

우레아 및 항산화제를 이용한 면도를 위한 수염 강도 약화 연구

김 일 구[†] · 한 나 경 · 김 선 영 · 한 종 섭

LG생활건강 기술연구원
(2016년 8월 11일 접수, 2016년 9월 7일 수정, 2016년 9월 19일 채택)

The Study of Facial Hair Weakening Ability Using Urea or Anti-oxidants for Shaving

Il Gu Kim[†], Na Kyung Han, Sun Young Kim, and Jong Sub Han

R&D Center, LG Household & Healthcare, Ltd., 175 Gajeong-ro, Yuseong-gu, Daejeon 34114, Korea
(Received August 11, 2016; Revised September 7, 2016; Accepted September 19, 2016)

요약: 연구에서는 수염에 대한 면도력을 향상시킬 수 있는 화장품 제형 개발을 위하여 대면용 화장품에서 사용 가능한 우레아 및 여러 항산화제의 수염 강도 약화 효과를 연구하였다. 실제 모발 강도 약화 효과는 우레아 농도에 의존적인 성향을 보였으며, 모발 면적 증가율 역시 농도에 의존적인 것으로 나타나 우레아 농도에 따라 모발의 수화 정도가 달라지며 이것이 강도 약화에 영향을 주는 것을 확인할 수 있었다. 항산화제는 종류에 따라 소량으로도 뛰어난 강도 감소 효과를 보이며, 이는 모발에 다량 존재하는시스틴 결합을 환원시키기 때문으로 해석된다. 마지막으로 대면용으로서의 적합성 판단을 위해 우레아 및 항산화제의 *in vitro* 안전성 테스트를 진행하였다. 안전성 테스트 결과 우레아는 대면용으로 사용하기 적합한 정도로 나타났으며, 항산화제 중에서는 글루타치온이 적합한 것으로 나타났다. 위 결과들을 통해 피부 자극이 적고 모발 강도 약화 효과가 뛰어나 면도용 제품에 적용하기 적합한 원료는 우레아 및 글루타치온임을 알 수 있었다.

Abstract: In this study, facial hair weakening ability of urea and anti-oxidants for shaving was investigated. The hair weakening ability and cross-section increase of hair depends on concentration of urea. The results showed that urea affects swelling of hair and this is related to the hair weakening ability. Anti-oxidants showed outstanding weakening ability despite of their low concentrations by breaking disulfide bond in facial hair. To evaluate the suitability of urea and anti-oxidants for facial cosmetic products, *in vitro* safety tests were proceeded. The results showed that urea and glutathione were safe for face. As a result, urea and glutathione were safe and outstanding as hair weakening agent for cosmetic shaving products.

Keywords: urea, antioxidants, glutathione, shaving, facial hair weakening

1. 서 론

남자들의 피부에 대한 관심이 높아져 가면서 남자 피부에 많은 영향을 줄 수 있는 면도 관련 제품의 사용 역시 점점 증가하고 있는 추세이다. 특히 면도 전 피부에 도포해 면도력을 올려주는 제품은 과거에는 단순히 비누가 사용되었으나 점차 웨이빙폼, 젤, 크림 등 다양

한 전문적 제품이 나타나고 있다.

그러나 현재 면도용 제품 시장은 비누화 반응을 통해 얻어진 폼 형태의 면도용 제품이 대부분을 차지하고 있으며, 젤이나 크림 등 다른 형태의 면도용 제품은 상대적으로 떨어지는 면도력으로 인해 소비자의 외면을 받고 있다. 폼 형태의 제품은 자극이 높고 세척 후 건조함 등의 단점이 있으나 면도가 용이하고 세척이 쉽기 때문에 꾸준히 선호도가 높다. 면도력, 사용감 등을 향상시켜 새로운 면도용 제형 개발을 하기 위해 다양한 연구가 진행되고 있으나[1-4] 아직까지 기존 형태

[†] 주 저자 (e-mail: zyuzu@lgcare.com)
call: 042)860-8826

Table 1. Materials for Experiments

INCI name	Product name	Producer / ditributor
Urea	Urea	세정케미칼(Korea)
Cysteamine hydrochloride	Cysteamine HCL	idCHEM Co., Ltd. (Korea)
Sodium sulfite	Sodium sulfite	idCHEM Co., Ltd. (Korea)
Sodium thioglycolate	Sodium thioglycolate	Bruno Bock Chemische Fabrik GmbH & Co. (Germany)
Diammonium dithiodiglycolate	Diammonium dithiodiglycolate	Bruno Bock Chemische Fabrik GmbH & Co. (Germany)
Glutathione	L-Glutathione	Abernutra Industries Ltd. (China)

의 면도용 제품을 넘어서 소비자의 선택을 받는 제품은 나오지 않고 있다. 면도란 하루에 한 번씩 남성의 피부에 작용되는 행위이며 가장 큰 피부 손상을 일으키는 요소 중 하나이므로 남성 피부의 보호 및 피부 상태 개선을 위해서 피부 손상이 적으면서도 면도력이 뛰어난 제품 개발이 매우 중요한 실정이다. 이에 본 연구에서는 피부 자극 정도가 낮으면서도 제형 내에서 순간적으로 면도력을 향상시킬 수 있는 원료를 선정하여 남성 피부에 폼 타입에 비해 상대적으로 자극이 적은 다양한 제형의 면도력이 높은 제품을 개발할 수 있는 토대를 마련하고자 한다.

일반적으로 면도력에 영향을 주는 요소로는 피부와 면도날 간의 완충력, 피부 위에서 부드럽게 미끄러질 수 있는 윤활력, 면도날이 미끄러지는데 저항으로 작용하는 수염의 강도 등이 있다. 본 연구에서는 수염의 강도를 순간적으로 약화시켜 면도날의 저항을 줄여 면도력을 향상시킬 수 있는 방법에 대해 중점적으로 연구를 진행하였다.

우레아는 일반적으로 각질 연화 효과를 위해 화장품에서 많이 사용되는 원료로 대면용으로 사용하기에 적합한 원료이다. 본 원료는 일반적으로 모발의 수화 현상에 관여하며, 물 및 다른 물질의 모발 침투 효과를 강화한다고 알려져 있다[5]. 모발은 물에 의해 습윤되면 강도가 약화되며 이러한 수화 현상을 촉진시키게 되면 모발의 강도를 약화시켜 면도력을 높일 수 있다[6].

모발 내 시스틴 결합(S-S bond)은 모발의 형태를 유지하는 데 매우 중요한 요소로 모발 및 수염 내에 많은 함량이 포함되어 있다[7-8]. 이러한 시스틴 결합은 환원제에 의해 환원되어 결합이 끊어지며 모발 강도가 저하되는 역할을 한다[10]. 일반적으로 펙제, 화학 제

모제 등에서는 환원제가 포함되어 시스틴 결합을 끊어 모발의 구조를 파괴시키는 원리로 사용된다[11-12]. 항산화제는 대면용 화장품에 사용되는 환원력이 있는 원료로서 활성산소를 제거하여 피부 노화를 방지하는 효과를 위해 사용된다[13].

본 연구에서는 대면용 화장품에서 사용 가능한 우레아 및 항산화제를 이용하여 모발의 강도 약화 효과를 검증하였으며, 각 원료들의 대면용 사용 적합성을 판단하기 위해 안전성을 확인하였다. 위 결과들을 종합하여 대면용 면도용 제형에 적용 가능한 원료에 대하여 보고하고자 한다.

2. 재료 및 실험

2.1. 시료 및 기기

2.1.1. 시료

사용된 시료는 Table 1에 나타난 것과 같은 화장품용 등급의 원료를 사용하였다. 증류수는 Direct-Q3 (Millipore Co., Milford, Ma, USA) 장치를 통과시킨 것을 사용하였다.

사용된 모발은 BS-A (Beaulax, Japan) human hair (black 100% hair at the root is arrage) 30 cm 일반 모발을 사용하였다.

2.1.2. 기기

모발 굵기는 laser scan micrometer 6200 (controller) / LSM 500S (laser) (Miutoyo, Japan)를 사용하였으며, 인장강도는 generic tensile tester MTT 175 (Diastron, U.K)를 사용하였다.

2.2. 실험 방법

각 원료는 상온에서 정제수에 녹여 실험하였다. 모발은 일반 머리카락 모발을 사용하였으며 실험 전 세척하여 불순물을 제거한 후 각 시료 당 30개의 모발을 측정하여 그 평균값으로 결과를 얻었다. 본 연구는 일반 머리카락 모발로 실험이 진행되었으나 머리카락과 수염의 구성 성분은 비슷하며 수화 효과나 환원제에 의한 효과는 머리카락보다 수염에서 더 높게 나타나므로[8-9] 본 연구 결과를 수염에도 적용 가능하다고 판단된다.

모발 면적은 laser scan micrometer를 이용하여, 빠른 속도의 scanning laser beam을 통해 샘플의 비접촉 치수 측정을 진행하였다. Oscillator에서 방출된 laser beam은 laser 장비 내에 있는 빠른 속도로 돌아가는 polygon 거울로 직진하여 반사되게 되는데, 이때 측정하고자 하는 시편의 굽기에 따라 거울에 의해 반사된 laser beam의 방향이 바뀌게 되며, 계속해서 돌아가는 polygon 거울 때문에 시편에 의해 방해받지 않는 laser beam은 수신부에 도달하게 된다. 이때 수신부에 있는 광전자 cell에 도달한 빛의 양에 따라 출력 전압이 달라지게 되고, 이를 수치 변환하여 시편의 치수로 나타내게 된다. 시료를 5 cm 크기로 절단하여 양 끝을 고정한 후 시료가 한 바퀴 회전하는 동안 측정된 치수로 단면적을 확인하였다.

인장강도는 시료를 모발에 10 min 동안 함침 시킨 후 측정하였다. 실험 진행 시 fiber holder 위에 모발 샘플을 올려 20 mm/min의 인장 속도로 모발을 당겨주었다. 모발이 당겨지면서 구조적 변형이 일어나게 되고 끊어질 때의 힘의 강도(break load, gmf)를 모발 면적으로 나누어 면적당 break load를 계산하여 모발 인장강도(break stress)로 측정하였다.

원료의 안전성은 *in vitro* 세포독성 및 알러지 테스트를 진행하였다. 세포독성은 MTT assay로 시험하였다. 96-well plate에 well당 V79-4 세포 1×10^4 cells를 접종하여 5% CO₂, 37 °C에서 24 h 배양하여 세포단층을 얻은 후, 3% fetal bovin serum (FBS)가 함유된 세포접종용 배지(Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM)로 원료를 희석하여 100 mg/mL를 100 μ L/well씩 접종한 후 24 h 배양하였다. 이후 배양액을 제거한 후, phosphate buffered saline (PBS)으로 1회 세척하고, 0.5 mg/mL 농도의 MTT 용액을 100 μ L씩을 각 well에 가

Table 2. Formulation Composition of Urea

Materials (wt%)	1	2	3	4	5
D.I. water	-	To.100	To.100	To.100	To.100
Urea	-	-	3	5	10

하여 3 h 동안 배양하였다. MTT 용액을 완전히 제거하여 배양 plate를 건조한 후 150 μ L isopropanol로 세포 내에 형성된 formazan 결정체를 용해하여 ELISA reader로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포독성비율은 정상세포와 원료를 처리한 군의 비율로 계산하였다. 그 결과를 통해 inhibitory concentration 50 (IC₅₀) 값과 cellular toxicity index (CTI) 값을 계산하여 안전성을 판단하였다.

알러지 테스트는 사전 세포독성 실험을 통해 평가대상물질의 처리할 농도를 결정하였다. 세포의 생존률이 75%인 농도(CV75)를 기준으로 CV75 * 1/2, CV75, CV75 * 1/2³, CV75 * 1/2⁵, highest technical dose (수용성 10000 μ g/mL)까지 독성이 나타나지 않으면 이를 기준으로 농도를 설정하며, 여기서 설정된 처리농도로 human monocytic cell line인 THP-1에 물질을 접촉시키고 세포를 배양하였다. 물질과 접촉한 THP-1 세포를 형광물질(FITC)가 표지된 항체로 염색하여 isotype control, CD54, CD86을 검출하고 이를 등급화하여 분류하였다. 이 실험 결과를 통해 CD54 relative fluorescence intensity (RFI) 값 200 이상 혹은 CD86 RFI 값 150 이상이면 양성으로 판단하였다.

2.3. 통계 처리

모발 굽기의 기기 측정값과 모발 인장강도의 기기 측정값은 정규 분포 검정 후 Student's *t*-test를 통해 95% 신뢰구간에서 샘플 간의 유의성 여부를 가설평균차 5% ($p < 0.05$)로 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 우레아 함량에 따른 강도 약화

먼저 우레아를 3, 5, 10 중량 wt%로 녹여(Table 2) 인장강도를 측정하여 아무 시료도 처리하지 않은 모발, 정제수만 처리한 모발과 비교하였다(Figure 1). 정제수만을 처리하였을 때에도 일반 모발에 비해 인장강도가 약 13.3% 감소하였으며 이는 처리 전 모발의 인장강도

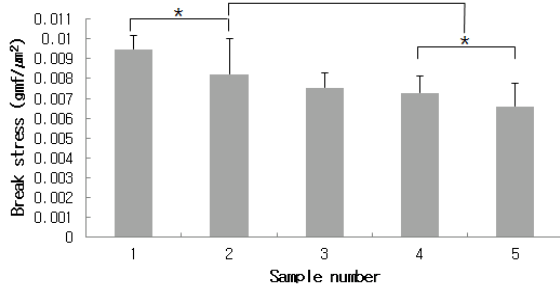


Figure 1. Effect of urea formulations on break stress of hair ($*p < 0.05$).

와 유의차 있는 차이를 보였다. 이를 통해 모발이 수분에 의해 수화되면 강도가 약해지는 것을 확인할 수 있었다. 우레아 수용액을 처리하였을 시 3%, 5%, 10%로 농도가 증가함에 따라 일반 모발 대비 인장강도 감소율은 약 20.6%, 23.3%, 30.5%로 늘어났으며 우레아 5% 이상에서 정제수를 처리한 시료에 비해 인장강도에서 유의차 있는 차이를 보였다. 또한, 우레아 5%를 적용한 시료와 우레아 10%를 적용한 시료는 인장강도에서 유의차 있는 차이를 보임을 확인하였다. 우레아는 일반적으로 피부 각질 연화 효과가 뛰어나며, 모발에서 수화 현상 및 다른 물질의 흡수를 촉진시킨다고 알려져 있다. 본 결과를 통해 모발이 정제수에 의해 수화되었을 시 순간적인 강도 감소 효과가 있으며, 우레아는 모발의 강도 약화에 일반 정제수에 비해 뛰어난 효과를 보이고 강도 감소 효과는 우레아 농도에 비례함을 알 수 있었다.

3.2. 항산화제 종류에 따른 강도 약화

앞선 실험과 같이 다양한 종류의 항산화제로 1 중량 wt% 수용액을 제조하여(Table 3) 아무 시료도 처리하지 않은 모발, 정제수만 처리한 모발과 인장강도를 비교하였다(Figure 2). 항산화제는 환원력이 뛰어나면서도 화장품 성분사전에 등록되어 있어 대면용으로 사용하기에 제약이 없는 원료들을 선정하였다. 항산화제는 낮은 함량에도 정제수에 비해 유의차 있게 강도 감소 효과가 뛰어나게 나타났으며 특히 글루타치온, 시스테아민 에이치씨엘은 일반 모발에 비해 강도 감소 효과가 약 30.4%, 25.8%로 높게 나타났다. 이는 1% 용액임에도 고농도의 우레아와 비슷한 수준의 수치를 나타냈으며, 글루타치온, 디암모늄디치오디글리콜레이트 역

Table 3. Formulations Composition of Antioxidants

Materials (wt%)	6	7	8	9	10
D.I water	To.100	To.100	To.100	To.100	To.100
Cysteamine Hydrochloride	1	-	-	-	-
Sodium sulfite	-	1	-	-	-
Sodium Thioglycolate	-	-	1	-	-
Diammonium Dithiodiglycolate	-	-	-	1	-
Glutathione	-	-	-	-	1

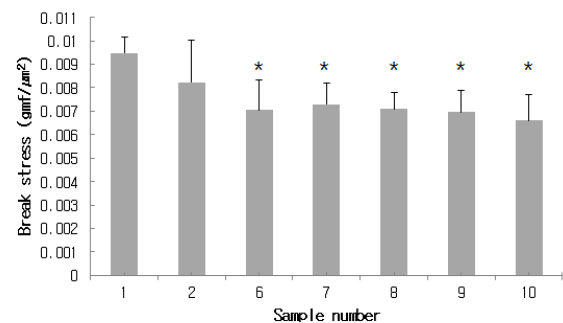


Figure 2. Effect of antioxidant formulations on break stress of hair ($*p < 0.05$ compared with sample 2).

시 비슷한 결과를 나타냈다. 위 결과를 통해 강도 감소 효과만을 봤을 때, 항산화제는 적은 함량으로도 고농도의 우레아와 유사한 효과를 낼 수 있다는 것을 알 수 있었다.

3.3. 우레아와 항산화제에 따른 모발 단면적 증가

강도 약화 효과의 정확한 원리를 파악하기 위하여 각 시료를 처리하기 전과 후의 모발 단면적 증가율을 비교하였다(Figure 3). 일반적으로 모발의 단면적은 수화 정도와 비례하여 증가한다고 알려져 있으며[6], 본 실험에서도 정제수에 10 min 간 처리시 처리 전 시료에 비해 단면적이 약 8.9% 증가한 것을 볼 수 있었다.

모발에 우레아를 처리한 경우 우레아의 농도가 3%, 5%, 10%로 증가함에 따라 단면적 증가율 역시 11.1%, 12.7%, 15.1%로 점차 증가하였으며, 이는 정제수만을 처리한 시료와 비교하였을 때 유의차 있는 차이를 나타내는 것을 알 수 있었다. 우레아 농도가 5%에서 10%로 증가하며 단면적 증가율이 유의차 있게 증가하

Table 4. *In vitro* Safety Test of Urea and Antioxidants

Materials	IC ₅₀ (% w/v)	CTI	Allergy possibility
Urea	4	Extremely low	No CD54 ≤ 200, CD86 ≤ 150
Sodium thioglycolate	0.26	Low	Weak sensitizer CD54 ≤ 200, CD86 > 150
Cysteamine hydrochloride	0.09	Moderate	No CD54 ≤ 200, CD86 ≤ 150
Glutathione	1	Extremely low	No CD54 ≤ 200, CD86 ≤ 150
Sodium sulfite	0.07	Moderate	No CD54 ≤ 200, CD86 ≤ 150
Diammonium dithiodiglycolate	3.29	Extremely low	No CD54 ≤ 200, CD86 ≤ 150

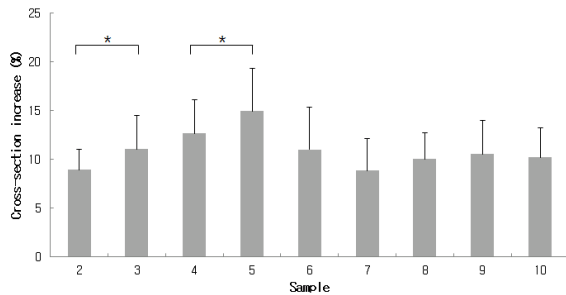


Figure 3. Effect of urea and antioxidant formulations on cross-section of hair (**p* < 0.05).

여, 단면적 증가율은 농도와 상관관계가 있는 것을 확인하였다. 이를 통해 우레아는 모발의 수화 현상에 관여하여 수화를 더욱 촉진하며, 이것이 순간적인 모발의 강도 감소 효과로 이어진다는 것을 확인할 수 있었다.

그러나 모발에 항산화제를 처리한 경우 단면적의 증가는 정제수만을 처리한 시료와 유의차 있는 차이를 보이지 않았다. 이는 우레아에 비해 항산화제가 수화를 촉진시키는 효과는 적다는 것을 의미하며, 항산화제가 우레아에 비해 더 적은 농도로도 높은 강도 감소 효율을 보여준 것과 연관지어 생각했을 때 항산화제는 수화를 촉진시켜 강도를 감소시키는 효과는 크지 않다는 것을 알 수 있다. 항산화제는 높은 환원력을 가지고 있으므로 모발 내에 존재하는 시스틴 결합(S-S bond)을 환원시켜 결합을 끊을 수 있으며 이것이 강력한 강도 감소 효과로 나타날 수 있다(Figure 4).

즉, 항산화제의 순간적인 모발 강도 감소는 수화 촉



Figure 4. Scheme of anti-oxidant effect on hair.

진 현상 보다는 모발 내부의 시스틴 결합을 화학적으로 끊어주는 데서 유래한 효과가 크다는 것을 확인할 수 있었다.

3.4. 우레아와 항산화제의 안전성

모발 강도 약화 원료들의 대면용 화장품 적용 적합성을 판단하기 위하여 각 원료들의 *in vitro* 안전성 테스트를 진행하였다(Table 4). 세포독성과 알러지 유발 가능성 테스트를 진행한 결과 일반적으로 화장품에 많이 사용되는 우레아의 경우 세포독성이 낮고 알러지 유발 가능성이 없는 것으로 나타나 대면용 화장품에 적용하기에 안전한 것으로 판단되었다. 항산화제는 대부분 상대적으로 높은 독성을 나타내 우레아에 비해 안전성이 낮은 것으로 나타났으나 글루타치온, 디암모늄디치오디글리콜레이트는 세포독성 및 알러지 유발 가능성이 낮으며 우레아와 유사한 수준으로 나타나 대면용 화장품에 적용하기 적합한 것으로 판단되었다.

4. 결 론

본 연구에서는 대면용 화장품 제형에서 수염의 강도

를 순간적으로 약화시켜 면도력을 향상시킬 수 있는 기술 개발을 위하여 우레아, 항산화제를 이용하여 모발 강도 감소 효과 확인을 위한 모발의 인장강도 실험과, 수화 현상과의 연관성을 판단하기 위한 단면적 증가율 실험, 대면용 화장품에 대한 적합성 판단을 위한 안전성 실험을 진행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 일반적으로 화장품에서 각질 연화제 역할을 하는 우레아는 순간적인 모발 강도 감소 효과가 있으며, 우레아 농도에 비례하여 증가하였다.
- 2) 항산화제는 종류별로 다른 강도 감소 효과를 보였으나 일반적으로 우레아에 비해 적은 농도에서도 높은 강도 감소 효율을 보였다. 그 중 글루타치온은 인장강도 감소율이 30.4%로 가장 높게 나타났다.
- 3) 우레아를 처리한 시료의 경우 그 농도에 비례하여 모발의 단면적이 증가하는 것으로 나타났으며 이는 우레아가 모발의 수화 현상을 촉진하고 그로 인해 모발 강도 감소 효과가 나타났다고 볼 수 있다. 항산화제를 처리한 시료의 경우 우레아를 처리한 시료에 비해 모발 단면적 증가가 크지 않았으며 이는 항산화제의 높은 강도 감소 효과가 수화 현상에만 기인한 것이라기보다는 다른 요인이 작용한 것으로 해석할 수 있다. 모발 내부에는 다량의시스틴결합이 존재하며 항산화제는 시스틴결합을 환원시켜 결합을 끊을 수 있으므로 항산화제의 강도 감소 효과는 이와 같은 화학적 작용에 의한 것으로 해석할 수 있다.
- 4) 각 원료의 대면용 화장품에의 적용 가능성에 대해 판단하기 위하여 세포독성, 알러지 유발 가능성에 대한 안전성 실험을 진행한 결과 우레아는 일반적으로 화장품에서 많이 사용되는 원료인 만큼 안전성이 높게 나타났으며, 항산화제 중에서는 글루타치온, 디암모늄디치오디글리콜레이트가 대면용으로 사용하기 적합한 수준으로 확인되었다.

본 연구를 통해 우레아, 항산화제가 순간적으로 모발의 강도를 약화시킬 수 있다는 것을 확인했으며, 이 결과를 수염으로 확장시켜 화장품에서 면도력을 향상시킬 수 있는 가능성을 확인할 수 있었다. 모발의 강도

를 약화시키는 방법에는 물에 의한 수화를 빠르게 하는 방법과 모발 내의 시스틴 결합을 환원시켜 강도를 약화시키는 방법이 있을 수 있다. 위와 같은 강도 감소 효과 및 안전성 확인 결과 우레아는 면도용 화장품에 적용하기 적합하며 항산화제 중에서는 글루타치온이 가장 적합하다는 것을 확인할 수 있었다. 본 원료들이 실제적으로 면도용 제형 내에서 나타내는 효과에 대해서는 추가적인 연구가 요구되며, 소비자가 체감할 수 있는 수준의 효과 극대화 및 시간 단축을 위한 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Reference

1. U.S. Patent No. 4,528,111 A (1983).
2. U.S. Patent No. 8,663,614 B2 (2009).
3. U.S. Patent No. 9,220,666 B2 (2013).
4. U.S. Patent No. 5,756,081 A (1996).
5. U.S. Patent No. 5,562,110 A (1994).
6. Y. K. Kamath, C. J. Dansizer, and H. D. Weigmann, Wetting behavior of human hair fibers, *J. Appl. Polym. Sci.*, **22**(8), 2295 (1978).
7. R. Ogura, J. M. Knox, A. C. Griffin, and M. Kusuvara, The concentration of sulfhydryl and disulfide in human epidermis, hair and nail, *J. Invest. Derm.*, **38**(69) (1962).
8. E. Tolgyesi, D. W. Coble, F. S. Fang, and E. O. Kairinen, A comparative study of beard and scalp hair, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **34**, 361 (1983).
9. L. Langbein, H. Yoshida, S. Praetzel-Wunder, D. A. Parry, and J. Schweizer, The keratins of the human beard hair medulla: the riddle in the middle, *J. Invest. Dermatol.*, **130**(1), 55 (2010).
10. U.S. Patent No. 4,956,175. (1990).
11. U.S. Patent No. 5,154,918. (1992).
12. H. A. Bagshaw, J. T. Flynn, A. N. James, S. R. Johnston, and J. P. Blandym, The use of thioglycolic acid in hair-bearing skin inlay urethroplasty, *Br. J. Urol.*, **52**(6), 546 (1980).
13. B. Frei, Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action, *Am. J. Med.*, **97**(3), S5 (1994).