam, E. Contribution of dynamic headspace GC-MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. *Food Chem.* 72: 511-516 (2001)
- Pepelinjak, S. and Jalsenjak, I. Use of propolis extract for preserving food against microbiological contamination. *Microbiologie-Aliments-Nutrition* 2: 301-306 (1984)

(2002년 8월 26일 접수; 2002년 11월 28일 채택)