

# 반순환여과양식시스템에서 오존 유래 잔류산화물이 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 사육수의 수질과 미생물에 미치는 영향

정상명 · 박우근 · 박성덕<sup>1</sup> · 박정환<sup>2</sup> · 김재원 · 김병기\*

강원도립대학교 스마트양식과, <sup>1</sup>강원도 환동해본부 수산정책과, <sup>2</sup>부경대학교 해양바이오신소재학과

## Ozone-produced Oxidants Improve Water Quality Parameters and Microbial Colony Counts in the Semi-Recirculating Aquaculture System for Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Sangmyung Jung, Woogeun Park, Seongdeok Park<sup>1</sup>, Jeonghwan Park<sup>2</sup>, Jae-Won Kim and Pyong-kih Kim\*

Department of Smart Aquaculture, Gangwon State University, Gangneung 25425, Korea

<sup>1</sup>Fisheries Policy Division, Gangwon Provincial Government, Gangneung 25435, Korea

<sup>2</sup>Department of Marine Bio-materials and Aquaculture, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

This study investigated the changes in water quality parameters and microbial colonies when ozone was applied to a semi-recirculating aquaculture system (semi-RAS) for the olive flounder *Paralichthys olivaceus* (500 g in average weight). Concentrations of ozone-produced oxidants (OPO) in rearing tanks were maintained at 0, 0.014, 0.025 mg/L as Cl<sub>2</sub> for 26 days. Except total ammonia nitrogen, nitrite nitrogen, nitrate nitrogen, phosphate phosphorus, chemical oxygen demand, and total suspended solids decreased significantly with increasing OPO concentration in daily and weekly monitoring (P<0.05). Colony forming unit (CFU) counts of heterotrophic marine bacteria decreased in an OPO concentration-dependent manner. Overall reduction rates of microbial colonies in the treatments were 80% higher than those of the control (P<0.05). During the experiment, the OPO concentration-driven ozonation was reliably practiced without any adverse effects on the animals cultured in semi-RAS. Considering the biohazard, operating cost, and stability of ozonation, an OPO concentration of 0.014 mg/L would be sufficient to control water quality parameters and microbial colonies in a semi-RAS.

Keywords: Ozone, Ozone-produced oxidants (OPO), Semi-recirculating aquaculture system, Microbial colony, Water quality

### 서론

제주도와 남해안 지역에서 육상 유수식으로 운영하고 있는 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 양식장은 최근 연안오염 등으로 인한 질병피해가 지속적으로 증가하고 있다(Cho et al., 2015). 연안오염의 원인으로 축산, 생활 폐수 및 화학비료 사용 등이 주목받고 있으나 양식장 취수원인 연안해수의 오염이 증가하는 것은 분명한 것 같다(Roh et al., 2018). 양식장들은 연안해수의 오염으로부터 환수율을 높이거나 지하해수를 활용하는 등으로 대응하고 있으나, 생산성은 점차 떨어지고 있다. 나아가 국내 환

경정책이 해를 거듭할수록 강화되는 추세여서 양식장의 배출수도 관심의 대상이 되고 있어 친환경양식시스템의 도입이 필요하다. 대표적인 친환경양식법인 순환여과양식시스템은 다양한 수처리설비로 사육수를 재활용하여 연안오염을 방지할 수 있다. 더불어 독립된 사육환경을 제공하여 오염원 및 병원성 미생물의 유입을 방지할 수 있는 생물보안(bio-security) 개념이 적용 되어 있다. 다만 외부환경적 요인에서는 자유롭지만 시스템 내 자가오염에 대응하기에는 여전히 어려움이 많다.

과거부터 자가오염방지 및 병원성 미생물을 제어하기 위하여 항생제, 살충제 및 전이금속(Cu, Ag) 등을 사용하는 방법들이

\*Corresponding author: Tel: +82. 33. 660. 8221 Fax: +82. 33. 660. 8225

E-mail address: pkkim@gw.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0751>

Korean J Fish Aquat Sci 54(5), 751-760, October 2021

Received 8 May 2020; Revised 17 June 2020; Accepted 24 August 2021

저자 직위: 정상명(연구원), 박우근(연구원), 박성덕(연구사), 박정환(교수), 김재원(교수), 김병기(교수)

다양하게 시도되었다. 하지만 식품안전성의 확보가 중요한 수산양식업에서는 유해물질이 사육생물에 축적될 가능성이 있어 도입이 어려웠다(Von Gunten, 2003). 다양한 산업에서 이미 활용되고 있는 오존산화법은 생물축적은 일으키지 않고 수질 개선 및 병원성 미생물을 비활성화할 수 있어 수산양식에 활용할 수 있는 가능성이 높았으나, 해수환경에서 제거기술의 부재로 적용하기 어려웠다. 그러나 근래 제거장치와 방법들이 개발되면서 활용가능성이 다시 높아지고 있다. 오존은 해수의 알칼리성 조건하에서 용존브롬(Br)과 빠르게 반응하여 생물독성이 약한 HOBr을 생성시킨다(Haag and Hoigne, 1984). 이후 순차적인 반응으로 발생하는 중간생성물들은 여러가지 형태로서 산화력을 유지한다. 그 생성물들을 특정하긴 어려워 중간생성물들의 합인 오존잔류산화물(ozone-produced oxidants, OPO)로서 해수내의 오존산화력의 기준치표로 사용하고 있다(Powell and Scolding, 2018). 발생된 HOBr은 다량의 암모니아(NH<sub>3</sub>)가 존재하는 해수에서는 오존살균부산물(BrO<sub>3</sub>)이 거의 생성되지 않아 해수양식에 이용이 가능하다(Tanaka and Matsumura, 2002). 따라서 본 연구에서는 반순환여과양식시스템에서 OPO 농도에 따른 넙치의 생존율과 성장 효과를 연구한 이전의 보고(Jung et al., 2018)와 연동하여 사육수의 수질과 미생물의 변동을 조사하고 다양한 활용 가능성을 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 시설

실험은 이전의 보고(Jung et al., 2018)와 동일하게 poly-propylen (PP) 재질로 구축된 순환여과양식시스템으로 원형사육수조(ø 4.0 m × H 1.0 m, 2 EA), 2.0-3.0 mm 크기의 expanded polystyrene bead를 여과매질로 사용하는 살수식 생물여과조(ø 1.6 m × H 2.0 m, 1 EA), 거품분리기(ø 0.9 m × H 2.5 m, 1 EA), 그리고 침전조(ø 0.7 m × 1.2 m, 1 EA)로 구성된 총 수량 35 m<sup>3</sup>의 시설을 이용하였다(Fig. 1).

오존산화법 관련 시설은 오존발생기(OZN-100; Ozone Engineering, Incheon, Korea), 용해기(SUS316, ø0.3 × 1.0 m; Ozone Engineering) 그리고 OPO 농도연속측정기(C LX online residual chlorine monitor; HF Scientific, Fort Myers, FL, USA)로 구성하였다. OPO 농도 연속측정기는 제조사와 협업하여 기존에 활용하던 처리장치를 해수양식 환경에 맞게 개선하였고, 넙치에 대한 생물 위해성을 고려하여 유효측정범위(dynamic range)를 0.03-10.00 mg Cl<sub>2</sub>/L에서 0.01-2.00 mg Cl<sub>2</sub>/L로 최적화하였다. OPO 농도의 연속 측정을 위하여 시료 공급용 부스터펌프(DX-8000-0350, 1.5 L/min; Kotec, Daejeon, Korea)를 이용하여 사육수를 OPO 농도연속측정기에 공급하였다. OPO 농도연속측정기의 two relays alarms 기능과 오존발생기의 ON/OFF relay를 결선(connection of wire)하여 자동으로 제어하였다.

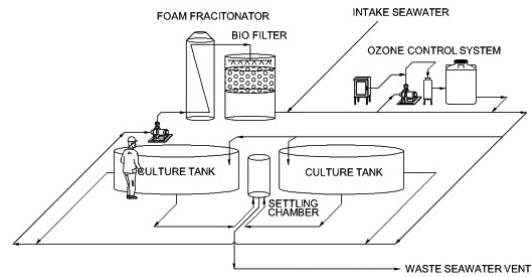


Fig. 1 Experimental semi-RAS system. RAS, recirculation aquaculture system; OPO, ozone produced oxidants.

### 실험 어류 및 사육 조건

실험에 사용한 넙치의 평균 어체중은 500.7 ± 64.7 g으로 양식 현장과 유사한 20 kg/m<sup>2</sup> (사육 수조당 250 kg)의 밀도로 최초 수용하여 2반복으로 사육하였다. 실험기간 동안 사육수의 수온은 하절기의 관리목표 환경과 비슷한 20-24°C를 유지하였다. 시스템내 새로운 사육수의 보충은 전체수량 대비 일간 300%, 내부순환은 일간 24회전, 사육수의 재순환률은 약 88%로 운영하였다(Bregnballe, 2015).

사육수의 OPO 농도는 Oh et al. (1999)와 Park et al. (2018)의 결과를 반영하여, 각 실험구를 control, OPO15 (0.014 mg Cl<sub>2</sub>/L), OPO25 (0.025 mg Cl<sub>2</sub>/L)로 구분하였다. 사료는 일간 2회(09:00, 18:00) 반복 공급하였으며, 오후 사료공급 종료 2시간 후 침전조의 침전물을 일간 1회 제거하였다.

### OPO의 측정과 유지

OPO 측정은 DPD (N,N-diethyl-p-phenylenediamine) colorimetric method를 이용하여 90초(960회/일) 간격으로 측정하였다(Buchan et al., 2005). 각 실험구의 실시간 OPO 농도는 오존 발생기 제어에 사용하였고, 이후 수집된 OPO 농도는 본 사육시스템의 오존 주입 주기성을 조사하는데 활용하였다.

### 사육수의 수질 변동

OPO 농도에 따른 수질 변동을 조사하기 위하여 분석시료는 각각의 사육수조에서 1회용 무균 채수병에 3반복으로 수집하였다. 일간 모니터링은 총 6회(4시간 간격), 주간 모니터링은 총 4회(주 1회)로 사료 공급 전인 오전 9시에 채수하였다.

수질은 해양환경공정시험기준(MOMAF, 2013)과 APHA (2005)의 방법으로 측정하였다. 총 암모니아성 질소(total ammonia nitrogen, TAN)는 salicylate-hypochlorite method (Bower and Holm-Hansenman, 1980), 질산성 질소(NO<sub>3</sub>-N)는 cadmium reduction method로 연속흐름 분석기(SAN<sup>++</sup> Continuous Flow Analyzer, Skalar, Berda, Holland)를 이용하여 측정하였으며, 아질산성 질소(NO<sub>2</sub>-N)는 diazotization method, 인산 인(PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P)은 ascorbic acid reduction method로

분광광도계(GENESYS 5 UV-Vis spectrophotometer; Thermo, Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 화학적 산소요구량(COD<sub>Mn</sub>)은 과망간산칼륨-알칼리법으로, 총부유고형물(SS)은 유리섬유여과법(CF/C)으로 각각 측정하였다. 용존무기질소(dissolved inorganic nitrogen, DIN)는 총 암모니아 질소와 아질산성 질소 그리고 질산성 질소의 합산으로 도출하였으며, 용존무기인(dissolved inorganic phosphorous, DIP)은 인산 인의 값을 준용하였다. 부영양도(eutrophication index, EI)는  $[\text{COD}_{\text{Mn}} \times 1,000 \times (\text{DIN} \times \text{DIP})] / 1,500$ 으로 산출하였으며, 각 수질 항목들의 증감율은  $(C_{\text{Exp.}} / C_{\text{Con.}}) \times 100$ 으로 산출하였다.

### 사육수의 미생물 변동

OPO 농도에 따른 사육수 내 타가영양세균(heterotrophic marine bacteria)은 Difco™ marine agar 2216, Difco™ MacConkey sorbitol agar (gram-negative strain), Difco™ TCBS agar (*Vibrio* spp.)를 이용하여 각각 배양하였다. 시료는 각각의 사육수조에서 1회용 무균채수병에 3반복으로 수집하였다. 일간 모니터링의 경우 총 6회(4시간 간격), 주간 모니터링은 총 4회(주 1회)로 사료 공급 전인 오전 9시에 채수하였다. 미생물 배양은 APHA (2005)의 방법을 준용하였으며, 각 시료는 2반복으로 배양하였다. 배양배지에서 콜로니 형성 단위(colony-forming unit, CFU)가 10-300 CFU 정도 범위로 희석하였고, 희석수는 여과된 자연해수를 고압멸균(J-AK4; JEIL Science, Seoul, Korea) 처리 후 이용하였으며, 이후 시료와 동일한 배양과정에서 멸균여부를 확인하였다. 시료 0.1 mL을 각각의 배지에 접종하였고 marine agar 2216 배지는 30°C에서 5일간 배양하였으며, MacConkey sorbitol agar와 TCBS agar는 35°C에서 3일간 배양하였다. 미생물의 감소율은 Summerfelt et al. (2009)의 방법으로 산출하였다.

### 통계처리

본 실험에 대한 결과는 mean ± S.D.로 나타내었고, SPSS Ver. 16.0 프로그램을 사용해 ANOVA로 검증한 후, P<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성 비교를 하였다. Correlation method는 동 프로그램을 사용하여 simple correlation analysis로 검증하였으며, OPO와 각 요소들간의 관계성은 pearson correlation coefficient으로 단순 비교하였다.

각 실험구마다 수집된 OPO 농도는 일련의 연속적인 측정값을 배열하여 각각의 측정 지점의 평균값( $S_{\bar{x}} = \sum_{i=1}^n S_i / n$ )을 산출하는 종합적평균법(ensemble averaging)으로 처리하여 오존의 주입주기성을 조사하는데 활용하였다(Skoog et al., 1998).

## 결과 및 고찰

### 오존의 주입 주기성

각 실험구에서 26일 동안 수집한 OPO 농도의 평균값은 con-

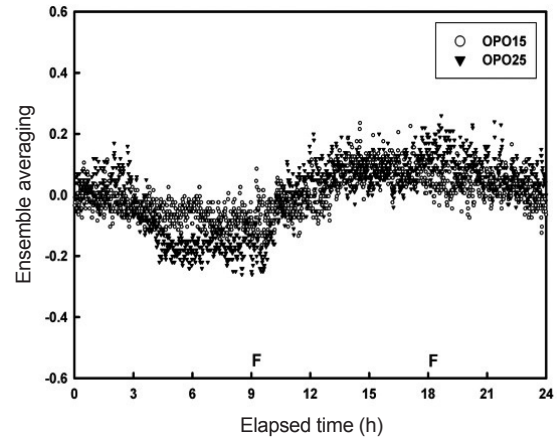


Fig. 2 Results of ensemble averaging patterns were calculated to OPO concentration during the experimental period. Allows indicate the feeding point (F, 9 and 18 h). OPO, ozone produced oxidants.

trol은  $0.004 \pm 0.005 \text{ Cl}_2/\text{L}$ , OPO15는  $0.014 \pm 0.009 \text{ mg Cl}_2/\text{L}$ , 그리고 OPO25는  $0.025 \pm 0.010 \text{ Cl}_2/\text{L}$ 로 나타났으며( $P < 0.05$ ), 수집된 데이터를 실험구 및 일주기 간격으로 구분하여 종합적 평균법으로 적용한 결과는 Fig. 2와 같다. 연구에 사용된 오존산화시스템은 OPO 농도를 일정하게 유지하는 항상성을 가지고 있고, 연구 시설인 순환여과양식시스템은 외부영향에서 독립적이며 주기성을 가지고 운영할 수 있다. 그리고 오존산화력의 지표인 OPO 농도는 수질오염물질들에 의존하여 변하므로 이러한 조건은 시설로의 오존의 주입주기성을 관측할 수 있어 종합적평균법을 이용하였다. 이 방법은 수처리에서 S/N비를 개선하는 통계법으로 동일한 조건에서 반복 측정된 일련의 측정값들 안에서 유효한 신호를 증폭하여 검출하는 기법이다. 시설내의 OPO 농도를 유지하는데 있어 오존주입량이 일정하다면 결과는 0으로, 증가한다면 양수, 감소한다면 음수로 나타낸다. 오존산화법을 활용하는 국내외 양식장들은 경험적 결과를 바탕으로 사료를 공급할 때 오존을 주입하고 사료를 공급하지 않으면 주입하지 않는다. 대부분 사료가 공급되지 않았을 때 오존이 과량 공급되어 양식생물의 집단폐사를 일으킨 경험적 사례에 근거한 방법이다. 오존이 사료가 공급되지 않은 상황에서 사료공급 시기와 동일한 수준으로 지속적으로 공급한다면 생물독성이 있는 오존산화력이 축적되어 양식생물에 피해를 준다는 경험적 증거이다. 그럼에도 결과에 의하면 사료와 분변 등의 유기물질과 오존이 서로 영향을 주고 있다는 것은 확실하고 오존산화력이 집중적으로 필요한 시점이 존재한다는 반증이라 사료된다. 오존주입 주기성의 결과인 Fig. 2에 의하면 사료공급에 의하여 오염물질이 증가하는 09-10시 이후부터 상승하여 양수를 유지하고, 22-23시 이후에 음수로 유지되었다. 결과에 따르면 오존은 최종 사료공급이 끝나고 6시간동안 사료 잔사물이나



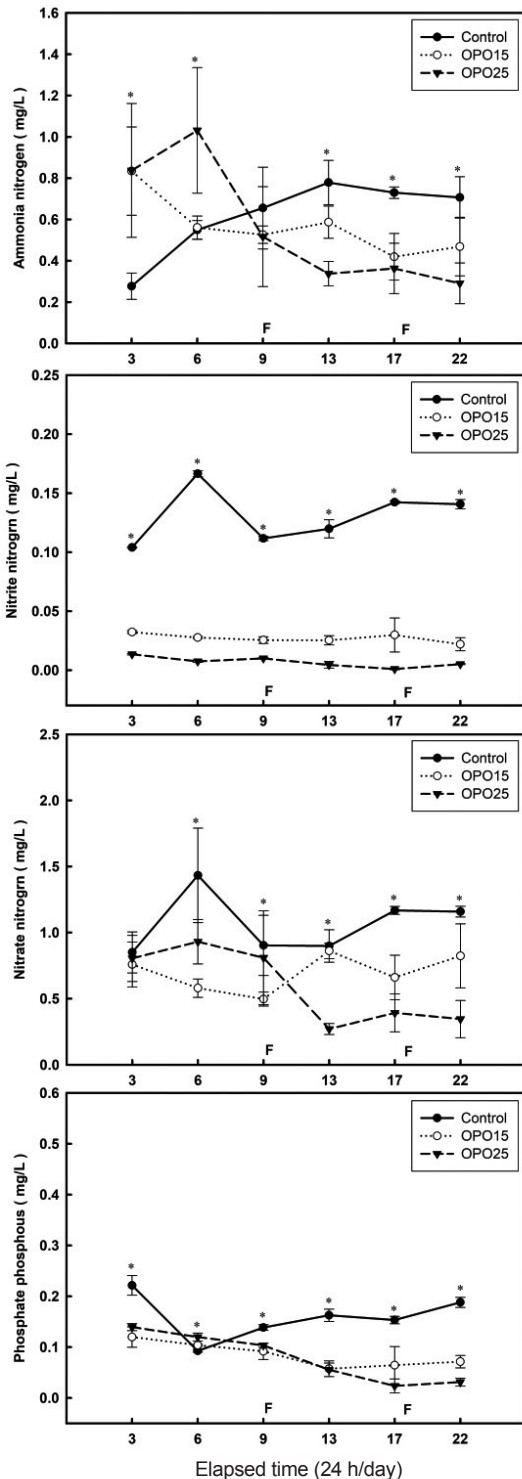


Fig. 3 Daily monitoring results of water qualities obtained from ozone-treated olive flounder *Paralichthys olivaceus* culture tanks for 24 h. Asterisks (\*) indicate significant differences between concentration of material ( $P < 0.05$ ). Allows indicate the feeding point (9 and 18 h). OPO, ozone produced oxidants.

분변 등의 반응물 때문에 지속적으로 주입된 것으로 나타났다.

## 사육수의 수질 변동

### 일간 모니터링

이전의 보고(Jung et al., 2018)에 이어서 실시한 OPO 농도에 따른 넙치 사육수 수질의 일간 변동은 Fig. 3에 나타내었다. 총 암모니아성 질소(TAN)의 일간 범위와 평균값은 대조구에서 0.276-0.778 mg/L ( $0.616 \pm 0.196$  mg/L), OPO15에서 0.420-0.834 mg/L ( $0.566 \pm 0.175$  mg/L), 그리고 OPO25에서 0.291-1.031 mg/L ( $0.563 \pm 0.345$  mg/L)로 나타났고, 시간 경과에 따라 대조구는 증가하다 안정되는 경향이였으나, 실험구는 감소하는 경향이였다. 전체적으로 사료공급의 영향을 받는 시간대(13, 17, 22시)에는 대조구의 값이 유의적으로 높았다( $P < 0.05$ ). 일간 평균값은 대조구와 오존을 주입한 실험구들 모두 유의적 차이가 없었다( $P > 0.05$ ). 아질산성 질소( $\text{NO}_2\text{-N}$ )는 대조구에서 0.104-0.167 mg/L ( $0.130 \pm 0.021$  mg/L) 수준을 보인 반면, 오존을 주입한 OPO15에선 0.022-0.032 mg/L ( $0.027 \pm 0.007$  mg/L), 그리고 OPO25에선 0.001-0.014 mg/L ( $0.006 \pm 0.004$  mg/L)의 범위를 유지하여 대조구 대비 OPO15 및 OPO25는 각각 20.7%와 10.7% 수준으로 유의적으로 낮은 값을 보였다( $P < 0.05$ ). 질산성 질소( $\text{NO}_3\text{-N}$ )는 대조구에서 0.850-1.433 mg/L ( $1.068 \pm 0.274$  mg/L), OPO15에서 0.497-0.861 mg/L ( $0.696 \pm 0.188$  mg/L), 그리고 OPO25에서 0.270-0.931 mg/L ( $0.591 \pm 0.321$  mg/L)의 수준을 보였으며, 오존을 주입한 실험구들은 대조구 대비 55.5-65.2% 수준으로 유의적으로 감소하였다( $P < 0.05$ ). 인산 인( $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ )은 대조구에서 0.093-0.222 mg/L ( $0.159 \pm 0.041$  mg/L), OPO15에서 0.058-0.120 mg/L ( $0.084 \pm 0.029$  mg/L), 그리고 OPO25에서는 0.024-0.139 mg/L ( $0.078 \pm 0.045$  mg/L) 수준으로 오존을 주입한 실험구는 대조구 대비 47.8-53.5% 수준으로 감소하였다( $P < 0.05$ ).

실험구들의 OPO 농도들과 수질요소들간의 일간 모니터링 결과를 pearson correlation coefficient로 OPO와 수질요소간의 단순관계성만을 비교한 결과는 Table 1과 같다. OPO 농도와 총 암모니아성 질소의 상관관계를 외부 질소화합물의 간접 영향구간(BM, 03-09시, 3시점,  $n=54$ )과 직접 영향구간(AM, 13-22시, 3시점,  $n=54$ )으로 구분한 결과 전자는 0.438로 OPO 농도와 비례한 반면( $P < 0.05$ ), 후자는 -0.853으로 OPO 농도와 반비례하는 상반된 결과가 나타났다( $P < 0.01$ ). 그러나 전체적으로 -0.092로 유의한 관계성이 없었다( $n=108$ ,  $P > 0.05$ ). 반면, 아질산성 질소와 질산성 질소 그리고 인산 인 모두 반비례성 관계가 나타났으며 그 값은 -0.940, -0.601 그리고 -0.645이다( $n=108$ ,  $P < 0.01$ ). 암모니아성 질소와는 상이하게 질소화합물의 영향구간에 따른 차이는 나타나지 않았다.

### 주간 모니터링

OPO 농도에 따른 사육 수조의 주간 수질변동은 Table 2와 같다. 사육수의 총 암모니아성 질소는 대조구보다 OPO15는

122.4%, OPO25는 131.7%의 수준으로 OPO 농도 의존적으로 증가하였다( $P<0.05$ ). 이전 보고들에 의하면 해수에 오존을 주입하면 HOBr에 의하여 암모니아( $\text{NH}_3$ )가 직접 분해되어 감소하였으나(Tanaka and Matsumura, 2002; Schroeder et al., 2011), Park et al. (2013)은 오존은 총 암모니아성 질소에 영향이 주지 않는다고 보고하였다. 그러나 본 결과의 일간 모니터링 결과에선 사료공급 전엔 대조구가 OPO15와 OPO25보다 낮았으나, 사료공급이 시작된 이후 유의적으로 증가하였다( $P<0.05$ ). 반면 오존을 주입한 OPO15와 OPO25는 사료공급 후 암모니아성 질소의 감소에 영향을 주어 유의적으로 감소하였다( $P<0.05$ ). 그러나, 주간모니터링의 결과에선 대조구인 control의 암모니아성 질소의 농도가 유의적으로 높다( $P<0.05$ ).

암모니아( $\text{NH}_3$ )는 주로 HOBr간의 반응 직후  $\text{N}_2$  가스 생성 반응으로 종결되는 경로를 따라 반응속도가 빠르게 나타난 것으로 사료된다(Wajon and Morris, 1982; Tanaka and Matsumura, 2002). 그러나 주간 모니터링의 시료 채수시점이 질소화합물의 영향이 가장 적은 09시(사료공급 전)로 오존에 대응하는 질소화합물이 가장 적은 환경이었다.

이와 같이 저농도 암모니아 조건에서는 암모니아( $\text{NH}_3$ )와 HOBr 간의 의한 분해보다는 HOBr과 미립자성 단백질(콜로이드성 물질)내 이중결합간의 Br 첨가반응으로 생성된 암모니아( $\text{NH}_3$ )가 총 암모니아성 질소의 증가에 영향을 준 것으로 사료된다(Heeb et al., 2014). 한편으로 총 암모니아성 질소의 농도가 OPO 농도에 의존적으로 증가하는 것은 생물학적 여과조에 존재하는 질산화세균 중 *Nitrosomonas* spp.의 활성에 영향을 주어 암모니아 산화능력이 감소한 것으로도 판단된다. 사

료공급 전(BM), 후(AM)로 시점을 나누어 OPO 농도에 Pearson correlation coefficient으로 단순비교 한 결과도 오존산화력이 생물학적 여과조의 활성도에 영향을 준 것으로 판단되는 근거이다. 사료공급으로 질소산화물이 증가하면 기존의 보고(오존의 암모니아성 질소의 제거)와 같이 OPO 농도 의존적으로 총 암모니아성 질소의 저감효과가 나타난다고 사료된다. 정상적인 해수환경에서 총 암모니아(TAN) 중 암모니아( $\text{NH}_3$ )의 양이 상대적으로 적어 영향을 주지 못했을 수 있다. 결론적으로 사육수를 오존으로 처리한 반순환여과양식시스템 내의 총 암모니아성 질소의 거동에 대한 상반된 연구들이 있지만 본 연구에서 큰 영향을 주지 못하였다.

반면, 아질산성 질소는 오존을 주입한 모든 실험구에서 대조구 대비 OPO15는 18.6% 수준으로, OPO25는 34.8% 수준으로 감소하였고( $P<0.05$ ), 질산성 질소도 오존을 주입한 모든 실험구들에서 대조구 대비 OPO15는 37.5%, OPO25는 46.1%의 수준으로 유의적으로 감소하였다( $P<0.05$ ). 사육수의 아질산성 질소가 오존(또는 OPO)과의 반응으로 질산성 질소로 전환된 것이 주된 원인이었다(Rosenthal and Kruner, 1985). 오존과 암모니아( $\text{NH}_3$ )의 직접반응 경로로 질산성 질소가 생성되지만, 반응속도가 상대적으로 느려 생성과 축적에 영향을 미치지 않은 것으로 사료된다(Haag and Hoigne, 1984).

해수에 주입한 오존의 영향으로 인산 인의 감소 경향은 질산성 질소의 경우와 유사하며, 오존을 주입한 모든 실험구들에서 대조구 대비 OPO15는 45.5%, OPO25는 48.0%의 수준으로 감소하였다( $P<0.05$ ). 이는 HOBr과 암모니아( $\text{NH}_3$ )의 반응과 이어진  $\text{NH}_2\text{Br}$ 의  $\text{NHBr}_2$ 으로의 생성반응 혹은 평형반응에서

Table 1. The OPO concentration-dependent correlation of daily water qualities on the ozone-treated olive flounder *Paralichthys olivaceus* culture tanks

Items	24 h	n	Average Concentration	Standard deviation	Pearson correlation coefficient	Probability of significance	
TAN <sup>1</sup>	03-09	54	0.643	0.281	0.438	.001	BM
	13-22	54	0.520	0.198	-0.853	.000	AM
	03-22	108	0.581	0.249	-0.092	.344	
Nitrite-N <sup>2</sup>	03-09	54	0.055	0.054	-0.920	.000	BM
	13-22	54	0.054	0.058	-0.959	.000	AM
	03-22	108	0.055	0.056	-0.940	.000	
Nitrate-N <sup>2</sup>	03-09	54	0.840	0.321	-0.330	.015	BM
	13-22	54	0.730	0.342	-0.872	.000	AM
	03-22	108	0.785	0.334	-0.601	.000	
Phosphate <sup>3</sup>	03-09	54	0.125	0.039	-0.353	.009	BM
	13-22	54	0.089	0.060	-0.926	.000	AM
	03-22	108	0.107	0.053	-0.645	.000	

<sup>1</sup>Concentration unit of TAN is mg/L as  $\text{NH}_4^+$ . <sup>2</sup>Concentration unit of average is mg/L as N. <sup>3</sup>Concentration unit of average is mg/L as P. Pearson correlation coefficient range is “-0.999, negative (-) correlation; 0, non-correlation; 0.999, positive (+) correlation”. OPO, ozone produced oxidants; TAN, total ammonia nitrogen; BM, before meal; AM, after meal.

인산 인이 소비되어 실험구들에서 감소하는 것이다(Inman and Johnson, 1984). 더불어 용존 무기질소와 용존 무기인 모두 대조구 대비 OPO15는 각각 51.4%와 45.5%로, OPO25는 각각 60.6%와 48.0% 수준으로 감소하였다.

질소화합물들은 다른 이온의 형태를 떠나 그 질소의 총량은 보존된다. 질소화합물의 총량인 용존무기질소(DIN)의 결과에 따르면 대조구인 control 보다 오존을 주입한 실험구들에서 유의적으로 감소하였다(P<0.05). 따라서 OPO 농도의 증가에 따라 DIN이 감소한 것은 N<sub>2</sub> 가스 생성 반응으로 수계 내에서 질소가 원천적으로 제거된 결과를 반영한 것이다. 나아가 이러한 변화는 질산화반응에 영향을 주어 최종산물인 질산성 질소의 감소로 이어진 것으로 암모니아성 질소 단계에서 다량의 질소가 수계에서 배제됨에 따라 연쇄반응인 질산화반응에 영향을 준 결과로 사료된다.

화학적산소요구량은 오존을 주입한 실험구에서 대조구 대비 OPO15는 55.0%, OPO25는 37.5% 수준이며, 총부유고형물은 대조구 대비 OPO15는 71.4%, OPO25는 42.8%의 수준으로 유의하게 감소하였다(P<0.05). 화학적산소요구량과 총부유고형물을 구성하는 탄소 기반 분해성 유기 오염물질이 HOBr에 의해 분해된 것으로 판단된다(Heeb et al., 2014). 또한 직접 반응 제거경로가 아닌 입자크기를 변화시키는 미세 유기물질의 응집현상을 촉진함으로써 물리여과나 포말분리와 같은 침전 및 분리작용을 증가시켜 감소한 것으로 사료된다(Krumins et al., 2001; Park et al., 2011).

Table 2. Weekly monitoring results of water qualities on the ozone-treated olive flounder *Paralichthys olivaceus* culture tanks

Items	OPO Concentration		
	CONTROL	OPO15	OPO25
TAN <sup>1,2</sup>	0.353±0.106 <sup>a</sup>	0.431±0.115 <sup>b</sup>	0.465±0.137 <sup>b</sup>
Nitrite-N <sup>2</sup>	0.134±0.056 <sup>a</sup>	0.025±0.007 <sup>c</sup>	0.046±0.031 <sup>b</sup>
Nitrate-N <sup>2</sup>	1.477±0.602 <sup>a</sup>	0.554±0.145 <sup>b</sup>	0.681±0.146 <sup>b</sup>
Phosphate <sup>3</sup>	0.283±0.193 <sup>a</sup>	0.129±0.031 <sup>b</sup>	0.136±0.020 <sup>b</sup>
COD <sub>Mn</sub> <sup>4</sup>	4.0±1.8 <sup>a</sup>	2.2±0.6 <sup>b</sup>	1.5±1.2 <sup>b</sup>
SS <sup>4</sup>	3.5±2.0 <sup>a</sup>	2.5±1.2 <sup>ab</sup>	1.5±0.8 <sup>b</sup>
DIN <sup>2</sup>	1.651±0.830 <sup>a</sup>	0.986±0.251 <sup>b</sup>	1.000±0.416 <sup>b</sup>
DIP <sup>3</sup>	0.283±0.193 <sup>a</sup>	0.129±0.031 <sup>b</sup>	0.136±0.020 <sup>b</sup>
EI <sup>5</sup>	1.32±1.07 <sup>a</sup>	0.20±0.07 <sup>b</sup>	0.15±0.11 <sup>b</sup>

Values in each row with the different superscripts are significantly different (P<0.05). <sup>1</sup>Concentration unit of TAN is mg/L as NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. <sup>2</sup>Concentration unit of average is mg/L as N. <sup>3</sup>Concentration unit of average is mg/L as P. <sup>4</sup>Concentration units of average is mg/L. <sup>5</sup>Calculated as [COD<sub>Mn</sub> × 1000 × (DIN × DIP)] / 1500. COD, chemical oxygen demand; DIN, dissolved inorganic nitrogen; DIP, dissolved inorganic phosphorus; EI, eutrophication index; Mn, permanganate method; OPO, ozone produced oxidants; SS, suspended solids. TAN, total ammonia nitrogen.

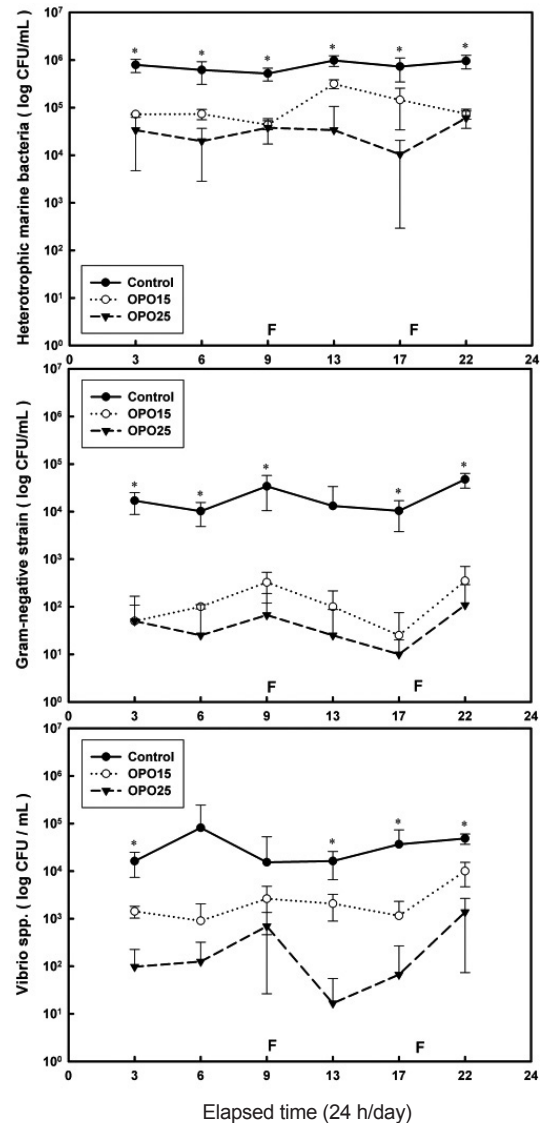


Fig. 4 Daily monitoring results of microbial colonies obtained from ozone-treated olive flounder *Paralichthys olivaceus* culture tanks for 24 h. Asterisks (\*) indicate significant differences between concentration of material (P<0.05). Allows indicate the feeding point (9 and 18 h). OPO, ozone produced oxidants.

암모니아성 질소를 제외한 모든 수질오염물질들이 오존을 주입한 실험구(OPO15, OPO25)에서 개선되었다. 측정된 수질오염물질의 결과를 일본수산청 적조발생지수(EI)로 평가한 결과, 오존을 주입한 실험구(OPO15, OPO25)는 청정한 동해안 연안 해수의 값인 0.20-0.42와 비슷하거나 낮은 반면에 오존을 주입하지 않은 실험구(control)에서는 1 이상으로 나타났다(Kim et al., 2012).

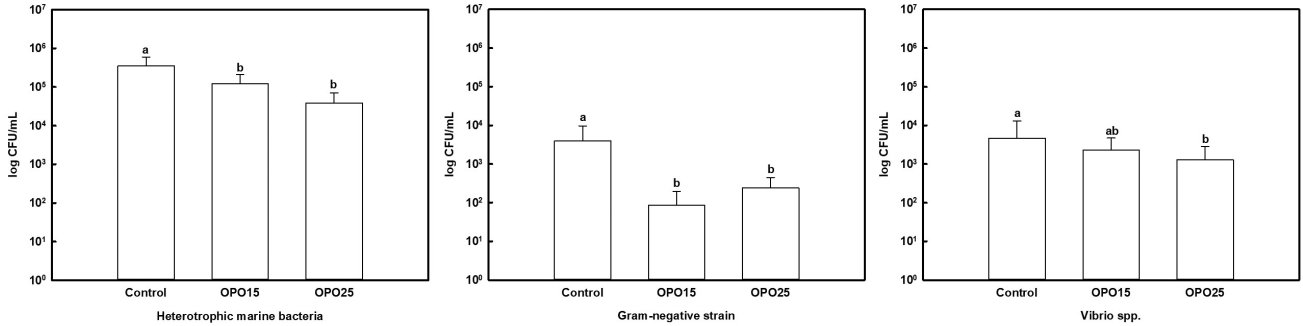


Fig. 5 Weekly monitoring results of microbial colonies on the ozone-treated olive flounder *Paralichthys olivaceus* culture tanks ( $P < 0.05$ ). Different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ). OPO, ozone produced oxidants.

## 사육수의 미생물 변동

### 일간 모니터링

오존을 주입한 넙치 사육수의 미생물 일간 변화는 Fig. 4와 같다. 미생물 중 heterotrophic marine bacteria의 일간 변동은 사료 공급 전후 6회 측정에서 유의적으로 높았고 ( $P < 0.05$ ), 평균값은 대조구  $5.2 \times 10^5$ - $9.8 \times 10^5$  CFU/mL ( $7.7 \times 10^5 \pm 3.2 \times 10^5$  CFU/mL), OPO15  $4.4 \times 10^4$ - $3.2 \times 10^5$  CFU/mL ( $1.2 \times 10^5 \pm 1.1 \times 10^5$  CFU/mL), 그리고 OPO25는  $1.0 \times 10^4$ - $6.1 \times 10^4$  CFU/mL ( $3.3 \times 10^4 \pm 3.7 \times 10^4$  CFU/mL)로 나타나 오존을 주입한 실험구들에서 크게 감소하였으며, 대조구의 평균값 대비 감소율은 OPO15는 84.2%, OPO25는 95.9% 수준이었다( $P < 0.05$ ).

Gram-negative strain은 대조구에서  $4.1 \times 10^3$ - $4.8 \times 10^4$  CFU/mL ( $1.7 \times 10^4 \pm 1.8 \times 10^4$  CFU/mL), OPO15에서  $2.5 \times 10^1$ - $3.5 \times 10^2$  CFU/mL ( $1.6 \times 10^2 \pm 2.0 \times 10^2$  CFU/mL), 그리고 OPO25에서  $1.0 \times 10^1$ - $1.1 \times 10^2$  CFU/mL ( $4.8 \times 10^1 \pm 1.1 \times 10^2$  CFU/mL)로서 오존을 주입한 실험구에서 유의적으로 감소하였으며( $P < 0.05$ ), 대조구 대비 평균 감소율은 OPO15에서 99.1%, OPO25에서 99.7% 수준이었다( $P < 0.05$ ). *Vibrio* spp.도 대조구에서  $1.5 \times 10^4$ - $6.1 \times 10^4$  CFU/mL ( $3.2 \times 10^4 \pm 6.3 \times 10^4$  CFU/mL), OPO15는  $9.0 \times 10^2$ - $1.0 \times 10^4$  CFU/mL ( $3.0 \times 10^3 \pm 3.9 \times 10^3$  CFU/mL) 그리고 OPO25는  $1.7 \times 10^1$ - $1.4 \times 10^3$  CFU/mL ( $4.0 \times 10^2 \pm 7.7 \times 10^2$  CFU/mL)로 대조구에서 전체적으로 실험구보다 유의적으로 높았고( $P < 0.05$ ), 대조구의 평균값 대비 감소율이 OPO15에서 91.4%, OPO25에서 98.8%로 유의적으로 감소하였다( $P < 0.05$ ). OPO와 미생물간의 단순관계성은 heterotrophic marine bacteria는 -0.834, Gram-negative strain은 -0.555 그리고 *Vibrio* spp.는 -0.344 값으로 모든 항목에서 반비례하였다( $P < 0.01$ ).

### 주간 모니터링

오존을 주입한 넙치 사육수의 OPO 농도에 따른 미생물의

주간 변화는 Fig. 5에 나타내었다. Heterotrophic marine bacteria는 오존을 주입한 실험구에서 유의적으로 감소하여 대조구를 기준으로 OPO15에서 65.7%, OPO25에서 89.1%의 감소율을 보여주었다( $P < 0.05$ ). Gram-negative strain은 대조구 대비 감소율이 OPO15에서 98.2%, OPO25에서 94.2%로 나타났다( $P < 0.05$ ). *Vibrio* spp.는 OPO 농도 의존적으로 유의적인 감소가 나타났고, 감소율은 대조구를 기준으로 OPO15에서 50.0%, OPO25에서 71.7%로 유의적으로 감소하였다( $P < 0.05$ ). 오존은 담수 및 해수에서 유해 미생물을 제어하는데 큰 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Sharrer et al., 2007; Jensen et al., 2011; Cobcroft and Battaglene, 2013; Wold et al., 2014; Powell et al., 2015). 본 연구에서도 조사한 미생물들은 모두 OPO 의존적으로 감소하였다( $P < 0.05$ ). Heterotrophic marine bacteria의 범주에는 수중에 부유하는 질산화 과정에 관여하는 *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* 등이 포함되어 생물학적여과조의 생물막상에 영향을 미쳤을 가능성을 배제할 수는 없다. 그러나, 생물막 매트릭스내 고정화된 박테리아는 부유세균보다 화학적 살균에 대한 내성이 10-1,000배 더 강하기 때문에, OPO 농도 기준으로 최대 0.15 mg Cl<sub>2</sub>/L 수준에 장기간 노출시켜도 relevant biofilter-bacteria의 질산화 성능에 부정적인 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다(Gilbert et al., 1997). 오히려 적절한 오존 처리는 오히려 경쟁관계인 다른 종속 영양 세균의 에너지원인 유기물을 감소시킴으로써 생물학적 여과조의 질산화를 촉진하는 것으로 알려져 있다(Schroeder et al., 2015). 그러나 Heterotrophic marine bacteria와 수질항목(TAN, NO<sub>3</sub>-N)의 일간 변동의 결과에서 OPO의 증가가 질산화 과정에 다소 부정적인 영향을 미친 것으로 판단된다. 그럼에도 불구하고 오존과 HOBr이 질산화 작용을 대체하는 보완적인 관계가 형성되어 각 실험구의 총 암모니아성 질소의 농도가 넙치의 생육 안전농도 보다 낮아 넙치의 성장에 큰 영향을 주지 않았다(Kim et al., 1997).

기존의 순환여과양식시스템에 오존을 도입하는 것은 생물위해성에 대한 우려 때문에 현장에서 일부 기준보다 낮은 농도로 적용하고 있으며, 농도와 접촉시간(Ct) 값을 살균물질의 제어



기준으로 많이 차용하고 있다. 오존의 양식 생물 위해성을 고려하여 Sharrer and Summerfelt (2007)는 오존의 접촉시간을 1.0-16.6분으로 조절하였으며, UV 살균기를 병행 사용하여 미생물 제어효율을 높이고 양식생물이 오존산화력에 노출되는 것을 억제하였다. 또한, Tango and Gagnon (2003)은 순환여과양식시스템의 생물학적 여과 공정 직전에 오존을 주입하였고, 여러 단계의 공정을 거친 후 사육수조로 유입하는 방법으로 OPO의 농도와 노출시간을 조절하여 양식생물에 영향을 미치지 않게 하였다. 반면 본 연구에서 오존의 주입은 순환여과양식시스템의 수처리공정을 거친 내부순환 사육수에 오존을 주입하였고, 이후 오존과 반응하도록 충분한 시간을 주고 사육수조에 공급하였다. 따라서 양식생물이 들어 있는 수조 속에서 유기물과 미생물이 OPO와 접촉하도록 사육수조 내의 OPO 농도를 통제값으로 설정하여 사육 중인 넙치가 OPO의 영향을 일부 받게 하였다. 구조적으로 OPO의 노출시간을 증가시키고 낮은 농도로 운전하여 사육수의 수질요소 및 미생물 제어에 긍정적인 효과가 있었다. 하지만 과도한 OPO 농도에 노출은 적합하지 않다 (Reiser et al., 2011). 넙치의 반수치사농도(96-h LC<sub>50</sub>)는 0.022 mg Cl<sub>2</sub>/L이며, 그 보다 낮은 0.013 mg Cl<sub>2</sub>/L에선 폐사개체가 나타나지 않는 것으로 알려져 있다(Oh et al., 1999). ORP 기준값으로는 300-400 mV (환산값 0.013-0.015 mg Cl<sub>2</sub>/L) 수준이다(Park et al., 2018). 다만 기존결과는 넙치의 최적성장이라는 산업적 목적을 달성하는데 제한이 있고, 사육을 위해서 계속해서 사료가 투입되는 구조여서 오존과 사료의 영향을 반영하면 기준이 달라질 수 있다. 본 연구와 연계된 이전의 연구(Jung et al., 2018)에서 넙치의 일간사료섭취률과 성장률은 OPO 농도 0.014±0.005 mg Cl<sub>2</sub>/L에서는 대조구와 대비하여 유의적인 차이가 없었으나, 0.025±0.010 mg Cl<sub>2</sub>/L에서는 유의적으로 감소하였다. 이와 관련하여 본 연구에서 OPO 농도 0.025 mg Cl<sub>2</sub>/L에서 수질이나 미생물 수준이 대조구보다 유의적으로 낮게 유지된 것은 낮은 일간사료섭취률에 기인된 것으로 판단된다. 그러나 대조구와 0.014 mg Cl<sub>2</sub>/L에서 일간사료섭취률이 비슷함에도 수질 및 미생물 값이 유의적으로 낮게 유지되었던 반면에 0.025 mg Cl<sub>2</sub>/L로 유지된 실험구에서는 0.014 mg Cl<sub>2</sub>/L의 실험구보다 수질환경이 유의성 있게 개선되지 않았으며 되려 넙치의 사료섭취를 저하로 성장이 저해되었다. 이는 과도한 OPO 농도에 노출은 적합하지 않으며(Reiser et al., 2011), 적정 수준 이하로 유지되어야 한다는 반증이다. 결론적으로 오존을 적절하게 주입하고 통제가 가능하다면 넙치의 성장지표에도 영향을 주지 않으면서 OPO 농도를 0.014 mg Cl<sub>2</sub>/L 수준으로 적용하면 사육수의 수질관리와 자가오염방지가 가능한 것으로 나타났다. 현재 넙치 양식산업에 오존산화법을 적용하기 위해서는 생물 위해성, 수질변동 범위, 미생물의 유효사멸 농도 그리고 사육시스템의 특성 등을 고려하여야 한다.

본 연구는 반순환여과양식시스템에 적용하여 비교적 소량의 오존주입만으로도 그 영향이 크게 나타나 산업성이 있었으며,

낮은 OPO 농도를 사육수조내에 적절히 공급하고 제어하면 생물농축 등의 부작용이 있는 항생제와 같은 약제를 사용하지 않는 유기양식(organic aquaculture)이 가능하였다. 사육수의 수질개선 및 미생물감소와 더불어 배출수의 수질 또한 개선되는 것을 확인하였고, 기존의 유수식 양식시스템보다 배출량 또한 대폭 감소하였다. 현재 국내엔 양식장 배출수의 배출기준은 있지만 총량 규제는 없는 상태여서 오존산화법을 반순환여과양식시스템에 적절히 이용한다면 기존의 유수식 양식법보다 배출수의 오염물질총량을 줄이는 친환경 넙치양식이 가능하다. 그러나 우리나라 넙치양식장의 대부분은 유수식 양식시스템이어서 본 연구와 동일한 효과를 거두기에는 어려움이 있다. 이는 대량의 유입수를 산화처리하기에는 오존산화시설의 물리적 크기가 크게 증가하여 산업성이 떨어진다. 또한 넙치의 생물학적인 특성이 고려되지 않고 적용될 경우 활용관계보다 크게 구축될 수 있고, 이에 따른 과도한 안전장치들(활성탄 필터, 아황산나트륨 투입)이 도입되면서 추가비용이 계속 발생한다. 따라서 국내 넙치 양식산업의 활성화를 위하여 수질개선이나 질병을 일으키는 미생물의 통제를 위하여 오존과 순환여과시스템을 병합한 양식법을 도입할 필요성이 있었다.

## 사 사

이 논문은 2016년부터 3년간 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원(KIMST)의 지원을 받아 수행된 연구입니다(육상 넙치양식장 생산성 향상을 위한 오존 고도산화 활용 기법 개발).

## References

- APHA (American Public Health Association). 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21th ed. American Public Health Association, Washington D.C., U.S.A.
- Bower CE and Holm-Hansen T. 1980. A salicylate-hypochlorite method for determining ammonia in seawater. *Can J Fish Aquat Sci* 37, 794-798. <https://doi.org/10.1139/f80-106>.
- Bregnballe J. 2015. A guide to recirculation aquaculture: an introduction to the new environmentally friendly and highly productive closed fish farming systems. Food and Agriculture Organization of the United Nations and EUROFISH, Budapest, Hungary.
- Buchan KAH, Martin-Robichaud DJ and Benfey TJ. 2005. Measurement of dissolved ozone in sea water A comparison of methods. *Aquac Eng* 33, 225-231. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.02.002>.
- Cho MY, Ha HJ, Min JG, Kim TJ, Jee BY, Park SH, Hwang SD, Kim KI, Jang YH and Park MA. 2015. Improvement and assessment criteria on disease control level in olive flounder aquaculture farms. *J Fish Mar Sci Edu* 27 1646-1655.



- <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2015.27.6.1646>.
- Cobcroft JM and Battaglione SC. 2013. Ultraviolet irradiation is an effective alternative to ozonation as a sea water treatment to prevent *Kudoa neurophila* (Myxozoa: Myxosporea) infection of striped trumpeter, *Latris lineata* (Forster). *J Fish Dis* 36, 57-65. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2012.01413.x>.
- Gilbert P, Das J and Foley I. 1997. Biofilm susceptibility to antimicrobials. *Adv Dent Res* 11, 160-167. <https://doi.org/10.1177/08959374970110010701>.
- Haag W and Hoigne J. 1984. Kinetics and products of the reactions of ozone with various forms of chlorine and bromide in water. *Ozone Sci Eng* 6, 103-114. <https://doi.org/10.1080/01919518408551009>.
- Heeb MB, Criquet J, Zimmermann-Steffens SG and Von Gunten U. 2014. Oxidative treatment of bromide-containing waters: Formation of bromine and its reactions with inorganic and organic compounds - A critical review. *Water Res* 48, 15-42. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.08.030>.
- Inman GW and Johnson JD. 1984. Kinetics of monobromamine disproportionation-dibromoamine formation in aqueous ammonia solutions. *Environ Sci Technol* 18, 219-224. <https://doi.org/10.1021/es00122a002>.
- Jensen MA, Ritar AJ, Burke C and Ward LR. 2011. Seawater ozonation and formalin disinfection for the larval culture of eastern rock lobster, *Jasus* (Sagmariasus) *verreauxi*, phyllosoma. *Aquaculture* 318, 213-222. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.05.001>.
- Jung S, Park W, Park J, Kim JW and Kim PK. 2018. Growth performance and physiological changes of olive flounder *Paralichthys olivaceus* by concentration of ozone produced oxidants in semi-RAS. *Korean J Fish Aquat Sci* 51, 688-696. <http://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0688>.
- Kim HS, Kim HY and Chin P. 1997. Effects of ammonia on survival and growth of the flounder larva *Paralichthys olivaceus*. *J Korean Fish Soc* 30, 488-495.
- Kim YS, Lee YH and Choi HG. 2012. Water quality assessment at coastal area of the East Sea of Korean. *J Korean Soc Mar Environ Saf* 18, 15-24. <http://doi.org/10.7837/kosomes.2012.18.1.015>.
- Krumins V, Ebeling JM and Wheaton F. 2001. Ozone's effects on power-law particle size distribution in recirculating aquaculture systems. *Aquac Eng* 25, 13-24. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(01\)00064-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(01)00064-4).
- MOF (Minister of Oceans and Fisheries). 2013. Standard test method for marine environment. Retrieved from <http://www.mof.go.kr/article/view.do?articleKey=5689&boardKey=35&menuKey=402&currentPageNo=1> on Dec 24, 2020.
- Oh MJ, Kim HY and Cho HS. 1999. Disinfection of culture water supply by ozonation I. Susceptibility of some fish-pathogenic bacteria isolated from cultured marine fish. *J Fish Pathol* 12, 42-48.
- Park J, Kim Y, Kim PK and Daniels HV. 2011. Effects of two different ozone doses on seawater recirculating systems for black sea bream *Acanthopagrus schlegelii* (Bleeker): removal of solids and bacteria by foam fractionation. *Aquac Eng* 44, 19-24. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2010.11.001>.
- Park J, Kim PK, Lim T and Daniels HV. 2013. Ozonation in seawater recirculating systems for black seabream *Acanthopagrus schlegelii* (Bleeker): effects on solids, bacteria, water clarity, and color. *Aquac Eng* 55, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.01.002>.
- Park SD, Kim Y, Park J and Kim PK. 2018. Changes in water quality and bacterial compositions in culture water of an ozonated flounder farm. *Korean J Environ Biol* 36, 90-97. <https://doi.org/10.11626/KJEB.2018.36.1.090>.
- Powell A, Chingombe P, Lupatsch I, Shields RJ and Lloyd R. 2015. The effect of ozone on water quality and survival of turbot *Psetta maxima* maintained in a recirculating aquaculture system. *Aquac Eng* 64, 20-24. <http://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2014.11.005>.
- Powell A and Scolding JWS. 2018. Direct application of ozone in aquaculture system. *Rev Aquac* 10, 424-438. <https://doi.org/10.1111/raq.12169>.
- Reiser S, Wuertz S, Schroeder JP, Kloas W and Hanel R. 2011. Risks of seawater ozonation in recirculation aquaculture - Effects of oxidative stress on animal welfare of juvenile turbot (*Psetta maxima*, L.). *Aquat Toxicol* 105, 508-517. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.08.004>.
- Roh HJ, Lim YJ, Kim A, Kim NE, Kim YJ, Park NB, Hwang JY, Kwon MG and Kim DH. 2018. Distribution of indicator bacteria in seawater off the coast of Jeju Island. *Korean J Fish Aquat Sci* 51, 450-455. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0450>.
- Rosenthal H and Krüner G. 1985. Treatment efficiency of an improved ozonation unit applied to fish culture situations. *Ozone Sci Eng* 7, 179-190. <https://doi.org/10.1080/01919518508552362>.
- Schroeder JP, Croot PL, Von Dewitz B, Waller U and Hanel R. 2011. Potential and limitations of ozone for the removal of ammonia, nitrite, and yellow substances in marine recirculating aquaculture systems. *Aquac Eng* 45, 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2011.06.001>.
- Schroeder JP, Klatt SF, Schlachter M, Zablotzki Y, Keuter S, Spieck E and Schulz C. 2015. Impact of ozonation and residual ozone-produced oxidants on the nitrification performance of moving-bed biofilters from marine recirculating aquaculture systems. *Aquac Eng* 65, 27-36. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2014.10.008>.
- Sharrer MJ and Summerfelt ST. 2007. Ozonation followed by ultraviolet irradiation provides effective bacteria inactivation in a freshwater recirculating system. *Aquac Eng* 37, 180-191. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2007.05.001>.
- Skoog DA, Holler FJ and Nieman TA. 1998. Signal and noise.

In: Principles of instrumental analysis, 5th ed., Messina F and Sherman M, eds. Harcourt Brace and Company, San Diego, CA, U.S.A., 117-133.

- Summerfelt ST, Sharrer MJ, Tsukuda SM and Gearheart M. 2009. Process requirements for achieving full-flow disinfection of recirculating water using ozonation and UV irradiation. *Aquac Eng* 40, 17-27. <http://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2008.10.002>.
- Tanaka J and Matsumura M. 2002. Kinetic studies of removal of ammonia from seawater by ozonation. *J Chem Technol Biotechnol* 77, 649-656. <http://doi.org/10.1002/jctb.624>.
- Tango MS and Gagnon GA. 2003. Impact of ozonation on water quality in marine recirculation systems. *Aquac Eng* 29, 125-137. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(03\)00061-X](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(03)00061-X).
- Von Gunten U. 2003. Ozonation of drinking water: Part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine. *Water Res* 37, 1469-1487. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00458-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00458-X).
- Wajon, JE and Morris JC. 1982. Rate of formation of N-bromoamines in aqueous solution. *Inorg Chem* 21, 4258-4263. <https://doi.org/10.1021/ic00142a030>.
- Wold PA, Holan AB, Qie G, Attramadal K, Bakke I, Vadstein O and Leiknes TO. 2014. Effects of membrane filtration on bacterial number and microbial diversity in marine recirculating aquaculture system (RAS) for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) production. *Aquaculture* 422-423, 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.019>.