



Relationship assessment of the residual antibiotics and the amount of N component by different production stages of liquid fertilizer from livestock manure

Song-Hee Ryu¹ · Jin-Wook Kim² · Young-Kyu Hong² ·
Sung-Chul Kim² · Jun-Hyeong Lee³ · Eun-A Jeong³ ·
Chang-Gyu Kim³ · Young-Man Yoon³ · Oh-Kyung Kwon³

가축분뇨 유래 액비 생산단계별 항생제 잔류 농도와 질소 성분 함량과의 상관성 평가

류송희¹ · 김진욱² · 홍영규² · 김성철² · 이준형³ · 정은아³ ·
김창규³ · 윤영만³ · 권오경³

Received: 21 April 2023 / Accepted: 5 June 2023 / Published Online: 26 June 2023
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2023

Abstract After application of veterinary antibiotics, they may be partially metabolized before they are excreted by feces or urine either as unaltered form or as metabolites. Residual antibiotics enter the adjacent agricultural environments by spraying manure-based compost and liquid fertilizer on farmlands and lead to secondary pollution. The objective of this study was to compare the residual concentrations of 6 veterinary antibiotics by different production stages of liquid fertilizer from livestock manure

recycling facilities. The relationship between concentration change of the residual antibiotics and the amount of liquid fertilizer component was also assessed. Pre-treatment showed the recovery of 63.4–106.7% at ppb level and the limit of quantification of 0.009–0.037 µg/L. As the result of analyzing the relationship between the residual concentrations of antibiotics and the amount of N component in liquid fertilizer by different production stages, the residual concentrations of antibiotics and N tended to decrease as the stabilization period elapsed during the liquid fertilization process. Average concentrations of sulfamethazine in raw materials, middle and final products of liquid fertilizer were 40.85, 26.17, 3.54 µg/L, respectively. Those of chlortetracycline decreased from 2.32 to 1.25 µg/L. The other 4 antibiotics also showed a decreasing trend by different production stages of liquid fertilizer. The amount of liquid fertilizer component N decreased from 0.21 to 0.096% by production stages of liquid fertilizer. It is considered that the correlation between residual antibiotic concentrations and N content can be applied as basic data for setting antibiotic reduction indicators.

Song-Hee Ryu and Jin-Wook Kim equally contributed to this manuscript.

Oh-Kyung Kwon (✉)
E-mail: okkwon1116@gmail.com

¹Residual Chemical Assessment Division, NAS, RDA, Wanju 53365, Republic of Korea

²Department of Bio-Environmental Chemistry, Chungnam National University, Daejeon 34134, Republic of Korea

³Biogas Research Center, Hankyong National University, Anseong 17579, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Keywords Manure-based Liquid fertilizer · N component · Relationship assessment · Residual concentrations · Veterinary antibiotics

서 론

축산용 항생제는 가축의 질병예방 및 치료의 목적과 성장촉진용으로 많이 사용되고 있으며[1-4] 국내의 축산용 항생제 사용량은 2020년 736톤으로 이중 양돈은 501톤으로서 50% 이상을 차지하고 있었다. 지난 10년간 주로 판매된 것은 tetracycline, penicilline 및 sulfonamide 계열의 항생제로 조사되었고[5] 외국에서의 축산 증별 항생제 사용량은 소 45 mg/kg, 닭 148 mg/kg, 돼지 172 mg/kg로 보고되었다[6].

가축에 투여된 축산용 항생제는 일부만이 체내에서 사용되어 대사화 되고 30-90%의 나머지는 분뇨를 통해 체외로 배출되며 이러한 분뇨가 잔류 항생제 저감화 조치 없이 퇴비 및 액비로 농경지에 살포되어 농업환경 중으로 유입되는 경우 2차 오염 등을 초래할 수 있다고 알려져 있다[7-9]. 국내 가축분뇨의 관리리는 가축분뇨 배출시설의 사육규모에 따라 허가, 신고, 신고미만으로 구분하여 관리하고 있으며 허가 및 신고대상 가축분뇨 배출시설에서 발생하는 분뇨는 주로 농식품부가 지원하는 퇴·액비 생산 자원화 중심의 농가 개별 처리시설 및 공동자원화 시설을 통해 처리되고 있다. 가축분뇨 유래 퇴·액비의 품질은 「비료공정규격 설정 및 지정」(농촌진흥청고시 제2016-26호)으로 관리하고 있으며, 최근에는 가축분뇨 퇴비의 부숙도 관리를 강화하여 「퇴비액비화기준 중 부숙도 기준 등에 관한 고시」(환경부 고시 제2015-111호)에서 세부측정방법 및 기준 등을 고시하고 있으나 가축분뇨 자원화 시설로 생산된 퇴·액비의 경우 항생제 검사항목이 없으며 농자재와 토양 중 동물의약품 잔류허용기준 지침이 설정되어 있지 않은 실정에 있다.

가축분뇨 활용 퇴비의 제조 과정을 통한 항생제의 잔류 경감 효과는 chlortetracycline의 경우 호기성 퇴비화 조건에서 27.3-99%를 나타냈으며 주로 온도의 영향을 받는 비생물학적 과정의 영향으로 보고된 바 있다[10]. 또한 가축분뇨 퇴비화 관련 여러 연구결과는 축산용 항생제인 oxytetracycline (OTC) 뿐만 아니라[11] chlorophenol [12], pyrene과 simazine [13] 등과 같은 잔류성 유기오염물질(persistent organic compounds)의 경감효과를 보여주고 있다. 수용액의 경우 가시박 바이오차 제조 조건별 tetracycline과 sulfamethazine (SMZ)의 제거 효과[14]와 돼지 폐수로부터 완효성 비료인 struvite 회수과정에서 tetracycline계 항생물질의 흡착 현상 등의 연구가 진행되어 왔다[15].

가축분뇨 자원화 시설에서 생산한 퇴·액비는 제조 과정 중 항생제 저감화가 이루어 지지 않고 농경지에 투입되면 잔류 항생제에 의한 오염 및 내성 박테리아 발현 등과 같은 환경오염 등으로 인체 및 생태계의 유해성 물질로 작용할 수 있다[16-18].

가축분뇨 유래 퇴·액비의 품질 안전성을 위해서는 생산단계 부숙 과정별 잔류 항생제 농도 변화 등의 과학적 평가가 필요하며, 항생제 분석기술 확립, 잔류 모니터링, 노출평가 및 경감기술 개발 연구를 통한 안전관리 체계 확립은 세계적인 추세이다.

본 연구에서는 tetracycline 및 sulfonamide 계열의 총 6종 항생제를 대상으로 가축분뇨 공동자원화 시설 생산 액비 생산 단계별 항생제 잔류 농도와 질소 성분 함량과의 상관성 평가를 토대로 가축분뇨 활용 액비 중 잔류 항생제 저감화 지표 설정을 하고자 하였으며 또한 액비 유래 항생제의 농업환경 유입 저감화 지침 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료

본 연구의 분석 대상 항생제는 tetracycline (TC)계열 3종 및 sulfonamide (SA) 계열 3종 등 총 6종을 사용하였다. 각 항생제 중 SMZ (CAS no. 57-68-1 ≥99%), sulfadiazine (SDZ) (CAS no. 68-35-9 ≥99%), chlortetracycline hydrochloride (CTC) (CAS no. 64-72-2 ≥90%), tetracycline hydrochloride (CAS no. 67-75-5 ≥98%), oxytetracycline hydrochloride (CAS no. 2058-46-0 ≥95%)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였고, sulfathiazole (STZ) (CAS no. 72-14-0 ≥98%)는 FLUKA (Ronkonkoma, NY, USA)의 제품을 사용하였다. 시료 추출용매로 사용된 메탄올(DAEJUNG, CAS no. 67-56-1, Siheung, Korea)과 아세트나이트릴(DAEJUNG, CAS no. 75-05-8, Siheung, Korea)은 HPLC 등급을 사용하였다. 고히상 추출법(solid phase extraction, SPE)에 사용된 카트리지는 Oasis HLB 카트리지(Waters, 30 cc, 60 mg, Milford, MA, USA)를 사용하였으며, 내부 표준물질로는 Accustandard (New Haven, CT, USA)사의 Simeton (CAS no. 673-04-1, 100 µg mL⁻¹, New Haven, CT, USA)을 사용하였다.

시료 채취, 추출 및 정제

가축분뇨를 활용한 액비 시료는 전국 가축분뇨 공동자원화 시설에서 가축분뇨의 고액상 분리 후 1차 채취에서 액상 상태의 원료 8점, 그리고 이것을 부숙시킨 부숙완료 시료 7점 등 15점을 채취하였고 2차 시료는 축산환경관리원에서 제공받은 액비 원료인 액상 상태의 미부숙 10점, 호기성 액비화 과정의 부숙 중기 20점, 부숙 완료 20점 등 50점을 시료로 사용하였다.

액비 중 잔류 항생제 추출 및 농축 방법은 선행 연구 결과를 이용하였다[10]. 액상시료를 0.45 µm Cellulose Acetate Membrane Filter (Adventec, Dundas, ON, Canada) 로 감압 여과 후 120 mL를 250 mL 삼각 플라스크에 취하였다. 마그네슘을 넣고 섞어주면서 40% H₂SO₄ (v/v)를 사용하여 시료의 pH를 2.5±0.1로 조절한 후에 tetracycline 계열 항생제와 시료 내 금속 이온과의 착물 형성을 막기 위한 킬레이트제로 5% ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA, w/v, Sigma-Aldrich) 500 µL를 가하고 상온(25 °C)에서 150 rpm으로 15분 간 교반 후 matrix effect의 감소를 위해 고히상 추출법(SPE)으로 정제하였다.

고형상 추출법은 고히상 추출 카트리지(OASIS[®])를 vacuum manifolds에 설치하고 methanol, 0.5 N HCl, HPLC 용 water를 각각 3 mL 용출하였다. Tefron tube (Supelco[®], St. Louis, MO, USA)를 이용하여 시료를 카트리지에 통과시킨 후 완전히 건조시키고 HPLC grade water를 사용하여 카트리지 내부에 남아있는 시료를 모두 통과시켰다(3 mL씩 총 3회 실시). 50 µL의 내부 표준 시료(simeton 0.24 mg L⁻¹)를 15 mL 용량 vial에 가하고 vacuum manifolds 내부의 rack에 넣은 후 methanol 2.5 mL을 용출시켜 카트리지 충전물에 흡착된 항생물질을 천천히 분리하였다(2회 실시).

정제된 시료는 질소 농축기(N-Evap-11, USA)를 이용하여 50 µL로 농축한 후 이동상 용액(증류수 99.9%+formic acid 0.1%) 70 µL를 혼합하여 최종 분석 시료는 120 µL를 사용하였다.

액비의 화학적 특성 분석

액비의 pH와 전기전도도 (EC)는 파쇄 퇴비와 풍건 토양 10 g에 증류수 50 mL 및 100 mL를 각각 가하여 1시간 진탕 하고 Whatman No. 2로 여과한 후 pH meter (MP220, METTLER TOLEDO, Columbus, OH, USA)와 EC meter (Conductivity Meter S230, METTLER TOLEDO)를 이용하여 측정하였다. 유기물 함량은 Walkley & Black법에 준하여 1 N K₂Cr₂O₇을 가하여 반응시킨 후 UV/Vis Spectrophotometer (UV 240 Shimadzu, Kyoto, Japan)로 파장 610 nm에서 비색 정량하였다. 가축분 액비 내 총인 함량은 수질오염공정시험기준 ES 04362. 1c에 따라 분해병에 여과하지 않은 액비와 K₂S₂O₈ 용액을 넣고 고압 증기멸균기(120 °C, 30분)를 이용하여 가열 분해한 뒤 ascorbic acid환원법을 이용하였으며, 총질소 함량은 수질오염공정시험기준 ES 04363. 1a에 따라 분해병에 여과하지 않은 액비와 알칼리성 K₂S₂O₈ 용액을 넣고 고압증기멸균기(120 °C, 30분)를 이용하여 가열 분해하였고, 총인과 총 질소 모두 UV spectrophotometer (UVmini-1240, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 비색 정량하였다.

기기분석 조건 설정

항생제 분석에 사용된 기기는 High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometer (HPLC/MS/MS, 6500 Q trap, ABSCIEX, USA)를 사용하였으며, 이동상의 조성은 A, 99.9% HPLC grade water+0.1% formic acid (v/v); B, 99.9% acetonitrile+0.1% formic acid (v/v)를 사용하였다. 사용된 컬럼은 입경 크기(pore size)가 3.5 µm이며, 내경이 4.6 mm인 Zorbax Eclipse Plus-C18 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)을 사용하였다. 항생제 분석을 위한 HPLC/MS/MS 조건은 Table 1에 나타내었다.

잔류 항생제 분석의 효율을 극대화하기 위하여 compound

optimization을 실시하였다. 항생제 종류별로 1 mg L⁻¹의 표준용액을 조제하여 사용하였으며, 항생제의 분자식을 입력하여 산출된 exact mass값을 대입하였다. 그 후 선구이온(precursor ion)에 따른 생성이온(product ion)을 확인하였고, collision energy (CE)와 declustering potential (DP)에 변화를 주어 각 항생제의 생성이온의 감도를 증가시켰으며 분석효율이 증대된 최적 조건을 확립하였다(Table 2).

QA/QC 및 통계처리

항생제 분석 방법의 QA/QC를 위해 회수율 검정을 실시하였다. 회수율 검정을 위해 대조구(항생제가 들어있지 않은 순수한 증류수)를 전처리 한 후 항생제를 인위적으로 spiking하는 시점을 각각 SPE 전과 후로 달리하였다. 회수율 용 시료는 각각의 농도에 SPE 전, 후 spiking하는 시료 2개씩 4개, 바탕시료 1개를 포함한 5개를 준비하였다. 회수율에는 항생제 계열 별로 표준용액을 0.1 mg L⁻¹과 1 mg L⁻¹로 조제하여 실시하였다. 회수율 검증은 공식 1과 같이 구하였다.

$$\text{회수율(\%)} = \frac{\text{SPE 전 시료에 spiking하여 검출된 농도}}{\text{SPE 후 시료에 spiking하여 검출된농도}} \times 100 \quad (1)$$

검량선을 위한 항생제의 표준 용액은 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1 mg L⁻¹의 농도로 제조하였으며 모든 분석은 3반복으로 실시하였다.

결과 및 고찰

액비의 화학적 특성

가축분뇨 자원화 시설의 액비 생산 단계별 1, 2차 시료의 화학

Table 1 LC-MS/MS conditions for the analysis of veterinary antibiotics

Classification	Agilent 1290 High performance liquid chromatograph-API 6500 liquid chromatograph Tandem Mass spectrometry		
HPLC	Column	Zorbax Eclipse Plus-C 18 3.5 µm (4.6×150 mm)	
	Guard Column	Security Guard cartridge Kit	
	Column temperature	25 °C	
	Mobile Phase	A: 99.9% HPLC grade water + 0.1% formic acid (v/v) B: 99.9% acetonitrile + 0.1% formic acid (v/v)	
	Flow rate	0.7 mL/min	
	Inject volume	5 µL	
	Gradient condition		0 min: A 90% + B 10%
			2 min: A 90% + B 10%
			8 min: A 50% + B 50%
			10 min: A 100% + B 0%
		11 min: A 0% + B 100%	
MS/MS	Mode	Eletrospray ionization (ESI)	
	Drying and Nebulizer gas	10.0 L/min	
	Drying gas temperature	350 °C	
	Capillary Voltage	5,500 V	
			15 min: A 90% + B 10%

Table 2 Precursor and product ion masses, collision energy (CV), declustering potential (DP) of the tested veterinary antibiotics and internal standard in LC-MS/MS

Compound	Precursor ion [M+H] ⁺ (m/z)	Product ion (m/z)	CE (V)	DP (V)
Simeton	198.125	100.100	39.0	66
		124.100	27.0	
		128.100	27.0	
Tetracycline (TC)	445.228	410.000	25.0	76
		427.100	19.0	
		428.100	21.0	
Chlortetracycline (CTC)	479.133	302.800	55.0	46
		443.819	31.0	
		462.096	29.0	
Oxytetracycline (OTC)	461.176	201.100	47.0	41
		282.913	49.0	
		426.200	29.0	
Sulfadiazine (SDZ)	250.761	156.000	21.0	51
		214.800	11.0	
		107.900	29.0	
Sulfamethazine (SMZ)	279.068	124.200	33.0	31
		156.200	31.0	
		186.100	25.0	
Sulfathiazole (STZ)	256.019	101.118	39.0	1
		108.100	37.0	
		156.014	27.0	

적 특성은 Table 3, 4와 같다. 1차 액비 원료(raw material, R)와 부속 완료(final product, P) 시료의 pH범위는 각각 7.70-8.92, 7.46-9.60으로서 중성 및 약알칼리 특성을 보여주었으며 평균 값이 8.32와 8.39를 나타내어 부속 단계별 pH 변화가 없었으나(Table 3), 2차 시료의 경우 액비 원료 평균 pH값이 8.98, 부속 중기(middle product, M) 시료 8.62, 부속 완료의 경우 7.62를 나타내어 호기 조건 충족을 위한 폭기로 인한 질소의 산화과정이 이루어지는 부속 단계별로 낮아지는 경향을 나타냈다(Table 4). 돼지분뇨의 부속과정 중 pH는 온도, CO₂ 유기물의 산화 정도, H⁺, OH⁻의 존재 상태에 따라 달라진다고 보고된 바 있다[19]. 전기전도도 (EC)는 Table 3, 4에 나타난 바와 같이 1, 2차 시료 모두 부속화 과정이 진행됨에 따라 감소하는 경향을 나타냈다.

잔류 항생제의 분석 QA/QC

자원화 시설 액비 생산단계별 시료에 대한 항생제 분석의 회수율, 방법검출한계(method of detection limit, MDL) 및 정량한계(limit of quantification)에 대한 정보는 Table 5에 정리하였다. 액비의 회수율 범위는 63.4-106.7%로 나타났으며, 회수율이 낮은 SDZ 및 SMZ의 정밀한 정량 분석을 위해 내부표준물질로 sulfamethoxazole-(phenyl-¹³C₆)을 이용하였다. 또한, 방법검출한계는 0.003-0.012 µg L⁻¹, 정량검출한계는 0.009-0.037 µg L⁻¹ 범위를 나타내어 생산단계 액비 시료 중 잔류 항생제의 충분한 검출 한계로 조사되었다.

액비 생산단계별 1차 시료 중 잔류 항생제 분석

Table 6에 나타난 바와 같이 가축분뇨 공동자원화 시설의 1차

Table 3 Recovery ratio, method detection limit (MDL) and limit of quantification (LOQ) of selected antibiotics in liquid fertilizer

Classification	Liquid Fertilizer		
	Recovery (%)	MDL (µg/L)	LOQ (µg/L)
Tetracycline (TC)	82.3	0.004	0.013
Chlortetracycline (CTC)	71.1	0.012	0.037
Oxytetracycline (OTC)	106.7	0.011	0.036
Sulfadiazine (SDZ)	64.5	0.003	0.010
Sulfamethazine (SMZ)	63.4	0.003	0.009
Sulfathiazole (STZ)	80.4	0.003	0.010

Table 4 Characteristic values of raw materials and final products of liquid fertilization process, the 1st 15 samples from recycling facilities

Classification	pH	EC (dS/m)	
SA 1 (R)	8.45	22.71	
SA 2 (P)	8.21	23.50	
SA 3 (R)	8.54	11.74	
SA 4 (P)	7.46	12.23	
SA 5 (R)	7.90	22.28	
SA 6 (P)	7.46	14.89	
SA 7 (R)	8.48	26.10	
SA 8 (P)	9.22	13.70	
SA 9 (R)	8.21	11.49	
SA 10 (P)	8.14	6.29	
SA 11 (R)	8.19	15.55	
SA 12 (P)	9.60	10.77	
SA 13 (R1)	7.90	11.52	
SA 14 (R2)	8.92	7.26	
SA 15 (P)	8.64	10.43	
Range of Characteristic value	Raw Materials	7.70-8.92 (8.32)	7.26-26.10 (16.08)
	Final Products	7.46-9.60 (8.39)	6.29-23.50 (13.11)

The numbers in parenthesis denote mean values

액비 원료 및 부숙 완료 상태 시료 중 항생제의 평균 잔류 농도는 원료의 경우 TC계의 tetracycline TC가 292.5, CTC 233.1, OTC 72.3 µg/L 농도 수준을 보여주었으며 SA계는 STZ 198.8, SMZ 182.8, SDZ 7.28 µg/L를 나타냈다. 부숙이 완료된 시료 중 잔류 항생제 평균 농도는 TC 24.4, CTC 39.9, OTC 22.9, STZ 12.7, SMZ 14.0, SDZ 0.16 µg/L으로서 액비 원료와 부숙 완료 제품 순으로 68.3-97.8%의 잔류 농도 감소 경향을 나타냈다 (Table 6). 액비 원료를 발효조에 저장하는 경우 일반적으로

호기성 상태를 유지하지만 부분적으로 메탄가스와 같은 바이오가스를 생성하기 위하여 혐기성 상태의 발효조로부터 메탄가스를 생산한 후 호기성 액비 발효조로 액비 원료를 이동시키는 자원화 시설이 있다. 이러한 메탄가스 생성이 항생제 잔류 농도에 미치는 영향을 조사한 결과 Table 6의 시료 13, 14의 농도 수준에서 보는 바와 같이 영향을 거의 끼치지 않은 것으로 판단되었다.

최종 부숙 완료의 제품 중 항생제 잔류 농도는 TC계의 CTC가 39.9 µg/L으로서 가장 높은 잔류 수준을 보여주었으며 이는 국외 연구의 경우 Martinez-Carballo 등[7]은 오스트리아의 돼지 액상 분뇨에서 TC계열 중 CTC가 토양 매체와 마찬가지로 잔류 특성으로 인해 가장 높은 잔류농도를 나타내어 100-46,000 µg/kg의 농도 범위로 검출되었다고 보고한 것과 같은 경향을 나타냈다.

액비 생산단계별 2차 시료 중 잔류 항생제 분석

가축분뇨 공동자원화 시설의 2차 액비 원료, 부숙 중기 및 부숙 완료 시료 중 항생제의 잔류 농도를 분석한 결과 액비 원료 중 항생제별 잔류 농도는 Table 7과 같다. 일반적으로 토양과 퇴비 중 항생제의 잔류 농도는 토양분배계수(Kd) 값이 높은 TC 계열이 SA계열보다 높은 경향을 나타내고 있으나 액비의 경우에는 그와 반대로 SA계열의 항생제가 높은 잔류 수준을 나타냈으며 SMZ>SDZ>STZ순서를 보여 주었다. TC계열의 경우에는 CTC평균 잔류 농도가 2.32, OTC 1.78, TC 1.20 µg/kg 농도로 검출되었다. 또한 TC 검출과 관련해서 Martinez-Carballo 등[7]과 Winckler 등[20]이 연구 결과를 보고한 바에 의하면 CTC나 OTC를 사용한 경우에만 TC가 검출되었으며 이와 같은 항생제를 처방하지 않은 농가의 시료에서는 검출되지 않은 것을 근거로 CTC 혹은 OTC가 TC로 분해 가능성이 있는 것으로 유추한 바 있다. 본 연구의 결과에서도 국내에서 지난 10년 이상 TC가 축산용 항생제로 판매된 적이 없었으나 CTC와 OTC와 함께 검출되었으며 이에 대한 CTC와 OTC의 퇴액비 및 토양 중 분해 대사 작용과 관련해서 보다 면밀한 검토가 필요한 것으로 판단된다.

Table 5 Characteristic value change of raw materials, middle and final products of liquid fertilization process, the 2nd 50 samples from recycling facilities

Classification	pH	EC (dS/m)	
Raw SA 10	R1-10	8.75, 8.48, 8.81, 9.71, 9.09, 8.94, 9.46, 8.45, 9.44, 8.70	24.40, 37.0, 28.60, 17.33, 28.70, 20.70, 19.52, 22.60, 15.13, 19.41
	Range of Characteristic value	8.48-9.71 (8.98)	17.33-37.0 (23.34)
Middle SA 20	M1-20	7.83, 7.98, 7.93, 7.68, 8.24, 8.32, 9.54, 8.57, 9.09, 8.85, 7.80, 9.30, 8.76, 9.71, 8.49, 8.56, 9.20, 8.80, 8.78, 9.14	13.36, 8.77, 9.90, 11.52, 16.92, 14.44, 17.55, 19.15, 11.60, 15.72, 18.95, 22.90, 22.80, 18.25, 15.53, 23.0, 15.37, 26.40, 11.41, 14.51
	Range of Characteristic value	7.68-9.71 (8.62)	8.77-26.40 (16.40)
Product SA 20	P1-20	8.62, 8.48, 8.40, 8.14, 8.44, 6.40, 7.26, 8.92, 6.87, 8.14, 8.85, 8.28, 8.71, 6.14, 7.52, 4.15, 7.20, 8.21, 5.03, 8.54	21.20, 11.02, 12.45, 12.35, 17.03, 10.0, 9.25, 10.16, 8.95, 8.96, 9.18, 14.21, 5.75, 7.95, 9.26, 15.92, 11.73, 10.43, 10.37, 11.89
	Range of Characteristic value	4.15-8.92 (7.62)	5.75-21.20 (11.40)

The numbers in parenthesis denote mean values

Table 6 Residual concentrations of antibiotics in raw materials and final products of liquid fertilization process, the 1st 15 samples from recycling facilities (µg/L)

Classification	Tetracyclines			Sulfonamides			
	TC	CTC	OTC	SDZ	SMZ	STZ	
SA 1 (R)	15.2	25.9	BLD	BLD	69.7	95.5	
SA 2 (P)	10.2	11.8	BLD	BLD	82.7	75.7	
SA 3 (R)	15.8	40.2	BLD	BLD	74.1	197.3	
SA 4 (P)	5.50	2.20	0.60	BLD	BLD	BLD	
SA 5 (R)	6.60	4.30	BLD	BLD	121.4	708.7	
SA 6 (P)	4.90	3.10	BLD	BLD	BLD	BLD	
SA 7 (R)	1,457	302.1	223.3	0.75	399.5	210.7	
SA 8 (P)	61.4	24.8	62.3	0.12	0.34	4.61	
SA 9 (R)	211.0	296.5	94.6	0.33	2.07	46.4	
SA 10 (P)	22.3	14.7	28.0	0.15	0.32	2.67	
SA 11 (R)	611.0	1,171	260.1	1.74	180.7	79.8	
SA 12 (P)	63.7	222.7	70.3	0.88	14.5	5.66	
SA 13 (R1)	11.9	12.7	BLD	27.5	309.8	139.9	
SA 14 (R2)	11.7	11.5	BLD	27.9	304.8	111.8	
SA 15 (P)	2.30	BLD	BLD	BLD	BLD	BLD	
Conc. Range	Raw Materials	6.60-1,457 (292.5)	4.30-1,171 (233.1)	BLD-260.1 (72.3)	BLD-27.9 (7.28)	2.07-399.5 (182.8)	46.4-210.7 (198.8)
	Final Products	2.30-63.7 (24.4)	BLD-222.7 (39.9)	BLD-70.3 (22.9)	BLD-0.88 (0.16)	BLD-82.7 (14.0)	BLD-75.7 (12.7)

Abbreviations of the 6 veterinary antibiotics are as follows: CTC, chlortetracycline; OTC, oxytetracycline; TC, tetracycline; SDZ, sulfadiazine; SMZ, sulfamethazine; STZ, sulfathiazole.

BLD denotes below the limit of detection, the numbers in parenthesis mean values

Table 7 Concentration change of antibiotics in raw materials, middle and final products of liquid fertilization process, the 2nd 50 SAs from recycling facilities (µg/L)

Classification	Tetracyclines			Sulfonamides			T-N (%)	
	TC	CTC	OTC	SDZ	SMZ	STZ		
Conc. Range	Raw SA 10	0.07-3.62 (1.20)	0.45-5.64 (2.32)	0.47-3.85 (1.78)	BLD-329.9 (32.9)	BLD-215.9 (40.85)	BLD-63.65 (7.60)	0.21
	Middle SA 20	0.11-3.47 (0.57)	0.33-8.28 (2.03)	0.03-4.03 (0.99)	BLD-8.02 (0.40)	ND-174.7 (26.17)	BLD-67.99 (7.52)	0.16
	Product SA 20	0.06-2.44 (0.52)	0.12-5.57 (1.25)	0.53-4.66 (1.56)	BLD (ND)	BLD-25.40 (3.54)	BLD-13.74 (0.81)	0.096

Abbreviations of the 6 veterinary antibiotics are as follows: CTC, chlortetracycline; OTC, oxytetracycline; TC, tetracycline; SDZ, sulfadiazine; SMZ, sulfamethazine; STZ, sulfathiazole.

BLD denotes below the limit of detection, the numbers in parenthesis mean values

부숙 중기 액비 시료 중 항생제 잔류 농도는 Table 7에 나타난 바와 같이 액비 원료에 비해서 TC계열은 12.5-56.7%의 감소율을 보여 주었으며 SA계열의 경우 10.5-98.8%의 잔류 농도 감소율을 나타냈다. 또한 Table 7은 부숙 완료 상태인 제품 중 항생제별 잔류 농도를 보여 주고 있으며 부숙 중기 시료에 이어 잔류 항생제 농도가 감소하는 경향을 나타내고 있다. 액비 시료 중 TC계열보다 높은 농도로 잔류하는 SA계열 항생제 중 SMZ는 부숙 완료 상태에서 ND-25.40 µg/kg의 잔류 범위와 평균 농도가 3.54 µg/kg를 나타냈다.

액비 생산단계별 항생제 잔류 농도와 질소 성분 함량 상관성 평가

공동자원화 시설의 2차 액비 원료, 부숙 중기 및 부숙 완료 시

료 중 항생제의 잔류 농도와 액비 규격 성분 질소 함량과의 상관성을 평가하였다(Fig. 1). 액비 부숙화 과정별 항생제 잔류 농도 변화는 Fig. 1에서 보여주는 바와 같이 가장 높은 잔류 농도를 나타낸 SA계열 SMZ의 평균 잔류 항생제는 40.85, 26.17, 3.54 µg/L이었으며 TC계열 CTC의 경우 2.32에서 1.25µg/L 수준으로 감소하였다. 다른 4종 항생제 역시 생산단계별로 잔류 농도가 감소하는 경향을 나타냈다.

질소(N) 성분의 경우 액비 발효조는 호기 조건 충족을 위한 폭기시설이 설치되어 있으며 폭기 처리구에서 액비 원료 중 질소는 암모니아 형태로 휘발하거나 질산태 질소로 산화되면 무산소 조건에서 N₂O나 N₂로 휘발되어 부숙화 과정이 진행됨에 따라 질소 함량이 감소되는 것으로 알려져 있다[21].

축산환경관리원에서 제공받은 부숙단계별 질소 함량 변화는

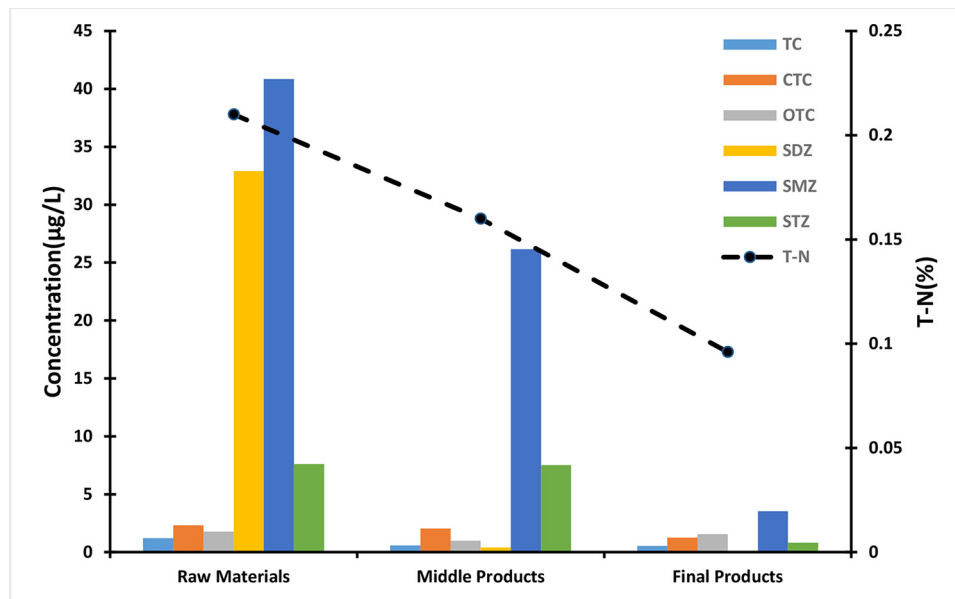


Fig. 1 Comparative analysis of the residual antibiotics and the amount of N component by different production stages of liquid fertilizer from recycling facilities

0.21, 0.16, 0.096%를 나타내어 원료 대비 부속 증가는 23.8%, 부속 원료 시료는 54.2%의 감소율을 보여 주었으며 액비화 과정 중 부속 기간이 경과함에 따라 질소 성분 및 항생제 잔류 농도가 감소하는 경향을 나타냈다. 따라서 액비 생산단계별 잔류 항생제 농도와 규격 성분 질소 함량과의 상관성 평가는 항생제 저감화 지표 설정의 기초자료로 활용 가능할 것으로 판단된다.

초 록

축산용 항생제는 투여된 양의 일부만이 체내에서 사용되며 나머지는 모화합물 형태나 대사체로서 분뇨를 통하여 배출된다. 이러한 분뇨는 자원화 시설로부터 퇴액비로 생산되어 농경지에 살포됨으로써 농업환경에 유입되어 2차 오염 등을 초래하고 있다. 본 연구는 국내 가축분뇨 자원화 시설의 액비 생산단계별로 6종 축산용 항생제의 잔류 농도를 비교하고 액비 성분 질소 함량과의 상관성을 평가하기 위해 수행되었다. Buffer 및 SPE를 사용한 전처리 방법은 ppb 수준에서 63.4-106.7%의 회수율을 나타냈으며, 정량한계의 범위는 0.009-0.037 µg/L이었다. 공동자원화 시설 생산 액비의 생산단계별 잔류 항생제 농도와 규격함량 N 성분 함량과의 상관성 평가를 분석한 결과 액비화 과정 중 부속 기간이 경과함에 따라 N 성분 및 항생제 잔류 농도가 감소하는 경향을 보여 주었다. 액비 원료, 중기 및 제품 중 SMZ의 평균 잔류 항생제는 40.85, 26.17, 3.54 µg/L이었으며 CTC의 경우 2.32에서 1.25 µg/L 수준으로 감소하였다. 다른 4종 항생제 역시 생산단계별로 잔류 농도가 감소하는 경향을 보여 주었으며 액비 규격성분 N은 생산단계별 함량이 0.21에서 0.096%로 감소하였다. 액비 생산단계별 잔류 항생제 농도와 규격 성분 N 함량과의 상관성 평가는 항생제 저감화 지표 설정의 기초자료로 활용 가능할 것으로 판단된다.

Keywords 가축분뇨 액비 · 상관성 평가 · 잔류 농도 · 질소 성분 · 축산용 항생제

감사의 글 이 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원의 가축분뇨 유래 퇴액비 중 항생제 잔류특성 및 경감기술 개발(PJ01488504)의 연구비 지원에 의해 이루어졌습니다.

References

- Pikkemaat MG, Yassin H, Fels-Klerx HJ, Berendsen BJA (2016) Antibiotic Residues and Resistance in the Environment. RIKILT Wageningen UR (University & Research) RIKILT report (No. 2016.009). Wageningen, Netherland
- Chen J, Xu H, Sun Y, Huang L, Zhang P, Zou C, Bo Y, Zhu YG, Zhao C (2016) Interspecific differences in growth response and tolerance to the antibiotic sulfadiazine in ten clonal wetland plants in South China. *Sci Total Environ* 543: 197–205. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.11.015
- Wang S, Wang H (2015) Adsorption behavior of antibiotic in soil environment: a critical review. *Front Environ Sci Eng* 9: 565–574. doi: 10.1007/s11783-015-0801-2
- Sarmah AK, Meyer MT, Boxall A (2006) A gloval perspective on the use, sales, exposure pathway, occurrence, fate anf effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere* 65: 725–759. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.03.026
- MAFRA (2020) Press release: Consumption of veterinary antibiotics in Korea. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Korea
- Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, and Laxminarayan (2015) Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc Nati Acad Sci USA* 112(18): 5649–5654. doi: 10.1073/pnas.1503141112
- Martinez-Carballo E, Conzalez-Barreiro C, Scharf Sigrid, Gans Oliver (2007) Environmental monitoring sutdy of selected veterinary antibiotics in animal manure and solids in Austria. *Environmental Pollution* 148(2): 570–579. doi: 10.1016/j.envpol.2006.11.035
- Halling-Sorensen B, Sengelov G, Tjornelund J (2002) Toxicity of tetracyclines and tetracycline degradation products to environmently

- relevant bacteria, including selected tetracycline-resistant bacteria. *Arch. Environ Contam Toxicol* 42: 263–271. doi: 10.1007/s00244-001-0017-2
9. Alock RE, Aweetman A, Jones KC (1999) Assessment of organic contaminant fate in wastewater treatment plants I. Selected compounds and physiochemical properties. *Chemosphere* 38: 2247–2262. doi: 10.1016/S0045-6535(98)00444-5
 10. Arikian OA, Mulbry W, Rice C (2009) Management of antibiotic residues from agricultural sources: use of composting to reduce chlortetracycline residues in beef manure from treated animals. *Journal of Hazardous Materials* 164: 483–489. doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.08.019
 11. Arikian OA, Sikora LJ, Mulbry W, Khan SU, Foster FD (2007) Composting rapidly reduces levels of extractable oxytetracycline in manure from therapeutically treated beef calves. *Bioresour Technol* 98: 169–176. doi: 10.1016/j.biortech.2005.10.041
 12. Laine MM, Jørgensen KS (1997) Effective and safe composting of chlorophenol contaminated soil in pilot scale. *Environ Sci Technol* 31: 371–378. doi: 10.1021/es960176u
 13. Hartlieb N, Ertunc T, Schaeffer A, Klein W (2003) Mineralization, metabolism and formation of non-extractable residues of ¹⁴C-labelled organic contaminants during pilot-scale composting of municipal biowaste. *Environ Pollut* 126: 83–91. doi: 10.1016/S0269-7491(03)00143-X
 14. Lim JE, Kim HW, Jeong SH, Lee SS, Yang JE, Kim KH, Ok YS (2014) Characterization of cucumber biochar and its potential as an adsorbent for veterinary antibiotics in water. *J Appl Biol Chem* 57(1): 65–72. doi: 10.3839/jabc.2014.011
 15. Ye ZL, Deng YJ, Lou YY, Ye X, Zhang JQ, Chen SH (2017) Adsorption behavior of tetracyclines by struvite particles in the process of phosphorus recovery from synthetic swine wastewater. *Chemical Engineering Journal* 313: 1633–1638. doi: 10.1016/j.cej.2016.11.062
 16. Yu H, Ding W, Luo J, Geng R, Cai Z (2012) Long-term application of organic manure and mineral fertilizers on aggregation and aggregate-associated carbon in a sandy loam soil. *Soil and Tillage Research* 124: 170–177. doi: 10.1016/j.still.2012.06.011
 17. Liu E, Yan C, Mei X, He W, Bing SH, Ding L, Liu Q, Liu S, Fan T (2010) Long-term effect of chemical fertilizer, straw, and manure on soil chemical and biological properties in northwest China. *Geoderma* 158(3-4): 173–180. doi: 10.1016/j.geoderma.2010.04.029
 18. Chen JH (2006) The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer for crop growth and soil fertility. In *International workshop on sustained management of the soil-rhizosphere system for efficient crop production and fertilizer use* (Vol. 16, p. 20). Land Development Department Bangkok, Thailand
 19. Chardon WJ, Oenema O, Del Castillo P, Vriesema R, Japenga J, Blaauw D (1997) Organic phosphorus in solutions and leachates from soils treated with animal slurries. *Journal of Environment Quality* 26(2): 372–378. doi: 10.2134/jeq1997.00472425002600020006x
 20. Winckler C, Engels H, Hund-Rinke K, Luckow T, Simon M, Steffens G (2003) Verhalten von Tetracycline und anderen Veterinarantibiotika in Wirtschaftsdünger und Boden. *UFOPLAN* 200 73 248, Berlin
 21. Yoon YM, Halder JN, Kang TW, Kim SR, Yabe M, Lee MG (2018) Derivation of Monitoring Factors to Produce Liquid Manure Fertilizers from the Aerobic Liquid Fertilization Process of Pig Slurries. *J Fac Agr Kyushu Univ* 63(1): 149–157. doi: 10.5109/1911227