

## 우유중에 함유되어있는 殘留 抗生物質의 檢査法

李 喜 茂

榮州經商專門大學

## Methods of the Test on Residual Antibiotics in Milk

Hee Moo Lee

Department of Food Manufacture, Yung Ju Junior College

Yung Ju 650, Korea

國民所得이 向上됨에 따라 食生活패턴이 量서 質로 變化되어가고 있으며 食品中 牛乳는 良質의 蛋白質源으로서 營養의 優秀할뿐만 아니라 特히 牛乳와 乳製品의 嗜好에 맞는 開發로 國民 1人當 年間 牛乳消費量이 1971年度에 1,851g 1975—4,600g 1978—8,800g, 81—14,400g(農水産部 1971~1981)으로 每年 增加추세에 있으며 이와같은 牛乳消費는 國民保健向上과 酪農 業發展에 寄與된다. 그런데 乳牛의 疾病治療로 또는 飼料에 抗生物質이 混入되어 生産된 牛乳에 抗生物質이 殘留되어 國民保健의 阻害要因으로 대두되고 있어 著者는 從來 使用되어온 牛乳中의 殘留抗生物質檢査法을 整理하여 比較 檢討하고 이를 基礎로 더 簡便하고 迅速正確한 方法中의 하나인 食用色素를 添加하여 檢査하는 方法을 應用하여 效率性を 높이는 것도 進一步한 方法中의 하나라고 생각된다.

從來方法에서는 各種 抗生物質에 感受성이 銳敏한 特定菌株을 牛乳中에 接種培養하여 그 細菌이 1) 抗生物質에 影響을 받아 變形된 形態를 顯微鏡을 使用하여 觀察하는 法(Liska 1959)과 2) 細菌에 依하여 生成된 酸의 影響으로 凝固된 蛋白質을 觀察하는 方法(Collins 1957) 3) 이때 生成된 酸을 pH meter를 使用하여 測定하는 方法(Berridge 1957, 日本衛生協會 1975) 4) 또한 生成된 酸을 測定法으로 測定하는 方法(International Dairy Federation 1978, 1979)(日本食品衛生協會 1978) 5) 酸 形成程度에 따른 nitrate에서 nitrite로 變計는 過程의 抑制能力 測定法(International Dairy Federation 1978, 松村松 1979) 6) 牛乳中에서 發育된 細菌에 의한 特定色素의 還元如否를 觀察하는 方法 7) 抗生物質에 의하여 細菌發育抑制帶을 形成하는 原理를 利用하는 方法 8) NJDL검사장치와 *Sarcina lutea*

를 使用해서 原乳式料中의 penicillin할유량 調查方法(이등 1972) 9) 醱酵乳 製造過程中 乳酸菌의 發育을 阻害하는 物質인 penicillin을 不活性化시키는 方法(김 1963)等 多樣하다. 따라서 牛乳中에 含有되어 있는 抗生物質을 檢査하는 여러가지 方法과 性質에 對하여 살펴보고 이들과 關聯된 檢査方法의 特性에 關하여 綜合的으로 記述하고자 한다.

### 牛乳中 殘留 抗生物質 檢査法

#### 1. 食用色素를 含有한 抗生物質의 肉眼的 檢査法

Smitasiri(1958) 등은 열대지방에서 재배되는 *Bixacrellana*의 種子(annatto seed)에서 抽出되는 carotenoid系 天然色素인 annatto, norbixin와 erythrosine(food red No.3) 및 水溶性和 脂溶性의 chlorophyll等 4種의 色素를 penicillin에 添加하여 檢査可能性을 test한 結果 脂溶性 chlorophyll을 除外한 다른 色素들은 牛乳中에서 검은粒자를 生成하여 適用할수 없음을 發見하였고 脂溶性 chlorophyll만은 分房當 100,000IU/ml의 penicillin에 5ml의 脂溶性 chlorophyll을 混合하였을 때 Table I과 같이 18번째 搾乳時까지 vivid green light가 確認되어 disc assay에서 檢出되지 않을 때까지도 肉眼的으로도 檢出되었음을 報告하였다. 또한 Shahani (1959)는 green turquoise色素를 各種抗生物質에 混合하여 使用했을 때에도 만족할만한 結果를 얻었으며 特히 搾乳回數, 소의 種類, 年齡等과 色素의 排出에는 아무런 關係가 없었으며 또한 色素에 依한 組織에의 刺戟症의 症狀를 發見할수 없었음을 報告하였다. Haruta(1972)의 資料에依하면 日本에서는 乳房炎治療用注入劑에 대하여 食用色素 靑色1號(food

**Table I.** Color and residual penicillin of milk from Holstein cow treated with penicillin and penicillin-chlorophyll insertions.

| Start of treatment Oct. 27, 1957 |                 |              |                           |                        | Start of treatment Nov. 10, 1957 |             |                           |                        |
|----------------------------------|-----------------|--------------|---------------------------|------------------------|----------------------------------|-------------|---------------------------|------------------------|
| Milking following treatment      | Udder treatment | Color        | Disc assay (Dia. cm) zone | Milk per quarter (lbs) | Udder treatment                  | Color       | Disc assay (Dia. cm) zone | Milk per quarter (lbs) |
| 1st                              | a)              | White        | 4.2                       | 4.2                    | a) pen.                          | White       | 3.0                       | 5.0                    |
|                                  | b) pen+10ml dye | Green        | 3.8                       | 1.8                    | b) pen.+5ml dye                  | Green       | 3.9                       | 1.8                    |
| 2nd                              | a) As above     | White        | 3.1                       | 4.0                    | a) As above                      | White       | 2.8                       | 3.5                    |
|                                  | b) As above     | Green        | 3.0                       | 4.5                    | b) As above                      | Green       | 2.4                       | 2.0                    |
| 3rd                              | a) As above     | White        | 2.8                       | 3.8                    | a) As above                      | White       | 2.4                       | 5.8                    |
|                                  | b) As above     | Green        | 2.5                       | 2.3                    | b) As above                      | Green       | 1.8                       | 1.5                    |
| 4th                              | a) As above     | White        | 2.2                       | 5.0                    | a) As above                      | White       | 1.9                       | 3.5                    |
|                                  | b) As above     | Green        | 1.5                       | 2.5                    | b) As above                      | Green       | 0.0                       | 1.5                    |
| 5th                              | a) As above     | White        | 1.7                       | 4.0                    | a) As above                      | White       | 1.6                       | 3.5                    |
|                                  | b) As above     | Green        | 0.0                       | 1.8                    | b) As above                      | Green       | 0.0                       | 1.5                    |
| 6th                              | a) As above     | White        | 0.0                       | 4.5                    | a) As above                      | White       | 1.5                       | 3.5                    |
|                                  | b) As above     | Green        | 0.0                       | 1.3                    | b) As above                      | Green       | 0.0                       | 1.3                    |
| 18th                             | a) As above     | White        | 0.0                       | 4.3                    | a) As above                      | White       | 0.0                       | 3.3                    |
|                                  | b) As above     | Slight green | 0.0                       | 2.0                    | b) As above                      | r.Sl. green | 0.0                       | 1.8                    |

pen=1,000,000I.U. penicillin per quarter pen+10ml.

dye=100,000I.U. penicillin+10ml oil-soluble chlorophyll per quarter. per quarter pen+5ml.

dye=100,000I.U. penicillin+5ml oil-soluble chlorophyll per quarter per quarter.

blue No. 1, brilliant blue Fc(F)를 1회 주입량마다 25 mg式 添加使用하는 것으로 되어있다.

2. 微生物學的 殘留 抗生物質 檢查法

(1) 細菌自體의 形態變化를 觀察하는 方法

Liska (1959)는 *Streptococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*와 *Leuconostoc dextranicum*을 penicillin 濃度 0.025~0.5 $\mu$ g/ml를 含有한 牛乳中에 各各 37°C, 30分間培養한후 methylene blue로 染色하여 顯微鏡을 使用하여 細菌들의 形態變化를 觀察할 수 있었으나 供試菌株中 *Leuconostoc dextranicum*이 어느程度 抵抗性을 나타냄을 보였으며 이와같은 方法으로 penicillin 0.025 $\mu$ g/ml, aureomycin 0.2 $\mu$ g/ml., terramycin 0.2 $\mu$ g/ml를 檢出할 수 있었으나 菌量과 菌自體의 環境條件과 培養時間 및 溫度等에 따라 많은 影響이 있었음을 認知하였다.

(2) 蛋白質 凝固 與否 觀察法

Collins (1957)는 *Streptococcus thermophilus*를 使用

하여 40°C, 16時間培養한후 蛋白質 凝固狀態를 觀察하고 여기서 penicillin 0.02u/ml, chlorotetracycline 0.5  $\mu$ g/ml, streptomycin 6.5 $\mu$ g/ml, oxytetracycline 0.7  $\mu$ g/ml, tetracycline 0.9 $\mu$ g/ml를 檢出할 수 있었다고 하였다.

(3) 細菌에 依하여 生成된 酸을 機械的으로 測定하는 方法

Berridge (1957)는 *Streptococcus lactis*에 依하여 生成된 酸을 pH meter를 使用하여 penicillin 0.002u/ml 에서도 쉽게 pH變化가 나타남을 報告하였다.

(4) 細菌에 依하여 生成된 酸을 適定法으로 測定하는 方法

Wilksoske (1960)등은 *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*와 *Lactobacillus casei*등이 skim milk에서 生成한 乳酸을 適定法으로 測定하여 penicillin 0.3~0.9u/ml에서 乳酸量이 減少됨을 確認하였고 Silverman (1952)등은 commercial starter가 形成한 乳酸

을 1/10N NaOH(指示藥, phenolphthalein)로서 菌液培養前後에 sample과 control을 各各 適定하여(可檢牛乳의 增加된 酸度/control의 增加된 酸度)×100=總增加된 酸度(%)의 公式에 따라 總 酸도가 100% 또는 그 以上일 때에는 細菌發育抑制物質이 存在하지 않는다고 認定할 수 있으나 80%以下일 때에는 細菌發育抑制物質이 存在한다고 認定하여 定量試驗을 實施할이 妥當하다고 報告하였다. Mikolajcik 등은 1, 10ppm의 oxytetracycline이 各各 牛乳中에 存在할 때 *Streptococcus lactis*가 生成하는 酸도를 適定法으로 測定하였더니 0.54%와 0.52%의 酸도를 나타내었다고 하였다.

(5) Nitrate에서 Nitrite로 變하는 過程의 抑制力 測定

Mattick (1955) 등은 *Micrococcus pyogens* var. *aureus*가 牛乳中에 殘留하는 抗生物質의 量에 依하여 發育程度에 따라 形成된 酸에 따라 nitrate에서 nitrite로 變化되는 것을 抑制하는 能力에 基礎를 두어 比色法을 使用하여 nitrite를 發色, 比色, 定量하여 penicillin을 0.5 Oxford unit/ml까지 2時間以內에 定量할 수 있었음을 報告하였다.

(6) 色素 還元 試驗法

이 方法에는 methylene blue還元 試驗法, brom cresol purple 및 triphenyl tetrazolium chloride還元 試驗法等이 있다.

(a) Methylene blue 還元 試驗法, Heineman(1960)은 牛乳中의 殘留抗生物質 檢出을 爲하여 methylene blue와 *Streptococcus thermophilus*를 使用하여 檢出할 수 있음을 確認하였으며 Schipper(1954)등에 依하면 牛乳中의 aureomycin 檢出을 爲하여 methylene blue와 *Bacillus cereus* var. *mycoides*를 使用하여 37°C, 4시간 培養하여 0.03μg/ml의 感度を 確認하였다. Johns

(1956) 등은 Schipper 등의 方法을 利用하여 aureomycin을 定量할 때 分析條件에 따라 感도가 相當한 差異를 보인다고 하였으며 *Bacillus mesentericus*와 *Bacillus cereus*를 使用하였을 때 Table II 같이 aureomycin의 濃도가 낮을 때는 後者의 感도가, 濃도가 약간 높을 때는 前者의 感도가 銳敏한 反應을 나타낸다고 報告하였다.

(b) Brom cresol purple 還元 試驗法: Berridge (1956)는 *Streptococcus thermophilus*를 brom cresol purple을 添加한 培地에 미리 培養하여 同量의 Sample과 混合하여 45°C, 30分~1時間 培養하여 0.06~0.015u/ml의 penicillin을 檢出하였고,

(C) Resazurin 還元 試驗法: shahani(1958) 등은 disc assay法에 따라 resazurin을 添加하여 實驗을 實施하였다(詳細한 것은 dye disc assay項에서 記述함).

(d) Triphenyl tetrazolium chloride(T.T.C) 還元 試驗法: Neal(1955) 등은 牛乳中 殘留抗生物質 檢出 目的으로 T.T.C와 *Streptococcus thermophilus*를 使用하여 Fig. 1과 같은 方法으로 實施하여 penicillin 0.04u/ml, aureomycin 0.2μg/ml, terramycin 0.25μg/ml, streptomycin 4.0μg/ml을 檢出할 수 있었다고 報告하였다.

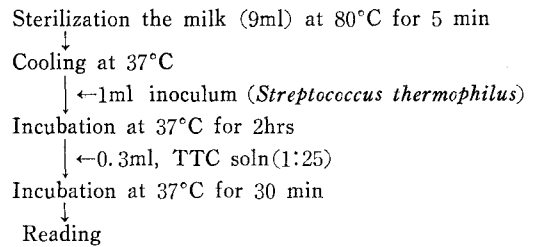


Fig. 1. Schematic procedure for TTC reduction test in milk.

Table II. Comparison of spore suspensions of *B. mesentericus* and *B. cereus*. in methylene blue disc method. (reduction percent)

| Concentration of aureomycin in milk (μg/ml) | <i>B. mesentericus</i>  |    |                          |    |                           |    | <i>B. cereus</i>       |    |                         |    |    |    |    |
|---|-------------------------|----|--------------------------|----|---------------------------|----|------------------------|----|-------------------------|----|----|----|----|
|   | No of Spores            |    | (40×10 <sup>6</sup> /ml) |    | (460×10 <sup>6</sup> /ml) |    | 42×10 <sup>6</sup> /ml |    | 360×10 <sup>6</sup> /ml |    |    |    |    |
|   | Incubation time at 37°C |    | 4                        | 5  | 5½                        | 5  | 5½                     | 6  | 4                       | 5  | 5½ | 5  | 5½ |
| 0.05  | —                       | 90 | 95                       | 50 | 50                        | 50 | —                      | —  | —                       | 70 | 70 | 70 |    |
| 0.04  | 75                      | 98 | 98                       | 50 | 50                        | 50 | —                      | —  | —                       | 70 | 70 | 70 |    |
| 0.03  | 75                      | 98 | 98                       | 50 | 50                        | 50 | —                      | —  | —                       | 70 | 70 | 80 |    |
| 0.02  | 75                      | 98 | 98                       | 50 | 50                        | 80 | —                      | 90 | 98                      | 90 | 96 | 99 |    |
| 0.01  | 95                      | 98 | 98                       | 50 | 50                        | 90 | 90                     | 99 | R                       | 96 | 98 | 99 |    |
| 0.0   | 98                      | 98 | 98                       | 60 | 60                        | 95 | 98                     | 99 | R                       | 98 | 98 | 99 |    |

또한 Harrigan(1976) 등은 1%의 T.T.C와 *Streptococcus thermophilus*를 사용하여 44±0.5°C에培養하여 2.5시간 동안培養한 결과, penicillin의境遇 0.01u/ml일 때는疑陽性, 0.02u/ml일 때는陽性反應을 나타내었다고 하였다. 그러나 Igarashi(1960)는 다음과 같이總所要時間 35分以內에 抗生物質을 檢出할 수 있는 T.T.C還元試驗法을 試圖하였다. 即 *Bacillus stearothermophilus*를 broth에 培養하여 可檢牛乳 10ml에 菌液을 添加하고 61~62°C에서 25分間 培養後, T.T.C溶液을 添加하고 再次 同溫에서 10分間 追加로 培養하여 0.005u/ml of penicillin G or V를, chlorotetracycline, oxytetracycline, tetracycline. HCl等을 0.5μg/ml을 各 各 檢出할 수 있었으며 neomycin, polymixin, bacitracin, streptomycin과 dihydrostreptomycin等도 이와같은 方法으로 檢出할 수 있었으나 感度는 낮은 편이었다고 報告하였다.

(7) Disc Assay法

Siino (1958) 등은 disc assay法을 實施함에 있어서 1/2 disc가 1/4 disc보다 感度가 높다고 하였으며, Arret (1959) 등은 *Bacillus subtilis* ATCC 6633을 사용하여 penicillin을 0.05u/ml, 37°C에서 2.5分間以內에 檢出하였다고 發表한 바 있으나 Marth(1963) 등과 Johns (1960) 및 Witter (1960) 등은 이러한 disc法은 여러가지 要因에 依해 感度가 달라질 수 있다고 했다. 即 disc의 直徑, seeded agar의 容量, *Bacillus subtilis*나 *Bacillus cereus*의 spore數 또는 其他 培養條件에 따라 感度가 달라질 수 있다고 했다.

특히 Igarashi(1960)는 1.5時間內에 disc法을 遂行할 수 있었다고 하였는데 即 tryptose yeast extract glucose agar에 0.5" disc를 使用하였고 菌株는 *Bacillus Sterothermophilus*를 使用하여 65°C에서 1.5 時間內에 0.05u/ml의 penicillin을 檢出할 수 있었다고 報告하였다. 그러나 美國의 Standard method(American Public Health Association 1967)를 보면 다음과 같이 두가지 disc assay法과 T.T.C환원시험법이 記述되어 있는데, "方法A에는 菌株로서는 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (2.5×10<sup>7</sup> spores/ml)와 0.5" disc를 使用하며 可檢牛乳는 82°C, 2~5分間 滅균한후 32°C, 14~24時間 培養하며, "方法 B"는 可檢牛乳를 80°C 10分間 또는 70°C 15分間 滅균한후 37°C에서 3~4時間 培養하는 것으로 되어 있다.(其他의 것은 方法A와 同一한 것으로 되어 있다)

(8) Dye disc法

Shahani (1958) 등은 *Staphylococcus aureus*를 使用할

때는 brain heart infusion agar plate當 0.5ml씩, 0.084%의 resazurin을 注加하였으며 菌株別 檢出量을 살펴본다면 *Lactobacillus bulgaricus*를 使用時는 whey agar에 濾過한 10%의 tomato juice를 添加하여 使用하였으며 *Staphylococcus aureus*의 경우에는 0.04~0.06ppm의 penicillin, aureomycin, terramycin, achromycin이, 그리고 0.17ppm의 streptomycin이 2~3時間內에 各 各 檢出되었으며, *Lactobacillus bulgaricus*의 경우에는 0.04~0.06ppm의 penicillin, aureomycin, terramycin, achromycin과 0.11ppm의 streptomycin이 1.6~1.9時間內에 檢出되었음을 確認하였다. 一般적으로 *Staphylococcus aureus*가 *Lactobacillus bulgaricus*보다는 菌發育 抑制帶가 뚜렷하였으나 檢出時間이 더 많이 所要되었음을 볼수있다.

(9) NJDL의 檢査裝置 利用法

이 등(1970)은 美國의 NJDL의 檢査裝置와 *Sarcina lutea* 菌株를 使用해서 140個의 原乳試料中 37.14%가 微生物 成長抑制酵素를 含有하였으며 이中 penicillin含有試料가 50~89%나 되었고, 市乳에서는 全試料의 21.43%가 含有하고 있는데 이中 penicillin이 10.75~100%에 達하였으며 調製粉乳는 全試料의 70~75%가 抗生物質을 含有하였고 이中 penicillin이 22~100%가 發見되었음을 報告하였다.

(10) 非醱酵性乳의 醱酵阻害物質 不活性化試驗法

金(1963)은 治療를 目的으로 투여된 penicillin이 착유되는 牛乳中에 移行하고 발효유 제조過程에 있어서 乳酸菌의 發育을 抑制함으로, 이 阻害物質을 不活性化 시킴으로서 非醱酵性乳를 正常原乳와 同一하게 利用할 수 있게 하고자 발효저해물질의 不活性化를 追究하였는데 penicillin을 0.01I.U./ml~10.0I.U./ml까지 함유하고 있는 非醱酵性乳를 acidophilus milk의 一般製法(100°C에서 2時間殺菌, Starter첨가 및 배양)時와 同一하게 處理하여 72時間 培養한 결과 24時間에 0.1 I.U./ml까지, 48時間에는 10.0I.U./ml까지 酸凝固할 수 있는 酸度를 나타내었다. penicillin을 0.01I.U./ml~10.0 I.U./ml까지 含有하고 있는 非醱酵性乳를 100°C에서 3時間殺菌處理後, 72理後時間培養한 결과, 24時間에 1.0I.U./ml까지, 30時間에서는 10.0I.U./ml까지 높은 酸度를 表示하여 醱酵阻害物質의 失活에 效果를 나타내었다. penicillin을 0.5I.U./ml~10.0I.U./ml까지 含有하고 있는 비발효성유를 120°C에서 30分間 加熱殺菌後 72時間 培養한 결과 발효성유 全部가 培養初부터 正常乳와 大差없는 酸度를 나타내었다. 비발효성유에 lactose를 0.1%添加한후 培養한 결과 48時間에 10.0I.U./ml까지

酸凝固할 수 있는 高酸도를 表示하고는 있으나 添加에 依한 酸酵促進성을 나타내지는 못하였다. 또한 비발효 성유에 sod. glutamate를 0.1%, 0.5%, 1.0% 添加하고 24時間 培養한 結果 0.1% 添加에서는 1.0I.U/ml까지 0.5% 및 1.0% 添加에서는 10.0I.U/ml까지 正常乳보다는 높은 酸도를 나타내었다.

(11) 上記의 記述된 여러가지 方法들

以外에도 Cup Plate法(Witter 1960)(cylinder plate 法)과 tube agar法(Cooper 1955)등도 많이 使用되는 方法으로 알려져 있다. Witter(1960)등은 前者의 方法으로 0.0038u/ml의 penicillin을 檢出할 수 있었다고 報告한 바 있었다. 後者の 方法은 Cooper(1955)에 依하여 이것의 使用可能性을 言及한바 있으나 適合한 培養條件과 感受性있는 菌株만 具備된다면 效果의인 方法이 될수 있다고 主張하였다.

### 考 察

#### 牛乳中 殘留 抗生物質 檢査法中 抗生物質 以外的 細菌發育抑制物에 關한 實驗

Silverman(1952)등은 Table III과 같이 五種의 sulfa 劑를 牛乳에 添加하여 *Bacillus subtilis*가 使用된 disc assay法과, N-(1-naphthyl)-ethylenediamine으로 發色시키는 比色法과를 比較試驗하였는데 比色法으로는 0.005%의 濃度에서까지도 各各의 sulfa劑는 發色되어 赤色을 나타내었으나 disc assay法에서는 0.01~0.05까지도 抑制環을 形成하지 못함을 發見하고 disc assay法으로 各種 sulfa劑의 細菌發育抑制力에 대하여 實驗을 하였다.

Shahani (1957)등에 依하면 resazurin disc assay法에서 natural inhibitor의 細菌發育抑制力은 可檢牛乳를 170°F에서 2分間 또는 180°F에서 1分間 滅菌하였더니 完全 消滅되었음을 確認하였고 3ppm의 quaternary ammonium compound (alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride)와 25ppm의 chloride化合物(calcium hypochloride)을 適用하였을 때에는 細菌發育抑制帶를 形成하지 않았다고 報告하였다. 그러나 Neal(1955)등에 依하면 乳房炎等 非正常乳의 경우에 TTC還元試驗에서 TTC를 還元시키는 反應을 나타내는 경우가 있었음을 認定한바 있으나 이점은 좀더 追求해야 할 課題라고 생각된다.

#### 色素 還元試驗法中 TTC還元試驗의 原理 糾明 實驗

Neal(1955)등은 生成된 酸의 量과 TTC의 發色度는 相關關係가 있다고 하여 TTC還元の 原理가 酸의 形成

Table III. The detection of sulfa drugs in white milk by the disc assay method and chemical test.

| Concentrations of sulfa drugs in milk (percent) | Diameter of inhibition zone by disc assay (cm) | Chemical test |
|---|--|---------------|
| <b>Sulfanilamide</b>                            |  |               |
| 0.001   | 0.0  | no color      |
| 0.005   | 0.0  | pink          |
| 0.010   | 0.0  | sl. red       |
| 0.025   | 0.0  | red           |
| 0.050   | 0.0  | red           |
| <b>Sulfamerizine</b>                            |  |               |
| 0.001   | 0.0  | no color      |
| 0.005   | 0.0  | pink          |
| 0.010   | 0.0  | red           |
| 0.025   | 0.8  | red           |
| 0.050   | 0.8  | red           |
| <b>Sulfathiazole</b>                            |  |               |
| 0.001   | 0.0  | no color      |
| 0.005   | 0.0  | pink          |
| 0.010   | 0.0  | red           |
| 0.025   | 1.8  | red           |
| 0.050   | 2.2  | red           |
| <b>Sulfamethazine</b>                           |  |               |
| 0.001   | 0.0  | no color      |
| 0.005   | 0.0  | pink          |
| 0.010   | 0.0  | red           |
| 0.025   | 0.0  | red           |
| 0.050   | 0.0  | red           |
| <b>Sulfapyridine</b>                            |  |               |
| 0.001   | 0.0  | no color      |
| 0.005   | 0.0  | pink          |
| 0.010   | 0.0  | red           |
| 0.025   | 0.0  | red           |
| 0.050   | 0.8  | red           |

과 關係가 있는듯 說明하였으나 Liska(1979)등은 *Streptococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus liquefaciens*와 *Lactobacillus bulgaricus*등의 TTC還元作用에 關與하는 enzyme system을 實驗하여 lactic dehydrogenase와 이의 coenzyme임을 確認하였으며 TTC還元反應은 DPNH의 生成을 抑制하는 것으로 알

려진 iodo acetic acid (IA)의 添加에 依하여 抑制되었다고 하였으며 *Streptococcus thermophilus*가 使用되었을때 添加된 IA의 濃度는 10~5M이었다고 報告하였다.

## 結 論

牛乳中の 殘留抗生物質에 關한 檢査法은 여러 研究者들에 依하여 多樣하게 研究되고 實行되어 왔으나 檢査感度의 差異가 있고 實質으로 適用하는데 있어서 여러가지로 問題點이 있는 것도 事實이다. 따라서 簡便하고 迅速正確한 方法이 必要하며 이러한 問題點은 앞으로 從來에 使用되어온 여러가지 檢査法을 基礎로 하여 檢査 kit이나 各種 動物用 抗生劑에 食用色素를 添加하여 이들의 反應特異性에 對해서 相互補完적으로 研究해 나간다면 檢査方法의 長點과 特性을 究明하는데 많은 寄與를 할 것이라고 생각된다.

## 參 考 文 獻

- American Public Health Association: *Standard methods for the estimation of dairy products* (12th ed.) American Public Health Association, Inc. New York, p.72-76, (1967)
- Arret, B. and Kirshbaum, A. (1959): A rapid disc assay method for detecting penicillin in milk. *J. Milk and Food Tech.*, 22: 329.
- Berridge, N.J.(1956): The rapid routine assay of low concentration of penicillin in milk. *J. Dairy Research*, 23: 336.
- Berridge, N.J. (1957): Some uses of a very sensitive pH discriminator. *Dairy Ind.*, 22: 1022.
- Collins, E.B (1957): A simple method for detecting inhibitory substances in milk. *Milk Prod. J.* 48:48.
- Cooper, K.E. (1955): Theory of antibiotic inhibition zones in agar media. *Nature*, 176: 510.
- Harrigan, W.F. and McCane, M.E. (1976): *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*. Academic Press, p.181-184.
- Haruta, M. (1972). Recent problems in the field of milk hygiene. *Modern Media* 4:169.
- Heinemann, B. (1960): A study of dye reduction methods as plate form tests for the detection of antibiotics. *J. Dairy Sci.*, 43: 842.
- Igarashi, R.T., Baughman, R.W., Nelson, F.E. and Hartman, P.A. (1960): Rapid antibiotic assay methods using *Bacillus stearotherophilus*. *J. Dairy Sci.*, 43: 841.
- International Dairy Federation (1978): *Milk and Cheese Determination of Nitrate and Nitrite Contents Methods by Cadmium Reduction and Photometry*, (IDF Standard), 84.
- Johns, C.K. and Berzins, I. (1956): Observations on the determination on antibiotics in milk. *J. Milk and Food Tech.*, 19:14.
- Johns, C.K. (1960): Further observations on testing milk for penicillin. *J. Milk and Food Tech.*, 23: 266.
- Liska, B.J. and Calbert, H.E. (1957): Observations on the method of reduction of 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride by lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.*, 40: 602.
- Liska, B.J. (1959): A direct microscopic method for the detecting antibiotic activity in milk. *J. Dairy Sci.*, 42: 905.
- Liska, B.J. (1959): Effects of penicillin on the morphology of *Streptococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus* and *Leuconostoc dextranicum*. *J. Dairy Sci.*, 42: 1391.
- Marth, E.H., Alexander, F.J. and Hussong, R.V. (1963): Studies on disc assay methods for detection of antibiotics in milk. *J. Milk and Food Tech.*, 26: 150.
- Mattick, L.R., Anderson, E.O. and Wildasink, H.L. (1955): A quantitative procedure for the determination of an inhibitory substance in milk penicillin. *J. Dairy Sci.*, 38: 829.
- Mikolajcik, E., Harper, W.J. and Kennedy, H.E. (1960): Acid production in the presence of antibiotics. I. Oxytetracycline in activating properties of a resistant strain of *Streptococcus lactis*. *J. Dairy Sci.*, 43: 853.
- Neal, C.E. and Calbert, H.E. (1955): The use of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a test for antibiotic substances in milk. *J. Dairy Sci.*, 38: 629.
- Neal, C.E. and Calbert, H.E.(1955): The application of the 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride test for

- inhibitory substances in milk. *J. Dairy Sci.*, 38: 597.
- Schipper, I.A. and Peterson, W.E. (1954): Assay of antibiotics blue milk. *Am. J. Vet. Research*, 15: 475.
- Shahani, K.M. and Badami, M.C. (1957): A rapid test for detecting antibiotic activity in milk. *J. Dairy Sci.*, 40: 602.
- Shahani, K.M. and Badami, M.C. (1958): A resazurin disc assay method for detecting antibiotics and natural starter inhibitory activity in milk, *J. Dairy Sci.*, 41: 1510.
- Shahani, K.M. (1959): Factors affecting the visual method of detecting antibiotics in milk. *J. Dairy Sci.*, 42: 912.
- Siino, F.A., Czarnecki, R.B. and Harris, W.K. (1958): The incidence of penicillin in the market milk supply of a local New England area. *J. Milk and Food Tech.*, 21: 211.
- Silverman, G.J. and Kosikowsky, F.V. (1952): Systematic testing of inhibitory substances in milk. *J. Milk and Food Tech.*, 15: 120, 137.
- Smitasiri, T., Kosikowski, F.V., Guthrie, R.S. and Fincher, M.G. (1958): Dyes as markers for antibiotic contaminated milks. *J. Milk and Food Tech.*, 21: 255.
- Wilkowske, H.H. and Krienke, W.A. (1960): Influence of penicillin on the lactic acid production of certain lactobacilli in milk. *J. Milk and Food Tech.*, 23: 230.
- Witter, L.D. and Tuckey, S.L. (1960): Variable factors in the new test for penicillin in milk. *J. Milk and Food Tech.*, 23:
- 金種禹(1963), 非醱酵性乳의 발효유제품 제조에 관한 연구 I. *Acidophilus milk*의 제조에 관하여, 忠南大論文集, 3, 365.
- 農水産部畜産局: 酪農關係資料, 1971~1981.
- 이재영, 유재현(1972). 牛乳 및 乳製品에 含有되어 있는 Antibiotic Residues에 관한 調査研究, 韓國畜産學會誌, 14: 65.
- 日本食品衛生協會(1978). 食品衛生檢査指針(Ⅱ), 253.
- 日本衛生協會編(1975). 衛生化學, 21:145.
- 村松紘一, 丸山節子(1979). 日食衛誌 20: 106.

〈Received July 3, 1983〉