

도축돈에서 TLC와 EEC-4 plate법을 이용한 항생물질 잔류조사

권오성, 김순태, 김영욱, 손재권

경북가축위생시험소 북부지소

Detection of residual antibiotics by TLC and EEC-4 plate method in slaughtered pigs

O-Sung Kweon, Soon-Tae Kim, Young-Uk Kim, Jae-Kweon Son

Northern Branch of Kyongbuk Veterinary Service Laboratory

Abstract

The antibiotic residues of the urine, the liver, the lung, the kidney and the spleen in slaughtered pigs at Kyongbuk province were detected by TLC(SOS kit) and EEC-4 plate method.

1. The positive rate of residual sulfamethazine which was detected by SOS kit in the urine (n=200) was 0.0%.

2. The positive rate of residual sulfamethazine which was detected by EEC-4 plate in the urine (n=126), the liver(n=98), the kidney(n=72), the spleen (n=68) and the lung(n=48) were 63%, 49%, 36%, 34% and 24%, respectively.

3. By EEC-4 plate method, the positive detection rates of the urine were 53.0% in BS(pH 6.0), 29.0% in BS(pH 7.2), 11.5% in BS(pH 8.0) and 13.0% in ML(pH 8.0) medium, that of the liver 41.5% in BS(pH 6.0), 22.0% in BS(pH 7.2), 6.5% in BS(pH 8.0) and 5.0% in ML (pH 8.0) medium, that of the lung 21.0% in BS(pH 6.0), 9.5% in BS(pH 7.2) and 8.5% in BS(pH 8.0) medium, and that of the kidney 31.5% in BS(pH 6.0), 14.5% in BS(pH 7.2), 20.0% in BS(pH 8.0) and 3.0% in ML(pH 8.0) medium. In the spleen, only in BS(pH 6.0) medium the positive rate was detected as 33.5%.

4. The positive rates of samples which shown TLC-positive detected by EEC-4 plate method were 53.9% in no band, 77.8% in one band, 80.9% in two bands, 66.7% in three bands, respectively.

In conclusion, the EEC-4 plate method could be applied for the detection of residual

antibiotics in samples which shown as out of standard Rf values by TLC-method (SOS kit).

Key words : SOS kit, EEC-4 plate, Sulfamethazine, Pigs

서 론

고도의 밀집 다두사육을 하는 축산 형태에서 질병을 예방하고 가축의 생산성 향상을 위하여 동물약품을 사용하는 것은 피할 수 없는 실정이다. 항균성물질들은 약 용량을 투여 하였을 경우에는 기대효과를 얻을 수 있으나 다른 한편으로는 부작용을 나타내기도 한다¹⁻³⁾.

가축질병의 예방, 치료 및 생산성 향상을 목적으로 첨가되고 있는 항균성물질의 식육중 잔류문제는 경제발전과 국민의식 수준의 향상 등으로 인하여 공중보건학상 중요한 관심사로 대두되고 있다.

한편 국민소득의 증가에 따라 육류 소비는 1994년까지의 양적 소비성장에서 소비자의 욕구⁴⁾ 및 1995년 WTO 출범과 함께 질적 성장으로 바뀌고 있다. 따라서 소비자들의 요구와 국내 및 수입육의 무차별 위생검사에 부응하기 위하여 정부에서도 1996년부터 국내산 육류에 대한 위생검사를 강화하고 있다. 현재 시행되고 있는 생체내 항생물질잔류 검사는 도축전 가축의 혈액 또는 뇨에서 검사함으로써 식육 중 잔류농도를 예측하고 잔류위반 발생을 사전에 방지하기 위한 방법이다. 1996년도 검사대상 물질로는 국내에서 많이 사용하는 동물약품인 페니실린, 클로르테트라사이클린, 옥시테트라사이클린, 테트라사이클린 등 항생물질 5종과 설파메타진, 설파디메독신 등 합성항균제 2종으로 하였다⁴⁾.

도축 후 지육검사는 쇠고기, 돼지고기, 닭고기에 적용되며 EEC-4-plate, TLC 또는 BmDA법을 이용 항생물질 및 합성항균제에 대한 간이(정성)검사를 실시하여 양성판정 시료에 대하여는 미생물 수용체 분석기, 고속액체크로마토그래프 및 가스크로마토그래프로 정량분석을 실시하도록 되어있다⁴⁾. 현재 식육 중에서 설파제 잔류를 검출하기 위해서는 SOS

kit를 이용하는 TLC법으로 혈액 및 뇨를 대상으로 도축 현장에서 직접 검사하고 있다.

저자들은 도축현장에서 SOS kit를 사용하여 sulfa제 잔류를 검사하는 과정에서 standard의 Rf치 발색부위 이외의 Rf치에서 형광을 띄우는 케이스를 발견한 바 이것이 sulfa제 이외의 다른 약제의 잔류에 의한 것인지의 여부를 확인하기 위하여 이들을 대상으로 EEC-4-plate법을 적용하여 뇨, 간, 폐, 비장 및 신장내에서의 잔류물질검사를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1996년 8-10월에 영주도축장에서 도축된 돼지 중 임의로 선택된 200두 (8월 60두, 9월 60두, 10월 80두)를 대상으로 뇨, 폐, 간, 신장 및 비장을 채취하여 뇨는 채취 즉시 SOS kit를 사용하여 실험하였으며 뇨 및 기타 장기는 채취 즉시 적합한 온도(-20℃)에 보관하면서 실험에 사용하였다.

2. Thin layer chromatography (TLC, SOS kit) 법에 의한 뇨중 sulfamethazine의 검출

뇨는 채취하여 그대로를 메탄올 2ml를 혼합한 후 2000rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 TLC plate에 적용하였다.

TLC plate는 10cm×10cm의 silica gel plate (EDITEK inc, USA)를 사용하였고 전개용매는 메탄올과 에틸아세테이트를 순차적으로 사용하였다.

TLC plate에 뇨는 20μl를 점적하고 동일 plate에 저농도(0.4μl/ml) 및 고농도(1.3μl/ml) sulfamethazine-메탄올용액 (EDITEK Inc, USA) 20μl씩을 점적하여 건조시킨 후 전개조에 옮겨 메탄올로 시료점적부위까지 전개하고

다시 건조시켜 에틸아세테이트로 계속 2cm 더 전개하고 건조시켰다.

전개완료 후 plate에 fluorescamine (Nal-gene, USA)-아세톤용액을 분무시켜 plate를 암시야에서 10-15분간 정치 후 UV-lamp를 켜고 형광밴드 형성 유무를 판독하였다.

판정기준으로 높은 sulfamethazine 고농도 (1.3ppm) 및 저농도 (0.4ppm)의 범위에 의하여 양성 여부를 판독하였다.

3. EEC-4-Plate법에 의한 잔류항생물질 검출

3-1. 균 plate의 제작

농림부고시 수육중 잔류물질 시험방법에서 근육중의 항생물질 간이검사 제2법인 EEC-4-plate법을 적용하여 검사재료내의 잔류항생물질 검출하였다.

본 법에 사용한 균은 *Bacillus subtilis* BGA (BS)와 *Micrococcus lutea* ATCC 9341 (ML)로서 수의과학연구소에서 분양받아 다음과 같이 배양하여 사용하였다.

즉, BS를 nutrient agar에 접종하여 30°C에서 10일간 배양시킨 후 멸균증류수로 집균하고 원심분리법으로 2회 세척하여 증류수에 부유시킨 것을 70°C에서 30분간 가열하였다. 이 포자액을 표준평판배양법으로 측정하여 1ml당 1×10^7 의 포자를 함유하는 농도로 희석하여 사용하였다.

ML은 nutrient agar에 37°C로 계대배양하여 brain heart infusion broth에 접종하여 37°C에서 24시간 배양하였다. 이 균액을 멸균증류수로 1ml당 2×10^7 cfu로 희석하여 사용하였다.

시험에 사용할 시험용 plate의 제작은 다음과 같이 하였다. 즉, peptone 6.9g, NaCl 5.1g, KH_2PO_4 1.0g, Noble agar 13.0g을 증류수 1l에 용해시켜 멸균하고 50°C로 냉각시킨후 pH가 다른 BS plate 제작을 위하여 1N NaOH와 1N HCl을 사용하여 pH 6.0, 7.2 및 8.0으로, ML plate는 pH 8.0으로 조절하였다.

각 pH로 조절된 배지 1l당 각 희석균액 1ml씩을 첨가하여 배지 ml당 균액의 농도가 10^4 cfu가 되도록하였다. 단 pH 7.2의 배지에는 trimethoprim $10\mu\text{l/ml}$ 용액을 100ml당 1ml를 첨

가하였다. 균액을 첨가한 배지를 멸균 페트리 디쉬에 8ml정도 분주하여 시험용 균 plate로 사용하였다.

3-2. 장기내의 잔류항생물질 검사

장기를 절개하고 핀셋으로 직경 10mm의 디스크를 끼워 30분간 조직액을 흡수시킨 후 꺼내어 검사용 plate에 놓고 살짝 눌러준 다음 실온에 약 30분간 방치하여 BS plate은 30°C에서 ML plate은 37°C에서 18시간 배양하였다.

배양이 완료된 plate를 꺼내어 디스크 주변의 세균발육억제대가 4종의 평판배지중 하나 또는 그 이상에서 2mm이상이면 양성으로 판정하였다.

4. 시험용 평판 및 시료의 검사

시험용 평판 검사: 직경 6mm paper disc에 항균물질 표준용액 각 $10\mu\text{l}$ 씩 흡습시킨 후 32°C, 16시간 배양하여 시험균의 발육 억제대를 관찰하여 Table 1의 검사조건에 합당한 경우 실험에 사용하였다.

시료의 검사: 도축된 돼지의 뇨, 폐, 간, 신장 및 비장을 분쇄기를 사용하여 분쇄 후 paper disc(직경 10mm)에 10분간 흡습시킨 후 검사용 평판에 놓고 30분간 실온에 방치 후 32°C에서 16시간 배양하여 균의 발육 억제 정도를 검사하였다.

검사 결과의 판정: 시료내 항생물질의 잔류 유무는 세균발육 억제대를 관찰하여 근육을 이용하여 시험할 경우의 기준에 준하여 판정하였으며 실험결과, 하나 이상의 배지에서 paper disc 주변억제대가 2mm 이상(직경 14mm)인 경우 양성으로 판정하였다.

결 과

1. 뇨내 sulfa제의 잔류 검출률

도축된 돼지의 뇨에 대하여 SOS kit를 사용하여 sulfa제 잔류검사 결과는 Table 2에서와 같이 200건의 뇨에서 모두 음성이었다. 이중 1건의 시료에서는 sulfa제 표준물질의 RF치와 동일 위치에 형광의 발색 띠가 형성되었으나 sulfamethazine의 low standard보다 밝기가 약하여 음성으로 처리하였다.

Table 1. Condition of EEC-4 plate for test(dropping 10 μ . in 6mm paper disc)

Test medium	Antibiotics	Disc content	Dose/paper disc	Zone of minimum inhibition
BS* (pH 6.0)	Penicillin G-Na	1 IU/ml	0.01 IU	6mm
BS (pH 7.2)	Sulfamethazine	50 μ l/ml	0.05 μ l	6mm
BS (pH 8.0)	Streptomycin	50 μ l/ml	0.05 μ l	6mm
ML**(pH 8.0)	Streptomycin	50 μ l/ml	0.05 μ l	6mm

*BS : *Bacillus subtilis* BGA **ML : *Micrococcus luteus* ATCC 9341

Table 2. Sulfonamides detection rate in the urine by SOS kit

Sample	Detection of sulfonamide	
	Positive	Negative
Urine (n=200)	0(0%)	200(100%)

2. EEC-4 plate법에 의한 뇨 및 실질장기에서 잔류항생물질 검출률

도축시 채취한 돼지의 뇨, 간, 폐, 신장, 비장을 대상으로 EEC-4 plate법을 적용하여 항생물질 잔류여부를 검사한 결과는 Table 3과 같다.

Table 3. The detection rates of residual antibiotics in slaughtered pigs by EEC-4 plate method*

	Urine	Liver	Lung	Kidney	Spleen
No of positive	126	98	48	72	68
%	63	49	24	36	34

*The number of urine and each organ are 200 samples.

뇨 및 장기별로 각각 200건의 시료를 검사한 결과 BS 6.0, BS 7.2, BS 8.0, ML 8.0 등 4가지 배지 중 1종 이상의 배지에서 발육저지대를 보인 것은 뇨에서 126건(63%), 간장에서 98건(49%), 폐에서 48건(24%), 신장에서 72건(36%) 그리고 비장에서 68건 (34%)로 나타났다.

3. EEC-4 plate 배지별 검출률

뇨 및 각각의 장기에서 배지 종류별 양성 검출률은 Table 4에서 보는 바와 같이 뇨의 경우는 BS 6.0에서 53%, BS 7.2에서 29%, BS 8.0에서 11.5% 그리고 ML 8.0에서 13%가, 간장의 경우 BS 6.0에서 41.5%, BS 7.2에서 22.0%, BS 8.0에서 6.5% 그리고 ML 8.0에서 5.0%가, 폐의 경우 BS 6.0에서 21.0%, BS 7.2에서 9.5%, BS 8.0에서 8.5%가 양성율을 보였으나, ML 8.0에서는 모두 음성이었다. 신장의 경우는 BS 6.0에서 31.5%, BS 7.2에서 14.5%, BS 8.0에서 20.0% 그리고 ML 8.0에서 3.0%의 양성율을 보였다.

그러나 비장의 경우에는 BS 6.0에서만 33.5%의 양성율을 보였고, 기타의 배지에서는 모두 음성이었다.

4. TLC의 Rf치 구분별 검사재료의 EEC-4 plate법에 의한 검출률

뇨를 대상으로 SOS kit를 사용하여 sulfa제 잔류검사를 시 sulfa제 표준물질의 Rf치와 다른 위치에서 발색밴드가 생성되는 경우가 있어, 이들 시료를 대상으로 EEC-4 plate법으로 확인한 결과는 Table 5와 같다.

TLC plate 상에서 sulfa제 표준물질의 기준내 Rf치의 경우는 104건이었고 이중 56건(53.9%)의 시료는 EEC-4 plate 검사에서 양성으로 나타났다. 기준외의 위치에서 발색띠가 1개인 시료는 27건이었으며 이중 21건(77.8%)의 시료가 양성으로, 발색띠가 2개인 시료는 21건

Table 4. The detection rates of residual antibiotics in the urine, liver, lung, kidney and spleen by EEC-4 plate method

Organs	Positivity			
	BS pH 6.0	BS pH 7.2	BS pH 8.0	ML pH 8.0
Urine*	106(53.0)**	58(29.0)	23(11.5)	26(13.0)
Liver	83(41.5)	44(22.0)	13(6.5)	10(5.0)
Lung	42(21.0)	19(9.5)	17(8.5)	0(0.0)
Kidney	63(31.5)	29(14.5)	40(20.0)	6(3.0)
Spleen	67(33.5)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

* : The number of sample of urine and each organs are 200.

** : Percentage

Table 5. Positive rates of samples which shown TLC-positive detected by EEC-4 plate method

No of band (RF value)	TLC		EEC-4 plate	
	No of sample	%	Positive	%
0	104	52.0	56	53.9
1	27	13.5	21	77.8
2	21	10.5	17	80.9
3	48	24.0	32	66.7
Total	200	100.0	126	63.0

으로 이중 17건(80.9%)의 시료에서 양성 그리고 발색 띠가 3개인 시료는 48건으로 이중 32건(66.7%)에서 양성으로 나타났다.

한편 SOS kit 검사 결과 sulfa제 표준 물질의 Rf치의 위치에서 발색반응을 나타내었으나 밝기가 미약하여 음성으로 처리하였던 1건의 시료는 EEC-4 plate 검사에서 뇨의 경우 sulfa제 양성을 나타내었으나 간, 폐, 신장 및 비장에서는 음성이었다.

고 찰

식육 중 항생물질의 잔류 방지를 위하여 도축 전·후 혈액, 뇨 및 근육 중에서 항생물질 잔류검사가 실시되고 있으며 특히 일차적으로 sulfa제, tetracycline제 및 penicillin제에 대하여 중점적으로 검사하고 있다. Sulfonamides는 수의 임상분야에서 세균성 질병의 치료 및 예방

목적으로 오랫동안 사용되어 왔다⁵⁻⁷⁾. 설과제가 가축의 질병예방 및 치료에 광범위하게 이용되고 있음은 식육내 이들 약제 및 대사산물의 잔류가 문제 될 수 있음을 의미한다⁸⁾.

식육내 이들 약제의 잔류를 제거하기 위하여 잔류허용한계치를 설정하여 한계치 이하로 잔류되도록 하기 위하여 휴약기간이 요구된다. FDA는 돼지에서 sulfamethazine이 포함된 사료 및 치료의 목적으로 약제를 투여하였을 경우 15일의 휴약기간을 요구하고 있다⁹⁾. 대부분의 경우 sulfamethazine의 법적 잔류 허용 한계치는 0.1ppm이며^{7, 9, 10)} 현재 돼지조직내에서 잔류물질로 인하여 문제가 되는 것은 주로 sulfamethazine과 sulfathiazole으로 보고되고 있다.

동물조직내의 sulfonamides 잔류물질을 검출하기 위하여 사용된 가장 광범위한 화학적 방법은 Bratton-Mashall reaction을 기본으로 한 colorimetric procedure이다¹⁰⁾. 이들 방법은 특

히 0.1mg/kg 정도의 수준까지 밖에 검출 할 수 없으며 더우기 개개의 sulfonamide를 구별하기는 어렵다¹¹⁾. 현재 조직내 sulfonamide 잔류 물질을 검출하기 위한 화학적 방법으로는 HPLC, TLC, GC, GC/MS가 이용되고 있다¹²⁻¹⁷⁾. 그러나 이들 장비는 고가이고, 한편 시료내 존재하는 false positive 성분을 제거하기 위한 전처리과정이 복잡하고¹⁶⁾, 시간도 많이 소요되고 있어, 도축 현장에서 빠른 시간내 다량의 시료를 처리하기에는 부적합하다. 따라서 도축현장에서는 현재 SOS kit를 이용하여 뇨 및 혈액에서 sulfa제 잔류를 검사하고 있으며 근육을 대상으로 하는 경우에는 EEC-4 plate 방법을 이용하여 잔류 물질을 검사하고 있다.

한편, tetracycline계 항생물질은 동물의 질병치료와 예방목적으로 널리 사용되고 있다¹⁸⁾. Tetracycline은 과량 사용시 간기능 저하 및 실험동물에서 지방간 등을 유발하며 tetracycline은 calcium, magnesium, iron 등의 금속 이온과 결합되어 그결과 뼈와 치아의 발육에 영향을 미칠 수도 있어 사용에 주의가 필요하다고 밝혀져 있다^{18, 19)}.

Tetracycline는 수의약품과 동물용 사료첨가제 등으로 전세계적으로 널리 사용되기 때문에 여러나라에서 식육에서의 잔류허용기준을 설정 엄격하게 규제하고 있다. 국내에서도 식육중 부위와 관계없이 우육과 돈육에서 OTC 및 CTC가 각각 0.1ppm, 계육에서 1ppm으로 잔류허용기준이 설정되어 있다²⁰⁾.

식육 중 잔류 tetracycline 검사는 bioassay, thin layer chromatography, radioimmunoassay, high performance liquid chromatography 등을 이용하고 있으며, 이들 방법 중 생물학적 검사법은 항생물질의 미생물 발육억제력을 이용하여 검사재료내에 존재하는 항생물질의 잔류를 측정하는 방법으로 현재 가장 널리 이용되고 있다. 이방법은 잔류하는 항생물질의 종류는 확인할 수 없지만 이의 존재유무는 알 수 있고 검사과정이 단순한 장점이 있다. 그러나 시료중의 효소나 지방등에 의해 시험균의 성장억제 및 다른 계열의 항생제에 의하여 비특이 반응이 나타날 경우도 있어 보완적인 실험이

요구된다.

본 실험에서는 도축장에서 도축검사시 행하고 있는 SOS kit와 EEC-4 plate법을 이용하여 돼지 200두를 대상으로 뇨 및 내부장기내에서 항생물질의 잔류여부를 검색하였다. 그 결과 SOS kit를 이용한 TLC법에서 뇨의 경우 검사재료 모두에서 음성을 나타내어 sulfa제는 잔류하지 않음을 확인할 수 있었으며 1건의 경우 미약한 반응을 나타내었으나 양성 수준은 아니었다. 이러한 결과로 보아 최근 몇 년간의 sulfa제의 잔류에 대한 지속적인 검색 및 계몽의 결과로 농가에서 sulfa제의 사용을 자제하고 있음을 확인할 수 있었다.

본 실험에서 뇨 및 내부장기인 간, 폐, 신장 및 비장을 대상으로 EEC-4 plate법을 적용하여 항생물질 잔류 유무를 검사한 결과 도축된 돼지 200두의 뇨에서 63%, 간 49%, 신장 36%, 비장 34% 및 폐 24%의 양성율을 보였다. 허 등²¹⁾은 돼지 115두를 대상으로 시험한 결과 심장에서 81.78%, 비장에서 73.9%, 신장에서 70.4%, 간장에서 52.2%, 근육에서 7.0%가 양성이었다고 보고하였다.

본 실험의 경우에는 각각의 배지 종류별 양성율은 뇨의 경우 BS 6.0에서 53%, BS 7.2에서 29%, ML 8.0에서 13%, BS 8.0에서 11.5%, 간의 경우 BS 6.0에서 41.5%, BS 7.2에서 22%, BS 8.0에서 6.5%, ML 8.0에서 5.0%, 폐의 경우 BS 6.0에서 21.0%, BS 7.2에서 9.5%, BS 8.0에서 8.5% 그리고 ML 8.0에서는 음성이었으며, 신장의 경우에는 BS 6.0에서 31.5%, BS 7.2에서 14.5%, BS 8.0에서 20.0%, ML 8.0에서 3.0%, 비장의 경우 BS 6.0에서만 33.5%의 양성율을 보였다. 박 등²²⁾은 EEC-4 plate법을 사용하여 돼지 155두의 근육과 신장에서 항생물질 잔류 유무를 검사한 결과 근육에서 음성, 신장의 경우 BS 6.0에서 24건, BS 7.2에서 31건, BS 8.0에서 1건 등 22.6%의 양성율을 보고한 바 있으며, 허 등²¹⁾은 돼지에서에서 배지별 양성율은 심장, 신장, 비장, 간장을 대상으로 BS 6.0에 접종하였을 때 각각 76.5%, 47.8%, 46.1%, 43.5%이었으며, BS 7.2에서는 각각 84.3%, 68.7%, 58.3%, 50.4%, 비장, 심장, 신장, 간장에서는 BS 8.0

에서는 62.6%, 59.1%, 46.1%, 40.9%, ML 8.0에서는 각각 0.9%, 0%, 0%, 4.3%이었다고 보고하였다. 또한 TLC를 이용한 SOS kit를 사용하여 뇨에 대하여 sulfa제 검출시 sulfa제 표준물질의 Rf치 이외의 부분에서 발색 띠를 가진 시료의 EEC-4 plate 검사결과와 비교하여 본바 TLC plate에서 sulfa제 표준물질의 Rf치 이외의 부분에 발색되는 띠의 수가 1, 2, 3개로 나타나는 시료의 경우 EEC-4 plate 검사 결과 양성율이 77.8%, 80.9%, 66.7%로 TLC상에서 발색 부위가 없는 시료에서 EEC-4 plate 검사 결과 양성율인 53.9% 보다 다소 높은 수치를 보였으나 TLC상에서 sulfa제 표준물질의 Rf치 이외의 부분에서 나타나는 발색띠는 sulfa제 이외의 어떤 항생제인지는 확인할 수는 없었다.

이상의 결과 SOS kit를 이용한 TLC법으로 sulfa제 검출시 TLC plate에 표준물질 이외의 발색부위 존재시 100%, sulfa제 이외의 항생물질 잔류로 보기는 어려우나 TLC plate상에서 전혀 발색 부위가 없는 경우 보다 EEC-4 plate 검사시 더 높은 양성율을 보이므로 SOS kit를 이용하여 뇨내 잔류항생물질을 검사할 경우 TLC plate상에서 발색부위가 여러 나타나면 EEC-4 plate법을 반드시 병행하여야 할 것으로 사료되었다. 현재 뇨 및 혈청내의 약제 농도와 근육, 간장, 및 신장내 농도간의 관계에 대하여 연구되고 있으며, sulfa제의 경우에는 뇨 및 혈청내의 농도와 내부장기내의 함량과의 상관관계를 술식화한 연구결과를 Randecker et al⁹⁾이 보고하였다. 즉 sulfamethazine의 tissue concentration = ratio fluid concentration의 술식을 고안하고, 혈청 및 뇨를 근간으로 하여 근육, 간장 및 신장에 대한 각각의 ratio는 0.24, 0.90 및 0.53, 그리고 0.08, 0.27 및 0.16임을 보고하고, 돼지의 조직을 대상으로한 sulfamethazine의 잔류농도는 간장, 신장, 근육의 순서이며, 뇨내의 농도는 근육내 농도의 12.5배라고 보고하였다. 현재 국내에서는 근육을 대상으로 EEC-4 plate법을 응용하여 도축현장에서 항생물질 잔류 검사를 하고 있으나, 소의 정육에서는 paper disc내 체액의 흡습이 좋지 못하고 많은 수의 시료를 채취하기에 어려움이 있는 바, 이

실험 결과에서 보는 바와 같이 시료 채취가 간단한 뇨를 검색대상으로 선택하여 잔류항생물질을 측정하고 그 결과를 Randecker et al⁹⁾의 산술방법에 대입시킴으로써 더욱 짧은 시간내에 다수의 시료를 검색할 수 있을 것으로 판단되었다.

결 론

도축돈 200두의 뇨를 대상으로 SOS kit를 이용한 TLC법으로 sulfa제 잔류검사 그리고 뇨와 내부장기인 간, 폐, 비장 및 신장에 대하여 EEC-4 plate법으로 항생물질 잔류검사를 실시하였다. SOS kit를 이용하였을 때 표준 Rf치 이외의 부위에서 형광밴드를 보이는 뇨의 경우는 EEC-4 plate 검사로 항생물질 잔류유무를 확인하였다.

1. SOS kit를 사용하여 뇨에서 sulfa제 잔류 검사를 실시한 결과 200두 모두 음성이었다.
2. 뇨, 간, 폐, 신장 및 비장을 대상으로 EEC-4 plate법을 적용한 결과는 다음과 같다. 4 종류의 EEC-4 plate 배지 중 1개 이상의 배지에서 양성을 보인 것은 뇨, 간, 폐, 신장 및 비장에서 각각 63%, 49%, 24%, 36% 그리고 34%이었다. EEC-4 plate 배지별 양성율은 뇨의 경우 BS 6.0(53%), BS 7.2(29%), ML 8.0(13%), BS 8.0(11.5%)의 순이며, 간의 경우 BS 6.0(41.5%), BS 7.2(22%), BS 8.0(6.5%), ML 8.0 (5.0%), 폐의 경우 BS 6.0 (21.0%), BS 7.2(9.5%), BS 8.0(8.5%), 신장의 경우 BS 6.0(31.5%), BS 7.2(14.5%), BS 8.0(20.0%), ML 8.0(3.0%), 그리고 비장의 경우는 BS 6.0(33.5%)의 양성율을 보였다.
3. TLC plate상에서 형광의 발색부위별로 EEC-4 plate법을 적용한 바 발색대가 없는 경우 53.9%, 1개의 경우 77.8%, 2개의 경우 80.9% 그리고 3개의 경우 66.7%로 각각 나타났다.

이상의 실험결과 EEC-4 plate법으로 항생

물질 검사시 EEC-4 plate법의 판정 방법을 변형시키면 지육 대신 노를 사용하여 검색할 수 있을 것으로 본다. 한편, SOS kit를 사용하여 sulfa제 검출시 TLC plate상에서 표준물질의 Rf value이외에 형광의 발색 부위가 나타나면 EEC-4 plate법을 병행할 필요성이 요구되었다.

참 고 문 헌

1. Bevill RF. 1988. Sulfonamides. In : *Veterinary Pharmacology and therapeutics*. 6 ed. Ed by Booth NH and McDonalds LE : Ames, Iowa State University Press. 785-795.
2. Moaxs WA. 1988. Inactivation of antibiotics by heating in foods and other substrates. A review. *J Food Prot* 51 : 491-497.
3. O'Brien JJ, Campell N, Conaghan M. 1981. The effect of cooking and cold storage on biologically active antibiotic residues in meat. *J Hyg Camb* 87 : 511-523.
4. 배상호. 1996. 육류 및 우유위생수준 향상을 위한 정부의 시책 방향. *대한수의사회지* (32)5 : 274-284.
5. Bukanski BW, Degroodt JM, Beernaert H. 1988. A two dimensional high performance thin layer chromatographic screening method for sulfonamides in animal tissues. *Z. Lebesm Unters Forsch* 187 : 242-245.
6. Cieri UR. 1976. Detection of sulfonamides in animal feeds. *JAOAC* 59(1) : 56-59.
7. Horwitz W. 1981. Review of analytical methods for sulfonamides analytical methods for sulfonamides in foods and feeds. I. Review of methodology. *JAOAC* 64(1) : 104-130.
8. Bevill RF. 1989. Sulfonamide residues in domestic animals. *J Vet Pharmacol Therap* 12 : 241-252.
9. Randecker VW, Reagan JA, Engel RE, et al. 1987. Serum and urine as predictors of sulfamethazine levels in swine muscle, liver and kidney. *J Food Protect* 52(2) : 115-122.
10. Haagsma N, Dieleman B, Gortemaker BGM. 1984. A rapid thin layer chromatographic screening method for five sulfonamides in animal tissues. *Vet Quart* 6 : 8-12.
11. Cox BL, Krzeminski LF. 1982. High pressure liquid chromatographic determination of sulfamethazine in pork tissues. *JAOAC* 65(6) : 1311-1315.
12. Alled MC, Dunmire DL. 1978. High pressure liquid chromatographic determination of sulfamethazine at low levels in non-medicated swine feeds. *J Chromat Sci* 16 : 533-537.
13. Bevill RF, Pittert LW, Bourme DWA. 1977. Disposition of sulfonamides in food producing animals. IV. Pharmacokinetics sulfamethazine in cattle following administration of an intravenous dose and three oral dosage forms. *J Pharm Sci* 66(5) : 619-623.
14. Park OW. 1982. Screening test for sulfamethazine and sulfathiazole in swine liver. *JAOAC* 65(3) : 632-634.
15. Daun RJ. 1971. Simultaneous gas liquid chromatographic determination of four sulfonamides in feeds. *JAOAC* 54(6) : 1277-1282.
16. Lloyd WE, Jenny AL, Cox DF, et al. 1981. Relationship of sulfamethazine in swine diets and resultant tissue concentration using Tishler and gas-liquid chromatographic methods. *Am J Vet Res* 42 : 339.
17. Mammel AJ, Steller WA. 1981. Gas liquid chromatographic determination of sulfamethazine in swine and cattle tissues. *JAOAC* 64(4) : 794-799.
18. Booth NH, McDonald LE. *Veterinary pharmacology and therapeutics*. 6 ed. Iowa State University Press. 813-821.

19. 이장락. 1988. 수의약리학. 서울. 서울대학교출판부. 394-396.
20. 식품공전. 1991. 7장.
21. 허부홍, 전창권, 안병목 등. 1992. 소 및 돼지의 정육과 내부장기 중의 항생물질 잔류 조사. 한국가축위생학회지 15 : 93-100.
22. 박종명, 이광식, 조태행 등. 1991. 국내산 우육, 돈육 및 계육중의 항생물질 잔류 조사. 한국수의공중보건학회지 15 : 287-291.