

용수 살균을 위한 자외선과 플라즈마 처리장치 적용에 따른 효과분석

김영재* · 박전오 · 이행림

(주) 한국수산방역기술

Effectiveness Analysis on the Application of Ultraviolet and Plasma Treatment Devices for Water Sterilization

Young Jae Kim*, Jeon Oh Park, Haeng Lim Lee

Korea Aquatic Biosecurity Technology (KABT), Busan 48564, Korea

Corresponding Author

Young Jae Kim

Korea Aquatic Biosecurity Technology

(KABT), Busan 48564, Korea

E-mail : fishpa@naver.com

Received : October 25, 2019

Revised : October 30, 2019

Accepted : December 02, 2019

본 연구는 수산양식분야에서 용수를 살균하기 위해 제품화되어 있는 UV 및 플라즈마 장치를 100 ℓ 수조에 적용하고 처리수를 1 ℓ씩 채수, 농축하여 시료 내 세균 수의 변화를 확인하여 두 가지 처리 방식에 따른 효과를 비교하였다. 각 장치를 6시간 동안 작동시키면서 일반 해수 내 세균을 MA, TCBS, SS 배지에 배양하여 세균 수 변화를 확인하였고, 살균처리된 해수 내 *Edwardsiella piscicida*를 인위 접종한 후 처리수 내 *E. piscicida* 세균 수 변화를 확인한 결과 UV 장치와 플라즈마 장치 간의 세균 저감 효율은 99.5~99.9% 수준으로 거의 유사한 수준으로 확인되었다. 2가지 장치를 적용하여 100 ℓ의 수량을 동일한 시간 동안 처리하였을 때, 플라즈마 방식의 경우 UV 장치와 비교하여 더 짧은 시간 안에 세균을 사멸하는 것으로 나타났다. 하지만 본 연구에서는 단기적(6시간)으로만 세균 수 변화를 확인한 것으로, 사료찌꺼기, 배설물, 연안 오염 등에 따라 수질의 변동이 크고 biofilm과 유기물이 많이 존재하는 실제 양식환경을 고려할 때, 탁도와 유기물의 존재에 따라 한계가 있는 UV 처리 방식보다는 지속적으로 일정한 효과를 유지할 수 있는 플라즈마 처리 방식이 보다 효율적일 것으로 사료된다.

This study aimed to compare the disinfection efficiencies of the ultraviolet and plasma systems, the two systems designed and commercialized to disinfect water in aquaculture, by putting each in a 100 ℓ water tank and concentrating 1.0 ℓ of treated water to check the changes in the number of bacteria in the samples. Each system was operated for 6 hours to culture the typical seawater bacteria in the Marine agar, Thiosulfate citrate bile salts sucrose agar and Salmonella Shigella agar media, respectively, to check the number of bacteria in the media, and the changes in the number of *Edwardsiella piscicida* in the treated water were checked after the artificial inoculation of *E. piscicida* in the disinfected seawater. As a result, the two disinfection systems showed the almost similar levels of bacterial reduction efficiency between 99.5% and 99.9%. However, the result of this study showed that, with 100 ℓ of water treated for the same length of time using the two systems, the plasma system turned out to disinfect bacteria in a shorter period of time than the UV system. However, as the changes in the number of bacteria were checked for a short length of time (6 hours) in this study, it was judged that, considering the actual aquaculture environment in which the quality of water significantly changes with feed residues, excretions and coastal contamination, etc., and a lot of biofilms and organic matter exist, the plasma system would be more efficient than the UV system as the former is capable of continuously maintaining a certain level of efficiency than the latter that is limited in terms of efficiency depending on the level of turbidity and the existence of organic matter.

Keywords: Aquaculture(수산양식), UV(자외선), Plasma(플라즈마), Sterilization(살균), Bacteria(세균)

서론

양식장으로부터 배출되는 사료찌꺼기, 양식생물의 배설물에 의해 연안 오염이 심화될 가능성은 여전히 남아있고(Koh et al., 2013), 국내 대표 양식품종인 넙치의 경우 스쿠티카충, VHSV, 세균성 질병이 지속적으로 발생하고 있다(Kim et al., 2012; Park et al., 2015; Shim et al., 2019). 이에 따라 유기물 오염과 병원체 유입가능성이 있는 유입수와 사육수 관리의 중요성이 높아지고 있으며, 특히 질병의 원인체의 유입경로를 차단하기 위해 용수 관리(Water treatment)가 필수적으로 요구되고 있는 추세이다.

양식장에서 용수를 살균하는 방법은 약품을 투입하는 화학적 처리방법과 여과, 오존, UV 조사방법이 있다(Frerichs et al., 2000). 자외선을 이용하는 수처리 기술은 상수처리나 정수기의 살균처리에 있어서는 단독으로 또는 오존과 함께 이용되며, 폐수처리에 있어서는 오염물을 산화분해 시키는 산화제의 보조수단으로 주로 이용되는 기술이다. 그리고 화학물질 소비가 없고 해로운 부산물도 생성되지 않으며, 자외선을 조사한 처리수에서 박테리아의 성장이 억제되고 그 효과는 보통 1주일 이상 지속된다고 알려져 있다(Jang and Kim, 2005).

플라즈마란 수중 또는 수표면에 고밀도 플라즈마를 발생시켜 화학적 반응에 따라 활성라디칼(OH radical) 및 오존, UV, H₂O₂ 등의 강력한 산화력을 가진 활성종들이 생성되며 이를 통해 난분해성 물질처리, 색도 및 오·폐수의 살균처리 등에 이용된다(Jung, 2009; Shi et al., 2009). 최근에는 양식장에서도 미생물의 성장을 억제하고 불활성화 시키는 생물학적 작용을 이용하여 다양한 물체의 표면 살균과 처리에 저온플라즈마 방식(cold plasma)이 적용되고 있다(Kim and Park, 2011; Mok and Lee, 2011; Lee et al., 2012; Mok and Lee, 2012).

양식장 용수를 살균하기 위해 UV, 플라즈마 처리 방식에 대한 기술적인 효과는 익히 알려져 있지만 양식어류에 질병을 일으키는 병원체에 대한 효과 검증연구는 많이 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구는 현재 제품화되어 있는 UV 살균장치 및 플라즈마 장치를 적용하고, 처리수 내 세균 수의 변화를 통해 두 가지 처리 방식에 따른 효과를 비교하고자 한다.

재료 및 방법

1. 살균장치 및 적용

본 연구에서는 UV 살균장치와 플라즈마 처리장치에 대하여 효능을 알아보고자 각각의 수조에 적용하여 비교 실험을 수행하였다. 실험에 사용된 UV 살균장치의 경우 크기는 (W)120 mm × (L)1,040 mm × (H)220 mm이고, UV램프 40 W 1개(조사량: 30,000 mW·sec/cm²)로 구성되어 있고 시간당 약 1톤의 처리용량으로 설계된 제품을 사용하였다. 플라즈마 처리장치는 (W)450 mm ×

(L)260 mm × (H)525 mm 크기에 시간당 1톤의 처리용량으로 설계된 제품이며, 2가지 장치에 동일한 사양의 수중펌프를 통해 각 장치로 용수를 유입하고 처리 후 배출하는 구조로 설계된 제품을 사용하였다.

실험을 위해 UV 및 플라즈마 장치를 100 ℓ의 해수 수조에 설치하고 용수가 장치를 통과하여 순환하는 구조로 적용시킨 후 처리시간별(0, 0.5, 1, 2, 2.5, 3, 6시간)로 해수를 1 ℓ씩 채수하여 해수 내 세균 수를 측정하여 장치별 처리시간별 세균 수 변화를 비교하였다. 실험구 외 일반 순환펌프를 설치한 수조를 대조구로 설정하였다.

그리고 위와 같은 조건으로 멸균 해수 100 ℓ에 일정농도의 *Edwardsiella piscicida* 현탁액을 접종하고 UV와 플라즈마 장치를 각각 적용하여 처리시간대별 *E. piscicida*의 세균 수 변화를 관찰하였다.

2. 실험 해수

일반 해수 내 세균 수 비교를 위한 실험에 사용된 해수는 부산 민락동 내 해수공급시설로부터 깨끗한 해수를 취수하여 수온을 일정하게 유지시키며 운송 후, 원형 수조에 약 100 ℓ씩 분주하였고 수온은 실험기간 동안 25°C로 유지하였다.

또한, 처리시간별 *E. piscicida*의 세균 수 변화를 측정하기 위해서 취수한 해수를 UV 살균장치를 통해 8시간 이상 살균처리하여 사용하였다. 살균처리된 해수를 사용하기 전에 세균 검출 유무를 확인하기 위해 농축시료 100 μl를 1.0% NaCl이 첨가된 TSA와 SS 평판배지에 spreading 후 25°C에서 36시간 배양하여 colony가 배양이 되지 않는 것을 확인한 후 실험 사용 전까지 외부로부터 오염원이 유입되지 않도록 멸균된 덮개로 밀봉하여 보관하였다.

3. 시험 균주

실험에 사용한 *E. piscicida* EP2019KK 균주는 울산광역시 지역에 소재한 양식장에서 사육중인 강도다리로부터 분리되었고, 특이 primer를 이용한 PCR을 통해 동정된 균을 사용하였다. 동결보존된 균을 1.0% NaCl이 첨가된 TSA에 배양한 후 재동정 후 침지 접종을 위해 TSB에서 28°C에서 36시간 동안 배양하였다. 배양액을 원심분리하여 얻은 pellet을 PBS에 현탁하여 10배 단위로 희석시킨 후 plate에 배양하여 최종농도를 확인하였다. 최종농도는 약 4.3×10^{12} CFU/ml이었고 이 후 현탁액을 해수 내 침지 접종에 사용하였다.

4. 세균 수 측정

각 실험마다 수조별 처리시간별로 해수 1 ℓ씩을 멸균된 채수병에 채수하여 세균 수 측정에 사용하였다. Membrane Filtration

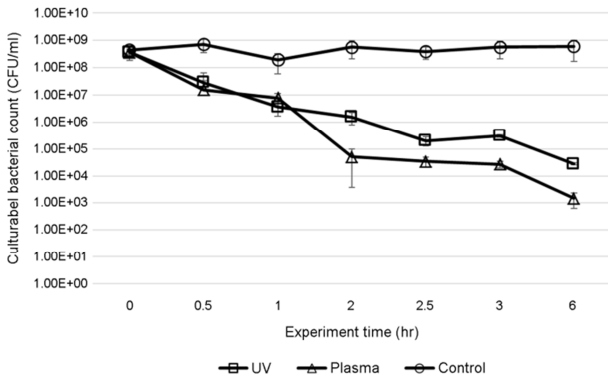


Fig. 1. Changes of bacterial count in MA medium by experiment time.

Method (MP법)에 따라 다음과 같이 농축시켰다(Roh et al, 2018). Gast Vacuum Pump (32 ℓ/min, max vacuum 25.5, AX230V)를 이용하여 membrane filter 장치에 음압을 가하고, 이를 이용하여 시료(사육수)가 GF/A glass microfiber filter (pore size-1.6 μm; Whatman plc, Buck-inghamshire, UK)를 통과하여 여과되도록 하였다. 여과된 filter를 14 ml round bottom tube에 넣고 5 ml의 PBS 접종 후 rotator에서 30분간 반응시킨다. 반응 후 filter를 petri-dish로 옮긴 후 elution PBS를 이용하여 세균과 유기물을 elution한다. 약 1 ℓ가 여과된 시료를 다시 한 번 0.45 μm filter (Millipore)에 여과하여 14 ml round bottom tube에 넣은 뒤 다시 이전에 elution한 PBS를 이용하여 rotator에서 30분간 반응시킨다. 얻어진 농축액은 원심분리(12,000 rpm, 10분)하였다. 이후, 상층액을 제거한 뒤, 1 ml의 PBS로 펠릿을 부유시키고 세균 수 측정을 위해 그 중 100 μl를 10⁰, 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷까지 단계희석하여 MA (Marine agar, BD), SS (Salmonella Shigella agar, BD), TCBS (Thio-sulfate Citrate Bile Sucrose agar, BD) 배지에 도말하고 25°C에서 48시간 동안 배양한 후 세균 수(CFU)를 측정하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 UV 및 플라즈마 장치를 6시간 동안 작동시키면서 일반 해수 내 세균을 MA, TCBS, SS 배지에 각각 배양하여 세균 수 변화를 확인하여 처리방법별 살균 효과를 비교하였다. MA 배지를 이용하여 처리시간별 일반 세균 수를 측정된 결과 0시간째 각 수조별 평균 세균 수는 1.15 × 10⁹ CFU/ml였으며, 시험기간 동안 대조구의 평균 세균 수에 큰 변화는 관찰되지 않았다. 반면 UV 및 플라즈마 장치를 설치한 그룹의 경우 처리시간별로 세균 수가 감소하여 시험종료시점인 6시간째에 UV 장치에서는 2.80 × 10⁴ CFU/ml, 플라즈마 장치 1.50 × 10³ CFU/ml로 감소하여 UV 장치와 플라즈마 장치의 해수 내 일반 세균 수 저감 효율은 모두 99.9% 이상이였다(Fig. 1). 그리고 TCBS와 SS 배지에서 처리시간별

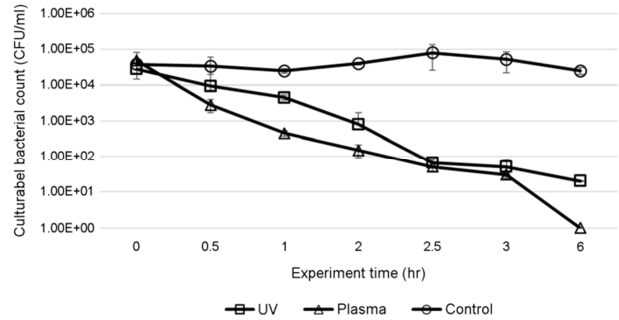


Fig. 2. Changes of bacterial count in TCBS medium by experiment time.

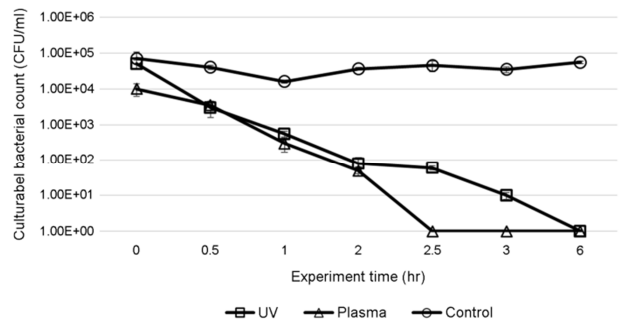


Fig. 3. Changes of bacterial count in SS medium by experiment time.

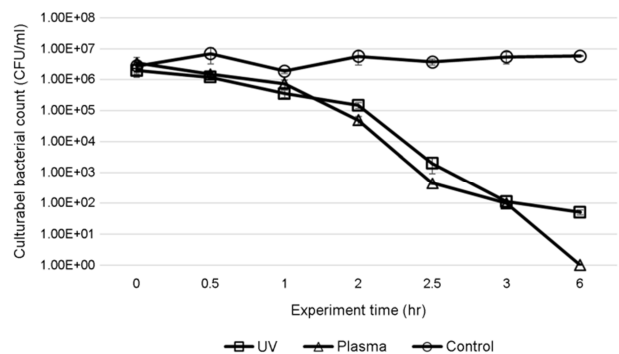


Fig. 4. Changes of bacterial count in SS medium by experiment time after artificial inoculation.

세균 수 변화를 측정된 결과, 세균 저감 효율은 99.5~99.9%로 두 장치 모두 유사한 수준이었다(Fig. 2; Fig. 3).

또한, 양식장에서 주로 발생하고 있는 에드워드스균의 원인체인 *Edwardsiella piscicida*를 살균처리된 해수에 인위 접종한 후 처리 시간별 *E. piscicida* 세균 수를 측정된 결과 처리시간별로 세균 수가 감소하여 UV 장치에서는 시험종료시점인 6시간째에 5.00 ×

10^1 CFU/ml로 나타났고, 플라즈마 장치에서는 3시간째에 1.00×10^2 CFU/ml, 6시간째 샘플에서는 검출되지 않았다. UV 장치와 플라즈마 장치의 해수 내 세균 수 저감 효율은 약 99.9% 이상으로 유사한 수준이었지만 플라즈마 장치에서 더 빠른 시간 안에 *E. piscicida*를 사멸하였다(Fig. 4).

UV 및 플라즈마 장치 모두 99.9%의 세균 저감 효율을 보이지만 일정 수량의 해수를 동일한 시간 동안 처리할 때, 플라즈마 장치가 UV 장치에 비해 더 빠른 시간 안에 세균을 사멸하는 것으로 나타났다. 이는 플라즈마의 경우 플라즈마 반응을 통해 UV 뿐만 아니라 강력한 산화물(OH·라디칼, 과산화수소, 오존 등)이 함께 생성되면서 같은 시간 동안 해수 내 세균에 더 많은 사멸을 유도하였기 때문인 것으로 사료된다.

UV 처리 방식은 해수 내 세균을 사멸하는 데 있어 충분한 살균 효과가 있다. 또한 화학적 부작용이 적어 안정적이고 초기 투자비 및 부속설비 비용이 저렴하고 설치 시 요구되는 공간이 작아 적용이 용이한 장점이 있어 음용수 살균 등에 널리 사용되고 있다. 그리고 환경적인 측면에서도 잔류 독성이 없고 2차적인 오염을 유발하지 않기 때문에 화학적인 처리방법의 대안으로 하·폐수 분야뿐만 아니라 수족관 및 양식장에서도 적용되고 있다.

Sharrer 등 (2005)은 연어 순환여과양식시스템에서 세균을 사멸시키기 위한 방법으로 UV 조사의 효과를 확인한 결과, UV(조사량: $1,821 \pm 86$ Mw·s/cm²) 조사 전 228 ± 114 CFU/100 ml의 대장균군(coliform bacteria)이 검출되었지만 UV를 70초 이상 조사한 후에는 1 CFU/100 ml 이하로 검출되어 99.9% 이상의 세균 저감 효과를 확인한 바 있다.

그리고 Lee 등 (2012)은 저온 수중 플라즈마 반응기 운전시간의 따른 해수 중의 세균 수 변동을 관찰하였고 그 결과 처리 30초 이후에는 일반 세균과 비브리오균이 검출되지 않은 것으로 보고하고 있으며, 해수 2.8 ℓ 규모에서 시험한 결과로, 그 효과가 빠르게 나타나는 것으로 사료된다.

일반적으로 총 수면적이 2,000 m²인 넙치양식장의 사육수 유입량은 약 200,000톤/day으로 대량의 해수가 필요하다(Son et al, 2006). 이 대량의 용수는 태풍, 적조 등의 자연재해 또는 연안 오염에 따라 수질변동 폭이 클 수 있으며 양식장 내부에서 사료찌꺼기, 양식생물의 배설물 등에 의한 유기물 오염에 따라 병원성 세균의 증식에 영향을 줄 수 있다. 그러므로 용수 관리를 통해 세균성 병원체를 조절·억제하여 관리하기 위해서는 양식장 내·외부 상황에 따른 살균방식 및 방법 선정이 매우 중요하다고 할 수 있다. 이러한 관점에서 보았을 때, UV 처리 방식을 적용하기 위해서는 대량의 용수를 유입·배출할 때에 충분한 접촉시간을 유지하는 것이 중요할 것이고 처리수의 탁도가 높으면 살균능력이 떨어질 수 있고 부유물과 바이오필름(biofilm) 속에 존재하는 미생물 등은 살균이 제대로 되지 않는 단점을 보완할 필요가 있다고 사료된다.

플라즈마 방식은 활성화 라디칼인 OH·라디칼, 과산화수소, 오

존, UV 등의 강력한 산화력이 점차 입증되면서 그 활용범위가 넓어지고 있고 생물학적 난분해성 유기물을 전환시키고 유기화합물을 빠르게 산화하고 탈취, 탈색 효과도 뛰어난 것으로 알려져 있어 최근 양식장 적용을 위한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

본 연구를 통해서 UV와 플라즈마 장치에 대한 세균 사멸 효과를 비교한 결과 일반적인 해수를 살균할 경우, 2가지 장치 모두 세균 사멸에 대한 탁월한 효과를 나타내었다. 하지만 장치 작동시간과 시험시간이 6시간으로, 단시간의 효과만을 확인한 것이기 때문에 현장규모에 적용하기 위해서는 장기적이고 더 큰 규모에서의 효과 검증이 필요할 것으로 사료된다. 또한, 수산양식현장의 경우 탁도와 유기물의 존재에 따라 한계가 있는 단일 UV 처리 방식보다는 지속적이고 일정한 효과를 유지할 수 있는 플라즈마 단일 처리 방식이나 현장에 적합한 복합적인 적용 방식이 더 효율적일 것으로 사료된다.

나아가 국내 수산양식분야에 있어 방역적인 측면에서도 활수산물 수송차량의 용수(배출수)와 수산생물전염병에 따른 방역조치 시 배출수 관리와 연안 오염방지를 위한 방안으로써도 적절한 용수 살균처리 방식이 적용되어야 할 것으로 사료되며, 이를 위해서는 살균장치 적용에 있어 양식생물에 대한 안전성과 효과 검증에 관한 연구도 반드시 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

- Frerichs GN, Tweedie A, Starkey WG, Richards RH. 2000. Temperature, pH and electrolyte sensitivity, and heat, UV and disinfectant inactivation of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) neuro-pathy nodavirus. *Aquaculture* 185: 13-24.
- Jang JJ, Kim JY. 2005. UV Irradiation for Water Disinfection. The Korean Institute of Illuminating and Electrical Installation Engineers 19: 14-21.
- Jung JK. 2009. Generation apparatus and method on the water plasma torch with high-density, Korean Patent, 10-0924649.
- Kim DS, Park YS. 2011. A Basic Study of Plasma Reactor of Dielectric Barrier Discharge for the Water Treatment. *Journal of the Environmental Sciences* 20: 623-630.
- Kim JW, Lee HN, Jee BY, Woo SH, Kim YJ, Lee MK. 2012. Note: Monitoring of the mortalities in the aquaculture farms of South Korea. *Journal of Fish Pathology* 25: 271-277.
- Koh HJ, Park SE, Cha HK, Chang DS, Koo JH. 2013. Coastal eutrophication caused by effluent from aquaculture ponds in Jeju. *Journal of the Korean Society of Marine Environment & Safety* 19: 315-326.
- Lee YS, Kim YB, Kim KS, Han HG. 2012. Disinfection Properties and Variation in the Ozone Concentration in Seawater Generated Using a Low-Temperature Dielectric Barrier Discharge Plasma

- Reactor. Journal of the Environmental Sciences 21: 1181-1186.
- Mok CK, Lee TH. 2011. Operational Properties and Microbial Inactivation Performance of Dielectric Barrier Discharge Plasma Treatment System. Food Engineering Progress 15: 398-403.
- Mok CK, Lee TH. 2012. Dielectric Barrier Discharge Plasma Inactivation of Escherichia coli. Food Engineering Progress 16: 33-39.
- Park HK, Jun LJ, Kim SM, Jeong JB. 2015. Monitoring of VHS and RSIVD in cultured Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) of Jeju in 2015. The Korean Society of Fisheries and Aquatic Science 49: 176-183.
- Roh HJ, Lim YJ, Kim AR, Kim NE, Kim YJ, Park NB, Hwang JY, Kwon MG, Kim DH. 2018. Distribution of Indicator Bacteria in Seawater off the Coast of Jeju Island. Korean J Fish Aquat Sci 51: 450-455.
- Sharrer MJ, Summerfelt ST, Bullock GL, Gleason LE, Taeuber J. 2005. Inactivation of bacteria using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system. Aquacultural Engineering, 33: 135-149.
- Shi J, Bian W, Yin X, 2009. Organic contaminants removal by the technique of pulsed high-voltage discharge in water. J Hazard Mater 171: 924-931.
- Shim JD, Hwang SD, Jang SY, Kim TW, Jeong JM. 2019. Monitoring of the mortalities in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) farms of Korea. Journal of Fish Pathology 32: 29-35.
- Son MH, Park MW, Kim EO, Lim HG, Kim DJ. 2006. Stock Method and Management. National Institute of Fisheries Science, Korea. *Paralichthys olivaceus* Aquaculture Standard Guidelines. Hae-In Publishing House., Korea, pp 5-6.