

## 한국산 식물식용유지의 성분에 관한 연구

- 제 5 보 - : - High Performance Liquid Chromatography 에 의한 참깨와 들깨종자중의 지방산 분석 -

황 성 자 · 고 영 수

한양대학교 식품과학연구소

### Studies on the Constituents of Korean Edible Oils and Fats

- Part 5 : Analysis of Fatty acids in sesame and perilla oil by High Performance Liquid Chromatography

Sung Za Hwang and Young Su Ko

*Institute of Food Sciences, Hanyang University, Seoul, Korea*

= ABSTRACT =

In this work, the quantitative estimation of fatty acids in sesame and perilla oil by high performance liquid chromatography (HPLC) was investigated. The analysis of fatty acids were separated by HPLC using a differential refractometer as a detector. With micro Bondapak C<sub>18</sub> FFAA column and acetonitril, chloroform and tetrahydrofuran mixture as a solvent. In the fatty acid compositions, sesame oil was composed mainly of linoleic and oleic acids 49.6 % and 34.7 %. In perilla oil, the amounts of oleic, linoleic and linolenic acids were 13.6 %, 14.5 % and 63.8 %, respectively.

### 서 론

호마과(Pedaliaceae)에 속하는 참깨종자(Sesamum indicum L.)<sup>1)</sup>와 자소과(Labiatae)에 속하는 들깨종자(Perilla frutescens Britton)<sup>2)</sup>는 식용은 물론이고<sup>3)</sup> 강장제<sup>4)</sup>를 비롯하여 해독 및 변비 등의 약용

을 위시해서<sup>5)</sup> 화장품의 원료등<sup>6)</sup>에 이르기까지 그 의 용도는 다양하며 식품영양학적인 의의가 큰 것은 주지의 사실이다<sup>7)~9)</sup>.

한국산 참깨와 들깨유중의 지방산 조성에 관한 연구로는 gas liquid chromatograph 법에 의한 보고가 저자등<sup>10)</sup> 및 그밖의 보고<sup>11)</sup>가 발표되어 있으며 저자등은 참깨유중에서의 지방산 조성으로 palmitic

접수일자 : 1982년 1월 6일

acid가 17.6%, stearic acid가 13.8%, oleic acid가 36.0% 그리고 linoleic acid가 50.9%이며 기타의 산이 몇종 들어 있으나 아주 극미량이라 하였고, 들깨종자유중에는 주로 linolenic acid가 64.5%로 가장 많고 그 다음이 oleic acid로 13.5%, 그리고 palmitic acid가 5.7%로 가장 적었으며 모등<sup>14)</sup>은 들깨기름은 불포화지방산 중에서도 특히 linolenic acid가 58%나 되어서 함량이 매우 많은것이 특색이라고 지적을 한바 있다.

유지의 원료는 최근 품질개량에 의해서 유분의 함량이 높아지기도 하며 또한 수량(yield)도 좋으며 또한 품종에 따라서는 필수지방산의 함량도 달라질수 있다는것은 흥미있는 일이라는것이 문헌에 보고되어 있어서<sup>12)</sup> 품종과 환경의 변화가 검토되어서 각각의 지방산 조성에의 영향이 언급되어지고 있는 실정이다.

유지의 분석에 있어서 glyceride 나 지방산 그리고 미량성분등에 종래로부터 gas liquid chromatography가 널리 사용되어 지지만 열에 불안정한 물질이나 불휘발성의 물질등 GLC의 분석이 곤란한것에 대하여서는 최근 HPLC의 유용성이 주목되고<sup>15)</sup> 있어서 유지의 분석은 물론이고<sup>16)</sup> 유지성분 이외의 당분, amino acid, organic acid, vitamins, alkaloids, aromatic compounds, (nitroso compounds, 농약, 의약품, aromatic alcohols, etc.) 색소류, aflatoxins, 항생물질, 살충제, 금속 및 무기화합물등의 분석에 광범위하게 이용되고 있어서<sup>17)</sup> 지방산 분석<sup>18)</sup>에도 아주 편리하기는 하지만 아직 우리나라 참깨 및 들깨종자를 추출하여서 비누화(saponification)하여 지방산을 분리하고 ester화하여 유지 지방산을 HPLC법에 의해서 규명한 보고는 없으므로 그의 의의가 크다고 사려되어서 이에 저자들이 한국 인삼의 지방산 조성<sup>19)</sup>에 이용한 방법으로 분석 실험한것을 보고 하는 바이다.

### 실험재료 및 방법

#### I. 실험재료 및 장치

##### 1. 실험재료

###### 1) 분석시료

본 실험에 사용한 참깨 및 들깨의 종자는 1980년

에 수확한 경기도 평택산이며 이 시료를 채에 쳐서 이물질을 제거한것을 그대로 사용하였다.

##### 2) Standard fatty acid methylesters

정량분석용 표준품으로서 사용한 linoleic acid, linolenic acid, oleic acid, palmitic acid 및 stearic acid의 ester 등은 일본의 東京化成工業株式會社 제품으로 특급품이며 이들 각 지방산 ester의 표준품은 tetrahydrofuran에 용해시켜서 HPLC용의 표준품으로 사용하여 동정하였다.

##### 3) Boron trifluoride-methanol (BF<sub>3</sub>)

三弗化硼素, methanol complex 시약은 일본의 森田化學工業株式會社제품의 methanol complex (농도 68%)를 methanol로 희석하여 농도를 12.5%로 한것을 사용하였다.

##### 2. 장치

본 실험에 사용한 장치는 일본 Waters Association Co.의 제품인 Liquid Chromatography로서 Model은 ALC/GPC 244 type이다.

### II. 실험 방법

#### 1. 종자유의 추출

참깨와 들깨종자 시료를 각각 120g 정도를 평량하여서 막자사발로 분쇄하고 상법에 의해서<sup>20)</sup> Soxhlet 추출기에 넣어서 ethyl ether로 약 3시간 동안 추출한 다음에 다시 시료를 재분쇄한후에 재차 2시간씩 추출하고 그의 추출액에 natrium sulfate anhydrous를 가하여 1시간 동안 건조시킨 다음에 여과하여 용매를 완전히 유거<sup>21)</sup>하여 얻어진 crude oil을 질소기류하에 보관하였다.

#### 2. 혼합지방산의 조제

혼합지방산을 조제 하기 위하여 우선 상법에 의해서 불검화물(unsaponifiable matters)을 제거한다<sup>22)</sup>. 즉 유지성분 각 10g씩을 2 normal의 potassium hydroxide ethanol solution 30ml에 가한다음 1시간 동안 reflex condenser하에서 끓이면서 비누화(saponification)를 시킨후에 얻어진 불검화물을 제거하고 진한 hydrochloride로 산성으로 하여 유리된 지방산을 ethyl ether로 2~3회 추출하고 그 추출액을 포화식염수로 5~6회 세척하여서 중성으로 만든 다음에 그것을 건조제로 무수 natrium sulfate를 사용하여 탈수시키고 ethyl ether을 증발건고하여서 얻어진 지방산을 역시 질소 gas를 통과 시킨다음에 보관하였다.

3. 지방산의 methylesterification : 지방산의 methyl ester 화는 Metcalfe<sup>29)</sup>,<sup>30)</sup>의 방법과 그것을 보충한 방법등<sup>25)</sup>을 참고로 하여서 BF<sub>3</sub> 시약을 사용하여 methanol로 희석하여서 농도를 12.5%로 한것<sup>26)</sup>을 사용하였으며 지방산 약 450mg을 100ml의 Volumetric flask에 넣고 10ml의 12.5%의 BF<sub>3</sub>-methanol 시약을 가하여 약 15분간 가열한 후에 포화식염수를 충분히 가하여 생성된 methyl ester을 separatory funnel에 옮긴후에 비등점이 낮은 Petroleum ether (35~45°C)를 가해서 3회 추출한 다음에 증성이 될때까지 증류수로 세척한후 Petroleum ether 증을 증발건고 시켜서 여과한 후에 ether 용매를 제거 시키고 HPLC의 분석용으로 사용하였다.

4. HPLC에 의한 지방산의 분석

본실험에서 지방산의 분석용으로 사용한 장치는 위에 말한 바와 같이 Waters Associates 제품인 Liquid chromatograph, Model ALC/GPC 244 type를 사용하였으며 HPLC는 고감도시차굴절계(高感度示差屈折計)를 사용함으로써 시료를 용해시키는것 만으로 단시간에 재현성이 높은 Chromatogram이 얻어지며 gas liquid chromatograph법에서는 분리가 불가능하였던 불포화 지방산의 이성체 까지 분리할 수 있었다<sup>27)</sup>.

HPLC에 있어서는 Column의 역할이 가장 중요하므로 시료에 대해서 적당한 선택이 기대되는 분리를 얻을 수 있기때문에 본 실험에서는 지방산의 분리를 위하여 일본의 Waters Associates사에서 개발하여 지방산과 그의 관련물질의 분리에 이용한 micro Bondapak FFAA Column<sup>28)</sup>,<sup>30)</sup>을 사용하여서 분리를 하였으며 실험조건은 다음 Table 1과 같다.

이상의 실험조건에 의해서 참깨 및 들깨 지방산의 분석을 HPLC에 의해서 한다음에 얻어진 chromatogram의 peak의 면적은 면적 분포측정법<sup>31)</sup>에 의해서 정량하였다.

실험결과 및 고찰

참깨 및 들깨 종자유의 혼합지방산의 methyl ester을 HPLC에 의해서 분석하기 위하여 표준 지방산의 methyl ester로서는 linolenic acid, linoleic acid, oleic acid, palmitic 및 stearic acid를 사용하여서 분리한 chromatogram은 Fig. 1과 같고 같은 조건으

Table 1. Operating conditions of HPLC

Item	Condition
Apparatus	Liquid Chromatograph, Nihon Waters Associates Model ALC/GPC 244 type
Mobile phase	Acetonitril: Aqua dest.: Tetrahydrofuran (45: 35: 25)
Column	Micro Bondapak FFAA C <sub>18</sub> (4mm x 30cm)
Flow rate	1.0 ml/min.
Detector	RI; 16 X UV; at 254, 0.5 aufs
Chart speed	0.5 cm/min.
Injection amount	2 μl with Hamilton micro-syringe

로 참깨 종자유의 지방산을 분리한 chromatogram은 Fig. 2와 같으며 역시 같은조건으로 들깨 종자유의 지방산을 분리한 chromatogram은 다음 Fig. 3과 같다.

그리고 Peak의 면적을 측정하여서 정량한 결과는 다음 Table 2와 같다.

이상의 Table 2의 결과를 보면 참깨종자유에는 linoleic acid (49.6%)와 oleic acid (34.7%) 등의 불포화 지방산의 함량이 풍부하며 특히 필수지방산인 linoleic acid의 함량이 거의 50%나 되는것은 식품영양학적인 가치가 풍부함을 재확인 할수 있으며 들깨종자유의 경우에도 역시 linolenic acid와 같은 불포화 지방산의 함량이 60% 이상이나 되어서 특이한 기름이라고 생각되는 바이다.

Table 2. Fatty acid composition of sesame and perilla seed oil by HPLC

Fatty acid	Content (%)	
	Sesame oil	Perilla oil
Palmitic (C <sub>16</sub> )	8.3	6.4
Stearic (C <sub>18</sub> )	5.9	1.7
Oleic (C <sub>18</sub> <sup>1a</sup> )	34.7	13.6
Linoleic (C <sub>18</sub> <sup>2a</sup> )	49.6	14.5
Linolenic (C <sub>18</sub> <sup>3a</sup> )	1.5	63.8

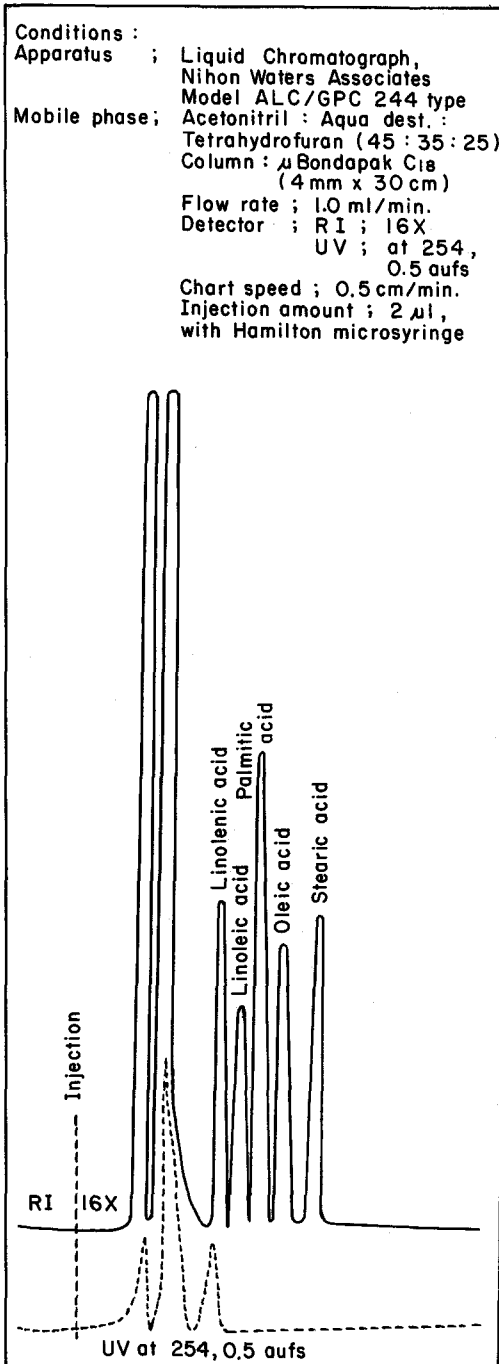


Fig. 1. Liquid chromatogram of fatty acids standard mixture.

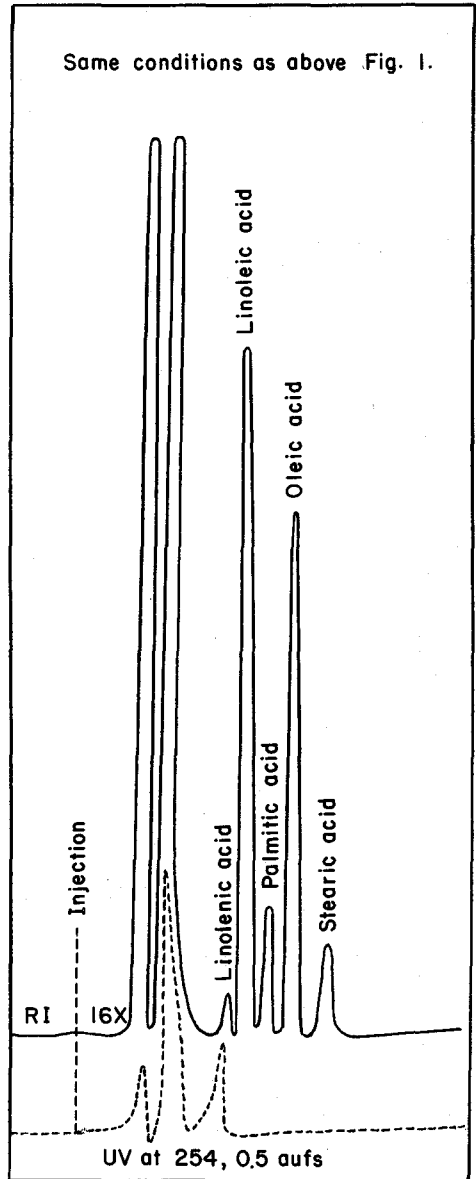


Fig. 2. Liquid chromatogram of sesame seed oil fatty acids.

HPLC는 최근그의 응용성, 간편성, 및 신뢰성 등이 평가되어 있으며 다른 chromatography 와 비교하면 시료의 조정(調整)이 매우 간단하고 각 분리 모드를 구사(驅使)하여 용액 상태의 시료의 분리는 언제나 가능하고 또한 정량분석을 할 수 있고 비파괴

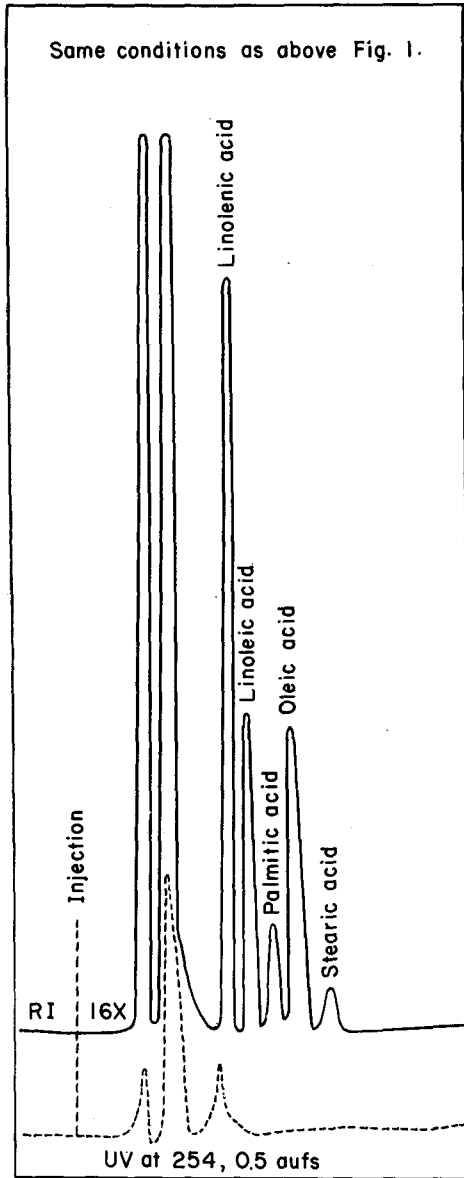


Fig. 3. Liquid chromatogram of perilla seed oil fatty acids.

분석을 위한 시료의 분취(分取)가 간단히 행할 수 있는것등을 들수 있다.

따라서 지방산 또는 이와 관련된 물질들의 분석에는 지방산분석용 column 을 사용하여 분리 할 경우 이들 물질의 paper chromatography (pc), 또는 박층

chromatography (TLC)에서는 정량성, 재현성, 분석 시간등에 또는 gas chromatography (GC)에서는 전처리를 요하는 문제점을 갖고 있으나 HPLC에서는 고감도 시차굴절계(高感度示差屈折計)를 사용함으로써, 시료를 용매에 용해시키는것만으로 단시간에 재현성이 높은 chromatogram 이 얻어지고게다가 GC 에는 불가능 하였던 불포화 지방산의 이성체까지 분리 할수가 있다는 문헌<sup>20)</sup>에 의거하여 본실험에서는 HPLC 의 유용성에 대하여 test 를 한것이다.

고등<sup>10)</sup>이 GC 에 의해서 한국산 참깨와 들깨 종자유 지방산 조성을 분석한 결과에 의하면 HPLC 에서 나타난 포화 및 불포화 지방산 5 종 이외에도 참깨 종자유 지방산에서는 arachinic acid (0.5%), docosanic acid (0.2%), palmitoleic acid (0.2%), eicosanic acid 0.3% 등과 비록 흔적 만의 미량이지만 heptadecanic acid 및 eicosadienic acid 등이 검출된바 있다.

그리고 들깨 종자유 지방산에서도 역시 5 종의 지방산 외에도 arachinic acid (0.5%), palmitoleic acid (0.2%), docosenic (erucic) acid (0.1%), eicosadienic acid (0.5%), 및 기타의 지방산이 0.3% 이고 그밖에도 myristic acid, heptadecanic acid, 그리고 heptadecenic acid 등의 흔적이 검출된바 있다.

또한 모등의 보고<sup>11)</sup>에 의하면 GC 의 분석 결과에서 참깨종자유 지방산에는 palmitic acid (8.8%), stearic acid (3.5%), oleic acid (37.7%), linoleic acid (47.8%), 및 linolenic acid (2.2%), 등본 실험의 결과와 함량은 다르지만 5 종의 지방산이 검출된것은 일치하나 들깨 종자유 지방산의 경우 palmitic acid (6.9%), stearic acid (1.7%), oleic acid (15.9%), linoleic acid (14.1%), linolenic acid (58.0%) 등 외에 heptadecenic (C<sub>17:1</sub>) acid 가 0.8%, 그리고 C<sub>20:2</sub> 라고 사려 되는 미지의 지방산이 2.6%나 검출된것을 보면 지방산 분석에 GC 에서는 HPLC 의 결과 보다도 더 다양한 지방산이 검출 되었다고 할수 있다.

따라서 본 실험에서는 HPLC 로 이용한 보고가 우리나라산 참깨와 들깨종자유 지방산 분석이 없었기에 의의가 있을 뿐이고 HPLC 의 이용 방법에 보다 정확하게 다양한 지방산이 검출될수 있도록 조건을 다양하게 실험해 볼필요성이 있다고 본다.

### 결 론

위에 언급한것 처럼 HPLC 는 최근 지방산 및 이와 관련된 유지의 분석에 종래에 용하여 오던 GC 나 기타의 chromatograph 법 보다도 더욱 간편하고 정확하게 정량할수 있다는 보고를 참고로 하여서 한국산 식물 종자 중의 성분에 관한 연구의 일환으로서 본보에서는 참깨와 들깨 종자유중의 지방산의 조성을 분리한결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 참깨 종자유 중에는 필수지방산인 linoleic acid 의 함량이 가장 높아서 49.6 % 이었고 그다음인 역시 불포화 지방산의 일종인 oleic acid 로 34.7 %, 그리고 palmitic acid 8.3 %, stearic acid 가 5.9 % 이고 linolenic acid 의 함량은 1.5 % 이었다.

2) 들깨 종자유의 경우에는 참깨 종자유중에 가장 적게 함유한 linolenic acid 의 함량이 63.8 % 이고 그다음으로는 linoleic acid 14.5 %, oleic acid 13.6 %, palmitic acid 6.4 %, 그리고 stearic acid 가 1.7 %의 순이었다.

3) HPLC 에 의해서 분석한결과를 GC 에 의해서 분석한 보고와 비교를 해보면 GC 에서는 HPLC 에서 나타나지 않는 다양한 지방산이 비록 미량이긴 하지만 검출이 되었으므로 HPLC 를 이용하는 것은 매우 바람직 한 일이나 분석조건이나 시료의 조제등 보다 더 면밀한 실험이 행하여져서 GC 보다도 더욱 다양한 지방산이 검출될수 있도록 지속적인 연구가 필요하다고 느낀다.

4) 결론적으로 HPLC 에서나 GC 에서나 공통적으로 나타난 분석 결과에 의하면 우리나라의 참깨 및 들깨 종자유 등에는 이미 알려진 바와 같이 역시 우리 체내에 꼭 필요한 필수 지방산의 함량이 참깨종자유의 경우 49.6 %, 들깨종자유의 경우 14.5 % 로 함량이 풍부하여 식품 영양학적인 의의가 크다고 사려 된다.

따라서 최근 HPLC 는 지방산 및 이와 관련된 물질의 분석에 광범을 받고 있음으로 GC 와 비교 실험을 한다던가 또는 단독 실험을 하는것은 의의가 있다고 생각되는 바이다.

### 참 고 문 헌

- 1) Hilditch, T. P.: *The chemical constitution of natural fats.* Chapman & Hall: 370, 1956.
- 2) Hegnauer, R.: *Chemotaxonomie der pflanzen. Eine Übersicht über die Verbreitung und die systematische Bedeutung der Pflanzenstoffe. Band 3, Dicotyledoneae, I. Teil von Acanthaceae bis Cyrillaceae;* 556, 1964.
- 3) Lee S. J.: *Korean Folk Medicine - Monographs series No. 3 - Publication center of Seoul National University, Seoul, Korea pp. 129 - 30, 1966.*
- 4) 육창수: 한국약품식물자원도감, 진명출판사, 364, 1981.
- 5) 江蘇新醫學院編: 中業大辭典, 下冊, 上海科學技術出版社, 1950, 1977.
- 6) 日光ケミカルズ株式會社 ハソドブツクー 基礎知識總說集-906, 1968.
- 7) 고영수: 개스크로마토그래피 - 에 의한 참깨유 중의 트리글리세라이드 조성에 관한 연구, 한국식품과학회지, 5(3), 153-156, 1973.
- 8) 고영수: 한국산참깨와 그의 박의 성분에 관한 연구, 삼양식품공업주식회사연구보고서, 56, 1973.
- 9) 성환상: 재래종들깨의 성분에 관한 연구, 한국영양과학회지, 5(1): 69-74, 1976.
- 10) Seher, A., Krohn, M. & Ko, Young Su: *Composition of Some Korean Seed Oils, Fette. Seifen. Anstrichmittel Vol. 79, 203-206, 1977.*
- 11) 모수미: 한국산 각종종실유의 지방산에 관한 연구, 한국영양학회지, 8(2), 19-26, 1975.
- 12) Hamashima, M.: *Outlook on the Raw Materials of Edible Oils, Yukagaku 27(10) 696-703, 1978.*
- 13) Murui, T. & Watanabe, H.: *Some Applications of High Performance Liquid Chromatography to Oil and Fats Analysis, Yukagaku 28(7) 461-467, 1979.*
- 14) Fujitani, T.: *Applications of High Performan-*

- ce Liquid Chromatography to the Analysis of Minor Components in Fats*, *Yukagaku* 28(7) 468-473, 1979.
- 15) Suzuki, A.: *High Performance Liquid Chromatographic Analysis of Lipids obtained from Biological Materials*, *Yukagaku* 28(7), 474-479, 1979.
- 16) 高木徹: 油脂・脂質の機器分析, 幸書房, 175-179, 1976.
- 17) 波多野博行, 堀正剛, 六應宗治, 村上文子: 液體クロマトグラフとえの應用, 講談社, サイエンステイフイク, 57-81, 1974.
- 18) Tsuji, K. & Nakae, A.: *High Performance Liquid Chromatography, Surface Active Agents*, *Yukagaku*, 29(8) 606-612, 1980.
- 19) 김영수·정보섭: 고속액체크로마토그래피법에 의한 한국인 삼중의 지방산 조성에 관한 연구, 한국식품과학회지, 13(1) 15-19, 1981.
- 20) Pharmaceutical Society of Japan: *Standard Methods of Analysis for Hygienic Chemists*, 177, 1980.
- 21) 小原哲二郎, 鈴木隆雄, 岩尾裕元: 食品分析ハンドブック 第2版, 建帛社, 129-130, 1977.
- 22) 日本油化學會編: 基準油脂分析試驗法, 規定 2.4, 朝倉書店, 71, 1966.
- 23) Metcalfe, L.D., Schmitz, A. A. & Pelka, J. R.: *Rapid Preparation of Fatty Acid Esters from Lipids for Gas Chromatographic Analysis* 38(3) 514-515, 1966.
- 24) Metcalfe, L.D. & Schmitz, A. A.: *The Rapid Preparation of Fatty Acid Esters for Gas Chromatographic Analysis*, *Analytical Chemistry* 33(3) 363-364, 1961.
- 25) Vorbeck, M.L., Mattick, L. R., Lee, F. A. & Pederson, C.S.: *Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids for Gas Liquid Chromatography*, *Analytical Chemistry* 33(10) 1512-1514, 1961.
- 26) Isobe, T., Seino, H. & Watanabe, S.: *Some problems of the preparation of Fatty acid methyl ester using Boron Trifluoride Methanol Reagent*, *Yukagaku* 26(4) 236-239, 1977.
- 27) Waters, J.L.: *Liquid Chromatography, Past, Present, & Future*, Waters Associates, Inc. Milford Massachusetts 1-6, 1975.
- 28) Takahashi, Y., Nakayama, C. & Satoh, M.: *The applicatcn of high performance liquid chromatography to cosmetics*, *Fragrance Journal* No. 23, 73-77, 1977.
- 29) Patrick, T.S., Robert, P., Henly, S. & Ramachandran, S.: *New Application of High Pressure Reversed Phase Liquid Chromatography in Lipids*, *Lipids* 10(3) 152-156, 1975.
- 30) 김영수: 고속액체크로마토그래피에 의한 시판유종의 트리글리세라이드 조성에 관한 연구, 한양대학교, 교수논문집 제1권 149-160, 1981.
- 31) Aitzetmüller, K.: *Liquid Chromatography of Used Fring Fats, Fette. Seifen. Anstrichmittel* Vol. 75, 14-17, 1973.