

송화분 단백질이 사염화탄소를 투여한 흰쥐의 혈청에 미치는 효과

여지영 · 이영주 · 한준표[†]

대구효성가톨릭대학교 식품가공학과

Effect of Pine Pollen Proteins on Rat Liver Injury Induced CCl₄

Ji-Young Yeo, Young-Ju Lee and Joon-Pyo Han[†]

Dept. of Food Science and Technology, Catholic University of Taegu-Hyosung, Hayang 713-702, Korea

Abstract

The effect of pine pollen proteins on rat(10weeks, 100±10g) liver injury induced by CCl₄ were investigated. Pine pollen crude proteins were extracted using 0.125M ammonium bicarbonate, 0.015M sodium azide(pH 8.3) and 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.4). Protein fractions were separated from crude proteins with ion exchange column filled up CM sephadex C-25. Weight of rat significantly increased in the experimental groups treated with crude protein(I, II) and protein fractions(III, IV) compared with the control group(CCl₄). In addition, RLS of rat and the amount of feed intake were not different no among the experimental groups treated crude proteins(I, II) and protein fractions(III, IV). Activity of GOT, GPT and LDH significantly decreased in pine pollen crude protein 1(I) group. Level of total cholesterol significantly decreased in crude protein 2(II) group. Protein fraction 1(III) decreased glucose concentration but increased total protein.

Key words : GOT, GPT, LDH, pine pollen

서 론

현대인들은 풍요로운 생활속에서도 산업발달에 따른 여러 환경오염과 그에 못지 않은 스트레스, 성인병 및 직업병에 시달리고 있다. 이제는 건강이 가지는 의미가 어느 때 보다도 커졌으며 많은 관심과 노력이 집중되고 있다. 그 결과의 일부로 건강식품으로 통하는 특수(기능성)식품들이 등장했을 뿐 아니라 과다하게 남용되고 있다. 따라서 이제는 건강식품의 올바른 선택과 섭취를 위해 연구의 필요성이 요구되었다(1).

건강식품 중의 하나인 화분은 꿀벌과 마찬가지로 사람에게도 필요한 영양물질들을 다량 함유하고 있어 특히, 강장, 강정작용과 신경장애, 심장병, 빈혈, 당뇨병, 동맥경화, 급만성 전립선염 등의 치료와 예방에 효과가 있는 것으로 알려져 왔다(2). 화분의 일반성분으로는 당질, 단백질, 지질 중 PUFA와 식물성 sterol류, 무기질과 항생물질, 효소, 호르몬, 성장물질 및 미지의 유효물질 등이 다량 있으며(3), 또한 임상학적 약리 효과(4-6)에 대한 연구들도 계속해서 보고되고 있다.

우리나라 전역에 자생하는 소나무의 화분은 과거 조상들 사이에서 송화주나 송화다식으로 즐겼고(7), 동의보감(8)에서는 송화분을 먹으면 경신(經身)하며, 송피나 송영, 자실 보다도 효과가 우수하다고 하였다. 김(9)과 이(10) 등은 송화분의 일반성분을 분석한 결과, 그 중에서도 특히, 다량의 단백질이 있다고 보고하였다. 이제까지 단백질은 간장해에 대해 해독효과가 있는 것으로 알려져 왔으며, 단백질이 간독성 유발물질인 xenobiotics에 효과적이라는 보고도 있다(11-14). 따라서 건강식품의 체계를 적립하기 위한 일환으로 송화분 단백질의 영양학적 가치를 밝히기 위해, 송화분으로부터 분리한 단백질이 사염화탄소로 간 장애가 유발된 흰쥐의 생체내에 미치는 영향을 혈청에서 관찰하였다.

재료 및 방법

시료의 추출 및 분리

1994년 5월 초 대구효성가톨릭대학교 인근 야산에

[†]To whom all correspondence should be addressed

서 채취한 송화분(*Pinus densflra*)을 우선 실온에서 48시간 자연 건조시킨 후, Henrik과 Henning의 방법(15)에 기초하여 하나는 0.125M의 ammonium bicarbonate와 0.014M의 sodium azide(pH 8.3, 조단백질 1로 칭함)로, 다른 하나는 0.1M의 sodium phosphate buffer(pH 7.4, 조단백질 2로 칭함)를 이용하는 방법으로 조단백질 추출을 하였다. 이렇게 추출한 조단백질 1과 2를 각각 CM Sephadex C-25(Pharmacia사)로 채운 2.5×48cm의 column에 통과시켜, 단백질을 분획(단백질 분획 1, 2라 칭함)하여 본 실험에 사용하였다. 그리고 SDS-polyacryl amide gel electrophoresis를 행하여 2가지 조단백질과 2가지 단백질 분획을 확인하였다.

실험동물의 약물투여와 식이

Sprague-Dawley종 음성 흰쥐(10주령, 100±10g)를 6마리씩 완전 임의로 배치하고 6개군으로 나누어 5주 동안 사육하였다. 실험기간 중 사육실의 온도는 25±1°C, 습도는 50% 전후, 명암은 12시간 주기(06:00-18:00), 물은 자유롭게 섭취하게해 최적의 상태를 유지하였다.

사염화탄소는 corn oil과 1:1 비율로 섞어 3주간 3일에 한번씩 1ml/kg으로 피하주사하여 쥐의 급성 간 장애를 유발하였고, 2종의 송화분 조단백질과 2종의 단백질 분획을 2주 동안 10mg/kg/day으로 경구투여하였다.

실험 동물군은 무처리군을 정상군(normal), CCl₄ 단독 투여군을 대조군(control), CCl₄+조단백질 1 투여군(I), CCl₄+조단백질 2 투여군(II), CCl₄+단백질 분획 1 투여군(III), CCl₄+단백질 분획 2 투여군(IV)으로 나누었다.

이 경우 앞에서 언급한 바와 같이, 조단백질 1은 Henrik과 Henning법(15)에 기초하여 0.125M의 ammonium bicarbonate와 0.015M의 sodium azide으로 추출한 것을, 조단백질 2는 0.1M의 sodium phosphate buffer로 추출한 것을, 단백질 분획 1은 조단백질 1을 column을 통과시켜 분리해 낸 것을, 단백질 분획 2는 조단백질 2를 단백질 분획 1과 같은 방법으로 분리해 낸 것을 사용하였다.

본 실험에서 사용한 식이는 Table 1에 따라 조제하였다.

동물처리 및 시료조제

실험기간 중 3일에 한번 오후 4시경에 체중의 변화를 측정하고, 식이 섭취량은 섭취 후 잔량을 매일 측정하고 산출하여 표시하였다. 5주간의 사육 마지막날, 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 diethylether로 마취시키고 개복하여 복부대동맥으로부터 채혈하였다. 수집된 혈액은 약 1시간 정도 방치시킨 후 20분간 원심분리하여 그 상청액을 취해 본 실험에 사용하였다.

효소활성 측정

Glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 Glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성은 Reitman과 Frankel의 방법(16)으로, Lactate dehydrogenase(LDH)활성은 lactic acid를 기질로 NAD⁺를 조효소로 이용하여 비색정량하였다. 이것은 총콜레스테롤(total cholesterol)과 혈당(glucose)의 함량 측정과 같이 효소에 의한 측정 kit(榮研化學: Japan)를 사용하였으며, 총단백질(total protein)정량은 Lowry 등의 방법(17)을 이용하였다.

통계분석

평균과 표준 편차로 각각의 결과들을 표시하였고, t-test로 결과의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

체중변화, RLS 및 식이섭취량

본 실험 5주 동안의 체중 변화나 간 중량비 및 식이 섭취량을 관찰한 결과는 Table 2에 나타낸 바와 같다.

Table 1. The composition of basic diet (%)

Ingredient	Dose
Casein	20.00
Sucrose	10.00
Corn starch	57.65
Corn oil	5.00
Cellulose	2.50
Min. mix ¹⁾	3.50
Vit. mix ²⁾	1.00
Choline chloride	0.20
DL-Methionine	0.15

¹⁾Mineral mixture(g/kg) according to AIN-76TM(23) CaHPO₄ 500g, NaCl 74g, K₂SO₄ 52g, K₃C₆H₅O₇H₂ 220g, MgO 24g, 43~48% Mn 3.5g, 16~17% Fe 6.0g, 70% ZnO 1.6g, 53~55% Cu 0.3g, KIO₃ 0.01g, Na₂SeO₃·5H₂O 0.01g, CrK(SO₄)₂ 12H₂O 0.55g, Sucrose, finally powdered, to make 1,000g

²⁾Vitamin mixture(g/kg) according to AIN-76TM(23) Vitamin A palmitate 400,000IU, Thiamine HCl 600mg, Riboflavin 600mg, Pyridoxine HCl 700mg, Nicotinic acid 3.0g, Folic acid 200mg, D-calcium pantothenate 1.6g, D-Biotin 20mg, Vitamin B₁₂ 1.0mg, Vitamin E 5,000IU, Vitamin D₃ 2.5mg, Vitamin K₃ 5.0mg, Sucrose, finally powdered, to make 1,000g

체중이 5주간의 사육 후 약 20% 정도 유의성있게 증가하였으므로 송화분 조단백질과 단백질 분획이 체중 회복 및 증가에 효과가 있음을 알 수 있었다. 이 결과로 이(10)의 보고와 일치하지는 않았으나 체중 증가 경향이 회복된 것은 같음을 알 수 있었다. 간 중량비(RLS)의 경우, 각 군간의 유의적인 차이는 볼 수 없었으나, Takeda 등(18)의 보고에 따라 간기능 장애가 발생할 경우 간에 축적되는 다량의 지질성분으로 인한 간무게의 증가가 사염화탄소 단독 투여군(control)과 송화분 조단백질(I, II) 및 단백질 분획(III, IV) 투여군에서 확인되었다. 이때 간 중량비는 정상군(normal)에 비해 약 30% 증가한 경향을 보였을 뿐 감소된 경향은 보이지 않았으므로 송화분 조단백질과 단백질 분획에 따른 효과가 없었던 것으로 추측된다. 식이섭취량의 경우, 정상군(normal)이 사염화탄소 단독 투여군(control)에 비해 26%나 높았다. 그리고 그 외의 군들은 사염화탄소 단독 투여군(control)과의 유의성이 인정되지는 않았으나 약간의 증가된 경향을 보였을 뿐 군간의 차이나 그에 따른 송화분 단백질의 효과는 없는 것으로 추측된다.

사염화탄소 투여로 유발된 흰쥐에 간 장애에 미치는 송화분의 영향

GOT, GPT 활성

Wojcicki와 Samochowiec(19)는 사염화탄소로 유발된 간 장애에 cernitin을 투여한 결과 지방침착과 혈청의 GPT나 GOT 등의 효소활성이 저하되었다고 보고한 바 있다. 본 실험의 GOT, GPT의 활성은 Table 3에서 보는 바와 같이, GOT 활성의 경우, 사염화탄소 단독 투여군(control)은 정상군(normal)에 비해 사염화탄소의 간 장애 유발로 인해 효소 활성이 증가하는 경향

Table 3. Effect of pine pollen crude proteins and protein fractions on GOT and GPT activity in serum of rat treated with CCl₄

Group ¹⁾	GOT	GPT
	(Karmen unit / ml)	
Normal	85.30 ± 8.72 ²⁾	20.00 ± 2.36 ^a
Control	93.00 ± 10.45	29.65 ± 8.44
I	76.80 ± 14.68 ^a	22.30 ± 2.94 ^a
II	85.00 ± 7.49	22.92 ± 3.30 ^a
III	86.27 ± 3.94	22.08 ± 4.32 ^a
IV	83.43 ± 12.24	22.13 ± 3.69 ^a

¹⁾Normal, Control, I, II, III, IV are the same as described in Table 2

²⁾Values are means ± standard deviation

^aSignificantly different from the control group(p<0.05)

을 보였으며, 송화분 조단백질(I, II)과 단백질 분획(III, IV)의 투여로 감소하는 경향도 볼 수 있었다. 그러나 조단백질 1 투여군(I)만이 사염화탄소 단독 투여군(control)에 대한 유의성이 인정되었을 뿐, 조단백질 2 투여군(II)과 단백질 분획 투여군(III, IV)에서는 유의성이 인정되지 않았다. GPT 활성에 있어서는, 사염화탄소 단독 투여군(control)의 효소 활성이 정상군(normal)군에 대해 48% 증가하여 간 장애 유발이 확인되었다. 이에 대해 송화분 조단백질(I, II)과 단백질 분획(III, IV) 투여의 경우, 사염화탄소 단독 투여군(control)에 대해 약 33% 정도 활성이 감소되어 유의성이 인정되었고 정상군(normal)에 가깝도록 회복되는 경향을 보였다. 이로써 송화분의 조단백질과 단백질 분획 모두가 간장애 해독에 효과가 있는 것을 알 수 있었다.

LDH 활성

해당계 효소의 일종인 LDH의 활성은 사염화탄소

Table 2. Effect of pine pollen crude proteins and protein fractions on body weight, relative liver size, and feed intake of rats treated with CCl₄

Group ¹⁾	Body weight(g)	RLS ³⁾ (%)	Feed intake (g / day)
Normal	236.63 ± 32.88 ²⁾	2.95 ± 0.95	14.98 ± 3.59 ^a
Control	222.00 ± 14.30	3.74 ± 0.24	11.88 ± 3.26
I	265.83 ± 26.67 ^a	3.55 ± 0.53	12.69 ± 2.93
II	270.83 ± 36.70 ^b	3.79 ± 0.65	12.32 ± 2.01
III	263.07 ± 32.47 ^a	4.10 ± 0.57	12.44 ± 2.80
IV	260.21 ± 27.54 ^a	3.62 ± 0.3	12.31 ± 3.02

¹⁾Normal : nontreatment

Control : CCl₄ (1ml/kg/1time/3rd day for 3weeks)

I : CCl₄+Pine pollen crude protein 1(10mg/kg/day for 2weeks)

II : CCl₄+Pine pollen crude protein 2(10mg/kg/day for 2weeks)

III : CCl₄+Pine pollen protein fraction 1(10mg/kg/day for 2weeks)

IV : CCl₄+Pine pollen protein fraction 2(10mg/kg/day for 2weeks)

²⁾Values are means ± standard deviation

^{a,b}Significantly different from the control group(p<0.05, p<0.01)

³⁾RLS : Relative liver size, RLS(%)=Liver weight × 100/final body weight

Table 4. Effect of pine pollen crude proteins and protein fractions on lactate dehydrogenase(LDH) activity in serum of rat treated with CCl₄

Group ¹⁾	LDH (Wroblewski unit / ml)
Normal	580.62 ± 280.89 ^{b2)}
Control	896.32 ± 142.94
I	423.59 ± 122.91 ^b
II	489.25 ± 139.06 ^b
III	480.13 ± 126.22 ^b
IV	453.38 ± 182.44 ^b

¹⁾Normal, Control I, II, III, IV are the same as described in Table 2

²⁾Values are means ± standard deviation

^bSignificantly different from the control group(p<0.01)

단독 투여군(control)이 정상군(normal)에 대해 효소 활성이 54%나 증가했음을 보였다(Table 4). 그러나 송화분 조단백질(I, II)과 단백질 분획(III, IV) 투여군이 사염화탄소 단독 투여군(control)에 대해 모두 52%(I), 46%(II), 45%(III), 49%(IV)로 유의성있는 감소(p<0.01)를 보여, 송화분의 조단백질과 단백질 분획이 LDH 활성의 억제에 상당히 효과가 있는 것을 알 수 있었다. 윤 등(20)의 보고에서 보면, 진달래 화분이 사염화탄소로 유도되는 간손상을 보호하는 작용은 본문과 유사한 결과를 나타내었다. 이는 고단백식이 간기능 장애의 치료에 효과적인 것으로 사료된다.

총콜레스테롤 함량

Table 5에서와 같이 total cholesterol의 함량은 사염화탄소 단독 투여군(II)에 대해 정상군(I)과 조단백질(III, IV) 및 단백질 분획(V, VI) 투여군 간에 유의성 있는 감소(p<0.05, p<0.01)를 볼 수 있었다. 윤 등(20), 서 등(21), 박 등(22)의 보고에서, 혈중 cholesterol은 사염화탄소 등의 간 장애 유발물질의 투여로 일어나는 간손

Table 5. Effect of pine pollen crude proteins and protein fractions on serum total cholesterol level in serum of rat treated with CCl₄

Group ¹⁾	Glucose(mg/dl)
Normal	101.73 ± 1.26 ^{b2)}
Control	117.84 ± 17.30
I	104.20 ± 7.88 ^a
II	95.74 ± 9.93 ^b
III	98.52 ± 12.16 ^b
IV	97.83 ± 7.44 ^b

¹⁾Normal, Control, I, II, III, IV are the same as described in Table 2

²⁾Values are means ± standard deviation

^{a,b}Significantly different from the control group(p<0.05, p<0.01)

Table 6. Effect of pine pollen crude proteins and protein fractions on glucose level in serum of rat treated with CCl₄

Group ¹⁾	Glucose(mg/dl)
Normal	111.85 ± 10.59 ^{b2)}
Control	155.49 ± 17.31
I	118.99 ± 9.52 ^b
II	115.05 ± 12.13 ^b
III	100.42 ± 13.69 ^b
IV	131.01 ± 13.51 ^b

¹⁾Normal, Control, I, II, III, IV are the same as described in Table 2

²⁾Values are means ± standard deviation

^bSignificantly different from the control group(p<0.01)

Table 7. Effect of pine pollen crude proteins and protein fractions on total protein level in serum of rats treated with CCl₄

Group ¹⁾	Total Protein(g/dl)
Normal	5.68 ± 0.59 ^{b2)}
Control	4.94 ± 0.38
I	5.18 ± 0.42
II	5.69 ± 0.45 ^b
III	6.03 ± 0.48 ^b
IV	5.52 ± 0.42 ^b

¹⁾Normal, Control I, II, III, IV are the same as described in Table 2

²⁾Values are means ± standard deviation

^bSignificantly different from the control group(p<0.01)

상의 유발로 지질성분이 축적되고, 심한 경우 지방변성이 일어나 혈중으로의 유출이 증가된다. 본 실험에 사용된 화분 단백질은 이상의 결과로 볼 때, 사염화탄소가 유도하는 간독성과 지방성분의 축적을 억제하는 효과가 있음으로 사료된다.

혈당 농도

혈당(glucose)의 함량은 사염화탄소 단독 투여군(control)이 정상군(normal)에 대해 39% 증가한 반면, 송화분의 조단백질(I, II)과 단백질 분획(III, IV) 투여군은 23.5%(I), 26%(II), 35.4%(III), 15.7%(IV)로 감소하여 그 유의성이 인정되었다(p<0.01)(Table 6). 따라서 간 장애 유발로 인한 혈당의 증가에 대해 송화분의 조단백질과 단백질 분획이 억제효과가 있는 것으로 나타났다.

총단백질 농도

Table 7에서 나타난 바와 같이, 총 단백질의 농도는 간 장애로 인해 단백질 합성능이 저하되었고, 이로 인해 사염화탄소 단독 투여군(control)이 정상군(normal)에 대해 13.1%로 감소하는 경향을 보였다. 반면에 조단백

질 1 투여군(I)을 제외한 나머지 조단백질 2 투여군(II)과 단백질 분획 투여군(III, IV)에서는 단백질 합성능이 회복되어서 15.3%(II), 22.2%(III), 15.5%(IV)로 함량이 증가하여 그 유의성이 인정되었다. 따라서 간 장애에 따른 단백질 합성능의 저하를 회복하는데 송화분의 단백질과 단백질 분획이 효과가 있는 것으로 나타났다.

요 약

송화분 단백질들이 생체내에 미치는 효과를 알아보기 위해 사염화탄소로 간 장애를 유발시킨 흰쥐에 추출방법을 달리한 조단백질들과 이것을 column으로 분리한 단백질 분획들을 일정 기간 경구 투여하고 그 결과를 관찰하였다. 체중은 사염화탄소 단독 투여군이 감소한 반면 송화분 단백질군들이 모두 유의성있게 증가하였으며 군간의 차이는 없었다. 간 중량비(RLS)와 식이 섭취량에서도 송화분 단백질군 사이에서의 차이는 없었다. GOT와 GPT 활성에서는 송화분 단백질군들이 모두 감소하는 경향을 보였으며 조단백질 1 투여군의 경우는 양쪽에서 모두 유의성이 인정되었다. LDH 활성은 모든 송화분 단백질군들이 유의성있게 감소하였으며 조단백질 1 투여군이 가장 효과적이었다. Total cholesterol은 모든 송화분 단백질군들이 유의성있게 감소를 했는데, 그 중에서 조단백질 2 투여군이 가장 효과적이었다. Glucose 함량은 모든 송화분 단백질군들이 유의성있게 감소하였으며 단백질 분획 1 투여군이 가장 효과적이었다. Total protein 함량에서는 조단백질 1 투여군의 증가 경향에 대한 유의성은 인정되지 않았으나, 나머지 조단백질 2와 단백질 분획 1, 2 투여군에서는 그 유의성이 인정되었고 단백질 분획 1 투여군이 가장 효과적이었다. 위의 결과들을 종합하여, 송화분의 조단백질들과 그 분획들은 사염화탄소로 인한 간 장애에 효과가 있는 것으로 사료된다.

문 헌

1. 유태중 : 건강식품. 고려대학교 출판부, 서울(1985)
2. 김병호 : 신양분학. 선진문화사, p.242(1979)
3. Echigo, T. : Studies on relationship of chemical component in honey, nectar and pollen. *Bull. Fac. Agr. Tanagawa Univ.*, **11**, 37(1971)
4. Wojcicki, J., Samochowiec, L., Bartlowicz, B., Hinek, A., Jaworska, M. and Gawronskalarz, B. : Effect of pollen extract on the development of experimental atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, **62**, 39(1986)
5. Samochowiec, L. and Wojcicki, J. : Effect of pollen on serum and liver lipids in rats fed a high-lipid diet.

Herba Polonica, **27**, 333(1981)

6. 권정숙, 조수열, 박종민, 허근 : 화분의 영양생화학적 연구 : 진달래 화분이 간 aniline hydroxylase활성에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, **18**, 93(1989)
7. 이성우 : 한국식품문화사. 교문사, p.259(1984)
8. 허준 : 동의보감. 남산당, p.1214(1979)
9. 김혜자 : 적송화분과 리기다 송화분의 성분조성에 관한 연구 : 일반 성분, 무기질, 중금속, 비타민, 유기당 함량. *한국영양식량학회지*, **21**, 201(1992)
10. 이해경 : 사염화탄소 투여한 흰쥐의 혈청 및 간장애 미치는 송화분의 영향. 효성여자대학교 대학원 논문, **13**, 1(1992)
11. 신중규, 채순님, 윤종규 : 단백질이조건을 달리하여 성장시킨 흰쥐에 bromobenzene 투여가 간손상에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, **23**, 894(1994)
12. Kim, S. R., Lee, H. K., Jo, U. B. and Choi, B. T. : Effect of dietary protein levels on the manifestation of gramoxone toxicity in rat liver. *J. Korea Soc. Food Nutr.*, **21**, 231(1992)
13. 윤종규, 이상일, 신중규 : 식이성 단백질 함량에 따른 흰쥐에 사염화탄소 투여가 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, **20**, 527(1991)
14. Bhuyan, U., Nayak, N. C. and Deo, M. G. : Effect of dietary protein on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in albino rats. *Lab. Invest.*, **14**, 184(1965)
15. Henrik, L. and Henning, L. : Isolation and immunological characterization of the major allergen of birch pollen (*Betula verrucosa*). *J. Allergy Clin. Immunol.*, **72**, 150(1983)
16. Reitman, S. and Frankel, S. : A colorimetric method for determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Amer. J. Clin. Path.*, **28**, 58(1954)
17. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
18. Takeda, S., Kase, Y., Arai, I., Ohkura, Y., Hasegawa, M., Sekiguchi, Y., Tatsugi, A., Funo, S., Aburada, M. and Hosoya, E. : Effects of TJN-101, a lignan compound isolated from schisandra fruits, on liver fibrosis and on liver regeneration after partial hepatectomy in rats with chronic liver injury induced by CCl₄. *Folia Pharmacol. Japan*, **90**, 51(1987)
19. Wojcicki, J. and Samochowiec, L. : Effect of cernitins on the hepatotoxicity of carbon tetrachloride in rats. *Herba pollen*, **30**, 233(1984)
20. 윤수홍, 강정혜, 권정숙 : 사염화탄소로 인한 간 독성에 미치는 진달래 화분의 영향. *한국영양식량학회지*, **18**, 363(1989)
21. 서화중, 이명렬, 정두래 : 매실추출물이 흰쥐의 위액분비 및 사염화탄소로 유발시킨 가토의 간장애에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, **19**, 21(1990)
22. 박평심, 이병래, 이명렬 : 양파식이 흰쥐에서 사염화탄소 독성에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, **20**, 121(1991)
23. Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. *J. Nutr.*, **107**, 1340(1977)