

식용유지 산화에 대한 프로폴리스(Propolis)별 항산화 효과

한 승 관*

동신대학교 생물자원산업화지원센터

Antioxidative Effect of Different Kinds of Propolis on the Oxidation of Edible Oils

Seung-Kwan Han*

Biotechnology Industrialization Center, Dongshin University

Abstract

The study was conducted to investigate the antioxidative effect of various extracted propolis. After addition of those extracts to soybean oil at the same level, their antioxidative effects were compared by Rancimat test. The control without added antioxidant showed the shortest Antioxidative Index(AI). The AI of the general Water Extracted Propolis(GWEP) and boiling WEP(BWEP) added to soybean oil were 4.51 and 5.02, respectively. The oxidation period in the BWEP was longer than the ascorbic acid and the GWEP. This result indicated that BWEP had more antioxidative effect than GWEP.

Key words : GWEP(generally WEP), BWEP(boiling WEP), AI, ascorbic acid, antioxidative effect

서 론

식품에서의 항산화 효과는 식품의 유통 및 품질에 영향을 주는 주요 요인이다. 이상적인 항산화제란 여러 제품에서 첨가효과와 안정성이 입증될 수 있어야 하며 인체에 무해하여야 한다. 현재 전세계적으로 합성 항산화제에 대한 재검토가 이루어지고 있다. 그 종류로는 BHA(butylated hydroxyanisole), BHT(butylated hydroxytoluene), TBHQ(tertiary butylhydroquinone)등이 있으며 세계 각국에서 식품에 사용하고 있다(Branen, 1975). 우수한 항산화력과 낮은 가격 때문에 널리 사용되고 있는 합성 항산화제인 BHT와 BHA는 과량 섭취시 변이성과 세포내 독성을 유발할 수 있는 것으로 알려져 있어(Branen, 1975), 인체에 무해하고 항산화력이 우수한 천연 항산화제의 개발이 요구되고 있다.

프로폴리스는 벌들에 의해 수집되는 천연물로서 많은 구성분으로 이루어졌으며, 향균(Chisalberti, 1979; Takino and

Mochida, 1982; Cueller et al., 1990; Matsuno, 1992; Ikeno et al, 1994; Takaisi-kikuni and Schilcher, 1994), 항암(Chiao et al., 1995)과 항산화 효과(Takahama et al., 1984; Erben-Russ et al., 1987; Rojas and Cuetara, 1990)등을 나타낸다. 또한 프로폴리스는 세포의 구성에 중요한 역할을 수행하고 있다(Bevilacqua et al., 1997). 그 중 중요한 성분은 플라보노이드, 피노셉브린, 크리신, 갈랑인 등을 들 수 있다(Siess et al., 1996).

프로폴리스는 꿀벌이 식용식물자원의 기능성 성분을 이용하여 생산하는 발효천연물질로서 기능성 효능으로 주목받고 있는 물질이다. 이러한 프로폴리스를 식육 및 식품에 이용하는 연구는 많이 수행되지 않았다. 한과 박(1996)은 돈육에서 프로폴리스의 항산화 효과를 인정하는 연구보고를 하였다. 그러나 아직도 기능성 물질인 프로폴리스를 식품의 저장 및 가공에 이용하는 연구가 미비한 실정이다.

본 연구는 일반적으로 실온에서 추출하는 수용성 프로폴리스(Water Extracted Propolis, WEP)와 새롭게 중탕처리하여 추출한 중탕 수용성 프로폴리스를 이용한 식용유지에서 항산화 효과를 검토하였다. 또한 국내산과 외국산 프로폴리스의 항산화 효과도 비교 실험하였다. 중탕 프로폴리스의

*Corresponding author : Seung-Kwan Han, Biotechnology Industrialization Center, Dongshin University, Naju 520-714, Korea. Tel: 82-61-336-3106, Fax: 82-61-336-3118, E-mail: hskgb@hanmail.net

항산화 효과에 대한 몇 가지 결과를 얻었기에 차후 기능성 식품 및 식육제품의 저장에 응용되리라 생각되어 이에 보고한다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용된 프로폴리스는 국내산으로 (주)가보농산에서 생산한 것과 외국산으로 Sigma사(25g)에서 생산한 것을 구입하여 사용하였고, 각 실험에 사용된 시약은 특급 시약을 사용하였다.

Boiling WEP(중탕 WEP) 조제

프로폴리스를 냉장고(4°C)에 24시간 저장한 후, 고체 상태에서 분말화 하였으며, EEP(Ethanol Extracted propolis) 제조는 한과 박(1995)의 방법으로 추출하였다. 그 중 시료 2 g(1×1 mm²)을 1:100의 비율(w/v)로 d.w. 200 mL에 용해하였다. 용해한 것을 shaking water bath(BS-21, Jeio Tech. Korea)를 이용하여 70~95°C에서 60 rpm으로 18시간 동안 교반 추출하였다. 추출물은 whatman filter No. 5로 여과하여 순수한 정제액(WEP)을 얻었다. 가보농산 WEP(GBWEP)와 Sigma사 WEP(SWEP)로 구분하여 실험에 이용하였다.

항산화력의 비교

유지산화안정도 실험은 Rancimat(743 Metrohm, Switzerland)를 이용하여 reaction vessel에 lard를 3.0 g 취한 후, 120°C에서 시간당 20 L의 여과된 공기를 주입하여 산화시켰다. 이때 발생하는 휘발성 산화 생성물을 60 mL의 증류수가 들어 있는 absorption vessel에 이행시켜 전기전도도의 변화에 따라 자동적으로 산출된 유도기간으로 항산화 정도를 측정하였다(Laubli and Brutel, 1986). 항산화력의 비교는 추출물을 첨가하지 않은 유지시료를 대조구로 하여 산출한 Antioxidative Index(AI)로써 표시하였다.

$$AI(\text{Antioxidative Index}) = \frac{\text{항산화제 첨가구의 유도기간}}{\text{무첨가구의 유도기간}}$$

GC 분석

Headspace autosampler SPB 7000을 이용하여 프로폴리스의 비점에 따른 구성성분을 분석하였다(Table 1).

통계분석

모든 결과는 3반복 실험의 평균±표준편차로 나타냈으며, 각 군간의 유의성은 T-test(Statistical Analysis Software, SAS institute)로 검정하였다.

Table 1. GC headspace conditions for analysis of propolis

GC	GC-17AATF(Shimadzu, Japan) with headspace autosampler SPB 50
Column	SUPELCO WAX TM -10 (30m×0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness)
Detector	FID
Carrier gas	Helium(1.0 mL/min)
Make up gas	N ₂ (30 mL/min)
Detector temp.	200°C
Injector temp.	150°C
Split ratio	1:10
Injection volume	1 μl

결과 및 고찰

가보농산의 WEP(GBWEP)와 EEP(GBEEP)를 실온에서 추출한 것과 증탕으로 처리하여 추출한 것의 항산화 효과를 비교 실험하여 Fig. 1에 나타냈다. 프로폴리스를 각각의 용매로 추출한 것들은 대조구보다 유의적으로 AI가 길게 나타나 항산화 효과를 보였다. Han과 Park(2002)은 실온에서 추출한 WEP, EEP와 DREEP가 돈육 소세지에서 항산화 효과가 있음을 보고하였다. EEP를 실온에서 추출한 것은 증탕처리 한 것(AI 4.51) 보다 AI가 5.02로 높아 더 좋은 항산화 효과를 나타냈다. 즉, WEP를 새롭게 증탕 처리하여 추출한 것이 실온에서 추출한 것보다 항산화 효과가 유의적으로 우수

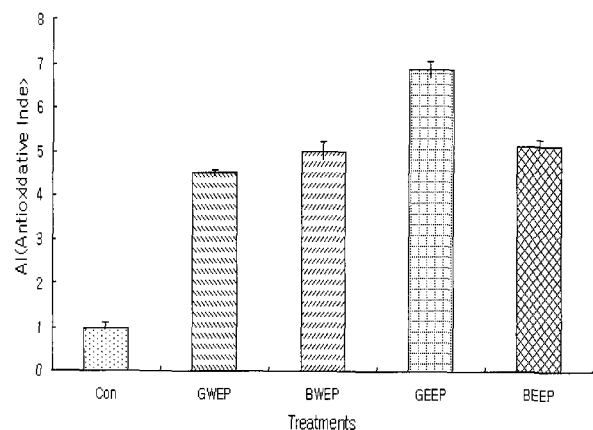


Fig. 1. Antioxidative effects of various propolis in soybean oil. Values are mean±SD. Different letters indicate significant difference (p<0.05) among groups by Duncan's Multiple Range Test. Con: Control, GWEP: General Water Extracted Propolis, BWEP: Boiling Water Extracted Propolis, GEEP: General Ethanol Extracted Propolis, BEEP: Boiling Ethanol Extracted Propolis.

하였다. 또한, 각각의 시료를 70~95℃에서 중탕 처리하여 추출한 결과를 살펴보면, EEP는 실온에서 추출하고 WEP는 중탕에서 추출하였을 때가 더욱 강한 항산화 효과를 나타냈다. Takahama 등(1984)은 플라보노이드 함량이 높아짐에 따라 지질의 유도기간이 조금 연장되는 경향을 보인다고 보고 하였다.

이와 같은 결과를 통해 EEP가 중탕처리 함으로써 에탄올에 녹는 성분들의 일부가 증발되었기 때문에 실온에서 추출한 EEP가 유지산화 안정도가 더욱 길었던 것으로 생각된다. WEP를 실온에서 추출한 것보다 중탕처리한 것의 유지산화 안정도가 길었던 것은 중탕 처리함으로써 생리활성 성분이 활성화된 것으로 생각된다.

다음은 국산 프로폴리스(GBWEP)와 외국산 프로폴리스(SWEP)와의 항산화 효과에 대한 비교 실험을 하였다. 중탕 처리한 SWEP와 GBWEP를 ascorbic acid(AsA)와 함께 항산화 효과에 대한 실험을 실시하였다(Fig. 2). 대조구에 비해 모든 처리구의 AI가 높게 나타나 유의적으로 항산화 효과가 있음을 나타냈다. 그 중에서 GBWEP는 AI가 3.69로 가장 높게 나타났다. 즉, SWEP의 2.69 보다도 월등히 높았으며, AsA의 3.08 보다도 높은 AI를 나타내 천연 항산화제로서의 가능성을 시사했다. 이것은 국내산 프로폴리스를 추출한 GBWEP가 sigma사 프로폴리스인 SWEP보다 월등히 우수한 항산화 효과가 있음을 의미한다. 이러한 결과는 식물성 유지에 대한 프로폴리스의 항산화 효과에서 국내산이 브라질산과 호주산에 비해 더 좋은 효과가 있었다는 보고(김 등, 2002)와 일치하였다.

가보농산 프로폴리스(GBWEP)를 중탕처리한 것이 실온

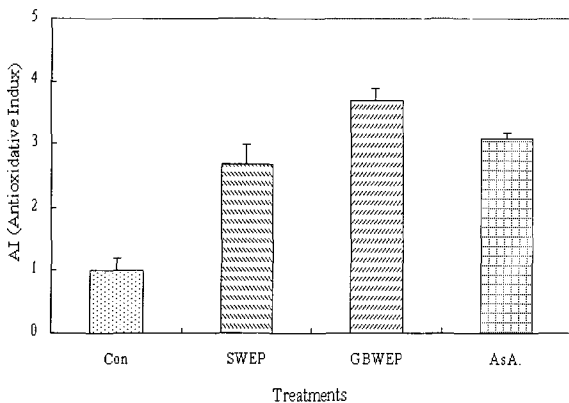


Fig. 2. Antioxidative effects of GBWEP in soybean oil. Values are mean±SD. Different letters indicate significant difference ($p<0.05$) among groups by Duncan's Multiple Range Test. Con: Control, SWEP: Sigma Water Extracted Propolis, GBWEP: Gabo Water Extracted Propolis, AsA.: Ascorbic acid.

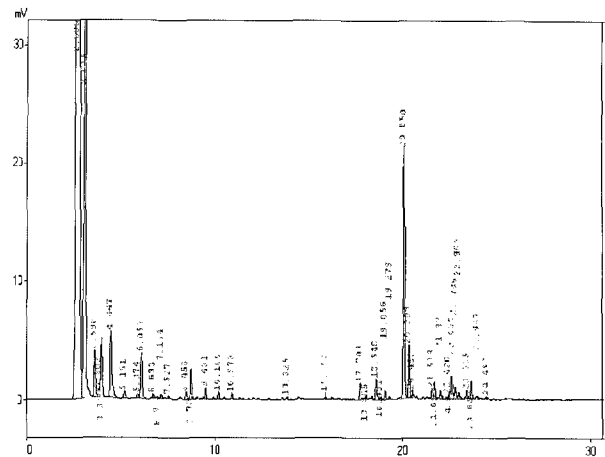


Fig. 3. Unknown components of propolis at GC headspace.

에서 추출한 것보다 강한 항산화 효과를 나타낸 것에 대한 원인을 규명하고자 하였다. GBWEP의 비점에 따른 구성성분을 GC headspace를 이용하여 실험한 결과는 Fig. 3과 같다. 그 결과 Retention time (RT) 3~10분과 18~23분 사이에서 저비점과 고비점 물질로 크게 분류된 것을 볼 수 있었다. 특히 100℃ 이하와 150℃ 이상에서 많은 피크들이 분포되어 있었다. 이것은 프로폴리스의 구성성분들이 100℃ 이하에서와 150℃ 이상에서 주로 추출되는 것을 의미한다고 생각된다. 따라서 일정한 온도인 70~95℃로 프로폴리스를 중탕 처리하여 중탕 WEP를 조제함으로써 저비점 물질들이 추출되어 실온에서 추출한 WEP보다 더욱 강한 항산화 효과를 나타낸 것으로 생각된다.

요 약

국산 프로폴리스(GBWEP)를 중탕과 실온에서 추출한 후, 식용유지에 대한 유지 산화안정도를 측정하여 항산화 효과를 검토하였다. 또한 국산과 외국산 Sigma사 프로폴리스(SWEP)와의 항산화 효과도 비교 실험하였다. 중탕에서 추출한 WEP는 일반적인 방법인 실온에서 추출한 WEP보다 유의적으로 양호한 항산화 효과를 나타냈다. 또한 국내산 GBWEP의 항산화 효과는 SWEP와 ascorbic acid보다도 우수하였다. 특히 GBWEP를 중탕 처리한 WEP가 실온에서 추출한 WEP보다 항산화 효과가 뛰어났다. 프로폴리스는 retention time 3~10분과 18~23분 사이에서 저비점과 고비점 물질로 크게 분류되었다. 특히 100℃ 이하와 150℃ 이상에서 많은 구성성분 피크들이 분포되었다. 이것은 프로폴리스의 구성성분들이 100℃ 이하에서와 150℃ 이상에서 주로 추출되는 것으로 생각된다. 결론적으로 프로폴리스를 70~95℃에서 중탕 처리함으로써 저비점의 수용성 성분들이 다

량 추출되어 항산화 효과에 영향을 주었던 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Bevilacqua, M., Bevilacqua, M., Serra, E., Vianello, A., Garrou, E., Sparagna, B., Barale, U., and Zaccagna, C. A. 1997. Natural resin association such as incense and propolis in zootechnology. *Agric Eco. Environ.* **62**, 247-252.
2. Branen, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **52**, 59-63.
3. Chiao, C., Carothers, A. M., Grunberger, D., Solomon, G., Preston, A., and Barrett, J. C. 1995. Apoptosis and altered redox state induced by caffeic acid phenethyl ester in transformed rat fibroblast cells. *Cancer Res.* **55**, 3576-3579.
4. Chisalberti, E. L. 1979. Propolis: A review. *Bee World.* **60**, 59-63.
5. Cuellar C. A., Rojas Hernandez, N. M., and Martinez Perez, J. 1990. New antimicrobial structure from propolis collected in Cuba. *Revta-Cubana-de-Farmacologia* **24**, 51-54.
6. Erben-russ, M., Bors, W., and Saran, M. 1987. Reactions of linoleic and peroxy radicals with phenolic antioxidants a pulse radiolysis study. *Int. J. Radiat. Biol.* **52**, 393-397.
7. Han, S. K. and Park, H. K. 1995. A study on the preservation of meat products by natural propolis; effect of EEP on protein change of meat products. *Korean J. Ani Sci.* **37**, 551-557.
8. Han, S. K. and Park, H. K. 1996. A Study on the Preservation of Meat Products with Water Extracted Propolis(WEP). *Korean J. Ani Sci.* **38**, 605-612.
9. Han, S. K. and Park, H. K. 2002. Accumulation of thio-barbituric acid-reactive substances in cured pork sausages treated with propolis extracts. *J. Sci. Food Agric.* **82**, 1487-1489.
10. Ikeno, K., Ikeno, T., and Miyazawa T. 1994. Effects of propolis on dental caries in rats. *Honeybee Sci.* **15**: 1-6.
11. Kim, H. J., Hwangbo, S., and Lee, S.W. 2002. Studies on the antioxidant effect of Korean propolis. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **22**, 77-80.
12. Laubli, M. W. and Brutel, P. A. 1986. Determination of the oxidative stability of fats and oils; Comparison between the active oxygen method(AOCS Cd 12-57) and the rancimat method. *JAOCs.* **63**, 792-796.
13. Matsuno T. 1992. Isolation and characterization of the tumoricidal substances from Brazilian propolis. *Honeybee Sci.* **13**, 49-53.
14. Rojas Hernandez, N. M. and de la Cuetara Bernal. K. 1990. Antibiotic effect of propolis against strains of *Staphylococcus aureus* of human clinical origin. *Revta-Cubana-de-Farmacologia* **24**, 45-48.
15. Siess M. H., Lebon, A. M., Canivenclavier, M. C., Amiot, M. J., Sabatier, S., Aubert, S. Y., and Suschetet, M. 1996. Flavonoids of honey and propolis-characterization and effects on hepatic drug-metabolizing enzymes and benzo(A) pyrene-DNA binding in rats. *J. Agric. Food Chem.* **44**, 2297-2301.
16. Takahama, U., Youngman, R. J., and Elstner, E. F. 1984. Transformation of quercetin by singlet oxygen generated by photosensitized reaction. *Photobiochem. and Photo-biophysics* **7**, 175-179.
17. Takaisi-kikuni, N. B. and Schilcher, H. 1994. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined-propolis provenance. *Planta Medica* **60**, 222-226.
18. Takino, Y. and Mochida, S. 1982. Propolis, its chemical constituents and biological activities. *Honeybee Sci.* **3**, 145-149.

(2003. 2. 17. 접수 ; 2003. 4. 8. 채택)