



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

공학석사학위논문

**Lateral Flow Assay** 방법을 이용한  
원유(raw milk)내 잔류 항생 물질  
모니터링

2020년 2월

부경대학교 글로벌수산대학원

식품산업공학과

최형운

공학석사학위논문

**Lateral Flow Assay 방법을 이용한  
원유(raw milk)내 잔류 항생 물질  
모니터링**

지도교수 김 영 목

이 논문을 공학석사 학위논문으로 제출함.

2020년 2월

부경대학교 글로벌수산대학원

식품산업공학과

최형운

최형윤의 공학석사 학위논문을 인준함.

2020년 2월



위원장 농학박사 김선봉



위원 농학박사 조승목



위원 약학박사 김영목



# 목 차

List of Tables.....	ii
List of Figures .....	iv
Abstract.....	vi
I. 서 론 .....	1
II. 본 론 .....	10
1. 실험 재료.....	10
2. 이론 및 측정 원리.....	14
3. 실험 방법 및 절차.....	19
III. 결과 및 고찰.....	21
1. 양성반응 검출율(Positive detection rate).....	21
2. 계열별 검출 빈도(Detection frequency by antibiotic class).....	23
3. 기간별 검출 빈도(Frequency of detection by period) .....	26
4. 항생 물질의 검출 요인(Antibiotic detection factors).....	29
5. 유효성 검증(Verification) .....	31
6. 식품 내 잔류 동물용 의약품에 대한 향후 과제.....	52
IV. 요약.....	55
V. 참고문헌 .....	57

## List of Tables

Table 1. Collection for overview for experimental samples.....	11
Table 2. Detection rate of positive and negative response in the sample examined.....	22
Table 3. Amount of antibiotics generated by each series.....	24
Table 4. Correlation between season and antibiotic usage.....	28
Table 5. Results of kit reactions with increasing antibiotic concentration (Beta-lactam etc.).....	32
Table 6. Results of kit reactions with increasing antibiotic concentration (Aminoglycoside etc.).....	33
Table 7. Reaction result of kit on the addition of standard samples.....	34
Table 8. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for beta-lactam antibiotics.....	41
Table 9. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for tetracycline antibiotics.....	42
Table 10. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for macrolide antibiotics.....	43
Table 11. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for aminoglycoside antibiotics.....	44

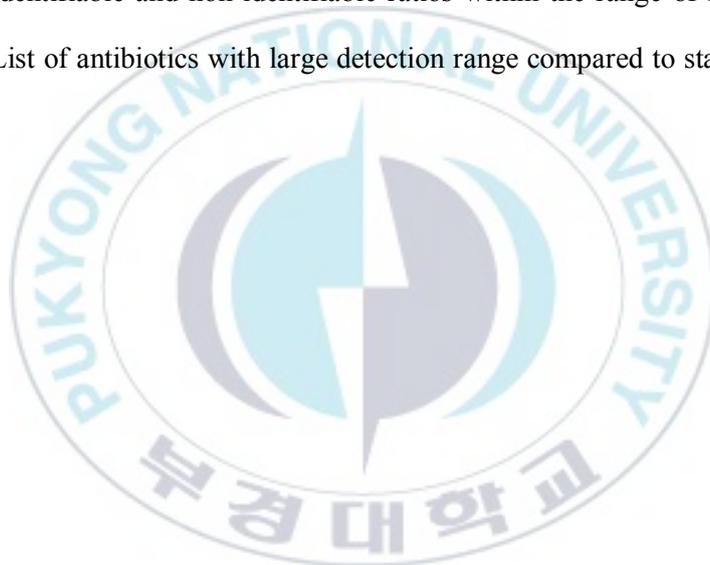
Table 12. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for sulfonamide antibiotics.....45

Table 13. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for quinolone antibiotics.....46

Table 14. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for others antibiotics.....47

Table 15. Identifiable and non-identifiable ratios within the range of MRLs.....50

Table 16. List of antibiotics with large detection range compared to standard.....51



## List of Figures

Fig. 1. Molecular structure of penicillin G antibiotics, belonging to the beta-lactam family.....	3
Fig. 2. Molecular structure of tetracycline antibiotics, belonging to the tetracycline family.....	3
Fig. 3. Molecular structure of tylosin antibiotics, belonging to the macrolide family.....	4
Fig. 4. Molecular structure of gentamicin antibiotics, belonging to the aminoglycoside family.....	4
Fig. 5. Molecular structure of sulfamethazine antibiotics, belonging to the sulfonamide family.....	5
Fig. 6. Molecular structure of enrofloxacin antibiotics, belonging to the quinolone family.....	5
Fig. 7. Mechanism of action against cells of antibiotics.....	6
Fig. 8. Appearance of kits and reader in smart antibiotic residues system.....	12
Fig. 9. Exploded view of antibiotic residues test kit and names of parts.....	15
Fig. 10. Changes in gold conjugated pad when antibiotics are added.....	16
Fig. 11. Test principle of immune antibody.....	17
Fig. 12. Change in test(capture) line during positive and negative response.....	18
Fig. 13. Experimental procedure using the smart antibiotic residues system.....	20

Fig. 14. Percent distribution of antibiotics detected by positive reaction .....25

Fig. 15. Results of detection of antibiotics by year and month.....27

Fig. 16. Several reasons for the detection of antibiotic positives.....30

Fig. 17. Validation of the reader using standard strips with antibiotic concentrations ranging from 8.0 to 11.0.....35

Fig. 18. Validation certificate for reader through standard strip.....37

Fig. 19. AOAC certificate for kit.....38



# **Monitoring of Antibiotic Residues in Raw Milk**

## **Using Lateral Flow Assay**

Hyung Youn Choi

Department of Food Science and Technology Industry

Graduate School of Global Fisheries

Pukyong National University

### **Abstract**

Veterinary antibiotics have contributed to the increase in productivity of dairy farmers by raising productivity, such as disease prevention and growth promotion of livestock, and enabling the livestock industry to develop on a large scale.

However, if the veterinary antibiotics are overused or misused without complying with the safe use standards, the veterinary antibiotics remains of livestock products and processed products. Concerns are raised that it may be harmful to the end consumer. Residue of antibiotics in raw milk is an important criterion for judging the hygiene and safety of milk.

Milk is a natural food and nutritionally close to complete, although the consumption of milk itself is on the decline, but dairy products using raw milk as a primary ingredient are constantly being consumed, so quality control of milk is very important for public health. In particular, residual antimicrobial substances caused by various causes in milk are being issued.

Therefore, in this study, it investigated a potential risk of residual antibiotics in raw milk of cow, which is a major ingredient of dairy manufacturers.

A rapid test kit was used to detect residual antibiotics qualitatively and quantitatively up to the maximum residue limits(MRLs) within 10 min using a lateral flow assay method.

In order to investigate the current status of antibiotics in raw milk produced in Gyeongbuk area, more than 122 dairy farms were selected near Gyeongsangbuk-do, and the results were examined by immunochromatography using antigen and antibody reactions specified in the Food Code.

Of the 19,032 samples, 35 samples were positive, indicating a detection rate of 0.184% for residual antibiotics tested in this study.

In particular, the highest detection rate among the 7 testable antibiotics was Beta-lactam (42.9%), because it has the broadest antimicrobial range and is generally the most prescribed.

Seasonally, the highest residual antibiotics were detected in winter (45.7%), and next followed by summer (28.6%), spring (17.1%), and autumn (8.6%). since cows' growing environment and sensitivity to bacteria are weakened in the winter.

The main reason for the high detection rate of antibiotics in the winter season is to increase the resistance through the administration of antibiotics for cows and to minimize the occurrence of disease.

The most common cause of detection of positive reactions of antibiotics was mastitis-related treatment (37.10%).

Among the 74 antibiotics, 91.89% were detectable within the MRLs range. Antibiotic residues in raw milk are important criteria for determining milk hygiene and safety. Considering the fact that the weak point of the inspection system can also occur when using the existing quick test kit, the need for the safety of the product should be cooperated between the dairy companies and the dairy farms.

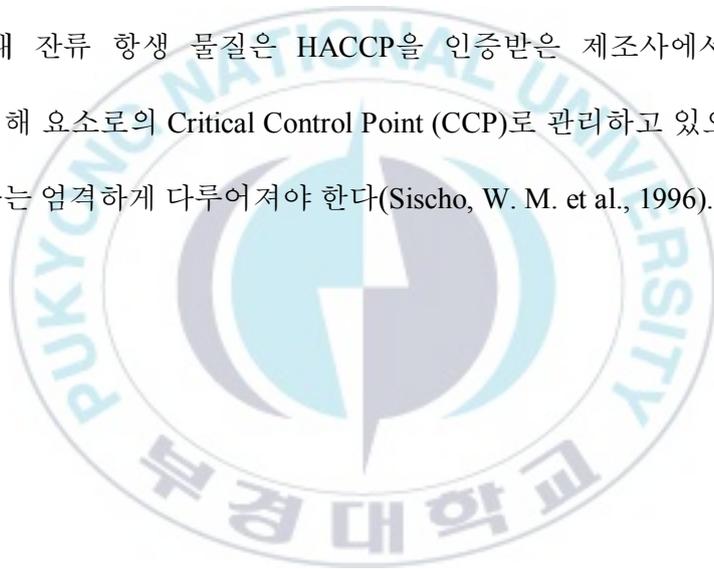
# I. 서론

가축의 치료와 관련된 수의학적 항생 물질의 사용에 따른 공중 보건에 잠재적 위험성은 예로부터 널리 논의되어왔다. 현대에는 건강에 대한 관심이 급격히 증가하면서, 식품 중 여러 원인에 의한 잔류 항생 물질이 이슈화되고 있는데, 특히 우유는 자연식품이고 영양학적으로 거의 완전해 가까운 식품이므로 비록 우유 자체의 소비량은 감소 추세에 있지만, 원유를 기본 원료로 사용하는 유제품은 꾸준히 소비되고 있으므로, 원유의 품질 관리는 국민 보건상 매우 중요하다(Kim, H.S, et al., 2006).

그런데 최근 잔류 동물 의약품이 문제가 되어 업계뿐만 아니라 일반 소비자층에 이르기까지 안전상의 문제로 대두되었고, 원유에 잔류 될 수 있는 항생 물질은 젖소의 집단 사육에 따라 질병 발생을 예방하고, 나아가 우유의 생산성 향상에 큰 효과를 가져왔지만 지속적인 섭취와 광범위한 항생 물질의 오·남용 시에는 인체 내의 과민 반응, 항생 물질에 대한 선택적 내성 박테리아의 확산 증가, 조혈 기능의 장애, 신장 장애, 요로 장애, 갑상샘 기능 저하, 면역항체 형성 저하, 관절염 등의 여러 부작용을 일으킬 수 있으며 유제품을 제조하는 유업체의 입장에서는 발효유를 제조하는 공정 중 배양 단계의 스타터 컬처(Starter culture)를 억제하므로 막대한 재정적 손실의 원인이 된다(Kim, Y.H. and Park, K.H., 1994).

특히, 인간의 치료에 중요한 항생 물질로 식품을 생산하는 동물의 치료는 항생 물질이 잔류 된 식품의 지속적인 섭취를 통해 저항성이 있는 동물성 병원체 또는 저항성 유전자를 동물로부터 사람에게 전이를 일으켜 공중 보건상의 위험을 초래할 수 있으며, 내성 발현 박테리아는 궁극적으로 항생 물질의 효과를 감소시키고 더 비싸거나 덜 안전한 대안의 사용을 요구할 수 있다(Tollefson et al., 1999).

원유 내 잔류 항생 물질은 HACCP을 인증받은 제조사에서는 대부분 화학적 위해 요소로의 Critical Control Point (CCP)로 관리하고 있으므로, 이에 대한 검사는 엄격하게 다루어져야 한다(Sischo, W. M. et al., 1996).



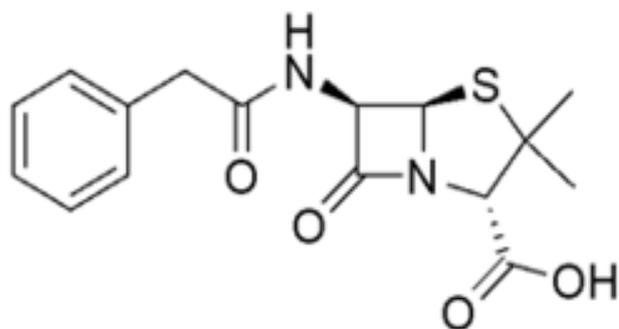


Fig. 1. Molecular structure of penicillin G antibiotics, belonging to the beta-lactam family(Kim, M.A. et al., 2014).

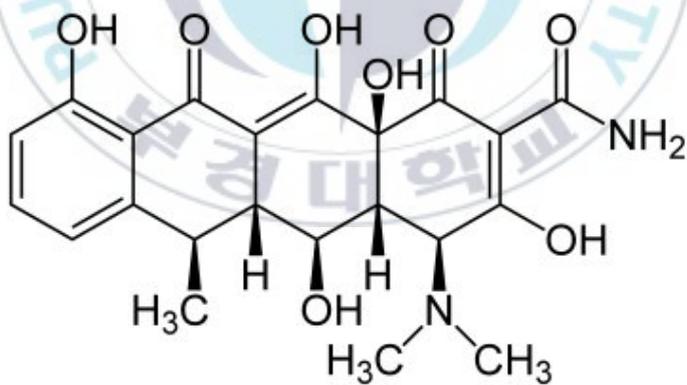


Fig. 2. Molecular structure of tetracycline antibiotics, belonging to the tetracycline family(Choi, D.M. et al., 2005).

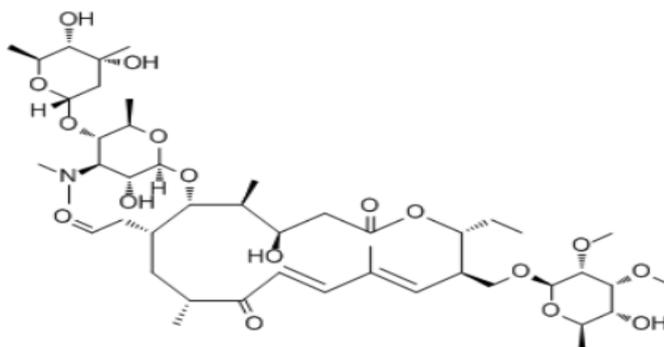


Fig. 3. Molecular structure of tylosin antibiotics, belonging to the macrolide family(Butler, Andrew R. et al., 1999).

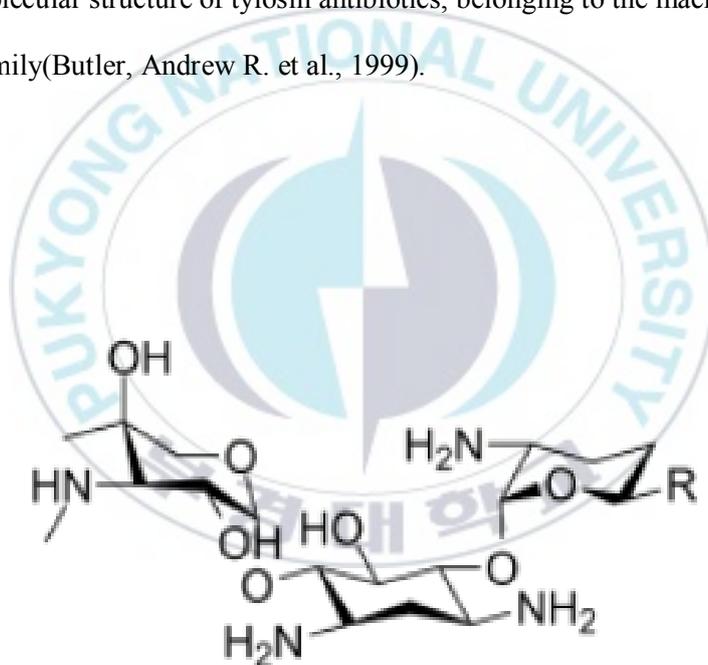


Fig. 4. Molecular structure of gentamicin antibiotics, belonging to the aminoglycoside family(Yoshizawa, Satoko et al., 1998).

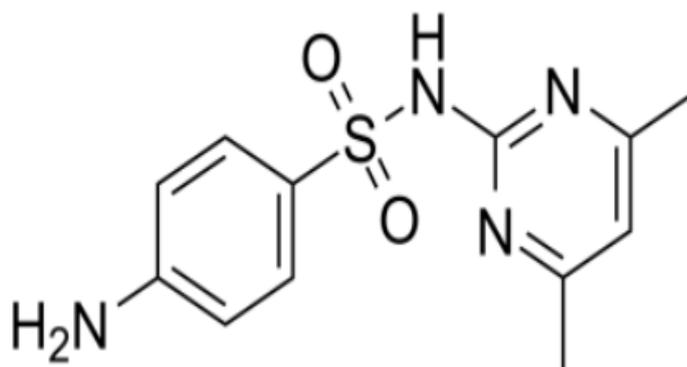


Fig. 5. Molecular structure of sulfamethazine antibiotics, belonging to the sulfonamide family(Lu, Jie, and Sohrab Rohani., 2010).

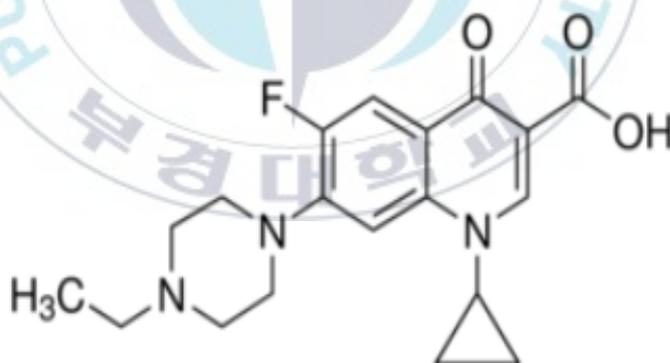


Fig. 6. Molecular structure of enrofloxacin antibiotics, belonging to the quinolone family(Efthimiadou, Eleni K., et al., 2007).

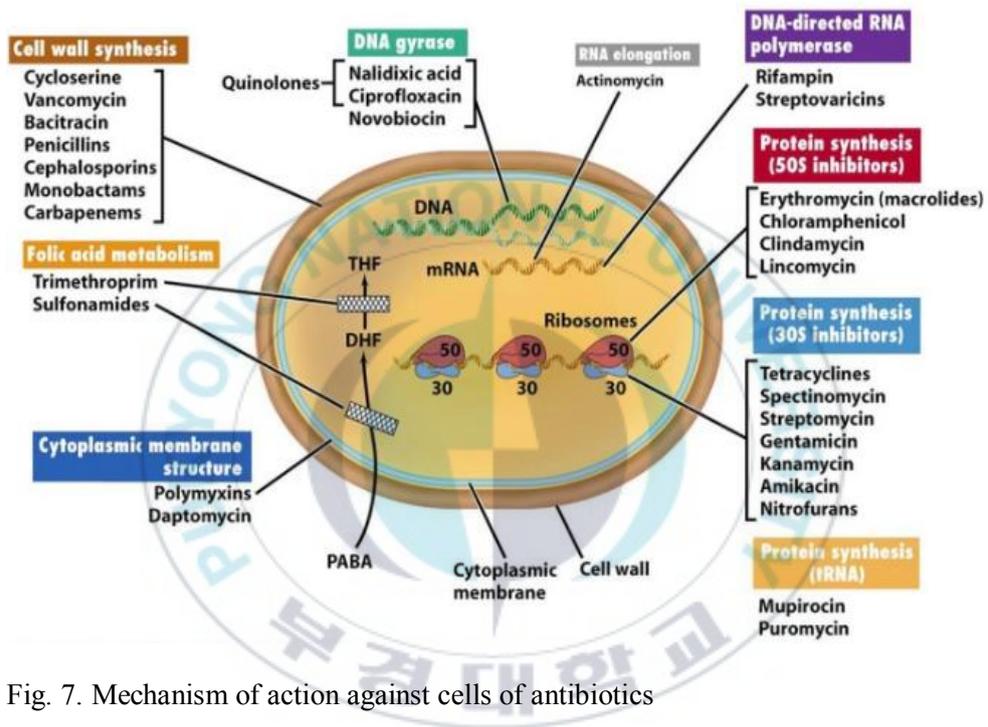


Fig. 7. Mechanism of action against cells of antibiotics

(Martinko, John M., and Jack Parker., 2006).

일반적으로 원유를 공급하는 농가에서 사용 중인 주요 계열별 항생 물질의 분자 구조를 도식화하였고, 항생 물질이 세포에 대하여 주로 어떤 기작을 통해 항균 효과를 나타내는지를 나타내었다(Fig. 1-7).

Beta-lactam 계열의 항생 물질은 penicillin 과 cephalosporin 으로 대표되며 4 개의 원자로 구성된 beta-lactam 이라는 화학적 구조를 공통으로 가지고 있는데, 세포벽의 주요 구성 성분인 Peptidoglycan 합성을 억제하여 세균을 용해하는 작용 기작을 가지고 있으므로, 이 계열의 항생 물질은 G(+)균에 특히 효과가 좋다(Jeong, H. D., and Chun, S. K., 1992).

Tetracycline 계열의 항생 물질은 malonate 와 acetate 가 고리를 형성하여 된 4 개의 연결된 고리를 모핵으로 가지고 있으며 단백질 합성 억제 작용에 의한 항균 능력이 G(+), G(-), rickettsia 및 몇 종의 protozoa 등에까지 미치는 광범위 항생 물질이다(Gomazkov, O. A., 1964).

Macrolide 계열의 항생 물질은 12 개 이상의 원자로 구성된 환을 가지며 환들을 lactone 그룹에 의하여 연결된 화학 구조를 갖는다. 이것은 세포의 단백질 합성에 대하여 억제 작용이 있으며 G(+)균에 대한 특이성이 높다(Gaynor, M., and Mankin, A. S., 2003).

Aminoglycoside 계열의 항생 물질은 gentamycin, neomycin, dihydrostreptomycin, kanamycin, Amikacin 등이 개발되어 있으며, 화학적으로 amino기가 붙은 다당류 구조로, 단백질 합성 억제를 작용 기작으로 한다(Tanaka, N., 1982).

Sulfonamide 계 항생제는 원충에 의한 질병 치료와 G(+)균, G(-)균, 망선균, 간균 등 세균에 의한 질병에 주로 사용되고 있으며, 세포 내 folic acid 합성을 억제하는 작용 기전을 가지고 있으나, 세균 저항성이 점차 증대되어 그 효과가 감소하고 있다(Etebu, E., and Arikekpar, I., 2016).

Quinolone 계열의 항생제는 DNA gyrase 에 부착하여 DNA 복제를 억제하고 G(-)균에 효력이 뛰어난 특징을 가지고 있다(Fàbrega, Anna, et al., 2009).

지금까지 가축에서 유래된 잔류 동물 의약품이나 항생 물질에 대한 내성 세균이 인체에 전이되어 사람에게 의학적으로 중대한 피해를 초래한 경우는 우리나라뿐만 아니라 외국의 사례에도 입증된 바는 없으나, 동물용 의약품은 인체용 의약품과는 달리 가축의 질병 치료 및 예방을 주목적으로 하고 있기 때문에 용도가 엄연히 다르다고 할 수 있다.

따라서 식품의 섭취를 통해 잔류 동물 의약품과 항생 물질에 내성을 갖춘 미생물의 출현으로 인한 공중 보건상의 문제가 계속해서 인체의 건강을 위협할 가능성이 제기되고 있어 사회적 리스크로 부각될 우려가 있고, 이러한 문제는 식품의 안전성 확보 차원에서 선진국 등 국제기구에서도 중요한 의제로 비중 있게 다루고 있으며, 글로벌한 과제로 인식되어 공동 대응과 검사 체계의 구축에 노력을 기울이고 있다(Son, S.W., 2006).

이에 본 연구에서는 항생 물질의 잠재적 위험성을 고려하여, 유제품 제조사의 주원료인 젖소의 원유(raw milk)를 실험 대상으로 선정하였다.

일반적으로 식품 중 잔류 동물 의약품에 대한 시험법은 생물학적(6-plate, EEC 4-plate, TTC-II), 물리·화학적(액체 크로마토그래피/질량 분석기, LC-MS/MS)방법을 주로 사용한다(Kim, H.W. et al., 2013).

하지만 대량의 원유를 신속하게 처리해야 하는 제조사의 특성을 감안하여 본 실험에서는 제조·가공 직전의 수유 단계에서 신속하게 적·부 판정을 내릴 수 있는 신속 검사 키트(kit)와 리더(reader) 활용하여, 정성·정량 분석하여 원료에 대한 안전성을 사전 확인하고 모니터링하고자 한다.



## II. 본론

### 1. 실험 재료

조사 대상의 원유 샘플은 경북 지역을 22 개로 세분화하고, 지역별로 총 농가 122 곳을 선정하여, 2016년 1월부터 2019년 12월에 이르기까지, 156주 동안 주 1 회씩 원유 시료를 주기적으로 채취하여 총 19,032 개의 샘플을 수집하였다(Table 1).

제조사마다 저유 능력(capacity)과 집유 탱크로리(T/L) 차량, 계약된 집유 농가의 수량 및 집유 방식에 따라 집유 조건은 다르지만, 일반적으로 1 개의 집유 코스에는 몇 개의 농가가 선정되며, 탱크로리 차량에는 해당 코스에 있는 각 농가의 원유가 집유가 진행되면서 단계별로 적층 및 혼합이 된다.

이렇게 농가별로 원유가 집유 된 탱크로리 차량은 수유 직전 잔류 항생 물질을 검사하게 되며, 이때 만약 항생 물질 kit 검사에서 양성 반응으로 나타나고, 리더(reader)에서 검출 비율이 1.0 ratio 이상일 경우, 해당 탱크로리 전체 원유는 부적합으로 판정되고 사용이 금지되므로 전량 폐기처리 하게 된다(Cho, O.S. et al., 2000).

Table 1. Collection for overview for experimental samples

Sample material	Survey period	Survey area	Target dairy-farm quantity	Sampling interval	Total sample quantity
Raw milk	2016.01 ~2018.12	Kyungpook Province	122	Once a week	19,032



Fig. 8. Appearance of kits and reader in smart antibiotic residues system.

검사용 설비는 BioMed co.,Ltd.(Seongnam, Korea)에서 공급하는 Smart antibiotic residues system 을 활용하였다. Smart antibiotic residues system 은 면역 항체법인 면역 크로마토그래피 방법을 이용하여 동물 의약품의 잔류 허용 기준에 대해 Lateral flow assay 방식을 이용하여 10 분 이내 최대 잔류 허용 기준치(MRLs)까지 정성 및 정량적으로 잔류 항생 물질의 검출이 가능한 신속 검사 키트이다. 해당 검사 설비는 항생 물질에 대한 적·부 판정을 육안으로 1 차 확인할 수 있도록 하는 Test kit(Bionet ; Seoul, Korea)와 시료가 주입된 kit가 적절한 배양 과정을 통해 lateral flow 를 생성시킬 수 있는 히팅 블록(Heating Block ; Bionet, Seoul, Korea), 항원·항체 반응이 완료된 kit를 최종적으로 항생 물질의 양을 정량적으로 리딩하는 리더기(Reader ; Precision Biosensor, Daejeon, Korea)로 구성되어 있다(Fig. 8).

항생 물질에 대한 내성 발현과 다변화에 추세에 따라 검사용 kit 또한 지속해서 개발 중이며, 본 연구에서는 Combo I, II, III, Macro, V, VI의 총 6 종류로 실험을 하였다.

식품 중 동물용 의약품의 잔류 허용 기준을 확인할 수 있는 시험법은 미생물 수용체법, 형광 면역 분석법, 효소 면역 분석법 등의 원리를 이용한 검사 키트로 시험할 수 있으나, 제조·가공 직전의 원유 등의 원료 축산물에 대한 신속한 검사가 요구될 경우는 상기의 검사 키트 방법으로 적·부 판정을 할 수 있다(식품 의약품 안전처 고시 제 2019-89 호).

## 2. 이론 및 측정 원리

Smart antibiotic residues system은 면역 크로마토그래피법을 활용한 lateral flow assay 방식으로 항생 물질과 키트 내 심어놓은 항체가 반응하여 표지 물질로서 색깔을 지닌 작은 입자(40nm colloidal gold particle)를 사용하여 항원 · 항체 반응 결과를 판정하는 방법을 사용하였다(Fig. 9).

양성 반응이 나타나는 원리는 검증하고자 하는 시료 샘플을 흡수 패드에 injection하면 시료 내 존재하는 항원과 항생 물질에 대한 특이 항체가 혼합된 gold conjugated pad의 항체가 결합 되어, 항생 물질의 항원 결합체(antibiotics carrier protein)가 코팅된 nitrocellulose membrane 및 test line에 결합하지 못하고 그대로 통과하게 된다(Zhang, G. P., et al., 2006).

이때 결합하지 못한 입자는 컨트롤 라인의 2차 항체와 결합 하게 되며, 테스트 라인은 컨트롤 라인보다 색상이 흐려지거나 없어지게 되며, 음성 반응은 이와 반대로 원유 내 항생 물질이 존재하지 않을 경우, Gold 입자는 테스트 라인에 코팅된 항원과 결합하게 되어 붉은색의 라인을 띄게 된다(Fig. 10-12).

유효성 검증(verification)에서 kit에 투입된 농도별 항생 물질 시약과 리더(reader)에 사용된 스트립(strip)은 제조사에서 제공된 표준 시약과 표준 스트립(strip)을 사용하였으며, 이를 통해 현재 집유 농가에서 사용 중인 항생 물질에 대해 모니터링하였다.

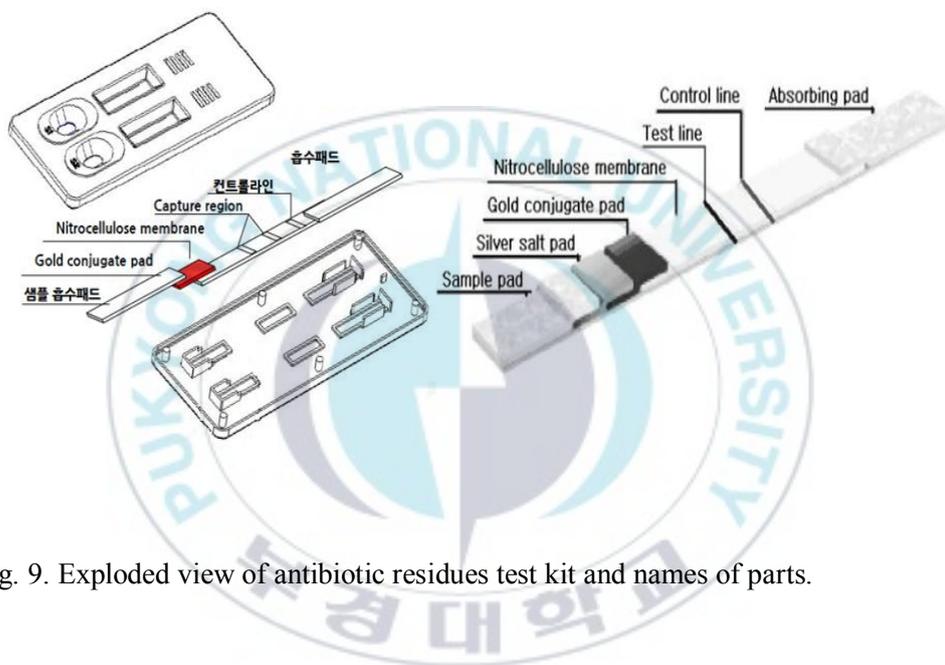


Fig. 9. Exploded view of antibiotic residues test kit and names of parts.

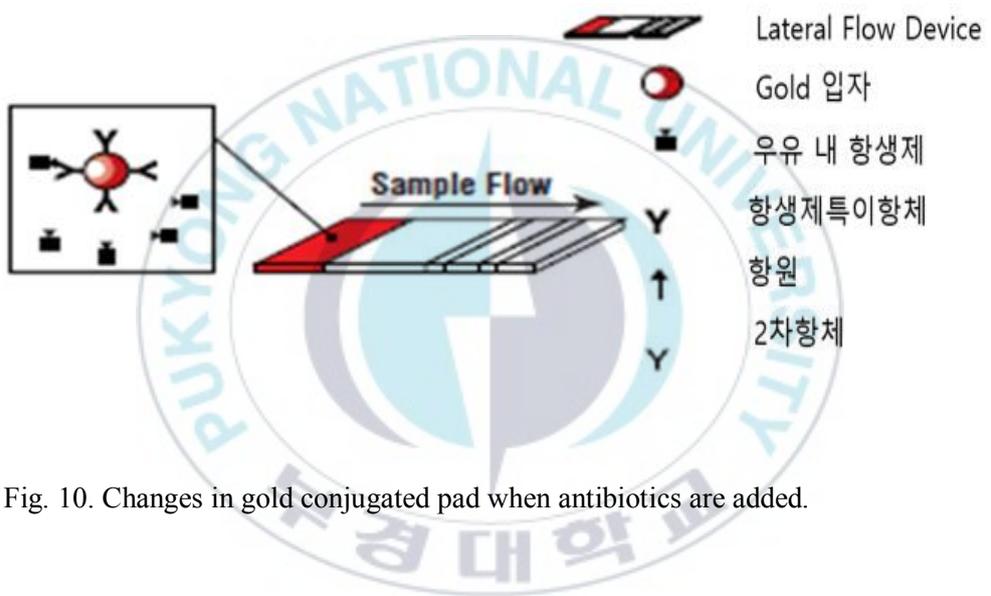


Fig. 10. Changes in gold conjugated pad when antibiotics are added.

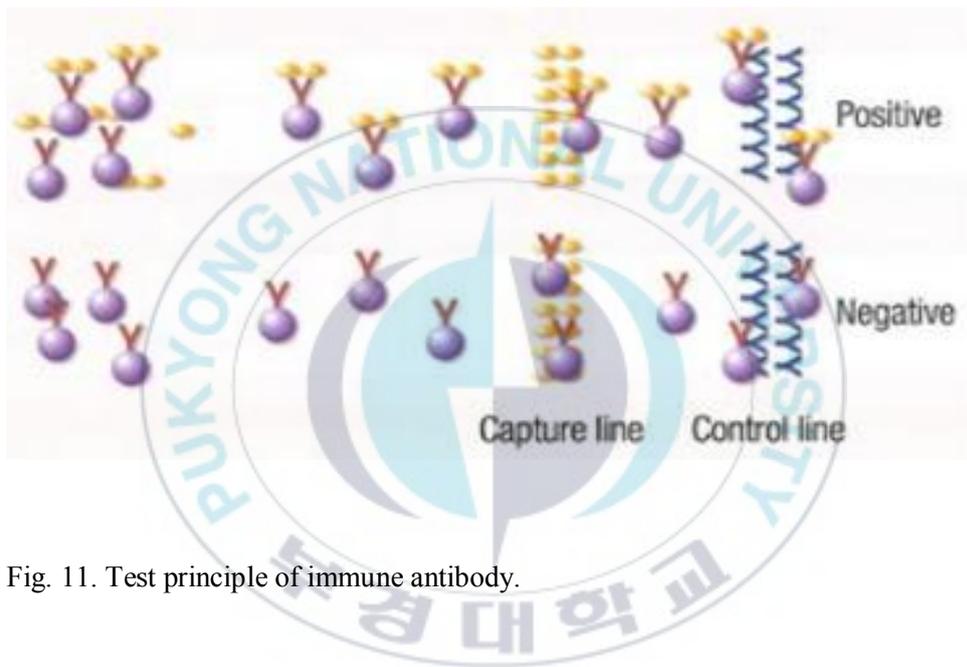


Fig. 11. Test principle of immune antibody.

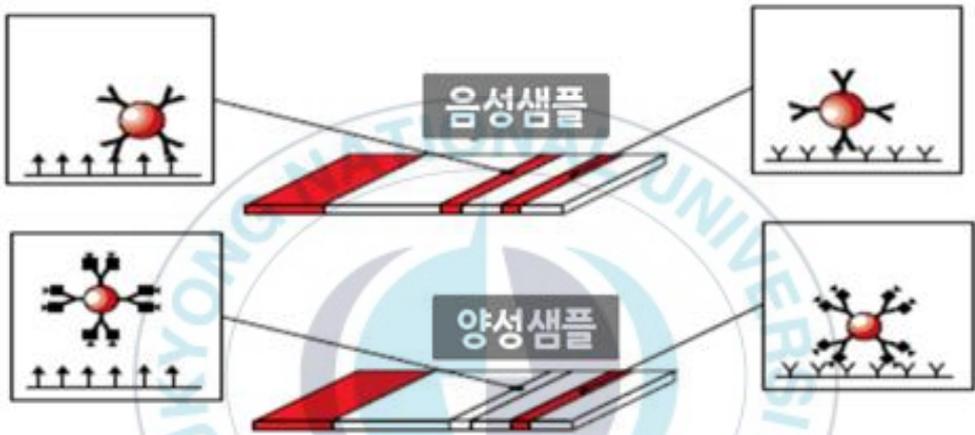


Fig. 12. Change in test(capture) line during positive and negative response.

### 3. 실험 방법 및 절차

실험 순서는 우선 밀봉된 kit를 4℃ 이하의 냉장 보관 상태에서 실온으로 꺼낸 후 kit를 편평한 테이블에 올려놓고 검증하고자 하는 원유 샘플을 마이크로 피펫으로 150ul를 샘플 흡수 패드에 분주(injection)한다.

다음으로 42℃로 세팅된 히팅 블록(heating block; Bionet, Seoul, Korea)에서 타이머를 세팅한 후, 10분간 흡수 패드에 의한 lateral flow 반응과 항원·항체 반응이 충분히 일어날 수 있도록 배양을 실시한다.

반응이 종료된 kit를 꺼내어 control line과 test line을 비교하되, 이때 의양성으로 판단될 경우에는 kit와 원유 샘플을 실온에서 온도가 18~30℃의 범주로 보정하여 재검사를 실시한다.

반응이 완료된 kit는 smart antibiotic residues system의 리더(reader)에 넣고 결과를 판독한다.

판독 기준은 result가 positive이면서 ratio 값이 1.0보다 클 경우, 양성으로 판정하고, result가 negative이면서 ratio 값이 1.0보다 작을 경우에는 음성으로 판정하는데 이때, 1.0 ratio는 양성과 음성 반응의 변곡점으로 해석이 가능하다.



Fig. 13. Experimental procedure using the smart antibiotic residues system.

### Ⅲ. 결과 및 고찰

#### 1. 양성반응 검출률(Positive detection rate)

경북 지역의 원유 농가에 대해 3년간 총 19,032 개의 원유 샘플을 채취하여  
항생 물질에 대한 검출률을 조사한 결과 양성 반응은 총 35 회로 전체 농가  
샘플 중 항생 물질의 검출률은 0.184%로 나타났다.

이에 반해 음성 반응은 18,997 회로 항생 물질의 음성 반응은 99.816%로  
나타났다(Table 2).

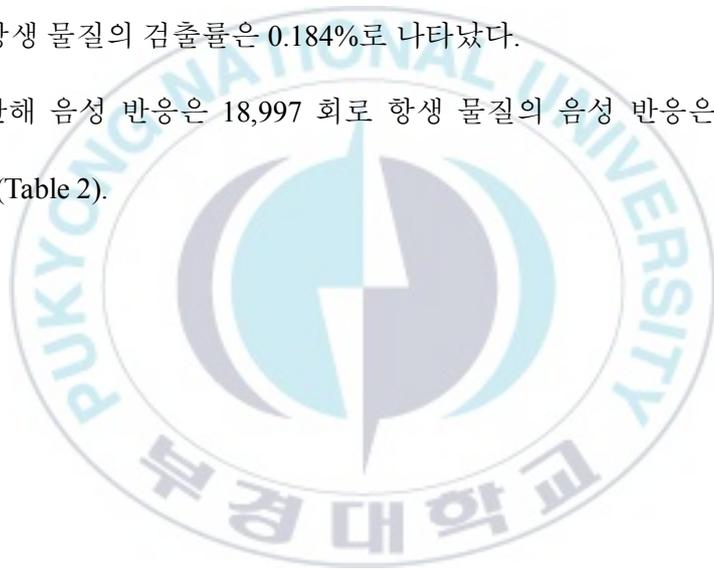


Table 2. Detection rate of positive and negative response in the sample examined

	Number of detection	Ratio (%)
Positive samples	35	0.184
Negative samples	18,997	99.816
Total samples	19,032	100

## 2. 계열별 검출 빈도(Detection frequency by antibiotic class)

특정 계열의 항생 물질의 검출 빈도는 조사 기간 동안 집유 농가에서 사용한 항생 물질의 제품 성분과 직결된다.

일반적으로 원유 농가에서 사용되는 항생 물질은 단일 성분의 항생 물질을 사용하기도 하지만, 때로는 효과 범위의 스펙트럼을 고려하여 다른 계열의 항생 물질을 복합적인 비율로 섞어 혼합물(mixture)로 사용되기도 한다. 따라서 특정 kit 에 음성 반응으로 나타나지만, 종류가 다른 kit 에서는 양성 반응이 나타날 수도 있으며, 잔류 된 항생 물질의 농도에 따라서 결과가 달라질 수 있다.

최종 검사 결과 양성 반응으로 나타난 항생 물질의 계열별 검출 분포는 Beta-lactam 계열(42.9%), Tetracycline 계열(11.4%), Macrolide 계열(11.4%), Sulfonamide 계열(11.4%), Aminoglycoside 계열(8.6%), Quinolone 계열(8.6%), 기타(5.7%) 순으로 나타났다(Table 3 and Fig. 14).

특히, Beta-lactam 계열의 항생 물질의 검출 분포가 가장 높게 나타나는 것은 모든 항생 물질 중 가장 자주 처방이 되며, 넓은 스펙트럼과 우수한 항균 효과를 가지고 있기 때문에 그만큼 농가에서 사용하고 있는 빈도가 높은 것과 일치한다(Suarez, C., and Gudiol, F., 2009).

Table 3. Amount of antibiotics generated by each series

	$\beta$ -lact. <sup>1)</sup>	Tetra. <sup>2)</sup>	Macro. <sup>3)</sup>	Amino. <sup>4)</sup>	Sulfon. <sup>5)</sup>	Quin. <sup>6)</sup>	Others	Total
2016	4	1	1	2	1	0	0	9
2017	6	1	2	0	1	1	0	11
2018	5	2	1	1	2	2	2	15
Total	15	4	4	3	4	3	2	35

1) Beta-lactam 2) Tetracycline 3) Macrolide 4) Aminoglycoside 5) Sulfonamide

6) Quinolone

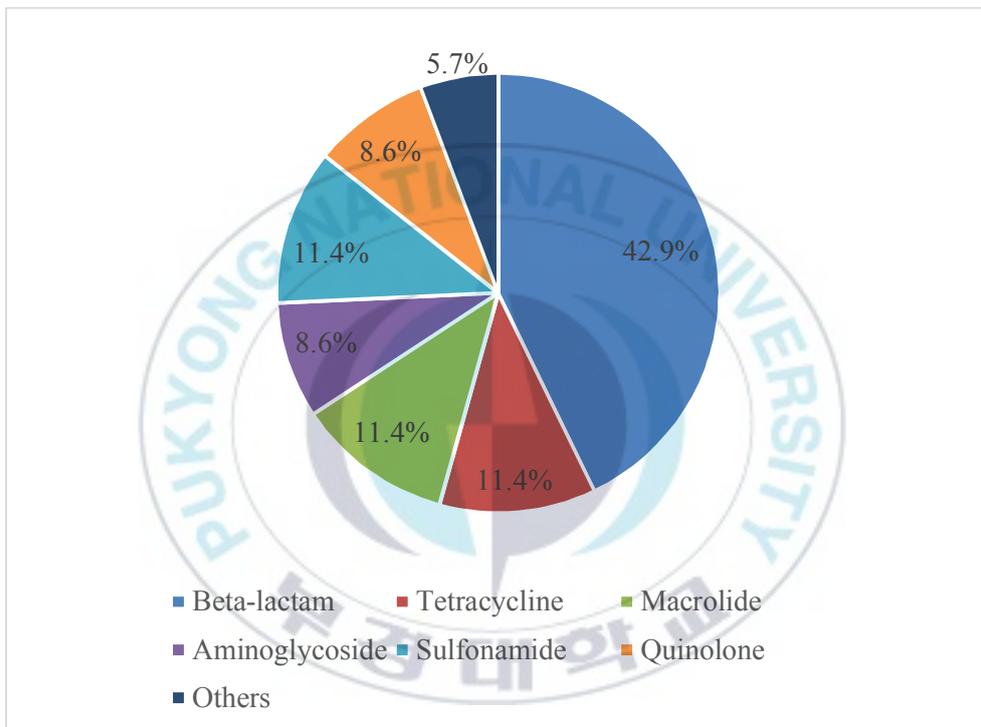


Fig. 14. Percent distribution of antibiotics detected by positive reaction.

### 3. 기간별 검출 빈도(Frequency of detection by period)

조사 기간 동안 연중 3 월과 10 월에는 양성 반응 검출 경향이 낮은 편이나, 겨울(12-2 월)이 45.7%, 여름(8 월)이 28.7%로, 주로 겨울과 한여름에 검출 빈도가 다소 높게 나타났다.

특히, 젖소가 사육되는 농가의 환경은 주로 겨울철이 타 계절보다 저온 스트레스로 인한 체온 조절 장애, 호흡기, 소화기 질병, 유두손상 및 유방염에 노출되기 쉬우며, 젖소의 활동력이 급격하게 저하된다(Hong, G.S., 2007).

이는 곧 농가의 젖소 사육 환경이 열악해지고, 젖소의 생육 환경과 세균에 대한 민감성이 약해지기 때문에 해당 시기에는 젖소에 대한 항생 물질 투여를 통해 질병에 대한 내성을 높이고, 질병 발생을 최소화하기 위한 것으로 나타났다.

이와 반대로 봄(3-5 월), 가을(9-10 월)에는 젖소의 활동력이 강하고, 항생 물질의 사용 빈도가 낮은 것을 알 수 있다(Fig. 15).

최근 기후 변화에 따라 4 계절의 경계가 불분명해지고 겨울과 여름의 기간이 상대적으로 길어지고 있음을 고려할 때 향후 항생 물질의 사용 빈도와 검출 비율은 점점 높아질 가능성이 있다(Table 4).

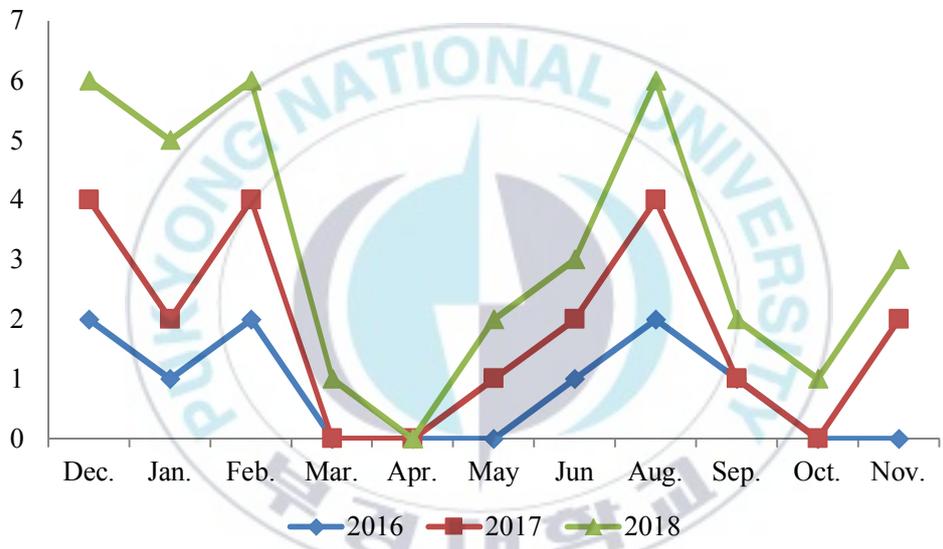


Fig. 15. Results of detection of antibiotics by year and month.

Table 4. Correlation between season and antibiotic usage

	Number of occurrences	Ratio(%)
Winter (Dec.-Feb.)	16	45.7
Spring (Mar.-May.)	6	17.1
Summer (Jun.-Aug.)	10	28.6
Autumn (Sep.-Nov.)	3	8.6
Total	35	100

#### 4. 항생 물질의 검출 요인(Antibiotic detection factors)

양성 반응으로 검출된 총 35 회의 사례를 각 농가에 대한 추적 조사 및 인터뷰를 통해 원유 내 항생 물질이 검출된 요인을 조사하였다(Fig. 11).

조사 결과 유방염에 관련된 치료 및 취급 과정에서 항생 물질이 전이되는 경우가 37.10%로 가장 높은 점유율을 나타내었다.

다음으로 대사성 질환이 17.10%로 나타났으며, 항생 물질 사용 후 충분한 휴약 기간이 경과된 시점에 착유를 실시하여야 하나 그렇지 못한 경우, 또는 항생 물질을 투여한 개체우(牛) 식별 오류 등 주로 휴먼 에러(human error)에 의한 요인이 동일하게 17.10%로 나타났다.

그 외 호흡기 관련 질병이나 설사 관련 질병이 14.3%, 마지막으로 발굽병이나 기생충에 의한 요인이 2.9% 순으로 나타났다.

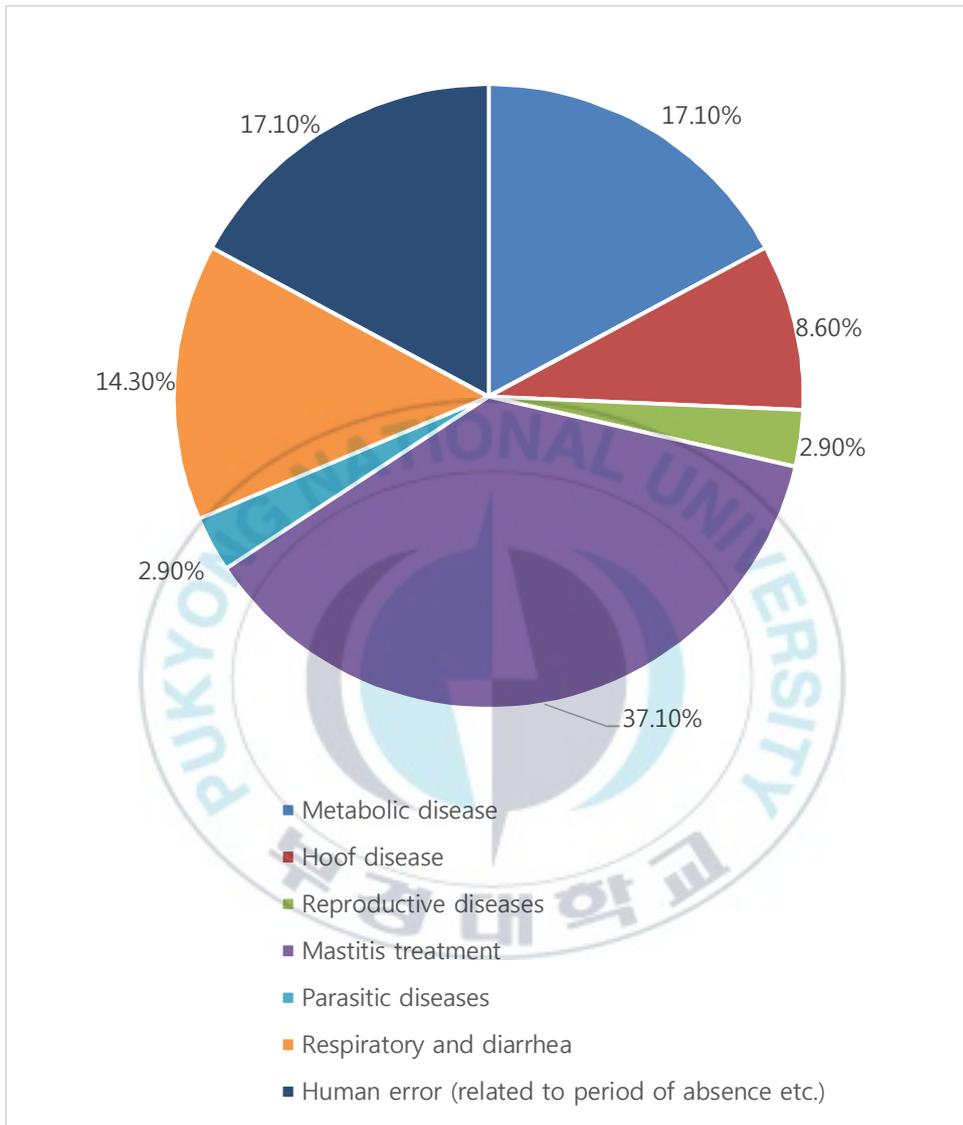


Fig. 16. Several reasons for the detection of antibiotic positives.

## 5. 유효성 검증(Verification)

일반적으로 항생 물질은 위해 요소 중점관리기준(HACCP)에서 주로 화학적(chemical) 위해 요소로 분류되어, 대부분 CCP(Critical Control Point)로 관리 된다. CCP 는 반드시 유효성 검증을 시행 해야 하며, 검사 오류는 제품에 치명적인 결함과 직결되므로 이에 대한 검증은 필수 불가결한 과제이다.

Smart antibiotic residue test kit combo 의 유효성 검증(validation)을 위해 kit 에 대한 검증과 antibiotic residues kit reader 에 대해 동시에 검증을 진행하였다.

Kit 에 대해서는 EU/Codex 에서 제시하는 MRLs 기준에 부합된 표준 시약을 농도 단계별로 주입(injection)하여 해당 농도에 따른 kit 의 정상 반응 여부를 모니터링하였고, 그 실험 과정과 최종 실험 결과를 나타내었다(Table 5-7).

Kit에 대해 표준 시약을 통한 검증 결과, 농도가 증가할수록 test line의 색상이 흐려지는 것을 육안으로 확인할 수 있으며, MRLs 기준의 농도에 도달 시 control line 대비 test line이 육안으로 식별하기에 어려울 정도로 흐려지게 되므로 kit는 농도별로 투입된 항생 물질에 대해 적절하게 반응하고 있는 것을 확인할 수 있다.

Table 5. Results of kit reactions with increasing antibiotic concentration

(Beta-lactam etc.)

(Unit : µg/L)

Kit type	Antibiotic name	Kit reaction result				
Combo A (Beta - lactam)	Penicillin G (MRLs : 4)					
		Input concentration level	Negative	2	4	8
Combo A (Tetra- cycline)	Oxytetra- cycline (MRLs : 100)					
		Input concentration level	Negative	10	20	40
Macro (Macro- lide)	Spira- mycin (MRLs : 200)					
		Input concentration level	Negative	25	50	100

Table 6. Results of kit reactions with increasing antibiotic concentration

(Aminoglycoside etc.)

(Unit :  $\mu\text{g/L}$ )

Kit type	Antibiotic name	Kit reaction result				
Combo B (Amino- glycoside)	Strepto- mycin (MRLs : 200)					
		Input concentration level	Negative	10	25	50
Combo A (Sulfon- amide)	Sulfa- dimethoxine (MRLs : -)					
		Input concentration level	Negative	50	100	200
Combo A (Quino- lone)	Enro- floxacin (MRLs : 100)					
		Input concentration level	Negative	10	20	40

Table 7. Reaction result of kit on the addition of standard samples (Unit :  $\mu\text{g/L}$ )

	Antibiotics	Standard strip	EU/Codex	Standard sample	Result
Combo	Beta-lactam	Penicillin G	4	4	Positive
	Quinolone	Enrofloxacin	100	20	Positive
	Sulfonamide	Sulfadimethoxine	-	100	Positive
	Tetracyclines	Oxytetracycline	100	20	Positive
Combo	Aminoglycoside	Streptomycin	200	50	Positive
		Gentamicin	200	100	Positive
		Neomycin	500	300	Positive
Macro	Macrolide	Spiramycin	200	50	Positive

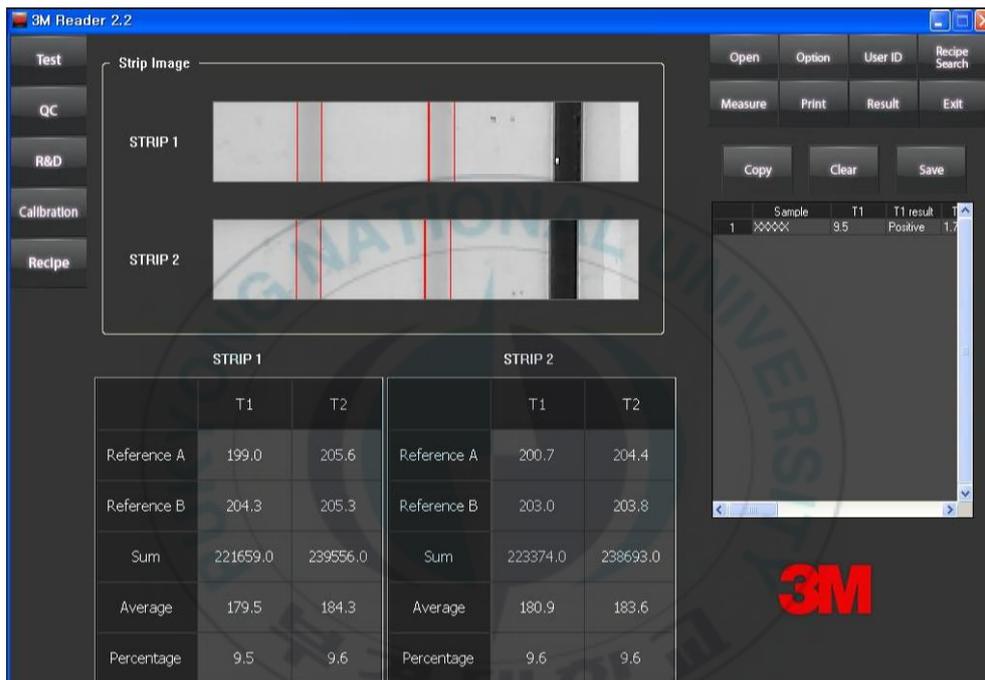


Fig. 17. Validation of the reader using standard strips with antibiotic concentrations ranging from 8.0 to 11.0.

리더기(reader)에 대한 검증은 제시된 standard strip의 특정 농도 범위 내에서 반응이 최종 완료되었을 때, standard strip이 제시한 항생 물질의 범위에 포함되는 데이터가 산출되면 리더기에 대한 검증은 적절하다 할 수 있다.

총 5개의 standard strip을 리딩하여 해당 standard strip이 제시하는 항생 물질의 농도 범위 내에 reader가 적절한 값으로 리딩 하는지에 대한 모니터링 예시를 나타내었다(Fig. 17). 항생 물질의 농도 범위를 8.0~11.0으로 제시하는 standard strip의 reader 측정 결과 9.5~9.6의 값을 나타내므로, 리더기는 해당 standard strip에 대해 적절하게 반응하며 리딩 되고 있음을 알 수 있다.

이러한 방식으로 총 5개의 standard strip을 reader에서 검증하고 최종 결과를 나타내었다(Fig. 18). 이를 통해 kit와 reader에 대한 유효성 검증이 적절하게 이루어지고 있음을 확인할 수 있었고, 검사 오류로 인한 risk는 없다는 것을 검증하였으며, 이는 원유 내 잔류 항생 물질에 대한 CCP 유효성 검증 결과로서 성적서(certification)로 활용될 수 있다(Fig. 19).

<b>3M reader Certificate of Quality</b>				
<b>Product name</b>	<b>3M Antibiotics Detection Kit Reader</b>			
<b>Serial No</b>	ADR-1109-0020	<b>Customer</b>	NY Dairy co.,ltd	
<b>Functional Test</b>		<b>Issue Date</b>	2019-06-30	
<b>Calibration Verification</b>		<b>Operator</b>	Bionet.	
<b>Reference processor Test</b>	T1	T2	T3	T4
<b>Standard strip 4 Acceptable range</b>	<b>8.0~11.0</b>			
<b>Standard strip 4 test result</b>	9.5	9.6	9.6	9.6
	pass	pass	pass	pass
<b>Standard strip 5 Acceptable range</b>	<b>26.5~32.0</b>			
<b>Standard strip 5 test result</b>	28.8	29.5	29.4	28.9
	pass	pass	pass	pass
<b>Standard strip 6 Acceptable range</b>	<b>47.0~52.0</b>			
<b>Standard strip 6 test result</b>	51.3	50.6	50.8	50.4
	pass	pass	pass	pass
<b>Standard strip 7 Acceptable range</b>	<b>67.5~73.0</b>			
<b>Standard strip 7 test result</b>	70.1	70.2	69.7	70.6
	pass	pass	pass	pass
<b>Standard strip 8 Acceptable range</b>	<b>83.5~90.0</b>			
<b>Standard strip 8 test result</b>	89.6	87.4	87	87.2
	pass	pass	pass	pass
<b>Functional Verification</b>				
Check Calibration coefficient file saved.				OK
Check Calibration coefficient value in program window.				OK
Check Measurement Information value.				OK
Check Measurement Result value.				OK
Check Measure: Executes measurement.				OK
Check Print :Prints the window showing the result of current measurement.				OK
Result : The measurement result can be searched/checked, and its REPORT can be				OK
k Recipe Search : The type of 3M kit can be selected, and its information can be che				OK
Check Exit :Terminates the 3M Strip Reader program.				OK
<b>Final Operations Verification</b>				
Check Strip loader open or closed operation				OK
Check Power display LED				OK
Check Light source display LED				OK
Check Reader and USB connected				OK
Check AC adaptor connected				OK
Check On/Off switch Function				OK

Fig. 18. Validation certificate for reader through standard strip.



Fig. 19. AOAC Certificate for kit.

일반적으로는 AOAC 인증을 통해 유효성 검증을 대체 할 수 있으나, 본 연구에서는 사용자(user)의 입장에서, 제조물 책임법(Product Liability Law)에 준하여 검사 시스템의 오류를 가능한 최소화 하고 정기적인 유효성 검증을 통해 제품 안전성을 확보하는 것이 매우 중요하므로, 유효성 검증을 별도로 실시하였다.

미생물 내성의 증가에 따라 항생 물질의 종류는 점점 더 다양해지고 있으며, 이에 대한 검사 시스템 또한 누락 없이 검증되어야 한다.

일평균 원유 처리량이 약 100ton 이상 정도의 어느 정도의 규모가 있는 유업체의 경우, 수유 단계에서 탱크로리(T/L) 차량의 회전율을 높이기 위해 원유 검사에 있어 신속성, 정확성, 간편성, 비용 효율성의 4 가지 조건을 충족해야 할 필요성이 있다.

일반적으로 식품의 기준 및 규격에서 축산물의 잔류 물질 검사 방법인 TTC 또는 Penzym 시험 방법은 신속하게 판정 후 수유를 진행해야 하는 유업체 실정상 현실적으로 시간적 제약이 따를 수밖에 없으므로, 신속 검사 kit 를 사용하게 된다(Yang and Lee et al., 1994).

이때 주의해야 할 점은 반드시 검사에 대한 사각지대가 없어야 한다. 이를 위해서는 현재 사용하고 있는 kit 가 EU/Codex 및 국내 법적 규격에서 제시하는 가이드라인을 충족하는지 계열별로 검증할 필요가 있고, 이것은

반드시 현재 집유 농가에서 사용하고 있는 항생 물질의 성분과 동시에 비교해야 할 필요성이 있다.

이를 검증하기 위해 집유 농가에 대한 항생 물질의 성분명을 매년 전수 조사하여 현재 사용 중인 kit 에서 누락 없이 검사가 가능한지 조사가 필요하며, 아래의 표에서는 조사 기간 동안 농가에서 사용 중인 항생 물질에 대해 MRLs 범위 내에서 유의성 있게 감지되는지를 검증하였다(Table 8-14).

단, 표에서는 사용 약제의 상품명, 제조사 등은 생략하고, 항생 물질의 계열별 표준 성분명과 현재 사용 중인 kit 의 검사 체계를 위주로 비교하였다.

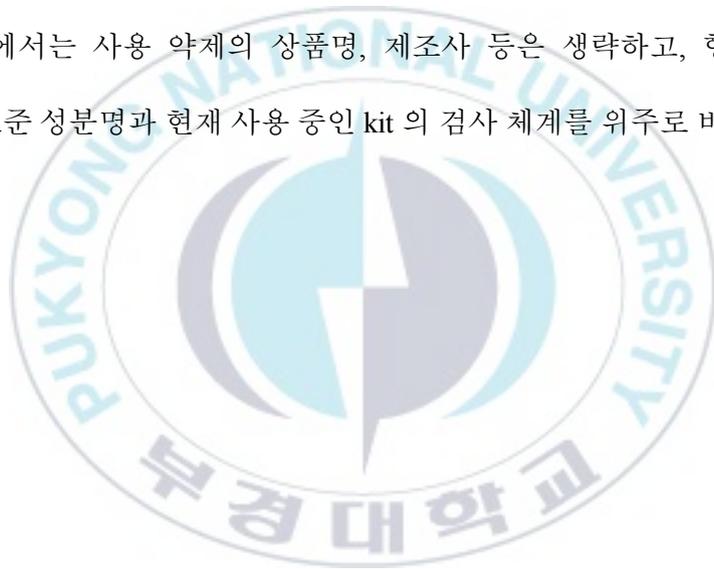


Table 8. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for

beta-lactam antibiotics

(Unit :  $\mu\text{g/L}$ )

Antibiotics	EU/Codex	Domestic law	Combo I	Combo II
Penicillin G	4	4	4	-
Cloxacillin	30	30	25	-
Dicloxacillin	30	30	25	-
Nafcillin	30	30	25	-
Ampicillin	4	4	4	-
Amoxicillin	4	4	4	-
Cephapirin	60	30	20	-
Cefacetril	125	50	25	-
Cefalonium	20	10	10	-
Beta-lactam Cefalexin	100	100	150	70
Cefquinome	20	20	15	-
Cefoperazon	50	30	25	-
Cefazolin	50	50	25	-
Cefuroxime	-	20	20	-
Ceftiofur	100	100	15	-
Oxacillin	-	-	50	-
Piperacillin	-	-	25	-
Cefotaxime	-	-	20	-
Ticarcillin	-	-	50	-

Table 9. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for

tetracycline antibiotics

(Unit :  $\mu\text{g/L}$ )

Antibiotics	EU/Codex	Domestic law	Combo I
Tertacycline	100	100	20
Oxytetracycline	100	100	20
Chlortetracycline	100	100	100
Tetracycline Doxycycline	Negative	Negative	30
Demeclocycline	-	-	100
Metacycline	-	-	30
Rolitetracycline	-	-	40

Table 10. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for

macrolide antibiotics

(Unit :  $\mu\text{g/L}$ )

Antibiotics	EU/Codex	Domestic law	Macro
Tylosin	50	50	30
Erythromycin	40	40	40
Macrolide Lincomycin	150	150	140
Spiramycin	200	200	50
Tilmicosin	50	-	40

Table 11. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for

aminoglycoside antibiotics

(Unit :  $\mu\text{g/L}$ )

Antibiotics	EU/Codex	Domestic law	Combo II	Combo III
Gentamycin	200	200	100	-
Neomycin	1500	500	400	-
Dihydro-streptomycin	200	200	50	-
Streptomycin	200	-	50	-
Kanamycin	-	100	-	80
Amikacin	-	150	-	130
Spectinomycin	200	200	-	180
Paromomycin	Negative	Negative	200	-

Table 12. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for

sulfonamide antibiotics		(Unit : $\mu\text{g/L}$ )			
Antibiotics	EU/Codex	Domestic law	Combo I	Combo V	
Sulfamethazine	100	100	100	-	
Sulfadimethoxine	100	100	60	-	
Sulfathiazole	100	100	100	-	
Sulfadiazine	100	100	100	-	
Sulfamerazine	100	100	100	-	
Sulfamonomethoxine	100	100	30	-	
Sulfaquinoxaline	100	100	50	-	
Sulfachlorpiridazine	100	100	7	-	
Sulfamethoxipiridazine	100	100	50	-	
Sulfamethoxazole	100	100	30	-	
Sulfadoxine	-	-	-	60	
Sulfachlorpirazine	100	100	50	-	
Sulfisoxazole	100	200	20	-	
Sulfaphenazole	-	-	-	50	
Sulfaguandinine	-	-	-	50	

Table 13. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for

quinolone antibiotics

(Unit :  $\mu\text{g/L}$ )

	Antibiotics	EU/Codex	Domestic law	Combo I
Quinolone	Norfloxacin	-	Negative	10
	Enrofloxacin	100	50	20
	Danofloxacin	30	30	20
	Ciprofloxacin	100	50	20
	Pefloxacin	-	Negative	10
	Oxfloxacin	-	Negative	80
	Orbifloxacin	-	20	50
	Marbofloxacin	75	75	70
	Oxolinic acid	-	-	20
	Flumequine	-	-	100
	Nalidixic acid	-	-	40
	Lomefloxacin	-	-	20
	Enoxacin	-	-	20
	Sparfloxacin	-	-	30

Table 14. Comparison of detection limits of antibiotic residues test kit for

others antibiotics

(Unit :  $\mu\text{g/L}$ )

Antibiotics	EU/Codex	Domestic law	Combo III	Combo V	Combo VI
Aflatoxin M1	0.5	0.5	0.5	-	-
Colistin	-	-	-	50	-
Bacitracin	-	-	-	50	-
Chloramphenicol	-	-	-	-	2
Florfenicol	-	-	-	-	50
Thiamphenicol	-	-	-	-	150

Others

Beta-lactam 계열 항생 물질의 용도는 광범위 항생제로서 자궁염, 유방염, 호흡기, 폐렴, 설사 등이며, 휴약 기간은 약 3~55 days 이다.

Tetracycline 계열 항생 물질의 용도는 폐렴, 자궁염, 부제병, 유방염 등이며, 휴약 기간은 약 3~4 days 에 해당한다. 특히, doxycycline 의 경우에는 EU/Codex 및 국내 법적 규격이 불검출이나 식별 가능 범위는 30 $\mu$ g/L 로 30 $\mu$ g/L 미만의 항생 물질이 혼입되었을 때는 식별이 어렵다.

Macrolide 계열 항생 물질의 용도는 호흡기, 소화기 질환, 유방염 등이며, 휴약 기간은 약 3~4 days 에 해당한다.

Aminoglycoside 계열 항생 물질의 용도는 호흡기, 유방염, 자궁 내막염 등이며, 휴약 기간은 약 3~30 days에 해당한다. 특히, paromomycin의 경우에는 EU/Codex 및 국내 법적 규격이 불검출이나 감지 가능 범위는 200  $\mu$ g/L 로 200  $\mu$ g/L 미만의 항생 물질이 혼입되었을 경우에는 감지가 어렵다.

Sulfonamide 계열 항생 물질의 용도는 폐렴, 기관지염, 유방염 등이며, 휴약 기간은 약 5 days에 해당한다.

Quinolone 계열 항생제의 용도는 비뇨 생식기, 급성 신우염 등이며, 휴약 기간은 약 5~10 days에 해당한다. 특히, norfloxacin, pefloxacin, ofloxacin, orbifloxacin 의 경우에는 국내 법적 규격 대비 감지 한계 범위가 더 넓으므로 감지 가능 범위 미만의 항생 물질이 혼입되었을 경우에는 식별이 어렵다.

combo III는 사료에서 검출 가능한 곰팡이 독소인 aflatoxin M1을 특별히

모니터링하기 위해 사용된다.

지금까지의 검사 결과를 요약하면 총 74 종류의 항생 물질에 대해 MRLs 범위 내에서 100% 이상 유의미하게 감지가 가능한 항생 물질은 68 개로 항생 물질 탐지 식별률은 91.891%이다(Table 15).

단, EU/Codex 나 국내 법적 규격 대비 감지 범위가 더 넓어서 감지 범위 이하의 항생 물질 투입 시 kit 로 식별이 어려운 항생 물질에 대해서는 아래에 표기하였다(Table 16).

이러한 검사 사각지대에 대해서는 정기적으로 집유 농가의 사용 항생 물질에 대한 전수 조사를 통해 현재의 검사 kit 가 감지할 수 없는 성분을 사용할 가능성에 대비하여, 해당 농가에 대한 지도를 통해 해당 항생 물질 성분에 대해서는 사용하지 말 것을 적극적으로 지도하여야 하고 지속 모니터링하여야 한다.

Table 15. Identifiable and non-identifiable ratios within the range of MRLs

(Unit :  $\mu\text{g/L}$ )

	Number of cases	Ratio (%)
Can be identified within MRLs range	68	91.891
Unable to identify within MRLs range	6	8.109
Total identifiable antibiotics	74	100

Table 16. List of antibiotics with large detection range compared to standard

(Unit :  $\mu\text{g/L}$ )

	Antibiotics	EU/Codex	Domestic law	Combo I	Combo II
Tetracycline	Doxycycline	Negative	Negative	30	-
Aminoglycoside	Paromomycin	Negative	Negative	-	200
Quinolone	Norfloxacin	-	Negative	10	-
	Pefloxacin	-	Negative	10	-
	Ofloxacin	-	Negative	80	-
	Orbifloxacin	-	20	50	-

## 6. 식품 내 잔류 동물용 의약품에 대한 향후 과제

원유 내 항생 물질의 잔류는 곧 우유의 위생 및 안전성을 판단하는 중요한 기준이다.

동물용 의약품은 축산업에 있어 가축의 성장 촉진과 질병 예방 등 생산성을 높여 축산 농가의 소득 증대 및 축산업의 성장에 기여한 바가 적지 않지만 이러한 동물용 의약품이 국내외에서 정해진 법적 가이드라인을 준수하지 않고 무분별하게 과용 및 오·남용되면 사용된 동물용 의약품이 축산물 원료 자체와 해당 원료를 사용하여 제조된 가공품에 전이 된다. 결국 식품으로 인체에서 장시간 섭취될 경우 인체용 의약품 내성 발현을 통한 약리 효능의 저하 등 최종 소비자인 사람에게 유해할지도 모른다는 위험성이 제기되고 있다.

이러한 항생 물질로 인한 내성 발현과 관련된 문제는 공중 보건 및 국민의 건강과 생명에 직결되는 사항으로 항생 물질의 적절한 사용과 공급 및 안전 사양 관리 등의 중요성이 대두되고 있다(Oh, J.H., et al., 2009).

현재 시행되고 있는 간이 신속 검사법 kit 를 사용 시, 검사 체계의 weak point 또한 발생이 가능한 점을 고려한다면, 검사의 주체인 유업체와 원유를 공급하는 집유 농가 등이 상호 협력하여 제품의 안전성을 확보해야 할 필요성이 있다.

항생 물질에 대한 미생물의 내성이 발현될수록 그에 대응하는 항생 물질의 종류 또한 점점 다변화되고 있으므로, 현행 신속 검사 방법은 kit의 종류를 지속적으로 추가하여 검사망(inspection net)을 체계화하여야 하나 비용적 부분을 고려하지 않을 수 없으므로 유업체와 집유 농가를 중심으로 상호 보완적인 역할을 구축해야만 한다.

유업체는 집유 농가에 대해 사용 중인 항생 물질에 대해 정기적으로 전수 조사를 하여 해당 항생 물질의 성분이 무엇인지, 그리고 검사 체계에서 스크린이 되는지 모니터링해야 하고, 이에 대한 농가 교육과 지도가 병행되어야 한다. 또한 가능하다면 집유 농가의 원유에 대한 시료를 정기 샘플링하여 자체 분석 또는 공인 기관에 의뢰하여 kit에서 검출되지 않는 항생 물질이 있는지 체크하는 것을 권장해야 하고, 수유 단계에서는 비의도적 희석에 유의하여야 할 필요성이 있다.

집유 농가는 현재 검사 체계의 취약점에 대해 인지하고, 모니터링 되지 않는 항생 물질에 대해서는 사용을 금지해야 할 것이며 특히, 항생 물질 사용 후 휴약 기간 준수 오류, 개체우(牛) 식별 미흡 등과 관련된 휴먼 에러(Human error)에 유의하여야 한다.

또한, 축사에 대한 환경과 위생 관리 및 유방염에 대한 치료 및 예방 관리에 집중하는 것도 항생 물질 검출률 감소에 도움이 될 수 있으며 특히, 유방염은 항생 물질 양성 반응에 의한 원유의 폐기처리, 총산유량의 감소, 감염우(牛)의

조기 도태, 치료비용 증가 등으로 낙농 산업에 커다란 경제적 손실을 야기하고 있음으로 예방 및 사후 관리가 중요하다(Kim, J.H., et al., 2017).

Kit의 감지 민감도(sensitivity)가 높다 하더라도 일회용 kit의 사용 특성상 소모성 개념이 적용될 수밖에 없으며, 집유 농가의 수가 많을 경우 농가 단위로 1:1로 kit를 사용할 경우 검사 효율성 및 비용 증가와 관련되므로, 이러한 현실적 부분을 고려한다면 유업체의 검사는 신중하게 운영되어야 한다.

또한 항생 물질의 농도는 수유 단계에서 타 원유와 혼합이 될 경우 kit에서 감지되는 농도 이하로 항생 물질의 농도가 희석되게 되므로 각별히 유의하여야 하는데, 이는 전적으로 검사 시스템과 품질 관리 수준에 따라 유동적이다.

앞으로도 잔류 동물 의약품으로 인한 내성 발현 등의 축산물 및 식품의 위해성에 대한 우려는 우리나라뿐만 아니라 국제적으로도 중요한 이슈로 부각될 것으로 예상되므로 이에 대한 관리는 지속 관리 될 필요가 있다.

따라서 향후 식품 내 동물용 의약품의 안전성 관리 강화를 위해서는 잔류 항생 물질 검사 체계의 지속적인 업그레이드와 시험 방법의 국제화 노력이 뒷받침되어야 할 것이다.

## IV. 요약

경북 지역에서 생산된 원유 내 항생 물질의 잔류 현황을 조사하기 위하여 경상북도에서 122 개 농가를 선정하여 식품의 기준 및 규격에 명시된 항원·항체반응을 이용한 면역 크로마토그래피법을 활용, 항생 물질의 잔류 여부를 검사한 결과 총 19,032 개의 샘플 중에서 35 건이 양성으로 판정되어 항생 물질 양성 반응의 검출 비율은 0.184%로 나타났다.

특히, 검사 가능한 7 개 계열의 항생 물질 중에서 가장 많은 검출 비율을 나타낸 계열은 Beta-lactam(42.9%)으로 나타났으며, 이는 가장 넓은 스펙트럼의 항균 범위를 가지고 있고, 일반적으로 가장 많이 처방되기 때문이다.

계절별로는 겨울(45.7%), 여름(28.6%), 봄(17.1%), 가을(8.6%) 순으로 나타났는데, 이는 겨울에 젖소의 생육 환경과 세균에 대한 민감성이 약해지기 때문에 해당 시기에는 젖소에 대한 항생 물질 투여를 통해 질병에 대한 내성을 높이고, 질병 발생을 최소화하기 위한 것으로 나타났다.

항생 물질 양성 반응으로 검출된 사례를 분석한 결과 양성 반응 검출 요인은 유방염에 관련된 치료 및 취급 과정에서 항생 물질이 전이되는 경우가 37.10%로 가장 높은 점유율을 나타내었고 다음으로는 대사성 질환이

17.10%로 나타났으며, 휴약 기간 오류 또는 개체우(牛) 식별 미흡에 의한 휴먼 에러(human error)에 의한 요인이 동일하게 17.10%로 나타났다.

Smart antibiotic residues test kit 로 가능한 검사는 총 74 종류로서 MRLs 범위 내에서 유의미하게 검출 가능한 항생 물질의 비율은 91.89%로 나타났다.

현행 사용 중인 간이 신속 검사 Kit 의 한계점을 보완하고, 원유의 항생 물질 검사 체계를 공고히 하기 위해서 유업체와 같은 제조사는 집유 농가에 대해 사용중인 항생 물질에 대하여 정기적인 전수 조사를 하여 해당 항생 물질의 성분이 무엇인지, 그리고 현재의 검사 체계에서 스크린이 되는지 정기적으로 모니터링하고 검사 체계를 업그레이드하여야 한다.

또한, 이에 대한 농가 교육과 지도가 병행되어야 하며, 항생 물질의 농도에 따른 비의도적 희석에 유의하여야 한다.

집유 농가는 현재의 검사 체계의 취약점에 대해 인지하면서 항생 물질의 오·남용에 주의 하여야 하고, 유방염의 예방 관리와 치료에 유의 하여야 한다. 또한, 휴먼 에러 등에 의한 휴약 기간 오류가 일어나지 않도록 주의할 기울이고, 평시 축사의 환경 및 위생 관리에 만전을 기울여야 할 것이다.

## V. 참고문헌

- Abouzied, M., Driksna, D., Walsh, C., Sarzynski, M., Walsh, A., Ankrapp, D., and Mozola, M. (2012). Validation study of the betastar® plus lateral flow assay for detection of beta-lactam antibiotics in milk. *Journal of AOAC International*, 95(4), 1211-1221.
- Abouzied, M., Sarzynski, M., Walsh, A., Wood, H., and Mozola, M. (2009). Validation study of a receptor-based lateral flow assay for detection of beta-lactam antibiotics in milk. *Journal of AOAC International*, 92(3), 959-974.
- Albright, J. L., Tuckey, S. L., and Woods, G. T. (1961). Antibiotics in milk—a review. *Journal of Dairy Science*, 44(5), 779-807.
- Bahadır, E. B., and Sezgintürk, M. K. (2016). Lateral flow assays: Principles, designs and labels. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 82, 286-306.
- Berlina, A. N., Taranova, N. A., Zherdev, A. V., Vengerov, Y. Y., and Dzantiev, B. B. (2013). Quantum dot-based lateral flow immunoassay for detection of chloramphenicol in milk. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 405(14), 4997-5000.
- Bishop, J. R., and White, C. H. (1984). Antibiotic residue detection in milk—A review. *Journal of food protection*, 47(8), 647-652.
- Brady, M. S., and Katz, S. E. (1988). Antibiotic/antimicrobial residues in milk. *Journal of food protection*, 51(1), 8-11.

- Butler, A. R., Bate, N., and Cundliffe, E. (1999). Impact of thioesterase activity on tylosin biosynthesis in *Streptomyces fradiae*. *Chemistry and biology*, 6(5), 287-292.
- Cho OS, Do JC, Kim GC, Lee SM, and Jyeong JS. (2000). The detection limits to antibiotic drugs in treatment of mastitis by TTC II reduction test. *Korean Journal of Veterinary Service(KOJVS)*, 23(4), 335-340.
- Efthimiadou, E. K., Katsaros, N., Karaliota, A., and Psomas, G. (2007). Synthesis, characterization, antibacterial activity, and interaction with DNA of the vanadyl-enrofloxacin complex. *Bioorganic and medicinal chemistry letters*, 17(5), 1238-1242.
- Etebu, E., and Ariekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res*, 4, 90-101.
- Fàbrega, A., Madurga, S., Giralt, E., and Vila, J. (2009). Mechanism of action of and resistance to quinolones. *Microbial biotechnology*, 2(1), 40-61.
- Garrod, L. P. (1964). *Hazards of Antibiotics in Milk and other Food Products [Abridged] Sources and Hazards to Man of Antibiotics in Foods.*
- Gaynor, M., and Mankin, A. S. (2003). Macrolide antibiotics: binding site, mechanism of action, resistance. *Current topics in medicinal chemistry*, 3(9), 949-960.
- Gilliland, S. E. (2018). *Bacterial Starter Cultures for Food: 0.* CRC Press.

- Gomazkov, O. A. (1964). MECHANISM OF ACTION OF TETRACYCLINE ANTIBIOTICS. Federation proceedings. Translation supplement; selected translations from medical-related science, 23, 876.
- Holstege, D. M., Puschner, B., Whitehead, G., and Galey, F. D. (2002). Screening and mass spectral confirmation of  $\beta$ -lactam antibiotic residues in milk using LC-MS/MS. Journal of agricultural and food chemistry, 50(2), 406-411.
- Hong, G. S. (2007). Winter specification technology of cows. *Korea Dairy and Beef Farmers Association*, 27(1), 115-122.
- Jeong, H. D., and Chun, S. K. (1992). The utilization of antibiotics and the treatment of bacterial diseases in fish. Journal of fish pathology, 5(1), 37-48.
- Kim, H. S., Lee, W. S., Ki, K. S., Lee, H. J., Baek, K. S., Ahn, B. S., ... and Kim, S. B. (2006). Management, Feeding Practices, Milk Yield and its Quality in Korean Dairy Farms: a Survey. Journal of Animal Science and Technology.
- Kim, J. H., Kim, B. M., Ham, J. S. and Oh, M. H. (2017). Detection and Characteristics of Coagulase-Negative Staphylococcus sp. isolated from Dairy Cattle Milk. Journal of Milk Science and Biotechnology, 35(3), 162-168.
- Kim, M., Yoon, S. J., Kim, M., Cho, Y. J., Choi, S. J., Chang, M. I., ... and Lee, S. J. (2014). Simultaneous determination of penicillin antibiotics in meat using liquid chromatography tandem mass spectrometry. Journal of Food Hygiene and Safety, 29(2), 131-140.

- Kim, Y. H. and Park, K. H. (1994). Antimicrobial residues in raw milk of Chonnam area. *Agricultural Science and Technology Review, Chonnam National University (Korea Republic)*.
- Lata, K., Sharma, R., Naik, L., Rajput, Y. S., and Mann, B. (2016). Lateral Flow Assay–Based Rapid Detection of Cephalexin in Milk. *Journal of Food Quality*, 39(1), 64-73.
- Liu, L., Luo, L., Suryoprabowo, S., Peng, J., Kuang, H., and Xu, C. (2014). Development of an immunochromatographic strip test for rapid detection of ciprofloxacin in milk samples. *Sensors*, 14(9), 16785-16798.
- Lu, J., and Rohani, S. (2010). Synthesis and preliminary characterization of sulfamethazine-theophylline co-crystal. *Journal of pharmaceutical sciences*, 99(9), 4042-4047.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., and Parker, J. (1997). *Brock biology of microorganisms (Vol. 11)*. Upper Saddle River, NJ: Prentice hall.
- McEWEN, S. A., MEEK, A. H., and BLACK, W. D. (1991). A dairy farm survey of antibiotic treatment practices, residue control methods and associations with inhibitors in milk. *Journal of food protection*, 54(6), 454-459.
- McEwen, S. A., Black, W. D., and Meek, A. H. (1991). Antibiotic residue prevention methods, farm management, and occurrence of antibiotic residues in milk. *Journal of dairy science*, 74(7), 2128-2137.

- Naik, L., Sharma, R., Mann, B., Lata, K., Rajput, Y. S., and Nath, B. S. (2017). Rapid screening test for detection of oxytetracycline residues in milk using lateral flow assay. *Food chemistry*, 219, 85-92.
- Oh, J. H., Kwon, C. H., Jeon, J. S., and Choi, D. M. (2009). Management of veterinary drug residues in food. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 28(3), 310-325.
- Park, D., Jeong, J., Chang, M., Im, M., Park, K., and Hong, M. (2005). Determination of tetracycline antibiotics in food. *Analytical Science and Technology*, 18(3), 250-256.
- Peng, J., Wang, Y., Liu, L., Kuang, H., Li, A., and Xu, C. (2016). Multiplex lateral flow immunoassay for five antibiotics detection based on gold nanoparticle aggregations. *RSC advances*, 6(10), 7798-7805.
- Sischo, W. M. (1996). Quality milk and tests for antibiotic residues. *Journal of dairy science*, 79(6), 1065-1073.
- Son, Seong-Wan. (2006) "Overview of Veterinary Medicine and Directions for Quality Control" *Journal of the korean veterinary medical association* Volume 42 Issue 5, 416-419
- Suarez, C., and Gudiol, F. (2009). Beta-lactam antibiotics. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica*, 27(2), 116-129.
- Tanaka, N. (1982). Mechanism of action of aminoglycoside antibiotics. In *Aminoglycoside Antibiotics* (pp. 221-266). Springer, Berlin, Heidelberg.

- Tollefson, L., Fedorka-Cray, P. J., and Anquilo, F. J. (1999). Public health aspects of antibiotic resistance monitoring in the USA. *Acta Veterinaria Scandinavica Supplementum*, 92, 67-76.
- Yang, C.Y. and Lee, S.H. (1994). Detection of Antibiotic Residues in Milk by TTC and Penzym Test. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 14, 126-131.
- Yang, X. D., Wang, F. Y., Song, C. M., Wu, S. Y., Zhang, G. P., and Zeng, X. Y. (2015). Establishment of a lateral flow colloidal gold immunoassay strip for the rapid detection of estradiol in milk samples. *LWT-Food Science and Technology*, 64(1), 88-94.
- Yoshizawa, S., Fourmy, D., and Puglisi, J. D. (1998). Structural origins of gentamicin antibiotic action. *The EMBO journal*, 17(22), 6437-6448.
- Zhang, G. P., Wang, X. N., Yang, J. F., Yang, Y. Y., Xing, G. X., Li, Q. M., ... and Guo, J. Q. (2006). Development of an immunochromatographic lateral flow test strip for detection of  $\beta$ -adrenergic agonist Clenbuterol residues. *Journal of immunological methods*, 312(1-2), 27-33.
- Zwald, A. G., Ruegg, P. L., Kaneene, J. B., Warnick, L. D., Wells, S. J., Fossler, C., and Halbert, L. W. (2004). Management practices and reported antimicrobial usage on conventional and organic dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 87(1), 191-201.