

쌀겨 추출물로부터 스펡고당지질의 분리와 구조결정

강병원^{1,*} · Susumu Mitsutake² · Takashi Okada³

¹동의대학교 화학과, ²북해도대학 약학과, ³(주)오리자 유화

Isolation and Characterization of Major Glycosphingolipid from Rice Bran Extract

Byoung-Won Kang^{1,*}, Susumu Mitsutake² and Tadashi Okada³

¹Department of Chemistry, Dong-eui University, 995 Eomgwano, Busanjin-gu, Busan 614-714, Korea

²Department of Biomembrane and Biofunctional Chemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Kita-ku, Sapporo 060-0812, Japan

³Oriza Oil & Fat Chemical Co., 1 Numata, Kitagata-cho, Ichinomiya 493-8001, Japan

Received February 20, 2007; Accepted March 8, 2007

In order to examine the biofunctions of glycosylceramide which is representative of sphingolipid, monoglycosylceramide (cerebroside) was isolated from rice bran extract. Crude glycosylceramides were isolated in large quantities and promptly by flash system column chromatography from rice bran extract, and purified by normal-phase HPLC using an evaporative light-scattering detector. One major cerebroside was obtained by HPLC used as an eluent consisting of chloroform, methanol and water (99 : 11 : 1, v/v/v), and the constituents were analyzed by MALDI/TOF-MS, FAB-MS, GC and 600 MHz ¹H-NMR. The component sugar was estimated to be glucose. In the ceramide, the fatty acid component consist was 2-hydroxy arachidic acid. The long-chain base component was sphinga-4,8-dienine.

Key words: sphingolipid, ceramide, edible plant, biofunction, cerebroside, rice bran extract

서 론

장쇄 아미노알코올인 스펡고이드 염기의 아미노기에 지방산이 아미드 결합한 ceramide를 기본 골격으로 하고 있는 스펡고지질은 동·식물등에 널리 분포하고 있는 막지질중 하나이다.^{1,3)} 스펡고지질은 세포 표면에 국소적으로 분포하고 있음으로써 세포분화, 세포사멸, 세포간 상호정보전달등 중요한 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다.^{4,5)} 식물유래 스펡고지질에는 ceramide, cerebroside(monoglycosylceramide), oligoglycosylceramide, phytoceramide 등이 있으나, 이 중에서 가장 대표적인 식물 스펡고지질은 cerebroside이다. 지금까지, 식물 cerebroside에는 발아촉진, 칼슘이온 투과의 촉진 등의 생리활성이 보고되어 있다.^{6,7)} 최근에는 피부의 각질층에 포함되어 있는 스펡고지질이 수분 증발이나 외부로부터의 세균, 자외선 등의 침투를 차단하여 노인성 건피증, 아토피성 피부염과 같은 피부질환 방지 효과가 있는 것으로 알려져 있다.⁸⁻¹⁰⁾ 이로인해 ceramide를 비롯한 스펡고지질이 핸드크림의 스킨케어 인자로서 첨가되어 시판되

고 있고 식품분야에 있어서도 스펡고지질 관련 제품의 수요가 증가하여 “식물 cerebroside 배합”이라고 표시된 각종 음료가 널리 판매되고 있어 스펡고지질이 기능성 식품의 소재로써 큰 주목을 받고 있다.¹¹⁾ 한편, 쌀은 우리나라를 비롯한 동남아시아 국가들의 주된 식물 자원으로써 예로부터 식생활의 큰 부분을 차지하고 있는 곡물 중 하나이다. 최근에는 쌀과 쌀겨에 함유되어 있는 생리활성 물질에 대하여 많은 연구가 되고 있고 유효성분을 추출하여 의약품, 건강식품, 식품첨가물, 화장품 원료로써 높이 평가되어 폭 넓게 응용되고 있다.¹¹⁾ 지금까지 쌀 및 쌀겨 또는 식용 식물로부터 추출된 스펡고지질의 성분에 대해서는 많은 연구가 보고되어 있다.¹²⁻¹⁶⁾ 그러나 아직까지 단일 성분으로 스펡고지질을 분리 한 예는 없다. 본 연구는 쌀겨에 함유된 스펡고지질의 생리적 기능성을 조사하기에 앞서 식용 가능한 쌀겨 추출물에 함유된 스펡고당지질의 분자종을 분리, 동정하였다.

재료 및 방법

재료 및 기기. 본 연구에 사용된 식용 쌀겨 추출물은 시판중인 oriza ceramide P-8(Oriza oli & Fat chemical Co., Japan) 을 사용하였다. 칼럼 크로마토그래피는 Flash System 75-L

*Corresponding author

Phone: +82-51-890-1518; Fax: +82-51-890-1510

E-mail: bwkang@deu.ac.kr

(Biotarge Co., Sweden)을 사용하였으며, 고정상은 KP-Sil Flash 40 + M(Biotarge Co., Sweden)을 사용하였다. HPLC는 TSK GEL Si-60(21.5 mm i.d.×300 mm, Tosoh Co., Japan)과 Develosil Si-30(21.5 mm i.d.×250 mm, Nomura chemical Co., Japan)을 L-7100(Hitachi, Japan)에 연결하여 사용하였고 검출기는 ELSD(Alltech ELSD 2000, Astech Co., Japan)를 사용하였다. 당 분석 장치는 Carbo PAC-PA1(4.0 mm i.d.×250 mm, Dionex Co., USA)을 DX-500 HPLC System(Dionex Co., USA)에 연결하여 사용하였고 검출기는 전기화학검출기(ED-50, Dionex Co., USA)를 사용하였다. NMR은 AVANCE 600 (Bruker Co., Germany)을 사용했다. GC는 G-3500(검출기: FID, Hitachi, Japan)을 사용하였으며, GC용 칼럼은 CP-Sil 88 for FAME(0.25 mm i.d.×80 m, Varian Inc., USA)를 사용하였다. 질량분석기는 MALDI-TOF-Mass(Autoflex, Bulker, Germany)와 FAB-Mass(JEOL, JMS-HX100, Japan)를 사용하였다. 분리 및 분석에 사용한 시약과 용매는 Waco사(Japan)의 특급 및 HPLC grade를 사용하였다.

정제 cerebroside의 제조. 시판의 oriza ceramide P-8 5g을 0.4 M KOH 메탄올 용액 250 ml에 녹여 37°C에서 4시간 동안 반응시켰다. 반응액에 클로로포름 450 ml와 증류수 145 ml를 넣고 분배 분획하여 목적하는 스펅고당지질을 클로로포름층으로부터 얻었다. 계속하여 이 클로로포름층을 클로로포름:메탄올:증류수(3:48:47, v/v/v) 250 ml로 2회 세척한 후 클로로포름층을 감압농축시켰다. 이상과 같은 방법을 20회 반복하여 oriza ceramide 농축물을 얻었다. 얻어진 oriza ceramide 농축물을 flash system 칼럼 크로마토그래피[전개용매 : 클로로포름 : 메탄올 : 증류수(99:11:1, v/v/v), 유속: 500 ml min⁻¹, 검출시약: 동-인산]로 정제하고 이 농축물을 클로로포름 : 메탄올 : 증류수(99:11:1, v/v/v) 5 ml에 녹인 후 100 μl씩 HPLC[클로로포름 : 메탄올 : 증류수(99:11:1, v/v/v), 유속: 3 ml min⁻¹, 검출기: ELSD(tube temp.: 40°C, Gas flow: 1.6 l min⁻¹)]로 분리하여 12개의 분획물을 얻었다.

구성 당 및 결합 양식의 분석. Frac. 7(5 mg)을 0.5 N 황산 수용액(0.5 ml)에 녹인 후 밀폐된 시험관에 넣고 100°C에서 12시간 가수분해 하였다. 실온까지 냉각시킨 후 침전물을 여과하고 여액을 이온교환수지[Dowex 2(HCO₃ phase)]를 사용하여 pH 4.5로 조절하였다. 얻어진 당 성분 100 μl를 표준물질인 글루코오스 또는 갈락토오스와 혼합하여 당 분석 장치[100 mM NaOH-H₂O(5:95, v/v), 유속: 1 ml min⁻¹]로 분석하였다. 한편, 구성 당의 결합 양식은 600 MHz ¹H-NMR을 사용하여 1H의 결합 상수를 계산함으로써 확인 하였다.

지방산 메틸에스터 유도체. Frac. 7(10 mg)을 3%(w/v) 무수 메탄올성 염산용액 5 ml에 녹여 90°C에서 8시간 동안 산성 가수분해 하였다. 실온까지 냉각시킨 후 반응액에 증류수 5 ml를 가하고 헥산 3 ml로 5회 추출하여 헥산층을 감압 농축시켰다. 헥산층으로부터 지방산 메틸에스터 화합물을 얻어 소량의 클로로포름에 녹인 후 GC로 분석하였다. GC의 측정 온도 조건은 주입구 온도와 검출기 온도를 각각 130°C와 240°C로 하였고 oven 온도는 도입온도를 130°C로 하여 최종온도 240°C까지 분당 2°C씩 증가시켜 5분간 유지하였다. 표준물질로서는 C12:0,

C14:0, C16:0, C18:0, C20:0, C21:0, C16:0(2-OH), C22:0, C23:0, C18:0(2-OH), C24:0, C20:0(2-OH), C22:0(2-OH)의 지방산 메틸에스터를 사용하였다.

스펙고이드 염기의 N-아세틸화. Frac. 7(30 mg)을 1 N 염산 메탄올용액 5 ml에 녹여 80°C에서 8시간 동안 산성 가수분해 하였다.¹⁷⁾ 실온까지 냉각시킨 후 디에틸이써 5 ml로 2회 추출하여 유기층을 감압농축시켰다. 여기에 무수 피리딘 1 ml와 무수 초산 5 ml를 가하고 실온에서 12시간 반응시켰다. 반응액에 증류수 10 ml를 가하고 디에틸이써 5 ml로 3회 추출하였다. 디에틸이써층을 증류수로 2회 세척한 후 무수 황산마스네슘으로 수분을 제거시키고 유기층을 감압증발시켰다. 잔류물을 클로로포름-메탄올(2:1, v/v) 1 ml로 녹인 후 1 M NaOH 메탄올용액 1 ml를 가하고 실온에서 30분간 반응시켜 O-아세틸화 스펅고이드 염기를 가수분해 하였다. 반응액을 0.5 M 염산 수용액으로 중화시킨 후 클로로포름 2 ml로 3회 추출하고 클로로포름층을 감압증발시켜 N-아세틸 스펅고이드 염기를 얻었다.

N-아세틸 스펅고이드 염기의 poly알코올화 및 TMS화. N-아세틸 스펅고이드 염기 2 mg를 무수 피리딘 0.5 ml에 용해시키고 dioxane 2 ml와 5% OsO₄ dioxane 용액 0.2 ml를 가하여 실온에서 1시간 반응시켰다. 반응액에 16% NaHSO₃ 수용액 15 ml와 메탄올 5 ml를 첨가하여 실온에서 다시 1시간 반응시킨 후 반응액을 여과하였다. 여액에 메탄올 20 ml를 첨가하여 현탁시킨 후 침전물을 여과하여 제거하고 메탄올 용액을 감압증발시켜 poly알코올화 화합물을 얻었다. 얻어진 poly알코올화 화합물을 hexamethyldisilazane과 trimethylchlorosilane을 사용하여 Hayashi 등의 방법¹⁷⁾에 따라 TMS화 하고 FAB-MS로 분석하였다.

결과 및 고찰

정제 cerebroside의 제조. 정제 cerebroside의 제조 방법을 Fig. 1에 나타내었다. 본 연구에 사용된 시판 oriza ceramide P-

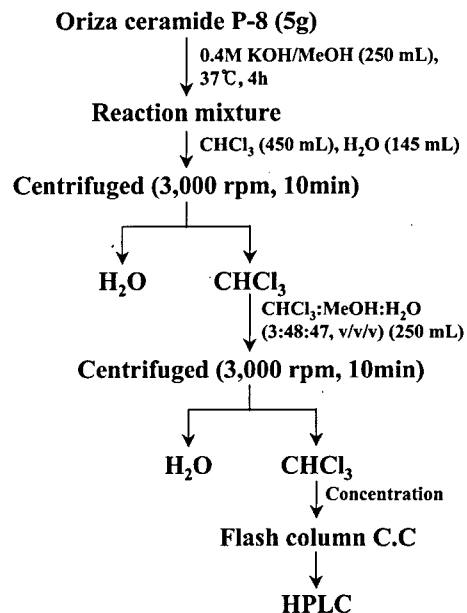


Fig. 1. Preparation of purified cerebroside.

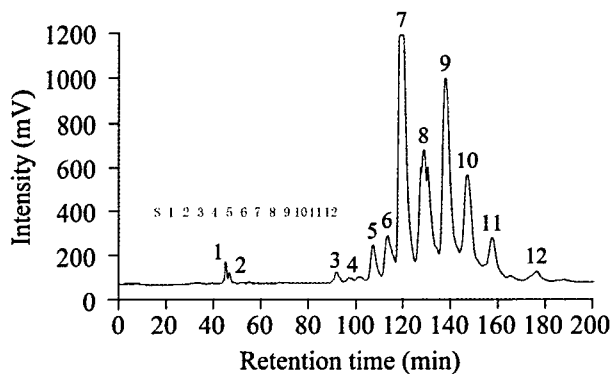


Fig. 2. HPLC spectrum and HPTLC of crude cerebroside.

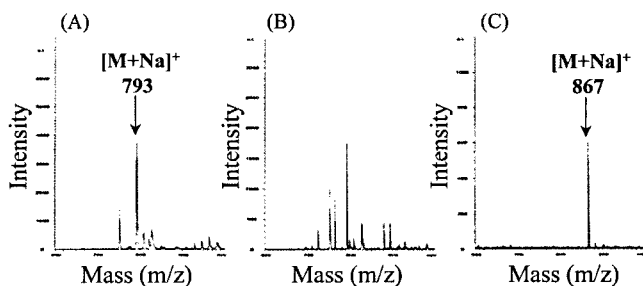


Fig. 3. MALDI/TOF-mass spectra of main fractions obtained from HPLC. A; frac. 7, B; frac. 8, C; frac. 9. {2,5-Dihydroxybenzoic acid (10 mM) as matrix}.

8에는 스펅고지질 이외에도 글리세롤지질, 스테릴글리코사이드 등이 포함되어 있어 먼저 염기성 가수분해와 Folch 분배 분획으로 글리세롤지질을 제거하였다.¹⁸⁾ 이와같은 방법을 20회 반복하여 100 g의 oriza ceramide P-8로부터 23 g의 oriza ceramide 농축물을 얻었다.

스테릴글리코사이드는 flash system 칼럼 크로마토그래피(FSCC)로 정제함으로써 제거하였다. FSCC는 관 칼럼 크로마토그래피와 HPLC의 중간형태로 질소를 이용하여 압력을 가함으로써 다량의 시료를 신속하게 정제할 수 있다는 장점을 지니고 있다. 가수분해로부터 얻어진 oriza ceramide 농축물 20 g을 FSCC로 정제하여 1.3 g의 cerebroside 농축물을 얻었다. 그러나 FSCC로는 시료의 완전한 분리가 이루어지지 않았다. 이에 본 연구에서는 cerebroside 농축물을 HPLC로 분리하였다. cerebroside 농축물 1.0 g을 클로로포름 : 메탄올 : 증류수(99 : 11 : 1, v/v/v) 5 ml에 녹인 후 100 μ 씩 HPLC로 분리하여 12개의 분획물을 얻었다(Fig. 2).

시료의 농도와 양이 이보다 많아지면 완전한 분리가 이루어지지 않았다. 주요 성분(frac. 7-frac. 9)의 머무름 시간은 120분~150분이었고 피크 면적으로부터 frac. 7이 주 성분임을 알았다. 또한 각 분획물들을 HPTLC[전개용매 : 클로로포름 : 메탄올 : 증류수(99 : 11 : 1, v/v/v), 검출시약 : orcinol-sulfuric acid]로 확인한 결과, frac. 5~frac. 11의 분획물들은 분홍색으로 발색되어 이들 분획물들은 모두 당을 포함하고 있는 스펅고당지질임을 알았다. Fig. 3은 frac. 7-frac. 9의 MALDI/TOF-Mass스펙트럼을 나타내었다. 이것으로부터 frac. 7의 분자량은 770, frac. 9의 분자량은 844임을 알 수 있었으나 frac. 8은 혼합물인 것으로 밝혀졌다.

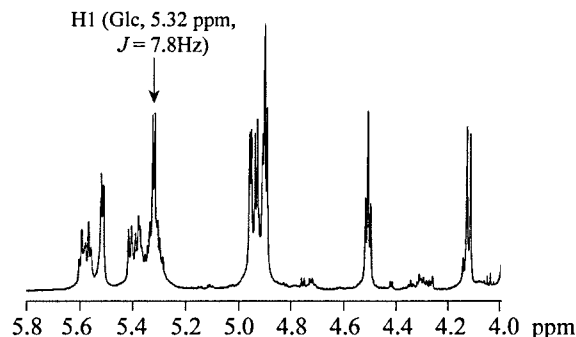


Fig. 4. 600 MHz ¹H-NMR spectrum of frac. 7. (DMSO-*d*₆ as solvent).

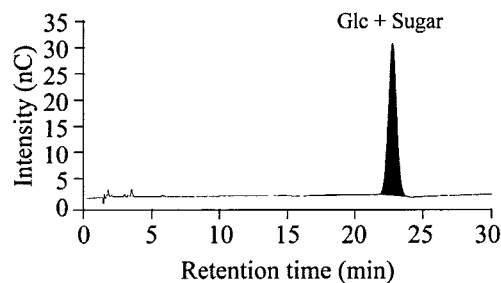
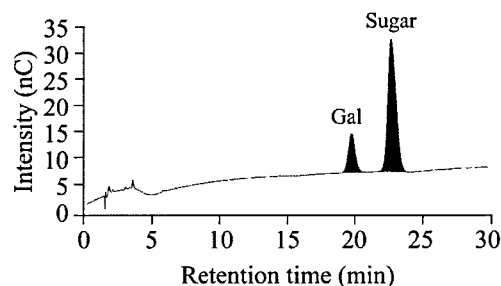


Fig. 5. Identification of component sugar of frac. 7.

최종적으로 100 g의 oriza ceramide P-8로부터 주 성분인 frac. 7을 150 mg 얻었고, 이것을 정제 cerebroside로 사용하여 분석에 이용하였다.

구성 당 및 결합 양식의 분석. 정제 cerebroside는 HPTLC의 결과로부터 스펅고지질에 당이 결합하고 있다. 당은 1H의 위치에 따라 α -결합과 β -결합으로 대별된다. α -결합과 β -결합의 구별은 일반적으로 NMR을 측정하여 1H의 결합상수(J)를 계산함으로써 알 수 있다. 즉, 1H의 J 가 2 Hz~4 Hz이면 α -결합이고 6 Hz~8 Hz이면 β -결합이다.^{19,20)} Fig. 4는 정제 cerebroside의 600 MHz ¹H NMR 스펙트럼을 나타낸다.

5.32 ppm에서 관측되는 당의 1H에 해당하는 피크(doublet)의 J 를 계산한 결과 7.8 Hz임을 알았다. 문헌에 의하면 식물유래의 알칼리 안정한 스펅고당지질의 구성 당은 주로 글루코오스, 갈락토오스로 되어 있어²¹⁾ 본 연구에서 얻어진 정제 cerebroside의 구성 당은 글루코오스 또는 갈락토오스가 지질에 β -결합을 하고 있다는 사실을 알았다. 이에 정제 cerebroside를 산 가수분해하여 얻어진 단당을 당 분석 장치로 분석하였다. 가수분해물을 표준 갈락토오스와 혼합하여 분석한 결과 머무름 시간이 서로 다른 2개의 피크가 관측되었다. 그러나 표준 글루코오스

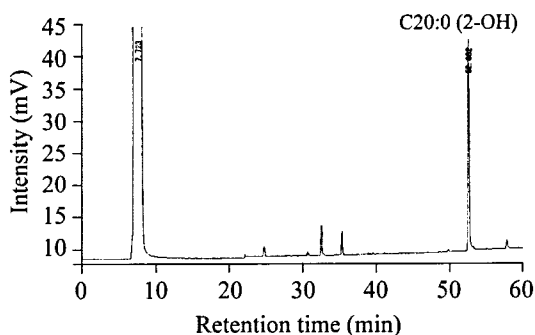


Fig. 6. Gas-chromatographic analysis of fatty acid methyl ester derived from frac. 7.

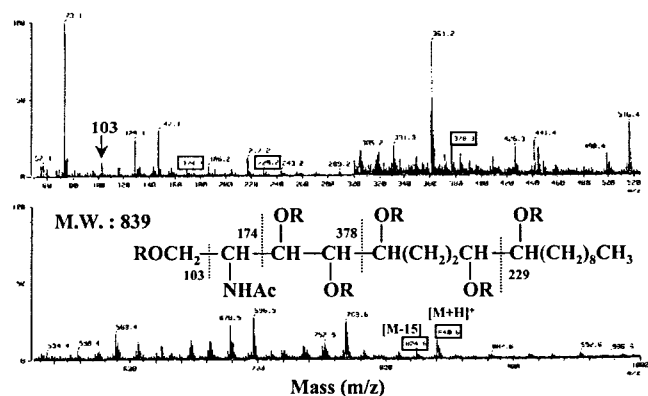


Fig. 7. FAB-mass spectrum of *N*-acetyl-*O*-trimethylsilyl derivative of polyhydroxylated long-chain base from frac. 7.

와 혼합하여 분석한 결과 단일의 피크가 관측되어 정제 cerebroside를 구성하고 있는 구성 당은 글루코오스임을 확인하였다(Fig. 5).

지방산의 분석. Frac. 7을 무수 메탄올성 염산용액과 함께 가수분해하여 얻어진 지방산 메틸에스터를 GC로 분석하였다(Fig. 6).

먼저 9종류의 지방산 메틸에스터와 4종류의 2-hydroxy 지방산 메틸에스터를 표준물질로 사용하여 각 표준 지방산 메틸에스터의 머무름 시간을 확인하고 frac. 7로부터 유도된 지방산 메틸에스터를 GC로 분석하여 머무름 시간을 측정하고 표준 지방산 메틸에스터 중 2-hydroxy arachidic산의 머무름 시간과 일치했다. 이 결과로부터 frac. 7을 구성하고 있는 지방산은 2-hydroxy arachidic산으로 판명되었다.

스핑고이드 염기의 분석. 스펅고이드 염기를 분석하기 위하여 frac. 7을 산 가수분해하고 *N*-아세틸화 한 후 OsO₄로 산화시켜 poly알코올화 하였다. 이어 각 수산기를 TMS화 하여 FAS-Mass를 측정하고 결과 분자량(M)이 839임을 알 수 있었다(Fig. 7).

m/z 378과 *m/z* 229의 이온은 각각 C4와 C8에 vicinal trimethylsiloxy기가 있는 것을 나타내는 이온으로 확인되었고 이것은 OsO₄로 산화시키기 전의 스펅고이드 염기는 C4와 C5 그리고 C8과 C9에 이중결합이 존재하고 있었다는 것을 의미한다.²²⁾ 또한 *m/z* 174의 이온이 관측되어 C3에 수산기가 결합되

어 있는 스펅고이드 염기임을 알 수 있었다. 이 결과는 식물유래의 스펅고이드 염기는 대부분 C3에 수산기를 지니고 있다는 내용과 일치 한다.²³⁾ 이상의 분석결과 frac. 7 유래의 스펅고이드 염기는 C4와 C5, C8과 C9에 각각 이중결합을 가지고 있는 sphinga-4,8-dienine임을 확인하였다. 이상으로 본 연구에서는 시판의 쌀겨 추출물로부터 스펅고당지질을 효과적으로 분리, 정제하였고 각종 화학적 방법과 기기분석을 통하여 구조를 확인하였다. 현재 분리한 스펅고당지질의 미백효과, 보습효과 등의 생리활성에 대해서 연구가 진행중이다.

초 록

대표적인 스펅고지질인 글리코실세라미드의 생리적 기능을 조사하기 위하여 쌀겨 추출물로부터 cerebroside를 분리하였다. 정제하지 않은 글리코실세라미드를 flash system 칼럼으로 분리한 후 ELSD를 검출기로 사용하여 순상 HPLC로 정제하였다. 클로로포름 : 메탄올 : 증류수(99 : 11 : 1, v/v/v)을 용출용매로 사용하여 주요 cerebroside를 얻을 수 있었고, MALDI/TOF-MS, FAB-MS, GC, 600 MHz ¹H-NMR로 구조를 분석하였다. 구성 당은 글루코오스였고 cerebroside의 구성 지방산은 2-hydroxy-arachidic산이었다. 장쇄 염기는 sphinga-4,8-dienine이었다.

Key words: 스펅고지질, 세라미드, 식용 식물, 생리 기능, cerebroside, 쌀겨 추출물

감사의 글

This work is supported by grant (Regional Consortium, 2004) from Ministry of Economy, Trade and Industry, Japan.

참고문헌

1. Harwood, J. L. (1980) Plant acyl lipids; structure, distribution and analysis. In *The biochemistry of plants*, Conn, E. E. pp. 1-55, Academic press, New York.
2. Sastry, P. S. (1974) Glycosyl glycerides. *Adv. Lipid Res.* **12**, 251-310.
3. Olsen, I. and Jantzen, E. (2001) Sphingolipids in bacteria and fungi. *Anaerobe* **7**, 103-112.
4. Meer, G. and Holthuis, J. C. M. (2000) Sphingolipid transport in eukaryotic cells. *Biochim. Biophys. Acta* **1486**, 145-170.
5. Dickson, R. C. and Lester, R. L. (2002) Sphingolipid functions in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochim. Biophys. Acta* **1583**, 13-25.
6. Kawai, G., Ohnishi, M., Fujino, Y. and Ikeda, Y. (1986) Stimulatory effect of certain plant sphingolipids on fruiting of *Schizophyllum commune*. *J. Biol. Chem.* **261**, 779-784.
7. Okuyama, E., Hasegawa, T., Matsushita, T., Fujimoto, H., Ishibashi, M. and Yamazaki, M. (2001) Analgesic Components of *Saposhnikovia* Root (*Saposhnikovia divaricata*). *Chem. Pharm. Bull.* **49**, 154-160.
8. Foulon, V. B., Godeau, G., Guessous, F., Lati, E., Rousset, G., Arveiller, M. R. and Hornebeck, W. (1995) Inhibition of human

- neutrophil elastase by wheat ceramides. *Int. J. Cosmet. Sci.* **17**, 255-264.
9. Vesper, H., Schmelz, E. M., Karakashian, N. N., Dillehay, D. L., Lynch, D. V. and Merrill, A. H. (1999) Sphingolipids in food and the emerging importance of sphingolipids to nutrition. *J. Nutr.* **129**, 1239-1250.
10. Imokawa, G. (1995) Structure and function of intercellular lipids in the stratum corneum. *J. Oleo Sci.* **44**, 51-66.
11. Yahagi, K. and Iwai, H. (1996) Application of surfactants in personal care products. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* **45**, 1133-1143.
12. Ohnishi, M., Kawase, S., Kondo, Y., Fujuno, Y. and Ito, S. (1996) Identification of major cerebroside species in seven edible mushrooms. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* **45**, 51-56.
13. Sugawara, T. and Miyazawa, T. (1999) Separation and determination of glycolipids from edible plant sources by high-performance liquid chromatography and evaporative light-scattering detection. *Lipids*. **34**, 1231-1237.
14. Imai, H., Ohnishi, M., Kinoshita, M., Kojima, M. and Ito, S. (1995) Structure and distribution of cerebroside containing unsaturated hydroxy fatty acids in plant leaves. *Biosci. Biotech. Biochem.* **59**, 1309-1313.
15. Mano, Y., Kawaminami, K., Kojima, M. and Ohnishi, M. (1999) Comparative composition of brown rice lipids (lipid fractions) of *India* and *Japonica* rice. *Biosci. Biotech. Biochem.* **63**, 619-626.
16. Carter, H. E., Hendry, R. A., Nojima, S., Stanacev, N. Z. and Ohno, K. (1961) Biochemistry of the sphingolipids. *J. Biol. Chem.* **236**, 1912-1916.
17. Hayashi, A. and Matsubara, T. (1971) Determination of the structure of sphinga-4,8-dienine from oyster glycolipids by gas chromatography and mass spectrometry. *Biochim. Biophys. Acta* **248**, 306-314.
18. Kashima, M., Nakagawa, K., Sugawara, T., Miyazawa, T., Murakami, C., Miyashita, R., Ono, J., Deschamps, F. S. and Chaminade, P. (2002) Method for quantitative determination of cerebroside in "plant ceramide" foodstuffs by high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection. *J. Oleo Sci.* **51**, 347-354.
19. Lomas, M. M. and Chapman, D. (1973) Structure studies on glycolipids. part 1: 220 MHz NMR spectra of acetylated galactocerebroside. *Chem. Phys. Lipids* **10**, 152-164.
20. Sun, Y., Liu, Kai, Hua, H., Zhu, H. and Pei, Y. (2006) Gracilarioside and Gracilamides from red Alga *Gracilaria asiatica*. *J. Nat. Prod.* **69**, 1488-1491.
21. Takakuwa, N., Tanji, M., Oda, Y. and Ohnishi, M. (2002) Distribution of 9-methyl sphingoid base in Mushrooms and its effects on the fluidity of phospholipid liposomes. *J. Oleo Sci.* **51**, 741-747.
22. Karlsson, K. A., Pascher, I., Samuelsson, B.E. and Steen, G. O. (1972) Mass spectra of trimethylsilyl derivatives of homogeneous ceramides. *Chem. Phys. lipids* **9**, 230-246.
23. Sperling, P. and Heinz, E. (2003) Plant sphingolipids: structure diversity, biosynthesis, first genes and functions. *Biochim. Biophys. Acta* **1632**, 1-15.