

< Original Article >

육계로부터 분리한 병원성 세균에 대한 봉독의 항균효과

한상미* · 김세건 · 홍인표 · 우순옥 · 장혜리 · 이경우¹

국립농업과학원 농업생물부, 건국대학교 동물자원과학과¹

Antibacterial effects of purified bee venom against some pathogenic bacteria isolated from dead chickens

Sang Mi Han*, Se Gun Kim, In Phyo Hong, Soon Ok Woo, Hye Ri Jang, Kyung Woo Lee¹

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science, RDA, Wanju 55365, Korea
¹Department of Animal Science and Technology, Konkuk University, Seoul 05029, Korea

(Received 18 August 2016; revised 28 September 2016; accepted 30 September 2016)

Abstract

Clostridium perfringens, *Salmonella thyphimurium* and *S. Montevideo* isolated from the intestines of dead broiler chickens in Korea were tested for antibacterial effects to purified bee venom. Purified bee venom from *Apis mellifera* L. has been used as natural antimicrobial compounds in pigs, cows, dairy cattle and chicken farms in Korea. To investigate antibacterial effect of purified bee venom was evaluated by agar well diffusion method, minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), and postantibiotic effect (PAE). Purified bee venom exhibited significant inhibition of bacterial growth of *C. perfringens*, *S. thyphimurium* and *S. Montevideo* with MIC value of 0.85, 0.68 and 0.69 µg/mL, respectively. The MBC value of purified bee venom against *C. perfringens*, *S. thyphimurium* and *S. Montevideo* were 3.33, 2.66 and 2.86 µg/mL. Furthermore, the results of PAE values against *C. perfringens*, *S. thyphimurium* and *S. Montevideo* showed the bacterial effect with 3.5, 4.0 and 3.5 hr. Stability of purified bee venom at acidity from pH 1 to pH 8 for 24 hr was the antibacterial activity for *C. perfringens*, *S. thyphimurium* and *S. Montevideo* and melittin contents. Also purified bee venom processed through the heating for 15 min, there was no significant loss of the antibacterial activity and melittin at below 100°C. These results obtained in this study suggest that purified bee venom might be utilized as a feed additive in poultry diets.

Key words : Bee venom, Necrotic enteritis, Fowl typhoid, Chicken, Antibacterial

서 론

미국 농부부(United States Department of Agriculture, USDA) 통계에 따르면, 2015년 전 세계 닭고기 생산량은 8,794만 톤으로 전년 대비 1.6% 증가하였다고 한다(이, 2016). 이는 쇠고기와 돼지고기 가격 상승으로 인해 보다 저렴한 닭고기의 수요가 점차 증가한 결과이며, 닭고기가 가지는 단백질 공급원으로서의 가치에 대한 재조명의 결과라고 보고하였다. 2015년

전 세계 닭고기 수입량은 약 864만 톤이며, 수출량은 1,023만 톤으로 2011년의 957만 톤 대비 6.9% 증가하였으나, 늘어난 생산량 만큼 세계적으로 닭고기 생산 및 수출 경쟁은 점차 심화되고 있으며, 업체의 대형화에도 불구하고 수익성은 감소하는 문제가 발생하고 있다(이, 2016). 국내에서도 사육규모의 현대화 및 대규모화가 이뤄져 사육규모가 크게 늘어나 이제 새로운 국면을 맞이하고 있다. 그러나 유통되는 축산물의 품질에 대한 정부의 단속 강화와 더불어 소비자의 선택이 까다러워 지고 있어 철저한 질병 예방 관리를 통해 방제비용을 절감하고, 안전한 고품질 축산물을

*Corresponding author: Sang Mi Han, Tel. +82-63-238-2896, Fax. +82-63-238-3832, E-mail. sangmih@korea.kr

생산하여 경쟁력을 갖춰야 할 것이다(Kim 등, 2010; 조, 2015).

가금 산업에 경제적 손실을 입히는 주요 질병은 괴사성 장염, 가금티푸스 그리고 살모넬라 감염증으로 육계와 산란계에 큰 손실을 입히는 것으로 알려져 있다(김, 2005; Kim 등, 2006). 괴사성 장염을 유발하는 원인균으로 알려진 클로스트리듐(*Clostridium*) 속은 Gram 양성균의 간균으로 아포를 형성하는 혐기성 세균으로서, 가금 뿐만 아니라 사람, 가축, 야생동물의 장관에 질병을 유발한다고 알려져 있다(Choe 등, 2013; Cooper 등, 2013). *Clostridium perfringens*는 닭의 장관에 공생하는 세균으로 맹장과 대장에 존재하며 건강한 상태에서는 발병하지 않으나, 감염, 스트레스 등으로 인해 *C. perfringens* 수가 급증하거나, 콕시 등의 감염이 동반 될 경우 장관성 질환을 유발하는 대표적 병원체이다(Songer, 1996). *C. perfringens*의 감염으로 만들어진 type A의 α -toxin과 type C의 α , β -toxin이 가금의 괴사성 장염을 유발하는 것으로 보도되어 있다(Long 등, 1974; Songer, 1996). *C. perfringens*에 따른 괴사성 장염이 발생하면 소장의 장관은 가스 저류로 인해 팽대되고, 악취가 나며, 암적색, 회색, 갈색의 액체가 충만 되며, 장관벽이 얇아지게 되는데 이로 인해 장관벽이 손상되어 영양 성분의 흡수 장애로 인해 수분이 다량 함유된 분변을 배설하게 되어 증체율 감소와 괴사로 인해 폐사까지 이르게 된다(Choe 등, 2013). 산란계에서 심한 피해가 있어 왔으나 최근 육계에서도 가장 빈번하게 진단되는 세균성 질병은 가금티푸스이다. 살모넬라는 추백리, 가금티푸스, 파라 타이포이드 감염증을 일으키는데 대표적인 원인체는 *Salmonella thyphimurium*과 *S. enteritidis*라고 알려져 있으며, *S. Oranienberg*, *S. Anatum*, *S. Montevideo*, *S. Derby*, *S. Bredeney* 등이 있다(Boyer 등, 1962; 김, 2005). 살모넬라 속 세균은 급성 내지는 만성적 질병을 일으킬 뿐만 아니라, 감염된 가금은 식품 섭취를 통해 사람에게 살모넬라를 전파시키는 보균원이 될 수 있기 때문에 사육 시 감염이 되지 않도록 하는 것이 중요하다. 따라서 이러한 괴사성 장염 및 살모넬라 속 세균 감염을 방제하기 위하여 배합사료에 항생제를 첨가하여 성장 촉진 및 장관 세균을 예방하고자 하고 있다. *C. perfringens*는 bacitracin, amoxicillin, tylosin, lincomycin과 같은 항생제는 효과적이거나 lincomycin에는 저항성을 나타낸다는 보고가 있다(Choi와 Chang, 2009). 2011년 배합사료 내 항생제 첨가가 전면 금지됨에 따라 육계, 산란계 등에서 괴사성 장염

의 발생이 높아질 수 있으며, 무항생제 사육을 도입한 농가에서 괴사성 장염의 발생이 증가하고 있는 추세이므로 이를 대체할 수 있는 천연물의 개발이 필요하다.

본 연구에서는 순수 천연물질이면서 강력한 항균, 항염증 및 면역증강 등의 효과를 갖는 봉독을 이용하여 가금 사료 첨가제로서의 가능성을 알아보려고 하였다. 서양종꿀벌(*Apis mellifera* L.) 일벌의 독인 봉독은 다양한 성분이 복합적으로 구성되어 있으며, 주 성분인 멜리틴(melittin)은 항염증과 항균작용, 강력한 진통작용, 면역증강 등의 역할을 한다고 알려져 있다(Habermann과 Reiz, 1965; Fennelle 등, 1967; Piek, 1984). 본 연구팀에서는 2005년 봉독채집장치와 채집된 봉독으로부터 이물질을 제거할 수 있는 봉독정제법을 개발하였다(한 등, 2007). 이로써 국내에서도 봉독 채집이 가능하게 되었으며, 화장품과 의약품의 원료로 정제봉독이 상용화되었다. 봉독은 자돈 및 양계에 처리했을 때 체중 및 생존율 증가와 같은 생산성 향상과 질병 감소에 효과를 나타낸다고 보고되었다(Han 등, 2009; Han 등, 2010a). 또한, 봉독을 분만 전 교소혈(交巢穴)에 투여한 경우 분만 소요시간 단축과 후산 정체율 감소 등 분만효율이 개선되었으며, 발정 재귀일수와 분만간격의 단축과 봉독을 투여한 어미소로부터 출생한 신생송아지의 체중 증가와 질병이 감소하는 것으로 보고되었다(Han 등, 2010b). 뿐만 아니라 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 등 유방염 원인균에 의해 유발된 젖소 유방염의 경우 봉독 투여로 체세포수가 크게 감소하는 것으로 확인되었고, 유방염에 걸린 젖소로부터 채취한 원유에서 분리한 균에 대한 항균력이 우수한 것으로 보고된 바 있다(Han 등, 2007). 또한 젖소에 봉독을 투여한 후 3일째는 물론 투여 후 1일째에도 우유에서 봉독 성분이 검출되지 않아 천연물질인 봉독은 축산물 내에 잔류하지 않는 것으로 확인되었다(Han 등, 2015).

따라서 본 연구에서는 감염된 닭으로부터 분리한 괴사성 장염의 원인체인 *C. perfringens*와 살모넬라 속 세균에 대한 봉독의 항균력을 측정하여 사료 내 항생제 대체제로서의 가능성을 검증하고자 하였다.

재료 및 방법

봉독 시료

봉독은 서양종 꿀벌에 봉독 채집장치(청진테크, 한국)를 이용하여 채취 분리한 다음 간이정제방법으로(한 등, 2007) 정제한 정제봉독을 구입하여 사용하였다(한국정제봉독협동조합, 한국).

공시 균주 및 배양

괴사성장염에 의한 폐사한 닭으로부터 분리한 *C. perfringens* (KVCC-BA05001192), 가금티푸스로 폐사한 닭으로 분리한 *S. typhimurium* (KVCC-BA1200170) 그리고 *S. Montevideo* (KVCC-BA1400376)를 농림축산검역본부로부터 분양 받아 실험에 사용하였다. 분양 받은 *C. perfringens*는 5% sheep blood (MB cell, Korea)를 함유한 Cooked meat medium (BD, USA) 배지를 사용하여 37°C 혐기조건으로 배양하였다. *S. typhimurium*와 *S. Montevideo*는 TSB (Trypticase soy broth, BD, France) 배지에서 37°C, 호기조건으로 배양하였다.

항균활성 측정

C. perfringens, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo* 세균에 대한 정제봉독의 항균활성은 평판배지확산법을 이용하여 측정하였다(Bauer 등, 1966). 각 시험균주들은 평판배지에 도말 접종한 다음 정제봉독이 집적된 직경 8 mm의 paper disk (Advantec, Japan)를 평판배지에 올린 후 48시간 배양하면서 생성된 투명한 저지환의 크기를 측정하였다. 양성 대조구로는 항생제로 사용하고 있는 amoxicillin (Sigma-Aldrich, USA)을 사용하였다.

정제봉독의 산과 염 처리

pH 변화 및 온도변화에 따라 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo* 세균의 항균활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 봉독을 pH 1~11은 HCl과 NaCl을 이용하여 제조한 용액에 녹여 각각 30 mg/mL로 맞추고 24시간동안 실온에 방치하였다(Fig. 1). 온도변화에 따른 활성측정은 60°C, 80°C, 100°C 및 121°C로 설정한 heating block (Fisher Scientific, USA)에 15분간 반응시켰다(Fig. 2). 각각의 시료는 동결건조기(삼원, 한국)를 이용하여 급속 동결 후 동결 건조하여 실험에 사용하였다.

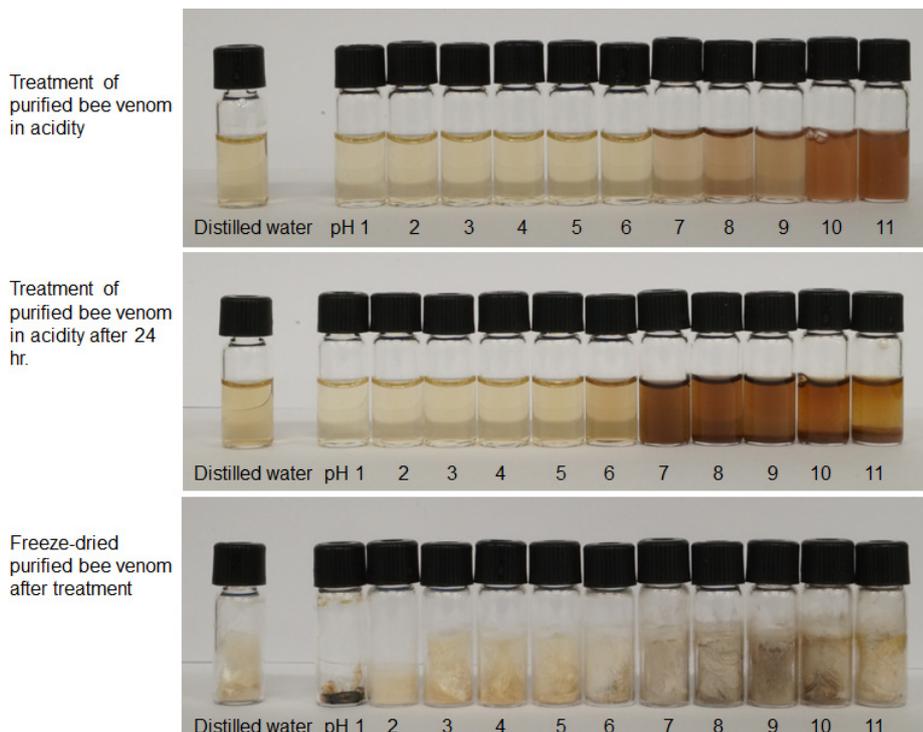


Fig. 1. Picture of treatment of purified bee venom with acidity.

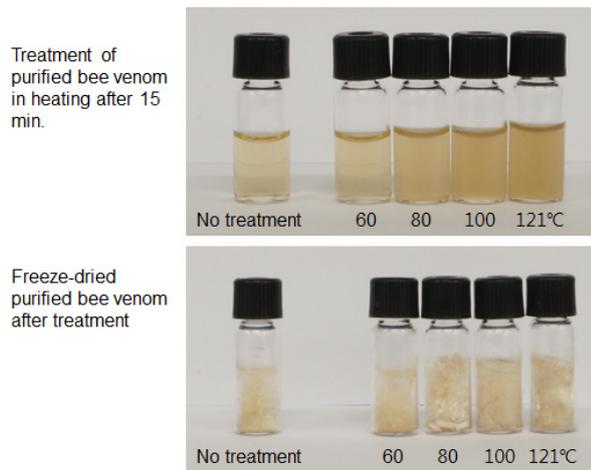


Fig. 2. Picture of treatment of purified bee venom with heating.

멜리틴 함량분석

pH 및 온도변화에 따라 봉독의 주성분인 melittin의 함량 변화는 Waters (Minneapolis, MN, USA)사의 diode array detector가 장착된 UPLC I class 모델을 사용하였으며, 컬럼은 Halo ES-18 (4.6×100 mm, 2.7 μm, Advanced materials technology, Wilmington, DE, USA)을 사용하였다. 분석조건은 Han 등의 방법으로 멜리틴 함량을 분석하였다(Han 등, 2015).

최소성장억제농도(Minimum inhibitory concentration, MIC) 측정

액체배지 희석법을 사용하여 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo* 세균에 대한 최저 성장억제농도를 구하였다. 정제봉독은 멸균 증류수로 희석한 후 무균 여과하여 액체배지희석법에 준하여 단계적으로 희석하였다(Wu와 Hancock, 1999) 각각의 시험균주를 액체배지에서 전 배양한 후 접종 균의 2×10^6 CFU/well이 되도록 조절하여 봉독 시료와 함께 18시간 동안 배양한 후, 육안 및 현미경으로 균의 성장을 관찰하였고, 흡수파장 540 nm에서 흡광도 (Molecular device spectramax M2e, CA)를 측정하여 순수배양액의 흡광도 값과 같은 결과를 얻은 것을 최소억제농도로 결정하였다.

최소살균농도(Minimum bactericidal concentration, MBC)

정제봉독은 각각의 시험균주에서 사용하는 액체배

지로 희석한 후 액체배지희석법에 따라 단계적으로 희석 한 후 2×10^6 CFU/well이 되도록 조절한 각각의 균주에 접종하여 24시간 동안 배양하였다. 각각의 배양액 100 μL를 새로운 배지에 접종하여 24시간 동안 배양한 다음 흡광도(540 nm)를 측정하여 증식이 일어나지 않은 농도를 최소살균농도로 나타내었다.

항균력 지속 시간(Postantibiotic effect, PAE) 측정

시험균주에 대한 정제봉독의 살균력 지속시간을 측정하기 위하여 1×10^8 CFU/mL로 조절한 균주에 $2 \times \text{MIC}$ 값 농도의 정제봉독과 함께 1시간 동안 배양한 후 원심분리와 배지 희석법을 사용하여 봉독성분을 제거하였다(Löwdin 등, 1993) 이후 새로운 배지로 교환하여 배양기에서 배양하며 2시간 간격으로 균수를 측정하였다. 이때 PAE 수치가 클수록 항균 지속 효과가 우수하다고 할 수 있으며, PAE를 구하는 식은 아래와 같다.

$$\text{PAE} = \text{T} - \text{C}$$

T: 봉독을 처리한 시험구에서 1 log₁₀까지의 생육에 걸리는 시간

C: 무처리구에서 1 log₁₀까지의 생육에 걸리는 시간

통계처리

실험에서 얻어진 결과의 통계적 유의성은 SPSS (18.0 version., USA) 통계 프로그램을 이용하여 분석하였으며, 그 결과는 평균±표준오차(mean±SEM)로 표시하였다. 안정성에 대한 유의성은 analysis of variance (ANOVA)의 Duncan's multiple range test를 이용하여 $P < 0.05$ 에서 검증하였다.

결 과

정제봉독의 항균효과

폐사한 육계로부터 분리한 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo* 세균에 대한 정제봉독의 항균활성을 Table 1에 나타내었다. 정제봉독은 모든 균주에 대해서 항균활성을 나타냈으며, 농도가 증가함에 따라 활성이 증가하는 것을 알 수 있었다. 대표적인 가금 괴사성장염 원인균인 *C. perfringens*와

Table 1. Paper disc diffusion susceptibility of *Clostridium perfringens*, *Salmonella typhimurium* and *S. Montevideo* isolated from dead chickens to purified bee venom

Strains	Inhibition zone (mm)			
	Purified bee venom (µg/disc)			Amoxicillin (µg/disc)
	1	10	50	10
<i>Clostridium perfringens</i>	1.3±0.1*	6.5±0.3	20 <	3.4±0.3
<i>Salmonella typhimurium</i>	3.8±0.3	8.5±0.6	20 <	10.8±0.6
<i>S. Montevideo</i>	2.5±0.3	8.0±0.3	20 <	11.5±0.3

*All values are Mean±SD of triplicate.

Table 2. MIC and MBC values of purified bee venom against *Clostridium perfringens*, *Salmonella typhimurium* and *S. Montevideo* isolated from dead chickens

Strains	Purified bee venom (Mean ± SEM, µg/mL)	
	MIC	MBC
<i>Clostridium perfringens</i>	0.85±0.06*	3.33±0.9
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.68±0.04	2.66±0.3
<i>S. Montevideo</i>	0.69±0.03	2.86±0.9

*All values are Mean±SD of triplicate.

가금티푸스 유발 원인균인 *S. typhimurium*와 *S. Montevideo* 대해서 10 µg/disk의 농도에서 저지환이 6.5±0.3, 8.5±0.6 및 8.0±0.3 mm였으며, 양성대조구로 사용한 amoxicillin은 각각 3.4±0.3, 10.8±0.6 그리고 11.5 mm의 저지환을 보였다. 정제봉독의 농도 20 µg/disk에서는 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo* 세균에 대해 모두 20 mm 이상의 저지환이 확인되었다. 또한 이들 세균에 대한 정제봉독의 최소성장억제농도(MIC)는 각각 0.85±0.006, 0.68±0.04 그리고 0.69±0.03 µg/mL로 높은 항균력이 확인되었다 (Table 2). 최소살균농도(MBC)는 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo* 세균에 대해 각각 3.33±0.9, 2.66±0.3 그리고 2.86±0.9 µg/mL로 나타났다 (Table 2).

정제봉독의 항균력 지속시간

C. perfringens, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo* 세균에 대한 정제봉독의 항균력 지속시간(PAE)을 측정하였다. 봉독 제거 후 2시간 간격으로 균수를 측정 한 결과 Table 3과 같이 과사성장염 원인균인 *C. perfringens*에 대해 3.5시간의 항균력 지속 활성을 가지는 것으로 확인 할 수 있었다. PAE 수치가 클수록 항

Table 3. PAE of purified bee venom against *Clostridium perfringens*, *Salmonella typhimurium* and *S. Montevideo* isolated from dead chickens

Strains	PAE (hr.)
<i>Clostridium perfringens</i>	3.5
<i>Salmonella typhimurium</i>	4.0
<i>S. Montevideo</i>	3.5

균력 지속 효과가 우수한 것으로 *S. typhimurium*와 *S. Montevideo* 세균에서 각각 4.0, 3.5시간으로 우수한 항균력 지속시간을 갖고 있었다.

산과 염 처리 후 정제봉독의 항균력 변화

정제봉독을 pH 1에서부터 pH 11 까지의 용액에서 24시간 처리 한 후 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo* 세균에 대한 항균효과를 평판배지법을 사용하여 확인하였다. 그 결과 그림 1에서 보는 바와 산 처리에서는 항균력의 변화가 없었으나 pH 9 이상, 염도가 높아질수록 항균력이 크게 감소하는 것으로 확인되었다($P < 0.0001$). 또한 정제봉독의 주요 성분인 멜리틴 성분도 pH 9에서 급격히 파괴되어 당초 멜리틴 함량의 70% 수준으로 낮아졌으며, pH 11에서는 정상치의 12% 수준으로 떨어졌다(Fig. 3).

열에 의한 정제봉독의 항균력 변화

정제봉독을 60°C에서부터 121°C까지 각각 15분간 처리 후 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo* 세균에 대한 항균효과를 검정한 결과 온도가 높아 질수록 항균력 이 다소 감소하나 121°C에서 15분간 반응했을 경우를 제외하고는 유의할 만한 차이를 보이지 않았다(Fig. 4). 멜리틴 함량 변화에 있어서도 100°C에서 15분간 반응 시켰을 경우엔 유의

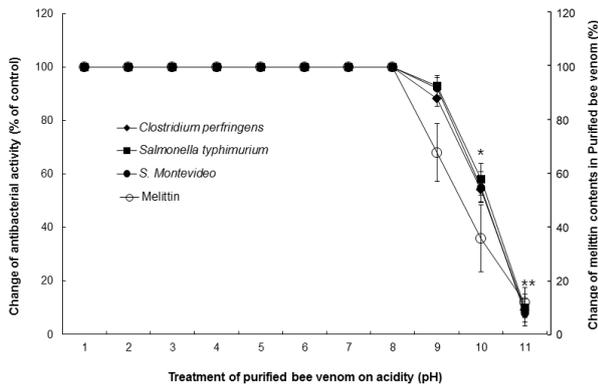


Fig. 3. Changes of antibacterial activity and melittin contents of purified bee venom after treatment of acidity. Data are represented as mean±SD of three experiments. * $P < 0.001$, ** $P < 0.0001$.

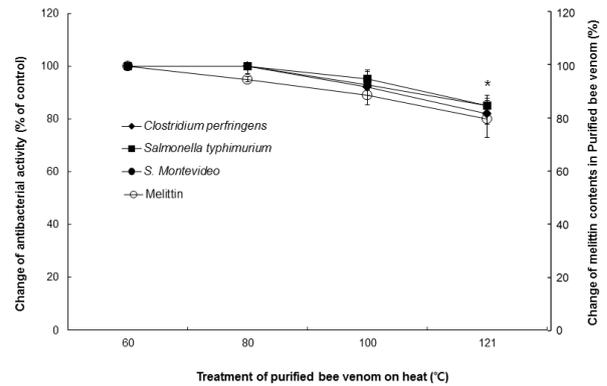


Fig. 4. Changes of antibacterial activity and melittin contents of purified bee venom after high temperature dependent. Data are represented as mean±SD of three experiments. * $P < 0.5$.

한 변화가 확인되지 않았으나 121°C에서는 멜리틴 함량이 감소하는 것으로 확인되었다($P < 0.5$).

고 찰

양계 전염성 질병을 유발하는 대표적인 병원체인 *C. perfringens*와 *Salmonella*는 주로 오염된 물이나 사료를 통해 닭을 감염시키며, 닭에서 괴사성장염, 설사 및 패혈증 등의 질병을 일으킨다(Songer, 1996; 김, 2005). 그중 *S. typhimurium*은 사람에게 가장 빈번히 감염을 일으키는 혈청형으로서 살모넬라에 오염된 닭고기를 통해 사람에게 위장관 계통의 질병을 일으킨다(Boyer 등, 1962; 김, 2005). 국내에서는 닭 괴사성장염과 살모넬라증을 예방하고자 백신이나 항생제를 사용하였는데, 2011년 후반기부터 항생제 내성관리를 위하여 사료 내 항생제 첨가가 전면 금지됨으로써 가금류의 질병 예방에 대한 해결책이 시급하다(이, 2016). 봉독은 살아있는 벌을 이용한 봉침요법으로 오래 전부터 인체 및 가축의 질병 치료에 사용되어 왔다. 최근 봉독채집장치의 개발과 봉독정제법이 개발됨에 따라 정제봉독은 화장품의 원료로 사용되고 있으며, 의약품과 동물용의약품, 사료첨가제 등으로 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 자돈의 경우 1 mg/두 이하의 용량으로, 젖소 유방염 질환 치료에 10 mg/두 이하 농도의 주사제로 이용하고 있다(Han 등, 2009). 양계에는 급수구를 통해 음수로 제공되며 이때의 봉독 1,000 ppm 농도 이하로 사용했을 경우 생존률과 증체율이 증가하며, 혈액 내 항산화 물질이 증가하는 것으로 확인되었다(Han 등, 2010a).

또한 가축에 사용되는 봉독의 용량은 극소량으로 사료첨가제나 음수, 주사제로 제조할 경우 봉독은 증류수와 생리식염수로 희석할 경우 균질성의 정확성과 정밀성이 모두 확보되었으며 실온에서 7일간 보관하더라도 봉독 성분의 안정성이 유지되는 것으로 확인하였다.

따라서 본 연구에서는 정제봉독을 양계 사료 첨가제로 활용하기 위하여, 괴사성장염과 가금티푸스로 폐사한 육계로부터 분리한 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo*에 대한 항균력을 측정하였고, 사료 제조 공정 중에 필요한 산도와 온도 변화가 봉독의 항균력에 영향을 미치는 지를 평가하였다. *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo*에 대한 항균력은 양성 대조구로 사용한 항생제, amoxicillin과 비교하여 항균 효과가 높았다. 최소생육억제농도와 살균농도는 각각 0.85 ± 0.06 , 0.68 ± 0.04 , 0.69 ± 0.03 , 3.33 ± 0.9 , 2.66 ± 0.3 , 2.86 ± 0.9 로 항균효과가 매우 우수하였다. 항균력 지속시간 역시 *C. perfringens*는 시간, *S. typhimurium*와 *S. Montevideo* 세균에서 각각 3.3, 3.45 시간으로 우수한 항균력 지속시간을 갖고 있는 것으로 확인되었다. 정제봉독의 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo*에 대한 항균력은 강산에 처리했을 경우엔 매우 안정적이었으나, 강염기에서는 항균력이 유의하게 감소되는 것으로 확인되었다. 100°C에서 15분 처리했을 경우엔 정제봉독의 항균력에는 영향을 주지 않으나, 121°C이상에서는 항균력과 멜리틴 함량이 다소 감소하는 것으로 확인되었다. 멜리틴은 봉독의 항염증과 항균작용 등의 역할을 하는 주요성분으로 봉독 내 50~70% 범위로 포함되어 있다(Piek, 1984). 봉독의 주성분인 멜리틴은 펩타이드로 산에는 강하나

염기에서는 파괴되는 것으로 확인되었으며, 비교적 열에는 안정적인 것으로 사료되었다.

이상의 연구 결과로 정제봉독은 야생균주인 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo*에 대해서도 기존의 항생제를 대체할 만큼의 항균력을 갖고 있으며, 강산과 고온에도 항균력에 영향을 주지 않아 양계 사료 첨가제로서 효능과 안정성이 확인되었다. 그러나 보조사료 원료로 등록되어 있지 않아 배합사료 내 첨가가 법적으로 인정되지 않아 사용이 불가능한 상태이다. 따라서 닭의 항산화 성분을 증가시켜 면역력을 향상시키고, 질병을 유발하는 병원성 세균에 대한 항균효과가 뛰어난 정제봉독의 사료 원료 등록이 선행되어야 할 것이다.

결 론

폐사한 닭으로부터 분리한 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo*에 대한 정제봉독의 항균효과를 검증한 결과, 최소성장억제농도는 각각 0.68, 0.85 그리고 2.79 µg/mL, 최소살균농도는 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo* 세균에 대해 각각 1.34, 1.67, 8.5 그리고 6.8 µg/mL로 높은 항균력을 보였다. 항균력지속시간에 있어서도 *C. perfringens*는 3.5시간, *S. typhimurium*는 4.0시간 *S. Montevideo* 세균에서 3.5시간으로 항균력 유지에도 높은 효과를 갖고 있는 것으로 확인되었다. 정제봉독을 산과 염에 처리했을 경우 산에는 멜리틴과 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo*에 대한 항균력에 영향을 주지 않았으나, 강염에는 멜리틴 함량과 항균력에 감소를 초래하였다. 열에 대한 안정성에 있어 100°C이하에서 15분간 처리했을 경우엔 멜리틴 함량과 항균력에 영향을 받지 않았다. 따라서 정제봉독은 폐사한 닭에서 분리한 *C. perfringens*, *S. typhimurium* 그리고 *S. Montevideo*에 대한 높은 항균력과 산과 고온처리에도 안정되어 있는 것으로 사료되어 양계 사료 첨가제로서 이용 가능성이 높은 것으로 사료되었다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 차세대바이오그린21사업(과제번호: PJ01188201)에 의하여 수행되었습니다.

REFERENCES

- 김기석. 2005. 국내 주요 양계질병의 발생현황과 금후 과제. 한국가금학회 심포지움, 77-94.
- 이윤경. 2016. 세계 양계산업 동향. 세계농업 185: 1-23.
- 조현성. 2015. 2015 육계 산업 동향. 양계동향 01/02: 22-27.
- 한상미, 이광길, 여주홍, 우순옥, 권해용. 2007. 봉독 간이정제법. 특허 제 10-0758814호
- Boyer CI, Narotsky S, Bruner DW, Brown JA. 1962. Salmonellosis in turkeys and chickens associated with contaminated feed. Avian Dis 6(1): 43-50.
- Bauer AW, Kirby WMM, Serris JC, Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am J Clin Pathol 45: 493-496.
- Choe CY, Park IJ, Kang M, Jang HK, Hur TY, Jung YH, Cho YL, Do YJ, Yoo JG, Na JC, Jong HB. 2013. Occurrence of *Clostridium perfringens* according to raising periods in broilers. Korean J Poultry Sci 40(4): 305-313.
- Choi I, Chang HS. 2009. Antimicrobial activity of medicinal herbs against *Salmonella gallinarum* and *Staphylococcus epidermidis*. Korean J Poultry Sci 36(3): 231-238.
- Cooper KK, Gonger JH, Uzal FA. 2013. Diagnosing *Clostridial enteric* disease in poultry. J Vet Diagn Invest 25: 314-327.
- Fennell JF, Shipman WH, Cole LJ. 1967. Antibacterial action of a bee venom fraction (melittin) against a penicillin-resistant *Staphylococcus* and other microorganisms. Res. Dev Tech Rep 5: 1-13.
- Habermann E, Reiz KG. 1965. On the biochemistry of bee venom peptides, melittin and apamin. Biochem Z 343(2): 192-203.
- Han SM, Lee KG, Yeo JH, Kweon HY, Kim BS, Kim JY, Baek HJ, Kim ST. 2007. Antibacterial activity of the honey bee venom against bacterial mastitis pathogens infecting dairy cows. Int J Indust Entomol 14(2): 137-142.
- Han SM, Lee KG, Yeo JH, Hwang SJ, Chenoweth PJ, Pak SC. 2009. Effects of bee venom treatment on growth performance of young pigs. Am J Chin Med 37(2): 833-842.
- Han SM, Lee KG, Yeo JH, Oh BY, Kim BS, Lee W, Baek HJ, Kim ST, Hwang SJ, Pak SC. 2010a. Effects of honeybee venom supplementation in drinking water on growth performance of broiler chickens. Poult Sci 89: 2396-2400.
- Han SM, Lee KG, Yeo JH, Oh BY, Kim ST. 2010b. Effects of honeybee (*Apis mellifera* L.) venom on the reproductive efficiency of dams and the growth performance, disease occurrence of Hanwoo calves. Korean J Vet Serv 33(3): 287-292
- Han SM, Hong IP, Woo SO, Kim SG, Jan HR. 2015. Analysis of bee venom residues in milks of dairy cattle using UHPLC with newly developed pre-processing method. Korean J Vet Serv 38(1): 25-30.
- Long, JR, Barnum DA, Pettit JR. 1974. Necrotic enteritis in broiler chickens II. Pathology and proposed pathogenesis.

- Can J Comp Med 38(4): 467-474.
- Löwdin E, Odenholt-Tornqvist I, Bengtsson S, Cars O. 1993. A new method to determine postantibiotic effect and effects of subinhibitory antibiotic concentrations. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 2200-2205.
- Kim AR, Kim JH, Lee YJ, Cho YM, Kwon JH, Kwon YK, Lee YJ, Choi JG, Joh SJ, Kim MC, Lee EK. 2006. The prevalence of pullorum disease-fowl typhoid in grand parent stock and parent stock in Korea. *Korea J Vet Res* 46(4): 347-353.
- Kim JE, Park SK, Kim TW, Mun M, Koh JS, Jeong SK, Kook K. 2010. Effects of feeding fermentation of spent mushroom substrate (FSMS) on growth performance in broiler chicks. *Korean J Vet Serv* 33(4): 387-392.
- Piek T. 1986. *Venoms of the Hymenoptera*. Academic press, London. United Kingdom
- Songer JG. 1996. *Clostridial enteric diseases of domestic animals*. *Clin Microbiol Rev* (2): 216-234.
- Wu M, Hancock RE. 1999. Interaction of the cyclic antimicrobial cationic peptide bactenecin with the outer and cytoplasmic membrane. *J Biol Chem* 274: 29-35.