

당농도 및 염농도가 해양미생물 *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304의 성장 및 지질과 DHA 생성에 미치는 영향 규명

김 원 호 · 정 영 수 · ¹박 천 익 · † 허 병 기
인하대학교 공과대학 생명화학공학과, ¹(주)보령제약 중앙연구소
(접수 : 2005. 2. 8., 게재승인 : 2005. 7. 3.)

The Effect of Concentration of Glucose and Salts on both the Growth and the Production of Lipid and DHA of *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304

Won-Ho Kim, Young-Su Jeong, Chun-Ik Park¹, and Byung-Ki Hur†

Department of Biological and Chemical Engineering, College of Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

¹Boryung Central Research Institute, Boryung Pharmaceutical Co. Ltd., Ansan, Kyungki-Do 425-120, Korea

(Received : 2005. 2. 8., Accepted : 2005. 7. 3.)

The polyunsaturated fatty acids (PUFAs) are mostly synthesized by the marine original microorganisms. In this study, the effect of concentrations of glucose, NaCl, and MgSO₄ · 7H₂O on both the growth and the production of lipid and Docosahexaenoic acid (DHA) was investigated using *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304. Y_{Lipid/X} and Y_{DHA/Lipid} increased according to the increase of initial glucose concentration until 15 g/L of glucose. The maximum values of Y_{Lipid/X} and Y_{DHA/Lipid} were 0.18 g/g and 0.41 g/g respectively at 15 g/L of glucose. The biomass yield, Y_{X/S}, however, was constant as 0.378 g/g regardless of initial glucose concentrations in the range of 5 g/L to 25 g/L. The specific growth rate of *T. aureum* increased also with initial glucose concentration from 5 g/L and 15 g/L. The maximum value was 0.79 day⁻¹ at 15 g/L of glucose, and the growth rate decreased to 0.57 day⁻¹ and remained constant according to initial sugar concentration in the range of higher than 15 g/L of glucose. The concentration of NaCl was changed from 0 g/L to 48 g/L, in order to study the characteristics of the growth and the production of lipid and DHA according to NaCl concentration. The growth and the production of lipid as well as DHA stopped all at 0 g/L of NaCl and the maximum values of all the three variables occurred at 24 g/L. The effect of MgSO₄ · 7H₂O concentration was also investigated not to find the growth and the production of lipid and DHA at 0 g/L. However, the growth and the production with MgSO₄ · 7H₂O concentration increased to reach the maximum values at 18 g/L of MgSO₄ · 7H₂O.

Key Words : *Thraustochytrium aureum*, docosahexaenoic acid (DHA), lipid, polyunsaturated fatty acids (PUFAs), specific growth rate

서 론

ω-3 계열의 다중불포화지방산은 인체의 생리적 작용에 필수성분일 뿐만 아니라 여러 종류의 질병예방 및 치료에도 효과적인 성능을 내포하고 있다고 보고되어 있다(1-8).

† 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

특히 탄소사슬이 길고 이중결합수가 많은 docosahexaenoic acid (DHA)와 eicosapentaenoic acid (EPA)는 동맥경화증(1), 혈전증(2), 글리세롤 과다유출증(3), 그리고 고혈압(4)의 예방 및 치료에 효과적일 뿐만 아니라 천식(5), 관절염(6), 편두통(7), 건선(7) 및 신장염(8)과 같은 염증성의 질병 치료에 대한 가능성이 높다고 보고 되어있다. 현재 ω-3 다중불포화지방산 획득의 주요 자원을 물고기 기름이다. 따라서 물고기로부터 기름을 추출·분리·정제하여 상업적 용도로 사용하고 있다. 물고기 기름의 전세계 생산량은 연간 약 100만 톤 정도이며, 이 중 DHA와 EPA의 함량은 대략 10 내지 25만 톤 정도이다(9, 10). 하루에 한 사람이 필요

로 하는 다중불포화지방산의 양이 5 g이라고 할 때, 이 생산량은 5천5백만명 내지 1억4천만명 정도의 사람들에게만 공급할 수 있는 양이다(11). 그러나 물고기 기름 내의 DHA 함량이 낮을 뿐만 아니라 물고기 기름의 가공과정에서 이중결합의 위치가 바뀌고 cis 형에서 trans 형으로 전환됨으로 인하여 대부분의 ω -3계 다중불포화지방산이 변형된다. 따라서 많은 연구자들은 미생물 배양에 의한 DHA와 EPA의 상업적 생산을 물고기 기름에 의한 DHA와 EPA 생산의 대체방안으로 제안하고 있다(12, 13).

일반적으로 해양곰팡이와 조류 등의 진핵생물이 ω -3 다중불포화지방산을 생합성한다고 보고 되어있다. 특히 *Mucorale* 목에 속하는 미생물이 균주에 따라 균체 단위질량당 높은 함량의 DHA와 EPA를 생산하는 것으로 보고 되어있다. *Cryptocodium cohnii* 균주의 경우 배지에서 산소장력이 증가하면 불포화지방산의 농도도 증가하며, *Euglena gracilis* 균주는 혐기적 조건에서 성장할 때 포화지방산의 합성을 유도하는 것으로 알려져 있다(14). *Mortierella ramanniana* 균주인 경우 C/N 비가 높으면 균체의 총 지질량이 증가할 뿐만 아니라 다중불포화지방산의 수율도 증가하는 것으로 보고 되어있다(15). *Cyclotella menaghiniana*, *Nitzschia closterium*, *Euglena gracilis* 등은 광선의 세기가 낮은 경우에 다중불포화지방산의 형성과 축적이 촉진되는 것으로 보고 되어있다(16-18). *Dunaliella bardawii*, *Dunaliella salina* 등은 질소원이 고갈된 상태에서 EPA의 생산성이 높다고 보고 되어있다(19). 미생물에 의한 DHA와 EPA의 생합성은 영양원의 제한, 질소원의 양에 대한 탄소원의 양의 비, 질소원의 종류, 환경인자 (pH, 온도, 빛의 세기, 교반속도 등) 및 성장시기 등에 영향을 받는다(13).

본 연구에서 취급하는 *Thraustochytrium aureum* 역시 위의 여러 인자에 의하여 DHA와 EPA는 물론 합성하는 지질을 구성하고 있는 15종 이상의 지방산 조성도 영향을 받는다고 보고되어있다. 그러나 현재까지 이들 인자에 의한 미생물의 성장속도와 당소모에 대한 균체수율, 지질수율 및 DHA 수율이 정량적으로는 규명되어 있지 아니하다. 따라서 본 연구에서는 당의 초기농도 변화와 미생물의 성장속도 사이의 함수관계 규명은 물론 당농도의 변화가 균체수율, 지질수율 및 DHA 수율에 미치는 영향을 정량적으로 규명하였다. 또한 해양미생물 성장에 영향이 큰 NaCl과 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 의 염농도 변화도 정량적으로 규명하였다.

재료 및 방법

미생물

본 연구에서 사용한 균주는 *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304이다. 균주의 활성을 유지하기 위하여 두 주일 단위로 사면배지와 평판배지에 계대배양한 후 4°C에서 냉장 보관하면서 접종용 균주 배양에 사용하였다.

배지조성

본 연구에서 사용한 기본 배지는 인공 바닷물로 그 조

성은 용액 1 L 단위로 NaCl 24 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 12 g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 1 g, KCl 0.7 g, $NaNO_3$ 0.04 g, K_2HPO_4 0.001 g, Na_2EDTA 12 mg, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 2 mg, $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ 1 mg, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.5 mg, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.2 mg, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 2 μ g, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 2 μ g, Thiamine hydrochloride 300 μ g, ρ -amino benzoate 20 μ g, Calcium pantothenate 10 μ g, Cyanocobalamin 4 μ g이다. 탄소원으로는 포도당을 사용하였다. 탄소원의 농도 영향을 규명하기 위하여 당의 초기농도를 5, 10, 15, 20 및 25 g/L로 하였다. 질소원으로는 yeast extract와 peptone을 사용하였으며, 각 경우에 실험에 대한 yeast extract를 1 g/L, peptone을 1 g/L로 고정하였다.

배양조건

본 연구에서는 250 mL Erlenmeyer flask 내에 60 mL를 주입한 후, 회전식 진탕배양기를 사용하여 배양하였다. 작동온도는 24°C, 회전 속도는 100 rpm이었다. 접종용 균주 배양시간은 24 hr이었고, 균주의 생합성 특성규명을 위한 실험은 2 L 배양기에서 작동부피를 1 L로 하여 수행하였으며, 배양시간은 10일이었다. 배양초기의 pH는 1 N HCl 용액과 1 N NaOH 용액을 사용하여 6.0으로 조절하였다. 시료는 1일 1회씩 30 mL의 시료를 채취하여 당농도, 균체량, 지방산 및 지질의 분석에 사용하였다.

시료분석

시료채취 후, 시료가 담긴 시험관을 3000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 상등액은 잔당분석에 사용하였으며 침전물은 균체농도, 지질 및 지방산 분석에 사용하였다. 균체농도는 30 mL vial을 사용하여 측정하였다. 시험관 내에 침전된 균체는 2 내지 3회 증류수로 세척하여 무게를 알고 있는 30 mL vial로 옮긴 후, 70°C의 건조기에서 20시간 이상 건조하면서 향량이 될 때의 무게를 건조균체의 무게로 하였다. 잔당의 농도는 포도당분석기 (TOA, GLU-11, Japan)를 사용하여 측정하였다. 지질량은 건조시킨 균체에 3 mL의 메탄올을 첨가한 후 100°C에서 1시간동안 추출한 추출액의 무게로 측정하였다. 지방산 조성은 Lepage(20) 방법을 변형하여 분석하였다. 기준물질은 heptadecanoic acid (17 : 0)로 하고 gas chromatography (HP 6890)를 사용하여 지질을 구성하는 각 지방산의 조성을 분석하였다. Detector로는 FID를 사용하였으며 column으로는 HP-5 (crosslinked 5% PH ME Siloxane, 30 m \times 0.32 mm \times 0.26 μ m) capillary column을 사용하였다.

결과 및 고찰

당의 초기농도 변화에 따른 *T. aureum*의 성장 및 당소모

당의 초기농도를 5, 10, 15, 20, 25 g/L로 변화시켜 가면서 각 농도에서 균주의 성장특성을 분석하였다. Fig. 1은 각 당농도에서 배양시간에 따른 *T. aureum*의 성장특성을 나타내며, Fig. 2는 당의 소모특성을 나타내고 있다. 동일 배양시간에 대하여 균체농도가 가장 높은 당의 초기농도는 15 g/L임을 알 수 있다. 이 경우 배양 9일까지 균체량

이 계속 증가하여 최대 4.05 g/L를 나타내었다. 당의 초기 농도가 5 g/L인 경우 배양 4일만에 주입량의 대부분이 소모되었으며, 그 이후에는 균체량이 감소하였다(Fig. 1-2). 이런 결과는 대사활동에 필요한 에너지원으로 당을 사용할 수 없어 균체 내부에 저장된 지질을 에너지원으로 사용함으로써 발생된다고 해석할 수 있다. 당의 초기 농도에 따라서 균주의 성장이 정지하는 시간이 차이를 나타내었다. 당농도가 10 g/L인 경우 당이 완전히 소모되는 9일 이후에 성장이 멈추었으나, 15 g/L 이상에서는 배양 10일 이후에도 대사활동에 필요한 당이 존재하기 때문에 성장속도가 느리긴 하나 지속적으로 성장하였다.

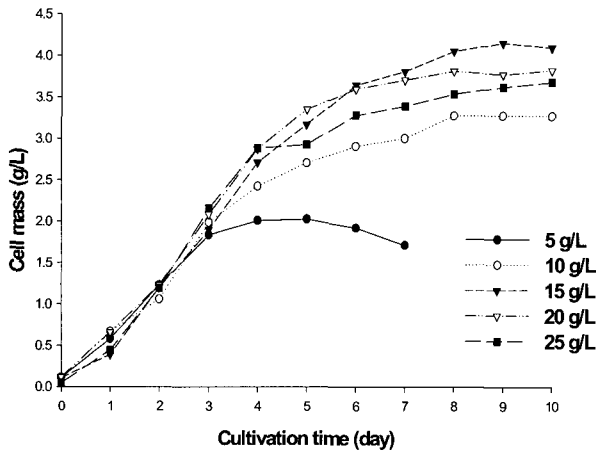


Figure 1. Growth characteristics in *T. aureum* culture on various initial glucose concentration.

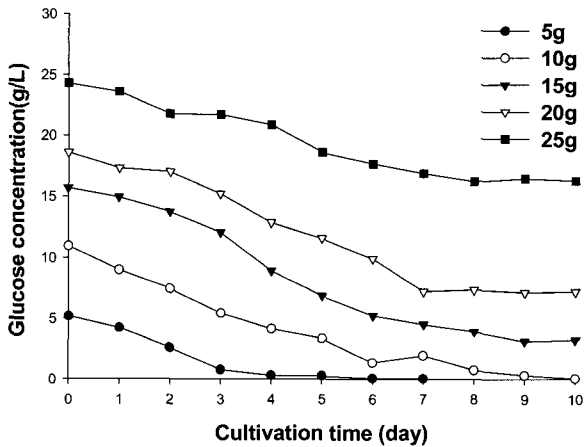


Figure 2. Glucose consumption in *T. aureum* culture on various initial glucose concentration.

당의 초기농도가 균체성장특성 및 지질생산특성에 미치는 영향

균주의 비성장속도는 탄소원의 농도, 질소원의 농도와 그 외 여러 환경인자의 영향을 받는다(21). 이중 성장속도에 가장 큰 영향을 미치는 인자는 탄소원의 농도이다. 본 연구에서는 당의 초기농도 변화가 *T. aureum* ATCC 34304의 균주 성장에 미치는 영향을 정량적으로 규명하기 위하여, 다음 식 (1)로 표현되는 대수기에서 비성장속도와 당의

초기농도 사이의 함수관계를 분석하였다.

$$\ln \frac{X}{X_1} = \mu t \tag{1}$$

윗 식에서 X_1 은 배양 24시간에서의 균체농도, X 는 임의의 시간에서의 균체농도, μ 는 비성장속도, t 는 배양기간을 의미한다. 당의 초기농도 10 g/L인 경우에 대한 식 (1)의 함수관계를 Fig. 3에 도시하였다. 이 결과에 의하면 당의 초기농도가 10 g/L인 경우 배양 3일까지는 대수기 특성의 성장속도를 나타내나 4일 이후에는 완만하게 성장하여 정지기의 성장특성에 가까웠다. 초기 당농도 모두에서 Fig. 3과 같은 경향의 성장특성을 나타내었다.

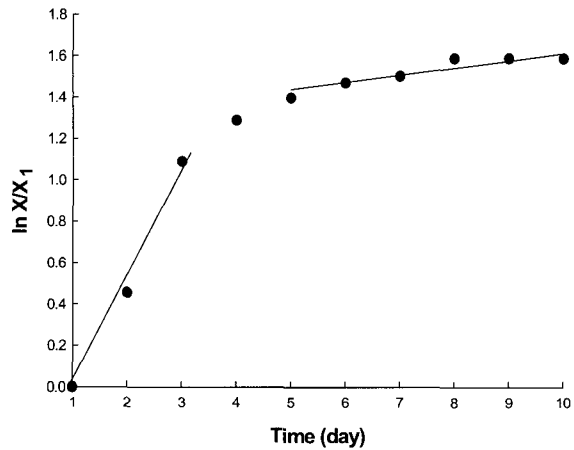


Figure 3. Growth curve of *T. aureum* on initial glucose concentration, 10 g/L.

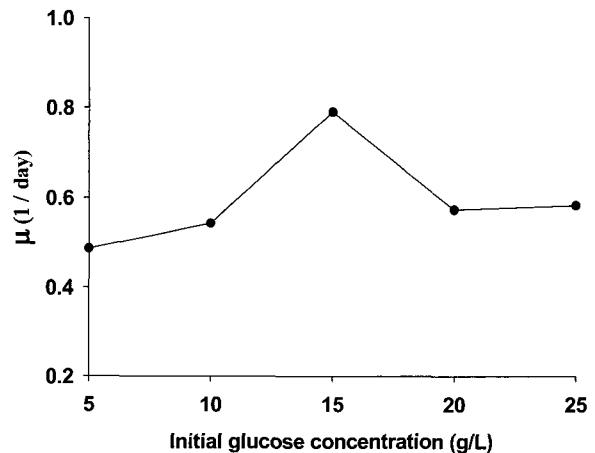


Figure 4. Effect of initial sugar concentration on the specific growth rate.

Fig. 4는 위의 방법에 의하여 도출한 당의 초기농도에 따른 비성장속도를 나타내고 있다. 이 결과에 의하면 당의 초기농도 15 g/L까지는 비성장속도가 당농도 증가에 따라 최대 0.7905 day⁻¹까지 증가하였으나, 20 g/L에서는 0.5741 day⁻¹까지 감소한 후, 그 이상의 당농도에서는 증감현상을 나타내지 아니하였다. 본 연구의 균주와 같은 속의 균주인 *Schizochytrium mangrovei*의 비성장속도는 1.92 day⁻¹로 보고

되어 해양곰팡이의 경우 비성장속도가 일반 균주에 비하여 느리다는 것을 알 수 있다(22). 본 연구에서는 질소원의 농도를 yeast extract 1 g/L, peptone 1 g/L로 고정하였기 때문에 Fig. 4의 결과를 탄소원과 질소원의 무게 비율 측면에서도 해석할 수 있다. 당농도 5, 10, 15, 20 및 25 g/L인 경우에 질소원의 단위질량에 대한 탄소원의 질량비율로 나타내면, 2.5, 5, 7.5, 10 및 12.5 g/g이다. 이들 비율과 균주의 비성장속도 사이의 관계를 분석하여 보면, 당농도 5 g/L 내지 25 g/L 사이에서 균체의 성장에 가장 효과적인 질소원에 대한 탄소원의 비율은 7.5 근방임을 알 수 있다. 이런 결과는 C/N의 비율이 균체의 성장, 생성 지질량 및 다중불포화지방산의 양에 영향을 미친다는 연구 결과와 부합되나(13, 15), C/N의 비율이 어느 수준 이상으로 증가하면 그 효과가 반감된다는 결과를 얻을 수 있었다.

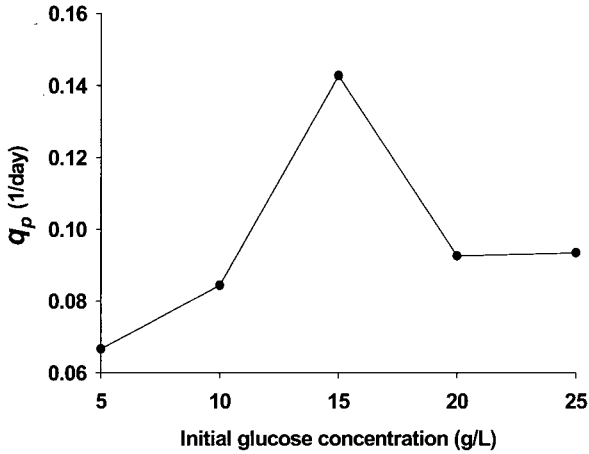


Figure 5. Effect of initial sugar concentration on specific production rate.

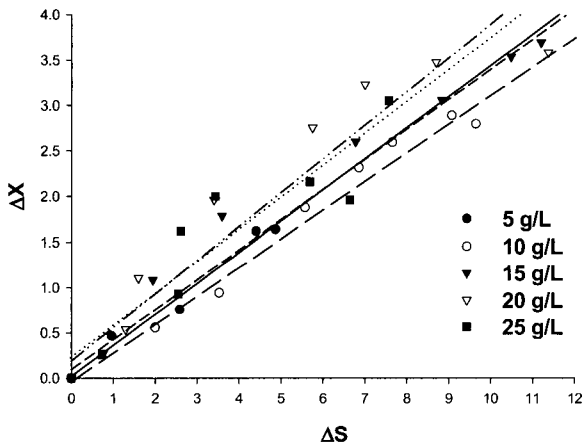


Figure 6. Yield of cell mass with decrease in substrate.

Fig. 5는 식 (2)로 정의되는 단위 균체당 지질의 생산속도를 나타내고 있다. 이 경우 균체 증가량당의 지질 증가량인 $Y_{Lipid/X}$ 는 다음절에 자세히 분석되어 있다.

$$q_p = Y_{Lipid/X} \mu \quad (2)$$

이 결과에 의하면, 당의 초기농도 15 g/L까지는 당농도의 증가에 따라 q_p 값이 0.143 day⁻¹까지 증가하였으나, 20 g/L에서는 0.093 day⁻¹까지 감소하였으며, 25 g/L에서는 0.093 day⁻¹ 값을 유지하였다. 당농도에 따른 q_p 값의 변화를 C/N와 연계하여 분석하여 보면, C/N의 비 7.5까지는 당농도 증가에 따라 q_p 값이 증가하나 그 이상에는 증가 현상이 멈추었다. *Mortierella ramanniana* 균주인 경우 C/N의 비가 높으면 균체의 총지질량이 증가한다고 보고되어 있다(14). 그러나 본 연구의 결과는 어느 수준의 C/N비까지는 이 비율의 증가에 따라 단위 균체내의 지질량이 증가하나 그 이상의 수준에서는 지질량 증가에 영향을 미치지 아니하였다.

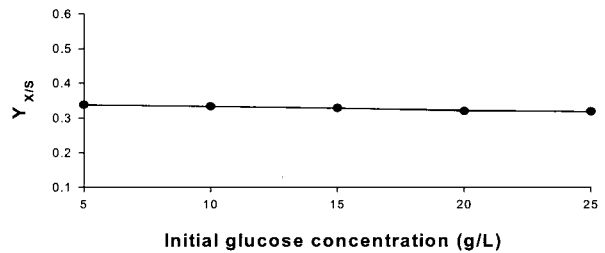


Figure 7. Transform with cell mass yield on initial sugar concentration (Line - : $y = -0.0010x + 0.3429$).

당의 초기농도가 균체수율 및 지질과 DHA 조성에 미치는 영향

당의 초기농도가 균체의 수율, 균체의 증가량에 대한 지질의 증가량의 비율, 지질 증가량에 대한 DHA 증가량의 비율에 미치는 영향을 분석하여 보았다. Fig. 6은 당의 초기농도별로 당소모량과 균체의 성장량 사이의 함수 관계를 나타내고 있다. 이 결과의 기율기로부터 다음 식 (3)으로 정의되는 균체수율을 구하여 Fig. 7에 도시하였다.

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S} \quad (3)$$

윗 식에서 ΔX 는 균체의 성장량, ΔS 는 당의 소모량을 의미한다.

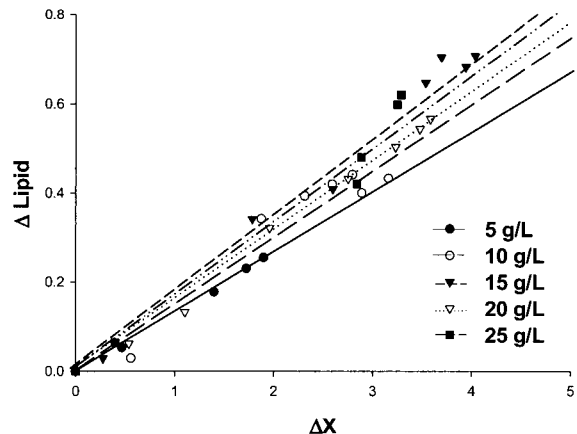


Figure 8. Yield of lipid with increase in cell mass.

이 결과에 의하면 *T. aureum* ATCC 34304인 경우 당의 초기농도 5 g/L 내지 25 g/L 범위에서는 당농도에 관계없이 균체수율이 평균 0.3278 g/g 값으로 일정하였다. 균체의 증가량과 균체 내에 축적되는 지질의 증가량 사이의 함수 관계를 Fig. 8에 도시하였다. 이 결과의 기울기로부터 각 당농도에 따른 $Y_{Lipid/X}$ 를 구하여 Fig. 9에 도시하면, $Y_{Lipid/X}$ 값은 초기 당농도에 따라 변하는 것을 알 수 있다. 초기 당농도 15 g/L까지는 단위 균체당 축적되는 지질의 양이 증가하여 문헌(15)의 결과와 일치하나 당농도가 15 g/L를 초과하여 증가하면 당의 초기농도 변화는 균체량 및 지질량에 미치는 영향 이외에 지질을 구성하는 DHA의 양에도 영향을 미치고 있다.

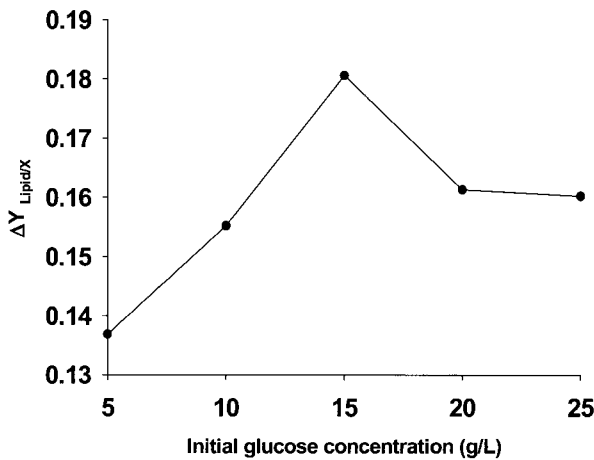


Figure 9. Transform with lipid yield on initial sugar concentration.

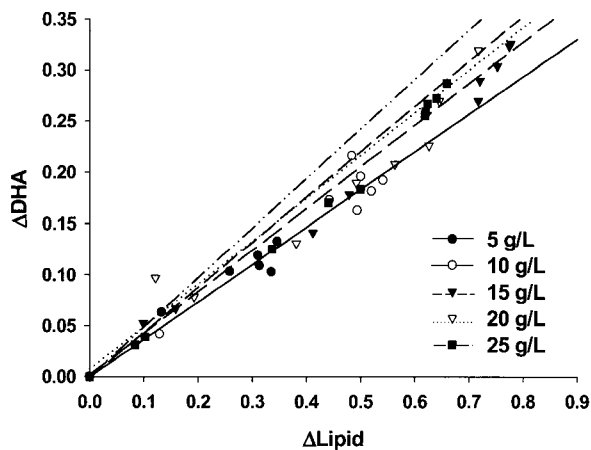


Figure 10. Yield of DHA in lipid on various initial glucose concentration.

Fig. 10은 각 당농도별 생성되는 지질량과 DHA 생성량 사이의 함수관계를 나타내고 있다. 이 결과를 기울기로부터 생성지질량에 대한 DHA 생성량의 비율 $Y_{DHA/Lipid}$ 를 구하여 Fig. 11에 도시하였다. $Y_{DHA/Lipid}$ 역시 당농도의 함수로, 당농도 15 g/L까지는 당농도가 증가하면 $Y_{DHA/Lipid}$ 값도 최대 40.1 g/g까지 증가하였다. 그러나 당농도가 15 g/L를 초과하면 당농도가 증가하더라도 $Y_{DHA/Lipid}$ 의 값은 증가하지 아니하였다. 또한 이 결과를 C/N비와 연계하여 해석하

면, C/N의 값이 7.5까지는 C/N의 값이 증가에 따라 지질내의 DHA의 성분이 증가하나 7.5를 초과할 경우 C/N의 증가에 따라 지질내의 DHA 성분이 증가한다고 해석할 수 없다. C/N의 비가 지질을 구성하는 지방산의 조성에 영향을 미친다는 연구 결과는 이미 다른 연구자들에 의하여서도 보고되어 있다. *Dunaliella salina* 등의 균주는 질소원이 고갈된 상태에서 EPA의 생산성이 높다고 보고 되어있어, 균주의 종류에 따라 질소원이 미치는 영향이 서로 다르다는 것을 알 수 있다(19).

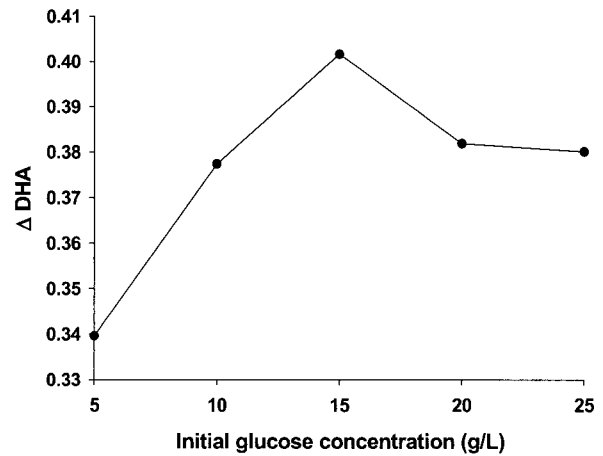


Figure 11. Transform with DHA yield in lipid on initial sugar concentration.

배지내의 염의 농도가 균체성장 및 지질과 DHA 생성에 미치는 영향

당의 초기농도를 15 g/L, yeast extract를 1 g/L, peptone을 1 g/L로 하고, NaCl과 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 이외의 인공해수배지 조성을 고정한 후 NaCl과 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 의 농도 변화가 균체의 성장과 지질 및 DHA의 생성에 미치는 영향을 규명하였다. 본 연구에서는 NaCl의 농도를 0 g/L에서 48 g/L로 변화시켜가면서 NaCl 농도의 영향을 규명하였으며, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 의 농도를 0 g/L에서 24 g/L까지 변화시켜가면서 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 농도의 영향을 규명하였다.

Table 1. Each of value effect of NaCl concentration on constant $MgSO_4 = 12.0$ g/L

NaCl	Cell conc.	Glucose conc.	Lipid conc.	DHA conc.
0	0.09	11.50	0.02	0
12	2.72	8.07	0.42	0.20
18	3.68	5.81	0.38	0.17
24	3.86	5.32	0.70	0.28
36	3.72	5.75	0.44	0.17
48	3.43	5.92	0.39	0.17

Table 1은 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 의 농도를 12 g/L로 고정시켰을 때, 대수기가 끝나는 3일 후의 균체농도, 당농도, 지질농도 및 DHA 농도를 NaCl의 농도에 따라 제시한 연구 결과이다. 이 결과에 의하면 해수배지의 조성파 동일한 NaCl의 농도 24 g/L에서 균체농도, 당농도, 지질농도 및 DHA의 농도가 최대값을 나타내었다. NaCl의 양이 전혀 주입되지

않은 경우 균체성장, 지질의 생성 및 DHA의 생성이 모두 정지되었다. NaCl의 양이 과다하게 많은 경우 균체성장에는 큰 영향을 미치지 아니하나 지질과 DHA의 생성량은 NaCl 24 g/L에 비하여 훨씬 적었다. Table 2는 NaCl을 24 g/L로 고정하고 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 의 농도를 변화시켰을 때 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 의 농도가 균체성장, 당소모, 지질 및 DHA 생산에 미치는 영향을 나타내고 있다. 이 결과 역시 대수기가 끝나는 배양 3일 후의 결과이다. 이 결과에 의하면 균체농도, 지질농도 및 DHA 농도가 최대인 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 의 농도는 18 g/L로 해수배지의 조성 12 g/L보다 높은 값이었다. 특히 지질을 구성하는 DHA의 농도가 무게비로 44%를 나타내었으며 균체당의 지질함량도 26%로 상당히 높은 값을 나타내었다.

Table 2. Each of value effect of $MgSO_4$ concentration on constant NaCl = 24.0 g/L

$MgSO_4$	Cell conc.	Glucose conc.	Lipid conc.	DHA conc.
0	0.08	12.54	0.01	0
6	3.54	5.67	0.98	0.43
12	3.86	5.32	0.70	0.28
18	3.95	4.97	1.03	0.45
24	3.84	5.48	0.74	0.30

요약

본 연구에서는 당의 초기농도는 물론 NaCl과 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 의 농도가 *T. aureum* ATCC 34304 균주의 성장특성, 지질의 생성특성 및 DHA의 생성특성에 미치는 영향을 규명하였다. 당농도 15 g/L까지는 당농도가 증가하면 균체증가량에 대한 지질증가량의 비율인 $Y_{Lipid/X}$ 값과 지질증가량에 대한 DHA 증가량의 비율인 $Y_{DHA/Lipid}$ 값이 모두 증가하였다. $Y_{Lipid/X}$ 와 $Y_{DHA/Lipid}$ 의 최대값은 0.18 g/g 과 0.41 g/g으로 모두 당의 초기농도 15 g/L에서 나타났다. 반면 균체수율인 $Y_{X/S}$ 값은 당의 초기농도 변화에 관계없이 0.378 g/g으로 일정하였다. 당의 농도변화에 대한 균체의 비성장속도 역시 당농도 15 g/L까지는 최대 0.79 day⁻¹까지 증가하였으나, 20 g/L에서는 0.57 day⁻¹로 감소하였으며, 그 이상의 당농도에서는 증감현상을 나타내지 아니하였다. 해수배지 조성을 기본으로 하고 NaCl 농도를 0.1 g/L에서 48 g/L까지 변화시켰을 때 NaCl의 농도가 0 g/L인 경우 균체의 성장, 지질의 생성 및 DHA의 생성이 모두 정지되었으며, NaCl 24 g/L에서 균체성장, 지질생성 및 DHA의 생성이 최대값을 나타내었다. 또한 기본해수배지 조성에 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 의 농도를 0 g/L에서 24 g/L까지 변화시켰을 때, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0 g/L에서는 균체성장, 지질생성 및 DHA 생성이 정지되었으며, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 18 g/L에서 균체성장, 지질생성 및 DHA의 생성이 최대값을 나타내었다.

감사

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

REFERENCES

- 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 A. Kumagai (1986), Infusion of emulsified triecosapentaenoyl-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.
- Phillipson B. E., Rothrock D. W., Connor W. E., Harris W. S., and D. R. Illingworth (1985), Reduction of plasma lipids, lipoproteins, and apoproteins by dietary fish oils in patients with hypertriglyceridemia, *New Engl. J. Med.* **312**, 210-216.
- 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.
- Lands, W. E. M. (1986), In: Kifer R. R., and Martin R. E., editors, Health effects of polyunsaturated fatty acids in seafoods. FL: Academic Press, Orlando, 319.
- Kremer J. M., Biguouette 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., Kragballe K., Hydrick C. R., and J. J. Voorhees (1986), Effects of dietary supplementation of fish oil on neutrophil and epidermal fatty acids. Modulation of clinical course of psoriatic subjects, *Arch Dermatol.* **122**, 1277-1282.
- Robinson D. R., Prickett J. D., Makoul G. T., Steinberg A. D., and R. B. Colvin (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.
- Frank Gunstone (2002), Lipid Science and Lipid Commerce, Issue in Honor of Dr. Douglas Lloyd, Scottish Crop Research, Scotland, *ARKIVOC*, 143-148
- Sijtsma L. and M. E. de Swaaf (2004), Biotechnological production and applications of the ω-3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **64**, 146-153
- Lee, E. H., Oh, K. S., Ahn, C. B., Chung, Y. H., Kim, J. S., and S. K. Jee (1986), Seasonal Variation in lipid and fatty acid composition of Sardine, *Sardinops melanosticta*, *Korean J. Food Sci. Technol.* **18**, 245-248.
- Yongmanitchai W. and O. P. Ward (1989), Omega3 fatty acids: alternative sources of production, *Process Biochem.* 117-25.
- Bajpai P., and P. K. Bajpai (1993), Eicosapentaenoic acid (EPA) production from microorganisms: a review, *J. Biotechnol.* **30**, 161-183.
- 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.
- Totani, N., Someya K., and K. Oba (1992), Industrial production of arachidonic acid by *Mortierella*,. In: *Industrial Applications of Single Cell oils*, Kyle D. J., and Ratledge C., editors. Champaign, IL, AOCSS Press, pp52-60.
- 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.
- L. Sicko-Goad, Simmons M. S., Lazinsky D., and J. Hall (1988), Effect of light cycle on diatom fatty acid composition and quantitative morphology, *J. Phycol.* **24**, 1-7.
- Orcutt D. M., and G. W. Patterson (1974), Effect of light intensity upon lipid composition of *Nitzschia closterium* (Cylindrotheca

- fusiformis). *Lipids* **9**, 1000 - 1003.
19. A. Ben-Amotz, Tornabene T. G., and W. H. Thomas (1985), Chemical profile of selected species of microalgae with emphasis on lipids, *J. Phycol.* **21**, 72-81.
 20. Lepage G. and C. C. Roy (1984), Improved Recovery of Fatty Acid through Direct Transesterification without Prior Extraction or Purification, *J. Lipid Res.* **25**, 1391-1396.
 22. Bajpai P. K., Bajpai P., and O. P. Ward (1991), Optimization of Production of Docosahexaenoic Acid (DHA) by *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304, *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **68**, 509-514.
 22. Jiang Y., Fan K. W., Wong R. T., and F. Chen (2004), Fatty acid composition and squalene content of the marine microalga *Schizochytrium mangrovei*, *J. Agric. Food Chem.* **52**, 1196-1200.