

탄소동위원소 분석법에 의한 벌꿀의 품질평가

한국식품개발연구원 허우덕

1. 서론

벌꿀의 정의는 꿀벌들이 꽃의 꿀을 채취하여 벌집에서 저장 및 숙성한 것을 말한다. 그러나 실제적으로 꿀의 원료는 식물이 체내에 영양을 공급하는 수액이 근원이 되는 꽃꿀(Nectar) 과甘露(Honeydew)라는 두가지 물질이 혼합된 것이다. 꽃꿀은 식물체의 유기물 전달조직인 phloem 과 물 및 수용성 무기물을 운반하는 Xylem 조직을 통하여 분비되며 이들의 양적비율에 따라 꽃꿀에서 총당의 함량이 변화하게 된다.¹⁾ 때로는 꽃꿀에 총당의 함량이 80% 에 이를 때도 있으나 보통 20 ~ 40 % 의 수준이다.²⁾ 한편 감로는 진딧물, 자벌레(leaf hopper), 개각충과같은 반시류의 곤충들을 통하여 간접적으로 얻어진다. 다시 말하면 이들 곤충이 phloem의 수액을 먹고 이들의 소화기관으로 부터 분비된 당액을 벌이 채취한 것이다. 일반적으로 벌들은 감로보다는 꽃꿀을 선호하지만 가끔등의 이유로 꽃꿀의 채집이 용이하지 않을 때에는 감로를 채집한다.

벌꿀의 주성분은 전체의 약 70 ~ 80 %를 차지하는 전화당과 5 ~ 10 %의 설탕, 그리고 약 20 %의 수분이 들어있으며 이외에도 미량성분으로는 0.1 ~ 0.2 %의 유기산 0.1 ~ 0.3%의 회분과 0.3% 가량의 질소화합물이 들어있고 비타민 B 가 들어있다.

현재 우리나라에서 자생하는 밀원식물로 가장 중요한것은 아카시아로 제주도를 제외한 전국에서 가장 화밀량이 많은 최대 밀원이다. 그러나 사방용이나 연료림으로 심은다음 방치되거나 또는 산을 버린다는 편견으로 무작위 벌채를 감행하여 그 분포면적이 점점 감소하고있다. 다음으로 중요한 밀원은 기름을 채취할 목적으로 재배되고 있는 유채로 이는 유지작물로서의 가치 뿐만아니라 중요한 밀원 그리고 관광자원으로도 이용이 가능하다.

꿀은 다른 당류보다 상대적으로 가격이 비싸기 때문에 설탕이나 물엿 그리고 전화당 등을 혼합해 양을 늘리는 사례가 빈번하여 오래전부터 문제가 되어왔다. 따라서 꿀의 진위여부를 가리는 방법이나 품질평가에 관한 연구도 매우 오래전부터 많은 과학자들에 의해서 연구되어왔다. 연구된 여러가지 방법중에서 가장 일반적으로 적용되는 방법은 꿀의 주성분인 당의 조성을 이용하는 방법에 관한 연구이다⁵⁻⁷⁾. 벌이 꽃의 꿀을 일단 섭취한 다음에는 벌집에 돌아와서 다시 토해내어 저장되기 때문에 벌의 소화액이 혼입되며 이때에 혼입된 효소작용에 의해 당이 포도당과 과당으로 전화되어 저장된다. 따라서 당의 조성은 fructose 와 glucose 가 주종을 이루어 이들의 함량은 전체의 약 70-80% 정도를 차지한다.

이와같은 이유로 가장 일반적 감미료인 설탕을 꿀에 직접 첨가할 경우에는 용이하게 검출이 가능하여 설탕의 산가수분해물을 꿀에 첨가하는 방법이 빈번하였다. 이를 검출하기 위하여 여러가지 정색반응이 연구되었으며 이중 resorcinol (Fieche) 측정법이나 aniline (Feder) 측정법에 의한 정색반응이 가장 집중적으로 연구되어왔다⁸⁻¹⁰). 이방법은 설탕의 산가수분해에 의해서 생성된 hydroxymethylfurfural(HMF) 과 정색반응을 일으키는 원리를 이용한 방법이다. 그러나 HMF 은 산가수분해로 인해서 생성될 뿐만아니라 꿀을 장기저장할 때에도 자체적으로 생성되는 경우도 많다.

또한 설탕은 가격이 다소 비싸 설탕을 가하여 가수분해하는 사례는 줄어들고 대신 다른 근원의 증량제를 사용하게 되었다. 이러한 목적으로 사용되었던 가장 대표적인 증량제는 나폴레온시대에 Kirchoff에 의해 전분에 묶은 황산을 가하여 가열하는 방법으로 개발된 glucose로 최근까지 이 방법으로 생산되었다¹¹). 그러나 이와같은 방법으로 생산된 glucose는 조악하여 꿀에 첨가하기에는 순도가 너무 낮았으며 이와같이 생산된 glucose를 꿀에 혼입할 경우에 고속액체크로마토 그래프에 의해서 용이하게 검출이 되므로 실제적으로 꿀에 첨가하는 것은 곤란하였다.

그러나 최근에는 생물공학적인 방법이 도입되어 효소를 이용한 가수분해법이 개발되었으며 가수분해효율도 매우 높게되었고 생산량도 실험실적 규모에서 대량 생산이 가능하게되었다. 1970년대 초반에 glucose isomerase 를 사용하여 glucose 를 fructose 로 전환시키는 효소를 이용하여 high fructose corn syrup(HFCS)을 생산하게 되었으며 당의 조성은 glucose가 52%, fructose가 42%를 차지하고있어 꿀의 조성과 매우 유사한 당을 생산하게 되었다. 따라서 HFCS을 꿀에 첨가할 경우 HPLC를 이용하여 당의 조성을 분석하더라도 판별이 거의 불가능하게 된다.

한편 최근에 시도되고 있는 탄소동위원소비율에 의한 측정법은 식물이 광합성에 의해서 대기중의 탄소를 고정할 때에 서로다른 두 경로를 거치게되며 이들 두 그룹에 속하는 식물군들은 탄소동화작용으로 고정되는 ^{12}C 와 ^{13}C 와의 비율이 상이하여 이들의 저장에너지를 분석하면 근원되는 식물군의 판별이 가능한것이다¹²). 이러한 사실이 중요한 것은 꿀을 생산하는 식물군은 모두 C3군에 속하며 꿀에 흔히 혼입되는 설탕이나 HFCS 의 원료인 사탕수수, 옥수수는 C4군에 속하며 이들로 부터 얻어진 탄소원은 어떠한 물리화학적 처리에도 불구하고 일정한 $\delta^{13}\text{C}(o/oo)$ 값을 갖는다.

이의 측정방법은 표준물질인 PeeDee belemnite(PDB)의 동위원소비율에 대한 시료의 동위원소비율을 측정하여 다음과 같은 식에 의하여 산출한다.

$$\delta^{13}\text{C} = \left[\frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{sample}} - (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{PDB}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{PDB}}} \right] \times 1000$$

이외에도 꿀의 향기성분 조성을 이용하여 꿀의 품질을 평가하려는 시도가 있다. 꿀의 향기성분에는 탄화수소류, 알콜류, 카보닐화합물, 산류, 에스테르화합물, 락톤류, 퓨란류 그리고 이외의 여러 부류의 화합물이 존재한다¹³⁾. 이밖에도 꿀에 존재하는 무기질의 함량을 측정하여 Na/K의 비율로 혼입여부를 판별하는 방법¹⁴⁻¹⁷⁾, 유기산의 조성으로 판별하는 방법¹⁸⁻²⁰⁾, 효소의 역가를 측정하는 방법²¹⁻²³⁾ 등 여러가지가 있으나 이들 방법 각각의 당위성과 꿀의 다양성 즉 밀원별, 벌의 분류학상의 종별, 계절적인 인자 및 지역적인 차이등을 고려할 때 벌꿀의 품질평가법으로 적용하는 데에는 문제가 있는 것으로 생각된다.

2. 재료 및 방법

가. 공시재료

1). 순수벌꿀 채취 : 순수한 유채꿀은 제주도 남군 표선면 가시리에 소재한 야산에서 순수한 아카시아꿀은 경남 구미시 근교 및 충남 연기군 서면의 야산에서 채취하여 표준시료로 사용하였다.

2). 증량제 : 물엿, 이성화당, 백설탕 및 황설탕 등의 증량제는 시판되고 있는 제품을 될수있는데로 다양하게 구입하여 공시재료로 사용하였다.

나. 방법

1) 일반규격 : 수분은 Abbe 굴절계를 이용하여 수분함량을 측정하였으며 회분은 상법에 준하여 분석하였다. 산도는 적정법으로, Hydroxy Methylfurfural의 분석은 분광광도계법, 이성화당은 박층크로마토그래프법, 당은 고속액체크로마토그래프법 등으로 분석하였다.

2) 탄소동위원소비율의 측정 : 탄소동위원소비율의 측정은 영국 VG ISOTECH 사의 Prism II를 사용하여 분석하였으며 시료의 전처리에는 이태리 Carlo Erba 사의 Nitrogen Analyzer 1500 Series II 를 결합시켜 기체상태의 시료를 유도관을 통하여 기기에 주입하였다. 이때 운반기체는 헬륨을 사용하였으며 약 10 mg 의 시료를 채취하여 연소부의 온도를 1000°C 로 조절하고 고순도의 산소와 함께 연소시켰다. 산화된 시료가스는 환원과 탈습과정을 거친 다음 알콜과 고체탄산으로 냉각된 포집관으로 급송되었으며 이때 포집관에 응축된 탄산가스는 유도관을 통하여 동위원소 분석기에 주입하였다.

이 장비는 high sensitive ion source, analyzer, electromagnet, microinlet system, collector 및 vacuum system 등으로 구성되어있으며 각 부분들은 IBM PS/2 data system에 의해서 자동제어된다.

3. 결과 및 고찰

1) 수분

수집된 꿀의 수분함량은 일정치 못하여 아카시아 꿀의 경우에는 18 ~ 22% 이었으며 유채꿀의 경우에는 이보다 다소 높아 20 ~ 27%까지 분석되었다. 꿀에서 수분함량에 대한 규제는 미국 FDA 가 25%까지 허용하고 있으나 Codex 와 우리나라의 품질규격에는 수분의 함량을 21% 로 규정하고 있어 이러한 각도에서 보면 규격기준에 못미치는 것으로 볼 수 있다.

이와같이 꿀의 수분함량이 높은 것은 계절적으로 우기에 채집되었고 또한 채집된 꿀이 벌에 의해서 탈수되는 과정을 거치기 전에 채밀한 것이 주 원인으로 생각된다. 예로서 Mesallam 과 El-Shaarawy 의 연구보고에 의하면 사우디의 꿀은 수분함량이 13.8 ~ 15.6% 라고 보고하였으며 White 등의 연구결과 490여종의 꿀을 분석한 결과 수분의 함량이 15.67 ~ 21.26%로 보고한 적이 있다. 한편 전화당이나 물엿등의 수분함량은 오히려 꿀보다 낮아 16.0 ~ 21.7%로 나타났다.

꿀의 수분함량은 꿀의 품질에 미치는 영향보다는 오히려 꿀의 성상에 미치는 영향이 클 것으로 생각된다. 꿀을 오랫동안 방치하거나 저장온도가 낮으면 때로는 흰색의 결정이 석출하는 경우가 있다. 이것은 glucose 가 결정화 된 것으로

혹자에 의하면 이의 생성이 벌꿀의 진위여부와 관련이 있는 것으로 생각하고 있으나 꿀의 결정화와 품질간에는 전혀 상관관계가 없는 것으로 밝혀져 있다.

그러나 꿀의 결정화는 바람직하다고 볼수는 없다. 이유는 glucose 에 결합되었던 결합수가 유리됨으로써 비결정부분의 수분활성도가 증가하게 되며 이로 인하여 꿀에 혼입된 효모의 증식이 시작되어 발효가 진행된다는 데에 문제가 있다. 일반적으로 적절히 숙성된 꿀에서 수분함량이 17% 이하인 경우에는 내삼투압성 효모 이외에 다른 부패성 미생물의 생육은 억제되는 것으로 알려져 있다.

꿀의 결정화에 대하여 White 는 꿀의 성분과 물리적 특성에 대한 고찰에서 상세히 기술하였다²⁵⁾. 꿀은 당 이외에 여러가지 물질이 혼합된 복합체이지만 model system의 도입으로 꿀의 결정화에 대한 여러가지 결과를 얻을 수가 있었다. Lothrop 의 연구에 의하면 꿀의 중요한 당인 fructose, glucose 그리고 sucrose 가 꿀과 유사한 조성비로 혼입되었을 때에 glucose의 용해도는 fructose 의 농도에 비례하여 증가되는 것을 발견하였다²⁶⁾. 이와같은 현상은 glucose 의 무수물과 결정화된 수화물 사이의 평형관계에 기인하는 것으로 생각되었다. fructose 의 함량이 높은 경우에 평형은 무수물 쪽을 선호하여 자유수에 대한 용해도를 증대시키며 반대로 fructose 의 함량이 낮을 경우에는 수화물 상태를 선호하여 상대적으로 자유수의 함량이 낮게되며 따라서 glucose 의 용해도가 감소하게 된다. 한편 Kelly 는 glucose 의 무수물과 수화물의 변이는 30°C 이하에서 일어나는 것을 발견하였다²⁷⁾.

그러나 실질적인 꿀의 결정화에 대한 연구는 White 등²⁸⁾에 의해서 이루어졌다. 이들은 1956년 Austin 의 의해 적용이 되었던 D/W 비율 (Glucose/Water ratio) 또는 D - W/L 비율 (Glucose - Water/Fructose) 등을 이용하여 결정화를 예측할 수있는 방법을 연구하였다. 이들의 연구에 의하면 D/W ratio 는 꿀의 결정화에 가장 밀접한 관계를 가져 $D/W \leq 1.70$ 일 경우에는 결정화가 이루어지지 않으나 $D/W \geq 2.10$ 일 경우에는 즉각적인 결정화가 예상되는 것을 발견하였다. Hadon 과 Zürcher²⁸⁾ 은 세계각지의 꿀 54 종을 수집하여 결정화를 예측한 결과 40 ~ 50% 만 일치하는 것으로 보고하였다²⁹⁾.

2) 회분

수집된 순수한 아카시아꿀의 회분함량은 0.08~ 0.18%, 유채꿀은 0.08~ 0.28% 이었으며 액상과당의 경우에는 이보다 더욱 낮아 0.009% 정도로 나타났으며 수집된 일반꿀의 경우에 무기질의 함량은 0.1 ~ 0.3% 로 일정한 값을 나타내지 못하였다.

꿀에서 무기질의 함량이 주목을 받는 것은 꿀에 적게 들어있는 무기질과 꿀에 흔히 혼입되는 증량제에 다량 혼입된 무기질의 비례관계를 혼입여부의 판별기준으로 적용하려는 시도에서 비롯되었다. Shallenberter 와 Guild Jr. 는¹⁴⁾ 꿀에 첨가되는 HFCS 을 보다 정확하게 검출하기 위해서 무기질 함량을 분석한 결과 순수한 꿀에는 Na 의 함량이 극히 낮은 것을 발견하였다. 그러나 산가수분해된 corn syrup 의 이온교환 정제과정에서 K 이온이 축적되는 것을 알고 이들 두 원소의 비율을 계산하여 10^3 을 곱한 수치로 HFCS 의 혼입을 판별하려고 시도하였다. 실제적으로 순수한 꿀에서는 $Na/K \times 10^3$ 값이 평균 26.8 이었으며 범위는 대략 2 ~ 147로 나타난 반면 corn syrup 이나 HFCS 에서는 이 값이 11,400 ~ 20,000 정도로 매우 높게 나타났다. 따라서 순수한 꿀에 HFCS 가 혼입 된 경우에 이값은 상당히 증가되는 것을 예측할 수있으며 이들은 이값이 30 이상일 때 20% 이상의 HFCS 가 함유되어 있는 꿀로 분류하였다.

그러나 이와같은 무기질의 함량은 일정한 값을 유지하지 않으며 최근 정제기술의 개선으로 HFCS 에서 이와같은 무기질의 함량이 더욱 낮아질 전망이어서 이를 꿀의 품질지표로 삼기에는 다소 부적합한 것으로 생각된다.

3) 산도 및 pH

꿀의 pH는 밀원에 따라 차이가 있어 일반적으로 3.2 ~ 4.3 의 범위에 있는 것으로 나타났다. 또한 본실험에서 분석된 순수한 아카시아꿀과 유채꿀의 경우 산도는 각각 8.5 ~ 14.0 meq/kg 과 13.0 ~ 20.5 meq/kg 로 규격기준인 40.0 meq/kg 에는 훨씬 미달되는 상태이었다. 뿐만아니라 당류에서의 산도는 더욱 낮아 액상과당의 경우에 4.3 meq/kg 이었으며 일반꿀의 경우에도 모두 규격기준에 비하여 매우낮은 수치가 분석되었다. 이와같은 결과로는 실제적으로 산도의 제한이 꿀의 품질을 보증하는데 아무런 역할을 하지못해 무의미한 규제로 생각되었다.

4) Hydroxy Methylfurfural(HMF)

꿀에서 Hydroxy Methylfurfural의 함량을 규제하는 것은 꿀에 가장 보편적 감미료인 설탕의 혼입을 방지하기위해서 설정된 것으로 볼수있다. 꿀의 진위여부를 가리는 방법이나 품질평가에 관한 연구는 매우 오래전부터 많은 과학자들에 의해서 연구되어왔다. 이러한 여러가지 방법중에서 가장 일반적으로 적용되는 방법은 꿀의 주성분인 당의 조성을 이용하는 방법으로 주성분인 fructose와 glucose의 조성과 sucrose의 함량을 분석하여 설탕의 혼입여부를 측정코자 연구되었다. 따라서 설탕을 꿀에 직접 첨가할 경우에는 검출이 가능하여 꿀에 직접 첨가하지않고 산가수분해물을 첨가하는 사례가 빈번하였다.

이를 검출하기 위하여 여러가지 정색반응이 연구되었으며 이중 resorcinol (Fiehe) 측정법이나 aniline (Feder)측정법에 의한 정색반응이 가장 집중적으로 연구되어왔다. 이방법은 설탕의 산가수분해에 의해서 생성된 HMF와 정색반응을 일으키는 원리를 이용한 방법이다. 그러나 HMF은 산가수분해로 인해서 생성될 뿐만아니라 꿀을 장기저장할 때에도 자체적으로 생성되는 경우도 있어 1950년대에는 HMF의 생성인자에 대한 연구가 활발히 수행되었다.

HMF의 생성은 육탄당과 fructose가 산의 촉매하에서 탈수될 때에 생성되는 furan 유도체로 식품의 Maillard 반응에서 갈색화의 중간단계에 생성이되며 매우 반응성이 큰 물질이다. 일반적으로 꿀에는 대략 0.06 ~ 0.2mg/100g이 함유되어있다. White 등의 연구에 의하면 꿀의 가열이나 저장에 의해서도 상당량의 HMF가 생성되는 것으로 밝혀졌다. 이들의 실험에 의하면 천연의 꿀을 25°C에서 1년간 저장할 경우에 HMF의 함량은 3.0 mg/100g으로 증가하였으며 만일 60°C로 저장할 경우 3일 이내에 이 수준에 도달하는 것을 발견하였다. 때로는 결정화와 발효의 증진을 위해서 꿀을 가열하는 경우도 있어 이러한 경우에 온도와 가열시간 등에 대하여 세심한 주의가 필요하다. 또한 많은 나라에서 꿀의 과도한 가열에 대한 지표로 HMF를 적용한다.

그러나 과도한 HMF의 함량은 설탕을 산가수분해하여 제조한 전화당의 혼입에 대한 의심을 받게된다. 오래 저장되었던 꿀이나 과도하게 가열되었던 꿀은 3.0 ~ 10.0 mg/100g이지만 산가수분해된 당이 첨가된 경우에 15.0 mg/100g 또는 그 이상의 HMF가 함유되게 된다. 따라서 꿀에 산가수분해된 설탕을 첨가할 경우에 꿀 자체에 함유된 HMF의 양과 혼입된 설탕으로 부터 유입된 양을 분석하여 이들의 차이로 검출하는 방법과 HMF의 최대 허용한계치를 정하여 산가수분해된 당의 혼입을 방지하여왔다. 현재 우리나라의 규격기준에는

40mg/100g 으로 제정되어있으며 분석된 대부분의 시료에서 HMF의 함량은 20mg/100g 이하의 수준이었다. 따라서 실제적인 품질판정기준의 지표로 보기에는 다소 부적절한 것으로 사료되었다.

5) 이성화당

박층크로마토그래프에 의한 이성화당 혼입여부의 검출가능성을 추적하기 위하여 순수한 벌꿀에 이성화당을 각각 1%, 2%, 3%, 5% 10% 및 15% 를 첨가하여 분석한 결과 10%이상의 이성화당이 혼입된 처리구에서 부터 확실히 발색되는 흔적을 볼 수 있었으며 그 이하의 첨가량에 대한 처리구에서는 각각의 흔적에 나타난 색깔에 대한 채도의 차이가 그다지 크지 못하였다.

박층크로마토그래프에 의한 벌꿀중의 이성화당 검출법은 이성화당 자체를 분석하는 것이 아니고 전분을 분해하여 이성화당을 생성하는 과정에서 미처 분해되지 못한 higher oligosaccharides 를 검출하는 방법으로 이와같은 방법에 의해서 higher oligosaccharides는 비교적 효율적으로 검출이 가능하다. 따라서 이와같은 방법으로는 다량의 이성화당이 벌꿀에 직접 혼합된 경우에만 적용이 가능할 것으로 생각된다.

그러나 이와같은 이성화당을 꿀에 직접 혼입하지 않고 벌에 급여하여 벌이 이를 먹고 벌집에 저장하며 계속적으로 발효 시킬 때에도 혼입된 이성화당으로부터 영입된 Oligosaccharides 가 그대로 존재하는지의 여부가 확실히 규명되지않아 이와같은 방법을 이성화당 혼입여부의 판별에 대한 객관적인 판단지표로 사용하는 데에는 다소 부적합한 것으로 사료된다.

6) 당의 조성

수집된 꿀의 당조성은 표 6과 같다. 순수한 아카시아꿀, 유채꿀 그리고 시중에 유통되고있는 시판꿀의 당조성은 그다지 큰 차이가 없이 fructose 가 35~52%, glucose 22~40%, sucrose 가 0.3~6% 로 벌꿀 시료별로 조성비가 일정치 못하고 차이가 크게 나타났으며 시판되는 꿀의 당조성도 순수한 꿀과 같이 조성비가 일정한 경향을 나타내지 못하며 전체적인 범위에서만 비슷한 수치를 나타내어 일관성이 없었다. 아카시아꿀과 유채꿀에서 fructose 의 함량 범위는 그다지 커다란 차이를 나타내지 않았으나 glucose 의 경우에는 아카시아꿀

이 유채꿀보다 훨씬 적은 함량을 나타내어 아카시아꿀이 25~32% 인 반면 유채 꿀에는 31~41% 로 유채꿀에서 glucose의 함량이 일반적으로 높게 나타났다.

그러나 전화당의 경우에 fructose 와 sucrose 의 함량은 꿀보다 약간 높게 나타났지만 glucose 의 경우에는 48% 정도로 28%~34% 인 꿀보다 매우 높게 분석되었다. 이러한 현상은 oligosaccharides 의 경우에도 비슷하여 2.1% 로 꿀에서의 trace 보다 상당량이 많은 것을 알 수있었다. 그러나 전화당이 혼입되었을 때 이러한 정도의 차이만으로는 전화당의 혼입여부를 판별하는 것은 불가능할 것으로 생각된다. 따라서 이러한 당조성의 분석으로는 과량으로 꿀에 직접 첨가된 sucrose 나 물엿의 혼입을 검출하는 데에는 적용이 가능하리라 생각된다.

표 6 - 꿀과 전화당의 당조성

시 료	평균치, %	std. dev.	범 위
아카시아꿀			
fructose	44.3	2.07	35.7 ~ 50.2
glucose	28.6	3.03	25.7 ~ 31.9
sucrose	3.8	0.95	3.2 ~ 6.1
유채꿀			
fructose	40.7	1.97	36.6 ~ 44.5
glucose	34.8	2.12	31.3 ~ 40.9
sucrose	1.3	1.05	0.3 ~ 1.9
전화당			
fructose	45.4		
glucose	48.3		
sucrose	4.3		
oligosaccharide	2.1		
시판꿀			
fructose	41.7		37.3 ~ 52.0
glucose	29.1		22.0 ~ 40.7
sucrose	1.7		0.2 ~ 7.5

Percival⁽⁴¹⁾ 의 연구에 의하면 일반적으로 꽃의 nectar에는 glucose, fructose 와 sucrose 가 들어있으며 이들 당의 조성비는 식물체내에서 당의 분해경로에 따라 다르지만 동일한 종의 식물체에서는 조성비가 일정한 것을 발견하였다. 식물체는 sucrose 의 함량이 높은 부류, glucose 및 fructose 와 sucrose 의 함량이 동일한 부류 그리고 glucose 와 fructose 의 함량이 많은 부류등의 세가지로 대별된다고 보고하였다. Sucrose 가 많은 부류의 식물은 꽃이 대롱처럼 길고 꿀샘이 깊이 들어가 있는 형태의 식물군이며 꽃잎이 탁 트인

꽃에는 일반적으로 glucose 와 fructose만 함유되어있는 것을 발견하였다.

한편 Maurizio 의 연구에 의하면 꽃의 꽃잎에서 glucose 에 대한 fructose 의 비율은 2~28 배로 fructose 의 함량이 월등히 많았으며 glucose의 함량이 많은 꽃은 단지 민들레, 유채, 배 등 극히 드문 것으로 보고되었다. 또한 벌들은 glucose 및 fructose 와 sucrose 의 함량이 동일한 꽃잎을 더욱 선호하는 것으로 밝혀졌다. 따라서 벌들은 sucrose 의 함량이 많은 alfalfa 꽃잎보다 이들 세가지의 당이 적절한 비율로 혼합된 토끼풀의 꽃잎을 더욱 좋아하는 것이다.

꽃잎에서 총당의 함량은 식물의 종이나 기후에 따라 매우 큰 차이를 나타내지만 일반적으로 20 ~ 40 % 의 수준이다. 그러나 때로는 매우 높은 경우도 있어 Kleinschmidt 등의 보고에 의하면 Wyoming 에서 재배된 alfalfa 의 꽃잎에서 81 % 까지 분석된 보고도 있으나 이와같은 경우는 낮은 상대습도에 의한 것으로 생각된다.

7) 탄소동위원소비율:

최근에는 질량분석 기기의 눈부신 발달은 동위원소를 이용한 과학분야의 질과 심도를 급격히 확장시켜왔다. 동위원소 분석방법에 있어서의 감도와 정밀도가 향상됨에 따라서 동위원소 연구의 응용범위는 더욱 넓어져서 물질의 기원 및 생성환경을 연구하는 과학자들에게는 동위원소가 강력하고 효과적인 연구수단으로 자리 잡게 되었으며⁵¹⁻⁵³⁾ 최근에는 벌꿀의 품질평가에 이용되기 시작하였다⁵⁴⁻⁵⁶⁾.

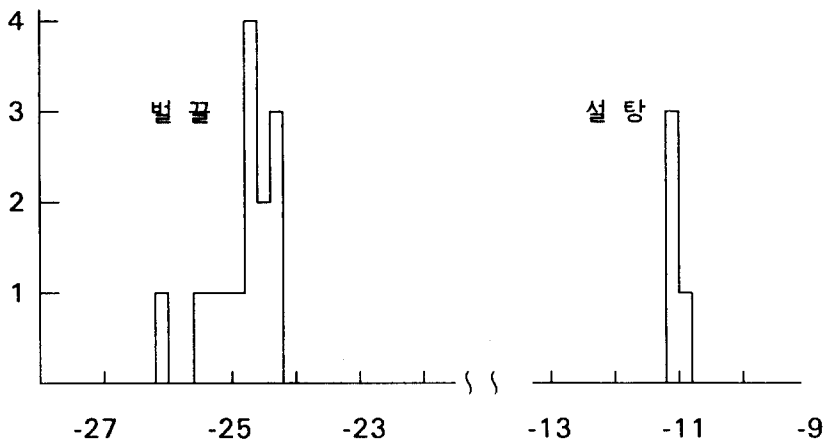
동위원소비율의 측정은 시료로부터 동위원소들의 절대함량비를 측정하는 것이 가능하지만 실험상의 번거로움이 있고 실제 응용상의 측면에서 볼때 절대값보다는 표준시료를 기준으로한 상대값이 더욱 편리하기 때문에 자연계에 존재하는 안정동위원소들의 함량비를 국제 표준시료와의 비교값인 델타값으로 다음과 같은 식에 의해서 표시한다.

$$\delta^{13C} = \left[\frac{(^{13}C/^{12}C)_{\text{sample}} - (^{13}C/^{12}C)_{\text{PDB}}}{(^{13}C/^{12}C)_{\text{PDB}}} \right] \times 1000$$

꿀 및 증량제의 탄소동위원소비율 ($\delta^{13}\text{C}$, 0/00)

종 류	평 균	범 위
아카시아꿀	-24.754	-24.225 ~ -26.152
유 채 꿀	-26.796	-26.464 ~ -27.082
실 탕	-11.136	
물 엿	- 9.859	-9.709 ~ -10.009
고과당시럽	-10.254	-9.935 ~ -10.568

한편 본실험에서는 순수한 우리나라 아카시아꿀의 탄소동위원소 비율을 분석한 결과 $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 값이 평균 -24.754 o/oo 이었으며 측정치의 범위는 -24.225 ~ -26.152 o/oo 로 매우 일정한 수치를 나타내었고 유채꿀의 분석 결과에서도 평균 $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 값이 -26.794 o/oo로 아카시아 꿀보다 다소 낮게 나타났으며 측정치의 범위 또한 -26.464 ~ -27.082 o/oo로 일반적으로 아카시아 꿀보다 낮게 분석되었다.



우리나라 꿀과 설탕의 $\delta^{13}\text{C}$ 분포도

이와같은 결과는 이미 발표된 기존 문헌에서 보고된 바와같이 후추, 미국니사 나무, 수지나무, 샬비어, 콩, 알팔파, 스위트 클로바, gallberry, star thistle, titi, 토끼풀, 튜립, 목화, firewood, 종려나무, 메밀, blackberry, 오렌지, 위성류, 람피나무, 등 각종 식물체로 부터 채집된 꿀의 $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 값인 -23.4 ~ -26.4 o/oo 와 일치하였다. 따라서 채집된 꿀은 순수한 것으로 생각되며 증량제로 흔히 사용되는 설탕은 백설탕과 황설탕의 차이가 없이 모두 -11.14 o/oo 이었다. 한편 물엿과 전화당의 경우에는 설탕보다 다소 높아 각각 -10.0 ~ -9.7 이었으며 전화당의 경우 -10.6 ~ -9.9 로 분석되었다.

이와같은 동위원소의 비율은 이들이 어떠한 물리적 화학적 또는 생물학적 처리에도 불구하고 변함이 없다. 따라서 꿀에 이와같은 증량제가 혼입될 경우 증량제의 혼입량에 따라서 동위원소비율은 일차원적인 함수관계를 갖게되며 증량제의 함량이 증가할 수록 수치는 점점 높아지어 극단적으로는 증량제 자신의 비율인 -10 o/oo 까지 이동하게 된다.

벌은 낮에 꽃으로 부터 꿀을 채취하여 일단 아랫쪽의 벌집에 임시 저장한 다음 밤에 다시 이를 먹고 윗쪽의 벌집에 토해내며 날개로 바람을 부쳐 건조하는 동작을 반복적으로 계속하여 일정한 수분함량 이하로 탈수가 되면 밀봉한다. 따라서 전화당이나 설탕이 벌에 직접 급여될 경우 벌의 소화효소에 의해서 fructose 와 glucose 로 전화되거나 벌에 의해서 탈수 및 이동 저장등의 숙성과정을 거치는 동안 다당류가 분해되어 박층크로마토그래프로 분석할 경우에 박층상에 다당류의 반점이 나타나지 않을 가능성도 배제할 수없다. 그러나 비록 이러한 경우에도 동위원소분석을 통하여 이를 손쉽게 검출할 수 있으므로 동위원소 분석법이 벌꿀의 품질평가에 가장 신빙성이있고 정확한 방법으로 생각된다.

4. 결론

현재 우리나라의 벌꿀 규격기준에 의하면 정상, 수분, 회분, 산도, 전화당, 자당, HMF, 타알색소, 인공감미료, 이성화당 등의 규격기준이 있으나 이들 각각의 방법은 벌꿀의 품질평가에 그다지 신빙성이있는 판단 자료를 제공하지 못하는 것을 알수있다. 실제적으로 본실험에서 순수한 벌꿀과 인위적으로 조제한 꿀 그리고 시판되는 꿀에 대한 분석을 수행한 결과 TLC 에 의해 이성화당을 검출하는 방법 이외에는 실질적으로 꿀의 품질평가에 도움을 줄 수 있는 항목은 없다고 해도 과언이 아니었다.

꿀에서 수분함량에 대한 규제는 미국 FDA 가 25% 까지 허용하고 있는 반면 우리나라와 Codex 의 규격에서는 21% 이하로 규정하고 있다. 그러나 꿀의 수분함량은 계절적인 요인이 개재되며 또한 채집된 꿀이 벌에의해서 탈수되는 과정을 거치기 전에 채밀하는 것이 대부분이기 때문에 수분의 함량이 다소 높게되는 경우가 허다하며 실제적으로 꿀에 혼합되는 물엿이나 HFCS의 수분함량이 꿀의 그것보다 오히려 낮은 경우가 많았다.

수집된 순수한 꿀의 회분함량은 0.1 ~ 0.3% 이었으며 액상과당의경우에

는 이보다 더욱 낮았고 수집된 일반꿀의 경우에도 무기질의 함량은 일정한 값을 나타내지 못하였다. 또한 몇몇 연구자들에 의해 제안된 $Na/K \times 10^3$ 비교치도 실질적인 적용 가능성이 희박한 방법이었다.

본실험에서 분석된 순수한 꿀과 일반꿀에서 산도는 기준치보다 훨씬 낮은 수치를 나타냈으며 뿐만 아니라 당류에서의 산도는 더욱 낮아 이와같은 결과로는 실제적으로 산도의 제한이 꿀의 품질을 보증하는데 무의미한 규제로 생각되었다.

표 14 - 벌꿀의 규격 기준

시험항목	규격 기준
성상	고유의 색택과 향미를 가지고 점조성이 있어야한다
수분 (%)	21.0이하
회분 (%)	0.6이하
산도 (meq/kg)	40.0이하
전화당 (%)	65.0이상
자당 (%)	7.0이하
HMF시험 (mg/kg)	40이하
타알색소	검출되어서는 아니된다.
인공감미료	검출되어서는 아니된다
이성화당	음성이어야한다

한편 과량의 HMF가 분리될 경우에 전화당의 혼입을 의심할 수는 있으나 때로는 꿀의 결정화와 발효의 증진을 위해서 꿀을 가열하는 경우도 있어 이러한 경우에 HMF의 함량이 증가하며 뿐만아니라 꿀을 장기저장할때에도 HMF가 생성되므로 이러한 견지에서 볼때 실제적으로 HMF의 규제 만으로 전화당의 혼입여부를 단정하는 것은 불합리하여 이에 대한 재검토가 필요할 것으로 생각되며 많은 나라에서 HMF는 꿀의 과도한 가열에 대한 지표로 이용이 되고 있다.

한편 박층크로마토그래프에 의한 벌꿀중의 이성화당 검출법은 이성화당 자체를 분석하는 것이 아니고 전분을 분해하여 이성화당을 생성하는 과정에서 미처 분해되지 못한 higher oligosaccharides를 검출하는 방법으로 이와같은 방법에 의해서 higher oligosaccharides는 비교적 효율적으로 검출이 가능하여 따라서 이와같은 방법으로는 다량의 이성화당이 벌꿀에 직접 혼합된 경우에만 적용이 가능할 것으로 생각된다. 그러나 이와같은 이성화당을 꿀에 직접 혼입하지 않고 벌

에 급여하여 벌이 이를 먹고 벌집에 저장하며 계속적으로 발효 시킬 때에도 혼입된 이성화당으로부터 영입된 Oligosaccharides 가 그대로 존재하는지의 여부가 확실히 규명되지 않아 이와같은 방법을 이성화당 혼입여부의 판별에 대한 객관적인 판단지표로 사용하는 데에는 다소 부적합한 것으로 사료된다.

벌꿀은 시료별로 당의 조성비가 일정치 못하고 차이가 크게 나타났으며 시판되는 꿀의 당조성도 순수한 꿀과 같이 조성비가 일정한 경향을 나타내지 못하며 전체적인 범위에서만 순수한 꿀과 시판되는 꿀 사이에 뚜렷한 차이가 없었다. 아카시아꿀과 유채꿀에서 fructose 의 함량 범위는 그다지 커다란 차이를 나타내지 않았으나 glucose 의 경우에는 아카시아꿀이 유채꿀보다 훨씬 적은 함량을 나타내었다. 전화당의 경우에 fructose 와 sucrose 의 함량은 꿀보다 약간 높게 나타났지만 glucose 의 경우에는 꿀보다 매우 높게 분석되었다. 그러나 전화당이 혼입되었을 때 이러한 정도의 차이만으로는 전화당의 혼입여부를 판별하는 것은 불가능할 것으로 생각되며 벌에게 직접 주입하여 채취된 꿀의 경우에는 더욱 검출이 불가능하게 된다. 그러나 이러한 당조성의 분석으로 꿀에 직접 과량 첨가된 sucrose 나 물엿의 혼입을 검출하는 데에는 적용이 가능하리라 생각된다.

본연구에서 도입된 동위원소분석법은 동위원소의 비율이 어떠한 물리적 화학적 또는 생물학적 처리에도 불구하고 변함이 없어 시료의 행적에 대한 아무 제약이 없이 일관성 있게 적용할 수 있다는 것이 커다란 장점이다. 따라서 꿀에 증량제가 혼입될 경우 증량제의 혼입량에 따라서 동위원소비율은 일차원적인 함수관계의 비례 관계를 갖게되며 증량제의 함량이 증가할 수록 수치는 점점 높아지어 극단적으로는 증량제 자신의 비율까지 증가하게 된다.

벌은 낮에 꽃으로 부터 꿀을 채취하여 일단 아래쪽의 벌집에 이를 임시저장한 다음 밤에 이를 날개로 바람을 부쳐 건조하며 다시 위로 이동시키는 동작을 계속하여 일정한 수분함량 이하로 탈수가 되면 밀봉한다. 따라서 전화당이나 설탕이 벌에 직접 급여될 경우 벌의 소화효소에 의해서 fructose 와 glucose 로 전화되거나 벌에 의해서 탈수 및 이동 저장등의 숙성과정을 거치는 동안 다당류가 분해되어 박층크로마토그래프로 분석할 경우에 박층상에 다당류의 반점이 나타나지 않을 가능성도 배제할 수 없다. 그러나 비록 이러한 경우에도 동위원소분석을 통하여 이를 손쉽게 검출할 수 있으므로 동위원소 분석법이 벌꿀의 품질평가에 가장 신빙성이있고 정확한 방법으로 생각된다.

정확한 벌꿀의 품질평가는 비단 우리나라 내부의 문제에만 국한된 것이아니고

앞으로 UR협상의 타결시 막대한 양의 꿀이 수입될 것으로 예상이 되므로 이러한 경우에도 적용될 수 있도록 정밀성, 정확성 및 재현성과 신뢰도가 높은 방법이 적용되어야 하겠다. 따라서 이상의 결과를 볼때에 동위원소 분석법은 현재 적용되고 있는 모든 평가방법보다도 우수한 방법이므로 이방법을 식품의 규격기준, 식품표준화제도 그리고 전통식품 상징표지 표시제도 등에 도입하여 운영하는 것이 바람직하다.

이와같은 제도의 정착으로 우리나라의 대표적 불신 식품으로 알려진 불량 벌꿀의 유통을 근절 함으로써 순수한 천연 벌꿀의 공급에 따른 소비자와 양봉업 농가를 제도적으로 보호할 수있는 제도적 장치가 마련되어야 할 것이다.