

채취 시기 및 지역에 따른 봉독의 성분 분석

한상미* · 윤형주 · 백하주¹

국립농업과학원 농업생물부, ¹경상북도보건환경연구원

Components According to Different Collecting Time and Location in Bee Venom

SangMi Han*, HyungJoo Yoon and HaJu Baek¹

Department of Agricultural Biology, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-100, Korea
¹Gyeongsang Buk-Do Government Public Institute of Health and Environmental, Daegu 701-702, Korea

ABSTRACT: This study aims to investigate whether geographical variation affects the antibacterial component properties of honeybee (*Apis mellifera* L.) venom in Korea. Honeybee venom samples were collected from May to September, during 2010 and 2011, from 35 different sites, and were analyzed for major components, including melittin, apamin and phospholipase A2 were determined by a liquid chromatography using ammonium formate, acetonitrile, trifluoroacetic acid. On average, melittin, apamin and phospholipase A2 were determined 55.2±2.07%, 22.57±0.103%, and 12.51±0.37%, respectively. The ratio of the major components, including melittin, apamin and phospholipase A2 did not differ significantly according to flower or temperature during collections (One way-ANOVA, Duncan's test ($\alpha=0.05$)).

Key words: Bee venom, Collecting time, Collecting location, Melittin, Apamin, Phospholipase A2

초 록: 서양종 꿀벌 독의 채취시기와 지역에 따른 봉독의 성분 변화 및 약리효과에 미치는 영향을 검토하였다. 채취시기는 5월부터 9월까지, 채취지역은 전국 35개 지역으로부터 채취한 봉독을 대상으로 2010년과 2011년 2년에 걸쳐 동일 지역에서 동일한 방법으로 봉독을 채취하였다. 채취한 봉독은 액체크로마토그래피를 통해 멜리틴과 아파민 그리고 포스포리파아제 A2의 성분 함량을 분석하였다. 그 결과 채취시기와 지역에 따른 성분에 유의한 차이는 확인되지 않았다(One way-ANOVA, Duncan's test ($\alpha=0.05$)). 봉독의 성분은 채취시기와 지역에 관계없이 멜리틴 55.2±2.07%, 아파민 22.57±0.103% 그리고 포스포리파아제 A2는 12.51±0.37%를 차지하였다. 이상의 결과로부터 봉독은 채취시기에 따른 주요 성분은 차이를 갖고 있지 않았으며, 이는 꿀벌의 먹이, 사육온도 등 외부 환경이 봉독 분비에 영향을 주지 않는 것으로 사료되었다.

검색어: 벌독, 시기, 지역, 멜리틴, 아파민, 포스포리파아제 A2

꿀벌(*Apis mellifera* L.)의 봉독은 여왕벌이나 일벌의 독낭세포에서 분비된 액체물질로 생식기관이 변형되어 형성된 독낭에 저장되었다가 외부의 자극이나 공격으로부터 종족을 보호하기 위한 방어 수단으로 벌침을 통해 봉독을 쏘아 상대방을 마비시키거나 죽이는 기능을 한다(Piek, 1986). 갓출방한 꿀벌의 독량은 매우 적으나, 일령이 증가하면서 그 양이 증가되어 15일령의 벌에서는 약 0.3 mg에 이르며, 그 화학적 성분 함량 또한

일령에 따라서 차이를 보이거나 15일령 이후에는 성분이 일정하게 유지되는 것으로 알려져 있다(Piek, 1986). 지금까지 밝혀진 꿀벌의 봉독 성분은 40여 가지로, 다양한 생리활성을 보이는 멜리틴(melittin), 아파민(apamin), 엠씨다-펩타이드(MCD-peptide)와 같은 활성펩타이드, 히아루로니다제(hyaluronidase), 포스포리파아제 A₂(phospholipase A₂)와 같은 효소와 도파민(dopamin), 히스타민(histamine) 등과 같은 아민류 등이 있다(Piek, 1986; Ameratunga *et al.*, 1995; Rybak-chmielewska and Szeszesa, 2004; Kokot and Matysiak, 2009). 봉독은 벌목(Hymenoptera) 곤충의 자기방어 물질로 인체나 동물에 일시적이나 영구적

*Corresponding author: sangmih@korea.kr

Received May 8 2012; Revised June 25 2012

Accepted July 4 2012

로 해를 끼치기 위해 갖고 있는 화학적 물질이다. 장수말벌(*Vespa mandarinia*) 독의 주요성분은 Mastoparan으로 사람과 같은 포유류에 신경마비를 일으키는 물질이며, 호박벌(*Megabombus pennsylvanicus*) 독은 Bombolitin이 주성분으로 항균력이 있는 것으로 알려져 있다. 이와 같이 봉독의 성분은 대상이 되는 천적의 종류에 따라 차이를 갖는 것으로 알려져 있다(Piek, 1986). 다양한 성분이 복합적으로 구성된 꿀벌의 봉독은 봉침요법으로, 오래전부터 민간요법의 하나로 관절염, 통풍 등의 질환에 사용되어 오고 있다(Kim *et al.*, 2003). 또한, 봉독은 강한 항균 효과 뿐만 아니라 항암, 항치매, 피부 재생 효과 등이 보고되었다(Fennell *et al.*, 1968; Somerfield *et al.*, 1984; Kwon *et al.*, 2002; Tu *et al.*, 2008). 최근, 봉독은 상처 및 자외선에 의해 손상된 피부의 재생을 촉진하는 것으로 밝혀져 국내는 물론 해외에서도 화장품의 원료로 사용되고 있다(Han *et al.*, 2007b; Han *et al.*, 2010a). 뿐만 아니라 국내에서는 돼지, 한우, 젖소와 같은 가축에 기존항생제 대체 물질로서 사용되고 있다(Han *et al.*, 2007a; Han *et al.*, 2009; Han *et al.*, 2010b). 과거 봉침요법으로 제한적으로 사용되었던 봉독이 최근 봉독채집장치의 보급으로

다량의 봉독이 채취됨에 따라 이를 이용한 다양한 식의약품 개발을 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 의약품의 원료로 사용하기 위해서는 원료에 대한 성분 기준이 엄격하게 규정되어 있다. 그러나 아직까지 국내에서 사육중인 꿀벌의 봉독이 채집시기와 지역에 따른 성분 분석에 대한 연구는 이루어지지 않고 있다.

따라서 본 연구에서는 화장품의 원료와 가축적용항생제 등 다양한 용도로 사용되는 봉독의 규격설정을 위하여, 전기충격법을 이용한 봉독 채집장치를 사용하여 채집한 봉독의 채집시기 및 지역에 따른 성분 변화를 분석하여 봉독의 의약품 원료 등재를 위한 기초 자료로 제공하고자 한다.

재료 및 방법

봉독 시료 수집

봉독 시료는 제주도를 제외한 전국 33개 지역에서 (Fig. 1) 2010년, 2011년 각각 2년간 6월부터 9월까지 봉독 채집장치를 이용하여 채집한 봉독을 구입하여 시험 전까지 냉장보관하였다.

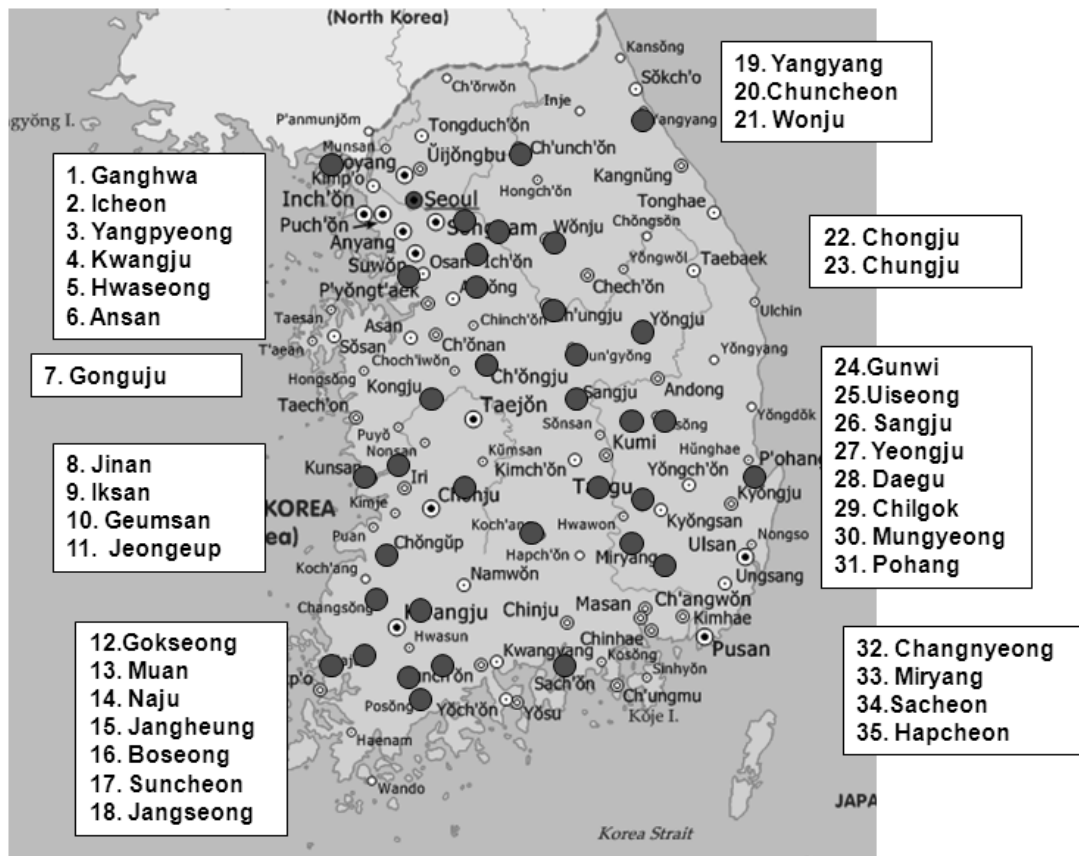


Fig. 1. Sample collection areas of present study.

주요성분 분석

봉독의 주요성분 분석용으로 멜리틴(Melittin, From bee venom, Sigma, Sigma M1407), 아파민(Apamin, From bee venom, Sigma A1289), 포스포리파아제 A2(Phospholipase A2, From bee venom, Sigma P9279)를 사용하였다. 분석용매로는 ammonium formate(Sigma), acetonitrile(Sigma), trifluoroacetic acid(Sigma)와 물은 HPLC용 등급을 사용하였다.

정제 봉독은 액체크로마토그래피 (AKTA explorer, Pharmacia, USA)를 사용하여 확인하였다. Sephadex TM75 및 Source 15RPC ST 컬럼을 사용하였으며, 봉독 성분중에 멜리틴, 아파민, 포스포리파아제 A2 함량은 아래와 같은 식으로 구하였다.

$$\begin{aligned} & \text{표준품 취한 양 (mg)} \times \frac{\text{표준품의 순도}}{100} \\ & \times \frac{\text{봉독 중의 원하는 성분 피크 면적}}{\text{표준품의 피크 면적}} \times \frac{100}{\text{봉독 취한 양}} \end{aligned}$$

통계 분석

실험에서 얻은 모든 자료는 R 프로그램을 이용하여 분석하였으며, 처리구간의 유의성은 One way-ANOVA, Duncan's test ($\alpha=0.05$)를 실시하였다.

결과 및 고찰

봉독 채집시기에 따른 봉독 성분 분석

꿀벌 일벌의 봉독은 단백질과 펩타이드가 주성분으로 일령에 따라 조성 및 함량에 차이를 갖고 있는 것으로 알려져 있다 (Piek, 1986). 봉독은 액체 상태로 독낭에 저장되어 있으며 20 일령 이후 봉독은 액체 상태에서는 1-2 mg, 건조중량은 0.3 mg이며 건조봉독의 약 50%를 차지하는 펩타이드 멜리틴은 항균, 항염증 등 다양한 약리효과를 나타낸다. 또한 봉독은 아파민은 2-3%, 효소인 포스포리파아제 A2는 10-12% 등 펩타이드, 효소와 극미량의 아민류, 아미노산, 지질, 탄수화물 등의 성분으로 이루어져 있다(Piek, 1986). 독낭세포로부터 분비되는 봉독은 밀원이나 사육환경에 따른 성분 변화가 없는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 국내에서 사육되는 서양종꿀벌 이탈리아계통으로부터 봉독 채집장치를 사용하여 꿀벌이 왕성하게 활동하는 채취시기와 지역에 따른 봉독 성분 변화를 측정하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 2년간 분석 결과 채취시기에 따른 멜

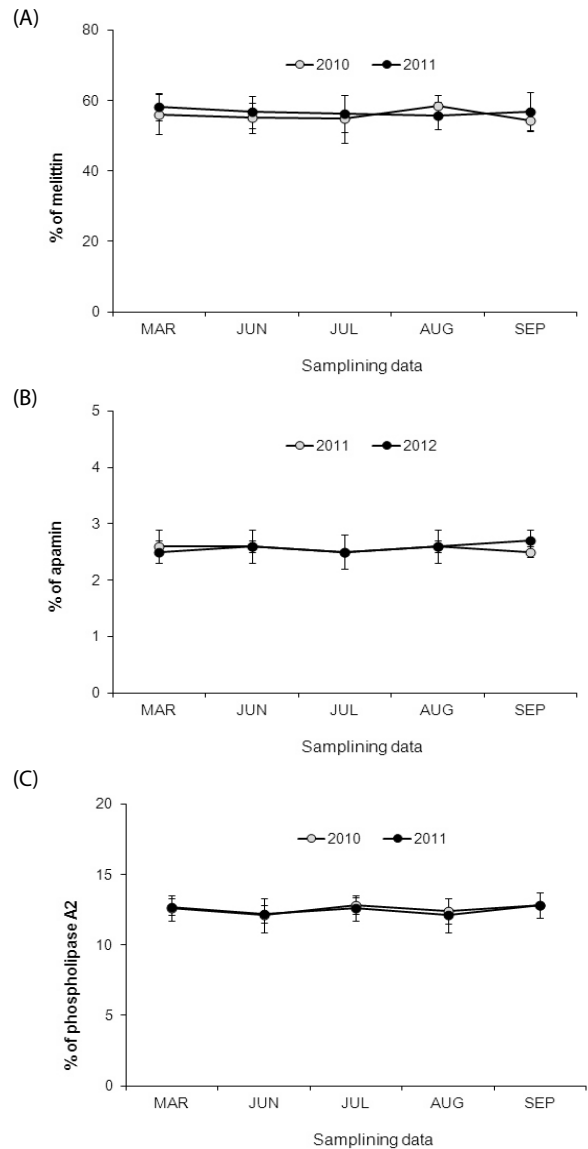


Fig. 2. Seasonal determinations of melittin(A), apamin(B) and phospholipase A2(C) in bee venom (2010 and 2011).

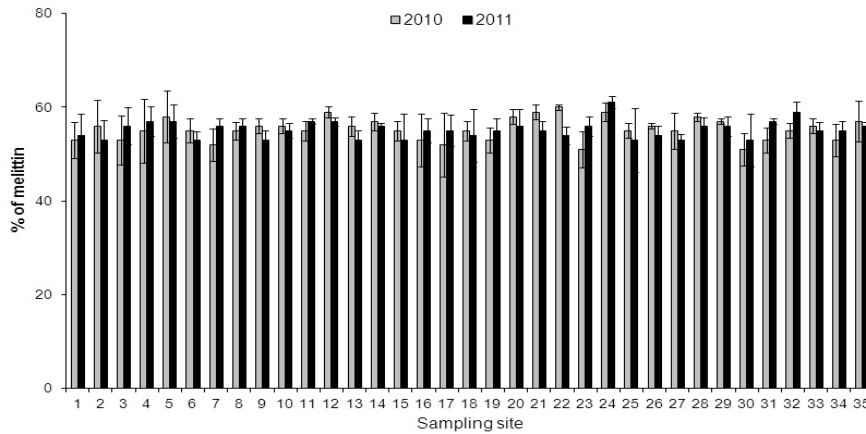
리틴, 아파민 그리고 포스포리파아제 A2의 함량은 유의할 만한 변화를 확인할 수 없었다($p<0.05$). 또한 2010년과 2011년에 채집된 봉독을 분석한 결과 채집년도에 따라 봉독의 주요성분인 멜리틴, 아파민 그리고 포스포리파아제 A2의 함량 차이도 없음을 알 수 있었다 (Fig. 2). 국내 꿀벌에서 채취된 봉독의 경우 주요성분인 멜리틴, 아파민 그리고 포스포리파아제 A2의 함량이 각각 $55.2 \pm 2.07\%$, $2.57 \pm 0.103\%$ 그리고 $12.51 \pm 0.37\%$ 를 차지하는 것으로 확인 되었다. 따라서 국내 꿀벌 봉독은 채취시기에 따른 주요 성분의 차이를 갖고 있지 않았으며, 이는 꿀벌의 먹이, 사육온도 등 외부 환경이 봉독 분비에 영향을 주지 않는 것으로 사료되었다.

봉독 채집지역에 따른 봉독 성분 분석

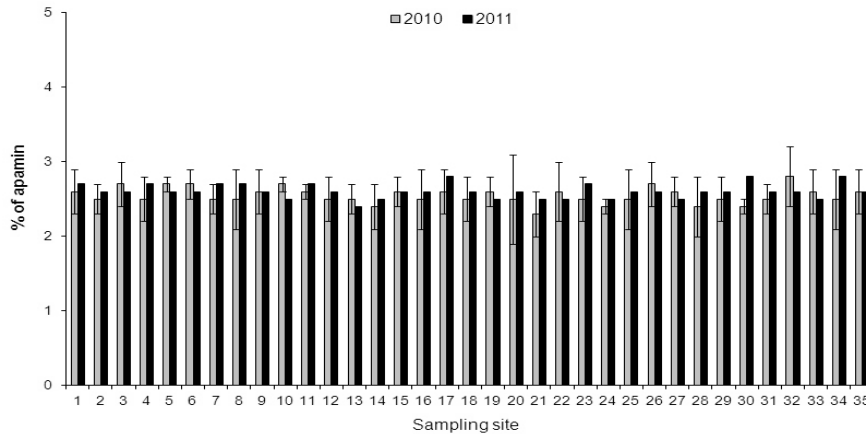
봉독 채집장치를 사용하여 지역에 따른 봉독 성분에 차이를 갖고 있는지를 분석하기 위하여, Fig. 1에서와 같이 제주도를 제외한 강원, 충남·북, 전남·북, 경남·북 35개 지역에서 채집

한 봉독의 성분을 분석하였다. 채집 지역의 밀원은 시기에 따라 아카시아, 밤나무, 뽕나무 등 다양하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 봉독의 주요 성분인 멜리틴, 아파민, 포스포리파아제 A2의 함량은 유의한 차이가 확인되지 않았다. 또한 2010년과 2011년 채취된 봉독 모두 구성 성분의 변화는 없었다($\alpha=0.05$). 이러

(A)



(B)



(C)

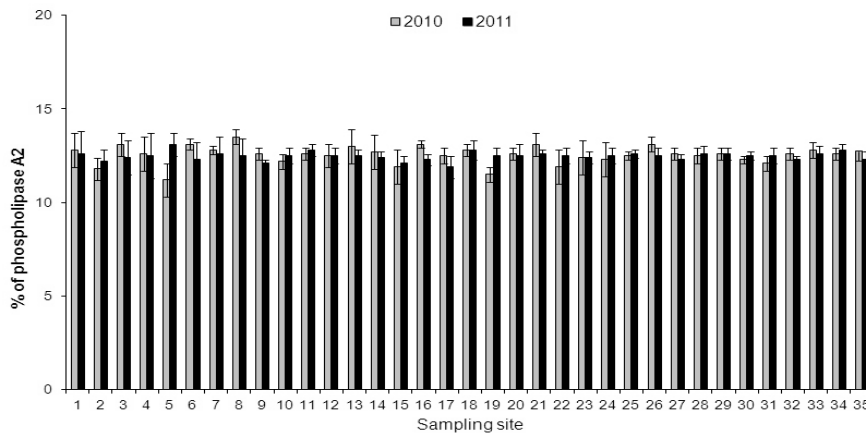


Fig. 3. Ratio of major components, including melittin(A), apamin(B) and phospholipase A2(C) of bee venom by sampling location (2010 and 2011).

한 결과로 미루어 봉독 성분은 꿀벌의 서식지에 따른 영향을 받지 않는 것으로 사료되었다.

이상의 결과들로, 봉독 채집장치를 사용하여 채집한 서양종 꿀벌 독은 채집시기와 채집지역에 따른 영향을 받지 않는 것으로 확인되었다. 그러므로 벌꿀이나 프로폴리스와는 달리 봉독은 꿀벌의 생리활성 물질로서 밀원 종류에 따라 성분이 달라지지 않는 것으로 사료된다. 이는 벌의 종류에 따른 봉독의 성분 차이는 존재하나(Nentwig, 2003) 동일 종의 봉독은 밀원과 환경에 따른 성분 차이를 보이지 않는 것으로 추정된다. 따라서 벌꿀, 프로폴리스 그리고 로열젤리와 더불어 주요 양봉산물로서 다양한 약리효과를 갖고 있는 봉독은 채집지역과 채집시기에 따른 주요성분의 차이 없이 균일한 성분 규격을 유지할 수 있어 화장품과 의약품의 원료로서 사용이 가능하리라 판단된다.

사 사

본 과제는 농촌진흥청 아젠다 사업(PJ0086542012)으로부터 지원받아 수행하였다.

Literature Cited

- Ameratunga, R.V., R. Hawkins, R. Prestidge and J. Marbrook. 1995. A high efficiency method for purification and assay of bee venom phospholipase A2. *Pathology*. 27: 157-160.
- Fennell, J.F. W.H. Shipman and L.J. Cole. 1968. Antibacterial action of melittin, a polypeptide from bee venom. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 127: 707-710.
- Han, S.M., K.G. Lee, J.H. Yeo, H.Y. Kweon, B.S. Kim, J.M. Kim, H.J. Baek and S.T. Kim. 2007a. Antibacterial activity of the honey bee venom against bacterial mastitis pathogens infecting dairy cows. *Int. J. Indust. Entomol.* 14: 137-142.
- Han, S.M., K.G. Lee, J.H. Yeo, H.Y. Kweon, S.O. Woo, H.J. Baek and k.k. Park. 2007b. Inhibitory effect of bee venom against ultraviolet B induced MMP-1 and MMP-3 in human dermal fibroblasts. *J. Apic. Res.* 46: 94-98.
- Han, S.M., K.G. Lee, J.H. Yeo, S.J. Hwang, P.J. Chenoweth and S.C. Par. 2009. Effects of Bee Venom Treatment on Growth Performance of Young Pigs. *Am. J. Chin. Med.* 37: 833-842.
- Han, S.M., K.G. Lee, J.H. Yeo, H.J. Baek and K.K. Park. 2010a. Biological effects of treatment of an animal skin wound with honeybee (*Apis mellifera*. L) venom. *Plast. Reconstr. Surg.* 64: e67-72.
- Han, S.M., K.G. Lee, J.H. Yeo, B.Y. Oh, B.S. Kim, W. Lee, H.J. Baek, S.T. Kim, S.J. Hwang and S.C. Pak. 2010b. Effects of honeybee venom supplementation in drinking water on growth performance of broiler chickens. *Poultry Sci.* 89: 2396-2400.
- Kim, H.W., Y.B. Kwon, T.W. Ham, D.H. Rho, S.Y. Yoon, H.J. Lee, H.J. Han, I.S. Yang, A.J. Beitz and J.H. Lee. 2003. Acupoint stimulation using bee venom attenuates formalin-induced pain behavior and spinal cord for expression in rats. *J. Vet. Med. Sci.* 65: 349-355.
- Kokot, Z. J. and J. Matysiak. 2009. Simultaneous determination of major constituents of honeybee venom by LC-DAD. *Chromatographia*. 69: 1-5.
- Kwon, Y.B., H.J. Lee, H.J. Han, W.C. Mar, S.K. Kang, O.B. Yoon, A.J. Beitz and J.H. Lee. 2002. The water-soluble fraction of bee venom produces antinociceptive and anti-inflammatory effects on rheumatoid arthritis in rats. *Life Sci.* 71: 191-204.
- Piek, T. 1986. *Venoms of the Hymenoptera*. pp 330-416. Academic press, London.
- Rybak-Chmielewska, H., and T. Szezesna. 2004. HPLC study of chemical composition of honeybee(*Apis mellifera* L.) venom. *Journal of Apicultural Science.* 48: 103-109.
- Somerfield, S.D., J.L. Stach, C. Mraz, F. Gervais and E. Skamene. 1984. Bee venom inhibits superoxide production by human neutrophils. *Inflammation* 8: 385-391.
- Tu, W.C., C.C. Wu, H.L. Hsieh, C.Y. Chen and S.L. Hsu. 2008. Honeybee venom induces calcium-dependent but caspase-independent apoptotic cell death in human melanoma A2058 cells. *Toxicol.* 52: 318-329.
- Nentwig, L.K. 2003. Antimicrobial and cytolytic peptides of venomous arthropods. *Cell. Mol. Life Sci.* 60: 2651-2668.