

메탄발효 처리된 가축분뇨내의 내분비계 장애물질에 대한 조사 연구

고한종* · 김기연¹⁾ · 김현태 · 우메다 미키오

교토대학교 농학연구과, ¹⁾한양대학교 환경 및 산업의학연구소
(2006년 11월 7일 접수, 2007년 1월 16일 수리)

A Survey on Endocrine Disrupting Chemicals in Animal Wastes Treated with Methane Fermentation

H. J. Ko*, K. Y. Kim¹⁾, H. T. Kim, and M. Umeda (Graduate School of Agriculture, Kyoto University, ¹⁾Institute of Environment & Occupational Medicine, Hanyang University)

ABSTRACT: Concerns about endocrine disrupting chemicals emitted from humans and animals have been increased because these compounds are detected at very low levels in environment and adversely affect on indigenous fauna. To date, there is little information regarding the concentration of these compounds in animal wastes. In this study, the female hormones, 17 β -estradiol (E2), estrone (E1) and estriol, were measured to provide baseline data in animal wastes. Samples were collected from animal waste storage, methane digester and sludge separated wastewater and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. To measure the mass ratios of estrogen to macronutrients, nitrogen and phosphorous were also determined. Sample collected from animal waste storage had the highest estrogen concentration (98.7 μ g/L), while sludge separated wastewater had the lowest concentration (3.4 μ g/L). The mean concentrations of E2 and E1 in waste storage sample were 6.8 μ g/L and 68.7 μ g/L, respectively. In sludge separated wastewater, the mean concentration of both E2 and E1 were reduced to 2.6 μ g/L and 1.9 μ g/L, respectively. However, estriol was not detected in any of the samples collected. Mean ratios of E2 and E1 to macronutrients were significantly different between the methane wastewater and sludge separated wastewater owing to elimination of solid particles.

Key Words: Methane fermentation, Endocrine disruptor, Estrogen, 17 β -estradiol, Estrone

서 론

자연 생태계에 존재하고 있는 물질 가운데 생물의 내분비계에 작용하여 정상적인 작용을 교란시키는 내분비계 장애물질이 지속적으로 자연계로 유입되고 있어, 그로 인해 발생될 수 있는 잠재적 오염가능성이 사회문제로 대두되고 있을 뿐만 아니라, 이러한 오염을 적정 관리하기 위한 광범위한 조사와 위해성 평가 연구가 이루어지고 있다¹⁻³⁾. 내분비계 장애물질이라 함은 생체의 항상성(homeostasis)을 유지하고 생식이나 발생과정의 조절을 담당하는 내인성 호르몬의 생성, 방출, 이동, 대사, 결합, 작용 혹은 배설을 방해하는 외인성 물

질(exogenous agents)이라고 정의되고 있으며, 흔히 회자되고 있는 '환경호르몬'이란 명칭이나 '내분비 교란 물질', '외인성 내분비 교란 화학물질' 등의 용어와 동일한 의미라 할 수 있다⁴⁾. 내분비계 장애물질은 생체 내에서 분비되는 성 호르몬(sex steroids)과는 구조적으로 같지 않으면서도 성 호르몬과 같은 작용을 하는 화합물질로써, 다른 환경오염물질과 달리 독성이 높은 유해화합물이 아니라 일반적인 생활환경에서 쉽게 노출될 수 있으며, 대부분이 물에 녹지 않고 생체에 축적 가능한 호지성(lipophilic)이 높은 물질이다. 또한 그 농도가 극미량에서도 생리적인 반응이 일어나며, 대부분 급성이 아닌 만성적인 효과에 의한 것으로 일반적인 독성시험으로는 검출에 한계가 있는 특징을 가지고 있다^{5,6)}.

여성 호르몬으로 알려진 에스트로젠(estrogens)은 스테로이드 호르몬(steroid hormone)의 일종으로 다른 종류의 호

*연락처:

Tel: +81-75-753-6168 Fax: +81-75-753-6167

E-mail: khjong333@hanmail.net

르몬에 비해 적은 농도에서도 생리적인 효과를 나타낼 뿐만 아니라 주변환경에서도 최소감지효과수준(lowest observable effect level) 이상으로 검출되고 있기 때문에 더욱 중요하게 관찰이 요망되고 있는 내분비계 장애물질이다⁶⁾. 인간과 동물에서 생성되어 자연생태계로 유입된 에스트로젠이 함유된 사료를 섭취하거나 농도가 높은 환경에 노출된 가축에게서 에스트로젠과잉증(Hyperestrogenism), 번식능력 저하 및 내분비 종양 등이 발생되었다는 보고와^{7,8)} 더불어 수계와 식물에도 영향을^{9,10)} 미치는 것으로 간주되고 있으나, 그 작용기작에 대해서는 명확한 설명이 매우 부족한 실정이다.

가축분뇨에는 천연 에스트로젠인 17베타-에스트라디올(17β-estradiol, E2)과 그 유도체인 에스트론(estrone, E1), 에스트리올(estriol)이 상당량 함유되어 있으나, 합성 에스트로젠(17α-ethynylestradiol)은 검출되지 않는 것으로 보고되고 있다. 또한 축종에 따라서 분뇨로 배출되는 에스트로젠 분포가 다르게 나타나며, 배출되어지는 경로도 다르다^{11,12)}. 각각의 축종에서 발생하여 환경으로 유입될 수 있는 에스트로젠 물질수지를 파악하고자 Hanselman 등¹³⁾은 기존에 보고된 문헌들의 자료를 이용하여 가축분뇨에서 배출되는 에스트로젠 배출량을 산정하였다. 그러나 배출량 산정에 이용된 자료들이 성숙한 자축(female animal)의 배란과 임신시에 나타나는 호르몬의 변화에 기초한 것일 뿐 실제로 환경적인 목적을 위한 다른 여러 가지 요인들, 즉, 나이, 체중, 사료, 건강 상태, 생리적 변이 등을 고려하지 못하였고, 분석에 적용된 방법들 또한 정밀도가 낮고, 신뢰할 수 있는 시험방법이 아니므로 산정된 배출량을 이용하기에는 정확성이 부족하다고 자평하였다. 또한 연간 가축분뇨에서 발생하는 스테로이드 호르몬을 산정한 결과¹⁴⁾, 에스트로젠의 경우 미국에서는 49톤, 유럽에서는 33톤 가량이 배출되고, 축종별로는 소가 가장 큰 비중을 차지하고 있다고 하였다. 한편 분뇨 저장 시설에 따른 분뇨 중 에스트로젠 농도를 평가하기 위해 낙농가와 양돈농가를 대상으로 현장 조사한 연구 결과를 보고하기도 하였다¹⁵⁾.

그러나 현재까지의 연구들은 가축의 번식효율을 높이기 위한 생리적인 조사 과정에서 기인한 것들이 대부분이며, 축사 청소수, 급여된 사료, 투여된 약품 등의 함께 혼합된 가축

분뇨 중의 에스트로젠 농도와 호르몬 조성에 대한 조사는 극히 미미하다. 더불어 축사에서 발생한 분뇨를 저장, 처리하는 일련의 과정에서 발생할 수 있는 호르몬 농도 저감과 조성의 변화에 관련된 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구는 실제 축산농가에서 발생되고 있는 분뇨내의 에스트로젠 농도와 원형규모의 메탄발효시설에서 처리된 가축분뇨내의 에스트로젠 농도 저감 양상을 조사하여 친환경 가축분뇨 처리·이용에 필요한 기초자료를 제공하고자 수행하였다.

재료 및 방법

연구 조사 대상지 및 시료 채취

본 연구는 일본 교토부(京都府) 야기조(八木町) 소재 메탄발효 시설인 생물생태센터(Bio-ecology center)를 대상으로 가축분뇨 중 에스트로젠 호르몬의 농도 및 분뇨의 메탄발효 처리에 따른 농도 변화 조사를 수행하였다. 야기조는 교토 북서부에 위치한 인구 9,000여명의 농촌지역으로, 마을 주변에 낙농을 중심으로 한 양돈, 양계 농가가 산재해 있으며, 각 농가에서 배출되는 가축분뇨를 일괄처리하기 위해 원형 규모의 메탄발효시설과 퇴비사가 병행된 생물생태센터를 운영하고 있는 곳이다. 즉, 바이오가스 플랜트에 의한 자순환형 가축분뇨의 재순환과 에너지 생산이라는 두 가지 측면을 고려하여 본 시설을 도입하였다. 본 생물생태센터에서 이루어지는 주요 공정은 Fig. 1에서 보는 바와 같다. 일일 약 60톤의 분뇨를 수집하여 2,100 m³의 중온성 메탄발효조와 600 m³의 고온성 메탄발효조에 투입하여 메탄가스를 생성하게 되는데, 메탄발효조에 투입되는 원료는 젖소 분뇨 80%, 양돈 분뇨 10%, 폐우유가 10%가량 혼합된 유기성 폐기물이다. 발생된 메탄가스는 발전기에 의해 전력을 생산하고, 메탄가스 소화액은 오니제거 후 인근 농경지에 액비로 이용되거나 고도처리를 통해 방류하는 공정으로 운영되고 있다.

시료 채취는 생물생태센터의 분뇨 저장조, 메탄 발효조, 오니 제거 소화액에서 수중펌프를 이용한 교반과정을 거친 후 수집하였고, 에스트로젠 호르몬과 비료성분(질소, 인산) 분석을 위해 각각 다른 유리병에 1 L의 시료를 채수하였다.

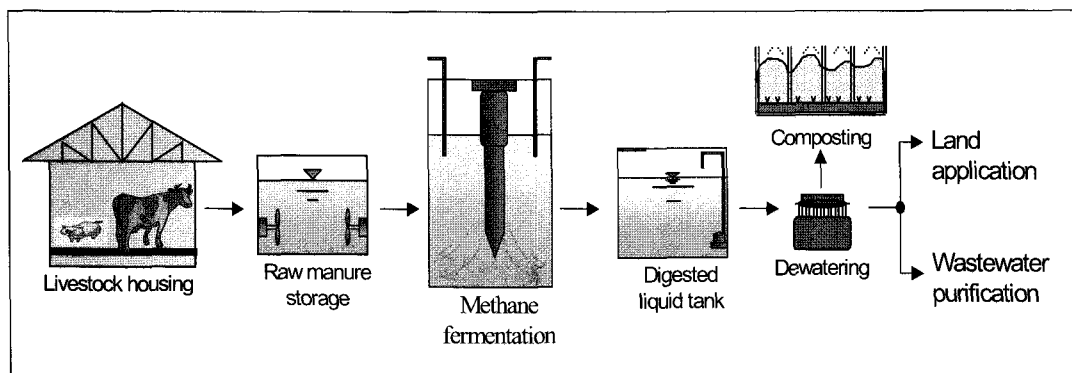


Fig. 1. Schematic drawing of livestock waste treatment system combined methane fermentation and composting.

또한 계절적인 환경영향을 고려한 시료를 얻고자 여름과 겨울철에 메탄발효조 운영실적을 고려하여 총 4회(2005년 8월 3일, 8월 24일, 12월 2일 및 12월 28일)에 걸쳐 시료를 수집하였다. 채취된 시료 중 에스트로젠 분석용 시료는 에스트라디올이 에스트론으로 전환되는 것을 방지하기 위해 포름알데하이드 용액을 10 ml 첨가 하였으며¹⁶⁾, 모든 시료는 4°C의 상태를 유지하며 분석실로 운반 후 분석하였다.

스테로이드 호르몬 선정

스테로이드 호르몬 중에는 생물의 성을 결정하거나 성적 분화(sexual differentiation)에 중요한 역할을 담당하는 에스트로젠, 앤드로젠, 테스토스테론 등의 성 호르몬이 있으나 본 연구 조사에서는 에스트로젠을 연구 대상 호르몬으로 선정하였다. 에스트로젠을 선정한 이유는 다른 호르몬보다 상대적으로 낮은 농도에서도 높은 생리활성 능력을 가지고 있을 뿐더러 모든 경제가축에서 자연계로 배출되어 최소감지효과수준 이상으로 검출 되고 있기 때문이다. 에스트로젠 호르몬 가운데 본 조사 대상에서 제외된 합성 에스트로젠 이외의 천연 에스트로젠인 17베타-에스트라디올과 그 유도체인 에스트론, 에스트리올에 대한 분자 구조와 물리화학적 특성은 Table 1과 같다.

분석 방법

채취된 시료들의 에스트로젠 농도와 조성을 GC-MS로 분석하기 위해서는 추출(extraction)과 유도체화(derivatization) 과정의 전처리가 필요하며, 본 연구에 적용된 전반적인 분석 과정을 요약하면 다음과 같다. 준비된 시료를 2000 rpm으로 20분간 원심분리 시킨 후 고형물이 제거된 상등액을 모아서 H₂SO₄ 용액으로 pH 3으로 조정하였다. pH가 보정된 시료는 유리섬유필터(GF/C glass filter, Whatman, USA)로 걸러낸 후 아세톤, 메탄올, 3차 중류수가 충전된 C-18 카트리지(1 g/6 ml, Sigma-aldrich, USA)에서 고체상 추출(solid phase extraction)을 실시하였다. 추출이 완료된 시료는 불순물 제거를 위해 실리카 충전 칼럼에 추출물을 투입하여 정제 시킨 후 핵산과 아세톤 혼합액(65:35)으로 용리시켰고, 용해 분리된 시료는 질소가스를 이용하여 증발 건조시켰다. 건조된 시료는 트리메틸실리 시약을 첨가하여 측정 대상 호르몬을 유

도체화 시킨 후 GC-MS(Varian Saturn 2100, Varian Inc., USA)에 주입시켰다¹⁹⁾. 동일 시료에 대한 반복 측정 결과 에스트라디올과 에스트론이 각각 6.0±8.8% 및 9.1±7.4%의 변이를 보였으며, 분석 검출 한계는 에스트라디올이 0.1 µg/L, 에스트론 0.3 µg/L, 에스트리올 0.5 µg/L로 나타났다. 한편 켈달데 질소와 총인은 공정시험법에¹⁷⁾ 의거하여 분석하였다.

통계 분석

본 연구에 제시된 에스트로젠 호르몬을 비롯한 켈달데 질소, 총인 농도는 공히 3반복 분석결과의 평균을 나타낸 것으로, 통계처리는 SAS program(V. 6.12, SAS Inst. Inc., USA)을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, 시료별 평균 농도간 비교는 최소 유의차검정(LSD)을 이용하여 분석하였다¹⁸⁾.

결과 및 고찰

가축분뇨 중 에스트로젠 농도

가축분뇨 중 에스트로젠 농도를 분석한 결과 분뇨 중에는 다량의 에스트로젠 호르몬이 존재하는 것으로 분석되었다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 하절기와 동절기에 분뇨 저장소에서 채취된 시료 중 에스트로젠 농도를 비교한 결과, 동절기 평균 농도가 82.0 µg/L로 하절기 평균인 68.8 µg/L보다 높은 것으로 나타났다. Raman 등은¹⁵⁾ 대부분의 낙농가와 양돈

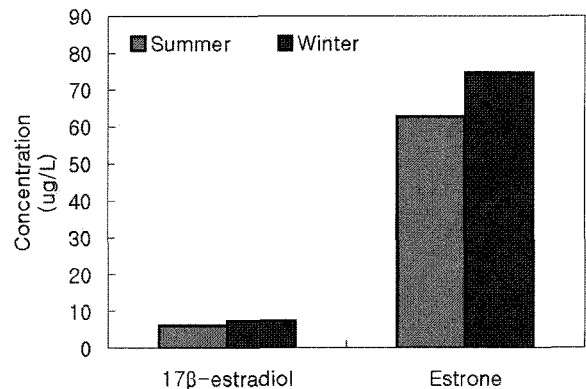
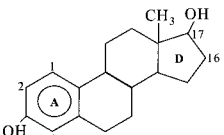
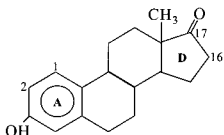
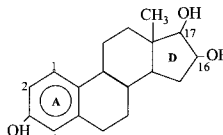


Figure 2. Comparison of concentration of steroid estrogens in animal waste between summer and winter.

Table 1. Molecular structures and physicochemical properties of steroidal estrogens

Property	Estradiol (E2)	Estrone (E1)	Estriol
Molecular structure			
Molecular formula	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	C ₁₈ H ₂₄ O ₃
Molecular weight (g/mol)	272.4	270.4	288.4
Solubility (mg/L)	3.9-13.3	0.8-12.4	3.2-13.3

가에서는 일정한 가축사육 두수와 체계적인 사양관리 등을 유지하고 있기 때문에 계절적인 영향에 의한 에스트로젠 농도 차이가 적을 뿐만 아니라, 계절적으로 차이가 발생한다는 것은 가축에서 배설되는 양적인 차이라기 보다는 농가 단위에서 적용하고 있는 분뇨의 수집과 저장 방법 등에 의한 환경적인 효과에서 기인된 것이라고 주장하였다. 그러나 본 연구의 대상지인 생물생태센터에 수집되고 있는 분뇨의 수집과 저장 시설들을 조사한 결과, 대부분의 낙농가들은 스크레이퍼를 이용하여 축사에서 수거된 분뇨를 암몰 박스에 저장한 후 이송하고 있고, 돈분뇨는 슬러리 상태로 이송되고 있어 농가에 따른 저장 시설의 특이한 차이점은 없었다. 따라서 하절기에 분뇨 중 에스트로젠 농도가 다소 낮게 나타난 이유는 사육환경 온도가 높아짐에 따른 가축의 음수량이 증가하고, 축사 관리에 사용되는 관리수가 가축분뇨와 함께 섞여 상대적으로 농도가 낮아졌기 때문인 것으로 사료된다. 가축분뇨내의 에스트로젠 농도와 관련하여 현재까지 보고된 문헌에 따라서도 상당한 차이를 보이고 있는데, 젖소 분뇨 저장조의 경우 에스트로젠 농도 범위가 측정한계이하부터 650 ng/L 까지 분석되었다고 하였고¹⁹⁾, 다른 연구자는 분뇨 저장조에서 3.3에서 7.4 µg/L의 에스트로젠 농도가 검출되었다고 발표하였다¹⁵⁾. 한편 돼지의 경우는 더욱 큰 변이를 보이는 것으로 알려져 있는데, 사육되고 있는 돼지의 상태에 따라 분뇨 중 에스트로젠 농도가 648 ng/L부터 25.7 µg/L의 농도 분포를 보이는 것으로 조사되었다¹⁶⁾.

한편 분뇨 중 에스트로젠 호르몬 조성을 살펴보면, 천연 에스트로젠인 17베타-에스트라디올이 전체 에스트로젠에 약 10%정도를 차지하고 있었으며, 에스트론이 약 90%를 차지하고 있는 것으로 분석되었다. 이러한 조성은 다른 연구자들의 조사결과와^{3,16)} 유사한 것으로 나타났다. 그러나 에스트리올은 모든 시료에서 검출되지 않았다. Table 1의 분자 구조에서 보는 바와 같이 천연 에스트로젠 호르몬들은 테트라사이클린 분자 골격에 독특한 아로마틱 링을 가지고 있으며, 호지성이라 물에 잘 녹지 않는 특성을 가지고 있다. 또한 17베타-에스트라디올과 에스트론은 산화, 환원 조건에 따라 상호가역적 변화가 발생하여 반응체에 따라 생물학적 활성도가 큰 차이를 가지게 됨으로¹³⁾, 같은 에스트로젠 농도라 하더라도

호르몬 조성에 따라 생물에 미치는 생리적 영향이 다르게 나타날 수 있다^{20,21)}. 일반적으로 축종에 따라 에스트로젠이 배출되는 경로가 다른 것으로 알려져 있는데, 소의 경우에는 전체 에스트로젠 함량의 60% 정도가 분으로 배출되는 반면, 돼지는 소와 반대로 96% 가량의 에스트로젠이 뇨로 배출되는 것으로 보고 되고 있다¹³⁾. 이와 관련되어 경산우(cow)의 경우에는 분과 뇨에서 각각 200 µg과 99 µg, 경산돈(sow)은 14 µg과 100 µg을 일일 배출한다고 추정하였다¹⁴⁾. 따라서 분뇨를 고액분리하여 처리하는 공정에서는 축종에 따른 에스트로젠 배출 양상이 중요하게 고려되어야 할 환경적인 요인이지만, 본 연구와 같이 분뇨가 분리되지 않은 상태에서 저장조로 투입되는 경우에는 전체적인 농도가 중요한 제어변수라 판단된다.

가축분뇨 처리과정에 따른 에스트로젠 농도

본 연구에서 수행된 가축분뇨 처리과정에 따른 에스트로젠 평균 농도와 범위는 Table 2와 같이 조사되었다. 개별 농가에서 수집된 분뇨들을 저장한 저류조에서의 17베타-에스트라디올과 에스트론의 평균 농도는 6.8 µg/L 및 68.7 µg/L였으며, 35°C의 메탄 발효조에서 25일간 처리된 소화액의 농도는 각각 6.3 µg/L 및 59.8 µg/L로 분석되었다. 반면 오니를 제거한 소화액의 17베타-에스트라디올과 에스트론의 농도는 2.6 µg/L와 1.9 µg/L로 가축분뇨나 메탄 소화액에 비해 상당히 저감되었으며, 통계적으로도 차이가 있는 것으로 나타났다. 메탄 발효 처리에 의한 분뇨내 에스트로젠 저감이 관찰되지 않았고, 이와 관련된 연구가 보고되지 않아 직접적인 비교 평가는 어려우나 하수 슬러지의 에스트로젠을 제거하기 위해 적용된 호기성 회분식 반응조의 산화, 분해과정이 에스트로젠을 효율적으로 제거하였다는 연구 결과들을^{22,23)} 고려해 본다면, 혐기성 메탄 발효는 호기성 처리에 비해 에스트로젠 저감 효율이 떨어지는 것으로 사료된다. 또한 에스트로젠 분해 미생물에 영향을 미치는 저장 온도와 관련되어, 5°C의 배양조건에 있는 우분의 에스트로젠 농도는 12주 기간이 지나야 떨어지는 반면 30°C의 배양조건에 있는 우분의 에스트로젠은 3주안에 거의 분해되었다고 보고하였다¹³⁾. 그러나 본 연구에서는 계절에 관계없이 35°C 중온성 온도 조건을 유지

Table 2. Means and ranges concentration of estrogens in animal waste storage, methane digester and sludge separated wastewater samples

Sampling location	17β-estradiol		Estrone		Estrilol
	mean	range	mean	range	
	(µg/L)				
Animal waste storage	6.8 ^a	4.7-8.6	68.7 ^a	42.9-90.1	N.D.
Methane digester	6.3 ^a	4.9-8.1	59.8 ^a	48.1-71.2	N.D.
Sludge separated wastewater	2.6 ^b	1.2-4.0	1.9 ^b	1.1-2.5	N.D.

^{a,b} Mean values with different superscript letters are significantly different (P < 0.05)

N.D. = not detected

시키고 있음에도 미생물에 의한 분해가 거의 일어나지 않은 것으로 조사되었다. 이러한 원인은 분뇨내 미생물들이 에스트로젠 호르몬을 변형시키거나 일부 제거하기는 하지만 신속하고 완벽하게 분해시키거나 제거하기에는 한계가 있다는 주장에¹⁴⁾ 의해서도 설명될 수 있으며, 이에 대한 원인 구명을 위해 추가 연구를 진행하고 있다.

오니를 제거한 메탄 발효 소화액에서 에스트로젠 농도가 급격하게 저감된 것으로 분석되어, 앞서 설명한 에스트로젠의 특성, 즉 물에 잘 녹지 않는 소수성에 의해 일반적인 환경 조건에서는 이온화가 되지 않고, 수용액 중의 침전물에 쉽게 흡착되는 특성을 확인 할 수 있었다. 그러나 라군(lagoon)에 저장된 돼지 분뇨의 에스트로젠 분포를 조사한 결과, 대부분의 자연 에스트로젠이 수용액에 존재한다고¹⁶⁾ 하여 본 연구와는 상반된 결과를 보였다. 일반적으로 에스트로젠의 생물학적 활성도를 나타내는 에스트로젠성은 에스트로젠의 상대적 분해도와 형태에 따라 달라질 수 있기 때문에 대상물질에서의 에스트로젠 분포와 거동 양상을 파악하는 것이 매우 중요하다. 그러나 현재까지 분뇨 처리과정에 따른 에스트로젠 호르몬의 형태와 조성의 변화에 대한 기초자료가 부족할 뿐 더러 명확한 작용기작이 알려져 있지 않아 이에 대한 심층 연구가 필요하다고 생각된다. 또한 GC-MS를 이용한 에스트로젠 농도 분석시 ng/L 수준의 소량으로 검출되는 에스트로젠 농도가 분석 대상물질에 존재하는 다른 물질들에 의한 교섭 방해작용을 받을 수 있어²⁴⁾, 효모 스크리닝(yeast screening)이나 면역학적 검증법(immunoassay)과 같은 생물학적 검증법을 병행하여 분석결과에 대한 교차검증을 실시하는 것이 중요하다고 사료된다.

가축분뇨 처리과정에 따른 에스트로젠 대 비료성분 질량비

앞서 재료 및 방법에서 언급한 바와 같이 본 연구 대상지인 생물생태센터는 수집된 가축분뇨를 일괄처리하여 에너지 생산 뿐만 아니라 처리된 분뇨의 농업적 재순환을 목적으로 설립되어, 현재 메탄 발효로 처리된 소화액은 인근 경종농가에서 액상비료로 이용하고 있다. 그러나 농경지에 살포된 가축분뇨에는 다량의 에스트로젠이 존재하고 있어 지표수 유거 및 지하수 용탈 등에 의해 잠재적 오염원으로 작용할 가능성이 높고, 실제로 이로 인해 인근 수계의 수질에 영향을 미치

고 있음이 여러 연구들에 의해 보고되고 있다^{25,26)}. 따라서 농경지에 환원된 분뇨의 에스트로젠 오염 잠재력을 평가하기 위해 에스트로젠 농도 대비 비료성분(질소, 인산)에 대한 질량비를 Table 3에서 보는 바와 같이 계산하였다. 비료성분 중 질소와 인산을 기준으로 한 이유는 가축분뇨의 농경지 살포량을 설정할 때, 일반적으로 작물의 질소요구량이나 인산요구량을 기준으로 산정하기 때문이다. 17베타-에스트라디올 대 질소비는 분뇨 처리에 따라 통계적인 차이가 없었지만 17베타-에스트라디올 대 인산비는 분뇨 처리공정에 따라 차이를 보이는 것으로 조사되었다($P < 0.01$). 즉 작물의 인산 요구량을 기준으로 오니를 제거한 소화액을 농경지에 환원시킨다면, 등량의 분뇨나 메탄소화액을 살포하는 것에 비해 에스트라디올 부하량을 1/10 정도 줄일 수 있을 것으로 생각된다. 또한 에스트론 대 질소비와 인산비 역시 분뇨 처리과정에 따라 통계적인 차이가 인정되었으며, 17베타-에스트라디올 투여량과 비교해보면 더욱 저감시킬 수 있는 것으로 나타났다. 분뇨 처리과정에 따른 에스트로젠 대 비료성분 질량비 차이가 발생하는 이유는 앞서 설명한 처리과정에 따른 에스트로젠 농도 차이와 더불어 분뇨내 비료성분들이 메탄발효와 기계적 탈수처리를 거치면서 생분해되거나 제거되기 때문이다.

적정 처리된 가축분뇨를 농경지에 환원시키는 체계는 유기물의 자연순환적 이용이라는 측면에서 매우 바람직하고 더욱 확고하게 정착시켜야 할 물질순환 시스템이다. 그러나 가축분뇨내에 다량의 내인성 호르몬이 존재하는 것으로 확인되고 있고, 이러한 분뇨를 농경지에 살포시 토양 미생물에 의한 분해능력을 초과한 잔류 호르몬들이 농업생태계로 유입되어 2차 환경오염원으로 작용할 가능성이 있다. 따라서 가축분뇨에서 유래될 수 있는 내인성 호르몬에 대한 거동양상과 제거방법에 대한 과학적 검증이 필요하며, 최종적으로는 이를 고려한 가축분뇨처리 및 경종농업과의 연계 전략이 필요하다고 사료된다.

요 약

인간과 가축에서 발생된 내분비계 장애물질들이 자연계로 유입되고, 매우 낮은 농도에서도 토착 동물군에 교란 작용을 유발시킬 수 있다는 잠재적 오염 가능성에 대한 우려가 증가

Table 3. Mass ratio of 17 β -estradiol and estrone to macronutrients in animal wastes collected from storage, digester and sludge separated wastewater

Sampling location	17 β -estradiol (E2) to nitrogen (N) and phosphorus (P) ratio (ppt/ppm)		Estrone (E1) to nitrogen (N) and phosphorus (P) ratio (ppt/ppm)	
	E2/N	E2/P	E1/N	E1/P
Animal waste storage	3.2 ^a	11.3 ^a	33.9 ^a	110.2 ^a
Methane digester	3.8 ^a	13.2 ^a	34.5 ^a	123.0 ^a
Sludge separated wastewater	1.7 ^a	1.5 ^b	1.5 ^b	8.1 ^b

^{a,b} Mean values with different superscript letters are significantly different ($P < 0.01$)

되고 있다. 그러나 현재까지 가축분뇨 중의 내분비계 장애물질에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다. 따라서 본 연구는 이러한 장애물질 중 여성 호르몬으로 알려진 17베타-에스트라디올, 에스트론, 에스트리올을 분석하여 분뇨 중 에스트로젠 농도에 대한 기초자료를 제공하고자 수행되었다. 공시시료는 생물생태센터의 분뇨 저장조, 메탄 소화조, 오니 제거조에서 수집하여 가스크로마토그래피 질량분석기를 이용하여 에스트로젠 농도를 분석하였다. 또한 에스트로젠 대 비료성분 질량비를 알아보기 위해 질소와 인산도 측정하였다. 분석결과 가축분뇨 중에는 다량의 에스트로젠 호르몬이 존재하고 있었으며, 분뇨 저장조에서 98.7 µg/L로 가장 높은 농도를 보인 반면 오니 제거 소화액에서 가장 낮은 농도인 3.4 µg/L로 조사되었다. 분뇨 저장조에서 채취된 시료의 17베타-에스트라디올과 에스트론의 평균농도는 6.8 µg/L와 68.7 µg/L였고, 오니 제거조는 각각 2.6 µg/L 및 1.9 µg/L로 분석되었다. 반면 에스트리올은 모든 시료에서 검출되지 않았다. 본 연구 조사는 가축분뇨내의 에스트로젠 농도에 대한 기초자료를 제공할 수 있으나 에스트로젠 호르몬의 저감 방안에 대한 기작을 설명하기에는 한계가 있다. 따라서 축종별로 적용되고 있는 분뇨관리 및 축사시설에 대해 시공간적 변이를 고려할 수 있는 광범위한 조사 연구와 더불어 여러가지 처리방법에 의해 농경지에 살포되고 있는 분뇨내의 에스트로젠 농도와 조성 및 생물학적 활성도에 대한 추가연구가 필요하다.

사 사

“이 논문은 2005년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임.” (KRF-2005-214-F00043)

참고문헌

1. WHO (2002) Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors, In: Damsta, T., S. Barlow, A. Bergman, R. Kavlock, and G. Van Der Kraak, (Eds.) International programme on chemical safety.
2. Vethaak, A. D., Lahr, J., Schrap, S. M., Belfroid, A. C., Rijs, G. B. J., Gerritsen, A., De Boer, J., Bulder, A. S., Grinwis, G. C. M., Kuiper, R. V., Legler, J., Murk, T. A. J., Peijnenburg, W., Verhaar, H. J. M., and De Voogt, P. (2005) An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of The Netherlands, *Chemosphere* 59, 511~524.
3. Sarmah, A. K., Northcott, G. L., Leusch, F. D. L., and Tremblay, L. A. (2006) A survey of endocrine disrupting chemicals (EDCs) in municipal sewage and animal waste effluents in the Waikato region of New Zealand, *Sci. Total Environ.* 355, 135~144.
4. Kavlock, R. (1999) Overview of endocrine disruptor research activity in the United States, *Chemosphere* 39, 1227~1236.
5. Ryu, J. C. (2002) Overall review on endocrine disruptors, *Kor. J. Pesticide Sci.* 6(3), 135~156.
6. Shore, L. S. and Shemesh, M. (2003) Naturally produced steroid hormones and their release into the environment, *Pure Appl. Chem.* 75, 1859~1871.
7. Shore, L. S., Shemesh, M., and Cohen, R. (1998) The role of estradiol and estrogen in chicken manure silage in hyperestrogenism in cattle, *Aust. Vet. J.* 65(2), 68~68.
8. Veeramachaneni, D. N. R. (2000) Deteriorating trends in male reproduction; idiopathic of environmental?, *Anim. Repro. Sci.* 60, 121~130.
9. Shore, L. S., Kapulnik, Y., Gurevich, M., Wininger, S., Badamy, H., and Shemesh, M. (1995) Induction of phytoestrogen production in *Medicago sativa* leaves by irrigation with sewage water, *Environ. Exp. Bot.* 35(3), 363~369.
10. Kolpin, D. W., Furlong, D. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., and Buxton, H. T. (2002) Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: a national reconnaissance, *Environ. Sci. Technol.* 36, 1202~1211.
11. Ivie, G. W., Christopher, R. J., Munger, C. E., and Coppock, C. E. (1996) Fate and residues of [4-C-14]estradiol-17-beta after intramuscular injection into Holstein steer calves, *J. Anim. Sci.* 62, 681~690.
12. Palme, R., Fischer, P., Schildorfer, H., and Ismail, M. N. (1996) Excretion of infused C-14-estroid hormones via faeces and urine in domestic livestock, *Anim. Reprod. Sci.* 43, 43~63.
13. Hanselman, T. A., Graetz, D. A., and Wilkie, A. C. (2003) Manure-borne estrogens as potential environmental contaminants: A review, *Environ. Sci. Technol.* 37, 5471~5478.
14. Lange, I. G., Daxenberger, A., Schiffer, B., Witters, H., Ibarreta, D., and Meyer, H. H. D. (2002) Sex hormones originating from different livestock production systems: fate and potential disrupting

- activity in the environment, *Anal. Chim. Acta.* 473, 27~37.
15. Raman, D. R., Williams, E. L., Layton, A. C., Burns, R. T., Easter, J. P., Daugherty, A. S., Mullen, M. D., and Sayler, G. S. (2004) Estrogen content of dairy and swine wastes, *Environ. Sci. Technol.* 38, 3567~3573.
 16. Fine, D. D., Breidenbach, G. P., Price, T. L., and Hutchins, S. R. (2003) Quantification of estrogens in ground water and swine lagoon samples using solid-phase extraction, pentafluorobenzyl/trimethylsilyl derivatizations and gas chromatography-negative ion chemical ionization tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 1017, 167~185.
 17. A.P.H.A. (1995) Standard methods for the examination of water and wastewater, Eaton, A. D., Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., and Franson, M. H. (Eds.); American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation: Washington, DC.
 18. SAS. (1998) SAS user's guide : Statistics, SAS Inst., Inc., Gary, NC, USA.
 19. Kolodziej, E. P., Harter, T., and Sedlak, D. L. (2004) Dairy wastewater, aquaculture, and spawning fish as source of steroid hormones in the aquatic environment, *Environ. Sci. Technol.* 38(23), 6377~6384.
 20. Shore, L. S., Kapulnik, Y., Ben-Dov, B., Fridman, Y., Winingar, S., and Shemesh, M. (1992) Effects of estrone and 17beta-estradiol on vegetative growth of medicago-sativa, *Physiol. Plant* 84, 217~222.
 21. Routledge, E. J., Sheahan, D., Desbrow, C., Brighty, G. C., Waldock, M., and Sumpster, J. P. (1998) Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach, *Environ. Sci. Technol.* 32, 1559~1565.
 22. Ternes, T., Stumpf, M., Kreckel, P., Mueller, J., Wilken, R., and Servos, M. (1999) Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants- I. Investigations in Germany, Canada and Brazil, *Sci. Total Environ.* 225, 81~90.
 23. D'Ascenzo, G., Di Corcia, A., Gentili, A., Mancini, R., Mastropasqua, R., Nazzari, M., and Sampari, R. (2003) Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities, *Sci. Total Environ.* 301, 199~209.
 24. Ericson, J. F., Laenge, R., and Sullivan, D. E. (2002) Comment on "Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance", *Environ. Sci. Technol.* 36, 4005~4006.
 25. Peterson, E. W., Davis, R. K., and Orndorff, H. A. J. (2000) 17 beta-estradiol as an indicator of animal waste contamination in mantled karst aquifers, *J. Environ. Qual.* 29(3), 826~834.
 26. Finlay-Moore, O., Hartel, P. G., and Cabrera, M. L. (2000) 17 beta-estradiol and testosterone in soil and runoff from grasslands amended with broiler litter, *J. Environ. Qual.* 29(5), 1604~1611.
-