

# Sodium Hypochlorite (NaOCl)의 해산어류에 대한 단기노출의 영향

박 관 하\*, 한 조 희

군산대학교 해양생명의학과

## Short-term Effects of Sodium Hypochlorite (NaOCl) in Marine Fishes

Kwan Ha Park\* and Jo-Hee Han

Department of Marine Biomedical Sciences, Kunsan National University, Kunsan, Chonbuk 573-702, Korea

### ABSTRACT

Sodium hypochlorite (NaOCl) has been demonstrated to be effective against algae that cause red tides. To secure the environmental safety of this chemical for practical use, toxic effects of NaOCl were evaluated in two important aquaculture fishes, flounder and rockfish. At concentrations above 2.5 and 5 ppm for 1 hr, mortality occurred in flounder and rockfish, respectively. Flounder, however, did not die at 2 ppm up to an 8 hr exposure, nor did lipid peroxide level change at the same concentration in 1 hr. Plasma glucose level significantly increased in 1 hr with more than 2 ppm exposure. The results indicate that NaOCl may not induce persistent severe toxicity in flounder and rockfish at the algicidal concentration, 0.5 ppm.

**Key words** : NaOCl, algicide, short-term exposure, marine fishes

### 서 론

하이포아염소산나트륨(NaOCl; sodium hypochlorite)은 주로 물이나 기구를 소독하기 위한 목적으로 사용되는 산화제이다. NaOCl은 세균(Raphael *et al.*, 1981), 바이러스(Brown, 1981), 원생동물과 기생충(국립수산진흥원, 1977; Larvi, 1991) 등에 대해서 살멸작용을 발휘하기 때문에 광범위한 생물체에 대한 구제물질로 유용하며 패류독을 해독하는 작용(Chin, 1970)도 있다. NaOCl은 적조를 일으키는 생물들인 *Cochlodinium polykrikoides*, *Gy-*

*nodinium sanguineum*, *Lingulodinium polyedrum* 등을 0.5 ppm의 농도로 수분내에 살멸시키는 것이 확인되었으며(Kim *et al.*, 2000), 이에 따라 적조의 발생시 현장에서 해수를 직접 전기분해하여 NaOCl을 생성시켜줌으로써 적조를 구제하는 실용화 방안을 시도 중에 있다.

모든 약제 또는 물리적 처리방법에서 적조생물을 살멸시키는 것이 가장 중요하지만 그 처리방법이 환경 특히 다른 해양생물에 영향을 미치지 않는 것도 반드시 고려해야 할 중요한 사항이다. 특히 이 연구에서 검토한 약제인 NaOCl이 비특이적인 산화소독제이기 때문에 고농도 또는 장시간 생물들이 노출되면 어떤 생물이든 상당한 영향을 받는 것은 분명한 사실이다. 예를 들어 해산어류인 조기류에

\* To whom correspondence should be addressed.

Tel: 063-469-1885, E-mail: khpark@kunsan.ac.kr

서 높은 농도의 NaOCl이 아가미의 조직학적 손상을 유발함이 관찰되었다(Middaugh *et al.*, 1981).

그러나 NaOCl의 사용목적인 적조생물의 구제에 필요한 노출시간이 비교적 짧고 전기분해장치에 의해 생성된 NaOCl이 적조생물을 단시간에 살멸시킨 후에는 적용해역으로부터 확산·소실되는 것으로 판단되고 있다. 따라서 환경생물에 대한 영향을 평가하려면 적조를 구제할 수 있는 특정농도와 특정시간의 노출에 따른 영향을 평가하면 되기 때문에 현재의 연구에서는 적조살멸 조건(0.5 ppm, 10분 정도, Kim *et al.*, 2000)을 고려하여 실험을 수행하였다.

아무튼 NaOCl은 독성이 강한 물질로서 적용해역의 다양한 생물들도 동시에 노출될 가능성이 높으나, 본 연구에서는 우리나라의 양식산업에서 가장 중요한 해산어종인 넙치와 조피볼락을 실험실에서 NaOCl에 노출시키고 이 때 나타나는 급성독성을 평가하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물물

넙치와 조피볼락의 치어를 육안적으로 볼 때 건강한 상태로 입수하여 실험실에서 3~4일간 순치시킨 후 실험에 사용하였다. 전 시험기간 중 수온은  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지하였으며 air pump로 폭기하였다. 동물은  $40 \times 25 \times 18$  cm의 직사각형 polycarbonate 투명수조에 해수를 4 liter채우고 시험 중 피검물질의 파괴를 방지하기 위하여 광을 차단하였다. 시험에 사용한 동물은 넙치 5.5~10.1 g, 조피볼락 30~55 g의 것들을 각각 사용하였다. 동물은 수조당 5마리씩 수용하였다.

### 2. NaOCl의 조제

시험에 사용한 NaOCl은 소형 전기분해장치(포항산업과학연구원 제공)를 사용하여 생성시키고 역가를 검정(1,200~1,800 ppm)한 후의 용액을 농도측정 24시간 이내에 사용하였다.

### 3. 사망동물 및 이상증상의 판정

NaOCl이 용해되어 있는 수조에 시험동물을 넣

고 일정시간 간격으로 사망동물 및 행동학적인 이상을 관찰하였다. 막대기로 자극하였을 때 움직이거나 아가미가 움직이고 있으면 생존하고 있는 것으로 간주하였다.

### 4. 혈액학적 및 혈장생화학적 시험

시험물질에 노출시킨 조피볼락을 얼음으로 마취하고 미정맥을 통해 혈액을 채취하였다. 혈액채취에 사용한 일회용주사기는 미리 최소량의 heparin용액(20,000 unit/ml)으로 내부를 도포하여 혈액응고를 방지하였다. 혈액의 일부는 hematocrit(microhematocrit 법)와 hemoglobin의 측정에 사용하였고, 나머지 혈액은  $5,000 \times g$ 로 30분간( $2^\circ\text{C}$ ) 원심분리하여 혈장을 분리하였다. 혈장으로부터 GPT, GOT, LDH, total protein, calcium, triglyceride 및 cholesterol의 농도를 측정하였으며, hemoglobin 및 모든 혈장생화학 성분의 분석에는 시판되는 분석 kit(아산제약)을 사용하였다. Lipid peroxide의 측정을 위해 근육 조직을 3배량의 50 mM의 인산완충용액에서 균질화하고 0.2 ml를 취해 0.6 ml의 증류수, 0.2 ml의 8.1% sodium dodesylsulfate, 1.5 ml의 20% acetic acid 완충액(pH 3.5) 및 1.5 ml의 0.8% TBA와 혼합하였다.  $95^\circ\text{C}$ 에서 1시간동안 가열후 얼음으로 식히고 6 ml의 *n*-Butanol : H<sub>2</sub>O (5 : 1)혼액을 혼합하여 원심분리(3,000  $\times g$ , 10분간)한 후 상정액을 취하여 532 nm에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다.

### 5. Data의 표현

반복시험의 결과는 평균±표준오차로 나타내고 통계학적 유의성검정은 unpaired t-test를 사용( $p < 0.05$  수준)하였다. 가능한 경우 치사실험 결과로부터 Doudoroff 법(1951)에 따라 반수치사농도(LC<sub>50</sub>)를 구하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 넙치치어에서의 1시간 노출효과

NaOCl을 0.5 ppm에서부터 10 ppm의 농도로 넙치치어에 1시간 동안 노출하였을 때 나타나는 치사 및 행동상의 이상현상을 Table 1에 정리하였

**Table 1.** Acute lethal and behavioral effects of NaOCl 1-hr exposure in juvenile flounder

Concentration (ppm)	Mortality and abnormal symptoms				Cumulative mortality (%)
	5 min	10 min	30 min	60 min	
0	0/10	0/10	0/10	0/10	0
	NA	NA	NA	NA	
0.5	0/10	0/10	0/10	0/10	0
	NA	NA	NA	NA	
1	0/10	0/10	0/10	0/10	0
	NA	NA	NA	NA	
2	0/10	0/10	0/10	0/10	0
	NA	NA	NA	sluggish behavior (2/10)	
2.5	0/10	0/10	0/10	2/10	20
	NA	NA	surfacing (4/10)	unconsciousness (3/8)	
5	0/10	0/10	6/10	10/10	100
	NA	NA	sluggish behavior (4/4)		
10	0/10	0/10	5/10	10/10	100
	irritation (4/10)	sluggish behavior (8/10)	sluggish behavior (5/5)		

For each concentration, the upper and lower lines denote mortality and symptoms, respectively.  
 NA: No abnormal behavior in live fish

다. 2 ppm까지 1시간 노출에 의해 치사동물은 관찰되지 않았으나, 2.5 ppm 이상에서는 사망하는 동물이 관찰되었다. 이 결과로 계산한 LC<sub>50</sub>는 3.24 ppm이었다.

**2. 넙치치어에서의 8시간 노출효과**

넙치가 NaOCl에 장기간 노출하였을 때에는 독성이 어떻게 나타나는가를 시험하고자 하였다. 그 결과, 1시간 노출로 사망동물이 나타나지 않은 2 ppm 이하에서 8시간까지 노출시간을 연장하여도 사망 동물이 발견되지 않았다 (Table 2). NaOCl은 자발적으로 서서히 분해하며 특히 햇빛에 의해 파괴가 가속화된다. 이 실험에서는 햇빛에 의한 파괴를 최소화하기 위하여 차광하였지만 현재의 실험조건(온도, 폭기 등)에서 전 노출기간 동안 완벽하게 최초의 농도를 유지하였을 것이라고 예상하기는 어렵다. 특히 현재의 시험과 유사한 조건하에서는 NaOCl의 파괴율은 7%/hr 정도이다

**Table 2.** Acute lethal effects of NaOCl 8-hr exposure in juvenile flounder

Concentration (ppm)	Mortality			Cumulative mortality (%)
	1 hr	4 hr	8 hr	
0.5	0/10	0/10	0/10	0
1	0/10	0/10	0/10	0
2	0/10	0/10	0/10	0

(Jeong *et al.*, in press). 따라서 이 실험에서는 사육해수에 처음에 추가된 NaOCl이 노출초기에는 Table 2에 표기된 수준에서 시작하였겠지만, 시간의 흐름에 따라 이 명목상의 수치 이하의 농도로 감소하였을 것으로 판단된다. 그러나 현장해역에서 NaOCl을 적용하였을 때 (햇빛 및 회석에 의한 소실)와 비교한다면 현재의 실험조건에서의 감소 정도가 훨씬 느릴 것으로 추정된다. 따라서 적조구제가 0.5 ppm 이상을 사용하였을 때 충분 (Kim *et al.*, 2000)한 것을 고려한다면 8시간 동안 노출

하여도 사망동물이 나타나지 않는 사실은 이 화학물질이 해산어류에 대하여 비교적 안전함을 의미한다.

**3. 넙치치어 근육 중의 lipid peroxide의 양**

Free radical을 생성하는 NaOCl은 동물의 조직에 적용하여 지질을 산화시킬 가능성(Hipkiss *et al.*, 1998)이 있기 때문에 과산화지질양을 분석하였다(Table 3). 이 시험에서는 현장에서 적용할 때보다 훨씬 강력한 2 ppm으로 1시간동안 노출하는 조건에 대해서만 실험하였는데, 넙치의 근육 중

과산화지질양은 증가되지 않았다.

**4. 조피볼락 치어에서의 1시간 노출효과**

넙치와 더불어 산업적인 양식어종으로서 매우 중요한 조피볼락에 대하여서도 1시간 노출에 의해 발생하는 독성을 검토하였다. 조피볼락에 NaOCl을 1시간 동안 노출시킨 경우 2.5 ppm까지 치사동물이 발생하지 않았다(Table 4). 이 결과는 넙치에서는 2.5 ppm으로도 치사동물이 발견된 사실을 고려한다면 조피볼락이 넙치보다는 다소 NaOCl에 저항성이 있음을 시사한다. 계산한 조피볼락에서의 LC<sub>50</sub>은 7.58 ppm이었다.

**Table 3.** Lipid peroxide levels in juvenile flounder exposed to 1-hr NaOCl

Concentration (ppm)	Number of animals	Lipid peroxide level (nmole/g)
0	10	33.2±6.0
0.5	10	27.5±4.4
2	10	42.0±5.1

**5. 조피볼락 치어에서의 혈액·혈청 생화학적 변수의 변화**

조피볼락을 NaOCl에 1시간 동안 노출시킨 후, 혈액을 채취하고 혈액변수 및 혈장생화학적 변수를 측정하였다. 이들 혈액학 및 혈청생화학적 변

**Table 4.** Acute lethal and behavioral effects of NaOCl 1-hr exposure in juvenile rockfish

Concentration (ppm)	Mortality and abnormal symptoms				Cumulative mortality (%)
	5 min	10 min	30 min	60 min	
0	0/8	0/8	0/8	0/8	0
	NA	NA	NA	NA	
0.5	0/10	0/10	0/10	0/10	0
	NA	NA	NA	NA	
1	0/10	0/10	0/10	0/10	0
	NA	NA	NA	NA	
2	0/10	0/10	0/10	0/10	0
	NA	NA	NA	NA	
2.5	0/10	0/10	0/10	0/10	0
	NA	NA	NA	NA	
5	0/10	0/10	1/10	2/10	20
	NA	NA	NA	unconsciousness (4/10)	
10	1/10	3/10	3/10	7/10	70
	NA	NA	NA	unconsciousness (3/10)	
20	0/5	5/5	5/5	5/5	100
	unconsciousness (4/5)				

For each concentration, the upper and lower lines denote mortality and symptoms, respectively. NA: No abnormal behavior in live fish

**Table 5.** Hematological and plasma clinical chemistry in juvenile rockfish exposed to NaOCl for 1-hr

NaOCl (ppm)	Ht (%)	Hb (g/dl)	GLU (mg/dl)	ALP (IU/l)	ALT (IU/l)	AST (IU/l)	LDH (U/l)	TP (g/l)	Ca (meq/dl)	TG (mg/dl)	CHOL (mg/dl)
0	35.9±1.2	18.1±0.9	43.0±1.9	37.7±1.2	10.5±2.2	44.0±14.5	385.7±90.8	32.8±1.8	12.7±0.9	122.3±10.9	59.4±11.5
0.5	32.0±1.9	17.7±1.1	56.1±15.3	32.0±1.9	11.6±2.3	61.9±21.7	454.1±68.1	38.6±2.0	17.7±1.5	153.2±16.6	93.3±22.6
1	36.5±2.6	16.0±0.9	86.0±18.1	36.5±2.6	7.6±1.0	47.5±5.5	226.8±63.3	40.6±2.3	15.4±1.1	160.7±14.9	78.5±14.3
2	34.9±2.1	18.3±0.9	86.0±10.7*	34.9±2.1	10.1±1.4	43.6±9.5	278.4±61.8	36.3±2.6	12.1±1.0	157.3±19.0	70.0±16.2
2.5	33.1±1.4	17.4±0.9	146.2±31.1*	33.1±1.4	8.9±3.1	61.1±21.3	293.9±41.7	33.6±2.6	15.0±0.9	109.9±5.8	58.8±11.6
5	35.0±3.6	21.0±1.4	127.9±11.2*	35.0±3.6	7.8±1.7	67.2±16.7	228.1±58.8	33.8±3.1	12.7±1.0	155.2±19.2	57.6±15.4

Ht: hematocrit; Hb: hemoglobin; GLU: glucose; ALP: alkaline phosphatase; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; LDH: lactate dehydrogenase; TP: total protein; TG: triglyceride; CHOL: cholesterol  
 \* Significantly different for 0 ppm (control) at  $p < 0.05$  with un-paired t-test. Number of animals = 8-10.

수는 실험동물에 따라서는 다른 독성학적 변화(예, 치사 및 조직학적 변화)가 발현되기 이전에 상당히 민감한 지표로 활용될 수 있다. 총 11종의 변수를 분석하였으며 그 결과를 Table 5에 보여주고 있다.

Hematocrit치는 혈구의 파괴나 생산불량으로 빈혈이 있을 때에 감소하며, 체액의 소실시에는 증가하는 혈액학적 변수이다. 이 시험조건에서 NaOCl은 hematocrit의 변화를 유발하지 않았기 때문에 혈구에 독성을 미치지 않는 것으로 보인다. Hemoglobin도 hematocrit치와 유사한 목적으로 분석하는 변수로서, NaOCl이 이 변수의 변화를 유발하지 않음을 확인하였다.

Glucose는 당 대사능 저하(예, 당뇨)나 급성적 스트레스시 증가하는 변수이다 (Wedmeyer and McLeay, 1981; Donalson *et al.*, 1984). NaOCl에의 노출에 의해 증가되는 경향이 나타나며, 2 ppm 이상에서는 유의성 있는 증가가 관찰되었다. 높은 NaOCl 노출농도인 2.5~5 ppm에서는 대조군의 3~4배 수준까지 상승하였다. 현재 시험한 물질의 특성상, 높은 노출농도에서 조피볼락이 냄새나 자극성(Clorax® 유사)에 대해 상당한 스트레스를 받고 있을 가능성이 있음을 의미한다. 그러나 2 ppm에서 다른 생화학변수나 병리조직학적 변화가 발견되지 않은 것으로 미루어 급성적으로 나타난 이 glucose의 변화는 NaOCl의 소실 후에는 사라질 것으로 판단된다.

Alkaline phosphatase, ALT, AST 및 LDH는 주로 간장, 심장, 신장, 근육, 장관 등의 장기 손상시 증가 되는 변수로서 NaOCl은 이 효소의 활성에 영향을 미치지 않았다. 혈청 단백질양은 단백질의 합

성을 검사하기 위해 분석하는 변수로서 NaOCl은 이 변수에도 영향을 미치지 않았다.

혈장중의 Ca은 흡수나 이용, 세포의 피사 등에 의해 농도가 변화되는 성분으로서 NaOCl의 노출에는 영향을 받지 않음이 확인되고, 중성지방이나 콜레스테롤의 농도도 현재의 노출조건에서 변화하지 않은 점으로 보아 지방의 대사능력이 영향을 받지 않음을 시사한다.

## 요 약

넙치는 단기간 NaOCl에 대한 노출에 대해 2 ppm 이하에서는 육안적으로 관찰시 심각한 이상 증상이 관찰되지 않았으며, 조피볼락에서는 2.5 ppm까지 급성적으로 안전하였다. 넙치와 조피볼락에서의 1시간 LC<sub>50</sub>은 각각 3.24 ppm 및 7.58 ppm이었다.

조피볼락을 NaOCl로 1시간 노출시키고 혈액학적 및 혈장생화학적 변수를 측정하였을 때 2 ppm 이상의 농도에서 glucose의 농도가 현저히 상승한 부분을 제외하고는 생화학적 변수에도 이상이 발견되지는 않았다. Glucose는 거의 모든 종류의 stress에 의해서 신속히 증가하는 변수로서 이 시험에서 발견된 증가현상도 NaOCl이 가진 냄새 또는 화학적 자극성에 의한 stress의 결과로 나타난 것으로 추정된다.

## 참 고 문 헌

Brown, T.T. Laboratory evaluation of selected disinfectants

- as virucidal agents against porcine parvovirus, pseudorabies virus, and transmissible gastroenteritis virus. *Am. J. Vet. Res.* 1981; 42: 1033-1036.
- Brown, M.D., Walker, D.O., Hendrikz, J.K., Gabral, C.P., Araujo, D.B., Ribeiro, Z.M. and Kay, B.M. Chlorine tolerance of *Mesocyclops (Cyclopoida: Cyclopidae)* copepods and three container-breeding species of mosquitoes. *Environ. Entomol.* 1994; 23: 1245-1249.
- Chin, C.D. Neutralization of shellfish poison by chemical disinfectant. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1970; 16: 430-433.
- Donalson, E.M., Fagerlund, U.H.M. and McBride, J.R. Aspects of the endocrine stress response to pollutants in salmonids, in Carnis VW, Hodson PV and Nriagu JO (ed): *Contaminants Effects on Fisheries*. New York: Wiley 1984; 213-221.
- Doudoroff, P., Anderson, B.G., Burdick, G.E., Galtsoff, P.S., Hart, W.B., Patrick, R., Stronge, E.R., Surber, E.W. and Van Horn, W.M. Bio-assay method for the evaluation of acute toxicity of industrial wastes to fish. *Sew. Ind. Waste* 23: 1380-1397, 1951.
- Hipkiss, A.R., Worthington, V.C., Himsworth, D.T. and Herwig, W. Protective effects of canosine against protective protein modification mediated by malondialdehyde and hypochlorite. *Biochem. Biophys. Acta* 1998; 1380: 46-54.
- Jeong, H.J., Kim, H.R., Kim, K.I., Kim, K.Y., Park, K.H., Kim, S.T., Yoo, Y.D., Song, J.Y., Kim, J.S., Seong, K.A., Yih, W.H., Pae S.J., Lee, C.H., Huh, M.D. and Lee, S.H. NaOCl produced by electrolysis of natural seawater as a potential method to control red tide dinoflagellates. *Phycologia* (in press).
- Kim, H.R., Kim, K.I., Kim, D.S., Park, K.S., Hong, T.H. and Jeong, H.J. Developing a method of controlling the outbreak and maintenance of red tides using NaOCl produced by electrolysis of natural seawater. Conference Abstract Book, The 9th International Conference on Harmful Algal Blooms, Feb. 7-11, 2000, Tasmania, Australia. pp. 28.
- Larvi '91. *Spec. Pub. Eur. Aquacult. Soc. #15*, Mass use of hypochlorite to control protozoa in *Chlorella* culture 1991; 95-97.
- Middaugh, D.P., Burnett, L.E. and Couch, J.A. Toxicological and physiological responses of the fish, *Leiostomus xanthurus*, exposed to chlorine produced oxidants. *Estuaries* 3; 1980; 132-141.
- Raphael, D., Wong, T.A., Hoodnik, R. and Borden, B.G. The effect of temperature on the bactericidal efficiency of sodium hypochlorite. *J. Endod.* 1981; 7: 330-334.
- Wedemeyer, G.A. and McLeay, D.J. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors, in Pickering AD (ed): *Stress and Fish*. New York; Academic Press 1981; 247-275.
- 국립수산진흥원. Studies on the polyclad *Turbellaria* of Korea. 3. The extermination experiment of polyclads in the solution of salt (NaCl) and sodium hypochlorite (NaOCl) 국립수산진흥원보 1977; 17: 35-52.