

Chloramine-T의 넙치에 대한 독성과 어병세균 및 Blue Green Algae에 대한 살균 효과

황은아* · 정현도†

부경대학교 수산과학대학 수산생명의학과, *부경대학교 해양식량자원개발 특성화사업단,

강한 산화력에 의하여 살균력을 나타내는 CT(Sodium N-chloro-para toluenesulfonamide, Chloramine-T)의 어류에 대한 독성과 수서 미생물에 대한 살균력을 분석함으로서 우리나라 해산어 양식현장에서 새로운 수산용 소독제로서 응용할 수 있는 가능성을 조사하였다. 우리나라 주 양식어종인 넙치는 해수에서 16 ppm 이상의 CT 농도에 계속 노출되면 48시간 이내에 폐사되는 급성독성을 보여 주었다. 그러나 CT의 세균사멸 효과는 매우 탁월하여 2 ppm 농도로 15분 이상 해수를 처리하였을 때 인위적으로 침가시킨 어류질병관련 세균을 모두 사멸시킬 수 있었고 이러한 사멸효과는 세균의 종과는 큰 연관 관계를 보여주지 않았다. 그러므로 CT는 사육수를 통한 세균감염 방지 또는 병어로부터 유출된 병원균의 확산 방지에 효과적으로 사용될 수 있음을 확인하였다. 그러나 blue green algae(*Tetraselmis suecica*)에 대한 사멸효과는 10 ppm 이상의 농도에서 24시간동안 처리하였을 때 나타남으로서 어류에 대한 급성독성을 나타내는 농도와 매우 근접하였으므로 동·식물성 플랑크톤의 효과적 제거를 위하여서는 상당히 제한적으로 사용되어야 할 것이다. 더구나 CT는 해수중에 유기물질의 농도가 10 ppm 정도만 존재하고 있어도 그 살균효과는 급격하게 감소하므로 현장 적용 시에는 이에 관한 충분한 고려가 있어야 할 것이다.

Key words: CT(Sodium N-chloro-para toluenesulfonamide, Chloramine-T), Bactericidal activity, Acute toxicity, Algicidal activity, Organic materials, Flounder

현재 수산용 약제 중 생물체에 직접 외용으로 사용되고 있는 것은 formalin으로 소독제 형태로서 가장 보편적으로 사용되고 있다. 그러나 formalin은 어류에 독성이 있을 뿐아니라(Takizawa *et al.*, 1994; Omeregie *et al.*, 1994; Reardon and Harrel, 1990), 인체에 대해서도 발암성이 있는 약제이며(Alderman, 1992; Ghosh and Konar, 1983), formalin이 체내에 축적된 어류를 사람이 섭취할 경우에도 상당한 발암성의 위험이 있다(Xu and Rogers, 1993; Subasinghe and Yusoff, 1993). 이러한 위험성을 잘 알고 있음에도 불구하고 현재까지 formalin은 양식 현장에서 과량으로 사용되어지고 있으므로, 정확한 역학 조사가 이루어진다면 formalin 사용으로 인한 어류 소비자들과 수산 양식업 종사자의 질병 발생은 상당한 수준일 것으로 생각되어 진다. 또한 환경적인 측면에서도 외부로 유출된 formalin이 상당기간 동안 분해가 되지 않아 주위 생태계를 파괴시키고 돌연변이의

원인인자로서도 작용할 것으로 사료된다. 이러한 이유에서 정부는 formalin의 사용을 환경규제법으로 금지시켜 놓고 있으며 이에 대한 규제는 앞으로 구미 선진국에서처럼 더욱 철저하게 시행되어 질 것이다. 그러므로 환경보존, 수산업 종사자의 건강증진 그리고 소비자인 국민전체의 보건 향상을 위하여 formalin을 대체할 수 있는 새로운 소독제 개발은 시급한 시대적 요구로 대두되어 가고 있는 실정에 있다.

CT(Sodium N-chloro-para toluenesulfonamide, Chloramine-T)는 강한 산화력에 의하여 세균, 바이러스, 곰팡이, 기생충 등에까지 광범위하게 살균력을 나타내는 약제(Akzo Noble Co. Ltd.)로서 우리나라 해산어 양식현장에서 새로운 수산용 소독제로서 응용할 수 있는 충분한 가능성을 충분히 갖고 있다고 할 수 있다. 그러나 외부용 살균제인 CT의 과잉 사용은 분명히 생물체에 상당한 독성을 나타낼 수 있는 소인이 충분히 있으므로 본 제제를 양식 현장에 적용 시 무엇보다도 안전성에 대한 정보가 절대적으로 필요하다. 따라서 본 연구에

*Corresponding author

서는 우리나라에서 가장 보편적으로 양식되고 있는 건강한 넙치에 대한 CT의 급성독성 분석을 통하여 최대 사용가능 농도를 결정하였다.

그리고 CT가 양식 현장에 있는 각종 병원성 세균에 대하여 어느 정도의 살균 효과를 나타내는지를 분석하므로서 밀식 상태에서 감염어가 발생하였을 때 감염어로부터 수중으로 유출된 병원균이 건강어로 전염되는 것에 대한 차단효과를 적정화하는 기본 정보를 얻고자 하였다. 이러한 실험을 미세조류에 대하여서도 적용하여 양식수조나 해수 유입구 등에 증식할 수 있는 미세조류의 제거나, 적조 발생 시 유입된 독성 조류의 제거에 활용 할 수 있는 가능성에 대한 연구도 함께 실시하였다. 이때 보다 양식현장에 적용 가능하고 실질적인 정보의 획득을 위하여 유기물의 오염정도 등과 같은 외적요인이 CT의 소독제 역할에 미치는 영향에 대한 분석도 함께 실시하였다.

즉, 본 연구는 CT의 어류에 미치는 급성독성 분석, 수중 내 세균과 미세조류에 대한 소멸효과, 그리고 이러한 살균효과에 영향을 미치는 외부 요인에 대한 분석을 통하여 새로운 수산용 살균제의 용용과 개발이 이루어지게 하고자 하였다. 그리하여 CT에 대한 본 연구의 결과가 긍정적인 것으로 나타난다면 생물분해가 되며(biodegradable) 빌암성이 약한 새로운 외용 소독제로서 기존의 formalin 을 대체할 수 있는 수산용 약제가 될 수 있을 것이다.

재료 및 방법

실험

병력이 없고 임상적으로 건강한 20~25 g 크기의 넙치를 동해안의 종묘양식장에서 분양받아 22°C의 순환여과식 수조에서 매일 어체중 1%의 사료를 투여하면서 실험에 사용하였다.

미생물 및 미생물의 배양

어류질병관련 세균 6종 중 비브리오균의 배양은 상업용 배지인 Trypton Soy Broth(TSB)에 1% NaCl을 첨가한 ST 배지를 사용하고 나머지 세균의 배양은 TSB 배지를 사용하였다(Table 1). 먼저 25°C에서 24시간 TSB 배지에 배양하여 활성화시킨 후 다시 한번 동일배지에 식균하여 16시간 배

Table 1. Microorganisms used in the experiment.

Organism	Species	Source
Bacteria	<i>Edwardsiella tarda</i> EDK-2	eel
	<i>Edwardsiella tarda</i> H-4	flounder
	<i>Vibrio anguillarum</i>	yellow tail
	<i>Vibrio vulnificus</i>	human
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	ATCC 7966
	<i>Streptococcus</i> sp.	yellow tail
Algae	<i>Tetraselmis suecica</i>	PKNU*

*Department of Biotechnology, Pukyong National University.

Table 2. Components of F2 Medium.

Component	mg/l
NaNO ₃	150
Na ₂ HPO ₄	8.69
Fe-EDTA	10
MnCl ₂	0.22
CoCl ₂	0.11
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.0196
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.044
Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	50
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.012
Biotin	0.0001
B ₁₂	0.0001
Thiamine	0.2

양을 시킨 후 실험에 사용하였다. Algae의 배양을 위하여 F2 배지(Table 2)를 사용하였으며 각 성분을 1,000×stock solution(pH 7.2)으로 만든 후 배지 조제 직전에 1%의 agar와 함께 중류수에 첨가하고 멸균하여 제조하였다. Algae는 25°C에서 12~14일간 2,000Lux 밝기의 배양기에서 150 rpm의 shaking과 함께 배양한 후 F2 agar 배지에서 CFU(colony forming unit)를 측정한 후 실험에 사용하였다.

넙치에 대한 CT의 급성독성분석

여러 다른 농도(0, 12, 16, 24, 32 ppm)가 되도록 CT를 해수에 가하고 20~25 g의 넙치 15마리씩을 각 농도의 CT에 노출시켰다. 노출기간 중 CT

가 첨가된 새로운 해수로 하루에 2번씩 50%를 환수시키면서 시간별로 나타나는 폐사율을 측정하였다.

수중 미생물에 대한 CT의 살균 효과

하룻밤 동안 배양된 각 세균 배양액을 10⁴배 희석한 후 100 µl를 취하여 적당 농도의 CT가 첨가된 10 ml의 해수(0.45 µm의 막 필터 통과)에 첨가하였다. 해수중의 유기물 영향을 분석하기 위한 실험에서는 각기 다른 농도의 Bovine Serum Albumin(BSA)을 첨가하여 사용하였다. 세균을 첨가하고 일정시간이 경과한 후 100 µl를 취하여 Tryptic Soy Agar(TSA)배지에 도말하여 25°C, 24시간 배양한 후 생성된 colony 수를 계측하여 생존하는 세균수를 분석하였다.

Algae에 대한 살균효과 분석을 위해서는 배양된 algae를 10배 희석한 후 세균과 동일한 방법으로 CT에 노출시켰다. 생존 algae의 수는 F2 agar 배지를 사용하여 25°C, 48시간 배양하여 형성된 colony 수를 계측하여 분석하였다.

결 과

넙치에 대한 CT의 급성독성 실험

Table 3에서와 같이 22°C 수온에서 24 ppm의 CT에 계속 노출 시 12시간 후에는 실험구 모두가 폐사되는 것으로 나타났고 32 ppm 노출에는 9시간 후 모두 폐사하였다. 그리고 16 ppm의 농도군에서도 노출 시간을 좀더 길게 한 48시간 처리구는 모

두 폐사하는 것으로 나타났다. 그러나 12 ppm 농도에서는 48시간이 경과하여도 폐사율을 발견할 수 없었다. 이러한 폐사의 경향은 일정시간 경과 후 전체 실험구가 1시간 이내에 동시에 폐사하여 LD₅₀의 계산은 불가능하였다.

CT의 살균효과

여러 다른 어류질병관련 세균을 TSB배지에서 16시간, 25°C에서 배양하여 활성화된균을 각기 다른 농도의 CT에 노출시켰다. 노출 후 생존하는 세균의 수를 15분 간격으로 4시간 동안 ST와 TSA 배지에서 계측하여 0.1% 이하의 생존율을 보이는 노출시간을 분석하였다.

분석된 어병세균 모두 2 ppm의 CT 농도에서 15분 이내에 사멸되는 것으로 나타났으며 어병세균 간에는 커다란 차이점이 발견되지 않았다. 다만 그람양성균인 *Streptococcus* sp.가 CT 0.5 ppm에서 2.5시간 내에 사멸되어 저항성이 비교적 약한 것으로 나타났으나 *V. anguillarum*도 이와 유사한 저항성을 나타내어 그 의미를 뚜렷하게 부여하기는 어려웠다(Table 4). 결론적으로 사육수에 있는 여러 다른 어병세균은 CT에 대한 저항성이 약간씩 차이가 있었으나 2 ppm에서 15분 정도 처리하면 100% 사멸됨을 확인할 수 있었다.

그러나 algae에 대한 CT의 살균효과는 어병세균의 경우와 큰 차이를 나타내었다. Blue green algae인 *Tetraselmis suecica*는 Fig. 1에서 보듯이 CT 10 ppm에서는 24시간 동안 노출되어야 100% 사멸되었고 20 ppm에서는 8시간 그리고 40 ppm에

Table 3. Acute toxicity of CT against the flounder.

Exposed time(hr)	Concentration of CT(ppm)				
	0	12	16	24	32
0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
9	0	0	0	20	100
12	0	0	0	100	—
24	0	0	0	—	—
48	0	0	100*		

*Mortality(%).

Table 4. Bactericidal activity of CT against different strains of fish pathogenic bacteria in sea water.

Strains of bacteria	Concentration of CT(ppm)				
	0	0.5	1	2	4
<i>Edwardsiella tarda</i> EDK-2	>4*	>4	2	<0.25	<0.25
<i>Edwardsiella tarda</i> H-4	>4	>4	2	<0.25	<0.25
<i>Aeromonas hydrophila</i>	>4	>4	3.5	<0.25	<0.25
<i>Streptococcus</i> sp.	>4	2.5	>0.25	<0.25	<0.25
<i>Vibrio anguillarum</i>	>4	2.5	1.5	<0.25	<0.25
<i>Vibrio vulnificus</i>	>4	>4	>0.5	<0.25	<0.25

*Treated time(hr) of CT for less than 0.1% of the survival rate in fish pathogenic bacteria.

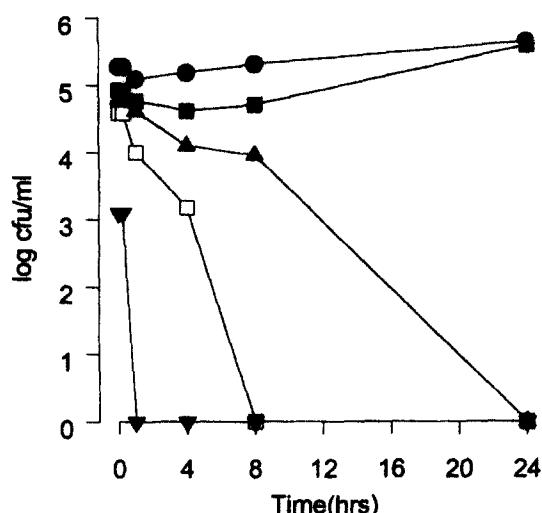


Fig. 1. Algicidal activity of CT against *Tetraselmis suecica* in sea water. Cultured *Tetraselmis suecica* was added in sea water containing different concentration of CT and then the numbers of surviving blue green algae were analyzed after 0.5~24 hrs of incubation time at 22°C. Concentrations of CT: -●-, 0 ppm; -■-, 5 ppm; -▲-, 10 ppm; -□-, 20 ppm; -▼-, 40 ppm.

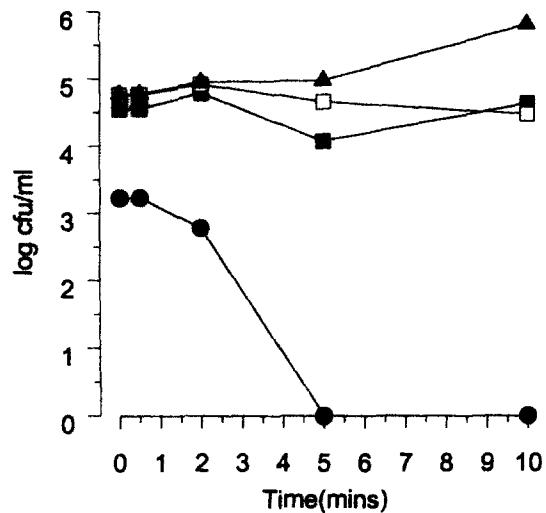


Fig. 2. Bactericidal activity of the CT in the presence of BSA in sea water. BSA of different concentrations was added in sea water as an artificial organic contaminant and the change in bactericidal activity of CT(4 ppm) was analyzed against the fish pathogenic organism, *V. anguillarum*. Final concentration of BSA in sea water: -●-, 0 ppm; -■-, 10 ppm; -□-, 100 ppm; -▲-, 1000 ppm.

서는 1시간 노출 시 100% 사멸되었다. 이는 넓적에 대하여 강한 급성독성을 나타내는 고농도의 CT를 사용하여야 빠른 시간 내에 algae를 사멸시킬 수 있음을 확인시켜 주었다.

사육수 내의 유기물 농도에 따른 CT의 살균 효과 변화

어류의 사육수 내에 존재하는 유기물질이 CT의 살균효과에 어떠한 영향을 미치는지를 분석하기 위한 실험을 실시하였다. 사용한 CT의 농도는 거의 모든 세균을 15분 이내에 사멸시킬 수 있는 농도인 2 ppm의 2배(4 ppm)와 8배(16 ppm)를 사용하여 0.5, 2, 5, 10분간 어병세균인 *V. anguillarum*에 처리하였으며 이때 인위적인 유기물로서 BSA를 0, 10, 100, 1,000 ppm 농도가 되도록 해수에 첨가하였다.

BSA 무첨가 시 *V. anguillarum*은 CT 4 ppm 농도에서는 5분 이내에, 그리고 16 ppm 농도에서는 30초 이내에 각각 100% 사멸되었다. 그러나 BSA의 첨가와 함께 사멸율은 급격히 감소하여 10 ppm의 BSA 존재 하에서는 4 ppm 농도의 CT가 전혀 살균효과를 나타내지 못하였다. 이러한 사

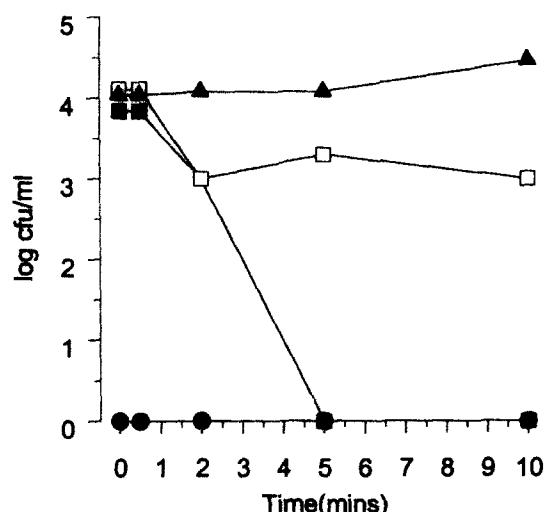


Fig. 3. Bactericidal activity of the CT in the presence of BSA in sea water. BSA of different concentrations was added in sea water as an artificial organic contaminant and the change in bactericidal activity of CT(16 ppm) was analyzed against the fish pathogenic organism, *V. anguillarum*. Final concentration of BSA in sea water: -●-, 0ppm; -■-, 10ppm; -□-, 100ppm; -▲-, 1000ppm.

멸을 감소 효과는 CT의 농도를 16 ppm으로 증가 시켜도 BSA가 100 ppm 이상으로 존재하면 살균

효과가 없고, 10 ppm 존재 시에는 약 5분의 시간이 소요되었다(Fig. 2, 3). 그러므로 CT의 세균 사멸능력은 사육수 중에 있는 유기물질에 의해 대단히 큰 영향을 받을 수 있으며 사용 시에는 반드시 사육수 중의 유기물질을 고려하여야 함을 확인할 수 있었다.

고 칠

CT(Sodium N-chloro-para toluenesulfonamide, Chloramine-T)는 강한 산화력에 의하여 세균, 바이러스, 곰팡이, 기생충 등에까지 광범위하게 살균력을 나타내어 병원(Spicher and Peters, 1998)이나 축산분야에서는 그 활용의 예가 상당수 있으나. 수산분야에서는 무지개송어를 대상으로 하여 기생충 감염(Bullock *et al.*, 1994; Ostland *et al.*, 1995)이나 아가미질병의 예방(From, 1980)을 위하여 사용한 소수의 예가 있을 뿐이고 조직내의 잔류량 분석도 최근에야 Meinertz 등(1999)에 의하여 이루어지고 있다. 그러므로 이 화학물질의 살균력과 물리적 성질을 이용하면 밀식사육이 대부분인 우리나라 바다양식의 특성상, 많은 감염성 질병에 노출되기 쉬운 어류나 새우양식 현장에서 새로운 수산용 소독제로서 응용될 수 있는 가능성을 충분히 갖고 있다고 할 수 있다. 그러나 어떻게 양식 산업 현장에 적용할 것인가 하는 구체적인 정보, 즉 우리나라의 주양식 어종간에 나타나는 독성의 변화, 어류질병관련 병원균에 대한 구체적인 살균효과, 환경변화에 의한 살균효과의 변화 등에 관한 연구는 아직 매우 미비한 상태에 있으며 그 사용 예 또한 문헌이나 정보지 등에서 충분하게 논의되고 있지 않다. 이러한 것은 formalin 등에 관하여 보고된 수 많은 용용 예(Klinger and Van Den Avyle, 1993; Howe, 1995; Carmichael and Tomasso, 1983)와 비교할 때 CT의 수산용 소독제로서의 용용을 위하여서는 아직도 많은 연구가 뒤따라야 한다는 것을 의미하고 있다고 생각된다.

외부용 살균제인 CT의 과잉 사용은 분명히 생물체에 상당한 독성을 나타낼 수 있는 소인이 충분히 있다고 할 수 있다. 현재 조사된 것을 보면 구피, 피래미 등에 대하여 CT를 4일 이상 계속하여 수중에 처리하여도 영향이 나타나지 않는 농도는 1.2~1.5 ppm으로 알려져 있으며(Akzo Nobel

Co. Ltd.), 어류의 난 소독에는 400~500 ppm에서 효과가 있었으며(Salvesen and Vadstein, 1995), 무지개송어 등은 10 ppm의 농도로 4일 이상 1 hr/day로 처리하였을 때 약간의 체중 감소현상이 나타날 수 있다는 보고 등(Powell *et al.*, 1994; Powell, 1993)이 있을 뿐이다. 그러나 해산어에 대한 CT 독성 또는 해수에서의 CT 살균효과에 대한 분석은 되어 있지 않는데 본 연구 결과 CT는 넙치에 대하여 상당히 강한 급성독성을 나타내었다. 즉 12 ppm 이하에서는 48시간 경과하여도 폐사가 일어나지 않으나 16 ppm에서는 48시간 그리고 24 ppm 이상에서는 24시간 이내에 100% 폐사하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 어류를 CT에 계속 노출시켜 급성독성을 분석하였을 때의 경우이며 넙치를 무지개송어의 경우와 같이 1hr/day로 노출시켰을 때는 48 ppm의 농도에서도 1주일 이상 견디어 낸다는 것을 확인 할 수 있었다(data not shown). 그러므로 CT 처리를 해산어에 대하여 해수에서 실시하면 담수어를 대상으로 하여 담수에서 실시하는 것에 비하여 비교적 독성이 낮게 나타났다. 그것은 해수중의 어떤 성분이 CT의 활성을 방해하거나 또는 해산 어종 자체가 CT에 대한 높은 저항성을 가지고 있기 때문으로 사료되나 이에 대한 조사는 보다 자세히 이루어 져야 할 것이다.

수중 미생물에 대한 CT의 살균작용 분석은 넙치에 대하여 급성독성을 나타내는 CT의 농도보다 훨씬 낮은 농도에서 그리고 보다 짧은 기간동안의 처리에 의하여 실시되어 졌다. 각종 해산어에 대하여 병원성을 나타내는 세균들은 CT 농도가 2 ppm에서는 15분 이내 그리고 1 ppm 농도에서도 4시간 이상 처리 시 모두 사멸되는 것으로 나타나 CT가 해수중의 병원성 미생물에 대한 소독제로서의 이용 가능성을 잘 입증해 보여 주었다. 그러나 세포벽이 보다 두터운 algae에 대하여서는 넙치에서 나타나는 CT의 급성독성을 나타낼 수 있는 10 ppm 농도 이상이 필요하여 양식현장에서 종종 문제가 되고 있는 동·식물성 플랑크톤의 제거를 목적으로 하여 사용하기는 문제점이 있는 것으로 분석되어 졌다.

더구나 외부투여용 소독제는 사육수내에 유기물의 농도가 높으면 그 살균효과가 매우 감소하는 것으로 알려져 있다. 특히 CT와 같이 oxidative free

radical에 의하여 살균효과를 나타내는 경우 사육수 내에 고농도의 유기물질이 이러한 free radical을 흡수하여 그 살균 효과를 매우 감소시킬 수 있다. 그러므로 본 실험에서는 인위적으로 해수에 BSA (Bovine Serum Albumin)를 첨가하여 사육수 내에 존재할 수 있는 유기물질이 어느 정도 CT의 효과를 감소시키는지를 분석한 결과에서 해수내에 유기물질이 존재한다면 병원성 미생물에 대한 CT의 직접적인 살균효과는 급격하게 감소하는 것으로 나타나 순환여과식 또는 부유물질이 많은 해수를 사용하는 양식현장에의 적용에는 보다 정밀한 CT에 대한 응용지식이 필요하다고 할 수 있다.

이러한 결과는 Casella 등(1998)이 formaldehyde를 소독제로서 *Bacillus subtilis*의 포자에 적용한 경우 *Staphylococcus aureus*에 대비하여 약 4배 농도가 필요하였고, 또 0.2%의 albumin 또는 1%의 mucin이 존재하는 경우에는 약 3배의 처리시간이 필요하다고 하는 결과와 유사한 경향을 나타내었는데, 실질적으로 CT의 경우 그 차이는 더욱 뚜렷한 것으로 추정된다. 흥미있는 것은 Spicher와 Peters(1998)의 결과에 의하면 ethanol, formaldehyde, m-cresol 등은 용액내의 유기물질 농도에 전혀 또는 비교적 적게 영향을 받으나, CT는 용액중에 혈액 등이 존재하면 없을 때의 경우에 대비하여 3.8배 이상의 농도가 있어야만 동일 효과를 나타낸다고 하여 각 소독제마다 그 작용기작 등의 차이에 의하여 특이적 성질이 있는 것으로 생각되어진다. 그러나 CT는 다른 유사한 특성을 갖고 있는 다른 소독제와 병용하여 사용하면 상승효과가 뚜렷하게 나타나며(Alasri, 1992), 온도의 변화에 의하여서도 그 살균효과가 민감하게 반응하는 것으로 보고되어져 있으므로(Schliesser and Wiest, 1979) 이에 대한 해산양식현장의 적용분석도 실시되어져야 할 것이다.

결론적으로 CT는 병원성 미생물에 대하여 뚜렷한 살균작용이 있어 포르밀린 등의 대체 소독제로서의 가능성을 보여 주었으나 algae에 대하여 또는 유기물이 많은 해수에서는 그 탁월성을 크게 감소하고 있으므로 적용온도의 적정화 또는 다른 소독제와의 겸용 등의 방법에 의하여 그 활용성을 계속적으로 분석해 나가야 할 것이다.

본 연구는 부경대학교 동원학술진흥재단의 1997년도 동원학술연구비의 지원에 의하여 수행되어졌습니다.

참고문헌

- Alasri, A., Roques, C., Michel, G., Cabassud, C. and Aptel, P.: Bactericidal properties of peracetic acid and hydrogen peroxide, alone and in combination, and chlorine and formaldehyde against bacterial water strains. *Can. J. Microbiol.*, 38(7): 635-642, 1992.
- Alderman, D. J.: Malachite green and alternatives as therapeutic agents. *Aquaculture and the Environment*, no. 16, pp. 235-244, Depauw, N. and Joyce, J. eds., 1992.
- Bullock, G., Herman, R., Heinen, J., Noble, A., Weber, A. and Hankins, J.: Observations on the occurrence of bacterial gill disease and amoeba gill infestation in rainbow trout cultured in a water recirculation system. *J. Aquat. Anim. Health.*, 6(4): 310-317, 1994.
- Carmichael, G. J. and Tomasso J. R.: Use of formalin to separate tadpoles from largemouth bass fingerlings after harvesting. *Prog. Fish. Cult.*, 45(2): 105-106, 1983.
- Casella, M. L. and Schmidt-Lorenz, W.: Disinfection with gaseous formaldehyde. Fifth part: Influence of albumin, mucin and blood on the bactericidal and sporicidal effectiveness. *Zentralbl. Hyg. Umweltmed.*, 189(1): 37-49, 1989(in German).
- From, J.: Chloramine-T for control of bacterial gill disease. *Prog. Fish Cult.*, 42(2): 85-86, 1980.
- Ghosh, T. K. and Konar, S. K.: Effects of formalin on aquatic ecosystem. *Environ. Ecol.*, 1(4): 273-276, 1983.
- Howe, G. E., Marking, L. L., Billis, T. D. and Schreier, T. M.: Efficacy and toxicity of formalin solutions containing paraformaldehyde for fish and egg treatments. *Prog. Fish Cult.*, 57(2): 147-152, 1995.
- Klinger, R. C. and Van Den Avyle, M. J.: Preservation of stripped bass eggs: Effects of formalin concentration, buffering, stain, and initial stage of development. *COPIA*, 4: 1114-1119, 1993.
- Meinertz, J. R., Schmidt, L. J., Stehly, G. R. and Ginderich, W. H.: Liquid chromatographic determination of para-toluenesulfonamide in edible fillet tissues from three species of fish. *J. AOAC. Int.*, 82(5): 1064-1070, 1999.
- Omeregie, E., Eswyin, T. G. and Ofojekwu, P. C.: Chronic effects of formalin on erythrocyte counts and plasma glucose on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Asian Fish Sci.*, 7(1): 1-6, 1994.
- Ostland, V. E., Byrne, P. J., Speare, D. J., Thorburn, M.

- A., Cook, A., Morrison, D. and Freguson, H. W.: Comparison of formalin and chloramine-T for control of a mixed gill infection(bacterial gill disease and ichthyobodiasis) in rainbow trout. J. Aquat. Anim. Health., 7(2): 118-123, 1995.
- Powell, M. D.: Chloramine-T and formalin chemoprophylaxis on rainbow trout fingerlings and Atlantic salmon smolt: Some preliminary findings, Proceedings for The-10th Annual Meeting of The Aquaculture Association Of Canada, no. 93-4, pp. 143-146, Pirquet, K. T. ed., 1993.
- Powell, M. D., Speare, D. J. and MacNair, N.: Effects of intermittent chloramine-T exposure on growth, serum biochemistry, and fin condition of juvenile rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*) Can. J. Fish. Aquat. Sci., 51(8): 128-1736, 1994.
- Product data of Functional Chemicals, pp. 1-4. Akzo Nobel Co. Ltd., Netherland, 1995.
- Reardon, I. S. and Harrel, R. M.: Acute toxicity of formalin and copper sulfate to stripped bass fingerlings held in varying salinities. Aquaculture, 87(3-4): 255-270, 1990.
- Salvesen, I. and Vadstein, O.: Surface disinfection of eggs from marine fish: Evaluation of four chemicals. Aquacult. Int., 3(3): 155-171, 1995.
- Schliesser, T. and Wiest, J. M.: About the temperature dependence of the bactericidal effect of some chemical disinfectants. Zentralbl. Bakteriol., 169(5-6): 560-566, 1979.(in German).
- Spicher G. and Peters J.: Effect on the microbicidal efficacy of formaldehyde, glutardialdehyde, peracetic acid, chloramine T(N-chloro-4-toluenesulfonamide), m-cresol, ethanol and benzylidemethyldodecacylammonium bromide by blood. Zentralbl. Hyg. Umweltmed., 200(5-6): 465-477, 1998(in German).
- Subasinghe, R. P. and Yusoff, F. M.: Retention of formaldehyde in the tissues of two tropical fish species following exposure to therapeutic levels. Aquacult. Fish. Manage., 24(6): 693-697, 1993.
- Takizawa, K., Fuzita, Y., Ogushi, Y. and Matsumoto, S.: Relative change in body length and weight in several fish larvae due to formalin fixation and preservation. Fish. Sci., 60(4): 355-359, 1994.
- Xu, Dehai, and Rogers, W. I.: Formaldehyde residue in stripped bass muscle. J. Aquat. Anim. Health., 5(4): 306-312, 1993.

Toxicity of Chloramine-T on the Flounder, *Paralichthys olivaceus*, and Bactericidal Activity Against Fish Pathogenic Bacteria and Blue Green Algae, *Tetraselmis suecica*.

Eun A Hwang* and Hyun Do Jeong

Department of Aquatic Life Medicine, College of Fisheries Sciences,
Pukyong National University, Pusan 608-737

*Sea Food & Marine Bioresources Development Center,
Pukyong National University, Pusan 608-737

CT(Sodium N-chloro-para toluenesulfonamide, Chloramine-T) known to be a strong oxidative agent was investigated to use as a candidate of disinfectant in the marine aquaculture industry by the analysis of the bactericidal activity against different aquatic microorganisms. One hundred percent mortality appeared at and above 16 ppm CT in sea water in flounder, the predominant species in the marine aquaculture of Korea, when exposed for 48hr. However, bactericidal activity was appeared to be very effective, and all different species of the fish pathogenic bacteria exposed to CT of less than 2 ppm in sea water were dead within 15 min. It allowed us to confirm that CT could be a very effective disinfectant to protect the spread of fish pathogenic bacteria derived from diseased fish or sea water in marine aquaculture. High concentration(10 ppm) with longer exposing time(24 hrs) was required for the algicidal activity of CT, at which concentration might induce the acute toxicity against fish, however, restricted the expanded use of CT for the elimination of zooplanktons or phytoplanktons in marine farms. Moreover the bactericidal activity of CT inhibited almost completely in the present of more than 10 ppm of organic materials pointed out that quality of the culturing sea water should be considered carefully for the application CT to the aquatic farms as a therapeutic agent.

Key words : CT(Sodium N-chloro-para toluenesulfonamide, Chloramine-T), Bactericidal activity, Acute toxicity, Algicidal activity, Organic materials, Flounder