

프로폴리스 및 알콜 추출물의 화학성분

정창호 · 배영일 · 이호재 · 심기환[†]

경상대학교 대학원 응용생명과학부 · 농업생명과학연구원

Chemical Components of Propolis and Its Ethanolic Extracts

Chang Ho Jeong, Young Il Bae, Ho Jae Lee and Ki Hwan Shim[†]

Division of Applied Life Sciences and Institute of Agricultural Life Sciences, Graduate School,
Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract

In order to use as a new functional food material, chemical components of propolis and its extracts were surveyed. The contents of crude fat, nitrogen free extract, crude protein, ash and crude fiber in propolis were 86.41%, 7.32%, 2.71%, 1.05% and 0.20%, respectively. The mineral contents were in the order of Na (120.40 mg%), Ca (115.40 mg%), K (105.87 mg%) and Ca were higher in water extract than alcohol extract. Free sugars were composed of sucrose 152 mg%, glucose 114 mg% and fructose 6 mg%. The major amino acids of propolis were lysine 395.29 mg%, cystine 267.66 mg% and glutamic acid 248.14 mg%, respectively. Eight fatty acids in propolis were identified and the major fatty acids were oleic acid (51.89%), myristic acid (20.86%) and palmitic acid (20.28%). Myricetin, quercetin, apigenin and kaempferol were shown as major flavonols and total flavonol contents were higher in 50% ethanol extract than any other extracts. Major polyphenol compounds in four kinds of extracts were gallic acid, chlorogenic acid, catechin, epigallocatechin gallate, epicatechin and epicatechin gallate.

Key words: propolis, mineral, free sugar, amino acid, fatty acid, flavonol, polyphenol

서 론

벌집에서 얻어지는 지용성 복합체인 프로폴리스는 꿀, 잎, 봉오리 등으로부터 수집하는 wax와 수지(resin)물질을 꿀벌들이 도아 벌 자신의 침샘 분비물과 혼합하여 만드는 수지성, 점착성 고무상의 물질로 고대 시대 이후의 사람들에게 인간의 약품으로 잘 알려져 있지만 최근에는 의약품 및 화장품에도 응용가능성이 높은 매우 유용한 물질로 주목받고 있다(1,2). 프로폴리스에는 다양한 화학성분 즉, polyphenols(flavonoid aglycones, phenolic acid와 esters, phenolic aldehyde, alcohols 및 ketones), sesquiterpene, quinones, coumarins, steroids, amino acid 및 inorganic compound와 같은 160가지 이상의 성분이 함유되어 있으며, 식물의 종과 지역적으로 매우 그 종류가 다양하다고 보고되어 있다(3,4). 또한 프로폴리스의 생리활성에 대하여 많은 연구가 이미 진행되어 항암, 항균, 항박테리아, 항바이러스, 항염증, 항진균성, 항산화 및 알레르기성 피부염 치료에도 매우 높은 활성을 나타내었다. 이와 같이 프로폴리스가 다양한 생리활성을 가지는 주된 이유는 cinnamic acid와 caffeic acids ester를 비롯한 많은 종류의 플라보노이드에 의한 것으로 입증되었다(5-10). 프로폴리스에는

유용한 성분들이 다량 함유되어 있어 일찍부터 동북부유럽 및 남미 등지에서는 오래 전부터 프로폴리스의 성분과 작용 등을 밝히려는 노력이 계속 진행되고 있고, 국내에서도 프로폴리스에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

본 연구에서는 각종 화학성분 및 flavonoid 화합물 등과 같은 천연 유기화합물이 다량 함유되어 있는 프로폴리스를 이용하여 기능성 제품 및 건강식품 자원으로 이용하고, 우리나라에서 생산되는 프로폴리스의 품질특성을 조사하여 고부가가치 및 건강지향성 가공식품 개발의 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

시료의 추출 및 조제

프로폴리스는 2001년 10월 경남 거창 일원에서 채취한 것으로 냉동보관하면서 실험에 사용하였으며, 50% ethanol, 70% ethanol, 95% ethanol 및 물 등 4종류의 용매로 환류냉각장치를 이용하여 90°C에서 3시간씩 3회 반복 추출하였다. 추출물의 왁스성분을 제거하기 위하여 -20°C에서 48시간 냉동 보관한 다음 24시간마다 3회 반복 여과(Whatman No. 2)하여 얻은 추출물을 각종 실험에 사용하였다.

[†]Corresponding author. E-mail: khshim@nongae.gsnu.ac.kr
Phone 82-55-751-5479. Fax: 82-55-753-4630

일반성분 분석

수분은 105°C 건조 후 함량을 측정하여 산출하였고, 조단백질은 Auto-Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 추출장치로 추출하여 측정하였고, 조섬유는 1.25% H₂SO₄ 및 NaOH분해법, 조회분은 550°C 직접회화법으로 측정하였으며, 그 외 나머지 성분들은 가용성 무질소물로 나타내었다(11).

무기성분 분석

프로폴리스에 함유된 K, Na, Mg, Mn, Fe, Ca, P 및 Zn의 무기성분에 대하여 분석하였다. 즉, 각 시료 1 g에 분해용액(HClO₄:H₂SO₄:H₂O₂ = 9:2:5) 25 mL를 가하여 열판(hot plate)에서 무색, 투명하게 변할때까지 분해한 후 100 mL로 정용하여 여과(Whatman No. 2)한 후 Inductively coupled plasma spectrometer(Thermo Jarrell Ash AtomScan25, USA)로 분석하였다.

유리당 분석

유리당 분석은 Choi 등의 방법(12)으로 유리당 획분을 얻은 다음 0.45 µm syringe filter로 여과한 후 Sep-pak C₁₈로 색소 및 단백질 성분을 제거한 다음 HPLC(Water 486, USA)로 분석하였다.

아미노산 분석

아미노산 분석은 시료를 일정량 취하여 6 N-HCl 용액을 가하고 진공밀봉하여 heating block(110±1°C)에서 24시간 동안 가수분해시킨 후 glass filter로 여과한 여액을 rotary vacuum evaporator를 이용하여 HCl을 제거하고 증류수로 3회 세척한 다음 감압농축하여 sodium citrate buffer(pH 2.2) 2 mL로 용해한 후 0.22 µm syringe filter로 여과한 여액을 아미노산 자동분석기(Pharmacia, Biochrom 20)를 이용하여 분석하였다.

지방산 조성 분석

프로폴리스 2 g을 원통여지(Whatman Cat No. 2800260)에 넣고, diethyl ether를 가하여 Soxhlet추출법으로 약 10시간 정도 연속 추출하여 조지방을 얻고 이를 Metcalf 등의 방법(13)에 준하여 지방산 methyl ester를 조제한 후 GLC(5890 Series II, Hewlett Packard, USA)로 분석하였다.

총 flavonoid 및 flavonol 함량 분석

프로폴리스의 총 flavonoid를 분석하기 위하여 각 용매별로 추출한 후 추출액 1 mL에 diethylene glycol 10 mL, 1 N NaOH 1 mL를 넣고 진탕한 후 37°C에서 1시간 방치하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였으며, naringin으로 작성한 검량곡선에 준하여 함량을 환산하였다(14). 프로폴리스에 함유되어 있는 flavonol을 분석하기 위하여 각 추출물 500 mg에 60% ethanol(40 mL)과 6 M-HCl 5 mL를 첨가하여 95°C 수욕상에서 환류냉각하에 2시간 동안 추출하였다. 이 추출물을 60% ethanol로 50 mL가 되게 정용한 후 0.45 µm syringe filter로 여과하여 HPLC(Hewlett Packard 1100 series, USA)로 분석하였으며, 표준품으로는 myricetin, quercetin, apigenin 및 kaem-

ferol을 사용하였다(15).

총 polyphenol 함량 및 polyphenol 성분 분석

프로폴리스의 총 polyphenol 화합물을 분석하기 위하여 각 용매별 추출액 0.1 mL에 증류수 3 mL, 0.016 M K₃Fe(CN)₆ 1 mL 및 0.01 M FeCl₃/0.1N HCl용액 1 mL를 넣고 혼합한 후 15분간 방치하였다. 안정제(H₂O:1% gum arabic:85% phosphoric acid = 3:1:1, v/v/v) 5 mL 첨가한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, gallic acid로 작성한 검량곡선으로 함량을 환산하였다(16). 프로폴리스에 함유되어 있는 각종 polyphenol 성분을 분석하기 위하여 분액갈매기에 각 용매 추출물 500 mg에 증류수와 ethyl acetate를 1:1(100:100 = v/v)로 첨가, 혼합한 후 ethyl acetate 층을 분리, 추출하여 HPLC로 분석하였다. 분석조건은 HPLC(Hewlett packard 1100 series), column은 HP Hypersil ODS(200×4.6 mm, 40°C), 이동상은 acetonitrile:acetic acid:methanol:water(113:5:20:862, v/v/v/v), 검출기는 photodiodearray detector(PDA 1050, Hewlett Packard), UV 280 nm, 유속은 1.0 mL/min 및 주입량은 20 µL로 하였다(17).

결과 및 고찰

일반성분

프로폴리스의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 즉, 조지방이 86.41%로 가장 많이 함유되어 있었고, 가용성 무질소물 7.32%, 조단백질 2.71%, 회분 1.05% 및 조섬유 0.31% 순으로 나타났다. Kim 등(18)은 프로폴리스의 일반성분을 분석한 결과 조지방 90.9%, 탄수화물 5.3%, 조단백질 0.7% 및 수분 3.0%로 나타났다고 보고하여 본 실험의 결과와 거의 유사한 경향을 나타내었으며, 이와 같이 프로폴리스에 조지방 성분이 가장 많은 것은 propolis 자체 내에 수지(樹脂) 및 밀납성분이 많이 함유되어 있기 때문인 것으로 생각된다.

무기성분

프로폴리스 원피의 무기성분과 용매별 추출물의 무기성분 함량을 ICP로 분석한 결과는 Table 2와 같다. 프로폴리스에 가장 많이 함유되어 있는 무기성분은 Na, Ca 및 K으로 나타났으며, 그 함량은 각각 120.40 mg%, 115.40 mg% 및 105.87 mg%이었다. 반면에 Lee 등(19)은 영월지방에서 채취한 프로폴리스 원피의 무기성분 함량을 분석한 결과 K이 678.28 ppm으로 가장 많이 함유되어 있었고, P 184.15 ppm, Na 182.48 ppm, Ca 128.32 ppm 및 Mg 114.99 ppm 순으로 나타났다고

Table 1. Proximate composition of crude propolis

	Moisture	Crude protein	Crude fat	Crude fiber	Ash	Nitrogen free extract
Contents	2.20	2.71	86.41	0.31	1.05	7.32

(unit: %)

Table 2. Mineral contents in crude propolis and ethanolic extracts
(unit : mg%)

Components	Crude propolis	EtOH conc (%)			
		0	50	70	95
Na	120.40	45.80	38.76	57.61	37.71
Mg	28.48	22.57	6.78	16.77	2.53
K	105.87	81.96	12.67	81.39	0.14
Ca	115.40	108.75	28.99	41.56	20.13
Mn	5.64	2.18	0.33	0.68	0.11
Zr	6.07	1.68	0.51	0.64	0.25
P	56.88	41.25	16.12	29.34	14.27
Fe	68.74	2.11	1.78	1.16	0.94

보고하였으며, 이는 채집지역에 따라 환경 및 식물분포 차이로 인해 무기물의 구성성분이 다를 수 있다는 보고와 일치하는 것으로 사료된다(20). 또한 추출용매를 달리한 추출물의 무기 성분함량도 Na, Ca, K 및 P이 높게 나타났다.

유리당 함량

프로폴리스의 유리당 조성과 함량을 HPLC로 분석한 결과는 Table 3과 같다. 유리당 조성은 sucrose, glucose 및 fructose가 분리·동정되었으며, maltose와 xylose는 함유되어 있지 않은 것으로 나타났고, 그 함량은 각각 sucrose 152 mg%, glucose 114 mg% 및 fructose 6 mg%로 나타났다.

아미노산 함량

프로폴리스 원피의 아미노산과 추출물별 아미노산 조성과 함량을 아미노산 자동분석기로 분석한 결과는 Table 4와 같다. 프로폴리스 원피에서는 표준물질을 기준으로 하여 총 17종의 아미노산이 확인되었고, 총 아미노산 함량은 2,546.28 mg%로 나타났으며, 필수아미노산은 1,036.81 mg%로 나타났다. 프로폴리스에 함유되어 있는 주요 아미노산으로는 lysine, cystine 및 glutamic acid로 나타났으며, 그 함량은 각각 395.29 mg%, 267.66 mg% 및 248.14 mg%로 나타났다. 추출물별 아미노산을 분석한 결과 50%, 70% 에탄올 추출물 및 물 추출물에서는 17종의 아미노산이 동정되었으며, 총 아미노산 함량은 각각 274.80 mg%, 460.28 mg% 및 1,264.93 mg%로 나타났으나, 95% 에탄올 추출물에서는 15종의 아미노산이 분리, 동정되었고 함량 또한 151.10 mg%로 가장 낮은 함유량을 나타내었다. 또한 주요 아미노산의 조성에도 다소 차이를 나타내어 50%와 70% 에탄올 추출물의 경우에는 lysine, glutamic acid 및 tyrosine 순으로 나타난 반면 95% 에탄올 추출물의 경우 lysine, proline 및 cystine, 물 추출물의 경우에는 cystine, lysine 및 alanine 순으로 높은 함량을 나타냈다. 한편 Song과 Gil(21)은 아까시나무와 밤나무 유래 프로폴리스의 아미노산을 분석한

Table 3. Contents of free sugars in crude propolis
(unit : mg%)

	Sucrose	Glucose	Fructose	Maltose	Xylose
Contents	152	114	6	- ¹⁾	-

¹⁾Not detected.

Table 4. Amino acids contents in crude propolis and ethanolic extracts
(unit : mg%)

Components	Crude propolis	EtOH conc (%)			
		0	50	70	95
Aspartic acid	205.06	0.49	14.08	27.97	1.89
Threonine	114.05	101.52	8.04	12.99	0.94
Serine	135.36	60.31	12.84	18.85	2.18
Glutamic acid	248.14	123.85	18.08	54.19	3.84
Proline	200.16	108.54	16.71	32.90	5.21
Glycine	121.21	9.34	5.83	16.29	1.38
Alanine	56.14	137.49	2.98	7.62	2.45
Cystine	267.66	214.56	11.80	25.30	4.15
Valine	20.43	17.25	1.18	2.27	- ²⁾
Methionine	132.65	64.46	4.34	7.47	1.41
Isoleucine	196.22	11.00	7.80	11.11	2.45
Leucine	53.11	39.22	4.17	8.56	0.72
Tyrosine	189.72	95.15	17.48	34.85	0.43
Phenylalanine	51.36	21.88	2.26	3.66	0.32
Histidine	73.70	53.50	5.10	11.24	1.83
Lysine	395.29	138.61	135.66	167.55	123.90
Arginine	86.02	67.76	6.45	17.46	-
Total AA	2,460.26	1,197.17	318.350	512.82	246.10
Total EAA	1,036.81	447.44	168.55	224.85	131.57

¹⁾Essential amino acid (Thr + Val + Met + Ile + Leu + Phe + His + Lys).

²⁾Not detected.

결과 aspartic acid, proline 및 glutamic acid가 주요 아미노산으로 보고하여 본 실험의 결과와는 다소 차이를 나타내었다.

지방산 조성

프로폴리스의 지방산 조성을 분석한 결과는 Table 5와 같다. 지방산은 모두 8종이 확인되었으며, 전체 지방산중 포화지방산은 47.37%, 불포화 지방산은 52.63%를 나타내었다. 포화 지방산으로는 lauric acid, myristic acid, palmitic acid, stearic acid 및 behenic acid가 함유되어 있었고, 그 중 myristic acid가 20.86%로 가장 많았으며, 불포화지방산으로는 oleic acid 및 linoleic acid가 함유되어 있었고, 그 중 oleic acid가 51.89%로 가장 높게 나타났다. Lee 등(19)은 5개 지역에서 수집한 프로폴리스의 지방산 조성을 분석한 결과 경북 예천산, 강원도 영월산과 호주산의 경우는 linoleic acid와 linolenic acid만이

Table 5. Fatty acid compositions in crude propolis
(unit : %)

Fatty acids	Peak area
Lauric acid	1.89
Myristic acid	20.86
Palmitic acid	20.28
Stearic acid	1.36
Oleic acid	51.89
Linoleic acid	0.74
Arachidic acid	1.01
Behenic acid	1.97
Total saturated fatty acid	47.37
Total unsaturated fatty acid	52.63

검출되었으며, 그 함량은 예천산이 각각 47.6, 70.0 mg/100 g, 영월산이 37.3, 47.0 mg/100 g이었고, 호주산은 115.3, 105.6 mg/100 g으로 국내산보다 2배 이상 높았다고 보고하였다.

총 flavonoid 및 flavonol 함량

Flavonoid계 성분은 항산화, 항암 등의 기능성을 가진 특유 성분으로 프로폴리스의 각종 추출물에 함유되어 있는 총 flavonoid 함량을 분석한 결과는 Table 6과 같다. 프로폴리스의 각 용매별 추출물에 함유되어 있는 총 flavonoid의 함량은 50% 에탄올 추출물이 6.60%로 가장 많이 함유되어 있었으며, 70% 에탄올 추출물 6.46%, 100% 에탄올 추출물 6.41% 및 물 추출물 0.74% 순으로 나타났다. Lee 등(22)은 각 지역별 프로폴리스 중에 포함되어 있는 총 플라보노이드 함량을 측정할 결과 예천과 영월산 프로폴리스에서는 각각 6.33 및 6.42 mg/g 이 함유되어 있는 것으로 나타났으며, 호주산과 중국산 프로폴리스에서 각각 8.11과 6.52 mg/g 함유되어 있었고, 브라질산은 2.44 mg/g으로 가장 낮은 함량을 나타내었다고 보고하였다.

프로폴리스에 함유되어 있는 flavonol 화합물을 HPLC로 분석한 결과는 Table 7과 같다. 프로폴리스에 함유되어 있는 주요 flavonol 화합물들로는 myricetin, quercetin, apigenin 및 kaempferol로 나타났으며, 추출용매에 따라 그 함량도 차이를 나타내었다. 50%, 70% 및 95% 에탄올 추출물의 경우 kaempferol이 주된 flavonol로 나타났으며, 그 함량은 각각 1.67, 1.04 및 1.04 mg/g으로 함유되어 있었고, apigenin, quercetin 및 myricetin 순으로 나타났다. 반면, 물 추출물의 경우 myricetin과 quercetin이 각각 1.17 mg/g으로 높게 나타났으며, kaempferol 및 apigenin 순으로 나타났다. Koo와 Park(23)은 같은 지역에서 채취한 두 종류 프로폴리스의 flavonoid aglycon들을 분석한 결과 시료 A의 경우 quercetin 3.40±0.30 mg/g, kaempferol 4.74±0.26 mg/g 및 apigenin 5.05±0.20 mg/g으로 함유되어 있었으며, 시료 B에서는 quercetin 3.40±0.20 mg/g, kaempferol 8.04±0.16 mg/g 및 apigenin 3.12±0.39 mg/g으로 함유되어 있었다고 보고하여 본 실험의 결과와는 다소 함량 차이가 나타났다. 이는 propolis의 채취지역 또는 식물의 종에 따라서 차이가 나기 때문인 것으로 사료된다.

Table 6. Content of total flavonoids in ethanolic extracts of propolis

Contents (%)	EtOH conc. (%)			
	0	50	70	90
	0.74	6.60	6.46	6.41

Table 7. Contents of flavonoids in ethanolic extracts of propolis (unit: mg/g)

Compounds	EtOH conc. (%)			
	0	50	70	95
Myricetin	1.17	0.54	0.27	0.09
Quercetin	1.17	1.00	0.45	0.23
Apigenin	0.27	1.53	0.77	0.77
Kaempferol	0.54	1.67	1.04	1.04

Table 8. Content of total polyphenols in ethanolic extract of propolis

Contents (%)	EtOH conc. (%)			
	0	50	70	95
	1.17	3.52	3.59	3.41

Table 9. Contents of polyphenols in ethanolic extract of propolis (unit: mg/g)

Compounds	EtOH conc. (%)			
	0	50	70	95
Gallic acid	9.76	2.26	1.26	0.39
Chlorogenic acid	1.92	2.07	1.28	0.39
Catechin	1.05	Tr ¹⁾	0.09	Tr
Epigallocatechin gallate	0.61	2.86	1.67	0.43
Epicatechin	1.52	0.48	0.34	0.18
Epicatechin gallate	1.42	0.64	0.29	0.09

¹⁾Tr: trace.

총 polyphenol 및 polyphenol 성분 함량

프로폴리스 각종 추출물에 함유되어 있는 총 polyphenol 함량을 분석한 결과는 Table 8과 같다. 프로폴리스의 각 용매별 추출물 100 g에 함유되어 있는 총 polyphenol 화합물의 함량은 70% 에탄올 추출물이 3.59%로 가장 많이 함유되어 있었으며, 50% 에탄올 추출물 3.52%, 95% 에탄올 추출물 3.41% 및 물 추출물 1.17% 순으로 나타났다.

프로폴리스 각종 추출물들의 polyphenol 함량을 분석한 결과는 Table 9와 같다. 프로폴리스에 함유되어 있는 polyphenol 성분들은 gallic acid, chlorogenic acid, catechin, epigallocatechin gallate, epicatechin 및 epicatechin gallate로 나타났다. 50%, 70%, 95% 에탄올 및 물추출물의 경우 주된 polyphenol 화합물은 gallic acid, chlorogenic acid 및 epigallocatechin gallate로 나타났으며, 50%, 70% 및 95% 에탄올 추출물에서는 epigallocatechin gallate가 각각 2.86, 1.67, 0.43 mg/g으로 높은 함량을 나타내었고, 물 추출물에서는 gallic acid가 9.76 mg/g으로 가장 많이 함유되어 있었다. Polyphenol 화합물들의 총함량은 물, 50%, 70% 및 95% 에탄올 추출물 순으로 그 함량은 각각 16.28, 9.31, 4.93 및 1.48 mg/g으로 나타났다.

요 약

프로폴리스를 이용하여 새로운 기능성 식품을 개발하기 위하여 프로폴리스 원료와 그 추출물의 화학성분에 대하여 조사하였다. 일반성분은 조지방 86.41%, 가용성 무질소물 7.32%, 조단백질 2.71%, 회분 1.05% 및 조섬유 0.20%로 나타났다. 프로폴리스에 함유되어 있는 주요 무기성분은 Na(120.40 mg%), Ca(115.40 mg%) 및 K(105.87 mg%) 순으로 나타났으며, Ca 함량은 알콜 추출물보다 물 추출물에서 높게 나타났다. 유리당은 총 3종이 분리, 동정되었으며, 그 중 sucrose가 152 mg%로 높게 나타났고, glucose 114 mg% 및 fructose 6 mg%로 함유되어 있었다. 프로폴리스에 함유되어 있는 주요 아미노산으로는 lysine, cystine 및 glutamic acid로 나타났으며, 그

함량은 각각 395.29 mg%, 267.66 mg% 및 248.14 mg%로 나타났다. 지방산은 총 8종이 분리되었으며, 주요 지방산으로는 oleic acid(51.89%), myristic acid(20.86%) 및 palmitic acid(20.28%)로 나타났다. 프로폴리스의 flavonol 화합물을 분석한 결과 myricetin, quercetin, apigenin 및 kaempferol이 주요 flavonol 화합물로 나타났으며, 총 flavonoid 함량은 다른 추출물 보다 50% 에탄올 추출물에서 가장 높게 나타났다. 프로폴리스에 함유되어 있는 polyphenol 성분들은 gallic acid, chlorogenic acid, catechin, epigallocatechin gallate, epicatechin 및 epicatechin gallate로 확인되었다.

문 헌

1. Med Herb Newsletter. 1988. Propolis : A natural antibiotic. Med Herb Pty Ltd., Dec.
2. Marcucci MC. 1995. Propolis : chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 26: 83-93.
3. Bonvehi JS, Coll FV, Jorda RE. 1994. The composition, active components bacteriostatic activity of propolis in dietetics. *J Am Oil Chem Soc* 71: 529-532.
4. Greenaway W, May J, Scaysbrook T, Whatley FR. 1991. Identification by gas chromatography-mass spectroscopy of 150 compounds in propolis. *Zeitschrift fuer Naturforschung* 46c: 111-121.
5. Rice-Evans CA, Packer L. 1998. *Flavonoids in health and disease*. Marcel Dekker, New York.
6. Burdloc GA. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology* 36: 347-363.
7. Basnet P, Matsuno T, Neidlein R. 1997. Potent free radical scavenging activity of propol isolated from Brazilian propolis. *Zeitschrift fuer Naturforschung* 52c: 828-833.
8. Nieva Moreno MI, Isla MI, Cudmani NG, Vattuone MA, Sanpietro AR. 1999. Screening of antibacterial activity of Amacha del Valle (Tucumán, Argentina) propolis. *Journal of Ethnopharmacology* 68: 97-102.
9. Hausen BM, Evers P, Stüwe HT, König WA, Wollenweber E. 1992. Propolis allergy (IV). Studies with further sensitizers from propolis and constituents common to propolis, poplar buds and balsam of Peru. *Contact Dermatitis* 26: 34-44.
10. Miyataka H, Nishiki M, Matsumoto H, Fujimoto T, Matsuka M, Satoh T. 1997. Evaluation of propolis I. Evaluation of Brazilian and Chinese propolis by enzymatic and physico-chemical methods. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 20 (5): 496-501.
11. AOAC. 1990. *Official methods of Analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
12. Choi JH, Jang JG, Park KD, Park MH, Oh SK. 1981. High performance liquid chromatographic determination of free sugars in ginseng and its products. *Korean J Food Sci Technol* 13: 107-113.
13. Metcalf LD, Schmits AA, Pelka JR. 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal Chem* 38: 514-515.
14. 日本食品総合研究所. 1990. 食品品質評価のために品質測定法. *マニュアル*(2). p 61.
15. Huafu W, Keith H. 2001. Determination of flavonols in green and black tea leaves and green tea infusions by high-performance liquid chromatography. *Food Research International* 34: 223-227.
16. Graham HD. 1992. Modified prussian blue assay for total phenolic compound. *J Agric Food Chem* 40: 801-805
17. Bae SK, Lee YC, Kim HW. 2001. The browning reaction and inhibition of apple concentrated juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 6-13.
18. Kim CT, Kim CJ, Cho YJ, Choi AJ, Shin WS. 2002. Characteristics of propolis extracts from ethanol extraction. *Korean J Food Sci Technol* 34: 941-946.
19. Lee SW, Kim HJ, Hwangbo S. 2001. Studies on the chemical characteristics of Korean propolis. *Korean J Food Sci Ani Resour* 21: 383-388
20. Wollenweber E, Hausen BM, Greenway W. 1990. Phenolic constituents and sensitizing properties of propolis, poplar balsam and balsam of Peru. *Bull Groupe Polyphenols* 15: 112-115.
21. Song HN, Gil BI. 2002. Analysis of nutritional composition and phenolic compound in propolis collected from false acacia and chestnut tree in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 34: 546-551.
22. Lee SW, Kim HJ, Yang HJ, Hwangbo S. 2001. Studies on the flavonoid compositions of Korean propolis. *Korean J Food Sci Ani Resour* 21: 389-394.
23. Koo MH, Park YK. 1997. Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same region. *Biosci Biotech Biochem* 61: 367-369.

(2003년 3월 8일 접수; 2003년 5월 14일 채택)