

<https://doi.org/10.15433/ksmb.2022.14.1.001>

ISSN 2383-5400 (Online)

신규 분리된 *Mychonastes* sp.의 성장, 지방산 및 색소 생산에 성장배지가 미치는 영향

Effect of Culture Media on Production of Biomass, Fatty Acid, and Carotenoid in a Newly Isolated *Mychonastes* sp.

임경준¹, 장현진², 박예지¹, 남승원¹, 황병수³, 정지영¹, 이창수¹, 김지훈^{1*}

Kyung June Yim¹, Hyun-Jin Jang², Yeji Park¹, Seung Won Nam¹, Byung Su Hwang³, Ji Young Jung¹,
Chang Soo Lee¹, and Z-Hun Kim^{1*}

¹국립낙동강생물자원관 미생물연구실, 상주시, 경상북도, 37242, 대한민국

²한국생명공학연구원 유전자교정연구센터, 대전광역시, 34141, 대한민국

³국립낙동강생물자원관 동식물연구실, 상주시, 경상북도, 37242, 대한민국

¹Microbial Research Department, Nakdonggang National Institute of Biological Resources, Sangju-si, Gyeongsangbuk-do, Korea

²Laboratory of Chemical Biology and Genomics, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon, Korea

³Plant Research Department, Nakdonggang National Institute of Biological Resources, Sangju-si, Gyeongsangbuk-do, Korea

(Received 13 December 2021, Revised 28 December 2021, Accepted 4 January 2022)

Abstract This study examined the growth, fatty acid (FA) content, and carotenoids of a newly isolated freshwater microalga, *Mychonastes* sp. 246, in various culture media. The appropriate temperature and light intensity for culturing *Mychonastes* sp. 246 were determined as 18°C–22°C and 200–250 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ using a high throughput photobioreactor. The microalgal cells were cultivated in 0.5 L bubble column photobioreactors using BG11, Bold's Basal media, and f/2 media. According to the growth results of the microalgae, BG11, among the tested media, showed the highest biomass concentrations (3.5 ± 0.1 g/L in 10 d). To enhance the biomass growth of the microalgae, the N:P ratio in BG11 was manipulated from 45:1 to 7:1 based on the stoichiometric cell composition. The biomass concentrations of *Mychonastes* sp. 246 grown on the manipulated BG11 (MBG) increased to 38% (4.6 ± 0.3 g/L in d) compared with the original BG11 (3.3 g/L). The FA content of the microalgae grown on the MBG was lower (8.4%) than that of the original BG11 (10.1%) while the FA compositions did not exhibit any significant differences. Furthermore, three kinds of carotenoids were identified in *Mychonastes* sp. 246, zeaxanthin, lutein, and β -carotene. These results suggest an effective strategy for increasing biomass concentrations, FA content, and carotenoids of microalgae by performing a simple N:P adjustment in the culture media.

Keywords : microalgae, *Mychonastes*, culture media, fatty acid, carotenoid

서론

미세조류는 강, 바다, 호수 등의 수서환경에서 주

* Corresponding author

Phone: +82-54-530-0841 Fax: +82-54-530-0849

E-mail: kimzhun@nnibr.re.kr

This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

로 서식하는 광합성 미생물로서 생태계의 기초생산자로 중요한 역할을 할 뿐만 아니라, 카로티노이드(carotenoid), 단백질, 불포화 지방산 등과 같은 고부가가치 유용물질을 생산한다고 알려져 있다. 고효율의 광합성 기구(photosynthetic apparatus)를 이용하여 육상식물보다 성장 속도가 빠르고 다양한 형태의 유기물(e.g., 탄수화물, 지질, 색소, 비타민) 생산하여 산업적 활용가능성이 높다[1,2]. 또한 현재 지구상에는 20만종 이상이 넘을 정도로 다양성이 높으며, 배양환경에 따라 같은 종이라도 지질, 바이오매스, 색소 등과 같은 산업적 활용성이 높은 유용물질 생산을 증대할 수 있다는 장점이 있다[3-7].

구체적으로 미세조류는 인간의 뇌, 피부, 망막 구조 형성에 필수적인 docosahexaenoic acid(DHA)와 eicosapentaenoic acid(EPA) 등의 불포화 지방산을 다량 함유하고 있으며, 항산화 기능과 생리활성이 우수한 astaxanthin, violaxanthin, neoxanthin, α -carotene, β -carotene, lutein 등의 다양한 형태의 색소생산이 가능하다[8-10]. 미세조류는 배양환경조건에 따라 성장 속도 및 유용물질의 함량과 조성이 달라진다. 구체적으로 광도, 온도, 배지 등과 같은 성장환경 요인이 미세조류의 지질과 카로티노이드 생합성과의 상관성이 높다. 특히 영양성분 중 질소(N)와 인(P)은 미세조류 성장과 유용물질생산에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 질소는 미세조류 성장에 필수적인 성분이며 세포 내 약 7~10% 함유하고 있다. 단백질, 지질 및 탄수화물 합성에 중요한 역할하고 대사 활동에 관여 한다. 일반적으로 미세조류는 질소가 결핍된 환경에서 지질 혹은 탄수화물과 같은 화합물의 생산은 높아지고, 생장은 감소한다고 알려져 있다[11]. 인은 미세조류에서 1% 이하로 함유하고 있으나, 미세조류의 DNA, RNA, ATP 등의 다양한 생합성과 성장, 광합성과 같은 대사 과정에 중요한 역할을 하는 성분이다[12]. 따라서 미세조류 배양에 있어 질소와 인의 농도 및 유무에 따라 성장과 유용물질 생산의 조절이 가능하다.

예를 들어, astaxanthin의 높은 생산성으로 인해 유용미세조류로 알려진 *Haematococcus pluvialis*는 질소 성분이 결핍된 환경에서 pyruvatekinase (PK)와 pyruvate dehydrogenase E2 component (aceF) 유전자의 발현이 증가하여 카로티노이드와 지방산 합성에 필요한 pyruvate와 acetyl-CoA의 생산이 증가된다

[13]. *Chlorella ellipsoidea*와 *Chlorococcum infusionum*의 경우 인 성분이 결핍된 환경에서 지질의 함량이 2배 이상 증가하였으며, 특히 단일불포화지방산이 증가되었다고 알려져 있다[14]. 또한 인과 질소의 복합결핍을 이용하여 *Chlorella* sp.와 *Parachlorella* sp.의 특정 지방산과 전체 지방산의 생산성을 향상시킬 수 있다고 보고된 바 있다[15].

본 연구에서는 장동제(전라북도 남원시 운봉읍 장교리)에서 신규 분리된 *Mychonastes* sp. 246의 배양 특성을 규명하고, 성장에 적합한 온도, 광도, 배양배지를 선정하고자 하였다. 또한 배지 내 N:P 비율 조절을 통해 바이오매스와 유용물질의 생산을 증대의 가능성을 확인하고자 하였다. 또한 세포내 함유하고 있는 카로티노이드와 지방산에 대한 분석을 통해 바이오소재로 활용가능성에 대해 분석하고자 한다.

재료 및 방법

미세조류 균주 및 종균의 유지

본 연구에서 사용된 균주는 담수미세조류인 *Mychonastes* sp. 246로 대한민국 전라북도 남원시 운봉읍 장교리 장동제(35°27'10.8"N / 127°29'49.1"E)에서 분리하였다. 미세조류의 종균 유지를 위하여 미세조류 배양에 널리 사용되는 BG11 배지를 제작하여 사용하였다. 배지 조성은 NaNO₃ 1.5 g/L, K₂HPO₄ 0.0314 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.075 g/L, CaCl₂·2H₂O 0.036 g/L, Citric acid 0.006 g/L, Ferric ammonium citrate 0.006 g/L, EDTA (disodium magnesium salt) 0.001 g/L, Na₂CO₃ 0.02 g/L, Trace-metal mix A5 solution(H₃BO₃ 2.86 g, MnCl₂·4H₂O 1.81 g, ZnSO₄·7H₂O 0.222 g, Na₂MoO₄·2H₂O 0.39 g, CuSO₄·5H₂O 0.079 g, Co(NO₃)₂·6H₂O 0.0494 g/L) 1 mL이다. 제조된 BG11 배지는 pH 7.1로 보정한 후, 121°C, 1.5기압에서 15분간 멸균한 뒤 사용하였다. 미세조류의 배양은 25°C, 광도 300 μ mol/m²/s의 조건에서 0.5 L 원통형 광생물반응기를 이용하여 배양하였으며, 5% 이산화탄소를 반응기 하단부로부터 0.1 vvm속도로 지속적으로 공급하였다. 미세조류의 계대배양은 10일마다 주기적으로 시행하였다.

세포농도(gDCW/L) 680 nm에서 분광광도계(Perkin Elmer, LAMBDA 465, Boston, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하여 계산하였다. 구체적으로 중

이필터(Whatman filter)를 이용하여 여과된 균체를 건조기에서 80°C로 5시간 건조 시킨 뒤 데시케이터에서 30분간 보관하였다. 필터의 무게 변화를 측정하여 미세조류의 건조중량과 흡광도의 상관관계를 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Dry cell weight(g/L)} = 0.15370 \cdot \text{O.D.}_{680} \quad (R^2=0.99)$$

미세조류 최적 광도 및 온도 배양조건 탐색

본 연구에 사용한 미세조류의 배양 최적화는 광도와 온도를 대상으로 분석하였으며, 고처리 광생물반응기(PhotoBiobox, Shinhwa Science, Daejeon, Korea)를 이용하였다. 배양된 미세조류는 BG11 배지로 희석하여 OD₆₈₀ 0.5로 조절한 후, 24-well culture plate (Eppendorf, Hamburg, Germany)에 1.5 mL씩 접종하여 광도 75 ~ 750 μmol/m²/s, 온도 10°C ~ 35°C 범위에서 3일간 배양하였다. 배양 후 microplate absorbance reader (Multiskan GO Microplate Spectrophotometer, Thermo Scientific, Vantaa, Finland)를 이용하여 배양전과 후의 흡광도 값을 파장 680 nm에서 측정하여 생장의 변화를 비교하였다.

배지별 성장, 지방산 및 색소 생산량 평가

미세조류 성장배지에 따른 성장성과 지방산 및 색소의 함량 및 조성 변화를 평가하기 위해 BG11(Sigma-aldrich, St. Louis, USA), Bold's Basal Medium (BBM; Sigma-aldrich), f/2(Ausagua Pty Ltd, Wallaroo, Australia,) 3종류의 배지를 이용하여 배양하였다. 배양 조건은 고처리 광생물반응기를 통해 결정된 최적 배양조건인 온도 20±2°C, 광도 225 μmol/m²/s의 조건에서 0.5 L 원통형 광생물반응기를 이용하여 각각 배양하였다. 5%이산화탄소 가스를 반응기 하단부로부터 0.1 vvm속도로 공급하였다. 샘플은 24시간 간격으로 분광광도계(Perkin Elmer)를 이용한 680 nm에서 흡광도(O.D.₆₈₀)를 측정을 통해 생장을 분석하였다. 각 조건에서 10일 동안 배양한 뒤 배양액에서 세포만을 수집하여 지방산과 색소 분석을 수행하였다.

미세조류 구성 원소 분석

Mychonastes sp. 246 세포내 주요원소(탄소, 질소,

인) 함량분석을 위해 대수성장기(exponential growth phase)에서 배양액을 채취하여 2,000 x g에서 20분간 원심분리(Combi 515, Hanil, Incheon, Korea)를 통해 균체만을 회수하였다. 수확된 균체는 잔류 배지성분과 세포 조각(cell debris)을 제거하기 위해 증류수로 2회 세척한 뒤 원심분리하였다. 회수된 균체는 동결건조기(FD8512, lshinbiobase, Dongducheon, Korea)를 이용하여 분석시료를 준비하였다. 세포내 탄소와 질소함량은 원소 분석기(Elemental Analyzer, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA)를 이용하여 분석하였고, 인의 함량은 유도 결합 플라즈마 질량 분석기(ELAN6100, PerkinElmer, Waltham, USA)로 정밀하게 측정하였다[16].

N : P ratio 조절에 따른 성장, 지방산 및 색소 생산량 평가

N:P 조절에 따른 미세조류의 성장, 지방산, 색소의 함량 및 생산량 변화를 분석하기 위해 Table 1과 같이 BG11 배지를 제작하여 배양하였다. 45:1(N:P) 조건은 상용화 배지인 BG11을 사용하였으며, 미세조류 구성성분 분석을 통해 결정된 7:1(N:P) 조건은 BG11에서 K₂HPO₄ 168 mg/L를 첨가하여 배양하였다(MBG11; Table 1). 배양 조건은 고처리 광생물반응기를 통해 결정된 최적 배양조건인 온도 20±2°C, 광도 225 μmol/m²/s의 조건에서 배양하였으며, 배양 4일간 배양 후에 광의존적 성장(light-dependent growth)을 막고자 광도를 500 μmol/m²/s으로 높여 배양하였다. 5% 이산화탄소를 반응기 하단부로부터 0.1 vvm속도로 지속적으로 공급하였다. 미세조류 성장성 분석을 위해 배양액을 3~5 mL를 24시간 간격으로 채취하여 O.D.₆₈₀ 측정을 통해 평가하였다. 각 조건에서 10일 동안 배양한 뒤 배양액에서 세포만을 수집하여 지방산과 색소 분석을 수행하였다.

Table 1. Comparison of N:P ratio in BG11 and MBG11 for this study

N:P ratio	45:1(BG11)	7:1(MBG11)
N concentration (mg/L)	247	247
P concentration (mg/L)	5.4	35

미세조류 지방산 및 색소분석

미세조류 내 지방산 및 색소분석을 위해 미세조류 배양액을 2,000 x g에서 20분간 원심분리를 한 뒤 상등액을 제거하고 균체만을 회수하였다. 회수된 균체는 잔류 배지성분과 세포 조각(cell debris)을 제거하기 위해 증류수로 세척하였다. 이러한 과정을 2회 반복한 후 수거된 균체를 동결건조하였다.

미세조류 내 지방산의 함량과 조성을 분석하기 위해 동결건조된 균체 내 전이에스테르화법 (transesterification)으로 측정하였으며, fatty acid methyl ester(FAME) 양으로 나타내었다. FAME 함량과 조성은 n-hexane 추출을 통해 FAME를 수득하여, 이를 기체 크로마토그래프 (gas chromatograph; Acme 600 GC, Younglin, Seoul, Korea)를 이용해 분석하였다[15].

색소함량의 분석은 90% acetone (Sigma-aldrich)을 이용하여 색소를 추출한 후, high performance liquid chromatograph (HPLC; Agilent, Santa Clara, USA)를 사용하여 분석하였다. HPLC 분석은 Luna 3 µm C8(2) 100 Å 150 × 4.6 mm Analytical Column (Phenomenex, Torrance, USA)을 사용하였으며, 온도 45°C로 설정하여 분석을 진행하였다. 색소의 분석 용매는 100% methanol(A)를 사용하였으며, 15분간 5-35% A 용매, 5분간 35% A 용매, 15분간 35-60% A 용매, 10분간 60-100% A 용매, 10분간 100% A 용매로 용리하였다. 표준물질 β-carotene(Sigma-aldrich), lutein(Sigma-aldrich), zeaxanthin(Sigma-aldrich)의 정량곡선에 의해 미세조류 내 카로티노이드 함량을 측정하였다[17].

생장배지에 따른 미세조류 성장, 색소 및 지방산 분석

최적 성장배지를 탐색을 위해 담수 미세조류 배양에 널리 사용되는 BG11, BBM, f/2 배지를 이용하여 *Mychonastes* sp.를 10일간 원통형 광생물반응기를 이용하여 배양하였으며, 바이오매스, 색소, 지방산의 변화를 관찰하였다. 배양 10일 후에 얻은 바이오매스 농도는 BG11 배지에서 3.5 g/L, BBM 배지에서 3.0 g/L, f/2 배지에서 0.2 g/L로 바이오매스는 BG11 배지에서 가장 많이 생산되었음을 알 수 있었다. f/2 배지에서는 뚜렷한 세포의 생장이 일어나지 못해 균체의 농도가 낮아 지방산과 색소 분석은 진행하지 못했다(Figure 2).

결과 및 고찰

생장에 적합한 배양조건(광도, 온도) 탐색

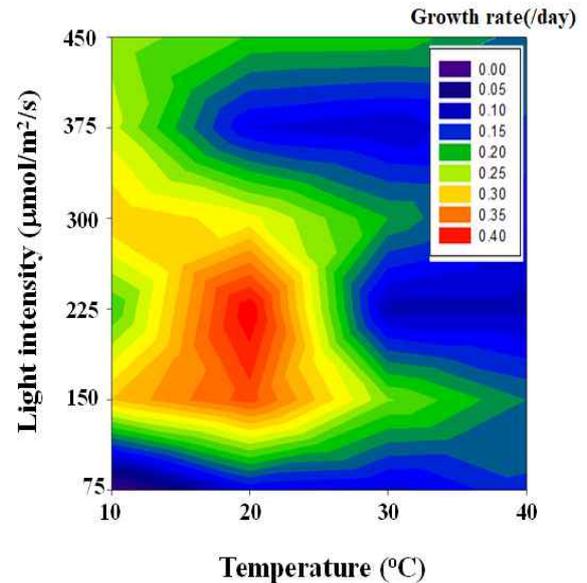


Figure 1. Growth profile of *Mychonastes* sp. 246 under various light intensity and temperature.

광도와 온도는 미세조류 배양시 가장 우선적으로 고려해야 할 환경인자이다. 국내 담수지역에서 분리된 미세조류 *Mychonastes* sp. 246의 생장에 적합한 온도 및 광도조건을 탐색하기 위해 고처리 광생물반응기를 이용하였다. Figure 1에 도시된 것처럼, *Mychonastes* sp. 246 생장에 적합한 온도와 광도는 18~22°C, 200~250 µmol/m²/s로 나타났으며, 고온과 고광도 조건에서는 생장이 저해되는 것으로 판단된다. 상기 실험에서 얻은 결과를 기초배양조건으로 실험을 진행하였다.

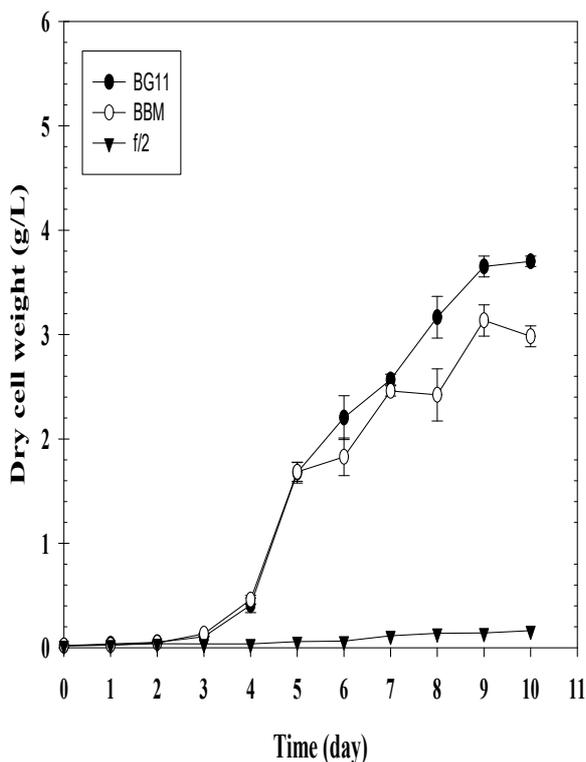


Figure 2. Effect of culture media on growth of *Mychonastes* sp. 246 in 0.5 L bubble column photobioreactors.

배지 별 최종 지방산 함량은 BG11 배지에서 $8.6 \pm 0.5\%$ 이며, BBM 배지에서는 $10.8 \pm 0.3\%$ 로 BBM 배지에서 가장 많은 함유량을 나타내었다(Figure 3). 이는 전술한 것처럼, BBM 배지 내 질소의 농도가 낮아 세포 분열을 통한 성장보다는 세포 내의 지방산 대사가 활발히 일어난 것으로 판단된다[11]. 주요한 지방산의 조성은 BG11 배지에서 palmitic acid (C16:0, 2.0%), oleic acid (C18:1, 1.5%), linolenic acid (C18:3, 1.0%) 순으로 많은 것으로 분석되었으며, BBM 배지에서는 oleic acid (C18:1, 4.01%), palmitic acid (C16:0, 3.06%) 순으로 많은 것으로 분석되었으나 oleic acid(C18:1)를 제외하면 전체적인 지방산 조성의 함량비에는 큰 차이가 없었다. Choi *et al.* [18]의 연구에 따르면 *Botryococcus brauni* 균주는 질소가 부족한 환경에서 oleic acid의 함량이 증가되었다고 보고하였으며, 이는 BBM 배지에서 배양한 *Mychonastes* sp. 246의 oleic acid의 함유량이 BG11 배지에서보다 증가하는 것과 일치한다.

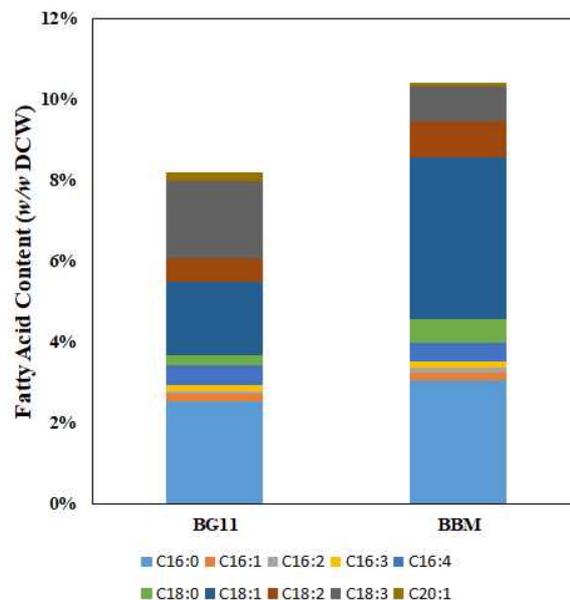


Figure 3. Profiles of fatty acid content and composition of *Mychonastes* sp. 246 cultivated in BG11 and BBM media.

또한 색소 분석 결과 *Mychonastes* sp.는 β -carotene, lutein, zeaxanthin의 3가지 종류의 카로티노이드를 함유하고 있는 것으로 나타났다. 특히 β -carotene, lutein은 $1,300\sim 1,400 \mu\text{g/g}$, $600\sim 700 \mu\text{g/g}$ 으로 높은 함량을 포함하고 있다. β -carotene과 lutein은 항산화 활성으로 인해 암세포의 성장과 노화를 억제하는 효과가 가지고 있다. *Mychonastes* sp.의 β -carotene의 함유량은 *Chlorella vulgaris*의 함유량($258 \pm 20 \mu\text{g/g}$)보다 약 4.5배 이상 높다[19]. 성장 배지의 차이에 의해 함량은 다소 차이가 있지만 총 카로티노이드 종류와 비율은 비슷한 것으로 보인다(Table 2).

종합적으로 고려하였을 때, 미세조류의 지방산 생산 증대는 BBM 배지가 효과적이며, 바이오매스와 카로티노이드 생산성 증대는 BG11 배지가 효과적인 것으로 판단된다. BBM 배지의 경우에는 무기인의 함량(53.2 mgP/L)은 상대적으로 풍부하나 질소의 함량(41.2 mgN/L)은 낮기 때문이다[20]. 그러나 전체적인 바이오매스와 유용물질(지방산, 색소)의 생산성 증대를 위해서는 세포내 함량보다 전체의 생산량을 향상시켜 생산성일 높이는 방법이 효과적일 것이다. 따라서 BG11 배지를 *Mychonastes* sp.의 성장에 적합한 배지로 선정하였으며, 배지 내 주요한 조성 변화를 통해 생산성 향상을 시도하였다.

Table 2. Carotenoid profiles of *Mychonastes* sp. 246 cultivated under different media

Media	Carotenoid content (µg/g)		
	β-carotene	Lutein	Zeaxanthin
BG11	1,351 ± 5	714 ± 7	33 ± 1
BBM	1,425 ± 17	602 ± 7	39 ± 2

배지 N와 P 비율조절에 따른 미세조류 성장, 색소 및 지방산 생산 변화

질소는 미세 조류 성장에 있어 주요 성분으로서, 단백질과 탄수화물 같은 세포 구조에 필요한 합성에 필요한 성분이다. 인 성분은 미세조류에서 1% 이하로 미량 함유하고 있으나, 미세조류 대사에 중요한 세포분열, 생체에너지 생산 등 다양한 생합성과 반응에 필수적인 요소이다. 이러한 질소와 인과 같은 주요 영양성분의 적절한 공급 및 전략적인 조절을 통해 미세조류의 바이오매스 성장 증대뿐만 아니라, 색소나 지방산과 같은 유용물질의 함량과 생산성을 증가시킬 수 있다.

본 실험에서는 이전 실험에서 선정된 BG11 배지 내의 질소와 인의 함량 및 비율변화를 통해 미세조류 성장을 증대하고자 하였다. BG11 배지는 무기질소의 함유량은 247 mg/L로 높으나 무기인의 함량(5.4 mg/L)이 상대적으로 낮아 빠르게 성장하는 미세조류 배양에는 무기인의 함량이 성장의 제한인자로 작용할 수 있다. 따라서 미세조류 구성성분에 탄소를 제외한 가장 높은 비율을 차지하는 질소와 인의 배지 내 비율을 적절히 조정하는 것이 필요하다.

Table 3. Elemental composition of *Mychonastes* sp. 246

Element	Ratio (%)
Carbon	51.1
Nitrogen	8.3
Phosphorus	1.2

본 실험에서는 배지의 질소와 인의 비율은 *Mychonastes* sp. 세포 내 질소와 인의 함량을 기준으로 조정하였다. *Mychonastes* sp.내 주요원소인 탄소(C), 질소(N), 인(P)의 함량은 Table 3에서 보는 것과 같이 51.1:8.3:1.2으로 확인되었다. 이는 Red field[21]가 보고한 미세조류의 세포의 평균 성분비(42:7:1)와 *Chlorella vulgaris*의 8:1(N:P) 비율과 유사하다[22]. *Mychonastes* sp.를 두 배지를 이용하여 총 10일간 배양하였다. 두 배지에서 자란 미세조류는 배양 4일까지는 유사한 성장속도를 나타내었으나, 이후에는 배양속도 차이가 확연히 나타났다. 최종 농도는 BG11 배지에서는 3.3 g/L, MBG11 배지에서는 4.6 g/L를 얻었다. 이는 단순히 배지 내 질소와 인의 비율조정을 통해 40%의 바이오매스 생산성을 증가시킬 수 있었다(Figure 4).

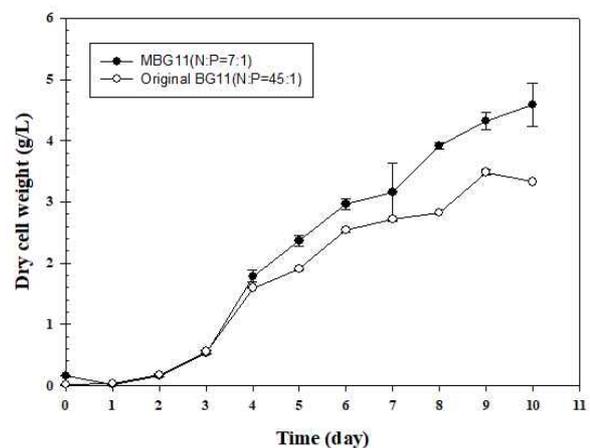


Figure 4. Time profiles of *Mychonastes* sp. 246 growths cultivated in original BG11 and N and P adjusted modified BG11(MBG).

지방산의 함량과 조성의 경우, BG11 배지에서는 9.1±0.3%였으며, MBG11 배지에서는 8.4±0.2%로 다소 차이는 있었으나 두 배지 모두 조성상의 큰 변화는 관찰되지 않았다. 특히적으로 oleic acid (C18:1)의 경우 BG11 배지에서는 2.13%였으며, MBG11 배지는 1.31%로 차이가 있었다. 이전 실험과 같이 주요한 지방산은 palmitic acid(C16:0), linolenic acid(C18:3), oleic acid(C18:1) 순으로 많았다(Figure 5).

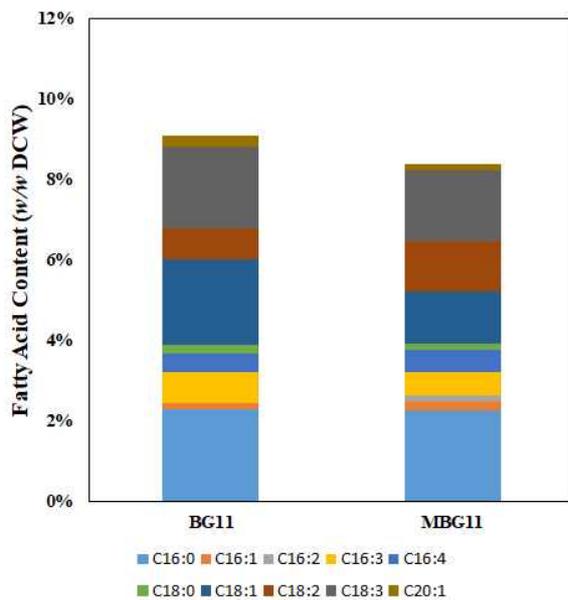


Figure 5. Profiles of fatty acid content and composition of *Mychonastes* sp. 246 cultivated in BG11 and MBG11.

Table 4에서 보는 것과 같이 두 배지에서 성장한 미세조류에 대한 색소분석을 실시하였다. 두 배지 모두 카로티노이드 조성에는 차이가 없었고 이전 실험 결과와 동일하였다. 함량의 경우 MBG11 배지에서 zeaxanthin의 함량이 대조군에 비해 절반정도로 낮은 것을 확인하였는데 이는 상술한 한 것처럼 주요한 배지성분인 질소와 인의 비율변화에 기인한 것으로 판단된다.

Table 4. Carotenoid profiles of *Mychonastes* sp. 246 cultivated in BG11 and MBG11

Media	Carotenoid content (µg/g)		
	β-carotene	Lutein	Zeaxanthin
BG11	1,408 ± 21	735 ± 21	30 ± 3
MBG	1,348 ± 18	699 ± 18	14 ± 1

결론

본 연구에서는 국내 담수환경에서 분리한 *Mychonastes* sp. 246의 성장조건 탐색하여 대량증식의 가능성과 및 세포내 유용물질에 대해 평가하고자

하였다. 미세조류 성장에 중요한 환경인자인 온도와 광도에 따른 성장성을 분석하였으며, 성장에 적합한 배지를 선정하였다. 또한 미세조류 성장성 및 유용성분의 함량을 증대하기 위해 세포내 원소함량에 근거로 배지 내 질소와 인의 함량을 조절한 배지를 개발하였다. 본 연구결과에서 단순한 조성 변화를 통해 성장성을 40% 증가시켰고, 유용물질인 지방산과 카로티노이드 생산성도 증가시킬 수 있었다. 본 연구결과는 신규 분리된 미세조류의 배양조건을 확립하고 성장성 및 유용물질 생산을 증대시키는데 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

이 연구는 환경부의 재원으로 국립낙동강생물자원관에서 지원을 받아 수행된 연구입니다 (NNIBR202202109).

References

- Benemann, J. R. 1997. CO₂ mitigation with microalgae systems. *Energ. Convers. Manage.* **38**, S475-S479.
- Wang, B., Y. Li, N. Wu, CQ, Lan. 2008. CO₂ bio-mitigation on using microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **79**, 707-718.
- Joe, H., D.-H. Kim, D.-S. Choi, and S. Bai. 2018. Optimization of phototrophic growth and lipid production of a newly isolated microalga, *Desmodesmus* sp. *KAERI-NJ 5. Microbiol. Biotechnol. Lett.* **46**, 377-389.
- Mahdieh, M., S. Shabani, and M. R. Amirjani. 2019. Characterization of the growth, total lipid and fatty acid profiles in microalga, *Nannochloropsis oceanica* under different nitrogen sources. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **47**, 11-19.
- Park, H., D. Hoh, D.-W. Shin, Z.-H. Kim, S.-J. Hong, S.-M. Lim, and C.-G. Lee. 2019. Isolation and characterization of five isolates of *Tetraselmis* sp. with rapid growth rates in low temperatures. *J. Mar. Biosci. Biotechnol.* **11**, 23-28.
- Baer, S., M. Heining, P. Schwerna, R. Buchholz, and H. Hübner. 2016. Optimization of spectral light quality for growth and product formation in different microalgae

- ng a continuous photobioreactor. *Algal Res.* **14**, 109-115.
7. Shin, D.-W., J.-H. Bae, Y. Cho, Y.-J. Ryu, Z.-H. Kim, S.-M. Lim, and C.-G. Lee. 2016. Isolation of new microalga, *Tetraselmis* sp. KCTC12236BP, and biodiesel production using its biomass. *J. Mar. Biosci. Biotechnol.* **8**, 39-44.
 8. Carvalho, A. P. and F. X. Malcata. 2000. Effect of culture media on production of polyunsaturated fatty acids by *Pavlova lutheri*. *Cryptogram. Algal.* **21**, 59-71.
 9. Harun, R., M. Singh, G. M. Forde, and M. K. Danquah. 2010. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **14**, 1037-1047.
 10. Seo, Y.-B. and G.-D. Kim. 2017. Microbial production of carotenoids: biological functions and commercial applications. *J. Life Sci.* **27**, 726-737.
 11. Van Vooren, G., F. L. Grand, J. Legrand, S. Cuiné, G. Peltier, and J. Pruvost. 2012. Investigation of fatty acids accumulation in *Nannochloropsis oculata* for biodiesel application. *Bioresour. Technol.* **124**, 421-432.
 12. Yaakob, M. A., R. M. S. R. Mohamed, A. Al-Gheethi, R. A. Gokare, and R. R. Ambati. 2021. Influence of nitrogen and phosphorus on microalgal growth, biomass, lipid, and fatty acid production: an overview. *Cells*, **10**, 393.
 13. Zhao, Y., Y. Hou, W. Chai, Z. Liu, X. Wang, C. He, Z. Hu, S. Chen, W. Wang, and F. Chen. 2020. Transcriptome analysis of *Haematococcus pluvialis* of multiple defensive systems against nitrogen starvation. *Enzyme Microb. Technol.* **134**, 109487.
 14. Satpati, G. G., P. C. Gorain, and R. Pal. 2016. Efficacy of EDTA and phosphorous on biomass yield and total lipid accumulation in two green microalgae with special emphasis on neutral lipid detection by flow cytometry. *Adv. Behav. Biol.* 2016.
 15. Yim, K.-J., H. Park, C.-S. Lee, B.-Y. Jo, S. W. Nam, C.-G. Lee, and Z.-H. Kim. 2019. Effects of nitrogen and phosphorus starvation on growth and fatty acid production in newly isolated two freshwater green microalgae from Nakdonggang River. *J. Mar. Biosci. Biotechnol.* **11**, 81-88.
 16. Kim, Z.-H., H. Park, Y.-J. Ryu, D.-W. Shin, S.-J. Hong, H.-L. Tran, S.-M. Lim, and C.-G. Lee. 2015. Algal biomass and biodiesel production by utilizing the nutrients dissolved in seawater using semi-permeable membrane photobioreactors. *J. Appl. Phycol.* **27**, 1763-1773.
 17. Jang, H.-J., K.-J. Yim, B.-Y. Jo, S. W. Nam, Y.-H. Nam, B.-S. Hwang, C.-S. Lee, J.-Y. Jung, S.-H. Woo, S. Lee, E. Hong, and Z.-H. Kim. 2021. Antioxidant and anticancer activities of methanolic extracts from indigenous freshwater green microalgae. *KSBB. J.* **36**, 154-164.
 18. Choi, G.-G., Kim, B.-H., Ahn, C.-Y., and Oh, H.-M. 2011. Effect of nitrogen limitation on oleic acid biosynthesis in *Botryococcus braunii*. *J. Appl. Phycol.* **6**, 1031-1037.
 19. Şahin, S., N. T. B. M. Nasir, İ. Erken, Z. E. Çakmak, and T. Çakmak. 2019. Antioxidant composite films with chitosan and carotenoid extract from *Chlorella vulgaris*: optimization of ultrasonic-assisted extraction of carotenoids and surface characterization of chitosan films. *Mater. Res. Express.* **6**, 095404.
 20. Park, H., K.-J. Yim, J.-H. Min, S.-M. Kang, C.-W. Han, C.-S. Lee, J.-Y. Jung, S.-J. Hong, C.-G. Lee, and Z.-H. Kim. 2020. Investigation on media composition for cultivation of a newly isolated freshwater microalga *Parachlorella* sp. to enhance fatty acid productivity. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **48**, 328-336.
 21. Redfield, A. C. 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *Am. Sci.* **46**, 221-230.
 22. Kapdan, I. K., and S. Aslan. 2008. Application of the Stover-Kincannon kinetic model to nitrogen removal by *Chlorella vulgaris* in a continuously operated immobilized photobioreactor system. *J. Chem. Technol. Biot.* **83**, 998-1005.