



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

제주도 양식 넙치에서 분리한 병원균 3종에 대한  
Mixed Oxidant 및 차아염소산나트륨 살균능 측정

濟州大學校 大學院

海洋生命科學科

朴 泉 滿

2018 年 2 月

제주도 양식 넙치에서 분리한 병원균 3종에 대한  
Mixed Oxidant 및 차아염소산나트륨 살균능 측정


指導教授 呂寅圭


朴泉滿

이 論文을 理學 碩士學位 論文으로 提出함

2018年 2月

朴泉滿의 理學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 허문수 

委員 정준범 

委員 여인규 

濟州大學校 大學院

2018年 2月

## ABSTRACT

Marine pathogenic microorganisms, such as *Streptococcus parauberis*, *Edwardsiella tarda* and *Vibrio harveyi*, are potential sources of death of fish farm in the jeju island. Therefore, efficient disinfection of seawater has been required in the fish aquaculture. Ozone and germicidal ultraviolet light irradiation are efficient and have gained acceptance as water treatment processes. However, these methods are expensive and not suitable for large-scale treatment. Chlorination, not only the addition of hypochlorite or chlorine dioxide but also electro chlorination, is the most commonly used method of disinfection since it is a cost-effective approach for waste water treatment. Marine pathogenic microorganisms are inactivated by mixed oxide owing to denaturation of constituent proteins critical to their integrity and/or function, and that this denaturation is caused primarily by covalent oxidative modification of their tryptophan and tyrosine residues.

This study was conducted to investigate the disinfection effect of mixed oxide on fish pathogenic bacteria (*Streptococcus parauberis*, *Edwardsiella tarda* and *Vibrio harveyi*) isolated from infected olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) in fish farm of jeju island. These bacteria were exposed to the respective reaction times (0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 min) under conditions of concentration to Mixed Oxidant(0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 MO)and Sodium hypochlorite(0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 ppm). The survival ratios of all tested microorganisms decreased with treatment time.

The result of this study, effective concentration of MO is more sodium hypochlorite than increased over time. So, MO is more effect than sodium hypochlorite of sterilized of influent seawater. *Streptococcus parauberis* of gram positive was higher sensitivity than *Vibrio harveyi* and *Edwardsiella tarda* of gram negative. It seems to be very reasonable way to maintain a constant chlorite concentration of validity in electrolysis.

## 요약

제주 양식넙치의 연간 생산량은 2010년 21,370톤에 비해 2015년에는 27배나 증가한 27,142톤으로 해마다 증가하는 추세이다. 생산량이 증가함에 따라 제주 양식 넙치의 연간 폐사량 또한 2010년 4,519톤에 비해 2015년에는 53.31배 증가한 6,928톤으로 해마다 증가하고 있는 추세이다. 넙치가 폐사하는 환경적 원인에는 저수온, 저염분, 고염분, 저수온, 고수온 및 용존산소량의 변화 등이 있다. 이러한 넙치 폐사의 환경요인으로는 인위적으로 조절가능하여 비교적 용이하게 관리가 가능한 편이지만, 이러한 관리가 충분히 이루어진다고 하더라도 유입수에 의해 발생하는 질병을 차단하는 것은 현재의 양식장 시설에서는 매우 어려운 과제로 여겨지고 있다.

질병 감염의 종류에는 바이러스성, 병원성 세균, 기생충성 질병이 있으며, 그 중 병원성 세균에 의한 피해가 가장 발생하고 있는 실정이다. 병원성 세균 중 *Streptococcus parauberis*, *Vibrio haryeyi* 및 *Edwardsiella tarda*는 제주도 내 가장 많이 발병 되는 병원균으로 알려져 있다. 현재 해수를 살균하는 방법에는 오존, 자외선 및 염소 살균이 있으며, 자외선과 오존의 경우에는 병원균 표면에만 살균작용이 일어나며 처리 비용이 높아 대량 처리 할 때에는 적합하지 않아 학교 조리시설 및 기구 멸균에 사용되고 있다. 반면, 염소는 농도 및 처리 시간에 따라 살균력이 증가하며 가격이 저렴하고 대량 소독에 용이한 것으로 알려져 양식장 내 유입수를 살균하는 합리적인 방법이다. 본 실험에서는 전기분해장치에서 발생하는 복합적인 염소 종인 Mixed oxidant (MO)과 일반적으로 사용되는 염소 종인 차아염소산나트륨을 비교하였다.

MO (0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO) 및 차아염소산나트륨(0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm) 농도 및 정치

시간 (0, 5, 10, 15, 20, 25 및 30 분) 별로 반응시킨 후 본 실험에서 가장 효과적이라고 판단된 Sodium thiosulfate를 살균능에 관여하는지 검증 후 균 희석액에 첨가하였으며 동정한 실험균의 생균수를 측정하기 위하여 agar plating법을 이용하였다. 도말한 배지는 25 °C에서 24시간 배양한 다음 배지에 형성된 실험균의 colony를 ml당 반응균의 수로 측정하였고 SPSS통계 프로그램을 통해 유의적인 차이를 확인하였다. 병원성 세균 첨가에 따른 MO 및 차아염소산나트륨의 각 시간 별 유효농도는 발색법을 원리로 하는 chlorine pocket photometer를 이용하여 측정하였다. 또한 본 실험에 사용한 염소 희석에 멸균해수가 염소 농도와 관여하는지 추가적으로 측정을 실시하였다. MO는 복합적인 염소 종을 포함하고 있어 차아염소산나트륨보다 효과적으로 병원균으로 살균하는 것으로 판단되며, 이러한 살균력에 대한 병원균의 내성은 일반적으로 세포벽의 구조에 따라 변화 한다고 보고하고 있다. 본 연구에서도 그람음성균인 *V. harveyi* 및 *E. tarda* 에서 그람양성균인 *S. parauberis* 에서 MO에 대한 내성이 높게 나타난 것으로 판단된다. 살균에 따른 염소 종 및 병원균에 따라 에너지 요구량이 변화한다고 보고 있으며 염소는 살균과정 중 세포막 파괴 및 DNA 손상에 따른 에너지 요구량이 증가함에 따라 염소 농도가 감소한다고 보고하고 있다.

본 실험에서도 기존의 연구와 동일하게 MO 및 차아염소산나트륨 희석액의 농도가 병원균과 접촉 후 유효농도가 감소하는 것으로 나타났으며, 동일한 농도에서 차아염소산나트륨 보다 MO가 차아염소산 및 차아염소산이온 등과 같은 유효염소를 포함하고 있어 에너지 효율이 높은 살균제인 것으로 판단된다.

따라서 해양 내 잠재적으로 포함된 유입수를 살균시에 차아염소산나트륨보다 MO 가 효과적이며 MO 는 전기분해장치 내 유효염소농도를 일정하게 유지가능하여 보다 넓치 폐사를 저감시키는 효율적인 유입수 살균방법으로 적합하다고 판단되어졌다.

## 목차

|  |            |
|--|------------|
| 영문요약 .....                                       | i          |
| 국문요약.....  | ii         |
| 목차.....  | v          |
| <b>LIST OF TABLE.....</b>                        | <b>vi</b>  |
| <b>LIST OF FIGURES.....</b>                      | <b>vii</b> |
| <br>   |            |
| I. 서론 .....                                      | 1          |
| II. 재료 및 방법.....                                 | 3          |
| 1. 실험군 .....                                     | 3          |
| 2. MO 및 차아염소산나트륨 희석액 제조.....                     | 4          |
| 3. MO 및 차아염소산나트륨 농도 별 어류 병원세균 살균능 및 유효농도 측정..... | 5          |
| 4. 통계처리 .....                                    | 5          |
| III. 결과 .....                                    | 6          |
| 1. 실험군의 동정 .....                                 | 6          |
| 2. MO 및 차아염소산나트륨의 적정 중화 반응 평가 .....              | 10         |
| 3. 병원균 살균 시 MO 및 차아염소산나트륨의 경시적 농도변화 .....        | 25         |
| IV. 고찰 .....                                     | 39         |
| V. 참고문헌.....                                     | 42         |



## LIST OF TABLE

|  |    |
|--|----|
| <b>Table 1.</b> Reduction effect of mixed oxidant (MO) according to addition of different neutralizing agent, 1.5% NaCl, 2% sodium thiosulfate and PBS ..... | 11 |
|--|----|

## LIST OF FIGURES

- FIGURE 1.** Electrolysis system. .... 4
- FIGURE 2.** Neighbor-joining tree based on 16S rDNA sequences, showing relationships between *Vibrio harveyi* and member of the *Vibrio* sp. Number of the nodes are levels of bootstrap support (%), based on neighbor-joining analyses of 5,000 resampled database. .... 7
- FIGURE 3.** Neighbor-joining tree based on 16S rDNA sequences, showing relationships between *Streptococcus parauberis* and member of the *streptococcus* sp. Number of the nodes are levels of bootstrap support (%), based on neighbor-joining analyses of 5,000 resampled database. .... 8
- FIGURE 4.** Neighbor-joining tree based on 16S rDNA sequences, showing relationships between *Edwardsiella tarda* and member of the *Edwaedsiella* sp. Number of the nodes are levels of bootstrap support (%), based on neighbor-joining analyses of 5,000 resampled database. .... 9
- FIGURE 5.** Growth curves of *V. harveyi*, *E.tarda* and *S. parauberis* with different exposure times of sodium thiosulfate each point represents the mean of optical density determinations. Different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $p<0.05$ ). Error bars are omitted. .... 13
- FIGURE 6.** Growth curves of *V. harveyi* with different exposure times of MO. each point represents the mean of optical density determinations. Different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $p<0.05$ ). Error bars are omitted. .... 15

**FIGURE 7.** Growth curves of *E.tarda* with different exposure times of MO. each point represents the mean of optical density determinations. Different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $p<0.05$ ). Error bars are omitted. .... 17

**FIGURE 8.** Growth curves of *S. parauberis* with different exposure times of MO. each point represents the mean of optical density determinations. Different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $p<0.05$ ). Error bars are omitted.

..... 20

**FIGURE 9.** Growth curves of *V. harveyi* with different exposure times of sodium hypochlorite. each point represents the mean of optical density determinations. Different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $p<0.05$ ). Error bars are omitted. .... 21

**FIGURE 10.** Growth curves of *E.tarda* with different exposure times of sodium hypochlorite. each point represents the mean of optical density determinations. Different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $p<0.05$ ). Error bars are omitted. .... 23

**FIGURE 11.** Growth curves of *S. parauberis* with different exposure times of sodium hypochlorite. each point represents the mean of optical density determinations. Different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $p<0.05$ ). Error bars are omitted. .... 25

**FIGURE 12.** Effective chlorine concentration of *V. harveyi* with different exposure times of MO. each point represents the mean of optical density determinations. .... 30

**FIGURE 13.** Effective chlorine concentration of *E. tarda* with different exposure times of MO. each point represents the mean of optical density determinations. .... 32

**FIGURE 14.** Effective chlorine concentration of *S. parauberis* with different exposure times of MO. each point represents the mean of optical density determinations. .... 34

**FIGURE 15.** Effective chlorine concentration of *V. harveyi* with different exposure times of sodium hypochlorite. each point represents the mean of optical density determinations.  
..... 36

**FIGURE 16.** Effective chlorine concentration of *E. tarda* with different exposure times of sodium hypochlorite. each point represents the mean of optical density determinations.  
..... 38

**FIGURE 17.** Effective chlorine concentration of *S.parauberis* with different exposure times of sodium hypochlorite. each point represents the mean of optical density determinations. .... 40

**FIGURE 18.** Effective chlorine concentration of seawater with different exposure times of Chlorine. each point represents the mean of optical density determinations. .... 42

## I. 서론

제주 양식넙치의 연간 생산량은 2010년 21,370톤에 비해 2015년에는 27배나 증가한 27,142톤으로 해마다 증가하는 추세이다. 생산량이 증가함에 따라 제주 양식 넙치의 연간 폐사량 또한 2010년 4,519톤에 비해 2015년에는 53.31배 증가한 6,928톤으로 해마다 증가하고 있는 추세이다. 이에 따라 양식넙치의 폐사로 인한 경제적 피해액은 2010년 294억원에서 2015년 529억원으로 79.93배 증가한 것으로 조사되어 넙치의 폐사율이 증가함에 따라 경제적 손실이 증가하고 있는 추세이다(MIFAFF., 2014; NIFS., 2015.; KOSTAT., 2015).

넙치가 폐사하는 환경적 원인에는 저염분, 고염분, 저수온, 고수온 및 용존산소량의 변화 등이 있다. 이러한 넙치 폐사의 환경요인으로는 인위적으로 조절가능하여 비교적 용이하게 관리가 가능한 편이지만, 이러한 관리가 충분히 이루어진다고 하더라도 유입수에 의해 발생하는 질병을 차단하는 것은 현재의 양식장 시설에서는 매우 어려운 과제로 여겨지고 있다.

최근 양식장 내의 질병감염에 따른 폐사가 증가하는 추세이며, 특히 병원성 세균에 따른 피해가 급증하고 있어 이에 대한 대책이 시급한 상황이다(Cho et al., 2007). 현재 산업적 육상 고밀도 사육시설에서 질병감염 예방 및 처리방법은 수산생물 체내에 직접적으로 살균제, 살충제 및 항균제 등과 같은 약제를 희석하여 대상어종에게 투여하는 경구투여법, 침지법 및 주사법 등이 활용되고 있다(Raphael et al., 1981; Leteux and Meyer, 1972; Fox et al., 1985; Speare et al., 1996). 이러한 직접적인 투여 방법은 대상 수산생물의 체표, 아가미 및 체내에서 발생하는 질병에 치유효과가 크나, 고농도 처리 시에는 어체 내 스트레스로 작용할 수 있는 것으로 알려져 있다(Barton and Iwama, 1991; Pickering, 1992). 반면, 간접적으로

해양에 존재하고 있는 병원균이 양식장으로 유입되는 과정에서 살균을 하는 사육수의 관리방법은 2차적 오염 가능성이 없고, 스트레스 유발이 낮아 질병 예방 및 치료방법으로 주목되고 있다.

일반적인 수질의 살균을 위해 주로 사용되는 염소 살균제인 차아염소산나트륨은 물이 유동적이지 않은 수영장, 식음수 살균 등에 주로 사용되고 있다 (Martínez-Huitle et al, 2008; Li et al., 2002). 그러나 이러한 방법은 수 중에 일정한 염소 농도를 유지시키는데 많은 어려움이 있어 최근 복합적인 염소 종을 통해 살균하는 전기분해장치가 주목 받고 있다. 전기분해 장치의 해수를 살균하는 기작에 대해서는 명확하게 밝혀진 것이 없으나 화학적 생성 기작으로 발생한 차아염소산과 차아염소산이온과 같은 유효 염소가 살균기작에 주된 요소로 보고되어지고 있다(Rhman et al., 2010).

따라서 본 연구에서는 양식어류의 질병차단을 위한 방법으로 차아염소산나트륨 및 전기분해장치에서 발생한 Mixed oxide (MO)에 따른 사육수의 살균능을 파악하고자 본 연구를 실시하고자 하였다. 살균능을 파악하기 위하여 제주도 양식장에서 가장 흔히 발생하는 병원성 질병원인균을 분리 배양하여 상기의 두 물질에 대한 질병저감효과에 대한 특성을 파악하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험균

실험 균주는 제주도 소재 양식장에서 임의적으로 선정된 넙치에서 분리 배양한 병원균을 확인하기 위하여 BHI, SS 및 TCBS배지를 사용하였고, 균의 배양은 300 mL의 삼각플라스크에 접종한 후, 25°C로 유지되는 배양기에서 48시간 배양하였다. 유기물의 영향에 의한 실험 결과의 오차를 최소화하기 위하여 각 세균 배양액을 멸균된 원심분리용 튜브에 넣고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 균체를 모은 다음 멸균된 생리식염수로 현탁하는 조건으로 3회 반복하여 균체를 수세하였다. 최종적으로 얻어진 균체는 멸균된 생리식염수를 이용하여 균의 농도를 조정하였다. 또한 세균용 Genomic DNA Prep Kit (SolGent, Korea)를 사용하여 각 균주의 DNA를 획득하였다. 16S rRNA 유전자는 27F; 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3, 1492R; 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'를 이용하여 PCR을 수행하였다(Lane, 1991; Turner et al., 1999). 증폭된 16S rDNA는 염기서열 결정은 (주)SolGent에 의뢰하여 수행하였다. 분석된 염기서열은 미국 국립생물정보센터인 NCBI (National Center for Biotechnology Information)의 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) search program에서 Genbank database와 Ez Taxon-e (<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>)의 database를 이용하여 유사한 염기서열을 비교하였으며 근 연속 또는 종으로 나타나는 서열을 확인하였다. 결정된 염기서열과 database에서 확인한 표준 미생물 염기서열을 ClustalW software로 multiple alignment를 수행하고 Mega 7.0 software 프로그램을 이용하여 phylogenetic tree를 작성하였다.



## 2. MO 및 차아염소산 나트륨 희석액 제조

차아염소산나트륨 희석액은 Sodium hypchlorite solution 4.00~4.99 %(Sigma aldrich)를 멸균해수와 혼합하여 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm 차아염소산나트륨 희석액을 만들었다. MO는 그림1 와 같은 전기분해장치를 사용하여 해수를 전기분해장치에서 순환시켜 MO를 만들었으며, 약 1,000 MO가 포함된 전기분해 해수를 멸균해수에 희석하여 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO를 실험에 사용하였다.

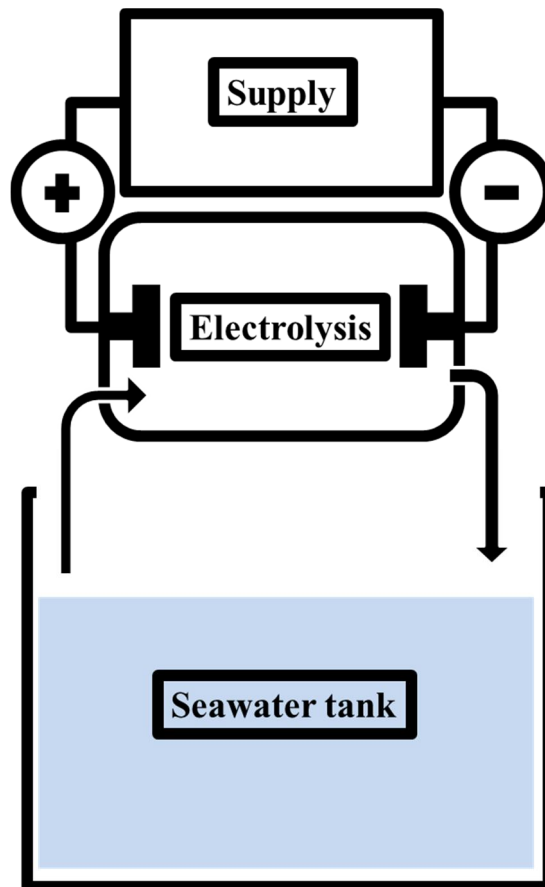


Figure 1. The shape of electrolysis system.

### 3. MO 및 차아염소산나트륨 농도 별 어류 병원세균 살균능 및 유효농도 측정

MO 및 차아염소산나트륨을 농도 및 시간(0, 5, 10, 15, 20, 25 및 30분)별 정치 후 염소 중화에 가장 효과적으로 관찰된 Sodium thiosulfate를 살균능에 관여하는지 검증 후 균희석액에 첨가하였으며 실험균의 생균 수를 측정하기 위하여 agar plating법을 이용하였다. 반응 종료 후 실험균 부유액을 멸균 PBS로 연속 희석한 후 BHI agar에 100  $\mu$ l 씩 떨어뜨리고 멸균된 콘쥬라봉으로 도말하여 25  $^{\circ}$ C에서 24 시간 배양한 다음 배지에 형성된 실험균의 colony를 ml당 반응균의 수로 측정하였다. 병원세균 첨가에 따른 MO 및 차아염소산나트륨의 각 시간 별 유효농도는 발색법을 원리로 하는 chlorine pocket photometer(Hach inc.)를 이용하여 측정하였다. 또한, 본 실험에서 염소희석에 사용한 멸균해수가 염소농도에 관여하는지 추가적으로 측정을 실시하였다.

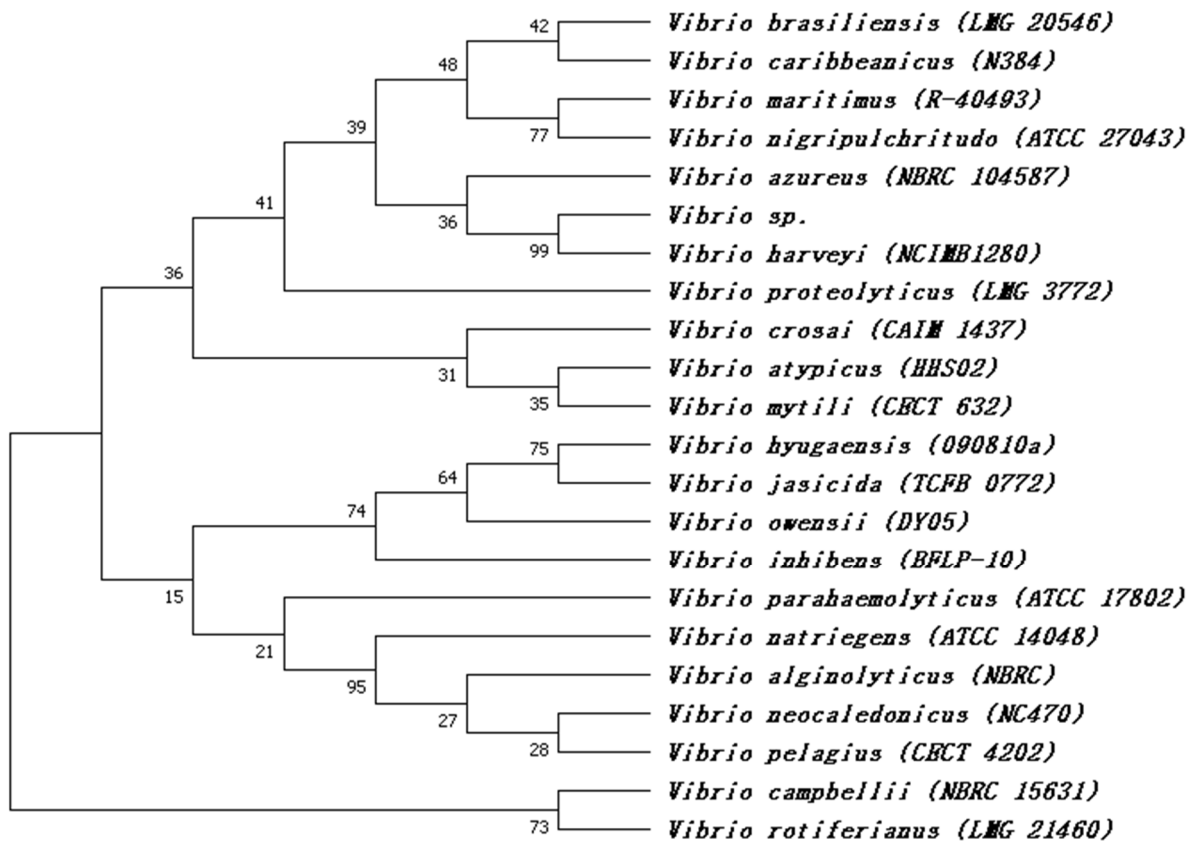
### 4. 통계처리

MO 및 차아염소산나트륨 처리에 따른 병원균의 살균능 결과는 SPSS version 21 (SPSS Inc., USA)을 활용하여 One-way ANOVA-test 로 통계 분석을 실시하였다. 데이터 값의 유의차는 Duncan's multiple test 사후분석을 실시하여 측정하였으며,  $P < 0.05$  에서 유의성을 판단하였다.

### Ⅲ. 결과

#### 1. 실험균의 동정

제주도내 양식장에서 넙치에서 분리한 균주를 동정하기 위해서 염기서열을 비교 분석한 결과 *Vbrio* sp.는 *Vibrio harveyi*와 99%, *Edawardsiella* sp.는 *Edawardsiella tarda*와 100% 그리고 *Streptococcus* sp.는 *Streptococcus paraberis*와 100%로 가장 유사도가 높은 것으로 나타나 본 실험에서 MO 및 차아염소산나트륨에 대한 살균능을 검증을 실시하였다(Fig. 2, 3, 4).



**Figure 2.** Neighbor-joining tree based on 16S rDNA sequences, showing relationships between *Vibrio harveyi* and member of the *Vibrio sp.* Number of the nodes are levels of bootstrap support (%), based on neighbor-joining analyses of 5,000 resampled database.

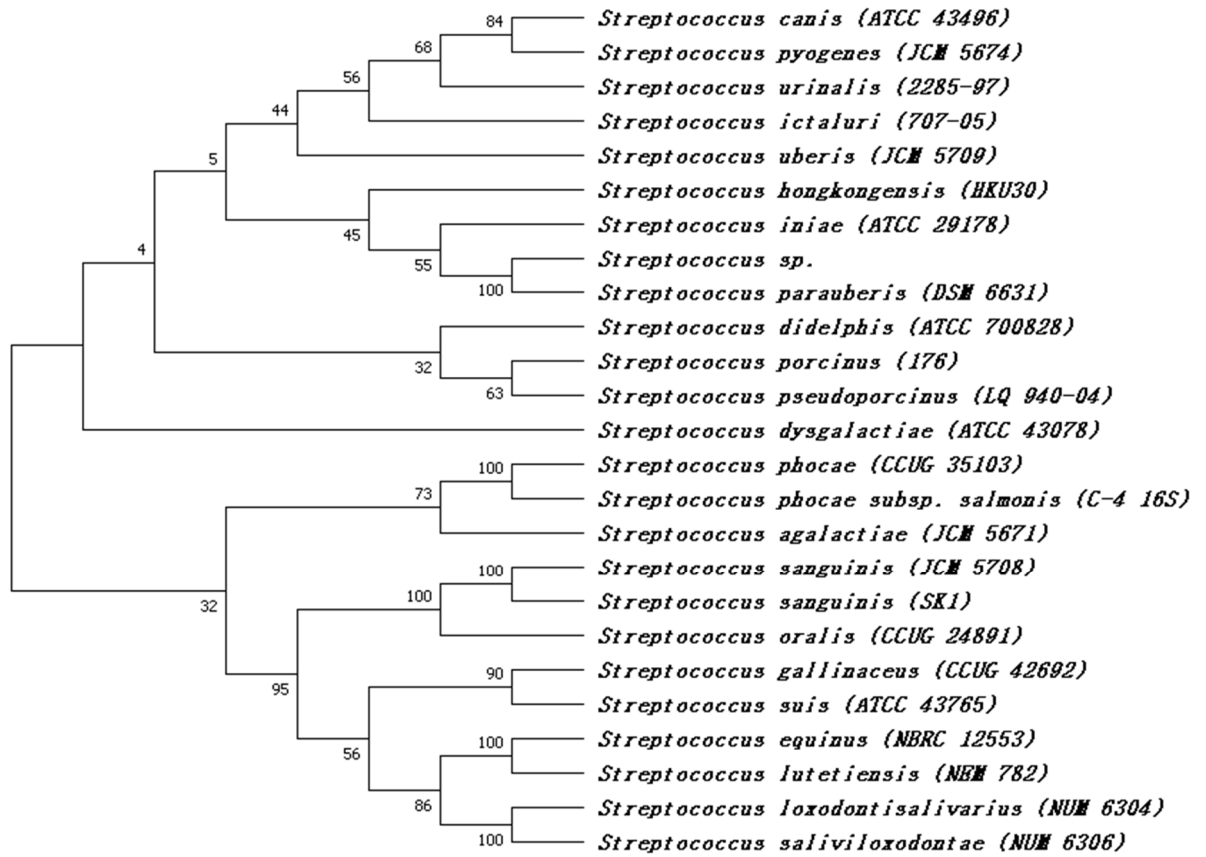
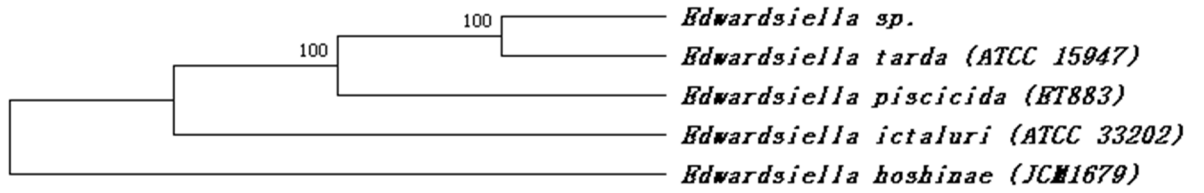


Figure 3. Neighbor-joining tree based on 16S rDNA sequences, showing relationships between *Streptococcus parauberis* and member of the *streptococcus* sp. Number of the nodes are levels of bootstrap support (%), based on neighbor-joining analyses of 5,000 resampled data base.



**Figure 4. Neighbor-joining tree based on 16S rDNA sequences, showing relationships between *Edwardsiella trada* and member of the *Edwaedsiella* sp. Number of the nodes are levels of bootstrap support (%), based on neighbor-joining analyses of 5,000 resampled data base.**

## 2. MO 및 차아염소산나트륨의 적정 중화 반응 평가

실험세균과 MO 및 차아염소산나트륨의 산화반응 종료 후 반응을 정지시킬 수 있는 적절한 방법을 찾기 위하여 병원균을 종류별로 첨가하고 실험구의 MO 및 차아염소산나트륨의 잔류 농도를 측정된 결과는 Table 1과 같다. 1.5% NaCl의 경우 실험구에 첨가한 뒤 25분 후부터 잔류 MO가 검출되지 않았으며, PBS는 동일 농도 조건에서 감소효과를 보이지 않아 산화 반응 정지용으로 적절하지 않은 것으로 나타났다. 그러나 2% sodium thiosulfate는 5초 이내에 잔류 MO가 검출되지 않음이 확인되었다.

**Table 1. Reduction effect of mixed oxidant (MO) according to addition of different neutralizing agent, 1.5% NaCl, 2% sodium thiosulfate and PBS**

| Neutralizing agent    | Treated time (min) |      |      |      |      |      |      |
|-----------------------|--------------------|------|------|------|------|------|------|
|                       | 0                  | 5    | 10   | 15   | 20   | 25   | 30   |
| 1.5% NaCl             | 0.98               | 0.64 | 0.55 | 0.21 | 0.40 | 0.00 | 0.00 |
| 2% Sodium thiosulfate | 0.00               | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| PBS                   | 2.00               | 2.00 | 2.00 | 1.98 | 1.95 | 1.94 | 1.91 |

본 연구에서 중화제로 사용된 Sodium thiosulfate의 살균능의 영향을 관찰하기 위하여 *V. harveyi*  $9.81 \pm 0.98$  Log CFU/ml, *E. tarda*  $9.97 \pm 0.88$  Log CFU/ml 및 *S. parauberis*  $9.87 \pm 0.91$  Log CFU/ml 첨가 시 시간에 따른 균수를 확인한 결과를 Fig. 5에 나타내었다.

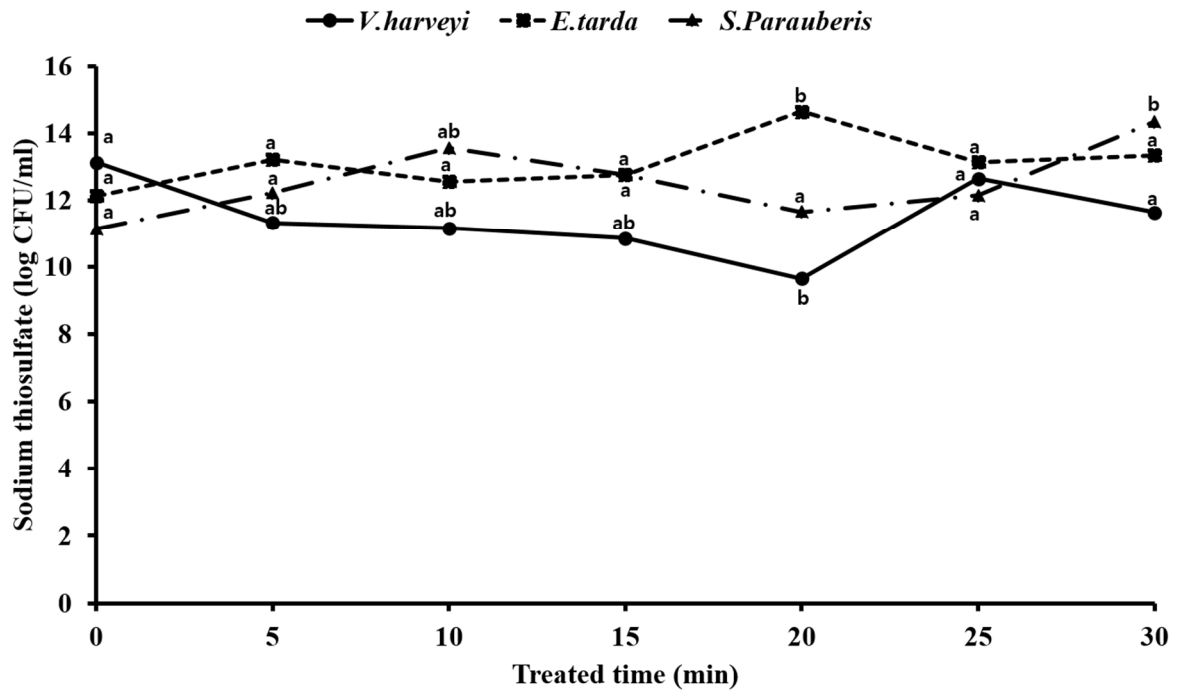


Figure 5. Growth curves of *V. harveyi*, *E. tarda* and *S. parauberis* with different exposure times of sodium thiosulfate. Each point represents the mean of optical density determinations. Different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $P < 0.05$ ). Error bars are omitted.



*V. harveyi*는 Sodium thiosulfate 첨가 직후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분동안 정지하였을 때 13.13±0.53 Log CFU/ml, 11.32±0.26 Log CFU/ml, 11.16±0.65 Log CFU/ml, 10.86±0.64 Log CFU/ml, 9.65±0.51 Log CFU/ml, 12.65±0.68 Log CFU/ml 및 11.64±0.98 Log CFU/ml 으로 확인되어 Sodium thiosulfate가 *V. harveyi*의 살균능에 영향이 없는 것으로 판단되며, *E. tarda*는 Sodium thiosulfate 첨가 직후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분동안 정지하였을 때 12.13±0.76, 13.22±0.89 Log CFU/ml, 12.56±0.46 Log CFU/ml, 12.76±0.54 Log CFU/ml, 14.65±0.68 Log CFU/ml, 13.15±0.98 Log CFU/ml 및 13.34±0.78 Log CFU/ml으로 확인되어 Sodium thiosulfate가 *E. tarda*의 살균능에 영향이 없는 것으로 판단되며, *S. parauberis*는 Sodium thiosulfate 첨가 직후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분동안 정지하였을 때 11.13±0.23 Log CFU/ml, 12.22±0.93 Log CFU/ml, 13.56±0.84 Log CFU/ml, 12.76±0.79 Log CFU/ml, 11.65±0.49 Log CFU/ml, 12.15±0.87 Log CFU/ml 및 14.34±0.49 Log CFU/ml 으로 확인되어 Sodium thiosulfate가 *S. parauberis*의 살균능에 영향이 없는 것으로 판단된다(Fig. 5,  $P < 0.05$ ).

### 3. 병원균에 대한 살균 효과

본 연구에서 *V. harveyi* 를 농도 별 희석액에  $9.81 \pm 0.98$  Log CFU/ml 동일한 양을 첨가 직후 MO 살균효과를 조사한 결과는 Fig. 6 에 나타내었다.

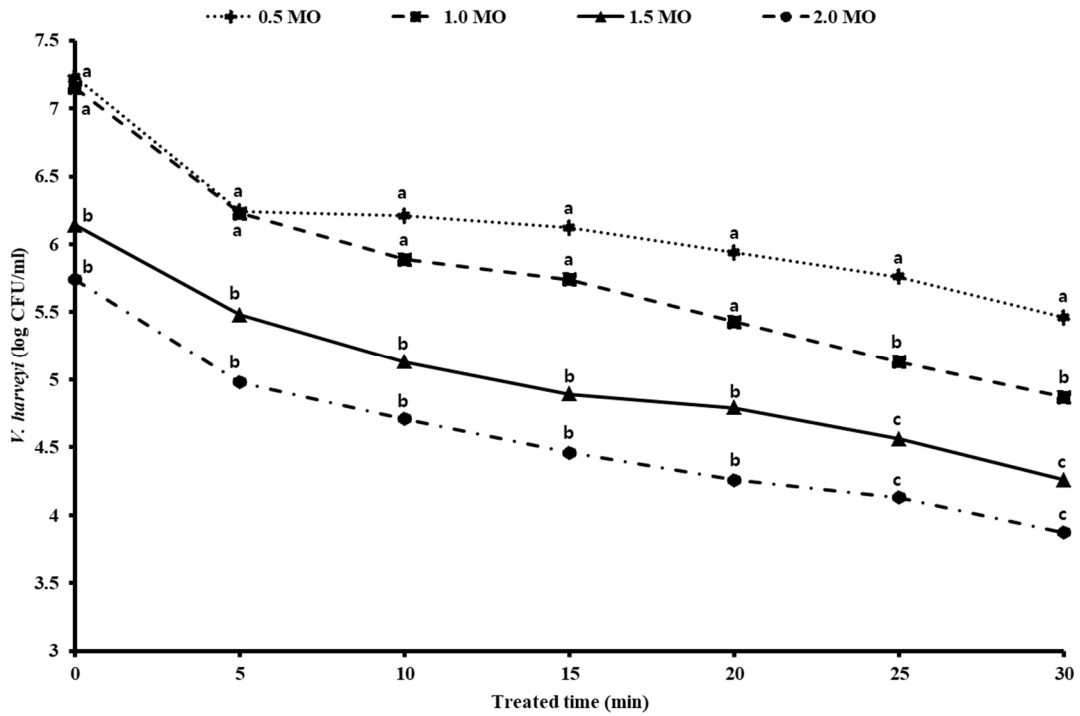


Figure 6. Growth curves of *V. harveyi* with different exposure times of MO. each point represents the mean of optical density determinations. different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $P < 0.05$ ). Error bars are omitted.

*V. harveyi*는 0.5 MO와 1.0 MO 처리 직후  $7.23 \pm 0.51$  Log CFU/ml 및  $7.15 \pm 0.23$  Log CFU/ml 으로 감소하였고, 1.5 MO와 2.0 MO는 처리 직후  $6.14 \pm 0.46$  Log CFU/ml 및  $5.74 \pm 0.13$  Log CFU/ml으로 감소하여 유의적으로 높은 살균능이 나타났다. 또한, *V. harveyi*는 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 5분간 정치 후  $6.24 \pm 0.32$  Log CFU/ml,  $6.23 \pm 0.64$  Log CFU/ml,  $5.48 \pm 0.32$  Log CFU/ml 및  $5.74 \pm 0.56$  Log CFU/ml으로 감소하여 1.5 MO 및 2.0 MO에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 10분간 정치 후  $6.21 \pm 0.41$  Log CFU/ml,  $5.89 \pm 0.64$  Log CFU/ml,  $5.48 \pm 0.32$  Log CFU/ml 및  $4.98 \pm 0.21$  Log CFU/ml으로 감소하여 1.5 MO 및 2.0 MO에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 15분간 정치 후  $6.12 \pm 0.23$  Log CFU/ml,  $5.74 \pm 0.33$  Log CFU/ml,  $4.89 \pm 0.31$  Log CFU/ml 및  $4.46 \pm 0.78$  Log CFU/ml으로 감소하여 1.5 MO 및 2.0 MO에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 20분간 정치 후  $5.94 \pm 0.16$  Log CFU/ml,  $5.43 \pm 0.65$  Log CFU/ml,  $4.79 \pm 0.13$  Log CFU/ml 및  $4.26 \pm 0.71$  Log CFU/ml으로 감소하여 1.5 MO 및 2.0 MO에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 25분간 정치 후  $5.76 \pm 0.65$  Log CFU/ml,  $5.13 \pm 0.89$  Log CFU/ml,  $4.56 \pm 0.12$  Log CFU/ml 및  $4.13 \pm 0.23$  Log CFU/ml으로 감소하여 1.5 MO 및 2.0 MO에서 유의적으로 가장 높은 살균력이 나타났으며 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 30분간 정치 후  $5.46 \pm 0.43$  Log CFU/ml,  $4.87 \pm 0.45$  Log CFU/ml,  $4.26 \pm 0.56$  Log CFU/ml 및  $3.87 \pm 0.46$  Log CFU/ml으로 감소하여 1.5MO 및 2.0 MO에서 유의적으로 가장 높은 살균력이 나타났다(Fig. 6,  $P < 0.05$ ).

본 연구에서 *E. tarda*를 농도 별 희석액에  $9.97 \pm 0.88$  Log CFU/ml 동일한 양을 첨가 직후 MO 살균효과를 조사한 결과는 Fig. 7에 나타내었다.

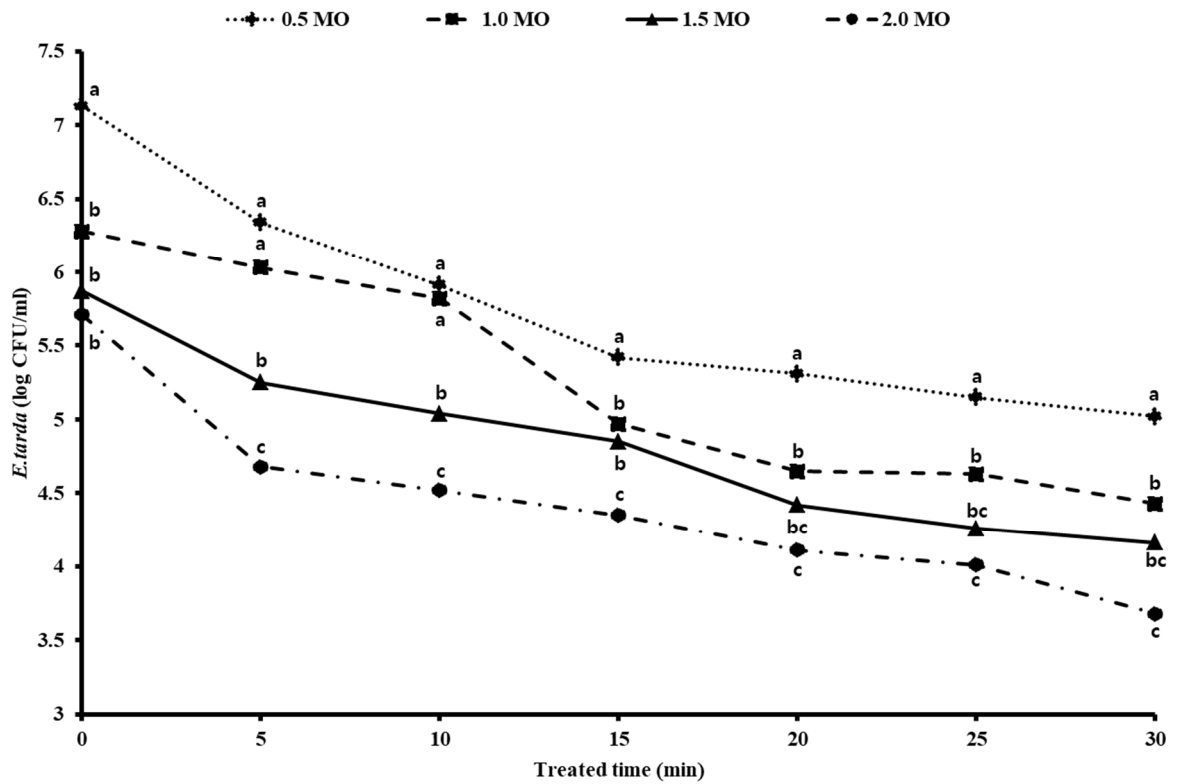


Figure 7. Growth curves of *E. tarda* with different exposure times of MO. each point represents the mean of optical density determinations. different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $P < 0.05$ ). Error bars are omitted.

*E. tarda*는 0.5 MO와 1.0 MO 처리 직후  $7.13 \pm 0.56$  Log CFU/ml 및  $6.28 \pm 0.13$  Log CFU/ml로 감소하였고 1.5 MO와 2.0 MO는 처리 직후  $5.87 \pm 0.45$  Log CFU/ml 및  $5.71 \pm 0.49$  Log CFU/ml로 *E. tarda*가 감소하여 유의적으로 높은 살균능이 나타났다. 또한, *E. tarda*는 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 5분간 정치 후  $6.34 \pm 0.13$  Log CFU/ml,  $6.03 \pm 0.46$  Log CFU/ml,  $5.25 \pm 0.46$  Log CFU/ml 및  $4.68 \pm 0.46$  Log CFU/ml로 *E. tarda*가 감소하여 0.5 MO에서 유의적으로 가장 낮은 살균력이 나타났으며 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 10분간 정치 후  $5.91 \pm 0.26$  Log CFU/ml,  $5.82 \pm 0.17$  Log CFU/ml,  $5.14 \pm 0.54$  Log CFU/ml 및  $4.52 \pm 0.71$  Log CFU/ml로 감소하여 2.0 MO에서 유의적으로 가장 높은 살균력이 나타났으며 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 15분간 정치 후  $5.42 \pm 0.23$  Log CFU/ml,  $5.57 \pm 0.26$  Log CFU/ml,  $5.05 \pm 0.13$  Log CFU/ml 및  $4.35 \pm 0.23$  Log CFU/ml로 감소하여 2.0 MO에서 유의적으로 가장 높은 살균력이 나타났으며, 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 20분간 정치 후  $5.31 \pm 0.26$  Log CFU/ml,  $5.45 \pm 0.56$  Log CFU/ml,  $4.42 \pm 0.48$  Log CFU/ml 및  $4.11 \pm 0.26$  Log CFU/ml로 감소하여 2.0 MO에서 유의적으로 가장 높은 살균력이 나타났으며 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 25분간 정치 후  $5.15 \pm 0.46$  Log CFU/ml,  $5.13 \pm 0.45$  Log CFU/ml,  $4.26 \pm 0.21$  Log CFU/ml 및  $4.01 \pm 0.54$  Log CFU/ml로 감소하여 2.0 MO에서 유의적으로 가장 높은 살균력이 나타났으며 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 30분간 정치 후  $5.02 \pm 0.23$  Log CFU/ml,  $4.83 \pm 0.67$  Log CFU/ml,  $4.16 \pm 0.23$  Log CFU/ml 및  $3.68 \pm 0.59$  Log CFU/ml로 감소하여 2.0 MO에서 유의적으로 가장 높은 살균력이 나타났다(Fig. 7,  $P < 0.05$ ).

본 연구에서 *S. parauberis*를 MO 농도 별 희석액에  $9.87 \pm 0.91$  Log CFU/ml 동일한 양을 첨가 직후 MO 살균효과를 조사한 결과는 Fig. 8에 나타내었다.

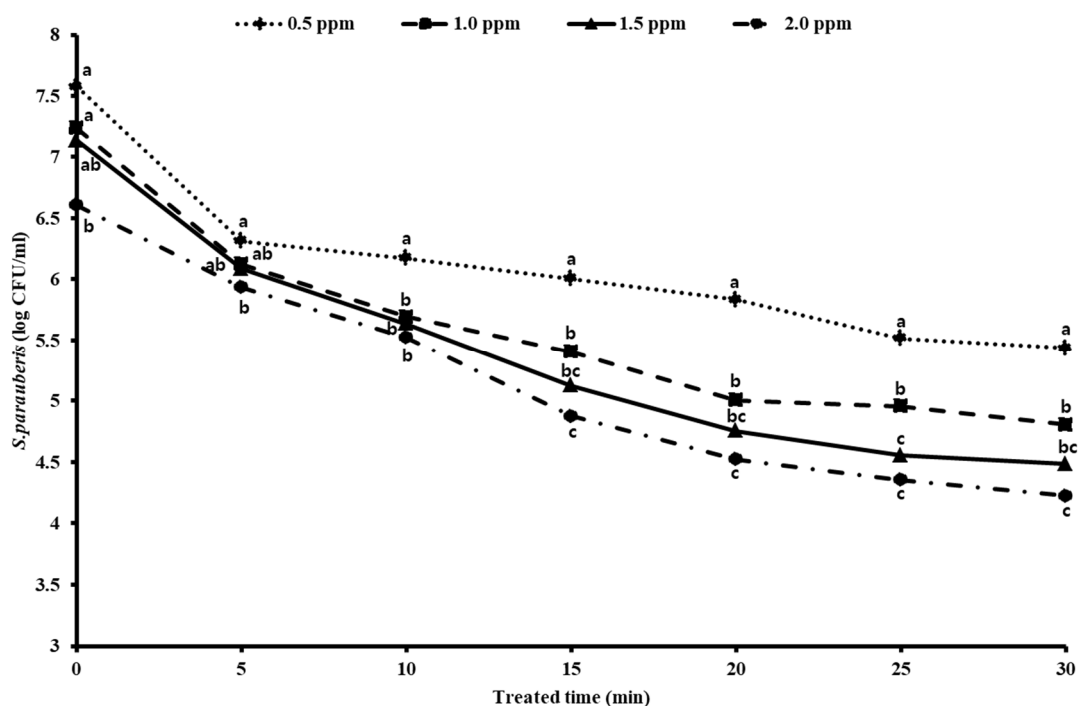


Figure 8. Growth curves of *S. parauberis* with different exposure times of MO. each point represents the mean of optical density determinations. different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $p < 0.05$ ). Error bars are omitted.

*S. parauberis*는 0.5, 1.0 및 1.5 MO 처리 직후  $6.54 \pm 0.16$  Log CFU/ml,  $5.54 \pm 0.65$  Log CFU/ml 및  $6.13 \pm 0.31$  Log CFU/ml으로 *S. parauberis*가 감소하였고, 2.0 MO 처리 직후 및  $5.61 \pm 0.78$  Log CFU/ml으로 유의적으로 높은 살균능이 나타났다. 또한, *S. parauberis*는 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 5분간 정치 후  $6.47 \pm 0.56$  Log CFU/ml,  $5.94 \pm 0.53$  Log CFU/ml,  $5.69 \pm 0.13$  Log CFU/ml 및  $4.64 \pm 0.16$  Log CFU/ml 으로 감소하여 2.0 MO에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 10분간 정치 후  $6.33 \pm 0.13$  Log CFU/ml,  $5.56 \pm 0.59$  Log CFU/ml,  $5.49 \pm 0.45$  Log CFU/ml 및  $4.13 \pm 0.26$  Log CFU/ml 으로 감소하여 0.5 MO에서 유의적으로 가장 낮은 살균력이 나타났으며 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 15분간 정치 후  $6.17 \pm 0.46$  Log CFU/ml,  $5.14 \pm 0.21$  Log CFU/ml,  $5.05 \pm 0.65$  Log CFU/ml 및  $3.86 \pm 0.34$  Log CFU/ml 으로 감소하여 2.0 MO에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 20분간 정치 후  $5.64 \pm 0.48$  Log CFU/ml,  $4.91 \pm 0.14$  Log CFU/ml,  $4.36 \pm 0.15$  Log CFU/ml 및  $3.37 \pm 0.71$  Log CFU/ml 으로 감소하여 2.0 MO에서 유의적으로 가장 높은 살균력이 나타났으며 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 25분간 정치 후  $5.34 \pm 0.17$  Log CFU/ml,  $4.76 \pm 0.16$  Log CFU/ml,  $4.16 \pm 0.32$  Log CFU/ml 및  $3.46 \pm 0.23$  Log CFU/ml으로 감소하여 1.5 MO 및 2.0 MO에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 MO에 30분간 정치 후  $5.16 \pm 0.29$  Log CFU/ml,  $4.43 \pm 0.29$  Log CFU/ml,  $3.68 \pm 0.22$  Log CFU/ml 및  $3.41 \pm 0.05$  Log CFU/ml으로 감소하여 2.0 MO에서 유의적으로 가장 높은 살균력이 나타났다(Fig. 8,  $P < 0.05$ ).

본 연구에서 *V. harveyi*를 차아염소산나트륨 농도 별 희석액에  $9.81 \pm 0.98$  동일한 양을 첨가 직후 차아염소산나트륨 살균효과를 조사한 결과는 Fig. 9에 나타내었다.

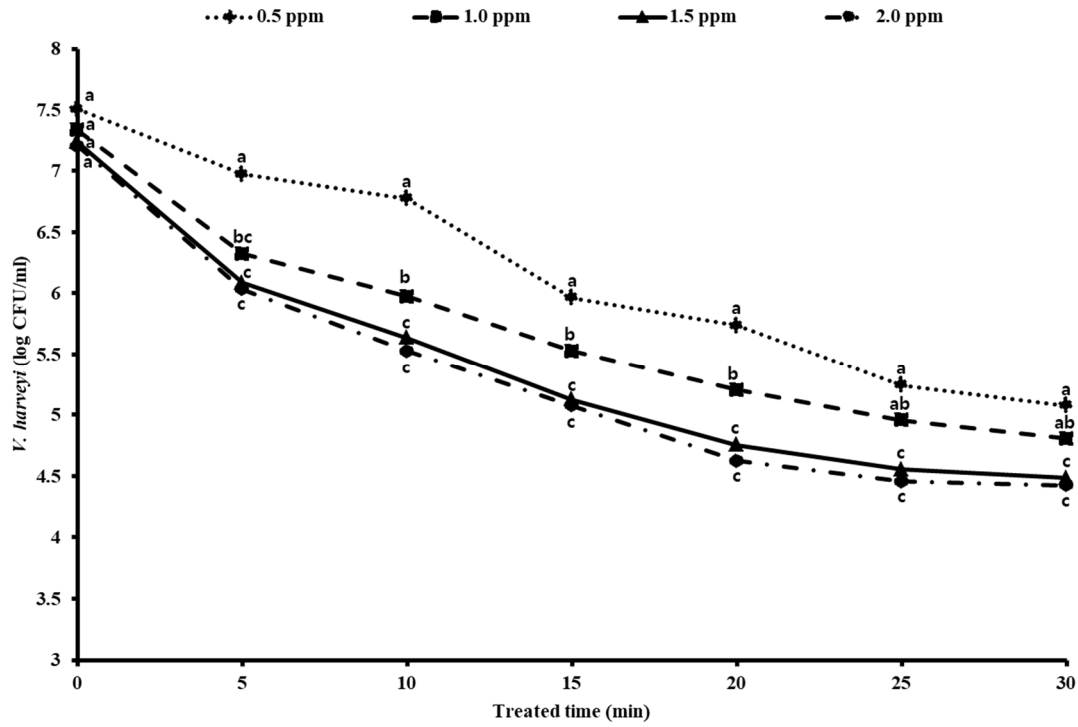


Figure 9. Growth curves of *V. harveyi* with different exposure times of sodium hypochlorite. each point represents the mean of optical density determinations. different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $P < 0.05$ ). Error bars are omitted.



*V. harveyi*는 0.5, 1.0 및 1.5 ppm처리 직후  $7.51\pm 0.23$  Log CFU/ml,  $7.34\pm 0.78$  Log CFU/ml 및  $7.24\pm 0.56$  Log CFU/ml 으로 감소하였고, 2.0 ppm는 처리 직후  $7.21\pm 0.35$  Log CFU/ml으로 유의적으로 높은 살균능이 나타났다. 또한, *V. harveyi*는 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 5분간 정치 후  $6.98\pm 0.13$  Log CFU/ml,  $6.33\pm 0.77$  Log CFU/ml,  $6.09\pm 0.46$  Log CFU/ml 및  $6.04\pm 0.56$  Log CFU/ml으로 감소하여 차아염소산나트륨 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 10분간 정치 후  $6.78\pm 0.68$  Log CFU/ml,  $5.98\pm 0.46$  Log CFU/ml,  $5.64\pm 0.78$  Log CFU/ml 및  $5.53\pm 0.43$  Log CFU/ml 으로 감소하여 차아염소산나트륨 0.5 ppm에서 유의적으로 낮은 살균력이 나타났으며, 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 15분간 정치 후  $5.97\pm 0.87$  Log CFU/ml,  $5.53\pm 0.35$  Log CFU/ml,  $5.13\pm 0.96$  Log CFU/ml 및  $5.08\pm 0.51$  Log CFU/ml으로 감소하여 차아염소산나트륨 1.5 및 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 20분간 정치 후  $5.74\pm 0.69$  Log CFU/ml,  $5.21\pm 0.51$  Log CFU/ml,  $5.06\pm 0.65$  Log CFU/ml 및  $4.63\pm 0.87$  Log CFU/ml으로 감소하여 차아염소산나트륨 1.5 및 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 25분간 정치 후  $5.25\pm 0.26$  Log CFU/ml,  $4.96\pm 0.23$  Log CFU/ml,  $4.56\pm 0.53$  Log CFU/ml 및  $4.46\pm 0.34$  Log CFU/ml 으로 감소하여 차아염소산나트륨 1.5 및 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 30분간 정치 후  $5.08\pm 0.48$  Log CFU/ml,  $4.81\pm 0.46$  Log CFU/ml,  $4.49\pm 0.26$  Log CFU/ml 및  $4.43\pm 0.51$  Log CFU/ml으로 감소하여 차아염소산나트륨 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났다(Fig. 9,  $P<0.05$ ).

본 연구에서 *E.tarda* 를 차아염소산나트륨 농도 별 희석액에  $9.97 \pm 0.81$  Log CFU/ml 동일한 양을 첨가 직후 차아염소산나트륨 살균효과를 조사한 결과는 Fig. 10 에 나타내었다.

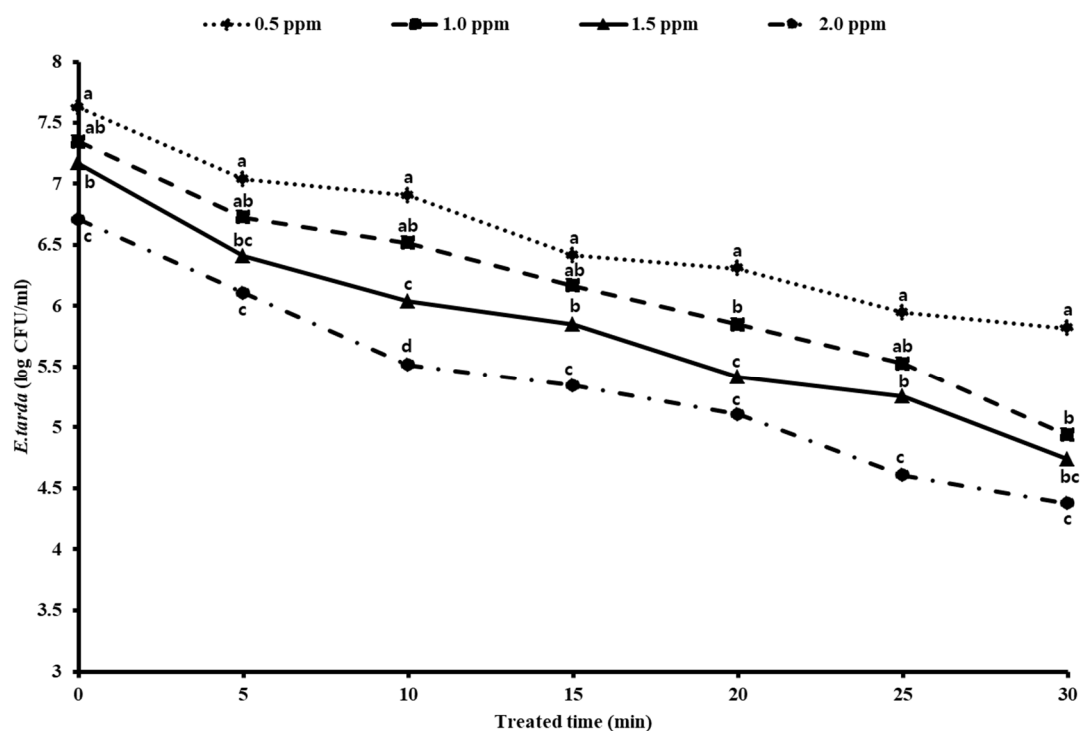
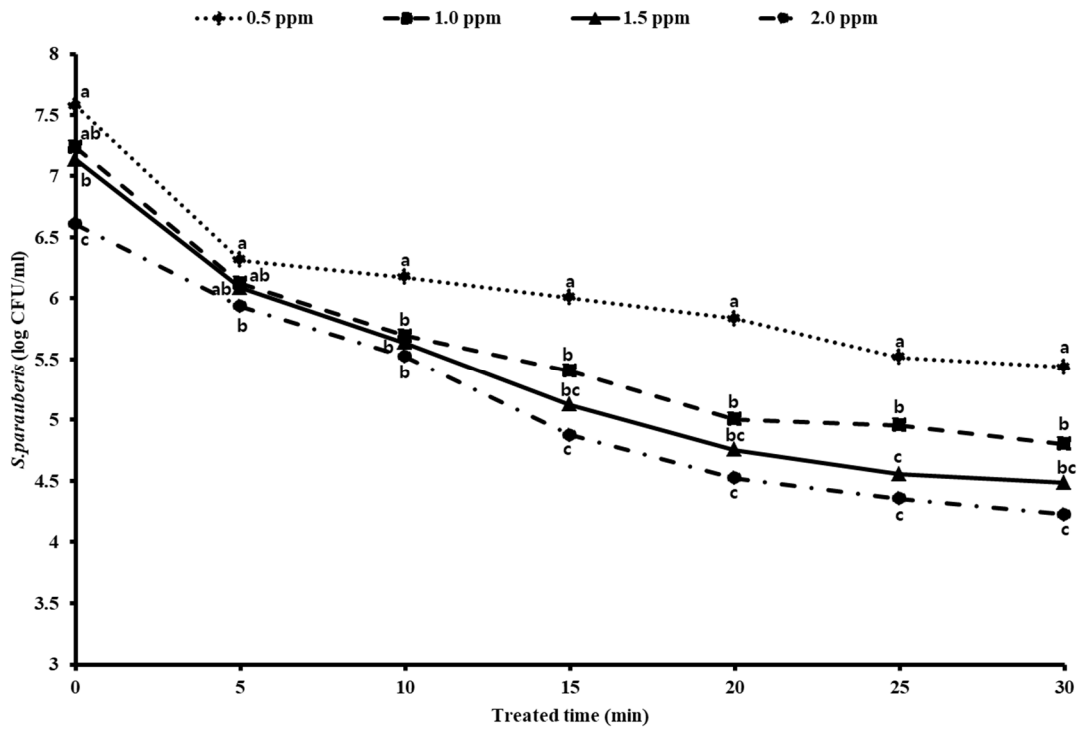


Figure 10. Growth curves of *E. tarda* with different exposure times of sodium hypochlorite. each point represents the mean of optical density determinations. different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $P < 0.05$ ). Error bars are omitted.

*E. tarda*는 차아염소산나트륨 0.5, 1.0 및 1.5 ppm처리 직후  $7.63 \pm 0.68$  Log CFU/ml,  $7.35 \pm 0.23$  Log CFU/ml 및  $7.17 \pm 0.71$  Log CFU/ml으로 *E. tarda*는 감소하였고, 2.0 ppm는 처리 직후  $6.71 \pm 0.46$  Log CFU/ml으로 *E. tarda*는 감소하여 유의적으로 높은 살균능이 나타났다. 또한, *E. tarda*는 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 5분간 정치 후  $7.04 \pm 0.68$  Log CFU/ml,  $6.73 \pm 0.46$  Log CFU/ml,  $6.41 \pm 0.45$  Log CFU/ml 및  $6.11 \pm 0.87$  Log CFU/ml으로 감소하여 차아염소산나트륨 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 10분간 정치 후  $6.91 \pm 0.56$  Log CFU/ml,  $6.52 \pm 0.51$  Log CFU/ml,  $6.04 \pm 0.56$  Log CFU/ml 및  $5.52 \pm 0.77$  Log CFU/ml으로 감소하여 차아염소산나트륨 1.5 및 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 15분간 정치 후  $6.42 \pm 0.47$  Log CFU/ml,  $6.17 \pm 0.64$  Log CFU/ml,  $5.85 \pm 0.43$  Log CFU/ml 및  $5.35 \pm 0.65$  Log CFU/ml으로 감소하여 차아염소산나트륨 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 20분간 정치 후  $6.31 \pm 0.65$  Log CFU/ml,  $5.85 \pm 0.73$  Log CFU/ml,  $5.62 \pm 0.65$  Log CFU/ml 및  $5.11 \pm 0.54$  Log CFU/ml으로 감소하여 차아염소산나트륨 1.5 및 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 25분간 정치 후  $5.95 \pm 0.51$  Log CFU/ml,  $5.53 \pm 0.53$  Log CFU/ml,  $5.06 \pm 0.54$  Log CFU/ml 및  $4.61 \pm 0.31$  Log CFU/ml으로 감소하여 차아염소산나트륨 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력을 나타내었으며, 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 25분간 정치 후  $5.82 \pm 0.66$  Log CFU/ml,  $5.94 \pm 0.41$  Log CFU/ml,  $4.74 \pm 0.71$  Log CFU/ml 및  $4.38 \pm 0.55$  Log CFU/ml 으로 감소하여 차아염소산나트륨 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났다(Fig. 10,  $P < 0.05$ ).

본 연구에서 *S. parauberis*를 차아염소산나트륨 농도 별 희석액에  $9.87 \pm 0.88$  Log CFU/ml 동일한 양을 첨가 직후 차아염소산나트륨 살균효과를 조사한 결과는 Fig. 11에 나타내었다.



**Figure 11. Growth curves of *S. parauberis* with different exposure times of sodium hypochlorite. each point represents the mean of optical density determinations. different superscript letters (a, b, c) indicate significant difference between the values ( $p < 0.05$ ). Error bars are omitted.**

*S. parauberis*는 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 ppm 처리 직후  $7.58 \pm 0.65$  Log CFU/ml,  $7.24 \pm 0.56$  Log CFU/ml 및  $7.14 \pm 0.81$  Log CFU/ml로 감소하였고, 차아염소산나트륨 2.0 ppm은 처리 직후 및  $6.61 \pm 0.77$  Log CFU/ml로 *S. parauberis*가 감소하여 유의적으로 가장 살균능이 나타났다. 또한, *S. parauberis*는 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 5분간 정치 후  $6.32 \pm 0.46$  Log CFU/ml,  $6.13 \pm 0.46$  Log CFU/ml,  $6.09 \pm 0.51$  Log CFU/ml 및  $5.94 \pm 0.65$  Log CFU/ml로 감소하여 차아염소산나트륨 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났다. 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 10분간 정치 후  $6.18 \pm 0.51$  Log CFU/ml,  $5.70 \pm 0.46$  Log CFU/ml,  $5.64 \pm 0.65$  Log CFU/ml 및  $5.53 \pm 0.41$  Log CFU/ml로 감소하여 차아염소산나트륨 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 15분간 정치 후  $6.01 \pm 0.52$  Log CFU/ml,  $5.41 \pm 0.53$  Log CFU/ml,  $5.13 \pm 0.66$  Log CFU/ml 및  $4.88 \pm 0.52$  Log CFU/ml로 감소하여 차아염소산나트륨 0.5 ppm에서 유의적으로 낮은 살균력이 나타났으며, 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 20분간 정치 후  $5.84 \pm 0.23$  Log CFU/ml,  $5.01 \pm 0.46$  Log CFU/ml,  $4.76 \pm 0.74$  Log CFU/ml 및  $4.53 \pm 0.67$  Log CFU/ml로 감소하여 차아염소산나트륨 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 25분간 정치 후  $5.52 \pm 0.16$  Log CFU/ml,  $4.96 \pm 0.58$  Log CFU/ml,  $4.56 \pm 0.23$  Log CFU/ml 및  $4.36 \pm 0.53$  Log CFU/ml로 감소하여 차아염소산나트륨 1.5 및 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났으며, 차아염소산나트륨 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 ppm에 30분간 정치 후  $5.44 \pm 0.78$  Log CFU/ml,  $4.81 \pm 0.78$  Log CFU/ml,  $4.49 \pm 0.33$  Log CFU/ml 및  $4.23 \pm 0.87$  Log CFU/ml로 감소하여 차아염소산나트륨 2.0 ppm에서 유의적으로 높은 살균력이 나타났다(Fig. 11,  $P < 0.05$ ).

### 3. 병원균 살균 시 MO 및 차아염소산나트륨의 경시적 농도변화

본 실험에서 MO가 *V. harveyi* 살균과정 중 유효농도의 변화를 Fig. 12과 같이 나타내었다.

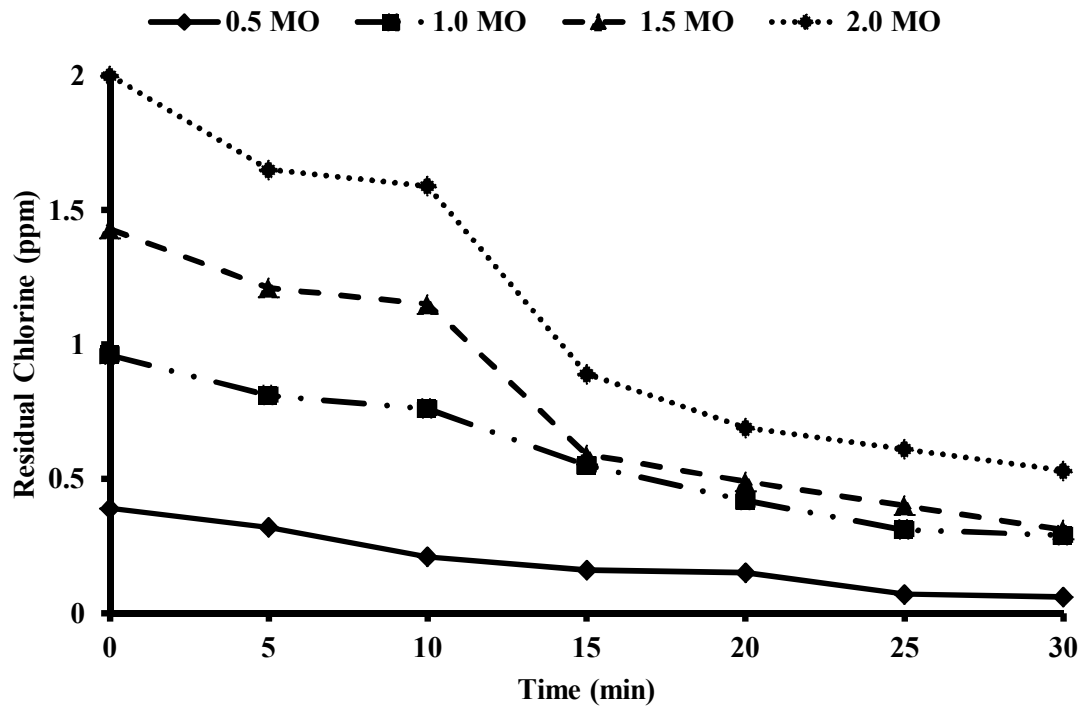


Figure 12. Effective chlorine concentration of *V. harveyi* with different exposure times of MO. each point represents the mean of optical density determinations.

0.5 MO는 *V. harveyi*에 첨가 직후 0.23 MO으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 0.18, 0.15, 0.10, 0.08, 0.07 및 0.04 MO으로 감소하였고, 1.0 MO는 *V. harveyi*에 첨가 직후 0.90 MO으로 감소하였으며 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 0.79, 0.50, 0.45, 0.38, 0.28 및 0.19 MO으로 감소하였으며, 1.5 MO를 *V. harveyi*에 첨가 직후 1.29 MO으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 1.07, 0.85, 0.64, 0.49, 0.31 및 0.25 MO으로 감소하였으며, 2.0 MO는 *V. harveyi*에 첨가 직후 1.38 MO으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30 경과 하였을 때 1.22, 0.93, 0.65, 0.40, 0.31 및 0.28으로 감소하는 것으로 관찰되었다(Fig. 12).

본 실험에서 MO가 *E.tarda* 살균과정 중 유효농도의 변화를 Fig. 13와 같이 나타내었다.

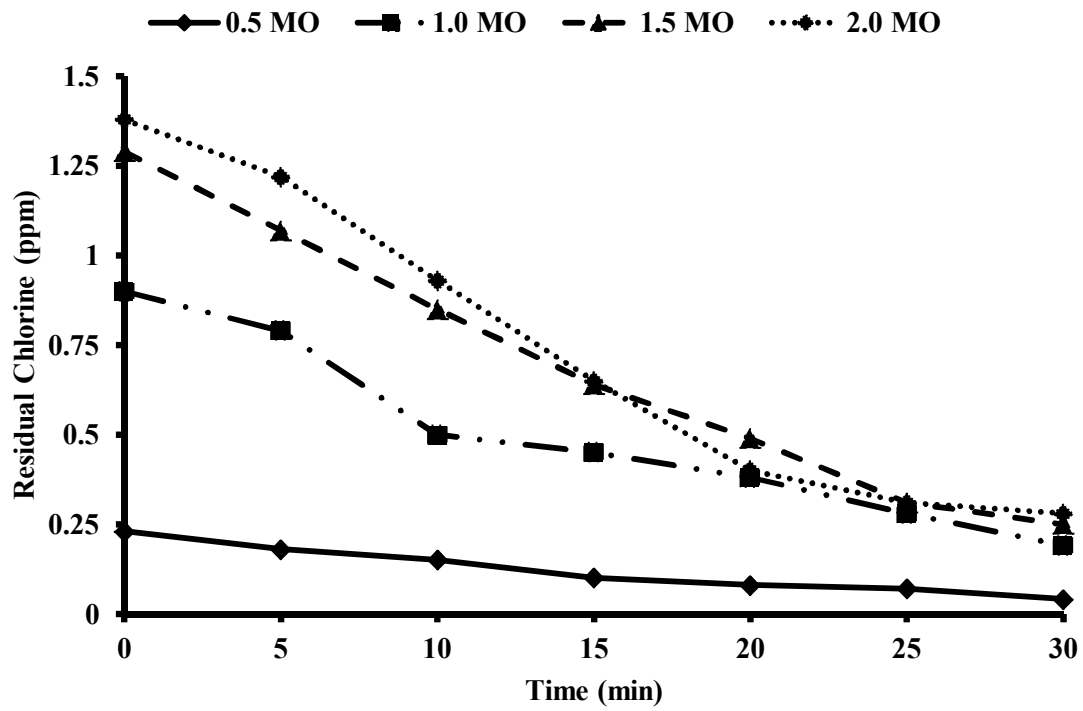


Figure 13. Effective chlorine concentration of *E. tarda* with different exposure times of MO. each point represents the mean of optical density determinations.



0.5 MO는 *E. tarda* 에 첨가 직후 0.25 MO으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 0.20, 0.11, 0.05, 0.05, 0.04 및 0.04 MO으로 감소하였고, 1.0 MO는 *E.tarda* 에 첨가 직후 0.88 MO으로 감소하였으며 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 0.71, 0.62, 0.41, 0.32, 0.22 및 0.12 MO으로 감소하였고, 1.5 MO는 *E. tarda* 에 첨가 직후 1.25 MO으로 감소하였으며 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 0.91, 0.73, 0.46, 0.32, 0.30 및 0.23 MO으로 감소하였고, 2.0 MO는 *E. tarda* 에 첨가 직후 1.42 MO으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 1.13, 1.01, 0.86, 0.52, 0.27 및 0.25 MO으로 감소하는 것으로 관찰되었다(Fig. 13).

본 실험에서 MO가 *S. parauberis* 살균과정 중 유효농도의 변화를 Fig. 14와 같이 나타내었다.

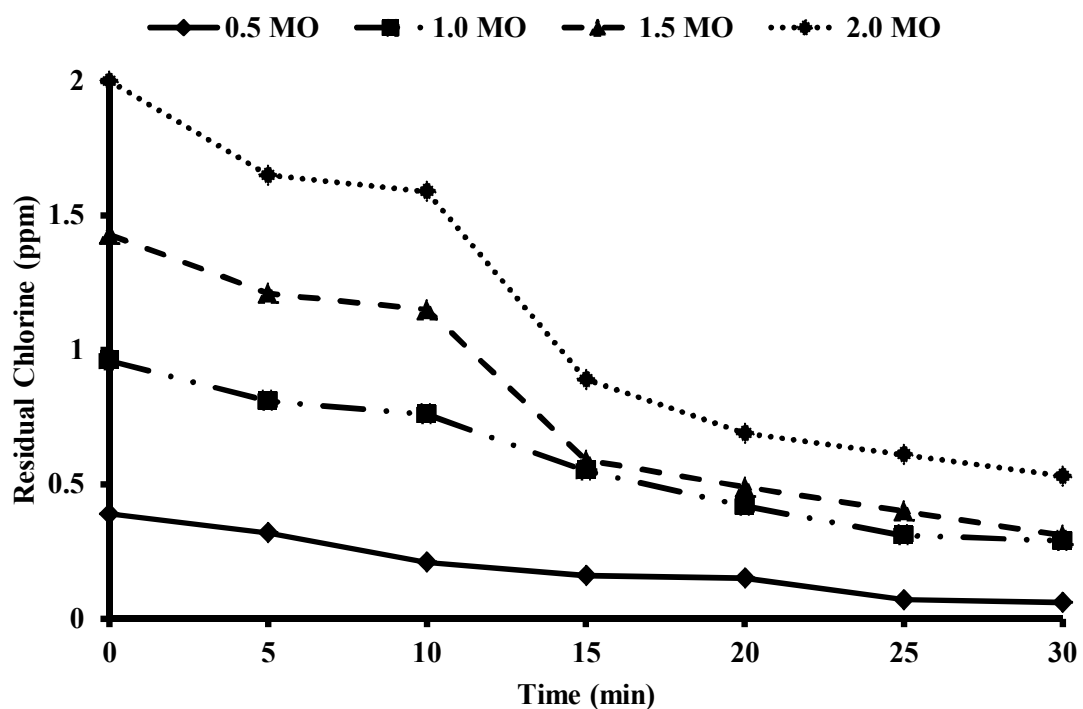


Figure 14. Effective chlorine concentration of *S. parauberis* with different exposure times of MO. each point represents the mean of optical density determinations.

0.5 MO는 *S. parauberis*에 첨가 직후 0.39 MO으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 0.32, 0.21, 0.16, 0.15, 0.07 및 0.06 MO으로 감소하였고, 1.0 MO는 *S. parauberis*에 첨가 직후 0.96 MO으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 0.81, 0.76, 0.55, 0.42, 0.31 및 0.29 MO으로 감소하였고, 1.5 MO는 *S. parauberis*에 첨가 직후 1.43 MO으로 감소하였으며 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30 분 경과 하였을 때 1.21, 1.15, 0.59, 0.49, 0.40 및 0.31 MO으로 감소하였고, 2.0 MO는 *S. parauberis*에 첨가 직후 2.00 MO으로 감소하지 않았으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30 분 경과 하였을 때 1.65, 1.59, 0.89, 0.69, 0.61 및 0.53 MO으로 감소하는 것으로 관찰되었다(Fig. 14).

본 실험에서 차아염소산나트륨이 *V. harveyi* 살균과정 중 유효농도의 변화를 Fig. 16와 같이 나타내었다.

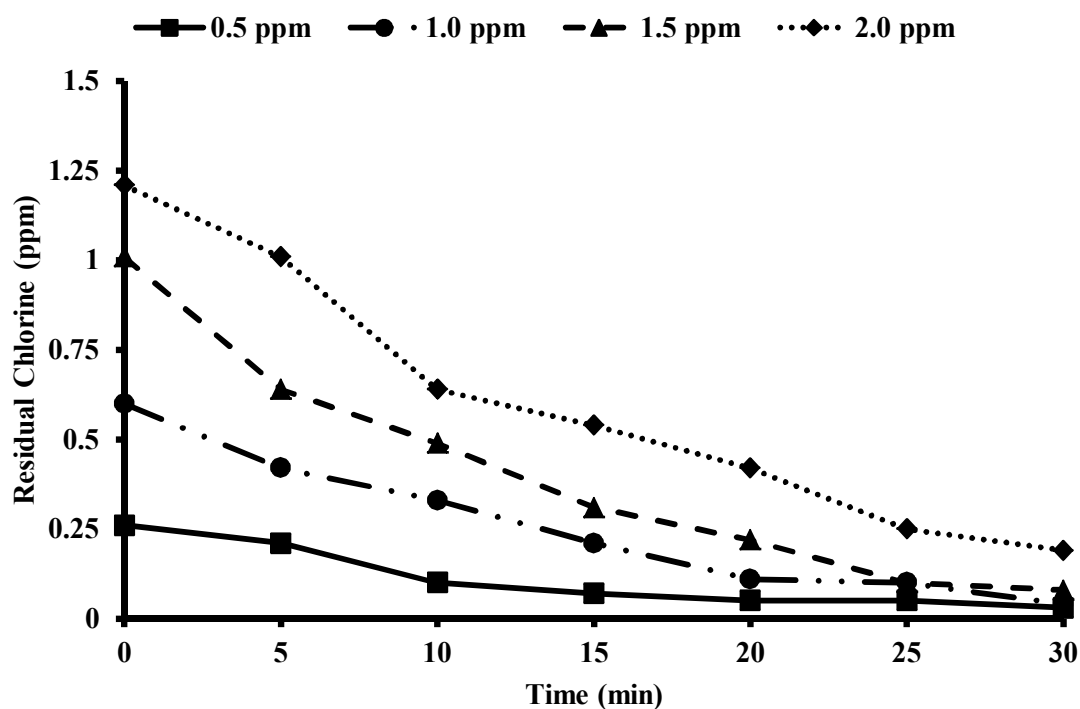


Figure 15. Effective chlorine concentration of *V. harveyi* with different exposure times of sodium hypochlorite. each point represents the mean of optical density determinations.

차아염소산나트륨 0.5 ppm은 *V. harveyi* 에 첨가 직후 0.35 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 0.2, 0.17, 0.08, 0.06, 0.05 및 0.04 ppm으로 감소하였고, 1.0 ppm은 *V. harveyi* 에 첨가 직후 0.60 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨 0.42, 0.33, 0.21, 0.11, 0.10 및 0.04 ppm으로 감소하였고, 1.5 ppm은 *V. harveyi* 에 차아염소산나트륨 1.5 ppm 첨가 직후 1.01 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 0.71, 0.56, 0.54, 0.36, 0.20 및 0.09 ppm으로 감소하였고, *V. harveyi* 에 차아염소산나트륨 2.0 ppm 첨가 직후 1.55 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 1.31, 1.11, 0.67, 0.59, 0.41 및 0.25 ppm으로 감소하는 것으로 관찰되었다(Fig. 15).

본 실험에서 차아염소산나트륨이 *E. tarda* 살균과정 중 유효농도의 변화를 Fig. 16와 같이 나타내었다.

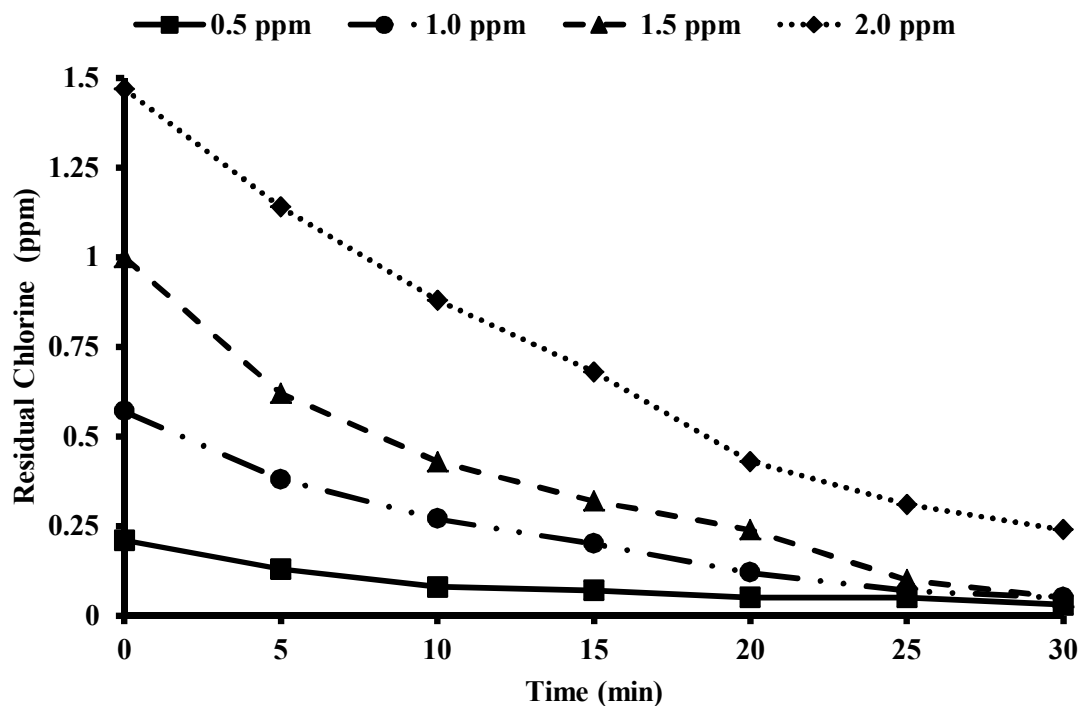


Figure 16. Effective chlorine concentration of *E. tarda* with different exposure times of sodium hypochlorite. each point represents the mean of optical density determinations.

차아염소산나트륨 0.5 ppm은 *E.tarda* 에 첨가 직후 0.21 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 0.13, 0.08, 0.07, 0.05, 0.05 및 0.03 ppm으로 감소하였고, 차아염소산나트륨 1.0 ppm은 *E.tarda* 에 첨가 직후 0.57 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 0.38, 0.27, 0.20, 0.12, 0.07 및 0.05 ppm으로 감소하였고, 차아염소산나트륨 1.5 ppm은 *E.tarda* 에 첨가 직후 1.00 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 0.62, 0.43, 0.32, 0.24, 0.10 및 0.05 ppm으로 감소하였고, 차아염소산나트륨 2.0 ppm은 *E.tarda* 에 첨가 직후 1.47 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 1.14, 0.88, 0.68, 0.43, 0.31 및 0.24 ppm으로 감소하는 것으로 관찰되었다(Fig. 16).

본 실험에서 차아염소산나트륨이 *S. parauberis*는 살균과정 중 유효농도의 변화를 Fig. 17와 같이 나타내었다.

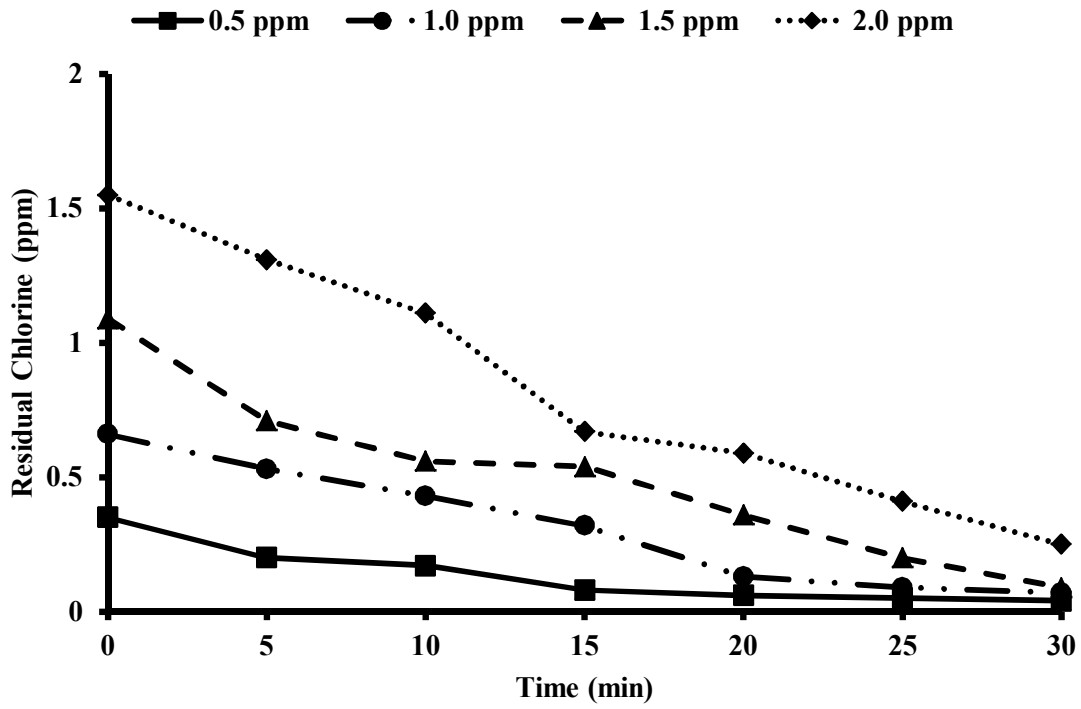


Figure 17. Effective chlorine concentration of *S. parauberis* with different exposure times of sodium hypochlorite. each point represents the mean of optical density determinations.



차아염소산나트륨 0.5 ppm은 *S.parauberis*에 첨가 직후 0.35 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 0.20, 0.17, 0.08, 0.06, 0.05 및 0.04 ppm으로 감소하였고, 차아염소산나트륨 1.0 ppm은 *S.parauberis*에 첨가 직후 0.66 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 0.53, 0.43, 0.32, 0.13, 0.09 및 0.07 ppm으로 감소하였고, 차아염소산나트륨 1.5 ppm은 *S.parauberis*에 첨가 직후 1.09 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 0.71, 0.56, 0.54, 0.36, 0.20 및 0.09 ppm으로 감소하였고, 차아염소산나트륨 2.0 ppm은 *S.parauberis*에 첨가 직후 1.55 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 1.31, 1.11, 0.67, 0.59, 0.41 및 0.25 ppm으로 감소하는 것으로 관찰되었다(Fig. 17).

본 실험에서 염소가 유기물의 영향을 검증하기 위하여 차아염소산나트륨 희석액에 멸균해수 첨가에 따른 염소농도의 변화를 Fig. 18와 같이 나타내었다.

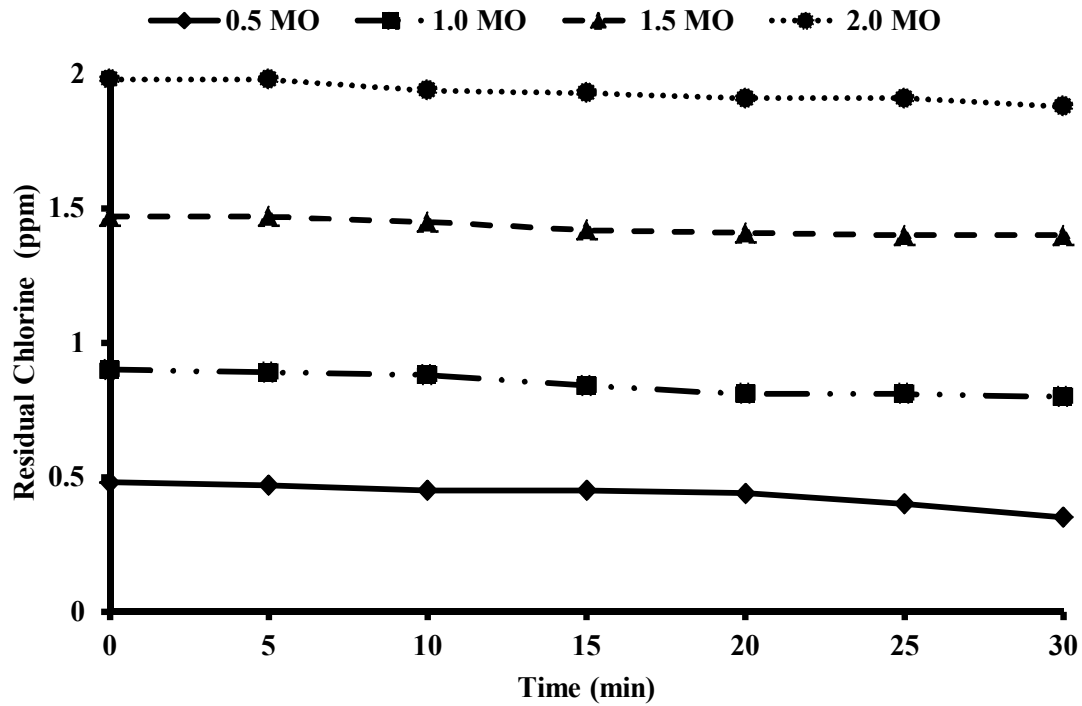


Figure 18. Effective chlorine concentration of Seawater with different exposure times of Chlorine. each point represents the mean of optical density determinations.

차아염소산나트륨 0.5 ppm은 멸균해수 첨가 직후 0.48 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 0.47, 0.45, 0.45, 0.44, 0.40 및 0.35 ppm으로 감소하였으며 차아염소산나트륨 1.0 ppm은 멸균해수 첨가 직후 0.90 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 0.89, 0.88, 0.84, 0.81, 0.81 및 0.80 ppm으로 감소하였고, 차아염소산나트륨 1.5 ppm은 멸균해수 첨가 직후 1.47 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 1.47, 1.45, 1.42, 1.41, 1.40 및 1.40으로 감소하였으며, 차아염소산나트륨 2.0 ppm은 멸균해수 첨가 직후 1.98 ppm으로 감소하였으며, 첨가 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 경과 하였을 때 차아염소산나트륨은 1.98, 1.94, 1.93, 1.91, 1.91 및 1.88 ppm으로 감소하는 것으로 관찰되었으며, 멸균해수 첨가 후 염소농도의 변화가 관찰되지 않아 병원균이 염소농도의 변화에 영향력이 있는 것으로 판단된다.

#### IV. 고찰

우리나라에서는 1980년대 후반부터 넙치양식이 시작되면서 양식 초기에는 별다른 질병 증상을 찾아볼 수 없었으나 양식장의 증가 및 사육밀도가 높아지면서 바이러스, 기생충 및 병원성 세균의 발생이 증가하고 있으며 그 중 병원성 세균에 의한 피해가 가장 많이 발생하고 있는 실정이다(Lee et al., 2007; Nguyen et al., 1999; Kang et al., 2007). 넙치의 병원성 세균 중 *S. parauberis*는 최근 제주 지역을 중심으로 연쇄구균의 원인체로 분리되고 있으며 발생 양상이 제주뿐 만 아니라 우리나라 전역으로 확산 되고 있는 추세이며 *S. parauberis*에 감염된 어류의 증상은 체색 흑화, 출혈 및 농양을 동반한 안구 돌출, 비장 및 간 비대 등이 나타난다(Kang et al., 2007; Baek et al., 2006). 그리고 수온이 높은 시기뿐만 아니라 휴면기 상태에서도 해수와 퇴적물에 독성을 유지하고 있어 양식장 환경 및 자연 환경이 병원체의 감염원으로서 역할을 한다고 보고하고 있다(Hwang et al., 2008). 또한, *E. tarda*에 감염된 넙치는 육안적으로 탈장증상, 체색흑화 및 복부팽만등과 같은 증상이 넙치 치어에서 발병되며 다른 병원성 세균과 혼합감염률이 높게 나타나 초기 살균이 중요한 것으로 알려져 있으며 *V. harveyi*는 상처가 있거나 스트레스를 받은 어체 내 병원성 세균 및 기생충성 질병이 발생한 후 쉽게 감염되어 장관백탁증을 발병시켜 대량 폐사를 유도한다 (Alvarez et al., 1998; Kanai et al., 1993; Ann et al., 2001).

이상에 기술한 것과 같은 해수 내 병원성 질병에 의한 넙치의 폐사를 감소하기 위해서 사용되는 방법 중 염소는 일반적으로 사용되는 화학물질로 살균에 효과적이지만 소독 부산물로 인하여 식수에서는 특이적인 맛과 냄새를 유발하며(Kerwich et al., 2005; Drees et al., 2003; Fang et al., 2007) 연어(*Onchorhynchus mykiss*), 송어(*Mugil cephalus*) 및 배스(*Micropterus salmoides*) 등의 해양동물에게 폐사율 증가와 성장을 감소가 나타난다고 보고하고 있다(Braungs et al., 1973). 하지만 염소를 제거한 전기분해 수에서 가리비

(*Patinopecten yessoensis*)의 성장률이 일반 해수 및 UV 소독수 보다 증가한다고 보고되어져(Jorquera et al., 2002) 염소를 효과적으로 중화할 수 있는 연구가 필요한 실정이다. Park et al(2003)년 연구에 따르면 1.5% NaCl을 첨가한 BHI가 염소 중화에 효과적이라고 보고하고 있으나, 본 실험에서는 1.5% NaCl은 25분부터 잔류염소가 검출되지 않았으나 2% sodium thiosulfate는  $4Cl_2 + 5H_2O + Na_2S_2O_3 \rightarrow 8HCl + H_2SO_4 + Na_2SO_4$  와 같은 반응을 통하여 MO 회석액에 첨가 후 5초 이내에 잔류 염소가 검출되지 않아 세균의 산화 반응 정지액으로서 2% sodium thiosulfate를 사용하였다.

염소 중 차아염소산나트륨은 일반적으로 양식장, 하수처리장 등에 살균제로 사용되고 있다(Martinez-Huitle et al., 2008; Matsunaga et al., 2000; Matsunaga et al., 1994; Nakayama et al., 1998). 그러나 차아염소산나트륨은 일정한 농도를 유지하기 어려운 것으로 있어 안정적인 사용에 어려움이 있다고 할 수 있다. 반면, 전기분해의 경우 일정하게 MO 농도를 유지하기 용이한 것으로 알려져있다(Kerwick et al., 2005). 이에 본 실험에서 넙치에게 주로 발생하는 병원균에 대하여 일반적으로 사용하는 염소 중인 차아염소산나트륨과 전기분해를 통해 생성된 복합적인 염소종이 포함된 MO를 처리 하였을 때 비교한 결과 차아염소산나트륨보다 MO가 병원 효과적으로 살균하는 것으로 관찰되었다(Fig. 6-11). MO는 전기분해장치에서 양극반응에 의하여 해수 내 소금(NaCl)내의 염소이온(Cl<sup>-</sup>)이 반응을 통해 염소가스로 환원되며, 음극반응은 물(H<sub>2</sub>O)분해를 통해 수소(H<sub>2</sub>)와 수산화이온(OH<sup>-</sup>)이 생성되고 수산화 이온(OH<sup>-</sup>)은 나트륨이온(Na<sup>+</sup>)과 반응하여 가성소다(NaOH)가 생성된다. 전극 반응으로 생성된 염소가스(Cl<sub>2</sub>)와 가성소다(NaOH)를 기액 반응을 통해 최종 MO를 생성하게 된다. MO의 살균능에 대한 병원균의 내성은 일반적으로 세포벽의 구조에 따라 변화한다고 보고하고 있으며(Boylan et al., 2008; Joshi et al., 2011; Tak et al., 2009), 전기분해 장치를 이용하여 사육수를 살균시 그람 음성균의 일종인 *V. alginolyticus*, *E. tarda* 및 *V. anruillarum*가 그람양성균인 *Lactococcus garvieae*보다 강한 MO의 대한 내성을 가지고 있

다고 보고하고 있다(Tsuyoshi Tanaka et al., 2013). 본 연구에서도 그람음성균인 *V. harveyi* 및 *E. tarda* 보다 그람양성균인 *S. parauberis*에서 MO에 대한 내성이 동일한 결과를 나타내었다(Fig. 6-8).

또한, 일반적으로 염소를 병원균에 처리하였을 때, 그람양성균인 *Clostridium botulinum* 은 포자 파괴 및 용균 현상이 관찰되며, 그람음성균인 *Campylobacter jejuni* 는 나선형 형태구조에서 구형 또는 부정형으로 변하며 세포표면에는 많은 포상구조물을 유도한다고 보고하고 있다(Blaser et al., 1986; Palumbo, S. A. et al., 1984; Kamali and Skirrow., 1984; Merrell et al., 1981; Smibert., 1978; Buck et al., 1983). 이에 대한 염소 살균 과정 중 소독제의 종류와 병원균에 따라 살균에 필요한 에너지 요구량 증가할수록 잔류 염소농도가 감소하며(Lee et al., 2002), Park et al(2003)의 보고에서도 이산화염소와 병원균의 접촉 후 잔류염소가 감소되는 것으로 보고하고 있다. 본 연구에서도 MO 및 차아염소산나트륨을 병원균에 첨가 후 잔류 염소는 시간이 경과함에 따라 감소하였다(Fig. 12~17). 이와 같은 결과에서 나타난 동일한 농도에서 차아염소산나트륨보다 MO가 살균력이 강한 원인으로서는 MO 속에 포함된 차아염소산 및 차아염소산이온 등과 같은 유효염소에 의해 에너지 효율이 높아짐에 따라 살균력 또한 높아진 것으로 추정된다(Rhaman et al., 2010).

이상의 결과를 종합해보면, 본 연구에서 MO가 차아염소산나트륨보다 유효 염소농도가 시간이 경과함에 따라 높게 나타내며 유효염소농도 또한 높아 차아염소산나트륨보다 MO에서 병원균 3종에 대하여 살균능이 높게 나타나는 경향을 보였다. 더불어 그람음성균인 *V. harveyi* 및 *E. tarda*에서보다 그람양성균인 *S. parauberis*에서 보다 높은 살균능이 나타나는 결과를 보였다. 따라서 해양 내 잠재적으로 포함된 유입수를 살균시에 차아염소산나트륨보다 MO가 효과적이며 MO는 전기분해장치 내 유효염소농도를 일정하게 유지가능하여 보다 효율적인 유입수 살균하는 합리적인 방법으로 적합하다고 판단된다.

## V. 참고문헌

- [1] Alvarez, J. J., Austin, B., Alvarze, A. M. & Reyes, H. 1998. *Vibrio harveyi*: A pathogen of penaeid shrimps and fish in Venezuela, *J. Fish Dis.*, 21, 313-316.
- [2] Ann, k. & Rimstad, E. 2001. Inactivation of infectious salmon virus, viral haemorrhagic septicaemia virus and infectious pancreatic necrosis virus in water using UVC irradiation, *Dis. Aqua. Org.*, 48, 1-5.
- [3] Baeck, G. W., Kim, J. H., Gomez, D. K. & Park, S. C. 2006. Isolation and characterization of *Streptococcus* sp. from diseased flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Jeju island, *J. Vet. Sci.*, 7, 53-58.
- [4] Barton, B.A. & Iwama, G.K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids, *Annu. Rev. Fish Dis.*, 1, 3-26.
- [5] Blaser, M. J., Smith, P. F. Wang, W. L. L. & Hoff, J. C. 1986. Inactivation of *campylobacter jejuni* by chlorine and monochloramine, *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 307-311.
- [6] Boylan, J. A., Lawrence, K. A., Downey, J. S., & Gherardini, F. C. 2008. *Borrelia burgdorferi* membranes are the primary targets of reactive oxygen species, *Mol. Microbiol.*, 68, 786-799.
- [7] Braungs, W. A. 1973. Effects of residual chlorine on aquatic life, *J. Water Pollut. Control Fed.*, 45, 2180-2193.
- [8] Buck, G. E., Parashall, K. A. & Davis, C. P. 1983. Electron microscopy of the coccoid form of *Campylobacter jejuni*, *J. Clin. Microbiol.*, 18, 420-421.
- [9] Diao, H. F., Li, X. Y., Gu, J. D., Shi, H. C., & Xie, Z. M., 2004. Electron microscopic investigation of the bactericidal action of electrochemical disinfection in comparison with chlorination, ozonation and Fenton reaction, *Process Biochem.* 39, 1421-1426.

- [10] Drees, K. P., Abbaszadegan, M., & Maier, R. M., 2003. Comparative electrochemical inactivation of bacteria and bacteriophage, *Water Res.*, 37, 2291-2300.
- [11] Fang, Q., Shang, C., & Chen, G., 2006. MS2 inactivation by chloride-assisted electrochemical disinfection, *J. Environ. Eng.*, 132, 13-22.
- [12] Fox, C. H., Johnson, F. B., Whiting, J. & Roller., P. P. 1985. Formaldehyde fixation. *J. Histochem. Cytochem.*, 33. 845-853.
- [13] Hwang, S. D., Woo, S. H., Kim, S. H., Ha, S. J., Jung, Y. E. & Park, S. I., 2008. Immunomodulatory characteristics of *Streptococcus parauberis* isolated from infected olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, *J Fish Pathol*, 21(3), 157-166.
- [14] Jorquera, M. A., Valencia, G., Eguchi, M., Katayose, M., & Riquelme, C. 2002. Disinfection of seawater for hatchery aquaculture systems using electrolytic water treatment, *Aquaculture*, 207(3), 213-224.
- [15] Joshi, S. G., Cooper, M., Yost, A., Paff, M., Ercan, U. K., Fridman, G., Friedman, G., Fridman, A., & Brooks, A. D. 2011., Nonthermal dielectric-barrier discharge plasma-induced inactivation involves oxidative DNA damage and membrane lipid peroxidation in *Escherichia coli*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 55, 1053-1062.
- [16] Kanai, K., 1993. Bacterial diseases of flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Pathol.*, 6, 197-208.
- [17] Kang, C. Y., Kang, B. J., Moon, Y. G., Kim, K. Y. & Heo, M. S. 2007. Characterization of *Streptococcus parauberis* isolated from cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in the Jeju Island, *J. Fish Pathol.*, 39, 56-61.
- [18] Kerwick, M. I., Reddy, S. M., Chamberlain, A. H. L. & Holt, D. M. 2005. Electrochemical disinfection, an environmentally acceptable method of drinking water disinfection?, *Electrochim.*



*Acta.*, 50, 5270-5277.

- [19] Kim, J. W., Cho, M. Y., Park, G. H., Won, K. M., Choi, H. S., Kim, M. S. and Park, M. 2010. Statistical data on infectious diseases of cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* from 2005 to 2007. *Journal of fish pathology*, 23(3), 369-377.
- [20] Kim, J. W., Lee, H. N., Jee, B. Y., Woo, S. H., Kim, Y. J. & Lee, M. K., 2012. Monitoring of the mortalities in the aquaculture farms of south korea. *J Fish Pathol.*, 25(3), 271-277.
- [21] Lane, D. J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In 'Nucleic acid techniques in bacterial systematics'. Eds E Stackebrandt, M Goodfellow, 115-175.
- [22] Lee, C. H., Kim, P. Y., Ko, C. S., Oh, D. C. & Kang, B. J. 2007. Biological characteristics of *Streptococcus iniae* and *Streptococcus parauberis* isolated from cultured flounder, *Paralichthys olivaceus*, in Jeju, *J. Fish Pathol.* 20, 33-40.
- [23] Lee, Y. J., Lee, S. J., Lee, D. C., Kim, H. & Lee, H., 2002. Comparison of chlorine, chlorine dioxide and ozone as disinfectants in drinking water, *Kor. J. Env. Hlth. Soc.*, 28(3), 1-8.
- [24] Letux, F. & Meyer, F. P. 1972. Mixture of malachite green and formaline for controlling Ichthyophthirius and other protozoan parasites of fish, *Prog. Fish Cult.*, 34, 21-26.
- [25] Li, X. Y., Ding, F., Lo, P. S. Y. & Sin, S. H. P., 2002. Electrochemical disinfection of saline wastewater effluent, *Journal of environmental engineering*, 128(8), 697-704.
- [26] Martinez-Huitle, C. A. & Enric, B. 2008. Electrochemical alternatives for drinking water disinfection, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47, 1998-2005.
- [27] Matsunaga, T., Nakasono, S., Kitajima, Y. & Horiguchi, K. 1994. Electrochemical disinfection of bacteria in drinking water using activated carbon fibers, *Biotechnol. Bioeng.*, 43, 429-433.
- [28] Matsunaga, T., Okochi, M., Takahashi, M., Nakayama, T., Wake, H. & Nakamura, N. 2000.

TiN electrode reactor for disinfection of drinking water, *Water Res.*, 34, 3117-3122.

- [29] Merrell, B. R., Walker, B. I. & Coolbaugh, J. C. 1981. *Campylobacter fetus* sp. *Jejuni*, a newly recognized enteric pathogen: morphology and intestinal colonization. *Scanning Electron Microsc.* 4, 125-131.
- [30] Nakayama, T., Wake, H., Ozawa, K., Kodama, H., Nakamura, N. & Matsunaga, T. 1998. Use of a titanium nitride for electrochemical inactivation of marine bacteria, *Environ. Sci. Technol.*, 32, 798-801.
- [31] National Fisheries Research & Development Institute. 2015. Prevention of bacterial fish disease and medical treatment for produce health fish.
- [32] Nguyen, H. T., & Kanai, K. 1999. Selective agars for the isolation of *Streptococcus iniae* from Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, and its cultural environment. *J. Appl. Microbiol.*, 86, 769-776.
- [33] Officer, I. 1998. Statistical yearbook of maritime affairs and fisheries. *Ministry of Maritime Affairs and Fisheries, Seoul.*
- [34] Palumbo, S, A. 1984. Heat injury and repair in *Campylobacter jejuni*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 48, 477-480.
- [35] Park, K. H., Oh, M. J. & Kim, H. Y., 2003. Disinfection effect of chlorine dioxide on pathogenic bacteria. *J. of aquaculture.*, 16(2), 118-123.
- [36] Patermarakis, G. & Fountoukidis, E., 1990. Disinfection of water by electrochemical treatment, *Water Res.*, 24, 1491-1496.
- [37] Pickering, A. D., 1992. Rainbow trout husbandry: management of the stress response. *Aquaculture*, 100. 125-139.

- [38] Raphael, D., Wong, T. A., Moodnik, R. & Borden, B. G., 1981. The effect of temperature on the bactericidal efficiency of sodium hypochlorite, *J. Endod.*, 7. 330-334.
- [39] Rhaman S. M. E., Ding, T. and Oh, D. H., 2010. Effectiveness of low concentration electrolyzed water to inactivate foodborne pathogens under different environmental conditions, *Int J Food Microbiol.*, 139. 147-153.
- [40] Smibert, R. M. 1978. The genus *Campylobacter*. *Ann Rev Microbiol.* 32, 673-709.
- [41] Speare, D. J., Goff, G., MacIsaac, P., Wechrkiwsky, J. and N. Mac Nair. 1996. Effects of formalin and chloramine-T treatments on oxygen consumption of juvenile salmonids. *J. Aquatic Anim. Health.*, 8. 285-291.
- [42] Statistics Korea. 2015. Aquaculture Status Survey.
- [43] Stoner, G. E., Cahen, G. L. J., Sachyani, M. & Gileadi, E., 1982. The mechanism of low frequency a.c. electrochemical disinfection, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 9, 229-24.
- [44] Tak, J. K. & Park, J. W. 2009. The use of selenium for radioprotection in cultured cells and mice, *Free Radic. Biol. Med.*, 46, 1177-1185.

- [45] Tanaka, T., Shimoda, M., Shionoiri, N., Hosokawa, M., Taguchi, T., Wake, H. and Matsunaga, T., 2013. Electrochemical disinfection of fish pathogens in seawater without the production of a lethal concentration of chlorine using a flow reactor. *Journal of bioscience and bioengineering*, 116(4), 480-484.
- [46] Totten, P. A., Fennell, C. L., Tenover, F. C., Wezenberg, J. M., Perine, P. L., Stamm, W. E., & Holmes, K. K. 1985. *Campylobacter cinaedi* (sp. nov.) and *Campylobacter fennelliae* (sp. nov.): two new campylobacter species associated with enteric disease in homosexual men. *Journal of Infectious Diseases*, 151(1), 131-139.
- [47] Turner, S., Pryer, K.M., Miao, V.P.W., and Palmer, J.D. 1999. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. *J. Eukaryot. Microbiol.* 46, 327–338.

## 감사의 글

어류생리학실험실에 들어와 6년이라는 짧으면 짧지만 길면 긴시간 동안 학업에 매진할 수 있도록 아낌없는 사랑으로 지도와 격려로 저의 부족함 부분을 채워주시고 제가 나아가야할 방향을 이끌어 주신 여인규 교수님께 진심으로 감사하다고 말하고 싶습니다. 그리고 저의 논문 심사를 맡아 주시고 소중한 충고와 조언을 해주셨던 허문수 교수님, 정준범교수님께 깊은 감사를 드립니다.

이번 논문에 필요한 연구를 아낌없는 지원과 석사생활동안 많은 조언을 해주신 김경주 선배님께 감사합니다. 그리고 실험실에 처음 들어와 적응하며 오랜 시간 희로애락을 함께하며 도움을 많이 준 혜나누나, 마음만은 20대보다 젊고 귀여운 기혁이 형, 무엇이든 열심히 해내는 윤혜, 그리고 우리 실험실 막내 정현이, 수림이에게 받은 도움과 추억들 모두 진심으로 감사합니다.

그리고 대학교에 들어와 지금까지 항상 든든히 베풀어준 혁재, 재형, 현석이에 항상 미안하고 감사합니다. 언제나 찾아갈 때 마다 기쁘게 맞아주고 아낌없이 나눠주는 초롱누나, 민기형, 유정이에게 진심으로 감사합니다. 우리 선배같이 든직한 우리 후배들 준환, 은수, 완택이에게 깊은 감사를 드립니다.

아낌없이 지원에 주시고 항상 격려해 주시고 응원해주신 부모님과 동생 진심으로 사랑하고 감사합니다. 그리고 석사생활동안 기다려주고 믿어주고 힘이 되어준 초희에게 하늘만큼 땅만큼 사랑하고 감사합니다.

대학원 과정 동안 지켜봐 주시고 도움을 주신 모든분 들께 감사합니다. 앞으로도 기대와 성원에 힘입어 발전하는 모습을 보여드리도록 노력하고 감사하며 살 수 있는 사람이 되도록 하겠습니다.