

## Absorbance as Simple Indicator for Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Honey

Su-Jin Pyo<sup>1</sup>, Jong-Sik Kim<sup>2</sup>, Dong Hee-Lee<sup>3</sup> and Ho-Yong Sohn<sup>1,4\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 36729, Korea

<sup>2</sup>Department of Biological Science, Andong National University, Andong 36729, Korea

<sup>3</sup>Industry Academy Cooperation Foundation, Andong National University, Andong 36729, Korea

<sup>4</sup>Agricultural Science and Technology Institute, Andong National University, Andong 36729, Korea

Received February 27, 2020 / Revised June 14, 2020 / Accepted June 15, 2020

This study analyzed the total polyphenol (TP), total flavonoid (TF), and protein content, the Absorbance at 400 nm (A400), and the antioxidant and hemolytic activities of 150 Korean honey products, including 41 chestnut (CH), 42 acacia (AH), 62 multi-floral (MH), and five *Styrax japonica* (TH) varieties. Our results showed that the components and antioxidant activities of honey are dependent on botanical origin rather than farming area or farmer. CH showed the highest levels of TP ( $88.6 \pm 29.8$  mg/100 g) and TF ( $1.20 \pm 0.82$  mg/100 g), whereas TH had the highest protein ( $21.5 \pm 5.1$  mg/100 g). A400 was the highest in CH ( $0.161 \pm 0.044$ ). All of the honey products exhibited negligible hemolytic activity against human red blood cells up to 1 mg/ml. Potent radical scavenging activities for 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH), 2,2-azobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS), nitrite and reducing power were also observed in CH. Correlation coefficients (CCs) between analysis parameters were calculated and the highest was identified between TP and ABTS scavenging activity (0.726). The CCs between A400 and TP and A400 and ABTS scavenging activity were 0.644 and 0.661, respectively, suggesting that A400 could be used as a quality indicator for the polyphenol content and antioxidant activity of particular honeys. Future research on polyphenol by flower origin and the identification of compounds for A400 is necessary.

**Key words** : Absorbance 400 nm, anti-oxidation, domestic honey, origin of flower

### 서 론

인류는 오래전부터 벌꿀, 벌꿀집, 로얄젤리, 프로폴리스, 화분, 봉독 등의 다양한 양봉 부산물들을 식품 및 민간 의약품으로 사용하여 왔다[13, 15, 20, 22]. 그 중에서도 벌꿀은 일반 당류와는 다른 특유의 감미와 향미를 가지는 천연 감미료로 각광받아 왔으며, 국내의 경우 아카시아꿀[21], 밤꿀[24, 28], 유채꿀[16], 대추꿀[30], 밀감꿀[16], 때죽꿀[30], 헛개나무꿀[31] 등이 주로 수확되고 있으며, 그 외 다양한 밀원으로부터 채집한 잡화꿀[25]이 생산되고 있다. 대한민국 식품공전[23]에서는 벌꿀을 “꿀벌들이 꽃꿀, 수액 등 자연물을 채집하여 벌집에 저장한 것을 채밀한 것으로, 채밀 후 화분, 로얄젤리, 당류, 감미료 등 다른 식품이나 식품첨가물을 첨가하지 아니한 것을 말한다”라고 규정하고 있으며, 밀원식물이 없는 겨울철, 장마철 등 채밀기가 아닌 시기에 벌의 생존을 위해 일부 설당을

먹여 키워 생산한 벌꿀을 [설당사양벌꿀]로 인정하고 있다.

벌꿀은 꿀벌이 자연의 밀원으로부터 화밀을 채집하여 밀원에 저장하였다가 다시 뱀어 벌집에 저장하는 과정 중에 invertase 등을 포함한 다량의 소화액을 포함하게 되며[20], 밀원으로부터 유래하는 화분 단백질, 유기산, 아미노산, 무기질, 폴리페놀 등의 다양한 생리활성물질을 포함하고 있다[3, 26]. 현재까지 알려진 벌꿀의 유용 생리활성으로는 항균 활성[29], 항산화 활성[5, 12], 미백활성[14, 16], 갈변억제 활성[7] 등이 있으며, 일부 벌꿀에서 적혈구 용혈 억제활성[17]이 알려져 있다. 그러나, 현재까지 개별 벌꿀에 대한 연구는 진행되어 왔으나[16, 21, 24, 28, 30, 31], 밀원식물에 따른 벌꿀의 유용 기능성 비교 연구는 상대적으로 미미한 실정이다[19].

한편 벌꿀 품질평가로는 벌꿀 구성당의 분석, 탄소안정 동위원소 비율 등의 식품규격에 대한 연구, 잔류농약, 중금속, Hydroxy-methylfurfural 등의 유해성분 분석 연구[18, 26] 및 벌꿀(화분) 알리지[10] 또는 적혈구 용혈활성 연구 등[33]이 알려져 있으며, 보다 간편한 품질평가 방법으로 근적외 분광법(1,100~1,300 nm)의 이용[8], 반사스펙트럼(1,400~1,600 nm) 이용[9], Fourier transform Mid-infrared spectroscopy 이용[32], 벌꿀내의 diastase 분석[18] 등이 알려져 있다. 본 연구팀에서는 2017년 생산된 120종의 국내 시판 벌꿀의 밀원별 유용 생리활성과 벌꿀의 다양한 품질특성을 평가하여 벌꿀의 폴리

#### \*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5491, Fax : +82-54-820-7804

E-mail : hysohn@anu.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.

페놀 함량 및 항산화 활성의 지표로 400 nm 흡광도를 제안한 바 있다[36]. 본 연구는 기존 연구의 후속 연구로, 2018년 국내의 다양한 지역, 다양한 밀원으로 생산된 벌꿀 150종을 대상으로 이들의 유용성분, 항산화 활성 및 인간 적혈구 용혈활성을 평가하고 분석인자간의 상관관계를 검토하여 벌꿀 400 nm 흡광도가 간편 품질인자로 이용가능한지 가능성을 확인하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 벌꿀은 2018년 국내 양봉농가에서 수확한 아카시아꿀 42종, 밤꿀 41종, 매죽꿀 5종 및 잡화꿀 62종으로 총 150종을 사용하였다. 지역별로는 경북산(경산, 경주, 구미, 군위, 문경, 봉화, 상주, 안동, 영덕, 영주, 예천, 울진, 의성, 청도, 포항) 35종, 전남산(강진, 화순, 해남, 함평, 장흥, 영암, 보성, 구례, 광양, 곡성) 27종, 충북산(괴산, 옥천, 충주, 영동, 증평, 청주, 음성, 제천, 진천, 단양, 음성, 충주) 22종, 경남산(진안, 정읍, 임실, 완주, 순창) 13종, 충남산(아산, 논산, 공주, 보령) 11종, 강원산(철원, 영월, 양구, 인제, 삼척, 횡성, 홍천) 9종, 경기산(의왕, 양평, 연천) 5종, 광주산 4종, 대구산 2종, 대전산 2종, 부산산 2종 및 울산산 2종을 사용하였다. 본 벌꿀들은 수분함량, 안정탄소동위원소비율, 당 조성 및 Hydroxy-methylfurfural 함량 등의 국내 벌꿀 식품규격에 모두 충족함을 확인하였다[19, 21]. 회수된 벌꿀은 멸균수를 이용하여 적합한 농도로 녹여 성분분석 및 활성평가에 사용하였으며, 벌꿀 시료는 안동대학교 식품영양학과에서 보관하고 있다(voucher specimen 2018-BH1~150).

### 벌꿀 성분 분석

벌꿀의 Total flavonoid (TF) 및 Total polyphenol (TP) 함량 측정에는 기존의 보고된 방법[35]에 따라 측정하였으며, 각각 rutin과 tannic acid를 표준시약으로 사용하였다. TF의 경우 시험관에 시료 100 µl와 10% aluminum nitrate 20 µl, 1 M potassium acetate 20 µl, 에탄올 300 µl를 혼합한 이후 증류수 560 µl를 가하여 1시간 동안 방치하였다. 이후 microplate reader를 사용하여 흡광도 값을 415 nm에서 측정하였다. 시료의 흡광도는 표준물질인 rutin으로 표준곡선을 작성하여 RE (rutin equivalent)로 나타내었다. TP 측정은 시험관에 시료 20 µl와 증류수 700 µl를 가하고 Folin-Ciocalteu 시약 100 µl를 혼합한 후 1시간 동안 방치하였다. 이후 20% sodium carbonate를 100 µl 가한 후 30°C에서 30분간 반응시켰으며, 이후 반응액을 700 nm에서 측정하였다. 시료의 흡광도는 tannic acid로 표준곡선을 작성하여 TAE (tannic acid equivalent)로 나타내었다. 벌꿀의 단백질 함량은 BCA법[4]으로 측정하였으

며, 0.15 M sodium chloride에 녹인 bovine serum albumin (BSA)을 표준품으로 하여 검량선을 작성하였으며, 단백질 함량은 BSA-mg/100 g으로 나타내었다. 벌꿀의 색차 분석을 위한 흡광도 분석은 Biotek Epoch Spectrophotometer (Biotek Instruments, Inc, VT, USA)를 이용하여 400 nm 흡광도를 측정하였다. 각각의 분석결과는 3회 반복한 실험의 평균과 편차로 나타내었다.

### 벌꿀의 항산화 활성

벌꿀의 항산화 활성은 기존의 보고[1]한 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 음이온 소거능, ABTS [2,2-azobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] 양이온 소거능, nitrite 소거능 및 환원력 측정으로 평가하였으며, DPPH, ABTS 및 환원력 측정은 벌꿀시료의 최종농도가 5 mg/ml, nitrite 소거능은 2 mg/ml 농도가 되도록 조정하여 평가하였다. 이때 활성 대조구로는 vitamin C (Sigma Co.)를, 용매 대조구로는 DMSO를 사용하였다.

### 벌꿀의 인간 적혈구 용혈활성

벌꿀의 인간 적혈구 용혈 활성은, 기존의 보고된 방법[27]과 동일하게 평가하였다. 먼저 PBS로 3회 수세한 인간 적혈구 (4%) 100 µl를 96-well microplate에 가하고 다양한 농도의 시료용액 100 µl를 가한 다음 37°C에서 30분간 반응시켰으며, 이후, 반응액을 10분간 원심분리(1,500 rpm)하여 상등액 100 µl를 새로운 microtiter plate로 옮긴 후 용혈에 따른 헤모글로빈 유출 정도를 414 nm에서 측정하였다. 시료의 용매 대조구로는 멸균 증류수를 사용하였으며, 활성 대조구로는 triton X-100과 amphotericin B를 사용하였다. 용혈활성은 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$(\%) \text{ Hemolysis} = [(S - C)/(T - C)] \times 100.$$

S: 시료 첨가구의 흡광도, C: 멸균 증류수 첨가구의 흡광도, T: triton 첨가구의 흡광도.

### 통계분석

실험 결과는 SPSS 25.0 version (2019, IBM SPSS Statistics USA)을 사용하여 mean ± SD로 나타내었으며, 각 군간의 차이는 ANOVA로 분석하였으며, Duncan 다중비교 검증법으로 통계적 유의성 검정을 조사하였다. 유의수준은  $p < 0.05$ 로 하였다. 분석인자들간의 상관관계는 각각의 측정값의 그래프를 linear regression하여 상관계수를 계산하였다.

## 결과 및 고찰

벌꿀의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 단백질 함량, 항산화 활성 및 400 nm 흡광도 분석

Table 1. List of Korean honey products used in this study, and their component and antioxidant activity

Sample <sup>1)</sup>	Total polyphenol (mg/100 g)	Total flavonoid (mg/100 g)	Protein (mg/100 g)	OD (400 nm)	Anti-oxidation activity			
					DPPH SA (%)	ABTS SA (%)	Nitrite SA (%)	Reducing power
C(1~41)	88.62 ±29.79	1.16 ±0.84	17.39 ±6.57	11.19 ±5.10	31.51 ±4.39	25.72 ±35.84	0.15 ±0.03	0.161 ±0.044
A(1~42)	12.07 ±17.90	0.20 ±0.69	7.64 ±5.08	2.23 ±6.17	13.54 ±6.15	13.17 ±27.88	0.07 ±0.05	0.062 ±0.013
M(1~62)	47.60 ±38.16	0.95 ±1.19	12.31 ±5.33	6.97 ±5.46	22.27 ±7.50	25.30 ±35.38	0.13 ±0.08	0.104 ±0.040
S(1~5)	8.11 ±11.78	0.06 ±0.10	17.50 ±7.95	8.17 ±0.93	15.67 ±6.71	-39.13 ±36.82	0.05 ±0.02	0.073 ±0.009
Total	47.23	0.76	12.64	0.105	6.85	22.08	19.25	0.116
Average	±42.43	±1.03	±6.84	±0.051	±6.37	±9.27	±36.15	±0.070

<sup>1</sup>Sample ; C: Chestnut, A: Acacia, M: Multi-floral, S: *Styrax japonica* (Taejuk)

<sup>2</sup>SA: scavenging activity

150종 국내산 벌꿀의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 단백질 함량, 항산화활성 및 벌꿀의 400 nm 흡광도 평가 결과는 Table 1에 나타내었다. 먼저 150종 벌꿀의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 평균 함량은 각각 47.23±42.43 mg/100 g 및 0.76±1.03 mg/100 g 이었으며, 평균 단백질 함량은 12.64±6.84 mg/100 g으로 벌꿀의 종류에 따라 많은 차이를 나타내었다. 최종 농도 5 mg/ml에서 벌꿀의 평균 항산화 활성 평가 결과, DPPH 음이온 및 ABTS 양이온 소거활성은 6.85±6.37% 및 22.08±9.27%로 나타나 벌꿀의 경우 활성 양이온 소거능이 활성 음이온 소거능보다 강력함을 확인하였다. 또한 150종 벌꿀의 환원력 평가 결과 0.116±0.070을 나타내어 벌꿀의 환원력을 확인하였다. 이러한 결과는, 기존 벌꿀의 우수한 활성 양이온 소거능 보고와 일치하며[36], 벌꿀의 항산화 활성은 주로 활성 ABTS 양이온 소거능 및 환원력에서 기인하는 것으로 이해된다.

한편 150종 벌꿀의 nitrite 소거능 평가 결과 19.25±36.15%를 나타내어 제한된 벌꿀에서만 nitrite 소거활성을 가짐을 알 수 있었으며, 벌꿀의 400nm 평균 흡광도는 0.105±0.051로 벌꿀 종류에 따라 색상도 다양하게 나타남을 확인하였다. 2017년산 벌꿀 120종의 평균 분석결과와 비교할 때, 2018년 150종 벌꿀은 폴리페놀 함량과 단백질 함량은 상대적으로 높은 반면 플라보노이드 함량은 다소 낮음을 알 수 있었으며, 400 nm 흡광도는 2017년 120종 벌꿀의 0.082±0.041보다 2018년 벌꿀이 0.105±0.051를 보여 상대적으로 높은 값을 보였다[36]. 이는 2017년 분석 120종의 벌꿀 중 아카시아꿀, 밤꿀, 잡화꿀의 비율이 각각 39.1, 4.2, 35.0%에 비해, 본 연구의 2018년 150종 벌꿀은 각각 28.0, 27.3, 41.3%로 벌꿀 밀원의 차이가 있으며, 또한 2017년/2018년 수확기 기후적인 차이에 의한 것으로 이해된다. 한편 150종 벌꿀 중, 가장 높은 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 단백질 함량은 각각 강원도 영월산 잡화꿀(148.9 mg/100 g), 경북 봉화산 잡화꿀(5.2 mg/100 g) 및 전북 순창산

밤꿀(33.9 mg/100 g)로 나타났으며, 가장 강력한 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능은 각각 충북 음성산 밤꿀(21.82%) 및 충남 공주산 밤꿀(41.92%)에서 나타났다. 환원력은 강원도 철원산 잡화꿀(0.379)에서 높았으며, nitrite 소거능은 충북 옥천산 잡화꿀 및 강원 약구산 잡화꿀에서 가장 높은 85% 이상의 소거능을 나타내었다.

각각의 밀원별 벌꿀의 성분 및 활성 평가 결과는 Fig. 1 및 Fig. 2에 나타내었다. 먼저 총 폴리페놀 함량 분석 결과, 밤꿀이 가장 높은 88.6±29.8 mg/100 g을 나타내었으며, 잡화꿀(47.3±37.9 mg/100 g), 아카시아꿀(12.1±17.9 mg/100 g), 때죽꿀(2.5±3.4 mg/100 g)순으로 나타났다(Fig. 1A). 이는 밤꿀이 아카시아꿀보다 10배 높은 폴리페놀 함량을 나타낸다는 기존의 보고[2, 22, 27]와 유사하며, 밀원에 따라 벌꿀 폴리페놀 함량에 큰 차이가 있음을 확인하였다[36]. 총 플라보노이드 함량의 경우 밤꿀(1.2±0.8 mg/100 g)에서 가장 높은 함량을 보였으며 (Fig. 1B), 잡화꿀, 아카시아꿀, 때죽꿀 순으로 나타났으나 통계적으로 유의적이지는 않았다( $p < 0.05$ ). 단백질 함량은 때죽꿀(21.2±5.1 mg/100 g)에서 유의적으로 가장 높게 나타났으며, 밤꿀(17.4±6.6 mg/100 g), 잡화꿀(12.2±5.3 mg/100 g), 아카시아꿀(7.6±5.1 mg/100 g) 순으로 나타났다(Fig. 1C). 아카시아꿀의 경우 기존 보고[24]와 약 2배 이상의 차이가 나타났으나, 여타의 벌꿀은 기존 벌꿀 단백질 함량 보고(12.0~25.9 mg/100 g)와 유사하였다[24, 36]. 밀원별 벌꿀의 400 nm 흡광도 측정 결과, 밤꿀이 0.161±0.044의 흡광도를 나타내어 다른 여타의 꿀보다 확연히 높은 값을 나타내어 차별화 되었으며, 잡화꿀(0.100±0.038), 때죽꿀(0.074±0.010), 아카시아꿀(0.062±0.013)의 순으로 나타났다(Fig. 1D). 현재 벌꿀 품질분석을 위해 다양한 근적외 분광법(1,100~1,300 nm)[8], 반사스펙트럼(1,400~1,600 nm)[9], Fourier transform Mid-infrared spectroscopy [32] 및 폴리페놀 함량에 기인하는 240-250 nm의 UV 흡광도

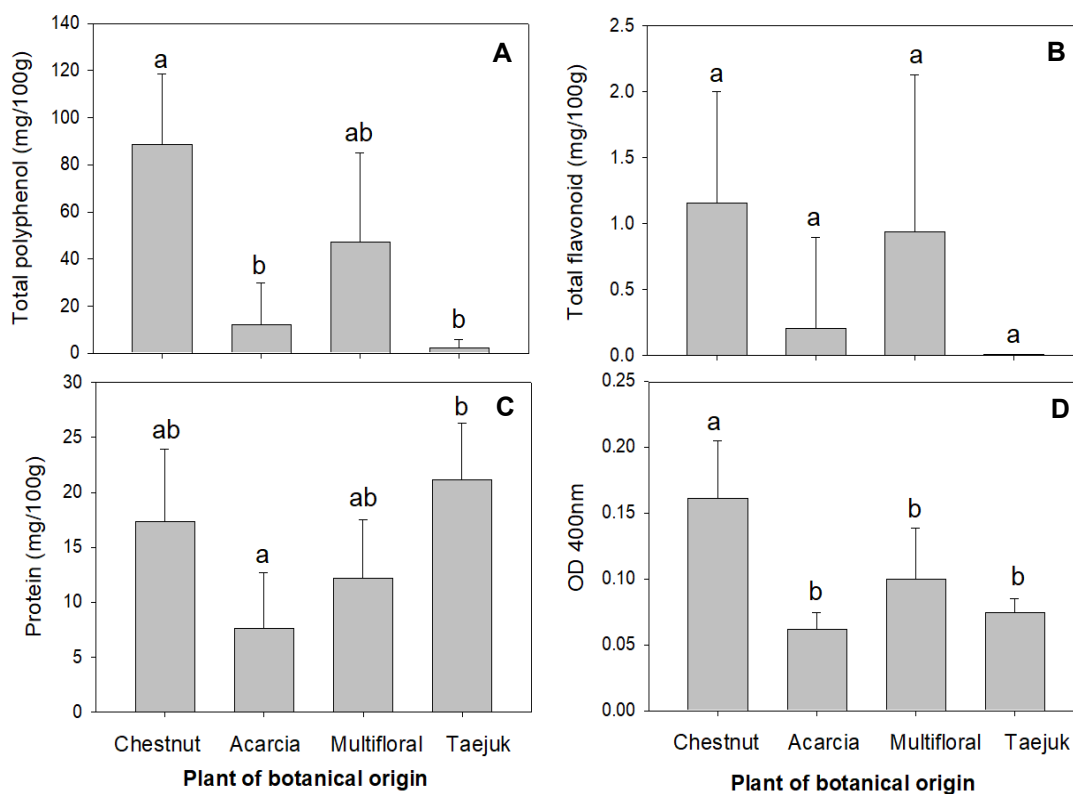


Fig. 1. Comparison of (A) total polyphenol, (B) total flavonoid, (C) protein content and (D) OD 400nm in Korean honey products prepared from different plant flower. Different superscripts within a column differ significantly ( $p < 0.05$ ).

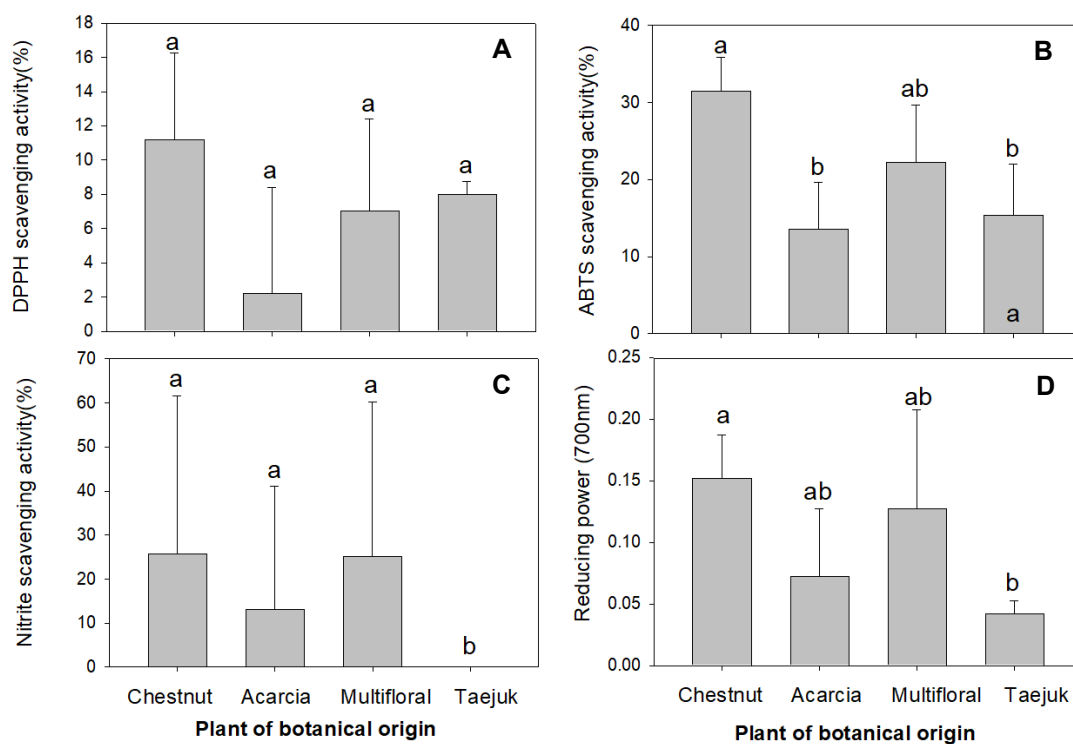


Fig. 2. Comparison of (A) DPPH scavenging activity, (B) ABTS scavenging activity, (C) nitrite scavenging activity and (D) reducing power in Korean honey products prepared from different plant flower. Different superscripts within a column differ significantly ( $p < 0.05$ ).

측정[6]이 사용되고 있으나, 가시광선 영역의 400 nm 흡광도는 벌꿀의 폴리페놀 함량 및 항산화 활성의 간편 지표로 이용될 수 있음이 제안된 바 있다[36].

한편 밀원별 벌꿀의 항산화 활성을 평가한 결과, 가장 우수한 DPPH, ABTS, nitrite 소거능 및 환원력은 밤꿀에서 확인되었다(Fig. 2). 환원력은 밤꿀, 잡화꿀, 아카시아꿀, 때죽꿀의 순으로 우수하였다(Fig. 2D). 밤꿀의 경우 각각 11.19±5.09%, 31.50±4.39%, 25.72±35.84% 및 0.152±0.035의 DPPH, ABTS, nitrite 소거능 및 환원력을 나타내었으며, 잡화꿀은 7.01±5.42%, 22.17±7.47%, 25.14±35.11% 및 0.127±0.080의 DPPH, ABTS, nitrite 소거능 및 환원력을 나타내었다. 때죽꿀의 경우 8.95±2.44%, 18.40±9.62%, -50.93±24.70% 및 0.212±0.045의 DPPH, ABTS, nitrite 소거능 및 환원력을, 아카시아꿀은 2.23±6.16%, 13.54±6.15%, 13.16±27.88% 및 0.072±0.055의 DPPH, ABTS, nitrite 소거능 및 환원력을 나타내었다. 가장 높은 단백질 함량을 나타내었던 때죽꿀의 경우 nitrite 소거활성이 -59~-72%를 나타낸 경우가 대부분으로(Fig. 2C), 향후 이에 대한 자세한 검토가 필요하리라 판단된다. 150종 벌꿀의 항산화 활성 평가결과는 기존의 개별적인 단일 밀원 벌꿀의 항산화 활성 분석 결과[2, 11, 25, 30, 31, 38] 및 2017년 120종 벌꿀 분석 결과와[36] 매우 유사하였으며, 아카시아꿀 및 때죽꿀의 경우 항산화 활성 강화 부재료의 첨가도 필요함을 제시하고 있다. 또한 기존 보고와 같이 벌꿀의 채취 지역 및 양봉 농가에 따른 항산화 활성은 연관성이 나타나지 않았다[36].

**벌꿀의 적혈구 용혈활성 분석**

벌꿀은 일부 사람들에게 알려지[10] 또는 적혈구 용혈활성[33]을 나타낼 수 있음이 보고되어 있으므로, 150종 벌꿀에 대한 인간 적혈구 용혈활성을 평가하였으며, 그 결과 모든 시료는 1 mg/ml 농도까지 5% 이상의 유의적인 용혈활성은 나타나지 않았다(dada not shown). 따라서 국내 벌꿀의 경우 봉독 및 기타 유해물질에 오염되지 않는 경우 용혈활성은 나타나지 않을 것으로 판단된다.

**벌꿀 유용성분, 색상 분석, 항산화 활성과의 상관관계 분석**

상기 150종 국내산 벌꿀의 유용성분, 400 nm 흡광도 및 항산화 활성과의 상관관계를 계산하였으며 그 결과는 Table 2에 나타내었다. 식물의 항산화 활성은 폴리페놀 함량과 상관관계가 있음이 보고[37]되어 있으며, 슬로베니안 벌꿀의 항산화 활성 역시 높은 폴리페놀 함량때문으로 알려져 있다[5, 25]. 본 연구에서 가장 높은 상관계수는 총 폴리페놀 함량과 ABTS 양이온 소거능(0.726)에서 나타났으며, 특이하게 총 폴리페놀 함량과 DPPH 음이온 소거능은 0.213의 상관계수를 보여 상대적으로 관련성이 낮음을 알 수 있었다. 이러한 결과는, 기존 120종 벌꿀 분석결과[36]와 동일하게, 벌꿀이 활성 음이온보다는 활성 양이온에 대한 소거능이 더욱 우수함을 의미하고 있다. 또한 벌꿀의 항산화 활성은 단백질 함량, 총 플라보노이드 함량과는 매우 낮은 상관관계를 가지며, nitrite 소거능은 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 단백질 함량 및 400nm 흡광도와 무관하며, DPPH, ABTS 및 환원력과는 매우 낮은 상관관계를 보였다(Table 2). 한편, 400 nm 흡광도는 폴리페놀 함량과 0.644, ABTS 소거능과 0.661의 높은 상관계수를 보여 400 nm 흡광도가 높을수록 총 폴리페놀 함량과 항산화 활성이 높음을 알 수 있었다.

2017년/2018년 벌꿀 분석결과의 400 nm 흡광도, 유용성분 및 항산화 활성과의 상관계수의 비교도는 Fig. 3에 나타내었다. 400 nm 흡광도와 폴리페놀 함량과의 상관계수는 2017년 0.804에서 2018년 0.644로 감소하였으며, 400 nm 흡광도와 ABTS 소거능과의 상관계수는 2017년 0.879에서 2018년 0.726으로 약간의 감소가 나타났다. 반면, 400 nm 흡광도와 환원력과의 상관계수는 2017년 0.741에서 2018년 0.333으로, ABTS 양이온 소거능과 환원력의 상관계수도 2017년 0.678에서 2018년 0.455로 각각 큰 감소가 확인되었다[36]. 따라서 벌꿀 종류 및 채취 년도에 따라 유용성분 및 항산화 활성간의 상관계수의 차이가 있을 수 있으나, 400 nm 흡광도 측정은 간편하고 경제적인 폴리페놀 함량 및 항산화 활성 측정법으로 유용함을 확인하였다. 본 연구결과는, 고가의 장비나 전문 분석기술 없이도, 벌꿀의 400 nm 흡광도 측정에 의한 간편 품질 평가가

Table 2. Correlation matrix between quality parameters in the Korean honey products

Parameters	Total Polyphenol	Total flavonoid	Soluble protein	Abs. 400 nm	DPPH SA <sup>1</sup>	ABTS SA	Nitrite SA	Reducing power
Total polyphenol	-	-	-	-	-	-	-	-
Total flavonoid	0.213	-	-	-	-	-	-	-
Soluble protein	0.275	0.037	-	-	-	-	-	-
Abs.400 nm	0.664	0.181	0.350	-	-	-	-	-
DPPH SA	0.213	0.128	0.139	0.235	-	-	-	-
ABTS SA	0.726	0.246	0.313	0.661	0.321	-	-	-
Nitrite SA	0.224	0.034	0.011	0.065	0.003	0.079	-	-
Reducing power	0.606	0.092	0.164	0.333	0.120	0.455	0.188	-

<sup>1</sup>SA : scavenging activity

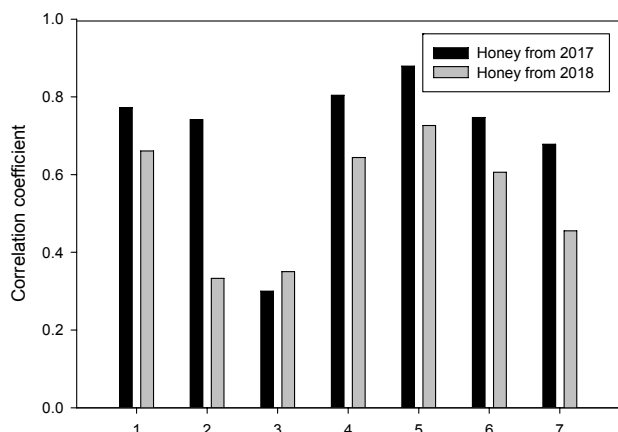


Fig. 3. Comparison of the correlation coefficients between the quality factors of 2017' honey (120 samples) and 2018' honey (150 samples). Symbols: 1. Correlation coefficient of A 400 nm vs ABTS scavenging activity; 2. A 400 nm vs Reducing power; 3. A 400 nm vs protein concentration; 4. A 400 nm vs total polyphenol content; 5. Total polyphenol content vs ABTS scavenging activity; 6. Total polyphenol content vs Reducing power; 7. ABTS scavenging activity vs Reducing power

가능함을 재확인하였으며, 향후 밀원별 벌꿀의 폴리페놀 성분 에 대한 분석 연구, 400 nm 흡광 물질의 분석이 필요하다고 판단된다.

### 감사의 글

이 논문은 2018년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(NRF-2018R1A6A1A03024862).

### The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

### References

- Ahn, S. M., Ryu, H. Y., Kang, D. K., Jung, I. C. and Sohn, H. Y. 2009. Antimicrobial and antioxidant activity of the fruit of *Prunus avium* L. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **36**, 195-200.
- Al-mamary, M., Al-Meer, A. and Al-Habori, M. 2002. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutr. Res.* **22**, 1041-1047.
- Atrott, J. and Henle, T. 2009. Methylglyoxal in manuka honey-correlation with antibacterial properties. *Czech J. Food Sci.* **27**, S163-S165.
- Bainor, A., Chang, L., McQuade, T. J., Webb, B. and Gestwicki, J. E. 2011. Bicinchoninic acid (BCA) assay in low volume. *Anal. Biochem.* **410**, 310-312.
- 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.
- Brudzynski, K., Miotto, D., Kim, L., Sjaarda, C., Maldonado-Alvarez, L. and Fuks, H. 2017. Active macromolecules of honey from colloidal particles essential for honey antibacterial activity and hydrogen peroxide production. *Sci. Rep.* **7**, 7637.
- Chen, L., Mehta, A., Berenbaum, M., Zangerl, A. R. and Engeseth, N. J. 2000. Honeys from different floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetable homogenates. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 4997-5000.
- Choi, C. H., Kim, J. H., Kwon, K. H. and Kim, Y. J. 2011. Development of a portable quality evaluation system for bee-honeys by using Near-Infrared spectroscopy. *Kor. J. Food Preserv.* **18**, 156-164.
- Choi, C. H., Yang, W. J., Son, J. H. and Kim, J. H. 2001. Prediction of quality parameters of honey by reflectance spectra. *Kor. Soc. Agric. Mach.* **1**, 352-358.
- Cifuentes, L. 2015. Allergy to honeybee, not only stings. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* **15**, 364-368.
- 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.
- Gheldof, H. 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.
- 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. Apiculture* **25**, 123-128.
- 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. Apiculture* **25**, 39-43.
- 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. Apiculture* **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. Apiculture* **26**, 129-134.
- Hilary, S., Habib, H., Souka, U., Ibrahim, W. and Platat, C. 2017. Bioactivity of arid region honey: an *in vitro* study. *BMC Complement Altern. Med.* **17**, 177.
- Huang, Z., Liu, L., Li, G., Li, H., Ye, D. and Li, X. 2019. Nondestructive determination of diastase activity of honey based on visible and near infrared spectroscopy. *Molecules* **24**, E1244.
- Jung, C. and Chon, J. W. 2016. Quality assessment of honey from different floral origin in Korea. *Kor. J. Apiculture* **31**, 103-111.

20. Jung, C. and Cho, S. K. 2015. Relationship between honeybee population and honey production in Korea: A historical trend analysis. *Kor. J. Apiculture* **30**, 7-12.
21. Jung, C., Cho, E., Lee, S. and Chon, J. W. 2016. Quality characteristics of honey on the market, case study from Daegu-Gyeongbuk provinces. *Kor. J. Apiculture* **32**, 51-58.
22. Kang, D. H. and Kim, M. Y. 2015. Comparative phenolic composition and antioxidant properties of honey and honeycomb extracts. *J. Life Sci.* **25**, 1169-1175.
23. KFDA. 2016, Korean Food and Drug Administration. Seoul, Korea.
24. 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. Apiculture* **24**, 115-120.
25. 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. Apiculture* **25**, 275-282.
26. Kim, J. Y., Song, H. Y., Moon, J. A., Shin, M. H. and Baek, S. H. 2014. Quality properties of honey in Korean commercial markets. *Kor. J. Food Sci. Tech.* **8**, 432-437.
27. Lee, H., Woo, E. and Lee, D. G. 2016. (-)-Nortrachelogenin from *Partrinia scabiosaefolia* elicits an apoptotic response in *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res.* **16**, fow013. doi.org/10.1093/femsyr/fow013.
28. Lee, M. L., Kim, H. K., Lee, M. Y., Choi, Y. S., Kim, H. B., Chung, H. G. and Kim, S. H. 2007. Antioxidant and antibacterial capacity of chestnut (*Castanea crenata* var. *dulcis*) honey produced in Korea. *Kor. J. Apiculture* **22**, 147-152.
29. Mundo, M. A., Padilla-Zakour, O. I. and Worobo, R. W. 2004. Growth inhibition of food borne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. *Int. J. Food Microbiol.* **97**, 1-8.
30. Paik, W. K., Kwak, A. K., Lee, M. L. and Sim, H. S. 2014. Studies on the chemical characteristics of jujube (*Zizyphus jujube* var. *inermis*) and snowbell (*Styrax japonica*) honey produced in Korea. *Kor. J. Apiculture* **29**, 125-135.
31. Paik, W. K., Kwak, A. K., Lee, M. L. and Sim, H. S. 2015. Studies on chemical characteristics of hovenia (*Hovenia dulcis*) honey produced in Korea. *Kor. J. Apiculture* **30**, 75-85.
32. Ruoff, K., Luqinbui, W., Kunzli, R., Iqlesias, M. T., Boqdanov, S., Bosset, J. O., von der Ohe, K., von der Ohe, W. and Amado, R. 2006. Authentication of the botanical and geographical origin of honey by mid-infrared spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 6873-6880.
33. Sciani, J. M., Marques-Porto, R., Lourenço Junior, A., Orsi Rde, O., Ferreira Junior, R. S., Barraviera, B. and Pimenta, D. C. 2010. Identification of a novel melittin isoform from Africanized *Apis mellifera* venom. *Peptides* **31**, 1473-1479.
34. Sergiel, I., Pohl, P. and Biesaga, M. 2014. Characterization of honeys according to their content of phenolic compounds using high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Food Chem.* **145**, 404-408.
35. Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* **299**, 152-178.
36. Sung, H. J., Jung, C., Kwon, J. and Sohn, H. Y. 2018. Evaluation of commercial Korean honey quality and correlation analysis of the quality parameters. *J. Life Sci.* **28**, 1489-1500.
37. Valentina, U., Fabric, J. and Stampar, F. 2007. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* **107**, 185-192.
38. 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. Apiculture* **28**, 355-359.

## 초록 : 벌꿀 폴리페놀 함량 및 항산화 활성의 간단지표로서의 400 nm 흡광도

표수진<sup>1</sup> · 김종식<sup>2</sup> · 이동희<sup>3</sup> · 손호용<sup>1,4\*</sup>

(<sup>1</sup>안동대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>안동대학교 생명과학과, <sup>3</sup>안동대학교 산학협력단, <sup>4</sup>안동대학교 농업과학기술연구원  
구소)

본 연구에서는 국내의 다양한 지역(강원, 경기, 경남, 경북, 광주, 대구, 대전, 부산, 울산, 전남, 전북, 충남, 충북의 66개 시군), 다양한 밀원(밤꿀 41종, 아카시아꿀 42종, 때죽꿀 5종 및 잡화꿀 62종)에서 2018년 생산된 150종 벌꿀의 유용성분, 항산화 활성 및 적혈구 용혈활성을 평가하고 분석인자간의 상관관계를 검토하였다. 그 결과 벌꿀의 성분 및 생리활성은 밀원에 의해 차별화되며, 양봉농가 및 지역에 따른 차이는 인정되지 않았다. 벌꿀의 총 폴리페놀 함량 및 총 플라보노이드 분석 결과, 밤꿀에서 가장 높은 88.6±29.8 및 1.2±0.82 mg/100 g을 나타내었다. 반면, 단백질 함량은 때죽꿀에서 가장 높은 21.2±5.1 mg/100 g을 나타내었으며, 400 nm에서의 흡광도는 밤꿀에서 0.161±0.044의 흡광도를 나타내어 다른 여타의 꿀보다 확연히 높은 값을 나타내었다. 모든 벌꿀 시료는 1 mg/ml 농도까지 적혈구 용혈활성이 나타나지 않았다. 한편 DPPH, ABTS, nitrite 소거능 및 환원력 평가 결과 밤꿀에서 우수한 활성을 확인하였다. 분석인자간의 상관성을 계산한 결과, 총 폴리페놀 함량과 ABTS 양이온 소거능에서 가장 높은 상관계수(0.726)가 확인되었으며, 400 nm 흡광도는 폴리페놀 함량과 0.644, ABTS 소거능과 0.661의 높은 상관관계를 보였다. 2017년 및 2018년 벌꿀의 품질인자간 상관관계 비교 결과, 벌꿀 종류 및 채취 년도에 따라 유용성분 및 항산화 활성간의 상관계수의 차이가 있을 수 있으나, 400 nm 흡광도 측정은 간편하고 경제적인 폴리페놀 함량 및 항산화 활성 평가법으로 유용함을 확인하였다. 현재 밀원별 벌꿀의 폴리페놀 성분에 대한 분석 연구 및 400 nm 흡광 물질 분석이 진행 중에 있다.