



벚나무 유래 꿀의 성분패턴 비교 및 항산화 활성

문시원, 김세건, 김효영, 최흥민, 한상미, 김성국, 김선미, 이문선, 우순옥*

농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부

Comparison of Component Pattern and Antioxidant Activity of *Prunus* Honey

Si Won Moon, Se Gun Kim, Hyo Young Kim, Hong Min Choi, Sang Mi Han, Sung Kuk Kim, Seon Mi Kim, Mun Seon Lee and Soon Ok Woo*

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea

Abstract

The purpose of this study was to investigate the chemical composition and antioxidant activity of methanol extracts from *Prunus* honey. Using UPLC-PDA analysis, five common peaks were identified in the honey extracts, with only one peak corresponding to that found in the nectar. The total polyphenol content in the honey extracts ranged from 124.9 to 248.6 mg GAE/kg and the total flavonoid content of 30.4 to 79.4 mg QUE/kg. Antioxidant activity, assessed using the FRAP and TAC assays, showed values ranging from 30 to 83.7 μ M and 55.6 to 72.2 mM, respectively. These results suggest that the antioxidant properties of *Prunus* honey are primarily due to non-flavonoid components. Further research is necessary to identify the specific compounds responsible for the observed peaks and to establish marker compounds. This study provides foundational data on the potential of *Prunus* honey as a food and medicinal material.

Keywords

Prunus honey, Nectar, UPLC-PDA, Antioxidant activity

서론

벌꿀(Honey)은 꿀벌이 꽃의 밀선에서 빨아내 수집한 것을 일벌의 가공과정을 거친 후 벌집에 저장하여 생성된 물질로, 우리나라에서 예로부터 천연 감미료이자 약용으로 이용되어왔다(Kim *et al.*, 1994; Paik *et al.*, 2015). 벌꿀은 원료가 되는 밀원식물의 종류에 따라 맛과 색 그리고 생리 활성에 관여하는 꿀 내 2차 대사산물의 종류에 차이를 보인다(윤, 2003; Lee *et al.*, 2007; Paik *et al.*, 2013). 밀원식물(Honey Plants)은 꿀벌의 생육에 필요한 화밀(Nectar)과 화분(Pollen)의 제공처로, 우리나라에는 채밀이 가능할 정도로 화밀 분비량이 많은 주요 밀원식물이 다양하게 분포

하고 있다(농촌진흥청, 2020b). 현재 우리나라에서 생산되는 벌꿀의 종류는 아까시꿀, 밤나무꿀이 대표적이며 기능성 연구 또한 두 꿀에 집중적으로 이루어지고 있다. 국내 벌꿀 생산량의 70%를 차지하는 아까시꿀에 아브시스산(Abscisic acid)이 다량 함유되어 있어 위질환 발병인자인 위궤양 유발균(*Helicobacter pylori*) 억제에 도움을 준다고 알려져 있다(Can *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2017, 2018b). 최근 들어 기능성 연구가 활발히 이루어져 수요가 급증하고 있는 밤꿀의 경우, 밤꿀 지표 물질인 키누렌산(Kynurenic acid)이 선천면역 인자와 면역세포의 활성을 증가시켜 면역력을 높이고 항바이러스 효과를 가짐을 증명했다(Kim *et al.*, 2021; Kwon *et al.*, 2023). 흔히 알려진 아까시나무,

밤나무를 제외한 밀원식물에서 얻은 꿀은 잡화꿀로 통틀어 취급되며 밀원별 꿀에 대한 기능성 연구는 미진하다. 국산 벌꿀의 고부가가치화를 위해서는 다양한 국내 자생 밀원에서 유래한 꿀에 잠재된 영양적·기능적 가치를 밝히는 연구가 필요하다.

벚나무류(*Prunus*)는 전국적으로 널리 자생하며 초봄에 개화하여 꿀벌의 월동 이후 먹이원으로 세력을 키우는 데 활용되는 유용 밀원수종이다(Kim *et al.*, 2019). 이로써 얻어진 벚나무꿀은 은은한 꽃 향이 특징적이며 3대 필수영양소 및 무기질, 아미노산 등의 영양성분이 풍부한 것으로 알려져 있다. 특히 K 함량이 높아 고혈압에 관여하는 Na의 배출 작용을 돕는다(곽 등, 2014). 또한, 염증 반응 유도 대식세포에서 생성된 산화질소(Nitric oxide, NO)를 억제하는 항염증 효과가 확인되었다(농촌진흥청, 2020a). 이처럼 벚나무꿀의 우수성에도 불구하고 최근까지 보고된 연구에서는 벚나무 부위별 항산화 활성 평가 연구(박, 2011; Kim *et al.*, 2014) 등 벚나무 관련 연구가 진행되고 있지만, 벚나무 유래 꿀 내 2차 대사산물과 그로 인한 기능성 연구는 미미한 수준이다. 따라서 본 연구에서는, 2024년 4월에 채집한 벚나무 화밀과 농가에서 생산한 벚나무꿀 4종을 UPLC-PDA를 통하여 분석하고 꿀 내 화밀 유래 물질의 분포를 확인했다. 이어서 메탄올 추출한 꿀의 페놀 및 플라보노이드류의 함량을 구하고 항산화 활성을 평가하여 벚나무꿀의 기능적 가치를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에서는 국내 농가에서 2023년에 생산한 2종(A, B)과 2024년에 생산한 2종(C, D)의 벚나무꿀을 사용하였다. 성분패턴 비교를 위해 사용된 벚나무 화밀은 2024년 4월 전라북도 전주시 소재의 국립농업과학원에 식재되어 있는 벚나무류에서 2024년 4월 1일부터 4일간에 걸쳐 채집한 벚꽃을 원심분리(3,500 rpm, 10 min)하여 수집하였다. 시료 정보는 Table 1에 제시하였다.

2. 분석 시료 추출

벚나무 화밀과 꿀 5종은 5 g/10 mL의 농도로 메탄올(SK chemicals, Seongnam, Korea)을 가한 후 sonicator (Branson

Table 1. Sample information

Code.	Honey	Collecting date (year)	Moisture (%)
PS-N	<i>Prunus nectar</i>	2024	77.6
PS-A	<i>Prunus honey</i>	2023	17.7
PS-B	<i>Prunus honey</i>	2023	19.1
PS-C	<i>Prunus honey</i>	2024	15.8
PS-D	<i>Prunus honey</i>	2024	18.5

8510, Emerson Electric Co., Ltd., St. Louis, Mo, USA)를 이용하여 1시간 동안 추출하고, 4°C에 12시간 동안 정지한 것의 상등액을 취해 2 µm PTFE (Adventec, Dublin, OH, USA) 필터로 여과한 다음 분석에 사용하였다.

3. UPLC-PDA 분석조건

꿀 분석은 PDA (Photodiode array) detector가 장착된 UPLC (Ultra performance liquid chromatography) (Waters, Minneapolis, MN, USA)를 사용하였다. 분리는 Halo C18 column (2.1 × 100 mm, 2 µm, Advanced Materials Technology, Wilmington, DE, USA)을 25°C 조건에서 진행하였다. 용리 속도는 0.4 mL/min으로 하고, 0.2% trifluoroacetic acid가 포함된 물(용매 A)과 acetonitrile (용매 B)의 기울기 농도를 조절하였다. 기울기 농도 용리는 다음과 같다; 0~2 min (5% B), 30 min (50% B). 이동상 용매는 Fisher Brand (Pittsburgh, PA, USA)에서 구입한 HPLC grade ACN과 Water를 사용하였다.

4. 총 폴리페놀 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 Kim *et al.* (2018b)의 Folin-Ciocalteu 법을 변형하여 측정하였다. 먼저, 표준물질로 메탄올에 녹인 gallic acid를 이용하여 검량선을 작성하였다(0~500 µg/mL). 다음으로, 벚나무꿀 메탄올 추출물(40 µL)에 Folin-Ciocalteu's phenol reagent (40 µL)를 첨가하고 360 µL의 증류수를 넣어 잘 섞어준 다음 5분간 실온에서 방치하였다. 7% sodium carbonate (400 µL)와 160 µL의 증류수를 넣고 90분 동안 실온에서 방치 후, 13,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하고 상등액만을 취해 725 nm에서 흡광도를 측정 및 총 폴리페놀 함량을 산출하여 mg GAE/kg으로 나타내었다. 실험에 사용한 모든 시약은 Sigma Co. (St. Louis, Mo, USA)에서 구매하였고, 흡광도 측정을 위한 분

광광도계는 Spectramax M2 (Molecular Devices, San Jose, CA, USA)를 사용하였다.

5. 총 플라보노이드 함량 분석

총 플라보노이드 함량은 Kim *et al.* (2018a)의 방법을 이용하여 실험하였다. Quercetin을 표준물질로 검량선을 작성하고 (0~250 µg/mL), 시료 (100 µL)에 증류수 (400 µL), 5% sodium nitrate (30 µL)를 넣고 실온에서 5분 방치 후 10% aluminum chloride (30 µL) 첨가 후 실온에서 5분간 방치하였다. 이후 1 M sodium hydroxide (200 µL), 증류수 (240 µL)을 넣고 잘 섞은 다음 415 nm에서 흡광도를 측정 및 총 플라보노이드 함량을 산출하여 mg QE/kg으로 나타내었다.

6. TAC (Total antioxidant capacity) 활성 측정

TAC assay 방법은 OxiTec™ colorimetric detection kit (Oxitec Ltd, Milton Park, Abingdon, Oxfordshire, UK)를 사용하였다. 우선, trolox를 표준물질로 검량선을 작성하였다 (0~250 µg/mL). 시료, copper reagent 그리고 reaction buffer를 순차적으로 50 µL씩 넣고 30분 동안 암실에서 방치한 것을 450 nm에서 흡광 측정하였다.

7. Frap (Ferric reducing antioxidant power) 활성 측정

Frap assay 방법은 FRAP™ colorimetric detection kit (Arbor Assays, Ann Arbor, MI, USA)를 사용하여 프로토콜에 따라 실험하고 560 nm에서 흡광 측정하였다. FRAP 활성은 Fe(II) 표준 곡선에 대한 선형 방정식을 기반으로 평가했다. positive control로는 ascorbic acid를 선정하여 시료 간 활성을 비교하였다.

결과 및 고찰

1. 벚나무 화밀과 벚나무꿀의 UPLC-PDA 성분패턴 분석

꿀벌은 개화가 적은 초봄에 전국적으로 피는 벚꽃의 화밀을 주로 수집한다. 수집된 화밀은 벌의 체내를 거쳐 벌집에 저장된 후 전화 및 숙성이 이루어지며, 이 과정에서

Table 2. Analyzed components in UPLC profile of methanol extract of *Prunus* honey

Peak No.	Rt (min)	λ _{max} (nm)
1	3.51 ± 0.02	254.7
2	5.21 ± 0.02	240.0
3	8.04 ± 0.01	241.2
4	16.94 ± 0.01	271.9
5	19.81 ± 0.01	254.1

Each value expressed as the mean ± standard deviation.

벚나무 유래 물질의 대사과정이 이루어진다. 본 연구에서는 벚나무에서 유래한 화밀과 벌꿀의 당을 제외한 주요 대사물의 차이를 확인하고자 하였다. 이를 위해 수집한 화밀과 농가로부터 생산된 벌꿀 4종을 메탄올 추출하고 UPLC를 이용하여 성분패턴을 비교하였다. 주요 대사물의 감응도가 높은 254 nm의 파장대에서 나타나는 각각의 크로마토그램을 비교한 결과 (Fig. 1), 화밀의 수분함량이 77.6%로 평균 17.8%에 해당하는 벌꿀보다 높음에도 그 감응도가 비슷한 수준으로 나타났다. 벌꿀 4종은 유사한 성분패턴 분포가 나타나 동일 밀원에서 유래한 꿀임을 확인할 수 있었다. 특히, 피크 머무름 시간 및 UV 스펙트럼을 비교한 결과, 5개의 일치하는 피크를 확인할 수 있었다 (Table 2). 이 중 피크 4만이 화밀과 비교하였을 때 일치하게 나타났으며, 이외의 피크는 저장 중 꿀벌 내 효소로 인한 대사과정의 산물로 나타난 것으로 추정된다. 추후 공통으로 나타난 피크에 해당하는 화합물을 동정하는 연구를 통해 벚나무꿀 판별을 위한 지표물질 선정 과정에서 후보 화합물 군으로서 활용될 수 있을 것이다.

2. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

벌꿀은 항산화, 항균 등 다양한 생리활성을 가지는 천연 식·의약 소재이다. 이러한 생리활성은 주로 벌꿀에 함유된 페놀성 화합물의 영향을 받는다. 페놀성 화합물은 벤젠고리에 수산기 (OH)가 결합된 모든 화합물을 말하며, 페놀성 산 (phenolic acid), 플라보노이드 (flavonoid) 등을 포함한다. 이들은 주로 식물에서 유래한 2차 대사산물로서 밀원식물에 따라 벌꿀 내 구성성분에 크게 영향을 미칠 수 있다. 본 연구에서는 벚나무 메탄올 추출물 내 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량에 대해 분석하였고 결과는 Table 3에 나타난 바와 같다. 총 페놀 함량 (TPC) 및 플

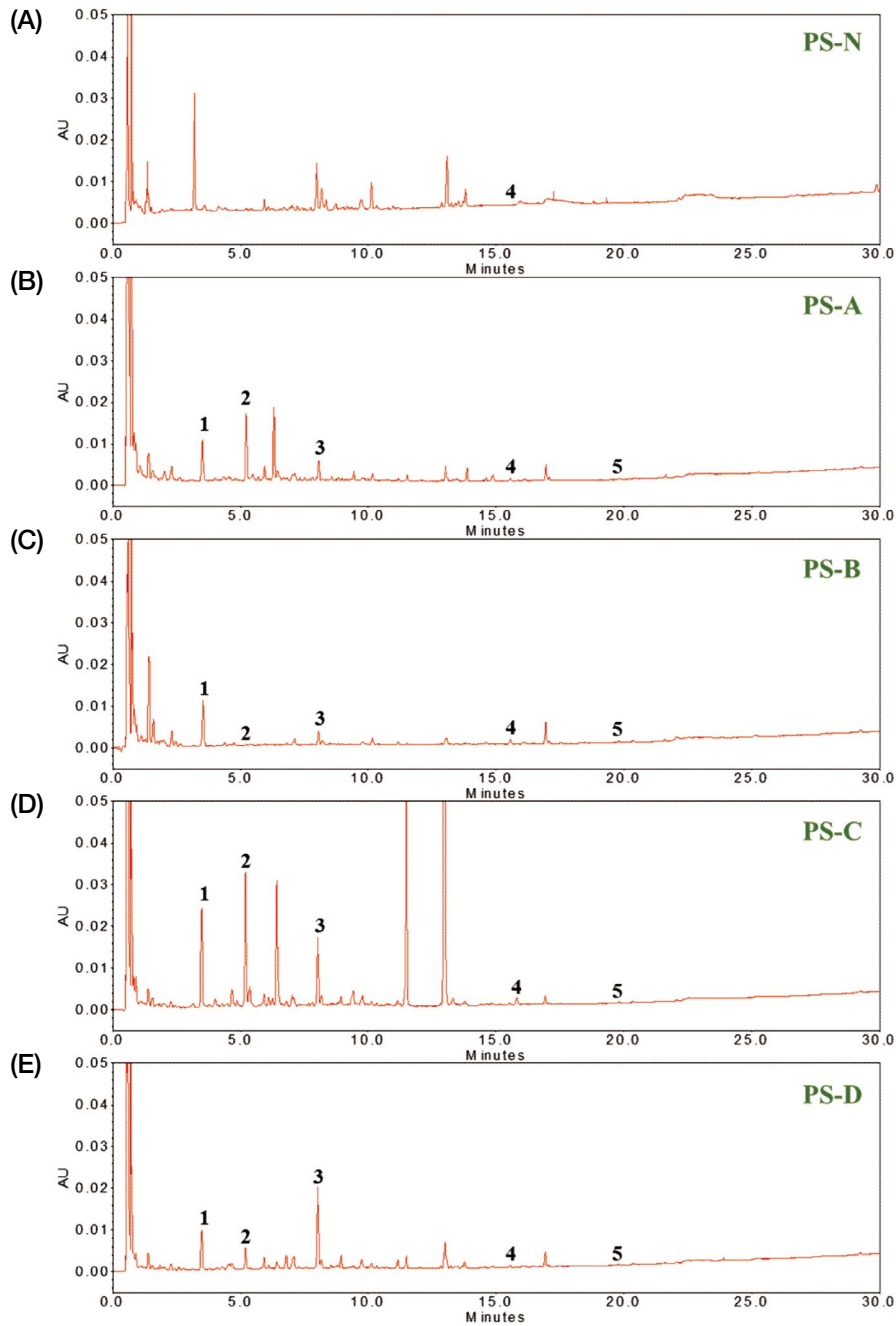


Fig. 1. UPLC chromatograms of methanol extract of *Prunus* (A) nectar and (B~E) honeys at 254 nm. Marked peaks (1~5), common across five chromatographic profiles, were not identified.

라보노이드(TFC) 함량은 각각 124.9~248.6 mg GAE/kg, 30.4~79.4 mg QUE/kg 범위로 나타났으며, 시료 PS-A에서 가장 높게 나타났다. 국내산 빗나무꿀의 물 추출물에 대한 TPC는 130 mg GAE/kg이며, TFC는 75 mg QUE/kg으로 보고되었다(Kim *et al.*, 2010). 4종의 빗나무꿀 추출물 내 총 플라보노이드는 평균적으로 총 폴리페놀의 30%를 함

유한 것으로 보아 꿀 내에는 유기산과 같은 비 플라보노이드 성분이 다량 함유되었을 것이라 판단되었다.

3. 항산화 활성 평가

체내의 활성산소는 세포 및 조직에 손상을 유발하여 노화와 염증을 촉진하며, 항산화제는 산화에 의해 형성

Table 3. Total polyphenol and flavonoid contents of methanol extract of *Prunus* honey

Sample	Total polyphenol contents (mg GAE ¹ /kg)	Total flavonoid contents (mg QE ² /kg)
PS-A	248.6 ± 2.7	79.4 ± 0.9
PS-B	156.8 ± 1.0	43.1 ± 0.3
PS-C	224.9 ± 2.0	32.5 ± 0.0
PS-D	124.9 ± 2.7	30.4 ± 1.7

Each value expressed as the mean ± standard deviation.

¹GAE : gallic acid equivalents

²QE : quercetin equivalents

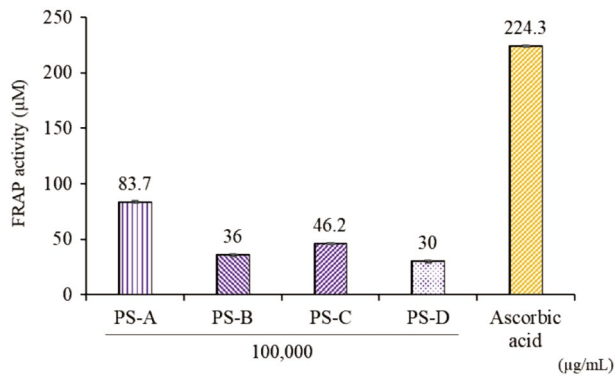


Fig. 2. FRAP of the *Prunus* honey methanol extracts. Error bars represent the standard deviation of the mean. Ascorbic acid (500 µg/mL) as a positive control.

된 hydroxyl radical을 소거하는 능력을 가진다(Lee *et al.*, 2022). 항산화 활성은 꿀과 같은 천연물의 식·의약 소재로 활용 시 가장 간단하고 유용한 지표이며 다양한 방법으로 검증 가능하다. 본 연구에서는 산화제로 작용하는 금속 이온에 대한 벗나무 꿀 추출물의 전자공여 능력을 알 수 있는 FRAP(Ferric reducing antioxidant power)과 TAC(Total antioxidant capacity) 법을 통해 총 항산화 능력을 측정하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 100,000 µg/mL의 농도에서 FRAP activity value (Fe²⁺)는 30~83.7 µM 범위로 나타났으며 항산화에 관여하는 벗나무 꿀 내 성분이 수소 원자를 공유하여 연쇄적으로 발생하는 라디칼 반응을 저해한 결과라 판단된다(Kim *et al.*, 2022). 또한, 대표적인 항산화제로서 본 실험의 대조구로 사용한 비타민 C(Ascorbic acid)의 활성도(224.3 µM)와 비교하였을 때 낮은 환원력을 보였다. TAC 분석법을 통해 벗나무 꿀 1g이 Cu²⁺를 Cu⁺로 55.6~72.2 mM로 환원시킴을 확인하였다(Fig. 3). FRAP과 TAC 활성 모두 PS-A, PS-C, PS-B, PS-D 순으로 높은 경향을 나타냈다. 상기 결과를 종합하여 보았을 때, 플라보노

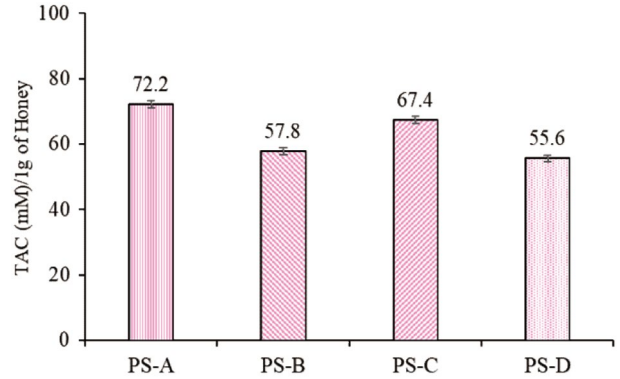


Fig. 3. TAC of the *Prunus* honey methanol extracts. Error bars represent the standard deviation of the mean.

이드 함량보다 페놀화합물 함량과 유의성이 높으므로, 벗나무 꿀의 항산화 활성은 플라보노이드 성분보다 비 플라보노이드 성분과 관련이 있을 것이라 판단되었다. 이로써 벗나무 꿀이 항산화 소재로 활용될 가능성을 확인하였다.

적 요

별꿀을 구성하는 화합물은 주원료가 되는 밀원식물에 따라 달라지며, 이는 생리활성에 큰 영향을 미친다. 본 연구에서는 벗나무 꿀 메탄을 추출물을 UPLC-PDA를 이용하여 화밀과의 성분패턴을 비교하였고, 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 분석하고 FRAP과 TAC 분석법을 통해 항산화 활성을 평가하였다. UPLC 분석 결과, 4종의 벗나무 꿀 메탄을 추출물은 머무름 시간과 UV 스펙트럼이 일치한 5개의 공통된 피크를 확인할 수 있었고, 그중 하나의 피크만이 화밀과 일치하였다. 총 폴리페놀 함량은 124.9~248.6 mg GAE/kg로, 30.4~79.4 mg QUE/kg을 나타낸 총 플라보노이드 함량보다 높았다. 벗나무 꿀 추출물 100,000 µg/mL 처리로 항산화 활성을 평가한 결과 FRAP (30~83.7 µM), TAC (55.6~72.2 mM)로 나타났다. 이로써 벗나무 꿀의 항산화 활성은 플라보노이드 성분보다 비 플라보노이드 성분이 관여하는 것으로 판단되었다. 본 연구 결과에서 벗나무 꿀의 성분패턴과 항산화 활성도가 확인됨에 따라 벗나무 꿀을 식·의약 소재로서의 잠재력을 평가하는 기초 자료로 활용될 수 있다. 이를 위해 공통으로 나타난 피크에 해당하는 화합물을 동정하고, 더 많은 시료를 확보하여 지표 성분을 확립하고 관련 기능성 연구가 이루어져야 한다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 어젠다연구사업 (과제번호: RS-2023-00228817)에 의하여 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

인용 문헌

- 곽애경, 백원기, 김근홍, 서희원, 이명렬, 심하식. 2014. 국내산 벚나무꿀의 유기화합물, 무기질 성분 및 비타민C에 관한 연구. 2014 한국양봉학회 추계학술발표회, P-02.
- 농촌진흥청. 2020a. 벚꽃꿀을 유효성분으로 포함하는 항염증용 조성물. 10-2022-0161856.
- 농촌진흥청. 2020b. 양봉. 농촌진흥청. p. 156-171.
- 박지원. 2011. 벚나무의 부위별 항산화 활성 및 미백효과. 석사. 경남대학교 대학원, 첨단공학과. 34.
- 윤광로. 2003. 꿀의 건강기능성과 페놀계 물질. 벌꿀, 프로폴리스의 약리활성효과 2003 자연의학 심포지움. 건국대학교 식품개발연구소. p. 3.
- Can, Z., O. Yildiz, H. Sahin, E. Akyuz Turumtay, S. Silici and S. Kolayli. 2015. An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chem.* 180: 133-141.
- Kim, B. N., T. J. Kim and H. S. Cheigh. 1994. Minerals, HMF and vitamins of honey harvested in Kangwon area. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23(4): 675-679.
- Kim, H. K., M. Y. Lee, I. P. Hong, Y. S. Choi, N. S. Kim, M. L. Lee and S. C. Lee. 2010. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral honey correlation with phenolic and flavonoid contents. *J. Apic.* 25(4): 275-282.
- Kim, J. Y., Y. Wang, Y. H. Song, Z. Uddin, Z. P. Li, Y. J. Ban and K. H. Park. 2018a. Antioxidant activities of phenolic metabolites from *Flemingia philippinensis* Merr. et Rolfe and their application to DNA damage protection. *Molecules* 23(4): 816. <https://doi.org/10.3390/molecules23040816>.
- Kim, S. G., H. Y. Kim, H. M. Choi, H. J. Lee and S. M. Han. 2022. Antioxidant activity of honeydew honey produced by *Apis mellifera* L. *Korean J. Appl. Entomol.* 61(4): 669-673.
- Kim, S. G., H. Y. Kim, H. M. Choi, H. J. Lee, H. J. Moon and S. M. Han. 2021. A rapid method for determination of Kynurenic acid in Korean chestnut (*Castanea crenata*) honey by UPLC. *J. Apic.* 36(3): 183-188.
- Kim, S. G., I. P. Hong, S. O. Woo, H. R. Jang, S. C. Pak and S. M. Han. 2017. Isolation of abscisic acid from Korean acacia honey with anti-*Helicobacter pylori* activity. *Pharmacogn. Mag.* 13: S170-S173.
- Kim, S. G., S. O. Woo, H. R. Jang, H. M. Choi, H. J. Moon and S. M. Han. 2018b. Development of quantitative analysis for abscisic acid in Korean acacia honey by UPLC. *J. Apic.* 33(3): 195-200.
- Kim, S. M., D. Y. Kim, H. R. Park, J. H. Seo, Y. B. M. Yeom, Y. J. Jin and Y. H. Pyo. 2014. Screening the antioxidant components and antioxidant activity of extracts derived from five varieties of edible spring flowers. *Korean J. Food Sci. Technol.* 46(1): 13-18.
- Kim, Y. K., S. H. Kim, J. H. Song, J. I. Nam, J. M. Song and M. S. Kim. 2019. Analysis of secreted nectar volume, sugar and amino acid content in *Prunus yedoensis* Matsum. and *Prunus sargentii* Rehder. *J. Apic.* 34(3): 225-232.
- Kwon, E. B., S. G. Kim, Y. S. Kim, B. Y. Kim, S. M. Han, H. J. Lee, H. M. Choi and J. G. Choi. 2023. *Castanea crenata* honey reduces influenza infection by activating the innate immune response. *Front. Immunol.* 14: 1157506. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1157506>.
- Lee, H. J., S. M. Han, S. O. Woo, H. Y. Kim, H. M. Choi and S. G. Kim. 2022. Antioxidant activity of *Prunus serrulata* var. *spontanea* pollen collected by *Apis mellifera*. *J. Apic.* 37(1): 45-50.
- Lee, M. L., H. K. Kim, M. Y. Lee, Y. S. Choi, H. B. Kim, H. G. Chung and S. H. Kim. 2007. Antioxidant and antibacterial capacity of chestnut (*Castanea crenata* var. *dulcis*) honey produced in Korea. *J. Apic.* 22(2): 147-152.
- Paik, W. K., A. K. Kwak, M. L. Lee and H. S. Sim. 2015. Studies on the chemical characteristics of Hovenia (*Hovenia dulcis*) Honey produced in Korea. *J. Apic.* 30(2): 75-85.
- Paik, W. K., A. K. Kwak, Y. J. Oh, M. L. Lee and H. S. Sim. 2013. Studies on the chemical characteristics of Hairy vetch (*Vicia villosa* Roth) honey produced in Korea. *J. Apic.* 28(5): 345-354.