J. Korean Soc. Food Nutr.
24(4), 487~492(1995)

Vitamin B_2 결핍이 Streptozotocin 유발 당뇨 흰쥐의 에너지대사에 미치는 영향

조윤옥† · 박경순*
덕성여자대학교 식품영양학과
*신사국민학교

The Effect of Vitamin B_2 Deficiency on Fuel Metabolism in Streptozotocin Induced Diabetic Rats

Youn-Ok Cho† and Kyung-Soon Park*
Dept. of Foods & Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 132-741, Korea
**Shinsa Elementary School, Seoul 135-120, Korea*

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of vitamin B_2 deficiency on fuel metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. Thirty rats were fed a vitamin B_2 deticient diet(-B_2) or a control diet (+B_2) for 2 weeks and then subdivided into 3 groups respectively : base group, one day diabetic group and three day diabetic group. Diabetes of the rats were induced by streptozotocin injection into the tail vein. Glucose, glycogen, protein, alanine, triglyceride and free fatty acid were compared in plasma, liver, skeletal muscle of rats. Also, the total urinary nitrogen and glucose excretion were compared. Compared with +B_2 rats, the increase of plasma glucose in -B_2 rats due to the diabetes tended to be smaller. After diabetes were induced, the levels of plasma protein and alanine was significantly decreased and the urinary nitrogen excretion was significantly increased in -B_2 rats. The levels of plasma free fatty acid was increased continuously in -B_2 rats while increased at the first day and decreased at the third day diabetes was induced in +B_2 rats. These results suggest that vitamin B_2 deficiency increase protein catabolism due to the decrease of fatty acid oxidation. Thus, vitamin B_2 deficiency in diabetes impair the adaptation of animals to the fuel metabolism and aggravate the body protein wasting which is one of the chronic complications of diabetes.

Key words : vitamin B_2 deficiency, fuel metabolism, diabetes

서 론

Vitamin B_2는 flavin mononucleotide(FMN), flavin adenine dinucleotide(FAD)의 형태로 체내 여러 에너지대사에 참여한다. FAD 또는 FMN은 amino acid oxidase의 조효소로서 amino acid의 산화적 deamination에 작용하므로 부족시 amino acid가 keto acid로 산화되지 못하여 gluconeogenesis 기질로 사용할 수 없게 된다(1). FAD와 FMN은 acetyl-CoA 탈수소효소의 조효소로 지방의 합성과 분해 양반응에 모두 관여하며(2), 간의 mitochondria의 지방산 산화능력을 실험한 쥐에선 vitamin B_2 결핍시 1주내에 palmitate 산화능력이 20~25% 감소되었다(3). Brady와 Hoppel(4)의 연구에서도 vitamin B_2의 공급을 중단시켰을 때 간의 mitochondria에서 palmitate의 산화가 첫날 35% 감소되었고, 28일째 약 78%의 감소를 보였으며, fatty acyl-CoA의 β산화가 지장을 받는 선천성 질환의 경우도 vitamin B_2의 과량투여로 효과를 볼 수 있다(5,6).

Vitamin B_2와 당뇨와의 연관성에 관한 연구로는 vitamin B_2 결핍시 2-deoxyglucose나 insulin의 폭식작용(hyperphagic action)이 상실된다는 것이 보고(7) 되었으며, Pollack와 Bookman(8)은 수술이나 퇴행성 당뇨병과 같이 질소보유율이 낮을 때에는 뇨 중 vitamin B_2의 배설량이 섭취량 보다 크다고 보고하였다. 따라서

†To whom all correspondence should be addressed

당뇨유발 시, 체내 지방이 유리되어 주요 energy원으로 사용되는데 vitamin B_2가 결핍되면 그 대사가 원활하지 못할 것으로 추정되나 아직 이에 관한 생체내 연구보고는 거의 없다.

그러므로 본 연구는 당뇨병에서 vitamin B_2의 결핍이 혈장 및 각 조직의 저장 에너지대사에 어떠한 영향을 미치는가를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 시료채취

이유기의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 15마리씩 2개군으로 나누었다. AIN-76(9)에 따른 조제 식이를 모든 군에 동일하게 공급하는 일주일간의 적응기를 둔 후, vitamin B_2결핍군(-B_2군)은 AIN-76식이에서 vitamin B_2를 제외한 식이를 무제한으로, 대조군(+B_2군)은 AIN-76식이를 -B_2군의 일주일간 평균식이 섭취량에 대한 pair feeding으로 2주간 공급하였다. 물은 무제한 공급하였다.

실험식이 실시 후 가급적 체중을 맞추어 각군을 다시 세군으로 나누어 각각 두군에 당뇨를 유발시켜 각각의 실험식이를 공급시킨 후 각각 1일과 3일에 단두로 희생시킨 직 후, 혈액을 채취하여 혈장을 취하였다. 주요 장기(간장, 심장, 비장 및 신장)와 근육을 적출하여 무게를 측정하고, -20°C에서 급속 냉동시켰다.

당뇨 유발

췌장의 β-세포에만 특이적으로 작용하여 다른 기관에 큰 영향을 주지 않는 것으로 밝혀진(10) streptozotocin을 이용하여 당뇨를 유발하였다. Streptozotocin(Sigma Chemical Co.)을 pH 4.5의 citrate buffer에 최대 주사량이 1ml이내가 되도록 녹여 45~60mg/kg body weight 농도로 미정맥을 통해 주사하였다. 주사 후 24시간 후에 심장채혈로 혈액을 취하여 원심분리한 후 혈당을 측정, 당뇨 발생 여부를 확인하였다.

분석방법

Chemistry analyzer RA-XT(Technicon CO.)를 이용하여 혈장 포도당은 hexokinase와 glucose-phosphate dehydrogenase 효소법(11), 단백질은 Skeggs와 Hochstrasser에 의해 변형된 biuret법으로(12) 540nm에서 흡광도를 측정하였고, 중성지방은 Giegel 등(13)에 의해 변형된 TRI-25 Triglyceride법을 이용하였으며 표준액은 triolein(Sigma Co.)을 사용하였다. 혈장 유리지방산의 측정은 Falholt 등에 의한 비색법(14)을 이용하여 500nm에서 흡광도를 측정하였다(14). 표준액은 palmitic acid (Sigma Co.)를 사용하였다. 혈장 alanine은 glutamic-pyruvic transaminase와 lactic dehydrogenase를 이용한 microfluorometric 효소법(15)을 이용하였으며 표준액은 alanine(Sigma Co.)를 사용하여 fluorescense spectrophotometry를 사용하여 470nm에서 측정하였다. 뇨중 포도당(11), 질소량(16)측정도 Chemistry analyzer RA-XT(Technicon Co.)를 이용하였다. 장기내 glycogen은 장기를 0.2g을 취하여 이를 포도당 수준으로 분해한 비색법으로 측정하여 보정계수를 고려하여 glycogen량이 유도되었다(17). 장기내 단백질(18)은 장기를 1~2g을 취하여 phosphate buffer(0.2M, pH 7)를 가하여 마쇄한 후 1ml을 취하여 biuret 시약과 반응시켰다. 표준액은 Bovine serum albumin(Sigma Co.)를 사용하였다. 장기내 중성지방은 시료를 0.2g을 취하여 phosphate buffer(0.2M, pH 7)를 가하여 마쇄한 후 2ml을 취하여 혈장과 같은 방법으로 측정하였다. 비교군들간의 유의성 검증은 F-test로 한 후 L.S.D 검사법으로 확인하였다(19).

결과 및 고찰

대조군은 첫째 주말 까지는 결핍증상이 현저히 나타나지 않았으나, 둘째 주 이후에는 성장기임에도 불구하고 체중 증가가 현저히 둔화되었으며, B_2결핍군의 경우 식이이용효율이 대조군에 비하여 현저히 감소되었으며(대조군 : 0.29±0.02, B_2결핍군 ; 0.26±0.05), 피부질환, 탈모, 입주위의 이상 등(20)이 나타나 B_2결핍군 동물들에게 vitamin B_2결핍이 일어난 것으로 추정된다.

각 군들의 장기 무게는 Table 1에 나타내었다. 간장의 경우, 당뇨유발 전에는 B_2결핍군의 간장 무게가 대조군에 비해 유의적인 차이($p<0.05$)로 비대해졌다. 당뇨유발 후, 대조군에서는 간장의 무게가 유의적인 차로 증가되었으나($p<0.05$), B_2결핍군에서는 당뇨유발 전과 별다른 차이를 보이지 않았다. 이는 당뇨병 합병증의 하나인, 지방간 증상으로 간장이 비대해진 것으로 추정되며 이는 간장 중성지방이 증가된 것으로도 확인되었다. 심장과 신장 무게는 당뇨유발 전에는 대조군과 B_2결핍군의 차이가 없었으나 대조군의 경우 당뇨 3일째는 심장무게가 유의적인 차이로 감소되었다. B_2결핍군은 당뇨유발 후 심장의 무게가 감소하는 경향을 보였으나, 유의적인 차이는 보이지 않았다.

신장의 무게는 당뇨유발로 대조군 모두에서 증가되었다. 비장도 당뇨유발 전에 대조군에 비해 B_2결핍군

이 비대해진 경향을 보였으나, 대조군의 개체차가 커서 유의적인 차이는 아니었다. 이는 심각한 vitamin B_2 부족시 vitamin B_6가 조효소로 전환되는 것이 영향을 받으며 (21,22), vitamin B_6 조효소 부족시, 주요 면역기관이 영향을 받게됨 (23,24)에 따라 비장과 같은 부수적인 면역기관의 비대를 초래한 것으로 추정된다.

혈장 에너지 대사물의 농도는 Table 2에 나타나 있다. 당뇨유발 전 혈장 포도당 농도는 대조군과 B_2결핍군이 유사하였다. 당뇨유발 후, 당뇨가 진행됨에 따라 두군 모두 혈당이 증가하였으나, B_2결핍군이 대조군에 비해 혈당이 낮은 경향을 나타냈다. 이는 vitamin B_2결핍이 streptozotocin의 반응성을 저하시켰거나 (7), vitamin B_2결핍으로 호흡연쇄에 장애가 발생하면서 gluconeogenesis에 관련된 효소들의 활성이 감소되어 포도당신생이 부분적으로 차단되었기 때문인 것으로 추정된다.

혈장 단백질은 당뇨가 진행됨에 따라 대조군은 혈장 단백질 수준의 변화가 없는 반면, B_2결핍군은 당뇨 1일째 급격히 감소되었다 ($p<0.05$). 또한 혈장 alanine도 당뇨유발 후 대조군은 급격히 감소하였다. 이는 vitamin B_2결핍으로 인해 지방산화에 관여하는 FAD-flavoprotein이 부족되어 acetyl-CoA dehydrogenase의 활성이 저하되어 (25) 지방이 열량원으로 이용되지 못하게 됨에 따라 단백질이 주 에너지원으로 이용되었으며 gluconeogenesis가 저해 된 것으로 추정된다. 당뇨유발 전, B_2결핍군은 대조군에 비해 혈장 중성지방 농도가 유의하게 ($p<0.05$) 높았으나 당뇨유발 후에는 대조군의 중성지방 농도가 급격히 증가하여 두군 간의 차이가 없어졌다. 당뇨유발 전 대조군과 B_2결핍군의 혈장 유리지방산 농도는 유사하였으나 당뇨유발 후 대조군은 당뇨 1일째 증가하였다가 당뇨 3일째는 감소되었으며 B_2결핍군에서는 지속적으로 증가하여 당뇨 3일째에는 유의적

Table 1. Effect of vitamin B_2 deficiency on organ weights (/100g body weight) of diabetic rats

Organ	Base		DM 1[1]		DM 3[1]	
	+B2[2]	-B2[2]	+B2	-B2	+B2	-B2
Liver	2.862[c] ±0.205[3]	3.433[b] ±0.117	3.982[a] ±0.535	3.356[c] ±0.531	3.795[ab] ±0.426	3.453[ab] ±0.456
Heart	0.350[ab] ±0.016	0.361[a] ±0.035	0.372[a] ±0.047	0.352[ab] ±0.046	0.315[b] ±0.010	0.348[ab] ±0.027
Spleen	0.386[ab] ±0.226	0.556[a] ±0.045	0.320[b] ±0.169	0.422[ab] ±0.168	0.443[ab] ±0.067	0.468[ab] ±0.200
Kidney	0.436[b] ±0.038	0.437[b] ±0.019	0.490[a] ±0.052	0.437[b] ±0.021	0.465[ab] ±0.050	0.510[a] ±0.028

[1] DM 1=Diabetes mellitus 1day , DM 3=Diabetes mellitus 3 days
[2] +B2=control group, -B2=vitamin B_2 deficient group
[3] Data are expressed as mean±S.D.
[abc] Within a given row, those values with different letters are significantly different ($p<0.05$)

Table 2. Effect of vitamin B_2 deficiency on plasma glucose, protein, alanine, triglyceride (TG) and free fatty acid (FFA) concentration of diabetic rats

Plasma	Base		DM 1[1]		DM 3[1]	
	+B2[2]	-B2[2]	+B2	-B2	+B2	-B2
Glucose (mg/dl)	132.7[a] ±19.4[3]	136.2[a] ±14.5	584.0[b] ±211.7	419.0[b] ±242.8	531.2[b] ±253.1	482.1[b] ±164.3
Protein (g/dl)	6.6[ab] ±0.2	8.0[a] ±3.8	6.3[a] ±0.7	6.5[a] ±0.9	7.6[b] ±0.6	6.8[ab] ±0.7
Alanine (mg/l)	41.8[ab] ±5.7	51.5[a] ±13.8	44.1[ab] ±8.8	31.2[b] ±3.7	70.8[c] ±22.8	52.9[a] ±13.3
TG (mg/dl)	35.4[a] ±13.5	89.7[b] ±19.3	97.6[b] ±43.4	74.6[b] ±38.6	89.9[b] ±24.1	92.3[b] ±12.5
FFA (mg/l)	137.1[a] ±16.4	141.1[a] ±9.9	210.4[b] ±37.3	158.9[a] ±22.4	127.2[a] ±8.7	198.1[b] ±42.1

[1] DM 1=Diabetes mellitus 1 day , DM 3=Diabetes mellitus 3 days
[2] +B2= control group, -B2=vitamin B_2 deficient group
[3] Data are expressed as mean±S.D.
[abc] Within a given row, those values with different letters are significantly different ($p<0.05$)

Table 3. Effect of vitamin B_2 deficiency on urinary glucose and nitrogen concentrations of diabetic rats

Urine	Base		DM 1[1]		DM 3[1]	
	+B2[2]	-B2[2]	+B2	-B2	+B2	-B2
Glucose (mg/day)	1.5[a] ±0.9[3]	2.2[a] ±1.3	1021.0[ab] ±525.5	±856.9 309.4[a]	1444.6[b] ±1576.2	2994.3[b] ±2672.3
Nitrogen (mg/day)	164.2[ab] ±28.0	165.4[ab] ±31.0	224.2[c] ±33.5	202.5[b] ±58.3	295.2[cd] ±29.4	476.2[d] ±223.6

[1] DM 1=Diabetes mellitus 1 day, DM 3=Diabetes mellitus 3 days
[2] +B2=control group, -B2=vitamin B_2 deficient group
[3] Data are expressed as mean±S.D.
[a-c] Within a given row, those values with different letters are significantly different ($p<0.05$)

Table 4. Effect of vitamin B_2 deficiency on liver glycogen, protein and triglyceride (TG) levels of diabetic rats

Liver	Base		DM 1[1]		DM 3[1]	
	+B2[2]	-B2[2]	+B2	-B2	+B2	-B2
Glycogen (μg/g)	107.2[c] ±27.8[3]	117.0[bc] ±22.1	233.1[bc] ±64.0	56.6[b] ±22.1	835.1[a] ±277.6	211.6[bc] ±93.1
Protein (mg/g)	272.0[a] ±32.6	256.4[a] ±8.1	218.3[b] ±14.8	221.7[b] ±29.4	214.3[b] ±16.8	225.5[b] ±13.0
T G (mg/g)	800.9[c] ±325.0	879.1[c] ±65.9	1618.1[a] ±672.0	1470.6[ab] ±255.5	1861.7[a] ±304.4	1069.8[bc] ±432.2

[1] DM 1=Diabetes mellitus 1 day, DM 3 =Diabetes mellitus 3 day
[2] +B2= control group, -B2=vitamin B_2 deficient group
[3] Data are expressed as mean±S.D.
[a-c] Within a given row, those values with different letters are significantly different ($p<0.05$)

인 차이를 보였다. 이는 당뇨유발시 hormone sensitive lipase가 활성화되어 지방산의 유리가 급격히 증가되어 혈장 유리지방산 농도가 증가되었으나(26) 당뇨가 진행됨에 따라 대조군은 적응기전이 형성되어 에너지원으로의 이용율이 증가되어 혈중 농도가 감소되었으나 B_2 결핍군에서는 vitamine B-2부족으로 유리지방산이 에너지원으로 이용되지 못했기 때문인 것으로 추정된다.

뇨 중 포도당과 질소배설량은 Table 3과 같다. 뇨 중 포도당은 두군 모두 당뇨유발 전에는 거의 배설되지 않다가 당뇨유발 후에는 개체차는 크나 증가하는 경향을 보여 당뇨 3일째는 유의적인 차이를 보였다. 이는 당뇨 1일째 streptozotocin주사에 의한 극단적인 당뇨증세가 나타나 혈장 포도당 농도가 높아졌으나 당뇨가 진행됨에 따라 포도당으로의 배설량이 증가되는 적응기전이 생겨 뇨중 배설량은 증가하고 혈장 농도는 감소된 것으로 추정된다. B_2결핍군의 뇨중 질소 배설량은 당뇨 3일째에 증가되었는데, 이는 당뇨유발 전 B_2 결핍군의 혈장 단백질과 alanine 농도가 대조군에 비해 높았다가 당뇨유발 후 급격히 감소된 것과 일치하는 결과이다.

Table 4는 간장 glycogen, 단백질, 중성지방의 수준을 나타낸 것이다. 당뇨유발 후, 대조군은 간장 glycogen 수준이 증가하기 시작하여 당뇨 3일째에는 7~8배에 달하였다. B_2결핍군도 간장 glycogen이 증가하는 경향을 보였으나 대조군에 비해 그 증가폭은 매우 적었다. 근육 glycogen (Table 5)도 당뇨유발 후 대조군과 B_2 결핍군 모두 증가하였다. 두군 모두 마지막 식사 후 16시간이 경과된 후 시료를 채취하였으므로 이는 일반적인 당뇨에 있어서의 당질대사와는 다른 성향으로 그 기전은 규명되어야할 과제이다. 간장 단백질 수준은 당뇨가 진행됨에 따라 대조군과 B_2결핍군 모두에서 당뇨 1일째 유의하게 감소하여 당뇨 3일째도 그 수준을 유지하였다. 이는 당뇨로 인한 정상적인 포도당대사의 차단으로 일시적이나마 간장 단백질이 보충 에너지로 쓰였을 것으로 추정된다. 간장 중성지방 수준은, 대조군은 당뇨가 진행됨에 따라 계속 증가하였으나 B_2결핍군은 당뇨 1일째에는 증가하였다가 당뇨 3일째에는 다시 감소하여 당뇨유발 전과 같은 수준이 되었다. 이는 대조군의 경우는 당뇨유발로 인한 과도한 지방산 유출로 간장내 acetyl CoA가 축적되어 생기는 지방간 현상으로 볼 수 있으며, B_2결핍군의 경우는 비타민 B_2결핍에 의한 미토콘드리아의 지방산 산화가 감소된 것이 지방산 산화 증가가 요구되는 금식시 일부 회복된다는 보고(27)가 있으므로, 본 연구에서도 B_2결핍군의 경우

Table 5. Effect of vitamin B_2 deficiency on muscle glycogen and protein levels of diabetic rats

Muscle	Base		DM 1[1]		DM 3[1]	
	+B2[2]	-B2[2]	+B2	-B2	+B2	-B2
Glycogen ($\mu g/g$)	65.7[cd] ±7.1[3]	102.0[b] ±28.9	113.5[b] ±17.5	96.3[bc] ±18.9	89.6[bc] ±10.5	157.0[a] ±35.3
Protein (mg/g)	335.1[ab] ±57.8	302.0[b] ±25.2	341.2[ab] ±53.3	372.2[a] ±42.8	361.4[ab] ±53.3	336.1[ab] ±73.4

[1] DM 1= Diabetes mellitus 1 day, DM 3=Diabetes mellitus 3 day
[2] +B2=control group, -B2=vitamin B_2 deficient group
[3] Data are expressed as mean±S.D.
[abc] Within a given row, those values with different letters are significantly different ($p<0.05$)

는 비타민 B_2결핍으로 인해 지방산 산화가 저해되어 당뇨 1일째는 증가하였다가, 당뇨가 지속됨에 따라 지방산이 에너지원으로 이용되어야만 되는 상황이 발생하여 비타민 B_2결핍으로 인한 지방산 산화저해가 다소 회복되어 간장 중성지방수준이 당뇨 3일째는 다시 감소된 것으로 추정된다.

B_2결핍군의 근육단백질 농도(Table 5)는 당뇨 1일째에는 증가되었다가 당뇨 3일째 감소되었으나 유의적인 차이를 보이지는 않았다. 이 차이는 골격근의 총량이 매우 많아 골격근에서의 단백질 농도가 소폭으로 감소한 것이 뇨 중 질소 배설량의 유의적인 증가를 초래하게된 것으로 추정된다. 이것은 갑작스러운 당뇨유발로 일시적으로 극단적인 당신생의 차단현상을 보이다가 vitamin B_2 결핍으로 지방산이 에너지원으로 이용되어 당뇨 3일째는 감소된 것으로 추정된다. 이는 뇨 중 질소 배설량이 증가된 것으로 확인되었다.

요 약

본 연구는 에너지대사와 전반적으로 관련이 깊은 vitamin B_2의 결핍이 당뇨병에서 혈장 및 조직의 에너지원 조성에 미치는 영향을 알아보았다. 당뇨유발 후 B_2결핍군의 혈장 포도당 농도 증가율은 대조군 보다 낮았고 B_2결핍군의 혈장 단백질 농도와 혈장 alanine 농도는 감소하였다. 혈장 중성지방 농도는 당뇨유발 전에는 B_2결핍군이 대조군에 비해 높았으나 당뇨유발 후에는 대조군의 혈장 중성지방 농도가 증가하여 두군 간에 차이가 없었다. 혈장 유리지방산은 당뇨가 진행됨에 따라 대조군에서는 당뇨 1일째 증가하였다가 당뇨 3일째는 감소되었으나 B_2결핍군에서는 지속적으로 증가하였다. 뇨 중 질소 배설량도 당뇨가 진행됨에 따라 B_2결핍군에서 증가되었다. 또한, 당뇨유발 후 간장 glycogen과 간장 중성지방은 두군 모두에서 증가하는 경향을 보였으나, B_2결핍군이 대조군에 비해 그 증가폭이 적었다. B_2결핍군의 경우 당뇨유발 후 근육 glycogen 수준은 증가되었으나, 근육 단백질 수준은 초기에는 증가되었다가 후에 감소되었다. 그러므로 당뇨유발로 인해 포도당 체내이용이 저해됨에 따라 저장지방이나 단백질을 주요 에너지원으로 하는 에너지 보충 적응기전이 일어나야한다. 이때 vitamin B_2 결핍 상태에서 당뇨가 유발되면 지방을 에너지원으로 사용하는 대사과정에서의 조효소 부족으로 체지방 산화작용이 저해됨과 함께 체단백질을 에너지원으로 사용하게 됨에 따라 뇨 중 질소 배설량이 증가하고 체단백질 소모가 커지는 것으로 나타났다.

문 헌

1. Cooperman, J. M. and Lopez, R. : Vitamin B_2. In "*Handbook of vitamins*" 2nd ed., Machin, L. J.(ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, p.283 (1991)
2. Linder, M. C. : Nutrition and metabolism of vitamins. In "*Nutritional biochemistry and metabolism*" Linder, M. C. (ed.), Elservier, New York, p.74 (1984)
3. Hoppel, C. L., Dimarco, J. P. and Tandler, B. : Riboflavin ; rat hepatic mitochondrial structure & function. *J. Biol. Chem.*, **254**, 4164 (1979)
4. Brady, P. S. and Hoppel, C. L. : Hepatic peroxisomal and mitochondrial fatty acid oxidation in the riboflavin deficient rat. *J. Biochem.*, **229**, 717 (1985)
5. Gregersen, N. : Riboflavin-responsive defects of beta-oxidation. *J. Inherited Meab. Dis.* (*suppl* 8), **1**, 65 (1985)
6. Vianey-Liaud, C., Divryp, P., Gregersen, N. and Mathieu, M. : The inborn errors of mitochondrial fatty acid oxidation. *J. Inherited Meab. Dis.* (*suppl* 10), **1**, 159 (1987)
7. Matsuo, T. and Suzuoki, Z. : Feeding response of riboflavin deficient rats to energy dilution, cold exposure and glucoprivation. *J. Nutr.*, **112**, 1052 (1982)
8. Pollack, H. and Bookman, J. J. : Riboflavin excretion as a funtion of protein metabolism in the normal, catabolic, and diabetic human being. *J. Lab. Clin. Med.*,

38, 561 (1951)
9. American Institute of Nutrition : Report of the American institute of nutrition. Ad Hoc Commitee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.*, **107**, 1340 (1977)
10. Junod, A., Lambert, A. E., Stauffacher, W. and Renold, A. E. : Diabetogenic action of streptozotocin ; Relationship of dose to metabolic response. *J. Clin. Invest.*, **12**, 2129 (1969)
11. Department of Health, Education and Welfare : Food and drug administration proposed establishment of product class standard for education or measurement of glucose. *Fed. Regis.*, **39**, 24136 (1974)
12. Skeggs, L. T. J. and Hochstrasser, H. : Multiple automatic sequential analyses. *Clin. Chem.*, **10**, 918 (1964)
13. Giegel, J. L., Ham, A. B. and Clema, W. : Serum triglyceride determinated colorimetry with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *J. Clin. Chem.*, **21**, 1575 (1975)
14. Falholt, K., Lund, B. and Falholt, W. : An easy colorimetric micromethod for routine determination of free fatty acid in plasma. *Clin. Chem. Acta*, **466**, 105 (1973)
15. Irene, E. K., Anthony, S. P. and David, M. L. : A microfluorometric enzymatic assay for the determination of alanine and pyruvate in plasma and tissues. *J. Lab. Clin. Med.*, **80**, 434 (1972)
16. Bauer, J. D. : Clinical laboratory methods. Mosby Co., Missouri, p.493 (1982)
17. Hassid, W. Z. and Ahraham, X. : Chemical procedures for analysis of polysaccharides. In "*Methods in Enzymology*" Coluwick, S. P. and Kaplan, N. O. (eds.), Academic press, New York, p.34 (1957)
18. 한국 실험 생화학회 편찬위원회 : 탐구실험생화학. 탐구당, 서울, p.499 (1989)
19. Rao, M. and Blane, K. : PC-STAT. Dep. Food Science Univ., Georgia (1985)
20. Friedrich, W. : Vitamins. Walter de Gruyter, New York, p.454 (1988)
21. Hoppel, C. L. and Tandler, B. : Nutritional disorder. In "*Handbook series in nutrition and food*" Rechcigl, M. (ed.), CRC Press, West palm Beach., Vol Ⅱ, p.27
22. McCormick, D. B. : Riboflavin. In "*Present knowledge in nutrition*" Brown, M. L. (ed.), 6th eds., INt. Life science Inst. Nutr. Foundation, Washington, D. C., p.146 (1990)
23. Leklem, J. E. : Vitamin B_6. In "*Handbook of vitamines*" 2nd ed., Machlin, L. J. (ed.), Marcel Dekker, Inc. New York, p.341 (1991)
24. Brody, T. : Nutritional Biochemistry. Academic Press, New York, p.443 (1994)
25. Sakurai, T., Miyazawa, S., Furata, S. and Hashimoto, T. : Riboflavin deficiency and oxidative system in rat liver. *Lipids*, **17**, 598 (1983)
26. Vander, A. J., Sherman, J. H., Luciano, D. S. : Human physiology. 6th ed., McGraw-Hill Inc, International Edition, p.618 (1994)
27. Ross, N. S. and Hoppel, C. L. : Acyl-CoA dehydrogenase activity in riboflavin deficient rat. *Biochem. J.*, **244**, 387 (1987)

(1995년 4월 1일 접수)