

氨對紅尾蝦的毒性試驗

張朴性·丁雲源

Toxicity of Ammonia to *Penaeus penicillatus*

Poh-Shihng Chang and Yun-Yuan Ting

Culture of penaeid shrimp is important in aquaculture in Taiwan recently, and the control of water quality is very important in culture of penaeid shrimp. We attempted to study the toxicity of ammonia to larvae of *Penaeus penicillatus* and to compare the toxic effect of ammonia under salinity 10%, 20%, 30%, 40%. The results are summarized as follows.

1. The LC_{50} (96 hrs) values to larvae of *P. penicillatus* under salinity 10%, 20%, 30%, 40% is 1.350, 1.880, 1.830 and 1.900ppm, respectively,
2. Under salinity 20% approximately larvae of *P. penicillatus* had better growth and tolerance to the toxic effect of ammonia.
3. Larvae of *P. penicillatus* grew poorly under total ammonia 10ppm.
4. With other ions in water could reduce toxicity of ammonia.

前 言

近年來世界各國蝦消費量一直增加，台灣的養蝦業更有日行千里之勢，在寸土寸金下，超高密度集約式的養殖成爲必然。因此，水質的控制成爲養殖成敗的關鍵。由於養蝦飼料所含蛋白質比例極高（約35%~45%），若飼育不當，殘餌過多，被細菌、黴菌分解產生有毒物質，如硫化氫、氨，加上池蝦排泄的含氮廢物—氨⁰⁰，造成水質不良，不良的養殖環境，使蝦子體內環境失調—滲透壓無法平衡、內分泌失常；進而攝餌率降低，生長停頓，抵抗力減弱，病原趁虛而入，引起養殖蝦的大量死亡。

紅尾蝦（*Penaeus penicillatus*）蝦身半透明，是廣受全球歡迎的蝦種，不若草蝦市場的狹窄，漁業單位自去年（74），即開始推廣紅尾蝦的養殖，基於養殖業者漸多，又適本所有自產蝦苗，於是在各種塩度下做了紅尾蝦苗對 ammonia 的毒性試驗，以供參考。

材料與方法

一以半噸塑膠桶分別蓄淡、鹹水，並以臭氣發生器曝氣 96 小時以上，以供實驗之用水。

二調製鉍水原液：以乾燥之 NH_4Cl 氯化鉍 31.45 g 溶於 1 升的蒸餾水中調製成 10,000 ppm，當做實驗時之原液。

三實驗過程、水質分析的項目及儀器如下：

(一)溫度：以水銀溫度計測定。

(二) 鹽度：以鹽度計測定。

(三) 溶氧：以 model 2110 型 Do meter 測定。

(四) pH 值：以 Corning pH/ion meter 155 型測定之。

(五) 總氮量：以 Corning pH/ion meter 155 型測定之。

四 調配鹽度分別為 40%、30%、20%、10% 四桶蓄養用水，將來自本分所自行繁殖的紅尾蝦苗（體表平均為 0.82 公分、體重為 0.0039 gm）蓄養於各鹽度桶中一星期，以使其對鹽度的適應，爾後供實驗之用。

五 以 20 l 塑膠桶內調配 40%、30%、20%、10% 的鹽度試驗水 4 l，各 12 桶，並從步驟 4 抓取蝦苗，放養於各鹽度的桶中，每桶 20 尾；然後各鹽度組調配成 NH_4^+ 濃度分別為 70 ppm、60 ppm、50 ppm、40 ppm、30 ppm 及不加 NH_4^+ 之對照組，試驗之開始與結束皆測其 DO、總氮量、pH 值、各組試驗皆為重覆，求其平均值，並求出紅尾蝦之 96 小時 LC_{50} 之 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的濃度。

六 NH_4Cl 溶液加入水中，會與水產生作用，稱為水解，而使氣態氨（ NH_3 ），與離子態銨（ NH_4^+ ）共同存在，其化學平衡式為 $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$ ，在 25°C 時， k_b 為 1.76×10^{-5} ，而

$$k_b = \frac{[\text{NH}_4^+][\text{OH}^-]}{[\text{NH}_3]}, \text{ 所以氣態氨的濃度 } [\text{NH}_3] = \frac{[\text{NH}_4^+][\text{OH}^-]^{(6)}}{k_b}$$

七 在 2 個 280 l 塑膠桶內放養大小約略相同的一批蝦苗（各約 100 尾），水深 20 公分，鹽度 35%，A 桶不加 NH_4Cl 溶液，B 桶調成 NH_4^+ 濃度為 10 ppm，飼育期不打氣，為期 3 星期，每天固定投餵飼料，以不留殘飼為原則，試驗期前後採樣品量體重，體長，以歸還採樣法五隻為一組，各採五次，求其平均，比較其成長的情形。

八 在各種 $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度與其 96 小時平均累積死亡數以直線迴歸分析法求迴歸直線方程式，並求其相關程度⁽⁷⁾。

九 NH_4^+ 濃度為 10 ppm 對成長的影響，求得之數據以 t 分佈平均差顯著性測驗法⁽⁷⁾。測其差異之

$$\text{顯著性。 } t = \frac{x_1 - x_2}{S_0 \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad S_0 = \frac{\sum X_1^2 + \sum X_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \quad \text{自由度} = n_1 + n_2 - 2$$

結 果

一 實驗時，加入高濃度的 NH_4Cl 溶液，蝦苗會不正常地在水面洄游，一段時間後（時間不定），又會平靜地附於底部或桶壁，急性中毒的蝦苗身體會由透明漸漸變白，然後失去平衡，倒臥於桶底，以玻璃觸之，還會動彈，此種現象可持續很久。96 小時的急性毒性試驗後，仍有蝦苗身體冷白而未死，將之蓄養於清水中，一段時間後，少數死亡，而大多數體色又轉為正常。

二 紅尾蝦苗在各種鹽度、 NH_4^+ 濃度下之 96 小時致死實驗。溶氧量在試驗期間皆維持在 5.5 ppm 至 7.0 ppm 之間。實驗前、後所測之總氮量及 pH 值，平均累積死亡數整理於表 1。 $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度（ppm）對 96 小時累積死亡數作圖於圖 1，求得之迴歸直線以 L_{10} 、 L_{20} 、 L_{30} 、 L_{40} 表示鹽度 10%、20%、30%、40% 的四組試驗。其直線方程式及相關係數（r）如下：

$$L_{10} : Y = 15.773 \times - 11.288 \quad r = 0.960$$

$$L_{20} : Y = 18.566 \times - 24.909 \quad r = 0.954$$

$$L_{30} : Y = 17.109 \times - 21.340 \quad r = 0.970$$

$$L_{40} : Y = 18.972 \times - 25.881 \quad r = 0.987$$

當 $Y = 10$ 時，可以求得各鹽度組的 LC_{50}

鹽度為 10% 時，96 小時 $\text{NH}_3\text{-N}$ 之 LC_{50} 為 1.350 ppm

鹽度為 20% 時，96 小時 $\text{NH}_3\text{-N}$ 之 LC_{50} 為 1.880 ppm

表 1 在鹽度 10%、20%、30%、40% 下實驗前後之總氮量、pH 值及其 96 小時累積死亡數

Table 1 Under salinity 10%, 20%, 30% and 40%, total ammonia, pH value and accumulative death number during 96 hrs. before and after experiment.

	10				20				30				40							
	70	60	50	40	70	60	50	40	70	60	50	40	70	60	50	40	30			
實驗前 Before exp.	7.83	7.84	7.86	7.96	8.11	7.84	7.86	8.04	8.05	8.10	7.91	7.93	7.98	8.01	8.07	7.91	7.96	8.02	8.09	8.14
實驗後 After exp.	62.3	53.4	45.7	34.7	25.3	61.1	52.9	45.2	33.9	25.0	61.0	52.7	43.3	33.3	24.3	61.2	52.0	44.2	34.1	24.9
平均 Average	7.91	7.94	7.99	8.00	8.01	7.89	7.95	7.94	7.98	8.00	7.88	7.89	7.93	7.99	8.01	7.92	7.91	7.99	8.05	8.10
Change into NH ₃ -N 換算後 [NH ₃ -N]ppm	66.15	56.70	47.85	37.35	27.65	65.55	56.45	47.60	36.95	27.50	65.50	56.35	46.65	36.65	27.15	65.60	56.00	47.10	37.05	27.45
Acc. D. in 96 hrs. 96 小時平均累積死亡數	7.87	7.89	7.93	7.98	8.06	7.87	7.91	7.99	8.02	8.05	7.90	7.91	7.96	8.00	8.04	7.92	7.94	8.00	8.07	8.12
	2.075	1.871	1.702	1.495	1.317	2.052	1.925	1.926	1.600	1.279	2.176	1.952	1.772	1.529	1.233	2.282	2.036	1.982	1.811	1.481

(S: salinity ; T. A. : Total ammonia ; Acc. D. : Accumulative death number)

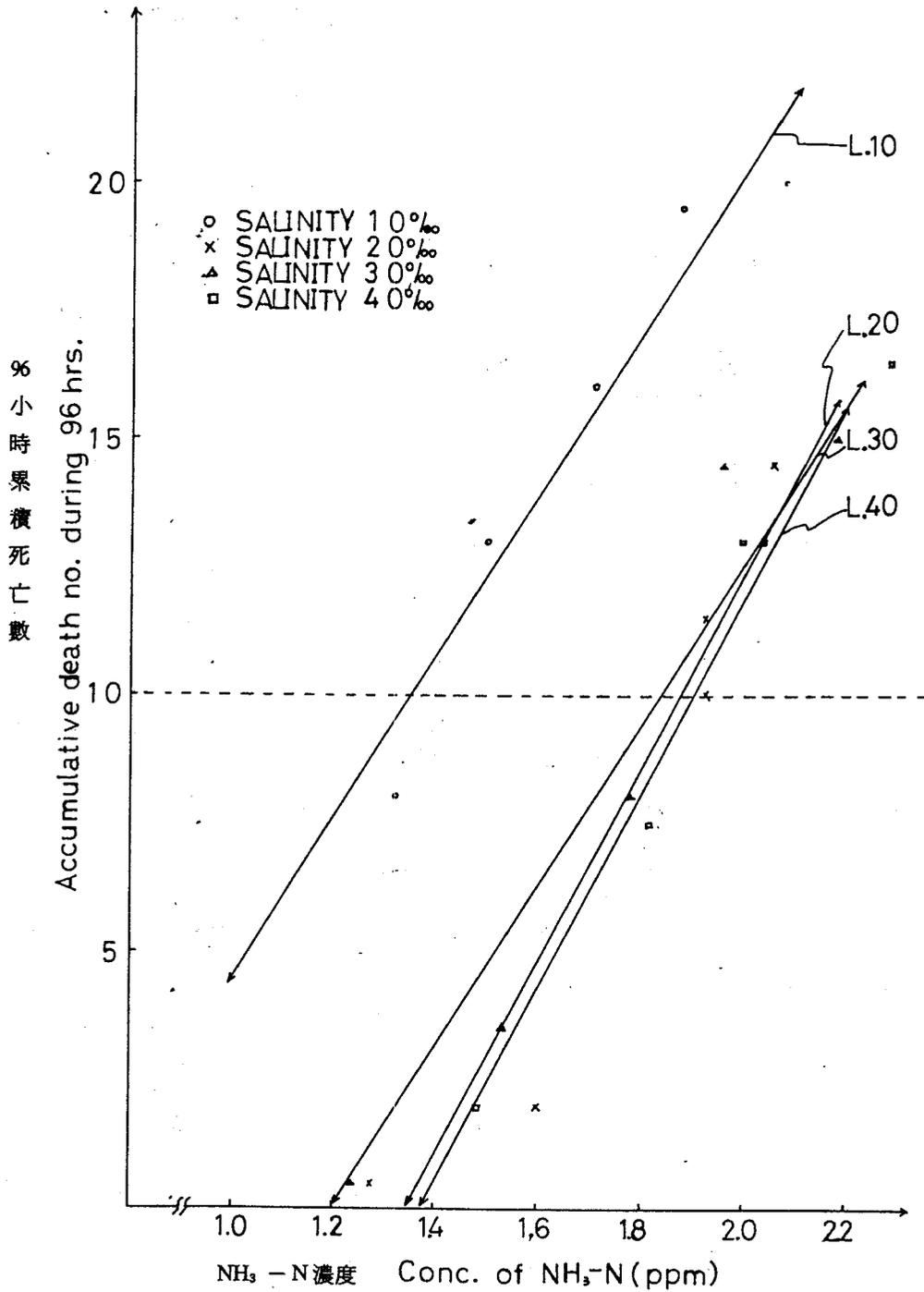


圖 1 紅尾蝦苗在鹽度 10‰、20‰、30‰、40‰ 下之氨 (NH₃-N) 96 小時半致死濃度
 Fig. 1 Acute toxicity of ammonia TLm 96 hrs. under salinity 10‰, 20‰, 30‰, 40‰ to *Penaeus penicillatus*

鹽度為 30 ‰時，96 小時 $\text{NH}_3\text{-N}$ 之 LC_{50} 為 1.832 ppm

鹽度為 40 ‰時，96 小時 $\text{NH}_3\text{-N}$ 之 LC_{50} 為 1.900 ppm

三A桶不加 NH_4Cl 溶液，B桶則調成 NH_4^+ 濃度為 10 ppm 各放養約 100 尾紅尾蝦苗，實驗期間不打氣，為期三星期實驗前後皆測其 pH 值、總氮量及採樣測其體長、體重、結果列於表 2、表 3。

表 2 A (正常水) B (10 ppm NH_4^+) 兩組實驗前後之總氮量及 pH 值

Table 2 Total ammonia and pH value in A(normal water) and B (10ppm NH_4^+) before and after experiment. (T.A. : Total ammonia)

Items 項目 組別 divisions	實驗前 Before exp.		實驗後 After exp.		平均 Average		T.A. Change into $\text{NH}_3\text{-N}$ 換算後 [$\text{NH}_3\text{-N}$] ppm
	總氮量 T.A. ppm	pH	總氮量 T.A. ppm	pH	總氮量 T.A. ppm	pH	
A	0.023	8.31	0.19	8.27	0.107	8.290	8.3×10^{-3}
B	10	8.23	8.29	7.98	9.145	8.105	0.480

表 3 紅尾蝦苗在 A (正常水)，B (10ppm NH_4^+) 兩組實驗前後所測之體長及體重

Table 3 Body length and weight in A(normal water) and B(10ppm NH_4^+) before and after experiment to *Penaeus penicillatus*.

採樣組別 Sampling divisions		1	2	3	4	5	平均 Average
實驗前 Before exp.	體長 B. L. (cm)	0.84	0.83	0.91	0.90	0.87	0.870
	體重 B.W. (g)	0.003	0.0035	0.0051	0.0045	0.0050	0.0042
實驗後 After exp.	A division 體長 B. L. (cm)	2.38	2.11	2.22	2.25	2.29	2.250
	B division 體重 B. W. (g)	0.058	0.048	0.046	0.051	0.057	0.052
	B division 體長 B. L. (cm)	1.71	1.80	1.59	1.75	1.79	1.728
	B division 體重 B. W. (g)	0.022	0.025	0.019	0.023	0.023	0.022

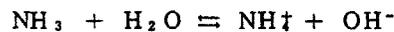
(T.A. : Total ammonia ; B.L. : Body length ; B.W. : Body weight)

四以 t 分佈平均差數顯著性測驗，分析 NH_4^+ 10 ppm 對紅尾蝦苗成長的影響程度結果得 t (體長) = 97.272 \gg t ($\frac{v=8}{p=0.05}$) = 2.306, t (體重) = 2,810.91 \gg t ($\frac{v=8}{p=0.05}$) = 2.306

所以蓄養用水在正常下及在總氮量為 10 ppm 下，蓄養 21 天，對紅尾蝦苗成長有極顯著差異。

討 論

蝦的主要含氮廢物 NH_3 (Ammonia) 由鰓排出。排泄物、殘留的食物、死亡的生物經由銨化菌 (Ammonifying b.) 的銨化作用而產生銨，銨在水中會起水解作用，以氣態氨 (NH_3) 及離子銨 (NH_4^+) 存在，其比例視水中 pH 值而定，其化學平衡式如下：



在定溫下，上式會形成平衡，即 $kb = \frac{[\text{NH}_4^+][\text{OH}^-]}{[\text{NH}_3]}$ = 常數，依勒沙特列原理⁽⁵⁾ (Principle of Le Châtelier)，當 pH 值增加，即鹼性增強時，則反應向左， NH_3 量就增加；若 pH 值減少，即酸性增強時，則反應向右， NH_4^+ 量就增加。所以總氮量若相等，則 NH_3 的濃度在鹼性下比在酸性下高。欲除去水中的銨，可將水調成強鹼，使 NH_3 比例增加，然後曝氣，驅除水中氣態氨 (NH_3)。

臭氣的還原電位 $E^\circ = 2.07\text{V}$ ，為強氧化劑，實驗用水以臭氧持續曝氣 4 天以上，乃在使水中有機物 (包括細菌、plankton、生物碎片) 氧化，可以確保實驗用水的穩定性，增加數據的可靠性。

由圖 1 可以知道紅尾蝦在鹽度 10 ‰ 時，對氨急性毒性 96 小時 LC_{50} 為 1.35ppm，遠比其他鹽度低；鹽度 20 ‰、30 ‰、40 ‰ 的 96 小時 LC_{50} 分別為 1.880ppm、1.832ppm、1.900ppm，所以可以推斷紅尾蝦在鹽度 10 ‰ 對 NH_3 的毒性抵抗力弱。

以直線迴歸方法做出的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 對 96 小時死亡數的四條迴歸直線，分別為 L_{10} 、 L_{20} 、 L_{30} 、 L_{40} ，其相關係數分別為 0.960、0.954、0.970、0.987，屬於正相關，即 $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度愈高，死亡數愈多；且兩變數具有高度的相關性。

實驗過程分析水質，pH 保持 7.7 - 8.3 間，水溫約 25°C， NH_3 約占總氮量的 5.4%，且加保持在 5.5 - 7.0 間，所以溶氧及總氮量的變化應不會影響實驗結果。

氯離子 (Cl^-) 對 NH_3 毒性影響很大，香魚在含 3 ‰ Cl^- 之水中，可增加對 NH_3 之容忍度，此大概與 Chloride shift 有關⁽¹⁾；Tomasso et al. (1980) 發現提高環境中的鈣離子 (Ca^{++}) 會提高生物對氨的容忍度。實驗結果， $\text{NH}_3\text{-N}$ 的 96 小時 LC_{50} ，在鹽度 40 ‰ 反而比 30 ‰、20 ‰ 還高，正符合他人的研究結果。

NH_4^+ 的分子大，無法通過細胞膜，所以無毒；氨的排泄方式除了 NH_3 的被動擴散外，還可以 NH_4^+ 與 Na^+ 進行主動運輸 (Maetz 和 Garcia-Romeu 1964)⁽¹⁾。Bradley and Rourke (1985) 假設環境中低濃度的 Na^+ 會降低 NH_4^+ 的排泄量，他們以無機鹽濃度低的天然水飼育小硬頭鱒 *Salmo gairdneri*，並添加 20mg/l Na^+ ，8 mg/l K^+ 及 30 mg/l Cl^- ，結果發現鰓的腫脹減少及死亡率下降⁽¹⁾⁽²⁾。紅尾蝦苗在鹽度 10 ‰ 下試驗，死亡率比其他組高，可能就是這個原因。

Colt and Armstrong (1981)⁽¹⁾⁽²⁾ 認為非離子態氨 (NH_3) 的主要效應為亞致死的影響，而成長緩慢是一種最重要的亞致死影響。並認為 $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度在 0.05 ~ 0.2 ppm 之間，可使很多水生動物成長顯著下降。Wester's (1981) 以 0.0125 ppm $\text{NH}_3\text{-N}$ 做為魚類最大容許濃度 (maximum allowable concentration)。Burrow (1964)、Smith & piper (1975) 分別以皇鮭及虹鱒的慢性中毒試驗，皆以鰓上皮組織肥大做為慢性中毒的指標。Ruffier et al.⁽¹⁾⁽²⁾ (1981) 試驗九種淡水魚對 NH_3 的急性毒性，其 96 小時 LC_{50} ，從虹鱒的 0.32ppm $\text{NH}_3\text{-N}$ 到河魴 *Ictalurnos punctatus* 的 3.10 ppm $\text{NH}_3\text{-N}$ ；黃⁽³⁾ (1979) 實驗水中銨鹽對草蝦苗之毒性，其 96 小時 LC_{50} 為 100ppm (30 ‰, 20 ‰)。

本實驗所做氨急性毒性試驗，氨濃度由 1.233ppm 至 2.176ppm 比一般養殖用水含氨量高出數十至數百倍，所以能在短時間內使蝦子死亡。經觀察結果，96 小時試驗之後，一些蝦子身體冷白，放入正常水中，少數會死亡，多數仍活下來，可見氨毒性應非急性而是慢性，主要效應為亞致死，較低濃度的 NH_3 ，會使蝦子持續中毒很久，而不致於馬上死亡。況且在正常養殖用水中，pH 值若為弱鹼 (7.5 - 8.5)， NH_3 要達到 1.8 ppm 並不容易；令人擔心的不是氨使蝦子急性中毒致死，而是在低濃度的亞致死效應—成長緩慢，攝餌不良，抵抗力減弱。至於何種濃度方為紅尾蝦的安全濃度，有待爾後試驗之。

由實驗結果可推論，在鹽度 20% 左右較適合紅尾蝦養殖，其對 NH_3 的容忍度高，且不會因抵抗高鹽度而耗費能量於滲透壓調節，可以使蝦子長得又快又健康。

此試驗單就鹽度和氨對紅尾蝦的成長和急性毒性做一探討。魚池環境千變萬化，生長限制因子及致病致死因子很多，如 NO_2^- ， H_2S 農藥、重金屬、pH、DO、細菌、病毒……等等，皆相互關連，且常有相乘效果。若水產生物要養得好，“預防重於治療”乃上策。

摘 要

一 鹽度為 10% 時，紅尾蝦苗 96 小時 $\text{NH}_3\text{-N}$ LC_{50} 為 1.350 ppm。

二 鹽度為 20% 時，紅尾蝦苗 96 小時 $\text{NH}_3\text{-N}$ LC_{50} 為 1.880 ppm。

三 鹽度為 30% 時，紅尾蝦苗 96 小時 $\text{NH}_3\text{-N}$ LC_{50} 為 1.832 ppm。

四 鹽度為 40% 時，紅尾蝦苗 96 小時 $\text{NH}_3\text{-N}$ LC_{50} 為 1.900 ppm。

五 紅尾蝦苗養在鹽度約 20%，成長及對氨容忍度皆較好。

六 總氨量為 10 ppm 時，確定對紅尾蝦苗的成長有顯著的影響。

七 水中的離子確定可降低 NH_3 對生物的毒性。

參考文獻

1. Nagel, Ludwig, (1980). water-reuse systems in aquaculture *Animal Research and Development*, 2, 12 - 31.
2. Prog. Fish-cult. 47(3), (1985). 秦宗顯譯養魚世界 '86, 4 月號, 55 - 62.
3. Fishery Bacteriology 農後會特刊, 33.
4. Hon-Cheng Chen and Chin-Feng Chang Studies on the Toxicity of Methylene Blue and Malachite Green to Some Aquatic Organisms in Eel Ponds. CAPD Fisheries Series, 3, 74 - 85.
5. Douglas A. Skoog Donald M. West. Fundamentals of Analytical Chemistry, 3rd Edition.
6. James P. McVey Ph. D., J. Robert Moore, Ph. D. CRC Hand Book of Mariculture, 1, Crustacean Aquaculture.
7. Sokal/ROHLF, Biometry second Edition.
8. Chan-Heng Chien, Fu-Chuan Lee and Ting-Chi Yu (1983). Toxicological Studies of Some Drugs in Sarotherodon. CAPD Fisheries Series, 9, Fish Disease Research (V), 10 - 21.
9. 陳建初 (1981). 水質分析.
10. 陳建初, 水質管理.
11. 田端端, (1970). 水處理技術, 11(5).
12. 黃本 (1979). 草蝦池之生態研究, 文化學院海洋研究所碩士論文。