

담녹조강 *Tetraselmis suecica*와 *Tetraselmis tetrahele*의 인산염 흡수에 미치는 발광다이오드 파장의 영향

한경하* · 오석진**†

*, ** 부경대학교 해양학과

The Effects of the Light Quality of a Light Emitting Diode (LED) on the Phosphate Uptake of Prasinophytes *Tetraselmis suecica* and *Tetraselmis tetrahele*

Kyong Ha Han* · Seok Jin Oh**†

*, ** Department of Oceanography, Pukyong National University, 45 Yongso-ro, Nam-gu, Busan 48513, Korea

요 약 : 본 연구는 담녹조강 *Tetraselmis suecica*와 *T. tetrahele*의 인산염 흡수에 미치는 발광다이오드의 파장의 영향을 조사하였다. 파장은 청색 발광다이오드(LED; 450 nm), 황색 LED(590 nm), 적색 LED(630 nm) 그리고 형광램프(control)이며, 조도는 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 주사하였다. *T. suecica*와 *T. tetrahele*의 최대흡수속도(ρ_{max})는 적색 LED에서 $6.35 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 와 $9.85 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 로 나타났으며, 반포화농도(K_s)는 $9.43 \mu\text{M}$ 와 $21.2 \mu\text{M}$ 로 나타났다. 이는 적색 LED 아래에서 *T. suecica*와 *T. tetrahele*가 다른 파장보다 영양염에 대한 친화성이 높다는 것으로 의미한다. 따라서 경제성 및 생산성 향상을 위한 *Tetraselmis* 배양시스템(광배양기)의 최적 광원은 낮은 영양염 상태에서도 높은 성장속도를 보이는 적색 LED가 적합할 것으로 판단된다.

핵심용어 : *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis tetrahele*, 인산염, 적색 LED, 최대흡수속도, 반포화농도

Abstract : This study was conducted to investigate the effects of the light quality of a Light Emitting Diode (LED) on the phosphate uptake of Prasinophytes *Tetraselmis suecica* and *Tetraselmis tetrahele*. These species were exposed to a blue LED (max = 450 nm), a yellow LED (max = 590 nm), a red LED (max = 630 nm) and a fluorescent lamp (control) at $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The maximum uptake rates (ρ_{max}) of *T. suecica* and *T. tetrahele* under the red LED were $6.35 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ and $9.85 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$, respectively. The half saturation constants (K_s) of two species were $9.43 \mu\text{M}$ and $21.2 \mu\text{M}$, respectively. The phosphate affinity of the two species under the red LED was higher than that of other wavelengths. Thus, the optimum light source to ensure economically effective and productive growth in a *Tetraselmis* culture system (Photo-Bioreactor) would be red LEDs because of the high growth rate shown, regardless of relatively low nutrient conditions.

Key Words : *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis tetrahele*, Phosphate, Red LED, Maximum Uptake rate, Half Saturation Constant

1. 서 론

해양생태계는 다양한 생물그룹으로 이루어져 있으며, 최하위단계를 차지하는 미세조류는 (1) 윤충(rotifer)이나 어류의 유생 등 수산업 분야에서 먹이생물로 활용, (2) 가공 과정을 거쳐 동물 사료원, (3) 세포 내 영양물질들을 추출하여 식품 및 의약품의 원료의 활용(아미노산과 항산화물질을 보충

하는 건강기능식품), (4) 지질과 탄수화물 등을 이용하여 바이오에너지로 활용 그리고 (5) 영양염 이용성 및 광합성에 따른 산소공급 기능을 활용한 정화 등에 광범위하게 활용되고 있다(Gomez and González, 2004; Pulz and Gross, 2004; Ladygina et al., 2006; Spolaore et al., 2006; Raja et al., 2008).

본 연구에 이용된 *Tetraselmis* 속은 우리나라 연안역 뿐만 아니라 기수역 등 광역적으로 분포하고 있으며, 외국의 경우, 기수역에서 대량생장을 하여 녹색으로 착색시키기도 한다(Parke and Green, 1976). 산업적인 활용으로는 광온·광염성이기 때문에 고온에 약한 *Chlorella* 대신에 저온배양을 활용

* First Author : kyongha0829@gmail.com, 055-639-8441

† Corresponding Author : sjoh1972@pknu.ac.kr, 051-629-6576

한 중요생산으로 윤충 또는 패류의 중요 먹이 공급원이 되고 있다(Maddux and Jones, 1964; Kim and Hur, 1998; Min, 2018). 또한 이 속은 해양 및 담수 퇴적물의 식물복원정화(phytoremediation)에 좋은 효과를 나타내는 종으로 소개되고 있다(Michels et al., 2014; Schulze et al., 2017; Cameron et al., 2018).

한편, 미세조류의 상업적 이용을 위해서는 단기간 내에 높은 농도의 세포밀도가 요구되기 때문에 대량배양이 필수적이다. 대량배양의 효율성을 높이기 위해 수온, 광 조건, pH, 염분 및 영양염 상태와 같은 무기 환경 요소를 조절할 필요가 있지만(McHugh, 2003; Park et al., 2010), 수온과 염분 조절 등은 배양액을 보충하거나, 조절을 위한 추가적인 장치가 필요하다. 이에 반해 광 조절은 파장과 광량으로 간단히 제어하여 배양 효율성을 높일 수 있다. 하지만 미세조류의 생장에 최적인 광량 및 파장을 파악하지 못하면, 필요하지 않는 잉여의 광이 조사되기 때문에 많은 에너지 손실과중에 따라서는 광저해 현상을 초래할 수 있어, 생산성 저하가 나타날 수 있다.

광 파장의 변화도 미세조류의 다양한 광합성 색소 반응성에 의해 세포 내 생화학적 조성 및 함유량을 변화시켜 생산성을 높일 수 있어, 유용물질 증대 등 산업적인 분야도 많은 활용이 기대되고 있다(Sánchez-Saavedra and Voltolina, 1994; Mouget et al., 2004; Oh et al., 2015). 따라서 광에 대한 미세조류의 생리 특성 이해는 대량배양에 있어 중요한 요인으로 작용하기 때문에 활발한 연구가 필요하다. 만약 미세조류의 대량배양 시 파장별 영양염 흡수능에 대한 정보를 얻는다면, 일반적인 고농도 배지가 아니더라도 충분히 높은 생장을 기대할 수 있다.

본 연구에서는 경제적인 효과 및 생산성 증대에 기여할 수 있는 고효율의 밀폐형배양시스템(Photo-Bioreactor: PB) 구축을 위하여, 수산종묘 및 해양환경복원에 중요한 생물인 *T. suecica*와 *T. tetrahele*의 광 파장별 영양염 동력학 실험을 수행하였으며, *Tetraselmis* 속의 영양염 흡수속도 및 친화정도를 제시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험종 및 배양조건

실험에 사용된 *Tetraselmis suecica*(LIMS-PS-0007), *T. tetrahele*(LIMS-PS-0053)는 한국해양과학기술원 해양시료도서관에서 분양받았다. 배양에 사용된 배지는 남해 외양수를 바탕으로 한 f/2이며, selenium(H_2SeO_3) 최종농도를 0.001 μM 이 될 수 있게 첨가하였다. 유지배양을 위한 수온과 염분은 20°C, 30 psu였고,

광량은 100 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ (L:D=12 L:12 D; Cool-white fluorescent lamp)으로 조절하였다. 무균화 처리는 AM 9 혼합액으로 처리를 하였으며, 확인은 DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole) 염색 후 형광현미경 검사를 통해 수행하였다(Porter and Feig, 1980). 또한 실험에 사용된 기구는 2차적인 생물학적 오염을 차단하기 위해 고온·고압멸균(121°C, 202 kpa, 20 min)후, 사용하였으며 모든 실험은 크린벤치에서 수행되었다.

2.2 *Tetraselmis suecica*와 *T. tetrahele*의 영양염 흡수능력

미세조류의 영양염 흡수는 기본적으로 해수 중의 영양염 농도에 의존하지만, 세포 내에서 영양염 pool을 가지는 경우에는 그 pool의 크기에 따라 달라진다(Eppley et al., 1969). 따라서 미세조류의 흡수속도와 영양염 농도 간의 관계를 파악하기 위해서는 영양염 첨가 후 정속흡수(定速吸收; Surge uptake)를 보이며, 세포 내 영양염의 변화가 없는 시간 내에 실험을 수행하여야 한다(Harrison et al., 1989). 따라서 영양염 흡수 실험을 하기 전에 사전실험을 통해 정속흡수시간의 파악이 필요하다.

세포 내 인을 고갈시키기 위해 인원(phosphorus sources)이 제외된 AK 인공해수를 기반으로 한 L1배지에서 *T. suecica*와 *T. tetrahele*를 전 배양하였다. 이후 세포의 생장이 정지할 때까지 배양을 실시하였으며, 배지의 인을 측정하여 검출한계 이하임을 확인하였다. 인원은 인산염(phosphate)이며, 3 μM 으로 함유된 L1 배지에 세포 내 인이 고갈된 세포액을 각각 접종하였다. 배양개시(0분), 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240분에 각각 배양액을 채수하여 인산염을 측정하였으며, 일정한 흡수속도를 보였던 정속시간을 영양염 흡수실험 시간으로 선택하였다. 파장은 대조구로 형광램프(control), 실험구로 적색파장(630 nm), 황색파장(590 nm) 그리고 청색파장(450 nm)이며, 조도는 100 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ 로 주사하였다.

영양염 흡수속도는 인산염이 0.1, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0, 10, 20 μM 의 7단계로 조제된 L1배지에 인이 고갈된 세포(약 $1 \times 10^4 cells ml^{-1}$)를 각각 접종하였다. 배양시간은 사전실험에서 정속흡수를 보였던 시간으로 설정하였다. 특히, 인이 고갈된 세포를 함유한 배양액을 첨가하면 흡수실험에 제공된 영양염의 농도보다 낮아지기 때문에, 접종직후 배양액을 채수하여 농도를 확인하였다. 파장은 상기 정속흡수시간을 사용된 파장과 같으며, 조도도 100 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ 에서 실험을 수행하였다. 모든 실험은 반복구(duplicate)를 두어 수행하였다.

인산염 흡수속도와 인산염 사이의 관계를 파악하기 위한 최대흡수속도(ρ_{max})와 반포화농도(K_s)는 Michaelis-Menten식 (1)에 대입하여 비선형 최소자승법으로 계산하였다.

$$\rho = \rho_{\max} \cdot \frac{S}{K_s + S} \quad (1)$$

ρ_{\max} : 최대흡수속도(pmol cell⁻¹ hr⁻¹)

Ks: 반포화농도(μM)

S: 영양염농도(μM)

3. 결과 및 고찰

3.1 인산염의 정속 흡수시간

과장별로 시간에 따른 *T. suecica*와 *T. tetrathele*의 인산염농도 변화는 배양시작(0분)부터 일정시간까지 정속흡수를 보인 후, 현저히 낮아지는 경향을 보였다(*t*-test, *p*<0.05). *T. suecica*는 모든 과장에서 20분간 정속흡수를 보였다(Fig. 1a). *T. tetrathele*는 형광램프와 적색과장에서 10분으로 가장 짧았으며, 청색과장, 황색과장에서는 동일하게 20분으로 나타났

다(Fig. 1b). 이 결과를 토대로 인산염흡수실험을 위한 배양시간으로 설정하였다.

한편, *T. suecica*와 *T. tetrathele*는 생장이 빠른 과장에서 영양염 정속흡수시간이 짧은 것을 확인하였다. Kwon(2013)은 *Achnanthes lanceolata*와 *Halampora veneta*를 이용하여 과장별 성장속도 및 영양염 흡수속도 실험을 수행한 결과, 생장이 빨랐던 청색과장에서 영양염 정속흡수시간도 짧아 본 실험 결과와 일치하였다. 이는 *Tetraselmis* 속의 빠른 성장에 따라 인산염의 흡수속도도 촉진되는 것으로 보이며, 대량 배양시 빠른 성장속도와 영양염 흡수는 단기간 내 배양효율을 높여 줄 수 있을 것이다.

3.2 *Tetraselmis suecica*와 *T. tetrathele*의 영양염 흡수능력

Fig. 2(a)는 인이 제한된 *T. suecica*의 과장별 시간에 따른 인산염의 흡수속도를 나타내었다. 그 결과 모든 과장에서 인산염농도가 5 μM까지 증가함에 따라 흡수속도는 증가하

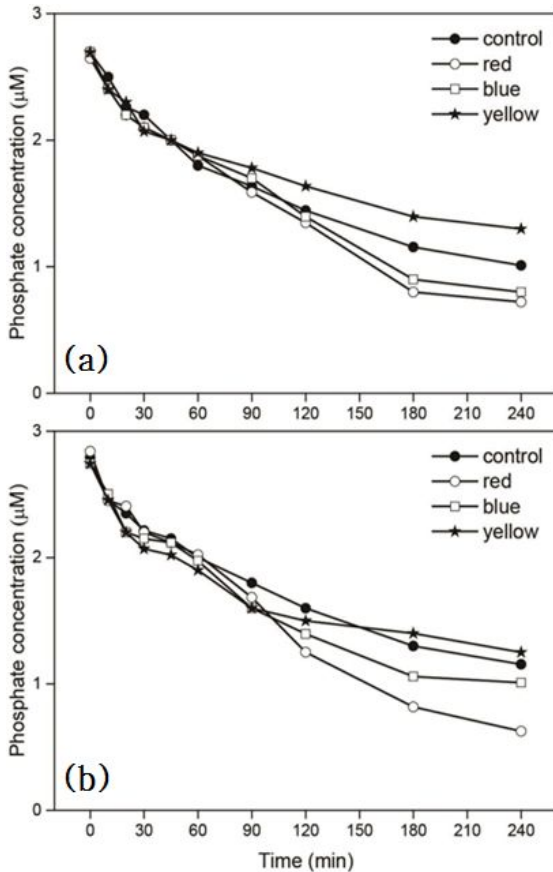


Fig. 1. Temporal changes of phosphate concentration in *T. suecica* and *T. tetrathele* exposed to different wavelengths of light after the addition of the phosphate.

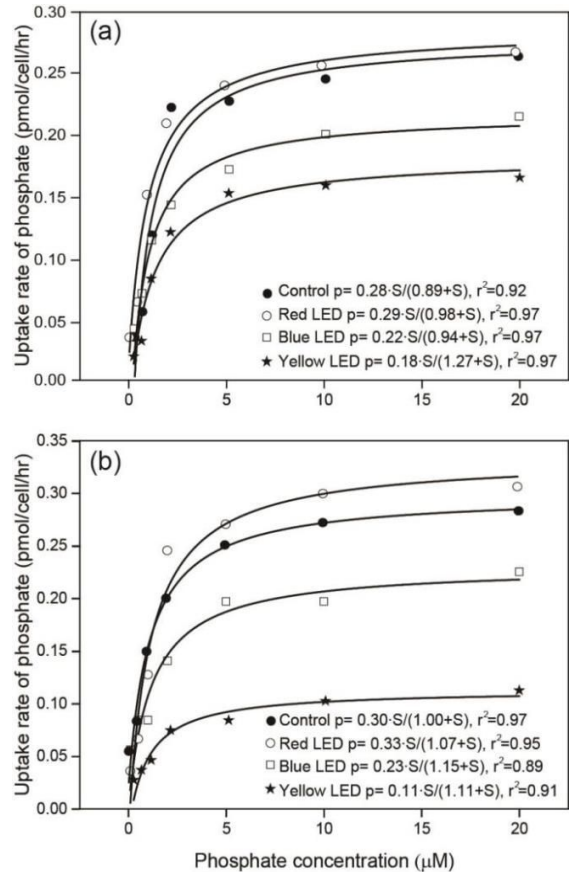


Fig. 2. Phosphate uptake rates of *T. suecica* (a) and *T. tetrathele* at different wavelengths of light.

였으며, 그 이상의 농도에서는 유사한 경향을 보였다. Table 1은 Michaelis-Menten식에서 도출된 *T. suecica*의 파장별 ρ_{max} 와 Ks를 나타낸 것이다. ρ_{max} 의 경우, 적색파장에서 가장 높았지만 형광램프와 그 차이가 크지 않았으며, 청색과 황색파장과는 차이가 나타났다(t-test, $p < 0.05$). Ks는 황색파장에서 가장 높았고, 청색과 적색파장에서는 유의한 차이가 없었으며(t-test, $p < 0.05$), 형광램프에서 가장 낮았다.

Fig. 2(b)는 인원이 고갈된 *T. tetrathele*의 파장별 시간에 따른 인산염의 흡수속도를 나타내었다. *T. suecica*와 같이 모든 파장에서 인산염농도가 5 μM 까지 증가함에 따라 흡수속도 역시 증가하였으며, 그 이상의 농도에서는 유사한 경향을 보였다. Michaelis-Menten식에서 도출된 ρ_{max} 의 경우 적색파장에서 가장 높았으며, 형광램프, 청색파장, 황색파장 순으로 나타났다. Ks는 형광램프, 적색파장, 황색파장, 청색파장 순으로 낮게 나타났다(Table 1).

Table. 1. The kinetic parameters of phosphate uptake curves measured at different wavelengths of light in *T. suecica* and *T. tetrathele*.

Species	Wavelengths	Ks (μM)	ρ_{max} ($\text{pmol cell}^{-1} \text{hr}^{-1}$)
<i>T. suecica</i>	Fluorescent lamp	0.89	0.28
	Blue LED	0.94	0.22
	Yellow LED	1.27	0.18
	Red LED	0.98	0.29
<i>T. tetrathele</i>	Fluorescent lamp	1.00	0.30
	Blue LED	1.15	0.23
	Yellow LED	1.11	0.11
	Red LED	1.07	0.33

형광램프는 비교적 높은 인산염 친화성(affinity)을 보였으나, LED는 형광램프에 비하여, 낮은 소비전력과 함께 높은 광합성 효과를 나타낼 수 있다(Yoon and Choi 2011). 한국전력의 전기요금을 참고하여, 산업용 평균 전력량 요금(kWh)을 시간 당 약 73.2원으로 계산하고, 이를 기준으로 형광램프(40 W, 수명시간 8000 h)와 LED(20 W, 수명시간 25000 h)를 비교해보았다. 25000시간 사용을 기준으로 형광램프보다 LED는 약 45%의 절감효과가 있으며, LED는 형광램프와 비슷한 수준으로 미세조류의 성장을 보이더라도, 장기적으로 절반 정도의 전기 절감 효과를 기대할 수 있기 때문에 미세조류의 대량배양에서 LED의 이용은 필수적일 것이다.

Han and Oh(2018)는 파장별 *T. suecica*와 *T. tetrathele*의 성장속도를 파악하였으며, 그 결과 모든 파장에서 광량의 증가에 따라 성장속도가 증가하였고, 일정 광량 이상에서는 유사하다고 보고하였다. 그리고 두 종 모두 적색 파장에서 비교적 높은 성장속도를 나타내었다. 또한 본 실험에서 *T. suecica*와 *T. tetrathele*는 생장이 빨랐던 적색파장에서 인산염의 흡수속도도 높은 것을 확인하였다.

몇몇 연구에 따르면 적색파장은 남조류 *Spirulina platensis*, *Synechococcus* sp. 그리고 녹조류 *Chlorella pyrenoidosa*와 *Haematococcus pluvialis*와 같이 일부 미세조류에서 높은 성장속도 및 최대세포 밀도를 보이는 최적의 파장으로 보고되고 있다(Takano et al., 1995; Matthijs et al., 1996; Jeon et al., 2005; Wang et al., 2007). 녹조류와 남조류는 주 색소인 chlorophyll *a* 이외에 보조색소(accessory pigment)로서 각 chlorophyll *b*와 allophycocyanin을 세포내에 함유하고 있다. 특히, chlorophyll *b*는 660 nm 그리고 allophycocyanin은 650 nm의 적색파장을 흡수하여 chlorophyll *a*로 광 에너지를 전달하게 된다. 이처럼 적색파장을 효율적으로 흡수 할 수 있는 보조색소의 보유로 적색파장을 생장 및 영양염 흡수에 효율적으로 이용할 수 있는 것으로 보인다. 더욱이 적색 LED를 이용하여 *Dunaliella salina*를 배양하면 β -carotene의 함량을 증진시킬 수 있다(Fu et al., 2013). Kwon(2013)은 중금속 오염도에서 중금속 제거를 위한 *C. vulgaris*와 적색파장을 활용한 식물복원기법(phytoremediation)을 제시하기도 하였다. 또한 Oh et al.(2015)는 적색파장이 담녹조류를 포함하는 녹조류와 남조류에 성장을 촉진시키는 분류군 특이성(taxon-specific)을 보이는 것으로 보고하였다.

최근에 다단계 배양기법을 통해 미세조류 내 생리활성물질을 극대화시키려는 시도가 있다(Su et al., 2011; Lee et al., 2017; Han and Oh, 2018). Ra et al.(2016)는 고밀도의 세포 축적을 위해 청색파장에서 초기 배양을, 정지기에서 오일함량을 증진시키기 위해 적색파장 또는 녹색파장에서 주사하는 광 스테레스 방법을 제시하였다. Han and Oh(2018)도 *T. suecica*와 *T. tetrathele*의 배양에서 성장속도가 낮게 나타난 황색파장으로 광 스트레스를 주워 생리활성물질을 증가시키고, 생장이 빨랐던 적색파장을 활용하여 빠른 수확을 유도한다면, 보다 낮은 운영 유지비와 함께 생산성을 증대시킬 가능성을 제안하였다. 본 연구에서 적색파장은 영양염에 대한 높은 친화성을 나타내었기 때문에 비교적 낮은 영양염 농도에서도 높은 성장속도를 보일 수 있어, 저비용 고효율의 배양법을 수립할 수 있을 것이다.

사 사

이 논문은 부경대학교 자율창의학술연구비(2017년)에 의하여 연구되었습니다.

References

- [1] Cameron, H., M. T. Mata and C. Riquelme(2018), The effect of heavy metals on the viability of *Tetraselmis marina* AC16-MESO and an evolution of the potential use of this microalgae in bioremediation, Vol. 6, p. 5295.
- [2] Eppley, R. W., J. N. Rogers and J. J. McCarthy(1969), Half saturation constants for uptake of nitrate and ammonium by marine phytoplankton, Limnology Oceanography, Vol. 14, No. 6, pp. 912-920.
- [3] Fu, W., Ó. Guðmundsson, G. Paglia, G. Herjólfsson, Ó. S. Andrésón, B. Ø. Palsson and S. Brynjólfsson(2013), Enhancement of carotenoid biosynthesis in the green microalga *Dunaliella salina* with light-emitting diodes and adaptive laboratory evolution, Applied microbiology and biotechnology, Vol. 97, No. 6, pp. 2395-2403.
- [4] Gomez, P. and M. A. González(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, Vol. 233, No. 1-4, pp. 149-162.
- [5] Han, K. H. and S. J. Oh(2018), Effects of Various Intensities and Wavelengths of Light Emitting Diodes (LEDs) on the Growth of the Prasinophytes *Tetraselmis suecica* and *T. tetrahele*, Korean Journal of Fisheries and Aquatic Science, Vol. 51, No. 1, pp. 64-71.
- [6] Harrison, P. J., J. S. Parslow and H. L. Conway(1989), Determination of nutrient uptake kinetic parameters: a comparison of methods, Marine Ecology Progress Series, Vol. 52, pp. 301-312.
- [7] Jeon, Y. C., C. W. Cho and Y. S. Yun(2005), Measurement of microalgal photosynthetic activity depending on light intensity and quality, Biochemical Engineering Journal, Vol. 27, No. 2, pp. 127-131.
- [8] Kim, C. W. and S. B. Hur(1998), Dietary value of frozen and freeze-dried *Tetraselmis suecica*, Journal of Aquaculture, Vol. 11, No. 2, pp. 183-191.
- [9] Kwon, H. K.(2013), A study on phytoremediation of eutrophic coastal sediments using benthic microalgae and light emitting diode, Ph.D Thesis, Pukyong National University, Busan, Korea.
- [10] Ladygina, N., E. G. Dedyukhina and M. B. Vainshtein(2006), A review on microbial synthesis of hydrocarbons, Process Biochemistry, Vol. 41, No. 5, pp. 1001-1014.
- [11] Lee, Y. J., C. H. Lee, K. Cho, H. N. Moon, J. Namgung, K. H. Kim, B. J. Lim, D. Kim and I. K. Yeo(2017), Effect of Temperature-induced two-stage cultivation on the lipid and saccharide accumulation of Microalgae *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella salina*, Korean Journal Aquatic Science, Vol. 50, No. 1, pp. 32-40.
- [12] Matthijs, H. C., H. Balke, U. M. van Hes, B. M. Kroon, L. R. Mur and R. A. Binot(1996), Application of light-emitting diodes in bioreactors: flashing light effects and energy economy in algal culture (*Chlorella pyrenoidosa*), Biotechnology Bioengineering, Vol. 50, No. 1, pp. 98-107.
- [13] Maddux, W. S. and R. F. Jones(1964), Some interaction of temperature, light intensity and nutrient concentration during the continuous culture of *Nitzschia closterium* and *Tetraselmis* sp, Limnology and Oceanography, Vol. 9, No. 1, pp. 79-86.
- [14] McHugh, D. J.(2003), A guide to the seaweed industry, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, p. 118.
- [15] Michels, M. H., M. Vaskoska, M. H. Vermue and R. H. Wijffels(2014), Growth of *Tetraselmis suecica* in a tubular photobioreactor on wastewater from a fish farm, Water Research, Vol. 65, No. 15, pp. 290-296.
- [16] Min, B. H.(2018), Growth and survival on live food for larval development stage of Ark shell *Scapharca broughtonii*, The Korean Journal Malacology, Vol. 34, No. 2, pp. 79-88.
- [17] Mouget, J. L., P. Rosa and G. Tremblin(2004), Acclimation of *Haslea ostrearia* to light of different spectral qualities - confirmation of 'chromatic adaptation' in diatoms, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, Vol. 75, No. 1-2, pp. 1-11.
- [18] Oh, S. J., H. K. Kwon, J. Y. Jeon and H. S. Yang(2015), Effect of monochromatic light emitting diode on the growth of four microalgae species (*Chlorella vulgaris*, *Nitzschia* sp., *Phaeodactylum tricorutum*, *Skeletonema* sp.), Journal of the Korean Society of Marine Environment & Safety, Vol. 21, No. 1, pp. 1-8.
- [19] Pulz, O. and W. Gross(2004), Valuable products from

- biotechnology of microalgae, Applied Microbiology Biotechnology, Vol. 65, No. 6, pp. 635-48.
- [20] Park, H. J., E. J. Jin, T. M. Jung, H. Joo and J. H. Lee(2010), Optimal culture conditions for photosynthetic microalgae *Nannochloropsis oculata*, Journal of the Korean Industrial and Engineering Chemistry, Vol. 21, No. 6, pp. 659-663.
- [21] Parke, M. and J. C. Green(1976), Chlorophyta, Prasinophyceae. In: Parke, M. and P. S. Dixon(eds.) Check-list of British marine algae (third revision), Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, Vol. 56, pp. 564-566.
- [22] Porter, K. G. and Y. S. Feig(1980), The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora, Limnology Oceanography, Vol. 25, No. 5, pp. 943-948.
- [23] Ra, C. H., C. H. Kang, J. H. Jung, G. T. Jeong and S. K. Kim(2016), Effects of light-emitting diodes (LEDs) on the accumulation of lipid content using a two-phase culture process with three microalgae. Bioresource technology, Vol. 212, pp. 254-261.
- [24] Raja, R., S. Hemaiswarya, N. Ashok Kumar, S. Sridhar and R. Rengasamy(2008), A perspective on the biotechnological potential of microalgae. Critical Reviews in Microbiology, Vol. 34, pp. 77-88.
- [25] Sánchez-Saavedra, M. P. and D. Voltolina(1994), The chemical composition of *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyceae) under different light conditions. Comparative Biochemistry and Physiology, Vol. 107B, No. 1, pp. 39-44.
- [26] Schulze, P. S., C. F. M. Carolina, H. Pereira, K. N. Gangadhar, L. M. Schuler, T. F. Santos, J. C. S. Varela and L. Barreira(2017), Urban wastewater treatment by *Tetraselmis* sp. CTP4 (Chlorophyta), Bioresource Technology, Vol. 223, pp. 175-183.
- [27] Spolaore, P., C. Joannis-Cassan, E. Duran and A. Isambert (2006), Commercial applications of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol. 101, No. 2, pp. 87-96.
- [28] Su, C. H., L. J. Chien, J. Gomes, Y. S. Lin, Y. K. Yu, J. S. Liou and R. J. Syu(2011), Factors affecting lipid accumulation by *Nannochloropsis oculata* in a two-stage cultivation process. Journal Applied Phycology Vol. 23, No. 5, pp. 903-908.
- [29] Takano, H., T. Arai, M. Hirano and T. Matsunaga(1995), Effects of intensity and quality of light on phycocyanin production by a marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. NKBG 042902. Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 43, No. 6, pp. 1014-1018.
- [30] Wang, C. Y., C. C. Fu and Y. C. Liu(2007), Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of spirulina platensis. Biochemical Engineering Journal, Vol. 37, pp. 21-25.

Received : 2019. 01. 31.

Revised : 2019. 02. 24.

Accepted : 2019. 02. 25.