

LC/MS/MS를 이용한 축산밀집지역 하천에서 테트라사이클린계 항생제 및 대사체 분석 연구

김일규¹ · 박유미¹ · 김상민¹ · 심기태¹ · 정인영^{1,†} · 석광설¹ · 황승울²

¹국립환경과학원 화학물질연구과, ²화학물질안전원

Analysis of Tetracycline Antibiotics and their Metabolites Sampled from Streams near Concentrated Livestock Operations Using LC/MS/MS

Il-Gyu Kim¹, Yu-Mi Park¹, Sang-Min Kim¹, Ki-Tae Sim¹, In-Young Chung¹,
Kwang-Seol Seok¹, and Seung-Ryul Hwang²

¹Chemical Research Division Environmental Health Research Department, National Institute of Environmental Research, Research Complex, Incheon, 22689, Korea

²Development and Education Division, National Institute of Chemical Safety, Daejeon, 34111, Korea

Received October 24, 2016/Revised November 27, 2016/Accepted December 6, 2016

The purpose of this study was to optimize an analytical method for the detection of tetracycline antibiotics and their metabolites in water and to determine their fate and movement in streams. To analyze three tetracycline antibiotics and eight of their metabolites, water quality samples were taken from nine sites, which were scattered across upstream areas, into which livestock manure was directly released from nearby livestock operations, to downstream areas, between November 2010 and October 2011. These samples were pretreated with hydrophilic-lipophilic balance (HLB; 200 mg, 6 cc) cartridges and analyzed using liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). Consequently, the limit of detection of the analysis method for the tetracycline antibiotics and their metabolites ranged from 3.7 to 18.2 ng/L. The recovery rates were 81-122%, and the relative standard deviation was less than 16%. In addition, the concentration of tetracycline antibiotics and their metabolites decreased or they were undetected when sampled from the upstream to downstream sites. Although the levels of tetracycline antibiotics and their metabolites detected were lower than their EC50, it is necessary to continue monitoring these substances in the environment.

Key words: Tetracycline, Chlortetracycline, Oxytetracycline, Antibiotic, Metabolite, LC/MS/MS

1. 서 론

축산분야에서 동물용 항생제는 가축의 질병 치료와 예방 및 성장촉진의 목적으로 사용되고 있으며,¹⁻⁵⁾ 항생제 중 테트라사이클린계 항생제는 우리나라를 비롯해서 전세계적으로 많이 사용하는 항생제이다. 1999년에서 2005년 유럽에서는 동물용 항생제를 연간 1,300톤을 판매하였으며, 이 중 테트라사이클린은 50%의 비율을 차지한다.⁶⁾ 우리나라의 경우 가축 사용밀도가 과밀하며, 2003

년부터 2012년까지 연간 사용한 동물용 항생제 중 약 30~50%로 테트라사이클린계 항생제의 사용량이 가장 많았다.⁷⁾ 인간과 동물이 섭취한 항생제는 화합물 그대로 몸 밖으로 배출되기도 하지만, 일부는 몸 속 대사과정을 거쳐 형태가 바뀐 물질이 몸 밖으로 배출되기도 하며,⁸⁻¹²⁾ 배출된 대사체는 다시 항생제로 변형되기도 한다.^{13,14)} 배출된 배설물들은 축산폐수 처리장으로 이동되어 처리되지만 완전히 처리되지 않고, 다양한 경로를 거쳐 환경으로 유입되며 이는 결국 인간이 사용하는 생활용수로 되

[†]To whom correspondence should be addressed.

돌아오게 된다.^{15,16)} 대부분 항생제가 대사체보다 독성이 강하지만 환경에서 일부는 대사체의 독성이 더 강하며 잠재적인 영향을 갖는다.¹⁴⁾ 테트라사이클린 항생제가 인간에게 과다 투여되면 치아 및 뼈에 침착되어 황갈색으로 변색하며,^{17,18)} 골격변형과 성장억제 유발, 림프구 및 형질세포 형성의 억제 현상이 나타나고, 특히 임신부에게서 기형아가 태어날 수 있다.¹⁸⁾ 또한, 축수산물에 잔류하는 테트라사이클린은 인체내에서 내성균의 증가와 알레르기 유발 등 부작용을 초래 할 수 있다.¹⁸⁾ 이러한 동물용 항생제는 질병으로부터 생명을 구제하는 중요한 의약품이지만, 오·남용으로 생태계 교란, 항생제 내성균 증가 등 건강과 생태계에 잠재적 위협을 주는 물질로서 사회적 문제가 되고 있다.¹⁹⁾ 이러한 사회적 문제로 사용 규제를 강화하여 우리나라에서는 테트라사이클린 항생제 2010년 사용량(약284톤)이 2003년(약724톤) 사용량에 비해 약 40%의 감소율을 보이는 결과를 얻었지만 여전히 상대적으로 많은 사용량을 나타내고 있어 지속적인 관심을 가져야 할 항생제이다.⁷⁾

환경 수질시료 중 테트라사이클린계 항생제 및 대사체 분석은 대사체를 제외하고 다른 의약품질과 동시분석으로 이루어지거나^{3,4,20-24)} 항생제와 일부 대사체만 분

석이 되는 경우가 많았다.^{1,10)} 본 연구에서는 테트라사이클린계 항생제 뿐만 아니라 대사체에 대한 분석방법을 정립하고, 우리나라 축산밀집지역 하천에서 잔류하는 농도 수준을 조사하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 표준물질 및 시약

분석대상물질 항생제 및 대사체를 Table 1에 나타내었다. 대상 표준물질 11종은 모두 Acros사(New Jersey, USA)의 제품을 사용하였으며, 실린지 첨가용 내부표준물질은 Terbutylazine(Sigma-aldrich, St Louis, USA), Demeclocycline(Sigma-aldrich, St Louis, USA)에서 구매하여 사용하였다. 디클로로메탄과 메탄올 등은 Wako 사(Osaka, Japan), 증류수와 아세트니트릴은 J.T.Baker 사(New Jersey, USA), Formic acid와 Na₂EDTA는 Sigma-aldrich사(St Louis, USA)의 시약을 사용하였다.

용매 농축에 사용된 농축기는 Organomation사(Berlin, USA)의 N-EVAP 모델 112를 사용하여 농축하였다. 고체상 카트리지는 Waters사(Milford, USA)의 Oasis HLB(200 mg, 6 cc)를 구입하여 사용하였다. 표준물질

Table 1. Chemical structures of target compounds

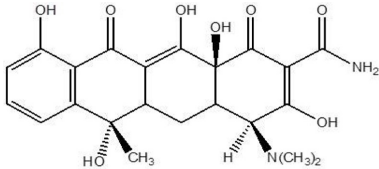
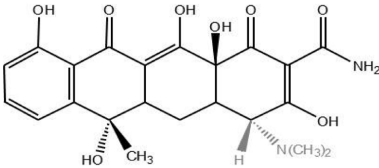
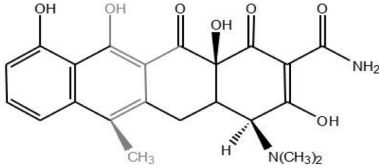
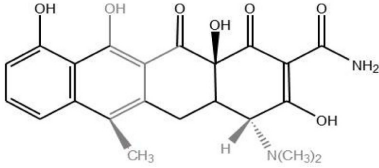
Compound	Chemical Structure	Molecular Formula
Tetracycline (TC)		C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈ M.W. : 444
4-epi-tetracycline (ETC)		C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈ M.W. : 444
Anhydrotetracycline (ATC)		C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₇ M.W. : 426
4-epi-anhydrotetracycline (EATC)		C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₇ M.W. : 426

Table 1. Chemical structures of target compounds (Continued)

Compound	Chemical Structure	Molecular Formula
Chlortetracycline (CTC)		$C_{22}H_{23}ClN_2O_8$ M.W. : 478
4-epi-chlortetracycline (ECTC)		$C_{22}H_{23}ClN_2O_8$ M.W. : 478
4-epi-anhydrochlortetracycline (EACTC)		$C_{22}H_{21}N_2O_7$ M.W. : 460
Oxytetracycline (OTC)		$C_{22}H_{24}N_2O_9$ M.W. : 460
4-epi-oxytetracycline (EOTC)		$C_{22}H_{24}N_2O_9$ M.W. : 460
α -apo-oxytetracycline (α -apo-OTC)		$C_{22}H_{22}N_2O_8$ M.W. : 442
β -apo-oxytetracycline (β -apo-OTC)		$C_{22}H_{22}N_2O_8$ M.W. : 442

은 필요 시 즉시 제조하여 사용하였다.

2.2. 시료채취

조사대상 지점을 Fig. 1에 나타내었다. 축산밀집 지역 가축 배설물은 축산농가 저수지(S1)로 직접 유입되며 폭 10 m의 소하천을 지나 폭 20 m의 다른 하천과 합류하여 강(S9) 방향으로 흐른다. 저수지에서 다른 하천에 합

류되기까지 약 4 km이며 6 지점을 채취하였고, 합류 후 강을 따라 약 3 km의 거리에서 3 지점을 채취하여 총 9지점에서 시료를 채취하였다. 시료 채취는 멸균 채수병을 사용하였으며 시료에 기포가 발생하지 않게 가득 채워 아이스박스를 이용하여 보관 후 분석시까지 냉장보관하였다. 시료 채취 시점은 2010년 11월, 2011년 10월 두 번으로 강수량이 적은 시기에 채취하였다.



Fig. 1. Sampling sites.

2.3. 시료전처리

분석방법은 문헌조사를 통하여 고체상추출법^{20,25,32)} 중 Jia 등²¹⁾의 연구 방법을 수정하여 적용시켰다. 각각의 환경시료 50~500 mL(S1~S6지점의 시료는 50 mL, S7~S9지점의 시료는 500 mL)를 준비하여 시료당 Na₂EDTA 농도가 0.5 g/L가 되도록 첨가한다. 낮은 pH에서의 회수율이 좋기 때문에 시료를 pH3으로 산성화시킨다.^{28,33)} 실험에 사용되는 HLB 카트리지(200 mg, 6 cc)는 디클로로메탄 6 mL, 메탄올 6 mL, 0.5 g/L Na₂EDTA가 함유된 용액(pH3) 6 mL를 순서대로 흘려서 고체상 카트리지를 활성화시킨다. 활성화 후, 시료가 카트리지를 통과하는 동안 카트리가 마르지 않도록 주의하며 5 mL/min의 유속으로 적재시킨다. 적재가 끝나면 증류수 10 mL를 흘려서 카트리를 세척해 준 후, 진공펌프를 이용하여서 카트리에 존재하는 수분을 제거한다. 유리원심관에 메탄올 6 mL를 카트리에 흘려서 용출시킨다. 용출액은 질소농축기를 이용하여 농축하였으며, 실린지 첨가용 내부표준물질 1 mg/L를 50 µL 첨가한 후, 최종 볼륨을 1.5 mL로 조정하여 LC/MS/MS로 분석하였다(Fig. 2).

2.4. 분석장비

기기분석은 Thermo surveyor 오토샘플러가 장착된 Thermo TSQ Quantum triple quadrupole mass spec-

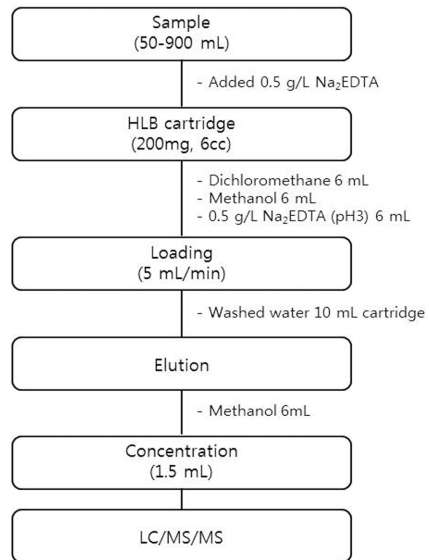


Fig. 2. A flow diagram of the sample pretreatment process for tetracycline antibiotics and their metabolites.

trometer를 사용하였다. 전기분무이온화(electron spray ionization) 양이온(positive) 조건에서 각 분석물질의 표준물질에 대하여 스캔모드(scan mode)를 이용하여 질량 스펙트럼을 확인하였다. 각 분석물질별 전구 이온(precursor ion)의 생성 이온(product ion)을 생성시킨 후, 동시

Table 2. Analytical conditions of LC/MS/MS

Compound	Retention time (min)	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Collision energy (eV)
TC	6.57	445	410, 154	20
ETC	5.56	445	410, 154	20
ATC	10.93	427	410, 154	17
EATC	9.51	427	410, 154	17
CTC	8.70	479	462, 444	20
ECTC	7.49	479	462, 444	20
EACTC	11.11	461	444, 154	19
OTC	6.01	461	444, 426	20
EOTC	5.50	461	444, 426	20
a-apo-OTC	7.07	443	426, 408	17
b-apo-OTC	12.28	443	408, 426	17

분석할 수 있는 질량분석기의 최적의 조건을 확인하였다. 매트릭스에 의한 방해효과를 최소화하기 위해 각 물질에 대한 질량분석기의 특성 이온을 검출하는 선택반응모니터링(SRM; Select Reaction Monitoring) 방법을 통하여 높은 선택성과 감도를 얻을 수 있었다.

HPLC 컬럼은 Phenomenex사(Torrance, USA) Luna C₈ 컬럼(3.0 μm, 3.0 mm × 150 mm)을 사용하였으며, 이동상 유속은 0.3 mL/min으로 실시하였다. 이동상 용액은 수용성 0.1% formic acid와 아세트오닐리트를 사용하였으며, 아세트오닐리트의 초기 비율을 16%를 시작으로 15분동안 70%으로 올린 후, 1분동안 80%으로 올려서 2분동안 유지시키고, 2분동안 16%로 낮춘 후 10분동안 안정화시키는 기울기용리(Gradient) 방법으로 분석하였다. 분석물질에 대한 SRM 조건은 TC, ETC - 445 m/z > 410 m/z, ETC, ATC - 427 m/z > 410 m/z, CTC, ECTC - 479 m/z > 444 m/z, EACTC - 461 m/z > 444 m/z, OTC, EOTC - 461 m/z > 426 m/z, α-apo-OTC, β-apo-OTC - 443 m/z > 426 m/z로 설정하였다. 기기분석 조건은 Table 2에 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 테트라사이클린계 항생제 및 대사체 분석방법 정립

테트라사이클린계 항생제(TC, CTC, OTC) 및 대사체(ETC, ATC, EATC, ETC, EACTC, EOTC, α-apo-OTC, β-apo-OTC) 총 11개 물질에 대해서 1차 직선식 검정곡선을 작성하였으며 직선식과 결정계수(R²)는 Table 3에 나타내었다.

테트라사이클린(TC), 클로르테트라사이클린(CTC), 옥시테트라사이클린(OTC)과 각각의 대사체에 대한 방법검

Table 3. Result of linear regression

Compound	Linear equation	Correlation coefficients (R ²)
TC	y=0.0006x-0.0824	0.9996
ETC	y=0.0003x-0.045	0.9999
ATC	y=0.0016-0.1573	0.9995
EATC	y=0.0006x-0.0849	0.9991
CTC	y=0.0003x-0.0358	0.9997
ECTC	y=0.0002x-0.0305	0.9990
EACTC	y=0.0003x-0.0529	0.9997
OTC	y=0.0004x-0.0454	0.9997
EOTC	y=0.0001x-0.0223	0.9988
α-apo-OTC	y=0.0002x-0.0148	0.9997
β-apo-OTC	y=0.0003x+0.009	0.9992

Table 4. Results of QA/QC for tetracycline antibiotics and their metabolites

Compound	MDL (ng/L)	Recovery (%)	RSD (%)
TC	18.2	81-121	15.1
ETC	13.6	88-116	11.4
ATC	17.6	83-122	14.7
EATC	14.2	86-115	11.9
CTC	13.7	81-114	11.4
ECTC	15.1	82-117	12.6
EACTC	15.1	86-121	12.6
OTC	15.5	84-121	12.9
EOTC	9.3	91-113	7.8
α-apo-OTC	17.6	83-121	14.7
β-apo-OTC	3.7	94-103	3.1

출한계, 정확도 및 정밀도를 측정하였다(Table 4). 분석 방법검출한계를 구하기 위한 전처리는 2.3에 제시한 방법으로 실시하였다. 증류수에 표준물질을 첨가하여 7회

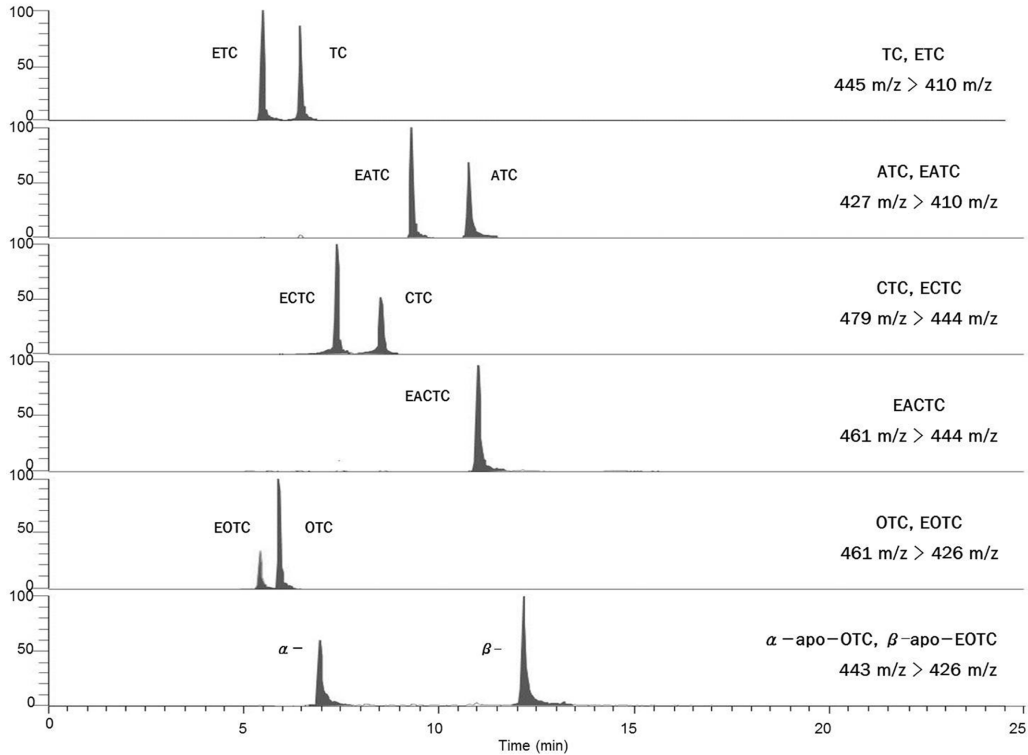


Fig. 3. Chromatograms of tetracycline antibiotics and their metabolites.

반복 분석한 후, 검출된 농도의 표준편차에 99% 신뢰수준에서의 t (자유도 6, 3.14)값을 곱하여 산출하였으며, 최종 시료량(증류수 500 mL)으로 보정하였다. 테트라사이클린계 항생제 중 TC의 방법검출한계는 18.2 ng/L, 회수율은 81~121%, 정밀도는 15.1%로 나타났고, TC 대사체들의 방법검출한계는 13.6~17.6 ng/L, 회수율은 83~122%, 정밀도는 11.4~11.9%로 나타났다. CTC의 분석방법의 검출한계는 13.7 ng/L, 회수율은 81~114%, 정밀도는 11.4%로 나타났다. CTC의 대사체들의 방법검출한계는 15.1~15.5 ng/L, 회수율은 81~121%, 정밀도는 12.6~12.9%로 나타났다. OTC의 방법검출한계는 15.5 ng/L, 회수율은 84~121%, 정밀도는 12.9%로 나타났고, OTC 대사체들의 방법검출한계는 3.7~17.6 ng/L, 회수율은 83~121%, 정밀도는 3.1~14.7%로 나타났다. 따라서 본 연구에서 도출한 분석방법을 토대로 환경 시료 분석을 실시하였다.

3.2. 하천수에서의 거동

2010년과 2011년 가을철 채취한 시료의 공간적 분포

를 Fig. 4에 나타내었다. 2010년과 2011년 가을철 채취한 시료의 공간적 분포는 비슷한 경향을 나타내었다. TC의 경우 S1에서 S6지점까지 2.91 $\mu\text{g/L}$ 에서 0.79 $\mu\text{g/L}$ 까지 감소되었고, S7~S9지점에서는 0.37 $\mu\text{g/L}$ 에서 불검출까지 감소하였다. ETC의 경우 S1에서 S6지점까지 3.52 $\mu\text{g/L}$ 에서 0.80 $\mu\text{g/L}$ 까지 감소되었고, S7~S9지점에서는 0.30 $\mu\text{g/L}$ 에서 불검출까지 감소하였다. ATC의 경우 S1에서 S6지점까지 0.73 $\mu\text{g/L}$ 에서 0.19 $\mu\text{g/L}$ 까지 감소되었고, S7~S9지점에서는 0.25 $\mu\text{g/L}$ 에서 불검출까지 감소하였다. EATC의 경우 S1에서 S6지점까지 1.23 $\mu\text{g/L}$ 에서 0.32 $\mu\text{g/L}$ 까지 감소되었고, S7~S9지점에서는 0.04 $\mu\text{g/L}$ 에서 불검출까지 감소하였다. CTC의 경우 S1에서 S6지점까지 12.73 $\mu\text{g/L}$ 에서 1.58 $\mu\text{g/L}$ 까지 감소되었고, S7~S9지점에서는 0.53 $\mu\text{g/L}$ 에서 0.08 $\mu\text{g/L}$ 까지 감소되었다. ECTC의 경우 S1에서 S6지점까지 13.59 $\mu\text{g/L}$ 에서 1.99 $\mu\text{g/L}$ 까지 감소되었고, S7~S9지점에서는 불검출~0.60 $\mu\text{g/L}$ 수준이다. EACTC의 경우 S1에서 S6지점까지 2010년도에 1.04 $\mu\text{g/L}$ 에서 0.31 $\mu\text{g/L}$ 까지 감소되었고, S7~S9지점에서는 2010년도에 0.03 $\mu\text{g/L}$ 수준이

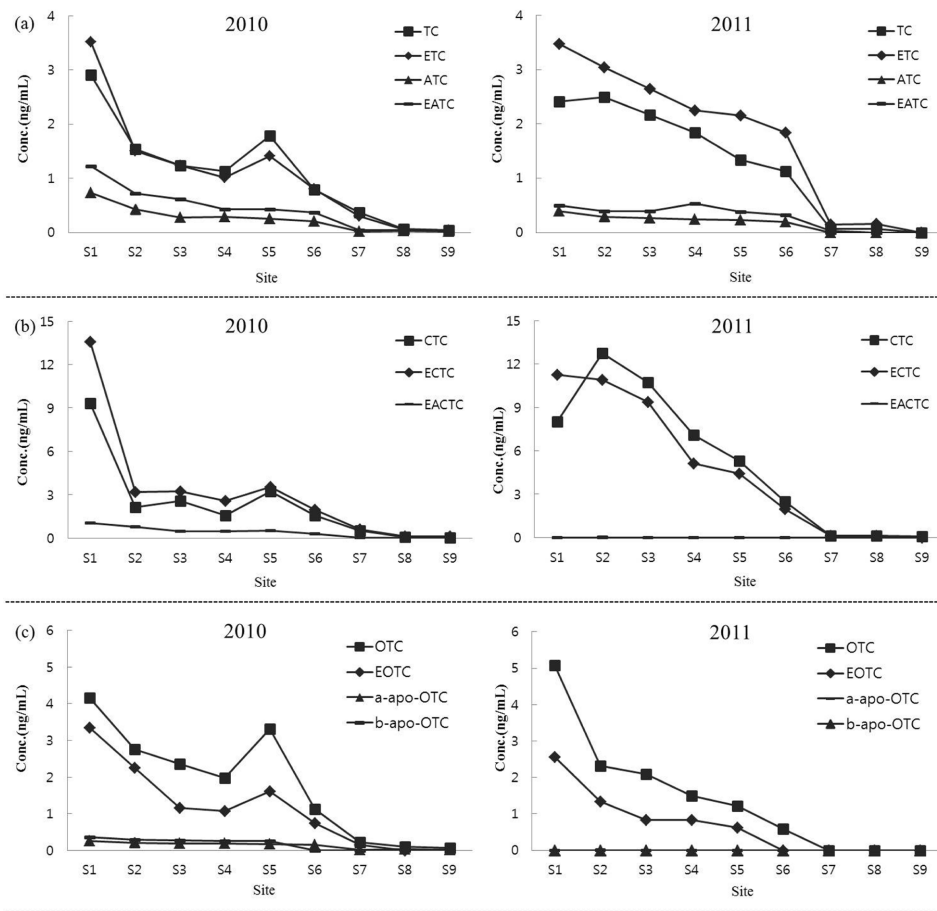


Fig. 4. Spatial distribution of (a) TC, (b) CTC, (c) OTC and their metabolites (2010 and 2011).

며 2011년도에는 모든 지점에서 불검출되었다. OTC의 경우 S1에서 S6지점까지 5.07 $\mu\text{g/L}$ 에서 0.58 $\mu\text{g/L}$ 까지 감소되었고, S7~S9지점에서는 0.22 $\mu\text{g/L}$ 에서 불검출까지 감소하였다. EOTC의 경우 S1에서 S6지점까지 3.34 $\mu\text{g/L}$ 에서 불검출까지 감소되었고, S7~S9지점에서는 0.14 $\mu\text{g/L}$ 에서 불검출까지 감소하였다. α -apo-OTC의 경우 S1에서 S6지점까지 2010년도에 0.26 $\mu\text{g/L}$ 에서 0.15 $\mu\text{g/L}$ 까지 감소되었고, S7~S9지점에서는 2010년도에 0.02 $\mu\text{g/L}$ 에서 불검출까지 감소하였다. β -apo-OTC의 경우 2010년도에 S1에서 S5지점까지 0.36 $\mu\text{g/L}$ 에서 0.15 $\mu\text{g/L}$ 까지 감소되었고, S6~S9지점에서는 모두 불검출되었다. 항생제 및 대사체 모든 분석물질은 하류로 흐를수록 농도가 감소하는 경향을 나타내었다. 하류로 갈수록 분석물질이 희석이 되고, S7지점부터는 또 다른 상류와 합류하여 농도 값이 현저히 낮아졌다. 즉, 2010년과 2011년의

S9지점의 농도가 불검출된 것을 제외하고 S9지점의 농도가 S1지점의 농도에 비해 97~99% 감소한 것으로 나타났다, 검출된 지점 대부분이 항생제(TC, CTC, OTC)의 농도보다 에피머 대사체(ETC, ECTC, EOTC)의 농도가 높은 경향을 보였다. 또한, 상류에서 하류로 갈수록 농도가 낮아지는 경향을 보이지만 2010년 S5지점에서 높아지는 것을 볼 수 있다. 이는 테트라사이클린의 농도는 시료에 포함되는 부유물질의 양에 따라서 농도가 달라진다.³⁴⁾ 수질오염공정시험기준에 제시된 부유물질 실험방법³⁵⁾을 이용하여 모든 지점의 시료를 적용시킨 결과 S5 지점에서 높은 값을 나타내고 있는 것을 확인할 수 있었다. 본 연구에서는 여과 없이 전처리되었기 때문에 2010년 S5지점에서 다소 농도가 높게 나타난 것으로 사료된다.

S1지점과 S9지점에서의 2010년과 2011년 항생제 및

대사체 검출 결과를 비교하면 2010년에는 다른 분석물질은 모두 검출이 되었지만 EOTC의 경우 S8지점부터, α -apo-OTC의 경우 S7지점부터, β -apo-OTC의 경우 S6지점부터 하류까지 불검출되었다. 2011년에는 OTC의 경우 S7지점부터, EOTC의 경우 S6지점부터 하류까지, α -apo-OTC와 β -apo-OTC의 경우 모든 지점에서 불검출되었다. 2011년 EACTC 또한 모든 지점에서 불검출되었다. 직접적으로 영향을 주는 S1지점의 농도는 2010년에 비해서 2011년도가 OTC를 제외하고 약간 낮거나 비슷하게 나타났다 (Fig. 5).

항생제 TC, CTC, OTC의 독성(EC_{50} ; Effective concentration of 50%)은 각각 0.08 mg/L, 0.03 mg/L, 0.08 mg/L, 대사체의 경우 ETC가 0.14 mg/L, ATC가 0.03 mg/L, EATC가 0.34 mg/L, ECTC가 1.65 mg/L, EACTC는 0.25 mg/L, OETC는 0.27 mg/L, α -apo-OTC는 1.14 mg/L, β -apo-OTC는 0.77 mg/L이다. 이 중 가장 독성이 강한 항생제는 CTC이고, 대사체는 ATC이며 각각 EC_{50} 이 0.03 mg/L로 보고되었다.²⁾ S9지점에서 2010년 항생제는 0.04~0.07 μ g/L, 대사체는 불검출~0.08 μ g/L 범위로 나타났고, 2011년 항생제는 CTC가 0.08 μ g/L로 검출되고 나머지는 불검출되어 수생태 건강성에 주는 영향은 적을 것으로 사료된다.

4. 결 론

본 연구에서는 항생제 중 테트라사이클린계 및 대사체에 대한 분석방법을 정립하고, 축산폐수밀집지역 하천 시료를 분석하여 분석물질의 거동을 확인하고자 하였다. 분석물질들은 감도가 좋고 선택성이 좋은 LC/MS/MS를 이용하여 최적화의 조건을 정립하여 분석하였다. 테트라

사이클린계 항생제 및 대사체의 분석방법 검출한계는 3.7~18.2 ng/L, 회수율은 81~122%, 상대표준편차는 16% 이하 수준으로 나타났다. 한편, 축산밀집지역에서의 테트라사이클린계 항생제 3종과 대사체 8종에 대하여 가축 배설물이 직접 유입되는 상류 지점에서 하류지점까지 9개 지점을 조사한 결과 검출된 지점 대부분이 항생제보다 에피머화된 대사체의 농도가 높았다. 이는 환경 중에서 항생제 화합물의 무수물(anhydro-) 대사체, 아포(α -apo-OTC, β -apo-OTC) 대사체 보다 에피머로 주로 변형되어 존재하는 것으로 사료된다. 오염원 지점(S1)에서 하류로 갈수록 부유물질의 영향을 받은 지점을 제외하고 농도가 낮아지는 경향을 보였고, 하류 마지막 지점(S9)에서는 불검출되거나 오염원에서 검출된 농도에 비해서 97~99% 낮아진 수준으로 나타났다. 오염원 지점(S1)에서의 농도는 테트라사이클린계 항생제와 대사체가 갖고 있는 독성(EC_{50})보다 낮은 수준으로 검출되었고, 희석된 후인 하류 지점(S9)에서는 더욱 낮은 농도로 검출이 되어 수생태 건강성에 주는 영향은 적을 것으로 사료된다. 그러나 항생제 내성균과 같은 잠재적인 수생태 영향을 주는 요인에 대한 관리를 위해 지속적인 모니터링이 필요하다고 판단되며, 본 연구에서 정립한 테트라사이클린계 항생제 및 대사체 분석방법은 향후 분석 및 모니터링에 활용될 수 있는 기본 자료가 될 것으로 판단된다.

참고문헌

1. H. Sanderson, F. Ingerslev, R. A. Brain, B. Halling-Sørensen, J. K. Bestari, C. J. Wilson, D. J. Johnson, and K. R. Solomon, "Dissipation of oxytetracycline,

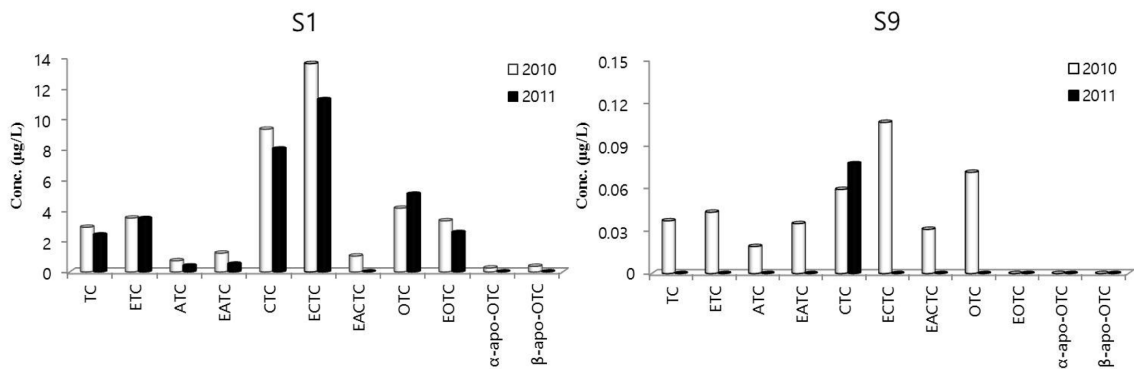


Fig. 5. Levels of antibiotics and their metabolites in 2010 and 2011 (S1 and S9).

- chlortetracycline, Tetracycline and doxycycline using HPLC-UV and LC/MS/MS under aquatic semi-field microcosm conditions”, *Chemosphere*, **2005**, 60, 619-629.
2. B. Halling-Sørensen, G. Sengeløv, and J. Tjørnelund, “Toxicity of tetracyclines and tetracycline degradation products to environmentally relevant bacteria, including selected tetracycline-resistant bacteria”, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **2002**, 42, 263-271.
 3. B. Verma, J. V. Headley, and R. D. Robarts, “Behaviour and fate of tetracycline in river and wetland waters on the Canadian Northern Great Plains”, *Journal of Environmental Science and Health Part A*, **2007**, 42, 109-117.
 4. T. S. Jang, Y. M. Hong, O. S. Kwon, and H. O. Kim, “Review on analytical methods for pharmaceuticals and personal care products”, *Journal of the Korean Society for Environmental Analysis*, **2009**, 12, 103-129.
 5. S. O'Connor and D. S. Aga, “Analysis of tetracycline antibiotics in soil: Advances in extraction, clean-up, and quantification”, *Trends in Analytical Chemistry*, **2007**, 26, 456-465.
 6. G. Moulin, P. Cavalié, I. Pellanne, A. Chevance, A. Laval, M. Yves, P. Colin, and C. Chauvin, “A comparison of antimicrobial usage in human and veterinary medicine in France from 1999 to 2005”, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2008**, 62, 617-625.
 7. S. K. Lim, J. E. Lee, H. S. Lee, H. M. Nam, D. C. Moon, G. C. Jang, Y. J. Park, Y. G. Jung, S. C. Jung, and S. H. Wee, “Trends in antimicrobial sales for livestock and fisheries in Korea during 2003-2012”, *Korean Journal of Veterinary Research*, **2014**, 54, 81-86.
 8. P. K. Jjemba, “The potential impact of veterinary and human therapeutic agents in manure and biosolids on vegetation: a review, Agriculture”, *Ecosystems & Environment*, **2002**, 93, 267-278.
 9. P. K. Jjemba, “Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **2006**, 63, 113-130.
 10. M. Kühne, D. Ihnen, G. Moller, and O. Agthe, “Stability of tetracycline in water and liquid manure”, *Journal of Veterinary Medicine Series A*, **2000**, 47, 379-384.
 11. K. Kümmerer, T. Steger-Hartmann, and M. Meyer, “Biodegradability of the anti-tumour agent ifosfamide and its occurrence in hospital effluents and communal sewage”, *Water Research*, **1997**, 31, 2705-2710.
 12. K. Kümmerer, A. Al-Ahmad, and V. Mersch-Sundermann, “Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test”, *Chemosphere*, **2000**, 40, 701-710.
 13. A. K. Sarmah, M. T. Meyer, and A. B. A. Boxall, “A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (Vas) in the environment”, *Chemosphere*, **2006**, 65, 725-759.
 14. M. J. García-Galán, M. S. Díaz-Cruz, and D. Barceló, “Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics”, *Trends in Analytical Chemistry*, **2008**, 27, 1008-1022.
 15. C. K. Seo, B. J. Kim, H. W. Cho, Y. K. Nam, T. H. Kim, M. J. Lee, and S. W. Myung, “A monitoring of pharmaceuticals and personal care products from livestock wastewater treatment plants by LC/ESI-MS/MS”, *Journal of the Korean Society for Environmental Analysis*, **2009**, 12, 273-282.
 16. J. B. Ellis, “Pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in urban receiving waters”, *Environmental Pollution*, **2006**, 144, 184-189.
 17. E. W. Lee, E. C. Jang, and N. C. Paik, “Tetracycline as an aid to the excision of nidus in osteoid osteoma”, *The Journal of the Korean Orthopaedic Association*, **1992**, 27, 1488-1492.
 18. Tetracycline 위해성프로파일.
 19. S. Toroglu, S. Dincer, and H. Korkmaz, “Antibiotic resistance in gram negative bacteria isolated from Aksu river in (Kahramanmaraş) Turkey”, *Annals of Microbiology*, **2005**, 55, 229-233.
 20. K. G. Karthikeyan and M. T. Meyer, “Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA”, *Science of the Total Environment*, **2006**, 361, 196-207.
 21. R. Hirsch, T. A. Ternes, K. Haberer, A. Mehlich, F. Ballwanz, and K. L. Kratz, “Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry”, *Journal of Chromatography A*, **1998**, 815, 213-223.
 22. Y. Luo, L. Xu, M. Rysz, Y. Wang, H. Zhang, and P. J. J. Alvarez, “Occurrence and transport of tetracycline, sulfonamide, quinolone, and macrolide antibiotics in the Haihe river basin, China”, *Environmental Science and Technology*, **2011**, 45, 1827-1833.
 23. A. Gulkowska, H. W. Leung, M. K. Soa, S. Taniyasub, N. Yamashitab, L. W. Y. Yeung, B. J. Richardson, A. P. Lei, J. P. Giesy, and P. K. S. Lam, “Removal of antibiotics from wastewater by sewage treatment facilities in Hong Kong and Shenzhen, China”, *Water Research*,

- 2008, 42, 395-403.
24. S. H. Koo, C. H. Jo, S. K. Shin, and S. W. Myung, "Simultaneous determination and occurrences of pharmaceuticals by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) in environmental aqueous samples", *Bulletin of the Korean Chemical Society*, **2010**, 31, 1192-1198.
 25. A. Jia, Y. Xiao, J. Hu, M. Asami, and S. Kunikane, "Simultaneous determination of tetracyclines and their degradation products in environmental waters by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, **2009**, 1216, 4655-4662.
 26. H. Jin, A. P. Kumar, D. H. Paik, K. C. Ha, Y. J. Yoo, and Y. I. Lee, "Trace analysis of tetracycline antibiotics in human urine using UPLC-QToF mass spectrometry", *Microchemical Journal*, **2010**, 94, 139-147.
 27. S. W. Yang, J. M. Cha, and K. Carlson, "Simultaneous extraction and analysis of 11 tetracycline and sulfonamide antibiotics in influent and effluent domestic wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, **2005**, 1097, 40-53.
 28. H. Xian-Gang, L. Yi, Z. Qi-Xing, and X. Lin, "Determination of thirteen antibiotics residues in manure by solid phase extraction and high performance liquid chromatography", *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, **2008**, 36, 1162-1166.
 29. J. Zhu, D. D. Snow, D. A. Cassada, S. J. Monson, and R. F. Spalding, "Analysis of oxytetracycline, tetracycline, and chlortetracycline in water using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, **2001**, 928, 177-186.
 30. L. Tong, P. Li, Y. Wang, and K. Zhu, "Analysis of veterinary antibiotic residues in swine wastewater and environmental water samples using optimized SPE-LC/MS/MS", *Chemosphere*, **2009**, 74, 1090-1097.
 31. W. Ben, Z. Qiang, C. Adams, H. Zhang, and L. Chen, "Simultaneous determination of sulfonamides, tetracyclines and tiamulin in swine wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, **2008**, 1202, 173-180.
 32. J. Y. Pailler, A. Krein, L. Pfister, L. Hoffmann, and C. Guignard, "Solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of sulfonamides, tetracyclines, analgesics and hormones in surface water and wastewater in Luxembourg", *Science of the Total Environment*, **2009**, 407, 4736-4743.
 33. F. Hernández, J. V. Sancho, M. Ibáñez, and C. Guerrero, "Antibiotic residue determination in environmental waters by LC-MS", *Trends in Analytical Chemistry*, **2007**, 26, 466-485.
 34. X. Pan, Z. Qiang, W. Ben, and M. Chen, "Simultaneous determination of three classes of antibiotics in the suspended solids of swine wastewater by ultrasonic extraction, solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry", *Journal of Environmental Sciences*, **2011**, 23, 1729-1737.
 35. 환경부, "수질공정시험기준, ES 04303.1, 부유물질", **2011**, 제2011-103호, 87-90.