ISSN (Print) 1225-7672
ISSN (Online) 2287-822X
Journal of Korean Society of Water and Wastewater Vol. 27, No. 6, pp. 797-803, December, 2013
http://dx.doi.org/10.11001/jksww.2013.27.6.797

The Comparison of Disinfection Technologies for Managing Antibiotic Resistance ; Chlrorination, Ozonation and Electron Beam

항생제 내성 제어를 위한 소독 기법간의 비교 ; 염소, 오존 및 전자빔

Junsik Oh · Sungpyo Kim*

오준식 · 김성표*

Department of Environmental Engineering, Korea University

고려대학교 환경공학과

Abstract : Recently, a number of countries are now considering the reuse of effluents from wastewater treatment for various water applications. To improve the reuse of wastewater effluent, the development of appropriate micro-pollutant removal technology is necessary. Although several researche have been studied for removing micro-pollutants in water, little study has been conducted for the removal of emerging contaminant such as antibiotic resistant genes (ARGs) by disinfection processes. Therefore, the aim of this study is to compare the capacity of disinfection technologies such as chlorination, ozone, and electron beam, for removing antibiotic resistant bacteria (ARB) and ARGs. Based on this study, better ARG removal can be achieved by ozonation and electron beam. Relatively, high CT values of chlorination or ozonation are needed to remove ARB and ARG compared to conventional pathogens.

Key words : Antibiotic Resistant Gene (ARG), pB10 plasmid, Chlorination, Electron beam, Ozonation

1. 서 론

전 세계적으로 기후변화에 따른 물 부족은 최근 들어 더욱 심각해지고 있으며, 여러 국가에서는 대체 수자원으로 하수 처리수의 재이용을 고려하고 있다. 하수 처리수를 수자원으로 사용하기 위해서는 기존 하수처리시에는 크게 관심을 기울이지 않았던, 처리장에서의 미량오염물질 (micro-pollutants)제어에 대한 고려가 필요하다. 최근 처리장의 하수처리수에서의 미량오염물질제어에 관한 연구는 미량의 내분비오염물질이 생태계 양서류 수의 감소와 수컷 어류의 암컷화를 촉진시키는 것으로 알려진 이후, 외국에서 2000년대 초반부터 본격적으로 시작된 연구로 최근 들어 국내에서도 그 논의가 활발하다. 그러나, 지금까지의 대부분의 연구가 화학물질 형태의 미량오염물질에 대한 수환경에서의 측정 또는 제거 및 독성에 관련 연구로 진행되었고, 바이오 형태의 유전오염물질 중의 하나인 미량항생제 내성균 제어에 대한 연구는 국내외적으로 무척 부족한 편이다. 특히 항생제 내성 유전자(Antibiotic Resistant Genes, ARGs)가 플라스미드(plasmid)에 삽입되어 있을 경우에는 이러한 플라스미드가 다른 미생물로 전이가능하기에 환경 미생물 내의 항생제 내성 전파를 촉진시킬 수 있으며, 궁극적으로 환경미생물에서 병원균으로의 항생제 내성 전이위

• Received 08 November 2013, revised 11 December 2013, accepted 13 December 2013.
* Corresponding author: E-mail : ub1905ub@korea.ac.kr

험에 따른 잠재적 공중 보건의 위협이 될 수 있다. 또한 이러한 유전물질은 항생제 배양이 되지 않을 정도로 상처를 입었거나 심지어 죽었다 하더라도 다른 미생물에 전달 될 수 있기에 단순한 내성균 배양정도만으로는 항생제 내성전이의 심각성을 예측하기 어렵다(Dodd, 2012). 하수에는 다른 수계에 비해 상대적으로 높은 농도의 항생제 내성균과 내성유전자가 존재하기에 (Kim et al., 2010) 하수처리장에서 이들에 대한 적절한 제어는 수계의 환경 보건을 위해 필수적이다. 보통 하수처리장내에서의 소독 공정은 유해한 미생물이 수계로 전파되는 것을 방지하기 위해 설치된 공정이다(Ronald L., 2006). 그러나, 여러 소독 공정적용을 통한 내성유전자 제어에 대한 국내외 조직적인 연구는 극히 드문 편이다. 따라서, 본 연구의 목적은 바이오 오염물질 중의 하나인 항생제 내성균 및 유전자 제어를 위해 다양한 소독 공정의 소독능을 비교하는 것이다.

2. 연구방법

2.1 균주 및 플라스미드 선정

본 연구에서는 *Escherichia coli* DH5α는 다제 내성 플라스미드 pB10을 포함한 미생물로 본 연구의 항생제 내성 전달 모델 미생물로 선정되었다. pB10은 다제 내성(amoxicillin, streptomycin, sulfamethoxazole, tetracycline) 및 중금속 내성(mercury)플라스미드 이다. pB10은 실제 하수 처리장에서 분리 동정 되었고 여러 다른 종류의 환경 미생물들에 전달될 수 있기에 본 연구에 적용하였다. (Schluter et al., 2003)

2.2 항생제 내성균 배양 및 소독 실험 준비

실온 20 ℃에서 대장균주를(*E. coli* DH5α) 광학 밀도(Optical Density; OD)값이 1.3에 도달할 때 까지 LB에서 배양하였다. 또한, 배양 후에는 50 mL씩 centrifuge tube에 옮긴 다음 원심분리기(15 분, 5,000 rpm)로 고액분리 시켜 상징액을 완전히 제거 하였다. 제거 된 상징액에 똑같은 부피의 phosphate buffer solution(0.63 mM)로 고액분리로 생성된 pellet을 다시 부유시킨다.

2.3 소독 제어능 산정

본 연구에서는 각 소독 기법별 소독 제어능을 산정하기 위하여 두 가지 방법이 사용되었다. 첫째는 소독에 의한 대장균 *E. coli*(pB10)의 사멸 정도, 두 번째는 플라스미드의 소멸 정도 여부이다.

E. coli(pB10)의 사멸 정도는 LB+Agar 배지에 살균된 시료를 도말하여 16시간동안 37 ℃ incubator에서 배양을 하고 자라난 콜로니(colony)수를 개수하여, 살균되지 않은 콜로니 수와 비교하여 사멸 정도(%)를 판단하였다. pB10 플라스미드의 제거 여부는 살균된 시료 50 mL에서 DNA를 추출하여 quantative PCR (qPCR)을 통해 살균하지 않은 pB10과 비교 정량화(%)하였다. pB10 플라스미드를 정량화하는 방법은 다음과 같다. 플라스미드 sample을 동일한 농도인 5 ug/ul로 총 부피가 15 ul되도록 희석을 시켰다. 절대 정량화를 위하여 검량선(standard curve)을 사용하였다. 이를 위해 pB10 플라스미드를 10배씩 연차적으로 희석시켜 검량 샘플을 준비하였다. 준비된 48개 플라스틱 template에 SYBR Green PCR Master Mix(PKT) 10 ul와 P1 primer 1 ul, P2 Primer 1 ul를 주입하고 마지막으로 희석된 sample과 standard solution을 각각 8 ul 씩 주입하여 template의 각 셀에 총 20 ul가 되도록 하였다. 이후 1,500 rpm으로 약 20초간 centrifuge를 시킨 후 qPCR을 진행하였다. qPCR은 Polymerase activation 95 ℃ at 10 min, PCR cycling step1 95 ℃ at 10 sec / step2 55 ℃ at 15 sec / step3 72 ℃ at 20 sec, Melt culve step1 95 ℃ at 15 sec / step2 55 ℃ at 15 sec / step3 95 ℃ at 15

ISSN (Print) 1225-7672
ISSN (Online) 2287-822X
Journal of Korean Society of Water and Wastewater Vol. 27, No. 6, pp. 797-803, December, 2013

sec 로 하여 진행하였다. qPCR이 끝난 이후에는 standard curve를 이용하여 측정된 sample의 copy 수를 다음과 같이 계산하였다(식 1).

$$Conc.(copies\,mL^{-1}) = \quad \text{(식 1)}$$
$$6.023\times10^{23}\left(\frac{DNA\,plasmid\,conc.\,(ug\,L^{-1})}{(Plasmid\,size)\times660 gbp\,mole^{-1}}\right)$$

2.3 염소소독 batch & continuous test

염소소독은 batch와 continuous 두 형태로 실험하였다. Batch test는 *E. coli*(pB10) 시료에 농도별(염소주입량 0, 3, 6, 7.5, 10, 20, 30 mg/L)로 차아염소산 나트륨을 주입하고, 접촉 후 샘플은 염산(HCl 1+500)을 이용하여 pH 7.6을 맞추었다(Table 1). 각 시료마다 접촉시간을 15분으로 하였으며 접촉시간동안에는 20 ℃ Incubator에서 150 rpm으로 지속적으로 shaking을 시켜주었다.

Continuous test는 시료에 농도별(염소주입량 0, 3, 6, 7.5, 10, 20, 30 mg/L)로 차아염소산 나트륨을 주입하고 시간별(0.5, 1, 3, 5, 7, 10, 15 min)로 샘플을 추출하여 측정하였다. 접촉시간동안 반응조의 온도는 20 ℃를 유지 하였으며, 염산(HCl 1+500)을 이용하여 반응조의 pH가 7.5를 유지 할 수 있도록 하였다.

2.4 전자빔 batch test

전자빔 소독 실험은 준비된 *E. coli*(pB10)을 WHIRL PAK 안에 놓고 질소로 충진 하여 산소로 인한 영향을 최소한으로 하였다. 전자가속기는 이비테크(주)의 전자가속기 ELV-8을 이용하였고, 전자빔 에너지는 2.5 MeV로 하여 0 / 0.5 / 1 / 2.5 / 5 / 10 / 25 / 50 / 100 DOSE 별로 전자빔을 쏘여 실험하였다. 선량은 10 m/min으로 하여 진행하였다.

2.5 오존 batch test & continuous test

오존 소독실험은 LAB 2B 오존발생기 (오조니아코리아(주))을 사용하여 순산소로부터 오존을 발생시켰다. 순산소의 가스 유량은 4 ~ 5 L/min 으로, 10 psi 가압상태로 60분 동안 오존을 발생시켰으며, 이때 잔류 오존 농도는 10 mg/L 였다. 준비된 10 mg/L의 오존 용액을 3차 증류수로 희석을 하여 다양한 오존 주입량(오존농도 0, 3, 5, 7, 10 mg/L)을 만들어 사용 하였다. 각 시료마다 접촉시간을 15분으로 하였고, 접촉시간동안에는 지속적으로 shaking을 시켜주었다. 추가적으로 오존의 경우 높은 반응성과 휘발에 의한 손실이 보정하기 지속적으로 반응조에 오존을 투입하여 오존농도가 유지될 수 있도록 하였다(Fig. 1).

Continuous test는 같은 반응조에 오존발생기 변압기를 조절하여 반응조내에 다양한 잔류 오존농도(3, 5, 7, 10 mg/L)를 유지시켰다. 이후 시료(10^6~10^7 CFU/mL)를 반응조에 주입하여 시간별(0.5, 1, 3, 5, 7, 10, 15 min)로 반응조에서 샘플을 추출하여 측정하였다.

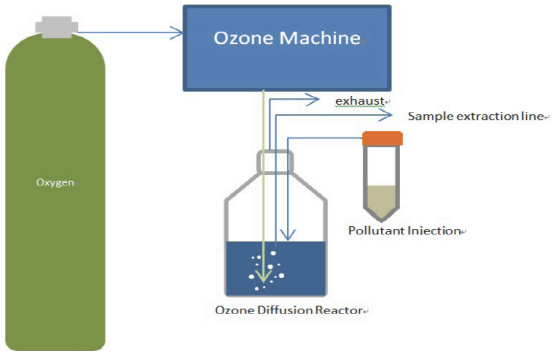

Fig. 1. Ozone disinfection system

Table 1. Conditions for chlorination

Sample	Volume(mL)	O.D value(Abs)	phosphate buffer solution (mL)	NaOCL	Dose (mg/L)
DH5α (20 ℃ incubation)	50	1.3	50	35 % (Cl_2 14 %)	0, 3, 6, 7.5, 10, 20, 30

실험 후의 잔류 오존농도를 확인하기 위하여 수용액상의 오존의 농도 측정은 Indigo Method의 방법을 사용하였다(Bader and Higne, 1981). 인디고 표준용액은 0.77 g Potassium Indigotrisulfonate에 1 mL 인산(H_3PO_4)을 주입 후 3차 증류수를 추가하여 최종 부피가 1000 mL되도록 준비하였다. 준비된 표준용액 100 mL에 제일인산나트륨(Sodium Phosphate, monobasic, NaH_2PO_4) 10 g 과 인산(H_3PO_4) 7 mL을 추가한 후, 3차 증류수로 최종 부피 1000 mL가 되도록 하였다. 흡광도 분석을 위해 인디고 시액을 5 mL 씩 50 mL Conical tube에 각각 넣었다. 흡광도 기기는 DR2010 (HACH)를 이용하여 600 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 한편 3차 증류수만으로 50 mL 되도록 Conical tube를 채운 시료를 blank로 사용하였다. 흡광도를 측정한 후 수용액상의 오존농도는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{오존함량}(mg/L) = 50mL \times \frac{[Sample(Abs) - Blank(Abs)]}{\text{액층의길이}(1cm) \times \text{검체의채취량}(10mL) \times \text{오존의흡광계수}(0.42cm^{-1})} \quad \text{(식 2)}$$

2.6 CT value

항생제 내성균, 항생제 내성 유전자를 제어하는데 필요한 CT (농도 * 접촉시간) 값을 산출하기 위하여 Chick & Waston equation을 이용하였다. 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(N_0)에 -자연로그 ln을 곱하여 시간별 $-\ln(N_t/N_0)$ 값의 그래프를 그렸다. 각각의 그래프에서 99 % 이상의 제거되는 즉, $-\ln(1/100) = 4.61$의 값이 나오는 시간을 유추한 후, 결과값의 기울기 n의 값을 구한다. 이 후 Chick & Watson equation을 이용하여 k' 값을 산정하였다 (식 3).

$$\ln C = -\frac{1}{n} ln t + \frac{1}{n} ln\left[\frac{1}{k'}\left(-\ln\frac{N_t}{N_0}\right)\right] \quad \text{(식 3)}$$

3. 결과 및 고찰

3.1 소독 공정에 따른 항생제 내성 제어 비교

Fig. 2는 세 가지 소독 기법(염소, 전자빔, 오존 소독)을 이용하여 소독 후 항생제 내성균 및 내성 유전자 제거정도를 나타내었다. 각각 염소 30 mg/L Cl_2 (접촉 시간 15분), 전자빔 0.5 DOSE(선량 10 m/min), 오존 3 mg/LO_3 (접촉 시간 15분)의 조건으로 소독하였을 경우, 항생제 내성균(10^6 ~ 10^7 CFU/mL)을 90 % (1 Log)까지 제거할 수 있었다. 또한 항생제의 내성균과 비슷한 경향으로 소독의 농도가 커짐에 따라 항생제 내성 유전자 가 감소하였다. 90 %의 항생제 내성 유전자(10^{19} ~ 10^{20} copies/mL)를 제어하기 위해서는 각각 염소 75 mg/L Cl_2 (접촉 시간 15분), 전자빔 1 DOSE(선량 10 m/min)와 오존 3 mg/L O_3 (접촉 시간 15분)이 필요하였다. 이를 현 하수처리에 사용되는 소독강도(염소 10 ~ 20 mg/L, 전자빔 1 ~ 2 DOSE, 오존 7 ~

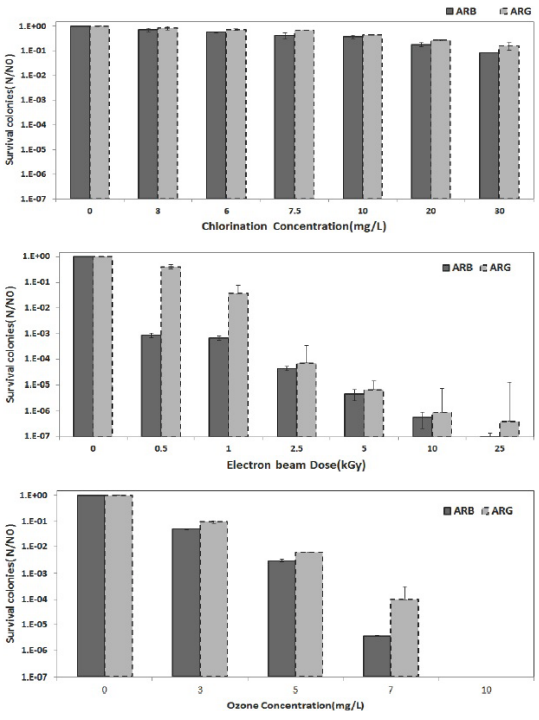

Fig. 2. Comparison of disinfection technique antibiotic resistance survival rate

ISSN (Print) 1225-7672
ISSN (Online) 2287-822X
Journal of Korean Society of Water and Wastewater Vol. 27, No. 6, pp. 797-803, December, 2013

8 mg/L)를 이용하여 비교해 보면, 90 %의 항생제 내성균을 제거하는데 만족하는 소독 기법은 전자빔과 오존임을 알 수 있었다.

일반적으로 오존은 염소에 비해 강력한 산화제이며(Hunt and Marinas, 1997; WHO, 2008) 다양한 종류의 미생물에 대해 살균효율이 높다(Driedger et al., 2000). 또한 전자빔도 강력한 산화력과 소독력에 대해 알려져 있는데, 전자빔을 하·폐수에 적용하면 산화 처리시 유기물질 농도가 감소하며 난분해성 물질이 생분해 가능한 물질로 전환되는 것으로 알려져 있고, 약 0.4 kGy 정도의 조사량으로도 살균효과가 증대되는 것으로 알려져 있다(Lee, 2004).

Fig. 2에서 보여진 바와 같이, 일반적으로 항생제 내성균 제거율과 같은 수준의 항생제 내성 유전자 제거율에 도달하기 위해선 같은 접촉시간 (15 분)에선 높은 농도의 소독농도가 필요하다. 이러한 이유는 기본적으로 pB10 플라스미드는 미생물 속에 내제 되어 있어서, 이를 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 미생물이 죽었다 해도라도, 물속에 남아있는 플라스미드는 다른 환경 미생물에 전이될 가능성이 있다. 따라서 항생제 내성균을 제거했음 해도 불구하고 살아남은 항생제 내성 유전자는 여전히 위협요소로 남아있을 수 있다. 따라서 이러한 잠재적 공중보건 위해 요소를 수환경내에서 제거하기 위해서는 항생제 내성균의 제거에 필요한 소독 강도보다 높은 소독강도를 적용하여 항생제 내성유전자 제어가 필요하다.

3.2 염소와 오존의 소독 기법 비교(Continuous test) 및 분석

앞서 정리한 결과는 각 항생제 내성균 및 내성 유전자의 소독 접촉시간을 15분으로 한 batch test 결과이다. 이에 항생제 내성균, 항생제 내성 유전자를 90 % 제어하는데 필요한 CT (농도 * 접촉시간) 값을 산출하기 위하여 본 실험에서는 continous 상태에서 실험하였고 Chick & Waston equation을 사용하였다 (Table 2).

Table 2. Chick and Wastson equation in ozonation and chlorination

		Antibiotic Resistance Bateria (ARB)	Antibiotic Resistance Gene (ARG)
Chlorination	Chick & Watson equation	$\ln\frac{N_t}{N_0}=0.031C^{1.16}t$	$\ln\frac{N_t}{N_0}=0.003C^{1.74}t$
Ozonation	Chick & Watson equation	$\ln\frac{N_t}{N_0}=0.47C^{0.95}t$	$\ln\frac{N_t}{N_0}=0.03C^{2.27}t$

또한 kinetic 실험을 통하여 구해진 각각의 1 log, 2 log와 3 log 까지의 제거율에 필요한 CT 값을 염소와 오존 공법에 대해 각각 산출하였다 (Table 3). 전체적으로 항생제 내성균의 제어 보다 항생제 내성 유전자 제어를 위한 CT 값이 높았다. 이는 앞서 얘기한 바와 같이, 항생제 내성 유전자 및 내성 유전자 전달률 제어를 위해서는 기존의 항생제 내성균에 사용된 소독능 보다 높은 소독능이 필요함을 알 수 있었다. 일반적으로 하수처리장의 박테리아를 2 log 까지 제거하는데 필요한 CT 값은 각각 염소 12 ~ 20 mg·min/L, 오존 3 ~ 4 mg·min/L 정도이다(Metcalf & Eddy, 2004). 그에 비해 본 연구에서 구해진 CT 값은 높은데, 이는 본 실험에서 사용된 시료는 항생제 내성을 가지고 있는 균이기 때문이라고 판단된다. 각각의 제거능을 만족하는 CT 값을 염소와 오존으로 비교하면 염소의 CT값이 오존의 CT값에 비해 월등히 높았으며, 항생제 내성 유전자를 제어 하는데 필요한 CT 값이 염소의 경우 항생제 내성균의 제어보다 높은 반면 오존은 제거능 결과가 비슷하다. 따라서 같은 소독 Dose를 사용 시 항생제 내성균 뿐만 아니라 항생제 내성 유전자 제어를 할 수 있는 오존의 소독 공법이 염소에 비해 좋은 효율을 가

Table 3. CT value for ARB and ARGs removal

			Inactivation (mg · min/L)		
			1 log	2 log	3 log
Chlorination	CT value	Antibiotic Resistance Bateria (ARB)	176 ~ 353	369 ~ 739	553 ~ 1107
		Antibiotic Resistance Gene (ARG)	195 ~ 372	410 ~ 780	614 ~ 1167
Ozonation	CT value	Antibiotic Resistance Bateria (ARB)	14 ~ 16	33 ~ 34	50 ~ 51
		Antibiotic Resistance Gene (ARG)	14 ~ 20	34 ~ 43	50 ~ 64

지고 있다고 판단된다.

본 연구의 결론은 이러한 유해유전물질을 제어하는데 있어서는 전통적인 처리 기법인 염소소독 처리만으로는 부족할 수 있으며, 향후 고급산화 기법을 이용한 바이오 형태의 미량오염물질제어가 필요할 것으로 판단된다. 허나, 오존과 전자빔과 같은 경우 염소소독에 비해 운영상 비용문제가 부담이 될 수 있다. 따라서, 실제 적용 시에는 대규모 시설보다는 소규모의 운영, 하천유지 용수나 지하수 충전 같은 공공보건과 관련될 수 있는 부분에 고급산화 기법 설치를 우선 고려해야 할 것으로 판단된다.

4. 결 론

본 연구를 통해 다음과 같은 결론을 도출하였다.

1) 실제 하수처리장에서 적용 가능한 범위의 소독농도에서 항생제 내성균(*E.coli DH5a*)제거에 대한 염소 및 오존, 전자빔의 소독능을 비교 산정해 본 결과, 전자빔과 오존은 최대 99 %까지의 제거가 가능하였고, 염소소독의 경우 83 %제어가 가능하였다.
2) 유해유전전염물질인 pB10 플라스미드에 대한 제거 효율을 소독 간 비교해 본 결과, 항생제 내성균과 마찬가지로 오존과 전자빔이 염소살균에 높은 산화력을 보여주었다. 하지만 내성균의 살균 능력에 비해 내성 유전자의 살균을 위해서는 좀 더 높은 소독 강도가 필요함이 밝혀졌다.
3) 항생제 내성균 및 내성유전자의 제거능(1 ~ 3 log)을 만족하는 CT 값을 염소와 오존으로 비교하면 염소의 CT값이 오존의 CT값에 비해 월등히 높았으며(Table 3), 같은 소독 농도를 사용 시 항생제 내성균뿐만 아니라 항생제 내성 유전자를 제어 할 수 있는 오존의 소독 공법이 염소에 비해 좋은 효율을 가지고 있다고 판단된다.

사 사

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

참고문헌

Anderson, A.C., Reimers, R.S., Dekernion, P. 1982. A brief review of the current status of alternatives to chlorine disinfection of water. Public Health Briefs 72(11): 1290-1293.

Auerbach, E.A., Seyfried, E.E., McMahon, K.D. 2007. Tetracycline resistance genes in activated sludge wastewater treatment plants. Water Research 41(5): 1143-1151.

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

Cho, M., Kim, J., Kim, J.Y., Yoon J., Kim J-H. 2010. Mechanisms of Escherichia coli inactivation by several disinfectants. Water Research 44(1): 3410-3418.

Driedger, A.M., Rennecker, J.L., Mariñas, B.J. 2000. Sequential inactivation of Cryp-

ISSN (Print) 1225-7672
ISSN (Online) 2287-822X
Journal of Korean Society of Water and Wastewater Vol. 27, No. 6, pp. 797-803, December, 2013

tosporidium Parvum oocysts with ozone and free chlorine, Water Research 34(14): 3591–3597.

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

Hunt, N.K., Marinas, B.J. 1997. Kinetics of Escherichia Coli inactivation with ozone. Water Research 31(6): 1355–1362.

Iwane, T., Urase, T., Yamamoto, K. 2001. Possible impact of treated wastewater discharge on incidence of antibiotic resistant bacteria in river water. Water Sci. Technol., 43(2): 91–99.

Kim, S., Park, H., 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): 1071–1077.

Macauley, J.J., Qiang, Z.., Craig D. Adams, C.D., Surampalli, R., Mormile M.R. 2006. Disinfection of swine wastewater using chlorine, ultraviolet light and ozone. Water Reseach, 40: 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): 2399–2406.

Richardson, S.D., Plewa, M.J., Wagner, E.D., Schoeny, R., DeMarini, D.M. 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): 178 – 242.

Rosal, R., Rodriguez, A., Perdigon–Melon J.A., Petre, A., Garcia–Calvoa, E., Gomez, M.J., Aguera, A., Fernandez–Alba, A.R., 2010. Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. Water Research 44: 578–588.

Schluter, A., Heuer, H., Szczepanowski, R., Forney, L. J., Thomas, C.M., Puhler, A., Top, E.M. 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: 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: 1469–1487.

WHO. 2008. Guidelines for drinking water quality.

Zhao, Y.–Y., Boyd, J.M., Woodbeck, M., Andrews, R.C., Qin, F., Hrudey, S.E., Li, X.–F. 2008. Formation of N–nitrosamines from eleven disinfection treatments of seven different surface waters. Environmental Science & Technology 42 (13): 4857–4862.