

## 토양으로부터 분리한 곰팡이에 의한 $\gamma$ -Linolenic Acid 생산

조 광 연 · 이 철 우\*

중경공업전문대학 식품영양과, \*중경공업전문대학 식품공업과

### Production of $\gamma$ -Linolenic Acid by Mold Isolated from Soils

Kwang-Yun Cho, Chul-Woo Lee\*

Department of Food and Nutrition, Jungkyung Technical Junior College, Daejeon 300-100, Korea

\*Dept. of Food Tech., Jungkyung Technical Junior College, Daejeon 300-100, Korea

#### Abstract

120 fungal strains producing  $\gamma$ -linolenic acid (GLA) were isolated from 100 soil samples, and among these, the most suitable one for the production of GLA was identified as *Fusarium* sp. JK-02. The content of total lipid and dry cell weight was 620mg/100ml and 63.5mg/100ml, respectively. The production of GLA was 10.2% of the total fatty acids.

Key words :  $\gamma$ -linolenic acid, polyunsaturated fatty acid.

#### 서 론

이중결합을 2개 내지 3개 이상을 가지는 지방산을 고도의 불포화 지방산(polyunsaturated fatty acid, PUFA)이라 부르는데 여기에는 EPA, dihomogamma-linolenic acid,  $\gamma$ -linolenic acid 및 arachidonic acid 등의 포함되어 있다. 이들은 prostaglandin (PG)의 전구체<sup>1-4)</sup>로서 또 생체막의 구성성분으로서 각종의 생물 활성을 나타내는 중요한 지방산이며 linolenic acid(LA)나  $\alpha$ -linolenic acid(ALA)로부터 생합성되어지지만 동물의 체내에서는 일반적으로 LA와 ALA를 생산하는 생합성능력이 없기 때문에 건강한 정상인의 경우 LA나 ALA를 함유하는 식물성 식품을 섭취하므로써 PUFA의 기능을 발휘하게 된다.

그러나 성인병환자, 노인 및 유아 등은 PUFA의 합성이 저하되어 이들을 외부로부터 공급받아야만 되며 최근에 이들 PUFA의 안정적인 공급을 위해 PUFA 생산 미생물 screening 및 균주의 개량에 많은 연구가 시도되고 있다<sup>5-8)</sup>.

따라서 본 연구에서는 이들 불포화 지방산 등  $\gamma$ -

linolenic acid (GLA: 6, 9 12-octadecatrienoic acid)를 균체내에 함유하는 곰팡이를 토양으로부터 분리하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

#### 재료 및 방법

##### 1. 균주의 분리

전국 각 지역의 토양으로부터  $\gamma$ -linolenic acid를 생산하는 균주를 분리하였다. 분리방법은 토양 1g을 멸균 증류수 10 ml에 넣고 현탁한 후 적당히 희석하여 rose bengal(50  $\mu$ g/ml)과 chloramphenicol(200  $\mu$ g/ml)을 함유한 potato dextrose agar(PDA)의 평판 배지에 접종하여 30 $^{\circ}$ C의 항온기에서 3~5일간 배양하였다.

##### 2. 균주의 선발

Table 1의 배지를 100 ml씩 500 ml 삼각플라스크에 분주, 살균하여 토양으로부터 분리한 각 균주를 각각 접종하고 25 $^{\circ}$ C에서 7일간 진탕배양(120 rpm)한 다음 원심분리하여 균체량과 지방질 함량 및 지방산 조성을 비교하여 우수한 균주를 선별하였다.

**Table 1. Medium for cultivation of microorganisms**

Components	g /l
Glucose	10
Yeast ex.	3
Malt ex.	3
Peptone	5
Olive oil	10

### 3. GLA 생산 균주의 동정

GLA 생산 균주는 Domsch 등<sup>9)</sup>, Samsons 등<sup>10)</sup> 및 기타의 방법<sup>11~15)</sup>에 따라 형태적 및 배양적 특징을 조사하여 동정하였다.

### 4. 균체량 측정 및 지방질의 추출

균체량의 측정은 배양액 100 ml 중 10 ml를 취하여 원심분리(3,000 rpm, 15 min)하고 dry oven에서 항량이 될 때까지 건조하여 건조균체량(dry cell weight, DCW)으로 하였다.

지방질의 추출은 균체량을 측정하고 남은 배양액 90 ml에 chloroform-methanol (2:1, v/v) 150 ml를 가하여 균질화기(Jeil Sci., C-HGS)로 3분 동안 균질화 시킨 후 정지한 다음 아래층을 모으고, 윗층을 갈

**Table 2. Analytical condition of fatty acids by GLC**

Instrument	Hewlett-Packard 5890 A
Column	5% Advans DS 80/100 mesh Chromosorb WAW, 3mm × 2 mm glass column
Detector	FID
Flow rate	H <sub>2</sub> /N <sub>2</sub> /air=30/30/300 (ml/min.)
Injector temp.	240°C
Detector temp.	240°C
Column temp.	190°C~240°C(the rate of 1.5°C/min.)
Chart speed	12"/hr.

은 방법으로 2번 더 지방질을 추출하였다. 모아진 아래층을 회전 진공농축기로 용매를 제거하여 정량하고 지방산 조성을 분석하는데 사용하였다.

### 5. 지방산 조성

지방질의 지방산 조성은 gas liquid chromatography(GLC, Hewlett-Packard 5890A, USA)에 의하여 분리 정량하였다. 이 때 지방산의 메틸 에스테르는 BF<sub>3</sub>-MeOH를 사용하여 AOCS<sup>16)</sup>의 방법에 따라 만들었다.

GLC의 분석조건은 Table 2와 같이 하여 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. GLA 생산 곰팡이의 분리 및 동정

전국 각지에서 수집한 100여개의 토양시료로부터 120종의 곰팡이를 분리하였다. 이 중 GLA 생산능이 가장 우수한 균주를 선발하여 그 형태, 배양학적 특성을 조사한 결과는 Table 3과 같으며 colony는 크림색이고 분생자는 격벽있는 낫모양의 특징을 나타내며 Czapek 배지에서 열린 갈색을 띠는 등 *Fusarium* sp.로 등장하였다.

### 2. 지방질 함량과 지방산 조성

*Fusarium* 속이 생산하는 균체량과 지방질 함량 그리

**Table 3. Morphological and cultural characteristics of *Fusarium* sp. producing GLA**

Conidium	
Shape	3-septate falcate-shape
Color	Hyaline
Size	20~25 × 3.0~4.0
Colony on Czapek's agar	
Color	
obverse side	Pale beige
reverse side	Ochreous
Appearance	Fasciculate
Chlamydospore	
Wall character	Smooth
Diam. (μm)	10~13

**Table 4. Mycelial fatty acid compositions of the genus *Fusarium* isolated from soils**

Organism strain	Fatty acid composition(%)						Others
	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3*	
<i>Fusarium</i> sp. Jk-02	2.6	20.7	16.2	38.3	6.1	10.2	5.9

\*  $\gamma$ -linolenic acid**Table 5. Comparison of cell growth and lipid content of *Fusarium* sp. isolated from soils**

Organism	District	DCW <sup>a</sup> (mg /100ml)	TL <sup>b</sup> (mg /100ml)	TL /DCW (%)
<i>Fusarium</i> sp. JK-02	Yong-in	620	63.5	10.2

a. DCW, Dry cell weight

b. TL, Total lipid

고 지방산 조성은 각각 Table 4 및 5에 나타내었다.

균체량과 지방질 함량은 각각 100 ml당 620 mg, 63.5 mg이었으며 전체 지방산 중 GLA가 차지하는 함량은 약 10.2%이었다.

## 요 약

100개의 토양시료로부터 120종의 곰팡이를 분리하여 이 중 GLA 생성능이 가장 우수한 균주를 선발하여 *Fusarium* 속으로 동정하였다. *Fusarium* 속이 생산하는 균체량과 지방질 함량은 각각 620mg /100ml, 63.5mg /100ml 이었으며 전체 지방산 중 GLA가 차지하는 함량은 약 10.2% 이었다.

## 참고문헌

- Larsson-Backstrom, C., Arrhenius, E., Saggge, K., Lindmark, L. and Svensson, L. : Influence of  $\alpha$ -linolenic and  $\gamma$ -linolenic acid enriched and fat free diets on fatty acid profile and prostaglandin biosynthesis and on the outcome of rat intraperitoneal sepsis. *Prog. Lipid Res.*, **25**, 197(1986)
- Manku, M.S., Soma, M. and Jenkins, D.E. : Effects of feeding  $\gamma$ -linolenic acid on mesenteric and urinary prostaglandin outflow in guinea-pigs. *Prog. Lipid Res.*, **25**, 309(1986)
- Powell, W.S. and Funk, C.D. : Metabolism of arachidonic acid and other polyunsaturated fatty acids by blood vessels. *Prog. Lipid Res.*, **26**, 183(1987)
- VanDorp, D.A. : Essential fatty acids and prostaglandins. *Acta Biol. Med. Germ.*, **35**, 1041(1976)
- Sajbodor, J., Certik, M. and Dobronova, S. : Influence of different carbon source on growth, lipid content and fatty acid composition in four strains belonging to Mucorales. *Biotechnol. Lett.*, **10**, 347(1988)
- Hansson, L. and Dostarek, M. : Effect of culture conditions on mycelial growth and production of  $\gamma$ -linolenic acid by the fungus *Mortierella ramanniana*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **28**, 240(1988)
- Hansson, L., Dostarek, M. and Sorenby, P. : Production of  $\gamma$ -linolenic acid by the fungus *Mucor rouxii* in fed-batch and continuous culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **31**, 223(1989)
- Gosselin, Y., Lognay, G. and Thonart, T. :

- Improvement of fed batch mass culture for  $\gamma$ -linolenic biosynthesis by *Tetrahymena rostrata* (protozoa). *Biotechnol. Lett.*, 11, 423 (1989)
9. Domsh, K.H. and Gams, W. : *Compendium of Soil Fungi*. Academic Press, London, Vol. 1 (1980)
  10. Samsons, R.A., Hoekstra, E.S., and Van-Oorschot, C.A.N. : *Introduction to Food-Borne Fungi*. Centraalubureau Voor Schimmelcultures, Baarn(1981)
  11. Fassatiava, O. : *Moulds and Filamentous Fungi in Technical Microbiology*. Amsterdam (1986)
  12. Pitt, J.I. and Hocking, A.D. : *Fungi and Food Spoilage*. Academic Press, Sydney(1985)
  13. 宇田川候一, 室井哲夫 : *カビの分離. 培養と同定*, 醫齒藥出版株式會社, 東京(1984)
  14. Barnett, H.L. and Hunter, B.B. : *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. New York, 4th ed. (1987)
  15. Koneman, E.W., Roberts, G.D. and Wright, S.F. : *Practical Laboratory Mycology*. The Williams & Wilkins, Baltimore, 2nd ed. (1979)
  16. AOCS : Official and Tentative Methods of the American Oil Chemist · s Society. Walker, R.O. Champaign, 3rd ed.(1978)
- 
- (1995년 2월 6일 수리)