한작지(Korean J. Crop Sci.), 67(1): 61~66(2022)
DOI : https://doi.org/10.7740/kjcs.2022.67.1.061

ISSN 0252-9777(Print)
ISSN 2287-8432(Online)

Original Research Article

근적외선분광(NIRS)을 이용한 참깨의 lignan 함량 비파괴 분석 방법 확립

이정은[1,†] · 김성업[1] · 이명희[2] · 김정인[1] · 오은영[1] · 김상우[1] · 김민영[1] · 박재은[1] · 조광수[2] · 오기원[2]

Establishment of a Nondestructive Analysis Method for Lignan Content in Sesame using Near Infrared Reflectance Spectroscopy

Jeongeun Lee[1,†], Sung-Up Kim[1], Myoung-Hee Lee[2], Jung-In Kim[1], Eun-Young Oh[1], Sang-Woo Kim[1], MinYoung Kim[1], Jae-Eun Park[1], Kwang-Soo Cho[2], and Ki-Won Oh[2]

ABSTRACT Sesamin and sesamolin are major lignan components with a wide range of potential biological activities of sesame seeds. Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) is a rapid and non-destructive analysis method widely used for the quantitative determination of major components in many agricultural products. This study was conducted to develop a screening method to determine the lignan contents for sesame breeding. Sesamin and sesamolin contents of 482 sesame samples ranged from 0.03-14.40 mg/g and 0.10-3.79 mg/g with an average of 4.93 mg/g and 1.74 mg/g, respectively. Each sample was scanned using NIRS and calculated for the calibration and validation equations. The optimal performance calibration model was obtained from the original spectra using partial least squares (PLS). The coefficient of determination in calibration (R^2) and standard error of calibration (SEC) were 0.963 and 0.861 for sesamin and 0.875 and 0.292 for sesamolin, respectively. Cross-validation results of the NIRS equation showed an R^2 of 0.889 in the prediction for sesamin and 0.781 for sesamolin and a standard error of cross-validation (SECV) of 1.163 for sesamin and 0.417 for sesamolin. The results showed that the NIRS equation for sesamin and sesamolin could be effective in selecting high lignan sesame lines in early generations of sesame breeding.

Keywords : lignan, near infrared reflectance spectroscopy, sesame, sesamin, sesamolin

참깨(*Sesamum indicum* L.)는 참깨과(Pedaliaceae)에 속하는 1년생 초본 식물로 아시아 및 아프리카 지역에서 주로 재배되는 유지작물이다(Anilakumar *et al*., 2010). 참깨 종자와 참기름은 전 세계적으로 소비되고 있으며 유럽과 미국에서의 소비가 증가하고 있는 추세이다(Morris, 2002). 특히 참깨 종자와 참기름에 함유되어 있는 리그난은 대표적인 기능성 물질로 리그난의 대표적인 성분으로는 세사민과 세사몰린이 있다(Namiki, 1995). 리그난은 체내의 활성산소로부터 야기되는 다양한 질병을 억제할 수 있으며(Kumar & Singh, 2015), 또 간의 콜레스테롤 축적을 막는 효과(Ogawa *et al*., 1995), 지방산 대사 억제 효과(Lim *et al*., 2007), 항치매 효과(Matsumura *et al*., 2016) 등이 알려져 있다. 따라서 리그난 함량은 참깨 종자를 평가하는데 중요한 지표 성분이다. 현재 우리나라의 참깨 자급률은 15% 미만으로 대부분 수입에 의존하고 있으며 저가인 수입산 참깨로 인해 국산 참깨의 경쟁력은 감소하고 있다. 반면 건강에 관심 및 기능성 식품의 선호도 증가로 인해 국산 참깨의 수요량은 더욱 증가할 것으로 예상된다. 따라서 수입산 참깨와 차별화를 할 수 있는 기능성 물질이 다량 함유된 참깨가 요구되고 있다. 이에 고리그난 참깨 육종은 중요한 육종 목표 중 하나이며 고리그난 계통을 초기 세대에 선발하기 위한 모델 구축이 필요한 실정이다.

현재 작물에 함유된 일정 성분을 정량하는 방법은 각 시료의 목적하는 물질 별로 추출 및 분리하는 것이 대표적인 방법인데 이러한 방법은 과다한 시간과 노력이 소요된다(Kim *et al*., 2014). 이러한 문제점 때문에 전처리 과정 없

[1)]농촌진흥청 국립식량과학원 농업연구사 (Researcher, National Institute of Crop Science, RDA, Miryang 50424, Korea)
[2)]농촌진흥청 국립식량과학원 농업연구관 (Senior Researcher, National Institute of Crop Science, RDA, Miryang 50424, Korea)

[†]Corresponding author: Jeongeun Lee; (Phone) +82-55-350-1226; (E-mail) jel6418@korea.kr
<Received 16 November, 2021; Revised 5 January, 2022; Accepted 19 January, 2022>

ⓒ 본 학회지의 저작권은 한국작물학회지에 있으며, 이의 무단전재나 복제를 금합니다.
This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

이 빠르게 분석할 수 있는 근적외선분광기(NIRS: near infrared reflectance spectroscopy)를 이용한 비파괴적 정량 분석 방법이 대두되고 있다. NIRS는 근적외선이 시료에 조사될 때 시료내 특정 작용기가 분자 진동을 일으키고 특정 파장의 빛을 흡수하게 되는데 이러한 흡광 정도는 시료 내 작용기 농도에 비례한다는 램버트 비어 법칙에 근거한 정량분석 방법이다(Oh *et al*., 2017). 현재 NIRS를 이용한 분석 방법은 육종 소재를 대량 평가하는 데 널리 사용되고 있다. NIRS를 이용한 콩의 지방산 및 단백질 분석(Choi *et al*., 2016)과 안토시아닌 분석(Kim *et al*., 2008), 밀의 글루텐 분석(Salgó & Gergely, 2012), 벼의 아밀로스 분석(Sampaio *et al*., 2018) 등의 연구가 보고되었으며 참깨는 지방산 분석(Sato *et al*., 2003) 및 리그난 분석(Xia *et al*., 2020)을 수행한 바 있다. Kim *et al*. (2006)에 따르면 총 93점의 국내 참깨 종자를 NIRS분석을 통해 참깨의 리그난 함량을 조사하였다. 세사민과 세사몰린의 검량식 결정 계수 값은 각각 0.947과 0.906이 나왔으며 검량식 확인(cross-validation)을 위한 결정 계수 값은 0.837와 0.784로 조사되었으나 실험에 사용된 참깨 시료의 수가 적고 리그난 함량의 범위가 좁아 NIRS 분석에 있어 객관적인 시료의 모집단을 구성하고 스펙트럼의 다양성을 설명하기 위해서는 다른 환경에서 생산된 많은 수의 시료가 필요하다고 판단되었다. 따라서 본 연구에서는 좀 더 많은 참깨 종자의 리그난 함량을 NIRS을 통해 분석하였다.

본 연구에서는 참깨의 고리그난 육종 소재를 초기에 빠르고 정확하게 선발하기 위하여 참깨 종자 482점을 조사하여 검량식을 작성하였으며, 이를 바탕으로 추가적인 검증을 통해 참깨의 고리그난 자원 선발 모델을 구축하였다.

재료 및 방법

시험 재료

본 연구에 사용된 시험 재료는 참깨의 품종, 유전자원, 우량계통 및 재조합자식계통 종자 등이며 농촌진흥청 국립식량과학원 남부작물부 시험포장에서 2018년, 2019년, 2020년에 생산하였다. 재배는 흑색 참깨 전용 유공 비닐을 피복하고 조간 거리, 주간 거리는 각각 30 cm, 15 cm로 하였으며 5월 중순에 파종하여 8월 하순에 수확하였다. 시비는 질소, 인산, 칼리를 성분량으로 10a 당 각각 2.9, 3.1, 3.2 kg을 전량 기비로 사용하였다.

리그난 함량 분석

참깨의 리그난 함량 분석은 HPLC (Dionex 3000, Thermo Fisher, USA)를 사용하여 분석하였다. 분석 방법은 참깨 시료 1.0 g을 분쇄한 후 100% Methanol (MeOH) 20 mL를 첨가하여 24시간 동안 상온에서 회전식 교반기(Eyela JP/mm S-110)를 이용하여 추출하였다. 추출 용액의 상등액을 syringe filter (Whatman 0.2 μm, NYL)를 이용하여 여과한 후 HPLC 분석 시험용액으로 사용하였다. HPLC 분석 조건은 mobile phase를 MeOH과 증류수로 하였으며 MeOH의 비율은 60% (v/v)이다. 칼럼은 YMC Triart C-18 (1.9 μm, 2.0 × 50 mm, 30°C)을 사용하였고 유속은 0.3 mL/min이며 검출기는 diode-array Detector UV 290 nm로 15분간 분석하였다.

근적외선 스펙트럼 측정

참깨의 품종 및 유전자원 482점의 근적외선 스펙트럼을 측정하기 위해 NIR 분광기기 Spectra star 2500 (Unity Scientific, Columbia, MD, USA)를 이용하였다. 시료컵에 참깨를 충진하여 공극을 최소화 시키고 실온에서 680-2500 nm의 파장 범위에서 1.0 nm 간격으로 측정한 후 검량식 유도를 위해 흡광도(log 1/R, R = reflectance)로 변환하여 스펙트럼을 수집하였다.

NIRS 검량식 작성 및 검증

검량식은 Standard Normal Variate and Detrending (SNV-D) 전처리 기법을 통해 시료 입자의 크기, 수분, 밀도 등 물리적인 성질에 의한 스펙트럼 산란 현상을 보정하였으며 수처리(Math Treatment), 회귀분석과 같은 일련의 연속적 처리과정을 거쳐 검량식을 작성하였다. 수처리는 1, 8, 8, 1 (1st derivative, 8 nm gap, 8 point smooth, 1 point second smooth)을 적용하였으며 회귀분석은 부분최소제곱법(Partial Least Square, PLS)을 사용하였다. 리그난 HPLC 분석 값과 NIRS 측정값의 통계적 해석과 상관관계 분석은 UCal 4.0 (Unity Scientific, Milford, MA, USA)를 이용하였다. 최적의 검량식을 얻기 위해 결정 계수(RSQ, R^2), Standard error of calibration (SEC), Standard error of cross-validation (SECV) 등의 통계치를 고려하여 선별하였다.

작성된 검량식의 적용가능성을 검증하기 위해 검량식 작성에 이용되지 않은 2020년에 생산된 참깨 종자 90자원의 리그난 함량을 NIRS를 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

검량식 작성을 위한 HPLC 분석 값을 얻기 위해 참깨 482점에 대한 리그난 분석을 수행하였다(Table 1). 세사민의 함량 범위는 0.03-14.40 mg/g, 평균 4.93 (±3.414) mg/g이며 세사몰린의 함량 범위는 0.10-3.79 mg/g, 평균 1.74

(±0.825) mg/g으로 조사되었다. Wang *et al*. (2013)에 따르면 중국에서 재배한 참깨의 세사민의 함량 범위는 0.82-11.05 mg/g이었고 세사몰린의 함량 범위는 1.35-6.96 mg/g 이었으며 Rangkadilok *et al*. (2010)의 연구에서는 태국에서 재배한 참깨의 세사민 함량 범위는 0.01-7.23 mg/g, 세사몰린 함량의 범위는 0.01-2.25 mg/g 이었다. 이와 비교하였을 때 본 실험에서 사용한 시료의 참깨 종자에 함유된 세사민 및 세사몰린의 함량 변이 폭이 더 넓게 나타났으며 이는 NIRS를 이용한 리그난 함량 정량 분석에 유리하게 적용될 수 있을 것으로 사료된다.

NIRS를 통해 참깨 종자의 리그난 함량을 분석하기 위해 680-2500 nm에서 1.0 nm 간격으로 스펙트럼을 얻었다. Fig. 1A는 참깨 종자의 전체 스펙트럼을 나타낸 것으로 스펙트럼의 변이 폭이 넓게 나타났다. 시료의 밀도, 온도, 입자 크기 등의 차이로 인한 산란 차에 의해 바탕선의 변화가 발생하게 되며 이러한 변화는 검량식 작성에 많은 오차를 유발하게 된다(Park *et al*., 2012). 따라서 수처리 방법으로 바탕선의 변동 및 흡광도의 방해 요인으로 인한 오차를 보정할 수 있으며 본 실험에서는 1차 미분으로 보정한 후(Fig. 1B) 1, 8, 8, 1 (1st derivative, 8 nm gap, 8 points smooth, 1 point second smooth) 조건을 사용하였다. 본 실험에서 회귀분석 법으로 PLS법을 적용하였다. PLS법은 부분최소자승법으로 복잡한 근적외선 스펙트럼을 가지고도 여러 혼합물 형태의 시료를 분석할 수 있고 여러 파장과 조성, 물성 간의 상호관계를 만들어 검량 하기 위한 최적의 방법으로 알려져 있다(Cho *et al*., 2011). PLS법은 벌꿀의 수분이나 당 성분 등 품질 평가하는데 적용되기도 하였으며(Cho & Ha, 2002), 녹차의 폴리페놀 함량을 측정하는 데에도 적용

Table 1. Reference value of sesamin and sesamolin for calibration in 482 sesame samples (unit: mg/g).

Constituent	Min	Max	Mean	SD
Sesamin	0.03	14.40	4.93	3.414
Sesamolin	0.10	3.79	1.74	0.825

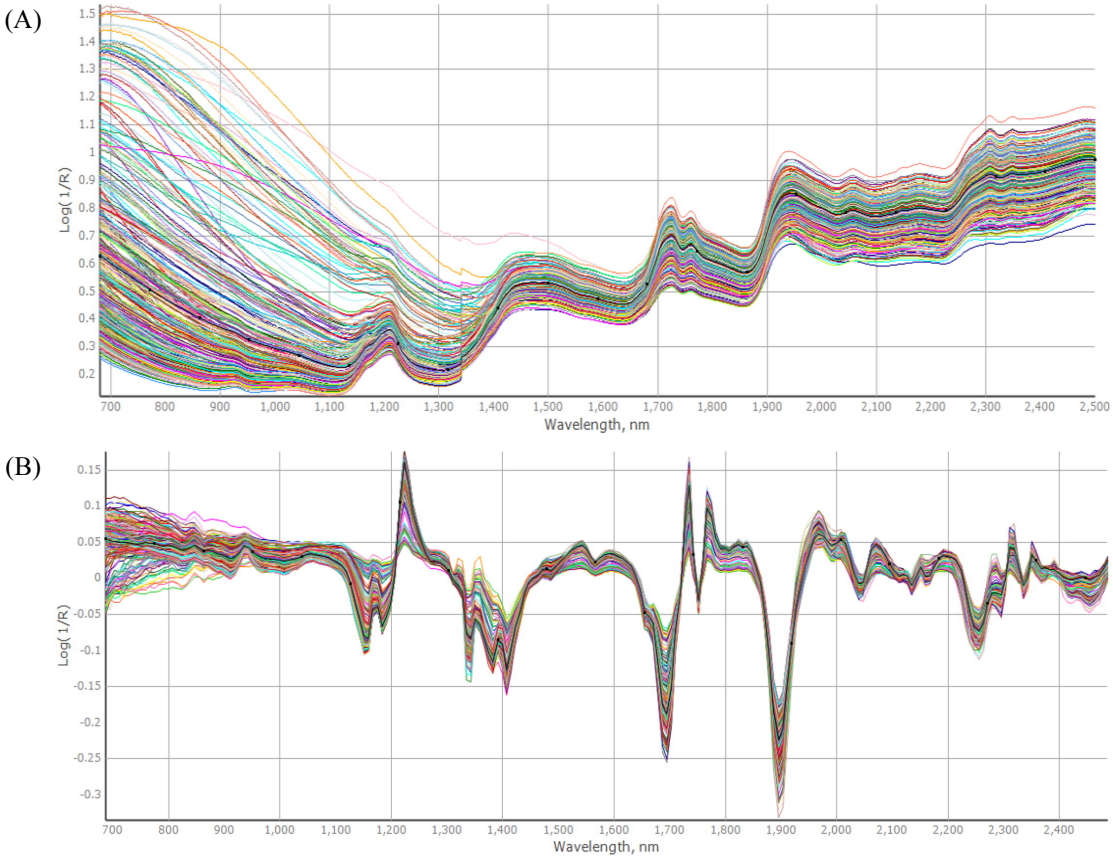

Fig. 1. Raw spectrum (A) and 1st derivative spectrum (B) of 482 sesame seeds samples.

Table 2. Statistics of calibration and cross-validation of sesamin and sesamolin in sesame seeds.

	Number of samples to keep	Number of samples reject	Calibration		Cross validation	
			RSQ[z]	SEC[y]	RSQV[x]	SECV[w]
Sesamin	364	118	0.936	0.861	0.889	1.163
Sesamolin	372	110	0.875	0.292	0.781	0.417

[z]RSQ (R^2) = coefficient of determination in calibration
[y]SEC = standard error of calibration
[x]RSQV = coefficient of determination in validation
[w]SECV = standard error of cross-validation

Table 3. Reference value of sesamin and sesamolin in 90 sesame seeds produced in 2020 (unit: mg/g).

Constituent	Min	Max	Mean	SD
Sesamin	0.31	6.16	2.87	1.332
Sesamolin	0.52	3.24	1.81	0.622

된 바 있다(Chen *et al*., 2008).

실험실에서 얻은 리그난 함량 값을 이용하여 NIRS 검량식 작성 결과는 Table 2와 같다. 세사민 함량에 대한 R^2 값은 0.936, SEC 값은 0.861이었으며 세사몰린의 R^2 값은 0.875, SEC 값은 0.292로 두 성분 모두 높은 수준의 R^2 값을 보였다. 작성된 검량식의 정확도를 검증하기 위해 cross-validation한 결과 검량식 검정 결정계수(RSQV)와 표준오차(SECV)는 세사민 함량이 각각 0.889, 1.163이며 세사몰린 함량은 각각 0.781, 0.417을 나타냈다. 두 성분 cross validation한 값 모두 결정 계수는 낮아지고 표준오차는 증가하였다. 또한 세사민에 비해 세사몰린의 분석 값이 낮게 나왔으며 이는 세사민에 비해 세사몰린의 함량 자체가 적을 뿐만 아니라 세사몰린 간의 함량 변이가 적었기 때문이다. Kim *et al*. (2008)에 따르면 검정콩에 함유된 안토시아닌의 개별색소 C3G, D3G, Pt3G의 상관계수 값이 각각 0.952, 0.936, 0.833이었으며 이는 NIRS를 이용하여 안토시아닌 함량을 분석할 수 있다고 판단하였기에 본 연구에서 참깨 리그난 함량을 HPLC 기기 분석을 하지 않고 NIRS를 통한 비파괴 분석을 적용하기에 충분한 것으로 사료된다.

작성된 검량식의 정확도를 확인하기 위하여 2020년에 생산된 참깨 유전자원 90점을 통해 검증하였다. 우선 HPLC 분석 결과 세사민의 함량 범위는 0.31-6.16 mg/g, 평균은 2.87 (±1.332) mg/g이며, 세사몰린의 함량 범위는 0.52-3.24 mg/g, 평균은 1.81 (±0.622) mg/g으로 조사되어 검량식 작성에 사용된 시료의 리그난 함량 범위 내에 분포하였다 (Table 3). 앞서 작성된 검량식의 적용가능성을 검증하기 위하여 참깨를 NIRS검량식에 적용하여 세사민 및 세사몰

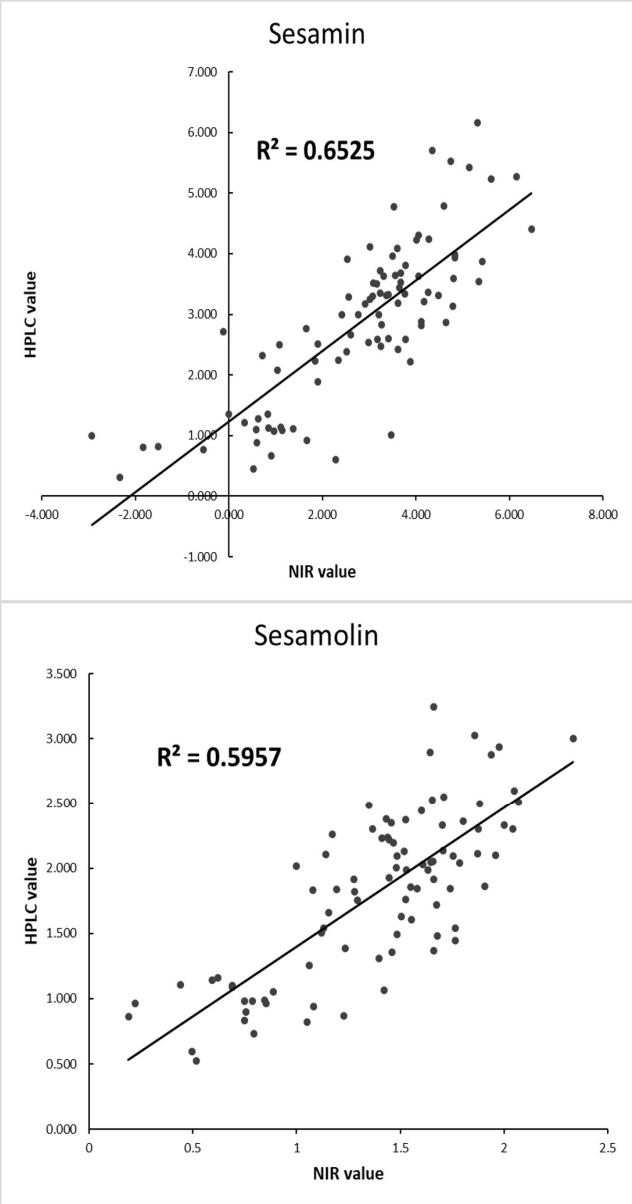

Fig. 2. Correlation plots between NIRS data and reference data of sesamin and sesamolin of the 90 sesame seeds produced in 2020.

린의 성분을 분석한 결과 R^2 값이 각각 0.653, 0.596으로 조사되었다(Fig. 2). 참깨 계통을 선발할 때에는 계통 별 리그난 함량을 정밀하게 측정하기 보다는 상대적 함량이 높은 계통을 선발하는 것을 목표로 하고 있어 리그난 함량이 높은 상위 30%의 자원을 선발하는 데는 본 실험에서는 표본의 크기가 크고 리그난 함량 범위가 다양하기 때문에 충분히 활용할 수 있을 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서 작성된 NIRS 검량식이 육종 초기에 참깨의 고리그난 자원을 선발하는데 적용될 수 있을 것이라 판단된다.

적 요

본 연구는 참깨에 함유된 세사민 및 세사몰린의 함량을 비파괴적으로 신속하게 평가하기 위하여 NIRS 분석을 이용해 검량식을 작성하고 검량식의 적용가능성을 검증하였다. 검량식 작성에 사용된 482점 참깨의 HPLC 분석 결과를 NIRS 스펙트럼에 적용시킨 후 검량식을 작성하였다. 세사민 및 세사몰린의 R^2 값은 각각 0.936, 0.875로 조사되었으며 이를 cross validation 한 결과에서도 각각 0.899, 0.781로 조사되어 리그난 함량 분석에 적용 가능할 것으로 판단되었다. 작성된 검량식의 적용가능성을 확인하기 위해 2020년에 생산된 참깨 유전자원 90종의 종자를 NIRS를 통해 분석한 결과 세사민 및 세사몰린의 R^2값이 각각 0.653, 0.596으로 크게 낮아졌으나 리그난 함량이 높은 상위 30%의 자원을 선발하는데 무리가 없었다. 따라서 본 연구에서 작성된 NIRS 검량식은 육종 초기에 고리그난 함량을 선발하는데 적용 가능할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 아젠다 사업(사업번호: PJ014155022021)의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

인용문헌(REFERENCES)

Anilakumar, K. R., A. Pal, F. Khanum, and A. S. Bawa. 2010. Nutritional, medicinal and industrial uses of sesame (Sesamum indicum L.) seeds-an overview. Agriculturae Conspectus Scientificus, 75(4) : 159-168.

Chen, Q., J. Zhao, M. Liu, J. Cai, and J. Liu. 2008. Determination of total polyphenols content in green tea using FT-NIR spectroscopy and different PLS algorithms. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 46(3) : 568-573.

Cho, H. J. and Y. L. Ha. 2002. Determination of honey quality by near infrared spectroscopy. Korean journal of food science and technology, 34(3) : 356-360.

Cho, H. S., J. H. Ryu, and J. J. Liu. 2011. Development of an On-line Measurement Method for Clean Biofuel Based on Near Infrared Spectroscopy and Chemometrics. Clean Technology, 17(3) : 215-224.

Choi, Y., D. Hyun, S. Lee, M. Lee, S. Oh, J. Lee, H. Ko, O. Huh, and M. Yoon. 2016. Development of NIRS equations and mass evaluation of crude protein, oil and composition of fatty acid by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) in soybean landraces from Korea. Korean Journal of Breeding Science, 48(4) : 406-413.

Kim, H. J., S. Y. Kim, Y. S. Lee, and Y. H. Kim. 2014. Determination of baicalin and baicalein contents in Scutellaria baicalensis by NIRS. Korean Journal of Plant Resources, 27(4) : 286-292.

Kim, K. S., S. H. Park, and M. G. Choung. 2006. Nondestructive determination of lignans and lignan glycosides in sesame seeds by near infrared reflectance spectroscopy. Journal of agricultural and food chemistry, 54(13) : 4544-4550.

Kim, Y. H., H. K. Ahn, E. S. Lee, and H. D. Kim. 2008. Development of prediction model by NIRS for anthocyanin contents in black colored soybean. Korean Journal of Crop Science, 53(1) : 15-20.

Kumar, C. M. and S. A. Singh. 2015. Bioactive lignans from sesame (Sesamum indicum L.): evaluation of their antioxidant and antibacterial effects for food applications. Journal of Food Science and Technology, 52(5) : 2934-2941.

Lim, J. S., Y. Adachi, Y. Takahashi, and T. Ide. 2007. Comparative analysis of sesame lignans (sesamin and sesamolin) in affecting hepatic fatty acid metabolism in rats. British journal of nutrition, 97(1) : 85-95.

Matsumura, S., K. Murata, N. Zaima, Y. Yoshioka, M. Morimoto, H. Matsuda, and M. Iwaki. 2016. Inhibitory activities of sesame seed extract and its constituents against β-secretase. Natural product communications, 11(11) : 1934578X1601101112.

Morris, J. B. 2002. Food, industrial, nutraceutical, and pharmaceutical uses of sesame genetic resources. Trends in new crops and new uses, 1(1) : 153-156.

Namiki, M. 1995. The chemistry and physiological functions of sesame. Food reviews international, 11(2) : 281-329.

Ogawa, H., S. Sasagawa, T. Murakami, and H. Yoshizumi. 1995. Sesame lignans modulate cholesterol metabolism in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 22 : S310-S312.

Oh, S., M. C. Lee, Y. M. Choi, S. Lee, M. Oh, A. Ali, B. Chae, and D. Y. Hyun. 2017. Development of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) model for amylose and crude protein contents analysis in rice germplasm. Korean Journal of Plant Resources, 30(1) : 38-49.

Park, H. S., S. H. Lee, K. C. Choi, Y. C. Lim, J. G. Kim, K. C. Jo, and G. J. Choi. 2012. Evaluation of the quality of Italian ryegrass silages by near infrared spectroscopy. Journal of The Korean Society of Grassland and Forage Science, 32(3) : 301-308.

Rangkadilok, N., N. Pholphana, C. Mahidol, W. Wongyai, K. Saengsooksree, S. Nookabkaew, and J. Satayavivad. 2010. Variation of sesamin, sesamolin and tocopherols in sesame (Sesamum indicum L.) seeds and oil products in Thailand. Food Chemistry, 122(3) : 724-730.

Salgó, A. and S. Gergely. 2012. Analysis of wheat grain development using NIR spectroscopy. Journal of Cereal Science, 56(1) : 31-38.

Sampaio, P. S., A. Soares, A. Castanho, A. S. Almeida, J. Oliveira, and C. Brites. 2018. Optimization of rice amylose determination by NIR-spectroscopy using PLS chemometrics algorithms. Food Chemistry, 242 : 196-204.

Sato, T., A. A. Maw, and M. Katsuta. 2003. NIR reflectance spectroscopic analysis of the FA composition in sesame (Sesamum indicum L.) seeds. Journal of the American Oil Chemists' Society, 80(12) : 1157-1161.

Wang, L., Y. Zhang, P. Li, W. Zhang, X. Wang, X. Qi, and X. Zhang. 2013. Variation of sesamin and sesamolin contents in sesame cultivars from China. Pak J Bot, 45 : 177-182.

Xia, Z., T. Yi, and Y. Liu. 2020. Rapid and nondestructive determination of sesamin and sesamolin in Chinese sesames by near-infrared spectroscopy coupling with chemometric method. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 228 : 117777.