

혐기소화공정에서 항생항균물질이 메탄생성에 미치는 영향

오승용, 박노백,* 박우균, 천만영,¹ 권순익

농촌진흥청 국립농업과학원, ¹한경대학교 환경공학과

Effects of Antimicrobials on Methane Production in an Anaerobic Digestion Process

Seung Yong Oh, Noh Back Park,* Woo Kyun Park, Man Young Chun¹ and Soon Ik Kwon (National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea, Department of Environmental Engineering, Hankyong National University,¹ Anseong 456-749, Korea)

Received: 09 August 2011 / Accepted: 23 September 2011

© 2011 The Korean Society of Environmental Agriculture

Abstract

BACKGROUND: Anaerobic digestion process is recently adapted technology for treatment of organic waste such as animal manure because the energy embedded in the waste can be recovered from the waste while the organic waste were digested. Ever increased demand for consumption of meat resulted in the excessive use of antimicrobials to the livestock for more food production. Most antimicrobials administered to animals are excreted through urine and feces, which might highly affect the biological treatment processes of the animal manure. The aim of this study was to investigate the effects of antimicrobials on the efficiency of anaerobic digestion process and to clarify the interactions between antimicrobials and anaerobes.

METHODS AND RESULTS: The experiment was consisted of two parts 1) batch test to investigate the effects of individual antibiotic compounds on production of methane and VFAs (volatile fatty acids), and removal efficiency of organic matter, and 2) the continuous reactor test to elucidate the effects of mixed antimicrobials on the whole anaerobic digestion process. The batch test showed no inhibitions in the rate of methane and VFAs production, and the rate of organic removal were observed with treatment at

1 ~ 10 mg/L of antimicrobials while temporary inhibition was observed at 50 mg/L treatment. In contrast, treatment of 100 mg/L antimicrobials resulted in continuous decreased in the rate of methane production and organic removal efficiency. The continuous reactor test conducted to see the influence of the mixed antimicrobials showed only small declines in the methane production and organic matter removal when 1 ~ 10 mg/L of combined antimicrobials were applied but this was not significant. In contrast, with the treatment of 50 mg/L of combined antimicrobials, the rate of organic removal efficiency in effluent decreased by 2 ~ 15% and the rate of biogas production decreased by 30%.

CONCLUSION(s): The antimicrobials remained in the animal manure might not be removed during the anaerobic digestion process and hence, is likely to be released to the natural ecosystem. Therefore, the efforts to decline the usage of antimicrobials for animal farming would be highly recommended.

Key Words: Anaerobic digestion, Antimicrobials, Methane production, Organic matter removal

서론

가축분뇨는 생활오수에 비해 발생량은 적으나 고형물 농도가 매우 높아 환경오염 부하량이 크기 때문에 적정처리를 목적으로 연구되어 왔다(Park *et al.*, 2009). 가축분뇨 혐기성 소화공정은 유용에너지 자원인 메탄가스의 효과적인 회수가

*교신저자(Corresponding author),

Phone: +82-31-290-0233; Fax: +82-31-290-0206;

E-mail: pnb502@korea.kr

가능하여(Bonmati *et al.*, 2001; Van Lier *et al.*, 2001), 가축분뇨의 처리와 대체에너지의 생산, 온실가스 감축을 동시에 만족할 수 있는 방법으로 제시되고 있다(Park *et al.*, 2011).

한편, 우리나라는 급격한 경제성장으로 식생활 패턴이 변화하여 육류 소비가 증가하였고, 축산농가의 규모 또한 대규모/전업화 되었다. 이에 따라 가축의 생산성을 향상하기 위해 항생항균물질의 사용 또한 증가하여 최근에는 항생물질의 오·남용이 사회적 문제로 대두되면서 가축 항생제의 사용 감소에 대한 필요성이 부각되었다. 선진국과 비교한 축산물 생산량 및 항생항균제 사용량 조사에 따르면 축산물 생산량이 우리나라(소 62 g/unit, 돼지 93 g/unit)보다 월등히 많은 미국(소 58 g/unit, 돼지 51 g/unit), 덴마크(소 10 g/unit, 돼지 3.6 g/unit) 등과 비교하여 과다 사용하는 것으로 보고되고 있다(Korea Food and Drug Administration, 2005). 이렇게 동물용 의약품의 잔류 문제가 확산되면서 EU를 비롯한 여러 국가에서 동물용 의약품의 잔류허용기준을 확대하였다. 우리나라도 가축 출하 전 휴약기 등을 통해 잔류허용기준을 확대 설정하였으나, 2007년 잔류 허용기준을 초과한 축산물에 대하여 항생항균제 잔류위반 원인을 조사결과 약 59.8%가 휴약 기간을 준수하지 않았고, 기타 실수에 의한 약제첨가사료 급여, 권장량 초과 투여 등으로 여전히 많은 항생항균제에 의해 노출되어 있다 (National Veterinary Research and Quarantine, 2008). 선진국의 경우 축산물의 생산량 및 항생제 사용량, 주요 사용 항생제, 항생제 사용에 관한 실태 분석 등의 자료는 수집하고 있지만, 가축분뇨 내의 잔류항생제 등 가축분뇨 처리에 미치는 영향에 대한 연구는 미흡한 실정이다(Cho *et al.*, 2007). 축산용 항생항균제의 체외 배출율은 chlortetracycline 70% 이상, penicillin 50~70%, tylosin 28~76% 정도로 배출율이 높아 분뇨내 포함되어 있을 것으로 보고되고 있는데(Capleton *et al.*, 2006), 미국의 경우 돈분뇨에서 tetracyclines 7.73 mg/L, tylosin 4.03 mg/L, sulfamethazine, amprolium, penisillin 등이 검출되었다고 보고하였다(Kumar *et al.*, 2004, 2005). 이렇게 항생항균제의 성분에 따라 요(尿)를 통해 배출된 물질은 하수처리공정의 질산화 효율에 영향을 미치며(Campos *et al.*, 2001), 혐기소화 공정내 미생물의 활성을 저하시켜 축산분뇨 적정처리의 방해 요인으로 작용할 수 있다(Arikan *et al.*, 2006). Hobson과 Shaw(1976)은 항생제에 의해 혐기성 박테리아의 활성이 저하되어 유기물 처리와 바이오가스 생산을 저감시킨다고 하였고, Hilpert 등(1981)은 10여 종의 메탄생성균에 대하여 28종 항생항균제의 민감도를 분석한 결과 일부 항생항균제가 메탄생성균의 성장을 억제한다고 하였다. 그러나 Fedler과 Day(1985)는 항생항균제 자체 보다 체내 대사산물에 의해 혐기성 미생물의 저해율이 높다고 하였는데, Arikan 등(2006)에 의하면 OTC (oxytetracyclin) 보다 부산물에 의해 약 27%의 메탄생산량이 감소되었다고 하였다. Massé 등(2000)은 fill and drew 방식 저온 혐기소화 공정에서 penicillin과 tetracycline이 돈분 내 존재할 때 각각 35, 25%의 메탄생산량에 저해를 주었다고 하였다. Toshio 등(2008)은 혐기성 연속회분식반응조에 tylosin을 주입하여 영향을 관찰하였는데, 저농도인 0.167 mg · tylosin/L을 주입하였을 때 공정

에 미치는 영향은 미미하였으나, tylosin 167 mg/L을 주입하였을 경우 메탄생산량이 현저히 감소하였으며, propionate와 acetate가 축적하는 것으로 보고하였다. 이와 같이 가축분뇨의 적정처리나 메탄가스 회수, 고농도 질소·인 처리에 대한 연구는 활발하게 진행되어 왔으나, 항생항균제 등이 가축분뇨 처리에 미치는 영향에 대한 연구는 미비한 실정이다. 우리나라의 경우 가축분뇨 처리에 있어 다수의 처리시설이 특정시기(7~9월)에 영양염류처리 및 혐기성 메탄화에 어려움을 겪고 있는 이유가 항생항균제 및 소독제의 사용과 밀접한 관련이 있는 것으로 추정되고 있기 때문에(Cho *et al.*, 2007), 이에 대한 연구가 요구되고 있다. 또한 대부분의 연구가 회분식 조건이나 fill and drew 방식의 반응조 조건에서 항생항균물질의 영향을 평가하고 있는데, 연속운전 조건과 회분식 운전방식에 따라 미생물에 미치는 영향은 달라질 수 있다.

따라서 본 연구에서는 고농도 유기성 폐기물을 적정처리하고, 에너지를 회수할 수 있는 혐기소화공정에서 항생항균물질이 메탄생성시 미치는 영향 및 상호작용을 관찰하고자 회분식 및 연속운전 조건 등 반응조 형태에 따른 항생항균제의 영향을 평가하였다.

재료 및 방법

공시원수

본 연구에 사용된 원수는 항생항균물질의 영향을 관찰함에 있어 실패수(가축분뇨)내 존재할 수 있는 항생항균물질을 배제하기 위해 합성원수를 사용하였다. 합성원수의 유기물은 glucose를 이용하였고, 회분식 실험과 연속식 실험에 따라 각 실험 목적에 맞추어 유기물 부하율(organic loading rate, OLR)을 조정하여 제조하였다. 또한 혐기성 미생물의 원활한 성장을 위하여 mineral salts와 trace metal을 유입 유기물 농도에 조절하여 주입하였고, 반응조내 유기산(volatile fatty acids; VFAs)의 축적으로 인한 급격한 pH 저하를 방지하기 위해 NaHCO₃을 주입하였으며, 기타 합성원수 성상은 Table 1과 같다. 실험에 사용된 seed sludge는 C군의 K사 혐기소화조에서 채취하였으며, 슬러지의 MLSS(mixed liquor suspended solid) 농도는 15,000 mg · MLSS/L이었다.

항생항균물질

본 연구에 사용된 항생항균물질은 chlortetracycline(CTC, M_w=515.33, CAS no. 64-72-2, purity 90%, ACROS organics), oxytetracycline(OTC, M_w=496.46, CAS no. 6153-64-6, purity 95%, ACROS organics), sulfamethazine(SMZ, M_w=278.32, CAS no. 57-68-1, purity 99%, ACROS organics), tylosin(TLS, M_w=1066.2, CAS no. 74610-55-2, purity 95%, Fluka co.) 4 종류를 사용하였으며, 물리적 및 화학적 특성을 Table 2에 나타내었다. 항생항균물질의 주입은 약산성의 완충용액을 포함한 유기용매를 이용하여 stock solution을 제조하였고, 각 실험조건에 맞추어 희석하여 사용하였으며, 주사기(syringe)를 이용하여 반응조 유입부 튜브에 1회 주입(spike)하였다.

Table 1. Components of the synthetic wastewater used for this study

Item	Initial concentration (mg/L)	
Substrate as SCOD	Glucose	6,000~10,000
	KH ₂ PO ₄	1,350
Phosphate buffer (adjusted to pH 7)	K ₂ HPO ₄	1,750
	Alkalinity(NaHCO ₃)	3,000
Ammonium as N	NH ₄ Cl	200
Mineral salts	CaCl ₂ · 2H ₂ O	75
	MgCl ₂ · 6H ₂ O	100
	FeCl ₃ · 4H ₂ O	20
	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.5
Trace metal	H ₃ BO ₄	0.05
	CuCl ₂	0.03
	NaSeO ₃	0.05
	Na ₂ MoO ₄ · 4H ₂ O	0.01
	NiCl ₂ · 6H ₂ O	0.05
	CoCl ₂ · 2H ₂ O	0.5

Table 2. Representative pharmaceutical antimicrobials and typical ranges of physicochemical properties from selected classes of antimicrobials (Thiele-Bruhn, 2003)

Compound class	Molar mass g/mol	Water solubility mg/L	log K _{ow}	pKa	Henry's constant Pa · L/mol
Tetracyclines chlortetracycline, oxytetracycline, tetracycline	444.5~527.6	230~52,000	-1.3~0.05	3.3/7.7/9.3	1.7×10 ⁻²³ ~4.8×10 ⁻²²
Sulfonamides sulfanilamide, sulfadiazine, sulfadimidine, sulfadimethoxine, sulfapyridine, sulfametazine	172.2~300.3	7.5~1,500	-0.1~1.7	2~3/4.5~10.6	1.3×10 ⁻¹² ~1.8×10 ⁻⁸
Macrolides erythromycin, oleandomycin, tylosin	687.9~916.1	0.45~15	1.6~3.1	7.7~8.9	7.8×10 ⁻³⁶ ~2.0×10 ⁻²⁶

실험장치 및 방법

회분식 실험 항생항균물질을 함유한 폐수를 혐기성 처리 시 메탄생성 특성 및 반응의 안정성과 독성을 평가하기 위해 회분식 실험을 실시하였다. 실험에 사용된 반응조는 유리재질의 원형 serum bottle를 이용하였고, total volume 250 mL, working volume 200 mL로 합성원수와 seed sludge를 3:1로 주입하여 반응조 내 혐기성 상태가 유지되도록 silicon cap과 aluminum cap 이중으로 밀폐하였고, 햇빛을 차단하기 위해 진탕기 내부에서 운전하였다. 진탕기의 교반속도는 160 rpm으로 하여 seed sludge와 합성폐수의 접촉을 원활히 유도하였으며, 각 반응조의 내부온도는 중온 혐기소화 조건인 35±1℃를 유지하였다(Fig. 1). 운전개시 이후 4종의 단일항생항균물질(OTC, CTC, SMZ, TLS)을 반응조 내 각각 1, 10, 50, 100 mg/L가 되게 하여, 메탄생성 및 유기산, 잔류항생물질농도 등을 분석하였다.

연속식 실험 4종의 항생항균물질을 혼합하여 1, 10, 50,

100 mg/L로 단계적으로 농도를 증가시키면서 연속식 혐기소화조에 주입하였을 때 메탄발생량, 유기산 생성 특성 및 유기물 제거효율 등을 관찰하였다. 연속식 혐기소화반응조는 working volume 20 L에 5 L의 seed sludge를 주입하였고, 펌프를 이용하여 연속적으로 합성원수를 유입하였고 수리학적체류시간은 9일로 하였다. 반응조는 UASB(upflow anaerobic sludge blanket) 형태로 하였으며, 하부의 seed sludge에 의해 발생하는 가스에 의해 미생물과 합성원수의 접촉을 원활하게 하였고, 반응조 내부온도는 35±1℃로 유지하였다(Fig. 1). 반응조 상부에는 10 L 용량의 가스 포집백을 설치하여 가스발생량 및 성상을 분석하였으며, 유출수의 유기물, VFAs, 잔류항생항균물질 농도를 분석하였다. 혐기소화조의 빠른 안정화를 위하여 유입 유기물 농도를 3~10 g · COD/L까지 단계적으로 유입하였으며, 정상상태(steady state)에 도달하였을 때 혼합항생항균물질을 주입하여 반응조의 영향을 평가하였다.

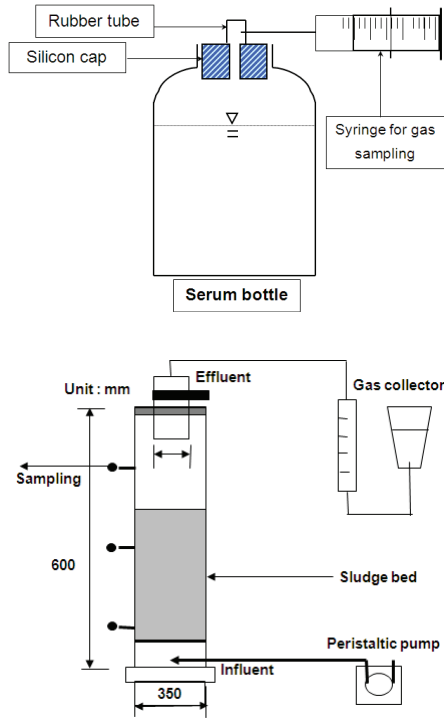


Fig. 1. Schematic diagram of experimental apparatus (above : batch test, below : continuous system).

분석방법

본 시험에서의 반응기 운영 중 포집된 가스는 gas-tight syringe로 10 mL을 채취하여 가스 검지관(GASTEX)과 Hayesep Q(80/100 mesh)가 충전된 100 cm×2 mm(i.d) 스테인레스강 재질 칼럼의 열전도 검출기(Thermal conductivity detector, TCD)가 장착된 가스 크로마토그래피(Varian CP-3800, USA)를 이용하였다. 유기산 분석은 일정량의 시료를 0.2 μm syringe filter로 여과한 후 20 μL을 액체크로마토그래피(Waters co., USA)로 분석하였다. 사용된 칼럼은 Shodex RSpak KC-811, 30 cm×8 mm(i.d)이며, UV detector(Waters 2489)를 이용하여 210 nm에서 측정하였다.

항생항균물질 분석은 시료를 0.2 μm syringe filter로 여과한 후 10 μL를 액체크로마토그래피(Waters co., USA)를 이용하여 분석하였다. 칼럼은 shisedo capcell pak c18 type 3.0×250 mm이며, UV detector(Waters 2489)를 이용하여 측정하였다. chlortetracycline과 oxytetracycline은 이동상으로 0.01 M oxalinc acid:ACN:acetonitril:MeOH (7:2:1) 혼합액을 이용하였고, 360 nm에서 측정하였다. sulfametazine은 이동상으로 ACN(acetonitril):0.1% KH₂PO₄ (1:5.25) 혼합액으로 하였고, 268 nm에서 측정하였으며, tylosin은 MeCN(acetonitrile:MeOH:0.002 NH₄H₂PO₄(16:3:1)의 혼합액을 이동상으로 280 nm에서 측정하였고, 모든 혼합액의 유속은 0.5 mL/min으로 고정하였다. 항생항균제 분석방법 및 기본 자료 등은 Lee와 Hong(2004)의 자료를 바탕으로 하였으나, 분석법의 회수율 및 변이계수 등은 확인하지 않았다. 기타 SCOD(soluble chemical oxygen demand) 등 분석항목은

standard methods(1998)에 준하여 측정하였다.

결과 및 고찰

회분식 조건에서 항생항균물질 영향

유기물 제거효율 혐기소화 반응조에 항생항균물질이 유입되었을 때 반응조 내 유기물 거동 및 메탄생성량에 미치는 영향을 관찰하고자 BMP(biochemical methane potential) 실험을 실시하였다. 회분식 반응조에 각각의 항생항균물질을 투입한 후 7일 후의 메탄생성량을 측정한 결과 대조군의 총 메탄생성량은 약 100 mL인 반면 항생항균물질을 투입한 반응기의 경우 10~40% 메탄발생량이 감소되었으나, 누적 메탄가스 발생량으로 독성의 영향을 관찰하기에는 다소 무리가 있는 것으로 나타났다(Fig. 2). 그러나 유기물의 거동은 항생항균물질의 주입농도가 높아질수록 메탄가스로 전환되지 못한 잔류 유기물 농도가 차이를 보였다. 항생항균물질 CTC와 OTC의 경우 10 mg/L 농도를 주입하였을 경우 유기물 제거효율에 영향이 없었고, 50 mg/L 이상으로 증가하였을 경우 유기물 제거효율은 60~70% 이하로 급격히 감소하였다. SMZ도 50 mg/L 이상을 주입하였을 때 약 70%의 유기물 제거효율을 보였으며, TLS도 10 mg/L 이상에서 78%의 유기물 제거효율을 나타내 약 20~30% 저해 영향이 있는 것으로 판단된다. Sankvist 등(1984)은 반 연속식(semi-continuous) 혐기소화조에 OTC 100 mg/L을 주입하였을 때 35~55%의 메탄가스 발생량이 감소한 반면, Lallai 등(2002)은 회분식 증온혐기소화조에 125, 250 mg/L의 OTC를 주입하여도 메탄가스 발생량에 영향이 발생하지 않았다고 보고하고 있다. TLS의 경우 ASBR (anaerobic sequencing batch reactor) 공정에서 16.7 mg/L까지는 메탄생성이나 COD 제거효율에 영향을 주지 않았지만(Massé *et al.*, 2000; Angenent *et al.*, 2008), Loftin 등(2005)은 TLS 1~25 mg/L 범위에서 메탄 발생량이 감소하였다고 보고하였다. 이와 같이 본 연구에서 항생항균물질 투입에 따른 유기물 제거효율 감소되는 경향을 나타내었지만, 문헌(Sankvist *et al.*, 1984)과 같은 메탄발생의 영향은 크게 나타나지 않았다. 따라서 각각의 항생항균물질 10, 50, 100 mg/L에서 유기산 거동 및 메탄가스 생산량 등 세부적인 실험을 수행하였다.

유기산 생성 및 메탄발생 특성 본 실험에서 4종의 항생항균물질 농도를 10, 50, 100 mg/L을 순응하지 않은 혼합 미생물에 대한 영향을 관찰하기 위해 혐기소화조에 주입하여 메탄 발생 특성 및 유기산 농도의 변화를 관찰하였다(Fig. 3). 초기 반응조 유입 유기물 농도는 7,000 mg/L이었고, 정상상태(steady state) 도달 후(21 h) 독성물질(CTC, OTC, SMZ, TLS)을 각각 주입하여 메탄가스 발생량 및 유기산 생산 거동을 관찰하였다. 항생항균물질 10 mg/L을 주입하였을 때(Fig. 3a), 반응시간 140 h 후 단위메탄가스 발생량은 CTC 2.87, OTC 3.14, SMZ 2.99, TLS 2.8 mL/mL로 비슷한 수준이었다. 또한 최대 누적메탄가스 발생시간도 반응개

시 약 80 h 전후로 항생항균물질 종류와 관계없이 유사하게 도달하는 것으로 나타났다. 유기산의 생성은 항생항균물질 투입전까지 acetic acid, butyric acid, propionic acid, lactic acid, formic acid가 생성되었고, 항생항균물질 투입 후(21 h) acetic acid 농도가 일시적으로 감소되었으나 약 5-7 h 후 다시 증가하였다. 총 유기산(TVFAs) 농도도 acetic acid 농도의 변화와 비슷하였는데, 4종의 항생항균물질 10 mg/L을 주입하였을 경우 일시적 충격부하(shock load)로 유기산 생성이 저해되는 경향이 관찰되었으나 일정 시간 후 회복되어 최종적으로 메탄가스 발생에 저해영향은 없는 것으로 나타났다. 항생항균물질을 50 mg/L로 증가하였을 경우(Fig. 3b) 반응시간 100 h까지 단위메탄가스 발생량은 CTC 2.69, OTC 2.69, SMZ 2.79, TLS 2.52 mL/mL로 비슷하였다. 총 유기산의 거동도 항생항균물질별 유사하였으나 CTC와 SMZ의 경우 butyric acid의 소비가 일부 축적되는 경향을 보이다가 소비되는 것으로 나타났다. 항생항균물질이 50 mg/L로 증가되었을 경우에도 저농도(10 mg/L)에서와 같이 일시적으로 저해현상은 관찰되었으나 최종 메탄생성에 미치는 영향은 크지 않았다. 메탄가스 발생량을 기준으로 10 mg/L에서의 메탄발생량과 비교하였을 때 50 mg/L의 항생항균물질을 주입하였을 경우 약 9.5%의 메탄가스 발생량이 감소한 것으로 나타났다.

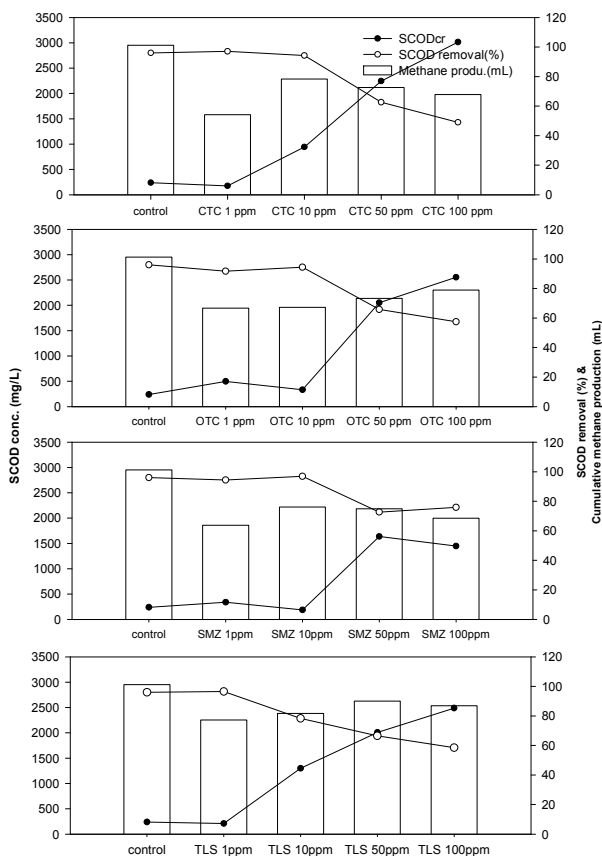


Fig. 2. Effects of antimicrobials with different addition levels on SCOD and methane production.

항생항균물질 농도를 100 mg/L로 증가하였을 경우 총 누적 메탄가스 발생량은 CTC 1.32, OTC 1.45, SMZ 1.65, TLS 1.35 mL/mL로 대조군에 비하여 약 48~58% 정도 메탄가스 발생량이 현저하게 감소한 것으로 나타났다. 전체적으로 항생항균제의 농도에 상관없이 항생항균물질을 주입하기 전 유기산 생산량은 반응 개시 후 급격히 증가하는 경향을 보였으며, 이와 동시에 메탄가스도 안정적으로 발생하였다. 그러나 항생항균물질 주입 후(21 h) 항생항균물질 10 mg/L에서는 40 h까지 유기산 발생량이 증가하면서 메탄가스가 발생하였고, 이 후 생성된 유기산이 소모되면서 메탄가스로 전환되었다. 항생항균물질 50 mg/L의 경우 항생항균물질 주입 후 더 이상 유기산은 생성되지 않았으며, 생성된 유기산을 급격히 소모하면서 메탄가스로 전환되는 것을 관찰하였다. 그러나 항생항균물질 100 mg/L에서는 항생항균물질 주입 후 유기산의 생성은 더 이상 진행되지 않았으며, 메탄가스 발생량도 현저히 감소하여 혐기소화 반응의 안전성을 확보할 수 없었다. 결과적으로 회분식 조건에서 항생항균물질 50 mg/L을 주입하였을 경우 산생성 미생물의 저해영향으로 유기산 생성이 억제되는 것으로 나타났으며, 항생항균물질 100 mg/L의 경우 산생성 및 메탄생성 미생물에 직접적인 독성을 끼친 것으로 판단된다. 여러 연구자의 연구 결과(Lallai *et al.*, 2002; Arikani *et al.*, 2006)와 비슷한 결과를 나타내었으며, 특히 Massé 등(2000)은 SBR(sequencing batch reactor) 공정에서 tetracycline과 penicillin을 주입하였을 때 가수분해 속도와 메탄발생량이 현저히 감소하였으나, fill and drew 방식의 운전으로 독성물질이 반 연속적으로 배출되었기 때문에 반응조의 안정성을 확보하였다고 하였다. 그러나 본 연구에서는 회분식 조건에서 추가적인 원수의 주입 없이 운전하였기 때문에 항생항균물질 농도가 증가할수록 잔류항생항균물질에 의해 가수분해 및 메탄생성 반응에 지속적인 저해를 끼친 것으로 판단된다. 또한 항생항균물질 50 mg/L 이상에서는 가수분해 및 메탄생성에 저해영향을 미치지만 10 mg/L 이하의 농도에서는 가수분해 반응의 저해영향이 크지 않은 것으로 나타났다.

연속반응기(UASB)에서 항생항균물질 영향

유기물 제거 및 바이오가스 생성 특성 많은 물질들이 모든 생물학적 시스템에 독성을 유발할 수 있고, 그 중 혐기성 미생물은 성장속도가 매우 느리기 때문에 반응조의 안정성을 확보할 수 있는 안전계수를 높게 유지해야 한다. 혐기성 처리가 일반적으로 보다 높은 위험에 노출되어 있으며, 성장속도도 느리기 때문에 회복도 늦어지게 된다. 따라서 본 연구에서는 연속식 UASB(upflow anaerobic sludge blanket) 반응조를 구성하여 독성물질을 단계적으로 증가시켜 주입하였을 때 유기물 제거효율 및 메탄가스발생량을 관찰하였다. 항생항균물질은 단일항생항균물질이 아닌 회분식 실험에서 사용한 4종의 항생항균제를 혼합하여 1, 10, 50, 100 mg/L을 단계적으로 주입하였는데, 이는 실제 축산농가에서의 약품사용이 단일 항생항균제 보다 복합항생항균제를 많이 사용하기 때문에 실제 분뇨에 존재하는 항생항균물질의 특징을 반영하고자

하였다. Fig. 4는 UASB 반응조 운전기간 동안 항생항균물질 주입에 따른 유기물의 거동을 나타낸 것이다. 유입 SCOD는 10,000 mg/L로 유기물 부하는 약 22.2 g/L · day, HRT는 9일로 운전하였다. 운전초기 항생항균물질을 투입 전 유출되는 SCOD는 약 500 mg/L로 약 95%의 유기물 제거효율을 나타냈으며, 제거된 유기물은 대부분 메탄가스로 전환되고 일부 세포합성에 소비된 것으로 판단된다. 운전개시 28, 35일에서 혼합항생항균물질 1, 10 mg/L을 주입하였는데 유기물 제거효율은 큰 영향을 나타내지 않았다. 그러나 운전기간 42일에서 혼합항생항균물질 50 mg/L을 주입하였을 때 유기물의 제거효율은 약 20% 정도 감소하는 경향을 나타내었으며, 이 후 서서히 회복되었다. 혼합항생항균물질 50 mg/L 주입 후 약 12일 동안 독성에 의한 저해영향이 관찰되었고 이후 정상상태(steady state)까지 도달하기 까지 약 30일 정도가 요구되는 것으로 나타났다. 이는 UASB 반응조의 수리학적 체류시간(HRT)이 9일이기 때문에 일시적으로 투입된 항생항균물질은 반응조의 체류시간동안 지속적인 저해 영향이 관찰되었고, 이 후 정상상태까지 회복되기까지 약 30일 정도로 반응조 체류시간의 3배 정도가 소요되는 것으로 나타났다. 혼합항생항균물질을 운전기간 84일에서 100 mg/L을 주입하였을 때 SCOD 제거율은 급격하게 감소하여 항생항균물질 투입 후 9일째 유출되는 SCOD는 약 4,475 mg/L로 55%의 제거율을 나타내었다. 이 후 SCOD 제거율이 70% 수준까지 회복되었으나 혐기성 반응조의 수리학적 체류시간 9일에 3배 이상인 약 40일 정도를 운전하여도 SCOD 제거율을 회복되지 않는 것으로 나타났다.

Fig. 5는 혼합항생항균물질 투입에 따른 바이오가스 발생량을 나타낸 것인데, 유기물 제거 거동과 비슷하였다. 항생항균물질 1, 10 mg/L에서는 바이오가스 생성에 영향을 미치지 않았으며, 50 mg/L를 주입하였을 경우 바이오가스 발생량이 약 25~30% 정도 감소하였다. 그러나 항생항균물질 50 mg/L을 주입하였을 때 약 30일 후에도 약 5% 정도의 바이오가스 생성량이 증가하였으나, 항생항균물질 주입전의 바이오가스 발생량으로는 회복되지 않았다. 혼합항생항균물질을 100 mg/L로 증가하여 주입하였을 때 약 2.2 L/day로 항생항균물질을 투입하지 않은 경우보다 약 85% 정도의 바이오가스가 감소하였고, 이 후 서서히 증가되어 일 평균 약 7.2 L/day의 바이오가스가 생산되었는데, 이는 대조군과 비교할 때 약 52% 수준으로 더 이상 회복되지 않았다.

상기의 유기물 제거 효율 및 바이오가스 발생량을 평가하였을 때 비교적 저농도의 항생항균물질 농도(1~10 mg/L)에서는 유기물 제거 및 바이오가스 생산에 영향을 미치지 않으나, 항생항균물질 50 mg/L 이상에서는 유기물 제거효율이 감소하였고, 수리학적 체류시간의 3배 정도에서 회복되었

으나 바이오가스 생성량은 회복되지 않았다. 이는 항생항균물질 투입 후 가수분해 및 메탄생성미생물에 급격하게 저해영향을 미치는데, 특히 메탄생성균의 경우 독성의 저해가 높은 것으로 판단된다. 따라서 연속 혐기성 소화조에서 항생항균물질에 의해 노출되었을 경우 안정적인 바이오가스를 회수하기 위해서는 메탄생성균 또는 혐기성 슬러지의 일부 또는 전체를 교체해야 할 것으로 판단된다.

잔류항생항균물질 농도 연속식 혐기소화조에 CTC, OTC, SMZ, TLS 4종의 혼합항생항균물질을 주입 후 잔류항생항균물질의 농도 변화를 조사하였다(Fig. 6). 항생항균물질 1 mg/L을 주입하였을 경우 혐기소화조 유출수에서 CTC, OTC, TLS는 검출되지 않았으며, SMZ의 경우 주입 6시간부터 운전기간 13일까지 약 0.28 mg/L 정도가 잔류되었다. 항생항균물질 10 mg/L를 주입하였을 경우 6시간 후 CTC 2.62, OTC 3.0, SMZ 1.28, TLS 6.39 mg/L가 잔류되었으며, SMZ와 TLS의 경우 수리학적 체류시간인 9일 이후에도 관찰되었다. 항생항균물질 50 mg/L에서는 6시간 후 CTC 3.91, OTC 23.64, SMZ 5.63 mg/L가 잔류하였고, TLS의 경우 40.6 mg/L가 잔류되는 것으로 나타났다. 항생항균물질 100 mg/L의 경우 6시간 후 CTC는 불검출되었으며, OTC 13.3, SMZ 3.39, TLS 16.9 mg/L가 잔류되었다. 혼합항생항균물질 농도가 높아질수록 OTC와 TLS의 잔류농도가 가장 높았으며, CTC와 SMZ의 경우 투입 직후 잔류량이 검출되지 않았다. 항생항균물질 주입 6시간을 기준으로 1 mg/L을 제외한 나머지 농도에서 항생항균물질 주입농도 대비 약 62~80% 정도가 검출되지 않았다. 이는 주입된 농도에 따라 약간의 차이는 있지만 반응초기에 혐기성공정내에서 CTC는 90% 이상, OTC 50~70%, SMZ 80~85%, TLS 20~70%가 독성으로 작용한 후 반응조 내 입자성 유기물질 및 미생물 대사 과정에서 생산되는 세포중합체(EPS, extracellular polymeric substances) 등에 흡착되거나, 소화온도(Massé *et al.*, 2000)에 의하여 불용화된 것으로 판단된다. 그러나 소화조내 항생항균물질의 경우 pH에 의한 불용화(Loftin *et al.*, 2005; Angenent *et al.*, 2008)나, 긴(22~44일) 수리학적 체류시간(Poels *et al.*, 1984; Chelliapan *et al.*, 2006)에 의해 항생항균물질이 저감되었다고 보고하였으나, 본 연구에서는 최적 메탄생성을 위한 pH 조건을 유지하기 위해 염기성인 NaHCO₃을 공급하였고, 소화조 체류시간도 9일로 짧았기 때문에 그 영향을 관찰하기 어려웠다. 또한 Arikan 등(2006)은 항생항균물질이 소화조내에서 다양한 형태의 화합물과 결합되어 독성을 유발한다고 보고하여 향후 혐기소화조내 항생항균물질의 미생물 생육 저해 메커니즘에 대한 세밀한 연구가 요구된다.

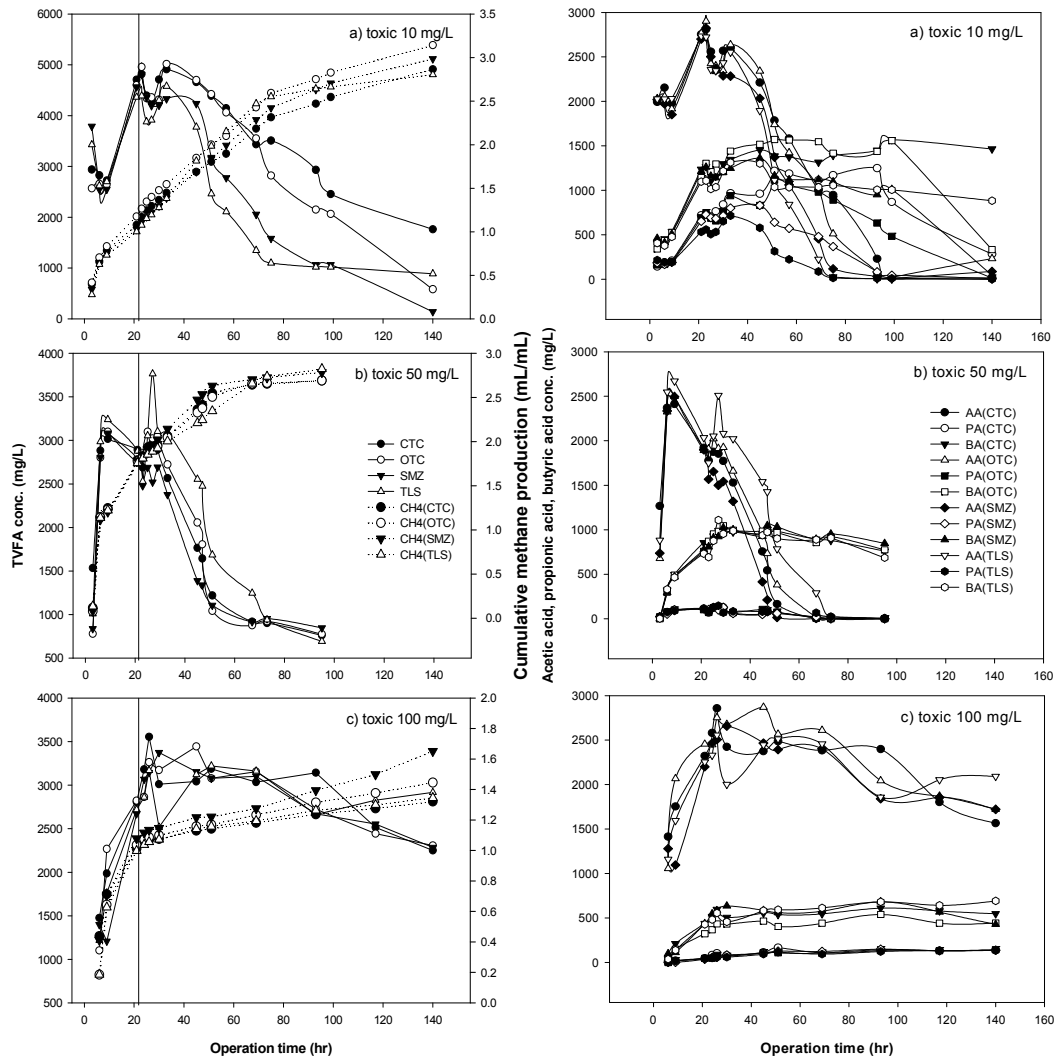


Fig. 3. Effects of antimicrobials(a: 10, b: 50, c: 100 mg/L) on methane production and VFAs in the batch reactor.

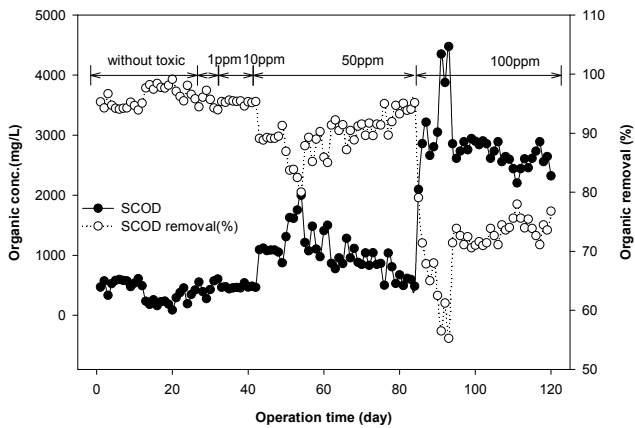


Fig. 4. Variations of organic concentrations during the anaerobic digestion operating periods.

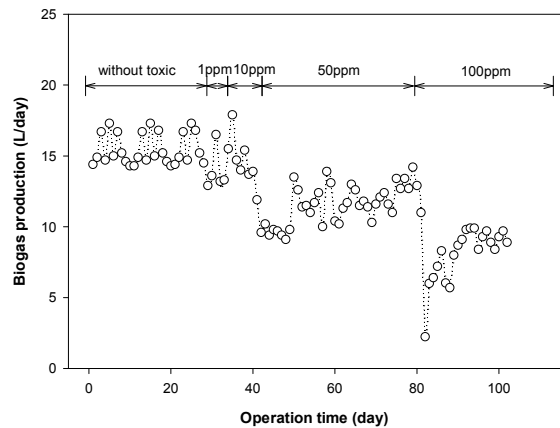


Fig. 5. Effects of antimicrobials on biogas production in the UASB reactor.

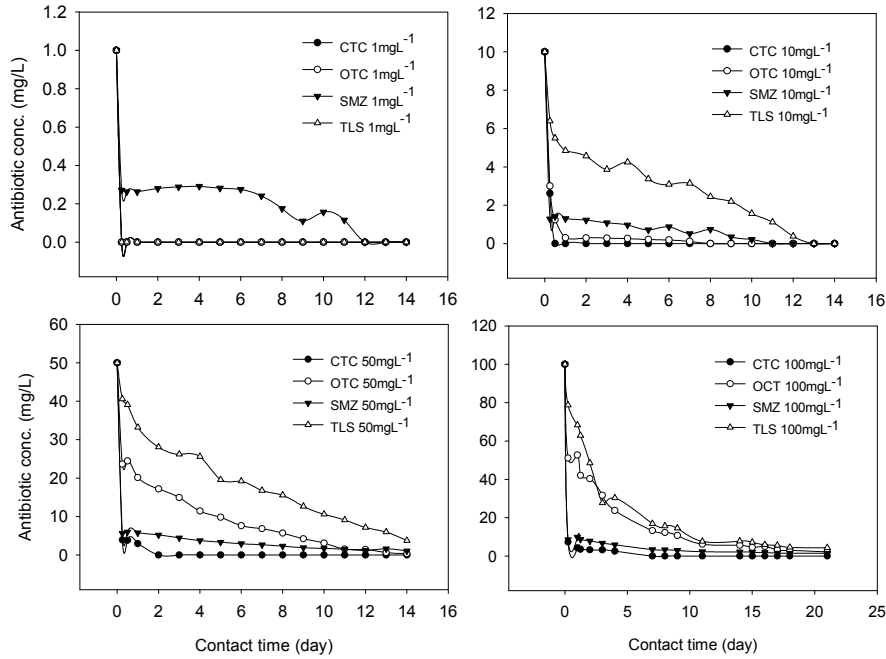


Fig. 6. Concentration of antibiotic residues in the UASB reactor.

요약

혐기성 소화 반응조에서 항생항균물질의 영향을 평가하기 위해서 회분식 및 연속식 실험을 통하여 biogas 발생량, 유기산 생성, 유기물 제거 거동 등을 관찰하였다. 회분식 조건에서 단일항생항균물질 1~10 mg/L에서는 저해 영향이 관찰되지 않았으며, 50 mg/L에서 일부 VFAs가 축적되었고 16~30%의 유기물 제거효율이 감소되었지만, 일시적 저해 영향 후 점차 안정되었다. 그러나 항생항균물질 100 mg/L에서 바이오가스 발생량이 48~58% 감소하였으며, VFAs가 메탄으로 전환되지 않고 축적되었다. 연속식 반응기에서 4종의 혼합항생항균물질을 1~10 mg/L 주입시 미생물에 대한 저해영향은 없었으며, 50 mg/L 주입시 30~40%의 메탄가스 발생량이 감소하였고, 이는 이론적 메탄발생량의 60~65% 수준이었다. 항생항균물질 100 mg/L 주입시 85% 감소한 약 2.2 L/day의 바이오가스가 발생하였으며, 서서히 회복하여 7.2 L/day까지 바이오가스가 발생하였으나 대조군 대비 52% 수준이상은 회복되지 않았다. 항생항균물질 50 mg/L에서는 독성 저해 후 반응조 체류시간의 3배인 약 30일 정도 후 유기물 제거효율 및 바이오가스 회수가 가능하였으나, 100 mg/L 주입 후 40일 후에도 유기물 제거효율 및 바이오가스 발생량은 낮은 수준이었다. 따라서 혐기성 소화조에 고농도 항생항균물질이 유입되어 저해영향이 관찰되었을 경우 소화슬러지의 일부 또는 전체를 교체해야 할 것으로 판단된다. 혼합항생항균물질을 10~100 mg/L까지 주입하였을 경우 잔류항생항균물질 농도는 주입 6시간 후 CTC 80~90%, OTC 50~70%, SMZ 80~90%, TLS 20~40%가 반응조내에서 독성으로 작용한 후 입자성 유기물이나 EPS

등에 흡착되거나 소화온도에 의하여 감소한 것으로 판단된다. 따라서 혐기성 처리를 이용한 공정에 고농도 항생항균물질이 포함된 유기성폐수가 유입되었을 경우 공정의 유지관리에 어려움을 줄 수 있으며, 혐기소화조 유출수내 잔류항생항균물질이 자연수계로 유입될 경우 2차 오염을 야기할 수 있기 때문에 항생항균물질의 사용의 적절한 관리가 요구되어진다.

감사의 글

This study was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No. PJ907236)", Rural Development Administration, Republic of Korea.

참고문헌

- Angenent, L.T., Mau, M., George, U., Zahn, J.A., Raskin, L., 2008. Effect of the presence of the antimicrobial tylosin in swine waste on anaerobic treatment, *Water Res.* 42, 2377-2384.
- APHA, 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. Washington, D.C.
- Arikan, O.A., Sikora, L.J., Mulbry, W., Khan, S.U., Rice, C., Foster, G.D., 2006. The fate and effect of oxytetracycline during the anaerobic digestion of

- manure from therapeutically treated calves, *Process Biochem.* 41, 1637-1643.
- Bonmati, A., Flotats, X., Mateu, L., Campos, E., 2001. Study of thermal hydrolysis as a pretreatment to mesophilic anaerobic digestion of pig slurry, *Water Sci. Technol.* 44(4), 109-116.
- Campos, J.L., Garrido, J.M., Mendez, R., Lema, J.M., 2001. Effect of two broad spectrum antibiotics on activity and stability of continuous nitrifying system, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 95, 1-10.
- Capleton, A.C., Carol, C., Paul, R., Philip, H., Edward, S., Alistair, B.A.B., Leonard, S.L., 2006. Prioritising veterinary medicines according to their potential indirect human exposure and toxicity profile, *Toxicol. Lett.* 163, 213-223.
- Chelliapan, S., Wilby, T., Sallis, P.J., 2006. Performance of an up-flow anaerobic stage reactor (UASB) in the treatment of pharmaceutical wastewater containing macrolide antibiotics, *Water Res.* 40(3), 507-516.
- Cho, M.K., Hung, T.T., Kim, D.H., Jia, Y.H., Oh, S.J., Ahn, D.H., 2007. A study on the effect of antibiotics usage to the efficiency of biological piggery wastewater treatment, *Korean J. Org. Res. Recycling Associ.* 15(1), 123-133.
- Fedler, C.B., Day, D.L., 1985. Anaerobic digestion of swine manure containing an antibiotic inhibitor, *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.* 28, 523-530.
- Hilpert, R., Winter, J., Hammes, W., Kandler, O., 1981. The sensitivity of archaebacteria to antibiotics, *Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. C2*, 11-20.
- Hobson, P.N., Shaw, B.G., 1976. Inhibition of methane production by *Methanobacterium formicum*, *Water Res.* 10, 849-852.
- Kumar, K., Gupta, S.C., Chander, Y., Singh, A.K., 2005. Antibiotic use in agriculture and their impact on the terrestrial environment, *Adv. Agron.* 87(1), 1-54.
- Kumar, K., Thompson, A., Singh, A.K., Chander, Y., Gupta, S.C., 2004. Enzyme-linked immunosorbent assay for ultratrace determination of antibiotics in aqueous samples, *J. Environ. Qual.* 33, 250-256.
- Lallai, A., Mura, G., Onnis, N., 2002. The effects of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry, *Bioresource Technol.* 82, 205-208.
- Lee, S.N., Hong, J.K., 2004. Analytical methods of antibiotics in food and aqueous sample, *Anal. Sci. Tech.* 17(6), 43A-58A.
- Loftin, K.A., Henny, C., Adams, C.D., Surampali, R., Mormile, M.R., 2005. Inhibition of microbial metabolism in anaerobic lagoons by selected sulfonamides, tetracyclines, lincomycin and tylosin tartrate, *Environ. Toxicol. Chem.* 24(4), 782-788.
- Massé, D.I., Lu, D., Masse, L., Droste, R.L., 2000. Effect of antibiotics on psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry in sequencing batch reactors, *Bioresource Technol.* 75, 205-211.
- Park, N.B., Park, S.M., Choi, W.Y., Jun, H.B., 2009. Methane production and nitrogen removal from piggery wastewater in the TPAD coupled with BNR process, *Korean Soc. Wat. Qual.* 25(1), 18-25.
- Park, W.K., Jun, H.B., Park, N.B., Kwon, S.I., Shin, J.D., Hong, S.G., 2011. Performance evaluation and characteristic study of the single anaerobic digestion from piggery slurry, *Korean J. Environ. Agric.* 30(1), 31-36.
- Poels, J., Vanassche, P., Verstraete, W., 1984. Effects of disinfectants and antibiotics on the anaerobic-digestion of piggery waste, *Agric. Wastes.* 9(4), 239-247.
- Sankvist, A., Hagelberg, M., Mathisen, B., 1984. Effect of antibiotics and chemotherapeutics on biogas production from piggery waste, *Bioenergy.* 84, 422-426.
- Thiele-Bruhn, S., 2003. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils-a review, *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 166, 145-167.
- Toshio, S., Zilles, J.L., Morgenroth, E., Raskin, L., 2008. Inhibitory effects of the macrolide antimicrobial tylosin on anaerobic treatment, *Biotechnol. Bioeng.* 101(1), 73-82.
- Van Lier, J.B., Tilche, A., Ahring, B.K., Macarie, H., Moletta, R., Dohanyo, M., Hulshoff Pol, L.W., Lens, P., Werstraete, W., 2001. New perspectives in anaerobic digestion, *Water Sci. Technol.* 43(1), 1-18.