

# 암모니아 및 아질산 급성독성에 따른 무태장어(*Anguilla marmorata*) 치어의 영향

최종렬 · 박준성 · 황주애 · 이동길 · 김형수\*

국립수산과학원 첨단양식실증센터

## Effects of Acute Toxicity of Ammonia and Nitrite to Juvenile Marbled Eel *Anguilla marmorata*

Jong Ryeol Choe, Jun Seong Park, Ju-Ae Hwang, Donggil Lee and Hyeongsu Kim\*

Advanced Aquaculture Research Center, National Institute of Fisheries Science, Changwong 51688, Republic of Korea

This study was investigated to evaluate the level of acute TAN (total ammonia nitrogen) and NO<sub>2</sub>-N concentrations at pH levels of 6.0, 7.0 and 8.0 for 96 h in juvenile marbled eel *Anguilla marmorata* (total length 209.0±22.02 mm and body weight 13.0±5.01 g). The result of the present study showed that the survival rate of juvenile eel at TAN concentrations 0, 100, 200, 300, 400, and 500 ppm at pH 6.0, pH 7.0, and pH 8.0 were 100, 100, 96.7, 74.4, 31.1, and 0%; 100, 82.2, 61.1, 36.7, 0, and 0%; and 98.9, 55.6, 8.9, 0, 0, and 0%, respectively. In addition, the survival rate of juvenile eel at NO<sub>2</sub>-N concentrations 0, 100, 200, 300, 400, and 500 ppm at pH 6.0, pH 7.0, and pH 8.0 were 100, 43.3, 21.7, 0, 0, and 0%; 100, 76.7, 65.0, 43.3, 21.7, and 13.3%; and 100, 100, 88.3, 78.3; and 58.3% respectively. The 96h-LC<sub>50</sub> at pH 6.0, 7.0, and 8.0 were 332, 235, and 167 mg/L for TAN, and 188, 296, and 711 mg/L for NO<sub>2</sub>-N, respectively. The acute toxicity of TAN to juvenile eel increased exponentially with increase in pH, whereas the acute toxicity of NO<sub>2</sub>-N to juvenile eel increased with low levels of pH and lengthening of exposure time to NO<sub>2</sub>-N.

Keywords: *Anguilla marmorata*, Total ammonia nitrogen, Nitrite, Acute toxicity, 96 h-LC<sub>50</sub>

### 서 론

최근 우리나라의 수산물에 대한 수요 확대에 비해, 해양환경 오염과 남획 등으로 인해 어업 생산량이 감소되고 있고, 이에 따라 양식 생산량에 대한 의존도가 높아지고 있으며, 현재 내수면 양식에서는 단백질, 지방, 무기질, 비타민 등의 영양분 함량이 높고, 건강기호 식품으로 알려진 뱀장어(*Anguilla japonica*) 양식의 생산량이 증가하는 추세이다(Kim et al., 2008, Son et al., 2011). 2020년 국내 뱀장어 양식 생산량은 9,755톤에 달해 2000년 2,725톤에 비해 크게 증가하였고 2020년 전체 내수면어업 생산량 34,000톤 중 뱀장어는 9,800톤(28.7%)를 차지하였다(KOSTAT, 2021). 그러나 국내 주요 양식품종인 뱀장어는 CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) 지정 대상종으로 향후 CITES 등재여부에 따른 국제적인 거래에 대한 제재로 실뱀

장어 수급에 어려움을 겪을 수 있어 대체종에 대한 관심이 높아지고 있다(Ahn et al., 2015). 무태장어(*A. marmorata*)는 우리나라 제주도 일부 해역에 서식하며, 동남아 지역에서 많은 치어 자원이 있다고 알려져 있다(Yambot, 2014). 국내에서 양식되는 무태장어는 타 뱀장어들에 비해 저지방 고단백질 및 비타민 A 함량이 높고, 극동산 뱀장어와 비슷한 식감과 기호도를 갖는 것으로 평가된 바 있으며, 최근 대체 양식어종으로서 동남아산 뱀장어에 대한 연구개발도 진행된 바 있다(Ahn et al., 2015; NIFS, 2017). 일반적으로 국내 뱀장어 양식은 기존의 지수식 시설에서 고밀도 순환여과식 사육방식으로의 변경이 이루어지고 있으며, 현재 대부분 순환여과방식으로 사육하고 있다(Cho et al., 2011, Jang et al., 2021). 지수식 양식에서 수질관리는 사료 공급량과 환수량으로 조절하는 어려움이 있으며, 지수식과 순환여과식 뱀장어 양식방법은 빠른 성장을 위해 고밀도, 고수온 환경에서 사육하기 때문에 수질관리에 어려움이 크다(Jo and

\*Corresponding author: Tel: +82. 55. 540. 2720 Fax: +82. 55. 546. 6292

E-mail address: kimk2k@korea.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.2022.0697>

Korean J Fish Aquat Sci 55(5), 697-704, October 2022

Received 21 May 2022; Revised 2 July 2022; Accepted 28 September 2022

저자 직위: 최종렬(인턴연구원), 박준성(인턴연구원), 황주애(연구원), 이동길(연구관), 김형수(연구원)

Kim, 2014; Kim and Kim, 2014; Sohn et al., 2015a). 양식과정에서 유기물의 퇴적이 많아지면 어류에 독성작용으로 스트레스와 폐사를 유발하는 암모니아, 아질산 및 황화수소와 같은 미생물의 대사산물이 많이 생성된다(Das et al., 2004). 단백질 분해 산물은 최종적으로 어류에게 성장저하, 면역억제, 질병발생을 유발하며, 대량폐사의 위험성도 매우 높아진다(Snieszko, 1974; Lewis and Morris, 1986).

수중에서 총암모니아성 질소(total ammonia nitrogen, TAN)는 이온화된 암모늄( $\text{NH}_4^+$ )과 비이온화된 유리 암모니아( $\text{NH}_3$ )의 2가지 형태로 존재하면서, 이온화된  $\text{NH}_4^+$ 보다 비이온화된  $\text{NH}_3$ 가 특히 더 유독한 것으로 알려져 있다(Emerson et al., 1975). 양식생물에 있어 사육 수중 내  $\text{NH}_3$  농도 상승에 따라 양식생물의 혈장, 아가미 및 근육 조직 등에서  $\text{NH}_3$  농도가 증가하며, 이는 혈액 내 pH 상승으로 효소촉매작용이 억제되어 조직 내 손상이 일어나게 된다(Cheng and Chen, 1998). 수중 내  $\text{NH}_4^+$ 에 대한  $\text{NH}_3$  비율은 pH, 온도, 용존산소, 염분에 따라 변하고, 어류의 생리적 대사에 큰 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다(Trussel, 1972; Emerson et al., 1975; Bower and Bidwell, 1978). 어류의 단백질 대사과정에서 생성 또는 유기물 분해에 의해 생성되는 암모니아가 질화과정에서 *Nitrosomonas* sp. 등에 의해 산화되거나, 질산의 혐기성 탈질화과정에서 아질산(nitrite nitrogen,  $\text{NO}_2^-$ -N)이 생성된다(Schoore et al., 1995). 수중 내  $\text{NO}_2^-$ -N 농도가 상승하면 어류의 혈액 내에서 메타헤모글로빈이 증가함에 따라 어류의 호흡장애를 발생시키며,  $\text{NO}_2^-$ -N 중독증이 발생하여 아가미가 갈색으로 변색되고, 그 정도가 심해지면 어류의 대량폐사도 발생할 수 있다(Lewis and Morris, 1986; Sohn et al., 2015b).

TAN과  $\text{NO}_2^-$ -N은 어류에 급성독성을 일으키며, 무지개송어(*Salmo gairdneri*), 넙치(*Paralichthys olivaceus*), 틸라피아(*Oreochromis aureus*) 등 다양한 어류에 있어서도 연구가 수행되었고, 뱀장어류 중 유럽산 뱀장어(*Anguilla anguilla*)를 대상으로 사육 시 폐사조건 중 질산성 질소 농도의 최대치에 대한 연구가 보고되어 있다(Russo et al., 1974; Smart, 1976; Thurston and Russo, 1983; Kim et al., 1997; Kroupová et al., 2018). 따라서 본 연구는 극동산 뱀장어의 대체종으로서 무태장어를 이용하여 양식산업의 가능성을 확인하고 고밀도 양식과 안정적인 수질관리를 위한 TAN과  $\text{NO}_2^-$ -N 농도 변화에 따른 급성독성 농도 범위를 규명하여 기초자료로 활용하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험어

본 실험에 사용된 무태장어는 국립수산물시험원 첨단양식실증센터에서 사육중인 개체로, 체중  $13.0 \pm 5.01$  g, 전장  $209.0 \pm 22.02$  mm인 무태장어를 사용하였다. 수질 환경변화에 따른 실험어의 구토로 인한 수질 변화와 생리적 스트레스를 막기 위해 실험 4

일전부터 절식하여 실험어로 사용하였다. 실험구별 생존율은 3 시간 간격으로 폐사개체의 발생 여부를 확인하였으며, 폐사개체가 발생한 경우 폐사개체를 제거하여 생존율로 환산하였다. 폐사개체는 실험어가 뒤집혀서 아가미 뚜껑의 운동이 정지되었을 때 폐사개체로 판정하였다.

### 실험방법

TAN 치어 독성 실험구는 아크릴 원형수조( $\emptyset 35 \text{ cm} \times \text{H } 35 \text{ cm}$ ) 54개[pH별 실험구(3)  $\times$  농도별 실험구(6)  $\times$  3반복]에 지하수를 20 L씩 채우고 pH를 높이기 위해서는 탄산수소나트륨( $\text{NaHCO}_3$ ; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하였고 pH를 낮추기 위해서는 10% 황화수소( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; Sigma Aldrich)를 이용하여 pH를 6.0, 7.0, 8.0으로 조정하였다. pH 조절을 위해 실험에 사용된 시약은 Loyless and Malone (1997) 과 Ikuta et al. (2003)을 참고하여 사용하였고, 적용된 농도는 Kim and Kim (2014), Yamagata and Niwa (1982) 및 Saroglia et al. (1981)에서 European eel *Anguilla anguilla*와 common eel *Anguilla japonica*을 대상으로 이루어진 농도 범위를 참고하여 설정하였다.

TAN 농도는 Tok et al. (2011)을 참고하여 암모늄클로라이드( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ; Sigma Aldrich)를 사용해 총 6개 실험구(0, 100, 200, 300, 400, 500 ppm)으로 나누어 각 수조당 30마리씩 수용하였고, 대조구는 아무것도 첨가하지 않고 지하수를 사육수로 사용하였다.

$\text{NO}_2^-$ -N 치어 독성 실험구 또한 TAN 치어 독성 실험구와 같이 동일하게 아크릴 원형수조( $\emptyset 35 \text{ cm} \times \text{H } 35 \text{ cm}$ ) 504개에서 실험을 진행하였다. 탄산수소나트륨( $\text{NaHCO}_3$ ; Sigma Aldrich)와 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 를 이용하여 pH를 6.0, 7.0, 8.0으로 조정한 후, 아질산( $\text{NO}_2^-$ -N) 농도는 Jo and Kim (2014)을 참고하여 아질산나트륨( $\text{NaNO}_2$ ; Sigma Aldrich)을 사용해 총 6개 실험구(0, 100, 200, 300, 400, 500 ppm)으로 나누어 각 수조당 30마리씩 수용하였고, 대조구는 아무것도 첨가하지 않고 지하수를 사육수로 사용하였다.

본 연구에서 독성실험은 20 L 아크릴 수조에서 실험구로 구분하여 진행하였으나 수온을 일정하게 유지하기 위해서 레이스웨이 수조(width 80 cm  $\times$  height 20 cm  $\times$  length 1,000 cm)에 물을 담고 그 안에 아크릴 수조 실험구를 전체적으로 수용하여 물중탕 방법으로 히터기(DH-220 2 kW; Daehwaeng, Busan, Korea)를 사용하여 수온을  $25.0 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 로 일정하게 유지하였다. 또한, 용존산소량(dissolved oxygen, DO) 조건을 일정하게 유지하기 위해서 아크릴 원형 수조 뚜껑 가운데에 미세한 구멍을 통해 에어호스를 삽입하여 포기시켜  $6.7 \pm 1.0 \text{ mg/L}$ 으로 일정하게 유지하였다.

실험 시작 후 24, 48, 72, 96시간마다 폐사체를 확인하여 치사농도 값( $\text{LC}_{10}$ ,  $\text{LC}_{50}$ ,  $\text{LC}_{90}$ )을 분석하였다. 실험 기간 동안 pH는 다함목 수질측정기(YSI Nanotech, Yellow Springs, Ohio,

USA)로 8시간 간격으로 측정하면서, 탄산수소나트륨과 10% 황화수소를 이용해 각 실험구 별 pH를 유지하였고, 수온과 DO도 일정하게 유지하였다. Nitrite-nitrogen와 TAN 농도는 8시간 간격으로 사육수를 채취하여 분광광도계(Spectroquant Photometer NOVA 60; Merck Millipore, Burlington, MA, USA)로 분석하여 NaNO<sub>2</sub>와 NH<sub>4</sub>Cl 시약을 첨가해 농도를 조절하였다.

치사농도는 엑셀(Microsoft Excel 2020; Microsoft Cor., Redmond, WA, USA)을 사용하여 다중공선성(multicollinearity)을 분석하였고, 유의성 검증은 SPSS (SPSS 23.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program를 이용하였다. pH별 농도에 따른 무태장어 치어의 생존율의 관계와 pH별 실험시간에 따른 반수치사 농도(lethal concentration 50%, LC<sub>50</sub>)의 관계를 확인하기 위해 Pearson 상관분석을 실시하였다. 또한, 무태장어 치어의 pH에 따른 생존율, TAN 농도와 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 농도에 따른 생존율, 그리고 pH와 TAN 농도, pH와 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 농도 간에 상호작용 효과가 있는지 분석하기 위해서 이원분산분석(Two-way ANOVA)을 실시하였고, Tukey test로 유의성을 사후검정 하였으며, 통계학적 유의수준은 P<0.05로 설정하였다.

**결 과**

**수질 변화**

실험에 사용한 지하수 원수의 수질은 Table 1에서와 같이 TAN 0.1 mg/L, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N은 0.1 mg/L로 나타나 뱀장어 암모니아 급성 독성 시험에 적합한 수질 상태를 나타냈고, 실험구별 유의한 수준에서 차이는 없었다(P<0.05). 실험 시작 후 96시간 동안 NaHCO<sub>3</sub>와 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 pH를 6.0, 7.0, 8.0으로 유지하였다.

**TAN의 농도에 따른 생존율**

96시간 동안 대조구에서는 폐사가 일어나지 않았지만 TAN을 첨가한 실험구에서는 무태장어가 배를 뒤집고 있거나, 유평하지 않고 수면 위에 떠있는 이상 증상을 나타내면서 폐사하였고, TAN의 농도에 따른 무태장어 치어의 생존율은 Fig. 1과 같다.

pH 6.0 실험구에서 TAN 농도별(100, 200, 300, 400, 500 mg/L)의 생존율은 각각 100±0.0, 96.7±0.0, 74.4±3.2, 31.1±0.6, 0%로

Table 1. Underground water qualities parameter in this acute toxicity study of marbled eels *Anguilla marmorata* for 96 h

Parameter	Value
Water temperature (°C)	24.8±1.5
pH	7.5±0.2
Dissolved oxygen (mg/L)	6.7±1.0
TAN* (mg/L)	0.10±0.05
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N (mg/L)	0.10±0.05

\*TAN, Total ammonia nitrogen.

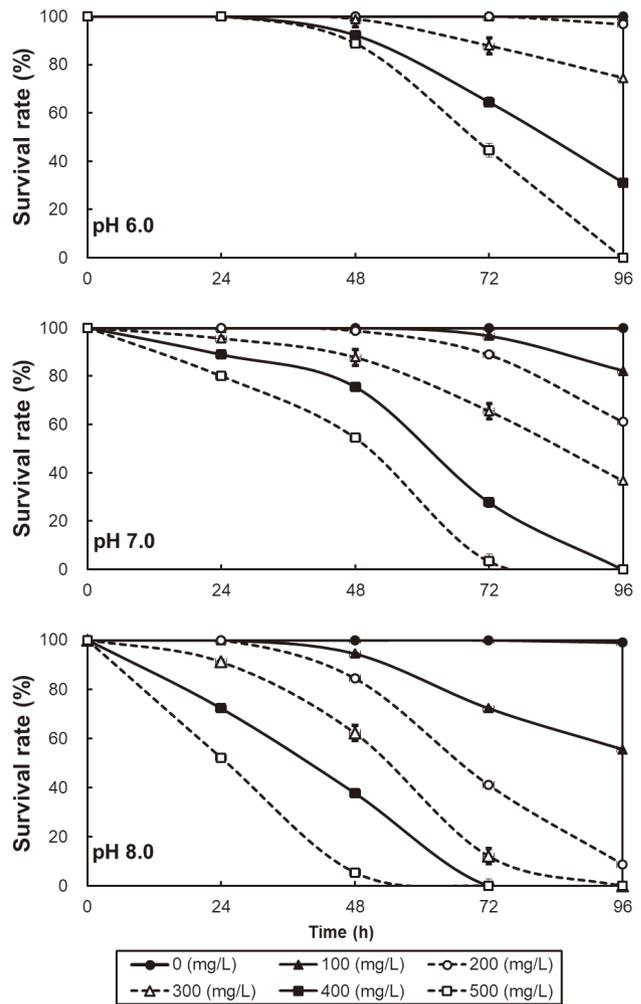


Fig. 1. Survival rate of marbled eel *Anguilla marmorata* juvenile by pH at various ammonia (TAN) concentrations.

나타났고, pH 7.0 실험구에서는 82.2±1.5, 61.1±1.5, 36.7±1.0, 0, 0%였으며, pH 8.0 실험구에서는 55.6±3.1, 8.9±2.5, 0, 0, 0%로 확인되었다. pH에 따른 TAN 농도별 생존율은 pH 6.0, pH 7.0, pH 8.0 모든 실험구에서 TAN의 농도가 높아질수록 생존율은 낮아지는 상관관계를 나타냈다(Pearson correlation analysis, pH 6.0, r<sup>2</sup>=0.85; pH 7.0, r<sup>2</sup>=0.96; pH 8.0, r<sup>2</sup>=0.75, all P<0.05). 또한, pH와 TAN 농도는 상호작용 효과가 있는 것으로 나타났으며, pH와 TAN 농도에 따라 무태장어 치어의 생존율은 차이가 있는 것으로 나타났다(Tukey test, interaction, F=52.7; pH, F=336.3; TAN, F=652.8, all, P<0.05).

**NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 의 농도에 따른 생존율**

pH 및 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 농도에 따른 96시간 동안 무태장어 치어 대조구에서는 폐사가 발생하지 않았지만, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N을 첨가한 실험구에서는 무태장어가 이상 증상을 나타내면서 폐사가 나타났고,

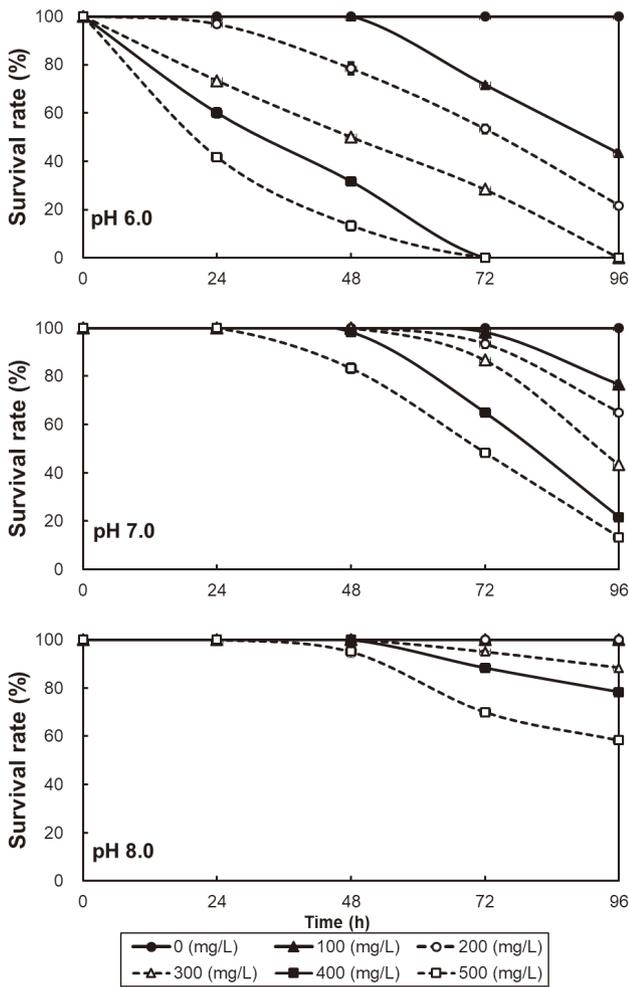


Fig. 2. Survival rate of marbled eel *Anguilla marmorata* juvenile by pH at various nitrite-nitrogen ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) concentrations.

$\text{NO}_2\text{-N}$ 의 농도에 따른 무태장어 치어의 생존율은 Fig. 2와 같다.

pH 6.0 실험구에서  $\text{NO}_2\text{-N}$  농도별(100, 200, 300, 400, 500 mg/L)의 생존율은 각각  $43.3 \pm 1.2$ ,  $21.7 \pm 1.2$ , 0, 0, 0%로 나타났고, pH 7.0 실험구에서는  $76.7 \pm 1.5$ ,  $65.0 \pm 1.0$ ,  $43.3 \pm 0.6$ ,  $21.7 \pm 1.2$ ,  $13.3 \pm 0.6\%$ 였으며, pH 8.0 실험구에서는  $100 \pm 0.0$ ,  $100 \pm 0.0$ ,  $88.3 \pm 0.6$ ,  $78.3 \pm 0.6$ ,  $58.3 \pm 1.2\%$ 로 확인되었다. pH에 따른  $\text{NO}_2\text{-N}$ 의 농도별 생존율은 pH 6.0, pH 7.0, pH 8.0 모든 실험구에서  $\text{NO}_2\text{-N}$ 의 농도가 높아질수록 생존율은 낮아지는 상관관계를 나타냈다(Pearson correlation analysis, pH 6.0,  $r^2=0.77$ ; pH 7.0,  $r^2=0.98$ ; pH 8.0,  $r^2=0.82$ , all  $p < 0.05$ ). 또한, pH와  $\text{NO}_2\text{-N}$  농도는 상호작용 효과가 있는 것으로 나타났으며, pH와  $\text{NO}_2\text{-N}$  농도에 따라 무태장어 치어의 생존율은 차이가 있는 것으로 나타났다(Tukey test, interaction,  $F=61.7$ ; pH,  $F=1167.8$ ;  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  $F=511.3$ , all,  $P < 0.05$ ).

pH에 따른 TAN에서의 반수치사 농도( $\text{LC}_{50}$ )

pH에 따른 TAN의 무태장어 치어에 대한 24, 48, 72, 96시간  $\text{LC}_{50}$ 은 Table 2와 같다. pH 6.0 실험구에서 48, 72, 96시간의  $\text{LC}_{50}$ 은 각각 2,287, 539, 332 mg/L로 나타났고, pH 7.0 실험구에서는 24, 48, 72, 96시간에서 각각 1,368, 655, 317, 235 mg/L였으며, pH 8.0 실험구에서는 각각 630, 324, 278, 167 mg/L로 확인되었다. pH 농도에 따른 TAN에서  $\text{LC}_{50}$ 은 pH 6.0, pH 7.0, pH 8.0 모든 실험구에서 실험시간이 증가함에 따라 낮아지는 상관관계를 나타냈다(Pearson correlation analysis, pH 6.0,  $r^2=0.82$ ; pH 7.0,  $r^2=0.87$ ; pH 8.0,  $r^2=0.87$ , all  $P < 0.05$ ).

pH에 따른  $\text{NO}_2\text{-N}$ 에서 반수치사 농도( $\text{LC}_{50}$ )

pH 농도에 따른  $\text{NO}_2\text{-N}$ 의 무태장어 치어에 대한 24, 48, 72,

Table 2.  $\text{LC}_{10}$ ,  $\text{LC}_{50}$  and  $\text{LC}_{90}$  values of total ammonia nitrogen (TAN) for marbled eel *Anguilla marmorata* juvenile

pH	Time (h)	$\text{LC}_{10}$ (mg/L)			$\text{LC}_{50}$ (mg/L)			$\text{LC}_{90}$ (mg/L)			
		Mean	95% Confidence limit		Mean	95% Confidence limit		Mean	95% Confidence limit		
6.0	24	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
	48	541	507	611	2,287	2,140	2,611	4,034	3,759	4,611	
	72	186	163	207	539	463	595	892	759	984	
	7.0	96	140	134	149	332	324	346	524	513	543
		24	353	329	367	1,368	1,284	1,417	2,384	2,239	2,466
7.0	48	206	148	242	655	549	833	1103	914	1,425	
	72	121	119	126	317	297	338	514	476	558	
	8.0	96	53	52	66	235	232	243	416	413	427
		24	207	188	235	630	530	773	1,053	872	1,312
8.0	48	113	96	129	324	294	371	535	492	612	
	72	90	54	116	278	237	307	466	420	498	
	96	51	33	70	167	148	189	284	262	308	

\*N.D., Not detected.

96시간 LC<sub>50</sub>은 Table 3과 같다. pH 6.0 실험구에서 48, 72, 96 시간의 LC<sub>50</sub>은 각각 314, 260, 188 mg/L로 나타났고, pH 7.0 실험구에서 48, 72, 96시간에서 각각 2,113, 556, 296 mg/L였으며 pH 8.0 실험구에서는 각각 7,176, 1,028, 711 mg/L로 확인되었다. pH 농도에 따른 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N에서 LC<sub>50</sub>은 pH 6.0, pH 7.0, pH 8.0 모든 실험구에서 실험시간이 증가할수록 낮아지는 상관관계를 나타냈다(Pearson correlation analysis, pH 6.0, r<sup>2</sup>=0.94; pH 7.0, r<sup>2</sup>=0.85; pH 8.0, r<sup>2</sup>=0.78, all P<0.05).

**고 찰**

암모니아는 어류에 있어 pH가 높을수록 독성이 증가하는 경향이 있으며(Sohn et al., 2015a), 어류의 아가미, 신장 조직의 파괴, 배설물량 증가와 산소 소비, 호흡수 증가와 함께 헤모글로빈의 산소 운반 능력 감소를 야기한다(Burrow 1964; Lloyd and Orr, 1969; Thurston et al., 1978; Cho and Hur, 1998). 이러한 암모니아 수치의 상승은 생물체내에 악영향을 끼치게 된다(IP et al., 2001). 특히 뇌에 높은 수준의 암모니아 수치가 노출이 되면 체내 신경전달물질인 글루탐산(glutamate) 방출을 증가시키고, 암모니아의 급성 독성은 주로 척추동물의 중추신경계에 미치는 영향으로 인해 경련 및 사망으로 이어진다(Randall and Tsui, 2002). 어류에 있어서 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N의 독성은 내부 및 외부 요인의 영향을 크게 받는다(Kroupová et al., 2018). 외부 요인에는 수온, DO, pH, 독성 노출 시간 등에 따라 독성정도가 다르게 나타나며(Lewis and Morris, 1986), 내부 요인에는 어종, 어류의 연령, 크기, 및 개별 어류 민감도에 따라도 독성정도가 다르게 나타난다(Sohn et al., 2015b; Kroupová et al., 2018). 또한 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N은 어류 내로 유입되면 헤모글로빈은 메타헤모글로빈으로 산화되어 산소 운반 능력이 떨어져 산소 결핍 상태에 이

르게 되어 폐사하게 된다(Cameron, 1971).

본 실험에서는 무태장어 치어를 대상으로 TAN, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N에 대한 급성 독성 실험을 한 결과, TAN에 대한 96시간 후의 pH 농도별 LC<sub>10</sub>, LC<sub>50</sub> 및 LC<sub>90</sub>은 pH 6.0은 140, 332 및 524 mg/L였으며, pH 7.0은 53, 235 및 416 mg/L, pH 8.0은 51, 167 및 284 mg/L로 측정되어, LC<sub>10</sub>, LC<sub>50</sub> 및 LC<sub>90</sub> 모두 pH가 증가함에 따라 LC값이 낮아져 암모니아 독성이 증가하는 것으로 나타났다. pH가 증가함에 따라 NH<sub>3</sub>의 독성이 증가하는 이유는 수중 내에서 유리 암모니아(NH<sub>3</sub>)와 이온화된 암모늄(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)과 같이 이온화 되지 않은 TAN이 평형을 이루고 있으나, pH가 상승 시 수산화이온(OH<sup>-</sup>)의 증가로 수소이온(H<sup>+</sup>)이 상대적으로 감소하게 되어 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>가 해리되어 독성이 있는 NH<sub>3</sub>의 양이 증가하는 특성을 가지고 있기 때문으로 알려져 있다(Emerson et al., 1975). *Colosoma macropomum*는 pH 6.0, 7.0에서의 NH<sub>3</sub> 독성에 대한 치사율은 0%, pH 8.0에서 10–20%, pH 9.0에서 100%로 나타났다(Croux et al., 2004). Channel catfish *Ictalurus punctatus*는 TAN 독성에 대한 24시간 후 LC<sub>50</sub>값을 측정하였으며, pH 7.0에서 263.6±11.3 mg/L, pH 8.0에서 38.8±1.8 mg/L로 보고하였으며(Tomasso et al., 1980), Yamagata and Niwa (1982)의 연구에서는 *Anguilla japonica*에 대한 pH별 LC<sub>50</sub>값을 측정해본 결과 pH 7.0에서는 800 mg/L, pH 8.0에서는 100 mg/L로 보고하여, 본 실험과 같이 pH가 증가하면 TAN 독성이 증가하는 것으로 나타났다.

무태장어 치어에서의 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N에 대한 96시간 후의 pH 농도별 LC<sub>10</sub>, LC<sub>50</sub> 및 LC<sub>90</sub>은 pH 6.0은 64, 188 및 312 mg/L였으며, pH 8.0은 219, 711 및 1,202 mg/L로 측정되어, LC<sub>10</sub>, LC<sub>50</sub> 및 LC<sub>90</sub> 모두 pH가 낮고 노출시간이 길수록 값이 감소하며, 독성이 강해지는 경향이 나타났다. pH가 낮을수록 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 독성

Table 3. LC<sub>10</sub>, LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values of total nitrite nitrogen (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N) for marbled eel *Anguilla marmorata* juvenile

pH	Time (h)	LC <sub>10</sub> (mg/L)			LC <sub>50</sub> (mg/L)			LC <sub>90</sub> (mg/L)		
		Mean	95% Confidence limit		Mean	95% Confidence limit		Mean	95% Confidence limit	
6.0	24	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	48	104	86	115	314	305	327	524	507	544
	72	71	55	84	260	241	277	449	426	470
	96	64	54	69	188	288	195	312	300	322
7.0	24	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	48	526	427	601	2,113	1,643	2,470	3,701	2,859	4,339
	72	173	161	187	556	494	635	940	819	1110
	96	70	65	85	296	287	314	522	509	549
8.0	24	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	48	1,543	1,543	1,543	7,176	7,176	7,176	12,810	12,810	12,810
	72	291	278	323	1,028	944	1,198	1,764	1,611	2,074
	96	219	211	228	711	678	766	1,202	1,145	1,304

\*N.D., Not detected.

이 높게 나타나는 것은 어류 아가미에서  $\text{Na}^+$ 와  $\text{Cl}^-$  농도가 감소하고  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase 활성도가 감소하기 때문이며, pH가 낮은 사육수에서는 무기염류의 농도와 상관관계 없이  $\text{NO}_2^-$ -N의 독성 정도가 증가하는 경향을 나타낸다(Huey et al., 1984; Lewis and Morres, 1986; Wise and Tomasso, 1988). 동자개(*Pseudobagrus fulvidraco*)를 대상으로 한 pH 농도에 따른  $\text{NO}_2^-$ -N 독성실험에서도 pH가 낮아짐에 따라 pH 6.50±0.30에서는 12, 24, 48, 72, 96시간의  $\text{LC}_{50}$ 은 각각 155.11, 75.64, 58.20, 50.28, 40.49 mg/L이었으며, pH 7.07±0.22에서 12, 24, 48, 72, 96시간의  $\text{LC}_{50}$ 은 각각 130.82, 74.56, 63.53, 52.48, 45.85 mg/L로 나타나 본 실험과 같이 낮은 pH 환경에서  $\text{NO}_2^-$ -N 독성이 증가하는 것으로 나타났다(Sohn et al., 2015b).

TAN의 독성은 어종, 크기, 연령, 성별 등 여러 요인에 따라 달라지며(Sprague, 1985), 같은 어종 간의 암모니아의 독성을 정확히 비교하는 것은 연구자의 실험 조건에 따라 영향을 많이 받기에 정확히 비교하는 것은 어렵다(Sohn et al., 2015a).  $\text{NO}_2^-$ -N 또한 어종에 따라 차이가 발생하며(Tomasso, 1986),  $\text{NO}_2^-$ -N 독성은 실험 조건 및 여러 형질의 차이 등 여러 가지 요인에 따라 영향을 받아 어류 크기에 따라 다양한 결과가 나타난다(Wedemeyer and Yasutake, 1977; Almendras, 1987; Hilmy et al., 1987). 본 연구에서는 수온, DO, pH의 수질환경에 대한 조사만 수행하였으나 염화물, 칼슘, 나트륨, 마그네슘, 칼륨 등의 이온에 의해서도 다른 결과들이 나타날 수 있다. 특히, 아질산염은 혈액 내 산소량을 감소시키는 영향을 미치거나 칼슘은 나트륨보다 아질산 독성을 낮추는데 효과적인 것으로도 알려져 있어 반복적인 실험과 변수 통제에 의한 정밀한 실험 설계에 의해 실험이 수행되어야 할 것으로 생각된다(Kroupova et al., 2005).

Seo et al. (2019)에서도 두 가지 크기의 감성돔(*Acanthopagrus schlegelii*)을 대상으로 질산성 질소 농도에 따른  $\text{LC}_{50}$ 을 조사하여, 높은 농도의 질산성 질소 농도는 감성돔에게 독성과 함께 높은 폐사율을 나타냈다. 또한 질산성 질소의 영향은 크기에 따라 차이가 발생하였으며, 96 h- $\text{LC}_{50}$ 과 168 h- $\text{LC}_{50}$  비교해 본 결과 대형 치어(평균 체중 71.3±3.5 g, 평균 길이 16.1±0.7 cm)가 소형 치어(평균 체중 7.1±0.6 g, 평균 길이 7.6±0.9 cm)에 비해 상대적으로 내성이 높은 것으로 확인되어 본 종도 치어보다는 성어에서 내성이 높은 경향을 보일 것으로 추정된다.

본 실험은 극동산 뱀장어의 양식 대체 어종으로써 주목받고 있는 무태장어 치어를 대상으로 pH 별 TAN와  $\text{NO}_2^-$ -N 급성 독성의 영향을 확인함으로써 고밀도 양식에서 항상 발생할 수 있는 위험성이 높은 TAN,  $\text{NO}_2^-$ -N으로 인한 대량 폐사를 예방하고 안정적인 사육이 가능할 수 있는 기초자료로 활용될 것으로 판단된다. 추후 질산성 질소의 스트레스 관련인자 및 성장 관련인자 등에 대한 영향 조사와 더불어, 장기적으로 질산성 질소 독성 환경이 뱀장어 치어 뿐만 아니라 성어에 있어서의 독성 범위에 대한 연구가 추가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

## 사 사

본 논문은 국립수산물과학원 수산과학시험연구과제 '바이오플락을 이용한 담수양식 기술개발(R2022015)'의 지원으로 수행된 연구입니다.

## References

- Ahn JC, Chong WS, Na JH, Yun HB, Shin KJ, Lee KW and Park JT. 2015. An evaluation of major nutrients of four farmed freshwater eel species (*Anguilla japonica*, *A. rostrata*, *A. bicolor pacifica* and *A. marmorata*). Korean J Fish Aquat Sci 48, 44-50. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2015.0044>.
- Almendras JME. 1987. Acute toxicity and methemoglobinemia in juvenile milkfish (*Chano chano Forsskae*). Aquaculture 61, 33-40. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(87\)90335-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90335-8).
- Bower CE and Bidwell JP. 1978. Ionization of ammonia in seawater: Effects of temperature, pH and salinity. J Fish Res Board Can 35, 1012-1016. <https://doi.org/10.1139/f78-165>.
- Burows RE. 1964. Effects of accumulated excretory products on hatchery reared salmonids. US Fish Wild Serv Res Rep 66, 1-11.
- Cameron JN. 1971. Methemoglobin in erythrocytes of rainbow trout. Comp Biochem Physiol Mol Part A Physiol 40, 743-749. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(71\)90259-3](https://doi.org/10.1016/0300-9629(71)90259-3).
- Cheng SY and Chen JC. 1998. Effects of nitrite exposure on the hemolymph electrolyte, respiratory protein and free amino acid levels and water content of *Penaeus japonicus*. Aquat Toxicol 44, 129-139. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(98\)00064-2](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(98)00064-2).
- Cho HS, Choi JH, Ko HB, Seo JS and Ahn JC. 2011. Evaluation of major nutrients of domestic farmed eels *Anguilla japonica*. Korean J Fish Aquat Sci 44, 237-242. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2011.0237>.
- Cho SH and Hur SB. 1998. Comparison of acute toxicity of ammonia in juvenile rockfish and red sea bream. J Aquaculture 11, 429-435.
- Das PC, Ayyappan S, Jena JK and Das BK. 2004. Nitrite toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Ham.): Acute toxicity and sub-lethal effect on selected haematological parameters. Aquaculture 235, 633-644. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.01.020>.
- Croux de P, Julieta M and Loteste A. 2004. Lethal effects of elevated pH and ammonia on juveniles of neotropical fish *Colosoma macropomum* (Pisces, Caracidae). J Environ Biol 25, 7-10.
- Emerson K, Russo RC, Lund RE and Thurston V. 1975. Aqueous ammonia equilibrium, calculations: effect of pH and temperature. J Fish Res Board Can 32, 2379-2383. <https://doi.org/10.1139/f75-274>.
- Hilmy AM, El-Domiaty NA and Wershana K. 1987. Acute and chronic toxicity of nitrite to *Clarias lazera*. Comp Biochem

- Physiol Part C Compar Pharmacol 86, 247-253. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(87\)90075-2](https://doi.org/10.1016/0742-8413(87)90075-2).
- Huey DW, Beitinger TL and Wooten MC. 1984. Nitrite-induced methemoglobin formation and recovery in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) at three acclimation temperatures. Bull Environ Contam Toxicol 32, 674-681. <https://doi.org/10.1007/BF01607555>.
- Ip YK, Chew SF and Randall DJ. 2001. Ammonia toxicity, tolerance, and excretion. Fish Physiol 20, 109-148. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(01\)20005-3](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(01)20005-3).
- Jang MH, Lee NS, Cho M and Song JY. 2021. Status and characteristics of JEECV (Japanese eel endothelial cell-infecting virus) and AnHV (Anguillid Herpesvirus 1) infections in domestic farmed eels *Anguilla japonica*, *Anguilla bicolor* and *Anguilla marmorata*. Korean J Fish Aquat Sci 54, 668-675. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0668>.
- Jo SH and Kim HY. 2014. Changes in hematological responses and antioxidative enzyme activities of Japanese eel *Anguilla japonica* exposed to elevated ambient nitrite. Korean J Fish Aquat Sci 47, 860-868. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2014.0860>.
- Kim HS, Kim HY and Chin P. 1997. Effects of ammonia on survival and growth of the flounder larva, *Paralichthys olivaceus*. J Korean Fisheries Soc 30, 488-495.
- Kim JH and Kim HY. 2014. Daily variations in water quality of eel aquaculture systems and changes in blood chemistry of common eel exposed to ammonia and nitrite. Bull Fish Sci Ins Yosu Nat'l Uni 22, 5-17.
- Kim SW, Rim SK, Sohn SG and Lee J. 2008. Comparison of growth and water quality in juvenile Japanese eel, *Anguilla japonica* fed commercial extruded pellet and paste type diets. J Fish Mar Sci Edu 20, 90-94.
- Kroupová KH, Valentová O, Svobodová Z, Šauer P and Máchová J. 2018. Toxic effects of nitrite on freshwater organisms: a review. Rev Aquacult 10, 525-542. <https://doi.org/10.1111/raq.12184>.
- KOSTAT (Statistics Korea). 2021. 2020 Fishery Production Trend Survey Result (Provisional). Retrieved from [https://www.kostat.go.kr/portal/korea/kor\\_nw/1/1/index.board?bmode=read&aSeq=388326](https://www.kostat.go.kr/portal/korea/kor_nw/1/1/index.board?bmode=read&aSeq=388326) on Feb 25, 2022.
- Kroupova H, Machova J and Svobodova Z. 2005. Nitrite influence on fish: a review. Vet Med 50, 461-471. <https://doi.org/10.17221/5650-VETMED>.
- Kuta K, Suzuki Y and Kitamura S. 2003. Effects of low pH on the reproductive behavior of salmonid fishes. Fish Physiol Biochem 28, 407-410. <https://doi.org/10.1023/B:FISH.0000030607.75565.74>.
- Lewis WM and Morris DP. 1986. Toxicity of nitrite to fish: a review. Trans Am Fish Soc 115, 183-195. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1986\)115<183:TONTF>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1986)115<183:TONTF>2.0.CO;2).
- Lloyd R and Orr LD. 1969. The diuretic response by rainbow trout to sublethal concentrations of ammonia. Water Res 3, 335-344. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(69\)90086-4](https://doi.org/10.1016/0043-1354(69)90086-4).
- NIFS (National Institute of Fisheries Science. 2017. Development of Eel Aquaculture System Guide Book. National Institute of Fisheries Science, Busan, Korea, 1-62.
- Randall DJ and Tsui TKN. 2002. Ammonia toxicity in fish. Mar Pollut Bull 45, 17-23. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00227-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00227-8).
- Russo RC, Smith CE and Thurston RV. 1974. Acute toxicity of nitrite to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J Fish Board Can 31, 1653-1655. <https://doi.org/10.1139/f74-208>.
- Saroglia MG, Scarano G and Tibaldi E. 1981. Acute toxicity of nitrite to sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and European eel (*Anguilla anguilla*). J World Aquac Soc 12, 121-126. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1981.tb00285.x>.
- Schoore JE, Simco BA and Davis KB. 1995. Responses of blue catfish and channel catfish to environmental nitrite. J Aquat Anim Health 7, 304-311. [https://doi.org/10.1577/1548-8667\(1995\)007<0304:ROBCAC>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8667(1995)007<0304:ROBCAC>2.3.CO;2).
- Seo S, Choi EJ and Park J. 2019. Acute nitrate nitrogen toxicity in juvenile blackhead seabream *Acanthopagrus schlegelii*. Korean J Fish Aquat Sci 52, 268-273. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0268>.
- Smart G. 1976. The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J Fish Biol 8, 471-475. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1976.tb03990.x>.
- Snieszko SF. 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious disease of fishes. J Fish Biol 6, 197-208. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1974.tb04537.x>.
- Sohn SG, Lee YS, Kim KS, Kim BR, Lee JH and Choi HS. 2015a. Acute toxicity of ammonia on juvenile banded catfish (*Pseudobagrus fulvidraco*). J Fish Mar Sci Edu 27, 1229-1235. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2015.27.5.1229>.
- Sohn SG, Lee YS, Kim KS, Lee HN, Lee JY and Back SJ. 2015b. Acute toxicity of nitrite on juvenile banded catfish (*Pseudobagrus fulvidraco*). J Fish Mar Sci Edu 27, 41-48. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2015.27.1.41>.
- Son MH, Kim KW, Kim KD and Kim SK. 2011. State of aquaculture management for optimal rearing of eel *Anguilla japonica*. Korean J Fish Aquat Sci 44, 359-365. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2011.0359>.
- Sprague JB. 1985. Factors that modify toxicity. In: Fundamentals of Aquatic Toxicology Methods and Applications. Rnad GM and Petrocelli SR, eds. Hemisphere Publishing, Washington D.C., U.S.A., 124-163.
- Thurston RV and Russo RC. 1983. Acute toxicity of ammonia to rainbow trout. Trans Am Fish Soc 112, 696-704. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1983\)112<696:ATOATR>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1983)112<696:ATOATR>2.0.CO;2).
- Thurston RV, Russo RC and Smith CE. 1978. Acute toxicity of ammonia and nitrite to cutthroat trout fry. Trans Am Fish Soc 107, 361-367. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1978\)107<361:ATOAN>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1978)107<361:ATOAN>2.0.CO;2).

- Tok CY, Chew SF and Ip YK. 2011. Gene cloning and mRNA expression of glutamate dehydrogenase in the liver, brain, and intestine of the swamp eel, *Monopterus albus* (Zuiew), exposed to freshwater, terrestrial conditions, environmental ammonia, or salinity stress. *Front Physiol* 2, 100. <https://doi.org/10.3389/fphys.2011.00100>.
- Tomasso JR. 1986. Comparative toxicity of nitrite to freshwater fishes. *Aquat Toxicol* 8, 129-137. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(86\)90059-7](https://doi.org/10.1016/0166-445X(86)90059-7).
- Tomasso JR, Goudie CA, Simco BA and Davis KB. 1980. Effects of environmental pH and calcium on ammonia toxicity in channel catfish. *Trans Am Fish Soc* 109, 229-234. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1980\)109<229:EOEPAC>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1980)109<229:EOEPAC>2.0.CO;2).
- Trussell RP. 1972. The percent un-ionized ammonia in aqueous ammonia solutions at different pH levels and temperatures. *J Fish Res Board Can* 29, 1505-1507. <https://doi.org/10.1139/f72-236>.
- Wedemeyer GA and Yasutake WT. 1977. Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish. *U S Fish Wildl Serv Tech Pap* 89, 18.
- Wise DJ and Tomasso JR. 1988. Ascorbic acid inhibition of nitrite-induced methemoglobin in channel catfish. *Prog Fish Cult* 50, 77-80. [https://doi.org/10.1577/1548-8640\(1988\)050<0077:AAIONI>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8640(1988)050<0077:AAIONI>2.3.CO;2).
- Yamagata Y and Niwa M. 1982. Acute and chronic toxicity of ammonia to eel *Anguilla japonica* [in culturing water]. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 48, 171-176.
- Yambot AV. 2014. Population composition, management and culture prospects of tropical anguillid eels in the Phillipines. In: *Proceeding of International Eel Symposium and the 2014 Annual Meeting of the East Asia Eel Resource Consortium*. Kimdaejung Convention Center, Gwangju, Korea, 29-30.