

## 탄소원과 질소원의 무게비가 *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304의 성장 및 지방산 조성 특성에 미치는 영향

김원호 · 박승혜 · 송상규 · <sup>1</sup>배천순 · †허병기  
인하대학교 공과대학 생명화학공학과, <sup>1</sup>녹십자백신 백신연구소  
(접수 : 2005. 1. 14., 게재승인 : 2005. 6. 23.)

## The Effect of Weight Ratio of Carbon Source to Nitrogen Source on the Growth and the Composition of Fatty Acid of *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304

Won-Ho Kim, Seung-Hye Park, Sang-Kyu Song, Kyung-Dong Bae<sup>1</sup>, and Byung-Ki Hurt  
Department of Biological and Chemical Engineering, College of Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea  
<sup>1</sup>Vaccine Research Institute, GreenCross Vaccine Corp., KyungKi 449-903, Korea  
(Received : 2005. 1. 14., Accepted : 2005. 6. 23.)

The effect of the weight ratio of carbon source to nitrogen source on the growth and the composition change of fatty acids of *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304 was investigated. The cell concentration of 5 days' culture increased and then decreased according to the increase of C/N. The ratios for the maximum biomass were unique respectively and distributed between 1 and 4 with the initial sugar concentration in the range of 5 g/L to 25 g/L. The biomass yield,  $Y_{x/s}$  decreased along with the increase of C/N, but maintained a constant value 0.35 between 10 and 20. The composition of myristic acid ( $C_{14:0}$ ), one component of the lipid synthesized by *T. aureum*, was not affected with the change of C/N, but the composition of palmitic acid ( $C_{16:0}$ ) was around 20% below 4 of C/N and decreased to 15% according to C/N about 4. The compositions of oleic acid ( $C_{18:1}$ ) and linoleic acid ( $C_{18:2}$ ) increased from 0 to 20% and 7% respectively. The composition of  $\gamma$ -linoleic acid ( $C_{18:3}$ ), however, reduced from 5% to 2%. EPA ( $C_{20:5}$ ) and DPA ( $C_{22:5}$ ) showed a tendency of reduction in the weight composition according to the increase of C/N, but DHA ( $C_{22:6}$ ) had a trend maintaining an approximately constant value, around 40%, irrespective of the change of C/N.

**Key Words :** *Thraustochytrium aureum*, polyunsaturated fatty acids, carbon source, nitrogen source

### 서론

생명체는 각기 고유한 대사작용에 따라 생명유지에 필요한 여러 종류의 지방산을 생합성하여 사용한다. 생명체에 따라서는 생명현상 유지에 필요한 지방산을 모두 자체적으로 합성하여 사용하기도 하나, 스스로 합성할 수 없는 경우 다른 생명체로부터 합성된 지방산을 섭취하여야 한다. 특히  $\omega$ -3 계열의 다중불포화 지방산은 인체의 생리작용에 필수성분일 뿐 아니라 여러 종류의 질병예방 및

치료에 효과적이라고 보고 되어있다. 특히 탄소사슬의 길이가 길고 이중결합수가 많은 docosahexaenoic acid (DHA)는 인간을 포함한 포유류의 대뇌피질, 눈의 망막, 정액소와 정액 등의 주요 구성성분으로 알려져 있다(1, 2). 또한 DHA와 eicosapentaenoic acid (EPA)는 동맥경화(3), 혈전증(4) 및 고혈압(5) 등의 예방 및 치료에 효과적일 뿐만 아니라 천식(1), 관절염(6), 편두통(7) 및 신장염(8)과 같은 염증성의 질병 치료에도 가능성이 높다고 보고되어 있다.

EPA와 DHA가 인류의 건강에 중요한 영향을 미친다는 연구결과가 발표되면서 이들  $\omega$ -3 다중불포화 지방산을 상업적으로 생산하려는 연구가 주목받기 시작하였다. 현재까지 알려진  $\omega$ -3 다중불포화 지방산의 주공급원은 물고기 기름이다. 따라서 물고기를 추출·분리·정제하여 인류가 원하는  $\omega$ -3 다중불포화 지방산을 공급하고 있다. 그

† Corresponding Author : Department of Biological and Chemical Engineering, College of Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea  
Tel : +82-32-860-7512, Fax : +82-32-872-4046  
E-mail : biosys@inha.ac.kr

러나 물고기 기름이 내포하는 특유한 비린내는 물론 가공 공정 중에 이중결합이 산화되거나 생산량의 제한성으로 인하여  $\omega$ -3 다중불포화 지방산의 대체자원에 대한 필요성이 대두되어 왔다(9, 10).

일반적으로 해양곰팡이와 조류 등의 진핵생물이  $\omega$ -3 다중불포화 지방산을 생합성한다고 보고되어 왔다. 물고기는 이들  $\omega$ -3 다중불포화 지방산을 자체적으로 생합성하는 대사경로를 지니고 있지 않기 때문에, 체내에서 필요로 하는 다중불포화 지방산은 이들 미생물들의 섭취에 의하여 충족시키고 있다. 물고기의 서식지와 종류에 따라 체내에 축적되어 있는 지방산의 종류와 함량이 서로 다른 것은 먹이 사슬인 해양미생물의 지방산 합성경로가 서로 다르기 때문이다(11, 12). 해양계 생물 중 *Mucorale* 목에 속하는 미생물은 균주에 따라 균체단위 질량당 높은 함량의 DHA와 EPA를 생산하는 것으로 보고되어 있다. *Cryptocodinium cohnii* 균주의 경우 배지에서 산소장력이 증가하면 불포화 지방산의 농도도 증가하며, *Euglena gracilis* 균주는 혐기적 조건에서 성장할 때 포화 지방산의 합성을 유도하는 것으로 알려져 있다(13). *Mortierella ramarniana* 균주인 경우, C/N 비가 높으면 균체의 총지질량이 증가할 뿐만 아니라 다중불포화 지방산의 수율도 증가하는 것으로 보고 되어 있다. 이외에도 *Thraustochytrid* 속의 곰팡이는 DHA 함량이 높은 반면 DHA와 구조가 유사한 다른 종류의  $\omega$ -3 다중불포화 지방산의 함량은 낮은 것으로 알려져 있다(12). 따라서 현재 많은 연구자들은 해양미생물의 배양을 통한  $\omega$ -3 다중불포화 지방산의 상업적 생산을 물고기 기름의 정제에 의한  $\omega$ -3 다중불포화 지방산의 보완 또는 대체 방안으로 고려하고 있다.

미생물의 성장과  $\omega$ -3 다중불포화 지방산의 생합성에 영향을 미치는 인자로는 배지조성, 탄소원의 종류 및 농도, 질소원의 종류 및 농도, 지방산의 전구체 첨가, pH, 배양온도, 빛의 세기, 산소농도 및 배양기간 등이 보고되어 있다(13, 14, 15, 16, 17). 미생물이 합성하는  $\omega$ -3 다중불포화 지방산의 조성분포는 미생물의 종류에 따라 고유한 분포 특성을 나타내나, 배양온도와 같은 환경인자와 탄소원 및 질소원과 같은 조성인자가 지방산 조성 분포와 지방산의 생산성에 영향을 미친다는 연구결과가 보고 되어 있다. 그러나 각 인자가 지방산의 조성분포와 생산성에 미치는 영향을 정량적으로 규명한 연구결과는 보고되어 있지 아니하다. 따라서 본 연구에서는 조성인자 중 탄소원과 질소원의 무게비가 *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304가 생산하는 8종류의 지방산 조성분포에 미치는 영향을 정량적으로 규명하려고 하였다.

## 재료 및 방법

### 균주

본 연구에서 사용한 균주는 해양곰팡이의 일종인 *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304이다. 균주의 활성을 유지하기 위하여 2주일 단위로 사면배지와 평판배지에 계대배양한 후 4°C에서 냉장보관하면서 접종용 균주로 사용

하였다.

### 배지조성

접종용 균주배양을 위한 배지는 Solomon Goldstein의 배지조성을 부분적으로 보완하여 사용하였다. 배지조성은 1 L를 기준으로 NaCl 24 g, MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O 12 g, KCl 0.75 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 mg, CaCO<sub>3</sub> · 2 H<sub>2</sub>O 1 g, NaNO<sub>3</sub> 40 mg, Tris 1 g, Na<sub>2</sub> EDTA 12 mg, NaMoO<sub>4</sub> · 2 H<sub>2</sub>O 1 mg, Thiamine-HCl 10 µg, NaHCO<sub>3</sub> 0.1 g, vitamine B<sub>12</sub> 1 µg과 탄소원으로 포도당 5 g 질소원으로 효모추출물과 펩톤 각 1 g이었다.

탄소원과 질소원의 무게비가 균체의 성장과 지방산 조성 변화에 미치는 영향을 규명하기 위한 배지조성은 접종용 균주배지조성을 기본으로 하되, 포도당은 5 g/L에서 25 g/L까지, 효모추출물과 펩톤이 동일 무게비로 혼합된 질소원은 0.5 g/L에서 16 g/L까지 변화시켰다.

### 배양조건

접종용 균주의 배양은 250 mL Erlenmeyer flask 내에서 작동 부피를 60 mL로 하여 진탕배양기에서 수행하였다. 배양온도는 24°C, 교반속도는 100 rpm, 배양시간은 48 hr로 하였다. 탄소원과 질소원의 무게비가 미생물의 성장과 생합성하는 지방산의 조성에 미치는 영향에 대한 규명실험은 2 L 배양기에서 1 L 작동부피로 수행하였다. 배양온도와 교반속도는 접종용 균주 배양조건과 동일하게 하였으며 배양시간은 5일로 고정하였다.

### 시료의 분석

배양 5일 후 배양기로부터 시료를 채취하였다. 시료가 담긴 시험관을 3000 rpm에서 15분간 원심분리 하였다. 상등액은 잔당분석에 사용하였으며 침전물은 균체농도, 지질 및 지방산 분석에 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### 탄소원과 질소원의 무게비가 균체량 증가에 미치는 영향

인공해수배지의 기본 조성을 고정한 후, 주요 영양원인 탄소원과 질소원의 무게비, C/N이 *T. aureum* ATCC 34304의 성장 특성에 미치는 영향을 규명하여 보았다. 동일한 기본 배지에서 C/N 비율만 변화 시켰을 때 배양 5일 후의 균체농도와 C/N 비율 사이의 관계를 Fig. 1에 제시하였다. 이 결과에 의하면, 5일 배양 후의 균체 농도는 초기 당농도와 C/N 비율의 함수 관계로 표현됨을 알 수 있었다. 각 초기 당농도에서 C/N 비율을 증가시키면 어느 일정 수준까지는 균체농도가 증가하나 그 이상의 범위에서는 C/N 비율이 증가하면 균체 농도가 감소하였다. 이러한 경향은 초기 당농도 5 g/L 내지 25 g/L 사이의 모든 초기 당농도 범위에서 동일하게 나타났다. 또한 균체농도가 최대가 되는 C/N 비율은 초기 당농도에 따라 서로 같지 아니하였다. 초기 당농도가 증가하면, 균체농도가 최대가 되는 C/N 비율의 값도 증가하였다. 초기 당농도가 5 g/L인 경우에는 균체농도가 최대가 되는 C/N 비율의 값이 대략 1이었으나,

초기 당농도 15 g/L인 경우에는 2의 값을, 초기 당농도 25 g/L인 경우에는 3의 값을 나타내었다.

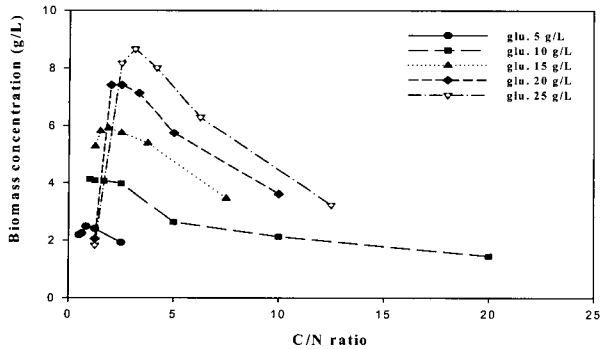


Figure 1. Effect of various C/N ratio on the cell concentration.

배지의 조성, 탄소원, 질소원, 지방산 전구체의 첨가, pH, 배양온도, 빛의 세기 등이 미생물 성장의 주요인자로 보고되었다(13, 18). *Motierella ramaniana* 균주인 경우 C/N 비율이 높으면 균체의 총지질량이 증가할 뿐 아니라 다중 불포화 지방산의 양도 증가하는 것으로 보고되어 있다(19). 그러나 본 연구에서와 같이 균체의 농도를 초기 당농도와 C/N 비율의 함수로 규명하지는 아니하였다. Fig. 2는 C/N 비율이 균체의 수율에 미치는 영향을 나타내고 있다. C/N 비율이 낮아질수록 균체수율은 증가하였다. C/N 비율이 약 1 인 경우 균체수율이 60% 내외였으나 질소원에 대한 탄소원의 무게비율이 증가하면 균체수율을 완만하게 감소하였다. 그러나 C/N 비율 10 이상 20 이하의 범위에는 0.35 내외로 일정한 값을 나타내었다.

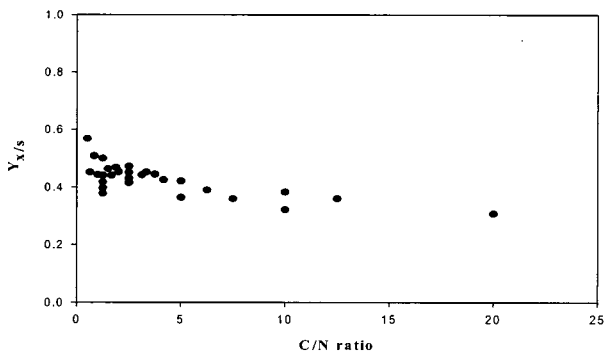


Figure 2. Effect of various C/N ratio on the yield of the cell.

**탄소원과 질소원의 무게비가 포화지방산 생합성에 미치는 영향**

생명체가 합성하는 지질의 구성성분인 지방산의 종류와 함량은 생명체에 따라 각기 고유하다. 특히 해양미생물인 경우, 광합성 작용을 활용하여 ω-3 다중불포화 지방산을 지질 내에 다량으로 축적하는 특성을 지니고 있다(20, 21). 본 연구에서는 인공해수 배지의 기본조성을 일정하게 유지하면서 탄소원과 질소원의 무게비율을 변화시켰을 때 ω-3 다중불포화 지방산을 고농도로 합성하는 *T. aureum* 균주의 지방산 조성이 어떻게 변화하는가를 규명하였다.

Fig. 3은 탄소원과 질소원의 무게비율, C/N이 *T. aureum*

ATCC 34304가 생합성하는 지질 내의 포화지방산인 미리스트산 (C<sub>14:0</sub>)과 팔미트산 (C<sub>16:0</sub>)의 조성 변화에 미치는 영향을 나타내고 있다. 이 결과에 의하면 미리스트산의 조성은 C/N의 비율에 관계없이 0.8~1.0%의 범위 내에서 일정하였을 뿐만 아니라 그 함량이 다른 지방산에 비하여 낮았다. 반면 탄소수가 16개인 팔미트산의 함량은 C/N 비율이 증가할수록 낮아지는 것을 알 수 있었다. C/N 비율 3.75까지는 지질의 22%까지 팔미트산을 생합성 하였으나, C/N 비율이 5 이상으로 증가하면 팔미트산의 함량은 15%까지 감소하였다.

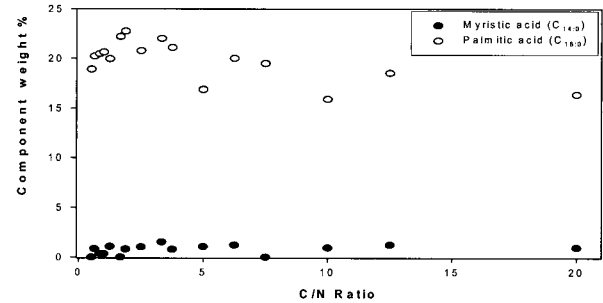


Figure 3. Effect of C/N ratio on the saturated fatty acid (●, Myristic acid (C<sub>14:0</sub>); ○, Palmitic acid (C<sub>16:0</sub>)).

**탄소원과 질소원이 무게비가 C<sub>18</sub> 지방산 생합성에 미치는 영향**

Fig. 4는 탄소원과 질소원의 무게비율, C/N의 변화가 탄소수가 18개인 올레인산 (C<sub>18:1</sub>), 리놀레인산 (C<sub>18:2</sub>)과 γ-리놀레인산 (C<sub>18:3</sub>)의 조성변화에 미치는 영향을 나타내고 있다. C/N의 비율이 증가할수록 지질내의 올레인산의 조성은 0%에서 23%까지 증가하였다. 리놀레인산의 경우에도 C/N 비율의 증가에 따라 0%에서 7% 내외까지 증가하였다. 반면 γ-리놀레인산인 경우 C/N 값 0.5에서는 5%의 조성비를 나타내었으나 C/N 값이 5가 되면 2%까지 감소하였다. 탄소수가 18개인 지방산인 경우, C/N의 비율이 증가하면 전체량은 증가하나 이중결합수가 3개인 γ-리놀레인산의 조성비는 낮아지는 경향을 나타내었다. 이와 같은 결과는 질소량이 일정할 경우 탄소량이 증가하면 ω-3 계열의 다중불포화 지방산의 함량이 증가한다는 Rezanka 등(18)의 연구결과와 일치하나 그 조성이 일치하지는 아니하였다.

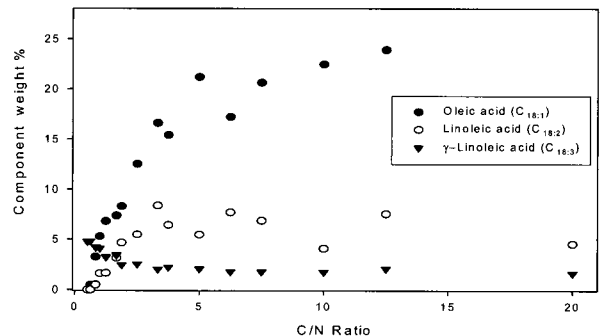


Figure 4. Effect of C/N ratio on the (C<sub>18,1,2,3</sub>) fatty acids (●, Oleic acid (C<sub>18:1</sub>); ○, Linoleic acid (C<sub>18:2</sub>); ▼, γ-Linolenic acid (C<sub>18:3</sub>)).

탄소원과 질소원의 무게비가 C<sub>20:5</sub>, C<sub>22:5</sub> 및 C<sub>22:6</sub>의 생합성에 미치는 영향

*T. aureum* ATCC 34304균주가 생합성하는 지질의 구성 성분 중 ω-3 다중불포화 지방산, C<sub>20:5</sub>, C<sub>22:5</sub>와 C<sub>20:6</sub>의 조성비와 C/N 무게비 사이의 함수관계를 Fig. 5에 도시하였다. C/N 비가 증가하면 지질을 구성하고 있는 EPA (C<sub>20:5</sub>)와 DPA (C<sub>22:5</sub>)의 조성비는 계속 감소하였다. C/N 비 0.5에서는 EPA의 조성비가 8%, DPA가 15% 내외였으나, C/N 비가 5 이상이 되면 EPA는 2%, DPA 8% 내외까지 감소하였다. 반면 DHA는 C/N 비의 변화에 관계없이 40%보다 약간 높은 수준을 일정하게 유지하였다.

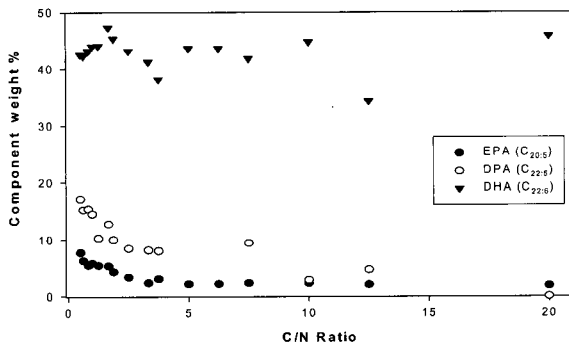


Figure 5. Effect of C/N ratio on the ω-3 polyunsaturated fatty acids (•, EPA (C<sub>20:5</sub>); ○, DPA (C<sub>22:5</sub>); ▼, DHA (C<sub>22:6</sub>)).

균주에 따라서 ω-3 다중불포화 지방산의 생산특성이 상당히 다르다. *Motierella ramaniana* 균주인 경우 C/N 비가 높으면 다중불포화 지방산의 수율이 증대되는 것으로 보고 되어있고, *Dunaliella salina* 등은 질소원이 고갈된 상태에서 높은 비율로 EPA를 생산한다고 보고되어 있다(19). 본 연구의 균주인 경우 C/N 비가 낮은 경우, 즉 질소원의 양이 충분한 상태에서 EPA를 다소 생산하나 질소원의 양이 적은 경우인 C/N 비 5 이상에서 EPA의 생산량이 적었다. DPA의 경우도 EPA와 같은 경향을 나타내었다.

요약

탄소원과 질소원의 무게비가 *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304의 성장 및 지방산 조성에 미치는 영향을 규명하였다. 초기 당농도에 관계없이 배양 5일 후의 균체농도는 C/N 값이 증가하면 증가하였다가 감소하였다. 각 초기 당농도에 따라서, 균체농도가 최대가 되는 C/N의 비는 각기 고유한 값을 나타내었다. 초기 당농도 5 g/L 내지 25 g/L 범위 내에서 균체농도가 최대가 되는 C/N 값은 1 내지 4 사이에 분포하였다. C/N 비에 따른 균체수율 Y<sub>xs</sub>의 값은 C/N의 값이 증가하면 감소하였으나 10 내지 20 사이의 범위에서는 0.35의 일정한 값을 유지하였다. *T. aureum* ATCC 34304가 생합성하는 포화지방산인 미리스트산의 조성은 C/N 비의 변화에 영향을 받지 않았으나 팔미트산의 조성은 C/N 값 4 이하에서는 20% 내외의 값을 나타내었고 C/N 값이 증가하면 15%까지 감소하였다. 탄소수사 18개인 C<sub>18</sub>:의 지방산 중 올레인

산 (C<sub>18:1</sub>)과 리놀레인산 (C<sub>18:2</sub>)의 조성은 C/N 값이 증가하면 0%에서 각각 20% 및 7%까지 지속적으로 증가하였다. 반면 γ-리놀레인산 (C<sub>18:3</sub>)의 조성은 C/N 값의 증가에 따라 5%에서 2%까지 감소하였다. 탄소수가 20개 이상인 ω-3 다중불포화 지방산 중 EPA (C<sub>20:5</sub>)와 DPA (C<sub>22:5</sub>)의 조성은 C/N 값의 증가에 따라 감소하는 경향을 나타내었으며, DHA (C<sub>22:6</sub>) 조성은 C/N 값이 증가하더라도 40% 내외의 값을 유지하였다.

감사

본 연구는 해양수산부의 수산특정연구개발사업 (과제번호: 20020075)에 의해 수행되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

- Dratz, E. A. and Deese, A. J. (1986), Health effects of polyunsaturated fatty acid in seafoods. Academic Press Inc., USA. 319-330.
- Gascon, A., Jacques H., Moorjani, S., Deshaies, Y., Brun, L. D., and Julien, P. (1996), Plasma lipoprotein profile and lipolytic activities in response to the substitution of lean white fish for other animal protein sources in premenopausal women, *Am. J. Clin. Nutr.* **63**: 315-321.
- Mehta J., Lopez L. M., and T. Wargovich (1987), Eicosapentaenoic acid: its relevance in atherosclerosis and coronary artery disease, *Am. J. Cardiol.* **59**: 155-159.
- Urakaze M., Hamazaki T., Soda V., Miyamoto M., Iloki F., Yano F., and Kumagai A. (1986), Infusion of emulsified triicosapentaenoyl-glycerol into rabbits—the effects on platelet aggregation, polymorphonuclear leukocyte adhesion, and fatty acid composition in plasma and platelet phospholipids, *Thrombo. Res.* **44**: 673-682.
- Mortensen, J. Z., Schmidt E. B., Nielsen A. H., and J. Dyerberg (1983), The effect of N-6 and N-3 polyunsaturated fatty acids on hemostasis, blood lipids and blood pressure, *Thromb. Haemost.* **50**: 543-546.
- Krema, J. M., Bigouette, J., and A. U. Michalek (1985), Effects of manipulating dietary fatty acids on clinical manifestations of rheumatoid arthritis, *Lancet* **1**: 184-187.
- Ziboh V. A., Cohen K. A., Ellis C. N., Miller C., Hamilton T. A., Kraghball K., Hydrick C. R., and J. J. Voorhees (1986), Effects of dietary supplementation of fish oil on neutrophil and epidermal fatty acids, *Arch Dermatol.* **122**: 1277-1282.
- Robinson D. R., Prickett J. D., Makoul G. T., Steinberg A. D., and Colvin R. B. (1986), Dietary fish oil reduces progression of established renal disease in (NZB x NZW) F1 mice and delays renal disease in BXDB and MRL/l strains, *Arthritis Rheum* **29**: 539 - 546.
- Calson, S. E. (1996), Arachidonic acid status of human infants: Influence of gestational age at birth and diets with very long chain n-3 and n-6 fatty acids, *J. Nutr.* **126**: 1092-1098.
- Yongmanitchai W. and Ward O. P. (1989), Omega-3 fatty acids: alternative sources of production, *Process Biochem.* **24**: 117-125.
- Braden L. M. and Carroll K. K. (1986), Dietary polyunsaturated fat in relation to mammary carcinogenesis in rats, *Lipids* **21**: 285-288.
- Yokochi, T., Honda, D., Higashihara, T., and T. Nakahara (1998), Optimization of docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium limacinum* SR21, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **49**: 72-76.
- Bajpai P. K., Bajpai P., and Ward O. P. (1991), Optimization of production of docosahexaenoic acid (DHA) by *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304, *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **68**: 509-514.

14. Cohen, Z., Vonshak, A. and A. Richmond (1987), Fatty acid composition of spirulina strains grown under various conditions, *Phytochemistry* **26**: 2255-2258.
15. Singh, A. and O. P. Ward (1996), Production of high yields of docosahexaenoic acid by *Thraustochytrium roseum* ATCC 28210, *J. Ind. Microbiol.* **16**: 370 - 373.
16. Stinson, E. E., Kwoczak R., and M. Kurantz (1991), Effect of cultural conditions on production of eicosapentaenoic acid by *Pythium irregulare*, *J. Ind. Microbiol.* **8(3)**: 171-178.
17. Jiang, Y. and F. Chen (2000), Effect of medium glucose concentration and pH on docosahexaenoic acid content of heterotrophic *Cryptocodinium cohnii*, *Process Biochem.* **35**: 1205-1209.
18. Rezanka, T., Doucha, J., Mares, P., and M. Podojil (1987), Effect of cultivation temperature and light intensity on fatty acid production in the red alga *Porphyridium cruentum*, *J. Basic Microbiol.* **27**: 167-171.
19. Peberdy, J. and D. K. Toomer (1975), Effect of nutrient starvation on the utilization of storage lipids in *Mortierella ramanniana*, *Micobios.* **13**: 123-131.
20. Bajpai P. and P. K. Bajpai (1993), Eicosapentaenoic acid (EPA) production from microorganisms: a review, *J. Biotechnol.* **30**, 161-183.
21. Henderson R. J., Leftley J. W., and J. R. Sargent (1988), Lipid composition and biosynthesis in the marine dinoflagellate *Cryptocodinium cohnii*, *Phytochemistry* **27**, 1679-1683.