

Rat에 있어서 탈지사료 및 철분투여가 다불포화 지방산, vitamin E 및 그 유도체에 미치는 영향

허린수 · 김영홍 · 김성훈* · 도재철 · 이영호 · 최연식
경북대학교 수의과대학 · 한국화학연구소*
(1990. 8. 1 접수)

Effect of administration with fat-free diet and dietary iron on polyunsaturated fatty acid, vitamin E and their derivatives in male rats

Rhin-sou Huh, Young-hong Kim, Sung-hoon Kim*, Jae-cheul Do,
Young-ho Lee, Yeon-shik Choi
College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University
Korea Research Institute of Chemical Technology*
(Receive Aug 1, 1990)

Abstract: This study was designed to elucidate the effects of administration with dietary iron and fat-free diet on the contents of unsaturated fatty acid in phospholipid molecules, vitamin E contents and malondialdehyde contents in liver, kidney, muscle and testis of the male rats.

The rats were divided into 3 experimental groups, namely, control, iron injection and fat-free diet administration groups. The control group was fed with normal diet, iron injection group injected intraperitoneally 20mg of ferric hydroxide/100g of body weight 20 times every 3 days and fat-free diet group administered lipid extraction diet with hexane in normal diet.

All experimental groups were maintained for 60 days with feeding on the respective ration.

The results obtained were summarized as follows:

1. In the mean contents of unsaturated fatty acid in phospholipid of liver, kidney, muscle and testis among groups, control group was 21.31mg/g, 19.38mg/g, 1.67mg/g, 13.68mg/g, iron injection group was 13.83mg/g, 16.53mg/g, 0.71mg/g, 10.11mg/g and fat-free diet group was 21.07mg/g, 19.38mg/g, 1.49mg/g and 13.40mg/g, respectively.

2. In the mean contents of vitamin E in liver, kidney, muscle and testis among groups, control group was 6.77mg/g, 1.93mg/g, 0.12mg/g, 0.17mg/g, iron injection group was 3.16mg/g, 0.86mg/g, 0.07mg/g, 0.09mg/g and fat-free diet group was 7.41mg/g, 1.50mg/g, 0.11mg/g and 0.16mg/g, respectively.

3. In the mean contents of malondialdehyde in liver, kidney, muscle, testis and serum among groups, control group was 11.29nM/0.1g, 23.25nM/0.1g, 42.47nM/0.1g, 7.01nM/0.1g, 4.33 nM/ml, iron injection group was 34.98nM/0.1g, 40.55nM/0.1g, 72.21nM/0.1g, 12.26nM/0.1g, 11.27nM/ml and fat-free diet group was 8.07nM/0.1g, 20.63nM/0.1g, 39.92nM/0.1g, 6.95nM/0.1g and 4.27nM/ml, respectively.

Key words: fat-free diet, iron, unsaturated fatty acid, vitamin E, malondialdehyde.

緒 論

鐵分은 동물의呼吸作用에서 매우 중요한 hemoglobin 과 catalase, peroxidase 등의 주요 구성성분으로서 여러生命現象에 관여하는 중요한無機物中の 하나이다.^{1,2} 이러한 철분은 강력한酸化劑로 작용을 하는 바 과량의 철분이 투여되면 抗酸化劑로 작용하는 vitamin E 에 산화작용을 일으켜 tocopherylquinone으로 不活性化시켜 vitamin E의 결핍증세를 초래하며 적혈구 막 및 세포막 지질의 주요 구성성분인 인지질에 결합된 긴 사슬의 고급 불포화 지방산이 非酸素性 過酸化作用을 받아³⁻⁶, 그의 2중 결합부분이 절단되어 짧은 사슬의 thiobarbituric acid(TBA) 반응성 malonyl aldehyde 따위의 脂質 過酸化물이 많이 생성되어 축적되며^{3,7,8}, 이때 적혈구 막을 구성하고 있던 인지질이 막으로 부터 탈락되어 인지질의 농도가 감소되고 적혈구 막의 脆弱性이 증가하여 溶血性 貧血을 유발하게 된다.^{7-12,15,16} 적혈구 막의 약화로 인한 용혈과 그 막의 구성지질의 過酸化 및 脫落과 감소등은 vitamin E의 결핍에 의해서만 일어나는 것이 아니라 과량의 철분이 체내에 투여되었을 때에도 일어나는 바 多不飽和脂肪酸과 철분이 높은 농도로 들어있는 식품으로 양육한 영아는 지질 과산화산물의 증가와 용혈성 빈혈 및 수종이 유발된다고 하며¹³, 철분의 과부화(overload)는 용혈성 빈혈 및 지질의 과산화작용등, vitamin E 결핍에서와 유사한 변화가 일어난다.¹⁴

적혈구 막에 대한 철분의 이와같은 작용은 막을 구성하는 인지질등의 불포화지방산에 대한 산화촉매제로서 작용하여 과산화물을 형성하는 것과^{3,8,11-14} 철분이 직접 vitamin E에 산화작용을 하여 破壞시키는 것¹⁴ 등이 있을 수 있다. 이들 지질에 대한 항산화제로써 역할하는 vitamin E의 불활성화 내지 파괴로 인하여 항산화 효과가 제거되면 vitamin E의 결핍증상이 그대로 나타날 것이다.¹² 이러한 사실들에서 과량의 철분 투여와 vitamin E의 결핍이 세포막내 지방질의 지방산 조성에 변동을 초래하며, 지질의 과산화 작용에 의해 새로운 다불포화지방산들이 合成되어 탈락한 지방산에 대치되며, malondialdehyde 같은 지질 과산화물의 蓄積을 일으킬 것이다.

이에 저자들은 철분의 과량투여와 脫脂飼料로 사육한 rat에서 인지질내 다불포화지방산, vitamin E 및 malondialdehyde 함량을 측정하여 과량의 철분으로 인한 지질의 과산화 작용과 탈지사료로 인한 지질대사의 변동을 조사하고자 본 실험을 수행하게 되었다.

材料 및 方法

實驗動物 : 체중 170~200g 내외의 Sprague-Dawley 계 male rat 30마리를 實驗動物로 사용하여 시판 비육우용 사료(우성사료<주> 제품)로 무제한 급여하여 사육하였다.

實驗群 配置 및 鐵分投與 方法 : 對照群(A), 鐵分投與群(B), 脫脂飼料 給與群(C)의 3개군으로 나누어 각군별로 10마리씩 배치하여 60일동안 사육하였다. A군에는 철분을 투여하지 않고 정상사료만 급여하였으며 B군에는 체중 100g당 철분 20mg을 3일 간격으로 20회어 걸쳐 복강내에 주사 하였으며, 이때 철분은 ferric hydroxide를 주성분으로 한 시판 철분製劑인 Prolongal (한국마이엘화학<주> 제품)을 사용하였고 C군은 정상사료를 hexane으로 지질성분을 3회 추출하여 만든 탈지사료 (fat-free diet)로 무제한 급여하였으며, 정상사료와 탈지사료 내의 조지방 함량을 Soxhlet 방법으로 측정한 결과, 정상사료에 비해 탈지사료내의 조지방함량이 매우 낮음을 확인 후 실험을 시작하였다.

Table 1. Crude fat contents in normal and fat-free diet (%)

Description	Crude fats (%)
Normal diet	20
Fat-free diet*	2.2

* Lipid extraction diet with hexane in normal diet.

試料採取 : 혈액은 철분투여 62일째에 각 개체별로 ether 마취하에 후대정맥에서 채혈한 다음 즉시 혈청을 분리하여 -20°C에서 냉동 보관하였으며, 실질장기(간장, 신장, 고환 및 근육)은 채혈후 즉시 채취하여 분석시 까지 -20°C에서 냉동보관 하였다.

體重測定 : 실험기간중 3일간격으로 체중변동을 개체별로 측정하여 증체량을 구하였다.

組織內 磷脂質의 分離 : Hanahan et al¹⁷ 방법에 따라, 조직 일정량을 취하여 ethanol-ether(3:1) 혼합액을 가하여 균질액을 만들어 총지질을 추출하고 원심분리로 얻은 잔사물에 95% ethanol을 첨가하여 녹인 후 4시간 동안 실온에서 방치하였다가 원심분리로 상층액을 취하고, 잔사물에는 다시 ethanol-ether 혼합액을 첨가하여 흔들어 녹인 후 3시간 동안 실온에서 방치하였다가 원심분리로 상층액을 분리하여 처음에 분리한 상층액들과 함께 합하고 37°C의 항온수조에서 N₂ gas

를 사용하여 용액을 증발 시켰다.

잔사물에는 acetone을 첨가하여 -20°C 에서 15시간 방치하였다가 원심분리로 침전물을 수거하고 ether를 첨가하여 녹인 다음 다시 N_2 gas로 용매를 증발시켜서 인지질을 분리하였다.

燻脂質내 不飽和脂肪酸 定量: Hanahan et al¹⁷ 방법에 의하여 추출한 인지질을 각각 許 및 張(1982)¹⁸의 방법에 따라서 인지질내 불포화지방산 함량을 정량 하였다.

組織내 vitamin E 含量分析: Vitamin E의 함량분석은 Nair & Magar¹⁹의 방법에 따라서 다음과 같이 실시하였다. 일정량의 시료에 5% NaOH 1ml를 첨가하여 흔들어 잘 섞어준 다음 6시간동안 방치하여 sodium 염을 형성시켜 여기에 증류수 5ml를 첨가하여 잘 흔들어 준 다음 석유 ether 3ml를 가하여 두번 추출하였다 이 추출액들을 한데 합쳐 phenolphthalein용액 2~3방울을 가하여 alkali 성분이 완전히 없어질때까지 씻은 후 증발시키고 여기에 phosphomolybdic acid 1ml를 첨가하고 5분후에 ethanol 3ml를 첨가하여 Hitachi Model 200-20 double beam spectrophotometer로 725nm에서 흡광도를 측정하여 함량을 구하였다.

組織 및 血液내 malondialdehyde 定量: Slater & Sawyer²⁰방법에 따라 일정량의 시료에 10% Trichloroacetic acid(TCA)를 첨가하여 조직 및 혈액을 각각 파쇄, 분리한 다음 원심분리하여 상층액을 분취하고 0.67% Thiobarbituric acid 2ml를 첨가하여 항온수조에서 90°C 를 유지하며 20분간 가열한 다음 즉시 냉각시켜 원심분리하여 상층부분을 분취하여 Hitachi Model 200-20 double beam spectrophotometer로 535nm에서 흡광도를 측정하여 함량을 구하였다.

統計處理: 실험성적은 각 실험군 별로 평균치를 구하고 완전 임의 배치법²¹에 따라서 최소 유의성 검정(LSD검정)을 실시하였다.

結果 및 考察

Rat의 成長에 대한 影響: 각 실험군별 증체량은 Fig 1에서 보는 바와 같이 대조군(A)에 비해 철분투

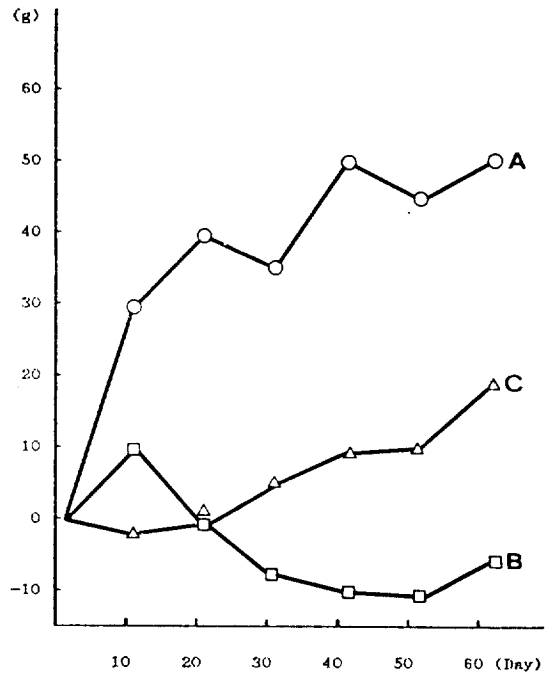


Fig. 1. Changes on body weight gain among groups in male rats.

A: Control group. (○-○)

B: Intraperitoneal Iron $[\text{Fe}(\text{OH})_2]$ injection group 20 times every 3 days with the dose of 20mg/100g body weight. (□-□)

C: Fat-free diet feeding group every day for 60 days. (△-△)

Table 2. Unsaturated fatty acid contents in phospholipid in tissues of male rats (mg/g wet weight)

Groups	Mean contents (Mean±SD)			
	Liver	Kidney	Muscle	Testis
A	21.31±1.90 ^a	19.38±1.31 ^a	1.67±0.27 ^a	13.68±1.19 ^a
B	13.83±1.98 ^b	16.53±1.94 ^b	0.71±0.19 ^b	10.11±1.32 ^b
C	21.07±0.95 ^a	19.38±1.32 ^a	1.49±0.29 ^a	13.40±1.31 ^a

a, b: Means with different superscripts within groups are different. ($p < 0.01$)

A : Control group.

B : Intraperitoneal Iron $[\text{Fe}(\text{OH})_2]$ injection group 20 times every 3 days with the dose of 20mg/100g body weight.

C : Fat-free diet feeding group every day for 60 days.

여군(B)의 증체량이 현저히 감소하였으며 탈지사료 급여군(C)군도 대조군에 비해 감소함을 볼 수 있다. 이와 같이 철분투여군의 증체량이 현저히 감소하는 것은 1960년 Golberg et al¹⁶이 과량의 철분이 rat 체내에 투여 되었을 때 성장부진을 나타낸다는 보고와 일치하며 1959년 Bender et al²¹이 보고한 것과 같이 과량의 철분 투여에 따른 체중감소 현상은 vitamin E 함량의 감소로 인한 myosin과 actomyosin의 감소에 기인한 것이라 사료된다.²² 탈지사료 급여군에서 대조군에 비해 증체량이 다소 감소한 것은 대조군에 비해 급여사료내의 지질함량의 감소로 인하여 체내 지방의 합성 및 저장에 감소되었기 때문으로 사료된다.

燐脂質내 不飽和脂肪酸 含量에 대한 影響: 肝臟, 腎臟, 筋肉 및 辜丸組織 내 인지질을 구성하는 불포화지방산의 함량은 Table 2에서 보는 바와 같이 대조군에서는 평균함량이 각각 21.31mg/g, 19.38mg/g, 1.67mg/g 및 13.68mg/g이었으나 철분투여군에서는 13.83mg/g, 16.53mg/g, 0.71mg/g 및 10.11mg/g으로 대조군에 비해 유의성있는 함량의 감소를 ($p < 0.01$) 나타내었으나, 탈지사료 급여군에서는 21.07mg/g, 19.38mg/g, 1.49mg/g 및 13.40mg/g으로 대조군과 비교할 때 유의성있는 차이를 보이지 않았다.

이와같이 철분투여군에서의 불포화지방산의 현저한 함량의 감소는 세포막에 있는 불포화지방산이 강력한 산화제인 철분에 의해 과산화되고, 곧이어 2중 결합부분이 절단되어 malonyl aldehyde 등으로 파괴된다는 보고와^{3,7,23-25,28,29} 일치함을 알 수 있다. 탈지사료 급여군에서는 대조군과 비교할 때 함량의 차이가 인정되지 않았는데 이는 산화제인 철분에 전혀 노출되지 않은 상태에서 본 탈지사료내에 있는 대조군보다 작은 미량의 vitamin E 함량만으로도 인지질내 불포화지방산의 과산화작용을 방지할 수 있었기 때문이거나, 또는 부족한 다불포화 필수 지방산에 대한 조직요구량을 동

물 체내에서 합성이 가능한 비필수 다불포화 지방산으로 대체되었음이 추측된다.

Vitamin E 含量에 대한 影響: 철분 및 탈지사료의 급여로 인한 vitamin E 함량은 Table 3에서 보는 바와 같이 대조군의 평균함량이 각각 6.77mg/g, 1.93mg/g, 0.12mg/g 및 0.17mg/g 이었으나 철분투여군에서는 3.16mg/g, 0.86mg/g, 0.07mg/g 및 0.09mg/g으로 대조군에 비해 유의성있는 함량의 감소를 ($p < 0.01$) 나타내었으며, 탈지사료 급여군에서는 간장에서 7.41mg/g으로 대조군보다 다소 함량의 증가($p < 0.01$)를 보였으며 신장에서는 1.50mg/g으로 대조군보다 다소 함량의 감소($p < 0.01$)를 나타내었고 근육과 고환내의 함량은 각각 0.11mg/g 및 0.16mg/g으로 대조군과 비교할 때 유의성있는 차이를 보이지 않았다.

철분투여군에서 대조군에 비해 vitamin E의 함량이 현저히 감소하는 것은 과량의 철분이 체내에 투여되면 항산화제로 작용하는 vitamin E를 tocopherylquinone으로 불활성화시켜 vitamin E의 함량을 감소시킨다는 보고²⁵와 일치함을 알 수 있다. 실제로 철분이 체내에 투여되면 철분이 불포화지방산의 과산화를 방지하는 vitamin E를 파괴 또는 불활성화시켜^{3,14,16} 항산화 기능을 사라지게 하여 불포화지방산은 모든 산화요소에 노출되어 Table 2에서 처럼 철분투여군에서 불포화지방산 함량의 현저한 감소를 초래함을 알 수 있다. 한편 탈지사료 투여군에서 vitamin E의 함량을 보면 근육과 고환에서는 대조군과 차이를 나타내지 않았으며, 간장 및 신장에서는 차이를 나타내었지만 이는 실험동물 개체간의 차이와 실험오차로 인한 것이라 생각된다

Malondialdehyde(MDA) 含量에 대한 影響: 지질 과산화물인 malondialdehyde의 생성에 대한 영향을 알 아본 결과는 Table 4에서 보는 바와 같이 대조군의 평균함량이 간장, 신장, 근육 및 고환조직에서 각각 11.29nM/0.1g, 23.25nM/0.1g, 42.47nM/0.1g 및

Table 3. Vitamin E contents within several organs of male rats (mg/g wet weight)

Groups	Mean contents (Mean±SD)			
	Liver	Kidney	Muscle	Testis
A	6.77±1.74 ^a	1.93±0.37 ^a	0.12±0.03 ^a	0.17±0.03 ^a
B	3.16±0.79 ^b	0.86±0.26 ^b	0.07±0.02 ^b	0.09±0.02 ^b
C	7.41±2.27 ^c	1.50±0.28 ^c	0.11±0.02 ^a	0.16±0.04 ^a

a, b, c: Means with different superscripts within groups are different. ($p < 0.01$)

A: Control group.

B: Intraperitoneal Iron [Fe(OH)₂] injection group 20 times every 3 days with the dose of 20mg/100g body weight.

C: Fat-free diet feeding group every day for 60 days.

Table 4. Malondialdehyde contents within several organs and serum of male rats
(n mole/0.1g wet weight and n mole/ml)

Item/Groups	Mean contents (Mean±SD)		
	A	B	C
Liver	11.29±0.72 ^a	34.98±3.16 ^b	8.07±0.89 ^c
Kidney	23.25±1.73 ^a	40.55±3.42 ^b	20.63±1.36 ^c
Muscle	42.47±2.82 ^a	72.21±1.74 ^b	39.92±2.81 ^a
Testis	7.01±0.51 ^a	12.26±1.38 ^b	6.95±0.94 ^a
Serum	4.33±0.43 ^a	11.27±1.23 ^b	4.27±0.38 ^a

a, b, c: Means with different superscripts within groups are different. (p<0.01)

A: Control group.

B: Intraperitoneal Iron [Fe(OH)₂] injection group 20 times every 3 days with the dose of 20mg/100g body weight.

C: Fat-free diet feeding group every day for 60 days.

7.01nM/0.1g 이었으나 철분투여군에서는 34.98nM/0.1g, 40.55nM/0.1g, 72.21nM/0.1g 및 12.26nM/0.1g으로 대조군에 비해 유의성있는 함량의 증가(p<0.01)를 나타내었으며, 탈지사료 급여군에서는 간장과 신장내의 평균함량은 8.07nM/0.1g 및 20.63nM/0.1g으로 대조군에 비해 유의성있는 감소(p<0.01)를 보였으나 근육과 고환내의 함량은 39.92nM/0.1g 및 6.95nM/0.1g으로 대조군과 비교할때 유의성있는 차이는 보이지 않았다. 한편 혈청내 malondialdehyde 함량을 조사해본 결과, 역시 Table 4에서 보는 바와 같이 대조군의 평균함량이 4.33nM/ml 인데 비하여, 철분투여군에서는 11.27nM/ml로 현저한 함량의 증가(p<0.01)를 보였으며 탈지사료 급여군에서는 4.27nM/ml로 대조군과 비교할때 함량의 차이를 보이지 않았다.

이와 같이 철분투여군의 혈청 및 실질장기내에서 malondialdehyde 함량이 현저히 증가하는 것은 철분의 투여나 vitamin E의 결핍으로 인해 긴 사슬의 고급 불포화지방산이 비효소성 과산화 작용을 받아 2중 결합부분이 절단되어 thiobarbituric acid(TBA)에 반응을 나타내는 짧은 사슬의 malondialdehyde가 많이 생성되기 때문이라 사료된다.^{3,7,8}

結 論

철분투여 및 탈지사료 급여로 인한 rat 체내의 인지질을 구성하는 불포화지방산 그리고 vitamin E 함량 및 지질의 과산화물질인 malondialdehyde 생성량에 어떤 영향을 미치는지 알아볼 목적으로 본 실험을 실시하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 간장, 신장, 근육 및 고환조직내 인지질을 구성하는 불포화지방산의 평균함량은 대조군에서 21.31mg

/g, 19.38mg/g, 1.67mg/g 및 13.68mg/g 이었고 철분투여군에서 13.83mg/g, 16.53mg/g, 0.71mg/g 및 10.11mg/g이었으며 탈지사료 급여군에서는 21.07mg/g, 19.38mg/g, 1.49mg/g 및 13.40mg/g으로 대조군에 비해 철분투여군에서 함량의 감소(p<0.01)를 보였다.

2. 간장, 신장, 근육 및 고환조직내 vitamin E의 평균함량은 대조군에서 6.77mg/g, 1.93mg/g, 0.12mg/g 및 0.17mg/g이었고 철분투여군에서는 3.16mg/g, 0.86mg/g, 0.07mg/g 및 0.09mg/g였으며 탈지사료 급여군은 7.41mg/g, 1.50mg/g, 0.11mg/g 및 0.16mg/g으로 대조군에 비해 철분투여군에서 함량의 감소(p<0.01) 보였다.

3. 지질의 과산화물질인 malondialdehyde 생성량을 측정 한 결과 간장, 신장, 근육, 고환 및 혈청내의 평균함량은 대조군에서 11.29nM/0.1g, 23.25nM/0.1g, 42.47nM/0.1g, 7.01nM/0.1g 및 4.33nM/ml이었고 철분투여군에서는 34.98nM/0.1g, 40.55nM/0.1g, 72.21nM/0.1g, 12.26nM/0.1g 및 11.27nM/ml였으며 탈지사료 급여군에서는 8.07nM/0.1g, 20.63nM/0.1g, 39.92nM/0.1g, 6.95nM/0.1g 및 4.27nM/ml로 대조군에 비해 철분투여군에서 함량이 현저히 증가하였다.

參 考 文 獻

1. Smith JE. Iron metabolism and its disease. In: Kaneko JJ, ed. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4th ed. New York: Academic press, 1989;256~273.
2. Mayes PA. Biologic oxidation. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, et al ed. *Harper's*

- biochemistry*. 21st ed. Connecticut: Appleton & Lange, 1988:100~119.
3. Smith KA, Mengel CE. Association of iron-dextran induced hemolysis and lipid peroxidation in mice. *J Lab & Clin Med* 1968;72:505~510.
 4. Melhorn DK, Gross S. Vitamin E-dependent anemia in the medicinal iron. *J Pediatrics* 1971; 79:569~580.
 5. Yasuda M, Fujita T. Effect of lipid peroxidation on phospholipase A₂ activity of rat liver mitochondria. *Jan J Pharmacol* 1977;27:429~435.
 6. Golberg L, Martin LE, Batchelor A. Biochemical changes in the tissues of animals injected with iron. 3. Lipid peroxidation. *Biochem J* 1962; 82:291~297.
 7. Jacob HS, Lux SE. Degradation of membrane phospholipids and thiols in peroxide hemolysis: Studies in vitamin E deficiency. *Blood* 1968;32: 549~568.
 8. Carpenter MP. The lipid composition of maturing rat testis: The effect of α -tocopherol. *Biochim Biophys Acta* 1971;231:52~79.
 9. Jacob HS. Hemolysis with vitamin E malabsorption. *New Engl J Med* 1965;273:1339~1340.
 10. Binder HJ, Spiro HM, Finch SC. Autohemolysis in tocopherol deficiency secondary steatorrhea. *Am J Med Sci* 1966;90:686~688.
 11. Bunyan JA, Green J, Edwin EE, et al. Lipid peroxidation in dialuric acid induced hemolysis of vitamin E-deficient erythrocytes. *Biochem J* 1960;77:47~51.
 12. Binder HJ, Herting DG, Hurst V, et al. Tocopherol deficiency in man. *New Engl J Med* 1965;273:1289~1296.
 13. Richie JH, Fish MB, McMasters V, et al. Edema and hemolytic anemia in premature infants: A vitamin E deficiency syndrome. *New Engl J Med* 1968;279:1185~1190.
 14. Golberg L, Smith JP. Changes associated with the accumulation of excessive amounts of iron in certain organs of the rat. *Brit J Exper Pathol* 1958;39:59~73.
 15. Williams ML, Shott RJ, O'Neal PL, et al. Role of dietary iron and fat on vitamin E deficiency anemia of infancy. *New Engl J Med* 1975;292: 887~890.
 16. Golberg L, Smith JP. Vitamin A and E deficiencies in relation to iron overloading in the rat. *J Pathol Bacteriol* 1960;80:173~180.
 17. Hanahan DJ, Dittmer JC, Warashina EA. A column chromatographic separation of classes of phospholipids. *J Biol Chem* 1957;226:685~700.
 18. 許麟洙, 張仁浩, 不飽和 脂肪酸의 比色定量法, 韓國營養學會誌, 1982;15:9~13.
 19. Nair PP, Magar NG. Determination of vitamin E in blood. *J Biol Chem* 1956;220:157~159.
 20. Slater TF, Sawyer BC. The stimulatory effects of carbon tetrachloride and other halogenoalkanes on peroxidative reactions in rat liver fraction *in vitro*. *Biochem J* 1971;123:805~814.
 21. Bender AD, Schottelius DD, Schottelius BA. Effect of vitamin E deficiency on protein composition of guinea pig skeletal muscle. *Proc Soc Exp Biol Med* 1959;102:362~364.
 22. Kim SH, Huh RS, Park HK, et al. Effect of administration of iron on the lipid concentrations in the RBC membrane and plasma. *Korean J Vet Res* 1985;25:125~132.
 23. 金成勳, 許麟洙, 朴恒均等, 鐵分投與가 흰쥐의 肝臟, 脾臟 및 筋肉組織內 脂質含量에 미치는 影響. 韓國畜產學會誌, 1985;27:711~716.
 24. Fujimoto Y, Fujita T. Effects of lipid peroxidation on prostaglandin rabbit kidney medulla slices. *Biochim Biophys Acta* 1982;710:82~86.
 25. Horwitt MK. Vitamin E and lipid metabolism in man. *Am J Clin Nutr* 1960;8:451~461.
 26. Scott ML. Vitamin E. In: DeLuca HF, ed. *Handbook of lipid research*. Vol 2. New York: Plenum press, 1978:133~210.
 27. 趙載英, 張權烈, 實驗統計分析法, 十版, 서울: 鄉文社, 1986:104~106.
 28. O'connell MJ, Ward RJ, Baum H, et al. The role of iron in ferritin and hemosiderin-mediated lipid peroxidation in liposomes. *Biochem J* 1985; 229:135~139.
 29. Roslyn B, Alfin-slater, Morris RS. Vitamin E and lipid metabolism. In: Paolett R, Kritchevsky D, ed. *Advances in lipid research*. New York: Academic press, 1963:184~210.