

연구과제 최종보고서

과 제 명	가축매몰지의 오염실태 모니터링 및 동시분석법 개발				
총연구기간	2017년 3월 ~ 2018년 12월		당해연도 연구기간	2018년 1월 ~ 2018년 12월	
수행부서/ 세부수행부서	시험연구소 안전성분석과 (자체)	연구 책임자	구분	직위	성명
			정	과장	김동호
			부	주무관	신희창
		참여 연구원	직위		성명
			팀장		홍경숙
			주무관		김대중
			주무관		김용경
참여부서					
사업구분	단년도 () 다년도 (√)		총 (2)개년 중 (2)차 연도		
연구결과 요약	○ 농산물 및 재배환경(토양 및 가축분뇨퇴비) 특성에 따른 전처리법 및 13종의 성장 촉진 호르몬 분석법 정립 - QuEChERS 전처리 실시 후 APCI 이온화 방식의 LC-MS/MS 분석				
	○ 농산물 및 재배환경(토양 및 가축분뇨퇴비)에 대한 전처리법 및 동시분석법의 유효성 검증 결과 - 직진성(Linearity) 매우 우수 : 0.99 이상 - 회수율(Recovery)은 저농도/고농도 모두 Codex 가이드라인 만족 · 농산물 : 저농도(86.56~101.71%), 고농도(84.98~109.43%) · 발토양 : 저농도(85.47~104.36%), 고농도(96.91~109.62%) · 논토양 : 저농도(85.50~105.73%), 고농도(96.19~102.57%) · 퇴 비 : 저농도(80.14~94.85%), 고농도(88.26~95.45%) - 변이계수(C.V)도 5% 미만으로 우수한 정확도와 정밀성을 보임 ○ 유효성 검증을 종합하여 농산물 및 재배환경에 대한 13종 성장 촉진 호르몬 분석법의 정량한계는 4 ug/L로 설정 ○ 농산물 및 가축매몰지의 토양에서는 불검출되었으나, 가축분뇨 퇴비에서는 내인성호르몬이 다수 검출되어 지속적인 모니터링을 통한 안전관리가 요구됨				

가축매몰지의 오염실태 모니터링 및

동시분석법 개발

1. 연구배경 및 목표

가. 연구배경

- 지난 30년 동안 1인당 육류 소비량이 3배 이상 증가하는 등 가축 사육의 규모 또한 4배 이상 증가하였음
 - 성장촉진호르몬제를 사용한 사육은 사육 기간의 단축과 10~15% 이상의 비육 생산량 증가를 보였음
 - 또한 대량 생산을 위한 공장식 가축사육 방식은 가축 질병 발생의 주 원인으로 항생제와 성장촉진호르몬제의 남용을 야기하였음
 - 동물용의약품(항생제 및 성장촉진호르몬제)의 남용은 축산물의 최종소비자에게 부정적인 영향을 미칠 수 있기 때문에 지속적인 관리가 요구되고 있음
- 가축의 생산성을 증대시키기 위한 성장촉진호르몬의 종류는 매우 다양함
 - 성장촉진호르몬은 생체 내에서 근육 단백질의 합성을 증가시키고 가축의 성장을 촉진하는 steroid hormone 계열의 생리활성물질로 정의됨
 - 체내에서 정상적으로 분비되는 내인성 호르몬과 내인성 호르몬과 유사한 작용을 갖도록 합성한 호르몬을 외인성 호르몬으로 분류하고 있음
 - 초기에는 저렴하게 구입할 수 있던 estrogen만 사용하였으나, 이후 androgen과 progesterone 및 그 합성 대응제제가 개발되어 사용되었음
- 성장촉진호르몬의 작용기작
 - 일반적으로 물질대사과정 전반에 작용하여 체내 질소저류량을 증대시키고 단백질 및 근육형성을 증대와 적혈구 생성을 활성화시켜 성장 촉진을 유도
 - Estrogen은 근육 세포 중의 성장호르몬과 인슐린 농도 증가를 증가시켜 가축의 성장을 촉진함
 - Androgen은 체내 대사 촉진 작용을 유발하는 부신피질호르몬 수용체에 결합하여 작용하거나 갑상선호르몬의 양을 감소시켜 새로운 단백질의 생성을

촉진시키고 분해는 지연시켜 결과적으로 단백질의 증가를 유도함

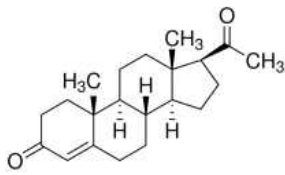
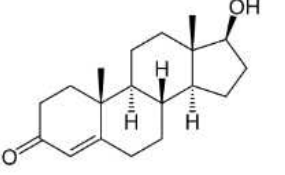
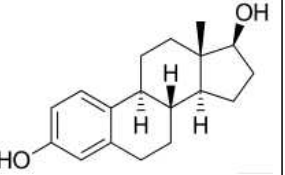
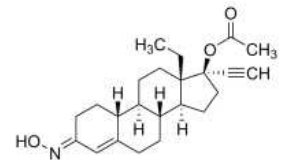
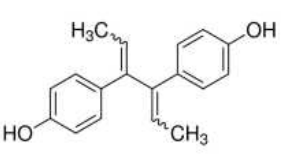
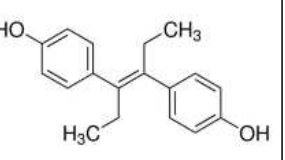
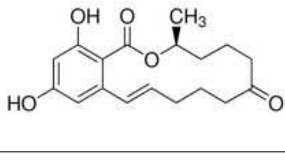
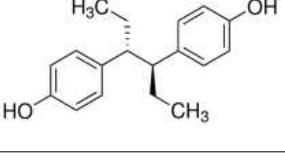
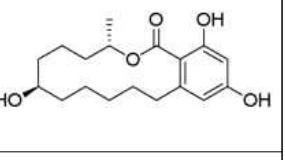
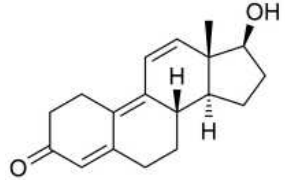
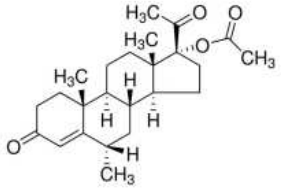
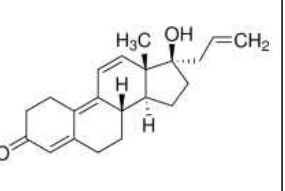
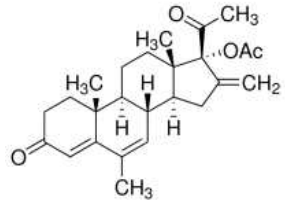
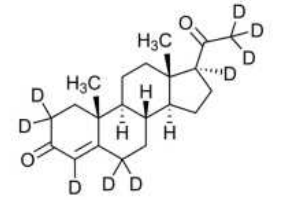
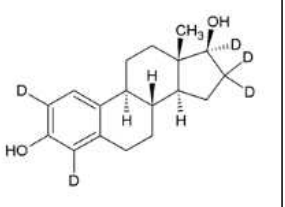
○ 가축에 대한 성장촉진호르몬제의 이용

- 소, 돼지 및 닭 등을 대상으로 질병예방이나 성장 촉진을 통한 생산성 향상을 목적으로 사료첨가제, 주사제 및 피하삽입제 등 다양한 제형으로 이용
- 흡수속도의 조절, 지속기간의 연장 및 체내 호르몬 평형유지 등을 위하여 단일 또는 자·웅의 성호르몬 성분을 일정한 비율로 혼합하여 사용
- 일반적으로 한번의 투여로 약 100일간 가축 체내에 잔류하면서 작용하나 일부 제품의 경우에는 최대 200일까지 잔류하는 특성을 보임
- 위와 같이 가축 성장을 목적으로 투여된 제제들은 가축의 체내에서 작용 후 대부분 가축의 분뇨를 통해 배출된다고 알려져 있음
- 축종의 따라 배설 경로가 다르다고 알려져 있으나, 현재 가축 분과 뇨의 처리과정은 분리되어 있지 않음

○ 성장촉진호르몬의 관리

- 성장촉진호르몬이 잔류하는 식품의 섭취 시, 염증과 피부발진 등 약 20가지 이상의 부작용이 나타날 수 있다고 보고되고 있음
- 이러한 부작용으로 인해 국내외에서는 식육에 대해 table 1과 같은 다양한 종류의 성장촉진호르몬의 잔류 허용량 기준·규격을 설정하고 있으며 체계적으로 관리하고 있음
- 국내의 경우에도 축산물에 대해 3종의 내인성호르몬(progesterone, testosterone, estradiol-17 beta)과 2종의 외인성호르몬(zeranol, melengestrol)에 대한 잔류 허용 기준이 설정되어 관리되고 있음
- 특히, 유럽의 경우에는 안전성에 대한 논란으로 성장촉진호르몬제의 사용을 전면 금지하고 있으며, 성장촉진호르몬제를 사용한 식육에 대한 수입도 불허하고 있음
- 이러한 관리에도 불구하고 국내외 식육에 대한 잔류검사 결과 150점의 시료 중 57점인 약 40%에서 progesterone이 검출된 사례가 보고되어 있음
- 또한 가축분뇨처리장의 유출수에서 progesterone, testosterone, estrogen, estriol, estradiol-17 beta 등이 검출되는 등 지속적으로 인간에게 부정적인 영향을 미칠 가능성이 존재함

Table 1. Structure of hormone

내인성(천연) 성장 촉진 호르몬		
		
Progesterone	Testosterone	Estradiol-17 beta
외인성(합성) 성장 촉진 호르몬		
		
Norgestimate	Dienestrol	DES(Diethylstilbestrol)
		
Zearalenone	Hexestrol	Zeranol
		
Trenbolone acetate	MPA(Medroxyprogesterone acetate)	Altrenogest
		
Melengestrol acetate	Progesterone-D9(Internal Standard)	Estradiol-17 beta-D5(Internal Standard)

○ 가축전염병의 지속적인 발생

- 전 세계적으로 구제역(FMD, Foot and Mouth Disease)과 조류독감(AI, Avian Influenza) 같은 가축전염병이 발생하여 경제적 손실뿐만 아니라 국민의 건강을 위협하고 있음
- 가축전염병은 세균과 바이러스 등이 원인이 되어 소, 양, 말, 돼지 및 가금류 등에 있어서 한 개체에서 다른 개체로 감염증을 전파는 것으로 전염병의 확산을 막기 위하여 해당 가축을 신속하게 살처분하고 있음
- 살처분 된 가축의 사체는 퇴비화하거나 매각, 소각, 발효, 가수분해 등 각국의 기술과 환경 등을 고려하여 처리하고 있으나, 이 중 소각과 매립이 가장 일반적인 처리 방법으로 활용되고 있음

○ 가축전염병의 발생 현황

- 국내에서는 2003년, 2006년 AI가 발상하였으며, 2010년에는 구제역 확산으로 불과 50여일 만에 살처분 된 가축의 규모가 200만 마리 이상으로 우리나라 전체 소, 돼지 사육 수의 1/6 수준으로 가장 크게 확산 된 사례임
- 2010년 구제역 사태로 살처분보상금과 예방 백신 접종 등 정부 지출 비용은 약 2조원 이상으로 예측하였으나, 육류도매업, 가공업, 관광산업 등에서의 2차 피해액까지 포함하면 전체 피해액은 수십조원에 달할 것으로 예상하였음
- 하지만 이후에도 가축전염병은 매년 발생하고 있으며, 최근 3년 동안 약 2,000만 마리의 가축을 살처분하여 가축매몰지에 매장하였음

○ 가축매몰지의 조성

- 현재 국내는 가축전염병 발생 시 가축을 살처분하고 가축매몰지에 매장하는 방법을 택하고 있으나, 체계적인 조사와 대책이 부족한 상태로 가축매몰지를 단기간에 조성하고 있는 실정임
- 단기간 조성에 따라 정부 규정과 달리 경사지 또는 하천·가옥·습지 근처에 매몰지가 긴급하게 형성되거나, 일부 지자체의 경우 인력부족으로 가축을 산 채로 매장하는 등 매몰지 조성과정 중 훼손이 발생하고 있음
- 이러한 훼손을 통해 토양 및 지하수에 2차 오염을 야기하고 있으며, 정부의 합동 점검 결과, 9곳 중 7곳에서 기준에 부적합하거나 사후관리의 부실 등이 확인되었음

- 특히, 이러한 불량 매몰지는 폭우 또는 해빙기에 붕괴·유실 등의 문제를 야기하여 침출수가 발생할 수 있는데, 가축매몰지에는 성장촉진호르몬이 고농도로 농축되어 있기 때문에 생태계에 부정적인 영향을 끼칠 수 있음

나. 연구목표

- 본 연구에서는 가축매몰지에 오염 가능성이 있는 13종의 성장촉진호르몬의 분석법을 개발하고 유효성 검증을 통해 분석법을 확립하고자 함
- 농산물 및 재배환경(토양 및 가축분뇨퇴비)의 특성을 고려한 전처리 단계의 간소화 등 전처리 방법의 최적화를 통해 전처리 시간을 단축하고자 함
- 매질 특성에 적합한 전처리 단계 간소화 및 QuEChERS 전처리법 정립
- LC-MS/MS 분석 장비를 이용하여 동시 다성분 분석법을 개발하고자 하였으며, 성장촉진호르몬 이온화에 가장 적합한 이온화 방식을 선정하고자 함
- 이온화 특성(ESI or APCI)을 고려한 최적의 기기분석법 정립
- 이를 통해 가축매몰지 인근의 농산물 및 재배환경에 대한 성장촉진호르몬 오염실태를 파악하고 안전관리 기준 설정을 위한 정책 제언 등의 기초자료로 활용하고자 함

2. 연구내용 및 방법

가. 연구내용

○ 실험재료

- 가축매몰지 인근 토양 70점(가축매몰지 별 5점)
- 가축매몰지 인근 재배 농산물 70점(로컬푸드점 구입)
- 가축분뇨퇴비 150점

○ 표준물질

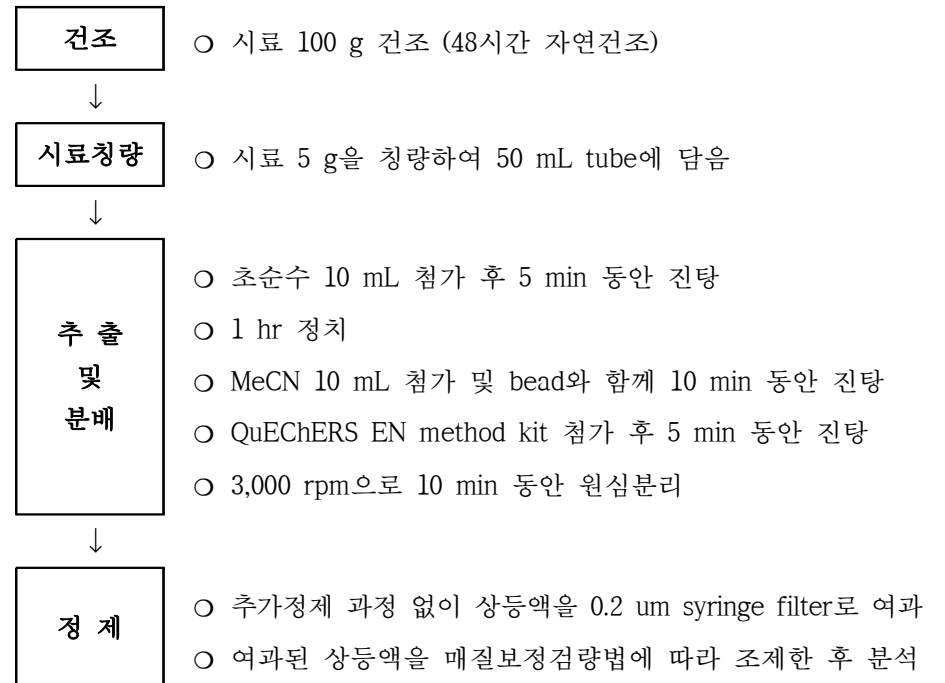
- 표준물질과 내부표준물질은 Sigma-Aldrich, TARGENMOL, UPS(U.S. Pharmacopeia Convention)에서 구입하였으며, 내부표준물질은 stable isotopes를 사용하였음
- Androgen류
- Testosterone [CAS No. 58-22-0]
- Trenbolone acetate [CAS No. 10161-34-9]

- Estrogen류
 - Estradiol-17 beta [CAS No. 50-28-2]
 - Diethylstilbestrol(DES) [CAS No. 56-53-1]
 - Dienestrol [CAS No. 84-17-3]
 - Hexestrol [CAS No. 84-16-2]
 - Zeranol [CAS No. 26538-44-3]
 - Zearalenone [CAS No. 17924-92-4]
- Progesterone류
 - Progesterone [CAS No. 57-83-0]
 - Altrenogest [CAS No. 850-52-2]
 - Melengestrol [CAS No. 2919-66-6]
 - Medroxyprogesterone acetate(MPA) [CAS No. 71-58-9]
 - Norgestimate [CAS No. 35189-28-7]
- 내부표준물질
 - Progesterone-D9 [CAS No. 15775-74-3]
- 시험용액 제조
 - 표준원액(Stock solution)은 13종의 성장촉진호르몬 표준물질과 1종의 내부 표준물질 10 mg을 칭량하여 100 mL 용량플라스크에 취하고 methanol로 용해한 후 표시선까지 채워 냉동 보관하였음(100 ug/mL)
 - 표준용액(Working solution)은 표준원액을 메탄올로 10배 희석하여 1차 working solution을 제조하였고 이를 초순수로 10배 또는 100배 희석하여 2차 working solution으로 사용하였음
- 토양 및 가축분뇨퇴비 시료 전처리
 - 건조 : 정밀한 분석을 위하여 토양 100 g을 48시간 자연 건조하였음
 - 시료칭량 : 자연 건조된 토양 시료 5 g을 50 mL 튜브에 정확하게 칭량하였음
 - 추출 : 시료를 칭량한 50 mL 튜브에 초순수 10 mL을 첨가하고 5분간 진탕 후 1시간 동안 상온에서 정치한 다음 MeCN 10 mL과 ceramic homogenizer를 첨가하여 10분동안 진탕 및 QuEChERS En method kit를 첨가하였고 5분간 진탕 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였음

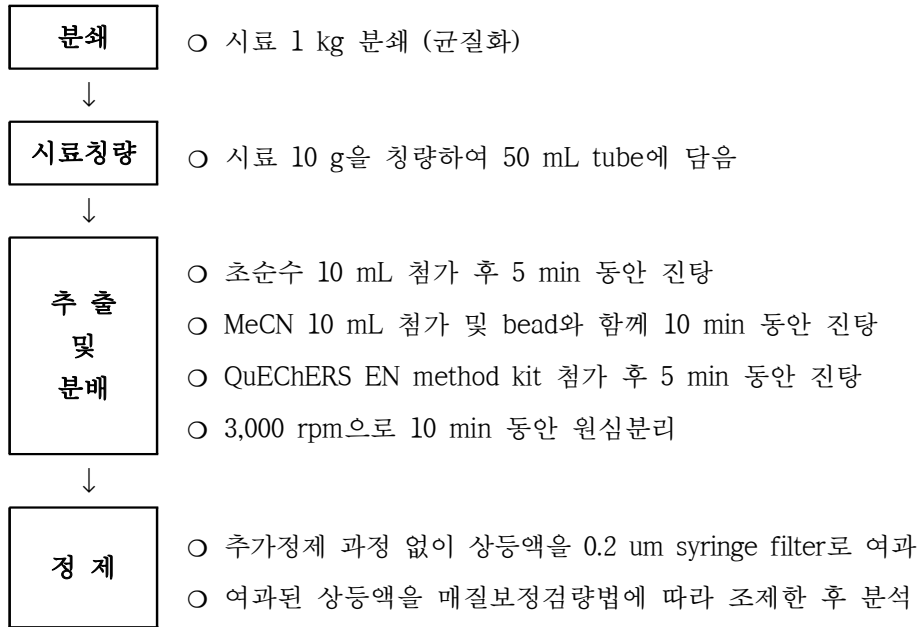
- 정제 : 추가 정제 과정 없이 원심분리한 시료의 상등액을 0.2 um syringe filter로 여과 후 매질보정검량법에 따라 조제하여 분석하였음
- 농산물 시료 전처리
 - 분쇄 : 당해 품목의 전처리과정을 거친 후 분쇄기로 분쇄하였음
 - 시료칭량 : 균질화 된 농산물 시료 10 g을 50 mL 튜브에 정확하게 칭량하였음
 - 추출 : 시료를 칭량한 50 mL 튜브에 초순수 10 mL을 첨가하고 5분간 진탕 후 MeCN 10 mL과 ceramic homogenizer를 첨가하여 10분동안 진탕 및 QuEChERS En method kit를 첨가하였고 5분간 진탕 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였음
 - 정제 : 추가 정제 과정 없이 원심분리한 시료의 상등액을 0.2 um syringe filter로 여과 후 매질보정검량법에 따라 조제하여 분석하였음

나. 연구방법

- 토양 및 가축분뇨퇴비 시료 전처리



○ 농산물 시료 전처리



○ 매질 보정 검량선 작성

- LC-MS/MS 분석조건

구 분	검량선 작성용 표준물질						분석시료
	1	2	3	4	5	6	
농 도	10 ug/L	25 ug/L	50 ug/L	75 ug/L	100 ug/L	125 ug/L	
조제 방법	mobile phase(A) 750 uL	mobile phase(A) 750 uL	mobile phase(A) 750 uL	mobile phase(A) 750 uL	mobile phase(A) 750 uL	mobile phase(A) 750 uL	mobile phase (A) 750 uL
	STD (50 ug/L) 50 uL	STD (125 ug/L) 50 uL	STD (250 ug/L) 50 uL	STD (375 ug/L) 50 uL	STD (500 ug/L) 50 uL	STD (625 ug/L) 50 uL	D.W 50 uL
	IS 100 uL	IS 100 uL	IS 100 uL	IS 100 uL	IS 100 uL	IS 100 uL	IS (100 ug/L) 100 uL
	Blank Matrix 100 uL	Blank Matrix 100 uL	Blank Matrix 100 uL	Blank Matrix 100 uL	Blank Matrix 100 uL	Blank Matrix 100 uL	시료추출액 100 uL

○ 기기분석

- LC-MS/MS 분석조건

LC-MS/MS	Waters Xevo TQ-S micro		
Column	ZORBAX Eclipse Plus C18 (2.1 m × 100 mm(i.d), 1.8 μm, Agilent)		
Column Temp.	40 ℃		
Flow rate	0.2 mL/min		
Mobile Phase	A: 2mM formic acid + 2mM Ammonium acetate in water B: 2mM formic acid + 2mM Ammonium acetate in acetonitrile		
Gradient Profile		A(%)	B(%)
	Initial	90	10
	1.0	90	10
	3.5	0	100
	7.5	0	100
	7.6	90	10
	10.0	90	10
Ionization	APCI(a gas phase chemical ionization)		

- LC-MS/MS 분석조건

번 호	Compound	Molecular formula	Parent Ion (m/z)	Daughter Ion (m/z)	R.T (min)	Ionization
1	Testosterone	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	289.11	96.89	108.92	3.28 APCI+
2	Trenbolone acetate	C ₂₀ H ₂₄ O ₃	313.07	253.07	104.33	3.73 APCI+
3	Estradiol-17 beta	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	273.08	106.91	135.01	3.17 APCI+
4	Diethylstilbestrol(DES)	C ₁₈ H ₂₀ O ₂	269.05	106.91	134.95	3.32 APCI+
5	Dienestrol	C ₁₈ H ₁₈ O ₂	267.03	106.85	120.90	3.36 APCI+
6	Hexestrol	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	269.06	133.92	118.90	3.36 APCI ⁻
7	Zeranol	C ₁₈ H ₂₆ O ₅	323.08	122.93	188.95	3.14 APCI+
8	Zearalenone	C ₁₈ H ₂₂ O ₅	317.05	130.81	174.91	3.42 APCI ⁻
9	Progesterone	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	315.12	96.89	108.92	3.81 APCI+
10	Altrenogest	C ₂₁ H ₂₆ O ₂	311.16	227.04	251.23	3.49 APCI+
11	Norgestimate	C ₂₃ H ₃₁ NO ₃	370.13	123.95	90.97	3.84 APCI+
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	C ₂₄ H ₃₄ O ₄	387.15	122.93	327.18	3.81 APCI+
13	Melengestrol	C ₂₅ H ₃₂ O ₄	397.12	279.3	221.30	3.42 APCI+
IS	Progesterone-D9	C ₂₁ H ₂₁ O ₂ D ₉	324.19	99.84	112.92	3.79 APCI+

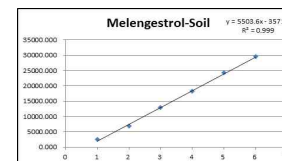
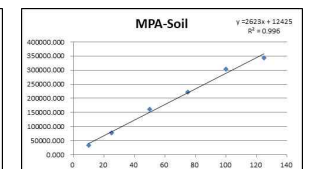
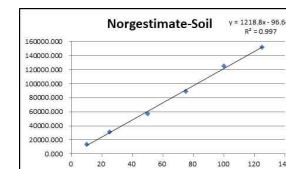
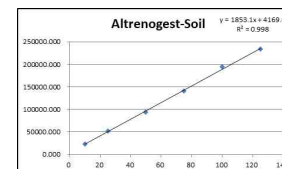
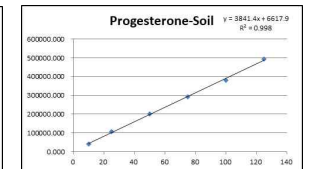
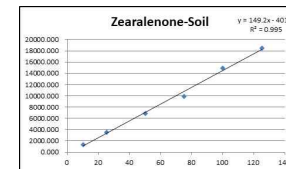
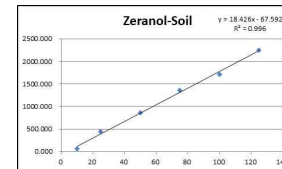
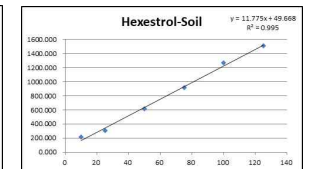
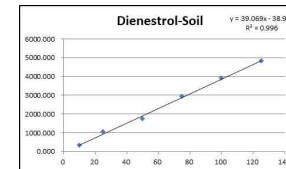
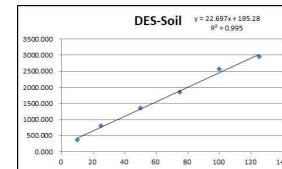
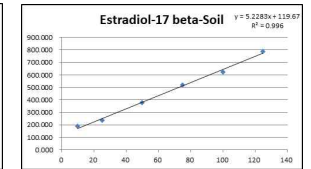
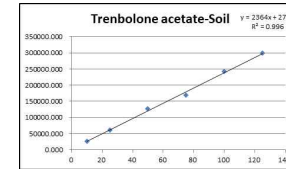
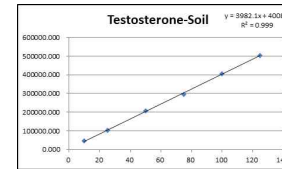
3. 결과 및 고찰

가. 분석 유효성 검증 [발 토양]

- 직선성은 13종의 성장 촉진 호르몬의 혼합표준물질을 각 각 10, 25, 50, 75, 100 및 125 ug/L의 농도가 되도록 전처리 시료에 스파이킹하여 조제한 후 검량선의 직선성을 확인하였음
- 13종의 성장촉진호르몬의 결정계수 R^2 값은 0.995~0.999으로 우수한 직선성을 보였음
- 검량선의 작성농도 및 직선성

No.	Compound	Concentration (ug/L)						Coeff. (R^2)	Linearity
		1	2	3	4	5	6		
1	Testosterone	10	25	50	75	100	125	0.999	$y=3982x + 4008$
2	Trenbolone acetate	10	25	50	75	100	125	0.996	$y=2364x + 2712$
3	Estradiol-17 beta	10	25	50	75	100	125	0.996	$y=5.228x + 119.6$
4	Diethylstilbestrol(DES)	10	25	50	75	100	125	0.995	$y=22.69x + 195.2$
5	Dienestrol	10	25	50	75	100	125	0.996	$y=39.06x - 38.93$
6	Hexestrol	10	25	50	75	100	125	0.995	$y=11.77x + 53.28$
7	Zeranol	10	25	50	75	100	125	0.996	$y=18.42x - 67.59$
8	Zearalenone	10	25	50	75	100	125	0.995	$y=149.2x - 401.7$
9	Progesterone	10	25	50	75	100	125	0.998	$y=3841x + 6617$
10	Altrenogest	10	25	50	75	100	125	0.998	$y=1853x + 4169$
11	Norgestimate	10	25	50	75	100	125	0.997	$y=1218x - 96.64$
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	10	25	50	75	100	125	0.996	$y=2623x + 12425$
13	Melengestrol	10	25	50	75	100	125	0.999	$y=5503x + 3571$

- Calibration Curve



- 회수율은 시료에 분석물질을 가한 후 추출하여 얻어진 시료의 검출반응과 기지농도의 순수 표준물질의 검출반응을 비교한 값으로, 13종의 성장촉진 호르몬 각 성분별로 7번 반복 추출하여 회수율 결과를 확인하였음
- 저농도(10 ppb) : 85.47~104.36% / 고농도(100 ppb) : 96.91~109.62%
- CODEX guide line인 1~10 ug/kg 수준에서 60~120%, 10~100 ug/kg 수준에서 70~120% 조건을 만족하였음
- C.V(Coefficient of Variation)값은 모든 농도에서 5% 미만으로 양호하여 우수한 정밀성을 보였음
- 13종 성장촉진호르몬의 회수율 시험 결과

No.	Compound	Average recovery rate(%)			
		Low (10 ppb)	C.V(%)	High (100 ppb)	C.V(%)
1	Testosterone	99.48	1.86	98.68	2.07
2	Trenbolone acetate	98.49	1.14	96.91	4.14
3	Estradiol-17 beta	97.15	2.88	109.62	4.32
4	Diethylstilbestrol(DES)	101.49	4.53	103.01	4.38
5	Dienestrol	102.44	4.67	99.30	1.57
6	Hexestrol	95.22	4.34	101.81	1.44
7	Zeranol	85.47	2.18	101.15	1.37
8	Zearalenone	104.36	4.59	99.83	2.93
9	Progesterone	95.36	3.86	96.92	2.07
10	Altrenogest	99.25	1.11	99.85	3.08
11	Norgestimate	88.32	2.32	98.92	1.31
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	100.96	1.19	98.10	1.67
13	Melengestrol	98.24	2.41	98.77	2.52

- 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)는 반응의 표준편차와 검정곡선의 기울기에 근거하여 산출하였음
- 1~125 ug/L의 농도로 검량선을 작성한 후 예상 정량한계 2배 농도의 표준물질을 7회 반복 측정하여 평균값으로 검량선의 y를 작성하여 다음의 식에 따라 계산하였음
- $LOD = 3.14 \times (\sigma / S)$
- $LOQ = 10 \times (\sigma / S)$
(σ : 반응의 표준편차, S : 검량선의 기울기)
- 13종 성장촉진호르몬의 정성한계는 0.0039~0.8013 ug/L의 범위를 보였으며, 정량한계는 0.0124~2.5519 ug/L의 범위를 보였음
- 가장 낮은 정량한계를 가진 성장촉진호르몬 norgestimate(0.0124 ug/L)
- 가장 높은 정량한계를 가진 성장촉진호르몬 estradiol-17 beta(2.5519 ug/L)
- 13종 성장촉진호르몬의 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)

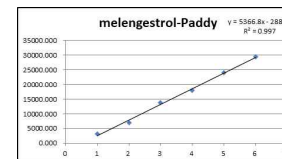
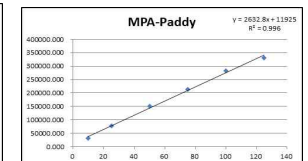
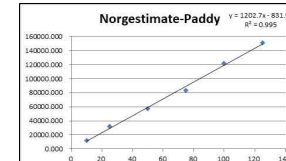
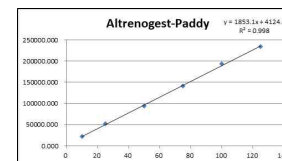
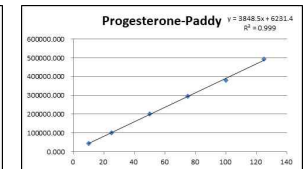
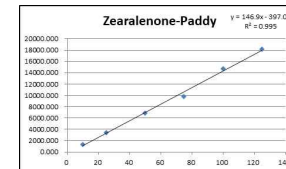
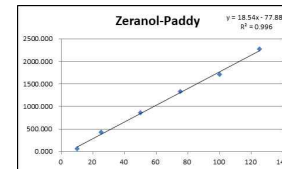
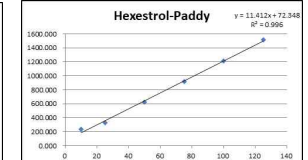
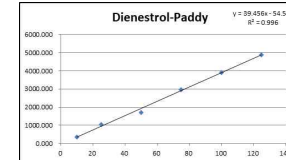
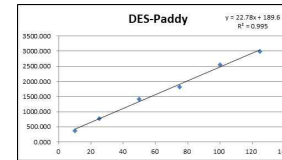
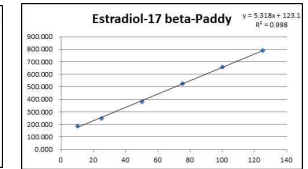
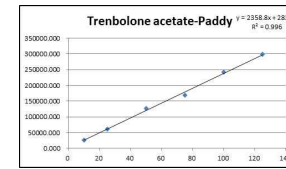
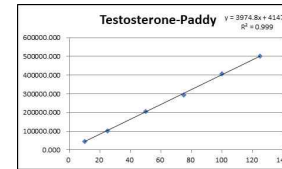
No.	Compound	LOD(ug/L)	LOQ(ug/L)
1	Testosterone	0.0752	0.2396
2	Trenbolone acetate	0.0645	0.2056
3	Estradiol-17 beta	0.8013	2.5519
4	Diethylstilbestrol(DES)	0.1648	0.5248
5	Dienestrol	0.1081	0.3443
6	Hexestrol	0.0987	0.3144
7	Zeranol	0.0669	0.2131
8	Zearalenone	0.0299	0.0952
9	Progesterone	0.0044	0.0139
10	Altrenogest	0.3999	1.2735
11	Norgestimate	0.0039	0.0124
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	0.0177	0.0562
13	Melengestrol	0.1425	0.6784

나. 분석 유효성 검증 [논 토양]

- 직선성은 13종의 성장 촉진 호르몬의 혼합표준물질을 각 각 10, 25, 50, 75, 100 및 125 ug/L의 농도가 되도록 전처리 시료에 스파이킹하여 조제한 후 검량선의 직선성을 확인하였음
- 13종의 성장촉진호르몬의 결정계수 R^2 값은 0.995-0.999으로 우수한 직선성을 보였음
- 검량선의 작성농도 및 직선성

No.	Compound	Concentration (ug/L)						Coeff. (R^2)	Linearity
		1	2	3	4	5	6		
1	Testosterone	10	25	50	75	100	125	0.999	$Y=3974x + 4147$
2	Trenbolone acetate	10	25	50	75	100	125	0.996	$Y=2358x + 2830$
3	Estradiol-17 beta	10	25	50	75	100	125	0.998	$Y=5.318x + 123.1$
4	Diethylstilbestrol(DES)	10	25	50	75	100	125	0.995	$Y=22.78x + 189.6$
5	Dienestrol	10	25	50	75	100	125	0.996	$Y=39.45x - 54.51$
6	Hexestrol	10	25	50	75	100	125	0.996	$Y=11.41x + 72.34$
7	Zeranol	10	25	50	75	100	125	0.996	$Y=18.54x - 77.88$
8	Zearalenone	10	25	50	75	100	125	0.995	$Y=146.9x - 397.0$
9	Progesterone	10	25	50	75	100	125	0.999	$Y=3848x + 6231$
10	Altrenogest	10	25	50	75	100	125	0.998	$Y=1853x + 4124$
11	Norgestimate	10	25	50	75	100	125	0.995	$Y=1202x - 831.9$
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	10	25	50	75	100	125	0.996	$Y=2632x + 11925$
13	Melengestrol	10	25	50	75	100	125	0.997	$y=2360x + 3175$

- Calibration Curve



- 회수율은 시료에 분석물질을 가한 후 추출하여 얻어진 시료의 검출반응과 기지농도의 순수 표준물질의 검출반응을 비교한 값으로, 13종의 성장촉진 호르몬 각 성분별로 7번 반복 추출하여 회수율 결과를 확인하였음
- 저농도(10 ppb) : 85.50~105.73% / 고농도(100 ppb) : 96.19~102.57%
- CODEX guide line인 1~10 ug/kg 수준에서 60~120%, 10~100 ug/kg 수준에서 70~120% 조건을 만족하였음
- C.V(Coefficient of Variation)값은 모든 농도에서 5% 미만으로 양호하여 우수한 정밀성을 보였음
- 13종 성장촉진호르몬의 회수율 시험 결과

No.	Compound	Average recovery rate(%)			
		Low (10 ppb)	C.V(%)	High (100 ppb)	C.V(%)
1	Testosterone	99.35	1.16	99.63	2.32
2	Trenbolone acetate	98.97	1.20	100.64	1.62
3	Estradiol-17 beta	94.48	4.05	102.57	4.72
4	Diethylstilbestrol(DES)	105.50	3.85	102.13	3.50
5	Dienestrol	105.73	2.38	97.41	4.67
6	Hexestrol	100.49	4.36	96.83	1.43
7	Zeranol	85.61	3.55	102.18	1.99
8	Zearalenone	104.73	2.85	99.81	1.53
9	Progesterone	99.94	1.58	97.24	1.36
10	Altrenogest	98.73	1.42	99.08	4.23
11	Norgestimate	85.50	4.57	96.19	2.99
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	99.74	2.27	99.17	3.24
13	Melengestrol	95.47	2.08	97.74	2.54

- 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)는 반응의 표준편차와 검정곡선의 기울기에 근거하여 산출하였음
- 1~125 ug/L의 농도로 검량선을 작성한 후 예상 정량한계 2배 농도의 표준물질을 7회 반복 측정하여 평균값으로 검량선의 y를 작성하여 다음의 식에 따라 계산하였음
- $LOD = 3.14 \times (\sigma / S)$
- $LOQ = 10 \times (\sigma / S)$
(σ : 반응의 표준편차, S : 검량선의 기울기)
- 13종 성장촉진호르몬의 정성한계는 0.0169~1.1865 ug/L의 범위를 보였으며, 정량한계는 0.0539~3.7758 ug/L의 범위를 보였음
- 가장 낮은 정량한계를 가진 성장촉진호르몬 progesterone(0.0539 ug/L)
- 가장 높은 정량한계를 가진 성장촉진호르몬 estradiol-17 beta(3.7758 ug/L)
- 13종 성장촉진호르몬의 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)

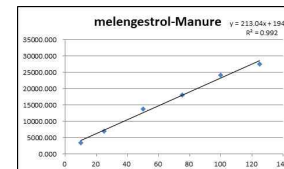
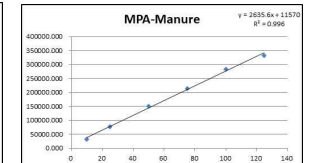
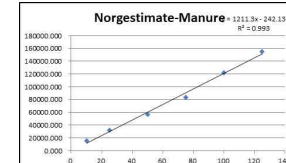
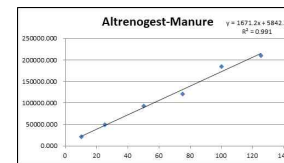
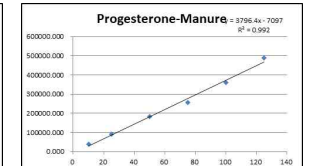
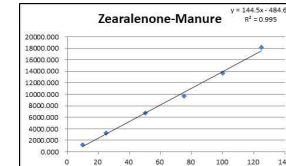
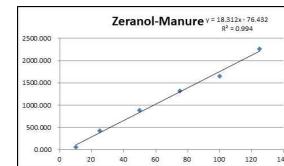
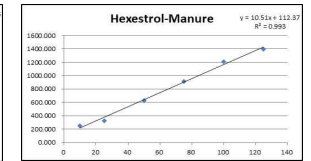
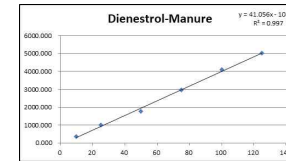
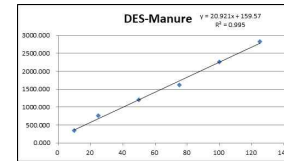
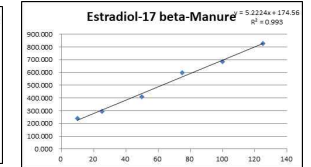
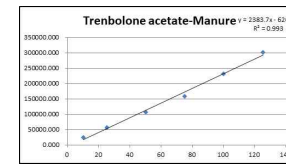
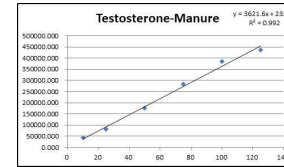
No.	Compound	LOD(ug/L)	LOQ(ug/L)
1	Testosterone	0.1039	0.3308
2	Trenbolone acetate	0.1543	0.4914
3	Estradiol-17 beta	1.1865	3.7758
4	Diethylstilbestrol(DES)	0.2348	0.7479
5	Dienestrol	0.1213	0.3863
6	Hexestrol	0.1963	0.6253
7	Zeranol	0.1024	0.3262
8	Zearalenone	0.0503	0.1601
9	Progesterone	0.0169	0.0539
10	Altrenogest	0.4282	1.3637
11	Norgestimate	0.0919	0.2927
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	0.0638	0.2033
13	Melengestrol	0.1564	0.5124

다. 분석 유효성 검증 [가축분뇨퇴비]

- 직선성은 13종의 성장 촉진 호르몬의 혼합표준물질을 각 각 10, 25, 50, 75, 100 및 125 ug/L의 농도가 되도록 전처리 시료에 스파이킹하여 조제한 후 검량선의 직선성을 확인하였음
- 13종의 성장촉진호르몬의 결정계수 R^2 값은 0.991~0.997로 우수한 직선성을 보였음
- 검량선의 작성농도 및 직선성

No.	Compound	Concentration (ug/L)						Coeff. (R^2)	Linearity
		1	2	3	4	5	6		
1	Testosterone	10	25	50	75	100	125	0.992	$Y=3621.6x + 2339.8$
2	Trenbolone acetate	10	25	50	75	100	125	0.993	$Y=2383.7x - 6264.7$
3	Estradiol-17 beta	10	25	50	75	100	125	0.993	$Y=5.2224x + 174.56$
4	Diethylstilbestrol(DES)	10	25	50	75	100	125	0.995	$Y=20.921x + 159.57$
5	Dienestrol	10	25	50	75	100	125	0.997	$Y=41.056x - 104.16$
6	Hexestrol	10	25	50	75	100	125	0.993	$Y=10.51x + 112.37$
7	Zeranol	10	25	50	75	100	125	0.994	$Y=18.312x + 76.432$
8	Zearalenone	10	25	50	75	100	125	0.995	$Y=144.5x - 484.62$
9	Progesterone	10	25	50	75	100	125	0.992	$Y=3796.4x - 7097$
10	Altrenogest	10	25	50	75	100	125	0.991	$Y=1671.2x + 5842.7$
11	Norgestimate	10	25	50	75	100	125	0.993	$Y=1211.3x - 242.13$
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	10	25	50	75	100	125	0.996	$Y=2635.6x + 11570$
13	Melengestrol	10	25	50	75	100	125	0.992	$Y=213.04x + 1943.6$

- Calibration Curve



- 회수율은 시료에 분석물질을 가한 후 추출하여 얻어진 시료의 검출반응과 기지농도의 순수 표준물질의 검출반응을 비교한 값으로, 13종의 성장촉진 호르몬 각 성분별로 7번 반복 추출하여 회수율 결과를 확인하였음
- 저농도(10 ppb) : 80.14~94.85% / 고농도(100 ppb) : 88.26~95.45%
- CODEX guide line인 1~10 ug/kg 수준에서 60~120%, 10~100 ug/kg 수준에서 70~120% 조건을 만족하였음
- C.V(Coefficient of Variation)값은 모든 농도에서 5% 미만으로 양호하여 우수한 정밀성을 보였음
- 13종 성장촉진호르몬의 회수율 시험 결과

No.	Compound	Average recovery rate(%)			
		Low (10 ppb)	C.V(%)	High (100 ppb)	C.V(%)
1	Testosterone	94.85	3.33	94.36	1.62
2	Trenbolone acetate	87.00	1.24	92.38	3.57
3	Estradiol-17 beta	83.65	4.30	88.26	1.36
4	Diethylstilbestrol(DES)	80.34	1.95	93.48	1.98
5	Dienestrol	91.22	2.26	94.52	2.29
6	Hexestrol	89.47	2.55	88.96	1.20
7	Zeranol	82.42	1.69	95.45	2.41
8	Zearalenone	93.44	3.32	93.95	2.45
9	Progesterone	91.78	1.45	93.35	1.92
10	Altrenogest	84.55	1.48	94.66	2.08
11	Norgestimate	80.14	3.77	92.10	4.81
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	88.94	0.96	92.15	1.40
13	Melengestrol	89.41	3.52	94.41	2.73

- 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)는 반응의 표준편차와 검정곡선의 기울기에 근거하여 산출하였음
- 1~125 ug/L의 농도로 검량선을 작성한 후 예상 정량한계 2배 농도의 표준물질을 7회 반복 측정하여 평균값으로 검량선의 y를 작성하여 다음의 식에 따라 계산하였음
- $LOD = 3.14 \times (\sigma / S)$
- $LOQ = 10 \times (\sigma / S)$
(σ : 반응의 표준편차, S : 검량선의 기울기)
- 13종 성장촉진호르몬의 정성한계는 0.0184~0.3198 ug/L의 범위를 보였으며, 정량한계는 0.0586~1.0184 ug/L의 범위를 보였음
- 가장 낮은 정량한계를 가진 성장촉진호르몬 progesterone(0.0586 ug/L)
- 가장 높은 정량한계를 가진 성장촉진호르몬 hexestrol(1.0184 ug/L)
- 13종 성장촉진호르몬의 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)

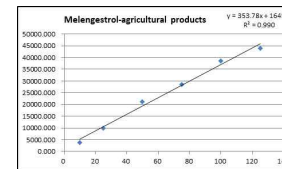
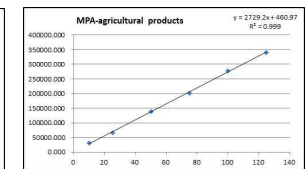
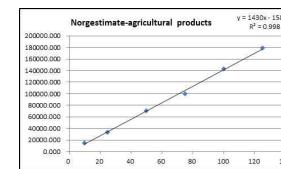
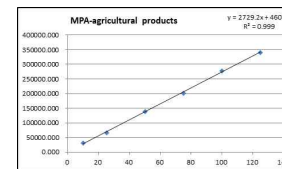
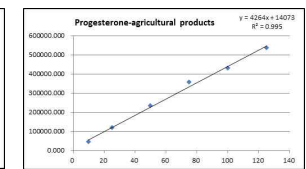
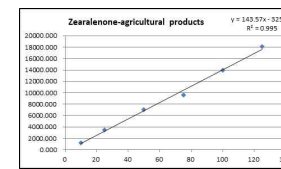
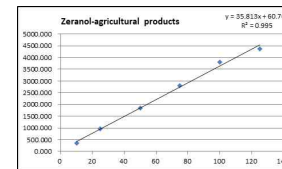
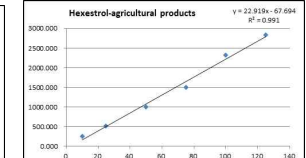
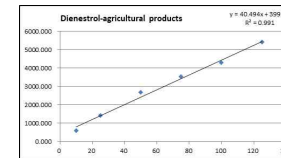
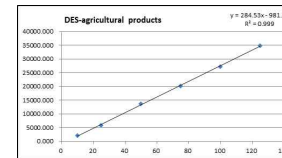
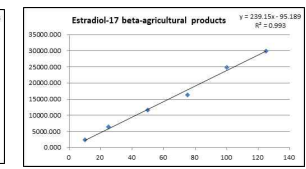
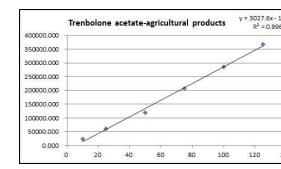
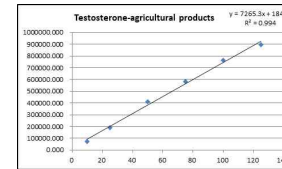
No.	Compound	LOD(ug/L)	LOQ(ug/L)
1	Testosterone	0.0633	0.2016
2	Trenbolone acetate	0.1062	0.3382
3	Estradiol-17 beta	0.1279	0.4073
4	Diethylstilbestrol(DES)	0.0585	0.1862
5	Dienestrol	0.1190	0.3791
6	Hexestrol	0.3198	1.0184
7	Zeranol	0.1132	0.3606
8	Zearalenone	0.0589	0.1876
9	Progesterone	0.0184	0.0586
10	Altrenogest	0.1472	0.4686
11	Norgestimate	0.1129	0.3596
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	0.0741	0.2361
13	Melengestrol	0.1487	0.4736

라. 분석 유효성 검증 [농산물 : 고추]

- 직선성은 13종의 성장 촉진 호르몬의 혼합표준물질을 각 각 10, 25, 50, 75, 100 및 125 ug/L의 농도가 되도록 전처리 시료에 스파이킹하여 조제한 후 검량선의 직선성을 확인하였음
- 13종의 성장촉진호르몬의 결정계수 R^2 값은 0.990-0.999로 우수한 직선성을 보였음
- 검량선의 작성농도 및 직선성

No.	Compound	Concentration (ug/L)						Coeff. (R^2)	Linearity
		1	2	3	4	5	6		
1	Testosterone	10	25	50	75	100	125	0.994	$Y=7265.3x + 18448$
2	Trenbolone acetate	10	25	50	75	100	125	0.996	$Y=3027.6x - 16583$
3	Estradiol-17 beta	10	25	50	75	100	125	0.993	$Y=239.15x - 95.19$
4	Diethylstilbestrol(DES)	10	25	50	75	100	125	0.999	$Y=284.53x - 981.78$
5	Dienestrol	10	25	50	75	100	125	0.991	$Y=40.49x - 399.66$
6	Hexestrol	10	25	50	75	100	125	0.991	$Y=22.92x - 67.69$
7	Zeranol	10	25	50	75	100	125	0.995	$Y=35.81x + 60.76$
8	Zearalenone	10	25	50	75	100	125	0.995	$Y=143.57x - 325.17$
9	Progesterone	10	25	50	75	100	125	0.995	$Y=4264x + 14073$
10	Altrenogest	10	25	50	75	100	125	0.992	$Y=3476.5x - 23026$
11	Norgestimate	10	25	50	75	100	125	0.998	$Y=1430x - 1587.3$
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	10	25	50	75	100	125	0.999	$Y=2729.2x + 460.97$
13	Melengestrol	10	25	50	75	100	125	0.990	$Y=353.78x + 1645.1$

- Calibration Curve



- 회수율은 시료에 분석물질을 가한 후 추출하여 얻어진 시료의 검출반응과 기지농도의 순수 표준물질의 검출반응을 비교한 값으로, 13종의 성장촉진 호르몬 각 성분별로 7번 반복 추출하여 회수율 결과를 확인하였음
- 저농도(10 ppb) : 86.56~101.71% / 고농도(100 ppb) : 84.98~109.43%
- CODEX guide line인 1~10 ug/kg 수준에서 60~120%, 10~100 ug/kg 수준에서 70~120% 조건을 만족하였음
- C.V(Coefficient of Variation)값은 모든 농도에서 5% 미만으로 양호하여 우수한 정밀성을 보였음
- 13종 성장촉진호르몬의 회수율 시험 결과

No.	Compound	Average recovery rate(%)			
		Low (10 ppb)	C.V(%)	High (100 ppb)	C.V(%)
1	Testosterone	91.87	2.83	103.79	1.62
2	Trenbolone acetate	86.56	3.79	84.98	2.65
3	Estradiol-17 beta	98.34	2.75	103.43	1.72
4	Diethylstilbestrol(DES)	92.45	1.85	98.78	2.06
5	Dienestrol	95.03	1.17	89.29	2.27
6	Hexestrol	95.71	0.94	95.41	2.35
7	Zeranol	93.69	3.31	109.43	1.69
8	Zearalenone	96.88	1.46	90.00	4.45
9	Progesterone	93.24	4.08	94.68	1.21
10	Altrenogest	101.71	4.58	89.21	2.15
11	Norgestimate	96.59	3.82	89.54	4.82
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	96.00	2.92	88.73	2.00
13	Melengestrol	98.93	1.25	100.58	0.82

- 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)는 반응의 표준편차와 검정곡선의 기울기에 근거하여 산출하였음
- 1~125 ug/L의 농도로 검량선을 작성한 후 예상 정량한계 2배 농도의 표준물질을 7회 반복 측정하여 평균값으로 검량선의 y를 작성하여 다음의 식에 따라 계산하였음
- $LOD = 3.14 \times (\sigma / S)$
- $LOQ = 10 \times (\sigma / S)$
(σ : 반응의 표준편차, S : 검량선의 기울기)
- 13종 성장촉진호르몬의 정성한계는 0.0020~0.1127 ug/L의 범위를 보였으며, 정량한계는 0.0063~0.3588 ug/L의 범위를 보였음
- 가장 낮은 정량한계를 가진 성장촉진호르몬 progesterone(0.0063 ug/L)
- 가장 높은 정량한계를 가진 성장촉진호르몬 altrenogest(0.3588 ug/L)
- 13종 성장촉진호르몬의 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)

No.	Compound	LOD(ug/L)	LOQ(ug/L)
1	Testosterone	0.0317	0.1009
2	Trenbolone acetate	0.0565	0.1800
3	Estradiol-17 beta	0.0618	0.1969
4	Diethylstilbestrol(DES)	0.0234	0.0745
5	Dienestrol	0.0896	0.2853
6	Hexestrol	0.0713	0.2271
7	Zeranol	0.0539	0.1718
8	Zearalenone	0.0257	0.0818
9	Progesterone	0.0020	0.0063
10	Altrenogest	0.1127	0.3588
11	Norgestimate	0.0025	0.0079
12	Medroxyprogesterone acetate(MPA)	0.0115	0.0367
13	Melengestrol	0.0361	0.1150

마. 잔류실태조사 결과

○ 가축매몰지 인근 토양 : 70점

- 가축매몰지 인근의 토양에서는 성장촉진호르몬이 모두 불검출되었음

No.	지역	토양 분류	결과 값 (ug/kg)	No.	지역	토양 분류	결과 값 (ug/kg)
1	경기도	밭 토양	N.D	36	경상북도	밭 토양	N.D
2			N.D	37			N.D
3			N.D	38			N.D
4			N.D	39			N.D
5			N.D	40			N.D
6	강원도	밭 토양	N.D	41	경상남도	논 토양	N.D
7			N.D	42			N.D
8			N.D	43			N.D
9			N.D	44			N.D
10			N.D	45			N.D
11	충청북도	밭 토양	N.D	46	전라북도	밭 토양	N.D
12			N.D	47			N.D
13			N.D	48			N.D
14			N.D	49			N.D
15			N.D	50			N.D
16	충청남도	밭 토양	N.D	51	전라남도	밭 토양	N.D
17			N.D	52			N.D
18			N.D	53			N.D
19			N.D	54			N.D
20			N.D	55			N.D
21	경기도	밭 토양	N.D	56	경상북도	논 토양	N.D
22			N.D	57			N.D
23			N.D	58			N.D
24			N.D	59			N.D
25			N.D	60			N.D
26	충청북도	밭 토양	N.D	61	충청남도	밭 토양	N.D
27			N.D	62			N.D
28			N.D	63			N.D
29			N.D	64			N.D
30			N.D	65			N.D
31	충청남도	밭 토양	N.D	66	전라북도	밭 토양	N.D
32			N.D	67			N.D
33			N.D	68			N.D
34			N.D	69			N.D
35			N.D	70			N.D

N.D : Not detected

○ 가축매몰지 인근 재배 농산물 : 70점

- 가축매몰지 인근에서 재배된 농산물을 로컬푸드점에서 구입하여 잔류조사를 실시하였으나, 모두 불검출되었음

No.	지역	품목	결과 값 (ug/kg)	No.	지역	품목	결과 값 (ug/kg)
1	경기도	감자	N.D	36	충청남도	녹두	N.D
2		참깨	N.D	37		백태	N.D
3		들깨	N.D	38		팥	N.D
4		흑임자	N.D	39		우엉잎	N.D
5		토마토	N.D	40		표고버섯	N.D
6	강원도	아로니아	N.D	41	경상북도	아로니아	N.D
7		포도	N.D	42		풋고추	N.D
8		블루베리	N.D	43		무화과	N.D
9		고추	N.D	44		대파	N.D
10		표고버섯	N.D	45		복숭아	N.D
11	충청북도	복숭아	N.D	46	경상남도	부추	N.D
12		오이	N.D	47		가지	N.D
13		감자	N.D	48		호박	N.D
14		마늘	N.D	49		들깨	N.D
15		옥수수	N.D	50		아로니아	N.D
16	충청남도	양파	N.D	51	전라북도	방울토마토	N.D
17		자두	N.D	52		열무	N.D
18		귀리	N.D	53		풋고추	N.D
19		홍고추	N.D	54		무	N.D
20		양파	N.D	55		블루베리	N.D
21	경기도	단호박	N.D	56	전라남도	오이	N.D
22		청양고추	N.D	57		참깨	N.D
23		풋고추	N.D	58		부추	N.D
24		토마토	N.D	59		취눈이콩	N.D
25		아로니아	N.D	60		고구마	N.D
26	충청북도	참깨	N.D	61	경상북도	방울토마토	N.D
27		까마중	N.D	62		복숭아	N.D
28		흑임자	N.D	63		망고	N.D
29		팥	N.D	64		귀리	N.D
30		블루베리	N.D	65		마늘	N.D
31	충청남도	참깨	N.D	66	전라남도	고구마	N.D
32		고구마	N.D	67		단호박	N.D
33		사과	N.D	68		취눈이콩	N.D
34		배	N.D	69		참깨	N.D
35		아로니아	N.D	70		배	N.D

N.D : Not detected

○ 가축분뇨퇴비 : 150점

- 2017~2018년동안 수거된 가축분뇨퇴비 150점 중 5점에서 3종의 내인성 성장촉진호르몬인 testosterone, progesterone 및 estradiol-17 beta가 일부 검출되었음
- 내인성 성장촉진호르몬의 검출된 범위는 다음과 같았음
 - Testosterone : (N.D~0.35) ug/kg
 - Progesterone : (N.D~0.13) ug/kg
 - Estradiol-17 beta : (N.D~0.71) ug/kg

No.	종류	결과 값 (ug/kg)	No.	종류	결과 값 (ug/kg)	No.	종류	결과 값 (ug/kg)
1	TE	N.D	11	TE	N.D	21	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
2	TE	N.D	12	TE	N.D	22	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
3	TE	0.23	13	TE	N.D	23	TE	N.D
	PR	0.51		PR	N.D		PR	N.D
	ES	0.09		ES	N.D		ES	N.D
4	TE	N.D	14	TE	N.D	24	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
5	TE	N.D	15	TE	N.D	25	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
6	TE	N.D	16	TE	N.D	26	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
7	TE	N.D	17	TE	N.D	27	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
8	TE	N.D	18	TE	N.D	28	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
9	TE	N.D	19	TE	N.D	29	TE	0.31
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	0.08		ES	N.D		ES	0.07
10	TE	N.D	20	TE	N.D	30	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D

No.	종류	결과 값 (ug/kg)	No.	종류	결과 값 (ug/kg)	No.	종류	결과 값 (ug/kg)
31	TE	N.D	45	TE	N.D	59	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
32	TE	N.D	46	TE	N.D	60	TE	0.33
	PR	N.D		PR	N.D		PR	0.71
	ES	N.D		ES	N.D		ES	0.10
33	TE	N.D	47	TE	N.D	61	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
34	TE	N.D	48	TE	N.D	62	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
35	TE	N.D	49	TE	N.D	63	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
36	TE	N.D	50	TE	N.D	64	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
37	TE	N.D	51	TE	N.D	65	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
38	TE	N.D	52	TE	N.D	66	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
39	TE	N.D	53	TE	N.D	67	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
40	TE	N.D	54	TE	N.D	68	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
41	TE	N.D	55	TE	N.D	69	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
42	TE	N.D	56	TE	0.35	70	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	0.13		ES	N.D
43	TE	N.D	57	TE	N.D	71	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
44	TE	N.D	58	TE	N.D	72	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D

No.	종류	결과 값 (ug/kg)	No.	종류	결과 값 (ug/kg)	No.	종류	결과 값 (ug/kg)
73	TE	N.D	87	TE	N.D	101	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
74	TE	N.D	88	TE	N.D	102	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
75	TE	N.D	89	TE	N.D	103	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
76	TE	N.D	90	TE	N.D	104	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
77	TE	N.D	91	TE	N.D	105	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
78	TE	N.D	92	TE	N.D	106	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
79	TE	N.D	93	TE	N.D	107	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
80	TE	N.D	94	TE	N.D	108	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
81	TE	N.D	95	TE	N.D	109	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
82	TE	N.D	96	TE	N.D	110	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
83	TE	N.D	97	TE	N.D	111	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
84	TE	N.D	98	TE	N.D	112	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
85	TE	N.D	99	TE	N.D	113	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
86	TE	N.D	100	TE	N.D	114	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D

No.	종류	결과 값 (ug/kg)	No.	종류	결과 값 (ug/kg)	No.	종류	결과 값 (ug/kg)
115	TE	N.D	127	TE	N.D	139	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
116	TE	N.D	128	TE	N.D	140	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
117	TE	N.D	129	TE	N.D	141	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
118	TE	N.D	130	TE	N.D	142	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
119	TE	N.D	131	TE	N.D	143	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
120	TE	N.D	132	TE	N.D	144	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
121	TE	N.D	133	TE	N.D	145	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
122	TE	N.D	134	TE	N.D	146	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
123	TE	N.D	135	TE	N.D	147	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
124	TE	N.D	136	TE	N.D	148	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
125	TE	N.D	137	TE	N.D	149	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D
126	TE	N.D	138	TE	N.D	150	TE	N.D
	PR	N.D		PR	N.D		PR	N.D
	ES	N.D		ES	N.D		ES	N.D

N.D : Not detected

TE : Testosterone, PR : Progesterone, ES : Estradiol-17 beta

- 3종의 내인성을 제외한 10종의 외인성 성장촉진호르몬은 모두 검출되지 않았음

바. 고찰

- 본 연구에서는 가축매몰지의 인근의 농산물 및 재배환경에 대해서 13종의 성장촉진호르몬 잔류실태조사를 위해 정확하고 효율적인 전처리방법 및 동시분석방법을 모색하였음
 - 기존의 축산물유해물질 분석법은 가축조직에 잔류하는 성장촉진호르몬을 분석하는 것으로 가수분해를 통한 호르몬의 유리화를 위해 전처리 시간이 장시간 소요되는 문제점을 가지고 있음
 - 하지만 본 연구에서 목적으로 하는 가축매몰지 인근의 농산물 및 재배환경의 경우에는 이미 가축의 사체로부터 자가분해·부패를 통해 성장촉진호르몬이 유리화 상태로 존재하기 때문에 유리화과정이 불필요함
 - 전처리 과정에서 유리화 단계를 생략하고 QuEChERS 방법을 도입하여 추출·분배 과정 간소화 등으로 기존방법 대비 60% 이상의 전처리 시간을 단축한 전처리 방법을 정립하였음
- 13종 성장촉진호르몬 동시분석법 정립을 위해 LC-MS/MS를 이용하였으며, 이온화 방법으로는 APCI(Atmospheric Pressure Chemical Ionization)를 적용하였음
 - 기존 축산물유해물질 분석법의 경우에는 이온화 방법으로 ESI(Electrospray Ionization)를 사용하였으나 2가지 이온화 방식을 비교한 결과, 성장촉진 호르몬의 경우에는 APCI가 더 뛰어난 감도를 보였음
 - 이는 극성이 낮은 화합물이나 비극성 화합물의 이온화에는 APCI 방식을 주로 사용하는데, 성장촉진호르몬의 대부분은 낮은 극성을 가진 steroid 계열로 ESI보다 APCI가 더 적합한 것으로 사료됨
- 정립된 전처리방법과 동시분석법의 유효성 검증 및 매질효과를 확인하기 위해 농산물 및 재배환경(토양 및 가축분뇨퇴비)의 유효성 검증을 실시한 결과, 적절한 유효성을 확보하였음
 - 매질효과가 미치는 영향에 대한 검증을 위해 각 각의 매질 추출물에 성장촉진호르몬 표준물질을 spiking하여 검증을 수행하였음
 - 농산물(고추), 밭 토양, 논 토양 및 가축분뇨퇴비의 직선성은 각각 0.99 이상의 범위로 우수한 직선성을 보였음

- 농산물 - $R^2=0.990\sim0.999$
- 밭토양 - $R^2=0.995\sim0.999$
- 논토양 - $R^2=0.995\sim0.999$
- 가축분뇨퇴비 - $R^2=0.991\sim0.997$
- 회수율은 저농도(10 ug/L)와 고농도(100 ug/L)의 표준물질을 첨가하여 분석하였고, 모두 codex guide line인 1~10 ug/kg 수준에서 60~120%, 10~100 ug/kg 수준에서 70~120% 조건을 만족하여 우수한 정확도를 보였음
 - 농산물 - 저농도(86.56~101.71%), 고농도(84.98~109.43%)
 - 밭토양 - 저농도(85.47~104.36%), 고농도(96.91~109.62%)
 - 논토양 - 저농도(85.50~105.73%), 고농도(96.19~102.57%)
 - 가축분뇨퇴비 - 저농도(80.14~94.85%), 고농도(88.26~95.45%)
- 또한 모든 매질에서 변이계수(C.V)가 5% 미만으로 양호하여 우수한 정밀성을 보였음
- 검출한계(LOD), 정량한계(LOQ)는 반응의 표준편차와 검정곡선의 기울기에 근거하여 산출하였고, 아직 농산물 및 재배환경에 대한 기준·규격이 없기 때문에 본 연구결과를 토대로 정량한계를 4 ug/kg으로 정하였음
 - 농산물 - LOD(0.0020~0.1127 ug/kg) / LOQ(0.0063~0.3588 ug/kg)
 - 밭토양 - LOD(0.0039~0.8013 ug/kg) / LOQ(0.0124~2.5519 ug/kg)
 - 논토양 - LOD(0.0169~1.1865 ug/kg) / LOQ(0.0539~3.7758 ug/kg)
 - 가축분뇨퇴비 - LOD(0.0184~0.3198 ug/kg) / LOQ(0.0586~1.0184 ug/kg)
- 농산물 및 토양에 대한 13종 성장촉진호르몬의 잔류조사 결과, 가축매몰지 인근의 토양 및 재배되는 농산물은 모두 불검출되어 안전한 것으로 조사되었음
 - 가축매몰지 인근 토양을 W자 모양으로 5점씩 채취하여 분석한 결과 모두 불검출되었음 (제주도를 제외한 8개 도에 대해 샘플링하였음)
 - 가축매몰지 인근의 로컬푸드점에서 가축매몰지와 5 km 이내 거리에서 재배된 농산물을 샘플링하여 분석하였으나 모두 불검출되었음
- 2년간 수집된 가축분뇨퇴비 150점에 대한 잔류조사 결과, 5점의 시료에서 내인성 유래 성장촉진호르몬이 검출되어 추후 지속적인 모니터링이 필요함

- 2017년~2018년에 수집된 가축분뇨퇴비에서 13종의 성장촉진호르몬 중 외인성 유래 성장촉진호르몬은 모두 불검출되었음
- 하지만 3종의 내인성 유래 성장촉진호르몬은 3.33%가 검출되었음
 - 3번 시료 : testosterone(0.23 ug/kg), progesterone(0.51 ug/kg) 및 estradiol-17 beta(0.08 ug/kg) 검출
 - 9번 시료 : estradiol-17 beta(0.08 ug/kg) 검출
 - 29번 시료 : testosterone(0.31 ug/kg) 및 estradiol-17 beta(0.07 ug/kg) 검출
 - 56번 시료 : testosterone(0.35 ug/kg) 및 estradiol-17 beta(0.13 ug/kg) 검출
 - 60번 시료 : testosterone(0.33 ug/kg), progesterone(0.71 ug/kg) 및 estradiol-17 beta(0.10 ug/kg) 검출
- 검출된 내인성 유래 성장촉진호르몬의 농도는 1 ppb 이하로 매우 낮고 농산물로 전이되는 경향을 보이지 않기 때문에 안전한 것으로 판단되나, 현재 가축분뇨퇴비에 대한 관리 기준이 없기 때문에 지속적인 모니터링을 통해 관리 기준 설정이 요구됨
- 또한 가축분뇨퇴비에서의 성장촉진호르몬의 검출경로는 가축의 배설물에 의한 오염으로 퇴비화 정도에 따른 불완전 분해에 의한 것이므로 가축분뇨를 이용한 퇴비 제조 과정의 철저한 관리가 필요함
- 본 연구에서 정립된 분석법을 통해 추후 가축매몰지 조성 및 사후관리 등의 평가에 활용할 수 있을 것으로 기대하며, 가축분뇨퇴비 제조과정 및 농산물 재배환경에 대한 모니터링을 통해 농업에서 유래할 수 있는 성장촉진호르몬의 사전예방적 관리가 가능함

4. 기대성과 및 활용방안

가. 기대성과

- 1) 농산물 및 재배환경(토양 및 가축분뇨퇴비)에 대한 13종 성장촉진호르몬 최적 전처리 방법 및 동시분석기술 확보(학회 포스터 발표 4건)
- 2) 추후 가축매몰지지역의 농산물 재배 또는 가축분뇨퇴비를 사용한 농업환경에 대한 13종 성장촉진호르몬 오염실태를 과학적으로 규명하여 안전관리 종합

대책 마련에 기여

나. 활용방안

- 1) 생산자, 소비자 및 식품오염물질 전문가에게 식품안전정보 제공
 - 논문 투고를 통해 관련 정보 전달(한국식품과학회 등)
- 2) 국내 가축매몰지 인근 농산물 및 재배환경(토양 및 가축분뇨퇴비)에 대한 성장촉진호르몬 오염정도를 파악함으로써 관리기준 설정의 기초자료로 활용
 - 본 연구의 정립된 분석법을 기반으로 가축매몰지 조성 및 사후관리 등의 평가에 활용
 - 농산물 재배환경에 대한 모니터링으로 농업에서 유래할 수 있는 성장촉진호르몬의 사전예방적 관리에 활용
 - 유기농업에 활용되는 가축분뇨퇴비의 퇴비화 기준 설정의 기초자료로 활용
- 3) 가축매몰지 조성 지역의 주변 농산물 및 재배환경에 대한 지속적인 모니터링으로 유출 사고 발생 시 신속한 조치로 안전성 확보
 - 보도자료 등을 통한 모니터링 및 조치 결과 배포(사고 발생시)

5. 참고문헌

- Lim JE et al., Monitoring of Selected Veterinary Antibiotics in Animal Carcass Disposal site and Adjacent Agricultural Soil, J Appl Biol Chem, 57(3):189-196, 2014
- Awad YM et al., Veterinary antibiotics contamination in water, sediment, and soil near a swine manure composting facility, Environ Earth Sci, 71:1433-40, 2014
- Cho HS, Detection of foot-and mouth disease virus and coxsakievirus in the soil and leachate of modeled carcass burial site, Korean J Vet Serv, 35:255-61, 2012
- Grote M et al., Incorporation of veterinary antibiotics into crops from manured soil, Landbauforsch Volk, 57:25-32, 2007
- Kim KH et al., Assessment of soil and groundwater contamination at two animal carcass disposal sites, Korean J Soil Sci Fert, 43:384-9, 2010
- Lee HY et al., Environmental monitoring of selected veterinary antibiotics in soils, sediments and water adjacent to a poultry manure composting facility in Gangwon province, Korea, J Korean Soc Environ Eng, 32:278-86, 2010
- MoE, Environmental management guideline of carcass burial sites, Ministry of Environment, Korea, 2010
- AOAC, AOAC Guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals, AOAC, 1-38 (2002)
- Cho YJ et al., Improvement of an Simultaneous Determination for Clenbuterol and Ractopamine in Livestock Products using LC-MS/MS, Korean J. Food SCI. Tech, 45(1):25-33, 2013
- FAO/WHO-JECFA, Evaluation of certain veterinary drug residues in food: Seventy-fifth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives(WHO technical report series; No. 969), FAO/WHO Geneva, Switzerland, 1-101, 2012
- European Union, Commission Regulation(EU) No. 37/2010: On pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin, Off. J. Eur. Union L 15:1-72, 2010
- Oh JH et al., Management of veterinary drug residues in food, Korean J. Environ Agric. 28:310-325, 2009
- Park MS et al., Analysis of phoxim residue in animal food production (cattle and pig) by LC/ESI-MS/MS, J. Korean Chem. Soc, 55:626-632, 2011
- Juan C et al., Development and validation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the analysis of beta-agonists in animal feed and drinking water, J. Chromatogr. A, 2017:6061-6068, 2010
- Hwang SY et al., Mobility Characteristics of Veterinary Antibiotics in Soil Column, J Appl Biol Chem, 55(4):241-246, 2012
- Lam KH et al., Estimation of Groundwater Contamination and Pumping Capacity for Purification in Animal Carcass Deposal Site, J. Engineering Geology, 25(1):2287-7169, 2015
- Jun SM et al., A study for the foot-and-mouth disease burial site monitoring well installation guideline, Korean Review of Crisis & Emergency Management, 9(11):221-238, 2013
- Kim GH et al., Enhanced stabilization of carcasses by retrofitting burial sites to bioreactor, J. Korean Soc. Environ Engineers, 36(10):679-684, 2014
- Lee KK, Foot and mouth disease, landfill leachate, and groundwater contamination, Geoenvironmental Engineering, 12(2):6-17, 2011