



포르말린 약욕에 따른 담·해수어류의 병리조직학적 변화 및 근육 내 잔류량 측정

우수지 · 이상환 · 정준기*
(부경대학교)

Determination of Formalin Residue in Muscle and Observation of Histopathological Changes in Freshwater and Marine Fish Treated with Formalin Bath

Soo-Ji WOO · Sang-Hwan LEE · Joon-Ki CHUNG†

(Department of Aquatic Life of Medicine, Pukyong National University)

Abstract

Determination of formalin residue in muscle and observation of histopathological changes were accomplished in cultured marine fish such as *Paralichthys olivaceus* (85±4.5 g), *Sebastes schlegeli* (142± 5.6 g), *Oplegnathus fasciatus* (35± 2.8 g) and freshwater fish such as *Misgurnus mizolepis* (18±1.1 g), *Anguilla japonica* (90±4.2 g), *Silurus asotus* (32±3.2 g) after bath treatment of formalin (37% formaldehyde) at 0, 250, 500 and 750 ppm for 1h. In the groups treated with 750ppm formalin, the highest formaldehyde concentration in the muscle were 1.7±0.2 µg/g for *Paralichthys olivaceus*, 1.6±0.1 µg/g for *Sebastes schlegeli*, 1.8±0.2 µg/g for *Oplegnathus fasciatus* after 6h, 1.12±0.06 µg/g for *Misgurnus mizolepis*, 1.25±0.12µg/g for *Anguilla japonica* after 1h and 1.52±0.2 µg/g for *Silurus asotus* after 3h. Although *Misgurnus mizolepis* died in 750ppm formalin within 1h, formaldehyde residue in the muscle treated with formalin were similar to control tissue after 48h. And there were no significant histopathological changes and no mortality after 48h in formalin exposure in other species. These findings indicated that exposure to formalin till 500 ppm for 1h is sufficient to meet food safety for treatment of parasite disease

Key words : Formalin bath, Histopathological effects, Formalin residue, Formaldehyde

I. 서론

최근 인공종묘생산과 양성 기술개발로 인해 국내 양식어업의 급속한 성장이 이루어졌다. 하지만 수질악화와 수산생물질병 발생으로 어류 면역력 감소, 대량폐사 등이 양식업의 주요한 문제로 대두되고 있다. 그 중 양식어류에 발생하는 기생

충성 질병을 치료하기 위해 포르말린이 효과적인 구충제로 널리 사용되고 있다. 포르말린은 37% 포르말알데하이드를 함유한 수용액으로 중합반응으로 인한 파라포르말알데하이드 형성을 낮추기 위해 10-15% 메탄올을 첨가한 것을 어류에 사용한다. 포르말린은 미국, 호주, 캐나다, 유럽 등에서 수산용의약품으로 허가되어, 양식장에서 발생하는

† Corresponding author : 051-629-5940, jkchung@pknu.ac.kr

* 이 논문은 농림수산식품부의 수산실용화기술개발 연구비(107109-2)에 의하여 연구되었음.

외부 기생충성 질병 및 곰팡이성 질병에 대하여 치료약제로 사용되고 있다(Schnick, 1991; Rach *et al.*, 1997). 특히, 미국에서는 식품의약품청(Food and Drug Administration, FDA)의 승인에 의해 포르말린이 동물용 신약(New Animal Drug Application, NADA)으로써 Parasite-S(NADA 140-989), Parasite-F(NADA 140-831), Formalin-F(NADA 137-687) 등의 제품으로 상용화되어 전 양식어종에 대하여 원충류(*Chilodonella spp.*, *Costia spp.*, *Epistylus spp.*, *Ichthyophthius spp.*, *Scyphidia spp.*, *Trichodina spp.*) 및 단생흡충류(*Cleidodiscus spp.*, *Dactylogyrus spp.*, *Gyrodactylus spp.*)의 구충제 및 연어과 어류의 난에 대한 곰팡이(Saprolegniaceae) 감염 치료제로 사용되고 있다(Jung *et al.*, 2001). 국내에서도 포르말린은 2006년 수산용의약품으로 승인되었으나, 넙치에서 발생하는 외부기생성 원충류(*Ichthyobodo sp.*, Scuticociliatida)와 무지개 송어 및 연어의 난에 감염하는 수생균(*Sprolegnia spp.*)에만 사용하도록 명시되어 있어 사용대상 어종이 매우 제한적이다.

국외 연구에서 포르말린은 농어 및 복숭에 감염된 갈리구스충(*Caligus sp.*), 넙치에 감염된 트리코디나충(*Trichodina sp.*) 및 yellowtail kingfish에 감염된 베네데네아충(*Benedenia seriolae*)에 대해서도 구제 효과가 있음을 보고하였다(Dayanadol & Grajaaywong, 1996; Sharp *et al.*, 2004; Seo *et al.*, 2010). 또한 양식 뱀장어의 *Pseudocactylogyrus* 속 아가미흡충(Møllergaard & Dalsgaard, 1987) 및 새우의 *Peritrichous ciliates* (Bell *et al.*, 1987) 구제를 위한 포르말린에 대한 연구도 지속적으로 이루어지고 있다.

그러나 국내의 경우 넙치(Jung & Kim, 2005), 감성돔(Myeong *et al.*, 2013), 뱀장어(Jung *et al.*, 2010) 등 부분적인 자료를 제외하면 다른 선행연구가 없어서 기생충 구충제로 탁월한 효과를 지닌 포르말린을 다양한 양식어종에 적용하지 못하고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 국내 대표 해수 양식어

종인 넙치, 조피볼락, 돔류 및 담수 양식어종인 미꾸라지, 뱀장어, 메기에 대한 포르말린의 대상동물 안전성 조사를 통해 기생충 및 곰팡이류 구제제로서의 확대 사용에 필요한 정보를 제공하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험어

가) 해수 양식어종

해수 양식어종은 통영의 한 양식장에서 평균 체중 85±4.5 g의 넙치(*Paralichthys olivaceus*), 142± 5.6 g의 조피볼락(*Sebastes schlegeli*), 35± 2.8 g의 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*)을 분양받아, 건강한 개체를 선별해 실험구별 12미씩 수용하고 사육 수온은 22±1℃로 2주간 순치과정을 설정하였다.

나) 담수 양식어종

담수 양식어종은 전북의 한 양식장에서 평균 체중 18±1.1 g의 미꾸라지(*Misgurnus mizolepis*), 90±4.2 g의 뱀장어(*Anguilla japonica*), 32±3.2 g의 메기(*Silurus asotus*)를 분양받아, 건강한 개체를 선별해 실험구별 12마리씩 수용하고 사육 수온은 각각 20±1℃, 28±1℃, 26±1℃로 2주간 순치과정을 설정하였다.

2. 약제 투여 및 시료 채취

37% formaldehyde(Junsei, Japan)를 100% 포르말린 원액으로 설정해 실험구별 농도를 결정하였다. 0.1톤 PVP수조에 포르말린 농도 0, 250, 500, 750 ppm이 되도록 포르말린 원액을 첨가해 각 농도에서 1일 1시간 약욕시켰다. 약욕 후 1, 3, 6, 12, 24 및 48 시간까지 실험구별 10마리씩 채집한 뒤 근육 및 간 조직을 절취해 포르말린의 대상동물 안정성을 조사하였다.

3. 폐사율

포르말린 약욕 후 1, 3, 6, 12, 24, 및 48시간째에 폐사 개체를 각각 조사하였다. 폐사확인 은 유영상태, 가슴지느러미의 운동, 아가미와 입의 움직임 등으로 확인하였다.

4. 포르말린 잔류량 측정

포르말린 잔류량 측정은 「어류 체내 잔류물질 검사법」의 포르말린 검출법에 의해 실시하였다. 분석시료에 황산아연(Zinc sulphate)을 첨가하여 호모게나이저로 균질화 한 뒤 추출액에 대해 AHMT(4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole) 정색반응을 실시한다.

시료 및 전처리 과정은 근육 조직 10g을 10ml 0.5N NaOH와 10ml 12% ZnSO₄ · 7H₂O 를 첨가해 균질화시킨 후 30분간 실온에서 정치한다. 8,000rpm 5분간 원심분리한 후 상층액을 여과지로 여과시킨 뒤 증류수 40ml을 첨가 혼합해 8,000rpm 5분간 원심분리한다. Elution 100ml을 정량하여 0.5N HCl 1.6ml을 첨가 혼합한다. 이 중 2ml를 취하여 5N KOH 2ml 과 0.5% AHMT 2ml을 첨가 혼합한 뒤 20분간 실온에서 정치한다. 0.75% KIO₄ 2ml을 첨가한 후, 550nm에서 흡광도 수치를 측정 한 뒤 검량선과 비교하여 포르말린의 잔류량을 환산하였다.

5. 병리조직학적 검사

실험구별 어종을 MS-222(Sigma, USA)로 마취시킨 뒤 간 조직을 절취해 Bouin 고정액에 전 고정을 하고, 24시간 뒤에 후 고정을 하였다. 2차 고정이 완료된 후 수세하고, 70%에서 100% 농도로 Alcohol에서 탈수를 실시하였다. Zylene을 이용하여 투명한 다음 파라핀에 친화시키고, 파라핀 포매 후 microtome(Reicher-Jung 820, Leica)를 사용하여, 약 4-5 μm의 조직절편을 만들었다. 이후 Mayer hematoxylin & eosin(H&E) 법으로 염

색하고 광학현미경으로 관찰하였다.

6. 유의성 검정

실험 분석 결과에 대한 통계학적 유의성은 SPSS 통계 프로그램(SPSS Inc.)을 이용하여 ANOVA test를 실시했다. 사후검정은 Duncan's multiple range test를 통해 각 실험구 사이의 유의적 차이($p < 0.05$)를 검정하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 폐사율

포르말린 0, 250, 500 및 750ppm 농도에 1일 1시간 약욕시킨 후 시간에 따른 해수어종과 담수어종 폐사는 발생하지 않았으나 미꾸라지의 경우 포르말린 750ppm 농도에 노출 시, 약욕기간 동안 뒤집힘 현상이 나타났으며 약욕 후 1시간 이내에 모두 폐사하였다.

2. 근육 내 포르말린 잔류량

1) 해수 양식어종

포르말린 0, 250, 500 및 750 ppm 농도에 해수어종을 1일 1시간 약욕시킨 후 시간 경과에 따른 어종 별 근육에서의 포르말린 잔류량 변화를 [Fig. 1]에 나타내었다.

넙치의 경우([Fig. 1(A)]) 최대 잔류량은 포르말린 750ppm 농도에 약욕 후 6시간째 1.7±0.2 μg/g 이며 이후 24시간째부터 48시간까지 0.6 ±0.1 μg/g 로 잔류량이 대조구와 유사함을 보였다. 포르말린 250ppm 및 500ppm 구간에서도 각각 1.1±0.1, 1.3 ±0.1 μg/g 로 6시간째 가장 높은 잔류량을 나타냈다($p < 0.05$).

조피볼락의 경우([Fig. 1(B)]) 최대 잔류량은 포르말린 750ppm 농도에 약욕 후 6시간째 1.6±0.1 μg/g 이며 이후 24시간째부터 48시간까지 0.7 ±0.1 μg/g 로 잔류량이 대조구와 유사함을 보였

다. 250ppm 및 500ppm 농도 구간에서도 각각 0.9 ± 0.1 , $1.3 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$ 로 6시간째 가장 높은 잔류량을 나타냈다($p < 0.05$).

돌돔의 경우([Fig. 1(C)]) 최대 잔류량은 포르말린 750ppm 농도에 약욕 후 6시간째 $1.8 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ 이며 이후 24시간째부터 48시간까지 $0.6 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$ 로 잔류량이 대조구와 유사함을 보였다. 또한 250ppm 및 500ppm 농도 구간에서도 각각 1.1 ± 0.1 , $1.4 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$ 로 6시간째 가장 높은 잔류량을 나타냈다($p < 0.05$).

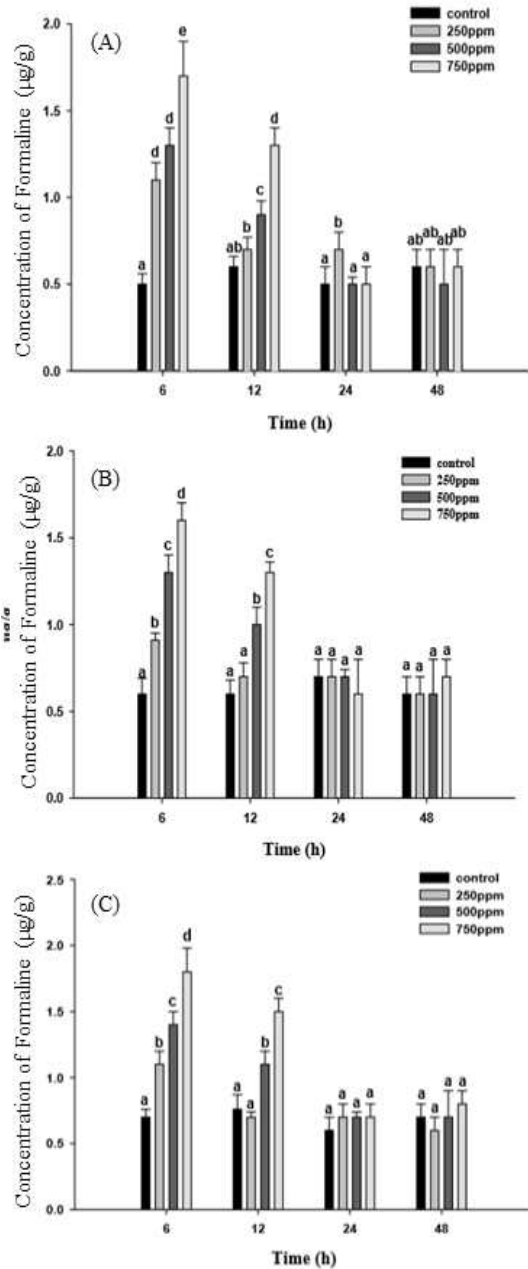
2) 담수 양식어종

포르말린 0, 250, 500 및 750 ppm 농도에 담수 어종을 1일 1시간 약욕시킨 후 시간 경과에 따른 어종 별 근육에서의 포르말린 잔류량 변화를 [Fig. 2] 에 나타내었다.

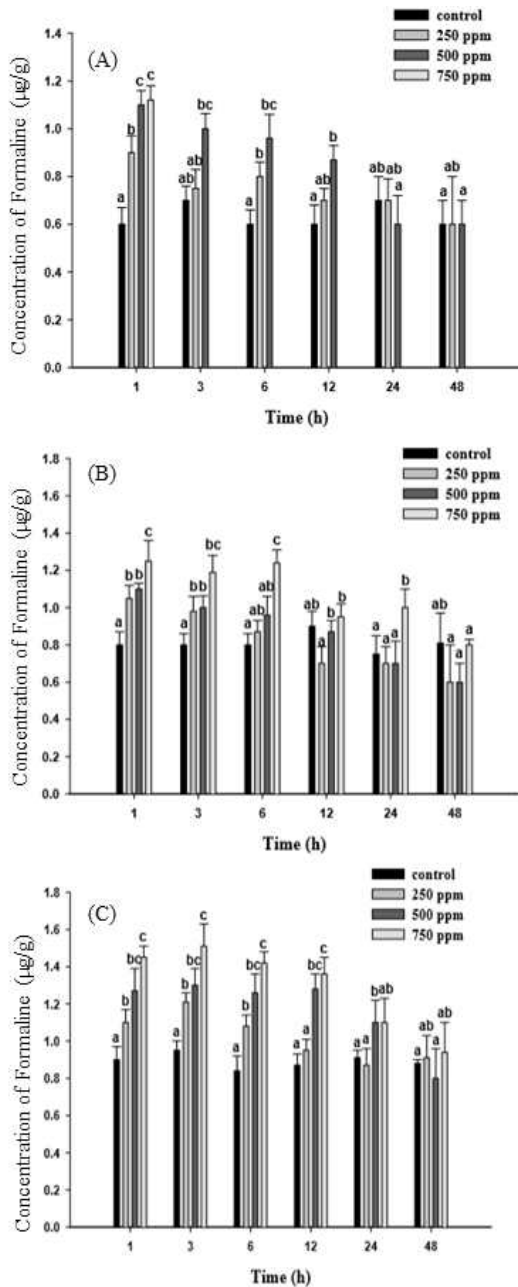
미꾸라지의 경우([Fig. 2(A)]) 최대 잔류량은 포르말린 750ppm 농도에 약욕 후 1시간째 $1.12 \pm 0.06 \mu\text{g/g}$ 이었으나, 약욕 후 1시간 이내에 폐사하였다. 포르말린 250ppm 및 500ppm 구간에서는 각각 0.95 ± 0.03 , $1.1 \pm 0.02 \mu\text{g/g}$ 로 1시간째 가장 높은 잔류량을 나타냈으며 이후 12시간째부터 48시간까지 급격한 약물 감소가 나타나 대조구와 유사함을 보였다($p < 0.05$).

뱀장어의 경우([Fig. 2(B)]) 최대 잔류량은 포르말린 750ppm 농도에 약욕 후 1시간째 $1.25 \pm 0.12 \mu\text{g/g}$ 이며 이후 24시간째부터 48시간까지 $1.0 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$ 로 잔류량이 대조구와 유사함을 보였다. 포르말린 250ppm 및 500ppm 구간에서도 각각 1.11 ± 0.1 , $1.13 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$ 로 1시간째 가장 높은 잔류량을 나타냈다($p < 0.05$).

메기의 경우([Fig. 2(C)]) 최대 잔류량은 포르말린 750ppm 농도에 약욕 후 3시간째 $1.52 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ 이며 이후 24시간째부터 48시간까지 $1.1 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$ 로 잔류량이 대조구와 유사함을 보였다. 250ppm 및 500ppm 농도 구간에서도 각각 1.13 ± 0.1 , $1.34 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$ 로 1시간째 가장 높은 잔류량을 나타냈다 ($p < 0.05$).



[Fig. 1] Formaldehyde concentration ($\mu\text{g/g}$) in the muscle of (A) *Paralichthys olivaceus*, (B) *Sebastes schlegeli*, (C) *Oplegnathus fasciatus* after exposure to 0, 250, 500 and 750ppm of formalin for 1h (mean \pm S.E.; n = 12)

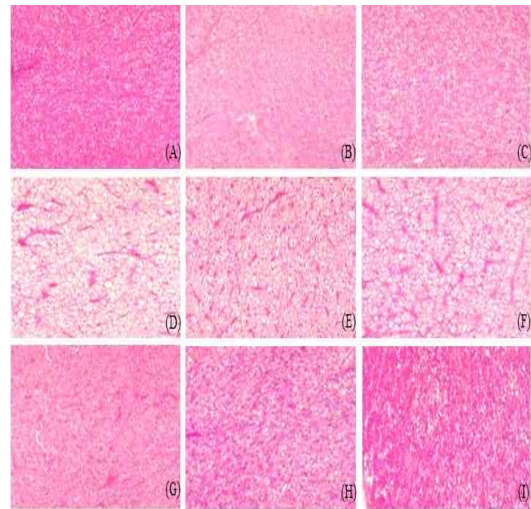


[Fig. 2] Formaldehyde concentration (µg/g) in the muscle of (A) *Misgurnus mizolepis*, (B) *Anguilla japonica*, (C) *Silurus asotus* after exposure to 0, 250, 500 and 750ppm of formalin for 1h (mean±S.E.; n = 12)

3. 병리조직학적 변화

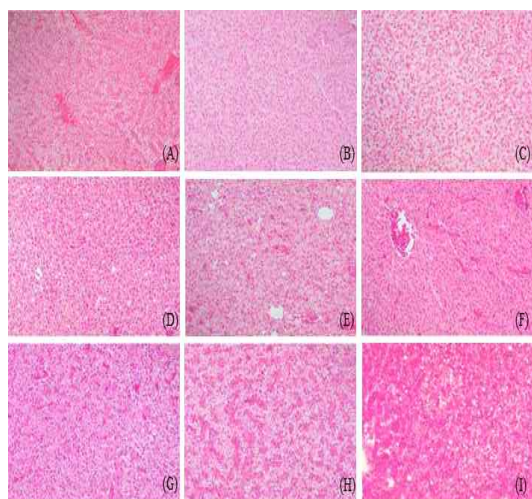
1) 간

해수 양식어종([Fig. 3])과 담수 양식어종([Fig. 4])을 포르말린 750ppm 농도에 약육시킨 후 시간 경과에 따른 간의 병리조직학적 이상 증상의 유무를 관찰한 결과, 대조구를 포함해 간세포의 위축과 지방세포 변성이 관찰된 것을 제외하고 ([Fig. 3(A)&(D)&(G)]), 해수 양식어종에서는 특별한 이상 증상을 발견할 수 없었다. 하지만 담수 양식어종인 뱀장어와 메기의 경우 포르말린 750ppm 농도에 약육 후 6시간째에 유동의 울혈과 간세포의 공포 변화가 관찰되었다([Fig. 4(E)&(H)]).



[Fig. 3] General view of the liver from (A) *Paralichthys olivaceus*, (D) *Sebastes schlegeli*, (G) *Oplegnathus fasciatus*. Exposure to 750ppm formalin after 6h of the liver from (B) *Paralichthys olivaceus*, (E) *Sebastes schlegeli*, (H) *Oplegnathus fasciatus*. Exposure to 750ppm formalin after 24h of the liver from (C) *Paralichthys olivaceus*, (F) *Sebastes schlegeli*, (I) *Oplegnathus fasciatus*. H&E stain, X200.

미꾸라지의 경우 포르말린 750ppm에 노출 시 뒤집힘 현상과 함께 폐사를 하였으나, 폐사원인을 확인 할 수 있는 조직학적 변화는 관찰 할 수 없었다.

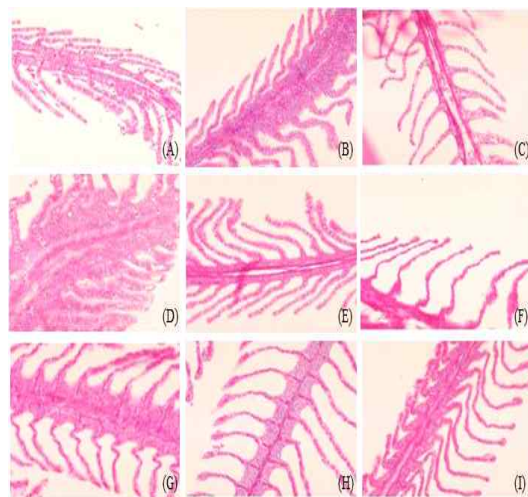


[Fig. 4] General view of the liver from (A) *Misgurnus mizolepis*, (D) *Anguilla japonica*, (G) *Silurus asotus*. Exposure to 500ppm formalin after 6h of the liver from (B) *Misgurnus mizolepis*. Exposure to 750ppm formalin after 6h of the liver from (E) *Anguilla japonica*, (H) *Silurus asotus*. Exposure to 500ppm formalin after 48h of the liver from (C) *Misgurnus mizolepis*. Exposure to 750ppm formalin after 48h of the liver from (F) *Anguilla japonica*, (I) *Silurus asotus*. H&E stain, X200.

2) 아가미

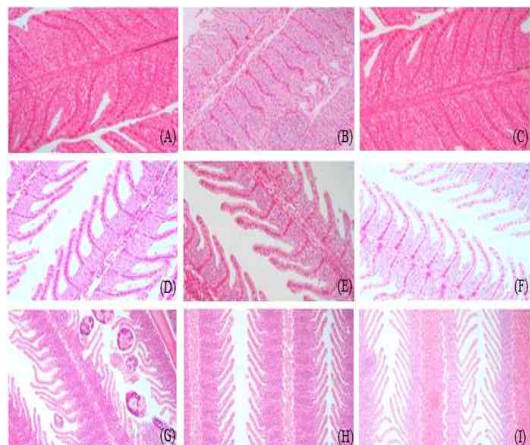
해수 양식어종([Fig. 5])과 담수 양식어종([Fig. 6])을 포르말린 750ppm 농도에 약욕시킨 후 시간 경과에 따른 아가미의 병리조직학적 이상 증상의 유무를 관찰한 결과, 넙치의 경우 포르말린 약욕 후 6시간째에 이차새변(secondary lamella) 기저부의 상피세포 증생 및 유착이 관찰되었다([Fig. 5(B)]). 조피볼락과 메기의 경우 포르말린 약욕

후 48시간째에 독극물에 대한 아가미 조직의 초기 반응인 이차새변의 뒤틀림현상이 관찰되었다 ([Fig. 5(F)&(I)]).



[Fig. 5] General view of the gill from (A) *Paralichthys olivaceus*, (D) *Sebastes schlegeli*, (G) *Oplegnathus fasciatus*. Exposure to 750ppm formalin after 6h of the gill from (B) *Paralichthys olivaceus*, (E) *Sebastes schlegeli*, (H) *Oplegnathus fasciatus*. Exposure to 750ppm formalin after 48h of the gill from (C) *Paralichthys olivaceus*, (F) *Sebastes schlegeli*, (I) *Oplegnathus fasciatus*. H&E stain, X200.

미꾸라지는 대조구를 포함해 포르말린 약욕 후 6시간째, 48시간째에 아가미 상피세포의 증생 유착이 관찰되었다([Fig. 6(B)&(C)]). 뱀장어의 경우 대조구에서 2차새변 기부 상피세포 증식이 관찰되었고([Fig. 6(D)]) 포르말린 약욕 후 6시간째, 48시간째에 2차새변 상피의 박리가 관찰되었다 ([Fig. 6(E)&(F)]). 메기의 경우 대조구에서 아가미 흡충이 발견되었으나([Fig. 6(G)]), 포르말린 약욕 후 6시간째, 48시간째 이차새변 기부 상피세포 증식 관찰과 함께 충이 발견되지 않았다 ([Fig. 6(H)&(I)]).



[Fig. 6] General view of the gill from (A) *Misgurnus mizolepis*, (D) *Anguilla japonica*, (G) *Silurus asotus*. Exposure to 500ppm formalin after 6h of the gill from (B) *Misgurnus mizolepis*. Exposure to 750ppm formalin after 6h of the gill from (E) *Anguilla japonica*, (H) *Silurus asotus*. Exposure to 500ppm formalin after 48h of the gill from (C) *Misgurnus mizolepis*. Exposure to 750ppm formalin after 48h of the gill from (F) *Anguilla japonica*, (I) *Silurus asotus*. H&E stain, X200.

IV. 고찰

포르말린은 부화장 및 양식장 내에서 발생하는 기생충과 수생균을 구제하는 화학물질로 효능이 뛰어나 전 세계적으로 널리 사용되고 있는 수산용 의약품이다(Voorhees & Barnes, 2016).

포르말린 약욕에 의한 어류의 안전성 조사는 급성독성에서 나타나는 폐사율과 조직학적 변화를 조사하여 이루어지며, 안전성 결과를 통해 용법 및 용량을 결정하는 자료로 활용하고 있다(Park et al., 1995). 연구에 따르면 양식 넙치(6.1±0.5 cm)에 대한 포르말린의 LC50을 조사한 결과 1시간 LC50 값은 2,520ppm으로 나타났으며,

Cho & Yang(1996)은 조피볼락(30±1g)을 대상으로 포르말린 100, 300, 500ppm 농도에 1시간 약욕을 하였으나 폐사는 발생하지 않았다. Choi et al. (1997)는 돌돔(16.3 - 20.1cm)을 포르말린 200 및 250ppm에 각각 15분, 10분 약욕시킨 후 1주일 이내에 폐사가 나타나지 않았다.

미꾸리예 대한 포르말린 96시간 LC50이 365.04 ppm(Nan et al., 2012)이라는 결과를 고려하면, 본 연구에서 미꾸라지를 포르말린 700ppm 이상 노출 시 독성환경으로 바뀌어 폐사가 된 것으로 해석된다. Jung et al.(2007)에 의하면 뱀장어(96± 3.6 g)에 대한 24시간 LC50은 269ppm이었으며, 포르말린의 농도별(0 - 500ppm) 약욕에 따른 24시간째 누적 폐사율은 500ppm에서는 10시간째, 400ppm에서는 24시간째 100% 폐사율을 나타냈으며, 300ppm에서는 96.6%, 200ppm에서는 13.3%의 누적 폐사율을 나타내었으나 100ppm에서는 24시간 동안 실험어가 모두 생존하는 결과를 나타내었다. 본 연구에서도 포르말린 250, 500ppm 농도에 노출 시 해수어종과 담수어종의 폐사가 나타나지 않는 결과와 일치 하였다. 따라서 해수어종과 미꾸라지를 제외한 담수어종은 포르말린 750ppm 농도에 1시간 약욕을 실시하더라도 포르말린 독성에 의한 안정성 문제는 없는 것으로 확인되었다.

Jung et al.(2001)에 의하면 넙치 및 조피볼락에 포르말린 100, 300 및 500ppm 농도에 1시간 약욕 후 24시간째 포름알데하이드의 잔류량이 관찰되지 않았으며, Cho & Yang(1996)의 연구에서도 조피볼락에 100, 300, 500ppm 농도에 1시간 약욕한 경우 15℃에서는 72시간째, 25℃에서는 48시간째 포름알데하이드의 잔류량이 검출되지 않았다. 본 연구에서도 포르말린을 농도별로 노출시킨 후 해수어종의 근육내 포름알데하이드의 잔류가 관찰되지 않아 유효한 결과임을 확인 할 수 있었다.

농어목인 *Morone saxatilis* 을 포르말린 250ppm 농도에 1시간 약욕시킨 후 4일째 근육에서 포름알데하이드가 검출되지 않았으며(Xu & Rogers,

1993), Nile tilapia 을 포르말린 125 및 250 ppm에 1시간 약육시킨 후, 96시간째 근육 내 포름알데하이드 잔류량은 1.30 및 1.57 $\mu\text{g/g}$ 이었다(Xu & Rogers, 1995). *Arapaima gigas*(38.9 \pm 9.3 g)을 포르말린 220 및 550 ppm 농도에 1시간 약육시킨 후 96시간째 근육 내 포름알데하이드 잔류량은 1.4 \pm 0.7 및 2.0 \pm 1.3 $\mu\text{g/g}$ 로 보고 된 바가 있으며(Andrade-Porto *et al.*, 2017), 본 연구의 담수어종 근육 내 잔류량 결과와 유사함을 보였다. 포르말린 약육에 따른 어체 내 잔류량은 약품의 용법·용량을 결정하고, 식품안전성을 결정하는데 있어서 중요한 자료로 사용된다. 따라서, 본 연구에서 사용된 포르말린 용법·용량에 의해 약육을 실시하더라도 식품안전성에는 문제가 없는 것으로 판단된다.

포르말린 급성독성에 따른 대표적인 병리조직학적 변화는 아가미 조직의 괴사, 상피세포의 과형성과 박리, 간 조직의 팽창, 출혈, MMC 및 괴사 등이 보고되었다(Cruz & Pitogo, 1989). 포르말린 100 - 200ppm 농도에 24시간 노출되어 폐사한 넙치의 경우 아가미 새엽의 혈관 확장괴사와 동반한 퇴행성 변형, 간의 핵막침착이 나타났으며(Park *et al.*, 1995), 조피볼락에 포르말린 300ppm 노출시, 25 $^{\circ}\text{C}$ 에서는 상피세포의 박리와 2차새변의 뒤틀림, 15 $^{\circ}\text{C}$ 의 경우 아가미에서 3차새변의 부종이 보고되었다(Cho & Yang, 1996). 감성돔에 포르말린 50 - 400ppm 농도에 24시간 및 96시간 노출시, 아가미 상피의 괴사와 비대, 간세포의 괴사 및 공포화가 관찰되었다(Myeong *et al.*, 2013).

담수어종인 무지개송어 (*Salmo gairdneri*)가 포르말린 167 및 250ppm에 1시간 노출시, 아가미 상피의 괴사가 나타났으며(Smith & Piper, 1972), Nile tilapia(*Oreochromis niloticus*)와 뱀장어는 아가미 상피의 괴사와 박리, 간세포의 위축과 세포질 변형이 보고되었다(Perera & Pathiratne, 2010; Jung *et al.*, 2007).

본 실험에서는 해수 및 담수어종에 포르말린

750ppm에 약육 후 48시간까지 간과 아가미의 변형을 확인하였다. 간보다 아가미에서 변형이 두드러졌으며, 이는 아가미 특성상 다른 기관에 비해 표면적이 넓고 많은 혈관이 분포하고 있기 때문에 약물노출 등 자극에 의한 환경변화에 가장 민감하게 반응하기 때문이다. 담수어종의 경우 750ppm에 노출 시, 이차새변 상피의 비대와 박리가 공통적으로 나타남으로써 가스교환의 어려움이 발생해 미꾸라지가 뒤집힘 현상과 함께 폐사한 것으로 추측되어진다.

하지만 해수 및 담수어종에 포르말린 250 및 500ppm에 약육 시켰을 때 아가미와 간에서 특이한 조직학적 변화를 관찰할 수 없었다. 대조구를 포함해 간세포의 위축과 지방세포의 변형이 관찰되었지만 이는 양식어에서 나타나는 일반적인 병리학적 변화로 추정된다. Cho & Yang(1996) 은 수온 15 $^{\circ}\text{C}$ 에서 조피볼락 30 \pm 1g의 개체를 대상으로 실시되었으나, 본 연구에서는 22 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ 에서 142 \pm 5.6g 의 조피볼락에서 노출실험을 실시하였다. 이러한 결과들은 같은 어종일지라도 약물 노출시간, 수온, DO 등 외부환경과 어종의 크기에 따라 포르말린 감수성이 달라짐을 나타내며, 따라서 본 연구에서 해수 및 담수 양식어종의 병리조직학적 변화는 다른 환경적 조건에서 다를 수 있다고 판단된다(Rach *et al.*, 1997).

본 연구결과 해수 및 담수 양식어종에 0, 250, 500, 750ppm 농도의 포르말린을 1시간 약육시킬 경우 미꾸라지를 제외한 다른 어종에서 48시간 동안 폐사가 발생하지 않았다. 그리고 750ppm 농도를 제외하고 250과 500ppm에 노출 시 모든 어종에서 간과 아가미에서 특징적인 조직학적 변화는 관찰되지 않았으며, 근육 내 잔류량은 약육 24시간째부터 전부 소실되는 것을 확인할 수 있었다. 이상의 결과를 통해 포르말린 500ppm 이하를 사용하였을 경우, 포르말린에 대한 해수 및 담수 양식어종에 대한 안전성 문제와 포르말린 잔류에 의한 식품 안전성에도 문제가 없는 것으로 판단된다.

References

- Andrade-Porto, S. M. · Affonso, E. G. · Kochhann, D. · Tavares-Dias, M. · Roque, R. · Ono, E. A. & de Oliveira Malta, J. C.(2017). Antiparasitic efficacy and blood effects of formalin on *Arapaima gigas* (Pisces: Arapaimidae). *Aquaculture*, 479(1), 38~44.
- Bell, T. A. · Arume, C. S. & Lightner, D. V.(1987). Efficacy of formalin in reducing the levels of *peritrichous ciliates* on cultured marine shrimp. *Journal of Fish Diseases*, 10(1), 45~51.
- Cho, J. K. & Yang, H. C.(1996). Determination of formaldehyde residue and histological observation in formalin and neutral-formalin treated Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Journal of Fish Pathology*, 9(2), 157~168.
- Choi, S. D. · Gong, Y. G. · Paek, J. M. & Bang, I. C.(1997). Study on Toxicity and Extermination of Monogenea, *Benedenia* sp. Parasited to Culturing Rock Bream, *Oplegnathus fasciatus* in Southern Korea. *Journal of Aquaculture*, 10(1), 1~7.
- Cruz, E. R. & Pitogo, C. L.(1989). Tolerance level and histopathological response of milkfish (*Chanos chanos*) fingerlings to formalin. *Aquaculture*, 78(2), 135~145.
- Dayanadol, Y. & Grajaaywong, W. (1996). Effects of some chemotherapeutic agents, hypersaline and freshwater on *Caligus* sp. infection in seabass (*Lates calcarifer*). *Warasan Kan Pramong*.
- Jung, S. H. & Kim J. W.(2005). In Vitro Hemolysis and Methemoglobin Formation in Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) Erythrocytes Induced by Potassium Permanganate, Stabilized Chlorine Dioxide, Formalin and Copper Sulphate. *Journal of Fish Pathology*, 18(2), 179~185.
- Jung, S. H. · Jee, B. Y. · Kim, J. D. · Seo, J. S. & Kim, J. W.(2010). Efficacy of formalin bath against gill infections with *Pseudodactylogyus* spp. in cultured eel *Anguilla japonica*. *Journal of Fish Pathology*, 23(3), 293~302.
- Jung, S. H. · Kim, J. W. · Jeon, I. G. & Lee, Y. H.(2001). Formaldehyde residues in formalin-treated olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), black rockfish (*Sebastes schlegeli*), and seawater. *Aquaculture*, 194(3), 253~262.
- Jung, S. H. · Lee, N. S. · Lee, J. S. · Jee B. Y. · Kim, J. W. & Kim E. O.(2007). Histopathological effects caused by formalin bath on gill and liver of Eel (*Anguilla japonica*). *Journal of Fish Pathology*, 20(3), 315~325.
- Mellergaard, S. & Dalsgaard, I.(1987). Disease problems in Danish eel farms. *Aquaculture*, 67(1-2), 139~146.
- Myeong J. I. · Min, B. H. · Park, M. S. · Hwang, H. K. · Do, J. W. · Jeoung, K. I. · Chnag, Y. J. & Jeong, D. S.(2013). Tolerance and Histological Responses to Formalin of Black Seabream *Acanthopagrus schlegelii* Juveniles. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46(6), 923~929.
- Nan, P. · Yang, Y. · Wang, J. · Guo, B. · Zhu, Q. F. & Chang, Z. J.(2012). Study on the Toxicity of Formaldehyde to Loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 1, 041.
- Park, I. S. · Kim, H. B. · Kim, M. S. & Park, C. W.(1995). Acute toxicity effects of formalin to flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Fish Pathology*, 8(1), 57~67.
- Perera, H.A.C.C. & Pathiratne, A.(2010). Effects of short term exposure to therapeutic levels of formalin on health status of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 33(4)
- Rach, J. J. · Howe, G. E. & Schreier, T. M.(1997). Safety of formalin treatments on warm-and coolwater fish eggs. *Aquaculture*, 149(3), 183~191.
- Schnick, R. A.(1991). Chemicals for worldwide aquaculture. In: ADB/NACA (Eds.), Report on a Regional Study and Workshop on Fish Disease and Fish Health Management. ADB Agriculture Department Report Series No. 1. Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific, Bangkok, Thailand, 441~467.
- Seo, J. W. · Kim, W. S. · Han, K. H. · Lee, S. H. · Yoo, D. J. · Kim, Y. C. & Oh, M. J.(2010). Parasitism of *Pseudocaligus* sp. in wild grass puffer *Takifugu niphobles*, and their treatment. *Journal of Fish Pathology*, 23(1), 107~112.
- Sharp, N. J. · Diggles, B. K. · Poortenaar, C. W. & Willis, T. J.(2004). Efficacy of Aquin-S, formalin and praziquantel against the monogeneans,

- Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae*, infecting yellowtail kingfish *Seriola lalandi lalandi* in New Zealand. *Aquaculture*, 236(1), 67~83.
- Smith, C. E. & Piper, R. G.(1972). Pathological effects in formalin-treated rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 29(3), 328~329.
- Voorhees, J. M. & Barnes, M. E.(2016). Airborne Formaldehyde Levels During Simulated Formalin Egg Treatments in Vertical-Flow Tray Incubators at a Production Fish Hatchery. *Journal of Agricultural Safety and Health*, 22(3), 199~207.
- Xu, D. & Rogers, W. A.(1993). Formaldehyde residue in striped bass muscle. *Journal of Aquatic Animal Health*, 5(4), 306~312.
- Xu, D. & Rogers, W. A.(1995). Formaldehyde residue in the muscle of Nile perch. *Asian Fisheries Science*, 8, 81~88.
-
- Received : 04 June, 2017
 - Revised : 21 August, 2017
 - Accepted : 26 September, 2017