

수벌번데기로부터 식중독 세균 및 곰팡이독소 안전성 평가

김세건 · 우순옥 · 장혜리 · 최홍민 · 문효정 · 한상미*

국립농업과학원 농업생물부

Safety Investigation on Foodborne Pathogens and Mycotoxins in Honeybee Drone Pupae

Se-Gun Kim, Soon-Ok Woo, Hye-Ri Jang, Hong-Min Choi, Hyo-Jung Moon, and Sang-Mi Han*

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science, Wanju 55365, Korea

(Received June 7, 2018/Revised July 13, 2018/Accepted August 26, 2018)

ABSTRACT - In this study, safety investigations on harmful microorganisms and mycotoxins were conducted on honeybee drone pupae as a new food material, which is rich in nutrients and capable of being mass produced in apiaries. The honeybee drone pupae produced in apiaries were collected from three different regions in Korea and frozen immediately. Subsequently, the samples were subjected to freeze-drying. According to the Korean Food Code test method, coliforms, *Salmonella* species, *Staphylococcus aureus*, and enterohemorrhagic *Escherichia coli* were not detected in 280 honeybee drone pupas. In addition, mycotoxins, aflatoxin B1, ochratoxin A, deoxynivalenol, and zearalenone were not detected. Therefore, it is proposed that the honeybee drone pupae collected from the beehives and immediately frozen as safe from harmful microorganisms and mycotoxins and can be used as a food material

Key words : Honeybee drone pupa, Novel food, Sanitary indicator microorganisms, Mycotoxins

전 세계적으로 인구의 증가와 식생활 수준이 높아짐에 따라 육류 소비가 크게 증가하고 있는 실정이다. 이로 인한 가축 개체 수의 증가가 환경오염과 식량난을 야기하고 있어, 기존의 인류 식량의 공급원 이외의 새로운 대안을 찾게 되었다¹⁾. 국제연합식량농업기구(FAO)에서는 2050년경 세계 인구가 약 90억 명에 달할 것으로 추정하여 현재보다 두 배 이상 식량이 필요할 것으로 예상하여 곤충을 인류의 새로운 단백질 공급원 중의 하나로 주목하였다²⁾. 일부 곤충의 영양학적 가치는 쇠고기와 비슷한 수준이며, 곤충은 사육하는 동안 소나 돼지 등의 가축보다 적은 양의 온실가스와 암모니아 가스를 방출하기 때문에 환경오염 문제의 우려가 없는 친환경적인 식품으로 보고되고 있다³⁻⁵⁾. 또한 곤충은 가축에 비해 사육 면적이 좁아 토지 이용 효율이 높으며, 한 번에 알을 수십 개에서 수백 개 낳으며, 1년에 여러 번 세대가 순환되므로 빠른 기간에 대량 생산이 가능하다는 장점이 있다.

식용곤충은 식용을 목적으로 한 곤충으로 아시아, 유럽,

아프리카, 미주 등지에서 2,000여종에 가까운 곤충을 섭취하고 있다^{6,7)}. 식용으로 이용되는 곤충은 벌목(*Hymenoptera* spp.), 나비목(*Lepidoptera* spp.), 메뚜기목(*Orthoptera* spp.)과 흰개미목(*Isopetra* spp.) 등이 있다. 이러한 식용곤충은 일반적으로 조단백질 함량이 50~60% 정도로 매우 높게 함유되어 있는 단백질 공급원으로서의 중요성이 보고된 바 있고, 조지방 함량은 8.1~59%, 섬유소 함량은 4.9~12.1%, 그 밖의 풍부한 무기물과 비타민 B군 등을 함유하고 있어^{8,9)} 식품으로서 가치가 높다.

현재 국내에서 식품의약품안전처의 식품공전에 등록되어 식용으로 유통 및 판매가 가능한 곤충은 총 7종이다. 기존에 식용 가능한 곤충으로 예전부터 오랜 기간 식용하여 식품공전에 등재되어 있는 누에(*Bombyx mori* L.), 메뚜기(*Oxya japonica* Tungberg), 백강잠(누에 유충이 백강병균 *Beauveria bassiana* Vuill.의 감염에 의한 백강병으로 경직사한 몸체)이 있고, 최근 농촌진흥청에서 과학적 입증 을 거쳐 갈색거저리 유충(*Tenebrio molitor* L.), 흰점박이꽃무지 유충(*Protaetia brevitarsis* L.), 장수풍뎅이 유충(*Allomyrina dischotoma* L.)과 쌍별귀뚜라미(*Gryllus bimaculatus* L.)를 새로운 식품원료로 등록하였다¹⁰⁾. 현재 우리나라의 식용곤충 시장은 2015년 60억원에서 2020년에는 1,014억원으로 크게 증가할 것으로 예측하고 있으며¹¹⁾,

*Correspondence to: Sang-Mi Han, Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science 166, Nongsaengmyeong-ro Iseo-myeon Wanju-gun Jeollabuk-do, Korea
Tel: 82-63-238-2896, Fax: 82-63-238-3831
E-mail: sangmih@korea.kr

식용곤충을 이용한 다양한 요리법과 가공제품 등이 개발되고 있다.

서양종꿀벌(*Apis mellifera* L.)의 수벌은 일벌이나 여왕벌과 달리 외적을 방어하기 위한 벌침을 갖고 있지 않으며, 여왕벌과 교미하는 일 외에는 아무것도 안 하고 식량만 소비하기 때문에 수벌은 쓸모없는 존재로 알려져 있다. 그러나 수벌은 일본과 중국 등 아시아지역과 유럽 등지에서는 식용으로 사용되어 초콜릿, 제과, 주류 및 기능성식품의 원료로 사용되고 있으며 우리나라에서도 고문헌인 『신농본초경(神農本草經)』이나 『본초강목(本草綱目)』에 수벌을 섭취하였다는 기록이 남아있다^{12,13)}. 따라서 수벌은 식품원료로서 이용 가치가 높을 뿐 만 아니라 기능성식품으로 개발 가능성이 높다. 무엇보다도 수벌은 양봉농가에서 쉽게 생산 가능하며 생산방법이 확립되어 있다는 점에서 산업화하기에 경제성이 높다. 수벌의 성충은 여왕벌 보다는 체구가 작고, 일벌 보다는 2~3배 체구가 크다¹⁴⁾. 수벌은 일벌과 여왕벌과는 달리 성충까지 도달하는데 소요되는 시간이 긴데 유충은 3주 가량, 번데기는 2~3일 소요되어 4주 이후에 성충이 된다¹⁵⁾.

따라서 본 연구는 양봉농가에서 쉽게 생산할 수 있는 수벌번데기를 식품 소재화하기 위하여 식약처 「새로운 식품원료 안전성 평가 가이드라인」에 따라 수벌번데기 원료에 대한 유해미생물 및 곰팡이독소 검출 여부를 분석하여 새로운 식재료로써 안전하게 사용될 수 있는 기초 정보를 제공하고자 하였다.

Materials and Methods

실험재료

본 시험에 사용된 서양종꿀벌(*Apis mellifera* L.)의 수벌번데기는 충남 청양, 전북 김제, 경남 창녕의 양봉농가에서 2017년 5월에서 6월, 그리고 2018년 4월 중에 생산된 것을 사용하였다(Table 1, Fig. 1). 수벌번데기는 4월 이후 꿀벌이 번식하는 시기에 수벌번데기 전용 소비(벌집틀)를 벌통 안에 넣어 두었다. 이때 양봉농가에서는 벌꿀 채취를 위하여 꿀벌 수를 늘려야하기 때문에 벌통에 1개의 수벌번데기 전용 소비만을 넣어 두고, 6월 이후 벌꿀 채취

Table 1. Samples collected and tested in this study

Place	Sampling year	Number of sampling hives
Chungnam Cheongyang (CC)	2018	50
Jeonbuk Gimje (JG)	2018	10
Gyeongnam Changnyeong (GC)	2017	120
	2018	100

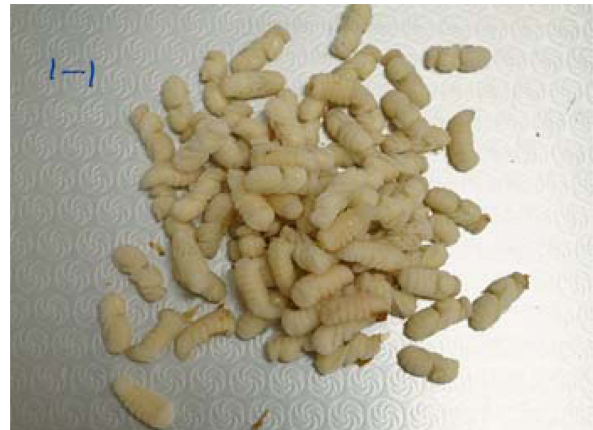


Fig. 2. Collected honeybee drone pupae.

가 끝난 시기엔 수벌번데기 소비를 늘려 수벌번데기 생산을 늘린다. 일반적으로 소비를 넣고 20일 이후 봉개 된 소비를 멸균된 칼로 베어낸 후 핀셋을 이용하여 수벌번데기를 꺼냈다(Fig. 2). 소비에서 수벌번데기를 채취 후 곧바로 액체질소에 넣어 운반하였으며 -20°C 냉동고에 보관하며 분석 시료로 사용하였다. 벌통에서 꺼낸 수벌번데기는 각각 다른 용기에 보관하여 시험에 사용하였다.

시료 전처리

-20°C에서 냉동 보관한 수벌번데기 시료를 실험에 사용하기 위해 각각의 소비를 동결건조 방법으로 전 처리하였다. 수벌번데기를 동결건조하기 위하여 동결건조기(SFDSM24L, Samwon Freezing Engineering Co.)에서 72 시간 동안 처리하였다. 전처리를 한 각각의 시료는 실험 전까지 -70°C에서 냉동보관 하였다.



Fig. 1. Collection process of honeybee drone pupa from bee hives. (A) drone pupa'comb take out in bee hives, (B) remove the honeybees from comb with brush, and (C) drone pupa's comb.

식중독 세균 분석

식중독 세균과 유해독소 잔류 여부는 한국기능식품연구원(성남, 한국)에 의뢰하여 분석하였다. 대장균군(Coliforms) 분석은 식품공전의 대장균군 BGLB (brilliant green lactose bile broth, Hardy diagnostics, CA, USA) 배지법에 따라 수벌번데기 25 g에 9배의 정제수를 넣고 균질화 한 후 균질액 1 mL를 BGLB 배지에 접종하고 36°C에서 48시간동안 배양한 다음 BGLB 배지(Hardy diagnostics, CA, USA) 가스의 발생여부에 따라 대장균군을 확인하였다. 살모넬라(*Salmonella* spp.) 분석 또한 식품공전의 살모넬라 분석법에 따라 수벌번데기 25 g에 9배의 펩톤수(pepton water)를 넣고 36°C에서 24시간동안 1차 배양한 후 배양액 0.1 mL를 10 mL Rappaport-Vassiliadis 배지에 접종하여 42°C에서 24시간동안 2차 배양하였다. 2차 배양액을 XDL (xylose lysine desoxycholate) agar에 접종한 다음 36°C에서 24시간동안 배양하여 배지에서 분홍색 집락형성 여부를 확인하여 살모넬라의 검출여부를 평가하였다. 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 분석은 식품공전의 황색포도상구균 정성시험법에 따라 10% 염화나트륨 용액을 첨가한 TSB (tryptic soy broth) 배지 225 mL에 수벌번데기 25 g을 넣고 36°C에서 24시간동안 배양하여 난황첨가 만니톨 식염천배지에 접종한 다음 다시 36°C에서 24시간동안 배양한 후 황색 불투명 집락을 나타내고 주변에 혼탁한 백색환의 집락형성을 확인하여 황색포도상구균의 검출여부를 판단하였다. 장출혈성대장균(*Enterohemorrhage Escherichia coli*) 분석은 식품공전의 장출혈성대장균 분석법에 따라 mTSB (modified tryptone soy broth) 배지 225 mL에 수벌번데기 25 g을 넣고 36°C에서 24시간동안 배양한 배양액 1 mL를 취하여 세척한 후 멸균증류수 200 μ L를 섞어 10분간 끓인 다음 원심분리하여 상등액 5 μ L를 주형 DNA로 사용하였다. PCR 분석은 VT1, VT2 프라이머를 사용하여 수행하였고 최종산물 반응액을 2% agarose로 전기영동한 다음 UV를 이용하여 반응생성물(VT1: 180 bp, VT2: 255 bp)을 확인하여 장출혈성대장균의 검출여부를 평가하였다.

곰팡이 독소인 아플라톡신(aflatoxin) 분석은 식품공전의 아플라톡신 분석법에 따라 추출, 정제, 유도체화 및 HPLC 분석을 통하여 아플라톡신 B₁을 확인하였다. 즉, 수벌번데기 25 g에 1% 염화나트륨 용액 100 mL을 첨가하여 균질화한 후 1% 트윈 20 용액을 가하여 추출하였고 추출액 20 mL를 면역친화성컬럼에 주입하여 해당 물질을 정제하였다. 컬럼 용출액은 트리플루오로초산을 가하여 유도체화한 후 아세토니트릴·물(80:20, v/v) 혼합액을 첨가한 다음 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과하여 HPLC 분석시료로 사용하였다. 아플라톡신 B₁의 HPLC-FLD (Agilent 1260) 분석은 검출파장 Ex = 360 nm, Em = 450 nm, 컬럼 C18 UG120 (Shiseido, 4.6 \times 250 mm, 5 μ m), 컬럼온도 40°C, 흐름속도 1.0 mL/min 및 주입량 20 μ L이었으며, 이동상은 아

세토니트릴(solvent A)과 물(solvent B)을 사용하여 0~5분까지 (A) 25%, 5~5.1분까지 (A) 25~30%, 5.1~12분까지 (A) 30%로 설정하였다. 오크라톡신 A (ochratoxin) 분석은 식품공전의 오크라톡신 A 분석법에 따라 수벌번데기 25 g을 아세토니트릴·물(60:40, v/v) 100 mL에 첨가하고 균질화한 다음 여액에 PBS를 혼합하여 면역친화성컬럼 크로마토그래피를 실시하고, 용출액을 질소농축한 후 아세토니트릴·물·초산(99:99:2, v/v/v) 혼합용액 1 mL을 첨가하여 분석시료로 사용하였다. 오크라톡신 A의 HPLC-FLD (Agilent 1260) 분석은 검출파장 Ex = 333 nm, Em = 460 nm, 컬럼 C18 UG120 (4.6 \times 250 mm, 5 μ m), 컬럼온도 40°C, 흐름속도 1.0 mL/min 및 주입량 40 μ L이었으며, 이동상은 아세토니트릴·물·초산(99:99:2, v/v/v) 혼합용액을 사용하였다. 데옥시니발레놀(Deoxynivalenol) 분석은 식품공전의 데옥시니발레놀 분석법에 따라 수벌번데기 20 g을 아세토니트릴·메탄올·물(25:25:50, v/v/v) 100 mL에 첨가하고 균질화한 다음 원심분리하여 상등액을 정제용컬럼에 주입하고 물로 세척한 후 아세토니트릴로 용출시켰다. 수집한 용출액은 질소로 농축하고 아세토니트릴·물 혼합액 1 mL를 가하여 녹인 후 여과한 것을 분석시료로 사용하였다. 데옥시니발레놀의 HPLC-DAD (Agilent 1260) 분석은 검출파장 220 nm, 컬럼 C18 UG120 (4.6 \times 250 mm, 5 μ m), 컬럼온도 40°C, 흐름속도 0.7 mL/min 및 주입량 40 μ L이었으며, 이동상은 아세토니트릴(solvent A)과 물(solvent B)을 사용하여 0~4분까지 (A) 10~20%, 4~20분까지 (A) 20%로 설정하였다. 제랄레논(Zearalenone) 분석은 식품공전의 제랄레논 분석법에 따라 수벌번데기 25 g을 염화나트륨 2 g, 트윈 20 1 mL 및 추출용액 100 mL를 첨가하고 균질화한 다음 원심분리하여 상등액을 정제용컬럼에 주입하고 물로 세척한 후 메탄올로 용출시켰다. 수집한 용출액은 질소로 농축하고 아세토니트릴·메탄올·물(10:55:35, v/v/v) 혼합액 1 mL를 가하여 녹인 후 여과한 것을 분석시료로 사용하였다. 제랄레논의 HPLC-FLD (Shiseido Nanospace SI-2) 분석은 검출파장 Ex = 275 nm, Em = 450 nm, 컬럼 C18 UG120 (4.6 \times 250 mm, 5 μ m), 컬럼온도 40°C, 흐름속도 1.0 mL/min 및 주입량 20 μ L이었으며, 이동상은 아세토니트릴·메탄올·물(10:55:35, v/v/v) 혼합액을 사용하였다.

Results and Discussion

식중독 세균 오염도 조사

새로운 식품원료로 사용하기 위해서는 유해 미생물로 대장균군, 살모넬라, 황색포도상구균 및 장출혈성대장균이 검출되어서는 아니 된다. 그러나 아직까지 곤충을 식품원료로 사용하기 위한 유해 미생물의 종류와 기준은 마련되지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 유해 미생물이

Table 2. Foodborne Pathogen contents of honeybee drone pupas collected from Korean apiary

Bacteria samples	Coliforms	Salmonellae spp	<i>S. aureus</i>	Enterohemorrhage <i>E. coli</i>
CC ¹⁾ (n ⁵⁾ = 50)	ND ⁶⁾	ND	ND	ND
JG ²⁾ (n = 10)	ND	ND	ND	ND
17 GC ³⁾ (n = 120)	ND	ND	ND	ND
18 GC ⁴⁾ (n = 100)	ND	ND	ND	ND

¹⁾CC: Chungnam Cheongyang²⁾JG: Jeonbuk Gimje³⁾17 GC: Gyeongnam Changnyeong, sampling year is 2017⁴⁾18 GC: Gyeongnam Changnyeong, sampling year is 2018⁵⁾n is sampling number of bee hives⁶⁾ND : Not detected**Table 3.** Mycotoxins contents of honeybee drone pupas collected from Korean apiary

Mycotoxins Samples	Aflatoxin	Ochratoxin	Deoxynivalenol	Zearalenone
CC ¹⁾ (n ⁵⁾ = 50)	ND ⁶⁾	ND	ND	ND
JG ²⁾ (n = 10)	ND	ND	ND	ND
17 GC ³⁾ (n = 120)	ND	ND	ND	ND
18 GC ⁴⁾ (n = 100)	ND	ND	ND	ND

¹⁾CC: Chungnam Cheongyang²⁾JG: Jeonbuk Gimje³⁾17 GC: Gyeongnam Changnyeong, sampling year is 2017⁴⁾18 GC: Gyeongnam Changnyeong, sampling year is 2018⁵⁾n is sampling number of bee hives⁶⁾ND : Not detected

수벌번데기에서 검출되는지를 평가하고자 하였다.

수벌번데기를 새로운 식품원료로 사용하기 위하여 유해 미생물인 대장균군, 살모넬라, 황색포도상구균 및 장출혈성대장균의 검출 여부를 확인한 결과 모두 검출되지 않았다(Table 2). 모든 시료에서 대장균군, 살모넬라, 황색포도상구균 및 장출혈성대장균이 검출되지 않은 것으로 확인되어 수벌번데기의 생산 단계에서 유해 미생물의 감염은 안전한 것으로 사료된다. 이는 기존의 봉개 된 벌집은 무균상태로 유지된다는 보고와 일치하는 것으로 확인되었다. 수벌번데기는 봉개 된 소비를 칼로 베어 깨끗한 비닐 팩에 옮겨 곧바로 냉동보관 하는 과정에서는 유해 미생물의 감염에 안전한 것으로 확인되었다.

곰팡이독소 오염도 조사

우리나라에서 곤충을 식품원료로 사용하고자 하는 연구는 2010년 이후 시작하여 현재 4종의 곤충만이 식품원료로 등록되었으며 곤충을 식품원료로 등록하기 위해서는 안전성 등 많은 연구와 자료 수집이 필요한 실정이다. 곤충을 식품원료로 등록하는 데 있어 유해물질에 대한 규정이나 기준치 등이 아직까지 명확히 설정되어 있지 않은 상태이다. 꿀벌의 수벌은 로열젤리와 화분 그리고 벌꿀이

먹이원으로서 자연에서 얻어지는 천연물이다. 그러나 밀원 상태가 좋지 않고 많은 먹이원이 필요할 경우엔 천연 화분이 아닌 대용화분으로 사육하는 경우도 일부 있을 수 있기 때문에 곰팡이독소에 대한 안전성도 평가하고자 하였다.

그 결과 검사한 모든 시료에서 어떠한 곰팡이독소도 검출되지 않았다(Table 3). 건전한 꿀벌의 벌통은 무균상태를 유지하는 것으로 알려져 있는데 꿀벌이 식물로부터 채집한 강력한 살균 및 방부효과를 갖는 프로폴리스를 사용하여 벌집의 출입구와 빈틈을 메워서 벌집 내부를 보강하여 벌집속을 무균상태로 만들어 유해한 미생물의 침입을 방지한다고 알려져 있다¹⁶⁾. 본 연구에서도 벌집 속에서 채집한 수벌번데기로부터 세균 및 곰팡이 오염이 관찰되지 않았는데 이는 선행연구의 결과와 일치하였다. 하지만 단백질, 아미노산 등 다양한 영양성분을 지닌 수벌번데기의 보관 및 유통 상태에 따라 세균과 곰팡이 오염은 피할 수 없을 것으로 생산 이후 보관과 이동 시에 미생물 오염 방지를 위한 청결과 냉동상태 유지가 중요하리라 생각된다. 따라서, 향후 보관 기간과 이동 방법에 따른 유해 미생물 오염도를 비교 관찰할 필요가 있다.

Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청 농업기초기반연구(과제번호: PJ01314202)에 의하여 수행되었으므로 감사를 드립니다.

국문요약

본 연구에서는 양봉농가에서 대량 생산이 가능하고 영양이 풍부한 꿀벌 수벌번데기를 새로운 식품원료로 사용하기 위하여 유해 미생물과 곰팡이독소에 대한 안전성 시험을 수행하였다. 검사 시료는 국내 3지역의 양봉농가에서 직접 생산한 수벌번데기를 채취 후 곧바로 냉동 운반하여 동결건조하여 사용하였다. 식품공전 시험법에 따라 대장균군(Coliforms), 살모넬라(*Salmonella* spp.), 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 및 장출혈성대장균(*Enterohemorrhage Escherichia coli*)에 대한 검출 여부를 조사한 결과 280개의 벌통에서 채취한 수벌번데기 전부에서 전혀 검출되지 않았다. 또한 곰팡이 독소인 아플라톡신 B₁ (aflatoxin), 오크라톡신 A (ochratoxin), 데옥시니발레놀 (deoxynivalenol) 그리고 제랄레논(zearalenone)이 수벌번데기에서 전혀 검출되지 않았다. 따라서 벌통 내 소비에서 채취하여 곧 바로 냉동보관 한 수벌번데기는 유해 미생물과 곰팡이 독소로부터 안전한 것으로 확인되어 식품원료로 사용이 가능할 것으로 사료된다.

Reference

1. Alston J.M., Beddow J.M., Pardey P.G.: Agricultural research, productivity, and food prices in the long run. *Science*, **325**, 1209-1210 (2009).
2. Van Huis A., Van Itterbeeck J., Klunder H., Mertens E., Halloran A., Muir G., Vantomme P.: Edible insects: future prospects for food and feed security. No. 171. Food and agriculture organization of the United nations (FAO). Rome, Italy (2013).
3. FAO. Edible Forest Insects. Human bite back. Rome (2013).
4. Oonincx D.G.A.B., Van Itterbeeck J., Heetkamp M.J.W., Van den Brand H., Van Loon J.J.A.: An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insect species suitable for animal or human consumption. *PLoS one*, **5**, e14445 (2010).
5. Yates-Doer E.: The World in a Box? Food Security, Edible Insects, and “One World, One Health” Collaboration. *Soc. Sci. Med.*, **129**, 106-112 (2015).
6. MacEvilly C.: Bugs in the system. *Nutr. Bull.*, **25**, 267-268 (2000).
7. Ramous-Elorduy J.: Anthro-po-entomophagy: cultures, evolution and sustainability. *Entomol. Res.*, **39**, 271-288 (2002).
8. Bukkens S.G.F.: The nutritional value of edible insects. *Ecol. Food Nutr.*, **36**, 287-319 (1997).
9. Pemberton R.W.: The use of the Thai giant waterbug, *Lethocerus indicus* (Hemiptera: Belostomatidae), as human food in California. *The Pan-Pacific Entomologist*, **64**, 81-82 (1988).
10. Baek M., Hwang J.S., Kim M.A., Kim S.H., Goo T.W., Yun E.Y.: Comparative analysis of nutritional components of edible insects registered as novel foods. *J. Life Sci.*, **27**, 334-338 (2017).
11. Ministry of agriculture, food and rural affairs. “Agriculture, food and rural affairs statistics yearbook”. Korea (2017).
12. Winston M.L.: The Biology of the Honey Bee. Harvard University Press, (1991).
13. Kim B.H., Yoo Y.W., Park S.J., Song W.J., Shin J.N., Oh D.H., Woo G.Y., Lee G.W., Jang Y.D., Jo G.Y., Jo S.G., Choi G.S.: Apiology. Sunjin, Seoul, Korea (1996).
14. Do H.G.: Shinnongbonchogyong. Eui Seong Dang Publishing Co., Korea (2003).
15. Lee S.J.: Compendium of Materia Medica. People’s Medical Publishing House Co., LTD, China (1950).
16. Ghisalberti E.L.: Propolis: a review. *Bee World*, **60**, 59-84 (1979).