

가스크로마토그래피—炎光光度檢出器를 이용한 脂肪酸의 迅速簡便한 定量

曹 榮 鉉·朴 萬 基·李 淑 淵*

서울大學校 藥學大學·淑明女子大學校 藥學大學*

(Received September 5, 1985)

A Rapid and Convenient Method for the Determination of Fatty Acid by Gas Chromatography—Flame Photometric Detector

Yung Hyun Cho, Man Ki Park and Sook Youn Lee*

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea and

*College of Pharmacy, Sook Myeong Women's University, Seoul 140, Korea

Abstract—A new method of determination of fatty acid using gas chromatography—flame photometric detector (GC-FPD) is described. Fatty acid was methylthiomethyl-esterified with methylthiomethyl chloride in 1,8-diazabicyclo [5, 4, 0]-undec-7-ene catalyst and its concentration measured by GC-FPD with 3%OV-1 or 3% FS-1 column. The FPD responses of thirteen fatty acid methylthiomethyl esters were examined and were proportional to the concentration of the esters without regard to their chemical structures. Consequently it was possible to determine various fatty acids using one standard calibration curve by GC-FPD. We could rapidly and conveniently determine 13 fatty acids in *Ginseng Radix alba* by this method.

1950년대 후반기이래 현재까지 生藥, human source, 微生物, 食品 또는 油脂중의 脂肪酸을 가스크로마토그래피(GC)로 分析할 때 그동안 보고된 연구논문들은 주로 불꽃 이온화 검출기(FID) 또는 質量分析器로 검출하여 왔다.¹⁻¹³⁾

GC-FID를 써서 檢體중의 脂肪酸을 同定 또는 定量할 때는 각각의 標準品이 필요하며 특히 不飽和脂肪酸의 경우에 純粹標準品の 入手가 어려울 뿐만 아니라 高價이므로 GC-FID에 의한 分析은 경비가 많이 소요된다. 또 이들을 定量코져 할 때 各個의 標準品에 의한 檢量線을 作成하여야 하므로 오랜 분석시간이 필요하다. 混在된 다른 揮發性 炭化水素계열의 成分에 의해 脂肪酸의 分析이 방해될 수도 있다. 위와 같은 難點으로 인하여 그동안 報告된 논문들은 檢체중의 지방산을 정량한 경우보다도 GC크로마토그램 상에 나타난 상대적인 peak面積이나 그 패턴으로 組成比와 變化過程을 연구한 것들이 많으며^{2,5,6,8,9,11)} 檢체중의 脂肪酸을 정량한 경우라도 특정한 脂肪酸만 대상으로 한 것이 많다.^{4,10,13)}

本 論文은 白蔘의 總脂質을 抽出하여 알칼리로 加水分解시켜 얻은 脂肪酸을 Ono등의 方法¹⁴⁾에 따라 methylthiomethyl chloride(MTM-Cl)와 1,8-diazabicyclo [5, 4, 0]-undec-7-ene(DBU)를 써서 MTM ester化시킨 후 GC-FPD에 의해 分析하였다.

既知濃度の 脂肪酸이 含有된 benzene溶液(15~250nmol/ml)을 MTM ester化시킨 후(實驗部참고) GC-FPD로 분석하여 標準液의 濃도에 대한 peak面積($\sqrt{H} \cdot W$, H ; peak 높이, W ; 半值幅)을 plot하여 最小自乘法¹⁵⁾으로 檢量線을 구하여 그 결과를 Table I에 수록하였다. 13종의 脂肪酸

Table I—Regression analysis data* for calibration curve of fatty acid obtained by GC-FPD.

Compound	Conc. Range(nmol/ml)	n	Slope	Intercept	r	SSE ₁ **
Tridecanoic Acid	17.68~ 88.40	4	2.008	0.550	0.9976	0.615
Myristic Acid	24.39~113.82	4	2.066	0.168	0.9991	0.352
Pentadecanoic Acid	19.45~155.60	4	2.033	0.370	0.9991	0.781
Palmitic Acid	17.58~158.22	5	2.102	-0.275	0.9979	2.339
Heptadecanoic Acid	20.84~166.72	4	2.116	-0.539	0.9998	0.197
Stearic Acid	21.41~128.46	6	2.148	-0.480	0.9975	2.039
Oleic Acid	28.80~172.80	6	2.024	0.533	0.9984	0.659
Linoleic Acid	25.36~152.17	6	2.045	0.235	0.9994	0.495
Linolenic Acid	22.21~133.25	6	2.090	0.070	0.9993	0.459
Arachidic Acid	38.63~193.13	5	2.123	-0.460	0.9989	1.512
Behenic Acid	19.80~158.39	4	2.104	-0.443	0.9997	0.187
Erucic Acid	49.20~246.01	6	2.079	-0.286	0.9990	0.375
Lignoceric Acid	53.41~213.64	4	2.043	0.350	0.9993	0.807

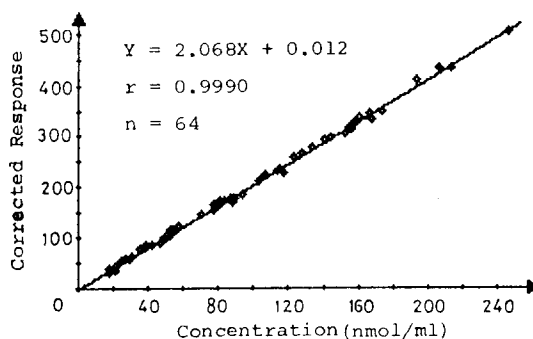
* Regression analysis data were calculated using the relationship between the concentration of fatty acid and the peak area ($\sqrt{H} \cdot W$). **Sum of residual squares on population.

標準液으로 얻은 data의 回歸分析結果로 나타난 檢量線들의 相關係數(r)는 0.9975~0.9998로서 data가 檢量線上에 거의가 近接되어 있었다. 이들 13개 檢量線이 다른지의 如否를 回歸模型比較 檢定法¹⁵⁾에 따라 F -test 하였을때 data에서 얻은 檢定統計量의 값(F_0)은 1.27로서 $F_0(13, 38; \alpha) < F(13, 38; 0.1) = 1.79$ 이므로 有意水準 $\alpha = 0.1$ 에서 13개의 모든 檢量線이 다르다고 볼 수 없다. 따라서 주어진 濃度범위에서 한 檢量線으로 다른 脂肪酸의 含量을 算出할 수 있다는 結論에 도달하게 된다. 13개 脂肪酸의 檢量線을 작성한 모든 data를 縮小模型으로 適合시키고 얻은 檢量線은 Fig. 1과 같으며 X 를 脂肪酸의 濃度(nmol/ml), Y 를 $\sqrt{H} \cdot W$ 값으로 구한 면적(任意的 單位)이라 할 때 그 關係式은 $Y = 2.068X + 0.012$ (d.f. = 62, $SSE_r = 15.875$)이었다. 이 檢量線의 상관계수(r)는 0.9990으로 모든 data가 역시 檢量線上에 近接되어 있으며 脂肪酸의 濃度範圍 17.58~246.01nmol/ml에서 濃度와 面積의 관계가 良好한 直線性을 이루고 있다.

Table II—Recovery test.

*Compound	**Recovery (%)
Myristic Acid	101.3±1.6
Heptadecanoic Acid	104.2±2.0
Arachidic Acid	98.8±0.3
Erucic Acid	103.5±3.8
Lignoceric Acid	99.6±2.7

* To 1g of *Ginseng Radix alba* was added about 2mg of fatty acid. ** Mean of five determinations ±SD. Determinations were not corrected.

**Fig. 1**—Standard calibration curve for 13 fatty acids by GC-FPD.

以上에서 얻은 結果를 이용하여 白蔘中 脂肪酸의 回收率과 含量을 測定하였다. 白蔘中 脂肪酸의 回收率은 거의 檢출되지 않거나 혹은 0.1mg/g미만으로 함유된 myristic acid, heptadecanoic acid, arachidic acid, erucic acid 및 lignoceric acid를 白蔘 1g당 약 2mg 비율로 가한후 “試料抽出法(實驗部 참조)”에 따라 脂肪酸을 抽出하고 GC-FPD로 測定하였다. 測定值를 補正하지 않고 算出한 各 脂肪酸의 回收率은 Table II에 기록하였으며 白蔘에서 脂肪酸은 거의 回收됨을 알 수 있다. 白蔘에서 抽出한 脂肪酸의 GC chromatogram은 Fig. 2와 같다. 脂肪酸 MTM ester 유도체중 oleic acid, linoleic acid 및 linolenic acid, behenic acid와 erucic acid는 3% FS-1 on Diatomite CQ에서 겹쳐 나왔으며, 脂肪酸 methyl ester 유도체는 3% OV-1 on Chromosorb W에서 linoleic acid와 linolenic acid만 겹쳤다(Table III). 檢體중에서 GC칼럼에 의해 脂肪酸을 분리시킬 때 일반적으로 炭素數가 적은 것부터 많은 것으로 일정한 시간간격을 두고 차례로 분리되므로 이 사실은 檢體중의 脂肪酸을 同定하는데 有力한 手段이 된다. 저자들은 脂肪酸 MTM ester標準液에 의한 維持時間(t_R , min)의 비교와 Co-injection에 의한 方法, 3% OV-1 칼럼으로 脂肪酸 methyl ester의 維持時間으로 확인하는 方法(Fig. 2)을 거쳐 GC-Mass 스펙트럼에 의해 최종적으로 白蔘중 各 脂肪酸을 同定하였다. 다양한 成分들이 함유된 生藥, 食品 또는 生體試料등에서 다른 補助手段이 없이 脂肪酸을 GC-FID로 分析할 때 Fig. 2에서 보는 바와 같이 다른 成分과 分離되지 않는 한 脂肪酸의 同定과 定量이 른 成分을 脂肪酸으로 誤認하는 경우가 있는데 t_R 6.08, t_R 8.89, t_R 20.84(이상 Fig. 2의 中間그림지 않고 다름), t_R 4.12, 그리고 t_R 15.31(이상 Fig. 2의 下端그림)의 peak들이 이를 잘 나타내고 있다. 위와 같은 경우에 本 方法은 硫黃이 含有된 다른 성분이나 脂肪酸만 檢출하게 되므로 GC-FPD방법에 비해 지방산의 同定과 定量을 비교적 信賴性있게 수행할 수 있다.

硫黃化合物의 濃度가 증가함에 따라 FPD의 感度가 지수함수적으로 증가하므로¹⁶⁾ FPD로 未知成分을 檢출할 때 얻을 수 있는 情報는 未知成分의 分子構造내에 硫黃의 原子數를 推定할 수 있다는 點이다. 이 情報를 이용하면 本 實驗에 있어서와 같이 白蔘중 脂肪酸을 抽出하는 과정에서 유향을 함유한 카르복실 산이나 polycarboxylic acid가 함께 抽出되는데, Fig. 2의 上端그림에서 t_R 2.70에 해당하는 peak는 濃度를 n 배로 하였을 때 FPD에 대한 response(peak面積 $\sqrt{H \cdot W}$)는

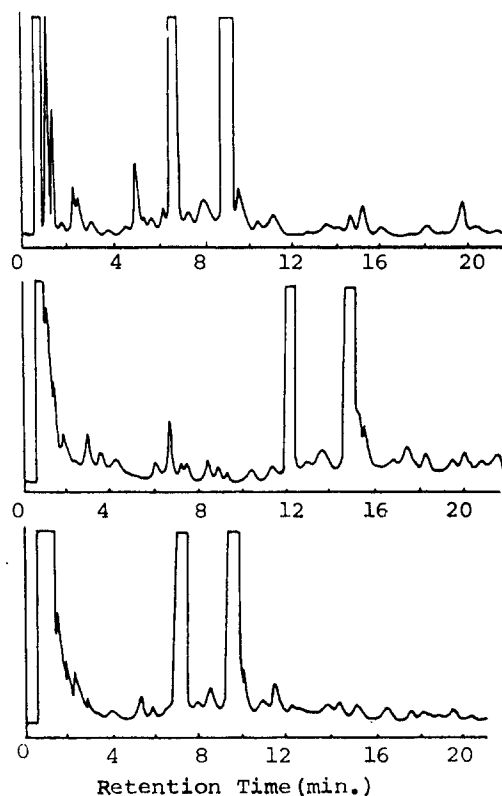


Fig. 2-Gas chromatograms of fatty acid MTM esters (upper and center) and methyl esters (lower) from *Ginseng Radix alba*. GC conditions: upper; 3% FS-1 on Diatomite CQ, FPD sensitivity 6.4×10^{-9} afs, center and lower; 3% OV-1 on Chromosorb W, FID sensitivity 3.2×10^{-9} afs.

Table III—Assay of fatty acids from *Ginseng Radix alba* harvested in Keumsan, Korea for 4 years

Upper	* t_R (min)		**Compound	***Content (mg/g)
	Center	Lower		
1.72	3.21	1.02	(11:1)	0.443
2.14	6.66	2.21	Unknown	+
2.49	7.37	2.94	Tridecanoic acid	0.048
3.69	8.89	4.12	Myristic acid	—
5.27	10.54	5.44	Pentadecanoic acid	0.020
6.19	11.70	6.61	(16:1)	0.051
6.60	12.17	6.94	Palmitic acid	1.459
7.48	13.21	8.02	(17:1)	0.037
8.05	13.71	8.49	Heptadecanoic acid	0.067
8.81	14.67	9.44	Linolenic and Linoleic acid	3.012
8.81	15.00	9.72	Oleic acid	0.385
9.13	15.21	10.14	Stearic acid	0.023
10.20	17.61	10.91	Unknown	+
10.77	18.07	11.41	(20:1)	0.152
12.63	18.20	13.24	Arachidic acid	—
13.38	20.04	14.07	Unknown	+
15.10	20.84	15.78	Erucic acid	—
15.10	21.37	16.21	Behenic acid	0.096
16.62	22.81	17.60	Unknown	+
18.12	23.98	19.18	Lignoceric acid	—

* Gas chromatographic conditions same as in upper, center and lower figure as shown in Fig. 2, respectively. **Identified by authentic samples except the compound in parenthesis, and assumed the structure of the compound in parenthesis by mass spectrum (refer to "EXPERIMENTAL") but unidentified the position of double bond. ***Average of four determinations contained in 1g dried sample weight.

약 1.88n배씩 증가하므로 이 peak는 유황을 함유한 카르복실 산이나 dicarboxylic acid에 의한 것임을 나타내고 있다.

白蔘중 脂肪酸의 含量은 内部標準物質로써 lignoceric acid 약 2.5mg/g을 가하고 分析하였으며 그 結果를 Table III에 기록하였다. 3% FS-1 칼럼으로 oleic acid, linoleic acid 및 linolenic acid, behenic acid와 erucic acid가 분리되지 아니하여 따로 定量하지 못했으나, 3% OV-1 칼럼에서는 分離되므로 3% FS-1 칼럼에서 분리되지 않는 脂肪酸의 전체 含量을 FID 크로마토그램에서 나타나는 peak面積比로 나뉘어 算出하였다. 脂肪酸은 GC크로마토그램상의 維持時間이나 質量스펙트럼상의 分子이온 peak등으로 그 구조를 同定할 수 있으나, 不飽和脂肪酸의 경우는 통상 質量스펙트럼으로 2중결합의 位置나 異性體의 종류를 확인할 수 없으므로 標準品이 없이 GC-Mass spectrum만으로 脂肪酸을 同定하여 定量한 경우는 脂肪酸의 炭素數를 m , 2중결합의 數를 n 이라 할때 $m:n$ 의 表現方式을 빌어 Table III에 수록하였다.

以上の 內容을 요약하면 본 方法에 의해 수개의 脂肪酸 標準品으로 作成한 檢量線으로 다른 脂肪酸을 定量할 수 있으므로 標準品이 갖춰진 試料는 물론 標準品이 없는 既知構造의 脂肪酸의 分

析이 가능하며 크로마토그램 상에 나타난 未知의 脂肪酸도 質量分析이나 다른 수단에 의해 그 구조를 확인한 후 비록 標準品이 없더라도 本方法에 의해 그 含量을 分析할 수 있을 것이다.

實 驗 部

試藥 및 材料—Tridecanoic acid, myristic acid, pentadecanoic acid, palmitic acid, heptadecanoic acid, arachidic acid, behenic acid, erucic acid, lignoceric acid(이상 Sigma製), stearic acid, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid(이상 東京化成製), 짝수飽和 및 不飽和 脂肪酸 methyl ester kit ($C_{12}\sim C_{24}$, 日本가스크로製) 홀수 飽和脂肪酸 methyl ester kit ($C_{11}\sim C_{23}$, 美國 Applied Science製) 를 脂肪酸 표준품으로 사용하였다.

鹽酸, 수산화나트륨, benzene, ethyl ether(이상和光製製), MTM-Cl(Aldrich製)와 $BF_3 \cdot MeOH$ (E. Merck製)는 特級試藥을 그대로 사용하였으며 DBU(Sigma製)는 蒸溜精製한 것을 사용하였다 白蔘은 4年根 錦山産 曲蔘(市中購入, 제조일자 1984. 9. 18)을 사용하였다.

試料抽出法—白蔘을 粗末로 한 후 그중 약 10g을 정확히 평취하여 ethyl ether 50ml를 가하고 40°C 水浴上에서 하루밤 동안 환류추출하였다. 抽出液을 여과하고 잔사는 ethyl ether 15ml씩으로 3회 세척한 후 여과하여 앞의 抽出液과 합쳤다. 全抽出液을 약 1/3量으로 농축한 후 분액 깔때기에 옮기고 0.1N-NaOH 용액 25ml를 가해 혼합 진탕하고 잠시 방치하였다. 水層을 취하여 다른 분액여두에 옮기고 洗液을 앞의 水層과 합하였다. 水層은 0.5N-HCl을 가해 酸性으로 하고 처음에는 benzene 30ml, 다음에는 20ml씩으로 2회 抽出하였다. 全抽出液을 모아 無水芒硝로 脫水시킨 후 여과하고 잔사 및 여지는 benzene 20ml를 가하고 수회로 나눠 세척하고 여과하였다. 여액과 세액을 합해 100ml 容量 flask에 넣고 benzene을 가해 標線을 맞추어 지방산抽出液으로 하였다.

脂肪酸의 MTM ester化—上記 지방산 추출액 또는 각 지방산표준품의 benzene용액(농도는 Table 1 참조)에 각 지방산에 대해 약 10배당량 이상의 MTM-Cl와 DBU를 가하여 80°C 수욕상에서 3시간동안 반응시켰다. 反應混合物은 0.1N-HCl용액과 물로 세척하고 benzene層을 취해 無水염화칼슘으로 脫水시킨 다음 上澄液을 GC분석에 이용하였다.

脂肪酸의 methy ester化—Metcalf등의 방법¹⁷⁾에 따라上記 脂肪酸 抽出液 3ml를 취하여 $BF_3 \cdot MeOH$ 3ml를 가하고 100°C에서 30분간 환류시켰다. 反應物을 감압농축시킨 다음 水飽和 염화나트륨 2ml와 ethyl ether 2ml를 가해 分配시키고 ethyl ether層을 취해 脫水시킨 후 GC분석에 이용하였다.

分析條件—FPD와 FID가 장치된 Gas Chromatograph(Pye-Unicam GCV model 104)를 이용하여 脂肪酸 MTM ester 유도체를 분석하였다. 칼람은 3% FS-1을 Diatomite CQ(100~120 mesh)에 被膜하고 2.0m×4.0mm i.d. coiled glass column에 充塡시켜 사용하였으며 칼람온도는 처음 150°C에서 2분간 恒溫으로 유지한 후 5.0°C/min速度로 240°C까지 昇溫 操作하였다.

Carrier gas (N_2)의 流速은 25ml/min으로 하였으며 注入口 및 檢出器의 溫度는 270°C로 조정하였다. 水素와 空氣의 流速은 FPD의 경우는 각각 20ml/min, 27ml/min, FID의 경우는 각각 15ml/min, 100ml/min으로 調節하였으며 sensitivity는 FID 3.2×10^{-9} afs, FPD 6.4×10^{-9} afs로 조정하였다.

脂肪酸 methyl ester유도체의 分析은 FID가 장치된 Gas Chromatograph(Shimadzu model GC-R1A)에서 행하였다. 이때 3% OV-1 on Chromosorb W(80~100mesh)을 2.0m×3.2mm i.d. U-

shape glass column에 充填시킨 칼람을 이용하였다. 칼람온도는 처음 140°C에서 1분간 항온으로 유지한 후 每分 5°C 속도로 250°C까지 승온시켰다. Carrier gas(N₂), 水素 및 空氣의 流速은 각각 25ml/min, 30ml/min, 80ml/min으로 하였으며 注入口 및 검출기의 온도는 모두 280°C로 하였다. Sensitivity는 3.2×10^{-9} afs로 조정하였다. GC/MS system은 fused silica OV-101 캐피러리 칼람(12m×0.2mm i.d.)을 140°C에서 250°C까지 4°C/min으로 昇溫조작(He linear flow rate 20cm/sec)하여 분리되는 成分을 70eV에서 이온화시켜 質量 spectrum을 얻었다.

GC에서 未同定된 成分 및 palmitic acid와 linoleic acid의 質量스펙트럼상에서 주요한 m/e와 그 이온强度(%)는 다음과 같다.

11:1; m/e 244(M⁺, 0.2%), m/e 167(M⁺-OCH₂SCH₃, 3.6%), m/e 126(C₉H₁₈⁺, 100.0%), m/e 125(C₉H₁₇⁺, 1.9%), m/e 111(C₈H₁₅⁺, 2.5%), m/e 97(C₇H₁₃⁺, 2.9%), m/e 83(C₆H₁₁⁺, 1.9%), m/e 69(C₅H₉⁺, 24.2%), m/e 55(C₄H₇⁺, 42.8%), m/e 43(C₃H₇⁺, 14.7%), m/e 41(C₃H₅⁺, 55.7%), m/e 61(CH₃S⁺=CH₂, 18.8%).

16:1; m/e 314(M⁺, 0.1%), m/e 237(M⁺-OCH₂SCH₃, 1.5%), m/e 225(73.0%), m/e 168(C₁₂H₂₄⁺, 13.5%), m/e 139(C₁₀H₁₉⁺, 10.8%), m/e 125(C₉H₁₇⁺, 16.2%), m/e 111(C₈H₁₅⁺, 8.1%), m/e 97(C₇H₁₃⁺, 18.9%), m/e 85(C₆H₁₃⁺, 29.7%), m/e 71(C₅H₁₁⁺, 60.8%), m/e 57(C₄H₉⁺, 78.4%), m/e 43(C₃H₇⁺, 48.6%), m/e 41(C₃H₅⁺, 10.8%), m/e 61(CH₃S⁺=CH₂, 100.0%).

16:0 (Palmitic acid); m/e 316(M⁺, 0.4%), m/e 301(M⁺-CH₃, 1.8%), m/e 269(M⁺-SCH₃, 0.3%), m/e 239(M⁺-OCH₂SCH₃, 80.5%), m/e 211(C₁₅H₃₁⁺, 0.5%), m/e 127(C₉H₁₉⁺, 3.2%), m/e 85(C₆H₁₃⁺, 33.3%), m/e 71(C₅H₁₁⁺, 49.1%), m/e 57(C₄H₉, 81.2%), m/e 61(CH₃S⁺=CH₂, 100.0%).

17:1; m/e 328(M⁺, 0.2%), m/e 251(M⁺-OCH₂SCH₃, 47.6%), m/e 223(C₁₆H₃₁⁺, 11.9%), m/e 153(C₁₁H₂₁⁺, 11.9%), m/e 139(C₁₀H₁₉⁺, 11.9%), m/e 125(C₉H₁₇⁺, 11.9%), m/e 97(C₇H₁₃⁺, 13.1%), m/e 71(C₅H₁₁⁺, 51.2%), m/e 57(C₄H₉⁺, 57.1%), m/e 55(C₄H₇⁺, 65.5%), m/e 43(C₃H₇⁺, 85.7%), m/e 41(C₃H₅⁺, 27.4%), m/e 61(CH₃S⁺=CH₂, 100.0%).

18:2 (Linoleic acid); m/e 340(M⁺, 0.5%), m/e 263(M⁺-OCH₂SCH₃, 10.4%), m/e 235(C₁₇H₃₁⁺, 0.5%), m/e 221(C₁₆H₃₀⁺, 1.1%), m/e 137(C₁₀H₁₇⁺, 8.4%), m/e 235(C₁₇H₃₁⁺, 0.5%), m/e 221(C₁₆H₃₀⁺, 1.1%), m/e 137(C₁₀H₁₇⁺, 8.4%), m/e 97(C₇H₁₃⁺, 8.9%), m/e 95(C₇H₁₁⁺, 43.7%), m/e 81(C₆H₉⁺, 60.1%), m/e 41(C₃H₅, 41.9%), m/e 61(CH₃S⁺=CH₂, 100.0%).

20:1; m/e 371(M⁺, 0.0%), m/e 294(M⁺-OCH₂SCH₃, 2.3%), m/e 265(C₁₉H₃₇⁺, 0.2%), m/e 195(C₁₄H₂₇⁺, 3.1%), m/e 153(C₁₁H₂₁⁺, 3.4%), m/e 125(C₉H₁₇⁺, 7.1%), m/e 97(C₇H₁₃⁺, 14.3%), m/e 83(C₆H₁₁⁺, 28.6%), m/e 57(C₄H₉⁺, 36.5%), m/e 55(C₄H₇⁺, 43.7%), m/e 61(CH₃S⁺=CH₂, 100.0%).

文 獻

1. B.H. Stenhagen and R. Ryhage, Use of gas chromatography and mass spectroscopy in the analysis of the fatty acids found in butter and margarine. *Acta. Chem. Scand.* 12, 1351 (1958).
2. S. Sinha and S.M. Osman, Fatty acid composition of *Hibiscus ficulneus* seed oil. *J. Sci. Food Agric.*

- 33, 1010 (1982).
3. R.G. Ackman and R.D. Burgher, Cod liver oil: Component fatty acids as determined by gas-liquid chromatography. *J. Fish Res. Bd., Canada*, **21**, 2 (1964).
 4. R.F. Severson, J.J. Ellington, R.F. Arrendale and M.E. Snook, Quantitative gas chromatographic method for the analysis of aliphatic hydrocarbons, terpenes, fatty alcohols, fatty acids and sterols in tobacco. *J. Chromatogr.* **160**, 155 (1978).
 5. T.H. Yoon and E.S. Kim, Gas-liquid chromatographic analysis of fatty acids in Ginseng products. *Korean J. Food Sci. Technol.* **11**, 182 (1979).
 6. D. Swern, R. Wieder, M. McDonough, D.R. Meranze and M.B. Shimkin, Investigation of fatty acids and derivatives for carcinogenic activity. *Cancer Res.* **30**, 1037 (1970).
 7. P. Bohov, V. Blaz and J. Hrivnak, Analysis of fatty acid methyl esters on an SP-2340 glass capillary column. *J. Chromatogr.* **286**, 247 (1984).
 8. J. Julak, F. Turecek, and Z. Mikova, Identification of characteristic branched-chain fatty acids of *Mycobacterium kasatii* and *gordonae* by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.* **190**, 183 (1980).
 9. C.J. Baker, J.H. Melhuish, Jr., Separation of unsaturated fungal fatty acid methyl esters by reversed phase liquid chromatography for further evaluation by gas chromatography. *J. Chromatogr.* **284**, 251 (1984).
 10. N.L. Wilson, Rapid gas-liquid chromatographic determination of low levels of erucic acid in rapeseed using an internal standard. *J. Sci. Food Agric.* **32**, 1103 (1981).
 11. A.J. Sinclair, W.J. Slattery and K. O'Dea, The analysis of polyunsaturated fatty acids in meat by capillary gas-liquid chromatography. *J. Sci. Food Agric.* **33**, 771 (1982)
 12. M.S. Manku, A comparison of GLC and HPLC methods for determining fatty acid composition of evening Primrose and Soybean oil. *J. Chromatogr. Sci.* **21**, 367 (1983).
 13. H.B.S. Conacher, Gas-liquid chromatographic determination of docosenoic acid in fats and oils: collaborative study. *J. Ass. Off. Analyt. Chem.* **58**, 488 (1975).
 14. N. Ono, T. Yamada, T. Saito, K. Tanaka and A. Kaji, A convenient procedure for esterification of carboxylic acids. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **51**, 2401 (1978).
 15. 朴聖炫, 回歸分析(改訂版), 大英社, 서울, p.76, p.261 (1985).
 16. T. Sugiyama, Y. Suzuki and T. Takeuchi, Intensity characteristics of S₂ emission for sulfur compound with flame photometric detector. *J. Chromatogr. Sci.* **11**, 630 (1973).
 17. L.D. Metcalfe and A.A. Schmitz, Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.* **38**, 514 (1966).