

## 해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표에 관한 연구

### III. 황해산 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 콜린에스테라제 활성의 변화

최진호<sup>†</sup> · 김동우 · 문영실 · 박정길\* · 양동범\*\*

부경대학교 식품생명과학과 생화학교실

\*부경대학교 공과대학 환경공학과

\*\*한국해양연구소 해양화학연구부

### Study on Biochemical Pollutant Markers for Diagnosis of Marine Pollution

#### III. Changes in Cholinesterase Activity of Flounder (*Paralichthys olivaceus*) in the Yellow Sea

Jin-Ho Choi<sup>†</sup>, Dong-Woo Kim, Young-Sil Moon, Chung-Kil Park\* and Dong-Beom Yang\*\*

Department of Food and Life Science, Pukyong National University

\*Department of Environmental Engineering, Pukyong National University

\*\*Korea Ocean Research and Development Institute

#### Abstract

This study was designed as a part of efforts to investigate the biochemical pollutant markers for diagnosis of marine pollutions by changes in cholinesterase activity of the flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Yellow Sea of Korea. Acetylcholinesterase (AChE) activities in brain and muscle of cultured flounders in Yellow Sea were remarkably lower (40–50% and 40–55%, respectively) than those of wild flounder in Pohang (control) of East Sea, but AChE activities in brain and muscle of wild flounders in Yellow Sea were significantly lower (15–40% and 25–35%, respectively) than those of wild flounder in Pohang of East Sea. Butyrylcholinesterase (BChE) activities in brain and muscle of cultured flounders in Yellow Sea were remarkably lower (70–75% and 65–75%, respectively) than those of wild flounder in Pohang of East Sea, but BChE activities in brain and muscle of wild flounders in Yellow Sea were significantly lower (15–40% and 25–35%, respectively) than those of wild flounder in Pohang of East Sea.

Lactate dehydrogenase (LDH) activities in serum of cultured flounders in Yellow Sea were significantly 10–50% higher than those of wild flounder in Pohang of East Sea, but LDH activities in serum of wild flounders in Yellow Sea were significantly 20–25% higher than those of wild flounder in Pohang of East Sea. It suggests that AChE and BChE activities in brain and muscle of cultured and wild flounders of Yellow Sea may be used as the most effective mean in a biochemical markers for diagnosis of pollutant effects by organophosphorus pesticides.

**Key words :** Flounder(*Paralichthys olivaceus*), Yellow Sea, lactate dehydrogenase(LDH), acetylcholinesterase(AChE), butyrylcholinesterase(BChE)

<sup>†</sup> Corresponding author

## 서 론

우리나라의 해양오염은 날로 심각해져 가고 있지만, 오염의 상태를 정확히 판단하고 그 영향을 예측·평가할 수 있는 기술은 아직 초보적인 단계에 머물고 있다. 연안해역의 오염이 생태계와 수산자원에 어떠한 직접적인 영향을 주는지를 파악하기 위해 생화학적, 생리학적 오염지표의 연구가 활발한 것은 이러한 문제를 해결하기 위한 노력의 하나이다<sup>1)</sup>.

지금까지의 많은 연구결과, 생체내의 아세틸콜린에스테라아제(acetylcholinesterase : AChE)나 부틸릴콜린에스테라아제(butyrylcholinesterase : BChE)가 해양오염의 지표로서 각광받기 시작하고 있다<sup>2-7)</sup>. AChE은 생화학적으로 가장 중요한 신경 전달물질인 아세틸콜린(acetylcholine)을 가수분해하는 효소로서 유기인체(organophosphorus pesticides) 또는 카아바메이트(carbamate)에 의해서 그 활성이 유의적으로 억제되기 때문에 해양오염의 지표로서 사용되어 왔다<sup>8-11)</sup>. AChE는 유기인체 등에 직접 영향을 받으며, 이를 물질을 취급하는 사람들에게는 혈청중의 AChE의 검사를 정기적으로 실시하고 있다. 대부분의 해양생물은 체내에 이 효소를 가지고 있는 것으로 알려져 있다<sup>12-13)</sup>.

어류의 콜린에스테라아제(cholinesterase : ChE) 활성은 생화학적 특성연구<sup>12-14)</sup>, 또는 독성실험에 응용<sup>15-17)</sup>되어 왔는데, 이들의 활성 저하는 연안해역에 축적된 오염물질의 영향인 것으로 보인다.

또한 유기인계 농약이나 카바메이트계 살충제 등은 환경 내에서 잔류성이 적은 것으로 알려져 있지만, 이들 물질들이 상당기간 유기 퇴적물이나 해수중에 잔류할 수 있다는 보고들이 있다<sup>18-19)</sup>. 이들 물질들은 신경독성을 나타내고 발암물질인 동시에 기형 유발 및 생식 장애를 나타내는 것으로 알려져 있다<sup>20)</sup>.

본 연구는 해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표 설정의 기초연구로서, 저서류서 오염도 평가에 널리 사용되고 있는 낌치를 사용하여 이를 해양오염이 이미 오염의 지표로서 널리 사용되고 있는 AChE 및 BChE의 효소활성에 미치는 영향을 평가하고, 아울러 락트산탈수소효소(lactate dehydrogenase : LDH)의 활성에 미치는 영향을 비교 평가하여 생화학적 오염지표로서의 가능성을 검토하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료 및 조직의 분획

전보(Choi et al., 1997 ; Moon et al., 1997)<sup>21-22)</sup>와

마찬가지로 낌치 시료(*Paralichthys olivaceus*)는 시험군으로 서 서해안의 서산(Sosan), 보령(Poryong), 부안(Puan), 영광(Yong-gwang)에서 채집한 양식산 낌치(체장 22.5~31.0cm, 체중 350~550g)과 영광, 격포(Kyougpo)에서 채집한 자연산 낌치(체장 32.5~36.5cm, 체중 600~800g)을, 그리고 대조군은 오염도가 비교적 적은 동해안의 포항(Pohang)에서 채집한 자연산 낌치(체장 24.5~32.0cm, 체중 370~650g)을 각각 1995년 5월~7월사이에 7마리씩 구입하여 사용하였다.

저자 등의 방법(Choi et al.)<sup>21)</sup>에 따라 등뼈밑에서 채혈한 혈액을 상법에 따라 혈청을 분리하였고, 또한 뇌 및 근육의 일정량을 분취하여 완충용액(1.15% KCl/10mM phosphate buffer+5mM EDTA, pH 7.4)에 넣어 -70°C에 동결·보존하였다. 이들 조직 획분은 Galgani 등 (1992)의 방법<sup>6)</sup>에 따라 분획하였다.

즉 각 조직 1g씩을 분취한 다음, 균질 인산완충용액 (0.1 M TRIS buffer, pH 8.0)에 2배량의 완충용액으로 1분간 균질화한 다음, 10,000×g에서 20분간 원심분리하였다. 이 때 잔사는 버리고 상층액을 활성산소 및 제거효소의 활성 측정에 사용하였다.

### 2. 단백질 함량의 측정

혈청 및 조직획분의 단백질 함량은 Lowry 등(1951)의 방법<sup>23)</sup>에 따라 표준 단백질로서 BSA (bovine serum albumin)를 사용하여 분광광도계를 사용하여 525nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의하여 단백질의 함량을 정량하였다.

### 3. 아세틸콜린에스테라아제의 활성 측정

뇌 및 근육에 많이 분포하는 아세틸콜린에스테라아제(acetylcholinesterase : AChE)의 활성 측정은 Hallak 등 (1987)의 방법<sup>24)</sup>을 참고로 하여 Galgani 등 (1992)의 방법<sup>6)</sup>에 따라 정량하였다. 마이크로플레이트에 0.1M Tris buffer, pH 8.0 (Trizma HCl+Trizma base)을 300μl, 0.01 M 디치오니트로벤조산(dithionitrobenzoic acid : DTNB) 20μl, 뇌 및 근육분획 10μl을 연속적으로 첨가한다. 그리고 흡광도를 측정하기 직전에 기질시약인 0.1M 아세틸콜린 클로라이드(acetylthiocholine chloride) 10μl을 첨가한다. 마이크로플렛 리더(ELISA reader)를 이용하여 405 nm에서 흡광도의 변화를 3분동안 관찰하여 다음

식(1)에 따라 아세틸콜린에스테라아제(AChE)의 활성을 정량하였다.

AChE activity(unit/min/mg protein)=(Final Abs-Initial Abs)×2\*×1000\*\*/min/mg protein.....(1)

#### 4. 부틸릴콜리에스트라제의 확선 측정

또한 근육에 많이 분포하고 있는 부틸릴콜린에스테라제(butyrylcholinesterase : BChE)의 활성 측정은 Galgani 등 (1992)의 방법<sup>6)</sup>에 따라 아세틸콜린에스테라제(AChE)의 측정과 꼭같은 방법으로 다음 식(2)에 따라 정량하였다.

BChE activity(unit/min/mg protein)=(Final Abs-Initial Abs)×2\*×1000\*\*/min/mg protein.....(2)  
 \*Enzyme suspension의 희석배수  
 \*\*1unit=0.001 Abs

### 5. 젖산탈수소효소의 활성 측정

혈청중의 젓산탈수소효소(lactate dehydrogenase : LDH)는 다섯 가지의 이소엔점을 가지고 있는데, 이들 효소의 활성측정은 컫트시약(Sigma Co., No. 1340-UV)을 사용하여 측정하였다. 먼저 LDH A 효소시약 2.5ml에 혈청 100 $\mu$ l를 첨가하여 잘 혼합한 후 1분간 방치한 다음, LDH B 효소시약 0.1ml를 넣고 물을 대조로 하여 340nm에서 흡광도를 1, 2 및 3분씩 측정하여 다음 식(3)에 따라 혈청중의 LDH의 활성을 계량하였다.

LDH activity(U/L) = (OD/min) × Total volume(ml) ×  
 $1000*/6.22** \times \text{Sample volume(ml)}$  .....(3)  
 \*1000=unit/ml를 Unit/L로 전환  
 \*\*6.22=340 nm에서 NADH n mol의 흡수력

### 6. 분석결과의 통계처리

모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였고, 각 군간의 유의성 검정은 Student's t-test (Steel 등, 1960)<sup>25)</sup>로 실시하였다.

결과 및 고찰

## 1. 아세틸콜린에스테라아제의 활성 비교

이미 많은 연구의 결과로써 해양오염의 징표로 아세틸콜

린에스테라아제(AChE)는 신경전달물질인 아세틸콜린(acetylcholine : ACh)의 분해효소로 널리 알려져 있다. 가장 중요한 신경전달물질인 아세틸콜린은 시냅스사이에 신경자극을 전달한 다음, 또다른 자극전달을 위해 에세틸콜린에스테라아제에 의해 분해되어야만 한다. 따라서 이 효소의 비가역 저해제로서 아세틸콜린에스테라아제의 활성저하는 바로 유기인체나 중금속 등으로 오염되었다는 사실을 알 수 있다(최진호·오두환, 1993)<sup>26)</sup>.

AChE의 활성 측정을 통한 서해의 오염정도를 평가하기 위하여 서해안의 양식산 넙치의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성을 동해안의 포항의 자연산 넙치의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성을 대조군으로 하여 측정하여 본 결과는 Fig.1과 같다. 서해안의 양식산 넙치의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성은  $3,882.25 \pm 325.45$  –  $4,337.66 \pm 215.42$  unit/min/mg protein (brain) 및  $1,131.99 \pm 200.58$  –  $1,298.68 \pm 193.88$  unit/min/mg protein (muscle)로서 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 넙치의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성( $7,435.91 \pm 472.58$  unit/min/mg protein (brain) 및  $2,157.92 \pm 215.94$  unit/min/mg protein (muscle); 100%) 대비 각각 40–50% 및 40–55% 정도나 유의적으로 저하되었다( $p<0.05-0.001$ ).

그뿐만 아니라 서해안의 자연산 납치의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성도  $4,242.93 \pm 595.13$  –  $6,523.46 \pm 650.36$  unit/min/mg protein (brain) 및  $1,400.93 \pm 155.85$  –  $1,654.52 \pm 292.43$  unit/min/mg protein (muscle)로서 동 해안 포항의 자연산 납치의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성 ( $7,435.91 \pm 472.58$  unit/min/mg protein (brain) 및  $2,157.92 \pm 215.94$  unit/min/mg protein (muscle) ; 100 %) 대비 각각 15–40 % 및 25–35 % 정도나 유의적으로 저하되었다( $p < 0.05$ – $0.001$ )

이러한 AChE의 활성과 오염해역에서의 억제정도는 Galgani 등 (1992)<sup>7)</sup>이 북해의 중앙부 및 엘베강 하구에서의 조사결과와 유사함을 알 수 있었다. 결국 연안오염에 의한 AChE의 활성이 중앙부에 비해 유의적으로 저하하는 것으로 보아 육상 오염물질의 유입이 문제가 된다는 사실을 알 수 있었다. 또한 Galgani 등(1990)<sup>4)</sup>은 홍합, 새우, 가자미류 및 고등어를 대상으로 AChE의 활성을 비교하여 본 결과, 마라티온을 저해제로 사용했을 때에는 홍합이나 새우 등의 무척추동물의 AChE의 활성 저하가 가자미류나 고등

어보다 적었지만, 파라티온을 저해제로 사용했을 경우에는 새우의 AChE의 활성이 현저히 저하되었다고 보고했다.

저자 등<sup>27~33)</sup>도 뇌의 노화관련연구에서 생체의 바람직하지 못한 생화학적 변화로서 노화과정중에 신경전달물질인 아세틸콜린의 분해효소로서 AChE의 활성이 현저히 저하된다는 사실과 어류의 해수 오염이라는 바람직하지 못한 서식환경의 파괴와 일치한다는 사실을 알 수 있었다.

이상의 실험결과에서 보듯이 양식산 넙치는 말할 필요도 없고 자연산 넙치도 비교적 오염이 적은 동해안의 포항산 넙치 대비 뇌 및 근육의 AChE의 활성이 현저한 억제되었다는 사실은 AChE의 활성부위에 있는 세린 잔기(serine residue)에 이들 오염물질이 특이적으로 결합하기 때문으로 생각된다. 본 실험결과는 Galgani 등(1992)의 연구결과<sup>1)</sup>와 마찬가지로 조사해역이 주로 카바메이트제 등으로 오

염되어 있다는 사실을 알 수 있었다. 또한 자연산 넙치의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성 저하도 상당히 높다는 사실은 균해역으로부터 이러한 오염물질의 유입 가능성을 배제할 수 없다.

## 2. 부틸릴콜린에스테라아제의 활성비교

또한 같은 방법으로 부틸릴콜렌에스테라아제(BChE)의 활성 측정을 통한 서해의 오염정도를 평가하기 위하여 서해안의 양식산과 자연산의 넙치의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성을 동해안의 포항의 자연산 넙치의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성을 대조군으로 하여 측정하여 본 결과는 Fig. 2와 같다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 서해안의 양식산 넙치의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성은  $65.12 \pm 3.18$ ~ $76.36 \pm 6.21$  unit/min/mg protein (brain) 및  $320.61 \pm 37.85$ ~ $410.54 \pm 103.61$  unit/min/mg protein (muscle)로서 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 넙치의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성( $245.95 \pm 40.12$  unit/min/mg protein (brain) 및  $1,454.34 \pm 205.56$  unit/min/mg protein (muscle); 100%) 대비 각각 70~75% 및 65~75% 정도나 유의적으로 억제되었다. 또한 서해안의 자연산 넙치의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성도  $68.16 \pm 9.47$ ~ $130.34 \pm 23.85$  unit/min/mg protein (brain) 및  $706.50 \pm 85.20$ ~ $746.10 \pm 160.62$  unit/min/mg protein(muscle)로서 동해안 포항의 자연산 넙치의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성( $245.95 \pm 40.12$  unit/min/mg protein (brain) 및  $1,454.34 \pm 205.56$  unit/min/mg protein (muscle); 100%) 대비 각각 50~70% 및 45~50% 정도나 유의적으로 저하되었다( $p < 0.01$ ~ $0.001$ ).

따라서 BChE의 활성 억제도 AChE의 활성 억제와 거의 유사한 경향을 나타내고 있음을 알 수 있었다. 양식산 넙치는 말할 필요도 없고 자연산 넙치도 비교적 오염이 적은 동해안의 포항산 넙치 대비 뇌 및 근육의 BChE의 활성이 현저히 억제되었다는 것은 주로 육지로부터유기인체나 카바메이트제 등에 의해 오염될 가능성이 높다는 사실을 알 수 있었다. 또한 자연산 넙치의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성 저하도 현저해서 균해역에서 이들 오염물질의 존재 가능성을 시사해 주고 있다.

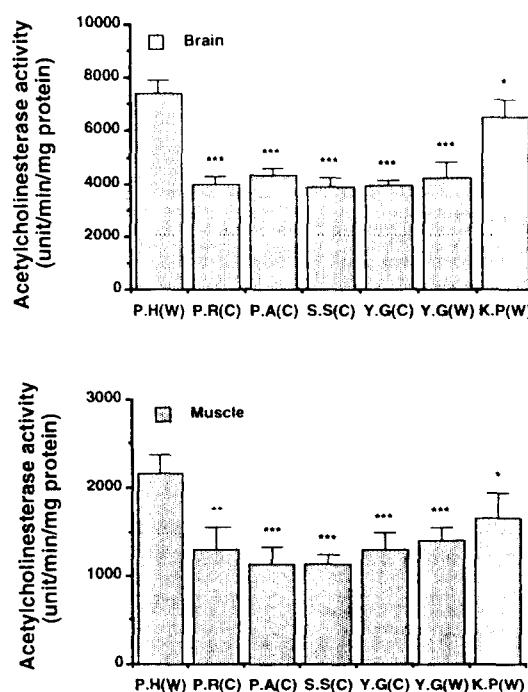


Fig. 1. Comparisons of acetylcholinesterase (AChE) activity in brain and muscle of cultured and wild flounders in May-July 1995.

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$  compared with wild flounder in Pohang.

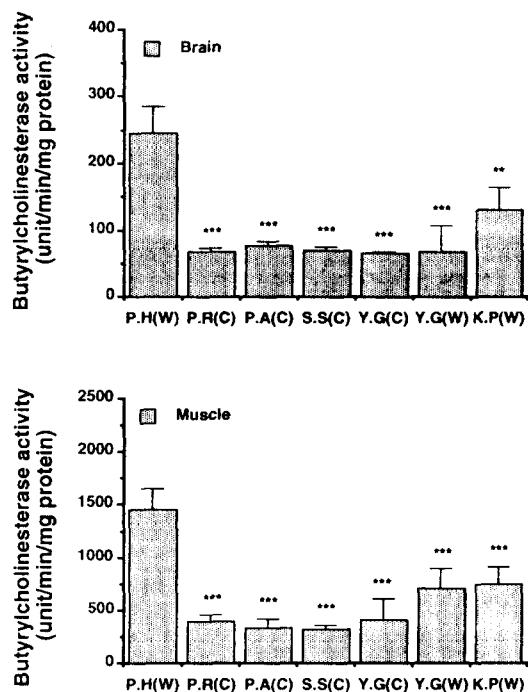


Fig. 2. Comparisons of butyrylcholinesterase (BChE) activity in brain and muscle of cultured and wild flounders in May-July 1995.

\*p<0.05 ; \*\*p<0.01 ; \*\*\*p<0.001 compared with wild flounder in Pohang.

### 3. 젖산탈수소효소의 활성 비교

혈청중의 젖산탈수소효소(lactate dehydrogenase : LDH)는 다섯 가지의 이소엔zym을 가지고 있는효소로서, 이를 효소의 혈중 증가는 생체의 병변(病變)과 관계가 있는 것으로 알려져 있다(Choi 등, 1993)<sup>15)</sup>. 즉 질병이 어떤 특정기관에 영향을 미칠 때 질병에 걸린 세포의 일부가 파괴되면서 LDH 이소엔zym이 혈중에 방출되기 때문이다. 따라서 오염에 의한 어체의 병변을 진단할 목적으로 서해안의 양식산과 자연산의 넙치의 혈액중의 LDH의 활성을 동해안의 포항의 자연산 넙치의 혈액중의 LDH의 활성을 대조군으로 하여 LDL의 활성을 측정하여 본 결과는 Table 1과 같다.

Table 1에서 보는 바와 같이 서해안의 양식산 넙치의 혈청중의 LDH의 활성은  $0.120 \pm 0.030$ – $0.175 \pm 0.040$  unit/

ml serum로서 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 넙치의 혈액중의 LDH의 활성( $0.113 \pm 0.040$  unit/ml serum : 100%) 대비 각각 10–50% 정도나 유의적으로 증가하였다. 또한 서해안의 자연산 넙치의 혈액중의 LDH의 활성도  $0.137 \pm 0.010$ – $0.142 \pm 0.040$  unit/ml serum로서 동해안 포항의 자연산 넙치의 혈액중의 LDH의 활성( $0.113 \pm 0.030$  unit/ml serum : 100%) 대비 각각 20–25% 정도나 유의적으로 증가하였다(p<0.05–0.01).

이상의 실험결과에서 볼 때 서해안 양식산 넙치들은 정도의 차이는 있겠지만, 혈액중의 LDH의 활성은 보령을 제외하고는 유의적으로 증가되어 넙치의 병변이 있음을 간접적으로 인정하고 있었다. 또한 서해안의 자연산 넙치도 양식산 넙치보다는 LDH의 활성이 낮긴해도 자연산 넙치도 병변의 위험이 상존하고 있음을 알 수 있었다.

Table 1. Comparisons of lactate dehydrogenase (LDH) activity in brain of cultured and wild flounders in May-July 1995

Stations (Area)	Lactate dehydrogenase (unit/ml serum)	%
East Sea		
Pohang(W)	$0.113 \pm 0.030$	100.0%
West Sea		
Poryoung(C)	$0.109 \pm 0.030$	96.5%
Puan(C)	$0.175 \pm 0.040^{**}$	154.9%
Sosan(C)	$0.169 \pm 0.040^{**}$	149.6%
Yonggwang(C)	$0.120 \pm 0.030$	106.2%
Yonggwang(W)	$0.142 \pm 0.030^*$	125.7%
Kyougpo(W)	$0.137 \pm 0.010^*$	121.2%

C : cultured flounder ; W : wild flounder

\*p<0.05 ; \*\*p<0.01 ; \*\*\*p<0.001 compared with wild flounder in Pohang.

## 요약

해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표 설정의 기초 연구의 일환으로, 오염이 심각한 서해(또는 황해)산 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)의 뇌 및 근육중의 아세틸콜린에스테라제(AChE) 및 부틸릴콜린에스테라제(butyrylcholinesterase : BChE)의 활성, 그리고 젖산탈수소효소(lactate

dehydrogenase : LDH)의 활성을 분석·평가하였다.

서해안의 양식산의 납치의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성은 동해안의 포항의 자연산 납치의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성 대비 각각 40~50% 및 40~55% 정도나 유의적으로 저하되었을 뿐만 아니라 서해안의 자연산 납치의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성도 동해안 포항의 자연산 납치의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성 대비 각각 15~40% 및 25~35% 정도나 유의적으로 저하되었다. 또 서해안의 양식산 납치의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성은 동해안 포항의 자연산 납치의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성 대비 각각 70~75% 및 65~75% 정도나 유의적으로 저하되었을 뿐만 아니라 서해안의 자연산 납치의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성도 동해안 포항의 자연산 납치의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성 대비 각각 50~70% 및 45~50% 정도나 유의적으로 저하되었다. 한편 서해안의 양식산 납치의 혈액 중의 LDH의 활성은 동해안 포항의 자연산 납치의 혈액 중의 LDH의 활성 대비 10~50% 정도나 유의적으로 증가하였을 뿐만 아니라 서해안의 자연산 납치의 혈액 중의 LDH의 활성도 동해안 포항의 자연산 납치의 혈액 중의 LDH의 활성 대비 20~25% 정도나 유의적으로 증가하였다. 따라서 서해안의 양식산 납치의 오염 뿐만 아니라 자연산 납치의 오염 가능성도 있다는 사실을 알 수 있었다.

## 참 고 문 헌

- Kramer, K. J. M. : Biomonitoring of coastal waters and estuaries. CRC Press London, pp. 325~329(1994).
- Ellman G. L., Courtney, K. O., Andres, V. and Featherstone, R. M. : A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7, 88~95(1961).
- Bocquéné G. and Galgani, F. : Acetylcholinesterase activity in the common prawn (*Palaemon serratus*) contaminated by carbaryl and phosalone : choice of a method for detection of effects. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 22, 337~345(1991).
- Galgani F. and Bocquéné, G. : In vitro inhibition of acetylcholinesterase from four marine species by organophosphates and carbamates. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 45, 243~249(1990).
- Galgani F. and Bocquéné, G. : Semi-automated colorimetric and enzymatic measurements in aquatic organisms using a plate reader. *Wat. Res.*, 25, 2, 147~150(1991).
- Galgani, F. : Monitoring of pollutant biochemical effects on marine organisms of the french coasts. *Oceanologica Acta.*, 15, 4, 355~364(1992).
- Galgani F., Bocquéné, G. and Cadiou, Y. : Evidence of variation of cholinesterase activity in fishes along a pollution gradient in the North Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 19, (1992).
- Weiss, C. M. and Gakstatter, J. H. : Detection of pesticides in water by biochemical assay. *J. WPCF*, 36 (2), 240~252(1964).
- Holland, H.T., Coppage, D.R. and Imada, N. : Use of fish brain acetylcholinesterase to monitor pollution by organophosphorus pesticides. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2(3), 156~162(1967).
- Galgani, F. and Bocquéné, G. : A method for routine detection of organo-phosphorus and carbamates in sea water. *Environ. Technol. Lett.*, 10, 311~322 (1988).
- Grzebyk D. and F. Galgani : Mesurement of organic pollution on marine organism : Rapid determination of EROD induction using plate readers. *Aquat. Liv. Resour.*, 4, 53~59(1991).
- Bocquéné, G., Galgani, F. and Truquet, P. : Characterization and assay conditions for use of AChE activity from several marine species in pollution monitoring. *Mar. Env. Res.*, 30, 75~89(1990).
- Habig, C., Digilio, R. T. and Abou-Donia, M. B. : Comparative properties of Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and Blue Crab (*Callinectes sapidus*) acetylcholinesterase. *Comp. Biochem. Physiol.*, 91C(2), 293~300(1988).
- Zinkl, G. J., Shea, P. J., Nakamoto, R. J. and Callman, J. : Brain cholinesterase activity of rainbow trout poisoned by carbaryl. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 38, 29~35(1987).
- Coppage, D. L. and Matthews, E. : Short-term effects of organophosphate insecticides on cholinesterase of estuarine fishes and pink shrimp. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 11, 483~488(1974).
- Van del Wel, H. and Welling, W. : Inhibition of acetylcholinesterase in guppies (*Poecilia reticulata*) by chliryrifos at sublethal concentrations : Methodological aspects. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 17, 205~219(1989).
- Bocquéné, G. and Galgani, F. : Acetylcholinesterase activity in the common prawn (*Palaemon serratus*) contaminated by carbaryl and phosalone : Choice of a method for detection of effects. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 22, 337~345(1991).

18. Harris, C. R. and Miles, J. R. W. : Pesticide residues in the Great Lakes region of Canada. *Residue Rev.*, 67, 27-79(1975).
19. Miles, J.R.W., Harris, C.R. and Moy, P. : Insecticide residues in organic soil of the Holland Marsh. *J. Econ. Entomol.*, 71, 97-101(1978).
20. 廣瀬明彦：有機リン酸トリエスチル類の健康影響. 水產環境學會, 19(9), 708-714(1996).
21. Choi, J. H., Kim, D. W., Moon, Y. S., Park, C. K., Kim, J. I. and Yang, D. B. : Study on biochemical pollutant marker 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(1997).
22. Moon, Y. S., Kim, D. W., Choi, J. H., Park, C. K. and Yang, D. B. : Study on bio-chemical pollutant marker 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(1997).
23. Lowry, O. H., Roseborough, N. J., Farr, L. A. and R. J. Randall : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275(1951).
24. Hallak, M. and Giacobini, E. : A comparison of the effects of two inhibitors on brain cholinesterase. *Neuropharmacol.*, 26(6), 521-530(1987).
25. Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. : principles and procedures of statistics. McGrawhill, New York(1960).
26. 최진호·오두환：基礎生化學（교문사）, pp. 89-90 ; pp. 166-169(1993).
27. Choi, J. H. and Yu, B. P. : Brain synaptosomal aging : Free radicals and membrane fluidity. *Free Rad. Biol. Med.*, 18, 133-139(1995).
28. 최진호·김동우·문영실·김재일·김광수·김용선·윤형식：실험적으로 유도된 알츠하이머형 치매에 미치는 도코사헥사엔산(DHA)-농축어유의 투여효과 3. 치매토키의 신경전달물질과 그 대사산물에 미치는 DHA의 영향. *한국노화학회지* 5(2), 122-126(1995).
29. 崔鎮浩·金在一·金東右·文英實·金龍善·尹泰憲·韓相燮：SAMP8における脳の學習記憶障害に及ぼす蘆根エキスの影響. 第11回老化促進モデルマウス(SAM)研究協議會抄錄集, 109-110(1995).
30. 崔鎮浩·金在一·金東右·文英實·金龍善·尹泰憲·韓相燮·沈昌燮：SAMP8における脳の學習記憶障害に及ぼすアロエ(Aloe vera)の影響. 第11回老化促進モデルマウス(SAM)研究協議會, 抄錄集, 111-112(1995).
31. 崔鎮浩·金在一·金東右·文英實·金龍善·尹泰憲·韓相燮·尹亨殖：SAMP8における脳の學習記憶障害に及ぼすドコサヘキサエン酸(DHA)の影響. 第11回老化促進モデルマウス(SAM)研究協議會, 抄錄集, 115-116(1995).
32. Choi, J. H. and Yoon, H. S. : Effect of docosahexaenoic acid(DHA) on learning and memory impairments of brain in the SAMP8 strain. *25th Annual Meeting of American Aging Association*, pp. 48-49(1995).
33. 崔鎮浩·金東右·文英實·尹亨殖：SAMP8における脳の學習記憶障害に及ぼすアロエ/ドコサヘキサエン酸の相乗効果. 第12回老化促進モデルマウス(SAM)研究協議會, 抄錄集, 91-92(1996).