

대하의 초기생활사에 있어 아질산, 암모니아 및 황화수소의 급성독성

지정훈 · 강주찬[†]
부경대학교 수산생명의학과

Acute Toxicity of Nitrite, Ammonia and Hydrogen Sulfide for Early Developmental Stages of *Fenneropenaeus chinensis*

Jung-Hoon Jee and Ju-Chan Kang[†]

Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Effects of nitrite, ammonia and hydrogen sulfide on survival of the early developmental stages of *Fenneropenaeus chinensis* were determined under continuous flow-through system. The 96hr-LC₅₀ values of mysis stage were 18.4 mg/L, 0.69 mg/L and 13.5 μ g/L for nitrite, ammonia and hydrogen sulfide, respectively. 28.3 mg/L, 1.23 mg/L and 20.7 μ g/L values were obtained for post larval stage and 39.8 mg/L, 1.73 mg/L and 28.5 μ g/L for juvenile stage, respectively. The observed sensitivity of *Fenneropenaeus chinensis* in for these three experimental pollutants was in the order of hydrogen sulfide>ammonia>nitrite. The mysis/post larva, mysis/juvenile and post larva/juvenile ratios of nitrite, ammonia and hydrogen sulfide toxicity were >1.5, >2.0 and <1.5 times, respectively. Mysis were found to be remarkably sensitive to pollutants than juvenile in all cases.

Key words : Acute toxicity, Nitrite, Ammonia, Hydrogen sulfide, *Fenneropenaeus chinensis*

대하 양식장과 같이 물이 유동이 작고, 폐쇄성이 강한 지역, 더구나 유기물 혹은 질소, 인 등의 영양염류 농도가 높은 부영양화 지역에서는 저질 중의 유기물 분해에 따른 산소소비는 저질 환경을 산화상태로부터 환원상태로 이동시켜 황산염 환원에 의한 황화수소가 발생한다. 따라서 황화수소의 발생은 용존산소의 저하를 나타냄과 동시에 그 자체가 강한 독성을 가지고 있으며, 질소화합물 중의 암모니아 및 아질산과 같은 형태도 양식장의 생산억제 요인으로 작용한다 (Gunnarsson and Ronnow, 1982; Gavis and Grant, 1986; Ochi and Takeoka, 1986).

지금까지의 이들 오염물질에 대해서는 저서동물인 다모류 및 패류를 중심으로 부분적인 연구

가 이루어져 왔으며 (Theede, 1973; Sumway and Timothy, 1983; Bestwick *et al.*, 1989; Levitt and Arp, 1991), 어류 및 갑각류에 대해서도 일부 연구가 이루어지고 있다 (Bonn and Follis, 1967; Adelman and Smith, 1970; Donavon and Lloyd, 1974a, b; Kang *et al.*, 1997). 그러나 이들 연구는 갑각류 중에서도 성체에 대한 것이 대부분이며, 유생단계에 대해서는 연구가 미비할 뿐만 아니라 대하에 대한 독성 연구는 극히 부족한 실정이다. 따라서 본 연구는 산업적으로 유용하며, 우리나라 갑각류의 대표적인 양식종인 대하의 초기생활사 동안의 아질산, 암모니아 및 황화수소에 대한 급성독성 수준을 파악하였고, 아울러 각 발달단계에 따른 독성차이를 검토하였다.

[†]Corresponding Author : Ju-Chan Kang, Tel : 051-620-6146,
Fax : 051-628-7430, E-mail : jckang@pknu.ac.kr

재료 및 방법

1. 실험 동물

대하 (*Fenneropenaeus chinensis*) 유생은 서해안 부안 소재 대하양식장에서 분양 받아 실험실에서 사육하면서 각 발달단계에 따라 실험에 사용하였다. 이때 수온, 염분, pH 및 용존산소는 각각 $20.4 \pm 0.6^\circ\text{C}$, $32.1 \pm 0.2\%$, 8.2 ± 0.2 및 7.1 ± 0.4 mg/L이었고, 먹이는 brine shrimp의 nauplii 유생과 대하 larva용 펠릿사료 (ZEIGLER, INC.)를 적당한 비율로 혼합하여 하루 1회에 걸쳐 충분한 양을 공급하였다.

2. 노출 방법

모든 실험은 유수식 장치를 설치하여, 100 mL/min 유량의 여과해수가 저수조에서 오염물질 조절장치로 유입되고, 이 조절장치에 의해 오염물질 농도가 설정된 실험해수는 실험수조로 유입되게 하였다. 이상의 실험장치에 대한 개요는 Kang 등 (1995)의 방법을 응용하였다. 이때 아질산 농도는 아질산나트륨 (NaNO_2), 암모니아 농도는 염화암모늄 (NH_4Cl), 황화수소는 황화나트륨($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)을 여과해수에 이온화시켜 그

농도와 공급량에 의해 설정 값을 유지하였다. 여기서 암모니아는 $\text{NH}_3\text{-N}$ 의 농도이고, 황화수소는 HS^- 와 S^{2-} 의 총칭을 말하며, 측정결과는 S의 중량농도인 $\mu\text{gS/L}$ 로 나타났다. 실험에 사용한 해수의 화학적 성분은 Table 1과 같으며, 본 실험장치에 의한 오염물질의 농도는 예비실험을 바탕으로 아질산 농도는 5~80 mg/L, 암모니아 농도는 1~40 mg/L, 황화수소 농도는 10~250 $\mu\text{g/L}$ 의 범위에서 각각 5 구간을 설정하였다. 실험기간동안의 수질변화를 파악하기 위하여 황화수소, 암모니아 및 아질산을 비롯하여 수온, 염분 및 용존산소를 24시간 간격으로 측정하였다 (APHA, 1985). 모든 실험은 96시간 동안 실시하였으며, 실험구별 실험동물은 각각의 발달단계에 따라 20~50개체를 사용하여 2~3회의 반복 실험을 하였다(Table 2). 기타 급성 독성 실험에 대한 방법은 OECD test guidelines (OECD, 1993)에 명시된 방법에 준하여 실시하였다.

3. 결과 해석

급성독성에 대한 실험을 실시한 후, 이들 결과에 대한 각각의 시간별 반수치사농도는 SPSS 통계프로그램을 이용하여, 프로빗 검정으로 산

Table 1. Chemical analysis of the seawater used in bioassay

Parameter	Value
Temperature ($^\circ\text{C}$)	20.0
Salinity (%)	32.5
pH	8.13
Dissolved oxygen (mg/L)	7.25
Ammonia ($\mu\text{g/L}$ as ammonia-N)	15.2
Nitrite ($\mu\text{g/L}$ as nitrite-N)	6.5
Nitrate ($\mu\text{g/L}$ as nitrate-N)	15.2
Phosphate ($\mu\text{g/L}$ as $\text{PO}_4\text{-P}$)	0.039
Chemical oxygen demand (mg/L)	1.21

Table 2. Summary of bioassay tests conducted with nitrite, ammonia and hydrogen sulfide for early developmental stages of *Fenneropenaeus chinensis*

Pollutants	Developmental stages	Number of test shrimp	Number of tests	Test time (hr)
Nitrite	Mysis	40	2	96
	Post larva	40	2	96
	Juvenile	20	3	96
Ammonia	Mysis	50	2	96
	Post larva	40	2	96
	Juvenile	20	3	96
Hydrogen sulfide	Mysis	50	2	96
	Post larva	20	2	96
	Juvenile	20	3	96

출하였다(Finney, 1971). 또한, 발생시기별 독성에 대한 반응정도를 평가하기 위하여 각각의 오염물질별 반수치사농도와 각각의 시기별로 산출된 반수치사농도의 비를 이용하였다.

결 과

1. 사육수의 수질

대하의 초기생활사에 대한 96시간의 아질산, 암모니아 및 황화수소의 급성독성 실험에서 수온 및 염분은 각각 약 20°C, 32‰ 정도로 거의 일정하게 유지되었으며, pH 및 용존산소 농도도 해수의 정상적인 범위 내에서 관찰되었다 (Table 3).

2. 급성독성 수준

대하의 초기 발달단계인 mysis, post larva 및 juvenile기에 대한 아질산, 암모니아 및 황화수소의 24, 48, 72 및 96시간 반수치사농도(LC₅₀)를 Table 4에 나타내었다. 아질산에 대한 대하의 mysis, post larva 및 juvenile기의 48시간 반수치

사농도는 각각 52.3, 99.3 및 105.2 mg/L이었고, 96시간 반수치사 농도는 각각 18.4, 28.3 및 39.8 mg/L이었다. 암모니아에 대한 대하의 mysis, post larva 및 juvenile기의 48시간 반수치사농도는 각각 1.29, 2.23 및 2.83 mg/L이었고, 96시간 반수치사 농도는 각각 0.69, 1.23 및 1.73 mg/L이었다. 황화수소에 대한 대하의 mysis, post larva 및 juvenile기의 48시간 반수치사농도는 각각 27.6, 52.3 및 56.4 µg/L이었고, 96시간 반수치사 농도는 각각 13.5, 20.7 및 28.5 µg/L이었다. 또한 이들 오염물질에 대한 독성순위는 황화수소>암모니아>아질산 순으로 나타났다.

3. 발달단계에 따른 독성차이

아질산, 암모니아 및 황화수소에 대한 대하의 mysis, post larva 및 juvenile기에 있어 각각의 급성독성 수준의 값에 대한 비율을 Table 5에 나타냈다. Post larva에 대한 mysis기의 독성수준은 모든 오염물질에서 1.5배 이상을 나타내었고, juvenile에 대한 mysis기의 독성수준은 2배 이상을 나타내어 가장 큰 차이를 보였다. 한편 juvenile

Table 3. Water quality in each experimental chambers during test periods

Pollutants	Developmental stages	*Experimental conditions			
		Temperature (°C)	Salinity (‰)	pH	DO (mg/L)
Nitrite	Mysis	20.5 ± 0.6	32.3 ± 0.7	8.1 ± 0.1	7.0 ± 0.4
	Post larva	20.3 ± 0.5	32.7 ± 0.4	8.2 ± 0.3	7.1 ± 0.2
	Juvenile	19.8 ± 0.2	32.2 ± 0.3	8.3 ± 0.4	6.9 ± 0.1
Ammonia	Mysis	20.1 ± 0.4	32.1 ± 0.2	8.1 ± 0.3	7.1 ± 0.4
	Post larva	20.3 ± 0.7	32.6 ± 0.4	8.2 ± 0.4	6.8 ± 0.2
	Juvenile	19.9 ± 0.4	32.4 ± 0.5	8.0 ± 0.5	7.2 ± 0.5
Hydrogen sulfide	Mysis	20.1 ± 0.5	32.4 ± 0.5	8.0 ± 0.5	6.8 ± 0.4
	Post larva	20.3 ± 0.3	32.5 ± 0.4	8.1 ± 0.2	7.0 ± 0.2
	Juvenile	20.2 ± 0.6	32.3 ± 0.6	8.2 ± 0.2	7.1 ± 0.1

* Data presented as mean ± SD(n=5). Water sample were taken at day 0, 1, 2, 3 and 4.

Table 4. LC₅₀ values and 95% confidence limits of nitrite, ammonia and hydrogen sulfide for early developmental stages of *Fenneropenaeus chinensis*

Pollutants	Time (hr)	Developmental stages		
		Mysis	Post larva	Juvenile
Nitrite (mg/L)	24	92.7 (78.4-112.5)	202.7 (189.3-221.1)	289.3 (200.3-301.5)
	48	52.3 (48.2-65.3)	99.3 (88.4-121.3)	105.2 (90.6-135.5)
	72	22.7 (17.8-30.6)	39.3 (28.6-55.5)	45.3 (28.9-65.5)
	96	18.4 (10.9-25.4)	28.3 (18.4-35.5)	39.8 (22.4-52.3)
Ammonia (mg/L)	24	1.43 (0.94-1.85)	3.45 (2.34-4.05)	3.35 (2.76-3.75)
	48	1.29 (0.87-1.68)	2.23 (1.89-2.45)	2.83 (2.04-3.35)
	72	0.98 (0.64-1.25)	1.67 (1.21-2.05)	2.02 (1.66-2.57)
	96	0.69 (0.39-0.87)	1.23 (0.98-1.86)	1.73 (1.02-2.12)
Hydrogen sulfide (µg/L)	24	52.3 (42.3-72.5)	105.2 (88.7-135.0)	100.6 (82.4-135.5)
	48	27.6 (18.5-35.9)	52.3 (29.9-64.5)	56.4 (32.7-65.9)
	72	16.3 (10.4-29.6)	24.5 (17.4-34.6)	32.3 (27.5-41.6)
	96	13.5 (8.4-19.5)	20.7 (15.4-31.2)	28.5 (18.2-33.5)

Table 5. Lethal concentrations of nitrite, ammonia and hydrogen sulfide for *Fenneropenaeus chinensis*, and mysis/post larva, mysis/juvenile and post larva/juvenile LC₅₀ ratios

Pollutants	Time (hr)	Developmental stages			LC ₅₀ ratios		
		Mysis	Post larva	Juvenile	Mysis/ Post larva	Mysis/ Juvenile	Post larva/ Juvenile
Nitrite	48	52.3	99.3	105.2	1.9	2.0	1.1
	96	18.4	28.3	39.8	1.5	2.2	1.4
Ammonia	48	1.29	2.23	2.83	1.7	2.2	1.3
	96	0.69	1.23	1.73	1.8	2.5	1.4
Hydrogen sulfide	24	27.6	52.3	56.4	1.9	2.1	1.1
	48	13.5	20.7	28.5	1.5	2.1	1.3

에 대한 post larva기의 독성차이는 1.5배 이하로 조사되어 가장 낮은 독성차이를 확인하였다.

고 찰

일반적으로 아질산 독성에 대한 연구는 담수 어류를 대상으로 연구가 이루어져 왔으나(Johnson, 1985), 갑각류 중에서도 특히 해산갑각류에 대한 연구는 극히 한정적이다. 아질산에 대한 일부의 연구에서 담수산 새우류(penaeid, prawn) post larva기의 96hr-LC₅₀은 8.5~15.4 mg/L이었고(Colt and Armstrong, 1981), 해산 penaeid 종의 post larva기의 96hr-LC₅₀은 17 mg/L를 나타내어(Wickins, 1976), 대하 post larva기의 96hr-LC₅₀ 32.3 mg/L보다 낮아 대하는 다른 새우류에 비해 아질산에 대해 강한 내성을 보였다.

암모니아에 대한 대하의 post larva와 juvenile 기의 48hr-LC₅₀은 각각 2.23, 2.53 mg/L이었고, 96hr-LC₅₀은 각각 3.45, 3.35 mg/L이었다. 암모니아의 급성독성에 대해 Colt 와 Armstrong(1981)은 담수산 penaeid와 prawn post larva기의 96hr-LC₅₀은 0.40~2.31 mg/L, Wickins(1976)는 penaeid 종의 post larva기의 48hr-LC₅₀은 1.29

mg/L, Chen *et al.*(1990)는 *Penaeus monodon* juvenile기의 48hr-LC₅₀은 1.59 mg/L를 보고하여 대하는 다른 새우류의 LC₅₀값과 거의 유사한 수준을 보였다.

황화수소에 대한 기존의 보고에 의하면, 갑각류 *Assellus militaris*, *Ephemera simulans*, *Hexagenia limbata*, *Gammarus pseudolimmaeus*의 96hr-LC₅₀은 각각 107.0, 316.0, 111.0 및 20 µg/L를 나타냈다(Donavon and Lloyd, 1974a). 한편, 대하의 post larva 및 juvenile기의 48hr-LC₅₀은 각각 52.3, 56.4 µg/L이었고, 96hr-LC₅₀은 각각 22.7, 28.5 µg/L을 보였다. 따라서 대하는 *G. pseudolimmaeus*를 제외하고는 대부분의 갑각류보다 황화수소에 대하여 약 3배 이상의 강한 독성영향을 나타냈다.

일반적으로 수생생물에 대한 유해화학물질의 독성은 수온, pH 및 용존산소 등의 환경조건에 따라 상이하게 나타난다(Adelman and Smith, 1972). 따라서, 실험환경 조건을 고려하지 않고, 아질산, 암모니아 및 황화수소에 대한 독성수준을 직접적으로 비교하는 것은 다소의 무리가 따를 수 있다. 그러나, 상기의 갑각류에 대한 보고의 실험환경 조건(수온 15~20.5 °C, pH 7.4~8.4,

용존산소 6.0~8.1 mg/L)과 본 실험 환경조건(수온 19.8~20.5 °C, pH 8.0~8.3, 용존산소 6.8~7.2 mg/L)이 거의 유사한 점을 고려한다면, 대하는 다른 갑각류에 비해 아질산 및 황화수소에 대하여 강한 독성영향을 받는 것을 의미한다.

아질산, 암모니아 및 황화수소에 대한 대하의 mysis기의 독성수준은 post larva기에 비해 1.5배 이상, juvenile에 비해 2배 이상의 강한 독성을 나타냈으며, juvenile에 비해 post larva기는 약 1.5배의 강한 독성을 나타냈다. Ahsanullah and Arnott(1978)는 중금속에 대한 새우 및 계류의 유생은 성체에 비해 약 29~570배까지의 독성차를 나타낸다고 하였다. 따라서 아질산, 암모니아 및 황화수소의 독성도 각 성장단계에 따라 상이하게 작용하였으며, 다른 독성물질(중금속)에 비해 독성차가 훨씬 적다는 것을 시사한다.

요 약

우리나라 갑각류의 대표적인 양식종인 대하의 초기생활사 동안의 아질산, 암모니아 및 황화수소에 대한 급성독성 수준을 파악하여 각 발달단계에 따른 독성차이를 검토하였다. 아질산에 대한 대하의 mysis, post larva 및 juvenile기의 96시간 반수치사 농도는 각각 18.4, 32.3 및 39.8 mg/L이었고, 암모니아에 대한 대하의 mysis, post larva 및 juvenile기의 96시간 반수치사 농도는 각각 1.43, 3.45 및 3.35 mg/L이었다. 황화수소에 대한 대하의 mysis, post larva 및 juvenile기의 96시간 반수치사 농도는 각각 13.5, 22.7 및 28.5 µg/L이었다. 이들 오염물질에 대한 독성순위는 황화수소>암모니아>아질산 순으로 나타났다. Post larva에 대한 mysis기의 독성수준은 모든 오염물질에서 1.5배 이상을 나타냈고, juvenile에 대한 mysis기의 독성수준은 2배 이상을 나타내어 가장 큰 차이를 보였다. 한편 juvenile에 대한 post larva기의 독성차이는 1.5배 이하를 나타내어 가장 작은 차이를 보였다.

참 고 문 헌

- Adelman, I. R. and Smith, L. L. : Toxicity of hydrogen sulfide to goldfish, *Carassius auratus* as influenced by temperature, oxygen and bioassay techniques. J. Fish. Res. Bd. Canada, 29 : 1309-1317, 1972.
- Adelman, I.R. and Smith, L. L. : Effect of hydrogen sulfide on northern pike eggs and sac fry. Trans. Amer. Fish. Soc., 3 : 501-509, 1970.
- Ahsanullash, M. and Arnott, G. H. : Acute toxicity of copper, cadmium and zinc to larvae of the crab *Paragrapsus quadridentatus* (H. Milne Edwards) and implications for water quality criteria. Aust. J. Mar. Freshwater Res., 29 : 1-8, 1978.
- APHA (American Public Health Association) : American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater, 18th ed., APHA, New York, pp. 373-411, 1985.
- Bestwick, B.W., Robbins, I. J. and Warren, L. M. : Metabolic adaptations of the intertidal polychaete *Cirriformia tentaculata* to life in an oxygen-sink environment. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 125 : 193-202, 1989.
- Bonn, E. and Follis, B. : Effects of hydrogen sulfide on channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Trans. Amer. Fish. Soc., 96 : 31-36, 1967.
- Chen, J. C., Liu, P. C., Lei, S. C. : Toxicities of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* adolescents. Aquaculture, 89(2) : 127-137, 1990.
- Colt, J. E., Armstrong, D. A. : Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. In: Allen, J. L., Kinney, E. C. eds., Proceedings of the Bio-Engineering Symposium for Fish Culture. Fish Culture Suction, American Fish-

- eries Society, Northeast Society of Conservation Engineers. Bethesda, Maryland, p. 34-47, 1981.
- Donavon, O. and Llyod, S. : Factors influencing acute toxicity estimates of hydrogen sulfide to freshwater invertebrates. *Water Res.*, 8 : 739-746, 1974a.
- Donavon, O. and Llyod, S. : Chronic toxicity of hydrogen sulfide to *Gammarus pseudolimnaeus*. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 4 : 819-822, 1974b.
- Finney, D.J. : Probit analysis, Cambridge Univ. Press, London, 1971.
- Gavis, J. and Grant, V. : Sulfide, iron, manganese and phosphate in the deep water of the Chesapeake Bay during anoxia. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 23 : 452-463, 1986.
- Gunnarsson, L. A. H and Ronnow, P. H. : Interrelationships between sulfate reducing and methane producing bacteria in coastal sediments with intense sulfide production. *Mar. Biol.*, 69 : 121-128, 1982.
- Johnson, E. L. : Ambient water quality for ammonia-1984. EPA 440/5-85-001, U.S. Environmental Protection Agency, Duluth, Minnesota, 1985.
- Kang, J. C. : Acute toxicity of hydrogen sulfide to larvae and adults of blue crab *Portunus trituberculatus*, white shrimp *Metapenaeus monoceros* and prawn *Macrobrachium nipponense*. *J. Fish Pathol.*, 10(1) : 65-72, 1997.
- Kang, J.C. and Matsuda, O. and Imamura, N. : Effects of hypoxia and hydrogen sulfide on survival of the prawn *Macrobrachium nipponense* in Lake Kojima, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 61(6) : 821-826, 1995.
- Levitt, J.M. and Arp, A.J. : The effects of sulfide on the anaerobic metabolism of two congeneric species of mudflat clams. *Comp. Biochem. Physiol.*, 98B : 339-347, 1991.
- Ochi, T. and Takeoka, H. : The anoxic water mass in Hiuchi-nada, Part 1. Distribution of the anoxic water mass. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, 42 : 1-11, 1986.
- OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) : OECD Guidelines for Testing of Chemicals. OECD, Paris, 1993.
- Sumway, S.E. and Timothy, M.S. : The effects of anoxia and hydrogen sulphide on survival, activity and metabolic rate in the coot clam, *Mulinia lateralis* (Say). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 71 : 135-146, 1983.
- Theede, H. : Comparative studies on the influence of oxygen deficiency and hydrogen sulphide on marine bottom invertebrates. *Neth. J. Sea Res.*, 7 : 244-252, 1973.
- Wickins, J. F. : The tolerance of warm-water prawn to recirculated water. *Aquaculture, Amsterdam* 9 : 19-37, 1976.

Manuscript Received : September 24, 2004

Revision Accepted : November 23, 2004

Responsible Editorial Member : Kwan-Ha Park
(Kunsan Univ.)