

과제구분	기본연구	수행시기		전반기	
연구과제 및 세부과제		연구분야	수행기간	연구실	책임자
안전농산물 생산을 위한 유해물질 경감 연구		농업환경	'11~'12	농업기술원 환경농업연구과	노안성
가축분뇨 퇴·액비의 항생물질 실태조사		농업환경	'11~'12	농업기술원 환경농업연구과	노안성
색인용어	가축분퇴비, 항생물질, 클로로테트라사이클린				

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 soil and composting process of livestock manure. Therefore, this study was conducted to investigate the concentration of antibiotics in the 70 livestock compost and liquid livestock compost of collected 4 manufacturing plants in Gyeonggi province. Specifically, the following four antibiotics were monitored : Chlortetracycline (CTC), Oxytetracycline (OTC), sulfamethazine (SMT), Tylosin (TYL). The concentration of CTC antibiotics ranged from below the detection limit(BDL) to 2.069mg kg⁻¹ and BDL~ 0.203mg kg⁻¹ for OTC and BDL~ 0.035mg kg⁻¹ for TYL and BDL~ 0.162mg kg⁻¹ for SMT.

Key words : Animal manure, Antibiotics, Chlortetracycline

1. 연구목표

항생물질(antibiotics)이란 미생물에 의해 생성된 물질로 세균 및 타 미생물의 성장과 활동을 억제하여 인간과 가축의 질병을 예방하고 치료하는 목적으로 사용되는 의약물질을 의미한다(Liu, 2009). 항생물질은 이러한 질병 치료나 예방뿐만 아니라 가축 사양의 효율성 증대와 성장촉진 등 경제적 이익을 위하여 널리 이용되고 있다(Seo, 2007). 국립수의과학검역원에서 수행한 “가축 및 축산물내 주요 항생제 내성 실태조사 및 평가” 결과에 따르면 최근 우리나라의 축산용 항생제 사용량이 크게 감

소한 것으로 조사되었다. 2009년 전체 축산용 항생제의 사용량은 998톤으로 2008년 1,211톤에 비하여 약 18%가 감소되었으며, 2001년 사용량 1,595톤에 비해서는 약 37%가 감소하였다. 이는 2005년부터 농림수산물부에서 추진해온 배합사료 제조용 항생제 감축정책으로 전체 축산용 항생제의 사용량이 지속적으로 감소한 것으로 나타났다(국립수의과학검역원, 2010). 가축에게 투여된 항생물질은 체내에서 일부만이 흡수 이용되며 대부분은 배설되어 직접적으로 토양 및 수계로 유입되거나 가축분의 퇴비화 과정으로 농경지에 투입됨으로써 농업환경 중으로 유입되어 항생물질의 내성을 지닌 박테리아를 발현하게 하여 수계를 포함한 생태계 오염 등의 부작용을 유발하게 된다(Aga 등, 2005). Seo 등(2007)은 우리나라에서 항생제 사용량과 가축 분뇨로의 배출율, 축분뇨와 토양에서의 흡착 정도 등을 기본으로 하여 환경에서 검출될 가능성이 높은 항생제의 우선순위를 정하였으며, Lee 등(2010)이 원주 지역의 계분 퇴비화 시설 인근에서 농경지와 저질토의 항생제를 분석한 결과 테트라사이클린이 가장 높은 농도로 검출됨을 보고하였다. Dolliver 등(2008)은 Chlortetracycline(CTC), Monensin(MNS), Sulfamethazine(SMZ), Tylosin(TYL) 등의 항생물질을 대상으로 퇴비화 과정중 분해정도를 측정하였는데, CTC 농도는 퇴비화 과정에서 모두 급격히 감소하여 99% 이상의 저감효과를 나타내었고, Monensin과 Tylosin은 퇴비화가 진행됨에 따라 점차 감소하여 54~76%의 저감효과를, Sulfamethazine은 분해가 이루어지지 않았다고 하였다. Samuelsen 등(1994)도 sulfonamide 계열 항생물질은 분해가 제한적이라고 보고하였으며 따라서 항생물질의 계열 및 퇴비화 공정의 특성에 따라 항생물질의 분해가 상이하게 나타나고 있음을 보여주었다. Arikian 등(2006)은 Oxytetracycline(OTC)을 처리한 분뇨를 수거하여 혐기조건에서 부숙하여 OTC 농도를 분석한 결과 초기 농도 9.8ppm에서 분해 후 4.1ppm으로 59%가 저감되었으며, 반감기는 56일이라고 하였다. 또한 Arikian 등(2008)은 Chlorotetracline(CTC)을 대상으로 33일간 혐기분해시킨 결과 초기 농도 5.9ppm에서 1.4ppm으로 75%가 분해되어 반감기가 18일이라고 하였다. Kuhne 등(2000)은 돈분퇴비에 함유된 Tetracycline(TC)이 혐기조건에서 반감기가 9일로 단기간 내에 분해된다고 보고하였다. 이러한 결과들은 혐기분해가 tetracycline 계열의 항생물질 처리에 효과가 있는 것을 보여주었다. 한편 권 등(2010)은 시판퇴비의 잔류 항생물질을 모니터링하였으며 총 70개의 퇴비시료중 테트라사이클린계 12개, 설펜아마이드계 21개의 시료에서 사료중 잔류기준치를 초과하는 것으로 조사하였고, 마크로라이드계 항생물질의 경우 모두 기준치 이하로 검출되었다고 보고하였다.

본 연구는 도내에서 생산유통되는 가축분 퇴비 및 액비 중 항생물질 조사 등으로 항생물질 잔류현황을 파악하여 무항생제 퇴비 제조 연구와 친환경 유기농산물 생산 연구자료로 활용하고자 연구를 수행하였다.

2. 재료 및 방법

도내 등록업체에서 생산 유통되는 가축분퇴비 시료를 대상으로 2011년 12개 시군에서 35점, 2012년 8개 시군에서 35점을 수집하여 총 70점의 시료를 대상으로 조사하였다. 가축분액비는 도내 공동자원화 액비생산시설 4개소에서 매년 상반기와 하반기로 2회 채취하여 조사하였다. 가축분퇴비 중 항생물질의 추출은 사료공정서의 항생제 분석방법에 준하였으며, 분석 대상 3계열의 항생물질은 모두 Wakco에서 제조한 표준물질을 사용하였고 항생물질의 회수율과 검출한계 특성은 표 2와 같다. 항생물질 Tylosin, Chlortetracycline, Oxytetracycline 분석을 위하여 퇴비 및 액비 시료 20g을 250ml 진탕용기에 넣고 Methanol 50ml, 증류수 20ml, Na₂EDTA 1g와 Oxalic acid 1g을 넣고 150rpm 진탕기에서 20분 진탕 후 초음파 균질기로 15분간 균질화시켰다. 균질화된 시료는 다시 원심분리기에 넣고 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액을 0.2 μ m membrane filter를 이용 여과하여 UPLC/MS/MS로 분석하였다. Sufamethazine 분석은 퇴비 및 액비 시료 5g에 water 20ml, Methanol 74ml, EDTA 0.5g, Oxalic acid 0.5g를 넣고 진탕하여 초음파 균질화를 시킨 후 여과하여 2ml를 취하여 0.25 μ m 실린지 필터로 재여과하여 분석하였으며 항생물질의 회수율 분석을 위하여 퇴비에 50ppb 수준으로 처리하여 최소검출량을 산출하였으며 분석기기의 조건은 표 1와 같다.

표 1. 분석기기(LC/MS/MS)의 분석 조건

Equipment	Acquity UPLC-Tandem Quadrupole Mass Spectrometer(TQ-MS)
LC condition	<ul style="list-style-type: none"> ○ Instrument : Acquity UPLC ○ Column : Acquity UPLC C₁₈ 1.17μm, 2.1\times50mm ○ Mobile phase <ul style="list-style-type: none"> A : 0.1% Formic acid in 98% MEOH+2% Water B : 0.1% Formic acid in MEOH ○ Column temperature : 35$^{\circ}$C ○ Flow rate : 0.4ml/min ○ Gradient(A : B)= 90 : 10(3min), 60 : 40(5min), 70 : 30(7min)
MS condition	<ul style="list-style-type: none"> ○ Mode : ESI-Positive ○ Nebulization and collision gas : N₂, Ar ○ Drying gas flow : 15L/min ○ Drying gas temperature : 450$^{\circ}$C ○ Collision Energy : 30~18V ○ Cone voltage : 30~70V ○ Precursor ion(m/z) : 478.91, Fragment ion(m/z) : 154.01

3. 결과 및 고찰

가. 가축분퇴비의 항생물질 조사결과

2011년과 2012년에 시판 유통되는 퇴비 70점을 수집하여 잔류 항생물질과 퇴비화 학성을 모니터링하였다. 퇴비의 원료 구성비를 조사한 결과 돈분+계분이 37.1%, 돈분+우분+계분 31.4%의 순이었으며 퇴비의 유기물 기준(55% 이상) 미달율은 83.6%, 수분기준(55% 이하) 미달율은 8.6% 수준이었다. 또한 시료중 돈분퇴비 항생제 분석의 정도보증을 위하여 회수율과 검출한계를 조사한 결과 Chlortetracycline은 평균 회수율 87.1%, Oxytetracycline 81.1%, Tylosin은 90.9%, Sulfamethazine 92.3%로 비교적 양호한 결과를 얻어 가축분퇴비의 분석법으로 가능할 것으로 판단되었다(표 2). 항생물질 Chlortetracycline은 평균 0.157mg kg⁻¹, Oxytetracycline 0.016mg kg⁻¹, Tylosin 0.005 mg kg⁻¹, Sulfamethazine 0.001mg kg⁻¹ 검출되었으며, Chlortetracycline은 54.3%, Sulfamethazine 12.9%, Oxytetracycline 11.4%의 검출율을 나타냈다(표 3). Chlortetracycline은 퇴비부숙 과정에서 80.3 ~ 80.5% 분해되어 퇴비중에 약 20%가 잔류되는 2011년 시험결과와 비교해 보면 최고농도 2.1mg kg⁻¹ 잔류농도는 현저히 낮은 수치로 판단되며 축산에서의 항생물질 사용량 감소와 더불어 퇴비화 과정을 통한 잔류농도의 저감 효과인 것으로 생각된다. 또한 나머지 3가지의 항생물질은 평균 1~16ppb 수준으로 퇴비중 항생물질 잔류기준은 제시되고 있지 않지만 극히 낮은 수준으로 검출되었으며 안전한 수준으로 판단되었다.

표 2. 분석대상 항생물질의 회수율 및 검출한계

항생물질	첨가농도 (ppb)	회수율(%)				최소검출량 (ng)	검출한계 (ppb)
		A	B	C	평균		
Chlortetracycline	50.0	103.0	76.8	81.5	87.1	0.06	40
Oxytetracycline	50.0	79.2	81.4	82.8	81.1	0.06	40
Tylosin	50.0	83.6	92.2	96.8	90.9	0.06	40
Sulfamethazine	50.0	84.2	95.4	97.1	92.3	0.05	30

표 3. 가축분퇴비의 항생물질 잔류농도(2011~2012)

(단위 : mg kg⁻¹, 건물기준)

구분	Chlortetracycline	Oxytetracycline	Sulfamethazine	Tylosin
평균값	0.157±0.282	0.016±0.043	0.005±0.018	0.001±0.004
(최소값~최대값)	(0.0~2.069)	(0.0~0.203)	(0.0~0.162)	(0.0~0.035)
1등급퇴비 비율(%)	34.2	25.0	33.3	40.0
2등급퇴비 비율(%)	50.0	50.0	33.3	40.0
등급외 비율(%)	15.8	25.0	33.3	20.0
검출율(%)	54.3	11.4	12.9	7.1

나. 가축분액비의 항생물질 조사결과

2011년과 2012년 도내 가축분액비 공동자원화 시설 4개소에서 생산 유통되는 액비를 년 2회 수집하여 화학성과 항생물질을 모니터링하였다. 액비의 총질소 평균함량은 0.09%(SCB 평균 0.1%)이었으며, 가축분액비 부숙도 간이판정기준(가축분뇨 퇴·액비 이용기술매뉴얼, 2010)으로 부숙도를 조사한 결과 평균 36.7(SCB 46이상) 수준으로 조사되었다. 항생물질 Chlortetracycline은 평균 0.285mg kg^{-1} , Oxytetracycline 0.001mg kg^{-1} , Sulfamethazine 0.100mg kg^{-1} , Tylosin 0.002mg kg^{-1} 검출되었으며, Chlortetracycline은 77.5%, Oxytetracycline 38.1%, Sulfamethazine 26.5% 검출율을 나타냈다(표 4). Chlortetracycline은 퇴비보다 높은 농도와 검출율을 나타냈으며 이는 상대적으로 액비화 과정에서 퇴비화 과정보다 온도가 낮고 부숙기간이 짧아 항생물질의 잔류농도가 높게 검출된 것으로 판단되었다. 또한 항생물질 Chlortetracycline은 액비 부숙도와 부의 관계를 암모니아태 질소와는 정의 관계를 나타냈으며(그림 1), 30일간 폭기조건에서 부숙전·후 잔류농도를 분석한 결과 61.5%의 분해율을 나타냈다.

표 4. 가축분액비의 항생물질 잔류농도(2011~2012)

(단위 : mg kg^{-1})

구 분	Chlortetracycline	Oxytetracycline	Sulfamethazine	Tylosin
평균값	0.285 ± 0.392	0.001 ± 0.006	0.100 ± 0.192	0.002 ± 0.004
(최소값~최대값)	(0.0~1.600)	(0.0~0.012)	(0.0~0.690)	(0.0~0.018)
검출율(%)	77.5	38.1	26.5	10.0

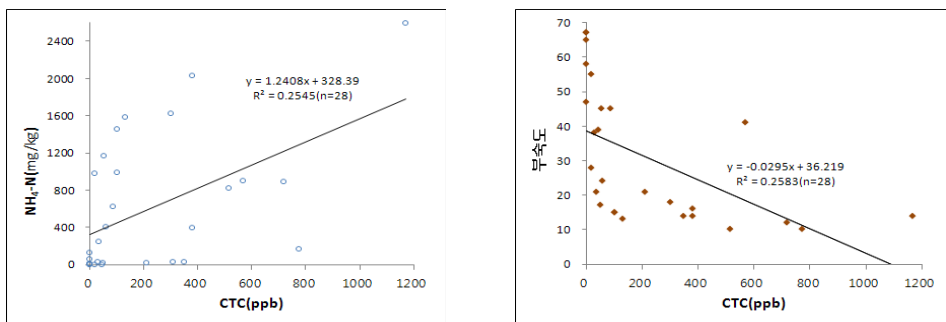


그림 1. 액비부숙도 및 질소 함량과 항생물질(CTC) 농도의 관계

4. 적 요

가축분 퇴·액비에 잔류되어 있는 항생물질 잔류정도를 파악하고 퇴비중 항생물질의 분석기술을 확립하여 무항생제 퇴비 제조 연구와 친환경 유기농산물 생산 연구자료로 활용하고자 2011년부터 2012년까지 도내 생산유통 가축분 퇴·액비의 항생물질 잔류량을 조사한 결과는 다음과 같다.

- 가. 도내 시판 유통되는 퇴비 70점을 수집하여 잔류 항생물질을 조사한 결과 항생물질 Chlortetracycline은 평균 0.157mg kg^{-1} , Oxytetracycline 0.016mg kg^{-1} , Tylosin 0.005mg kg^{-1} , Sulfamethazine 0.001mg kg^{-1} 검출되었으며, Chlortetracycline은 54.3%, Sulfamethazine 12.9%, Oxytetracycline 11.4%의 검출율을 나타내었다.
- 나. 가축분액비 공동자원화 시설 4개소에서 생산 유통되는 액비를 년 2회 수집하여 조사한 결과 액비의 총질소 평균함량은 0.09%(SCB 평균 0.1%), 평균 부숙도는 36.7(SCB 46이상)수준이었고, 항생물질 Chlortetracycline은 0.285mg kg^{-1} , Oxytetracycline 0.001mg kg^{-1} , Sulfamethazine 0.100mg kg^{-1} , Tylosin 0.002mg kg^{-1} 검출되었으며, Chlortetracycline은 77.5%, Oxytetracycline 38.1%, Sulfamethazine 26.5%의 검출율을 나타내었다.

5. 인용문헌

- 권순익. 2010. 가축분뇨 활용 퇴·액비의 항생물질 잔류기준 설정연구, 국립농업과학기술원 시험연구보고서. p937~960
- 국립수의과학검역원. 2010. http://www.nvrqs.go.kr/Ex_Notice/news/View.asp
- Aga, D. S., S. O'Connor, S. Ensley, J. O. Payero, D. Snow, and D. Tarkalson. 2005. Determination of the persistence of tetracycline antibiotics and their degradates in manure-amended soil using enzyme-linked immunosorbent assay and liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 53 : 7165~7171
- Arikan, O. A., Sikora, L. J., Mulbry, W., Khan, S. U., Rice, C. and Foster, G. D. 2006. The fate and effect of oxytetracycline during the anaerobic digestion of manure from therapeutically treated calves. *Process Biochemistry* 41 : 1637~1643
- Dolliver, H., K. Kumar, and S. Gupta. 2007. "Sulfamethazine uptake by plants from manure-amended soil. *J. Environ. Qual.* 36 : 1224~1230
- Kuhne, M., Ihnen, D., Moller, G. and Agthe, O. 2000. Stability of tetracycline in

water and liquid manure. Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine. 47 : 379~384

- Liu, F., Ying, G. G., Tao, R., Zhao, J. L., Yang, J. F., and Zhao, L. F., 2009. "Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities, Environ. Pollut., 157(5) 1636~1642(2009)
- Lee, S. S., S. C. Kim, O. K. Kwon, J. E. Yang, and Y. S. Ok. 2010. "Seasonal monitoring of residual veterinary antibiotics in agricultural soil, surface water and sediment adjacent to a poultry manure composting facility. Korea J. Environ. Agri. 29 : 273~281
- Samuelsen, O. B., Lunestad, B. T., Ervik, A. and Fjelde, S. 1994. Stability of antibacterial agent in an artificial marine aquaculture sediment studied under laboratory conditions. Aquaculture. 126:283~290
- Seo, Y. H., Choi, J. K., Kim, S. K., Min, H. K., and Jung, Y. S. 2007. "Prioritizing environment risks of veterinary antibiotics based on the use and the potential to reach environment" , Korean J. Soil Sci. Fertilizer, 40(1), 43~50

6. 연구원 편성

세부과제	구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도	
						'11	'12
기축분뇨 퇴·액비 항생물질 실태조사	책임자	농업기술원 환경농업연구과	농업연구사	노안성	세부과제수행	○	○
	공동 연구자	환경농업연구과	농업연구관	박중수	결과검토	-	○
		"	농업연구사	장재은	자료수집	○	○
		"	기능직	심재만	시험분석	○	○
		"	농업연구사	원태진	결과검토	-	○
"	농업연구관	김순재	연구자문	-	○		