

Reversed-phase 및 Ag^+ -HPLC에 의한 Conjugate Trienoic Acid 含有 Triacylglycerol 分子種의 相互分離

金成眞 · 禹孝京 · 趙鏞桂

東亞大學校 食品營養學科
(2001년 6월 11일 접수 ; 2001년 7월 3일 채택)

Resolution of the Triacylglycerols Containing Conjugate Trienoic Acids into Their Molecular Species by HPLC in the Reversed-phase and Silver Ion Mode

Seong-Jin Kim · Hyo-Kyeng Woo · Yong-Goe Joh

Department of Food Science & Nutrition, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea
(Received June 11, 2001 ; Accepted July 3, 2001)

Abstract ; Conjugate trienoic acids (CTA) occurred in triacylglycerols (TGs) of the seed oils of *Trichosanthes kirilowii*, *Momordica charantia* and *Aleurites fordii*, and they were easily converted to their methyl esters in a mixture of sodium methoxide-methanol without any structural destruction. The main fatty acids in triacylglycerol (TG) fraction of the seed oils of *Trichosanthes kirilowii* are $C_{18:2\omega6}$ (32.2 mol %), $C_{18:3\ 9c,11t,13c}$ (38.0 mol %) and $C_{18:1\omega9}$ (11.8 mol %), followed with $C_{16:0}$ (4.8 mol %) and $C_{18:0}$ (3.1 mol %). The TG fraction was resolved into 20 TG molecular species according to the partition number (PN) by reversed-phase (RP)-HPLC. The main TG species were DT_{c2} , MDT_c and D_2T_c , of which amounts reached 63 mol % of total TG molecular species. The TG sample was fractionated into 11 fractions according to the number of double bond in the molecule by Ag^+ -HPLC and the species of DT_{c2} , MDT_c and D_2T_c were also eluted as main components. The TG species containing CTA showed unusual behaviours in the order of elution by HPLC; first, TG molecular species of DT_{c2} (D; dienoic acid, T_c; punicic acid, T_{ci}; α -eleostearic acid, M; monoenoic acid, S; stearic acid) was eluted earlier than MT_{c2} , although they have the same PN number of 40, and, secondly, the species of DT_{ci2} with eight double bonds was eluted earlier than that of D_2T_{ci} with seven double bonds. Intact TG of the seed oils of *Momordica charantia* contained mainly fatty acids such as $C_{18:3\omega9c,11t,13t}$ (57.7 mol %), $C_{18:1\omega9}$ (17.4 mol %), $C_{18:0}$ (12.3 mol %) and $C_{18:2\omega6}$ (10.6 mol %), and was classified into 13 fractions by RP-HPLC. The main TG species were as follows; MT_{ci2} [$(C_{18:1\omega9})(C_{18:3\ 9c,11t,13t})_2$, 39.1 mol %] and S_tT_{ci2} [$(C_{18:0})(C_{18:3\ 9c,11t,13t})_2$, 33.9 mol %] comprising about 73 mol % of total TG species, accompanied by DT_{ci2} [$(C_{18:2\omega6})(C_{18:3\ 9c,11t,13t})_2$, 7.3 mol %], D_2T_{ci} [$(C_{13:2\omega6})_2(C_{18:3\ 9c,11t,13t})$, 3.6 mol %] and MDT_{ci} [$(C_{18:1\omega9})(C_{18:2\omega6})(C_{18:3\ 9c,11t,13t})$, 3.5 mol %]. Simple TG species of T_{ci3} [$(C_{18:3\ 9c,11t,13t})_3$] was present

in a small amount of 1.4 mol %, but other simple TG species were not detected. The TG was also resolved into 11 fractions according to the number of double bond by Ag^+ -HPLC, and the species were mainly occupied by MT_{ci2} [$(C_{18:1\omega9})(C_{18:3\ 9c,11t,13t})_2$, 39.4 mol %] and S_iT_{ci2} [$(C_{18:0})(C_{18:3\ 9c,11t,13t})_2$, 35.4 mol %]. DT_{ci2} species with eight double bonds was also developed faster than D_2T_{ci} one with seven double bonds as indicated in the analysis of TG of the seed oils of *T. kirilowii*, and MT_{ci2} species with *cis*, *trans*, *trans*-configured double bond was eluted earlier than MT_{c2} species with *cis*, *trans*, *cis*-configured double bond. The main components of fatty acid in total TG fraction isolated from the seed oils of *Aleurites fordii* were in the following order; $C_{18:3\ 9c,11t,13t}$ (81.2 mol %) > $C_{18:2\omega6}$ (8.5 mol %) > $C_{18:1\omega9}$ (5.4 mol %). With resolution of the TG by RP-HPLC, eight fractions such as T_{ci3} , DT_{ci2} , D_2T_{ci} , MT_{ci2} , PT_{ci2} (P; palmitic acid), PMT_{ci} , PDT_{ci} and S_iT_{ci2} (S_i ; stearic acid) were isolated, respectively. TG species of T_{ci3} [$(C_{18:3\ 9c,11t,13t})_3$, 54.2 mol %], DT_{ci2} [$(C_{18:2\omega6})(C_{18:3\ 9c,11t,13t})_2$, 15.0 mol %] and MT_{ci2} [$(C_{18:1\omega9})(C_{18:3\ 9c,11t,13t})_2$, 14.8 mol %] were present as main species.

Keywords : *Conjugate trienoic acids (CTA), triacylglycerol molecular species, Trichosanthes kirilowii, Momordica charantia, Aleurites fordii, reversed-phase HPLC, Ag^+ -HPLC.*

1. 序論

트리아실글리세롤 (triacylglycerol, TG)은 주된 지질성분의 하나이며 TG의 구성지방산의 종류가 증가하면 그 분자종 (molecular species)의 수는 기하급수적으로 증가하여, 예를로 5종의 지방산으로 구성된 TG는 이론적으로 $5^3 (=125)$ 개의 분자종이 존재할 수 있다. 또 어떤 식물지질의 TG에는 직쇄 acyl 지방산 외에 branched, cyclic chain, hydroxy기 또는 oxo기를 가진 지방산, non-methylene interrupted conjugate double bond와 conjugate double bond와 같은 특이한 기능기를 가진 불포화지방산이 많이 발견되고 있어, 이런 지질에 존재하는 TG 분자종은 대단히 복잡할 것으로 생각된다[1]. 그러므로 TG를 분자종별로 분할 내지 분리하는 것은 대단히 어렵고, 더욱이 TG분자의 지방산분포를 분석하는 것은 불가능하여 어떤 가설 (균등분포설, 無作為분포설, 1, 3-無作為-2-無作為 분포설 등)에 통계적 방법에 따라 예측되어져 왔을 따름이다[2, 3].

Capillary column을 장착한 gas-liquid chromatography (GLC)를 thin-layer chromatography (TLC)와 병행하여 TG를 분자종 level

에서 분할하는데 많이 이용하여 왔으나[4], 최근에는 octadecylsilane (ODS)를 coating한 column을 장착한 역상 HPLC (RP-HPLC)가 TG의 분석에는 물론이고[5], retinol esters [6-8], sterylester[9, 10], wax ester[11, 12]와 같은 지질의 분자종 분리·분석에 널리 이용되고 있다.

RP-HPLC에서는 분자종의 용출되는 순서는 partition number (PN, $PN=TG$ 의 acyl기의 총 탄소수 - $2 \times$ acyl기의 총 이중결합수)로 정의되는 parameter에 따라 결정되며, RP-HPLC를 cocoa butter와 palm oil의 TG 분자종 분할에 이용하여 peak가 서로 중복됨이 없이 PN값에 따라 TG 분자종을 상호분리하였다[5]. 그러나 지방산 조성이 복잡한 어유나牛乳지방의 TG나 불포화지방산의 위치이성체를 많이 함유한 TG는 분자종이 용출될 때 PN이 상호중첩되므로, 각각의 분자종을 분할·동정하기가 어렵다[38].

TG 분석에 널리 쓰이는 silver ion-chromatography는 지질분자의 이중결합과 고정상인 silver ion과의 결합력의 차이에 따라 지질의 분자종을 분할하는 분석 방법이다[16-20]. 즉, TG의 지방산 잔기에 존재하는 이중결합의 π -전자가 silver ion과 가역적인 complex를 형성하므로 이중결합수가 증가하면 silver ion과의 comple-

xity는 더욱 커져서, TG分子의 머무름時間 (retention time)도 그만큼 길어진다. 銀ion을 이용한 여러形態의 chromatography가 있으며 그 중 薄層크로마토그래피- (thin-layer chromatography, TLC) 方法이 가장 普遍的으로 사용되고 있는데, 이 方法에는 다음과 같은 몇가지 缺點이 있다. 즉, 가장 큰 短點은 試料의 二重結合數가 많은 (4個 以上) 成分은 이 方法으로 相互分離가 어렵다는 것이고, 둘째 銀ion-含有 TLC板을 暗室에서 만들어 (窒酸銀을 물에 녹인 後 여기에 adsorbent를 넣어 slurry를 만들어 유리板에 塗抹하고 乾燥함) 乾燥하여 낮은 溫度에서 活性化하여야 함으로 長時間이 所要된다는 것이고, 또 TLC板을 發色시켜 band나 spot의 adsorbent를 긁어내어 顯하는 成分을 溶媒로 抽出할 때 artefact에 의한 汚染이 많다는 것과, 窒酸銀이 身體의 어느 部位나 衣服에 묻어 잘 지워지지 않는 자국으로 남는다는 것도 短點으로 指摘하지 않을 수 없다.

著者[13]는 HPLC의 陽ion 交換樹脂인 Nucleosil™ 5SA의 column에 窒酸銀 水溶液을 Rheodyne type의 injector로 loading하고, 다음으로 물, acetone, methanol의 順으로 餘分の 窒酸銀 分子를 洗滌하여 이 樹脂 column의 sulphone基에 銀ion가 結合된 所謂 銀ion HPLC column을 만들었다. 이 column을 사용하여 脂肪酸 methyl ester[14-18], 植物種子油의 TG [19-22]와 水産動物油脂의 wax ester 分子種分析에 利用하여[13] 二重結合數에 따라 peak가 overlap됨이 없이 각 分子種을 純粹하게 分劃한 바 있다.

박과에 屬하는 여주 (*Momordica charantia*)는 一年生 덩굴植物이며 亞熱帶産으로 우리나라 南部地方에서 觀賞用으로 널리 栽培되고 있다. 그 열매는 食用으로 利用되고 있으며 그 種子是 民間에서 여러 疾病治療에 使用되어 왔었다[23]. 이 種子에 含有된 脂質에는 普通的 植物種子油에는 發見되지 않는 conjugate trienoic acid (CTA)의 하나인 α -eleostearic acid ($C_{18:3}^{9c,11t,13c}$)가 約 60%나 含有되어 있으며, 다음으로 oleic acid ($C_{18:1\omega9}$), stearic acid ($C_{18:0}$)와 linoleic acid ($C_{18:2\omega6}$)가 約 10~20% 程度 存在한다고 한다[13]. 또 大戟科 植物인 油桐 (*Aleurites fordii*)의 種子에서 抽出한 油脂에도 α -eleostearic acid ($C_{18:3}^{9c,11t,13c}$)가 約 80~90% 程度 含有되어 있다고 한다[24]. 한편 박과인 多

年生 덩굴植物이고 우리나라 南部地方에서 잘 자라는 하늘타리 (一名 하늘수박, *Trichosanthes kirilowii*)에는 α -eleostearic acid의 異性体인 puniic acid ($C_{18:3}^{9c,11t,13c}$)가 TG 脂肪酸의 約 40%程度 存在한다고 한다[6]. α -eleostearic acid와 puniic acid는 分子에 共軛二重結合을 가지고 있어 쉽게 酸化되므로, 이것을 多量 含有하고 있는 種子油는 食品科學者나 營養學者에게는 큰 關心을 끌지 못하였다.

TG의 脂肪酸 分布에 따라 TG의 物理的, 化學的 및 生化學的 性質이 달라진다. 즉, cocoa butter fat와 羊脂에서와 같이 2油脂의 脂肪酸 組成이 매우 類似하나 2油脂의 構成脂肪酸 分布가 相異하여 그 物性이 全然 다르며, 前者는 融點이 32~39℃로 sharp하며 常溫에서 固体이며 口腔溫度에서 녹으므로 chocolate의 材料로나 醫藥品(例로서 座藥)의 基劑로 利用되고 있으나, 後者는 그 融點이 44~55℃이므로 加熱하면 jelly狀으로 徐徐히 融解하므로 그 用途가 비누나 paraffin 製造外에는 別로 없다[29]. 또 脂質 貯藏中에 그 酸化速度도 脂質分子의 脂肪酸 分布에 따라 매우 달라서, TG 分子中의 어떤 不飽和脂肪酸이 glycerol 分子의 1 (또는 3)-位置에 結合하면 2-位置에 結合할 때보다 酸化가 보다 빨리 일어난다는 것이다 (反對로 이야기하는 분도 있음)[26~28]. 그리고 人體에서 分泌하는 lipase는 TG의 sn-1 또는 sn-3 位置의 脂肪酸殘基만 加水分解하고 sn-2位置의 殘基에는 作用하지 않는다.

이와 같이 TG의 構成脂肪酸의 分布는 TG의 生合成 mechanism의 糾明에 있어 重要な 情報을 提供할 뿐만 아니라, 食品의 加工適性과 貯藏性에는 물론이고 生體內에서 脂肪의 消化·吸收와도 아주 密接한 關係가 있으므로, TG의 構造를 stereospecific하게 밝히는 것은 生化學者, 油脂化學者, 食品化學者와 營養生理者에게 매우 重要な 課題라고 생각된다.

本 實驗에서는 여주, 油桐 및 하늘수박 種子油에서 存在하는 TG의 構成分子種의 構造를 stereospecific하게 分析하기에 앞서 RP-HPLC 및 Ag⁺-HPLC로 TG를 分子種別로 分劃하여 그 構成脂肪酸를 GLC로 分析하였으며, 이를 資料로하여 각 分劃에 包含된 TG 分子種을 調査하였다.

2. 實驗

2.1 總脂質抽出 및 TG의 純粹分離

하늘타리 種子와 여주와 油桐의 種子를 1999년 가을에 釜山과 慶南一圓에서 購入하여, 各各의 試料를 잘 洗滌한 다음 햇빛이 들지 않은 곳에서 乾燥하였다. 各 種子를 잘 磨碎하여 Bligh & Dyer法[32]으로 脂質을 抽出하고, 이 抽出液을 窒素氣流下에서 殘存溶媒를 除去하여 總脂質로 使用하였다. 이 總脂質의 一部를 hexane-acetone (99.5 : 0.5, v/v) 溶媒에 10 mg/mL 되도록 녹여, 그 1.0 mL를 이미 平衡化시켜 둔 一回用 Isolute™ silica column에 吸着시켰다. 여기에 上記의 溶媒 10 mL를 흘려 不純物을 除去하고 그 다음 hexane-acetone (99 : 1, v/v) 溶媒 15 mL로 TG를 純粹히 分離하였다. 窒素氣流下에서 殘留溶媒를 除去하고 適當한 溶媒에 녹여 HPLC의 試料로 使用하였다 [22].

2.2 HPLC에 의한 TG 分子種의 相互分離

RP-HPLC[22,30,31]; TG 分子種을 RP-HPLC上에서 다음과 같은 條件으로 分離하였다. 즉, 使用한 HPLC는 quaternary solvent delivery system을 갖춘 Hewlett Packard社의 Model 1050이었고, 칼럼은 ChromSpher™ C18 (100 × 4.6 mm in tandem, 3 μm film thickness)를 使用하였고, 分離되는 peak는 Sedere社(Alfortville, Cedex, France)의 Sedex 55의 evaporative light-scattering 檢出器로 檢出하였으며, Stream splitter를 칼럼과 檢出器 사이에 設置하여 分取比率를 80%으로 하여 各 分劃을 分取하였다. 溶媒로는 dichloromethane (DCM) : acetonitrile (ACN) (20 : 80, v/v) (A)와 DCM : ACN (30 : 70, v/v) (B)의 2溶媒를 使用하여, A와 B 溶媒의 比率이 85 : 15가 되도록 하여 20分間 흘린 다음, 30分後에는 溶媒 B가 100% 되도록 하였고, 繼續하여 이 比率로 5分間 더 흘렸다. 이때 칼럼 溫度는 20℃로 하였으며 流速은 0.8 mL/min의 維持하였다. 또 各 溶媒에 溶存하는 空氣는 He gas로 bubbling시켜 除去하였다.

2.3 Silver ion-HPLC[22,30,31]; Silver ion-HPLC 分析에는 Nucleosil™ 5SA (250 × 4.6 mm, i. d., HiChrom, Reading, UK)에 窒酸

銀 水溶液을 흘리면서 禹의 方法[31]에 따라 調製한 銀이온 칼럼을 使用하였다. 使用할 展開溶媒는 DCM : 1, 2-dichloroethane (50 : 50, v/v) (A), 100% acetone (B)과 acetone : acetonitrile (9 : 1, v/v) (C)의 3溶媒를 使用하여, 처음에 溶媒 A만을 흘려 35分後에는 溶媒 A와 B의 比率이 50 : 50이 되도록 하였고, 繼續 35分間 더 흘려 溶媒 A, B, C의 比率이 20 : 50 : 30이 되도록 하였으며, 그리고 마지막 10分間은 B와 C의 比率이 50 : 50이 되도록 展開하였다. 칼럼은 常溫에서 維持시켰고 流速은 0.8 mL/min으로 하였으며 其他 條件은 RP-HPLC의 境遇와 同一하게 하였다.

2.4 試料脂質의 脂肪酸 methyl ester化 (FAME)[30,31]

試料脂質 約 2 g 程度를 마개달린 試驗管에 옮겨 dry diethyl ether (0.5 mL)로 녹인 다음, 여기에 methyl acetate 20 μL, 1 M sodium methoxide-methanol 溶液 20 μL와 0.01% BHT-hexane 1 mL를 加하여 잘 混和시켜 常溫에서 5分間 反應시킨 다음, acetic acid 2 μL를 加하여 反應을 中止시켰다. 窒素氣流下에서 餘分의 溶媒를 除去하여 殘餘 乾固物에서 5 mL의 hexane으로 methyl ester를 回收하고, Florisil™ column上에서 hexane-acetone (99 : 1, v/v)로 精製하였다. 殘存溶媒를 完全히 除去한 後 試料를 少量의 hexane에 녹여 GLC 分析用 試料로 使用하였다.

2.5 GLC의 脂肪酸 分析條件[31]

使用할 GLC의 器種은 Hewlett Packard 5890 Series II Gas Chromatograph이며, 이때 使用한 column은 Carbowax 20M을 coating한 fused silica column (25 m × 0.22 mm, film thickness, 0.2 μm, Hewlett-Packard)이었고, detector는 FID이었다. Column 溫度는 165℃에서 3分間 維持한 後 220℃까지 4℃/min으로 昇溫하고 220℃에서 10分間 더 維持하도록 하였으며, detector와 injection port의 溫度는 各各 250℃로 하였다. 1回 試料 注入量은 1 μL (試料 5.8 mg/ 25 mL hexane)이고 carrier gas으로 H₂를 使用하였으며 이때 split ratio는 1 : 50으로 하였다.

3. 結果 및 考察

各試料의 總脂質을 미리 平衡化시켜둔 1회用 solid-phase extraction 칼럼인 Isolute™ silica에 loading한 다음 hexane-acetone (99 : 1, v/v)으로 TG를 純粹히 分離하였다. Fig. 1은 各試料에서 分離한 總TG 脂肪酸의 GC chromatogram이다. 一般적으로 CTA가 酸에 弱하여 이 脂肪酸을 酸性인 BF₃-methanol로 methyl化하면 쉽게 破壞된다는 事實은 이미 알려져 있으나[33], 本實驗에 使用한 알칼리性인 sodium methoxide-methanol法은 CTA 脂肪酸을 破壞하지 않아 CTA脂肪酸을 含有한 試料의 transmethylation에 使用할 수 있다는 것을 처음으로 確認할 수 있었다.

一般 油脂에서 잘 發見되지 않는 punicic acid (C_{18:3 9c,11t,13c})가 하늘수박 種子油에서 主成分으로 存在하고 있었고 (Fig. 1-A), 여주와 油桐의 種子油에서는 α -eleostearic acid (C_{18:3 9c,11t,13t})가 多量으로 存在하고 있음을 알 수 있었다 (Fig. 1-B and -C). 즉, Table 1에서 보는 바와 같이 하늘수박 TG의 主要한 脂肪酸은 linoleic acid (32.2 mol%), punicic acid (38.0 mol%)와 oleic acid (11.8 mol%)이었으며, 飽和脂肪酸으로는 palmitic acid (4.8 mol%)와 stearic acid (3.1 mol%)가 少量 存在하였다. 여주의 境遇에는 α -eleostearic acid가 主된 脂肪酸으로 57.7 mol%나 存在하고 있었고, 다음으로 oleic acid (17.4 mol%), stearic acid (12.3 mol%)와 linoleic acid (10.6 mol%)와 같은 脂肪酸도 相當量 存在하고 있었다. 油桐種子油의 TG에는 α -eleoste-aric acid가 壓倒的으로 많아 全体의 81.2 mol%나 차지하고 있었으며, linoleic acid와 oleic acid는 各各 8.5 mol%와 5.4 mol%으로 少量에 지나지 않았으며, Chang 등이 發表한 結果와도 一致하였다[34]. 또 이러한 特殊脂肪酸은 各 脂質의 TG分劃에만 存在하고 磷脂質 및 糖脂質과 같은 極性脂質을 비롯한 其他의 分劃에는 存在하지 않았다 (data 省略). Hopkins에 의하면 植物은 그 組織에 必要한 脂肪酸을 그 組織에서 *de novo*로 合成한다고 하였다[35].

다음으로 各 種子油에서 分離한 TG를 reversed-phase (RP)-HPLC와 silver ion-HPLC로 各各의 TG分子種으로 相互分離하여 보았다. 즉, 하늘수박 種子油의 TG는 Fig. 2-A에서 보는 바와 같이 octadecylsilyl이 充填

된 reversed-phase HPLC에서 PN (partition number, PN = acyl基의 總炭素數 - 2× acyl基의 二重結合數)에 따라 크게 14個 分劃 모두 20個의 다음과 같은 小分劃으로 分離되었다. 즉, T_{c3}, DT_{c2}, DT_{ci2}, D₂T_c, D₂T_{ci}, MT_{c2}, MT_{ci2}, D₃, MDT_c, MDT_{ci}, PDT_c (P; palmitic acid), PDT_{ci}, MD₂, MDT_c, M₂T_c, S_tDT_c (S_t; stearic acid), S_tDT_{ci}, M₂D, S_tD₂와 S_tMT_{ci}의 分劃으로 나누어졌다. 各 分劃을 ELS 檢出器와 칼럼사이에 設置한 stream-splitter를 통하여 8/10의 比率로 分取하고, 各 分劃에 抗酸化劑 0.1% BHT-hexane 溶液 1 mL와 內部標準物質 nonadecanoic acid methyl ester (C_{19:0} methyl ester, 5.8 mg/1mL hexane) 1 μ L를 加하여 窒素氣流下에서 殘存溶媒를 除去하였다. 各 分劃의 TG를 transmethylation하여 이때 生成된 FAME을 hexane으로 回收하여 GLC로 各 分劃에 存在하는 TG의 脂肪酸組成을 分析定量하였는데 (Table 2), 이 實驗에서 얻어진 하나의 特徵은 punicic acid와 α -eleostearic acid와 같은 conjugate trienoic acid를 含有한 TG分子種의 分離는 大體的으로 PN에 따라 이루어 졌으나, 例로서 하늘수박의 TG 分子種중에서 PN 40인 分子種 D₂T_c [40 = (3×18) - (2×7)]와 MT_{c2} [40 = (3×18) - (2×7)]는 Plattner 法則(5)에 따르면다고 한다면 同一한 peak로 溶離되어야 하나, Fig. 2-A에 보는 바와 같이 前者가 後者보다 훨씬 빨리 溶離됨을 볼 수 있었다. 이런 例는 PN 42인 D₃ [42 = (3×18) - (2×6)], MDT_c [42 = (3×18) - (2×6)]와 PDT_c [42 = (16+18+18) - (2×5)]의 境遇에서도 觀察할 수 있었다. El-Hamdy와 Perkins[39]는 TG 分子種의 分離 profile을 보다 具體的으로 同定하기 위하여 理論炭素數 (theoretical carbon number, TCN)이라는 概念을 導入하였다. 즉, TCN = PN - $\sum U_i$ 으로 表示된다. 여기서 U_i는 實驗的으로 計算된 各 脂肪酸의 固有因子이다 (飽和脂肪酸; 0, elaidic acid; 0.2, oleic acid; 0.6~0.65, linoleic acid; 0.7~0.8). 例로서 分子種 (C_{18:2a6})₂(C_{18:1a9})와 (C_{18:2a6})₂(C_{16:0})는 모두 PN이 44이나, 前者의 TCN값이 41.8 [41.8 = 44 - (2×0.8 + 0.6)] 이고 後者の TCN값이 42.4 [42.4 = 44 - (2×0.8 + 0)] 이므로, 前者가 보다 빨리 溶離된다. 本 實驗에서 PN이 40인 TG分子種 D₂T_c와 MT_{c2}의 TCN을 [40 - (2×0.8 + α), α ; CTA脂肪酸 固有因子]와 [40 - (0.6 + 2 α)]로 表示한다면, 前者가 後者보

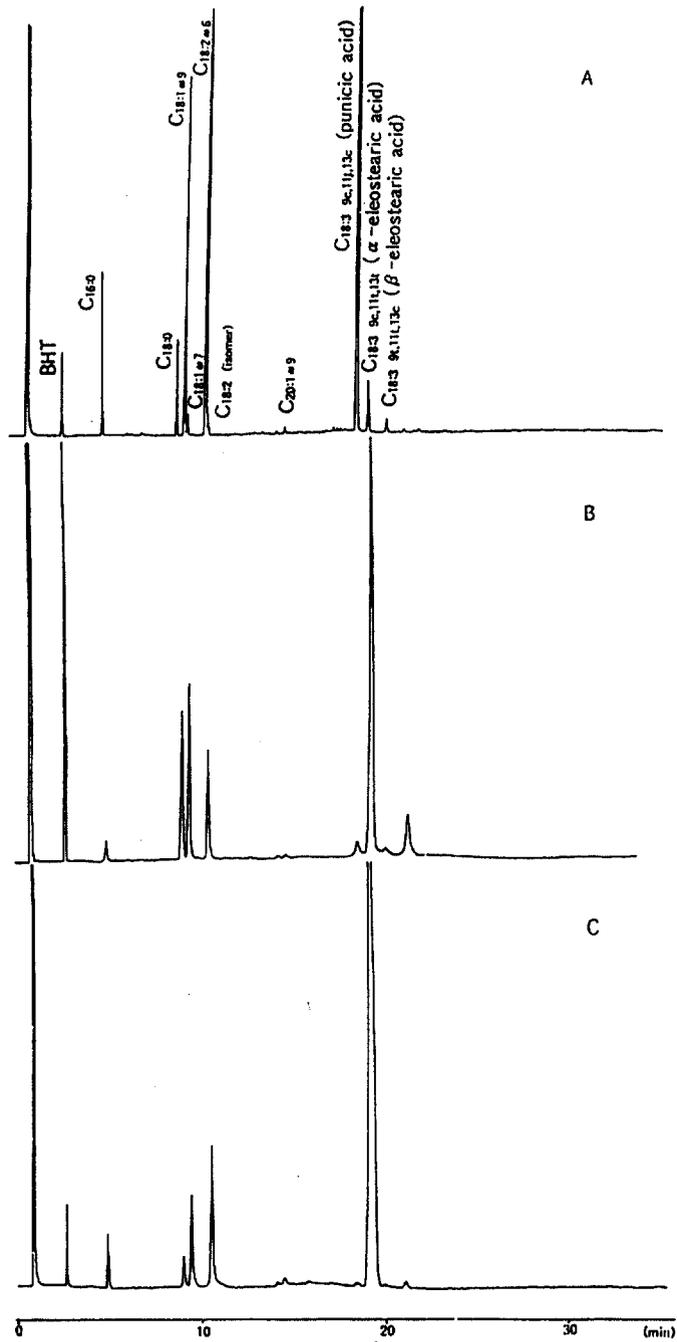


Fig. 1. GLC chromatograms of the fatty acid methyl esters of the triacylglycerols from the seed oils of *Trichosanthes kirilowii* (A), *Momordica charantia* (B) and *Aleurites fordii* (C).

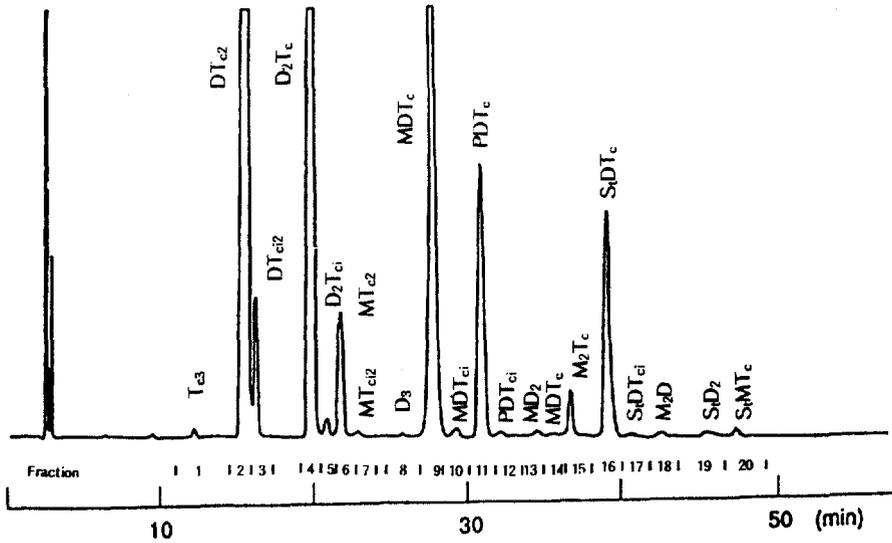


Fig. 2-A. Fractionation of the triacylglycerols from the seed oils of *Trichosanthes kirilowii* by reversed-phase high-performance liquid chromatography

M; monoenoic acid, P; palmitic acid, S; stearic acid, T; punicic acid, T_{ci}; α-eleostearic acid, D; dienoic acid.

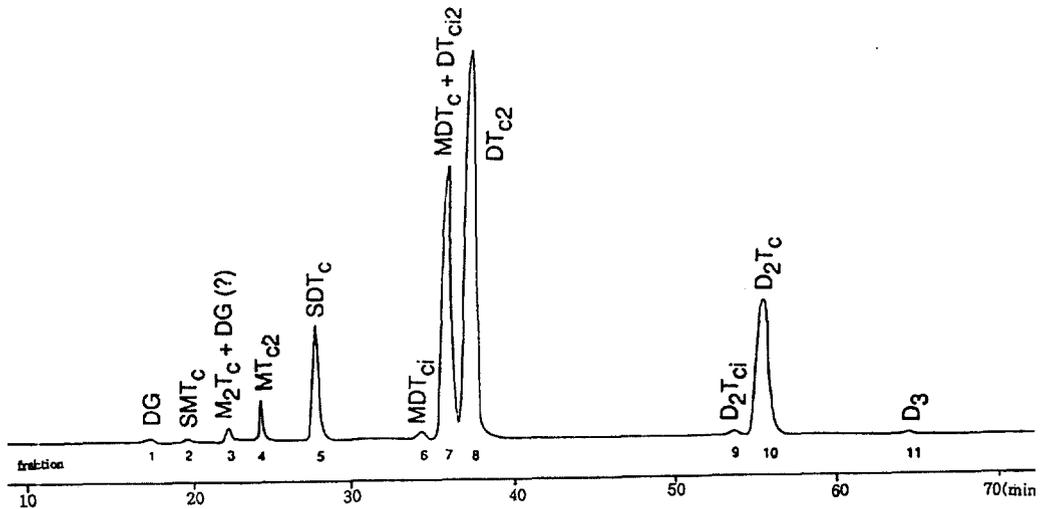


Fig. 2-B. Fractionation of the triacylglycerols from the seed oil of *Trichosanthes kirilowii* by silver-ion high-performance liquid chromatography; DG, diacylglycerol; M, monoenoic acid; S, stearic acid; T, trienoic acid; D, dienoic acid; subscript i, denotes configurational isomers of the main conjugated acid mentioned.

Table 2. Fatty Acid Compositions (mol % of the Total Fatty Acids) and Proportions of Triacylglycerol Fractions Obtained by Reversed-phase HPLC from the Seed Oil of *Trichosanthes kirilowii*-2

Fatty acid	Total	Check ^{a)}	Fraction									
			12	13	14	15	16	17	18	19	20	
			PDT _{ci} ^{c)}	MD ₂	MDT _c	M ₂ T _c	S _i DT _c	S _i DT _{ci}	M ₂ D	S _i D ₂	S _i MT _c	
C _{16:0}	4.8	4.1	31.6					10.4	16.9		24.6	8.9
C _{18:0}	3.1	2.6	4.8					25.3	20.5		16.3	28.1
C _{18:1ω9}	11.8	10.3		28.3	43.6	54.1				61.9		31.7
C _{18:1ω7}	0.7	0.6		1.6	7.2					1.4		
C _{18:2ω6}	38.2	37.1	26.8	66.6		10.3	31.9	32.6	36.7	59.2		
C _{18:2(iso)}	0.7	0.5	5.5			2.8						
C _{18:3c,t,c} ^{b)}	38.0	39.8	19.8		26.5	26.2	32.3	25.0				31.3
C _{18:3c,t,t}	2.1	2.8	8.9		4.8	3.4		4.0				
C _{18:3,t,c}	0.4	2.0	2.7		4.8	3.2		1.1				
C _{20:1ω9}	0.2	0.2		3.6	13.2							
Mole % fraction			0.9	1.1	0.7	2.0	8.3	0.4	0.7	0.6	1.1	

a) reconstituted from the relative proportions in each of the fractions

b) C_{18:3c,t,c} ; C_{18:3 9c,11t,13c}, C_{18:3c,t,t} ; C_{18:3 9c,11t,13t}, C_{18:3,t,t,c} ; C_{18:3 9c,11t,13c}

c) M; monoenoic acid, P; palmitic acid, T_c; punicic acid, T_{ci}; α-eleostearic acid, D; dienoic acid; S_i; stearic acid

다 먼저 分離됨으로 다음과 같은 不等式 $[40 - (2 \times 0.8 + \alpha) < [40 - (0.6 + 2\alpha)]$ 이 成立됨을 알 수 있다 (但, 여기서 α는 TCN에 關與하는 CTA 脂肪酸의 固有因子임). 이 式에서 α < 1.0이라는 것을 알 수 있으나, 보다 正確한 값을 求하기는 本 實驗의 資料로서는 不可能하였다. Conjugate trienoic acid (T_c)는 3個의 conjugate double bond를 가졌으나 그 π-電子의 分布가 methylene-interrupted double bond (MiDB)의 그것에 比하여 더 delocalize化되어 있어 보다 hydrophilic함으로, 이 脂肪酸을 가진 TG 分子種은 3個의 MiDB基를 가진 分子種보다 빨리 溶解된다고 생각된다. Table 3은 RP-HPLC에서 얻은 하늘수박 種子油에서 分離한 TG의 各 分子種의 比率를 나타낸 것으로, (C_{18:2ω6})(C_{18:3 9c,11t,13c})₂의 分子種이 28.3 mol%, (C_{18:1ω9})(C_{18:2ω6})(C_{18:3 9c,11t,13c})의 分子種이 19.0 mol%, (C_{18:2ω6})₂(C_{18:3 9c,11t,13c})₂의 分子種이 16.1 mol%로 重要한 分子種이었으며, (C_{18:0})(C_{18:2ω6})(C_{18:3 9c,11t,13c})의 分子種과 (C_{18:1ω9})(C_{18:3 9c,11t,13c})₂ 分子種은 各

各 8.3 mol%와 5.2 mol%로 그 다음이었다.

Ag⁺-HPLC의 chromatogram을 살펴보면 SMT_c (S; saturated acid), M₂T_c, MT_{c2}, SDT_c, MDT_{ci}, MDT_c + DT_{ci2}, DT_{c2}, D₂T_{ci}, D₂T_c 및 D₃의 10個 分割이 二重結合數가 적은 分子種부터 分離되었다(Fig. 2-B와 Table 4). 여기서 特徵적인 것은 MDT_{ci} (T_{ci}; 2個의 trans-二重結合, 1個의 cis-二重結合)와 MDT_c (T_c; 1個의 trans-二重結合, 2個의 cis-二重結合)의 分子種에서 보는 바와 같이, 모두 6個의 二重結合을 가졌으나 trans-configuration의 二重結合을 많이 가진 分子種이 cis-configuration의 二重結合을 많이 가진 分子種보다 먼저 分離되었는데, 이는 trans-configuration의 二重結合이 cis-configuration의 그것보다 Ag⁺과의 結合력이 弱하기 때문이다[36]. 또 앞의 RP-HPLC의 境遇에서도 言及한 바와 같이 T_c (CTA, punicic acid)殘基의 二重結合은 그 π-電子가 MiDB殘基의 π-電子보다 delocalize되어 있어, D (dienoic acid)의 그것 보다 Ag⁺과 弱하게 結

Table 3. The Main Molecular Species of Triacylglycerols of the Seed Oil of *Trichosanthes kirilowii* as Resolved by Reversed-phase HPLC (mol %)

Fraction number	Species	Amount
1	(C _{18:3 9c,11t,13c}) ₃	0.6
2	(C _{18:2ω6})(C _{18:3 9c,11t,13c}) ₂	28.3
3	Configurational isomers of Fraction 2 + Fraction 2	4.1
4	(C _{18:2ω6}) ₂ (C _{18:3 9c,11t,13c})	16.1
5	Configurational isomers of Fraction 4 + Fraction 4	1.1
6	(C _{18:1ω9})(C _{18:3 9c,11t,13c}) ₂	5.2
7	Configurational isomers of Fraction 6 + Fraction 6	0.2
8	(C _{18:2ω6}) ₃	0.8
9	(C _{18:1ω9})(C _{18:2ω6})(C _{18:3 9c,11t,13c})	19.0
10	Configurational isomers of Fraction 9 + Fraction 9	0.8
11	(C _{16:0})(C _{18:2ω6})(C _{18:3 9c,11t,13c})	7.9
12	Configurational isomers of Fraction 11 + Fraction 11	0.9
13	(C _{18:1ω9})(C _{18:2ω6}) ₂	1.1
14	(C _{20:1ω9})(C _{18:2ω6})(C _{18:3 9c,11t,13c})	0.7
15	(C _{18:1ω9}) ₂ (C _{18:3 9c,11t,13c})	2.0
16	(C _{18:0})(C _{18:2ω6})(C _{18:3 9c,11t,13c}) + others	8.3
17	Configurational isomers of Fraction 16	0.4
18	(C _{18:1ω9}) ₂ (C _{18:2ω6})	0.7
19	(C _{16:0})(C _{18:2ω6}) ₂	0.6
20	(C _{18:0})(C _{18:1ω9})(C _{18:3 9c,11t,13c})	1.1

Table 4. Fatty Acid Compositions (mol % of the Total Fatty Acids) and Proportions of Triacylglycerol Fractions Obtained by Ag⁺-HPLC from the Seed Oil of *Trichosanthes kirilowii*

Fatty acid	Total	Check ^{a)}	Fraction											
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
			DG ^{c)}	SMT _c ^{d)}	M ₂ T _c + DG	MT _{c2}	SDT _c	MDT _{ci}	MDT _c + DT _{ci2}	DT ₂	D ₂ T _{ci}	D ₂ T _c	D ₃	
C _{16:0}	4.8	3.4			31.0			18.7						
C _{18:0}	3.1	2.4					14.6							
C _{18:1ω9}	11.8	10.9			39.9	63.2	39.4	1.9	34.6	23.2				
C _{18:1ω7}	0.7	0.6				1.8			2.1	2.1				
C _{18:2ω6}	38.2	37.1						33.0	35.0	34.7	34.7	64.2	66.6	
C _{18:2(iso)} ^{b)}	0.7	0.5						1.0	1.0		1.4	5.2	1.0	
C _{18:3c,t,c}	38.0	39.8			29.2	22.7	46.8	29.4	9.8	29.3	59.5	16.1	29.1	
C _{18:3c,t,t}	2.1	2.8				7.9	8.8	0.9	12.4	6.4	2.2	13.2	1.5	
C _{18:3t,t,c}	0.4	2.0				4.5	5.0	0.5	5.0	3.5	2.2	1.3	1.7	
C _{20:1ω9}	0.2	0.2								0.9				
Mole % fraction					1.2	3.8	5.3	16.3	1.9	21.2	28.4	0.1	21.0	0.8

a) reconstituted from the relative proportions in each of the fractions

b) C_{18:3c,t,c}; C_{18:3 9c,11t,13c}, C_{18:3c,t,t}; C_{18:3 9c,11t,13t}, C_{18:3c,t,c}; C_{18:3 9c,11t,13c}

c) diacylglycerol

d) M; monoenoic acid, P; palmitic acid, T_c; punicic acid, T_{ci}; α-eleostearic acid, D; dienoic acid

합하므로, 分子種 DT_{c2}는 二重結合數가 8個임에도不拘하고 二重結合數가 7個인 D₂T_{ci}의 分子種보다 Ag⁺-칼럼으로부터 먼저 溶出되었다. 이런 現象을 Ag⁺-칼럼에서 acetylinic (octadec-9-ynoic) acid가 oleate보다 먼저 溶離되고 cis, trans- 또는 trans, trans- configuration을 가진 dienoic acid가 cis-monoene과 함께 分離된다는 事實에서도 볼 수 있다[37].

한편 여주의 RP-HPLC chromatogram(Fig. 3-A)을 보면 T_{ci3} (T_{ci}: α-eleostearic acid), DT_{ci2}, D₂T_{ci}, MT_{c2}, MT_{ci2}, PT_{ci2}, PMT_{ci}, MDT_{ci}, PDT_{ci}, S_tT_{c2} (S_t: stearic acid), S_tT_{ci2}, M₂T_c와 SDT_{ci}의 總 13分劃을 PN에 따라 얻을 수 있었다. 그 重要な 分子種은 (C_{18:1ω9})(C_{18:3 9c,11t,13t})₂와 (C_{18:0})(C_{18:3 9c,11t,13t})₂으로 各各 39.1 mol%와 33.9 mol%로 全體 TG分子種의 73 mol%를 차지하고 있었으나, (C_{18:2ω6})(C_{18:3 9c,11t,13t})₂, (C_{18:1ω9})₂(C_{18:3 9c,11t,13t})와 (C_{18:1ω9})(C_{18:2ω6})(C_{18:3 9c,11t,13t})의 分子種은 各各 7.3 mol%, 3.6 mol%와 3.5 mol%로 少量에 지나지 않았다 (Table 5 및 6). 單純分子種 (simple TG)으로는 (C_{18:3 9c,11t,13t})₃이 1.4 mol% 程度 存在하고 있었으나 그 外的 것은 檢出되지 않았다. Fig. 3-B에서 보는 바와 같이 여주種子油의 TG는 Ag⁺-HPLC상에서 二重結合數에 따라 11개의 分劃으로 分離되었으며, 그 重要的 것을 보면 RP-HPLC에서 얻은 結果와 매우 비슷하여 分子種 (C_{18:1ω9})(C_{18:3 9c,11t,13t})₂이 39.4 mol%, 分子種 (C_{18:0})(C_{18:3 9c,11t,13t})₂이 35.4 mol%로 全體의 約 75 mol%를 차지하고 있었다. 여기에서도 二重結合數가 8個인 DT_{ci2}의 分子種 分劃이 7個인 D₂T_{ci} 分劃보다 먼저 溶出되는 것은 하늘수박에서 經驗한 바와 같다(Table 7).

油桐種子油 TG를 RP-HPLC로 分析한 結果를 보면 Fig. 4에서 보는 바와 같이 T_{ci3}, DT_{ci2}, D₂T_{ci}, MT_{c2}, PT_{ci2} (P; palmitic acid), PMT_{ci}, PDT_{ci}와 S_tT_{ci2} (S_t: stearic acid)의 8個 分劃을 얻을 수 있었다(Table 8 및 9). 本科植物인 하늘수박 또는 여주의 種子油의 TG와는 判異하게 單純分子種인 T_{ci3}가 54.2 mol%로 總 TG分子種의 折半以上 存在하고 있다는 事實은 매우 特徴的이다. Ag⁺-HPLC에서도 T_{ci3}가 가장 많은 分子種임을 알 수 있었으며 DT_{ci2}와 MT_{ci2}의 分子種도 少量 存在하고 있었다 (data省略). 單純 分子種 T_{ci3}가 多量으로 存在하고 있다는 事實은 다음과 같은 点에서 興味롭다. 즉, 매우 쉽게 酸

化되며 構造적으로 2個곳에서 屈折되고 1個곳에서 뒤틀린 分子구조를 가진 T_{ci} (α-eleostearic acid)가 어떤 mechanism으로 合成되어 細胞의 organelle 膜을 通過되어 simple TG로 合成되며, 또 이 TG分子種이 어떻게 安定化되어 種子속에 貯藏되어 있는가 하는 点이다. 이런 点的 端緒를 찾기 위하여 ¹⁴C-linoleic acid와 ¹⁴C-palmitic acid를 使用하여 몇가지 實驗을 遂行중에 있다.

4. 結論

하늘타리, 여주와 油桐種子油의 TG에 存在하는 conjugate trienoic acid (CTA) 殘基는 알칼리性 觸媒인 sodium methoxide-methanol에 대하여 安全하였으며 一般 脂肪酸과 같이 쉽게 transmethylation 되었다. 하늘수박 種子油 TG의 主要한 脂肪酸의 組成은 C_{18:2ω6} (32.2 mol%) > C_{18:3 9c,11t,13c} (38.0 mol%) > C_{18:1ω9} (11.8 mol%)이었으며, C_{16:0} (4.8 mol%)와 C_{18:0} (3.1 mol%)는 少量에 지나지 않았다. RP-HPLC에서 TG分子種이 大略적으로 PN값에 따라 分離되었으나 分子種 DT_{c2}와 MT_{c2} (D; dienoic acid, T_c; punnic acid, M; monoenoic acid)는 모두 PN값 40을 가졌으나 前者가 後者보다 훨씬 빨리 溶離되어 特異한 elution pattern을 보였으며, 그 重要的 分子種은 DT_{c2}, MDT_c와 D₂T_c으로 總 TG分子種의 約 63 mol%를 차지하고 있었다. Ag⁺-HPLC에서는 二重結合數 (d.b)에 따라 11個의 分子種이 檢出되었는데 역시 DT_{c2}와 MT_{c2}가 主된 分子種이었고, d.b가 8인 分子種 DT_{c2}이 D₂T_{ci} (d.b=7)보다 먼저 溶出되었다. 여주種子油 TG의 脂肪酸組成은 C_{18:3ω9c,11t,13t} (57.7 mol%) > C_{18:1ω9} (17.4 mol%) > C_{18:0} (12.3 mol%) > C_{18:2ω6} (10.6 mol%)의 順이었다. RP-HPLC에서 分子種 T_{ci3} (T_{ci}: α-eleostearic acid), DT_{ci2}, D₂T_{ci}, MT_{c2}, MT_{ci2}, PT_{ci2} (P; palmitic acid), PMT_{ci}, MDT_{ci}, PDT_{ci}, S_tT_{c2} (S_t: stearic acid), S_tT_{ci2}, M₂T_c와 SDT_{ci}의 總 13分劃을 PN에 따라 얻을 수 있었다. 그 主要 分子種은 MT_{ci2} [(C_{18:1ω9})(C_{18:3 9c,11t,13t})₂]와 S_tT_{ci2} [(C_{18:0})(C_{18:3 9c,11t,13t})₂]로 各各 39.1 mol%와 33.9 mol%로 全體 TG分子種의 73 mol%를 차지하고 있었으나, DT_{ci2} [(C_{18:2ω6})(C_{18:3 9c,11t,13t})₂],

Table 5. The Main Molecular Species of Triacylglycerols of the Seed Oil of *Momordica charantia* as Resolved by Reversed-phase HPLC (mol %)

Fatty acid	Total	Check ^a	Fraction													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
			T _{CB} ^c	DT _{C2}	D ₂ T _{C1}	MT _{C2} ⁺	MT _{C2}	PT _{C1} ⁺	PMT _{C1}	MDT _{C1}	PDT _{C1}	S _t T _{C2} ⁺	S _t T _{C2}	M ₂ T _{C1} ⁺	S _t DT _{C1}	
C ₁₆₀	1.8	1.7						21.3	29.4		32.7					
C ₁₈₀	12.3	12.7										30.1	35.2	2.2	33.4	
C _{181ω9}	17.4	17.7				37.4	33.5	9.7	33.4	31.2					62.1	
C _{181ω7}	0.2	0.4				1.2	1.0	0.3	0.2	0.1					0.5	
C _{182ω6}	10.6	6.6		38.7	68.6					37.2	40.7					33.8
C _{183,t,c} ^b	0.4	0.2				51.4						48.7				
C _{183,t,t}	57.1	60.6	100	61.3	31.4	10.0	65.5	68.7	37.0	31.5	26.6	21.2	64.8	35.1	32.8	
C _{183,t,t}	tr															
Mole % fraction			1.4	7.3	2.4	0.2	39.1	3.2	2.7	3.5	0.6	0.3	33.9	3.6	1.8	

a) Reconstituted from the relative proportions in each of the fractions.

b) C_{183c,t,c} ; C_{183 9c,11t,13c}, C_{183c,t,t} ; C_{183 9c,11t,13t}, C_{183t,t,c} ; C_{183 9t,11t,13c},

c) P ; palmitic acid, S_t ; stearic acid, M ; monoenoic acid, D ; dienoic acid, T_C ; C_{183 9c,11t,13c}, T_{Ci} ; C_{183 9c,11t,13t}.

Table 6. The Molecular Species of Triacylglycerols of the Seed Oil of *Momordica charantia* as Resolved by Reversed-phase HPLC (mol %)

Fraction Number	Species	Amount
1	(C _{183 9c,11t,13t}) ₃	1.4
2	(C _{182ω6})(C _{183 9c,11t,13t}) ₂	7.3
3	(C _{182ω6}) ₂ (C _{183 9c,11t,13t})	2.4
4	Configurational isomers of Fraction 5	0.2
5	(C _{181ω9})(C _{183 9c,11t,13t}) ₂	39.1
6	(C ₁₆₀)(C _{183 9c,11t,13t}) ₂	3.2
7	(C ₁₆₀)(C _{181ω9})(C _{183 9c,11t,13t})	2.7
8	(C _{181ω9})(C _{182ω6})(C _{183 9c,11t,13t})	3.5
9	(C ₁₆₀)(C _{182ω6})(C _{183 9c,11t,13t})	0.6
10	Configurational isomers of Fraction 11	0.3
11	(C ₁₈₀)(C _{183 9c,11t,13t}) ₂	33.9
12	(C _{181ω9}) ₂ (C _{183 9c,11t,13t})	3.6
13	(C ₁₈₀)(C _{182ω6})(C _{183 9c,11t,13t})	1.8

Table 7. Fatty Acid Compositions (mol% of the Total Fatty Acids) and Proportions of Triacylglycerol Fractions Obtained by Ag⁺-HPLC from the Seed Oil of *Momordica charantia* (mol %)

Fatty acid	Total	Check ^{a)}	Fraction										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
			PMT _{ci} ^{o)}	S _i T _{ci2} + PT _{ci2}	S _i T _{ci2}	M ₂ T _{ci}	MT _{ci2}	MT _{ci2}	S _i DT _{ci} + PDT _{ci}	MDT _{ci}	DT _{ci2}	D ₂ T _{ci}	T _{ci3}
C _{16:0}	1.8	2.4	32.7	3.2					9.9				
C _{18:0}	12.3	12.1		31.9	34.2				22.5				
C _{18:1ω9}	17.4	17.9	35.2			65.8	34.0	35.8		32.0			
C _{18:1ω7}	0.2	0.2	0.2			0.7	0.4	0.3		0.6			
C _{18:2ω6}	10.6	7.2							35.1	36.9	35.7	68.4	
C _{18:3_{t,c}} ^{b)}	0.4	0.4			60.5								
C _{18:3_{t,t}}	57.1	59.2	31.8	64.3	5.3	33.5	64.6	60.4	32.5	30.4	64.2	31.6	100.0
C _{18:3_{t,t}}	tr	0.6		0.5			1.0	3.5					
Mole % fraction			3.0	35.4	0.5	3.1	39.4	0.1	2.8	4.1	7.5	3.0	1.0

a) Reconstituted from the relative proportions in each of the fractions.

b) C_{18:3_{t,c}}; C_{18:3_{9c,11t,13c}}; C_{18:3_{t,t}}; C_{18:3_{9c,11t,13t}}; C_{18:3_{t,t,c}}; C_{18:3_{9c,11t,13c}}.

c) P; palmitic acid, S_i; stearic acid, M; monoenoic acid, D; dienoic acid, T_{ci}; C_{18:3_{9c,11t,13t}}; T_c; C_{18:3_{9c,11t,13c}}

Table 8. Fatty Acid Composition (mol %) and Proportions of Triacylglycerol Fractions Obtained from the Seed oil of *Aleurites fordii*, by RP-HPLC

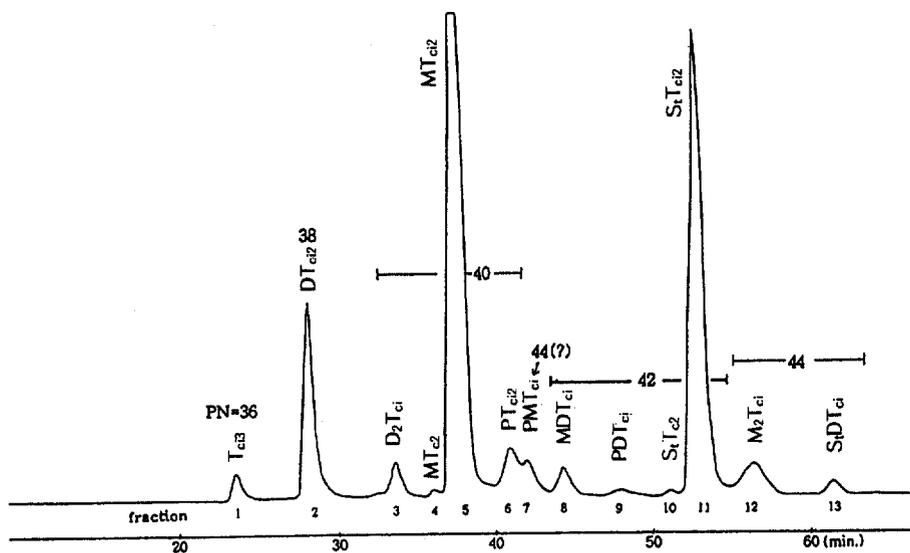
Fatty acid	total	check ^{a)}	fraction							
			1	2	3	4	5	6	7	8
			T _{ci3} ^{b)}	DT _{ci2}	D ₂ T _{ci2}	MT _{ci2}	PT _{ci2}	PMT _{ci}	PDT _{ci}	S _i T _{ci2}
C _{16:0}	2.4	2.4		0.2				32.8	34.3	33.2
C _{18:0}	1.7	1.4								35.2
C _{18:1ω9}	5.4	5.2		1.2		33.2	0.2	36.0	34.4	
C _{18:2ω6}	8.5	8.5	0.1	35.2	68.0		0.4			
C _{18:3_{9c,11t,13c}}	0.3	0.2	0.3	0.2	0.1		0.1			
C _{18:3_{9c,11t,13t}}	81.2	79.0	99.5	63.1	31.8	65.0	66.4	29.5	32.3	64.6
C _{20:1ω9}	0.5	0.3				1.8		0.2		
mol%			54.2	15.0	4.7	14.8	6.4	0.9	-	4.0

a) reconstituted from the relative proportions in each of the fractions

b) M; monoenoic acid, S_i; stearic acid, P; palmitic acid, D; dienoic acid, T_c; C_{18:3_{9c,11t,13c}} (punicic acid), T_{ci}; C_{18:3_{9c,11t,13t}} (α -eleostearic acid)

Table 9. The Main Molecular Species of Triacylglycerols of the Seed Oil of *Aleurites fordii* as Resolved by Reversed-phase HPLC (mol %)

Fraction number	Species	Amount
1	(C _{18:3 9c,11t,13t}) ₃	54.2
2	(C _{18:2ω6})(C _{18:3 9c,11t,13t}) ₂	15.0
3	(C _{18:2ω6}) ₂ (C _{18:3 9c,11t,13t})	4.7
4	(C _{18:1ω9})(C _{18:3 9c,11t,13t}) ₂	14.8
5	(C _{16:0})(C _{18:3 9c,11t,13t}) ₂	6.4
6	(C _{16:0})(C _{18:1ω9})(C _{18:3 9c,11t,13t})	0.9
7	(C _{16:0})(C _{18:2ω6})(C _{18:3 9c,11t,13t})	trace
8	(C _{18:0})(C _{18:3 9c,11t,13t}) ₂	4.0

Fig. 3-A. Fractionation of the triacylglycerols from the seed oils of *Momordica charantia* by reversed-phase high-performance liquid chromatography

M; monoenoic acid, S; stearic acid, T_c; punic acid, T_{ci}; α-eleostearic acid, D; dienoic acid.

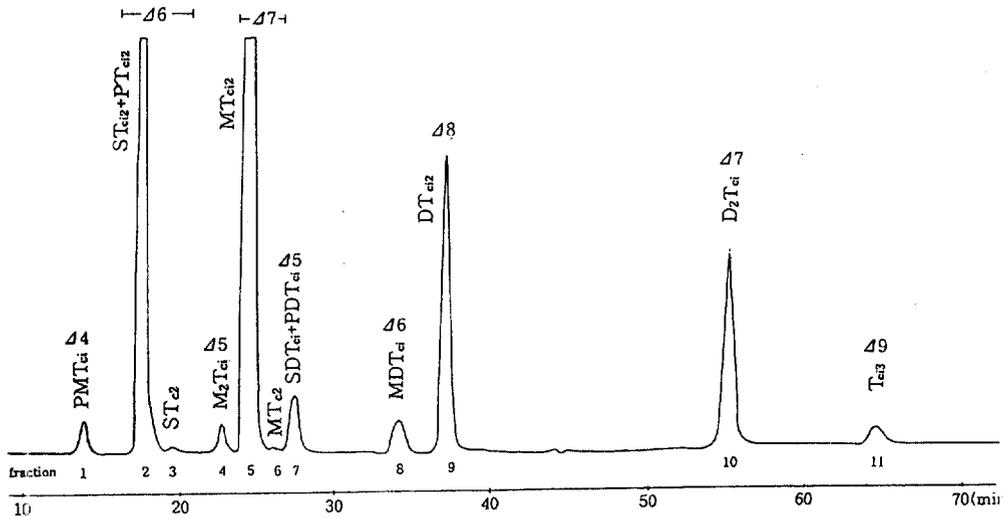


Fig. 3-B. Fractionation of the triacylglycerols from the seed oil of *Mormordica charantia* by silver-ion high-performance liquid chromatography; M, monoenoic acid; S, stearic acid; T, trienoic acid; D, dienoic acid; subscript i, denotes configurational isomers of the main conjugated acid mentioned.

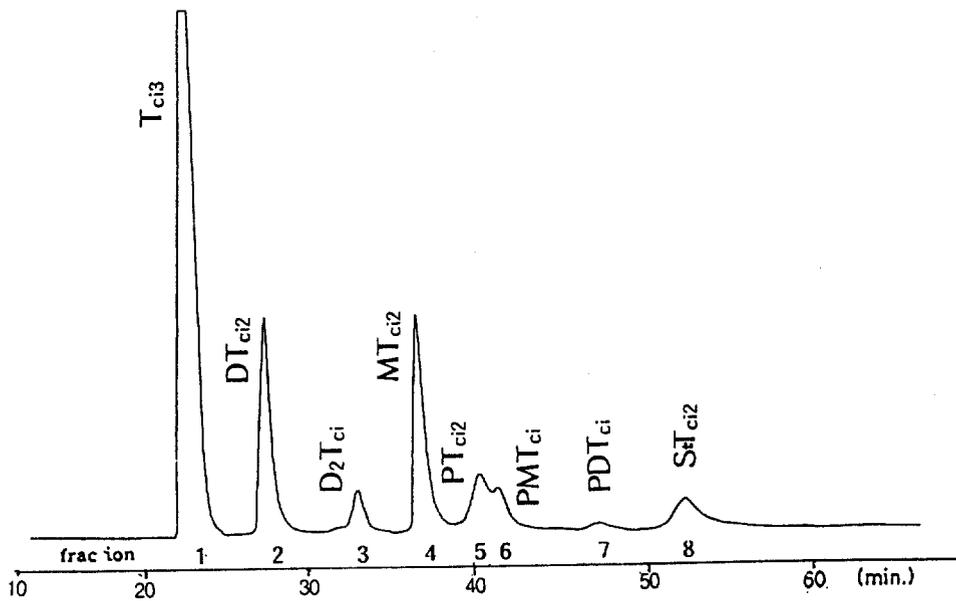


Fig. 4. Fractionation of the triacylglycerols from the seed oils of *Aleurites fordii* by reversed-phase high-performance liquid chromatography
 M; monoenoic acid, S_i; stearic acid, P; palmitic acid, D; dienoic acid, T_i; puniceic acid (C_{18:3} 9c,11t,13c), T_{ci}; α-eleostearic acid(C_{18:3} 9c,11t,13t)

D_2T_{ci} [(C_{18:1ω9})₂(C_{18:3 9c,11t,13t})]와 MDT_c [(C_{18:1ω9})(C_{18:2ω6})(C_{18:3 9c,11t,13t})]의 分子種은 各各 7.3 mol%, 3.6 mol%와 3.5 mol%로 少量에 지나지 않았다. 單純分子種 (simple TG)으로는 T_{ci3} [(C_{18:3 9c,11t,13t})₃] 만 1.4 mol% 程度 存在하고 있었다. Ag^+ -HPLC에서 여주 種子油의 TG는 d.b에 따라 11個의 分割으로 分離되었으며, 그 重要한 分子種으로 MT_{ci2} [(C_{18:1ω9})(C_{18:3 9c,11t,13t})₂]가 39.4 mol%, 分子種 $S_T T_{ci2}$ [(C_{18:c})(C_{18:3 9c,11t,13t})₂]가 35.4 mol%로 全体의 約 75 mol%를 차지하고 있었다. 分子種 DT_{ci2} (d.b=8)이 D_2T_{ci} (d.b=7)보다 먼저 溶出되었으며, 또 *cis*, *trans*, *trans*-型的 d.b를 가진 分子種 MT_{ci2} 가 *cis*, *trans*, *cis*-型的 MT_{c2} 보다 빨리 溶出됨을 볼 수 있었다. 油桐種子油 TG의 脂肪酸組成은 C_{18:3 9c,11t,13t} (81.2 mol%) > C_{18:2ω6} (8.5 mol%) > C_{18:1ω9} (5.4 mol%)의 順이었으며, RP-HPLC로 T_{ci3} , DT_{ci2} , D_2T_{ci} , MT_{ci2} , PT_{ci2} (P; palmitic acid), PMT_{ci} , PDT_{ci} 와 $S_T T_{ci2}$ (S_T; stearic acid)의 8個 分子種 分割을 얻을 수 있었으며, 그 主要分子種은 T_{ci3} [(C_{18:3 9c,11t,13t})₃, 54.2 mol%], DT_{ci2} [(C_{18:1ω9})(C_{18:3 9c,11t,13t})₂, 15.0 mol%]와 MT_{ci2} [(C_{18:1ω9})(C_{18:3 9c,11t,13t})₂, 14.8 mol%]이었다.

謝辭

“이 論文은 1999年度 韓國學術振興財團의 研究費에 의하여 研究되었음(KRF-99-G00110)”을 밝혀 두며, 著者들은 研究費受惠의 機會를 베풀어 주신 韓國學術振興財團 當局者 여러분에게 深心한 謝意를 表하는 바 입니다.

參考文獻

1. F. D. Gunstone, "Fatty Acid and Lipid Chemistry", pp. 1~16, Blackie Academic & Professional, London (1996).
2. C. Litchfield, "Aanalysis of Triglycerides", pp. 248~261, Academic Press, New York (1972).
3. H. Brockerhoff, *Arch. Biochem. Biophys.*, **110**, 586 (1965).
4. W. W. Christie, "Gas Chromatography and Lipids", pp. 68~69, Oily Press, Ayr (1989).
5. R. D. Plattner, G. F. Spencer, and R. Kleiman, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **57**, 511 (1980).
6. M. G. M. De Ruyter and A. P. De Leenbeer, *Clin. Chem.*, **24**, 1920 (1978).
7. P. V. Baht and A. Lacroix, *J. Chromatogr.*, **272**, 269 (1983).
8. H. E. May and S. I. Koo, *J. Liquid Chromatogr.*, **12**, 1261 (1989).
9. E. G. Perkins, D. J. Hendren, J. E. Bauer, and A. El-Hamdy, *Lipids*, **16**, 609 (1981).
10. J. T. Billheimer, S. Avart, and B. Milani, *J. Lipid Res.*, **24**, 1646 (1983).
11. G. R. Spencer, R. D. Plattner, and T. K. Miwa, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **54**, 187 (1977).
12. T. K. Miwa, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 407 (1984).
13. Y. -G. Joh, E. Y. Brechany, and W. W. Christie, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **72**, 707 (1995).
14. W. W. Christie, E. Y. Brechany, and K. Stefanov, *Chem. Phys. Lipids*, **46**, 127 (1988).
15. K. Stefanov, M. Konaklieva, E. Y. Brechany, and W. W. Christie, *Phytochem.*, **27**, 3495 (1988).
16. W. W. Christie, E. Y. Brechany, and V. K. S. Shukla, *Lipids*, **24**, 116 (1989).
17. W. W. Christie and G. H. M. Breckenridge, *J. Chromatogr.*, **469**, 261 (1989).
18. W. W. Christie, E. Y. Brechany, K. Stefanov, and S. Popov, *Lipids*, **27**, 640 (1992).
19. W. W. Christie, *J. Chromatogr.*, **454**, 273 (1988).
20. B. Nikolova-Damyanova, W. W. Christie, and B. Herslof, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **67**, 503 (1990).
21. W. W. Christie, *Fat Sci. Technol.*, **93**, 65 (1991).
22. F. Santinelli, P. Damiani, and W. W.

- Christie, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **69**, 552 (1992).
23. 李昌福, 藥用植物圖鑑, p. 7, 農村振興廳, 서울, (1971).
24. Y. -G. Joh, S. -J. Kim, and W. W. Christie, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **72**, 1037 (1995).
25. M. I. Gurr and A. T. James, *Lipid Biochemistry -an introduction-*, 3rd edition, pp. 102~104, Science Paperbacks, London (1980).
26. K. G. Raghuvier and E. G. Hammond, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **44**, 239 (1967).
27. R. Ellis, A. M. Gaddis, and G. T. Currie, *J. Food Sci.*, **26**, 131 (1961).
28. R. B. Mesrobian and A. V. Tobolsky, "Autoxidation and Antioxidants", Vol. 1, ed. by W. O. Lundberg, pp. 107~131 Interscience Publishers, New York, (1961).
29. F. D. Gunstone, "Fatty Acid and Lipid Chemistry", pp. 210~214, Blackie Academic & Professional, London (1996).
30. Y. -G. Joh, S. -J. Kim, and W. W. Christie, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **72**, 1037 (1995).
31. 禹孝京, 碩士學位請求論文, 東亞大學校 (1998).
32. E. G. Bligh and W. J. Dyer, *Canad. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911 (1959).
33. 趙鏞桂, 韓國油化學會, **12**, 119 (1995).
34. M. -K. Chang, E. J. Conkerton, D. C. Chapital, P. J. Wan, O. P. Vadhwa, and J. -M. Spier, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **73**, 263 (1996).
35. C. Y. Hopkins, "Topics in Lipid Chemistry" ed. by F. D. Gunstone, pp. 37~87, Paul Elek, London (1972).
36. Y. -G. Joh and S. -J. Kim, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **47**, 927 (1998).
37. B. Nikolova-Damyanova, "Advances in Lipid Methodolgy-One", ed. by W. W. Christie, pp. 181~237, Oily Press, Dundee (1989).
38. W. W. Christie, "High-Performance Liquid Chromatography and Lipids", pp. 172~210, Pergamon Press, Oxford (1987).
39. A. H. EL-Hamdy and E. G. Perkins, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 867 (1981).