

국산 프로폴리스의 고부가 가치 향상을 위한 다양한 제품개발

-지난호에 이어서-

주관기업 : 가보농산(주)김 희 성 대표이사(본협회 부회장)
위탁연구기관 : 한국식품개발연구원

제3장 결과 및 고찰

제1절 프로폴리스의 최적 수출 조건

1. 시료 전처리

본 시험에 시료는 프로폴리스 원괴를 -20°C 에 2시간 이상 냉동시킨 다음 이물질 제거 및 조분쇄하여 20mesh의 체를 통과시켜 사용하였다.

2. 추출 조건 선정 시험

프로폴리스의 추출 용매는 식품공전의 프로폴리스 식품의 제조 가공기준인 [추출 용매는 물 또는 주정 또는 이들의 혼합물로 추출한 것]의 항목에 의거 원 괴로부터 프로폴리스 추출물을 제조함에 있어 추출 용매로 물과 에탄올(95% 주정)을 사용하였다. 최적 용매 농도를 결정하기 위해서 물과 95% 주정을 농도별로 실온에서 24시간 연속 교반 추출하였다. 그러나 프로폴리스를 물로 추출하였을 때는 플라보노이드 성분의 추출이 거의 이루어지지 않았고 시료가 추출 용기에 달라붙어 추출 또한 어려웠다. 또한 약 40% 알콜 농도에서 가지는 프로폴리스 추출이 용이하지 못했고 그 수율도 매우 낮았다. 이는 프로폴리스에 다량 함유되어 있는 플라보노이드가 난수용성 물질이기 때문에 물보다는 에탄올 같은 유기용매에 잘 용출되기 때문이다.

하지만 95%의 에탄올 농도에 추출했을 경우 프로폴리스에 다량 함유되어 있는 밀납성분도 함께 추출되어 가용성 고형분의 비율이 높아지기 때문에 많은 밀납과 지나치게 높은 농도의 에탄올을 사용하는 것은 비효율적인 것으로 사료되어졌다.

따라서 프로폴리스 에탄올 추출시 플라보노이드의 추출 수율과 함량도 높은 70% 에탄올 농도가 적당하다고 사료되었다.

또 프로폴리스의 추출 용매의 양은 일반 가정에서 약 3배정도의 주정을 사용하여 3개월 이상 추출하였으나 대량 생산을 할 경우 빠른 시간 내에 높은 수율을 가진 프로폴리스를 추출하여야하기 때문에 용매량이 3배 정도일 경우 추출 용매가 지나치게 적어 플라보노이드 성분이 충분히 추출되지 못하였다. 또 보통 용매추출을 할 경우 최적의 조건을 약 20배 정도로 추출을 하지만 대량 생산히 20배의 주정을 추

출하고 용매저게를 할 경우 비용이 상승하므로 실질적으로 생산 공정에서는 적용하기가 어려울 것으로 판단되었다. 따라서 추출을 효율적으로 하기 위해선 약 10배 가량의 용매가 적당할 것으로 사료되어진다.

제2절 프로폴리스의 추출액 및 농축액 제조

1. 추출 조건에 따른 추출액 제조

가. 탈납 공정

70% 주정을 이용하여 프로폴리스를 추출할 경우 다량의 밀납 및 수지성분이 추출되어진다. 추출된 밀납 및 수지는 농축액 제조시 프로폴리스 순도를 낮게 만들고 이들은 물에 잘 용해되지 않기 때문에 알콜을 제거할 경우 물과 분리되어 농축액 제조가 어렵게 된다. 이를 감안하여 일반 유지 추출용으로 사용되어지는 n-Hexane을 이용하여 탈납 공정을 첨가하였다.

분쇄된 시료 30g을 500ml round flask에 담고 n-Hexane 300ml를 첨가하여 70°C 에서 2시간 환류 냉각 추출을 하였다. 이를 상온 냉각 후 n-Hexane만 제거하고 hood에서 하룻밤 건조시켜 용매를 완전히 제거하였다. 바닥에 붙은 시료에 월 시료량의 10배 가량의 70% 주정을 넣고 녹여준 다음 50°C 가온교반기(shaking incubator)에서 12시간 추출하였다.

n-Hexane을 이용한 탈납 공정을 실시한 결과 이 공정이 끝난 후 남은 원괴의 부피가 약 60% 감소함을 볼 수 있었다. 하지만 플라보노이드 함량을 측정 한 결과 그 함량에는 큰 변화가 없었다.

최근 판매되고 있는 프로폴리스 농축액중 대부분이 밀납 성분을 함유하고 있는 이유는 섭취하여도 몸에 큰 이상이 없기 때문에 일본의 한 제품에서는 밀납 성분을 첨가하는 경우도 있다한다. 그래서 핵산을 이용하여 탈납 공정을 실시하는 것보다 이 공정 대신 추출액을 -20°C 에 냉동시켜 여과하여 제거하는 것으로 대체하였다.

나. 효소처리

프로폴리스 추출시 시료에 다량 함유되어있는 지방과 섬유질을 분해하여 추출 및 수율을 높이기 위하

여 효소를 첨가하여 추출하였다. 탈납 공정후 70% 주정을 넣고 일반 추출할 경우 실온에서 12시간 교반 추출하면 된다. 그러나 효소를 첨가할 경우 효소의 활성을 높이기 위해서 50℃의 반응기에서 200rpm의 속도로 교반해주었다. 6시간 정도 가온교반기에서 반응시키고 이를 일정시간 냉각시킨 후 -20℃에 하룻밤 정치시켜 여과하여 최종 프로폴리스 추출액으로 하였다.

최종 프로폴리스 추출액 제조 공정은 Figure 2와 같다.

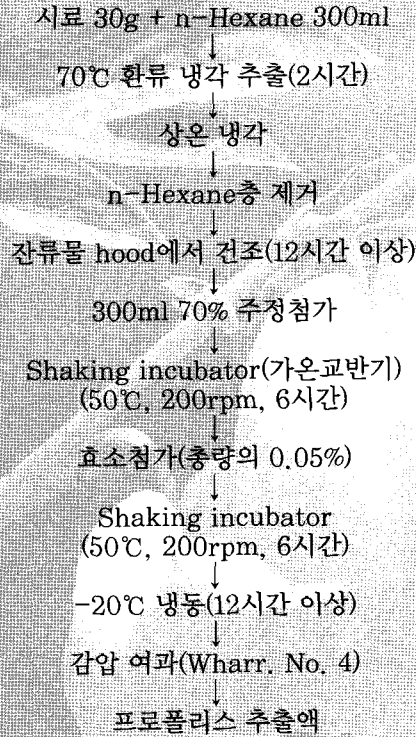


Fig. 2. 프로폴리스 추출 공정(탈납 및 효소 추출)

사용된 효소로는 cellulase(셀룰라제), glucanas(글루카나스)등이 함유된 복합효소와 지방을 분해하는 lipozyme(리포진)을 처리구별로 첨가하여 추출 수율 및 플라보노이드 함량을 측정하였다. 그 결과는 Table 1과 같다.

	무 처 리				탈납처리(n-Hexane)			
	A ¹⁾	B ²⁾	C ³⁾	D ⁴⁾	A	B	C	D
수 율 (%)	22.81	21.83	22.52	21.97	17.09	16.35	16.63	17.07
flavonoid mg%	1.16	1.11	1.22	0.98	0.84	0.80	0.87	0.87

Table 1. 효소처리 및 탈납처리구에 따른 수율 및 플라보노이드 함량

- 1) A처리구 : 무처리구
- 2) B처리구 : 총량의 0.05%의 복합효소첨가 처리구
- 3) C처리구 : 총량의 0.05%의 lipozymecja가 처리구



4) D처리구 : 총량의 0.05%의 복합효소와 lipozyme첨가 처리구

결과에서 탈납처리를 하지 않은 처리구의 경우 탈납처리한 구에 비해 약 5-6% 수율이 높게 나타났다. 이는 핵산을 이용한 탈납처리 공정중에서 수율이 비중을 차지하던 납고 수지성분이 다량 제거됨을 알 수 있었다. 또 플라보노이드 정량에서 이는 415nm에서 측정하는 것으로 순수 플라보노이드만이 아닌 조 플라보노이드 정량이므로 불순물이 다량 함유되어있을 경우 흡광도에 영향을 주기 때문에 HPLC를 통한 정밀한 플라보노이드 정량이 필요하였다. HPLC를 이용한 폴리페놀 함량과 각각의 페놀 화합물희 함량은 Table 2, 3과 같다.

Table 2. 프로폴리스 처리구에 따른 총 폴리페놀 함량
(HPLC 분석)

(단위 : mg/g)

		1차	2차
		Total polyphenol (mg/g)	Total polyphenol content
무 처 리	A ¹⁾	39,14	41,95
	B ²⁾	40,77	43,48
	C ³⁾	39,40	41,07
	D ⁴⁾	41,29	42,06
탈 납	A	35,89	35,94
	B	34,31	35,02
	C	34,34	34,96
	D	35,47	36,22

1) A처리구 : 무처리구

2) B처리구 : 총량의 0.05%의 복합효소첨가 처리구

3) C처리구 : 총량의 0.05%의 lipozyme 첨가 처리구

4) D처리구 : 총량의 0.05%의 복합효소와 lipozyme 첨가 처리구

Table 3. 프로폴리스 처리구에 따른 추출물의 Phenolic acid 함량
(HPLC 분석)

		henolic acid content(mg/g)						
		P-hydroxy	caffeic	P-coumaric	benzoic	ferulic	cinnamic	Total
무 처 리	A ¹⁾	0,0053	0,7123	0,6618	0,6634	0,2286	0,1889	2,2603
	B ²⁾	0,0058	0,6788	0,6011	0,2424	0,2047	0,1320	1,8647
	C ³⁾	0,0045	0,6761	0,5860	0,4458	0,1673	0,0377	1,9174
	D ⁴⁾	0,0057	0,6948	0,5986	0,1649	0,1791	0,0519	1,6949
탈납처리 (n-Hexane)	A	0,0060	0,6844	0,5937	0,2074	0,1700	0,0612	1,7228
	B	0,0070	0,6817	0,5994	0,1922	0,1787	0,1400	1,7990
	C	0,0061	0,6778	0,5813	0,2857	0,1638	0,0469	1,7614
	D	0,0066	0,6627	0,5877	-	0,1646	0,0464	1,4679

1) A처리구 : 무처리구

2) B처리구 : 총량의 0.05%의 복합효소첨가 처리구

3) C처리구 : 총량의 0.05%의 lipozyme 첨가 처리구

4) D처리구 : 총량의 0.05%의 복합효소와 lipozyme 첨가 처리구