

남극해 크릴의 섭취가 흰쥐의 간 기능 효소 활성 및 불소 함량에 미치는 영향

진동혁 · 오다영 · 이영근 · 강동수¹ · 김한수[†]

부산대학교 식품공학과, ¹전남대학교 해양바이오식품학과
(2018년 5월 1일 접수: 2018년 6월 25일 수정: 2018년 6월 27일 채택)

Effects of Antarctic Ocean Krill (*Euphausia superba*) Supplementation on Hepatic Functional Enzyme Activities and Fluoride Levels in Rats

Dong-Hyeok Jin · Da-Young Oh · Young-Geun Lee · Dong-Soo Kang¹ · Han-Soo Kim[†]

Department of Food Science and Technology, Pusan National University, Miryang 50463, Korea

¹Department of Marine Bio Food Science, Chonnam National University, Yeosu 59626, Korea

(Received May 1, 2018; Revised June 25, 2018; Accepted June 27, 2018)

요약 : 본 연구는 동결 건조한 krill (*Euphausia superba*) meal을 함량별 섭취시켰을 때 7주령된 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐의 혈청 중 alkaline phosphatase (ALP), aminotransferase (AST, ALT) 및 lactate dehydrogenase (LDH) 등 혈청 간 기능 효소활성과 장기 조직의 불소 함량에 미치는 영향을 확인하였다. 기본식을 급여한 대조군인 CG군을 비롯하여 10%, 20%, 30%의 krill meal을 첨가한 급여군을 각각 KM10군, KM20군, KM30군으로 구분하여 4군의 급여군으로 나누어 5주간 실험 사육한 결과는 다음과 같다.

혈청 중 alkaline phosphatase (ALP), aminotransferase (AST, ALT) 및 lactate dehydrogenase (LDH)의 효소 활성은 대조군인 CG군 보다 krill meal을 함량별 첨가 급여군에서 감소되는 것으로 나타났다. 흰쥐의 혈청 및 장기조직(간, 뇌, 심장, 신장)의 불소 함량은 krill meal의 함량에 따라 불소 함량도 증가되는 것으로 나타났다.

주제어 : 크릴, 간 기능 효소, 불소, 아미노전이효소, 알칼린 포스파타아제

Abstract : The purpose of this study was to probe the influences of krill (*Euphausia superba*) meal supplementation on a dose effect relationship between fluoride levels of krill meal and serum hepatic functional enzyme activity such as alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and lactate dehydrogenase (LDH) in rats fed experimental diets for 5 weeks. There were no significant differences in the activities of ALP, AST, ALT, and LDH in sera among krill meal diet groups (KM10, KM20, KM30). However, these groups were

[†]Corresponding author
(E-mail: kimhs777@pusan.ac.kr)

significantly ($p < 0.05$) lower enzyme activities than control group (CG). The fluoride levels of sera and organ tissues (liver, brain, heart, lung, kidney) in krill meal diet groups (KM10, KM20, KM30) were significantly increased by adding krill meal in comparison with CG. The results indicate that a difficult to found toxicity to the liver from krill meal diet groups.

Keywords : Krill (*Euphausia superba*), Hepatic functional enzyme, Fluoride, Aminotransferase (AST, ALT), Alkaline phosphatase (ALP)

1. 서론

Krill (*Euphausia superba*)은 난바다곤쟁이목에 속하는 갑각류로 여러 생명체가 서식하는 보고인 남극해의 생태계를 유지하는데 중요한 역할을 하고 있다[1]. Krill은 인지질과 다불포화지방산 및 필수 아미노산이 풍부하게 함유되어 있으며 어획량이 풍부하여 미래 식량자원으로 각광 받고 있다[2,3]. 영양학적 가치가 우수함에도 어획 후 가공, 변색 등의 이유로 국내외의 식품 가공품 개발은 성공하지 못하고 있는 실정이며, 갑각류에 내포된 높은 불소 함량이 가장 큰 원인으로 보고되고 있다[4]. 이에 krill 생체내의 불소를 제거 위한 다양한 연구[5,6]와 krill의 식용화를 위한 기능성[7], 독성[8], 안정성[9] 등의 연구가 진행되고 있다.

불소는 주로 불소염(NaF, sodium fluoride)의 형태로 식품 가공, 치약, 구강 청결제(mouth rinses), 음식, 음료의 형태로 일상에서 사용되는데, 소량일 때는 충치 예방과 변색방지 등의 장점이 있지만 일정량 이상 장기간 섭취하였을 때 신경 조직에 독성 효과와 뇌에 영향을 끼친다고 한다[10]. 또한 동물의 간, 신장 및 척수 등의 기관과 골격 시스템에 손상을 야기시킨다고 보고되어 있으며[11,12], 불소와 골경화증, 기형아 출산, 비뇨생식기의 장애, 호흡기 질환 사이의 관계 등 아직 규명되어 있지 않은 문제점이 보고되어 있다[13,14].

이에 본 연구는 krill의 NaF 함량 및 krill meal 섭취가 흰쥐의 장기 등에 축적된 NaF 함량 및 혈청 중 간 기능 효소 활성에 미치는 영향을 검토하여, 기능성 식품 소재로서 활용 방안을 확인하고자 본 실험을 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

본 실험에 사용된 krill meal은 국립수산물품질관리원으로부터 동결건조시킨 후 처리된 것을 제공받아 사용하였다.

2.2. 실험 동물

7주령된 평균 체중이 200 ± 10 g인 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐(Daehan Biolink Co., LTD, Chungcheongbukdo, Korea)에 기초식으로 1주일간 예비사육하여 적응시킨 후 난괴법(randomized complete block design)에 의해 6마리씩 4군으로 metabolic cage (JD-C-71, Jeongdo, Korea)에 분군하여 5주간 실험사육하였다. 사육실의 온도($20 \pm 1^\circ\text{C}$) 및 습도($50 \pm 10\%$)는 일정하게 유지시켰고, 명암은 12시간(7:00~19:00) 주기로 조명하였다[15]. 예비사육 및 실험사육 등 동물실험은 부산대학교 동물실험윤리위원회의 승인(PNU-2012-0004)과 관리 감독 하에 행하여 졌다.

2.3. 식이조성 및 실험군

식이조성 및 실험군은 Table 1과 같다. 기본식이를 섭취시킨 대조군(control)인 CG군, krill meal을 첨가한 식이를 섭취시킨 KM10 (krill meal 10%), KM20 (krill meal 20%), KM30 (krill meal 30%)군으로 나누었다.

2.4. 실험 동물의 처리

실험사육 최종일에 7시간 동안 절식시키고 에테르 마취하에 심장채혈법으로 혈액을 취하여 4°C 에서 1시간 방치한 후 분당 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 얻어 실험에 사용하였다.

2.5. 간 기능 효소 활성 측정

혈청 중 alkaline phosphatase (ALP, EC 3.1.3.1) 활성은 혈청 ALP측정용 kit 시약

Table 1. Compositions of experimental diet and experimental groups

Ingredient	Control	Krill meal		
	CG ¹⁾	KM10 10%	KM20 20%	KM30 30%
Casein	22.00	14.10	6.20	1.50
Corn starch	50.95	48.85	46.75	41.45
Sucrose	10.00	10.00	10.00	10.00
Cellulose	5.00	5.00	5.00	5.00
Mineral Mix ²⁾	3.50	3.50	3.50	3.50
Vitamin Mix ³⁾	1.00	1.00	1.00	1.00
Soybean oil	7.00	7.00	7.00	7.00
L-systine	0.30	0.30	0.30	0.30
Choline bitartrate	0.25	0.25	0.25	0.25
Krill meal	-	10.00	20.00	30.00
Total	100.0	100.0	100.0	100.0

¹⁾CG : control group, KM10 : krill meal 10%, KM20 : krill meal 20%, KM30 : krill meal 30%.

²⁾According to AIN-93G diet composition. ³⁾AIN-93G-VX vitamin mixture (MP Biomedicals, LLC, Illkirch, France).

(NEW-K-PHOS, Eiken, Tokyo, Japan)을 이용하여 생화학분석기(Hitachi 7150, Tokyo, Japan)로 측정하였으며, 혈청 1.0 mL당 unit으로 표시하였다. Aspartate aminotransferase (AST, EC 2.6.1.1)와 alanine aminotransferase (ALT, EC 2.6.1.2)는 효소법에 의해 조제된 시약(혈청 transaminase 측정시약, Eiken, Tokyo, Japan)을 사용하여 혈청 중 AST 및 ALT 활성을 측정하였으며 혈청 1.0 mL당 unit으로 표시하였으며, lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27)는 효소법에 의해 조제된 kit시약(Eiken, Tokyo, Japan)을 사용하여 생화학분석기(Hitachi 7150, Tokyo, Japan)로 측정하여 혈청 1.0 mL당 unit로 나타내었다.

2.6. 불소 함량 측정

혈청 및 각 장기 조직의 총 불소 함량은 Singer와 Ophaug의 방법[16]에 준하여 측정하였다. 시료를 nickel 도가니에 칭량한 다음, 0.5 M의 NaOH 용액을 2.0 mL 주입하여 혼합한 후 도가니를 hot plate 위에 놓고 증발, 건조시킨 후 550°C에서 5시간 동안 연소시켰다. 도가니를 냉각한 다음, 증류수 7.0 mL 가하여 시료 용액을 15.0 mL conical tube에 옮기고 pH를 1.2 M

HCl 용액으로 pH 7.5까지 조절한 후 10.0 mL에 정용하였다. 이 중 2.0 mL를 취하여 TISAB III (total ionic strength adjust buffer III) 용액 0.2 mL 가한 후 혼합하여 불소이온전극(9609 BNWP and 960900 fluoride combination electrode, Thermo Scientific, U.S.A.)을 pH/mv 메타(Orion dual star, pH/ISE benchtop, Thermo Scientific, U.S.A.)와 연결하여 측정하였다. 시료의 불소 함량은 불소 이온의 sodium fluoride 표준검량곡선에 의하여 산출하였다.

2.7. 통계 처리

분석 결과의 통계처리는 실험군 당 평균치와 표준편차를 계산하였고, 군간의 유의적인 차이는 one-way ANOVA로 분석 한 뒤 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다. 통계처리에 대한 프로그램은 IBM SPSS statistic ver. 22를 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Alkaline phosphatase (ALP) 활성

Krill meal을 첨가한 식이를 5주간 섭취시킨

흰쥐의 혈청 중 alkaline phosphatase (ALP, EC 3.1.3.1) 활성은 Fig. 1과 같다. 대조군(CG)은 27.8 ± 1.1 unit/mL로, krill 급여군인 KM10군(25.4 ± 1.2 unit/mL), KM20군(25.1 ± 1.2 unit/mL)과 KM30군(24.7 ± 1.0 unit/mL) 활성은 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). krill meal 급여군에서 krill meal 함량에 따른 차이는 관찰되지 않았으나, ALP 활성은 감소되는 경향을 보였다. ALP는 간세포의 담관에 존재하는 효소로 이상지질혈증 및 담즙산 배설 장애 등에 의해 간 손상이 일어났을 경우 그 수치가 증가하여 간 기능 검사의 지표로 사용된다고 한다 [17,18].

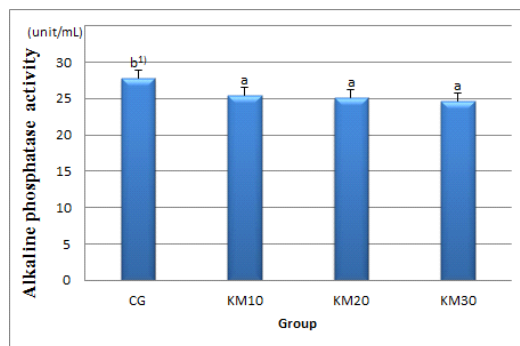


Fig. 1. Effects of krill (*Euphausia superba*) meal on alkaline phosphatase (ALP, EC 3.1.3.1) activities in serum of experimental rats.

¹⁾The values are means \pm standard deviation ($n=6$). Bars with the different letters are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

3.2. Aminotransferase (AST, ALT) 활성

흰쥐 혈청 중의 aspartate aminotransferase (AST, EC 2.6.1.1) 및 alanine aminotransferase (ALT, EC 2.6.1.2) 활성은 Fig. 2에 나타내었다. 대조군인 CG군과 krill meal 급여군(KM10, KM20, KM30) AST와 ALT 활성은 유사한 경향을 보였으며, 대조군인 CG군의 AST 및 ALT 활성은 68.5 ± 1.9 unit/mL, 23.8 ± 1.2 unit/mL로 여타 군에 비하여 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). KM10군의 AST 및 ALT 활성은 64.5 ± 1.8 unit/mL, 21.2 ± 1.1 unit/mL, KM20군은 65.1 ± 1.4 unit/mL, 21.4 ± 1.1 unit/mL로

나타났다. KM30군은 63.8 ± 1.5 unit/mL 및 20.6 ± 1.2 unit/mL로 낮은 수치가 관찰되었으나 krill meal 급여군 간의 유의적인 차이는 없으므로 나타났다($p < 0.05$). AST 및 ALT는 지방간 및 간 실질세포 장애에 의해 활성이 증가된다고 알려져 있다[19].

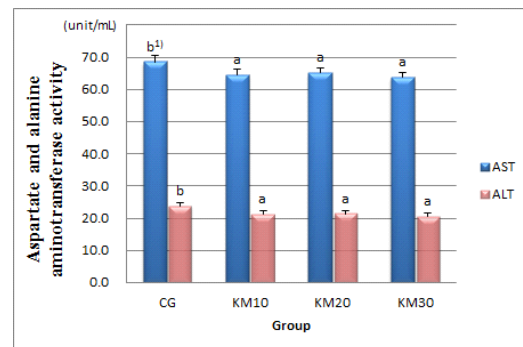


Fig. 2. Effects of krill (*Euphausia superba*) meal on aspartate and alanine aminotransferase (AST, EC 2.6.1.1 ; ALT, EC 2.6.1.2) activities in serum of experimental rats.

¹⁾The values are means \pm standard deviation ($n=6$). Bars with the different letters are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

3.3. Lactate dehydrogenase (LDH) 활성

혈청 중 lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27) 활성은 Fig. 3에서와 같다. 대조군인 CG군의 LDH 활성은 934.2 ± 18.2 unit/mL로 여타 군에 비해 유의적으로 높게 관찰되었으며($p < 0.05$), krill meal 첨가 급여군의 LDH 활성은 KM10군 886.8 ± 17.9 unit/mL, KM20군 892.5 ± 18.5 unit/mL, KM30군 877.6 ± 19.1 unit/mL로 krill meal 첨가 급여군 간에 유의적인 차이는 없으므로 관찰되었으나, KM30군에서 LDH 활성이 낮은 것으로 나타났다($p < 0.05$). LDH는 세포 조직에 분포되어 pyruvic acid와 lactic acid 간의 가역적 반응에 관여하는 것으로 알려져 있다[20]. 또한 간 세포 조직이 파괴될 때 LDH를 혈액 중으로 방출하여 세포독성 및 종양 세포괴사인자(tumor necrosis factor, TNF)에 LDH가 관련이 있는 것으로 알려져 있다[21]. ALP, AST, ALT 및 LDH 등의 효소는 간 손상

지표로 활용된다고 보고되어 있다[22]. 본 실험 결과, krill meal 함량에 따라 간 기능 효소 활성이 감소되는 경향으로 관찰되어 krill meal 첨가 식이하는 흰쥐의 간 기능 예방 및 개선에 효과가 있는 것으로 판단된다.

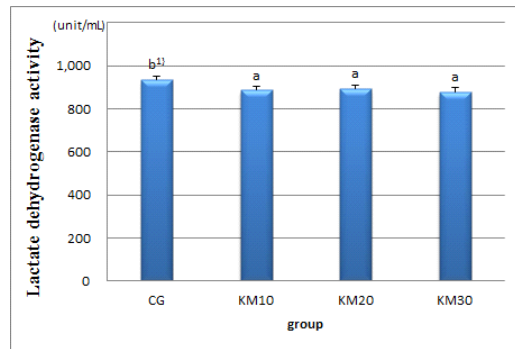


Fig. 3. Effects of krill (*Euphausia superba*) meal on lactate dehydrogenase activity in serum of rats fed the experimental diets for 5 weeks.

¹⁾The values are means \pm standard deviation ($n=6$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

3.4. Krill meal, 혈청 및 장기 조직의 불소 함량

불소 함량은 Fig. 4와 같이 검량선을 이용하여 산출하였다. Krill meal의 불소 함량은 Table 2에 표시하였으며, 흰쥐의 혈청 및 장기 조직 중의 불소 함량은 Table 3에 나타내었다.

Krill meal의 불소 함량은 $1,262.40 \pm 10.53 \mu\text{g F}^-/\text{g}$ 로 나타났으며, krill meal의 함량을 달리한 급여군에서의 불소 함량은 혈청 및 각 조직 중 뇌 조직의 불소 함량이 가장 높았으며, 폐와 신장에 높은 불소 함량이 관찰되었다. 또한, 혈청 및 각 조직에 있어서 krill meal 함유비율이 높은 군일수록 불소 함량이 높게 검출되었으며, 폐에서의 불소 함량은 대조군의 불소 함량과 비교하여 유의적인 차이가 나타났으며 뇌, 심장, 신장에서는 KM20군, 혈청과 간에서는 KM30군에서 유의적으로 차이가 있는 것으로 관찰되었다($p<0.05$). Krill meal 섭취 시 혈청 및 장기 조직에 불소가 축적되는 정도가 다르기 때문에 이상과 같은 결과가 나타난 것으로 생각된다. 한편, krill의 불소

추출물은 간세포 독성 및 산화적 스트레스에 영향을 미치지 않은 것으로 보고되어 있다[23].

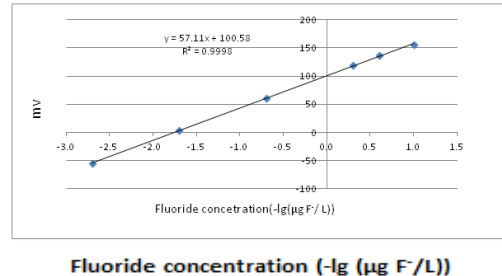


Fig. 4. Standard curve of fluoride standard solution.

Table 2. Fluoride level in the vacuum freeze dried krill (*Euphausia superba*) meal

Sample	Level ($\mu\text{g F}^-/\text{g}$)
Krill meal	$1,262.40 \pm 10.53^1$

¹⁾The values are means \pm SD ($n=3$).

4. 결론

7주령된 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐에 5주간의 krill meal을 첨가한 식이 급여가 간 기능 효소 활성과 혈청 및 장기 조직의 불소 함량에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 본 실험을 실시하였다. 기본식이를 급여한 대조군인 CG군과 krill meal 첨가 급여군인 KM10군(krill meal 10%), KM20군(krill meal 20%) 및 KM30군(krill meal 30%)의 4군으로 나누어 실험사육하였다. 혈청 중 alkaline phosphatase (ALP), aminotransferase (AST, ALT), lactate dehydrogenase (LDH)의 효소 활성은 CG군 보다 krill meal 첨가 군에서 감소된 것으로 나타났다. 흰쥐의 혈청 및 장기 조직의 불소 함량은 krill meal의 함량에 따라 불소 함량도 증가되는 것으로 나타났다. 이상과 같은 결과로 미루어 볼 때, krill meal 첨가 식이하는 흰쥐의 혈청 및 장기 조직에 불소를 축적하는 것으로 나타났지만 ALP, AST, ALT 및 LDH의 효소 활성을 감소시키는 것 등으로 보아 간 기능 예방과 개선에 효과가 있을 것으로 판단된다.

Table 3. Determination of fluoride (F) levels in serum and tissue of the rats fed experimental diet for 5 weeks

Group	Serum	Liver	Brain	Heart	Lung	Kidney
	$\mu\text{g F}^-/\text{mL}$	$\mu\text{g F}^-/\text{g}$				
CG	$0.31 \pm 0.02^{a1)}$	0.41 ± 0.02^a	2.74 ± 0.04^a	0.27 ± 0.04^a	0.95 ± 0.02^a	0.86 ± 0.03^a
KM10	0.34 ± 0.03^a	0.43 ± 0.02^a	2.81 ± 0.03^{ab}	0.30 ± 0.01^a	1.21 ± 0.01^b	0.92 ± 0.05^a
KM20	0.37 ± 0.03^{ab}	0.47 ± 0.03^{ab}	2.89 ± 0.08^b	0.36 ± 0.02^b	1.52 ± 0.06^c	1.03 ± 0.01^b
KM30	0.39 ± 0.01^b	0.47 ± 0.01^b	3.06 ± 0.06^c	0.53 ± 0.07^c	1.87 ± 0.05^d	1.23 ± 0.04^c

¹⁾The values are means \pm SD ($n=6$). Values with the different letters in the same column are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

References

- H. S. Kim, M. A. Kim, Y. Duan, D. S. Kang, S. H. Jang, J. Y. Ryu, C. S. Lee, W. K. Lee, "Studies on the nutritional components and amino acid compositions of krill (*Euphausia superba*)", *J. Environ. Sci. Int.*, Vol.23, No.2 pp. 165–170, (2014).
- J. M. Clark, F. L. Brancati, A. M. Diehl, "The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States", *American J. Gastroenterol.*, Vol.98, No.5 pp. 960–967, (2003).
- J. S. Kim, G. S. Moon, Y. S. Lee, "Quality characteristics of soybean paste added with krill", *East Asian Soc. Dietary Life*, Vol.19, No.5 pp. 776–782, (2009).
- B. Yoshitomi, M. Aoki, S. Oshima, "Effect of total replacement of dietary fish meal by low fluoride Krill (*Euphausia superba*) meal on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in fresh water", *Aquaculture*, Vol.266, No.1 pp. 219–225, (2007).
- J. C. Gigliotti, M. P. Davenport, S. K. Beamer, J. C. Tou, J. Jaczynski, "Extraction and characterisation of lipids from antarctic krill (*Euphausia superba*)", *Food Chem.*, Vol.125, No.3 pp. 1028–1036, (2011).
- S. K. Rhee, D. S. Kim, "The effective utilization techniques of Krill resources in antarctic ocean as new protein food", *J. Korean Professional Engineers Association*, Vol.32, No.1 pp. 90–98, (1999).
- D. S. Kim, J. R. Do, I. S. Park, S. K. Rhee, "Study on the manufacturing of chitosan using krill (*Euphausia superba* Dana) and quality characteristics", *J. Korean soc. Applied Biological Chem.*, Vol.43, No.4 pp. 309–313, (2000).
- K. Berge, B. Robertson, L. Burri, "Safety assessment of Superba™ Krill powder: Subchronic toxicity study in rats", *Toxicol. Rep.*, Vol.2, pp. 144–151, (2015).
- B. Robertson, L. Burri, K. Berge, "Genotoxicity test and subchronic toxicity study with Superba™ Krill oil in rats", *Toxicol. Rep.*, Vol.1, pp. 764–776, (2014).
- M. Mittal, S. J. S. Flora, "Effects of individual and combined exposure to sodium arsenite and sodium fluoride on tissue oxidative stress, arsenic and fluoride levels in male mice", *Chemico-biological Interact.*, Vol.162, No.2 pp. 128–139, (2006).
- T. Dote, K. Kono, K. Usuda, H. Nishiura, T. Tagawa, K. Miyata, M. Shimahara, N. Hashiguchi, J. Senda, Y. Tanaka, "Toxicokinetics of intravenous fluoride in rats with renal damage caused by

- high-dose fluoride exposure”, *Int. Archives Occupat. Environ. Health*, Vol.73, No.1 pp. S90-S92, (2000).
12. A. G. Wang, T. Xia, R. Ru, J. Yuan, X. Chen, K. Yang, K. Yang, “Antagonistic effect of selenium on oxidative stress, DNA damage, and apoptosis induced by fluoride in human hepatocytes”, *Fluoride*, Vol.37, No.2 pp. 107-116, (2004).
 13. P. J. Mullenix, P. K. Denbesten, A. Schunior, W. J. Kernan, “Neurotoxicity of sodium fluoride in rats”, *Neurotoxicol. Teratol.*, Vol.17, No.2 pp. 169-177, (1995).
 14. US Public Health Service, “Review of fluoride benefits and risks”, *Washington, DC: Dep. Health and Human Service*, (1991).
 15. H. S. Kim, M. A. Kim, S. H. Jang, “Influences of Korean haw (*Crataegus pinnatifida* Bunge) on lipid concentration in hypercholesterolemia”, *J. Environ. Sci. Int.*, Vol.23, No.5 pp. 793-800, (2014).
 16. L. Singer, R. Ophaug, “Total fluoride intake of infants”, *Pediatrics*, Vol.63, No.3 pp. 460-466, (1979).
 17. J. J. Eune, E. S. Lee, J. S. Rim, H. S. Jang, H. I. Woo, “Changes of serum alkaline phosphatase after enucleation of cysts in the jaws, Korean Association Oral Maxillofacial Surgeons”, Vol.31, No.5 pp. 417-421, (2005).
 18. M. M. Kaplan, A. Righetti, “Induction of rat liver alkaline phosphatase: the mechanism of the serum elevation in bile duct obstruction”, *J. Clinical Investigation*, Vol.49, No.3 pp. 508, (1970).
 19. C. K. Hyeon, M. N. Chung, H. J. Sun, H. H. Kwang, D. K. Oh, I. Suh, “Normal serum aminotransferase concentration and risk of mortality from liver diseases: prospective cohort study, *Bmj*”, Vol.328, No.7446 pp. 983, (2004).
 20. H. Y. Joo, K. T. Lim, “Protective effect of glycoprotein isolated from *Cudrania tricuspidata* on liver in CCl₄-treated A/J mice”, *Korean J. Food Sci. Technol.*, Vol.41, No.1 pp. 93-99, (2009).
 21. T. Decker, M. L. Lohmann-Matthes, “A quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor (TNF) activity”, *J. Immunological Methods*, Vol.115, No.1 pp. 61-69, (1988).
 22. H. J. Wu, K. Y. Chen, B. W. Shee, H. C. Chang, Y. J. Huang, R. S. Yang, “Effects of 24 h ultra-marathon on biochemical and hematological parameters”, *World J. Gastroenterology: WJG*, Vol.10, No.18 pp. 2711-2714, (2004).
 23. J. G. Kim, H. D. Yoon, S. Park, P. H. Kim, J. S. Mok, Y. Hong, “Effects of krill *Euphausia superba* fluoride extract on toxicity and oxidative stress in liver cell”, *Korean J. Fisheries Aquatic Sci.*, Vol.46, No.6 pp. 682-688, (2013).