

우유내 잔류물질 검사방법인 TTC-II법 및 Disk assay법의 비교시험

이정아, 이은미, 이성해, 도재철*, 박영구

경상북도 가축위생시험소 동부지소, 경상북도가축위생시험소*

Comparision of TTC-II and disk assay method for the detection of antibiotic residues in milk

Jeong-Ah Lee, Eun-Mi Lee, Seong-Hae Lee,
Jae-Cheul Do*, Young-Gu Park

*Eastern Branch of Kyongbuk Veterinary Service Laboratory
Kyongbuk Veterinary Service Laboratory**

Abstract

This test process on screening method for the detection of residual antibiotics in milk is simple, economic, sensitive to residual antibiotics and was given approval international organs. Thus, this study was carried out the comparison of Disk assay method and TTC-II method for sensitivity and minimum detectable range of antibiotics in raw milk.

The results of this study was summarized as follows :

1. The number of samples requested for treatment of mastitis was 198 samples. Comparison of analytical results among the methods of TTC-II, disk assay and Delvo SP was that TTC-II 37 samples(18.6%), Disk assay 125samples(63.1%), Delvo SP 130 samples(65.7%) reacted positively. Conformity rate of Delvo SP and Disk assay was 70%.
2. Detectable limits of disk assay method in some antibiotics were more sensitive than those of official method(0.05-0.0025ppm in the β -lactams, 1ppm in two aminoglycoside, 0.2 ppm in one tetracycline, similar in one macrolide)
3. For sensitivity of residual sulfonamides TTC-II was much more sensitive than disk assay. Detectable limits of sulfamethazine and sulfadimethoxine were 30 to 50ppm levels.
4. The best medium preservation period is 1-2 days.

5. Concentration of brome cresol purple related to resistance for *B. stearothermophilus* culture was 24ppm/ml.

These results show that disk assay method for screening detection of antibiotics residues in milk is worthy of use.

Key words : TTC-II, Disk assay, Antibiotics

서 론

우유는 경제성장과 국민의 식생활의 변화로 그 소비량이 날로 증가하고 있으며¹⁻²⁾, 특히 자연계에서 가장 완전한 식품인 바, 주 소비계층이 유아나 어린이들이므로 건강한 미래를 위한 우유의 위생과 안전은 더없이 중요하다. 따라서 우유중에 잔류되는 항균성물질에 대한 공중보건학적 문제는 심각히 고려해야 할 것으로 사료된다.

항생물질은 열에 안전하여 일반적인 시유나 유제품의 살균조건에서는 거의 파괴되지 않고 그대로 잔류하게 되며³⁾ 항생물질이 함유된 우유를 매일 마실 경우 체내에 항생물질 내성균이 출현하거나⁴⁾ 항생물질과민증이 되거나 혹은 소화기관의 정상세균총을 불안정하게 하기도 하며⁵⁾, 조혈기계의 장애, 간장염, 신장장애, 면역체형성 저해, 청각 및 시각장애, 발암성 등 많은 부작용에 대한 연구 보고가 있다⁶⁻⁹⁾.

항생물질잔류 검출방법으로는 high performance liquid chromatograph(HPLC), gas chromatograph(GC), thin layer chromatograph (TLC) 등 정밀한 장비를 이용한 이화학적 방법과 항생물질에 감수성이 예민한 *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea*, *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus stearothermophilus* 등의 세균을 이용하는 생물학적 방법이 있다^{8,10-12)}.

현재 우리나라에서 공정법으로 사용하고 있는 TTC-II 법¹³⁾은 생물학적 방법중의 하나로 세균 증식에 따른 대사과정의 산물에 의해 indicator를 환원시켜 특정한 색을 나타내게 되는 원리를 이용한 dye reduction test¹⁴⁾로 검사비용이

저렴하고 비교적 단시간내에 처리할 수 있어 편리하며 검출감도 또한 우수한 편으로 screening test로 장점을 지니고 있으나 검사과정이 복잡하고 색소환원 시험법으로 시험자간 발색 시간 및 양성판정에 이견이 있을 수 있으며, 국제적 인증기관의 검정과정 등 잔류물질 검사법으로서의 요건문제 등이 없지 않다. 따라서 본 실험에서는 미국 및 일본에서 현재에도 적용하고 있으며 오랫동안 공정법으로 사용해 온 disk assay법과 국내에서 사용되고있는 TTC-II 법을 비교 시험하고 우리나라에서의 적용방안을 강구해 보고자 하였다.

Disk assay¹⁵⁾는 IDF¹⁶⁾ 및 AOAC¹⁷⁾에 등록된 우유내 항생물질 잔류검사법으로 특히 β -lactam계 항생물질에 대해 감수성이 높은 *B. stearothermophilus*¹⁸⁾를 이용 발육저지억제대 유무로 항생물질 오염을 판정하는 방법으로 최근 이 방법을 kit화한 Delvo P 및 SP법은 우리나라의 집유장에서 많이 사용하고 있다¹⁹⁾. 그러나 kit화된 방법은 검출성적이 좋은 반면 검사비용의 부담이 커 screening test로서는 부적절하여 고전적인 방법인 disk assay 와 TTC-II 법의 검출감도, 비용, 실험의 용이성을 비교 실험하였고 또한 우리 소 관내 유업체와의 공동실험으로 raw milk에서의 세 방법간 비교실험을 실시하여 screening test로서 적합한 방법을 찾고자 본 실험을 실시하게 되었다.

재료 및 방법

1. 공시재료

관내 유업체에서 집유한 raw milk 재료를 Delvo SP test로 검사 후 disk assay, TTC-II

법으로 검출감도를 비교 검사하였다. 항생제별, 농도별 검출감도는 잔류물질 음성 원유에 표준품을 희석하여 두 방법간 비교시험을 실시하였다.

2. 시험방법

1) TTC-II법 : 검사 의뢰된 raw milk 및 항생제 농도별로 실험을 실시하였다.

2) Disk assay : International daily federation(IDF)기준방법 및 sulfa제의 감도를 높이기 위해 항생물질 검출배지에 5 μ g/ml의 TMP를 첨가²⁰⁾ 제조하였으며 판독의 용이를 위하여 염색제인 bromcresol purple을 AOAC 방법인 6 μ g/ml에서 균증식에 영향이 없는 것으로 나타난 12 μ g/ml농도로 첨가한 배지와 병행 실험을 실시하였다.

3) Delvo SP : 유업체에 검사 의뢰된 가검물에 대하여 실시하였다.

3. 시험균주

Streptococcus thermophilus ATCC 14485와 *Bacillus stearothermophilus*(*B calidolactis*) ATCC 10149를 사용하였다.

4. 사용배지

IDF standard 및 AOAC official method에 의거 제조 사용하였다. 시험용배지의 사용기간

은 IDF standard에서는 배지 제조 직후 비닐팩에 넣어 냉장 보관하면 1주일간 사용이 가능하다고 하였으나 반응시간 실험결과 당일제조~2일 경과 배지에서는 2.5~3시간, 3일~4일 경과 배지는 4시간 이상, 5~6일 경과 배지는 5시간 이상의 결과 지연이 있으므로 본실험에서는 당일제조~2일 경과 배지만을 사용하였으며 streptomycin(항생제 disk 10 μ g/ml, BBL)에서 저지대의 직경 15mm 이상되는²¹⁾ 배지만을 사용하였다.

5. 재료 및 시약

Ampicillin(AM), cephalopyrin(CP), erythromycin(E), neomycin(N), gentamicin(GM), tetracyclin(TC), penicillin-G(P), sulfamethazine(SMZ), sulfamethoxine(SMX), trimethoprim, 2,3,5-TTC, penicillinase, brome cresol purple은 Sigma사의 제품을, pulp disc는 직경 10mm 두께 1mm Advantec사(항생물질 검사용)제품을 사용하였다. 항생제별 solvent 및 diluent 는 Table 1에서 보는 바와 같다.

6. 실험과정

1) 보존용배지(TSA)에 보존된 *B stearothermophilus* 1 loop를 증균용배지(TSB)에 접종하여 55 \pm 1 $^{\circ}$ C에서 16~18시간 배양 후 미리 만들어 놓은 한천배지(yeast-beef agar)를 녹여 55 $^{\circ}$ C로 식힌 후 1 : 5의 비율로 혼합 후 직경

Table 1. Solvent and diluent for each antimicrobial drugs

Antimicrobial drug	Solvent	Diluent
Ampicillin	0.1M phosphate buffer pH 8.0	Water
Cephapyrin	〃	〃
Gentamicin	〃	〃
Erythromycin	Methanol	〃
Neomycin sulfate	Water	〃
Pecillin G	〃	〃
Tetracycline	〃	〃
Sulfamethazine, sodium salt	〃	〃
Sulfamethoxine, sodium salt	〃	〃

9cm의 petridish에 8ml씩 분주 응고시킨 후 사용하였다.

2) 항생물질검사용 disk paper를 검사시료에 적신 후 한천배지에 놓고 핀셋으로 눌러준다.

3) Petridish를 뒤집어서 55°C에서 3시간 배양하여 디스크 주위의 발육저지대의 유무와 크기를 측정하였다. 이때 반응이 명확치 않을 경우 5시간까지 배양하였다.

7. 결과판정

1) Raw milk는 저지대의 직경이 12mm이상인 것을 양성으로, 12mm미만인 것은 의양성으로 판정하였다.

2) 항생물질첨가 milk는 양성 standard sample로 0.005µ/ml penicillin함유 disc의 저지대 이상인 것을 양성으로 판정하였으며 대조보다 적은 직경은 의양성으로 판정하였다.

결 과

Raw milk에서의 세 방법간 성적은 Table 2에서 보는 바와 같다. 의뢰건수 198건 중 Delvo SP는 130건(65.7%), disk assay 125건(63.1%), TTC-II 37(18.6%)건이 양성으로 나타나 Delvo SP 와 disk assay는 비슷한 성적을 보인 반면, TTC-II는 낮은 성적을 나타내었다.

Table 2. Comparison of 3 methods for detecting antibiotic residue in raw milk

No of tested sample	Method		
	TTCII	Disk assay	Delvo SP
198	37(18.6%)	125(63.1%)	130(65.7%)

항생제별 농도에 따른 TTC-II 법과 disk assay의 성적은 Table 3~11에서와 같이 나타났다.

Table 3~5에서 보는 바와 같이 β-lactam계 항생물질에 대한 두 방법간 검출농도는 TTC-II에서는 0.2~0.05ppm의 검출농도를 disk

assay에서는 0.05~0.025ppm의 검출농도를 보여 disk assay가 더 높은 검출감도를 나타내었다.

Table 3. Comparison of TTC-II and disk assay method ampicillin of concentration

Method	Ampicillin concentration (ppm/ml)					
	100	10	1	0.1	0.05	0.01
TTC II	+	+	+	+	+	±
Disk assay	+	+	+	+	+	+

Table 4. Comparison of TTC-II and disk assay method of penicillin G concentration

Method	Penicillin G concentration (ppm/ml)			
	0.01	0.0075	0.005	0.0025
TTC II	+	+	+	-
Disk assay	+	+	+	+

Table 5. Comparison of TTC-II and disk assay method of cephalopyrin concentration

Method	Cephalopyrin concentration (ppm/ml)				
	20	2	0.2	0.04	0.02
TTC II	+	+	+	±	-
Disk assay	+	+	+	+	+

Table 6. Comparison of TTC-II and disk assay method of erythromycin concentration

Method	Erythromycin concentration (ppm/ml)					
	50	5	0.5	0.1	0.05	0.005
TTC II	+	+	+	+	±	-
Disk assay	+	+	+	+	±	-

Erythromycin에 두 방법간 검출농도는 Table 6에서 보는 바와 같이 두 방법 모두 0.1ppm의 농도까지 검출할 수 있었다.

Table 7. Comparison of TTC-II and disk assay method of gentamicin concentration

Method	Gentamicin concentration (ppm/ml)					
	300	30	10	1	0.5	0.05
TTC II	+	+	+	±	-	-
Disk assay	+	+	+	+	±	-

Table 8. Comparison of TTC-II and disk assay method of neomycin concentration

Method	Neomycin concentration (ppm/ml)					
	300	150	100	10	1	0.5
TTC II	+	+	+	±	-	-
Disk assay	+	+	+	+	+	±

Table 7~9에서 보는 바와 같이 GM, N, TC에서는 disc method는 0.5ppm, 0.1ppm까지 검출할 수 있었으나 TTC-II에서는 1ppm, 10 ppm, 0.2ppm정도의 검출농도를 보여 disk assay가 우수한 것으로 나타났다.

Table 9. Comparison of TTC-II and disk assay method of concentration

Method	Tetracycline concentration (ppm/ml)				
	100	10	1	0.2	0.1
TTC II	+	+	+	±	-
Disk assay	+	+	+	+	±

Sulfa제에 대한 검출감도 시험은 Table 10-11에서 보는 바와 같이 TTC-II에서 월등히 높은 검출감도를 나타내었다.

한편 disk assay method에 Sulfa제와의 상승작용을 위한 5µg/ml의 TMP첨가배지와 비교성적에서는 TMP를 첨가하지 않은 배지와 거의 비슷한 성적을 나타내었다.

배지 제조후 사용 시간에 따른 반응시간의 차이는 Table 11에서 보는바와 같이 당일제조 사용~2일 경과 배지는 2.5~3시간, 3~4일 경과 배지는 4시간 이상, 5~6일 경과 배지는 5시간 이상이 지나야 반응을 나타내었다.

판독의 용이성을 위해 disk assay의 응용방법인 6µg/ml의 brome cresol purple을 첨가하여 균의 발육에 영향을 미치지 않으면서 저지대의 판독을 용이하게 하는 농도의 실험결과는 Table 12에서 보는 바와 같이 24ppm/ml 으로 나타났다. 그러나 raw milk에서의 실험결과 저지대의 기본배지와 저지대의 직경이 같은 농도는

Table 10. Comparison of TTC-II and disk assay method of sulfamethazine concentration

Method	Sulfamethazine concentration(ppm/ml)							
	100	50	30	10	1	0.5	0.25	0.05
TTC II	+	+	+	+	+	+	±	-
Disk assay	+	+	±	-	-	-	-	-

Table 11. Comparison of TTC-II and disk assay method of sulfadimethoxine concentration

Method	Sulfadimethoxine concentration(ppm/ml)							
	100	50	30	10	1	0.5	0.25	0.05
TTC II	+	+	+	+	+	+	+	±
Disk assay	+	+	+	±	-	-	-	-

12ppm/ml이었다.

Brome cresol purple은 균이 자라면서 산을 형성 고유의 색인 자색에서 황색으로 변하여 판독을 용이하게 해 준다.

Table 12. Reaction time depends on medium preservation period

Medium	Preservation period(day)		
	1-2	3-4	5-6
Reaction time (hrs)	2.5-3	over 4	over 5

Table 13. Concentration of brome cresol purple(BCP) relates to resistance for *B. stearothermophilus* culture

	BCP concentration (ppm)				
	6	12	18	24	30
<i>B. stearothermophilus</i>	+	+	+	+	±

고 찰

우유내 잔류하는 항균성물질의 screening test로는 시험법이 간편하고 신속성이 있으며, 경제성 또한 무시할 수 없는 요건인 동시에 각국에서 설정하고 있는 최대잔류허용한계치를 충족시킬 수 있는 검출감도 등을 갖추어야 한다.

최근 개량된 TTC-II 법, 정등²⁹⁾이 보고한 개선된 TTC 법에 의해 검출감도에 관한점은 많이 개선되었다고는 하나 많은 시료를 한꺼번에 처리하기에는 실험과정의 번거로움이 있고 IDF 또는 AOAC등 국제기관의 인증이 필요할 것으로 사료된다.

이에 IDF 및 AOAC 에 등록되어있으며 실험과정이 비교적 간단하고 경제적 부담이 크지 않으면서 검출감도 또한 비교적 좋은 편으로 현재에도 미국, 일본 등에서 공정법으로 사용하고 있는 disk assay을 우리나라의 공정법인 TTC-II 법과 비교 실험하였다. disk assay method는 우유내 항균성물질 검사법 중 bioassay중의 하나로 특히 β -lactam계에 감수성이

높은 *B. stearothermophilus*(*B. calidolactis*)를 이용하여 원유내 항균성물질을 검출하는 방법으로 β -lactam계 뿐만 아니라 기타 항생물질에도 반응한다고 보고되었다^{16,23)}.

최근 이 방법을 kit화한 상품으로 Delvo P, Delvo SP법은 미국, 유럽뿐 아니라 최근 강화된 원유내 잔류물질검사 방법으로 국내 집유장에서 많이 사용하고 있는 것으로 조사되었다. 그러나 Delvo SP법은 검출감도 및 실험과정의 편리성이 높은 반면 건당 1,000원 정도의 검사 비용 부담이 커 농가별 검사인 screening test로서는 무리가 있을 것으로 사료된다.

항생제 치료 후 검사의뢰된 raw milk에 대한 세 방법간 비교시험결과 검사건수 198건 중 Delvo SP는 130건(65.7%), disk assay는 125건(63.1%), TTC-II는 37건(18.6%)의 양성률을 보여 Delvo SP와 disk assay는 비슷한 성적을 보인 반면 TTC-II는 낮은 성적을 나타내어 박등²⁴⁾이 보고한 TTC method²⁶⁾와 disc assay의 비교시험에서 1.3%, 8.5%의 성적에서 보는 바와 같이 disk assay의 검출감도가 높은 것으로 나타났다. 박등²⁴⁾이 보고한 양성률에 대한 차이는 검사 의뢰한 시료와 일반 screening시료와의 차이점으로 사료되며 TTC-II와의 비교 시험에서 disk assay의 검출감도가 높은 것은 현재 관내 낙농가들이 사용하고 있는 항생제의 종류 및 유방염 원인균에도 영향이 있는 것으로 사료된다.

Delvo SP 와 disk assay의 일치율은 70%로 홍 등²⁵⁾이 보고한 82% 보다 약간 낮은 성적을 보였는데 이는 Delvo P와 disk assay의 비교 시험으로 Delvo P 보다 Delvo SP법의 감도가 높은 것으로 알려져 있다.

3종의 β -lactam계 항생물질에 대한 최저검출 농도는 TTC-II에서 0.005~0.04ppm으로 정등²⁹⁾이 보고한 0.005~0.1ppm보다는 높은 성적을, 조 등²⁷⁾이 보고한 0.005~0.05ppm 보다는 약간 낮은 성적을 나타내었고 disk assay에서는 0.0025~0.02 ppm의 검출감도를 나타내어 β -lactam계의 항생물질에 민감한 *B. stearothermophilus*의 특성을 그대로 보여주는 결과를 나타내었다²⁸⁻³⁰⁾.

Erythromycin에서는 두 방법 모두 0.1ppm 까지 검출농도를 보여주어 정 등²²⁾, 조 등²⁷⁾과 비슷한 성적을 나타내었고, neomycin은 TTC-II에서는 10ppm의 검출농도를 disk assay에서는 1ppm의 검출농도를 보여 disk assay에서 더 나은 성적을 나타내었으며 gentamicin에서는 TTC-II는 10ppm의 검출농도를 보여 정 등²²⁾ 조 등²⁷⁾과 비슷한 성적을 보였고, disc assay는 1ppm까지의 검출농도를 보여주어 TTC-II보다 좋은 감도를 나타내었다.

2종의 sulfa제에 대한 두방법의 비교성적은 TTC-II는 sulfadimethoxine이 0.05ppm, sulfamethazine이 0.25ppm의 농도로 나타나 정 등²²⁾의 0.1~0.5ppm보다 높은 성적을, 조 등²⁷⁾의 0.05ppm, 0.025ppm보다 낮은 성적을 나타내었으며, disk assay에서는 sulfadimethoxine 30ppm, sulfamethazine 50ppm의 검출농도를 나타내어 B stearothermophilus가 sulfa제에는 감수성이 낮다¹⁷⁻¹⁸⁾는 것을 보여주었으며 Charm 등³¹⁾이 보고한 disk assay에서의 sulfamethazine 검출농도 0.025ppm은 121°C 20분간의 시료에 멸균 및 pH조정이 필요하며 64°C에서 18시간 이상을 배양해야하는 등 실험방법의 차이가 있었다. 배지제조후 사용 시간에 따른 반응시간의 실험에서 IDF standard에서는 배지제조 후 즉시 비닐팩에 넣어 냉장보관하면 1주일간 사용이 가능하다고 했으나 시간이 지남에 따라 반응시간이 2.5~3시간에서 5시간이상으로 길어져 당일제조 배지부터 2일경과 배지에서 가장 짧은 시간에 반응을 나타내 주어 반응시간으로 볼 때 배지 제조 후 3일 이내에 배지를 사용하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

발육저지대의 판독용이를 위한 brome cresol purple의 사용농도 실험에서 AOAC방법에 6 µg/ml 첨가로 되어 있었으나 본 실험에서 이 농도의 4배까지 첨가하여도 균의 발육에 영향이 없는 것으로 나타났으나 raw milk에서의 비교 실험결과 기준농도의 2배인 12µg/ml에서 표준 배지와 같은 직경의 저지대를 나타내었다. 이때 발색의 정도는 기준농도 보다 자색과 황색의 경계가 뚜렷이 나타나 판독이 더욱 용이한 것으로 나타났다.

두 방법간 경제적 부담의 차이는 없는 것으로 나타났으나 전처리과정이 필요없어 배지만 제조되어 있으면 항생제 검사용 disk paper에 시료를 흡착시킨 후 바로 실험할 수 있는 편리성, 1회 검사시 소요되는 시료량이 적고, 또 우리나라에서 발생하는 유방염 원인균에 따른 항생제 종류, 국제기관의 인준여부 등으로 비교해 볼 때 disc assay법의 도입을 고려해 볼만하다고 사료되며 다만 sulfa제에 대한 검출감도에 대해서는 앞으로 연구해야 할 과제로 남아 있다.

결 론

우리나라에서 사용중인 원유내 세균발육억제물질의 공정검사법인 TTC-II 법과 미국, 일본 등에서의 실험법인 disk assay의 비교실험에서 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 유방염 치료 후 검사의뢰된 raw milk에서의 Delvo SP, disk assay, TTC-II법의 검출률은 검사건수 198건중 130건(65.7%), 125건(63.1%), 37건(18.6%)으로 Delvo SP와 disk assay의 검출 감도가 높은 것으로 나타났고 Delvo SP와 disk assay의 일치율은 70%로, 세 방법간 일치율은 24.6%로 나타났다.
2. 항생제별 검출감도는 3종의 β-lactam계에서 disk assay는 0.01~0.025ppm, TTC-II에서는 0.2~0.05ppm의 검출농도를 GM, N, TC에서는 disc method는 0.5ppm, 0.5ppm, 0.1ppm의 검출 농도를 나타내었고 TTC-II에서는 1ppm, 10ppm, 0.2ppm 정도의 검출농도를 보여 disk assay가 우수한 것으로 나타났다. 2종의 sulfa제에서는 disk assay는 30-50ppm의 검출농도를 TTC-II에서는 0.25-0.5ppm의 검출농도를 나타내어 TTC-II법이 더욱 좋은 성적을 나타내었다.
3. 배지제조 후 사용기간은 당일제조부터 2일 경과 배지 사용할 때 3시간 이내에 결과를 판정할 수 있었으나 최대 7일까지 사용이 가능한 것으로 나타났다.

4. 판독의 용이를 위한 brome cresol purple의 농도는 24 μ g/ml의 농도까지 사용하여도 균의 발육에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.
5. 항생제별 검출농도, raw milk에서의 검출률, 검사과정의 편리성, 국제기관의 인준 여부, 우리나라에서 발생하는 유방염의 원인균 및 그 치료약제 등으로 볼 때 원유중 항생물질검사법으로 disk assay법의 도입은 고려할만한 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 농림수산부. 1991. Dairy statistics. 61~62.
2. 저자. 1990. 한국수의공중보건학. 출판사. 서울 : 452~454.
3. Edvinsson L, Gross DM, Mohamed A. 1983. Characterization of histamine receptor in cat cerebral arteries in *in vitro* and *in situ*. *J Pharmacol Exp Ther* 225 : 168.
4. Vickers HR, Bagaratuni L, Alexander S. 1958. Dermatitis caused by penicillin in milk. *Lancet* 1 : 358.
5. Marth EH. 1961. Antibiotic in milk—A review. II Method for detection of antibiotic in milk. *J Milk Food Technol* 24 : 36~44.
6. Mandell GL, Sande HA. 1989. Antimicrobial agents. In : *The pharmacological Basis of Therapeutics*. 출판사. 출판지 : 1106.
7. WHO Thechnical Report Series 788. 1989. *Thirty-fourth report of the joint FAO/WHO expert commitee on food additives, evaluation of certain veterinary drug residues in food*. WHO. Genova : 32.
8. Kornfeld, Karolus, JM and JJ. 1977. Effect of the base layer in the cylinder plate method for analysis of penicillin. *J Food protect* 40 : 459~461.
9. Weber JD, Smedley MD. 1989. Liquid chromatographic determination of sulfamethazine in milk. *JAOAC* 72 : 445~447.
10. RB, Rdad, JR, JG. Bradshaw, AA. Swartzenruber and AR. Brazis. 1971. *Applied Microbiology*, May p806~808.
11. Neal CE, Calbert HE. 1955. The use of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as test for antibiotic substance in milk. *J Daily Sci* 38 : 629~633.
12. Igarashi RT, Baughman RW, Nelson FE, et al. 19???. Rapid antibiotic assay method using *Bacillus stearotherophilus*. *J Milk Food Technol* 24 : 143~146.
13. 농림수산부. 1996. 농림수산부고시 제1996-46호. 축산물시험방법중 개정고시.
14. Johns CK, Berzins I. 1956. Observation on the determination of antibiotic in milk. *J Milk Food Tech* 19 : 14~17.
15. Arret B, Kirshbaum A. 1959. Rapid disk assay method for detecting penicillin in milk. *J Milk Food Tech* 22 : 329~331.
16. International dairy federration standard. 1991
17. AOAC : Official method of analysis of the association of official analytical chemists, 14 ed. Virginia. USA.
18. Bergery's manual of systematic bacteriology p1069~1070. 1984.
19. 손봉환. 1997. 우유검사 안전성 제고 방안. *한가위지* 20(4) : 429~450.
20. 김영수, 황래홍. 1992. Sulfamethazine, trimethoprim이 원유의 TTC검사에 미치는 영향에 관한 연구. *한가위지* 15(2) : 101~108.
21. 한국식품가공협회. 1997. 식품공전(II). 축산식품중 잔류물질시험법. 287~289.
22. 정동수, 김동훈, 이상목. 1995. 2,3,5-Triphenyl terazolium chloride(TTC) 환원시험법의 개선에 관한 연구. *한가위지* 18(2) : 163~176.
23. 花岡正溥, 野尻正彦, 中村克夫, 等. 1979. テルホ○テストの 精度よび 實用性について. 北海道酪農検査所 事業成績備考書 : 64~68.
24. 박병옥, 백미순, 박향미 등. 1994. 원유중의 잔류설과제검사를 위한 액체크로마토 그래

- 피 및 신속진단법의 비교연구 한국수의공
중보건학회지 18(1) : 65~69.
25. 弘雅信, 田中廣, 二階堂 等. 1987. 生乳中の
抗生物質のノート残留検査. 北海道清水町
農業共済組合 業績.
 26. 농수산부. 1985. 농수산부고시 제85-48호
축산물시험방법.
 27. 조병훈, 김봉환, 손성완, 진남섭, 박종명.
1993. 원유중 잔류설파제의 검출을 위한 2,3,
5-Triphenyl Terazolium Chloride(TTC)
환원시험법의 개량. 한국공중보건학회지 17
(1) : 77~86.
 28. Ouderkirk LA. 1979. *Bacillus stearothero-*
mophilus disk assay for detection of resi-
dual penicillins in milk : Collaborative
study. JAOAC 62 : 985~988.
 29. Van Os JL, Lameris SA, Doodeward J, et
al. 1975. Diffusion test for the determina-
tion of antibiotic residues in milk. *Neth*
Milk Dairy J 29 : 16~34.
 30. Vilin AS, More SD, Laroque L. 1979. Mic-
robiological determination of penicillin G,
ampicillin, and cloxacillin residues in milk.
JAOAC 62 : 1247~1250.
 31. Charm SE, Zomer E, Salter R. 1988. Con-
firmation in northeast U. S. market milk.
J Food Prot 51 : 920~924.