

## ***Chlorella ellipsoidea* 염록체막과 틸라코이드막의 당지질 대사에 미치는 식품보존제의 효과**

최은아 · 장재선 · 이종삼<sup>†</sup>

성신여자대학교 자연과학대학 생물학과

### **The Effects of Antiseptics on the Galactolipid Metabolism of *Chlorella ellipsoidea* Chloroplast and Thylakoid Envelope**

Eun-A Choi, Jae-Seon Jang and Chong-Sam Lee<sup>†</sup>

Dept. of Biology, College of Natural Sciences, Sungshin Women's Univ., Seoul 136-742, Korea

**ABSTRACT** — The biosynthesis of galactolipid and the composition of fatty acid in chloroplast and thylakoid envelope isolated from *C. ellipsoidea* treated with antiseptics (potassium sorbate: PS, sodium benzoate:SB, calcium propionate:CP) were analyzed. The contents of monogalactosyldiacylglycerol (MGDG), digalactosyldiacylglycerol (DGDG) and total lipid in treatment with antiseptics were lower to compared with the control. The major fatty acid utilized for biosynthesis of MGDG in chloroplast envelope were palmitoleic acid (ave. 15.55%), oleic acid (ave. 15.09%) in control. Otherwise, the major fatty acids in P.S treatment were utilized for oleic acid (ave. 13.71%), linolenic acid (ave. 14.36%), palmitoleic acid (ave. 18.26%), oleic acid (ave. 17.26%) in S.B treatment, and oleic acid (ave. 16.88%), palmitoleic acid (ave. 16.31%) in CP treatment. It was showed that the major fatty acids in chloroplast envelope DGDG were oleic acid (ave. 15.75%), linolenic acid (ave. 17.74%) in control, oleic acid (ave. 14.90%), palmitoleic acid (ave. 15.97%) in P.S treatment, palmitoleic acid (ave. 13.29%), oleic acid (ave. 15.74%) in S.B treatment, and oleic acid (ave. 14.52%), palmitoleic acid (ave. 14.03%) in C.P treatment. The major fatty acid utilized for biosynthesis of MGDG in thylakoid envelope were linolenic acid (ave. 14.78%), oleic acid (ave. 12.90%) in control. Otherwise, the major fatty acids were utilized for palmitoleic acid (ave. 13.00%), palmitic acid (ave. 13.00%) in P.S treatment, palmitoleic acid (ave. 12.94%), oleic acid (ave. 12.43%) in S.B treatment, and oleic acid (ave. 12.43%), palmitoleic acid (ave. 12.43%) in C.P treatment. It was showed that the major fatty acids in thylakoid envelope DGDG were linolenic acid (ave. 18.01%), oleic acid (ave. 15.53%) in control, linolenic acid (ave. 19.20%), linoleic acid (ave. 14.14%) in P.S treatment, palmitoleic acid (ave. 9.03%), oleic acid (ave. 14.85%) in S.B treatment, oleic acid (ave. 13.90%), linoleic acid(ave. 12.66%) in C.P treatment.

**Key words** □ *Chlorella ellipsoidea*, Chloroplast envelope, Thylakoid envelope, Antiseptics, Galactolipid, Fatty acid

식품보존제는 미생물이나 곰팡이의 생장을 억제하는 기능이 있기 때문에 식품에 첨가하게 되는데 P.S는 aflatoxin 생성 및 곰팡이의 균사 생성에 저해 작용을 하며, 또한 효모, 세균의 생장 등에도 억제 효과를 나타내기 때문에 식품, 사료, 약제품, 포장품 등의 보존제로 광범위하게 사용되고 있다.<sup>1)</sup> 식품보존제 중 소르빈산칼륨을 곰팡이에 첨가하면 acyl S-CoA dehydrogenase 활성도가 감소되어 지방산 산화

의 중간 산물인 α, β 불포화 지방산이 축적되고, 이렇게 지방산이 축적되면 정상적인 지방산 산화가 일어나지 못하기 때문에 곰팡이의 물질대사와 생장이 감소된다. 또한 gram 양성균인 *B. subtilis*에 처리하면 지방산 사슬의 길이가 짧아지고, 지방산의 불포화도가 떨어진다.<sup>2)</sup> 0.1% sorbic acid는 오이를 부패시키는 효모의 생장을 억제시킬 뿐 아니라, mixed acid fermentation에 관여하는 *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* 등의 생장도 저해하며, 우유, 치즈등에 0.0075%의 sorbate만 첨가하더라도 *Salmonella typhimurium*과 *Escher-*

<sup>†</sup> Author to whom correspondence should be addressed.

*ichia coli*, *Staphylococci*, *Pseudomonas* sp, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus* sp 등의 생장이 억제된다.<sup>3)</sup> 안식향산나트륨은 곰팡이, 효모 등 여러 종류의 미생물에 효과가 있으며, 프로피온산칼슘은 곰팡이와 세균의 생장을 저해하기 때문에 빵이나 생과자의 곰팡이 방지제 및 식품보존물질로 널리 사용되고 있다.<sup>4)</sup> 또한 미생물 세포막의 물질투과를 방해하기 때문에 막을 통해 내외로 수송되는 물질의 종류가 달라지고, 또한 물질의 수송이 억제되며, 전자전달계에서 일어나는 산화적 인산화 과정도 억제한다.<sup>4)</sup>

막지질은 막의 투과성, 유동성 및 효소 활성을 촉진시킨다.<sup>7,8)</sup> 식물세포 막을 구성하는 지질에는 인지질, 당지질 등이 있다.<sup>9)</sup> 이중 세포막 구성 성분인 당지질은 동물 세포의 경우 좋지 않은 환경(낮은 pH, 분해효소)으로부터 막을 보호하며, 세균의 독성에 대한 세포 인지 기능을 한다.<sup>10)</sup>

당지질의 종류에는 MGDG, DGDG, Trigalactosyldiacylglycerol(TGDG), Sulphoquinovosyldiacylglycerol(SQDG) 등이 있으며 이중 식물세포막을 구성하는 당지질은 MGDG 와 DGDG가 많이 조성되어 있다. 당지질을 구성하는 지방산들은 그 지방산 구조에 이중결합이 많이 포함되어 있어 불포화도가 높은 것이 특징이다. 엽록체에서 볼 수 있는 지질은 주로 당지질이며, 적은 양의 인지질이 있다. SQDG는 틸라코이드막에 소량 함유되어 있다.<sup>11)</sup> 고등식물의 엽록체는 당지질 중 MGDG의 함량이 높고, 많은 양의 불포화 지방산이 있다.<sup>12,13)</sup> 지질을 구성하고 있는 지방산의 조성은 유전적인 요인에 의해서 뿐아니라 영양 상태, 온도, 기타 외부환경 조건에 의해서도 달라진다.<sup>14)</sup>

이와 같이 여러가지 환경 조건이 세포의 지질 대사에 미치는 영향 및 식품보존제의 곰팡이에 대한 저해작용에 관한 연구는 많았으나, 식품보존제가 식물세포의 엽록체막과 틸라코이드막의 당지질 생합성과 이를 구성하는 지방산 조성 변화에 어떠한 영향을 미치는가에 대한 연구는 없었다. 그리하여 본 연구는 당지질 생합성과 이를 구성하는 지방산의 조성 및 함량에 미치는 식품보존제의 영향을 대조구와 비교 분석 하였다.

## 재료 및 방법

### C. ellipsoidea 배양

*C. ellipsoidea*를 식품보존제인 P.S(0.3 mM/L), S.B(0.4 mM/L), C.P(2 mM/L)를 처리한 M4N 배지<sup>15)</sup>에서 생육하였다. 배양기간 중 25°C에서 CO<sub>2</sub>-enriched air를 주입하면서 2 Klux의 광선을 지속적으로 조사하여 7일간 배양하였다. 배양기간동안의 세포 생장은 haematocrit를 이용하여 packed cell volume을 측정하였다.

### 엽록체의 분리

엽록체의 분리는 Lyttleton의 방법<sup>16)</sup>을 다소 수정하여 사용하였다. 그 처리순서를 Fig. 1에 표시하였다. 수화한 세포를 0.5 M phosphate buffer(pH 7.5, 0.4 M NaCl 함유)에 혼탁하여 sonicator로 마쇄시켰다. 마쇄된 세포를 원심분리(500×g, 4 min.) 하여 상정액을 취하고, 이 상정액을 원심분리(1,100×g, 4 min.)하여 얻은 상정액을 다시 원심분리(1,200×g, 10 min.)한 후 침전물을 엽록체로 취하였다. 분리한 엽록체는 0.4 M saline 용액을 떨구어 검정하여 엽록체임을 확인하였다.

### 엽록체막과 틸라코이드막의 분리

분리한 엽록체에서 엽록체막과 틸라코이드막의 분리는 Poincelot의 방법<sup>17)</sup>을 다소 변형하여 사용하였다. Fig. 1에 표시한 바와같이 수화한 엽록체에 2배의 swelling medium (10 mM Tricine-NaOH buffer, pH 7.6, 4 mM MgCl<sub>2</sub> 함유)을 첨가한 후 30분간 방치하여, 10분 동안 강하게 흔든 후에 원심분리(1,500×g, 10 min.)하였다.<sup>18)</sup> 이때의 침전물을 틸라코이드막으로 사용하였고, 한편 상정액은 다시 원심분리(1,700×g, 60 min.)하여 침전물을 얻었다. 이 침전물에 0.5

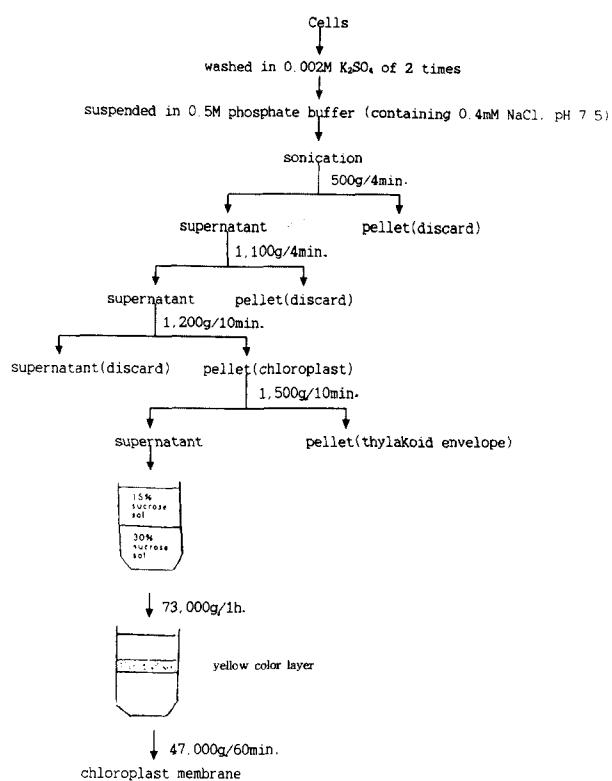


Fig. 1. Isolation of chloroplast envelope and thylakoid membrane in *C. ellipsoidea*.

M phosphate buffer(pH 7.5, 0.4 M NaCl, 30% sucrose 함유)를 첨가한 다음, 30%와 15% sucrose gradient를 형성한 후에 혼탁액을 첨가하고, 원심분리( $73,000 \times g$ , 60 min.) 하였다. 이 gradient에서 황색총을 뽑아내고, 원심분리( $47,000 \times g$ , 60 min.)하여 염록체막을 추출하였다.

### Total lipid의 추출

Bligh와 Dyer의 방법<sup>19)</sup>을 다소 변형하여 각 막을 구성하고 있는 total lipid를 추출하였다. 분리한 막에 chloroform:methanol(1:2, V/V) 혼합용액을 첨가하여 30분간 강하게 진탕한 후 동량의 중류수를 첨가하여 혼합 방치하여 분리시켰다. 분리된 chloroform총을 Whatmann No.1 filter paper에 여과시켜 total lipid를 추출하였다.

상층인 methanol총에 chloroform을 첨가하여 혼합시킨 후 분리된 chloroform총을 동일 여과지에 여과시켜 total lipid를 재추출하였다. 추출한 total lipid를  $40^{\circ}\text{C} \sim 50^{\circ}\text{C}$  dry oven에서 건조시켜 함량을 측정하였다.

### 당지질의 분리와 동정

추출된 total lipid에 들어있는 당지질은 Thin layer chromatography(TLC, Desaga)를 이용하여 MGDG와 DGDG를 분리하였다.<sup>20)</sup> TLC glass plate( $20 \times 20 \text{ cm}$ )는 silica gel(Merck, 60G)을 0.25 mm 두께로 입혀 실온 건조시킨 후  $110^{\circ}\text{C}$  dry oven에서 60분간 활성화시켜 사용하였다. 당지질의 분리는 Chapman과 Barber의 방법<sup>21)</sup>에 따라 two-one dimension method로 수행하였으며, 1차 전개용매로는 chloroform:methanol:water(65:24:4, V/V) 혼합 용매를, 2차 전개 용매로는 chloroform:acetone:methanol:acetic acid:water(100:40:20:20:10, V/V)의 혼합 용매를 사용하였다. 분리된 당지질은 표준품(Sigma Co.)과 비교동정하였으며 발색 시약으로는 MGDG와 DGDG 모두 1-naphtol reagent를 사용하였다.<sup>22)</sup>

### 지방산의 methylester화

분리된 각각의 당지질을 구성하는 지방산의 조성 및 양적 변화를 gas chromatography(GC, Varian 3400)로 분석하기 위하여 Allen과 Good의 방법<sup>12)</sup>에 따라 MGDG, DGDG를 methylester화 시켰다. TLC plate에서 분리한 당지질에 transesterification mixture인 methanol:sulphuric acid:benzene(100:5:5, V/V) 혼합 용액을 4 ml 첨가하고  $70^{\circ}\text{C}$  dry oven에 60분간 방치한 뒤 냉각하여 5 ml의 중류수를 넣고 진탕하였다. 여기에 2 ml의 hexane을 넣고 강하게 진탕한 후 분리된 hexane총을 취하였는데, 이 분리 조작은 2번 반복하였다. 분리된 hexane총을 건조시켜 각 당지질의 fatty acid methylesters 함량을 측정하였다.<sup>21)</sup>

### 지방산의 조성분석

각 막의 당지질을 구성하는 지방산들의 종류와 함량은 GC를 이용하여 분석하였다. 각 지방산의 동정은 lauric acid(12:0), myristic acid(14:0), palmitic acid(16:0), palmitoleic acid(16:1), heptadecanoic acid(17:0), stearic acid(18:0), oleic acid(18:1), linoleic acid(18:2), linolenic acid(18:3), arachidic acid(20:0), behenic acid(22:0), erucic acid(22:1), lignoceric acid(24:0)의 표준품(Sigma Co.)과 비교 동정하였다. GC detector는 FIDH<sub>2</sub>-flame ionization detector를 사용하였고, column은 RT × 2330 MEGABORE COLUMN을 사용하였으며 조건은 다음과 같다.

- Column Temperature:  $220^{\circ}\text{C}$
- Injector Port Temperature:  $230^{\circ}\text{C}$
- Detector Oven Temperature:  $250^{\circ}\text{C}$
- Carrier Gas: N<sub>2</sub>(80 ml/min)

## 결 과

### C. ellipsoidea 생장

식품보존제를 처리한 배지에서 배양한 *C. ellipsoidea*의 생장 변화를 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2에 표시된 바와 같이 식품보존제를 처리한 처리구는 배양 전기간에 걸쳐 대조구에 비해 생장이 현저하게 억제해 있다.

P.S 처리구는 대조구에 비해 평균 68.13%의 뚜렷한 생장 저해를 보였으며, S.B 처리구는 평균 50.17%, C.P 처리구

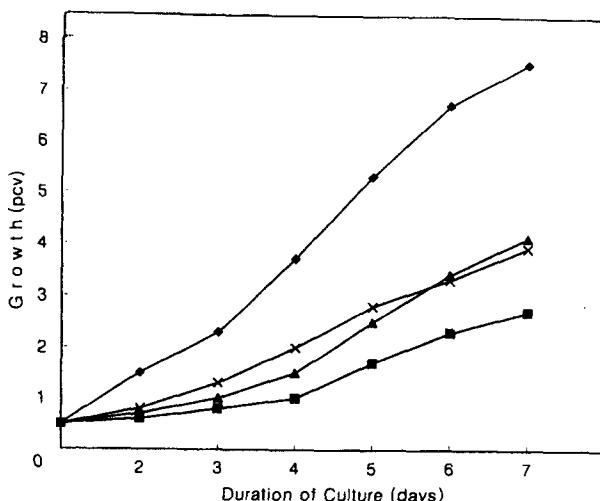


Fig. 2. Growth of *C. ellipsoidea* treated with various antiseptics during the cultivation.

◆ control, ■ potassium sorbate, ▲ sodium benzoate, ✕ calcium propionate.

는 평균 51.41%의 생장억제 현상을 보였다. 이 실험결과 P.S 처리구가 S.B나 C.P 처리구보다 뚜렷한 생장억제 효과를 보이는 것으로 미루어 식물세포의 생장이 가장 뚜렷하게 감소 되었음을 알 수 있다.

### Total lipid 함량 변화

엽록체막의 total lipid 함량 변화는 Fig. 3에 나타내었다. Total lipid 함량은 대조구가 배양 3일에 141.24%, 배양 5일에 56.92%, 배양 7일에 53.90%의 증가를 나타내어 평균 84.02%의 증가율이 나타났다. 한편, P.S를 처리한 배지에서 생육된 세포는 대조구에 비하여 배양 3일에 78.30%, 배양 5일에 55.6%, 배양 7일에 36.63%의 함량 감소를 보여 배양 기간중 평균 44.60%의 억제를 나타내었다. S.B 처리구는 배양 3일에 92.47%, 배양 5일에 95.38%, 배양 7일에 86.03%의 함량 감소를 보여 배양기간중 평균 91.29%의 높은 저해율을 나타냈다. 또한 C.P를 처리한 배지에서 배양 3일, 5일, 7일에 각각 63.89%, 89.17%, 88.05%의 함량 감소를 보여 평균 억제율이 80.37%를 나타냈다. 이 결과로 엽록체막의 total lipid 함량에 가장 큰 억제작용을 갖는 것이 S.B임을 알 수 있었다.

틸라코이드막의 total lipid 함량 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 대조구의 경우 배양초에 비해 total lipid 함량은 배양 3일에 44.31%, 배양 5일에 15.09%, 배양 7일에 70.92%의 증가를 나타내어 평균 43.44%의 증가율을 나타내었다. P.S 처리구에서 total lipid 함량은 대조구에 비하여 배양 3일에 92.67%, 배양 5일에 81.79%, 배양 7일에 78.91%의 감소율을 나타내 평균 84.46%의 저해율을 보였다. S.B 처리구는 배양 3일, 5일, 7일에 각각 38.74%, 50.83%, 65.11%를 나타내 평균 51.56%의 함량 감소를 나타내었다. C.P 처리구는 배양 3일, 5일, 7일에 각각 32.55%, 57.48%, 71.67%를 나타내 평균 감소율이 53.90%였다. 따라서 식품보존제중

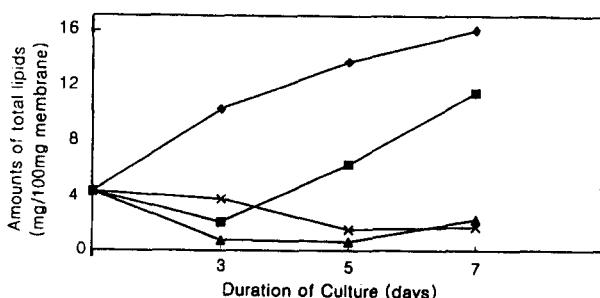


Fig. 3. Changes in contents of total lipids in *C. ellipsoidea* chlkoroplast envelope treated with antiseptics during the cultivation.

◆ control, ■ potassium sorbate, ▲ sodium benzoate, × calcium propionate.

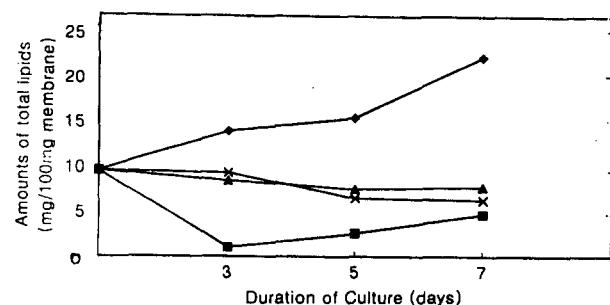


Fig. 4. Changes in contents of total lipids in *C. ellipsoidea* thylakoid membrane treated with antiseptics during the cultivation.

◆ control, ■ potassium sorbate, ▲ sodium benzoate, × calcium propionate.

P.S가 틸라코이드막의 total lipid 생성에 저해작용이 가장 큰 것으로 나타났다.

### MGDG와 DGDG의 함량 변화

엽록체막의 당지질 함량 변화는 Fig. 5에 나타내었다. 대조구의 엽록체막 MGDG, DGDG methylesters 함량은 MGDG의 경우 total lipid 중 평균 26.88%, DGDG의 경우 평균 9.15%를 차지하는 것으로 나타나 엽록체막의 당지질 조성은 MGDG 함량이 더 높은 것으로 나타났다. 대조구의 MGDG 함량 변화는 배양초와 비교하여 배양 3일에 14.15%, 배양 5일에 39.59%, 배양 7일에 45.18%의 증가율을 나타내 평균 증가율이 32.97%로 나타났다. 또한 대조구의 DGDG 함량 변화는 배양 3일에 7.21%, 배양 5일에 122.10%, 배양 7일에 20.79% 증가하여, 배양 5일에 현저한 증가율을 보였으며, 배양기간중 평균 증가율은 50.03%로 나타났다.

Fig. 5에 나타난 바와 같이, P.S 처리구에서 생육된 세포의 MGDG methylesters 함량은 대조구와 비교하여 배양 3일에 88.90%, 배양 5일에 82.47%, 배양 7일에 84.35%를 나타내 배양기간중 평균 85.24%의 저해율을 보였다. 또한 P.S의 DGDG 함량은 대조구와 비교하여 배양 3일에 53.57%, 5일에 74.66%, 7일에 70.00% 감소하여 평균 65.94%의 저해율을 보였다. 따라서 P.S 처리구는 엽록체막의 MGDG 생성에 더 많은 저해 효과를 일으키는 것으로 나타났다. 처리구로 S.B를 사용한 경우 MGDG의 methylesters 함량은 배양 3일에 73.95%, 배양 5일에 80.50%, 배양 7일에 49.33% 감소하여 평균 67.93%의 저해율을 나타냈으며, DGDG 함량은 배양 3일, 5일, 7일에 각각 41.72%, 71.36%, 47.49%의 감소를 나타내 평균 53.52%의 감소율을 나타냈다. C.P의 MGDG 함량은 배양 3일, 5일, 7일에 각각 37.05%, 43.33%, 52.00% 감소하여 배양기간 동안 평균 44.13%의 저해효과를 보였

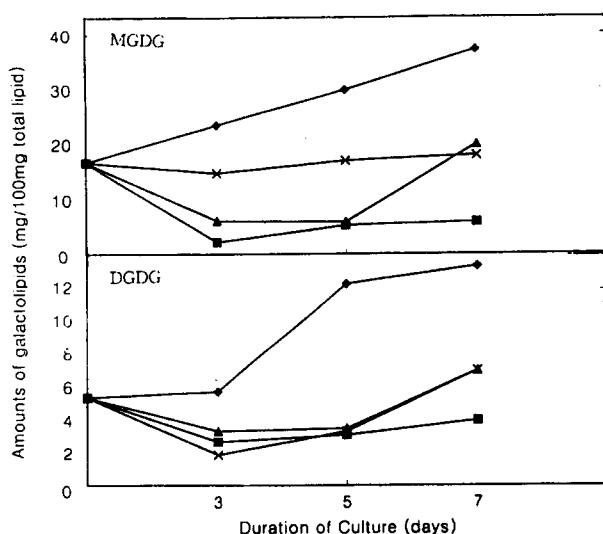


Fig. 5. Changes in contents of MGDG and DGDG methyl esters in *C. ellipsoidea* chloroplast envelope treated with antisepsics during the cultivation.  
—◆— control, —■— potassium sorbate, —▲— sodium benzoate, —×— calcium propionate.

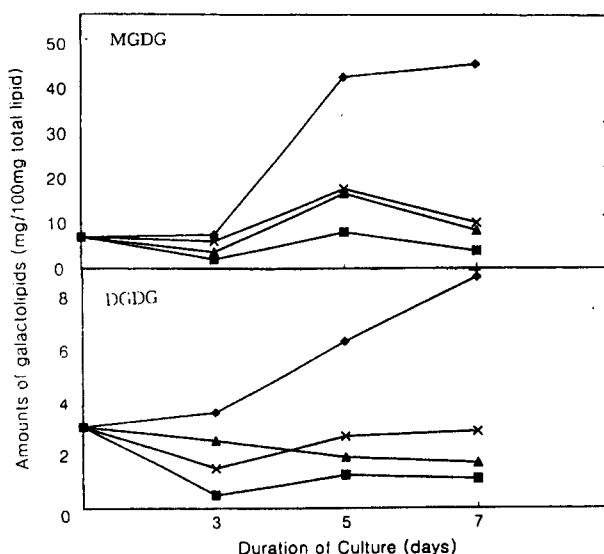


Fig. 6. Changes in contents of MGDG and DGDG methyl esters in *C. ellipsoidea* thylakoid membrane treated with antisepsics during the cultivation.  
—◆— control, —■— potassium sorbate, —▲— sodium benzoate, —×— calcium propionate.

으며, DGDG 함량은 배양 3일, 5일, 7일에 각각 67.19%, 72.75%, 47.49%의 감소율을 나타내 평균 62.48%의 감소 효과를 보였다. 이 결과에 의하면 P.S와 S.B의 경우에는 엽록체막의 당지질 합성중 MGDG 합성이 큰 저해를 일으키며, C.P는 DGDG 합성에 더 큰 저해를 일으키는 것으로 나타났다.

식품보존제에 의한 틸라코이드막의 2가지 당지질의 함량 변화는 Fig. 6에 각각 표시하였다. 틸라코이드막의 대조구의 MGDG 함량은 25.55%, DGDG 함량은 5.45%였으며 MGDG methylesters 함량 변화는 total lipid 중 배양 3일에 7.96%, 배양 5일에 506.21%로 현저한 증가를 보였으며, 배양 7일에 40.88% 증가하여 평균 184.93%의 증가율을 나타냈다. 또한 total lipid 중 DGDG의 함량 변화는 배양초와 비교하여 배양 3일, 5일, 7일에 가장 많은 증가율을 나타내 평균 61.46%의 함량 증가를 보였다.

P.S를 처리한 세포의 MGDG 함량은 대조구와 비교하여 배양 3일에 73.17%, 배양 5일에 80.15%, 배양 7일에 91.66%가 감소하여 평균 81.66%의 감소율을 보였으며, 배양 5일 까지는 MGDG 함량이 점차 증가하다가 배양 말기에 다소 감소하는 경향을 나타냈다. 또한 DGDG 함량은 대조구에 비하여 배양 3일에 86.25%, 배양 5일에 80.25%, 배양 7일에 84.80%의 감소율을 보여 평균 83.77%의 저해율을 나타내 배양초와 말기에 거의 유사한 DGDG 함량을 유지하는 것으로 나타났다. S.B 처리구에서 MGDG 함량은 대조구와 비교

하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 51.44%, 60.96%, 81.73% 감소하여 평균 64.71%의 감소율을 나타내 배양 5일까지 함량이 증가하다가 배양 7일에 감소하는 효과를 보였다. DGDG 함량은 대조구와 비교하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 30.14%, 69.83%, 80.70% 감소하여, 평균 감소율이 60.22%로 나타났으며 배양초부터 배양 말기까지 DGDG 함량이 계속해서 감소하는 경향을 보였다. C.P의 MGDG 함량은 대조구와 비교하여 배양 3일에 19.52%, 배양 5일에 58.47%, 배양 7일에 77.94% 감소하여 배양 5일까지는 증가하다가 배양 7일에 다시 감소하는 효과를 나타내 평균 감소율이 51.98%이었다. 또한 DGDG 함량은 배양 3일, 5일, 7일에 각각 58.75%, 57.19%, 66.97%로 나타나 평균 감소율이 60.97%이었다. 따라서 C.P 처리구는 MGDG와 DGDG에 모두 비슷한 저해 효과를 일으키는 것을 확인할 수 있었다.

#### 당지질의 지방산 조성 변화

엽록체막의 MGDG, DGDG의 지방산 조성 및 양적 동태는 Table 1, 2에 나타내었다. 배양초에 엽록체막의 MGDG를 구성하는 지방산은 대조구의 경우 oleic acid가 14.45%, linolenic acid가 12.82% 사용되었고, 배양 3일에는 oleic acid, linolenic acid가 15.48%, 16.09% 이용되었으며, 배양 5일에는 palmitoleic acid가 20.66%, oleic acid가 16.02%, 배양 7일에는 palmitoleic acid, linolenic acid가 각각 15.00% 15.30% 사용되었다. 따라서 대조구의 MGDG 지방산 생

**Table 1. Changes in fatty acid composition of MGDG in *C. ellipsoidea* chloroplast envelope treated with various antiseptics during the cultivation (unit: %)**

Duration of Culture (days)	0				3				5				7				
	cont	cont	p.s	s.b	c.p												
Fatty acid																	
Lauric	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Myristic	3.72	0.76	—	—	—	2.15	0.34	0.54	0.41	1.67	5.87	0.73	0.51	—	—	—	—
Palmitic	4.57	5.29	3.39	3.82	5.47	3.53	2.91	4.18	4.13	8.26	2.55	4.08	4.54	—	—	—	—
Palmitoleic	12.45	14.10	13.76	20.40	15.73	10.66	13.96	19.76	16.26	15.00	13.36	14.63	16.93	—	—	—	—
Heptadecanoic	7.72	7.63	8.63	5.79	8.93	6.72	3.31	7.44	7.78	6.23	8.55	6.32	7.63	—	—	—	—
Stearic	3.76	3.91	3.58	4.12	4.85	4.51	8.90	4.33	4.86	4.20	3.40	5.24	4.39	—	—	—	—
Oleic	14.45	15.48	13.18	19.48	17.83	16.02	14.31	17.38	16.39	14.42	13.65	14.91	16.41	—	—	—	—
Linoleic	3.69	2.37	4.17	5.07	6.98	2.03	4.59	7.83	5.93	5.75	4.94	8.76	5.84	—	—	—	—
Linolenic	12.82	16.09	12.08	17.73	—	23.93	15.07	15.89	—	15.30	15.94	—	—	—	—	—	—
Arachidic	1.71	0.58	1.79	1.26	2.91	2.24	1.58	3.71	1.91	1.36	1.64	3.53	1.85	—	—	—	—
Behenic	3.49	3.99	3.28	3.65	4.66	4.17	3.52	3.51	4.07	2.63	3.83	1.42	3.67	—	—	—	—
Erucic	4.31	4.93	3.54	4.06	2.17	3.50	3.56	1.36	1.37	2.19	1.34	6.32	1.52	—	—	—	—
Lignoceric	2.54	2.23	2.23	2.12	2.91	1.76	1.79	1.99	1.70	1.09	1.59	6.43	1.64	—	—	—	—
Unknown	24.77	22.64	30.28	12.50	27.56	18.78	26.16	12.08	35.19	21.90	23.34	27.63	35.07	—	—	—	—
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

&lt;Note&gt; Cont: control, p.s: potassium sorbate, s.b: sodium benzoate, c.p: calcium propionate.

**Table 2. Changes in fatty acid composition of DGDG in *C. ellipsoidea* chloroplast envelope treated with various antiseptics during the cultivation (unit: %)**

Duration of Culture (days)	0				3				5				7				
	cont	cont	p.s	s.b	c.p												
Fatty acid																	
Lauric	—	—	1.44	—	—	—	—	0.63	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Myristic	1.66	—	1.89	0.83	1.32	6.32	4.58	1.36	1.48	—	7.60	8.96	0.49	—	—	—	—
Palmitic	5.19	2.94	4.89	0.42	6.15	2.23	2.54	6.04	3.69	2.05	2.45	2.75	3.71	—	—	—	—
Palmitoleic	7.27	15.72	15.84	14.15	15.12	12.99	12.81	8.50	12.98	6.72	18.27	17.23	13.99	—	—	—	—
Heptadecanoic	6.86	7.12	7.94	7.53	8.45	8.02	8.29	17.53	9.03	5.12	9.17	8.50	7.32	—	—	—	—
Stearic	5.13	2.65	5.16	3.77	4.97	3.63	3.14	5.93	4.23	1.63	2.75	3.95	3.67	—	—	—	—
Oleic	12.15	20.28	15.35	13.23	16.65	14.71	14.20	17.45	13.06	15.87	14.16	16.55	13.84	—	—	—	—
Linoleic	11.31	3.92	7.01	7.18	7.49	5.07	3.94	10.26	5.09	16.68	3.08	6.23	5.29	—	—	—	—
Linolenic	16.16	17.54	—	12.05	—	16.35	15.24	—	13.67	20.89	9.61	14.94	—	—	—	—	—
Arachidic	—	1.28	2.89	6.39	3.15	1.77	1.25	4.46	2.27	—	—	2.28	1.74	—	—	—	—
Behenic	5.61	4.59	1.38	3.30	4.90	0.38	3.36	1.79	3.84	6.21	1.30	3.50	3.90	—	—	—	—
Erucic	9.00	4.57	3.62	1.18	2.93	3.26	3.47	6.15	2.16	8.98	—	2.42	2.72	—	—	—	—
Lignoceric	5.49	2.25	2.55	1.54	2.78	1.60	1.94	5.47	2.35	4.12	1.12	2.83	1.67	—	—	—	—
Unknown	14.21	17.05	28.04	28.43	26.09	23.67	25.24	14.43	26.15	11.73	30.49	9.86	41.65	—	—	—	—
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

&lt;Note&gt; Cont: control, p.s: potassium sorbate, s.b: sodium benzoate, c.p: calcium propionate.

합성에는 palmitoleic acid, oleic acid, linolenic acid가 대부분 이용됨이 관찰되었다. 식품보존제의 MGDG 지방산 조성은 Table 1에 표시하였는데 먼저 P.S는 배양 3일에 palmitoleic acid, oleic acid가 각각 13.76% 13.18% 사용되었고, 배양 5일에는 oleic acid, linolenic acid가 각각 14.31%,

15.07%, 배양 7일에는 oleic acid와 linolenic acid가 각각 13.65%, 15.94% 이용되었다. S.B를 처리구로 사용했을 경우 배양 3일에는 palmitoleic acid가 20.40%, oleic acid가 19.48% 사용되었고, 배양 5일, 배양 7일에도 palmitoleic acid와 oleic acid가 주로 사용되었음을 볼 수 있었다. C.P를

사용하였을 경우도 주로 palmitoleic acid와 oleic acid가 사용되었는데, 배양 3일에는 palmitoleic acid가 15.73%, oleic acid가 17.83%, 배양 5일에는 각각 16.26%, 16.39%, 배양 7일에는 각각 16.93%, 16.41% 사용되었음을 알 수 있다. 이 결과에 의하면 식품보존제를 처리구로 사용하였을 경우 엽록체막의 MGDG 합성에는 palmitoleic acid와 oleic acid가 주로 이용되었음을 볼 수 있다.

Table 2에는 식품보존제에 의한 엽록체막의 DGDG 지방산 함량 변화를 나타냈다. P.S 처리구 경우 배양 3일에는 palmitoleic acid와 oleic acid가 각각 16.84%, 16.35% 이용되었고, 배양 5일에는 oleic acid와 linolenic acid가 각각 14.20%, 15.24%, 배양 7일에는 palmitoleic acid가 18.27%, oleic acid가 16.55% 이용되었음이 관찰되었다. S.B 처리구의 경우, 배양 3일에는 palmitoleic acid가 14.45% 이용되었고, oleic acid가 13.23% 사용되었는데 비하여 배양 5일에는 heptadecanoic acid가 17.53%, oleic acid가 17.45% 이용되어 대조구와 다른 양상을 나타내었고, 배양 7일에는 palmitoleic acid가 17.23%, oleic acid가 16.65% 사용되었다. C.P를 처리구로 사용하였을 경우 배양 3일에는 palmitoleic acid가 15.12%, oleic acid가 16.65% 사용되었고, 배양 5일에는 oleic acid가 13.06%, linolenic acid가 13.67% 이용되어 대조구와 비슷한 양상을 나타내었다.

틸라코이드막의 각 처리구에 따른 당지질의 지방산 조성 및 양적 동태는 Table 3, 4에 각각 나타내었다. Table 3에는

MGDG의 지방산 조성을 표시하였는데, 배양초에 틸라코이드막의 MGDG를 구성하는 지방산은 oleic acid가 13.94%, linolenic acid가 18.26%로 나타났다. 배양 3일에는 oleic acid가 14.03%, linolenic acid가 18.45% 이용되었으며, 배양 5일에는 palmitic acid가 15.46%, oleic acid가 12.05% 이용되었다. 배양 7일에는 palmitoleic acid, oleic acid가 각각 16.50%, 11.90% 이용되었음이 확인되었다. 따라서 대조구의 틸라코이드막 MGDG 생합성에는 oleic acid, linolenic acid, palmitic acid, palmitoleic acid 등이 이용되었음을 알 수 있다.

식품보존제의 틸라코이드막에 대한 MGDG 지방산 조성 변화는 우선 P.S 처리구의 경우에는 배양 3일에 palmitoleic acid가 13.78%, oleic acid가 13.65% 이용되었고, 배양 5일에는 palmitic acid, palmitoleic acid가 각각 18.01%, 11.78%, 배양 7일에는 palmitic acid가 13.12%, palmitoleic acid가 13.45% 사용되어 틸라코이드막의 MGDG 합성에 주로 palmitic acid와 palmitoleic acid가 이용되었음을 확인하였다. S.B 처리구의 경우에는 배양 3일에 palmitoleic acid가 11.93%, stearic acid가 13.48% 사용되어 대조구와 다른 양상을 보였으며, 배양 5일에는 palmitoleic acid가 12.45%, oleic acid가 12.19%, 배양 7일에는 palmitic acid가 13.45% 사용되었음을 확인 할 수 있었다. C.P 처리구는 배양 3일에 oleic acid, linolenic acid가 각각 11.61%, 12.57% 이용되었고 배양 5일과 7일에는 palmitic acid가 각각

**Table 3. Changes in fatty acid composition of MGDG in *C. ellipsoidea* thylakoid membrane treated with various antiseptics during the cultivation (unit: %)**

Fatty acid	Duration of Culture (days)		0		3		5		7					
	Treatment	cont	cont	p.s	s.b	c.p	cont	p.s	s.b	c.p	cont	p.s	s.b	c.p
Lauric	—	—	—	—	2.25	—	—	—	—	—	2.06	—	—	0.90
Myristic	0.83	0.79	2.92	3.17	2.85	1.98	4.31	2.12	0.62	1.79	1.81	7.00	1.24	
Palmitic	3.33	7.16	7.88	6.43	3.65	15.46	18.01	5.90	13.73	7.99	13.12	2.95	11.59	
Palmitoleic	5.09	10.26	13.78	11.93	3.59	10.31	11.78	12.45	9.49	16.50	13.45	14.45	11.05	
Heptadecanoic	6.89	6.80	5.90	5.42	7.44	6.80	5.23	5.91	5.29	8.20	6.05	9.18	5.85	
Stearic	2.04	1.12	5.71	13.48	5.85	3.06	3.93	5.40	16.68	3.43	4.84	2.39	2.84	
Oleic	13.94	14.03	12.65	10.31	11.61	12.05	10.22	12.19	11.42	11.90	12.22	14.79	11.52	
Linoleic	4.71	1.62	4.00	5.80	7.60	4.05	8.70	8.04	8.32	3.38	3.14	3.03	6.48	
Linolenic	18.26	18.45	9.90	10.35	12.57	12.02	10.27	10.58	4.06	10.32	11.26	11.34	—	
Arachidic	2.36	—	2.30	2.79	5.74	1.44	—	5.13	2.42	1.93	—	—	2.65	
Behenic	6.01	5.24	1.94	2.78	4.97	2.45	2.43	1.70	3.65	2.58	1.82	2.36	2.17	
Erucic	9.09	6.21	—	2.41	8.35	3.39	3.47	1.54	2.63	2.94	2.78	3.11	1.19	
Lignoceric	4.59	3.33	1.77	1.50	4.80	1.61	2.39	1.31	15.89	2.38	1.38	2.70	0.94	
Unknown	22.86	24.99	30.25	23.63	08.37	25.38	19.26	29.73	—	24.06	28.13	26.70	41.60	
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	

<Note> Cont: control, p.s: potassium sorbate, s.b: sodium benzoate, c.p: calcium propionate.

13.73%, 11.59 %, oleic acid가 16.68%, 11.52% 사용되었다. 이 결과에 의하면 틸라코이드막의 MGDG 지방산 조성에는 palmitic acid와 oleic acid가 가장 많이 이용됨을 알 수 있다.

Table 4에는 틸라코이드막의 DGDG를 구성하는 지방산 조성을 나타냈는데, 대조구의 경우 배양초에는 linolenic acid와 erucic acid가 각각 19.91%, 15.40% 이용되었고, 배양 3일에는 linoleic acid가 13.52%, linolenic acid가 18.79%, 배양 5일에는 palmitoleic acid가 18.12%, oleic acid가 26.56%, 배양 7일에는 linolenic acid가 18.17%, erucic acid가 13.65% 이용되어 대조구의 틸라코이드막 DGDG 생합성에는 oleic acid, linolenic acid, erucic acid가 많이 이용됨을 알수있다. 식품보존제 처리시 DGDG 생합성에 이용되는 지방산 조성은 P.S 처리구는 배양 3일에 oleic acid가 12.03%, linolenic acid가 17.25% 이용되었고, 배양 5일과 7일에 linoleic acid가 각각 14.66%, 16.86%, linolenic acid가 17.87%, 22.47% 이용되었다. S.B 처리구는 배양 3일에 oleic acid가 20.52%, erucic acid가 12.98% 이용되었고, 배양 5일에는 linoleic acid가 13.31%, arachidic acid가 11.78%, 배양 7일에 oleic acid가 12.50%, linolenic acid가 14.66% 이용되었다. C.P 처리구는 배양 3일에 linoleic acid가 13.86%, linolenic acid가 9.06% 이용되었고, 배양 5일과 7일에 oleic acid가 각각 21.51%, 11.46%, linolenic acid가 17.83%, 11.09% 이용되었다.

## 고 칠

소르빈산칼륨은 *Aspergillus niger*의 발아, catalase 합성과 활성도를 감소시켜 식품을 오랫동안 보존하는 기능을 가지고 있으며, 지방산의 사슬 길이를 감소시키고, 불포화도를 낮춘다.<sup>2)</sup> S.B는 곰팡이와 효모의 발육을 저지하며, 사람이나 동물에서는 trypsin에 의한 fibrin의 소화를 저해하여 소화기관 대사에 장해를 일으킨다. C.P는 미생물 세포막의 투과성을 방해하므로 세포막을 통한 영양 물질의 투과를 억제하고, 전자전달계로부터의 산화적 인산화 과정을 저해함으로서 세포호흡도 억제시킨다.<sup>4)</sup> 본 실험에서도 식품 보존제를 처리한 배지에서 배양된 *C. ellipsoidea*의 생장이 억제되었는데, 이는 P.S, S.B, C.P 등이 식물 세포 생장에 필요한 효소의 합성 및 활성도를 저해하고,<sup>23)</sup> 산화적 인산화 과정에도 영향을 주어 호흡 대사작용이 활발히 일어나지 못했기 때문인 것으로 사료된다.

식품보존제 처리구의 염록체막 및 틸라코이드막의 total lipid 함량은 대조구와 비교하여 평균 50% 이상의 감소율을 보였는데, 이는 식품보존제가 지질 합성에 필요한 효소 활성과 대사 작용에 저해 작용을 하여 정상적인 지질 대사가 일어나지 못했기 때문이다.<sup>2,23)</sup> 즉 지질은 단백질의 틸아미노 반응에 의해 생성된 keto 산과 탄수화물의 분해로 인해 형성된 acetyl CoA를 전구체로 하여 합성되는데, 식품보존제에 의하여 세포막의 지질 조성이 변화되어 투과성에 영

**Table 4. Changes in fatty acid composition of DGDG in *C. ellipsoidea* thylakoid membrane treated with various antisepsics during the cultivation (unit: %)**

Fatty acid	Duration of Culture (days)		0			3			5			7		
	Treatment	cont	cont	p.s	s.b	c.p	cont	p.s	s.b	c.p	cont	p.s	s.b	c.p
Lauric	—	—	—	—	—	1.31	—	—	—	3.42	—	—	0.14	1.30
Myristic	—	0.57	1.12	—	0.57	—	—	—	—	1.25	—	0.49	0.39	0.41
Palmitic	2.19	1.23	5.37	7.03	1.51	6.19	6.52	6.93	5.04	2.71	0.41	3.04	3.13	
Palmitoleic	4.52	5.07	6.53	10.37	1.07	18.12	7.55	4.74	—	4.76	6.64	11.99	1.38	
Heptadecanoic	6.77	9.27	4.90	7.74	5.80	7.22	6.82	11.22	7.74	5.20	7.31	8.87	6.19	
Stearic	1.87	1.45	4.41	1.77	3.26	6.16	4.55	2.47	6.13	4.47	—	3.62	3.77	
Oleic	12.56	11.19	12.03	20.52	8.74	26.56	14.48	11.54	21.51	11.81	14.04	12.50	11.46	
Linoleic	4.12	13.52	10.89	2.09	13.86	3.82	14.66	13.31	10.64	11.38	16.68	5.57	7.55	
Linolenic	19.91	18.79	17.25	—	9.06	15.17	17.87	7.19	17.83	18.17	22.47	14.66	11.09	
Arachidic	—	—	1.45	1.47	1.97	—	—	11.78	6.01	—	—	2.13	3.94	
Behenic	7.88	6.73	6.23	11.70	2.40	—	5.01	—	—	6.99	7.39	0.55	3.36	
Erucic	15.40	9.03	11.19	12.98	4.65	—	7.41	—	3.89	13.65	10.11	2.13	5.32	
Lignoceric	8.49	4.22	5.17	6.92	1.97	—	2.60	—	1.45	7.58	4.12	1.29	2.18	
Unknown	16.29	18.93	12.92	17.41	43.83	16.76	12.53	30.82	15.09	13.18	10.16	33.12	38.92	
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	

<Note> Cont: control, p.s: potassium sorbate, s.b: sodium benzoate, c.p: calcium propionate.

향을 미치게 되고, 지질 대사에 필요한 효소의 활성이 억제되었다.

엽록체를 구성하는 당지질은 MGDG 함량이 DGDG나 SQDG 함량 보다 높다.<sup>12,24)</sup> 당지질은 기본 골격이 되는 diacylglycerol(DAG) 또는 phosphatidic acid(PA)의 합성 장소에 따라서 glycerol backbone의 1번 위치에 C-18 지방산을 포함하는 진핵성 당지질과 glycerol backbone의 2번 위치에 C-16 지방산을 포함하는 원핵성 당지질로 나누어진다. 진핵성 당지질의 생합성은 ER에서 ER-acyltransferase가 acyl CoA 전구체를 PA로 전환하고, PA가 DAG을 유도한다. 이렇게 생성된 DAG는 phosphatidylcholine(PC), phosphatidylethanolamine(PE), phosphatidylglycerol(PG)을 생성하고 다시 이들이 ER desaturase에 의해 MGDG와 DGDG를 형성하는데 이때 oleic acid로부터 linoleic acid로의 불포화 반응이 일어난다. 이 반응에는 NADH를 궁극적 전자공급원으로 하는 endoplasmic reticulum(ER)의 cytochrome b<sub>5</sub> reductase system이 관여한다. 원핵성 당지질의 생합성은 엽록체의 내막에서 일어나는데, PA가 PA-phosphatase에 의해 DAG로 전환되고, DAG는 MGDG, DGDG 등을 합성한다. 이때의 stearic acid와 oleic acid로부터 linoleic acid를 거쳐 linolenic acid로의 불포화 반응과 palmitic acid로부터 hexadecatrienoic acid까지의 불포화 반응은 엽록체 desaturase에 의해 일어난다.

환경 변화에 따라 지방산 조성이 변화 한다는 것은 여러 실험 결과를 통해 알 수 있다. *Nicotiana tabacum*의 잎이 상부에 있을수록 linolenic acid의 함량이 증가하였고, 다른 지방산은 감소하였으며, 꽃과 종자에서는 특히 linoleic acid가 증가되었다.<sup>25)</sup> 또한 *Anabaena variabilis*에 온도를 38°C에서 22°C로 변화시켰을 때 oleic acid가 linoleic acid, linoleic acid가 linolenic acid로의 불포화 과정이 일어남을 볼 수 있었다.<sup>26)</sup> 이와 같이 지방산의 조성과 함량은 환경 변화에 따라 현저하게 영향을 받는다. 본 연구에서도 여러 환경 조건을 달리 하였을 때 total lipid 및 MGDG, DGDG 함량, 당지질의 지방산 조성에 변화가 나타났다. 즉 엽록체막의 MGDG를 구성하는 지방산은 대조구가 linolenic acid, oleic acid, P.S 처리구는 linolenic acid, oleic acid, S.B 처리구는 palmitoleic acid, oleic acid, C.P 처리구는 palmitoleic acid, oleic acid인 것이 확인되었으며, DGDG 형성에 이용된 지방산은 대조구에서는 linolenic acid, oleic acid, P.S가 palmitoleic acid, oleic acid, S.B에서는 oleic acid, palmitoleic acid, C.P에서는 oleic acid, palmitoleic acid 이었다. 틸라코이드막에서의 MGDG 생합성에 이용되는 지방산은 대조구에서는 linolenic acid, oleic acid이었으나, P.S 처리구는 palmitic acid와 palmitoleic acid가, S.B 처리구는 palmito-

leic acid, oleic acid, C.P 처리구는 oleic acid, palmitic acid를 주로 사용하였으며, DGDG 합성에는 대조구가 linolenic acid, P.S 처리구는 linolenic acid, linoleic acid, S.B 처리구는 oleic acid, palmitoleic acid, C.P 처리구는 linolenic acid, oleic acid를 주로 이용하여 환경 변화에 따라 지방산의 사슬 길이가 짧아지고 불포화도가 낮아지는 등, 지방산의 조성이 변화함을 확인하였다.

*Dunaliella salina*에서 당지질을 구성하는 지방산들은 그 지방산 구조에 이중결합이 많이 포함되어 있어 불포화도가 매우 높은 것이 특징이다.<sup>13)</sup> 이는 본 실험에서 당지질의 지방산 조성을 분석한 결과 각 막의 당지질을 구성하는 지방산이 대부분 불포화 지방산이라는 결과와 일치한다. *C. vulgaris* MGDG의 경우는 암처에서 주로 oleic acid, linoleic acid 지방산을 포함하는데 비해 명처에서는 linolenic acid의 지방산을 약 20% 정도 함유하고 있다.<sup>27)</sup> 이는 *Chlorella* 세포 틸라코이드막의 당지질 조성분석에서 대조구의 MGDG, DGDG와 P.S 처리구, C.P 처리구의 DGDG에서 linolenic acid의 함량이 높게 나타난 것과 일치한다.

각 처리구에 의한 당지질 지방산 조성 변화를 살펴보면, 엽록체막에서 MGDG이 함유된 지방산은 대조구가 linolenic acid, P.S와 C.P가 oleic acid의 지방산을 많이 함유하였고, DGDG는 대조구가 linolenic acid, P.S가 palmitoleic acid, S.B와 C.P가 oleic acid의 지방산을 많이 이용한 것으로 나타났다. 틸라코이드막의 MGDG는 대조구가 linolenic acid, P.S가 palmitic acid, palmitoleic acid, S.B가 palmitoleic acid, C.P가 oleic acid의 지방산을 주로 사용한 것으로 나타났고, DGDG는 S.B와 C.P가 oleic acid 지방산을 사용해 처리구의 지방산 조성은 대조구와 비교해 불포화도가 감소되는 경향을 볼 수 있었다. 이상의 결과에서 보면 *C. ellipsoidea* 엽록체막, 틸라코이드막의 당지질 생합성에는 불포화 지방산을 많이 이용했으며, 이 결과는 다른 연구자들의 결과와도 일치하는 것이다. 당지질을 구성하는 지방산 조성의 차이점이 각 막의 기능에 영향을 미치게 되는데,<sup>28)</sup> 예를 들어 *Arabidopsis* 지질의 돌연변이체인 *fad 2*는 지질 합성 반응의 eukarotic pathway에서 polyunsaturated 지질을 생성하는 골지의 desaturase 활성도가 결핍되는데, 따라서 이 돌연변이체는 막지질에 stearic acid가 증가되어 심각한 생장 저해 효과가 나타난다.<sup>29,30)</sup> 본 실험에서는 위의 실험 결과처럼 뚜렷하게 불포화 지방산이 포화 지방산으로 전환되지는 않았지만, 대조구에 비해 처리구의 불포화도가 감소되는 현상을 볼 수 있었다. 즉 각 막에서 대조구와 비교해 처리구에 의한 지방산 조성 변화는 지방산의 불포화도가 낮아지고 사슬 길이가 짧아지는 등의 결과를 초래하였다. 식품보존제 처리에 의한 당지질 생합성에는 주로 불포화

지방산이 이용된 점에서 대조구와 유사한 결과를 나타냈으나, 처리구의 경우에는 대조구에 비해 사슬 길이가 짧은 지방산이 주로 이용되고, 불포화도가 낮아지는 경향을 보임으로써 생체막의 당지질 조성이 변화함에 따라 막투과성이

변화되고 세포내로 도입되는 물질의 종류가 달라지고 함량이 감소되어 대사의 변화가 생겼으리라 생각된다. 특히 생장의 차이가 이를 뒷받침하는 충분한 증거가 된다.

### 국문요약

*C. ellipsoidea*의 엽록체막 및 틸라코이드막의 당지질 생합성과 그의 지방산 조성에 식품보존제가 미치는 영향을 분석하고자 potassium sorbate(0.3 mM, P.S), sodium benzoate(0.4 mM, S.B), calcium propionate(2 mM, C.P)를 처리한 배지에서 세포를 배양한 후 배양초와 배양 중간기에 세포를 수확하여 막을 분리하고, 이를 막을 구성하고 있는 당지질 중 MGDG, DGDG의 함량 및 그의 지방산 조성을 대조구와 비교 분석하였다. Total lipid와 MGDG, DGDG 함량은 대조구와 비교해 볼 때 처리구에서 현저하게 감소하였다. 엽록체막의 MGDG를 구성하는 지방산은 대조구에서는 palmitoleic acid 15.55%, oleic acid 15.09%가 이용되었으며, P.S 처리구는 linolenic acid 14.36%, oleic acid 14.71%, S.B 처리구는 palmitoleic acid 18.26%, oleic acid 17.26%, C.P 처리구는 palmitoleic acid 16.31%, oleic acid 16.88%를 당지질 합성에 주로 이용하였다. DGDG 형성에 이용된 지방산은 대조구의 경우 linolenic acid 17.74%, oleic acid 15.75%, P.S 처리구는 palmitoleic acid 15.97%, oleic acid 14.90%, S.B 처리구는 oleic acid 15.74%, palmitoleic acid 13.29%, C.P 처리구에서는 oleic acid 14.52%, palmitoleic acid 14.03%가 당지질 합성에 도입되었다. 틸라코이드막에서의 당지질 중 MGDG 생합성에 이용되는 지방산은 대조구에서는 linolenic acid가 14.76%, oleic acid가 12.90% 사용되었으며 P.S 처리구에서는 palmitic acid와 palmitoleic acid가 각각 13.00%씩 이용되었다. S.B 처리구는 palmitoleic acid 12.94%, oleic acid 12.44%, C.P 처리구는 oleic acid 13.27%, palmitic acid 9.66%를 당지질 생합성에 이용하였다. DGDG 합성에 이용되는 지방산은 대조구의 경우 linolenic acid 18.01%, oleic acid 15.53%로 나타났으며, P.S 처리구는 linolenic acid 19.20%, linoleic acid 14.14%, S.B 처리구는 oleic acid 14.85%, palmitoleic acid 9.03%, C.P 처리구는 linolenic acid 12.66%, oleic acid 13.90%를 주로 이용하였다.

### 참고문헌

- Sofos, J.N. and Busta, F.F.: Antimicrobial activity of sorbate. *Ibid.*, **44**, 614-622 (1981).
- Freese, E., Sheu, C.W. and Galliers, E. Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. *Nature*, **241**, 321-325 (1973).
- Park, H.S. and Marth, E.H.: Inactivation of *Salmonella typhimurium* by sorbic acid. *J. Milk Food Technol.*, **35**, 532-539 (1972).
- Biggs, A.R., EL-kholi, M.M. and El-Neshaway, S.M.: Effect of calcium salts on growth, pectic enzyme activity, and colonization of peach twigs by *Leucostoma persoonii*. *Plant Dis.*, **78**, 886-890 (1994).
- Milward, Z.: Further experiments to determine the toxicity of propionic acid to fungi infesting stored grain. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **66**, 319-324 (1976).
- Tsai, W.Y., Shao, K.P.P. and Bullerman, L.B.: Effects of sorbate and propionate on growth and aflatoxin production of sub-lethally injured *Aspergillus parasiticus*. *J. Food Sci.*, **47**, 86-90 (1984).
- Moore, T. and Jr, S.: Phospholipid biosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **33**, 235-296 (1982).
- Yoshida, S. and Vemura, M.: Lipid composition of plasma membrane and tonoplasts isolated from etiolated seedling of Mung Bean (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiol.*, **82**, 807-812 (1986).
- Lehinger, A.L., Nelson, D.L. and Cox, M.M.: Principles of biochemistry. pressed by worth publishers., 2nd edition. 240-256 (1993).
- Aberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson, J. D.: Molecular biology of the cell. 477-485 (1984).
- Nishihara, M., Yokota, K. and Kito, M.: Lipid molecular species composition of thylakoid membranes. *Biochim. Biophys. Acta.*, **617**, 12-19 (1980).

12. Allen, C.F. and Good, P.: Acyl lipids in photosynthetic system. *Method Enzymol.*, **23**, 523-547 (1971).
13. Joard, J. and Douce, R.: Site of synthesis of phosphatidic acid and diacylglycerol in spinach chloroplast. *Biochim. Biophys. Acta.*, **486**, 273-285 (1977).
14. Uemura, M.D., Raymond, A.J. and Peter, L.S.: Cold acclimation of *Arabidopsis thaliana*: Effect on plasma membrane lipid composition and freezeinduced lesions. *Plant Physiol.*, **109**, 15-30 (1995).
15. Tamiya, H., Shibata, K., Iwamura, T., Sasa, T. and Morimura, Y.: Effects of oridernally intermittent illumination on the growth and some cellular characteristics of *Chlorella*. *Carnegie Inst. Wash. Pub.*, **600**, 76-81 (1953).
16. Lyttleton, J.W.: Isolation of ribosome from spinach chloroplast. *Expt. Cell Res.*, **26**, 312-317 (1962).
17. Poincelot, R.P.: Isolation and lipid composition of spinach chloroplast envelope membrane. *Arch. Biochem. Biophys.*, **159**, 134-142 (1973).
18. Douce, R., Holtz, R.B. and Benson, A.A.: Isolation and properties of the envelope of spinach chloroplast. *J. Bio. Chem.*, **20**, 7215-7222 (1973).
19. Bligh, E.G. and Dyer, W.J.: A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917 (1959).
20. Turner, J.D. and Rouser, G.: Precise quantitative determination of human lipids by thin-layer and triethylaminoethylcellulose column chromatography. II. *Plasma lipids. Anal. Biochem.*, **38**, 437-445 (1970).
21. Chapman, D.J. and Barber, J.: Chromatographic separation, identification, and analysis of phosphatides. *Method Enzymol.*, **148**, 294-319 (1987).
22. Roughan, P.G.: Plant acyl lipids-structure, distribution and analysis. *Method Enzymol.*, **148**, 327-337 (1987).
23. Song, H.I.: Increased uptake of cadmium by surfactants in a cadmium-tolerant yeast. *Kor. J. Env. Hlth. Soc.*, **22**, 104-113 (1996).
24. Roughan, P.G. and Boardman, N.K.: Lipid composition of pea and bean leaves during chloroplast development. *Plant Physiol.*, **50**, 31-34 (1972).
25. Matsuzake, T., Koiwai, A. and Kawashima, N.: Total fatty acid and polar lipid content in developing flower of *Nicotiana tabacum*. *Plant and Cell Physiol.*, **24**, 199-206 (1983).
26. Sato, N. and Murata, N.: Studies on the temperature shift-induced desaturation of fatty acids in monogalactosyl diglycerol in the blue green algae(cyanobacterium), *Anabaena variabilis*. *Plant & Cell Physiol.*, **22**, 1043-1050 (1981).
27. Gurr, M.I. and James, A.T.: Lipid biochemistry an introduction. Pressed by science paperbacks., 3rd edition. 155-177 (1980).
28. Ohlorogge, J. and Browse, J.: Lipid biosynthesis. *The Plant Cell*, **7**, 957-970 (1995).
29. Miquel, M. and Browse, J.: *Arabidopsis* mutants deficient in polyunsaturated fatty acid synthesis. Biochemical and genetic characterization of plant oleoyl-phosphatidyl choline desaturase. *J. Biol. Chem.*, **262**, 1502-1509 (1992).
30. Miquel, M., Ames, D., Dooner, H. and Browse, J.: *Arabidopsis* requires polyunsaturated lipids for low temperature survival. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **90**, 6208-6212 (1993).