담녹조강 Tetraselmis suecica 및 Tetraselmis tetrathele의 생장에 미치 는 발광다이오드(Light-Emitting Diodes; LEDs) 광량과 파장의 영향

한경하 · 오석진*

부경대학교 해양학과

Effects of Various Intensities and Wavelengths of Light Emitting Diodes (LEDs) on the Growth of the Prasinophytes Tetraselmis suecica and T. tetrathele

Kyong Ha Han and Seok Jin Oh*

Department of Oceanography, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

This study was conducted to investigate the effects of light intensity and wavelength on the growth of Tetraselmis suecica and Tetraselmis tetrathele. These species were exposed to a blue light-emitting diode (LED; max=450 nm), a yellow LED (max=590 nm), a red LED (max=630 nm) and a fluorescent lamp (three wavelengths). The maximum growth rates (μ_{max}) of *T. suecica* and *T. tetrathele* under a red LED were 1.12/day and 0.95/day, respectively. Under a yellow LED, growth rates were 70% of the values for red wavelength, with low half-saturation constants (Ks). The optimum light source to ensure economically effective and productive growth in a Tetraselmis culture system (Photo-Bioreactor) would thus appear to be a three-phase culture, wherein a yellow LED is used during the lag phase and initial exponential phase to increase growth rate, followed by a red LED during the middle exponential phase to maximize growth rate, and finally a yellow LED again during the late exponential phase and stationary phase to achieve increased yield of useful bioactive substances.

Key words: Tetraselmis, Intensity, Wavelength, LEDs, Growth

서 론

미세조류는 광을 이용하여 무기물을 유기물로 합성하고 산 소를 발생시키는 일차생산자로, 생태계에서 생물생산의 기반 이 되는 중요한 생물그룹 중에 하나이다. 최근에 농·수산, 대체 에너지, 식품, 의약품, 사료 첨가제 그리고 환경정화 등 다양한 산업적 분야에 널리 활용되고 있으며(Gomez and Gonzalez, 2004; Pulz and Gross, 2004; Ladygina et al., 2006; Spolaore et al., 2006; Raja et al., 2008), 녹조류 Chlorella를 이용한 산 업적 이용만으로도 세계 시장이 수백억 달러(\$) 이상에 이른다 (Satyanarayana et al., 2011).

미세조류의 생장에 영향을 미치는 생물·화학·물리적 환경조 건(수온, 염분, 용존기체, pH, 이류, 영양염 및 환경수용력 등)은 다양하지만(Mchugh, 2003; Park et al., 2010), 대부분이 광합 성 생물이기 때문에 광량과 파장은 중요한 요소이다(Saavedra

https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0064

(cc)

This is an Open Access article distributed under the terms of (\mathbf{i}) the Creative Commons Attribution Non-Commercial Licens (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

and Voltolina, 1994). 특히 파장의 변화는 미세조류의 다양한 광합성 색소 반응성에 따라 세포 내 생화학적 조성 및 함유량 을 변화시키기 때문에, 유용물질 증대 등 산업적인 분야에 많은 활용이 기대되고 있다(Mouget et al., 2004; Sánchez-Saavedra and Voltolina, 2006; Oh et al., 2015). 미세조류의 상업적 이 용을 위해서는 대량배양을 통해 수확 효율을 높이는 생산 시 스템이 중요하다. 현재 미세조류의 대량배양 방법에는 개방형 (Open pond)과 밀폐형 배양시스템(Photo-Bioreactor; PB)으로 양분할 수 있다(Chisti, 2007; Schenk et al., 2008). 후자는 의약 품, 식품 및 사료와 같이 순도가 높으며, 안정성이 요구되는 배 양에 사용되고 있지만, 운용비용이 높으며, 조명으로 사용하는 헬로겐 및 형광등의 경우 많은 소비전력이 소모되는 단점이 있 다(Vasudevan and Briggs, 2008).

한편, 발광다이오드(Light Emission Diode; LED)는 인화갈 륨 또는 비소화갈륨 등의 화합물을 통해 전류를 주어 광을 조사

Korean J Fish Aquat Sci 51(1) 64-71, February 2018

Received 27 November 2017; Revised 12 December 2017; Accepted 31 December 2017 *Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 6576 Fax: +82. 51. 629. 6568 E-mail address: sjoh1972@pknu.ac.kr

할 수 있는 반도체 소자이다. 최근 친환경적이며, 긴 수명 그리 고 낮은 소비전력의 장점 때문에 산업분야에서 급속도로 발전 하고 있다(Wang et al., 2007; Xue et al., 2011; Fu et al., 2013). 또한 LED는 단파장 또는 복수파장으로 조절이 가능하고, 빛 조 사 시간도 분 단위 또는 초 단위로 간헐적 제어를 통해 미세조 류의 생장을 강화시키거나 영양강화를 시키는 파장만을 조사해 줄 수 있다(Lee et al., 1994; Katsuda et al., 2004; Wang et al., 2007). 이에 따라 LED를 이용한 미세조류 대량배양을 위해, 미 세조류의 최적배양 조건을 찾는 연구가 활발히 수행되고 있다. Chlorella sp.의 경우 청색 및 황색 파장에 비해 적색 파장에서 광량이 증가할수록 높은 생장속도를 보였고(Oh et al., 2015), 규조류인 Chaetoceros calcitrans의 경우, 적색파장에서 높은 생장속도와 생물량을 보였다(An et al., 2014). 하지만 규조류 인 Thalassiosira pseudonana는 백색 형광등에서 높은 생장을 보였으며, 단백질함량은 청색-녹색 파장에서 높아(Sánchez-Saavedra and Voltolina, 1996), 종에 따라 광파장에 대한 특이 성(species specific)이 있는 것으로 판단된다.

실험종인 Tetraselmis 속은 광염·광온성인 종으로 대량배양이 용이하여 먹이생물로 널리 이용되고 있으며, 다른 미세조류와 같이 수온, 염분, 광 파장 등의 환경조건 변화를 통해 세포 내 유 용물질을 증진시킬 수 있다(Bondioli et al., 2012; Moheimani, 2013). 하지만 본 종에 대한 광파장 연구는 타의 미세조류보다 미흡했기 때문에 연구자에 따라 동일 속 및 종에서 조차 파장 이용성이 서로 달랐다(Teo et al., 2014; Schulze et al., 2016; Kang et al., 2017). 따라서 본 연구는 경제적인 효과 및 생산 성 증대에 기여할 수 있는 고효율 PB 구축을 위하여, 산업적 가 치가 높은 Tetraselmis suecica와 T. thetrathele 생장에 미치는 LED 광량과 파장의 영향을 파악하고 고찰하였다.

재료 및 방법

실험 종 및 배양조건

실험에 사용된 *T. suecica* (LIMS-PS-0007)와 *T. tetrathele* (LIMS-PS-0053)는 한국해양과학기술원 해양시료도서관에서 분양 받았다. 배양에 사용된 배지는 f/2이며, selenium (H₂SeO₃) 의 최종농도가 0.001 µM이 되도록 첨가하였다(Guillard and Ryther, 1962). 유지배양을 위한 수온과 염분은 20℃, 30 psu였으며, 광량은 100 µmol/m²/s (L:D=12L:12D; cool-white fluorescent lamp)으로 조절하였다. 실험에 사용된 기구는 2차적인 생물학적 오염을 차단하기 위해 고압·멸균(121℃, 20 min)후 사용하였으며, 모든 작업은 무균대에서 수행되었다.

파장에 따른 Tetraselmis suecica 및 T. tetrathele 의 생장속도 변화

파장에 따른 세포밀도의 증감을 알기 위해 현미경을 통한 검 경이 아닌 *in vivo* chlorophyll 형광값을 통해 측정하였다. 이 는 형광광도계를 통해 직접 측정이 가능한 배양튜브를 이용하 였기 때문에 개폐가 불필요하여 세포의 오염을 방지할 수 있 고, 다량의 표본을 신속히 처리할 수 있는 장점이 있다(Brand et al., 1981).

파장별 광량에 따른 생장실험을 위한 광원은 복수파장인 형 광램프(삼파장등, ㈜)남영전구)를 이용하였으며, 단일파장은 청 색 LED (λ_{max} =450 nm; LUMILEDS), 황색 LED (λ_{max} =590 nm; LUMILEDS), 적색 LED (A_{max}=630 nm; LUMILEDS) 을 이용하였다. Tetraselmis 두 종을 대수생장기까지 생장시 킨 후, 9 mL 배양튜브(13×100 mm, disposable culture tubes, KIMBLE CHASE)에 f/2 배지 5 mL을 주입하여, 최종세포밀 도가 약 1.0×10² cells/mL이 되도록 접종하였다. 광 조건은 가 시광선 차광필름을 이용하여 10, 30, 50, 70, 100, 200 그리고 300 µmol/m²/s (QSL-2100, Biospherical Instrument Inc.)의 7 단계로 조절하였다. 이후 이틀 간격으로 오전 10시에 형광광 도계(10-AU-Fluorometer, Turner Designs)로 형광값을 측정 하였다. 생장속도는 대수생장을 보이는 기간 동안의 세포밀도 를 이용하여 아래의 식에 대입하여 계산하였다. 각각의 광조건 실험은 triplicate로 수행하였으며, 생장속도는 이들의 평균값으 로 나타내었다(단, triplicate 중 명백히 오류로 판명된 값은 평 균시 제외함).

$$\mu = \frac{1}{\Delta t} \ln \frac{N_t}{N_0}$$

µ: 생장속도(specific growth rate; /day) N₀, N_t: 대수생장기에서 초기와 t시간(day) 후의 형광값 Δt: 대수생장기의 기간(day)

생장속도와 광량의 관계를 Lederman and Tett (1981)의 모델 을 개량한 다음 식을 이용하여 계산하였다.

$$\mu = \mu_{max} \frac{I - I_0}{(K_{\rm s}) - I_0 + (I - I_0)}$$

μ: 생장속도(specific growth rate; /day)

 μ_{max} : 최대생장속도(maximum specific growth rate; /day)

I: 광량(irradiance; µmol/m²/s)

I₀: 보상광량(compensation PFD; μmol/m²/s)

K_s: 반포화광량(half-saturation light intensity; µmol/m²/s)

결과 및 고찰

미세조류의 광화학장치는 주색소 chlorophyll a로 이루어져 있는 반응중심(reaction center)과, 일부 chlorophyll a (chl-a)와 보조색소 carotenoid와 phycobilin 등으로 이루어져 있는 안테 나 복합체(antenna complex)로 구성되어 있다. 광합성 색소는 미세조류 문(phylum) 수준에서 구성이 달라지기 때문에 중요 한 분류 키(key)가 되기도 하며, 광합성 색소에 따라 흡수파장 이 결정이 되기 때문에 결국 미세조류 생장속도 및 생체 내 구성 성분까지 영향을 주게 된다(Vesk and Jeffrey, 1977; Rocha et al., 2003; Mouget et al., 2004).

*T. suecica*의 파장별 광량과 생장속도 관계를 보면, 광량이 증 가할수록 생장속도는 증가하였고, 일정 광량 이상에서는 광저



Fig. 1. Growth curves of Tetraselmis suecica as a function of irradiance under fluorescent lamp, blue LED, yellow LED and red LED.

Species	Wavelength	Hyperbobolic equation	$\mu_{\scriptscriptstyle max}$	I _o	Ks
T. suecica	Fluorescent lamp	µ=0.91(I-4.73)/(I+37.6)	0.91	4.73	47.1
	Blue LED	µ=0.94(l-1.50)/(l+17.8)	0.94	1.50	20.8
	Yellow LED	µ=0.89(I-5.45)/(I+32.9)	0.89	5.45	22.0
	Red LED	µ=1.14(I-9.01)/(I+34.4)	1.14	9.01	64.2
T. tetrathele	Fluorescent lamp	µ=0.96(I-10.7)/(I+44.1)	0.96	10.7	65.6
	Blue LED	µ=0.83(l-12.7)/(l+49.7)	0.83	12.7	75.2
	Yellow LED	µ=0.63(l-3.74)/(l+19.8)	0.63	3.74	12.4
	Red LED	µ=0.95(I-10.4)/(I+51.6)	0.95	10.4	72.5

Table 1. Parameters of Tetraselmis suecica and T. tetrathele as a function of light intensity under different wavelengths.



Fig. 2. Growth curves of Tetraselmis tetrathele as a function of irradiance under fluorescent lamp, blue LED, yellow LED and red LED.

해 현상 없이 유사한 생장속도를 보였다(Fig. 1). μ_{max}는 적색 파 장에서 가장 높게 나타났으며, 청색파장과 형광램프는 유사하 였고, 황색파장 순으로 낮았지만 그 차이는 크지 않았다(Fig. 3). 호흡량과 광합성이 같은 광량, 즉, 세포가 생장이 가능한 최 소 광량을 의미하는 Ι₀는 청색파장이 가장 낮았으며, 적색파장 에서 가장 높은 값을 보였다. 광의 친화성지수(affinity index)로 값이 낮을수록 높은 친화성을 의미하는 Ks는 청색파장과 황색 파장이 유사하게 가장 낮았으며, 적색파장에서 가장 높게 나타 났다(Table. 1).

T. tetrathele의 경우도 T. suecica와 유사한 파장별 광량과 생 장속도의 관계를 보였으며, μ_{max}는 적색파장과 형광램프에서 가 장 높았고, 황색파장에서 가장 낮았다(Fig. 3). I₀는 황색파장에 서 가장 낮았으며, 적색파장, 형광램프, 청색파장은 유사하게 나 타났다, Ks는 황색파장에서 낮으며, 적색파장과 청색파장에서 높았다(Table. 1).

Schulze et al. (2016)의 T. chuii와 Abiusi et al. (2014)의 T.

suecica는 생장속도가 적색파장에 가장 높다고 보고하여 본 연 구결과와 일치하였지만, Teo et al. (2014)의 *Tetraselmis* sp.는 청색파장에서 높은 생장을 보여 다소 차이가 있었다. 하지만, 청색파장의 I₆와 Ks를 고려할 때 *T. suecica* 경우에는 낮게 나 타나, 낮은 광량에서도 생장이 가능하며 일정 세포수까지는 빨 리 생장할 수 있기 때문에 완전히 다른 결과가 도출된 것은 아 닌 것으로 생각된다.

본 연구에서 *T. suecica*와 *T. tetrathele*는 적색파장에서 높은 생장속도를 보였으며, 이는 chl-*a* 외에도 녹조류가 함유하고 있는 보조색소 chlorophyll *b* (chl-*b*)에 따른 것으로 보인다. chl-*b* 의 최대 흡수파장은 chl-*a*와 유사하게 455 nm와 642 nm로 청 색뿐만 아니라, 적색파장을 잘 흡수하여 chl-*a*로 광 에너지를 전달하게 된다. 더욱이 본 연구에서 사용된 적색 LED의 중심파장은 630 nm로 chl-*b*의 최대흡수 파장과 유사하였다. 적색파장에서 높은 생장속도는 대부분이 녹조류와 남조류(phycocyanin과 phycoerythrin과 같은 phycobilin 보조색소의 영향)로, 녹조류

는 *C. pyrenodosa, C. vulgaris, Haematococcus pluvialis* (Lee and Palsson, 1994; Katsuda et al., 2004; Oh et al., 2015), 남 조류는 *Spirulina platensis, Synechococcus* sp.가 보고 되어 있 다(Takano et al., 1995; Xue et al., 2011). 또한 Figueroa et al. (1994)는 거대조류 *Porphyra*에 대해 청색광에 비해 적색광이 높은 빛 흡수 때문에 광합성을 위한 다음단계로 전달하는데 있 어 1.2-1.5배의 효율성이 있었고, 이러한 광자극으로 인해 탄소 가 축적됨에 따라 효소활성을 포함한 대사작용이 활발해지기 때문에 높은 생장속도를 보일 수 있다고 보고하였다(Figueroa et al.,1995; Aguilera et al., 2000). 이러한 생리적인 기초자료를 바탕으로 Kown et al. (2017)은 중금속 오염토에서 중금속 제 거를 위한 *C. vulgaris*와 적색파장을 활용한 식물복원기법(phytoremediation)을 제시하기도 하였다.

황색파장의 경우, 생장속도가 낮을 것으로 생각되었으나, 두 종 모두 최대생장속도의 70% 수준이고, 다른 파장보다 비교적 낮은 Ks와 I₀를 보였다. 일반적으로 *Tetraselmis* 속이 가지고 있 는 보조색소는 chl-*b* 그리고 neoxanthin, violaxanthin, lutein, zeaxanthin을 포함하는 carotenoids가 가장 많은 비율을 차지 하며, carotenoids의 흡수파장은 400-550 nm (보라색에서 녹 색)이다(Egeland et al., 1995; Garrido et al., 2009). 하지만 *Tetraselmis*속의 흡수스펙트럼(absorption spectrum)은 황색 파장대에서도 다른 미세조류(*Dunaliella marina, Chaetoceros didymium, Hymenomonas elongate* 등)에 비해 높은 흡수율 을 나타내었다(Sathyendranath et al., 1987; Organelli et al., 2017). 또한 chl-*a*는 녹색파장을 제외하고는 대부분의 파장을 흡수할 수 있으며, chl-*b*는 황색파장을 포함한 대부분의 파장 을 흡수할 수 있기 때문에, 황색파장에서도 충분히 생장이 가능 할 것으로 보인다.

황색파장과 생장속도 관계는 많은 연구가 진행되어 있지는 않 았지만, 저서성 규조류 Nitzschia sp.의 경우 QFT (quantitative filter technique) 법을 활용하여 흡수스펙트럼을 확인한 결과, 가시광선 전 영역이 흡수 가능하였으며 황색파장 영역도 이용 성이 높아, 높은 광조건에서 오히려 광저해현상이 있는 청색 파장보다 유용한 파장대로 설명하였다(Oh et al., 2007). 또한 Chlorella에서도 황색파장이 우수한 생장 가능 파장이었다(Oh et al., 2015). 반면 세포 분열이 느린 환경에서 세포의 화학적 조성과 효소 활동의 변화로 인해 지질 함량이 축적될 수 있다 (Whyte, 1987; Reitan et al., 1994; Huerlimann et al., 2010). 실 제 황색파장은 청색 파장과 비교하여 규조류 Cyclotella cryptica에서 생장속도는 낮았지만, 광 스트레스로 인해 지질함량은 높아졌으며, Spirulina platensis에서도 적색, 녹색, 청색 파장에 비해 황색파장에서 높은 색소 함량을 보여주었다(Chen et al., 2010; Shih et al., 2014). Kwon (2013)는 또 다른 황색파장의 유용성을 제안하였다. 그들은 유해편모조류 휴먼포자 및 유영 세포가 생장하지 못하는 황색파장 LED를 저층에 주사함에 따 라 저서미세조류의 광합성에 따른 산소 방출과 생장을 위한 영



Fig. 3. Specific growth rates of *Tetraselmis suecica* and *T. tetrathele* under fluorescent lamp, blue LED, yellow LED and red LED.

양염 흡수로 빈산소해소 및 부영양화를 저감하는 생물정화복원 기법을 설계하였다. 따라서 황색 파장이 미세조류에 따라 생장 을 촉진시키는 광원으로 부적합할 수 있지만, 식품 및 먹이생물 영양 강화, 바이오연료(biofuel) 생산 그리고 환경 개선 등의 목 적에 유용한 파장이 될 수 있다.

한편, 최근에 다단계 배양기법을 통해 미세조류 내 생리활성 물질을 극대화시키려는 시도가 있었다(Su et al., 2011; Ra et al., 2016; Lee et al., 2017). 예를 들면, Lee et al. (2017)은 온도 조절을 통해 *D. salina*의 생장최적수온은 25℃, 이후 지질 생산 성 향상을 위해 15℃에서 배양을 제안하였다. Xia et al. (2013) 는 최적생장조건에서 초기 배양을 거친 *Scendesmus obtusus를* NaCl 농도가 증가된 배지에 후기 배양을 함으로 지질생산의 증 가와 질 높은 바이오디젤 생산의 가능성을 제시하였다. Ra et al. (2016)도 고밀도의 세포축적을 위해 청색파장에서 초기 배양 을, 이후 정지기에는 오일함량을 증진시키기 위해 생장이 억제 된 광원인 적색파장 또는 녹색파장에서 후기 배양을 해야 한다 고 보고하였다. 이러한 다단계 배양기법은 배양 초기에 생장최 적의 환경조건으로, 이후 정지기에 도달하면 생장에 스트레스 를 주는 환경조건으로 생화학적 축적을 유도하는 단계적 배양 을 통해 대량배양의 효율성을 높여주는 방법으로 알려져 있어. T. suecica와 T. thetrathele의 PB 구축에서도 생장단계별로 광 환경을 달리하는 다단계 배양의 검토가 필요할 것으로 보인다. 미세조류 대량배양 시, 인공광원을 사용하는 밀폐형 시스템 은 광합성 색소와 그에 따른 유효파장에 부합하는 LED의 선 택적 사용에 따라 파장 폭이 넓은 조명등 보다 경제적인 효과 를 극대화 시킬 수 있다. 본 연구에서 T. suecica와 T. tetrathele 는 LED 파장 중 적색파장에서 높은 생장속도를 보였지만, 다른 미세조류에서 생장속도가 낮게 나타난 황색파장에서도 적색파 장 최대생장속도의 70%이며, Ks도 다른 파장보다 낮게 나타났 기 때문에 유용성이 높은 파장대로 판단되었다. Chlorella의 보 고와 같이 T. suecica와 T. tetrathele도 황색파장 하에서 유용물 질 등의 합성이 촉진 될 수 있다면, 미세조류의 생장 단계를 고 려한 3단계 조명배양(유도기와 초기 대수생장기에 빠른 생장을 위하여 황색 LED, 중기 대수생장기는 최대생장속도를 보이는 적색 LED 그리고 후기 대수생장기와 정상기는 유용물질 증대 를 위하여 황색 LED)을 수행하여 경제적인 효과 및 생산성 증 대에 기여할 수 있을 것으로 판단된다. 다만 본 종의 산업적 이 용의 가치를 증대시키기 위해서는 광 파장에 따른 세포 내 생화 학적 조성을 포함한 유용물질의 변화에 대한 추가 연구가 필요 할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 2017년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진 흥원(LED-수산생물융합생산연구센터)의 지원을 받아 수행되 었습니다.

References

- Abiusi F, Sampietro G, Marturano G, Biondi N, Rodolfi L, D'Ottavio M and Tredici MR. 2014. Growth, photosynthetic efficiency, and biochemical composition of *Tetraselmis suecica* F&M-M33 grown with LEDs of different colors. Biotechnol Bioeng 111, 956-964. https://doi.org/10.1002/ bit.25014.
- Aguilera J, Francisco J, Gordillo L, Karsten U, Figueroa FL and Niell FX. 2000. Light quality effect on photosynthesis and efficiency of carbon assimilation in the red alga *Porphyra leucosticta*. J Plant Physiology 157, 86-92. https://doi. org/10.1016/s0176-1617(00)80140-6.
- An HC, Bae JH, Kwon ON, Park HG and Park JC. 2014. Changes in the growth and biochemical composition of *Chaetoceros calcitrans* cultures using light-emitting diodes. J Korean Soc Fish Technol 50, 447-54. https://doi.org/10.3796/ ksft.2014.50.4.447.

- Bondioli P, Della Bella L, Rivolta G, Zittelli GC, Bassi N, Rodolfi L, Casini D, Prussi M, Chiaramonti D and Tredici MR. 2012. Oil production by the marine microalgae *Nannochloropsis* sp. F&M-M24 and *Tetraselmis suecica* F&M-M33. Bioresour Technol 114, 567-72. https://doi.org/10.1016/j. biortech.2012.02.123.
- Brand LE, Guillard RR and Murphy LS. 1981. A method for the rapid and precise determination of acclimated phytoplankton reproduction rates. J Plankton Res 3, 193-201. https:// doi.org/10.1093/plankt/3.2.193.
- Chen HB, Wu JY, Wang CF, Fu CC, Shieh CJ, Chen CI and Liu YC. 2010. Modeling on chlorophyll *a* and phycocyanin production by *Spirulina platensis* under various light-emitting diodes. Biochem Eng J 53, 52-56. https://doi.org/10.1016/j. bej.2010.09.004.
- Chisti Y. Biodiesel from microalgae. 2007. Biotechnol Adv 25, 294-306. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001.
- Choi HW and Ko JH. 2013. Analysis of luminous characteristics of white LEDs depending on yellow phosphors. Korean J Opt Photon 24, 64-70. http://dx.doi.org/10.3807/ KJOP.2013.24.2.064.
- del Pilar Sánchez-Saavedra M and Voltolina D. 1996. Effect of blue-green light on growth rate and chemical composition of three diatoms. J Appl Phycol 8, 131-7. https://doi. org/10.1007/bf02186316.
- del Pilar Sánchez-Saavedra M and Voltolina D. 2006. The growth rate, biomass production and composition of *Chaetoceros* sp. grown with different light sources. Aquacult Eng 35, 161-5. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.12.001.
- Egeland ES, Eikrem W, Throndsen J, Wilhelm C, Zapata M and Liaaen-Jensen S. 1995. Carotenoids from further prasinophytes. Biochem Syst Ecol 23, 745-755.
- Fernández FA, Sevilla JF, Egorova-Zachernyuk T and Grima EM. 2005. Cost-effective production of 13 C, 15 N stable isotope-labelled biomass from phototrophic microalgae for various biotechnological applications. Biomol Eng 22, 193-200. https://doi.org/10.1016/j.bioeng.2005.09.002.
- Figueroa FL, Aguilera J and Niell FX. 1994. Red and blue light regulation of growth and photosynthetic metabolism in *Porphyra umbilicalis*. Eur J Phycol 30, 11-18. https://doi. org/10.1080/09670269500650761.
- Figueroa FL, Aguilera J and Niell FX. 1995. Red and blue light regulation of growth and photosynthetic metabolism in *Porphyta umbilicalis* (Bangiales Rhodophyta). Eur J Phycol 30, 11-18. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3366-5_72.
- Fu W, Guðmundsson Ó, Paglia G, Herjólfsson G, Andrésson ÓS, Palsson BØ and Brynjólfsson S. 2013. Enhancement of carotenoid biosynthesis in the green microalga *Dunaliella salina* with light-emitting diodes and adaptive laboratory evolution. Appl Microbiol Biotechnol 97, 2395-403. https:// doi.org/10.1007/s00253-012-4502-5.
- Garrido JL, Rodríguez F and Zapata M. 2009. Occurrence of

loroxanthin, loroxanthin decenoate, and loroxanthin dodecenoate in *Tetraselmis* species (Prasinophyceae, Chlorophyta). J Phycol 45, 366-374. https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00660.x.

- Gomez PI and González MA. 2004. Genetic variation among seven strains of *Dunaliella salina* (chlorophyta) with industrial potential, based on RAPD banding patterns and on nuclear ITS rDNA sequences. Aquaculture 233, 149-62. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.11.005.
- Guillard RR and Ryther JH. 1962. Studies of marine planktonic diatoms: I. Cyclotella nana Hustedt, and Detonula confervacea (CLEVE) gran. Can J Microbiol 8, 229-39. https://doi. org/10.1139/m62-029.
- Huerlimann R, De NR and Heimann K. 2010. Growth, lipid content, productivity and fatty acid composition of tropical microalgae for scale-up production. Biotechnol Bioeng 107, 245-57. https://doi.org/10.1002/bit.22809.
- Katsuda T, Lababpour A, Shimahara K and Katoh S. 2004. Astaxanthin production by *Haematococcus plucialis* under illumination with LEDs. Enzyme Microb Technol 35, 81-86. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.03.016.
- Kwon HK. 2013. A study on phytoremediation of eutrophic coastal sediments using benthic microalgae and light emitting diode. Ph.D Thesis, Pukyong National University, Busan, Korea.
- Ladygina N, Dedyukhina EG and Vainshtein MB. 2006. A review on microbial synthesis of hydrocarbons. Process Biochem 41, 1001-14. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.12.007.
- Latasa M, Scharek R, Gall FL and Guillou L. 2004. Pigment suites and taxonomic groups in Prasinophyceae. J Phycol 40, 1149-1155. https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2004.03136.x.
- Lederman T and Tett P. 1981. Problems in modelling the photosynthesis-light relationship for phytoplankton. Bot Mar 24, 125-34. https://doi.org/10.1515/botm.1981.24.3.125.
- Lee CG and Palsson BO. 1994. High-density algal photobioreactors using Light-Emitting Diodes. Biotech Bioeng 44, 1161-1167. https://doi.org/10.1002/bit.260441002.
- Lee YJ, Lee CH, Cho KC, Moon HN, Namgung J, Kim KH, Lim BJ, Kim DK and Yeo IK. 2017. Effect of Temperatureinduced Two-stage Cultivation on the Lipid and Saccharide Accumulation of Microalgae *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella salina*. Korean J Aquat Sci 50, 32-40. https://doi. org/10.5657/kfas.2017.0032.
- McHugh DJ. 2003. A guide to the seaweed industry. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome.
- Moheimani NR. Inorganic carbon and pH effect on growth and lipid productivity of *Tetraselmis suecica* and *Chlorella* sp. (chlorophyta) grown outdoors in bag photobioreactors. 2013. J Appl Phycol 25, 387-98. https://doi.org/10.1007/ s10811-012-9873-6.

Mouget JL, Rosa P and Tremblin G. 2004. Acclimation of Has-

lea ostrearia to light of different spectral qualities confirmation of chromatic adaptation in diatoms. J Photochem Photobiol B 75, 1-11. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2004.04.002.

- Oh SJ, Kwon HK, Jeon JY and Yang HS. 2015. Effect of Monochromatic Light Emitting Diode on the Growth of Four Microalgae Species (*Chlorella vulgaris*, *Nitzschia* sp., *Phaeodactylum tricornutum*, *Skeletonema* sp.). Korean Soc Mar Environ Saf 21, 1-8. https://doi.org/10.7837/kosomes.2015.21.1.001.
- Oh SJ, Park DS, Yang HS, Yoon, YH and Tsuneo H. 2007. Bioremediation on the Benthic Layer in Polluted Inner Bay by Promotion of Microphytobenthos Growth Using Light Emitting Diode (LED) - 1. Effects of irradiance and wavelength on the growth of benthic diatom, *Nitzschia* sp. J Korean Soc Mar Environ Energy 10, 93-101.
- Organelli E, Nuccio C, Lazzara L, Uitz J, Bricaud A and Massi L. 2017. On the discrimination of multiple phytoplankton groups from light absorption spectra of assemblages with mixed taxonomic composition and variable light conditions. Applied Optics 56, 3952-3968. https://doi.org/10.1364/ ao.56.003952.
- Park HJ, Jin EJ, Jung TM, Joo H and Lee JH. 2010. Optimal culture conditions for photosynthetic microalgae *Nanno-chloropsis oculata*. App Chem Eng 21, 659-663.
- Pulz O and Gross W. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. Appl Microbiol Biotechnol 65, 635-48. https://doi.org/10.1007/s00253-004-1647-x.
- Ra CH, Kang CH, Jung JH, Jeong GT and Kim SK. 2016. Effects of light-emitting diodes (LEDs) on the accumulation of lipid content using a two-phase culture process with three microalgae. Bioresour technol 212, 254-261. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.059.
- Raja R, Hemaiswarya S and Rengasamy R. 2007. Exploitation of *Dunaliella* for β-carotene production. Appl Microbiol Biotechnol 74, 517-23. https://doi.org/10.1007/s00253-006-0777-8.
- Reitan KI, Rainuzzo JR and Olsen Y. 1994. Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine microalgae. J Phycol 30, 972-9. https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1994.00972.x.
- Rocha JM, Garcia JE and Henriques MH. 2003. Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. Biomol Eng 20, 237-42. https://doi.org/10.1016/s1389-0344(03)00061-3.
- Saavedra, MDPS and Voltolina D. 1994. The chemical composition of *Chaetoceros* sp.(bacillariophyceae) under different light conditions. Comp Biochem and Physiol B: Comp Biochem 107, 39-44. https://doi.org/10.1016/0305-0491(94)90222-4.
- Sathyendranath S, Lazzara L and Prieur L. 1987. Variations in the spectral values of specific absorption of phytoplankton.

Limnol Oceanogr 32, 403-415. https://doi.org/10.4319/ lo.1987.32.2.0403.

- Satyanarayana, KG, Mariano AB and Vargas JVC. 2011. A review on microalgae, a versatile source for sustainable energy and materials. International Journal of energy research 35, 291-311. https://doi.org/10.1002/er.1695.
- Schenk PM, Thomas-Hall SR, Stephens E, Marx UC, Mussgnug JH, Posten C, Kruse O and Hankamer B. 2008. Second generation biofuels: High-efficiency microalgae for biodiesel production. Bioenergy Res 1, 20-43. https://doi. org/10.1007/s12155-008-9008-8.
- Schulze PS, Pereira HG, Santos TF, Schueler L, Guerra R, Barreira LA and Varela JC. 2016. Effect of light quality supplied by light emitting diodes (LEDs) on growth and biochemical profiles of *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis chuii*. Algal Res 16, 387-398. https://doi.org/10.1016/j.al-gal.2016.03.034.
- Shih SC, Mufti NS, Chamberlain MD, Kim J and Wheeler AR. 2014. A droplet-based screen for wavelength-dependent lipid production in algae. Energy Environ Sci 7, 2366-75. https://doi.org/10.1039/c4ee01123f.
- Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E and Isambert A. 2006. Commercial applications of microalgae. J Biosci Bioeng 101, 87-96.
- Su CH, Chien LJ, Gomes J, Lin YS, Yu YK, Liou JS and Syu RJ. 2011. Factors affecting lipid accumulation by *Nannochloropsis oculata* in a two-stage cultivation process. J Appl Phycol 23, 903-908. https://doi.org/10.1007/s10811-010-9609-4.
- Takano H, Arai T, Hirano M and Matsunaga T. 1995. Effects of intensity and quality of light on phycocyanin production by a marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. NKBG 042902. Appl Microbiol Biotechnol 43, 1014-8. https://doi. org/10.1007/bf00166918.
- Teo CL, Atta M, Bukhari A, Taisir M, Yusuf AM and Idris A. 2014. Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths. Bioresour Technol 162, 38-44. https:// doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.113.
- Vasudevan PT and Briggs M. 2008. Biodiesel production-current state of the art and challenges. J Ind Microbiol Biotechnol 35, 421. https://doi.org/10.1007/s10295-008-0312-2.
- Vesk M and Jeffrey SW. 1977. Effect of blue-green light on photosynthetic pigments and chloroplast structure in unicellular marine algae from six classes. J Phycol 13, 280-8. https:// doi.org/10.1111/j.1529-8817.1977.tb02928.x.
- Wang CY, Fu CC and Liu YC. 2007. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of spirulina platensis. Biochem Eng J 37, 21-5. https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.03.004.
- Whyte JN. 1987. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. Aquaculture 60, 231-41. https://doi.org/10.1016/0044-8486

(87)90290-0.

- Xia L, Rong J, Yang H, He Q, Zhang D and Hu C. 2014. NaCl as an effective inducer for lipid accumulation in freshwater microalgae *Desmodesmus abundans*. Bioresource Technol 161, 402-409. http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.063.
- Xue S, Su Z and Cong W. 2011. Growth of *Spirulina platen*sis enhanced under intermittent illumination. J Biotech 151, 271-277. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.12.012.