

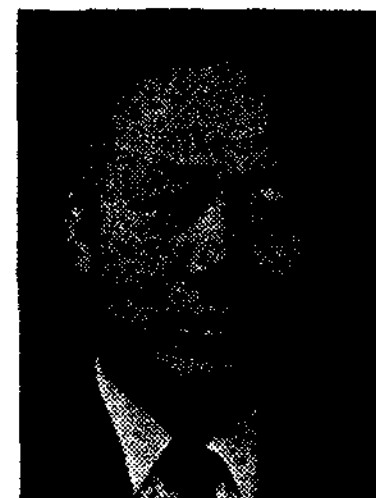
〈總說〉

유지분석의 현황과 미래의 전망

—트리아실글리세롤을 중심으로—

조용계

동아대학교 식품영양학과



Current Trends in the Analyses of Fats and Oils and Their Prospect in the Future

—Triacylglycerols in Particular—

Cho, Yong-Gea

Dept. of Food Science and Nutrition, Dong-A University

(Received Jun., 20, 1997)

I. 서론

1. 脂質의 定義와 分類

脂質(lipids)의 定義를 한 마디로 내리기는 어렵다. 從來의 定義에 따르면 脂質은 물에 녹지 않으며 油溶性 溶媒인 diethyl ether, 石油 ether, acetone, chloroform, benzene, carbon disulfide, carbon tetrachloride와 熱알코올 등에 잘 녹으며, 脂肪酸 에스터로 存在하거나 脂肪酸 에스터를 生成 할 수 있는 天然物로, 生에 利用될 수 있는 것이라고 되어 있다²⁸⁾. 그러나 脂質이라고 불리워지는 것 중에 위에 내린 定義에 들어 맞지 않는 것이 있다. 즉, lecithin은 어느 程度 물에 녹으나 acetone에는 녹지 않고, 磷脂質의 一種인 sphingomyelin은 diethyl ether에 녹지 않는다. 또 squalene이나 pristane과 같은 炭化水素는 脂肪酸 에스터를 生成할 수 없다.

脂質은 그 構造가 比較的 簡單한 脂肪酸으로부터 構造가 복잡한 당지질 및 lipoprotein에 이르기까지 多様な 여러 物質을 包含하고 있기 때문에 그 分類法도 매우 까다롭다. 一般的으로 脂質은 알칼리에 의해 加水分解 될 수 있는 脂質과 알칼리에 의하여 加水分解 될 수 없는 脂質로 分類하고, 前者에는 트리아실글리세롤(triacylglycerols, TG, 普通 油脂

—oils and fats—라 불리워지고 있음), 왁스類, 磷脂質 등이 있고 後者에는 sterol, 炭化水素, 카로테노이드, 비타민 A, D, E 등으로 分類되므로 本論文에서도 '油脂'는 TG를 뜻한다. 또 脂質을 그 構成成分에 따라 單純脂質, 複合脂質과 誘導脂質로 分類하기도 하는데, 單純脂質에는 TG와 왁스, 複合脂質에는 磷脂質, 糖脂質과 lipoprotein 등이 있고, 誘導脂質에는 不化物和 遊離脂肪酸이 包含된다. 最近에는 크로마토그래피—上的 舉動(behaviour)에 따라 中性脂質과 極性脂質로 分類하는 方法이 脂質分析에 널리 쓰이고 있는데, 前者에는 TG, 炭化水素, 遊離 sterol과 그 에스터, 알콜과 왁스類 등이 있으며, 後者에는 磷脂質과 糖脂質이 있다.

2. TG의 複雜성과 그 分析의 必要性

TG는 glycerol 1分子에 3個의 脂肪酸 殘基를 가지고 있으며, 그 構成脂肪酸의 結合位置에 따라 物理的 化學的 性質이 전혀 다른 TG 分子種이 생긴다. 따라서 構成脂肪酸의 數가 增加하면 異性體數도 幾何級數的으로 增加한다. 例를 들면 어떤 植物種實油의 TG가 5種의 脂肪酸으로 構成되어 있다면, 이 TG는 理論的으로 125個의 分子種을 가질 수 있다. 實際로 많은 植物種實油의 TG는 branched, cyclic chain 또는 non-methylene interrupted con-

jugated double bond(NMDB)와 같은 특이한 구조를 가진 지방산을 함유하는 등 보다 다양한 지방산으로 구성되어 있어 그 분자종은 대단히 복잡하므로, 과거에는 TG를 분자종별로 분할내지 분리하는 것은 거의 불가능하여, 어떤 假說(均等 分布說, 無作爲 分布說, 1, 3-無作爲-2-無作爲 分布說 等) 下에 統計的 方法에 따라 지방산 組成을 基礎로 하여 어떤 TG의 存在可能性만 豫測하였을 뿐이다^{25, 26)}.

TG의 物性이나 化學的 性質이 構成지방산의 組成은 물론이고 同一한 脂肪酸으로 構成된 境遇에도 그 分布에 따라 크게 달라진다. 예를 들면 cocoa butter(C_{16:0} 26%, C_{18:0} 34%, C_{18:1} 35%, 其他 5%)와 羊기름(C_{14:0} 2%, C_{16:0} 27%, C_{16:1} 2%, C_{18:0} 32%, C_{18:1} 31%, C_{18:2} 2%)의 脂肪酸 組成이 대단히 恰似하나(Table 1)⁵⁰⁾, 그 物理的 性質이 判異하게 다르다. 前者는 chocolate의 原料로 高價로 팔리고 있으나 後者는 비누原料로 使用되고 있다. 또한 棉實油의 TG를 randomize시켜 構成지방산의 分布를 달리하면 生成된 液相이던 TG가 固體相으로 變化하므로 別다른 水素添加 工程을 거치지 않고 바로 shortening으로 쓸 수 있다고 하며²⁹⁾, 5~8.2%의 linolenic acid를 함유한 大豆油를

randomize시켜 그 酸化速度를 測定하였더니 randomize化하기 前에 比하여 TG의 酸化速度가 顯著히 떨어졌다고 한다⁵¹⁾. TG의 에스터 結合을 加水分解하는 lipase는 그 作用部位에 대한 特異性에 따라 대개 二個의 type으로 分類된다(Table 2). 즉, TG의 1과 3位의 에스터 結合을 加水分解하는 1,3-specific type과 1, 2, 3位의 에스터 結合을 모두 切斷하는 non-specific type인데, 一般적으로 動植物에서 分泌되는 lipase는 *Rhizopus*屬, *Aspergillus*屬, *Mucor*屬의 곰팡이에서 分泌되는 lipase와 같이 1, 3-specific이고, 乳兒에서 分泌되는 lipase나 *Candida*屬의 곰팡이, *Chromobacterium viscosum*을 爲始한 大部分의 細菌에서 分泌되는 lipase는 後者에 屬한다. 우리가 攝取한 食品 中の 油脂成分은 十二指腸에 이르러 胰臟 lipase의 作用을 받아 2-monoacyl-glycerol(2-MG)과 遊離脂肪酸으로 加水分解되며, 遊離된 脂肪酸은 小腸을 通過하면서 쉽게 吸收되나 2-MG는 다시 glycerol과 脂肪酸으로 分解되어 吸收되므로, 이 脂肪酸은 1, 3-位置의 脂肪酸 보다 吸收가 느린 셈이다.

以上에 言及한 事實들을 考慮할 때 TG의 各 分子種을 分劃하여 그 構成지방산의 分布를 糾明하여 油脂를 構成하는 TG의 分子種 組成을 確實히

Table 1. Component acids of cocoa butter and mutton tallow

Fat	(% wt)						
	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	Others
Cocoa butter	—	26	—	34	35	0.5	4.5
Mutton tallow	6	27	2	32	31	2	—

Table 2. Lipases present in nature

Non-specific	1, 3-specific	Δ 9-specific
<i>Candida cylindracea</i>	<i>Pancreatic lipase</i>	<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Aspergillus niger</i>	
<i>Corynebacterium acnes</i>	<i>Mucor javanicus</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Mucor miehei</i>	
	<i>Rhizopus arrhizus</i>	
	<i>Rhizopus delemar</i>	
	<i>Rhizopus niveus</i>	

하여 두는 것은 油脂工業, 食品工業은 물론이고 營養學的 側面에서 매우 重要的 일이라 생각된다.

II. 本 論

1. TG 分析의 現況

1) GLC와 HPLC에 의한 TG 分子種의 resolution

1950年代 以前에는 油脂, 즉 TG를 減壓蒸溜나 溫度에 의한 分別沈澱으로 分割하는 水準이었고, 여기서 얻은 分割들의 脂肪酸 組成을 基礎로 하여 TG의 脂肪酸 分布를 推算하였으므로, TG를 分子種의 水準으로 分離하는 것은 不可能하였다.

1960年代에 이르러 電子技術의 發達에 힘입어 gas-liquid chromatography(GLC)가 登場하여 脂肪酸 分析에 革命的인 變化를 가져오기 始作하였고, 그 後 比較的 極성이 弱한 칼럼이 開發되어

GLC에 의한 TG分析이 試圖되었다. TG는 GLC 上에서 TG分子의 total acyl基의 炭素數(TCN)에 따라 나누어졌으나, 유리細工技術의 發達에 따라 capillary column이 登場하게 되어, 이것을 裝着한 gas-liquid chromatography(GLC)가 單獨으로 또는 窒酸銀 含有 thin-layer chromatography (TLC)와 더불어 TG의 分子種 分析에 現在까지도 많이 利用되고 있다²⁷⁾(Fig. 1, 2). 그러나 이 方法에는 100℃ 以上の 高溫이 要求되므로 TG의 構成 脂肪酸의 酸化와 異性化는 물론이고 分子內의 acyl基의 migration을 가져올 憂慮가 크다.

1980年代에 이르러서는 octadecylsilane(ODS)을 coating한 column을 裝着하는 逆相 HPLC (RP-HPLC)가 開發되어 TG¹⁾, retinol ester²⁻⁴⁾, steryl ester^{5, 6)}와 wax ester^{7, 8)}의 分子種 分離·分析에 利用되고 있다. RP-HPLC에서 分子種이 溶出되는 順序는 partition number(PN, PN

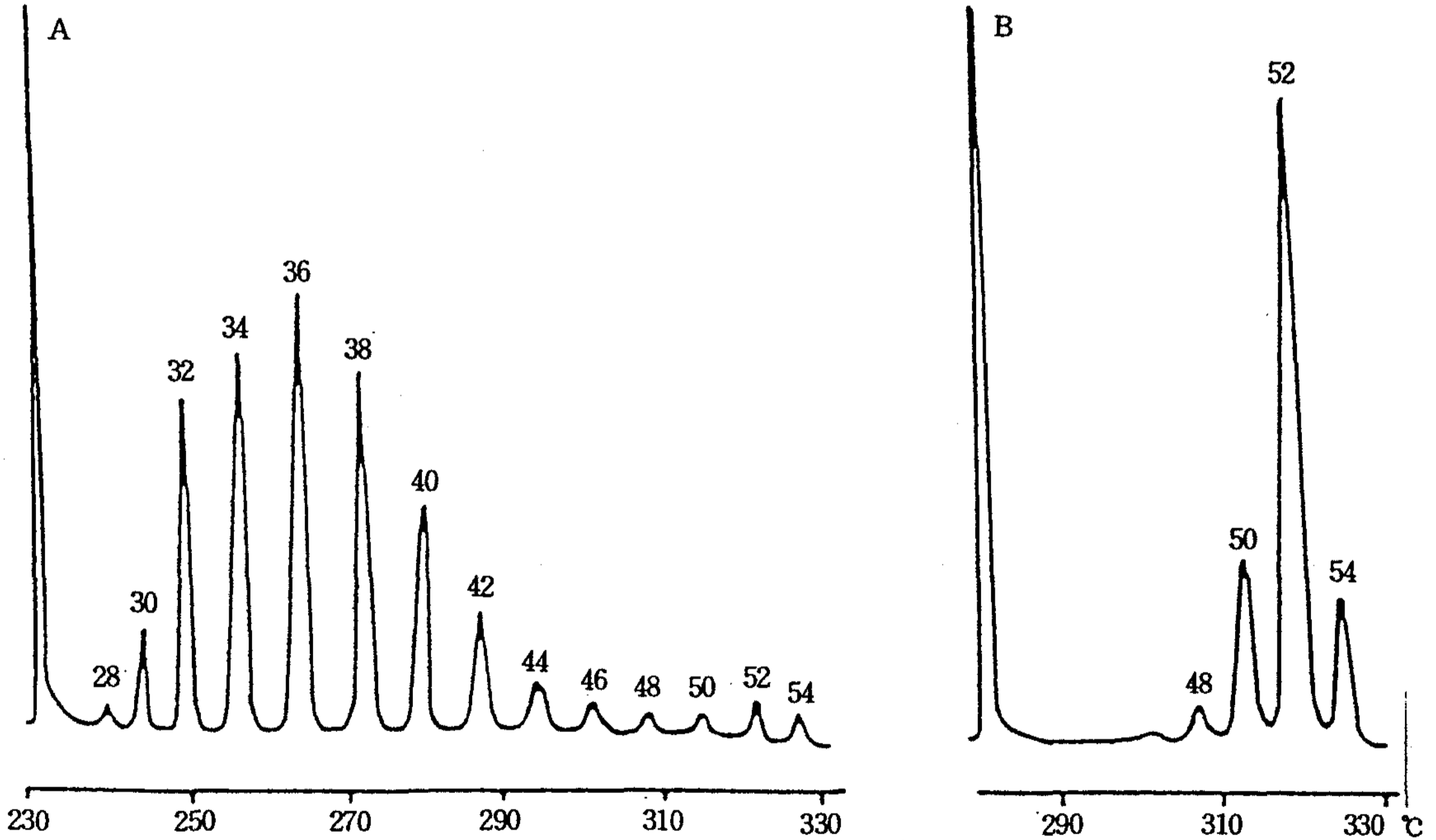


Fig. 1. The separation of intact triacylglycerols of (A) coconut oil and (B) pig adipose tissue. Separation on a glass column(50cm×4mm i.d.) packed with 1% SE-30TM on Chromosorb WTM(acid-washed and silanized; 100-20mesh). Nitrogen at 50ml/min was the carrier gas and for separation (A), the oven was temperature-programmed from 230 to 330℃ at 2℃/min, while for separation (B) it was programmed from 280 to 330℃ at 2℃/min. Reproduced with permission(Christie, 1989).

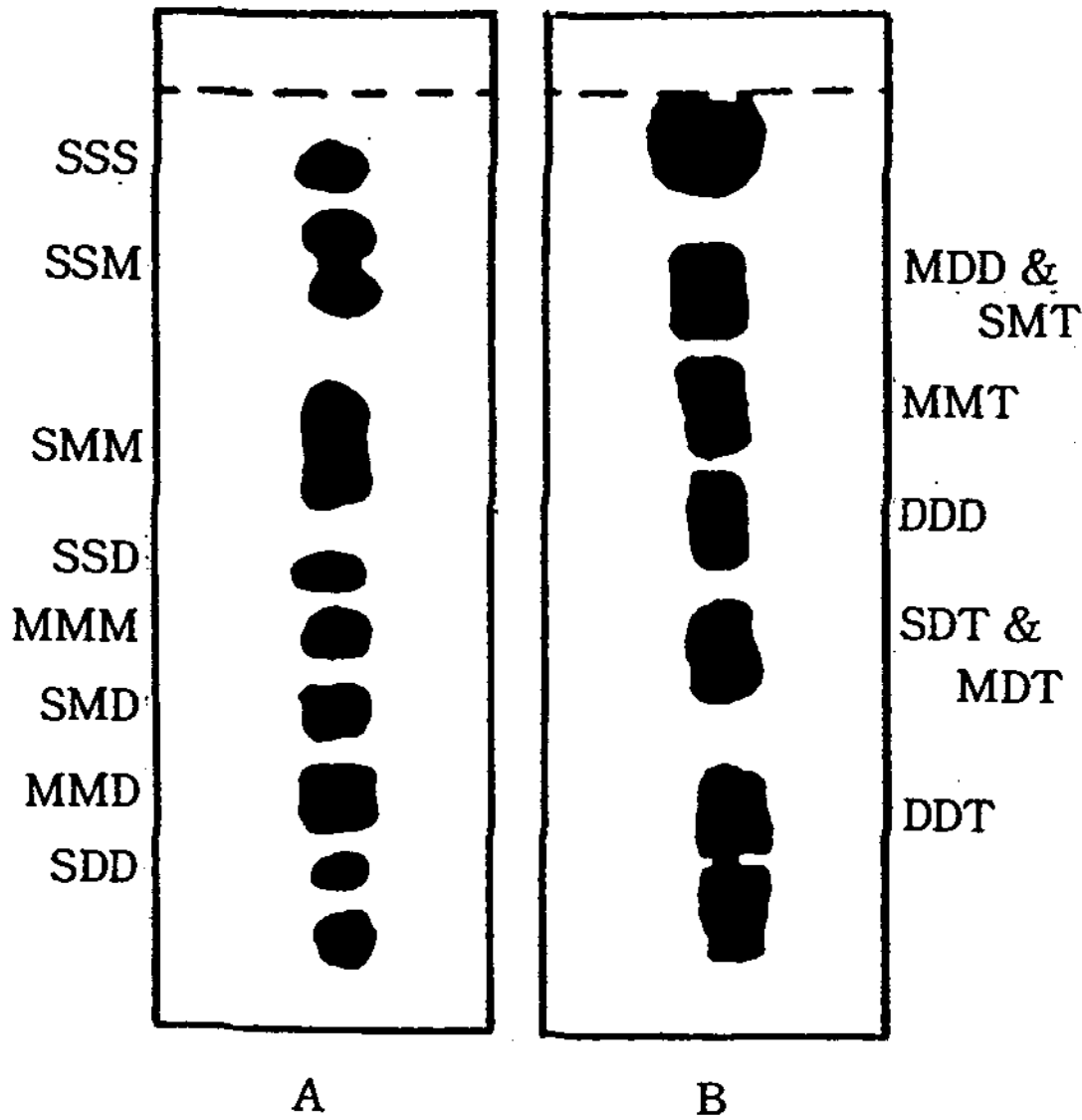


Fig. 2. Schematic TLC separation of maize oil triacylglycerols on layers of silica gel G, impregnated with 10% silver nitrate. Mobile phases : Plate A, chloroform-methanol(99 : 1, v/v) ; Plate B, chloroform-methanol(96 : 4, v/v). Abbreviations : S, M, D and T denotesaturated, mono-, di- and trienoic fatty acyl residues, respectively, esterified to glycerol.

= TG의 acyl基의 總炭素數 - 2 × acyl基의 總二重結合數)로 定義되는 parameter에 따라 決定되므로 cocoa butter나 palm oil에서와 같이 構成 脂肪酸 組成이 比較的 單純한 TG의 分子種 分割에 利用하여 왔다¹⁾(Fig. 3). 그러나 脂肪酸 組成이 複雜한 TG의 경우는 溶出되는 分子種의 PN이 重疊되는 경우가 많으므로 各各의 分子種을 分割·同定하기가 어렵고, 특히 脂肪酸 組成이 複雜한 魚油나 牛乳脂肪의 境遇에는 더욱 그러하다(Fig. 4). Fig. 5는 conjugate triene酸인 punicic acid(C_{18:3 9c, 11t, 13c})를 約 38% 含有한 하늘수박 種子油에서 얻은 TG의 RP-HPLC chromatogram이다. 여기서 D₂T_c와 MT_{c2}는 모두 PN이 40[(3×18) - (2×7) = 40]으로 同一하지만 D₂T_c의 分子種이 MT_{c2}의 그것보다 retention time이 훨씬 짧았다. 但, M과 D는 oleic acid(C_{18:1})와 linoleic acid(C_{18:2})를, T_c는 conjugate triene인 C_{18:3 9c, 11t, 13c}를 意味한다.

이 境遇에서 보는 바와 같이 PN이란 parameter를 모든 種類의 TG 分子種에 適用시키는 데는 보다 充分한 檢討가 있어야 하겠다.

1980年代末에 利用되기 始作한 銀ion chromatography는 炭素사슬의 二重結合과 銀ion과의 結合力 差異에 따른 簡單한 原理에 따라 TG을 分割하는 것으로^{9~13)}, 脂肪酸 殘基에 存在하는 二重結合의 pi-電子가 銀ion과 可逆的인 極性 complex을 이루며, 二重結合數가 增加하면 銀ion과의 complexity는 더욱 커지고, 또 retention time도 그만큼 길어진다. 銀ion을 利用한 여러 形態의 chromatography가 있으나, 그 중 TLC가 가장 普遍的으로 使用되고 있다.

Christie는 HPLC의 陽ion 交換樹脂인 Nucleosil™ 5SA의 column에 窒酸銀水溶液을 Rheodynetype의 injector로 loading하여 이 column 樹脂의 sulphone基에 銀ion을 結合시켜, 所謂 銀ion-HPLC column을 製作하였다. 그는 이 column과 RP-HPLC를 併用하여 植物種子油의 TG를 二重結合數에 따라 overlap됨이 없이 各 分子種을 純粹하게 分割하였으나^{19~22)}, 魚油의 TG分析에 利用하여서는 좋은 結果를 얻지 못하였다고 하였다^{23, 24)}(Fig. 6).

2) TG 分子種의 立體特異的(stereospecific) 分析

TG의 stereospecific한 構造를 알고자 하는 試圖은 오래前부터 始作되었으나, 1950年代에 들어와 비로소 Hilditch¹⁵⁾와 Brockerhoff¹⁶⁾에 의하여 刮目할 만한 發展을 가져 왔다. 그들이 使用한 方法을 要約하면 대략 이렇다. TG를 Grignard 試藥을 利用한 化學的 方法 또는 lipase를 利用한 酵素的 方法으로 部分 加水分解하여 遊離된 脂肪酸의 組成을 分析하고, 이때 얻어진 1,2-DG와 2,3-DG를 phosphatidylphenol 誘導體로 만든 다음 1,2-diacyl-sn-glycerophosphatides에 特異적으로 作用하는 蠟毒에서 精製한 phospholipase A로 1,2-DG의 2-位置의 脂肪酸를 遊離시켜 그 組成을 求한다. 이 때 生成된 1-acyl-lysophosphatides와 未反應의 2,3-glycerophosphatides를 TLC나 column chromatography로 相互分離하고, 1-acyl-lysophosphatides의 脂肪酸를 알칼리 加水分解하여 그 組成을

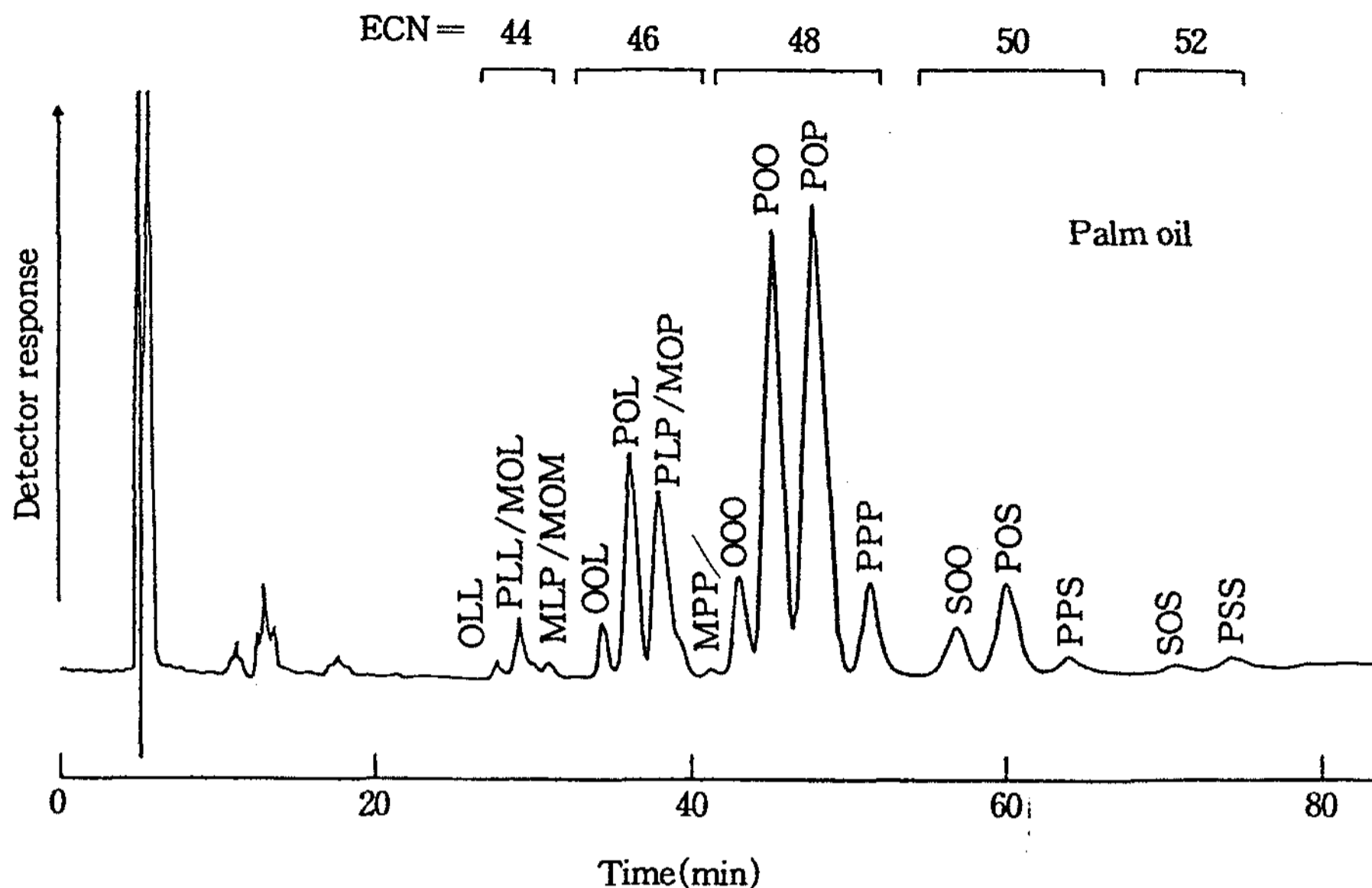


Fig. 3. Separation of triacylglycerols from palm oil by reversed-phase HPLC on a column(8×100mm) of *microBondapak*TM C₁₈(5μm) and a column(4×250mm) of *LiChrosorb*TM RP-18(5μm) in series, and maintained at 30°C [177]. the mobile phase was acetone-acetonitrile(62.5 : 37.5 by volume) at a flow-rate of 1.1mL/min, and refractive index detection was employed. The abbreviations refer to fatty acyl residues : M, 14 : 0, P, 16 : 0 : S, 18 : 0 : A, 20 : 0 : Pa, 16 : 1 : O, 18 : 1 : L, 18 : 2 : Ln, 18 : 3. The ECN values are listed above the appropriate groups of peaks.

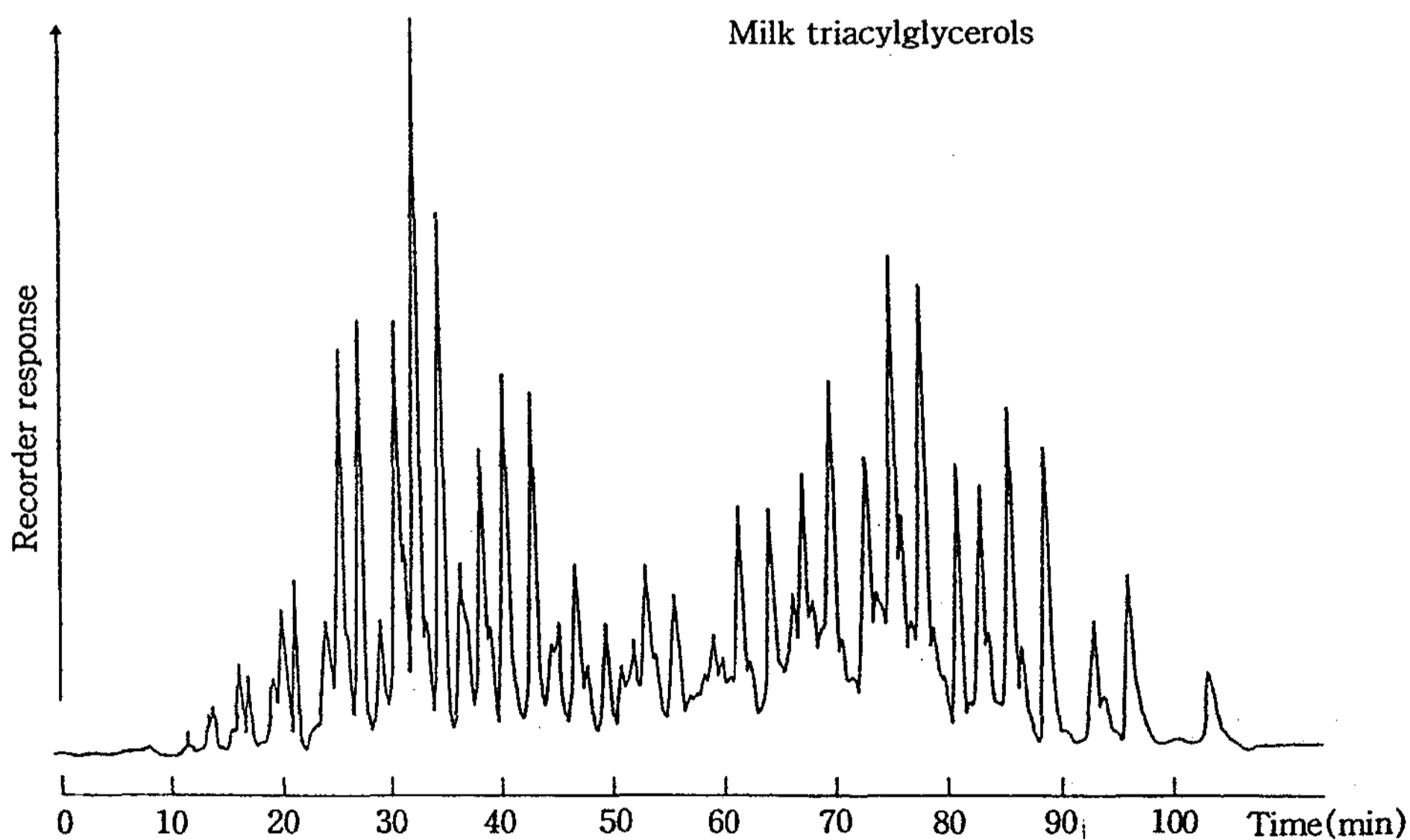


Fig. 4. Separation of triacylglycerols from cows' milk by reversed-phase HPLC on a column(5×250mm) of *Spherisorb*TM ODS2(5μm) with mass detection(Applied Chromatography Systems, Macclesfield, Cheshire). The mobile phase was acetone-acetonitrile(1 : 1 by volume) over the first 15min, and then was changed by a linear gradient to acetone 100% over a further 105min : the flow-rate was 0.5mL/min.

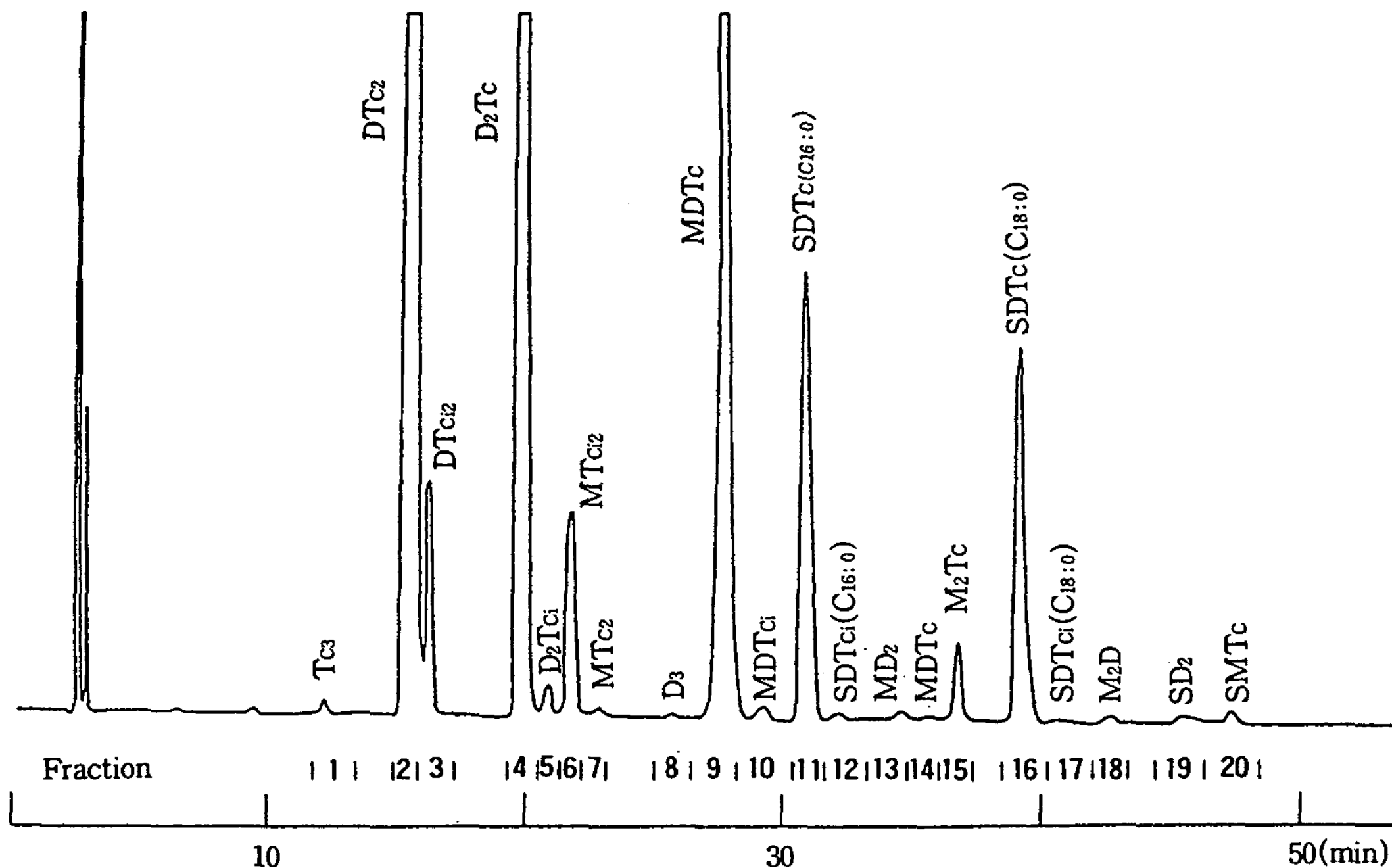


Fig. 5. Fractionation of the triacylglycerols from the seed oil of *T. kirilowii* by reversed-phase HPLC.
 S : Saturated(C_{16:0}) D : Dienoic(C_{18:2ω6}) Tc : Conjugate triene
 M : Monoenoic(C_{18:1ω9}) Tci : Isomers of Tc (C_{18:3} 9c, 11t, 13c)

求한다(Fig. 7). 이렇게 얻어진 data와 總 脂肪酸組成을 基礎로 하여 주어진 公式¹⁷⁾에 依據하여 1, 2, 3-位置에 結合한 脂肪酸 分子를 計算하여 試料 TG의 分子種을 計算하였다. 極히 最近에는 高純度의 (S, 또는 R)-(+) -1-(1-naphthyl)ethyl isocyanates를 enantiomer diglyceride 混合物에 作用하여, 1, 2-와 2, 3-diastereomer를 만들어 adsorption mode의 HPLC column으로 1, 2-와 2, 3-DG를 相互 分離하는 研究가 많이 行하여지고 있다. Christie¹⁸⁾는 數種의 油脂에서 얻은 TGsilver ion-HPLC와 RP-HPLC로 分子種을 分割하고, 이들의 部分 加水分解로 生成된 DG를 (S)-(+) -1-(1-naphthyl)ethyl urethane 誘導體로 만들어 1, 3-DG, 1, 2-DG, 및 2, 3-DG를 silica gel column을 裝着한 HPLC로 서로 重疊됨이 없이 分離하여 TG 分子種들의 立体構造를 明白히 한 바 있다 (Fig. 8-a, b, c).

2. 앞으로의 TG 분석

1) 分析 NMR spectroscopy에 의한 TG 分子種의 intact analysis

¹³C-NMR spectroscopy는 有機化合物의 炭素原子의 同位元素인 ¹³C의 magnetical environment를 測定하여 그 有機化合物을 構成하는 各 炭素의 結合狀態 및 이 炭素에 結合한 元素나 官能基에 관한 決定的인 情報를 提供하므로 有機物의 化學構造決定에 必須的인 分析法이다. TG에 結合된 acyl殘基의 各 炭素原子(¹³C) 共鳴 signal의 chemical shift로부터 그 acyl基(즉, 脂肪酸)를 同定 내지는 定性 할 수 있고 또 그 共鳴 signal의 intensity(signal의 높이)로부터 그 構成 acyl基를 定量도 할 수 있다. 어떤 炭素의 chemical shifts는 그 炭素의 total environment에 敏感하여 이 炭素로부터 6 또는 그 以上이나 떨어진 原子의 environment에 影響을 받기도

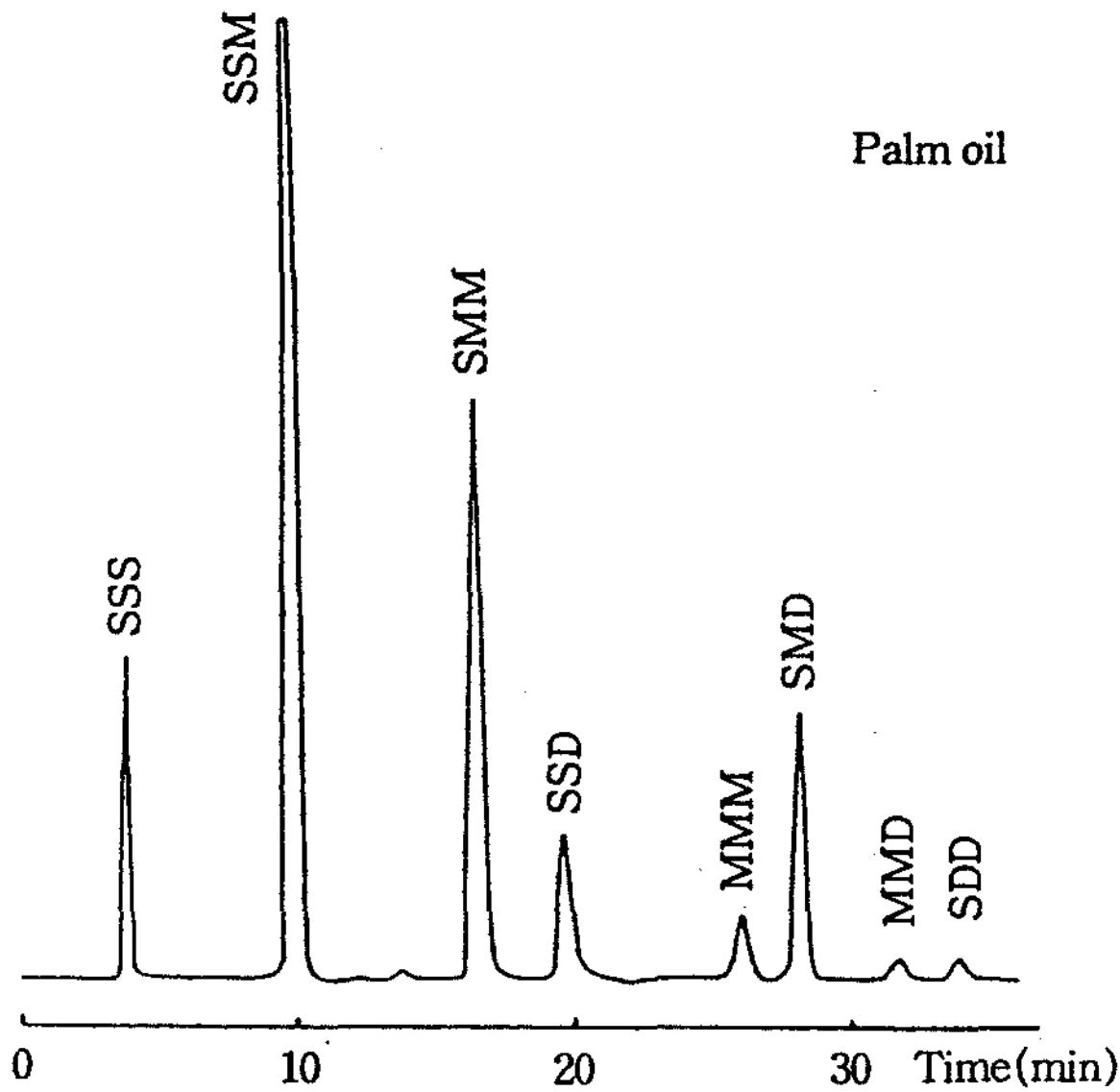


Fig. 6. Silver ion HPLC separation of molecular species of triacylglycerols from palm oil on a column of Nucleosil 5SA™ (250×4,6mm) loaded with silver ions. The mobile phase was a linear gradient of 1,2-dichloroethane-dichloromethane(1:1, v/v) to this solvent with 50% acetone over 15min, when acetonitrile was introduced to give a final mixture of acetone-acetonitrile(9:1, v/v) after a further 30 min, at a flow-rate of 0.75mL/min and with mass detection. S = saturated, M = monoene, D = diene.

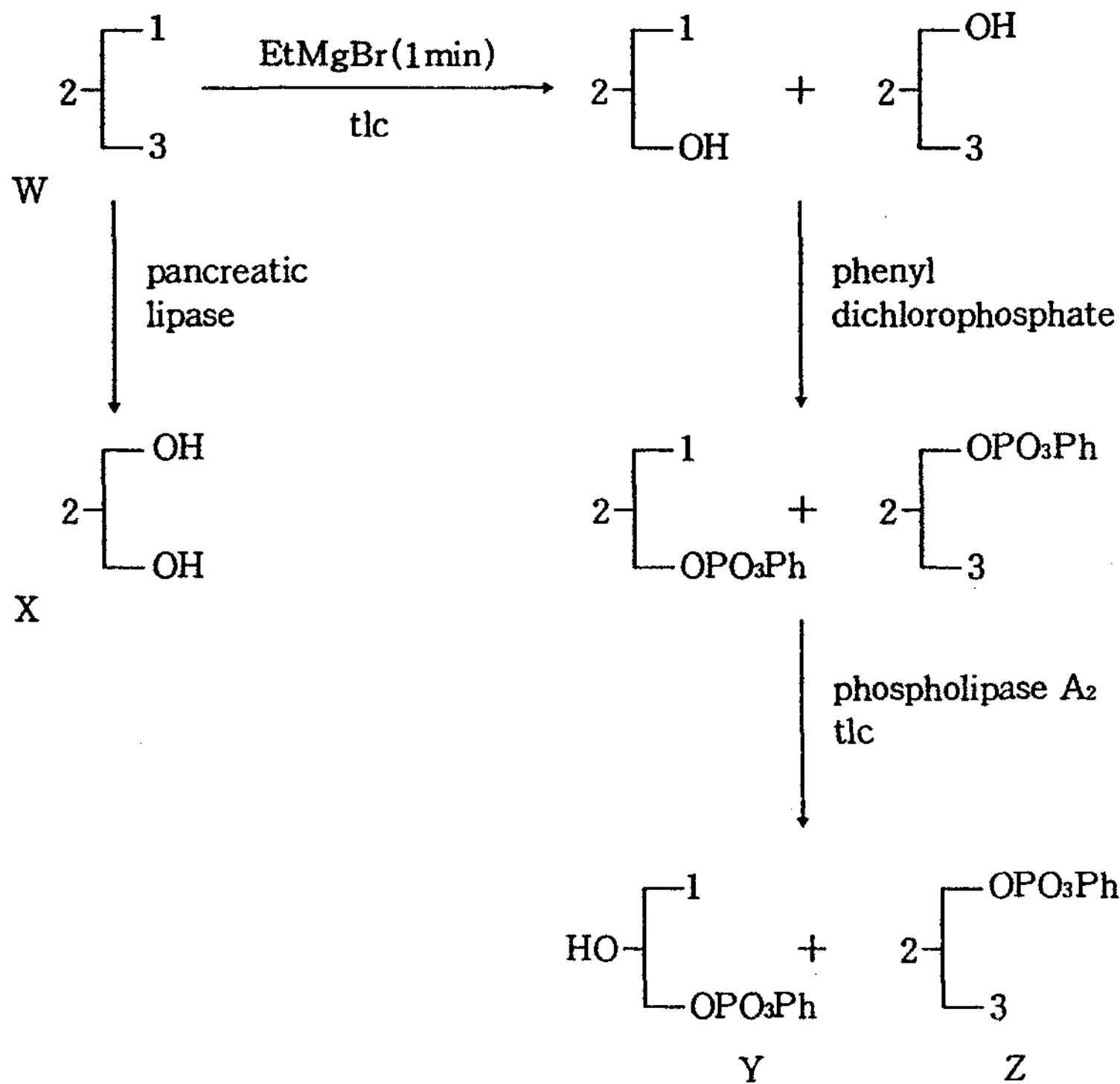


Fig. 7. Stereospecific analysis of triacylglycerols. 1,2,3 represent fatty acids at the *sn*-1, *sn*-2, and *sn*-3 positions, respectively. The fatty acids present in fractions W to Z are determined by chromatography of the methyl esters: *sn*-1 = Y, *sn*-2 = X *sn*-3 = 3W-X-Y or 2Z-X where X to Z are fatty acid compositions(%mol).

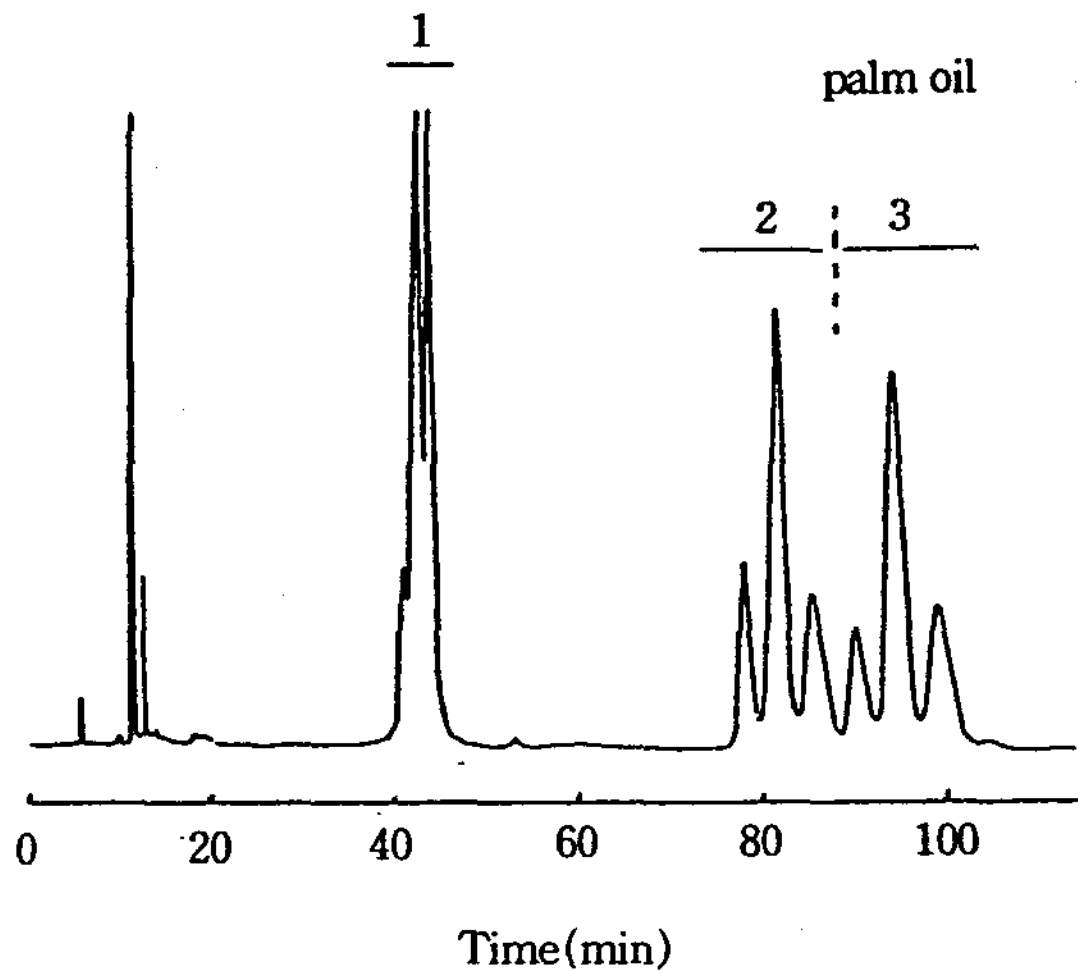


Fig. 8-a. HPLC resolution of (S)-(+)-1-(1-naphthyl)ethyl urethane derivatives of diacyl-*sn*-glycerols prepared from palm oil. The mobile phase was isooctane with 0.33% 1-propanol(containing 2% water). Other conditions were as in the Experimental section. The numbers 1,2 and 3 above peaks refer to the 1,3-, 1,2-, and 2,3-*sn*-diacylglycerol derivatives, respectively.

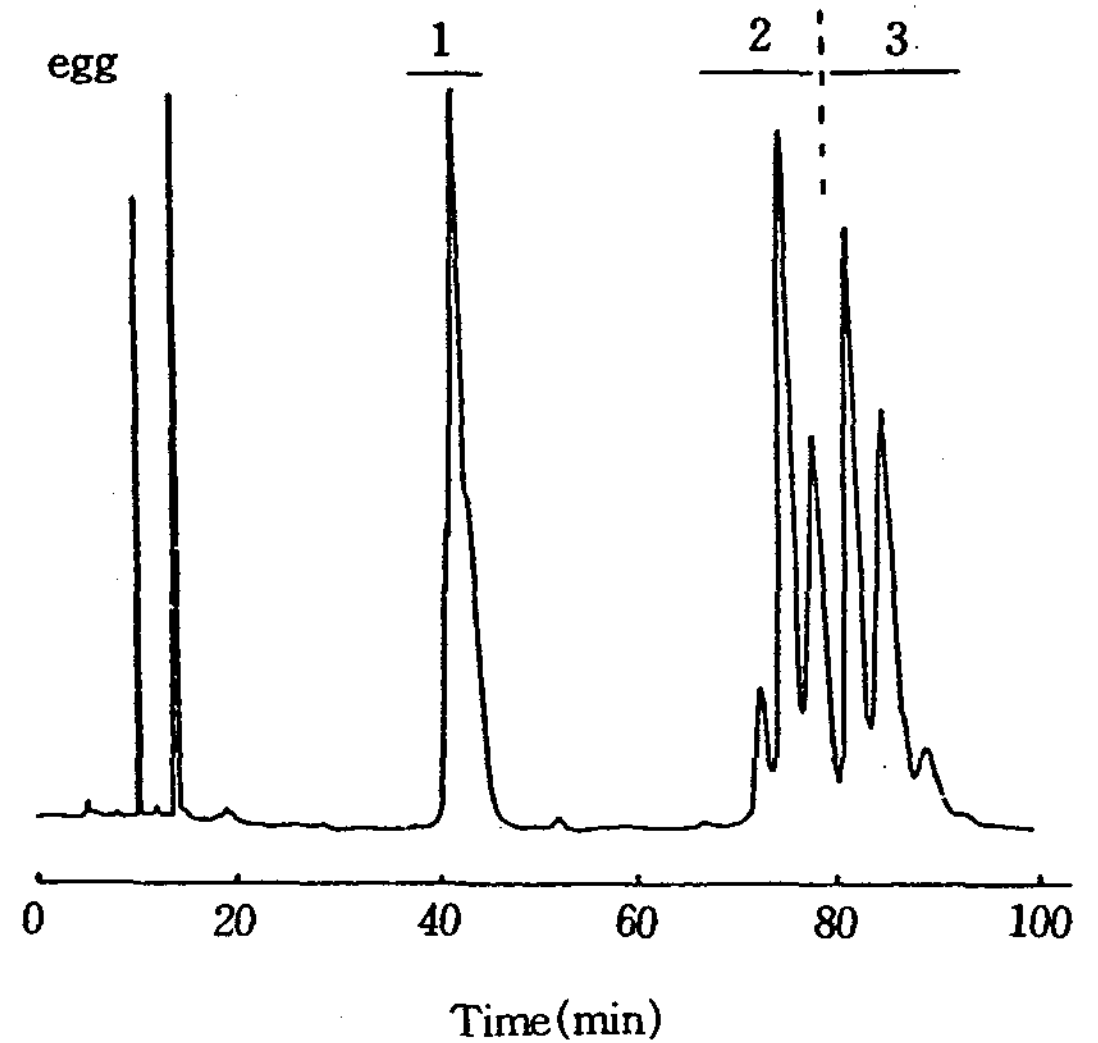


Fig. 8-b. HPLC resolution of (S)-(+)-1-(1-naphthyl)ethyl urethane derivatives of diacyl-*sn*-glycerols prepared from egg triacylglycerols. The experimental conditions were as in Fig. 2. The numbers 1, 2 and 3 above peaks refer to the 1,3-, 1,2- and 2,3-*sn*-diacylglycerol derivatives, respectively.

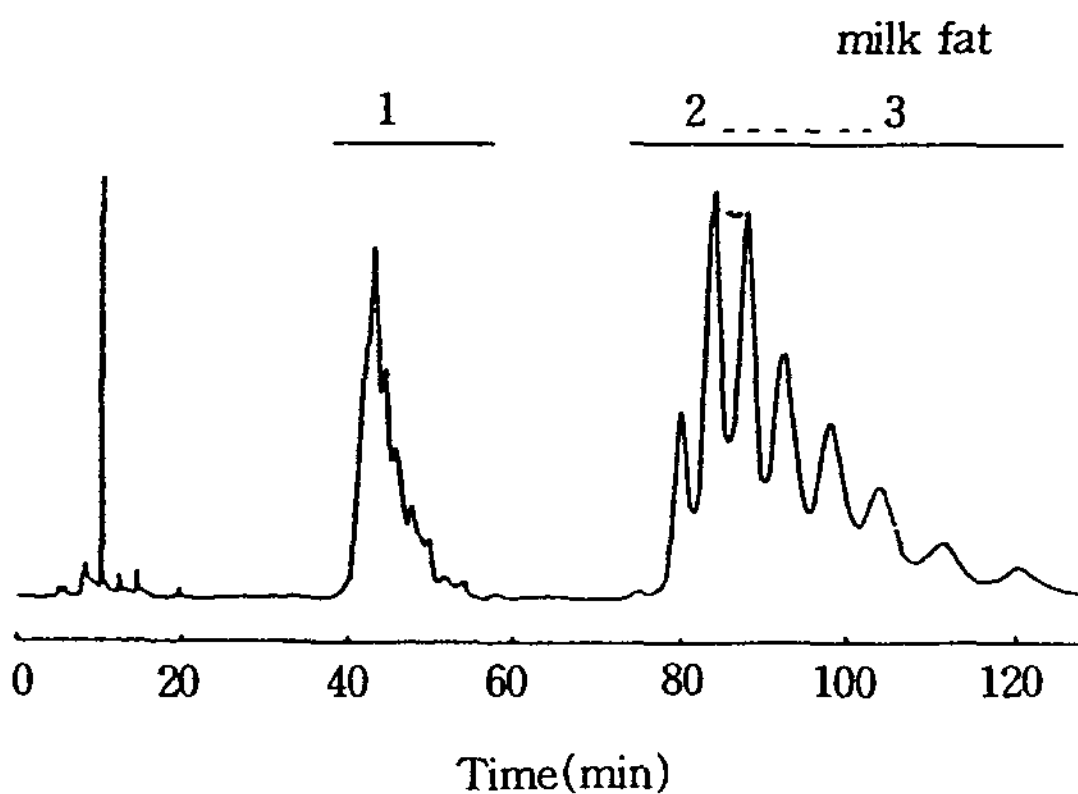


Fig. 8-c. HPLC resolution of (S)-(+)-1-(1-naphthyl)ethyl urethane derivatives of diacyl-*sn*-glycerols prepared from milk fat. The experimental conditions were as in Figure 2. The numbers 1,2 and 3 above peaks refer to the 1,3-, 1,2- and 2,3-*sn*-diacylglycerol derivatives, respectively.

한다. 즉, TG에 存在하는 oleyl殘基의 carbonyl炭素 signal은 炭素原子가 8個나 떨어진 Δ9 位置에 있는 二重結合으로부터도 影響을 받는다는 것이다. 또 構造的 特徵을 지닌 炭素 signal(diagnostic signal)의 緩和時間(T₁, longitudinal relaxation time)을 變化시켜 여러번 測定함으로써 正確한 定量的 data도 얻을 수 있다고 한다³⁰⁾.

1993年 以後로 이 方法은 butter fat, 植物油, 魚油, 動物油脂 및 硬化油 等の 構成脂肪酸에 관한 研究에 利用되기 始作하여³¹⁾, 飽和脂肪酸이나 또는 olefin系, 아세틸렌系, conjugate triene系 또는 高度不飽和系 脂肪酸을 지닌 複雜한 TG의 分子種定 量分析에 利用된 바가 있다³²⁾(Fig. 9, Table 3). 이 方法은 매우 正確하고 迅速하며 또 經費를 大幅 節 減 할 수 있어 앞으로 TG의 分子種 分析에 ¹³C-NMR spectroscopy의 利用이 날로 增加되리라 期待된다. 現在까지 TG分析에 利用된 NMR의 分解 能은 300MHz 以下였으며, TG의 regiospecific한

Table 3. Chemical shifts(ppm) for signals in the polar head groups of triacylglycerols, phosphatidylethanolamines and phosphatidylcholines derived from soybean oil

Source	TAG	PE	PC
Cl α	173.91	174.11	174.14
Cl β	173.49	173.74	173.79
G1	62.46	62.86	62.86
G2	69.38	70.72, 70.62 ^a	70.67, 70.62 ^a
G3	62.46	64.06, 63.99 ^a	63.88
CH ₂ O	—	61.91, 61.88 ^a	59.44, 59.38 ^a
CH ₂ N ⁺	—	40.87	66.65
Me ₃ N ⁺	—	—	54.30

^aSignals split by phosphorus.

G = glycerol carbon atoms.

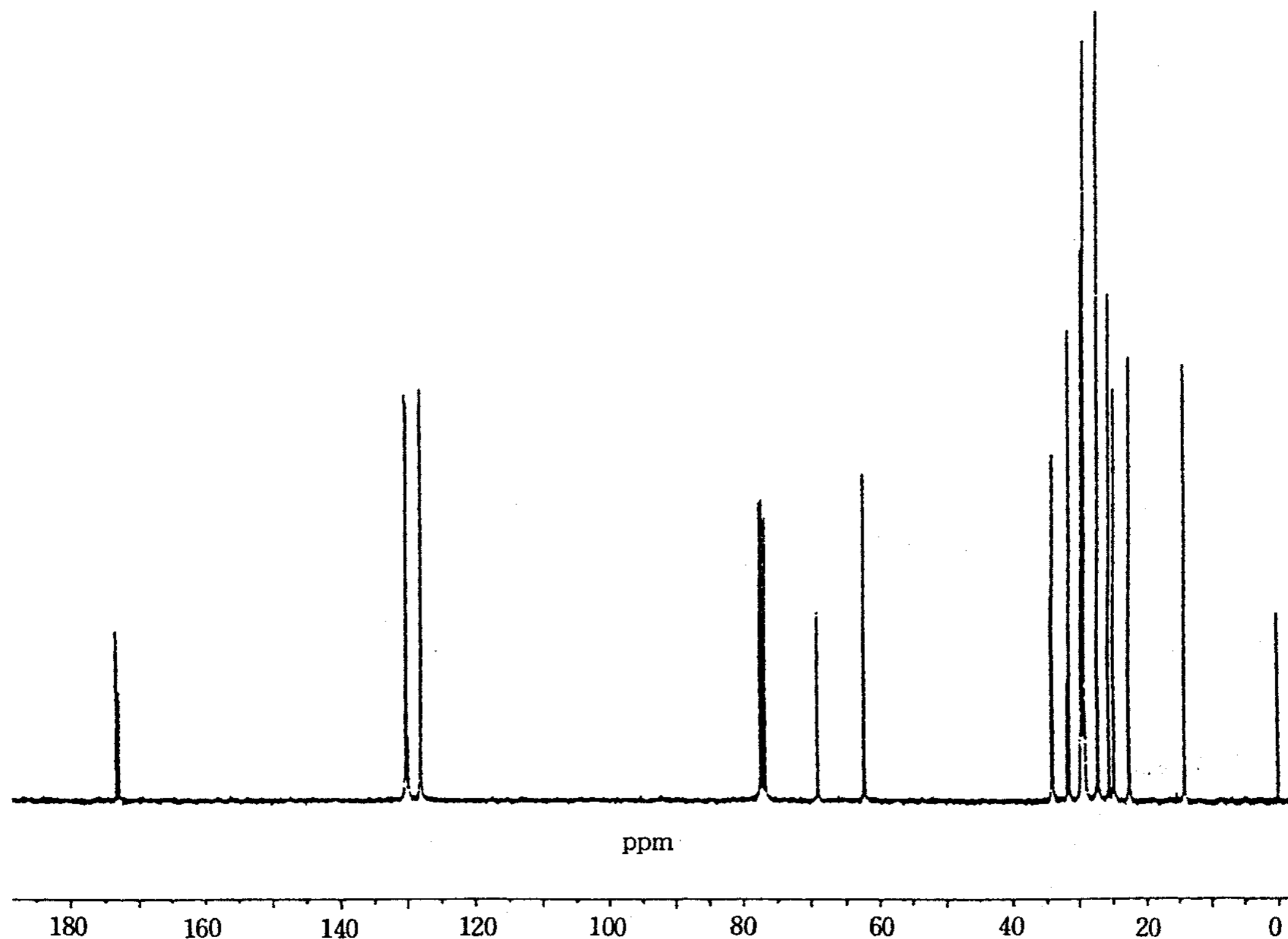


Fig. 9. Chemical shifts(ppm) of ¹³C NMR spectrum of safflower oil. Cl, 173.21(α), 172.80(β); C2, 34.19(β), 34.03(α); C3, 24.85; ω 1, 14.09, ω 2, 22.71 and 22.60; ω 3, 31.93 and 31.54; glycerol: 68.89(β) and 62.10(α); olefinic, 130.20, 129.98, 129.70, 128.07, 127.89, (Table 6.12); allylic 27.21(*cis*) and 26.54(L11); methylene envelope 29.11~29.78 ppm(11 signals).

分析(1,3-位置의 脂肪酸을 同一視한 分析)은 可能하였으나, stereospecific한 分析은 不可能하였다. 앞으로 超傳導를 利用한 高分解能 NMR이 開發되면(현재 700MHz NMR이 商用化되고 있다), TG를 그대로의 狀態에서 stereospecific analysis가 可能하리라 여겨지므로 ^{13}C -NMR spectroscopy는 油脂를 包含한 脂質分析에 一大 變革을 가져다 줄 것으로 豫想된다.

III. 結 論

GLC에 의한 TG分析 方法은 高溫이 要求되어 試料를 構成하는 脂肪酸의 酸化, 異性化와 試料分子內의 migration을 가져올 可能性이 대단히 높으므로 分子種 分離에 不適合하다. 지금까지 많이 행하여지고 있는 逆相 및 銀이온-HPLC法은 組成이 簡單한 TG分子種 分析에는 卓越함을 보이고 있으나, 複雜한 試料의 境遇에는 2가지 方法의 HPLC를 兼用하여도 좋은 結果를 얻지 못하고 있는 實情이다. 特히 魚油의 境遇가 그렇다.

Chiral column으로 TG를 stereospecific하게 resolution할 때 試料의 前處理 過程의 하나인 Grignard 試藥 處理時 TG 分子內에 acyl基의 migration이 일어나므로 正確한 data를 얻기가 어렵다. 이러한 점만 보완된다면 (S, 또는 R)-(+) -1-(1-naphthyl)ethyl urethane 誘導化 方法이 위의 2가지 型의 HPLC와 併用할 때 이 方法은 組成이 簡單한 植物性油脂의 分子種 分析에 매우 理想的이다.

^{13}C -NMR spectroscopy는 現在까지 TG分析에 使用되는 方法 중 가장 理想的인 方法이다. 왜냐하면 번거롭고 異性化를 招來할 수 있는 前處理 操作이 전혀 必要없기 때문이다. 高分解能의 NMR이 開發되면(현재 700MHz NMR이 商用化되고 있다), TG를 그대로의 狀態에서 stereospecific analysis가 可能함으로 ^{13}C -NMR spectroscopy는 TG나 磷脂質과 같은 構造가 複雜한 脂質分析에 커다란 發展을 가져다 줄 것으로 期待된다.

문 헌

- Christie, W. W., *High-Performance Liquid Chromatography and Lipids*, pp.172~210, Pergamon Press, Oxford(1987).
- DeRuyter, M. G. M., and DeLeenheer, A. P., *Clin. Chem.*, 24, 1920(1978).
- Baht, P. V. and Lacroix, A., *J. Chromatogr.*, 272, 269(1983).
- May, H. E. and Koo, S. I., *J. Liquid Chromatogr.*, 12, 1261(1989).
- Perkins, E. G., Hendren, D. J., Bauer, J. E., and El-Hamdy, A., *Lipids*, 16, 609(1981).
- Billheimer, J. T., Avart, S., and Milani, B., *J. Lipid Res.*, 24, 1646(1983).
- Spencer, G. R., Plattner, R. D., and Miwa, T., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 54, 187(1977).
- Miwa, T. K., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61, 407(1984).
- Joh, Y.-G., Brechany, E. Y., and Christie, W. W., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72, 707(1995)
- Takagi, T., Itabashi, Y., Ota, T., and Hayashi, K., *Lipids*, 11, 354(1976).
- Spencer, G. F., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 56, 642(1979).
- Plattner, R. D., and Spencer, G. F., *Lipids*, 18, 68(1983).
- Challinor, C. J., Hamilton, R. J., and Simpson, K., *Chem. Phys. Lipids*, 3, 145(1969).
- Joh, Y.-G., Kim, S.-J., and Christie, W. W., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72, 1037(1995).
- Hilditch, T. P. and Williams, P. N., *The Chemical Constitution of Natural Fats*(4th ed.), John Wiley & Sons, New York(1964).
- Brockerhoff, H., *Arch. Biochem. Biophys.*, 110, 586(1965).
- Christie, W. W., *Lipid Analysis*(2nd ed.), pp.155~159, Pergamon Press, Oxford, (1982).
- Christie, W. W., *Prog. Lipid Res.*, 33, 9(1994)
- Christie, W. W., *J. Chromatogr.*, 454, 273(1988).

20. Nikolova-Damyanova, B., Christie, W. W., and Herslof, B., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67, 503(1990).
21. Christie, W. W., *Fat Sci. Technol.*, 93, 65 (1991).
22. Santinelli, F., Damiani, P., and Christie, W. W., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69, 552(1992).
23. Laakso, P. and Christie, W. W., *Lipids*, 25, 349(1990).
24. Laakso, P. and Christie, W. W., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 213(1991).
25. Hilditch, T. P. and Williams, P. N., *The Chemical Constitution of Natural Fats*(4th ed.), John Wiley & Sons, New York(1964).
26. Brockerhoff, H., *Arch. Biochem. Biophys.*, 110, 586(1965).
27. Christie, W. W., *Gas Chromatography and Lipids*, pp.68~69, Oily Press, Ayr(1989).
28. 藤卷正生 外 8人, 改訂新版 食品化學, 朝倉書店, 東京, p.24(1976).
29. 金東勳, 食品化學, 探求堂(서울), p.365(1971).
30. F. D. Gunstone, *Fatty Acid and Lipid Chemistry*, pp.67~72, Blackie Academic & Professional, London(1996).
31. F. D. Gunstone, High Resolution ^{13}C -NMR Spectroscopy of Lipids, in *Advances in Lipid Methodology-Two*(ed. by W. W. Christie), pp.1~68, The Oily Press, Dundee(1993).
32. Lie Ken Jie. M. S. F, Lam, C. C. and Yan B.F., *Chem. Phys. Lipids*, 78, 1(1995).