국내 우분 퇴비화 시설 인근 농경지 및 수계 중 Tetracycline 및 Sulfonamide 계열 항생물질의 분포특성

Occurrence and Distribution of Selected Veterinary Antibiotics in Soils, Sediments and Water Adjacent to a Cattle Manure Composting Facility in Korea

임정은 · 김성철 · 이현용 · 권오경* · 양재의 · 옥용식†
Jung-Eun Lim · Sung-Chul Kim · Hyeon Yong Lee · Oh-Kyung Kwon* · Jae E Yang · Yong Sik Ok†

강원대학교 자원생물환경학과 · *국립농업과학원 유해물질과
Department of Biological Environment, Kangwon National University,
**Hazardous Substances Division, National Academy of Agricultural Science*

(2009년 7월 29일 접수, 2009년 8월 28일 채택)

ABSTRACT : There has been increased concern regarding the release of antibiotics to different environmental compartments due to the possibility of the development of antibiotic resistant bacteria. However, limited information is available regarding the occurrence, fate, and transport of antibiotics in Korea in both the aqueous phase and in solid phases such as sediment and soil. Therefore, this study was conducted to monitor the concentration of released antibiotics in surface water, sediment, and soil adjacent to a cattle manure composting facility in Korea. Specifically, the following six antibiotics were monitored: tetracycline (TC), chlortetracycline (CTC), oxytetracycline (OTC), sulfamethazine (SMT), sulfamethoxazole (SMX), and sulfathiazole (STZ). To extract and quantify the antibiotics from different environmental compartments, solid phase extraction (SPE) and high performance liquid chromatography mass spectrometry (HPLC/MS) techniques were adopted. The concentration of the six antibiotics ranged from below the detection limit (BDL) to 0.71 ㎍/L in surface water, from BDL to 27.61 ㎍/L in sediment, and from 0.12 to 157.33 ㎍/L in soil. In addition, higher concentrations of antibiotics were observed in surface water and sediment at locations closer to the composting facility indicating that composting is the source of the antibiotics found in the environment. Furthermore, higher concentrations of antibiotics were observed in the solid phase (sediment and soil) than the aqueous phase. These findings indicate that the possibility of antibiotic resistant bacteria is increased because such bacteria are more stable in the solid phase. Overall, long-term monitoring of the aqueous phase and solid phase is necessary to gain a better understanding of the impact of antibiotics from source on the environment in Korea.

Key words : *Tetracyclines, Sulfonamides, Sediment, Soil, Surface Water*

요약 : 최근 전 세계적으로 환경 중에 잔류하는 항생물질로 인한 항생물질 내성박테리아의 발현에 대한 우려가 커지고 있다. 그러나 국내의 경우 이에 대한 기초자료 확립을 위한 액상(수질)과 고상(토양, 저질토)에 잔류하는 항생물질의 동태와 이동에 대한 연구는 극히 드문 실정이다. 이에 본 연구에서는 국내 우분 퇴비화 시설에 인접한 농경지 토양과 지표수 및 저질토에 대한 항생물질 모니터링을 실시하여 tetracycline 계열의 항생물질 3종(tetracycline, chlortetracycline, oxytetracycline)과 sulfonamide 계열의 항생물질 3종(sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole)에 대한 분포특성을 살펴보았다. 항생물질은 고형상추출(SPE, solid phase extraction)을 실시한 후 고성능액체크로마토그래피 질량분석기(HPLC/MS)로 분석하였다. 이를 통해 검출된 환경 중 항생물질의 농도는 지표수에서 BDL ~0.71 ㎍/L, 저질토에서 BDL ~27.61 ㎍/L, 농경지 토양에서 0.12~157.33 ㎍/L 수준으로 나타났으며 퇴비화 시설과 인접한 지점의 시료에서 상대적으로 높은 수준의 항생물질이 검출되었다. 이를 통해 퇴비화 시설이 환경 중에 존재하는 항생물질에 영향을 주고 있음을 알 수 있었다. 한편 수질시료에 비해 저질토와 토양에서 항생물질이 높은 농도로 검출되었으며 이는 항생물질의 물리화학적 특성에 기인하는 것으로 판단되었다. 장기적으로는 저질토와 토양에서 항생물질 내성박테리아 발현이 우려되므로 향후 항생물질의 환경 중 이동 및 잔류특성 평가를 위한 장기 모니터링 연구가 필요할 것으로 판단된다.

주제어 : 테트라사이클린, 설폰아마이드, 저질토, 토양, 지표수

† **Corresponding author :** E-mail : soilok@kangwon.ac.kr Tel : 033-250-6443 Fax : 033-241-6640

1. 서 론

항생물질(antibiotics)이란 미생물에 의해 생성된 물질로 세균 및 타 미생물의 성장과 활동을 억제하고 인간과 가축의 질병을 예방 · 치료할 목적으로 사용되는 의약물질을 의미한다.[1~3] 최근 들어 항생물질은 이러한 질병치료 목적 외에도 가축 사료의 효율성 증대 및 성장촉진 등을 목적으로 널리 이용되고 있다.[4~7]

식품의약품안전청에 의하면 국내에서 동물용으로 사용된 항생물질의 판매량은 2004년 기준 1,368톤으로 집계되었다.[8] 이를 항생물질 계열별로 살펴보면 tetracycline 계열 및 sulfonamide 계열 항생물질의 사용량이 1,368톤 중 700톤 및 160톤으로 전체 사용량의 60% 이상을 점유하는 것으로 조사되었다.[8] 특히 판매량을 기준으로 볼 때 국내의 항생물질 사용량은 영국의 2배 그리고 세계적 낙농업 국가인 덴마크의 11배에 달해 상대적으로 과도한 양이 사용됨을 알 수 있다.[9~10]

항생물질은 투여 후 동물의 체내에서는 일부만이 이용되며 대부분은 대사산물로써 체외로 배출되는 것으로 알려져 있다.[11,12] 따라서 환경 중으로 유입된 항생물질은 이에 대한 내성을 지닌 박테리아를 발현하게 되고 그 결과 수계를 포함한 생태계 오염 등의 부작용을 유발하게 된다.[7,12,13] 일례로 가축에게 사용된 항생물질은 배설을 통해 직접적으로 토양 및 수계로 유입되거나 배설물의 퇴비화를 통해 농경지에 투입됨으로써 환경 중으로 유입하게 된다.[14] 토양에 유입된 항생물질은 표층에 축적되거나 지하수층으로 이동하게 되며 표면 유거를 통해서는 지표수로 이동하여 인간과 환경에 악영향을 미치는 것으로 보고되고 있다.[15]

전술한 바와 같이 항생물질로 인한 각종 문제점이 보고됨에 따라 최근 들어 전 세계적으로 환경 중 항생물질의 잔류농도에 대한 연구[3,11,12,16~20]가 활발하게 추진 중에 있으며 항생물질의 처리에 대한 연구[21~27] 또한 일부 보고되고 있다. 일례로 미국지질조사소(United States Geological Survey)에서는 1999년부터 2000년까지 미국 30개 주 139개 수계에 대한 항생물질 모니터링 결과 평균적으로 chlortetracycline 0.42 ㎍/L, oxytetracycline 0.34 ㎍/L, tetracycline 0.11 ㎍/L, sulfamethazine 0.22 ㎍/L, sulfamethoxazole 0.066 ㎍/L의 수준으로 검출됨을 보고한 바 있다.[19]

수계 중 항생물질에 대한 모니터링 사례로 Pailler 등[16]은 룩셈부르크 알제트강 인근 하수처리장 유입수 및 유출수 그리고 하류지역의 수질을 분석한 결과 tetracycline 계열 중에서는 tetracycline이, sulfonamide 계열에서는 sulfamethoxazole이 가장 많이 검출되었으며 그 농도는 하수처리시설을 거치면서 감소하기 시작하여 강으로 유입 후 더욱 감소하는 것으로 보고하였다. 한편 Pei 등[12]은 미국 콜로라도주 카셰라푸드르강 저질토에 대한 항생물질 분석결과 tetracycline ND(not detected) ~102.7 ㎍/kg, chlortetracycline ND ~22.0 ㎍/kg, oxytetracycline ND ~56.1 ㎍/kg, sulfathiazole ND ~4.7 ㎍/kg, sulfamethazine이 ND ~1.7 ㎍/kg의 수준으로 검출되었고 tetracycline 계열이 sulfonamide 계열에 비해 고농도로 잔류함을 보고하였다.

토양 중 항생물질에 대한 모니터링 결과로는 최근 Martinez-Carballo 등[15]이 오스트리아의 가축분 및 토양 중 항생물질을 모니터링한 결과 가축분에는 최대 chlortetracycline 46 mg/kg, oxytetracycline 29 mg/kg, tetracycline이 23 mg/kg까지 검출됨을 보고하였고 가축분이 투입된 토양에서는 chlortetracycline 만이 검출되어 토양 내에서 chlortetracycline의 잔류성이 높아 환경에 심각한 영향을 미칠 수 있음을 보고하였다.

그러나 최근 환경 중 잔류 항생물질의 모니터링에 대한 전 세계적인 연구추세와는 달리 국내의 경우 가축용 항생물질의 환경 중 잔류에 대한 연구는 상대적으로 매우 부족한 실정이다.[25] 특히 농경지에 대한 잔류 항생물질 모니터링 연구는 전무한 것으로 나타나 이에 대한 연구가 시급한 실정이다.

본 연구는 국내 대표적인 축분 퇴비화 시설을 중심으로 주변 환경 요소인 농경지, 수질, 저질토에 대한 잔류 항생물질의 분포특성을 평가하고자 수행되었다. 검출 대상 항생물질로는 본 연구진의 선행연구[5]를 통해 환경으로의 유출가능성이 높을 것으로 보고되었고 국내 사용량 또한 가장 많은 tetracycline 계열 및 sulfonamide 계열 항생물질을 대상으로 하였다.[8]

2. 재료 및 방법

2.1. 항생물질 선정 및 제조

본 연구에서는 농업환경 중 항생물질의 잔류량을 평가하기 위해 Seo 등[5]의 선행연구 결과 및 식품의약품안전청 연구결과[8]를 바탕으로 tetracycline 계열 항생물질 3종(chlortetracycline, oxytetracycline, tetracycline)과 sulfonamide 계열 항생물질 3종(sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole)을 선정하였다. 모든 항생물질은 Dr. Ehrenstorfer GmbH (Germany)에서 제조한 표준물질을

Table 1. Selected chemical properties of veterinary antibiotics used in this study[29~32]

Chemical group	Compound (Acronym)	CAS number	M.W. (g/mol)	Solubility in water (g/L)	Log K_{ow}	Primary usage
Tetracyclines	Chlortetracycline (CTC)	64-72-2[29]	478.89[31]	0.6[31]	-0.62[31]	Animal[31]
	Oxytetracycline (OTC)	79-57-2[30]	460.44[30]	1.0[30]	-1.22[30]	Animal[31]
	Tetracycline (TC)	60-54-8[30]	444.43[30]	1.7[30]	-1.19[30]	Human, animal[29]
Sulfonamides	Sulfamethazine (SMT)	57-68-1[30]	278.32[30]	1.5[30]	0.89[30]	Animal[31]
	Sulfamethoxazole (SMX)	723-46-6[29]	253.28[31]	0.39[32]	0.89[31]	Animal[31]
	Sulfathiazole (STZ)	72-14-0[30]	255.32[30]	0.6[30]	0.05[30]	Animal[31]

사용하였으며 Table 1에는 본 연구에 사용된 항생물질의 주요 특성을 정리하여 나타내었다. Table 1과 같이 총 6종의 항생물질은 모두 가축용으로 사용되며 환경 중 화학물질의 생물축적의 지표로 이용되는 Log K_{ow}는 tetracycline 계열이 -1.19~-0.62로 sulfonamide 계열은 0.05~0.89로 나타나[30,31] sulfonamide 계열의 생물농축 가능성이 상대적으로 높을 것으로 판단된다.[28]

항생물질 표준용액은 methanol을 이용하여 100 mg/L의 stock solution을 제조한 후 4℃에서 냉장보관하였으며 매 1개월마다 새로 조제하였다. 또한 항생물질 표준용액은 매 분석시 마다 희석하여 사용하였다.[33] 이상 항생물질 추출 및 기기분석 과정에서 사용된 모든 시약은 Sigma-Aldrich 제품 또는 HPLC-grade 용액을 이용하였다.

2.2. 시료 채취 및 분석

본 연구에서 시료채취 지역으로 선정된 지역은 충청북도 괴산군에 위치한 우분 퇴비공장 인근 농경지와 수계로 시료채취 지역 인근에 남한강 수계인 연풍천이 흐르고 있었다 (Fig. 1). 시료 채취 시기는 2008년 4월로 농업활동이 시작되기 이전에 실시하였고 토양 시료의 경우에는 농경지 3개 지점(Site 1: 논, Site 2: 과수원1, Site 3: 과수원 2를 선정한 후 각 지점별로 5점의 시료를 채취하였다. 수질 시료는 퇴비공장 주변 농경지 및 퇴비공장으로부터 항생물질의 유입이 있을 것으로 추정된 3개 지점(Site 1: 퇴비공장과 약 100 m 이격지점, Site 2: 퇴비공장과 약 300 m 이격지점, Site 3: 농업용 수로)에서 각각 1 L씩을 채수하였으며 아세톤 및 증류수로 세척한 갈색병(amber glass bottle)에 담아 운반용 냉장보관함에 넣은 후 실험실로 즉시 운반하였다.[33] 운반한 수질시료는 실험실에서 1.2 ㎛ (pore size) GF/C filter (Whatman®)로 여과한 후 4℃에서 보관하였다. 한편 항생물질의 분포특성을 파악하기 위해 수질시료의 채취지점에서 저질토(sediment)를 함께 채취하였다. 단, 저질토는 하천바닥(河床)의 특이성으로 인해 1개 지점(Site 1)에서만 채취가 가능하였다. 저질토와 토양시료는 실험실로 운반한 후 항생물질의 광분해(photodegradation)를 방지하고자 암실 조건하에서 풍건하였으며 이후 2 mm 및 75 ㎛ 입자크기로 체거름하여 물리화학성 분석 및 항생물질 분석에 각각 이용하였다.

토양, 저질토의 pH와 EC는 시료와 증류수를 1:5로 혼합하여 교반한 뒤 pH meter 및 EC meter(Orion 3 star, Thermo, USA)를 이용하여 측정하였다. T-N의 경우 H_2O_2-H_2SO_4로 시료를 분해한 후 여과하여 기기분석(Kjeltec™ 2300 analyzer unit, FOSS, Denmark)하였다. 유기물(O.M.: Organic matter)의 경우 황산(H_2SO_4) 산성 하에서 중크롬산칼륨($K_2Cr_2O_7$)으로 산화시킨 후 자외선 흡광광도계(UV-1800, Shimadzu, Japan)로 비색 정량하였다. 토양의 양이온치환용량(CEC: Cation Exchange Capacity)은 Brown 법을 이용하여 분석하였으며 토성(soil texture)은 비중계법(Hydrometer method)으로 분석하였다.[34]

수질 시료의 경우 pH와 EC는 시료채취 시 현장에서 다항목수질측정기(YSI model 5000, USA)를 사용하여 측정하였으며 환경부의 수질오염공정시험방법[35]에 준하여 T-N은 자외선 흡광광도법,[35] T-P는 아스코르빈산 환원법,[35] SS는 유리섬유 거름종이법,[35] 탁도는 탁도계(2100P Turbidimeter,

Fig. 1. Location of sampling sites along the Nam Han river (◉: Soil samples; ▣: Water and sediment samples).

Table 2. Selected physical and chemical properties of soil, sediment and water used in this study

Samples	Sampling location	pH	EC μS/cm	T-N mg/L	T-P mg/L	SS mg/L	NTU[a]
Water	Site 1	7.99±0.11	109.80±0.28	2.95±0.37	1.52±0.76	9.70±0.42	5.39
	Site 2	8.67±0.10	92.90±0.14	2.83±0.24	0.64±0.24	26.63±3.36	12.20
	Site 3	7.58±0.05	146.40±0.85	2.12±0.55	0.58±0.31	27.05±2.05	24.20
Samples	Sampling location	pH (1:5)	EC (1:5) dS/m	T-N g/kg	O.M.[b] g/kg	CEC $cmol_{(+)}$/kg	Soil Texture
Sediment	Site 1	7.57±0.43	0.05±0.00	0.28±0.04	2.53±2.84	>4.52	-
Soil	Site 1	6.49±0.03	0.13±0.03	1.05±0.04	14.46±1.56	12.14±0.29	Loam
	Site 2	6.96±0.02	0.78±0.05	3.25±0.07	40.82±3.47	20.84±0.27	Sandy clay loam
	Site 3	6.38±0.02	0.78±0.01	2.62±0.06	18.51±1.75	21.66±0.11	Sandy loam

[a]NTU = Nepthelometric turbidity unit; [b]O.M. = Organic matter

HACH®, USA)로 분석을 실시하였다.

수질시료의 경우 pH는 7.58~8.67로 나타났으며 Site 1에서 T-N 및 T-P의 함량이 각각 2.95 mg/L, 1.52 mg/L로 나타나 Site 2와 Site 3에 비해 높은 것으로 조사되었다(Table 2). 이는 Site 1이 퇴비공장에 직접적으로 접해 있기 때문에 오염물질의 영향을 더 받았기 때문인 것으로 판단되었다. 토양시료의 경우 Site 2와 Site 3에서 유기물 및 T-N의 함량이 각각 18.51~40.82 g/kg 및 2.62~3.25 g/kg으로 나타나 Site 1에 비해 비교적 높은 것으로 나타났다(Table 2). 이는 작물재배의 특성상 Site 1(논)과 달리 Site 2와 Site 3의 경우에는 과수원으로 사용되어 가축 퇴비의 투입빈도 및 양이 많았기 때문으로 판단되었다.

2.3. 항생물질 추출

본 연구에서 적용한 항생물질의 추출 및 분석법은 본 연구진의 선행 논문 Kim 등[33]에 제시된 내용에 준하였으며 개략적인 내용은 다음과 같다.

수질 시료의 경우 채수 후 1.2 μm (pore size) GF/C filter (Whatman®)로 여과된 시료 120 mL를 40% (v/v) H_2SO_4을 이용하여 pH 2.5로 조절하였고 이후 5% (w/v) Na_2EDTA 500 μL를 첨가하였다. 수질 시료는 항온수조에서 15분간 150 rpm의 속도로 교반하였으며 고형상추출(SPE, solid phase extraction)을 실시하였다.[33]

토양 및 저질토의 경우에는 75 μm로 체거름한 시료 1 g을 50 mL 폴리프로필렌(polypropylene) 재질의 원심분리관에 취한 후 Mcllvaine 완충용액(pH 4.0) 20 mL를 첨가하였다. 이후 5% (w/v) Na_2EDTA 200 μL를 가한 후 항온수조에서 15분간 400 rpm의 속도로 교반하였다. 이후 5,000 rpm에서 15분간 원심분리 후 0.2 μm (pore size) membrane filter (Sartorius stedim biotech, Germany)를 이용하여 감압여과를 실시하였다. 여과 후 잔류 항생물질을 추출하기 위해 상기 언급한 방법과 동일하게 추가 추출을 실시하였으며 이를 앞서 추출된 시료와 혼합하여 액상 시료와 동일하게 고형상추출을 실시하였다.[33]

고형상추출은 methanol 3 mL, 0.5N-HCl 3 mL, HPLC-grade water 3 mL를 순차적으로 통과시켜 HLB (hydrophilic-lipophilic balance) 카트리지(OASIS®)를 활성화하였고 vacuum manifolds (Phenomenex®)에 Tefron tube (Supelco®)를 이용하여 2 mL/min의 속도로 시료를 카트리지로 이동하여 흡착시켰다(Fig. 2).[33] 이 후 내부표준물질(simeton 0.24 mg/L) 50 μL이 함유된 vial을 vacuum manifolds 내부에 설치하고 methanol을 2.5 mL씩 총 2회 가하면서 카트리지에 흡착된 항생물질을 분리하였다. 이후 분리된 항생물질은 질소농축기(MG-2200, EYELA®, JAPAN)를 이용하여 50℃에서 농축하였다.[33]

2.4. 항생물질 분석

HPLC/MS를 이용한 항생물질 분석은 용리(gradient)방식을 이용하였으며 이동상은 A가 99.9%의 D.I. water + 0.1%의 Formic acid, B가 99.9%의 acetonitrile (ACN) + 0.1%의 formic acid, C는 100%의 ACN을 사용하였다. 분석에 사

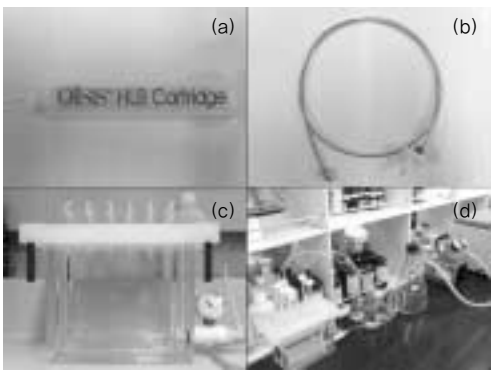

Fig. 2. Photographs shows the experimental apparatus that used for antibiotics extraction by SPE (a: HLB cartridge(OASIS®); b: Tefron tube(Supelco®); c: Vacuum manifolds(Phenomenex®); d: All apparatus connected together for SPE).

Table 3. Optimized HPLC/MS conditions for veterinary antibiotics analysis used in this study

Equipment	Agilent 1100 High Performance Liquid Chromatograph-Mass Spectrometer	
LC condition	Column temperature	25℃
	Flow rate	0.32 mL/min
	Mobile phase	A-99.9% D.I. water + 0.1% formic acid B-99.9% ACN + 0.1% formic acid C-100% ACN
	Gradient	0 min-A:96% + B:4% 29 min-A:70% + B:30% 30 min-A:96% + B:4%
MS condition	Mode	API-ESI
	Drying gas and Nebulizer gas	Nitrogen gas
	Drying gas flow	10.0 L/min
	Dryng gas temperature	350℃
	Nebulizer pressure	25 psig
	Capillary voltage	3500 V

용된 컬럼은 pore size가 2.5 ㎛이며 내경이 2.1 mm×50 mm인 XTerra® MS C_{18} 역상컬럼(Waters, USA)을 사용하였으며, tetracycline 계열 및 sulfonamide 계열 항생물질은 SIM (selected ion monitoring) 정량분석 모드로 분석하였다. 개별 항생물질의 precursor ion과 fragment ion은 CTC가 479 m/z, 462 m/z, OTC가 461 m/z, 443 m/z, TC가 445 m/z, 427 m/z, SMT가 279 m/z, 204 m/z, SMX가 254 m/z, 188 m/z, STZ가 256 m/z, 156 m/z이며,[33] 기타 HPLC/MS 조건은 Table 3에 나타내었으며, 이러한 조건들을 통해 얻어진 크로마토그램(chromatogram)은 Fig. 3과 같다. 본 연구결과의 정도보증(quality assurance)을 위한 회수율과 정량한계는 본 연구진의 선행연구논문[33]에 근거하였는데 분석대상으로 정한 항생물질의 회수율(recovery)은 수질시료의 경우 tetracycline 계열이 100.2~124.8%, sulfonamide 계열이 76.6~124.3%이며, 저질토의 경우 tetracycline 계열이 40.5~91.2%, sulfonamide 계열이 78.1~108.9%로 조사되었다.[33] 정량한계(LOQ)는 tetracycline 계열과 sulfonamide 계열 항생물질에서 수질시료는 0.01~0.02 ㎍/L, 저질토의 경우 0.5~1.9 ㎍/L로 각각 보고되었다.[33]

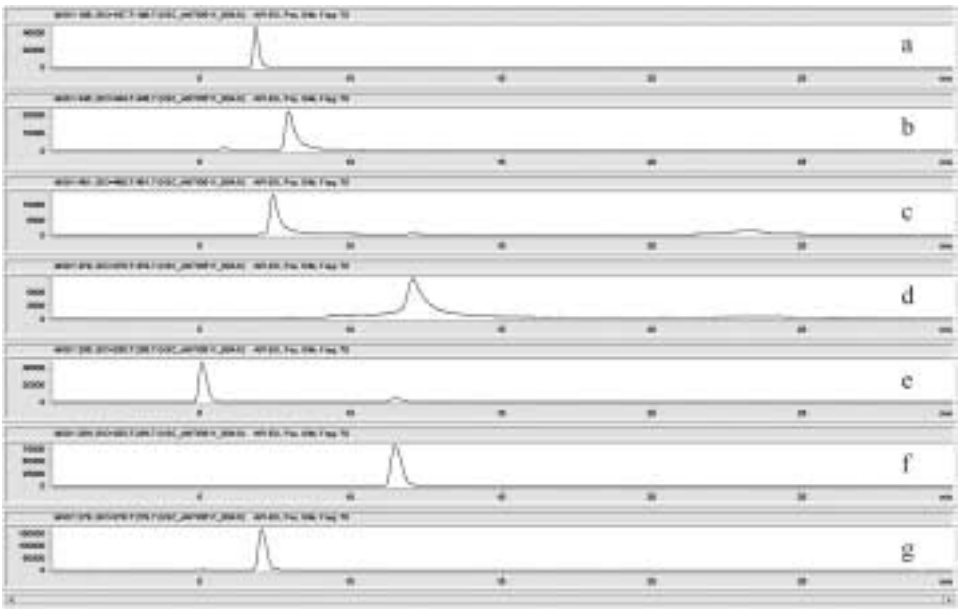

Fig. 3. Chromatogram for standard solution (1 ㎍/mL) of selected veterinary antibiotics (a: simeton (internal standard); b: tetracycline; c: oxytetracycline; d: chlortetracycline; e: sulfathiazole; f: sulfamethoxazole; g: sulfamethazine).

3. 결과 및 고찰

3.1. 수질시료 중 Tetracycline 계열 및 Sulfonamide 계열 항생물질의 분포

우분 퇴비공장에 인접한 수질 시료의 분석결과 tetracycline 계열(CTC, OTC, TC) 및 sulfonamide 계열(SMT, SMX, STZ) 항생물질이 모든 시료에서 검출되었다(Table 4). Tetracycline 계열의 경우에는 CTC, OTC, TC가 최대 0.54 ㎍/L, 0.39 ㎍/L, 0.50 ㎍/L까지 검출되었으며 tetracycline 계열의 총합(TCs)은 0.88~1.43 ㎍/L로 조사되었다. 한편 sulfonamide 계열 항생물질의 경우에는 SMT, SMX, STZ가 최대 0.71 ㎍/L, 0.36 ㎍/L, 0.60 ㎍/L까지 검출되었으며 sulfonamide 계열의 총합(SAs)은 0.66~1.67 ㎍/L로 나타나 tetracyline 계열보다 다소 높게 검출되는 것으로 나타났다. 이와 유사하게 Christian 등[18]은 독일 노르트라인-베스트팔리아 주(州) 남부지역 지표수 중의 tetracycline 계열 및 sulfonamide 계열의 항생물질을 분석한 결과 tetracycline 계열의 항생물질은 검출되지 않았으나 sulfonamide 계열의 SMX이 최대 0.098 ㎍/L까지 검출됨을 보고한 바 있다. 이러한 결과는 tetracycline 계열 항생물질이 토양 내 유기물질 및 광물입자와 강하게 결합을 형성(흡착)하기 때문인 것으로 알려져 있으며 이로 인해 지표수 중에서는 teteracycline 계열 항생물질이 거의 검출되지 않는 것으로 보고하였다.[18]

Hirsch 등[36]은 독일 하수처리시설의 방출수와 지표수에 대한 항생물질 분석결과에서 tetracycline 계열의 항생물질은 검출되지 않으며 sulfonamide 계열의 SMX이 방출수와 지표수에서 최고 2.00 ㎍/L, 0.48 ㎍/L 까지 검출됨을 보고한 바 있다. Hirsch 등[36]은 이러한 결과를 tetracycline 계열 항생물질이 칼슘과 같은 이온들과 쉽게 결합한 후 안정한 복합체를 형성하기 때문에 자유분자로 존재하지 않으며 부유물질과 저질토와 결합하는 것에서 기인한 것으로 해석하였다.[36] 이상의 국외 연구 결과를 토대로 본 연구결과에서 sulfonamide 계열의 총합(SAs)이 tetracyline 계열보다 다소 높게 검출되는 것 또한 동일한 이유로 판단되었다.

본 연구에서 검출된 수질시료 중 항생물질의 농도 범위는 우분 퇴비공장 주변이라는 특정 범위에 국한된 정보이므로 향후 다양한 시료에 대한 모니터링이 요구된다. 이러한 이유로 Table 4에 제시된 국내외 연구 사례에 비해 본 연구지역의 항생물질 농도는 상대적으로 높은 것을 확인할 수 있다.[16~19,37~40] 일례로 국내에서 Choi 등[17]이 보고한 서울시 한강 4개 지점에서 채취된 수질 시료의 SMX 농도 0.013~0.082 ㎍/L와 비교하여 한강상류에 위치한 본 연구지역의 수질 시료 중 항생물질 농도가 최대 4배 이상 높은 것을 알 수 있다. 이외에 Kim 등[39]도 한강, 낙동강, 영산강의 수질 시료로부터 SMX이 0.02 ㎍/L 수준으로 검출됨을 보고한 바 있다. 본 연구에서와 같이 퇴비 공장 및 인근 농경지의 수질 중 항생물질 농도가 상대적으로 높게 조사된 것은 토양에 투입된 가축 분뇨에 함유된 항생물질이 상대적으로 고농도이므로 이에 의해 영향을 받았음을 알 수 있다.

3.2. 토양 및 저질토 중 Tetracycline 계열 및 Sulfonamide 계열 항생물질의 분포

수질 시료를 채취한 지점에서 채취한 저질토(Site 1)의 경우 tetracycline 계열은 CTC, OTC, TC이 각각 ND, 3.58 ㎍/L, 1.33 ㎍/L의 수준으로 검출되었고 sulfonamide 계열은 SMT, SMX, STZ이 각각 27.61 ㎍/L, 8.72 ㎍/L, 23.81 ㎍/L로 검출되었다(Table 4).

계열별 총량으로는 sulfonamide 계열이 60.14 ㎍/L로 tetracycline 계열의 합 4.91 ㎍/L 보다 상당히 높은 것으로 조사되었다. 이는 수질 시료의 항생물질 모니터링 결과와도 일치하는 것으로 수질 중 항생물질의 분포와 동일 지역에서 채취한 저질토 중의 항생물질 간에는 상호 연관이 있는 것으로 판단된다.[29,41] 또한 tetracycline 계열에 비해 sulfonamide 계열의 항생물질은 환경 중에서 유거수(runoff)를 통해 지표수로 이동하거나 토양 중 용탈을 통한 지하수로의 유입가능성이 높은 것으로 알려져 있어 이에 대한 주의가 요망된다.[6,11]

한편 저질토의 항생물질 분포는 동일 지점에서 채수된 수질 시료보다 매우 높은 수준으로 조사되었는데 이로부터 수계에 유입된 항생물질의 상당량이 저질토에 축적됨을 예측할 수 있었다. Kim과 Carlson의 연구[29]에서도 항생물질의 농도가 저질토에서 수질보다 더 높게 검출된 바 있으며 이를 통해 항생물질이 저질토에 축적될 수 있다고 보고한 바 있다. 또한 축적된 항생물질은 수중 환경변화에 따라 수질로 다시 방출될 수 있음을 보고하였다.[29]

토양시료는 tetracycline 계열의 경우 CTC, OTC, TC이 각각 0.12~1.72 ㎍/L, 2.06~20.56 ㎍/L, 2.06~9.71 ㎍/L 검출되었으며 sulfonamide 계열은 SMT, SMX, STZ이 각각 3.16~119.48 ㎍/L, 0.76~41.33 ㎍/L, 2.13 ~157.33 ㎍/L 검출되었다. 여기서 검출된 tetracycline 계열과 sulfonamide 계열의 상당한 농도차이는 토양에 투입된 퇴비 내에 포함된 항생물질의 함량의 차이에 기인하였을 것으

Table 4. Average concentrations for selected veterinary antibiotics in soils, sediments and water adjacent to a cattle manure composting facility in Korea[3,11,12,16~19,37~40]

Samples	Sampling location	Average antibiotic concentrations (μg/L, μg/kg)								
		CTC	OTC	TC	TCs (sum)	SMT	SMX	STZ	SAs (sum)	Reference
Water	Site 1	0.54	0.39	0.50	1.43	0.71	0.36	0.60	1.67	This study
	Site 2	ND[a]	0.38	0.50	0.88	0.30	0.36	ND	0.66	
	Site 3	ND	0.39	0.50	0.89	0.41	0.32	0.37	1.10	
	U.S.	0.42	0.34	0.11		0.22	0.066	ND		19)
	Luxembourg	NE[b]	ND~0.007[c]	ND~0.085[c]		ND~0.002[c]	0.013~0.155[c]	ND~0.002[c]		16)
	Australia	0.003	ND	ND		NE	0.008	ND		37)
	Germany	ND	ND	ND		NE	0.098[c]	NE		18)
	Vietnam	NE	NE	NE		0.015~0.028[c]	0.020~0.033[c]	ND		40)
	Japan	NE	NE	NE		ND	0.004~0.023[c]	ND		40)
	Italy	NE	0.00019~0.01920[c]	NE		NE	NE	NE		38)
	Korea	NE	NE	NE		-[d]	0.013~0.082[c]	-[d]		17)
	Korea	NE	NE	NE		NE	0.020	NE		39)
Sediment	Site 1	ND	3.58	1.33	4.91	27.61	8.72	23.81	60.14	This study
	U.S.	22.0[e]	56.1[e]	102.7[e]		1.7[e]	ND	4.7[e]		12)
Soil	Site 1	0.76	2.06	2.06	4.88	3.16	0.76	2.13	6.05	This study
	Site 2	1.72	2.10	2.05	5.88	12.61	1.16	6.98	20.75	
	Site 3	0.12	20.56	9.71	30.39	119.48	41.33	157.33	318.15	
	Germany	4.6~7.1[c]	NE	43.4~198.7[c]		NE	NE	NE		3)
	Turkey	100[f]	500[f]	NE		NE	100[f]	400[f]		11)

[a]ND=Not detected (Below detection limit; BDL); [b]NE=Not examined; [c]Range of concentration; [d]-= Not available; [e]Maximum value; [f]Approximate maximum value

로 판단된다.

본 연구결과에서 저질토 및 토양 시료의 항생물질이 수질 시료의 항생물질보다 다량으로 검출됨을 확인하였고 이는 항생물질 자체의 물리화학적 특이성에 기인하는 것으로 판단되었다. 즉, tetracycline 계열 항생물질의 경우는 구조 내에 케톤기(Ketone group)를 포함하고 있어 2가 및 3가의 이온과 결합을 형성하는 경향이 있기 때문이다.[42] 본 연구결과에서도 tetracycline 계열의 항생물질이 토양 내 존재하는 Ca 및 Mg 등의 2가 양이온과 강하게 결합하여 수계로의 유입이 비교적 적게 이루어 졌기 때문에 수질시료보다 다량 검출된 것으로 판단된다.

한편 Hamscher 등[3]은 독일 북부 집약 목축 농업지역을 대상으로 항생물질을 모니터링한 결과 액비(liquid manure)가 지속적으로 투입된 농경지에서 CTC, TC이 각각 4.6~7.1 μg/L, 43.4~198.8 μg/L 수준까지 검출됨을 보고한 바 있다(Table 4). 또한 Karci 등[11]은 터키 North Marmara 지방에 위치한 대규모 가축시설에 인접한 토양에서 OTC, CTC, STZ, SMX의 최대검출농도가 각각 0.5 mg/L, 0.1 mg/L, 0.4 mg/L, 0.1 mg/L 까지 검출됨을 보고한 바 있다(Table 4). 이상의 연구결과와 비교할 때 본 연구에서 조사한 농경지의 경우에는 항생물질의 농도가 매우 낮은 것으로 판단되지만 농업활동을 위해 다량으로 투입되는 가축퇴비가 환경 중의 항생물질 농도 증가의 주원인이 될 수 있음이 꾸준히 보고[3,11]되고 있으므로 향후 보다 광범위한 지역을 대상으로 지속적인 모니터링을 수행할 필요성이 있는 것으로 판단된다.

4. 결 론

우리나라에서 동물용 항생물질은 국외와 비교할 때 과도하게 사용되고 있는 실정이다. 특히 축산용 항생물질의 경우 가축 배설물에 포함되어 환경 중으로 배출된 후 항생물질 내성 박테리아 생성 등의 문제를 일으킬 수 있다. 그러나 현재까지 국내에서 환경 중 잔류하는 항생물질의 모니터링에 대한 연구는 상대적으로 부족한 실정이다. 이에 본 연구는 국내에서 사용되는 가축용 항생물질 중 사용빈도가 가장 높은 것으로 알려진 tetracycline 계열 항생물질 3종과 sulfonamide 계열 항생물질 3종에 대한 환경 중 잔류량을 모니터링하였으며 향후 잔류 항생물질의 실용적 처리기술 개발을 위한 기초자료를 구축하고자 하였다. 조사지역은 국내 우분 퇴비화 시설 주변에 인접한 농경지와 수계를 대상으로 하였으며 항생물질의 잔류가 의심되는 지역을 선정하였다. 시료 채취 후 고형상 추출(SPE)과 LC/MS에 의한 잔류항생물질의 분석결과 수질 시료에서 CTC, OTC, TC을 포함하는 tetracycline 계열의 총농도가 0.89~1.43 μg/L로 나타났으며, SMT, SMX, STZ을 포함하는 sulfonamide 계열의 총농도는 0.66~1.67 μg/L로 나타나 tetracyline 계열보다 약간 높게 검출되는 것

으로 나타났다. 저질토에서는 tetracycline 계열 및 sulfonamide 계열의 총농도가 각각 4.91 ㎍/L, 60.14 ㎍/L로 나타나 수질시료와 마찬가지로 sulfonamide 계열이 tetracycline 계열보다 많은 양이 검출되었다. 토양시료는 tetracycline 계열의 경우 총농도가 각각 4.88~30.39 ㎍/L 검출되었으며 sulfonamide 계열은 6.05~318.15 ㎍/L 검출되었다. 이러한 결과는 tetracycline 계열 항생물질이 토양광물, 유기물, 양이온과 강하게 결합하여 상대적으로 적게 검출된 것으로 판단된다. 본 연구결과에서 제시한 항생물질의 검출농도는 국외의 선행연구들과 비교할 때 상대적으로 낮은 것으로 판단되나 농업활동을 위해 다량으로 투입되는 가축 퇴비가 환경 중의 항생물질 농도 증가의 주원인이 될 수 있음이 꾸준히 보고되고 있어 지속적 모니터링이 요구된다. 또한 현재까지 알려지지 않았던 토양을 포함하는 환경 중의 잔류 항생물질 검출로 인해 각종 악영향에 대한 위험성이 제기될 수 있어 향후 국내에서 대규모 축산업 지역이나 농업지역에 인접한 환경요소 중 항생물질의 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 판단된다.

KSEE

사 사

본 연구는 2008년 농업과학기술개발공동연구사업 "작물재배환경에서 중금속 및 항생물질의 안정성 평가"의 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

1. Liu, F., Ying, G. G., Tao, R., Zhao, J. L., Yang, J. F., and Zhao, L. F., "Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities," *Environ. Pollut.*, **157**(5), 1636~1642(2009).
2. 최동미, 정지윤, 장문익, 임무혁, 박건상, 홍무기, "식품 중 테트라싸이클린계 항생물질의 분석," 분석과학, **18**(3), 250~256 (2005).
3. Hamscher, G., Sczesny, S., Höper, H., and Nau, H., "Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry," *Analytical Chmistry*, **74**(7), 1509~1518(2002).
4. Kümmerer, K., Antibiotics in the Environment, *Pharmaceuticals in the environment. Sources, fate, effects and risks, 3rd ed.*, Kümmerer, K.(Ed), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 75~93(2008).
5. Seo, Y. H., Choi, J. K., Kim, S. K., Min, H. K., and Jung, Y. S., "Prioritizing environmental risks of veterinary antibiotics based on the use and the potential to reach environment," *Korean J. Soil Sci. Fertilizer*, **40**(1), 43~50(2007).
6. Kim, S. C., and Carlson, K., "LC-MS^2 for quantifying trace amounts of pharmaceutical compounds in soil and sediment matrices," *Trends Anal. Chem.*, **24**(7), 635~644 (2005).
7. 하준일, 홍기성, 송시욱, 정석찬, 민영식, 신형철, 이기옥, 임경종, 박종명, "축산 및 수산분야의 항생물질 사용실태 조사," 한국수의공중보건학회지, **27**(4), 205~217(2003).
8. 식품의약품안전청, 축산용 항생제 관리시스템 구축, 국가항생물질내성안전관리사업 연구보고서(2005).
9. DANMAP 2007, "Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark," Copenhagen, Denmark(2008).
10. Veterinary Medicines Directorate (VMD), " Sales of antimicrobial products authorised for use as veterinary medicines, antiprotozoals, antifungals, growth promoters and coccidiostats, in the UK in 2007," Woodham Lane, New Haw, UK(2008).
11. Karci, A., and Balcioglu, I. A., "Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey," *Sci. Total Environ.*, **407**(16), 4652~4664(2009).
12. Pei, R., Kim, S. C., Carlson, K. H., and Pruden, A., "Effect of river landscape on the sediment concentrations of antibiotics and corresponding antibiotic resistance genes (ARG)," *Water Res.*, **40**(12), 2427~2435(2006).
13. Kim, Y., Jung, J., Kim, M., Park, J., Boxall, A. B. A., and Choi, K., "Prioritizing veterinary pharmaceuticals for aquatic environment in Korea," *Environ. Toxicol. Pharmacolo.*, **26**(2), 167~176(2008).
14. Boxall, A. B. A., Kolpin, D. W., Halling-Sørensen, B., and Tolls, J., "Are veterinary medicines causing environmental risks?," *Enviorn. Sci. Technol.*, **37**(15), 286A~294A(2003).
15. Martinez-Carballo, E., Gonzalez-Barreiro, C., Scharf, S., and Gans, O., "Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils Austria," *Environ. Pollut.*, **148**(2), 570~579(2007).
16. Pailler, J. Y., Krein, A., Pfister, L., Hoffmann, L., and Guignard,

C., "Solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of sulfonamides, tetracyclines, analgesics and hormones in surface water and wastewater in Luxembourg," *Sci. Total Environ.*, **407**(16), 4736~4743(2009).

17. Choi, K., Kim, Y., Park, J., Park, C. K., Kim, M., Kim, H. S., and Kim, P., "Seasonal variations of several pharmaceutical residues in surface water and sewage treatment plants of Han River, Korea," *Sci. Total Environ.*, **405**(1-3), 120~128(2008).
18. Christian, T., Schneider, R. J., Färber, H. A., Skutlarek, D., Meyer, M. T., and Goldbach, H. E., "Determination of antibiotic residues in manure, soil, and surface waters," *Acta hydrochim. hydrobiol.*, **31**(1), 36~44(2003).
19. Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., and Buxton, H. T., "Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance," *Environ. Sci. Technol.*, **36**(6), 1202~1211(2002).
20. 옥용식, 작물재배환경에서 중금속 및 항생물질의 안정성 평가, 농업과학기술개발공동연구사업 연차보고서, 농촌진흥청(2008).
21. Awad, Y. M., Kim, S. C., Lim, J. E., Lee, H. Y., Kim, T. S., Yang, J. E., and Ok, Y. S., Novel approaches for monitoring and remediation of human and veterinary antibiotics in soil and water: a critical review, *The 5th International Joint Symposium between Japan and Korea: The Recent Status and Perspectives of Food System, Agricultural Environment and Biology in 2008*, Chungnam National University, Daejeon, pp. 134~147(2008).
22. Okuda, T., Kobayashi, Y., Nagao, R., Yamashita, N., Tanaka, H., Tanaka, S., Fujii, S., Konishi, C., and Houwa, I., "Removal efficiency of 66 pharmaceuticals during wastewater treatment process in Japan," *Water Sci. Technol.*, **57**(1), 65~71(2008).
23. Watkinson, A. J., Murby, E. J., and Costanzo, S. D., "Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling," *Water Res.*, **41**(18), 4164~4176(2007).
24. 이현용, 임정은, 권오경, 김성철, 서영호, 양재의, 옥용식, "토양 및 수질 중 항생제 처리기술에 관한 최근 연구동향," 농생명과학연구, **20**, 45~54(2009).
25. 김성철, 이현용, 임정은, 김종진, 김동국, 용석호, 권오경, 양재의, 옥용식, "돈분 퇴비의 부숙화 정도에 따른 잔류항생제의 저감효율 평가," 2008 대한환경공학회 추계학술연구발표회 논문요약집, 대한환경공학회, 서울, pp. 169(2008).
26. 손희종, 정종문, 노재순, 유평종, "GAC 공정에서의 Sulfonamide 계 항생물질 흡착특성," 대한환경공학회지, **30**(4), 401~408(2008).
27. 손희종, 정종문, 황영도, 노재순, 유평종, "활성탄 재질 및 사용연수에 따른 Tetracycline계 항생물질 흡착특성," 대한환경공학회지, **30**(9), 925~932(2008).
28. 김 균, 김정한, 이성규, 김용화, "농약의 물리화학적 특성연구 (I) Captafol의 수용성, 가수분해, 증기압, 옥탄올/물 분배계수," 한국농화학회지, **40**(1), 71~75(1997).
29. Kim, S. C., and Carlson, K., "Temporal and spatial treands in the occurrence of human and veterinary antibiotics in aqueous and river sediment matrices," *Environ. Sci. Technol.*, **41**(1), 50~57(2007).
30. Tolls, J., "Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review," *Environ. Sci. Technol.*, **35**(17), 3397~3406(2001).
31. 한국환경정책평가연구원(KEI), 의약물질의 환경위해성 평가체계 구축 방안. 연구보고서(2006).
32. Loftsson, T., and Hreinsdottir, D., "Determination of aqueous solubility by heating and equilibration: a technical note," *AAPS PharmSciTech*, **7**(1), E1~E4(2006).
33. Kim, S. C., and Carlson, K., "Quantification of human and veterinary antibiotics in water and sediment using SPE/LC/MS/MS," *Anal. Bioanal. Chem.*, **387**(4), 1301~1315(2007).
34. 농업과학기술원, 토양 및 식물체 분석법(2000).
35. 환경부, 수질오염공정시험방법(2007).
36. Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K., and Kratz, K. -L., "Occurrence of antibiotics in the aquatic environment," *Sci. Total Envion.*, **225**(1-2), 109~118(1999).
37. Watkinson, A. J., Murby, E. J., Kolpin, D. W., and Costanzo, S. D., "The occurrence of antibiotics in an urban watershed: From wastewater to drinking water," *Sci. Total Envion.*, **407**(8), 2711~2723(2009).
38. Calamari, D., Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., and Fanelli, R., "Strategic survey of therapeutic drugs in the Rivers Po and Lambro in northern Italy," *Environ. Sci. Technol.*, **37**(7), 1241~1248(2003).
39. Kim, S. D., Cho, J., Kim, I. S., Vanderford, B. J., and Snyder, S. A., "Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters," *Water Res.*, **41**(5), 1013~1021(2007).
40. Managaki, S., Murata, A., Takada, H., Tuyen, B. C., and Chiem, N. H., "Distribution of macrolides, sulfonamides, and

trimethoprim in tropical waters: ubiquitous occurrence of veterinary antibiotics in the Mekong Delta," *Environ. Sci. Technol.*, **41**(23), 8004~8010(2007).

41. Kim, S. C., Occurrence, fate, and transport of human and veterinary antibiotics in the watershed, Ph.D thesis, Colorado State University, Fort Collins, Colorado, USA(2006).
42. Diaz-Cruz, M. S., and Barcelo, D., "Determination of antimicrobial residues and metabolites in the aquatic environment by liquid chromatography tandem mass spectrometry," *Anal. Bioanal. Chem.*, **386**(4), 973~985(2006).