

Comparative Phenolic Composition and Antioxidant Properties of Honey and Honeycomb Extracts

Da Hee Kang¹ and Min Young Kim^{1,2*}

¹Toxicology Laboratory, Major in Biomaterials, College of Applied Life Science, SARI, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

²Research Institute for Subtropical Agriculture and Biotechnology, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

Received July 20, 2015 / Revised September 19, 2015 / Accepted September 24, 2015

Although many studies have described the physiological effects of bee products, such as honey, propolis, pollen, and royal jelly, the health benefits of honeycomb remain incompletely characterized. We performed a comparative study of the antioxidant properties of honey and honeycomb extracts using two different solvents (water and 95% ethanol). The results showed that the total phenolic and flavonoid content of the honeycomb extract was higher than that of the honey extract. They also demonstrated that water was more effective than ethanol in extracting total phenols. The *in vitro* antioxidant properties of the water honeycomb extract were evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and nitric oxide (NO[•]) radical scavenging assays and ferrous ion chelating and reducing power assays. The antioxidant activity of the honeycomb extract exhibited was higher than that of the honey extract. The 50% effective concentrations (EC₅₀) of the honeycomb extract were 7.3±0.26 mg/ml for scavenging DPPH radicals, 6.1±0.22 mg/ml for scavenging NO[•] radicals, 6.9±0.44 mg/ml for chelating ferrous ions, and 8.2±0.11 mg/ml for reducing power. A correlation analysis revealed that the total phenolics and flavonoids of the honeycomb extract were the major contributors to the radical scavenging activity, ferrous ion chelating, and reducing power. The honeycomb extract was effective in protecting biological systems against various oxidative stresses *in vitro*. This is the first report on the antioxidant properties of honeycomb.

Key words : Antioxidant activity, honey, honeycomb, phenolics

서 론

벌꿀은 예로부터 천연감미료 및 약용으로 이용되어 왔으며 현재에도 제과류, 과실, 음료 등에 첨가물로 사용할 뿐만 아니라 화장품이나 의약품의 원료로 활용하기 위한 많은 연구가 진행되고 있다[9]. 벌꿀은 밀원에 따라 품질의 차이가 있으나 일반적인 당 성분은 단당류로써 높은 에너지로 섭취 시 신체 흡수가 빨라 피로회복에 효과적이며 멜라닌 생성 억제, 항균, 항암, 항산화 등과 관련된 다양한 생리활성 관련 물질을 함유하고 있어 기능성 소재로써 가치가 있다고 알려져 있다[9, 12]. 뉴질랜드산 마누카꿀은 그 대표적 예로서 상처 치료 및 화상치료제로 쓰일 뿐만 아니라 의약품의 원료로 많이 이용되고 있는데 특히 메틸글리옥살(methylglyoxal)이라는 성분이 함유되어 있어 항균력이 우수한 것으로 입증되었다[1].

벌집체꿀은 꿀벌이 체내에서 꿀을 소화시켜 만들어지는 밀

랍 내부에 벌집을 만들고 그 안에 꿀을 생산한 벌집을 통째로 숙성시켜서 만들어진 것으로 프로폴리스, 화분, 로얄제리, 벌꿀, 천연밀랍벌집 등을 모두 포함하고 있는 종합적 양봉산물로서 2, 3차 가공을 통해 화장품, 의약품, 각종 제품의 기초소재, 식품첨가제, 건강보조식품으로 제조 판매되고 있다. 프로폴리스는 꿀벌들이 수목류의 성장점 보호 물질이나 진액을 수집하여 타액과 혼합하여 만들어진 것으로 벌집 내로 침입하는 미생물이나 외부에서 침입하는 물질에 대하여 부패를 억제하는 성질을 가지고 있어[28], 에탄올 추출물에서 높은 환원력을 나타낼 뿐만 아니라 그람 양성균에서 높은 항균활성을 보였고 A549 (폐암세포)에 대하여 높은 세포독성을 나타내었다[19]. 로얄제리는 벌집 내에서 벌의 유충이나 여왕벌유충의 먹이로써 오래 전부터 기능성물질이 풍부하다 알려져 있는데, 10-HDA라는 성분에 의한 항암효과[27]와 멜라닌 생성억제, 세포 내 ROS 감소 효과 등 여러 연구들에 의해 생리활성 효과가 입증되어 많은 기능성식품으로 이용되고 있다[5, 6]. 최근에는 벌집밀랍에서 추출한 고분자 지방족알코올의 혼합물인 비즈왁스 알코올(beeswax alcohol)이 위점막을 보호하고 항산화 효과가 뛰어나다는 것[24]이 확인되어 국내외에서 건강보조식품의 원료로 이용되고 있다.

활성산소는 호흡을 통해 체내로 유입된 산소가 미토콘드리아, 식세포 혹은 세포질에서 대사 과정 중에 생성되는 반응성

*Corresponding author

Tel : +82-64-754-3349, Fax : +82-64-756-3351

E-mail : jeffkim@jejunu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

이 매우 높은 유리 라디칼로서 생체 내로 이물질이 침입했을 시 방어 시스템의 역할을 하지만 과량으로 존재하게 되면 세포막, 단백질, DNA, 효소 등을 손상시키게 되어 노화를 촉진할 뿐만 아니라 동맥경화, 고지혈증, 뇌졸중 및 백내장, 당뇨 등과 같은 질병을 유발하게 된다[16, 25]. 따라서 생체 내에서는 활성산소를 제거하기 위한 여러 효소들이 존재하여 산화 반응을 방지하려고 노력하지만 잘못된 식습관, 환경오염, 스트레스 등과 같이 다양한 외부적인 요인에 의해 과량으로 활성산소가 발생하게 된다. 이에 따라 산화 환원의 균형을 맞추기 위한 항산화 물질 개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다[16, 25].

최근 벌집채꿀을 활용한 식품의 다양화가 이루어지고 있는 상황에서 체계적인 인체 작용 연구가 필요할 뿐만 아니라 벌집채꿀을 통해 많은 양봉산물이 생산되는 만큼 벌집채꿀에 대한 무한한 가능성에 비하여 아직까지 구체적인 연구가 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 벌꿀과 벌집채꿀의 항산화 성분과 활성을 측정하여 비교 분석함으로써 잠재적 천연물 기능성 식품 소재로서 벌집채꿀의 활용 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

시료의 제조

본 연구에서 사용된 벌꿀 및 벌집채꿀은 2014년도에 제주도 지역 야생화로부터 채밀한 벌꿀 및 벌집채꿀을 ㈜한라산 식품으로부터 제공받아 사용하였다. 벌집채꿀은 잘게 분쇄하여 시료와 용매가 500 g/l가 되도록 물, 95% 에탄올을 첨가하여 준 뒤 60°C의 shaking incubator에서 3시간 간격으로 3번 나누어서 추출하였다. 추출 후 벌집의 천연밀랍 성분을 제거하기 위해 -20°C에서 48시간 동안 냉동보관 한 뒤 paper filter로 반복여과 하여 매 회 여과한 여액을 수집하였고 0.45 µm syringe filter로 재차 여과하여 사용하였다[19]. 벌꿀의 경우 벌집채꿀 추출물과 같은 조건으로 시료를 제조하였고 왁스성분을 제거할 필요가 없으므로 shaking incubator에서 제조를 마친 후 냉장보관 한 뒤에 위와 동일한 방법으로 여과하였다.

실험 시약

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량에 사용된 시약인 Folin-Ciocalteu는 Merck & Co. (Germany), gallic acid 및 rutin은 Sigma Chemical Co. Ltd. (St. Louis, MO, USA) 에서 구입하여 사용하였다. 항산화능 측정 실험에 사용된 시약인 iron (II) chloride는 Alfa aesar Co. Ltd. (UK), trichloroacetic acid는 Merck에서 구입하였고, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), sodium nitroprusside, griess reagent, ferrozine, potassium ferricyanide (III) 등은 Sigma 에서 구입하여 사용하였다.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량 측정은 Kim 등[17]의 방법에 의해 실행하였다. 시료용액 30 µl와 증류수 150 µl, 95% 에탄올 30 µl, 50% Folin-Ciocalteu reagent 15 µl를 첨가하여 잘 혼합하고 5분간 실온에 방치하였다. 5분간 반응시킨 후 5% NaCO₃ 30 µl를 첨가하여 혼합하고 차광한 상태에서 1시간 동안 실온에 발색시킨 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선을 통해 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Kim 등[17]에 의한 방법을 이용하여 측정하였다. 실험에 앞서 준비한 시료 30 µl를 증류수 120 µl, 5% NaNO₂ 9 µl와 함께 혼합하여 6분간 방치한 후 10% AlCl₃ 9 µl를 첨가해 6분간 반응시킨다. 그 다음 1 M NaOH 60 µl 및 증류수 72 µl를 혼합하여 15분간 실온에서 반응시키고 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 rutin을 사용하여 총 플라보노이드 함량(mg rutin equivalent/100 g dry weight)을 산출하였다.

DPPH radical 소거 활성

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거 활성은 Kim 등[14]의 방법을 이용하였다. 0-10 mg/ml 농도로 희석된 시료 100 µl를 96-well plate에 분주한 뒤 동량의 0.4 mM DPPH 용액을 혼합하여 10분 동안 암반응 시켜주고 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료를 대조구와 비교하여 감소된 흡광도로부터 radical 제거율을 계산하였고, 50%의 DPPH radical을 소거하는 유효농도(EC₅₀)를 계산하였다.

Nitric oxide 소거 활성

Nitric oxide 소거능은 Kim 등[14]의 방법에 따라서 96-well plate에 농도 별로 희석한 시료 50 µl와 phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.0)에 녹인 10 mM sodium nitroprusside 50 µl를 첨가하여 25°C에서 3시간 동안 반응시켰다. 여기에 griess reagent 100 µl를 가한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하여 무첨가군의 흡광도를 첨가군과 비교하여 NO[•] 소거 효과에 대하여 계산하였고, NO[•]를 50% 소거하는데 유효한 농도(EC₅₀)를 나타내었다. Griess reagent는 5% polyphosphoric acid를 함유하는 1% sulfanilamide와 0.1% N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride를 사용직전에 1:1 (v/v)로 혼합하여 사용하였다.

Ferrous ion chelating 활성

Chelating 활성은 Kim 등[15]에 의한 방법을 통해 측정하였다. 시료를 96-well plate에 250 µl 분주하고 2 mM ferrous chloride (FeCl₂) 5 µl을 첨가한 뒤 5 mM ferrozine[3-(2-pyr-

idyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-p,p'-disulfonid acid monosodium salt hydrate] solution을 10 µl을 혼합하였다. 실온에서 10분간 반응시킨 후 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출용매를 대조구로 사용하여 시료와의 흡광도 차이를 통해 chelating 효과를 조사하였으며, ferrous ion chelating 50% 활성에 유효한 농도(EC₅₀)를 계산하였다.

환원력 측정

환원력은 Kim 등[15]에 의한 방법으로 측정하였다. 농도별로 준비한 벌꿀 및 벌집채꿀 시료 300 µl를 취하고, 200 mM sodium phosphate buffer (pH 6.6) 300 µl 및 1% potassium ferricyanide를 300 µl를 혼합하여 50°C에서 20분간 진탕 반응하였다. 반응시킨 혼합액에 10% trichloroacetic acid 300 µl를 가하여 반응을 중단시키고 만약 침전물이 생길 경우 650 rpm에서 10분간 원심분리 시켰다. 상층액을 100 µl를 취하고 증류수 100 µl 및 0.1% ferric chloride 20 µl를 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 환원력은 대조구의 흡광도와 비교하여 계산하였고, OD값이 0.5에 도달하는데 필요한 시료의 농도(EC_{0.5})를 나타내었다.

통계방법

실험으로부터 측정된 결과치는 Student's *t*-test 검정에 의한 평균값과 표준편차로 표시하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 함량

용매별 벌꿀과 벌집채꿀 추출물에 대한 총 폴리페놀 함량 측정 결과는 Table 1과 같다. 벌집채꿀의 총 폴리페놀은 물 추출 시 268.9±10.45 mg/100 g으로 에탄올 추출물(229.5±3.11 mg/100 g) 보다 유의적으로 높은 함량을 보였는데(*p*<0.05), 이는 추출 용매에 대한 용해력의 차이로 기인되었다 생각된다. 또한 본 연구에서 벌집채꿀이 벌꿀과 비교하여 128% 이상 높은 총 폴리페놀 함량을 보였는데(Table 1), 이는 벌집채꿀이 꿀 외에도 프로폴리스, 천연밀랍, 로열젤리, 벌집, 화분 등 많은 활성물질을 함유하고 있기 때문이라 생각되며 향후 벌집채

꿀의 개별성분에 대한 보다 구체적이고 상세한 연구가 필요하다 사료된다.

Choi 등[3]의 연구에서 벌꿀이 가장 높은 폴리페놀 함량(0.67 mg/ml)을, 아카시아꿀이 가장 낮은 함량(0.06 mg/ml)을 보였는데, 본 실험결과와 벌집채꿀 물 추출물의 폴리페놀 함량을 환산하여(0.20 mg/ml) 이 수치들과 비교했을 때 높은 폴리페놀 함량을 지니고 있음을 알 수 있었다(Table 1). 이와 같이 벌꿀 및 벌집채꿀에 대한 총 폴리페놀 성분 및 함량은 생산지역 및 시기뿐만 아니라 밀원에 따라 차이가 발생할 수 있기에 향후 이에 대한 비교연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

벌꿀의 경우, 사용 추출 용매와 상관없이 유사한 총 폴리페놀 함량을 보였는데(Table 1), 이는 Han 등[8]의 연구에서 높은 폴리페놀 함량을 지닌 것으로 기술된 제주산 감귤꿀(81 mg GAE/100 g) 보다 월등하게 높은 폴리페놀 성분을 함유하고 있음을 알 수 있었다.

총 플라보노이드 함량

벌집채꿀의 총 플라보노이드 함량은 물 추출물이 54.2 mg/100 g, 에탄올 추출물이 50.6 mg/100 g으로 용매에 따른 통계적 유의차를 보이지 않았으며, 벌꿀 역시 같은 경향을 보였다(Table 1).

총 폴리페놀 함량 결과와 마찬가지로 벌집채꿀 물과 에탄올 추출물들(54.2 mg/100 g과 50.6 mg/100 g)이 벌꿀 추출물들(42.3 mg/100 g과 44.4 mg/100 g)에 비해 유의적으로 높은 총 플라보노이드 함량을 보였다(Table 1). 일반적으로 벌꿀의 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 색이 진할수록 높은 것으로 알려져 있는데[13], 본 연구에서 사용된 벌꿀은 비교적 맑은 편이나 벌집채꿀은 진한 암갈색을 띠어 이와 부합된 결과를 보이고 있다. 또한 Kim 등[13]의 연구에서, 메밀꿀(171 µg GAE/g)이 유채꿀(126 µg GAE/g) 보다 높은 총 폴리페놀 함량을 보인 반면 메밀꿀(99 µg quercetin equivalent/g)의 총 플라보노이드는 유채꿀(102 µg quercetin equivalent/g)에 비해 낮은 함량을 보여, 유채꿀이 가지는 폴리페놀성 화합물 중 플라보노이드 성분이 매우 큰 비중을 차지하고 있는 것으로 나타났는데, 본 연구에서 높은 폴리페놀 및 플라보노이드의

Table 1. Total phenolic and flavonoid contents of the water and ethanol extract from honey and honeycomb

Solvent		Total phenolic contents (GAE ¹) mg/100 g)	Total flavonoid contents (RE ²) mg/100 g)
Water	Honey	192.9±4.24	42.3±2.36
	Honeycomb	268.9±10.47 ^{*#}	54.2±2.36 [*]
Ethanol	Honey	193.3±3.11	44.4±1.55
	Honeycomb	229.5±3.11 [*]	50.6±0.0 [*]

¹GAE (Gallic acid equivalent). ²RE (Rutin equivalent).

All values are mean ± S.D. from three separated experiments. Values are significantly different from the honey^{*} and the ethanol extract of honeycomb[#] by Student's *t*-test (*p*<0.05).

함량을 나타낸 벌꿀과 벌집채꿀 추출물들의 성분 비율을 비교 하였을 때 총 폴리페놀 화합물 중 플라보노이드 함량이 약 20-24%의 낮은 비율을 가지는 상반된 결과를 보였다(Table 1). 따라서 향후 본 연구에서 사용된 야생화 채밀 벌꿀과 벌집채 꿀의 어떤 비 플라보노이드 성분이 플라보노이드와 함께 항산화 활성과 상관관계가 있는지에 대한 구체적인 연구가 필요하다고 사료된다.

DPPH radical 소거 활성

DPPH는 진한 보라색을 띠는 안정한 free radical이고 항산화 물질을 처리했을 때 radical이 환원되어 탈색되는 원리를 이용하여 흡광도를 측정함으로써 항산화 활성을 측정할 수 있다[10]. Fig. 1에서 보여지듯이 시료의 농도가 증가함에 따라 DPPH 소거 활성이 점진적으로 증가하는 것을 알 수 있으며, 가장 높은 농도인 10 mg/ml에서 벌꿀은 30%, 벌집채꿀은 60%의 소거활성을 보였다. DPPH radical을 50% 소거하는 유효농도(EC₅₀) 값에서도 벌집채꿀은 7.3 mg/ml로 벌꿀(17.4 mg/ml)에 비해 우수한 DPPH radical 소거 능력을 보였다 ($p < 0.05$) (Fig. 1). 이 결과는 Kim 등[12]의 지역별 밤꿀과 벌집채꿀을 비교했을 때 순창지역의 밤꿀이 우수한 DPPH radical 소거능을 가지는 것과 유사한 결과이다. 또한 본 연구결과는 7가지 밀원별 벌꿀의 DPPH 소거활성에 대한 EC₅₀ 값을 비교한 Bertoneclj 등[2]의 연구결과 가장 높은 소거능을 보인 포리스트꿀(7.2 mg/ml)과 유사한 EC₅₀ 값을 보였다.

Nitric oxide 소거 활성

Nitric oxide는 생체 내에서 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 생성되어 외부 침입 미생물이나 종양세포에 대한 방어

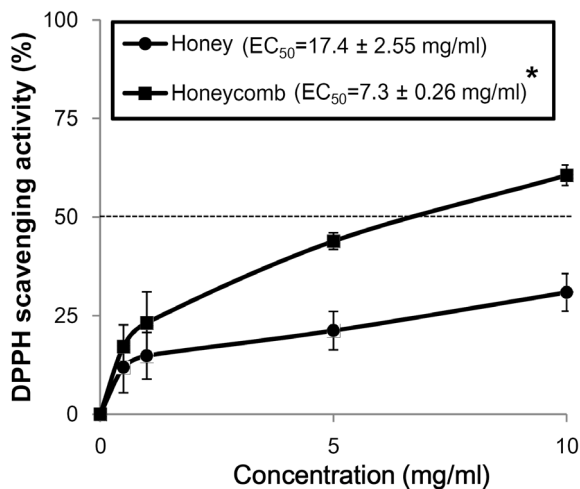


Fig. 1. DPPH free radical scavenging activity of water extract from wildflower honey and honeycomb at various concentrations (0-10 mg/ml). All values are mean ± S.D. from three separated experiments. *Values are significantly different from honey by Student's *t*-test ($p < 0.05$).

또는 혈액응고 및 혈압조절 등의 역할을 하지만 과량으로 존재할 시 DNA 합성 억제, 각종 효소의 작용을 억제, 세포 손상 및 염증반응을 일으키고 superoxide (O₂⁻)와 반응하여 독성과 반응성이 높은 산화제인 peroxynitrite (ONOO⁻)를 생성하는 것으로 알려져 있다[23, 26, 30]. 벌꿀 및 벌집채꿀 추출물을 0, 0.5, 1, 5, 10 mg/ml의 농도로 측정했을 때 NO[•] 소거 활성을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 농도 의존적인 NO[•] 소거 활성 증가를 보이고 있음을 알 수 있는데, 0.5 mg/ml에서 NO[•] 소거능은 벌꿀이 18%, 벌집채꿀은 23%로 큰 차이를 보이지 않았지만 10 mg/ml에서 그 소거능이 각각 1.6배, 3배 증가하였다(Fig. 2). 벌집채꿀의 EC₅₀값은 6.05 mg/ml로 벌꿀(21 mg/ml)에 비해 유의적으로 뛰어난 NO[•] 소거 활성을 보였다 ($p < 0.05$).

기존 문헌에서 양봉산물 중 하나인 로얄제리의 저장방법에 따라서 NO[•] 소거능 차이를 확인할 수 있었는데, 실온 보관에서는 1개월 이내에 소거활성이 감소하였고 4℃에서 보관한 경우 6개월 이후부터 소거활성이 감소한 반면에, -20℃에서는 유의적인 감소의 차이를 보이지 않았다[7]. 본 연구의 벌집채꿀 또한 온도나 보관 기간에 따른 항산화 활성 및 생리활성 물질의 변화를 보일 수 있으므로 이와 같은 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Ferrous ion chelating 활성

Fe²⁺, Cu²⁺ 등과 같은 금속은 지질산화 반응을 촉매하므로 금속의 chelating 활성이 높아질수록 촉매 감소에 따른 지질산화 반응을 억제할 수 있다[21, 29]. Ferrozine은 금속과 결합하여 색깔이 변하는 발색제로 ferrozine과 ferrous ion의 chelating 작용이 억제되는 정도를 측정함으로써 항산화 활성을 나

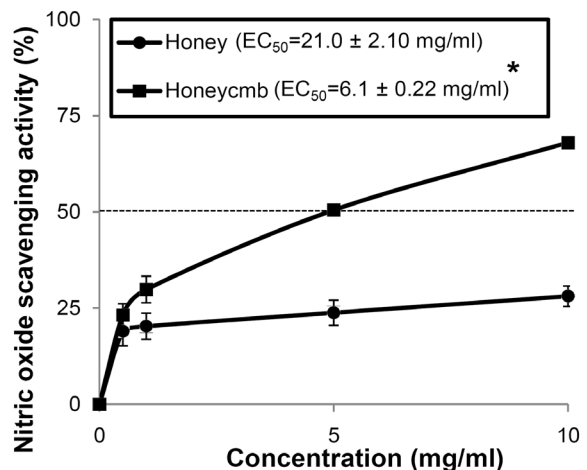


Fig. 2. Nitric oxide scavenging activity of water extract from wildflower honey and honeycomb at various concentrations (0-10 mg/ml). All values are mean ± S.D. from three separated experiments. *Values are significantly different from honey by Student's *t*-test ($p < 0.05$).

타낸다[18]. 본 연구에서 야생화로부터 채밀한 벌꿀 및 벌집채꿀 시료의 chelating 활성을 측정된 결과, 0.5-10 mg/ml까지 농도 의존적으로 그 활성이 증가함을 알 수 있었다(Fig. 3). 벌꿀은 0.5 mg/ml 농도에서 4%의 미미한 활성을 보였으나 10 mg/ml에서는 28%로 약 7배의 활성 증가를 보였고, 벌집채꿀 또한 9%에서 63%로 7배의 급격한 활성 증가를 보였다(Fig. 3). EC₅₀값을 비교한 결과, 벌집채꿀이 6.94 mg/ml로 벌꿀(18.23 mg/ml)에 비해 우수한 chelating 활성을 가진 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

지질산화 반응을 측정하는 방법에는 chelating 활성뿐만 아니라 Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 측정법이 있는데 이는 식품의 지방 산패 정도를 측정하는데 널리 사용되는 방법이다. Johnston 등[11]의 연구에서 소고기 패티에 꿀을 첨가하여 TBARS 값을 측정할 결과 클로버꿀과 야생화꿀이 패티의 지방산화를 저해한다는 연구결과를 발표하였다. 현재 식품에 첨가되는 합성 항산화제의 안전성 문제를 해결하기 위한 천연 항산화제 개발 연구가 활발하게 이루어지고 있는데[22], 본 연구결과는 우수한 chelating 활성을 나타낸 벌집채꿀의 잠재적 식품산화방지제로서 활용가능성을 제시하고 있다.

환원력 측정

환원력 측정은 ferric-ferricyanide (Fe³⁺) 혼합물이 항산화 물질에 의해 수소를 공여하여 ferrous (Fe²⁺)로 환원되면서 FeCl₃와 반응해 생성되는 Perl's prussian blue를 700 nm에서 흡광도 값으로 나타낸 것이다[4, 20]. 0-10 mg/ml 에서 벌꿀 및 벌집채꿀 추출물에 대한 환원력을 측정된 결과, 농도의존적으로 환원력이 증가함을 보였다(Fig. 4). 벌꿀과 벌집채꿀

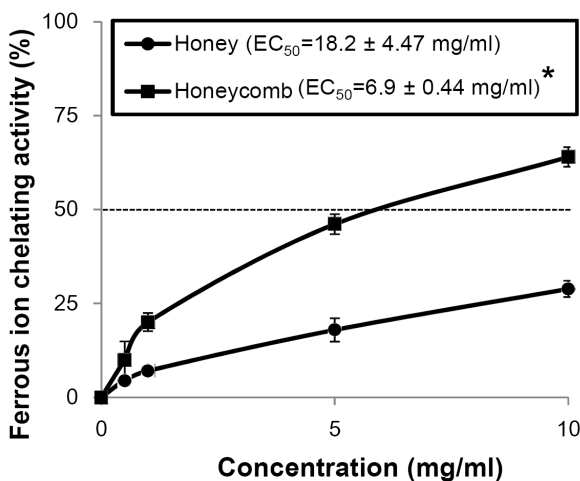


Fig. 3. Ferrous ion chelating activity of water extract from wildflower honey and honeycomb at various concentrations (0-10 mg/ml). All values are mean ± S.D. from three separated experiments. *Values are significantly different from honey by Student's *t*-test (*p*<0.05)

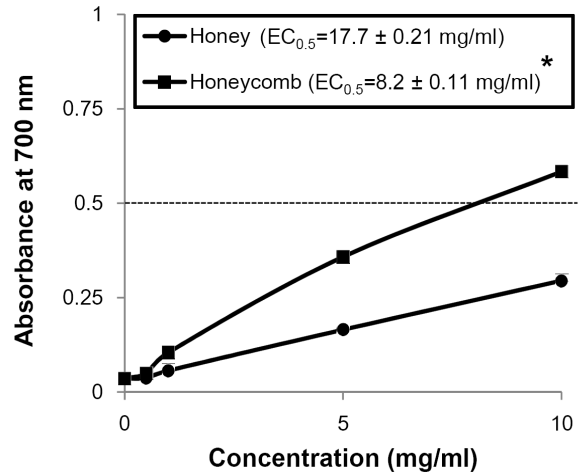


Fig. 4. Reducing power of water extract from wildflower honey and honeycomb at various concentrations (0-10 mg/ml). All values are mean ± S.D. from three separated experiments. *Values are significantly different from honey by Student's *t*-test (*p*<0.05).

추출물 모두 1 mg/ml까지는 농도별 흡광도 증가는 미미하였으나 5 mg/ml부터는 흡광도가 급격하게 증가하면서 환원력이 유의적으로 커지는 것을 알 수 있었으며, 700 nm에서의 OD 값이 0.5에 도달하기 위한 농도(EC_{0.5})를 비교한 결과 벌집채꿀이 8.2 mg/ml로 벌꿀(17.7 mg/ml)에 비해 환원력이 우수하다는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5).

Estevinho 등[4]의 연구에서 맑은 꿀과 짙은 색 꿀로부터 얻은 폴리페놀 화합물의 환원력을 비교 측정된 결과 농도가 증가함에 따라 환원력이 증가하는 경향을 보였고 짙은 색 꿀의 환원력이 더 우수함을 입증하였다. 본 연구에서 사용한 벌집채꿀이 벌꿀보다 좀 더 짙은 색을 띠는 것으로 보았을 때 상기의 연구 결과와 같은 경향을 보이는 것을 알 수 있었다.

성분과 항산화능 상관관계

벌꿀과 벌집채꿀의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 증가함에 따라 항산화 활성이 증가하는 것을 추측해 볼 수 있고, 여타 연구결과들과 비교했을 때 특히 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화 활성간의 높은 상관관계를 가지고 있다는 것을 알 수 있었다[12, 13]. 이에 따라 벌꿀 및 벌집채꿀의 항산화 성분 함량과 항산화 활성(EC₅₀) 간의 상관관계를 분석한 결과는 Table 2와 같다. 항산화 활성이 증가할수록 EC₅₀ 값이 감소하는 양상을 띠므로 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 EC₅₀ 간에는 모두 음의 상관관계를 보이고 있고, 모든 상관계수가 절대값 1에 가까운 r² 값을 나타내어 성분 함량이 증가함에 따라 항산화 활성이 유의적으로 증가하는 것을 알 수 있다(Table 2). 또한 총 폴리페놀 함량과 항산화 활성간의 상관관계에서 모두 0.05, 0.01 수준에서 유의함을 나타냈는데, 총 폴리페놀 함량과 환원력 간의 상관관계에서 r²=

Table 2. Correlation coefficients between antioxidant compounds and antioxidant activity of water extract from honey and honeycomb

	DPPH ³⁾	NOS ⁴⁾	FCA ⁵⁾	RP ⁶⁾
TPC ¹⁾	-0.949**	-0.964**	-0.875*	-0.989**
TFC ²⁾	-0.979**	-0.975**	-0.957**	-0.959**

¹⁾TPC (Total phenolic contents). ²⁾TFC (Total flavonoid contents). ³⁾DPPH (DPPH radical scavenging activity). ⁴⁾NOS (Nitric oxide scavenging activity). ⁵⁾FCA (Ferrous ion chelating activity). ⁶⁾RP (Reducing power).

p-values of <0.05* and <0.01** were considered highly statistically significant.

-0.989로 가장 높은 상관관계를 나타내었다(Table 2). 플라보노이드 함량과 항산화 활성간의 상관관계 역시 r^2 값이 모두 0.9 이상으로 매우 높은 상관관계를 보였다. 특히 주목해야 할 것은 플라보노이드 함량과 chelating 활성과의 상관관계에서 $r^2 = -0.957$ 로 0.01 수준에서 유의함을 나타냈는데, 폴리페놀과의 상관관계에서 $r^2 = -0.875$ 로 0.05 수준에서 유의한 것과 비교했을 때 chelating 활성은 총 폴리페놀 화합물 중 비플라보노이드 물질보다는 플라보노이드 물질과 더 큰 상관관계가 있다는 것을 추측해 볼 수 있다.

요 약

벌꿀, 프로폴리스, 로얄젤리, 천연밀랍 등과 같은 양봉산물에 대한 많은 연구가 이루어졌음에도 아직까지 벌집채꿀에 대한 연구가 전무한 실정이다. 따라서 본 연구는 야생화로부터 채밀한 제주 지역의 벌꿀 및 벌집채꿀의 기능성 성분 분석 및 항산화 활성을 비교 분석하였다. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 각각 268.86 mg gallic acid equivalent/100 g, 54.2 mg rutin equivalent/100 g을 나타낸 벌집채꿀 물 추출물에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 벌꿀 및 벌집채꿀의 항산화 활성을 측정한 결과, 농도 의존적으로 항산화 활성이 증가하였으며 이를 EC₅₀ 값으로 환산했을 때 벌집채꿀이 유의적으로 우수한 항산화 활성을 나타낸다는 것을 알 수 있었다. 이는 벌꿀과 벌집채꿀에 함유되어 있는 생리활성물질과 항산화 활성이 높은 연관성이 있으며, 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화 활성이 높은 상관관계가 있음을 나타낸다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 양봉산업 활성에 기여할 수 있는 벌집채꿀의 기능성 식품 및 의약제제로써의 개발 가능성이 제시되어 이를 검증하기 위한 추가적인 기능성 실험 및 동물 실험 등의 평가가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 교육부의 지방대학특성화 사업(CK-I)에 의해 이루어진 것입니다.

References

- Atrott, J. and Henle, T. 2009. Methylglyoxal in manuka honey-correlation with antibacterial properties. *Czech J. Food Sci.* **27**, S163-S165.
- Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M. and Golob, T. 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chem.* **105**, 822-828.
- Choi, Y. S., Kim, H. K., Lee, S. C., Lee, M. Y., Hong, I. P., Kim, N. S., Yoon, S. H. and Lee, K. G. 2009. Manufacturing and utilization of the bee hive extract. *Kor. J. Apic.* **24**, 261-265.
- Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dais, L. G. and Pereira, E. 2008. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food Chem. Toxicol.* **46**, 3774-3779.
- Han, S. M., Lee, K. G., Hong, I. P., Kim, W. T. and Cho, Y. H. 2011. Protective effects of royal jelly on oxidative stress-induced neuronal cell damage. *Kor. J. Apic.* **26**, 113-117.
- Han, S. M., Lee, K. G., Yeo, J. H. and Lee, M. Y. 2010. Effect of melanin inhibitory effect of royal jelly from Korea in mouse melanoma cells. *Kor. J. Apic.* **25**, 123-128.
- Han, S. M., Woo, S. O., Hong, I. P., Choi, Y. S., Kim, J. M. and Cho, Y. H. 2012. Changes in major components and physiological activity of royal jelly under various conditions. *Kor. J. Apic.* **27**, 143-148.
- Han, S. M., Woo, S. O., Nam, S. H. and Park, S. H. 2011. Antioxidant and melanin inhibitory effect of citrus blossom and oilseed rape honey from Jeju Island. *Kor. J. Apic.* **26**, 129-134.
- Han, S. M., Lee, K. G., Yeo, J. H., Woo, S. O., Nam, S. H., Ho, Y. Y. and Kim, W. T. 2010. Whitening effect of the honey from Korea. *Kor. J. Apic.* **25**, 39-43.
- Jeong, M. J. 2008. Antioxidative and Antiallergic Effects of Aronia (*Aronia melanocarpa*) Extract. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 1109-1113.
- Johnston, J., Sepe, H., Miano, C., Brannan, R. and Alderton, A. 2005. Honey inhibits lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties. *Meat Sci.* **70**, 627-631.
- Kim, H. K., Lee, M. L., Lee, M. Y., Choi, Y. S., Kim, N. S., Hong, I. P., Byeon, K. H., Lee, K. G. and Jin, B. R. 2009. Antioxidant capacity of chestnut (*Castanea crenata* Sieb. et Zucc.) honey produced in Korea. *Kor. J. Apic.* **24**, 115-120.
- Kim, H. K., Lee, M. Y., Hong, I. P., Choi, Y. S., Kim, N. S., Lee, M. L. and Lee, S. C. 2010. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral honey correlation with phenolic and flavonoid contents. *Kor. J. Apic.* **25**, 275-282.
- Kim, J. H. and Kim, M. Y. 2012. Continuous anaerobic incubation enhances bioactive component accumulation and antioxidant activity in green tea. *J. Agr. Sci.* **14**, 837-844.
- Kim, J. Y., Kim, J. H., Byun, J. H., Kim, J. H., Lee, Y. J., Im, S. J., Lee, D. S., Moon, S. H. and Kim, M. Y. 2013. Antioxidant and anticancer activities of water and ethanol extracts obtained from *Sasa quelpaertensis* Nakai. *J. Life Sci.* **10**, 1250-1254.

16. Kim, M. J., Hong, C. O., Nam, M. H. and Lee, K. W. 2011. Antioxidant effects and physiological activities of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) extract from different aerial parts. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **43**, 195-199.
17. Kim, M. Y., Im, S. J., Kim, J. H., Kim, I. J., Lee, H. Y., Lee, D. S., Lee, Y. J., Byun, J. H., Kim, J. H. and Kim, J. Y. 2012. Changes in the phenolic composition of citrus fruits and leaves prepared by gamma irradiation of buddsticks. *J. Life Sci.* **9**, 1281-1285.
18. Kim, M. Y., Lee, S. H., Jang, G. Y., Park, H. J., Meishan, L., Kim, S., Lee, Y. R., Lee, J. S. and Jeong, H. S. 2013. Effects of high pressure treatment on antioxidant compounds and activity of germinated rough rice (*Oryza sativa* L.). *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **42**, 1783-1791.
19. Lee, H. J., Bae, Y. I., Jeong, C. H. and Shim, K. H. 2005. Biological activities of various solvent extracts from propolis. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 1-7.
20. Lee, J. B., Park, H. K., Lee, J. S. and Kim, M. H. 2011. Studies on antioxidant activity, total flavonoids and polyphenols, and reducing power in Yakju with different ratios of dandelion root. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* **21**, 882-887.
21. Lee, M. A., Choi, H. J., Kang, J. S., Choi, Y. W. and Joo, W. H. 2008. Antioxidant activities of the solvent extracts from *Tetragonia tetragonoides*. *J. Life Sci.* **18**, 220-227.
22. Lee, S. H., Lee, M. S., Park, S. K., Bae, D. H., Ha, D. H. and Song, K. B. 2004. Physical properties of protein films containing green tea extract and its antioxidant effect on fish paste products. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 1063-1067.
23. Radi, R., Beckman J. S., Bush, K. M. and Freeman, B. A. 1991. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J. Biol. Chem.* **266**, 4244-4250.
24. Rodríguez, I., Illnait, J., Terry, H., Mas, R., Fernández, L., Fernández, J. C., Gámez, R., Mesa, M., Mendoza, S. and Ruiz, D. 2009. Effects of Abexol (beeswax alcohols) on gastrointestinal symptoms in middle-aged and older subjects. *Rev. Cenic Cien Biol.* **40**, 147-154.
25. Seo, E. J., Hong, E. S., Choi, M. H., Kim, K. S. and Lee, S. J. 2010. Antioxidant and skin whitening effects of *Rhamnus yoshinoi* extracts. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **42**, 750-754.
26. Shin, J. H., Lee, S. J., Seo, J. K., Cheon, E. W. and Sung, N. J. 2008. Antioxidant activity of hot-water extract from yuzu (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) peel. *J. Life Sci.* **18**, 1745-1751.
27. Townsend, G. F., Morgan, J. F. and Hazlett, B. 1959. Activity of 10-hydroxydecenoic acid from royal jelly against experimental leukaemia and ascitic tumours. *Nature* **183**, 1270-1271.
28. Woo, S. O., Hong, I. P., Han, S. M., Choi, Y. S., Sim, H. S., Kim, H. G., Lee, M. Y. and Lee, M. L. 2013. DPPH free radical scavenging effects of propolis collected in Korea. *Kor. J. Apic.* **28**, 355-359.
29. Xu, X. M., Jun, J. Y. and Jeong, I. H. 2007. A study on the antioxidant activity of Hae-Songi mushroom(*Hypsizigus marmoreus*) hot water extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 1351-1357.
30. Yeo, J. S., Chun, S. S. and Choi, J. H. 2014. Antioxidant activities of solvent extracts from *Rosa multiflora*. *J. Life Sci.* **24**, 1217-1223.

초록 : 벌꿀과 벌집채꿀의 페놀성분 및 항산화 효과 비교

강다희¹ · 김민영^{1,2*}

(¹제주대학교 생명자원과학대학 바이오소재전공 독성학 실험실, ²제주대학교 아열대농업생명과학연구소)

본 연구에서는 야생화로부터 채밀한 제주 지역 벌꿀 및 벌집채꿀의 페놀성분 분석과 항산화 활성 비교평가를 시행하였다. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정 결과 물을 용매로 사용한 벌집채꿀에서 가장 높은 함량을 나타냈다. 또한 벌꿀 및 벌집채꿀 모두 농도 의존적으로 항산화 활성이 증가하는 양상을 보였으며, 이를 EC₅₀ 및 EC_{0.5} 값으로 환산한 결과 벌집채꿀이 벌꿀에 비해 통계적으로 유의하게 높은 항산화 활성을 나타내었다. 상기의 결과를 종합하여 봤을 때 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화 활성간의 높은 연관성이 있다는 것을 추측해볼 수 있었고 이를 상관관계를 통해 분석한 결과, 총 페놀 및 플라보노이드 성분의 함량과 항산화 활성이 통계적으로 유의한 상관관계를 나타냄을 확인할 수 있었다. 이러한 결과들은 잠재적 천연식품소재로의 벌집채꿀의 가능성을 시사하며 향후 이에 대한 체계적인 연구가 필요하다 사료된다.