

## 삼중염(Potassium monopersulfate)을 주성분으로 하는 소독제의 주요 수산 병원체에 대한 살균소독 효과

최다연 · 최희재 · 조아현 · 서정우 · 박지원 · 나정현 · 이병윤 · 김준환<sup>†</sup> · 강예재<sup>\*†</sup>

선문대학교 수산생명의학과, \*군산대학교 수산생명의학과

### Effect of disinfectant consisting of triple salt (Potassium monopersulfate) to major aqua pathogens

Da Yeon Choi, Hee Jae Choi, A Hyun Jo, Byoung Yoon Lee, Jung Woo Seo,  
Jeong Hyun Na, Ji Won Park, Jun Hwan Kim<sup>†</sup> and Yue Jai Kang<sup>\*†</sup>

Department of Aquatic Life Medical Sciences, Sunmoon University, Asan 31460, Korea

\*Department of Aquatic Life Medicine, Kunsan National University, Gunsan City, Jeonbuk, Korea

Infectious diseases are a major cause of death at the fish farm. Therefore, various disinfectants are used in aquaculture to sterilize pathogens. In this study, the disinfectant efficacy of triple salt was evaluated against *Salmonella typhimurium* and important aqua pathogens. In the case of bacteria under the conditions of distilled water (DW), hard water (HW), and organic matter (OM), *S. typhimurium* was inactivated with 0.56, 0.5 and 100 parts per thousands (ppt), *V. parahaemolyticus* (AHPND) was inactivated with 0.17, 0.13 and 20 ppt and *V. anguillarum* was inactivated with 0.25, 0.17 and 33.3 ppt. Also, in the case of the virus under the conditions DW, HW and OM, VHSV was inactivated with 0.1, 0.1 and 0.5 ppt and SVCV was inactivated with 0.5, 0.5 and 1 ppt. In addition, this study investigated the disinfection effect of triple salt against WSSV by bioassay using *Litopenaeus vannamei*. Investigating the antiviral effect of disinfectants under DW, HW, and OM conditions, WSSV was inactivated with 0.05, 0.05, 0.8 ppt. The results from this study showed that the triple salt was a highly effective disinfectant against aqua pathogens. Therefore, we can provide basic data for establishing the standards for use of triple salt in aquaculture.

**Key words:** Triple salt, Potassium monopersulfate, Disinfectant, Disinfectant efficacy

## 서 론

전 세계적으로 수산생물의 소비가 높아짐에 따라 양식산업이 빠르게 성장하고 있다. 그러나 이러한 소비를 충족시키기 위해 양식 종의 대량생산을

위한 밀식과 집약적 양식이 가속화되면서 양식어가에 전염성 병원체인 세균 및 바이러스에 의하여 양식생물이 감염되고, 대량폐사로 인한 경제적 손실이 발생된다(Shim *et al.*, 2019). 또한 양식장의 주 폐사 원인이 되는 감염성 질병들을 제어하기 위해 백신 및 치료제 개발 등의 노력이 계속되고 있으나 복합감염 및 신종질병들의 다발로 이들을 모두 제어하기에 큰 어려움이 있다.

<sup>†</sup>Corresponding author: Yue Jai Kang and Jun Hwan Kim  
Tel: +82-63-469 1888, \*\*\*-\*\*\*\*-\*\*\*\*  
E-mail: kyj5088@kunsan.ac.kr

따라서 양식장에서 수산생물 종의 치어(치하)를 입식하기 전 시설에 잔존할 수 있는 감염성 병원체가 입식 중에 유입될 수 있으며, 이러한 오염된 사육시설을 통한 수평감염을 막기 위해 적절한 소독제를 사용하여 소독해야 한다(Kim *et al.*, 2015). 효율적인 질병 제어를 위해 예방이 중요하며, 이러한 측면에서 주요 양식 종들의 감염성 질병 전파에 가장 기본 대책이 되는 1차적인 질병 제어는 양식 시설에서의 소독제제 사용에 따른 병원체 멸균을 수행할 수 있다.

우리나라 양식산업에 문제시되는 대표적인 감염성 질병으로 넙치에서 발생하는 바이러스성 질병인 Viral hemorrhagic septicemia (VHS), Marine birnavirus (MBV), Hiram rhabdovirus (HRV)와 세균성 질병인 *Vibrio anguillarum* 등이 있으며, 잉어에 문제시되는 대표적인 바이러스성 질병의 경우는 Spring viraemia of carp (SVC), Koi herpesvirus (KHV) 등이 있다. 또한 새우 양식장에서 다발하고 심각하게 문제시되고 있는 질병으로는 White spot syndrome virus (WSSV)와 Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND, 원인체 *Vibrio parahaemolyticus*) 등이 있다.

소독제제 후보로서 삼중염(triple salt)은 Potassium monopersulfate ( $\text{KHSO}_5$ ), Potassium bisulfate ( $\text{KHSO}_4$ ), 그리고 Potassium sulfate ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ )가 4:2:3의 비율로 함유된 염을 의미하며, 비염소계 산화제이다(Crandall *et al.*, 2001). 또한 비교적 독성이 적어 동물과 사람에게 안전하며, 저렴하고 물에 쉽게 용해된다(Ghanbari *et al.*, 2017). 그리고 강력한 산화력으로 세균, 바이러스 그리고 곰팡이 세포 구성 물질을 파괴해 소독 효과를 일으키며, 이러한 기전을 이용하여 대표적인 가축 전염성 질병인 구제역(Foot and mouth disease, FMD), 조류독감(Avian influenza, A.I), 아프리카 돼지 열병 바이러스(ASFV) 등의 발생 가능 가축 시설 및 지역의 방역을 위해 사용되고 있다(YAN *et al.*, 2008; QIAO *et al.*, 2013; Sonthipet *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2021; Sovijit *et al.*, 2021). 그리고 인간 노로바이러스에도 효과적인 소독 효과를 보여주며(Su *et al.*, 2012), 최근 연구에 따르면 전 세계적으로 유행하고 있는 인간의 코로나바이러스 질병(COVID-19) SARS-CoV-2에

대해서도 소독 효능이 있다고 보고되었다(Tulamba *et al.*, 2021).

그러나 소독제의 오·남용은 환경오염 및 병원체의 내성을 증가시킬 수 있기 때문에 병원체의 효과적 측면과 양식장 환경 측면에 알맞은 최적의 농도로 사용되어야 한다(Mishra *et al.*, 2017; Dey *et al.*, 2022).

따라서 본 연구에서는 삼중염을 주성분으로 하는 소독제의 살균소독 효과를 연구하기 위하여 가장 문제시되고 있는 병원성 세균 및 바이러스 균종 각 3종을 선택하여 효력시험 및 효과적인 소독 유효 농도를 측정하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 균종 및 균주

삼중염 소독효력시험에 사용되는 시험 세균 주는 표준균주인 *Salmonella typhimurium* (KVCC-BA0000292), 어병 세균인 *V. parahaemolyticus* (AHPND) (ATCC-17802) 그리고 *V. anguillarum* (KFCC-11377P)을 사용하였으며, 시험 바이러스주는 VHS (KJ2008, Kim *et al.*, 2023), SVC (VR-1390) 그리고 WSSV (WSSVGoC18, Lee *et al.*, 2022)를 대상으로 본 연구에 사용하였다.

세균의 경우 각 세균의 영양배지인 LB (Luria-Bertani) broth (단, 비브리오 균주는 NaCl 1.5% 첨가)에 접종하여 37°C 혹은 25°C (각 균주 배양 적온)에서 배양시켜 세균의 농도가  $1 \times 10^8$  CFU/mL 이상일 때 시험에 사용하였으며, 바이러스의 경우 증식시 최대인 시점에서 수집하여 대조군과 비교 시 병원체가  $10^4$  Plaque forming units (PFU)/mL 이상 사멸 또는 불활화가 인정되는 희석농도로 사용하였다.

### 소독제 희석액 준비

본 시험에 사용된 삼중염 소독제제인 ‘수산용 바이시드산’ [(주)삼양애니팜, 한국]은 본제 1 kg 중 삼중염이 500 g으로 구성되어있다.

소독제제 희석액 제조방법으로 경수(HW)는 증류수 1 L에  $\text{CaCl}_2$  0.305 g과  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.139 g (w/v)을 녹여 사용하였고, 5% 유기물(OM) 희석액은 경수에 효모추출물 20%(w/v)가 함유되도록 용

해한 다음 4배 희석하여 5% 함량의 유기물 희석액 (1N 수산화나트륨(NaOH)으로 pH 7.0이 되도록 조정)을 제조하였다. 바이러스의 경우는 FBS (Fetal bovine serum, SIGMA) 5%를 함유한 경수를 사용하였다. 또한 비브리오 균주에 대한 소독효력시험의 경우 증류수와 경수에 1.5% NaCl을 첨가하여 사용하였다(국립수산물품질관리원 소독제효력시험 고시 제 2021-2호).

### 소독제 처리과정

소독제 효력평가를 위하여 세 가지 처리조건 (DW, HW 그리고 OM 희석)에서 Table 1과 같은

조건으로 소독제 효력을 평가하였다.

소독제 희석은 Table 2와 같이 각 해당 DW, HW 그리고 OM 희석액을 사용하여 알맞은 농도로 제조한 후, 희석액과 병원체를 각 시험관에 2.5mL씩 동량 반응(4°C, 30분)시켰다. 그리고 반응물 1mL을 중화배지(비동화된 말혈청 5%를 포함한 영양배지) 9 mL에 넣고 각각 혼합하여 반응을 중지시켰다.

세균의 경우 각 소독제 농도별 반응이 중지된 혼합액 0.1 mL씩을 각 혼합액마다 영양배지가 들어있는 동일한 5개 시험관에 넣어 혼합하고, 국립수산물품질관리원 소독제 효력시험지침에 따라 *S. typhimurium* (표준균주)은 적은 37°C, 수산병원체

Table 1. Experimental design for the determination of the efficacy of disinfectant containing triple salt

Treatment condition	Contents according to treatment condition <sup>†</sup>				
	DW	HW	OM	Disinfectant	Pathogen
DW condition	+	-	-	+	+
HW condition	-	+	-	+	+
OM condition	-	+	+	+	+
Pathogen control	-	+	-	-	+
DW control	+	-	-	-	+

DW, distilled water, HW, hard water, OM, organic matter.

<sup>†</sup>:+, presence; -, absence

Table 2. Concentration of triple salt disinfectant for disinfection of bacteria and virus

Name	Treatment condition	Disinfectant concentration (ppt)*				
<i>S. typhimurium</i>	DW	0.71	0.63	0.56	0.5	0.4
	HW	0.71	0.63	0.56	0.5	0.4
	OM	100	50	33.3	25	20
<i>V. parahaemolyticus</i> (AHPND)	DW	0.17	0.13	0.1	0.08	0.07
	HW	0.17	0.13	0.1	0.08	0.07
	OM	100	33.3	20	10	6.67
<i>V. anguillarum</i>	DW	0.25	0.17	0.13	0.1	0.08
	HW	0.17	0.13	0.1	0.08	0.07
	OM	100	33.3	20	10	6.67
VHSV	DW	0.1	0.05	0.03	0.02	0.01
	HW	0.1	0.05	0.03	0.02	0.01
	OM	1	0.5	0.25	0.17	0.13
SVCV	DW	1	0.5	0.25	0.17	0.13
	HW	1	0.5	0.25	0.17	0.13
	OM	1	0.5	0.25	0.17	0.13

\* ppt (Parts per thousand) = mass of solute (g)/mass of sample (L)

인 *V. parahaemolyticus* 및 *V. anguillarum*는 국립수산물품질관리원 소독제 효력시험 고시 제 5조 2항에 의거하여 25°C에서 48시간 배양하였다.

바이러스의 경우는 monolayer 된 Epithelioma Papulosum Cyprini (EPC) cell culture plate에 중화반응 희석액을 200 µL씩 접종하여 각 바이러스 배양 적온(VHS, 15°C 혹은 SVC, 20°C)에서 배양하였다. 이후 7일동안 배양하여 cytopathic effect가 나타남을 확인한 후, 소독제 농도별 최종 바이러스 수를 측정하기 위하여 monolayer가 형성된 EPC cell culture plate에 소독제 농도별 상정액 400µL씩 접종한 후 각 바이러스 배양 적온에서 PFU를 측정하였다.

세균의 경우는 동일 소독제 농도의 영양배지에서 5개 중 2개 이상 증식이 되지 않는 소독제 농도를 최종 유효 농도로 판정하였으며, 바이러스의 경우(WSSV 제외) 병원체 대조군과 비교하여 병원체가 10<sup>4</sup> PFU (대수 차이로 1)의 사멸 또는 불활화가 확인된 농도를 최종 유효농도로 판정하고, 최종 유효 농도는 3 반복 시험 결과의 중위수로 하였다.

**흰다리새우 사육 조건**

본 실험에 사용된 흰다리새우(평균 체중 25±5g)는 경기도 평택시에 소재하는 양식장에서 채집하여 25°C가 유지된 사육 수조에 1주일간 순치시킨 후 실험에 사용하였다. 사육 수는 해수염(KENT sea salt, USA)을 이용하여 30‰ 염도를 유지시켰다. 또한 흰다리새우의 인위감염에 사용될 WSSV의 무감염을 확인하기 위해 아가미를 분리하여

PCR 진단법을 통해 무감염을 확인하였다.

**흰다리새우에서 WSSV에 대한 삼중염 소독 효과**  
WSSV의 삼중염 소독 효과시험의 경우 배양할 수 있는 주화세포가 개발되어 있지 않아 새우 생체 내 직접 주입시 폐사도를 확인하여 바이러스 살균을 확인하였다. 소독제 희석액은 각각의 DW, HW 그리고 OM을 희석액으로 사용하여 소독제의 알맞은 농도[Parts per thousands (ppt)]로 제조하였다 (Table 3).

WSSV는 LD<sub>50</sub> (median lethal dose) 농도(예비 실험 LD<sub>50</sub> : 원액의 5×10<sup>-5</sup>희석)보다 고농도인 3×10<sup>-4</sup> 희석액을 준비하였다. 그룹별 각각 흰다리새우 10마리씩 분지하고, 준비된 접종액을 새우에 각 0.1 mL씩 근육 주사하였다. 그룹별 각각 수온 27°C가 유지된 80 L 수조에 흰다리새우 10마리씩 분지하고, 준비된 접종액을 새우에 각 0.1 mL씩 근육 주사하였다. 이후 14일간 누적 폐사율을 측정하고, 폐사체는 즉시 아가미를 분리하여 PCR 진단법으로 WSSV 감염 여부를 확인하였다(Table 4). 또한 시험 기간 동안 생존율이 80% 이상인 소독제 농도를 소독 최종 유효 농도로 판정하였다.

**결 과**

**세균의 소독효력**

1) *S. typhimarium*, *V. parahaemolyticus* (AHPND), *V. anguillarum*에서 살균

Table 3. Concentration of triple salt disinfectant for disinfection of WSSV

Name	Treatment condition	Disinfectant concentration (ppt)						
WSSV	DW	0	0.01	0.05	0.1	0.2	0.4	
	HW	0	0.01	0.05	0.1	0.2	0.4	
	OM	0	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6

Table 4. Primer sequences of WSSV

Target gene	Primer name	Sequence (5' to 3')	Products (bp)	References
WSSV	146F1	ACT ACT AAC TTC AGC CTA TCTA G		
	146R1	TAA TGC GGG TGT AAT GTT CTT ACG A	1477	Lo et al.
	146F2	GTA ACT GCC CCT TCC ATC TCC A	941	(1996)
	146R2	TAC GGC AGC TGC TGC ACC TTG T		

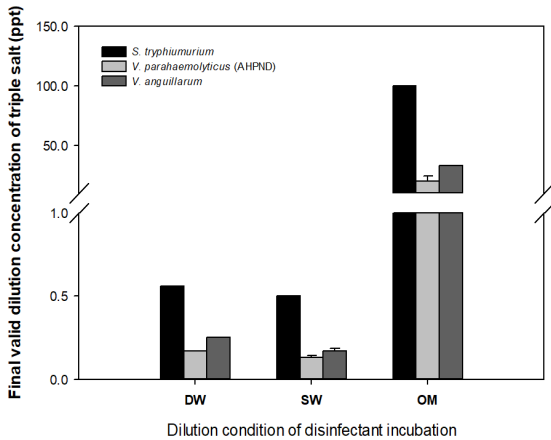


Fig. 1. Bactericidal efficacy of disinfectants containing triple salt against *S. typhimarium* and aqua bacteria. DW, distilled water, HW, hard water, OM, organic matter.

삼중염을 주성분으로 하는 소독제의 세균 소독 효력시험 결과 DW, HW 그리고 OM 순으로 *S. typhimarium*는 각각 소독제 0.56, 0.5 그리고 100 ppt, *V. parahaemolyticus* (AHPND)는 소독제 0.17, 0.13 그리고 20 ppt, *V. anguillarum*은 소독제 0.25, 0.17 그리고 33.3 ppt 농도로 사용될 때, 소독 유효 농도임을 확인하였다(Fig. 1).

**바이러스의 소독효력**

**1) VHSV, SVCV에서 살균**

바이러스 소독효력시험 결과 DW, HW 그리고 OM 순으로 VHSV는 소독제 각각 0.1, 0.1, 그리고 0.5 ppt, SVCV는 소독제 각각 0.5, 0.5, 그리고 1 ppt 농도로 사용될 때, 소독 유효 농도임을 확인하였다(Fig. 2).

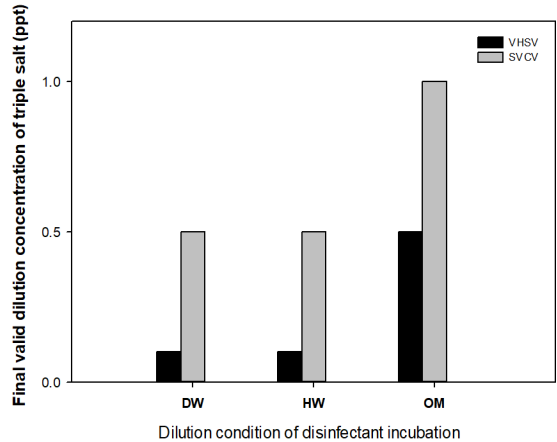


Fig. 2. Virucidal efficacy of disinfectants containing triple salt against VHSV and SVCV. DW, distilled water, HW, hard water, OM, organic matter.

**2) WSSV에서 살균**

소독제를 농도별로 희석한 후 반응시킨 WSSV를 흰다리새우에 접종한 뒤, 14일 동안 누적 폐사율을 관찰한 결과 DW 조건에서는 0.01 ppt 이하 소독제 농도 그룹들이 100% 폐사하였고, 0.05 ppt 소독제 농도 그룹은 10% 폐사하였으며, 0.1 ppt 이상 소독제 농도 그룹들은 폐사가 일어나지 않았다(Fig. 3). HW 조건에서는 0, 0.01, 0.05 ppt 농도 그룹 순으로 100%, 60%, 20% 폐사하였고, 0.1 ppt 이상

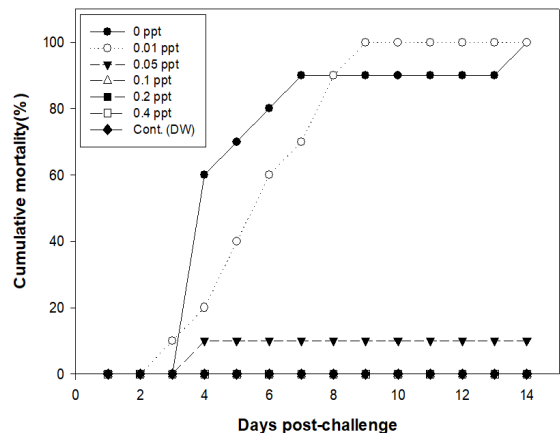


Fig. 3. Cumulative mortality by intramuscular injection of reaction solution WSSV containing triple salt disinfectants of various concentrations (0, 0.01, 0.02, 0.1, 0.2, 0.4 ppt under distilled water condition) in *P. vannamei*. Cont.(DW), distilled water condition.

의 소독제 농도 그룹들은 폐사가 일어나지 않았다(Fig. 4). 또한 OM 조건에서는 0.4 ppt 이하의 소독제 농도 그룹들이 80% 이상 폐사하였으며, 0.8 ppt 이상의 소독제 농도 그룹들은 폐사가 일어나지 않았다(Fig. 5). 따라서 DW, HW 그리고 OM 조건에서 80% 이상 생존율이 각각 0.05, 0.05, 0.8 ppt의 농도가 WSSV에 대한 소독제 유효농도임을 확인하였다.

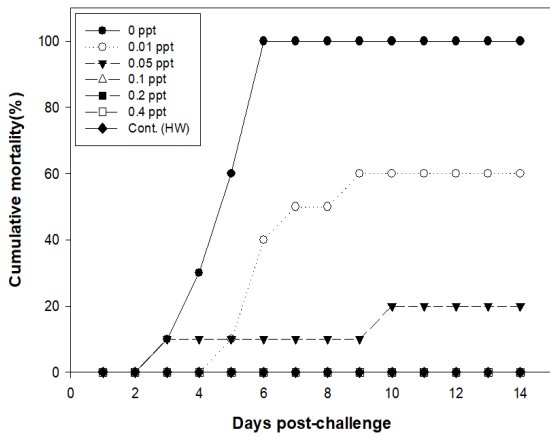


Fig. 4. Cumulative mortality by intramuscular injection of reaction solution WSSV containing triple salt disinfectants of various concentrations (0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 ppt under hard water condition) in *P. vannamei*. Cont.(HW), hard water condition.

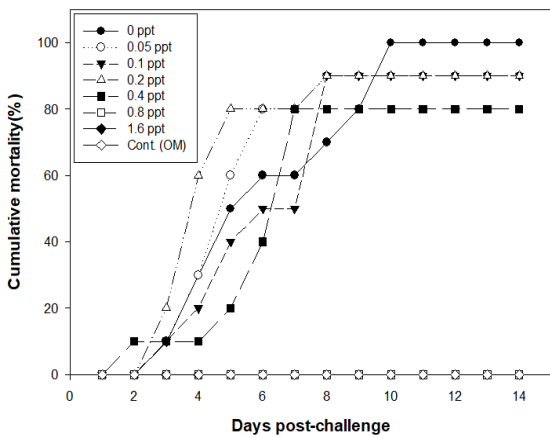


Fig. 5. Cumulative mortality by intramuscular injection of reaction solution WSSV containing triple salt disinfectants of various concentrations (0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6ppt under organic matter condition condition) in *P. vannamei*. Cont.(OM), organic matter condition.

### 고찰

국내·외 양식산업의 발전에 따라 양식 생산성을 저해시키고, 큰 경제적 피해를 가져오는 병원체 감염 폐사는 어가의 주요 경제 대상이다. 최근 국내에서 가장 많이 양식되고 있는 어종들을 대상으로 폐사 원인을 조사한 결과에 따르면 폐사 원인의

약 54-70%가 감염성 질병에 의해 발생한다(Han *et al.*, 2021). 따라서 감염성 질병의 원인으로 부터 폐사를 줄이기 위해서는 백신 및 치료제의 약제 개발 연구가 수행되고는 있으나 막대한 개발 비용과 많은 시간이 요구됨에 따라 바로 현장에 적용하기에는 한계를 가지고 있다. 기본적으로 양식 시설에서의 적절한 소독제 사용은 감염성 질병에 의한 폐사를 효과적이고 효율적으로 빠르게 예방할 수 있다. 이렇게 수산생물을 입식하기 전 철저한 사육 환경관리는 병원체 발병을 억제하여 피해를 저감시키고 성공적인 양식생산을 위해서는 다양한 소독제의 최적 용량으로 사용되어야 한다(Powell *et al.*, 2004; Meinelt 2015; Hushangi *et al.*, 2018).

현재 양식장에서 많이 사용되고 있는 소독제들은 포비돈 요오드[(C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NO)<sub>n</sub>·xI], 차아염소산나트륨(NaOCl), 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 포르말린, 황산구리, 글루타르알데히드 등이 사용되고 있다(Kim *et al.*, 2008; Jaemwimol *et al.*, 2019). 그러나 이러한 화학 소독제들은 감염성 병원체 소독에 효과적일 지라도 과용 시 직·간접적으로 독성을 유발할 수 있다(DeMarini 2019). 또한 독성농도는 각 소독제 종류와 어종마다 다르게 관찰된다. 포르말린의 경우 양식어가의 소독제로 널리 사용되었으나 1급 발암성 영향으로 인해 대체되어야 하며(Park *et al* 2013), 말라카이트 그린 또는 메탈렌블루와 같은 곰팡이 감염 소독제는 발암성이 확인된 후 사용이 금지되었다(Yi *et al.*, 2017). 따라서 소독제의 무분별한 사용은 환경오염 및 양식생물들의 생체 내 악영향을 미칠 수 있기 때문에 최적의 소독 유효 농도로 사용되어야 한다(De Orte *et al.*, 2013; Martins *et al.*, 2021).

본 연구에서는 삼중염을 주성분으로 하는 ‘수산용 바이시드산’ 소독제를 양식장 시설에 최적으로 사용하기 위해 양식생물에 문제시되고 있는 대표적인 병원성 세균 및 바이러스에 대한 소독제의 살균효과와 이에 대한 소독 유효 농도를 확인하고자 하였다. 세균에 대한 소독 효과를 알아보기 위해 어병세균인 *V. parahaemolyticus* (AHPND)와 *V. anguillarum* 세균이 사용되었다. *Vibrio*균은 성장과 생존을 위해 NaCl이 필요하기 때문에 증류수에서 5분 이내로 90%이상이 불활화되므로(Lee 1972),

본 연구에서 증류수 및 경수 소독제 희석액에 1.5% NaCl을 첨가하여 실험에 사용하였다.

삼중염은 병원체의 구성성분을 산화시켜 살균 작용을 나타내는 효과적인 소독 제제로 *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio* spp. 등 다양한 어병 세균들을 억제 및 사멸시키며, 최소 억제 농도(MIC) 측정 결과 본 연구의 시험세균인 *V. anguillarum*의 경우 25.6 mg/L, *V. parahaemolyticus* (AHPND)의 경우 51.2mg/L로 우수한 항균 효과가 보고되었다(Wang *et al.*, 2008).

본 시험에서 소독제의 세균 살균효과에 대한 최종 소독 유효 농도를 검토해 보면 표준세균인 *S. typhimurium*의 경우 0.56(DW), 0.5(HW), 100(OM) ppt로 판정하였다. 어병 세균인 *V. parahaemolyticus* (AHPND)의 경우 0.17(DW), 0.13(HW), 20(OM)ppt로 판정하였으며, *V. anguillarum*의 경우 0.25(DW), 0.17(HW), 33.3(OM)ppt로 판정하였다. 표준 세균인 *S. typhimurium*에 비해 어병 세균에게 비교적 더 낮은 농도에서 소독 효과가 나타났으며, 이는 표준 세균의 경우 배양온도가 37°C인 것에 반해 어병 세균은 25°C 조건으로 시험이 진행되었기 때문에 온도에 따른 균 성장 속도 차이의 영향이라 생각된다(Seo *et al.*, 2013). 따라서 삼중염을 기반으로 하는 소독제의 경우 어병 세균에 더욱 효과적일 수 있다.

다음으로 바이러스에 대한 소독효과를 알아보기 위해, 본 시험에서 소독제의 바이러스 살균 효과에 대한 최종 소독제 소독 유효 농도를 검토 해 보면 VHSV의 경우 0.1(DW), 0.1(HW), 0.5(OM)ppt로 판정하였으며, SVCV의 경우 0.5(DW), 0.5(HW), 1(OM)ppt로 판정하였다. 외피 보유 바이러스의 경우 인지질 이중층으로 이루어져 있는 virus envelope의 친유성에 의해 대부분의 소독제에 더 민감하게 반응하기 때문에 외피를 보유하고 있는 VHS, SVC 또한 비교적 낮은농도에서도 효과적인 살균 효과를 보이는 것으로 보인다(Noh 2020, Juskiewicz *et al* 2020).

WSSV의 경우 수산무척추동물 유래의 세포가 현재까지 개발되어 있지 않아 흰다리새우를 대상으로 *in vivo*상에서 실험이 진행하였다. 소독제의 WSSV 살균효과에 대한 최종 소독 유효 농도는

0.05(DW), 0.05(HW), 0.8(OM)ppt로 판정하였다. 한편, 보리새우에 삼중염을 기반으로 한 소독제의 WSSV 살균효과에 대한 최종 소독제 유효 농도는 0.0048ppt로 나타났다(Gunasekara *et al.*, 2020). 따라서 같은 소독제제를 기반으로 하더라도 생물종마다 효과적인 소독 유효 농도가 다르다는 것을 알 수 있다.

생물에서 약물의 독성은 효과적 측면보다 더욱 중요하고 면밀한 관찰이 필요하다. 시판되고 있는 다양한 소독제들의 어류 세포에서 독성 농도를 살펴 본 연구결과에 따르면, Hydrogen peroxide은 0.000955ppt, Sodium hypochlorite는 0.0126ppt, chlorine dioxide은 0.062ppt 등 매우 낮은 농도에서도 세포독성을 나타내었다(Park *et al.*, 2008). 또한 didecyldimethylammonium chloride를 주성분으로 하는 소독제는 다양한 수생 감염성 병원체에 대해 유효한 소독 효과가 있었으며, *Edwardsiella tarda*, *V. harveyi*, *Streptococcus iniae* 그리고 *S. parauberis*에서 0.28~0.5(DW), 0.33~0.35(HW) 0.56~1.25(OM) ppt가 유효 농도로 나타났다. 그리고 어병 바이러스인 VHSV의 경우 0.28(DW), 0.3(HW), 0.5(OM) ppt가 유효 농도로 나타났으나(Seo *et al.*, 2013), 넙치, 조피볼락, 감성돔을 대상으로 한 독성 평가에서 0.02ppt 이하의 낮은 농도로도 생물체의 유해성이 높은 것으로 조사되었다(Park *et al.*, 2008). 그러나 본 시험에서 삼중염을 기반으로 한 소독제 최고 농도 그룹인 1.6ppt 농도에서 새우는 시험이 종료 될 때까지 100% 생존하였다. 따라서 삼중염은 고농도인 1.6 ppt까지 새우의 체내 독성을 일으키지 않는 매우 안전한 소독제이다. 이미 삼중염은 비교적 독성이 낮은 소독제제로 알려져 있으며(YANG *et al.*, 2007), Monopersulfate 화합물을 수조에 0.0024ppt까지 첨가한 결과 흰다리새우에게 독성을 일으키지 않고 오히려 물의 유기물 분해와 영양염류 전환을 직접적으로 촉진해 새우의 성장을 개선했다는 연구 결과가 보고되어 있다(Zhao *et al.*, 2022). 이러한 결과들은 삼중염을 기반으로 한 소독제가 독성이 적으며 매우 안정적이며, 발암성 및 고독성 소독제들에 대한 대체제로 사용될 수 있음을 시사한다.

수산 양식장에서 감염성 질병 등을 대상으로 삼

중염의 소독 효과 보고에 따르면, 해산어 및 담수 어류에 감염되는 세균성 병원체인 *E. tarda*, *E. ictaluri*를 효과적으로 소독하였으며(Mainous *et al.*, 2010), 다양한 *Vibrio spp.*에 대해 억제 및 사멸시키고(Wang *et al.*, 2008), 새우의 세균성 질병인 *Vibrio spp.* 및 바이러스 질병 WSSV에서도 강력한 살균 효과가 보고되었다(Tantakit *et al.*, 2013; Min *et al.*, 2015; Gunasekara *et al.*, 2020).

결론적으로 삼중염이 주성분인 ‘수산용 바이시드산’의 소독 효과는 병원체마다 감수성 차이를 보여주었으며, 어병세균(*V. parahaemolyticus* (AHPND), *V. anguillarum*) 및 어병 바이러스(VHSV, SVCV 그리고 WSSV)를 제거할 수 있는 강력한 소독제로 사용될 수 있다. 또한 전체적으로 유기물 조건에서는 유기물이 소독제의 효과를 저감시키므로 증류수 및 경수보다 고농도로 희석하여 사용해야 할 것으로 판단된다(Seo *et al.*, 2013). 따라서 소독전 유기물을 충분히 제거하면 소독 효과를 높일 수 있다. 본 실험의 결과를 바탕으로 수계 세균 및 바이러스 병원균을 소독하고자 할 때, 저 농도 유기물 환경에서 0.56ppt, 고 농도 유기물 환경의 소독 대상물에서는 100ppt 농도로 소독하는 것이 가장 효과적이다.

본 연구 결과는 흰다리새우를 대상으로 삼중염을 기반으로 한 소독제의 WSSV 소독 효과를 최초로 보고하였으며, 이러한 결과들은 본 소독제의 사용 기준을 확립하는 데 중요한 기초 자료로 활용될 수 있다.

## 사 사

이 논문은 2023년 군산대학교 수산과학연구소 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

## References

- Crandall, J. K., Shi, Y., & Burke, C. P. (2001). Potassium monoperoxysulfate. Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis.
- De Orte, M. R., Carballeira, C., Viana, I. G., & Carbalreira, A. (2013). Assessing the toxicity of chemical compounds associated with marine land-based fish farms: The use of mini-scale microalgal toxicity tests. *Chemistry and Ecology* 29, 554-563.
- De Marini, D. M. (2019). Genotoxicity of disinfection by-products: comparison to carcinogenicity. *Encyclopedia of Environmental Health (Second Edition)*, 245-251.
- Dey, S. R., Kabiraj, M., Hossain, S. S., Banu, G. R., & Sultana, S. (2022). Current scenario of application of aqua drugs and chemicals in fish and shell fish health management of Khulna district in Bangladesh. *Khulna University Studies*, 9-18.
- Ghanbari, F., & Moradi, M. (2017). Application of peroxymonosulfate and its activation methods for degradation of environmental organic pollutants. *Chemical Engineering Journal*, 310, 41-62.
- Gunasekara, C. W. R., Kim, S. R., Rajapaksha, L. G. T. G., Wimalasena, S. H. M. P., Pathirana, H. N. K. S., & Shin, G. W. (2020). Disinfectant effect of monoperoxysulfate (MPS) compound to white spot syndrome virus (WSSV) of shrimp. *Journal of fish pathology*, 33(2), 139-143.
- Han, H. J., Kim, S. J., Kim, T. H., Kim, M. S., Cho, M. Y., & Choi, H. S. (2021). Current status and future directions of fish vaccines in Korea. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54(4), 369-376.
- Hushangi, R., & Hosseini Shekarabi, S. P. (2018). Effect of a peracetic acid-based disinfectant on growth, hematology and histology of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fishes*, 3(1), 10.
- Jaemwimol, P., & Surachetpong, W. (2019). Inactivation of Tilapia Lake Virus by Common Aquaculture Disinfectants (Doctoral dissertation, Kasetsart University).
- Jiang, C. G., Ying, S. U. N., ZHANG, F., Xin, A. I., Feng, X. N., Wei, H. U., ... & He, X. J. (2021). Viricidal activity of several disinfectants against African swine fever virus. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(11), 3084-3088.
- Juzskiewicz, M., Walczak, M., Mazur-Panasiuk, N., & Woźniakowski, G. (2020). Effectiveness of chemical compounds used against African swine fever virus in commercial available disinfectants. *Pathogens*, 9(11), 878.
- Kim, S. Y., Kwak, J. S., Jung, W., Kim, M. S., & Kim, K. H. (2023). Compensatory mutations in the matrix protein of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) genotype IVa in response to artificial mutation of two amino acids (D62A E181A). *Virus Research*, 326, 199067.



- Kim, S. R., Park, K. H., Kim, D. W., Jung, S. J., Kang, S. Y., & Oh, M. J. (2008). Antimicrobial effects of chemical disinfectants on fish pathogenic bacteria. *Food science and biotechnology*, 17(5), 971-975.
- Kim, W. S., & Kim, J. O. (2015). Prevention strategies for viral nervous necrosis (VNN) in sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus* aquaculture farms. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(4), 403-410.
- Lee, A. R., Kong, K. H., Kim, H. J., Oh, M. J., Kim, D. H., Kim, J. O., & Kim, W. S. (2022). The complete genome sequence of a white spot syndrome virus isolated from *Litopenaeus vannamei*. *Journal of fish pathology*, 35(1), 129-133.
- Lee, J. S. (1972). Inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* in distilled water. *Applied microbiology*, 23(1), 166-167.
- Lo, C. F., Leu, J. H., Ho, C. H., Chen, C. H., Peng, S. E., Chen, Y. T., ... & Kou, G. H. (1996). Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. *Diseases of aquatic organisms*, 25(1-2), 133-141.
- Mainous, M. E., Smith, S. A., & Kuhn, D. D. (2010). Effect of common aquaculture chemicals against *Edwardsiella ictaluri* and *E. tarda*. *Journal of aquatic animal health*, 22(4), 224-228.
- Martins, S. E., & Martins, C. D. M. G. (2021). Antifoulants and disinfectants. In *Aquaculture Toxicology* (pp. 25-58). Academic Press.
- Meinelt, T., Phan, T. M., Behrens, S., Wienke, A., Pedersen, L. F., Liu, D., & Straus, D. L. (2015). Growth inhibition of *Aeromonas salmonicida* and *Yersinia ruckeri* by disinfectants containing peracetic acid. *Diseases of aquatic organisms*, 113(3), 207-213.
- Min, J. R., Na, K., Chong, H., & Jeong, S. H. (2015). Bactericidal efficacy of a monopersulfate compound against *Vibrio harveyi* and toxicity to *Litopenaeus vannamei*. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(5), 661-667.
- Mishra, S. S., Das, R., Choudhary, P., Debbarma, J., & Sahoo, S. N. (2017). Prevalence of Fish and Shrimp Diseases and Use of Various Drugs and Chemicals in Indian Aquaculture for Disease Management. *J Fish Aqua Dev: JFAD-129*. DOI: 10. 29011.
- Noh, J. Y. (2020). Characteristics of Viruses and the Infection Control.
- Park, E. K., Yu, E. A., Cha, C. N., Yoo, C. Y., Choi, H., Kim, S., & Lee, H. J. (2013). Antiviral Efficacy of an Aquatic Disinfectant Tablet Composed of Calcium Hypochlorite Against Viral Hemorrhagic Septicemia Virus. *Journal of Environmental Health Sciences*, 39(4), 376-382.
- Park, K. H., Kim, S. R., Kang, S. Y., Jung, S. J., & Oh, M. J. (2008). Toxicity of Disinfectants in Flounder *Paralichthys olivaceus*, Black Rockfish *Sebastes pachycephalus* and Black Sea Bream *Acanthopagrus schlegelii*. *Journal of Aquaculture*, 21(1), 7-12.
- Powell, M. D., & Clark, G. A. (2004). Efficacy and toxicity of oxidative disinfectants for the removal of gill amoebae from the gills of amoebic gill disease affected Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in freshwater. *Aquaculture Research*, 35(2), 112-123.
- QIAO, L. P., HUANG, Y. J., XUE, F. Q., ZHANG, Q., ZHOU, W., MA, Q. H., ... & LIU, X. R. (2013). Efficacy of Potassium Monopersulfate Compound Powder on Inactivation of FMDV. *Hubei Agricultural Sciences*, 08.
- Seo, J. S., Jeon, E. J., Hwang, J. Y., Jung, S. H., Park, M., Lee, S. M., & Lee, E. H. (2013). Biocidal effect to fish pathogens of Aqua farmsafe® composed of yucca extract and didecyldimethylammonium chloride. *Journal of fish pathology*, 26(2), 111-116.
- Shim, J. D., Hwang, S. D., Jang, S. Y., Kim, T. W., & Jeong, J. M. (2019). Monitoring of the mortalities in oliver flounder (*Paralichthys olivaceus*) farms of Korea. *Journal of fish pathology*, 32(1), 29-35.
- Sonthipet, S., Ruenphet, S., & Takehara, K. (2018). Bactericidal and virucidal efficacies of potassium monopersulfate and its application for inactivating avian influenza virus on virus-spiked clothes. *Journal of Veterinary Medical Science*, 17-0599.
- Sovijit, W., Taesuji, M., Rattanamas, K., Punyadarsaniya, D., Mamom, T., Nguyen, H. T., & Ruenphet, S. (2021). In vitro cytotoxicity and virucidal efficacy of potassium hydrogen peroxymonosulfate compared to quaternary ammonium compound under various concentrations, exposure times and temperatures against African swine fever virus. *Veterinary World*, 14(11), 2936.
- Su, X., & D'Souza, D. H. (2012). Inactivation of human norovirus surrogates by benzalkonium chloride, potassium peroxymonosulfate, tannic acid, and gallic acid. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(9), 829-834.
- Tantakit, P., Limsuwan, C., & Chuchird, N. (2013). Efficacy of potassium peroxymonosulfate for controlling *Vibrio* spp. in farm-raised Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). In *Proceedings of*

- the 51st Kasetsart University Annual Conference, Bangkok, Thailand, 5-7 February 2013. Kasetsart University.
- Tulalamba, W., Assawamakin, A., Thayananuphat, A., & Viprakasit, V. (2021). Evaluation of potassium peroxymonosulfate (MPS) efficacy against SARS-CoV-2 virus using RT-qPCR-based method. *International Journal of Infectious Diseases*, 110, 162-164.
- Wang, B., AIHong, X., Li, B., Wang, J., & Zhang, Z. H. (2008). Efficacy of potassium monopersulfate compound in inhibiting and killing common pathogenic bacteria in the aquaculture industry. *Chinese J Disinfection*, 25, 501-502.
- YAN, X. M., ZHANG, Q., ZHU, H. X., LI, J., & WU, G. H. (2008). EXPERIMENTAL STUDY ON EFFICACY OF SEVERAL DISINFECTANTS IN INACTIVATION OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS [J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2.
- YANG, N., LAI, F. W., LIU, K. L., QIN, M. H., & LIANG, S. (2007). STUDY ON GERMICIDAL EFFICACY AND TOXICOLOGY OF POTASSIUM MONOPERSULFATE COMPOUND [J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 3.
- Yi, S. W., Lee, S. H., Lee, S. J., Kim, M. H., Lee, H. H., Chu, S. B., ... & Lee, H. J. (2017). Fish Safety and Antimicrobial Activity of Natural Sulfur Solution on Aquatic Microorganisms (*Saprolegnia parasitica*) Isolated from *Misgurnus mizolepis*. *Korean Journal of Environmental Biology*, 35(2), 116-122.
- Zhao, Z., Wang, B., Liu, M., Jiang, K., & Wang, L. (2022). Effects of the non-chlorine oxidizer potassium monopersulfate on the water quality, growth performance and microbial community of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) culture systems with limited water exchange. *Aquaculture Research*.

---

Manuscript Received : May 23, 2023

Revised : Jun 06, 2023

Accepted : Jun 07, 2023