

벌꿀의 蜜源別 品質關聯成分의 比較研究

- 不飽和 高級脂肪酸의 含量에 대하여 -

이영근*·민병욱·임선옥

*부산직할시 보건환경연구소, 서울대학교 농화학과

초록: 아카시아꿀, 잡화꿀, 밤꿀을 대상으로 일반성분 및 유리당을 정량분석하고 지방산을 GC-MS로써 분석한 결과 아카시아꿀, 잡화꿀, 밤꿀의 평균 수분 함량은 각각 19.7, 19.1, 18.9%이었으며 회분은 각각의 평균이 0.028, 0.050, 0.050%로서 아카시아꿀에서 비교적 낮았다. 벌꿀의 HMF (hydroxy methyl furfural)는 아카시아꿀과 잡화꿀의 평균함량이 18mg/kg 정도이나 밤꿀은 다소 높은 20.21mg/kg이었으며 유리산도는 밤꿀이 평균 2.28 meq/kg으로서 가장 높으며 아카시아꿀에서는 8.85 meq/kg으로서 가장 낮았다. 유리당의 함량은 밀원의 종류에 관계없이 3종 모두 포도당 31.0~32.0%, 과당 35.0~36.0%이었고 과당/포도당의 비율도 3종 모두 거의 동일한 1.14 정도이었다. GC-MS에 의한 지방산의 분석에서는 dodecanoic acid, 10-hydroxydecenoic acid, 6, 9-undecadienoic acid, tetradecanoic acid, 12-(acetyl oxy)-9-octadecenoic acid 및 14-octadecenoic acid가 확인되었으며, 벌꿀의 품질관정에 이용되고 있는 10-hydroxydecenoic acid의 함량은 3종 모두 10mg% 내외이며 20~30mg%에 달하는 시료도 있는 반면 검출되지 않은 시료도 있었다.

오래전부터 천연감미료 및 약용으로 이용되어 온 꿀은 오늘날 급증하는 수요와 더불어 그 가치에 대해 지대한 관심을 끄는 만큼 그 성분에 관한 연구도 많이 이루어져 왔다.

벌꿀의 主成分은 果糖과 포도당이며 미량의 蔗糖, Dextrin 등이 있고 그의 질소화합물, 효소류, 비타민류, 무기물, 유기산류등이 함유되어 있으며 그 組成은 蜜源, 採蜜時期, 產地등에 따라 차이가 있다. 이러한 벌꿀에 대한 품질관정의 수단으로서 벌꿀의 糖成分, HMF(hydroxy methyl furfural), 유리산도등이 이용⁸⁾되며 최근에는 꿀벌의 分泌腺에서 분비되는 10-hydroxydecenoic acid가 벌꿀과 로얄제리의 품질관정에 이용되는 경우가 많으므로, 본 연구에서는 우리나라에서 주요 밀원이 되고 있는 아카시아, 잡화, 밤꿀의 3種에 대하여 일반성분, 유리산도, HMF의 함량 등을 검토하였으며, 한편 脂肪酸에 관하여는 아직 밝혀진 바가 거의 없으므로 10-hydroxydecenoic acid를 비롯한 몇 種의 脂肪酸을 GC-MS로 分析하

였다.

재료 및 방법

재 료

88년도에 부산·경남 지역에서 채밀한 아카시아 벌꿀 9종, 잡화꿀 9종, 밤꿀 9종 그리고 인공꿀 1종을 대조용으로 구입하여 조사대상으로 하였다.

수분, 회분, 산도, HMF와 중금속의 분석

Karl-Fisher 수분측정장치(Metrom, Swiss)를 사용하여 水分량을 구하였으며 회분, 산도, HMF의 分析은 AOAC法⁹⁾에 準하였다. 벌꿀중의 重金屬은 건식법¹⁰⁾에 의하여 분해후 원자흡광분광계로써 측정하여 구리, 카드뮴, 납, 아연, 망간, 크롬의 含量을 구하였다.

당의 분석

果糖과 포도당은 HPLC(Waters 244)를 사용하여

Key words : Honey quality, 10-hydroxy-2-decenoic acid, 6, 9-undecadienoic acid, tetradecanoic acid, 12-(acetyl oxy)-9-octadecenoic acid, 14-octadecenoic acid

Corresponding author : S. U. Lim

분석하였고, 分析用 Column과 column의 mobile phase는 각각 μ -Bondapak C₁₈/carbohydrate, acetonitrile : water(75 : 25)이었으며 RI 檢出器로서 검출하였다.

지방산의 GC-MS에 의한 분석

벌꿀시료 50g정도를 精稱하여 적당량의 물에 용해하고 1N-NaOH로써 검화시킨 후 여과하여 불검화된 고형물을 제거하였다. 10-hydroxydecanoic acid를 비롯한 검화물이 함유된 용액에 물은 염산으로 pH 2.5~3.0으로 조절하여 검화물을 유리산으로 만든 후 ether로 추출하고 3% 황산-methanol용액으로 환류시켜 유리脂肪酸을 methyl ester화 시켜서 GC-MS로 분석하였다. GC-MS의 분석조건은 Table 1. 과 같다.

Table 1. GC-MS(HP 5970 B) conditions for fatty acid analysis

Items	Conditions
Column	Polysiloxane, 0.2mm ID×25m
Carrier gas	He, 20ml/min.
Resulting voltage	1800
Mass range	20.0-300.0
Solvent delay	3.00min
Temp. program & Heated zones	Run time : 20.00min. Equilibration time : 0.50min. Purge off time : 0.00min. Initial temp. : 80°C Initial time : 3.0min Rate : 20.0°C/min. Final temp. : 270°C Total time : 24.50 min.
Inj. port temp	270°C

결과 및 고찰

일반성분과 HMF 및 유리산도

벌꿀의 수분함량은 氣候, 採蜜의 時期, 採取後의 保存 등 여러 요인의 영향을 받으나 한편 발효를 유발시키는 요인이 되므로 양호한 품질보존을 위하여 18~20% 정도 이하가 요망된다⁶⁾. 본 연구 結果에서는 Table 2.와 같이 17.3%~24.1%로서 아카시아꿀이 평균 19.7%, 잡화꿀이 평균 19.1%, 밤꿀이 평균 18.9%, 총평균이 19.3%로서 White등⁷⁾이 보고한 13.4~22.9%, 평균 17.2%의 결과보다 다소 높으며 보건사회부고시⁸⁾에서 규정한 21% 이하에도 초과하는 결과가 아카시아꿀에서 주로 나타났다. 이러한 결과는 채밀시의 기후, 지기등이 불량한 조건에서 행한 시료가 포함된 것으로 추정되며, 이는 불량벌꿀 유통의 원인이 될 것이다.

벌꿀의 회분은 아카시아꿀이 0.028%로서 가장 낮으며 그 외는 0.050% 정도로서 한 등⁹⁾과 김 등¹⁰⁾의 결과보다 훨씬 적게 나타났다.

Table 3.에 HMF와 산도를 나타내었다. 꿀의 가열 또는 鮮度低下의 興否를 나타내는 HMF는 아카시아꿀과 잡화꿀의 평균함량이 18mg/kg 정도이며 밤꿀은 20mg/kg 정도로서 群集간의 평균함량차이는 적은 편이나 총시료의 결과범위가 0.14~45.21mg/kg로서 시료 간의 차이는 매우 크고 政府 告示 規格기준⁸⁾인 40mg/kg 이하에 적합치 않은 시료가 다소 있었으며 타 연구결과^{6,11)}보다 평균치가 높은 점으로 미루어 보아 본 연구에 사용된 시료중 일부는 結晶 蜜을 방지하기 위하여 포장전 가열한 것으로 추측된다. 인공꿀의 HMF는 71.01mg/kg 로서 Winkler¹²⁾가 보고한 50~150mg/kg 에 일치한 결과라고 볼 수 있었다.

Table 2. Moisture and ash content in honeys

Floral sources	Moisture(%)		Ash(%)	
	Mean ± SD	Range	Mean ± SD	Range
Acacia	19.7 ± 1.7	18.0-24.1	0.028 ± 0.015	0.006-0.051
Chestnut	18.9 ± 0.3	17.3-21.1	0.050 ± 0.034	0.014-0.112
Polyflower	19.1 ± 0.8	17.9-20.3	0.050 ± 0.014	0.029-0.017
Total Mean	19.3 ± 1.4	17.3-24.1	0.042 ± 0.023	0.006-0.112
Artifact	22.3		0.073	

Table 3. Hydroxy methyl furfural(HMF) content and acidity in honeys

Floral sources	HMF (mg/kg)		Free acidity(meq/kg)	
	Mean± SD	Range	Mean± SD	Range
Acacia	18.28± 13.13	1.30-42.30	8.85± 2.14	5.61-12.30
Chestnut	20.21± 16.91	0.14-41.50	12.28± 4.13	7.48-17.78
Polyflower	18.47± 16.85	0.40-45.21	10.24± 2.44	6.55-13.78
Total mean	18.83± 14.89	0.14-45.21	10.22± 3.04	5.61-17.78
Artifact	71.01		6.30	

한편 유리산도는 전체평균이 10.22 meq/kg 이며 아카시아꿀이 가장 적었다. 이러한 결과는 장 등⁶⁾과 정 등¹¹⁾이 보고한 채밀직후의 결과와 거의 일치하여 유통기간에 영향을 거의 받지 않는 것으로 나타났다. * 아카시아꿀에서 산도가 낮은 이유에 관한 고찰 越後¹³⁾ 등에 의하면 꿀의 유기산은 꿀벌이 분비하는 여러가지 효소에 의하여 당류로부터 생성되는 것으로 추정하였으며 특히 글리콘산이 유리산도 증가에 주요 인자로서 작용한다고 하였다. 따라서 본 실험결과와 몇가지 보고^{10,11)}에서 아카시아꿀의 유리산도가 비교적 낮게 나타난 것은 花蜜성분에 의한 효소활성의 억제정도에 기인한 것으로 추정된다.

유리당

꿀의 유리당은 Table 4.와 같이 평균함량이 fructose 35.6%, glucose 31.6% 정도로서 인공꿀을 제외한 시료에서 fructose가 높으며 蜜源에 의한 차이는 거의 없는 것으로 나타났다. 그러나 총시료의 결과 범위가 fructose 28.3~40.1%, glucose 21.8~37.6%로서 시료간의 차이는 존재하였다. White 등⁷⁾은 꿀중의 유리당함량은 fructose가 35.05~38.25%, glucose가 23.12~33.58%이며 Chang 등⁶⁾은 fructose 29.4~41.4%, glucose 25.9~42.2%라 하여 본 실험 결과와 별 차이가 없는 것으로 나타났다. 벌꿀의 結晶에 영향을 미치는 요인으로는 수분함량, glucose함량, 저장온도

등이며³⁾, 密封된 벌꿀의 수분함량은 20% 전후에서 일정량을 유지하기 때문에 검토요인에서 제외하였고 fructose/glucose의 比로 벌꿀의 結晶化 경향을 판단하며 그 比가 클수록 結晶化 속도가 느려진다. 본 연구에서 fructose/glucose 의 比는 Fig. 1에서와 같이 3개시료군 모두 평균 1.14정도이며 대부분의 시료가 1.0을 넘는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 이미 보고^{6,7,9,11)} 된바와 일치하나 Chang 등⁶⁾은 clover, 유채꿀은 1.0이하로 제안하여 蜜源種類에 따른 차이를 보고하

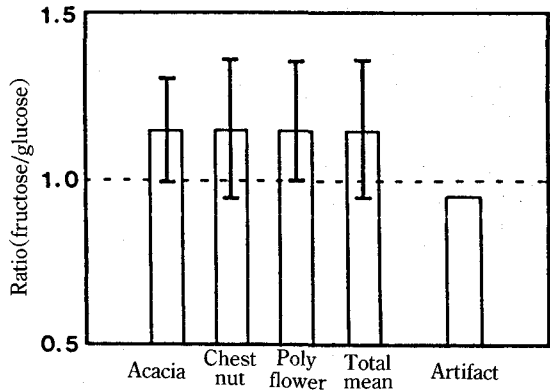


Fig. 1. Ratio of fructose to glucose of honeys.

Table 4. Fructose and glucose content in honeys

Floral sources	Fructose(%)		Glucose(%)	
	Mean± SD	Range	Mean± SD	Range
Acacia	35.7± 2.7	29.5-39.1	31.5± 3.7	22.5-35.8
Chestnut	35.7± 2.8	33.2-40.1	31.7± 3.7	24.7-35.0
Polyflower	35.5± 3.9	28.3-39.9	31.7± 5.8	21.8-37.6
Total mean	35.6± 3.1	28.3-40.1	31.6± 4.4	21.8-37.6
Artifact	33.6		35.0	

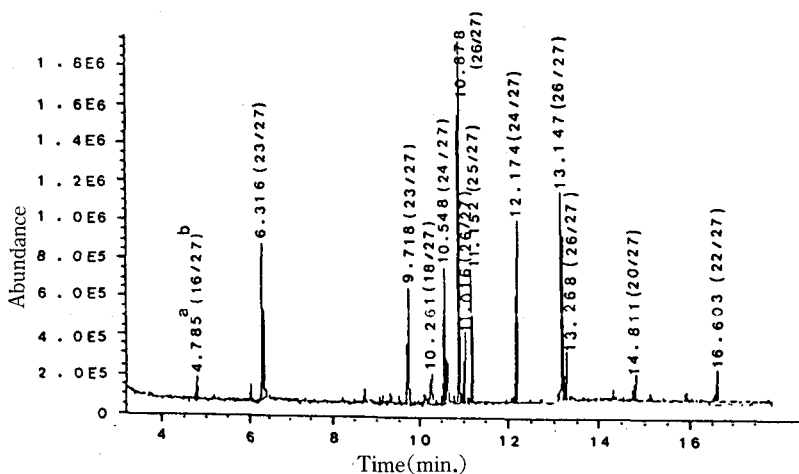


Fig. 2. GC chromatogram of saponifiables in honeys.

a : Retention time (RT)

b : Ratio of detected sample number to all sample

였다. 본 연구결과에서도 검토시료들의 일부는 fructose/glucose 比가 1.0이하로 나타났으나 蜜源種類에 따른 차이인지 저장중 glucose 함량이 감소된⁷⁾ 것에 기인한 것인지의 여부는 분명치 않다.

GC-MS에 의한 脂肪酸의 분석

벌꿀의 검화물을 methyl ester化한 후 GC분석을 하여 나타난 chromatogram을 Fig. 2에 나타내었다. 대부분의 벌꿀에서 이 peak들이 검출되었으며 각 peak에 해당하는 성분들의 含量은 시료간의 차이가 약간씩 인정되나 RT(retention time) 10.878인 물질의 含量이 20%를 넘는 정도로서 가장 많은 造成을 이루었으며 RT 13.147은 15%정도 RT 6.316이 약 10%이었으며 그 외 RT 9.718, 10.548, 11.152, 12.174 등이 10%미만의 造成을 이룬 peak들이 나타났고

含量이 낮은 peak일수록 27개 시료에서 탐지되지 않았다.

GC-chromatogram의 각 peak들은 GC-MS에 의하여 분석하여 同定된 물질들의 mass spectrum을 Fig. 3~8에 나타내었다. GC-MS에 의한 각 물질의 해석은 검화 및 methyl ester化과정을 고려하면 주로 카르복실산의 methyl ester들인 것으로 그 구조를 同定하였다.

1) RT 9.717인 peak의 mass spectrum을 Fig. 3에서 보면 분자 ion이 214이며 m/e 214에서 CH₃-CH₂-CH₂(m/e 43)의 분열물로 m/e 171의 ion peak가 감지되며 이후 m/e 143, 101, 87의 ion peak들로 미루어 볼때 methyl 말단에서의 CH₃-(CH₂)₈-의 직쇄를 추정할 수 있다. m/e 74의 base ion peak는 ethyl ester류인 CH₃OC(=O)CH₂-CH₂CH₂R의 β-cleavage

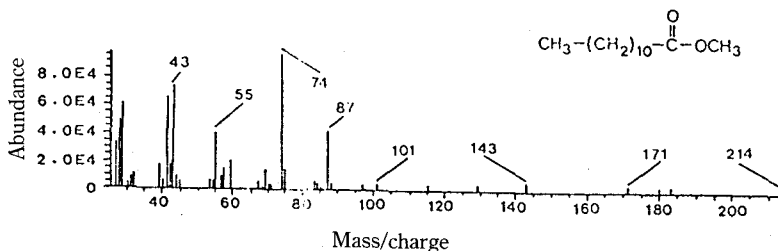


Fig. 3. Mass spectrum of the GC peak of RT 9.717 min.

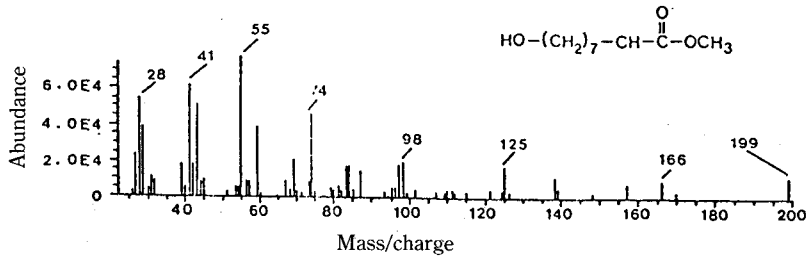


Fig. 4. Mass spectrum of the GC peak of RT 10.549 min.

의 McLaffery 재배열 과정에서 개열생성된 $\text{CH}_3\text{OC}(-\text{OH})=\text{CH}_2$ ($m/e=74$)의 구조물이며 이 과정에서 $-(\text{CH}_2)_8-$ 의 직쇄상의 전자가 이전되어 $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}_2$ 의 분열물을 형성하므로 m/e 55의 ion peak가 감지되었다. 이러한 개열 양상은 methyl ester에서 특징적인 ion peak들이므로 RT 9.717의 물질은 dodecanoic acid methyl ester인 것으로 추정된다.

2) Fig. 4에 나타난 RT 10.549 peak의 mass spectrum에서 base ion peak는 m/e 55이며 이는 분열생성된 m/e 41의 allyl carbonium ion fragment과 함께 alkene의 특징적 분열물로 보인다. 분자 ion은 m/e 200에서 약하게 탐지되며 H가 이탈된 ion이 m/e 19에서 보다 강하게 나타났으며 m/e 125와 m/e 55의 차이는 $-(\text{CH}_2)_5-$ 이므로 직쇄상의 사슬로 추정할 수 있다. m/e 74는 methyl ester의 β -cleavage에 의하여 개열생성된 물질이며 이는 m/e 59의 peak와 더불어 methyl ester류인 것을 확실케 해준다. 한편 m/e 18과 m/e 28은 탈수반응으로 생성된 H_2O 와 $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ 의 peak로서 이물질의 hydroxyl기를 갖는 직쇄상의 alkene의 methyl ester류이며 분자 이온량

으로 보아 10-hydroxy-2-decenoic acid인 것으로 판단하였으며 또한 표준물질의 mass spectrum과도 거의 일치하였다.

3) 벌꿀검화물중 20% 이상의 조성을 형성하는 것으로 분석된 RT 10.879인 물질의 mass spectrum (Fig. 5)에서는 41 m/e 의 base ion peak와 55 m/e 의 peak가 감지되어 이중결합의 존재를 확인할 수 있으며 81 m/e 와 55 m/e 의 차가 26 m/e 이므로 2개의 이중결합이 1개의 단일결합을 사이에 두고 존재하는 것으로 추정된다. 그리고 59 m/e 와 74 m/e 에서 peak가 감지되므로 이 물질이 methyl ester류인 것을 밝혀주며 그 외 136 m/e 의 분열물은 164 m/e 의 fragment에서 $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ 이온이 개열되어 이탈된 것이며 95 m/e 는 136 m/e 의 분열물에서 41 m/e 의 분열물이다. 81 m/e 는 CH_2 단위가 추가 이탈된 결과이다. 한편 computer에 입력된 library research에서 조사된 결과와 상기한 분석결과를 함께 고려해 볼 때 RT 10.879의 물질은 이중결합이 6번과 9번 탄소에 존재하는 carboxylic acid의 methyl ester인 6, 9-undecadienoic acid methyl ester인 것으로 추정하였다.

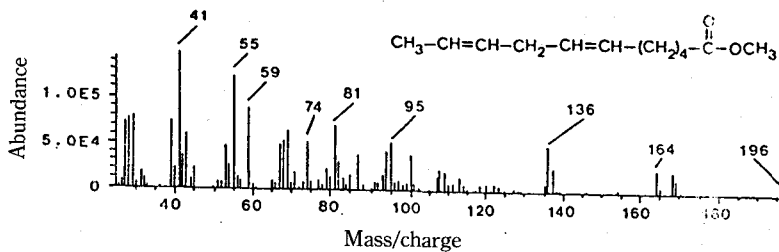


Fig. 5. Mass spectrum of the GC peak of RT 10.879 min.

4) RT 11.015인 물질의 mass spectrum (Fig. 6)에서 분자이온 peak는 비록 약하지만 242m/e에서 감지되고 있으며 methyl 말단에서 $C_3H_7^+$ (43)이 이탈되어 199m/e의 分裂物이 나타났다. 이 후 143과 87m/e는 직쇄상의 $C_4H_8^+$ (56)이온이 開裂된 物質이고 alkene에서 나타나는 특징적 이온 peak들이 감지되지 아니하여 직쇄상의 alkene으로 판정하였다. 또한 methyl ester의 특징적 이온인 74m/e의 分裂物이 base ion peak로서 나타나므로서 이 물질은 tetradecanoic acid methyl ester인 것으로 同定되었다.

5) RT 12.174인 물질의 mass spectrum (Fig. 7)에서 87m/e의 peak는 methyl ester에서 methyl基가 이탈된 $C_3H_7C(=O)O^+$ 이온의 分裂物로서 74m/e의 peak와 함께 methyl ester의 존재를 나타내었다. 그리고 43m/e의 존재로서 methyl말단을 41과 55m/e peak의 감지로서 이중결합의 존재를 추정케 하여 주었다. 227m/e는 270m/e에서 43m/e의 이탈로, 185,

143, 101m/e의 分裂物은 $-(CH_2)_3-(43)$ 이온의 연속적 이탈로 나타난 分裂物로 추정된다. 이 물질의 GLC에 의한 보유시간을 고려해 볼때 분자량이 270 이상이며 분자이온 peak는 감지되지 않은 것으로 추정되어 computer에 의한 해석(library research)결과 12-(acetyloxy)-9-octadecenoic acid methyl ester인 것으로 밝혀졌으며 mass spectrum의 pattern도 일치하였다.

6) RT 13.145의 mass spectrum (Fig. 8)에서는 41, 55, 111m/e의 peak들은 이중결합을 포함하는 分裂物들이며 264, 222, 180m/e의 peak들은 직쇄상의 포화탄화수소에서 생성되는 分裂物로 해석된다. 이 물질 역시 GLC분석상의 보유시간을 고려해 볼때 분자량이 264이하이므로 library research에 의하여 14-octadecenoic acid methyl ester인 것으로 同定되었다.

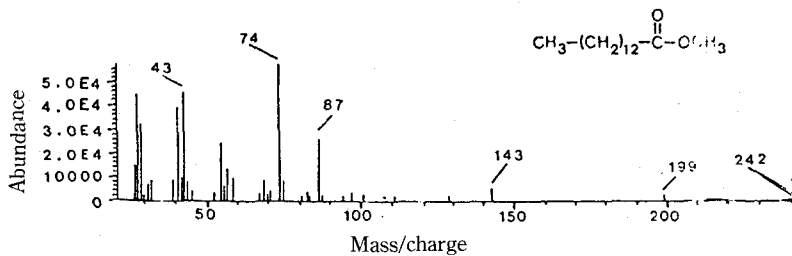


Fig. 6. Mass spectrum of the GC peak of RT 11.015 min.

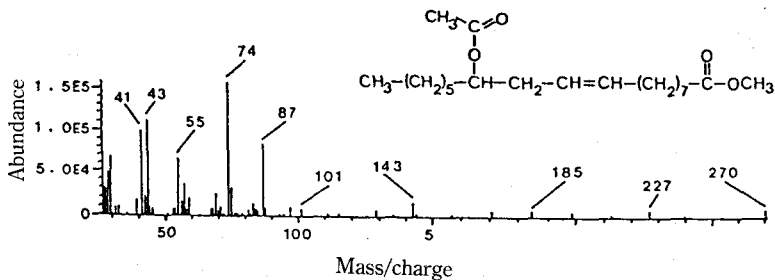


Fig. 7. Mass spectrum of the GC peak of RT 12.174 min.

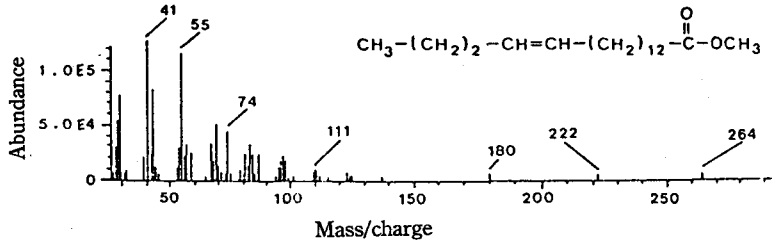


Fig. 8. Mass spectrum of the GC peak of RT 13.145 min.

10-hydroxydecenoic acid(10-HDA)의 함량

벌꿀의 품질판정에 유용한 수단으로 최근 인식되고 있는 10-HDA의 함량을 GC로써 분석한 결과를

Table 5. Frequency of 10-hydroxydecenoic acid content in honeys from three floral sources

Floral sources	10-HDA content (mg%)			
	0-trace	1.0-19.9	10.0-19.9	20.0-30.0
Acacia	2	3	3	1
Chestnut	1	3	4	1
Polyflower	2	2	4	1
Total	5	8	111	3

* Trace is less than 1.0mg%

Table 5에 나타내었다. 대부분의 시료들이 1.0~19.9 mg%의 10-HDA를 함유하고 있었으며 아카시아, 잡화, 밤꿀에서 각각 1개 시료만이 20~30mg%의 함량을 가지고 있었고, 극미량이거나 검출되지 않은 경우도 5개 시료에서 나타났다. 또한 蜜源에 따른 10-HDA함량의 차이는 인정할 만큼 크지 않았으나 시료간의 차이는 많았다. 이러한 차이는 꿀벌의 生態, 採蜜時의 로얄제리 분리에 기인한 것으로 보이며 이에 관한 연구가 더 이루어져야 할 것이다. 한편 인공꿀에서는 예상한 바와 같이 전혀 검출되지 않으므로서 10-HDA분석은 순수인공꿀의 판별에서만 유용한 방법이 될 것으로 생각된다.

참고문헌

- 영인과학사 : 87영인과학분석데이터모음집, p. 31(1988)
- 국립보건원 : 의약품기준 및 시험방법(I) 후보4, pp. 27~30, 약업신문출판국(1988)
- Association of Official Analytical Chemists : Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14th Ed., pp. 588~596(1984)
- 日本藥學會 : 衛生試驗法注解, pp. 269~280, 金原出版株式會社(1973)
- Mason, V. C. Anderson, S. B. and Rodemo, M. : Proc. 3rd FAAP Symp. (on protein metabolism and nutrition) Vol. 1 (1980)
- Hak-Gil Chang, Myung-Kyoo Han and Jae-Gil Kim : Korean J. Food Sci. Technol., 20(5) :631 (1988)
- White, J. W., Jr., Riethof, M. L., Subers, M. H. and Kushnir, I. : U. S. Dep. Agric., Tech. Bull., 1261 : 1(1962)
- 한국 식품 공업협회 : 식품공전, p. 351 (1988)
- 한재경, 김 관, 김동연, 이상규 : Korean J. Food Sci. Technol., 17 (3) (1985)
- 김명찬, 심기환, 조기택, 하영래 : 경상대 논문집 (자연) 18 : 109 (1979)
- 정원철, 김만옥, 송기준, 최언호 : Korean J. Food Sci. Technol., 16 (1) (1984)
- Winkler, O. : Zeitschrift für Lebensmittel undsuchung und Forschung, 102 (3) : 161 (1955)
- 越後多嘉志, 竹中哲夫 : 日本 農化, 48(4), 225 (1974)

**Comparative study on some quality-related components of different floral honeys
- esp. on the contents of unsaturated higher fatty acids -**

Young-Gun Lee,* Byoung-Uk Min and Sun-Uk Lim (*Public Health and Environment Institute of Pusan City, Korea, Department of Agricultural Chemistry, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea)

Abstract : Quality of three kinds of honey from acacia, chestnut and polyflower sources, was evaluated by physicochemical and GC-MS analysis in respect to some chemical composition. The average contents of moisture, ash, HMF(hydroxy methyl furfural) and free acidity were 19.7%, 0.028%, 18.28mg/kg and 8.85 meq/kg, respectively, in acacia honey, 19.1%, 0.05%, 18.47mg/kg and 10.24 meq/kg, respectively, in polyflower honey, and 18.9%, 0.050%, 20.21 mg/kg, 12.28 meq/kg, respectively, in chestnut honey. The average contents of glucose and fructose ranged from 31.0 to 32.0% and from 35.0 to 36.0%, respectively, in all three kinds of honey. The average ratio of fructose to glucose was 1.14 in all three kinds of honey. Fatty acid composition in honey identified by GC-MS analysis was dodecanoic acid, 10-hydroxy-2-decanoic acid, 6, 9-undecadienoic acid, tetradecanoic acid, 12-(acetyl oxy)-9-octadecenoic acid and 14-octadecenoic acid. The content of 10-hydroxy-2-decenoic acid was about 10% in three kinds of honey.