韓蠶學誌 51(2), 119~122 (2013)
J Seric Entomol Sci
http://dx.doi.org/10.7852/jses.2013.51.2.119
< 論 文 >

도토리화분과 다래화분의 일반성분, 지방산 분석 및 형태 관찰

홍인표* · 이만영 · 우순옥 · 심하식 · 최용수 · 한상미 · 김혜경 · 변규호 · 이명렬 · 김정봉
농촌진흥청 국립농업과학원

The morphological characteristics and fatty acids composition of pollens in acorn and darae(*Actinidia arguta*)

In-Pyo Hong*, Man-Young Lee, Soon-Ok Woo, Ha-Sik Sim, Yong-Soo Choi, Sang-Mi Han, Hye-Kyung Kim, Kyu-Ho Byeon, Myeong-Lyeol Lee and Jung-Bong Kim
National Academy of Agricultural Science and Technology, R.D.A. Suwon 441-100, Korea

(Received August 05, 2013, Accepted November 04, 2013)

ABSTRACT

Pollens have been known to possess various biological properties. Therefore, pollens have been extensively used in functional food, folk medicine, and beverage industry to improve human health. This study was conducted to establish the optimized protocol for cytoplasm isolation of bee pollen. Data of biochemical parameters and fatty acid profiles were obtained from pollens of Acorn and Darae(*Actinidia arguta*). Contents of crude protein and crude fat were 24.1% and 11.8% in Acorn pollen, and those of Darae pollen showed 35.8% and 8.7% in crude protein and crude fat respectively. Also after lyophilizing of Acorn pollen, content of crude protein was increased to 26.5%. Main fatty acids were palmitic acid(C16 : 0), oleic acid(C18 : 1), linoleic acid(C18 : 2) and linolenic acid(C18 : 3) in bee pollen. Linoleic acid(37.3%) was dominant fatty acid in Acorn pollen that is one of essential fatty acids. Linolenic acid(48.3%) was dominant fatty acid in Darae pollen that is a polyunsaturated fatty acid. The proportion of unsaturated fatty acids to total acid content was 73.2% in Acorn and 63.2% in Darae pollen, and especially that of polyunsaturated fatty acids was higher than 55%.

Key words : Acorn pollen, Darae pollen, Fatty acid, Lyophilization

서 론

벌은 식물의 꽃에서 꿀과 화분(꽃가루)을 모아 온다(Ryu 2003). 화분은 꿀벌의 유충과 성충의 단백질원으로 탄수화물, 지방, 비타민, 무기질 등의 영양성분이 풍부하며, 또한 로열 젤리(royal jelly)의 원료이다. 꿀벌화분(bee pollen)은 일벌이 어린 벌에게 먹이기 위해서 다리에 묻혀 오는 화분에 꿀과 효소가 혼합되어 경단처럼 뭉쳐진 덩어리로 일반 화분보다 영양성분이 풍부하여 오래전부터 자연 건강식품으로 이용되어 왔다(Todd and Bretherick 1942, Chung et al. 1984, Kim et al. 1984). 화분은 혈관 및 순환계, 소화계, 신진대사계, 노화 등 다양한 질환에 효과가 있다고 알려져 있으며, 최근에는 항균 및 항산화 효능, 면역증강 효과, 전립선 비대증 및 전립선염 치료 효과 등이 보고되었다(Choi et al. 2007, Fang et al. 2008, Li et al. 2009, Abouda et al. 2011). 화분은 이용가치가 매우 높은 자연식품이지만 sporopollenin으로 된 외피(exine)와 cellulose와 pectin으로 구성된 내피(intine)는 화학적으로 견고하여 강산처리에도 구조가 파괴되지 않으며(Kress et al. 1978, Lee 1986), 또한 대부분의 동물, 곤충들도 분해하지 못하여 영양성분의 일부만 흡수한다(Roulston and Cane 2000, Blackmore et al. 2010). 따라서 화분의 세포질 영양성분을 추출하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 단백질 분해효소를 이용한 세포벽 용해(Lee et al. 1997, Choi and Jeong 2004), 삼투압 또는 발아를 이용한 영양성분 추출(Stanley and Linskens 1965, Choi et al. 2007, Fang et al. 2008), 벌 내장 효소를 이용한 세포질 추출(Kim 1989), 화분 외피를 물리적 방법으로 파쇄하여 세포질을

*Corresponding author. E-mail: iphong20@korea.kr

추출하는 방법 등이 보고되었다(Kim and Son 1990, Han et al. 2004, Xu et al. 2009). 본 연구에서는 화분의 영양성분 추출방법을 정립하기 위한 기초 연구로서 국내에서 생산량이 많은 도토리화분과 다래화분을 동결건조하여 일반성분과 지방산의 성분 변화를 비교분석하였다.

재료 및 방법

1. 시험재료

도토리화분과 다래화분은 한국양봉농협(Ansung, Korea)에서 구입하여 현미경 관찰하에서 95%이상 순도를 유지하는 시료를 선발한 다음 -20°C에서 냉동보관하면서 사용하였다.

2. 화분의 물리적 처리

화분을 급속냉동기(Deep Freezer, DF 9010, Ilshin Lab Co. Ltd, Korea)를 이용하여 -80°C에서 급속냉동한 후, 동결건조기(Freeze dryer, FD5508, Ilshin Lab Co. Ltd, Korea)에서 -45°C로 건조하였다.

3. 일반성분 분석

화분시료의 일반성분은 AOAC(1980)법에 의하여 정량하였고, 수분함량은 105°C 상압가열건조법, 회분은 550°C에서 직접 회화법으로, 조지방 함량은 soxhlet 추출법으로 측정하였다. 조단백질은 semi-micro Kjeldahl 법으로 측정하였으며, 질소 환산계수는 6.25를 사용하였다. 탄수화물의 함량은 100에서 수분, 회분, 조지방, 조단백질 함량을 뺀 값으로 나타내었다.

4. 지방산 분석

화분에 hexane을 넣고 liquid funnel shaker(EYELA, MMV-1000W)로 250 rpm에서 15분간 총 3회 추출하였다. 용매 분획된 hexane에 내부표준물질 PDA (pentadecanoic acid in MeOH, 1,000 ppm) 1 ㎖를 첨가하고 감압농축기와 N_2 gas로 완전 농축시킨 후 0.5 N NaOH solution(in MeOH) 8 ㎖를 넣고 초음파처리 후 toluene 5 ㎖을 넣고 80°C에서 10분간 가수분해시켰다. 방냉 후, 14% BF3(boron trifluoride) 8 ㎖를 넣고 80°C에서 10분간 재 메틸화반응을 시키고 다시 방냉시켰다. 이에 증류수 10 ㎖와 petroleum ether 15 ㎖를 더하여 2,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리한 후, petroleum ether층을 여과하고 N_2 gas로 건조시킨 후 hexane 0.5 ㎖로 회수하여 GC-FID(gas chromatography-flame ionization detector)로 분석을 하였다(Metcalfe et al. 1966, Kim et al. 2007). 정량 시 사용한 기기는 GC CP-3800(Varian, Palo Alto, USA)이었고, 컬럼은 J&W DB-WAX capillary column(60 ㎝ × 0.25 × 0.25 ㎛, Hewlett Packard, USA)을 사용하였다(Petrovic et al. 2010). 시료주입기와 검출기 온도는 230°C, 컬럼 온도는 80°C로 시작하여 240°C까지 올려주었다. 운반기체(carrier gas)는 He을 사용하였고, 컬럼 유속은 1.5 ㎖/min 이었다. 지방산의 정량은 내부표준물질 pentadecanoic acid (C15 : 0)의 면적에 기준하여 반응지수(response factor)를 보정하지 않고 환산하였다.

5. 화분 세포 관찰

도토리화분과 다래화분을 gold-palladium으로 진공상태에서 120초간 코팅시킨 다음 주사전자현미경(SEM; Hitachi, Tokyo, Japan)을 이용하여 세포 구조를 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 일반성분 분석

도토리화분과 다래화분의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 도토리화분의 수분 함량은 11.7%로 다래화분 4.3%보다 높았다. Lee et al.(1997)은 송화분의 수분 함량은 10.4%로 보고하였으며, Stanley and Linskens(1974)는 화분의 수분 함량은 20% 미만으로 기원식물체, 채집시기에 따라서 차이가 있다고 보고하였다. 도토리화분과 다래화분의 회분 함량은 각각 2.6%, 2.3%로 비슷하였다. 도토리화분의 조단백질 함량은 24.1%로 일반성분 중에서 상당히 높았으며, Choi and Jeong(2004) 등이 보고한 22.3%와 비슷하였다. 다래화분의 조단백질 함량은 35.8%로 도토리화분 24.1%보다 많았으며, Kim and Son(1990)이 분석한 벚나무화분 24.6%, Lee et al.(1997)이 보고한 송화분 14%보다도 월등히 높았다. 한편 동결건조한 도토리화분의 조단백질 함량은 26.5%로 약 10% 증가하였으나 다래화분은 35.7%로 파쇄전과 비슷하였다. 도토리화분의 조지방 함량은 11.8%로 다래화분 8.7%보다 높았으며, 송화분 3.0%(Lee et al. 1997), 유채화분 3.2%(Kim and Son 1990)보다도 월등히 높았다. 한편 동결건조한 도토리화분

Table 1. General composition of pollens before and after lyophilization

Crude component(%)	Acorn		Darae	
	Before	After	Before	After
Moisture	11.7	0.4	4.3	0.9
Ash	2.6	2.8	2.3	2.2
Protein	24.1	26.5	35.8	35.7
Fat	11.8	19.9	8.7	9.1
Fiber	1.9	0.4	0.8	0.1
Carbohydrate	47.9	50.0	48.1	52

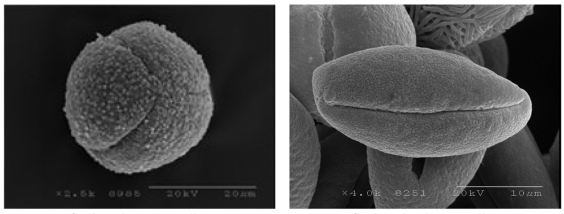
의 조지방 함량은 19.9%로 약 69% 증가하였으며, 다래화분은 9.1%로 파쇄전보다 약 4% 증가하였다. 조섬유 함량은 도토리화분이 1.9%로 다래화분은 0.8% 보다 많았으나 송화분 37.5%보다는 매우 적게 분포하였다(Lee et al. 1997). 한편 동결건조 후에는 도토리화분과 다래화분의 조섬유 함량이 0.4%, 0.1%로 감소하였다. 도토리화분의 탄수화물 함량은 47.9%로 다래화분 48.1%보다 낮았으나 송화분 31.9%(Lee et al. 1997)보다는 높았다. 동결건조한 도토리화분과 다래화분의 탄수화물 함량은 50.0%, 52.0%로 파쇄 전에 비해 각각 4.4%, 8.1% 증가하였다. 즉 동결건조한 도토리화분과 다래화분의 조단백질, 조지방, 탄수화물 등의 성분 함량은 파쇄 전에 비하여 비슷하거나 증가하는 경향을 나타내었다.

2. 지방산 조성

꿀벌은 지질을 합성하여 중성지방 형태로 체내 복부에 저장한다. 체내에 저장된 지질 성분은 뇌세포와 신경 조직의 발육과 밀접한 관련이 있다. 도토리화분과 다래화분의 지방산 조성을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 도토리화분과 다래화분에는 필수지방산인 linoleic acid와 linolenic acid가 함유되어 있었다. 도토리화분의 지방산 함량은 linoleic acid(37.3%), palmitic acid(22.4%), linolenic acid(19.6%), oleic acid(15.7%) 순으로 많이 분포하였으며, 다래화분에는 linolenic acid(48.3%)와 palmitic acid(29.1%)가 가장 많았으며 oleic acid와 linoleic acid는 7.7%, 6.7% 존재하였다. 즉 도토리화분에는 linoleic acid, 다래화분에는 linolenic acid의 지방산 함량이 가장 높았다. 또한 docosadienoic acid, eicosadienoic acid, erucic acid 등의 지방산은 도토리화분에만 존재하였다. Lee et al.(1997)은 송화분에서는 oleic acid(25.7%)와 palmitic acid(20.5%)의 함량이 가장 많다고 보고하였으며, Xu et al. (2009)이 보고한 유채화분의 지방산 함량은 linolenic acid(38.7%), palmitic acid(20%), linoleic acid(13%) 순으로 분포하였다. 따라서 화분의 지방산 함량은 밀원식물에 따라 다르지만 불포화지방산 linolenic acid, linoleic acid, oleic acid와 포화지방산 palmitic acid가 주로 존재하였다. 전체 지방산 조성 중 불포화지방산이 차지하는 비율은 도토리화분은 73.2%, 다래화분은 63.2%로 매우 높았으며, 특히 다가불포화지방산(polyunsaturated fatty acid, PUFA)이 55%이상 분포하였다. 도토리화분과 다래화분의 주요 지방산인 linolenic acid, linoleic acid, oleic acid, palmitic acid 등은 동결건조 후에도 95% 이상의 보존율을 보였다.

Table 2. Fatty acid compositions of pollens before and after lyophilization

Fatty acid(%)	Acorn		Darae	
	Raw	After	Before	After
Lauric acid (12 : 0)	0.05	0.27	0.39	0.54
Myristic acid (14 : 0)	0.18	0.21	1.03	1.00
Palmitic acid (16 : 0)	22.37	21.37	29.12	28.80
Pallmitoleic acid (16 : 1)	0.11	0.10	0.36	0.33
Stearic acid (18 : 0)	2.97	2.69	4.49	4.56
Oleic acid (18 : 1)	15.65	15.72	7.69	7.50
Linoleic acid (18 : 2)	37.31	37.98	6.72	6.51
a-linolenic acid (18 : 3n3)	19.62	20.18	48.28	48.69
r-linolenic acid (18 : 3n6)	0.09	0.00	0.00	0.00
Arachidic acid (20 : 0)	0.47	0.45	0.35	0.54
cis-11-Eicosenoic acid (20 : 1)	0.25	0.25	0.13	0.13
cis-11,14-Eicosadienoic acid (20 : 2)	0.05	0.00	0.00	0.00
Behenic acid (22 : 0)	0.42	0.39	0.73	0.65
Erucic acid (22 : 1)	0.06	0.02	0.00	0.00
cis-13,16-Docosadienoic acid (22 : 2)	0.10	0.08	0.00	0.00
Lignoceric acid (24 : 0)	0.31	0.30	0.72	0.76



Grain of acorn pollen　　Grain of darae pollen

Fig. 1. Pollen grains of acorn and darae.

3. 화분 형태

화분은 다양한 형태의 정보를 보유하고 있어서 식물 분류의 중요한 역할을 한다. 화분의 세포 단위, 크기, 모양, 표면 무늬, 발아구의 수 및 형태 등은 식물의 형태에 따라 다양하여 유연관계를 파악할 수 있으며, 특히 발아구의 형태와 수는 진화의 중요한 특징으로 알려져 있다(Lee 1984). 도토리화분은 단립이며 모양은 장구형(prolate)이고 극면상은 난형이다. 발아구는 3구형이며 비교적 짧고 곧은 주름이 있다. 표면은 과립상(verrucate) 또는 미립상(scabrate)으로 불규칙한 돌기가 있다(Fig. 1. left). 다래화분은 단립이며 모양은 아장구형(subprolate)이고 극면상은 원형이다. 발아구는 3구형이며 표면무늬는 평활상이나 극히 미세한 돌기가 있으며 표면에는 극히 미세한 구멍이 존재한다(Fig. 1. right).

적　　요

국내에서 생산량이 많은 도토리화분과 다래화분을 동결

건조하여 일반성분과 지방산 성분을 비교하였으며 전자현미경(SEM)을 통하여 세포벽 구조를 확인하였다. 일반성분 분석결과 도토리화분은 수분 11.7%, 회분 2.6%, 조단백질 24.1%, 조지방 11.8%, 조섬유 1.9%, 탄수화물 함량은 47.9%이었으며, 다래화분은 수분 4.3%, 회분 2.3%, 조단백질 35.8%, 조지방 8.7%, 조섬유 0.8%, 탄수화물 함량은 48.1%였다. 동결건조한 도토리화분의 조단백질 함량은 26.5%로 약 10% 증가하였으나 조섬유 함량은 0.4%로 감소하였고, 동결건조 다래화분의 조단백질과 조지방 함량은 각각 35.7%, 9.1%로 약간 증가하였으나 조섬유 함량은 크게 감소하였다. 도토리화분에는 linoleic acid, 다래화분에는 linolenic acid의 지방산 함량이 가장 높았으며, docosadienoic acid, eicosadienoic acid, erucic acid 등의 지방산은 도토리화분에만 존재하였다. 도토리화분은 단립이며 모양은 장구형(prolate)이고 극면상은 난형이며 발아구는 3구형이다. 또한 다래화분은 단립이며 모양은 아장구형(subprolate)이고 극면상은 원형이며 발아구는 3구형이다. 도토리화분과 다래화분을 동결건조하면 세포벽이 파열되어 세포질이 나출되는 양상을 보였다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ PJ008539)의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

인용문헌

Abouda Z, Zerdani I, Kalalou I, Faid M, Ahami MT (2011) The antibacterial activity of Moroccan bee bread and bee-pollen(fresh and dried) against pathogenic bacteria. Res J Microbiol **6,** 376~384.

AOAC (1980) Official methods of analysis. 14th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC.

Blackmore S, Wortley AH, Skvarla JJ, Gabarayeva NI, Rowley JR (2010) Developmental origins of structural diversity in pollen walls of Compositae. Plant Syst Evol **284,** 17~32.

Choi JH, Yim GY, Jang SY, Jeong YJ (2007) Inhibition effect of the harmful food-born microorganisms on germination condition of acorn pollen. Korean J Food Preserv **14,** 87~93.

Choi SJ, Jeong YH (2004) Effect of proteases on the extraction of crude protein and reducing sugar in pollen. J Korean Soc Food Sci Nutr **33,** 1353~1358.

Chung YG, Yoon SH, Kwon JS, Bae MJ (1984) Nutritional and biochemical studies on the pollen loads studies on lipid compositions of sunflower pollen load and effects of its pollen load on liver cholesterol metabolism in mouse. J Korean Soc Food Nutr **13,** 169~174.

Fang KF, Wang YN, Yu TQ, Zhang LY, Baluska F, Samaj J, Lin JX (2008) Isolation of de-exined pollen and cytological studies of the pollen intines of *Pinus bungeana* Zucc. Ex Endl. and *Picea wilsonii* Mast. Flora **203,** 332~340.

Han MR, Lee SJ, Kim MH (2004) Development of pine pollen cell wall rupture technique using a high impact planetary milling process. Dankook Journal of the New Material Technology **12,** 43~54.

Kim DS (1989) Effect of larva gut enzyme on pollen. Korean J Food Sci Technol **21,** 404~408.

Kim JB, Kim KH, Hong SB, Park JS, Lee JY, Kim SS, Bae SC, Cho J, Lee DJ (2007) Screening of GLA (γ-linolenic acid) from fungi by gas chromatography and mass spectroscopy. Kor J Mycol **35,** 96~100.

Kim JG, Son JH (1990) Progress of chemical composition on pulverization of pollen loads. Korean J Apiculture **5,** 23~30.

Kim JW, Shin SC, Kim BK (1984) Studies on pollen preparations and as a health food(Ⅰ). Kor J Pharmacogn **15,** 147~149.

Kress WJ, Stone DE, Sellers SC (1978) Ultrastructure of exine-less pollen: Heliconia(Heliconiaceae). Amer J Bot **65,** 1064~1076.

Lee BY, Choi HD, Hwang JB (1997) Component analysis of Korean pollens and pollen extracts. Korean J Food Sci Technol **29,** 869~875.

Lee S (1984) Contributions of palynological characters to plant systematics. Kor J Plant Tax **14,** 13~20.

Lee ST (1986) Palynology and plant systematics. Korean J Apiculture **1,** 46~53.

Li F, Yuan QP, Rashid F (2009) Isolation, purification and immunobiological activity of a new water-soluble bee pollen polysaccharide from *Crataegus pinnatifida* Bge. Carbohydrate Polymers **78,** 80~88.

Metcalfe LD, Schmitz AA, Pelka JR (1966) Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. Anal Chem **38,** 514~515.

Petrovic M, Kezic N, Bolanca V (2010) Optimization of the GC method for routine analysis of the fatty acid profile in several food samples. Food Chem **122,** 285~291.

Roulston TH, Cane JH (2000) Pollen nutritional content and digestibility for animals. Plant Syst Evol **222,** 187~209.

Ryu JB (2003) Classification of honey plants in Korea. Korean J Apiculture **18,** 5~22.

Stanley RG, Linskens HF (1965) Protein diffusion from germinating pollen. Physiol Plant **18,** 47~53.

Stanley RG, Linskens HF (1974) Pollen: biology, biochemistry, management. 1st edn. Springer, Heidelberg, Germany.

Todd FE, Bretherick O (1942) The composition of pollens. J Econ Entomol **35,** 312~317.

Xu X, Sun LP, Dong J, Zhang HC (2009) Breaking the cells of rape bee pollen and consecutive extraction of functional oil with supercritical carbon dioxide. Innovative Food Science and Emerging Technologies **10,** 42~46.