



## NMR-based monitoring of the hangover curing effects of deep sea water minerals

Jong-Myung Ha<sup>1</sup>, Young Min Woo<sup>2</sup>, and Andre Kim<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical Life Sciences, Silla University, Busan 46958, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Natural Science Institute, Silla University, Busan 46958, Republic of Korea

Received Nov 23, 2018; Revised Nov 29, 2018; Accepted Dec 1, 2018

**Abstract** The term “hangover” refers to symptoms such as headache, heartburn, nausea, and dizziness caused by acetaldehyde created through alcohol decomposition in the body after alcohol intake. Many scientists have conducted research on diverse drugs, foods, and medicinal herbs aimed at eliminating hangovers. However, research on metabolism to objectively verify or measure their effects on hangover symptoms has been lacking. Accordingly, in this study, deep sea water minerals were administered orally at varying concentrations to rats that consumed alcohol, and changes in the levels of amino acids in their bodies were measured using nuclear magnetic resonance spectroscopy to gauge the minerals’ effects on hangover symptoms. Thus far, biochemical research on hangover cures has been confined to basic research measuring changes in the levels of alcohol dehydrogenase and acetaldehyde dehydrogenase as well as in the concentrations of ethanol, acetaldehyde, and acetate using spectrometers such as enzyme-linked immunosorbent assay kits or gas chromatography–mass spectrometers. In comparison, this study presents pharmacokinetic research that simultaneously tracked biomaterials including amino acids and organic acids, metabolites associated with hangover, to clarify hangover mechanisms more specifically. In addition, this study examined hangover mechanisms without

an external supply of tracked materials not overlapping with alcohol metabolism-related materials, such as external amino acids and sugars.

**Keywords** deep sea water mineral, hangover, nuclear magnetic resonance spectroscopy, pharmacokinetics, blood alcohol concentration

### 서문

숙취(hangover)는 알코올 섭취한 후 혈중에서 알코올분해과정을 통해 생성된 acetaldehyde에 의해 두통, 속쓰림, 메스거움, 어지러움 등의 나타나는 현상이다.<sup>1,2</sup> 많은 과학자들이 숙취를 제거하기 위하여 다양한 약물이나, 식품, 한약제를 이용한 연구를 진행하고 있으나 숙취에 효과를 객관적으로 증명해줄 metabolism 연구나 측정방법은 많이 진행되어 있지 않다.<sup>3-5</sup> 알코올을 섭취는 인체가 아미노산의 흡수와 비타민 및 calcium, magnesium, iron, zinc 와 같은 미네랄의 흡수를 방해하며, 혈중 fats, triglyceride의 농도를 높인다. 심층수는 태양광이 도달하지 않는 수심 200 m 이상의 깊은 곳에서 식물플랑크톤에 의한 광합성이 일어나지 않고 유기물이나 병원균 등이 거의 없는 바닷물로 정의한다. 수온이 연중 안정된 저온을

\* Address correspondence to: **Andre Kim**, Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical Life Sciences, Silla University, Busan 46958, Republic of Korea; Tel: 82-51-999-7620; Fax: 82-51-999-5628; E-mail: adr k@silla.ac.kr

유지하고 있어 비중이 다른 표층의 해수와 혼합되지 않아 청정성이 유지되며 해양식물의 성장에 필수적인 영양염류가 풍부한 장기 숙성된 해수자원이다.<sup>6</sup> 본 연구에서는 음주시 나타나는 숙취해소 metabolism을 연구할 수 있는 tool 개발을 위하여 알코올을 복용시킨 쥐(rat)에 다양한 농도의 해양심층수 미네랄을 경구투여하여 숙취를 해소과정에서 변화하는 metabolism의 변화를 관찰하였다. 지금까지 숙취해소 연구에는 생화학적측면에서 단순 알코올 가수분해효소(alcohol dehydrogenase, ADH)와 알데히드 가수분해효소(aldehyde dehydrogenase, ALDH)의 변화 측정 및 ethanol, acetaldehyde, acetate의 농도 변화만을 ELISA kit 또는 GC-MS 등의 분광기구를 이용하여 측정하는 기초적인 연구에 그치고 있다. 이에 비해 본 연구는 숙취와 관련된 대사물질인 아미노산 및 유기산 등의 생체물질을 동시에 추적하여 이들의 변화와 관련인자들의 상관관계를 살펴봄으로써 보다 구체적인 숙취 메커니즘을 밝힐 수 있는 연구방법을 제시하고자 한다. 또한 외부 아미노산이나 당류 등 측정 대상 인자를 공급하지 않아 알코올 대사와 관련된 물질들과 중복 측정되지 않은 조건으로 숙취 메커니즘을 연구할 수 있다.

**실험방법**

**미네랄** - 심층수(Deep sea water mineral, DSWM)는 대한심층(부산, 다대포)로부터 공급받아 사용하였다. 심층수에 함유되어있는 미네랄은 ICP로 측정하여 원소함량을 측정하였으며 Table 1과 같으며, 다양한 농도의 심층수미네랄에 증류수로 희석하여 50%, 10%, 5% 실험군 원료를 준비하였고 0.2 μm의 실린지필터로 걸러낸 후 사용하였다.

**실험동물** - 실험에 사용한 동물은 몸무게가 150~200 g인 6주령 SD rats를 사용하였으며, 효창사이언스(Hyochang Science Animals Co.(Daegu, Korea))에서 구입하여

사용하였다. 실험동물의 사육은 온도 24±2℃, 습도 55±5%, 환기횟수 12회/일, 명암주기 12시간/일로 설정하여 cage당 1마리씩 수용하였으며, 사료는 분말사료(샘타고, sam#31)을 물과 함께 공급하였다. 실험동물은 무작위로 선별하여 다음과 같이 6마리씩 6군으로 나누어 실험하였다. 정상군(normal)은 생리식염수만 투여한 개체이며, 대조군(control)은 알코올만 경구투여한 개체이다. 실험군으로 T1은 알코올 경구투여 후 해양심층수미네랄을 해양심층수를 100% 경구투여한 개체군이며, T2와 T3 그리고 T4는 각각 알코올 경구투여 후 해양심층수미네랄을 해양심층수를 20%, 10% 그리고 5%를 경구투여 하였다. 알코올은 몸무게 kg당 3 g을 경구 투여하였고, 알코올 투여 후 1시간 후에 해양심층수를 경구투여 하였으며 투여량은 몸무게 kg당 10ml이다.

**대사체 농도 측정** - 실험동물은 CO<sub>2</sub> 가스 챔버에서 질식사 시킨 후 개복하여 배대동맥에서 혈액을 채취하여 저장하여 nuclear magnetic resonance (NMR)로 측정하였다. 본 연구에서 사용된 NMR 용매인 중수소(deuterium oxide (D<sub>2</sub>O) 99.9%)는 미국 Sigma-Aldrich (MO, USA)사에서 주문하여 사용하였다. One dimensional <sup>1</sup>H 스펙트럼은 부산대학교 공동실험실습관에 배치되어있는 broadband probe가 장착되어 있는 500 MHz Bruker NMR을 이용해서 측정하였다. 용매로 사용되는 물 피크는 pre-saturation (water peak: 4.7 ppm)시키는 single pulse sequence로 27 °C에서 측정되었다. Pre-saturation 과정은 spectral width는 15.02 ppm의 영역이며 5 초의 recycle time 조건을 가졌다.<sup>7,8</sup>

**실험결과**

본 연구에서는 숙취해소에 필요한 미네랄을 Table 1과 같이 제조하여 쥐에게 알코올과 함께 경구투여 후 쥐의 혈액으로부터 NMR을 이용하여 ethanol과 acetoacetate 및

아미노산을 비롯한 몇가지 대사물질들(metabolites)의 비율(ratio)을 측정하여 보았다. Table 1은 해양심층수의 원수를 기준으로 하여 제조하여 실험 수행에 사용하였다.

Figure 1은 실험 쥐의 혈액을 측정한 NMR spectrum으로 2가지의 ethanol metabolites와 12가지의 amino acid 그리고 3가지의 organic acid, 그리고 9가지의 기타 대사물질들을 추적하여 보았다.

체내 섭취된 알코올의 경우 ADH에 의해 acetaldehyde로 전환되고 acetaldehyde는 ALDH에 의해 아세트이트로 전환된다. 따라서 알코올과 acetaldehyde 그리고 acetate의 혈중 농도 변화를 측정하면 숙취 해소능을 측정할 수 있다. Acetaldehyde의 특성상 NMR로 측정이 불가능하지만 ethanol과 acetate는 측정이 가능하여 이들의 농도 변화(pharmacokinetics)를 측정하였다(Table 2). 또한 ethanol/acetate의 비율과 lactate와 pyruvate의 비율, oxidized nicotinamide adenine dinucleotide(NAD)/reduced nicotinamide adenine dinucleotide(NADH) 비율 그리고 glutamine/glutamate 비율을 table 3에서와 같이 비교하여 이들의 상관관계를 측정해 보았다.

Figure 2에 제시된 것처럼 체내에서 알코올은 ADH에 의하여 간에서 산화적으로 대사가 이루어져 아세트알데히드를 생산하며, 대사산물인 아세트알데히드는 비특이적인 ALDH에 의해 산화되어 아세트이트로 전환된다.<sup>9,10</sup> 알코올은 섭취량에 따라 간 대사에 여러 가지 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데 특히 알코올 그 자체보다는 산화과정에서 생성되는 중간 생성물인 아세트알데히드와 NADH가 간세포에 손상을 가져오게 되어 다양한 질병을 유발한다.<sup>9</sup> 또한 알코올의 과량 섭취는 superoxide dismutase의 활성과 지질과산화의 원인이 되어 간 손상을 유발하며, alanine aminotransferase와 aspartate aminotransferase의 활성을 높이게 된다. 그로 인해 알코올의 부산물로 생성된 아세트알데히드는 뇌로 전해져 많은 유해화합물로 변환되어 맥박의 증가나 발한, 홍조, 오심, 구토 등의 증상을 초래할 수 있다.

간에서의 알코올 대사율은 ADH, ALDH의 활성에 영향을 주는 요인들에 의해 조절된다.<sup>11-14</sup>

본 연구에서는 컨트롤의 경우 ethanol/acetate가 19.0:1이었으나 T1의 경우 13.1:1, T2의 경우 10.4:1, T3의 경우 3.9:1 그리고 T4의 경우 6.31:1로 T3가 에탄올이 아세트알데히드로의 전환율이 가장 뛰어난 것으로 측정 되었다 (Fig. 3).

lactate과 pyruvate의 비율은 대조군의 경우 2.96:1로 측정되었으나 T1의 경우 1.95:1, T2의 경우 1.36:1, T3의 경우 0.97:1 그리고 T4의 경우 1.16:1로 T3가 lactate와 pyruvate의 비율이 1:1의 비율에 가장 근접한것으로 측정 되었다.

체내에서 NAD가 소모되어 NADH로 변환되면 NAD를 매개로 하는 효소작용은 저해되고, NADH가 필요한 효소 작용은 지나치게 촉진된다. 따라서 당 합성이 더더지게 되어 저혈당이 생긴다거나, 아니면 지방 분해가 감소해 지방간을 생성시킨다. 당 합성에 NADH가 필요하지만, 인체는 NAD/NADH 균형을 맞추기 위해서 pyruvate를 lactate로 변화시켜 NADH를 소모하고, NAD를 생성하기 때문에 당 합성이 더더지게 된다.

숙취해소 과정에서는 알코올 가수분해효소(alcohol dehydrogenase)는  $NAD^+$  의존적으로 알코올을 아세트알데히드로 전환하고, 따라서 장기간의 알코올 섭취는 간에서  $NADH/NAD^+$  비를 증가시킴으로써 소위 “redox shift” 를 유발하게 된다. 이로 인해 시트르산회로(citric acid cycle) 및 지방산의 베타산화( $\beta$ -oxidation)가 억제되며 lactate으로의 전환이 늘어 lactate/pyruvate 비가 증가한다. 알코올에 의한 산화적, 환원적 스트레스는 간에서 포도당 신생합성뿐만 아니라 혈당 감소에 의한 글리코겐 분해를 억제하게 되며, 간의 글리코겐 저장량에 따라 저혈당이 유발될 수 있다.

Acetoacetate는 fatty acid를 분해시켜 에너지를 생산할 때 생성되는 물질로 3-Hydroxybutyrate로 전환된다. Nicholas *et al* 등에 의한 연구결과와 비교하여 보면, control은 90.03% 감소한 반면 T1, T2, T3, T4 각각 88.48, 89.82, 90.27, 88.84%로

10% 내외로 소량 증가한 반면 3-hydroxybutyrate의 경우 control은 33.49% 감소한 반면 DSWM를 섭취한 T1, T2, T3 그리고 T4의 경우 45.34%, 42.68%, 16.92%, 83.73% 증가하였고 특히 T4의 경우 월등히 증가하였다. 이는 DSWM이 에너지 생성에 관여한다는 의미이며 ethanol만 투여한 경우와 반대되는 결과이며 DSWM은 숙취에 도움을 줄 수 있다는 의미이다.

Glutamine은 간 외부에서 발생하는 암모니아와 결합하여 glutamate로 전환된다. Glutamine의 농도가 control의 경우 4.81% 증가한 반면, T1, T2과 T3는 각각 10.89%, 11.13%, 5.83% 감소한 반면 T4의 경우 53.67%로 크게 증가하였다. Glutamate의 농도는 control이 5.54% 감소한 반면, T1은 32.49%로 증가하였고, T2는 4.87%로 감소하였으며 T3는 20.72% 감소 T4의 경우 85.05%로 크게 증가하였다. T4의 경우 glutamine의 생산이 많아 glutamate의 생성으로 이어지는 것으로 나타났다.

Arginine의 경우 에탄올을 먹이지 않은 정상군과 에탄올 만을 먹인 대조군이 비슷하게 측정된 반면 해양심층수 미네랄을 먹인 T1, T2, T3, 그리고 T4 군은 모두 정상군에 비하여 높게 관찰 되었으며, 가장 미네랄 농도가 높게 섭취된 T1군이 가장 높은 arginine의 농도가 측정되었으며, 반면 가장 적은 농도의 해양심층수 미네랄을 복용한 T4군이 가장 낮은 arginine의 농도를 나타내었다. Citrate는 알코올만 섭취한 실험군의 경우 116.34%로 나타났고 T1, T2, T3 그리고 T4는 각각 350.59%, 245.81%, 96.21%, 79.20%로 나타났다. 이는 미네랄의 농도가 증가할수록 citrate의 양의 점차적으로 증가함을 알 수 있었다. 또한 alanine은 오르니틴 회로 과정에서 암모니아를 요소로 전환하는데 관여한다. T1, T2, T3 그리고 T4는 각각 86.87%, 42.57%, 31.15%, 7.41%로 증가하였고 control은 0.7% 감소하였다. 이 또한 미네랄의 농도가 증가할수록 arginine의 생성이 증가되어 암모니아 제거에 도움을 준다는 것을 의미한다.

Nicholas *et al* 등에 의한 연구결과와 비교하여

보면 alanine의 농도 변화는 72%가 감소하였고 acetate의 경우 1.7배 증가가 측정된 반면에 lactate의 증가와 b-hydroxybutyrate의 감소가 뚜렷하게 관측되지 않았다고 보고하였으나 본 연구결과에서는 T3 group의 경우 alanine이 정상치에 비해 정확히 72% 감소하였고 acetate의 경우 1.59배 증가하여 비슷한 경향성을 나타냈지만 lactate는 3.92배 증가하였고 b-hydroxybutyrate는 1.17배 증가함이 측정되었다.<sup>15</sup> Nicholas *et al* 등의 결과는 비록 간세포에서의 연구결과이고 본 연구는 혈액에서 얻은 측정결과이지만 본 연구에서는 음주후 대사체변화를 NMR로 더 정밀하게 측정할 수 있는 결과를 얻었다.<sup>15</sup> 특히, ethanol의 경우 T3 group이 가장 낮게 나타났으며, acetate의 양이 T3 group에서 가장 높게 측정되었다. 이것은 ethanol이 acetate로 빠르게 전환되었음을 의미하며 이 결과는 숙취를 빠르게 회복할 수 있다는 결과를 의미한다.

또한 T3 group에서 lactate, leucine, isoleucine, leucine, methionine, phenylalanine, threonine의 수치가 가장 높게 나타났고, b-hydroxybutyrate, acetoacetate, alanine, glutamate, glycerol, proline 등이 가장 낮게 측정되었다.

### 고찰

체내 알코올 분해 기작 중 호흡과 땀 그리고 소변으로 배출이되는 경우는 복용한 알코올량의 10%이하이며 90%는 산화작용에 의해 일어난다. 알코올 대사는 ADH pathway와 소포체에 존재하는 microsomal pathway 그리고 퍼옥시좀 내의 catalase pathway로 세 가지 경로를 통해 이루어진다.<sup>16</sup>

이 세가지 알코올 분해 대사중 알코올 가수분해효소와 알데하이드 가수분해효소의 작용이 대부분을 차지하고 있어 알코올 가수분해효소와 알데하이드 가수분해효소의 활성 측정 그리고 에탄올과 아세트알데하이드의 혈중

농도 측정을 통해 숙취제거능을 평가한다. 알코올 가수분해효소와 알데히드 가수분해효소의 활성 측정은 *in vitro* 실험을 통해 측정이 가능하다. 하지만 체내 알코올의 농도와 아세트알데히드의 농도는 *in vivo* 실험을 통해 측정하여야만 한다. 본 연구 시스템 또한 *in vivo* 실험에 기초를 두고 있으나 기존 혈중 에탄올의 농도 및 아세트알데히드의 농도 그리고 lactate/pyruvate, NAD/NADH, acetoacetate/3-hydroxybutyrate, glutamine/glutamate, arginine 과 citrate 등의 숙취 제거시 나타나는 인자들의 경향성을 한번에 측정함으로써 숙취해소능을 보다 정확하고 신속하게 측정할 수 있는 시스템의 기초를 마련하고자 한다.

## 결론

본 연구는 NMR 분광기를 이용하여 실험동물의 체내에서 ethanol/acetate의 비율과 lactate와 pyruvate의 비율, NAD/NADH 비율 glutamine/glutamate 비율의 측정과 arginine과 citrate의 농도변화 등의 연관성을 관찰함으로써 좀 더 숙취해소에 관한 정확한 메커니즘을 밝히는데 기초 자료를 제공할 수 있을 것으로 사료된다. 본 연구는 숙취와 관련된 대사물질인 아미노산 및 유기산 등의 생체물질의 변화를 측정하는 방법으로써 연구결과에 간섭을 줄 수 있는 아미노산이나 당류 등 측정 대상 인자를 공급하지 않고 측정함으로써 알코올 대사와 관련된 물질들과 중복 측정되지 않은 조건으로 숙취 메커니즘을 연구하는데 이용할 수 있는 연구방법이다.

**Table 1.** Comparison of mineral contents of deep sea water (DSW) and sea water. The mineral ingredient content of each DSW and seawater were analyzed by the Adur Outdoor Activities Centre (AOAC) method. (Unit: mg/L)

Elements	Sea water	100% DSW	20% DSW	10% DSW	5% DSW
Na	10,500	6,000	1,200	600	300
Ca	401	3,300	660	330	165
Mg	1,300	1,300	260	130	65
St	8	25	5	2.5	1.25
K	380	16	3.2	1.6	0.8
Mn	0.002	1.9	0.38	0.19	0.095
Zn	0.001	0.68	0.136	0.068	0.034
Fe	0.01	0.18	0.036	0.018	0.009
Gu	0.0006	<0.01	-*	-	-
Ni	0.0005	<0.01	-	-	-
Co	0.0005	<0.01	-	-	-

\* -, not determined.

**Table 2.** Quantitative comparison of 12 metabolites found in blood of normal, control and alcohol treated rats. The relative concentration was determined using <sup>1</sup>H NMR analysis. (%)

	Normal	Control	T1	T2	T3	T4
Alanine	1.368528	1.122952	1.073129	1.513023	0.990145	1.113629
Arginine	0.425183	0.422187	0.794539	0.606186	0.578901	0.456691
Glutamate	0.623971	0.589399	0.826728	0.593564	0.494687	1.154679
Glutamine	0.736981	0.772418	0.656725	0.654937	0.693986	1.132503
Lactate	1.551828	2.104019	2.239607	1.631447	6.086628	3.184995
Pyruvate	1.743398	0.710064	1.149499	1.689539	1.547437	0.887978
Ethanol	0.011201	19.00091	13.09037	10.441059	3.860079	6.313054
Acetate	0.105893	0.425749	0.426908	0.446257	0.656219	0.342081
Glucose	3.365859	2.383734	4.212677	1.170726	3.921959	2.251297
Acetoacetate	11.327023	1.129738	1.305384	1.153455	1.102537	1.263722
3-Hydroxybutyrate	0.683495	0.454570	0.993399	0.975201	0.799142	1.255788
Citrate	0.102779	0.222359	0.463114	0.355419	0.201662	0.184183

**Table 3.** Concentration ratios of 8 metabolites found in blood of normal, control, and alcohol treated rats. Abbreviations are as follows: E/A, Ethanol/Acetate; L/P, Lactate/Pyruvate; A/3-HB, Acetoacetate/3-Hydroxybutyrate; Gln/Glu, Glutamine/Glutamate.

	Normal	Control	T1	T2	T3	T4
Ethanol	0.011201	19.00091	13.090369	10.441059	3.860079	6.313054
Acetate	0.105893	0.425749	0.426908	0.446257	0.656219	0.342081
E/A	2.180983	44.62927	30.66321	23.396969	5.882303	18.454849

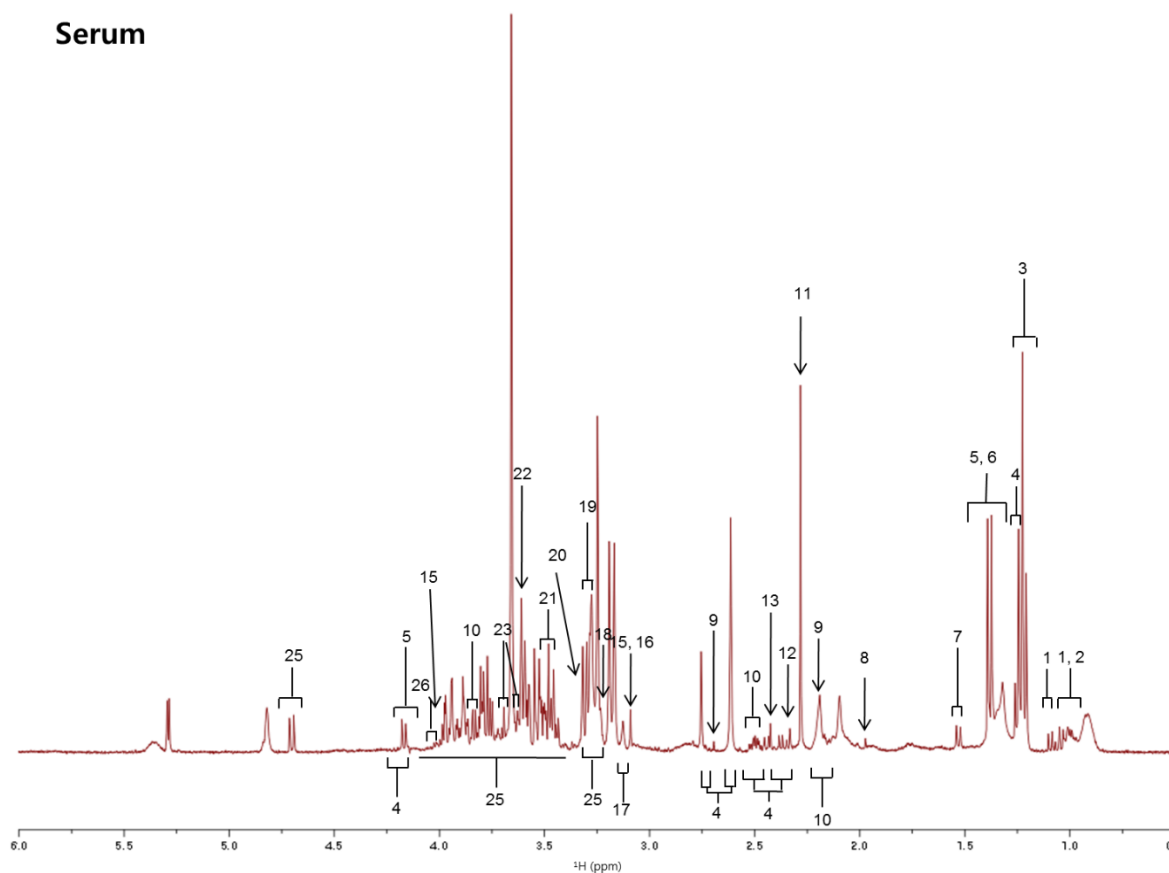
	Normal	Control	T1	T2	T3	T4
Lactate	1.551828	2.104019	2.239607	1.631447	6.086628	3.184995
Pyruvate	1.743398	0.710064	1.149500	1.689539	1.547437	0.887978
L/P	0.890117	2.963140	1.948331	0.965617	3.933361	3.586795

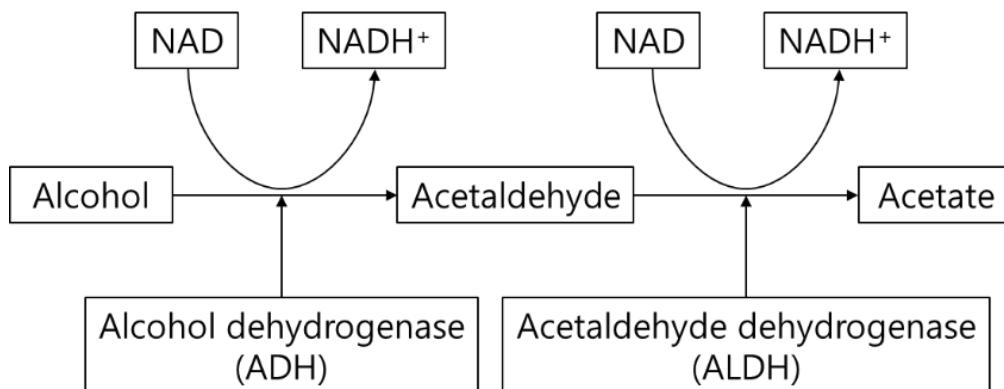
	Normal	Control	T1	T2	T3	T4
Acetoacetate	11.327029	1.129738	1.305384	1.153455	1.102537	1.263722
3-Hydroxybutyrate	0.683495	0.454579	0.993399	0.975201	0.799142	1.255788
A/3-HB	16.572219	2.485235	1.314058	1.182787	1.379651	1.006318

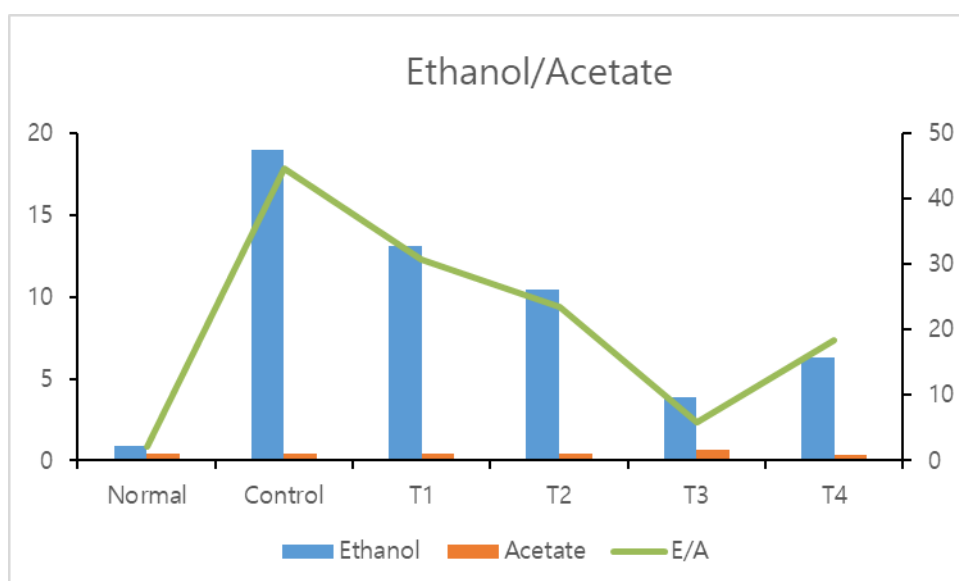
	Normal	Control	T1	T2	T3	T4
Glutamine	0.736987	0.772418	0.656725	0.654937	0.693986	1.132503
Glutamate	0.623971	0.589400	0.826728	0.593564	0.494687	1.154679
Gln/Glu	1.181114	1.310516	0.794366	1.103397	1.402879	0.980795



**Figure 1.** One-dimensional proton NMR analysis of serum. NMR spectra of serum obtained at 6 h after the post-administration of several concentration of deep sea water. Numbers indicate individual metabolites as follows: 1, isoleucine/valine; 2, leucine; 3, ethanol; 4, 3-hydroxybutyrate; 5, lactate; 6, threonine; 7, alanine; 8, acetate; 9, methionine; 10, glutamine; 11, adipic acid; 12, acetoacetate; 13, pyruvate; 14, citrate; 15, creatine; 16, creatinine; 17, lysine; 18, choline; 19, arginine; 20, trimethylamine N-oxide; 21, proline; 22, glycine; 23, glycerol; 24, ethylene glycol; 25, glucose; 26, phenylalanine.



**Figure 2.** Schematic representation of alcohol metabolism. Hepatic metabolic changes associated to ethanol metabolism are shown. ADH, ALDH, NAD and NADH<sup>+</sup> indicate alcohol dehydrogenase, acetaldehyde dehydrogenase, and oxidized and reduced nicotinamide adenine dinucleotide, respectively.



**Figure 3.** Effects of DSMW on the blood alcohol concentration of rats. Each point represents the mean±SD for group of six rats. Results of the control group (alcohol plus distilled water and group treated with DSMW(T1-T4) (alcohol plus DSMW) are shown. \*p<0.05 and \*\*p<0.01 indicate, significances of results.



## 감사의 글

본 연구는 2018년 Brain Busan 21+ 사업에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

## References

1. S. J. Lee, A. Kim, J. H. Lee, M. H. Kim, B. S. Lee, Y. T. Jee, J. H. Bin, and J.-M. Ha, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **40**, 393 (2011)
2. Swift R. and Davidson D., *Alcohol Health Res. World* **22**, 54 (1998)
3. S. Y. Park and J. W. Kim, *Kor. J. Pharmacogn.* **23**, 264 (1992).
4. M. Das, P. Sur, A. Gomes, J. R. Vedasiromoni, and D. K. Ganguly, *Phytother. Res.* **1**, 40 (2002)
5. J. H. Lee and S.R. Lee, *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 317 (1994)
6. D. S. Moon, D. H. Jung, H. J. Kim, and P. K. Shin, *J. Korean Soc. Marine Env. & Energy* **7**, 42 (2004)
7. Y. -S. Jung, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **22**, 46 (2018)
8. D. Yoon, M. Lee, S. Kim, and S. Kim, *J. Kor. Magn. Reson. Soc.* **17**, 1 (2013)
9. R. D. Hawkins and H. Kalant, *Pharmacol. Rev.* **24**, 67 (1972)
10. R. C. Lim and T. K. Li, *Am. J. Clin. Nutr.* **68**, 1512 (1998)
11. O. A. Forsander and C. R. Raiha Niels. *J. Biol. Chem.* **235**, 34 (1960)
12. M. D. Wheeler, M. Nakagami, B. U. Bradford, T. Uesugi, R. P. Mason, H. D. Connor, A. Dikalova, M. Kadiiska, and R. G. Thurman, *J. Biol. Chem.* **276**, 36664 (2001)
13. M. Abdellah, C. Demelliers, S. Amsellem, D. Pessayre, and B. Fromenty, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **298**, 737 (2001)
14. J. S. Kim, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 318 (2004)
15. P. C. Nicholas, D. Kim, F. T. Crews, and J. M. Macdonald, *Chem. Res. Toxicol.* **21**, 408 (2008)
16. C. S. Lieber, *Clin. Chim. Acta* **257**, 59 (1997)