

흰쥐의 사염화탄소 유발 유리기 반응에 대한 생강, 마늘, 양파식이의 보호효과

조영선 · 송재철 · 양차범*

한양대학교 의과대학 예방의학교실, *한양대학교 식품영양학과

Protective Effects of Ginger, Garlic, and Onion Against Radical Reaction Induced by Carbon Tetrachloride in Rats

Young-Sun Cho, Jae-Cheol Song and Cha-Bum Yang*

Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Hanyang University

*Department of Food and Nutrition, Hanyang University

Abstract

This study aims to investigate the protective effects of ginger, garlic and onion diet against the free radicals in rats induced by carbon tetrachloride. Groups of weanling rats, having been fed basal diets individually supplemented with ginger, garlic and onion powder for 2 weeks were injected with $CCl_4(ip)$, and ethane was collected for 30 min. Peroxidation, *in vivo*, was monitored by the evolution of ethane, and superoxide dismutase(SOD) activity and malondialdehyde(MDA) content in liver tissue. Amounts of ethane exhalation of ginger, garlic, and onion groups were significantly lower than that of CCl_4 -treated control group($p<0.05$). SOD activities in liver tissue of ginger, garlic and onion groups were significantly lower than that of CCl_4 -treated control group($p<0.05$). MDA content in liver tissue of garlic group were significantly lower than that of CCl_4 -treated control group ($p<0.05$). However, there was no significant difference among ginger, onion, control and CCl_4 -treated control groups. This result suggested that ginger, garlic and onion diet showed a protective effect against CCl_4 -induced free radical damage in rats.

Key words: free radical damage, ginger, garlic, onion, carbon tetrachloride

서 론

최근 급속한 산업 발전에 따라 유기용제, 농약, 방항죽 탄화수소류 등의 독성 물질이나 항생제, 마취제 등의 약물들, 그 밖에 광화학적 대기오염 물질, 방사선 조사, 흡연, alcohol 등 유리기(free radicals)를 발생시키는 환경 요인⁽¹⁾에 노출될 기회가 점차 증가하고 있다. 이러한 환경 요인뿐만 아니라 생체 내의 정상적인 대사 과정에 의해서도 체내로 섭취된 산소의 5~10% 정도가 유리기를 형성하는 반응을 거치게 되며⁽²⁾, 이렇게 생성된 유리기들은 세포 내의 단백질, DNA, 세포막 지질, mitochondria, cytoskeletal elements 등에 손상을 입혀 세포 기능 저하나 세포 괴사를 초래하게 된다⁽³⁾.

생체 내 세포 손상의 원인이 되는 산소 유리기(oxygen free radicals; $O_2\cdot^-$, H_2O_2 , $\cdot OH$ 및 1O_2)는 xanthine oxidase 등의 생물학적 반응⁽⁴⁾, 고농도의 산소 투여^(5,6), 및 CCl_4 등의 xenobiotics 투여^(1,7)에 의하여 생성될 수 있는 독성이 매우 강한 물질이다. 이 중 CCl_4 는 간 손상을 유발하는 물질로서 복합 산화효소계의 cytochrome P450에 의하여 free radical로 변하고 이것이 산소와 반응하여 trichloromethyl peroxy radical ($CCl_3O_2\cdot$)을 생성하여 생체막의 지질 성분을 과산화시킴으로써 독성이 야기된다고 알려져 있다⁽⁸⁻¹¹⁾.

한편 생물체는 유리기에 대한 효과적인 방어 기구를 갖고 있는데, 특히 catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase 등의 효소계와 vitamin A, C, E 등은 생물체가 지닌 항산화 물질로서 중요한 기능을 하고 있다⁽¹²⁾. 또한 천연물 중에는 flavonoid 계 색소, phenol계 및 방향족 amine 등 항산화 작용을 나타내는

Corresponding author: Cha-Bum Yang, Dept. of Food and Nutrition, Hanyang University, Haengdang-dong, Songdong-ku, Seoul 133-791, Korea

물질이 많이 알려져 있는데⁽¹³⁾, 이들 중에서 우리 식생활에 많이 사용되어 온 생강, 마늘 및 양파의 항산화 성분과 이들이 식품에 대해 갖는 항산화력을 밝히는 연구가 다수 이루어졌는데⁽¹⁴⁻²²⁾, 생강에는 휘발성 성분인 allylsulfide, allyl-disulfide, zingerone, zingerol 등^(14,19)이, 마늘에는 allin, garlic oil 등이⁽²³⁾ 그리고 양파에는 quercitrin, quercetin, routine 등의 flavonoid 계가⁽²⁴⁾ 각각 항산화 작용을 나타낸다고 보고되었다. 그러나 이들의 연구는 대부분이 *in vitro* 실험이고, 생체 내에서의 항산화 작용에 대한 연구는 아직 미진한 상태이다.

따라서 본 연구에서는 우리 식생활에서 많이 섭취되고 있는 생강, 마늘, 양파⁽²⁵⁾를 첨가한 식이로 2주간 흰쥐를 사육한 후, 유리기 유발 물질로 CCl₄를 투여하여 간 독성을 야기시킨 후 호기 중의 ethane 함량, 간 조직의 superoxide dismutase(SOD) 활성도 및 지질 과산화 산물인 malondialdehyde(MDA) 함량을 측정, 비교

함으로써 생체 내에서의 생강, 마늘 및 양파의 유리기 반응에 대한 방어 효과를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물의 사육 및 처리

실험 동물은 체중이 136~188 g 인 Sprague-Dawley 계 숫쥐를 사용하였고, 체중에 따라 8마리씩 5군으로 나누었다. 실험동물을 AIN-76에 의한 기본식이⁽²⁶⁾에 Table 1과 같이 생강, 마늘 및 양파의 동결건조 분말을 각각 4% 되게 첨가한 실험식으로 2주간 사육하면서 체중은 3일에 한번씩, 식이섭취량은 매일 일정한 시간에 측정하였다.

2주간 기본식으로 사육한 실험동물에 대조군 I (Group I)은 olive oil만을, 대조군II (Group II)와 생강, 마늘, 양파를 먹인 실험군 (GroupIII~Group V)은 50% CCl₄용액 (v/v, in olive oil)⁽¹³⁾을 일정량씩(1 mL CCl₄/kg body weight) 각각 복강 내로 주사기를 이용해 강제 투여하였다. 투여 후 10분 정도 경과되면 실험 동물을 밀폐형 포집 장치에 넣어 30분간 호흡시키고 그 호기를 포집하여 ethane 정량용 시료로 하였다. 호기 포집이 끝난 실험동물은 13~16시간 동안 물만 주고 절식시킨 후 단두도살, 개복하여 phosphate buffered saline (PBS: 0.019M Na₂HPO₄ · H₂O, 0.081M Na₂HPO₄와 0.3M KCl을 혼합하여 potassium phosphate buffer를 만들고 여기에 0.9%가 되게 NaCl 첨가한 용액)을 복부 동맥을 통해 간장 내로 관류시켜 혈액을 제거한 후 간장을 적출하였다. 적출한 조직을 pellet pestle tube에 넣고 potassium phosphate buffer(pH 7.3)로 균질화 하고, 초음파 세포막 분쇄기(ultrasonic cell membrane disrupter)로 세포막을 파괴한 후 이를 SOD 활성도와 MDA 함량 측정용 시료로 하였다.

호기의 ethane 정량

호기의 포집은 실험용 포집장치를 이용한 송 등⁽²⁷⁾의 방법으로 하였고, 30분간 포집된 호기를 통하여 배출된 ethane의 총량을 gas chromatography(Fison 8000 series, Italy)로 정량하였다. 표준 가스로는 ethane(100 ppm in He, Alltech Co.)과 pentane(1.02%, Gaskuro Co. Japan)을 사용하였다. 각 시료는 1 mL의 수동 가스 시료 채취기(6-way valve air trap, Gaskuro Kogyo GS-230, Japan)로 채취하여 GC에 투입하였다. 이때 컬럼은 Megawax Capillary column을 사용하였고, 분석 조건은 detector(FID)온도 250°C, injector 온도 220°C, oven 온도 30°C였으며, carrier 가스는 nitrogen으로, 유속은 1.0

Table 1. Diet composition of experimental animal

Composition Group ¹⁾	(g/100g)				
	I	II	III	IV	V
Com starch	42.5	42.5	38.5	38.5	38.5
Ginger powder			4.0		
Garlic powder				4.0	
Onion powder					4.0
Sucrose	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Cellulose	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Casein ²⁾	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Corn oil	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Lard	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Vitamin mixture ³⁾	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral mixture ⁴⁾	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Choline chloride ²⁾	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
DL-Methionine ²⁾	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3

¹⁾Group I : Basal diet+olive oil*

Group II : Basal diet+CCl₄ in olive oil*

Group III : Basal diet+ginger+CCl₄ in olive oil*

Group IV : Basal diet+garlic+CCl₄ in olive oil*

Group V : Basal diet+onion+CCl₄ in olive oil*

*Intraperitoneal(I.P) injection at a dose of 1 mL olive oil or 50% CCl₄ (v/v in olive oil)/kg body weight after fed experimental diets during 2 weeks.

²⁾Junsei Co.,

³⁾Vitamin mixture(mg/100 g) : Vit D₃ 0.582, α-Tocopherol-acetate 1200.0, Retinol-acetate 93.2, Vit K₃ 6.0, Thiamin-HCl 59.0, Vit B₁₂ 0.2, Vit C 588.0, Pyridoxine-HCl 29.0, D-biotin 1.0, Folic acid 2.0, Inositol 1176.0, Ca-pantothenate 23.5, Riboflavin 59.0, Nicotinic acid 294.0, Sucrose 96257.0.

⁴⁾Mineral mixture(g/100 g) : CaCO₃ 29.29, CaHPO₄ · 2H₂O 0.43, KH₂PO₄ 34.31, NaCl 25.06, MgSO₄ · 7H₂O 9.98, Fe(C₂H₃O₂)₂ · 6H₂O 0.623, CuSO₄ · 5H₂O 0.156, MnSO₄ · H₂O 0.121, (NH₄)₆ Mo₇O₂₄ · 4H₂O 0.0025, Na₂SeO₃ · 5H₂O 0.0015, ZnCl₂ 0.02, KI 0.0005.

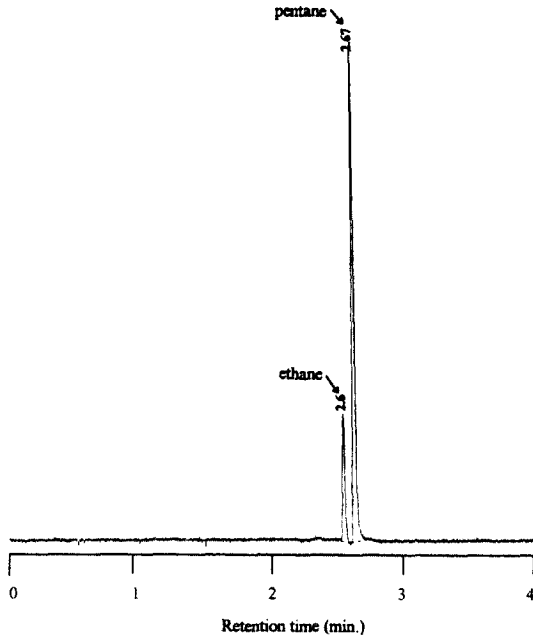


Fig. 1. GC chromatogram of standard gas (5 ppm). Ethane and pentane peaks marked with an arrow.

mL/min로 하고, split ratio는 17:1로 하였다. 분석된 signal은 Crom-Card for Windows로 integration 하였다. 시료는 표준 ethane과의 peak 면적을 비교하여 정량하였다. Standard gas의 전형적인 chromatogram은 Fig. 1과 같으며, ethane peak는 2.60분, pentane peak는 2.67분에 각각 검출되었다.

CCl_4 처리군의 호기 sample을 GC로 분석한 chromatogram은 Fig. 2와 같았고, 이때 pentane peak는 검출되지 않았다.

간 조직 superoxide dismutase(SOD) 활성도 및 과산화지질(MDA)의 정량

간 조직중의 SOD 활성도는 알카리상태에서 pyrogallol의 자동 산화에 의한 발색을 억제시키는 정도를 이용한 Marklund 등의 방법⁽²⁸⁾에 따라 측정하였으며, 표준 시료는 bovine kidney를 사용하였다. 즉, SOD 활성도 측정용 시료를 1 mL 취하고 20,000×g에서 30분간 원심 분리한 후 상층액 100 μL 를 취하여, 25°C에서 폭기(aeration)시킨 tris-acetic acid buffer(pH 8.2) 9.8 mL와 잘 혼합하였다. 이 용액에 공기를 제거한 10 mmole acetic acid에 20 mmole pyrogallol을 녹인 시약 100 μL 를 가하여 잘 혼합한 후, 발색시켜 420 nm에서 흡광도를 측정하였고, 이 용액을 25°C의 수조에서 3분간

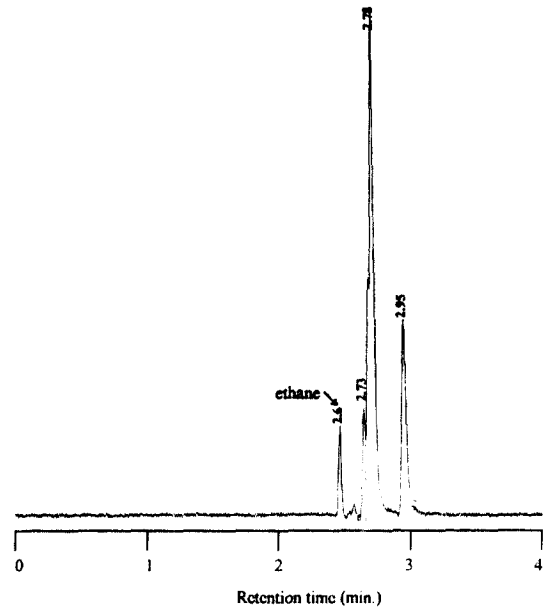


Fig. 2. GC chromatogram of breath sample exhaled by rats treated with carbon tetrachloride.

반응시킨 후 다시 흡광도를 측정하여 그 차이를 이용하여 SOD 활성도를 구하였다.

간 조직의 과산화 지질은 thiobarbituric acid를 이용한 Shah 등의 방법⁽²⁾으로 정량하였으며, 표준 시료는 1,1,3,3-tetramethoxy-propane을 사용하였다. 즉, 시료 1 mL를 취하여, 17.5% trichloroacetic acid(TCA) 1 mL, pH 2.0의 0.6% thiobarbituric acid 1 mL와 잘 혼합하고, 이 용액을 100°C의 수조에서 15분간 반응시키고, 15분간 상온에 방치한 후 70% TCA 1 mL와 잘 섞고, 다시 20분간 상온에서 방치하였다. 3,000 rpm에서 30분간 원심 분리시키고, 그 상층액을 취해 534 nm에서 흡광도를 측정하고 표준곡선을 이용하여 MDA함량을 구하였다.

단백질 정량 및 통계처리

단백질은 Lowry 등의 방법⁽²⁹⁾으로 정량하였으며, 표준 시료는 bovine serum albumin을 사용하였다. 모든 실험결과들은 SPSS를 이용하여 $\alpha = 0.05$ 수준에서 실험 군들간의 유의적인 차이를 검증하였고, 각 실험군별로 평균과 평균표준오차의 형태로 산출되었다. 실험군들간에 평균값의 차이를 검증하기 위해 ANOVA를 사용하였고, Tukey's multiple range test를 행하여 평균값에 차이를 보이는 군에 대한 통계적 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

실험기간 동안 측정된 실험군별의 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이 효율을 보면 Table 2와 같다.

실험기간에 따른 체중의 변화를 보면 모든 군에서 유사한 증가양상을 보였고, 평균 체중 증가량에서도 실험군간의 유의한 차이를 보이지 않았다. 그리고 각 실험군 간의 평균 식이섭취량과 식이효율에서도 유의한 차이를 보이지 않았다.

호기의 ethane 함량

탄화수소들은 가용지방의 자동 산화 초기에 생성되는 것으로 알려져 왔고^(30,31), 1974년 Riely 등이⁽³²⁾ 생체 내 지질 과산화의 평가를 위한 지표로서 지질 과산화의 대사 산물인 ethane의 유용성을 제시한 이후로 여러 연구에서 지질 과산화 반응의 평가에 호기 중의 ethane 함량 측정을 수행해 왔다⁽²⁷⁾. Ekström 등⁽³³⁾은 흰쥐에 chloroform과 CCl₄을 경구 투여한 후 뇨중 MDA 양과 호기 중의 ethane 함량을 측정함으로써 chloroform 및 CCl₄에 의한 지질 과산화의 정도를 평가하였고,

Köster 등⁽³⁴⁾은 mice와 rat에 CCl₄와 ethanol을 복강 주사하여 지질 과산화를 유발한 후 그 지표로 ethane의 생성량을 분석하였다. 또한, Hafeman 등⁽³⁵⁾은 흰쥐를 Vit.E, Se, methionine이 함유된 식이로 3~7주 동안 사육하고 CCl₄를 주사한 후, 이들 식이의 생체 보호 효과를 평가하는 지표로 호기 중의 ethane 함량의 측정을 행하였다.

본 실험에서 각 실험군별로 포집된 호기를 GC로 분석하여 호기 중의 ethane 함량을 체중 100 g당 nmole로 표시하면 Table 3과 같다.

기본식이에 생강, 마늘 및 양파를 각각 첨가한 실험 식이로 2주간 사육한 흰쥐에 CCl₄를 투여한 실험군(group III, IV, V) 각각의 ethane 배출량은 기본식이만으로 사육한 후 CCl₄를 투여한 대조군II(group II)에 비해 유의적인 감소를 보였다(p<0.05). 여기서 olive oil만을 투여한 대조군I(group I)에 비해 사염화탄소처리대조군(group II)의 ethane 양이 높게 나타난 것은 사염화탄소의 투여로 인해 실험동물의 생체 내에서 유리기 반응에 의한 지질의 과산화가 유발되었음을 시사한다. 그리고, 생강, 마늘, 양파식이군이 사염화탄소 투여군에 비해 각각 51.5%, 62.6%, 51.7%로 ethane 배출량이 적게 나타난 것은 이들 식품이 생체내에서 유리기 반응에 대해 방어 효과를 나타내, 사염화탄소로 인한 유리기 반응을 억제한 것으로 보인다. 이는 Hafeman 등⁽³⁵⁾이 항산화제로서 Vit.E, Se, 및 methionine을 각각 200 IU/kg, 0.2 ppm, 0.4% 수준으로 첨가한 식이로 3~7주간 사육한 흰쥐에 2 mL/kg의 CCl₄를 투여한 후 9시간 동안의 ethane 배출량이 이들 항산화제를 보충하지 않고 기본식이만을 먹이고 CCl₄를 투여한 군에 비해 각각 82%, 74%, 및 60%로 감소된다고 하여

Table 2. Food intake, weight gain and food efficiency ratio (FER)

Group ¹⁾	Food intake (g/day)	Weight gain (g/day)	FER
I	15.1 ± 0.47 ^{2)NS}	4.7 ± 0.60 ^{NS}	0.30 ± 0.03 ^{NS}
II	14.4 ± 0.81	3.5 ± 0.71	0.23 ± 0.04
III	12.7 ± 0.83	3.3 ± 0.74	0.24 ± 0.04
IV	13.8 ± 0.75	3.8 ± 0.65	0.22 ± 0.05
V	14.7 ± 0.69	4.4 ± 0.69	0.29 ± 0.04

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Mean ± S.E.(standard error of mean).

NS : Not significant at α = 0.05 level among the groups by ANOVA test.

Table 3. Amount of ethane in exhaled breath for 30 min from experimental groups

Group ¹⁾	Ethane (nmole/100 g body weight for 30 min)
I	14.7 ± 1.84 ²⁾
II	31.0 ± 6.07
III	15.9 ± 2.45*
IV	19.4 ± 4.48*
V	16.0 ± 1.75*

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Mean ± S.E.(standard error of mean).

*Significantly different from CCl₄-treated control group (Group II).

(p<0.05 by Tukey's multiple range test).

Table 4. SOD activity and amount of MDA in liver tissue of experimental groups

Group ¹⁾	SOD activity (unit/mg protein)	MDA (nmole/mg protein)
I	28.6 ± 7.71	0.85 ± 0.093
II	51.0 ± 8.81	1.09 ± 0.112
III	22.3 ± 7.05*	0.86 ± 0.091
IV	13.8 ± 3.42**	0.72 ± 0.083*
V	15.4 ± 2.30**	0.76 ± 0.111

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Mean ± S.E.(standard error of mean).

*Significantly different from CCl₄-treated control group (Group II).

(p < 0.05 by Tukey's multiple range test).

**significantly different from CCl₄-treated control group (Group II).

(p < 0.01 by Tukey's multiple range test).

본 실험결과와 유사한 경향을 나타내었다.

간조직 중의 SOD 활성

호기적 대사를 하는 생물체는 산소 유리기의 일종인 superoxide ($O_2 \cdot^-$)를 제거하는 효소인 SOD를 갖고 있어서 산소 유리기 반응에 의한 손상에 대하여 어느 정도의 방어력을 유지하고 있으며⁽³⁶⁾, 비정상적으로 증가하는 산소 유리기의 제거를 위해 그 활성도가 높아지는 것으로 알려져 있다⁽³⁷⁾.

본 실험에서 각 실험군별로 간 조직의 SOD 활성도를 측정 한 결과는 Table 4와 같다.

생강군, 마늘군, 양파군의 SOD 활성도는 대조군 및 사염화탄소군에 비해 유의적인 감소를 보였다($p < 0.05$). 이는 이들 생강, 마늘, 양파 섭취가 CCl_4 로 유도되는 유리기 생성 반응을 다소 억제함을 알 수 있었다. 박⁽³⁸⁾ 등은 사염화탄소를 투여하고 양파 식이로 4주간 사육한 흰쥐에 있어서도 SOD 활성도의 증가를 둔화시킨다고 하여 본 실험결과와 같은 경향을 보였다.

간조직 중의 MDA 함량

지질 과산화 대사산물인 MDA, conjugated diene, 호기 중 ethane, pentane 등은 불포화지방산이 산소 유리기 반응에 의해 쉽게 파괴되어 발생하는 반응의 산물로서 이들은 감도가 높을 뿐 아니라, 검정도 쉽기 때문에 지질 과산화의 정도를 분석하는데 많이 이용되어 왔다⁽³⁵⁾. 본 연구에서 실험군별로 간 조직의 MDA 함량을 측정 한 결과는 Table 4와 같다. 마늘첨가군의 MDA 함량만이 유의적인 감소를 보였고($p < 0.05$) 생강군과 양파군은 유의적인 차이를 보이지 않았다($p > 0.05$). 이는 사염화탄소를 투여한 후 양파 식이로 4주간 사육한 흰쥐 간 조직과 신장 조직 중의 MDA 함량이 유의한 감소를 보인다는 박⁽³⁸⁾ 등의 연구결과와는 다르게 나타났는데, 이는 시료조제 및 실험방법의 차이에서 기인한다고 사료된다.

요 약

· 본 연구는 *in vitro* 실험을 통해 항산화 효과가 인정된 생강, 마늘 및 양파를 첨가한 식이로 2주 동안 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 사육하고 사염화탄소를 투여한 후, 호기중의 ethane 함량, 항산화효소인 SOD의 활성도, 지질과산화산물인 MDA의 함량을 측정하여 생강, 마늘 및 양파의 생체내 항산화 효과를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 각 실험군간에 실험동물의 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율은 유

의한 차이를 보이지 않았다. 생강, 마늘, 양파첨가군 모두가 사염화탄소투여대조군(group II)에 비해 ethane 배출량이 유의하게 감소되었다($p < 0.05$). 간조직의 SOD 활성도도 생강, 마늘 및 양파첨가군 모두가 사염화탄소투여대조군에 비해 유의한 감소를 보였으며($p < 0.05$), 간 조직 중의 MDA 함량은 마늘첨가군만이 사염화탄소투여대조군에 비해 유의한 감소를 보였다($p < 0.05$).

문 헌

1. Freeman, B.A. and Crapo, J.D. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. Lab. Invest. 47: 412-418 (1982)
2. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. Lancet 23: 1396-1401 (1984)
3. Cochran, C.G., Schraufstatter, I.U. and Hyslop, P.A. Oxy-radicals in molecular biology and pathology, p. 125. In: Cellular and biochemical events in oxygen injury Alan R. Liss, Inc. New York, USA (1988)
4. Fridovich, I. Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical by milk xanthine oxidase. J. Biol. Chem. 245: 4053-4058 (1970)
5. Freeman B.A. and Crapo J.D. Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lungs and lung mitochondria. J. Biol. Chem. 256: 10986-10990 (1981)
6. Lee, P.Y., McCay, P.B. and Hornbrook, R. Evidence for CCl_4 -induced lipid peroxidation in mouse liver. Biochem. Pharmacol. 31: 405-409 (1981)
7. Moody, C.S. and Hassan, H.M. Mutagenicity of oxygen free radicals. Proc. Natl. Acad. Sci. 79: 2855-2860 (1982)
8. Yoon, C.G., Lee, S.I. and Shin, J.K. Effect of carbon tetrachloride on the changes of xanthine oxidase activity in rats previously fed low or high protein diet. J. Korean Soc. Food Nutr. 20: 527-537 (1991)
9. Willson, R.L. Free radicals From basic science to medicine, p. 2. In: Trevor Slater, free radical redox chemistry and antioxidants. Birkhauser Verlag, Basel. (1993)
10. Poyer, J.L., McCay, P.B., Lai, E.K., Janzen, E.G. and Davis, E.R. Confirmation of assignment of the trichloromethyl radical spin adduct detected by spin trapping during ^{13}C -carbon tetrachloride metabolism in vitro and in vivo. Biochem. Biophys. Res. Commun. 94: 1154-1159 (1980)
11. Connor, H.D., Thurman, R.G., Grizi, M.D. and Mason, R.P. The formation of a novel free radical metabolite from CCl_4 in the perfused rat liver and *in vivo*. J. Biol. Chem. 261: 4542-4547 (1986)
12. Kim, S.W., Ham, Y.K. and Chung, J.W. Antipoisoning effects of Vitamin E and Selenium against H_2O_2 and CCl_4 . Kor. J. Gerontol. 1: 162-167(1991)
13. Lee, Y.K. and Lee, H.S. Effects of onion and ginger on the lipid peroxidation and fatty acid composition of

- mackerel during frozen storage. J. Korean Soc. Food Nutr. 19: 321-329 (1990)
14. Baek, S.E. Studies on antioxidant activities of crude gingerol affected by temperature. Ph.D. thesis, Hanyang Univ., Seoul, Korea (1993)
 15. Chipault, J.R., Mizuno, G.R. and Lundberg, W.O. The Antioxidant properties of spices in foods. Food Technol. 10: 209-211 (1956)
 16. Kang, J.H., Ahn, B.W., Lee, D.H., Byun, H.S., Kim, S.B. and Park, Y.H. Inhibitory effects of ginger and garlic extracts on the DNA damage. Korean J. Food Sci. Technol. 20: 287-292 (1988)
 17. Byun, H.S., Yoon, H.D., Kim, S.B. and Park, Y.H. Antioxidative effect of onion and mustard powder extracts on fish oil. J. Korean Fish. Soc. 19: 453-458 (1986)
 18. Byun, H.S., Yoon, H.D., Kim, S.B. and Park, Y.H. Antioxidative effect of ginger extracts on fish oil. J. Korean Fish. Soc. 19: 327-332 (1986)
 19. Kihara, Y. and Inone, T. Antioxidant activity of spice powders in food. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 9: 290-295 (1962)
 20. Lee, I.K. and Ahn, S.Y. The antioxidant activity of gingerol. Korean J. Food Sci. Technol. 17: 55-59 (1985)
 21. Lee, Y.B., Kim, Y.S. and Ashmore, C.R. Antioxidant property in Ginger Rhizome and its application to meat production. J. Food Sci. 51: 20-25 (1986)
 22. Hong, J.H., Lee, T.K. and Yang, H.C. Crude gingerol extraction and its antioxidant effect. J. Korean Agric. Chem. Soc. 33: 143-146 (1990)
 23. Chun, H.J. Studies on antioxidative action of garlic components isolated from garlic (*Allium stipum* L). Ph. D. thesis, Hanyang Univ., Seoul, Korea (1983)
 24. Pratt, D.E. Lipid antioxidants in plant tissue. J. Food Sci. 30: 737-741 (1965)
 25. Hong, J.H. Studies on the antioxidant activity of natural spices. M.S. thesis, Korea Univ. Seoul, Korea (1989)
 26. Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. J. Nutr. 107: 1340-1348 (1977)
 27. Song, J.C., Cho, S.H., Chung, M.H. and Yun, D.R. Lipid peroxidation in vivo monitored as ethane exhalation in hyperoxia. Korean J. Prevent Med. 20: 221-230 (1987)
 28. Marklund, S. and 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)
 29. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275 (1951)
 30. Frankel, E.N., Nowakowska, J. and Evans, C.D. Formation of methyl azelaaldehyde on autoxidation of lipids. J. Am. Oil Chem. Soc. 38: 161-162 (1961)
 31. Horvat, R.J., Lane, W.G., Ng, H. and Shepherd, A.D. Saturated hydrocarbons from autoxidizing methyl linoleate. Nature(London) 203: 523-524 (1964)
 32. Riely, C.A., Cohen, G. and Lieberman, M. Ethane evolution: A new index of lipid peroxidation. Science 183: 208-210 (1974)
 33. Ekström, T., Stahl, A., Sigvardsson, K. and Högborg, J. Lipid peroxidation in vivo monitored as ethane exhalation and malondialdehyde excretion in urine after oral administration of chloroform. Acta Pharmacol. Toxicol. 58: 289-296 (1986)
 34. Köster, U., Albrecht, D. and Kappus, H. Evidence for carbon tetrachloride- and ethanol- induced lipid peroxidation demonstrated by ethane production in mice and rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 41: 639-648 (1977)
 35. Hafeman, D.G. and Hoekstra, W.G. Protection against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in the rat by dietary vitamin E, selenium and methionine as measured by ethane evolution. J. Nutr. 107: 656-665 (1977)
 36. Chow, C.K. Nutritional influence on cellular antioxidant defense systems. J. Biol. Chem. 244: 6049-6054 (1969)
 37. McCord, J.M. and Fridovich, I. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte (Hemocuprein). J. Biol. Chem. 244: 6049-6055 (1969)
 38. Park, P.S., Lee, B.R. and Lee, M.Y. Effects of onion diet on carbon tetrachloride toxicity of rats. J. Korean Soc. Food Nutr. 20: 121-125 (1991)

(1999년 2월 3일 접수)