

해수에서 넙치 *Paralichthys olivaceus* 및 조피볼락 *Sebastes schlegelii*에 포르말린 처리시 포름알데히드 잔여 효과

S. H. Jung, J. W. Kim, I. G. Jeon, Y. H. Lee

요 약

양식 넙치 및 조피볼락을 이용하여 1시간 동안 포르말린(37% 포름알데히드) 100 mg/l, 300 mg/l 및 500 mg/l 의 농도에서 약육 처리한 후 근육내에서의 포름알데히드 잔류 농도를 측정하였다. 또한 포르말린 농도 25 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 150 mg/l 및 200 mg/l의 에어레이션된 해수와 에어레이션이 공급되지 않은 해수에서의 포름알데히드의 손실율을 측정하였다. 1시간 500 mg/l의 포르말린으로 취급된 어류 근육의 포름알데히드 농도는 약육(0 h 투여 중지) 후 즉시 분석된 대조구 조직의 포름알데히드 농도보다 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 그러나 대조구 조직내 포름알데히드 농도는 포르말린에 노출 후 24, 48 및 72시간 지난 후 샘플된 어류조직에서의 농도와 유의적인 차이가 없었다($p > 0.05$). 25-200 mg/l의 포르말린이 포함된 해수의 포름알데히드는 8~19일 이내에 측정 가능한 아주 낮은 농도(0.05 $\mu\text{g/ml}$)로 되어지나, 그것의 분해는 에어레이션을 함으로서 6~10일 이내로 빨라졌다. 따라서 본 연구에서 밝혀진 것들은 어류양식산업에 있어서 포르말린의 적정 투여 중지 기간과의 결정에 필요한 자료를

제공한다고 생각된다.

1. 서 론

포르말린 (37% 포름알데히드)은 부화장 및 양식장내 발생하는 기생충과 수생균을 처리하는 화학물질로서 사용되어 왔다(Roberts, 1978; Schnick, 1988, 1991; Rach et al., 1997). 비록 포름알데히드는 자연적으로 동물 조직내에서 발생하지만, 인간이 섭취하는 음식에서 잔여 하는 포르말린은 발암물질을 유발할 수 있는 화학물질이기 때문에 금지되고 있는 실정이다. 그러므로 음식으로 사용되는 포르말린 처리된 수산동물의 안정성의 문제는 양식산업에서 중요한 문제로 대두되고 있다. 그러나 포르말린 처리로부터 야기된 포름알데히드는 수생동물의 가식부 조직에 축적된다고 알려져 있지는 않다. 수산동물의 포르말린 처리는 가식부 조직내에서 내생적인 정상적 수준 이상의 포름알데히드 값을 야기 시키지는 않는다(Sills and Allen, 1979; Hose and Lightner, 1980; Ueno et al., 1984; Xu and Rogers, 1993, 1995; Cho and Yang, 1996). 따라서 포르말린의 흡수 및 제거의 특징은 양식산업에 있어서 포르말린의 치료 용도로 이용

할 여부의 결정을 내리는데 중요한 자료로 활용할 수 있다. 포르말린은 미국 및 캐나다에서 수생균 화학적인 치료법으로써 사용을 위해 승인되었으며 (Schnick et al., 1997), 아시아에서는 관례적으로 사용하고 있다(Main and Rosenfeld, 1996). 그러나 발암을 야기 시킬 수 있으므로 오스트레일리아, 유럽 및 일본 내에서의 양식장에는 포르말린 사용을 금지시키고 있는 실정이다(Schnick et al., 1997).

미국식품의약청(FDA)에서는 구충제로서 3가지 상업적인 포름알데히드 제품을 미국양식업에 사용을 승인하였다; Parasite-S(for use on all finfish and penaeid shrimp; Western Chemical), Paracide-F (for use on bluegill, catfish, largemouth bass, salmon, and trout; Argent Chemical Laboratories), and Formalin-F (for use on bluegill, catfish, largemouth bass, salmon, and trout; Natchez Animal Supply) (FDA, 1992, 1998). 이 3가지 제품은 약 37%의 포름알데히드를 포함한다. 설명서에 지시된 방법으로 이용할 경우 이 제품에 대한 투여중지 기간은 없다. 표지에 기재된 사용법에 따르면 원생동물 및 단세포의 흡충을 구제하기 위해서 15~250 mg/l 정도의 포르말린 처리를 해야 하며 어류의 알에 대한 균감염을 구제하기 위해서 2000 mg/l 정도 까지 사용한다.

넙치(*Paralichthys olivaceus*) 및 조피볼락(*Sebastes schlegelii*)은 한국에서 가장 중요한 해산어류양식 대상종이며, 육상수조 및 가두리양식장에서 양식되어지고 있다. 해산어류의 기생충 감염을 구제하는데 포르말린 100~300 mg/l의 농도로 1시간동안 약욕하는 것이 효과적이라고 보고 된 바 있다 (Chun, 1992). 육상 수조 및 가두리 양식장에서 해산어류양식시 사용된 포르말린이 함유된 배출수

에 회석이나 여과 없이 자연 상태로 계속적으로 배출되어지면 해양생태계의 환경적인 위험은 증가되어 진다.

현재 일본에서 자주복 가두리양식장에서 외부 기생충을 구제하기 위해 고농도 포르말린이 사용되고 있는데 이로 인해 양식굴의 대량폐사에 영향을 주었다(NRIA, 1998). 양식굴의 먹이로 이용되는 식물플랑크톤이 자주복 가두리양식장에 사용된 고농도의 포르말린에 의해 성장이 억제되거나 또는 죽어서 먹이사슬내 식물플랑크톤의 일시적인 붕괴가 양식굴의 대량폐사를 야기 시킨 것으로 생각되어 진다. 육상수조 및 가두리 양식장의 배출수 함유된 포르말린이 회석이나 여과 없이 배출되면 해양생태계에 심각한 독성을 야기 시킬 수 있으나, 이런 관계를 입증하는 증거가 없다.

따라서 본 연구의 주된 목적은 해산어류 양식 산업에 있어서 포르말린을 치료용으로 사용할 때, 양식산 넙치 및 조피볼락내 포름알데히드 잔여 및 포르말린 처리된 해수의 포름알데히드 소실율을 측정하기 위함이다.

2. 재료 및 방법

2.1. 어류

거체에 위치한 양식장에서 건강한 넙치(86-105 g) 및 조피볼락(80-100 g)을 구입하여 수송하였다. 실험하기 전 40일간 유수식 탱크(400리터)에 수송하였으며 여과해수를 사용하였으며, 수온은 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 이었다.

2.2. 시약

시약은 Shinyo Chemical(Japan)의 제품인 NaOH, KOH, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Sigma (St Louis, USA)의 제

품인 HCl, 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazol (AHMT), Junsei Chemical(Japan)의 제품인 KIO₄ 및 Kishida Chemical (Japan)의 제품인 포르말린(37% formaldehyde)을 사용하였으며, 37%포름알데히드를 100% 포르말린으로 간주하였다.

2.3. 포름알데히드 추출

2.3.1. 어류 조직내 잔류

갈게 다져진 어류 근육 10 g을 50 ml 원심분리기 튜브에 넣고 0.5N, 10 ml NaOH을 넣은 후 5분간 균질화시켰다. 10 ml의 12% ZnSO₄ · 7H₂O를 넣고 5분간 다시 균질화시킨 다음 30분간 두었다. 추출물은 5분간 8000 rpm으로 원심분리기를 이용하여 원심분리한 후 필터종이(Whatman No. 1)로 여과하였다. 원심 분리된 근육잔여물은 증류수 10 ml로 두 번 세척을 실시하였으며, 세척된 것과 여과시 나온 것을 섞어서 모은 액체에 0.5 N HCl를 사용하여 pH 4.5로 조절하였으며 증류수를 넣어 총 부피를 100 ml로 하였다.

2.3.2. 해수내 잔류

해수 10 ml을 50 ml 원심분리기 튜브에 넣고 10 ml의 0.5N NaOH를 넣은 후 5분간 흔들어 주었다. 10 ml의 12% ZnSO₄ · 7H₂O를 넣고 5분간 다시 흔든 후 30분간 둔 후, 필터종이(Whatman No. 1)로 여과하였다. 여과된 추출물에 0.5 N HCl를 사용하여 pH 4.5로 조절하였으며 증류수를 넣어 총 부피를 100 ml로 하였다.

2.4. 포름알데히드 측정(AHMT method)

증류수(대조구) 2 ml 및 조직이나 물 추출물의 2 ml는 분리되는 튜브에 피펫하여 2 ml의 5 N KOH를 각 튜브에 넣었다. 2 ml의 0.5% AHMT의

첨가에 0.5 N HCl를 넣어 천천히 혼합시켰다. Stopper을 테스트 튜브에 넣었으며, 이 튜브는 실온에서 20분간 둔 후, 2 ml의 0.75% KIO₄ 및 0.2 N KOH와 혼합시킨다. 이 혼합물을 천천히 흔들었으며 분광광도계(DMS 80 UV-visible, Varian, England)에 의해 550 nm에서 보라색 흡수가 나타났다. 포름알데히드($\mu\text{g/g}$ 또는 $\mu\text{g/ml}$)의 양은 표준곡선으로부터 계산하였다.

200 mg 포름알데히드는 증류수 100 ml안에서 용해시켰다. 이 물질의 10배 희석물은 증류수와 함께 만들었으며, 10배 희석은 2회 반복을 하였다. 최종 희석물의 0 ml, 0.5 ml, 1.0 ml 및 2.0 ml는 표준용액을 만들기 위해 테스트 튜브에 첨가하였다. 표준물질은 증류수를 넣어 2 ml로 만들었으며, 각 튜브에 2 ml의 5N KOH를 첨가한 후에 분석을 실시하였다.

정확한 방법을 평가하기 위해, 10 ml의 0.5N NaOH를 넣은 후 균질시키기 전에 10 g의 대조구 어체근육(n=10)에 1.85 μg , 7.4 μg 및 18.5 μg (5 μg , 20 μg 및 50 μg 의 포르말린에 해당함)의 포름알데히드를 주입하였다. 방법의 정밀도는 포름알데히드의 재생 퍼센트의 결과에 근거하여 계산하였다. 정밀도는 각각의 테스트사이의 일치 정도로 결정하였으며, 변이상수로 표시하였으며, 표준곡선은 포르말린의 함량을 직선적으로 관찰하기 위해 사용하였다.

2.5. 포르말린 처리한 어체 근육내 포름알데히드 잔류

100마라 넙치는 4개의 수조(400리터)에 분리 수 용하였다. 각 수조내 어류는 수온 20±1℃에 1시간 동안 다른 함량의 포르말린을 처리하였으며, 처리 농도는 0 mg/l(무처리 대조구), 100 mg/l, 300 mg/l

및 500 mg/l이었다. 4개의 수조에서 5마리를 선별 하여(20마리)는 24, 48 및 72시간 처리 후 샘플하였으 며, 조피볼락도 위와 같은 방법으로 실시하였다. 처리시 포르말린의 유실을 최소화하기 위해서 포르말린 노출동안 추가적인 물 또는 에어레이션 공급은 하지 않았다.

2.6. 해수내 포름알데히드 잔류

0 (대조구), 25 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 150 mg/l 및 200 mg/l 포르말린이 포함된 6개의 에어레이션 디 되지 않는 유리병을 20±1℃로 유지하였다. 각 유리병에서 2반복 샘플(15 ml)을 에어레이션이 되지 않은 해수의 감소율을 측정하기 위해 20일 동안 매일 기본으로 샘플하였다. 또한 에어레이션된 해수안의 포르말린 감소율도 위의 조건으로 측정 하였다. 에어레이션된 해수내 용존산소는 Rotary blower(Rotary blower, 5 HP)를 사용하여 공급하였다. 용존산소는 portable machine으로 측정하였으며 실험하는 동안 8.2 mg/l으로 유지시켜 주었다. 모든 샘플은 적출방법을 사용하여 포름알데히드 잔여를 분석하였다.

2.7. 통계분석

실험 종료 후 얻어진 자료는 대조구와 다른 실험구 사이를 Student's t-test으로 비교하여 통계적 인 분석을 실시하였고, $p < 0.05$ 로서 자료간의 유의성을 검증하였다. 통계 프로그램은 SigmaPlot version 5.0을 사용하였다.

3. 결 과

3.1. 포르말린 처리한 어체 근육내 포름 알데히드 잔류

포름알데히드 1.85 µg/g, 7.4 µg/g 및 18.5 µg/g으 로 처리한 넙치 및 조피볼락 근육 조직으로부터 포름알데히드의 회복율은 각 90±7.2%(평균±표준 편차), 84± 5.5% 및 74±5.3%로 나타났다. 1시간동 안 500mg/l 포르말린으로 노출이후 즉시 샘플한 넙치의 근육 조직내 포름알데히드농도(1.6±0.2)는 대조구 넙치의 근육 조직내 포름알데히드농도 (0.8±0.1)보다 유의적으로 높게 나타났다(Table 1). 그 이후 포름알데히드농도는 노출이후 24시간에 대조구의 농도만큼 감소하였다. 그러나 300 mg/l 포르말린으로 노출한 실험구는 대조구와 유의적

Table 1
Formaldehyde concentration (µg/g) in the fillet tissue of olive flounder after exposure to 100, 300 and 500 mg/l of formalin for 1 h (mean ± S.E.; n = 5)

	Formaldehyde concentration			
	Time after exposure (h)			
	0	24	48	72
Control	0.8±0.1	0.8±0.1	0.9±0.04	0.9±0.02
100 mg/l	0.8±0.1	0.7±0.1	0.8±0.1	0.9±0.02
300 mg/l	1.2±0.2	0.8±0.3	0.9±0.2	0.7±0.2
500 mg/l	1.6±0.2*	0.8±0.1	1.0±0.1	0.8±0.1

* Significant difference at $p < 0.05$ using Student's t-test to compare between control and treated groups at each sampling times.

Table 2
Formaldehyde concentration ($\mu\text{g/g}$) in the fillet tissue of black rockfish after exposure to 100, 300 and 500 mg/l of formalin for 1 h (mean \pm S.E.; $n = 5$)

	Formaldehyde concentration			
	Time after exposure (h)			
	0	24	48	72
Control	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.2
100 mg/l	1.0 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.04	0.8 ± 0.1
300 mg/l	1.2 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1
500 mg/l	$1.4 \pm 0.1^*$	1.1 ± 0.2	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1

* Significant difference at $p < 0.05$ using Student's t -test to compare between control and treated groups at each sampling times.

인 차이를 보이지 않았다. 포르말린 처리한 넙치의 모든 실험구에서 24, 48 및 72시간 경과 후 대조구와 유사한 농도로 나타났다.

1시간동안 500 mg/l 포르말린으로 노출이후 즉시 샘플한 조피볼락 근육 조직내 포름알데히드농도(1.4 ± 0.1)는 대조구 조피볼락의 근육 조직내 포름알데히드농도(0.9 ± 0.1)보다 유의적으로 높게 나타났다(Table 2). 포르말린 처리한 조피볼락의 모든 실험구에서 24, 48 및 72시간 경과후 대조구와

유사한 농도로 나타났다.

3.2. 해수내 포름알데히드 잔류

포름알데히드의 유실은 급격히 증가하였으며 해수내 포름알데히드농도는 시간이 지남에 따라 감소하였다. 에어레이션된 해수내에서 25 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 150 mg/l 및 200 mg/l에서 각각 8, 9, 10, 13 및 19 일 이후 발견되지 않았다(Fig. 1). 25 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 150 mg/l 및

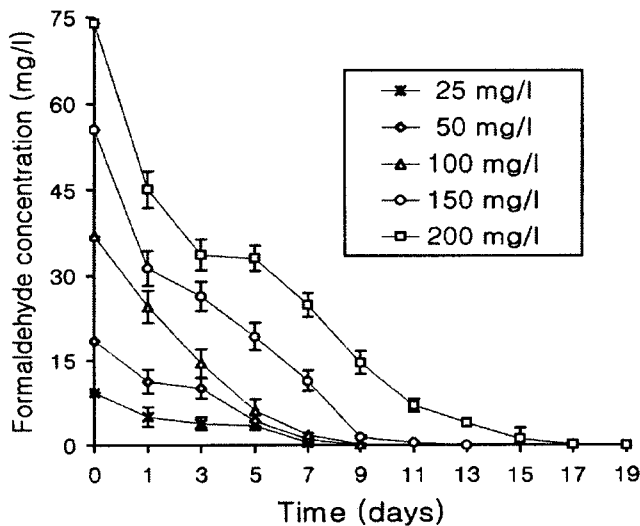


Fig. 1. Residual formaldehyde in seawater with different concentrations of formalin (25, 50, 100, 150 and 200 mg/l) neither by aeration nor water exchange during experimental period ($20 \pm 1^\circ\text{C}$). Loss of formaldehyde was exponential and its half-life was 3.4 ± 0.3 (mean \pm S.D.) days, respectively.

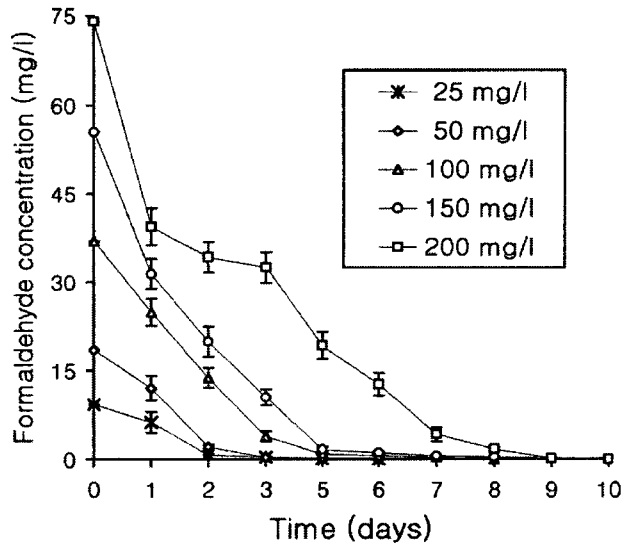


Fig. 2. Residual formaldehyde in seawater with different concentrations of formalin (25, 50, 100, 150 and 200 mg/l) by aeration using air blower and no water exchange during experimental period ($20 \pm 1^\circ\text{C}$). Loss of formaldehyde was exponential and its half-life was 2.3 ± 0.5 (mean \pm S.D.) days, respectively.

200mg/l 처리한 포름알데히드의 반감기는 각각 3.3, 3.2, 3, 3.5 및 3.9 일 (3.4 ± 0.3 ; 평균 \pm 표준편차)로 나타났다. 그러나 에어레이션된 해수는 25 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 150 mg/l 및 200 mg/l에서 각 6, 6, 8, 10 및 10 일 이후 발견되지 않았다(Fig. 2). 25 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 150 mg/l 및 200mg/l 처리한 포름알데히드의 반감기는 각각 2, 2, 2, 2.4 및 3.1 일 (2.3 ± 0.5 ; 평균 \pm 표준편차)로 나타났다.

4. 논 의

포름알데히드(HCHO)는 특정 아미노산의 생합성내 필수적이며, 정상적인 물질대사의 생산물이다. 포름알데히드는 자연적으로 전형적인 미국인의 많은 식품에서 발생되어 진다(Owen et al., 1990). 대구, 명태 및 새우류에서는 사후경직이후 생성물로서 측정된 바 있다(Amano and Yamada, 1964; Flores and Crawford, 1973; Hose and Lightner, 1980). 0.1 ~ 31.8 $\mu\text{g/g}$ 범위내 체내 포름알데히드 잔여는 여러 어패류에서 발견된 바 있다; 대구

(Harada, 1975), 명태(Amano et al., 1963), 뱀장어 (*Anguilla japonica*) (Ueno et al., 1984), 줄농어 (*Morone saxatilis*) (Xu and Rogers, 1993), 새우 (*Penaeus merguensis*) (Yamagata and Low, 1995) 및 나일틸라피아 (*Tilapia niloticus*) (Xu and Rogers, 1995). 본 연구에서는 포르말린 처리하지 않은 넙치 및 조피볼락의 근육 그램당 0.5 ~ 2.1 $\mu\text{g/g}$ 범위로 포름알데히드가 함유되어 있는 것으로 측정되어졌다. 따라서 넙치 및 조피볼락의 근육에서 분명히 자연적으로 포름알데히드가 발생하여 포함된다고 판단된다.

수생동물에서의 포르말린 사용에 대한 식품안전자료는 이전의 연구들 진행되었다. 채널메기 (*Ictalurus punctatus*) 및 베스(*Micropterus salmoides*)에서는 3시간동안 300 mg/l, 연어 (*Oncorhynchus kisutch*) 및 무지개송어(*Salmo gairdner*)에서는 1시간동안 300 mg/l, 채널메기 및 베스는 장기간동안 35mg/l (Sills and Allen, 1979), 새우는 6시간 또는 24시간동안 50 및 150 mg/l

(Hose and Lightner, 1980), 뱀장어는 장기간동안 50 및 200 mg/l (Ueno et al., 1984), 줄농어는 1시간동안 250 mg/l (Xu and Rogers, 1993) 및 나일틸라피아는 1시간 및 1.5시간 각각 125 및 250 mg/l, tropical fish (*Puntius gonionotus*)는 24시간동안 50 mg/l 및 *Clarias batrachus*는 24시간동안 50 및 100 mg/l (Xu and Rogers, 1995)의 포르말린 노출시에도 포름알데히드가 체내에 축적되지 않는다고 보고 되었다. 포르말린 처리의 농도 또는 기간은 이들 수생동물에 잔여한 포름알데히드의 축적에 영향을 미치지 않는다. 본 연구에는 1시간동안 100 mg/l, 300 mg/l 및 500 mg/l의 포르말린으로 넙치와 조피볼락을 약육시켜도 어체 근육내 포름알데히드는 축적되지 않아 위의 본문들과 일치한 경향을 보였다.

못내 포르말린 사용은 포르말린이 콜로로필a를 감소시켜 식물플랑크톤을 죽이는 것을 야기시키며(Chiayvareesajja and Boyd, 1993), 동물플랑크톤 및 저서생물의 감소를 일으킨다고 보고 된 바 있다(Birdsong and Avault, 1971). 어류나 패류의 자연발생적인 먹이로 이용되는 몇몇 생물들은 포르말린에 매우 민감한 것처럼 보인다. 식물플랑크톤 (*Chaetoceros gracilis*) 및 규조류(*Nitzschia* sp.)는 5 mg/l 이상의 포름알데히드농도에서 그들의 성장 및 생리가 억제된다고 보고 된 바 있다(NRIA, 1998). 원생동물 또는 단세포 수생식물에서의 포름알데히드 반수치사농도(LC₅₀)는 0.3~22 mg/l 범위이며, 특히 *Scenedesmus*의 LC₅₀은 0.4 mg/l 이며, *Chilomonas paramecium*의 반수치사농도는 4.5 mg/l이다 (WHO, 1989). 비록 해산어류의 육상수조나 가두리양식으로부터 배출된 배출수 근처의 순환하는 해수지역은 정체된 해수가 아니지만, 포르말린에 대한 반응으로 해양생물의 부분적인 억

제 또는 해양생물의 죽음을 야기 시킨다. 본 연구에서는 에어레이션이 안된 해수내 포르말린의 반감기는 3~3.9일 범위로 나타났다. 비록 포름알데히드는 해수내 축적되지 않았지만 약간의 시간이 지나면 사라지는 것으로 판단된다. 해산어류의 육상수조나 가두리양식에서 배출되는 포르말린이 약 100~300 mg/l범위의 농도일 때 어패류의 먹이로 사용되는 식물플랑크톤에 심각한 독성 영향을 미칠 것이며, 외부기생충을 구제하기 위해 치료투여량은 해수내 24시간 이상 더 장시간으로 유지된다. 그러므로 육상수조나 가두리양식으로부터 포르말린 처리된 배출수는 해양생태계의 환경적인 안전을 위해서는 검출 제한치 값보다 더 적은 양으로 희석시켜야 할 것이다.

수온이 20±2.5℃일 때, 25 mg/l 및 200 mg/l의 포르말린이 포함된 물속의 포름알데히드는 각 4 및 14일 이내 사라진다고 보고 된 바 있다(Ueno et al., 1984). 본 연구에서는 수온이 20±1℃일 때 25 mg/l~200mg/l의 포르말린이 포함된 물속의 포름알데히드는 각각 8~19일 이내 분해되어 없어지는 것으로 나타났다. 본 연구에서의 포름알데히드 분해를 위해 요구되는 시간은 같은 농도 및 수온으로 실시된 Ueno et al. (1984)연구보다 더 장기간으로 나타났다. 이러한 차이는 수질 및 온도의 상호요인들의 관계에 의함이라고 판단된다. Xu and Rogers(1995) 연구에서는 낮은 수온보다 높은 수온일 경우에 더 빨리 포르말린 분해가 되지만 물속의 염도는 포르말린 분해에 영향을 미치지 않는다고 보고 된 바 있다. 본 연구에서는 포르말린의 반감기를 비교할 때 포르말린은 에어레이션이 되지 않는 해수보다 에어레이션이 공급되는 해수에서 빨리 없어진다. 그러나 본연구에서는 포르말린 및 에어레이션간의 화학적인 정확한

상호관계를 규명하지는 못했다.

이상을 요약하면 포르말린으로 처리된 넙치 및 조피볼락의 근육 조직내에서의 포름알데히드농도는 처리 24시간이후 대조구와 유사하게 나타났으며, 에어레이션 및 비에어레이션에서의 포름알데히드의 반감기는 각각 2.3 ± 0.5 및 3.4 ± 0.3 일로 나타났다.

참 고 문 헌

- Amano, K., Yamada, K., 1964. A biological formation of formaldehyde in the muscle tissue of gadoid fish. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 30, 430-435.
- Amano, K., Yamada, K., Bito, M., 1963. Detection and identification of formaldehyde in gadoid fish. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 29, 695-701 in Japanese..
- Birdsong, C.L., Avault, J.W., 1971. Toxicity of certain chemicals to juvenile pompano. Prog. Fish-Cult. 33, 76-80.
- Chiayvareesajja, S., Boyd, C.E., 1993. Effects of zeolite, formalin, bacterial augmentation, and aeration on total ammonia nitrogen concentrations. Aquaculture 116, 33-45.
- Cho, J.K., Yang, H.C., 1996. Determination of formaldehyde residue and histological observation in formalin and neutral-formalin treated Korean rockfish *Sebastes schlegelii*. J. Fish Pathol. 9, 157-168.
- Chun, S.K., 1992. Diseases of marine cultured fishes. Korea Fish. Times, Seoul, p. 131 in Korean..
- FDA, 1992. Requirements for Investigational New Animal Drugs. Eastern Fish Health Group and the American Fisheries Society Fish Health Section. The FDA Workshop, Auburn, Alabama, June 19, 1992.
- FDA, 1998. Certain Other Dosage Form New Animal Drugs; Formalin Solution. Code of Federal Regulations, 21 CFR Part 529.1030, June 18, 1998.
- Flores, S.C., Crawford, D.L., 1973. Postmortem quality changes in iced pacific shimp (*Pandalus jordani*). J. Food Sci. 38, 575-579.
- Harada, K., 1975. Studies on enzyme catalyzing the formation of formaldehyde and dimethylamine in tissues of fishes and shells. J. Shimonoseki Univ. Fish. 23, 163-241 in Japanese..
- Hose, J.E., Lightner, D.V., 1980. Absence of formaldehyde residues in penaeid shimp exposed to formalin. Aquaculture 21, 197-201.
- Main, K.L., Rosenfeld, C., 1996. Aquaculture health management strategies for marine fishes. Proceedings of a workshop in Honolulu, Hawaii, October 9-13, 1995. The Oceanic Institute, p. 280.
- NRIA, National Research Institute of Aquaculture in Japan, 1998. A report result from study on causes of mass mortality of cultured pearl oyster, p. 162 (In Japanese).
- Owen, B.A., Dudney, C.S., Tan, E.L., Easterly, C.E., 1990. Formaldehyde in drinking water: comparative hazard evaluation and an approach to regulation. Regul. Toxicol.

- Pharmacol. 11, 220-236.
- Rach, J.J., Howe, G.E., Schreier, T.M., 1997. Safety of formalin treatments on warm-and cool-water fish eggs. *Aquaculture* 149, 183-191.
- Roberts, R.J., 1978. *Fish Pathology*. Bailliere Tindall, London, pp. 269-270.
- Schnick, R.A., 1988. The impetus to register new therapeutants for aquaculture. *Prog. Fish-Cult.* 50, 190-196.
- 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. pp. 441-467.
- Schnick, R.A., Alderman, D.J., Armstrong, R., Gouvello, R.L., Ishihara, S., Lacierda, E.C., Percival, S., Roth, M., 1997. Worldwide aquaculture drug and vaccine registration progress. Workshop at the EAFP Eighth International Conference on Diseases of Fosh and Shellfish, Edinburgh, Scotland, September 14-19.
- Sills, J.B., Allen, J.L., 1979. Residues of formaldehyde undetected in fish exposed to formalin. *Prog. Fish-Cult.* 41, 67-68.
- Ueno, R., Horiguchi, Y., Kubota, S.S., 1984. Study of quality in fish and shellfish as food: I. Concentration of formaldehyde in various tissues of cultured eel by formalin bath. *Bull. Fish. Mie Univ.* 11, 37-42.
- Xu, D., Rogers, A., 1993. Formaldehyde residue in striped bass muscle. *J. Aquat. Anim. Health* 5, 306-312.
- Xu, D., Rogers, A., 1995. Formaldehyde residue in the muscle of nile tilapia. *Asian Fish. Soc.* 8, 81-88.
- Yamagata, M., Low, L.K., 1995. Rapid determination of formaldehyde in banana shimp, *Penaeus merguensis*. *J. Food Sci.* 60, 718-720.
- WHO, 1989. *Environmental Health Criteria*. WHO publication, Geneva, p. 219.