

市販牛乳中の殘留 Penicillin에 關한 實驗研究

서울대학교 保健大學院
姜 倫 馨 · 李 容 旭

A Study on Penicillin Residue In Market Milk in Seoul

Yoon Hyung Kang, Yong Wook Lee

School of Public Health, Seoul National University

= Abstract =

The study Was carried out to determine the residue concentrations of penicillin in Market milk samples collected from some of the retail shops located in Seoul City. During the period from June to September 1974, 160 milk samples were collected and examined, using the Filter Paper Disk Method, for Screening test and Quantitative test of penicillin residue.

The results obtained in the study were as follows:

1. Among the 160 Market Milk samples, 28 samples (17.5%) proved to contain some antibiotics residue.
2. In the case of the antibiotics residue positive milk samples, the rate of penicillin residue alone was 46.4% and the rate of the other antibiotics was 53.6%.
3. In the distribution of milk plants examined in relation to the antibiotics residue positive milk samples, it was shown that S.K.H. and M.Market Milk plants had 15.0, 17.5, 20.0 and 17.5 percent respectively.
4. According to the monthly distribution, the highest antibiotics residue positive rate (25.0% of the samples) was shown in the samples collected in August, and the next (20.0% of the samples) in July. While the samples collected in June and September 1974 Showed lower rates of 7.5% and 17.5% respectively.
5. The range of the residue concentration of penicillin in the positive milk samples were as follows:
 - a. 53.8% of the total samples were found in the lowest range of 0.02—0.05 IU/ml.
 - b. 30.8% of the total samples were found in the lower range of 0.05—0.1 IU/ml.
 - c. 7.7% of the total samples were found in the higher range of 0.1—0.2 IU/ml.
 - d. 7.7% of the total samples were found in the highest range of over 0.2 IU/ml.

緒 論

우리나라는 1960年 初期부터 第 1, 2次 經濟開發 5個 年計劃 以來 急速한 經濟成長과 아울러 國民의 營養狀

態도 好轉되어 왔다. 牛乳 및 乳製品의 境遇 1962年부 터 1968年까지 約 20倍의 消費向上을 나타내고¹⁾ 있는 反面 乳房炎의 發生은 1973年 一部地域의 乳牛 380頭 中 約 48.2%이었고 이들 中 原因菌株가 penicillin에 對해 抵抗성을 보인 것은 22.6%로서 높은 率을 나타

대고 있어²⁾ Penicillin의濫用이指摘되고 있는實情이다. Jepsen & Overby³⁾에依하면乳房炎治療時Penicillin을直接乳房內에50,000Units을注入시킨경遇72時間後에0.2Units가檢出되었고,100,000Units를注入시킨경遇에는0.5Units가檢出되었다고報告하였다.

우리나라畜産物加工處理法⁴⁾에依하면“乳에影響을주는藥劑를投藥 또는注射後3日以內의것은搾乳를禁止한다”고되어있다.이에外國에서는Penicillin이殘留된畜産食品이알레르기를일으키고人畜共通傳染病을일으키는細菌의耐性を높이는要因이되는것이아닌가하는疑問을가지고1968年FAO와WHO가共同으로開催한바있는食品添加物專門委員會에서檢討한事實로미루어보아서公衆保健上的問題點을가지고있다고볼수있다.

우리나라도食品衛生法⁵⁾에는“食品은抗生物質을含有하여서는아니된다.”라고規定하고있으나殘留抗生物劑의種類및그許容範圍,殘留抗生物劑의檢出法 등을指摘하지않은바,이에著者は市乳를對象으로殘留抗生物質의有無및殘留抗生物劑中Penicillin에對해서그殘留濃도를調査하였으며食品衛生行政에多少나마도움이될수있을가하여그結果를報告하는바이다.

實驗資料 및 方法

1. 實驗資料

1) 實驗對象

1974年6月부터9월까지서울地域에서市販되고있는牛乳를製造會社別,月別로購入하여試料로使用하였으며,檢出對象抗生物劑로서는penicillin에限하였다(Table 1).

Table 2. Milk Samples

| Milk Plant | Number of Sample | | | | Total |
|------------|------------------|------|------|------|-------|
| | Jun. | Jul. | Aug. | Sep. | |
| S | 10 | 10 | 10 | 10 | 40 |
| K | 10 | 10 | 10 | 10 | 40 |
| H | 10 | 10 | 10 | 10 | 40 |
| M | 10 | 10 | 10 | 10 | 40 |
| Total | 40 | 40 | 40 | 40 | 160 |

2) 供試菌株

國立保健研究院에서分讓받은Sarcina lutea, ATCC 9341을使用하였다.

3) 培地

實驗에使用된培地⁶⁾는다음과같다.

Table 2. The Media Used in the Studies were

Medium A

| | |
|-----------------|------------|
| Peptone | 6.0g |
| Beef extract | 1.5g |
| Yeast extract | 3.0g |
| Dextrose | 1.0g |
| Distilled Water | 1,000.0ml. |

(The autoclave for 15 minutes at 121°C.) pH 6.5

Medium B

| | |
|-----------------|-----------|
| Peptone | 6.0g |
| Beef extract | 1.5g |
| Yeast extract | 3.0g |
| Dextrose | 1.0g |
| Agar | 13.0g |
| Distilled Water | 1000.0ml. |

(The autoclave for 15 minutes at 121°C.) pH 6.5

4) Disk paper

Disk paper는直徑6mm, 두께1.1mm, 液體吸收度0.03ml 되게製作하여使用前抗生物質이없는것을確認後使用하였다.

5) Penicillin標準液

WHO의標準品Penicillin G (1667 IU/mg)을使用하여0.02 IU/ml, 0.05 IU/ml, 0.1 IU/ml, 0.2 IU/ml 되게調製하여Penicillin標準液으로서使用하였다.

6) Penicillinase標準液

菌發生阻止帶가Penicillin에依한것인지또는其他抗生物劑에依한것인지를確認하기위해서Penicillinase (Nutritional Biochemical Co.)를使用하여1,000 Units/ml 되게調製하여0.4ml를試料100cc에加해서試料1cc當40 Units 되게調製한後Penicillinase標準液으로서使用하였다.

2. 實驗方法

實驗方法은FDA⁷⁾와IDF⁸⁾의牛乳中の殘留Penicillin檢出法에依하였다.

1) 接種菌液의調製

供試菌株를Medium A (Table 2)에接種하여37°C에서18時間增菌培養한後Medium B (Table 2)에37°C에서18時間繼代한菌을다시Medium A에浮遊시켜Hitachi 624 Spectrophotometer로波長650 mμ, 透過度10%로均一하게浮遊시킨菌液을接種菌液으로하였다.

2) 平板의製作

Medium B를 內徑 8.5cm의 滅菌 petri dish에 4cc씩 分注하여 固히 48°C의 medium B 100cc에 接種菌液 0.5cc를 넣고 잘 混合한 菌液을 4cc 그 위에 分注하여 固히 다음 試料 및 Penicillin Control Disk paper를 그 위에 水平으로 놓고 (Fig. 1) 가볍게 누른 後 36±1°C에서 18時間 培養한 後에 菌 發育 阻止圓을 Zone Reader (Fisher)를 使用하여 읽은 다음 結果를 判定했으며 Screen Test (Fig. 1)에서 Penicillin陽性으로 判定된 試類에 對해서 penicillin定量實驗(Fig. 2)을 實施하였다.

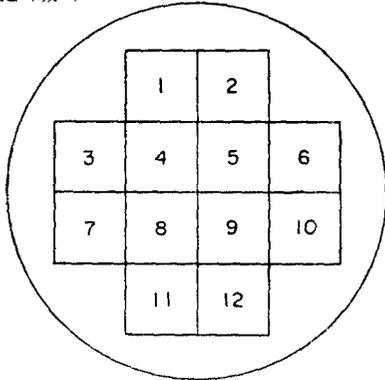


Fig. 1. Screening Test

- 1) Penicillin Control (0.5 IU/ml)
- 2) Milk K Penicillinase
- 3) Milk S Penicillinase
- 4) Milk S
- 5) Milk K
- 6) Penicillin Control (0.05 IU/ml)
- 7) Penicillin Control (0.05 IU/ml)
- 8) Milk H
- 9) Milk M Penicillinase
- 10) Penicillin Control (0.05 IU/ml)
- 11) Milk H penicillinase
- 12) Milk M

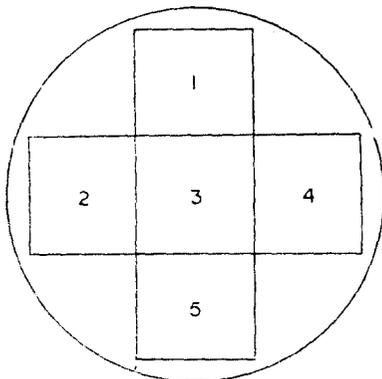


Fig. 2. Quantitative Test

- 1) Penicillin Control (0.02 IU/ml)
- 2) Penicillin Control (0.05 IU/ml)
- 3) Milk Sample (Screening test Positive)
- 4) Penicillin Control (0.1 IU/ml)
- 5) Penicillin Control (0.2 IU/ml)

3) 判 定

① 試料 Disk周邊에 供試菌의 成長을 表示하는 Turbidity Zone(混濁域)이 나타나면 抗生劑陰性(Antibiotics Negative)으로 判定

② 試料 Disk周邊에 供試菌의 成長阻止를 表示하는 Clarity Zone(鮮明域)이 나타나면 抗生劑陽性(Antibiotics Positive)으로 判定

③ Penicillinase Disk의 周邊에 Turbidity Zone이 나타나면 Penicillin의 殘留로 判定

④ Penicillinase Disk의 周邊에 Clarity Zone이 나타나면 Penicillin 以外的 其他 抗生物質이 存在하는것으로 判定하였다.

成績 및 考察

1. 市乳에서의 殘留 抗生物質

市乳를 對象으로 한 檢體 160件中 殘留 抗生物質에 對한 陽性乳는 28件으로 17.5%로 나타났는데 (Table 3) 이는 李(1971)¹⁰⁾가 서울市 地域을 對象으로 調査하여 報告한 21.0%와 李(1972)¹¹⁾가 報告한 44.33%보다는 낮은 成績이었고, 日本의 春田(1970)¹²⁾이 報告한 16.3%(8月)과 3.9%(10月) 보다는 높은 成績이었다. 抗生物質에 對한 陽性乳中에서 Penicillin 陽性乳는 46.4%, 其他 抗生物質 陽性乳는 53.5%로 나타났다. (Table 3) 이것은 乳房炎 治療에 使用하는 抗生劑中에서 混合劑를 많이 使用하는 傾向이 있는 것으로 생각된다.

製造會社別 殘留 抗生物質에 對한 陽性率은 S.가 15.0% K.가 17.5%, H.가 20.0%, M.가 17.5%로 나타났다. (Table 4)

殘留 抗生物質에 對한 陽性率을 月別로 보면 6월에 7.5%, 7월에 20.0%, 8월에 25.0%, 9월에 17.5%로 나타났다. (Table 5) 이는 日本의 春田(1970)¹²⁾이 報告한 結果中 8월이 10월보다 높은 成績과 類似하였다. (16.3% 3.9%)

2. Penicillin의 殘留濃度

殘留 Penicillin 陽性乳中에서 Penicillin 殘留濃度を 調査한 結果, Penicillin 陽性乳 13件中 0.02 IU~0.05 IU/ml가 7件으로 53.8%, 0.05 IU~0.1 IU/ml가 4件으로 30.8%, 0.1 IU~0.2 IU/ml가 1件으로 7.7%, 0.2

Table 3. Antibiotics Residue in Market Milk Samples

| Months | Milk Plants | Number of Samples | Antibiotics Positive | Penicillin Positive | Other Antibiotics |
|--------|-------------|-------------------|----------------------|---------------------|-------------------|
| Jun. | S | 10 | 1 | 0 | 1 |
| | K | 10 | 1 | 1 | 0 |
| | H | 10 | 1 | 1 | 0 |
| | M | 10 | 1 | 0 | 1 |
| Jul. | S | 10 | 2 | 1 | 1 |
| | K | 10 | 1 | 0 | 1 |
| | H | 10 | 3 | 1 | 2 |
| | M | 10 | 2 | 1 | 1 |
| Aug. | S | 10 | 1 | 1 | 0 |
| | K | 10 | 4 | 1 | 3 |
| | H | 10 | 2 | 2 | 0 |
| | M | 10 | 3 | 1 | 2 |
| Sep. | S | 10 | 2 | 1 | 1 |
| | K | 10 | 1 | 0 | 1 |
| | H | 10 | 2 | 1 | 1 |
| | M | 10 | 2 | 1 | 1 |
| Mean | | 160 | 28/160 (17.5%) | 13/28 (46.4%) | 15/28 (53.6%) |

Table 4. The Distributions of Antibiotics Residues in the Milk Plants.

| Milk Plants | Number of Samples | Antibiotics Positive | Rate |
|-------------|-------------------|----------------------|-------|
| S | 40 | 6 | 15.0% |
| K | 40 | 7 | 17.5% |
| H | 40 | 8 | 20.0% |
| M | 40 | 7 | 17.5% |

Table 5. The Monthly Distribution of Residual Antibiotics in Market Milk Samples

| Months | Number of Samples | Antibiotics Positive | Rate. |
|--------|-------------------|----------------------|-------|
| Jun. | 40 | 3 | 7.5% |
| Jul. | 40 | 8 | 20.0% |
| Aug. | 40 | 10 | 25.0% |
| Sep. | 40 | 7 | 17.5% |

IU/ml 이상이 1件으로 7.7%, 이었다(Table 6).

人體에 있어서 Penicillin의 使用 單位는 PenicillinG의 境遇 3時間 마다 10~100萬單位를 筋肉注射하거나, 또는 50萬單位를 1日 3回 經口 投與하는 것으로 되어 있는데¹³⁾ 牛乳中에 殘留하는 程度의 적은 濃度에서는

毒性反應이 거의 없다.¹⁴⁾ 그러나 牛乳中에 殘留되어 있는 微量의 Penicillin은 이것에 敏感한 사람을 感作시켜서 Penicillin을 投與하게 될 境遇에는 重大한 過敏症이 일어나게 될 可能性이 있다.¹⁵⁾ 또한 牛의 乳房炎 治療에 使用된 Penicillin이 이것에 對해 耐性을 가진 病原性菌의 態를 드와서 牛乳中에 混入시킬 危險性에 對해서 警戒하지 않으면 안된다¹⁴⁾. 또한 牛乳 處理中에 抗生劑에 對한 破壞 可能性에 對해서는 現在 牛乳 處理場에서 使用되는 高溫 短時法(161°F 15초)으로서의 抗生物質을 破壞하는 데는 아무런 影響을 주지 못하므로¹⁶⁾ 一旦 抗生劑가 混入된 牛乳에 있어서는 抗生劑의 殘留는 不可避하다. 李等¹⁷⁾에 依하면 Penicillin을 20,000IU/kg되게 乳牛의 筋肉內 注射時 96時間 後에도 0.035~0.040 IU/ml가 牛乳에 殘留하였고, 600,000 IU/頭를 乳房內 注入하였을 때 96時間 後에 비로

Table 6. Residual Concentration of Penicillin in the Penicillin Positive Milk Samples

| Milk Plants | Concentration | | | |
|-------------|-------------------|------------------|-----------------|----------------|
| | 0.02IU-0.05 IU/ml | 0.05IU-0.1 IU/ml | 0.1IU-0.2 IU/ml | Over 0.2 IU/ml |
| S | 2 | 1 | — | — |
| K | 2 | 1 | — | — |
| H | 2 | 1 | 1 | — |
| M | 1 | 1 | — | 1 |

소 完全히 消失되었다고 한 點으로 미루어 보아서 正常 牛乳가 生産되자면 畜産關係人들에 對한 徹底한 啓蒙이 必要할 것 같으며, 日本에서는 動物用 抗生劑를 着色하여 牛乳中에 抗生劑의 殘留를 肉眼의 識別하고자 Penicillin製劑에 色素 Brilliant Blue를 混入하는 方法이 1970年부터 實用化되고 있어¹⁷⁾ 우리나라에서도 動物用 抗生物質 製劑 基準에 對한 補充이 必要할 것으로 생각된다. 또한 食品衛生法中 “食品 等の 規格 및 基準” “食品 一般에 對한 規格 및 基準”에 「食品은 抗生物質을 含有하여서는 아니된다」라고 規定되어 있는데⁶⁾ 여기서의 抗生物質의 定義를 明確히 해야만 될 것으로 생각된다. 이는 「廣義의 抗生物質¹⁸⁾이 아니라, 醫藥品으로서 收錄되어 있는 抗生劑에 對해서 食品中 殘留를 規制한다.」¹⁹⁾라고 해야 될 것으로 思料된다. 이미 外國의 境遇에는 化學的²⁰⁾ 및 微生物學的^{8,9,19,21)} 檢出法이 檢討되어 實現되고 있는 段階이므로 우리나라에서도 좀 더 깊은 研究가 進行되어 Penicillin 및 其他 抗生劑에 對한 檢出法의 確立이 時急하다고 思料된다.

總括 및 結論

1974年 6月부터 同年 9月까지 서울地域에서 市販되

고 있는牛乳를 對象으로 殘留 Penicillin의 有無 및 그 濃度를 調査하였던 바 그 結果는 다음과 같다.

1) 市販되는 市乳에 對한 抗生物質 殘留 陽性率은 17.5%이었다.

2) 抗生物質 殘留 陽性乳中 Penicillin 陽性率은 46.4%이며, 其他 抗生物質陽性率은 53.6%이었다.

3) 製造會社別 抗生物質 殘留 陽性率은 S.는 15.0% K.가 17.5%, H.가 20.0%, M.가 17.5%이었다.

4) 月別 抗生物質 殘留 陽性率은 6月이 7.5%, 7月이 20.0%, 8月이 25.0%, 9月이 17.5%이었다.

5) Penicillin 陽性乳中 그 濃度를 測定한 結果는 0.02 IU~0.05 IU/ml가 53.8%, 0.05 IU~0.1 IU/ml가 30.8%, 0.1 IU~0.5 IU/ml가 7.7%, 0.2 IU/ml 以上이 7.7%이었다.

參 考 文 獻

- 1) FAO 한국협회 : 식량농업백서, 11970~1971,
- 2) Lee, H.S. Seok, H.B, Jeon, K.H, & Kang, Y.B.: *Studies on Bacteriophage-Typing of staphylococcus isolated from Bovine Mastitis, The Research Reports of O.R.D., Vol. 15, Suwon Korea. pp. 31-38, 1973.*
- 3) Japsen L. & Overby F.V.: *Residues of Antibiotic in Milk Can, J. Comp, Med. Vet. Sci., Vol. 13 p. 127, 1949.*
- 4) 農水産部 : 農水産部令 第576號, 畜産物加工處理法 施行規則 第13條 第3項, 1974.
- 5) PAO Nutrition Meetings Report Series, No. 45 A. WHO/Food Add./69.34, 1969.
- 6) 保健社會部 : 保健社會部令 第376號, 食品等의 規格 및 基準 1971.
- 7) Hiro ASAKI and YUZO Nanayama: *Detection of Residual Antihbotics from slanghtered swine carcasses, J. Food. Hyg. Soc. Japan, Vol.14, No. 4, pp. 384-386, 1973.*
- 8) Arret, B. and Kirshbaum, A: *A Rapid Disk Assay method for Detecting Penicillin in milk, J. milk & Food Tech. 22, 329, 1959.*
- 9) Galesloot, T.E., .FHassiug: *Neth. Milk and Dairy. J., 16. 89, 1962.*
- 10) 이재영 : 牛乳中の 殘留 抗生劑, 建國大學校 畜産大學 略農學教室, 1972.
- 11) 이재진, 김덕원, 한대우 : 牛乳 및 乳製品中 抗生物質의 殘留量 調査, 農水産部, 家畜衛生研究所, 試驗研究報告書, pp. 195~202, 1972.
- 12) 春田 三佐夫 : 牛乳中の 殘留 抗生物質 檢査法, *media circle, pp. 6-16, 1971.*
- 13) 藥物學分科會 : 藥物學 pp. 342-350 東明社, 1969
- 14) I.D.F: *FIL-IDF-III, Dec. 41, Vol. 3, 1967.*
- 15) 李長洛 : 설폰어마이드劑와 抗生物質, pp. 35-55, 民衆書館, 1960.
- 16) Martin, J.H. & Harper, W.J.: *Factors affecting the loss of antibiotics activity in milk, Antibio. Ann. pp. 890-897, 1950.*
- 17) Masahiro Iwaida: *Detection of Antibiotics in milk, J. Food Hyg. Soc. Japan, Vol, 12, No. 6, p. 456, 1971.*
- 18) 대한약전 (K.P.II): 抗生物質製劑基準, 1969.
- 19) Mashiro Iwaida & Towakichi TSUGO: *Detection of Penicillin in milk by use of Bacillus Calidolactis as the test Organism, J. Food Hyg. Soc. Japan. Vol. 11, No. 5, pp. 389-395, 1970.*
- 20) Neal, C.E. & Calbort H.E.: *The Use of 2, 3, 5, -triphenyl Tetrazolium Chloride as a test for Antibiotic Substances in Milk, J. Dairy Sci., 38 : 629, 1955.*
- 21) APHA: *Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 12th Ed., 1967.*