

식품저장을 위한 프로폴리스 함유 젤라틴 포장필름의 특성

차재운* · 조용진 · 김철진 · 김종태
한국식품연구원, *CJ(주) 식품연구소

Characteristics of Gelatin Packaging Film Incorporated with Propolis for Food Storage

Jae Yoon Cha*, Yong-Jin Cho, Chul-Jin Kim and Chong-Tai Kim

Korea Food Research Institute

*CJ Corp. Foods R&D

Abstract

The release rate of total flavonoids from the gelatin-based edible film incorporated with propolis was measured. The quality of starch gel and DHA packed with propolis-incorporated gelatin film was studied during storage to investigate its application as a functional food packing material. The release rate of flavonoid was a little higher at 25°C than at 0 and 10°C. When propolis-incorporated gelatin film was used as a packaging material for the gel products, total flavonoid retention was 57~62% until 5 weeks, and product quality was stable by prevention of moisture loss and maintenance of gel hardness. The peroxide value of DHA increased suddenly to 50 meq/kg after 20 days storage and then, increased continuously until 90 days storage when neat gelatin film was used as a control. However, the peroxide value decreased as the addition of propolis extract increased from 0.28 to 0.84% and was generally 30~70 meq/kg after 90 days storage when propolis-incorporated gelatin was used. Propolis-incorporated gelatin film appears to be applicable as a good packaging material for gel products to maintain product quality during distribution period.

Keywords: propolis, flavonoids, gelatin, packaging film, peroxide value

서 론

벌이 나무, 꽃, 잎, 잎눈 등으로부터 수집하는 beewax와 수지(resin) 물질을 타액과 혼합시켜 만든 물질로서, 항균, 항박테리아, 항바이러스, 항산화, 면역기능 등과 같은 생리활성적 효과가 있는 것으로 알려져 있는 프로폴리스는 최근 식품 및 의약분야에서 새로운 소재로 활용하기 위한 연구가 시도되고 있는 단계이다 (Chernyak, 1973; Dimov et al., 1992; Grange와 Davey, 1990; Rubio et al., 1999; Scheller et al., 1990). 프로폴리스는 보통 60~70°C 범위에서 액체상태가 되며, 100°C 이상에서는 용융

되는 성질을 갖는다. 프로폴리스는 수지와 왁스물질로 이루어져 있기 때문에 효과적으로 사용하기 위하여 적정 용매로 추출하여 사용하게 되는데, 가장 많이 이용되는 용매는 에탄올, 에테르, 글리콜 및 물 등이나, 대부분의 항박테리아 성분은 주로 물과 알코올에 잘 용해한다. Tomoki et al.(1996)은 프로폴리스의 수용성 성분으로부터 macrophage의 확장과 운동성을 높여 주는 caffeoylquinic acid 유도체를 분리 확인하였고, Katsuhiko 등(1999)은 강력한 항산화 작용을 갖는 3,4-dihydroxy-5-prenyl-cinnamic acid를 분리한 결과를 보고하고 있다. 프로폴리스의 이용중 향장품 분야에는 프로폴리스의 박테리아 및 곰팡이균 저해효과를 이용한 피부치료 및 화장품 형태가 가장 많고(Lejeune et al., 1988), 의약분야에는 심장, 혈관 및 내외과 질환의 광범위한 치료와 예방용 소재(Krell, 1996)로 이용되고 있다. 한편, 식품분야에는 보존성 증진을 위한 식품포장 재료로의

Corresponding author: Chong-Tai Kim, Principal Researcher, Food Nano Technology Research Group, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Songnam-si, Kyonggi-do, 463-420, Korea.
Phone: +82-31-780-9138, Fax: +82-31-780-9257
E-mail: ctkim@kfri.re.kr

이용(Mizuno, 1989a), (Mizuno, 1989b), 냉동생선의 저장수명 연장(Donadieu, 1979), 양계산업에서 달걀 생산량 및 체중 증가(Bonomi et al., 1976)등의 효과를 위한 첨가제로 활용하였으며, 김 등(1997)은 식빵 제조시 프로폴리스를 천연보존제로서 활용할 수 있는 응용연구를 통하여 프로폴리스의 첨가가 식빵의 저장수명 연장과 품질유지에 크게 영향을 미치는 연구결과를 보고하였다. 김 등(2002)은 프로폴리스 추출물을 에틸알코올 용매의 농도와 프로폴리스 농도에 따른 추출에서 프로폴리스 추출물중 총플라보노이드 함량은 알코올 용액의 농도 20~50%까지는 증가하였으나, 60과 70%에서는 약간씩 감소하였으며, 70% 에틸알코올로 추출한 프로폴리스 추출액은 *E. coli*, *L. plantarum*, *S. cerevisiae*의 모든 균에 대하여 높은 항균활성을 보임은 물론 프로폴리스의 농도가 2~14%인 추출물을 대두유에 첨가하였을 때 37°C에서 저장기간 동안 산화방지 효과가 높게 나타났음을 보고하였다.

현재 상업적으로 사용되고 있는 항균기능 식품포장재는 Ag-substitute zeolite(은치환 제올라이트)를 플라스틱에 용해시킨 제품인데, 이 물질은 폭 넓은 항균 스펙트럼을 갖는 장점이 있으나, 비싸기 때문에 사용량을 적게함으로써 항균효과가 낮아지는 단점이 있다. 또한, sorbate, propionate, benzoate 등과 같은 화학약품이 사용되고 있으나, 최근 소비자들의 천연원료에 대한 선호도가 급증하면서 사용량이 점차 줄고 있으며, 미생물로부터 배양한 몇몇 항균제가 있으나, 수율이 낮고 가격이 비싸 경제성이 없는 것으로 판단되고 있다. 그리고 많은 천연 혹은 합성 항균 및 항산화제가 발굴은 되었으나, 상업적으로 활용되지 못하고 있는 원인 중에 하나는 항균/항산화 물질의 식품포장재와의 적합성과 가공시 열안정성 등이 떨어지기 때문인 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 프로폴리스를 함유하는 젤라틴 기능성 식품포장필름을 제조하고 기능성 포장재로서의 식품에 적용 가능성을 파악하기 위하여 저장 온도 및 저장시간에 따른 총플라보노이드 방출변화를 조사하였으며, 프로폴리스 함유 젤라틴 필름으로 포장한 진분젤과 DHA의 품질변화를 살펴보았다.

재료 및 방법

재료

프로폴리스 원료는 (주)일진약품(서울, 한국)으로부터 경북 상주산 원료를 구입하여 이물질을 제거

후 실험에 사용하였다. 젤라틴(gelatin), sorbitol, 그리고 glycerin은 Sigma사(미국)로부터 구입하였다. 옥수수 전분은 National Starch사(미국)으로부터 구입하였고, DHA는 (주)캡포트(나주, 한국)으로부터 구입하였다.

프로폴리스의 무기질 함량

프로폴리스에 함유된 무기질 함량의 분석은 건식 회화법(AOAC, 1993)을 이용하였다. 시료를 550°C에서 4시간 동안 회화시킨 후 0.2 N-HNO₃ 용액에 용해하여 100 ml로 정용한 다음 여과하여 ICP (Inductively coupled plasma, Jobin-Yvon Model JY 38 Plus, France)를 사용하여 분석하였으며, 분석조건은 power 1 kW, nebulizer 압력 3.5 bar, aerosol 유속 0.3 l/min, 보조가스 유입속도 0.3 l/min 및 냉각가스 유입속도 12 l/min 이었다.

프로폴리스 함유 젤라틴 필름 제조

프로폴리스 추출물은 70% (v/v)의 에틸알코올 용액 250 ml에 12%(w/v)에 해당하는 프로폴리스를 넣고 실온에서 6시간 동안 교반 후 추출 및 여과하여 시료로 사용되었다. 옥수수 전분젤의 포장에 사용된 프로폴리스 함유 젤라틴 필름의 제조를 위하여 젤라틴 20 g을 증류수 64 ml에 넣고 75°C에서 30분간 용해시킨 후 sorbitol 6g을 넣어 교반시켰다. 이 용액에 프로폴리스 추출물을 용액의 무게 대비 각각 11, 22, 33%(w/w)씩 넣고 고속 교반기(Ultra-Turrax, Model T25, IKA-Works, Inc., Cincinnati, OH, USA)를 이용하여 교반시켰다. 이것을 glass plate에 1mm 두께로 코팅한 후 60°C dry-oven에서 15 min 동안 건조시켜 필름을 제조하였다. 제조된 필름에 첨가된 프로폴리스 함량은 각각 0.35, 0.7, 1.05 % 이었다. DHA 포장용 식용필름의 제조를 위해서 젤라틴 43 g, glycerin 14 g, sorbitol 5 g을 사용하였으며, 프로폴리스 추출물의 첨가량에 따른 프로폴리스의 첨가량은 각각 0.28, 0.56, 0.84% 이었다.

총플라보노이드 함량

프로폴리스 함유 젤라틴 필름의 총플라보노이드 함량은 식품공전에 제시된 방법에 의하여 측정하였다. 필름 1장(15×15 cm) 무게의 10배에 해당하는 70 % 에틸알코올을 넣고 10분간 교반하여 0.45 μl 필터로 여과한 후 프로폴리스 용매를 추출하였다. 프로폴리스 용매 80 mg에 상당하는 양에 90% 에틸

알코올 20 ml를 가하고 증류수를 대조액으로 하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 질산알루미늄용액 대신 물 0.1 ml를 가한 것의 흡광도를 뺀 흡광도 차를 이용하여 총플라보노이드(mg/ml)를 산출하였다. 이때의 표준곡선은 quercetin을 이용하여 작성하였다.

전분겔과 DHA의 품질특성

전분겔 제품은 옥수수 전분겔(농도 30%)을 제조하여 호화 냉각후 직경 5 cm, 높이 2 cm의 원통형 용기에 일정량씩 담고 프로폴리스 함유 젤라틴 필름이 접착된 뚜껑을 덮고, 0, 10, 25°C 조건에서 5주간 저장하면서 접착된 프로폴리스 함유 젤라틴 필름에서의 총플라보노이드의 방출량, 겔제품의 수분변화, 겔제품의 강도 등의 변화를 관찰하였다. 옥수수 전분겔의 경도는 경도계(Compac-100, Sun Scientific Co., LTD)를 이용하여 측정하였으며, 전분겔의 수분은 105°C에서 24시간 건조하여 측정하였다. DHA가 300 mg 함유된 연질캡슐에 프로폴리스가 0.28, 0.56, 0.84% 함유된 프로폴리스 함유 젤라틴 필름 형태로 제조하여 40°C 조건에서 90일간 저장 중 DHA의 과산화물가를 AOCS의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, DHA에 함유된 지방을 Soxhlet 방법으로 유지하여 유지 1~3g을 250 ml 삼각플라스크에 넣고 acetic acid-chloroform (3:2) 용액을 30 ml 넣고 잘 섞은 후 1 ml의 KI용액을 넣고 1분간 암소에 보관한 다음 증류수 75 ml를 가하고 0.01 N 티오황산나트륨($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 용액으로 적정하여 노란색이 사라지는 시점에서 1% 전분용액 1 ml를 넣고 다시 적정하여 푸른색이 사라지는 시점을 종말점으로 하였다. 시료가 없는 상태에서 공시험을 하였고 과산화물가를 계산하였다.

결과 및 고찰

프로폴리스의 일반성분 및 무기질 함량

본 실험에 사용한 프로폴리스의 일반성분은 조지방 90.8%, 탄수화물 5.3%, 조단백질 0.7%, 회분 0.2%, 수분 3.0%로 구성되었다. 프로폴리스의 무기질 함량은 $\text{K} > \text{Ca} > \text{Na} > \text{Mg} > \text{Fe}$ 순으로 76.8, 38.9, 21.3, 12.8, 11.5 mg의 함량을 나타내었으며, Ge, Cd, Pb, Se 등은 검출되지 않았다. 이 같은 결과는 프로폴리스를 함유하는 다양한 형태 즉, tablets, capsules, ampoules, syrup 등과 같은 건강보조제품에 있어서도 미량원소 중 K, Ca, Na, Mg 등이 주

성분을 차지하는 보고(Rodriguez et al., 1999)와 일치하고 있다.

총플라보노이드 방출변화

프로폴리스 함유 젤라틴 필름을 반고체 식품에 대한 포장 적용성을 알기 위하여 우선 프로폴리스 함유 젤라틴 필름을 프로폴리스 추출물의 첨가량이 11, 22, 33%이 되게 첨가한 후 저장온도(0, 10, 25°C)에 따른 총플라보노이드의 방출변화를 측정하여 Fig. 1~3에 나타내었다. 프로폴리스의 첨가량이 증가함에 따라서 필름내에 잔존하는 총플라보노이드의 함량은 크게 증가된 결과를 보였는데, 모든 저장온도에서 저장일 3일까지 급속하게 감소한 후 15일까지 거의 일정한 수준을 유지하는 결과를 나타내었다. 첨가된 프로폴리스 추출물의 함량 11, 22 및 33%에 있어서 총플라보노이드의 잔존율은 저장온도 0°C와 10°C에서는 5~10, 40~60 및 60~70% 정도를 보였으나, 25°C인 경우는 0°C와 10°C보다는 방출속도가 약간 증가된 것을 보이고 있다. 이러한 결과는 저장온도가 증가함에 따라서 필름에서의 물질이동 및 확산속도가 증가됨으로서 총플라보노이드의 방출량이 증가한 것을 알 수 있다. 따라서 프로폴리스가 지닌 항균/항산화 특성을 최대로 살린 식용필름을 식품용 기능성 포장재로 활용하기 위하여는 첨가농도와 품질유지와의 상관관계를 결정하는 것이 중요하다고 판단된다. Table 1는 프로폴리스 함유 젤라틴 필름의 저장온도에 따른 총플라보노이드의 방출속도상수와 반감기를 나타낸 것이다. 표에서 알 수 있듯이 프로폴리스의 첨가량이 적을 수록 방출속도상수는 큰 값을 보이며 첨가량에 반

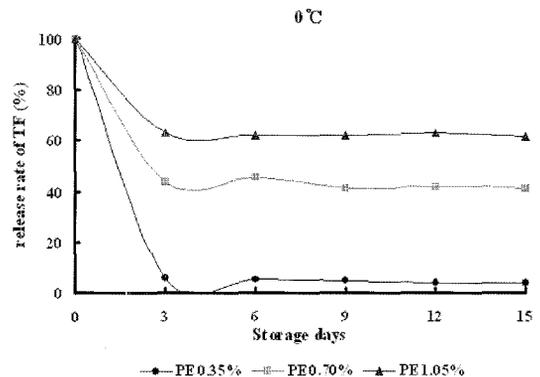


Fig. 1. Release rate of total flavonoids from gelatin based edible films depend on the amount of propolis extract (PE) during storage at 0°C.

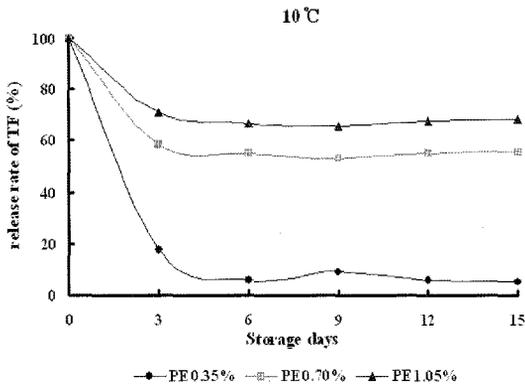


Fig. 2. Release rate of total flavonoids from gelatin based edible films as a function of storage day at 10°C. A; PE 0.35%, B; PE 0.70%, C; PE 1.05%.

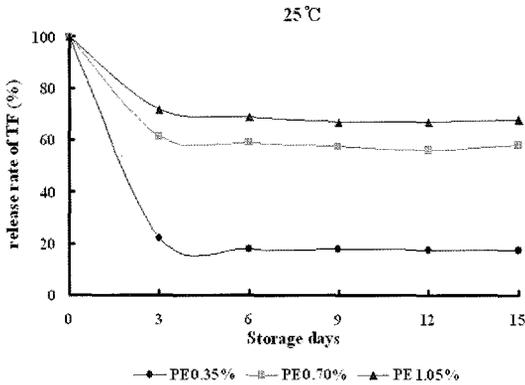


Fig. 3. Release rate of total flavonoids from gelatin based edible films as a function of storage day at 25°C. A; PE 0.35%, B; PE 0.70%, C; PE 1.05%

비례하는 결과를 보이고 있는데, 이는 필름에 첨가된 프로폴리스의 주성분인 휘발성의 플라보노이드 성분이 단위 면적당 적은 양이 분산되어 있는 필름에서 휘발성 성분의 확산이 보다 용이하게 일어난 결과로 해석할 수 있다. 이와 관련한 플라보노이드 성분의 반감기는 프로폴리스의 첨가량의 증가와 정비례하여 저장온도의 전 범위에 있어 3~8배 정도 큰 결과를 보여 주고 있다. 한편, 저장온도에 따른 반감기는 0°C인 경우보다는 10°C와 25°C의 경우 반감기가 약간씩 증가한 결과를 보여 주고 있는데, 0°C 저장인 경우 필름내에서 프로폴리스 성분이 젤라틴과의 분리현상발생에 따른 균일한 확산이 일어나지 않는 것으로 판단된다.

Table 1. Release rate constant and half life of total flavonoids from gelatin based edible films depend on the relative humidity and the amount of propolis extract (PE)

	Storage temp(°C)	PE (%)		
		0.35	0.70	1.05
R ² (zero order)	0	0.446	0.479	0.450
	10	0.519	0.473	0.468
	25	0.470	0.506	0.534
R ² (first order)	0	0.546	0.506	0.456
	10	0.691	0.485	0.473
	25	0.528	0.529	0.554
Slope	0	-0.165	-0.044	-0.023
	10	-0.168	-0.030	-0.020
	25	-0.089	-0.029	-0.021
First order constant	0	0.165	0.044	0.023
	10	0.168	0.030	0.020
	25	0.089	0.029	0.021
Half life (day)	0	4.197	15.604	29.894
	10	4.119	22.873	34.912
	25	7.783	24.070	33.256

옥수수 전분겔에 대한 포장특성

프로폴리스 함유 젤라틴 필름을 젤제품의 품질유지용 포장재로 활용하기 위하여 저장실험을 실시하였다. Fig. 4는 프로폴리스 함유 젤라틴 필름으로부터 저장온도와 기간에 따른 총플라보노이드의 방출함량 변화를 나타낸 것이다. 프로폴리스의 첨가량 0.35, 0.70 및 1.05%로 달리하여 제조한 필름에서 총플라보노이드의 방출량은 저장온도 0, 10 및 25°C 모두에서 저장기간 2주까지는 비교적 빠르게 진행되었고, 이후 5주까지는 완만한 방출속도를 보였다. 젤제품의 저장기간중 수분함량 변화를 Fig. 5에 나타내었는데, 0°C 에서는 저장기간 전체에 걸쳐 프로폴리스의 첨가량에 따른 젤제품에 있어서 수분함량의 큰 변화를 보이지 않았으나, 5주 후 프로폴리스 1.05%가 첨가된 필름의 경우 다른 처리구와 대조구에 비하여 비교적 높은 수분함량을 유지하는 결과를 보였다. 10°C 저장에 있어서는 처리구와 대조구 모두 저장기간 4주까지는 수분함량의 큰 변화가 없었으나 5주 경과시 대조구에 비하여 프로폴리스 함유 젤라틴 필름 처리구 모두가 수분유지 효과를 보여주고 있다. 이는 프로폴리스 함유 젤라틴 필름이 대조구 필름보다 수분투과를 억제하는 효과가 있음을 증명하는 결과로 해석할 수 있다. 한편, 25°C 온도에서 저장한 경우 저장기간 1주가 경과하면서 젤제품이 부패하면서 품질이 유지되지 않아 젤제품

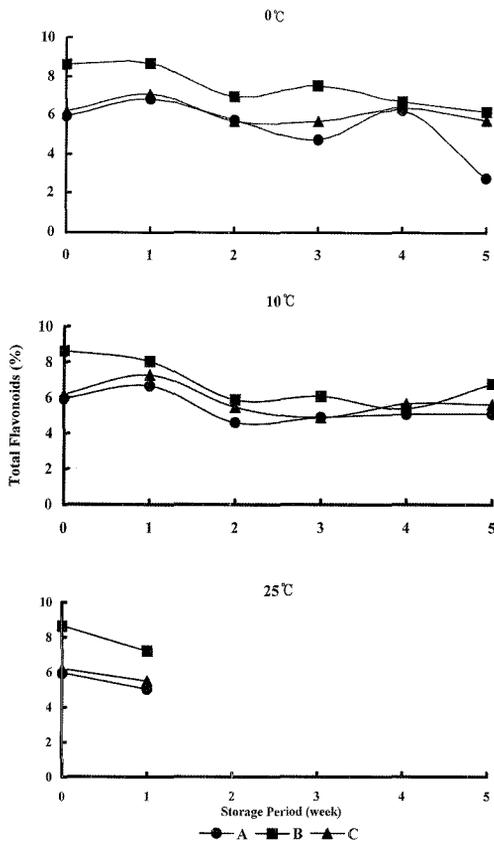


Fig. 4. Release of total flavonoid from the starch gel food during storage depend on the storage temperature and propolis addition. A; PE 0.35%, B; PE 0.70%, C; PE 1.05%

의 품질유지를 위한 필름의 적용시 유통온도 25°C에서는 1주일 이내로 유통기한을 설정하는 것이 바람직 할 것으로 판단된다.

전분 겔제품의 품질인자중 중요하게 취급되는 겔의 강도변화를 Fig. 6에 나타내었다. 0°C 저장인 경우 프로폴리스 함유 젤라틴 필름 처리구 및 대조구 모두 겔의 강도는 저장기간중 큰 변화를 보이지 않았으나, 25°C 저장인 경우 전반적으로 저장기간이 경과함에 따라서 겔강도는 서서히 증가하였는데, 이는 저장온도가 증감함에 따라서 겔로부터의 수분증발이 발생하여 겔강도의 증가가 일어났기 때문인 것으로 설명할 수 있다.

따라서 프로폴리스 함유 젤라틴 필름을 겔제품의 포장재로 활용할 경우 5주 경과 시점까지의 총폴리노이드의 잔존율은 57~62% 정도를 보임과 동시에

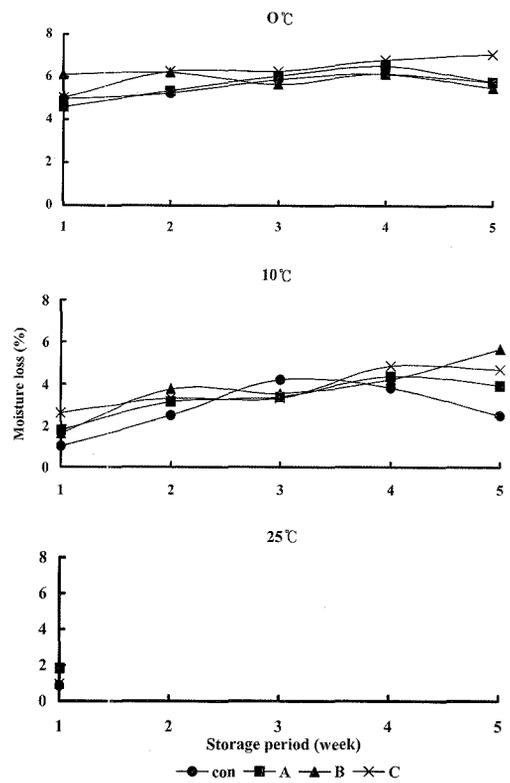


Fig. 5. Effect of gelatin based films on the moisture loss of the starch gel food during storage. A; PE 0.35%, B; PE 0.70%, C; PE 1.05%

수분손실 방지 및 겔강도 유지등과 같은 품질 안정성을 제공하는 장점이 있어 겔제품의 유통기간중 품질유지를 위한 기능성 식용필름 포장재로서 활용 가능성이 있을 것으로 예측된다.

DHA에 대한 포장특성

액상식품용 기능성 포장필름의 적용실험을 위하여 국내산 어유에서 추출한 DHA의 산화안정성에 대한 프로폴리스 추출물의 효과를 분석한 결과를 Fig. 7에 나타내었다. DHA의 함량 대비 프로폴리스를 0.28, 0.56 및 0.84% 첨가하고 저장기간중 과산화물가(POV)의 변화량을 측정한 결과 초기 유도기 1주일이 경과하면서 대조구의 경우 과산화물가는 50 meq/kg을 보였으며, 2주가 경과하면서 116 meq/kg으로 최대값을 보인 후 5주까지는 서서히 감소한 경향을 보여 주었다. 반면 프로폴리스가 첨가된 처리구에서는 2주 경과 후부터 프로폴리스 첨가량에

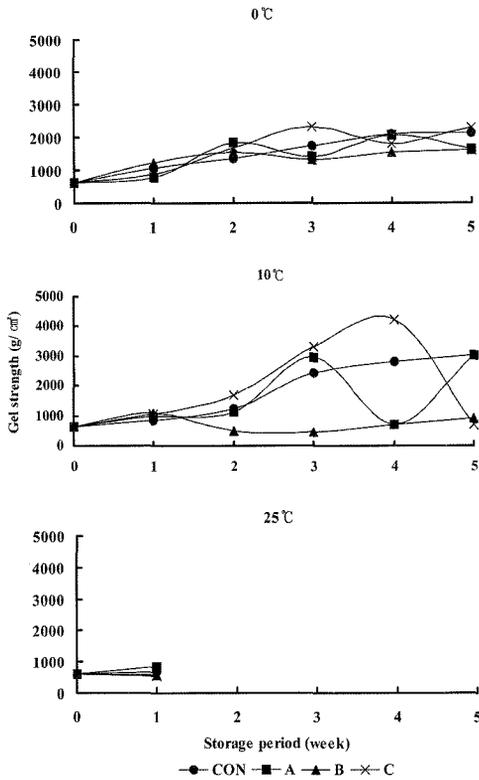


Fig. 6. Effect of gelatin based films on the gel strength of the starch gel food during storage at different temperature. A; PE 0.35%, B; PE 0.70%, C; PE 1.05%

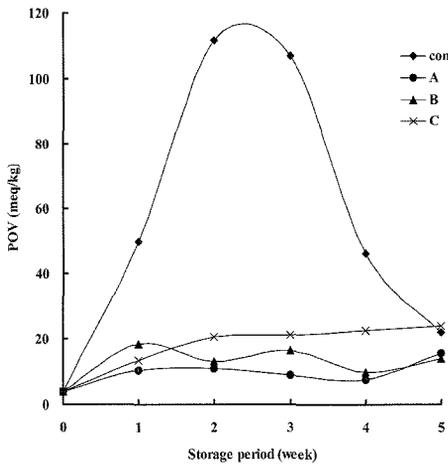


Fig. 7. Effect of propolis extract on the stability of DHA during storage. CON; control, A; PE 0.28%, B; PE 0.56%, C; PE 0.84%

비례하여 20 meq/kg 이하의 과산화물가를 유지하는 안정성을 보였다. 따라서 프로폴리스를 DHA 포장

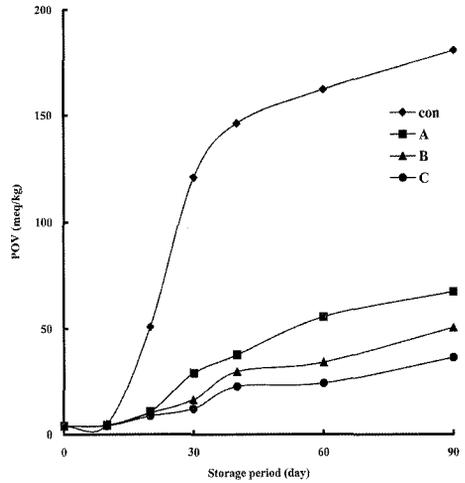


Fig. 8 Stability of DHA which encapsulated in gelatin/propolis based edible film. CON; Control, A; PE 0.28%, B; PE 0.56%, C; PE 0.84%

용 단백질 캡슐의 edible film으로서 활용이 가능함을 확인할 수 있었다.

DHA가 300 mg 함유된 연질캡슐에 90일간 저장 중 품질안정성을 과산화물가의 변화량을 측정하여 분석한 결과를 Fig. 8에 나타내었다. 대조구 DHA 함유 연질캡슐의 경우 20일이 경과하면서 과산화물가가 50 meq/kg으로 급속하게 증가되기 시작하면서 저장기간 90일 까지 지속적으로 증가되는 경향을 나타내었다. 한편, 프로폴리스의 첨가량이 0.28, 0.56 및 0.84%인 필름의 경우 첨가량에 비례하여 과산화물가가 감소되어 90일 저장 후 전반적으로 30~70 meq/kg의 범위를 보이는 결과를 보였다. 따라서 프로폴리스 함유 젤라틴 복합체를 이용하여 산화에 민감한 지방 또는 고도불포화지방산 등과 같은 성분들의 산화방지를 위한 프로폴리스 함유 젤라틴 필름으로의 활용은 국내의 큰 규모로 성장하고 있는 기능성 식품시장에서 고품질 유지 및 안정성 확보를 위한 포장기술로서 가치가 있다고 판단된다.

요약

기능성 식품 포장재로서 프로폴리스의 적용 가능성을 평가하기 위하여 프로폴리스 함유 젤라틴 필름에서 저장온도에 따른 총플라보노이드 방출변화를 측정하였으며, 프로폴리스 함유 젤라틴 필름으로 포장된 전분겔과 DHA의 품질특성을 연구하였

다. 프로폴리스 0.35, 0.70 및 1.05% 함유된 프로폴리스 함유 젤라틴 필름의 저장중 총플라보노이드의 잔존율을 살펴 본 결과 저장온도 0°C와 10°C에서는 5~10, 40~60 및 60~70% 정도를 보였으나, 25°C인 경우는 0°C와 10°C 보다는 방출속도가 약간 증가되었다. 이러한 결과는 저장온도가 높아짐에 따라서 필름에서의 플라보노이드 물질의 이동 및 확산속도가 증가한 결과로 설명된다. 프로폴리스 함유 젤라틴 필름을 젤제품의 포장재로 활용할 경우 5주 경과 시점까지의 총플라보노이드의 잔존율은 57~62% 정도를 보임과 동시에 수분손실 방지 및 갈강도 유지등과 같은 품질 안정성을 제공하는 장점이 있어 젤제품의 유통기간중 품질유지를 위한 기능성 필름 포장재로서 활용가능성이 있을 것으로 예측된다. 프로폴리스 함유 젤라틴 필름을 DHA 포장용 연질 캡슐의 적용실험 결과, 대조구의 경우 20일이 경과하면서 과산화물가가 50 meq/kg으로 급속하게 증가되기 시작하면서 저장기간 90일 까지 지속적으로 증가되는 경향을 나타내었으나, 프로폴리스의 첨가량이 0.28, 0.56 및 0.84%인 필름의 경우 첨가량에 비례하여 과산화물가가 감소되어 90일 저장 후 전반적으로 30~70 meq/kg의 범위를 보였다. 따라서 프로폴리스 함유 젤라틴 복합체를 이용한 포장재로서 수분조절 및 산화방지를 위한 기능성 식품 포장재로서 적합한 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 수행한 1999/2001년도 농림특정연구개발사업(첨단기술개발사업)의 연구지원비에 의하여 수행한 결과의 일부분이며 연구지원에 감사드립니다.

참고문헌

- AOAC. Method of Analysis for Nutrition Labelling. 1st. Ed. 1993. AOAC International, Arlington, VA, USA. 139-140
- Bonomi, A., F. Marletto and M. Bianchi. 1976. Use of propolis in the food of laying hens. *Revista di Avicoltura* **45**: 43-55
- Chernyak, N.F. 1973. On synergistic effect of propolis and some anti-bacterial drugs. *Antibiotiki* **18**: 259-261
- Dimov, V., N. Ivanovska, V. Bankova and S. Popov. 1992. Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against Gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivative. *Vaccine* **12**: 1-7
- Donadieu, Y. 1979. La propolis. pp. 36-39. Edition Malonie, Paris
- Grange, J.M. and R. Davey. 1990. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J. Roy. Soc. Medicine* **83**: 159-160
- Katsuhiko H., K. Sadaaki, I. Noriko, O. Nobuko and Y. Kunio. 1999. Isolation of antioxidative compounds from Brazilian propolis: 3,4-Dihydroxy-5-prenylcinnamic acid, a novel potent antioxidant. *Chem. Pharm. Bull.* **47**: 1521-1524
- Krell, R. 1996. Value-added products from beekeeping. pp. 161-166. FAO, Rome, Italy
- Kim, C.T., S.J. Lee, J.K. Hwang, C.J. Kim and B.H. Ahn. 1997. Effect of propolis addition on the shelf-life and staling of white bread. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**: 982-986
- Kim, C.T., C.J. Kim, Y.J. Cho, A.J. Choi and W.S. Shin. 2002. Characteristics of propolis extracts from ethanol extraction. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34(6)**: 941-946
- Lejeune, B., A. Pourrat and H. Dehmouche. 1988. Propolis utilization en democosmetologie. *Parfums, Cosmetique, Aromes* **82**: 73-77
- Mizuno, M. 1989a. Propolis-or its extract-containing resin compositions. Japanese Patent JP 01 245 058 [89 245 058]
- Mizuno, M. 1989b. Food packaging materials containing propolis as a preservative. Japanese Patent JP 01 243 974 [89 243 974]
- Rubio, O.C., A.C. Cuella, N. Rojas, H.V. Castro, L. Rastrelli and R. Aquino. 1999. A polyisoprenylated benzophenone from Cuban propolis. *J. Nat. Prod.* **62**: 1013-1015
- Rodriguez, E.G., B. Abellan, M.T.O. Villanueva. 1999. Macroelements in dietetic products containing propolis. *Food Chem.* **66**: 15-19
- Scheller, S., T. Wilczok, S. Imielski, W. Krol, J. Gabrys and J. Shani. 1990. Free radical scavenging by ethanol extract of propolis. *Int. J. Radiation Biol.* **57**: 461-465
- Tomoki, T., I. Noboru, O. Tsunetaka, A. Shigeyuki, I. Masao and K. Masashi. 1996. Isolation and identification of compounds from Brazilian propolis which enhance macrophage spreading and mobility. *Biol. Pharm. Bull.* **19**: 966-970