

## Formalin에 노출시킨 넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 간장 약물대사효소의 *in vivo* 및 *in vitro* 반응

이지선 · 하진환<sup>1</sup> · 이경선<sup>2</sup> · 전중균\*

강릉대학교 해양생명공학부/동해안해양생물자원연구센터  
<sup>1</sup>제주대학교 식품생명공학과, <sup>2</sup>목포해양대학교 해양환경공학전공

## *In vitro* and *In vivo* Responses of Hepatic Xenobiotic Metabolizing Enzymes in Flounder (*Paralichthys olivaceus*) Exposed to Formalin

Ji-Seon Lee, Jin-Hwan Ha<sup>1</sup>, Kyoung-Seon Lee<sup>2</sup> and Joong-Kyun Jeon\*

Division of Marine Bioscience and Technology, Kangnung National University/  
EMBRC, Gangneung, Korea

<sup>1</sup>College of Engineering, Cheju National University, Jeju, Korea

<sup>2</sup>Division of Ocean System Engineering, Mokpo National Maritime University, Mokpo, Korea

**Abstract** - The response of hepatic mixed function oxygenase (MFO) system was investigated in olive flounder exposed to formalin. Hepatic microsome of olive flounder incubated *in vitro* with formalin demonstrated the induction of cytochrome P450 (CYP), ethoxyresorufin deethylase (EROD), cytochrome P450 reductase (P450R) and cytochrome b5 reductase (b5R) activity. In addition, olive flounder was exposed to 100, 300 and 500 ppm of formalin for 1 h and then transferred to a flow-through type of 1000 L aquarium. Hepatic MFO enzyme activity was determined for 72 h.

As the result, hepatic CYP, P450R and EROD activities increased following exposure of formalin, but b5R and GST showed no significant change. These results imply that CYP and P450R can be considered as main hepatic enzymes involving in detoxification of formalin.

**Key words** : formalin, *in vivo*, *in vitro*, cytochrome P450, cytochrome P450 reductase, EROD

### 서 론

우리나라에서 포르말린은 극약으로 지정될 만큼 맹독성 화합물이지만 수산 증·양식 분야에서는 기생충 방제를 위해 많이 사용하고 있으며 주로 *Gyrodactylus*

(skin flukes), *Dactylogyrus* (gill flukes), *Ichthyobodo* (*Costia*), *Trichodina*, *Chilodonella* 및 *Ichthyophthirius* (white spot)의 방제에 효과가 있다고 한다 (Leteux and Meyer 1972).

일본에서는 1977년 수산청이 포르말린 사용제한을 권고한 바 있으며, 후생성은 포르말린을 식중독병인물질분류 (食中毒病因物質分類)에서 비소나 납, 카드뮴 등과 함께 화학물질에 포함시키고 있다.

\* Corresponding author: Joong-Kyun Jeon, Tel. 033-640-2412, Fax. 033-647-2410, E-mail. jkjeon@kangnung.ac.kr

우리나라에서도 양식생산량이 지난 십여 년간 급속하게 늘어났고 특히 육상에서의 고밀도 사육의 증가세가 눈에 띄게 늘어나고 있지만 고밀도사육을 하면 어체 간 접촉으로 비늘 박리되어 피부 질환은 물론이고 수질 악화에 따른 전염병이 단시간에 확산될 개연성도 크기 때문에 어병의 예방은 무엇보다 중요하다.

포르말린은 기생충 방제 효과가 좋아 외국에서도 일찍부터 사용하였기에 급·만성독성 조사가 담수어를 중심으로 이루어졌고(Bills *et al.* 1977, 1993; Howe *et al.* 1995; Hohreiter and Rigg 2001), 국내에서는 몇몇 연구자들에 의해 해산어인 넙치(*Paralichthys olivaceus*)를 대상으로 한 연구가 수행된 바 있다(박 등 1995; 조와 양 1996; 양 등 1997; Jung *et al.* 2001; 정과 김 2005). 하지만 국내 연구는 대부분 포르말린 노출 시 어체 조직의 병리학적이거나 혈액학적 이상 유무를 조사하는 내용이었고, 노출된 어류의 생화학적인 적응 반응 등에 관해서는 연구된 것이 거의 없다(Jung *et al.* 2001).

일반적으로 어류는 약물이나 오염물질 등의 외인성 물질(xenobiotics)이 체내로 들어오면 이를 신속하게 체외로 배설하기 위해 간장, 신장, 아가미 등 조직의 약물 대사효소계(drug-metabolizing enzyme system)가 반응하는데(Van Veld 1990), 이들 효소계는 대부분 세포의 미크로솜에 국재하며 간장에서의 활성이 가장 강하고, 어류에서는 cytochrome P450 monooxygenase (phase I)와 포합효소(phase II)가 주로 관여한다고 알려져 있다(Chambers and Yarbrough 1976).

본 연구에서는 우리나라에서 많이 양식하는 종인 넙치를 대상으로 하여 포르말린에 노출 시켰을 적에 간장에서 일어나는 약물대사효소계의 반응을 *in vitro* 및 *in vivo* 조건에서 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 대상생물

실험에 사용한 넙치(*P. olivaceus*)는 강원도 강릉시의 개인양식장에서 부화시켜 사육 중인 것을 구입(평균 체중  $167 \pm 20$  g)하여 강원도립대학 수조실의 FRP 원형 수조(1톤 용량)로 옮겨 실험에 사용하기까지 약 한 달간 안정시켰고, *in vivo* 노출실험은 300 L 용량의 유리사각수조( $60 \times 100 \times 50$  cm)를 사용하였다.

### 2. 노출실험

*In vitro* 노출실험에서는 넙치 10마리에서 적출한 간장을 모아 만든 미크로솜에 포르말린(Sigma, USA)을 최

종 농도가 5 ppm(실제 농도는  $2.01 \text{ mg L}^{-1}$ )이 되도록 첨가하여  $30^\circ\text{C}$  항온수조에서 배양시키면서 0, 0.5, 1, 2, 4 및 8 시간째에 미크로솜의 약물대사효소 수준을 조사하였다. 비교를 위해서 포르말린에 노출시키지 않은 0 시간째의 것을 대조구로 하였다.

한편 *in vivo* 실험에서는 포르말린을 사육수조에 첨가하여 농도가 각각 100, 300 및 500 ppm(실제 농도는 각각  $40.3$ ,  $120.9$  및  $201.5 \text{ mg L}^{-1}$ )이 되도록 하고서 수조당 50마리씩을 투입하였다. 노출은 1시간 하였고, 이후에는 여과해수가 채워진 1톤 용량의 FRP 원형수조로 옮겨 12, 24, 48 및 72시간 후에 각 농도구 수조에서 10마리씩을 꺼내어 간장을 적출하여  $-80^\circ\text{C}$  초저온냉동고에 보관하였다.

실험 중에는 모래탑을 통과시킨 여과해수(평균염분 30‰)를 지속적으로 공급하였고, 실험기간 중 수온은  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 였고, 광 조건은 자연 상태로 하였다.

### 3. 미크로솜 및 세포질의 조제와 효소 분석

냉동고에서 꺼낸 간장을 얼음 위에서 반해동 시켜 인산완충액(pH 7.4)과 함께 Potter-Elvehjem형의 glass homogenizer로 균질화 시킨 다음, 원심분리( $300 \times g$ , 20분,  $4^\circ\text{C}$ )하여 상등액을 얻고, 이것을 다시 초원심분리( $100,000 \times g$ , 120분,  $4^\circ\text{C}$ )하여 상등액(세포질 획분)과 잔사(미크로솜 획분)를 효소분석에 사용하였다.

본 실험에서 분석한 약물대사효소는 mixed function oxidase(MFO)에 해당하는 1상 효소인 cytochrome P450(CYP), NADPH-cytochrome P450 reductase(P450R), NADH-cytochrome b5 reductase(b5R), 7-ethoxyresorufin-O-deethylase(EROD)을 미크로솜으로, 그리고 2상 효소인 glutathione S-transferase(GST)을 세포질로 각각 분석하였다.

CYP의 정량은 Omura and Sato(1964)의 방법, P450R 활성은 Phillips and Langdon(1962)의 방법, b5R 활성은 Omura and Takesue(1970)의 방법, EROD 활성은 Burke and Mayer(1974)의 방법, GST 활성은 Habig *et al.*(1974)의 방법으로 각각 측정하였으며, 미크로솜과 세포질 중의 단백질 농도는 Lowry *et al.*(1951)의 방법에 따라 정량하였다.

### 4. 통계처리

모든 측정치는 평균±표준편차로 나타내었으며, 대조구와 실험구의 유의성은 SPSS(V. 11.5) program을 사용하여 Duncan's test를 실시하였고, 이때 95% 신뢰구간에서 유의차 검정을 하였다.

결 과

1. *In vitro* 실험

포르말린에 *in vitro*로 노출시킨 간장 마이크로솜의 약물 대사효소계의 변화를 살펴보면 Fig. 1과 같다.

CYP 농도는 포르말린에 노출시킨 30분후부터 유의적으로 증가하여 4시간째에는 노출 전에 비해 148%로 가장 높았다가 이후 8시간째에는 크게 감소하여 처음 수준의 30%까지 낮아졌다( $P < 0.05$ ).

그리고 EROD 활성을 살펴보면 노출 1시간까지는 활성 변화가 없었으나 2시간째는 220%로 유의적인 증가를 보이기 시작하여 4시간째에는 306%로 가장 활성이 높았다( $P < 0.05$ ). 그러나 8시간째에는 감소하여 대조구와 비슷한 수준(87%)을 보였다( $P < 0.05$ ).

또한 P450R 활성은 EROD 활성의 변화 양상과 매우 유사하였는데, 노출 1시간까지는 활성 변화가 없었고 2시간째에 158%로 가장 높았으나( $P < 0.05$ ), 이후 감소하여 처음과 유사한 수준이 되었다.

한편 b5R의 활성은 노출시킨 직후인 30분에 처음에

비해 158%까지 유의적으로 증가하였다가( $P < 0.05$ ), 이후에는 줄어들었으며 4시간 후부터는 처음의 20%까지 줄었다( $P < 0.05$ ).

2. *In vivo* 실험

100, 300 및 500 ppm의 포르말린에 1시간 노출시킨 후 여과해수 수조에서 72시간까지 수용하는 동안 녀치의 간장 중 약물대사효소계의 경시적인 변화는 Figs. 2~6과 같다.

CYP 농도는 모든 농도구에서 시간이 지남에 따라 증가하는 경향을 보였으며, 고농도구에서는 최대 수준이 된 이후 감소하는 경향을 보였다(Fig. 2). 즉, 100 ppm 노출구에서는 여과해수 수조에 수용한 직후부터 꾸준히 증가하여 실험 종료시한에는 최고 수준을 보였고, 300 및 500 ppm 노출구에서는 48시간째에 최고 수준을 보였다가 이후 72시간째에는 대조구 수준까지 줄었다.

EROD 활성은 전반적으로 모든 농도구에서 여과해수 수조에 수용한 이후에 증가하는 경향을 보였으나, 500 ppm 노출구는 24시간에 최고 수준이 되었다가 이후에는 줄었다( $P < 0.05$ )(Fig. 3).

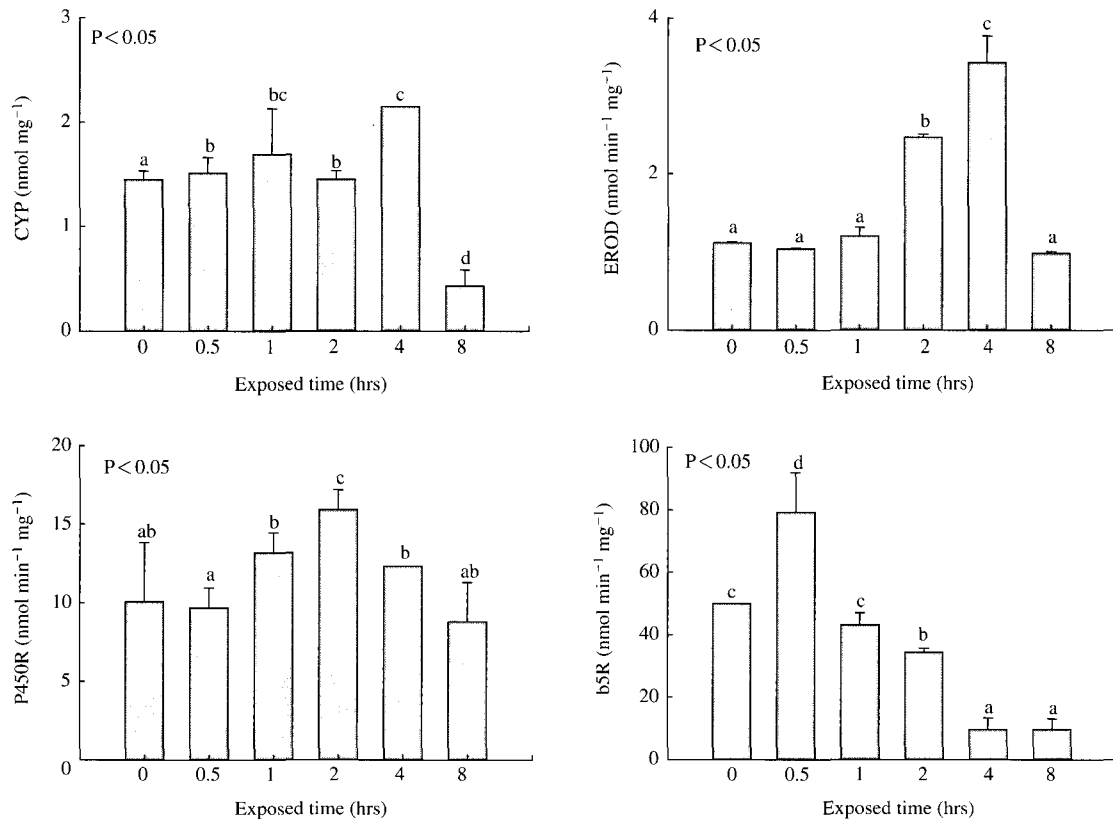
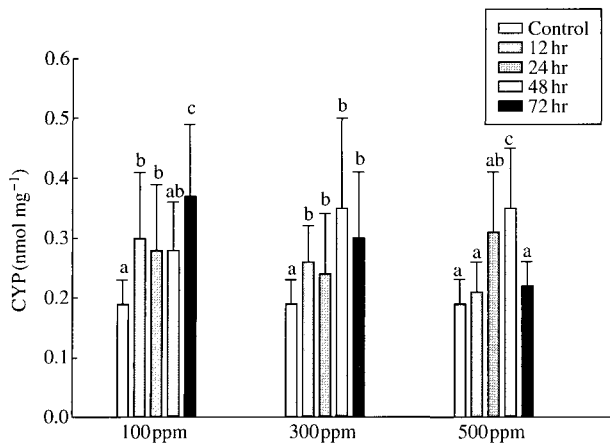
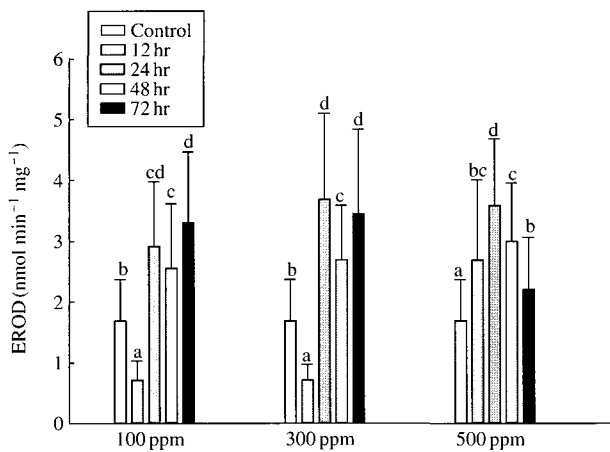


Fig. 1. Time-course *in vitro* response of hepatic CYP, EROD, P450R and b5R level in flounder (*Paralichthys olivaceus*) with exposure to 5 ppm formalin. A same superscript is not significantly different ( $P > 0.05$ ). Each value is mean  $\pm$  S.D.



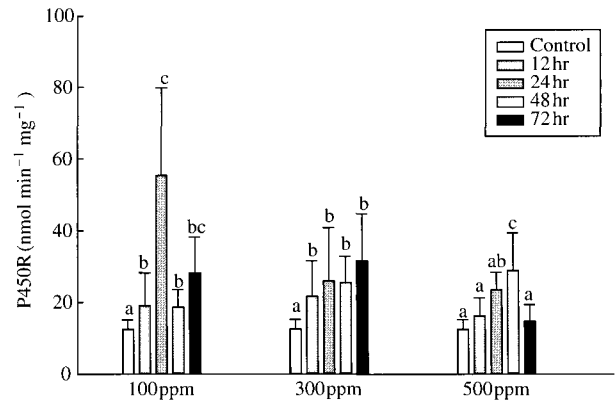
**Fig. 2.** Time-course *in vivo* response of hepatic CYP level in flounder (*P. olivaceus*) with exposure to formalin. A same superscript in same exposure group is not significantly different ( $P > 0.05$ ). Each value is mean  $\pm$  S.D.



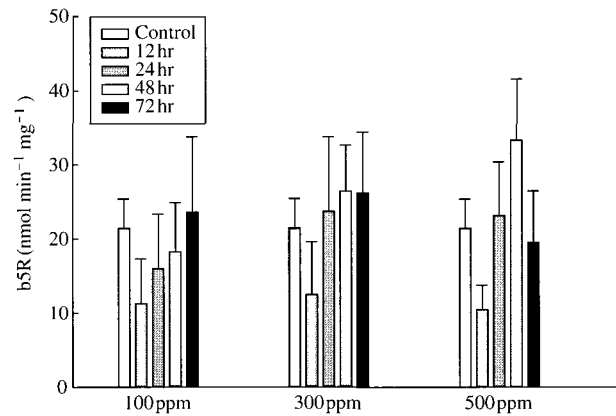
**Fig. 3.** Time-course *in vivo* response of hepatic EROD activity in flounder (*P. olivaceus*) with exposure to formalin. A same superscript in same exposure group is not significantly different ( $P > 0.05$ ). Each value is mean  $\pm$  S.D.

한편 P450R 활성의 경우도 모든 노출구는 대조구에 비해 전반적으로 증가하였다 (Fig. 4). 즉, 100 ppm 노출구의 경우에는 12시간 이후부터 유의적으로 증가하여 24 시간째에 최고치를 보였고 ( $p < 0.05$ ), 300 ppm 노출구도 24시간째의 경우를 제외하면 100 ppm 노출구의 활성과 비슷한 수준을 보였다. 그리고 500 ppm 노출구의 경우에도 48 시간 후에는 대조구에 비해 유의적으로 높은 활성을 보였다 ( $p < 0.05$ ).

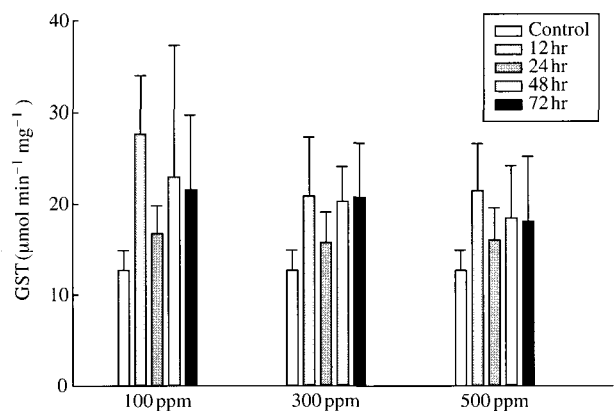
그리고 b5R 활성의 경우에는 노출 초기에는 모두 활성이 감소하였다가 차츰 증가하는 경향을 보이기는 하였지만 전반적으로 노출농도나 수용시간에 따른 차이는



**Fig. 4.** Time-course *in vivo* response of hepatic P450R activity in flounder (*P. olivaceus*) with exposure to formalin. A same superscript in same exposure group is not significantly different ( $P > 0.05$ ). Each value is mean  $\pm$  S.D.



**Fig. 5.** Time-course *in vivo* response of hepatic b5R activity in flounder (*P. olivaceus*) with exposure to formalin. A same superscript in same exposure group is not significantly different ( $P > 0.05$ ). Each value is mean  $\pm$  S.D.



**Fig. 6.** Time-course *in vivo* response of hepatic GST activity in flounder (*P. olivaceus*) with exposure to formalin. A same superscript in same exposure group is not significantly different ( $P > 0.05$ ). Each value is mean  $\pm$  S.D.

유의적으로 보이지 않았고 (Fig. 5), 2상효소인 GST 활성의 경우에도 노출농도와 수용시간에 따른 차이는 유의적으로 없었다 (Fig. 6).

## 고 찰

포르말린의 어류 독성에 관한 연구는 대부분 담수산 어류를 대상으로 한 것들이고 해수어를 대상으로 한 것은 많지 않다. 해산어를 대상으로 한 보고 중에서 Fajer-Ávila *et al.* (2003)은 복어 (bullseye puffer fish)의 반수치사농도 (median lethal dose, LC<sub>50</sub>)가 약육시간에 따라 달라지며 30분 약육 시에는 1,095 mg L<sup>-1</sup>이고, 1시간 약육 시에는 972 mg L<sup>-1</sup>으로 약육시간이 길어질수록 치사농도는 낮았으며, 기생충을 제거할 수 있는 반수효과농도 (effective median concentration, EC<sub>50</sub>)도 30분과 60분간 약육 시 각각 225 및 87 mg L<sup>-1</sup>으로 약육시간이 길어질수록 낮은 농도에서도 가능하다고 보고하였다. 그리고 박 등 (1995)은 넙치 치어 (평균 크기 6.1 cm)를 포르말린에 노출시켜 LC<sub>50</sub>를 조사하였더니 1시간에서는 2,520 ppm (925 mg L<sup>-1</sup>), 2시간에서는 1,610 ppm (596 mg L<sup>-1</sup>), 4시간에서는 868 ppm (321 mg L<sup>-1</sup>), 그리고 24시간에서는 141 ppm (52 mg L<sup>-1</sup>)이라고 보고하였다.

한편, 우리나라에서는 해산어의 질병치료를 목적으로 포르말린 사용 시 1시간 약육농도로는 100~300 mg L<sup>-1</sup>의 농도를 권장하고 있기 때문에 (전 1992), 본 실험에서는 최소 농도의 절반 수준의 40 mg L<sup>-1</sup> (100 ppm)를 비롯하여 120 (300 ppm) 및 200 mg L<sup>-1</sup> (500 ppm) 실험구를 설정하여 약물대사효소계의 반응을 조사하였다.

생체 내에서 외인성 물질을 대사하는 약물대사효소계에는 P450R과 CYP로 이루어진 경로 (P450R-CYP 경로) 그리고 b5R과 cytochrome b5 (b5)로 이루어진 경로 (b5R-b5 경로)의 두 가지 전자전달계 경로가 존재하며 (Gibson and Skett 1994), 이 중에서 P450R-CYP 경로가 주로 외인성 오염물질을 대사한다고 알려져 있다 (Fent and Stegeman 1991; Fent and Bucheli 1994). 어류에서 이들 약물대사효소계는 간장 외에 신장이나 아가미 등에도 존재하지만 간장은 지질이 가장 많은 곳이며 비수용성의 외인성 화합물이 가장 잘 축적되는 조직이고 활성도가 가장 높아 주로 간장을 사용한다 (Kime 1998). 어류는 약물을 비롯한 외인성 화합물로 인해 약물대사효소계가 반응하는데, 화합물을 대사하기 위해 유도되기도 하고 또는 화합물에 의해 저해되기도 한다.

본 실험에서는 포르말린을 넙치 간장 미크로솜과 *in vitro*로 노출시켰더니 전반적으로 약물대사효소계가 유

도되었으며, *in vivo* 실험에서도 이와 같은 경향이 확인되었다. 다만 효소에 따라서 반응정도는 차이를 보였는데, CYP와 P450R 수준은 노출농도나 수용시간에 따라 유도 또는 감소되는 등의 변화를 보인 반면에, b5R 활성은 노출농도나 수용시간에 따라서 차이가 별로 없었다. 이것은 포르말린의 대사에는 b5R-b5 경로보다는 P450R-CYP 경로가 우선적으로 반응한다는 것을 시사하는 것일 수 있다. 그리고 약물대사효소계에서 중요한 두 단백질, CYP와 b5의 수준을 비교하였을 적에 CYP 농도가 더 높은 것도 이와 관련이 있을 것이다.

더욱이 2상효소인 GST 활성은 노출농도에 관계없이 세 실험구 모두 여과해수에 수용하는 동안 다소 증가하였으나 전체적으로는 노출하기 전과 유의적인 차이가 없었는데, 이것은 포르말린이 극성이 강하여 대사되기 쉽다는 점과 관련이 있을 것 같다. 즉 체내에서는 1상효소들에 의해 신속하게 산화되어 이산화탄소나 물 등으로 분해되어버리기 때문에 포합반응을 주로 하는 2상효소와 반응할 기회가 줄어서 포합효소의 활성에 차이가 나지 않는 것이라 여겨진다.

한편 동일 어종에 대한 포르말린 독성은 성장 단계에 따라 차이가 난다고 알려져 있다 (Bills *et al.* 1993; Howe *et al.* 1995). 예를 들어 무지개송어는 발안난에서 난황 자어를 거쳐 치어 (fingerling)로 성장하는 동안 포르말린에 대한 저항성은 점차 약해지며 치어의 96h-LC<sub>50</sub>은 50~60 mg L<sup>-1</sup> 정도라 한다. 발안난과 난황 자어는 외부 매질의 체내 흡수가 많지 않는 시기이기 때문에 포르말린의 독성이 발현하지 않을 것이라 여겨지나 치어, 자어 그리고 성어에 대한 독성 비교는 아직 밝혀진 것이 없다. 비록 포르말린 약육 시 근육 중 잔존 농도가 24시간 이후에는 대조구와 차이를 보이지 않을 정도로 감소 속도가 빠르다고는 하지만 (Jung *et al.* 2001), 이것만으로는 어류가 포르말린 노출로부터 완전하게 회복되었으며 안전하다고 평가 내리는 데는 부족한 부분이 있을 것이다. 생체 중 약물대사효소계가 안정화되는 정도도 경시적으로 조사한다면 포르말린의 안전기준을 설정하는데 기초 자료로 활용할 수 있을 것이라 여겨진다.

## 결 론

어류의 기생충 방제를 위해 사용되는 포르말린 약육법은 간장 중 약물대사효소계를 유도하는 것이 밝혀졌다. 약물대사효소계 중에서도 CYP와 전자전달효소인 P450R 그리고 EROD 수준은 노출농도와 회복기간에 따라 대체로 유의적인 변동을 하였지만, b5R 및 2상 포합

효소인 GST는 포르말린 노출농도와 회복기간에 따른 변화가 거의 없었다. 이것은 포르말린 대사에 관여하는 중요한 약물대사효소가 CYP와 그 전자전달효소인 P450R이라는 것을 보여준다.

## 사 사

본 연구는 강릉대학교 동해안해양생물연구센터(EMBR)로부터 연구비를 지원받아 수행한 것이며, 실험 장소를 제공하여 주신 강원전문대학에도 감사의 뜻을 전합니다.

## 참 고 문 헌

- 박인석, 김형배, 김민석, 박철원. 1995. 넙치에 대한 포르말린의 급성독성 효과. *한국어병학회지*. 8:57-67.
- 양한춘, 조재권, 전민남. 1997. 포르말린 및 중성 포르말린 약육넙치의 병리조직학적 반응. *한국어병학회지*. 10:53-63.
- 전세규. 1992. 海産養殖魚類의 疾病. 韓國水産新報社, 서울, 131 pp.
- 정승희, 김진우. 2005. 과망간산칼륨, 안정화이산화염소, 포르말린, 황산동이 넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 적혈구에 미치는 시험관내 용혈작용 및 메트헤모글로빈 생성 효과. *한국어병학회지* 18:179-185.
- 조재권, 양한춘. 1996. 포르말린과 증성포르말린 약육한 어류의 formaldehyde 잔존량 측정과 병리학적 관찰. *한국어병학회지*. 9:157-168.
- Bills TD, LL Marking and JH Chandler. 1977. Formalin: its Toxicity to Nontarget Aquatic Organism, Persistence, and Counteraction. US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service. Government Printing Office, Washington, DC.
- Bills TD, LL Marking and GE Howe. 1993. Sensitivity of juvenile striped bass to chemicals used in aquaculture. US Fish and Wildlife Service. Resources Publication 192, Washington, DC.
- Burke MD and RT Mayer. 1974. Ethoxyresorufin: direct fluorimetric assay of a microsomal O-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholanthrene. *Drug Metab. Dispos.* 2:583-588.
- Chambers JE and JD Yarbrough. 1976. Xenobiotic biotransformation in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 55C:77-84.
- Fajer-Ávila EJ, I Parra, G Auilar-Zarate, R Contreras-Arce, J Zaldívar-Ramírez and M Betancourt-Lozano. 2003. Toxicity of formalin to bulleye pufferfish (*Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1843) and its effectiveness to control ectoparasites. *Aquaculture* 223:41-50.
- Fent K and TD Bucheli. 1994. Inhibition of hepatic microsomal monooxygenase system by organotins *in vitro* in freshwater fish. *Aquat. Toxicol.* 28:107-126.
- Fent, K and JJ Stegeman. 1991. Effects of tributyltin chloride *in vitro* on the hepatic microsomal monooxygenase system in the fish *Stenotomus chrysops*. *Aquat. Toxicol.* 20:159-168.
- Gibson GG and P Skett. 1994. Introduction to Drug Metabolism. 2nd ed. Chapman and Hall, London.
- Habig WH, MJ Pabst and WB Jakoby. 1974. Glutathione-S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249:7130-7139.
- Hohreiter DW and DK Rigg. 2001. Derivation of ambient water quality criteria for formaldehyde. *Chemosphere* 45:471-486.
- Howe GE, LL Marking, TD Bills and TM Schreier. 1995. Efficacy and toxicity of formalin solutions containing paraformaldehyde for fish and egg treatments. *Prog. Fish-Cult.* 57:147-152.
- Jung SH, JW Kim, IG Jeon and YH Lee. 2001. Formaldehyde residues in formalin-treated olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), black rockfish (*Sebastes schlegeli*), and seawater. *Aquaculture* 194:253-262.
- Kime DE. 1998. Endocrine Disruption in Fish. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Leteux F and FP Meyer. 1972. Mixture of malachite green and formalin for controlling *Ichthyophthirius* and other protozoan parasites of fish. *Prog. Fish-Cult.* 34:21-26.
- Lowry OH, NJ Roseborough, LA Farr and RJ Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.
- Omura T and R Sato. 1964. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.* 239:2370-2378.
- Omura T and S Takesue. 1970. A new method for simultaneous purification of cytochrome b5 and NADPH-cytochrome c reductase from rat liver microsomes. *J. Biochem.* 67:249-257.
- Philips AH and RG Langdon. 1962. Hepatic triphosphopyridine nucleotide-cytochrome c reductase: isolation, characterization, and kinetic studies. *J. Biol. Chem.* 237:2652-2660.
- Van Veld PA. 1990. Absorption and metabolism of dietary xenobiotics by the intestine of fish. *CRC Crit. Rev. Aquat. Sci.* 2:185-203.

Manuscript Received: February 17, 2006

Revision Accepted: April 11, 2006

Responsible Editorial Member: Myung Chan Gye  
(Hanyang Univ.)