

오존처리에 따른 해수중 어류 병원체의 관리

오명주¹ · 조현서²¹여수대학교 어병학과, ²여수대학교 해양학과

오명주, 교수
 여수대학교 어병학과
 Tel & Fax) 061-659-3173
 E-mail) ohmj@yosu.ac.kr

1. 서 론

국내에서 발견되어 지고있는 해산어류 질병은 기생충성, 세균성, 바이러스성 등 병원성 생물의 전 범위에 기인되어 발생되며, 특히 심각한 질병으로서 보고되어지고 있는 종류로 기생충성 질병은 섬모충류의 일종인 백점충(*Ichthyophthirius multifiliis*)의 감염증인 백점병, 스키투티카(*Scuticostilicida*)충에 의한 스키투티카충증을 들 수 있으며, 세균성 질병으로는 에드워드균(*Edwardsiella tarda*)의 감염에 의한 에드워드병, 스타피로코카스속(*Staphylococcus* sp.)균의 감염에 의한 포도상구균감염증, 스트렙토코카스속(*Streptococcus* sp.)균의 감염에 의한 연쇄구균감염증, 비브리오속(*Vibrio* sp.)세균의 감염에 의한 비브리오병 등이 있고, 바이러스성 감염증으로는 해양 버어나바이러스(marine birnavirus) 감염에 의한 넙치 바이러스감염증, 허피스 바이러스(herpes virus)감염에 의한 넙치 상피증생증, 랩도 바이러스(rhabdo virus) 감염에 의한 넙치 랩도바이러스감염증, 이리도 바이러스(irido virus) 감염에 의한 림포시스티스증 및 이리도 바이러스감염증 등이 있다.

일반적으로 알려진 병원생물의 어류로의 감염은 수중에 존재하고 있던 병원체가 어류 체표면, 아가미 혹은 소화관 등의 수계에 직접 노출된 상피세포에 부착한 후, 어체 내에 침입이 성공한 병원체가 혈류를 이

용하여 정착이 가능한 체 내부 장기에 이동하여 정착함으로써 증식이 행해지고, 그에 따른 병소의 생성으로 성립 되어진다. 그 이후 체내의 확산에 의한 생리 기능의 악화를 초래하고 심할 경우 폐사에 이르게 된다. 수계에서 생활하는 어류는 다양한 병원체들과 함께 생태계를 구성하고 있어 감염에 의한 발병의 위험이 상존하고 있다. 수산양식장에서의 질병 발생은 그러한 병원체를 보유하고 있는 일부의 양식 어류로부터 기인되거나, 사육수 등의 서식 환경에 병원체가 유입되어 발생할 경우도 있고, 영양을 공급하기 위한 먹이로부터 오염에 의해 공급되어지기도 한다.

양식생물의 질병에 대한 방역법으로써 채란 친어의 병원체 보유의 유무 및 기존 병력의 파악과 같은 건강 상태의 조사를 위시한 종란의 소독, 사육 용수의 살균, 사육 시설의 소독을 실시하여 병원체의 침입을 막는 방법을 생각할 수 있는데, 그 중에서도 사육 용수의 관리는 가장 중요한 과제라고 할 수 있다. 오존 살균법은 양식 용수내의 질병 원인 미생물을 살균시키는 능력이 탁월할 뿐 아니라 병원체의 관리 능력이 뛰어나고 저 단가의 장점을 가지고 있다. 오존 살균법이란 무성 방전법 혹은 전해질 고분자막(양이온교환기)을 이용한 전해법으로 발생된 오존을 수중에 분산시켜 사육수중에 존재하는 미생물을 살균하는 방법이다. 일반적으로 질병 원인 병원체가 오존 처리로 인해

살균되어지는 메카니즘으로서 세균의 경우는 세포벽 및 세포막이 파괴 또는 분해되거나 효소 혹은 RNA, DNA가 손상을 입어 불활성화 되어지고, 바이러스의 경우 캡시드를 구성하는 단백질의 손상 혹은 핵산의 손상으로 불활성화 되어진다고 알려져 있다.

오존은 강력한 살균 작용이 있는 반면 인체나 어체에 대하여 독성을 나타내기 때문에 폭기 혹은 활성탄 처리 등으로 오존 혹은 오존과의 반응 물질을 제거한 후 사육 용수로서 사용하여야 할 필요가 있다. 해수 중에는 브롬 등 여러 종류의 미량 성분이 존재하여 이러한 성분과 반응한 오존은 옥시단트로 생성되어 비교적 장시간 수중에 잔류할 수 있으며, 사육 수중의 잔류 농도가 0.03 ppm 이상일 경우 어독성을 가진다는 보고가 있다. 해산어의 종묘생산 단계 중 사육 시스템내에 설치된 오존 처리조의 오존 농도를 유지시킬 수 있고 사육수와 반응후의 수중 잔류 옥시단트를 효과적으로 제거시킴으로써 사육 어체에 영향을 주지 않으며, 사육장내에서 연속적인 안정 농도 관리 및 감시 가능한 장치의 개발이 이루어 진다면 매우 효과적인 사육 용수 소독법으로 이용될 수 있으며, 나아가 어류 질병 방역법으로 보급할 수 있다.

본 연구에서는 어류 병원체로 분리 보고 되어진 몇 종류의 세균 및 바이러스를 대상으로 실험실 조건하에서 대량 배양시킨 후 농도별 오존 처리에 따른 살균 효과를 검정하고, 각 종 병원 세균 및 바이러스를 살균 또는 불활성화 시킬 수 있는 적정 농도를 검토하여, 오존 처리 시스템에서의 사육에 따른 기초적인 미생물 관리 및 어류의 안정적 사육 가능성을 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

1) 오존 처리 장치

오존 처리 장치는 공기압축기, 수분제거기, 유분제거기, 오존발생기, 접촉조 및 활성탄조로 구성하였다. 원료 가스는 압축 산소를 사용하지 않고 일반 공기를 가압하여 수분 및 유분제거장치를 통과 시킨 것을 사

용하였으며, 오존발생기는 무성 방전식 오존 발생 장치를 사용하였다.

2) 잔류 옥시단트(Total residual oxidant; TRO)의 안정성

연안 양식장에서 사용하는 사육 용수를 취수하여 실험실내에서 여과한 후 0.5 ppm 정도의 TRO 농도 범위로 노출후 0에서 120분간 시간 경과에 따른 해수 중 잔류 옥시단트 농도의 변화를 요소 적정법으로 측정하였다. 또한 어류 병원체의 오존 감수성 조사시 적정 노출 농도를 설정하는 연구 과정에서 사용되어지는 세균 배양용 배지(BHI, TSA), 바이러스 실험용 세포배양액(Eagle's minimal essential medium; MEM) 및 혈청(fetal bovine serum, FBS) 및 phosphate buffered saline (PBS)의 잔류 옥시단트농도에 미치는 영향을 검토하였다. 해수를 일정 시간 오존 처리한 후 일정 농도의 BHI, TSA, MEM, FBS와 반응시켜 시간 경과에 따른 잔류 옥시단트 농도의 변화를 측정하였다.

3) 잔류 옥시단트 농도의 측정

반응 실험구의 잔류 옥시단트 농도의 측정은 요소 적정법으로 행했다. 해수 시료 50 ml에 1 N의 황산을 가하여 pH를 4~5로 조절한 후 1% 요오드화칼륨 용액을 4~5ml 첨가한다. 그 후 1%의 전분 용액을 가하고 0.001 N의 티오황산나트륨용액으로 적정한다. 적정은 푸른색이 없어지는 시점까지 한다. 얻어진 적정량은 다음 식에 의하여 잔류 옥시단트 농도로 계산했다.

$$\text{잔류 옥시단트 농도 (ppm=mg/l)} = aF \times 1000 / X \times 0.024$$

a: 적정량(ml),

F: 0.001 N 티오황산나트륨용액 factor,

X: 해수시료(ml),

0.024: 0.001 N 티오황산나트륨용액

1 ml에 오존 0.024 mg 대응

4) 어류 병원 바이러스에 대한 오존 처리 효과

국내에서 분리되어진 해산어 유래 병원 바이러스인 HIRRV (Rhabdovirus olivaceus), FBV (Flounder birnav-

irus) 및 연어과 어류 유래 병원 바이러스인 IPNV (Infectious pancreatic necrosis virus), IHNV (Infectious hematopoietic necrosis virus), OMV (*Oncorhynchus masou virus*), CSV (chum salmon reovirus) 및 RVS (Retrovirus of salmonid)를 실험 대상 바이러스로 사용하였다. HIRRV는 EPC cell line을 사용하여 배양하였고, OMV는 RTG-2 cell line을, 그외 FBV, IPNV, IHNV, CSV 및 RVS는 CHSE-214 cell line을 사용하여 배양하였다.

각각의 배양 바이러스는 CPE가 발현된 후 바이러스 감염가가 최대에 달하는 시기에 수확하여 저속 원심으로 세포 부유물을 제거한 상등액을 고속 원심하여 얻은 바이러스 펠렛을 세척 후, PBS에 현탁하여 실험에 사용하였다. TRO 농도별 실험구에 대한 바이러스 반응은 실온에서 행하였으며 반응 시간 경과 후 동일 용량의 FBS를 처리하여 반응을 종료시키고, 바이러스 감염가의 변동을 마이크로타이터 플레이트법으로 행하여 무처리 반응구의 바이러스 감염가와 비교하여 바이러스 불활성화 처리 농도 및 처리 시간을 결정하였다.

5) 어류 병원 세균에 대한 오존 처리 효과

실험에 사용한 어류 병원 세균은 본 여수 인근 및 육상에서 양식중인 해산 어류에서 분리되어진 *Edwardsiella tadar*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio sp.*,와 *E. coli*를 실험 대상 세균으로 사용하였다. 병원 세균에 대한 오존처리수의 반응 정지액으로는 BHI (brain heart infusion) broth를 사용하였다. 세균을 대상으로한 TRO에 따른 제균 효과 실험은 다음과 같은 방법으로 행했다. 가. 세균을 BHI 액체배지에 접종하여 25℃에서 3일간 진탕배양시킨다. 나. 세균 배양액을 4000 rpm 20분간 원심분리하여 균체를 모은다 (PBS내). 다. 준비 균액의 균수를 평판희석법으로 확인하여 실험에 사용할 균수를 확정한다. 라. 실험 세균액과 오존 처리수 비를 1:99로 처리하고 시간별로 반응시킨 후, 반응수와 BHI 배지를 1:1의 비율로 처리하여 반응을 종료시킨다. 마. 평판희석법으로 각각의 실험 조건구내의 세균수를 판정한다.

6) 사육수계내 세균의 동태 파악 및 해양 세균의 오존 감수성 조사

해양 세균의 조성 및 세균수를 확인하여 그를 기반으로 오존 처리에 의한 효과 검정의 기초로 삼기 위하여 다음과 같은 실험을 행하였다. (1) 해수 채집 - 오존 처리에 따른 사육수조내의 제균 효과를 실험하기에 앞서 사육수로 사용할 여수 인근의 넓치 양식장의 1차 모래 여과 처리수 및 사육수조내의 사육수를 대상으로 수중의 세균수를 조사하고 어떠한 종류의 세균상을 나타내는가를 1차 조사하였다. 조사용 해수는 상법에 따라 무균적으로 채수하여 실험실로 이동하여 실험에 사용하였다. (2) 균수 채취 - 클린벤치내에서 샘플수를 상법에 따라 10배 희석(멸균 해수 이용)법으로 10, 100, 1000배 희석하여, 각 희석액을 해수 평판배지 (marine agar plates: 시판)에 100 ul 씩 분주하고, 콘라지로 완전히 도말한 후, 20 C에서 4일간 배양하여 각 샘플내에 나타난 콜로니를 형태별로 구분하고, 각각의 형태의 콜로니의 수를 계수하고, 각 콜로니의 균동정을 위하여 순수배양을 행했다. (3) 균 동정 - 각각의 순수 배양된 균주의 동정은 SIMIZU and EZURA 법(1985)에 준하여 실험한 결과를 토대로 속단위까지 행했다. 각각의 분리되어진 해양 세균을 대상으로 오존 처리수내 잔류 옥시던트 농도에 따른 제균 효과를 병원 세균의 조사 방법에 준하여 행하였다.

7) 사육 넓치에 대한 오존의 독성

파일럿 실험 수조내에 전장 8~10 cm가 되는 넓치 300미를 수용하여 오존 처리에 따른 사육조내 사육수의 잔류 오존에 의한 영향을 조사하였다. 실험 기간은 7일 2회로 행하였으며, 매일 1회 수조내 사육수, 오존 처리조내 수, 차콜 반응후 사육조내 유입수의 잔류 옥시던트 농도를 측정하고, 잔류 오존의 영향을 확인하기 위하여 사육 실험어를 매일 3미씩 무작위로 채집하여 아가미의 변성을 확인하였다. 실험 대조군으로는 오존을 처리하지 않고 일반 모래 여과조를 설치한 사육조의 넓치를 사용하였다. 실험 기간 중의 파일럿 오존 처리 시스템내의 잔류 옥시던트 농도는 표 1과

표 1. TRO concentration in the pilot culture system

사육수조 수	0.00~0.01 ppm
오존 처리조수	0.29~0.30 ppm
활성탄처리후 유입수	0.00~0.02 ppm
대조구 사육수	ND
대조구 여과조수	ND
대조구 유입수	ND

표 2. The culture conditions in pilot culture system

시스템내 총수량	4 ton
시스템내 물 회전율	5 liter/min
수질	
수온	18~20℃
DO	mean 5.54 ppm
COD	mean 2.30 ppm
NH ₄ -N	56~131 ug-at/l

같이 유지하였다. 또한 실험 기간중의 사육수의 관리는 표 2와 같이 유지 했다.

8) 파일럿 오존 처리 시스템에서의 세균의 제어 효과 실험 7에서와 같은 처리 사육조 및 무처리 대조구에서의 사육조, 여과조 및 오존 처리조 내의 세균수의 변동을 확인하였다. 세균의 분리, 배양 및 동정은 실험 6의 해양 세균 분리법에 준하여 행하였다.

4. 결과 및 고찰

오존 가스를 해수중에 분사하였을 경우 그 가스는 수계의 무기물질과 반응하여 옥시단트로 변화하며, 옥시단트가 해수중에 어느정도 잔류하는가를 측정하여 수치화 시킨 것이 잔류 옥시단트 농도이다. 해수중의 병원 미생물을 소독하는데 직접적으로 이용되어 지는 것은 이 잔류 옥시단트이다. 적정 농도의 잔류 옥시단트 농도에서 적정 시간동안 병원체가 노출되지므로서 병원체의 활성을 억제(살균) 시킬 수 있다. 해수중의 잔류 옥시단트 농도는 시간 및 수중의 유기물질의

양에 따라 그 농도가 변화되어 지므로 시간 경과에 따른 해수중에서의 옥시단트의 안정성을 확인할 필요가 있고, 잔류 옥시단트 농도에 미치는 유기물의 영향을 확인할 필요가 있다.

사육 원수의 오존 처리후의 시간 경과에 따른 잔류 옥시단트 안정성을 확인한 결과 표 3과 같이 나타났다.

3회에 걸친 조사 결과 해수에 오존을 처리 하였을 때, 해수 중의 잔류 옥시단트 농도의 변화는 실험 후 2시간이 경과 하도록 큰 변동의 폭을 나타내지 않았다. 유기물 및 염 부하량 및 종류에 따른 잔류 옥시단트 농도의 변화를 확인한 결과를 표 4에 나타내었다. 바이러스 및 세균의 오존 처리수 반응 후 바이러스 및 세균에는 영향을 주지 않고 반응 정지액으로 사용할 수 있는 방법을 찾기 위하여 MEM, FBS, BHI broth

표 3. Change of TRO concentrations in ozonized sea water

Test (No.)	Treatment (min.)*				
	0	30	60	90	120
1	0.34	0.30	0.30	0.28	0.25
2	0.52	0.50	0.50	0.45	0.41
3	0.20	0.21	0.18	0.18	0.20

*TRO concentration, ppm.

표 4. Effects of FBS, MEM, BHI and PBS on TRO concentration

Test	Treatment (min.)					
	0	1	5	10	20	30
FBS (0.1%)	0.54	0.30	0.25	0.20	ND	ND
FBS (0.5%)	0.54	ND**	ND	-	-	-
FBS (1.0%)	0.54	ND	ND	-	-	-
MEM (0.1%)	0.54	0.41	0.30	0.30	0.32	0.25
MEM (0.5%)	0.54	0.32	0.20	ND	-	-
MEM (1.0%)	0.54	0.20	ND	-	-	-
BHI (1.0%)	0.54	ND	ND	-	-	-
PBS (1.0%)	0.54	0.48	0.50	0.40	0.40	0.42

*TRO concentration, ppm.; ND: Not detected.

및 PBS를 농도 변환시켜 실험한 결과, 0.5%의 FBS를 처리한 뒤 1분 후부터 TRO 농도의 측정이 불가능하였으나, MEM 처리시는 그 감소 시간이 매우 길어 0.5%의 경우 10분이 소요되었고, PBS의 경우 동일 처리 농도 조건에서 매우 안정적이었다.

어류 병원 바이러스를 TRO 농도 0.1, 0.3, 0.5 mg/l 치가 되게 조정하여 15초, 30초, 1분, 3분, 5분, 7.5분, 10분간 반응시킨 후 FBS처리로 반응을 정지시키고 바이러스 감염가를 확인하여 본 결과 HIRRV, OMV 및 IHNV는 표 5에서 표 7과 같이 나타났다.

표 5. Effect of TRO concentrations on infectivity of HIRRV

Treat	Log TCID50/ml		
	0.1 ppm	0.3 ppm	0.5 ppm
0 (Control)	5.80	5.55	5.55
15 sec	5.55	4.80	3.30
30 sec	3.80	2.55	2.55
1 min	2.30	1.55	1.55
3 min	1.30	ND	ND
5 min	ND	ND	ND
7.5 min	ND	ND	ND
10 min	ND	ND	ND

ND; not detected.

표 6. Effect of TRO concentrations on infectivity of OMV

Treat	Log TCID50/ml		
	0.1 ppm	0.3 ppm	0.5 ppm
0 (Control)	5.05	4.80	5.05
15 sec	3.80	4.05	2.80
30 sec	3.05	2.80	1.30
1 min	1.80	1.30	ND
3 min	1.05	ND	ND
5 min	ND	ND	ND
7.5 min	ND	ND	ND
10 min	ND	ND	ND

ND; not detected.

표 7. Effect of TRO concentrations on infectivity of IHNV

Treat	Log TCID50/ml		
	0.1 ppm	0.3 ppm	0.5 ppm
0 (Control)	7.80	8.05	7.30
15 sec	4.55	3.30	3.80
30 sec	1.80	1.80	1.05
1 min	1.80	1.30	ND
3 min	ND	ND	ND
5 min	ND	ND	ND
7.5 min	ND	ND	ND
10 min	ND	ND	ND

ND; not detected.

RNA 바이러스이며 인벨롭을 가진 바이러스인 HRV의 경우 0.1 ppm에 3분 처리하였을 때 99.99% 이상의 바이러스 감염가의 저하를 나타내었으며, 0.3 ppm 및 0.5 ppm의 처리의 경우는 1분 노출에 의해 99.99% 이상의 감염가의 저하를 확인 할 수 있었다.

DNA 바이러스이고 인벨롭으로 덮혀져 있는 구조를 가지고 있는 OMV의 경우 0.1 ppm의 농도에서는 HIRRV와 유사한 3분의 노출에 의해 99.9%의 감염가의 실패를 나타내었으며, 0.3 ppm의 농도에서 1분만에 99.9%의 불활화가 확인 되었으나 0.5 ppm에서의 경우는 HRV보다는 이르게 30초의 반응구에서 부터 바이러스의 감염가의 검출이 불가능하였다.

HRV와 유사한 바이러스이면서 연어과 어류에서 분리 되어지는 IHNV의 경우 0.1 및 0.3 ppm구의 경우 반응 1분 후에, 그리고 0.5 ppm 구의 경우 30초 반응에 의하여 99.99% 이상의 불활성화 효과를 나타내었다.

그외 실험에 사용한 RNA 바이러스이고 인벨롭의 구조를 가지고 있지 않은 FBV, CSV 및 IPNV와 RNA 바이러스이며 인벨롭의 구조를 가지고 있는 RVS의 오존 처리에 따른 불활성 농도 및 그 처리 시간을 정리하여 표 8에 나타내었다. HRV, OMV 및 IHNV의 결과에 비하여 FBV, RVS, CSV 및 IPNV의 경우는 바이러스 불활화에 필요로하는 오존의 농도별 반응시간이 길게 필요하여 0.1 ppm의 경우 5분이 필요하고,

표 8. Ozon treated condition for the 99.99% inactivation of FBV, RVS, CSV and IPNV

Virus	TRO		
	0.1 ppm	0.3 ppm	0.5 ppm
FBV	5 min	3 min	3 min
RVS	5 min	3 min	1 min
CSV	5 min	3 min	1 min
IPNV	5 min	5 min	3 min

0.3 ppm의 경우 3분에서 5분의 노출 시간이, 0.5 ppm의 경우에도 1분에서 3분의 반응 시간이 필요한 것으로 나타났다.

병원 세균 및 *E. coli*를 대상으로 해수중 잔류 옥시단트가 0.1, 및 0.5 ppm되게 조정하여 15초, 30초, 1분, 2.5분, 5분간 반응시켰을 때의 해당 세균이 99.9% 이상 제거되는 최소 시간을 표 9에 나타내었다. 연중 넘치등 유용 해산어 및 담수어에 널리 감염되어 심한 피해를 주고 있는 *E. tarda*의 경우 0.1 ppm의 처리 농도에서 5분 처리 및 0.5 ppm에서 1분간의 처리에 의해 99.9%의 제거 효과를 나타내었으며, *Aeromonas hydrophila* 균의 경우도 동일한 정도의 처리가 요구되어 지는것으로 나타나 것에 비하여, *Vibrio* 균의 경우는 0.1과 0.5 ppm의 처리 농도구에서 동일하게 2분 30초의 반응 결과가 도출되었다.

이상의 결과로 부터 일반적인 어류 병원 세균 및 병원 바이러스의 불활성화를 위해 요구되어지는 오존 처리 해수의 잔류 옥시단트 농도 및 처리 시간은 수중 옥시단트 농도가 0.1 ppm를 유지할 경우는 적어도

표 9. Ozon treated condition for the 99.9% reduction of fish pathogenic bacteria

Bacteria	TRO	
	0.1 ppm	0.5 ppm
<i>Edwardsiella tada</i>	5 min	1 min
<i>Aeromonas hydrophila</i>	5 min	1 min
<i>Vibrio</i> sp.	2.5 min	2.5 min
<i>E. coli</i>	2.5 min	1 min

5분의 반응 시간이 필요하며, 수중 옥시단트 농도가 0.3 ppm의 경우 또한 5분의 반응 시간이 필요함을 알 수 있으며, 수중의 잔류 옥시단트 농도를 0.5 ppm으로 유지 시킬 수 있는 경우에는 3분간의 반응 조건이 성립되어야 됨을 알 수 있었다. 실험 사육에 사용할 1차 모래 여과 처리수의 세균상을 조사한 결과 총 세균수는 약 1.05×10^4 cells/ml 이었고, 동 모래여과수로 사육을 행하고 있는 넙치 양식장 사육수조내의 총 세균수는 약 2.12×10^5 cells/ml 이었으며, 세균의 종류는 *Alteromonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Moraxella* sp., *Vibrio* sp., *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp. 등 이었다.

오존 처리수를 0.1 및 0.5 ppm으로 조정하여 0, 15초, 30초, 1분, 2.5분, 5분 동안 처리한 *Alteromonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp.의 세균 효과를 표 10에서 표 12에 나타내었다.

일반적인 해양 세균을 대상으로 0.1 및 0.5 ppm의 TRO 조건에서 99%에서 99.9% 이상의 세균 효과를 노리기 위해서 필요로 하는 처리시간은 최소 3분에서 5분이 필요한 것으로 판단되어 졌으며, 이러한 반응 조건은 병원 세균 및 바이러스의 결과와 큰 차이는 없었다.

오존 처리에 따라 해수 중에 발생되어지는 옥시단트는 그 자체가 일정 농도를 유지하였을 경우 처리 시간에 따라 수계내 어병원인 생물을 제거할 수 있는

표 10. Effects of TRO concentrations on *Alteromonas* sp.

Treat	TRO*	
	0.13 ppm	0.57 ppm
0 (Control)	6.9×10^8	8.0×10^8
15 sec	5.6×10^8	7.1×10^8
30 sec	3.8×10^8	6.2×10^7
1 min	3.1×10^7	1.8×10^7
2.5 min	1.3×10^7	5.1×10^6
5 min	5.7×10^6	2.9×10^5

*CFU/ml.

표 11. Effects of TRO concentrations on *Pseudomonas* sp.

Treat	TRO*	
	0.15 ppm	0.52 ppm
0 (Control)	3.2×10^8 *	2.0×10^8
15 sec	9.1×10^7	3.3×10^8
30 sec	9.2×10^7	2.8×10^7
1 min	5.4×10^7	1.2×10^7
2.5 min	6.2×10^6	7.2×10^6
5 min	1.3×10^6	3.2×10^5

*CFU/ml.

표 12. Effects of TRO concentrations on *Flavobacterium* sp.

Treat	TRO*	
	0.10 ppm	0.52 ppm
0 (Control)	7.1×10^6 *	1.2×10^7
15 sec	4.5×10^6	6.3×10^6
30 sec	5.2×10^6	5.4×10^6
1 min	6.9×10^5	2.2×10^5
2.5 min	6.1×10^5	7.0×10^4
5 min	7.3×10^4	1.4×10^4

*CFU/ml.

효과를 가지고 있으나 사육 수계 내에 적정 농도 이상이 함유되어 있을 경우 어체에의 노출에 의해 독성을 유발할 수 있으므로, 오존 장치의 적용을 위한 종묘 생산시스템 내의 오존 처리에 의한 살균조 및 옥시단트 제거 장치를 설치하게 되는데 이러한 경우 처리조의 살균 유효 농도의 유지 및 제거장치를 통과한 처리수의 어체 안정 농도의 유지 여부의 확인이 필수적이다. 본 실험에서는 오존 처리조의 잔류 옥시단트 농도를 0.3 ppm으로 조정하여 처리조내에서의 반응

시간을 10분으로 조정하였다. 이러한 조건에서 본 연구 파일럿의 활성탄 반응 후 수조내 유입수의 잔류 오존을 측정해 본 결과 실험 기간중 0~0.02 ppm을 유지하였다. 또한 수조수내의 TRO 범위는 0~0.01 ppm을 나타내었다. 두 번의 사육 실험 기간 동안 폐사미수는 오존 실험구 5/300미 이었고, 대조구 38/250미 이었다. 실험 기간중의 사망어의 현미경 관찰에서는 아가미 조직의 이상은 확인되지 않았으며, 본 파일럿 조건에서는 사육 어류에 이상을 초래할 만큼의 TRO 잔류가 인정되지 않았다. 하지만 Gary 등(1979)의 무지개송어에 대한 오존 처리에 따른 독성 연구와 같이 저농도의 TRO (0.01~0.05 ppm) 범위에서의 장기간의 사육 조건에서의 넙치에 대한 농도별 독성을 확인할 필요가 있다.

사육수내의 세균의 변동을 확인하기 위하여 7일간, 2회의 실험 사육을 행했다. 개시일과 종료일의 사육수 조내의 세균수를 비교해보면, 대조구의 경우 분리 세균수 (CFUs/ml)가 약 200,000에서 760,000으로 안정된 수치를 유지하지 못하고 있음에 비해, 오존 처리 실험구의 경우 개시일 about 210,000에 비하여 7일 처리 사육수에서는 약 13,000으로 90% 이상의 세균이 이루어지고 있음을 확인할 수 있었다. 오존 처리조 및 활성탄조를 통과한 해수중의 세균수 검사 결과는 실험 개시 1일 이후부터 종료일 까지 모두 0 이었다.

이상의 결과에서 오존 처리에 따른 사육수내 병원체의 관리에 매우 효과적이었다. 앞으로의 연구에서는 인위적으로 병을 발현시킨 질병 감염어를 사육하였을 때의 수계내의 병원체의 제거와 환경계내 병원체의 감소 원인에 따른 감염 어체내의 발병의 지연 및 치료에 관한 검토가 필요하다. ㉞