

Korean Supplementary Text

Study on the biodegradation of the alternatives of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and PFOS

Bong-In Choi¹, Suk-Hyun Na¹, Jun-hyo Son¹, Dong-Soo Shin², byung-taek Ryu³, Kyun-suk Byeon², , Seon-yong Chung^{1*}

¹Department of Environment and Energy Engineering, Chonnam National University College of Engineering, Kwangju, Korea; ²Department of Chemistry, Changwon National University, Changwon, Korea; ³Environmental Safety Center, Korea Environmental Corporation, Incheon, Korea

서론

과불화합물인 perfluorooctanesulfonicacid (PFOS, C₈F₁₇SO₃H)는 인공합성물질이다. PFOS는 계면활성, 발수성, 발유성, 내열성, 내화학적, 내마찰성 등이 우수하여 소화용 발포제, 카펫·의류·종이·가죽 등의 코팅제, 상업용 얼룩방지제, 금속세정, 항공기 작동유 등에 광범위하게 사용되고 있다. 이와 같이 PFOS는 산업적 용도와 소비자 용도로 높은 가치가 있지만 쉽게 분해되지 않고, 환경 또는 생체 내에서 오랜 기간 잔류하는 것으로 알려져 있다(1,2).

Rat를 이용한 소뇌 시험결과 신경독성을 유발할 수 있고, 임신한 rat에서는 신생 자 생존율이 감소하는 등 생식독성을 유발하는 것으로 알려져 있다. 또한 한국인의 혈액 내 PFOS 평균농도는 6.06ng/ml이라는 조사 결과도 있다(3).

이러한 이유로 PFOS는 2009년 5월 스위스 제네바에서 열린 스톡홀름협약 제4차 당사국 총회에서 Persistent Organic Pollutants (POPs)로 등재가 확정되었고, 당사국들의 의견수렴기간을 거쳐 2010년 8월 26일자로 공식 발효되었다. 우리나라는 2011년 4월 11일에「잔류성유기오염물질관리법」시행령을 개정하여 PFOS와 PFOS 염류를 잔류성유기오염물질로 지정하고, 제조 및 수출, 사용 등을 엄격하게 제한하고 있다.

3M은 2002년도에 자발적으로 PFOS 생산을 중단하고, 탄소체인 수를 줄인 Perfluorobutanesulfonate (PFBS) 등의 대체물질을 개발했지만 현재까지 PFOS를 완전히 대체할 수 있는 물질은 개발하지 못하고 있다. 본 연구에서는 미생물분해성 측면에서 창원대 신동수 교수 연구실에서 개발한 4종의 PFOS 대체물질이 PFOS에 비해 얼마나 우수한가를 확인하고자 하였다(4).

연구방법

1. 시험물질

미생물분해시험은 창원대 신동수 교수 연구실에서 합성한 PFOS 대체물질 4 종(C15F9H21S2O8Na2 (분자량 610.42), C17F9H25S2O8Na2 (분자량 638.47), C23F18H28S2O8Na2 (분자량 884.54), C25F17H32S3O13Na3 (분자량 1028.65))과 Sodium Salt 형태의 PFOS 염인 C8F17SO3Na(분자량 522.11)에 대해서 실시하였다.

2. 시험방법 및 미생물

미생물분해시험은 OECD Guidelines for the testing of chemicals, Test No. 301 C 에 따라 실시하였다.

실험에 사용된 미생물은 전국의 도시하수처리장, 산업폐수처리장, 강, 호수 및 바다 등 10 개 지점에서 채취하여 1 개월 이상 한국환경공단 미생물배양실에서 배양한 것을 사용하였다.

3. 시험장비

시험장비는 OECD Guidelines for the testing of chemicals, Test No. 301 C 에 규정된 시험법에 따라 미생물분해율을 측정할 수 있도록 개발된 OxiTop Control(OxiTop Control 100, WTW)을 사용하였다. OxiTop Control 은 밀폐된 시험병 내 압력의 변화를 토대로 Biochemical Oxygen Demand (BOD)을 실시간으로 측정할 수 있는 장비로 시험병, 측정헤드, 무선 컨트롤러, 교반시스템 등으로 구성되어 있다.

4. 미생물분해시험

PFOS Sodium salt 1 종(C8F17SO3Na)과 대체물질 4 종 (C15F9H21S2O8Na2, C17F9H25S2O8Na2, C23F18H28S2O8Na2, C25F17H32S3O13Na3)에 대해 미생물분해시험을 실시하였다.

1 번병~5 번병에는 5 종의 시험물질(C8F17SO3Na, C15F9H21S2O8Na2, C17F9H25S2O8Na2, C23F18H28S2O8Na2, C25F17H32S3O13Na3)을 순차적으로 각각 0.015g 씩 넣은 후 탈이온수 150ml 을 주입하였다.

6 번병~20 번병에는 5 종의 시험물질(C15F9H21S2O8Na2, C17F9H25S2O8Na2, C23F18H28S2O8Na2, C25F17H32S3O13Na3) 각각에 대해 순차적으로 3 개의 반복구를 두었고, 각 시험병에 각각의 시험물질을 0.015g(시험물질 농도 100 mg/l)씩 넣은 후 기초배양액 1.8ml, 탈이온수 143.64ml, 미생물 4.56ml(미생물 농도 30ppm, 미생물

Environmental Health and Toxicology

건중량 9.9mg)을 주입하였다. 21 번병에는 미생물의 상태를 확인하기 위하여 대조물질인 아닐린(C₆H₇N, 99.6%, Sigma-aldrich) 0.015g(100 mg/l)과 기초배양액 1.8ml, 탈이온수 143.64ml, 미생물 4.6ml 를 주입하였다. 22 번병에는 5 종의 시험물질과의 미생물분해율을 비교하기 위해 기초배양액 1.8ml 와 탈이온수 143.64ml, 미생물 4.56ml 를 주입하였다. 이와 같이 준비된 22 개의 시험병은 무선 컨트롤러로 세팅한 다음 교반시스템 위에 올려놓고 배양기 내에 28 일 동안 넣어 두었다. 배양기 내의 온도는 24.9°C~25.1°C, pH 는 6.70~7.92 이었다.

5. 미생물분해율 계산

시험물질의 미생물분해율(%)을 계산하는 방법은 다음과 같다.

미생물분해율(%)= (시험물질의 Biochemical Oxygen Demand (BOD))/(시험물질의 Theoretical Oxygen Demand (ThOD)) × 100

시험물질의 BOD 는 다음과 같이 계산하였다.

시험물질의 BOD(mg/l) = (각 시험물질 3 개 반복구의 평균 BOD (예 : (6 번병 BOD + 7 번병 BOD + 8 번병 BOD) / 3)) - (1 번병 BOD, 2 번병 BOD, 3 번병 BOD, 4 번병 BOD, 5 번병 BOD 각각) + 22 번병 BOD) / 각각의 시험물질 농도

대조물질의 BOD 는 다음과 같이 계산하였다.

대조물질의 BOD(mg/l) = (21 번병 BOD - 22 번병 BOD) / 대조물질의 농도

시험물질 또는 대조물질의 ThOD 는 다음과 같이 계산하였다.

CcHhFfNnNanaOoPpSs

ThOD(mg/l) = 16(2c + 1/2(h-f-3n) + 3s + 5/2p + 1/2na - o) / 분자량

6. 분해 미생물 분리 및 동정

분리용 배지는 전남대학교 미생분해실험실에서 조제한 무기배지를 사용하였고, 시험에 사용된 PFOS 대체물질을 유일한 탄소원으로 사용하였다. 미생물 분리는 35°C의 배양기 내에서 호기성 조건으로 24 시간 동안 배양한 후 육안으로 성장이 확인된 미생물을 고체배지로 5 회 이상 계대 배양하여 순수 분리하였다. 순수 분리된 미생물은 16s rRNA 염기서열을 분석하여 동정하였다.

연구결과

대조물질인 아닐린의 7 일차와 14 일차 분해율은 각각 73.7%, 83.6%로 본 연구에서 사용한 미생물은 정상상태임을 확인하였다(7 일차는 40% 이상, 14 일차는 65% 이상이면 미생물의 상태는 정상, OECD Guidelines for the testing of chemicals, Test No. 301 C 에 명시된 판단기준). Sodium salt 형태의 PFOS 인 $C_8F_{17}SO_3Na$ 를 투입한 경우 평균 BOD 는 7 일차에 6.53 mg/l, 14 일차에 17.60 mg/l, 28 일차에 30.57 mg/l 로 나왔다. 시험물질을 투입하지 않는 군 (Blank)의 경우 BOD 는 7 일차에 13.20 mg/l, 14 일차에 24.10 mg/l, 28 일차에 35.80 mg/l 가 나왔다. $C_{15}F_9H_{21}S_2O_8Na_2$ 를 투입한 경우 BOD 는 7 일차에 20.60 mg/l, 14 일차에 42.70 mg/l, 28 일차에 54.97 mg/l 로 나왔다. $C_{17}F_9H_{25}S_2O_8Na_2$ 를 투입한 경우 평균 BOD 는 7 일차에 19.90 mg/l, 14 일차에 31.10 mg/l, 28 일차에 44.53 mg/l 로 나왔다. $C_{23}F_{18}H_{28}S_2O_8Na_2$ 를 투입한 경우 평균 BOD 는 7 일차에 18.83 mg/l, 14 일차에 35.20 mg/l, 28 일차에 49.80 mg/l 로 나왔다. $C_{25}F_{17}H_{32}S_3O_{13}Na_3$ 를 투입한 경우 평균 BOD 는 7 일차에 26.53 mg/l, 14 일차에 43.10 mg/l, 28 일차에 56.30 mg/l 로 나왔다 (Table 1).

Table 1. Results for the BOD and ThOD of the PFOS alternatives and PFOS Sodium salt

Chemicals	BOD ¹⁾ (mg/L)			ThOD ²⁾ (mg/L)
	7 day	14 day	28day	
Test Substances + DW ³⁾	0.0	0.0	0.0	
Average ± SD ⁴⁾ ($C_8F_{17}SO_3Na$, PFOS ⁵⁾)	6.53 ± 0.06	17.60 ± 0.10	30.57 ± 0.25	0.2452
Average ± SD ($C_{15}F_9H_{21}S_2O_8Na_2$)	20.60 ± 0.30	42.70 ± 0.20	54.97 ± 0.35	0.9174
Average ± SD ($C_{17}F_9H_{25}S_2O_8Na_2$)	19.90 ± 0.90	31.10 ± 1.10	44.53 ± 0.15	1.0275
Average ± SD	18.83 ±	35.20 ±	49.80 ±	0.9044

Environmental Health and Toxicology

(C ₂₃ F ₁₈ H ₂₈ S ₂ O ₈ Na ₂)	0.35	0.30	0.20	
Average ± SD	26.53 ±	43.10 ±	56.30 ±	0.8555
(C ₂₅ F ₁₇ H ₃₂ S ₃ O ₁₃ Na ₃)	0.55	0.40	1.00	
Blank	13.2	24.1	35.8	

- 1) BOD : Biochemical Oxygen Demand
- 2) ThOD : Theoretical Oxygen Demand
- 3) DW : Deionized Water
- 4) SD : Standard Deviation
- 5) PFOS : Perfluorooctanesulfonicacid

미생물분해 산출식에 따라 분해율을 계산해 본 결과 Sodium salt 형태의 PFOS 인 C₈F₁₇SO₃Na 는 마이너스 값으로 28 일 동안 분해가 전혀 이루어지지 않았다고 판단할 수 있다. C₁₅F₉H₂₁S₂O₈Na₂ 의 미생물분해율은 7 일차에 8.1%, 14 일차에 20.2%, 28 일차에 20.9%인 것으로 확인되었다. C₁₇F₉H₂₅S₂O₈Na₂ 의 미생물분해율은 7 일차에 6.6%, 14 일차에 6.8%, 28 일차에 8.4%인 것으로 확인되었다. C₂₃F₁₈H₂₈S₂O₈Na₂ 의 미생물분해율은 7 일차에 14.7%, 14 일차에 21.0%, 28 일차에 22.6%인 것으로 확인되었다. C₂₅F₁₇H₃₂S₃O₁₃Na₃ 의 미생물분해율은 7 일차에 15.5%, 14 일차에 22.2%, 28 일차에 23.6%인 것으로 확인되었다(Table 2).

Table 2. Results for the Biodegradation of the PFOS alternatives and PFOS Sodium salt

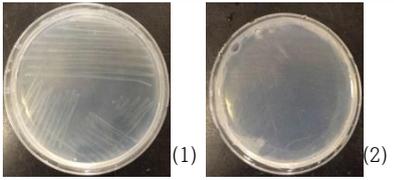
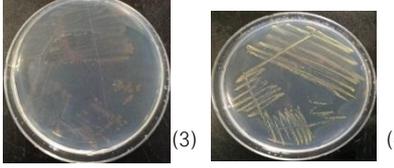
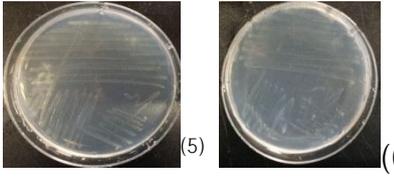
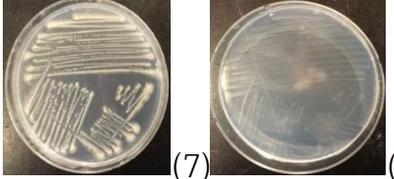
Chemicals	Biodegradation(%)		
	7 day	14 day	28day
C ₈ F ₁₇ SO ₃ Na (PFOS ¹)	0.0	0.0	0.0
C ₁₅ F ₉ H ₂₁ S ₂ O ₈ Na ₂	8.1	20.2	20.9
C ₁₇ F ₉ H ₂₅ S ₂ O ₈ Na ₂	6.6	6.8	8.4
C ₂₃ F ₁₈ H ₂₈ S ₂ O ₈ Na ₂	14.7	21.0	22.6
C ₂₅ F ₁₇ H ₃₂ S ₃ O ₁₃ Na ₃	15.5	22.2	23.6

1) PFOS : Perfluorooctanesulfonicacid

미생물분해가 이루어지는 것으로 확인된 4 종의 PFOS 대체물질 각각에 대한 분해 미생물을 분리하여 염기서열을 확인한 결과 $C_{15}F_9H_{21}S_2O_8Na_2$ 는 *Pandoraea oxalativorans* 및 *Ralstonia solanacearum* 과 각각 99%, 96%의 상동성을 나타내었다.

$C_{17}F_9H_{25}S_2O_8Na_2$ 는 *Flectobacillus roseus* 및 *Sphingomonas echinoides* 과 각각 99%의 상동성을 나타내었다. $C_{23}F_{18}H_{28}S_2O_8Na_2$ 는 *Dyadobacter fermentans* 및 *Pseudomonas umsongensis* 과 각각 100%의 상동성을 나타내었다. $C_{25}F_{17}H_{32}S_3O_{13}Na_3$ 은 *Bacillus cereus* 및 *Achromobacter denitrificans* 과 각각 99%의 상동성을 나타내었다.

Fig. 1. Separated bacteria strains from Perfluorooctanesulfonicacid (PFOS) alternatives

Chemicals	Strains	Colony
$C_{15}F_9H_{21}S_2O_8Na_2$	(1) <i>Pandoraea oxalativorans</i> (2) <i>Ralstonia solanacearum</i>	
$C_{17}F_9H_{25}S_2O_8Na_2$	(3) <i>Flectobacillus roseus</i> (4) <i>Sphingomonas echinoides</i>	
$C_{23}F_{18}H_{28}S_2O_8Na_2$	(5) <i>Dyadobacter fermentans</i> (6) <i>Pseudomonas umsongensis</i>	
$C_{25}F_{17}H_{32}S_3O_{13}Na_3$	(7) <i>Bacillus cereus</i> (8) <i>Achromobacter denitrificans</i>	

고찰

Sodium salt 형태의 PFOS 인 $C_8F_{17}SO_3Na$ 는 28 일 동안 전혀 분해가 이루어지지 않은 것으로 확인되었다. 탄소를 3 배 정도 늘리고, 불소 17 개 또는 18 개로 거의 같게 유지한 $C_{23}F_{18}H_{28}S_2O_8Na_2$ 와 $C_{25}F_{17}H_{32}S_3O_{13}Na_3$ 의 미생물분해율 각각 22.6%, 23.6%로 상대적으로 가장 높았다. 그 다음으로는 탄소원자 수를 15 개로 늘리고, 불소원자 수를 9 개로 줄인 $C_{15}F_9H_{21}S_2O_8Na_2$ 의 미생물분해율이 20.9%로 좋았다. PFOS 가 계면활성, 발수성, 발유성 등이 우수한 특성을 갖는 이유는 표면장력이 낮기 때문이다. 동일한 농도(500 mg/l)에서 표면장력계(KSV sigma 702, scientific)를 이용하여 표면장력을 측정해본 결과 4 종의 PFOS 대체물질은 20.94 mN/m ~ 28.17 mN/m 로 나온 반면 PFOS Sodium salt 인 $C_8F_{17}SO_3Na$ 은 46.18 mN/m 로 나왔다. 상기와 같은 시험결과를 종합적으로 감안해 볼 때 미생물분해율이 20% 이상인 것으로 확인된 3 종의 물질($C_{23}F_{18}H_{28}O_8S_2Na_2$, $C_{25}F_{17}H_{32}O_{13}S_3Na_3$, $C_{15}F_9H_{21}O_8S_2Na_2$)은 PFOS 대체물질로서의 활용 가능성이 높다고 판단된다. 하지만 PFOS 의 대체물질로 상용화하기 위해서는 환경독성 및 인체독성, 경제성 등에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 환경부(한국환경산업기술원)로부터 연구비를 지원받아 수행하였습니다(과제번호 : KME, 412-111-008).

참고문헌

1. Martin JW, Muir DC, Moody CA, Ellis DA, Kwan WC, Solomon KR, Mabury SA. Collection of airborne fluorinated organics and analysis by gas chromatography/chemical ionization mass spectrometry. *Anal Chem.* 2002 Feb 1;74(3):584-90.
2. Christopher P. Higgins , Jennifer A. Field , Craig S. Criddle , and Richard G. Luthy, Quantitative Determination of Perfluorochemicals in Sediments and Domestic Sludge, *Environ. Sci. Technol.*, 2005, 39 (11), p 3946-3956
3. Chunhui Suh, Chae Kwan Lee, So-ryong Lee, Mi Hee Park, Jongtae Lee, Byungchul Son, Jeong ho Kim and Kunhung Kim, (2012) Concentration of PFOS and PFOA in Whole Blood and Factors Controlling Their Exposure Among Koreans, *J Environ Health Sci*, 2012; 38(2): 105-117
4. B.V.D. Vijaykumar, B. Premkumar, Kiwan Jang, Bong-in Choi, J.R. Falck and Dong-soo Shin, Environmentally benign perfluorooctanesulfonate alternatives using a Zn/CuI mediated Michael-type addition in imidazolium ionic liquids, *Green Chemistry*, 2014; 16: 2406-2410