

생물전환된 참깨 발효물의 Lignan 화합물의 분석법 검증

— 연구노트 —

정태동¹ · 김재민¹ · 최선일¹ · 최승현¹ · 조봉연¹ · 이진하¹ · 이상종² · 박선주² · 허인영² · 이옥환¹

¹강원대학교 식품생명공학과

²(주)에스티알바이오텍

Method Validation for Determination of Lignan Content in Fermented Sesame by Bioconversion

Tae-Dong Jung¹, Jae-Min Kim¹, Sun-Il Choi¹, Seung-Hyun Choi¹, Bong-Yeon Cho¹, Jin-Ha Lee¹, Sang Jong Lee², Seon Ju Park², In Young Heo², and Ok-Hwan Lee¹

¹Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University

²STR Biotech Co., LTD.

ABSTRACT The aim of this study was to investigate method validation for determination of sesamol, sesamin, and sesamol in non-fermented sesame and fermented sesame by bioconversion. For validation, the specificity, linearity, precision, accuracy, limits of detection (LOD), and quantification (LOQ) of sesamol, sesamin, and sesamol were measured by HPLC. Linearity tests showed that the coefficients of calibration correlation (R^2) for sesamol, sesamin, and sesamol were 0.9999. Recovery rates of lignan contents in non-fermented and fermented sesame were high in the ranges of 100.27~115.10% and 98.43~114.90%, respectively. The inter-day and intra-day precisions of sesamin and sesamol analyses for non-fermented and fermented sesame were 0.27~1.94% and 0.25~0.69%, respectively. The LOD and LOQ were 0.23~0.34 $\mu\text{g/g}$ and 0.70~1.03 $\mu\text{g/g}$, respectively. These results indicate that the validated method is appropriate for the determination of sesamol, sesamin, and sesamol.

Key words: *Sesamum indicum* L., lignan, method validation, bioconversion, HPLC-PDA

서 론

참깨(*Sesamum indicum* L.)는 참깨과(Pedaliaceae) 참깨속(*Sesamum*)에 속하는 식물로 예로부터 재배되어 온 주요 유지작물 중 하나이며(1), 주성분은 지질 약 50%, 단백질 약 20%, 탄수화물 약 15%, 회분 약 5%로 구성되어 있다(2). 참깨를 이용하여 기름을 짠 참기름은 고온에서 장시간 방치하여도 산화되지 않는 강한 산화안정성을 가지고 있는데, 이는 참깨의 항산화 성분인 sesamol, sesamin, sesamol 등의 lignan 화합물에 의한 효과로 알려져 있다(3).

참깨의 지표성분인 lignan 화합물의 효능으로는 sesamol을 급여한 흰쥐의 항산화 효과(4), 피부 진피세포에서 UV-B에 의하여 유도된 산화적 스트레스에 대한 sesamol의 보호 효과(5) 및 방사선에 의한 DNA 손상 및 지질 과산화물 생성 억제(6) 등이 보고되어 있으며, sesamin의 경우 신경세포 내의 활성산소 저하 작용(7) 및 dopamine 생합성 촉진

(8)이 알려져 있다. Sesamol은 마우스의 간과 신장에서의 과산화지질 억제 효과(9) 및 streptozotocin으로 유도된 당뇨병 모델 마우스에서의 혈관 내 과산화지질 및 산화적 스트레스 감소(10) 등의 효능이 보고되었다.

생물전환(bioconversion)이란 생물공정(bioprocessing), 생합성(biosynthesis) 등의 용어와 의미상 중복성을 가지며, 미생물 및 효소 등을 이용한 생물학적 방법을 통하여 전구물질로부터 원하는 산물을 제조하는 기술을 뜻한다. 즉 기존 천연물에 함유된 물질의 구조적 변화를 유도하여 유효성분의 함량 증가 및 새로운 기능성분의 생성을 유도하는 기술이다. 기존의 발효공정은 상대적으로 간단한 원료물질에서 출발하는 반면, 생물전환은 효소의 기질에 대한 선택성을 이용하여 전구물질로부터 산물을 생산한다는 점에서 차이를 나타낸다. 현재 의약품이나 화장품 등의 개발에 있어서 생물전환 공정은 여러 가지 방법으로 이용되어 유용성 및 효과성을 향상시키는 데 이용되고 있다(11). Na와 Moon(12)의 연구에서 대두 isoflavone glucoside의 β -glycoside를 가수분해하는 β -glycosidase 등의 효소를 이용하여 생물전환을 실시한 후 aglycone으로 전환된 isoflavone에서 항염증, 멜라닌 생성 억제능 등의 생물학적 활성이 증가하는 것으로 나타났다.

Received 8 February 2017; Accepted 13 April 2017

Corresponding author: Ok-Hwan Lee, Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon 24341, Korea
E-mail: loh99@kangwon.ac.kr, Phone: +82-33-250-6454

건강기능식품을 개발하기 위해서는 기능성 및 안전성을 과학적으로 입증해야 하며 기능성 원료에 대한 표준화 및 규격화가 필요하다(13). 건강기능식품의 표준화를 위해서는 일반적으로 물리적, 화학적, 미생물학적 등의 기본적인 관리요소뿐만 아니라 지표성분의 표준화 방법을 사용한다. 표준화란 천연물질에 함유된 고유한 성분의 변동을 최소화하여 생산되는 배치에 상관없이 일정한 품질을 유지하기 위해 원재료의 생산에서부터 제조 과정 전반에 걸쳐 관리하는 것을 말한다. 지표성분은 공인된 방법이나 정밀하다고 판단되는 분석법을 사용하며 반드시 분석방법에 대한 과학적 타당성과 신뢰성이 검증되어야 한다(14). 참깨의 지표성분인 lignan 화합물에 대한 검출방법 및 분석법 검증은 시도된 바 있으나(15,16), 생물전환을 이용한 참깨의 지표성분 및 유용성분에 대한 검출방법 및 분석법 검증에 대한 연구는 시도된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 생물전환에 의한 참깨 발효물을 건강기능식품 원료로써 개발 시 원료의 표준화를 위하여 lignan 화합물인 sesamol, sesamin 및 sesamolin의 분석방법 및 분석법 검증에 대한 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 연구에 사용한 참깨는 2014년 10월에 수확된 진을 품종으로, 국립식량과학원(Miryang, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 표준물질인 sesamol, sesamin, sesamolin은 Chengdu Biopurify Phytochemicals Ltd.(Chengdu, Sichuan, China)에서 구입하였으며, HPLC용 용매 methanol은 J.T. Baker(Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하였다.

참깨의 생물전환

참깨의 생물전환공정은 효소처리 및 멸균과정을 거쳐 배양배지화한 표고균사를 접종하여 생물전환 발효공정을 통해 1차 발효물을 생산하였다. 그 후 2차 생물전환 효소처리 공정을 실시하였다. 발효미생물로 선정된 표고버섯 균사의 접종량과 배양시간을 최적화하기 위하여 중균배양의 growth curve fitting을 통해 각 발효미생물의 배양상태를 확인한 후 cell mass 농도에 따라 3 point를 선정하고, 접종량을 각각 10%, 20%로 하여 본 발효배양에 접종하여 배양시간 및 접종량을 비교하여 최적화를 진행하였다. 효소처리 최적화는 배양기질인 참깨와 발효배양산물인 배양균사체의 세포벽을 구성하고 있는 유용물질을 세포벽으로부터 효율적으로 추출하기 위하여 β-glucanase, cellulase, hemicellulase(DMS Food Specialties, Chilgok, Korea) pectinase, β-glucosidase, amylase, protease(Shin Nihon Chemical Co., Ltd., Aichi, Japan) 등의 효소를 0.1~2%로 첨가하여 50~60°C 조건에서 1~3시간 동안 shaker(SI-4000R, Jeio Tech Co., Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 250 rpm에서

효소/기질반응을 수행하였다.

추출물 제조

참깨 비발효물 및 생물전환에 의한 발효물은 각각 2.5 g의 시료에 50 mL 메탄올을 첨가하여 1시간 sonicator(JAC Ultrasonic, KODO, Hwaseong, Korea)를 이용하여 추출하였고, 추출 후 원심분리기(416G, Gyrogen Co., Ltd., Daejeon, Korea)를 사용하여 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리 하여 고형분을 제거한 다음 -20°C에서 보관하며 사용하였다.

Lignan 화합물 분석

참깨에 함유된 lignan 화합물의 분석을 위하여 추출물을 0.45 μm syringe filter(Whatman, Maidstone, UK)를 이용하여 여과한 후 HPLC 분석에 사용하였다. Lignan 화합물의 HPLC 분석은 식품첨가물의 기준 및 규격 천연첨가물 첨가물 유별검화물(17)을 변형하여 실시하였다(Table 1). 기기는 Waters 2695 Separation Module HPLC system과 Waters 996 Photodiode Array Detector(Waters Co., Milford, MA, USA)를 사용하였으며, 분석용 column으로는 Sunfire™ C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5.0 μm, Waters Co.)을 이용하여 분석하였다.

분석법의 유효성 검증

HPLC를 이용한 lignan 화합물의 분석방법은 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인(18)을 근거로 하여 특이성(specificity), 직선성(linearity), 정밀성(precision), 정확성(accuracy), 검출한계(limits of detection, LOD), 정량한계(limits of quantification, LOQ)를 이용하여 분석법의 유효성을 검증하였다.

특이성

특이성 검증은 표준물질 sesamol, sesamin, sesamolin 및 참깨 추출물을 HPLC로 분석한 후 chromatogram을 비교하여 sesamol, sesamin, sesamolin이 선택적으로 분리가 되는지 확인하였으며 PDA spectrum을 이용하여 동일한 spectrum을 나타내는지 확인하였다.

Table 1. HPLC condition of lignan analysis for sesame extracts

| Instrument | Conditions |
|--------------------------|---|
| Column | Sunfire™ C ₁₈ (4.6×250 mm, 5.0 μm) |
| Detector | Waters 996 Photodiode Array Detector UV 285 nm |
| Mobile phase (isocratic) | MeOH : Water (80:20, v/v) |
| Flow rate | 0.7 mL/min |
| Injection volume | 10 μL |
| Run time | 20 min |

직선성

직선성에 대한 검증은 표준물질 sesamol, sesamin, sesamolin을 각각 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125.0, 250.0 µg/mL 씩 단계적으로 희석한 다음 각각의 표준물질을 HPLC로 분석하여 3회 반복 측정하였으며, peak 면적비에 대한 농도비의 관계를 표시하는 검량선을 작성하고 작성된 검량선으로부터 상관계수(R^2) 값을 이용하여 직선성을 확인하였다.

정밀성

정밀성에 대한 검증은 참깨 추출물을 inter-day(일간)와 intra-day(일내)로 나누어 진행하였다. Inter-day는 1일 1구간으로 3일간 진행하였고, intra-day는 1일 3구간으로 나누어 진행하였으며, 각 시험은 구간별로 3회, 9반복하여 분석하였다. 분석하여 얻어진 면적은 검량선을 이용하여 정량하였으며 정량한 값은 표준편차를 평균으로 나누어 상대표준편차(relative standard deviation, RSD)를 백분율로 나타내었다.

정확성

정확성 검증은 농도를 알고 있는 참깨 추출물에 표준물질 sesamol, sesamin, sesamolin을 각각 15, 20, 25 µg/mL의

세 가지 농도로 첨가하여 분석하였다. 분석한 결과를 다음 식을 이용하여 회수율(recovery)로 나타내어 HPLC 분석방법의 정확성을 확인하였다.

$$\% \text{ recovery} = \frac{(C_f - C_u)}{C_a} \times 100$$

C_f : Concentration of test sample added standard solution

C_u : Concentration of test sample

C_a : Concentration of standard solution

검출한계 및 정량한계

Lignan 화합물의 검출한계와 정량한계는 의약품 등 시험방법 밸리테이션 가이드라인의 반응의 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하여 아래 식을 이용하여 나타내었다.

$$\text{LOD} = \frac{3.3\sigma}{S}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10\sigma}{S}$$

σ : The standard deviation of the response

S : The slope of the calibration curve

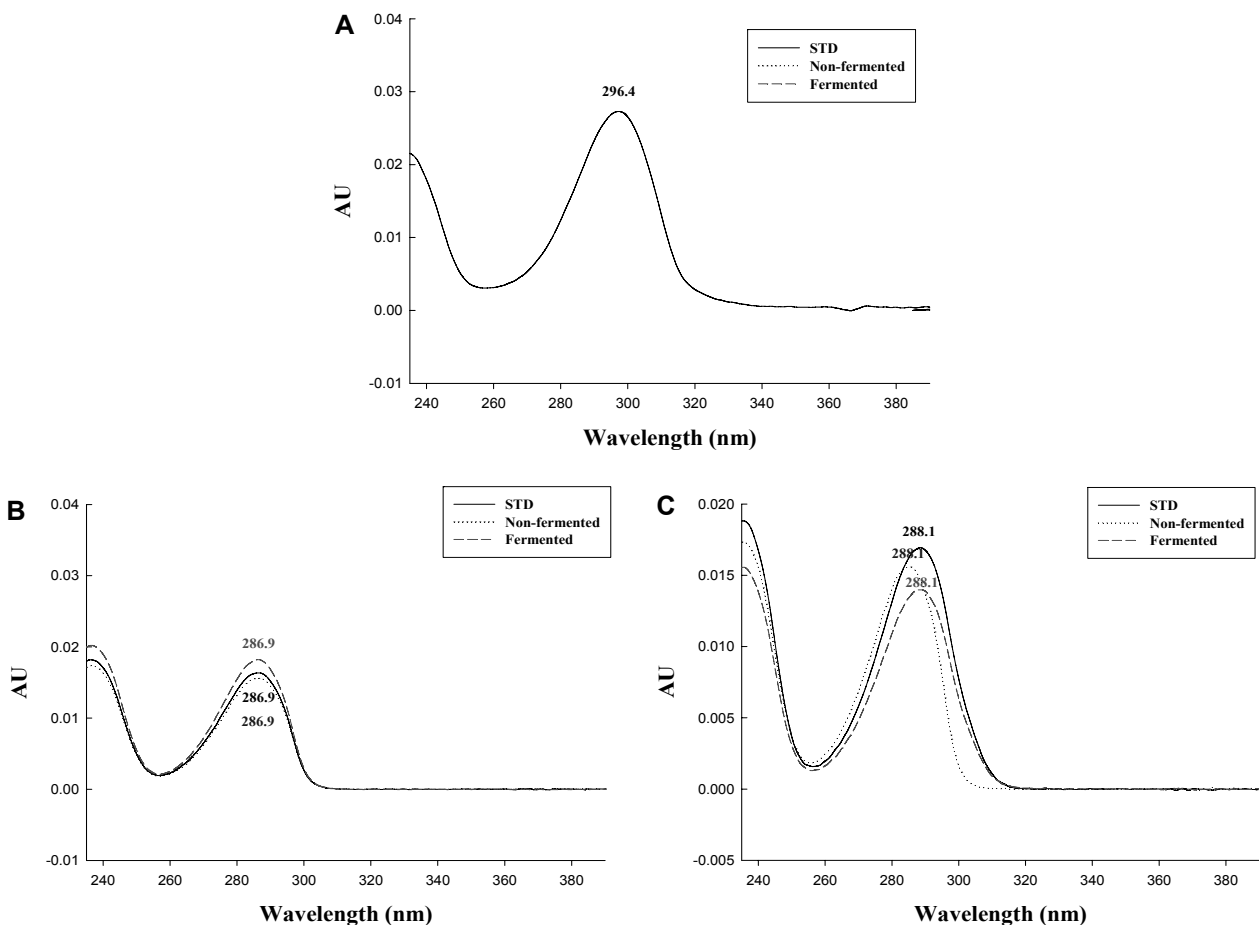


Fig. 1. PDA spectra of sesamol (A), sesamin (B), and sesamolin (C) in non-fermented and fermented sesame.

결과 및 고찰

특이성 확인

특이성은 불순물, 분해물, 추출물 등이 혼합된 상태에서 다른 성분의 영향을 받지 않고 분석대상을 선택적으로 정확하게 측정할 수 있는 능력이다. 즉 다른 물질의 간섭 없이 분리되는 것으로 특이성을 확인할 수 있다(19). 표준물질 sesamol, sesamin, sesamol인을 spectrophotometer를 사용하여 200 nm에서 400 nm까지의 흡수과장을 분석하였다. 그 결과, sesamol은 296 nm, sesamin은 287 nm, sesamol인은 288 nm에서 각각의 최대흡수과장을 나타내었다(Fig. 1). 또한, chromatogram을 비교한 결과 lignan 화합물 3종의 혼합물과 참깨 추출물에서 각 peak의 머무름 시간(retention time)이 각각 4.6, 9.5, 11.1분대로 다른 물질의 간섭 없이 분리되었으며 표준용액의 머무름시간과 참깨 추출물의 머무름시간이 일치하는 것으로 확인되었다(Fig. 2). 또한, 동일한 spectrum을 나타내어 본 시험법의 특이성을 확인하였다(Fig. 1).

직선성 확인

직선성은 시료 중 분석물질의 양에 대하여 직선적인 측정값을 나타내는 정도로 표준물질 sesamol, sesamin, ses-

amol인을 이용하여 각각 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125.0, 250.0 µg/mL의 농도로 희석하여 HPLC로 분석한 값으로 각 물질의 검량선을 작성하였다. 그 결과, sesamol($y=18309x-17636$, $R^2=0.9999$), sesamin($y=29746x-33563$, $R^2=0.9999$), sesamol인($y=17667x-25926$, $R^2=0.9999$)으로 나타났으며 모두 0.9999의 상관계수(R^2)를 나타내어 우수한 직선성을 확인하였다.

정밀성 및 lignan 화합물 함량

정밀성이란 같은 시료에 대하여 연속적인 분석을 통해 얻은 결과 간의 유사함을 의미하는 것으로 참깨 추출물의 정밀성 분석 결과는 Table 2와 같다. Intra-day 정밀성 RSD값은 참깨 비발효물의 sesamin의 경우 0.25%, sesamol인은 0.43%로 나타났으며 참깨 발효물의 sesamin의 경우 RSD값이 0.69%, sesamol인 0.47%로 나타났다. Inter-day 정밀도에서는 참깨 비발효물 sesamin의 경우 0.27%, sesamol인 0.64%를 보였으며 참깨 발효물에서 sesamin 1.34%, sesamol인 1.94%로 나타나 inter-day, intra-day 모두 RSD 5% 이하의 우수한 정밀성을 나타내었다. 참깨 비발효물의 sesamin 함량의 경우 intra-day에서 2.67 mg/g 및 inter-day에서 2.42 mg/g으로 나타났으며, sesamol인은 intra-day 3.77 mg/g 및 3.37 mg/g을 나타내었다. 참깨

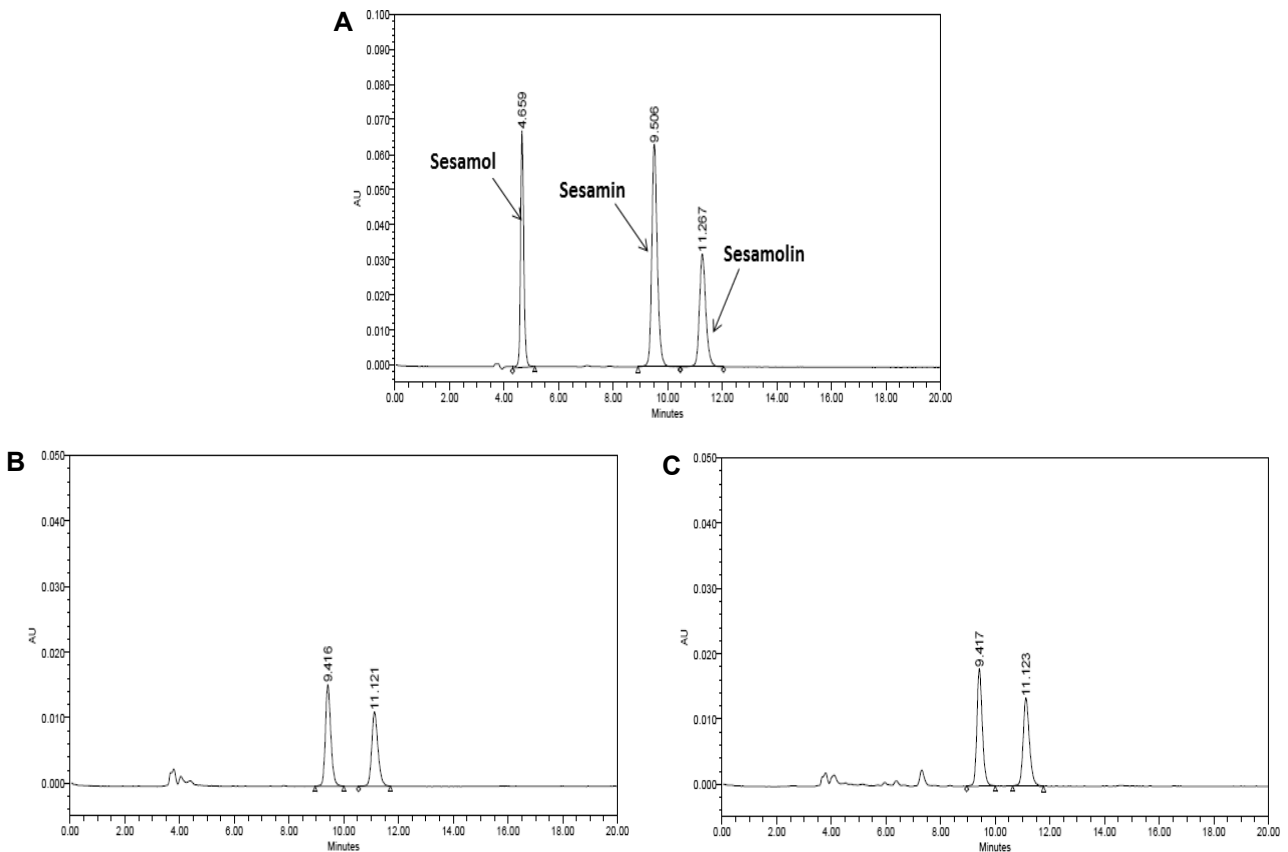


Fig. 2. HPLC chromatograms of sesamol, sesamin, and sesamol standard (A), non-fermented (B), and fermented sesame (C).

Table 2. Precision of sesamol, sesamin, and sesamolol analysis for non-fermented and fermented sesame

| | Analytes | Non-fermented sesame | | Fermented sesame | |
|-------------------------|-----------|----------------------|-----------------------|------------------|---------|
| | | Mean±SD (mg/g) | RSD ³⁾ (%) | Mean±SD (mg/g) | RSD (%) |
| Intra-day ¹⁾ | Sesamol | | ND ⁴⁾ | | ND |
| | Sesamin | 2.67±0.01 | 0.25 | 2.97±0.02* | 0.69 |
| | Sesamolol | 3.77±0.02 | 0.43 | 4.23±0.02* | 0.47 |
| Inter-day ²⁾ | Sesamol | | ND | | ND |
| | Sesamin | 2.42±0.00 | 0.27 | 2.75±0.04* | 1.34 |
| | Sesamolol | 3.37±0.02 | 0.64 | 3.92±0.08* | 1.94 |

¹⁾Three times per day. ²⁾One time analysis of lignan per day for 3 days.

³⁾Relative standard deviation. ⁴⁾Not detected.

*Significantly different between non-fermented and fermented sesame at $P < 0.05$ by Student's t-test.

발효물의 sesamin 함량은 intra, inter-day에서 각각 2.97 mg/g, 2.75 mg/g을 보였으며, sesamolol은 intra-day 4.23 mg/g, inter-day 3.92 mg/g의 함량을 보여 생물전환을 통해 참깨의 sesamin, sesamolol의 함량이 증가하는 것으로 나타났다. Lim 등(20)은 sesamin과 sesamolol 급여 시 간 지방산 산화에 관여하는 다양한 효소의 활성 증가를 보고하였으며, Lee 등(21)은 RAW 264.7 cell에서 sesamin이 농도 의존적으로 NO 생성억제 및 iNOS 발현을 억제시킨다고 보고하였다. 또한, Jung 등(22)의 연구에서 생물전환을 통한 참깨 발효물에서 lignan 함량의 증가와 더불어 다양한 항산화 모델에서 효능을 증대시켰다. 따라서 본 연구의 생물전환을 통한 참깨 발효물의 sesamin 및 sesamolol의 증가로 인한 추가적인 생리활성이 기대된다. Sesamol의 경우 참깨 비발효물과 발효물에서 모두 검출되지 않았다. 이러한 이유는 참깨의 sesamol은 roasting 과정 중 약 170°C 이상에서 sesamolol이 열에 의해 분해되면서 sesamol로 전환되기 때문에(23) 열처리하지 않은 본 연구의 참깨 시료에서는 sesamol이 검출되지 않은 것으로 생각된다.

회수율을 이용한 정확성 확인

정확성은 표준물질을 시료에 첨가한 후 분석하여, 표준물질을 가한 시료의 검출반응과 순수 표준물질의 검출반응을 비교하는 spiking과 recovery 방법으로 실험하여 참값을 정확히 회수할 수 있는지 회수율 계산을 통해 확인하였다(24). 농도를 알고 있는 참깨 비발효물 및 발효물에 sesamol, sesamin, sesamolol 표준용액을 각각 3가지의 농도(15, 20, 25 µg/mL)로 첨가한 후 HPLC로 분석하였다. 분석결과(Table 3), sesamol의 회수율은 첨가된 농도에 따라 98.43~110.72%를 나타냈으며, sesamin은 106.45~115.10%의 회수율을 보였다. Sesamolol의 경우 99.18~112.05% 범위의 우수한 회수율을 보였다. Sukumar 등(25)의 연구에서 참깨의 sesamin, sesamolol의 회수율은 각각 95.7~100.1%, 97.1~102.0%로 나타나 본 연구와 유사한 것으로 나타났다.

검출한계 및 정량한계

검출한계 및 정량한계의 분석 결과, sesamol의 검출한계

Table 3. Accuracy of HPLC analysis for sesamol, sesamin, and sesamolol in non-fermented and fermented sesame

| Sample | Concentration (µg/mL) | Recovery | | |
|-----------|-----------------------|----------|-------------|------|
| | | Mean±SD | RSD (%) | |
| Sesamol | Non-fermented sesame | 15 | 100.27±0.73 | 0.73 |
| | | 20 | 101.29±0.22 | 0.21 |
| | | 25 | 108.65±1.01 | 0.93 |
| | Fermented sesame | 15 | 102.47±0.06 | 0.06 |
| | | 20 | 98.43±0.54 | 0.55 |
| | | 25 | 110.72±1.18 | 1.06 |
| Sesamin | Non-fermented sesame | 15 | 115.10±0.19 | 0.16 |
| | | 20 | 108.55±0.36 | 0.33 |
| | | 25 | 106.45±0.35 | 0.33 |
| | Fermented sesame | 15 | 114.90±1.65 | 1.43 |
| | | 20 | 114.28±0.50 | 0.44 |
| | | 25 | 107.60±1.09 | 1.01 |
| Sesamolol | Non-fermented sesame | 15 | 101.90±0.79 | 0.78 |
| | | 20 | 102.28±0.65 | 0.63 |
| | | 25 | 110.91±0.92 | 0.83 |
| | Fermented sesame | 15 | 102.37±0.68 | 0.66 |
| | | 20 | 99.18±0.81 | 0.82 |
| | | 25 | 112.05±1.27 | 1.14 |

는 0.34 µg/g, 정량한계는 1.03 µg/g으로 나타났으며, sesamin의 경우 검출한계 0.26 µg/g, 정량한계 0.78 µg/g으로 나타났다. Sesamol의 검출한계 및 정량한계는 각각 0.23 µg/g, 0.70 µg/g으로 나타났다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 참깨의 sesamol, sesamin 및 sesamol을 유용성분 및 지표성분으로 선정 시 분석법 검증을 통하여 이들 원료의 표준화가 가능할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 HPLC를 이용하여 생물전환된 참깨의 lignan 화합물 분석법 검증을 시행하였다. 분석법 검증 결과 표준용액 sesamol, sesamin, sesamol과 참깨 비발효물 및 발효물의 머무름 시간이 일치하는 것을 확인하였으며, spectrum 분석 결과 동일한 spectrum을 나타내어 특이성을 확인하였다. 직선성의 경우 sesamol, sesamin 및 sesamol의 검량선은 모두 0.9999로 1에 가까운 우수한 직선성을 보여주었다. 참깨 비발효물의 lignan 함량 측정 결과, intra-day에서 2.67 mg/g 및 inter-day에서 2.42 mg/g으로 나타났으며, sesamol은 intra-day에서 3.77 mg/g 및 inter-day에서 3.37 mg/g을 나타내었다. 참깨 발효물의 sesamin 함량은 intra, inter-day에서 각각 2.97 mg/g, 2.75 mg/g을 보였으며, sesamol은 intra-day 4.23 mg/g, inter-day 3.92 mg/g으로 나타났다. 일내 정밀도에서 참깨 비발효물의 경우 0.25~0.43%로 나타났으며 참깨 발효물은 0.47~0.69%를 나타냈다. 일간 정밀도에서 참깨 비발효물은 RSD 0.27~0.64%의 정밀도를 보였으며 참깨 발효물은 1.34~1.94%의 정밀도를 나타내어 모두 RSD 5% 이하의 우수한 정밀성을 나타내었다. 또한, sesamol은 98.43~110.72%, sesamin은 106.45~115.10%, sesamol은 99.18~112.05%의 범위의 우수한 회수율을 나타내었다. 검출한계는 sesamol 0.34 µg/g, sesamin 0.26 µg/g, sesamol 0.23 µg/g으로 나타났으며, 정량한계는 각각 1.03 µg/g, 0.78 µg/g, 0.70 µg/g을 보였다. 본 연구 결과 지표성분 sesamol, sesamin 및 sesamol의 분석방법이 적합한 분석방법임을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2016년도 농림축산식품부 고부가가치식품기술사업(과제번호 314076-3)에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Kim GS, Kim DH, Jeong MR, Jang IB, Shim KB, Kang CH, Lee SE, Seong NS, Song KS. 2004. Quantitative analysis of sesamin and sesamol in various cultivars of sesame. *Korean J Crop Sci* 49: 496-502.

2. Makinde FM, Akinoso R. 2014. Comparison between the nutritional quality of flour obtained from raw, roasted and fermented sesame (*Sesamum indicum* L.) seed grown in Nigeria. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 13: 309-319.
3. Kikugawa K, Arai M, Kurechi T. 1983. Participation of sesamol in stability of sesame oil. *J Am Chem Soc* 60: 1528-1533.
4. Lee MS, Kim HW, Bang SK, Kang MH. 2005. Antioxidative effects and its metabolites in rat fed sesamol. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 21-26.
5. Ramachandran S, Prasad NR, Karthikeyan S. 2010. Sesamol inhibits UVB-induced ROS generation and subsequent oxidative damage in cultured human skin dermal fibroblasts. *Arch Dermatol Res* 302: 733-744.
6. Prasad NR, Menon VP, Vasudev V, Pugalendi KV. 2005. Radioprotective effect of sesamol on γ -radiation induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidants levels in cultured human lymphocytes. *Toxicology* 209: 225-235.
7. Hou RCW, Huang HM, Tzen JTC, Jeng KCG. 2003. Protective effects of sesamin and sesamol on hypoxic neuronal and PC12 cells. *J Neurosci Res* 74: 123-133.
8. Min Z, Choi HS, Lee MK. 2010. Enhancement of dopamine biosynthesis by sesamin in PC12 cells. *Korean J Pharmacogn* 41: 221-226.
9. Kang MH, Naito M, Tsujihara N, Osawa T. 1998. Sesamol inhibits lipid peroxidation in rat liver and kidney. *J Nutr* 128: 1018-1022.
10. Dehkordi FR, Roghani M. 2011. Mechanisms underlying sesamol-induced attenuation of vascular dysfunction in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Int J Endocrinol Metab* 9: 311-316.
11. Cho YH, Cho JS, Lee GW. 2011. Antioxidant activity of wood vinegar by bioconversion. *J Korea Acad Industr Coop Soc* 12: 4434-4442.
12. Na EJ, Moon JS. 2015. Studies on the biological activities of the bioconverted soybean extracts. *J Kor Soc Cosm* 21: 82-92.
13. Kim YH, Bae DB, Park SO, Lee SJ, Cho OH, Lee OH. 2013. Method validation for the determination of eleutherosides and β -glucan in *Acanthopanax koreanum*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1419-1425.
14. KFDA. 2008. *Guideline for standard of health functional food*. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. p 1-146.
15. Schwertner HA, Stankus JJ. 2015. Characterization of the fluorescent spectra and intensities of various lignans: application to HPLC analysis with fluorescent detection. *J Chromatogr Sci* 53: 1481-1484.
16. Sadeghi N, Oveisi MR, Hajimahmoodi M, Jannat B, Mazaheeri M, Mansouri S. 2009. The contents of sesamol in Iranian sesame seeds. *Iran J Pharm Res* 8: 101-105.
17. KFDA. 2015. *Korea Food Additives Code*. Korea Food and Drug Administration, Osong, Korea. p 1237-1238.
18. KFDA. 2015. *Analytical method guideline about validation of drugs and etc*. Korea Food and Drug Administration, Osong, Korea. p 1-26.
19. Jeon SY, Jeong EJ, Baek JH, Cha YJ. 2011. Analytical method validation of quercetin in *Changnyeong* onion extract as a functional ingredient for functional health food. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 565-569.
20. Lim JS, Adachi Y, Takahashi Y, Ide T. 2007. Comparative analysis of sesame lignans (sesamin and sesamol) in affecting hepatic fatty acid metabolism in rats. *Br J Nutr* 97: 85-95.

21. Lee HJ, Son DJ, Kang MH, Lee BC, Hong JT. 2006. Effects of lignan compound of sesame on LPS-induced nitric oxide generation in murine macrophage RAW 264.7 cells. *J Soc Cosmet Sci Korea* 32: 173-180.
22. Jung TD, Shin GH, Kim JM, Oh JW, Choi SI, Lee JH, Cho ML, Lee SJ, Heo IY, Park SJ, Kim SU, Jung CS, Lee OH. 2016. Changes in lignan content and antioxidant activity of fermented sesame (*Sesame indicum* L.) by cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45: 143-148.
23. Ju YW, Son MH, Lee JS, Lee MY, Byun SY. 2005. Supercritical fluid extraction of sesame oil with high content of sesamol. *Korean J Biotechnol Bioeng* 20: 205-209.
24. Jeon YJ, Kwak H, Choi JG, Lee JH, Choi SI. 2016. Analytical method for the validation of hispidulin as a marker compound for the standardization of *Salvia plebeia* R. Br. extracts as a functional ingredient. *Korean J Med Crop Sci* 24: 271-276.
25. Sukumar D, Arimboor R, Arumughan C. 2008. HPTLC fingerprinting and quantification of lignans as markers in sesame oil and its polyherbal formulations. *J Pharm Biomed Anal* 47: 795-801.