

국산 프로폴리스의 항산화 효과에 관한 연구

김희재* · 황보 식 · 이수원

*한국식품연구소, 성균관대학교 생명공학부

Studies on the Antioxidant Effect of Korean Propolis

Hee-Jae Kim*, Sik Hwangbo, and Soo-Won Lee

*Korea Advanced Food Research Institute

Faculty of Life Science and Technology, Sungkyunkwan University

Abstract

The studies was conducted to investigate the antioxidation effect of Korean propolis. Oxidation period of soy oil was 17.5 hr, soy oil with propolis(1,000 ppm) was extended the length of oxidation period. The length of oxidation periods of soy oil with Yecheon, Youngwol, Brazilian, Chinese, and Australian propolis were 33.5, 35.4, 32.0, 33.1, and 27.1hours respectively. The length of oxidation period of lard with propolis 1,000ppm of Yecheon, Youngwol, Brazilian, Chinese and Australian were 191, 167, 296, 230, and 207hours, respectively compared to control(22.5hours). When compared to tocopherol as natural antioxidant and BHT as synthetic antioxidant were revealed 16.7 and 20.5hours, respectively. The length of oxidation period was not different when compared to tocopherol and Youngwol propolis with soy oil. Ascorbic acid and citric acid had synergistic effect to propolis with soy oil when 200ppm of propolis was added.

Key words : propolis, oxidant, tocopherol, BHT

서론

벌집에서 얻어지는 지용성 복합체인 프로폴리스는 여러 가지 꽃봉오리와 수목들의 생장점을 보호하기 위하여 분비하는 봉교(蜂膠)를 꿀벌들이 모아 벌 자신의 침샘 분비물과 혼합하여 만드는 수지성, 점착성, 고무상의 물질이다. 프로폴리스는 벌집의 출입구 또는 빈틈을 메워서 벌집 내부를 보강하기도 하고, 강력한 살균력으로 인하여 벌집 속을 무균상태로 만들며 유해한 미생물의 침입을 방지하는 물질로 사용한다(Caillas, 1947). 프로폴리스의 이용 역사는 매우 오래되어 고대 이집트 승려들은 기원전 수천년부터 의학, 과학의 분야에서 프로폴리스를 사용했으며, 부종억제, 종양치료, 신경통 해소 치료제 등의 약리효과가 매우 우수한 것으로 알려져 있었다(Wollenweber et al, 1990).

프로폴리스는 항균 (Grange and Davey, 1990; Lindenfelser, 1990; Takino and Mochida, 1982), 항종양작용 (Grunberger, 1988), 항염증작용, 활성산소 제거능 (Takahama et al, 1984; Cavallini et al, 1978) 등 매우 다양한 기능을 갖고 있다. 특히 프로폴리스는 강한 항산화 효과(Krol et al, 1990; Lavie, 1978; Lim et al, 1994)가 있어, 천연 식품보존제로서의 이용가능성이 높은 것으로 알려져 있다. Yamauchi 등 (1992)에 의하면 프로폴리스 알콜추출물이 높은 항산화 활성을 나타내었으며, 그 주성분은 benzyl caffeate라고 하였다. 한과 박(1996)은 저장기간 중 육제품의 유통기간에 프로폴리스가 미치는 영향을 연구한 결과, 프로폴리스의 물 추출물이 potassium sorbate보다 육제품의 저장기간을 더욱 연장시킬 수 있음을 확인하였으며, 화학적 보존료를 효과적으로 대체할 수 있을 것으로 보고하였다. 또한 Abd-El-Baki 등 (1984)에 의하면, 닭고기의 예비 동결 전 전처리로서 4℃의 0.1% 프로폴리스 용액에 4초간 침지하는 방법이 6개월 저장기간 동안 대조구나 다른 처리방법보다 산패의 정도가 현저하게 낮았다고 보고하였다. 이와 같이 프로폴리스는 천연 항산화

Corresponding author : S. W. Lee, Faculty of Life Science and Technology, Sungkyunkwan University, 300, Chunchun-dong, Jangan-gu, Suwon, Kyunggi-do, Korea leesw@skku.ac.kr

제로 개발, 이용할 가능성이 매우 높다고 할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 국내산 프로폴리스의 항산화 효과를 검증하고, 이를 이용하여 천연 항산화제로서의 개발가능성을 모색하고, 국내산 프로폴리스의 효용가치를 높이기 위한 기초자료를 제공하기 위하여 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용된 프로폴리스는 강원도 영월, 경북 예천 지방에서 원피 상태로 채취된 것을 사용하였다. 브라질, 중국, 그리고 호주산 프로폴리스는 에탄올로 추출한 것(Sigma)을 사용하였다.

에탄올 추출물 조제

냉동된 원피를 상온에서 하룻밤 동안 방치한 다음, 원피 중량대비 10배의 에탄올을 첨가하여 약 70℃에서 6시간 가열 추출한 후, 여과지(Whatman No. 41)로 여과한 것의 여액을 진공농축기(Eyela, Japan)로 용매를 증발시켜 에탄올 농축 추출물을 제조하였다.

Activated Oxygen Method(AOM) test

프로폴리스의 유지에 대한 항산화 효과를 측정하기 위해 (주) 오뚜기에서 제조한 대두유를 사용하여 Metrohm Rancimat (model 679, Switzerland)로 대두유에 대한 프로폴리스의 항산화효과를 측정하였다(Kajimoto, 1995). 즉, reaction vessel에 대두유 2.5g을 정확히 취한 후 ethanol에 용해한 프로폴리스를 대두유에 첨가하였다. 이 때 reaction vessel을 98℃로 고정하고 산화물을 3차 증류수에 흡수시켜 이의 conductivity를 측정하여 유도기간을 계산하였다. 돈지는 대두유와 동일한 양을 동일한 방법으로 분석하였다. butylated -hydroxy toluene (BHT), ascorbic acid, citric acid(Sigma)는 1000ppm을 사용하였다.

결과 및 고찰

동물성 지방인 돈지에 프로폴리스 1,000ppm을 첨가하여 항산화 효과를 측정한 결과, 무첨가 lard의 유도기간이 23시간이었다(Table 1). 프로폴리스를 첨가할 경우, 예천산과 영월산 프로폴리스는 각각 191, 167시간이었으며, 브라질산 296시간, 중국산 230시간, 호주산 207시간으로 대두유에 비해 크게 증가하였다(Table 1).

프로폴리스의 지질산화에 대한 유도기간에의 영향, 즉 항산화효과를 조사한 결과, 무첨가 대두유의 경우 유도기간이

Table 1. The effect of propolis on the antioxidation of soybean oil and lard tested by AOM*

Treatments	Induction period (hr)	
	Soybean oil	Lard
Soybean oil	17.5	23
Soybean oil + Youngwol propolis	33.5	191
Soybean oil + Yecheon propolis	35.4	167
Soybean oil + Brazil propolis	32.0	296
Soybean oil + China propolis	33.1	230
Soybean oil + Australia propolis	27.1	207

* AOM test was performed with a Metrohm Rancimat(Model 679, Switzerland).

Rancimat test conditions : 2.5g sample, air flow rate of 20 l/hr. Each antioxidant(1000ppm) was dissolved in soybean oil and lard.

17.5시간이었다(Table 1). 프로폴리스를 1,000ppm씩 첨가한 경우, 영월산 프로폴리스가 35.4, 예천산이 33.5, 중국산이 33.1, 브라질산 32.0, 그리고 호주산이 27.10시간의 유도기간을 나타냈다. 이와 같이 식물성 유지에 대한 프로폴리스의 항산화 효과에서 중국산이 국내산과 거의 대등한 효과를 보였지만 브라질산과 호주산에 비해서는 더 좋은 효과가 있는 것으로 나타났다. 이는 프로폴리스의 주성분인 플라보노이드 계통에 의한 것으로 생각되며, 플라보노이드 함량이 높음에 따라 지질의 유도기간이 다소 연장되는 경향을 나타내는 것을 알 수 있었다(Takahama et al, 1984).

이러한 결과는 Lim 등 (1994)이 국내산 프로폴리스의 99% ethanol 추출물을 palm oil 또는 돈지에 첨가하였을 때 측정된 antioxidant index(항산화제 첨가구의 유도기간/무첨가구의 유도기간)결과와 매우 유사하였으며, 그 효과의 정도는 식물성 유지에 비해 동물성 지방에 훨씬 효과적인 것으로 나타났다. 이는 식물성 유지는 종자 자체적으로 가지고 있는 Vitamine E와 같은 항산화 물질이 착유과정에서 같이 추출되어 지용성 항산화 효과가 높을 수 있으며, 또한 식물성 유지는 동물성 유지에 비해 불포화 지방산의 함량이 높아 유전적으로 이를 보호하기 위한 천연 항산화 물질이 다량 함유되어 있기 때문인 것으로 생각된다.

국내산 프로폴리스를 이용하여 현재 식품용 항산화제로 가장 많이 사용되고 있는 천연항산화제인 tocopherol과 합성 항산화제인 butylated-hydroxy toluene (BHT)와의 항산화력을 비교한 결과, tocopherol이 16.7시간으로 대조구와 거의 차이를 보이지 않았다(Table 2). BHT는 20.5시간으로 항산화 효과를 가지는 것으로 나타났지만, 영월산 프로폴리스가 30.6시간으로 거의 2배의 항산화 효과를 보였으며, 예천산 프로폴리스도 27.7시간으로 상당히 우수한 항산화 효과가 있는 것으로 나타났다. Kim 등 (1997)에 의하면 칩에서 추출한

Table 2. Effect of various antioxidants on the induction period of soybean oil tested by AOM*

Treatments	Induction period (hr)
Soybean oil	16.1
Soybean oil + tocopherol	16.7
Soybean oil + BHT	20.5
Soybean oil + Yecheon propolis	27.7
Soybean oil + Youngwol propolis	30.6

* AOM test was performed with a Metrohm Rancimat(Model 679, Switzerland).

Rancimat test conditions : 2.5g sample, air flow rate of 20 l/hr. Each antioxidant(1,000 ppm) was dissolved in soybean oil.

crude catechin의 항산화력이 α -tocopherol 및 BHT에 비해 1.0mg/ml에서 각각 7% 및 23% 더 강하였다는 보고와 비교할 때, 프로폴리스의 항산화력이 매우 높은 것을 알 수 있다.

일반적으로 항산화제는 단독 이용시보다 다른 물질과 공동으로 작용하여 그 항산화 효과가 더욱 상승하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에 사용한 국내산 프로폴리스 중 영월산 프로폴리스를 이용하여 그 효과를 검증하여 보았다. 그 결과, 토크페롤을 전혀 첨가하지 않고 프로폴리스만 농도별로 첨가한 것과, 토크페롤 200ppm에 프로폴리스 각각의 농도별로 첨가한 것을 비교해 보았을 때, 산화안정성에 있어서 거의 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 3). 그러나, 각각 다른 농도의 프로폴리스에 ascorbic acid, citric acid를 200ppm 첨가하여 항산화 효과를 조사한 결과, ascorbic acid 및 citric acid를 첨가하였을 경우, 프로폴리스 단독으로 사용했을 때보다 항산화 효과가 증가되는 것이 확인되었다(Table 3). 또한 프로폴리스의 알콜 추출물, 또는 citric acid의 혼합물이 BHT보다 훨씬 강력한 항산화 작용을 가진다는 보고와도 유

Table 3. Synergistic effect of tocopherol, ascorbic acid and citric acid with Youngwol propolis on the antioxidation of soybean oil tested by AOM* (unit : hr)

	Propolis concentration (ppm)					
	0	500	1000	2000	3000	5000
Youngwol propolis	16.2	24.2	31.0	34.5	37.5	39.4
Youngwol propolis + Tocopherol (200ppm)	16.9	24.7	31.2	35.1	37.6	39.7
Youngwol propolis + Ascorbic acid 200ppm	18.9	28.7	34.7	36.6	39.4	42.3
Youngwol propolis + Citric acid 200ppm	18.5	27.9	34.1	35.8	38.6	41.4

* AOM test was performed with a Metrohm Rancimat(Model 679, Switzerland). Rancimat test conditions : 2.5g sample, air flow rate of 20 l/hr

사한 결과였다(Rzhavskaya, 1976).

지금까지의 연구 결과, 프로폴리스는 유지에 대한 항산화 효과가 상당히 높으며, 식물성 유지보다는 동물성 유지에 더욱 효과적으로 나타나, 동물성유지 또는 이를 함유한 식품의 유지 산화를 방지할 수 있는 천연 항산화제로서의 식품첨가물로 이용할 수 있으리라 생각된다. 또한 프로폴리스의 첨가에 의해 연장되는 유지의 산화 연장 기간이 기존의 식품에 사용되던 항산화제보다 효과가 좋은 항산화제로 그 이용 가능성이 매우 높아, 앞으로 이에 대한 관심과 더욱 더 많은 연구가 더욱 이루어져야 하리라 생각된다.

요 약

본 연구는 국내산 프로폴리스가 항산화에 미치는 영향을 분석하기 위해 실시하였다. 대두유에 대한 항산화 효과에서 프로폴리스를 1000ppm씩 첨가한 경우, 영월 35.4, 예천 33.5, 중국 33.1, 브라질 32.0 그리고 호주가 27.10 시간으로 산화 유도기간이 증가하였다. 프로폴리스 1000ppm을 lard에 첨가한 경우, 예천, 영월, 브라질, 중국, 호주산 프로폴리스가 각각 191, 167, 296, 230, 207시간으로 산화 유도기간이 증가하였다. Tocopherol과 BHT와의 항산화력 비교 시험에서 tocopherol은 16.7시간이었으며 BHT 20.5, 영월 30.6, 예천 27.7시간으로 산화 유도기간이 증가하였다. 영월산 프로폴리스에 토크페롤 200ppm을 대두유에 첨가하여 산화 유도기간을 측정할 결과, 대조구와 거의 차이가 없었다. 영월산 프로폴리스에 ascorbic acid 또는 citric acid 200ppm을 대두유에 첨가하여 synergy 효과를 측정할 결과 34.7, 34.1시간(프로폴리스 1000ppm), 36.6, 35.8시간(프로폴리스 2,000ppm)으로 산화 유도기간이 증가하였다.

참고문헌

1. Abd. El Baki, M. M., Taha, R. A., El Zayet, F. M. M., El DASHLOUTY, A. A. and Fouda, Z. M. A. (1984) Changes in proteins and fats of old hen meat as influenced by pre-freezing treatments. *Proceedings of the European Meeting of Meat Research Workers*. **30**, p. 253.
2. Caillas, A. (1947) *Les produits de laruche*. Publ. author, p. 303.
3. Cavallini, L., Bindoli, A. and Siliprandi, N. (1978) Comparative evaluation of antiperoxidative action of flavonoids. *Pharmacology Tesearch Communi.*, **10**, 133.
4. Grange, J. M. and Davey, R. W. (1990) Antibacterial properties of propolis(bee glue). *J. R. Soc. Med.*, **83**, 159.
5. Grunberger, D., Banerjee, R., Eisinger, K., Oltz, E. M., Efros, L., Caldwell, M., Estevez, V. and Nakanishi, K. (1988) Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Experientia*, **44**, 230.
6. Han, S. K. and Park, H. K. (1996) Effect of ethanol extracted

- propolis(EEP) on fat oxidation of meat products. *Korean J. Ani. Sci.m*, **38**, 94.
7. Kajimoto, G., Nakamura, M. and Yamaguchi, M. (1995) Changes in organic acid components o volatile degradation products during oxidation of oil, and effects of organic acid on increased conductivity determined by the Rancimat method. *J. Japanese Nutrition & Food*, **50**, 223.
 8. Kim, M. J., Cho, J. K. and Lee, C. H. (1997) Antioxidant effects of crude catechin extracted from Puerariae radix roots. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, **17**, 1.
 9. Krol, W., Szuba, Z., Scheller, S., Gabrys, J., Grabiec, S. and Shami, J. (1990) Antioxidant property of ethanolic extract of propolis (EEP) as evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. *Biochemistry-International*, **21**, 539.
 10. Lavie, P. (1978) The antibiotic from propolis. Propolis. Apimondia Publishing House, p. 41.
 11. Lim, D. K., Choi, U., Shin, S. and Jeong, Y. S. (1994) Antioxidative effect of propolis extract on palm oil and lard. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 622.
 12. Lindenfelser, L. A. (1990) Antimicrobial activity of propolis. *American Bee Journal*. **107**, 90.
 13. Rzhavskaya, F. M. and Altufeva, K. A. (1976) Antioxidation activity of propolis. *Rybnoe Khozyaistvo*. **12**, p.67.
 14. Takahama, U., Youngman, R. J. and Elstner, E. F. (1984) Transformation of quercetin by singlet oxygen generated by photosensitized reaction. *Photobiochem. and Photobiophysics*, **7**, 175.
 15. Takino, Y. and Mochida, S. (1982) Propolis, its chemical constituents and biological activities. *Honeybee Sci.*, **3**, 145.
 16. Wollenweber, E., Hausen, B. M. and Greenway, W. (1990) Phenolic constituents and sensitizing properties of propolis, poplar balsam and balsam of Peru. *Bull. Groupe Polyphenols*, **15**, 112.
 17. Yamauchi, R., Kato, K., Oida, S., Kanaeda, J. and Ueno, Y. (1992) Benzyl caffeate, an antioxidative compound isolated from propolis. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 1321.

(2001년 11월 29일)