

***Mucor* sp. KCTC 8405P에 의한 γ -Linolenic acid 생산에 미치는 초산나트륨의 영향과 비이온성 계면활성제에 의한 균체지질의 분비**

신용철^{1*} · 신현경²

¹경상대학교 자연과학대학 미생물학과 ²한국식품개발연구원 식품생화학연구소

Effects of Sodium Acetate on the Production of γ -Linolenic Acid by *Mucor* sp. KCTC 8405P and Secretion of Mycelial Lipid with Nonionic Surfactants

Shin, Yong-Chul^{1*} and Hyun-Kyung Shin²

¹Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Gyeongsang National University

²Food Biochemistry Laboratory, Korea Food Research Institute

Abstract — The effects of sodium acetate on the production of γ -linolenic acid (GLA) and the secretion of the mycelial lipid into the culture medium with nonionic surfactants were studied with *Mucor* sp. KCTC 8405P. In the addition of 2.0% sodium acetate to the basal medium, dry cell weight and total lipid content were increased from 7.8 g/l and 2.46 g/l to 16.0 g/l and 4.77 g/l, but GLA content was decreased from 18.6% to 13.8%. The growth of *Mucor* sp. KCTC 8405P was greatly dependent on both the initial pH and the concentration of sodium acetate of culture medium, which was considered as the results of the formation of acetic acid because the fungal growth was completely inhibited at the concentration of acetic acid higher than 22 mM. With the decrease of the oxygen supply, the cell growth, total lipid, and GLA content were sharply decreased in the presence of 2.0% sodium acetate. For the secretion of mycelial lipid into the culture medium, the effects of the various nonionic surfactants were examined. In the addition of 0.5% Tween 80 or Span 80 to the basal medium, 194 mg/l or 263 mg/l of GLA was obtained in the culture medium.

γ -Linolenic acid (GLA; 6,9,12-octadecatrienoic acid)는 linoleic acid로부터 프로스타글란딘을 만드는 생합성경로에서 중요한 중간체로서(1-4), 순환기질병(5), 고콜레스테롤증(6, 7), 암(8, 9), 염증(10) 등의 치료와 예방에 효과적인 것으로 보고되고 있다. 현재는 달맞이꽃(*Oenothera binnis*)의 종자로부터 5~6% GLA를 함유한 종자유를 생산하고 있으나 낮은 생산성으로 인하여 안정적 공급이나 GLA의 분리정제에 어려움이 있어 고가로 생산되고 있는 실정이다. 이러한 문제를 해결하기 위하여 최근에 미생물로부터

GLA를 생산하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 현재까지 알려진 바로는 곰팡이 중에서 조상균류에 속하는 접합균류와 난균류에서 n-6계열의 GLA를 합성하는 것으로 알려져 있으며 담자균류나 자낭균류는 n-3계열의 linolenic acid를 생산하는 것으로 보고되었다(11). Suzuki 등(12)은 사상균을 대상으로 GLA 생산 연구를 수행한 결과 접합균류의 일종인 *Mortierella*속의 속하는 균주로부터 GLA 함량과 총지질함량이 높은 곰팡이 균체를 생산할 수 있었다. 특히, *Mortierella*속의 일부 균주들은 짧은 균사성장을 할 뿐만 아니라 고농도 포도당배지에서 잘 자라 고농도 균체배양이 가능하여 공업적인 GLA 생산에 적합한 것으로 보고하였다. 이들의 결과에 따르면 *Mortiere-*

Key words: γ -linolenic acid, acetate effect, fungal lipid secretion.

*Corresponding author

*lla*속의 여러 균주를 30°C, 400~600 rpm, 1 vvm, pH 4.0 조건하에서 30l 발효조를 이용하여 배양한 결과 사용균주에 따라서 40.4~156.4 g/l의 건조균체와 12.8~83.1 g/l의 총지질 및 1.2~3.4 g/l의 GLA를 생산할 수 있었다. 이 때 사용한 배지의 포도당 농도는 100~390 g/l, 배양시간은 56~168시간 소요되었으며 이러한 결과를 바탕으로 산업화한 것으로 보고하였다.

그러나 Suzuki 등의 연구결과는 총지질에 대한 GLA 함량이 균주에 따라서 3.9-11.2%로써 GLA 생산성을 높이기 위해서 GLA 함량이 높은 균주의 개발이 필요하였다. 앞선 논문에서 저자들은 총지질함량이 건조균체의 29.9%를 차지하고 총지질의 16.8%를 GLA로 함유하여 비교적 높은 GLA 함량을 보이는 *Mucor* sp. KCTC 8405P 균주의 분리동정을 보고한 바 있으며(13), 강 등(14)은 이 균주를 이용하여 배지조성이 균체성장과 총지질함량, GLA 함량에 미치는 영향을 조사 보고하였다. 본 연구에서는 GLA 생산성을 증가시키기 위하여 초산나트륨의 첨가에 따른 균체성장, 총지질함량, GLA 함량의 변화를 조사하였고 또한 균체지방을 세포밖으로 분비시키기 위하여 비이온성 계면활성제를 처리하여 그 영향을 조사하였다. 초산나트륨의 첨가효과는 Suzuki 등(15)이 *Mortierella* sp.를 이용하여 보고한 바 있는데 초산나트륨을 첨가하는 경우 건조균체량, 총지질함량, GLA 함량이 증가되는 것으로 보고한 바 있다. GLA를 포함하는 균체지질을 세포외로 분비시키는 연구는 Fukuda와 Morikawa(16)가 *Mucor ambigus* IFO 6742 균주를 이용하여 수행한 바 있는데 polyoxyethylene sorbitan fatty acid ester, polyoxyethylene alkylether, polyethylene glycol fatty acid ester 중에서 HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance) 값이 11.0~17.0 사이에 속하는 일부의 계면활성제가 균체지질의 분비에 적당한 것으로 보고하였다.

본 연구에서는 새로운 균주 *Mucor* sp. KCTC 8405 P를 이용하여 여러 가지 조건에서 초산나트륨의 효과와 비이온성 계면활성제의 영향을 조사하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

미생물의 배양

γ -Linolenic acid를 생산하기 위한 곰팡이 균주로

서는 *Mucor* sp. KCTC 8405P를 사용하였다(13). 균주는 potato dextrose agar plate에서 4°C에 보관하면서 접종용으로 사용하였다. 액체배양은 100 ml 배지가 든 500 ml Erlenmeyer 플라스크를 사용하였으며 이 때, 배지조성은 1l당 glucose 50g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3g, KH_2PO_4 3g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3g, NaCl 0.1g, malt extract 0.2g, peptone 0.1g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10 mg, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 mg, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 2 mg, $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1 mg, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1 mg였다. 배지의 초기 pH는 1 N NaOH로 7.0으로 맞추었고, 멸균 후 곰팡이를 한 백금이 접종하여 회전식 진탕배양기를 이용하여 30°C, 150 rpm으로 7일간 배양을 하였다.

건조균체량과 세포내 지질함량 및 세포외 지질함량의 분석

10 ml의 배양액을 Whatman No.1 여과지로 여과한 후 증류수로 세척한 다음 105°C에서 건조시켜 균체의 건조무게를 측정하였다. 균체내 총지질함량은 Noguchi 등(17)의 방법에 따라서 측정하였다. 90 ml의 배양액을 여과한 후 3.6% 염산 100 ml을 넣고 121°C에서 30분간 autoclave하였다. 이 균체를 여과하여 수분을 가능한 많이 제거한 후 메탄올과 클로로포름 1:1 용액 100 ml속에서 넣고 하룻밤 동안 지질을 추출하였다. 추출액을 Folch's 세척법(18)에 따라서 2 M KCl로 2번 세척한 후 감압증발장치로 유기용매를 날려보내고 질소가스를 통과시켜 잔존 용매를 최종적으로 제거한 후, 50°C에서 20분간 감압건조한 후 무게를 재어 균체 총지질함량으로 정하였다. 세포외 배지 중의 지질함량을 측정하기 위해서 90 ml의 배양액을 200 ml의 클로로포름으로 추출한 후 앞에서와 같은 방법으로 추출정제하여 측정하였다.

지방산 조성의 분석

AOACS(20) 방법에 따라서 지질을 비누화시키고 BF_3 methanol 용액으로 지방산 methyl ester로 만들었다. 지방산 methyl ester는 gas chromatograph (Hewlett Packard 5890A)로 분석하였는데 column(3 m×2 mm i.d.)은 고체상이 chromosorb W-HP였고 액체상은 Silar 7CP(Supelco Inc. Bellefonte, USA)였다. Column 온도는 175°C에서 240°C까지 분당 1.5°C로 증가시켰으며, carrier gas로는 질소를 30 ml/min의 속도로 흘려보냈으며 Flame ionization detec-

tor를 사용하였고 각 peak의 동정은 표준지방산 methyl ester를 사용하여 확인하였다.

결과 및 고찰

초산나트륨, 에탄올, 우레아첨가의 영향

Mucor sp. KCTC 8405P의 균체성장과 균체내 지질함량, GLA 함량을 증가시키기 위해서 배지에 여러 가지 성분들을 첨가하여 그 영향을 조사하였다. Table 1에서 나타난 바와 같이 초산나트륨을 첨가하는 경우 건조균체량과 지질함량의 높은 증가를 보였다. 2.0% (w/v) 초산나트륨을 첨가하는 경우 균체내 총지질 생산량은 4.77 g/l로서 건조균체의 29.8%(w/w)를 차지하였고 이 때, 총지질의 13.8%가 GLA로서 약 0.658 g/l의 GLA를 생산할 수 있었다. GLA 함량에 있어서는 초산나트륨을 첨가하지 않았을 때 18.6%인 것에 비하여 초산나트륨을 첨가하였을 때 줄어드는 경향을 보였다. 이러한 결과는 Suzuki 등(15)이 *Mortierella* sp.를 사용하여 초산나트륨 첨가시 균체 지질함량이 10~20% 증가하였고 GLA 함량도 증가했다는 결과와는 일치하지 않았다. 본 연구에서 *Mucor* sp. KCTC 8405P 균주에 초산나트륨을 첨가하였을 때 건조균체량이 1.7~2.3배 증가하여 Suzuki 등의 1.13배 증가한 결과에 비하여 훨씬 높은 균체증가율을 보인 것이 특징이었다. 초산나트륨 첨가시 GLA 함량이 감소하는 원인을 현재로서는 알 수 없으나 플라스크내에서 균체증가에 따른 배양조건 및 균체의 생리적 변화에 기인한 것으로 사료되며 이와 비슷한 결과는 산소공

Table 1. Effect of sodium acetate, ethanol, and urea on the cell growth, total lipid, and γ -linolenic acid content

Media		DCW ^a (g/l)	TL ^b (g/l)	GLA ^c /TL (%)
Basal medium		7.8	2.46	18.6
† Na-acetate	0.5%	13.4	4.0	15.4
	1.0%	17.6	4.26	15.9
	2.0%	16.0	4.77	13.8
† Ethanol	0.3%	4.5	0.29	22.6
	0.5%	4.9	0.16	22.2
† Urea	0.05%	7.4	1.40	26.7
	0.10%	8.6	0.99	26.3

^aDry cell weight, ^bTotal lipid, ^c γ -linolenic acid.

급을 감소시켰을 때 GLA 함량이 현저히 떨어지는 결과에서도 관찰되었다(Table 2). 에탄올을 배지에 첨가하는 경우 균체량과 총지질함량은 큰 감소를 보였으나, GLA 함량은 총지질의 22.6% 차지하여 총지방산 중에서 GLA 성분이 증가되는 결과를 보였다. 또한 우레아를 첨가하는 경우 균체량은 소량 증가되었으나 총지질함량은 크게 감소하였고, GLA 함량은 우레아를 0.05% 첨가할 때 총지질의 26.7%를 차지하여 높은 GLA 성분의 증가를 보였다. 이 결과로 보면 균체량과 지질함량을 증가시키기 위해서는 초산나트륨의 첨가가 효과적인 것으로 보이며 에탄올이나 우레아는 지방산 조성에 있어서 GLA 성분의 증가에 효과적인 것으로 나타났다. Sajbidor 등(20)은 여러 가지 탄소원을 사용한 GLA 생산연구에서 lactose, glycerol, starch와 같은 탄소원을 사용할 때 *Mucor* sp.로부터 28.1%에 이르는 높은 GLA 함량을 얻을 수 있어 GLA 생산에 응용될 수 있을 것으로 보고한 바 있다. 그러나 이와 같이 GLA 함량이 높은 경우 총지질함량이 낮은 문제가 있기 때문에 배양조건의 최적화와 더불어 배양조건의 최적화 등을 통하여 총지질함량과 GLA 함량을 동시에 높일 수 있는 방법이 개발되어야 할 것으로 생각된다.

초산나트륨의 첨가시 초기 pH의 영향

초산나트륨을 배지에 첨가하는 경우 특히 배지의 초기 pH에 따라서 균체성장과 총지질함량이 큰 차이를 보였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 초산나트륨을 첨가하지 않았을 때는 초기 pH가 2.5 이상에서는 잘 자랐으며 초기 pH 7.0에서 최대 약 7.8 g/l의 건조균체량과 2.5 g/l의 균체 총지질함량을 보였다. 그러나 2.0%의 초산나트륨을 첨가하는 경우 초기 pH가 5.0 이하에서는 전혀 *Mucor* sp. KCTC 8405P는 자라지

Table 2. Effects of culture volumes on the cell growth, total lipid and γ -linolenic acid content

Culture volume 500 ml Δ -flask	DCW ^a (g/l)	TL ^b (g/l)	GLA ^c /TL (%)
50 ml	18.5	6.9	12.5
100 ml	16.5	5.5	12.0
150 ml	9.5	3.2	9.3
200 ml	9.2	2.1	5.4
250 ml	4.0	1.5	4.9

^aDry cell weight, ^bTotal lipid, ^c γ -Linolenic acid

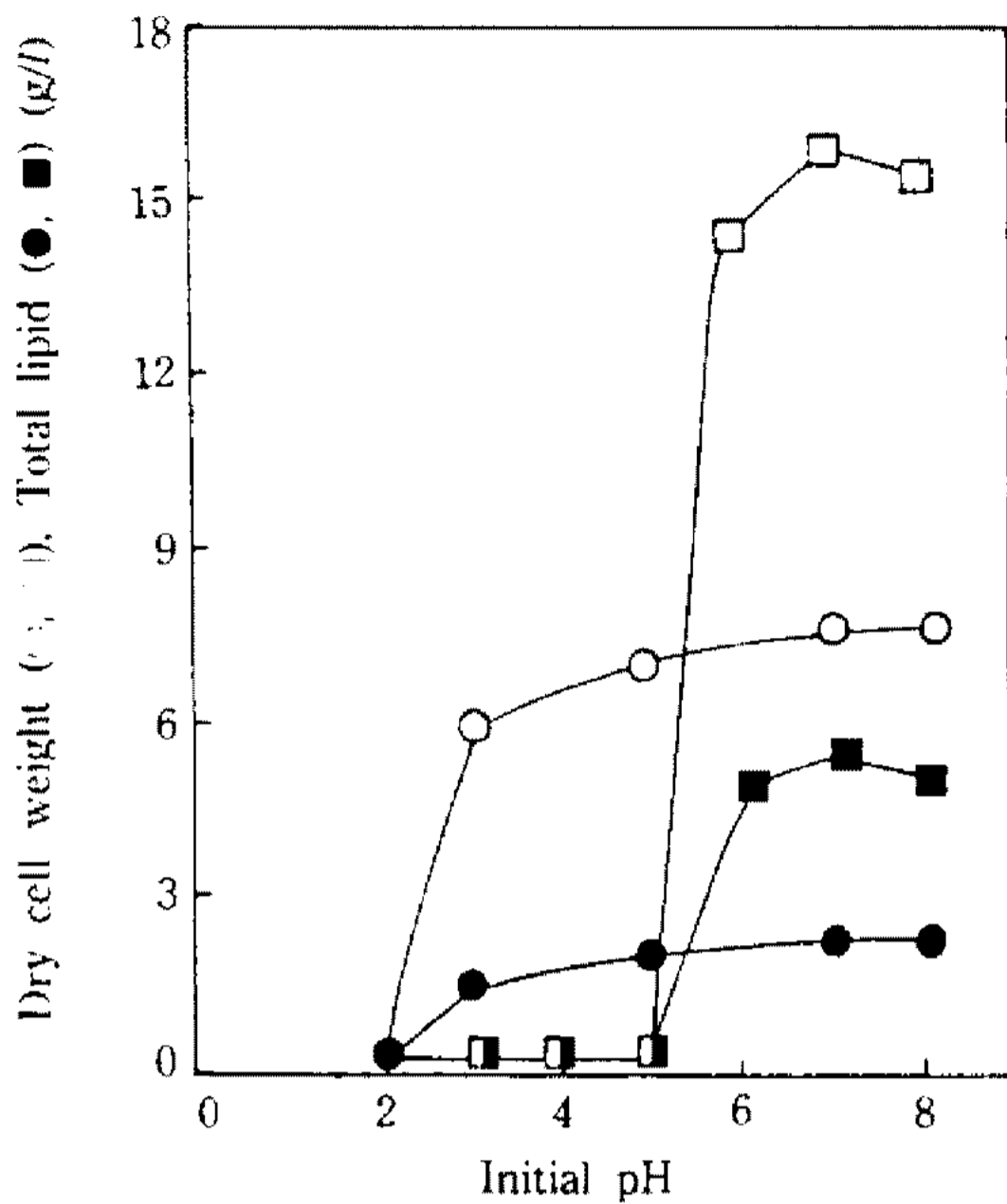


Fig. 1. Effect of initial pH on the cell growth and total lipid content.

Mucor sp. KCTC 8405P was cultivated in 100 ml of medium supplemented with 2% sodium acetate (□, ■) and without sodium acetate (○, ●).

않았고, 초기 pH가 6.0 이상에서는 높은 균체성장을 보여 초기 pH 7.0에서 최대 16.0 g/l의 건조균체량과 5.5 g/l의 균체 총지질함량을 보였다. 초산나트륨을 첨가하는 경우 배지의 초기 pH가 5.0 이하에서는 균체성장이 일어나지 않은 이유를 조사하기 위해서 초산나트륨의 농도가 0.5%, 1.0%, 1.5%인 배지의 초기 pH를 각각 2.0에서 8.0까지 조절하고 *Mucor* sp. KCTC 8405P를 접종하였다. 초산나트륨의 농도가 0.5% 첨가된 배지의 경우는 초기 pH 4.5 이하에서, 1.0% 경우는 초기 pH 5.0 이하에서, 1.5% 경우는 초기 pH 5.5에서 매우 낮은 균체성장을 나타내었다. 이러한 결과로부터 *Mucor* sp. KCTC 8405P가 2.0% 초산나트륨의 첨가시 초기 pH 5.0 이하에서 자라지 않은 이유는 초기 pH나 초산나트륨농도 자체의 영향은 아닌 것으로 보인다. 초산나트륨을 첨가하는 경우 초기 pH에 따라서 생성되는 초산(CH₃COOH)의 농도가 달라지게 되는데, 이것이 균체 성장에 미치는 영향을 조사하여 보았다. Fig. 2는 초산나트륨의 농도와 초기 pH가 다른 여러 가지 배지를 이용한 균체 성장 실험으로부터 배지내 초산의 농도를 계산하여 초산농도에 따른 건조균체량을 나타낸 것이다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 *Mucor* sp. KCTC 8405P 균주는 초산농도가 22 mM 이상에서는 전혀 균체성장이 일

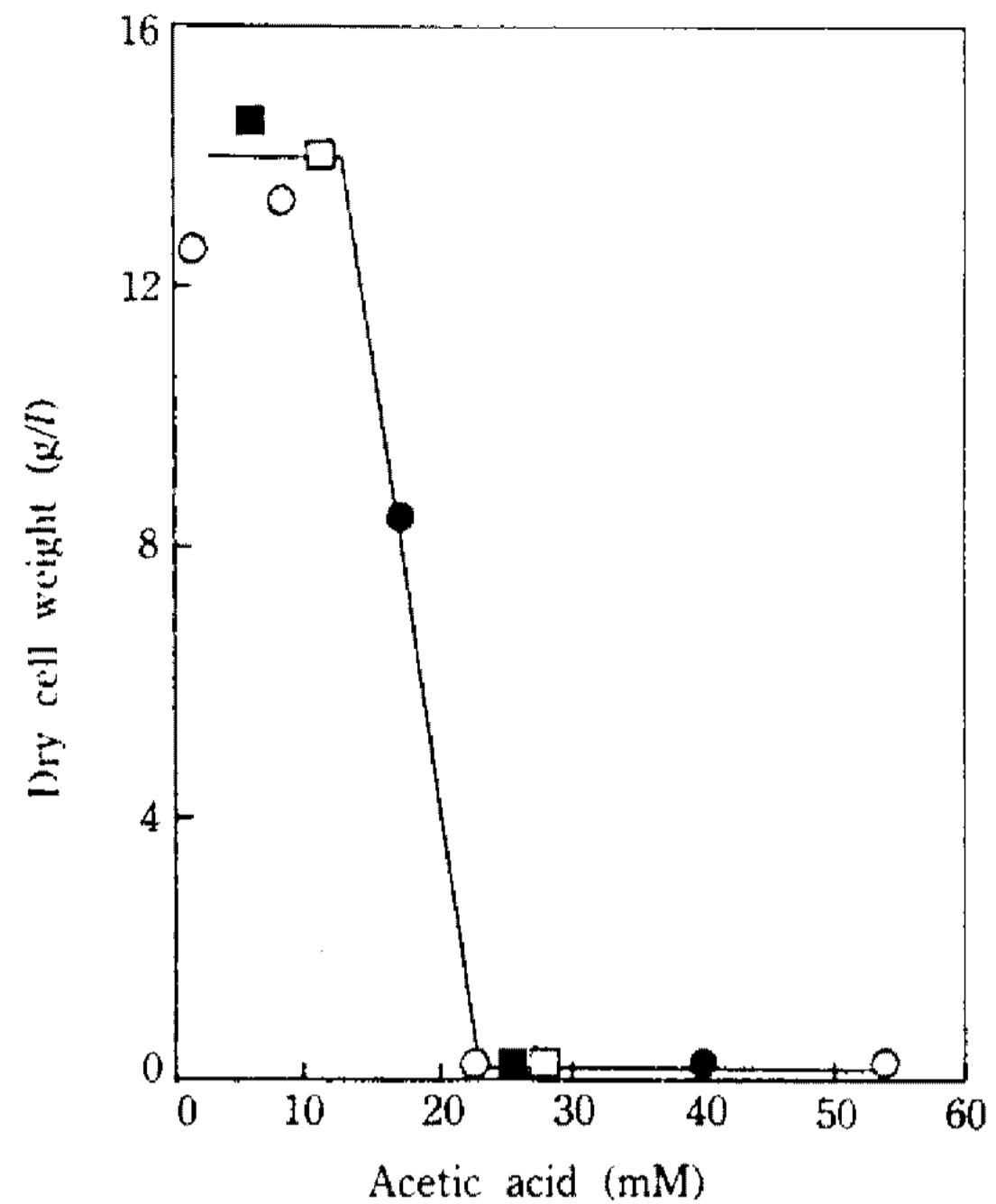


Fig. 2. Effect of acetic acid on the growth of *Mucor* sp. KCTC 8405P.

Mucor sp. KCTC 8405P was cultivated in the medium adjusted initial pH from 2.0 to 8.0 and supplemented with sodium acetate (0.5%, ■; 1.0%, □; 1.5%, ○; 2.0%, ●). Concentrations of acetic acid were calculated from dissociation constant of acetic acid ($K_a=4.77$), initial pH of medium, and concentration of sodium acetate.

어나지 않는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과로부터 초산나트륨의 첨가시 균체성장이 일어나지 않는 이유는 초산나트륨 농도나 초기 pH 자체의 영향이라기 보다는 배지내에 존재하는 초산농도의 영향으로 사료되어진다. Watson과 Ford(21)에 의하면 acetaldehyde, ethanol, ethylene 등과 같은 휘발성 물질에 의해서 포자발아가 억제된다고 보고한 바 있어 초산이 *Mucor* sp. KCTC 8405P의 포자발아나 균사성장에 영향을 미친 것으로 보여진다.

초산나트륨 첨가시 산소공급의 영향

기본배지에 초산나트륨을 2.0% 첨가한 배지를 이용하여 GLA 생산에 미치는 산소공급의 영향을 조사하기 위해 500 ml Erlenmeyer 플라스크에 배양액의 부피를 달리하여 실험하였다. 일반적으로 플라스크내 배양액의 부피가 증가할수록 산소전달속도는 반비례하여 감소하는 것으로 알려져 있다. Table 2에서는 보는 바와 같이 50 ml 배지를 넣고 배양하는 경우 18.5 g/l의 건조균체량과 약 6.9 g/l의 균체 총지질함량을 보였다. 그러나 배양액의 부피를 증가시킬수록 건조

균체량과 총지질함량은 급격히 감소되어 배양액의 부피가 250 ml인 경우 4.0 g/l의 총지질함량을 나타내었다. 특히, GLA 함량에 있어서 50 ml 배양액의 경우 12.5%인 것에 비하여 250 ml로 배양액이 증가될 때 4.9%로 크게 줄어들어 배양액의 부피가 증가할수록 총지방산 중에서 GLA가 차지하는 비율이 현저히 줄어드는 경향을 보였다. 이러한 결과는 500 ml Erlenmeyer 플라스크내의 부피가 증가할수록 용존산소의 공급속도가 떨어지기 때문인 것으로 생각된다. 앞으로 GLA 생산성을 증가시키기 위해서는 고농도 균체배양이 필수적인데 이 과정에서 효과적인 산소공급이 중요한 조절인자가 될 것으로 보인다.

비이온성 계면활성제가 균체지질의 분비에 미치는 영향

균체내 지질을 세포 밖으로 분비시키기 위하여 여러

가지 비이온성 계면활성제를 배지에 첨가하였다. 기본배지에 0.5%(v/v)의 계면활성제를 넣고, *Mucor* sp. KCTC 8405P를 접종하여 30°C에서 150 rpm으로 7일 배양한 후 분석한 결과는 Table 3과 같다. 조사한 13종의 비이온성 계면활성제 중에서 Tween 80, Span 80, Brij 30이 비교적 많은 양의 지질을 세포 밖으로 분비하였으며 Span 80을 0.5% 처리한 경우 최고 약 263 mg/l의 GLA를 세포외 지질로부터 얻을 수 있었다. 계면활성제를 처리하지 않은 경우 약 10 mg/l의 GLA를 세포외 지질로부터 얻을 수 있는 것과 비교하면 계면활성제를 처리하는 경우 20배 이상의 GLA를 세포외 지질로부터 얻을 수 있었다. 균체지질을 비교적 잘 분비시키는 비이온성 계면활성제들의 HLB값을 살펴보면 Tween 80은 15.0, Brij 30은 9.5, Span 80은 4.3으로써 HLB값이 친수성이 강한 Tween 80에서 친유성이 강한 Span 80까지 넓은 분포를 보

Table 3. Effects of nonionic surfactants on lipid secretion.

Surfactant classification	Name	DCW ^b (g/l)	GLA ^c (1) (mg/l)	GLA ^d (2) (mg/l)	(1) + (2) (mg/l)
POE ^a Sorbitan	Tween 20	6.8	15	660	675
	Tween 60	7.6	7	530	537
	Tween 80	8.4	194	830	1024
POE ^a Ether	Brij 30	6.5	153	417	570
	Brij 721	5.4	128	486	614
	W-1	9.6	41	364	405
Sorbitan	Span 40	N.D.	115	413	528
	Span 80	15.6	263	512	775
No surfactant		7.0	10	410	420

^aPolyoxyethylene, ^bdry cell weight, ^cextracellular GLA, ^dintracellular GLA, N.D.: not determined.

Table 4. The major fatty acid compositions of lipid using nonionic surfactants

Surfactants	Lipids	Fatty acids (%)						
		14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3 ^a
Tween 80	Extracellular	2.5	38.1	0.6	32.7	16.6	2.0	6.5
	Intracellular	2.1	17.5	3.3	2.6	44.6	7.8	21.4
Brij 30	Extracellular	3.7	19.6	3.9	3.8	48.1	5.3	15.7
	Intracellular	3.0	17.8	5.4	4.3	47.7	6.9	11.9
Span 80	Extracellular	3.4	27.5	—	4.4	30.2	—	19.0
	Intracellular	2.0	13.9	3.9	2.4	56.2	7.8	12.4
No surfactants	Extracellular	1.7	23.2	0.1	8.4	47.3	4.4	9.9
	Intracellular	1.5	20.6	2.6	4.7	42.7	7.7	18.6

^aGLA.

이고 있다. 또한, Tween 80과 비슷한 HLB값을 갖는 Tween 60(HLB=14.9)의 경우는 거의 GLA를 분비시키지 않은 것으로 보아 균체지질의 분비가 반드시 HLB값에 따라서 결정되는 것은 아닌 것으로 보인다. 비이온성 계면활성제를 처리하는 경우 세포내, 세포외의 지방산 조성을 비교해 보면 Table 4와 같다. 주된 지방산 조성은 세포내·외가 서로 비로 비슷하였으며 Brij 30과 Span 80의 경우는 세포외 GLA 함량이 세포내보다 많았으며 Tween 80과 계면활성제를 첨가하지 않은 경우는 세포내 GLA 함량이 세포외보다 많았다. 이 결과를 종합해 볼 때 Tween 80이나 Span 80이 GLA를 포함하는 균체지질을 세포외로 분비시키는데 효과적인 계면활성제인 것으로 생각되며 이러한 분비 발효방법을 사용할 경우 앞으로 조건 최적화 연구나 *Mucor* sp. 균체고정화 등을 통하여 GLA 생산성을 높일 수 있고 또한 연속, 반연속공정이 가능할 것으로 사료된다.

요 약

Mucor sp. KCTC 8405P 균주를 이용하여 초산나트륨이 γ -linolenic acid(GLA) 생산에 미치는 영향을 조사하였고 또한, 균체지질을 세포외로 분비시키기 위하여 비이온성 계면활성제를 처리하여 그 효과를 조사하였다. 2% 초산나트륨을 첨가하는 경우 균체성장과 균체 총지질함량을 16 g/l와 4.77 g/l로 증가시킬 수 있었고 이 때 총지질에 대한 GLA 함량은 13.8%를 나타내었다. 초산나트륨을 첨가하는 경우 배지의 초기 pH에 따라 균체성장이 크게 영향을 받는데 이것은 배지 중의 초산의 영향 때문인 것으로 추정되며 22 mM 이상의 초산농도에서는 균체성장이 거의 일어나지 않았다. 초산나트륨을 첨가한 배지에서 용존산소의 공급을 감소시킴에 따라 균체성장과 총지질함량 및 GLA 함량이 급격히 감소하는 경향을 보였다. 균체지질을 세포 밖으로 분비시키기 위하여 여러 가지 비이온성 계면활성제를 처리하여 보았는데 0.5% Tween 80, Span 80을 처리할 때 최고 193 mg/l, 263 mg/l의 GLA를 세포외로 분비시킬 수 있었다.

감사의 말

본 연구는 한국과학재단의 신진연구 학술조성비

(1989~1990)의 지원에 의해서 이루어진 것으로 한국과학재단에 감사드리는 바입니다.

참고문헌

1. Larsson-Backstrom, C., E. Arrhenius, K. Sagge, L. Lindmark and L. Svensson: *Prog. Lipid Res.* **25**, 197 (1986).
2. VanDorp, D.A.: *Acta Biol. Med. Germ.* **35**, 1041 (1976).
3. Manku, M.S., M. Soma and D.E. Jenkins: *Prog. Lipid Res.* **25**, 309 (1986).
4. Powell, W.S. and C.O. Funk: *Prog. Lipid Res.* **26**, 183 (1987).
5. Mills, D.E. and R.P. Ward: *Lipid*, **21**, 139 (1986).
6. Sugano, M., T. Ishida and T. Ide: *Agric. Biol. Chem.* **50**, 2335 (1986).
7. Sugano, M., T. Ishida, K. Yoshida, K. Tanaka, M. Niwa and A. Morit: *Agric. Biol. Chem.* **50**, 2483 (1986).
8. Cantrill, R.C., B.C. Davidson, I. Katzeff and J. Booyens: *Prog. Lipid Res.* **25**, 547 (1986).
9. Robinson, K.M. and J.H. Botha: *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine*, **20**, 209 (1985).
10. Horrobin, D.F.: *U.S. Patnt.* No. 4, 444, 755 (1984).
11. Shaw, R.: *Biochim. Biophys. Acta.* **98**, 230 (1965).
12. Suzuki, O., T. Yokochi, K. Amano, T. Sano, S. Seto, Y. Ohtu, S. Ishida, S. Iwamoto, K. Morioka, A. Satoh and K. Uotani: *Yukagaku*, **37**, 1081 (1988).
13. Shin, Y.C. and H.K. Shin: *Korean J. Food Sci. Technol.* **20**, 724 (1988).
14. Kang, H.S. and H.K. Shin: *Kor. J. Appl. Micorbiol. Bioeng.* **17**, 568 (1989).
15. Suzuki, O.: *Fermentation and Industry*, **43**, 1024 (1985).
16. Fukuda, H. and H. Morikawa: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **27**, 15 (1987).
17. Noguchi, Y., M. Kame and H. Iwamoto: *Yukagaku* **31**, 431 (1982).
18. Folch, J., M. Lees and G.H. Sloane-Stanley: *J. Biol. Chem.* **226**, 497 (1957).
19. AOACS: Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society, Walker, R.O. ed., 3rd ed., Champaign, Method No. Ce 2-66 (1978).
20. Sajbidor, J., M. Certik and S. Dobronova: *Biotechnol. Lett.* **10**(5), 347 (1988).
21. Watson, A.G. and E.J. Fird: *Ann. Rev. Phytopathol.* **10**, 327 (1972).

(Received October 31, 1990)