

환경 시료 중 설펜아미드계 항생제 및 대사체 분석방법 연구

강영렬 · 황승률★ · 신선경¹ · 구소현 · 심기태 · 김태승²

국립환경과학원 환경건강연구부 화학물질연구과,
¹환경자원연구부 자원순환연구과, ²금강물환경연구소
(2010. 4. 19. 접수, 2010. 9. 9. 승인)

The study of analytical method for sulfonamide antibiotics and their metabolites in environmental samples

Young Yeul Kang, Seung Ryul Hwang★, Sun Kyoung Shin¹, So Hyun Koo,
Ki Tae Sim and Tae Seung Kim²

National Institute of Environmental Research of Environmental Research, Incheon 404-170, Korea

(Received April 19, 2010; Accepted September 9, 2010)

요 약: 본 연구에서는 동물용 의약품으로 널리 사용되고 환경 중 잔류 가능성이 높은 설펜아미드계 항생제 5종 (sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole) 및 대사체 5종(N⁴-acetylsulfadiazine, N⁴-acetylsulfamerazine, N⁴-acetylsulfamethazine, N⁴-acetylsulfamethoxazole, sulfamethoxazole-N¹-glucuronide)의 분석방법을 연구하였다. 다양한 전처리 조건을 비교·검토하여 최적의 동시 추출방법과 LC/ESI-MS/MS를 이용한 기기분석 조건을 확립하였다. 카트리지를별 추출효율은 C18 카트리지에서 12~94%, HLB 카트리지에서 60-95%, MCX 카트리지에서 25-123%였으며, MCX와 HLB 카트리지를 결합한 방법의 회수율은 70-90%이었다. HLB를 선택하여 확립된 분석방법의 회수율은 66~115%, 상대표준편차 5~17%이었으며, 방법검출한계는 0.001~0.187 ng/mL 였다. 이를 실제 환경시료에 적용한 결과 4종의 설펜아미드 항생제가 0.008~2.153 ng/mL 농도범위로 검출되었으며, 대사체의 경우 N⁴-acetylsulfamethoxazole이 확인되었으나 검출한계 미만으로 관찰되었다.

Abstract: The aim of this study was to develop an analytical method for sulfonamide antibiotics (sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole) and their metabolites (N⁴-acetylsulfadiazine, N⁴-acetylsulfamerazine, N⁴-acetylsulfamethazine, N⁴-acetylsulfamethoxazole, sulfamethoxazole-N¹-glucuronide) in environmental samples. The solid phase extraction (SPE) with LC/ESI-MS/MS have been used for the analysis of target compounds, and the recoveries of SPE clean-up were at the range of 12-94% for C18 cartridge, 60-95% for HLB cartridge, 25-123% for MCX cartridge, and 70-90% for tandem HLB/MCX. By established method, detection limit, recovery, and relative standard deviation were 0.001~0.187 ng/mL, 66~115%, and 5~17%, respectively. This method was effective and sensitive to use for the simultaneous determination of sulfonamide antibiotics and their metabolites in environmental samples. Four sulfonamide antibiotics were detected at the range of 0.008~2.153 ng/mL. For metabolites, only N⁴-acetylsulfamethoxazole was detected, but the concentration was under the MDL level.

Key words: sulfonamide antibiotics, metabolite, PPCPs, LC/MS/MS

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)32-560-7199 Fax : +82-(0)32-568-2039

E-mail : komelong@korea.kr

www.kci.go.kr

1. 서 론

설파닐아미드로부터 합성된 설펜아미드계 의약품질은 인체, 가축 및 어류에 대하여 박테리아 및 기타 미생물에 기인한 다양한 질병을 치료하기 위한 항생제로써, 초기에는 주로 인체의 감염성 질병 치료제로 사용되었으나, 가축의 질병치료, 성장촉진 및 사료 첨가제로 사용이 증가되는 추세이다. 유럽에서는 동물용 항생제 사용량으로 2위, 판매량으로 11~23%에 이르며, 2000년 영국에서는 전체 의약품 판매량의 약 21%를 차지하는 것으로 보고되었다. 또한 미국 항생제 사용량의 2.3%에 해당되며 케냐에서는 동물용 사료에 연간 14,600 kg (22%)이 사용되고 있다.^{1,2} 국내에서도 연간 약 160,000 kg이 사용되고 있으며, 테트라사이클린계 항생제 다음으로 사용량이 많은 것으로 조사되었다.³

설펜아미드계 항생제는 섭취되면 인체 및 동물의 간에서 산화, 아세틸화 반응 및 글루쿠로나이드 대사체와 방향족의 수산화반응 등으로 대사된다.¹ 항생제의 물리화학적 특성과 동물의 나이 및 종류에 따라 다양한 형태로 배출되지만, 주요 대사경로는 인체와 동물 모두 N⁴-아세틸화 대사로 알려져 있다.^{1,4-6}

대사 후 소변 및 대변으로 배출된 설펜아미드계 항

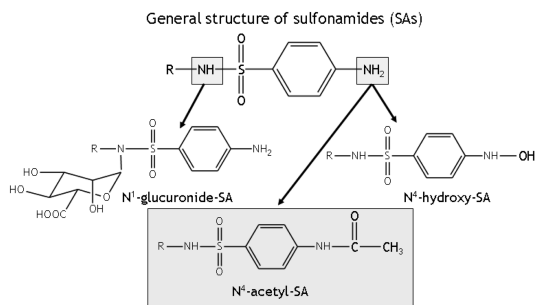


Fig. 1. Major metabolites of sulfonamide antibiotics.¹

생제와 대사체는 폐수처리시설의 처리공정을 거쳐 지표수와 지하수로 배출된다.⁷ 환경 중 잔류하는 대사체의 경우, 대부분 모의약품 보다 약리활성 및 독성은 낮으나, 일부 대사체는 독성, 잔류성, 이동성 등의 특징을 가지고 있으며,^{1,8,9} 하수처리장의 처리공정, 환경 중에서 모의약품질로 재합성되는 결과도 보고되었다.¹⁰

유럽, 미국 등의 국가에서 설펜아미드계 항생제의 대사경로, 대사체의 종류, 환경 중 잔류농도 및 모의약품질로의 재합성 경로 등에 대한 조사가 이미 수행되었으며, 물리·화학적 특성 및 분석방법에 대한 연구결과가 보고되고 있다.^{1,9-17} 국내의 경우, 환경부에서 2006년부터 시작한 “잔류의약품질 분석방법 연구 및

Table 1. Chemical Structures, CAS number, molecular weight(MW), and pK_a of sulfonamide antibiotics and their metabolites

Sulfonamides	Chemical Structures	Metabolites	Chemical Structures
Sulfadiazine CAS: 68-35-9 MW: 250.29 pK _a : 2.0/6.4 ¹⁶		N⁴-acetylsulfadiazine CAS:127-74-2 MW:292.31 pK _a :6.3±0.3 ¹⁶	
Sulfamerazine CAS:127-79-7 MW:264.31 pK _a :1.64/6.98 ²¹		N⁴-acetylsulfamerazine CAS:1127-73-1 MW:306.34	
Sulfamethazine CAS:57-68-1 MW:277.34 pK _a : 2.4/7.4 ¹⁶		N⁴-acetylsulfamethazine CAS:100-90-3 MW:320.37 pK _a : 7.2±0.5 ¹⁶	
Sulfamethoxazole CAS:723-46-6 MW:253.28 1.8/6.0 ¹⁶		N⁴-acetylsulfamethoxazole CAS:21312-10-7 MW:295.31 pK _a : 5.6±0.5 ¹⁶	
Sulfathiazole CAS:72-14-0 MW:255.32 pK _a :2.4/7.1 ¹⁶		Sulfamethoxazole-N¹-glucuronide CAS:14365-52-7 MW:429.40 pK _a :2.7± 0.7 ¹⁵	

실태조사”에 설펜아미드계 항생제의 분석방법에 대한 연구결과가 보고되어 있으며, 일부 설펜아미드계 항생제가 검출되는 것으로 확인되었다.^{3,18-20} 그러나, 국내 환경 중 설펜아미드계 항생제의 대사체에 대한 연구는 전무한 것으로 알려져 있다.

환경시료 중 설펜아미드계 항생제와 대사체를 분석하기 위한 방법으로 고체상 추출과 LC/ESI-MS/MS를 이용한 기기분석이 가장 광범위하게 사용되고 있으며, HLB (hydrophilic lipophilic balance) 카트리지, MCX (mixed cation exchange) 카트리지 등 다양한 카트리지가 사용되고 있다.^{3,11-14,16-20} 본 연구에서는 다양한 카트리지의 추출효율을 비교하고, 실제 환경시료에서 추출 효율을 높이기 위해 시료의 pH를 조절하여 환경시료의 설펜아미드계 항생제와 대사체에 대한 동시분석 방법을 확립하였다. 또한 확립된 분석방법의 유효성 검증 및 실제 시료에 대한 적용성을 평가하였다. 분석대상 설펜아미드계 항생제 및 대사체의 분자구조 및 특성은 Table 1과 같다.

2. 실험방법

2.1. 시약 및 기구

추출에 사용한 Oasis HLB (200 mg, 6 cc), Oasis MCX (150 mg, 6 cc), Se-pak C₁₈ 카트리지는 Waters사 (Milford, MA, USA)에서 구입하여 사용하였고, 카트리지 매니폴더는 Supelco사(Bellefonte, PA, USA)의 제품을 사용하였다.

분석대상 설펜아미드계 항생제인 sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole은 Sigma-Aldrich사 (St Louis, MO, USA), sulfathiazole은 Riedel-de Haen사 (Seelze, Germany)의 제품을 사용하였다. 대사체 N⁴-acetylsulfadiazine, N⁴-acetylsulfamerazine, N⁴-acetylsulfamethazine, N⁴-acetylsulfamethoxazole, sulfamethoxazole-N¹-glucuronide와 정제용 내부표준물질인 N⁴-acetylsulfadiazine-d₄, N⁴-acetylsulfamerazine-d₄, N⁴-acetylsulfamethazine-d₄, N⁴-acetylsulfamethoxazole-d₄, sulfamethoxazole-N¹-glucuronide-d₄는 Toronto Research Chemicals사 (North York, Canada)에서 구입하여 사용하였으며, sulfamethazine-¹³C₆은 Cambridge Isotope laboratories (Andover, MA, USA)제품을 사용하였다. 내부표준물질(ISTD)로 사용한 terbutylazine-2-hydroxy는 Riedel-de Haen사(Seelze, Germany)의 고순도 시약을 사용하였다. 메탄올, 아세트니트릴, 증류수, 황산은 J.T. Baker사(NJ, USA)의 HPLC 등급 시약을 사용하였으며, 개미산(formic acid)과 암모니아수(25%)는 Sigma-Aldrich사(St Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였다. 표준물질과 내부표준물질은 메탄올을 이용하여 1 mg/mL의 농도로 만든 후 -20°C 냉장고에 저장하였고, 실험시 필요한 농도를 메탄올로 희석하여 사용하였다.

2.2. 분석기기

LC/ESI-MS/MS는 Thermo사 (San Jose, CA, USA)의 Thermo Finnigan Surveyor HPLC와 결합된 TSQ Quantum Ultra 텐덤 질량분석기를 사용하였다. 스캔

Table 2. LC/ESI-MS/MS conditions for the determination of sulfonamide antibiotics and their metabolites

Parameters	Instrumental conditions	
	Positive mode	Negative mode
Column	CAPCELL PAK C18, 4.6 mm I.D., 100 mm length, 3 μm particle size	CAPCELL PAK C18, 4.6 mm I.D., 100 mm length, 3 μm particle size
Mobile phase	A : 0.3% Formic acid in water B : Acetonitrile	A : 0.3% Formic acid in water B : Acetonitrile
Gradient	Time(min) 0 10 13 15 18 20 30 Solvent B(%) 13 13 50 70 70 13 13	Time(min) 0 10 13 15 25 Solvent B(%) 10 80 80 10 10
Column flow rate	0.5 mL/min	0.5 mL/min
Injection volume	5 μL	5 μL
Column temperature	Room temperature	Room temperature
Ionization mode	Positive ion electrospray	Negative ion electrospray
Spray voltage	4500 V	4500 V
Vaporizer temperature	200 °C	150 °C
Sheath gas pressure	45 arb	40 arb
Aux. gas pressure	20 arb	20 arb
Capillary temperature	350 °C	380 °C
Collision pressure	1.2 m Torr (Ar)	1.2 m Torr (Ar)

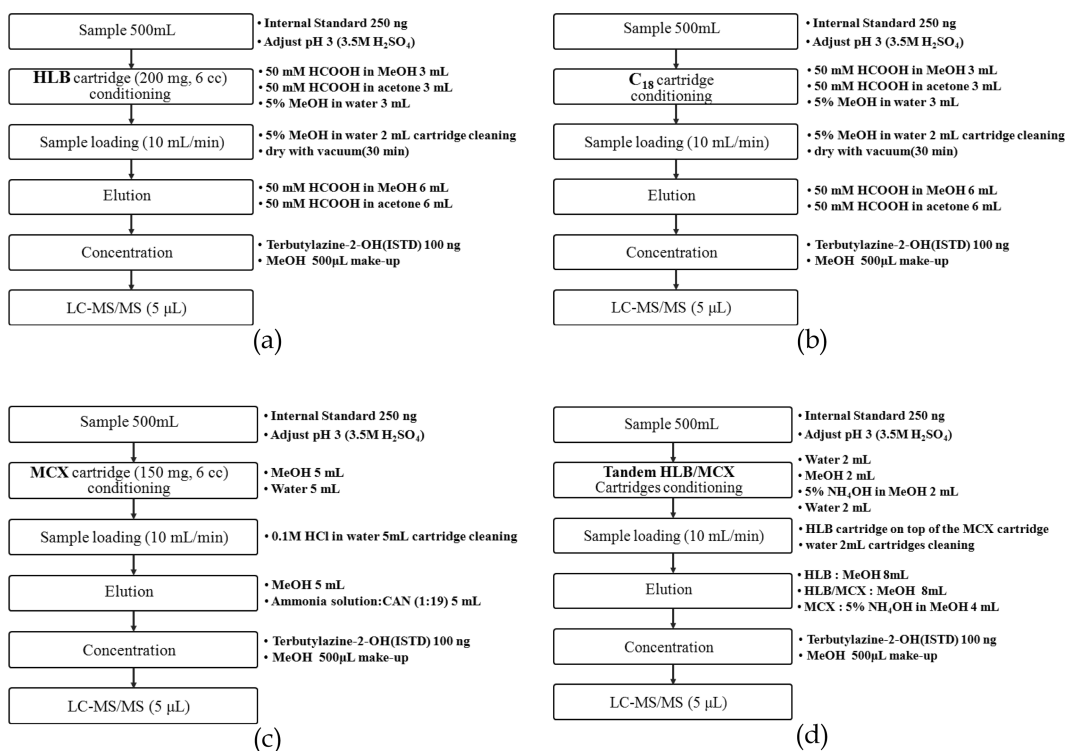


Fig. 2. Solid-phase extraction strategies: (a) HLB cartridges, (b) C₁₈ cartridges, (c) MCX cartridge, and (d) tandem extraction (HLB and MCX).^{3,11}

모드에서 각 분석대상 물질의 질량 스펙트럼을 확인하여 선구 이온(precursor ion)을 선택하고, 최적의 생성이온(product ion) 조건을 확인한 후 선택반응모니터링(SRM) 방법을 사용하여 분석하였다. 설펜아미드계 항생제 및 대사체의 LC/ESI-MS/MS 분석조건은 Table 2와 같다. N¹-glucuronide 대사체를 제외한 분석대상 설펜아미드계 항생제 및 대사체는 양이온 모드에서 분석하였고, N¹-glucuronide 대사체인 sulfamethoxazole-N¹-glucuronide 경우 음이온 모드에서 분석하였다.

2.3. 전처리 방법

시료 500 mL를 취하여 각 분석대상물질의 정제용 내부표준물질(sulfamethazine-¹³C₆, N⁴-acetylsulfadiazine-d₄, N⁴-acetylsulfamerazine-d₄, N⁴-acetylsulfamethazine-d₄, N⁴-acetylsulfamethoxazole-d₄, N⁴-acetylsulfathiazole-d₄) 250 ng을 첨가한 후, pH 3이 되도록 3.5 M 황산으로 조절하고 시료 특성에 따라 부유물질을 멤브레인 필터로 여과하였다. Oasis HLB (200 mg, 6 cc) 카트리지에 50 mM 개미산-메탄올 용액 3 mL, 50 mM 개미산-아세톤 용액 3 mL 및 5% 메탄올 수용액을 순

차적으로 통과시켜 활성화하고, 시료를 10 mL/min의 속도로 적재하였다. 시료가 통과된 카트리지를 5% 메탄올 수용액으로 세척한 다음 진공에서 30분간 건조하였다. 건조된 카트리지에 용리액 50 mM 개미산-메탄올 용액 6 mL 및 50 mM 개미산-아세톤 용액 6 mL를 순차적으로 가하여 얻은 용출액을 질소증발기를 사용하여 200 μL로 농축하였다. 잔사에 100 ng의 내부 표준물질(terbutylazine-2-hydroxy)을 첨가하고 메탄올로 500 μL가 되도록 희석한 다음, 0.45 μm 실린지 필터로 여과하였으며 2 mL 갈색 바이알에 옮겨 LC/ESI-MS/MS로 분석하였다. 항생제 및 대사체의 전처리과정은 Fig. 2에 제시 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 고체상추출법

환경 시료 중 설펜아미드계 항생제 및 대사체는 극미량(수 ng/L~μg/L)으로 존재하고 시료에 포함된 방해물질로 인하여 분석이 어려우므로, 농축이 용이하고 방해물질을 효과적으로 제거할 수 있는 고체상 추출

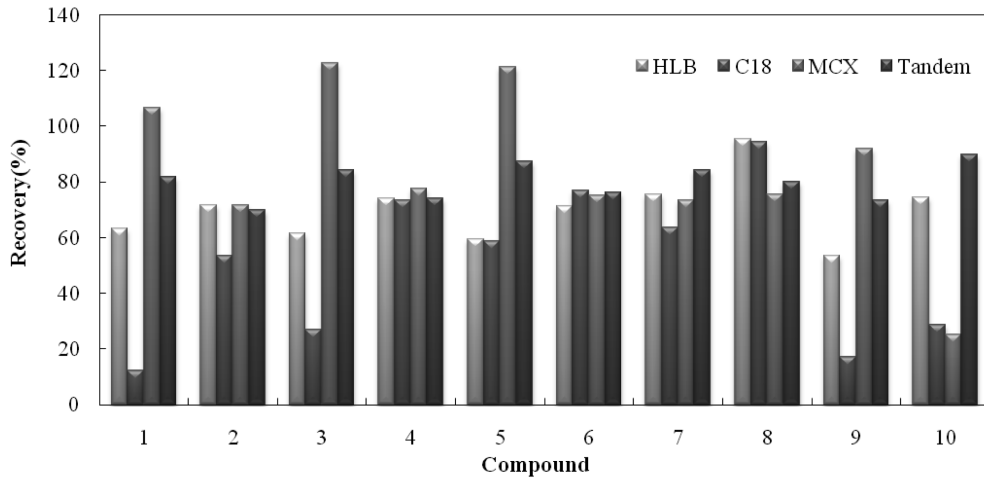


Fig. 3. Comparison of recoveries depending on cartridges. Compound: 1. Sulfadiazine, 2. N⁴-Acetylsulfadiazine, 3. Sulfamerazine, 4. N⁴-Acetylsulfamerazine, 5. Sulfamethazine, 6. N⁴-Acetylsulfamethazine, 7. Sulfamethoxazole, 8. N⁴-Acetylsulfamethoxazole, 9. Sulfathiazole, 10. Sulfamethoxazole-N¹-glucuronide.

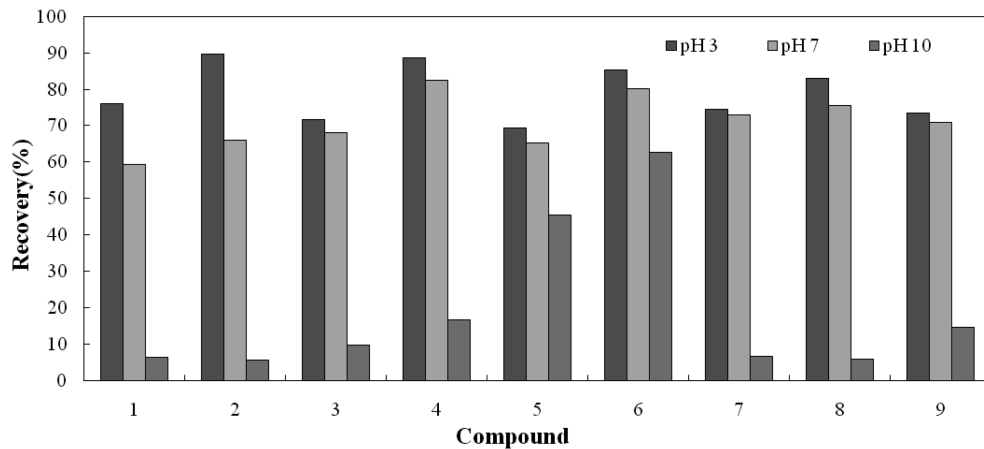


Fig. 4. Comparison of recoveries under sample pH condition. Compound: 1. Sulfadiazine, 2. N⁴-Acetylsulfadiazine, 3. Sulfamerazine, 4. N⁴-Acetylsulfamerazine, 5. Sulfamethazine, 6. N⁴-Acetylsulfamethazine, 7. Sulfamethoxazole, 8. N⁴-Acetylsulfamethoxazole, 9. Sulfathiazole.

법이 주로 사용된다.⁹⁻¹⁷ 본 연구에서도 고체상 추출법을 사용하여 카트리지 종류 및 시료의 pH에 따른 효과적인 추출조건을 확립하였다.

고체상 추출법에서 분석대상물질의 분자구조와 pK_a 값을 고려한 카트리지의 선택이 회수율에 영향을 미친다. 따라서 본 연구에서는 효과적인 동시추출방법을 확립하기 위하여, 비극성 상호작용으로 중성형태의 분석대상물질을 흡착시키는 C₁₈ 카트리지, 친수성 및 친지질성 상호작용으로 분석대상물질을 흡착시키는 HLB 카트리지, 양이온 교환 메커니즘으로 양이온 형태의 분석대상물질을 흡착시키는 MCX 카트리지 및

HLB 카트리지와 MCX 카트리지를 연결한 탠덤카트리지 방법을 이용하여 Fig. 2와 같이 추출효율 비교실험을 수행하였다.^{3,11}

각 카트리지별 회수율 실험결과와 C₁₈ 카트리지를 사용하였을 경우 대부분의 분석대상물질이 낮은 회수율을 나타냈으며, MCX 카트리지의 경우 N¹-glucuronide 대사체의 회수율이 25%로 동시분석에 적합하지 않은 것으로 판단된다. HLB 카트리지와 탠덤(HLB+MCX) 카트리지 방법 모두 회수율은 60-90% 범위였으나, 실험에 소요되는 시간, 카트리지 및 용매 사용량 등을 종합적으로 고려하였을 때, HLB 카트리지를 이용한

Table 3. Precursor ion, product ions, and collision energies for sulfonamide antibiotics and their metabolites

Compounds	Precursor ion	Product ion	Collision Energy
Sulfadiazine	251.10	92.09	27
		108.08	25
		156.09	15
N ⁴ -Acetylsulfadiazine	293.15	108.09	30
		134.11	25
		198.13	20
Sulfamerazine	265.08	92.09	35
		108.09	30
		156.10	20
N ⁴ -Acetylsulfamerazine	307.11	93.09	35
		108.0	27
		134.13	22
Sulfamethazine	279.07	92.04	30
		124.08	23
		186.06	16
N ⁴ -Acetylsulfamethazine	321.12	124.15	24
		134.13	25
		186.16	20
Sulfamethoxazole	254.05	92.06	27
		108.04	23
		156.06	15
N ⁴ -Acetylsulfamethoxazole	296.09	93.08	35
		108.11	25
		134.12	25
Sulfamethoxazole-N ¹ -glucuronide	428.14	92.11	43
		156.10	30
		252.20	17
Sulfathiazole	256.02	108.04	28
		92.06	23
		156.00	15

추출과정이 더 효율적인 것으로 판단된다(Fig. 3).

각 분석대상 물질의 pH에 따른 카트리지와와의 상호작용을 비교하기 위하여, 증류수 500 mL에 일정 농도의 표준용액을 희석한 후 3.5 M H₂SO₄와 1 M NaOH를 사용하여 시료의 pH를 각각 3, 7, 10으로 만든 후 HLB 카트리지에서 시료의 pH에 따른 회수율을 비교하였다. 그 결과, 분석대상물질이 전하를 가지지 않는 pH 3(산성조건)에서 우수한 회수율(70~90%)을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 이러한 결과는 pK_{a1} 값이 1.64~2.40인 설펜아미드 및 pK_a 값이 5.6~7.2인 N⁴-acetyl 대사체들이 pH 3에서 대부분 전하를 가지지 않는 중성이

되므로, 시료 적재시 HLB 카트리지와 효과적인 친지질성 상호작용에 의한 것으로 추정된다.

3.2. LC/ESI-MS/MS

환경시료 중 미량으로 존재하는 분석대상물질의 매질에 의한 방해 효과를 최소화하고 감도를 향상시키기 위하여 LC/ESI-MS/MS를 이용하여 분석하였다. Sulfamethoxazole-N¹-glucuronide의 경우, 카르복실기가 존재하기 때문에 양성자 1개가 분리된 [M-H]⁻가 유사분자이온(pseudo-molecular ion)으로 생성되며, 그 외 분석대상물질의 경우 아민기에 양성자가 1개 첨가된 [M+H]⁺가 유사분자이온으로 이온화 되는 경향을 나타낸다. 스캔 모드에서 각 분석대상물질의 질량 스펙트럼을 확인하여 선구이온을 선택하고, 충돌에너지를 조절하여 최적의 생성이온 조건을 확인한 후 선택반응모니터링 방법을 사용하여 분석하였다. 정확한 정성 및 확인을 위해 3개의 특성이온을 선택하였으며, 그 중 감도가 가장 높은 이온을 정량이온으로 사용하였다.

각 분석대상물질의 선구이온, 생성이온 및 충돌에너지는 Table 3, 표준물질의 크로마토그램은 Fig. 5과 같다.

3.3. 분석방법의 유효성 확인

분석방법의 방법검출한계를 구하기 위하여 증류수 500 mL에 표준물질(기기검출한계의 10배 농도)을 첨가한 후 시료와 동일하게 7회 반복실험을 하였다. 측정값에 3.14 (자유도 6, 99% 신뢰도에서 Student-t value)를 곱하여 구한 방법검출한계는 0.001~0.187 ng/mL 범위였다.

절대 회수율(absolute recovery)은 증류수 500 mL에 표준물질의 농도가 0.5 ng/mL가 되도록 첨가한 후 본 연구에서 제시한 전처리를 거친 값과 시료 전처리를 거치지 않은 표준물질의 피크 면적을 비교하여 구하였다. 분석 결과 회수율은 66%~115% 범위였으며, 상대표준편차(RSD)는 5~17%이었다. 또한, 동일 농도에서 Bias ((Bias=(참값-측정값/참값)×100%))를 측정 한 결과 정확도는 ±10%범위였다. 본 연구에서 확립된 방법검출한계, 회수율, 상대표준편차 및 정확도를 Table 4에 제시하였다.

3.4. 실제시료의 적용

본 연구에서 확립한 분석방법의 실제시료에 대한 적용성을 검토하기 위하여 한강 유역의 하수처리장 방류수 시료(A~G) 7건 및 축산폐수처리장 방류수 시

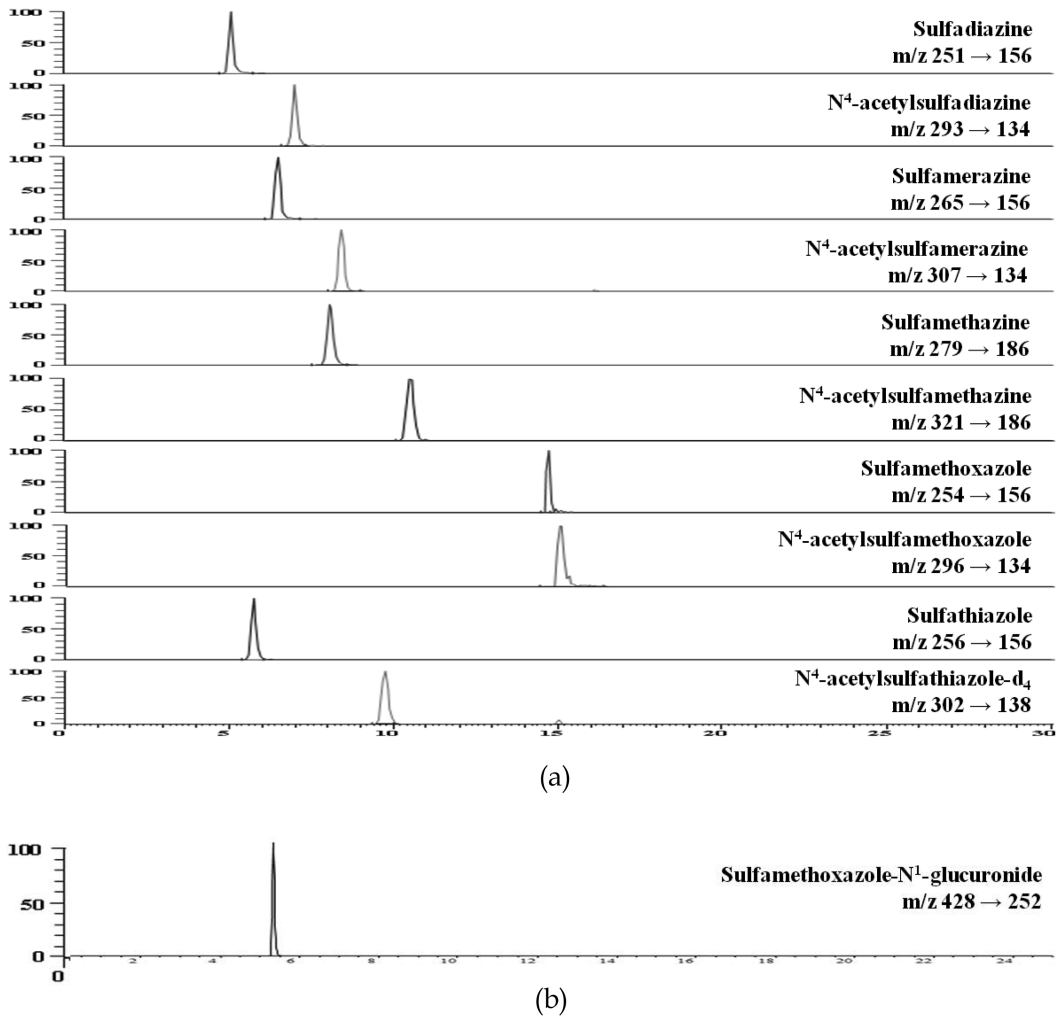


Fig. 5. Chromatograms of sulfonamide antibiotics and their metabolites (a) positive mode, (b) negative mode.

Table 4. Method detection limits(MDL), recoveries, precision, and accuracy for sulfonamide antibiotics and their metabolites

Compounds	MDL (ng/mL)	Recovery (%)	RSD (%)	Bias (%)
Sulfadiazine	0.006	73.22	6.77	-0.75
Sulfamerazine	0.007	69.24	7.81	-0.77
Sulfamethazine	0.006	66.16	5.58	-0.08
Sulfamethoxazole	0.017	85.38	16.99	10.68
Sulfathiazole	0.003	65.83	4.43	-0.86
N ⁴ -Acetylsulfadiazine	0.011	84.35	6.15	-5.45
N ⁴ -Acetylsulfamerazine	0.038	85.94	5.02	-2.66
N ⁴ -Acetylsulfamethazine	0.004	87.33	4.67	2.16
N ⁴ -Acetylsulfamethoxazole	0.187	85.47	6.74	-4.42
Sulfamethoxazole-N ¹ -glucuronide	0.001	114.86	6.91	3.21

료(H) 1건에 대한 설펜아미드계 항생제 및 대사체의 잔류농도를 조사하였다.

총 5종의 설펜아미드계 항생제 중에서 4종이 검출 되었으며, 검출된 시료의 농도범위는 0.008~2.153 ng/

Table 5. Occurrence of sulfonamide antibiotics and their metabolites in effluent of STPs and livestock WWTPs (ng/mL)

Compound	A	B	C	D	E	F	G	H
Sulfadiazine	N.D.	0.008	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Sulfamerazine	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Sulfamethazine	N.D.	0.009	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.075
Sulfamethoxazole	0.110	0.032	0.087	0.070	0.047	0.017	TR	0.198
Sulfathiazole	N.D.	0.066	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.153
N ⁴ -Acetylsulfadiazine	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
N ⁴ -Acetylsulfamerazine	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
N ⁴ -Acetylsulfamethazine	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
N ⁴ -Acetylsulfamethoxazole	TR	TR	N.D.	N.D.	TR	TR	TR	N.D.
Sulfamethoxazole-N ¹ -glucuronide	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

*N.D. = Not Detected, TR=Trace

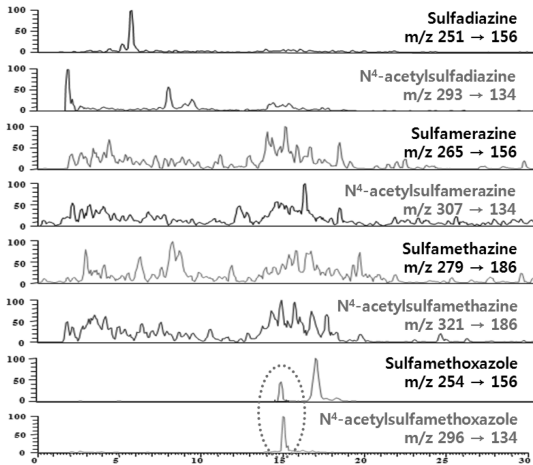


Fig. 6. Chromatogram of sample E.

mL이었다. Sulfathiazole의 경우 축산폐수처리장 방류수에서 2.153 ng/mL의 높은 농도로 검출되었다.

대사체의 경우, 설폰아미드계 대사체 5종 중 흔적량으로 검출된 대사체는 N⁴-acetylsulfamethoxazole 이었으며 그 외 다른 대사체는 검출되지 않았다. 실제시료의 분석결과를 Table 5에 제시하였으며, 검출시료(E)의 크로마토그램은 Fig. 6과 같다.

4. 결 론

본 연구에서는 환경 중 수질시료에 대하여 설폰아미드계 항생제 5종, 아세틸화 대사체 4종 및 글루코로나이드 대사체 1종에 대한 분석방법을 확립하고, 한강유역의 하수처리장 및 축산폐수처리장 방류수 시료 8건을 분석하여 실제시료에 대한 적용성을 평가하였다.

1. 환경 중 극미량 존재하는 설폰아미드계 항생제

및 대사체를 동시에 분석하기 위하여 HLB 카트리지를 사용한 추출방법과 액체크로마토그래피/텐덤질량분석기(LC/ESI-MS/MS)를 이용한 기기분석방법을 확립하였다.

2. 본 연구에서 제안된 분석방법에 대한 유효성 확인 실험 결과, 방법검출한계(MDL)은 0.0009~0.187 µg/L의 범위였으며, 회수율은 66~115%, 상대표준편차와 정확도는 각각 20%이내 및 ±10% 이내로 관찰되었다.

3. 실제시료분석을 통한 분석방법의 적용성 검토를 위하여 하수처리장 및 축산폐수처리장 방류수 8개를 분석한 결과 4종의 설폰아미드계 항생제와 1종의 대사체가 관찰되었으며, 대사체는 흔적량으로 검출되었다.

4. 아울러, 본 연구에서 정립한 설폰아미드계 항생제 및 대사체 분석방법은 환경 중 잔류 농도 모니터링과 대상물질의 거동 및 영향 조사에 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. M. J. García-Galán, M. S. Díaz-Cruz and D. Barceló, *Trend Anal. Chem.*, **27**(11), 1008-1022(2008).
2. A. K. Sarmaha, M. T. Meyer and A. B. A. Boxall, *Chemosphere*, **65**, 725-759(2006).
3. 국립환경과학원, “환경 중 의약품물질 분석방법 연구 및 노출실태조사(1)”, 2006.
4. T. B. Vree, E. Schoondermark-van de Ven, C. P. W. G. M. Verwey-van Wissen, A. M. Baars, A. Swolfs, P. M. van Galen and H. Amadajais-Groenen, *J. Chromatogr. B*, **670**, 111-123(1995).
5. T. B. Vree, A. J. van der Ven, C. P. Verwey-van Wis-

- sen, E. W. van Ewijk-Beneken Kolmer, A. E. Swolfs, P. M. van Galen and H. Amardtjais-Groenen, *J. Chromatogr. B*, **658**, 327-340(1994).
6. T. B. Vree, E. W. Kolmer, M. Martea, R. Bosch and M. Shimoda, *J. Chromatogr.*, **526**, 119-128(1990).
 7. X. S. Miao, F. Bishay, M. Chen and C. D. Metcalfe, *Environ. Sci. Technol.*, **38**(13), 3533-3541(2004).
 8. A. B. A. Boxall, D. W. Kolpin, B. Halling-Sørensen and J. Tolls, *Environ. Sci. Technol.*, **37**(15), 286A-294A(2003).
 9. M. J. García-Galán, M. S. Díaz-Cruz and D. Barceló, *Trends in Analytical Chemistry*, **28**(6), 804-819(2009).
 10. S. A. Mohring, I. Strzysch, M. R. Fernandes, T. K. Kiffmeyer, J. Tuerk and G. Hamscher, *Environ. Sci. Technol.*, **43**, 2569-2574(2009).
 11. M. S. Díaz-Cruz, M. J. García-Galán and D. Barceló, *J. Chromatogr. A.*, **1193**, 50-59(2008).
 12. A. Göbel, C. S. McArdell, A. Joss, H. Siegrist and W. Giger, *Sci. Total Environ.*, **372**, 361-371(2007).
 13. M. J. Hilton and K. V. Thomas, *J. Chromatogr. A.*, **1015**, 129-141(2003).
 14. A. Göbel, C. S. McArdell, M. J. F. Suter and W. Giger, *Anal. Chem.*, **76**(16), 4756-4764(2004).
 15. M. Radke, C. Lauwigi, G. Heinkele, T. E. Mürdter and M. Letzel, *Environ. Sci. Technol.*, **43**(9), 3135-3141(2009).
 16. K. Stoob, H. P. Singer, C. W. Goetz, M. Ruff and S. R. Mueller, *J. Chromatogr. A.*, **1097**, 138-147(2005).
 17. M. J. García-Galán, T. Garrido, J. Fraile, A. Ginebreda, M. S. Díaz-Cruz and D. Barceló, *J. Hydrol.*, **383**, 93-101(2010).
 18. 국립환경과학원, “환경 중 의약품질 분석방법 연구 및 노출실태조사(II)”, 2007.
 19. 국립환경과학원, “잔류의약품질 분석방법 연구 및 실태조사(I)”, 2008.
 20. 국립환경과학원, “환경 중 의약품질 배출원 조사 및 거동연구(I)”, 2008.
 21. C. L. Lin, Y. J. Cheng, H. Y. Huang and S. Lee, *Electrophoresis*, **30**, 3828-3837(2009).