

식물성 유지의 홀수 지방산에 대하여
(호도, 복숭아씨, 살구씨를 중심으로)

차 월 석 · *유 의 경 · **김 연 순

조선대학교 공과대학 화학공학과

*세종대학교 자연과학대학 화학과

**조선대학교 사범대학 가정교육과

Studies on the Compositions of Odd number Fatty acid of
Vegetability lipids
(For the *Juglans sinensis*, Peach seed and Apricot seed)

Wol Suk Cha, *Euy Kyung Yu and **Youn Soon Kim

Department of Chemical Engineering, Chosun University, Kwang-Ju 501-759 Korea

*Department of Chemistry, King Sejong University Seoul 133-150

**Department of Home Economics Education, College of Education,
Chosun University, Kwang-Ju 501-759 Korea

ABSTRACT

The contents of odd number fatty acid in walnut, peach seed and apricot seed were analyzed by HPLC. The results were as follows; The contents of crude oil in walnut, peach seed and apricot seed were 61.7%, 48.21%, and 52.34%, respectively. The contents of neutral lipid in walnut, peach seed, and apricot seed were contained 62.32%, 91.50%, and 88.00%, respectively. The contents of glycolipid in walnut, peach seed and apricot seed were contained 34.14%, 3.25%, and 4.78%, respectively. The contents of phospholipid in walnut, peach seed and apricot seed were contained 3.54%, 5.25%, and 7.27%, respectively. The contents of odd number fatty acid and even number fatty acid in neutral lipid were walnut 37.07% and 36.72%, peach seed 5.4% and 94.60%, and apricot seed 6.85% and 93.92%, respectively. The contents of odd number fatty acid and even number fatty acid in glycolipid were walnut 5.37% and 46.21%, peach seed 6.97% and 89.42%, and apricot seed 10.50% and 89.42%, respectively. The contents of odd number fatty acid and even number fatty acid in phospholipid were walnut 3.57% and 96.43%, peach seed 6.51% and 93.49%, and apricot seed 15.00% and 84.20%, respectively. The contents of odd number fatty acid and even number fatty acid in total fatty acid were walnut 14.47% and 85.53%, peach seed 1.17% and 98.83%, and apricot seed 4.3% and 95.97%, respectively.

서 론

지방산은 자연에 존재하는 트리-글리세라이드 또는 지방질을 가수분해할 때 얻어지는 유기산이며 그 주종을 이루고 있는 지방산은 oleic, linoleic, palmitic, stearic acid 등이 80~90%이고, 지방산의 성질 일부를 보면 여러 종류 중 탄소수의 구성별로 구분할 때 2개에서 36개로 구성되어 있고 직선상의 mono-carboxylic acid로 되어 있다(1).

지방산은 $C_nH_{2n+1}COOH$ 에서 포화되거나 mono- $C_nH_{2n-1}COOH$ 와 poly- $C_nH_{2n-1}COOH$ 에서 불포화되며 또 홀수개의 탄소수 사슬을 가지거나, methyl, oxygen(Keto epoxy) 또는 hydroxyl 기능을 가진 것으로 치환되어 여러 가지 종류로 변화된다(2). 그리고 일반적으로 우수(even number)의 탄소수를 가진 지방산들만이 존재한 것으로 알려졌으나, 최근에 기수(odd number)의 탄소수를 가진 지방산들이 자연에 몇가지 정도 존재한 것으로 알려지고 있으며, 확실히 알려진 것으로는 iso-valeric acid는 돌고래의 지방산중에 존재하고, 투버클로-스테아린산은 사람의 결핵균이나 세균의 지방질, bacterial lipid에서 발견되고 있다(3).

Hideo(4)에 의하면 버섯의 지방산중 홀수 지방산인 C_{11} 경우 중성 지질에서 19.9%이고, 당지질에서 29.1%이고, 인지질에서 14.2%를 함유하고 있고, C_{17} 의 경우, 각각 0.1%, 0.9%, 0.1%로 함유되었다고 제시한 바 있다. Tyrrell(5)은 곤충에서 특정분리한 지방산 조성에서 *E. coronata*의 경우 $C_{13}=14.2\%$, $C_{15}=8.4\%$ 가 함유되어 있음을 제시했으며, 또 Tyrrell(6)은 몇가지 곤충류의 지방산 조성에서 *Conidiobolus*류에는 $C_{13}=0.1\sim 6.2\%$, $C_{15}=0.1\sim 5.8\%$, $C_{17}=0.2\sim 3.1\%$, $C_{17-1}=0.5\sim 2.3\%$ 가 함유되어 있다고 했으며, Sumner(7, 8, 9)는 *Blastocladiella emersonii*과, *sclerotia*과, *Basidiomycetes*의 지방산 조성에서 중성지질인 경우 $C_{17}=1.7\%$, 성장 및 온도 변화에서 $C_{17}=0.2\sim 2.3\sim 3.7\%$ 를 제시하고, 버섯에 (담자균의) 꼭지, 몸체별에서 $C_{15}=0.2\sim 1.8\%$, $C_{17}=0.3\sim 1.3\%$ 등을 제시하였다. Farag(10) 등은 곰팡이 유지 생산을 위해 여러 가지 탄소와 질소원의 영향에서 탄소원의 경우 $C_{13}=0.9\sim 3.8\%$, $C_{15}=0.2\sim 0.8\%$, $C_{17}=3.8\sim 17.9\%$, 질소원의 변화 경우 C_{11} , C_{13} , C_{15} , C_{17} 등이 각각 함유되어 있고, 최저 0.1~10.3%까지 함유되어 있다고 했다. 일본에서는(11) 홀수 지방산과 글리세라이드함유 화장품 특허 논문에서 홀수 지방산과 글리세라이드가 피부상태를 위

해 주거나, 생물학적 상태를 위해서 화장품에 함유됨이 유익하다고 했으며, Adachi 등(12)도 홀수 지방산과 글리세라이드의 생물학적 연구에서 머리털과 피부성장 촉진에 영향이 있다고 했다.

White(13) 등은 이이스트에 의한 알코올생산에서 긴사슬로부터 염기성 성장으로 168시간부터 홀수 체인 지방 알코올들이 생성된다고 했다. Akimoto(14) 등은 발효에 의한 홀수 탄소원자들로 고불포화 지방산제조에서 부산물로 홀수 지방산이 생성됨을 제시하고 있다. Diedrich(15) 등은 동물과 사람에게 홀수 지방산의 자연적 존재로부터, 홀수 포화지방산과 홀수 불포화지방산인 C_{11-21} 이 동물에 있고, 이들은 총지방산으로 함유되어 여러 가지로 사람에게 주어지며, 홀수 지방산이 가축 및 가공 등에서 5% 정도로 사람에게 제공된다고 했다.

이와 같이 홀수 지방산은 천연의 식물, 동물, 곤충, 미생물 등에 널리 분포되어 있음을 제시하고 있고, 그 응용성과 인체에 미치는 영향에까지 연구되고 있지만, 한국내에 천연물에 대해서는 밝혀진 바가 거의 없는 실태이다. 그러므로 본 논문에서는 한국산 천연물에서 일차적으로 식물류 몇가지 중 호도, 복숭아씨, 살구씨 유지의 지방산을 분석하여 홀수 지방산에 대하여 검토한 바를 발표한다.

재료 및 방법

시료 처리 본 실험에 사용한 호도는 충남 서산에서 재배된 시판품을 구입하여 각질을 제거하고 충실한 알맹이를 정선하고, 60mesh 정도로 분쇄하여 1kg을 취해 590압력에서 압착시켜 얻은 압착유를 사용하였다. 살구씨와 복숭아씨는 광주 근교에서 자생된 살구나무와 복숭아나무에서 얻어 딱딱한 각질은 제거하고, 각각 호도와 같이 정선하여 압착유를 얻어 사용했다.

시약 및 기기

표준지방산, even no. odd no. unsaturated fatty acid, carbon straight chains는 Sigma Chemical Co.(EC-10A) 및 (UN-10)을 사용했고, Silicic acid : 100~300mesh, Sigma Chemical CO.(U. S. A) SIL-R, BF_3 -methanol : 20%은 Aldrich Co. 특급을 사용했고, CH_4O-BF_3 , Merck-Schuchardt, Petroleum ether; special grade rots chemical N. V., P-Bromo-phenacyl-bromide, Sigma특급, methyl-

ethyl-ketone : sigma chemical Co. 특급 Tri-ethyl-amine : Sigma Chemical Co. 특급 등을 사용했으며, 사용기기는, Liquid chromatograph : Waters, model 211, Hot plate stirrer : Corning, Co. PC-101을 사용했다.

실험방법

조지방 함량은 각각 시료 1g씩을 취하여 ether 용매를 사용하여 soxhlet 장치로 24시간 추출한 후 항온조에서 건조시켜 조지방 함량을 산출하였다.

표준 지방산 조제 (16)

탄소 짝수 포화지방산 : capric acid(C_{10}), lauric acid(C_{12}), myristic acid(C_{14}), palmitic acid(C_{16}), stearic acid(C_{18}), arachidic acid(C_{20})를 각각 5mg씩 취해서, 이 중 THF에 3ml 용해하여 혼합액으로 하고, 각각의 양이 12.93mg/ml 되게 혼합시켜 20 μ l을 취해 HPLC에 주입하였다.

탄소 홀수 포화지방산 : nonanoic acid(C_9), undecanoic acid(C_{11}), tridecanoic acid(C_{13}), pentadecanoic acid(C_{15}), heptadecanoic acid(C_{17})를 각각 2mg씩 취해 3ml의 THF에 용해하여 혼합액으로 하고, 이 중 20 μ l를 HPLC에 주입하였다.

불포화지방산 : C_{16-1} (palmitoleic acid) 10mg, C_{18-1} (oleic acid) 5mg, C_{18-3} (linolenic acid) 10mg을 각각 3ml의 THF에 용해시켰고, C_{18-2} (linoleic acid) 3mg을 $CHCl_3$ 3ml에 용해시켜, C_{16-1} 10 μ l, C_{18-1} 10 μ l, C_{18-1} 10 μ l, C_{18-1} 5 μ l를 HPLC에 주입하였다.

중성, 당, 인지질의 정제 및 분획

시료에서 추출한 유지를 Folch(17) 방법에 따라 정제하였으며, Cuido(18) 등과 Pattono(19) 등이 제시한 chromatography로, 중성지질, 당지질, 인지질을 분리하기 위하여, silicic acid(SIGMA 100~300 mesh)를 증류수로 씻어서 colloid성 미립자를 제거하고 methanol로 다시 씻은 후 170 $^{\circ}$ C에서 12시간 처리하고, 처리된 silicic acid 100g을 chloroform으로 현탁시킨후 포장하고 시료지방질 약 15g을 chloroform 2~3ml에 용해시켜 column 상부에 주입한 후 중성 지질은 chloroform, 당지질은 acetone, 인지질은 methanol을 각각 250ml씩 사용하여 분리하였다.

중성지질, 당지질, 인지질의 지방산 조성

A.O.C.S(20)에 따라 분획된 중성, 당, 인지질의 각 용액을 vaccum rotary evaporator를 사용하여, 용매를 완전히 제거하고, BF_3 -methanol로부터 esterification하여 얻은 유리 지방산 4ml를 취하고, ether로 비누화를 시키지 않고 HPLC에서 정확한 분리를 하기 위하여 조제된 분리 반응 시약에서 반응 시약과 반응촉매 시약을 각각 4ml씩 취하여 1:1:1로 혼합하고, 70~80 $^{\circ}$ C에서 30분간 가열 반응시키고, 이 혼합 용액이 갈색으로 변화된 것을 확인한 후, 상온으로 냉각시켜 0.45 μ m filter로 여과시킨 용액을 HPLC에 5 μ l를 주입하였고, 표준물질의 경우는 10 μ l를 주입하였다.

또한 HPLC로 정밀한 분리를 하기 위하여 gradient condition을 초기시간에서 sample 20ml/min으로 이송하면서 solvent A(CH_3CN 50% + H_2O 50%)를 100% 이송하고, B(CH_3CN 100%)를 0% 이송한 상태에서는 curve가 안 생겼으나 20분 내지 30분 후에는 A를 0%로 B를 100%, 또는 30분 후에는 A를 100%, B를 0%로 이송한 상태에서 각각 curve를 6개 구한 조건을 찾은 후에 본 sample의 curve를 구하였다.

총 지방산 분석

시료유에서 지방산을 분리하기 위하여 Christie method(21)에 따라 250ml flask에 시료 10ml을 취하여 1N-KOH-95% ethanol 60ml를 넣고 약 2시간동안 환류시켜 비누화시킨 다음, H_2O 120ml를 넣고 교반하였다. 여기에 ether 100ml를 가하여 30분동안 교반시켜 액층을 분리하고 같은 방법으로 3회 반복하였다.

이 혼합액중 수용액 부분을 분액 제거하고 여기에 6N-HCl을 서서히 가하면서 pH1~2정도까지 적정(pH5~6에서 현탁액이 생기고 pH2에서 현탁액이 없어짐)하였다.

여기에 다시 H_2O 20ml를 넣어 현탁시키고 물을 분리하고 상층액의 액층을 모아 Na_2SO_4 를 가해서 수분을 완전 제거하고, 이것을 vaccum rotary evaporator를 사용해서 solvent를 완전히 제거시켰다. 여기서 얻어진 지방산 4ml를 10ml의 ether로 비누화시킨 용액을 0.45 μ m filter paper로 여과시킨 다음, 10 μ l를 취해 HPLC에 주입하였다.

결과 및 고찰

조지방 함량은 Table 1에서 보는 바와 같이 호도 61.78%, 살구씨 52.34%, 복숭아씨 48.21%를 함유하고 있다.

Table 1. Crude oil contents of Walnut, Peach seed and Apricot seed.

(unit: %)		
Walnut	Peach seed	Apricot seed
61.78	48.21	52.34

중성지질, 당지질, 인지질의 함량

각 시료에서 추출한 유지를 sillicic acid를 이용 column chromatography에 의하여 중성지질, 당지질 및 인지질을 분리하고 중량 배분율로 정량한 결과가 Table 2와 같다. 시료유에서 분획한 중성지질의 함량은 호두 62.32%, 복숭아씨 91.50%, 살구씨 88.00%이며, 당지질의 경우, 호도 34.14%, 복숭아씨 3.25%, 살구씨 4.78%이고, 인지질은 호도가 3.

54%, 복숭아씨 5.25%, 살구씨 7.27%로 구성되어 있으며, 버섯(4)과 비교해 볼때 인지질의 경우 버섯이 월등히 많으며, 중성지질에서는 호도가 34.14%로 월등히 많고, 버섯의 경우는 9.5%로 호도 34.14%에 비하여 24.6%가 적다. 중성지질에서는 복숭아씨가 91.50%로 월등히 많이 함유하고 있다.

Table 2. Composition of neutral lipid(N. L.), glyco lipid(G. L) and phospholipid(P. L) from Walnut, Peach seed, and Apricot seed.

(unit: %)				
Item	Walnut	Peach seed	Apricot seed	Shiitake mushroom cap(4)
N. L	62.32	91.50	88.00	46.7
G. L	34.14	4.78	4.78	9.5
P. L	3.54	7.22	7.22	43.8

중성지질, 당지질, 인지질내의 홀수 지방산 조성 호도, 복숭아씨, 살구씨의 시료유로부터 중성지질, 당지질, 인지질을 각각 분획하여 ester화 시키고 다

Table 3. Fatty acid composition of each lipid fraction in Walnut, Peach seed, Apricot seed, and Shiitake mushroom Cap(%)

Sample	Walnut			Peach seed			Apricot seed			Shiitake mushroom Cap ⁴		
	N.C	G.L	P.L	N.C	G.L	P.L	N.C	G.L	P.L	N.C	G.L	P.L
C ₆	8.71	0.18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C ₇	8.71	—	0.12	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C ₈	8.71	—	0.19	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C ₉	8.71	—	0.50	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C ₁₀	2.34	—	0.41	0.29	2.74	23.32	7.17	1.92	3.89	—	—	—
C ₁₁	3.49	—	1.21	0.19	4.56	—	—	1.76	10.64	19.90	29.10	14.20
C ₁₂	2.50	—	0.79	0.19	—	25.10	6.11	1.13	1.57	0.10	0.40	—
C ₁₃	1.98	0.14	—	1.34	1.07	0.6	0.3	0.28	1.18	—	—	—
C ₁₄	3.28	0.35	—	—	6.86	—	—	0.53	10.78	0.40	1.10	0.20
C ₁₅	3.34	—	—	—	—	—	0.5	3.43	—	1.00	1.40	0.70
C ₁₆	2.08	0.98	31.67	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C ₁₆₌₁	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.50	1.10	0.50
C ₁₇	1.98	—	—	2.51	1.37	5.41	3.20	—	1.88	0.10	0.90	0.10
C ₁₈	1.66	1.11	2.18	1.44	2.04	2.12	3.65	—	2.00	1.80	4.80	0.70
C ₁₈₌₁	8.71	2.37	22.35	66.12	48.46	16.17	55.44	80.47	24.70	5.30	6.20	4.90
C ₁₈₌₂	8.71	9.48	2.25	21.59	24.14	25.10	19.52	5.37	20.87	70.20	53.00	77.90
C ₁₈₌₃	8.71	3.06	33.44	3.72	7.44	—	0.19	—	17.60	—	—	—
C ₁₉	3.13	17.39	1.03	1.36	—	0.50	2.81	5.03	—	—	—	—
C ₂₀	2.50	4.61	1.18	0.24	1.32	1.24	1.11	—	4.52	—	0.50	—
C ₂₁	2.97	5.11	1.53	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C ₂₂	2.34	19.13	0.90	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C ₂₃	2.76	31.03	0.21	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C ₂₄	2.60	4.94	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
unknown	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.70	1.50	0.80
unsaturated	26.13	14.91	58.04	93.45	80.04	41.27	75.15	5.37	63.08	76.00	60.80	83.30

시 반응촉매 시약을 사용, 비누화시켜 분리가 잘 되도록 gradient시키고, standard fatty acid sample의 chromatography에 의해 HPLC로 분석한 지방산 조성을 확인하고 얻어진 데이터로부터 자동 적분된 면적비에 의해서 산출된 각 지질의 지방산 조성은 Table 3에 다른 유지와 비교 표시했다.

이 결과를 보면, 호도의 중성지질에서는 홀수 지방산이 37.07%, 짝수 지방산이 36.72%, 당지질에서는 홀수 지방산이 53.7%, 짝수 지방산이 46.21%, 인지질에서는 홀수 지방산이 3.57%, 짝수 지방산이 96.43%로 함유되어 있으며, 복숭아씨의 유지에서는 중성지질에서 홀수 지방산이 5.4%, 짝수 지방산이 95.51%, 당지질에서 홀수 지방산 6.97%, 짝수 지방산 93.03%, 인지질에서 홀수 지방산 6.51%, 짝수 지방산 94.03%를 함유하고 있으며, 살구씨에서는 중성지질인 경우 홀수 지방산 6.85%, 짝수 지방산 93.92%, 당지질에서는 홀수 지방산 10.5%, 짝수 지방산 89.42%, 인지질에서는 홀수 지방산 13.7%, 짝수 지방산 85.93%가 각각 함유되어 있음을 알 수 있고, 버섯과 비교할때 버섯의 당지질에서 홀수 지방산의 함유량이 30%이상으로 호도의 중성지질, 당지질과 거의 비슷함을 알 수 있고, 나머지는 홀수 지방산이 10% 내외로 거의 비슷하다. 그리고 홀수탄소수 분포량을 보면 주로 C₁₁, C₁₃, C₁₅, C₁₇, C₁₉가 주종을 이루고 있다. 이렇게 당지질에서 홀수 지방산이 많이 함유되어 있음은 그 기작등에서 연구되어야 할 것으로 생각된다.

총 지방산의 홀수 지방산

Standard fatty acid sample에 의해 HPLC로 호도, 복숭아씨, 살구씨의 지방산 조성을 알고, 얻어진 데이터로부터 자동 적분된 면적비에 의해서 산출된 총 지방산 조성을 Table 4에 버섯의 지방산과 비교 표시했다.

각 시료의 홀수 지방산의 함량을 보면, 호도의 경우 홀수 지방산이 14.47%, 짝수 지방산이 85.53%이고, 복숭아의 경우 홀수 지방산이 1.17%, 짝수 지방산이 98.83%이고, 살구씨의 경우 홀수 지방산이 4.03%, 짝수 지방산이 95.97%로 함유되어 있음을 알 수 있으며, 버섯과 비교해 볼때 버섯에서 홀수 지방산이 2.4%, 짝수 지방산이 99.3%의 비슷한 결과로 천연식품에 소량의 홀수 지방산이 함유되어 있음을 알 수 있고, 홀수 탄소수 분포량을 보면, C₁₁, C₁₃, C₁₅, C₁₇, C₁₉가 주종을 이루면서 식품의 종류에 따라서 다소 차이가 있음을 알 수 있다.

Table 4. Total fatty acid compositions of Walnut, Peach seed, Apricot seed, and Shiitake mushroom Cap.(%)

Item Fatty acid	Walnut	Apricot seed	Peach seed	Shiitake(4) mushroom Cap
C ₈	1.55	—	—	—
C ₉	0.054	—	—	—
C ₁₀	0.042	1.36	0.28	—
C ₁₁	0.005	3.37	0.36	—
C ₁₂	0.049	0.09	0.13	—
C ₁₃	6.060	0.36	0.45	—
C ₁₄	—	—	0.12	0.3
C ₁₅	—	—	0.120	2.3
C ₁₆	11.07	21.11	—	19.1
C ₁₆₌₁	35.84	—	—	0.7
C ₁₇	8.350	0.25	0.15	0.1
C ₁₈	—	1.64	1.48	0.7
C ₁₈₌₁	—	68.84	72.30	4.8
C ₁₈₌₂	30.75	—	21.34	71.0
C ₁₈₌₃	6.23	2.79	2.56	—
C ₁₉	—	0.05	0.08	—
C ₂₀	—	0.14	—	—
C ₂₀₌₁	—	—	—	—
C ₂₂	—	—	—	—
C ₂₂₌₁	—	—	—	—
C ₂₄	—	—	—	—

요 약

천연식품인 호도, 복숭아씨, 살구씨의 지방산 함량과 홀수 지방산의 함량을 규명하기 위하여 HPLC를 사용하여 분리 정량한 결과는 다음과 같다.

1. 각 시료의 조지방 함량은 호도 61.78%, 살구씨 52.34%, 복숭아씨 48.21%이고, 중성 지질량은 호도 62.32%, 복숭아씨 91.50%, 살구씨 88.0%이고, 당지질은 호도 34.14%, 복숭아씨 3.25%, 살구씨 4.78%이었고, 인지질은 호도 3.54%, 복숭아씨 5.25%, 살구씨 7.27%였다.

2. 중성지질의 지방산에서 호도의 홀수 지방산이 37.07%, 짝수 지방산이 36.72%, 복숭아씨의 홀수 지방산이 5.4%, 짝수 지방산이 94.60%, 살구씨의 홀수 지방산이 6.85%, 짝수 지방산이 93.92%였고, 당지질에서 호도의 홀수 지방산은 53.7%, 짝수 지방산은 46.21%, 복숭아씨의 홀수 지방산은 6.97%, 짝수 지방산은 93.03%, 살구씨의 홀수 지방산은 10.5%, 짝수 지방산은 89.42%였고, 인지질에서의

경우는 호도의 홀수 지방산이 3.57%, 짝수 지방산이 96.43%, 복숭아씨의 홀수 지방산이 6.51%, 짝수 지방산이 93.49%, 살구씨의 홀수 지방산이 15.0%, 짝수 지방산이 84.2%로 각각 함유되어 있다.

3. 총 지방산중 홀수 지방산은 호도 14.47%, 복숭아씨 1.17%, 살구씨 4.03%이고, 짝수 지방산은 호도 85.53%, 복숭아씨 98.83%, 살구씨 95.97%로 각각 함유되어 있음을 알 수 있다.

참고 문헌

1. 김동훈(1981), 식품화학, 서울, 탐구당, 351~352.
2. J. D. Weete(1985), Lipid Biochemistry, New York, Plenum press, 49~50.
3. 김동훈(1981), 식품화학, 서울, 탐구당, 353.
4. T. Hideo(1985), J. Korean Soc., Food Nutri., **14**, 419.
5. D. Tyrrell(1976), Canadian Journal of Microbiology., **13**, 755.
6. D. Tyrrell(1971), Canadian Journal of Microbiology., **17** 1115.
7. J. L. Sumner(1970), Canadian Journal of Microbiology., **16**, 1161.
8. J. L. Sumner and N. Colotelo(1970), Canadian Journal of Microbiology., **16**, 1171.
9. J. L. Summer(1973), New Zealand Journal of Botany., **11**, 435.
10. R. S. Farag, F. a. Khalil, H. Salem, and L. H. M. Ali(1983), JAOCS, **60**, No.4, 795.
11. Japan(1985), JPN. Kokai Tokkyo Koho, PAT. NO., **85**, 0111.
12. Adachi, Kuniaki, Tamai, Hideo; Sadai, Masanao(1985), Eur. Pat, Appl. PAT. NO., 12, 9778.
13. M. J. White, L. F. Hodgson, A. H. Rose, and R. C. Hammond(1989), Yeast, **5**, 465.
14. Akimoto, Kengo; Shinmen, Yoshifumi; Yamada, Hideaki; and Shimizu, Sakayu (1989), Eur. Pat. Appl. PAT. NO., 332423.
15. M. Diedrich, and R. Machoiz(1989), Leitschrift furdie Gesamte Hygiene und Ihre Grenzgebiete, Vo.35, No.2, 74.
16. Waters Associates, Solvent delivery system Instruction manual, U. S. A.(1982), Waters Associates Publications Department 34 Maple street Milford, Massachusetts 01757, section 2, 3, 4.
17. J. Folch, M. Lees and G. H. Sloamestanley, J. Bid(1957), Chem. **226** : 497.
18. V. Guido, Marinetti(1967), Lipid chromatographic Analysis, 101, 1, Marcel Dekker, Inco, New York, 116.
19. Pattono, and A. J. Thomas(1971), J. Lipid Res., **12**, 331.
20. R. O. Walker(1978), Official and Tentative Method of the Americarn Oil Chemists Society. Thired Cel-62, 2-66, American Oil Chemists Society U. S. A.
21. W. W. Christie(1982), Lipid Analysis, Oxford, Pergamon press, P.86~90.