

참깨 種實의 抗酸化 成分 定量分析 研究

柳守魯*, 李正日*, 姜三植**, 崔彰烈***

Quantitative Analysis of Antioxidants in Sesame Seed

Su Rho Ryu*, Jung Il Lee*, Sam Sik Kang**, and Chang Yoel Choi***

Abstract : This study was conducted to obtain basic informations on the lignan components from sesame seed. Two major lignans, sesamin and sesamol, were isolated and identified by means of spectral methods, and quantitative analysis was by HPLC from sesame variety Danbaeggae. Separation was achieved by isocratic elution and reversed phase chromatography Develosil ODS column. The content of the major lignan components were about 0.42% and 0.30% for sesamin and sesamol, respectively.

Keywords : Sesame, *Sesamum indicum*, Lignan, HPLC, Sesamin, Sesamol

참깨 기름은 그 고소한 맛과 독특한香氣가 우리 國民嗜好에 알맞아 調味食用油로 널리 利用되고 있는데, 참깨기름은 올레인산과 리놀산의 含有率이 높고, 강력한 抗酸化 效果를 가진 lignan계 抗酸化物質을 다량 含有하고 있어서 그 品質이 優秀하다.^{22,23,24} 특히 最近에는 참깨에 含有되어 있는 抗酸化 物質이 體脂質의 過酸化脂質移行을 防止내지는 遲延시키므로써 老化를 沮止 遲延시키는 有效成分으로 알려지면서 食用油으로써 보다 健康食品으로 크게 各광을 받고 있다.²³

참깨에 含油되어 있는 重要한 抗酸化性 物質은 lignan成分(sesamin과 sesamol)으로 이것이 모든 栽培種의 참깨에 含油되어 있으며, 또다른 抗酸化性 物質인 sesangolin은 野生種(Sesamun

angolense)에 含油되어 있음이 報告되고 있다.²²

Sesamin은 1890年 Tocher에 의해 처음으로 分離되었으며^{22,26} 이는 참깨뿐만아니라 *Hydrocotyle sibthorpioides*, *Zanthoxylum piperirum*(초피나무, 운향과),¹⁵ 죽두리풀(*Asarum sieboldii* var. *Seoulensis* Nakai, 쥐방울과),¹⁵ *Paulownia tomentosa*(참오동나무),²¹ *Acanthopanax Senticosus* f. *inermis*(좀가시오갈피나무),³⁰ *Fagara species*와 *Findersia pubescens*등 여러식물에서 發見되고 있다.^{21, 23}

Adraiani에 의해 命名된 sesamol은 1903年 Kreis에 의해 처음으로 分離되었으며 이 成分은 5.50(1H, s, H-6), 5.92(2H, s, OCH₂O), 5.95(2H, s, OCH₂O), 6.50(1H, dd, *J*=2.3, 8.4Hz,

* 作物試驗場(Crop Experiment Station, Suwon, Korea)

** 서울大學校 天然物科學研究所(Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul, Korea)

*** 忠南大學校 農科大學(College of Agriculture, Chung Nam National University, DaeJeon, Korea) <원고접수 : 1992.8.12>

오직 참깨에만 있는 것으로 알려져 있다.^{7,20)}

本 研究는 高抗酸化 良質참깨 育種의 體系確立을 위해서 참깨에 있는 天然抗酸化性 物質인 lignan成分(Sesamin, Sesamol)을 同定하고 그 分析技術을 開發하고자 遂行되었다.

材料 및 方法

本 試驗은 서울大學校 天然物科學研究所에서 실시하였으며 供試材料는 1991年 作物試驗場 圃場에서 栽培한 單白깨를 사용하였다. 본 실험에 사용된 試藥과 器機는 다음과 같다.

1) 試 藥

Column chromatography용 Silicagel; Kieselgel (70~230mesh ASTM Merck Art, 7729, 7734)

Thin layer chromatography용 precoated plates : Kieselgel 60F 254(Merck Art 5715) 발색은 螢光 lamp(254nm)에서 20% H₂SO₄ 분무한 후 加熱하여 發色하였다.

2) 器 機

mp : Mitamura Riken micro melting point apparatus(uncorrected)

UV : Gilford System 2600

NMR : Bruker AM-300 Spectrometer

MS : Hewlett Packard Model HP 5985B GC /MS System

HPLC : Spectra physics의 정량분석용 liquid Chromatograph(Model SP 8800)로서 UV detector(spectra 100, Variable wave length) Integrator(SP 4270) 및 Rheodyne injection Valve(10 μ l)가 부착된 것을 사용하였으며 Column은 Nomura Chemical Co.의 Develosil ODS-10(10 μ m, 8.0mm,i.d.×25cm)을 사용하였다.

3) 抽出 및 分劃

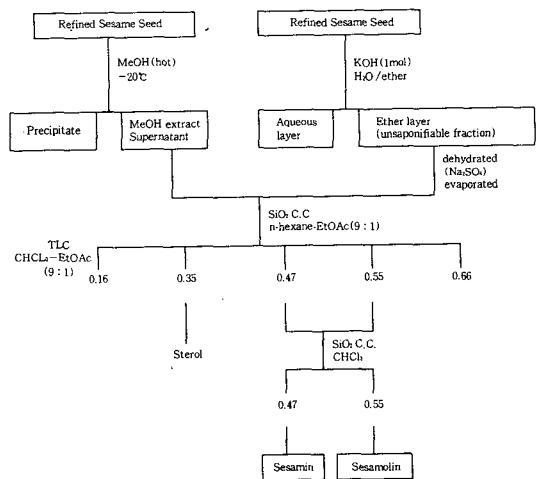
單白참깨 3kg을 압착하여 oil을 얻고 이를 Fukuda 등의 方法^{8,9,10,11,12,13)}에 따라 oil에 MeOH

을 가하여 격렬하게 진탕한 후 -20℃에서 하룻밤 decantation하여 MeOH層과 油層으로 分離하였다(scheme 1). 같은 操作을 3회 反復하여 얻은 MeOH층을 濃縮하여 MeOH엑스를 얻었다. 한편 Kamal 등의 方法¹⁷⁾에 따라 oil에 MeOH을 가하고 1시간 加熱하여 儉化시켰다. 反應液을 濃縮한 후 물을 가하고 ether를 가하여 分액여두를 使用 진탕방치하여 얻은 ether층을 무수망초로 脫水한 후 濃縮하여 不儉化物을 얻었다.

위의 두 方法에 따라 얻은 엑스는 CHCl₃-EtOAc(9 : 1)을 전개용매로 使用하여 實施한 TLC 結果 Fig. 1와 같이 同一한 chromatogram을 보여주었으므로 이후 엑스를 합하여 silicagel column을 實施하였다. 즉 n-hexane-EtOAc(9 : 1)로 용매를 使用해서 5개의 分劃을 얻고 이중 分劃 3을 silicagel column에 CHCl₃ 溶媒로서 溶출시켜 Rf 0.47 및 0.55에서 단일 spot를 나타내는 2개의 分劃을 얻었다. 두 分劃을 MeOH로 再結晶을 反復하여 각각 침상 결정을 얻었다.

4) HPLC의 分析條件

分析條件은 이동상으로는 MeOH-H₂O(75 : 25)을 使用해서 isocratic elution시켰다. 分析은 실온에서 實施하였으며 용매의 유속은 3ml /min, UV detector는 285nm를 使用하였으며 감도는 0.



Scheme 1. Isolation of lignan Components from Sesame Seed.

05AUFS, Chart speed는 0.5cm/min으로 하였다.

5) 표준 검량선

Sesamin과 sesamol의 標準物質을 각각 25mg 정량하여 MeOH 25ml에 용해시킨 溶液을 stock solution으로해서 이를 일정량씩 취한 후 각각에 MeOH을 가해 1000, 800, 500, 200 μ g/ml가 되게 調製하였다. 만든 溶液을 각각 10 μ l씩 취하여 chromatogram을 얻고 각각의 chromatogram으로부터 peak area을 구하여 검량선을 作成하였다.

結果 및 考察

本 實驗에서는 참깨 種實에 있는 Lignan成分을 抽出하기 위해서 Fukuda 등의^{8,9,10,11,12,13}의 MeOH에 의한 抽出方法과 Kamal 등¹⁷의 Ether에 의한 方法을 適用하였던 바 Ether에 의한 抽出分離의 方法에서는 不儉化에 의하여 減壓濃縮이 容易하지 않았으며 MeOH 冷溫處理에 의한 方法에 의해 容易하게 抽出 分離되었다. 本 實驗에서는 n-hexane과 EtOAc 분리비가 9:1인 극성이 낮은 상태에서 分離가 容易하였다. 두 方法에 의해 抽出된 液體를 TLC한 結果는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 나타났다. Fig. 1에서 分離된 두가지 단일 spot를 CHCl₃로 再分離하고 MeOH로 再結晶을 反復하여 각각 針象結晶을 얻었으며, 얻어진 針象의

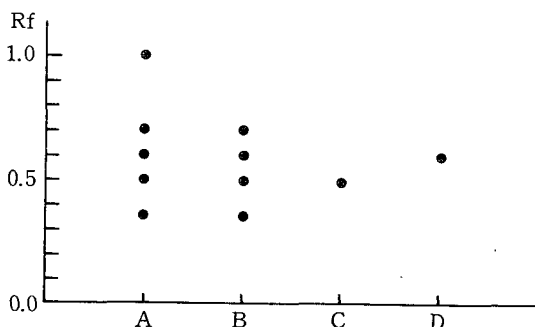


Fig 1. TLC Chromatogram of the methanol extract (A) and unsaponifiable fraction(B) on silica-gel plate with chloroform/ethyl ether (9:1, v/v) as mobile phase (C) sesamin, (D) sesamol

結晶을 mp. UV, NMR(¹H-NMR, ¹³C-NMR) MS등으로 確認하여 각각 sesamin 및 sesamol을 確認할 수 있었다.

分離된 Rf 0.47의 分光學的 data를 종합해 본 결과 Fig. 2의 sesamin과 일치하였다.^{1,2,4,9}

mp 122-3°

UV λ_{max} nm(log ϵ) 237(3.83), 287(3.78).

¹H-NMR(CDCl₃) δ : 3.03(2H, br s, H-1, 5), 3.86(2H, dd, J =3.6, 9.2Hz, H-4ax, 8ax), 4.23(2H, dd, J =6.9, 9.2Hz, H-4eq, 8eq), 4.71(2H, d, J =4.3Hz, H-2, 6), 5.93(4H, s, 2 \times OCH₂O), 6.75~6.84(6H, m, H-2', 5', 6', 2'', 5'', 6'').

¹³C-NMR(CDCl₃) δ : 54.3(C-1, 5), 71.7(C-4, 8), 85.7(C-2, 6), 101.0(2 \times OCH₂O), 106.5(C-2', 2''), 108.1(C-5', 5''), 119.3(C-6', 6''), 135.0(C-1', 1''), 147.1(C-4', 4''), 147.9(C-3', 3'').

Mass m/z (rel. int., %) 354[M⁺](9.0), 203(7.8), 178(6.0), 161(17.6), 150(35.4), 149(100), 135(37.0).

또한 分離된 Rf 0.55의 分光學的 data를 종합해 보면 Fig. 2의 sesamol의 化學構造와 일치하고 있다.^{1,2,4,9}

mp 93-94°

UV λ_{max} nm(log ϵ) 235.5(3.95), 289(3.91).

¹H-NMR(CDCl₃) δ : 2.93(1H, m, H-1), 3.30(1H, m, H-5), 3.64(1H, dd, J =7.5, 9.1Hz, H-4ax), 3.96(1H, br d, J =9.1Hz, H-8ax), 4.13(1H, dd, J =6.1 9.1Hz, H-8eq), 4.39(1H, d, J =7.7Hz, H-2), 4.44(1H, t, J =9.1Hz, H-4eq),

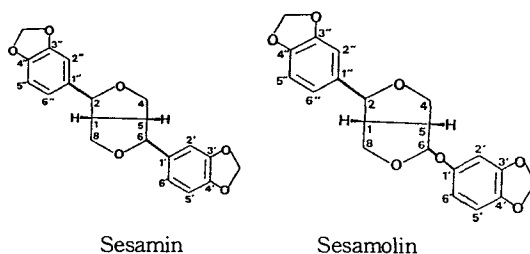


Fig 2. Chemical Structure of Sesamol and Sesamin

H-6'), 6.62(1H, d, $J=2.3$, Hz, H-2'), 6.71(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.78(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5'), 6.82(1H, dd, $J=1.2, 8.0$ Hz, H-6'), 6.88(1H, d, $J=1.2$ Hz, H-2').

Mass m/z (rel. int., %) 370 [M^+](7.2), 203(11.9), 233(8.8), 161(0.3), 150(3.5), 149(7.6), 135(100).

참깨중에는 sesamin과 sesamol 외에 lignan-phenol에 속하는 sesamolol, pinoresinol, sesamol 및 P₁ 등이 微量으로 發見되고 있다.⁷⁾ 그러나 本實驗에서는 이들 成分에 대한 peak가 同定되지 않았다. 그것은 이러한 成分들이 극히 微量일 뿐만 아니라 不安定한데 그 原因이 있는 것으로 推測되지만 앞으로 더 檢討되어야 할 것이다.

Fig. 3은 참깨 種實 5g을 MeOH로 3回 25ml volum flask에 取해서 HPLC로 分析한 결과로서, 이는 sesamin과 sesamolol의 標準物質과 同一한 peak를 나타내었다. 따라서 sesamin의 retention time은 9분대 sesamolol은 11분대가 됨을 알 수

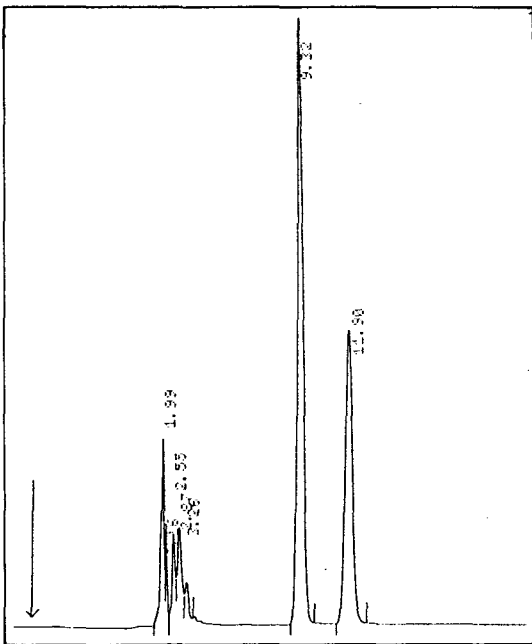


Fig 3. HPLC Chromatogram for MeOH extract from sesame seed ; Column, Develosil ODS-10

있었다.

確認된 lignan 成分의 含量을 決定하기 위해서 표준檢량선을 작성하여 Fig. 4에 나타내었다. 이 檢량선의 회귀직선의 방정식은 sesamin이 $y=53924.43+1277.93x$ ($r=0.9993$)이며 sesamolol이 $y=11034.95+1188.38x$ ($r=0.9994$)로 추정 되었으며 相關係數가 1.0에 접근하여 標準物質의 濃도(x)와 peak area(y) 간에는 直線적인 關係가 인정되었다.

單白깨의 sesamin, sesamolol 含量을 決定하기 위해서 調製한 혼액의 일정량을 取하여 HPLC로 分析하였으며 이로부터 얻은 平均 area값(y)은 sesamin이 1119727 sesamolol이 723969이었다. 이를 회귀방정식에 대입해서 濃도(x)을 구한 結果 각각 834.01, 599.92mg/ml이었다. 따라서 25ml 중에는 20.85mg, 15.00mg한 결과로 sample 중에는 각각 0.42%, 0.3%였다.

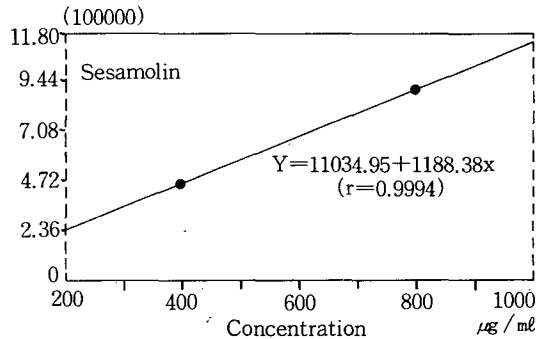
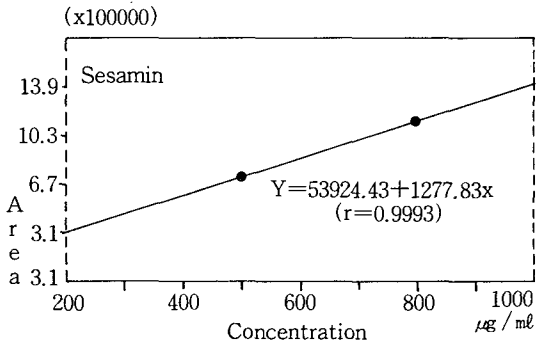


Fig 4. Calibration curves for Sesamin and Sesamolol

摘 要

本 研究는 高抗酸化 良質 育種의 體系確立을 위 해서 참깨에 있는 特殊成分인 sesamin, sesamol의 標準物質을 同定하고 그 分析技術을 開發하였 는바 그 結果는 다음과 같다.

1. 韓國產 참깨로부터 sesamin, sesamol 成分을 分離하여 化學的 構造를 分光學的 方法(UV, ^1H 와 ^{13}C -NMR, MS)으로 확인하여 sesamin, sesamol의 標準物質을 同定하였다.
2. 참깨 lignan성분의 抽出 및 分離에는 Unsa-ponifiable fraction 보다 MeOH 冷溫處理가 더 效果的이었다.
3. 검량선의 回歸直線의 방정식은 sesamin에서 $y=53924.43+1277.93x(r=0.9993)$ 이었고 sesamol의 경우는 $y=11034.95+1188.38x(r=0.9994)$ 로 추정되었다.
4. 韓國產 참깨의 lignan 成分含量은 單白깨의 경 우 sesamin 0.42% sesamol 0.3%로 나타났다.

引用文獻

1. Bedigian, D. 1985, *Sesamum indicum* L, Crop origin diversity, Chemistry and ethobotony. Dissertation Abstracts International, 45(11) : 3410-3411.
2. Bedigian, D, D.S. Seigler and J.R. Haran. 1985. Sesamin, sesamol and the origin of sesame. *Biochemical Systematics and Ecology* 13(2) : 133-139.
3. Budowski, P. and K.S. Marley 1951. The chemical and physiological properties of sesame oil. *Chem. Rev.* 48 : 125-151.
4. Beroza, M. 1954. Pyrethrum synergists in sesame oil. sesamol, a potent synergist, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 31, 302.
5. Beroza, M. 1954. Determination of sesamin, sesamol, and sesamol, *Analytical Chemistry*, 26(7), 1173.

6. Beroza, M. and M. L. Kinman 1955. Sesamin, sesamol, and sesamol content of the oil of sesame seed as affected by strain, location grown ageing, and frost damage, *Am. Oil Chem. Soc.*, 32, 348.
7. 福田靖子, 立木滿夫, 1988. 食品科學. Recent Studies on Sesame Seed and Oil.
8. Fukuda, Y., T. Osawa, M. Namiki and T. Ozaki 1985, Studies on the antioxidative substances in sesame seed, *Agric. Biol. Chem.*, 49(2), 301.
9. ———, M. Nagata, T. Osawa and M. Namiki 1986. Contribution of lignan analogues to antioxidative activity of refined unroasted sesame seed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 63 : 1027-1031.
10. ———, ———, ——— and ——— 1986. Chemical aspects of the antioxidative activity of roasted sesame seed oil and the effect of using the oil for frying. *Agric. Biol. Chem.* 50 : 857-862.
11. ———, T. Osawa, S. Kawakishi and M. Namiki 1988. Comparison of contents of sesamol and lignan antioxidants in sesame seeds cultivated in Japan *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 35 : 483-486.
12. ———, ———, M. Namiki and T. Ozaki 1985 Studies on antioxidative substances in Sesame Seed. *Agric. Biol. Chem* 49(2). 301-306.
13. ———, M. Isobe, M. Nagata, T. Osawa and M. Namiki 1986. Acidic transformation of sesamol, the sesame oil constituent, into an Antioxidant bisepoxy-lignan, sesaminol, *Heterocycles*, 24(4), 923.
14. ———, M. Nagata, T. Osawa and M. Namiki 1986. Contribution of lignan analogues to antioxidative activity of refined unroasted sesame seed oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63(8), 1027.
15. H. Ina, A. Asai, H. Iida and T. Ushida 1987

- Planta Med 53:228.
16. Hong-yen Hsu, Yuh-pan Chen, Mina Hong, The chemical constituents of oriental herbs, Brion Research Institute of Taiwan, 214-217.
 17. Kamal-Eldin A, G. Yousif and L.A. Appelqvist 1991. Thin-Layer chromatographic separations of seed oil unsaponifiables from four sesamum species. JAOCS. Vol. 68. (11)844~847.
 18. Kikugawa, K., M. Arai and T. Kurechi 1983. Participation of sesamol in stability of sesame oil, J. Am. Oil Chem Soc., 60(8), 1528.
 19. Kinman, M.L. and S.M. Stark 1954. Yield and chemical composition of sesame as effected by variety and location grown. J. Amer. Oil Chem. Soc. 31(3) : 104-108.
 20. Lyon. C.K : 1972 Sesame current knowledge of composition and use. J. Am. Oil chem. Soc., 49, 245.
 21. 박유미, 장성기, 김연수, 김박광 1991. 藥學會誌 35.147.
 22. 辛孝善, 1989. 主要한 油料作物 種子油의 品質 特性 '89 農振廳 심포지엄 8 : 138-152.
 23. 辛孝善, 1973. 참깨에 대한 食品營養學的인 研究. 韓國食品學會誌 5(2) 113-118.
 24. Suarez, C.C., R.T.O'Connor, E. T. Field, and W. G. Bickford 1952. Determination of sesamol, sesamolin, and sesamin in sesamin concentrates and oils, Analytical Chemistry, 24(4), 668.
 25. Tashiro, T., Y. Fukuda, T. Osawa and M. Namiki 1990. Oil and minor components of sesame (*Sesamum indicum* L.) strains. J. Am. Oil Chem. Soc. 67 : 508-511.
 26. Tashiro, T., Y. Fukuda, and T. Osawa 1991. Oil content of seeds and minor components in the oil of sesame, *Sesamum indicum* L., as affected by capsule position. Japan. Jour. Crop Sci. 60(1) : 116-121.
 27. 禹源植 1984. 天然物化學研究法. 民音社, 11-44.
 28. Weiss, E.A. 1971. Castor, sesame and safflower. Leonard Hill, London : 311.
 29. Yermanos, D.M., S. Hemstreet, W. Saleeb and C.K. Huszar 1972. Oil content and composition of the seed in the world collection of sesame introductions. J. Am. Oil Chem. Soc. 49 : 20-23.
 30. 육창수, 김선창, 김창중, 한덕룡 1991. 藥學會誌 35. 147.