



Residue and risk assessment of veterinary antibiotics in manure-based composts and agricultural soils

Min-Kyoung Paik¹ · Song-Hee Ryu² · Sung-Chul Kim³ · Young-Kyu Hong³ · Jin-Wook Kim³ · Jeong-Gyu Kim⁴ · Oh-Kyung Kwon⁴

가축분뇨 유래 퇴비 및 농경지 중 축산용 항생제의 잔류 및 위해성 평가

백민경¹ · 류송희² · 김성철³ · 홍영규³ · 김진욱³ · 김정규⁴ · 권오경⁴

Received: 5 May 2021 / Accepted: 9 June 2021 / Published Online: 30 June 2021
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2021

Abstract While veterinary antibiotics are used only in a part of the dose administered, the rest are excreted as urine or feces. Residual antibiotics enter the adjacent agricultural environments by spraying manure-based composts on farmlands and lead to secondary pollution. Therefore, it is necessary to develop the technique for post management such as regulatory levels of antibiotics in the agricultural environments. This study was conducted to compare by different matrices the amount of residual antibiotics such as tetracyclines and sulfonamides, which are known to be frequently used in Korea and to practice risk assessment by different antibiotics in soils before and after application of composts. Pre-treatment with modified typical method using buffer and solid phase extraction showed the recovery of composts and soils was more than 70% at ppb level and the limits of detection were 0.13-0.46 and 0.05-0.25 µg/kg,

respectively. Analysis of manure-based composts revealed concentrations from 5.38 to 196.0 µg/kg for tetracyclines, from below the detection of limit (BDL) to 259.0 µg/kg for sulfonamides. In case of agricultural soils, residual concentrations of selected veterinary antibiotics were ranged 0.30-53.3 µg/kg, BDL-4.16 µg/kg respectively and the concentration level of tetracyclines, which had higher soil distribution coefficient (Kd) values, was higher than that of sulfonamides. There was a difference in human risk assessment by different antibiotics in soil before and after application of composts. But, it was indicated that detection values of all of 5 antibiotics were very safe on the basis that Hazard Quotient was safe below 1.

Keywords Agricultural soils · Manure-based composts · Residue · Risk assessment · Veterinary antibiotics

Oh-Kyung Kwon (✉)
E-mail: okkwon@korea.ac.kr

¹Program Planning, Research Policy Bureau, RDA, Jeonju 54875, Republic of Korea

²Chemical Safety Division, NIAS, RDA, Wanju 53365, Republic of Korea

³Department of Bio-Environmental Chemistry, Chungnam National University, Daejeon 34134, Republic of Korea

⁴OJeong Resilience Institute, Korea University, 145 Anam-ro, Sungbuk-gu, Seoul 02841, 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.

서론

항생제 (Antibiotics)는 주로 인간과 가축의 질병예방 및 치료의 목적 외에 가축의 성장촉진용으로 많이 사용되고 있으며[1-3] 국내의 경우, 축산용 항생제 사용량은 2019년 903톤 (양돈 502톤)으로 지난 10년간 (2010-2019) 주로 판매된 것은 tetracycline, penicilline 및 sulfonamide 계열의 항생제로 조사되었다[4].

투여된 축산용 항생제는 일부만이 체내에서 대사가 이루어지며 나머지는 분뇨를 통해 체외로 배출되어 농업환경 중으로 유입되는 경우 2차 오염 등을 초래할 수 있다고 알려져 있다[5,6]. 가축분뇨를 활용하여 생산한 퇴액은 제조 과정 중 항생제 저감화가 이루어지지 않고 농경지에 사용되면 높은 항생제의 잔

류 농도를 나타낼 수 있다. 과다 살포되는 경우 강수에 의해 살포된 퇴·액비가 주변 환경으로 유입되어 잔류 항생제에 의한 오염 및 내성 박테리아 발현 등의 원인이 되고 있는 인체 및 생태계의 유해성 물질로 작용할 수 있다[7-9].

국내 가축분뇨 관리 현황은 농식품부는 자원화 (퇴·액비화) 중심의 가축분뇨 처리 정책을 추진해오고 있으며 최근에는 해양투기 금지, 사육두수 증가 등으로 공동자원화 시설을 확충하고자 하고 있다. 그러나 가축분뇨 자원화 시설로 생산된 퇴·액비의 경우 항생제 검사항목이 없으며 농자재와 토양 중 동물의약품 잔류허용기준 지침이 설정 되어 있지 않은 실정에 있다.

가축분뇨 유래 퇴·액비의 농경지 살포 후 농업환경으로 유입된 항생제가 식물 및 토양잔류로부터 인체 및 가축으로 노출되는 과정에서 항생제 이동 경로에 대한 과학적 평가가 요구되고 있으며, 항생제 분석기술 확립, 잔류 모니터링, 노출평가 및 경감기술 개발 연구를 통한 안전관리 체계 확립은 세계적인 추세이다.

따라서 농업환경 중 항생제 잔류분포, 위해성 평가, 저감화, 관리기준 설정 등 사후 관리 기술 개발이 요구됨에 따라 항생제 오염우려지역의 안전관리 지침 기초자료 제공을 위한 환경매체 별 잔류 모니터링 및 위해성 평가 등이 필요하다.

본 연구에서는 국내 사용빈도가 높은 것으로 알려진 tetracycline 및 sulfonamide 계열의 총 5종 항생제를 대상으로 가축분뇨 공동자원화 시설 생산 퇴비 및 농경지 중 축산용 항생제의 잔류 및 위해성 평가를 수행하였다. 또한 항생제의 잔류 모니터링과 위해성 평가 결과를 토대로 항생제 오염우려지역의 안전관리 지침 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료

본 연구의 분석 대상 항생제는 tetracycline (TC) 계열 3종 및 sulfonamide (SA) 계열 2종 등 총 5종을 사용하였다. 각 항생제 중 sulfamethazine (SMZ) (57-68-1 ≥99%), chlortetracycline hydrochloride (CTC) (64-72-2 ≥90%), TC (tetracycline hydrochloride)(67-75-5 ≥98%), oxytetracycline hydrochloride (OTC) (2058-46-0 ≥95%)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였고, sulfathiazole (STZ) (72-14-0 ≥98%), 723-46-6 ≥97%)은 FLUKA (Ronkonkoma, NY, USA)의 제품을 사용하였다. 시료 추출용매로 사용된 메탄올 (DAEJUNG, Siheung, Korea)과 아세트나이트릴(DAEJUNG)은 HPLC 등급을 사용하였다. 고형상 추출법(solid phase extraction, SPE)에 사용된 카트리지는 Oasis HLB 카트리지(Waters, 30 cc, 60 mg, Milford, MA, USA)를 사용하였으며, 내부 표준물질로는 Accustandard사의 Simeton (673-04-1, 100 µg mL⁻¹, New Haven, CT, USA)을 사용하였다.

시료채취 및 전처리

가축분뇨 활용 퇴비 및 농경지 토양 중 잔류 항생제를 모니터링 하기 위해 퇴비는 전북 익산, 김제, 장수 및 완주(7지점), 충남 논산(1지점), 경북 봉화(4지점) 및 강원도 평창 지역(4지점)

에서 농경지에 사용하기 전 가축분뇨 공동자원화 시설 생산 제품의 시료(16점)를 채취하였다. 토양의 경우 전북 익산, 김제, 장수 및 완주 (14지점) 및 충남 논산(1지점) 지역의 농경지에서 퇴비를 사용하기 전인 3월(15점)과 사용 후의 10월(15점)에 시료(총 30점)를 채취 하였다. 토양 시료는 표층의 유기물을 제거한 후 휴대용 토양채취기를 이용하여 0-15 cm의 토양을 채취하였다. 각 지점별 대표 시료는 시료 채취 지점 100 m²내에서 5 군데의 토양을 채취한 후 하나의 시료 채취 용기에 합하여 만들었다. 채취된 퇴비와 토양은 아이스팩이 담긴 아이스박스에 담은 후 실험실로 운반되었으며 실온(18-20 °C)의 암조건에서 수분함량이 5% 미만이 될 때까지 약 3-5일 풍건한 후 파쇄 및 2 mm로 체거름하여 4 °C에서 냉장 보관하였다.

퇴비 및 토양의 화학적 특성 분석

퇴비 및 토양의 pH와 전기전도도(EC)는 파쇄 퇴비와 풍건 토양 10 g에 증류수 50 mL 및 100 mL을 각각 가하여 1시간 진탕 하고 Whatman No. 2 (Whatman, Maidstone, UK)로 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 1N K₂Cr₂O₇을 가하여 반응시킨 후 UV/Vis Spectrophotometer (UV 240, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 파장 610 nm에서 비색 정량하였다.

시료 추출, 정제 및 농축

퇴비와 토양 내 잔류 항생제 추출 및 농축 방법은 선행 연구 결과를 이용하였다[10]. 퇴비 및 토양시료를 암조건에서 풍건시켜 2 mm 체거름 한 후 시료 1.0 g을 원심분리기용 튜브에 칭량한 후 튜브에 McIlvain buffer 20 mL, 5% EDTA 250 µL를 넣은 후 진탕기를 사용하여 150 rpm에서 15분 간 진탕하였다. 진탕된 시료를 원심분리기를 이용하여 15분 간 4,000 rpm으로 원심분리 후 상등액은 250 mL 삼각 플라스크에 옮겨 담았다. 상등액을 분리하고 남은 시료는 위 추출방법과 동일하게 1회 반복(총 2회 추출)하여 같은 삼각 플라스크에 수집 후 추출된 상등액 약 40 mL를 0.45 µm Cellulose Acetate Membrane Filter (Advantec, Tokyo, Japan)로 감압여과 후 증류수를 넣어 총량이 120 mL가 되도록 한 후 추출된 완충용액의 정제와 matrix effect의 감소를 위해 고형상 추출법(SPE)을 사용하였다.

고형상 추출법은 고형상 추출 카트리지(OASIS[®])를 vacuum manifolds에 설치하고 methanol, 0.5N HCl, HPLC용 water를 각각 3 mL 용출하였다. Teflon tube (Supelco[®])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.

기기분석 조건 설정

항생제 분석에 사용된 기기는 High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometer (HPLC/MS/MS, 4000 Q trap, ABSCIEX, Framingham, MA, 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)

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

Classification	Agilent 1200 High performance liquid chromatograph-API 4000 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%
MS/MS	Mode	Electronic Spray Ionization (ESI)	
	Drying and Nebulizer gas	10.0 L/min	
	Drying gas temperature	350 °C	
	Capillary Voltage	5,500 V	
			11 min: A 0% + B 100%
		11.1 min: A 90% + B 10%	
		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	
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	

Table 3 Parameters for assessment exposure by consumption and dermal route of antibiotics in soils

Parameters	Factors			Classification	
	Factor	Abbreviation	Unit	Adults	Children
1	Consumption Ratio of Soil	CRs	mg/day	50	118
2	Soil-Dermal Absorption Coefficient	AF	mg/cm ²	0.07	0.2
3	Surface Area for Soil Exposure	SAe	cm ² /day	4,271	1,828
4	Exposure Duration	ED	years	25	6
5	Bodyweight	BW	kg	62.8	16.8
6	Average Time	AT	days	28,689	
7	Exposure Frequency	EF	days/year	350	100
				(Agricultural/Residential Area)	(Commercial/Industrial Area)

에 따른 생성이온(product ion)을 확인하였고, collision energy와 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 회수를 검정을 실시하였다. 회수를 검정을 위해 대조구(항생제가 들어있지 않은 순수한 증류수)를 전처리 한 후 항생제를 인위적으로 spiking하는 시점을 각각 SPE 전과 후로 달리하였다. 회수를 용 시료는 각각의 농도에 SPE 전, 후 spiking하는 시료 2개씩 4개, 바탕시료 1개를 포함한 5개를 준비하였다. 회수율에는 항생제 계열 별로 표준 용액을 0.1 mg L⁻¹과 1 mg L⁻¹로 조제하여 실시하였다. 회수율 검정은 공식 (1)과 같이 구하였다.

회수율 (%)

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

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.

토양 중 잔류 항생제의 위해성 평가 방법

Tetracycline 등 5종의 항생제별 토양 중 잔류 모니터링 자료 중 불검출(<LOQ)은 1/2 LOQ 값을 적용하였으며 토양 섭취 및 접촉에 따른 노출량은 환경부의 토양오염물질 위해성 평가 지침

(환경부고시 제2015-64호)을 산출근거로 성인과 어린이에 대해서, 농경/거주지역과 산업/상업지역으로 구분하여 평가하였다(Table 3). 위해성 평가를 위해 인체 독성기준치인 일일섭취허용량(acceptable daily intake, ADI)은 WHO/FAO (2000) 및 Schwab 등[11]의 자료를 인용하여 tetracycline, chlortetracycline, oxytetracycline은 0.03 mg/kg bw/day, sulfathiazole과 sulfamethazine의 경우 0.05 mg/kg bw/day를 적용하였다.

확률적 평가방법은 Monte Carlo Simulation 적용을 위해 Crystal Ball® (Decisioneering Co., USA)을 사용하였다. 위해성은 HQ (hazard quotient)이 1.0 이하면 안전한 것으로 평가하였다.

결과 및 고찰

퇴비 및 토양의 화학적 특성

퇴비 시료의 화학적 특성은 Table 4와 같다. 퇴비의 pH는 6.89-9.91의 중성 및 약알칼리 특성을 보여주었으며 전기전도도(EC)는 1.57-7.11 mS cm⁻¹의 범위를 나타내었다. 유기물의 함량은 비료공정규격 설정 및 지정(농촌진흥청고시 제2016-26호)의 가축분뇨 퇴비 품질기준(30% 이상)을 충족시켰다.

토양의 경우 Table 5에 나타난 바와 같이 퇴비 시용 이전의 3월에 채취한 시료의 pH는 5.10-7.26의 약산성 이었으며 10월 시료는 5.09-7.61의 범위로서 전반적으로 지역별 논토양과 완주 지역의 발토양pH 값이 증가하는 경향을 나타내었다. EC는 3월 시료는 0.24-3.06 mS cm⁻¹, 10월 채취 시료는 0.26-1.70 mS cm⁻¹ 범위로 조사되어 대부분 적정 EC인 2 mS cm⁻¹ 이하 범위를 나타냈다.

Table 4 Chemical properties of monitored manure-based composts

Classification	pH	EC (μs/cm)	OM (%)	Classification	pH	EC (μs/cm)	OM (%)
I-C1	9.45	7.01	72.1	B-C1	8.56	7.11	79.0
K-C1	7.08	6.55	61.9	B-C2	7.18	5.98	87.2
J-C1	6.89	5.73	81.0	B-C3	7.57	2.80	84.9
N-C1	9.90	3.90	90.3	B-C4	9.91	6.32	86.2
W-C1	8.71	7.06	78.7	P-C1	7.46	5.94	87.6
W-C2	9.47	6.98	83.5	P-C2	9.75	4.35	90.7
W-C3	9.67	3.51	81.9	P-C3	8.14	3.63	88.6
W-C4	9.68	5.54	78.2	P-C4	7.15	1.57	85.3

Table 5 Chemical properties of monitored soils before and after application of composts

Classification	pH	EC (ms/cm)	OM (%)
I-S1	6.17 (6.55)	1.0 (0.34)	5.70 (4.95)
I-S2	5.95 (5.09)	0.43 (0.53)	3.20 (1.14)
I-S3	6.47 (6.26)	0.32 (0.35)	2.60 (2.39)
K-S1	6.49 (6.51)	1.16 (1.02)	4.60 (4.51)
K-S2	5.40 (6.56)	3.06 (1.70)	2.50 (2.69)
K-S3	6.66 (6.57)	0.33 (0.36)	4.20 (4.71)
J-S1	5.88 (6.24)	0.62 (0.58)	5.50 (3.50)
J-S2	7.26 (7.15)	0.56 (0.55)	5.80 (3.93)
J-S3	6.50 (5.96)	1.45 (1.57)	5.70 (6.64)
J-S4	6.73 (6.98)	0.64 (0.81)	3.70 (6.71)
N-S1	5.10 (5.30)	0.24 (0.52)	2.20 (3.07)
W-S1	5.57 (7.00)	0.24 (0.94)	2.80 (3.14)
W-S2	5.62 (7.61)	0.65 (0.32)	0.40 (1.60)
W-S3	6.50 (7.29)	0.31 (0.26)	2.10 (1.80)
W-S4	6.25 (7.40)	0.38 (0.49)	3.60 (2.18)

Table 6 Recovery ratio and limit of detection (LOD) of selected antibiotics by different matrices

Classification	Compost		Soil	
	Recovery (%)	LOD (µg/kg)	Recovery (%)	LOD (µg/kg)
Tetracycline (TC)	72	0.20	83	0.19
Chlortetracycline (CTC)	78	0.06	74	0.25
Oxytetracycline (OTC)	84	0.34	83	0.24
Sulfamethazine (SMZ)	94	0.13	75	0.05
Sulfathiazole (STZ)	83	0.46	72	0.09

잔류 항생제의 분석 QA/QC

퇴비 및 토양 시료에 대한 항생제 분석의 회수율 및 검출한계 (limits of detection; LOD)에 대한 정보는 Table 6과 같다. 퇴비 및 토양의 회수율 범위는 각각 72-90, 72-94%로서 적정범위(70-130%)를 보여 주었다. 검출 한계는 0.05-0.24, 0.05-0.46 µg kg⁻¹ 범위를 나타내어 퇴비 및 농경지 토양 중 잔류 항생제의 충분한 검출 한계로 조사되었다.

퇴비 중 잔류 항생제 분석

가축분뇨를 활용하여 생산한 퇴비 중 항생제 잔류 농도 범위는 TC 계열이 5.38-196.0 µg/kg, SA계열의 경우 ND-259.0 µg/kg 수준으로 토양보다 더 높은 잔류수준을 보여 주었다(Table 7). 모든 시료에서 검출된 TC 계열 중 chlortetracycline의 잔류 농도 수준이 19.8-196.0 µg/kg으로서 가장 높은 검출 수준을 나타냈다.

국외 연구의 경우 Martinez-Carballo 등[5]은 오스트리아에서 채취한 돼지 액체 분비물에서 TC계열 중 chlortetracycline이 가장 높은 잔류농도를 나타내어 100-46,000 µg/kg의 농도 범위로 검출되었다고 보고하였다. 이는 본 연구의 chlortetracycline 잔류실태와 같은 경향을 보였다.

Table 7 Monitoring results of selected veterinary antibiotics in manure-based composts (µg/kg, ppb)

Classification	Tetracyclines			Sulfonamides	
	TC	CTC	OTC	SMZ	STZ
I-C1	16.3	78.6	56.5	16.4	130.0
K-C1	9.17	38.1	5.38	13.8	52.7
J-C1	6.57	32.4	13.1	5.12	3.83
N-C1	6.59	27.0	10.4	3.69	1.40
W-C1	4.87	8.22	22.4	4.19	18.3
W-C2	4.65	20.7	17.3	7.01	38.0
W-C3	8.20	38.3	24.5	4.35	20.4
W-C4	38.7	196	38.1	23.7	259.0
B-C1	23.6	85.8	25.1	12.0	86.9
B-C2	10.6	39.1	10.1	4.50	ND
B-C3	13.3	59.5	11.5	1.15	ND
B-C4	6.63	19.8	21.1	1.87	ND
P-C1	7.02	33.5	8.51	ND	24.0
P-C2	17.9	59.5	14.6	2.41	ND
P-C3	12.0	67.7	8.42	ND	ND
P-C4	8.62	32.5	7.54	0.23	ND

농경지 토양 중 잔류 항생제 분석

농경지 토양 중 항생제 잔류 농도는 분자구조 상 수산화(-OH), 아미노(-NH₂), 그리고 케톤(-CO)과 같은 작용기가 있어서 토양 유기물을 결합체로 하여 양이온 교환과 같은 메커니즘으로 토양 입자에 흡착하여 잔류하는 특성의[12] TC 계열이 0.30-53.3 µg/kg 수준으로 4-aminophenylsulfonamide 형태를 가지고 있어 토양에 흡착되기 보다는 이동이 쉬운[14,15] SA계 화합물 (ND-3.08 µg/kg)보다 높은 잔류 경향을 나타냈다(Table 8). 또한 TC계열 중 잔류성이 높은 것으로 알려진 chlortetracycline이 1.70-53.3 µg/kg의 가장 높은 농도 수준 범위를 나타냈다.

농업환경 중 항생제의 이동 특성은 흡착성에 따라 좌우되며 항생제의 토양에 대한 흡착작용에 의해 이동성이 저하되어 그 결과 지하수 및 지표수로의 용탈이 감소된다. 일반적으로 토양 흡착(분배) 정도를 나타내는 토양-물 분배계수(Kd)의 주요 요인은 유기물 및 점토 함량, 토성, 이온성 화합물에 대한 pH 등으로 알려져 있다[1,16,17]. TC계열 항생제는 흡착성이 높아서 용탈 이동성이 감소되는데 chlortetracycline항생제의 경우 퇴비 중 잔류 농도가 401 µg/kg, 퇴비 시용 표토(0-30 cm)에서 87 µg/kg, 40 cm 깊이의 토양은 55 µg/kg를 나타내어 토양 깊이가 증가할수록 이동성이 감소하였다[18]. 토양에 잔류하는 항생제는 양이온 교환(cation exchange), 표면 결합(surface complexation), 그리고 수소결합(hydrogen bonding)과 같은 메커니즘에 의해 토양 표면에 흡착되며 항생제의 특성(친수성, 소수성, 이온화, 작용기)에 따라 토양 입자와의 흡착력이 결정된다고 하였다[19]. 특히 TC계열의 항생제는 극성을 띠는 작용기(-COOH, -C=O, -CONH, -N(CH₃)₂, -OH)를 포함하고 있어 토양 내 2가 양이온과 강하게 결합하는 특성으로 인해 다른 계열의 항생제에 비해 흡착력이 강해서 토양 내 잔류 특성이 높았다[2,20]. Sulfonamide 계열의 항생제는 분자 구조상 이온화 되기 쉬운 2개의 구조(염

Table 8 Residual concentrations of veterinary antibiotics in soils before and after application of composts ($\mu\text{g}/\text{kg}$, ppb)

Classification	Tetracyclines			Sulfonamides	
	TC	CTC	OTC	SMZ	STZ
I-S1	4.30 (0.56)	6.69 (2.25)	3.26 (0.89)	1.28(ND)	ND (3.0)
I-S2	7.67 (0.30)	53.3 (1.70)	9.36 (0.71)	1.30 (0.71)	0.28 (3.09)
I-S3	3.29 (0.39)	5.24 (2.03)	2.76 (0.93)	0.83 (ND)	ND (2.89)
K-S1	5.98 (0.69)	15.7 (3.17)	8.70 (1.04)	0.59 (ND)	ND (2.80)
K-S2	3.62 (0.51)	5.28 (2.21)	3.30 (1.03)	0.94 (ND)	ND (2.85)
K-S3	5.41 (0.54)	13.0 (1.95)	8.85 (1.25)	0.77 (ND)	ND (2.78)
J-S1	2.65 (0.80)	2.51 (2.52)	1.71 (1.05)	0.56 (ND)	ND (2.86)
J-S2	6.58 (0.38)	11.3 (1.74)	10.5 (0.80)	0.63 (ND)	ND (2.82)
J-S3	6.50 (0.56)	11.3 (1.71)	10.5 (1.05)	0.63 (ND)	ND (2.89)
J-S4	3.17 (0.69)	3.18 (2.38)	2.92 (1.14)	0.55 (ND)	ND (2.98)
N-S1	3.67 (1.95)	6.42 (5.09)	2.93 (2.38)	3.08 (1.05)	0.53 (4.16)
W-S1	7.39 (0.47)	12.3 (2.18)	12.4 (0.99)	0.75 (ND)	ND (2.84)
W-S2	2.42 (4.81)	1.73 (5.46)	1.53 (8.38)	0.59 (ND)	ND (2.88)
W-S3	2.94 (3.87)	3.15 (4.26)	2.78 (6.08)	0.30 (ND)	ND (2.83)
W-S4	8.92 (3.98)	18.8 (4.86)	9.02 (7.08)	ND (ND)	ND (2.87)

기성의 4-아미노 방향족과 산성 설펜아미노 작용기)로 되어 있어 일반적으로 토양 흡착력이 낮다고 보고되었다[1]. 또한 킬레이트화 능력과 흡착계수가 낮고 높은 수용성의 특성으로 인해 가장 이동성이 큰 항생제로 평가되고 있다[21-23]. 이와 같은 특성들은 본 실험의 항생제 잔류특성과 같은 경향을 보여 주었으며 TC 계열 중 가장 높은 농도 범위를 나타낸 chlortetracycline의 경우 1.70-53.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 수준인 반면에 sulfonamide계열의 항생제는 미량 농도 수준으로 잔류하고 검출비율 또한 낮았다는 것을 알 수 있었다.

Martinez-Carballo 등[5]에 따르면 오스트리아의 동물 분뇨 및 농경지 중 항생제 잔류 모니터링 결과 tetracycline의 사용 처방을 받지 않은 축산 농가의 분뇨 시료에서 tetracycline이 검출되었으며 독일에서 Winckler 등[24]의 연구에서도 유사한 결과가 보고되었다. 이들 결과로부터 chlortetracycline이나 oxytetracycline을 사용한 경우에만 tetracycline이 검출되었으며 이와 같은 항생제를 처방하지 않은 농가의 시료에서는 불검출 되었다는 결론을 유도할 수 있었다. 이러한 결론을 통해 문헌상 알려지지 않았지만 chlortetracycline 혹은 oxytetracycline이 tetracycline으로 분해 가능성이 있는 것으로 유추할 바 있다[5]. 본 연구의 결과에서도 국내에서 지난 10년 이상(2010-2019) tetracycline이 축산용 항생제로 판매된 적이 없었으나 chlortetracycline 및 oxytetracycline과 함께 검출되었으며 이에 대한 chlortetracycline과 oxytetracycline의 퇴비 및 토양 중 분해 대사 작용과 관련해서 보다 면밀한 검토가 필요한 것으로 판단된다.

퇴비 사용 전 및 후 농경지 토양 시료의 위해성 평가

퇴비 사용 전과 사용 후의 농경지 토양 중 항생제 5종에 대해 토양 섭취 및 접촉경로를 모두 합한 우리나라 국민의 지역별(농경/거주, 상업/산업), 연령별(어른, 어린이) 노출량을 확인하고 위해도(HQ)를 산정한 결과 중앙값(median) 및 95%tile(상위 5% 값)에서도 사용 전과 사용 후 모두 2.43×10^{-6} 및 5.25×10^{-7}

이하로 매우 안전한 것으로 나타났다.

퇴비 사용 전과 후의 토양을 통한 항생제의 인체 위해도(HQ) 변화

퇴비 사용 전 대비 사용 후의 토양을 통한 5종 항생제의 위해성을 살펴본 결과는 Fig. 1 및 Fig. 2와 같다. Sulfathiazole의 위해도는 어른 연령에서 중앙값이 사용 전 $6.69 \times 10^{-9} \sim 2.33 \times 10^{-8}$, 사용 후 $2.92 \times 10^{-8} \sim 1.01 \times 10^{-7}$ 의 범위를 보여주었고, 어린이 연령은 사용 전 $8.33 \times 10^{-9} \sim 2.91 \times 10^{-8}$, 사용 후 $3.47 \times 10^{-8} \sim 1.21 \times 10^{-7}$ 으로서, 극단노출군(95% tile)의 경우에도 중앙값과 큰 차이를 보이지 않았다.

사용 전 대비 사용 후의 위해성의 변화를 살펴보면, 어린이에서 4.2배(중앙값), 어른에서 4.4배(중앙값) 증가하였다. 극단노출군(95% tile)의 경우에도 중앙값도 위해도의 범위가 중앙값과 크게 다르지 않았고, 어린이 2.98배 어른 3.2배로 증가하는 경향을 보였다. 반면, sulfathiazole을 제외한 4종 항생제는 퇴비 사용 후에 위해도가 모두 0.5배(중앙값) 수준으로 감소하였으며, 극단노출군의 경우에도 최고 0.7배 수준으로 감소하였다.

즉, 퇴비 사용 전후의 토양의 항생제에 대한 인체 위해도는 항생제 종류에 따른 차이가 있었으나, 전체 HQ가 1 이하로 5종 모두 인체 위해성이 매우 낮았으며 퇴비 사용이 토양의 항생제에 대한 인체 위해성에 미치는 영향은 미비한 것으로 판단되었다.

초 록

축산용 항생제는 투여된 양의 일부만이 체내에서 사용되며 나머지는 분뇨로 배출되며 이를 활용한 퇴비를 농경지에 살포함으로써 농업환경에 유입되어 2차 오염 등을 초래하고 있다. 따라서, 농업환경 중 항생제 관리기준 설정 등 사후 관리 기술이 필요하다. 본 연구는 국내 사용빈도가 높은 것으로 알려진

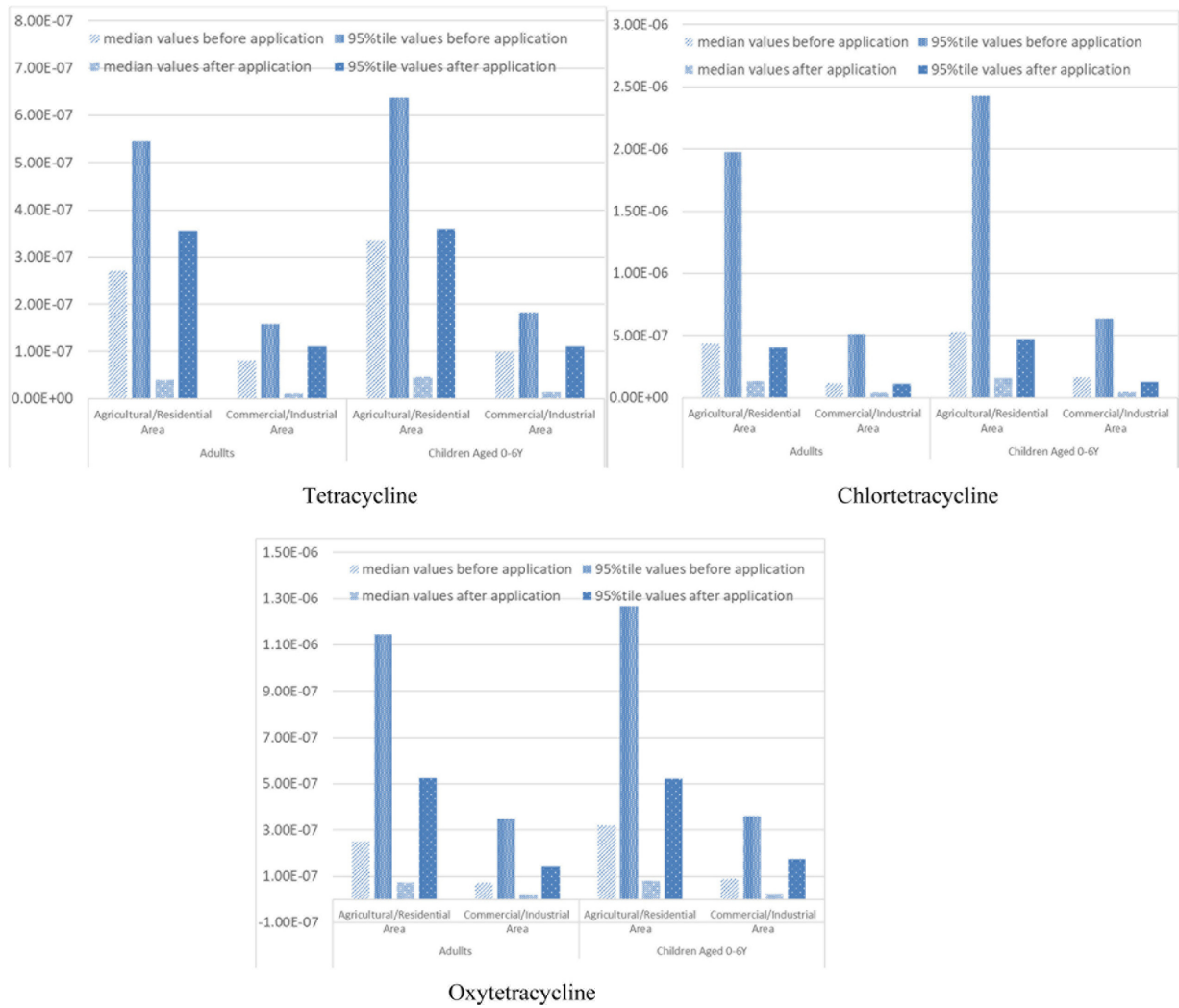


Fig. 1 Change of Hazard Quotient (HQ) of tetracyclins in soils before and after application of composts

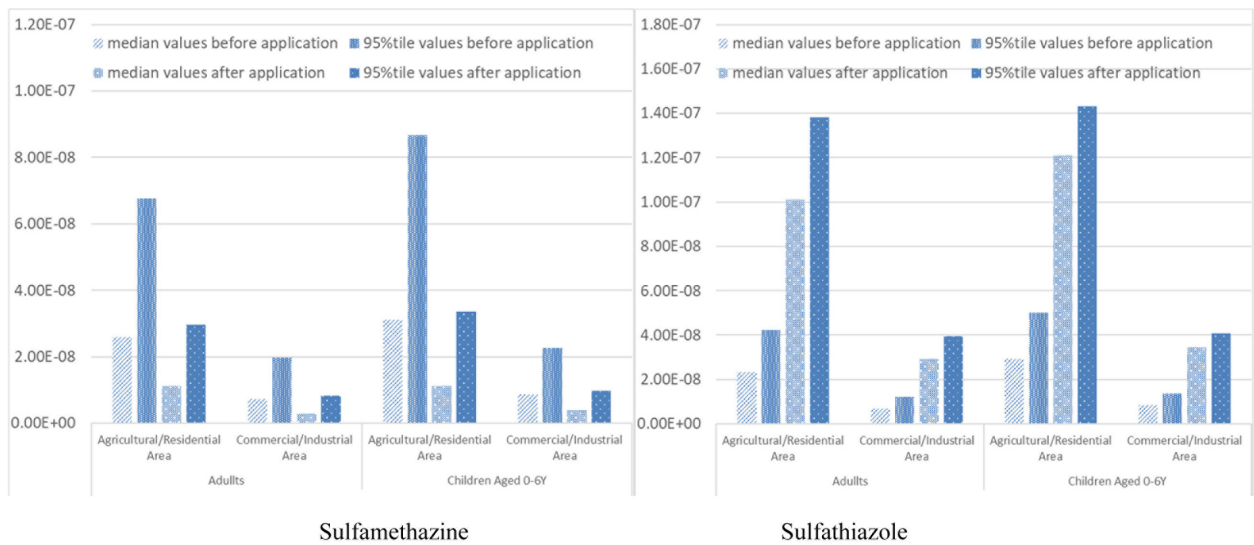


Fig. 2 Change of Hazard Quotient (HQ) of sulfonamides in soils before and after application of composts

tetracycline 및 sulfonamide 계열 등의 항생제를 대상으로 매체별 잔류량을 비교하고 퇴비 시용 전·후 농경지 토양 중 잔류 항생제의 위해성을 평가하기 위하여 수행되었다. Buffer 및 SPE를 사용한 전처리 방법은 ppb 수준에서 70% 이상의 회수율을 나타냈으며, 검출한계(LOD)의 범위는 퇴비와 토양에서 각각 0.13-0.46 µg/kg과 0.05-0.25 µg/kg이었다. 잔류 항생제 분석결과 퇴비 중 tetracycline 계열 항생제의 잔류 농도는 5.38-196.0 µg/kg, sulfonamide 계열은 below the detection of limit (BDL)-259.0 µg/kg 수준으로 검출되었다. 농경지 토양의 경우 각각 0.30-53.3 µg/kg, BDL-4.16 µg/kg의 잔류 수준을 나타냈으며 토양분배계수(Kd) 값이 높은 tetracycline 계열 항생제의 잔류 농도가 sulfonamide 계열보다 높았다. 퇴비 시용 전·후의 농경지 토양의 항생제에 대한 인체위해도는 항생제 종류에 따른 차이가 있었으나, 전체 HQ가 1 이하에서 안전하다는 기준에 의하면 조사된 항생제 5종 모두 인체 위해성이 매우 낮았으며 시용 전·후의 영향이 전체 위해도에 미치는 비율을 고려하면, 퇴비 시용이 토양의 항생제에 대한 인체위해성에 미치는 영향은 미비한 것으로 판단되었다.

Keywords 농경지 · 위해성 평가 · 잔류 · 축산분뇨 유래 비료 · 축산용 항생제

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

References

- Pikkemaat MG, Yassin H, van der Fels-Klerx HJ, Berendsen BJA (2016) Antibiotic Residues and Resistance in the Environment. RIKILT Wageningen UR (University & Research) RIKILT report (No. 2016.009): 32
- 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
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (2020) Press release: Consumption of veterinary antibiotics in Korea. Sejong
- Martinez-Carballo E, Conzalez-Barreiro C, Scharf Sigrid, Gans Oliver (2007) Environmental monitoring study 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 environmentally relevant bacteria, including selected tetracycline-resistant bacteria. *Arch Environ Contam Toxicol* 42:263–271. doi: 10.1007/s00244-001-0017-2
- 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
- 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
- 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. Land Development Department Bangkok Thailand, Bangkok
- Kim HR, Park SB, Kim SC (2017) Monitoring of antibiotics in the soil and sediment near at the animal feeding operation and waste water treatment plant. *Korean J Soil Sci Fert* 50(4):285–292. doi: 10.7745/KJSSF.2017.50.4.285
- Schwab BW, Hayes EP, Fiori JM, Mastrocco FJ, Roden NM, Dragin D, Meyerhoff RD, D'Aco VJ, Anderson PD (2005) Human pharmaceuticals in US surface waters; A human health risk assessment. *Regul Toxicol Pharmacol* 42: 296–312. doi: 10.1016/j.yrtph.2005.05.005
- Ye ZL, Deng Y, Lou Y, Ye X, Zhang J, Chen S (2017) Adsorption behavior of tetracyclines by struvite particles in the process of phosphorus recovery from synthetic swine wastewater. *Chem Eng J* 313: 1633–1638. doi: 10.1016/j.ccej.2016.11.062
- Li Y, Wang H, Liu X, Zhao G, Sun Y (2016) Dissipation kinetics of oxytetracycline, tetracycline, and chlortetracycline residues in soil. *Environ Sci Pollut Res* 13822–13831. doi: 10.1007/s11356-016-6513-8
- Zhao F, Chen L, Yang L, Li S, Sun L, Yu X (2018) Distribution, dynamics and determinants of antibiotics in soils in a peri-urban area of Yangtze River Delta, Eastern China. *Chemosphere* 211: 261–270. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.07.162
- Kim JR, Kan E (2016) Heterogeneous photocatalytic degradation of sulfamethoxazole in water using a biochar-supported TiO₂ photocatalyst. *J Environ Manag* 180: 94–101. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.05.016
- Wegst-Uhrich SR, Navarro DA, Zimmerman L, Aga DS (2014) Assessing antibiotic sorption in soil: a literature review and new case studies on sulfonamides and macrolides. *Chem Cent J* 8:5. doi: 10.1186/1752-153X-8-5
- World Health Organization (2014) Antimicrobial resistance: global report on surveillance. <http://www.who.int/drugresistance> on 19-05-2014. Accessed 19 Sep 2014
- Aust MO, Godlinski F, Travis GR, Hao X, McAllister TA, Leinweber P, Thiele-Bruhn S (2008) Distribution of sulfamethazine, chlortetracycline and tylosin in manure and soil of Canadian feedlots after sub-therapeutic use in cattle. *Environ Pollut* 156:1243–1251. doi: 10.1016/j.envpol.2008.03.011
- Zhou D, Chen B, Wu M, Liang N, Zhang D, Li H, Pan B (2014) Ofloxacin sorption in soils after long-term tillage: the contribution of organic and mineral compositions. *Sci Total Environ* 497–498: 665–670. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.07.130
- Gu C, Karthikeyan KG, Silbley SD, Pederson JA (2007) Complexation of the antibiotic tetracycline with humic acid. *Chemosphere* 66: 1494–1501. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.08.028
- Sukul P, Spittler M (2006) Sulfonamides in the environment as veterinary drugs. *Rev Environ Contam Toxicol* 187: 67–101
- Boxall ABA, Kolpin DW, Halling-Sorensen B, Tolls J (2003) Are veterinary medicines causing environmental risks? *Environ Sci Technol* 37: 286A–294A. doi: 10.1021/es032519b
- Tolls J (2001) Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review. *Environ Sci Technol* 35(17): 3397–3406. doi: 10.1021/es0003021
- Winckler C, Engels H, Hund-Rinke K, Luckow T, Simon M, Steffens G (2003) Verhalten von Tetracycline und anderen Veterinarantibiotika in Wirtschaftsdunger und Boden. *UFOPLAN* 200 73 248, Berlin