

유입수의 기계적 여과 후 자외선 살균에 의한 넙치 치어의 질병 저감 사례 연구

강봉조[†] · 장영환 · 전봉근 · 박범희* · 신동혁*

제주특별자치도 해양수산연구원, *명선해양산업(주)

Effect of UV disinfection following mechanical filtration for influent seawater on decrease in disease outbreak of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*)

Bong-Jo Kang[†], Yeoung Hwan Jang, Bong Kun Jhon,
Byum Hee Park* and Dong Hyuk Shin*

Ocean and Fisheries Research Institute, Jeju Special Self-Governing Province, Jeju 63629, KOREA
*MyungSun Co. Ltd., Seoul 07299, KOREA

This study was performed to determine the disinfection efficacy of influent seawater by application of mechanical filtration and UV disinfection system (MFUVDS) in decreasing disease outbreak of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Bacterial disinfection rate of influent seawater following the MFUVDS application was 99.27%. Mortalities of the juvenile reared for 4 months were 20~30% lower than those of the control (25.8%~34.9%).

Key words: Olive flounder, Mechanical filtration, UV disinfection, Disinfection rate, Mortality

넙치는 국내 양식어류 중 가장 많이 생산되는 품종으로 1980년대 중반부터 양식이 이루어지기 시작한 이래 많은 기술개발이 이루어졌다. 그러나 최근 질병 발생증가로 인해 많은 피해가 발생하고 있는 실정이다. 양식장에서의 질병 발생은 병원체 보유 어류로 부터의 감염, 사육환경 내 존재하는 병원체 유입에 의한 감염, 그리고 먹이로 부터의 감염등이 원인일 수 있다(Muroga,1995)

국내외적으로 어류의 병원체 살균 및 유입수 등 양식용수 살균 방식으로 항생제 및 이산화염소 등 화합물, 오존, 여과, 열, 전기분해방식, 자외선등

을 대상으로 많은 연구들이 이루어져 있다(Whipple and Rohovec, 1994; Pascho *et al.*, 1995; Chang *et al.*, 1998; Liltved and Cripps, 1999; Munro *et al.*, 1999; Frerichs *et al.*, 2000; Kang *et al.*, 1999; Park *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2013; Oh *et al.*, 1999)

이 중 자외선 살균처리법은 바이러스, 세균, 기생충 등 미생물의 DNA 또는 RNA 복제를 저해시켜 미생물을 사멸 또는 불활성화 시키는데 효과적인 것으로 알려져 있다(Liltved *et al.* 1995, 2006; Hedrick *et al.* 2007). 자외선 살균법은 다른 살균법(오존, 전기분해 등)과 달리 살균이후 후처리 없이 용수로 사용이 가능하여 양식용수 살균법으로서 세계적으로 많이 사용되는 일반적인 기술이다. 자외선 광선의 강도는 mW/cm² 단위로 나타내고, 자

[†]Corresponding author: Bong-Jo Kang
Tel: +82-64-710-8513, Fax: +82-64-710-8489
E-mail: kbc1922@korea.kr

외선의 조사량은 mWs/cm^2 (또는 mJ/cm^2) 단위로 표현한다. 미생물을 사멸 또는 불활성화를 위한 자외선조사량은 살균 대상 미생물의 종류와 살균효율에 따라 $2 mJ/cm^2$ 부터 $230 mJ/cm^2$ 이상까지로 광범위하게 나타나고 있다(Wedemeyer, 1996).

최근 연구에 의하면 자외선에 의한 *Kudoa* 속 점액포자충류에 대한 감염예방 효과도 보고되고 있는데, Cobocroft *et al.* (2013)은 $44 mJ/cm^2$ 이상의 자외선조사량에서 가시고기류(*Latris lineata*)의 *Kudoa neurophila* 감염 예방효과를 보고하였고, Shirakashi *et al.* (2014) 은 자외선에 의한 *Kudoa yasunagai* 와 *Kudoa amamiensis* 감염 예방 효과를 보고하기도 하였다.

반면, 자외선조사와 오존조사 등의 살균효과는 용수의 탁도와 용수 내 입자성 유기물, 고형물질뿐만 아니라 무기물의 함유량에 의해서도 영향을 받을 수 있다(Hess-Erga *et al.*, 2008; Perrins *et al.*, 2006). 따라서 양식장 유입수에 대한 효과적인 살균처리를 위해서는 전단계에 물리적인 여과 처리도 필요할 수 있다.

현재 제주를 비롯한 국내 넙치양식장의 질병발생원인 중 많은 부분이 유입수로부터의 어류병원체 유입으로 추정되고 있으며, 이러한 질병 발생의 많은 부분이 치어 입식 후 약 3~4개월 기간 동안인 중간육성단계에서 발생하는 것으로 추정되고 있다.

따라서 본 연구는 국내 넙치양식장의 치어 중간단계의 폐사율 저감을 위한 대책연구의 일환으로 양식장 유입수 여과 및 자외선 살균처리모형을 구성하고 이에 대한 실증 연구를 통한 질병저감 사례를 보고하고자 하였다.

재료 및 방법

유입수 여과-자외선 살균시스템 설치

여과-자외선 살균시스템설치는 드럼필터여과기, 자외선살균기, FRP수조가 연계되도록 설치하였다(Fig. 1). 드럼필터 (Model: HDF802-1G, Hydrotech, Sweden)는 $25 \mu m$ 의 필터판넬을 채용하고 자동역세척이 가능하도록 설비하였으며, 자외선살균기 (Model: MR1-320PP, Ultraaqua, Denmark)는 저압고출력아말감램프 (low pressure amalgam UV

lamp)를 채용한 배관식 반응기형태를 도입하였다. 드럼필터여과기 처리용량은 $108 m^3/hr$ ($10 mg TSS/L$ 이내의 경우), 자외선 살균기의 처리용량은 $40 m^3/hr$ (조사량 $40mW/cm^2$ 의 경우)이었다. 실질적으로 사육시험 중에 사용한 유입수의 용량은 수조별로 $3.1m^3/hr$ 내외로 조정하여 실험하였다. 따라서 자외선살균기의 실제 자외선살균강도는 $94.1mJ/cm^2$ 로(UVT10= 평균 70%기준)로 계산되었다. 시험에 사용한 수조는 $2.5m \times 2.5m$ 규격의 사각 FRP 수조를 이용하였다.

시험어 및 시험기간

시험어는 약 $5.79 \pm 1.48g$ 넙치 치어를 한 수조에 1,300마리씩 입식하여 최초 입식 밀도는 약 208마리/ m^3 가 되도록 하였으며, 시험구와 대조구는 각각 3개 수조씩 설치하였다. 시험어는 입식전에 넙치의 주요 질병에 대하여 시료 검사 후 질병이 없는 것으로 확인된 종묘장의 치어를 입식하였다. 치어 입식 후 4개월 동안 사육하면서 폐사등을 관찰하였으며, 4개월 사육 후 시험어의 평균 체중은 약 100 g내외였으며, 시험기간 동안의 사육 수온은 약 $19 \sim 22^\circ C$ 로 유지 하였다.

여과-자외선 살균시스템의 살균효과 분석

여과-자외선 살균시스템 설치에 따른 살균 효과 시험을 위해 여과 및 UV살균 처리 전 과 후의 해수에 대한 세균수를 측정하였다. 세균수 측정은 무균처리 된 0.45 membrane filter(Pall corporation, Mexico)를 이용하여 해수를 각각 0.1mL, 1mL, 10mL, 100mL 여과 후 NaCl이 첨가된 BHIA(BD, USA), TCBS agar 평판에 부착 하여 $30 \pm 0.5^\circ C$ 에서 24시간 배양 후 형성된 colony를 계수하였고, 30~300개의 colony가 형성된 평판을 유효한 것으로 판단하고 이를 mL당 colony수로 환산하여 결과를 비교하였다. BHIA 평판의 colony는 총세균수로 판단하였고, TCBS agar 평판의 colony는 비브리오속 세균수로 판단하여 비교하였다.

여과-자외선 살균 시스템의 부유물질 제거 효능 분석

여과 효능 분석은 여과-자외선 살균시스템 처리

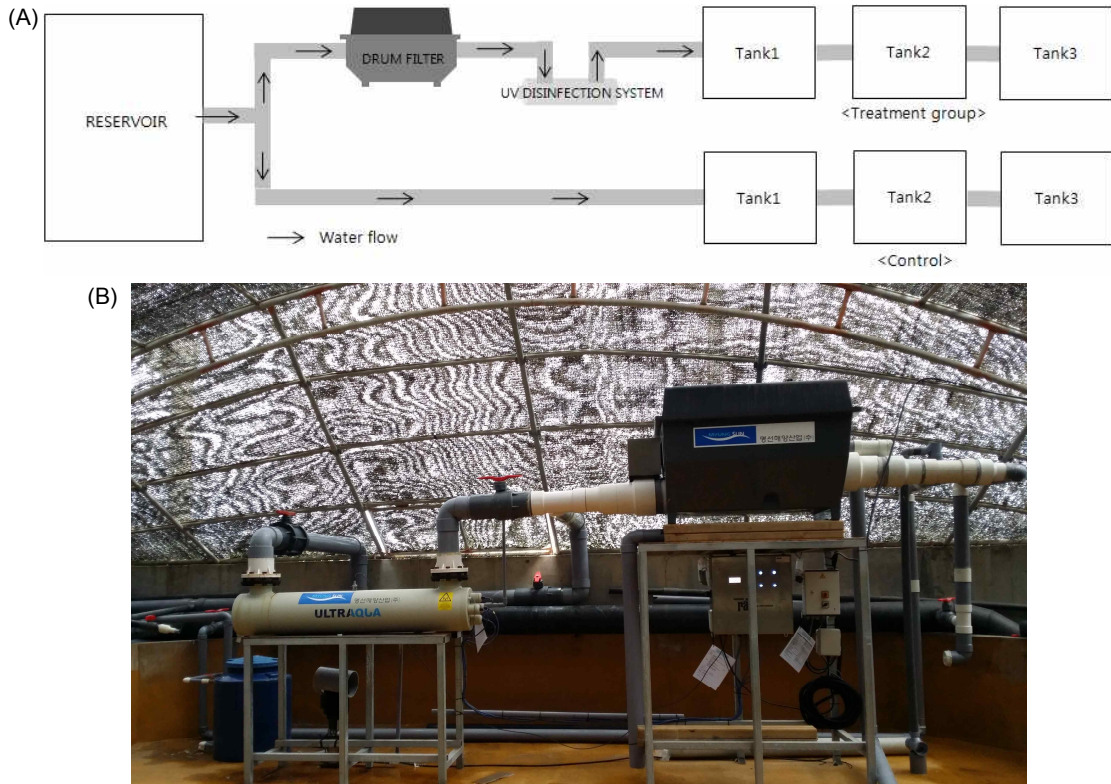


Fig. 1. Schematic illustration of filtration-UV disinfection system (A) and installing scene (B).

전후의 해수중 부유물질 농도 측정을 통해 부유물질 저감 정도를 분석하였다. 부유물질 농도는 GF/C filter(Whatman, England)를 이용하여 각각의 해수 1L를 여과 후 건조하고 여과 전후의 filter무게로 부유물질의 농도를 측정하여 비교 하였다.

여과-자외선 살균 시스템의 질병 저감 효과 분석

여과-자외선 살균시스템 설치에 따른 넙치 치어의 질병저감효과 분석은 시험어 입식 후 4개월 동안 사육하면서 누적 폐사 및 폐사원인을 분석하였다. 폐사원인 분석을 위한 질병검사는 폐사개체와 빈사어를 모두 채집하여 이 중 부패등으로 인해 질병 검사가 불가능한 시료를 제외한 모든 개체를 대상으로 외부증상별 의심 질병에 대해 질병검사를 실시하였다. 세균성 질병은 연쇄구균병, 에드워드병, 비브리오행균, 활주세균병을 대상으로 하였으며, 체표병변 조직 및 어류의 신장, 비방등을 BHIA (BD, USA), TCBS agar(BD, USA), SS agar(BD,

USA), Marine agar 2216(BD, USA)에 도말하여 30±0.5℃에서 배양 후 및 순수분리 하여 현미경 검경과 생화학적 특성 검사를 통해 속 수준에서 동정하여 진단하였다. 기생충성질병은 아가미 새엽과 체표의 병변 부위를 슬라이드글라스에 채취하여 광학현미경하에서 형태학적 관찰을 통해 백집병, 스퀴티카병, 익티오보도병에 대하여 진단하였다. 바이러스성질병은 바이러스성출혈성패혈증(VHS)과 이리도바이러스병(RSIVD)에 대하여 검사하였으며 진단방법 국내 수산생물전염병진단에 이용되는 PCR방법을 이용하였으며, 이때 사용된 PCR 조건과 primer set은 Table 1과 같다.

결과 및 고찰

여과-자외선 살균시스템의 해수 내 살균효과

여과-자외선 살균시스템의 해수 내 세균에 대한 살균효과 분석을 위해 여과-자외선 살균시스템 처

Table 1. Oligonucleotide primers used in PCR amplification

Pathogens ¹⁾	Primer sequence	PCR condition	Product size(bp)
VHSV	5'-CGGGGGCAATGACGACTACA-3'	94°C (30sec)- 58°C (60min)- 72°C (1min)	568
RSIV	5'-CCGCCTGTGCCTTTTCTGGA-3'	30 cycles	

¹⁾VHSV, viral hemorrhagic septicaemia virus; RSIV, red sea bream iridovirus.

Table 2. The number of bacteria (cfu/mL) in intake seawater before and after the treatment by filtration-UV disinfection system

Number of bacteria	Before treatment by filtration-UV disinfection	After treatment by filtration-UV disinfection	Efficiency of disinfection (%)
Number of bacteria in BHIA	5.5×10cfu/mL	0.4cfu/mL	99.27
Number of bacteria in TCBS Agar	3.1×10cfu/mL	ND ¹⁾	100 ²⁾

¹⁾Non-detection in filtered 100mL of sample.

²⁾The 100% efficiency means that the bacteria in 100mL of sample are not detected after the filtration-UV disinfection system treatment.

리전후의 해수 내 세균수를 비교분석하였다. 세균 수 측정결과 유입수의 경우는 BHIA 및 TCBS agar 평판에서 각각 5.5×10cfu/mL, 3.1×10cfu/mL이었고, 여과-자외선 살균시스템 처리 후 세균수는 BHIA 평판에서는 0.4cfu/mL로 확인되어 99.27%의 살균 효율을 나타내었고, TCBS agar 평판에서는 100mL 여과 용량까지는 세균이 검출되지 않았다. 통상적으로 비브리오패균 세균 검출에 TCBS agar를 사용하는 것을 감안할 때 비브리오패균에 대한 살균효과가 보다 높은 것으로 사료된다(Table 2).

여과-자외선 살균시스템의 여과 효능 분석

여과-자외선살균시스템 처리 전후의 해수 중 부유물질 농도 측정을 통해 여과 효능을 분석하였다. 부유물질 농도 측정은 2회에 걸쳐 시험하였으며, 여과-자외선살균시스템 처리 전 후 해수 중 부유물질 농도는 1차 시험에서는 0.65mg/L에서 0.49mg/L로 감소하였고 2차 시험에서는 0.26mg/L에서 0.25mg/L로 감소하였다(Table 3). 1차 및 2차 시험결과에서 나타난 부유물질의 농도 저감효과는 수치상으로는 큰 변화를 보이지 않은 것으로 보일 수 있으나 현재 넘치 양식장의 유입수 용량은 수조면적 약 3,000m²의 경우 일반적으로 분당 약 40m³내외의 해수를 사용하는 것으로 알려져 있어 누적되는 총

Table 3. The suspended solids concentration(mg/L) in intake seawater before and after the treatment by filtration-UV disinfection system

Test	Before treatment by filtration-UV disinfection	After treatment by filtration-UV disinfection
1st	0.65mg/L	0.49mg/L
2nd	0.26mg/L	0.25mg/L

량으로 환산할 경우에는 높은 부유물질 저감효과가 있을 것으로 사료된다.

여과-자외선 살균시스템의 질병 저감효과

여과-자외선 살균시스템 설치 시험구와 대조구에 넘치 치어 입식 후 4개월 동안 사육하면서 누적 폐사 및 질병 발생동향을 분석하였다. 누적폐사율은 대조구의 경우 25.8%~34.9%이었고, 여과-자외선살균시스템 처리군 수조의 경우는 1.2~5.3%이었다. 시험결과 여과-자외선살균시스템 처리 수조의 경우 대조군 수조에 비해 약 20~30% 정도의 폐사율 저감 효과가 있는 것으로 확인되었다(Table 4).

질병 발생 동향 조사결과 대조군과 여과-자외선 살균시스템 시험군에서 모두 스쿠티카병으로 인

Table 4. The mortality of fish in tanks on treatment group (filtration-UV disinfection system) and control during 4 months

	Control			Treatment		
	Tank 1	Tank 2	Tank 3	Tank 1	Tank 2	Tank 3
Number of fish in stock	1,300	1,300	1,300	1,300	1,300	1,300
Number of accumulated dead fish	336	397	453	16	69	55
Mortality rate (%)	25.8	30.5	34.9	1.2	5.3	4.2
Average Cumulative mortality (%)	29.8 ± 3.14 ^a			3.6 ± 1.2 ^b		

Values (means of triplicates ± SE) in the same column sharing the same superscript letter are not significantly different ($P>0.05$).

한 폐사가 가장 많은 것으로 조사되었으며, 그 외 기생충성질병으로는 익티오보도병이 대조군의 경우 1개 수조에서 발생이 확인되었고, 백점병은 전체 시험구에서 확인되지 않았다. 세균성 질병 발생 조사에서는 비브리오병은 대조군의 경우 전체 수조에서 소량 발생이 확인되었고 여과-자외선살균 시스템 시험군의 경우에는 1개 수조에서 발생하였다. 연쇄구균병은 대조군중 1개 수조에서 118마리가 발생하여 해당 시험수조의 경우에는 스킨카병 다음으로 많은 폐사를 일으켰으나, 여과-자외선살균시스템 시험군 수조에서는 연쇄구균병 발생은 확인되지 않았다. 에드워드병은 전 시험군에서 발생이 없었다. 또한 바이러스성출혈성패혈증(VHS)과 참돔이리도바이러스병(RSIVD) 2종에 대한 바이러스성질병은 전체적으로 발생하지 않았다. 바이러스성 질병이 발생이 확인되지 않은 것은 사육

기간 동안 수온이 19~22°C로 유지됨에 따라 저수온기 주로 발생하는 VHS 및 고수온기 주로 발생이 알려진 RSIVD 발병 사육 수온이 아닌 것과도 연관이 있을 것으로 사료된다(Table 5).

시험결과 여과-자외선살균시스템 효과로 스킨카병 저감효과가 가장 높게 나타났는데 이는 스킨카충등 기생충성 질병 원인체가 빨등의 지꺼기나 모래 또는 기타 부유물질등과 함께 해수 취수시 유입되는 것으로 판단되는데 여과-살균시스템에 의해 이러한 찌꺼기등이 제거된 것에 기인하는 것으로 사료된다..

본 사육실험을 통해 넙치 치어의 생존율 향상에 효과를 보인 유입수처리 시스템의 적용수준은 25 µm의 전처리여과와 94.1mJ/cm²의 UV조사강도였다. 이는 Cobcroft *et al.* (2013)가 가시고기류(*Lariss lineata*)를 대상으로 적용한 UV조사강도 44 mJ/

Table 5. The pattern of disease outbreak in tanks on Treatment group (filtration-UV disinfection system) and control

Diseases ¹⁾	Control			Treatment		
	Tank 1	Tank 2	Tank 3	Tank 1	Tank 2	Tank 3
Infection of scuticociliate	253	202	375	14	40	47
Infection of <i>Ichthyobodo</i> sp.	3	-	-	-	-	-
Infection of <i>Cryptocaryon</i> sp.	-	-	-	-	-	-
Infection of <i>Vibrio</i> sp.	2	8	5	0	2	0
Infection of gliding bacteria	32	32	29	0	3	0
Infection of <i>Edwardsiella</i> sp.	0	0	0	0	0	0
Infection of <i>Streptococcus</i> sp.	0	118	0	0	0	0
VHS	-	-	-	-	-	-
RSIVD	-	-	-	-	-	-
Not detection of pathogens	23	30	33	1	24	8
Not test	23	7	11	1	0	0
Sum	336	397	453	16	69	55

¹⁾VHS, Viral hemorrhagic septicaemia; RSIVD, red sea bream iridovirus disease.

cm² 와 *Kudoa sp.* 감염 저감에 효과를 보인 Shirakashi *et al.* (2014) 의 68mJ/cm² 보다 높은 수준이다. 여과를 더 세밀하게 처리하고 UV조사강도를 높일수록 유입수의 위생적인 효과는 더 높을 것으로 추정된다. 또한 이러한 질병저감효과가 단순 유입수의 물리적여과와 자외선 살균에 의한 부분만이 아니라 수조의 재질을 FRP로 제작 한 부분도 영향을 미쳤을 것으로 판단된다.

이 연구결과 여과-자외선 살균시스템이 넙치 중간육성단계의 고질적인 질병으로 알려진 스킨카병 등 질병 저감효과가 인정됨에 따라 실제 양식장에 치어 전용의 사육시스템 도입 시에는 양식장에 대한 여러 가지 여건등 변동사항이 있을 수 있겠지만 넙치 중간육성단계의 폐사율 저감대책 일환으로 도입 시 효과가 높을 것으로 사료된다.

이 연구의 의의는 이러한 여과-자외선 살균시스템과 FRP수조 연계를 통해 치어 전용의 사육시스템 도입효과를 소개하고자 하였으며, 이를 토대로 유입수로부터 기인하는 질병 저감을 위한 넙치 양식장의 위생관리 방안에 대한 여러 가지 방식의 살균방법 도입 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 기계적 여과 후 자외선 살균처리한 양식장 유입수의 살균효율과 넙치 치어의 질병저감 효과를 평가하였다. 유입해수의 살균효율은 99.27%로 조사되었고, 기계적 여과 및 UV 살균처리 해수로 4개월 동안 사육한 넙치 치어는 대조구에 비하여 20~30%의 폐사율 저감효과가 관찰되었다.

감사의 글

이 논문은 한국해양과학기술진흥원 수산실용화 기술개발과제(2012100802)의 연구비에 의해 수행되었습니다.

References

Chang, P.S., Chen, L.J. and Wang, Y.C.: The effect of

ultraviolet irradiation, heat, pH, ozone, salinity and chemical disinfectants on the infectivity of white spot syndrome baculovirus. *Aquaculture*, 166: 1-17, 1998.

Cobcroft, J.M., and Battaglione, S.C.: Ultraviolet irradiation is an effective alternative to ozonation as a sea water treatment to prevent *Kudoa neurophila* (Myxozoa: Myxosporidia) infection of striped trumpeter, *Lateolabrax lineatus* (Forster). *J. Fish. Dis.*, 36: 57-65, 2013.

Frerichs, G.N., Tweedie, A., Starkey, W.G. and Richards, R.H.: Temperature, pH and electrolyte sensitivity, and heat, UV and disinfectant inactivation of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) neuropathy nodavirus. *Aquaculture*, 185: 13-24, 2000.

Hedrick, R.P., Petri, B., McDowell, T.S., Mukkatira, K. and Sealey, L.J.: Evaluation of a range of doses of ultraviolet irradiation to inactivate waterborne actinospore stages of *Myxobolus cerebralis*. *Dis. Aquat. Org.*, 74: 113-118, 2007.

Hess-Erga, O.-K., Attramadal, K.J.K. and Vadstein, O.: Biotic and abiotic particles protect marine heterotrophic bacteria during UV and ozone disinfection. *Aquat. Biol.*, 4: 147-154, 2008.

Kang, J.C., Park, S.I. and Kim, S.G.: The development of filter for environmental improvement. *J. Korean Fish. Soc.*, 32(4): 501-506, 1999.

Lee, H.J., Yu, H.S., Oh, E.G., Shin, S.B., Park, K. and Kim, J.H.: Germicidal effect of electrolyzed seawater on live fish and shellfish. *Kor. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46(5): 534-539, 2013.

Liltved H., Hektoen H. and Efraimsson H.: Inactivation of bacterial and viral pathogens by ozonation or UV irradiation in water of different salinity. *Aquacult. Eng.*, 14: 107-122, 1995.

Liltved, H. and Cripps, S.J.: Removal of particle-associated bacteria by prefiltration and ultraviolet irradiation. *Aquacult. Res.*, 30: 445-450, 1999.

Munro, P.D., Henderson, R.J., Barbour, A. and Birbeck, T.H.: Partial decontamination of rotifers with ultraviolet radiation(The effect of changes in the internal bacterial load and flora of rotifers on mortalities in start-feeding larval turbot). *Aquaculture*, 170: 229-244, 1999.

Muroga, K.: Viral and bacterial disease in larval and juvenile marine fish and shellfish. *Fish Pathol.*, 30 (1): 71-85, 1995.

Oh, M.J., Kim, H.Y. and Cho, H.S.: Disinfection of cul-

- ture water supply by ozonization(I . Susceptibility of some fish-pathogenic bacteria isolated from cultured marine fish). J. Fish pathol., 12(1): 42-48, 1999.
- Park, K.H., Oh, M.J. and Kim, H.Y.: Disinfection effect of chlorine dioxide on pathogenic bacteria from marine fish. J. of Aquaculture, 16(2): 118-123, 2003.
- Pascho, R.J., Landolt, M.L. and Ongerth, J.E.: Inactivation of *Renibacterium salmoninarum* by free chlorine. Aquaculture 131, 165-175, 1995.
- Perrins, J.C., Cooper, W.J., van Leeuwen, J.H. and Herwig, R.P.: Ozonation of seawater from different locations(Formation and decay of total residual oxidant—implications for ballast water treatment). Mar. Pollut. Bull., 52: 1023-1033, 2006.
- Shirakashi S., Nishimura T., Kameshima N., Yamashita H., Ishitani H., Ishimaru K. and Yokoyama H.: Effectiveness of ultraviolet irradiation of seawater for the prevention of *Kudoa yasunagai* and *Kudoa amamiensis* (Myxozoa: Multivalvulida) infections in seriola fish. Fish. Pathol., 49(3): 141-144, 2014.
- Wedemeyer, G.A.: Physiology of Fish in Intensive Culture Systems, pp. 202-226, International Thompson Publishing, New York, 1996.
- Whipple, M.J. and Rohovec, J.S.: The effects of heat and low pH on selected viral and bacterial fish pathogens. Aquaculture, 123: 179-189, 1994.

Manuscript Received : September 16, 2015

Revised : November 12, 2015

Accepted : November 12, 2015