

## 다양한 꿀에 함유된 무기물 조성, Hydroxy Methyl Furfural 함량 및 꿀 단백질의 전기영동 패턴 비교

정미애 · 김천제<sup>1</sup> · 백현동<sup>1</sup> · 오재욱<sup>1</sup> · 이시경\*

건국대학교 농축대학원 식품공학과, <sup>1</sup>축산식품생물공학과

### Comparision of Mineral, Hydroxy Methyl Furfural Content and SDS-PAGE Pattern of Proteins in Different Honeys

Mi-Ea Jung, Cheon-Jei Kim<sup>1</sup>, Hyun-Dong Paik<sup>1</sup>, Jae-Wook Oh<sup>1</sup>, and Si Kyung Lee\*

Department of Food Science and Technology, Graduate School of Agriculture and Animal Science,  
Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

<sup>1</sup>Department of Food Science and Biotechnology of Animal Resources, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

#### Abstract

This study was conducted to analyze ash content, mineral composition, hydroxy methyl furfural (HMF) content, stable carbon isotope ratio, and SDS-polyacrylamide gel electrophoresis patterns to investigate the quality characteristics of various honeys harvested from different sources and to identify differences useful for distinguishing honey sources. Ash content was 0.046-0.012% in acacia honey, 0.565-1.318% in chestnut honey, 0.06-0.582% in polyfloral honey, and 0.237-0.893% in native bee honey. Potassium content was high in order of chestnut honey>native bee honey>polyfloral honey>acacia honey. The Na/K ratio was 0.92-1.97 in acacia honey, 0.02-1.59 in chestnut honey, 0.02-5.30 in polyfloral honey, and 0.22-0.51 in native bee honey. The HMF content was 9.60-12.85, 10.15-25.75, 9.7-33.5, and 6.25-21.5 mg/kg in acacia, chestnut, native bee, and polyfloral honeys, respectively. HMF content was the highest in native bee honey. A 59 kDa protein band was revealed in all samples by SDS-PAGE analysis. Protein bands of 32.1, 31.9, and 33.5 kDa were revealed in some chestnut honeys, and protein bands of 32.3 and 32.5 kDa were shown in native bee honeys. A protein band of 72 kDa was also confirmed in some chestnut honeys.

**Key words :** honey source, mineral, hydroxy methyl furfural, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, carbon isotope ratio

#### 서 론

벌꿀은 인류가 발견한 가장 오래된 감미료로서 우리 생활에 중요한 역할을 해왔을 뿐만 아니라 의약품으로도 널리 사용되어 왔다(Kim *et al.*, 1994). 꿀벌과에 속하는 곤충류는 무려 200여 종이 되지만 양봉할만한 경제적 가치가 있는 벌 종은 동양종인 *Apis indica* FAB.1798과 서양종인 *Apis mellifera* Linne 1761 2종류인 것으로 알려져 있다(Kim and Rhee, 1996). 현재 생산되는 꿀은 대부분이 양봉꿀이며 토종꿀은 그 일부를 차지하고 있다(Lee *et al.*,

1997). 서양종이 생산하는 양봉꿀은 특정한 꽃의 개화기를 이용하여 일정한 장소에서 채밀하거나 밀원이 풍부한 지역으로 이동하면서 1년에 여러 번 수확하게 되는데, 밀원이 되는 식물은 클로버, 감귤, 싸리, 아카시아, 밤나무, 감나무, 메밀, 유채 등 다양하여 밀원에 따라 색, 향기, 맛, 감미 등이 각기 다르며 벌꿀의 감미는 과당, 포도당 등의 당류에 기인한다(Kim and Rhee, 1996). 또한 꿀이 민간요법에서는 의학적 작용도 있는 것으로 생각해왔다. Gheldof와 Engeseth(2002)는 벌꿀이 항미생물성 및 항산화 특성을 가지며 상처, 화상, 위염치료에 유용함을 밝혀냈다. Free radicals이 조직이나 세포 분자를 변형시키거나 유전자 돌연변이를 일으켜 질병을 유발한다는 것은 잘 알려져 있다. 즉, oxidative stress가 많은 질병을 일으키므로 많은 과학자들은 세포에 충격을 줄이거나 막을 수 있는 활성물질을 제공해 줄 수 있는 항산화제에 관심을 가져왔다. 많은 항산

\*Corresponding author: Si Kyung Lee, Department of Food Science & Technology, Graduate School of Agriculture and Animal Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: 82-450-3759, Fax: 82-450-3726, E-mail: lesikyung@konkuk.ac.kr

화제는 식물이 활성산소에 방어하기 위해 합성해 내는 2차 대사산물로 주로 phenolics이다. 식물이 만들어 내는 phenolics는 벌꿀 속에도 존재하며 phenolics의 종류와 함량은 밀원에 따른 유전적인 요인, 환경과 채취 후 가공조건에 따라 달라지며, 꿀에 함유되어 있는 polyphenol류는 caffeic acid, chrysin, galangin, quercetin, acetin, apigenin 등이 있으며, 이들이 암 치료에 유망한 물질로 여겨지고 있다(Janathan and Mandal, 2009). 국내산 벌꿀에 관한 연구로는 이 등(1971)이 토종꿀과 양봉꿀에 함유된 아미노산과 당에 관한 연구 및 정 등(1984)의 꿀의 산도와 유리당, diastatic activity에 관한 연구가 있으며, 한 등(1985)은 토종꿀과 양봉꿀의 유리아미노산 함량 및 저장 온도와 저장 기간에 따른 diastase활성변화에 관한 연구가 있다. 또한 벌꿀 속에는 미량의 단백질이 함유되어 있으며, 많은 연구자들에 의해 확인되어 왔다. Anklam 등(1998)은 벌꿀에는 꽃꿀(nectar), 화분(pollens)과 식물에서 유래한  $\alpha$ -amylase, invertase, catalase, glucose oxidase, phosphatase와 같은 protein이 약 0.2% 존재한다고 보고하였다. Pontoh와 Low (2002)는  $\beta$ -glucosidase를 *Apis mellifera*의 위와 꿀주머니에서 정제하고  $\beta$ -glucosidase가 SDS-PAGE에 의해 72 kDa의 단백질 band로 구성되어 있음을 보고하였다. Sondgrass와 Erikson(1992)은 꿀벌의 하인두 샘(hypopharyngeal glands)에  $\alpha$ -glucosidase가 존재하고 꿀의  $\alpha$ -glucosidase activity와 확실하게 연관되어 있으며,  $\beta$ -glucosidase는 단지 하나의 단백질 band로 SDS-PAGE에 의해 분리되었다고 하였다. Southwick(1992)는 벌꿀의 소화관에서  $\beta$ -glucosidase의 역할은 화분과 같은 cellulosic material에 대한 소화가 아니라 꿀벌에 의해 섭취된 glucoside toxin을 가수분해하는 것이라고 하였다. Lee 등(1998)은 이런 소화액 기원의 효소류는 꿀벌의 종류가 다르면 꿀벌이 생산하는 소화액 효소류의 단백질도 달라지므로 토종꿀과 양봉꿀에는 토종벌과 양봉벌이 생산하는 각각의 특이적인 소화액 기원의 효소류 단백질이 존재하며 이를 SDS-PAGE로 분석하였다.

따라서 본 연구에서는 밀원이 다른 꿀의 특성을 조사하기 위하여 회분함량, 무기물 조성, HMF 함량을 측정하였으며, 꿀에 존재하는 단백질을 SDS-PAGE로 분석하고 분자량을 조사하여 이들이 꿀의 밀원 판별이 될 수 있는지를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 공시재료

본 연구의 시료는 (주)강원농원에서 전국의 양봉인(경북 왜관, 충북 괴산, 강원 양구, 경기 연천)에게서 수매한 벌꿀 중에서 아카시아꿀(Acacia honey, ACH) 7개, 잡화꿀(Polyfloral honey, PFH) 9개, 밤꿀(Chestnut honey, CNH) 5개, 토종꿀(Native bee honey, NBH) 5개를 무작위로 선택하여

상온에서 40-90일간 보관하면서 실험하였다.

### 안정탄소동위원소 비율 측정

안정탄소동위원소비율(stable carbon isotope ratio, SCIR)은 GC-IR/MS(VGISOTECH, Isochrom II, UK)를 이용하여 분석하였다. 즉 시료의 전 처리는 벌꿀 5 mg을 tin capsule에 밀봉하여 EA(elemental analyser)에서 회화하고 CO<sub>2</sub>로 산화시켜 GC로 분리하여 He gas diluter로 희석하여 IR/MS로 <sup>12</sup>C와 <sup>13</sup>C를 측정하였다. 이때 표준물질인 Pee Dee Belemnite의 동위원소 비율에 대한 시료의 동위원소 비율을 측정하여 아래의 식에 의해 산출하였다. EA의 온도 조건은 oxidation tube; 1,030°C, reduction tube; 650°C, oven; 45°C, filament(TCD); 190°C로 하였으며 He gas flow는 Vent-R(reference He); 40 mL/min, Vent-M(measure sample); 80 mL/min, Vent-O2; 25 mL/min으로 하였다. IR/MS의 tune source electronics는 accelerating voltage; 3431.4, extraction voltage; 80.55, half plate differential; 11.3, Z-plates voltage; 62.2, trap current; 400  $\mu$ A, electron volts; 91.06, ion repeller voltage; -2.15, magnet current; 3.4002로 하였다(Cho *et al.*, 2002; Haweret *et al.*, 1992).

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{sample}} - (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{standard}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{standard}}} \times 1000$$

### Hydroxy methyl furfural (HMF) 함량 측정

벌꿀 시료 5 g을 25 mL로 녹여 15% K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 용액 0.5 mL와 30% Zn(CH<sub>3</sub>COO)·2H<sub>2</sub>O용액 0.5 mL를 넣고 물을 가하여 전량이 50 mL가 되게 하였다. 준비된 용액을 여과하여 시험 용액으로 하였다. 시험 용액 각 5 mL를 시험관에 취하고 시험용액관은 증류수를, 공시험용액관에는 0.1% NaHSO<sub>3</sub>용액을 대조액으로 하여 UV Spectrophotometer(U1100, Hitachi-Technologies Co., Japan)로 284 nm와 336 nm에서 각각의 흡광도를 측정하고 다음 식에 따라 HMF를 정량하였다. 이 식에서 A<sub>284</sub>-A<sub>336</sub>은 각 파장에서의 흡광도 값(시험용액-공시험용액)을 의미함(Food Code, KFDA, 2002).

$$\text{HMF}(\text{mg/kg}) = \frac{(A_{284} - A_{336}) \times 149.7 \times 5}{\text{Amount of sample (g)}}$$

### 무기물 분석

시료 1 g을 정확히 취해 HPLC grade H<sub>2</sub>O에 녹여 100 mL로 채운 후 0.45  $\mu$ m-pore sized membrane filter (Millex-HV 13 mm, Millipore Corporation Bedford, USA)로 여과한 여액을 ion chromatography용 시험용액으로 하였다. 분석용 표준물질은 ICP분석용을 사용하였으며 표준용액은 각 무기물의 표준물질(Accustandard Co. Ltd., USA)을 100 mL 용량 flask에 취해 2.5% HNO<sub>3</sub>으로 희석하여 제조한 후

다시 희석하여 working solution을 각각 조제하여 분석하였다.

HNO<sub>3</sub>은 electronic grade를 사용하였고, 모든 물은 1차 증류 후 Millipore Q(Millipore Q system, Millipore Corporation, USA) 이온교환수지를 통과시켜 정제한 것을 사용하였다. 기기분석은 ICP-OES(inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, PE/CIROS Vison, Varian Spectro, Australia)를 사용하였다. 기기 분석 조건은 power; 1.20 KW, plasma flow; 15.0 L/min, auxiliary flow; 15.0 L/min, nebulizer flow; 0.85 L/min, replicate time; 3.0 s, sample uptake; 30 s, rinse time; 10 s, pump rate; 15 rpm, fast pump; on, analysis mode; quantitative, wavelength; Cd 214.439 nm, Co 238.892 nm, Cr 267.716 nm, Cu 327.395 nm, Mg 279.553 nm, Ni 231.604 nm, Pb 220.353 nm, Zn 213.857nm, Fe 238.204 nm, K 766.491 nm, Mn 257.61 nm, Na 589.592 nm, P 213.618 nm, Ca 317.933 nm으로 분석하였다.

### 꿀 단백질의 SDS-PAGE pattern

Laemmli의 SDS-PAGE 방법(1970)을 이용하였으며, molecular weight maker는 BIO-RAD(Bio-Rad Laboratories, CA, USA)의 제품을 이용하였다. Molecular weight maker는 myosin(200 kDa),  $\beta$ -galactosidase(116.25 kDa), phosphorylase b(97.4 kDa), serum albumin(66.2 kDa), ovalbumin(45 kDa), carbonic anhydrase(31 kDa), trypsin inhibitor(21.5 kDa), lysozyme(14.4 kDa), aprotinin(6.5 kDa)을 사용하였다. 벌꿀시료들은 화분제거를 위해 50% 용액으로 제조된 뒤 10,000 g로 10분 원심분리하였다. 원심분리된 50% 벌꿀용액의 상등액과 sample buffer(ddH<sub>2</sub>O 3.8 mL, 0.5 M Tris-HCl(pH 6.8) 1.0 mL, glycerol 0.8 mL, 10%(w/v) SDS 1.6 mL,  $\beta$ -mercaptoethanol 0.4 mL, 1%(w/v) bromophenol blue 0.4 mL)를 1:1로 혼합한 후 10  $\mu$ L를 12% SDS-polyacrylamide gel의 well에 주입 후 전기영동 완충용액(0.025 M Tris-HCl, 0.192 M glycine, 0.1% SDS, pH 8.3)으로 전기영동한 후 gel 염색액(ethanol:acetic acid:water = 9:2:9 혼합액으로 0.25% Coomassie-brilliant blue 제조)으로 염색 후 탈색액(ethanol:acetic acid:water = 25:8:65)으로 탈색하였다(Lee *et al.*, 1998). 꿀 단백질의 분자량은 전기영동 후 molecular weight marker의 R<sub>f</sub>값과 분자량 함수를 구하여 계산하였다.

## 결과 및 고찰

### 벌꿀의 회분 분석

밀원을 달리한 다양한 벌꿀의 회분 함량을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 밤꿀과 토종꿀의 평균 회분함량은 각각 0.889%, 0.570%로 아카시아꿀과 잡화꿀의 평균 회분함량인 0.076%, 0.228%보다 높게 나타났으며 아카시아 꿀과 잡화꿀의 평균 회분 함량이 낮았다. Kim 등(1994)은

**Table 1. Ash contents in various honeys of different sources**

(Unit: %)

Sample <sup>1)</sup>	Ash content	Sample <sup>1)</sup>	Ash content
ACH 1	0.046±0.0099 <sup>2)</sup>	CNH 1	0.835±0.0006
ACH 2	0.060±0.0025	CNH 2	0.888±0.0940
ACH 3	0.055±0.0028	CNH 3	0.565±0.0092
ACH 4	0.084±0.0064	CNH 4	1.318±0.0573
ACH 5	0.077±0.0085	CNH 5	0.838±0.0085
ACH 6	0.092±0.0035		
ACH 7	0.119±0.044		
PFH 1	0.090±0.0064	NBH 1	0.237±0.0092
PFH 2	0.069±0.0071	NBH 2	0.893±0.0233
PFH 3	0.060±0.0014	NBH 3	0.503±0.0601
PFH 4	0.106±0.0078	NBH 4	0.392±0.0177
PFH 5	1.016±0.1386	NBH 5	0.826±0.0601
PFH 6	0.093±0.0003		
PFH 7	0.036±0.0001		
PFH 8	0.003±0.000		
PFH 9	0.582±0.0141		

<sup>1)</sup>ACH, acacia honey; PFH, poly floral honey; CNH, chestnut honey; NBH, native bee honey

<sup>2)</sup>Data are mean±SD of triplicate analysis data for each sample

강원지역에서 수확한 꿀의 분석 연구에서 토종꿀의 회분 함량이 0.26-0.66%이었고, 양봉꿀의 회분 함량은 0.15-0.50%로 나타나, 토종꿀이 양봉꿀에 비해 회분 함량이 높게 나타났다고 하였다. Chung 등(1984)은 국내산 꿀에 관한 연구에서 아카시아꿀의 회분 함량이 0.02%로 낮은 반면 밤꿀은 0.57%로 50배 이상 높은 함량을 나타냈으며, 유채 꿀은 0.10%, 메밀꿀은 0.12%, 크로바꿀은 0.08%로 나타나 꿀 중의 회분 함량은 종류에 따라 차이가 있었다고 하였다. Murat 등(2007)은 잡화꿀의 회분 함량이 0.20%, Rhododendro꿀의 회분 함량은 0.24%, 밤꿀의 회분 함량은 0.50%로 나타나 꿀중의 회분 함량은 종류에 따라 차이가 있었으며 밤꿀의 회분 함량이 잡화꿀의 회분 함량보다 2.5배 높았다고 하였다. 본 연구 결과에서도 밤꿀이 잡화꿀의 회분 함량에 비해 높았다. Chang 등(1987)의 연구에서도 밤꿀이 아카시아꿀 보다 회분 함량이 높았다고 하여 본 실험의 결과와 일치하였다.

Mendes 등(1998)은 회분 함량이 0.6% 이하이면 당밀(molasses)에 의한 혼입이 거의 없었음을 나타낸다고 하였다. 그러나 Musa 등(2006)은 natural honey, saccharose syrup honey(50% 설탕액 0.8 L를 45일 동안 급여하여 생산한 꿀), inverted saccharose syrup honey(inverted syrup 0.8 L를 45일 동안 급여하여 생산한 꿀)의 회분 함량을 분석한 결과, natural honey가 0.177, saccharose syrup honey는 0.216, inverted saccharose syrup honey는 0.498로 모두 0.6% 이하로 나타났다고 하였다.

또한 Ahmet 등(2007)은 pure honey, control honey (water:sugar=1:1.5의 설탕액 총 16 kg을 2개월간 급여하여

생산한 꿀), adulterated honey(water:sugar=1:1.5의 설탕액 총 100 kg을 2개월 간 급여하여 생산한 꿀)의 회분 함량은 control honey가 0.059%, pure honey는 0.052%, adulterated honey는 0.039%로 모두 0.6% 이하였으며, adulterated honey의 회분 함량이 가장 낮았다고 하였다. 이상의 결과로 볼 때 회분 함량만으로는 순수한 꽃 꿀임을 구별할 수 없으며, 같은 밀원인 아카시아와 밤꿀의 회분 함량도 지역이나 기후조건 등에 따라 다양하게 나타남으로 밀원을 구별할 수 없는 것으로 생각된다.

### 벌꿀의 무기물 분석

밀원이 다른 각각의 벌꿀에 함유되어 있는 무기물을 측정 한 결과는 Table 2 및 3에서와 같이 아카시아꿀의 무기

물은 Ca 함량이 가장 높았으며, 그 다음으로 Na, K, Mg 함량 순으로 높았다. 밤꿀의 경우는 K 함량이 가장 높았고, Ca, Na, Mg, P 함량 순으로 높았고 Fe 함량이 가장 낮아 0.41-17.29 ppm이었다. 잡화꿀은 Ca 함량이 가장 높았고(1515.31-2644.18 ppm), Mn이 0.05-9.54 ppm으로 가장 낮았다. 토종꿀의 경우도 Ca 함량(1981.47-4072.69 ppm)과 K 함량(992.17-3117.16 ppm)이 높았고, Mn 함량이 0.35-1948 ppm으로 가장 낮았다. 이상의 무기물 분석에서 K함량은 밤꿀>토종꿀>잡화꿀>아카시아꿀 순으로 높게 존재 하였으며, 밤꿀의 K 함량이 아카시아꿀의 8배, 잡화꿀의 3 배 정도 많이 함유하여 월등한 차이를 나타냈으나 토종꿀과 밤꿀의 차이는 적게 나타났다. 또한 아카시아꿀, 밤꿀, 토종꿀, 잡화꿀의 Ca 함량도 아카시아꿀과 잡화꿀이 비슷

**Table 2. The concentration of major elements in the acacia and chestnut honeys**

Sample <sup>1)</sup>	(Unit: ppm)							
	Ca	K	Mg	Na	P	Zn	Mn	Fe
ACH 1	1367.41±0.00 <sup>2)</sup>	239.12±0.10	217.98±0.09	472.70±0.19	23.56±0.01	13.75± 0.01	0.72±0.01	3.06±0.00
ACH 2	1482.97±3.74	419.17±15.23	200.66±7.29	693.48±4.83	53.99±1.96	8.07± 0.29	0.07±0.03	N.D <sup>3)</sup>
ACH 3	1997.96±9.01	345.90±1.56	234.78±1.06	488.57±2.21	32.31±0.14	20.79± 0.01	0.53±0.00	4.43±0.02
ACH 4	2083.65±3.66	554.21±0.97	247.44±0.44	507.28±0.89	52.24±0.09	35.34± 0.01	1.83±0.00	0.86±0.01
ACH 5	1756.03±3.47	245.48±4.59	219.92±4.11	466.18±6.59	24.90±0.47	14.46± 0.03	0.33±0.02	N.D
ACH 6	1617.91±46.63	251.57±4.85	232.88±4.49	477.76±9.21	27.76±0.53	4.73± 0.01	0.37±0.01	N.D
ACH 7	1573.92±15.52	282.51±2.79	218.92±2.16	450.53±4.44	31.46±3.11	5.48± 0.05	2.04±0.02	N.D
CNH 1	2413.89±11.08	2923.28±3.40	224.54±1.03	601.33±2.76	104.00±0.48	48.35± 0.22	12.53±0.06	14.64±0.07
CNH 2	1674.93±4.91	3738.39±0.95	221.46±0.65	651.52±1.91	83.46±0.24	6.03± 0.02	14.50±0.04	2.28±0.01
CNH 3	2039.64±1.93	3258.70±3.10	335.31±0.32	664.60±0.63	117.01±0.11	33.78± 0.03	27.46±0.02	2.77±0.00
CNH 4	3409.20±5.96	4108.89±7.18	342.42±0.60	662.05±1.16	51.95±0.09	77.99±0.134	25.03±0.04	17.29±0.03
CNH 5	1800.73±1.27	4223.76±4.25	324.19±1.10	676.34±2.29	676.34±2.29	9.65±0.032	23.50±0.08	0.41±0.01

<sup>1)</sup>ACH, acacia honey; CNH, chestnut honey

<sup>2)</sup>Mean±SD of triplicate analysis data for each sample

<sup>3)</sup>ND, Not detected

**Table 3. The concentration of major elements in the poly floral and native bee honeys**

Sample <sup>1)</sup>	(Unit: ppm)							
	Ca	K	Mg	Na	P	Zn	Mn	Fe
PFH 1	1616.16±2.24 <sup>2)</sup>	387.11±12.67	154.75±5.06	463.59±15.18	65.79±21.53	28.17±0.92	0.26±0.01	6.11±0.20
PFH 2	1873.30±17.38	364.86±13.27	196.80±7.16	8.48±0.31	37.71±1.34	7.31±0.23	0.18±0.01	0.31±0.01
PFH 3	2644.18±9.72	2274.09±8.36	310.44±1.14	556.87±2.05	140.16±0.52	62.60±0.23	8.15±0.03	12.96±0.05
PFH 4	1344.55±31.03	292.27±6.75	169.34±3.91	343.32±7.93	22.16±0.51	22.23±0.51	0.70±0.01	2.64±0.06
PFH 5	1527.96±12.11	708.84±2.80	375.30±0.23	408.01±3.23	105.18±0.83	41.51±0.33	3.67±0.03	0.40±0.00
PFH 6	1515.31±26.60	2791.15±8.81	348.83±0.01	674.10±3.05	155.68±15.25	21.65±2.12	9.54±0.93	0.33±0.03
PFH 7	1948.63±9.93	487.59±2.49	248.83±1.27	538.33±2.74	54.73±0.28	39.40±0.20	1.19±0.00	1.80±0.01
PFH 8	1832.50±16.83	166.08±1.53	251.50±2.3	565.41±5.19	6.44±0.06	7.88±0.07	0.05±0.00	N.D <sup>3)</sup>
PFH 9	2563.01±5.92	92.07±0.21	268.56±0.62	487.98±1.13	33.59±0.08	41.16±0.10	1.45±0.00	1.80±0.00
NBH 1	1981.47±2.87	2250.53±3.26	249.04±0.36	594.30±0.86	77.24±0.11	22.17±0.03	8.35±0.01	4.13±0.01
NBH 2	2659.86±32.11	1379.59±16.66	243.60±2.94	543.40±6.56	59.53±0.72	79.29±0.96	0.35±0.07	16.86±0.20
NBH 3	2345.36±34.25	2310.66±33.74	296.76±4.33	594.26±8.68	74.00±1.08	47.96±0.70	9.88±0.46	12.94±0.19
NBH 4	2349.04±27.57	992.17±11.65	293.86±27.73	510.05±5.99	96.04±1.13	36.57±0.43	5.50±0.06	10.28±0.12
NBH 5	4072.69±19.61	3117.16±11.65	348.89±11.17	680.15±21.79	143.67±3.59	103.42±3.31	19.48±0.62	16.87±0.54

<sup>1)</sup>PFH, poly floral honey; NBH, native bee honey

<sup>2)</sup>Mean±SD

<sup>3)</sup>ND, Not detected

**Table 4. K/Na and Na/K ratio in honey of various floral sources**

Sample <sup>1)</sup>	K/Na	Na/K	Sample <sup>1)</sup>	K/Na	Na/K
PFH 1	0.84	1.20	ACH 1	0.51	1.97
PFH 2	43.03	0.02	ACH 2	0.60	1.65
PFH 3	4.08	0.24	ACH 3	0.71	1.41
PFH 4	0.85	1.17	ACH 4	1.09	0.92
PFH 5	1.74	0.58	ACH 5	0.53	1.90
PFH 6	4.14	0.24	ACH 6	0.53	1.90
PFH 7	0.91	1.10	ACH 7	0.63	1.59
PFH 8	0.29	3.40	CNH 1	4.70	1.59
PFH 9	0.19	5.30	CNH 2	5.74	0.22
NBH 1	3.79	0.26	CNH 3	4.90	0.17
NBH 2	2.54	0.39	CNH 4	6.21	0.02
NBH 3	3.89	0.26	CNH 5	6.25	0.16
NBH 4	1.95	0.51			
NBH 5	4.58	0.22			

<sup>1)</sup>ACH, acacia honey; PFH, poly floral honey; CNH, chestnut honey; NBH, native bee honey

하게 함유하였고, 밤꿀과 토종꿀이 비슷하게 나타나서 밀원에 따른 차이로 규정하기에는 한계가 있다고 생각된다. Kim과 Rhee(1996)는 토종꿀의 무기성분 중 K의 함량이 가장 높았다고 하였으며, Chung 등(1984)도 유채꿀, 아카시아꿀, 밤꿀, 메밀꿀, 클로버꿀의 무기성분을 분석한 결과 K와 Na의 함량이 가장 높았으며 무기성분의 조성비와 함량은 꿀의 종류에 따라 현저한 차이를 나타내었고 무기성분 중에서 K의 함량은 아카시아꿀이 13.35 mg%를, 밤꿀에는 78.16 mg%를 함유하여 5배 정도 밤꿀에 많이 함유되어 있었다고 하였다. 또한 Na는 아카시아꿀에 2.93 mg%가 함유되어 비교적 낮은 함량을 보였으나 밤꿀과 메밀꿀에 각각 48.43 mg%, 15.12 mg%로서 그 함량이 매우 높았다고 하였다.

이상에서 Rashed와 Soltan(2004)의 연구결과와 같이 벌꿀의 무기물 성분은 꿀을 생산하는 벌의 종류의 차이(양봉과 토종벌)에 의한 것이 아닌 주된 밀원이 되는 꽃이 생장하는 토양의 성분에 의해 영향을 받는 것으로 생각된다.

한편, 토종꿀과 양봉꿀의 K와 Na 함량의 비율이 다소 차이가 있는 것으로 알려져 있어(Kim and Rhee, 1976), 밀원이 각기 다른 꿀의 Na/K ratio 및 K/Na ratio를 조사한 결과는 Table 4에서와 같이 양봉꿀인 아카시아꿀의 Na/K ratio는 0.92-1.97, 밤꿀은 0.02-1.59, 잡화꿀은 0.02-5.30, 토종꿀은 0.22-0.51로 나타났다. Kim 등(1994)은 토종꿀과 양봉꿀의 Na/K ratio가 각각 0.11-0.27과 0.15-0.6으로 양봉 꿀이 토종꿀보다 높게 나타났으며 자연 밀원 중 토종꿀과 양봉꿀을 식별할 수 있는 방법의 하나로 생각할 수 있다고 하였다. 그러나, 본 실험에서는 토종꿀이 양봉꿀보다 낮게 나타났지만 밤꿀 2, 3, 4, 5와 잡화꿀 2, 3, 5, 6은 토종꿀과 비슷하거나 더 낮게 나타나서 밀원의 종류나 토종과 양봉의 구별에 적용하기에는 부적절한 것으로 생

각된다.

또한 K/Na ratio의 경우도 Table 4에서와 같이 아카시아꿀과 토종꿀의 K/Na ratio가 각각 0.51-1.09와 1.95-4.58로 비교적 높게 나타났으며, Na/K ratio에 비해 높았다. 그러나 밤꿀의 K/Na ratio는 4.7-6.25로 월등히 높게 나타났으며, 잡화꿀에서는 0.19-43.03으로 나타나 그 차이가 가장 컸다. 이상의 실험에서 토종꿀과 밤꿀의 K/Na ratio가 높게 나타나 Na 함량보다 K 함량이 높았음을 알 수 있었다. Kim과 Rhee(1996)는 토종꿀은 K/Na ratio가 10 이상을 보였으며, 특정지역의 꿀은 무려 170.6의 높은 수치를 보였으나, 반면 양봉꿀은 1에 가까운 ratio를 보임으로써 토종꿀을 판별할 수 있는 중요한 지표로 이용될 수 있을 것으로 판단된다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 양봉꿀인 아카시아꿀은 0.51-1.09, 밤꿀은 4.7-6.25, 잡화꿀은 0.84-43.03, 토종꿀은 1.95-4.58로 양봉꿀인 아카시아꿀과 잡화꿀은 잡화 2를 제외하고 토종꿀보다 낮게 나타났으나 토종꿀, 양봉 꿀 모두 10 이하였다. 양봉꿀인 밤꿀은 토종꿀보다 높게 나타났고 양봉꿀인 잡화꿀 2는 43.03으로 가장 높게 나타나 단지 토종꿀과 양봉꿀로만 판별하기에는 부족한 것으로 생각된다.

#### 벌꿀의 HMF 함량

밀원이 다른 각각의 벌꿀의 HMF 함량을 측정한 결과는 Table 5와 같다. 아카시아꿀의 HMF 함량은 9.60-12.85 mg/kg, 밤꿀의 HMF 함량은 10.15-25.75 mg/kg로 나타났으나, 밤 꿀 3, 4는 다른 세 시료보다 높아 각각 23.4와 25.75 mg/

**Table 5. The content of HMF in the mono floral, poly floral and native bee honeys**

Sample <sup>1)</sup>	HMF (mg/kg)	Sample <sup>1)</sup>	HMF (mg/kg)
ACH 1	12.00±0.071 <sup>2)</sup>	CNH 1	14.05±1.591
ACH 2	12.25±0.955	CNH 2	14.90±2.051
ACH 3	9.80±1.061	CNH 3	23.40±1.697
ACH 4	12.85±1.096	CNH 4	25.75±0.955
ACH 5	10.65±0.601	CNH 5	10.15±1.55
ACH 6	9.60±1.626		
ACH 7	10.35±0.601		
PFH 1	21.50±0.071	NBH 1	13.95±0.460
PFH 2	11.20±1.344	NBH 2	33.50±1.485
PFH 3	6.35±0.318	NBH 3	13.75±0.813
PFH 4	11.05±0.742	NBH 4	9.70±0.566
PFH 5	12.25±0.123	NBH 5	11.10±1.273
PFH 6	6.25±0.318		
PFH 7	11.45±0.106		
PFH 8	6.65±0.601		
PFH 9	7.70±0.106		

<sup>1)</sup>ACH, acacia honey; PFH, poly floral honey; CNH, chestnut honey; NBH, native bee honey

<sup>2)</sup>Mean values obtained after duplicate determination of each sample±SD

kg이었다. 토종꿀의 HMF 함량도 9.70-33.5 mg/kg로 나타났는데 그 중 토종꿀 2의 HMF 함량은 33.5 mg/kg으로 다른 시료에 비하여 매우 높았으며, 잡화꿀의 HMF 함량은 6.25-21.50 mg/kg으로 나타났다. Kim 등(1994)의 연구에서는 토종꿀의 HMF 함량이 0.25-0.68 mg/kg이었고 양봉꿀은 0.15-0.33 mg/kg이었다고 하여 본 실험의 결과보다 매우 낮았다. Murat 등(2007)은 밤꿀의 HMF 함량이 28.6±1.9 mg/kg이었다고 하였으며, Mendes 등(1998)은 서로 다른 25종의 꿀에 대한 연구에서 HMF 함량이 1.7-94.9 mg/kg로 다양하게 나타났다고 하였다. Tosi 등(2002)은 HMF가 산성에서 육탄당이 탈수될 때 생성되거나 Maillard reaction에 의해서 생성된다고 하였으며, Lee와 Nagy(1990)는 열, 저장 온도의 상승, 긴 저장기간 등이 HMF를 상승시킨다고 하였다. Anklam(1998)은 밤꿀의 HMF와 산도 사이에 상관관계가 성립하며, 산도가 가장 높은 밤꿀에서 HMF함량도 가장 높아 산도가 HMF에 영향을 주는 요인이 될 수 있다고 하였다. 그러나 본 실험에서 산도가 가장 낮은 밤 꿀 3의 HMF 함량은 23.40±1.697 mg/kg이었고 밤꿀 시료 중 가장 높은 산도를 나타낸 밤꿀 2(Jung *et al.*, 2008)의 HMF 함량은 14.90±2.051 mg/kg로 더 낮게 나타나서 Anklam(1998)에 의한 HMF와 총 산도 사이에 상관관계를 확인할 수 없었다. 또한 Donner(1997)는 꿀의 당은 fructose/glucose ratio가 다양하며 일반적으로 산성인 꿀의 당의 HMF 생성은 이 반응에 비교적 쉽게 영향을 받는 6탄당인 fructose의 acid catalyzed dehydration의 결과라고 했다. Lee와 Nagy(1990)는 fructose는 빠르게 enolize되므로 glucose에서 HMF가 생성되는 것보다 fructose에서 HMF가 생성되는 것이 훨씬 빠르다고 하였다. 따라서 꿀은 시간이 경과함에 따라 색이 짙어지고 HMF 함량도 증가하게 된다. 이와 같이 HMF의 생성은 당의 조성에도 관계가 있는 것으로 생각된다.

국내 식품 공전 상 벌꿀의 HMF 함량 규격은 80 mg/kg 이하로 정하고 있으며(Korean Food Code, 2002), 유럽 연합은 열대지역에서 생산되는 꿀의 경우 80 mg/kg 이하로 하고 그 외 지역 모두 40 mg/kg 이하로 HMF를 제한하고 있어(Zappala *et al.*, 2005) 본 실험에서의 꿀의 HMF 함량은 규격보다 월등히 낮았다. 벌꿀은 주로 단당류로 이루어져 있고 산성이기에 열을 가하던가 장시간 저장하게 되면 hexose로부터 탈수 반응이 일어나 HMF가 생성된다. HMF 함량이 높은 제품은 벌꿀을 열처리하였거나 HMF 함량이 높은 산분해당을 첨가한 것으로 간주되어 왔다. 따라서 HMF함량은 벌꿀의 신선도와 관련되어 있으며(Kim and Lee, 1996; Zappala *et al.*, 2005), 이와 같이 HMF 함량을 규제하는 것은 꿀에 설탕의 혼입이나 가열을 방지하기 위해서 설정된 것으로 볼 수 있다

이상의 실험에서 아카시아꿀의 평균 HMF 함량은 11.07 mg/kg, 밤꿀의 평균 HMF 함량은 17.65 mg/kg, 토종꿀의

평균 HMF 함량은 16.40 mg/kg, 잡화꿀의 평균 HMF 함량은 10.49 mg/kg로 나타나 모두 규격 보다 월등히 낮았으며, 토종꿀이 아카시아 꿀과 잡화꿀보다 평균 HMF 함량이 다소 높게 나타난 것은 1년에 한번 채밀하므로 다른 양봉 꿀보다 긴 숙성기간을 갖게 되기 때문이라 생각된다. 밤꿀이 높은 HMF 값을 나타낸 것은 높은 fructose/glucose ratio(Jung *et al.*, 2008)에 의한 fructose의 acid catalyzed dehydration의 결과라 생각되어 진다. Han 등(1985)의 연구에서는 채밀 직후의 HMF 함량은 양봉밀이 0.029-0.059 mg%이었고 토종밀이 0.015-0.135 mg%이었다고 하였다. 또한 가열처리를 했던 시료와 가열처리를 하지 않은 시료를 20°C에서 120일간 저장하였던 결과 가열처리 했던 꿀은 초기에 많이 생성되었는데 유채꿀은 0.029에서 0.195 mg%로 아카시아꿀이 0.059에서 0.225 mg%로 밤꿀이 0.059에서 0.135 mg%로 증가하였으며 저장과정에서 가열처리의 유무에 상관없이 HMF가 증가하는 기울기는 거의 같은 경향을 보였다고 하였다. 이상의 결과들을 검토해 볼 때 HMF 함량만으로 밀원의 구별은 어렵지만, adulterated bee honey의 경우 HFCS가 혼입되어 지면 HMF함량이 혼입여부를 구분할수 있을 것으로 생각된다.

#### 벌꿀의 안정탄소동위원소 비율(stable carbon isotope ratio, SCIR) 측정

아카시아꿀과 잡화꿀의 안정탄소동위원소 비율을 측정 한 결과는 Table 6에서와 같이 아카시아꿀의 SCIR은 -18.6 ~ -25.5, 잡화꿀은 -19.5 ~ -25.3으로 나타났다.

Hawer 등(1992)의 연구에서 아카시아꿀의 SCIR이 -24.225 ~ -26.152, 유채꿀은 -26.464 ~ -27.082, 백설탕은 -11.136, 흑설탕이 -11.430, 물엿이 -9.709 ~ -10.009, 고과당 시럽은 -9.935 ~ -10.568로 나타나서 순수한 벌꿀일수록 SCIR 값이 적게 나타났다. 안정탄소동위원소 비율을 조사한 본 실험에서 아카시아꿀, 밤꿀, 잡화꿀, 토종꿀 대부분이 -24.0 ~ -26.1%의 분포를 보였으나 아카시아꿀 2와 잡화꿀 4의 안정 탄

Table 6. Stable carbon isotope ratios (SCIR) in various honeys of different sources

Sample <sup>1)</sup>	SCIR(‰)	Sample <sup>1)</sup>	SCIR(‰)
ACH 1	-24.5±0.11 <sup>2)</sup>	PFH 3	-24.9±0.14
ACH 2	-18.6±0.18	PFH 4	-19.5±0.16
ACH 3	-25.2±0.12	PFH 5	-25.3±0.11
ACH 4	-25.4±0.10	PFH 6	-24.0±0.12
ACH 5	-25.5±0.11	PFH7	-24.8±0.11
ACH 6	-25.0±0.14	CNH 1	-25.2±0.27
ACH 7	-25.5±0.11	CNH 2	-25.8±0.14
		NBH 3	-24.7±0.18
		NBH 4	-26.1±0.21

<sup>1)</sup>ACH, acacia honey; PFH, poly floral honey; CNH, chestnut honey; NBH, native bee honey

<sup>2)</sup>Mean±S.D of triplicate analysis data for each sample

소 동위원소비율이 다소 낮았다. 그러나 밤꿀과 토종꿀은 -24.7~ -26.1%을 나타내었다. 안정탄소동위원소 비율은 밀원이나 생산환경에 따라 다소 차이가 있지만 순수 꽃꿀의 경우 -27.0~ -21.5 정도의 분포를 나타내며 사탕수수나 옥수수를 가공하여 생산된 설탕이나 물엿은 -12.0~ -9.0 정도로 확연한 차이를 나타내기 때문에 벌꿀의 순도를 측정할 수 있다고 하였다(Cho and Ha, 2002).

Padovan 등(2003)은 40개의 브라질산 꿀, 8개의 아르헨티나산 꿀, 3개의 미국산 꿀, 4개의 캐나다산 꿀의 SCIR을 측정한 결과 -11.82~ -30.47이었으며, cane sugar syrup과 high fructose corn syrup의 SCIR을 측정한 결과는 각각 -11.33~ -11.78과 -9.72~ -9.78로 나타나 순수한 벌꿀일수록 SCIR이 낮게 나타났다고 하였다. 또한 꿀에 60% sucrose syrup을 0, 1, 2, 5, 10%로 첨가한 후 SCIR을 측정한 실험에서는 각각의 SCIR이 60% sucrose syrup이 0%일 때는 -27.64±0.14, 1% 첨가시에 -27±0.18, 2%일 때는 -27.11±0.19, 5%일 때는 -26.1±0.18, 10%일 때는 -25.04±0.19로 sucrose syrup의 함량이 증가할수록 높은 값을 나타내었다고 하였다. 그러나 Hawer 등(1992)의 연구에서 나타난 순수한 꿀의 SCIR이 -24.225~-27.082로 나타나, Padovan 등(2003)의 연구에서 나타난 1-10%의 sucrose syrup의 첨가된 꿀의 SCIR을 비교해 보면 유사한 값을 가지므로 sucrose syrup의 오입을 분별할 수 없는 것으로 생각된다. 또한 Bendar(1971)와 Smith와 Epstein(1971)은 carbon isotope ratio의 차이는 photosynthesis cycle의 차이에서 발생하므로 Calvin-Benson photosynthetic cycle plants(대사과정에서 phosphoglyceric acid을 만들게 되는데 phosphoglyceric acid는 3개의 탄소로 구성되어 있어 이러한 식물을 C<sub>3</sub>식물이라 함)의 <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C=δ‰ 값은 -21~-32‰이었고 Hatch-Slack photosynthetic cycle plants(옥수수, 사탕수수 같은 식

물들은 대사과정에서 oxalacetic acid를 처음 만드는데 oxalacetic acid는 탄소가 4개 있으므로 C<sub>4</sub>식물이라 함)의 <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C=δ‰ 값은 -12~-19‰로 다르게 나타났다고 했다(Calvin *et al.*, 1962; Hatch *et al.*, 1967; Hatch and Slack, 1979). Ahmet 등(2007)은 carbon isotope ratio 값이 C<sub>4</sub>식물이 C<sub>3</sub>식물보다 높은 값을 나타냈으며 벌꿀의 밀원이 되는 대부분의 꽃 꿀은 C<sub>3</sub>식물이므로 C<sub>4</sub>식물의 당(옥수수, 사탕수수)의 오입을 구별하는 데는 유용하다고 하였다. 그러나 Anklam 등(1998)의 연구에서는 설탕의 원료인 사탕무(C<sub>3</sub>식물)의 carbon isotope ratio가 C<sub>4</sub>식물의 당(옥수수, 사탕수수)보다 낮은 벌꿀의 밀원이 되는 대부분의 꽃 꿀과 유사한 carbon isotope ratio를 나타내서 C<sub>3</sub>식물인 사탕무 당의 오입을 구별하지 못했다고 하였다. 이상의 결과들을 고려해 볼 때 SCIR만으로는 벌꿀에 꽃 꿀 이외의 당 오입 여부, 특히 밀원의 종류를 구별하는 것은 어렵다고 판단된다.

#### 꿀 단백질의 SDS-PAGE pattern 비교

밀원의 차이에 따른 벌꿀에 함유되어 있는 단백질의 분자량 차이를 조사하기 위하여 꿀 단백질의 SDS-PAGE pattern을 조사하여 각각의 벌꿀에서 나타난 단백질의 SDS-PAGE에 의한 band의 분자량을 측정한 결과는 Table 7과 같다. 아카시아꿀 단백질의 SDS-PAGE에 의한 band의 분자량은 46.1-89.6 kDa이었고, 밤꿀의 단백질 band의 분자량은 31.9-117.9 kDa, 토종꿀 단백질 band의 분자량은 32.3-103.2 kDa, 잡화꿀의 단백질 band의 분자량은 band가 전혀 나타나지 않은 잡화 8번을 제외하고 33.5-100 kDa으로 다양하게 나타났다. Lee 등(1998)은 토종꿀에는 토종꿀만의 주요 단백질(56 kDa)이, 서양종 벌(*Apis mellifera*)에 의해 생산된 양봉꿀에는 양봉꿀만의 주요 단백질(59 kDa)이 각각

**Table 7. Molecular weight(MW) of proteins in honey of various floral sources by SDS-PAGE**

Sample <sup>1)</sup>	Molecular weight (kDa)	Sample <sup>1)</sup>	Molecular weight (kDa)
PFH 1	59.0, 89.6	ACH 1	59.0
PFH 2	58.7	ACH 2	59.0, 89.1
PFH 3	58.6	ACH 3	59.4, 89.6
PFH 4	59.6, 33.5	ACH 4	59.6, 88.4
PFH 5	59.6, 35.9	ACH 5	59.6
PFH 6	59.9, 53.3	ACH 6	59.4, 50.7
PFH 7	59.8, 52.7	ACH 7	46.1, 59.4, 67.5, 76.6, 86.9
PFH 8	ND <sup>2)</sup>	CNH 1	32.1, 59.8
PFH 9	46.1, 59.4, 70.5, 88.1, 100	CNH 2	31.9, 59.8, 61.6
NBH 1	59.0, 89.6	CNH 3	33.5, 60.3, 71.8, 88.4
NBH 2	58.7, 89.1	CNH 4	46.7, 59.4, 77.6, 84.1, 117.9
NBH 3	57.3, 70.6, 91.0	CNH 5	46.1, 59.4, 71.9, 79.3, 92.9
NBH 4	32.3, 57.6, 65.3		
NBH 5	32.5, 59.4, 71.9, 85.8, 103.2		

<sup>1)</sup>PFH, poly floral honey; NBH, native bee honey; CNH, chestnut honey; ACH, acacia honey.

<sup>2)</sup>ND, Not detected.

존재하는 것으로 나타났다고 하였다. 본 연구에서도 양봉 꿀 군 특이적인 단백질인 59 kDa의 단백질이 존재했으나 각 벌꿀 시료마다 약간의 차이가 있었으며, 토종꿀에서도 56 kDa과 유사한 57.3, 57.6 kDa의 단백질이 나타났다.

이런 차이는 Lee 등(1998)이 강원도의 토종꿀을 연구한 반면, 본 연구는 전국의 벌꿀을 대상으로 하였으므로 Deborah (2002)의 연구에서와 같이 지역 차에 의한 형태학적, 유전적인 차이 때문인 것으로 생각된다. 토종꿀 1은 59.0 kDa, 토종꿀 2는 58.7 kDa, 토종꿀 5는 59.4 kDa로 나타나 양봉 꿀 군의 특이성을 나타냈다. 밤꿀 1, 밤꿀 2, 밤꿀 3, 토종꿀 4, 토종꿀 5는 양봉꿀 군의 특이성을 나타내는 59.0 kDa 단백질 band 외에 각각 32.1, 31.9, 33.5, 32.3, 32.5 kDa의 단백질 band가 존재하였다. 그리고 밤꿀 4는 46.7 kDa, 밤꿀 5와 잡화꿀 9에서는 46.1 kDa를 나타내는 단백질이 있음을 확인할 수 있었다. Leonhardt(1996)는 immunoblotting을 이용하여 chestnut honey, forest honey, locust honey, sunflower honey의 단백질을 분리하였는데 꿀마다 공통되는 단백질과 다른 꿀과 구분되는 특정 단백질이 나타났다. 30 kDa/33 kDa의 double band는 sunflower honey만의 특징으로 chestnut honey, forest honey, locust honey에서는 나타나지 않았다. 본 실험을 Leonhardt(1996)의 연구와 비교해 볼 때, 밤꿀 1, 밤꿀 2, 밤꿀 3, 토종꿀 4, 토종꿀 5의 31.9-33.5 kDa의 단백질 band는 우리나라 밤꿀만의 특징이라 생각할 수 있다. 잡화꿀 8은 어떤 단백질 band도 나타나지 않았으며 이는 꿀의 생성과정에 꿀벌이 관여하지 않아 효소류 기원의 단백질이 존재하지 않으며 꽃 꿀이 아니라서 밀원만의 특정 단백질도 전혀 나타나지 않은 것으로 생각된다. Pontoh와 Low(2002)의 실험에서 나타난 서양종 꿀벌인 *Apis mellifera*가 갖고 있는 꿀벌 기원의 대표적인 소화액 효소류인  $\beta$ -glucosidase의 72 kDa의 단백질 band는 밤꿀 3(71.8 kDa), 밤꿀 5(71.9 kDa), 토종꿀 5(71.9 kDa) 외에는 나타나지 않았다.

이상의 결과로 볼 때 꿀 속의 단백질이 소화액 기원의 효소류 단백질 외에 밀원식물의 기원 단백질도 존재하는 것으로 생각되어진다. 이는 다른 종류의 단백질이 존재하는 것이므로 밀원이 되는 식물이 다른 것으로 생각할 수 있다. 따라서 꿀벌뿐 아니라, 밀원 식물의 단백질도 SDS-PAGE pattern에 영향을 주어 꿀 단백질의 SDS-PAGE에 의한 band의 분리와 분자량을 심도 있게 연구하여 이를 이용하면 토종꿀과 양봉꿀의 구별뿐 아니라 밀원별 구별이 가능하며 벌꿀 생성에 꿀벌의 관여 여부의 판별도 가능할 것으로 생각되어진다.

## 요 약

밀원을 달리한 다양한 꿀의 특성을 조사하기 위하여 아카시아꿀 7개, 잡화꿀 9개, 밤꿀 5개, 토종꿀 5개의 시료

를 이용하여, 회분 함량, 무기물 조성과 HMF(hydroxy methyl furfural)함량 및 꿀 단백질의 SDS-PAGE에 의한 단백질 분자량을 조사한 결과는 다음과 같다. 회분 함량은 아카시아꿀이 0.046-0.119%이었으며, 밤꿀은 0.565-1.318%, 잡화꿀 0.06-0.582%, 토종꿀 0.237-0.893% 이었다. 무기물 분석에서 K함량은 밤꿀>토종꿀>잡화꿀>아카시아꿀 순으로 높았으며, Ca함량은 아카시아꿀과 잡화꿀에서 가장 높았다. 아카시아꿀의 Na/K ratio는 0.92-1.97, 밤꿀은 0.02-1.59, 잡화꿀은 0.02-5.30, 토종꿀은 0.22-0.51이었다. 또한 HMF 함량은 밀원의 종류에 관계없이 다양하게 나타나, 아카시아꿀이 9.60-12.85 mg/kg, 밤꿀은 10.15-25.75 mg/kg, 토종꿀은 9.7-33.5 mg/kg, 잡화꿀은 6.25-21.5 mg/kg 이었으며, 토종꿀에서 가장 높았다. SDS-PAGE에 의한 단백질 band의 분자량 분석에서 양봉꿀의 특이적인 59 kDa 단백질이 모든 시료에서 나타났다. 밤꿀과 토종꿀에서 양봉꿀의 특이성을 나타내는 59.0 kDa의 단백질 band 이외에 31.9-33.5 kDa 단백질의 존재가 확인되었다. 72 kDa의 단백질 band도 몇 종의 밤꿀(71.8, 71.9 kDa)에서 확인되었다.

## 감사의 글

이 논문은 2010년도 건국대학교 학술진흥연구비 지원에 의한 논문임.

## 참고문헌

- Ahmet, G., Ayse, B., Cevat, N., and Oguzhan, Y. (2007) Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulterated honey with sucrose(*Saccharum officinarum* L.) syrup. *Food Chem.* **105**, 1119-1125.
- Anklam, E. (1998) A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chem.* **63**, 549-562.
- Bendar, M.M.(1971) Variation in the  $^{13}C/^{12}C$  ratios of plants in relation to the pathway of photosynthetic carbon dioxide fixation. *Phytochemistry* **10**, 1239-1244.
- Calvin, M. and Bassham, J.A.(1962) The photosynthesis of carbon compounds. Benjamin Inc., NY, USA, pp. 56-72
- Chang, H. G., Bae, J. H., Lee, D. T., Chun, S. K., and Kim, J. G. (1987) Mineral constituents of honey produced in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **19**, 426-429.
- Cho, H.J. and Ha, Y.L.(2002) Determination of honey quality by near infrared spectroscopy. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 356-360.
- Chung, W.C., Kim, M.W., Song, K.J., and Choi, E.H. (1984) Chemical composition in relation quality evaluation of Korean honey. *Korean J. Food Sci. Technol.* **16**, 17-22.
- Deborah, R.S.(2002) Genetic diversity in Turkish honey bees. *Uludag Bee J.* **3**, pp. 9-17.
- Donner, L.W.(1997) The sugars of honey: A review. *J. Sci. Food Agric.* **28**, 443-456.

10. Gheldof, N. and Engeseth, N. J. (2002) Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of *in vitro* lipoprotein oxidation in human serum samples. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 3050-3055.
11. Han, J.G., Kim, K., Kim, D.Y., and Lee, S.K. (1985) Composition, the change of diastase activity and hydroxymethylfurfural content during storage of the various honey samples. *Korean J. Food Sci. Technol.* **17**, 155-162.
12. Hatch, M.D. and Slack, C.R. (1979) Photosynthetic CO<sub>2</sub> fixation pathway. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **21**, 141-162.
13. Hatch, M.D., Slack, C.R., and Johnson, H.S. (1967) Further studies on a new pathway of photosynthetic carbon dioxide fixation in sugar cane and its occurrence in other plant species. *Biochem. J.* **102**, 417-422.
14. Hawer, W.D., Ha, J.H., and Nam, Y.J. (1992) The quality assessment of honey by stable carbon isotope analysis. *J. Korean Soc. Anal. Sci.* **5**, 229-234.
15. Jananathan, S. K. and Mandal, M. (2009) Antiproliferative effects of honey and of its polyphenols. *J. Biomed. Biotech.* **2009**, 1-13
16. Jung, M.E. and Lee, S. K. (2008) Quality characteristics of various honeys from different sources. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **28**, 263-268.
17. Kim, B.N., Kim, T.J., and Cheigh, H.S. (1994) Free amino acid, sugar and enzyme activity of honey harvested in Kangwon area. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **23**, 680-685.
18. Kim, E.S. and Rhee, C.O. (1996) Comparison of quality attributes of Korean native bee honey and foreign bee by K/Na ratio. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **25**, 672-679.
19. Korea Food and Drug Administration (2002) Food Code. Korean Foods Industry Association, Seoul, Korea, pp. 468-472.
20. Laemmli U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680-685.
21. Lee, D. C., Lee, S. Y., Cha, S. H., Choi, Y. S., and Rhee, H. I. (1997) Characteristics of native bee honey harvested in Kangwonaera. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 1082-1088.
22. Lee, D.C., Lee, S.Y., Cha, S.H., Choi, Y.S., and Rhee, H.I. (1998) Discrimination of native bee honey and foreign bee honey by SDS-PAGE. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 1-5.
23. Lee, H.S. and Nagy, S. (1990) Relative reactivens of sugars in the formation of 5-hydroxymethylfurfural. *J. Food Proc. Preserv.* **14**, 171-178.
24. Leonhardt, B., Astrid, K., Reinhold, H., Ute, S., Herwig, E., Otto, S., Dietrich, K., and Christof, E. (1996) Food allergy to honey: Characterization of allergenic proteins in honey by means of immunoblotting. *J. Allergy Clin. Immunol.* **97**, 65-73.
25. Mendes, E., Proenca, B., Ferreira, I.M.P.L.V.O., and Ferreira, M.A. (1998) Quality evaluation of Portuguese honey. *Carbohydr. Polym.* **37**, 219-223.
26. Murat, K., Sevg, K., Sengul, K., and Esra, U. (2007) Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem.* **100**, 526-534.
27. Musa, O., Derya, A., and Drumus, A.C. (2006) Effect of inverted saccharose on some properties of honey. *Food Chem.* **99**, 24-29.
28. Padovan, G.J., Jong, D.De., Rodrigues, L.P., and Marchini, J.S. (2003) Detection of adulteration of commercial honey samples by the <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C isotopic ratio. *Food Chem.* **82**, 633-636.
29. Pontoh, J. and Low, N.H. (2002) Purification and characterization of  $\beta$ -glucosidase from honey bees (*Apis mellifera*). *Insect Biochem. Mol. Biol.* **32**, 679-690.
30. Rashed, M.N. and Soltan, M.E. (2004) Major and trace elements in different types of Egyptian mono-floral and non-floral bee honeys. *J. Food Comp. Anal.* **17**, 725-735.
31. Smith, B.N. and Epstein, S. (1971) Two categories of <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C ratios for higher plants. *Plants Physiol.* **47**, 380-384.
32. Sondgrass, R.E. and Erickson, E.H. (1992) The anatomy of the honey bee. In: The hive and the honey bee. Graham, J. M. (ed) Dadant and Sons Inc., IL, USA, pp. 103-169.
33. Southwick, E.E. (1992) Physiology and social physiology of the honey bee. In: The hive and the honey Bee. Graham, J. M. (ed) Dadant and Sons, Inc., IL, USA, pp. 171-196.
34. Tosi, E., Ciappini, M., and Lucero, H. (2002) Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chem.* **77**, 71-74.
35. Zappala, M., Fallico, B., Arena, E, and Verzera, A (2005) Methods for determination HMF in honey: A comparison. *J. Food Control* **6**, 273-277.

---

(Received 2010.10.18/Revised 2011.1.17/Accepted 2011.2.9)