

해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표에 관한 연구

V. 황해산 도다리 (*Pleuronichthys cornutus*)의 산소라디칼 및 제거효소의 변화

최진호 · 김동우 · 박청길* · 양동범**

부경대학교 식품생명과학과, *부경대학교 공과대학 환경공학과

**한국해양연구소 해양화학연구부

Study on Biochemical Pollutant Markers for Diagnosis of Marine Pollution

V. Changes in Oxygen Radicals and Their Scavenger Enzymes of the Flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in the Yellow Sea

Jin-Ho CHOI, Dong-Woo KIM, Chung-Kil PARK* and Dong Beom YANG**

Department of Food and Life Science, *Department of Environmental Engineering,

Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

**Korea Ocean Research and Development Institute, Ansan 425-170, Korea

This study was designed to investigate the biochemical pollutant marker for diagnosis of marine pollutions by changes in oxygen radicals and their scavenger enzymes of the flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in the Yellow Sea of Korea. Protein contents in brain and muscle of wild flounders in the Yellow Sea were remarkably lower (15~45% and 35~45%, respectively) than those of wild flounder in Pohang (control) of the East Sea. Lipid peroxide (LPO) levels in serum of wild flounders in the Yellow Sea were significantly higher (30~70%) than those of wild flounder in Pohang. Hydroxyl radical formations in serum of wild flounders in the Yellow Sea were significantly higher (15~90%) than those of wild flounders in Pohang. Superoxide dismutase (SOD) activities in serum of wild flounders in the Yellow Sea were significantly lower (20~40%) than those of wild flounders in Pohang, and glutathione peroxidase (GSHPx) activities in brain of wild flounders in the Yellow Sea were also significantly lower (10~60%) than those of wild flounders in Pohang. These results suggest that significantly decreases of protein contents in brain and muscle, remarkable increases of malondialdehyde (LPD) in serum, and decreases of SOD and GSHPx activities in serum and brain of wild flounders of the Yellow Sea may be used as a biochemical pollutant markers for diagnosis of marine pollutions.

Key words : flounder (*Pleuronichthys comutus*), Yellow Sea, protein, oxygen radical, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSHPx), hydroxyl radical

서 론

해양 오염에 의한 해양 생태계의 파괴는 인간의 생존과 직결되는 심각한 문제가 아닐 수 없다. 지금까지는 공장폐수나 가정용 우수, 그리고 농약 등 육상의 오염에 대해서만 우려를 보였지만, 이들 오염물질들이 정화되지 않고 바다에 유입되면서부터 해양생태계의 심각한 파괴가 현실로 다가오고 있다. 그 중에서도 어패류나 해조류 등 수산식품의 오염은 정말 심각하다. 사실 우리 국민의 동물성 단백질의 거의 50%를 해산물에 의존하고 있기 때문에 삼면이 바다인 우리나라의 해양오염은 매우 심각하게 받아 들여야 한다.

해양의 오염이 심각해지면서 이들 오염을 신속 정확

하게 예찰하는 것이 이들 오염으로부터의 피해를 최소화할 수 있다는 사실은 너무나 당연하다. 해양의 오염은 해수 및 해저 퇴적물중의 오염물질의 농도로 정량화하고 있지만, 이는 확실한 오염의 지표라고는 볼 수 없다. 실제로 중요한 것은 오염물질들이 어떻게, 얼마나 해양 생태계에 영향을 주는가를 밝혀내는 일이다. 해양의 수많은 생물종들이 다양한 오염물질에 의해 어떠한 피해를 받는가를 모두 조사한다는 것은 거의 불가능하기 때문에 오염물질에 민감하게 반응하는 생물들을 중심으로 생화학적, 생리학적 지표를 개발하는 연구가 많이 진전되고 있을 뿐만 아니라 해양환경의 영향평가에 실제 적용되기 시작하고 있다 (Ellman et al., 1961; Hollard et al., 1967; Grzebyk et al., 1991; Galgani et al., 1990, 1991, 1992; Bo-

본 연구는 환경부 과학기술처의 선도기술개발사업인 "황해의 오염감시 및 개선기술"의 1차년도연구비 지원을 받아 수행되었음.

cquéné et al., 1991; Collier et al., 1992; Grzebyk et al., 1991; McCain et al., 1996).

전보 (Choi et al., 1997ab; Moon et al., 1997)의 서해안의 넙치를 시료로 하여 오염지표 설정을 위한 연구에 이은 연구로서, 해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표 설정의 기초연구로서, 저서어 (底棲魚)로서 오염도 평가에 널리 사용되고 있는 도다리를 사용하여 이들 오염이 활성산소 (oxygen free radical)로 알려진 히드록시 라디칼 (hydroxyl radical), 슈퍼옥시드 라디칼 (superoxide radical) 등의 활성산소종 (reactive oxygen species: ROS) 및 그들의 제거효소 (scavenger enzyme)로서 슈퍼옥시드 디스무타아제 (superoxide dismutase: SOD), 글루타치온 퍼옥시다아제 (glutathione peroxidase: GSHPx) 등의 활성을 분석 비교하여 생화학적 오염지표의 설정 가능성을 평가하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시료, 시약 및 조직의 분획

전보 (Choi et al., 1997)와 마찬가지로 도다리 시료 (*Pleuronichthys cornutus*)로서 사용한 시험군은 서해안의 보령 (Poryong), 아산 (Asan), 격포 (Kyougpo), 서산 (Sousan)에서 채집한 (체장 32.5~36.5 cm, 체중 600~800 g) 자연산인, 그리고 대조군은 오염도가 비교적 적은 동해안의 포항 (Pohang)에서 채집한 자연산을 각각 1996년 5월~7월 사이에 7~10마리씩 구입하여 현지에서 마취제 4-aminobenzoic acid ethyl ester (benzocaine) 소량을 에탄올에 녹여 물에 희석한 다음, 이들 도다리를 넣어 마취한 다음, 체장과 체중을 측정하고 동시에 꼬리부분의 등뼈에서 채혈하여 혈청을 분리하였고, 어체를 개복하여 간장, 뇌, 근육을 일정량씩 분취한 다음 동결고 (-70°C)에 저장하였다.

본 실험에 사용한 관련시약은 모두 특급 및 1급을 사용하였고, 비색법을 이용한 성분분석은 Double Beam Spectrophotometer (UV-140-02; Shimazu Co.)를 사용하여 측정하였다.

전보 (Choi et al., 1997)에 따라 등뼈 밑에서 채혈한 혈액을 상법에 따라 혈청을 분리하였고, 또한 뇌 및 근육의 일정량을 분취하여 완충용액 (1.15% KCl/10 mM phosphate buffer + 5 mM EDTA, pH 7.4)에 넣어 -70°C에 동결 보존하였다. 이들 조직 획분은 저온실에서 Galgani et al. (1992)의 방법에 따라 분획하였다. 즉 각 조직 1g씩을 분취한 다음, 인산완충용액 (0.1 M Tris buffer, pH 8.0)에 2 배량의 완충용액으로 1분간 균질화한 다음, 10,000×에서

20분간 원심분리하였다. 이 때 잔사는 버리고 상층액을 활성산소 및 제거효소의 활성 측정에 사용하였다.

2. 단백질 함량의 측정

혈청 및 조직획분의 단백질 함량은 Lowry et al. (1951)의 방법에 따라 표준 단백질로서 BSA (bovine serum albumin)를 사용하여 분광광도계를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의하여 단백질의 함량을 정량하였다.

3. 과산화지질 함량의 측정

혈청중의 과산화지질 (lipid peroxide: LPO)의 함량은 Choi et al. (1990)의 방법에 따라 TBA (thiobarbituric acid)법으로 말론디알데히드 (malondialdehyde: MDA)의 함량을 측정하였다. 혈청 20 μ l에 증류수 180 μ l을 혼합한 것을 각 시험관에 취하고 8.1% SDS (sodium dodecyl sulfate) 용액 200 μ l를 가하여 약 5초간 혼합한 다음, 20% 초산 1.5 ml를 넣어 다시 5초간 혼합하여 1.2% TBA (thiobarbituric acid) 시약 1.0 ml를 첨가하여 깨끗한 구슬로 마개하여 수조상 (95°C)에서 30분간 가열하였다. 이 반응액을 800×에서 10분간 원심분리하여 상층액을 분광광도계를 사용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의거, 과산화지질 (LPO)의 함량을 정량하였다.

4. 히드록시 라디칼의 측정

혈청중의 히드록시 라디칼 (hydroxyl radical)의 측정은 0.1 M의 인산완충용액 (pH 7.4), 10 mM Na₃N, 7 mM deoxyribose, 5 mM ferrousammonium sulfate, 0.54 M NaCl 시약을 각각 33.3 μ l씩 첨가하고 검체군은 시료 (15 μ l)와 물 (185 μ l)을 합하여 200 μ l되게 하고, 대조군은 물 (200 μ l)만 넣어 이 혼합된 용액을 37°C 항온수조에서 15분간 가온한다. 그 후 검체군의 시료 (30 μ l)는 반드시 가온후에 첨가한다. 이 반응액에 8.1% SDS용액 75 μ l와 20%의 초산 500 μ l, 물 25 μ l를 추가하여 넣고 1.2% TBA용액 333 μ l를 넣어 잘 섞는다. 그 후 30분간 끓이고 실온에서 식힌 후, 800×에서 5분간 원심분리하여 얻은 상층액으로 분광광도계를 이용 532 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선에 의해 검체군과 대조군의 흡광도의 차를 이용하여 히드록시 라디칼 (nmole/mg protein/min)의 생성량을 계산하였다.

5. 슈퍼옥시드 디스무타아제의 활성 측정

Oyanagui et al. (1984)의 방법에 따라 혈청을 인산완충

용액 (pH 8.2)으로 30배로 희석하여 그 0.1 ml에 증류수 0.5 ml, A시약 (52.125 mg of hydroxylamine + 102.1 mg hypoxanthine/250 ml D.W) 0.2 ml, B시약 (20 μ l xanthine oxidase (5.0unit/0.5 ml) + 0.9939 mg EDTA/26.7 ml phosphate buffer, pH 8.2) 0.2 ml를 첨가, 혼합하여 37°C 항온수조에서 40분간 정치한 후 C시약 (300 mg sulfanilic acid + N-1-naphthylethyene diamine acid/500 ml 16.7% acetic acid) 2.0 ml를 첨가 혼합하여 실온에서 20분간 정치한 후 분광광도계를 사용, 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의거, 수퍼옥시드 디스무타아제 (SOD)를 정량하였다.

6. 글루타치온 퍼옥시다아제의 활성 측정

Lawrence et al. (1978)의 방법에 의해 뇌 및 근육에서 분획한 상층액에서 글루타치온 퍼옥시다아제 (glutathione peroxidase: GSHPx)의 활성의 측정은 이 상층액을 인산완충용액 (0.3 M/4.0 mM EDTA)으로 10배 희석하여 사용하였다.

시험관에 인산완충용액 (0.3 M phosphate buffer/4.0 mM EDTA, pH 7.2) 0.1 ml, 증류수 1.295 ml, 26.56 mM NaN_3 용액 (86.33 mg NaN_3 /50 ml D.W) 0.5 ml, 294.37 mM GSH 용액 (452.34 mg glutathione/5.0 ml of 0.3 M phosphate buffer/4.0 mM EDTA) 60 μ l, 8.4 mM NADPH (35.0 mg NADPH/5.0 ml 0.3 M phosphate buffer/4.0 mM EDTA) 110 μ l, glutathione reductase (5 mg GSH-Re/1.0 ml 0.3 M phosphate buffer/4.0 mM EDTA) 5 μ l, 1 mM hydroperoxide 320 μ l와 희석된 상층액 30 μ l를 첨가하여 5초간 잘 혼합한 후 즉시 분광광도계를 사용하여 340 nm에서 흡광도를 15초 간격으로 2분간 측정하여 표준검량선에 의해 GSHPx의 활성을 정량하였다.

7. 분석결과의 통계처리

모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였고, 각 군간의 유의성 검정은 Student's t-test (Steel et al., 1960)로 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 단백질의 함량 비교

시험군으로서 서해안의 보령, 아산, 격포, 서산의 자연산 도다리와 대조군으로서 포항의 자연산 도다리의 혈청, 근육 및 뇌의 단백질의 함량을 비교하여 보면 Fig. 1과 같다. 이들 도다리 시료의 혈청에서의 단백질 함량 사이에는 뚜렷한 차이를 발견할 수 없었다. 그러나 Fig. 1에

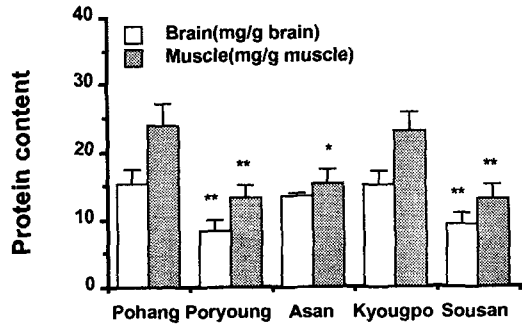


Fig. 1. Comparisons of protein contents in brain and muscle of wild flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in May-July 1996.

* $p < 0.01$; ** $p < 0.001$ compared with wild flounder in Pohang.

서 보는 바와 같이 뇌 및 근육의 단백질 함량은 대조군으로 사용한 포항의 자연산 도다리의 단백질 함량보다 서해안 자연산 도다리의 단백질 함량이 대부분 유의적인 감소현상을 나타내고 있었다. 이러한 사실은 전보 (Moon et al., 1997)에서 넙치를 사용한 연구결과와 거의 유사함을 알 수 있었다.

서해안 격포산 도다리를 제외하고 서해안의 자연산 도다리의 뇌중의 단백질의 함량 ($8.37 \pm 1.62 \sim 13.34 \pm 0.64$ mg/g brain) 및 근육의 단백질의 함량 ($13.00 \pm 1.99 \sim 15.30 \pm 2.14$ mg/g muscle)이 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 도다리의 뇌 및 근육중의 단백질 함량 (15.25 ± 2.12 mg/g brain; 23.92 ± 3.21 mg/g muscle: 100%) 대비 뇌는 15~45%, 근육은 35~45%나 현저히 감소되고 있음을 알 수 있었다. 또한 이들 도다리의 단백질 함량은 근육이 뇌보다 약간 높았다. 그러나 서해안의 격포산 도다리의 단백질 함량은 포항의 도다리의 단백질 함량과 유의적인 차이를 발견할 수 없었다. 뇌나 근육중의 단백질 함량을 해양의 오염에 따라 현저히 감소한다는 것은 매우 흥미있는 사실로서, 서식환경의 오염에 의하여 단백질의 함량이 감소하고 있음을 알 수 있었다. 이러한 사실은 이미 Galgani et al (1992)의 보고에서 오염에 따라 AChE 활성의 감소와 함께 단백질의 함량도 감소하고 있다는 사실을 지적한 바 있다.

2. 과산화지질의 함량 비교

산소 라디칼로 알려진 히드록시 라디칼이나 수퍼옥시드 라디칼 등의 활성산소종 (ROS)에 의해 생성되는 과산화지질 (lipid peroxide: LPO)의 함량은 말론디알데히드 (malondialdehyde: MDA)를 측정하여 정량한다. 생체

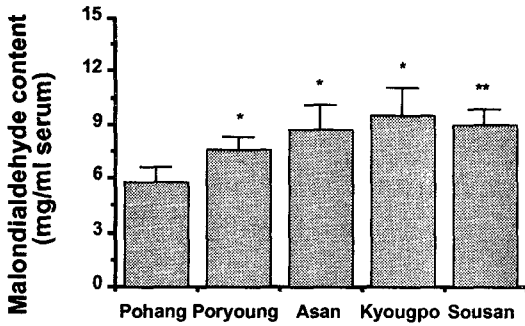


Fig. 2. Comparisons of lipid peroxide (MDA) contents in serum of wild flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in May-July 1996. *p<0.01; **p<0.001 compared with wild flounder in Pohang.

Table 1. Comparisons of hydroxyl radical formations in serum of wild flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in May-July 1996

Stations (Area)	Hydroxyl radical formation (nmol/mg protein)	%
East Sea		
Pohang (W)	3.10 ± 0.35	100.0%
West Sea		
Poryoung (W)	5.91 ± 0.72*	190.7%
Asan (W)	3.14 ± 0.25	101.3%
Kyoungpo (W)	3.51 ± 0.54	113.2%
Sousan (W)	6.00 ± 0.55*	193.6%

W: wild flounder. *p<0.001 compared with wild flounder in Pohang.

내에서 과산화지질은 성인병의 발병 뿐만 아니라 노화과정을 촉진하는 것으로 알려져 있다 (Yagi, 1987; Choi et al., 1989, 1990, 1995; Yu, 1993).

이런 이유로 해서 과산화지질의 함량이 해양오염에 따라 어체내의 과산화지질의 함량이 축적될 가능성이 매우 높다. 실제 서해안 자연산의 도다리의 과산화지질의 함량을 동해안의 포항의 자연산 도다리를 대조군으로 하여 측정하여 보면 Fig. 2와 같다. 서해안 자연산 도다리의 혈청중의 과산화지질 (MDA)의 함량은 $7.62 \pm 0.69 \sim 9.54 \pm 1.57$ nmol/ml serum으로서 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 도다리의 혈청중의 과산화지질의 함량 (5.72 ± 0.92 nmol/ml serum; 100%) 대비 133.2~166.8%로서 30~70%나 현저히 높았다. 이러한 사실은 전보 (Moon et al., 1997)에서 사용한 넙치 시료의 결과와 거의 유사한 경향으로서, 서해안의 자연산 도다리도 그 오염의 정도가 상당히 심각할 것으로 생각된다.

3. 활성산소종의 생성량 비교

생체내의 과산화지질의 생성에 직접 관계하고 있는 산소 라디칼중에서 가장 강력한 라디칼인 히드록시 라디칼의 생성량을 비교하기 위하여 서해안 자연산의 도다리의 히드록시 라디칼의 생성량을 동해안 포항의 자연산 도다리의 히드록시 라디칼의 생성량을 대조군으로 하여 측정하여 보면 Table 1과 같다.

서해안 아산의 자연산 도다리를 제외한 자연산 도다리의 혈청중의 히드록시 라디칼의 생성량은 $3.51 \pm 0.54 \sim 6.00 \pm 0.55$ nmol/mg protein로서 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 도다리의 혈청중의 히드록시 라디칼의 생성량 (3.10 ± 0.35 nmol/mg protein; 100%) 대비 15~90% 정도나 높다는 사실을 알 수 있었다. 전보 (Moon et al., 1997)에서 넙치를 시료로 한 연구결과와는 상당한 차이가 있었는데, 이러한 사실은 오염에 따라 나타나는 어종 (魚種)에 따라 생리적인 차이가 있다는 사실을 암시하고 있다. 결국 $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \cdot OH$ 라는 금속촉매관련 Harber-Weiss 반응 (Black, 1987)에 의한 히드록시 라디칼 ($\cdot OH$) 생성반응에서 $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ 로 변화시키는 수퍼옥시드 라디칼 (superoxide radical: $O_2^- \cdot$)의 생성 메카니즘 (Ogura et al., 1991)에 따른다는 사실을 알 수 있다.

4. 활성산소종에 대한 제거효소의 활성 비교

한편 수퍼옥시드 라디칼, 히드록시 라디칼 ($\cdot OH$) 및 과산화수소 (H_2O_2) 등의 활성산소에 대한 제거효종에서 가장 강력한 수퍼옥시드 디스무타아제 (SOD)의 활성을 동해안의 포항산 도다리를 대조군으로 하여 서해안의 자연산 도다리의 혈청에서 측정하여 본 결과는 Fig. 3과 같다.

서해안 자연산 도다리의 혈청중의 SOD의 활성은 서산을 제외하고 $2.54 \pm 0.37 \sim 3.28 \pm 90.46$ unit/mg protein으로서 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 도다리의 혈청중의 SOD의 활성 (4.02 ± 0.42 unit/mg protein; 100%) 대비 63.2~81.6%로서, 20~40%나 SOD의 활성이 유의적으로 낮았다. 이상의 결과에서 볼 때 해양오염에 의해 SOD의 활성도 현저히 감소한다는 사실을 알 수 있다.

한편 생체내에서 대사과정중에 생성되는 과산화수소의 제거효소로 알려진 글루타치온 퍼옥시다아제의 활성을 비교하여 보았다. 서해안의 자연산 도다리의 GSHPx의 활성을 동해안의 포항산 도다리의 GSHPx의 활성을 대조군으로 하여 비교하여 보면 Table 2와 같다. 서해안의 자연산 도다리의 뇌중의 GSHPx의 활성은 $92.79 \pm 27.31 \sim 142.17 \pm 41.75$ μ mol/min/mg protein으로서 대조

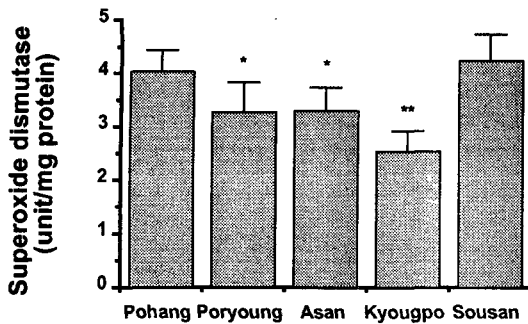


Fig. 3. Comparisons of superoxide dismutase (SOD) activity in serum of wild flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in May-July 1996. * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$ compared with wild flounder in Pohang.

Table 2. Comparisons of glutathione peroxidase (GSHPx) activity in brain of wild flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in May-July 1996

Stations (Area)	Glutathione peroxidase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein)	%
East Sea		
Pohang (W)	159.25 \pm 30.23	100.0%
West Sea		
Poryoung (W)	142.17 \pm 41.75	89.3%
Asan (W)	92.79 \pm 27.31 ²	58.3%
Kyougpo (W)	93.46 \pm 19.36 ²	58.7%
Sousan (W)	130.25 \pm 30.24 ¹	81.8%

W: wild flounder. ¹ $p < 0.01$; ² $p < 0.001$ compared with wild flounder in Pohang.

군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 도다리의 뇌중의 GSHPx의 활성 (159.25 \pm 30.23 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein; 100%) 대비 58.3~89.3%로서, 10~60%정도나 유의적으로 낮았다. 이러한 사실도 도다리의 SOD의 활성과 마찬가지로 해양오염에 의해 활성산소의 제거효소로서 생체의 방어효소가 그 만큼 활성이 저하되고 있다는 사실을 알 수 있었다.

요 약

해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표 설정의 기초연구의 일환으로서, 오염이 심각한 서해 (또는 황해)산 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)에 이어 서해산 도다리 (*Pleuronichthys cornutus*)의 혈액 및 뇌중의 활성산소종 및 그들의 제거효소의 활성을 동해안의 포항의 자연산 도다리를 대조군으로 하여 분석 평가하였다. 이들 넙치의 혈청중의 단백질의 함량은 해역이나 서식환경에 따라 뚜렷한 차이를 발견할 수 없었지만, 서해안 자연산 도다리

의 뇌 및 근육중의 단백질의 함량은 동해안의 포항산 도다리 대비 뇌는 15~45%, 근육은 35~45%나 현저히 감소되고 있었다. 서해안의 자연산 도다리의 혈청중의 과산화지질 (MDA)의 함량은 포항의 자연산 도다리의 대조군 대비 30~70%나 현저히 높았다.

서해안의 자연산 도다리의 혈청중의 히드록시 라디칼의 생성이 동해안 포항의 자연산 도다리의 혈청중의 히드록시 라디칼의 생성 대비 15~90% 정도나 유의적으로 높았다. 서해안의 자연산 도다리의 혈청중의 SOD의 활성은 동해안 포항의 자연산 도다리의 혈청중의 SOD의 활성 대비 20~40%나 SOD의 활성이 유의적으로 낮았을 뿐만 아니라 서해안의 자연산 도다리의 뇌중의 GSHPx의 활성도 동해안 포항의 자연산 도다리의 뇌중의 GSHPx의 활성 10~60%정도나 유의적으로 낮았다. 이러한 사실도 도다리의 SOD의 활성과 마찬가지로 해양오염에 의해 활성산소의 제거효소로서 생체의 방어효소가 그 만큼 활성이 저하되고 있다는 사실을 입증하고 있다. 이상의 실험 결과에서 볼 때 뇌나 근육중의 단백질 함량의 감소, 혈청중의 SOD 및 뇌중의 GSHPx 활성의 저하, 그리고 혈청중의 과산화지질의 함량이 서해안의 도다리가 동해안의 대조군 대비 유의적인 변화를 나타낸다는 사실은 생화학적 오염지표로서의 가능성을 검토할 가치가 있다고 판단된다.

참 고 문 헌

- Black, H.S. 1987. Potential involvement of free radical reactions in ultraviolet light-mediated cutaneous damage. *Photochem and Photobiol.* 46 (2), 213~221.
- Bocquéné, G. and F. Galgani. 1991. Acetylcholinesterase activity in the common prawn (*Palaemon serratus*) contaminated by carbarly and phosalone: choice of a method for detection of effects. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 22, 337~345.
- Choi, J.H., D.W. Kim, J.I. Kim, C.K. Park and D.B. Yang. 1997. Study on Biochemical Pollutant Marker for Diagnosis of Marine Pollution III. Changes in Cholinesterase Activity of Flounder (*Paralichthys olivaceus*) in the Yellow Sea. *Korean J. Life Science* 7 (1), 17~23.
- Choi, J.H., D.W. Kim, Y.S. Moon, C.K. Park and D.B. Yang. 1997. Study on Biochemical Pollutant Index for Diagnosis of Marine Pollution I. Changes in Lipid Components of Flounder (*Paralichthys olivaceus*) in the Yellow Sea. *Korean J. Life Science* 7 (1), 1~9.
- Choi, J.H., D.W. Kim, C.K. Park and D.B. Yang. 1997. Study on Biochemical Pollutant Index for Diagnosis of Marine Pollution IV. Changes in Lipid Components of

- Flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in the Yellow Sea. J. Korean Fish. Soc. 30, OO~OO.
- Choi, J.H. and B.P. Yu. 1989. The effect of food restriction on kidney membrane structures of aging rats. Age 12. 133~136.
- Choi, J.H. and B.P. Yu. 1990. Unsuitability of TBA test as a lipid peroxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kidney. Age 13, 61~64.
- Choi, J.H. and B.P. Yu. 1990. Unsuitability of TBA test as a lipid reoxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kidney. Age 13, 61~64.
- Choi, J.H. and B.P. Yu. 1995. Brain synaptosomal aging: Free radicals and membrane fluidity. Free Rad. Biol. Med. 18, 133~139.
- Collier, T.K., S.D. Connor, B.L. Eberhardt, B.F. Anulacion, A. Goks-yr and U. Varanas. 1992. Using cytochrome P-450 to monitor the aquatic environment. Mar. Env. Res. 34, 195~199.
- Ellman, G.L., K.O. Courtney, V. Andres and R.M. Featherstone 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol. 7, 88~95.
- Galgani, F., G. Bocquéné and Y. Cadiou, 1992. Evidence of variation of cholinesterase activity in fishes along a pollution gradient in the North Sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 19.
- Galgani, F. 1992. Monitoring of pollutant biochemical effects on marine organisms of the french coasts. Oceanologica Acta. 15 (4), 355~364.
- Galgani, F. and G. Bocquéné. 1990. In vitro inhibition of acetylcholinesterase from four marine species by organophosphates and carbamates. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 45, 243~249.
- Grzebyk, D. and F. Galgani. 1991. Measurement of organic pollution on marine organism: Rapid determination of EROD induction using plate readers. Aquat. Liv. Resour. 4, 53~59.
- Holland, H.T., D.R. Coppage and Imada, N. 1967. Use of fish brain acetylcholinesterase to monitor pollution by organophosphorus pesticides. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2 (3), 156~162.
- Lawrence, R.A. and R.F. Burk. 1978. Species, tissue and subcellular distribution of non Se-dependent glutathion peroxidase activity. Lipid 19, 444~448.
- Lowry, O.H., N.J. Roseborough, L.A. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265~275.
- McCain, B.B., T.K. Collier, D.W. Brown, J.E. Stein, T. Horn, S.L. Chan, M.S. Myers, S.M. Pierce and U. Varanas. 1996. Chemical contaminant exposure and effects in four fish species from Tampa Bay, Florida. Estuaries 19 (1), 86~104.
- Moon, Y.S., D.W. Kim, J.H. Choi, C.K. Park and D.B. Yang. 1997. Study on Biochemical Pollutant Index for Diagnosis of Marine Pollution II. Changes in Oxygen Radicals and Their Scavenger Enzymes of Flounder (*Paralichthys olivaceus*) in the Yellow Sea. Korean J. Life Science 7 (1), 10~16.
- Ogura, R., J. Sugiyama, J. Nishi and N. Haramaki. 1991. Mechanism of lipid radical formation following exposure of epidermal homogenate to ultraviolet light. J. Invest Dermatol. 97, 1044~1047.
- Oyanagui, Y. 1984. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. Anal. Biochem. 42, 290~296.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1960. Principles and procedures of statistics. McGrawhill., New York.
- Yagi, K. 1987. Lipid peroxides and human diseases: Chemistry and physics of lipids, Elsevier Scientific Publishers, Ireland, Ltd. 45, 337~351.
- Yu, B.P. 1993. Oxidative damage by free radicals and lipid peroxidation in aging, in Free Radicals In Aging, edited by Yu, B.P., Boca Taton, CRC Press pp. 77~88.

1997년 3월 4일 접수

1997년 7월 2일 수리