Kor. J. Food Hygiene 8 (1), 1-8 (1993)

식육중의 잔류 항생·항균제의 검정에 관한 연구(I)
— 생물학적 검정법 —

류재천 · 송윤선 · 박종세 · 장준식* · 神保勝彦**
한국과학기술연구원 도핑콘트롤센터
*국립보건안전연구원 **동경도립위생연구소

A Study on the Determination of Residual Antibiotics and Synthetic Antibacterial Agents in Meat (I)
— Microbiological Assay —

Jae-Chun Ryu, Yun-Seon Song, Jongsei Park, Joon-Shik Chang* and Katsuhiko Jinbo**
Doping Control Center, Korea Institute of Science and Technology, P.O. Box 131, Cheongryang, Seoul 130-650, Korea
**National Institute of Safety Research, 5, Nokbun-dong, Eunpyung-ku, Seoul 120-020, Korea*
***The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health 3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan*

ABSTRACT — To detect and quantitate residual antibiotics and synthetic antibacterial agents in meat, we performed a microbiological assay employing the three microorganisms *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, and *Bacillus cereus var. mycoides* ATCC 11778.

In the microbiological assay (paper disk method), the residual antibiotics and antibacterial agents were systematically extracted and cleaned-up by homogenization with McIlvaine buffer, defatting with hexane, extraction with chloroform, and clean-up by Sep-Pak C_{18} cartridge and Bakerbond SPE carboxylic acid column. The chloroform layer was subjected to the detection of sulfa agents, macrolides antibiotics and antibacterial agents. Adsorbed materials in the Sep-Pak C_{18} cartridge were also employed for the analysis of penicillins and tetracyclines. Effluent from the Sep-Pak C_{18} was cleaned-up once more by Bakerbond 10 SPE COOH column and employed for the analysis of aminoglycosides.

The detection limits in this microbiological assay have revealed the 0.1~0.01 ppm for macrolide, tetracycline, aminoglycoside antibiotics and sulfa drugs, and the 0.001 ppm for penicillins.

Nevertheless of the use of three microorganisms and simple clean up procedure, this method has been revealed the high reproducibility and selectivity. Therefore, this method is highly recommaned to detect the residual antibiotics and antibacterial agents in meat simultaneously.

Keywords □ Microbiological assay, Antibiotics, Antibacterials, Meat.

항생물질 및 합성항균제는 그 종류에 따라서 Gram 양성 및 음성균 전반에 걸치는 넓은 항균 spectrum과 안전성 때문에 지금까지도 세균성질병의 치료 목적으로 의약계에서는 널리 사용되고 있는 약제이다. 항생물질 및 합성 항균제는 이와 같은 의약적인 용도 이외에 축산분야나, 양어장에서와 같은 인간이 필요로 하는 동·식물의 양육시 발생되는 병해를 방지할 목적으로도 최근에는 널리 사용되고 있다. 그러나 이와같은 항생물질류나 항균제의 남용 및 오용은 육류에의 잔류, 또는 과량사

Received for publication 20 December, 1992
Reprint request: J.-C. Ryu, Ph.D. at the above address

용으로 인한 환경오염 등으로 심각하게 인간의 건강을 위협하는 문제점들을 야기시키기에 이르렀다. 이에 따라 이미 여러 선진국에서는 사용 가능한 항생물질류와 항균제의 종류 및 최소잔류농도 등을 법으로 정하여 이미 오래전부터 실시하여 국민건강을 보호하는 적극적인 정책을 펼쳐오고 있었다.

최근 우리나라에서도 우루과이 라운드 협상에 따른 수입의 자유화, 이에 따른 여러 축산, 수산물류의 대량유입에 따르는 잔류 항생물질, 항균제문제, 또 국내에서 양육하는 축산물 및 여러 하천과 해양에서 양식하는 수산물 등에서의 잔류 항생·항균제 등에 대해 적극 대응하여 국민건강을 위협하는 잔류 유해물질로부터 보호한다는 국가 정책에 따라, 최근 17종의 항생물질류와 18종의 합성 항균제에 대한 잔류허용기준을 고시하여 시행하기에 이르렀다. 이와 같은 법령 시행에 따라 이들 물질의 종류의 다양성 및 활성에 따른 구조적 다양성 등을 고려하여 축·수산물로부터 정확하고 간편하게 정성·정량할 수 있는 정밀한 검정법이 요구되게 되었다.

항생물질과 합성 항균제를 동시에 축·수산물로부터 정성, 정량하려는 목적으로 오래전부터 개발되어 사용되어 온 것이 미생물을 이용한 검정법이다. 이러한 방법은 물리·화학적 성질이 상이한 여러 종류의 항생물질, 항균제 등을 동시에 검정할 수 있는 잇점을 가지고 있으나, 개개 항생·항균제의 정성, 정량에 있어서는 정확도, 정밀도 등이 다소 떨어지는 단점 또한 갖고 있다.

이러한 단점을 극복하고, 실험조작의 간편성 및 신속성과 정확도를 높이고자 일본후생성의 축수산식품중의 잔류물질 검사법[1,2]을 개량한 미생물학적 검사법을 검토하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

균주

Bacillus subtilis ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus cereus var. mycoides* ATCC 11778은 Institute for Fermentation, Osaka, Japan으로부터 구입하여 사용하였다.

시약

Oxytetracycline, chlortetracycline, neomycin, streptomycin, hygromycin, erythromycin, oleandomycin, tylosin, penicillin, ampicillin, oxolinic acid, nalidixic acid, sulfadimethoxine, trimethoprim, citric acid 등은 모두 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, potassium dihydrogenphosphate, dipotassium hydrogenphosphate, magnesium sulfate anhydrous는 Kanto Chemical Co. Inc.(Tokyo, Japan)에서 구입하였다. Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt, disodium hydrogenphosphate는 Junsei Chemical Co. Ltd. (Tokyo, Japan)에서 구입하였고, 이외에 bacto agar, nutrient broth, bacto-peptone, yeast extract 등은 Difco(Detroit Michigan, USA) 제품을 사용하였다. Hexane, chloroform, methanol은 J.T. Baker Inc. (Phillipsburg, USA)에서 구입하였다.

기구

Petri dish는 내경 100 mm(녹십자, Korea)의 것을, pulp disk는 직경 10 mm, 두께 1.2 mm, 흡수량 0.08 ± 0.01 ml(Tokyo Seisakusho Co., Tokyo, Japan)를 고압멸균하여 사용하였고, Sep-Pak C_{18}(Waters, Co., Milford, MA, U.S.A.) cartridge 및 Baker bond 10 SPE COOH Column(7211-03, J.T. Baker Chemical Co., U.S.A.)을 구입하여 사용하였다. 그외 Whatman 1PS phase separator(Silicone treated 1PS 100 circles-12.5 cm, Whatman, U.S.A.)와 Filter paper(42, Whatman, USA)를 사용하였고, 기기로서는 Stomacher 80(Seward Medical Inc., England) Tissue homogenizer, Autoclave(Yamato Scientific Co., Japan), Incubator(HIK International Co., Korea), Deep freezer(Baxter, Revco Scientific Inc. Asheville, North Carolina, USA), Baker-10 SPE System(J. T. Baker Chemical Co., Phillipsburg, U.S.A.), Vacuum pump (Millipore, Milford, MA., U.S.A.) 등을 사용하였다.

Column의 activation

Sep-Pak C_{18} Cartridge－MeOH 5 ml, H_2O 5 ml, 그리고 saturated EDTA-2Na 용액 5 ml 순으로 Sep-Pak을 통과시키고 습윤세정 처리하였다.[6]

Backerbond 10 SPE COOH Column－Hexane 5 ml을 통과시키고 공기를 통과시켜 1분간 건조시켰다. 그후 MeOH 5 ml, H_2O 5 ml 순으로 통과시키고,

McIlvaine buffer(pH 4.0) 5 ml을 넣어 전처리 후, 건조되지 않도록 유의하여 습윤상태로 유지시켰다.

사용배지

계대보존용배지－보통 한천배지를 사용하였다.

증식용액체배지－*M. luteus*의 증식용 배지로는 감수성측정용 bouillon 배지(Nissui제약, Tokyo, Japan)를 사용하였다.

검사용 배지－*B. subtilis*와 *M. luteus* 검사용 배지로는 antibiotic medium No. 5(AM 5)를, *B. cereus* 검사용 배지로는 antibiotic medium No. 8(AM 8) (Difco, Detroit, Michigan, USA)을, 그리고 sulfa제를 검출하기 위해서는 감수성 disk용 배지-N(SD, Nissui제약, Tokyo, Japan) 등 3종류의 배지를 사용하였으며, 121℃에서 20분간 고압 멸균한 후, 55℃로 유지하면서 정량의 균액을 넣어 균일하게 혼합한 후, 10 ml씩 각 petri dish에 수평으로 응고시켜 검사용 평판배지로 사용하였다.

항균성 검사용 평판배지 조제

***M. luteus* 평판**－AM 5를 고압멸균한 후 55℃로 유지하고, 여기에 3대 계대보존하여 균량이 일정해진 시험균액을 medium의 1/5양을 가해 잘 섞은 후 petri dish에 10 ml씩 분주하여 수평으로 응고시켰다.

***B. subtilis* 평판**－고압멸균한 AM 5를 55℃로 유지하고, 여기에 시험균액인 아포부유액을 medium의 1/100양을 가해 잘 섞은 후 *M. luteus* 평판배지 조제의 경우와 동일하게 조제하였다.

***B. cereus* 평판**－고압멸균한 AM 8을 55℃로 유지하고, 여기에 *B. cereus* 시험균액을 medium의 1/100양을 가해 혼화하여 각 petri dish에 10 ml씩 분주하여 수평으로 응고시켰다.

Sulfa제용 평판－SD 배지를 고압멸균한 후 55℃로 유지하면서 여기에 trimethoprim(7 μg/100 ml의 농도)을 가하고 *B. subtilis* 아포부유액을 medium의 1/100에 해당하는 양을 가해 *M. luteus*의 경우와 동일하게 조제하였다.

시료의 분획 및 시험액 조제

Sep-Pak C_{18}과 Bakerbond 10 SPE COOH column을 사용하여 Scheme 1과 같이 각각 시험액 A, B, C액을 만들어 실험하였다. 즉, 시료 10 g을 Stomacher 80용 vinyl용지(Organo사, Tokyo, Japan)에 넣고, pH 4로 조절된 0.01 M EDTA-2 Na McIlvaine 완충액 30 ml을 가하여 약 30초간 homogenize한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하였다.

상등액에 hexane 10 ml를 가하여 Stomacher 80에서 약 15초간 진탕한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 지방층을 제거하고 멸균 pipet으로 수층을 분리하여 취한다. 여기에 chloroform 30 ml을 가하여 Stomacher 80에서 진탕하고 1시간 동안 상온에서 방치한 후 chloroform층과 수층으로 분리시켰다.

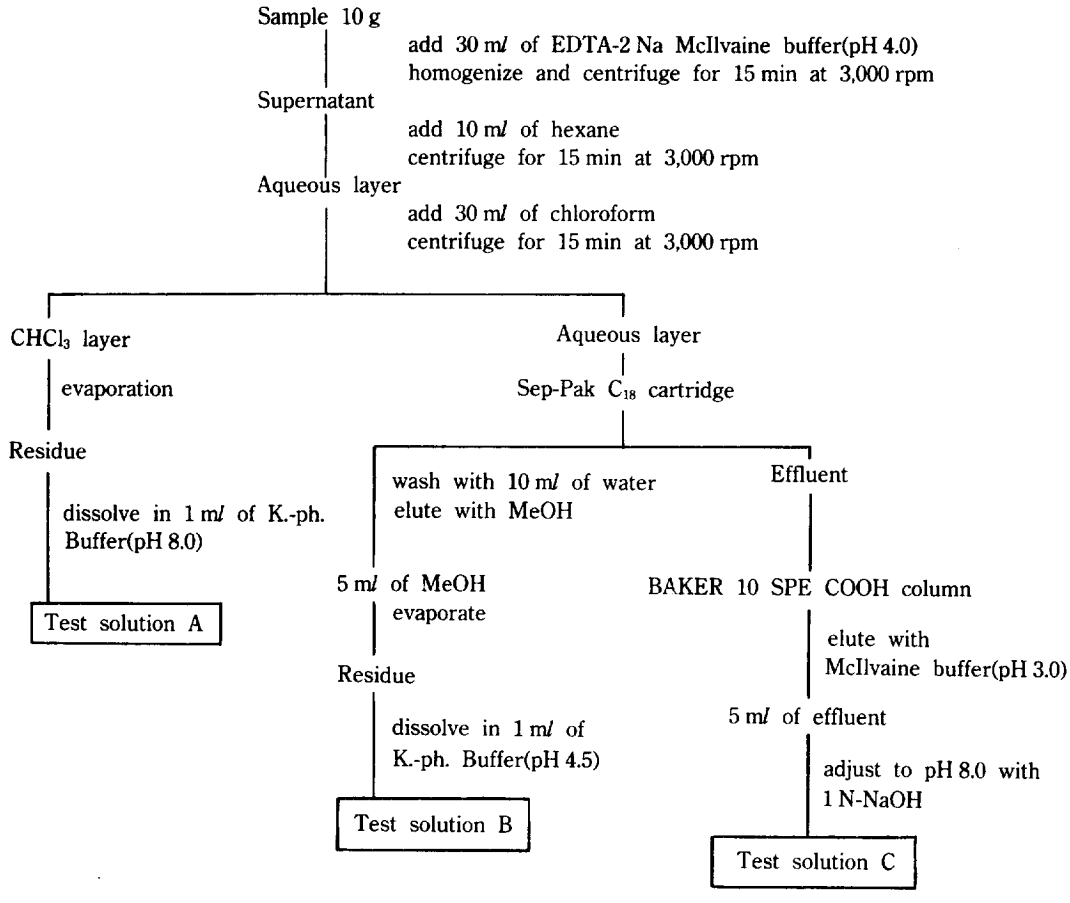
위에서 얻은 chloroform층을 Whatman 1PS Phase Separator(silicone treated)로 여과하고, 여액인 $CHCl_3$층을 증발시켜 그 잔사를 K-phosphate buffer(pH 8.0) 1 ml에 녹여 시험액 A로 하며, 이 액은 sulfa제, 항균제 및 Macrolide계 항생제의 검출에 사용하였다.

이미 앞에서 설명한 바와 같이 활성화시킨 Sep-Pak C_{18}과 Bakerbond 10 SPE column을 adaptor를 사용하여 연결한 다음, 위에서 얻은 수층을 가하여 일정한 속도로(1.5 ml/min) 흡입 통과시킨 후, Sep-Pak C_{18} cartridge와 Bakerbond column을 분리하고 Sep-Pak C_{18} column을 취하여 10 ml의 H_2O로 세척하고, methanol 통과액으로서만 5 ml을 받아 증발건조시켰다. 잔사를 1 ml의 K-phosphate buffer(pH 4.5)에 녹여 시험액 B로 하였고, 이 액은 tetracycline 및 penicillin계 항생제의 검출에 사용하였다.

위의 시험액 B 제조시, 수층을 통과시킨 후의 남은 Bakerbond 10 SPE COOH column을 5 ml의 McIlvaine buffer(pH 3.0)로 용출시키고, 용출액을 pH 8.0으로 맞춘 다음 시험액 C로 하여 aminoglycoside계 항생제의 검출에 사용하였다.

시험법

위에서 분획한 시험액중 시험액 A는 *B. subtilis* 평판, *M. luteus* 평판, *B. cereus* 평판 및 sulfa제용 평판의 4종류에, 시험액 B와 C는 sulfa제용 평판을 제외한 나머지 3종류의 평판에 멸균 pincette를 이용하여 멸균 pulp disk에 침적시킨 후 가볍게 각 평판배지위에 올려놓았다. 배양하기 전 냉장고에서 1시간 정도 안정시켰으며 배양온도는 sulfa제는 35



Scheme 1. Clean-up procedure for the Bio-assay of antibiotics and synthetic antibacterial agents in meat

℃에서, 나머지는 30℃에서 18시간 정치배양한 후, pulp disk 주변에 출현한 발육저지대의 직경을 측정하여 저지원이 12 mm 이상인 것을 양성으로 하였다.

결과 및 고찰

잔류 항생물질 및 합성항균제의 생물학적 검사를 위해서 paper disk를 사용한 미생물학적 방법은 Matsumoto 등[3]에 의해 잘 연구되어졌다. 더욱이 Jinbo group[4]은 생물학적 검정법의 기초연구를 토대로 시험균주로서 *Micrococcus luteus* 변이주를 사용하여,[5] 보다 방법을 발전시켰고, 이 방법을 이용하여 양식어[6] 및 돼지고기[7] 등에서 실제 잔류검사를 실시하고 있다. 또한 류 등[8]은 이 미생물학적 방법을 이용하여 기기분석과의 상관성 연구 및 우리나라의 보건사회부 산하 요원[9] 및 농림수산부 산하 동물검역소[10]의 교육훈련에도 적용한 바 있다.

지금까지 지표 시험균주로서 다수의 균주들이 널리 사용되어 왔다. 그러나 여기에 소개한 microbiological assay에서는 *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*의 3균주만을 사용하여 sulfa제, 합성항균제, macrolide계 항생제, tetracycline계, penicillin계, aminoglycoside계 항생제들을 간단한 전처리 과정으로 동시에 체계적으로 분석할 수 있는 방법이라 사료된다.

이 방법은 결국 식품중에 잔류하는 미량의 항생·항균제들에 의한 균주의 발육저지양상(inhibition pattern)에 의한 검출법으로서 이와같은 inhibition pattern에 따른 항생, 항균제들과의 상관성을 Table

Table 1. Inhibition pattern of antibiotics and antibacterial agents in Bio-assay

Test solution	Test Microganisms				
	B. sub(sulfa M.)	*B. sub*(A.M.5)	*M. lut.*(A.M.5)	*B. cer.*(A.M.8)	Drugs
A	+++	±	−	−	SAs
	++, +	+	++, +++	−	MLs
	+	+++	−	+	OA, NA. etc.
B		+	+++	−	PCs
		+	−	+++	TCs
		−	+	+	CM
C		+++	−	+	AGs

Abbreviations: SAs=Sulfa drugs MLs=Macrolides
OA=Oxolinic acid NA=Nalidixic acid
PCs=Penicillins TCs=Tetracyclines
CM=Chloramphenicol AGs=Aminoglycosides

Photo 1. Typical inhibition pattern of sulfadimethoxine(0.5 μg/g) in Bio-assay.

Photo 2. Typical inhibition pattern of oxolinic acid(1 μg/g) in Bio-assay.

1에 나타내었으며 널리 남용되는 oxolinic acid, nalidixic acid 등도 검출할 수 있는 좋은 방법이라 사료된다.

각 물질에 대한 inhibition pattern을 살펴보면 다음과 같다.

Sulfa제

Sulfadimethoxine(0.5 μg/g)을 spike하여 앞에서 기술된 방법에 따라 추출하면 sulfa제는 시험액 A에서 검출되며 이 때 inhibition pattern은 Photo 1과 같이 sulfa medium에서 가장 큰 발육억제가 나타남을 알 수 있었다.

합성항균제

최근 어류의 양식장에서도 사용되는 것으로 알려진 oxolinic acid 및 nalidixic acid는 Photo 2(oxolinic acid, 1 μg)와 같이 *B. subtilis* medium 5에서 가장 큰 발육저지대를 보이며, *B. subtilis*와 *B. cereus*

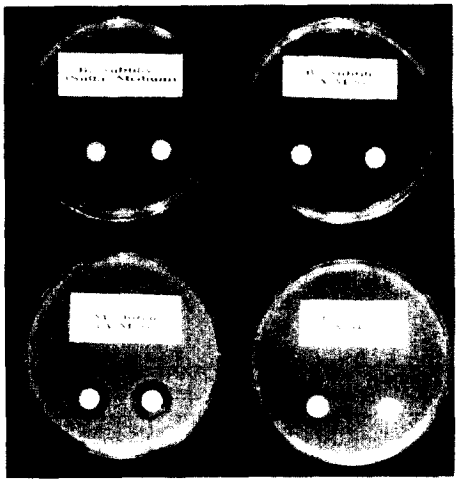


Photo 3. Typical inhibition pattern of erythromycin(0.1 μg/g) in Bio-assay.

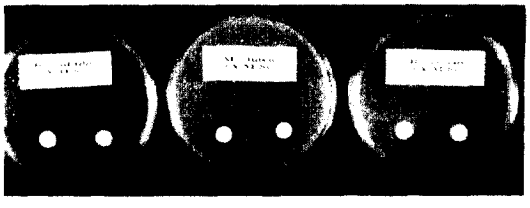


Photo 4. Typical inhibition pattern of penicillin G(0.05 μg/g) in Bio-assay.

두 medium에 대해서는 동일한 정도의 작은 발육저지대를 보이는 특이적인 inhibition pattern을 나타내어 발육저지 양상으로 쉽게 합성 항균제의 잔류유무를 판별할 수 있었다.

Macrolide계 항생제

시험액 A에서 검출되는 macrolide는 *M. luteus*의 발육을 가장 강하게 저지하며 그 다음으로 sulfa medium, *B. subtilis* medium 순으로 저지하였으나, *B. cereus*의 발육에는 어떠한 영향도 미치지 않았다. Macrolide계중 erythromycin(0.1 μg/g)을 spike하여 실험한 결과 Photo 3과 같이 전형적인 macrolide계의 inhibition pattern을 볼 수 있었다.

Penicillin계 항생제

세균의 세포벽 합성을 차단함으로써 강력한 살균작용을 나타내며 또한 세균에 대하여 강한 내약성을

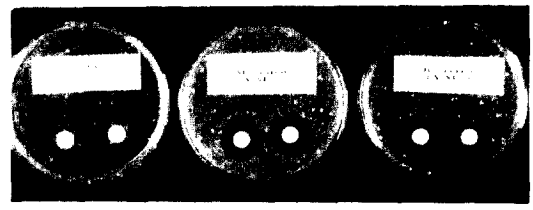


Photo 5. Typical inhibition pattern of chloramphenicol(10 μg/g) in Bio-assay.

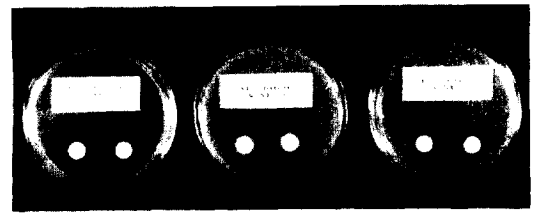


Photo 6. Typical inhibition pattern of streptomycin(1 μg/g) in Bio-assay.

갖는 penicillin계 항생제는 추출과정을 통해서 시험액 B에서 검출되었다.

Penicillin계 약물은 *M. luteus*에 대해서 가장 강하게 발육저지를 나타내며 *B. cereus*균에 대해서는 영향을 미치지 않았다. Photo 4는 penicillin G(0.05 μg/g)를 beef에 spike하여 추출한 시험액 B를 3종류의 검사용 배지에 적용한 결과 나타난 전형적인 inhibition pattern이다.

Tetracycline계 항생제

광범위 항균력을 가지며 저렴한 가격으로 공급되는 tetracycline류는 동물사육 및 어류양식에서 다량 사용되어지고 있는 것으로 알려져 있다. 이 물질은 추출과정을 통해 시험액 B에 존재하게 되며 검사용 배지에서의 inhibition pattern은 Table 1에 설명된 바와 같이 *B. cereus*균의 발육을 가장 강하게 저지하며, 상대적으로 *B. subtilis*균의 발육은 조금 저지하고 *M. luteus* 균의 성장에는 전혀 영향을 미치지 않는 전형적인 inhibition pattern을 보인다.

Chloramphenicol

광범위 항생제인 chloramphenicol(10 μg/g)은 추출과정을 통하여 시험액 B에서 검출되며 3균주의 검사용배지에 적용시켰을 때 *M. luteus*와 *B. cereus*

Table 2. The detection limit of antibiotics and sulfa drugs in microbiological assay

Antibiotics Antibacterials		Detection limit (ppm)
Macrolides	Tylosin	0.1
	Oleandomycin	0.1
	Erythromycin	0.01
	Spiramycin	0.1
Tetracyclines	Oxytetracycline	0.1
	Chlortetracycline	0.1
Penicillins	Penicillin G	0.001
	Ampicillin	0.001
Aminoglycosides	Streptomycin	0.1
	Kanamycin	0.5
	Neomycin	1.0
Sulfa drugs	Sulfadimethoxine	0.5
	Sulfamonomethoxine	0.1

두 균주에 대하여 동일한 정도의 저지대를 나타내는 특징적인 inhibition pattern을 나타내고, *B. subtilis*균에 대해서는 거의 항균작용을 나타내지 않음을 Photo 5에서 알 수 있었다.

Aminoglycoside계 항생제

미생물의 단백합성을 억제하여 살균성을 나타내며, 인체에 대해 어떤 유해한 독작용을 나타낸다고 알려져 있는 aminoglycoside계 항생제는, 검체 추출과정에서 수층에 존재하게 되며, COOH column에 흡착된다. 흡착된 aminoglycoside계 물질을 McIlvaine buffer(pH 3)로 용출시키면 시험액 C에 모이게 된다.

Aminoglycoside계 항생제는 streptomycin(1 μg/g)을 spike하여 실험한 결과 Photo. 6과 같이 *B. subtilis*의 발육을 가장 강하게 저지하며 *B. cereus*는 상대적으로 약한 발육저지를 나타내었다. 그러나 *M. luteus*의 발육에 대해서는 영향을 미치지 않음을 보여주고 있다.

이상과 같이, inhibition pattern에 의한 항생·항균제의 1차 screening으로서 Bio-assay법은 매우 유용하며 이 방법에 의한 검출한계는 Table 2와 같이 상당히 낮은 level의 detection limit을 나타내었다. Macrolide계 항생물질은 0.01~0.1 ppm의 detection limit을 나타내었으며, oxytetracycline과 chlortetracycline도 0.1 ppm 정도의 낮은 검출한계를 나타내었다. 특히 penicillin계의 penicillin G와 ampicillin은 0.001 ppm의 좋은 detection limit을 나타내고 있다. Aminoglycoside 및 sulfa drug 또한 0.1~1 ppm 정도의 검출한계를 나타내므로 본 생물학적 방법을 이용하여, 우리나라에서 제시한 항생제, 항균제들을 1차 검정할 수 있다고 사료된다.

또한 항생물질의 생물학적 검정법은 동물성 식품중에 잔류하는 미지의 항생제 및 항균제를 동시에 간단하게 계통적으로 분류하는데 있어 좋은 방법이라고 생각되며 detection limit 또한 낮아서 미량의 항생·항균물질까지도 검정이 가능하였다. 특히 검정이 어려운 macrolide계의 tylosin, oleandomycin, erythromycin, spiramycin의 detection limit은 각각 0.1, 0.1, 0.01, 0.1 ppm으로서 매우 좋은 검출한계를 나타내고 있어 앞으로 육류중에 잔류하는 항생제, 항균제들의 1차 스크리닝의 목적으로서 이 Bio-assay의 활용은 매우 유용하리라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 보건사회부 및 농림수산부의 위탁연구비에 의해 수행되었기에 이에 감사드립니다.

국문요약

육류중에 잔류하는 항생물질 및 항균제를 검출하기 위해 본 실험에서는 3종류의 균주 *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus cereus var. mycoides* ATCC 11778을 사용하여 실험하였다.

시료의 clean-up은 항생·항균제의 물리화학적 성질을 고려하여 우선 McIlvaine buffer를 가하여 homogenize하고 hexane으로 defatting시킨 후, chloroform으로 추출한 액과 Sep-Pak C_{18}과 Bakerbond SPE carboxylic acid column에 흡착시킨 후 추출한 액을 각각 시험용액 A, B, C로 하였다. 각 test solution을 paper disk를 사용하여 함균 배지에 올려놓고 overnight culture후 inhibition pattern을 통해 여러 종류의 항생·항균제를 계통적으로 검출하였다.

본 실험에서 macrolide계와 tetracycline계 등은 0.1 ppm 이하의 detection limit을 보였으며, penicillin계는 0.001 ppm 이하의 높은 detection limit을 나타내므로서 시료중에 잔류하는 극미량까지도 검출할 수 있었다. 본 방법은 식육중의 잔류 항생·항균제를 동시에 간단하게 계통적으로 분류하는데 있어 좋은 방법이라고 생각되며 항생·항균제의 체계적인 1차 screening 수단으로서 유용한 방법이라 사료된다.

참고문헌

1. 일본 후생성 환경위생국 우육위생과: 축산물중의 잔류물질 검사법 제 1집 (1977).
2. 동물용 의약품·사료 첨가물의 축산·수산물에의 잔류와 그 분석법, 축산생물과학안전연구소편, 근대출판 일본. p. 199 (1985).
3. M. Matsumoto, K. Jinbo & M. Harata: *Ann. Rep. Tokyo Metr. Res. Lab. P.H.*, **21**, 35-40 (1970).
4. R. Kiritani, K. Jinbo & M. Matsumoto: *ibid*, **38**, 177-181 (1987).
5. N. Kananishi, K. Jinbo & T. Hashimoto: *ibid*, **38**, 185-190 (1987).
6. K. Jinbo, R. Momose, T. Maruyama & M. Matsumoto: *ibid*, **39**, 108-111 (1988).
7. K. Jinbo, R. Momose, T. Maruyama & M. Matsumoto: *ibid*, **40**, 133-136 (1989).
8. 류재천, 서자원, 송윤선, 박종세: Detection and Quantitation of Residual Antibiotics and Antibacterial agents in Foods, *Kor. J. Food Hygiene*, **5**(3), 159-164 (1990).
9. 식품중 인체 유해물질 검정교육 훈련과 분석방법 개발에 관한 연구 보고서, 제 3부: 식품중 인체유해물질의 분석방법, 한국과학기술연구원, p. 85-141 (1991).
10. 축산식품내 유해잔류물질검사 교육과 분석방법 개발에 관한 연구, 한국과학기술연구원, p. 463-531 (1992).