

총설

## 시료 중 잔류 항생제 분석 방법: II. 액상 시료 전처리 방법

김찬식 · 류홍덕 · 정유진<sup>†</sup> · 김용석 · 류덕희

국립환경과학원 물환경연구부 유역총량연구과

### Determination of Antibiotic Residues: II. Extraction and Clean-up Methods for Liquid Samples\_A Review

Chansik Kim · Hong-Duck Ryu · Eu Gene Chung<sup>†</sup> · Yongseok Kim · Doug Hee Rhew

Watershed and Total Load Management Research Division, Water Environment Research Department,  
National Institute of Environmental Research

(Received 11 July 2016, Revised 15 November 2016, Accepted 21 November 2016)

#### Abstract

Increased attention has been paid to the presence of veterinary antibiotics in various environmental matrices due to their toxicological behavior in the ecosystem and development of antibiotic-resistant strains of pathogenic bacteria. In this review, 37 target antimicrobials were selected based on annual sales of antibiotics for livestock in South Korea 2014. Also, extraction and clean-up methods for the determination of the antibiotic residues in liquid samples including water, milk, and honey were comprehensively reviewed in the literature. Solid-phase extraction (SPE) was commonly used as a pre-treatment method for the samples. Most of the analytes were extracted in acidic conditions (2.5~4.0) except for aminoglycosides, which were extracted in neutral conditions (7.0~8.0).  $\beta$ -Lactams showed the highest recoveries in neutral pH due to their degradation characteristics in acidic media. Starta-X, Oasis HLB, and Oasis MCX were frequently applied as an SPE cartridge and Oasis HLB showed the highest recoveries for the majority of antibiotic classes. The homogenized honey and milk were extracted by mixing with acids for deproteinization. Solids and other interfering substances in the extract were eliminated by centrifugation followed by membrane filtration or SPE before injection into HPLC.

**Key words** : Extraction, LC-MS/MS, Liquid sample, Pre-treatment, Veterinary antibiotic residues

#### 1. Introduction

의·약학 기술의 발전은 인간 수명의 연장에 기여한 바가 크지만 또한 다양한 종류의 의약품 및 개인위생용품(Pharmaceuticals and personal care products, PPCPs)의 사용도 급증하였다. 뿐만 아니라 인구증가에 따른 육류소비량 증가로 축산업의 대규모·산업화가 이루어져 생산성 향상과 질병치료를 위한 의약품들이 다량으로 사용되고 있다.

그러나 환경 중에 유입되는 의약품들은 기존 정수처리 기술인 응집-침전 공정으로는 제거가 어렵고(Adams et al., 2002; Kim and Carlson, 2007), 산화공정(오존, 염소,  $\text{TiO}_2$ , UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$  등)(Adams et al., 2002; Petrovic et al., 2003)이나 생물학적 공정(Behera et al., 2011), 활성탄과 RO(Reverse Osmosis) 여과공정(Adams et al., 2002; Behera et al., 2011; Kim and Carlson, 2007) 등에 의해 일부 처리가 가능한 것

로 알려져 있다. 실제로 하수처리장 유입·유출수는 물론, 강, 지하수, 식수로 공급되는 정수처리장의 최종 처리수에서도 카페인(cafeine), 설파메톡사졸(sulfamethoxazole), 트리메소프림(trimethoprim), 린코마이신(lincomycin), 이부프로펜(ibuprofen), 타이로신(tylosin) 등이 빈번하게 검출되고 있다(Table 1).

수 ng/L~ $\mu\text{g/L}$  농도 수준으로 검출되는 이러한 의약품들은 성장 및 생식기능을 저하하는 등 수생태 생물 뿐 아니라 인간의 건강에 영향을 주는 것으로 보고되고 있다(Liu and Wong, 2013; Malchi et al., 2014; Rahman et al., 2009). Pomati et al. (2008)은 대장균, 인체배아 신장 세포(HEK293; Human Embryonic Kidney 293 cells), 에스트로겐에 반응하는 난소암 종양세포(OVCAR3 tumor cells)를 이용하여 환경 중에 빈번하게 검출되는 의약품들의 독성을 평가하였다. 이들은 ng/L 수준으로 존재하는 베자피브레이트(bezafibrate), 아테놀롤(atenolol), 시프로플록사신(ciprofloxacin), 린코마이신이 원핵세포와 진핵세포에 상당한 영향을 주는 것을 확인하였으며 특히, 이러한 의약품들이 혼합되어 존재하는 경우 수 ng/L 수준에서도 세포증식을 억제하여 임산부와 신생아에게 위험성을 나타내는 것을 보고하였다. 또한 설파디메톡신(sulfadimethoxine)과 엔로플록사신(enrofloxacin)이 식물에 잠재적인 독성을 갖는 것으로 나타났다(Migliore et al., 1998;

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed.  
egchung@korea.kr

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.

**Table 1.** Occurrence of pharmaceuticals in worldwide water samples by various sources

Location	Compound	Reference
River (China)	sulfamethazole, sulfamethazine, ibuprofen, lincomycin, erythromycin, caffeine, paraxanthine, etc.	Wu et al., 2014
Wastewater treatment plant (Michigan, US)	doxycycline, sulfamethoxazole, tylosin, caffeine, acetaminophen, lincomycin, sulfamethazine, etc.	Gao et al., 2012
Wastewater treatment plant (Korea)	acetaminophen, ibuprofen, caffeine, carbamazepine, lincomycin, atenolol, sulfamethoxazole, trimethoprim, triclosan, etc.	Behera et al., 2011
Groundwater (California, US)	caffeine, codeine, sulfamethoxazole, trimethoprim, acetaminophen, etc.	Fram and Belitz, 2011
Groundwater (France)	acetaminophen, carbamazepine, caffeine, sulfamethoxazole, codeine, erythromycin, etc.	Lopez et al., 2015
Drinking water (Canada)	carbamazepine, gemfibrozil, tylosin, ibuprofen, bisphenol A, monensin, lincomycin, erythromycin, etc.	Kleywegt et al., 2011
Drinking water (China)	caffeine, thiamphenicol, sulfamethazine, sulfamethoxazole, trimethoprim, clarithromycin, tylosin, carbamazepine, etc.	Leung et al., 2013
Drinking water (Japan)	diclofenac, ibuprofen, carbamazepine, epinastine, fenofibrate, iopamidol, etc.	Simazaki et al., 2015
Drinking water (Spain)	azithromycin, sulfamethoxazole, erythromycin, ibuprofen, clarithromycin, etc.	Boleda et al., 2014

Migliore et al., 2003).

무엇보다 잔류 항생제가 지속적으로 수환경에 유입됨에 따라 항생제 내성 박테리아 및 유전자의 생성과 이로 인한 인간보건에 대한 위협의 문제는 수십 년 전부터 제기되어 왔다 (Bonnet, 2004; Chander et al., 2011; Hasman et al., 2005; Hur et al., 2012; Neu, 1992; Persoons et al., 2011; Pfeifer et al., 2010). 내성을 갖는 페니실린내성 황색포도구균, ESBL생성 박테리아(Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase(ESBL) producing bacteria) 등이 발현, 보고되어 왔으며 하수 및 하수슬러지 (Biswal et al., 2014; Chen and Zhang, 2013), 물놀이 공간 (Santiago-Rodriguez et al., 2013) 등 여전히 다양한 시료에서 검출되고 있다.

대부분의 페니실린계 항생제는 ESBL 생성 박테리아에 대해 효과가 없는 것으로 나타났으며(Francioli et al., 1991; Jones, 2001), 2007년 WHO에 의해 인간 건강에 매우 중요한 항생제로 승인된 세팔로스포린(cephalosporin)계 항생제에 대한 내성도 꾸준히 관찰되고 있다(Chander et al., 2011; Dahmen et al., 2012; Dutil et al., 2010; Ewers et al., 2010; Jones, 2001; Persoons et al., 2011; Pfeifer et al., 2010). 세팔로스포린계 항생제에 대한 내성의 증가로 카르바페넴(carbapenem)계 항생물질의 처방 및 사용이 증가하였으나 (Hawkey and Livermore, 2012), 이와 동시에 카르바페넴 내성도 관찰되기 시작하였다(Hawkey and Livermore, 2012; Nordmann et al., 2012). 이러한 이유로 페니실린계, 세팔로스포린계, 퀴놀론계열(Quinolone)의 항생제는 4세대, 매크로라이드(macrolide), 테트라사이클린(tetracycline)계열의 항생제는 3세대까지 부분 합성을 통해 내성 박테리아에 대비한 유사한 형태의 항생제가 개발되어 왔고 새로운 항생제 계열을 개발하기 위한 지속적인 연구가 진행되고 있다(Fischbach and Walsh, 2009; Straus and Hancock, 2006).

일반적으로 의약품물은 병원 및 가정에서 버려지는 폐수, 의약품 제조 공장에서 배출되는 산업폐수, 축산농가의 폐수,

가축분뇨의 퇴·액비 등을 통해 다양한 경로로 환경 중에 유입된다(Andersson and Hughes, 2014; Heberer, 2002). 점오염원으로 분류할 수 있는 병원과 가정, 공장의 하·폐수는 상대적으로 규제와 관리가 유용한 반면 산발적으로 흩어져 있는 중소규모의 가축사육을 통해 발생하는 동물 배설물의 퇴비화 비료 등은 추적 및 관리가 용이하지 않아 실태와 위험성에 대한 검증도 이루어지지 않은 경우가 대부분이다. 특히, 검증된 효능에 맞지 않은 증상의 치료를 목적으로, 승인되지 않은 연령대의 가축에, 기준 복용량 이상으로, 또는 허가받지 않은 경로를 통해 획득한 의약품을 무분별하게 사용하는 경우 잔류 의약품질의 추적이 불가능하며 먹이사슬 최상위자인 인간이 섭취하게 되어 박테리아의 항생제 내성 증가에 기여하게 된다(Oliver et al., 2011; Wegener et al., 1999).

축산업에서는 항생제를 주로 사용하며 사료나 물에 섞어 섭취하게 하는데 대부분의 항생제는 흡수나 대사 작용을 거치지 않은 원물질 그대로 또는 부분적인 대사만 이루어진 형태로 배설된다(Sarmah et al., 2006). 또한 배설된 의약품 일부는 생물학적 활성도가 그대로 유지되기도 한다(Martinez-Carballo et al., 2007). Kroker (1983)는 돼지가 베타-락탐계( $\beta$ -lactams), 테트라사이클린계, 설폰아미이드계(sulfonamides) 항생물질의 일부를 흡수하고 50~90%는 그대로 배설물을 통해 배출하는 것을 보고하였다.

오랜 시간 우리나라를 포함한 많은 나라들이 가축분뇨를 퇴비화하여 농업 비료로 사용해 왔으나 이는 토양 및 주변 유역, 지하수까지 잔류 항생제 오염을 야기했고, 결과적으로 항생제 저항 유전자를 생성하게 되는 잠재적 위험요인이 되고 있다(Martinez-Carballo et al., 2007; McArdell et al., 2003; Tolls, 2001). Dolliver et al. (2008)는 클로르테트라사이클린(chlortetracycline)의 경우 22~35일의 분뇨퇴비화 과정에서 99%가 제거되는 것을 확인하였으나 모넨신(monensin)과 타이로신은 54~76%만이 분해되고 설파메타진(sulfamethazine)은 전혀 분해되지 않는 것을 확인하였다. 이에 앞서 Schlusener

et al. (2006)은 액비저장 탱크에서 4종의 축산용 항생제 반감기를 조사하였는데 살리노마이신(salinomycin), 에리트로마이신(erythromycin), 록시트로마이신(roxithromycin)의 반감기는 각각 6일, 41일, 130일로 계산되었으며 티아몰린(tiamulin)은 총 180일의 관찰기간 동안 농도의 변화가 없는 것으로 보고하였다.

2015년 환경부는 항생제 저항성 박테리아에 의한 위협에 대비하고 가축으로부터 발생하는 잔류 항생물질의 거동 및 실태를 파악하기 위하여 「가축분뇨의 관리 및 이용에 관한 법률」과 「가축분뇨실태조사의 세부 절차 및 방법 등에 관한 고시」를 제정·발표하였다(Korea Ministry of Government Legislation, 2015). 고시에 따르면 대상지역의 축산현황과 환경오염현황 조사를 위해 가축분뇨, 하천 및 호소, 지하수 등의 시료를 채취, 잔류항생물질의 농도를 측정하게 된다. 그러나 우리나라는 잔류항생물질 측정을 위한 공정시험기준이 마련되어 있지 않으며, 미국 EPA method 1694에서 HPLC-MS/MS를 사용하여 잔류의약품질을 측정할 수 있는 표준방법을 제안하고 있으나 가축분뇨에 대한 전처리 방법을 언급하지는 않고 있다(U. S. EPA, 2007). 항생제 분석 방법을 개발한 논문들의 경우 하천 및 호소수 시료종의 잔류농도 측정 방법이 주를 이루고 있고, 문헌에서 생선(Evangelopoulou and Samanidou, 2013; Lopes et al., 2012; Xu et al., 2012), 육류(Berendsen et al., 2013; Bousova et al. 2013; Tao et al. 2012), 가축사료(Amelin and Timofeev, 2016; Boscher et al., 2010; Pietruk et al. 2015) 등의 고체 시료를 대상으로 전처리방법을 개발·적용한 사례가 있으나 가축분뇨 중의 항생제 분석방법(Gorissen et al. 2015; Zhou et al., 2012)을 제시한 연구는 미미한 것으로 나타났다.

따라서 본 연구에서는 고체 시료 전처리 방법 연구에서 선정된 37종의 동물용 항생제를 대상으로 선정된 물질을 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography)와 질량분석법(mass spectrometry)을 이용해 분석하기 위한 액체 시료의 전처리 과정을 조사하고 향후 가축분뇨 중 잔류항생물질에 대한 표준화된 분석 방법을 수립하기 위한 그룹별 특성을 비교하고자 한다.

## 2. Selection and Classification of Veterinary Antibiotics

본 연구에서는 총설 I에서 선정된 37종의 축산용 항생물질에 대한 분석방법을 조사하고자 하였다. 대상물질을 선정하기 위하여 국내 가축용 항생제 판매순위를 조사하였고, 판매량은 『2014년도 국가항생제 사용 및 내성 모니터링』(Lim et al., 2015)자료를 인용하였다.

선정된 37종의 항생제는 최소 12개 이상의 계열로 분류되며 계열별로 상이한 화학적 특성으로 인해 항생제 계열에 따라 효과적인 전처리 방법이 다를 수 있다(Shin et al., 2012; U. S. EPA, 2007). EPA method 1694나 Shin et al. (2012)의 연구 보고서에 따르면 항생제를 물리화학적 유사성에 따라 4-5개의 그룹으로 나누어 그룹별 최적 전처리 방법을 제

시하고 있다. 선정된 37개의 항생물질 중 16종이 미국 EPA method 1694에서 제안한 그룹에 포함되며, Shin et al.이 분류한 그룹에는 15종의 항생제가 포함된다(Table 2).

EPA method 1694는 총 74개의 의약품질을 4개 그룹으로 나누어 각 그룹별 분석방법을 제시하고 있다. 전처리를 수행하는 pH 조건(pH 2.0, pH 10.0)에 따라 두 그룹으로 구분되며 그 중 산성조건에서 전처리를 수행하는 그룹은 LC-MS 분석조건에 따라 다시 세 그룹으로 분류된다. 비교적 많은 연구가 진행된 베타-락탐계, 플로로퀴놀론계(fluoroquinolones), 매크로라이드계, 설펜아미이드계, 테트라사이클린계 등의 항생제가 포함되어 있으며 주로 Group 1과 2로 분류된다. Group 1과 2는 LC-MS 분석 조건의 차이로 인해 다른 그룹으로 분류되지만 전처리방법은 산성 pH 조건에서 동일한 과정으로 진행된다.

Shin et al. (2012)은 “잔류의약품질 분석방법 연구 및 실태조사(V)”에서 의약품질 42종에 대한 분석방법을 제시하였다. 의약품질을 물리·화학적 특성에 따라 구분한 5개의 그룹에 pH, 카트리지, 용리액의 종류 등 조건이 다른 5가지의 전처리 과정을 각각 적용하였다. Group I은 EPA method 1694와 유사하게 설펜아미이드계, 테트라사이클린계, 플로로퀴놀론계의 항생제를 포함하고 있으며 산성 조건(pH 3)에서 하나의 전처리를 적용하는데, HPLC 분석 조건에 따라 Group I-A, B, C로 세분화하였다. 매크로라이드계 항생제는 Group II로, 베타-락탐계 항생제는 Group III으로 분류되며 아미노글리코사이드계 항생제인 스트렙토마이신(streptomycin)은 Group V로 분류되어 서로 다른 전처리과정을 수행하였다.

U. S. EPA (2007)와 Shin et al. (2012)이 제안한 방법들 모두 기존의 연구를 바탕으로 하여 항생제를 그룹화하고 분석방법을 제시하였다. 따라서 분석 가능한 항생물질의 종류가 매우 유사하며 그 범위도 베타-락탐, 플로로퀴놀론, 매크로라이드, 설펜아미이드, 테트라사이클린 등으로 제한적이었다. 특히, Shin et al. (2012)이 제안한 방법은 대상 시료로부터 여러 종류(계열)의 항생제를 검사하고자 할 때 수회에 걸쳐 각각 다른 전처리 과정을 수행해야 하기 때문에 많은 시간과 노동력을 필요로 하는 단점을 가지고 있다. 실제로 본 연구에서 선정된 항생제를 검출할 목적으로 EPA method 1694를 적용한 경우 시료 당 1회의 전처리를 통해 16종의 잔류항생제 농도를 측정할 수 있는 반면, Shin et al. (2012)의 방법을 적용하는 경우 4가지의 전처리방법을 적용해야 15종의 잔류항생제 농도를 측정할 수 있었다.

이러한 문제를 해결하기 위해 다양한 종의 항생물질을 동시에 분석 가능하도록 하는 효율적인 전처리 방법을 도출할 필요가 있으며 이를 위해서 각 항생제 계열에 따른 물리화학적 특성에 대한 이해뿐만 아니라 전처리 과정에 대한 이해가 필요하다. 따라서 다음 절에서는 액체 시료를 대상으로, 선정된 항생제들에 대한 분석방법을 검토하였다. EPA method 1694를 대상 물질의 경우 제시된 방법을 우선 고려하였으며 비대상 물질들에 대해서는 문헌조사를 통해 분석방법을 정리, 비교하였다.

**Table 2.** Classification of the 37 selected antibiotics

Class	Compound	Analytical group	
		U.S. EPA 2007	Shin et al., 2012
Aminoglycosides	Apramycin		Group V
	Dihydrostreptomycin		
	Gentamicin		
	Kanamycin		
	Neomycin		
	Spectinomycin		
	Streptomycin		
Amphenicols	Florfenicol		Group I-C
	Chloramphenicol		
β-Lactams (Penicillins and cephalosporins)	Penicillin G	Group 1	Group III
	Ampicillin		
	Amoxicillin		
	Ceftiofur		
Fluoroquinolones	Enrofloxacin	Group 1	Group I-B
	Flumequine		
	Marbofloxacin		
Ionophore polyethers	Lasalocid		
	Monensin		
	Salinomycin		
Lincosamides	Lincomycin	Group 1	Group I-A
Macrolides	Tylosin	Group 1	Group II
	Tilmicosin		
Pleuromutilins	Tiamulin		
Polymyxins	Colistin		
Sulfonamides	Sulfachloropyridazine	Group 1	Group I-A
	Sulfadimethoxine		
	Sulfamethazine		
	Sulfamethoxazole		
	Sulfathiazole		
	Sulfadiazine		
Sulfaquinoxaline			
Tetracyclines	Chlortetracycline	Group 2	Group I-B
	Oxytetracycline		
	Doxycycline		
Others	Trimethoprim	Group 1	Group I-A
	Clopidol		
	Fenbendazole		Group III

### 3. Pre-treatment methods of Liquid Samples

시료의 적절한 전처리는 분석과정에서 매우 필수적인 부분이다. 특히 극미량으로 존재하는 잔류 항생물질을 분석하는 과정에서 그 중요성은 더욱 커진다. HPLC-MS/MS를 이용한 잔류항생제 분석 기술의 적용 과정에서 잔류 항생물질의 전처리 과정의 핵심적인 목표는 시료중의 분석대상 물질을 추출·농축시키고, 간섭물질을 제거하여 액체크로마토그래피(liquid chromatography)단계에 주입 가능한 형태로 시료를 처리하는 것이다. 잔류 항생제를 측정하기 위한 다양한 방법이 보고되고 있으나 물 시료의 전처리 방법으로는 고상추출법(Solid-Phase Extraction: SPE)이 가장 흔하게 사용되어 왔다(Chitescu et al., 2015; Gros et al., 2013; Iglesias et al.,

2012; Shelver et al., 2010).

고상추출법은 일반적으로 Fig. 1과 같이 컨디셔닝(conditioning)-시료적재-세척-추출-농축의 단계를 거친다. 고상추출 대상 시료는 전여과(pre-filtration)하여 입자물질을 제거하고 대용표준물질(surrogate standard), EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid)를 투입하거나 pH를 조절하며 농축 시료를 후여과(post-filtration)하기도 한다. EDTA는 시료 중의 금속이온을 착물의 형태로 제거하기 위하여 투입하며(De Alwis and Heller, 2010; Gros et al., 2013) 추출법의 효율을 평가하기 위해 추출 과정이 시작되기 전, 대용표준물질을 시료에 투입하기도 한다. 시료의 pH, 카트리지의 종류, 추출(extraction)과 농축(concentration)에 사용되는 유기용매 및 사용량은 분석대상 물질에 화학적 특성에 따라 상이하며 보

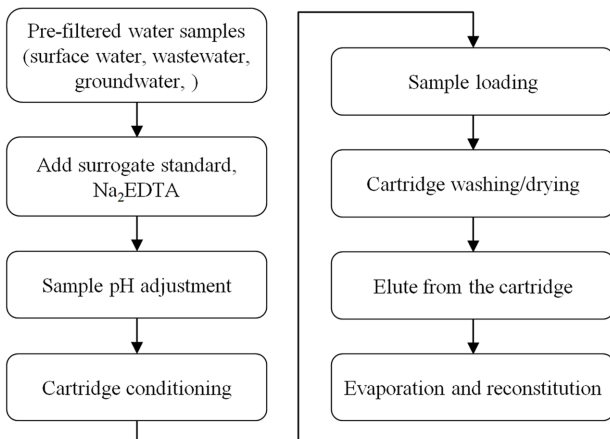


Fig. 1. Schematic diagram of sample preparation for HPLC analysis.

편적으로 적용 가능한 최적 전처리조건을 도출하기 위한 다양한 연구가 진행되어 왔다(Ben et al., 2008; De Alwis and Heller, 2010; Gros et al., 2013; Iglesias et al., 2012; Zhou et al., 2012). 물 시료는 자연에 존재하는 지표수(surface water, SW)와 지하수(ground water, GW), 병원과 돼지 사육농장의 폐수처리장 유출수(hospital wastewater effluent, HWWE; swine wastewater, SWW), 도시하수처리장의 유입·유출수(urban wastewater influent, UWWI; urban wastewater effluent, UWWE)를 대상으로 하였고, Table 3~5에 물 시료 중 잔류항생제 농도 분석을 위한 전처리 방법을 정리하였다.

일반적으로 전처리 과정에서 고상추출법에 따라 시료를 카트리지에 적재하기 전, 시료의 pH를 조절하는데 물 시료의 pH는 수중에 녹아있는 분석대상물질의 해리 형태와 안정성, 카트리지의 충전 물질과 항생제간 상호작용을 결정하는 매우 중요한 역할을 한다. 조사 결과 시료의 pH는 1.5~8.0 범위로 나타났으나 겐타마이신(gentamycin)과 카나마이신(kanamycin)을 제외한 나머지 물질들은 pH 2.5~4.0 범위의 산성 조건에서 적절한 회수율을 나타내는 것으로 확인되었다(Table 3). 이는 이미 다종의 항생물질에 적용하기 위한 분석방법을 연구한 여러 문헌들에서도 보고되어 왔다(Diaz-Cruz and Barcelo, 2006; Gros et al., 2013; Seifrtova et al., 2009; Zhou et al., 2012). 물 시료에 용존 상태로 존재하는 분자는 pKa 값 이상의 pH에서 대부분 이온 형태로 존재하며 친수성을 나타낸다. 이온화된 물질은 친유성(lipophilic) 흡착제를 사용하는 카트리지에 의한 고상추출법으로는 분리가 어렵다(Petrovic et al., 2005). 플로로퀴놀론계, 테트라사이클린계, 매크로라이드계, 설펜아미드계 등에 속하는 주요 항생제는 산성 또는 염기성 작용기를 가지고 있고 이러한 물질들의 이온화 상태는 용액의 pH에 의해 결정된다. Seifrtova et al. (2009)는 물 시료 중의 항생물질 분석 방법을 조사하였는데 대부분의 물질은 산성 작용기를 포함하고 있어 시료의 pH가 분석 대상물질의 pKa값보다 2 낮을 때 분석 대상 화합물이 산(acid)의 형태로 존재하며 카트리지에서 대상물질의 분리능이 향상된다고 보고하였다. Gros et al. (2013)은 53종의 항생제를 대상으로 시료의 pH를 조절하지 않은 조건과 시

료의 pH를 2.5로 조절한 조건에서 Oasis HLB를 적용했을 때 회수율을 비교하여 추출 성능을 평가하였는데 전반적으로 pH를 조절한 조건에서 높은 회수율을 나타내는 것을 확인하였다.

그러나 Table 4에 나타낸 바와 같이 일부 문헌에서 페니실린계와 세파로스폴린계(cephalosporines) 항생제가 산성으로 산도를 조절하고 고상추출법을 적용한 시료에서 매우 낮은 회수율을 보이는 것으로 나타났다(Castiglioni et al., 2005; Gros et al., 2013; Lindberg et al., 2004). 이러한 현상은 산성 또는 염기성 조건 시료에서 일부 베타-락탐계 항생제들이 쉽게 분해되기 때문인데 시료 전처리 과정 중에 분해가 일어나 회수율이 급격히 감소하는 것이다(Diaz-Cruz and Barcelo, 2006; Thiele-Bruhn, 2003). 이는 중성조건(7.5, 8.0)의 pH에서 전처리 과정을 진행한 경우 회수율이 향상된 연구를 통해 증명되었다(Cha et al., 2006; Gros et al., 2013). 따라서 페니실린계와 세파로스폴린계 항생제를 포함하는 시료의 경우 중성조건에서 전처리를 수행하거나 물질의 분해로 인한 회수율 저감을 최소화하기 위해 시료적재 직전에 pH를 조정하는 등의 방법을 고려해야 할 것이다(Pozo et al., 2006).

또한 모든 전처리 과정에서 카트리지에 시료를 적재하기 전, EDTA를 첨가하는 것으로 조사되었다. 앞서 언급한 바와 같이 테트라사이클린계, 플로로퀴놀론계, 매크로라이드계의 항생제는 수중의 다가 금속이온과 결합하는 성질을 가지며, 항생제와 반응한 금속이온이 카트리지에 흡착되어 비가역적인 결합을 형성하면서 전처리 과정의 회수율을 감소시키는 결과를 초래한다. 따라서 이를 방지하고 추출물의 향상을 위해 킬레이트제인 EDTA, 옥살산, 구연산 등의 첨가를 통한 pH 조절 단계가 필수적인 것으로 알려져 있다(Gros et al., 2013; Miao et al., 2004). 이러한 이유로 금속이온과 결합하는 성질이 약한 설펜아미드 계열의 항생제만을 분석한 연구들에서는 EDTA를 첨가하지 않았으며 회수율에도 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다(Seifrtova et al., 2009).

pH 조절과 EDTA를 첨가한 시료는 컨디셔닝(conditioning)된 카트리지에 적재된다. 고상추출법은 기존의 액-액 추출방법을 대체하여 환경시료 분석 시 가장 많이 사용되고 있는 추출방법이다. 고상추출법은 높은 선택성, 재현성, 적은 유기용매를 사용한다는 특성과 짧은 추출시간, 자동화 등의 장점을 갖는다. 다양한 종류의 충전제를 적용한 카트리지 중 Oasis HLB 카트리지의 가장 많이 사용되며 극성과 비극성 물질에 모두 높은 재현성과 좋은 회수율을 나타냈다. 일부 연구에서는 Strata<sup>®</sup>-X(Chitescu et al., 2015; Donato et al., 2012; Iglesias et al., 2012), Oasis MCX(mixed cation exchange)(Calamari et al., 2003; Castiglioni et al., 2005) 카트리지를 사용하였고 드물게 C<sub>18</sub> 카트리지를 사용하기도 하였다(Martinez-Villalba et al., 2009).

Gros et al. (2006)은 항생제를 포함한 29종의 의약품질에 대해 폴리머 흡착제를 사용하는 Oasis HLB와 Isolute ENV+ 카트리지, 비극성 카트리지인 C<sub>18</sub>, 양이온 Oasis MCX 카트리지를 적용하여 조건에 따른 추출 성능을 평가하였다. Oasis MCX카트리지의 산성 조건에서 모든 항생제에 대해 비교적

**Table 3.** Conditions of solid-phase extraction (SPE) for the selected antibiotics in water samples and the corresponding recoveries (HWWE: hospital wastewater effluent; UWWI: urban wastewater influent; UWWE: urban wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: groundwater; SW: surface water; FA: formic acid; ACN: acetonitrile; DCM: dichloromethane)

Analyte	Sample matrix	Conditions of SPE			Recovery(%) (spiking concentration)	Reference
		pH adjustment	Cartridge	Eluent		
Chloramphenicol	SW	3.0 (acetic acid)	Strata®-X	6 ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	81 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Chitescu et al., 2015
	SW	3.0	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	103 (10 ngL <sup>-1</sup> ) 103 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 175 (20 ngL <sup>-1</sup> ) Zhou et al., 2012
	UWWI UWWE	(4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )				
Florfenicol	SW	-	Strata-X	5 ml MeOH/acidified ACN (1:1, v/v)	5 ml ammonium formate:MeOH (1:1, v/v)	88 (2.5 µgL <sup>-1</sup> ) Donato et al., 2012
	SW	3.0	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	113 (10 ngL <sup>-1</sup> ) 76 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 116 (20 ngL <sup>-1</sup> ) Zhou et al., 2012
	UWWI UWWE	(4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )				
Lasalocid	SW	5.0-5.2 (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	3 ml ACN	0.5 ml 10% MeOH acidified with 0.1% FA	106 (10 ngL <sup>-1</sup> ) Sorensen and Elbaek, 2004
	SW	2.5-3.0 (3.5M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB+MCX	8 ml MeOH, 2 ml MeOH(5% NH <sub>4</sub> OH)	0.5 ml 0.1% FA/ (MeOH/H <sub>2</sub> O)(2:8, v/v)	97 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 103 (1 µgL <sup>-1</sup> ) Hong et al., 2015
	UWWI	Acidified (0.1% HCO <sub>2</sub> H)	Varian C18	Acidic MeOH (5ml)	0.9 ml ACN/H <sub>2</sub> O (1:1, v/v)	87 (250 ngL <sup>-1</sup> ) 85 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Martinez-Villalba et al., 2009
Monensin	SW	3.0 (0.1N HCl)	Strata®-X	MeOH (4 ml)	200 µl 0.1% FA in methanol	69-142 (25-150 ngL <sup>-1</sup> ) Iglesias et al., 2012
	SW	3.0	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	62 (10 ngL <sup>-1</sup> ) 73 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 94 (20 ngL <sup>-1</sup> ) Zhou et al., 2012
	UWWI UWWE	(4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )				
Salinomycin	SW	Acidified (0.1% HCO <sub>2</sub> H)	Varian C18	5 ml acidic MeOH	0.9 ml ACN/H <sub>2</sub> O (1:1, v/v)	90 (250 ngL <sup>-1</sup> ) 92 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Martinez-Villalba et al., 2009
	SW	3.0 (acetic acid)	Strata®-X	6 ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	78 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Chitescu et al., 2015
	SW	-	Strata®-X	5 ml MeOH/acidified ACN (1:1, v/v)	5 ml ammonium formate:MeOH (1:1, v/v)	56 (2.5 µgL <sup>-1</sup> ) Donato et al., 2012
Salinomycin	SW	3.0 (0.1N HCl)	Strata®-X	4 ml MeOH	200 µl 0.1% FA in methanol	73-142 (25-150 ngL <sup>-1</sup> ) Iglesias et al., 2012
	SW	3.0	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	53 (10 ngL <sup>-1</sup> ) 81 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 117 (20 ngL <sup>-1</sup> ) Zhou et al., 2012
	UWWI UWWE	(4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )				

**Table 3.** Conditions of solid-phase extraction (SPE) for the selected antibiotics in water samples and the corresponding recoveries (HWWE: hospital wastewater effluent; UWWI: urban wastewater influent; UWWE: urban wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: groundwater; SW: surface water; FA: formic acid; ACN: acetonitrile; DCM: dichloromethane)

Analyte	Sample matrix	Conditions of SPE			Recovery(%) (spiking concentration)	Reference
		pH adjustment	Cartridge	Eluent		
Lincomycin	SW	3.0 (acetic acid)	Strata®-X	6 ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	50 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Chitescu et al., 2015
	SW	Acidified (0.1% HCO <sub>2</sub> H)	Varian C18	5 ml acidic MeOH	0.9 ml ACN/H <sub>2</sub> O (1:1, v/v)	93 (250 ngL <sup>-1</sup> ) 90 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Martinez-Villalba et al., 2009
	SW	-	Strata®-X	5 ml MeOH/acidified ACN (1:1, v/v)	5 ml ammonium formate:MeOH (1:1, v/v)	71 (2.5 µgL <sup>-1</sup> ) Donato et al., 2012
Lincomycin	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	18 (5 µgL <sup>-1</sup> ) U. S. EPA, 2007
	HWWE					
	UWWE	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6ml MeOH	1 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	70 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 63 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 98 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 82 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Gros et al., 2013
	UWWI	3.0 (4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	124 (10 ngL <sup>-1</sup> ) 117 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 73 (20 ngL <sup>-1</sup> ) Zhou et al., 2012
	UWWE					
	SW	3.0 (acetic acid)	Strata®-X	6ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	7 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Chitescu et al., 2015
Tilmicosin	UWWE	1.5-2.0 (HCl)	OASIS MCX	2 ml each of MeOH MeOH (2% NH <sub>3</sub> ) MeOH (0.2% NaOH)	100 µl 0.01% CH <sub>3</sub> COOH	76 Castiglioni et al., 2005
	UWWI	2.5-3.0 (3.5M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB+MCX	8 ml MeOH, 2 ml MeOH (5% NH <sub>4</sub> OH)	0.5 ml 0.1% FA/ (MeOH/H <sub>2</sub> O)(2:8, v/v)	81 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 83 (1 µgL <sup>-1</sup> ) 95 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 156 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 155 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 160 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Hong et al., 2015
	SW	3.0 (acetic acid)	Strata®-X	6ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	100 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Chitescu et al., 2015
UWWE	1.5-2.0 (HCl)	OASIS MCX	2 ml each of MeOH, MeOH (2% NH <sub>3</sub> ), MeOH (0.2% NaOH)	100 µl 0.01% CH <sub>3</sub> COOH	131 Castiglioni et al., 2005	

**Table 3.** Conditions of solid-phase extraction (SPE) for the selected antibiotics in water samples and the corresponding recoveries (HWWE: hospital wastewater effluent; UWWI: urban wastewater effluent; UWWWE: urban wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: groundwater; SW: surface water; FA: formic acid; ACN: acetonitrile; DCM: dichloromethane)

Analyte	Sample matrix	Conditions of SPE			Recovery(%) (spiking concentration)	Reference	
		pH adjustment	Cartridge	Eluent			
	SW	2.0 (HCl)	OASIS MCX	2 ml each of MeOH, MeOH(5% NH <sub>3</sub> )	200 µl 0.1% FA/ACN (9:1, v/v)	132 (10 ngL <sup>-1</sup> ) Calamari et al., 2003	
	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	103 (10 µgL <sup>-1</sup> ) U. S. EPA, 2007	
	HWWE UWWWE UWWI SW	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6ml MeOH	1 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	50 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 142 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 137 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 70 (50 ngL <sup>-1</sup> )	Gros et al., 2013
Tylosin	SW	3.0 (4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	119 (10 ngL <sup>-1</sup> ) 125 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 134 (20 ngL <sup>-1</sup> )	Zhou et al., 2012
	SW	3.0 (acetic acid)	Strata <sup>®</sup> -X	6ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	94 (50 ngL <sup>-1</sup> )	Chitescu et al., 2015
	UWWWE	7.0 (30% NH <sub>3</sub> (aq))	Lichrolut EN	3 ml MeOH 3 ml EtOAc	100 µl 0.01% CH <sub>3</sub> COOH	64	Castiglioni et al., 2005
Enrofloxacin	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	96 (5 µgL <sup>-1</sup> )	U. S. EPA, 2007
	HWWE UWWWE UWWI SW	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6ml MeOH	1 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	68 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 133 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 112 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 85 (50 ngL <sup>-1</sup> )	Gros et al., 2013
	SW	3.0 (4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	292 (10 ngL <sup>-1</sup> ) 89 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 154 (20 ngL <sup>-1</sup> )	Zhou et al., 2012
Flumequine	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	91 (2.5 µgL <sup>-1</sup> )	U. S. EPA, 2007
	HWWE UWWWE UWWI SW	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6ml MeOH	1 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	85 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 119 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 111 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 119 (50 ngL <sup>-1</sup> )	Gros et al., 2013
	SW	3.0 (acetic acid)	Strata <sup>®</sup> -X	6ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	91 (50 ngL <sup>-1</sup> )	Chitescu et al., 2015
UWWI	2.5-3.0 (3.5M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB+MCX	8 ml MeOH, 2 ml MeOH(5% NH <sub>4</sub> OH)	0.5 ml 0.1% FA/ (MeOH/H <sub>2</sub> O)(2:8, v.v)	108 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 101 (1 µgL <sup>-1</sup> )	Hong et al., 2015	



**Table 3.** Conditions of solid-phase extraction (SPE) for the selected antibiotics in water samples and the corresponding recoveries (HWWE: hospital wastewater effluent, UWWI: urban wastewater influent; UWWE: urban wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: groundwater; SW: surface water; FA: formic acid; ACN: acetonitrile; DCM: dichloromethane)

Analyte	Sample matrix	Conditions of SPE			Recovery(%) (spiking concentration)	Reference
		pH adjustment	Cartridge	Eluent		
Marbofloxacin	HWWE				53 (100 ngL <sup>-1</sup> )	Gros et al., 2013
	UWWE	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6ml MeOH	79 (100 ngL <sup>-1</sup> )	
	UWWI				70 (200 ngL <sup>-1</sup> )	
	SW				94 (50 ngL <sup>-1</sup> )	
Sulfachloropyridazine	SW	3.0	OASIS HLB	12 ml MeOH	129 (10 ngL <sup>-1</sup> )	Zhou et al., 2012
	UWWI	3.0 4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	OASIS HLB	12 ml MeOH	69 (200 ngL <sup>-1</sup> )	
	UWWE				130 (20 ngL <sup>-1</sup> )	
	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	
Sulfadiazine	SW	3.0 (0.1N HCl)	Strata <sup>®</sup> -X	4 ml MeOH	200 μl 0.1% FA in methanol	73-133 (25-150 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWI	2.5-3.0 (3.5M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB+MCX	8 ml MeOH, 2 ml MeOH(5% NH <sub>4</sub> OH)	0.5 ml 0.1% FA/ (MeOH/H <sub>2</sub> O)(2:8, v/v)	75 (100 μg/L <sup>-1</sup> ) 72 (1 μg/L <sup>-1</sup> )
	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	80 (2.5 μg/L <sup>-1</sup> )
	SW	3.0 (0.1N HCl)	Strata <sup>®</sup> -X	4 ml MeOH	200 μl 0.1% FA in MeOH	75-123 (25-150 ngL <sup>-1</sup> )
Sulfadiazine	SW	3.0 (acetic acid)	Strata <sup>®</sup> -X	6 ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	88 (50 ngL <sup>-1</sup> )
	SW					96 (10 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWI	3.0	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	74 (200 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWE	4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				65 (20 ngL <sup>-1</sup> )
Sulfadimethoxine	HWWE					40 (100 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWE	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6 ml MeOH	1 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	64 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 90 (200 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWI					50 (50 ngL <sup>-1</sup> )
	SW					87 (0.5 μg/L <sup>-1</sup> )
Sulfadimethoxine	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	87 (0.5 μg/L <sup>-1</sup> )
	HWWE					113 (100 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWE	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6 ml MeOH	1 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	81 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 90 (200 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWI					50 (50 ngL <sup>-1</sup> )
SW	3.0 (acetic acid)	Strata <sup>®</sup> -X	6 ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	98 (50 ngL <sup>-1</sup> )	Chitescu et al., 2015

**Table 3.** Conditions of solid-phase extraction (SPE) for the selected antibiotics in water samples and the corresponding recoveries (HWWE: hospital wastewater effluent; UWWI: urban wastewater influent; UWWE: urban wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: groundwater; SW: surface water; FA: formic acid; ACN: acetonitrile; DCM: dichloromethane)

Analyte	Sample matrix	Conditions of SPE			Recovery(%) (spiking concentration)	Reference
		pH adjustment	Cartridge	Eluent		
	SW					
	UWWI	3.0	OASIS HLB	12 ml MeOH	71 (10 ngL <sup>-1</sup> )	Zhou et al., 2012
	UWWE	4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			59 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 74 (20 ngL <sup>-1</sup> )	
	SWW	2.5-3.0 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	10 ml DCM/acetone (3:2, v/v)	100 (0.5 µgL <sup>-1</sup> ) 95 (1.0 µgL <sup>-1</sup> )	Ben et al., 2008
	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	101 (2.5 µgL <sup>-1</sup> )	EPA method, 2007
	SW	3.0 (0.1N HCl)	Strata®-X	4 ml MeOH 200 µl 0.1% FA in methanol	80-126 (25-150 ngL <sup>-1</sup> )	Iglesias et al., 2012
Sulfamethazine	SWW	2.5-3.0 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	10 ml DCM/acetone (3:2, v/v)	105 (10 µgL <sup>-1</sup> ) 101 (20 µgL <sup>-1</sup> )	Ben et al., 2008
	SW	3.0	OASIS HLB	12 ml MeOH	87 (10 ngL <sup>-1</sup> )	
	UWWI UWWE	4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			109 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 75 (20 ngL <sup>-1</sup> )	Zhou et al., 2012
SW	-	Strata®-X	5 ml MeOH/acidified ACN (1:1, v/v)	5 ml ammonium formate:MeOH (1:1, v/v)	108 (2.5 µgL <sup>-1</sup> )	Donato et al., 2012
Water		2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	88 (1 µgL <sup>-1</sup> )	U. S. EPA, 2007
	HWWE				60 (100 ngL <sup>-1</sup> )	
	UWWE	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6 ml MeOH	63 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 98 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 89 (50 ngL <sup>-1</sup> )	Gros et al., 2013
Sulfamethoxazole	SW	3.0 (acetic acid)	Strata®-X	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	91 (50 ngL <sup>-1</sup> )	Chitescu et al., 2015
SW		3.0	OASIS HLB	12 ml MeOH	63 (10 ngL <sup>-1</sup> )	
	UWWI	4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			60 (200 ngL <sup>-1</sup> )	Zhou et al., 2012
	UWWE				61 (20 ngL <sup>-1</sup> )	
SWW	2.5-3.0 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	10 ml DCM/acetone (3:2, v/v)	113 (1 µgL <sup>-1</sup> ) 122 (2 µgL <sup>-1</sup> )	Ben et al., 2008	
Sulfaminoxaline	SW	3.0 (0.1N HCl)	Strata®-X	4 ml MeOH 200 µl 0.1% FA in methanol	80-121 (25-150 ngL <sup>-1</sup> )	Iglesias et al., 2012

**Table 3.** Conditions of solid-phase extraction (SPE) for the selected antibiotics in water samples and the corresponding recoveries (HWWE: hospital wastewater effluent; UWWI: urban wastewater influent; UWWWE: urban wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: groundwater; SW: surface water; FA: formic acid; ACN: acetonitrile; DCM: dichloromethane)

Analyte	Sample matrix	Conditions of SPE			Recovery(%) (spiking concentration)	Reference
		pH adjustment	Cartridge	Eluent		
Sulfathiazole	SW	3.0 (acetic acid)	Strata <sup>®</sup> -X	6 ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	90 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Chitescu et al., 2015
	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	77 (1 µgL <sup>-1</sup> ) U. S. EPA, 2007
	HWWE					50 (100 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWWE					50 (100 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWI	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6 ml MeOH	1 ml methanol/water (50:50, v/v)	77 (200 ngL <sup>-1</sup> ) Gros et al., 2013
	SW					70 (50 ngL <sup>-1</sup> )
	SWW	2.5-3.0 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	10 ml DCM/acetone (3:2, v/v)	0.8 ml MeOH 1.2 ml H <sub>2</sub> O	79 (2 µgL <sup>-1</sup> ) 76 (5 µgL <sup>-1</sup> ) Ben et al., 2008
	SW	3.0	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	121 (10 ngL <sup>-1</sup> ) 72 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 140 (20 ngL <sup>-1</sup> ) Zhou et al., 2012
	UWWI	4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				
	UWWWE					
Chlortetracycline	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	95 (0.5 µgL <sup>-1</sup> ) U. S. EPA, 2007
	HWWE					104 (100 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWWE					98 (100 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWI	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6 ml MeOH	1ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	102 (200 ngL <sup>-1</sup> ) Gros et al., 2013
	SW					108 (50 ngL <sup>-1</sup> )
	SW	3.0	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	118 (10 ngL <sup>-1</sup> ) 151 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 71 (20 ngL <sup>-1</sup> ) Zhou et al., 2012
	UWWI	4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				
	UWWWE					
	SWW	2.5-3.0 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	10 ml DCM/acetone (3:2, v/v)	0.8 ml MeOH 1.2 ml H <sub>2</sub> O	95 (2.5 µgL <sup>-1</sup> ) 101 (5 µgL <sup>-1</sup> ) Ben et al., 2008
	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	120 (0.5 µgL <sup>-1</sup> ) U. S. EPA, 2007
Doxycycline	HWWE					50 (100 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWWE					125 (100 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWI	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6 ml MeOH	1 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	117 (200 ngL <sup>-1</sup> ) Gros et al., 2013
	SW					76 (50 ngL <sup>-1</sup> )
	SW	3.0	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	124 (10 ngL <sup>-1</sup> ) 146 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 121 (20 ngL <sup>-1</sup> ) Zhou et al., 2012

**Table 3.** Conditions of solid-phase extraction (SPE) for the selected antibiotics in water samples and the corresponding recoveries (HWWE: hospital wastewater effluent; UWWI: urban wastewater influent; UWWE: urban wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: groundwater; SW: surface water; FA: formic acid; ACN: acetonitrile; DCM: dichloromethane)

Analyte	Sample matrix	Conditions of SPE			Recovery(%) (spiking concentration)	Reference
		pH adjustment	Cartridge	Eluent		
Oxytetracycline	SW	3.0 (acetic acid)	Strata®-X	6 ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	90 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Chitescu et al., 2015
	UWWI	3.0 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Layered C2/ENV+	5 ml 5% Triethylamine in MeOH (v/v)	1 ml H <sub>2</sub> O/ACN (95:5, v/v)	95 (2.5 µg/L <sup>-1</sup> ) Lindberg et al., 2004
Oxytetracycline	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	149 (0.5 µg/L <sup>-1</sup> ) U. S. EPA, 2007
	HWWE					80 (100 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWE	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6 ml MeOH	1 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	150 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 180 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 88 (50 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWI	3.0 4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	140 (10 ngL <sup>-1</sup> ) 180 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 188 (20 ngL <sup>-1</sup> )
Fenbendazole	SW	3.0 (acetic acid)	Strata®-X	6 ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	97 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Chitescu et al., 2015
	SWW	2.5-3.0 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	10 ml DCM/acetone (3:2, v/v)	0.8 ml MeOH 1.2 ml H <sub>2</sub> O	90 (10 µg/L <sup>-1</sup> ) 102 (20 µg/L <sup>-1</sup> ) Ben et al., 2008
Clopidol	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
Colistin	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
Fenbendazole	UWWI	2.5-3.0 (3.5M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB+MCX	8 ml MeOH, 2 ml MeOH(5% NH <sub>4</sub> OH)	0.5 ml 0.1% FA/ (MeOH/H <sub>2</sub> O)(2:8, v/v)	64 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 62 (1 µg/L <sup>-1</sup> ) Hong et al., 2015
	SW	3.0 (acetic acid)	Strata®-X	6 ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	100 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Chitescu et al., 2015
Tiamulin	SWW	2.5-3.0 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	10 ml DCM/acetone (3:2, v/v)	0.8 ml MeOH 1.2 ml H <sub>2</sub> O	99 (2.5 µg/L <sup>-1</sup> ) 99 (5.0 µg/L <sup>-1</sup> ) Ben et al., 2008
	Water	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	80 (2.5 µg/L <sup>-1</sup> ) U. S. EPA, 2007
Trimethoprim	SW	3.0 (0.1N HCl)	Strata®-X	4 ml MeOH	200 µl 0.1% FA in methanol	78-111 (25-150 ngL <sup>-1</sup> ) Iglesias et al., 2012
	HWWE					122 (100 ngL <sup>-1</sup> )
UWWE	UWWE	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6 ml MeOH	1 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	84 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 74 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 102 (50 ngL <sup>-1</sup> )
	UWWI					84 (100 ngL <sup>-1</sup> )
SW						74 (200 ngL <sup>-1</sup> ) 102 (50 ngL <sup>-1</sup> ) Gros et al., 2013

**Table 3.** Conditions of solid-phase extraction (SPE) for the selected antibiotics in water samples and the corresponding recoveries (HWWE: hospital wastewater effluent, UWWI: urban wastewater influent; UWWE: urban wastewater effluent; SWW: swine wastewater; GW: groundwater; SW: surface water; FA: formic acid; ACN: acetonitrile; DCM: dichloromethane)

Analyte	Sample matrix	Conditions of SPE				Recovery (%) (spiking concentration)	Reference
		pH adjustment	Cartridge	Eluent	Reconstitution		
SW		3.0 (acetic acid)	Strata®-X	6 ml MeOH	0.25 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (1:5, v/v)	105 (50 ngL <sup>-1</sup> )	Chitescu et al., 2015
SW		5.0-5.2 (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	3 ml ACN	0.5 ml 10% MeOH acidified with 0.1% FA	87 (10 ngL <sup>-1</sup> )	Sorensen and Elbaek, 2004

**Table 4.** Conditions of solid-phase extraction (SPE) for the selected β-lactams in water samples and the corresponding recoveries (HWWE: hospital wastewater effluent, UWWI: urban wastewater influent; UWWE: urban wastewater effluent; SW: surface water; FA: formic acid; ACN: acetonitrile)

Analyte	Sample matrix	Conditions of SPE				Recovery (%) (spiking concentration)	Reference
		pH adjustment	Cartridge	Eluent	Reconstitution		
Amoxicillin	HWWE					126 (100 ngL <sup>-1</sup> )	Gros et al., 2013
	UWWE	2.5 (HCl)	OASIS HLB	MeOH (6ml)	1 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	20 (100 ngL <sup>-1</sup> )	
	UWWI					20 (200 ngL <sup>-1</sup> )	
	SW					20 (50 ngL <sup>-1</sup> )	
Ampicillin	UWWE	1.5-2.0 (HCl)	OASIS MCX	2 ml each of MeOH MeOH (2% NH <sub>3</sub> ) MeOH (0.2% NaOH)	100 μl 0.01% CH <sub>3</sub> COOH	36	Castiglioni et al., 2005
	SW	8.0 (50 mM C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> NH <sub>4</sub> )	Bakerbond C18	2 ml ACN	200 μl 0.1% FA/ACN (9:1, v/v)	49 (10 ngL <sup>-1</sup> )	Calamari et al., 2003
	UWWI	3.0 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Layered C2/ENV+	5 ml 5% Triethylamine in MeOH (v/v)	1 ml H <sub>2</sub> O/ACN (95:5, v/v)	45 (2.5 μgL <sup>-1</sup> )	Lindberg et al., 2004
	HWWE					78 (100 ngL <sup>-1</sup> )	Gros et al., 2013
UWWE	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6ml MeOH	1 ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	80 (100 ngL <sup>-1</sup> )		
UWWI					94 (200 ngL <sup>-1</sup> )		
Ampicillin	SW					108 (50 ngL <sup>-1</sup> )	Lindberg et al., 2004
	UWWE	3.0 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Layered C2/ENV+	5 ml 5% Triethylamine in MeOH (v/v)	1 ml H <sub>2</sub> O/ACN (95:5, v/v)	26 (2.5 μgL <sup>-1</sup> )	
	UWWI	7.5 (8% NH <sub>4</sub> OH)	OASIS HLB	5 ml MeOH	0.12 ml MeOH/0.1% FA(aq) (5:7, v/v)	80 (100 ngL <sup>-1</sup> )	
	SW	4.0 (1N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OSIS HLB+SDB-2	4 ml MeOH/FA (100:1, v/v) 4 ml MeOH	2.5 ml MeOH + 0.5 ml H <sub>2</sub> O/ACN (95:5, v/v)	78 (100 ngL <sup>-1</sup> ) 82 (100 ngL <sup>-1</sup> )	
SW					76 (100 ngL <sup>-1</sup> )	Christian et al., 2003	

**Table 4.** Conditions of solid-phase extraction (SPE) for the selected  $\beta$ -lactams in water samples and the corresponding recoveries (HWWE: hospital wastewater effluent; UWWI: urban wastewater influent; UWWE: urban wastewater effluent; SW: surface water; FA: formic acid; ACN: acetonitrile)

Analyte	Sample matrix	Conditions of SPE				Recovery(%) (spiking concentration)	Reference
		pH adjustment	Cartridge	Eluent	Reconstitution		
Ceftiofur	HWWE					40 (100 ngL <sup>-1</sup> )	Gros et al., 2013
	UWWE	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6 ml MeOH	1ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	50 (100 ngL <sup>-1</sup> )	
	UWWI					64 (200 ngL <sup>-1</sup> )	
	SW					77 (50 ngL <sup>-1</sup> )	
Penicillin G	SW	3.0 (4M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB	12 ml MeOH	1 ml MeOH	121 (10 ngL <sup>-1</sup> )	Zhou et al., 2012
	UWWI					387 (200 ngL <sup>-1</sup> )	
	UWWE	2.0 (HCl)	OASIS HLB	12 ml MeOH 6 ml acetone/MeOH (1:1, v/v)	3 ml MeOH 1 ml 0.1% FA	159 (20 ngL <sup>-1</sup> )	
	Water					59 (5 $\mu$ gL <sup>-1</sup> )	
Penicillin G	HWWE					33 (100 ngL <sup>-1</sup> )	Gros et al., 2013
	UWWE	2.5 (HCl)	OASIS HLB	6ml MeOH	1ml MeOH/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)	30 (100 ngL <sup>-1</sup> )	
	UWWI					30 (200 ngL <sup>-1</sup> )	
	SW					50 (50 ngL <sup>-1</sup> )	
	SW	7.5 (8% NH <sub>4</sub> OH)	OASIS HLB	5 ml MeOH	0.12 ml MeOH/0.1% FA(aq) (5:7, v/v)	94 (100 ngL <sup>-1</sup> )	
	UWWE					97 (100 ngL <sup>-1</sup> )	
Dihydrostreptomycin	UWWI	2.5-3.0 (3.5M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	OASIS HLB+MCX	8 ml MeOH, 2 ml MeOH (5% NH <sub>4</sub> OH)	0.5 ml 0.1% FA/ (MeOH/H <sub>2</sub> O) (2:8, v/v)	74 (100 ngL <sup>-1</sup> )	Hong et al., 2015
	UWWE					56 (1 $\mu$ gL <sup>-1</sup> )	

**Table 5.** Conditions of solid-phase extraction (SPE) for the selected aminoglycosides in water samples and the corresponding recoveries (HWWE: hospital wastewater effluent; GW: groundwater; HFBA: heptafluorobutyric acid)

Analyte	Sample matrix	Conditions of SPE				Recovery(%) (spiking concentration)	Reference
		pH adjustment	Cartridge	Eluent	Reconstitution		
Dihydrostreptomycin	-	-	-	-	-	-	-
Gentamicin	GW					93 (10 $\mu$ gL <sup>-1</sup> )	Loffler and Ternes, 2003
	HWWE	7.0-8.0	Widopore CBX	3 ml MeOH/CH <sub>3</sub> COOH (10:1, v/v)	500 $\mu$ l 1 mM HFBA	68 (10 $\mu$ gL <sup>-1</sup> )	
Kanamycin	GW					89 (10 $\mu$ gL <sup>-1</sup> )	Loffler and Ternes, 2003
	HWWE	7.0-8.0	Widopore CBX	3 ml MeOH/CH <sub>3</sub> COOH (10:1, v/v)	500 $\mu$ l 1 mM HFBA	53 (10 $\mu$ gL <sup>-1</sup> )	
Neomycin	-	-	-	-	-	-	-
Spectinomycin	-	-	-	-	-	-	-
Streptomycin	-	-	-	-	-	-	-
Apramycin	-	-	-	-	-	-	-

높은 회수율을 나타냈고 C<sub>18</sub> 카트리지도 다수의 항생제를 높은 회수율로 분리하는 것으로 나타났다. ENV+카트리는 C<sub>8</sub>이나 C<sub>18</sub>에 흡착되지 않는 몇몇 극성이 강한 유기물질에 대해 매우 효과적인 것으로 보고되었으나 Oasis HLB가 다른 카트리지에 비해 높은 회수율을 나타냈고, 넓은 범위의 pH 조건(pH 1~14)에서 효과적인 추출이 가능하다고 하였다. 이 외에도 다수의 연구에서 HLB 카트리를 다양한 항생제 추출에 사용하여 높은 회수율을 나타낸 결과들을 보고하고 있다(Ben et al., 2008; Gros et al., 2013; Shelver et al., 2010; Zhou et al., 2012). 특히, 테트라사이클린 계열의 항생제는 다가 금속이온과 결합하는 성질 뿐 아니라 실리카를 기본으로 하는 흡착제에 존재하는 실라놀 작용기와 비가역적으로 결합하는 특성을 가지기 때문에 실라놀 작용기가 존재하지 않는 폴리머 재질의 Oasis HLB 카트리를 사용할 때 높은 회수율을 나타내는 것으로 나타났다.

회수율을 향상시키기 위한 고상추출법의 한 방법으로 서로 다른 성질을 갖는 두 종류의 카트리를 직렬로 연결하여 사용하는 방법이 사용되기도 하였다(Hong et al., 2015; Karthikeyan and Meyer, 2006). 두 연구에서는 컨디셔닝 된 Oasis HLB와 MCX를 직렬로 연결하여 시료를 통과시키고 카트리를 분리하여 각각 세척과 용리단계를 거쳐 용리된 시료를 혼합하여 최종 시료로 사용하였다. 이를 통해 보다 다양한 종류의 물질의 추출이 가능하며 분석 대상 물질들의 극성이 다양하게 분포되어 있는 경우 종종 활용되는 것으로 나타났다. 유기물에 의한 오염이 심한 고체 시료를 대상으로 한 Zhou et al. (2012)의 연구에서는 휴믹산(humic acid)이나 펄빅산(fulvic acid)등을 제거할 목적으로 SAX와 HLB를 직렬로 결합한 고상추출단계를 거치기도 하였다.

시료 적재를 통해 카트리에 흡착된 분석대상물질은 메탄올(methanol), 산성화 된 메탄올(acidified methanol), 아세토니트릴(acetonitrile), 아세톤(acetone), 디클로로메테인(dichloromethane) 등으로 추출하고 질소농축 후 이동상 또는 적절한 용매에 재용해 하여 액상 크로마토그래피에 도입된다. 일부 항생제는 광분해성을 가지고 있기 때문에 시료들은 갈색 유리병에 넣어 어두운 곳에 보관한다.

일부 연구에서는 최종 전처리 단계에서 분리막으로 추출액을 여과하기도 하는 것으로 나타났다(Martinez-Villalba et al., 2009; Nebot et al., 2012; Zhou et al., 2012). Nebot et al. (2012)은 소 우유에 포함된 항콕시딴제(coccidiostats) 7종을 분석하였는데 전처리 과정에서 최종 추출액을 0.45 µm PVDF 막으로 여과한 경우 HPLC-MS/MS 분석 신호의 강도가 증가하고 회수율이 15%이상 향상됨을 보고하기도 하였다. 그러나 주로 합성고분자를 재료로 하는 일부 분리막은 유기용매에 의해 녹거나 분해되는 특성을 가지고 있으며, 분석 대상 물질이 최종 여과 과정에서 분리막 및 여과 장치에 흡착되어 회수율이 감소하는 문제가 예상될 수 있기 때문에 여과에 사용될 분리막의 재료, 추출액의 용매 등을 고려하여 여과 단계의 적용성을 평가할 필요가 있을 것으로 사료된다.

조사 결과 아미노글리코사이드계열의 항생제인 겐타마이

신과 카나마이신을 물 시료에서 분석한 연구는 한 건이 조사되었다(Table 5). 앞서 언급한 바와 같이 아미노글리코사이드 계열의 항생제는 다수의 아미노기(-NH<sub>2</sub>)와 수산화기(-OH)를 가지고 있어 매우 높은 친수성을 나타내기 때문에 약한 양이온 교환 카트리가 사용되었다. 또한 다른 항생제들과 달리 중성 pH 조건(7.0~8.0)에서 전처리를 수행하였으며 pH가 회수율에 미치는 영향은 평가하지 않았다(Loffler and Ternes, 2003).

현재까지 물 시료를 대상으로 디히드로스트렙토마이신(dihydrostreptomycin), 네오마이신(neomycin), 스펙티노마이신(spectinomycin), 스트렙토마이신, 아프라마이신(apramycin), 클로피돌(clopidol), 콜리스틴(colistin)을 LC-MS를 이용하여 분석방법을 개발하거나 분석 결과를 보고한 논문은 없는 것으로 파악되었다.

본 연구의 조사대상 항생제는 총 12개 이상의 계열로 분류되며, 다양한 화학적 특성(극성, 친수성, 친유성, 용해도, pKa 등)을 가지고 있다. 다수의 연구를 살펴본 결과 전처리 조건과 함께 분석 대상물질의 종류에 따라 상이한 전처리 효율을 나타내고 있어 모든 항생제에 대해 적용 가능한 일반적인 전처리방법을 찾을 수는 없었다. 따라서 적절하고 효율적인 전처리 방법을 개발하고 적용하기 위해서는 대상 물질에 대한 화학적 특성과 전처리 과정의 메커니즘의 이해를 바탕으로 분석대상물질에 따라 적절히 변형시킨 전처리 방법을 적용하도록 해야 할 것이다.

#### 4. Pre-treatment Methods of Animal Originated Liquid Samples

2000년대 후반, 국제식량농업기구/세계보건기구 합동 식품첨가물 전문가 위원회(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: JECFA), 유럽연합, 중국, 일본 등 몇몇 나라들은 동물로부터 생산된 식품들에 대해 아미노글리코사이드 계열 항생제의 최대잔류농도(maximum residue levels: MRLs) 기준을 발표했다. 이로 인해 동물의 간, 신장, 근육 등을 비롯해 우유, 꿀 등 액체식품을 대상으로 아미노글리코사이드계열 항생제를 정확히 측정할 수 있는 방법에 대한 연구가 진행되기 시작했다. Fig. 2, Table 6에 우유와, 꿀 등의 액체 식품을 대상으로 한 잔류항생제 측정방법과 회수율을 정리하였다.

꿀, 우유와 같은 시료는 단백질 등 높은 농도의 유기물을 함유하고 있고 시료중의 유기물질은 추출 효율을 감소시킬 뿐 아니라 분석과정에서 방해물질로 작용하게 된다. 따라서 우유나 꿀 시료의 경우 고상추출법 이전에 단백질 및 유기물질을 제거하고 잔류항생물질을 추출하는 과정이 선행되어야 한다. 먼저 균질화를 거친 시료에 용매를 첨가하고 기계적인 혼합을 통해 잔류항생물질을 추출하고 원심분리를 통해 상등액을 취한다. van Bruijnsvoort et al. (2004)은 꿀과 우유 시료에서 디히드로스트렙토마이신과 스트렙토마이신을 분석하였는데 추출과정에서 헵테인설폰산(heptanesulfonic acid)

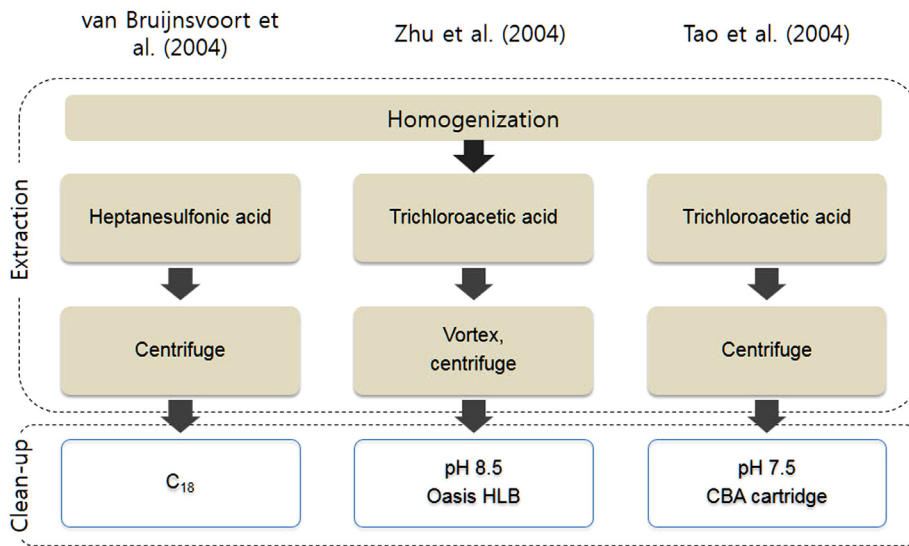


Fig. 2. Schematic diagram of typical procedures for pre-treatment of animal originated liquid samples.

을 사용하였으나 최근의 연구에서는 5% 트리클로로아세트산(trichloroacetic acid, TCA)을 주로 사용하는 것으로 나타났다(Tao et al., 2012; Zhu et al., 2008). 5% TCA는 꿀, 우유뿐 아니라 동물의 근육, 신장, 간, 계란 등으로부터 아미노글리코사이드계 항생제를 추출하기 위해 빈번히 사용되었다(Kaufmann and Maden, 2005; Tao et al., 2012; Zhu et al., 2008). Kaufmann and Maden (2005)은 13종의 아미노글리코사이드계 항생제를 대상으로 TCA 농도에 따른 회수율을 평가하였고 5%를 최적 농도로 제안하였다. 5% 이하의 TCA 농도에서는 회수율이 감소될 뿐 아니라 시료가 높은 탁도를 나타내는 것을 보고하였다.

추출 과정을 거친 시료는 고상추출법을 통해 정제과정을 거친다. 물 시료를 분석한 Loffler and Ternes (2003)의 연구에서와 유사하게 시료의 pH를 7.5, 8.5로 조절한 후 고상추출을 적용하였다. Tao et al. (2012)은 아미노글리코사이드계 항생제의 화학적 특성을 고려하여 약한 양이온교환 카트리지를 사용하였고 C<sub>18</sub>, Oasis HLB 카트리지를 사용한 두 연구에서도 비교적 높은 회수율을 얻었다. Nebot et al. (2012)은 아세트니트릴로 추출한 우유 시료를 Strata<sup>®</sup>-X와 메탄올을 이용한 고상추출법을 적용하여 이오노포어제일의 잔류 항생제를 검출하였고, Wan et al. (2006)은 염산으로 우유 시료의 단백질을 제거하고 Strata<sup>®</sup>-X와 포름산/메탄올/물 (0.2:70:30, v/v/v) 혼합액으로 정제하여 colistin의 잔류량을 분석하였다. 각 연구에서 보고한 회수율은 Table 6에 정리하였다.

### 5. Conclusions

본 연구에서는 국내에서 판매된 축산용 항생제의 판매량을 조사하여 대상항목을 선정하고 액체시료에서 선정된 항생물질을 LC-MS/MS로 분석하기 위한 전처리 방법을 조사하였다. EPA 방법과 Shin et al. (2012)의 제안된 방법을 우선적으로 검토한 결과 특정 계열의 항생제를 분석하기 위한 전처리 방법으로 일부 유용하기는 하나 선정된 항생제를

모두 분석하는 것은 불가능한 것으로 나타났다. 따라서 액체시료에서 선정된 항생물질을 모두 추출할 수 있는 전처리 방법을 도출하고자 하였다.

물 시료의 경우 고상추출법(solid-phase extraction)을 주로 사용하며 pH조절-카트리지 컨디셔닝-시료적재-추출-농축 및 재용해 등의 단계를 거쳐 원하는 물질을 추출하고 농축하였다. 아미노글리코사이드계 항생제를 제외한 나머지 항생제는 산성조건(2.5~4.0)에서 고상추출을 수행하며 산성 조건에서 이온 형태로 존재하는 금속은 특정 계열의 항생제와 결합하여 회수율을 감소시키므로 이를 막기 위하여 전처리 과정에서 EDTA를 첨가하여 금속이온과의 킬레이트 결합을 유도하는 것으로 나타났다. 일부 페니실린계 항생제의 경우 산성조건에서 분해되는 특성 때문에 중성조건으로 추출 시 향상된 회수율을 나타내는 것으로 보고되고 있으나, pH 조절 후 짧은 시간 내에 고상추출과정을 완료하는 경우 만족스러운 회수율을 얻을 수 있는 것으로 나타났다. 용리액으로 메탄올이 가장 많이 사용되었으며 아세트, 아세트나이트릴 또는 디클로로메탄을 혼합한 용매를 사용한 연구도 보고되고 있다. 카트리지는 Strata<sup>®</sup>-X, Oasis HLB, MCX 등이 주로 사용되었으나, 산성 시료에서는 HLB 카트리지에서 가장 높은 회수율을 나타내는 것으로 보고하고 있다. 특히 실라놀 작용기와 결합하는 특성을 가진 항생제를 추출하기 위해서는 HLB 카트리지의 사용이 필수적이었다. 물 시료에서 아미노글리코사이드계 항생제와, 클로피돌, 콜리스틴을 분석한 결과를 보고한 문헌은 없는 것으로 조사되었다.

우유와 꿀 시료의 잔류항생제를 분석하기 위해서는 고상추출법 이외에 추가적인 전처리가 필요하며 균질화 후 추출 용액을 기계적 교반 등의 방법으로 접촉/혼합하는 과정을 거친다. 원심분리기를 이용하여 고형물을 제거하고 고상추출법으로 대상물질을 농축 및 정제하여 HPLC로 분석한다. 5% 트리클로로아세트산이 시료 중의 단백질을 제거하고 아미노글리코사이드계 항생제를 추출하는데 주로 사용되고, 물 시료와 동일하게 중성(7.5, 8.5)조건으로 pH를 조절한 후 카



**Table 6.** Comparisons of recoveries of selected antibiotics in animal originated liquid sample matrixes

Analyte	Sample matrix	Recovery(%)	Reference
Dihydrostreptomycin	Cow milk	72~89	Tao et al., 2012
	Honey	72~107	Zhu et al., 2008
	Milk	81~107	
	Honey	84	
	Milk	99	
			van Bruijnsvoort et al., 2004
Gentamicin	Cow milk	76~88	Tao et al., 2012
	Cow milk	82~97	Tao et al., 2012
Kanamycin	Honey	81~99	Zhu et al., 2008
	Milk	78~103	
Neomycin	Cow milk	81~96	Tao et al., 2012
	Honey	65~85	Zhu et al., 2008
	Milk	76~97	
Spectinomycin	Cow milk	70~86	Tao et al., 2012
	Honey	71~97	Zhu et al., 2008
	Milk	67~92	
Streptomycin	Cow milk	75~91	Tao et al., 2012
	Honey	79~116	Zhu et al., 2008
	Milk	72~113	
	Honey	81	van Bruijnsvoort et al., 2004
	Milk	102	
Apramycin	Cow milk	79~89	Tao et al., 2012
	Honey	78~106	Zhu et al., 2008
	Milk	71~98	
Lasalocid		71~77	
Monensin	Raw whole milk	80~109	Nebot et al., 2012
Salinomycin		69~81	
Colistin	Bovine milk	Colistin A: 98	Wan et al., 2006
		Colistin B: 97	

트리지에 적재한다. 우유 시료에서 콜리스틴과 이오노포어계 열의 항생제를 분석한 논문은 각각 한 건씩 보고된 것으로 조사되었다.

잔류 항생제에 대한 관심이 낮고 관심 물질의 종류가 적었던 과거에는 분석 및 전처리 방법이 물리화학적 성질이 유사한 계열별로 발전되어 왔다. 그러나 항생제의 사용량 및 종류가 증가하고 환경 중 잔류항생제의 영향에 대한 관심이 커지면서 다양한 계열의 항생제를 동시에 추출·농축 할 수 있는 전처리 방법들이 보고되고 있다. 그럼에도 불구하고 극성, 용해도, 친수성, pKa 등의 화학적 특성의 차이로 인해 일부 페니실린계, 아미노글리코사이드계 항생제는 타 계열 항생제들과 상이한 전처리 과정이 필요한 것으로 조사되었다. 현재까지 어떠한 국가나 공인된 기관에서도 잔류항생제 분석을 위한 표준 방법을 제안하고 있지 않으며, 2007년 EPA에서 액체, 고체 시료에 대한 의약품질 분석방법을 제안한 EPA method 1694를 발간하였지만 아미노글리코사이드계 열의 항생제에 대해서는 언급하지 않고 있다.

결론적으로, 액상 시료중의 항생제 오염 실태를 파악하기 위해서는 정확하고 검증된 분석방법의 개발 및 공정시험법의 수립이 선행되어야 하며, 본 연구에서 선정된 37종의 항생제를 분석하기 위해서는 최소 2가지 이상의 전처리 과정이 개발되어야 할 것으로 판단된다.

## References

- Adams, C., Wang, Y., Lofin, K., and Meyer, M. (2002). Removal of Antibiotics from Surface and Distilled Water in Conventional Water Treatment Process, *Journal of Environmental Engineering*, 128(3), pp. 253-260.
- Amelin, V. G. and Timofeev, A. A. (2016). Identification and Determination of Mycotoxins and Food Additives in Feed by HPLC-High-Resolution Time-of-Flight Mass Spectrometry, *Journal of Analytical Chemistry*, 71(4), pp. 401-417.
- Andersson, D. I. and Hughes, D. (2014). Microbiological Effects of Sublethal Levels of Antibiotics, *Nature Reviews Microbiology*, 12(7), pp. 465-478.
- Behera, S. K., Kim, H. W., Oh, J. E., and Park, H. S. (2011). Occurrence and Removal of Antibiotics, Hormones and Several Other Pharmaceuticals in Wastewater Treatment Plants of the Largest Industrial City of Korea, *Science of the Total Environment*, 409(20), pp. 4351-4360.
- Ben, W., Qiang, Z., Adams, C., Zhang, H., and Chen, L. (2008). Simultaneous Determination of Sulfonamides, Tetracyclines and Tiamulin in Swine Wastewater by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1202(2), pp. 173-180.
- Berendsen, B. J., Gerritsen, H. W., Wegh, R. S., Lameris, S., van Sebillie, R., Stolker, A. A., and Nielen, M. W. (2013).

- Comprehensive Analysis of  $\beta$ -Lactam Antibiotics Including Penicillins, Cephalosporins, and Carbapenems in Poultry Muscle Using Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(24), pp. 7859-7874.
- Biswal, B. K., Mazza, A., Masson, L., Gehr, R., and Frigon, D. (2014). Impact of Wastewater Treatment Processes on Antimicrobial Resistance Genes and Their Co-occurrence with Virulence Genes in *Escherichia Coli*, *Water Research*, 50, pp. 245-253.
- Boleda, M. R., Alechaga, E., Moyano, E., Galceran, M. T., and Ventura, F. (2014). Survey of the Occurrence of Pharmaceuticals in Spanish Finished Drinking Waters, *Environmental Science and Pollution Research*, 21(18), pp. 10917-10939.
- Bonnet, R. (2004). Growing Group of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases: the CTX-M Enzymes, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(1), pp. 1-14.
- Boscher, A., Guignard, C., Pellet, T., Hoffmann, L., and Bohn, T. (2010). Development of a Multi-Class Method for the Quantification of Veterinary Drug Residues in Feedingstuffs by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1217(41), pp. 6394-6404.
- Bousova, K., Senyuva, H., and Mittendorf, K. (2013). Quantitative Multi-Residue Method for Determination Antibiotics in Chicken Meat Using Turbulent Flow Chromatography Coupled to Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1274, pp. 19-27.
- Calamari, D., Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., and Fanelli, R. (2003). Strategic Survey of Therapeutic Drugs in the Rivers Po and Lambro in Northern Italy, *Environmental Science and Technology*, 37(7), pp. 1241-1248.
- Castiglioni, S., Bagnati, R., Calamari, D., Fanelli, R., and Zuccato, E. (2005). A Multiresidue Analytical Method Using Solid-Phase Extraction and High-Pressure Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry to Measure Pharmaceuticals of Different Therapeutic Classes in Urban Wastewaters, *Journal of Chromatography A*, 1092(2), pp. 206-215.
- Cha, J. M., Yang, S., and Carlson, K. H. (2006). Trace Determination of  $\beta$ -Lactam Antibiotics in Surface Water and Urban Wastewater Using Liquid Chromatography Combined with Electrospray Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1115(1), pp. 46-57.
- Chander, Y., Oliveira, S., and Goyal S. M. (2011). Characterisation of Ceftiofur Resistance in Swine Bacterial Pathogens, *The Veterinary Journal*, 187(1), pp. 139-141.
- Chen, H. and Zhang, M. (2013). Effects of Advanced Treatment Systems on the Removal of Antibiotic Resistance Genes in Wastewater Treatment Plants from Hangzhou, China, *Environmental Science & Technology*, 47, pp. 8157-8163.
- Chitescu, C. L., Kaklamanos, G., Nicolau, A. I., and Stolker, A. A. M. L. (2015). High Sensitive Multiresidue Analysis of Pharmaceuticals and Antifungals in Surface Water Using U-HPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS. Application to the Danube River Basin on the Romanian Territory, *Science of The Total Environment*, 532, pp. 501-511.
- Christian T., Schneider, R. J., Farber, H. A., Skutlarek, D., Meyer, M. T., and Goldbach, H. E. (2003). Determination of Antibiotic Residues in Manure, Soil, and Surface Waters, *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 31(1), pp. 36-44.
- Dahmen, S., Mansour, W., Charfi, K., Boujaafar, N., Arlet, G., and Bouallègue, O. (2012). Imipenem Resistance in *Klebsiella Pneumoniae* is Associated to the Combination of Plasmid-Mediated CMY-4 AmpC  $\beta$ -Lactamase and Loss of an Outer Membrane Protein, *Microbial Drug Resistance*, 18(5), pp. 479-483.
- De Alwis, H. and Heller, D. H. (2010). Multiclass, Multiresidue Method for the Detection of Antibiotic Residues in Distillers Grains by Liquid Chromatography and Ion Trap Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1217(18), pp. 3046-3084.
- Diaz-Cruz, M. S. and Barcelo, D. (2006). Determination of Antimicrobial Residues and Metabolites in the Aquatic Environment by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386(4), pp. 973-985.
- Dolliver, H., Gupta, S., and Noll, S. (2008). Antibiotic Degradation During Manure Composting, *Journal of Environmental Quality*, 37(3) pp. 1245-1253.
- Donato, F. F., Kemmerich, M., Facco, J. F., Friggi, C. A., Prestes, O. D., Adaime, M. B., and Zanella, R. (2012). Simultaneous Determination of Pesticide and Antibiotic Residues at Trace Levels in Water Samples by SPE and LC-MS/MS, *Brazilian Journal of Analytical Chemistry*, 7, pp. 331-340.
- Dutil, L., Irwin, R., Finley, R., Ng, L. K., Avery, B., Boerlin, P., Bourgault, A., Cole, L., Daigault, D., Desruisseau, A., Demczuk, W., Hoang, L., Horsman, G. B., Ismail, J., Jamieson, F., Maki, A., Pacagnella, A., and Pillai, D. R. (2010). Ceftiofur Resistance in *Salmonella Enterica* Serovar Heidelberg from Chicken Meat and Humans, Canada, *Emerging Infectious Diseases*, 16(1), pp. 48-54.
- Evangelopoulou, E. N. and Samanidou, V. F. (2013). Development and Validation of an HPLC Method for the Determination of Six Penicillin and Three Amphenicol Antibiotics in Gilthead Seabream (*Sparus Aurata*) Tissue According to the European Union Decision 2002/657/EC, *Food Chemistry*, 136(3), pp. 1322-1329.
- Ewers, C., Grobbel, M., Stamm, I., Kopp, P. A., Diehl, I., Semmler, T., Fruth, A., Beutlich, J., Guerra, B., Wieler, L. H., and Guenther, S. (2010). Emergence of Human Pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* among Companion Animals, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(4), pp. 651-660.
- Ischbach, M. A., and Walsh, C. T. (2009). Antibiotics for Emerging Pathogens, *Science*, 325(5944), pp. 1089-1093.
- Fram, M. S. and Belitz, K. (2011). Occurrence and Concentrations of Pharmaceutical Compounds in Groundwater Used for Public Drinking-Water Supply in California, *Science of the Total Environment*, 409(18), pp. 3409-3417.
- Francioli, M., Bille, J., Glauser, M. P., and Moreillon P. (1991).  $\beta$ -Lactam Resistance Mechanisms of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*, *The Journal of Infectious Diseases*, 163(3), pp. 514-522.
- Gao, P., Ding, Y., Li, H., and Xagorarakis, I. (2012). Occurrence of Pharmaceuticals in a Municipal Wastewater Treatment Plant: Mass Balance and Removal Processes, *Chemosphere*, 88(1), pp. 17-24.
- Gorissen, B., Reyns, T., Devreese, M., De Backer, P., Van Loco,

- J., and Croubels, S. (2015). Determination of Selected Veterinary Antimicrobials in Poultry Excreta by UHPLC-MS/MS, for Application in Salmonella Control Programs, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(15), pp. 4447-4457.
- Gros, M., Petrovic, M., and Barcelo, D. (2006). Development of Multi-Residue Analytical Methodology Based on Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) for Screening and Trace Level Determination of Pharmaceuticals in Surface and Wastewaters, *Talanta*, 70(4), pp. 678-690.
- Gros, M., Rodriguize-Mozaz, S., and Barcelo, D. (2013). Rapid Analysis of Multiclass Antibiotic Residues and Some of Their Metabolites in Hospital, Urban Wastewater and River Water by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Quadrupole-Linear Ion Trap Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1292, pp. 173-188.
- Hasman, H., Mevius, D., Veldman, K., Olesen, I., and Aarestrup, F. M. (2005).  $\beta$ -Lactamases Among Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL)-Resistant Salmonella from Poultry, Poultry Products and Human Patients in The Netherlands, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(1), pp. 115-121.
- Hawkey, P. M. and Livemore, D. M. (2012). Carbapenem Antibiotics for Serious Infection, *The BMJ*, 344, pp. e3236.
- Heberer, T. (2002). Occurrence, Fate, and Removal of Pharmaceutical Residues in the Aquatic Environment: A Review of Recent Research Data, *Toxicology Letters*, 131(1-2), pp. 5-17.
- Hong, Y., Sharma, V. K., Chiang, P. C., and Kim, H. (2015). Fast-Target Analysis and Hourly Variation of 60 Pharmaceuticals in Wastewater Using UPLC-High Resolution Mass Spectrometry. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 69(4), pp. 525-534.
- Hur, J., Jawale, C., and Lee, J. H. (2012). Antimicrobial Resistance of Salmonella Isolated from Food Animals: A Review, *Food Research International*, 45(2), pp. 819-830.
- Iglesias, A., Nebot, C., Miranda, J. M., Vazquez, B. I., and Cepeda, A. (2012). Detection and Quantitative Analysis of 21 Veterinary Drugs in River Water Using High-Pressure Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry, *Environmental Science and Pollution Research*, 19(8), pp. 3235-3249.
- Jones, R. N. (2001). Resistance Patterns Among Nosocomial Pathogens: Trends Over the Past Few Years, *Chest Journal*, 119(2), pp. 397S-404S.
- Karthikeyan, K. G. and Meyer, M. T. (2006). Occurrence of Antibiotics in Wastewater Treatment Facilities in Wisconsin, USA, *Science of the Total Environment*, 361(1), pp. 196-207.
- Kaufmann, A. and Maden, K. (2005). Determination of 11 Aminoglycosides in Meat and Liver by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry, *Journal of AOAC International*, 88, pp. 1118-1125.
- Kim, S. C. and Carlson, K. (2007). Quantification of Human and Veterinary Antibiotics in Water and Sediment Using SPE/LC/MS/MS, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(4), pp. 1301-1315.
- Kleywegt, S., Pileggi, V., Yang, P., Hao, C., Zhao, X., Rocks, C., Thach, S., Cheung, P., and Whitehead, B. (2011). Pharmaceuticals, Hormones and Bisphenol A in Untreated Source and Finished Drinking Water in Ontario, Canada-Occurrence and Treatment Efficiency, *Science of the Total Environment*, 409(8), pp. 1481-1488.
- Korea Ministry of Government Legislation. (2015). *Act On The Management and Use of Livestock Excreta*, 13526, Korea Ministry of Government Legislation.
- Kroker, R. (1983). Aspekte zur Ausscheidung Antimikrobiell Wirksamer Substanzen nach der Chemotherapeutischen Behandlung von Nutztieren, *Wiss Umwelt*, 4, pp. 305-308.
- Lim, S. K., Moon, D. C., Joo, I. S., Kim, Y. H., Jang, G. C., Lee, H. S., Lee, J. E., Jang, S. C., Gwak, H. S., Kim, H. Y., Kim, J. W., Jung, Y. G., Park, Y. J., Kim, S. R., Jung, S. K., and Jang, J. H. (2015). *National Monitoring of Antibiotic Usage and Resistance in 2014: Livestock and Food of Animal Origin*, 11-1543061-000142-01, Ministry of Agriculture and Ministry, Food and Rural Affairs, pp. 13-17. [Korean Literature]
- Lindberg, R., Jamheimer, P. A., Olsen, B., Johanssen, M., and Tysklind, M. (2004). Determination of Antibiotic Substances in Hospital Sewage Water Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry and Group Analogue Internal Standards, *Chemosphere*, 57(10), pp. 1479-1488.
- Liu, J. L. and Wong, M. H. (2013). Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs): A Review on Environmental Contamination in China, *Environment International*, 59, pp. 208-224.
- Löffler, D. and Ternes, T. A. (2003). Analytical Method for the Determination of the Aminoglycoside Gentamicin in Hospital Wastewater via Liquid Chromatography-Electrospray-Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1000(1), pp. 583-588.
- Lopes, R. P., Reyes, R. C., Romero-Gonzalez, R., Vidal, J. L. M., and Frenich, A. G. (2012). Multiresidue Determination of Veterinary Drugs in Aquaculture Fish Samples by Ultra High Performance Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography B*, 895, pp. 39-47.
- Lopez, B., Ollivier, P., Togola, A., Baran, N., and Ghestem, J. P. (2015). Screening of French Groundwater for Regulated and Emerging Contaminants, *Science of The Total Environment*, 518, pp. 562-573.
- Leung, H. W., Jin, L., Wei, S., Tsui, M. M. P., Zhou, B., Jiao, L., Cheung, P. C., Chun, Y. K., Murphy, M. B., and Lam, P. K. S. (2013). Pharmaceuticals in Tap Water: Human Health Risk Assessment and Proposed Monitoring Framework in China, *Environmental Health Perspectives*, 121(7), pp. 839-846.
- Malchi, T., Maor, Y., Tadmor, G., Shenker, M., and Chefetz, B. (2014). Irrigation of Root Vegetables with Treated Wastewater: Evaluating Uptake of Pharmaceuticals and the Associated Human Health Risks, *Environmental Science & Technology*, 48(16), pp. 9325-9333.
- Martinez-Carballo, E., Gonzalez-Barreiro, C., Scharf, S., and Gans, O. (2007). Environmental Monitoring Study of Selected Veterinary Antibiotics in Animal Manure and Soils in Austria, *Environmental Pollution*, 148(2), pp. 570-579.
- Martinez-Villalba, A., Moyano, E., and Galceran, M. T. (2009). Fast Liquid Chromatography/Multiple-Stage Mass Spectrometry of Coccidiostats, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23(9), pp. 1255-1263.
- McArdell, C. S., Molnar, E., Suter, M. J. F., and Giger, W. (2003). Occurrence and Fate of Macrolide Antibiotics in Wastewater Treatment Plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland,

- Environmental Science & Technology*, 37(24), pp. 5479-5486.
- Miao, X. S., Bishay, F., Chen, M., and Metcalfe, C. D. (2004). Occurrence of Antimicrobials in the Final Effluents of Wastewater Treatment Plants in Canada, *Environmental Science and Technology*, 38(13), pp. 3533-3541.
- Migliore, L., Civitareale, C., Cozzolino, S., Casoria, P., Brambilla, G., and Gaudio, L. (1998). Laboratory Models to Evaluate Phytotoxicity of Sulphadimethoxine on Terrestrial Plants, *Chemosphere*, 37(14), pp.2957-2961.
- Migliore, L., Cozzolino, S., and Fiori, M. (2003). Phytotoxicity to and Uptake of Enrofloxacin in Crop Plants, *Chemosphere*, 52(7), pp.1233-1244.
- Nebot, C., Iglesias, A., Regal, P., Miranda, J., Cepeda, A., and Fente, C. (2012). Development of a Multi-Class Method for the Identification and Quantification of Residues of Antibiotics, Coccidiostats and Corticosteroids in Milk by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *International Dairy Journal*, 22(1), pp. 78-85.
- Neu, H. C. (1992). The Crisis in Antibiotic Resistance, *Science*, 257(5073), pp. 1064-1073.
- Nordmann, P., Dortet, L., and Poirel, L. (2012). Carbapenem Resistance in Enterobacteriaceae: Here Is the Storm!, *Trends in molecular medicine*, 18(5), pp. 263-272.
- Oliver, S. P., Murinda, S. E., and Jayarao, B. M. (2011). Impact of Antibiotic Use in Adult Dairy Cows on Antimicrobial Resistance of Veterinary and Human Pathogens: A Comprehensive Review, *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(3), pp. 337-355.
- Persoons, D., Haesebrouck, F., Smet, A., Herman, L., Heyndrickx, M., Martel, A., Catry, B., Berge, A. C., Butaye, P., and Dewulf, J. (2011). Risk Factors for Ceftiofur Resistance in *Escherichia Coli* from Belgian Broilers, *Epidemiology & Infection*, 139(5), pp. 765-771.
- Petrovic, M., Gonzalez, S., and Barcelo, D. (2003). Analysis and Removal of Emerging Contaminants in Wastewater and Drinking Water, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22(10), pp. 685-696.
- Petrovic, M., Hemando, M. D., Diaz-Cruz, M. S., and Barcelo, D. (2005). Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for the Analysis of Pharmaceutical Residues in Environmental Sample: a Review, *Journal of Chromatography A*, 1067(1-2), pp. 1-14.
- Pfeifer, Y., Cullik, A., and Witte, W. (2010). Resistance to Cephalosporins and Carbapenems in Gram-Negative Bacterial Pathogens, *International Journal of Medical Microbiology*, 300(6), pp. 371-379.
- Pietruk, K., Olejnik, M., Jedziniak, P., and Szprengier-Juskiewicz, T. (2015). Determination of Fifteen Coccidiostats in Feed at Carry-Over Levels Using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 112, pp. 50-59.
- Pomati, F., Orlandi, C., Clerici, M., Luciani, F., and Zuccato, E. (2008). Effects and Interactions in an Environmentally Relevant Mixture of Pharmaceuticals, *Toxicological Sciences*, 102(1), pp. 129-137.
- Pozo, O. J., Guerrero, C., Sancho, J. V., Ibanez, M., Pitarch, E., Hogendoorn, E., and Hernandez, F. (2006). Efficient Approach for the Reliable Quantification and Confirmation of Antibiotics in Water Using On-Line Solid-Phase Extraction Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1103(1), pp. 83-93.
- Rahman, M. F., Yanful, E. K., and Jasim, S. Y. (2009). Endocrine Disrupting Compounds(EDCs) and Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in the Aquatic Environment: Implications for the Drinking Water Industry and Global Environmental Health, *Journal of Water and Health*, 7(2), pp. 224-243.
- Santiago-Rodriguez, T. M., Rivera, J. I., Coradin, M., and Toranzos, G. A. (2013). Antibiotic-resistance and Virulence Genes in Enterococcus Isolated from Tropical Recreational Waters, *Journal of Water and Health*, pp.387-396.
- Sarmah, A. K., Meyer, M. T., and Boxall, A. B. A. (2006). A Global Perspective on the Use, Sales, Exposure Pathways, Occurrence, Fate and Effects of Veterinary Antibiotics (VAs) in the Environment, *Chemosphere*, 65(5), pp. 725-759.
- Schlussener, M. P., Con Arb, M. A., and Bester, K. (2006). Elimination of Macrolides Tiamulin and, Salinomycin During Manure Storage, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51(1), pp. 21-28.
- Seifrtova, M., Novakova, L., Lino, C., Pena, A., and Solich, P. (2009). An Overview of Analytical Methodologies for the Determination of Antibiotics in Environmental Waters, *Analytica Chimica Acta*, 649(2), pp. 158-179.
- Shelver, W. L., Hakk, H., Larsen, G. L., DeSutter, T. M., and Casey, F. X. M. (2010). Development of an Ultra-High-Pressure Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Multi-Residue Sulfonamide Method and Its Application to Water, Manure Slurry, and Soils from Swine Rearing Facilities, *Journal of Chromatography A*, 1217(8), pp. 1273-1282.
- Simazaki, D., Kubota, R., Suzuki, T., Akiba, M., Nishimura, T., and Kunikane, S. (2015). Occurrence of Selected Pharmaceuticals at Drinking Water Purification Plants in Japan and Implications for Human Health, *Water Research*, 76(1), pp. 187-200.
- Shin, H. S., Kim, G. G., Shin, Y. J., Kim, H. J., Oh, J. A., Lim, H. H., Yang, E. Y., Cho, Y. H., Shin, J. H., Choi, Y. H., Kwon, E. H., Hong, S. Y., Park, J. M., and Yu, I. J. (2012). *The Study on Analytical Methods for Pharmaceutical Residues and Their Occurrence(V)*, Kongju National University, pp. 21-49.
- Sorensen, L. K. and Elbaek, T. H. (2004). Simultaneous Determination of Trimethoprim, Sulfadiazine, Florfenicol and Oxolinic Acid in Surface Water by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry, *Chromatographia*, 60(5-6), pp. 287-291.
- Straus, S. K. and Hancock, R. E. (2006). Mode of Action of the New Antibiotic for Gram-Positive Pathogens Daptomycin: Comparison with Cationic Antimicrobial Peptides and Lipopeptides, *Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Biomembranes*, 1758(9), pp. 1215-1223.
- Tao, Y., Chen, D., Yu, H., Huang, L., Liu, Z., Cao, X., Yan, C., Pan, Y., Liu, Z., and Yuan, Z. (2012). Simultaneous Determination of 15 Aminoglycoside (s) Residues in Animal Derived Foods by Automated Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Food Chemistry*, 135(2), pp. 676-683.
- Thiele-Bruhn, S. (2003). Pharmaceutical Antibiotic Compounds in Soils - a Review, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 166(2), pp. 145-167.

- Tolls, J. (2001). Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils: A Review, *Environmental Science & Technology*, 35(17), pp. 3397-3406.
- United States Environmental Protection Agency (U. S. EPA.). (2007). *Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS*, EPA-821-R-08-002, U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC.
- van Bruijnsvoort, M., Ottink, S. J., Jonker, K. M., and de Boer, E. (2004). Determination of Streptomycin and Dihydrostreptomycin in Milk and Honey by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1058(1), pp. 137-142.
- Wan, E. C. H., Ho, C., Sin, D. W. M., and Wong, Y. C. (2006). Detection of Residual Bacitracin A, Colistin A, and Colistin B in Milk and Animal Tissues by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385(1), pp. 181-188.
- Wegener, H. C., Aarestrup, F. M., Jensen, L. B., Hammerum, A. M., and Bager, F. (1999). Use of Antimicrobial Growth Promoters in Food Animals and Enterococcus Faecium Resistance to Therapeutic Antimicrobial Drugs in Europe, *Emerging Infectious Diseases*, 5(3), pp. 329-335.
- Wu, C., Huang, X., Witter, J. D., Spongberg, A. L., Wang, K., Wang, D., and Liu, J. (2014). Occurrence of Pharmaceuticals and Personal Care Products and Associated Environmental Risks in the Central and Lower Yangtze River, China, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 106, pp. 19-26.
- Xu, Y., Tian, X., Ren, C., Huang, H., Zhang, X., Gong, X., Liu, H., Yu, Z., and Zhang, L. (2012). Analysis of Colistin A and B in Fishery Products by Ultra Performance Liquid Chromatography with Positive Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography B*, 899, pp. 14-20.
- Zhou, L. J., Ying, G. G., Liu, S., Zhao, J. L., Chen, F., Zhang, R. Q., Peng, F. Q., and Zhang, Q. Q. (2012). Simultaneous Determination of Human and Veterinary Antibiotics in Various Environmental Matrices by Rapid Resolution Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1244, pp. 123-138.
- Zhu, W. X., Yang, J. Z., Wei, W., Liu, Y. F., and Zhang, S. S. (2008). Simultaneous Determination of 13 Aminoglycoside Residues in Foods of Animal Origin by Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry with Two Consecutive Solid-Phase Extraction Steps, *Journal of Chromatography A*, 1207(1), pp. 29-37.