

한국 녹차 화분의 화학적 조성과 기능성 연구

†장 재 선

가천대학교 식품영양학과

Chemical Composition and Bioactivity of Korean Green Tea (*Camellia sinensis*) Pollen collected by Honey Bee

†Jae-Seon Jang

Dept. of Food & Nutrition, Gachon University, Gyeonggi-do 13120, Korea

Abstract

In this study, we investigated the nutritional composition including proximate, amino acid, vitamin, minerals, and the antioxidant activity of green tea (*Camellia sinensis*) pollen grains collected by *Apis mellifera* bees, for use as a health food. The crude protein and fat content was estimated at 26.14% and 3.49%, respectively. Eighteen amino acids were identified in green tea pollen, including 8 essential amino acids and 10 non-essential amino acids. The predominant amino acids were glutamic acid, proline and aspartic acid accounting for about 33.3% of total free amino acids. The concentration of vitamin C was the highest value of 35.7%, followed by B₃ and B₂ among the detected vitamins. The predominant minerals were potassium (790.32 mg/100g), followed by phosphorus (707.52 mg/100g) and sulfur (302.67 mg/100g), whereas copper, zinc and sodium were detected as minor elements. The antioxidant activity and phenolic content accounted for 33.8% at 500 µg/mL extract and 2.55 µg/mg, respectively.

Key words: antioxidant activity, amino acid, *Apis mellifera*, mineral, green tea pollen

서 론

인간의 평균 수명이 연장되고 생활수준이 점차 향상되면서 건강에 대한 관심이 고조되고 있다. 최근에는 생활환경과 식생활 등의 변화로 심혈관계 질환과 내분비계 질환인 당뇨병 등 성인병이 증가하는 추세이다(Zhang 등 2008). 화분(꽃가루)은 탄수화물, 지방, 비타민, 무기질 등 영양성분이 풍부하여 예전부터 영양공급을 위한 식품 및 의약품으로 이용되어 왔다(Kim 등 1984). 동의보감에는 송화분 등 31종의 화분에 대한 소개와 심장, 혈관 및 순환계, 소화기계, 비노생식기계, 피부과계 등 다양한 질병에 대한 효과가 기록되어 있다(Lew YS 1988). 최근에는 산림출입이 어렵고 인건비가 비싸서 예전처럼 꽃에서 화분을 직접 수집하지 못하고, 벌이 모아오는 벌화분을 이용한다. 벌화분은 꿀벌의 유충과 성충의 단

백질원이며, 로열젤리의 원료이다(Ryu JB 2003). 벌화분(bee pollen)은 일벌이 어린 벌에게 먹이기 위해서 다리에 묻혀오는 화분에 꿀과 효소가 혼합되어 경단처럼 뭉쳐진 덩어리로 일반 화분보다 영양성분이 풍부하여 오래전부터 자연 건강 식품으로 이용되어 왔다(Todd & Bretherick 1942; Chung 등 1984). 벌화분은 생리활성 물질이 풍부한 완전식품으로 알려져 있으나, 봄철에 도토리화분과 다래화분 등 몇 종의 화분만 수집되어 소비량이 증가하는 여름부터는 화분 공급이 부족한 실정이다. 최근에는 녹차가 기호음료뿐만 아니라, 건강 웰빙 음료와 건강식품으로 소비자에게 인식되면서 차 재배 면적과 생산량이 꾸준히 증가하고 있다. 녹차는 전남 보성, 경남 하동, 제주도 등 남부지역에서 집중적으로 재배되고 있으며, 생산량은 2010년 3,586톤에서 2014년 3,915톤으로 꾸준히 증가하고 있다. 그러나 우리나라의 차밭은 대부분 가파른

† Corresponding author: Jae-Seon Jang, Dept. of Food & Nutrition, Gachon University, Gyeonggi-do 13120, Korea. Tel: +82-31-750-4767, Fax: +82-31-750-5974, E-mail: jangjs@gachon.ac.kr

산록변에 위치해 잎 채취가 수작업으로 이뤄지면서 생산 단가가 높고, 인구 노령화와 생산비 상승으로 인하여 경쟁력이 저하되고 있다(Bae MS 2016).

따라서 본 연구에서는 우리나라 가을에 꽃이 피는 차나무에서 수집한 녹차화분의 일반성분과 영양성분인 아미노산, 비타민, 미량원소를 분석하고, 또한 기능성으로 항산화성 물질을 분석·평가하여 건강기능식품 소재로 개발하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 시험재료

본 실험에 사용된 녹차별화분(녹차화분)은 2016년 전남 보성 녹차밭에서 꿀벌 벌통 입구에 화분 채집기를 설치하여 약 2주간 수집하였으며, 수집된 시료는 현미경 관찰하에서 95% 이상 순도를 유지하는 시료를 선별한 다음 -20℃에서 냉동보관하면서 분석에 이용하였다.

2. 일반성분 분석

녹차화분의 수분 함량은 AOAC법(2010)으로 무게를 잰 후 Dry oven(Wiseven WOF-105, Daihanscientific, Korea)에서 105℃로 건조하여 정량하는 상압가열건조법으로 반복 측정하였다. 조지방은 Soxhlet 추출기(2050 SOXTEC, FOSS, Sweden)를 사용하여 diethyl ether로 추출하여 정량하였으며, 단백질은 semimicro-Kjeldahl법으로 자동 단백질 분석기(Kjeltec 8400, Foss, Sweden)로 측정하였고, 여기에 화분의 질소계수 6.25를 곱하여 단백질 함량으로 환산하였다. 조회분은 600℃ 회화로(JSMF-270T, JSR, Korea)에서 건식회화법으로 측정하였다(KFDA 2016).

3. 아미노산 분석

녹차화분의 아미노산 분석은 AOAC(2010)의 방법에 따라 분석하였다. 화분 약 5~20 g을 취해 80℃에서 예비 건조하여 450~550℃에서 회화한 다음 얻어진 회분을 0.02N 염산(1+1) 10 mL를 가하여 상온에서 3~5시간 반응시켜 반응액을 여과지(Whatman NO. 5A)로 여과한 후 50 mL Volumetric flask에 정확히 정용하여 시험용액으로 사용하였으며, 표준품은 Accustandard(Bosung)를 사용하였다. Table 1과 같은 조건으로 분석하였다.

4. 비타민 분석

화분의 비타민 분석은 B₁, B₂, B₃, C에 대하여 실시하였다. 표준품은 모두 Sigma사(St. Louis, Mo, USA)로부터 구입하여 사용하였으며, 시약은 HPLC 등급을 사용하였다. 비타민 분석은 HPLC(NAN OSPACE SI-2, SHISEIDO, Japan)와 PDA

Table 1. HPLC conditions for the measurement of free amino acid in bee pollen

Classification	Condition
Instrument	HITACHI, L-8900 (Japan)
Detector	VIS 570 nm / 440 nm
Analytical column	#2622SC PF column (4.6×60 mm)
Mobile phase	Na buffer set (pH-1, pH-2, pH-3, pH-4, pH-RG)
Reaction buffer	Ninhydrin
Injection volume	20 µL
Flow rate	0.40 mL/min
Reaction flow rate	0.35 mL/min
Column oven temp.	57℃
Reaction temp.	135℃

Detector를 사용하였다.

5. 미량원소 분석

녹차화분의 미량원소 함량은 AOAC 방법(2016)에 따라 분석하였다. 시료를 105℃에서 16시간 건조하여 마쇄한 다음 0.5 g을 취하여 600℃ 회화로에서 2시간 회화시킨 후 냉각하였다. 회화된 시료는 microwave(Mars5, Mars6, CEM, USA) 분해용기에 넣고 질산용액(HNO₃:H₂O=1:1) 7 mL를 첨가하여 24시간 분해시킨 후 염산용액(HCl:H₂O=1:1)을 가하여 24시간 용해시킨 다음 여과지(Whatman No. 6, Maidstone, England)로 여과하여 분석시료로 이용하였다. 분석조건은 Table 2와 같으며, 유도결합플라즈마(Inductively Coupled Plasma, PerkinElmer Optima 8300, USA)를 이용하여 정량하였다.

6. 항산화 활성

Table 2. ICP_OES conditions for the measurement of minerals in bee pollen

Classification	Condition
Instrument	Optima 8300, Perkin Elmyer, USA
RF Power	1,300 W
Gas flow rate	Plasma flow 10 L/min (Argon) Auxiliary flow 0.2 L/min (Argon) Nebulizer flow 0.65 L/min (Argon)
Nebulizer	Concentric nebulizer
Viewing type	Radial, Axial
Wave length	Ca 393.366 nm, Cr 267.716, Cu 327.393, Fe 238.204, K 766.490, Mg 208.271, Mn 257.610, Na 589.592, P 213.617, Zn 206.200, As 188.979, Cd 228.804, Pb 214.423, S 180.669

녹차화분의 항산화 활성은 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)를 사용하여 자유라디칼소거능으로 측정하였다(Liangli 등 2002). 96 well plate에 화분 추출물 10 μ L와 0.2 mM DPPH 190 μ L를 균일하게 혼합하여 실온에서 30분간 정치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능을 구하는 식은 다음과 같다.

$$\text{전자공여능 (\%)} = 1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}} \times 100$$

7. 총 페놀 함량

녹차화분의 총 phenol 함량은 Folin-Ciocalteu 방법을 사용하여 측정하였다(Beretta 등 2005). 화분 추출물 1 mL에 1 N Folin-Ciocalteu reagent 1 mL를 첨가하고, 증류수 5 mL를 넣은 후 5분 동안 상온에 방치하였다. 5분 후에 7% Na_2CO_3 1 mL를 넣고 혼합한 후 실온에서 30분간 방치한 다음 UV/Vis spectrophotometer(Molecular device spectramax M2e, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 630 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 일반성분 분석

녹차화분의 일반성분을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 조단백질 함량은 26.14%로 다래화분 35.8%(Hong 등 2013b)보다 낮았으나, 송화분 14.0%(Lee 등 1997)와 벼화분 15.66%(Hong 등 2016b)보다는 높았고, 도토리화분 22.3%(Choi & Jeong 2004), 족제비싸리화분 23.05%(Hong 등 2016a), 벚나무화분 24.6%(Kim & Son 1990)와 유사한 결과를 나타내었다. 녹차화분의 조지방 함량은 3.49%로 도토리화분 11.8%와 다래화분 8.7%(Hong 등 2013b)보다 낮았으나, 족제비싸리화분 3.12%(Hong 등 2016b), 송화분 3.0%(Lee 등 1997)와 유채화분 3.2%(Kim & Son 1990)와 유사하였다. 화분의 일반 성분은 밀원과 지역의 외적 환경요인에 따라 차이가 있다. 탄수화물 함량의 비중이 높으면 밀원 분포상 초본류식물의 화분 유입이 많은 것으로 판단되며, 이는 화분 함유량 중 glucose량과의 관계로 해석된다(Kim JK 1986).

2. 아미노산 조성

Table 3. Proximate chemical composition of green tea bee pollen grains

Crude component (Unit: % dry basis)			
Moisture	Total protein	Total lipid	Ash
6.52±0.01	26.14±0.11	3.49±0.17	3.25±0.11

녹차화분의 아미노산 조성을 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. glutamic acid 등 18종의 아미노산이 존재하며, 특히 phenylalanine, leucine, threonine, lysine, valine, tryptophan, isoleucine, methionine 등 필수아미노산 8종을 모두 함유하고 있다. 함량은 glutamic acid 2.845%, proline 2.463%, aspartic acid 1.334% 순이었으며, tryptophan, cystine, tyrosine, methionine, histidine 등은 소량 존재하였다. 도토리화분과 다래화분의 아미노산 조성은 aspartic acid, glutamic acid, leucine, lysine 순으로 분포하며(Lee 등 1997; Hong 등 2013a), 송화분은 aspartic acid, glutamic acid, arginine(Han 등 2004), 족제비싸리화분과 해바라기화분은 glutamic acid, aspartic acid, proline 순으로 분포하였다(Hong 등 2016a; Yoon 등 1985). 벼화분에는 glutamic acid와 aspartic acid 아미노산이 공통적으로 많이 존재하며, 녹차화분과 벼화분, 족제비싸리화분, 해바라기화분에는 proline, 도토리화분과 다래화분에는 leucine, 송화분에는 arginine이 많이 함유되어 있다. 또한, cystine, histidine, methionine 등의 아미노산은 모든 화분에 소량 존재하였다. Solberg & Remedios (1980)의 연구 결과, 녹차화분에는 aspartic acid, glutamic acid, arginine, leucine, proline, lysine 등 6종의 아미노산이 총 아미노산 함량의 54%로 보고한 것과 유사한 결과이다. 일반적으로 화분에는 모든 필수아미노산을 함유하고 있으며, 함량은 식물의 종에 따라 차이가 있다(Leblanc 등 2009).

3. 비타민 함량

녹차화분의 비타민 함량을 분석한 결과는 Table 4에서와 같이 비타민 C, B₃, B₂, B₁ 순으로 분포하였다. 비타민 C의 함량 35.74 mg/100 g은 송화분(2.25 mg/100 g)과 벼화분(0.6 mg/100 g)보다 많았으나, 족제비싸리화분(57.81 mg/100 g)과 다래화분(48.44 mg/100 g)보다 적었다. 비타민 B₃ 함량 8.16 mg/

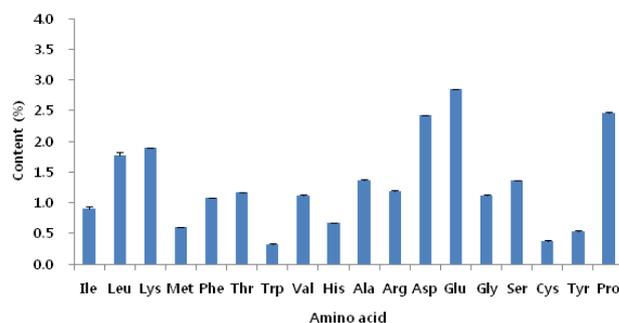


Fig. 1. Content of amino acid composition in green tea bee pollen grains. Ile; soleucine, Leu; leucine, Lys; lysine, Met; methionine, Phe; Phenylalanine, Thr; Threonine, Ttp; tryptophan, Val; valine, His; histidine, Ala; alanine, Arg; arginine, Asp; aspartic acid, Glu; glutamic acid, Gly; glycine, Ser; serine, Cys; cysteine, Tyr; tyrosine, Pro; proline.

Table 4. Vitamin content of green tea bee pollen grains

Vitamin content (mg/100 g)			
B ₁	B ₂	B ₃	C
0.33±0.02	0.87±0.06	8.16±0.30	35.74±0.74

100 g은 베타카로틴(4.28 mg/100 g)보다 많았으나, 다래화분(21.0 mg/100 g)보다 적었고 죽제비싸리화분과 유사하였다. 비타민 B₂ 함량 0.87 mg/100 g은 송화분(7.93 mg/100 g)보다 적었으나, 죽제비싸리화분(0.87 mg/100 g)과 유사하였으며, 베타카로틴(0.69 mg/100 g)보다 많았다(Han 등 2004; Hong 등 2016a; Hong 등 2016b). 벌화분의 비타민 함량은 녹차화분과 도토리화분, 다래화분에는 비타민 C 베타카로틴에는 비타민 B₃ 송화분은 B₂ 함량이 가장 많이 분포하였다.

4. 미량원소 함량

녹차화분의 대표적인 10종 미량원소 함량을 분석한 결과는 Table 5와 같다. 분석한 10종의 미량원소 중 칼륨(K) 790.32 mg/100g과 인(P) 707.52 mg/100 g이 가장 많이 함유되어 있으며, 구리(Cu)와 아연(Zn)이 각각 0.92 mg/100 g, 3.76 mg/100 g으로 가장 적게 함유되어 있었다. 죽제비싸리화분과 송화분, 베타카로틴에서는 칼륨(K) 함량이 가장 많았으며, 철분(Fe)은 가장 적게 함유되어 있었다(Hong 등 2016a; Han 등 2004; Hong 등 2016b). 벌화분의 미량원소 함량은 녹차화분과 송화분에는 칼륨, 인, 마그네슘 순으로, 베타카로틴과 죽제비싸리화분은 칼륨, 인, 칼슘 순으로 많이 분포하였다. 화분의 미량원소는 밀원의 식생에 따라 다양하게 분포하며(Stanley & Linskens 1974), 녹차화분의 K/Na 비는 146.4로 도토리화분 12.59와 베타카로틴 31.93으로 죽제비싸리화분 44.03보다 높았다(Lee 등 1997; Hong 등 2016a; Hong 등 2016b). 화분의 K/Na 비는 벌 먹이의 주요한 요인으로 작용한다(Wesh & Marston 1983).

5. 항산화 활성 및 총페놀 함량

녹차화분의 항산화 활성과 페놀함량을 분석한 결과는 Table 6과 같다. 녹차화분의 자유라디칼소거능에 대한 항산화 활성은 추출물 100 µg/mL에서 4.0%, 300 µg/mL에서 19.6%, 500 µg/mL에서 33.8%이었으며, 총페놀함량은 mg당 2.55 µg이었다. DPPH radical 소거능은 산화작용에 의하여 발

Table 5. Mineral content of green tea bee pollen grains

Element (mg/100 g)									
Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Zn	S
121.84	0.92	11.53	790.32	126.99	14.57	5.40	707.52	3.76	302.67

Table 6. Antioxidant activity and phenolic content of tea bee pollen grains

Antioxidant activity (500 µg/mL extract)	Polyphenol content (µg/mg extract)
33.8±0.74*	2.55±0.16

* Mean±S.D.

생하는 hydroxyl radical, superoxide radical 등을 제거하는 항산화 능력을 평가할 때 가장 널리 이용되는 지표이다(Lee 등 2011). 항산화 효과는 페놀 또는 플라보노이드 함량이 많을수록 높은 것으로 알려져 있으며(Kim 등 2015), 항산화 활성은 폴리페놀성 물질의 수산기를 통한 수소 공여와 페놀 고리구조의 공명구조 안정화로 인하여 나타낸다고 알려져 있다(Lee 등 2009).

요약 및 결론

본 연구에서는 가을에 꽃이 피는 녹차벌화분의 영양성분과 기능성을 분석하고, 식품학적 가치를 평가하여 건강식품으로 개발하고자 하였다. 녹차화분의 일반성분은 수분 6.52%, 회분 3.25%, 조단백질 26.14%, 조지방 3.49%였다. 녹차화분에는 glutamic acid, proline, aspartic acid, lysine 등의 아미노산이 많이 존재하였으며, tryptophan, cystine, tyrosine 등은 소량 존재하였다. 아미노산 조성은 필수아미노산 8종을 포함하여 18종의 아미노산이 풍부하게 존재하였다. 비타민 함량은 B₂ 0.87 mg/100 g, B₃ 8.16 mg/100 g, C 35.74 mg/100 g으로 나타났다. 미량원소 함량은 칼륨(K) 790.32 mg/100 g과 인(P) 707.52 mg/100 g으로 많이 함유되어 있으며, 구리(Cu)와 아연(Zn)은 각각 0.92 mg/100 g, 3.76 mg/100 g으로 소량 존재하였다. 녹차화분의 DPPH에 대한 항산화 활성은 500 µg/mL에서 33.8%이었으며, 총 페놀함량은 mg당 2.55 µg이었다.

References

- AOAC. 2010. The Association Official Methods of Analysis. pp. 33-36
- Bae MS. 2016. Current status and tasks of green tea industry. national assembly research service. Seoul. Korea

- Beretta G, Granata P, Ferrero M, Orioli M, Facino RM. 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta* 533:185-191
- 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
- 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
- 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
- Hong IP, Lee MY, Woo SO, Sim HS, Choi YS, Han SM, Kim HK, Byeon KH, Lee ML, Ha NG. 2013a. Change of chemical composition in acorn pollen after physical treatment. *Korean J Apiculture* 28:217-221
- Hong IP, Lee MY, Woo SO, Sim HS, Choi YS, Han SM, Kim HK, Byeon KH, Lee ML, Kim JB. 2013b. The morphological characteristics and fatty acids composition of pollens in acorn and darae (*Actinidia arguta*). *J Seric Entomol Sci* 51:119-122
- Hong IP, Woo SO, Han SM, Kim SG, Jang HR, Lee MY, Choi YS, Kim HK, Lee ML. 2016a. Evaluation of nutritional potential of *Amorpha fruticosa* pollen collected by honey bees. *Korean J Apiculture* 31:73-77
- Hong IP, Woo SO, Han SM, Kim SG, Jang HR, Lee MY, Choi YS, Kim HK, Lee ML. 2016b. Evaluation of nutritional potential and antioxidant activity of *Oryza sativa* (rice) pollen collected by honey bee, *Apis mellifera*. *Korean J Apiculture* 31:219-225
- Kim JG, Son JH. 1990. Progress of chemical composition on pulverization of pollen load. *Korean J Apiculture* 5:23-30
- Kim JK 1986. Chemical composition of pollen load and contents of amino acids. *Korean J Apiculture* 1:91-96
- Kim JW, Shin SC, Kim BK. 1984. Studies on pollen preparations and as a health food(I). *Kor J Pharmacogn* 15:147-149
- Korea Food & Drug Administration(KFDA). 2016. Food Standard Code. Osong, Korea
- LeBlanc BW, Davis OK, Boue S, Delucca A, Deeby T. 2009. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chem* 115:1299-1305
- Lee BY, Choi HD, and Hwang JB. 1997. Component analysis of Korean pollens and pollen extracts. *Korean J Food Sci Technol* 29:869-875
- Lee NH, Hong JI, Kim JY, Chiang MH. 2009. Antioxidant properties and protective effects of *Inula britannica* var. *chinensis* Regel on oxidative stress-induced neuronal cell damage. *Korean J Food Sci Technol* 41:87-92
- Lew YS. 1988. A review on the efficacy of natural pollen described in an orient medical handbook "Dong-Eui-Pogram". *Korean J Apiculture* 3:26-47
- Liangli Y, Scot A, Jonathan P, Mary H, John W, Ming Q. 2002. Antioxidant properties of hard winter wheat extracts. *J Agric Food Chem* 60:1619-1624
- Ryu JB. 2003. Classification of honey plants in Korea. *Korean J Apiculture* 18:5-22
- Solberg Y, Remedios G. 1980. Chemical composition of pure and bee collected pollen, Meld. *Norg Landbruk* 59:1-12
- Stanley RG, Linskens HF. 1974. Pollen Biology, Chemistry and Management, Springer Verlag, New York
- Todd FE, Bretherick O. 1942. The composition of pollens. *J Econ Entomol* 35:312-317
- Wesh SO, Marston RM. 1983. Nutritional Bioavailability of Zin. Washington, D.C.: American Chemical Society
- Yoon SH, Ahn JI, Kwon JS. 1985. Nutritional and biochemical studies on the pollen loads. Amino acid composition of sunflower pollen load and its effects on the hepatic alcohol dehydrogenase (ADH) activity I rat. *J Korean Soc Food Nutr* 14:27-32
- Zhang W, Xu YC, Guo FJ, Meng Y, Li ML. 2008. Antidiabetic effects of cinnamaldehyde and berberine and their impacts on retinol-binding protein 4 expression in rats with type 2 diabetes mellitus. *Chin Med J (Engl)* 121:2124-2128

Received 18 September, 2017

Revised 11 December, 2017

Accepted 11 January, 2018