

## *Escherichia coli* 와 *Bacillus subtilis* 의 인지질 생합성과 지방산 조성에 미치는 금속 화합물의 영향

성신여자대학교 자연과학대학 생물학과

박 해 경 · 이 종 삼

경기전문대학 환경공업과

서 광 석

— Abstract —

### The Effect of Metal Compounds on Biosynthesis of Phospholipid and the Fatty Acid Composition in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*.

Hye-Kyeong Park and Chong-Sam Lee

Dept. of Biology, College of Natural Sciences, Sungshin Women's University, Seoul, Korea

Kwang-Seok Seo

Dept. of Environmental Engineering, Kyung Ki Jr. College, Incheon, Korea

The effects of potassium chromate (500ppm/ 500ppm), potassium dichromate (500ppm/ 500ppm), cobalt chloride (100ppm / 10ppm), methylmercuric chloride (100ppm / 10ppm) on the biosynthesis of phospholipid and their composition of fatty acids in *E.coli* and *B.subtilis* were analyzed.

The contents of phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine, phosphatidylinositol, phosphatidylglycerol, cardiolipin and total lipids in treatment with metal compounds were lower to compare with the control.

The major fatty acid utilized for biosynthesis of phospholipid was palmitic acid in control of *E.coli* and *B.subtilis*. However, in treatment with metal compounds, changes of fatty acid composition utilized for phospholipid formation were as follows. In *E.coli* major fatty acids were palmitic acid (ave. 26.26%) and cis-vaccenic acid (ave. 10.94%) in treatment with potassium chromate, palmitic acid (ave. 31.41% / 31.42%) and stearic acid (ave. 17.92% / 19.41%) in treatment with potassium dichromate and cobalt chloride. And in treatment with methylmercuric chloride, palmitic acid (ave. 26.66%), stearic acid (ave.

15.50%) and cis-vaccenic acid (ave. 20.59%) were used in phospholipid formation. In *B. subtilis*, the major fatty acid was palmitoleic acid (ave. 15.29% / 10.22%) in treatment with potassium chromate and cobalt chloride, and stearic acid (ave. 16.01%) in treatment with potassium dichromate. On the other hand, cis-vaccenic acid (ave. 9.09%), palmitic acid (ave. 17.23%), stearic acid (ave. 6.66%), myristic acid (ave. 6.34%) and lauric acid (ave. 4.75%) were analyzed into major fatty acids in treatment with methylmercuric chloride.

As shown in results, specific fatty acid pattern was came out in treatment with metal compounds according to bacteria and treatments.

**Key Words :** metal compounds, biosynthesis of phospholipid, fatty acid composition.

## I. 서 론

미생물에서 발견되는 대부분의 지질은 세포막에 위치하며, 주로 인지질로 구성된다(Cronan과 Vagelos, 1972).

미생물의 종류에 따라 차이가 있기는 하지만 일반적으로 미생물이 함유하고 있는 인지질은 phosphatidylethanolamine, cardiolipin, phosphatidylglycerol로 알려져 있고 (De Siervo와 Homola, 1980; Goldfine, 1982), 이 외에 phosphatidylcholine, phosphatidylinositol, phosphatidylserine, phosphatidylethanolamine, phosphatidic acid 등이 존재한다(Cronan과 Vagelos, 1972). 이와 같이 인지질들은 지방산의 도입으로 합성되는데, CDP-1, 2-diacylglycerol이 여러가지 인지질 합성의 전구체로 작용하며(Cobon 등, 1974), 인지질 합성에 필요한 효소의 대부분은 세포내막에서 발견된다(Donohue-Rolfe 와 Schaechter, 1980; Duckworth, 1974).

*Micrococcus lysodeikticus*에서는 합성된 인지질이 peptidoglycan이 형성되는 동안 sugar fragments의 운반체로 작용한다(Dietrich 등, 1967). 세포막에서 이와 같은 여러가지 중요한 역할을 수행하는 인지질은 내막과 외막 사이에서 translocation을 일으키며(Donohue-Rolfe와 Schaechter, 1980), 그 구성이 포화 지방산과 불포화 지방산으로 되어 있고(Cronan and Gelman, 1975), 지질 구조의 amphipathic한 성질 때문에 세포막의 구조

가 fluid-mosaic model로 제안된다(Singer와 Nicolson, 1972).

지질 분자의 조성은 유전적 요인(Raetz, 1986)에 의해서 뿐 아니라 영양 상태, 온도, 기타 외부 요인 등의 환경 조건에 의해서도 결정 되는데(Erwin과 Bloch, 1964), 여러 생물에서 인지질과 이를 구성하는 지방산의 함량과 조성에 영향을 미치는 다양한 요인에 대한 연구 보고가 있다. Hepatoma 세포를 혈청이 첨가된 배지에서 생장시켰을 때 phosphatidylinositol과 phosphatidylethanolamine은 증가되고, phosphatidylcholine은 감소된다. 또 sphingomyelin을 제외한 다른 인지질에서는 oleic acid의 양이 증가 되었고, polyunsaturated fatty acid의 양은 감소 하였다(Wood와 Falch, 1973). Acetate가 포함된 배지에서 자란 *E. coli* N.C.T.C. 5928은 포도당이 포함된 배지에서 생육된 것보다 약 10배의 인산기가 인지질 생합성 시 필요하였다(Damoglou와 Dawes, 1968). *E. coli*를 배양시 배지에 높은 농도의 NaCl을 처리하거나(McGarrrity와 Armstrong, 1975), 산성 배지, 산소 공급 결핍, 높은 생장 온도(Broekman 등, 1974; Cronan, 1968; Knivett and Cullen, 1965)등의 조건을 제공하면, cyclopropane fatty acid의 합성이 증가하고, 불포화 지방산의 양은 감소하였다. 인지질 대사에 inositol을 요구하는 효모인 *Saccharomyces uvarum*은 inositol 결핍시 인지질 합성과 파괴 비율이 변화하여 결과적으로 세포내 지질의 양과 구조도 변화하게 된다(Daum 등, 1983). Ammonium salts의 농도가 제한된 배지에

서 배양된 세포는 포화 지방산의 하나인 palmitic acid의 비율이 높고, 포도당 농도가 제한된 배지에서 자란 세포는 불포화 지방산의 비율이 약간 높다(Marr와 Ingraham, 1962). 또한, 인지질 합성에 glycerol을 필요로 하는 *E.coli*(Cronan 등, 1975)와 *B.subtilis*(Mindich, 1972)에서 glycerol이 결핍되면, 인지질이 합성되지 않고 파괴율이 높은 유리 지방산이 축적되어 세포 생존에 영향을 미친다. Alcohol에 내성을 나타내는 미생물인 *Zymomonas mobilis*에서 포도당과 ethanol은 phosphatidylethanolamine과 phosphatidylglycerol의 양을 감소시키고, cardiolipin과 phosphatidylcholine의 양을 증가시켰다(Carey와 Ingram, 1983). 생육 시기에 따라서도 변화가 나타난다. *E.coli*의 생장이 exponential phase에서 stationary phase로 진행됨에 따라 불포화 지방산은 cyclopropane fatty acid로 변화되고, phosphatidylglycerol은 cardiolipin으로 변화된다(Cronan, 1968; Marr와 Ingraham, 1962; Kito 등, 1972). *Caulobacter crescentus*는 stationary phase가 되면 exponential phase보다 phosphatidylglycerol이 감소하고, acylphosphatidylglycerol이 증가한다(De Siervo와 Homola, 1980). 암처에서 생육된 *Chlorella vulgaris*의 지방산은 거의 포화 지방산과 monoenoic acids인데 반해, 명처에서 생육된 것에서는 포화 지방산과 polyunsaturated acids가 빠르게 합성된다(Nichols et al., 1967; Nichols, 1965). 불포화 지방산 생합성시 특수하게 억제 작용을 하는 3-decanoyl-N-acetylcysteamine(3-DNAC)는 불포화 지방산의 이중 결합 유도 효소의 활성도를 감소시켜 불포화 지방산 형성이 억제된다. 또, 항생제인 cerulenin은  $\beta$ -ketoacyl acyl carrier protein synthetase의 활성도를 저하시켜 지방산 합성을 억제한다(Cronan과 Gelman, 1975). Tris-EDTA 처리하는 *E.coli*의 세포 외막에 존재 하면서 phosphatidylethanolamine과 phosphatidylglycerol을 가수분해 하는 phospholipase A2와 phospholipase C의 작용이 가속화된다(Duckworth 등, 1974). 생육 온도가 낮아지면 palmitoleic acid와 cis-vaccenic acid같은 불포화 지방산의 양이 증가한다(Cronan, 1974).

위와 같은 지질과 여러 환경 조건의 관계에 대

한 연구 보고와 별개로, 근대 산업의 급속한 발달에 따라 생활 환경과 자연 생태계의 질서를 파괴시키는 금속 화합물(Umeda와 Nishimura, 1979)이 여러 생물에서 나타내는 작용에 관한 많은 보고가 있었다. 금속 화합물은 저농도에서도 다양한 생물의 여러가지 대사 작용에 저해 효과를 가지는데, *Chlorella* 세포에는 1ppm의 Hg를 처리해도 24시간 이내에 심한 황화 현상을 일으키며 사멸한다(Lee와 Lim, 1982). 배양된 포유동물 세포에서 생물권의 주요 오염원으로 알려져 있는 mercuric compounds의 하나인 methylmercuric chloride는 세포의 증식을 방해하고, thymidine과 uridine의 합성을 감소시키며, DNA의 single-strand scission을 일으킨다(Nakazawa 등, 1975). 또, mercury(II)는 질소성 염기와 강하게 결합함으로써 DNA와 복합체를 이룬다(Yamane와 Davidson, 1961). 이외에도 mercury는 cadmium, lead와 마찬가지로 기능적인 sulfhydryl groups을 가진 많은 효소의 작용을 저해하고, 산화적 인산화 과정을 방해하는 생화학적 작용을 나타내는데, 특히 생체막에서는 인지질과 상호작용하여 막투과성의 변화를 일으킨다(Vallee와 Ulmer, 1972). 모든 hexavalent chromium compounds는 미생물의 DNA와 직접적으로 반응하여 돌연변이를 일으키는 물론, 400-800  $\mu\text{g}/\text{plate}$ 의 양을 처리하여 배양 하면 세균의 생장이 완전히 억제된다(Petrilli와 De Flora, 1977). Potassium dichromate를 처리한 배지에서 자란 hamster fibroblasts에서는 이 금속 화합물이 세포막과 DNA에 있는 specific biological ligands와 상호 작용 함에 의해 세포내에 DNA와 RNA의 축적이 현저히 감소되었다(Levis 등, 1978). 300  $\mu\text{M}$ 의 lead와 18  $\mu\text{M}$ 의 cadmium은 soybean(*Glycine max* L.)의 mitochondria의 기능과 염록체의 광합성 작용을 저해 함으로써 pod fresh weight와 nodule에 축적 되는 탄수화물의 양을 감소시켰다(Huang 등, 1974). 1mM cadmium sulfate에 노출된 oat(*Avena sativa*)는 호흡율, ATP 함량, 막에 분포된 ATPase의 활성,  $\text{K}^+$  유출의 감소를 나타냈다(Keck, 1978). 한편, cadmium은 세포막의 calcium channel 저해제로 작용하는데, calmodulin과 결합하여 구조적인 변화를

일으키는 것으로 알려져 있다(Mills과 Johnson, 1985). Lead는 동물에서 여러가지 효소의 활성을 저해 하고, 식물에서는 뿌리 발달 세포의 유사분열을 감소 시키는데, 이러한 lead의 독성은 충분한 양의 인산이 공급 되면 감소된다는 보고가 있다(Koeppel과 Miller, 1970). 10mM의 cobalt ion은 *E.coli* 세포내로 magnesium ion의 능동수송을 방해한다(Nelson과 Kennedy, 1971). *Chlorella vulgaris*가 copper에 내성을 나타내는 등 금속 화합물에 오염된 환경에서 분리된 생물은 금속 화합물에 내성을 나타내는 경우가 있는데, 이들 세포에서는 lag 시기에 세포 크기가 증가하고 세포수가 감소됨으로써 생장이 저해 된다(Foster, 1977). Ornithine 합성의 마지막 단계를 촉매하는 효소인 acetylornithine-nase의 작용은 calcium, magnesium, manganese, iron, copper, zinc, nickel 등의 salts에 의해 저해되는 반면, cobalt ion에 의해서는 오히려 촉진되었다(Vogel과 Bonner, 1956).

이와 같이 여러가지 환경 조건이 미생물 세포의 지질 대사에 미치는 영향 및 금속 화합물이 여러가지 세포 대사에 미치는 영향에 대한 많은 보고문이 발표 되었으나, 금속 화합물에 의한 세균 세포의 인지질 생합성과 이를 구성하는 지방산 조성 및 함량 변화를 관찰한 보고는 없었다. 따라서, 본 연구에서는 인지질 생합성과 이를 구성하는 지방산의 조성 및 함량 변화에 미치는 여러가지 금속 화합물의 영향을 관찰 하고자 한다. 즉, 여러 세포 구성 성분의 변성을 초래하고, 세포의 생장 및 물질 대사 억제 등을 나타 내는 금속 화합물이 세포의 주요 인지질과 인지질 생합성은 물론 지방산 조성 변화를 대조구와 비교 분석하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. *E.coli* 및 *B.subtilis* 배양

*E.coli*와 *B.subtilis*를 금속 화합물을 처리한 배지에서 배양 하였다. 본 실험에 사용된 금속 화합물은 서와 이(미발표)가 DNA 손상과 그로부터 DNA 회복의 오류가 반영되어 나타 나는 결과를 알아 보고자 실시한 rec assay, mutagenicity 시험,

SCE 유기성 실험에서 공통 spectrum을 나타 냈던 potassium chromate ( $K_2CrO_4$ ), potassium dichromate ( $K_2Cr_2O_7$ ), cobalt chloride ( $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ ), methylmercuric chloride ( $CH_3HgCl$ )의 네 가지이다.

Nutrient broth 배지에서 예비 실험 결과 얻어진 *E.coli*에 대한 저해 농도인 potassium chromate 500ppm, potassium dichromate 500ppm, cobalt chloride 100ppm, methylmercuric chloride 100ppm과 *B.subtilis*에 대한 저해 농도인 potassium chromate 500ppm, potassium dichromate 500ppm, cobalt chloride 10ppm, methylmercuric chloride 10ppm을 첨가한 후 일정량의 세포를 접종하여 37℃에서 4일간 진탕 배양 (130rpm/min.) 하였다. 배양 기간 동안의 세포 생장은 건조량으로 측정하였다.

### 2. Total lipid 추출

Bligh와 Dyer(1959)의 방법으로 세포에 함유되어 있는 total lipid를 추출 하였다. 수확된 세포를 mortar에서 갈아 파괴한 후, 여기에 chloroform : methanol을 1 : 2(v/v)의 비율로 첨가하여 진탕하고, 동량의 증류수를 첨가 하여 혼합 시킨 다음 방치하여 분리 시켰다. 분리된 chloroform층을 whatmann No.1 filter paper에 여과시켜 total lipid를 추출 하였다. 남아 있는 methanol 층에 chloroform을 첨가 하여 혼합 시킨 후 분리된 chloroform층을 동일 여과지에 여과 시켜 total lipid를 재추출 하였다. 이 total lipid 추출물을 40-50℃ dry oven에서 건조 시켜 함량을 측정 하였다.

### 3. 인지질의 분리와 동정

Thin layer chromatography(TLC, Desaga)를 이용하여 추출된 total lipid에 들어 있는 주요 인지질인 phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylcholine (PC), phosphatidylinositol (PI), phosphatidylglycerol (PG), cardiolipin (CL)을 분리하였다. TLC glass plate(20×20cm)에 silica gel(Merck, 60G)을 0.25mm 두께로 입혀 실온에서 건조시킨 후 사용 직전에 110-120℃의 dry oven에서 60분간 활성화 시켜 사용 하였다. 전개는 Turner와

Rouser(1970)의 방법에 따라 two-one dimension method로 수행 하였으며, 이때 1차 전개용매로는 chloroform: methanol: 28% ammonia water(65: 25: 2), 2차 전개 용매로는 chloroform: acetone: methanol: acetic acid: distilled water(3: 4: 1: 1: 0.5)의 혼합 용매를 이용 하였다. Total lipid를 전개하여 분리된 각 각의 인지질들은 표준품(Sigma)과 비교 동정 하였으며, 발색 시약으로는 PE는 0.2% butanol성 ninhydrin 용액, PC는 dragendorff 용액, PI는 periodate-Shiff's 용액, PG와 CL은 20% ethanol성 sulfuric acid를 사용하였다 (Skipski와 Ballay, 1969).

#### 4. 지방산의 methyl ester화

분리된 각각의 인지질을 구성 하는 지방산의 조성 및 양적 변화를 GC로 분석 하기 위하여 Allen과 Good(1971)의 방법에 의하여 PE, PC, PI, PG, CL을 methyl ester화 시켰다. 각 plate에서 분리한 인지질에 5% sulfuric acid를 함유한 methanol 용액 5 ml와 internal standard인 heptadecanoic acid(Sigma)를 첨가 하여 68-70°C dry oven에 120분간 방치한 뒤 냉각 하여 동량의 증류수를 넣고 진탕 하였다. 여기에 2ml의 hexane을 넣고 강하게 진탕한 후 분리된 hexane 층을 취하였는데, 이 분리 조작을 3회 반복 하였다. Methyl ester화한 지방산이 함유된 hexane 층에 sodium bicarbonate 포화 용액 5ml를 넣고 진탕한 후 다시 hexane 층만을 취하였다. 분리된 hexane 층을 건조시켜 각 인지질의 fatty acid methyl ester의 함량을 측정 하였다.

#### 5. 지방산의 조성 분석

각 인지질을 구성하는 지방산들의 종류와 함량은 gas chromatography(GC, Varian 3300)을 이용하여 분석 하였다. 각 지방산의 동정은 lauric acid(12:0), myristic acid(14:0), palmitic acid(16:0), palmitoleic acid(16:1), stearic acid(18:0), cis-vaccenic acid(18:1), linoleic acid(18:2), linolenic acid(18:3)의 표준품 (Sigma)과 비교하여 결정 하였다.

사용한 GC detector는 H<sub>2</sub>-frame ionization de-

ctor이며, 사용한 column은 stainless steel column(3mm×2.5m)으로 15% DEGS(diethylglycol succinate)를 충전제로 하였으며, 분석 조건은 다음과 같다.

Injection Port Temperature	230°C
Column Temperature	170°C
Detector Oven Temperature	250°C
Carrier Gas	N <sub>2</sub> (30ml/min.)

### Ⅲ. 결 과

#### 1. *E.coli* 및 *B.subtilis* 세포의 성장

금속 화합물인 potassium chromate (K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>), potassium dichromate (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), cobalt chloride (CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O), methylmercuric chloride (CH<sub>3</sub>HgCl)가 함유된 각각의 배지에서 배양한 *E.coli* 와 *B.subtilis*의 세포 성장을 Fig. 1에 표시 하였다. Fig. 1에 나타난 바와 같이 대조구에 비해 금속 화합물을 처리한 처리구에서는 성장 억제 현상이 나타났다. 즉, 배양 기간동안 *E.coli*에서 potassium chromate (500ppm) 처리구는 평균 41.92%, potassium dichromate (500ppm) 처리구는 평균 41.82%, cobalt chloride (100ppm) 처리구는 평균 39.13%, methylmercuric chloride (100ppm) 처리구는 평균 39.09%의 성장 억제율을 보였으며, *B.subtilis*는 potassium chromate (500ppm) 처리구에서는 평균 31.34%, potassium dichromate (500ppm) 처리구는 평균 30.65%, cobalt chloride (10ppm) 처리구는 평균 41.80%, methylmercuric chloride (10ppm) 처리구는 평균 27.94%의 성장 억제율을 나타냈다.

이와 같은 결과에서 세균 세포의 성장 저해 효과는 *E.coli*의 경우 4가지 금속 화합물 처리구가 비슷하게 나타 났으나, *B.subtilis*는 cobalt chloride (10ppm)의 억제 효과가 가장 뚜렷하게 나타났다.

#### 2. Total lipid 함량 변화

금속 화합물을 처리한 배지에서 배양한 *E.coli* 와 *B.subtilis*의 total lipid 함량 변화는 Fig. 2에

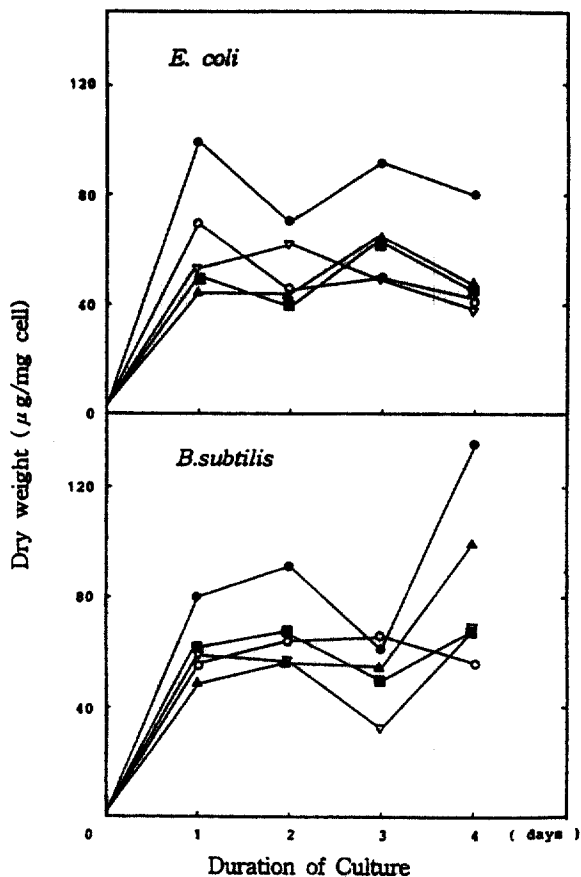


Fig. 1. Effects of metal compounds on the growth of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* during the cultivation.

●: Control ▲: Potassium chromate ■: Potassium dichromate ▽: Cobalt chloride ○: Methylmercuric chloride

표시하였다. *E. coli*와 *B. subtilis*에서 대조구의 total lipid 함량 변화율은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 배양초에 비하여 배양 1일에 현저한 증가를 보였으나, 배양 2, 3, 4일에는 배양 1일째와 거의 비슷한 함량이 유지되었다.

금속 화합물을 처리한 배지에서 배양된 세포의 배양 기간중 total lipid 함량 변화를 보면, *E. coli*는 대조구에 비해 potassium chromate (500ppm) 처리구는 평균 52.57%, potassium dichromate (500ppm) 처리구는 평균 54.64%, cobalt chloride (100ppm) 처리구는 평균 58.23%, methylmercuric chloride (100ppm) 처리구는 평균 55.63%의 감소

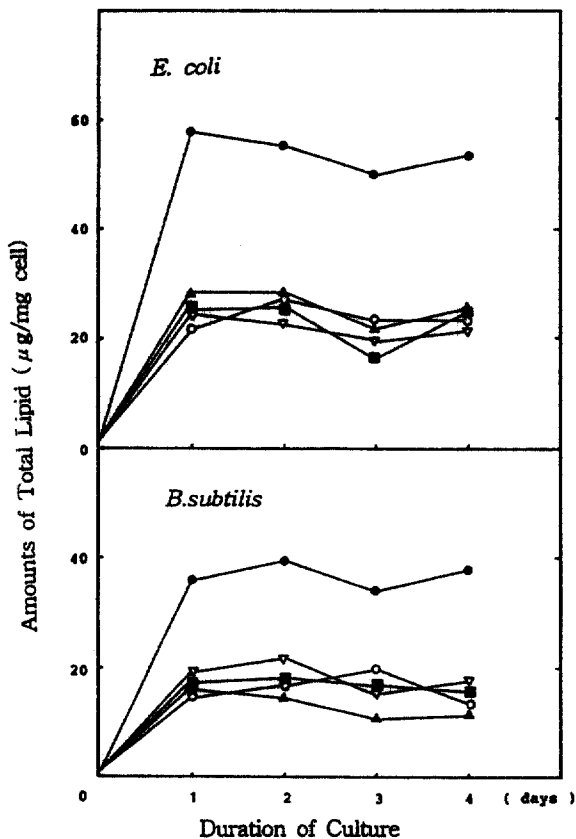


Fig. 2. Changes in contents of total lipids in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* treated with metal compounds during the cultivation

●: Control ▲: Potassium chromate ■: Potassium dichromate ▽: Cobalt chloride ○: Methylmercuric chloride

율을 보였는데, methylmercuric chloride 처리구는 배양 1일째에, 나머지 처리구는 배양 3일째에 대조구에 비해 가장 높은 감소율을 나타냈다. 한편, *B. subtilis*는 대조구에 비해 potassium chromate (500ppm) 처리구는 평균 63.82%, potassium dichromate (500ppm) 처리구는 평균 53.63%, cobalt chloride (10ppm) 처리구는 평균 50.57%, methylmercuric chloride (10ppm) 처리구는 평균 54.41%의 감소율을 보였는데, 각각의 처리구는 대조구에 비해 배양 4일째에 가장 높은 감소율을 나타냈다.

이와 같이 *E. coli*와 *B. subtilis* 세포에서 배양 기간동안 total lipid의 함량이 금속 화합물에 의하여

50% 이상의 높은 억제 효과를 나타냄이 관찰 되었다.

### 3. Total fatty acid methyl esters의 양적 변화

각 처리구별 total fatty acid methyl esters의 함량 변화는 Fig. 3에 표시 하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 *E.coli*에서 potassium chromate (500ppm) 처리구는 평균 23.75%, potassium dichromate (500ppm) 처리구는 평균 29.60%, cobalt chloride (100ppm) 처리구는 평균 35.69%, methylmercuric chloride (100ppm) 처리구는 평균 43.71%의 감소율을 나타냈고, *B.subtilis*에서는 potassium chromate (500ppm) 처리구는 평균 29.

60%, potassium dichromate (500ppm) 처리구는 평균 40.46%, cobalt chloride (10ppm) 처리구는 평균 53.76%, methylmercuric chloride (10ppm) 처리구는 평균 40.36%의 감소율이 관찰 되었다. 즉, *E.coli*는 methylmercuric chloride, *B.subtilis*에서는 cobalt chloride가 다른 처리구에 비해 뚜렷한 억제 현상을 나타냈다.

### 4. 여러가지 인지질의 함량 변화

각 처리구별 여러가지 인지질의 함량 변화는 Fig. 4, 5, 6, 7에 각각 표시하였다. Fig. 4, 5, 6, 7, 8에 나타난 바와 같이 대조구의 인지질 함량을 보면, *E.coli*에서 phosphatidylethanolamine (PE)

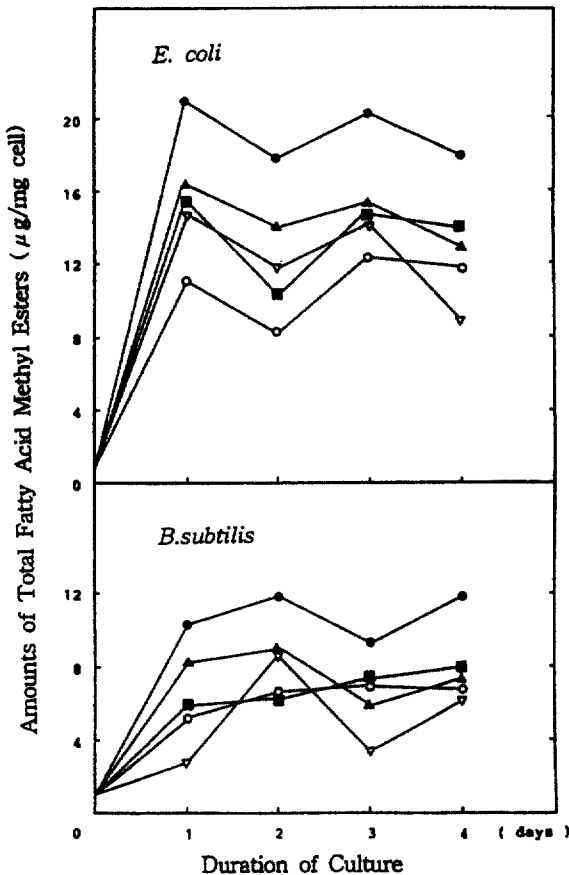


Fig. 3. Changes in contents of total fatty acid methyl esters in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* treated with metal compounds during the cultivation.  
 ●: Control ▲: Potassium chromate ■: Potassium dichromate ▽: Cobalt chloride ○: Methylmercuric chloride

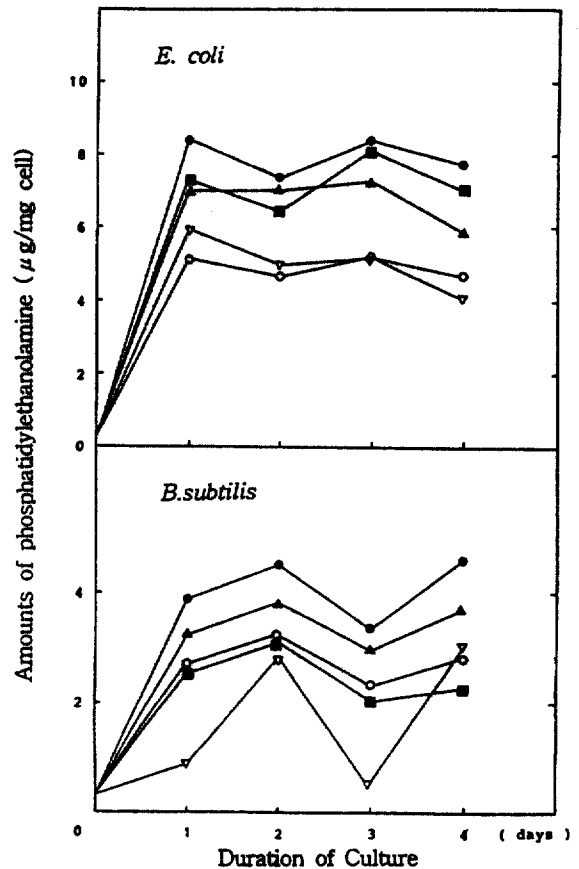


Fig. 4. Changes in contents of phosphatidylethanolamine in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* treated with metal compounds during the cultivation.  
 ●: Control ▲: Potassium chromate ■: Potassium dichromate ▽: Cobalt chloride ○: Methylmercuric chloride

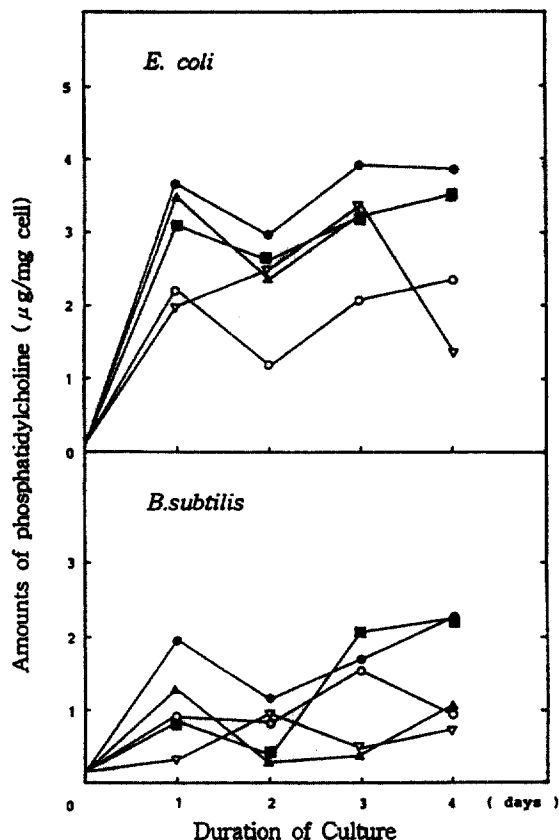


Fig. 5. Changes in contents of phosphatidylethanolamine in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* treated with metal compounds during the cultivation.

● : Control ▲ : Potassium chromate ■ : Potassium dichromate ▽ : Cobalt chloride ○ : Methylmercuric chloride

의 함량은 total lipid 중 14.79%, phosphatidylcholine (PC)은 6.69%, phosphatidylinositol (PI)는 3.87%, phosphatidylglycerol (PG)는 4.17%, cardiolipin (CL)은 6.13% 함유되어 있고, *B. subtilis* 대조구에서는 total lipid 중 PE의 함량은 11.12%, PC는 4.79%, PI는 4.40%, PG는 5.39%, CL은 3.77% 함유되어 있는 것으로 나타나, *E. coli*와 *B. subtilis* 모두 대조구는 인지질 중에서 PE의 함량이 가장 높은 것으로 나타났다.

금속 화합물에 의한 각 인지질들의 함량 변화는 다음과 같다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 PE는 배양 기간 동안 대조구에 비해 *E. coli*에서 potassium chromate 처리구는 14.86%, potassium dichromate 처리구는 9.95%, cobalt chloride 처리

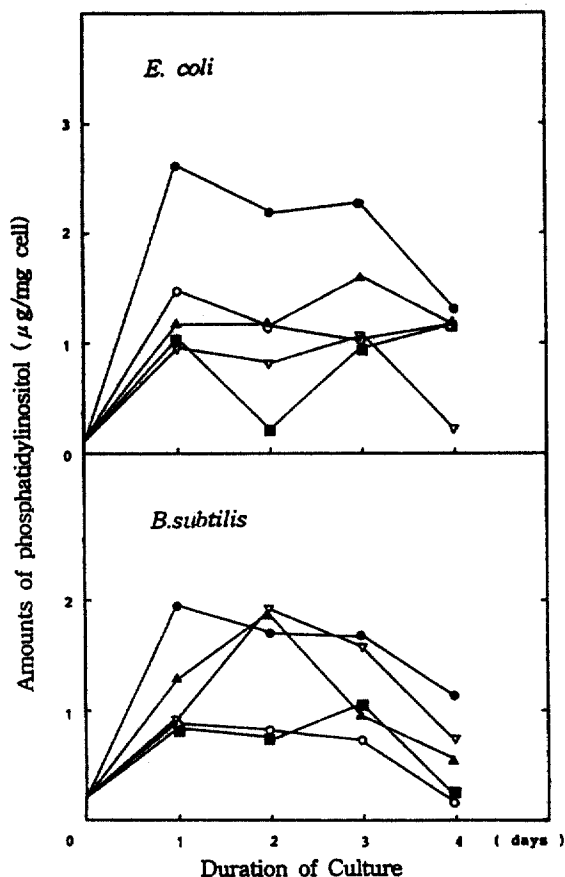


Fig. 6. Changes in contents of phosphatidylinositol in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* treated with metal compounds during the cultivation.

● : Control ▲ : Potassium chromate ■ : Potassium dichromate ▽ : Cobalt chloride ○ : Methylmercuric chloride

구는 36.78%, methylmercuric chloride 처리구는 38.41%의 억제율을, *B. subtilis*에서 potassium chromate 처리구는 15.59%, potassium dichromate 처리구는 38.12%, cobalt chloride 처리구는 58.17%, methylmercuric chloride 처리구는 31.68%의 억제율을 나타내어, PE에 대한 potassium dichromate와 cobalt chloride의 억제 효과는 *E. coli*보다 *B. subtilis*에서 더 높게 나타났고, methylmercuric chloride는 오히려 *E. coli*가 *B. subtilis*보다 억제 효과가 크게 나타났다.

PC는 Fig. 5에서와 같이 배양 기간 동안 대조구에 비해 *E. coli*에서 potassium chromate 처리구는 12.53%, potassium dichromate 처리구는 13.



93%, cobalt chloride 처리구는 38.16%, methylmercuric chloride 처리구는 45.96%의 억제율을, *B.subtilis*에서 potassium chromate 처리구는 66.67%, potassium dichromate 처리구는 25.86%, cobalt chloride 처리구는 75.86%, methylmercuric chloride 처리구는 39.66%의 억제율을 나타내 PC에 대한 potassium chromate, potassium dichromate, cobalt chloride의 억제 효과는 *E.coli* 보다 *B.subtilis*에서 더 높게 나타났고, methylmercuric chloride는 *E.coli*가 *B.subtilis*보다 억제 효과가 크게 나타났다.

Fig. 6에 표기된 바와 같이 PI는 배양 기간 동안 대조구에 비해 *E.coli*에서 potassium chromate

처리구는 38.94%, potassium dichromate 처리구는 63.94%, cobalt chloride 처리구는 65.87%, methylmercuric chloride 처리구는 42.31%의 억제율을, *B.subtilis*에서 potassium chromate 처리구는 26.88%, potassium dichromate 처리구는 58.75%, cobalt chloride 처리구는 20.00%, methylmercuric chloride 처리구는 61.88%의 억제율을 보여서, PI에 대해서는 PE와 PC에 대해서와 반대로 potassium chromate, potassium dichromate, cobalt chloride의 억제 효과는 *B.subtilis*보다 *E.coli*에서 더 높게 나타났고, methylmercuric chloride는 *B.subtilis*가 *E.coli*보다 억제 효과가 크게 나타났다.

PG에 대한 금속 화합물의 영향은 Fig. 7에 표시하였는데, 배양 기간 동안 대조구에 비해 *E.coli*에서 potassium chromate 처리구는 29.91%, potassium dichromate 처리구는 66.52%, cobalt chloride 처리구는 26.79%, methylmercuric chloride 처리구는 63.84%의 억제율을, *B.subtilis*에서 potassium chromate 처리구는 51.53%, potassium dichromate 처리구는 37.24%, cobalt chloride 처리구는 34.69%, methylmercuric chloride 처리구는 34.18%의 억제율을 나타내서, PG에 대한 potassium chromate와 cobalt chloride의 억제 효과는 *E.coli*보다 *B.subtilis*에서, potassium dichromate와 methylmercuric chloride의 억제 효과는 *B.subtilis*보다 *E.coli*에서 더 높게 나타났다.

CL은 Fig. 8에서 나타난 바와 같이, 배양 기간 중 대조구에 비해 *E.coli*에서 potassium chromate 처리구는 43.47%, potassium dichromate 처리구는 45.90%, cobalt chloride 처리구는 14.59%, methylmercuric chloride 처리구는 41.03%의 억제율을, *B.subtilis*에서 potassium dichromate 처리구는 23.36%, cobalt chloride 처리구는 69.34%, methylmercuric chloride 처리구는 54.01%의 억제율을 보인데 비해, *B.subtilis*에서 potassium chromate 처리구는 오히려 CL이 평균 3.65%의 증가율을 보였다. 즉, CL에 대한 potassium chromate와 potassium dichromate의 억제 효과는 *E.coli*가 *B.subtilis*보다 높게 나타났고, cobalt chloride와 methylmercuric chloride의 억제 효과는 *E.coli*보

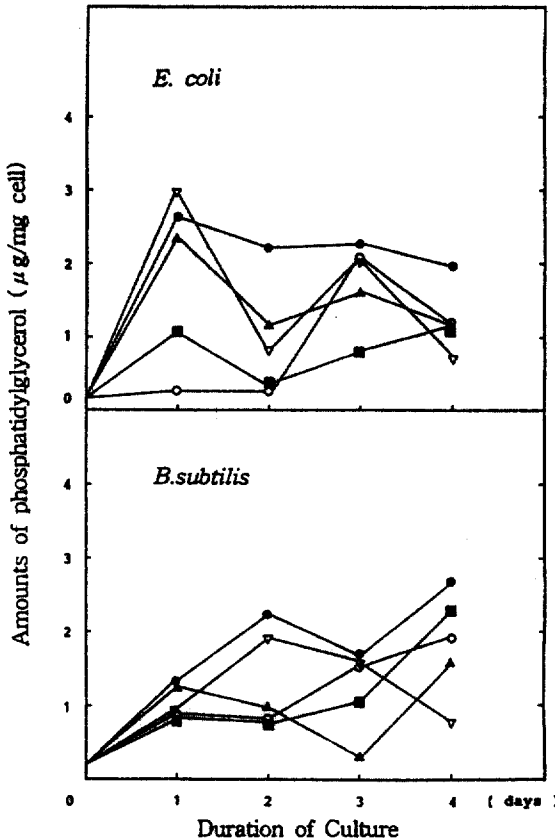


Fig. 7. Changes in contents of phosphatidylethanolamine in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* treated with metal compounds during the cultivation.  
 ●: Control ▲: Potassium chromate ■: Potassium dichromate ▽: Cobalt chloride ○: Methylmercuric chloride

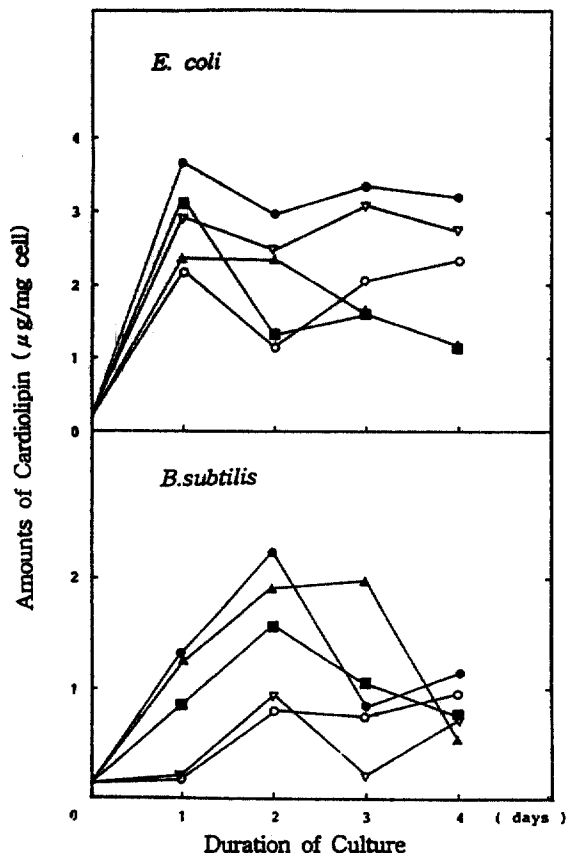


Fig. 8. Changes in contents of cardiolipin in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* treated with metal compounds during the cultivation.

●: Control ▲: Potassium chromate ■: Potassium dichromate ▽: Cobalt chloride ○: Methylmercuric chloride

다 *B. subtilis* 에서 더 높게 나타났다.

## 5. 인지질의 지방산 분석

*E. coli* 와 *B. subtilis* 의 인지질인 PE, PC, PI, PG, CL 합성 이용되는 지방산중 lauric acid (12:0), myristic acid (14:0), palmitic acid (16:0), palmitoleic acid (16:1), stearic acid (18:0), cisvaccenic acid (18:1), linoleic acid (18:2), linolenic acid (18:3)의 조성 변화를 분석 하였다. 표준품의 분석은 Fig. 9에, 금속 화합물을 처리 하였을 때 인지질의 지방산 변화는 Table 1에서 Table 10까지에 각각 나타 내었다. Table 1에서 10까지에서 보면 같은 조건의 환경이라 하더라도 생육 시기

에 따라 인지질을 구성 하는 지방산의 조성에 변화가 있는 것으로 관찰 되었다.

PE를 구성하는 지방산의 조성 변화는 Table 1과 2에 나타난 바와 같이 *E. coli*의 경우 대조구는 palmitic acid가 배양 1일에 22.18%, 2일에 53.17%, 3일에 50.63%, 4일에 51.43%로 주로 사용 되었고, myristic acid와 palmitoleic acid가 배양 기간중 각각 평균 7.77%, 13.47% 이용 되었다. *B. subtilis* 대조구는 배양 1일에 myristic acid 14.32%, cis-vaccenic acid 18.59%를 이용 하였고, 배양 2일에는 myristic acid 15.74%, palmitoleic acid 21.55%, cis-vaccenic acid 21.06%로 분석 되었다. 배양 3일에는 myristic acid가 15.04%, lauric acid와 palmitoleic acid가 각각 9.46%, 7.44%의 이용율을 보였으며, 배양 4일에는 myristic acid 9.25%, palmitoleic acid가 30.54%로 조사 되어 *E. coli* 대조구에서 palmitic acid가 많은 이용율을 보인테 비해 *B. subtilis* 대조구는 palmitoleic acid의 이용율이 높았다. 또, *E. coli* 와 *B. subtilis* 공통적으로 myristic acid가 많이 이용 되었다. Potassium chromate 처리구는 *E. coli* 경우 palmitic acid와 cis-vaccenic acid가 각각 배양 1일에 30.61%와 9.89%, 2일에 31.97%와 29.42%, 3일에 33.03%와 24.71%, 4일에 18.97%와 31.21% 사용되었고, *B. subtilis*는 palmitic acid와 stearic acid가 배양 1일에 21.85%와 22.05%, 4일에는 26.11%와 27.41%, 2일과 3일에는 palmitoleic acid가 26.37%와 33.04% 이용 되었다. Potassium dichromate 처리구는 *E. coli* 배양 1일에 stearic acid 21.60%, linoleic acid 19.29%가 이용 되었고, myristic acid와 stearic acid가 배양 2일에 22.28%와 35.83%, 3일에 38.85%와 22.97%, 4일에 32.29%와 20.29%의 이용율을 나타냈다.

*B. subtilis*는 배양 1일과 2일에는 palmitic acid와 stearic acid가 각각 32.81%와 19.96%, 24.83%와 14.44% 사용 되었고, 3일에는 palmitoleic acid 17.79%, linoleic acid 23.58%, 4일에는 palmitic acid 16.09%, palmitoleic acid 28.51%가 도입 되었다. *E. coli* 에서 cobalt chloride 처리구는 palmitic acid와 stearic acid가 각각 배양 1일에 23.98%와 12.63%, 2일에 32.58%와 25.53%, 3일에 25.

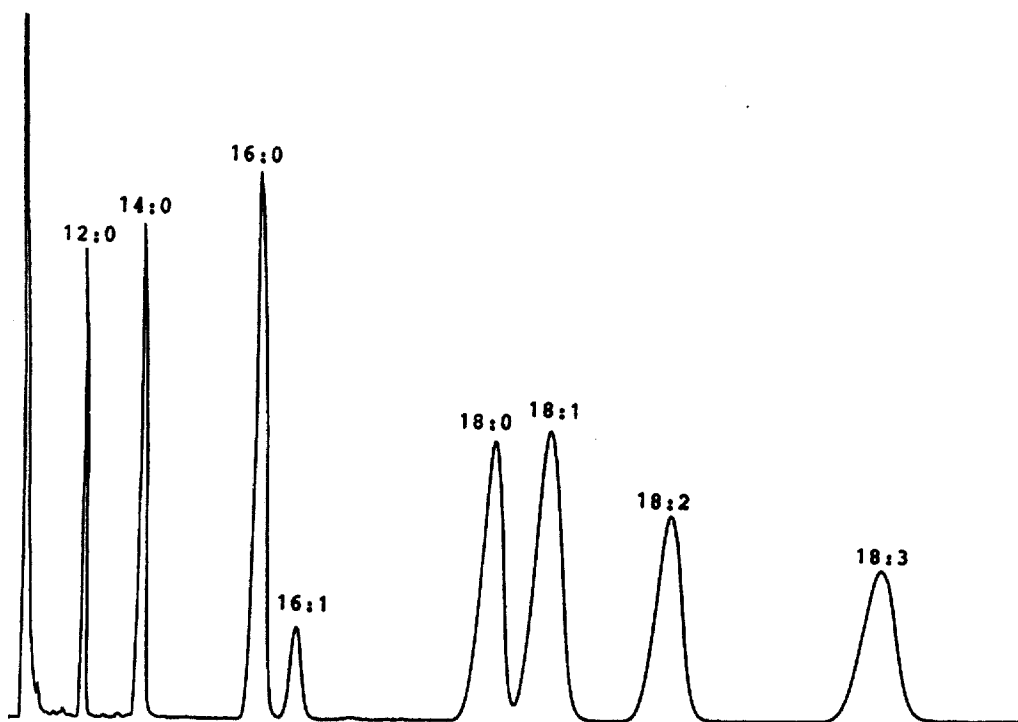


Fig. 9. Chromatogram of a standard mixture of fatty acid methyl esters.

09%와 33.77%, 4일에 20.73%와 10.77%로 주로 이용된 지방산이었고, *B.subtilis*에서는 배양 1일에 palmitoleic acid 10.52%, 2일에 stearic acid 13.43%, linoleic acid 12.73%, 3일에 palmitoleic acid 13.09%, stearic acid 11.69%, linoleic acid 10.40%, 배양 4일에 stearic acid 19.22%, linoleic acid 19.37%가 이용되었다. Methylmercuric chloride 처리구는 *E.coli*에서 배양 1일에 stearic acid와 cis-vaccenic acid가 16.60%와 60.28% 이용되었고, 2일과 3일에는 palmitic acid가 각각 32.82%와 31.31%, cis-vaccenic acid가 27.95%와 30.49%, 4일에는 palmitic acid 27.97%의 이용율이 관찰 되었으며, *B.subtilis*에서는 배양 1일에 palmitic acid 21.36%, cis-vaccenic acid 24.78%, 2일과 3일에는 cis-vaccenic acid가 각각 22.43%와 25.71%, 4일에는 palmitic acid 21.56%, cis-vaccenic acid 31.97% 이용된 것이 관찰 되었다.

Table 3, 4와 같이 PC의 지방산 조성 변화는 *E.coli* 대조구의 경우 배양초와 배양 1일에는 palmitic acid와 palmitoleic acid가 10.43%와 14.48%, 19.70%와 15.97%였고, 2일에는 lauric ac-

id와 palmitic acid가 10.82%와 51.81%, 3일과 4일에는 palmitic acid가 각각 16.76%, 45.56% 활용되었다. *B.subtilis* 대조구는 배양 초에는 palmitic acid와 cis-vaccenic acid가 22.90%와 23.75%, 배양 1일에는 palmitic acid 18.56%, 2일, 3일, 4일에는 palmitic acid와 palmitoleic acid가 18.57%와 19.20%, 22.95%와 20.74%, 14.63%와 18.36%로써 주요 구성 지방산으로 관찰 되었다. *E.coli*와 *B.subtilis*의 PC는 공통적으로 지방산 중 palmitic acid의 이용율이 높았다. *E.coli*에 potassium chromate를 처리 하였을때 배양 기간 동안 palmitic acid가 주요 구성원으로 조사 되었고, *B.subtilis*를 처리하였을때는 배양 1일에 palmitic acid와 stearic acid가 38.29%와 20.00%, 2일에 linoleic acid가 62.72%, 3일에 palmitoleic acid와 cis-vaccenic acid가 35.93%와 23.56%, 4일에 palmitic acid 34.86%가 이용 되었다. Potassium dichromate 처리 시에는 *E.coli* 배양 1일에 lauric acid 33.42%, myristic acid 13.30%가 이용 되었고, 배양 2일, 3일, 4일에는 palmitic acid와 stearic acid가 22.07%와 19.18%, 41.09%와 23.21%,

Table 1. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylethanolamine in *Escherichia coli* treated with metal compounds during the cultivation.

Duration of Culture ( days )	1					2					3					4					
	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	
Fatty acid																					
Lauroic acid ( 12:0 )	-	trace	1.72	9.98	0.53	trace	2.25	1.31	0.55	1.89	-	2.38	1.60	1.15	3.72	-	3.70	0.28	0.28	1.35	
Myristic acid ( 14:0 )	1.93	6.48	2.00	3.88	3.73	1.47	9.02	6.41	3.47	3.63	11.73	10.82	7.76	7.24	2.68	9.78	10.60	7.99	3.65	1.71	
Palmitic acid ( 16:0 )	7.00	22.18	30.61	7.24	23.98	-	53.17	31.97	22.28	32.58	32.82	50.63	33.03	38.85	25.09	31.31	51.43	18.97	32.29	20.73	
Palmitoleic acid ( 16:1 )	18.99	16.34	5.81	0.60	3.95	-	15.96	3.50	1.77	3.45	0.91	10.25	11.44	4.37	2.52	-	5.82	-	4.10	1.44	
Stearic acid ( 18:0 )	2.54	1.84	3.74	21.60	12.63	16.60	1.79	1.51	35.83	25.53	3.87	2.59	4.78	22.97	33.77	3.77	5.97	4.96	20.29	10.77	
cis-Vaccenic acid ( 18:1 )	7.79	6.04	9.89	1.34	6.07	60.28	5.46	29.42	6.39	13.21	27.95	5.85	24.71	11.21	14.19	30.49	5.73	31.21	-	10.15	
Linoleic acid ( 18:2 )	1.79	1.06	-	19.29	-	-	-	-	-	-	0.41	3.56	-	-	-	2.09	-	-	-	0.32	
Linolenic acid ( 18:3 )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Unknown	59.96	46.06	46.23	36.07	49.11	21.65	14.60	24.94	28.95	21.06	20.42	16.30	15.90	13.78	20.60	18.84	20.45	33.17	39.39	54.82	
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	100.00	100.00	100.00	
< NOTE > Cont : Control    P. C : Potassium chromate    P. D : Potassium dichromate    C. C : Cobalt chloride    M. C : Methylmercuric chloride    < UNIT > %																					

Table 2. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylcholine in *Bacillus subtilis* treated with metal compounds during the cultivation.

Duration of Culture ( days )	1					2					3					4					
	Cont	P. C	P. D	C. C	H. C	Cont	P. C	P. D	C. C	H. C	Cont	P. C	P. D	C. C	H. C	Cont	P. C	P. D	C. C	H. C	
Fatty acid																					
Lauroic acid ( 12:0 )	2.37	1.03	1.27	-	0.48	8.90	9.91	2.64	-	0.85	3.40	9.46	3.38	0.70	-	4.03	4.89	5.05	-	1.45	4.67
Myristic acid ( 14:0 )	7.52	14.32	0.01	3.07	0.55	5.34	15.74	0.68	2.21	0.67	7.69	15.04	11.38	0.38	1.05	7.66	9.25	8.66	0.66	1.01	6.80
Palmitic acid ( 16:0 )	6.28	5.67	21.85	32.81	4.92	21.36	4.98	4.74	24.83	4.83	4.17	5.90	6.71	1.40	7.99	3.48	5.46	3.92	16.09	5.42	21.56
Palmitoleic acid ( 16:1 )	2.93	9.46	6.76	15.69	10.52	0.28	21.55	26.37	12.07	7.74	0.51	7.44	33.04	17.79	13.09	-	30.54	26.11	28.51	3.84	-
Stearic acid ( 18:0 )	4.43	2.89	22.05	19.96	7.99	2.82	2.84	4.69	14.44	13.43	0.35	2.36	5.19	-	11.69	0.39	5.88	27.41	2.95	19.22	0.30
cis-Vaccenic acid ( 18:1 )	20.90	18.59	2.15	8.18	0.78	24.78	21.06	1.61	9.94	1.07	22.43	2.21	2.74	1.19	2.27	25.71	0.97	1.51	1.81	1.44	31.97
Linoleic acid ( 18:2 )	-	-	-	-	6.17	1.65	-	-	-	12.73	0.26	-	-	23.58	10.40	0.22	-	-	3.91	19.37	0.90
Linolenic acid ( 18:3 )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.68	-	-	-	-	-	-	-
Unknown	55.57	48.04	45.91	20.29	68.59	34.87	23.92	59.27	36.51	58.68	61.17	57.59	37.56	54.28	53.51	58.51	43.01	27.34	46.07	48.25	33.80
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	100.00	100.00	100.00	100.00
< NOTE > Cont : Control P. C : Potassium chromate P. D : Potassium dichromate N. C : Methyleneuric chloride < UNIT > %																					

< NOTE > Cont : Control P. C : Potassium chromate P. D : Potassium dichromate C. C : Cobalt chloride H. C : Methylsuccinic chloride < UNIT > %

Table 3. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylcholine in *Escherichia coli* treated with metal compounds during the cultivation.

Duration of Culture ( days )	1					2					3					4					
	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	
Fatty acid																					
Lauric acid ( 12:0 )	3.92	6.26	-	33.42	0.49	1.79	10.82	-	2.36	1.63	7.40	-	3.35	1.73	0.45	7.72	0.99	2.48	0.86	0.51	
Myristic acid ( 14:0 )	4.97	4.02	5.25	13.30	1.79	6.84	8.22	4.95	6.46	3.71	6.31	3.33	7.88	4.73	3.29	5.28	4.76	4.93	2.79	2.02	
Palmitic acid ( 16:0 )	10.43	19.70	32.48	6.01	17.51	28.52	51.81	34.16	22.07	41.32	9.91	16.76	43.61	41.09	32.35	9.28	45.56	32.82	28.39	25.48	
Palmitoleic acid ( 16:1 )	14.48	15.97	11.82	1.04	12.67	2.69	7.60	19.49	2.80	5.29	-	5.84	18.09	3.56	3.33	0.39	5.69	11.55	11.45	3.18	
Stearic acid ( 18:0 )	3.81	2.00	7.12	0.80	12.38	15.81	2.10	10.07	19.18	14.25	7.37	1.64	15.00	23.21	12.36	4.13	5.68	9.97	19.93	10.70	
cis-Vaccenic acid ( 18:1 )	6.69	6.79	21.81	0.70	30.71	26.02	6.79	11.20	9.91	11.34	23.38	2.71	-	14.79	15.63	25.50	11.48	21.82	8.35	27.29	
Linoleic acid ( 18:2 )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.25	
Linolenic acid ( 18:3 )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Unknown	55.70	45.26	21.52	44.73	24.45	18.33	45.26	20.13	36.57	21.73	51.40	62.32	15.42	9.27	31.31	54.97	19.77	17.92	26.61	80.08	
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	100.00	100.00	100.00	
< NOTE >	Cont : Control	P. C : Potassium chromate	P. D : Potassium dichromate	C. C : Cobalt chloride	M. C : Methylmercuric chloride	< UNIT > %															

< NOTE > Cont : Control P. C : Potassium chromate P. D : Potassium dichromate C. C : Cobalt chloride M. C : Methylmercuric chloride < UNIT > %

Table 4. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylcholine in *Bacillus subtilis* treated with metal compounds during the cultivation.

Duration of Culture ( days )	0				1				2				3				4			
	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C
<b>Fatty acid</b>																				
Lauroic acid ( 12:0 )	3.29	0.15	-	-	trace	1.46	0.43	-	-	0.75	0.40	1.79	-	-	0.78	0.09	0.37	-	-	-
Myristic acid ( 14:0 )	10.55	4.91	2.35	4.30	1.83	5.33	2.80	0.58	3.58	0.95	4.75	3.03	3.35	4.31	1.05	4.35	3.33	0.75	2.65	1.87
Palmitic acid ( 16:0 )	22.90	18.56	38.29	30.00	16.98	28.59	18.57	12.24	34.12	5.60	19.98	22.95	6.04	44.07	7.66	26.57	14.63	34.86	35.31	11.87
Palmitoleic acid ( 18:1 )	5.90	0.97	8.67	1.81	7.32	2.66	19.20	3.18	6.52	1.44	0.79	20.74	35.83	-	2.72	-	18.36	4.62	-	2.38
Stearic acid ( 18:0 )	10.19	8.37	20.00	15.82	12.80	16.09	10.62	5.46	20.19	16.44	12.62	12.62	-	23.95	7.49	10.69	11.99	8.23	20.12	10.72
cis-Vaccenic acid ( 18:1 )	13.75	5.22	9.32	8.72	4.73	5.26	3.65	4.04	10.16	1.62	3.40	5.73	23.58	12.14	3.71	2.83	3.85	-	12.82	4.21
Linoleic acid ( 18:2 )	-	-	-	-	9.89	3.23	3.80	-	62.72	10.38	16.54	3.65	-	6.31	1.62	2.46	-	-	7.22	4.48
Linolenic acid ( 18:3 )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Unknown	33.42	61.82	21.37	29.46	53.11	36.81	44.73	11.78	15.06	57.40	54.06	34.54	29.33	9.22	75.75	52.22	47.75	51.17	21.78	64.47
<b>Total</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>

< NOTE > Cont : Control    P. C : Potassium chromate    P. D : Potassium dichromate    C. C : Cobalt chloride    M. C : Methylmercuric chloride    < UNIT > %

28.39%와 19.93% 도입 되었다. Potassium dichromate를 처리한 *B.subtilis*는 배양 기간중 palmitic acid와 stearic acid가 1일에 30.00%와 15.82%, 2일에 34.12%와 20.19%, 3일에 44.07%와 23.95%, 4일에 35.31%와 20.12%가 이용된 것으로 관찰 되었다. Cobalt chloride 처리구의 경우는 *E.coli* 배양 1일에 cis-vaccenic acid가 30.71%, 2일과 3일에 palmitic acid가 41.32%와 32.35%, 4일에 palmitic acid와 cis-vaccenic acid가 25.48%와 27.29%였고, *B.subtilis*는 배양 1일에 palmitic acid 16.98%, 2일에 stearic acid와 linoleic acid가 16.44%와 16.54%, 4일에 palmitic acid 11.87%가 이용 되었다. Methylmercuric chloride를 처리 하였을때 *E.coli*는 배양 1일에 palmitic acid 28.52%, cis-vaccenic acid 26.02%, 2일과 3일에는 cis-vaccenic acid가 23.38%와 25.50%, 4일에 stearic acid가 19.45% 도입 되었고, *B.subtilis*는 palmitic acid와 stearic acid가 배양 1일에 28.59%와 16.09%, 2일에 19.98%와 12.62%, 3일에 26.67%와 10.69%, 4일에 33.16%와 15.11%인 것으로 나타났다.

Table 5와 6에서 PI 합성에 참여한 주요 지방산의 양적 동태를 볼 수 있다. *E.coli* 대조구는 배양초와 1일에는 palmitic acid와 palmitoleic acid를 29.13%와 38.45%, 20.15%와 26.13% 이용 하였으며, 2일에 lauric acid, palmitic acid, stearic acid가 15.69%, 23.75%, 24.14% 였고, 3일에는 lauric acid와 palmitic acid가 15.95%와 26.95%, 4일에는 myristic acid 44.16%의 이용율을 나타냈다. *B.subtilis* 대조구에서는 배양초 palmitic acid와 cis-vaccenic acid가 14.19%와 13.84%였고, 1일에는 palmitoleic acid 25.85%, 2일에 palmitic acid와 palmitoleic acid가 20.66%와 30.61%, 3일과 4일에는 palmitoleic acid가 21.17%와 23.38% 이용되었다. *E.coli*가 PI 합성시 palmitic acid와 lauric acid를 많이 도입한데 비해 *B.subtilis*는 palmitic acid와 palmitoleic acid의 이용율이 높았다. Potassium chromate 처리구를 보면, *E.coli*는 배양 1일과 2일에 palmitoleic acid 12.94%와 84.21%, 3일에는 palmitoleic acid와 stearic acid가 16.06%와 16.64%, 4일에는 palmitic acid와 pal-

mitoleic acid가 12.83%와 39.99%였고, *B.subtilis*는 배양 1일에 palmitoleic acid, stearic acid, linoleic acid 이용율이 20.03%, 16.24%, 18.26%였으며, 2일에는 lauric acid 14.49%, palmitoleic acid 11.96%, 3일에는 palmitic acid와 palmitoleic acid, linoleic acid가 16.26%, 29.28%, 15.08%, 4일에는 lauric acid, palmitoleic acid, linoleic acid의 이용율이 11.89%, 16.20%, 12.51%로 나타났다. Potassium dichromate 처리구의 경우, *E.coli*는 배양 1일에 lauric acid 28.15%, 2일에는 palmitic acid 40.40%, 3일과 4일에는 palmitic acid와 stearic acid가 46.81%와 25.17%, 37.30%와 23.66%였고, *B.subtilis*는 palmitic acid와 stearic acid가 배양 1일에 40.60%와 24.21%, 2일에 40.09%와 21.36%, 3일에 34.49%와 19.88%, 4일에 34.76%와 22.36%로써 주요 구성 지방산으로 나타났다. Cobalt chloride 처리구는 *E.coli*에서 palmitic acid와 stearic acid가 배양 1일에 32.09%와 18.60%, 2일에 40.93%와 31.52%, 3일에 36.03%와 40.06%, 4일에 42.06%와 33.91%로 주요 구성 지방산이었고, *B.subtilis*에서는 palmitoleic acid가 배양 1일에 18.55%, 2일에 17.01%, 3일에 23.56%였고, 4일에는 palmitic acid와 palmitoleic acid가 17.12%와 14.73%의 이용율을 보였다. Methylmercuric chloride 처리구 경우, *E.coli*는 배양 1일에 palmitic acid 30.42%, stearic acid 23.90%, 2일에 palmitoleic acid와 cis-vaccenic acid가 42.95%와 26.94%, 3일과 4일에는 palmitic acid와 stearic acid가 39.54%와 22.12%, 39.47%와 27.44% 관여하였고, *B.subtilis*에서는 배양 1일에 palmitic acid와 stearic acid가 46.22%와 15.25%, 4일에는 palmitic acid가 14.04%의 이용율을 보였다.

*E.coli*와 *B.subtilis*에서 PG 합성에 참여한 주요 지방산의 조성 변화는 Table 7과 8에 표시하였다. *E.coli* 대조구는 배양초와 1일, 2일에 palmitic acid와 palmitoleic acid가 21.86%와 20.57%, 28.44%와 19.67%, 49.72%와 13.92% 이용되었고, 3일에는 lauric acid 19.26%, palmitic acid 35.62%, 4일에는 palmitic acid와 stearic acid가 49.18%와 17.46%의 이용율을 보였다. *B.subtilis* 대



Table 5. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylinositol in *Escherichia coli* treated with metal compounds during the cultivation.

Duration of Culture ( days )		1				2				3				4							
Treatment	Cont	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C
Fatty acid																					
Lauric acid ( 12:0 )	-	10.30	-	28.15	0.56	2.93	15.69	-	0.73	0.90	7.28	15.95	-	1.63	0.62	2.19	4.72	-	0.82	0.67	2.01
Myristic acid ( 14:0 )	6.52	9.91	6.40	9.58	3.05	5.59	9.92	4.44	4.16	4.44	7.81	10.07	3.68	5.51	3.57	7.00	44.16	5.85	5.81	4.30	6.49
Palmitic acid ( 16:0 )	29.13	20.15	4.94	17.23	32.09	30.42	23.75	5.04	40.40	40.93	2.48	28.85	14.43	46.81	36.08	39.54	17.33	12.83	37.30	42.06	39.47
Palmitoleic acid ( 16:1 )	38.45	26.13	12.94	2.09	2.89	2.23	12.28	84.21	12.48	2.88	42.95	12.66	16.06	2.46	2.04	-	11.67	39.99	2.23	2.36	1.63
Stearic acid ( 18:0 )	10.51	12.48	9.70	2.67	18.60	23.90	24.14	2.15	4.67	31.52	8.07	8.48	16.64	25.17	40.06	22.12	-	8.58	23.86	33.91	27.44
cis-Vaccenic acid ( 18:1 )	3.10	-	-	-	-	14.54	3.89	2.46	-	-	26.94	-	-	-	-	19.91	-	-	-	-	6.37
Linoleic acid ( 18:2 )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Linolenic acid ( 18:3 )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Unknown	12.29	21.03	66.02	40.28	42.81	20.39	10.33	1.70	37.56	19.33	4.47	25.89	49.28	18.42	17.68	9.24	22.12	32.75	30.18	16.70	16.59
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	100.00	100.00	100.00	100.00

< NOTE > Cont : Control P. C : Potassium chromate P. D : Potassium dichromate C. C : Cobalt chloride M. C : Methylmercuric chloride < UNIT > %

< NOTE > Cont : Control P. C : Potassium chromate P. D : Potassium dichromate C. C : Cobalt chloride M. C : Methylmercuric chloride < UNIT > %

Table 6. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylinositol in *Escherichia coli* treated with metal compounds during the cultivation.

Duration of Culture ( days )	1						2						3						4					
	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C		Cont	P. C	P. D	C. C	M. C		Cont	P. C	P. D	C. C	M. C		Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	
Fatty acid																								
Lauroic acid ( 12:0 )	0.30	0.69	3.07	-	-	-	1.61	14.49	-	-	0.35	1.47	1.62	-	-	2.25	1.60	1.89	-	-	-	-	3.86	
Myristic acid ( 14:0 )	5.50	5.99	3.20	3.31	0.79	3.86	3.34	7.50	trace	1.17	0.44	4.49	1.58	trace	1.04	1.13	2.95	4.81	2.57	1.96	2.75	-	-	
Palmitic acid ( 16:0 )	14.19	9.52	12.65	40.60	9.38	46.22	20.66	9.78	40.09	12.18	1.40	16.36	16.26	34.49	14.69	5.45	13.62	9.04	34.76	17.12	14.04	-	-	
Stearic acid ( 18:0 )	3.71	25.85	20.03	6.01	18.55	1.11	30.61	11.96	8.49	17.01	0.13	21.17	29.28	8.47	23.56	0.24	23.38	16.20	7.58	14.73	0.42	-	-	
Stearic acid ( 18:1 )	6.64	5.53	16.24	24.21	4.19	15.25	15.34	5.89	21.36	6.14	0.48	9.87	6.24	19.88	5.78	3.05	9.85	10.80	22.36	9.89	7.84	-	-	
cis-Vaccenic acid ( 18:1 )	13.84	-	-	2.20	0.28	-	-	-	3.61	-	6.00	-	-	10.76	-	2.84	-	-	-	-	-	-	0.89	
Linoleic acid ( 18:2 )	-	-	18.26	7.75	-	-	-	8.48	11.13	0.64	-	-	15.08	-	3.02	-	5.30	12.51	11.05	10.47	-	-	-	
Linolenic acid ( 18:3 )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Unknown	55.82	52.42	26.55	15.92	66.81	33.56	28.44	41.90	15.32	62.86	91.20	46.64	29.94	26.40	51.91	85.04	43.30	34.75	21.68	46.03	70.20	-	-	
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	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	
< NOTE > Cont : Control P. C : Potassium chromate P. D : Potassium dichromate C. C : Cobalt chloride M. C : Methylmercuric chloride < UNIT > %																								

Table 7. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylglycerol in *Escherichia coli* treated with metal compounds during the cultivation.

Duration of Culture ( days )	1					2					3					4					
	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	
Fatty acid																					
Lauroic acid ( 12:0 )	-	3.71	-	0.14	0.88	0.84	10.90	-	0.34	1.60	2.40	19.26	-	0.78	1.33	1.28	4.60	-	0.21	0.16	1.03
Myristic acid ( 14:0 )	2.30	8.75	48.30	4.02	4.31	6.44	4.76	3.16	6.07	4.68	6.54	9.00	4.39	5.80	2.78	4.87	4.53	4.48	5.76	1.35	5.83
Palmitic acid ( 16:0 )	21.86	28.44	7.35	28.22	33.74	34.66	49.72	16.53	41.84	34.27	35.36	35.62	44.37	40.87	32.48	34.54	49.18	4.79	41.41	15.57	37.42
Palmitoleic acid ( 16:1 )	20.57	19.67	11.75	4.23	2.34	2.44	13.92	8.36	3.42	3.91	2.96	4.23	6.82	3.20	2.70	2.11	7.43	51.57	3.64	1.01	2.49
Stearic acid ( 18:0 )	9.88	7.39	24.16	10.58	19.54	20.36	5.72	6.20	19.99	15.66	16.69	10.74	17.57	20.51	14.25	20.30	17.46	19.12	20.50	18.94	18.47
cis-Vaccenic acid ( 18:1 )	2.96	6.22	1.87	9.97	10.79	11.80	6.92	7.84	7.91	16.19	23.43	12.25	0.85	10.61	16.64	19.83	16.80	10.72	9.50	-	22.40
Linoleic acid ( 18:2 )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.29	6.94	1.68	-	14.25	-	-	-	-	-	-	-
Linolenic acid ( 18:3 )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Unknown	42.43	25.82	6.57	42.84	28.40	23.46	8.06	56.62	20.43	22.40	5.68	7.22	26.00	3.98	29.82	17.07	-	9.32	18.98	62.97	12.36
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	100.00	100.00	100.00	100.00
< NOTE > Cont : Control P. C : Potassium chromate P. D : Potassium dichromate C. C : Cobalt chloride M. C : Methylmercuric chloride < UNIT > %																					

Table 8. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylglycerol in *Bacillus subtilis* treated with metal compounds during the cultivation.

Duration of Culture ( days )	1				2				3				4			
	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	M. C
<b>Fatty acid</b>																
Lauroic acid ( 12:0 )	0.83	0.05	1.70	39.73	15.86	5.23	0.07	8.23	-	7.43	12.05	-	19.51	-	7.58	8.84 10.30
Myristic acid ( 14:0 )	6.76	16.98	2.21	7.80	5.64	7.92	8.81	4.56	3.43	3.58	12.62	3.63	2.63	2.76	5.74	2.69 6.45 13.40
Palmitic acid ( 16:0 )	8.96	3.45	13.62	7.67	9.57	12.94	15.60	2.69	23.98	9.49	9.13	12.73	7.74	19.06	15.50	23.09 14.40 8.86 14.42
Palmitoleic acid ( 16:1 )	2.28	8.44	17.89	5.59	10.76	0.79	3.67	21.33	0.93	9.73	0.27	4.81	10.83	12.54	10.59	0.30 4.82 2.17 12.33 4.29 2.02
Stearic acid ( 18:0 )	4.60	3.82	13.70	4.92	8.16	5.99	6.36	-	15.65	9.39	4.45	7.16	-	12.80	11.33	4.77 7.21 11.34 9.56 11.23 8.43
cis-Vaccenic acid ( 18:1 )	17.16	6.59	3.93	0.66	1.00	4.76	8.19	-	3.76	0.93	-	8.00	7.36	2.52	0.89	- 16.20 3.32 2.61 1.43 7.31
Linoleic acid ( 18:2 )	-	-	21.33	7.45	-	4.26	-	-	11.77	-	0.52	-	2.84	17.20	-	1.90 - 6.75 21.99 - 2.19
Linolenic acid ( 18:3 )	-	-	-	-	-	-	-	17.16	-	1.94	-	-	-	-	-	- - - - -
Unknown	59.41	60.67	25.62	26.18	49.01	58.11	57.30	46.03	40.48	57.51	60.96	63.67	49.09	33.12	58.55	55.16 50.53 40.84 36.42 58.90 41.93
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	100.00 100.00 100.00 100.00 100.00 100.00

< NOTE > Cont : Control P. C : Potassium chromate P. D : Potassium dichromate C. C : Cobalt chloride M. C : Methylmercuric chloride < UNIT > %

조구는 배양초에 *cis-vaccenic acid* 17.16%, 1일에는 *myristic acid*가 16.98%, 2일과 3일에는 *palmitic acid*가 15.60%와 12.73%, 4일에는 *palmitic acid* 15.50%, *cis-vaccenic acid*가 16.20%로 주로 이용된 지방산이었다. PG 합성시 *E.coli*는 *palmitic acid*를 주로 사용한 반면, *B.subtilis*는 여러 지방산의 이용률이 고르게 나타났다. Potassium chromate 처리시, PG의 주요 지방산 변화를 보면, *E.coli*에서 배양 1일에 *myristic acid*와 *stearic acid*가 48.30%와 24.16%, 2일에 *palmitic acid* 16.53%, 3일에 *palmitic acid*와 *stearic acid*가 44.37%와 17.57%, 4일에 *palmitoleic acid*와 *stearic acid*가 51.57%와 19.12%의 이용율을 보였고, *B.subtilis*에서는 배양 1일에 *linoleic acid*가 21.33%, 2일에 *palmitoleic acid*와 *linoleic acid*가 21.33%와 17.16%, 3일에는 *lauric acid* 19.15%, 4일에 *palmitic acid* 23.09%의 이용율을 나타냈다. Potassium dichromate 처리구는 *E.coli* 경우 *palmitic acid*와 *stearic acid*가 배양 1일에 28.22%와 10.58%, 2일에 41.84%와 19.99%, 3일에 40.87%와 20.51%, 4일에 41.41%와 20.50%로써 주로 이용된 지방산이었고, *B.subtilis*에서는 배양 1일에는 *lauric acid* 39.73%, 2일에 *palmitic acid* 23.98%, 3일과 4일에 *palmitic acid*와 *linoleic acid*가 19.06%와 17.20%, 14.40%와 21.99% 이용되었다. Cobalt chloride를 처리한 배지에서 자란 *E.coli*의 PG는 *palmitic acid*와 *stearic acid*가 배양 1일에 33.74%와 19.54%, 2일에 34.27%와 15.66%, 3일에 32.48%와 14.25%, 4일에 15.57%와 18.94%로 주로 이용되었고, 배양 2일과 3일에는 *cis-vaccenic acid*가 16.19%와 16.64% 이용되었다. *B.subtilis*에서는 배양 1일에 *lauric acid* 15.86%, *palmitoleic acid* 10.76%가 이용되었고, 2일과 3일에는 *palmitic acid*, *palmitoleic acid*, *stearic acid*가 9.49%, 9.73%, 9.39%와 10.08%, 10.59%, 11.33%로 비슷한 이용율을 보였다. 4일에는 *stearic acid*가 11.23% 이용되었다. Methylmercuric chloride 처리시 *E.coli*는 배양 1일에 *palmitic acid*와 *stearic acid*가 34.66%와 20.36%였고, 2일 이후에는 *palmitic acid*, *stearic acid*, *cis-vaccenic acid*를 2일에 35.36%, 16.69%, 23.

43%, 3일에 34.54%, 20.30%, 19.83%, 4일에 37.42%, 18.47%, 22.40%로 주로 이용하였고, *B.subtilis*는 배양 1일에 *palmitic acid* 12.94%, 2일에 *lauric acid*와 *myristic acid*가 12.05%와 12.62%, 3일에 *myristic acid*와 *palmitic acid*가 13.51%와 15.30%였으며, 배양 4일에는 *lauric acid*, *myristic acid*, *palmitic acid*가 10.30%, 13.40%, 14.42% 이용되었다.

Table 9와 10에는 CL의 주요 지방산 조성 변화를 나타내었다. *E.coli* 대조구는 배양초에 *palmitoleic acid* 26.37%, *linoleic acid* 19.12%를 이용하였고, 1일에는 *palmitic acid* 22.53%, 2일과 3일에는 *lauric acid*와 *palmitic acid*를 17.31%와 38.20%, 20.11%와 41.10% 이용하였다. 배양 4일에는 *myristic acid* 20.35%가 이용되었다. *B.subtilis* 대조구는 배양초에 *palmitic acid*와 *cis-vaccenic acid*를 14.06%와 17.34% 이용하였고, 배양 1일에 *myristic acid* 15.90%, *palmitic acid* 13.45%, 2일에 *palmitic acid*, *palmitoleic acid*, *cis-vaccenic acid*가 12.71%, 17.63%, 12.26%였으며, 3일에는 *myristic acid*, *palmitic acid*, *stearic acid*가 12.69%, 20.72%, 15.02%, 4일에는 *palmitic acid*와 *stearic acid*가 22.91%와 15.41%의 이용율을 보였다. CL 합성시 *E.coli*와 *B.subtilis* 공통적으로 *palmitic acid*가 많이 이용되었고, *E.coli*는 *lauric acid*가, *B.subtilis*는 *myristic acid*가 다른 지방산에 비해 이용율이 높았다. Potassium chromate 처리구는 *E.coli*의 경우 *palmitic acid*가 배양 1일에 31.15%, 2일에 45.29%, 3일에 33.92%로 주로 이용되었고, 4일에는 *palmitic acid*와 *stearic acid*가 46.94%와 20.65% 이용되었다. *B.subtilis*는 배양 1일과 2일에 *palmitoleic acid*와 *cis-vaccenic acid*가 16.96%와 21.78%, 12.60%와 15.33% 이용하였고, 3일에는 *palmitic acid*와 *stearic acid*를 12.78%와 9.23%, 4일에 *cis-vaccenic acid* 14.65%를 인지질 합성에 이용하였다. *E.coli*에 potassium dichromate를 처리한 경우는 *palmitic acid*와 *stearic acid*를 배양 1일에 41.06%와 16.36%, 2일에 30.49%와 17.28%, 4일에 47.21%와 23.88%로 주로 사용하였고, 3일에는 *palmitic acid* 17.06%, *cis-vaccenic acid* 35.93%가 도입되었

Table 9. Changes in contents of fatty acid methyl esters of cardiolipin in *Escherichia coli* treated with metal compounds during the cultivation.

Duration of Culture ( days )	1					2					3					4					
	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	
Fatty acid																					
Lauric acid ( 12:0 )	-	6.37	3.69	2.82	1.27	1.02	17.31	-	1.79	0.36	2.05	20.11	-	0.39	1.28	1.37	0.24	1.13	0.45	0.69	1.31
Myristic acid ( 14:0 )	2.09	6.74	4.90	6.50	3.26	6.36	9.62	7.12	3.75	2.74	6.83	7.77	3.22	4.80	4.25	6.84	20.35	6.66	6.96	3.86	6.33
Palmitic acid ( 16:0 )	11.56	22.53	31.15	41.06	35.91	30.26	38.20	45.29	30.49	38.73	34.32	41.10	33.92	17.06	39.54	38.33	8.16	46.94	47.21	28.05	33.19
Palmitoleic acid ( 16:1 )	26.37	9.87	15.91	3.07	5.14	2.06	11.39	6.22	7.71	2.98	2.53	6.15	13.55	1.13	3.00	2.94	10.07	4.90	-	2.88	3.10
Stearic acid ( 18:0 )	5.40	4.77	9.73	16.36	19.16	15.72	4.23	19.53	17.28	14.19	19.07	10.27	2.42	9.27	16.03	25.80	-	20.65	23.88	13.86	20.82
cis-Vaccenic acid ( 18:1 )	1.64	3.76	17.97	13.28	-	26.28	5.51	10.78	8.27	15.34	19.78	6.63	11.65	35.93	15.13	1.65	2.56	7.04	-	34.92	14.69
Linoleic acid ( 18:2 )	19.12	-	-	0.30	-	3.15	-	2.94	-	3.04	-	-	-	-	7.64	-	-	-	-	-	-
Linolenic acid ( 18:3 )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Unknown	33.82	45.96	12.65	16.61	35.26	15.15	13.74	8.12	30.71	22.62	15.42	7.97	35.24	31.42	13.13	23.07	58.60	12.68	21.48	15.74	20.56
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	100.00	100.00	100.00	100.00
< NOTE > Cont : Control P. C : Potassium chlorate P. D : Potassium dichromate C. C : Cobalt chloride M. C : Methylmercuric chloride < UNIT > %																					

< NOTE > Cont : Control P. C : Potassium chromate P. D : Potassium dichromate C. C : Cobalt chloride M. C : Methylmercuric chloride < UNIT > %

Table 10. Changes in contents of fatty acid methyl esters of cardiolipin in *Bacillus subtilis* treated with metal compounds during the cultivation.

Duration of Culture ( days )	1					2					3					4					
	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	Cont	P. C	P. D	C. C	M. C	
Fatty acid																					
Lauric acid ( 12:0 )	0.67	0.32	1.75	-	2.81	3.23	0.10	14.89	-	0.62	5.83	0.22	5.35	-	0.76	7.10	0.34	6.76	17.51	1.28	11.77
Myristic acid ( 14:0 )	8.01	15.98	4.86	13.67	1.03	5.08	4.09	0.31	0.03	0.76	4.52	12.69	2.78	2.55	1.08	3.62	3.20	3.87	4.05	2.30	10.66
Palmitic acid ( 16:0 )	14.06	13.45	10.93	15.33	10.30	8.09	12.71	8.56	27.04	6.25	19.36	20.72	12.78	41.46	5.32	15.19	22.91	0.85	5.54	8.63	23.54
Palmitoleic acid ( 16:1 )	2.96	10.05	16.96	3.42	16.57	2.93	17.63	12.60	4.17	7.26	1.63	7.44	0.64	1.73	6.32	3.46	10.88	8.99	0.47	16.06	2.84
Stearic acid ( 18:0 )	7.08	7.07	-	11.71	10.23	2.58	7.35	-	21.41	6.13	8.63	15.02	9.23	33.83	7.68	5.51	15.41	-	5.05	6.29	7.84
cis-Vaccenic acid ( 18:1 )	17.34	5.65	21.78	3.63	4.69	12.36	12.26	15.33	3.96	1.58	7.67	6.55	3.94	8.30	1.05	5.21	6.64	14.65	2.21	4.75	15.26
Linoleic acid ( 18:2 )	-	-	-	7.10	-	-	-	-	19.01	-	2.69	-	2.81	6.55	-	2.62	-	-	6.15	-	2.10
Linolenic acid ( 18:3 )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	43.30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Unknown	49.86	47.48	43.72	45.14	54.37	65.73	45.86	48.31	34.36	34.10	49.67	37.36	62.47	5.48	77.79	57.29	40.62	64.88	59.02	60.69	25.99
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	100.00	100.00	100.00	100.00
< NOTE > Cont : Control P. C : Potassium chlorate P. D : Potassium dichromate C. C : Cobalt chloride M. C : Methylsuccinic chloride < UNIT > %																					

다. Potassium dichromate를 처리한 *B.subtilis*는 배양 1일에 myristic acid와 palmitic acid가 13.67%와 15.33%, 2일에 palmitic acid, stearic acid, linolic acid가 27.04%, 21.41%, 19.01%, 3일에 palmitic acid와 stearic acid가 41.46%와 33.93%, 4일에 lauric acid 17.51%의 이용율을 나타내었다. Cobalt chloride 처리구를 보면, *E.coli*의 CL은 배양 1일과 3일에는 palmitic acid와 stearic acid가 35.91%와 19.16%, 39.54%와 16.03%, 2일과 4일에는 palmitic acid와 cis-vaccenic acid가 38.73%와 15.34%, 28.05%와 34.92%로 구성되었으며, *B.subtilis*는 배양 1일과 4일에 palmitoleic acid를 16.57%와 16.06%, 2일에는 linolenic acid를 43.30% 이용하였다. Methylmercuric chloride 처리구는 *E.coli*에서 palmitic acid, stearic acid, cis-vaccenic acid가 배양 1일에 30.26%, 15.72%, 26.28%, 2일에 34.32%, 19.07%, 19.78%, 4일에 33.19%, 20.82%, 14.69%로 주로 이용된 지방산이었으며, 배양 3일에도 palmitic acid와 stearic acid가 38.33%와 25.80% 도입되었다. *B.subtilis*는 배양 1일에 cis-vaccenic acid 12.36%, 2일과 3일에 palmitic acid 19.36%와 15.19%를, 배양 4일에는 lauric acid 11.77%, myristic acid 10.66%, cis-vaccenic acid 15.26%를 인지질 합성에 이용한 것으로 관찰되었다.

#### IV. 고 찰

Hexavalent chromium compounds는 세포 구성 성분을 산화시켜 세포막과 DNA에 있는 specific biological ligands와 상호 작용하게 함으로써 세포 독성 효과를 나타내며, 아미노산의 합성과 nucleotide의 축적을 방해 한다(Levis et al., 1978). Cobalt ion은 *E.coli* 세포 내로 magnesium ion의 능동수송을 저해 하고(Nelson and Kennedy, 1971), 성장 억제 작용을 나타 내는데, 일부 세포는 독성을 가진 양이온의 energy-linked uptake 감소로 연속 배양시 cobalt ion에 대한 저항성이 유발 된다(Webb, 1970). Mercuric compounds는 pyruvate 대사를 방해하고, lipoic acid, 아미노산, 단백질, 효소의 thiol group과 상호 작용을 일으

킨다. 또, 핵산의 염기 또는 인산기와와 상호 작용에 의해 염색체 이상을 유발 하며, phenyl-과 methyl-mercury 유도체는 유사 분열 동안 방추사 형성을 방해 한다(Vallee and Ulmer, 1972). 위와 같은 금속 화합물의 효과로 인해 본 실험에서 potassium chromate, potassium dichromate, cobalt chloride, methylmercuric chloride가 함유된 배지에서 생육 시킨 *E.coli*와 *B.subtilis* 세포의 생장이 대조구에 비해 억제된 것으로 보인다. 즉, methylmercuric chloride의 유사 분열 방해, hexavalent chromium compounds의 물질 대사 억제, cobalt compounds의 성장 억제 효과 등이 세포 성장을 억제 요인으로 작용 했음을 알 수 있다. 또, Fig. 1에서 *B.subtilis*의 배양 4일째에 대조구의 성장량이 증가한 것은 stationary phase 후에도 계속 배양된 세포가 생존하여 계속적인 대사 과정을 수행(Brock, 1988)하였기 때문인 것으로 생각된다.

Total lipid의 함량은 생육 시기와 환경 조건에 따라 변화 하는데, 금속 화합물 처리시 total lipid의 함성은 *E.coli*와 *B.subtilis*에서 모두 50% 이상의 높은 억제율을 나타 냈다. 이는 지질 합성에 관여된 효소 활성화와 대사에 영향을 미쳐 정상적인 세포 대사가 일어나지 못하기 때문인 것으로 생각된다. 금속 화합물 처리시 total lipid의 감소로 인하여 total fatty acid methyl esters도 감소된 것으로 보인다.

여러가지 인지질 합성의 전구체로 작용하는 CDP-1, 2-diacylglycerol이 serine과 반응 하면 phosphatidylserine(PS)이 합성 되며, PE는 PS의 탈탄화 반응에 의해 생성되거나, 1,2-diacylglycerol과 CDP-ethanolamine의 인산기 전환으로 합성 된다(Steiner and Lester, 1972). PC는 CDP choline이 1,2-diacylglycerol에 작용 하여 생성되며, phosphatidyle thanolamine transferase의 작용으로 PE가 methylation되어 생성 되기도 한다(Waechter and Lester, 1973). PI는 CDP-1,2-diacylglycerol이 inositol로 인산기 전환을 하여 생성 된다(Cobon et al., 1974). PG는 CDP -diglyceride와 sn-glycero-3-phosphate가 intermediary인 phosphatidyl glycerol phosphate를 형성한 후 탈인



산화 반응이 일어나 형성 되고, CL은 PG에 CDP-diglyceride가 첨가 되어 합성 된다(Cronan and Vagelos, 1972). 본 연구에서 나타난 세균 세포의 인지질 함량에서 PE가 많은 비율을 차지 하고, 이 외에 PE에 비해 적은 양의 PG, CL과 PC, PI가 존재하는 것은 이전의 보고(Cronan and Vagelos, 1972; Goldfine, 1982; De Siervo and Homola, 1980)들과 일치 한다. 금속 화합물에 의해 각 인지질 합성은 Fig. 4, 5, 6, 7, 8에서 보듯이 현저히 감소 하였는데, *E.coli*의 PE에 대해서는 methylmercuric chloride가 38.41%, *B.subtilis*에서는 cobalt chloride가 58.17%로 처리한 금속 화합물중 가장 높은 억제율을 나타 냈다. PC의 경우도 *E.coli*는 methylmercuric chloride 처리구가 45.96%, *B.subtilis*는 cobalt chloride가 75.86%로 PE에 대해서 높은 억제율을 나타 냈던 금속 화합물이 PC에 대해서도 가장 높은 억제 효과를 나타 냈는데, 이것은 PE를 통한 PC의 합성이 일어 나지 못했기 때문인 것으로 보인다. PE와 PC에 대한 억제 효과가 평균적으로 볼때 *E.coli*보다 *B.subtilis*에서 높게 나타난 것은 gram-음성과 gram-양성의 세균 세포 막 사이의 구조적인 차이가 금속 화합물의 세포 내로 투과율에도 영향을 미쳤기(Donohue-Rolfe and Schaechter, 1980; Brock and Madigan, 1988) 때문인 것으로 생각 된다. PI는 *E.coli*와 *B.subtilis*에서 금속 화합물에 대한 억제 효과가 거의 비슷하게 나타났으며, Fig. 6에서 보면 다른 인지질의 합성이 감소되는 시기에 오히려 PI의 합성은 증가한 것을 볼 수 있다. 이는 PI가 total phospholipid의 정상적인 양을 보충 한다는 Daum 등(1983)의 보고와 일치 한다. PG는 두 균주 모두에서 hexavalent chromium compounds의 억제율이 50% 이상으로 높게 나타 났다. CL은 *E.coli* 경우 potassium chromate가, *B.subtilis* 경우 cobalt chloride가 각각 45.90% 와 69.34%의 높은 억제율을 보였다. 이와 같이 본 실험에서 4가지 금속 화합물을 처리하여 관찰한 PE, PC, PI, PG, CL의 합성이 감소된 것은 이들 금속 화합물들이 막의 투과성과 대사능을 변화시킴으로써 세포내 물질 대사를 정상적으로 일어나지 못하게 하여 결과적으로 구

성 물질의 변화와 인지질 생합성 억제를 초래하기 때문인 것으로 생각된다.

인지질 생합성 억제와 더불어 이들 인지질을 구성하는 주요 지방산의 조성 변화도 일어났는데, Viljoen 등(1986)은 미생물의 배양 조건과 생활사에 따라 지방산 조성에 다양한 변화가 초래된다고 보고 하였으며, Henry 와 Halvorson(1973)은 불포화 지방산과 포화 지방산이 정상적인 세포 성장과 세포의 생존 능력 유지에 필수적임을 제안하였다. 또, 지방산은 그 농도와 특성에 의존하여 여러 미생물의 성장에 영향을 미치는데, 불포화 지방산의 농도가 높을때 세포 투과성을 변화시켜 세균 세포가 지방산을 흡수해 영양 흡수를 차단하여 항균 효과를 나타내기도 한다. 본 실험에서 여러가지 인지질을 구성하는 지방산중 palmitic acid가 높은 비율로 나타나고, 불포화 지방산중 palmitoleic acid 와 cis-vaccenic acid의 존재에 비해 linoleic acid 와 linolenic acid가 발견되지 않은 것은 미생물에서 palmitic acid가 total fatty acid의 많은 비율을 차지하며, 발견되는 불포화 지방산은 모두 cis-conformation의 monoene이라는 Cronan 과 Vagelos(1972)의 보고와 일치 한다.

인지질을 구성하는 주요 지방산은 정상 배지에서 배양 기간동안 인지질 종류에 따라 차이가 있었다. *E.coli*의 PE는 myristic acid 와 palmitic acid를, *B.subtilis*의 PE는 palmitoleic acid 와 myristic acid를 많이 이 용하였다. PC의 경우 *E.coli*와 *B.subtilis* 공통적으로 palmitic acid의 이용율이 높았다. PI를 구성하는 지방산으로는 *E.coli*가 palmitic acid 와 lauric acid, *B.subtilis*는 palmitic acid와 palmitoleic acid가 많이 도입 되었다. 또, *E.coli*는 palmitic acid 와 lauric acid를 주로 사용하여 PG와 CL을 합성하였다. PG 합성시 *B.subtilis*는 여러 지방산의 이용율이 고르게 나타났고, palmitic acid와 myristic acid를 주로 이용하여 CL을 합성하였다. 이와 같이 *E.coli* 와 *B.subtilis* 대조구의 경우 인지질 생합성에 이용된 주요 지방산은 palmitic acid 임을 알 수 있다.

각 처리구 별로 주요 지방산의 이용 동태 변화를 보면 다음과 같다. Potassium chromate를 처

리한 *E. coli* 인지질에서는 전반적으로 cis-vaccenic acid 와 palmitic acid의 이용율이 증가하였고, PG는 myristic acid 와 stearic acid를 많이 이용하였다. *B. subtilis*에 potassium chromate 처리시는 전체적으로 palmitoleic acid가 많이 도입되었고, PG의 경우 linoleic acid, CL 형성에는 cis-vaccenic acid의 이용이 증가되었다. Potassium dichromate 처리시 많이 이용된 지방산은 *E. coli* 와 *B. subtilis* 모두 stearic acid 였으며, 이외에도 *E. coli*의 PI는 lauric acid 와 palmitoleic acid를, *B. subtilis*의 PE는 palmitic acid 와 palmitoleic acid, PG는 linoleic acid를 주로 이용 하여 인지질을 생합성 하였다. Cobalt chloride를 처리한 *E. coli*가 인지질 형성에 주로 사용한 지방산은 stearic acid였고, PC의 생합성에는 cis-vaccenic acid의 이용율이 높았다. *B. subtilis*의 인지질 합성시 cobalt chloride 처리구에서 주로 사용된 지방산은 palmitic acid였는데, PE 와 CL은 linoleic acid를, PG는 lauric acid를 함께 사용 하였다. 또, PC가 생합성 될때 주로 사용된 지방산은 stearic acid 였다. Methylmercuric chloride 처리구는 *E. coli* 경우 전반적으로 stearic acid 와 cis-vaccenic acid의 이용율이 증가 하였는데, PI에서는 palmitoleic acid도 많이 이용 되었다. *B. subtilis*는 PE의 경우 palmitic acid와 cis-vaccenic acid, PC는 stearic acid, PG는 lauric acid와 myristic acid, CL은 cis-vaccenic acid의 이용율이 대조구에 비해 증가 하였다. 이상의 결과에서 보면 금속 화합물을 처리한 배지에서 자란 세균 세포는 인지질 합성시 대조구에 비해 불포화 지방산을 많이 이용 했다는 사실을 알 수 있다. 포화 지방산과 불포화 지방산의 비율이 변화되어 불균형이 초래 되면 세포막의 유동성에 변화가 생길뿐(McGarrity 와 Armstrong, 1975) 아니라, 정상적인 세포 생장과 세포의 생존 능력 유지에도 문제가 생기게 된다.

서와 이(1922)는 rec assay, mutagenicity 시험, SCE 유기성 실험을 통해 potassium chromate ( $K_2CrO_4$ ), potassium dichromate ( $K_2Cr_2O_7$ ), cobalt chloride ( $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ ), methylmercuric chloride ( $CH_3HgCl$ )의 4가지 금속화합물이 미생물에서 뿐

만 아니라 고등 동물에서도 DNA 손상을 일으켜 세포 독성을 유발 한다고 보고 했다. 또, 본 실험은 세균 세포막에서 인지질 생합성에 도입 되는 지방산이 금속 화합물의 현저한 영향을 받음을 보여 주고 있다. 서와 이(1922)의 보고 와 본 실험에서의 결과를 통해 볼때 이들 4가지 금속 화합물은 세포 일부분에서만 그 효과를 나타 내는 것이 아니라 세포의 전체 대사 과정에 크게 영향을 미친다는 사실을 예측할수 있다.

인지질은 생체막을 구성하는 주요 구성 성분으로 이에 대한 연구를 통해 어떤 환경 조건이 생체막의 생리적 변화에 어떻게 영향을 미치는가에 대한 많은 보고가 있어 왔다. 본 실험에서는 금속 화합물이 인지질 생합성 및 그의 지방산 조성에 미치는 영향을 보고 하였는데, 앞으로는 이러한 생리적 변화가 일어나는 구체적인 기작과 금속 화합물이 세포의 기타 대사 과정에서는 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구가 필요 할것이라 생각된다.

## 참고문헌

- Allen CF, Good P.: *Acyl lipids in photosynthetic systems. Method. Enzymol.*, 1971; 23: 523-547
- Bligh EG, Dyer WJ.: *A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol.* 1959; 37: 911-917
- Brock TD, Madigan MT.: *Biology of microorganisms. Prentice-Hall International Edt.*, 1988; Vol.5: 63-81
- Broekman JHFF, Steenbakkens JF.: *Effects of osmotic pressure of the growth medium of fab Bmutants of E.coli. J. Bacteriol.* 1974; 117(3): 971-977
- Carey VC, Ingram LO.: *Lipid composition of Zymomonas mobilis: Effects of ethanol and glucose* *ibid* 1983; 154(3): 1291-1300
- Cobon GS, Crowfoot PD and Linnane AW.: *Biogenesis of mitochondria phospholipid synthesis in vitro by yeast mitochondrial and microsomal fractions. Biochem. J.* 1974; 144: 265-275
- Cronan JE, Jr.: *Phospholipid alterations during growth of Escherichia coli. J. Bacteriol.* 1968; 95(6): 2054-2054-2061
- \_\_\_\_\_.: *Regulation of the fatty acid composition of the membrane phospholipids of Escherichia coli. Proc. Nat. Acad.* 1974; *Sci. USA.* 71(9): 3758-3762

- and Gelman EP.: *Physical properties of membrane lipids: Biological relevance and regulation*. *Bacteriol. Rev.* 1975; 39: 232-256
- and Vagelos PP.: *Metabolism and function of the membrane phospholipids of Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta* 1972; 265: 25-60
- Weisberg LJ and Allen RG.: *Regulation of membrane lipid synthesis in Escherichia coli: Accumulation of free fatty acids of abnormal length during inhibition of phospholipid synthesis*. *J. Biol. Chem.* 1975; 250(15): 5835-5840
- Damoglou AP and Dawes EA.: *Studies on the lipid content and phosphate requirement of glucose- and acetate-grown Escherichia coli*. *Biochem. J.* 1968; 110: 775-781
- Daum G, Kohlwein SD, Zinser E. and Paltauf F.: *Effect of inositol starvation on glycerolipid metabolism in Saccharomyces uvarum*. *Biochim. Biophys. Acta* 1983; 753: 430-438
- De Siervo AJ and Homola AD.: *Analysis of Caulobacter crescentus lipids*. *J. Bacteriol.*, 1980; 143(3): 1215-1222
- Dietrich CP, Colucci AV and Strominger JL.: *Biosynthesis of the peptidoglycan of bacterial cell walls*. *J. Biol. Chem.* 1976; 242(13): 3218-3225
- Donohue-Rolfe AM and Schaechter M.: *Translocation of phospholipids from the inner to the outer membrane of Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1980; 77(4): 1867-1871
- Duckworth DH, Bevers EM, Verkleij AJ, JAF OP Den Kamp and LLM Van Deenen: *Action of phospholipase A<sub>2</sub> and phospholipase C on Escherichia coli*. *Arch. Biochem. Biophys.* 1974; 165: 379-387
- Erwin J and Bloch K.: *Biosynthesis of unsaturated fatty acids in microorganisms*. *Science* 1964; 143: 1006-1012
- Foster PL.: *Copper exclusion as a mechanism of heavy metal tolerance in a green alga*. *Nature* 1977; 269: 322-323
- Foy CD.: *The physiology of metal toxicity in plants*. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 1978; 29: 511-566
- Fulco A J.: *Metabolic alterations of fatty acids*. *Annu. Rev. Biochem.* 1974; 43: 215-242
- Goldfine H.: *Lipids of prokaryotes: Structure and distribution*. *Curr. Top. Memb. Transport* 1982; 17: 1-43
- Gottschalk G.: *Biosynthesis of lipid*. *Bacterial Metabolism*, 1988; Vol. 2: 65-74
- Henry SA and Halvorson HI.: *Lipid synthesis during sporulation of Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.*, 1973; 114: 1158-1163
- Hourdou ML, Besson F. and Michel G.: *Studies on the biosynthesis of -amino acids, the lipid moiety of iburins A in Bacillus subtilis*. *J. Antibiotics*, 1988; 41(2): 207-211
- Huang CY, Bazzaz FA and Vanderhoef LN.: *The inhibition of soybean metabolism by cadmium and lead*. *Plant Physiol.*, 1974; 54: 122-124
- Kanfer J and Kennedy EP.: *Metabolism and function of bacterial lipids: I. Metabolism of phospholipids in Escherichia coli B*. *J. Biol. Chem.*, 1963; 238(9): 2919-1922
- Kect RW.: *Cadmium alteration of root physiology and potassium ion fluxes*. *Plant Physiol.*, 1978; 62: 94-96
- Kito M, Aibara S, Kato M and Hata T.: *Differences in fatty acid composition among phosphatidylethanolamine, phosphatidylglycerol and cardiolipin of Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta* 1972; 260: 475-478
- Knivett VA and Cullen J.: *Some factors affecting cyclopropane acid formation in Escherichia coli*. *Biochem. J.* 1965; 96: 771-776
- Koeppel DE and Miller RJ.: *Lead effects on corn mitochondrial respiration*. *Science*, 1970; 167: 1376-1378
- Lee CS and Lim YB.: *Effects of heavy metals on contents of various phosphate compounds and organic compounds in Chlorella cells*. *Kor. J. Microbiol* 1982; 20(1): 27-40
- Levis AG, Buttignol M, Bianchi V and Sponza G.: *Effects of potassium dichromate on nucleic acid and protein syntheses and on precursor uptake in BHK fibroblasts*. *Cancer Res* 1978; 38: 110-116
- Marr AG and Ingraham JL.: *Effects of temperature of the composition of fatty acids in Escherichia coli*. *J. Bacteriol* 1962; 84: 1260-1267
- McGarrity JT and Armstrong JB.: *The effects of salt on phospholipid fatty acid composition in Escherichia coli K-12*. *Biochim. Biophys. Acta* 1975; 398: 258-264
- Mills JS and Johnson JD.: *Metal ions as allosteric regulators of calmodulin*. *J. Biol. Chem.* 1985; 260: 15100-15105
- Mindich L.: *Control of fatty acid synthesis in bacteria*. *J. Bacteriol* 1972; 110(1): 96-102
- Nakazawa N, Makino F and Okada S.: *Acute effects of mercuric compounds on cultured mammalian cells*. *Biochem. Pharm.*, 1975; 24: 489-493
- Nelson DL and Kennedy EP.: *Magnesium transport in Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 1971; 246(9): 3042-3049
- Nichols BW.: *Light induced changes in the lipids of*

- Chlorella vulgaris*. *Biochim. Biophys. Acta* 1965 ; 106 : 274-279
- Paton GR and Allison AC : Chromosome damage in human cell cultures induced by metal salts. *Mutation Res* 1972 ; 16 : 332-336
- Petrilli FL and De Flora S : Toxicity and mutagenicity of hexavalent chromium on *Salmonella typhimurium*. *Applied and Environmental Microbiology* 1977 ; 33(4) : 805-809
- Raetz CRH : Molecular genetics of membrane phospholipid synthesis. *Annu. Rev. Genet.* 1986 ; 20 : 253-295
- Seo KS and Lee CS : Effects of various metal compounds on the genetic toxicity in *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and Chinese hamster Don cell. 1992 ; Thesis of Ph.D. in Microbiology, Sungshin Women's Univ.
- Singer SJ and Nicolson GL : The fluid-mosaic model of the structure of cell membranes : Cell membranes are viewed as two-dimensional solutions of oriental globular proteins and lipids. *Science*, 1972 ; 175 : 720-731
- Skipiski VP and Barllay M. : Thin-layer chromatography of lipids. *Methods. Enzymol.*, 1969 ; 14 : 530-598
- Starka J and Moravora J. : Phospholipids and cellular division of *Escherichia coli*. *J. Gen. Microbiol.* 1970 ; 60 : 251-257
- Steiner MR and Lester RL : In vitro studies of phospholipid biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochim. Biophys. Acta* 1972 ; 260 : 222-243
- Turner JD and Ouser G : Precise quantitative determination of human blood lipids by thin-layer and triethylaminoethylcellulose column chromatography : II. Plasma lipids. *Anal. Biochem.* 1970 ; 38 : 437-445
- Umeda M and Nishimura M. : Inducibility of chromosomal aberrations by metal compounds in cultured mammalian cells. *Mutation Res.* 1979 ; 67 : 221-229
- Vallee BL and Ulmer DD : Biochemical effects of mercury, cadmium, and lead. *Annu. Rev. Biochem.* 1972 ; 41 : 91-128
- Venitt S and Levy LS : Mutagenicity of chromates in bacteria and its relevance to chromate carcinogenesis. *Nature*, 1974 ; 250 : 493-495
- Viljoen BC, Kock JCF and Lategan PM. : The influence of culture age on the cellular fatty acid composition of four selected yeasts. *J. Gen. Microbiol* 1968 ; 132 : 1895-1898
- Vogel HJ and Bonner DM : Acetylornithinase of *Escherichia coli* : partial purification and some properties. *J. Biol. Chem.*, 1956 ; 218 : 98-106
- Waechter CJ and Lester RL : Differential regulation of the N-methyltransferase responsive for phosphatidylcholine synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch. Biochem. Biophys.* 1973 ; 158 : 401-410
- Webb M. : The mechanism of acquired resistance to  $\text{Co}^{++}$  and  $\text{Ni}^{+}$  in gram-positive and gram-negative bacteria. *Biochim. Biophys. Acta*, 1970 ; 222 : 440-446
- Wood R and Falch J. : Lipids of cultured hepatoma cells : II. Effects of media lipids on cellular phospholipids. *Lipid*, 1973 ; 8(12) : 702-710
- Yamane T and Davidson N : On the complexing of deoxyribonucleic acid (DNA) by mercuric ion. *J. Am. Chem. Soc.*, 1961 ; 83(12) : 2599-2607