J.KOREAN. SOC. FOOD. NUTR.
18(4) 363~370.

사염화탄소로 인한 간 독성에 미치는 진달래(*Rhododendron mucronulatum*)화분의 영향

윤수홍, 강정혜, 권정숙*

효성여자대학교 약학과
*안동대학 가정학과

Effects of Azalea(*Rhododendron mucronulatum*) Pollen on the Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity in Mice

Soo-Hong Yoon, Jeong-Hae Kang and Chŏng-Suk Kwŏn*

Dept. of Pharmacy, Hyosung Women's University, Hayang, 713-702, Korea
**Dept. of Home Economics, Andong University, Andong, 760-380 Korea.*

Abstract

Nutritional value of azalea pollen and its effect on the carbontetrachloride induced liver damage were investigated in this experiment. Azalea pollen was primary composed of 58.96% of carbohydrate, 21.86% crude protein, 2.26% fat, and 2.89% ash. 17 amino acids and 22 fatty acids were quantitatively analyzed, and the major component of them was lysine, and linolenic acid, respectively. After administration of pollen and carbontetrachloride concomitantly, serum ALT, AST, LDH activites and tissue lipid peroxidation decreased significantly, but serum total lipid and cholesterol levels did not changed.

서 론

강장, 강정, 신경장해, 심장병, 빈혈 및 급만성 전립선염등의 예방과 치료에 효과적인[1] 화분은 인간이 필요로 하는 모든 필수 성분을 함유하는 완전 식품으로 알려져 있으며, 최근에는 특수 식품으로 각광을 받기 시작하면서 그 일반 성분과[2-8] 임상학적 약리 효과[9-11]에 대한 연구가 행해지고 있는 바, 진달래 화분의 일반 성분을 분석하고, 간장해를 일으키는 대표적 약물인 사염화탄소[12-16]를 사용하여 진달래 화분의 간장 해독 기구에 미치는 영향을 간장 및 혈청의 생화학적 변동으로 관찰하였다.

재료 및 방법

재 료

1989년 3월말 경북 청도군 각북면 일원에서 벌이 채취해 온 진달래 화분립을 모아서 본 실험재료로 사용하였다.

시약 및 기기

Tetramethoxypropane(Fluka 제), ALT, AST, LDH, ALP, cholesterol 측정용 kit(Eiken 제) 및 그외 모든 시약은 일급이상을 사용하였다.

기기로는 Atomic Absorption Spectrophotometer (Perkin-Elmer 2380), GLC(Packard 439), Amino

본 연구는 태평양장학문화재단의 연구비로서 이루어졌음

Acid Auto Analyzer(Biotronic LC 5001), pH meter(Hariba M-8E)등이었다.

동물 및 처치

일정한 조건으로 사육한 25g 내외의 ICR계 웅성 mouse를 실험전 16시간동안 절식 시킨 후, 식수 투여군을 대조군(C군)으로 하여 사염화탄소 투여군(CL군)은 사염화탄소(0.3㎖/kg)와 화분(2g/kg)을 함께 3일 간격으로 gastric intubation으로 feeding 한 후, 첫 feeding으로부터 각각 6일, 12일, 18일 및 24일째에 도살하였다.

일반성분분석

수분, 조지방, 조단백질 및 조회분의 정량은 AOAC법[17], 지방산 조성은 시료를 chloroform-methanol(2 : 1, v/v) solution으로 추출한 후 boronfluoride-methanol solution으로 methylation시킨 것을 GLC로 분석하였으며, 무기성분은 습식법[18]으로 회화시킨 후 A. A. spectrophotometer로 분석하였고, 인은 ammonia vanadate법[19]으로 측정하였으며, 아미노산은 Mason등의 방법[20]으로 산가수분해 후 amino acid analyzer로 분석하였다.

효소의 조제

실험동물을 ether로 가볍게 마취시키고 복부정중선을 따라 절개한 후 하대정맥에서 혈액을 취하고, 채혈 후 즉시 0.9% NaCl 용액으로 관류시킨 간장을 적출하여 0.9% NaCl용액으로 마쇄하여 10% homogenate를 만들어 원심분리(3600 rpm, 30분)한 후 그 상징액을 효소원으로 사용하였으며, 한편 채취한 혈액은 원심분리(3600 rpm, 20분)후 얻은 혈청을 실험에 사용하였다.

효소의 활성 및 지질 측정

Aminotransferase활성은 Reitman과 Frankel의 방법[21]으로, alkaline phosphatase활성은 Kind and King 법[22]으로, lactate dehydrogenase활성은 金井 등의 방법[23]에 준해 조제된 kit를 각각 사용하여 측정하였다. 과산화지질 함량은 Ohkawa등의 방법[24]으로, total lipid는 Frings등의 방법[25]으로, total cholesterol은 효소법으로 측정하였다.

결 과

일반성분의 조성

Table 1에 나타난 것처럼 진달래 화분의 성분중 주로 당질인 N-free extract가 58.96%로 가장 높았고, 조단백질이 21.86%로 많이 함유되어 있었다.

Table 1. Chemical composition of azalea pollen

Component	Content(%)
N-free extract	58.96
Crude protein	21.86
Crude ash	2.89
Crude fiber	2.76
Crude fat	2.26
Moisture	11.27
Total	100.00

지방산의 조성

Table 2에서처럼 22종의 지방산이 검출되었으며, 그 중 다불포화지방산인 linolenic acid (27.27%)와 linoleic acid (23.45%)가 다량 함유되어 있었다.

무기성분의 조성

Table 3에서처럼 9종의 무기성분이 검출되었으며, 그 중 칼륨(816㎎%)과 인(667㎎%)이 많이 함유되어 있었다.

아미노산 조성

17종의 아미노산이 검출(Table 4)되었으며, lysine, glutamic acid가 많이 함유되어 있는 것으로 나타났다.

혈청 및 간장 Aminotransferase활성 변동

식수만 투여한 대조군(C군), 사염화탄소(0.3㎖/kg) 단독 투여군(CL군)과 사염화탄소(0.3㎖/kg)와 진달래화분(2g/kg) 동시투여군의 혈청 및

Table 2. Composition of fatty acids in azalea pollen

Fatty acid	Content(%)	Fatty acid	Content(%)
14 : 0	0.94	18 : 4	0.37
14 : 1	0.08	20 : 0	2.13
16 : 0	15.48	20 : 1 (ω9)	0.60
16 : 1	0.19	20 : 2 (ω6)	0.16
18 : 0	5.23	20 : 3 (ω9)	4.22
18 : 1 (ω9)	13.40	20 : 3 (ω3)	0.19
18 : 1 (ω7)	0.54	20 : 4 (ω3)	0.17
18 : 1 (ω5)	0.15	20 : 5 (ω3)	0.70
18 : 2 (ω6)	23.45	22 : 1 (ω9)	0.19
γ18 : 1 (ω6)	1.41	22 : 5 (ω3)	0.63
18 : 3 (ω3)	27.27	22 : 6 (ω3)	2.48

Table 3. Content of minerals in azalea pollen

Minerals	Ca	P	Mg	K	Na	Fe	Cu	Mn	Zn
Content(mg%)	197	667	90	816	183	75	7	43	27

Table 4. Composition of amino acids in azalea pollen

Essential Amino acid	Content(mg/100mg)	Nonessential Amino acid	Content(mg/100mg)
Lysine	2.70	Glutamic acid	2.28
Leucine	1.32	Aspartic acid	2.13
Valine	1.15	Arginine	1.55
Phenylalanine	0.86	Proline	1.24
Isoleucine	0.77	Alanine	1.13
Threonine	0.71	Serine	0.95
Methione	0.42	Histidine	0.93
		Glycine	0.89
		Tyrosine	0.55
		Cystine	0.35

간장의 ALT 및 AST 활성 변동을 Table 5에 나타내었다.

혈청에서는 ALT의 경우, CL군은 C군에 비해 6일, 12일, 18일 및 24일에서 모두 각각 유의성있게 증가한 반면, 화분을 투여한 CLP군은 C군에 비해서는 12, 18, 24일에 유의성있는 증가를 보였으나 CL군에 비해서는 유의성있게 감소함을 보였다. AST의 경우도 ALT와 유사한 양상을 보였으며 특히 12일에 CL군이 166.0 Karmen unit/ml of serum 인데 비해 CLP군은 110.3 Karmen unit/ml of serum으로 34%의 유의성있는 감소를 나타내었다.

Table 5. Effect of azalea pollen on the serum and liver aminotransferase activities in CCl_4-treated mice

Enzyme \ Group	Days	C	CL	CLP
		Serum(Karmen unit/mℓ of serum)		
AST	6	67.8± 13.3	135.2± 26.4[a]	104.8± 21.0
	12	78.4± 25.7	166.0± 11.6[b]	110.3± 17.7**
	18	77.2± 13.2	120.9± 24.8	114.4± 6.7
	24	72.8± 6.9	130.0± 17.6[b]	116.1± 19.8
ALT	6	46.1± 15.0	101.3± 17.2[a]	86.4± 10.4
	12	45.0± 6.4	91.1± 5.5[b]	79.3± 4.5[a]*
	18	30.0± 10.1	83.6± 5.1[b]	70.2± 8.0[a]*
	24	45.0± 12.8	98.6± 4.1[b]	86.8± 8.6[a]*
		Liver(Karmen unit X 10^3g of tissue)		
AST	6	46.6± 6.6	49.5± 11.2	54.8± 3.4
	12	47.3± 10.2	50.7± 9.5	64.8± 9.4
	18	52.8± 1.9	71.0± 4.6[a]	73.5± 1.3[b]
	24	51.3± 10.7	36.2± 4.6[a]	60.0± 10.0**
AST	6	27.6 3.8	32.0± 2.2	40.5± 10.2
	12	27.5± 7.6	44.0± 8.4[a]	56.9± 5.7[b]
	18	36.5± 1.0	57.9± 7.0[b]	71.6± 5.2[b]
	24	33.1± 3.3	7.1± 0.1[b]	29.7± 3.2*

Values are mean± S. D.

Significantly different from control group.(a : $p<0.05$, b : $p<0.01$)

Significantly different from CL group.(* : $p<0.05$, ** : $p<0.01$)

간장에서의 ALT, AST 활성 변동은 control군에서는 기간에 따른 변동이 나타나지 않았다. AST의 활성 변동은 CL군 CLP군 모두 6일 12일에는 C군보다 증가하였으나 유의성은 없었고, 18일에는 모두 유의적으로 감소함을 보였다. ALT의 활성 변동도 AST와 거의 유사한 양상을 보였으며 CL군의 경우 24일에는 control군의 약 21.5%수준으로 현저하게 저하함을 보였다.

혈청 및 간장의 Lactate dehydrogenase(LDH) 활성 변동

Table 6에서 보는 바와 같이 혈청에서의 LDH 활성 변동을 보면, 기간에 따른 변동은 거의 나타나지 않았으며, CL군은 6, 12, 18 및 24일에 C군에 비해 유의성있게 증가하였고 CLP군은 12, 18 및 24일에서 C군에 비해서 유의성있게 증가하였으나 CL군 보다는 유의성있게 감소하였다.

간장에서의 변동도 유사한 양상을 보여 C군은 기간에 따라 거의 변동이 없었고 CL군은 6, 12 및 18일에 유의성있는 증가를 보이다가 24일에 유의성있는 감소를 보였으며 CLP군은 12, 18일에 CL군에 비해 유의성있게 감소하여 C군과 거의 활성이 유사하였으며 24일에서는 오히려 C군보다 낮게 나타났다.

혈청 및 간장의 Alkaline phosphatase(ALP) 활성변동

혈청 ALP 활성 변동은 C군은 기간에 따른 변동이 거의 없었으며 CL군은 6, 12, 18 및 24일에 C군에 비해 증가하였고, 특히 18, 24일에 유의성

Table 6. Effect of azalea pollen on the serum and hepatic LDH activities in CCl_4-treated mice

Enzyme \ Group / Days	LDH activities C	CL	CLP
Serum (Wroblewski unit/9) 6	1072.0± 222.0	2277.6± 32.4[b]	1293.6± 23.4**
12	1071.0± 82.3	2364.9± 370.5[b]	2093.6± 72.5[b]
18	1016.0± 39.3	3619.9± 8.1[b]	3461.0± 209.3[b]**
24	1142.3± 60.5	3461.0± 209.3[b]	2966.3± 53.4[b]**
Liver (Wroblewski unit/9) 6	165.5± 32.3	217.3± 15.2[a]	196.7± 56.5
12	156.0± 15.6	199.6± 30.1	150.5± 16.6*
18	169.6± 25.0	234.7± 25.4[a]	150.0± 32.1*
24	163.3± 20.0	125.0± 7.5[a]	131.4± 12.7[a]

Values are mean± S. D

Significantly different from control group.(a : $p<0.05$, b : $p<0.01$)

Significantly different from CL group.(* : $p<0.05$, ** : $p<0.01$)

있게 증가하였으며 CLP군은 C군에 비해 18, 24일에 유의성있게 증가하였으나 CL군에 비해서는 감소하였고 특히 18일에서 유의성있는 감소를 보였다.

간장 ALP 활성 변동은 C군에서는 변동이 없었고 CL군에서는 전 기간에 걸쳐 C군에 비해 유의성있게 증가하였으며, CLP군은 C군에 비해서는 증가하였으나 CL군보다 6, 18일에 유의성있는 감소를 보였다.

간장의 과산화지질 함량 변동

Table 8에서와 같이 과산화지질 함량이 C군에서 12일, 18일 및 24일에 각각 229.0, 254.9 및 269.5 MDA nmol/9 of tissue인데 비해 CL군은 254.0,

Table 7. Effect of azalea pollen on the serum and liver alkaline phosphatase (ALP) activeties in CCl_4-treated mice

Enzyme \ Group / Days	ALP activities C	CL	CLP
Serum (King-Amstrong unit/mℓ) 6	11.5± 1.7	13.9± 1.5	12.6± 2.5
12	12.1± 2.6	17.0± 3.5	14.9± 2.5
18	11.5± 0.7	30.7± 7.1[b]	15.0± 1.0[b]*
24	7.2± 1.1	18.8± 4.4[b]	13.9± 1.0[b]
Liver (King-Amstrong unit/9) 6	70.0± 10.0	135.2± 21.6[b]	189.2± 11.1[b]**
12	70.0± 20.2	169.1± 27.3[a]	180.7± 5.2[a]
18	79.0± 18.9	185.5± 12.6[b]	230.4± 23.8[b]*
24	70.8± 3.2	113.6± 30.3[b]	152.5± 25.0[b]

Values are mean± S. D.

Significantly different from control group.(a : $p<0.05$, b : $p<0.01$)

Significantly different from CL group.(* : $p<0.05$, ** : $p<0.01$)

Table 8. Effect of azalea pollen on the liver lipid peroxidation in CCl_4-treated mice

Days \ Group	LPO(MDA nmol/g of tissue) C	CL	CLP
6	260.9± 20.0	298.7± 30.4	290.2± 30.5
12	229.0± 11.5	254.0± 12.1[a]	205.3± 35.5
18	254.9± 42.5	770.0± 22.6[b]	547.1± 50.2[b]**
24	269.5± 30.8	415.0± 10.5[b]	343.7± 10.5[b]*

Values are mean± S. D.

Significantly different from control group.(a : $p<0.05$, b : $p<0.01$)

Significantly different from CL group.(* : $p<0.05$, ** : $p<0.01$)

Table 9. Effect of azalea pollen on the serum and liver total cholesterol level in CCl_4-treated mice

Enzyme \ Group / Days		C	CL	CLP
Serum (mg/dl)	6	63.6± 4.8	72.7± 5.0	69.5± 16.4
	12	70.1± 20.4	94.4± 3.9	75.6± 15.7
	18	71.7± 10.0	96.6± 13.7[a]	77.4± 22.6
	24	74.7± 17.8	118.8± 8.3[b]	95.1± 20.6
Liver (mg/g)	6	2.9± 0.7	3.4± 0.5	3.0± 0.5
	12	3.0± 0.1	3.4± 0.1[b]	3.1± 0.4
	18	3.1± 0.3	3.4± 0.2	3.3± 0.8
	24	3.0± 0.3	3.8± 0.4[a]	3.3± 0.8

Values are mean± S. D.

Significantly different from control group.(a : $p<0.05$, b : $p<0.01$)

770.0 및 415.0 MDA nmol/g of tissue의 유의성있는 증가를 보였고, CLP군은 C군에 비해서는 증가하였으나 CL군에 비해서는 각각 205.3, 547.1 및 343.7 MDA nmol/g of tissue로 유의성있는 감소를 보였다.

혈청 및 간장의 Total cholesterol 함량 변동

Table 9에서 보듯이 혈청의 total cholesterol 함량은 18일과 24일에 C군의 71.7과 74.7mg/dl에 비해 CL군은 96.9와 118.8g/dl로 유의성있게 증가하였으며, CLP군은 CL군에 비해 다소 감소하는 경향이었으나 유의성은 없었다.

간장의 total cholesterol 함량은 C군에 비해 CL군이 12일과 24일에 유의성있게 증가함을 보였고 그외는 유의성이 없었다.

혈청 Total lipid 함량 변동

Table 10에서처럼 C군에 비해 CL군에서 다소

Table 10. Effect of azalea pollen on the serum total lipid levels in CCl_4-treated mice

Day \	Serum(mg/dl) C	CL	CLP
6	230.4± 20.0	256.1± 22.9	240.9± 36.7
12	257.4± 32.7	311.1± 10.2[a]	260.5± 47.2
18	255.8± 32.7	274.7± 35.5	249.1± 39.5
24	264.9± 33.5	282.9± 21.3	273.9± 22.6

Values are mean± S. D.

Significantly different from control group.(a : $p<0.01$)

증가하는 경향이었고 특히 12일에 유의성있는 증가를 보였으며, CLP군은 CL군에 비해 감소 경향은 있었으나 유의성은 없었다.

고 찰

화분립은 고단백, 고당질 영양물질로 보고되어 있으며, 고단백식이는 간기능장애의 치료에 효과적인 것으로 알려져있다.[26] 또 Munro등[27]은 식이중 단백질의 함량과 종류가 혈청 및 간조직의 cholesterol함량에 많은 영향을 주며 식이성 단백질 섭취군이 동물성 단백질 섭취군보다 간 및 혈청 cholesterol치가 낮았음을 보고한 바 있고, Addis등[28]은 당질이 liver necrosis를 막아준다고 한 바 있다. 한편, 사염화탄소는 생체막의 polyunsaturated fatty acid를 과산화하여 lipid peroxide를 생성하며 세포독성을 일으킨다고 알려져있다.

본 실험에서 일반성분을 분석한 결과 조단백질량이 21.86%로 Elser등[29]이 보고한 다른 화분립에 비해 함량이 많았으며, 총 아미노산이 20.23 mg%로 단백질의 좋은 급원임을 알 수 있었다.

동물실험에서 사염화탄소를 투여하였을 때 간손상의 지표로 사용되는 혈청 alanine 및 aspartate aminotransferase의 활성을 비롯하여 lactate dehydrogenase와 alkaline phosphatase의 활성은 control군에 비해 증가하였으며 이러한 현상은 진달래 화분립의 투여로 감소하는 경향을 나타내었다. 이와 같은 결과는 진달래 화분이 사염화탄소가 유도하는 간 독성을 보호하는 작용이 있을 것을 시사해 주고 있다. 또한 간조직의 효소활성도 진달래 화분립의 투여로 간장해가 어느 정도 회복되어감을 나타내어 주고 있었으며, 혈청에서의 실험결과와 이 실험 성적을 연관지어 검토하여 볼 때 진달래 화분이 사염화탄소가 유도하는 간 독성을 회복시켜 줌을 알 수 있었다. 일반적으로 과산화지질은 superoxide anion radical의 공격에 의해 생성되며, 이것은 생체막 손상의 지표로 이용되어지고 있는바, 사염화탄소의 투여로 증가되던 과산화지질의 함량이 진달래 화분립의 투여로 저하됨이 관찰되었다. Total lipid 및 total cholesterol은 화분립의 투여로 감소하는 경향은 있었으나 유의성이 없었다. 이상의 실험성적을 종합하여 볼 때 진달래 화분은 사염화탄소가 유도하는 간 독성을 혈청중 ALT 및 AST의 활성, 과산화지질의 함량 등에서 관찰된 바와 같이 방어하는 효과가 있음이 나타났다.

결 론

진달래 화분립의 화학적인 조성과 사염화탄소로 유도된 간 장해가 미치는 영향을 관찰한 결과는 다음과 같다.

1. 진달래 화분립의 일반성분은 탄수화물인 N-free extract가 58.96%, 조단백질이 21.9%였다.
2. 9종의 무기성분이 검출되었으며, 특히 K 및 P의 함량이 많았다.
3. 지방산은 linolenic acid를 비롯하여 22종이 정량되었으며, 특히 linolenic acid, linoleic acid가 많았다.
4. 17종의 아미노산을 정량하였으며, 필수아미노산 중 lysine, leucine의 함량이 많았다.
5. 혈청 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성 변동은 진달래 화분립을 투여하였을 때 AST는 12일, ALP는 18일에서 유의성있게 감소하였으나, 그 외에는 영향을 주지 않았다.
6. 간 ALT, AST 및 LDH 활성 변동은 사염화탄소 투여로 인해 18일까지는 활성 증가를 보였고 24일에는 감소하였는데 진달래 화분립을 투여함으로서 AST는 24일에, AST는 18일과 24일에, LDH는 12일과 18일에 각각 유의성있게 회복됨을 보였다.
7. 사염화탄소 투여로 인해 상승된 과산화지질 함량이 진달래 화분립의 투여로 18일과 24일에 각각 유의성있게 감소하였다.
8. 혈청 total lipid, total cholesterol은 사염화탄소 투여로 그 함량이 증가하였으나 진달래 화분립 투여로 인한 효과는 본 실험의 투여로 용량범위에서는 없었다.

문 헌

1. 김병호 : 신양봉학, 선진문화사, 242(1982)
2. 강원백 : 봉소중 화분의 성분에 관한 연구 강원대학 연구논문집 제8집 69(1974)
3. Mcllwain D. L : Characterization of the phospholipids in Pinus Ponderosa Pollen Biochem. 5(12), 4054(1966)
4. Taichi O. and Ohgi Y. : Constituents of Pollen Ⅶ, *Shoyakugaku Zasshi.* **34**(2), 145(1980)
5. Roma R. B. and Elizabeth J. T. : Composition and Protein Quility of Honeybee Collected Pollen of Eucalyptus marginata. *Amer. Inst. of Nutro.* 2479(1983)
6. Taichi O. : Studies on the Constituents of Pollen. II, On the Constituents of Pollen Grains of Ambrosia elatior L, *Yakugaku Zasshi.* **94**(3), 342(1974)
7. Chung, H. K : A study of the Chemical Constitients of Gymnosperm Pollen. *The seoul J. of Med.* **18**(2), 125(1977)
8. Yashihisa T. and Teizo K. : Biochemistry studies on Pollen Part Ⅶ. Vitamins of Pollen. 農化. **11**(5), 184(1967)
9. Toshinori Furukawa and Terukata Numoto : Pharmacological studies on cernilton, a new remedy for prostatits of prostatomegaly(1). *J. Med soc. Toho, Japan.* **15**, 190(1968)
10. 윤수홍 : 화분립의 영양생화학적 연구(Ⅰ). 한국영양식량학회지 **15**(3), 229(1986)
11. Ryuba Ibo : Antigenicity and general pharmacology of cernilton pollen extract 應用藥理 **28**, 529(1984)
12. J. Doull : Toxicology. 2nd ed., Macmillan Publishing Co., New York, 164(1984)
13. Mitchell, J. R., Hughes, H. : Chemical nature of reactive intermediates as determinant of toxicologic. cespon, *Drug Metab. Rev.*, **13**, 539 (1982)
14. Gerald M. Cohen : Target organ toxicity(1), CRC Press Inc., Florida, 154(1986)
15. Kobayash, T. : Fatty liver by hepatotoxic agent and lipid metabolism in rat(2). *Yakugaku Zasshi,* **80**, 1612(1960)
16. Stowell, R. E and Lee, C. S. : Histochemical studies of mouse liver after single feeding of carbon tetrachloride. *Arch. Path.*, **50**, 519 (1950)
17. Official Methods of Analysis-AOAC-13th ed., Washington D. C., 245(1980)
18. Perkin Elmer Manual (1976)
19. Snell, F. D and Snell, C. T. : In Colorimetric Method of Analysis., 3rd ed., Van Nostrand, New York, 3(1963)
20. Mason, V. C., : Bech-Anderson, S. : Hydrolysis Preparation for amino acid determination in feed constituents Zeitschrift fur Tierphysiologie, *Tierernahrung und Futtermittelkunde,* **43**(3), 146(1980)
21. Reitman, S and Frankel, S. : A colormetric method for determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**, 58(1957)
22. Kind, P. R. N and King, E. J. : Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolyzed phenol with amino antipyrine. *J. Clin. Pathol.*, **7**, 322(1954)
23. 金井泉 : 臨床檢査法提要, 改訂第29版, 495, (1983)
24. 大石誠子 : 過酸化脂質測定法. 日本, 最新醫學, **33**(4), 660(1978)
25. Frings, C. S. : A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Am. J. Clin. Path.*, **53**, 89(1970)
26. Leevy, C. M. : Quart. *J. Stud. Alcohol,* **14**, 568 (1953)
27. Munro, H. N. : *Proc. Nutr. Soc.*, **23**, 12(1964)
28. Addis, T. : *J. Biol. Chem.*, **111**, 117(1986)
29. Elser, E., Gangmuller, J. : *J. of Physiol. Chem.*, **21**, 194(1921)

(Received November 10. 1989)