

서울지역의 도축 소·돼지 지육에서의 잔류물질 비교 조사

임홍규¹, 최태석, 윤은선, 이주형, 기노준, 이정학

서울특별시보건환경연구원
(접수 2003. 4. 13, 게재승인 2003. 5. 15)

Comparison of antibiotic residues on beef and pork carcass in Seoul

Hong-Kyu Lim, Tae-Suk Choi, Eun-Sun Yun, Joo-Hyung Lee,
No-Joon Ki, Jung-Hark Lee

Seoul Metropolitan Health & Environment Research Institute, Seoul, 137-130, Korea
(Received 13 April 2003, accepted in revised from 15 May 2003)

Abstract

This study was carried out to compare the antibiotic residues in the muscles of cattle and pigs from slaughter-houses in Seoul from 2000 to 2002 by EEC-4-plate, Charm II and HPLC methods. The results were summarized as follows:

1. Residual materials were detected from 41 samples(0.6%) by EEC-4-plate method from random sampling and 38 samples(12%) by Charm II method from directed sampling.
2. Violation rates were 0.3% by monitoring and 4.7% by surveillance program.
3. The 35 samples were classified as tetracyclines 30(86%), sulfonamides 4(11%), β -lactams 1(3%) and two samples simultaneously determined oxyteracycline plus sulfadimetoxine, and sulfamerazine plus sulfadimetoxine.
4. The highest residual concentration(ppm) of chlortetracycline, oxytetracycline, sulfamethazine, sulfadimetoxine and penicillin were 0.5, 12.0, 6.4, 2.6 and 0.44, respectively.

Key words : Antibiotic residue, Beef, Pork

서 론

국가 간 교역의 급속한 변화와 국제화에 따

라 출범한 세계무역기구(WTO)는 모든 교역에 있어 예외규정을 두지 않고 있는 실정이며 특히 식품분야에 결정적인 영향을 미치는 SPS

¹Corresponding author

Phone : +82-2-570-3432, Fax : +82-2-570-3206

E-mail : hgrhim@hanmail.net

규정상 육류에 대한 위생검사는 국내산, 수입산을 “차별없이 검사하도록 규정”하고 있어 수입개방화에 따른 국내산 축산물의 안전성 확보가 매우 중요한 실정이다.

식육의 안전성 확보는 가축사료, 도축, 가공, 제조, 유통판매, 조리, 섭취에 이르는 전 과정에서 각각 계획되고 관리되어야 비로소 안전성 확보라는 궁극적인 목표를 달성하는데 가축의 질병예방과 치료, 사료첨가제로 사용되는 동물약품(항생물질, 합성항균제, 호르몬제)은 식육 중 잔류 가능성이 높아 가축사육과정에서 가장 중요하게 관리되어야 할 위해 요인이라 할 수 있다. 그리하여 정부에서는 축산물중 잔류물질 분석법 및 허용기준을 제정고시^{1,2)}하고 육류중 유해성잔류물질검사요령을 고시³⁾하여 도축장에 출하되는 소, 돼지에 대한 합성항균제, 항생제, 농약, 호르몬 및 중금속의 잔류실태를 조사하고 있다.

현재 국내에서 진행중인 축산물내 잔류물질 검사방법으로는 EEC 4-plate³⁻⁵⁾, BmDA method³⁻⁵⁾, thin layer chromatography(TLC)^{3,6)}, radioimmunoassay method(Charm II)^{3,7)}, high performance liquid chromatography(HPLC)⁸⁻¹⁰⁾, gas chromatography(GC)^{4,11)}, mass spectrophotometry(MS)^{4,11)} 등이 활용되고 있으며 1996년부터는 생체 내에서 잔류물질을 검사하도록 규정³⁾하고 있어 뇨나 혈액을 이용한 검사방법이 많이 소개되고 있다^{6,12,13)}.

현재 서울시내 도축장에서는 지육에 대해서 EEC 4-plate, Charm II, Charm modulate, HPLC 등을 이용하여 검사하고 있다.

이에 본 조사는 2000년부터 2002년까지 서울시 관내 2개 도축장에 출하된 소·돼지의 지육내 유해물질의 잔류조사를 실시하여 잔류위반 지육의 폐기조치, 출하농가의 계도, 홍보자료로 활용하는 등 축산물 안전성 확보에 기여하고자 하였다.

재료 및 방법

공시재료

EEC 4-plate method : 2002년도 서울시 관

내 2개 도축장에 출하된 소 82,923두와 돼지 752,546두 중 소 2,412두(2.91%)와 돼지 4,191(0.56%)의 근육을 100g씩 채취, -20℃의 냉동실에 12시간 이상 보관 후 실험에 사용하였다.

Charm II method : 도축전 잔류가 의심되었던 소의 지육 316건을 대상으로 하였다.

고속액체크로마토그래프(HPLC)에 의한 정량검사 : EEC 4-plate method에서 양성으로 판정되었던 지육 41건과 radioimmunoassay method(Charm II)에서 양성으로 판정되었던 지육 38건을 대상으로 하였다.

시험방법

1) EEC 4-plate method

① 검사용 디스크 : 직경 10mm, 두께 1.5mm의 멸균된 항균성물질 검사용 filter paper (Advantec, Japan)를 사용하였다.

② 균주 및 균액 제조 : 사용된 균주는 Merck사에서 시판되고 있는 *Bacillus subtilis* (BGA) - 아포 부유액을 사용하였다.

③ 배지 : Merck사에서 시판하고 있는 test agar pH 6.0(No. 10663), 7.2(No. 15787), 8.0(No. 10664)를 각각 사용하였다. 멸균한 배지를 48~50℃ water bath에 약 2시간 동안 방치한 후 BGA-아포 부유액을 각각의 배지 1000 ml 당 1 ml의 비율로 첨가하였다. 시험균액을 첨가한 후 약 1분간 잘 혼합하여 피펫으로 6ml씩 ptrydish(87×15ml, 녹색자)에 분주하여(이때 배지두께는 1mm)뚜껑을 살짝 열어 둔 상태로 약 30분간 방치한 후 사용하였다.

④ 검사방법 : 냉동보관 중인 시료를 해동시켜 멸균된 외과용 칼로 시료 중간부를 절개하고 그 사이에 filter paper를 삽입하여 시료의 육즙을 충분히 흡수시킨 후 준비된 배지에 2매씩 부착시키고 가볍게 눌러준 다음 실온에 약 30분 방치하여 32℃ 배양기에 넣어 16시간 배양한 후 결과를 판정하였다. 캘리퍼스 등을 사용하여 시험균의 발육억제대를 측정한 결과, 디스크 직경 10mm를 포함하여 억제대가 14mm이상인 평판이 하나 또는 그 이상인 경우 해당 시료를 양성으로 판정하였다.

Table 4. Confirmation of the HPLC for positive sample by ECC 4-plate method and radioimmunoassay

Species	Year	No of positive Sample by ECC4-plate method	No of positive sample by HPLC	radioimmunoassay	HPLC
Beef	2000	3	0	4	5
	2001	14	11	41	22
	2002	4	1	38	15
Pork	2000	35	12	0	0
	2001	43	20	2	0
	2002	37	19	0	0
Total		136	63	85	42

총 기준초과 건수는 4건(11.4%)이었다. Sul-famonomethixine은 1건 검출되었으나 이는 기준이하였다. β -lactam계도 소에서만 1건 기준초과로 검출(2.86%)되었다. 전체 검출두수 46두 중 위반건수는 35건으로 Table 3과 같다.

출하지역별 검출두수

검출두수 46두를 기준으로 볼 때 서울이라는 지역적 상황으로 경기남부에서 검출률이 22두(47.8%)로 가장 높았으며, 위반두수 또한 35두 중 17두(48.5%)로 제일 높았다. 그 다음으로는 경기북부가 7(15.2%), 충청남도가 9(19.5%)로 비슷한 검출률을 나타냈다.

고 찰

시민의식이 높아지면서 축산물의 안전성에 대한 소비자의 요구수준이 향상되고 있으며 UR 타결이후 세계무역기구(WTO)의 출범과 동시에 축산업뿐만 아니라 모든 산업이 개방화됨에 따라 축산물의 잔류방지 및 안전성확보 등, 품질 경쟁력을 갖추는 것이 소비자의 신뢰도와 선호도를 높이는 길이다. 국가에서는 1991년부터 1995년에는 농림수산사업통합실시계획(축산발전계획)을 만들었으며 1996년부터 현재까지 육류 중 유해성잔류물질 검사요령을 제정하여 오고 있고 이러한 추세에 맞추어 잔류물질검사를 국내에서는 1996년 축산물 중 잔류물질 분석법 및 허용기준을 제정고시하여

1990년부터 축산물의 잔류물질시험을 실시하고 있다.

본 조사에서는 6,603건을 EEC 4-plate method로 검사한 결과 41건(0.6%)이 검출되었는데, 이는 백 등²¹⁾의 1,364건 중 10건(0.75%), 박 등¹⁶⁾의 국내산 우육을 대상으로 128두를 EEC 4-plate method로 검사한 결과 모두 음성, 김 등¹⁷⁾의 2,715건 중 152(5.6%) 보다 높거나 비슷하게 나타났으며, 허 등¹⁸⁾의 59건 중 4건(2.4%)보다는 낮은 양성률을 보였다.

계절별로는 2000년도에는 봄 15건(39.4%) 여름 3건(7.9%) 가을 8건(21.1%) 겨울 12건(31.5%)로 봄과 겨울에 양성률이 높았으며, 2001년도에는 봄 10건(17.5%) 여름 22(38.6%) 가을 13(22.8%) 겨울 12건(21.1%)으로 여름과 가을에 양성률이 높았으며, 2002년에는 봄 11건(26.8%) 여름 13건(31.7%) 가을 11건(26.8%) 겨울 6건(14.6%)로 여름에 양성률이 가장 높았다. 김 등¹⁷⁾은 가을, 여름 순으로 높은 양성률을 보였고 백 등²¹⁾은 여름, 가을순으로 높은 양성률을 보였다고 보고는 2001년도와 2002년도의 결과와는 일치하였다.

본 조사에서는 잔류항생물질은 tetracycline 계가 40건(86.9%)으로 그중 oxytetracycline이 15건(32.6%)으로 전부 소에서만 검출되었으며, chlortetracycline은 25건(54.3%)으로 전부 돼지에서만 검출되었다. Sulfa제는 6건(13%), β -lactam계는 1건(2.1%)로 전부 소에서만 검출되었고, 그 중 중복검출은 3건(oxytetracycline +

sulfadimethoxine, chlortetracycline + oxytetracycline, sulfadimethoxine + sulfamerazine) 이었다. 이러한 결과로 소에서 사용되는 tetracycline계 항생제 중에서 현재 우리나라에서 많이 사용되고 있는 것은 oxytetracycline이고 돼지에서 주로 사용되는 물질은 chlortetracycline이라는 것을 추정할 수 있다.

김 등¹⁷⁾의 보고에 따르면, CCE 4-plate method에서 양성을 보인 152건 중 tetracycline의 종류를 검출하기 위해 HPLC를 이용한 검사결과 5건(3.3%)에서 oxytetracycline 양성을 보였다. 박 등⁷⁾은 4건의 양성시료 중 2건에서 4.22 ppm, 3.64 ppm이 검출되었다고 보고하였고, 백 등²¹⁾은 4건(0.29%)에서 oxytetracycline이 0.45 ppm, 6.34 ppm, 2.10 ppm, 2.08 ppm으로 검출되었다고 보고하였다. 또한 조 등¹²⁾은 5건의 시료중 단한 건도 tetracycline계 항생제가 검출되지 않았다고 보고한 바 있다. 이에 반해 본 조사에서는 ECC 4-plate method에서 양성을 보인 41건에서 20건(48.7%)의 검출률과 Charm II에서 양성을 보인 38건에서 15건(39.5%)의 높은 검출률을 보였다. 백 등²¹⁾은 돼지에서도 oxytetracycline이 검출되었다고 보고하였지만 본 조사에서는 돼지에서 중복검출 1건(chlortetracycline + oxytetracycline)이 검출되었지만 검출량이 각각 0.1 ppm으로 기준이하이었다.

Wilson²⁰⁾은 검출된 90건 중 TCs, sulfa제와 penicillin이 82.3%를 차지하였으며 복합제에 의한 잔류는 8건(8.9%)이었다고 보고하였다.

TCs와 sulfa제에 의한 잔류는 한 등¹⁹⁾의 보고에 따르면 75%, 백 등²¹⁾은 88.9%가 보고하였는데, 본 조사에서도 86.9%가 TCs, Sulfa제(8.6%)와 β -lactam계(2.1%)로 나타났다.

잔류가 확인된 항생제의 대부분이 국내외에서 사용량이 많은 약품으로서 매년 그 사용량과 잔류실태를 조사하여 중점적인 검사체계가 이루어져야 할 것이며 또한 수의사나 관계기관은 출하농가에 휴약기간을 준수하도록 적극 계도하여야 할 것이다.

결 론

2002년도 까지 매년 잔류물질 실태를 파악하고자 서울 시내 2개 도축장에서 도축된 소와 돼지를 대상으로 EEC 4-plate method, Radioimmunoassay(Charm II), HPLC를 이용하여 검사한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 모니터링 프로그램에 의해 EEC 4-plate method를 이용한 검사결과 총 검사건수 6,603건 중 41건에서 양성을 나타내어 0.6%의 검출률을 보였다. 총 도축건수는 835,469으로 0.79%의 검사실적을 나타냈다.
2. 규제검사 프로그램에 의해 Charm II를 이용한 검사결과 총 검사건수 316건중 38건이 잔류물질 의심측으로 판정되어 12%의 검출률을 보였다.
3. EEC 4-plate method에서 양성반응을 보인 시료 41건과 Charm II에서 의심측으로 나타난 38건을 HPLC로 정밀정량 검사한 결과 양성반응을 보인 20건과 15건의 검출내역을 보면 oxytetracycline 11건, chlortetracycline 19건, sulfadimethoxine 4건, penicillin 1건이며, 그 중 중복검출이 3건(oxytetracycline + sulfadimethoxine, chlortetracycline + oxytetracycline, sulfadimethoxine + sulfamerazine)이 포함되었다. 최대 검출량은 oxytetracycline 12 ppm, sulfatetracycline 0.5 ppm, sulfadimethoxine 2.6 ppm, penicilline 0.44 ppm, sulfamonomethoxine 0.02 ppm으로 나타났다.

참고문헌

1. 식품의약품안전청. 2002. 식품의 기준 및 규격(식약청고시, 제2002-22호).
2. 국립수의과학검역원. 2002. 동물용 의약품의 안전사용기준(검역원고시, 제2002-12호).
3. 농림부. 1996. '97육류중유해성잔류물질검사요령(농림부고시, 제1996-99호).
4. 축산물잔류물질검사반 교육교재. 1997. 농

2) Charm II에 의한 정성검사

① 재료 및 시약: 검사는 Charm II system Analyzer(New # 7600, Charm science)를, 검사시약은 multi-antimicrobial standard, zero standard, MSU buffer, M₂ buffer, optifluor-sulfamionide 계, tetracycline 계 및 β-lactam 계 kit를 각각 사용하였다.

② 시험방법

㉠ 식육 시료의 전처리 : 50ml 원심분리관에 MSU buffer을 30ml 표지선까지 채운 다음 지방이 없는 부위를 작은 크기로 자른 시료 10g을 취해 눈금 표지선 40ml까지 채운 다음 상기 시료 및 완충액을 믹서기에 넣고 30~60초간 균질화하고 80℃ 항온블록에서 45분간 방치하였다. 다음 얼음물(ice water bath)에 10분간 식힌 다음 원심분리기를 사용하여(4,300 rpm, IEC 원심분리기일 경우 7분) 10분간 원심분리하고 상층액을 여지를 사용하여 여과하였으며 M₂ buffer를 사용하여 pH 7.5로 조절한 후 시험에 사용하였다.

㉡ 식육 중 항균물질 계열별 시험방법 : Charm II test 정제시약 키트를 사용한 항균물질 계열별 시험방법을 요약하면 다음과 같다.

○ β-lactam (P) : Green 시약 - DW 300 μl 10초간 혼합 - 시료 2ml 10초간 혼합 - 55℃ 2분간 - yellow 시약 10초간 혼합 - 55℃ 2분간 - 3분간 원심분리 - 상층액 제거 - DW 300 μl 혼합 - 측정액 3ml - 10초간 혼합 - 측정

○ Sulfamionide (Sm) : White 시약 - DW 300 μl 10초간 혼합 - 시료 4ml 10초간 혼합 - pink 시약 - 15초간 혼합 - 65℃ 3분간 - 3분간 원심분리 - 상층액 제거 - DW 300 μl 혼합 - 측정액 3ml - 10초간 혼합 - 측정

○ Tetracycline (T) : White 시약 - DW 300 μl 10초간 혼합 - 시료 4ml 10초간 혼합 - orange 시약 - 15초간 혼합 - 35℃ 5분간 - 5분간 원심분리 - 상층액 제거 - DW 300 μl 혼합 - 측정액 3ml - 10초간 혼합 - 측정

㉢ 고속액체크로마토그래프(HPLC)에 의한 정량검사 : 식품공전 제 14조 축산식품중의 잔류물질시험법에 의하였다.

③ 분석조건

㉠ Sulfamionide(Sm) : Column; Nova-park C₁₈(3.9mm × 150mm, 4 μm), 검출기; UV 270nm, 이동상; 0.1M KH₂PO₄ : acetonitrile (84 : 16), 유속; 1.0ml/min

㉡ Tetracycline(T) : Column; μ-Bondapak C₁₈ (3.9mm × 300mm, 10 μm), 검출기; UV 360nm, 이동상; 0.01M oxalic acid : acetonitrile : methanol (725 : 175 : 100), 유속; 1.0 ml/min

㉢ β-lactam(P) : Column; Symmetry C₁₈ (3.9mm × 150mm, 5 μm), 검출기; β-lactam : 325 nm, 이동상; 0.1M phosphate buffer containig 0.0157 M thiosulfate : acetonitrile(75 : 25), 유속; 1.0ml/min

Table 1. Results of screening test by EEC 4-plate method in beef and pork

Species	Year	No of slaughtered	No of tested	No of positive (%)
Beef	2000	106,321	2,251	3 (0.13)
	2001	83,619	2,277	14 (0.61)
	2002	82,923	2,412	4 (0.16)
	subtotal	272,863	6,940	
Pork	2000	908,806	3,665	35 (0.95)
	2001	877,798	3,674	43 (1.17)
	2002	752,546	4,191	37 (0.88)
	subtotal	2,539,150	11,530	
Total		2,812,013	18,470	136 (0.73)

결 과

EEC 4-plate method에 의한 검사 결과

2002년 총검사두수 6,603두 중 41두가 EEC 4-plate method에 의해 양성을 나타내어 0.6%의 검출율을 보였다. 총도축두수 835,469건에 비교하여 볼 때 검사실적은 0.79%를 나타냈다. 연도별로 검출률은 Table 1과 같다.

CharmII에 의한 검사 결과

2002년에 CharmII를 이용하여 316건을 검사한 결과 38건(12.0%)이 검출되었으며 연도별 검사결과는 Table 2와 같다.

Table 2. Results of screening test by radioimmunoassay in beef and pork

Species or Meat	Year	No of tested	No of positive (%)
Beef	2000	181	14 (7.7)
	2001	363	41 (11.3)
	2002	316	38 (12.0)
Pork	2000	2	0 (0)
	2001	6	2 (33.3)
	2002	0	0 (0)
Total		868	95(10.9)

고속액체크로마토그래프(HPLC)에 의한 정밀정량검사결과

2002년 EEC 4-plate method와 Radioimmunoassay method에서 검출된 79건을 HPLC로 정량한 결과 Table 3과 같이 oxytetracycline의 6종의 잔류물질의 46건 검출되었으며, 그중 3두가 2종이상 물질이 동시 검출되었고 기준초과는 35건이었다. 소에서는 21건이 검출되었으나 기준이하가 5건(23.8%)이었고 2두가 동시검출이었으며 기준초과는 16건(76.2%)이었다. 돼지에서는 검출건수 25건 중 기준이하가 6건(24%), 동시 검출은 1두였고 기준초과는 19건(76%)이었다.

검출내역은 tetracycline계인 oxytetracycline이 소에서 0.1~12.0ppm 농도로 14건이 검출되었으며 그중 4건은 기준이하이고 sulfadimethoxine과 동시에 1두가 검출되어 총 기준초과건수는 11건이었다. Chlortetracycline은 전부 돼지에서만 0.1~0.5ppm의 농도로 25건이 검출되었는데 기준치 이하는 6건이었고 그중 1건이 chlortetracycline과 oxytetracycline이 동시 검출되어 총 기준초과건수는 19건이었다. 이와 같이 정량검사결과 tetracycline계는 총 30건(85.7%)의 높은 기준초과율을 보였다.

Sulfonamide계에서는 sulfadimethoxine은 소에서만 4건 검출되었고, 그중 1건이 sulfadimethoxine과 sulfametazine이 동시검출되어

Table 3. Confirmation of residue materials by HPLC in 2002

Residue Materids	MRL (mg/kg)	range (ppm)	Beef		Pork		Total	
			No of detection	No of unsuitable	No of detection	No of unsuitable	No of detection	No of unsuitable
Oxytetracycline	≤ 0.1	0.1-12	15 (1)*	11			15(1)*	11
Chlortetracycline	≤ 0.1				0.1-05	25 (1)**	19	25(1)**
Sulfadimethoxine	≤ 0.1	0.2-2.6	4 (1)***	4 (1)***			4 (1)***	4 (1)***
Sulfamonomethoxine	≤ 0.1	0.02	1	0			1	0
Penicilline	≤ 0.05	0.44	1	1			1	1
Total			21(2)	16(1)	25 (1)	19	46 (3)	35 (1)

*: Oxytetracycline + sulfadimethoxine, **: Chlortetracycline + oxytetracycline, ***: Sulfadimethoxine + sulfamerazine, (): samples of simultaneously determined, MRL: maximum residue limit

- 림부 농업공무원교육원 : 143~144.
5. 박종명. 1988. 식육중 항생물질 간이검사법 (축산식품중의 잔류항생물질 검사법). 서울. 현대출판사 : 9~15.
 6. 수의과학연구소. 1996. 도축전 생체잔류검사 기술교육 교재.
 7. 박재명, 최해연, 이은정. 1997. 식육중 테트라사이클린계 항생물질 잔류조사. 한국가축위생학회지 20(2) : 225~233
 8. 황래홍, 김영수, 윤은선. 1995. HPLC를 이용한 축산식품중 잔류설폰아미드제의 동시 분석법연구. 한국가축위생학회지 19(1) : 13~28.
 10. 황래홍, 윤은선, 김현정. 1999. HPLC를 이용한 축산물중 잔류페니실린 및 클로람페니콜 동시분석법연구. 서울시보건환경연구원보 35 : 452~458.
 11. 한국식품가공협회. 1994. 식품공전. 서울. 문영사 : 807~833.
 12. 조태행, 이광직, 진남섭. 1993. 테트라사이클린계 항생물질의 분석방법 개발 및 잔류조사에 관한 연구. 한국수의공중보건학회지 17(3) : 321~328.
 13. 이원창, 김종배, 이치호. 1994. 수입축산물로부터의 잔류항생물질 검출을 위한 새로운 방법의 개발에 관한 연구. 한국수의공중보건학회지 18(2) : 155~160
 14. 농림부. 2001. 식육중잔류물질검사요령 (농림부고시, 제2001-5)
 15. 백미순, 이영철, 심향섭. 1997. 육류중 잔류항생물질 및 테트라사이클린 조사. 한국가축위생학회지 20(4) : 339~348.
 16. 박종명, 이광직, 조태행. 1991. 국내산 우육, 돈육 및 계육중의 항생물질 잔류조사. 한국수의공중보건학회지 15(3) : 287~291.
 17. 김보숙, 김현정, 김기근. 1997. 도축우의 혈청 및 근육내 tetracycline 잔류조사. 서울시보건환경연구원보 33 : 363~368.
 18. 허부홍, 전창원, 안병목 등. 1992. 소 및 돼지의 정육과 내부장기중의 항생물질 잔류조사. 한국가축위생학회지 15(2) : 93~100.
 19. 한창훈, 문호판, 김영수. 1993. 서울에서 도축된 소와 돼지의 근육 및 내장의 잔류항생물질조사. 서울시보건환경연구원보 29 : 172~177.
 20. Wilson DJ, Franti CE, Norman BB. 1991. Antibiotic and sulfonamide agent in bobveal calf muscle, liver and kidney. *Am J Vet Res* 52(8) : 1383~1387.
 21. 백미순, 이영철, 이해영. 1998. 절박 도축우의 항생제 및 설파제 잔류조사. 한국가축위생학회지 21(1) : 13~20.