

질산성 질소가 감성돔(*Acanthopagrus schlegelii*) 치어에 미치는 급성 독성 영향

서석 · 최은지 · 박정환*

부경대학교 수산생물학과

Acute Nitrate Nitrogen Toxicity in Juvenile Blackhead Seabream *Acanthopagrus schlegelii*

Seok Seo, Eun Ji Choi and JeongHwan Park*

Department of Fisheries Biology, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

This study evaluated acute nitrate nitrogen (NO₃-N) toxicity in juvenile blackhead seabream *Acanthopagrus schlegelii*. Seventy juveniles (Trial A, 7.1±0.6 g) and nine juveniles (Trial B, 71.3±3.5 g) per 70 L tank were exposed to NO₃-N concentrations of 0, 500, 1500, 2500, 3500, and 4500 mg/L and 0, 600, 1200, 1800, 2400, and 3000 mg/L, respectively, in triplicate for 7 days. In Trial A, all fish exposed to 3500 and 4500 mg NO₃-N/L died within 48 h; in Trial B, all fish exposed to 3000 NO₃-N/L died after 120 h. The 96 LC₅₀ and 168 LC₅₀ were 2505 and 1806 mg NO₃-N/L, respectively, in Trial A, and 2663 and 2377 mg NO₃-N/L in Trial B. Large juveniles were more resistant to NO₃-N than small juveniles. The results of acute NO₃-N toxicity studies provide important data for subsequent chronic toxicity studies.

Key words: Black seabream, Nitrate nitrogen, Acute toxicity, Lethal concentration

서론

양식 산업은 세계에서 가장 빠르게 성장하고 있는 산업 중 하나로 최근 수십 년 동안 큰 주목을 받고 있다(Zhang et al., 2011; Liu et al., 2018). 하지만 양식 산업의 발전은 여러 환경문제를 유발한다(Crab et al., 2007). 양식어장에서 배출되는 과도한 노폐물은 인근 수계의 부영양화를 일으키며, 탈출한 양식 생물은 주변 생태계를 파괴하고 생물 다양성을 감소시킨다(Boyd et al., 2005; Buschmann et al., 2006). 이를 해결하기 위한 방법으로 수처리 과정을 적용한 순환여과양식시스템이 세계적으로 주목받고 있다(van Rijn 1996; Davis and Arnold 1998; Midilli et al., 2011; Zhang et al., 2011; Widiasa et al., 2018).

순환여과양식시스템 내에서 질산성 질소가 높은 농도로 농축될 경우 조직의 구조와 기능, 혈액 성상, 호흡, 생존, 성장(Rodrigues et al., 2011; Schram et al., 2014; Freitag et al., 2015)에 영향을 주어 결국 생산성을 크게 감소시킬 수 있다. 따라서 질산화 작용에 의해 지속적으로 질산성 질소의 농도가 상승하

는 순환여과양식시스템에서 어류의 생산성에 영향을 주지 않는 안전 농도를 구명하는 것이 필요하다. 독성을 측정하는 방법에는 일반적으로 급성 및 만성 독성 실험이 대표적이다. 급성 독성 실험은 독성 실험 중 가장 기초적인 것으로서, 실험 물질의 독성의 유무, 정도, 중간 독성에 대한 내성을 비교하는데 사용된다(Hamlin, 2006). 급성 독성을 평가하는 방법으로 실험 생물의 50%가 특정 시간 내에 사망하는 치명적인 농도인 반수치사농도(Median Lethal Concentration, LC₅₀)를 사용하며(Parish, 1985), 이를 통해 만성 독성 실험에 대한 농도 범위를 예측할 수 있다.

감성돔(*Acanthopagrus schlegelii*)은 상업적으로 잠재력이 높은 광염성(euryhaline) 어종이며, 아시아지역에서 고부가가치 해산 양식어종으로 알려져 있다(Chang and Yueh, 1990). 또한 감성돔은 성장과 환경적응력이 빠른 생리적 특성으로 순환여과양식 시스템 내 고밀도 사육을 통한 대량생산이 가능할 것으로 판단되는 주요 어종 중 하나이다. 그러나 순환여과양식 시스템에서 감성돔을 사육하기 위해 필요한 사육환경 조건에 대한 연

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5911 Fax: +82. 51. 629. 5908

E-mail address: sparkj@pknu.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.2019.0268>

Korean J Fish Aquat Sci 52(3), 268-273, June 2019

Received 2 May 2019; Revised 17 May 2019; Accepted 30 May 2019

저자 직위: 서석(대학원생), 최은지(대학원생), 박정환(교수)

구가 매우 부족하며, 실제 양식에 적용할 만한 자료가 제한적이다. 따라서 본 연구에서는 순환여과양식 시스템 내 감성돔 치어의 고밀도 사육을 위한 질산성 질소의 안전 농도를 설정하기 위해 급성 독성 실험을 실시하였고 이를 통해 질산성 질소의 급성 독성이 감성돔 치어에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

실험어 및 실험조건

본 실험에서는 경상남도 통영 소재 경남수산자원연구소에서 분양 받은 감성돔 치어를 실험에 이용하였다. 실험어는 부경대학교 양식시스템연구실 내 사육수조에서 실험 시작 전 1주 동안 순치하였다. 실험 시작 전 실험 조건에 맞는 균일한 크기의 감성돔을 선별하였으며, 실험 시스템에 수용하기 전 3일 동안 절식하였다. 수량 70 L 용량의 유리 사각 수조(0.34 m W×0.6 m L×0.4 m H)가 실험 수조로 이용하였다. 모든 실험은 지수식 방식으로 3반복으로 실시하였다. 각 수조에 200 W 침지식 히터를 부착하여 실험 수온을 25°C로 유지하였다. 공기 펌프와 공기분사기를 이용하여 각 수조에 충분한 산소가 유지되도록 하였다.

질산성 질소가 감성돔 치어에 미치는 급성 독성을 평가하기 위해 질산성 질소 농도 별 노출시간에 따른 생존율과 반수치사 농도(LC₅₀)를 조사하였다. 또한 감성돔 치어의 크기에 따른 질산성 질소의 독성을 비교하기 위해 두 가지 크기의 감성돔 치어를 실험에 이용하였다. Trial A는 평균 체중 7.1±0.6 g, 평

균 길이 7.6±0.9 cm인 감성돔 치어(소형 치어)를 이용하였으며, 각 수조에 70마리씩 수용하였다. 실험에 적용한 질산성 질소 농도는 각각 0 (대조구), 500, 1500, 2500, 3500, 4500 mg NO₃-N/L이었다. Trial B에서는 평균 체중 71.3±3.5 g, 평균 길이 16.1±0.7 cm인 감성돔 치어(대형 치어)를 이용하였으며, 각 수조에 9마리씩 수용하였다. 질산성 질소의 실험 농도는 각각 0 (대조구), 600, 1200, 1800, 2400, 3000 mg NO₃-N/L이었다.

질산성 질소 농도는 질산나트륨(NaNO₃) 시약(Duksan, Iansan, Korea)을 첨가하여 실험구 별 농도를 조절하였으며, 대조구는 시약을 첨가하지 않았다. 두 실험 모두 실험 기간 동안 먹이를 공급하지 않았으며, 일간 전체 수량의 80%씩 2회(09:00, 21:00) 환수하면서 7일 동안 폐사 개체를 계수하였다. 환수 시 해수 및 담수를 혼합하여 각 실험구 별 질산성 질소 및 염분 농도를 맞춘 보충수로 환수를 실시했다. 환수를 실시한 주 목적은 어류의 배설물로 인한 암모니아와 아질산성 질소의 증가를 방지하기 위해 실시하였다. 폐사 개체는 즉시 제거하여 급격한 수질 악화를 방지하였다.

수질 및 생존율 측정

수온, pH, 용존 산소, 염분, 질산성 질소는 다항목 수질(HQ 40D, HACH CO, Loveland, Colorado, USA)를 이용하여 일간 2회(09:00, 21:00) 측정하였다. 염분은 전기전도도 측정기(Pro2030 electronic probe, YSI, Yellow Springs, Ohio, USA)를 이용하여 측정하였다. 질산성 질소는 환수가 끝난 후 질산나트륨 시약을 첨가하고 곧바로 분광 광도계(DR 2800, HACH

Table 1. Water quality in the experimental tanks with the small sized juvenile (mean 7.1±0.6 g, Trial A) and the large sized juvenile (mean 71.3±3.5 g, Trial B) of blackhead seabream *Acanthopagrus schlegelii* for 7 days

Target NO ₃ -N (mg NO ₃ -N/L)	Actual NO ₃ -N (mg NO ₃ -N/L)	DO (mg/L)	pH	Salinity (psu)	Temperature (°C)
Trial A					
0	2±1 ^a	7.54±0.15	7.84±0.21	30.8±0.2 ^a	25.2±0.4
500	485±35 ^b	7.45±0.15	7.88±0.21	31.8±0.3 ^b	25.4±0.3
1500	1542±40 ^c	7.52±0.17	7.80±0.18	34.2±0.4 ^c	25.2±0.3
2500	2449±65 ^d	7.55±0.21	7.78±0.18	36.0±0.3 ^d	25.3±0.3
3500	3530±57 ^e	7.47±0.26	7.79±0.14	37.7±0.4 ^e	25.3±0.4
4500	4566±71 ^f	7.53±0.08	7.80±0.09	40.3±0.2 ^f	25.3±0.1
P value	0.000	0.075	0.146	0.000	0.097
Trial B					
0	1±0 ^a	7.40±0.16 ^{ab}	7.81±0.14	30.8±0.2 ^a	25.0±0.2
600	604±14 ^b	7.25±0.19 ^a	7.77±0.16	32.2±0.2 ^b	25.1±0.2
1200	1216±21 ^c	7.35±0.22 ^{ab}	7.75±0.22	33.4±0.3 ^c	25.0±0.2
1800	1816±23 ^d	7.47±0.18 ^b	7.80±0.18	34.6±0.2 ^d	25.0±0.2
2400	2422±29 ^e	7.29±0.22 ^{ab}	7.81±0.16	35.6±0.4 ^e	25.1±0.3
3000	3000±54 ^f	7.39±0.11 ^{ab}	7.77±0.16	37.2±0.3 ^f	25.1±0.2
P value	0.000	0.000	0.187	0.000	0.263

Values (mean±SD) with different superscripts in same columns are significantly different (P<0.05). DO, dissolved oxygen.

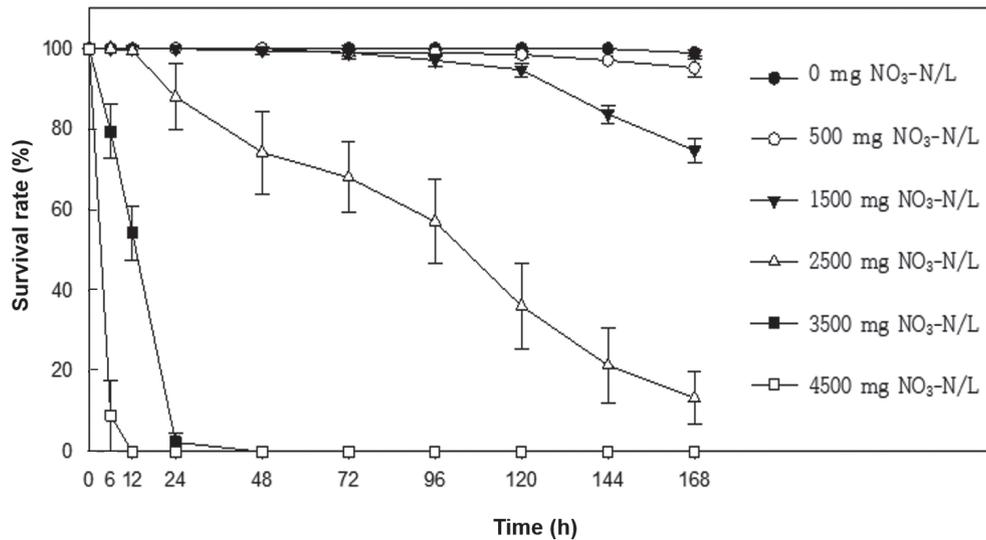


Fig 1. Time-course survival rate of the small sized blackhead seabream *Acanthopagrus schlegelii* juvenile (mean 7.1 ± 0.6 g) according to nitrate nitrogen concentrations.

CO, Loveland, Colorado, USA)을 이용하여 cadmium 환원 발색법(Hach Method 8039)으로 측정하였다.

생존율은 24시간 간격으로 누적된 폐사 개체 수를 이용하여 계산하였다. 실험어의 폐사 확인은 실험어가 수조 저면에 유영 능력을 상실하여 어체가 측면된 상태에서 1분 이상 아가미 호흡 활동을 중지한 개체를 선택하여 계수하였다(Kim et al., 2017).

반수치사농도(LC₅₀)의 계산 및 통계 처리

반수치사농도는 Ordered Probit Model 분석방법을 이용하여 분석하였다. 이 외의 결과는 One-Way ANOVA test를 통해 등분산 검정을 실시하고 등분산일 경우 Tukey's HSD test, 등분산이 아닐 경우 Games-Howell test로 평균값 간의 유의성을 검정하였다($P < 0.05$). 통계학적 분석은 SPSS 통계프로그램(ver. 25.0)을 사용하였다.

결 과

수질환경

급성 독성 실험 기간 동안 수질 분석 결과를 Table 1에 나타냈다. Trial A와 Trial B의 용존 산소는 모든 실험구에서 평균 7.25 mg/L 이상으로 유지하였다. pH는 평균 7.75-7.88로 유지되었으며, 수온은 평균 25.0-25.4°C로 유지하였다. Trial A의 질산성 질소 농도는 0, 500, 1500, 2500, 3500, 4500 mg NO₃-N/L 실험구에서 각각 2 ± 1 , 485 ± 35 , 1542 ± 40 , 2449 ± 65 , 3530 ± 57 , 4566 ± 71 mg NO₃-N/L로 나타나 각 실험구에서 목표로 하였던 실험 농도와 유사한 수준으로 유지하였다($P < 0.05$). Trial B에서도 질산성 질소 농도가 0, 600, 1200, 1800, 2400, 3000

mg NO₃-N/L 실험구에서 각각 1 ± 0 , 604 ± 14 , 1216 ± 21 , 1816 ± 23 , 2422 ± 29 , 3000 ± 54 mg NO₃-N/L로 나타나 각 실험구에서 목표로 하였던 실험 농도와 유사한 수준으로 유지하였다($P < 0.05$). 염분은 질산성 질소의 증가로 각 실험구 간 유의하게 차이가 있었다($P < 0.05$) (Table 1).

생존율 및 반수치사농도(LC₅₀)

Trial A에서 질산성 질소 농도 0, 500, 1500, 2500 mg NO₃-N/L 실험구의 소형 치어의 생존율은 각각 99.0, 95.2, 74.8, 13.3%이었으며, 3500과 4500 mg NO₃-N/L 실험구는 48시간 이후 전 개체가 폐사하였다(Fig 1). Trial B의 경우, 0, 600, 1200 mg NO₃-N/L 실험구의 대형 치어의 생존율은 100%로 나타났고 1800과 2400 mg NO₃-N/L 실험구의 생존율은 각각 96.3과 51.8%이었다. 반면 3000 mg NO₃-N/L 실험구는 120시간 이후 전 개체가 폐사하였다(Fig 2).

질산성 질소 농도에 따른 시간별 LC₅₀을 분석한 결과, 96 LC₅₀과 168 LC₅₀는 Trial A에서 2505과 1806 mg NO₃-N/L이었고 Trial B에서 2663과 2377 mg NO₃-N/L이었다. 시간(X, elapsed time)에 따른 반수치사농도(Y, LC₅₀)의 상관관계식은 다음과 같다(Fig 3).

감성돔 소형 치어(개체중 7.1 ± 0.6 g):

$$Y = -0.0261X^2 - 2.47X + 2942 \quad (X, 24-168 \text{시간})$$

감성돔 대형 치어(개체중 71.3 ± 3.5 g):

$$Y = 0.0619X^2 - 19.3X + 3920 \quad (X, 24-168 \text{시간})$$

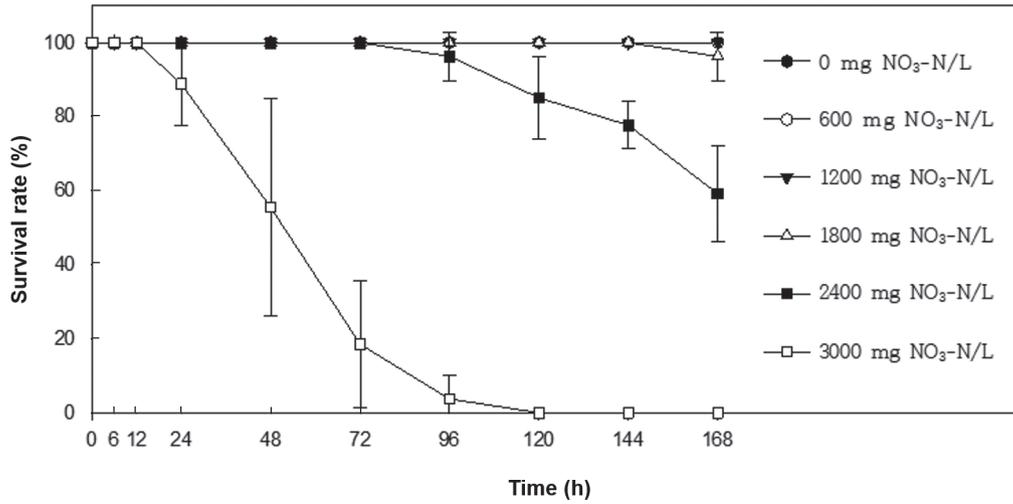


Fig 2. Time-course survival rate of the large sized blackhead seabream *Acanthopagrus schlegelii* juvenile (mean 71.3±3.5 g) according to nitrate nitrogen concentrations.

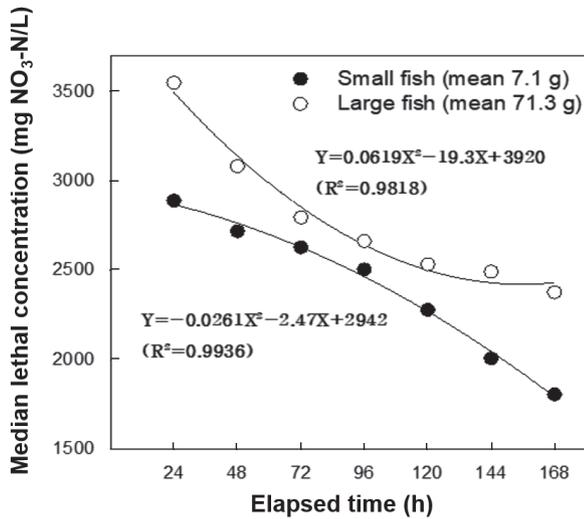


Fig 3. Time-course median lethal concentration for the small and the large sized juvenile of blackhead seabream *Acanthopagrus schlegelii*.

고찰

본 실험에서 7일 동안 두 가지 크기의 감성돔을 대상으로 질산성 질소 노출에 따른 생존율과 반수치사농도(LC₅₀)를 조사하였다. 높은 농도의 질산성 질소는 감성돔에게 독성을 미쳤으며, 높은 폐사율을 나타냈다. 또한 질산성 질소의 영향은 크기에 따라 차이가 있었다. 본 실험에서 대형 치어와 소형 치어의 96 LC₅₀과 168 LC₅₀를 살펴볼 때 대형 치어가 소형 치어에 비해 질산성 질소에 대한 내성이 상대적으로 높은 경향을 보였다. 이와

마찬가지로 여러 문헌에서도 어류의 크기가 커질수록 독성물질에 대한 내성이 증가한다고 보고하였다(Macek et al., 1978; Sprague, 1985). 그러나 세 가지 크기(6.9±0.3, 66.9±3.4, 673.8±18.6 g)의 Siberian sturgeon *Acipenser baerii*을 대상으로 한 Hamlin (2006)의 실험에서는 어류의 크기가 작아질수록 질산성 질소에 대한 높은 내성을 보고하였다. 질산성 질소가 어류에 미치는 영향은 종의 특성 또는 사육 환경의 차이로 인해 달라질 수 있다.

일반적으로 96 LC₅₀의 평균 농도 범위는 해산 어류의 경우 573-3450 mg NO₃-N/L (Pierce et al., 1993; Rodrigues et al., 2011), 담수 어류의 경우 191-1975 mg NO₃-N/L (Trama 1954; Rubin and Elmaraghy, 1977; Scott and Crunkilton, 2000)이며, 비교적 해산 어류에 대한 독성 농도 범위가 높다고 알려져 있다. 본 실험에서 black seabream *A. schlegelii*의 평균 24 LC₅₀과 96 LC₅₀ 농도는 3220과 2584 mg NO₃-N/L로 나타났다. 다른 해산 어종의 질산성 질소에 대한 24 LC₅₀ 농도는 cape sole *Heteromycteris capensis* 5081 mg NO₃-N/L, white seabream *Diplodus sargus* 3582 mg NO₃-N/L, striped seabream *Lithognathus mormyrus* 3471 mg NO₃-N/L로 나타났으며(Brownell, 1980), 96 LC₅₀ 농도는 planehead filefish *Monocanthus hispidus* 573 mg NO₃-N/L, clearnose scate *Raja eglanteria* ≥960 mg NO₃-N/L, Florida pompano *Trachinotus carolinus* 1000 mg NO₃-N/L, cobia *Rachycentron canadum* 1829 mg NO₃-N/L, gulf black seabass *Centropristis striata* 2400 mg NO₃-N/L, beaugregory *Pomacentrus leucostriatus* ≥3000 mg NO₃-N/L로 나타났다(Pierce et al., 1993; Rodrigues et al., 2011). 다른 해산 어류와 비교하였을 때 black seabream *A. schlegelii*의 질산성 질소에 대한 내성은 중간 정도 수준이었다.

본 실험은 상대적으로 연구 결과가 부족한 질산성 질소에 대한 독성 실험을 고부가가치 품종인 감성돔 치어를 대상으로 실시했다는 점에 의미를 가진다. 또한 단기간 동안 질산성 질소의 독성 영향을 확인함으로써 만성독성연구의 중요한 자료를 제공한다. 현재까지 대부분의 독성 연구는 단기간 동안 수행되었으며, 성장과 생존의 측면에서만 이루어져 왔다. 이에 반해 질산성 질소의 장기간 노출이 어류 생체 내부에 미치는 영향에 대한 연구는 부족하다. 따라서 장기적인 측면에서 질산성 질소의 잠재적인 영향을 예측할 수 있는 평가 요인들에 대한 연구가 필요하다.

사 사

이 논문은 2016년부터 3년간 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원(KIMST)의 지원을 받아 수행된 연구입니다(해수순환여과 요소기술을 통합한 산업형 표준모델 개발).

References

- Boyd CE, Mcnevin AA, Clay J and Johnson HM. 2005. Certification issues for some common aquaculture species. *Rev Fish Sci* 13, 231-279. <https://doi.org/10.1080/10641260500326867>.
- Brownell CL. 1980. Water quality requirements for first-feeding in marine fish larvae. IN: Ammonia, nitrite, and nitrate. *J Eep Mar Biol Ecol* 44, 269-283. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(80\)90158-6](https://doi.org/10.1016/0022-0981(80)90158-6).
- Buschmann AH, Riquelme VA, Gonzalez MCH, Varela D, Jimenez JE, Henriquez LA, Vergara PA, Guinez R and Filun L. 2006. A review of the impacts of salmonid farming on marine coastal ecosystems in the southeast Pacific. *Ices J Mar Sci* 63, 1338-1345. <https://doi.org/10.1016/j.icesjms.2006.04.021>.
- Chang CF and Yueh WS. 1990. Annual cycle of gonadal histology and steroid profiles in the juvenile males and adult females of the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*. *Aquaculture* 91, 179-196. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90187-R](https://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90187-R).
- Crab R, Avnimelech Y, Defoirdt T, Bossier P and Verstraete W. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 270, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.05.006>.
- Davis DA and Arnold CR. 1998. The design, management and production of a recirculating raceway system for the production of marine shrimp. *Aquacult Eng* 17, 193-211. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(98\)00015-6](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(98)00015-6).
- Freitag AR, Thayer LR, Leonetti C, Stapleton HM and Hamlin HJ. 2015. Effects of elevated nitrate on endocrine function in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 436, 8-12. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.041>.
- Hamlin HJ. 2006. Nitrate toxicity in Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*). *Aquaculture* 253, 688-693. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.08.025>.
- Kim JH, Park JY, Lee JY, Lee JH, Hwang HK and Cho JK. 2017. Effects of ammonia exposure on survival rate and hematological characteristics changes in juveniles of seven-band grouper, *Eponephelus septemfasciatus*. *Kor J Ichthyol* 29, 13-21.
- Liu D, Straus DL, Pedersen LF and Meinelt T. 2018. Periodic bacterial control with peracetic acid in a recirculating aquaculture system and its long-term beneficial effect on fish health. *Aquaculture* 485, 154-159. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.050>.
- Macek KJ, Chairman W, Birge FL, Mayer AL, Buikema Jr and Maki AW. 1978. Discussion session synopsis of the use of aquatic toxicity tests for evaluation of the effects of toxic substances. In: Estimating the Hazard of Chemical Substances to Aquatic Life. Cairns Jr, Cairns J, Dickson KL and Maki AW, eds. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, U.S.A., 27-32.
- Midilli A, Kucuk H and Dincer I. 2011. Environmental and sustainability aspects of a recirculating aquaculture system. *Environ Prog Sustain* 31, 604-611. <https://doi.org/10.1002/ep.10580>.
- Parish PR. 1985. Acute toxicity tests. *Fundamentals of aquatic toxicology methods and applications*. Hemisphere Publishing, Washington DC, U.S.A., 31-56.
- Pierce RH, Weeks JM and Prappas JM. 1993. Nitrate toxicity to five species of marine fish. *J World Aquacult Soc* 24, 105-107. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1993.tb00156.x>.
- Rodrigues RV, Schwarz MH, Delbos BC, Carvalho EL, Romano LA and Sampaio LA. 2011. Acute exposure of juvenile cobia *Rachycentron canadum* to nitrate induces gill, esophageal and brain damage. *Aquaculture* 322-323, 223-226. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.09.040>.
- Rubin, AJ and Elmaraghy GA. 1977. Studies on the toxicity of ammonia, nitrate and their mixtures to guppy fry. *Water Res* 11, 927-935. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(77\)90079-3](https://doi.org/10.1016/0043-1354(77)90079-3).
- Schram E, Roques JAC, Abbink W, Yokohama Y, Spanings T, Vries PD, Bierman S, Vis HVD and Flik G. 2014. The impact of elevated water nitrate concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Aquacult Res* 45, 1499-1511.
- Scott G and Crunkilton RL. 2000. Acute and chronic toxicity of nitrate to fathead minnows (*Pimephales promelas*, *ceriodaphnia dubia*, and *daphnia magna*). *Environ Toxicol Chem* 19, 2918-2922. <https://doi.org/10.1002/etc.5620191211>.
- Sprague JB. 1985. Factors that modify toxicity. In: *Fundamentals of aquatic toxicology methods and applications*. Hemisphere Publishing, Washington DC, U.S.A., 124-163.
- Trama FB. 1954. The acute toxicity of some common salts of sodium, potassium and calcium to the common bluegill

- (*Lepomis macrochirus* Rafinesque). *J Acad Nat Sci Phila* 106, 185-205.
- van Rijn J. 1996. The potential for integrated biological treatment systems in recirculating fish culture-A review. *Aquaculture* 139, 181-201. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01151-X](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01151-X).
- Widiasa IN, Harvianto GR, Susanto H, Istirokhatun T and Agustini TW. 2018. Searching for ultrafiltration membrane molecular weight cut-off for water treatment in recirculating aquaculture system. *J Wat Pro Eng* 21, 133-142. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.12.006>.
- Zhang SY, Li G, Wu HB, Liu XG, Yao YH, Tao L and Liu H. 2011. An integrated recirculating aquaculture system (RAS) for land-based fish farming: The effects on water quality and fish production. *Aquacult Eng* 45, 93-102. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2011.08.001>.