

氨及亞硝酸對金目鱸 *Lates calcarifer* 稚魚之急性毒研究

摘要

本研究係以不同濃度的氨及亞硝酸測試彼等對金目鱸稚魚之 24、48、72 及 96 小時半致死濃度 (Median lethal concentration, LC_{50})。非解離態氨-氮 (un-ionized ammonia-N) 對金目鱸稚魚 (5.23 ± 0.33 公克) 之 24、48、72 及 96 小時的 LC_{50} 分別為 1.95、1.59、1.50 及 1.49 mg/l (水溫 24.7-26.4°C、鹽度 32.1-33.0‰、pH 值 7.8-8.3)，而總氨-氮 (ammonia-N) 則分別為 36.61、29.81、28.18 及 28.08 mg/l。亞硝酸-氮 (nitrite-N) 對金目鱸稚魚 (5.86 ± 0.17 公克) 之 24、48、72 及 96 小時的 LC_{50} 分別為 188.0、141.6、87.8 及 62.8 mg/l (水溫 27.2-28.0°C、鹽度 32.8-33.7‰、pH 值 7.9-8.2)。非解離態氨-氮、總氨-氮及亞硝酸-氮之安全值分別為 0.15、2.81 及 6.3 mg/l。

關鍵詞：氨，亞硝酸，金目鱸，急毒性

飼育水中氨的來源是水產動物將蛋白質代謝後的產物，或由細菌分解含氮物質時所產生的⁽¹⁾。在水中氨以未解離態氨 (NH_3) 和解離態氨 (NH_4^+) 兩種型式存在，而其中以 NH_3 對魚類毒性較強⁽²⁾。水中 NH_3 之濃度與水溫及 pH 有關⁽³⁾，一般魚在 0.47~1.55 mg/l 氨-氮 (NH_3 -N) 之水中就會產生中毒現象⁽⁴⁾。氨在水中經過水生細菌 *Nitrosomonas* 之硝化作用可轉變成亞硝酸，其毒性也相當強⁽⁵⁾，如亞硝酸之濃度為 0.5 mg/l 時，對於某些冷水性魚類即具有毒性⁽⁶⁾。亞硝酸繼續經水生細菌 *Nitrobacter* 之硝化作用可轉變成硝酸⁽¹⁾，硝酸毒性較低，在相當高的濃度下才會對魚產生不良影響⁽⁷⁾。

有關氨及亞硝酸對於淡水魚類之毒性的相關研究報告相當多⁽⁸⁻¹²⁾，然而海水魚類之資料則較缺乏，因此本試驗即選定南台灣常見的養殖魚類—金目鱸，進行氨及亞硝酸之急性毒研究，以估算其安全濃度，做為金目鱸飼育之基礎資料。

材料與方法

金目鱸的稚魚係購自屏東繁殖場，飼育海水經過濾及殺菌處理，飼育期間鹽度及水溫分別控制在 32 ± 1 ‰ 及 26 ± 1 °C。試驗魚隻投予福壽牌鱸魚人工飼料 (蛋白質含量 35%)，每日投餌量為 6%，並且每 2 日換水 1 次，按水量為二分之一，馴養 3 週後進行實驗。

急性毒試驗使用的氨及亞硝酸測試液分別由氯化氨 (NH_4Cl , Merck) 及亞硝酸鈉 ($NaNO_2$, Merck) 配製而成。取乾燥之氯化氨 19.095 公克溶於海水中，定容至 1 公升，為總氨-氮 (Total ammonia-N) 5,000 mg/l，當做試驗用之原液。試驗時，再將原液以海水稀釋為 8 個濃度，理論濃度設定為 6.0、12.0、20.0、28.0、32.0、38.0、42.0 及 55.0 mg/l 等 8 個總氨-氮濃度，而實際濃度為 6.50、11.64、21.53、28.29、32.62、38.42、42.07 及 56.65 mg/l，換算成未解離態氨-氮之濃度分別為 0.35、0.62、1.15、1.51、1.74、2.04、2.24 及 3.01 mg/l，未解離態氨-氮之換算方式係依據 Bower 與 Bidwell⁽¹³⁾ 所使用的方法。

將乾燥之亞硝酸鈉 98.60 公克溶於海水中，定容至 1 公升，為亞硝酸-氮 20,000 mg/l，當做試驗用之原液。試驗時，再將原液以海水稀釋成 30、50、100、150 及 200 mg/l 等 5 個理論濃度，而實際濃度則為

30.56、52.34、101.41、146.05 及 202.94 mg/l。

本急性毒試驗採用止水式生物分析法 (Static bioassay method), 使用 50 公升容量的飼育缸, 將海水 (對照組) 及配製好各濃度的氨-氮或亞硝酸-氮試液各 40 公升加入缸內, 將金目鱸的稚魚由飼育槽中隨機取 20 尾, 經測量體重及體長後放至各缸, 每組 2 重覆。在氨-氮測試組之稚魚平均體重及體長分別為 5.23 ± 0.33 公克及 7.41 ± 0.19 公分, 在亞硝酸-氮測試組之稚魚平均體重及體長分別為 5.86 ± 0.17 公克及 7.79 ± 0.10 公分。試驗期間 4 天 (96 小時), 每 24 小時更換全部試驗用水, 並投餵 6% 的鱸魚人工商業飼料 (蛋白質含量 35%), 每 24 小時觀察記錄稚魚攝食情形及死亡尾數, 死亡魚之認定係以玻璃棒觸動魚體仍沒有反應者。試驗期間每日測定水溫、溶氧、鹽度、pH 值、總氨-氮及亞硝酸-氮等。

氨-氮急性毒試驗期間, 溶氧量、水溫及鹽度分別維持在 8.03~8.80 mg/l、24.7~26.4°C 及

32.1~33.0‰, 而 pH 值為 7.8~8.3。亞硝酸-氮急性毒試驗期間, 溶氧量、水溫及鹽度分別維持在 8.13~8.51 mg/l、27.2~28.0°C 及 32.8~33.7‰, 而 pH 值為 7.9~8.2。

氨-氮及亞硝酸-氮對金目鱸的稚魚之半致死濃度 (Median lethal concentration, LC_{50}) 及 95% 之信賴區間 (95% Confidence limits) 之計算係依 Finney (1971)⁽¹⁴⁾ 原理設計之電腦程式進行⁽¹⁵⁾。

結果與討論

金目鱸在不同濃度未解離態氨-氮及總氨-氮的死亡情形如 Table 1, 試驗期間對照組之魚隻均未發生死亡的情形。未解離態氨-氮濃度在 2.04 mg/l 以上之試驗組在 24 小時即有 50% 以上的死亡率, 中毒之金目鱸體色變黑, 瀕臨死亡時魚隻垂死動作激烈, 頻頻衝撞缸壁, 死亡者口部及鰓蓋大都會張開, 鰓耙呈現鮮紅色。

Table 1. Percent mortality of giant sea perch *Lates calcarifer* exposed to different concentrations of un-ionized ammonia-N and total ammonia-N after various time intervals.

Time elapsed (h)	NH_3 -N (mg/l)							
	(Total ammonia-N, mg/l)							
	0.35 (6.50)	0.62 (11.64)	1.15 (21.53)	1.51 (28.29)	1.74 (32.62)	2.04 (38.42)	2.24 (42.07)	3.01 (56.65)
	Mortality (%)							
24	0	2.5	5.0	10.0	17.5	62.5	80.0	100.0
48	2.5	5.0	7.5	22.5	30.0	90.0	100.0	100.0
72	2.5	5.0	7.5	30.0	40.0	100.0	100.0	100.0
96	2.5	5.0	7.5	32.5	42.5	100.0	100.0	100.0

將各未解離態氨-氮及氨-氮濃度與魚死亡數以電腦程式計算出 24、48、72 及 96 小時之半致死濃度及其 95% 信賴區間 (括弧內), 未解離態氨-氮分別為 1.95 (1.79, 2.12)、1.59 (1.51, 1.67)、1.50 (1.44, 1.57) 及 1.49 (1.43, 1.56) mg/l, 而總氨-氮則分別為 36.61 (33.62, 39.85)、29.81 (28.37, 31.32)、28.18 (26.98, 29.44) 及 28.08 (26.88, 29.33)

mg/l (Fig. 1)。死亡率對機數值 (Probit of mortality) 與未解離態氨-氮濃度之關係式則列於 Table 2。

未解離態氨-氮對紅鼓魚 (Red drum *Sciaenops ocellatus*)⁽¹⁶⁾、狼鱸 (Sunshine bass, 金眼狼鱸 × 條紋狼鱸, *Morone chrysops* × *M. saxatilis*)⁽¹⁷⁾ 之 24 及 96 小時之 LC_{50} 分別為 0.9 及 0.7 mg/l, 遠低於金目鱸 (分別為 1.95 及 1.49 mg/l), 可見該二種魚對於氨-氮之

耐受性較金目鱸差。而舌齒鱸 (Sea bass *Dicentrarchus labrax*)⁽¹⁸⁾、金頭鯛 (Sea bream *Sparus aurata*)⁽¹⁸⁾、大菱鯃 (Turbot *Scophthalmus maximus*)⁽¹⁹⁾及雲紋犬牙石首魚 (Spotted seatrout *Cynoscion nebulosus*)⁽²⁰⁾ 其 96 小時之 LC_{50} 分別為 2.73、1.79、3.32 及 1.72 mg/l，均高於金目鱸之 1.49 mg/l，表示上述四種魚類其對氨－氮

之耐受性高於金目鱸。然而，體型較小的金頭鯛 (0.4-3.2 公克，前者為 5.9 ± 0.7 公克⁽¹⁸⁾) 對氨－氮之耐受性明顯較低 (96 小時之 LC_{50} 為 1.27 mg/l)⁽²¹⁾。Sprague⁽²²⁾ 建議由魚類毒性試驗之 LC_{50} 數值乘上 0.1，可作為飼育管理之安全濃度，因此，金目鱸飼育期間，未解離態氨－氮之安全值估算為 0.15 mg/l。

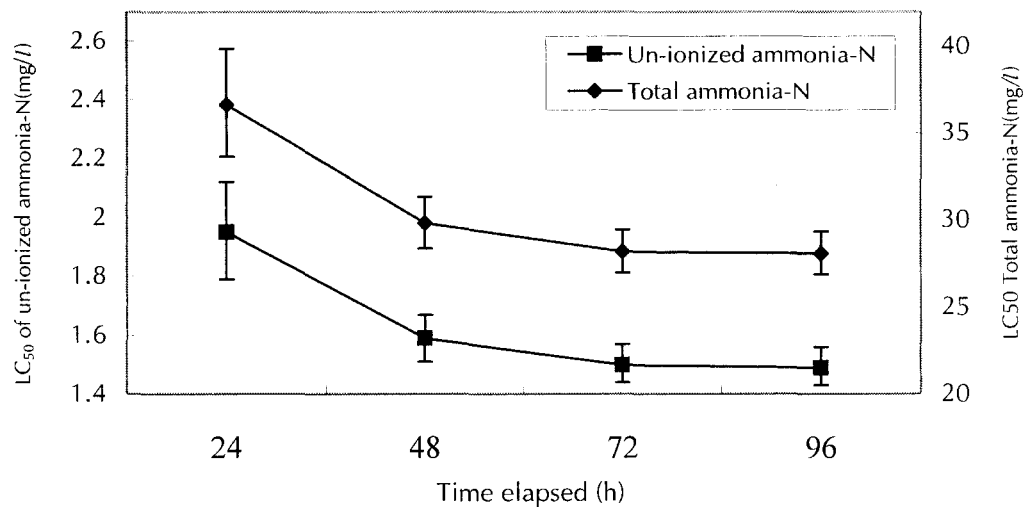


Fig. 1. LC_{50} (median lethal concentration) and their 95% confidence limits of total ammonia-N and un-ionized ammonia-N on the juveniles of giant sea perch *Lates calcarifer*.

Table 2. Relationship between probit of mortality (Y) and log NH_3 -N concentration (X) at various exposure times on the juveniles of giant sea perch *Lates calcarifer*.

Time elapsed (h)	$Y = a + bX$	N	r^2	Chi-square
24	$Y = -6.186 + 8.675X$	5	0.790	4.683
48	$Y = -13.363 + 15.299X$	5	0.842	26.112
72	$Y = -16.911 + 18.633X$	5	0.887	53.193
96	$Y = -16.821 + 18.582X$	5	0.902	50.124

^a Coefficient of correlation.

在亞硝酸－氮急性毒試驗期間對照組之魚均未有死亡。金目鱸在不同濃度之亞硝酸－氮之死亡情形如 Table 3，中毒之金目鱸鰓耙均呈暗紅色。

將各亞硝酸－氮濃度與魚死亡數以電腦程式計算

出 24、48、72 及 96 小時之半致死濃度及其 95% 之信賴區間分別為 188.0 (166.8, 211.9)、141.6 (117.7, 170.4)、87.8 (73.4, 105.0) 及 62.8 (54.3, 72.6) mg/l (Fig. 2)，死亡率對機數值與亞硝酸－氮濃度之關係式則列於 Table 4。

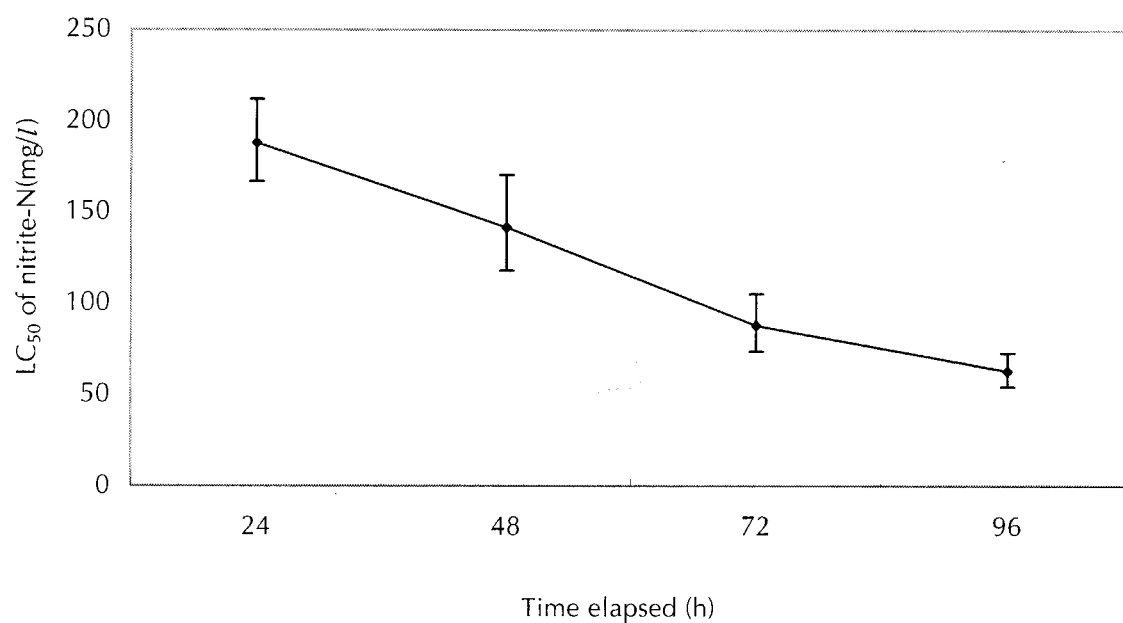


Fig. 2. LC₅₀ and their 95% confidence limits of nitrite-N on the juveniles of giant sea perch *Lates calcarifer*.

Table 3. Percent mortality of giant sea perch *Lates calcarifer* exposed to different concentrations of nitrite-N after various time intervals.

Time elapsed (h)	Nitrite-N (mg/l)				
	30.56	52.34	101.41	146.05	202.94
	Mortality(%)				
24	0	0	0	45.0	67.5
48	5.0	0	17.5	65.0	85.0
72	12.5	2.5	52.5	82.5	97.5
96	15.0	15.0	75.0	95.0	100.0

Table 4. Relationship between probit of mortality (Y) and log nitrite-N concentration (X) at various exposure times on the juveniles of giant sea perch *Lates calcarifer*.

Time elapsed (h)	$Y = a + bX$	N	r^2	Chi-square
24	$Y = -11.345 + 7.187X$	4	0.784	7.679
48	$Y = -4.123 + 4.241X$	5	0.791	38.436
72	$Y = -3.250 + 4.245X$	5	0.885	11.766
96	$Y = -4.742 + 5.418X$	5	0.921	11.381

^a Coefficient of correlation.

俟該急性毒試驗結束後，將 30.56、52.34、101.41 及 146.05 mg/l 等 4 組亞硝酸-氮的未死之魚隻移入乾淨的海水飼養，第 1 及 2 組魚隻健康情形有改善且會攝食，但第 3 及 4 組情況逐漸惡化而死亡。

亞硝酸-氮對紅鼓魚的 48 小時之 LC_{50} 為 85.7 mg/l⁽²³⁾，低於本試驗之金目鱸 (141.6 mg/l)，可見紅鼓魚對亞硝酸-氮之耐受性較金目鱸差，而舌齒鱸 (Sea bass *Dicentrarchus labrax*)⁽²⁴⁾、歐洲鰻 (European eel *Anguilla anguilla*)⁽²⁴⁾ 及狼鱸⁽¹⁷⁾ 之 96 小時 LC_{50} 分別為 154、1140、及 >100 mg/l。雲紋犬牙石首魚⁽²⁰⁾ 及虱目魚 (Milk fish *Channos channos*)⁽²⁵⁾ 其 24 小時及 48 小時之 LC_{50} 分別為 980 及 675 mg/l，以上數值均高於金目鱸者，表示金目鱸對亞硝酸-氮之耐受性比上述 5 種魚類差。金目鱸飼育期間的亞硝酸-氮之安全值建議為 6.3 mg/l。

參考文獻

1. Russo, R. C. (1985) Ammonia, nitrite, and nitrate. In Fundamentals of Aquatic Toxicology (G. M. Rand and S. R. Petrocelli eds.). Hemisphere, New York, 455-471.
2. Milne, M. D., B. H. Scribner and M. A. Crawford (1958) Non-ionic diffusion and excretion of weak acids and bases. Am. J. Med., **24** : 709-729.
3. Emmerson, K., R. C. Russo, R. E. Lund and R. V. Thurston (1975) Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. J. Fish. Res. Bd. Can., **32**(12): 2379-2383.
4. Merkens, J. C. and K. M. Downing (1957) The effect of tension of dissolved oxygen on the toxicity of un-ionized ammonia to several species of fish. Ann. Appl. Biol., **45**: 521-527.
5. Russo, R. C. and R. V. Thurston (1977) The acute toxicity of nitrite to fishes. In Recent Advances in Fish Toxicology (R. A. Tubb ed.) . EPA Ecol. Res. Ser. EPA - 600/3-77-085. U.S. Environmental Protection Agency, Corvallis, OR., 118-131.
6. Crawford, R. E. and G. H. Allen (1977) Seawater inhibition of nitrite toxicity to chinook salmon. Trans. Am. Fish. Soc., **106**(1): 105-109.
7. Meade, T. L. (1974) The technology of closed system culture of salmonids. National Oceanographic and Atmospheric Administration. Sea Grant. Marine Technical Report 30. University of Rhode Island, Providence, Rhode Island, USA.
8. Haywood, G. P. (1983) Ammonia toxicity in teleost fishes: a review. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci., **1177**: 1-35.
9. Meade, J. W. (1985) Allowable ammonia for fish culture. Prog. Fish Cult., **47**: 135-145.
10. 蔡添財, 簡肇衡, 余廷基 (1982) 硫化物及氨鹽對鰻魚, 吳郭魚之急性毒性. Bull. Taiwan Fish. Res. Inst., **34**: 259-264.
11. Tomasso, J. R. (1986) Comparative toxicity of nitrite to freshwater fishes. Aquat. Toxicol., **8**: 129-137.
12. Lewis, W. M. Jr. and D. P. Morris (1986) Toxicity of nitrite to fish: a review. Trans. Am. Fish. Soc., **115**: 183-195.

13. Bower C. E. and J. P. Bidwell (1978) Ionization of ammonia in seawater : effects of temperature, pH and salinity. J. Fish. Res. Bd. Can., **35** : 1012-1016.
14. Finney, D. J (1971) Probit Analysis. Cambridge University Press, London, 333 pp.
15. Trevors, J. V and C. W. Lusty (1985) A basic microcomputer program for calculating LD₅₀ value. Wat. Air Soil Pollut., **24**: 431-442.
16. Wise, D. J. , C. R. Weirich and J. R. Tomasso (1989) Toxicity of ammonia to red drum *Sciaenops ocellatus* fingerlings with information on uptake and depuration. J. World Aquacult. Soc., **20**(4) : 188-192.
17. Weirich, C. R., J. R. Tomasso and T. I. J. Smith (1993) Toxicity of ammonia and nitrite to sunshine bass in selected environments. J. Aquat. Animal Health, **5**: 64-72.
18. Person-Le Ruyet J., H. Chartois, and L. Quemener (1995) Comparative acute ammonia toxicity in marine fish and plasma ammonia response. Aquaculture, **136**: 181-194.
19. Person-Le Ruyet J., H. Chartois, E. Desbruyeres and J. L. Thomas (1994) Ammonia acute toxicity in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. European Aquaculture Society, Spec. Publ., **22**: 283-291.
20. Daniels, H. V and C. E. Boyd (1987) Acute toxicity of ammonia and nitrite to spotted seatrout. Prog. Fish Cult., **49**: 260-263.
21. Wajsbrodt, N., A. Gasith, M. D. Krom and D. M. Popper (1991) Acute toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* under reduced oxygen levels. Aquaculture, **92**: 277-288.
22. Sprague, J. B. (1971) Measurement of pollutant toxicity to fish. III. Sublethal effects and "safe" concentrations. Water Res., **5**: 245-266.
23. Wise, D. J. and J. R. Tomasso (1989) Acute toxicity of nitrite to red drum *Sciaenops ocellatus*: effect of salinity. J. World Aquacult. Soc., **20**(4): 193-198.
24. Saroglia, M. G., G. Scarano and E. Tibaldi (1981) Acute toxicity of nitrite to sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and European eel (*Anguilla anguilla*). J. World Maricul. Soc., **12**(2): 121-126.
25. Almendras, J. M. E. (1987) Acute nitrite toxicity and methemoglobinemia in juvenile milkfish (*Chanos chanos* Forsskal). Aquaculture, **61**: 33-40.

Mei-Ying Huang, Hui-Wen Hsu and Wen-Yu Liu
Department of Aquaculture, Taiwan Fisheries Research Institute,
199 Hou-lh Rd., Keelung 202, Taiwan.
(Accepted 17 May 1999)



Acute Toxicity of Ammonia and Nitrite to the Giant Sea perch *Lates calcarifer* Juveniles

Abstract

Two groups of giant sea perch *Lates calcarifer* juveniles with average body weight of 5.23 ± 0.33 g and 5.86 ± 0.17 g were exposed to different concentrations of ammonia and nitrite, respectively, by a static renewal method. The 24, 48, 72 and 96h LC_{50} (median lethal concentration) was 1.95, 1.59, 1.50 and 1.49 mg/l for NH_3 - N (un-ionized ammonia as nitrogen) and 36.61, 29.81, 28.18 and 28.08 mg/l for ammonia-N (un-ionized plus ionized ammonia as nitrogen), respectively, in 32.1-33.0‰, pH 7.8 - 8.3 and 24.7 - 26.4°C. The 24, 48, 72 and 96h LC_{50} of nitrite - N was 188.0, 141.6, 87.8 and 62.8 mg/l, respectively, in 32.8 - 33.7‰, pH 7.9 - 8.2 and 27.2-28.0°C. The safe value of NH_3 - N, ammonia - N and nitrite - N was 0.15, 2.81 and 6.3 mg/l, respectively.

Key words: Ammonia, Nitrite, Giant sea perch, Acute toxicity