

加熱油가 흰쥐 肝臟內의 脂質過酸化에 미치는 影響

호성여자대학교 식품영양학과

이 경 숙 · 이 순 재

Effects of Heated Oil on Lipid Peroxidation in Rat Liver

Kyung-Sook Lee · Soon-Jae Rhee

Department of Food and Nutrition, Hyosung Women's University, Taegu, Korea

= ABSTRACT =

To study effects of heated oil on lipid peroxidation in rat liver, rats were fed 3 and 6 weeks by intubating oils heated for 11(HA group) and 24 hours (HB group) at 180°C. The contents of lipid peroxides and vitamin E, and the activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in liver were measured. Histological changes of the liver tissue were observed.

In both HA and HB groups, the contents of lipid peroxides and the activities of superoxide dismutase were increased, but the activities of glutathione peroxidase and the contents of vitamin E in liver were decreased when compared to the control group which was fed fresh corn oils. During the oil feeding period, the activities of superoxide dismutase and the contents of vitamin E were not significantly changed, but the activities of glutathione peroxidase were decreased, and lipid peroxides were increased in the 3 weeks than in 6 weeks.

In HB liver, the heterochromatin of nucleus increased, mitochondria swollen, cristae in mitochondria disappeared, fat droplet and secondary lysosome increased and lumen of rough endoplasmic reticulum enlarged, compared with that of the control group. These phenomena in HA group were less pronounced.

서 론

食用油脂중에서 튀김에 사용되는 식물성유는 二重結合을 가진 불포화지방산의 함량이 많아 튀
접수일자 : 1987년 2월 2일

김하는 동안 유지는 계속적, 때로는 반복적으로 고온 및 공기에 노출되기 때문에 hydroperoxide, epoxide, carbonyl화합물, 탄화수소등 여러가지 분해산물을 생성한다¹⁾.

李 등²⁾이 시중 스빅 코너에서 채취한 튀김기름

의 酸敗度を 조사해 본 결과 보사부 기준치인 酸價 1.5이상이 55%이었으며 그 중 酸價 2.0 이상이 26%, 4.0이상이 7%나 되었다고 보고하였다. 지금까지 加熱油자체의 酸化에 대한 연구는 많이 되어 있다¹⁻⁷⁾. 酸化된 유지가 생체내에 미치는 독성에 대한 연구로는 주로 自動酸化油에 대한 것이며⁸⁻¹⁰⁾ 튀김등으로 인한 加熱酸化油가 生體內에 미치는 영향에 대한 연구는 李¹¹⁾등의 보고가 있다.

본 연구에서는 튀김에 사용된 加熱油의 산패정도에 따른 흰쥐 간장내의 과산화계에 미치는 영향을 알아보기 위해 oxygen radical이나 기타 독성물질의 산화에 의해 생성된 과산화지질량을 측정하고 또, 이러한 산화적 손상으로부터 조직을 방어하는 효소제인 superoxide dismutase와 glutathione peroxidase활성의 변동 및 비효소계반응을 통하여 조직을 보호하는 간장조직내의 Vitamin E함량을 측정함과 동시에 간장 세포의 구조를 관찰하였다.

재료 및 방법

1) 실험 동물 및 식이 조제

실험동물은 Sprague-Dawley종의 흰쥐 수컷을 사용하여, 1주간 일정한 조건하에서 사육한 후, 체중이 130g내외가 되는 것을 무작위로 선정하여 본 실험에 사용하였다. 예비 사육한 동물을 세군으로 나누었는데 즉, 신선한 옥수수 기름을 투여한 대조군과 酸價 2.10인 가열유를 투여한 군(HA군) 및 酸價 4.02인 가열유를 투여한 군(HB군)으로 나누어, 일정한 환경하에서 3주간 및 6주간 사육하였다.

기본 식이와 물은 자유 섭취하도록 하였고, 각 군에 따른 食餌油는 각각 하루 1g씩 stomach tube를 사용하여 투여하였다.

기본 실험 식이의 조성 및 食餌油의 특성은 각각 Table 1, 2와 같다.

Table 1. Composition of experimental diets (g/1000g diet)

Basal diet:	
Corn Starch (g) ¹⁾	740
Casein (g) ²⁾	190
Salt Mix (g) ³⁾	40
Vitamin Mix (g) ⁴⁾	5
Cellulose (g) ⁵⁾	25
Kcal/g	3.72
Test oil	1g/day

1) Pung Jin Chem. Co.

2) Lactic Casein, 30 mesh, New Zealand

3) Salt Mixture: g per 100g of salt mixture;
CaCO₃, 30.0g; CaHPO₄, 7.5g; K₂HPO₄, 32.2g;
NaCl, 16.7g; MgSO₄ · 7H₂O, 10.2g; ferric citrate,
2.75g; MnSO₄, 0.51g; KI, 70mg; CuCl₂ · 5H₂O,
35mg; ZnCl₂, 25mg; CoCl₂ · 5H₂O, 5mg;
(NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O, 5mg.

4) Vitamin Mixture: per 1kg of diet; thiamine-HCl, 20mg; riboflavin, 20mg; pyridoxine, 20mg; nicotinic acid 90mg; d-calcium pantothenate, 60mg; folic acid, 10mg; biotin, 1mg; menadione, 45mg; vitamin B₁₂(0.1% triturate in mannitol), 20mg; retinyl acetate, 2,000IU; cholecalciferol, 1,000IU; dl-tocopheryl acetate, 0.1g; choline, 1.5g; inositol, 0.1g; vitamin C, 0.9g; paminobenzoic acid, 0.1g.

5) CMC (Sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber).

Table 2. Characteristics of test oils

	Heated Oil*		
	Control	H A	H B
Acid Value	0.43	2.10	4.02
Iodine Value	138.00	112.90	91.00
Peroxide Value ¹⁾	5.50	44.83	52.70
Carbonyl Value ²⁾	6.20	14.80	27.90
Viscosity	4.50	5.65	7.20
Color Density	0.05	7.00	15.35

* The corn oil was heated with mackerel at 180°C for 11hr and 24hr, respectively

1), 2). meq/kg

2) 食餌油의 분석

酸價¹⁷⁾, Cabonly價¹²⁾ 색도⁴⁾는 일반법에 준하였으며, 점도¹⁴⁾는 Ubbelohde형 점도계를 사용하여 상대점도를 측정하였고, Peroxide價는 ICU법¹²⁾(Method of International Chemical Union)에 의해, 요오드價는 Wijs법¹²⁾에 의해 측정하였다.

3) 시료 처리

사육한 쥐를 12시간 절식시킨후, 가벼운 ether 하에서 마취시켜 간장을 적출한 후 그 일부를 취하여 세포의 구조 검사를 위해 고정시키고, 나머지는 잘게 썰어서 각 간엽에서 고르게 일정량을 취해서 0.25M sucrose/0.5mM ethylene diamine tetraacetic acid(EDTA)/5mM N-2-hydroethyl-piperazine-N'-2-ethane sulfonic acid(HEPES) 용액으로써 10%(w/v)마쇄액을 만들었다. 마쇄액의 일부를 8,000×g에서 20분간 원심 분리하여 그 상층액을 과산화지질 정량에 사용하였고, 나머지는 10,000×g에서 30분간 원심 분리하였다. 10,000×g 상층액 일정량을 취해 0.4배량의 ethanol:chloroform 혼합액(5:3)을 가하고 2분간 진탕한 다음 10,000×g에서 30분간 원심 분리하여 상층액을 세포질 superoxide dismutase(SOD)원액으로 사용하였다. 또, 10,000×g 상층액의 일부는 105,000×g에서 30분간 원심 분리하여 상층액을 glutathione peroxidase(GPX)효소액으로 하였으며, 그 침전물에 0.25M sucrose /0.5mM EDTA /5mM HEPES 용액 2.0ml를 넣어 glass homogenizer로

균질화시켜 microsome 내의 과산화지질 정량에 사용하였다.

Vitamin E 함량 측정은 간장 조직 일정량을 취해 0.9% NaCl로써 10%(w/v) 마쇄액을 만들어 사용하였다.

4) Superoxide dismutase 활성 및 Glutathione peroxidase 활성 측정

Superoxide dismutase의 정량은 알카리상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund등¹⁵⁾의 방법을 이용하였으며, Glutathione peroxidase의 정량은 산화형 glutathione이 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원될 때 NADPH의 흡광도가 340nm에서 감소하는 것을 이용한 Paglia 및 Valentine의 방법¹⁶⁾에 따라 측정하였다.

5) 과산화지질 및 Vitamin E 정량

과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하여 malondialdehyde량을 측정하는 Satoh 방법¹⁷⁾을 이용하였으며, Vitamin E의 정량은 시료를 Kayden등¹⁸⁾과 Taylor의 방법¹⁹⁾에 의하여 전처리하여 ferric-chloride dipyriddy법(Emmerie Engel reaction)²⁰⁾에 의하여 측정하였다.

6) 단백질 정량

각 시료의 단백질량은 표준품으로 bovine serum albumin을 사용하여 Biuret법²¹⁾과 Lowry법²²⁾을 이용하여 정량하였다.

Table 3. Effects of heated oils on superoxide dismutase in rat liver (unit/mg protein)

Group	Control	HA	HB
3WK	11.88 ± 0.46 (6) ^a	12.54 ± 0.60 (5) ^a	ND
6WK	12.20 ± 0.32 (10) ^a	13.48 ± 0.32 (10) ^b	14.23 ± 0.21 (10) ^c

All values are mean ± SE (number of animal)

Values within a same column with different superscript letters (a, b, c) are significantly different (at p < 0.05)

ND: Not determined

7) 간 세포의 구조 검사

간을 절취한 즉시 1mm³ 크기로 잘라 4℃의 2.5% glutaraldehyde 용액에 2시간 동안 前固定을 한 후, 실온에서 後固定을 하였다. 고정된 조직은 ethanol 50%, 70%, 80% 액에 각각 20분씩, 95% ethanol액에 30분, 그리고 無水 ethanol에 60분씩 처리하여 탈수하였다. 이것을 propylene oxide에 10분간씩 3회 반복하여 침투시키고, Luft법²³⁾에 의해 epon 812로써 포매하여 gelatin capsule에 넣어서 35℃에서 12시간, 60℃에서 48시간 加溫하여 경화시켰다. 경화된 조직은 ultramicrotome으로 400~600 Å 되게 박절하여 Reynolds방법²⁴⁾에 따라 lead citrate와 uranyl acetate로써 이중 전자염색을 하여 JEM형(100-CX) 전자현미경으로써 관찰하였다.

8) 유의도 검증

각 군사이의 성적은 Student²⁵⁾의 t-검정법에 따라 유의도를 검정하였다.

결 과

1) Superoxide dismutase 활성의 변동
간장에서의 SOD 활성의 변동을 관찰한 결과는 Table 4와 같다. 3주에 있어서는 대조군이 11.88인데 비해 HA군이 12.54으로써 다소 증가하였으나 유의적인 차이를 나타내지 않았고, 6주에 있어서는 대조군이 12.20인데 비해 HA군이 13.48(p < 0.01), HB군을 비교하였을 때, HA군보다 HB군의 활성이 현저히 높았다(p < 0.05).

Table 4. Effects of heated oils on glutathione peroxidase in rat liver ($\mu\text{mol NADPH}/\text{min}/\text{mg protein}$)

Group	Control	HA	HB
3WK	3.81 \pm 0.23 (6) ^a	2.78 \pm 0.23 (5) ^b	ND
6WK	4.73 \pm 0.27 (10) ^a	3.74 \pm 0.31 (10) ^b	2.78 \pm 0.16 (10) ^c

All values are mean \pm SE (number of animal)

Values within a same column with different superscript letters (a, b, c) are significantly different (at, p < 0.01)

ND; Not determined

Table 5. Effects of heated oils on peroxide value in rat liver (n mol MDA/mg protein)

Group	Control	HA	HB
3WK			
8,000xg Sup.	0.56 \pm 0.02 (6) ^a	1.14 \pm 0.13 (5) ^b	ND
Microsome	8.08 \pm 0.49 (6) ^a	12.05 \pm 2.03 (5) ^b	ND
6WK			
8,000xg Sup.	0.52 \pm 0.03 (10) ^a	0.89 \pm 0.09 (10) ^b	0.94 \pm 0.03 (10) ^{bc}
Microsome	7.60 \pm 0.60 (10) ^a	10.52 \pm 0.71 (10) ^b	11.41 \pm 0.87 (10) ^{bc}

All values are mean \pm SE (number of animal)

Values within a same column with different superscript letters (a, b, c) are significantly different (at p < 0.05)

ND; Not determined

Table 6. Contents of vitamin E in rat liver

($\mu\text{g}/\text{mg protein}$)

Group	Control	HA	HB
3WK	0.29 \pm 0.03 (6) ^a	0.25 \pm 0.02 (5) ^a	ND
6WK	0.31 \pm 0.03 (10) ^a	0.24 \pm 0.02 (10) ^b	0.20 \pm 0.01 (10) ^c

All values are mean \pm SE (number of animal)

Values within a same column with different superscript letters(a, b, c) are significantly different (at $p < 0.05$)

ND; Not determined

2) Glutathione peroxidase 활성의 변동

간장에서의 GPX 활성의 변동은 Table 5에서 보는 바와 같이 SOD 활성과는 반대로 대조군에 비해 두군 모두 감소하는 경향을 나타내었다. 3주에 있어서 대조군이 3.81인데 비해 HA군이 2.78로써 37% 감소하였으며($p < 0.01$), 6주에 있어서는 대조군이 4.73인데 비해 HA군이 3.74로써 26%($p < 0.01$), HB군이 2.78로 70%($p < 0.001$)의 감소를 보였다. 또한, HA군과 HB군을 비교하였을 때, HB군이 HA군보다 35%의 감소를 보였다($p < 0.01$).

가열유의 투여 기간별로 비교하였을 때, SOD 활성은 별 차이를 보이지 않았으나, GPX 활성은 3주보다 6주에서 모든군이 다소 증가하였다.

3) 과산화지질량의 변동

Lipid peroxidation 결과 생성되는 peroxide량은 Table 6과 같이 두 군 모두 대조군에 비해 유의적인 증가를 보였다. 8,000 \times g 상층액의 경우, 3주에 있어서는 대조군이 0.56인데 비해 HA군은 1.14로써 2배 이상의 높은 수치를 보였으며($p < 0.001$), 6주에 있어서는 대조군이 0.52인데 비해 HA군은 0.89로 1.7배, HB군이 0.94로 1.8배의 증가를 보였다($p < 0.001$). 또한, HA군과 HB군을 비교하였을 때, HB군이 HA군보다 다소 증가하였으나, 유의적인 차이는 보이지 않았다. 투여 기간별로 비교하였을 때, 3주보다 6주에서 감소하는 경향을 나타내었다. Microsome의 경우에서도 단백질 mg당 peroxide량은 8,000 \times g 상층액보다 10배이상 높았지만 경향은 비슷하였다.

4) Vitamin E 함량의 변동

간장 조직내의 Vitamin E 함량을 관찰한 결과는 Table 7과 같다.

3주에 있어서는 대조군에 비해 HA군이 다소 감소하였으나 유의적인 차이는 보이지 않았으며, 6주에 있어서는 대조군이 0.31인데 비해 HA군이 0.24로 30%($p < 0.05$), HB군이 0.20으로 50%($p < 0.001$)의 감소를 보였다. 또 HA군과 HB군을 비교하였을 때, HB군이 HA군보다 더욱더 현저한 감소를 보였다($p < 0.05$).

5) 간 세포의 구조 변화

전자 현미경 조사에 의한 간 세포의 구조 변화를 관찰한 결과, 대조군에서는 핵막이 뚜렷하고 세포질내의 원형 또는 타원형의 mitochondria가 잘 발달되어 있었으며 mitochondria내의 cristae가 뚜렷하였다(Fig. 1). 24시간 가열한 기름을 투여한 HB군은 핵내의 heterochromatin이 조금 증가되어 있으며 세포질내에는 mitochondria가 증창되어 있었고 mitochondria내의 cristae가 많이 소실되었으며, rough endoplasmic reticulum(RER)의 내강이 확장되었고, 또한 secondary lysosome과 fat droplet가 증가되어 있었다(Fig. 2).

고 찰

본 연구는 가열유를 투여하였을 때 흰쥐 간장내의 지질과산화계에 미치는 영향을 알아보고자 시도하였다. 이는 가열유내의 분해 생성물도 다

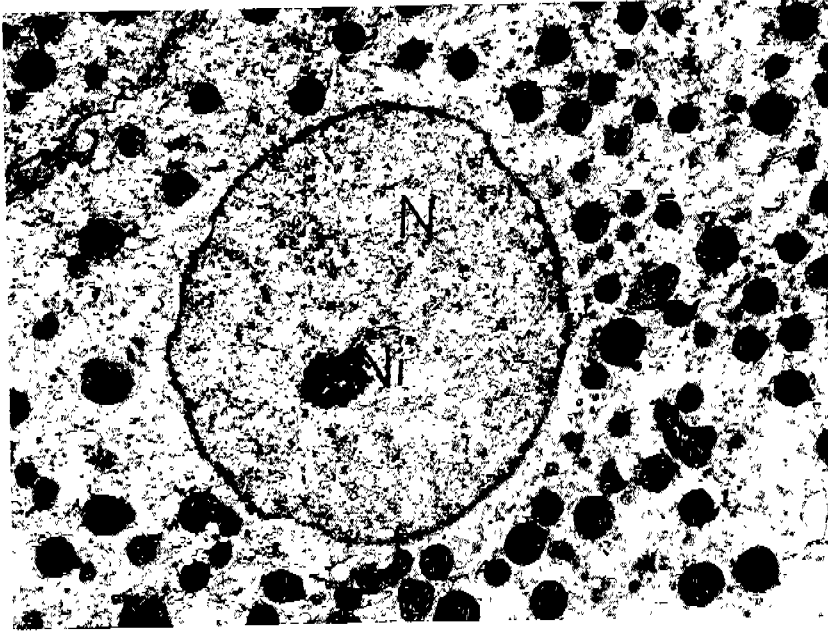


Fig. 1. Hepatocytes of Rat, Fed Fresh Corn Oil. The cell is shown apparently nucleus (N) membrane. Mitochondria (M) is well developed. Round or elongated mitochondria (M) is developed cristae. Bar mark, 1 μ m.

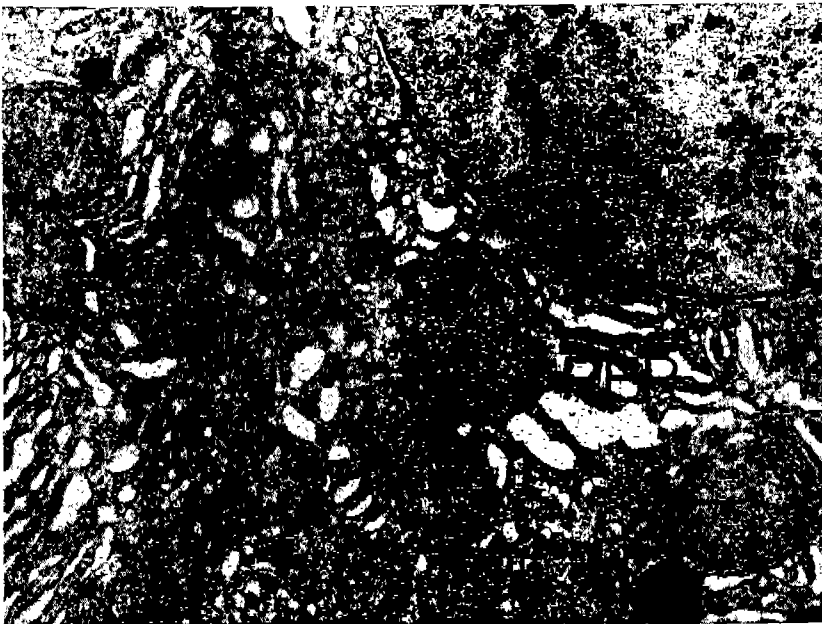
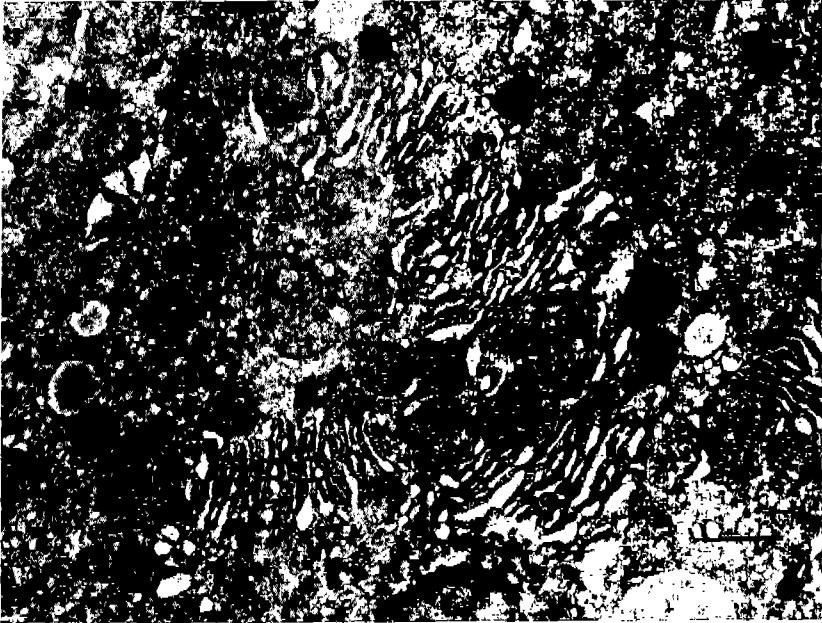


Fig. 2. Hepatocytes of Rat, Fed Oil Heated 24hr.(A.V. 4.02) Mitochondria(M) is swollen and cristae in mitochondria is disappeared. Rough endoplasmic reticulum(RER) is dilated. Secondary lysosome(Ly) is increased. Fat droplet(F) are widely scattered. Bar marked, 1 μ m.

른 외래 독성물처럼 체내 대사과정에서 free radical을 생성하고, 이때 생성된 O_2^- 을 처리하기 위해 SOD활성이 증가하였다고 볼수 있다. 그러나 SOD의 작용으로 생성되는 H_2O_2 을 분해하거나 지방의 과산화물을 분해하는 GPX활성이 감소하므로써, 과산화지질이 증가하는 것을 볼수 있다. Rotilio등²⁶⁾은 신생아 용혈성 빈혈 환자의 적혈구에서, Mavelli등²⁷⁾은 Fanconi씨 빈혈 환자의 적혈구에서 각각 적혈구의 손상과 SOD, GPX 및 catalase의 활성 관계를 보고하였는데, SOD가 40% 정도 감소되어 있어도 GPX나 catalase가 정상치를 유지하고 있으면 산화적 손상으로부터 잘 보호되지만, SOD가 정상 혹은 증가되어 있어도 GPX나 catalase등 H_2O_2 를 처리하는 효소가 저하되어 있으면, 적혈구의 산화적 손상을 방어하지 못한다는 보고와 일치하였는데 이것은 생체를 산소기의 독성으로부터 보호하는데는 O_2^- 의 처리와 함께 H_2O_2 의 처리도 중요하다는 것을 시사하는 것이 아닌가 사료된다.

한편, 본 연구에서 과산화지질량이 높은 군에서는 산소기들을 처리할 수 있는 비효소계²⁸⁾인 간장중의 vitamin E 함량이 감소하는 것으로 보아 vitamin E는 mitochondria나 endoplasmic reticulum에서 막에 많이 존재하는 불포화지방산을 lipid peroxidation으로부터 방어하는 항산화제로 작용하였다는 것을 알 수 있다. Zalkin등²⁹⁾은 vitamin E가 결핍된 토끼의 간 조직 mitochondria가 정상 토끼의 간 조직 mitochondria보다 과산화지질이 현저히 증가하였다고 보고하였으며 McCormick등³⁰⁾과 Kensler등³¹⁾은 산소기들을 처리할 수 있는 비효소계 항산화제를 투여함으로써 종양발생 빈도를 줄일 수 있다고 보고하였다. 이들의 이론과 같이 본 연구에서 가열유 투여로 과산화지질량이 높은 군일수록 vitamin E 함량이 감소된 것을 볼 때 vitamin E가 산화 방지에 많이 소모되었기 때문에 간장 조직내의 vitamin E 함량이 감소된 것이 아닌가 생각된다. 이등³²⁾에 의하면 vitamin E 제거군의 간 조직에서 lipid droplet

나타났고 myelin이 형성되었다고 하였으며, Nakamura등³³⁾은 자동산화유 투여시 lysosome과 고밀도의 granule들이 현저히 증가하였다고 보고하였다.

지금까지의 효소 활성을 비롯한 과산화지질량 및 vitamin E 함량을 측정함과 아울러 전자 현미경적 관찰을 종합해 볼 때 가열유의 투여는 다른 외래 독성 물질과 마찬가지로 대사과정중에 free radical을 생성하고 과산화지질을 축적하며 mitochondria나 RER등의 막의 구조적, 기능적 손상을 주어 생체 세포에 커다란 손상을 초래함을 알 수 있었다. 따라서 free radical 형성과 lipid peroxidation 및 퇴행성 질환과의 상호 관련된 이론을 고려해 볼 때 가열유의 섭취는 노화 및 DNA 손상과 퇴행성 질환을 유발시킬 수 있을 것으로 추측된다.

요 약

가열유가 흰쥐 간장내의 과산화계에 미치는 영향을 알아보기 위해 11시간 튀김한 기름(HA군)과 24시간 튀김한 기름(HB군)을 각각 경구 투여하여 3주간 및 6주간 사육한 후, 간장에서의 과산화지질량과 vitamin E 함량 및 SOD와 GPX 활성을 측정하고 아울러 간 세포의 구조 변화를 관찰하였다.

가열유를 투여한 HA, HB군은 대조군에 비해 과산화지질량과 SOD 활성은 증가하였지만, GPX 활성은 감소하였으며, 간장내의 vitamin E 함량도 현저하게 감소하였다. 투여 기간별로 비교하였을 때, SOD 활성과 vitamin E 함량에는 유의적인 차이를 보이지 않았으나 6주보다 3주에서 GPX는 감소하였고, 과산화지질량은 증가하였다. 전자 현미경으로 간 조직을 관찰한 결과, 酸敗度가 심한 기름을 투여한군이 대조군에 비해 핵내의 heterochromatin이 조금 증가되었고, mitochondria의 종창과 cristae가 소실되어 있었고, fat droplet가 증가되었으며, rough endoplasmic reticulum

의 내장이 확장되는 등 세포의 기능이 저하되어 있었다.

이러한 결과는 酸敗度가 심한 HB군이 HA군보다 더욱더 현저히 나타났다.

REFERENCES

- 1) 이성우. 신고 식품화학. 수학사 서울 pp193-204, 1983
- 2) 이순재, 황춘선, 이경숙. 시중 스텍코너에서 채취한 튀김 기름의 산패도에 관한 연구. 효성여자대학교 새마을 연구논문집 5: 97-113, 1985
- 3) 마채란, 이양자, 김형수. 가열한 옥수수 기름과 튀김식품의 산패도에 관한 연구. 한국영양학회지 11(2): 44-51, 1978
- 4) 최혜미, 배명숙. 튀김재료가 튀김기름의 변화와 튀김산물에 미치는 영양. 대한가정학회지 18(1): 25-33, 1980
- 5) 松尾登. 油脂の加熱にする變性, 油化學 12(5): 261-270, 1963
- 6) 太田靜行, 湯木悅二. 食用油脂の加水分解, 油化學 26(3): 150-164, 1977
- 7) 오영복, 김광호. 시판 식용유의 고온연속가열에 따르는 경시적 변화에 관한 연구. 한국영양학회지 11(3): 25-30, 1978
- 8) 吉岡倭子, 立花邦子, 金田尙志. 自動酸化油の毒性に関する研究(第 4 報). 油化學 23(5): 327-331, 1974
- 9) 白臺鴻, 金田尙志. 自動酸化油の毒性に関する研究(第 7 報). 油化學 27(12): 31-35, 1978
- 10) Vergroesen AT. Physiological effects of dietary linoleic acid. Nutr Rev 35: 1-5, 1977
- 11) 李淳宰, 朴奎映, 李仁慈. 加熱油 投與가 흰쥐의 血清 및 肝臟內의 Alkaline phosphatase 와 Acid Phosphatase 活性에 미치는 影響. 효성여자대학교 새마을 연구소 새마을연구논문집 6: 77-88, 1986
- 12) 이만정. 식품분석. 동명사 서울. pp84-89, 1982
- 13) 이현기 외 5인. 식품화학 실험. 수학사 서울 pp219-238, 1983
- 14) 高分子學會編. 高分子科學實驗法. 東京化學同人 pp179-185, 1981
- 15) Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem 47: 469-474, 1974
- 16) Paglia ED, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med 70: 158-169, 1967
- 17) Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clinica Chimica Acta 90: 37-43, 1978
- 18) Kayden HJ, Chow CK, Bjornson LK. Spectrophotometric method for determination of α -tocopherol in red blood cells. J Lipid Res 14: 533-540, 1973
- 19) Taylor SL. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis. Lipids 11: 530-538
- 20) Hawk PB, Oser BL, Summerson WH. Ferric Chloride dipyridyl method (Emmenrie-Engel reaction). Practical Physio Chem 13th ed J LA Churchill LTD 1272-1273, 1956
- 21) Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. J Biol Chem 177: 751-766, 1949
- 22) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 193: 265-275, 1951
- 23) Luft JH. Improvement in epoxy resin embedding method. J Biophys Biochem Cytol 9: 409-414, 1961
- 24) Reynolds ES. The use of lead citrate at high PH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol 17: 208-212, 1963
- 25) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods 6th ed. Iowa State University Pr-

- ess Iowa p1 1967*
- 26) Rotilio G, Rigo G, Bracci R, Bangnol F, Sargentini I, Brunori M. *Determination of red blood cell superoxide dismutase and glutathione peroxidase in newborns in relations to neonatal hemolysis. Clin Chim Acta 81: 131-134, 1977*
- 27) Mavelli I, Ciriolo MR, Rotilio G, De Sole P, Castorino M, Stabile A. *Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in oxidative hemolysis; A study of Fanconi's anemia erythrocytes. Biochem Biophys Res Commun 106: 286-290, 1982*
- 28) Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine. Oxford Clarendon Press 1984*
- 29) Zalkin H, Tappel AL. *Studies of the mechanism of Vitamin E action IV. ; Lipid peroxidation in the Vitamin E-deficient rabbits. Archs Biochem. Biophys 88: 113-117, 1960*
- 30) McCormick DL, Nancy M, Moon RC. *Inhibition of 7,12-diethylbenz(a) anthracene-induced rat mammary carcinogenesis by concomitant or post carcinogen antioxidant exposure. Cancer Res 44: 2858-2863, 1984*
- 31) Kensler TW, Bush DM, Kozumbo WJ. *Inhibition of tumor promotion by a biomimetic superoxide dismutase. Science 221: 75-77, 1983*
- 32) 이양자, 조혜영, 김정숙, 한성주. *vitamin E의 기능 규명을 위한 영양 생화학적 및 병리학적 연구. 한국영양학회지 15(4): 277-289, 1982*
- 33) Nakamura M, Tanaka H, Hattori Y, Watanabe M. *Biological effects of autoxidized safflower oils. Lipids 8(10): 566-572, 1972*
-