

# 제주도 양식 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에서 분리한 병원균 3종에 대한 Mixed Oxidant 및 차아염소산나트륨 살균효과

박천만 · 김기혁 · 문혜나 · 여인규\*

제주대학교 해양생명과학과

## Effect of Mixed Oxidants and Sodium Hypochlorite on Pathogenic Microorganisms in Olive flounder *Paralichthys olivaceus* Aquaculture on Jeju Island

Cheonman Park, Ki-hyuk Kim, Hye-na Moon and In-Kyu Yeo\*

Department of Marine Life Science, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

Marine pathogenic bacteria, such as *Streptococcus parauberis*, *Edwardsiella tarda* and *Vibrio harveyi*, can cause lethal infections in farmed fish, ozone and antibiotics, are employed to sterilize waters used for rearing fish to mitigate this threat. The most widely used method is treatment with sodium hypochlorite solution. However, the maintenance of a constant concentration of chlorine in rearing waters can be difficult. We investigated the potential of a mixed oxidant (MO) solution generated by electrolysis of sea water to improve water quality. We measured the survival rates of fish pathogenic bacteria exposed to different concentrations of MO (0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 MO) and sodium hypochlorite (0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 ppm) for various lengths of time (0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 min). We found a time-dependent decrease in the survival rates of the tested pathogenic microorganisms. The sterilization effect of the MO solution on pathogenic organisms was greater than that of sodium hypochlorite for gram-negative and gram-positive bacteria. We conclude that MO solution produced by electrolysis could be used to maintain a constant chlorine concentration in aquaculture systems.

Key words: Electrolysis, Mixed oxidant, Sodium hypochlorite, Sterilization effect, Pathogenic bacteria

### 서 론

제주 양식 넙치의 연간 생산량은 2010년 21,370톤에 비해 2015년에는 21배나 증가한 27,142톤으로 해마다 증가하는 추세로 생산량이 증가함에 따라 제주 양식 넙치의 연간 폐사량 또한 2010년 4,519톤에 비해 2015년에는 53.31배 증가한 6,928톤으로 해마다 증가하고 있는 추세이다. 이에 따라 양식 넙치의 폐사로 인한 경제적 피해액은 2010년 294억원에서 2015년 529억원으로 79.93배 증가한 것으로 조사되어 넙치의 폐사율이 증가함에 따라 경제적 손실이 증가하고 있는 추세이다(MOMAF, 1998; NFRDI, 2015; Statistics Korea, 2015).

최근 양식장 내의 질병감염에 따른 폐사가 증가하는 추세이며, 특히 병원성 세균에 따른 피해가 급증하고 있어 이에 대한

대책이 시급한 상황이다(Kim et al., 2010). 현재 산업적 육상 고밀도 사육시설에서 질병감염 예방 및 처리방법은 수산생물 체내에 직접적으로 살균제, 살충제 및 항균제 등과 같은 약제를 희석하여 대상어종에게 투여하는 경구투여법, 침지법 및 주사법 등이 활용되고 있다(Letux and Meyer, 1972; Raphael et al., 1981; Fox et al., 1985; Speare et al., 1996). 이러한 직접적인 투여 방법은 대상 수산생물의 체표, 아가미 및 체내에서 발생하는 질병에 치유효과가 크나, 고농도 처리 시에는 어체 내 스트레스로 작용할 수 있는 것으로 알려져 있다(Barton and Iwama, 1991; Pickering, 1992). 반면, 간접적으로 해양에 존재하고 있는 병원균이 양식장으로 유입되는 과정에서 살균을 하는 사육수의 관리방법은 2차적 오염 가능성이 적고, 스트레스 유발이 낮아 질병 예방 및 치료방법으로 주목받고 있다.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0389>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 51(4) 389-396, August 2018

Received 6 April 2018; Revised 3 May 2018; Accepted 9 June 2018

\*Corresponding author: Tel: +82. 64. 754. 3474 Fax: +82. 64. 756. 3493

E-mail address: [ikyeo99@jejunu.ac.kr](mailto:ikyeo99@jejunu.ac.kr)

일반적인 수질의 살균을 위해서는 UV나 오존 처리 이외에 주로 염소 살균제인 차아염소산나트륨이 사용되고 있는데 이 방법은 주로 물이 유동적이지 않은 수영장, 식음수 살균 등에 주로 사용되고 있다(Matsunaga et al., 2000; Li et al., 2002; Martinez-Huitle and Enric, 2008). 그러나 차아염소산나트륨을 이용하는 방법은 수중에 일정한 염소 농도를 유지시키는데 많은 어려움이 있어 최근 복합적인 염소종을 통해 살균하는 전기분해장치가 주목 받고 있다. 전기분해 장치의 해수를 살균하는 기작에 대해서는 명확하게 밝혀진 것이 없으나 화학적 생성 기작으로 발생한 차아염소산과 차아염소산이온과 같은 유효 염소가 살균 기작에 주된 요소로 보고되어지고 있다(Stoner et al., 1982; Rhamn et al., 2010).

본 연구에서는 양식어류의 질병차단을 위한 방법으로 차아염소산나트륨 및 전기분해장치에서 발생한 mixed oxidant (MO)에 따른 사육수의 살균능을 파악하여 사육수의 살균 효과를 검증하고자 제주도 양식장에서 가장 흔히 발생하는 병원성 질병 원인균을 분리 배양한 후 실험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 실험균

실험 균주는 제주도 소재 양식장에서 외견상 질병에 감염된 것으로 추정되는 넙치에서 분리 배양한 병원균을 확인하기 위하여 brain heart infusion (BHI, Difco, USA), salmonella-shigella (SS, Difco, USA) 및 thiosulfate citrate bile salts sucrose (TCBS, Difco, USA) 세균 분리용 평판배지에 시료의 환부와 신장, 비장 등 내부 장기를 도말하였고, 균의 배양은 300 mL의 삼각플라스크에 접종한 후, 25°C로 유지되는 배양기에서 48시간 배양하였다. 유기물의 영향에 의한 실험 결과의 오차를 최소화하기 위하여 각 세균 배양액을 멸균된 원심분리용 튜브에 넣고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 균체를 모은 다음 멸균된 생리식염수로 현탁하는 조건으로 3회 반복하여 균체를 수세하였다. 최종적으로 얻어진 균체는 멸균된 생리식염수를 이용하여 균의 농도를 조정하였다. 또한 세균용 genomic DNA Prep Kit (SolGent, Korea)를 사용하여 각 균주의 DNA를 획득하였다. 16S rRNA 유전자는 27F; 5'-AGAGTTTGATCMTG-GCTCAG-3, 1492R; 5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3'를 이용하여 Polymerase chain reaction (PCR)을 수행하였다 (Lane, 1991; Ludwig, 2007). PCR 조건은 95°C에서 초기 변성단계 5분, 94°C에서 변성단계 1분, 55°C에서 결합단계 1분, 72°C에서 합성단계 1분으로 총 30 cycle, 최종 합성단계로 72°C에서 5분 PCR (US/MYgein32, MJ RESERCH, USA)을 실시하였다. 증폭된 16S rDNA는 염기서열 결정은 (주)SolGent에 의뢰하여 수행하였다. 분석된 염기서열은 미국 국립생물정보센터 NCBI (national center for biotechnology information)의 BLAST (basic local alignment search tool) search program

에서 Genbank database와 Ez Taxon-e (<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>)의 database를 이용하여 유사한 염기서열을 비교하였으며 근연 속 또는 종으로 나타나는 서열을 확인하였다. 결정된 염기서열과 database에서 확인한 표준 미생물 염기서열을 clustal W software로 multiple alignment를 수행하였다.

### MO 및 차아염소산 나트륨 희석액 제조

차아염소산나트륨 희석액은 sodium hypchlorite solution 4.00-4.99% (Sigma aldrich, USA)를 멸균해수와 혼합하여 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm 차아염소산나트륨 희석액을 만들었다. MO는 전기분해장치(대봉LF)를 사용하여 해수를 전기분해하여 만들었으며, 약 1,000 MO가 포함된 전기분해 해수를 멸균해수에 희석하여 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO를 차아염소산나트륨과 동량 처리하여 실험에 사용하였다.

### MO 및 차아염소산나트륨 농도 별 어류 병원세균 살균능 및 유효농도 측정

MO 및 차아염소산나트륨을 농도 및 시간(0, 5, 10, 15, 20, 25 및 30분)별 정치 후 실험균의 생균수의 변화를 측정하기 위하여 agar plating법으로 측정하였다. 반응 종료 후 실험균 부유액을 멸균 phosphate buffer saline (PBS)로 연속 희석한 후 BHI agar에 100 µL씩 떨어뜨리고 멸균된 삼각스프레더로 도말하여 25°C에서 24시간 배양한 다음 배지에 형성된 실험균의 colony를 mL당 반응균의 수로 측정하였다.

병원세균 첨가에 따른 MO 및 차아염소산나트륨의 각 시간 별 유효농도는 발색법을 원리로 하는 chlorine pocket photometer (Hach inc., USA)를 이용하여 측정하였다. 또한, 본 실험에서 염소희석에 사용한 멸균해수가 염소농도에 관여하는지 추가적으로 측정을 실시하였다.

### MO의 적정 중화 반응 평가

MO는 지속적인 살균효과를 가지고 있어 생물독성을 유발할 수 있으므로 이를 제거하기 위하여 염소의 중화제로 일반적으로 사용되는 것으로 알려진 1.5% NaCl과 대조구로서 PBS를 사용하였으며, 실험균으로 2% sodium thiosulfate 이용하였다. 중화제를 첨가한 후 5분 단위로 30분간 측정하여 잔류 염소 농도를 chlorine pocket photometer (Hach inc., USA)를 이용하여 측정하여 본 실험에서 염소 중화의 목적으로 효과적인 중화제를 검토하였다.

### 통계처리

MO 및 차아염소산나트륨 처리에 따른 병원균의 살균능력 결과는 SPSS version 21 (SPSS Inc., USA)을 활용하여 One-way ANOVA-test로 통계 분석을 실시하였다. 데이터 값의 유의차는 Duncan's multiple test 사후분석을 실시하여 측정하였으며, P<0.05에서 유의성을 판단하였다.

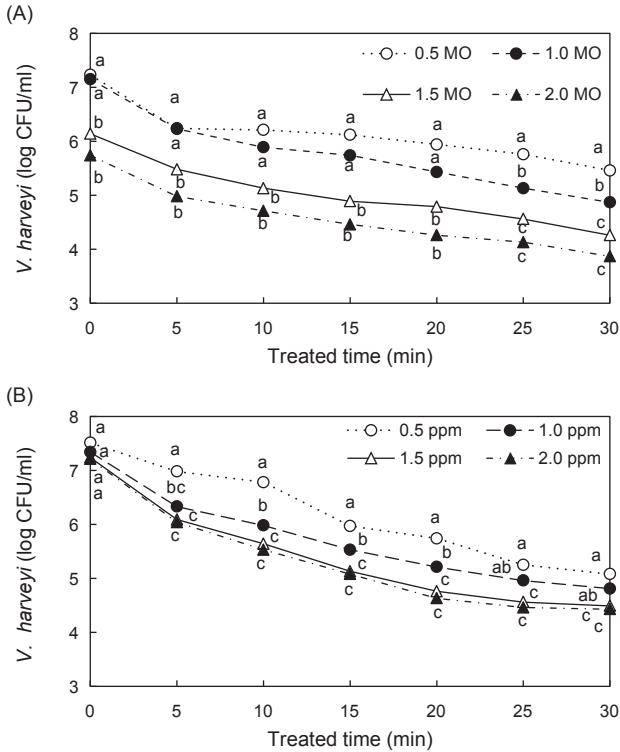


Fig. 1. Growth curves of *Vibrio harveyi* with different exposure times of mixed oxidant (MO) (A) and sodium hypochlorite (B). Each point represents the mean of optical density determinations. Different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $P < 0.05$ ). Error bars are omitted.

결 과

실험균의 동정

제주도내 양식장에서 넙치에서 분리한 균주를 동정하기 위해서 염기서열을 비교 분석한 결과 *Vibrio* sp.는 *V. harveyi*와 99%, *Edwardsiella* sp.는 *E. tarda*와 100% 그리고 *Streptococcus* sp.는 *S. parauberis*와 100%로 가장 유사도가 높은 것으로 나타났다(data not shown). 따라서 이들 균주들을 사용하여 본 연구에서 MO 및 차아염소산나트륨에 대한 살균능을 검증을 실시하였다.

병원균에 대한 살균 효과

MO와 차아염소산나트륨의 병원균에 대한 살균효과를 평가하기 위하여 식약처의 살균효과 기준 기존 균수 대비 5.0 Log CFU/mL 이상 감소되었을 때를 조사하여 나타났다(Fig. 1-3). 본 실험에서 *V. harveyi*에 차아염소산나트륨을 처리하였을 때 차아염소산나트륨 1.0 ppm에서 30분, 1.5 ppm에서 20분 및 2.0 ppm에서 15분동안 처리하였을 때 살균력이 나타났으나 MO를 처리하였을 때 1.0 MO에서 30분, 1.5 MO에서 20분 및

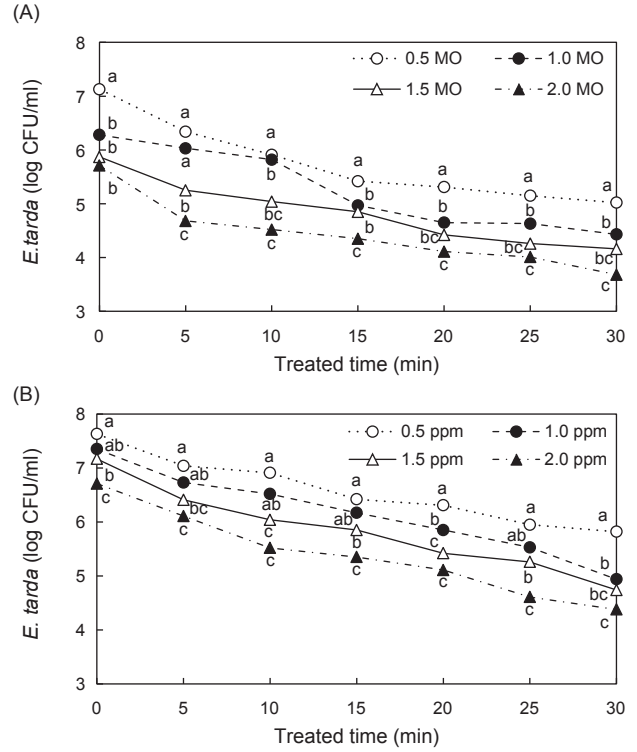


Fig. 2. Growth curves of *Edwardsiella tarda* with different exposure times of mixed oxidant (MO) (A) and sodium hypochlorite (B). Each point represents the mean of optical density determinations. Different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $P < 0.05$ ). Error bars are omitted.

2.0 MO에서 10분동안 처리하였을 때 살균력이 나타났다(Fig. 1). *E. tarda*에 차아염소산나트륨을 처리하였을 때 차아염소산나트륨 1.0 ppm에서 30분, 1.5 ppm에서 25분 및 2.0 ppm에서 20분동안 처리하였을 때 살균력이 나타났으나, MO를 처리하였을 때 1.0 MO에서 30분, 1.5 MO에서 20분 및 2.0 MO에서 10분동안 처리하였을 때 살균력이 나타났다(Fig. 2). *S. parauberis*에 차아염소산나트륨을 처리하였을 때 차아염소산나트륨 1.0 ppm에서 25분, 1.5 ppm에서 20분 및 2.0 ppm에서 20분동안 처리하였을 때 살균력이 나타났으나 MO를 처리하였을 때 1.0 MO에서 20분, 1.5 MO에서 20분 및 2.0 MO에서 15분동안 처리하였을 때 살균력이 나타났다(Fig. 3).

병원균 살균 시 MO 및 차아염소산나트륨의 경시적 농도변화

MO와 차아염소산나트륨을 각각의 병원성세균과 반응을 시켰을 때 보다 병원균의 용균현상 및 세포표면의 변형을 유발에 따른 농도 변화를 조사하였다. 그 결과, 병원균에 MO 및 차아염소산나트륨 희석액을 첨가하였을 경우, 시간의 경과에 따라 농도가 점점 낮아지는 결과를 나타냈으나, MO의 경우에는 그

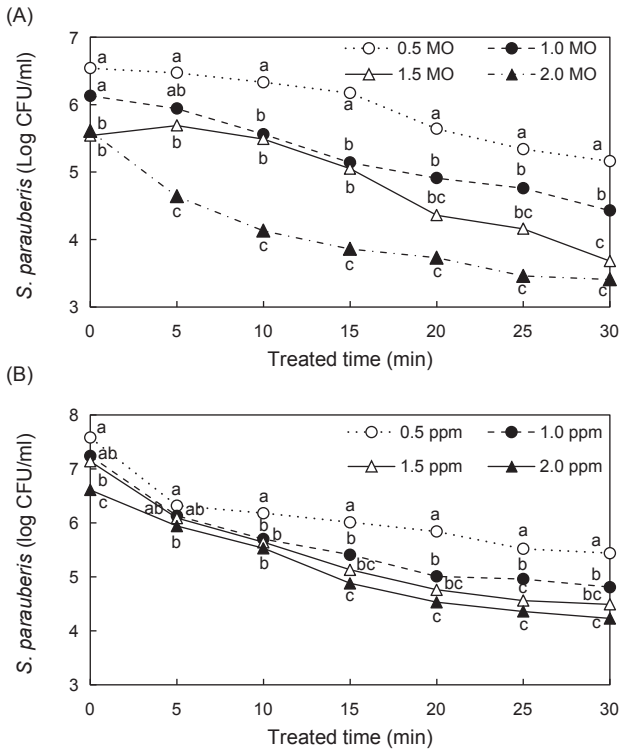


Fig. 3. Growth curves of *Streptococcus parauberis* with different exposure times of mixed oxidant (MO) (A) and sodium hypochlorite (B). Each point represents the mean of optical density determinations. Different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $P < 0.05$ ). Error bars are omitted.

농도가 차아염소산나트륨 실험군에 비교하여 지속적으로 높은 농도를 유지하는 것으로 나타났다(Fig. 4, 5). 특히 *V. harveyi*의 실험군에 MO를 첨가하였을 경우에는 다른 군에 비교하여 높은 농도를 유지하고 있음을 알 수 있었다(Fig. 4). 이와 같은 염소 농도 감소 현상이 병원성균이 아닌 환경수로 사용한 멸균해수에 의하여 일어나는지를 조사한 결과, 멸균해수는 염소농도 저하에 관여하지 않는 것으로 관찰되었다(Data not shown). 이상의 결과로 MO가 차아염소산나트륨에 비교하여 사육수 중에 오랫동안 남게 되어 살균효과가 더 커지는 것으로 추정된다.

MO의 적정 중화 반응 평가

실험세균과 MO의 산화반응 종료 후 반응을 정지시킬 수 있는 적절한 방법을 찾기 위하여 3가지의 중화제를 사용한 후 잔류 농도를 측정한 결과는 Table 1과 같다. 1.5% NaCl의 경우 실험구에 첨가한 뒤 25분 후부터 잔류 MO가 검출되지 않았으며, PBS는 동일 농도 조건에서 감소효과를 보이지 않아 산화반응 정지용으로 적절하지 않은 것으로 나타났다. 그러나 2% sodium thiosulfate는 5분 이내에 잔류 MO가 검출되지 않음이 확인되어 가장 적절한 중화제로 평가되었다.

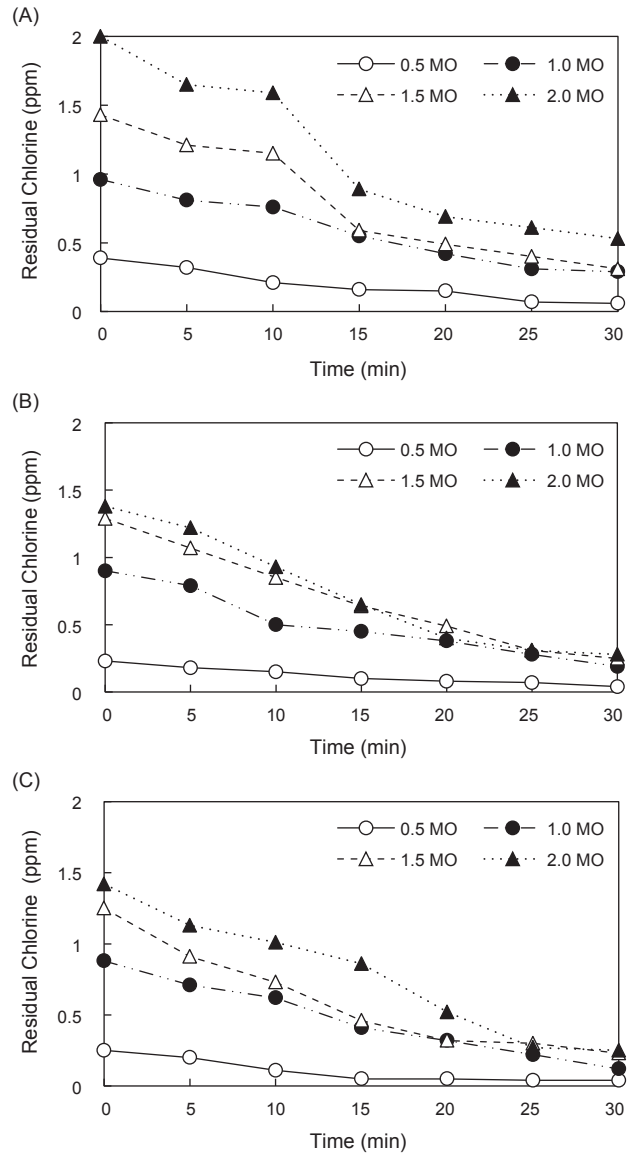


Fig. 4. Effective chlorine concentration of *Vibrio harveyi* (A), *Edwardsiella tarda* (B) and *Streptococcus parauberis* (C) with different exposure times of mixed oxidant (MO). Each point represents the mean of optical density determinations. Error bars are omitted.

Table 1. Reduction effect of mixed oxidant (MO) according to addition of different neutralizing agent, 1.5% NaCl, 2% sodium thiosulfate and phosphate buffered saline (PBS)

Neutralizing agent	Treated time (min)						
	0	5	10	15	20	25	30
1.5% NaCl	0.98	0.64	0.55	0.21	0.40	0.00	0.00
2% Sodium thiosulfate	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
PBS	2.00	2.00	2.00	1.98	1.95	1.94	1.91

또한 본 연구에서 중화제로 사용된 Sodium thiosulfate 자체가 살균효과를 가질 수 있으므로 이에 대한 살균능을 조사한 결과, Sodium thiosulfate는 *V. harveyi*, *E. tarda* 및 *S. parauberis*에 살균능에 영향이 없는 것으로 나타났다(data not shown).

## 고 찰

우리나라에서는 1980년대 후반부터 넙치양식이 시작되면서 양식 초기에는 별다른 질병증상을 찾아볼 수 없었으나 양식장의 증가 및 사육밀도가 높아지면서 바이러스, 기생충 및 병원성 세균의 발생이 증가하고 있으며 그 중 병원성 세균에 의한 피해가 가장 많이 발생하고 있는 실정이다(Nguyen and Kanai, 1999; Lee et al., 2007; Kang et al., 2007; Kim et al., 2012). 넙치의 병원성 세균 중 *S. parauberis*는 최근 제주 지역을 중심으로 연쇄구균의 원인체로 분리되고 있으며 발생 양상이 제주 뿐 만 아니라 우리나라 전역으로 확산 되고 있는 추세이며 *S. parauberis*에 감염된 어류의 증상은 체색 흑화, 출혈 및 농양을 동반한 안구 돌출, 비장 및 간 비대 등이 나타난다(Baek et al., 2006; Kang et al., 2007). 그리고 수온이 높은 시기 뿐 만 아니라 휴면기 상태에서도 해수와 퇴적물에 독성을 유지하고 있어 양식장 환경 및 자연 환경이 병원체의 감염원으로서 역할을 한다고 보고하고 있다(Hwang et al., 2008). 또한, *E. tarda*에 감염된 넙치는 육안적으로 탈장증상, 체색 흑화 및 복부팽만 등과 같은 증상이 넙치 치어에서 발병되며 다른 병원성 세균과 혼합 감염률이 높게 나타나 초기 살균이 중요한 것으로 알려져 있으며 *V. harveyi*는 상처가 있거나 스트레스를 받은 어체 내 병원성 세균 및 기생충성 질병이 발생한 후 쉽게 감염되어 장관백탁증을 발병 시켜 대량 폐사를 유도한다(Alvarez et al., 1998; Ann and Rimstad, 2001).

일반적으로 염소 중 차아염소산나트륨은 양식장, 하수처리장 등에 살균제로 사용되고 있다(Matsungaga et al., 1994; Nakayamae et al., 1998; Matsungaga et al., 2000). 그러나 차아염소산나트륨은 일정한 농도를 유지하기 어려운 것으로 있어 안정적인 사용에 어려움이 있다고 할 수 있다. 반면, 전기분해의 경우 일정하게 MO 농도를 유지하기 용이한 것으로 알려져 있다(Kerwick et al., 2005). 이에 본 실험에서 넙치에게 주로 발생하는 병원균에 대하여 일반적으로 사용하는 염소 중인 차아염소산나트륨과 전기분해를 통해 생성된 복합적인 염소종이 포함된 MO를 처리 하였을 때 비교한 결과 차아염소산나트륨보다 MO가 병원균에 대하여 효과적으로 살균하는 것으로 관찰되었다(Fig. 1-3). MO는 전기분해장치에서 양극반응에 의하여 해수 내 소금(NaCl)내의 염소이온(Cl<sup>-</sup>)이 반응을 통해 염소가스로 환원되며, 음극반응은 물(H<sub>2</sub>O)분해를 통해 수소(H<sub>2</sub>)와 수산화이온(OH<sup>-</sup>)이 생성되고 수산화 이온(OH<sup>-</sup>)은 나트륨이온(Na<sup>+</sup>)과 반응하여 가성소다(NaOH)가 생성된다. 전극반응으로 생성된 염소가스(Cl<sub>2</sub>)와 가성소다(NaOH)를 기액 반응을 통해 최종 MO를 생성하게 된다(Patermarakis and Fountoukidis,

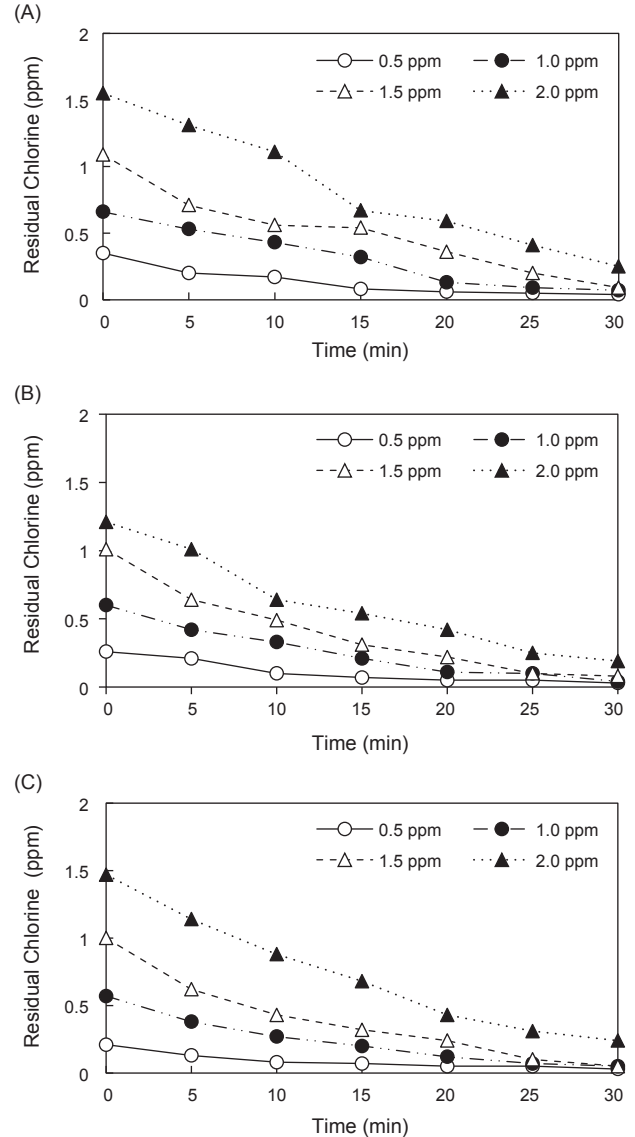


Fig. 5. Effective chlorine concentration of *Vibrio harveyi* (A), *Edwardsiella tarda* (B) and *Streptococcus parauberis* (C) with different exposure times of sodium hypochlorite. Each point represents the mean of optical density determinations. Error bars are omitted.

1990). MO의 살균능에 대한 병원균의 내성은 일반적으로 세포벽의 구조에 따라 변화 한다고 보고하고 있으며(Boylan et al., 2008; Tak and Park, 2009; Joshi et al., 2011), 전기분해 장치를 이용하여 사육수를 살균시 그람양성균인 *Lactococcus garvieae*가 그람 음성균의 일종인 *V. alginolyticus*, *E. tarda* 및 *V. anguillarum*보다 MO의 살균력이 높게 나타난다고 보고하였다(Tanaka et al., 2013). 그러나 본 연구에서는 그람음성균인 *V. harveyi* 및 *E. tarda*와 그람양성균인 *S. parauberis*에서 모두 높은 MO에 대한 살균능이 나타나 균의 차이에 따른 살균능의 유

의한 차이는 나타내지 않는 것으로 나타났다(Fig. 1-3). 이러한 결과는 사용 균주의 종에 따라 실험 결과가 달라질 수 있으므로 균의 종류에 따른 살균능의 변화는 지속적인 연구가 진행되어야 할 것으로 여겨진다.

또한, 일반적으로 염소를 병원균에 처리하였을 때, 그람양성균인 *Clostridium botulinum*은 포자 파괴 및 용균 현상이 관찰되며, 그람음성균인 *Campylobacter jejuni*는 나선형 형태구조에서 구형 또는 부정형으로 변하며 세포표면에는 많은 포상구조물을 유도한다고 보고하고 있다(Smibert, 1978; Merrell et al., 1981; Buck et al., 1983; Blaser et al., 1986). 이에 대한 염소 살균 과정 중 소독제의 종류와 병원균의 활성화에너지 요구량이 증가할수록 잔류 염소농도가 감소하며(Lee et al., 2002; Diao et al., 2004), 이산화염소 또한 병원균의 접촉 후 잔류염소가 감소되는 것으로 보고하고 있다(Park et al., 2003). 본 연구에서도 MO 및 차아염소산나트륨을 병원균에 첨가 후 나타난 잔류 염소의 농도는 시간이 경과함에 따라 감소하였다(Fig. 4, 5). 그러나 두 물질의 동일한 농도에서는 차아염소산나트륨보다 MO가 강한 살균력을 가지는 것으로 나타났는데 이는 MO 속에 포함된 차아염소산 및 차아염소산이온 등과 같은 다양한 유효염소의 작용이 차아염소산나트륨 만을 사용했을 때 보다 병원균의 용균현상 및 세포표면의 변형을 유발하여 살균력이 높아진 결과로 추정된다(Rhman et al., 2010).

한편, 해수 내 병원성 질병에 의한 넙치의 폐사를 감소하기 위해서 사용되는 방법 중 염소는 일반적으로 사용되는 화학물질로 살균에 효과적이지만 소독 부산물로 인하여 식수에서는 특이적인 맛과 냄새를 유발하며 연어(*Onchorhynchus mykiss*), 송어(*Mugil cephalus*) 및 배스(*Micropterus salmoides*) 등의 해양동물에게 폐사율 증가와 성장률 감소가 나타난다고 보고하고 있다(Braungs, 1973; Dress et al., 2003; Kerwick et al., 2005; Fang et al., 2006). 하지만 염소를 제거한 전기 분해수에서 가리비(*Patinopecten yessoensis*)의 성장률이 일반 해수 및 UV 소독수 보다 증가한다고 보고되어져 염소를 효과적으로 중화할 경우 오히려 실험 생물의 성장에 효과적일 수 있다고 평가되고 있어 적절한 중화제의 검토가 필요하다고 할 수 있다(Jorquera et al., 2002). 이전의 연구에 따르면 1.5% NaCl을 첨가한 BHI가 염소 중화에 효과적이라고 보고하고 있으나(Park et al., 2003), 본 실험에서는 2% sodium thiosulfate의 처리에 의해  $4Cl_2 + 5H_2O + Na_2S_2O_3 \rightarrow 8HCl + H_2SO_4 + Na_2SO_4$ 의 반응이 유도되어 MO 희석액에 첨가 후 5초 이내에 잔류 염소가 검출되지 않았다. 따라서, MO의 중화제로서는 기존에 사용되어진 1.5% NaCl 보다 2% sodium thiosulfate가 보다 더 적합한 것으로 판단되어졌다.

이상의 결과를 종합해보면, 본 연구에서 MO가 차아염소산나트륨보다 유효 염소농도가 시간이 경과함에 따라 높게 유지되며, 유효 염소농도 또한 높아 차아염소산나트륨보다 MO에서 병원균 3종에 대하여 살균능이 높게 나타나는 경향을 보였

으며, 그람음성균인 *V. harveyi* 및 *E. tarda*과 그람양성균인 *S. parauberis* 모두에서 높은 살균능을 가지는 결과를 보였다. 따라서 해양 내 잠재적으로 포함된 유입수를 살균시에 전기분해수를 이용한 MO의 사용이 차아염소산나트륨보다 효과적인 것으로 판단된다.

## 사 사

이 논문은 2017학년도 제주대학교 교원성과지원사업에 의하여 연구되었음.

## References

- Alvarez JJ, Austin B, Alvarze AM and Reyes H. 1998. *Vibrio harveyi*: A pathogen of penaeid shrimps and fish in Venezuela. J Fish Dis 21, 313-316. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.1998.00101.x>.
- Ann k and Rimstad E. 2001. Inactivation of infectious salmon virus, viral haemorrhagic septicaemia virus and infectious pancreatic necrosis virus in water using UVC irradiation. Dis Aqua Org 48, 1-5. <https://doi.org/10.3354/dao048001>.
- Baek GW, Kim JH, Gomez DK and Park SC. 2006. Isolation and characterization of *Streptococcus* sp. from diseased flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Jeju island. J Vet Sci 7, 53-58. <https://doi.org/10.4142/jvs.2006.7.1.53>.
- Barton BA and Iwama GK. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annu Rev Fish Dis 1, 3-26. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(91\)90019-g](https://doi.org/10.1016/0959-8030(91)90019-g).
- Blaser MJ, Smith PF, Wang WLL and Hoff JC. 1986. Inactivation of *campylobacter jejuni* by chlorine and monochloramine. Appl Environ Microbiol 51, 307-311.
- Boylan JA, Lawrence KA, Downey JS and Gherardini FC. 2008. *Borrelia burgdorferi* membranes are the primary targets of reactive oxygen species. Mol Microbiol 68, 786-799. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06204.x>.
- Braungs WA. 1973. Effects of residual chlorine on aquatic life. J Water Pollut Control Fed 45, 2180-2193.
- Buck GE, Parashall KA and Davis CP. 1983. Electron microscopy of the coccoid form of *Campylobacter jejuni*. J Clin Microbiol 18, 420-421.
- Diao HF, Li XY, Gu JD, Shi HC and Xie ZM. 2004. Electron microscopic investigation of the bactericidal action of electrochemical disinfection in comparison with chlorination, ozonation and fenton reaction. Process Biochem 39, 1421-1426. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00274-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00274-7).
- Drees KP, Abbaszadegan M and Maier RM, 2003. Comparative electrochemical inactivation of bacteria and bacteriophage. Water Res 37, 2291-2300. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00009-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00009-5).
- Fang Q, Shang C and Chen G. 2006. MS2 inactivation by

- chloride-assisted electrochemical disinfection. *J Environ Eng* 132, 13-22. [https://doi.org/10.1061/\(asce\)0733-9372\(2006\)132:1\(13\)](https://doi.org/10.1061/(asce)0733-9372(2006)132:1(13)).
- Fox CH, Johnson FB, Whiting J and Roller PP. 1985. Formaldehyde fixation. *J Histochem Cytochem* 33, 845-853.
- Hwang SD, Woo SH, Kim SH, Ha SJ, Jung YE and Park SI. 2008. Immunomodulatory characteristics of *Streptococcus parauberis* isolated from infected olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J Fish Pathol* 21, 157-166.
- Jorquera MA., Valencia G, Eguchi M, Katayose M and Riquelme C. 2002. Disinfection of seawater for hatchery aquaculture systems using electrolytic water treatment. *Aquaculture* 207, 213-224. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00766-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00766-9).
- Joshi SG, Cooper M, Yost A, Paff M, Ercan UK, Fridman G, Friedman G, Fridman A and Brooks AD. 2011. Nonthermal dielectric-barrier discharge plasma-induced inactivation involves oxidative DNA damage and membrane lipid peroxidation in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents and Chemother* 55, 1053-1062. <https://doi.org/10.1128/aac.01002-10>.
- Kanai K. 1993. Bacterial diseases of flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J Fish Pathol* 6, 197-208.
- Kang CY, Kang BJ, Moon YG, Kim KY and Heo MS. 2007. Characterization of *Streptococcus parauberis* isolated from cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in the Jeju Island. *J Fish Pathol* 39, 56-61.
- Kerwick MI, Reddy SM, Chamberlain AHL and Holt DM. 2005. Electrochemical disinfection, an environmentally acceptable method of drinking water disinfection?. *Electrochim Acta* 50, 5270-5277. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2005.02.074>.
- Kim JW, Cho MY, Park GH, Won KM, Choi HS, Kim MS and Park M. 2010. Statistical data on infectious diseases of cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* from 2005 to 2007. *J fish pathol* 23, 369-377.
- Kim JW, Lee HN, Jee BY, Woo SH, Kim YJ and Lee MK. 2012. Monitoring of the mortalities in the aquaculture farms of south korea. *J Fish Pathol* 25, 271-277. <https://doi.org/10.7847/jfp.2012.25.3.271>.
- Lane DJ. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In: *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. Stackebrandt, E and Goodfellow M, Eds. 115-175.
- Lee CH, Kim PY, Ko CS, Oh DC and Kang BJ. 2007. Biological characteristics of *Streptococcus iniae* and *Streptococcus parauberis* isolated from cultured flounder, *Paralichthys olivaceus* in Jeju. *J Fish Pathol* 20, 33-40.
- Lee SJ, Lee DC, Kim H and Lee H. 2002. Comparison of chlorine, chlorine dioxide and ozone as disinfectants in drinking water. *Kor J Env Hlth Soc* 28, 1-8.
- Letux F and Meyer FP. 1972. Mixture of malachite green and formaline for controlling Ichthyophthirius and other protozoan parasites of fish. *Prog Fish Cult* 34, 21-26. [https://doi.org/10.1577/1548-8640\(1972\)34\[21:momgaf\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1577/1548-8640(1972)34[21:momgaf]2.0.co;2).
- Li XY, Ding F, Lo PSY and Sin SHP. 2002. Electrochemical disinfection of saline wastewater effluent. *J Environ Eng* 128, 697-704. [https://doi.org/10.1061/\(asce\)0733-9372\(2002\)128:8\(697\)](https://doi.org/10.1061/(asce)0733-9372(2002)128:8(697)).
- Ludwig W. 2007. Nucleic acid techniques in bacterial systematics and identification. *Int j food microbiol* 120, 225-236. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.023>.
- Martinez-Huitle CA and Enric B. 2008. Electrochemical alternatives for drinking water disinfection. *Angew Chem Int Ed* 47, 1998-2005. <https://doi.org/10.1002/anie.200703621>.
- Matsunaga T, Nakasono S, Kitajima Y and Horiguchi K. 1994. Electrochemical disinfection of bacteria in drinking water using activated carbon fibers. *Biotechnol Bioeng* 43, 429-433. <https://doi.org/10.1002/bit.260430511>.
- Matsunaga T, Okochi M, Takahashi M, Nakayama T, Wake H and Nakamura N. 2000. TiN electrode reactor for disinfection of drinking water. *Water Res* 34, 3117-3122. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00066-x](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00066-x).
- Merrell BR, Walker BI and Coolbaugh JC. 1981. *Campylobacter fetus* ss. *Jejuni*, a newly recognized enteric pathogen: morphology and intestinal colonization. *Scanning Electron Microsc* 4, 125-131.
- MOMAF (Ministry of Maritime Affairs and Fisheries). 1998. Statistical yearbook of maritime affairs and fisheries. Ministry of Maritime Affairs and Fisheries, Seoul, Korea.
- Nakayama T, Wake H, Ozawa K, Kodama H, Nakamura N and Matsunaga T. 1998. Use of a titanium nitride for electrochemical inactivation of marine bacteria. *Environ Sci Technol* 32, 798-801. <https://doi.org/10.1021/es970578h>.
- NFRDI (National Fisheries Research and Development Institute). 2015. Prevention of bacterial fish disease and medical treatment for produce health fish. National Fisheries Research and Development Institute, Busan, Korea.
- Nguyen HT and Kanai K. 1999. Selective agars for the isolation of *Streptococcus iniae* from Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* and its cultural environment. *J Appl Microbiol* 86, 769-776. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00724.x>.
- Palumbo SA. 1984. Heat injury and repair in *Campylobacter jejuni*. *Appl Environ Microbiol* 48, 477-480.
- Park KH, Oh MJ and Kim HY. 2003. Disinfection effect of chlorine dioxide on pathogenic bacteria. *J aquaculture* 16, 118-123. <https://doi.org/10.1002/0471263397.env295>.
- Patermarakis G and Fountoukidis E. 1990. Disinfection of water by electrochemical treatment. *Water Res* 24, 1491-1496. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(90\)90083-i](https://doi.org/10.1016/0043-1354(90)90083-i).
- Pickering AD. 1992. Rainbow trout husbandry: management of the stress response. *Aquaculture* 100, 125-139. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90354-n](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90354-n).
- Raphael D, Wong TA, Moodnik R and Borden BG. 1981. The effect of temperature on the bactericidal efficiency of sodium hypochlorite. *J Endod* 7, 330-334. <https://doi.org/10.1016/>

s0099-2399(81)80101-x.

- RhamanSME Ding T and Oh DH. 2010. Effectiveness of low concentration electrolyzed water to inactive foodborne pathogens under different environmental conditions. *Int J Food Microbiol* 139, 147-153. <https://doi.org/10.1016/j.ij-foodmicro.2010.03.020>.
- Smibert RM. 1978. The genus *Campylobacter*. *Ann Rev Microbiol* 32, 673-709. [https://doi.org/10.1007/springerreference\\_3854](https://doi.org/10.1007/springerreference_3854).
- Speare DJ, Goff G, MacIsaac P, Wechrkiwsky J and MacNair N. 1996. Effects of formalin and chloramine-T treatments on oxygen consumption of juvenile salmonids. *J Aquatic Anim Health* 8, 285-291. [https://doi.org/10.1577/1548-8667\(1996\)008<0285:eofact>2.3.co;2](https://doi.org/10.1577/1548-8667(1996)008<0285:eofact>2.3.co;2).
- Statistics Korea. 2015. Aquaculture Status Survey. Statistics Korea, Daejeon, Korea.
- Stoner GE, Cahen GLJ, Sachyani M and Gileadi E. 1982. The mechanism of low frequency a.c. electrochemical disinfection. *Bioelectrochem Bioenerg* 9, 229-24. [https://doi.org/10.1016/0302-4598\(82\)80013-5](https://doi.org/10.1016/0302-4598(82)80013-5).
- Tak JK and Park JW. 2009. The use of ebselen for radioprotection in cultured cells and mice. *Free Radic Biol Med* 46, 1177-1185. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.01.023>.
- Tanaka T, Shimoda M, Hosokawa M, Taguchi T Wake H and Matsunaga T. 2013. Electrochemical disinfection of fish pathogens in seawater without the production of a lethal concentration of chlorine using a flow reactor. *J biosci bioeng* 116, 480-484. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.04.013>.