

해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표에 관한 연구

VI. 황해산 도다리 (*Pleuronichthys cornutus*)의 콜린에스테라아제 활성의 변화

최진호 · 김동우 · 박청길* · 양동범**

부경대학교 식품생명과학과, *부경대학교 공과대학 환경공학과

**한국해양연구소 해양화학연구부

Study on Biochemical Pollutant Markers for Diagnosis of Marine Pollution

VI. Changes in Cholinesterase Activity of 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 markers for diagnosis of marine pollutions by changes in cholinesterase activity of the flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in the Yellow Sea of Korea. Acetylcholinesterase (AChE) activities in brain and muscle of wild flounders in the Yellow Sea were significantly lower (20~30% and 10~40%, respectively) than those of wild flounder in Pohang (control) of the East Sea. Butyrylcholinesterase (BChE) activities in brain and muscle of wild flounders in the Yellow Sea were significantly lower (10~30% and 35~45%, respectively) than those of wild flounder in Pohang of the East Sea. Lactate dehydrogenase (LDH) activities in serum of wild flounders in the Yellow Sea were significantly (about 30%) lower than those of wild flounder in Pohang of the East Sea. These results suggest that AChE and BChE activities in brain and muscle of wild flounders of the Yellow Sea may be used as the most effective mean in a biochemical marker for diagnosis of pollutant effects by organophosphorus pesticides.

Key words : flounder (*Pleuronichthys cornutus*), Yellow Sea, lactate dehydrogenase (LDH), acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BChE)

서 론

현재 우리나라를 비롯한 연안국들은 해역의 오염이 생태계와 수산자원에 어떠한 직접적인 영향을 주는가를 파악하기 위해 생리 생화학적 오염지표의 연구가 활발한 것은 이러한 문제를 해결하기 위한 노력의 하나이다 (Kramer, 1994). 지금까지의 연구결과, 생체내의 acetylcholinesterase (AChE)나 butyrylcholinesterase (BChE)가 해양오염의 지표로서 각광받기 시작하고 있다 (Ellman et al., 1961; Galgani et al., 1990, 1991, 1992ab; Bocquénén et al., 1991; Kramer, 1994). AChE는 생화학적으로 가장 중요한 신경 전달물질인 acetylcholine을 가수분해하는 효소로서 유기인제 (organophosphorus pesticides) 또는 carbamate에 의해서 그 활성이 유의적으로 억제되기 때문에 해양오염의 지표로서 사용되어 왔다 (Weiss et al.,

1964; Holland et al., 1967; Galgani et al., 1988; Grzebyk et al., 1991). AChE는 유기인제 등에 직접 영향을 받으며, 이들 물질을 취급하는 사람들에게는 혈청중의 AChE의 검사를 정기적으로 실시하고 있다. 대부분의 해양동물은 체내에 이 효소를 가지고 있는 것으로 알려져 있다 (Bocquénén et al., 1990; Habig et al., 1988).

지금까지 해양오염의 지표로서 가장 많이 사용되고 있는 것으로서는 어류중의 cholinesterase (ChE) 활성의 측정으로서, 이들 효소는 또한 생화학적 특성연구 (Bocquénén et al., 1990; Habig et al., 1988; Zinkl et al., 1987), 또는 독성실험에 응용 (Coppage et al., 1974; Van del Wel et al., 1989; Bocquénén et al., 1991)되어 왔는데, 이들 효소의 활성저하는 연안해역에 축적된 오염물질의 영향인 것으로 추정하고 있다. 또한 유기인계 농약이나 카바메이트계 살충제 등은 환경내에서 잔류성이 적은 것으로

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

알려져 있지만, 이들 물질들이 상당기간 유기 퇴적물이나 해수중에 잔류할 수 있다는 보고들이 있다 (Harris et al., 1975; Miles et al., 1978). 이들 물질들은 신경독성을 나타내고 발암물질인 동시에 기형 유발 및 생식 장애를 나타내는 것으로 알려져 있다 (光瀬明彦, 1996). 전보 (Choi et al., 1997)의 넓치 (Choi et al., 1997ab; Moon et al., 1997) 및 도다리 (Choi et al., 1997cd)를 시료로 사용한 오염지표에 관한 연구에 이어, 본 연구는 해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표 설정의 기초연구로서, 저서어류 (底棲魚類)로서 오염도 평가에 널리 사용되고 있는 도다리를 사용하여 AChE 및 BChE의 효소활성에 미치는 영향을 평가하고, 아울러 lactate dehydrogenase (LDH)의 활성에 미치는 영향을 비교 평가하여 생화학적 오염지표로서의 가능성을 검토하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시료, 시약 및 조직의 분획

전보 (Choi et al., 1997)와 마찬가지로 서해안의 도다리 (*Pleuronichthys cornutus*)를 시료로 하여 시흥군은 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 포항 (Pohang)에서 채집한 동해의 자연산인 각각 1996년 5월~7월 사이에 7~10마리씩으로 하여 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.

저자 등의 방법 (Choi et al., 1997)에 따라 등뼈 밑에서 채혈한 혈액을 상법에 따라 혈청을 분리하였고, 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 등 (1992)의 방법에 따라 분획하였다. 각 조직 1g씩을 분취한 다음, 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.

본 실험에 사용한 관련시약은 모두 특급 및 1급을 사용하였고, 비색법을 이용한 성분 및 효소분석은 Double

Beam Spectrophotometer (UV-140-02, Shimazu Co.)를 사용하여 측정하였다.

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. Cholinesterase 활성의 측정

가. Acetylcholinesterase (AChE)의 활성: 뇌 및 근육에 많이 분포하는 AChE의 활성 측정은 Hallak et al. (1987)의 방법을 참고로 하여 Galgani et al. (1992)의 방법에 따라 정량하였다. 마이크로플레이트에 0.1 M Tris buffer, pH 8.0 (Trizma HCl + Trizma base)을 300 μl, 0.01 M (dithionitrobenzoic acid: DTNB) 20 μl, 뇌 및 근육분획 10 μl을 연속적으로 첨가한다. 그리고 흡광도를 측정하기 직전에 기질시약인 0.1 M acetylthiocholine chloride 10 μl을 첨가한다. microplate ELISA reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도의 변화를 3분동안 관찰하여 다음 식 (1)에 따라 AChE의 활성을 정량하였다.

$$\text{AChE activity (unit/min/mg protein)} = (\text{Final Abs} - \text{Initial Abs}) \times 2^* \times 1000^{**} / \text{min/mg protein} \dots (1)$$

*Enzyme suspension의 희석배수

**1unit = 0.001 Abs

나. Butyrylcholinesterase (BChE)의 활성: 또한 근육에 많이 분포하고 있는 BChE의 활성 측정은 Galgani 등 (1992)의 방법에 따라 AChE의 측정과 똑같은 방법으로 다음 식 (2)에 따라 정량하였다.

$$\text{BChE activity (unit/min/mg protein)} = (\text{Final Abs} - \text{Initial Abs}) \times 2^* \times 1000^{**} / \text{min/mg protein} \dots (2)$$

*Enzyme suspension의 희석배수

**1unit = 0.001 Abs

4. 젓산탈수소효소의 활성 측정

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

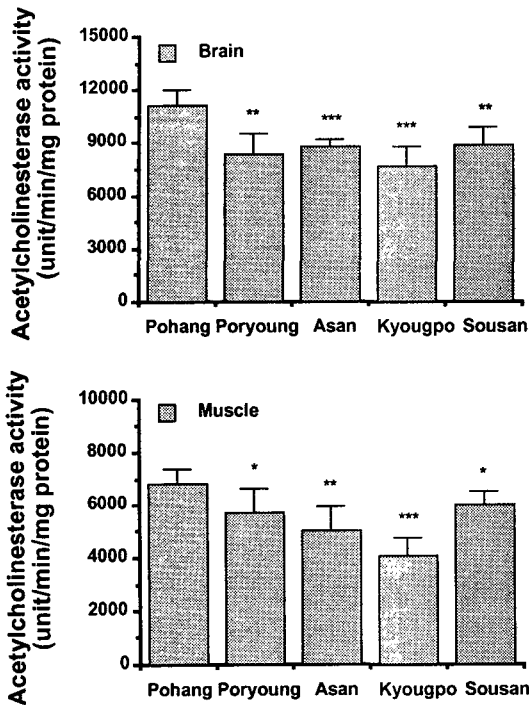


Fig. 1. Comparisons of acetylcholinesterase (AChE) activity in brain and muscle of wild flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in May-July 1996. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ compared with wild flounder in Pohang.

LDH activity (U/L) = (OD/min) × Total volume (ℓ) × 1000 / 6.22 × Sample volume (ml) (3)

*1000 = unit/ml를 Unit/L로 전환

**6.22 = 340 nm에서 NADH nmol의 흡수력

5. 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. Acetylcholinesterase의 활성 비교

해양오염의 지표로 AChE는 신경전달물질인 아세틸콜린 (ACh)의 분해효소로 널리 알려져 있다. 가장 중요한 신경전달물질인 아세틸콜린은 시냅스사이에 신경자극을 전달한 다음, 또다른 자극전달을 위해 AChE에 의해 분해되어야만 한다. 따라서 이 효소의 비가역 저해제로서 AChE의 활성저하는 바로 유기인제나 중금속 등으로 오염되었다는 사실을 알 수 있다.

AChE의 활성 측정을 통한 서해안의 오염정도를 평가하기 위하여 동해안 포항의 자연산 도다리의 뇌 및 근육 중의 AChE의 활성을 대조군으로 하여 서해안의 자연산 도다리의 뇌 및 근육 중의 AChE의 활성을 측정하여 본 결과는 Fig. 1과 같다. 서해안의 자연산 도다리의 뇌 및 근육 중의 AChE의 활성은 $7,708.2 \pm 549.7 \sim 8,872.7 \pm 515.1$ unit/min/mg protein (brain) 및 $4,071.2 \pm 647.9 \sim 6,024.5 \pm 493.7$ unit/min/mg protein (muscle)로서 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 도다리의 뇌 및 근육 중의 AChE의 활성 ($11,168.9 \pm 822.0$ unit/min/mg protein (brain) 및 $6,812.2 \pm 533.0$ unit/min/mg protein (muscle); 100%) 대비 각각 69.1~79.4% 및 59.8~88.4%로서 대조군 대비 20~30% (뇌) 및 10~40% (근육) 정도나 유의적으로 저하되었다 ($p < 0.05 - 0.001$).

이상의 실험결과에 나타난 바와 같이 전보 (Choi et al., 1997)의 넘치름 시료로 한 연구결과와 거의 유사한 경향으로 오염의 정도에 따라 AChE의 활성이 현저히 저하하였지만, 그 중에서는 서산의 오염정도가 약간 적다는 사실을 알 수 있었다. 서해안의 자연산 도다리가 비교적 오염이 적은 동해안의 포항산 도다리 대비 뇌 및 근육의 AChE의 활성이 현저한 저하되었다는 사실은 AChE의 활성부위에 있는 세린 잔기에 이들 오염물질이 특이적으로 결합하기 때문으로 생각된다. 본 실험결과는 Galgani et al. (1992)의 연구결과와 마찬가지로 조사해역이 주로 carbamate제 등으로 오염되어 있을 것으로 추정된다. 자연산 도다리의 뇌 및 근육 중의 AChE의 활성 저하도 상당히 높다는 사실은 근해역으로부터 이러한 오염물질의 유입 가능성을 배제할 수 없다.

이러한 AChE의 활성과 오염해역에서의 저하정도는 Galgani et al. (1992)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 et al. (1990)은 홍합, 새우, 가자미류 및 고등어를 대상으로 AChE의 활성을 비교하여 본 결과, 마라티온을 저해제로 사용했을 때에는 홍합이나 새우 등의 무척추동물의 AChE의 활성 저하가 가자미류나 고등어보다 적었지만, 파라티온을 저해제로 사용했을 경우에는 새우의 AChE의 활성이 현저히 저하되었다고 보고했다.

저자 등 (Choi, et al., 1995, 1996; 최 등., 1995)도 뇌의 노화관련연구에서 생체의 바람직하지 못한 생화학적 변화로서 노화과정중에 신경전달물질인 아세틸콜린의 분해효소로서 AChE의 활성이 현저히 저하된다는 사실과

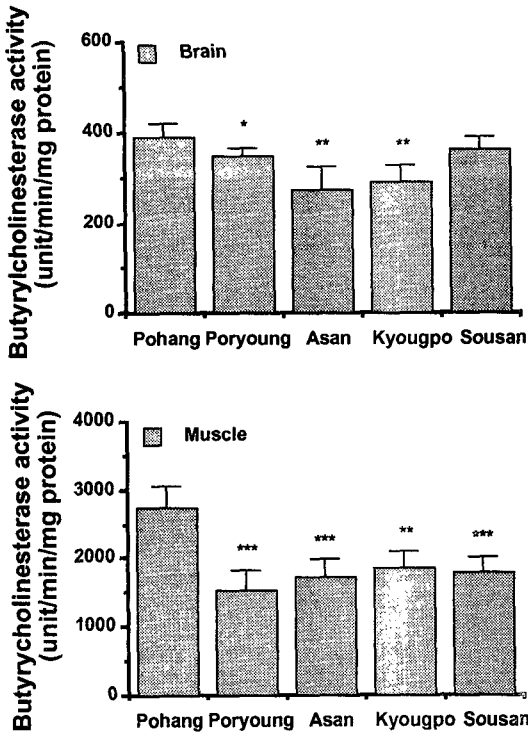


Fig. 2. Comparisons of butyrylcholinesterase (BChE) activity in brain and muscle of wild flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in May-July 1996. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001 compared with wild flounder in Pohang.

어류의 해수 오염이라는 바람직하지 못한 서식환경의 파괴와 일치한다는 사실은 매우 흥미있는 사실이 아닐 수 없다.

2. Butyrylcholinesterase (BChE)의 활성 비교

같은 방법으로 BChE의 활성 측정을 통한 서해안의 오염정도를 평가하기 위하여 동해안 포항의 자연산 도다리의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성을 대조군으로 하여서 해안의 자연산 도다리의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성을 측정하여 본 결과는 Fig. 2와 같다. 서해안의 자연산 도다리의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성은 274.1 ± 51.2~362.1 ± 27.3 unit/min/mg protein (brain) 및 1,535.4 ± 301.4~1,854.7 ± 250.7 unit/min/mg protein (muscle)로서 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 도다리의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성 (390.2 ± 32.5 unit/min/mg protein (brain) 및 2,732.5 ± 320.1 unit/min/mg protein (muscle); 100%) 대비 92.8~70.3% (뇌) 및 56.2~67.9% (근육)으로서, 대조군 대비 10~30% 및 35~45%나 유의적으로 저하되었다 (p<0.05- 0.001).

Table 1. Comparisons of lactate dehydrogenase (LDH) activity in brain of wild flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in May-July 1996

| Stations (Area) | Lactate dehydrogenase (unit/ml serum) | % |
|-----------------|---------------------------------------|--------|
| East Sea | | |
| Pohang (W) | 0.105 ± 0.030 | 100.0% |
| West Sea | | |
| Poryoung (W) | 0.075 ± 0.030 ² | 71.4% |
| Asan (W) | 0.078 ± 0.030 ² | 74.3% |
| Kyoungpo (W) | 0.128 ± 0.020 ¹ | 121.9% |
| Sousan (W) | 0.076 ± 0.020 ² | 72.4% |

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

따라서 BChE의 활성 저하도 AChE의 활성 저하와 거의 유사한 경향을 나타내고 있음을 알 수 있었다. 서해의 자연산 도다리도 비교적 오염이 적은 동해안의 포항산 도다리 대비 뇌 및 근육의 BChE의 활성이 현저히 저하되었다는 것은 주로 육지로부터 유기인제나 carbamate제 등에 의해 오염될 가능성이 높다는 사실을 알 수 있었다. 이러한 자연산 도다리의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성 저하가 현저해서 근해역에서 이들 오염물질의 존재 가능성을 시사해 주고 있다.

3. Lactate dehydrogenase (LDH)의 활성 비교

혈청중의 lactate dehydrogenase (LDH)는 다섯 가지의 이소엔짐을 가지고 있는 효소로서, 이들 효소의 혈중 증가는 생체의 병변(病變)과 관계가 있는 것으로 알려져 있다. 즉 질병이 어떤 특정기관에 영향을 미칠 때 질병에 걸린 세포의 일부가 파괴되면서 LDH 이소엔짐이 혈중에 방출되기 때문이다. 따라서 오염에 의한 어체의 병변을 진단할 목적으로 서해안의 자연산 도다리의 혈액중의 LDH의 활성을 동해안의 포항의 자연산 도다리의 혈액중의 LDH의 활성을 대조군으로 하여 LDH의 활성을 측정하여 본 결과는 Table 1과 같다.

Table 1에서 보는 바와 같이 서해안의 자연산 도다리의 혈청중의 LDH의 활성은 격포산 도다리를 제외하고 0.075 ± 0.030~0.078 ± 0.030 unit/ml serum로서 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 도다리의 혈액중의 LDH의 활성 (0.105 ± 0.030 unit/ml serum; 100%) 대비 약 30%정도나 유의적으로 저하하였다. 그러나 서해안의 격포의 자연산 도다리의 경우는 0.128~0.020 unit/ml serum으로서 대조군으로 사용한 포항의 자연산 도다리 대비 20%이상이나 증가함을 알 수 있었다.

이상의 실험결과에서 볼 때 서해안 자연산 도다리는 전보 (Choi, et al., 1997)의 넙치의 경우와는 달리 오히려

유의적으로 감소하였다. 그러나 격포는 전보의 넘치와 마찬가지로 유의적인 증가현상을 나타내고 있었다. 따라서 격포를 제외하고는 오염에 의한 LDL 효소의 증가는 나타나지 않았다.

요 약

해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표 설정의 기초연구의 일환으로서 오염의 정도가 심각한 서해안 도다리 (*Pleuronichthys cornutus*)의 뇌 및 근육중의 acetylcholinesterase (AChE) 및 butyrylcholinesterase (BChE)의 활성, 그리고 lactate dehydrogenase (LDH)의 활성을 분석 평가하였다. 서해안 자연산 도다리의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성은 $7,708.2 \pm 549.7 \sim 8,872.7 \pm 515.1$ unit/min/mg protein (brain) 및 $4,071.2 \pm 647.9 \sim 6,024.5 \pm 493.7$ unit/min/mg protein (muscle)로서 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 도다리의 뇌 및 근육중의 AChE의 활성 ($11,168.9 \pm 822.0$ unit/min/mg protein (brain) 및 $6,812.2 \pm 533.0$ unit/min/mg protein (muscle); 100%) 대비 각각 69.1~79.4% 및 59.8~88.4%로서 대조군 대비 20~30% (뇌) 및 10~40% (근육) 정도나 유의적으로 저하되었다.

또한 서해안 자연산 도다리의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성은 $274.1 \pm 51.2 \sim 362.1 \pm 27.3$ unit/min/mg protein (brain) 및 $1,535.4 \pm 301.4 \sim 1,854.7 \pm 250.7$ unit/min/mg protein (muscle)로서 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 도다리의 뇌 및 근육중의 BChE의 활성 (390.2 ± 32.5 unit/min/mg protein (brain) 및 $2,732.5 \pm 320.1$ unit/min/mg protein (muscle); 100%) 대비 92.8~70.3% (뇌) 및 56.2~67.9% (근육)으로서, 대조군 대비 10~30% 및 35~45%나 유의적으로 저하되었다. 서해안의 자연산 도다리의 혈청중의 LDH의 활성은 격포산 도다리를 제외하고 $0.075 \pm 0.030 \sim 0.078 \pm 0.030$ unit/ml serum로서 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 도다리의 혈액중의 LDH의 활성 (0.105 ± 0.030 unit/ml serum; 100%) 대비 약 30%정도나 유의적으로 저하하였다. 이상의 실험결과에서 볼 때 서해안의 자연산 도다리의 서식환경인 서해안의 오염도 상당히 심각할 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

- Bocquéné, G., F. Galgani and P. Truquet. 1990. Characterization and assay conditions for use of AChE activity from several marine species in pollution monitoring. Mar. Env. Res. 30, 75~89.
- Bocquéné, G. and F. Galgani. 1991. Acetylcholinesterase activity in the common prawn (*Palaemon serratus*) contaminated by carbarlyl and phosalone: Choice of a method for detection of effects. Ecotoxicol. Environ. Saf. 22, 337~345.
- 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, J.I. Kim and D. B. Yang. 1997. 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.
- Choi, J.H., D.W. Kim, Y.S. Moon, C.K. Park and D.B. Yang. 1997. Study on biochemical pollutant marker for diagnosis of marine pollution V. Changes in Oxygen Radicals and Their Scavenger Enzymes of flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in the Yellow Sea. J. Korean Fish. Soc. 30, OO-OO.
- Choi, J.H., D.W. Kim, C.K. Park, J.I. Kim 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 H.S. Yoon. 1995. Effect of docosahexaenoic acid (DHA) on learning and memory impairments of brain in the SAMP8 strain. 25 th Annual Meeting of American Aging Association pp. 48~49.
- Choi, J.H., D.W. Kim, Y.S. Moon, J.I. Kim, K.S. Kim, Y.S. Kim and H.S. Yoon. 1995. Effect of docosahexaenoic acid (DHA) rich-fish oil on experimental induced dementia, alzheimer-type 3. Effect of DHA on neurotransmitters and their metabolites in rabbits. Korean J. Gerontol., 5 (2), 122~126.
- Coppage, D.L. and E. Matthews. 1974. Short-term effects of organophosphate insecticides on cholinesterase of estuarine fishes and pink shrimp. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 11, 483~488.
- Elliman G.L., K.O. Courtney, V. Andres and R.M. Feathers-tone. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol., 7, 88~95. fluidity. Free Rad. Biol. Med. 18, 133~139.
- Galgani, F. and G. Bocquéné. 1988. A method for routine detection of organo-phosphorus and carbamates in

Bocquéné, G., F. Galgani and P. Truquet. 1990. Characterization and assay conditions for use of AChE activity from several marine species in pollution monitoring.

- sea water. Environ. Technol. Lett. 10, 311~322.
- Galgani, F. 1992. Monitoring of pollutant biochemical effects on marine organisms of the french coasts. Oceanologica Acta., 15, 4, 355~364.
- 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. and G. Bocquéné. 1990. In vitro inhibition of acetylcholinesterase from four marine species by organophosphates and carbamates. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 45, 243~249.
- Galgani F. and G. Bocquéné. 1991. Semi-automated colorimetric and enzymatic measurements in aquatic organisms using a plate reader. Wat. Res., 25, 2, 147~150.
- 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.
- Habig, C., R.T. Digiulio and M.B. Abou-Donia. 1988. Comparative properties of Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and Blue Crab (*Callinectes sapidus*) acetylcholinesterase. Comp. Biochem. Physiol. 91C (2), 293~300.
- Hallak, M. and E. Giacobini. 1987. A comparison of the effects of two inhibitors on brain cholinesterase. Neuropharmacol 26 (6), 521~530.
- Harris, C.R. and J.R.W. Miles. 1975. Pesticide residues in the Great Lakes region of Canada. Residue Rev. 67, 27~79.
- Holland, H.T., D.R. Coppage and N. Imada. 1967. Use of fish brain acetylcholinesterase to monitor pollution by organophosphorus pesticides. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2 (3), 156~162.
- Kramer, K.J.M. 1994. Biomonitoring of coastal waters and estuaries. CRC Press London 325~329.
- 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.
- Miles, J.R.W., C.R. Harris and P. Moy. 1978. Insecticide residues in organic soil of the Holland Marsh. J. Econ. Entomol. 71, 97~101.
- Moon, Y.S., D.W. Kim, J.H. Choi, C.K. Park and D.B. Yang. 1997. 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.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1960. principles and procedures of statistics. mcGrawhill, New York.
- Van del Wel, H. and W. Welling. 1989. Inhibition of acetylcholinesterase in guppies (*Poecilia reticulata*) by chlirrifos at sublethal concentrations: Methodological aspects. Eco-toxicol. Environ. Safety 17, 205~219.
- Weiss, C.M. and J.H. Gakstatter. 1964. Detection of pesticides in water by biochemical assay. J. WPCF 36 (2), 240~252.
- Zinkl, G.J., P.J. Shea, R.J. Nakamoto and J. Callman. 1987. Brain cholinesterase activity of rainbow trout poisoned by carbaryl. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 38, 29~35.
- 崔鎮浩 金東右 文英實 尹亨殖. 1996. SAMP8における脳の學習・記憶障害に及ぼすアレエ/ユサヘキサエン酸の相乗 果. 第12回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議會 抄録集 91~92.
- 崔鎮浩 金在一 金東右 文英實 金龍善 尹泰憲 韓相變. 1995. 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)研究協議會抄録集 109~110.
- 崔鎮浩 金在一 金東右 文英實 金龍善 尹泰憲 韓相變 沈昌燮. 1995. SAMP8における脳の學習・記憶障害に及ぼすアレエ (*Aloe vera*)の影響. 第11回老化促進モデルマウス (SAM)研究協議會 抄録集 111~112.
- 崔鎮浩 金在一 金東右 文英實 金龍善 尹泰憲 韓相變 尹亨殖. 1995. SAMP8における脳の學習 記憶障害に及ぼすトユキサエン酸 (DHA)の影響. 第11回老化促進モデルマウス (SAM)研究協議會 抄録集 115~116.
- 廣瀬明彦. 1996. 有機リン酸トリエステル類の健康影響. 水産環境學會 19 (9), 708~714.

1997년 3월 4일 접수

1997년 7월 2일 수리