

식물성 식용 유지류의 특성 연구 (참기름을 중심으로)

박일용¹ · 팽기정^{1★} · 정진일² · 민승식² · 노미정² · 박유신² · 박성우³

¹연세대학교 화학과

²국립과학수사연구소 식품연구실

³충남대학교 평화안보대학원 과학수사학과
(2005. 5. 30 접수, 2005. 9. 21 승인)

The studies on characteristics of the vegetable oils

Ilyong Park¹, Ki-Jung Paeng^{1★}, Jin-Il Jeong², Seung-Sik Min², Mi-Jung Noh²,
Yoo-Sin Park² and Sung-Woo Park³

¹Department of Chemistry, Yonsei University, Wonju 220-710

²Food Analysis Division, National Institute of Scientific Investigation, Seoul, 158-707

³Graduate School of Peace and Security Studies, Chungnam National University, Daejeon, 305-764

(Received May 30, 2005, Accepted September 21, 2005)

요 약 : 참기름에서 스테롤류와 지방산을 간편하고 정확하게 추출하는 방법을 개발하였다. 새로운 방법은 특히 세사민의 추출 효율을 크게 향상하여 세사민과 캄파스테롤의 비율을 크게 향상시켜 감정의 도구로 응용이 가능할 것으로 판단되었다. 또 기타 스테롤류도 확인하였다. 유도체화를 진행시키면 지방산과 스테롤류의 동시 분석이 가능하였으나, 감정의 도구로는 더 많은 실험이 필요할 것으로 판단되었다.

Abstract : The accurate and simple extraction method for sterols and fatty acids in sesame oil was developed. The new method improved the extraction efficiency of sesamin in sesame oil and the ratio of sesamin over campesterol. It will be applied to judgement of adulteration of plant edible oils. The minor components of sterols were also confirmed. The simultaneous determination of sterols and fatty acids with derivatization were processed, but it was not enough to confirm adulteration, thus need more experiments.

Key words : sesame oil, vegetable oils, sterols, fatty acids, GC-MS

1. 서 론

참기름을 포함한 여러 가지의 식물성 유지류는 오래

전부터 주로 조미를 목적으로 우리나라 뿐 아니라 세계 각국에서 널리 사용되고 있다. 특히 최근 식단의 웰빙 경향에 따라 그 수요가 꾸준히 증가하고 있다. 그러나

★ Corresponding author

Phone : +82-0(33)-760-2239 Fax :

E-mail: paengk@drogon.yonsei.ac.kr

참기름 등 고가의 식물성 유지류의 수요가 늘어남에 따라, 시중에 값싼 다른 종류의 기름을 혼합하거나 원재료를 속여서 파는 사례가 많이 발생하고 있는 실정이다. 이러한 부정 사용 유지류(참기름)를 단속, 검사하는 기관이 부정유통과 관련하여 현장에서 수거된 시료의 식별방법이 필요하다. 특히 시료의 채취, 보관 및 적절한 분석 방법 및 분석한 결과에 따른 과학적인 해석방법이 확립되어야 하며, 이에 대한 신속하면서도 과학적인 분석방법의 확립이 요구된다. 또한, 무분별하게 수입되는 저가의 중국이나 동남아산 식물성 식용유지류(참기름)의 원료를 이용한 저질의 유지류가 첨가된 경우가 많고 또한 저장조건의 미비와 관리를 위해 인체에 유해한 화학약품의 오염에 노출되어 있을 뿐만 아니라 다양한 저가의 타 유지류 혹은 식용이 불가능한 공업용 원료의 첨가 등을 적발하기 위하여, 성분 검사 및 대량시료에 대한 정밀한 분석을 통하여 유해성분의 조사가 필수적이라 하겠다.

국내에서도 국립과학수사연구소에서 식물성 식용유지류(특히 참기름)에 이중 유지류의 혼입여부 판별 감정 방법으로 GC에 의한 스테롤류 함량비율 측정법 및 지방산의 조성비율 측정법, 비파괴 분석법인 NIR법이 연구되어 왔으나 좀 더 정확하고 재현성 있는 시험 및 판별법이 요구되어 진다.¹⁻⁵ 분석대상시료 중에 미량으로 존재하는 유지류(참기름)등의 분석에는 여러 가지 분석법이 응용될 수 있는데, 특히 빠른 시간 내에 손쉽게 분석할 수 있는 방법으로는 크로마토그래피-질량분석법이 보편적으로 이용되고 있다.⁶⁻¹² 본 연구에서는 기존의 분석 방법을 크게 개선 할 수 있는 신속하면서도 재현성 있는 식물성 유지류의 전처리 방법을 최적화 하며, 위에 언급한 기체크로마토그래피-질량분석법(GC-MS)을 도입하여 검출한계와 정량 성을 향상시키며, 또한 기존의 대표적인 스테롤(sesamin, campesterol, stigmasterol, β -sitosterol)등 계통이외에 각 식물성 유지류의 미량 스테롤류 까지 정성하여 그 표지 물질을 확대하고 이에 따른 정확한 감정이 가능하도록 하려고 한다.

여러 가지 국내산 식물성 유지류와 수입산 농산물을 재료로 한 유지류의 분석을 통한 비교 값도 같이 보고한다. 이 연구에 뒤이어 농산물의 영양성분 및 유해성분의 신속하고 정확한 분석법 개발을 이루어 내고, 자동화된 분석 시스템을 이용한 과학적인 품질관리를 통해 부정유통을 방지하여 국내 생산자 및 소비자를 동시에 보호할 수 있을 것으로 기대한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료

참기름 : 참깨로부터 착유한 시료 : 국산(강진, 보성, 남해, 인제, 함안) 외국산(중국 1, 중국 2, 중국 3, 수단)

시판 참기름 : 백설(중국산 깨), 풀무원(국산 깨), 오투기(외국산 깨), 해표(북한산 깨)

기타 식물성 유지류 : 채종유, 올리브유, 현미유, 들기름, 대두유(백설, 오투기), 옥배유(백설, 오투기)

2.2. 표준품

Campesterol, stigmasterol, β -sitosterol, sesamin 표준품은 Sigma chemical Co제, di-(2-ethylhexyl)sebacate는 Tokyo Kasei Kogyo 화학회사 제품을 구입하여 사용하였다.

2.3. 시약

기타 분석용 시약은 분석용 특급시약을 구입하여 정제 없이 사용하였다.

2.4. 최적화된 시료 전처리 조건

최적화된 시료 전처리 조건은 다음과 같은 방법으로 실시하였다. 시료 0.5 g을 0.5M NaOH-MeOH용액 25 mL에 녹이고 한 시간 동안 환류(reflux)하였다. 이 용액을 50 mL의 증류수를 이용하여 세척(condenser washing)하고 50 mL n-Hexane을 이용하여 250 mL 분별깔때기로 옮긴 후 10분간 흔들어 주었다. 그 후 Na_2SO_4 를 이용하여 물 층을 제거하고 진공회전증발기를 이용하여 7 mL로 농축하였다. 이 농축액을 1 μL 주입하였다(split 50:1).

2.5. 유도체화가 포함된 최적 시료 전처리 조건

유도체화가 포함된 최적 시료 전처리 조건은 다음과 같은 방법으로 실시하였다. 시료 0.5 g을 0.5M NaOH-MeOH 용액 10 mL에 녹이고 30분 동안 가열하였다. 그 후 condenser를 이용하여 BF_3 -MeOH착물 10 mL 첨가하고 5분간 끓여 준 후 heptane 10 mL를 첨가하고 5분간 더 끓여주었다. 열을 식힌 후 포화 NaCl 용액 10 mL를 첨가하고 플라스크를 천천히 회전시켜준 후 포화 NaCl 용액 10 mL를 다시 첨가하였다. 이 용액에 n-hexane 50 mL를 첨가하고 10분 동안 흔들어주면서 추출하는 과정을 2회 반복하였다. 그 후 증류수로 세척하고 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 7 mL로 농축, 1 μL 를 주입하였다.

2.6. 최적화된 GC 조건

- Flow rate : 0.8 mL/min
- Injector Temp. : 275°C

#	Rate(°C/min)	Target Temp	Duration
1	Initial	50.00	1.00
2	20.00	300.00	10.00

- Transfer Line Temp. : 300°C
- Ion Source Temp. : 250°C
- Split ratio: 50

*MS: Leco Pegasus III (TOF)

- Filament Bias Voltage; -70V
- Ion Source; 250°C
- Transfer Line; 300°C

3. 결과 및 고찰

3.1. 기존의 감정 방법과의 비교

기존의 참기름과 같은 식물성 유지류의 감정 방법은 시료를 알칼리성용액에서 비누화 반응을 진행시킨 후 이를 비누화물과 불비누화물로 나누고 다시 각각을 florisil column등을 이용하여 분리하는 방법이다.^{6,7} 이 방법의 경우 스테롤류와 지방산류를 효과적으로 분리할 수 있으며 정제 효과도 뛰어난 장점이 있으나 시간이 오래 걸리고(최고 2일) 정제 과정이 복잡하여 재현성에 나쁜 영향을 주는 경우가 많았다. 또한 미량성분의 경우 충분히 추출되지 않아 어떤 물질인지 확인하기 어려운 경우가 많이 있었다. 그러나 새롭게 최적화된 방법을 적용하면 추가의 분리와 정제과정이 생략되어 전체 분석 시간을 2시간 정도로 단축할 수 있었으며, 추출 효율과 재현성도 실험하는 연구원에 따라 약간의 편차는 있었으나, 전의 방법을 사용 하였을 때 보다 상당히 향상된 결과를 보였다. 또한 유도체화를 시행한 경우 스테롤의 추출효율이 약간 감소하였으나, 지방산과 스테롤의 분리 없이 동시 분석이 가능하였다.

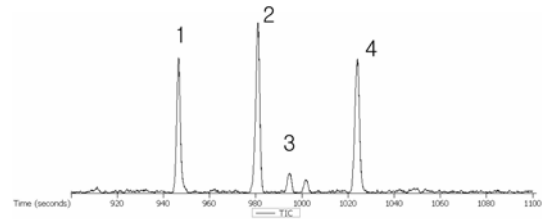


Fig. 1. The chromatogram of sterol standards.

3.2. 표준시료 혼합물에 대한 GC-MS 크로마토그램

유도체화를 진행하지 않은 경우 지방산에 대한 크로마토그램을 얻을 수가 없었으므로 스테롤 부분만 잘라서 나타내었다. 표준물질은 1: sesamin, 2: campesterol 3: stigmasterol 4: β sitosterol로 표준물질을 만들어 크로마토그램(Fig. 1)을 얻었다. 상대적으로 stigmasterol의 크로마토그램의 세기가 상대적으로 작게 나오는 문제가 있었으나 표준물질의 크로마토그램을 완전 분리 상태에서 얻을 수가 있었다.

3.3. 실제 참기름 시료에 대한 GC-MS 크로마토그램

위에 언급한 전처리 조건에서 얻은 참기름의 크로마토그램에서는 표준물질에서 확인한 1-4 스테롤류 이외에도 5 (tocoperol), 6 (lanosterol) 7 (fucosterol)이 확인되었다(Fig. 2). 특히 Sesamin이 완벽하게 분리되어 매우 sharp한 피크를 보여준다. 그러나 sesamin과 campesterol과의 비율의 경우 기존의 논문에서는 3.8~5.2 정

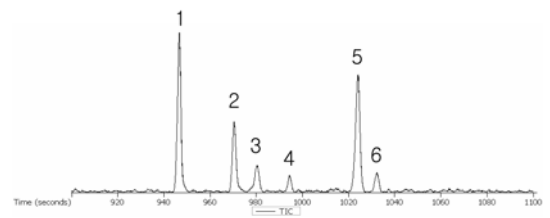


Fig. 2. The sterol chromatogram of sesame oil.

Table 1. The characteristics of standard peaks for the sterols

#	Name	R.T. (secs)	S/N	Area	Formula	Similarity
1	Sesamin	946.587	3439.9	26106000	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	874
2	Campesterol	980.912	37.282	35996000	C ₂₈ H ₄₈ O	916
3	Stigmasterol	994.512	19.939	4250400	C ₂₉ H ₄₈ O	862
4	β-Sitosterol	1024.06	159.54	31037000	C ₂₉ H ₅₀ O	901

Table 2. The ratio of sterols and sesamin in the various sesame oil

	sesamin/ camp ¹	sesamin/ sitos ²	stig ³ / camp
시판 B사	5.8	1.4	0.7
시판 P사	9.3	3.1	0.3
시판 O사	8.0	2.0	0.5
시판 H사	5.0	1.3	0.7
착유 강진산	11.3	4.9	0.5
착유 보성산	11.3	3.7	0.4
착유 남해산	7.8	3.4	0.3
착유 함안산	10.1	2.6	0.6
착유 인제산	>15	>15	-
착유 중국산	10.0	2.3	0.3
착유 수단산	10.0	3.0	0.7

1: campesterol
2: β-sitosterol
3: stigmasterol

도의 값이 일반적으로 보고되었으나,² 본 연구의 경우 sesamin의 추출조건이 크게 향상되어서 그런지 sesamin과 campesterol과의 비율이 최소 5.0 (시판 H사)에서 최대 11.3 (착유 강진산)으로 대부분 기존보다 크게 향상된 비율을 나타내었다. 즉, 이 조건으로 실험할 경우 감정 조건을 변경 하여야 하는 것으로 보인다. 다만 전에 sesamin과 겹쳐 나왔던 것으로 간주되는 피이크가 2번 위치에서 발견되었다. 이 피이크에 해당되는 화학물질을 다양하게 검색하여 다음과 같은 확정하였다. 2번 피이크는 sesamin 피이크와 함께 참기름의 특성 피이크로

거의 모든 참기름에서 검출되었다. Peak 2의 경우 sesamol로 생각되었으나 확인하지는 못하였다. 그러나 다른 스테롤에 대한 campesterol의 비율도 큰 폭으로 줄어 든 것으로 보아 이 방법을 적용할 경우 campesterol의 추출비율이 낮게 나오므로 감정 비율에도 변화를 주는 것이 바람직하다고 생각한다.

참기름류의 원산지별 스테롤의 비율은 Table 2에 정리하였다. 시판 참기름의 경우 원산지는 B사 (중국산), P사 (국산), O사 (외국산) H사 (북한산) 이다. 그러나 크로마토그램의 차이는 거의 발견되지 않았으나 세사민의 양에서는 시판보다 착유의 경우가 훨씬 많이 나오는 것으로 측정 되었다. 착유의 경우 국산과 외국산의 차이가 크지 않았다. 다만 인제의 경우는 sesamin과 sesamol을 제외하고는 다른 피이크의 크기가 매우 작게 나타나 campesterol과의 비를 구하기가 어려웠다.

3.4. 실제 식물성 유지 시료에 대한 GC-MS 크로마토그램

다음 그림들(Fig. 3-8)은 본 연구에서 실험한 다양한 식물성 유지류에 대한 GC-MS 크로마토그램들이다.

대두유의 경우는 스테롤의 양이 참기름에 비하여 때

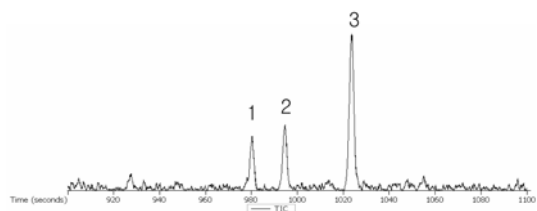


Fig. 3. The sterol chromatogram of soybean oil.

Table 3. The characteristics of standard peaks for the fatty acids

#	Name	R.T. (sec)	Similarity	Unique Mass
1	Palmitoleic acid, methyl ester [C ₁₇ H ₃₂ O ₂]	599.261	868	236
2	Palmitic acid, methyl ester [C ₁₇ H ₃₄ O ₂]	604.611	925	270
3	Linoleic acid, methyl ester [C ₁₉ H ₃₄ O ₂]	654.711	914	294
4	Oleic acid, methyl ester [C ₁₉ H ₃₆ O ₂]	656.211	941	264
5	Linolenic acid, methyl ester [C ₁₉ H ₃₂ O ₂]	656.911	884	292
6	Stearic acid, methyl ester [C ₁₉ H ₃₈ O ₂]	662.611	890	298
7	Arachidonic acid methyl ester [C ₂₁ H ₃₄ O ₂]	700.211	827	79
8	Eicosapentaenoic acid, methyl ester [C ₂₁ H ₃₂ O ₂]	702.211	878	79
9	Arachidic acid methyl ester [C ₂₁ H ₄₂ O ₂]	715.661	936	326
10	Docosahexaenoic acid, methyl ester [C ₂₃ H ₃₄ O ₂]	749.111	899	79
11	Docosenoic acid, methyl ester [C ₂₃ H ₄₄ O ₂]	759.361	895	320

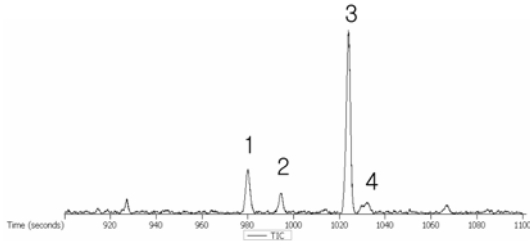


Fig. 4. The sterol chromatogram of corn oil.

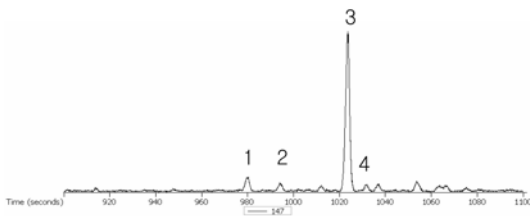


Fig. 5. The sterol chromatogram of perilla oil.

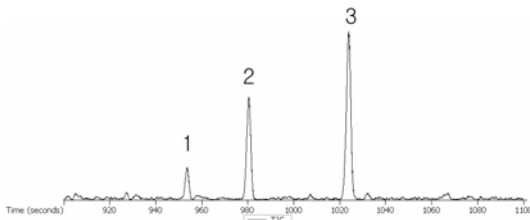


Fig. 6. The sterol chromatogram of rapeseed oil.

우 작으며 sesamin등 참기름의 특성 스테롤류의 피이크가 보이지 않았다. 또한 최적화 전의 전처리 법에 의한 크로마토그램과도 일치하였다.

옥배유의 경우 역시 스테롤의 양이 참기름에 비하여 약간 작으며 sesamin등 참기름의 특성 스테롤류의 피이크는 보이지 않았다. 그러나 대두유에 비하여 스테롤의 양이 약간 많이 존재하고 있었으며 fucosterol도 발견되었다. 옥배유의 경우 역시 스테롤의 양이 참기름에 비하여 약간 작으며 sesamin등 참기름의 특성 스테롤류의

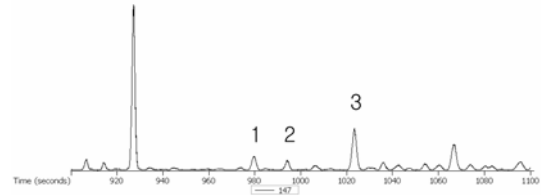


Fig. 7. The sterol chromatogram of rice bran oil.

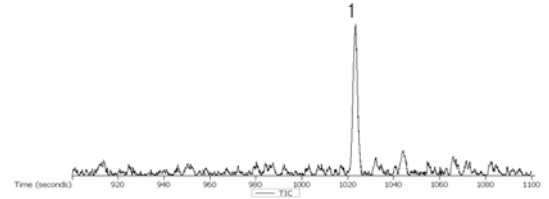


Fig. 8. The sterol chromatogram of olive oil.

피이크는 보이지 않았다. 그러나 대두유에 비하여 스테롤의 양이 약간 많이 존재하고 있었으며 fucosterol도 발견되었다. 전체적으로는 옥배유와 유사한 크로마토그램을 나타내었다. 채종유의 경우도 스테롤의 양은 참기름에 비해서 적으며, 앞의 옥배유와 대두유와는 다르게 crinosterol이 발견되었으며, stigmasterol과 fucosterol은 발견되지 않았다. 현미유의 경우도 옥배유와 대두유와 매우 비슷한 스테롤 경향을 보였다. 다만 928 sec 정도에서 큰 피이크가 보였지만 스테롤류는 아닌 것으로 결론지었다. 올리브유에서는 아주 적은 양의 β -Sitosterol만 발견되었다.

3.5. 유도체화 이후의 스테롤 성분에 대한 GC-MS 크로마토그램

유도체화를 진행하면은 스테롤과 지방산류를 한꺼번에 정량할 수 있는 장점이 있다. 그러나 스테롤류들의 크로마토그램 피이크가 작아지고 특히 sesamin의 피이크가 상대적으로 많이 감소되는 효과를 보인다. 따라서 스테롤류만 분석할 경우는 전자의 방법을 사용하는 것이 바

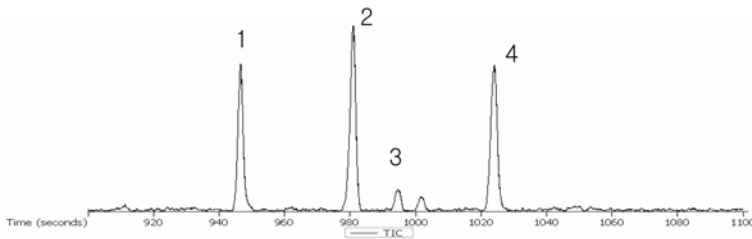


Fig. 9. The derivatized standard sterol chromatogram.

람직하다고 생각 된다. 다음 Fig. 9는 대표적인 참기름의 유도체화를 진행한 스테롤류의 크로마토그램이다. 유도체화를 진행한 크로마토그램에서는 참기름의 특성 피이크 중 sesamin에 대한 피이크만 남고 다른 하나의 피이크가 사라지는 것이 특징이다. 또한 상대적으로 피이크의 세기가 작아지고, 특히 campesterol, stigmasterol, fucosterol등은 피이크가 잡히지 않는 경우도 있었다.

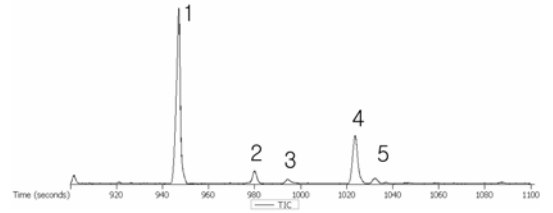


Fig. 10. The derivatized sterol chromatogram of sesame oil.

3.6. 유도체화 이후의 지방산 성분에 대한 GC-MS 크로마토그램

지방산의 경우 유도체화를 하지 않은 경우 크로마토그램의 확인이 매우 어려웠으므로 유도체를 진행한 실험 조건 하나만으로 실험을 진행하였다.

이 GC 분리 조건을 실제 시료에 적용한 결과 크로마

토그램이 너무 복잡하여 위의 표에 나타난 대표 질량 이온만 추출하여 크로마토그램을 작성하였다.

이 크로마토그램에 나타난 지방산의 번호는 위의 표와 같으며, 3,5번의 피이크가 약간 겹치는 경향을 보여 준다. 이를 각 참기름 및 식물성 유지류의 분석에 응용

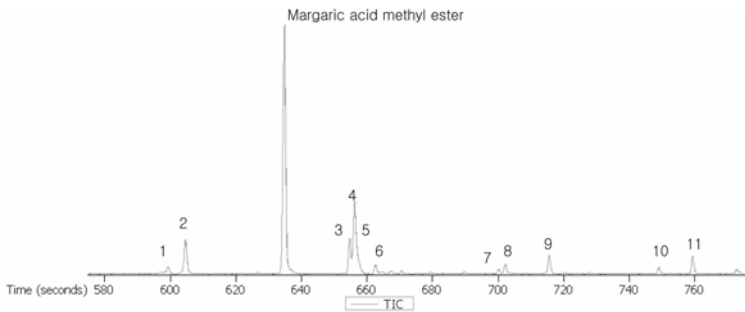


Fig. 11. The chromatogram of fatty acid standards (total ion).

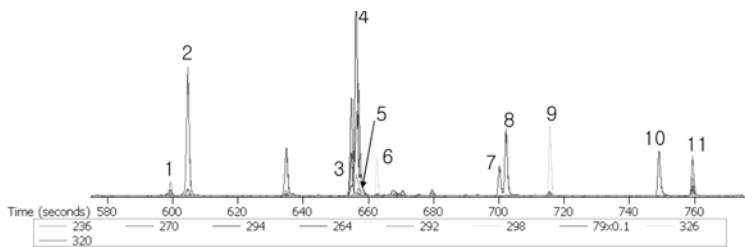


Fig. 12. The chromatogram of fatty acid standards (extracted ion).

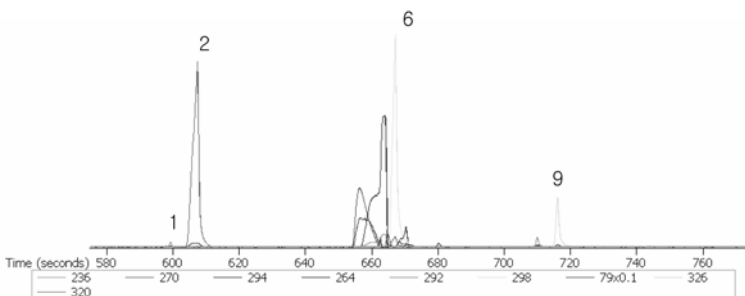


Fig. 13. The fatty acid chromatogram of sesame oil (extracted ion).

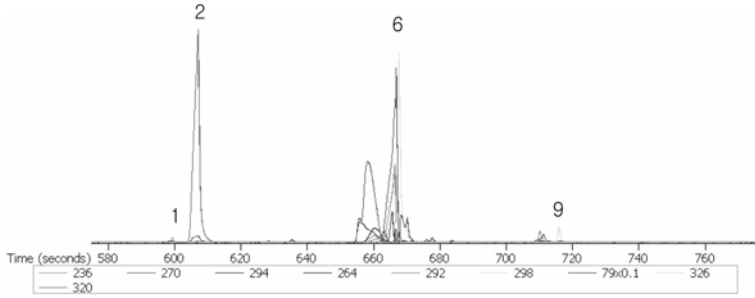


Fig. 14. The fatty acid chromatogram of perilla oil (extracted ion).

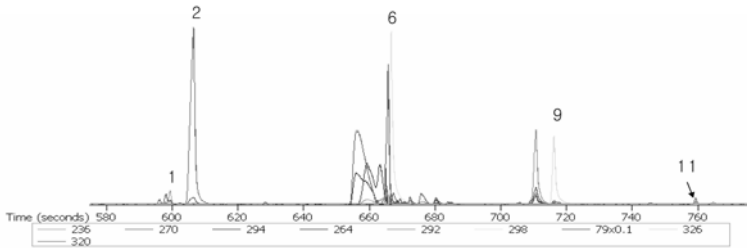


Fig. 15. The fatty acid chromatogram of soybean oil (extracted ion).

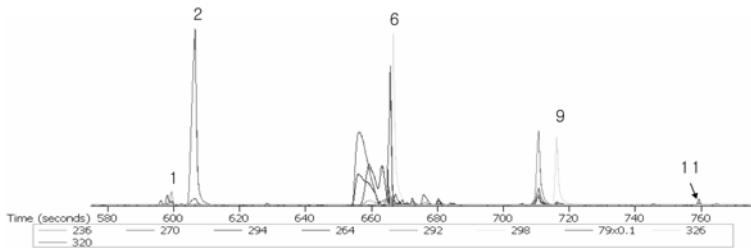


Fig. 16. The fatty acid chromatogram of rapeseed oil (extracted ion).

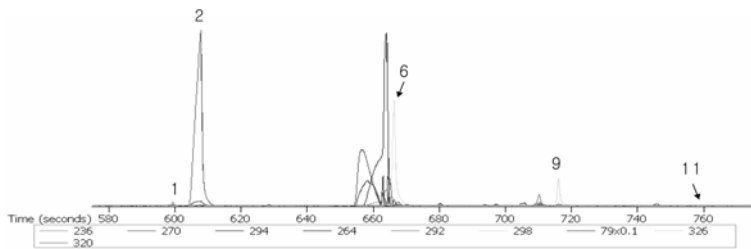


Fig. 17. The fatty acid chromatogram of corn oil (extracted ion).

하였다. 이 크로마토그램은 Fig. 11, 12에서 보여 진 크로마토그램과 같은 크로마토그램을 머무름 시간별로 나누는 것이다. 기존의 보고서에 의하면 참기름의 대표적인 지방산으로는 palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid, arachidic acid가 주로 발견된다고 보고되었다.^{2,6} 그중 시판 참기름(Fig. 13)에서 지방산은 11개의

표준물질 중 가장 함량이 많은 oleic acid 와 linoleic acid 는 확인이 안 되고, 다음 3가지만(Palmitic acid, Stearic acid, Arachidic acid methyl ester) 확인이 되었다. 기타 국내산 참기름의 지방산 크로마토그램은 거의 차이점을 찾기 어려울 정도로 유사한 크로마토그램을 얻었다. 다만 다음에 보여 지는 것과 같이 일부 중국산등의 경우

arachidic acid가 감소된 경향을 보이는 것도 있었다. 그러나 일반적인 현상은 아니어서 산지 구별의 마크로 사용하기는 어려울 것으로 판단된다. 기타 식물성 유지류의 지방산 크로마토그램은 Fig. 14~19과 같다. 들기름의 지방산 분포는 참기름과 큰 차이를 보이지 않았으나, 더 많은 시료의 반복 실험을 통하여 차이를 확인할 수 있을 것으로 생각된다. 일반적으로는 콩기름에는 palmitic acid가 linolenic acid는 들기름에 많다고 보고되어 있다.² 그러나 실제 시료에서 크로마토그램에서 서로 확실하게 구별되는 지방산류가 거의 없어서 확인 및 분석의 지시 물질로 응용하기는 어려웠다.

감사의 글

이 연구는 국립 과학수사연구소의 연구용역 사업(2003)에 의하여 진행되어 되었으므로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 최효선, 고영수, *한국생활과학연구*, **13**, 249(1995).
2. Y. C. Yoo, Y. S. Park, H. S. Chung and J. I. Jeoung, *Kor. J. Food Hygiene*, **7**(1), 29(1992).
3. M. Namiki, *Food Reviews Inter.*, **11**(2), 281(1995).
4. J. I. Lee, S. R. Ryu, S. S. Kang, C. W. Kang and C. Y. Choi, *Kor. J. Breed.*, **24**(3), 214(1993).
5. 유영찬, 정희선, 임미애, 변진영, 이한선, 박윤신, *과학수사연구소 년보*, **16**, 91(1984).
6. M. H. Kang, M. K. Oh, J. K. Bang, D. H. Kim, C. H. Kang and B. H. Lee, *Kor. J. Crop. Sci.*, **45**(3), 203(2000).
7. S. W. Lee, C. W. Kang, D. H. Kim, S. Yasumoto, M. Kasuta, *Kor. J. Breed.* **31**(3), 286(1999).
8. S. Shirato-Yasumoto, M. Komeichi, Y. Okuyama and A. Horigane, *SABRAO J. Breed. Gene.*, **35**(1), 27(2003).
9. K. S. Hwang, W. S. Hawer, Y. J. Nam and B. Y. Min, *Kor. J. Food Sci. Tech.*, **16**(3), 348(1984).
10. S. J. Cheon, Y.-H. Lim, I.-S. Song and J.-B. Ro, *Kor. J. Food Hygiene*, **3**(2), 59(1988).
11. 홍범석, 박형언, 조남준, 이규남, 이덕행, *서울특별시 보건환경연구보*, **22**, 80(1986).
12. K. Kuriyama, K. Tsuchiya, T. Murai, *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **67**(12), 1693(1993).