

Propolis 추출물의 병원성 미생물에 대한 항균 효과

조정순^{1*} · 김영후¹ · 권명상²

¹명지대학교 식품영양학과, ²강원대학교 수의과학부

Antibacterial Effects of Propolis Extracts on Pathogenic Bacteria

Jung-Soon Cho^{1*}, Young-Hwu Kim¹ and Myong-Sang Kwon²

¹Dept. of Food and Nutrition, Myong-Ji University, Yongin 449-728, Korea

²Dept. of Veterinary Medicine, Kang-Won National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract

The optimal concentration of ethanol to separate a high quantity of propolis was 60% but that for the best flavonoids extraction was 80%. We compared the yields of propolis from different countries. In this study we used 60% ethanol concentration as a standard. The yield of propolis was proportional to the contents of flavonoids. Namely, Polish propolis which showed the highest yield with 56% by the extraction with 60% ethanol revealed also the highest flavonoids content with 3.49% among all the samples tested. The major constituents of propolis differed from country to country. It has been suggested that the different geographical origin influenced the efficacy and the constituents of propolis. Antibacterial activity of ethanol extracted propolis from different countries was tested against 6 microbial strains of type cultures including Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*) and Gram-negative bacteria (*Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* and *E. coli*) *in vitro*. Propolis extract showed anti-microbial activity against all the tested bacterial strains. In addition, propolis was sensitive to *E. coli* which was resistant to broad spectrum antibiotics like ampicillin. These results showed that propolis may substituted for commercial antibiotics. The efficiency of anti-microbial activity of the propolis was slightly higher in 80% than 97% ethanol extract.

Key words : Propolis, antibacterial effects, flavonoids, gram-positive bacteria, gram-negative bacteria.

서 론

Propolis는 꿀벌이 유해한 세균이나 바이러스로부터 벌집을 보호하고 청결한 환경을 유지하기 위하여 수목에서 수집한 수액에 밀랍(蜜蠟)이나 수액(唾液)을 혼합시켜 만든 점착성이 있는 수액상의 천연물질이다(Castaldo & Capasso 2002a).

Propolis의 어원은 그리스어에서 유래된 것으로 “pro”는 “무엇의 앞의, 또는 무엇의 입구에”, “polis”는 “공동체 또는 도시”란 의미를 가져 “도시 앞에 있으면서 도시를 지킨다”는 뜻으로 결국 벌집을 지키는 물질이란 뜻이 된다(Castaldo & Capasso 2002b). 주로 벌통 내 표면의 틈새에 발라 냉기나 빗물의 유입을 방지하고 외부의 병원성 미생물의 침입을 방어할 뿐만 아니라 벌집 전체의 구조를 강화하며 꿀의 방부(防腐)에도 관여하는 작용을 하지만 가장 중요한 용도는 여왕벌이 산란하기 전에 미리 벌방에다 propolis를 코팅하여 소독함으로써 알과 유충을 미생물로부터 안전하게 보호하는 역할

을 한다(Burdock GA 1998a, Kadota S 2000).

Propolis는 일반적으로 45~55%의 수지와 방향족 화합물, 25~35%의 밀납과 지방산, 10%의 정유, 5%의 화분 및 5%의 각종 유기물과 광물질로 구성되어 있다(Castaldo & Capasso 2002c).

Propolis의 주요 구성 성분인 polyphenol 중에서 대부분을 차지하는 flavonoids는 2가의 phenyl기와 pyran ring을 기본으로 하는 화합물로 식물계에 광범위하게 존재하며 소위 'vitamin P'라고 불리는 성분도 포함한다. 현재까지 약 160여 가지의 propolis 구성 성분이 보고되었으며 그 중 quercetin, kaemferol, rutin, galangin 등의 다양한 flavonoids와 cinnamic acid와 그 유도체 등 다양한 volatile aldehydes 및 ketone, steroids, amino acids 등이 알려져 있다(Banskota *et al* 2002, Song *et al* 2002, Zhou *et al* 1999, Martin & Martin 1997).

이들 flavonoids는 propolis의 약리학적 성질과 항균 및 항산화 효과에 기여하는 것으로 알려져 있으며, propolis 채집 중 꿀벌의 타액에서 분비되는 β -glucosidase는 flavonoids glycosides를 aglycons으로 가수분해하여 propolis의 약리학적 성질을 더욱 증진시킨다고 하였다(Russo *et al* 2002, Mar-

* Corresponding author : Jung-Soon Cho, Tel : +82-31-330-6201, Fax : +82-31-330-6201, E-mail : chojs@mju.ac.kr

cucci *et al* 2001, Magai *et al* 2003, Kim *et al* 2002, Lee *et al* 2001, Choi *et al* 1998).

포진을 일으키는 herpes simplex virus type에 대해 propolis 중의 flavonol과 flavone의 병용 투여가 바이러스의 증식을 감소시켰으며(Amoros *et al* 1992), propolis의 rutin과 quercetin 복합체가 influenza virus에 대한 억제효과를 하였다(Serkedjieva & Manolova 1992).

항균 효과에 대해서는 propolis 에탄올 추출물 자체를 여러 균주에 적용시켰을 때, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Bacillus cereus*와 *Branhamella catarrhalis*의 성장이 강력하게 억제되었고 *Pseudomonas aeruginosa*와 *Escherichia coli*의 성장이 부분적으로 억제되었다고 보고하였다(Grange JM 1990).

Caffeic acid가 lipoxygenase inhibitor로 작용하며(Sud'ina *et al* 1993), 항염증 효과(Borrelli *et al* 2002), free-radical scavenging 작용 성분(Schneller *et al* 1990), 항산화 효과(Nardini *et al* 1997), 항염증 및 항산화 작용(Isla *et al* 2001, Nagai *et al* 2003, Hayashi *et al* 1999)과 간 기능의 개선의 효과 등(Banskota *et al* 2000, Lolankaya *et al* 2002)이 보고되었다.

본 연구에서는 우리나라에서 1995년 식품공전(보건복지부 1997a)에 등재되어 건강보조식품으로 사용할 수 있도록 허가된 인체에 유익한 천연 물질인 propolis를 대상으로 propolis의 효과적인 추출 체계에 대한 연구와 분리 추출한 propolis의 주요 병원성 세균에 대한 *in vitro* 항균 효과를 분석 비교하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) Propolis

(1) 원료

본 실험에 사용된 propolis는 (주)천보실업을 통하여 수입된 질의 차이에 따른 4종의 중국산 A, B, C 및 D 급등을 비롯하여 헝가리산, 뉴질랜드산, 폴란드산과 2종의 국내산 즉 강원도 철원과 원주지방에서 원과 상태로 채취된 것을 대상으로 하였다. 그리고 항균 실험을 제외한 모든 실험에서는 중국산 D급을 시료로 사용하였다.

(2) Propolis 추출물의 조제

Propolis를 효과적으로 추출하기 위하여 순수한 주정 ethanol 원액(97%)을 기준으로 하여 각기 다른 종류의 냉동된 원

과 propolis를 주정계를 이용하여 만들어진 97%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% 및 10% ethanol 용액 300 mL에 propolis를 30 g씩 넣은 후 2일간 실온에서 magnet stirrer(DMS, DH 201-HS, Korea)에 혼합추출하고 Whatman filter No.4로 여과하여 진공 농축기(rotary vacuum evaporator : Heidolph VV2011, Germany)로 ethanol과 수분을 증발시켜 추출한 후 동결 건조하여 실험목적에 따라 사용하였다.

2) 세균 균주

Propolis의 항균력 시험에 사용된 세균 균주들은 국립수의과학검역원으로부터 분양받은 것으로 Table 1과 같다.

2. 실험방법

1) 총 Flavonoids 함량 분석

Propolis의 총 flavonoids의 함량은 식품공전(보건복지부 1997b)에 의거하여 중국산 D급 propolis 원과를 사용하여 물과 ethanol을 추출 용매로 하였다.

Ethanol의 최적 농도를 결정하기 위하여 propolis 30 g을 물 또는 물과 ethanol의 혼합용액 300 mL에 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 및 97% 농도의 ethanol을 사용하여 실온에서 추출하여 회수율과 flavonoid 함량을 측정하였다. 다양한 농도의 ethanol을 이용한 propolis 추출액 50 μ L를 시험관에 취하고 에탄올 1.5 mL, 10% 질산알루미늄($Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$)용액 0.1 mL, 1M-초산칼륨용액(CH_3COOK) 0.1 mL, 물 2.8 mL를 가하여 충분히 교반을 하였다.

실온에서 40분간 정치한 후 액층은 10 mm cell을 사용하여 물을 대조액으로 해서 415 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 흡광도로부터 별도로 상기 조작 중 질산알루미늄 용액 대신 물 0.1 mL를 가한 것의 흡광도를 뺀 흡광도 차를 시료의 흡광도로 하여 별도로 작성한 검량선에 의거 총 flavonoids 함량을 산출하였다.

2) 분리추출 Propolis의 주요 병원성 세균에 대한 *In Vitro* 항균 효과 검증

국립수의과학검역원으로부터 분양받은 Table 1의 균주를 일차적으로 각 세균의 특성에 따라 적합한 증식용 배지에 증식시킨 다음 탁도계를 이용하여 1×10^8 /mL로 농도를 맞춘 후 각각의 세균에 적합한 분리 배지에 멸균된 면봉으로 도말하여 사용하였다. 세포 배양용인 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 농도별로 녹인 propolis를 직경 6 mm의 멸균처리된 paper disc에 15 μ L씩 적시어 세균이 도말된 배지위에 올려놓고 각 세균의 특성에 따라 적합한 시간 동안 35 ± 1 °C의 배양기에서

Table 1. Bacterial strains for antibacterial test

Strains	Culture Media
1. Staphylococcus aureus - ATCC 6538	Brain-heart-infusion broth Brain-heart-infusion agar
2. Streptococcus agalactiae - ATCC 13813	Brain-heart-infusion broth Brain-heart-infusion agar
3. Streptococcus uberis - ATCC 27958	Brain-heart-infusion broth Tryptic soy agar
4. Streptococcus pyogenes - ATCC 2105	Brain-heart-infusion broth Tryptic soy agar
5. Proteus vulgaris - ATCC 33278	Escherichia coli broth MacConkey agar
6. Klebsiella pneumoniae - ATCC 4352	Escherichia coli broth MacConkey agar
7. Escherichia coli - ATCC 10536	Escherichia coli broth MacConkey agar

배양한 후 세균 발육 억제환의 직경을 측정하여 결과를 관찰하였다.

이때 positive control로는 penicillin계의 광범위 항생제인 ampicillin(disc potency : 10 µg, Gibco, USA)과 비교적 새로운 항생제인 quinolone계의 norfloxacin(disc potency : 10 µg, Gibco, USA)을 사용하였으며 propolis는 최고 농도 50,000 ppm부터 10배씩 희석하여 5 ppm까지 사용하였다.

3. 통계 분석

모든 실험 결과는 실험군별 평균(mean) ± 표준편차(SD)로 표시하였고 각 군간 평균치의 통계적 유의성 검정은 one way analysis of variance(ANOVA) 검정을 하였으며, 다군간의 차이는 statistical analysis software(SAS) package를 이용하여 Duncan's new multiple *t*-test에 의하여 $p < 0.05$ 의 수준에서 검정하였다(The Bureau of Statistics 1996).

결과 및 고찰

1. Propolis의 추출

1) Ethanol 농도별 Propolis의 회수율 및 Flavonoids 함량

Table 2에서 보는 바와 같이 97%의 고농도의 ethanol에서부터 60%까지는 별 차이를 보이지 않아 30 g의 propolis 원피로부터 공히 14 g의 propolis가 회수되어 46.6%의 회수율을 보였으나, 50% 이하 즉, 증류수의 양이 50%를 넘으면서 현저하게 회수율이 떨어져 50% ethanol의 경우 불과 6 g의

Table 2. Extraction yield and flavonoids contents of Chinese propolis(D grade) by various ethanol concentrations (unit = %)

Concentration of ethanol	Extraction yield	Total flavonoids contents
97	46.6	2.80
90	46.6	2.78
80	46.6	3.41
70	46.6	3.10
60	46.6	2.95
50	20.0	2.63
40	13.3	1.90
30	6.6	0.78
20	6.0	0.65
10	5.5	0.50
Water	1.2	ND.

Tested propolis is Chinese D grade which was nominated by importer.

ND. = Not detectable.

propolis를 얻어 20%의 낮은 회수율을 나타내었고, 40% ethanol의 경우는 4 g의 propolis를 얻어 13.3%의 회수율을 나타내었으며, 30% ethanol부터 10%까지는 공히 추출량이 2 g으로 회수율은 6.6%로 매우 낮음을 알 수 있었다. 그 결과가 가장 경제성이 있는 ethanol의 농도는 60%이었다.

Propolis를 100% 물로 추출하였을 때는 flavonoids 성분의 추출이 거의 이루어지지 않고 그 회수율도 더욱 낮아 불과 4% 정도에 불과하였는데 이는 propolis에 함유되어 있는 flavonoids가 난수용성이고 에탄올에 쉽게 용출되기 때문이며 결과적으로 propolis의 물 추출은 적합하지 못한 것으로 사료되었다.

이와 같은 결과는 Santos *et al*(2002)의 보고에서와 동일하게 브라질산 propolis의 추출에서도 물 추출의 경우 flavonoids의 손실이 많음을 보고한 것과 일치하며, Scheller *et al*(1994)이 보고한 ethanol 추출 propolis의 효능이 항산화 효과를 보이고 또한, 마우스의 생명을 연장하여 주는 효과가 있음을 설명하며, 물 추출시 손실되는 flavonoids의 중요성에 대한 주장과 유사하다. 일반적으로 propolis의 구성성분은 대부분이 유기용매에 잘 용해되는 것으로 밝혀져 있고 그 중에서도 ethanol이나 methanol로 추출하는 것이 가장 효율적인 것으로 알려져 있지만, methanol 추출물의 경우는 추출 propolis에 잔류될 수 있는 가능성때문에 식품을 위한 추출 용매

로는 부적합하므로 가격에서도 비교적 저가인 ethanol을 이용한 추출법이 가장 선호되는 것이라 하겠다.

2) 원산지별 Propolis 회수율 및 Flavonoids 함량

Table 3은 각 나라별의 다양한 propolis를 60% ethanol을 기준으로 하여 추출한 결과를 비교한 것이다. 이 실험의 결과, 동일한 농도의 ethanol 사용 시 원산지별로 propolis 함량의 차이를 알 수 있었는데 중국의 A급으로 알려진 것은 59%의 회수율을 나타내고 또한 flavonoids 함량 역시 3.34%로 다른 지역의 propolis보다 상대적으로 높았다.

원래 propolis의 값이 가장 비싼 폴란드산의 경우도 56%의 회수율을 나타내어 중국산 A급과 마찬가지로 propolis의 함량이 높았으며 아울러 flavonoids 함량 또한 3.49%로 가장 높았다. 중국산 C급과 한국 철원산의 경우는 propolis의 회수율이 각기 39%와 30%로 다른 종류에 비하여 낮았고 flavonoids 함량도 각각 2.41%와 2.18%로 가장 낮았다. 이는 절대적인 것은 아닐지라도 각 나라별 propolis 원귀에 함유된 다양한 flavonoids 함량의 차이가 결국에는 회수율의 차이로 인식되며 이러한 것이 나라별 또한 지역별의 propolis의 가격과 품질을 결정하는 중요한 요소로 추정된다.

동일한 지역에서 생산된 propolis 일지라도 계절에 따른 밀원의 변화는 결국 propolis 내에 함유된 flavonoids의 함량의 변화를 가져올 수 있다는 Sforcin *et al*(2000)의 보고를 유추하여 볼 때 유효 성분을 많이 함유한 flavonoids를 공급할 수 있는 밀원의 종류를 찾는 것도 향후 질 좋은 propolis의

Table 3. Extraction yield and flavonoids contents of propolis from different countries (unit=%)

Countries of origin	Extraction yield	Flavonoids contents
Chinese ¹⁾	A	59.0
	B	52.0
	C	39.0
	D	46.6
Hungarian	48.0	2.75
New Zealand	40.0	2.66
Polish	56.0	3.49
Korean ²⁾	A	30.0
	B	43.0

¹⁾ Nomination of Chinese A, B, C and D was depending on the report of producer.

²⁾ Nomination of Korean A is collected from Chulwon and B is collected Wonjoo, respectively.

생산을 위하여서는 선결하여야 할 과제일 것으로 사료된다.

2. Propolis의 병원성 세균에 대한 In Vitro 항균 효과

1) 각 나라별 Propolis 추출물의 병원성 세균에 대한 항균력 비교

Fig. 1은 사람의 식중독에도 중요한 병원성을 지니며 아울러 젖소에서 경제적 손실을 유발하는 괴저성 유방염의 원인체인 황색포도상구균 *Staphylococcus aureus*에 대한 propolis의 항균력 실험 결과이다. 대조군인 ampicillin이나 norfloxacin은 물론이고 중국산의 경우는 50,000 ppm의 고농도에서만 항균력이 나타났고 헝가리산 역시 50,000 ppm과 5,000 ppm의 고농도에서만 항균력을 나타냈으나 폴란드산은 50,000 ppm에서 5 ppm에 이르기까지 고른 항균력을 나타냄을 알 수 있었다. 이상의 결과는 각 나라별 propolis에 함유된 flavonoids의 차이가 이와 같은 항균력의 차이를 나타낸다는 Burdock GA(Burdock GA 1998)의 최근 보고와도 일치한다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 젖소의 유방염의 주요 원인균으로서 경제적 손실을 주어 문제시 되는 균 중의 하나인 *Streptococcus uberis*의 경우 50,000 ppm의 고농도에서는 중

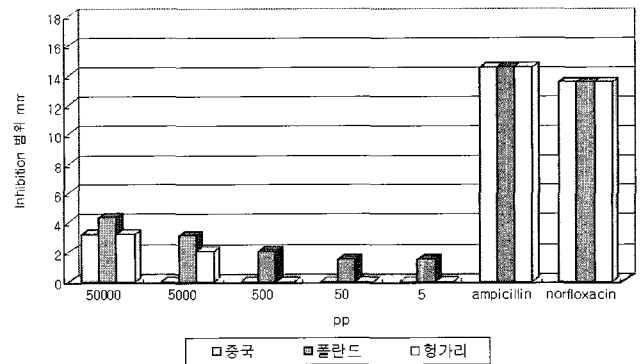


Fig. 1. Antibacterial effects of propolis extracts from different countries against *Staphylococcus aureus*(10⁸/mL).

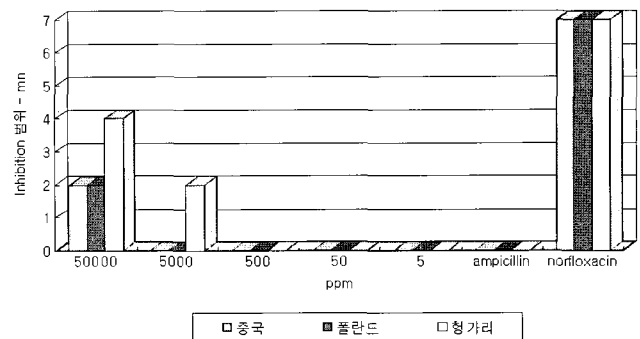


Fig. 2. Antibacterial effects of propolis extracts from different countries against *Streptococcus uberis*(10⁸/mL).

국산, 폴란드산 및 헝가리산 모두 공히 항균력을 나타내었다. 그러나 대조군으로 사용된 penicillin계 광범위 항생제인 ampicillin의 경우는 이 군에 항균력을 보이지 않고 norfloxacin은 항균효과를 나타내었다. 이것은 propolis를 최근 항생제의 과용 및 남용에 의하여 ampicillin과 같은 기존의 항생제에 대하여 내성을 지니게 된 *Streptococcus uberis*와 같은 세균 감염에 대한 치료시 대용약으로 활용할 수 있는 가능성을 제시해 주는 결과이다. 그런데 본 실험에서 propolis의 농도가 기존의 항생제 disc에 비하여 상대적으로 높은 이유는 propolis 자체는 기존의 항생제와는 달리 순수 약효 성분만을 분리 정제된 의약품이 아니고 여러 가지 천연 flavonoids와 그 외의 다량의 무기물 등의 복합체 성분으로 구성되어 있기 때문으로 Burdock & Christov(Burdock & Christov 1995) 보고에서 언급된 바와 마찬가지로 기존의 화학적으로 합성된 항생제와 비교할 때 상대적으로 세균의 최소 발육 억제 농도(minimum inhibiting concentraion : MIC)가 높은 이유이기도 하다.

Fig. 3은 젖소에 유방염을 일으켜 경제적 손실을 유발하는 무유성 연쇄상구균 *Streptococcus agalactiae*균의 경우도 *Streptococcus uberis*와 유사하게 3개국의 propolis가 모두 50,000 ppm과 5,000 ppm에서 양성반응을 나타내었고 이 결과는 propolis가 특히 Gram 양성균에 효과적임을 암시하는 것이다.

이상의 다양한 세균들에 대한 propolis의 항균작용을 분석해 볼 때 Scheller *et al*(1968), Krol *et al*(1993), Bankova *et al*(2000), Park *et al*(1995)의 보고에서와 같이 propolis는 병원성 세균 중에서도 특히 Gram 양성균에 효과적이라는 결과들과 일치함을 알 수 있다.

Fig. 4는 다제내성 장내세균으로 내외과적 치료를 받고 있는 환자들에게 병원에서 기회감염을 일으킬 수 있으므로 병원 내에서 감염 관리를 요하는 중요한 세균으로 구분되며, 특히 대부분의 항생제에 내성을 나타내는 Gram 음성균인

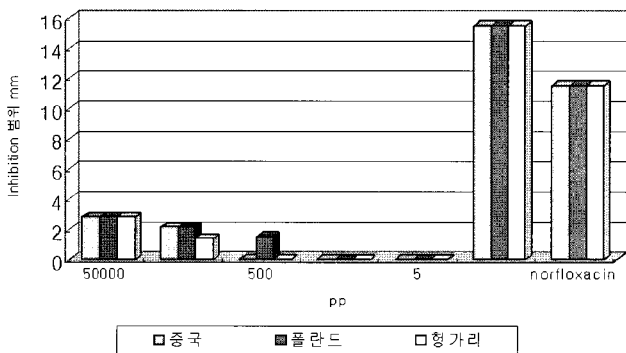


Fig. 3. Antibacterial effects of propolis extracts from different countries against *Streptococcus agalactiae*(10^8 /mL).

*Klebsiella pneumoniae*에 대한 propolis의 항균 효과에 대한 결과인데 Fig. 2의 결과와 유사하게 대조군인 ampicillin에 대해서는 내성을 나타내어 항균력이 없었고 중국산이나 헝가리산의 경우도 항균력을 보이지 않았으나, 폴란드산 propolis의 경우 50,000 ppm의 고농도에서는 항균력을 나타내었다.

Fig. 5 역시 다제내성 장내세균이며 Gram 음성균인 *Proteus vulgaris*의 경우, 중국산이나 폴란드산의 경우는 항균력이 없었으나, 헝가리산 propolis의 경우 50,000 ppm의 농도에서는 ampicillin과 유사한 정도의 항균력을 나타내었다.

Fig. 6에서 Gram 음성균인 *E. coli*의 경우, 대조군의 광범위 항생제인 ampicillin은 전혀 항균력이 없으나 또 다른 대조군인 norfloxacin는 강력한 항균력을 나타내었고, 3종의 propolis 모두 항균력을 나타내었다. 특히 헝가리산의 경우, 세균발육 억제 범위가 50,000 ppm에서는 4 mm나 되었을 뿐 아니라 5,000 ppm에서도 항균력을 나타내었다. 본 실험의 결과를 이제까지 propolis의 항균 효과에 대한 보고들과 비교하여 보면 propolis가 특히 Gram 양성균에 효과적인 항균작용을 한다는 보고와 달리 지역적인 특성 즉, 함유된 flavonoids

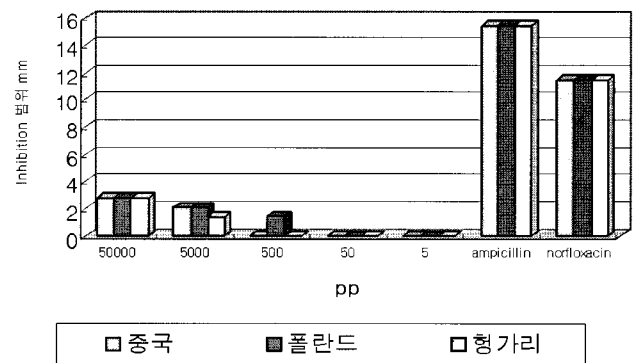


Fig. 4. Antibacterial effects of propolis extracts from different countries against *Klebsiella pneumoniae*(10^8 /mL).

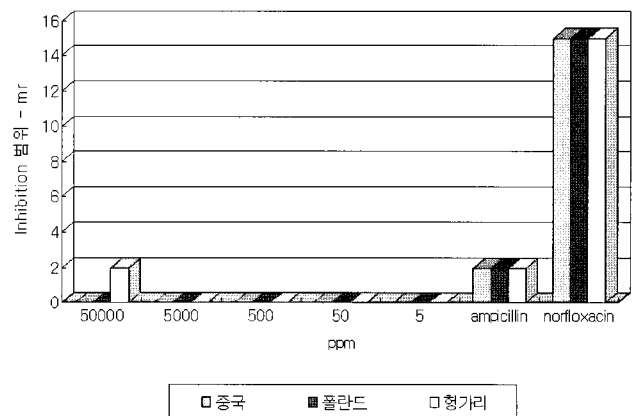


Fig. 5. Antibacterial effects of propolis extracts from different countries against *Proteus vulgaris*(10^8 /mL).

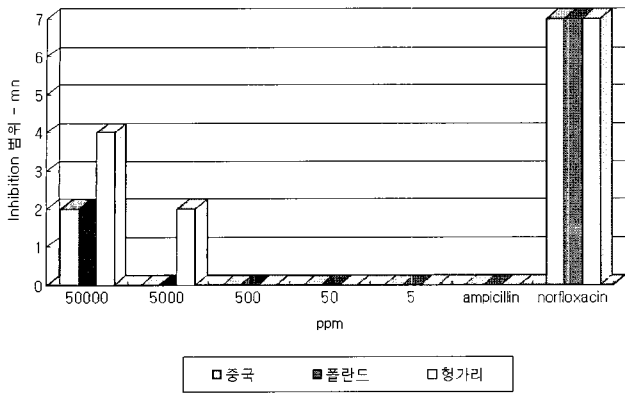


Fig. 6. Antibacterial effects of propolis extracts from different countries against *E. coli*(10⁸/mL).

의 종류에 따라 propolis의 항균 범위가 다양할 수 있다는 새로운 사실을 시사하여 주는 결과라고 하겠다. 그런데 Dimov *et al*(1992)은 수용성 propolis 추출물의 경우, Gram 음성 균에 항균 효과가 있음이 보고되어 추출방법의 차이가 있음에도 propolis의 성분 중에는 이와 같이 Gram 음성균에 작용하는 유효성분이 있음을 시사하였다.

2) Ethanol의 농도에 따른 Propolis 추출물의 각종 세균에 대한 항균력

Propolis의 추출에 사용된 ethanol의 농도에 따른 세균에 대한 항균력의 비교시험 결과를 보면 Table 4의 결과에서 보듯이 80%의 ethanol로 추출한 propolis가 Gram 양성 균에 있어서 항균력이 가장 높은 것으로 나타났다. 이 결과는 60%

이상의 ethanol 농도에서의 회수율은 대동소이하지만 Tabel 2의 결과가 시사하는 바와 같이 아마도 80%의 ethanol에 의하여 추출된 propolis의 경우 이에 항균력을 나타내는 flavonoids 함량이 가장 높기 때문이 아닌가 추정된다. 항균력의 관점에서는 80%의 ethanol이 가장 효과적인 반면 회수율에 있어서는 60%의 ethanol 농도가 경제성이 있으므로 향후 propolis의 추출을 위한 적합한 ethanol의 농도는 propolis의 사용 용도와 목적에 따라 적합한 농도를 선택하는 것이 바람직하다고 하겠다.

본 연구의 결과는 Bankob & Christov(Bankob & Christov 1995)의 보고 및 Sforcin *et al*(2000)의 보고에서 언급된 항균력과 flavonoids 함량의 상관관계 및 Pietta *et al*(2002)의 추출된 propolis의 질의 분석을 위하여 flavonoids의 중요성에 관한 설명과도 일치한다고 하겠다.

요약 및 결론

본 실험은 우리나라에서 1995년 식품공전에 등재되어 건강 보조 식품으로 사용할 수 있도록 허가된 인체에 유익한 천연 물질인 propolis를 대상으로 propolis의 효과적인 추출 체계와 분리 추출한 propolis의 주요 병원성 세균에 대한 *in vitro* 항균 효과를 분석한 결과는 다음과 같다.

1. Ethanol 농도가 propolis의 회수율 및 flavonoids 함량에 미치는 영향을 분석한 결과 60% 이상의 ethanol을 용매로 사용할 경우 회수율은 46.6%로 ethanol의 농도가 증가하여도 회수율의 차이는 나타나지 않았으며

Table 4. Effect of ethanol concentration on the antibacterial activities of propolis extracts (unit = mm)

Bacterial strains	Concentration of ethanol(%)					PG*
	97	90	80	70	60	
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 ^{a)}	1.8	3	2	2	ND.
<i>Streptococcus uberis</i>	2	2	3	2	2	ND.
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	2	4	2	1	ND.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.5	2	3	1	1	0.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ND.	ND.	ND.	ND.	ND.	ND.
<i>Proteus vulgaris</i>	ND.	ND.	ND.	ND.	ND.	ND.
<i>E. coli</i>	ND.	ND.	ND.	ND.	ND.	ND.

ND. = Not detectable.

* Means propylene glycol.

Ethanol extracted propolis was dissolved in propylene glycol for the antibacterial test.

^{a)} Means diameter of disc following inhibition.

flavonoids 함량은 80% ethanol을 사용하여 추출하였을 때 3.41%로 가장 높았다.

2. 60% ethanol의 농도를 기준으로 세계 각국의 propolis의 회수율을 비교한 결과 생산 지역에 따라 회수율의 차이를 알 수 있었다. 그런데 동일한 ethanol의 농도 하에서의 회수율의 차이는 추출된 propolis 내의 flavonoids 함량과 밀접한 연관성을 나타내어 회수율이 56%로 가장 좋은 폴란드산의 경우, flavonoids 함량 역시 3.49%로 가장 높았고 이에 반하여 중국산 C급과 한국 철원산의 경우 propolis의 회수율이 각기 39%와 30%로 다른 종류에 비하여 상대적으로 상당히 낮았고 이 뿐만 아니라 flavonoids 함량도 각각 2.41%와 2.18%로 가장 낮았다.
3. Propolis의 주요 병원성 세균들에 대한 항균작용 효과를 검색한 결과 지역별 및 flavonoids 함량에 따른 항균작용의 차이를 알 수 있었으며 특히 주목할 사항은 penicillin계 항생제인 ampicillin에 내성 효과를 보인 *Streptococcus uberis*, *Klebsiella pneumonia* 및 *E. coli* 등은 오히려 propolis가 항균작용을 나타내었고 또한 propolis가 *Streptococcus uberis* 및 *Staphylococcus aureus* 등과 같은 Gram 양성균에 주로 항균작용이 나타난다는 이제까지의 보고와는 달리 *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris* 및 *E. coli* 등과 같은 Gram 음성균에도 항균작용을 나타내었다.

4. Ethanol 농도에 따른 propolis 추출물의 병원성 세균에 대한 항균력은 80%의 ethanol로 추출한 propolis가 Gram 양성균에 대한 항균력이 가장 높았다.

이상의 결과로 propolis는 자연이 선물한 최고의 항균 효과를 지닌 천연 기능성 물질임을 알 수 있었으며, 향후 사용 목적에 따른 추출 방법이나 제형의 변형 등을 통한 제품의 실용화를 통하여 국민 보건의 증진에 활용 가능성이 많음을 기대할 수 있게 되었다.

문 헌

보건복지부 1997 식품공전, 한국식품공업협회.

Amoros M, Simoes CMO, Girre L (1992) Synergistic effect of flavonoids and flavonols against herpes simplex virus type I in cell culture. *J Nat Products* 55: 732-740.

Bankova V, Castro SL, Marcucci MC (2000) Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31: 3-15.

Banskota AH, Tezuka Y, Adnyana IK, Midorikawa K, Matsushige K, Message D, Huertas AAG, Ksadota S (2000) Cytotoxic hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Nether-

lands and China. *J Ethnopharmacol* 72: 239-246.

Banskota AH, Nagaoka T, Sumioka LY, Tezuka Y, Awale S, Midorikawa K, Matsushige K, Ksadota S (2002) Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. *J Ethnopharmacol* 80: 67-73.

Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, Ialenti A (2002) Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia* 73: S53-S63.

Burdock GA (1998) Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food and Chemical Toxicology* 36: 347-363.

Castaldo S, Capasso F (2002) Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 73: S1-S6.

Cheng PC, Wong G (1996) Honey bee propolis; prospects in medicine. *Bee World* 77: 8-15.

Choi HJ, Shim SB, Kim NJ, Kim JW (1998) Studies on the efficacies of water extract of propolis. *Korean J of Applied Pharmacology* 6: 261-268.

El-ghaazaly MA, Khayyal MT (1995) The use of aqueous propolis extract against radiation-induced damage. *Drugs exptl Clin Res* 21: 229-236.

Grange JM (1990) Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J Royal Soc Med* 83: 159-160.

Hayashi K, Komura S, Asaji N, Ohishi N, Yagi K (1999) Isolation of antioxidative compounds from Brazilian propolis: 3,4-dihydroxy-5-prenylcinnamic acid, a novel potent antioxidant. *Biol Pharm Bull* 47: 1521-1524.

Isla MI, Nieva MI, Sampietro AR, Vattuone MA (2001) Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 76: 165-170.

Kadota S (2000) Biological activities of propolis. *Biotherapy* 14: 991-998.

Kim HJ, Hwangbo S, Lee SW (2002) Studies on the antioxidant of Korean propolis. *Korean J Food Sci Ani Resour* 22: 77-80.

Kolankaya D, Swlmanoglu G, Sorkun K, Salih B (2002) Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats. *Food Chemistry* 78: 213-217.

Krol W, Scheller S, Shani J, Pietsz G, Czuba Z (1993) Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Arzneim.-Forsch/Drug Res* 43: 607-609.

- Lee SW, Kim HJ, Hwangbo S (2001) Studies on the chemical characteristics of Korean propolis. *Korean J Food Sci Ani Resour* 21: 383-388.
- Marcucci MC, Ferreres F, Garcia-Viguera C, Bankova VS, De Castro SL, Dantas AP, Valente PHM, Paulino N (2001) Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J Ethnopharmacol* 74: 105-112.
- Martin A, Martin C (1997) Comparison of 5 microplate colorimetric assay for *in vitro* cytotoxicity testing and cell proliferation assays. *Cytotechnology* 11. p 49.
- Munstedt K (2001) Propolis-current and future medical uses. *American Bee J* 141: 506-507.
- Nagai T, Inoue R, Inoue H, Suzuki N (2003) Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chemistry* 80: 29-33.
- Nardini M, Natella F, Gentili V, Felice MD (1997) Effect of caffeic acid dietary supplementation on the antioxidant defense system in rat. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 342: 157-160.
- Park HY, Oh HW, Park DS, Chang YD (1995) Antimicrobial activities of honeybee propolis extracts in Korea. *Korean J Apiculture* 10: 53-56.
- Pietta PG, Gardana C, Pietta AM (2002) Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia* 73: S7- S20.
- Russell CA, Vindelov LL (1998) Optimization and comparison of the MTT assay and the 3H-TdR assay for the detect helper T cell precursor assays. *J Immunol Methods* 217: 165-175.
- Russo A, Longo R, Vanella A (2002) Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 73: S21-S29.
- Santos FA, Bastos EMA, Uzeda M, Carvalho MAR, Farias LM, Moreira ESA, Braga FC (2002) Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. *J Ethnopharmacol* 80: 1-7.
- Serkedjieva J, Manolova N (1992) Anti-influenza virus effect of propolis constituents and their analogues. *J Nat Products* 55: 294-297.
- Sforcin JM, Fernandes Jr A, Lopes CAM, Bankova V, Funari SRC (2000) Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *J Ethnopharmacol* 73: 243-249.
- Song YS, Park EH, Hur GM, Ryu YS, Kim YM, Jin CB (2002) Ethanol extract of propolis inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *J Ethnopharmacol* 80: 155-161.
- Zhou L et al (1999) Flavonoids from beijing propolis. *China J Chinese Materia Medica* 24: 162-163.

(2005년 5월 31일 접수, 2005년 7월 18일 채택)