

PH-12

이산화염소(CIO₂)의 어류병원세균 살균효과

박경희 · 김흥운 · 정성주 · 오명주
여수대학교 수산생명의학과

서론

최근 사용이 증가되고있는 염소계 소독제의 적정사용법을 검토할 목적으로 이산화염소(CIO₂)를 이용하여 어류 병원세균의 유효살균농도 및 처리조건을 조사하였다.

재료 및 방법

실험에 사용된 4종의 어류병원세균은 *Edwardsiella tuda*, *Vibrio anguillaum*, *Streptococcus sp.* 및 조피볼락에서 분리한 *Staphylococcus sp.* 로서 이를 1.5% BHI broth 에서 25°C, 18시간배양하여 원심분리 후 얻어진 세균 pellet을 멸균 PBS로 균의 농도를 10⁹으로 맞추어 염소와 반응할 실험균액으로 사용하였다.

세균과의 반응 실험을 위한 염소희석액은 실험직전에 염소원액의 농도비로 세균과 반응하는 최종농도가 2.0ppm, 1.0ppm, 0.5ppm, 0.25ppm이 되도록 준비하였다. 반응 직전에 제작되어진 염소 희석액은 밀폐하여 수분내로 실험에 적용하였으며, 각각의 희석 농도별 반응액은 각각 10ml씩 따로 취하여 DPD colormetric method (American Public Health Association, 1989)법에 의하여 유효 염소 농도를 측정하므로써 실제 반응 농도를 확인하였다.

염소 희석액과 세균부유액 반응실험의 정지액을 결정하고자 유기물 종류에 따른 잔류 염소 농도의 변화를 확인하였다. 염소 희석액과 세균부유액과의 반응은 1:1의 정량비로 행하였으며, 반응 시간 경과 직후, 준비한 96well microplate의 각 well에 농도 및 반응 시간구 별로 2well씩 100ul를 각각 첨가하였다. 각 well 내에는 염소 반응직 후 첨가에 따라 염소의 반응을 정지시키고 동시에 각각의 반응액에 생존하는 세균이 있을 경우 그 증식이 가능하도록 하는 목적으로 100ul 씩의 1.5% BHI broth 배지를 첨가하여 두었다. 대조구는 염소 대신 멸균 PBS와 세균을 동량으로 반응한 액으로 하였다. 반응 종료 후, 접종이 완료된 96well microplate를 ELISA reader에 넣고 25°C에서 12시간동안 1시간 간격으로 600nm에서 O.D.를 측정하여 세균의 증식 패턴을 관찰하였다. 염소와 반응한 실험균의 실제 반응 생균수는 colony count법을 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

유기물 종류(MEM, FBS, BHI broth 및 PBS)에 따른 잔류 염소 농도의 변화를 확인한 결과, 1.5 % BHI broth를 반응 시켰을 경우 1분 이내로 반응능력이 소실되어짐을 확인되어져 본 실험의 반응 정지액으로 1.5% BHI broth를 적용하였다. 본 실험의 실제 처리수중 염소 농도는 1.973, 0.929, 0.471, 0.270mg/liter 로 측정되었다. 수중 유리 염소 농도 1.973, 0.929, 0.471 및 0.270ppm을 각각 30초, 1분, 3분, 5분 및 10분 처리하였을 때, *V. anguillarum* 및 *E. tarda*의 경우 0.471mg/liter 농도군 이상의 농도조건에서 30초에서 10분간 처리하였을 때 inactivation되어 무처리된 각각의 대조실험군의 세균은 지속적인 증식을 행함에도 불구하고 반응처리 1시간 이후에서 12시간 이후에 이르기까지 균의 증식이 전혀 행해지고 있지 않아, 모두 살균되었음을 확인시켜주었다. *Staphylococcus* sp. 및 *Streptococcus* sp.의 경우에서도 *V. anguillarum*, *E. tarda*처리 결과에서와 마찬가지로 0.471mg/liter 농도군 이상의 농도조건에서 모두 세균의 증식을 완벽하게 정지시키는 효과를 나타내었다. 0.270ppm 처리조건인 경우 *V. anguillarum*, *Staphylococcus* sp.는 처리 후 6시간이후부터 균의 증식이 확인되었으나, *Streptococcus* sp., *E. tarda*균에서는 살균능이 있는 것으로 확인되어졌다. 이상의 결과로 어류병원체균의 살균을 위한 유효염소처리조건은 0.5ppm 정도의 반응으로 효과적인 것으로 사료되었다.

참고문헌

- Ann Kristin Øye and Espen Rimstad. 2001. Inactivation of infectious salmon anaemia virus, viral haemorrhagic septicaemia virus and infectious pancreatic necrosis virus in water using UVC irradiation. DAO 48: 1-5.
- H. Sugita, J. Mita and Y. Deguchi. 1996. Effect of ozone treatment on amylases in seawater. Aquaculture 141: 77-82.
- Shingo Itoh, Mamoru Yoshimizu, Oh Mung-Joo, Shinichi Hyuuga, Kenichi Watanabe, Yutaka Hayakawa and Yoshio Ezura. 1996. Effects of Ozonized Seawater on Bacterial Population and Survival of Cultured Flounders(*Paralichthys olivaceus* and *Verasper moseri*). Suisanzoshoku 44(4): 457-463.
- Oh Myung-Joo. 1997. Effect of the UV Irradiation, Ozonization and Disinfectants on the Infectivity of the Retrovirus of salmonid (RVS). Bull. Yosue Nat'l Fish. Univ. 11(2): 131-137.
- 오명주 · 김홍윤 · 조현서. 1999. 오존처리법에 의한 양어용수 살균에 대하여 I. 해산어류 병원세균의 오존 감수성. J. Fish Pathol. 12(1): 42-48.