

G-4 KEPII배양액에서 계대배양된 *Phaeodactylum tricornutum*의 생리·생화학적인 변화

김세진* · 노혜정 · 예병직 · 박정원 · 전경희* · 김미경[○]
영남대학교 해양과학연구소 · 생물학과*

서론

*Phaeodactylum tricornutum*은 해양 부착성 돌말류로서 세포의 형태가 난형, 방추형과 방사형으로 나타나는 미세조류이다(Toma, 1997). *P. tricornutum*의 배양과 생리 생화학적 연구는 생물자원의 산업적인 측면에서 주된 관심사가 되어 다양하게 연구되고 있다(Gonzalez *et al.*, 1998; Alonso *et al.*, 2000). 고등육상식물이 유전자 조작 방법만으로 형질발현을 유도해야 하는 특성과 달리 미세조류의 세포 특징은 배양조건과 배양액의 특정 영양원의 유무에 따라 생리·생화학적 pool의 변화가 유도된다(Stein, 1973; Kim and Dubacq, 1997; Kim and Smith, 2001). 본 연구는 축산폐수(돼지뇨)를 호기성 미생물로 발효시킨 생물활성수를 이용한 배양액에서 성장한 *P. tricornutum*의 생리·생화학적인 특성을 밝히는 기초과학적 연구뿐만 아니라 양식어류의 사료개발의 가능성의 유무를 시사하는 응용산업적 연구로 접목시키고자 한다.

재료 및 방법

KEPII 배양액의 개발을 위해서 상용 배양액(f/2)(Guillard and Ryther, 1962)에 각각 0.5%, 2%, 3%, 4%의 생물활성수(히로시, 1998)를 첨가하여 동일한 성장 조건(광주기: 14h-L/10h-D; 광도: 2250 ± 20 Lux; 온도: 17°C)의 Shaking incubator에서 140 rpm으로 *P. tricornutum* (YCCA BA012)을 44일간 배양하였다. 이 배양액의 효과를 비교하기 위해 생물활성수를 첨가하지 않은 상용 배양액인 대조구와 세포의 배양상태를 비교하였다. KEPII배양액에서 자란 *P. tricornutum*의 세포의 생리·생화학적 활성도를 증명하기 위해 엽록소형 광측정기(Phyto-PAM: Walz)를 이용하여 광합성 효율을 측정하였고, 생체 에너지를 나타내는 ATP의 농도 측정은 발광계(TD-20/20; Turner Designs, 2000)로, 엽록소의 농도 측정은 기존의 방식(De Loura *et al.*, 1987)을 이용하였으며, 카로티노이드는 김과 이(1998)의 방법으로 HPLC기기(SPD-M6A; Simadu)를 이용하여 분석하였다. 지방산 분석은 김 등(Kim *et al.*, 1996)의 방법으로 GC(HP 6890 Series)로 분석하였다.

결과 및 요약

3%의 생물활성수를 첨가한 배양액, 즉 KEPII배양액(11.69×10^6)에서 성장한 세포가 대조구 배양액(8.63×10^6)의 세포보다 가장 왕성하게 성장이 일어났다. 광합성 효율(Fv/Fm)은 대조구의 *P. tricornutum*는 0.33으로 아주 낮은

반면에 KEPII의 세포는 비교적 오랜 시간(44일)의 계대배양에서 배양액의 영양원의 고갈될 시기임에도 불구하고 0.71로 광합성 효율이 높았다. ATP도 KEPII의 세포가 1.15×10^{-13} 였고, 대조구는 5.52×10^{-14} 로 KEPII의 세포가 2.1배로 높게 나타났다. 엽록소 a와 c의 농도는 대조구의 세포가 각각 0.64 mg/g dry wt와 0.2 mg/g dry wt였고, KEPII의 세포는 각각의 농도가 2.08 mg/g dry wt와 0.8 mg/g dry wt로 높게 나타났다. 베타-카로틴도 KEPII의 세포(0.7 mg/g dry wt)가 대조구 세포(0.2 mg/g dry wt)보다 3배 이상이나 높았다. Xanthophyll은 diadinoxanthin, fucoxanthin과 violaxanthin으로 구성되어있고, 총농도는 대조구의 세포가 2.13 mg/g dry wt였고, KEPII의 세포는 10.22 mg/g dry wt로 무려 5배로 합성이 증가되었다. 반면에 KEPII의 세포의 지방산은 36.51 mg/g dry wt였으나 대조구의 세포는 61.46 mg/g dry wt으로 오히려 증가되었다. 위의 실험결과에 의해 KEPII배양액에서 계대배양된 *P. tricornutum*는 영양원 고갈현상에 구애됨이 없이 연속적인 생리·생화학적 Pool이 계속적으로 증가됨을 알 수 있었다. 따라서 본 연구 결과 KEPII배양액은 미세조류의 계대배양의 한계점을 보완할 수 있는 먹이생물의 Biomass를 증가뿐만 아니라 기능성 생화학 물질의 농도증가로 사료 개발의 잠재력이 아주 높다고 할 수 있다.

참고문헌

- Alonso D. L., E.H. Belarbi, J.M. Fernandezsevilla, J.M. Rodriguezruizx and E.M. Grima 2000. Acyl lipid composition variation related to culture age and nitrogen concentration in continuous culture of the microalga *Phaeodactylum tricornutum* *Phytochemistry* 54: 461-471.
- De Loura I.C., J.P. Dubacq and J.C. Thomas 1987. *Plant Physiol.* 83: 838-843.
- Gonzalez M.J.I., A.R. Medina, E.M. Grima, A.G. Gimenez, M. Carstens, L.E. Cerdan 1998. Optimization of fatty acid extraction from *Phaeodactylum tricornutum* UTEX-640 Biomass. *J. of The Amer.Oil Chem. Society* 75: 1735-1740.
- Guillard R.R.L. and J.H. Ryther 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* Cleve. *Can. J. Microbil.* 8: 229-239.
- Kim M.K. and J.P. Dubacq 1997. Characteristics of triacylglycerols and fatty acids from *Detonula* sp. in culture. *Algae* 12: 229-234.
- Kim M.K., J.P. Dubacq, J.C. Thomas and G. Giraud 1996. Seasonal variations of triacylglycerols and fatty acids in *Fucus serratus*. *Phytochemistry* 43: 49-55.
- Kim M.K. and H.W. Lee 1998. Changes of beta-carotene content between fresh and dry thalli in *Undaria pinnatifida* and *Enteromorpha compressa* from Korea. *Algae* 13: 151-155.
- Kim M.K. and R.E.H. Smith 2001. Effect of ionic copper toxicity on the growth of green alga, *Selenastrum capricornutum*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 11: 211-216.
- Toma C.R. 1997. Identifying Marine Phytoplankton. Academic Press, London. 858pp.
- Turner Designs (2000) A TD-20/20 luminometer method for ATP measurements. *Turner Designs Biotechnology* pp.1-4.
- Stein J.R. 1973. Handbook of Phycological Methods - Culture Methods and Growth Measurements. Cambridge University Press, London. 448pp.
- 나가사키 히로시 1998. 세균이 지구를 구한다 - BMW 기술의 도전. 도서출판 푸른평화, 216pp.