

복분자 추출액 급이 사양꿀과 일부 시판꿀의 항산화활성 비교

오 혜숙
상지대학교 식품영양학과

Comparison of Some Antioxidative Activities of Feeding Honey from the Mixture of Extract of *Rubus Coreanus* Miquel and Sugar with Three Types of Honeys on the Market

Oh, Hae Sook
Dept. of Food and Nutrition, Sangji University, Kangwon-do, Korea

ABSTRACT

To make sure of the usefulness of extract of *Rubus coreanus* Miquel for producing functional feeding honey, we compared some antioxidative indicators of feeding honey using extract of *Rubus coreanus* Miquel with acacia honey, SueBee Clover honey(USA), feeding honey on the market. The water content of four honeys were 16.6~26.5%, pH were 3.18~3.70, and titratable acidity ranged 0.018~0.022%. The phenolic compound contents of SueBee Clover honey and feeding honey using extract of *Rubus coreanus* Miquel were 8.3 mg/100 g and 7.3 mg/100 g, respectively, and were significantly higher than acacia honey and feeding honey on the market. The flavonoid contents per 100 g of honey ranged from 2.3 mg(acacia honey) to 15.0 mg(SueBee Clover honey). DPPH anion scavenging activity of four honeys were not high. 0.5~2.0 g/ml of feeding honey using extract of *Rubus coreanus* Miquel was 16~36% and showed a concentration-reliant figure. At the concentration of 0.25~0.75 mg/ml, the reducing power of four honeys increased concentration-dependently, and the power of 0.25 mg/ml of feeding honey using extract of *Rubus coreanus* Miquel was corresponding to that of 150 µg/ml of a vitamin C solution. ABTS radical scavenging activity of feeding honey using extract of *Rubus coreanus* Miquel was 43.3~68.4%; the highest activity amongst all samples. When plotting the dose-response curve, ABTS radical scavenging activity also increased as their concentration increased from 62.5 mg/ml to 500 mg/ml. The heat treatment reduced the phenolic compound contents of acacia honey and feeding honey using extract of *Rubus coreanus*

이 논문은 2007년도 상지대학교 교내연구비 지원에 의한 것임.

접수일: 2010년 11월 8일 심사일: 2010년 11월 12일 게재확정일: 2010년 12월 17일

Corresponding Author: Oh, Hae Sook Tel: 82-33-730-0498 Fax: 82-33-738-7652
e-mail: hsoh@sangji.ac.kr

DPPH anion scavenging activity of feeding honey on the market and feeding honey using extract of *Rubus coreanus* Miquel did not changed significantly after heating for 20 min, and the three honey except SueBee Clover honey maintained the reducing power with the same treatment.

Key words: feeding honey using extract of *Rubus coreanus* Miquel, DPPH anion scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, reducing power, dose-response curve.

I. 서론

꿀은 인류가 가장 오래 전부터 이용해 온 천연감미료이며, 의학이 발달하기 이전에는 치료제로도 널리 이용되어 왔다. 옛날 우리 조상들은 주로 위장장애, 기침, 산후 부종, 마른 벼침이나 동상, 화상 등의 피부질환과 변비증 치료 및 조혈작용 등에 주로 민간 치료제로 사용하였으며 (안덕균 1996; 서울대학교 천연물과학연구소 문현정보학연구실 편 2003), 기원전 2500년경에 쓰여진 이집트의 의학서 스미스 파피루스에는 꿀의 900가지 요법이 소개되어 있다(박명윤 2004).

꿀 생산량은 꿀벌의 활력과 개화 정도에 따라 영향을 받으며, 밀원이 충분히 확보된 상태에서 도 기후 조건, 농약의 과다 사용 및 전자파 등은 꿀 생산량에 영향을 주는 2차적 요소로 작용한다. 사양벌꿀은 꽃꿀과 달리 벌에게 주로 설탕을 급이하여 생산한 것으로, 섭취된 설탕은 꿀벌 태액 중의 전화효소에 의해 포도당과 과당으로 전환되어 식약청에서 고시한 식품 규격기준에 적합한 꿀이 생성된다. 사양꿀은 토종꿀에 비해 가격이 저렴하고, 꿀 특유의 냄새가 약하여 다른 식품재료와의 혼합이 용이하다는 것이 장점이 될 수 있다.

최근 건강에 대한 관심이 증가함에 따라 식품산업계에서는 기본 먹거리인 쌀에서부터 완제품에 이르기까지 특정 생리활성이 강한 식재료나 성분을 첨가하고 있다. 사양벌꿀 제조 시에도 이런 개념을 도입하여 꿀의 생리활성을 증가시키려는 연구들이 이루어지고 있다. 이에는 진세노사이드를 꿀벌 장내 효소의 작용으로 compound-K로 전환시켜 항암, 항비만 기능성 식품소재로 개발하는 것(전국대학교 산학협력단 2008)과 설탕

류·물·알부민·효소·비타민·소금·알파대두분 등의 혼합물 농축액을 이용한 꿀벌용 액당 사료를 제조 방법(김주인 2001), 프로폴리스 추출물·복분자·해양심층수 혹은 고로쇠물·벌꿀 등을 이용한 기능성 벌꿀 제조(유희철 2008) 등이 속한다.

암과 심혈관계 질환은 우리나라 주요 질병이며 사망원인으로, 활성산소의 공격성을 막아내지 못하여 나타나는 현상이다(신동화 1997). 생체 내에서는 활동에 필요한 에너지를 얻기 위하여 끊임없이 산화과정이 이루어지고 있으며, 이때 유리기의 생성과 소멸의 균형이 깨지게 되면 각종 암, 심장병, 파킨스씨병, 알츠하이머성 치매, 류마티스성 관절염 등 각종 질병이 발생하게 된다.

항산화능이란 산화를 억제하고 체내 free radical을 제거하는 능력으로 노화억제와 암을 예방할 수 있다. 과일과 채소류는 각종 암의 발생을 예방할 수 있는 대표적인 식품으로 이는 이를 식품 중에 풍부한 비타민 C와 E 등 항산화 비타민과 폴리페놀E 합물, 플라보노이드 등의 성분에 기인하는 것이다(Lee et al. 2003). 복분자 딸기에는 열매의 성숙도와 추출 용매의 종류에 따라 차이가 있으나 폴리페놀 화합물과 플라보노이드 함량이 건조 중량 100g 당 각각 3.95~5.87 g과 3.76~5.83 g 함유되어 있으며, 모과, 밤 속껍질, 감잎 등에 비교할 만한 정도로 높다고 한다(Cha et al. 2001). 복분자에 함유되어 있는 생리활성물질로는 gallic acid, 2,3-(S)-HHDP-D-glucopyranose, sinigrin 등이 규명되었(LePang et al.), 관능적으로도 우수하여 건강식품 개발 시 기능성 소재로 사용될 수 있다. 복분자 칵즙액과 그 잔사의 ethylacetate 가용산성획분 중에서 DPPH (1-1, -diphenyl 1,2-picrylhydrazyl) radical 소거능이 강한 성분들이 검출 및 확인되었는데, 즉, 칵즙액 중에

서는 4-hydroxybenzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid, 3,4-dihydroxycinnamic acid가, 잔사의 분획 중에서는 succinic acid, citric acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid, 3,4-dihydroxycinnamic acid 등이 확인되었으며, 이 대표모두 DPPH radical 소거능과 malonaldehyde 생성 억제능을 나타내었다(Yoon et al. 2002).

본 연구는 사양벌꿀 제조 시 상품성이 떨어지는 과일류 착즙액을 사용함으로써 과일 중의 항산화물질이 벌꿀 중에 함유되는지를 확인하기 위한 연구의 일환으로, 기능성이 잘 알려진 복분자즙을 이용하여 사양벌꿀을 제조하고 다른 종류의 꿀과 항산화활성을 비교하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료 및 시약

복분자 사양꿀은 강원도 원주지역에서 생산·판매되고 있는 기주네 벌꿀(홍업, 원주)에서 제공 받아 냉장보관하면서 실험에 사용하였다. 복분자 사양꿀을 제조하기 위한 꿀벌의 급이는 복분자즙과 설탕, 물을 1:12:10의 비율로 혼합하였으며, 꽃꿀 채집이 끝나는 2009년 6월에서 8월 사이에 채취하였다. 복분자 사양꿀의 항산화활성의 우수성은 시중에서 판매되고 있는 아카시아꿀(강원 Y농협), SueBee Clover Honey(USA), 일반 사양꿀(종근당 건강)과 비교하였다. 생리활성 측정에 사용한 Folin 시약, (+)-catechin, diethylene glycol, naringin, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH라 함) 등은 Sima사 제품을, 나머지 시약은 특급시약을 사용하였다.

2. 시료의 열처리

식품의 조리·가공과정에는 대부분 열처리 과정이 포함되기 때문에 열처리의 영향을 확인하기 위하여 시료를 100°C에서 5, 10, 15, 20분간 가열 처리하여 폴리페놀 화합물과 플라보노이드 함량을 측정하였다. 또한 농도의존적이었던 DPPH radical 소거능은 활성이 가장 강하였던 2.0 g/ml 농도를, 환원력은 흡광도가 2.0을 넘지 않으면서

가장 높았던 0.5 g/ml 농도를 이용하여 열처리하였다.

3. 실험방법

1) 수분함량 측정

복분자 사양꿀의 수분함량은 수분측정기(IR-30, Denver Instrument, USA)를 이용하여 측정하였다.

2) pH 측정

시료 2 g을 증류수 20 mL에 넣고 3분간 homogenizer(1,000 rpm, GTR-1000, Eyela Co., Japan)로 균질화한 다음 pH meter(TP-93, Tokyo Chemical Laboratories Co. Ltd., Japan)로 측정하였다.

3) 유기산 산도

시료 일정량에 10배 분량의 증류수를 넣고 균질화한 후 0.1 N NaOH 용액으로 적정하고 아래의 식에 의하여 lactic acid 함량으로 산출하였다.

$$\text{Lactic acid}(\%) = [(mL \text{ of } 0.1 \text{ N NaOH} \times 0.009) / \text{weight of sample(g)}] \times 100$$

4) 항산화활성 측정

가) polyphenol 화합물 함량

Polyphenol 화합물 함량은 Folin-Danis법(Nakabayashi 1968)을 사용하였다. 즉, 일정 농도로 회석된 시료 0.2 mL에 증류수 1.8 mL와 Folin-Ciocalteu's phenol 시약 0.2 mL를 가하여 잘 혼합한 후 실온에서 3분간 방치하였다. 여기에 Na₂CO₃ 포화용액 0.4 mL를 넣어 혼합하고 1.4 mL의 증류수를 가하여 실온에서 1시간 동안 반응시킨 다음 725 nm에서 흡광도(UV-1201, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 측정하였다. Polyphenol 화합물 함량은 0, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL 농도의 caffeic acid 용액을 위와 동일한 방법으로 처리하여 표준곡선을 작성하고, 시료 100 g 중의 mg caffeic acid로 산출하였다.

나) Flavonoid 함량

Flavonoid 함량은 Diethylene glycol 비색법(NFRI 1990)에 의하여 일정 농도로 희석한 시료 1 mL에 diethylene glycerol 10 mL과 1 N NaOH 1 mL을 차례로 가하고 37°C에서 1시간 반응시킨 다음, 420 nm에서 흡광도(UV-1201, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 측정하였으며, 이때 naringin을 표준물질로 이용하였다.

다) DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Blois(1958)와 Kim 등(1997)의 방법에 의하여 실시하였다. 즉, 시료 희석액 0.4 mL에 1×10^{-4} M의 DPPH ethanol 용액 5.6 mL를 가하여 4분간 반응시키고 여과한 다음, 총 반응시간이 10분이 되면 525 nm에서 흡광도(UV-1201, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 측정하여 다음 식에 의해 산출하였다.

$$\text{전자공여능} = \{1 - (\text{O.D.}_{\text{sample}} / \text{O.D.}_{\text{d-water}})\} \times 100$$

라) 환원력 측정

꿀의 환원력은 Oyaizu 등(1986)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 각 농도별로 제조한 시료 1 mL에 인산 완충액(200 mM, pH 6.6)과 1% potassium ferricyanide를 1 mL씩 차례로 가하여 섞은 후 50°C에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA 용액 1 mL를 가하고 2,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 얻은 상정액 2 mL에 중류수 1 mL와 0.1% ferric chloride 1 mL를 혼합한 후 700 nm에서 흡광도(UV-1201, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 측정하여 비타민 C 용액의 환원력과 비교하였다. 비타민 C 용액의 환원력은 농도가 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 mg/ml로 증가함에 따라 0.30, 0.58, 0.87 및 1.04로 거의 직선적으로 증가하였다(Fig. 1).

마) ABTS 라디칼 소거활성 측정

ABTS 라디칼 소거활성은 2,2'-azino-bis(3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonate)(ABTS) cation decolorization assay 방법(Re et al. 1999)을 이용하였다. 즉, ABTS 7.4 mM과 potassium persulfate 2.6 mM을 12~16시간 암소에 방치하여 ABTS \cdot^+ 이온을 형성

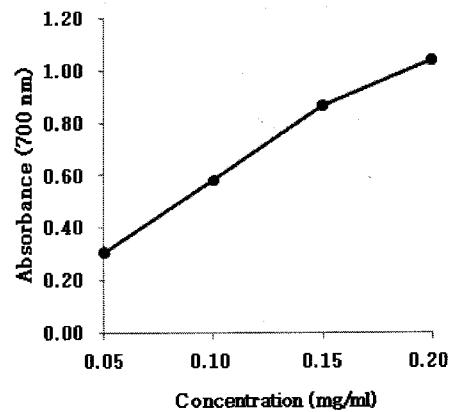


Fig. 1. Reducing power of vitamin C solution

시킨 후 이 용액을 734 nm에서 흡광도(UV-1201, Shimadzu Co., Kyoto, Japan) 값이 0.7이 되도록 중류수서 흡광하였다. 흡광된 ABTS 용액 1 mL에 시료 500 μ L을 가하여 실온에서 10분간 반응시켜 흡광도의 변화를 분광광도계(GE12ealthccce, Pischaway 캠이 J 캠이 USA)로 측정하였고 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

5) 통계처리

실험결과는 평균과 표준편차로 표시하였으며, SPSS 프로그램(Version 17.0, SPSS, Chicago, IL, USA)을 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였고, 각 측정 평균값 간의 유의성은 던컨의 다중 범위시험법으로 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 꿀의 수분함량, pH 및 적정산도

Table 1에서 확인할 수 있는 바와 같이 4종류 꿀의 수분함량은 SueBee Clover 꿀의 경우 16.6%로 가장 낮았으며, 아카시야 꿀과 시판 사양꿀은 각각 23.0%와 24.2%였고, 복분자 사양꿀은 26.5%로 가장 높았다($p < 0.01$). 꿀의 성분 조성은 꿀의 종류에 따라 차이가 비교적 큰 편으로, 농촌진흥청에서 발간한 식품성분표에 의하면 수분함량은 14.3~24.2%, 단백질 0~0.5 g, 당질 75.8~85.4 g, 칼슘 0~3 mg, 인 0~5 mg, 철분 0~0.5 mg, 비타민

Table 1. Water content, pH and acidity of several honeys

Honeys	Water content (%)	pH	Titratable acidity(%)
Acacia honey	23.0±0.1 ^b	3.22	0.018
SueBee Clover Honey	16.6±1.9 ^c	3.39	0.018
Feeding honey on market	24.4±2.2 ^b	3.18	0.013
Feeding honey using extract of <i>Rubus coreanus</i> Miquel	26.5±1.7 ^a	3.70	0.022
F-value	7.9**		

¹⁾Results are expressed by mean±SD of triplicates.

^{a-c} Same lettered superscripts in a column are not significantly different.

** p<0.01

B₁ 0.01~0.02 mg, 비타민 B₂ 0.01~0.03mg, 나이아신 0.2~1.3 mg, 비타민 C 0~4 mg이다(농촌진흥청·농촌생활연구소 2001).

꿀의 pH는 시판되는 사양꿀이 3.18로 가장 낮았으며, 아카시아 꿀 3.22, SueBee Clover 꿀 3.39, 그리고 복분자 사양꿀 3.70 순으로 높았다. Oh 등(2006)은 봉군관리 시 액상여이를 조제함에 있어 설탕을 용해하는 액체로 물 대신 녹차, 매실, 밤꽃 추출액을 사용하여 사양꿀을 제조하고 그들의 pH를 측정한 결과 무급이 꿀의 pH는 3.86이었고, 각 추출액을 급이한 사양꿀의 pH는 4.05, 3.96, 4.25로 본 실험의 시료들보다 대체적으로 높았다.

젖산 함량으로 산출한 적정산도는 pH와는 다른 양상을 보였는데, pH가 가장 낮았던 시판 사양꿀이 0.013%로 가장 낮았으며, 아카시아 꿀과 SueBee Clover 꿀이 0.018%였고, pH가 가장 높았던 복분자 꿀이 0.022%로 가장 높았다.

꿀의 유기산은 매우 소량이지만 꿀의 풍미와 물리화학적 특성에 중요한 영향을 미친다(Mato et al. 2006). 꿀의 주요 유기산은 gluconic acid로 glucose oxidase에 의해 꿀이 숙성되는 동안에 지속적으로 생성되며(White 1962), Strinson 등(1960)은 꿀의 유기산 조성 및 함량은 꽂꿀이 꿀로 전환되는 환경, 꽂꿀의 당농도 및 glucose oxidase 활성도에 의해 영향을 받는다고 하였다.

2. 꿀의 폐놀화합물과 플라보노이드 함량

꿀의 색이 진하거나 검을수록 항산화물질의 함량이 더 많고 항산화력이 크며(Taomina et al. 2001; 안목련 등 2003), 이는 플라보노이드 성분과 관련이 있다고 한다(안목련 등 2003). 윤광로(2003)는 우리나라에서 생산되는 꿀 중 밤꿀의 폐놀화합물 함량이 아카시아꿀이나 잡화꿀에 비해 3배 이상 높다고 하였다

4종 꿀 중에 함유된 폐놀화합물과 플라보노이드 함량은 Table 2에 나타내었다. 대표적인 파이토케미칼 성분인 폐놀화합물과 플라보노이드 함량은 시판되는 SueBee Clover 꿀과 복분자 사양꿀에서 시판 아카시아 꿀과 사양꿀보다 유의적으로 높았다. 복분자 사양꿀 100g 당 폐놀화합물 함량은 7.3 mg으로 SueBee Clover 꿀(8.3 mg)과 유의적 차이가 없었으며, 아카시아 꿀(2.7 mg)의 2.7배와 시판 사양꿀(2.3 mg)의 3.2배에 해당하는 높은 양이었다(p<0.01). 플라보노이드 함유량은 SueBee Clover 꿀이 15.0 mg/100 g으로 가장 높았으며, 복분자 사양꿀은 SueBee Clover 꿀의 42.7% 정도로 낮았으며, 아카시아꿀과 일반 사양꿀은 2.3~2.7 mg/100 g으로 매우 낮았다(p<0.001).

Oh 등(2006)의 연구결과에 의하면 설탕의 용매제로 녹차와 밤꽃, 매실 추출액을 사용하여 사

Table 2. Total polyphenol and flavonoid content of several honeys

Honeys	Phenolic compound content (mg/100 g)	Flavonoid content (mg/100 g)
Acacia honey	2.7±0.3 ^b	2.3±0.1 ^c
SueBee Clover honey	8.3±0.7 ^a	15.0±0.8 ^a
Feeding honey on market	2.3±0.1 ^b	2.7±0.1 ^c
Feeding honey using extract of <i>Rubus coreanus</i> Miquel	7.3±0.4 ^a	6.4±0.4 ^b
F-value	6.9**	468.1***

¹⁾Results are expressed by mean±SD of triplicates.

^{a-c} Same lettered superscripts in a column are not significantly different.

** p<0.01, *** p<0.001

양꿀을 제조하였을 때 폐놀화합물 함량은 각각 1.59 mg/g, 2.26 mg/g 및 0.94 mg/g으로 무급이 꿀의 0.44 mg/g 보다 높았고, 플라보노이드 함량은 무급이 꿀 24.7 μg/g, 녹차 추출액 사양꿀에 56.2 μg/g, 밤꽃 추출액 사양꿀에 32.5 μg/g, 매실 추출액 사양꿀에 25.7 μg/g이 함유된 것으로 보고되었다.

3. 꿀의 농도의존성 항산화활성

DPPH 라디칼 소거능은 4종 모두 높지 않은 편이었으며, 특히 아카시아 꿀과 시판되는 사양꿀은 10% 내외로 극히 낮았다. Table 3은 시료의 농도를 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 g/ml로 높여가면서 활성을 측정한 것이다. 0.5~2.0 g/ml의 농도에서 측정한 DPPH 라디칼 소거능은 복분자 사양꿀(16.3~35.9%)과 SueBee Clover 꿀(16.4~29.4%)이 아카시아 꿀(8.1~8.6%)과 일반 사양꿀(10.1~9.2%)에 비해 2~4배까지 높았다. 아카시아꿀과 시판 사양꿀은 농도에 따라 DPPH 라디칼 소거능이 유의적인 차이를 보이지 않았으나 복분자 사양꿀은 0.5 g/ml 씩 증가 시마다 활성이 유의적으로 증가하였고($p<0.001$), SueBee Clover 꿀은 0.5~1.0 g/ml 보다 1.5~2.0 g/ml의 농도에서 1.4~1.8배 정도 높았다($p<0.01$).

환원력은 흡광도 값으로 표현하므로 측정치가 2.0 미만일 때 의미가 있다. SueBee Clover 꿀과 복분자 사양꿀의 경우 0.75 mg/ml에서 각각 2.1과 1.8로 나타났으므로 4종 꿀의 농도별 환원력은 0~0.75 mg/ml의 농도에서 측정하였다. 꿀의 환원력은 SueBee Clover 꿀(1.01~2.11) > 복분자 사양꿀(0.88~1.77) > 아카시아꿀(0.55~1.18) > 일반 사양꿀(0.49~1.07) 순으로 나타났으며, 0.25~0.75 mg/ml의 범위에서는 모두 농도의존적으로 증가하였다(모두 $p<0.001$, Table 3). 꿀의 환원력을 비타민 C와 비교해 보면(Fig. 1 참조), 아카시아 꿀과 일반 사양꿀은 0.5 mg/ml의 농도일 때 0.15 mg/ml의 비타민 C 용액과 유사하였으며(약 30%에 해당), 0.25 mg/ml의 SueBee Clover 꿀과 복분자 사양꿀은 각각 0.2 mg/ml와 0.15 mg/ml의 비타민 C 용액을 대신할 수 있는 환원력을 지니고 있었다(각각 80%와 60%에 해당).

ABTS 라디칼 소거능이란 산화유도체로부터

형성된 ABTS+ 라디칼을 제거하기 위하여 항산화제의 전자공여능을 측정하는 것으로 DPPH를 이용한 전자공여능과 유사하지만 시료 사용량이 매우 적고, 지용성과 수용성 물질을 같이 측정할 수 있는 장점이 있다(Blois 1958).

4종 꿀의 ABTS 라디칼 소거능(Table 3)은 62.5~500 mg/ml의 농도에서 복분자 사양꿀이 가장 높았으며(43.3~68.4%), 그 다음은 SueBee Clover 꿀(38.6~34.6%)이었고, 일반 사양꿀(33.6~47.3%)과 아카시아꿀(33.1~38.5%)의 순으로 낮았다. SueBee Clover 꿀을 제외하면 나머지 3종 꿀의 ABTS 라디칼 소거능은 농도의존적으로 증가하였으며(모두 $p<0.001$), 아카시아 꿀과 일반 사양꿀은 62.5와 125 mg/ml에서는 250~500 mg/ml의 농도보다 낮았고, 복분자 사양꿀의 경우에는 62.5~500 mg/ml의 농도에서 모두 활성이 유의적으로 증가하였다. 반면 SueBee Clover 꿀은 농도가 62.5~125 mg/ml일 때보다 250~500 mg/ml의 농도에서 라디칼 소거능이 감소하는 특이한 현상을 나타내었다($p<0.001$).

4. 열처리에 의한 항산화활성의 변화

Table 4와 5는 꿀의 항산화력이 열처리에 의해 어떻게 달라지는지 확인하기 위하여 100°C에서 5분, 10분, 15분 및 20분 간 열처리한 후 폐놀화합물과 플라보노이드 함량과 전자공여능 및 환원력 변화 양상을 측정한 결과이다. 아카시아 꿀과 복분자 사양꿀은 열처리 시 폐놀화합물 함량이 각각 10.1~25.9%와 13.7~17.8% 정도 유의적으로 낮아졌으며(각각 $p<0.01$), 열처리 시간에 따라서는 차이가 없었다. 반면, SueBee Clover 꿀과 일반 사양꿀은 열처리 여부에 따라 유의적 차이를 보이지 않았다. 플라보노이드 함량은 폴리폐놀화합물 함량보다 감소 정도가 더 커졌다. 아카시아 꿀과 SueBee 꿀, 일반 사양꿀은 10분간의 열처리로는 차이가 없었으나 15분 이상 가열 시 대조군에 비해 각각 56.5~65.2%와 60.7~76.0%, 48.1~51.9%가 친존하였다($p<0.001$). 복분자 사양꿀은 10분 가열 시 비열처리한 시료의 81.3%로 감소하였으며, 15분 열처리군에서는 53.1%가, 그리고 20분 가열 시 46.9%가 유의적으로 낮아졌다(Table 4).

Table 3. The Dose-response results of some anti-oxidative activities - DPPH anion scavenging activity, ABTS radical scavenging activities, and reducing power of several honeys according to concentration increase

Honeys	DPPH anion scavenging activity (g/ml)				ABTS radical scavenging activity (mg/ml)				Reducing power (mg/ml)		
	0.5	1.0	1.5	2.0	62.5	125.0	250.0	500.0	0.25	0.50	0.75
Acacia honey	8.1±0.9 (F=0.31)	8.5±0.7	8.4±0.8	8.6±0.7	33.1±0.1 ^c	34.4±0.1 ^c	37.1±0.6 ^b	38.5±0.1 ^a	0.554±0.026 ^c	0.899±0.031 ^b	1.178±0.095 ^a
SueBee Clover Honey	16.4±1.6 ^a (F=16.89 **)	19.8±0.2 ^a	28.3±0.7 ^b	29.4±1.2 ^b	38.6±0.1 ^a	39.6±0.2 ^a	35.8±0.2 ^b	34.6±0.1 ^b	1.014±0.034 ^c	1.443±0.010 ^b	2.107±0.061 ^a
Feeding honey on market	10.1±0.3 (F=4.09)	9.0±0.6	7.3±0.5	9.2±0.5	33.6±0.2 ^b	33.8±0.1 ^b	46.1±0.2 ^a	47.3±0.5 ^a	0.486±0.020 ^f	0.842±0.004 ^b	1.068±0.033 ^a
Feeding honey using extract of <i>Rubus coreanus</i> Miquel	16.3±0.7 ^d (F=294.78 ***)	26.0±0.5 ^d	33.0±1.1 ^b	35.9±1.0 ^d	43.3±0.3 ^d	48.6±0.3 ^d	66.3±0.1 ^b	68.4±0.3 ^a	0.883±0.016 ^c	1.256±0.052 ^b	1.769±0.059 ^a

Results are expressed by mean±SD of triplicates.

^{a-d}Same lettered superscripts in a row are not significantly different.

*p<0.05, **p<0.01

2.0 mg/ml의 꿀 용액을 100°C에서 20분간 열처리하였을 때 DPPH 라디칼 소거능의 변화 여부는 꿀의 종류에 따라 달랐다. 즉, 일반 사양꿀과 복분자 사양꿀은 20분간의 열처리로 유의적 차이를 보이지 않았으나, 15분 가열로는 차이를 보이지 않았던 아카시아 꿀은 20분 가열 시 7% 정도 감

소하였고(p<0.01), SueBee Clover 꿀은 15분 이상 가열 시 13.6~14.3% 정도 감소하였다(p<0.01). 반면, 0.5 mg/ml의 꿀 용액은 열처리로 환원력이 유의적으로 감소하지 않았으며, SueBee Clover 꿀은 열처리로 인해 환원력이 오히려 증가하는 것으로 나타났다(p<0.01, Table 5).

Table 4. The patterns of phenolic compound and flavonoid contents of several honeys according to heating time

(unit:mg/100 g)

Honeys	Phenolic compound contents					Flavonoid contents				
	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
Acacia honey	2.7±0.3 ^a (100.0%)	2.1±0.1 ^b (77.8%)	2.0±0.1 ^b (74.1%)	2.0±0.1 ^b (74.1%)	2.4±0.1 ^b (88.9%)	2.3±0.1 ^a (100.0%)	2.3±0.1 ^a (100.0%)	2.3±0.1 ^a (100.0%)	1.3±0.1 ^b (56.5%)	1.5±0.0 ^b (65.2%)
SueBee Clover Honey	8.3±0.7 (100.0%)	8.0±0.2 (96.4%)	7.8±0.2 (94.0%)	7.0±0.1 (84.3%)	7.3±0.1 (88.0%)	15.0±0.8 ^{ab} (100.0%)	15.8±0.7 ^a (105.3%)	16.3±0.8 ^a (108.7%)	11.4±0.5 ^{bc} (76.0%)	9.1±0.5 ^c (60.7%)
Feeding honey on market	2.3±0.1 (100.0%)	2.1±0.1 (91.3%)	2.5±0.6 (108.7%)	2.2±0.1 (95.7%)	2.4±0.3 (104.3%)	2.7±0.1 ^a (100.0%)	2.5±0.1 ^a (92.6%)	2.7±0.1 ^a (100.0%)	1.4±0.1 ^b (51.9%)	1.3±0.1 ^b (48.1%)
Feeding honey using extract of <i>Rubus coreanus</i> Miquel	7.3±0.4 ^a (100.0%)	6.1±0.1 ^b (83.6%)	6.0±0.2 ^b (82.2%)	6.3±0.4 ^b (86.3%)	6.3±1.0 ^b (86.3%)	6.4±0.4 ^a (100.0%)	5.9±0.3 ^{ab} (92.2%)	5.2±0.3 ^b (81.3%)	3.0±0.1 ^c (46.9%)	3.4±0.1 ^c (53.1%)

Results are expressed by mean±SD of triplicates.

^{a-b} Same lettered superscripts in a row are not significantly different.

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

Table 5. The patterns of DPPH anion scavenging activity and reducing power of several honeys according to heating time

Honeys	DPPH anion scavenging activity (at the concentration of 2.0 mg/ml)					Reducing power (at the concentration of 0.5 mg/ml)				
	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
Acacia honey	8.6±0.7 ^a	8.1±0.7 ^{ab}	8.2±0.8 ^{ab}	8.1±0.6 ^{ab}	7.8±0.8 ^b	0.899±0.031	0.885±0.057	0.877±0.024	0.886±0.037	0.888±0.025
	(F = 7.21**)					(F = 0.4)				
SueBee Clover Honey (USA)	29.4±1.2 ^{ab}	30.3±1.3 ^a	26.7±1.3 ^{bc}	25.4±1.2 ^c	25.2±1.3 ^c	1.443±0.010 ^a	1.156±0.015 ^c	1.122±0.013 ^{bc}	1.217±0.017 ^b	1.093±0.024 ^c
	(F = 6.64**)					(F = 14.75**)				
Feeding honey on market	9.2±0.5	8.7±0.9	8.7±0.8	8.7±1.0	8.9±0.7	0.842±0.004	0.800±0.009	0.792±0.012	0.815±0.011	0.800±0.009
	(F = 1.61)					(F = 4.42)				
Feeding honey using extract of <i>Rubus coreanus</i> Miquel	35.9±1.0	33.2±0.9	34.8±1.1	33.0±0.8	35.7±0.9	1.256±0.052	1.185±0.013	1.190±0.027	1.180±0.023	1.155±0.011
	(F = 2.35)					(F = 4.72)				

Results are expressed by mean±SD of triplicates.

*^ac Same lettered superscripts in a row are not significantly different.

** p<0.01

IV. 요약 및 결론

본 연구는 사양꿀 제조 시 복분자즙의 유용성을 확인하기 위한 것으로 복분자 사양꿀의 항산화활성을 시판되는 아카시아 꿀과 SueBee Clover 꿀 및 시판 사양꿀과 비교하였으며, 그 결과는 다음과 같다.

1. 4종 꿀의 수분함량은 16.6~26.5%였고, pH는 3.22~3.70였으며, 산도는 0.013~0.022%로 꿀의 종류에 따라 차이를 보였다.

2. 폐놀화합물 함량은 SueBee Clover 꿀과 복분자 사양꿀이 아카시아 꿀이나 시판 사양꿀보다 유의적으로 높았으며, 100 g 당 플라보노이드 함량은 SueBee Clover 꿀이 15.0 mg, 복분자 사양꿀은 6.4 mg, 아카시아꿀과 일반 사양꿀은 2.3 mg과 2.7 mg으로 차이를 보였다.

3. DPPH 라디칼 소거활성은 모두 높지 않은 편이었다. 복분자 사양꿀의 경우 0.5-2.0 g/ml의 농도에서 16-36%까지 농도의존적으로 증가하였으나, 다른 종류의 꿀에서는 유의적인 변화를 보이지 않았다.

4. 환원력은 0.25~0.75 mg/ml의 범위에서 SueBee Clover 꿀 1.01-2.11, 복분자 사양꿀 0.88~1.77, 아

카시아꿀 0.55~1.18, 시판 사양꿀 0.49~1.07 순이었고, 모두 농도의존적으로 증가하였다. 복분자 사양꿀의 환원력은 비타민 C의 1.7배에 해당하는 활성이었다.

5. ABTS 라디칼 소거능은 62.5~500 mg/ml의 농도에서 복분자 사양꿀이 43.3~68.4%로 가장 높았으며, Suebee Clover 꿀, 일반 사양꿀, 아카시아꿀의 순이었고, Suebee Clover 꿀을 제외하고 농도의존적으로 증가하였다.

6. 폐놀화합물 함량은 열처리 시 아카시아 꿀과 복분자 사양꿀에서만 유의적으로 감소하였다. 15분 이상 가열 시 플라보노이드 잔존율은 대조군의 46.9~76.0% 정도로 꿀의 종류에 따라 차이를 보였다.

7. 20분간의 열처리로 시판 사양꿀과 복분자 사양꿀의 DPPH 라디칼 소거활성은 유의적 차이가 없었으나, 아카시아 꿀과 SueBee Clover 꿀은 15분 이상 가열 시 7%와 14% 정도 감소하였으며, 환원력은 열처리로 감소하지 않았고 SueBee Clover 꿀은 오히려 증가하였다.

이상의 결과들로 미루어 별꿀의 먹이에 복분자 추출액을 첨가 시 복분자에 함유된 폴리페놀화합물과 플라보노이드 등 기능성 성분이 꿀로

이행됨으로써 꿀의 항산화활성을 증가시킬 수 있음을 확인할 수 있었다. 이는 복분자 이외에 상품성이 떨어지는 성숙 과일류의 즙액을 활용함으로써 사양꿀의 기능성을 높이는 동시에 낙과류를 이용하는 방안이 될 수 있음을 제시하는 결과이다. 이를 위해서는 보다 다양한 생리활성을 측정할 필요가 있으며, 사양꿀로 이행된 기능성 성분에 대한 규명도 필요할 것으로 여겨진다.

참고문헌

- 전국대학교 산학협력단(2008) 꿀벌을 매개로 하여 기능성 꿀을 생산하는 방법 및 상기방법으로 생산된 기능성 꿀. 특허 출원번호 : 10-2008-0025594.
- 김주인(2001) 꿀벌용 액당 사료제조방법. 특허 출원번호 : 10-2001-0077865.
- 농촌진흥청·농촌생활연구소(2001) 식품성분표 제6 개정판 1편. 수원: 상록사. 60-61.
- 박명윤(2004) 꿀벌과 건강식품. 국민영양 27(9), 24-27.
- 서울대학교 천연물과학연구소 문현정보학연구실 편 (2003) 동양의약과학대전 I 천연약물 수치(修治). 서울: 학술편수관. 156.
- 신동화(1997) 생체기능조절 천연소재 및 기능성 식품 / 천연 항산화제의 연구동향과 방향. 식품과학과 산업 30(1), 14-21.
- 안덕균(1996) 민간요법. 서울: 대원사. 21, 23, 27, 28, 51, 117, 120.
- 안목련·차용호·방극승(2003) 국내에서 수집된 벌꿀의 항산화 효과에 관하여. 제18차 한국양봉학회 특별강연 및 학술발표회 자료집. 8.
- 유희철 (2008) 프로폴리스 추출물을 이용한 기능성 벌꿀 제조방법. 특허 출원번호 : 10-2008-0008845.
- 윤광로(2003) 꿀의 건강기능성과 폐활계 물질. 벌꿀·프로폴리스의 약리활성 효과. 자연의학심포지움. 서울: 전국대학교 식품개발연구소. 3.
- Blois MS(1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181, 1199-1120.
- Cha HS, Park MS, Park KM(2001) Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. Korean J Food Sci Technol 33(4), 409-415.
- Kim YJ, Kim CK, Kwon YJ(1997) Isolation of antioxidative components of *Perillae semen*. Korean J Food Sci Technol 29(1), 38-43.
- Lee KW, Lee HJ, Surh YJ, Lee CY(2003) Vitamin C and cancer chemoprevention reappraisal. Am J Clin Nutr 78(6), 1074-1078.
- Mato I, Huidobro JF, Simai-Lozano J, Sancho MT(2006) Analytical Methods for the Determination of Organic Acids in Honey. Critical Reviews in Analytical Chemistry 36(1), 3 - 11.
- Nakabayashi T(1968) Studies on tannin of fruits and vegetables. Nippon Shokuhin Gakkaishi 15(1), 73-76.
- NFRI(1990) Manuals of quality characteristic analysis for food quality evaluation (2). Japan: National Food Research Institute. 61.
- Oh DH, Park JR, Choi SH(2006) Physicochemical and functional properties of artificial honey produced by feeding extracts of green tea, Japanese apricot and chestnut flower. Korean J Apiculture 21(2), 113-120.
- Oyaizu M(1986) Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jpn J Nutr 44(5), 307-315.
- Pang GC, Kim MS, Lee MW(1996) Hydrolyzable tannins from the fruits of *Rubus coreanum*. Korean J Pharmacogn 27(3), 366-370.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C(1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med 26(9-10), 1231-1237.
- Stinson EE, Subers MH, Petty J, White Jr. JW(1960) The composition of honey - Separation and identification of the organic acids. Archives of Biochemistry and Biophysics 89(1), 6-12.
- Taormina PJ, Niemira BA, Beuchat LR(2001) Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. Int J Food Microbiol 69(3), 217-225.
- Yoo KM, Park JB, Seoung KS, Kim DY, Hwang IK(2005) Antioxidant activities and anticancer effects of Yuza(*Citrus Junos*). Food Science and Industry 38(4), 72-77.
- Yoon I, Cho JY, Kuk JH, Wee JH, Jang MY, Ahn TH, Park KH(2002) Identification and activity of antioxidative compounds from *Rubus coreanus* fruit. Korean J Food Sci Technol 34(2), 898-904.
- White Jr. JW, Riethof ML, Subers MH, Kushnir I(1962) Composition of American honeys. USDA Technical Bulletin 1261, 124.