

항생제 내성균 및 유전자제거를 위한 염소 CT 값 비교

오준식 · 김성표⁺

고려대학교 환경시스템공학과

The CT values Comparisons for Antibiotic Resistant Bacteria and Resistant Genes by Chlorination

Jun-Sik Oh · Sungpyo Kim⁺

Department of Environmental Engineering, Korea University

요약

본 연구의 목적은 항생제 내성 균과 유전자 및, 항생제 내성 전달을 제어 하는데 필요한 살균능 (CT, 농도 * 접촉 시간)을 서로 비교하는데 있다. 이를 위하여, 이를 위해 각기 다른 염소 주입농도(C)와 접촉시간(T)에 따라 각각의 항생제 내성 제거를 산정하였다. 그 결과 항생제 내성균 90%(1 log)이상 제어를 위해서는 CT 값(176~353 mg·min/L)이 필요하였으며, 항생제 내성 유전자의 제거를 위한 CT 값은 195~372 mg·min/L 이었다. 또한 항생제 내성 유전자의 전이 90% 이상 제거를 위한 CT 값은 187~489 mg·min/L이었다. 따라서, 본 연구조건에서는 항생제 내성 유전자 및 유전자의 전이에 대한 제어를 위해서는 항생제 내성균 제어보다 더 높은 소독능이 필요함을 알 수 있었다.

핵심용어 : CT 값, 염소소독, 항생제 내성균

Abstract

The purpose of this study is to compare CT (disinfectant concentration * time) values in removing the antibiotic resistance bacteria, antibiotic resistance gene and transfer of antibiotic resistance genes. Different concentration of chlorine(C) and contact time(T) according to the removal of antibiotic resistance was calculated for each. As a result, for the 90% removal of antibiotic resistant bacteria, around 176~353 mg·min/L CT values are needed. For the removal of the antibiotic resistance gene, 195~372 mg·min/L CT values are required. For the 90% reduction of antibiotic resistance gene transfer by chlorine disinfection, 187~489 mg·min/L CT values are needed. Based on our results, higher CT value was required for removing antibiotic resistant genes rather than antibiotic resistance bacteria.

Keywords : Chlorine disinfection, Escherichia coli DH 5 alpha(E.coli/DH5a), pB10

1. 서론

최근 연구에 따르면 하수처리장 유출수에서 다양한 형태의 항생제 내성균 및 내성 유전자가 발견되고 있다(Kim et al., 2010). 하수 처리수에서의 미량오염 물질제어에 관한 연구는 미량의 내분비오염물질이 생태계 양서류 수의 감소와 어류의 여성화를 촉진시키는 것으로 알려진 이후(National Institute of Environmental Research, 2005), 외국에서 2000년대 초

반부터 본격적으로 시작된 연구로 최근 들어 국내에서도 그 논의가 활발해지기 시작하였다(Ministry of Environment, 2008). 특히 항생제 내성 유전자는 잠재적으로 수인성 전염성균의 항생제 내성을 가중시킬 가능성이 있으므로(Levy, 2004), 하수처리수내의 소독 문제는 향후 더욱 중요한 문제로 떠오를 것으로 판단된다. 하수처리장내에서의 소독 공정은 유해한 미생물이 수계로 전파되는 것을 방지하는 공정이다(Iwane, 2001). 그러나, 하수처리수에서 유출되는 항생제 내성

⁺ Corresponding author : ub1905ub@korea.ac.kr

균 및 내성유전자에 대한 국내외 조직적인 연구는 극히 드문편이다. 따라서, 수계내의 항생제 내성 제어를 위해서는 단순한 항생제 내성균 제거뿐만 아니라 항생제 내성 유전자를 제거하는데 필요한 소독능을 산정하는 방법을 개발하고 이를 비교하는 것이 중요하다. 예를 들어 소독시설을 통해 하수처리시설내에 항생제 내성균이 일정 수준 이하로 제거 되었다 하더라도 내성균 세포내의 항생제 내성 유전물질은 항생제 내성균 만큼 제거되지 않을 수 있다. 즉 사멸되거나 상처받은 내성균은 기존의 배양방법을 통해 제거 정도를 산정할 경우 자라지 않기 때문에 제거 된 것으로 판단된다. 그러나, 항생제 내성유전자가 유전전이 벡터(vector) (예, plasmid)에 존재하게 되면 이를 포함하는 항생제 내성균이 죽었다하더라도 이러한 유전물질은 미생물간의 접촉을 통해 다른 환경 미생물에게 전달될 수 있다(Dodd, 2012). 즉 수계에서의 항생제 내성유전자의 사멸 또는 전이정도를 파악하는 기법을 개발하여 항생제 내성균의 사멸과의 비교가 필요하다. 따라서, 본 연구의 목표는 항생제 내성균의 제거, 항생제 내성 유전자의 제거 및 항생제 내성 전달의 감소에 필요한 소독능을 비교 검토하는데 있다.

2. 연구방법

2.1 항생제 내성 산정 및 소독 실험

2.1.1 항생제 내성 산정: 항생제 내성균, 항생제 내성 유전자, 항생제 내성 유전자 전달

본 연구에서는 항생제 다제 내성 플라스미드(pB10)를 포함한 *Escherichia coli* DH5a(이하 *E.coli* DH5a/pB10)를 모델 항생제 내성균으로 사용하였다. 모델 항생제 내성유전자는 pB10을 사용하였는데 이는 다제 항생제 내성(amoxicillin, streptomycin, sulfamethoxazole, tetracycline) 및 수은(mercury) 내성 플라스미드로, 여러 종류의 환경 미생물들에 전달될 수 있는 플라스미드이다(Schluter et al., 2003). 항생제 내성 유전자 전달은 위의 *E.coli* DH5a/pB10를 donor로 사용하고 gentamycin에 저항을 가지면서 tetracycline에는 감수성을 가진 *Pseudomonas aeruginosa*를 recipient로 사용하여 실시하였다. 각각에 대한 자세한 소독 방법에 따른 산정방법은 아래 2.2에 설명하였다.

2.1.2 염소 소독 실험

항생제 내성 제거를 위한 염소 소독 실험은 continuous 조건에서 진행하였다. 이를 위해 O.D. 값이

1.3에 도달한 항생제 내성균 (*E.coli* DH5a/pB10) 50mL 시료를 원심분리시켜 상정수를 버린 후, 0.63M phosphate buffer solution의 버퍼로 세척, 원심분리 후 다시 재 부유시켜 시료를 준비하였다. 준비된 항생제 내성균 시료의 농도는 10^8 CFU/mL 이었다. 준비된 시료에 차아염소산 나트륨(NaOCl)으로 특정 염소 농도를 주입하여 시간별로 시료를 추출하여 항생제 내성의 제거 정도를 살펴보았다. 반응 시간 동안에는 염산(HCl 1+500)을 이용하여 초기 pH 7.6을 유지하도록 하였다. 사용된 염소농도(Cl_2)는 각각 0, 3, 7.5, 20 mg/L를 사용하였으며, 접촉시간동안에는 20°C Incubator에서 150rpm으로 지속적으로 혼합시켰다. 이 염소 소독 실험은 각각 2번씩 실시하여 결과의 재연성을 살펴보았다.

2.2 소독 제어능 산정

염소 소독 후에 제어된 항생제 내성은 다음의 세 가지 기법을 확립하여 소독능을 비교하는데 사용되었다. 판단 기법으로는 1) 항생제 내성균(Antibiotic Resistance Bacteria), 2) 항생제 내성 유전자(Antibiotic Resistance Gene), 3) 항생제 내성 유전자 전달을(Antibiotic Resistance Gene Transfer)순으로 선정하여 판단하였다.

2.2.1 항생제 내성균 제거 산정

염소소독을 마친 시료에서의 항생제 내성균 (*E.coli*(pB10))의 제거 여부는 LB+Agar 배지에 살균된 시료를 희석배수에 맞춰 도말하여 16시간동안 37°C incubator에서 배양을 하고 자라난 콜로니(colony, CFU/mL) 수로 판단하였다. 또한 염소소독을 실시하지 않은 시료에서 자란 콜로니 수를 상대적으로 비교하여 생존율을 계산하였다(%).

2.2.2 항생제 내성유전자 제거 산정

염소소독 이후 항생제 내성 유전자(pB10 플라스미드)의 제거 여부를 판단하기 위해서 정량 PCR(quantitative PCR, qPCR)을 진행하였다. 이를 위한 방법은 다음과 같다. 소독된 시료 50 mL에서 항생제 내성 유전자인 pB10 플라스미드를 추출하였다. 플라스미드 sample을 총 부피 15ul, 플라스미드 농도가 5ug/ul가 되도록 PCR template에 주입한다. 또한 소독에 영향을 받지 않은 항생제 내성 유전자(pB10 plasmid, standard solution)를 10배씩 희석을 하여 PCR template에 주입을 함으로서 순수 pB10 plasmid

의 검량선(standard curve)를 작성할 수 있도록 하였다. SYBR Green PCR Master Mix(PKT) 10ul 와 P1 primer 1ul, P2 Primer 1ul를 주입하고 마지막으로 희석된 sample 또는 standard solution을 각각 8ul 씩 주입하여 template의 각 셀에 총 20ul가 되도록 한다. 이후 1500rpm 으로 약 20초간 centrifuge를 시킨 후 qPCR을 진행한다. 진행 조건은 Polymerase activation 95°C at 10min, PCR cycling step1 95°C at 10sec / step2 55°C at 15sec / step3 72°C at 20sec, Melt curve step1 95°C at 15sec / step2 55°C at 15sec / step3 95°C at 15sec 로 하여 진행하였다. qPCR이 끝난 이후에는 standard curve와 식 1(Gary, 2010)을 이용하여 측정된 sample의 copy 수를 계산하였다.

$$Conc. (copies mL^{-1}) = 6.023 \times 10^{23} \left(\frac{DNA\ plasmid\ conc. (ugL^{-1})}{(Plasmid\ size) \times 660\ gbp\ mole^{-1}} \right) \quad (식\ 1)$$

2.2.3 항생제 내성 유전자 전이 감소율 산정

염소소독 이후 항생제 내성 유전자가 다른 환경 미생물(*Pseudomonas aeruginosa*)로의 전이율을 산정하기 위하여 다음의 mating 실험방법을 수행하였다.

염소 소독을 마친 시료의 pH를 7.6으로 맞춘 후에 원심분리기를 이용하여 cell을 모았다. 또한 Recipient 인 *Pseudomonas aeruginosa*를 Donor [*E.coli* DH5a (pB10)]와 같은 광학 밀도(OD = 1.3)로 배양 한 후 같은 방법으로 cell을 모았다. 이후 두 개의 cell을 혼합하여 LB+Agar plate를 37°C의 incubator에서 16시간 동안 배양시켰다. 이후 배지에서 donor cell로부터 pB10 플라스미드를 받은 recipient cell(transconjugant cell)을 개수하기 위하여 두 개의 항생제(tetracycline 2ppm + gentamycin 10ppm)가 들어있는 plate에 다시 배양시켜 개수하였다. 사용된 *Pseudomonas aeruginosa* 는 gentamycin에 저항성을 가지나, *E.coli* DH5a(pB10) 은 gentamycin에 대해 살아남을 수 없기에 두 개의 항생제가 혼합된 media에서 살아남은 미생물은 *Pseudomonas aeruginosa* (pB10)만 된다. 소독에 따른 전이 감소율은 소독하지 않은 혼합균주 내에서 pB10 플라스미드를 전달받은 recipient colony 수(CFU/mL) 대비, 소독에 노출된 donor와 혼합된 균주 내에서 pB10 플라스미드를 받은 recipient 콜로니수(CFU/mL) 로 산정하였고 이를 식으로 나타내면 다음과 같다.

$$pB10\ transfer = \frac{Recipient\ colony\ counts\ in\ LB\ plates\ with\ antibiotic}{Recipient\ colony\ counts\ in\ LB\ plates\ without\ antibiotic} \quad (식\ 2)$$

2.3 항생제 내성 CT 값 산정

Continuous 조건에서 염소 소독 kinetic 값을 Chick & Waton equation을 이용하여 항생제 내성균, 항생제 내성 유전자 및 내성 유전자의 전달율로 각각 산정하고, 1~3 Log가 되는 CT 값을 산출하여 비교하였다. 먼저 각 시간별로 소독에 의해 생존한 항생제 내성균 및 내성 유전자와 내성 유전자의 전달율(N_t) 대비 소독에 영향을 받지 않은 항생제 내성균 및 내성 유전자와 내성 전달율(N₀)에 자연로그 ln을 곱하여 시간별 -ln(N_t/N₀)값의 그래프를 그렸다. 각각의 그래프에서 90%이상의 제거되는 즉, -ln(1/100) = 2.20의 값이 나오는 시간을 유추한 후, 결과값의 기울기 n의 값을 구한다. 이 후 Chick & Watson equation을 이용하여 k' (die off concentration) 값을 산정한다(식 3, Watson, 1908).

$$\ln C = -\frac{1}{n} \ln n_t + \frac{1}{n} \ln \left[\frac{1}{k'} \left(-\ln \frac{N_t}{N_0} \right) \right] \quad (식\ 3)$$

kinetic 실험을 통하여 구해진 각각의 1log, 2log와 3log 까지의 제거율에 필요한 CT값을 각각 산출하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 항생제 내성균 및 내성 유전자 소독 결과

본 연구에서는 항생제 내성균(*E.coli*(pB10)) 제어를 위한 CT값을 산정하였다. 항생제 내성균과 농도(C) 별로 염소를 접촉하였고 시간(T)에 따른 항생제 내성균의 제어를 chick & watson 공식을 이용하여 값을 도출하였다. 그림 1은 항생제 내성균 90%이상 제거율(1log, 2log, 3log)를 위한 CT값을 나타낸 그래프이다. 그림 1의 결과 그림을 살펴보면, 90% 내성균 제어를 위해서는 176~353의 CT값(mg·min/L)이 필요하고, 99%(2 log), 99.9%(3 log) 의 내성균 제어를 위해서는 각각 369~739 mg·min/L, 553~1107

mg·min/L의 CT값이 요구된다. 따라서 본 연구의 목적인 90%(1 log)이상의 내성균 제어를 위해서는 적어도 176~353 이상의 CT값(mg·min/L)이 필요하다.

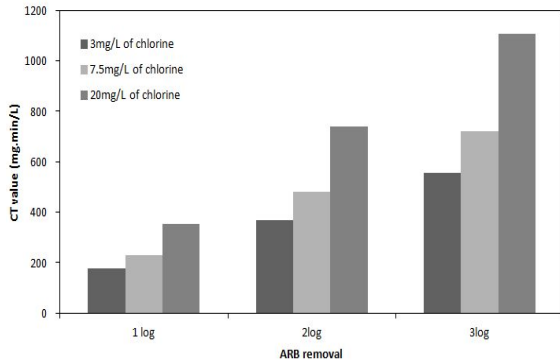


Fig 1. CT value of colonies by chlorine disinfection

또한 항생제 내성균과 동일한 소독 실험을 진행하여 추출된 샘플에서 항생제 내성균과 마찬가지로 항생제 내성 유전자의 제거효율을 산정하였다. 그림 2에서는 항생제 내성 유전자 90% 이상의 제거율 (1log, 2log, 3log)에 필요한 CT값을 나타낸 그림이다. 항생제 내성 유전자 90%(1 log)이상의 제어를 위해서는 적어도 195~372 이상의 CT값(mg·min/L)이 필요하고, 최고 제거율인 99.9%(3 log)의 제거율을 위해서는 614~1167 CT값(mg·min/L)이 필요하였다. 본 연구에서 산출한 항생제 내성균 및 내성 유전자의 제거율을 위한 CT값은 기존 연구에서 제시한 박테리아 및 바이러스 제거를 위한 CT값에 비해 약 10배 이상 높았다. 또한 항생제 내성균 제어에 필요한 CT값에 비해 항생제 내성 유전자 제어에 필요한 CT값이 약 5~10% 이상 높은 것으로 보아 항생제 내성 유전자의 제어를 위해서는 내성균보다 높은 소독능이 필요함을 알 수 있다. 이는 기본적으로 pB10 플라스미드는 미생물 속에 내재 되어 있어서, 이를 염소 소독 공정을 이용하여 제거하기 위해서는 충분한 농도의 소독제가 세포 내부까지 흡수 되거나 또는 미생물의 세포벽이 제거된 후 pB10 플라스미드가 제거 될 수 있기 때문인 것으로 판단된다. 비록 숙주인 내성균이 죽었다 하더라도, 수계 내에 남아있는 플라스미드는 다른 환경 미생물에 전이될 가능성이 있다. 따라서 항생제 내성균을 제거했음 해도 불구하고 살아남은 항생제 내성 유전자는 여전히 위협요소로 남아있을 수 있다.

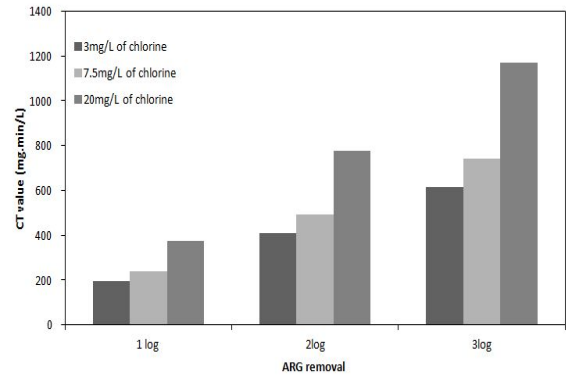


Fig 2. CT value of disinfected plasmid by chlorine

2.2.2 항생제 내성 유전자 전이 감소율 산정

앞선 결과에서는 항생제 내성균과 항생제 내성 유전자의 소독 효율을 CT값에 따라 비교하였다. 그 결과, 항생제 내성균과 내성 유전자의 90% 이상 제어함에 있어, 내성균의 제어 보다는 내성 유전자의 제어에 높은 소독능(CT값)이 필요하다. 또한 염소 소독 이후에도 잔류할 수 있는 내성 유전자(pB10 플라스미드)가 다른 환경 미생물로의 2차 오염을 야기시킬 수 있다. 따라서 본 연구에서는 mating 실험을 통하여 염소로 소독을 시킨 샘플의 내성 유전자가 다른 환경 미생물(*Pseudomonas aeruginosa*)로의 전이를 알아보았다. 그림 3의 결과를 보면, 내성 유전자의 전이 감소율, 90% 이상(1log, 2log, 3log)을 위한 CT값은 적어도 187~489 mg·min/L이 필요하였다. 항생제 내성 유전자의 CT값(195~372 mg·min/L)과 항생제 내성균의 CT값(176~353 mg·min/L)과 비교해 보았을 때, 항생제 내성 유전자의 감소와 항생제 내성 전이율은 연관이 있어 보이고, 가장 높은 CT 값을 요구한다.

기존의 하수처리장에서 사용되는 염소 농도 및 접촉시간이 10~20 mg/L와 10분(Ministry of Environment, 2009)이라고 볼때, 현재 사용되는 CT값의 최대치는 100~200 mg·min/L 로 보여지며, 본 연구를 기준으로 보았을 때, 90%의 항생제 내성균, 내성 유전자 및 내성 유전전이를 제어하기에 부족한 것으로 보여진다. 물론 본 연구는 실험실 조건에서 이루어진 연구이기에 일반화 하기는 어려우나, 이전연구에서도 염소소독에 의한 항생제 내성균 및 유전자 제거가 쉽지 않음을 보고하므로(Murray, 1984) 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

본 연구에서는 완전한 항생제 내성 제어를 위해선

항생제 내성균 뿐만 아니라 유전자 및 유전자 전달에 대한 제어가 필요하고 이에 대한 더 높은 CT 값이 필요함을 알 수 있었다. 즉 소독공정 이후 항생제 내성균이 90%이상 제어 되었음에도 불구하고 잔류하게 되는 항생제 내성 유전자는 수계 내에 존재하여 추후 다른 미생물로 전이가 되고, 소독으로 사멸되거나 피해를 입은 항생제 내성균 역시 불활성화 되는 것이 아니라 다른 미생물로의 전이가 가능할 수도 있다. 따라서, 염소로 항생제 내성을 제어하기 위해서는 항생제 내성균 뿐만 아니라 항생제 내성 유전자에 대해서도 필요함을 알 수 있었다.

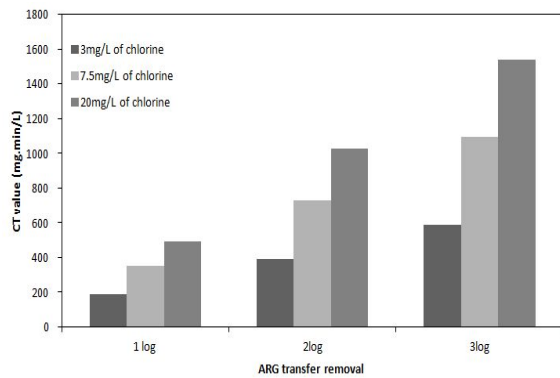


Fig 3. Plasmid transfer CT value after disinfection

4. 결론

본 연구에서는 기존의 염소 소독공정을 continuous test로 구현하고 항생제 내성균 및 내성 유전자의 제어를 위한 CT 값을 산정하였다. 이에 따른 결론은 다음과 같다.

- 1) 항생제 내성균(E.coli DH5α/pB10)의 1 log 이상의 제어를 위해서는 176~353 mg·min/L 이상의 CT값이 필요하다.
- 2) 항생제 내성 유전자(pB10 플라스미드)의 1 log 이상의 제어 또한 195~372 mg·min/L 이상의 CT값이 필요하다. 하지만 전체적으로 항생제 내성 유전자는 항생제 내성균에 비해 약 5~10%이상 높은 생존율을 보이고 있다.
- 3) 항생제 내성 유전자와 비슷한 형태로 환경미생물로의 내성 유전자 전이율도 내성균의 제어에 비해 높았다. 따라서 항생제 내성 유전자의 제어를 위해서는 내성균의 제어보다는 높은 살균 효율이 필요하다.

감사의 글

본 연구는 환경부 “글로벌탑 환경기술개발사업” 으 로 지원받은 과제입니다. (과제번호: GT-11-B-01-005-1)

References

Anderson, AC, Reimers, RS and Dekernion, P (1982). A brief review of the current status of alternatives to chlorine disinfection of water, *Public Health Briefs*, 72(11), pp 1290 - 1293.

Auerbach, EA, Seyfried, EE and McMahon, KD (2007). Tetracycline resistance genes in activated sludge wastewater treatment plants, *Water Research*, 41(5), pp 1143-1151.

Bader, H and Hoigne, J (1981). Determination of ozone in water by the Indigo Method, *Water Research*, 15, pp 449-456.

Cho, M, Kim, J, Kim, JY, Yoon J and Kim JH (2010). Mechanisms of Escherichia coli inactivation by several disinfectants, *Water Research*, 44(1), pp 3410-3418.

Driedger, AM, Rennecker, JL and Mariñas, BJ (2000). Sequential inactivation of Cryptosporidium Parvum oocysts with ozone and free chlorine, *Water Research*, 34(14), pp 3591-3597.

Dodd, M. C. (2012). Potential impacts of disinfection processes on elimination and derivation of antibiotic resistance genes during water and wastewater treatment, *J. of Environmental Monitoring*, 14, pp 1754-1771.

Gary T. Howard, Bronwyn Duos and Erin J. Watson-Horzeiski (2010). Characterization of the soil microbial community associated with the decomposition of a swine carcass, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(4), pp 300-304.

Gehr, R, Wagner, M, Veerasubramanian, P and Payment, P (2003). Disinfection efficiency of peracetic acid, UV and ozone after enhanced primary treatment of municipal wastewater, *Water Research*, 37, pp 4573-4586.

Hunt, NK and Marinas, BJ (1997). Kinetics of

- Escherichia Coli inactivation with ozone, *Water Research*, 31(6), pp 1355-1362.
- Iwane, T, Urase, T and Yamamoto, K (2001). Possible impact of treated wastewater discharge on incidence of antibiotic resistant bacteria in river water, *Water Sci. Technol.*, 43(2), pp 91-99.
- Kim, S, Park, H and Chandran, K (2010). Propensity of activated sludge to amplify or attenuate tetracycline resistance genes and tetracycline resistant bacteria, A mathematical modeling approach, *Chemosphere*, 78(9), pp 1071-1077.
- Levy, S. B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses, *Nature Medicine*, 10, pp 122-129.
- Macauley, JJ., Qiang, Z., Craig D., Adams, CD., Surampalli, R and Mormile MR (2006). Disinfection of swine wastewater using chlorine, ultraviolet light and ozone, *Water Research*, 40, pp 2017 - 2026.
- Mezrioui, N and Baleux, B (1994). Resistance patterns of E. coli strains isolated from domestic sewage before and after treatment in both aerobic lagoon and activated sludge, *Water Research*, 28(11), pp 2399-2406.
- Ministry of environment (2009), Guideline book of reusing treated waste water
- Murray. GE., Tobin. RS., Junkins. B., and Kushner DJ. (1984). Effect if chlorination on antibiotic resistance profiles of sewage related bacteria, *Applied and Environmental Microbiology*, 48(1), pp 73-77
- National Institute of Environmental Research (2005). Monitoring the occurrence and distribution of endocrine disruptors(EDs) in Yeongsan and Seomjin rivers basins
- Richardson, SD, Plewa, MJ, Wagner, ED, Schoeny, R and DeMarini, DM (2007). Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection byproducts in drinking water: a review and roadmap for research, *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 636(1 - 3), pp 178 - 242.
- Rosal, R, Rodriguez, A, Perdigon-Melon JA, Petre, A, Garcia-Calvoa, E, Gomez, MJ, Aguera, A and Fernandez-Alba, AR (2010). Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation, *Water Research*, 44, pp 578-588.
- Schluter, A, Heuer, H, Szczepanowski, R, Forney, LJ., Thomas, CM, Puhler, A and Top, EM (2003). The 64 508 bp IncP-1b antibiotic multiresistance plasmid pB10 isolated from a wastewater treatment plant provides evidence for recombination between members of different branches of the IncP-1b group, *Microbiology*, 149, pp 3139 - 3153.
- Von Gunten, U (2003). Ozonation of drinkingwater: Part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine, *Water Research*, 37, pp 1469-1487.
- Watson HE. (1908). A note on the variation of the rate of disinfection with change in the concentration of the disinfectant, *J. of hygiene*, 8, pp 536-542
- WHO (2008). Guidelines for drinking water quality.
- Zhao, YY, Boyd, JM, Woodbeck, M, Andrews, RC, Qin, F, Hrudey, SE, Li, XF (2008). Formation of N-nitrosamines from eleven disinfection treatments of seven different surface waters, *Environ. Sci. & Tec.*, 42(13), pp 4857-4862.
- 논문접수일 : 2014년 02월 03일
- 심사의뢰일 : 2014년 02월 11일
- 심사완료일 : 2014년 04월 13일