

## LED (Light Emitting Diode)를 이용한 *Nannochloropsis* sp.의 성장 및 생화학적 조성 변화

박진철 · 권오남<sup>1</sup> · 홍성익<sup>2</sup> · 안희춘<sup>2</sup> · 배재현<sup>2</sup> · 박미선<sup>3</sup> · 박흠기<sup>4\*</sup>

강릉원주대학교 동해안생명과학연구소, <sup>1</sup>강릉원주대학교 해양생물연구교육센터, <sup>2</sup>국립수산과학원 동해수산연구소,  
<sup>3</sup>국립수산과학원 양식관리과, <sup>4</sup>강릉원주대학교 해양자원육성학과

## Changes in the Growth and Biochemical Composition of *Nannochloropsis* sp. Cultures Using Light-Emitting Diodes

Jin-Chul Park, O-Nam Kwon<sup>1</sup>, Sung-Eic Hong<sup>2</sup>, Heui-Chun An<sup>2</sup>, Jea-Hyun Bae<sup>2</sup>,  
Mi-Sun Park<sup>3</sup> and Heum-Gi Park<sup>4\*</sup>

East coastal Life Science Institute Gangneung-Wonju National University, Gangneung 210-702, Korea

<sup>1</sup>Marine Biology Center for Reserach and Education, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 210-853, Korea

<sup>2</sup>East Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research & Development Institute, Gangneung 210-860, Korea

<sup>3</sup>Aquaculture Management Division, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-705, Korea

<sup>4</sup>Department of Marine Bioscience, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 210-702, Korea

The marine microalgae *Nannochloropsis* sp. was cultured under a metal halide lamp (MH) or light-emitting diodes (LEDs) of various wavelengths (blue, LB; red, LR; yellow, LY; green, LG; white, LW); changes in growth, total carotenoid, chlorophyll a, amino acid and fatty acid profiles were investigated. LB-exposed cultures exhibited the highest specific growth rate (SGR) (0.32), whereas LY-exposed cultures showed the lowest SGR (0.18). After cultivation for 9 days, the maximum dry cell weight (g/L) of LB-exposed cultures was significantly higher than that of those exposed to other light conditions (LB>MH>LW ≥ LG ≥ LR>LY). The essential amino acid (EAA, %) contents of cultures exposed to LG, LB, LR and MH were higher than those exposed to LY and LW ( $P<0.05$ ). Eicosapentaenoic acid and n-3 highly unsaturated fatty acid levels were significantly higher in MH-exposed cultures compared to those exposed to LY ( $P<0.05$ ), with no marked difference compared to those exposed to LB, LG, LR and LW ( $P>0.05$ ). The total carotenoid content was highest in LR-exposed cultures (18.0 mg/L), whereas MH showed the lowest (11.8 mg/L;  $P<0.05$ ). Chlorophyll a content was highest in cultures exposed to LR compared to other light sources. These results suggest consistent differences in growth and biochemical composition after exposure to light of different wavelengths.

Key words: *Nannochloropsis* sp., LED, Specific growth rate, Fatty acid, Total carotenoid

### 서론

미세조류는 다양한 영양소 및 생리활성물질을 함유하고 있어 여러 산업에 널리 이용되고 있다(Park et al., 2010). 또한 최근 지구 온난화의 주범인 이산화탄소의 저감과 화석연료를 대체할 바이오에너지 생산에 미세조류의 광합성 기작 이용성이 더욱 광범위해지고 있다(Oh et al., 2003).

일반적으로 미세조류의 성장에 영향을 미치는 환경적 요인으로는 수온, 염분, pH, 이산화탄소 및 광 조건 등으로 알려져 있다

(Park et al., 2010). 하지만 이러한 환경적 요인 중에서도 광 관련 인자는 무엇보다도 중요하게 고려되어야 할 사항이다. 특히 빛의 파장은 미세조류의 양적 및 질적 변화를 줄 수 있기 때문에 광원의 선택은 인위적인 미세조류 배양을 위해 반드시 고려되어야 한다(Rocha et al., 2003; Mouget et al., 2004; Sánchez-Saavedra and Voltolina, 2006).

한편 차세대 에너지절약형의 대체 광원인 발광다이오드(Light Emitting Diode, LED)는 가시광선대의 파장을 모두 구현할 수 있어 미세조류 배양에 매우 유익한 것으로 보고되어 있다(Das et

#### Article history;

Received 8 March 2013; Revised 7 June 2013; Accepted 11 June 2013

\*Corresponding author: Tel: +82. 33. 640. 2345 Fax: +82. 33. 640. 2340

E-mail address: hgpark@gwnu.ac.kr

Kor J Fish Aquat Sci 46(3) 259-265, June 2013

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2013.0259>

pISSN:0374-8111, eISSN:2287-8815

© The Korean Society of Fishereis and Aquatic Science. All rights reserved

al., 2011). 이러한 LED는 다른 발광체보다 수명이 길고, 낮은 소비전력(수 V) 및 빠른 반응시간(백열전구 대비  $1 \times 10^6$ 배) 특성으로 친환경적이며, 열 발생이 없는 장점까지 지니고 있다(Oh et al., 2007). 하지만 현재까지도 실외 개방형에서 미세조류를 배양할 때에는 주로 태양광이 이용되고, 실내 밀폐형에서는 형광등이 많이 사용되고 있다. 형광등은 LED 광원에 비해 높은 유지비용 및 과도한 열발생으로 인해 배양효율 및 경제성이 낮은 것으로 인식되고 있어 이에 따른 문제점 개선이 필요하다. LED는 해당 미세조류의 광합성에 필요한 특정 파장만 공급하여 빛의 이용 효율성을 높여 주어 유용 미세조류의 대량배양에 효율적인 광원으로 인정받고 있다.

따라서 본 연구에서는 광원으로 다양한 LED를 이용하여 유용 미세조류의 하나인 *Nannochloropsis* sp.의 성장, chlorophyll a, carotenoid, 지방산 및 아미노산 함량의 변화를 비교하는 것이 목적이다.

## 재료 및 방법

### LED 광원에 따른 미세조류의 배양

실험에 이용된 *Nannochloropsis* sp. (KMMCC-290)는 한국 해양미세조류은행(Korea Marine Microalgae Culture Center, KMMCC)에서 분양 받아 이용하였다. 실험을 위해 멸균 해수가 담겨진 30 L 수조(배양수 20 L)에 *Nannochloropsis* sp.를 접종하고 conway 배지를 넣어준 후 24°C 및 33 psu에서 폭기를 시켜 주면서 실험을 행하였다.

실험구는 각각의 칸막이가 설치된 천막에 파장이 다른 5개(460 nm, LB; 520 nm, LG; 580 nm, LY; 630 nm, LR; 복합파장, LW)의 180 W LED 램프(WFLL180, Wisepower Inc., Korea)를 배양수조 표면 30 cm 높이로 고정시켜 설치하였으며, 전력소비가 동일한 180 W 메탈 할라이드 램프(MH, HSL-MH175W, Hwasung Inc., Korea)를 함께 두어 16L:8D의 광주기로 3회 반복 실험하였다. 이 때 각각의 파장은 분광기(LI-1400, LI-COR, Inc., USA)를 통해 측정하였다.

배양일수에 따른 성장을 알아보기 위하여 건조중량(g/L) 값을 구하였다. 건조중량은 GF/C 여과지(47 mm, Whatman™, UK)를 이용하여 50 mL의 배양수를 여과하고 증류수로 남아있는 염을 녹인 후 100°C에서 1시간 동안 건조하여 무게를 매일 측정하여 구하였다. 또한 매일 세포수를 확인하여 배양일수 경과에 따른 상대성장률(Specific growth rate, SGR) 값을 Rico-Martinez and Dodson (1992)의 방법에 따라 구하였다.

### 생화학적 조성의 분석

#### Total carotenoid와 chlorophyll a 분석

Total carotenoid와 chlorophyll a는 Wellburn (1994) 방법에 따라 분석하였다. 각 실험구에서 배양되고 있는 *Nannochloropsis*

sp.의 시료를 2 mL tube에 넣은 후 염분제거를 위하여 3,000 rpm에서 15분간 원심분리(Labogene, GYROZEN Inc., Korea)를 돌린다. 이후 염분이 분리된 상층액을 제거하고, 동일 과정을 한번 더 수행한다. 여기에 acetone 2 mL를 넣고 vortexing 해서 잘 섞이게 한 뒤 24시간 냉장보관을 하였다. 이후 15분간 3,000 rpm으로 원심분리를 행한 후 상층액을 따로 취하여 분광광도계(V-550, JASCO, Japan)에서 470, 653, 666 nm로 흡광도 값을 측정하여 아래의 Wellburn (1994) 공식에 대입하여 결과값으로 나타내었다.

$$\text{Chlorophyll a (C}_a\text{)} = 16.72A_{666} - 9.16A_{653}$$

$$\text{Chlorophyll b (C}_b\text{)} = 34.09A_{653} - 15.28A_{666}$$

$$\text{Total carotenoid} = 1000A_{470} - 1.63C_a - 104.96C_b / 221$$

여기서 A 밑에 아래첨자는 각각의 흡광도이며, C<sub>a</sub> 및 C<sub>b</sub>는 chlorophyll a, b 값을 의미한다.

#### 지방산 분석

각 실험구별로 배양된 미세조류의 수확은 원심분리기(SORVALL ST16R, Thermo, Germany)를 이용하여 5,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 분석 시까지 -80°C에서 보관하였다. 지방산 분석은 Parrish (1987) 방법에 따라 지질을 추출하여 Morrison and Smith (1964)의 방법에 따라 BF<sub>3</sub>-methanol을 이용하여 지방산을 메틸레이션(methylation) 하였다. 메틸레이션된 지방산은 capillary column (OMEGAWAX 250, Supelco™, USA) 이 장착된 gas chromatography (HP6890 plus, Agilent, USA)로 분석하였다. 그리고 gas chromatograph에 의한 각각의 지방산 peak는 Supelco 37 Component FAME mix (Supelco™, 100 mg Nrat 18919-1AMP, USA)로 동정하여 정량화하였다.

#### 아미노산 분석

아미노산 분석을 위해 동결 건조된 각각의 샘플을 15 mL 유리 시험관에 10 mg 가량으로 정량하고, 6 N HCl을 첨가하여 120°C에서 22시간동안 가수분해시켰다. 6 N HCl이 완전히 증발된 후 0.02 N HCl을 5 mL 정량하여 넣고 구성아미노산을 녹였다. 이후 0.45 μm filter를 이용하여 녹아있는 아미노산을 1.8 mL vial에 1 mL 이상이 되도록 담아 아미노산 분석기(L-8800, Hitachi, Japan)를 이용하여 분석하였다.

#### 통계처리

각기 다른 광원에 따른 미세조류의 성장률, total carotenoid, chlorophyll a, 아미노산 및 지방산 함량의 평균은 Duncan (1955)의 다중검정 후 SPSS program을 이용하여 one-way ANOVA test에 의한 평균 간의 유의성을 유의수준 95%로 처리하였다.

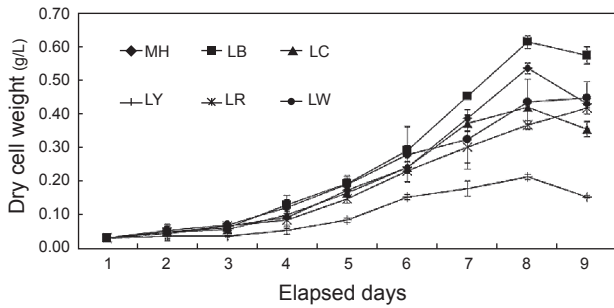


Fig. 1. Dry cell weight of *Nannochloropsis* sp. cultured for 9 days under various light sources. Data are expressed as the mean±SD. LB, LED blue; LG, LED green; LY, LED yellow; LR, LED red; LW, LED white; MH, metal halide lamp.

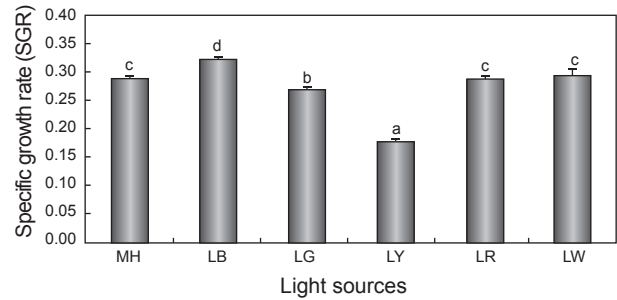


Fig. 2. Specific growth rate (SGR) of *Nannochloropsis* sp. at the different light sources. Symbols are as in Fig. 1. Different letters on the bars indicate a significant at ( $P<0.05$ ). LB, LED blue; LG, LED green; LY, LED yellow; LR, LED red; LW, LED white; MH, metal halide lamp.

## 결 과

### 광원에 따른 미세조류의 성장

세포 성장에 따른 건조중량과 상대성장률(SGR)을 Fig. 1과 2에 나타내었다. 배양 3일까지는 모든 실험구간에서 차이 없이 성장하였으나 4일째부터는 유의적인 차이가 나타나기 시작했다. LR를 제외한 모든 실험구는 배양 8일째 최고 건조중량(g/L)의 값을 보이는 것으로 조사되었다. 그 중에서도 LB는 0.61 g/L로 가장 높은 값을 보였으며, 그 뒤로 MH가 0.53 g/L으로 높게 나타났다. 반면, LY는 0.21 g/L로 유의적으로 가장 낮은 값을 보였다( $P<0.05$ ). 상대성장률은 LB에서 0.32로 유의적으로 가장 높게 나타났으나, LY는 0.18로 유의적으로 가장 낮게 나타났었다( $P<0.05$ ).

### Chlorophyll a와 total carotenoid의 변화

광원에 따른 chlorophyll a와 total carotenoid 함량의 변화를 Fig. 3과 4에 나타내었다. Chlorophyll a의 평균값은 LR에서

18.0 mg/L으로 유의적으로 가장 높았으며( $P<0.05$ ), MH는 11.8 mg/L가 유의적으로 가장 낮은 값을 보였다( $P<0.05$ ). Total carotenoid 함량은 LR에서 유의적으로 가장 높은 6.3 mg/L의 값을 보인 반면 MH는 4.5 mg/L로 가장 낮은 값을 나타냈다( $P<0.05$ ).

### 지방산 조성 및 아미노산 조성의 변화

광원에 따른 *Nannochloropsis* sp.의 지방산 조성 변화를 Table 1에 나타내었다. C16:0 (palmitic acid), C16:1 (palmitoleic acid), C18:1n9 (oleic acid) 및 n-9 HUFA (highly unsaturated fatty acids)은 LR에서 유의적으로 가장 높게 나타난 반면 C20:3n3 (eicosatrienoic acid), C20:3n6 (dihomogamma-linolenic acid)는 가장 낮게 나타났었다( $P<0.05$ ). C18:0 (stearic acid)은 LW에서 가장 높은 반면 LY는 가장 낮게 나타났으며, C18:3n6 (gamma-linolenic acid)의 수치는 LW에서 가장 높았으나 LY는 유의적으로 가장 낮았다( $P<0.05$ ). 또한 고도불포화지방산의 하나인 C20:5n3 (eicosapentaenoic acid, EPA)와 n-3 HUFA는 MH에

Table 1. Fatty acids (ug/mg dry matter) of *Nannochloropsis* sp. at various light sources\*

	LB <sup>1</sup>	LG <sup>2</sup>	LR <sup>3</sup>	LW <sup>4</sup>	LY <sup>5</sup>	MH <sup>6</sup>
C16:0	12.0 ± 1.00 <sup>b</sup>	11.5 ± 1.42 <sup>ab</sup>	14.7 ± 1.13 <sup>c</sup>	11.4 ± 0.28 <sup>ab</sup>	9.8 ± 0.21 <sup>a</sup>	11.8 ± 1.70 <sup>ab</sup>
C16:1	12.0 ± 0.73 <sup>a</sup>	13.0 ± 1.60 <sup>a</sup>	15.8 ± 1.70 <sup>b</sup>	11.9 ± 1.00 <sup>a</sup>	10.6 ± 0.44 <sup>a</sup>	12.3 ± 2.09 <sup>a</sup>
C17:0	0.8 ± 0.13 <sup>ab</sup>	0.7 ± 0.12 <sup>ab</sup>	0.7 ± 0.11 <sup>ab</sup>	0.8 ± 0.78 <sup>b</sup>	0.6 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.01 <sup>ab</sup>
C18:0	1.0 ± 0.15 <sup>ab</sup>	0.8 ± 0.15 <sup>ab</sup>	1.0 ± 0.20 <sup>ab</sup>	1.2 ± 0.37 <sup>b</sup>	0.7 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.03 <sup>ab</sup>
C18:1n9	4.4 ± 0.46 <sup>a</sup>	5.0 ± 0.38 <sup>a</sup>	7.7 ± 0.28 <sup>b</sup>	5.0 ± 0.55 <sup>a</sup>	4.6 ± 0.34 <sup>a</sup>	4.9 ± 0.43 <sup>a</sup>
C18:2n6	2.2 ± 0.17 <sup>a</sup>	2.5 ± 0.26 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.25 <sup>a</sup>	2.5 ± 0.27 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.14 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.17 <sup>a</sup>
C18:3n6	0.8 ± 0.09 <sup>ab</sup>	0.7 ± 0.13 <sup>ab</sup>	0.7 ± 0.12 <sup>a</sup>	0.9 ± 0.17 <sup>b</sup>	0.7 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.8 ± 0.02 <sup>ab</sup>
C20:3n6	2.5 ± 0.29 <sup>c</sup>	2.0 ± 0.25 <sup>ab</sup>	1.7 ± 0.28 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.39 <sup>bc</sup>	1.8 ± 0.05 <sup>ab</sup>	2.3 ± 0.05 <sup>bc</sup>
C20:3n3	3.8 ± 0.08 <sup>b</sup>	3.5 ± 0.09 <sup>b</sup>	3.0 ± 0.25 <sup>a</sup>	3.4 ± 0.05 <sup>ab</sup>	3.0 ± 0.20 <sup>a</sup>	3.8 ± 0.57 <sup>b</sup>
C20:5n3	22.2 ± 0.83 <sup>b</sup>	21.9 ± 0.49 <sup>b</sup>	20.1 ± 1.65 <sup>ab</sup>	19.0 ± 1.78 <sup>ab</sup>	18.2 ± 1.37 <sup>a</sup>	22.5 ± 3.53 <sup>b</sup>
n-3 HUFA	26.0 ± 3.87 <sup>b</sup>	25.5 ± 0.46 <sup>b</sup>	23.1 ± 1.88 <sup>ab</sup>	22.3 ± 1.83 <sup>ab</sup>	21.2 ± 1.58 <sup>a</sup>	26.3 ± 4.10 <sup>b</sup>
n-6 HUFA	6.1 ± 2.15 <sup>b</sup>	5.8 ± 0.76 <sup>b</sup>	4.8 ± 0.40 <sup>a</sup>	6.2 ± 0.79 <sup>b</sup>	5.5 ± 0.22 <sup>ab</sup>	6.3 ± 0.19 <sup>b</sup>
n-9 HUFA	4.4 ± 0.31 <sup>a</sup>	5.0 ± 0.38 <sup>a</sup>	7.7 ± 0.28 <sup>b</sup>	5.0 ± 0.55 <sup>a</sup>	4.6 ± 0.34 <sup>a</sup>	4.9 ± 0.43 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>LB, LED blue; <sup>2</sup>LG, LED green; <sup>3</sup>LR, LED red; <sup>4</sup>LW, LED white; <sup>5</sup>LY, LED yellow; <sup>6</sup>MH, metal halide lamp.

\*Values (mean±SD of three replications) in the same row not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

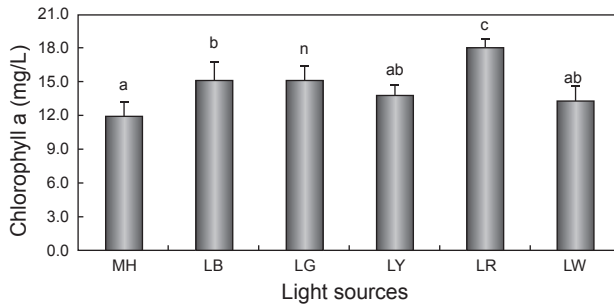


Fig. 3. Comparison of chlorophyll a content of *Nannochloropsis* sp. at various light sources. Symbols are as in Fig. 1. Different letters on the bars indicate a significant at ( $P<0.05$ ).

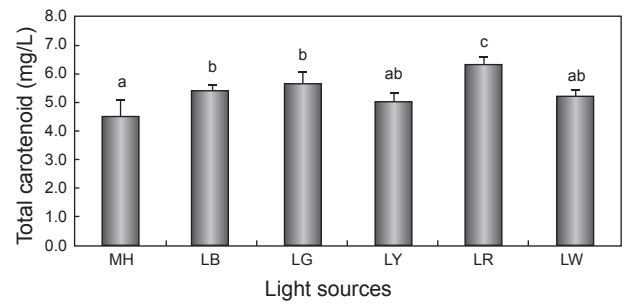


Fig. 4. Comparison of total carotenoid content (mg/L) of *Nannochloropsis* sp. at various light sources. Symbols are as in Fig. 1. Different letters on the bars indicate a significant at ( $P<0.05$ ).

서 유의적으로 가장 높은 값을 보였으나 LY를 제외한 모든 실험 구간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다( $P>0.05$ ). 아울러, n-6 HUFA 함량은 LR 및 LY가 유의적으로 낮은( $P<0.05$ ) 반면 그 외 다른 실험구간은 유의적인 차이 없이 높게 나타났다( $P<0.05$ ).

한편 실험구에 따른 아미노산 함량 변화는 Table 2에 나타내었다. 실험구간을 비교했을 때, 필수아미노산 및 비필수아미노산의 함량이 실험구간마다 뚜렷한 경향은 보이지 않았다. 하지만 LED 파장에 따라 필수아미노산 및 비필수아미노산의 함량 변화에는 유의적으로 영향을 준 것으로 나타났다. 특히 모든 필수아미노산(threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine 및 lysine)은 LG에서 유의적으로 가장 높게 나타났다

( $P<0.05$ ). 또한 EAA (essential amino acids, %)은 LW 및 LY가 다른 실험구와의 유의적인 차이를 보였다( $P<0.05$ ).

## 고 찰

### 광원에 따른 미세조류의 성장

미세조류는 세포성장을 위해 빛을 광 촉매제로 이용하며, 미세조류 종간의 상대성장률은 빛의 파장, 광도 등의 광질에 의해 영향을 받게 된다(Wang et al., 2007). LED는 특정파장과 다양한 파장을 조합하여 낮은 전력소비량으로 미세조류를 배양하는데 이용할 수 있다(Oh et al., 2007). 따라서 본 연구에서는 LED가

Table 2. Amino acid compositions (ng/mg dry matter) of *Nannochloropsis* sp. at various light sources\*

	LB <sup>1</sup>	LG <sup>2</sup>	LR <sup>3</sup>	LW <sup>4</sup>	LY <sup>5</sup>	MH <sup>6</sup>
Aspartic acid	140.8±3.53 <sup>bc</sup>	146.7±3.48 <sup>c</sup>	139.1±3.98 <sup>abc</sup>	129.2±6.60 <sup>a</sup>	134.5±6.96 <sup>ab</sup>	143.2±9.10 <sup>bc</sup>
Threonine	83.3±2.83 <sup>ab</sup>	86.1±1.94 <sup>c</sup>	83.2±2.19 <sup>ab</sup>	76.8±3.87 <sup>a</sup>	78.6±3.83 <sup>a</sup>	83.3±4.76 <sup>ab</sup>
Serine	67.5±1.61 <sup>b</sup>	69.6±1.22 <sup>b</sup>	66.6±1.62 <sup>ab</sup>	62.1±2.69 <sup>a</sup>	64.9±3.24 <sup>ab</sup>	66.6±4.28 <sup>ab</sup>
Glutamic acid	190.3±5.39 <sup>bc</sup>	197.7±4.55 <sup>c</sup>	186.4±4.49 <sup>bc</sup>	166.6±10.26 <sup>a</sup>	178.7±9.20 <sup>ab</sup>	186.2±11.37 <sup>bc</sup>
Glycine	85.8±3.42 <sup>abc</sup>	89.8±2.20 <sup>c</sup>	85.3±2.23 <sup>abc</sup>	78.7±4.48 <sup>a</sup>	81.7±3.68 <sup>ab</sup>	86.4±5.44 <sup>ab</sup>
Alanine	119.5±5.43 <sup>b</sup>	124.1±2.96 <sup>b</sup>	120.8±4.52 <sup>b</sup>	107.7±7.04 <sup>a</sup>	108.5±4.24 <sup>a</sup>	120.5±6.44 <sup>b</sup>
Cysteine	12.2±2.09 <sup>b</sup>	12.2±0.69 <sup>b</sup>	11.6±0.30 <sup>b</sup>	10.5±2.08 <sup>b</sup>	7.7±0.13 <sup>a</sup>	12.0±1.22 <sup>b</sup>
Valine	87.3±5.43 <sup>ab</sup>	90.6±3.08 <sup>b</sup>	86.2±2.96 <sup>ab</sup>	80.3±4.57 <sup>a</sup>	83.9±7.63 <sup>ab</sup>	86.7±5.56 <sup>ab</sup>
Methionine	22.0±3.64 <sup>b</sup>	22.2±0.29 <sup>b</sup>	20.0±0.06 <sup>ab</sup>	18.3±3.72 <sup>ab</sup>	16.3±0.87 <sup>a</sup>	21.3±1.84 <sup>b</sup>
Isoleucine	64.9±5.26 <sup>ab</sup>	68.0±2.62 <sup>b</sup>	63.4±2.08 <sup>ab</sup>	60.1±3.54 <sup>a</sup>	62.3±5.04 <sup>ab</sup>	65.0±4.16 <sup>ab</sup>
Leucine	136.9±7.04 <sup>ab</sup>	143.6±3.79 <sup>b</sup>	135.2±4.14 <sup>ab</sup>	125.4±7.37 <sup>a</sup>	129.1±6.62 <sup>a</sup>	136.6±9.08 <sup>ab</sup>
Tyrosine	51.2±3.27 <sup>ab</sup>	54.1±1.50 <sup>b</sup>	50.3±1.17 <sup>ab</sup>	47.3±2.94 <sup>a</sup>	46.4±3.85 <sup>a</sup>	49.4±3.56 <sup>ab</sup>
Phenylalanine	82.1±3.80 <sup>ab</sup>	85.3±2.35 <sup>b</sup>	81.4±2.26 <sup>ab</sup>	75.8±4.06 <sup>a</sup>	76.5±3.75 <sup>a</sup>	81.9±5.30 <sup>ab</sup>
Lysine	102.2±3.85 <sup>bc</sup>	106.5±2.72 <sup>c</sup>	102.0±2.69 <sup>bc</sup>	93.7±5.27 <sup>a</sup>	95.2±3.40 <sup>ab</sup>	102.4±6.41 <sup>bc</sup>
HN3	24.7±0.86 <sup>ab</sup>	26.1±1.02 <sup>b</sup>	25.3±0.97 <sup>ab</sup>	23.4±1.23 <sup>a</sup>	25.3±1.46 <sup>ab</sup>	25.9±1.16 <sup>b</sup>
Histidine	29.0±0.93 <sup>ab</sup>	30.3±0.91 <sup>b</sup>	29.0±0.97 <sup>ab</sup>	26.6±1.51 <sup>a</sup>	27.4±1.41 <sup>a</sup>	28.5±1.70 <sup>ab</sup>
Arginine	93.9±3.67 <sup>bc</sup>	99.9±2.99 <sup>c</sup>	95.8±2.61 <sup>bc</sup>	85.4±5.67 <sup>a</sup>	88.3±3.69 <sup>ab</sup>	94.7±6.40 <sup>bc</sup>
Proline	190.9±8.60 <sup>ab</sup>	210.8±5.50 <sup>c</sup>	194.4±4.15 <sup>abc</sup>	178.2±15.99 <sup>a</sup>	189.0±6.96 <sup>ab</sup>	200.7±14.36 <sup>bc</sup>
EAA <sup>7</sup> (%)	11.6±0.63 <sup>bc</sup>	12.0±0.33 <sup>c</sup>	11.4±0.32 <sup>bc</sup>	10.6±0.62 <sup>ab</sup>	10.2±0.53 <sup>a</sup>	11.5±0.74 <sup>bc</sup>
Protein (%)	35.2±0.89 <sup>bc</sup>	36.9±0.54 <sup>c</sup>	35.1±0.92 <sup>bc</sup>	32.1±1.13 <sup>a</sup>	33.1±0.87 <sup>ab</sup>	35.3±1.29 <sup>bc</sup>

<sup>1,2,3,4,5,6</sup> are as in Table 1.

<sup>7</sup>Essential amino acids.

\*Values (mean±SD of three replications) in the same row not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

유용 미세조류 중에 하나인 *Nannochloropsis* sp.에 어떠한 영향을 미치는지를 조사해 보고자 한다.

본 연구결과, 파장이 각기 다른 LED 광원을 가지고 *Nannochloropsis* sp.를 배양했을 때 성장에 영향을 미치는 것으로 나타났다(Fig. 1, 2). 세포 성장에 따른 건조중량이나 상대성장률은 blue 파장인 LB가 가장 높은 것으로 조사되었는데, 이는 다른 연구결과와 유사하게 나타난 것이다. Das et al. (2011)에 의하면, *Nannochloropsis* sp.의 세포 성장 및 상대성장률은 blue>white>green>red 순으로 본 연구와 동일한 결과를 보고하였다. 이러한 blue LED에 대한 성장 향상은 구조류 뿐만 아니라 편모조류에서 모두 동일한 결과를 보인다(Wallen and Geen, 1971; Holdsworth, 1985; Rivkin, 1989; Sánchez-Saavedra and Voltolina, 1994; Mouget et al., 2004; Sánchez-Saavedra and Voltolina, 2006; Yoshioka et al., 2012).

이처럼 blue 파장에서 미세조류의 성장이 높은 이유로는 무기영양염에 있는 탄소원의 흡수를 증가(Schofield et al., 1996; Klenell et al., 2004), 세포 내 동화작용 및 대사 작용의 차이(Wallen and Geen, 1971; Ruyters, 1984), 광합성 유도 유전자 전사 및 효소활동의 차이(Das et al., 2011)에 의한 것이라 할 수 있다. 본 연구에서도 blue 파장의 LED 광원에서 높은 성장과 상대성장률을 보였는데, 이는 위에서 언급한 이유들에 의한 복합적인 요인 때문이라 판단되어진다.

물론 모든 미세조류가 blue 파장에서 성장이 좋은 것만은 아니다. 각기 다른 미세조류들이 선호하는 빛 파장에는 분명 차이가 있기 때문이다. Wallen and Geen (1971)에 의하면, *Biddulphia aurita*는 blue 파장에서 성장률의 변화가 없다고 하였으며, Wang et al. (2007)의 *Spirulina platensis*는 red 파장에서 성장 및 biomass 생산성이 높다고 하였다. 또한 Nedbal et al. (1996)의 *Scenedesmus quadricauda*, *Chlorella vulgaris*와 남조류 *Synechococcus elongates*는 같은 조도라고 봤을 때 적색광 LED에서 보다 높은 성장을 보인다고 언급하였다. 이처럼 각기 다른 미세조류의 중간 차이에 의해 빛 파장의 영향은 분명 다르게 나타난다. 이는 결국 다양한 미세조류들은 각기 다른 색소를 함유하고 있으며, 이러한 색소에 의해 선호하는 특정 파장대를 받아들이는 광집적 효과에 의한 차이 때문인 것이다(Peng et al., 2011).

한편 세포 성장에 따른 건조중량과 상대성장률이 가장 높았던 LB를 제외하면 LW, LR 및 LG가 다음 그룹으로 높게 나타났다. 본 실험에 사용된 white 광원인 LW는 RGB 조합(red, green, blue)의 LED 램프로 세 가지 파장의 색이 혼합되어 나타나는 색이다(Bang and Kim, 2012). Schofield et al. (1990)에 의하면, *Chaetoceros gracilis*를 RGB의 white 광원으로 배양했을 때 성장 및 광합성에 향상이 된다고 보고하였다. 본 연구에서도 white LED 광원에 의해 부정적인 영향은 받지 않았으며, 건조중량 및 상대성장률도 증가하는 경향을 보였기 때문에 *Nannochloropsis* sp.를 배양하는데 문제가 되지는 않을 것으로 판단된다. 또한 Bang and Kim (2012)는 식물생육에 있어 이용될 수 있는 LED 광원의 파장대역은 400-700 nm의 영역으로 이는 blue, green 및

red의 컬러로 나타난다고 하였는데, 본 연구결과도 이러한 영향이 작용하여 LR, LG에서 성장이 가능했던 것으로 판단된다.

다만 yellow LED인 LY에서는 건조중량 및 상대성장률이 낮은 경향을 보여 *Nannochloropsis* sp.를 배양하는데 사용하는 것은 다소 부적합할 것으로 판단되어진다. 유독 yellow 광원에서 건조중량 및 성장이 낮았던 이유로는 광합성에 있어 빛을 효율적으로 이용하지 못하였기 때문이라 판단된다. Oh et al. (2007)는 yellow 파장에 따른 미세조류의 성장특성에 대해 chlorophyll의 흡수 파장대가 아니기 때문에 성장속도가 늦다고 하였는데, 이는 결국 chlorophyll과 같은 색소가 빛을 효율적으로 받아들이지 못하고 부분적으로 빛 파장을 수용하였기 때문에 광합성을 행함에 있어 다소 비효율적이었던 것으로 판단된다(Blanchard and Montagna, 1992).

한편 최근에 태양광 및 형광등을 대체할 광원으로 메탈 헬라이드 램프가 주목을 받고 있으며, 실제 이를 통해 미세조류를 배양하여 생산성이 증가한다는 연구결과도 발표되어 있다(Ruangdej and Fukami, 2004). 메탈 헬라이드 램프는 수명이 6,000-9,000 시간으로 길고, 태양광에 가까운 백색광을 내는 장점을 지니고 있기에 본 연구에서도 *Nannochloropsis* sp.의 성장에 긍정적인 영향을 보여 기존 광원인 태양광과 형광등을 대체할 수는 새로운 광원임은 확인할 수 있었다.

## Chlorophyll a와 total carotenoid의 함량 변화

광합성에 의해 축적되는 미세조류의 색소 함량 및 축적할 수 있는 생합성 능력은 환경요인에 의해 달라진다고 하였으며, 그 중에서도 빛의 파장은 매우 밀접한 관계에 있다고 하였다(Rocha et al., 2003, Mouget et al., 2004). 실제 Sánchez-Saavedra et al. (1996a, b)는 빛 파장에 의해 미세조류 *Dunaliella bardawil*의 carotenoid 합성 및 chlorophyll의 함량을 향상시킬 수 있다고 하였다. 이러한 측면에서 본 연구의 실험결과, *Nannochloropsis* sp.의 chlorophyll a 생산량은 red 파장에서 가장 높게 나타났다. 특히 세포 성장에 따른 건조중량 값이 가장 높았던 blue 파장보다도 높은 값을 보였다. 이러한 이유는 파장대에 따른 chlorophyll 축적의 차이 때문이라 판단된다. 건조중량 당 chlorophyll a가 높은 함량을 보인 결과들을 살펴보면 chlorophyll 생합성은 성장이 유리했던 적색 파장대에 비하여 그렇지 않았던 청색 파장대가 더욱 유리하게 작용했다는 것이다(Kim et al., 2011). 본 연구결과도 이러한 영향이 작용하여 세포 성장률이 가장 높았다고 하여 chlorophyll 생산량 역시 가장 높아야 하는 것이 아니라 각 파장대에 따라 생합성되어 축적된 chlorophyll 양의 차이가 나타났던 것으로 판단된다. 또한 chlorophyll a의 함량 감소에 대한 의견은 *C. vulgaris*가 세포분열을 빨리 진행하는 과정에서 색소 축적을 촉진할 만큼의 시간적 여유가 없었기 때문이라는 연구보고도 있는데(Seyfabadi et al., 2011), 이러한 영향도 작용했으리라 판단되어진다.

한편 현재까지도 다양한 산업분야에서 biomass와 함께 carotenoid는 유용한 색소로 인식되어 현장 적용 연구가 이루어

지고 있다(Mogedas et al., 2009; Lamers et al., 2010). 본 연구결과, carotenoid 함량은 chlorophyll a 함량과 같은 경향(LR>LG>LB>LY $\ge$ LW $\ge$ MH)을 보여 red 파장의 LED에서 가장 높았다. 이처럼 성장과 색소함량에 대한 LED 광원의 불일치는 빛에 의해 높은 스트레스를 받을 경우에는 세포수의 감소와 함께 성장을 저하로 이어지고(Lamers et al., 2010; Shariati and Hadi, 2011), 스트레스 환경 조건에서 세포분열을 행하는 동안에는 최대한 빛 흡수의 양을 많이 하려는 방어기작이 작용하여 세포 당 carotenoid 축적률은 오히려 향상된다는 것으로 설명할 수 있다(Shariati and Hadi, 2011). 이러한 blue 파장은 자외선에 가까운 단파장이므로 성장보다는 스트레스에 대한 대사작용이 촉진되어 세포성장은 저해된다(Ben et al., 1989). 또한 Mogedas et al. (2009)의 광합성활성광(400-700 nm)에 UV-A (320-400 nm)를 보충해 주는 실험에서 carotenoid 축적률은 UV-A를 비취주지 않은 대조구에 비해 약 2배 정도 높아졌다. 이는 UV 광원에 따른 산화 스트레스에 의한 미세조류의 반응기작 때문이라고 하였다(Mogedas et al., 2009). 본 연구에서도 성장이 다소 낮았던 LR, LG 및 LY와 같은 광원은 *Nannochloropsis* sp.에 대한 스트레스로 작용하였고 그에 따라 색소 함량이 증가한 것으로 판단된다.

### 지방산 및 아미노산 조성 변화

미세조류에서 생산되는 지방산의 양적 및 질적 가치는 배양 환경조건들에 의해 결정된다(Pratoomyot et al., 2005). 여러 환경조건들 중에서도 Yoshioka et al. (2012) 및 Das et al. (2011)는 빛 광원에 따른 지방산 조성 및 함량 변화에 중요성을 강조하였다. 특히, EPA 및 DHA와 같은 고도불포화지방산은 체내에서 합성이 될 수 없는 필수지방산으로 이와 같은 지방산 함량을 높이기 위한 연구가 진행되고 있다(Guihéneuf et al., 2009; Das et al., 2011; Yoshioka et al., 2012). Yoshioka et al. (2012)는 *Isochrysis galbana*에 red, white 및 blue 광원을 공급해 주었을 때 blue 광원에서 DHA 함량이 향상된다고 하여 파장에 따른 영향을 받는다고 하였다. 또한 Das et al. (2011)도 *Nannochloropsis* sp.을 각기 다른 광원으로 배양했을 때 EPA 함량에 변화를 준다고 보고하였다. 본 연구를 수행한 결과, EPA와 n-3 HUFA 함량은 LB, LG 및 MH 실험구가 LY에 비해 높은 함량을 보이는 것으로 나타나 다른 문헌들처럼 파장에 따른 영향을 확인할 수 있었다.

한편 단백질원으로서 사용하고자 하는 물질의 영양성 평가는 그것의 구성 아미노산 조성 및 함량과 관련이 있으며, 미세조류를 단백질원으로서 활용하는데 필수 아미노산의 함량은 높을수록 효율적이다(Webb and Chu, 1983). 이러한 측면에서 본 연구의 결과는 각기 다른 광원에 따라 구성아미노산 및 필수아미노산 함량의 변화가 나타났기 때문에 목적 물질의 극대화를 위해서는 최적의 광질로 배양을 행해야 한다는 사실을 확인할 수 있었다. 모든 필수아미노산의 총량은 green 파장의 LG에서 유의적으로 가장 높았다. 이러한 이유로는 단백질 합성을 위한 구성아미노산의 증가는 green이나 blue 파장대와 같은 단파장에서 보다 자

극을 받게 되며, 이에 더욱 활발하게 합성하기 때문이다(Wallen and Geen, 1971).

이상의 모든 결과를 종합해 볼 때, 빛 파장 및 광원에 따라 성장, 색소(chlorophyll a, carotenoid), 아미노산 및 지방산 함량이 각기 다르게 나타난다는 것을 확인할 수 있었다. 하지만 단순 세포 성장만을 고려한다면 blue LED에서 *Nannochloropsis* sp.를 배양하는게 효과적일 수 있으나, 그 외 색소, 필수아미노산 및 지방산 생산에 초점을 맞춘다면 LR이 다른 파장보다 유리하게 작용하는 것으로 나타났다. 따라서 배양 목적이 다르다면 그에 맞는 특정 파장의 광원으로 배양하여 원하고자 하는 물질을 얻는 것이 더욱 효율적인 것이라 판단되며, 추후 2개 파장대의 혼합 광원을 이용한 실험을 행하여 그에 따른 결과를 얻는다면 본 종을 배양함에 있어 보다 명확한 최적의 광원을 제공할 수 있을 것이라 기대된다.

## 사 사

본 연구는 2011년 강원도 바이오에너지생산 실증 연구사업과 2012년 국토해양부 강원씨그랜트사업의 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Bang GW and Kim YH. 2012. LED for plant growth regulators for the study of light on the device. The Korea Society of Digital Policy & Management 10, 267-272.
- Ben-Amotz A, Shaish A and Avron M. 1989. Mode of action of the massively accumulated  $\beta$ -carotene of *Dunaliella bardawil* in protecting the alga against damage by excess irradiation. Plant Physiol 91, 1040-1043.
- Blanchard GF and Montagna PA. 1992. Photosynthetic response of natural assemblages of marine benthic microalgae to short- and long-term variations of incident in Baffin Bay. J Phycol 28, 7-14.
- Das P, Lei W, Aziz SS and Obbard JP. 2011. Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light. Bio Technol 102, 3883-3887.
- Ducan DB. 1955. Multiple-range and multiple F tests. Biometrics 11, 1-42.
- Guihéneuf F, Mimouni V, Ulmann L, and Tremblin G. 2009. Combined effects of irradiance level and carbon source on fatty acid and lipid class composition in the microalga *Pavlova lutheri* commonly used in mariculture. J Exp Mar Biol Ecol 369, 136-143.
- Holdsworth ES. 1985. Effect of growth factor and light quality on the growth, pigmentation and photosynthesis of two diatoms, *Thalassiosira gravida* and *Phaeodactylum tricoratum*. Mar Biol 86, 253-262.
- Kim JY, Joo H and Lee JH. 2011. Carbon dioxide fixation and light source effects of *Spirulina platensis* NIES 39 for LED photobioreactor design. App Chem Eng 22, 301-307.
- Klenell M, Snoeijis P and Pedersen M. 2004. Active carbon up-

- take in *Laminaria digitata* and *L. saccharina* (Phaeophyta) is driven by a proton pump in the plasma membrane. *Hydrobiologia* 514, 41-53.
- Lamers PP, van de Laak CC, Kaasenbrood PS, Lorier J, Janssen M, De Vos RC, Bino RJ and Wijffels RH. 2010. Carotenoid and fatty acid metabolism in light-stressed *Dunaliella salina*. *Bio Bioeng* 106, 638-648.
- Mogedas B, Casal C, Forján E and Vilchez C. 2009.  $\beta$ -carotene production enhancement by UV-A radiation in *Dunaliella bardawil* cultivated in laboratory reactors. *J Biosci Bioeng* 108, 47-51.
- Morrison WR and Smith LM. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride methanol. *J Lipid Res* 5, 600-608.
- Mouget JL, Rosa P and Tremblin G. 2004. Acclimation of *Haslea ostrearia* to light of different spectral qualities-confirmation of 'chromatic adaptation' in diatoms. *J Photochem Photobiol B* 75, 1-11.
- Nedbal L, Tichy V, Xiong F and Grobbelaar JU. 1996. Microscopic green algae and cyanobacteria in high-frequency intermittent light. *J App Phycol* 8, 325-333.
- Oh HM, Choi AR and Mheen TI. 2003. High-value materials from microalgae. *Kor J Microbiol Biotechnol* 31, 95-102.
- Oh SJ, Park DS, Yang HS, Yoon YH and Honjo T. 2007. Bioremediation on the benthic layer in polluted inner bay by promotion of Microphytobenthos growth using light emitting diode (LED). *J Kor Soc Mar Env Eng* 10, 93-101.
- Park HJ, Jin EJ, Jung TM, Joo H and Lee JH. 2010. Optimal culture conditions for photosynthetic microalgae *Nannochloropsis oculata*. *App Chem Eng* 21, 659-663.
- Parrish CC. 1987. Separation of aquatic lipid classes by Chromarod thin-layer chromatography with measurement by laser-scanned flame ionization detection. *Can J Fish Aquatic Sci* 44, 722-731.
- Peng J, Yuan JP, Wu CF and Wang JH. 2011. Fucoxanthin, a marine carotenoid present in brown seaweeds and diatoms: metabolism and bioactivities relevant to human health. *Mar Drugs* 9, 1806-1828.
- Pratoomyot J, Srivilas P and Noiraksar T. 2005. Fatty acids composition of 10 microalgal species. *Songklan J Sci Technol* 27, 1179-1187.
- Rico-Martinez R and Dodson SI. 1992. Culture of the rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Aquaculture* 105, 191-199.
- Rivkin PB. 1989. Influence of irradiance and spectral quality on the carbon metabolism of phytoplankton. I. Photosynthesis, chemical composition and growth. *Mar Ecol Prog Ser* 55, 291-304.
- Rocha JM, Garcia JE and Henriques MH. 2003. Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. *Biomol Eng* 20, 237-242.
- Ruangdej U and Fukami K. 2004. Stimulation of photosynthesis and consequent oxygen production in anoxic bottom water by supply of low-intensity light through an optical fiber. *Fish Sci* 70, 421-429.
- Ruyters G. 1984. Effects of blue light on enzymes. In: *Blue Light Effects in Biological Systems*. Senger H, ed. Springer Verlag, Berlin, Germany, 283-301.
- Sánchez-Saavedra MP and Voltolina D. 1994. The Chemical composition of *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyceae) under different light conditions. *Comp Biochem Physiol* 107, 39-44.
- Sánchez-Saavedra MP, Jiménez C and López-Figueroa F. 1996a. Variable fluorescence of chlorophyll a in *Dunaliella bardawil* with different B-carotene content. *Sci Mar* 60, 227-231.
- Sánchez-Saavedra MP, Jiménez C and López-Figueroa F. 1996b. Far-red light inhibit growth but promotes carotenoid accumulation in the green microalgae *Dunaliella bardawil*. *Physiol Plant* 95, 419-423.
- Sánchez-Saavedra MP and Voltolina D. 2006. The growth rate, biomass production and composition of *Chaetoceros* sp. grown with different light sources. *Aquacult Eng* 35, 161-165.
- Schofield O, Bidigare RR and Prézelin BB. 1990. Spectral photosynthesis quantum yield and blue-green light enhancement of productivity rates in the diatom *Chaetoceros gracile* and prymnesiophyte *Emiliania huxleyi*. *Mar Ecol Prog Ser* 64, 175-186.
- Schofield O, Prézelin B and Johnsen G. 1996. Wavelength dependence of maximum quantum yield of carbon fixation for two red tide dinoflagellates, *Heterocapsa pygmaea* and *Prorocentrum minimum* (PYRROPHYTA): Implications for measuring photosynthetic rates. *J Phycol* 32, 574-583.
- Seyfabadi J, Ramezanpour Z and Zahra AK. 2011. Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *J Appl Phycol* 23, 721-726.
- Shariati M and Hadi MR. 2011. Microalgae biotechnology and bioenergy in *Dunaliella*. In: *From Analysis and Modeling to Technology Applications*. Angelo C, ed. Progress in Molecular and Environmental Bioengineering. Intech, Rijeka, Chapter 22.
- Wallen DG and Geen GH. 1971. Light quality in relation to growth, photosynthetic rates and carbon metabolism in two species of marine plankton algae. *Mar Biol* 10, 34-43.
- Wang CY, Fu CC and Liu YC. 2007. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. *Biochem Eng J* 37, 21-25.
- Webb KL and Chu FE. 1983. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. In *Proceedings of the 2nd International Conference, Aquaculture Nutrition*, No. 2. Pruder GD, ed. World Mariculture Society Spec. Publ., Louisiana State University, Louisiana, USA, 272-291.
- Wellburn AR. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J Plant Physiol* 144, 307-313.
- Yoshioka M, Yago T, Yoshie-Stark Y, Arakawa H and Morinaga T. 2012. Effect of high frequency of intermittent light. *Aquaculture* 338-341, 111-117.