

牛乳의 殘留抗生物質에 關한 研究

金 教 準

忠南大學校 農科大學 畜產學科

緒 論

Fleming에 의하여 1929년에 penicillin이 發見된 以後로 各種抗生物質이 發見되어 治療는 勿論 家畜의 發育과 產卵促進 및 細菌性疾病의 豫防等 多方面으로 그 利用度가 높아지고 있으나 이의 濫用과 誤用 또한 增加하고 있어 이들이 牛乳 및 肉質에 移行殘留^{4,6,12)}하게 되어 食品公害가 크게 問題視되고 있다. 外國에서는 이 方面의 研究가 活發히 進行되고 있어 下村¹⁹⁾에 의하면 乳房炎을 治療하기 爲해서 投與된 抗生物質이 體內를 循環하여 그 一部가 乳汁中에 移行한다고 하였으며 Hammer 및 Babel⁹⁾은 投與후 적어도 3日 以上은 乳汁으로 排出이 繼續된다고 하였고 이들이 含有된 牛乳는 乳酸菌의 發育을 阻害 또는 抑制하여 酪農經營上 막대한 損失을 가져온다고 하였다⁹⁾. 그리고 家畜에 投與한 抗生物質이 人體에 藥物過敏症의 原因이 되어 公衆衛生에 미치는 影響에 對한 報告가 있으며 抗生物質을 長期間 服用하게 되면 腸內細菌이 死滅하거나 또는 耐性이 생겨 醫療界에서 重大視하고 있다^{7,19)}.

우리나라에서는 이 方面에 關한 報告가 적으므로 이들의 移行殘留相을 究明하기 爲하여 常用되는 抗生物質(單一劑)를 投與하여 搾乳時別로 그 消長을 觀察하고 治療法을 改善하여 公衆衛生과 酪農發展에 寄與코자 本大學 附屬牧場의 乳牛들을 對象으로 1972年 3月부터 同年 11月까지 實施한 實驗成績을 報告하는 바이다.

材料 및 方法

試驗動物: 忠南大學校 農科大學 附屬牧場에서 飼育하고 있는 乳牛(Canada에서 導入한 Holstein種) 總 36頭를 供試하였으며 泌乳量에 따라서 A群(15~20kg/day)과 B群(5~10 kg/day)으로 나누었다.

試驗用抗生物質의 投與方法 및 投與量: 試驗에 使用된 抗生物質과 投與方法 및 投與量은 다음 表와 같다.

試驗牛乳의 採取 및 取樣: 抗生物質 注入後 12時間 間隔으로 (1日 2回) 搾乳하여 -20°C의 冷凍器에 凍結保

Table 1. Dosage of Antibiotics and Method of Administration

Antibiotics Method of Administration	Penicillin	Streptomycin	Chloramphenicol
Intramuscular Injection	18, 000IU/kg	20μg/kg	20μg/kg
Intramammary Infusion	400, 000IU	1, 000, 000μg	1, 500, 000 μg

存하여 2時間以內에 使用하였다.

抗生物劑 定量法: 1) Cylinder plate assay法(F.D.A⁵⁾ 및 日本動物用 抗生物劑 檢定基準 農林省告示¹⁰⁾을 使用하였다. 2) 試驗菌으로서는 *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538, penicillin用), *Bacillus subtilis*(ATCC 6673, streptomycin用) 및 *Sarcina lutea*(ATCC 9341, chloramphenicol用)를 使用하였고 培地는 다음 표와 같이 製作하여 基層培地 10ml, 種層培地 4ml를 取하고 試驗菌은 使用前에 37°C에서 18~20時間 培養하여 種層培地에 0.5% 添加하였다. (streptomycin에 對하여는 *Bacillus subtilis* 芽胞液 1,000萬/ml) 3) 試料調劑 및 培養은 各群마다 3頭씩 搾乳하여 均等하게 混合한 牛乳를 抗生物劑에 汚染되지 않은 稀釋用乳로서 1:3의

Table 2. Medium Number and Their Composition¹⁶⁾

Medium No.	5. (Penicillin)	3. (Streptomycin)	1. (Chloramphenicol)
Pepton	6.0 g	5.0 g	10.0 g
Meat X	1.5	3.0	5.0
Yeast X	3.0	—	—
Glucose	1.0	—	—
Sodium Chloride	—	—	2.5
Agar	15.0	15.0	15.0
Distilled Water	1,000	1,000	1,000
pH	6.5±0.1	8.0±0.1	5±0.1

比率로 稀釋하고 對照로 使用할 抗生劑 penicillin 과 chlorom phenicol 은 3號緩衝液¹⁶⁾으로 streptomycin 은 4號緩衝液으로 稀釋하여 試驗乳의 推定單位에 알맞게 低稀釋液과 高稀釋液을 만들었으며 各試料마다 petri dish 5個를 取하고 1個의 petridish에 4個의 圓筒(cylinder)을 基準法에 의하여 低, 高 稀釋別로 서로 對置하게 일정한 높이(1.27cm)에서 落下시켜 接着시키고 試料과 抗生劑를 圓筒內에 注意하여 充塡하였다.

培養은 35~37°C에서 16~18時間 培養한 後 發育阻止圓의 直徑을 各各 0.5mm까지 正確하게 計測하였다.

4) 試料의 力價計算 및 判定은 常用標準 抗生劑의 力價에 對한 試驗乳의 力價의 比는 다음 式에 의하여 計算하였다⁴⁾.

$$\frac{(a+b)-(b+d)}{(a+b)-(b+d)} \times \log_x$$

x: 低稀釋液에 對한 高稀釋液의 稀釋度의 比

a: 試料의 低稀釋液

b: 試料의 高稀釋液

c: 常用標準 抗生劑의 低稀釋液

d: 常用標準 抗生劑의 高稀釋液

結 果

Penicillin 에 對한 成績: 筋肉注射區의 成績은 第1圖에서 보는 바와 같이 A, B群 다같이 抗與後 8時間에서 가장 높은 濃度(0.09, 0.082 IU/ml)이었고 60時間以後는 痕跡이 認定될 程度였으며 그 以後에는 檢出되지 않았다. 乳房注入區의 成績은 第2圖에서 보는 바와 같이 注入後 12時間에서 A群은 102.36 IU/ml 이고 B群은 113.04 IU/ml 로서 가장 높은 濃度를 보였고 84時間 以後는 痕跡만 남았다.

他房移行 試驗에 있어서는 注入乳房(右前房) 以外の 各房間에는 別로 뚜렷한 差異가 없었기 때문에 3個의 他乳房乳를 混合乳로 하여 檢査한 結果 다 같이 36時間 以後에는 注入乳房과 近似한 濃度의 penicillin이 檢出되었다.

Streptomycin에 對한 成績: Streptomycin 은 筋肉內에 注射하였을 경우 初回부터 檢出되지 않았다. streptomycin의 所在를 究明하기 위하여 每搾乳時에 血液과 尿를 採取하여 調査한 結果 血清에서 1回부터 檢出되어 48時間에서 痕跡만 남았고 尿檢査에서는 12時間에서 높은 濃度(500μg/ml)가 檢出되어 約 48時間까지 持續되었다.

乳房內注入區의 成績은 第3圖에서 보는 바와 같이 A, B群(81.3, 113.0μg/ml)에서 다 같이 높은 濃度의

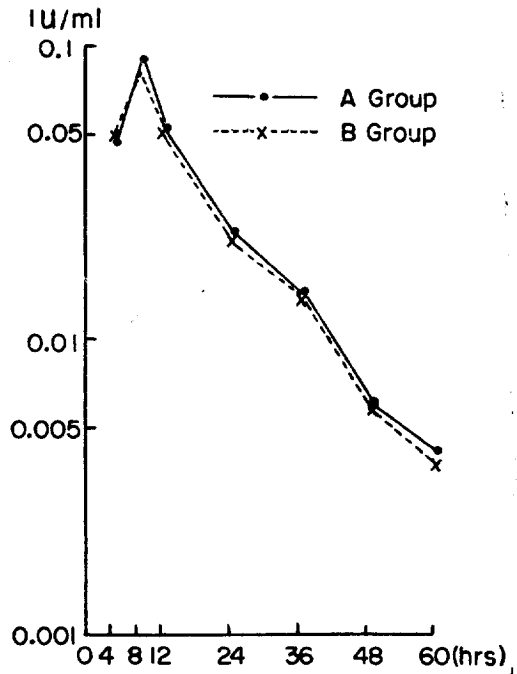


Fig. 1. Contents of penicillin in milk after injection into the muscle (18,000IU/kg)

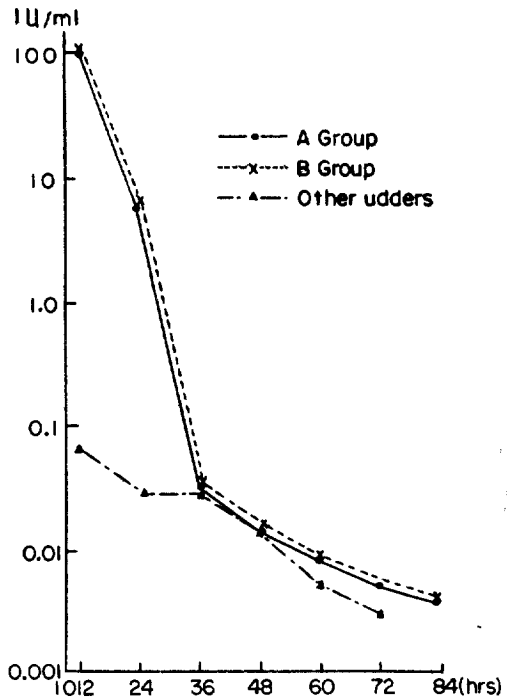


Fig. 2. Contents of penicillin in milk after infusion into the udder (400,000 IU/udder)

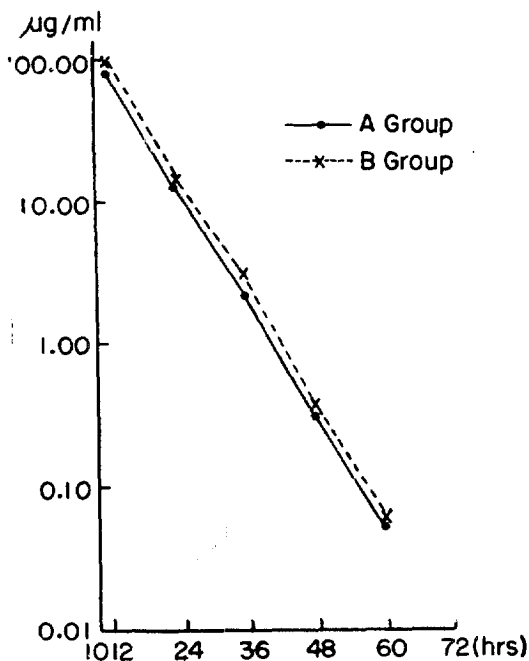


Fig. 3. Contents of streptomycin in milk after infusion into the udder (1,000,000µg/udder).

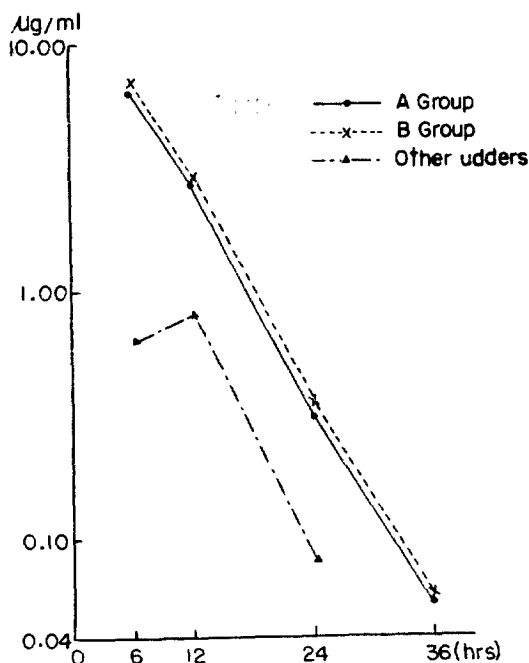


Fig. 4. Contents of chloramphenicol in milk after infusion into the udder(1,500,000µg/udder).

streptomycin이 검출되었으며次回부터는急速度로低下하여 72時間以後는痕跡만이認定되었다. 그리고

他房移行에對하여는搾乳即時混合乳로하여數회에 걸쳐實施하였으나全然檢出되지 않았다.

Chloramphenicol 에對한成績(乳房內注入) : 第4圖에서 보는바와 같이 注入後 6時間에 A.B群(6.49, 7.19µg/ml)에서 다 같이 가장 높은濃度였고 36時間까지檢出되었으며 이것도 penicillin, streptomycin 乳房注入區와 같이 B群에서 더 많은量이檢出되었으며 他房移行에 있어서도 24時間까지檢出되었다.

考 察

Penicillin 試驗成績에對한考察 : 第1圖에서 보는바와 같이 本試驗에서 사용한水溶性 penicillin 은筋注後 8時間에서 最高乳中濃度(0.09IU/ml)였는데 Schipper¹⁰⁾는水溶성과油性(落花生油)은乳中濃度에 있어大差가 없었고 penicillin-G 900萬單位를 1回筋注한後 8時間에서 0.319IU/ml를檢出하였다고報告하였다. 本試驗에서는乳中持續時間이 60時間이었는데 Cannon 및 Hawkin³⁾은油性 penicillin 을使用하였을 때 96時間까지檢出할 수 있었다고 하였다.

Cylinder plate assay 法의 경우 最低檢出濃度는 本試驗에서 0.0038IU/ml 에比하여 Cannon 및 Hawkin³⁾은 0.0063IU/ml 를, Blobel²⁾은 0.0045IU/ml 를檢出하였다고報告하여 비슷한結果를 나타내었다.

第1圖에서 보는바와같이 A.B群 다 같이 24時間에서 乳酸菌의發育을抑制할 수 있는濃度(0.02~0.05 IU/ml)이므로筋注後 24時間까지의濃度로서 이것이混合乳境遇 牧場生産乳를汚染시킬 수 있을 것으로 생각한다. Cannon 및 Hawkin³⁾과 欄山¹⁴⁾은泌乳量에 따른各群間에 아무런差異가 없다고 하였으나 Blobel²⁾, 松元 및 中材¹⁵⁾와 吉田等²⁰⁾은乳體의個體와泌乳量에 따라乳中 penicillin 濃度和密接한關係에 있으며泌乳量과濃度が逆比例한다고 하였다. 本試驗에서도泌乳量이 다른 A,B群間에有意성이認定되어 (P < 0.05) Cannon 및 Hawkin³⁾과 欄山¹⁴⁾의成績과相反되어있으나 Schipper¹⁰⁾가筋肉注入區보다乳房注入區에서殘留時間이 더延長되었다는報告와는一致되었다. 他房移行에 있어서는 72時間까지持續하여 松元 및 中材¹⁵⁾가報告한他房移行이 없었다는成績과는相反되었다. Terplan 및 Zaadhof¹¹⁾에 의하면 Thome(1952)과 Overby(1954)는乳酸菌 및 starter 이發育抑制濃도가 *Streptococcus thermophilus*에서 0.025~0.05IU/ml 라고報告하여 이에 따르면 本試驗의乳房注入區에

서는 48時間까지 他房移行에서는 36時間까지 乳酸菌과 starter의 發育이 抑制될 것으로 생각한다.

人體에 對한 副作用에 關하여 Terplan 및 Zaadhof¹¹⁾에 의하면 Yearly(1966)는 牛乳中の 抗生劑가 健康에 큰 異常이 없다고 하였으나 Weich (1957), Vicker (1958)는 penicillin이 含有한 牛乳를 飲用하면 蕁麻疹, 濕疹 또는 甚한 allergy를 일으킨다고 하였고 Vicker가 말한 問題의 牛乳는 4.0IU/ml의 penicillin이 含有되었다고 하였으며 shock發生은 100萬에 한번 程度이며 致死率은 10%였다고 하였고 또한 腸內細菌의 耐性으로 因하여 病原性에 對한 變化와 Vitamin合成 障害등도 있다고 하였으므로 이에 對하여는 過視할 수 없는 問題들이라고 하겠다.

Streptomycin 試驗成績에 對한 考察 : Streptomycin은 初回부터 全然 檢出할 수 없었으며 數次의 反復과 常用單位 以上을 注射하였으나 檢出할 수 없었으므로 血液(血清) 및 尿를 採取하여 檢査한 結果 乳房으로 移行하는 傾向은 적고 血液을 거쳐 尿中으로 排出되는 것을 알게 되었으므로 乳房炎, 乳房結核等の 治療에 있어 streptomycin을 注射하는 것은 考慮할 問題라고 생각한다. 小野¹⁷⁾에 의하면 Siddigie (1965)등은 11.0mg/kg을 소에 注射한 12時間後에 檢査한 結果 半數가 陰性이었으며 streptomycin 單獨으로는 全身療法을 期待할 수 없었다는 것과 本試驗 結果와 一致하였다. 어떠한 臟器에 特異적으로 移行하는 點에 對하여는 좀더 究明해야 할 課題라 하겠다. 小野¹⁸⁾에 의하면 Hammond(1953)는 牛에서 11.0~15.0 mg/kg을 筋肉注射한 1時間後에 60.0 μ g/ml 以上の 血中濃度를 나타내었다고 하였고 一般적으로 알려진 有効 治療濃度를 0.3~5.0 μ g/ml라고 한다면 本試驗의 第3圖에서 보는 바와 같이 12時間後의 成績에서 10.0 μ g/ml 이므로 적어도 12時間 間隔으로 反復注射하면 充足한 것으로 생각된다. 尿에서 72時間까지 檢出이 可能하였음은 泌尿器系疾病의 治療에 効果의 일 것으로 생각한다. 第3圖에서 보는 바와 같이 乳房內注入後 48時間까지 乳中細菌의 抑制濃度인 0.2~5.0 μ g/ml를 維持하였고 乳房炎에 關係하는 細菌等の 發育抑制濃度인 2.5~15.0 μ g/ml는 36時間까지 可能하다고 본다. streptomycin도 penicillin의 경우와 같이 泌乳量이 적은 B群에 있어 더 많은 量이 檢出되어 12, 48時間에서 高度의 有意성이 認定되었고 ($P < 0.01$) 다른 時間에서도 各各 有意성이 認定되었다($P < 0.05$). 他房移行은 認定할 수 없었고 注入後 12時間에 檢査한 成績이므로 注

入後의 狀態를 論할 수 없으나 streptomycin은 그 濃度를 짧은 時間內에 組織에 分散할 수 있지만 細胞內에 浸透力이 微弱한 缺點의 特性이 作用하였으리라고 생각된다. 한편 人體에 상당히 敏感하여 大概의 境遇 濕疹이 發生하지만 allergy의 發生은 없었다고 Brehn (1966)은 報告하였다.

Chloramphenicol 試驗成績에 對한 考察 : Chloramphenicol을 乳房內(右前房)에 1.5g (1,500,000 μ g/udder)을 注入한 成績에서 泌乳量이 적은 B群에서 많은 量이 檢出되었으며 A, B群間에 有意성이 認定되었다($P < 0.05$). 他房移行에 있어서는 不過 24時間이었는데 이는 penicillin과 streptomycin과는 달리 吸收와 浸透力이 빠르고 各臟器에 移行이 容易하게 되며 生體內에서 不活化하게 되고 尿路를 通하여 不活化된 狀態로 排泄하는 藥理作用에 의한 것이라 생각된다. Terplan 및 Zaadhof¹¹⁾에 의하면 500mg/udder의 chloramphenicol을 乳房內에 注入한後 24時間에 檢出하지 못하였다고 하였는데 本試驗에서는 1,500mg/udder을 注入하여 24時間은 勿論 36時間까지 檢出할 수 있어 差異가 있었다. Marth(1959)등이 말한 乳酸菌發育抑制濃度가 *Streptococcus thermophilus*에서 0.05~0.1 μ g/ml 이라 하면 本成績에서는 36時間까지 이들의 發育을 抑制할 수 있을 것이며 混合乳로 할 境遇에는 더욱 큰 經濟的損失을 가져 올뿐 아니라 이를 連用하게 되면 胃腸障害와 nitrobenzen의 作用으로 骨髓에 毒性이 있어 造血機能에 障害가 있으므로 濫用은 考慮할 問題라고 하겠다.

結 論

搾乳中の 治療 및 其他의 目的으로 抗生劑를 濫用하고 있어 이것이 牛乳에 移行殘留하여 食品公害로서 公衆衛生에 沮害를 주고 있다. 常用抗生劑(單一劑)를 投與하여 乳汁中の 消長을 究明하기 爲하여 36頭에서 約 500檢體를 cylinder plate assay法에 의하여 試驗한 成績은 다음과 같다.

1. penicillin 筋注區에서 最長殘留 60時間이었고 乳房注入區에서 84時間, 他房移行은 72時間間까지 檢出되었으며 streptomycin 乳房注入區는 60時間까지 檢出되었으나 筋注區와 他房移行은 全然 檢出하지 못하였으며 chloramphenicol 乳房注入區에서 36時間, 他房移行은 24時間까지 檢出되었다.

2. penicillin, streptomycin, chloramphenicol의 乳房注入區에서는 泌乳量이 적은 B群에서 더 많은 量이 檢

出되었다.

3. streptomycin의 筋注區와 他房移行에 있어서는 檢出할 수 없었다.

4. 牛乳의 抗生劑 殘留에 있어서는 乳房內注入이 問題가 되므로 最小限 3日 以上の 出荷禁止와 乳房炎治療劑에 food blue를 添加하게 하는 制度的 措置가 必要하다고 思料된다.

參 考 文 獻

1. Blobel, H.: Concentration of penicillin. J.A.V.M.A., 1960. 137 : 110.
2. Blobel, H.: Penicillin in milk. J.A.V.M.A. 1962. 136 : 177.
3. Cannon, R.Y. and Hawkins, G. E.: Residues of antibiotic in milk. J. Dairy Sci. 1962, 45 : 769.
4. F.A.O./W.H.O.: Nutrition Meetings Report Series. 1969. 69 : 34.
5. F.D.A.: Complication of redulation for tests methods of assay and certification of antibiotics containing drugs. 1959.
6. Feagan, J.T.: The incidence of penicillin in Melbourne milk supply before and after the introduction of dye marking of penicillin preparation. Aust. J. Dairy Tech., 1964. 19 : 76.
7. Grossklaus, D.: Residues of antibiotic in milk. Dent. Tierarztt. Wochen Schy., 1967. 78 : 462.
8. Hammer, B.W. and Babel, F.J.: Bacteriology. 1957.

9. Neal, C.E. and Calbert, H.E.: TTC reduction test for penicillin in milk. J. Dairy Sci., 1965. 38 : 629.
10. Schipper, A; Modern veterinary practice red book. 1966.
11. Terplan, G. und Zaadho, K.J.: Zum Vorkommen und Nachweis von Hemmstoffen in der milkeine kurzer Übersicht. Milchwissenschaft. 1967. 22 : 764.
12. 이재영, 유제영 : 牛乳 및 乳製品에 含有되어 있는 Antibiotic Residues에 關한 調査 研究, 韓國畜産學會誌, 1972. 14 : 65.
13. 桐澤統 : 水性 procain penicillin의 血中及 び 乳中濃度につて. 日本獸醫學會誌. 1956. 3 : 5
14. 楠山永雄 : 牛乳의 藥物汚染에 關する一試例. 畜産の研究, 1971. 25 : 273.
15. 松元清信 · 中村久 · 根岸文佐 : 乳房內에 注入した 抗生物質의 乳汁內 消長につて. 獸醫畜産新報, 1971. 536 : 17.
16. 農林省 : 動物用抗生物質製劑檢定基準, 農林省告示 1582. 1970.
17. 小野活臣 : 畜産에 用ひられる 抗生物質とその特性. 畜産の研究, 1969. 24 : 1477.
18. 小野活臣 : 畜産에 用ひられる 抗生質質とその特性, 畜産の研究, 1969. 23 : 543.
19. 下村正己 : 牛質檢査의 意義 Dairy men. 1971. 8 : 8.
20. 吉田 · 桐澤 · 天野 : 乳房炎의 化學療法. 日本獸醫學會誌, 1953. 5 : 155.

Studies on Antibiotic Residues in Cow Milk

Kyo Jun Kim, D.V.M., M.S.

Department of Animal Husbandry, College of Agriculture, Choong Nam National University

Abstract

The antibiotics are usually used for the medical treatments or the other purpose for cow and almost of them are transferred to milk. Moreover a serious problems on public health are caused by misuse or overuse of antibiotics.

These studies were conducted to determine the rise and fall of antibiotics in the raw milk which is milked from the cow treated with antibiotics.

The number of samples examined were 500 which were taken from 36 cows, and the antibiotics in milk were detected by cylinder plate assay method.

The results were as follows:

1) When penicillin, chloramphenicol and streptomycin were infused into a udder, they were detected up to the period of 84 hours, 36 hours and 60 hours after injection in the milk from the same udder, however in the milk from the other udder streptomycin was not detected but penicillin and chloramphenicol were detected up to 72 hours and 24 hours after injection. When streptomycin and penicillin were injected intramuscularly, streptomycin was not detected in the milk but penicillin was detected up to 60 hours after injection.

2) When penicillin, streptomycin and chloramphenicol were infused into the udder, the lesser amount of milk was produced, the more antibiotics were detected in the milk.

3) It is necessary policy for the public health to inhibit to be sold the milk up to 3 days or more after the injection on antibiotics or to add food blue to mastitis drugs.