

# 참깨 리그난 성분 분석법

김금숙

작물과학원

## I. 서 언

참깨는 참깨과(Pedaliaceae) 참깨속(Sesamum)의 1년생 초본식물(*Sesamum indicum* L)로서 오랜 옛날부터 재배되어 온 유류식물이며 볶은 참깨나 참기름은 우리나라 식단에서 아주 중요한 조미용 양념이자 식용기름이다. 참깨에는 세사민과 세사몰린 같이 그 자체가 항산화력을 가지거나 또는 가공 중에 항산화 성분으로 전환되는 전구체로서의 리그난 성분들이 다량 함유되어 있어 인체에서 항산화 등 아주 유용한 생리활성 작용들을 한다. 참기름, 참깨셀러드유는 모두 산화안정성이 매우 높는데, 이것은 참깨의 항산화 성분인 리그난 화합물 때문이다. 세사민은 참깨에 가장 많이 함유되어 있는 리그난 화합물로서 특히 구조적 특성 때문에 *in vitro*에서는 항산화 활성을 나타내지 않지만 *in vivo*에서는 항산화 활성을 나타낸다. 그 외 세사민은 고도의 불포화지방산 대사 조절, 간장에서 지방산의 합성 감소, 콜레스테롤 흡수와 합성을 저해함으로써 콜레스테롤 농도 저하, 알콜분해를 촉진시키므로써 간 기능의 개선 및 항고혈압 효과와 암세포 증식 억제 효과 등이 우수한 것으로 알려져 있다. 또 세사몰린 역시 참깨에 다량 함유된 리그난 화합물로서, 세사몰린은 참깨의 착유 공정에서 세사몰과 세사미놀과 같은 항산화력이 우수한 물질로 전환되게 된다. 즉 세사몰린은 참깨 항산화 활성 물질인 세사몰, 세사미놀의 전구체로 아주 중요한 리그난 화합물이다. 본 장에서는 참깨의 주요 리그난 성분인 세사민과 세사미놀을 추출하는 다양한 방법과 HPLC 분석법으로 두 성분의 함량을 정량하는 방법에 대하여 살펴보기로 하겠다.

## II. 분석방법

### 1. 추출방법

참깨의 세사민, 세사몰린의 경우 참깨에 약 4-5 mg/g 정도로 다량 함유되어 있어 HPLC 분석으로 검출이 매우 용이하므로 불필요하게 농도로 추출할 이유가 없다. 즉, 추출용매와 추출시간이 비교적 적게 들고 소량의 참깨시료로부터 단시간내에 효율적으로 리그난 화합물을 추출할 수 있는 방법을 사용하는 것이 바람직하다. 아래 추출 방법은 여러 연구자들이 보고

Corresponding author: (Phone) +82-31-290-6832 (E-mail) kimgs@rda.go.kr

한 방법을 서로 비교하기 위해 설명하였으며 연구자는 실험실 보유 장비나 실험 여건 등을 고려하고 회수율을 비교하면서 추출방법을 선택하도록 한다.

## 1) Homogenizer 이용법

### (1) 시약, 기구 및 기기

- ① EP 급 에탄올
- ② 증류수
- ③ Homogenizer
- ④ 원심분리기
- ⑤ 원심분리기용 시험관(centrifuge tube)
- ⑥ 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter

### (2) 추출방법

- ① 건조중자 0.2 g를 원심분리기용 시험관에 넣고 추출용매 80% 에탄올 10 ml를 넣는다.
- ② 30초 정도 homogenizer로 추출한 후 6°C에서 6분간 17,500 rpm에서 원심분리한다.
- ③ 원심분리후 상층의 상등액만 취하고 남아있는 잔사에 다시 80% 에탄올 10 ml를 넣고 2차 추출을 한다.
- ④ 2차 추출물도 1차와 동일한 과정으로 원심분리하여 상등액을 취하고 1, 2차 상등액은 합쳐서 최종 부피를 20 ml로 정용한다.
- ⑤ 이렇게 준비된 최종 추출물은 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter로 여과한 후 HPLC 분석용 시료로 사용한다.

## 2) 환류추출법

### (1) 시약, 기구 및 기기

- ① EP 급 메탄올
- ② 증류수
- ③ 환류추출장치
- ④ 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter

### (2) 추출방법

- ① 마쇄한 중자 5 g를 환류추출용 둥근 플라스크에 담고, 메탄올 50 ml을 함께 넣어서 85°C에서 3시간 환류추출한다.
- ② 환류추출이 끝나면 No.2 여과지로 추출액을 여과한다.
- ③ 여과액은 최종 25 ml로 최종 농축한 후 20°C에서 하루 방치한다.
- ④ 이렇게 준비된 최종 추출물은 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter로 여과한 후 HPLC 분석용 시료로 사용한다.

### 3) 진탕추출법

#### (1) 시약, 기구 및 기기

- ① EP 급 메탄올
- ② 원심분리기
- ③ 원심분리기용 시험관(centrifuge tube)
- ④ 부피계량 플라스크(volume metric flask)
- ⑤ 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter

#### (2) 추출방법

- ① 마쇄한 종자 1 g과 메탄올 40 ml를 원심분리용 시험관(centrifuge tube)에 넣고 시험관을 눕힌 상태에서 1시간 30분간 진탕추출한다.
- ② 추출 후 시험관은 1,200 rpm에서 15분간 원심분리한다.
- ③ 원심분리 후 상등액은 50 ml 부피계량 플라스크에 넣고 최종 부피를 50 ml로 정용한다.
- ④ 이렇게 준비된 최종 추출물은 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter로 여과한 후 HPLC 분석용 시료로 사용한다.

## 2. HPLC 분석법에 의한 세사민, 세사몰린 함량 정량법

식물체가 함유한 유용한 이차대사산물 중에서 특히 휘발성이 없고 구조적으로 UV 발색단을 가지고 있는 화합물들은 HPLC-UV검출기로 함량 정량분석이 용이하다. 따라서 HPLC로 세사민, 세사몰린을 분석함으로써 정확하고 재현성 있는 결과를 기대할 수 있고 비교적 분석 시간은 짧기 때문에 대량의 시료도 용이하게 분석할 수 있는 잇점이 있다. 다만 여러 연구자들은 자신이 보유한 컬럼의 상태와 HPLC 시스템에 따라 이동상의 유속을 조금씩 변경할 수 있기 때문에 동일한 컬럼과 이동상 조건에서도 세사민과 세사몰린의 머무름 시간대가 다소 차이가 날 수 있다. 또 연구자는 역상 컬럼이면서 컬럼 사이즈와 충전제 입자 크기가 유사한 컬럼이면 기보고된 참고문헌상의 컬럼을 변경하여 사용할 수 있다.

#### 1) 시약, 기구 및 기기

- (1) HPLC 급 메탄올
- (2) HPLC용 초순수
- (3) HPLC 컬럼: Nova-Pak C18(3.9 $\times$ 150 mm)
- (4) 고속액체크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography: HPLC)
- (5) Autosampler

#### 2) 분석방법

- (1) 이동상으로 65% MeOH를 제조하기 위해 HPLC용 MeOH과 초순수를 혼합하여 제조하고 65% MeOH 용매는 일단 진공하에서 HPLC 용매 여과용 membrane filter가 장

참깨 리그난 성분 분석법

- 착된 funnel로 여과한 후 30분 정도 초음파 장치에서 다시 탈기하여준다.
- (2) 이동상 65% MeOH은 분석자가 사용하는 컬럼 상태와 HPLC 시스템에 따라 가장 분리능이 좋다고 판단되는 조건으로 조성을 조금씩 변경할 수 있는데, 80% MeOH 이 동상 조건으로 분석한 사례도 있다.
  - (3) 0.45 μm membrane filter로 여과된 최종 참깨 추출물 시료를 autosampler vial에 담아서 autosampler에 넣는다.
  - (4) 이동상의 유속과 UV 검출기 파장 등 HPLC 조건을 아래와 같이 하여 세사민, 세사몰린 분석을 실시한다.

**Table 1.** HPLC condition for determination of sesamin and sesamol.

	HPLC condition
HPLC system	TSP Spectra SYSTEM P2000, AS1000
Column	Nova-Pak C18(3.9×150 mm)
Mobile Phase	65% MeOH
Flow rate	0.8 ml/min
Detector	UV 290 nm

3) 검량선 작성법

- (1) 리그난 화합물 표준정량 곡선을 작성하기 위해 세사민 농도는 0.107, 0.085, 0.064, 0.043, 0.021, 0.010 mg/ml로 하였고, 세사몰린 농도는 0.110, 0.088, 0.066, 0.044, 0.022, 0.011 mg/ml로 하였다.
- (2) 준비된 농도별 세사민, 세사몰린 표준품은 각각 autosampler vial에 넣고 autosampler에서 자동으로 컬럼에 주입되도록 하고 Table 1의 HPLC 분석 조건으로 분석하였다.
- (3) 분석하여 얻은 표준품들의 피크 면적(peak area)은 분석 시료의 피크 면적을 모두 포괄할 수 있는 농도 범위인지 확인하고 그렇지 않을 경우 모든 분석 데이터의 범위를 모두 포함하도록 표준품의 농도를 추가하여 분석한다.

4) 계산법

(1) 검량선 작성

- ① 표준품 농도를 X 값으로, 각 농도에 해당하는 피크 면적들을 Y 값으로 하여 검량선을 작성한다.

$$Y=aX+b$$

- X: 세사민 또는 세사몰린 표준품의 분석 농도
- Y: 세사민 또는 세사몰린 표준품을 HPLC로 분석하여 얻은 피크 면적

(2) 시료 중 세사민, 세사몰린 함량

- ① 표준품들의 검량선이 작성되면 아래의 식에 HPLC 분석으로 얻은 시료들의 피크 면적(Y)들을 대입하여 시료들의 농도(X)를 구한다.

$$X=(Y-b)/a$$

② 표준품의 검량선에 대입하여 얻은 각 시료들의 농도(mg/ml)를 참깨 시료의 중량 비로서 표기하기 위해 아래의 식을 이용하여 함량을 구한다.

- 세사민 또는 세사몰린 함량 (%)
 
$$= X \text{ (mg/ml)} \times 1/\text{시료무게(g)} \times 1 \text{ (g)/1000 (mg)} \times \text{시료 최종부피(ml)} \times \text{수분보정치} \times 100$$
- 수분보정치=100/(100-수분함량)
- 수분함량: 건조시료 단위 g에 대한 수분함량(%)

### 5) 비교

- (1) HPLC 분석 컬럼은 역상컬럼이면서 유사한 크기의 것이면 모두 활용가능하다.
- (2) 사용하는 HPLC 컬럼의 조건에 따라 이동상의 유속도 세사민과 세사몰린이 잘 분리 되면서 컬럼에 지나친 압력이 걸리지 않는 범위에서 약 1.0 ml/min 내외로 유동성있게 변화시킬 수 있다.
- (3) 표준품의 표준곡선 상관계수 R<sup>2</sup> 값은 모두 0.999로 고도의 정의 상관성이 되도록 정밀하게 실험하여 작성하도록 한다.
- (4) 참깨 시료에 함유되어 있는 수분의 함량을 정량한 후 계산식에서 수분보정치를 곱하여 시료무게에 대한 수분보정을 하여 줌으로써 시료에 함유된 수분함량을 제외한 시료에 함유된 정확한 세사민, 세사몰린 함량을 구한다.
- (5) 세사민, 세사몰린의 함량은 시료 무게에 대한 중량비로서 “% 함량” 뿐 아니라 “mg/g 함량”(시료 단위 g에 대한 세사민, 세사몰린의 mg 함량)으로 표기할 수도 있다.

## 3. 결과

### 1) 참깨의 세사민, 세사몰린 함량 분석

(1) 참깨 추출물 중 세사민, 세사몰린의 HPLC 패턴

세사민, 세사몰린은 머무름 시간(Rt.)이 각각 10.33분, 15.47분으로서 Table 1의 분석조건에

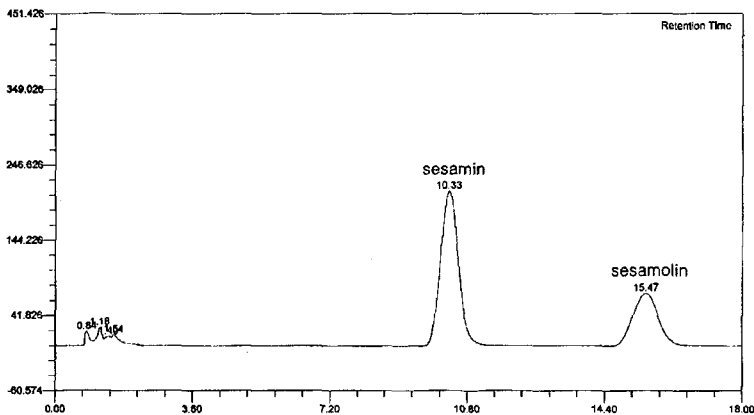


Fig. 1. HPLC chromatogram of MeOH extract from sesame seeds.

의해 좋은 분리능으로 분리가 되었으며 표준품의 표준곡선의 상관계수도 제시한 농도조건에서 R<sup>2</sup> 값이 모두 0.999로서 고도의 정의 상관을 보여 적절하게 시료 중 리그난 함량을 정량할 수 있었다.

**Table 2.** The contents of sesamin and sesamol in several varieties of sesame seeds.

Varieties <sup>a)</sup>	Sesamin (mg/g)	Sesamol (mg/g)
Seonbaek	4.75±0.17 <sup>1)</sup>	3.85±0.14
Dubeol	4.43±0.01	3.59±0.03
Naman	5.33±0.15	4.30±0.13
Namda	5.11±0.19	3.56±0.12
Hansan	5.36±0.07	4.06±0.07
Pungan	5.20±0.07	4.32±0.04
Seongbun	6.27±0.14	4.48±0.12
Dasak	5.53±0.34	4.21±0.27
Seodun	5.41±0.10	4.38±0.11
Namsan	4.21±0.00	3.44±0.03
Pungsan	4.95±0.10	3.81±0.08
Hwangbaek	4.15±0.10	4.03±0.07
Ansan	4.75±0.08	4.02±0.09
Annam	4.76±0.17	4.04±0.13
Suwon	3.20±0.05	3.64±0.04
Chinbaek	5.45±0.12	4.09±0.09
Chinju	5.14±0.05	3.30±0.04
Hanseom	4.44±0.06	4.21±0.07
Yangbaek	3.55±0.03	3.23±0.03
Danbaek	5.50±0.19	4.23±0.16
Mean	4.87±0.73	3.94±0.37
Heukseon	1.40±0.02	2.38±0.06
Sunheuk	1.34±0.02	1.33±0.53
Hwaheuk	2.56±0.06	1.12±0.07
Gyeongheuk	2.19±0.04	1.75±0.45
Yangheuk	1.93±0.03	2.12±0.04
Geonheuk	1.93±0.05	2.18±0.06
Manheuk	1.40±0.04	1.76±0.06
Mean	1.82±0.47	1.80±0.46
Total Mean	4.08±1.51	3.39±1.03

<sup>a)</sup>Harvesting year; 2003, <sup>1)</sup>All values are mean±SD of 4 replications.

2) 참깨 품종의 세사민, 세사몰린의 함량 분석

2003년에 작물과학원에서 재배 수확된 다양한 참깨 품종들의 리그난 함량을 정량하여 Table 2에 나타내었다. 참깨 품종들의 세사민, 세사몰린의 평균함량은 각각 4.08±1.51, 3.39±1.03 mg/g

이었다. 특히 세사민, 세사몰린 함량이 전체적으로 검은깨 보다 흰깨에서 2-4배 정도 더 높았는데, 이것은 여러 연구자의 보고(Lee et al., 1999; Tashiro et al., 1990)와 부분적으로 일치하는 것이다. 그리고 같은 흰깨 중에서도 품종에 따라 세사민, 세사몰린 함량에 차이가 났다. 세사민, 세사몰린은 중요한 생리적 활성을 나타내는 참깨 유효성분이므로 참깨의 고품질 품종 개발에 반드시 고려되어야 할 인자이다.

## 참고문헌

1. Akimoto, K. Y. Kitagawa, T. Akamatsu, N. Hirose, M. Sugano, S. Shimizu, and H. Yamada. 1993. Protective effects of sesamin against liver damage caused by alcohol or carbon tetrachloride in rodents. *Ann. Nutr. Metab.* 37 : 218-224.
2. Hirose, N. T. Inoue, K. Nishihara, M. Sugano, K. Akimoto, S. Shimizu, and H. Yamada, 1991. Inhibition of cholesterol absorption and synthesis in rats by sesamin. *J. Lipid Res.* 32 : 629-638.
3. Ide, T., L. Ashakumary, Y. Takahashi, M. Kushiro, N. Fukuda, and M. Sugano. 2001. Sesamin, a sesame lignan, decreases fatty acid synthesis in rat liver accompanying the down-regulation of sterol regulatory element binding protein-1. *Biochimica et Biophysica Acta* 1534 : 1-13.
4. Kang, M. H., S. N. Ryu, J. K. Bang, C. W. Kang, D. H. Kim, and B. H. Lee. 2000. Physicochemical properties of introduced and domestic sesame seeds. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29(2) : 188-192.
5. Kita, S. Y. Matsumura, S. Morimoto, K. Akimoto, M. Furuya, N. Oka, and T. Tanaka. 1995. Antihypertensive effect of sesamin. II. Protection against two-kidney, one-clip renal hypertension and cardiovascular hypertrophy. *Biol. Pharm. Bull.* 18 : 1283-1285.
6. Kuriyama, K. I., K. Y. Tsuchiya, and T. Murui. 1993. Analysis of lignan glycosides in sesame seed by high pressure liquid chromatography. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 67 : 1693-1700.
7. Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry.* 27 : 969-978.
8. Lee, S. W., C. W. Kang, D. H. Kim, S. Yasumoto, and M. Kasuta. 1999. Varietal variation of sesamin, sesamol, and oil contents according to seed-coat colors in sesame. *Korean J. Breed.* 31(3) : 286-292.
9. Ryu, S. H., K. S. Kim, and E. J. Lee. 2002. Current status and prospects of quality evaluation in sesame. *J. Crop. Sci.* 47(S) : 140-149.
10. Ryu, S. N., J. I. Lee, and S. S. Kang. 1994. Isolation, Identification and quantitative analysis of antioxidants in sesame seed. *RDA. J. Agri. Sci.* 36(1) : 122-126.

## *Analysis of Lignan Compounds from Sesamum indicum L.*

**Geum-Soog Kim<sup>†</sup>**

National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-857, South Korea  
+82-31-290-6832, kims@rda.go.kr