

생물 반응 시스템을 활용한 세균 포자 제독 시험

서영환^{*.1)} · 박한울¹⁾ · 이홍석¹⁾ · 김성주¹⁾

¹⁾ 국방과학연구소 국방첨단기술연구원

Decontamination of Bacterial Spores Using a Bio-reaction System

Yeonghwan Seo^{*.1)} · Hanwool Park¹⁾ · Hongsuk Lee¹⁾ · Seongjoo Kim¹⁾

¹⁾ Defense Advanced Science and Technology Research Institute, Agency for Defense Development, Korea

(Received 13 May 2024 / Revised 19 July 2024 / Accepted 10 August 2024)

Abstract

This report describes the test results of decontamination of *Bacillus atrophaeus* spores. The spore solution at 10⁹ cfu/mL concentration was treated with chemical decontaminants, hydrogen peroxide, DF-200, sodium dichloroisocyanurate(NaDCC), and perasafe. DF-200 was not suitable for decontamination of the spore solution. Among them, the optimal decontamination reaction conditions of perasafe and NaDCC were established from test tube experiments in a mL-scale, and they were validated in a bio-reaction system in a L-scale. The optimal conditions of perasafe and NaDCC were 1.0 % of concentration with 5 minutes of reaction time and 0.3 % of concentration with 10 minutes of reaction time, respectively. Also, both decontaminants required adequate agitation for decontamination. The results in the bio-reaction system were similar with the results from the smaller scale using test tubes, showing that the optimal conditions from the smaller scale experiments can be applied to the larger scale.

Key Words : Biological Agent(생물 작용제), *Bacillus Atrophaeus*(BA), Decontaminant(제독제), Bio-reaction System(생물 반응 시스템)

1. 서론

탄저균(*Bacillus anthracis*), 한타바이러스(Hanta virus)를 위시한 생물 작용제(Biological Agents)는 생물무기로 이용되어 요인 암살, 불특정 다수를 대상으로 하는

테러, 그리고 대량 살상무기로 막대한 인명, 사회적 피해를 입힐 수 있다. 특히 그람양성균인 탄저균은 포자를 형성하여 혹독한 조건을 견딜 수 있으며, 분말화를 통해 에어로졸로 살포가 가능하고, 발병시 치료가 어려워 높은 치사율을 보이기 때문에 가장 위험한 생물작용제로 평가받는다. 제1차 세계대전 중에는 독일군이 연합국으로 수출되는 가축을 탄저균으로 감염시켜 무기로 사용하려 한 바 있으며, 미국에서는 2001년

* Corresponding author, E-mail: syh2928@add.re.kr

Copyright © The Korea Institute of Military Science and Technology

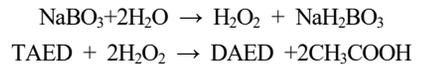
9·11테러 직후 국가 우편 배달 서비스를 통해 탄저균 포자가 살포되어 사상자가 발생하고 큰 사회적 혼란을 야기하였다^[1]. 북한 또한 오래전부터 생물무기 프로그램을 운영해와 10종 이상의 생물작용제를 생산하여 무기화할 기술을 보유하고 있는 것으로 파악되고 있다. 2015년에는 김정일이 생물농약 공장을 방문한 것이 공개된 적 있는데 이 때 탄저균과 같은 속(genus)에 속하는 그람양성균인 *Bacillus thuringiensis*를 생산하고 있다고 주장하여 사실상 탄저균 생산 능력을 보여준 것이라 평가되었으며 상당량의 생물작용제를 비축하고 있을 것으로 여겨진다^[2].

따라서 한반도에서 전쟁이 발발하여 국군이 북한의 생물학작용제에 노출되거나, 통일이 될 경우 비축한 대량의 생물작용제를 효율적으로 폐기할 수 있는 기술이 필요하다. 하지만 리터(L) 단위의 대용량 고농도 작용제를 제독한 사례는 없으며, 기존에 이용된 제독제의 경우 인체나 환경에 유해하다(Table 1).

먼저, 알킬화 제독제인 포르말린과 브로민화메틸은 과거 1900년대 초반에 이용되었던 대표적 제독제로, 높은 인체독성과 환경 독성으로 인해 이용이 제한된다^[3]. 새집증후군 유발물질로 알려진 포르말린은 1군 발암물질로 0.1 ppm만으로 인체에 자극을 줄 수 있으며 환경 잔류성이 높다. 뿐만 아니라 금속에도 손상을 주는 것으로 나타났는데 500 ppm/day에서 장기간 노출 시 철의 두께가 1년간 0.1358 mm 감소하였다^[4]. 브로민화메틸의 경우 오존층 파괴물질로 대부분 국가에서 사용이 철회되었으며, 높은 독성을 가져 폐, 신경에 손상을 주고 철을 부식시킬 수 있다.

다음으로 염소계열 제독제인 차아염소산나트륨(NaOCl), 이염화아이소사이아누르산나트륨(sodium dichloroisocyanurate, NaDCC, 군용 수용성제독제)은 인체에 자극성이 있는데 물과 반응하여 염소가스 발생 시 EPA(Environmental Protection Agency)는 0.5 ppm, OSHA (Occupational Safety and Health Act)는 1 ppm이 허용 농도로 제시되어 있고, 물에 방류하더라도 0.04 mg/L ~ 0.2 mg/L로 하루 2시간 이하로 제한된다^[5]. 이런 이유에서 티오황산나트륨(sodium thiosulfate) 등을 활용한 중화과정이 필수적이라는 단점이 존재한다. 특히 NaOCl은 높은 부식성으로 인해 스테인리스 스틸을 단시간에 부식시키는 것으로 알려져 있으며, 0.1 % 농도에서 8주, 0.5 %에서 1주 내에 sus304/316을 부식시킨다고 보고되고 있다^[6].

최근 이용되는 제독제는 산화 반응에 기반한 과산화수소, 과초산, 미국군용제독제 DF-200 등이 해당되며 분해산물이 인체와 환경에 무해한 물, 산소, 초산 등이라는 점에서 각광받고 있다^[7]. 하지만 제독제 특성 상 보관 안정성이 떨어지는데, 과산화수소의 경우 연간 0.5 %가 감소하며, 특히 과초산의 경우 1개월에 1 ~ 2 %의 농도가 감소하여 실질적 활용이 어려울 것으로 판단된다^[8]. 이를 극복하고 활용을 용이하게 제조한 것이 분말인 페라세이프(Perasafe)로, 분말 상태에서 2년간 이용이 가능하다고 보고되고 있다^[9]. 페라세이프는 단일분말 제제로 주제제-과붕산나트륨, 촉매제-테트라아세틸에틸렌디아민(Tetraacetylenehydrazine, TAED), 보관안정제-시트르산(citric acid), 도데실 황산나트륨(sodium dodecylbenzenesulfonate)로 이루어져 있으며, 주된 기작은 다음 화학식과 같다. 과붕산나트륨은 물과 반응하여 과산화수소를 만들고 과산화수소는 TAED와 반응하여 과초산을 생성한다. 페라세이프는 1.62 %를 원액으로 이용할 것을 권장하고 있다.



미국군용제독제인 DF-200은 표면 제독제로 거품을 형성하는 계면활성제, 주성분인 과산화수소, 촉매제로 구성되어 있다. 계면활성제는 3.2 % n-alkyl(C12-16-N,N-dimethyl-N benzyl ammonium chloride) 용액, 과산화수소는 8 % 용액, 촉매제는 100 % diacetin 용액으로, 24:24:2로 혼합하여 이용하는 것을 권장하고 있다.

따라서 본 시험에 이용될 제독제로 부식성이 없어

Table 1. Properties of decontaminants for biological biological agents

제독제	알킬화 기반		염소계열	
	포르말린	브로민화메틸	NaOCl	NaDCC
인체 독성	발암성	폐, 신경 손상	고농도 시 눈, 피부, 기관지에 자극	
환경 독성	내분비계 장애물질	오존층 파괴	환경 방류 시 수생물 위험	
부식성 (철)	부식성 존재	높음	매우 높음	없음
형태	고체/기체	기체	고체	고체

한국 군용제독제로 이용되는 대표적인 염소계열 제독제인 NaDCC와 산화기반 제독제 3종 과산화수소, 페라세이프, DF-200을 선정하였다. 표면제독제인 DF-200의 경우 액상제독을 위하여 계면활성제를 제외하고 과산화수소와 diacetin을 48:2로 혼합하여 추가 비교하였다. 기준이 되는 제독제 농도는 세균 포자를 제독한 기존 문헌들에 기반하였다. 과산화수소는 3 ~ 10 %의 농도에서 10분 ~ 3시간, 과초산은 0.08 ~ 0.98 %에서 20 ~ 45분, NaDCC는 0.1 ~ 0.6 %에서 10 ~ 20분으로 제시되어 있다^[10-14]. 해당 문헌들에서 제독한 작용제의 농도는 10⁶ ~ 10⁹ cfu/mL, 용량은 50 uL (쿠폰) ~ 1 mL 였다(Table 2).

연구에 이용된 생물학 작용제는 단저균과 생물학적으로 유사한 특성을 지니면서 인체 유해성이 없는 같은 속의 *Bacillus atrophaeus*(BA)를 모의 작용제를 활용하였으며, 10⁹ cfu/mL에 대한 제독 시험을 실시하였다. 대용량 제독 시험을 위해서 반응 온도, 교반 속도 등 조건들을 정량화 및 유지 가동 할 수 있는 생물 반응 시스템을 구축하였다. 실험 순서는 시험관 수준(10 mL)에서 최적화 시험을 실시한 후 최적 제독제 및 조건을 선정 및 이를 활용하여 생물 반응 시스템(1 L)에 대해 검증 시험을 수행함으로써 대용량 제독 효율에 대해 살폈다.

Table 2. Decontamination condition for BG spore

제독제	제독제 농도	작용제 농도 (cfu/mL), 용량	반응 시간	제독 효율	참고 문헌
과산화수소	3 %	10 ⁶ 1 mL	3시간	사멸	[10]
	10 % (20 °C, 40 °C)	10 ⁹ 310 uL	60분, 10분	3log, 6log	[11]
과초산	0.98 %	10 ⁶ 1 mL	30분	사멸	[10]
	0.08 % (20 °C, 40 °C)	10 ⁹ 310 uL	45분, 20분	4log, 7log	[11]
페라세이프	1.6 %	10 ⁶ 200 uL	5분	사멸	[12]
	1.6 %	5×10 ⁶ 50 uL (쿠폰)	10분	사멸	[13]
NaDCC	0.1 %	5×10 ⁶ 50 uL (쿠폰)	10분	1log	[13]
	0.3 %	10 ⁶ 50 uL (쿠폰)	20분	사멸	[14]

2. 실험방법

2.1 최적화 시험

10 mL BA 포자 용액(1×10⁹ cfu/mL, 고려비엔피)에 제독제를 각각 농도에 맞게 주입한 후(과산화수소: 3 %, 5 %, DF-200: 1 mL, 3 mL, 5 mL, NaDCC: 0.1 %, 0.3 %, 페라세이프: 0.5 %, 0.75 %, 1.0 %) 진탕배양기에서 반응 시켰다(반응온도 : 25 °C, 37 °C, 교반유무 : 0 rpm, 200 rpm). 제독제 주입 시 분말 형태의 제독제는 농축액을 이용하였으며, NaDCC는 3 %, 페라세이프는 1.62 %로 제조하였다. DF-200은 계면활성제 유무에 따라 세 가지 성분(계면활성제, 과산화수소, 촉매제)을 24:24:2로 혼합하거나 과산화수소와 촉매제를 48:2로 혼합하였다. 반응 종결은 50 % 티오황산나트륨으로 중화하거나(과산화수소: 2 mL, NaDCC: 0.1 %(10 uL), 0.3 %(30 uL), 페라세이프: 0.5 %(50 uL), 0.75 %(75 uL), 1.0 %(100 uL)) 반응액을 100배 희석하였다(DF-200). 이후 100 uL를 TSA agar plate에 도말하고 37 °C에서 18시간 배양 후 콜로니를 확인하였다.

2.2 생물 반응 시스템 기반 시험

생물반응시스템은 제독액 제조, 생물 시료 준비, 제독 반응, 및 멸균 처리의 네 가지 기능을 수행할 수 있도록 네 종류의 반응기와 이를 운용하기 위한 컴퓨터 제어 시스템 및 기타 유틸리티 부대 장비로 이루어지며(Fig. 1), 각 시스템은 프로그램을 통해 반자동으로 운영된다.



Fig. 1. The bio-reaction system

제독제는 최적화 시험을 통하여 NaDCC와 페라세이 프가 선정되었으며, 포자 모의작용제 1 L에 대한 검증 실험을 수행하였다. 제독액 제조 탱크(RT-101)에 제독제 1 L를 준비하였으며, 희석을 고려하여 최종 목표로 하는 제독 농도의 2배로 제독액을 제조하였다. 생물학작용제는 시료 준비 탱크(RT-301)에 준비하였으며, 먼저 중화반응기(RT-201)로 이송되었다. 이후 순차적으로 제독액을 이송 및 제독 반응을 실시하였다. 시험이 진행됨에 따라 5분 간격으로 샘플링 포트를 통해 20 mL를 채취하여 50 % 티오황산나트륨으로 중화하였다. 중화된 반응액은 희석하여 100 μ L를 TSA agar plate에 도말하고 37 $^{\circ}$ C에서 18시간 배양 후 콜로니를 확인하였다.

3. 결과

3.1 최적화 시험

과산화수소는 3 % 농도에서는 온도에 무관하게 목표로 하는 제독 효율을 얻을 수 없었으며, 5 % 과산화수소를 이용하여 25 $^{\circ}$ C, 200 rpm에서 반응한 결과 역시 제독 효율이 낮았다(Fig. 2). 하지만 37 $^{\circ}$ C로 가온하였을 때는 교반하지 않아도 급격히 제독 효율이 증가하여 15분만에 완전 제독을 할 수 있었다(Fig. 3). 이는 액상제독제의 특성으로 온도에 따라 효율이 현저하게 증가하고 증기로 이용될 시 제독능이 극대화되는 과산화수소의 성질로 인한 것이다^[11,15].

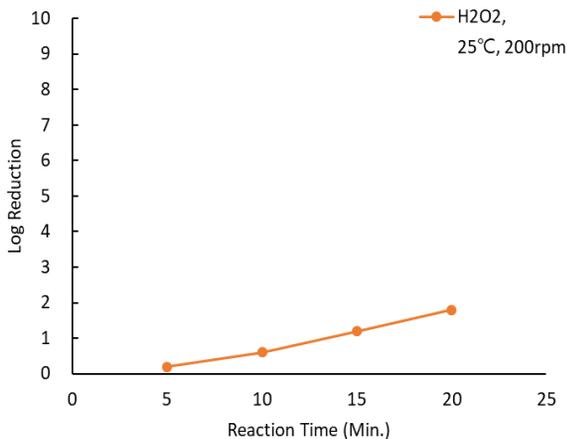


Fig. 2. Decontamination using hydrogen peroxide (5 %, 25 $^{\circ}$ C, 200 rpm)

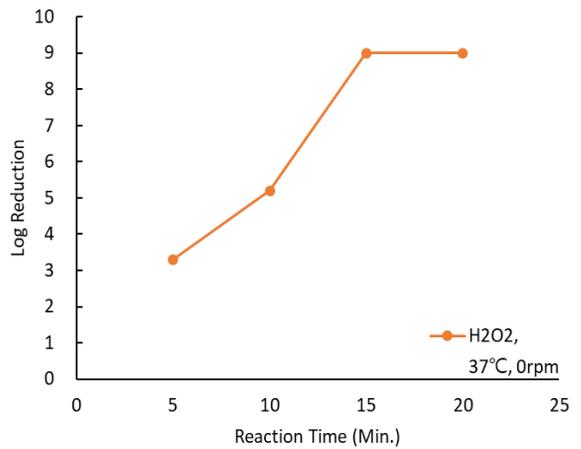


Fig. 3. Decontamination using hydrogen peroxide (5 %, 37 $^{\circ}$ C, 0 rpm)

DF-200을 10 mL BA 포자 용액에 5 mL 주입한 후 37 $^{\circ}$ C, 200 rpm에서 30분 반응한 결과, 제독 효율이 낮음을 확인하였으며(Fig. 4) 특히 DF-200 내 계면활성제 성분으로 인한 거품(foam)이 과량 발생함을 확인하였다(Fig. 5). 거품과 함께 누출되는 용액은 위험성을 높이며 고압멸균을 이용한 2차 멸균 시 문제가 될 수 있다. 추가로 계면활성제를 제외하고 과산화수소의 비율을 높여 실험을 진행하였을 때는 거품이 발생하지 않았으나 제독효율이 나타나지 않았다(Fig. 6). DF-200은 과산화수소 기반 제제로 작용제에 5 mL 주입 시, 3 % 이하의 과산화수소를 이용하는 것과 같은 효과가기 때문이다.

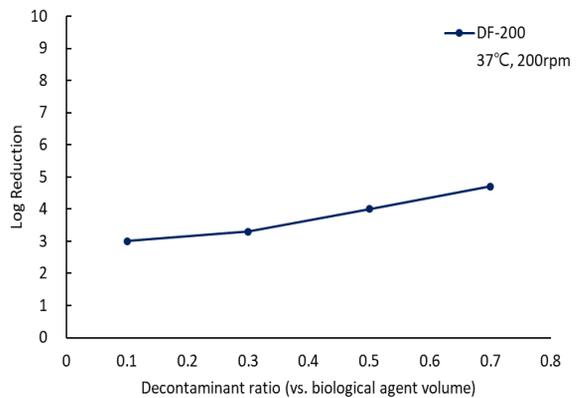


Fig. 4. Decontamination using DF-200 (BG solution: DF-200 = 2:1, 37 $^{\circ}$ C, 200 rpm)

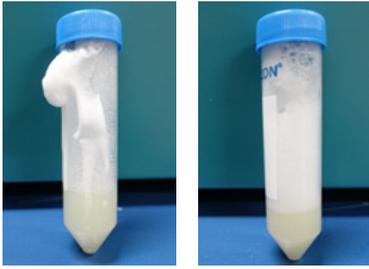


Fig. 5. Foam formation after decontamination using DF-200(BG solution: DF-200=2: 1)



Fig. 6. Decontamination using DF-200 without surfactant(BG solution: DF-200 = 2:1, 37 °C, 200 rpm)

0.1 %, 0.3 % NaDCC를 이용하여 25 °C, 200 rpm에서 제독 시험을 실시한 결과, 0.3 %에서는 15분, 0.1 %에서는 50분이 경과한 후 완전 제독이 가능함을 확인하였다(Fig. 7). 한편 0.3 % NaDCC를 이용하여 37 °C에서 교반 없이 15분간 제독을 수행하였을 때는 콜로니가 확인되었다(Fig. 8). 0.3 %의 낮은 제독제 양은 교반이 병행되지 않으면 생물학작용제 10 mL와 완전히 접촉하기 어려운 것으로 판단된다.

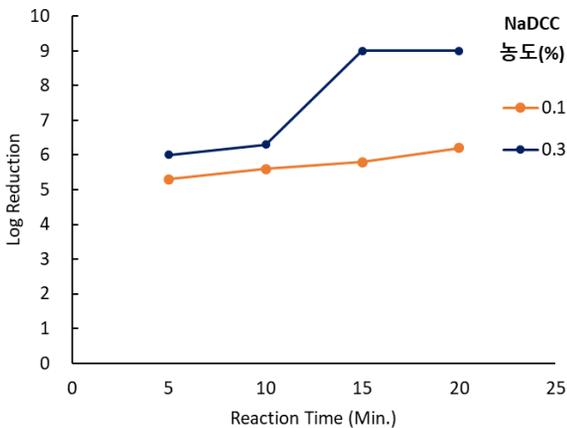


Fig. 7. Decontamination using NaDCC(25 °C, 200 rpm)

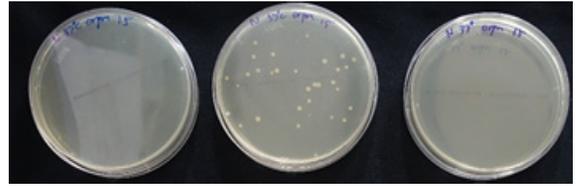


Fig. 8. Decontamination using NaDCC(0.3 %, 37 °C, 0 rpm)

0.5 %, 0.75 %, 1.0 % 페라세이프를 이용하여 25 °C, 0 rpm에서 제독 시험을 실시한 결과, 0.5 %, 0.75 %에서는 대부분의 콜로니가 사멸되었으나 완전 제독은 불가능했고, 1.0 % 이상의 농도에서는 15분만에 완전 제독이 확인되었다(Fig. 9).

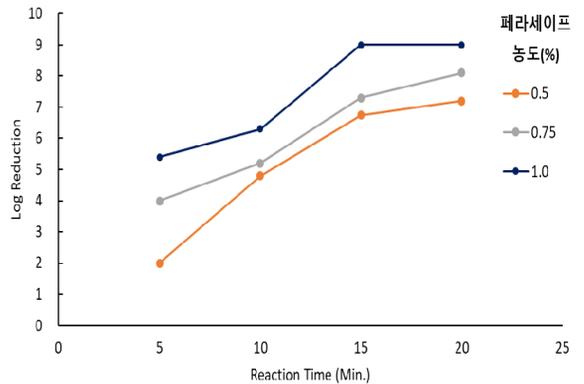


Fig. 9. Decontamination using perasafe(25 °C, 0 rpm)

3.2 생물반응시스템 기반 시험

페라세이프를 대용량으로 제조하여 시험을 실시한 결과, 제독 효율을 극대화하기 위해서는 제조 후 30분이 경과된 후 이용해야 했으며, 제독액 제조 탱크(RT-101)에서 중화반응기(RT-201)로 이송 시 많은 양의 거품이 발생함에 따라 제독효율이 현저히 감소하여 안티폼(antifoam) 10 mL를 투입한 후 시험을 실시하였다.

제독 시험 결과, 농도에 관계 없이 교반이 병행되었을 때만 제독 효율을 보였으며, 0.75 % - 20분 혹은 1.0 % - 5분에 완전 제독이 가능하였다(Fig. 10). 시험관 규모의 시험에서는 1.0 %의 제독제를 사용하여 15분간 반응 시켜야 완전 제독을 달성할 수 있었던 것을 고려하면 교반이 병행됨에 따라 대용량임에도 불구하고 제독효율이 증진된 것이다.

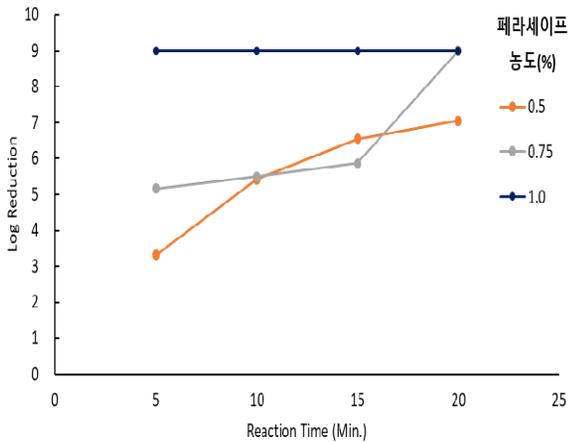


Fig. 10. Decontamination using perasafe with bio-reaction system(25 °C, 200 rpm)

NaDCC의 경우 시험관 수준의 시험에서는 완전 제독에 0.3 %의 NaDCC를 사용해 15분 이상 반응시간이 요구되었음에 반해, 생물반응시스템에서는 0.3 % NaDCC 사용시 10분만에 완전 제독이 이루어졌고, 농도를 0.2 %로 낮추어도 20분에 완전 제독이 가능하였다(Fig. 11). 이는 시험관을 회전시켜 내용물을 간접적으로 혼합하는 것 보다, 반응기 내부의 임펠러를 회전시킴으로서 제독액-모의작용제 반응물을 직접적으로 교반하는 것이 증진된 혼합 효율을 야기하기 때문이다.

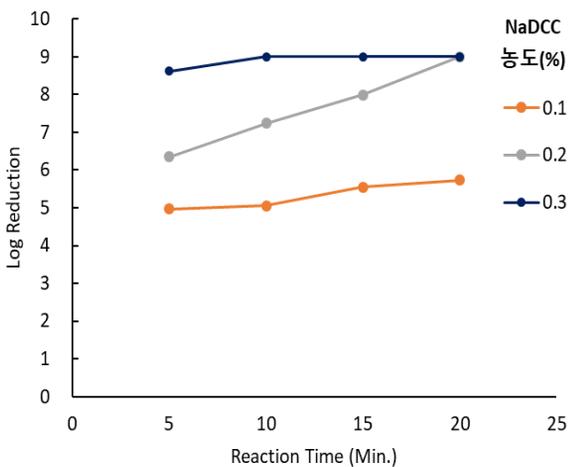


Fig. 11. Decontamination using NaDCC with bio-reaction system(25 °C, 200 rpm)

4. 결론

본 논문은 먼저 BA 포자 용액에 대한 제독제 성능 시험 결과에 대해 서술하였다. 제독제는 총 4가지 (과산화수소, DF-200, NaDCC, 페라세이프)를 이용하였으며, DF-200는 계면활성제 유무에 따라 거품이 발생하였는데 두 경우 모두 완전 제독이 불가능하였다. 이외의 제독제인 과산화수소, NaDCC, 페라세이프는 1×10^9 cfu/mL 이상의 용액 제독에 적합하였고 최적 조건은 Table 3과 같았다. 과산화수소는 37 °C의 온도와 5 %의 농도에서 제독이 가능하였는데, 이는 다른 두 가지 제독제에 비해 매우 높은 농도이다. 매우 높은 농도의 제독제의 사용은 실제 운용에 있어 위험성이 따르고 낮은 경제성으로 인해 활용 가능성이 낮기 때문에 과산화수소는 고농도 포자 용액 제독에 적합하지 않다고 결론내렸다. NaDCC는 가장 낮은 농도인 0.3 %에서 제독이 가능하였고, 페라세이프는 NaDCC에 비해 약간 높은 농도인 1.0 %에서 완전히 사멸되었다.

Table 3. Optimal decontamination condition(vial test)

	과산화수소	페라세이프	NaDCC
제독제 농도	5.0 %	1.0 %	0.3 %
반응 시간	15분	15분	15분
반응 온도	37 °C	25 °C	25 °C
교반 유무	0 rpm	0 rpm	200 rpm

두 번째로 시험관 수준에서 선정된 제독제 2종 (NaDCC, 페라세이프)에 대해 대용량 제독 시 활용가능성에 대한 검증 시험을 실시하였다. 페라세이프 시험 결과, 대용량 제독제 운영 시 거품이 발생하여 안티폼이 필요하였으며, 시험관 규모(< 50 mL)에서 최적조건(제독액 농도 : 1.0 %, 반응 시간: 15분)이 동일하게 적용 가능하였다. 오히려 1.0 %에서는 5분만에 완전 사멸이 되었고, 0.75 %에서도 20분이 경과 후 제독이 확인되었다. NaDCC의 경우도 페라세이프와 마찬가지로 반응기에서 제독 효율이 증진되었다. 시험관 수준의 시험에서는 완전 제독에 0.3 %의 NaDCC를 사용해 15분 이상 반응시간이 요구되었음에 반해, 생물반응시스템에서는 0.3 % NaDCC 사용시 10분만에 완전 제독이 이루어졌고, 농도를 0.2 %로 낮추어도 20분에 완전 제독이 가능하였다(Table 4).

해당 최적 조건들은 시험관 규모에서 확보된 결과와 유사하였는데, 이는 용량이 증가하여도 제독 최적 조건이 동일하게 적용될 수 있음을 나타내는 결과이다. 오히려 생물반응시스템에서의 결과는 작용제와 제독제간의 교반 및 혼합의 중요성을 나타냈는데, 교반이 병행됨에 따라 제독제와 작용제간 접촉이 증가하여 제독 효율이 증가하게 되었다. 본 시험을 통해 확립된 최적 조건은 차후 실제 작전 중 노출될 수 있는 고농도 대용량 생물학작용제 제독에 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

Table 4. Optimal decontamination condition with bio-reaction system

	페라세이프		NaDCC	
	0.75 %	1.0 %	0.2 %	0.3 %
제독제 농도	0.75 %	1.0 %	0.2 %	0.3 %
반응 시간	20분	5분	20분	10분
반응 온도	25 °C		25 °C	
교반 유무	200 rpm		200 rpm	

본 논문에서 선정된 페라세이프와 NaDCC는 각각의 장점과 단점이 뚜렷한 제독제인데, 먼저 페라세이프는 눈과 코에 자극이 없어 인체에 무해하고 제독 후 중화 과정이 필요하지 않아 운용이 편리하다는 장점이 있다. 하지만 사전 제조 시간이 30분 필요하다는 점과 상온에서 용해도가 3 %이기 때문에 단시간에 높은 농도로 농축액 제조가 어려워 차후 현장 제독시 미려다량의 제독액을 준비해야 한다. 뿐만 아니라 대용량 취급 시 거품이 발생함에 따라 안티폼을 필수적으로 주입하여야한다는 단점이 있다.

이러한 단점을 극복하기 위한 제독제로 기존에 활용해온 NaDCC가 대안이 될 수 있다. NaDCC는 페라세이프에 비해 용해도가 높으며(약 30 %) 낮은 농도에서 제독이 가능하고 제조 시간이 필요하지 않다는 장점이 있다. 하지만 염소계열 성분으로 인해 눈과 코를 자극하고 제독 후 중화과정을 거친 후 배출해야 한다는 단점이 존재하여 두 제독제는 상호보완적으로 이용돼야 할 것으로 판단되며, 추후 두 제독제의 단점들을 극복할 제독제의 모색 또한 필요할 것이다.

본 연구에서는 대용량의 생물학작용제를 효과적, 효율적으로 폐기하기 위해 생물반응시스템을 구축하고, 그람양성세균 포자에 대한 제독 시험을 실시한

결과에 대해 서술하였다. 통상적으로 그람양성균 포자는 여러 미생물 중에 열, 압력, UV, 화학물질 등에 대한 저항성이 가장 높다고 알려져있기 때문에 본 연구를 통해 확립된 제독 조건은 그람음성균, 바이러스, 독소 등을 제독하는 데에도 활용 가능 할 것으로 판단된다.

References

- [1] Pita R, Gunaratna R., “Anthrax as a Biological Weapon: From World War I to the Amerithrax Investigation,” *Int J Intel Counterintel*, Dec;23(1), pp. 61-103, 2009.
- [2] Jae-wan P, Ki-Woong C., “A biological threat of north korea and south korea’s preparations,” *Korea J Mil Aff*. June;7, pp. 177-207, 2020.
- [3] Woodong J, Sungmin M, Jeyoung, Y., “Bioterrorism and environmental decontamination,” *J Korea Soc Env Eng*, Jan;29(9), pp. 1051-1059, 2007.
- [4] Myoung Nam Kim, Bo A Lim, Sung Myung Lee, “Damage characteristics of metal specimens by formaldehyde,” *J Cons Sci*, Jan;31(3), pp. 287-298, 2015.
- [5] Brungs WA., “Chronic toxicity of zinc to the fathead minnow,” *Trans Am Fisch Soc*, Apr; 98(2), pp. 272-279, 1969.
- [6] Wendy H., “Are your stainless steel surfaces being corroded by repeated bleach use?,” *Cont Emv*, Sep, pp. 1-4, 2014.
- [7] Elena, MP, Octav P, Daniele G, Rami AD., “Hydrogen peroxide and peracetic acid oxidizing potential in the treatment of water,” *Revista de chimie*, Jul; 70(6), pp. 2036-2039, 2019.
- [8] Korea center for disease control and prevention. “Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities,” pp. 1-69, 2014.
- [9] Nanopharm. “Perasafe II,” <http://cfile223.uf.daum.net/attach/210CDB3F518253A1387BFE>
- [10] Baldry M, “The bactericidal, fungicidal, and sporicidal properteis of hydrogen peroxide and peracetic acid,” *J Appl Bact*, Jun; 54, pp. 417-423, 1983.

- [11] Sagripanti J, Bonifacnio A. "Comparative sporicidal effects of liquid chemical agents," *Appl Env Microbio*, Feb;62(2), pp. 545-551, 1996.
- [12] Marlene W, Inga O, Mats W, "Activity of three disinfectants and acidified nitrite against *Clostridium difficile* spores," *Inf Cont Hos Epi*, Jan;24(10), pp. 765-768, 2003.
- [13] Block C, "The effect of perasafe and sodium dichloroisocyanurate(NaDCC) against spores of *Clostridium difficile* and *Bacillus atrophaeus* on stainless steel and polyvinyl chloride surface," *J Hos Inf*, Jun;57, pp. 144-148, 2004.
- [14] Ungurs M, Wand M, Vassey M, Brien O, Walker J, Sutton M, "The effectiveness of sodium dichloroisocyanurate treatments against *Clostridium difficile* spores contaminating stainless steel," *Am J Inf Con*, Apr;39(3), pp. 199-205, 2011.
- [15] Toledo R, Escher F, Ayares J., "Sporicidal properties of hydrogen peroxide against food spoilage organisms," *Appl Microbio*, Oct;26(4), pp. 592-597, 1973.