

벌꿀의 · 蜜源別 品質關聯成分의 比較 研究

食品分析科 機器分析科*

李永根·李源九*·權東敏·車京淑·費在薰·李秉圭

Chemical Composition in Relation to Quality Evaluation of Honey by Floral Sources

Department of Food Analysis

Department of Instrumental Analysis*

Y.G. Lee · W.G. Lee · D.M. Kwon · K.S. Cha · J.H. Bin · B.K. Lee

Abstract

Quality of three kinds of honey from acacia, chestnut and polyflower sources, were evaluated by physicochemical and GC-MS analysis in respect to some chemical constituents.

The average values of moisture, ash, HMF and free acidity in acacia honey were 19.7%, 0.028%, 18.28mg/kg and 8.85 meq/kg, in polyflower honey were 19.1%, 0.050%, 18.47mg/kg and 10.24meq/kg, and in chestnut honey were 18.9%, 0.050%, 20.21mg/kg and 12.28 meq/kg.

The average contents of glucose and fructose ranged from 31.0 to 32.0% and from 35.0 to 36.0% in all three kinds of honey.

The average ratio of fructose to glucose was 1.14 in all three kinds of honey.

Fatty acids identified by GC-MS analysis were dodecanoic acid, 10-hydroxy-2-decenoic acid, 6,9-undecadienoic acid, tetradecanoic acid, 12-(acetyl oxy)-9-octadecenoic acid and 14-octadecenoic acid.

The contents of 10-hydroxy-2-decenoic acid were about 10 mg% in three kinds of honey.

I. 緒 論

오래전부터 天然甘味料 및 藥用으로 利用되어 온 꿀은 오늘날 急増하는 需要와 더불어 그 價値에 對한 至大한 關心을 끄는 만큼 그 成分에 關한 研究도 많이 이루어져 왔다.

벌꿀의 主成分은 果糖과 葡萄糖이며 微量의 蔗糖, Dextrin 등이 있고 그 外 窒素化合物, 酵素類, 維生素類, 無機物, 有機酸 등이 含有되어 있으며 그 組成은 蜜源, 採蜜時期, 產地 등에 따라 다르다. 이러한 벌꿀에 對한 品質判定의 手段으로써 벌꿀의 糖成分, HMF, 遊離酸度 등이 利用되고 있으며 最近에는 꿀벌의 分泌腺에서 分泌되는 10-hydroxy decenoic acid가 벌꿀과 로알제리의 品質判定에 利用되는 趨勢이므로 本 研究에서는 아카시아, 잡화, 밤꿀의 3種에 對하여 一般成分, 遊離酸度, HMF 등을 檢討하였으며, 또한 벌꿀의 脂肪酸에 關하여는 아직 밝혀진 바가 거의 없는 것으로 推定되어 10-hydroxydecenoic acid를 비롯한 몇 種의 脂肪酸을 GC-MS로 分析하였다.

II. 材料 및 方法

材料 : 88年度에 釜山 慶南 일원에서 採蜜한 아카시아벌꿀 9種, 잡화꿀 9種, 밤꿀 9種 그리고 人工꿀 1種을 對照用으로 講入하여 調査對象으로 하였다.

水分, 灰分, 酸度, HMF와 重金屬의 分析 : 水分의 分析은 Karl Fisher 水分測定裝置(Metrom, Swiss)로써 水分량을 求하였으며 灰分, 酸度, HMF의 分析은 AOAC法에 依하여 求하였다.

糖의 分析 : 벌꿀中の 主成分인 果糖과 葡萄糖을 分析한 HPLC(Waters 244)의 條件은 Column : μ -Bondapak(18/carbohydrate), Mobile Phase : acetonitrile : Water(75 : 25)이었으며 RI Detector로써 탐지하였다.

脂肪酸의 GC-MS에 의한 分析 : 벌꿀試料 50g 程度를 精平하여 適當量의 물에 溶解하고 1 N-NaOH로써 鹼化시킨 후 濾過하여 不鹼化된 固形物을 除去하였다. 10-hydroxydecenoic acid를 비롯한 鹼化物이 含有된 溶液에 묽은 鹽酸으로 pH 2.5~3.0으로 調節하여 鹼化物을 遊離酸으로 만든 후 ether 抽出하고 3% 黃酸-methanol 溶液으로 환류시켜 遊離脂肪酸을 methyl ester화시켜 GC-MS로 分析하였다. GC-MS의 分析條件은 Table 1과 같다.

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

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

III. 結果 및 考察

○ 一般成分

벌꿀의 水分含量은 天候, 採蜜의 時期 採取 後의 保存 等에 影響을 받으나 醱酵을 誘發시키는 要因이기도 하므로 良好한 品質保存을 위하여 18~20%程度 以下가 要望된다. 本 研究 結果에서는 Table 2와 같이 17.3%~24.1%로서 아카시아꿀이 平均 19.7%, 椴花꿀이 平均 19.1%, 밤꿀이 平均 18.9%, 總平均이 19.3%로서 White 등이 報告한 13.4~22.9%, 平均 17.2%의 結果보다 多少 높으며 保健社會部告示⁸⁾에서 規定한 21% 以下에도 超過하는 結果가 아카시아 꿀에서 주로 나타났다. 이러한 結果는 採蜜時의 氣候, 時期 등이 不良한 條件에서 行한 試料가 包含된 것으로 推定되며 不良벌꿀 流通의 原因이 될 것이다.

벌꿀의 灰分은 아카시아꿀이 0.028%로서 가장 낮으며 그 外는 0.050% 程度로서 한 등⁹⁾과 김¹⁰⁾ 등의 結果보다 훨씬 적게 나타났다.

Table 2. Moisture and ash content in honey by floral sources

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

Table 3. Hydroxy methyl furfural(HMF) content and acidity in honey by floral sources

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

Table 3에 HMF와 酸度를 나타내었다. 꿀의 加熱 또는 鮮度低下의 加否를 나타내는 HMF는 아카시아꿀과 감화꿀의 平均含量이 18mg/kg 程度이며 밤꿀은 20mg/kg 程度로서 群集間의 平均含量差는 적다고 하겠으나 總試料의 結果範圍가 0.14~45.21mg/kg로서 試料 個間의 差異는 매우 크고 保社部告示 規格基準인 40mg/kg以下에 適合치 않는 試料가 多少 있으며 타 研究結果보다 平均値가 높은 點으로 미루어 보아 本 研究에 使用된 試料中 一部는 結晶蜜을 防止하기 위하여 包裝 前 加熱한 것으로 推測된다. 人工꿀의 HMF는 71.01mg/kg로서 Winkler가 報告한 50~150mg/kg에 一致한 結果라고 볼 수 있었다.

한편 遊離酸度는 全體平均이 10.22meq/kg이며 아카시아꿀이 가장 적었다. 이러한 結果는 장¹⁰⁾ 등과 정¹¹⁾ 등이 報告한 採蜜直後의 結果와 거의 一致하여 流通期間에 影響을 거의 받지 않는 것으로 나타났다.

꿀의 遊離糖含量은 Table 4와 같이 平均含量이 fructose 35.6%, Glucose 31.6% 程度로서 大部分의 試料에서 fructose가 높으며 蜜源에 依한 差異는 거의 없는 것으로 나타났다. 그러나

總試料의 結果範圍가 fructose 28.3~40.1%, Glucose 21.8~37.6%로서 試料 個個間의 差異는 存在하였다. White 等은 꿀중의 遊離糖含量은 fructose가 35.05~38.25%, Glucose가 23.12~33.58%이며 Chang, 等은 fructose 29.4~41.4%, Glucose 25.9~42.2%라 하여 본 試驗 結果와 別 差異가 없는 것으로 나타났다. 벌꿀의 結晶에 影響을 미치는 要因으로는 水分含量, glucose含量, 貯藏溫度 等이 있는데 蜜封된 벌꿀의 水分含量은 20% 전후로 一定量을 維持하기 때문에 檢討要因에서 除外되며 Fructose/Glucose의 比로 벌꿀의 結晶化 傾向을 判斷하며 그 比가 갈수록 結晶化速度가 느리다. 本 研究에서 fructose/Glucose의 比는 Fig 1에서와 같이 3 個試料군 모두 平均 1.14 程度이며 大部分의 試料가 1.0을 넘는 것으로 나타났다. 이러한 것은 몇가지 報告에서 나타난 結果와 一致하나 chang 등은 clover, 유채꽃은 1.0 以下라고 하여 蜜源種類에 따른 差異를 報告하였다. 本 研究 結果에서도 檢討試料들의 一部는 Fructose/Glucose比가 1.0以下로 나타났으나 蜜源種類에 따른 差異인지 貯藏中 Glucose含量이 減少된 것에 기인한 것인지의 如否는 推定하기에 不可能하였다.

Table 4. Fructose and glucose content in honey by floral sources

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

GC-MS에 의한 脂肪酸의 分析

벌꿀의 鹼化物를 methyl ester化한 後 GC分析을 하여 나타난 chromatogram을 Fig. 2에 나타내었는데 大部分의 벌꿀에서 이 peak들이 探知되었으며 各 peak들의 含量은 試料間의 差異는 약간씩 存在하였으나 RT 10.878인 物質의 含量이 20%를 웃도는 程度로서 가장 많은 組成을 이루었으며 RT 13.147은 15% 程度 RT 6.316이 10%내외이었으며 그 외 RT 9.718, 10.548, 11.152, 12.174등이 10%미만의 組成을 이룬 peak들이었으며 含量이 낮은 peak들일수록 27개 試料에서 探知되지 않은 경우가 많았다. GC chromatogram의 各 peak들은 GC-MS에 依하여 分析되었으며 同定된 物質들의 mass spectrum을 Fig. 3~8에 나타내었다. GC-MS에 依한 各 物質의 解析은 鹼化 및 methyl ester化과정を 考慮하면 主로 카르복실산의 methyl ester들이라는 點을 勘案하여 構造를 同定하였으며 밝혀지지 않은 物質들은 結果에 나타내지 않았다.

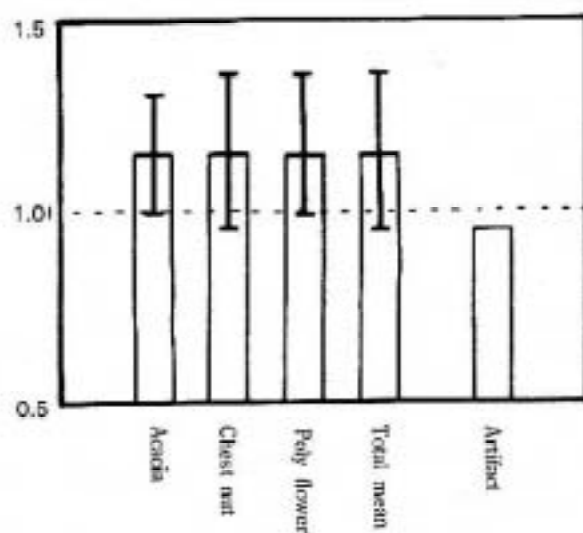


Fig. 1 Ratio of fructose to glucose of the honeys by floral source

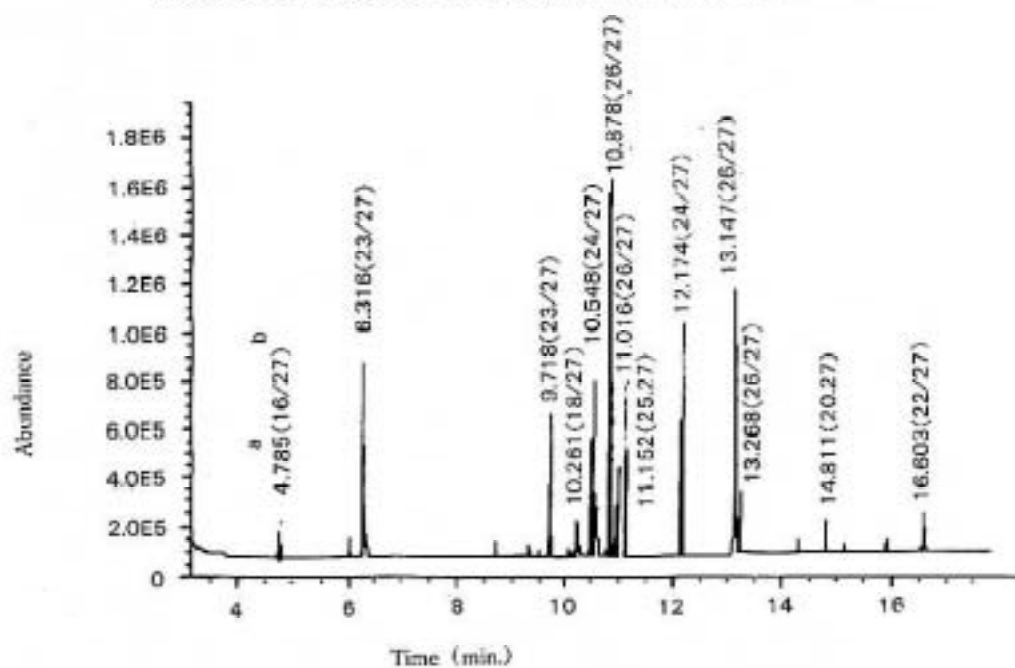
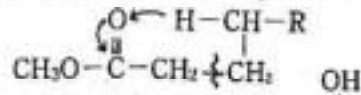


Fig. 2 GC chromatogram of saponifiables in three kinds of honey

a : Retention time

b : Ratio of detected sample number to all samples

1) RT 9.717인 peak의 mass spectrum을 Fig. 3에서 보면 分子 ion이 214이며 m/e 214에서 $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2^+$ (m/e 43)의 Fragment로 m/e 171의 ion peak가 感知되며 이 후 m/e 143, 101, 87의 ion peak들로 이루어져 볼 때 methyl末端에서의 $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n$ 의 직쇄를 推定할 수 있다. m/e 74의 base ion peak는 ethyl ester류의 β -cleavage의 McLafferty 재배열인



의 과정에서 開裂生成된 $\text{CH}_2\text{O}-\text{C}=\text{CH}_2$ (m/e=74)의 Fragment이며 이 過程에서 $(\text{CH}_2)_n$ 의 직쇄상의 전자가 이전되어 $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2^+$ 의 Fragment를 形成하므로 m/e 55의 ion peak가 感知되었다. 이러한 開裂 pattern은 methyl ester에서 特徴적인 ion peak들이므로 RT 9.717의 物質은 dodecanoic acid methyl ester인 것으로 推定된다.

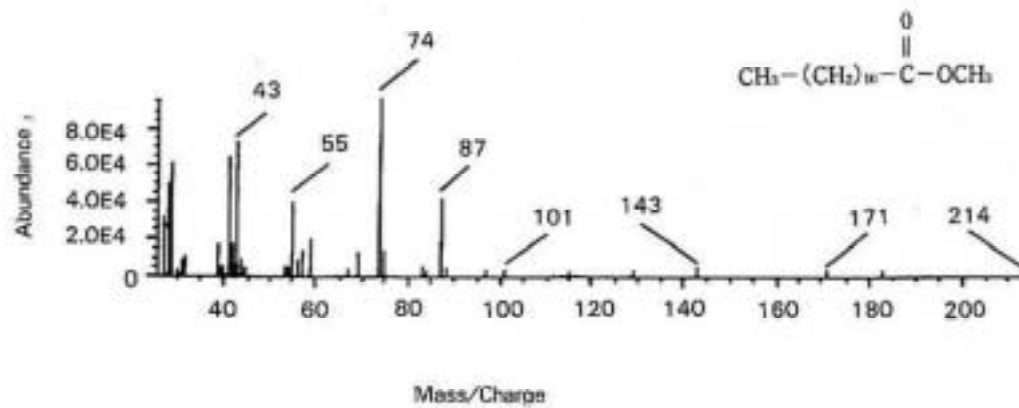


Fig. 3 Mass spectrum of GC peak of RT 9.717 min

2) Fig. 4에 나타낸 RT 10.549 peak의 mass spectrum에서 base ion peak는 m/e 55이며 이는 m/e 41의 allyl carbonium ion fragment와 함께 alkene의 特徴적인 fragment이다. 分子 ion은 m/e 200에서 弱하게 探知되며 H가 이탈된 ion이 m/e 199에서 보다 強하게 나타났으며 이 이온에서 m/e 74가 fragment의 이탈로 m/e 125의 peak가 나타났으며 m/e 125와 m/e 55의 差는 $-(\text{CH}_2)_7$ 이므로 직쇄상의 사슬로 推定할 수 있다. m/e 74는 methyl ester의 β -cleavage에 依하여 開裂生成된 fragment이며 이는 m/e 59의 peak와 더불어 methyl ester類인 것을 確실히 示한다. 한편 m/e 18과 m/e 28은 脫水反應으로 生成된 H_2O 와 $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ 의 peak로서 이 物質이 hydroxy基를 갖는 직쇄상의 alkene의 methyl ester類이며 分子 ion量으로 보아 10-Hydroxy-2-decenoic acid인 것으로 半斷하였으며 또한 標準物質의 mass spectrum과도 거의 一致하였다.

3) 萆靑 鹼化物中 20% 以上의 造成을 形成하는 것으로 分析된 RT 10.879인 物質의 mass spectrum(Fig 5)에서는 41 m/e의 base ion peak와 55 m/e의 peak가 感知되어 二重 結合의 存在를 確認할 수 있으며 81 m/e와 55 m/e의 差가 26 m/e이므로 2개의 이중 結合이 1個의 單一結合을 사이에 두고 存在하는 것으로 推定된다. 그리고 59 m/e와 74 m/e에서 peak가 感知되므로서 이 物質이 methyl ester類인 것을 밝혀주며 그 외 136 m/e의 fragment는 164 m/e의 fragment에서 $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ 이온이 剥离되어 이탈된 것이며 95 m/e는 136 m/e의 fragment에서 41 m/e의 fragment가 81 m/e는 CH_2 단위가 追加離脫된 結果이다. 한편 computer에 입력된 library reserch에서 調査된 結果와 上기한 分析結果를 함께 考察해 볼 때 RT 10.879의 物質은 二重結合이 6番과 9番 炭素에 存在하는 carboxylic acid의 methyl ester인 6, 9-undecadienoic acid methyl ester인 것으로 推定하였다.

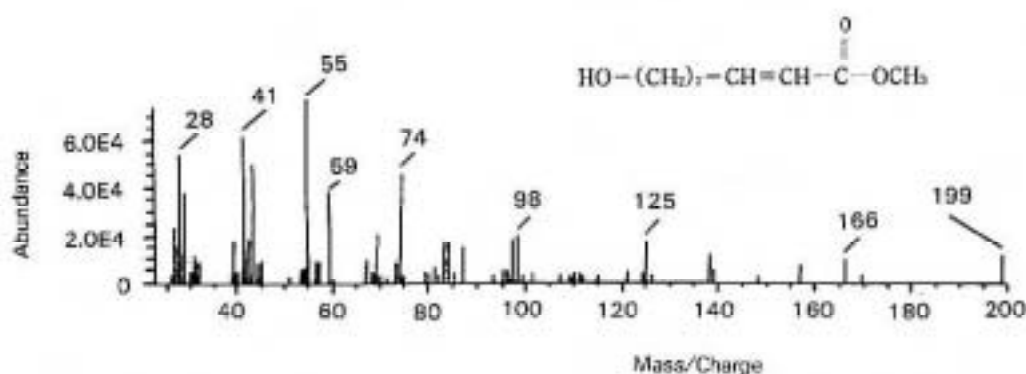


Fig. 4 Mass spectrum of GC peak of RT 10.549 min.

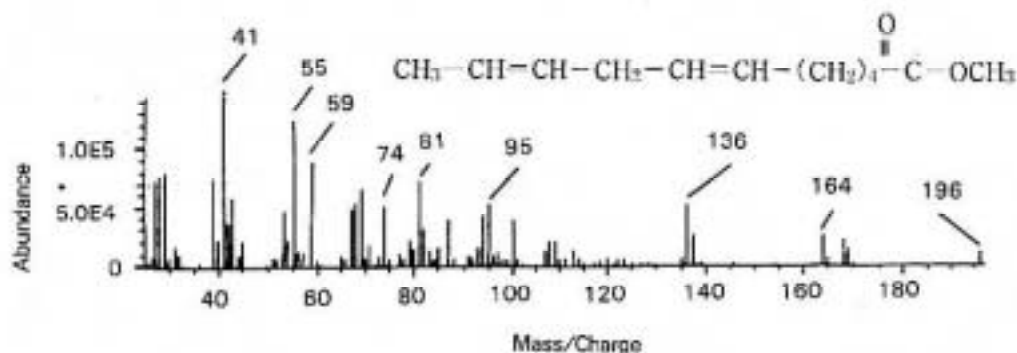


Fig. 5 Mass spectrum of GC peak of RT 10.879 min.

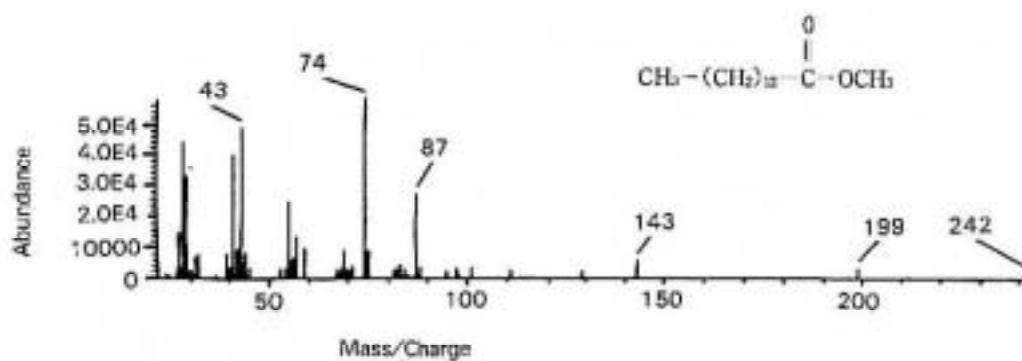


Fig. 6 Mass spectrum of GC peak of RT 11.015 min.

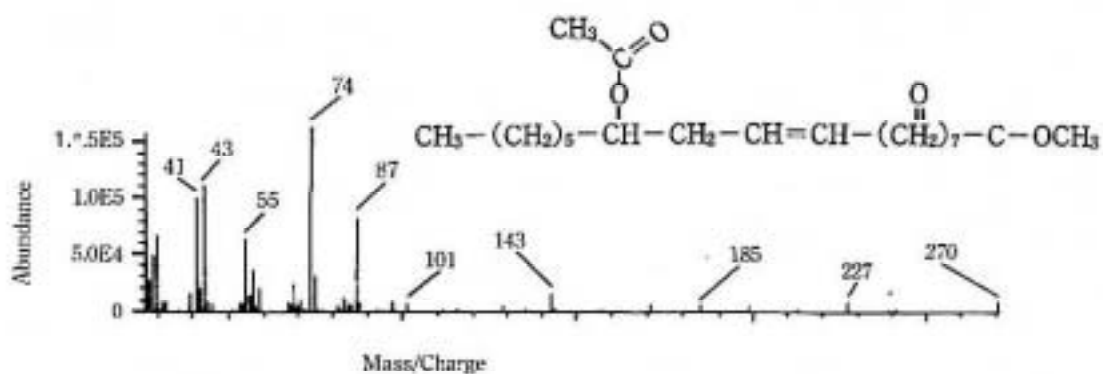


Fig. 7 Mass spectrum of GC peak of RT 12.174 min.

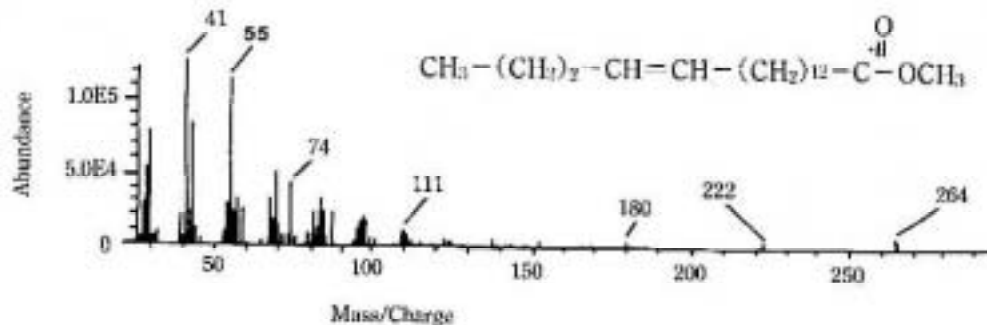


Fig. 8 Mass spectrum of GC peak of RT 13.145 min.

4) RT 11.015인 물질의 mass spectrum(Fig 6)에서 분자이온 peak는 비록 弱하지만 242 m/e에서 感知되고 있으며 methyl 말단에서 C_8H_7 (43)이 離脫되어 199 m/e의 fragment가 나타났다. 이 후 143과 87 m/e는 직쇄상의 C_8H_7 (56) 이온이 開裂되어나간 fragment들이고 alkene에서 나타나는 特徵的 이온 peak들이 感知되지 아니하여 직쇄상의 alkane으로 判定하였다. 또한 methyl ester의 特徵的 이온인 74 m/e의 fragment가 base ion peak로서 나타나므로 이 물질은 Tetra decanoic acid methyl ester인 것으로 同定하였다.

5) RT 12.174인 물질의 mass spectrum (Fig 7)에서 87 m/e의 peak는 methyl ester에서 methyl基가 離脫된 $C_8H_7CO^+$ 이온의 fragment로서 74 m/e의 peak와 함께 methyl ester의 存在를 나타내었다. 그리고 43 m/e의 存在로서 methyl 末단을, 41과 55 m/e peak의 感知로서 二重結合의 存在를 推定케 하여 주었다. 227 m/e는 270 m/e에서 43 m/e의 離脫로, 185, 143, 101 m/e의 fragment는 $(-CH_2)_3$ 42 이온의 連連的 離脫로 나타난 fragment들이었다. 이 물질의 GLC에 의한 保有時間을 考慮해 볼 때 分子量이 270 以上이며 분자이온 peak는 感知되지 않은 것으로 推定되어 computer에 의한 library research를 한 結果 12-(acetyloxy)-9-Octadecenoic acid methyl ester인 것으로 밝혀졌으며 mass spectrum의 pattern도 一致하였다.

6) RT 13.145의 mass spectrum(Fig. 8)에서는 41, 55, 111 m/e의 peak들은 二重結合을 包含하는 fragment들이며 264, 222, 180 m/e의 peak들은 직쇄상의 飽和炭化水素에서 生成되는 fragment들이다. 이 물질 역시 GLC分析上の 保有時間을 考慮해 볼 때 分子量이 264이상이므로 library research에 의하여 14-octadecenoic acid methyl ester인 것으로 同定하였다.

10-Hydroxy decenoic acid의 含量

벌꿀의 品質判定에 有用한 手段으로 最近 認識되고 있는 10-HDA의 含量을 GC로써 分析한 結果를 Table 5에 나타내었다. 大部分의 試料들이 1.0~19.9mg%의 10-HDA를 含有하고 있으며 아카시아, 참외, 蜜柑에서 各各 1개 試料만이 20~30mg%의 含量을 가지고 있으며 trace 程度 또는 探知되지 않은 경우도 5個 試料에서 나타났다. 또한 蜜源에 따른 10-HDA 含量의 差異는 認定할 만큼 크지않으나 試料 各개간의 差異는 많았다. 이러한 差異는 蜂벌의 生態, 採蜜時의 로얄제리 分離에 기인한 것으로 보이며 이에 관한 研究가 더 이루어져야 할 것이다. 한편 人工꿀에서는 豫想한 바와 같이 전혀 檢出되지 않으므로서 10-HDA分析은 순수 人工꿀의 判別에서만 有用한 方法이 될 것으로 生覺된다.

Table 5 Frequency of 10-hydroxydecenoic acid content by floral sources

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

* trace is less than 1.0 mg%

IV. 要 約

아카시아꽃, 참화꽃, 밤꽃을 對象으로 一般成分 및 遊離糖을 定量分析하고 벌꿀중의 脂肪酸을 GC-MS로써 分析한 結果 아카시아꽃, 참화꽃, 밤꽃의 平均水分含量은 各各 19.7, 19.1, 18.9, 0.050, 0.050%로서 아카시아꽃에서 比較的 낮았다.

벌꿀의 HMF는 아카시아꽃과 참화꽃의 平均含量이 18mg/kg程度이나 밤꽃은 다소 높은 20.21mg/kg이었으며 유리산도는 밤꽃이 평균 20.21mg/kg으로서 가장 높으며 아카시아꽃에서는 8.85mg/kg으로서 가장 낮았다. 遊離糖의 含量은 蜜源의 種類에 關係없이 3種 모두 葡萄糖 31.0~32.0%, 果糖 35.0~36.0%로 나타나므로 果糖/葡萄糖의 比率도 3種 모두 거의 同一한 1.14 程度이었다.

GC-MS에 의한 脂肪酸의 分析에서는 dodecanoic acid, 10-hydroxydecenoic acid, 6,9-undecadienoic acid, tetradecanoic acid, 12-(acetyloxy)-9-octadecenoic acid 및 14-octadecenoic acid가 확인되었으며, 벌꿀의 品質判定에 利用되고 있는 10-hydroxydecenoic acid의 含量은 3種 모두 10mg%내외이며 20~30mg%에 達하는 試料도 있는 반면 檢出되지 않은 試料도 있었다.

參 考 文 獻

- 1) 英麟科學社：87英麟科學分析데이터모음集 pp. 31(1988)
- 2) 國立保健院：醫藥品基準 및 試驗方法
(I 追加 4, pp 27~30, 藥業新聞出版局(1988)
- 3) Association of official Analytical chemists : official method of Analysis of the Association of official Analytical chemists, 14th Ed, pp 588~596(1984)
- 4) 日本藥學會：衛生試驗法注解 pp 269~280, 金原出版株式會社.(1973)
- 5) Mason, V.C, Anderson, S.B and Rodemo, M, : proc 3rd FAAP Symp.(on protein metabolism and nutrition) vol. 1(1980)
- 6) Hak-Gil Chang, Myang-Kyoo Han and Jae-Gil Kim : KOREAN J. FOOD SCT. TECHNOL. Vol. 20, No 5 pp 631~636(1988)
- 7) White, J.U., Jr, Riethof, M.L, Subrs, M.H. and Kushnir, I : u.s. Dep. Agric, Tech. Bull, 1261 1(1962)
- 8) 韓國食品工業協會：食品 公典 pp 351(1988)
- 9) 한 제경, 김 관, 김 동연, 이 상규 : KOREAN J. FOOD SCI TECHNOL. Vol. 17, No 3 (1985)
- 10) 김 명환, 심 기환, 조 기택, 하 영래 : 경상대 論文集(자연) 18 : 109~116(1979)
- 11) 정 원철, 김 만옥, 송 기준, 최 언호 : KOREAN J. FOOD SCI TECHNOL Vol. 16 No 1 (1984)
- 12) Winkler, O : Zeitschrift Für Lebens und-froschung, 102(3), 161(1955)