

<https://doi.org/10.15433/ksmb.2023.15.2.082>

ISSN 2383-5400 (Online)

## *Chlamydomonas reinhardtii* dZL 균주의 광도가 세포 성장과 카로티노이드 생산량에 미치는 영향 연구

### Effect of Light Intensity on Cell Growth and Carotenoids Production in *Chlamydomonas reinhardtii* dZL

홍성주<sup>1,2</sup>, 김현우<sup>2</sup>, 민지호<sup>1,2</sup>, 박한울<sup>2</sup>, 김지훈<sup>3</sup>, 이창수<sup>4</sup>, 진언선<sup>5</sup>, 이철균<sup>1,2\*</sup>Seong-Joo Hong<sup>1,2</sup>, Hyunwoo Kim<sup>2</sup>, Jiho Min<sup>1,2</sup>, Hanwool Park<sup>2</sup>, Z-Hun Kim<sup>3</sup>, Chang Soo Lee<sup>4</sup>, Eonseon Jin<sup>5</sup>, and Choul-Gyun Lee<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>인하대학교 산학융합 인터랙티브 바이오공정 혁신 교육연구단, 인천, 22212, 대한민국<sup>2</sup>인하대학교 생명공학과, 인천, 22212, 대한민국<sup>3</sup>휴에버그린팜, 인천광역시, 21447, 대한민국<sup>4</sup>국립낙동강생물자원관 미생물연구실, 상주, 경상북도, 37242, 대한민국<sup>5</sup>한양대학교 생명과학과, 서울, 04763, 대한민국<sup>1</sup>Industry-Academia Interactive R&E Center for Bioprocess Innovation, Inha University, Incheon 22212, Republic of Korea<sup>2</sup>Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon 22212, Republic of Korea<sup>3</sup>Huevergreenpharm Inc., Incheon, 21447, Korea<sup>4</sup>Microbial Research Department, Nakdonggang National Institute of Biological Resources, Sangju 37242, Republic of Korea<sup>5</sup>Department of Life Science, Hanyang University, Seoul 04763, Korea

(Received 8 Aug 2023, Revised 23 Oct 2023, Accepted 22 Nov 2023)

**Abstract** Microalgae, as photosynthetic organisms, possess the ability to produce a diverse array of bioactive compounds. This study focused on the transformant *Chlamydomonas reinhardtii* dZL and subjected it to cultivation under varying light intensities (60, 120, 180, and 240  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ). Our aim was to assess the impact of light intensity on both microalgal biomass and carotenoid production. The cultivation took place in 80 mL bubble column photobioreactors, specifically the Multi-cultivator. Notably, the culture exposed to 240  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  exhibited the most rapid cell growth, surpassing even the cell concentration achieved at 180  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  by day 8. A detailed analysis of the specific irradiance rate over time unequivocally revealed a sharp decline in growth rates when the rate fell below  $2 \times 10^{-10}$   $\mu\text{mol}/\text{cell}/\text{s}$ . Although the culture with 60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  yielded the highest carotenoid content (1.2% of dry weight), the culture exposed to 240  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  recorded the highest carotenoid concentration at 8.9 mg/L owing to its higher biomass. Our findings reveal the critical importance of maintaining a specific irradiance rate above  $2 \times 10^{-10}$   $\mu\text{mol}/\text{cell}/\text{s}$  to enhance biomass and carotenoid productivity. This study lays the groundwork for defining optimal light intensity conditions applicable to mass culture systems, with the objective of augmenting *C. reinhardtii* biomass and optimizing carotenoid productivity.

**Keywords :** microalgae, *Chlamydomonas reinhardtii*, light intensity, carotenoids

## 서 론

미세조류는 광합성 과정을 통해 빛에너지를 이용하여 이산화탄소를 화학적 에너지로 변환할 뿐만 아

\* Corresponding author

Phone: +82-32-860-8997 Fax: +82-32-860-7726

E-mail: leecg@inha.ac.kr

This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License

[\(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/\)](http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

나라 산소를 생성하는 친환경 생물자원이다. 미세조류는 바이오디젤의 전구체인 지질을 다량 함유하고 있어 잠재적인 바이오연료 생산자로도 큰 주목을 받고 있다. 또한 미세조류 바이오매스 내에는 단백질, 비타민, 카로티노이드(carotenoid), 불포화지방산과 다양한 미네랄이 함유되어 있어 건강보조식품은 물론 의약품, 화장품의 원료로 널리 활용되고 있다 [1-3].

카로티노이드는 노란색, 주황색 또는 빨간색을 띠는 천연색소로 조류와 식물로부터 합성된다[4,5]. 루테인(lutein)과 같은 1차 카로티노이드는 확장된 광 흡수 스펙트럼을 제공하며 흡수된 에너지를 엽록소로 전달하는 역할을 한다. 2차 카로티노이드는 광합성 대사에 과잉으로 공급되는 빛에너지를 흡수하여 소멸시킴으로써 광합성 기작을 보호하는 기능을 가지고 있다[6]. 이러한 카로티노이드는 강력한 항산화력을 가지고 있어 활성 산소(reactive oxygen species)로부터 세포를 보호할 뿐만 아니라 지질 과산화(lipid peroxidation)를 방지하여 광합성 기구들을 안정적으로 유지하는 데 기여한다[7]. 이와 같은 항산화 특성은 노화, 중양, 자가면역반응 등의 질환으로부터 인체를 보호해 주는 역할을 한다[8,9]. 천연제품을 선호하는 소비 심리로 인해 다양한 형태의 카로티노이드 생산이 가능한 미세조류가 주목받고 있다.

미세조류로부터 카로티노이드 생산은 양분, 광도, 혼합조건 등과 같은 성장 환경에 큰 영향을 받는다 [10]. 특히, 광도는 광독립영양 조건에서 미세조류 균체뿐만 아니라 카로티노이드 생산성 향상에 핵심 요인으로 알려져 있다[11]. 미세조류의 성장에 빛이 미치는 영향은 광응답 곡선(light response curve)을 통해 확인할 수 있다[12]. 빛이 충분히 공급되지 못하는 조건에서는 광합성 속도는 공급되는 광도에 비례하는 선형 의존성을 나타낸다. 광포화(saturated light intensity) 조건에서 미세조류는 최대 광합성 속도를 나타내며, 광합성 속도는 암반응에 의존적이다 [13]. 이보다 더 광조건에서는 광억제 현상을 유발하여 광합성 속도가 감소하고 잉여에너지를 열로 소산(heat dissipation)하게 된다[6]. 미세조류는 광도 변화에 대처하기 위해 광순응 기작을 가지고 있다. 낮은 광도에서는 엽록소의 양, 즉, 광자 수확 능력을 증가

시키고, 높은 광도에서는 과도한 에너지 수확으로 인한 광합성 기구 손상을 막기 위해 엽록소 수치를 감소시킨다[12]. 또한 높은 광도에서는 전술한 바와 같이 광합성 기구를 보호하기 위해 세포 내 2차 카로티노이드 함량이 증가하게 된다[6]. 따라서 미세조류 성장과 카로티노이드 생산성 향상을 위해서는 반드시 적절한 광 조사 전략이 필요하다.

미세조류로부터 유용 물질을 생산하기 위해 최적의 광 조사 방법에 대한 다양한 연구가 보고되었다. 예를 들어, Imaizumi 연구팀은 *Chlorella zofingensis*의 성장속도를 높이고자 다양한 광도에서 성장성을 관찰하였고, 250-1,000  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 최고의 비성장 속도(specific growth rate)가 나타나는 것을 확인하였다[14]. Yoon *et al.*의 연구에서는 *Anabaena variabilis*의 건조중량 당 받는 광량을 11.5  $\mu\text{mol}/\text{s}$ 로 조절하여 0.98 g/L/day의 건조 세포 생산성을 확보할 수 있었다[15]. 이와 같이 미세조류 성장에 적합한 광도는 종에 따라 요구도가 다르게 나타난다. 이는 미세조류 종에 따라 고유의 광합성 색소의 흡수 능력, 세포에 물리적 특성(크기나 형태)에 따라 음영 효과 및 세포의 광산란에 영향을 받기 때문이다[16,17]. 따라서, 효과적으로 광생물반응기를 이용하여 최적의 균체 생산성을 확보하고 광에너지 효율성을 높이기 위해서는 최적의 광자요구량을 산출할 필요가 있다.

*Chlamydomonas. reinhardtii* dZL은 1차 카로티노이드 생산경로와 제아잔틴에서 안테라잔틴을 합성하는 경로를 차단한 형질전환체로 베타카로틴과 제아잔틴으로 구성된 2차 카로티노이드만 생산가능한 균주이다[18]. 본 연구는 *Chlamydomonas. reinhardtii* dZL에 대해 다양한 광도 조건에서 미세조류의 성장성을 조사하고, 카로티노이드 함량에 미치는 영향을 확인하였다. 또한 비조사속도를 통해 세포당 이용 가능한 광량을 분석하여 세포량 증대와 카로티노이드 생산성을 향상시키고, 고농도 배양을 위한 광도 조건의 기초자료를 확보하고자 하였다.

## 재료 및 방법

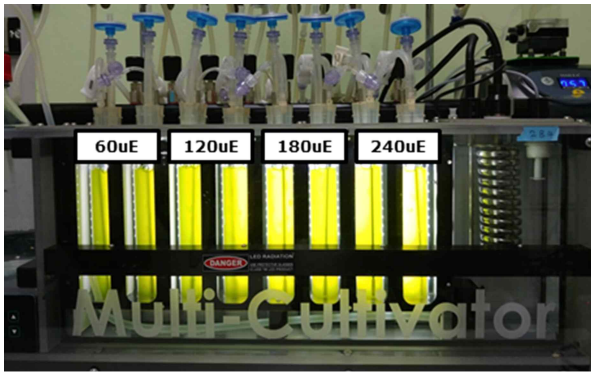
### 1. 미세조류 균주 및 계대배양

본 연구에 사용된 미세조류는 한양대학교 진언선 교수 연구팀으로부터 유전체 편집 기술로 lycopene

epsilon cyclase와 zeaxanthin epoxidase 유전자가 knock-out된 *Chlamydomonas reinhardtii* dZL 균주를 제공받아 실험을 수행하였다[18]. *C. reinhardtii* dZL 은 이전에 보고된 바와 같이 100 mL의 TAP배지가 담긴 250 mL 삼각플라스틱에서 배양하였다[19]. 삼각플라스틱은 진탕배양기(VS-8480SF, Vision Scientific Co., Ltd., Daejeon, Korea)에서 형광등을 이용하여 24시간 연속적으로 50 μmol/m<sup>2</sup>/s의 광도를 조사하였으며, 120 rpm의 교반속도와 20°C의 온도를 유지하였다. 돌연변이 특성을 유지하기 위해 배양액에 25 μg/mL hygromycin을 첨가해주었다.

이용하였다. 각각의 반응기에는 hygromycin과 무기탄소원인 20 mg/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>가 추가된 80 mL TAP배지로 배양을 실시하였다. 배양 온도는 온도 조절이 가능한 수조를 이용하여 20°C를 유지하였다(Figure 1). 폭기는 공기펌프를 이용하여 0.1 vvm으로 습윤한 공기를 공급하였다. 광도 조건은 cool white (CW5700K) LED array를 이용하여 60, 120, 180, 240 μmol/m<sup>2</sup>/s의 광도를 연속적으로 공급하였다(n=2). 실험 결과는 평균값과 표준편차를 오차범위로 표기하였다.

(A)



(B)

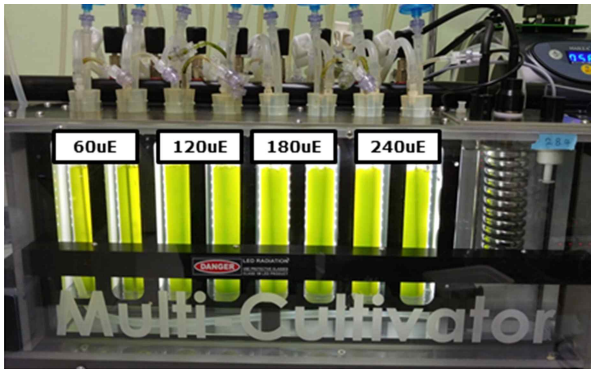


Figure 1. Multi-cultivator systems for algal cultivation under various light intensities (A) at day 0, (B) at day 8.

## 2. 광도실험 배양조건

광도에 따른 세포 성장성과 총 카로티노이드 생산성의 확인하기 위해 100 mL(운전 부피 80 mL)의 원통형 광생물반응기가 8개로 구성된 다중 배양기 (Multi-cultivator; MC1000-OD, PSI, Drasov, Czech)를

## 3. 광도실험 배양조건

미세조류 성장성을 확인하기 위해 Coulter Counter (Multisizer 4e, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA)를 이용하여 세포 농도와 부피를 측정하였다. 세포 농도(cells/mL)를 통해 세포의 성장성을 확인하였고, 이를 바탕으로 비성장속도(/day)를 식(1)과 같이 계산하였다.

$$\mu = \frac{\ln(X_2) - \ln(X_1)}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

μ는 비성장속도(/day), X<sub>1</sub>과 X<sub>2</sub>는 t<sub>1</sub>과 t<sub>2</sub> 배양 시점의 세포 농도를 뜻한다. 여기서 t<sub>1</sub>과 t<sub>2</sub>는 가장 성장속도가 빠른 기간인 0일과 2일로 선정하였다.

총 카로티노이드의 함유량을 계산하기 위해 필요한 건조중량은 Coulter counter로 측정한 세포 농도와 부피를 이용하였다. 생체중량(fresh cell weight)을 측정한 후, 생체중량과 건조중량(dry cell weight) 비가 3.34:1로 측정되어 이를 이용해 건조중량을 환산하였다[20].

## 4. 비조사속도 분석

세포의 광효율성을 평가하기 위해 비조사속도 (specific irradiance rate, μmol/cell/s)을 계산하였다 [21]. 비조사속도는 식(2)와 같이 시간에 따라 단위 세포당 이용 가능한 광량으로 정의하였다. 광도는 다중 배양기 시스템의 각 튜브에 조사한 광도 조건을 뜻하며, 세포 농도는 샘플링 일자에 따라 측정한 세포 농도를 적용하였다. 부피는 배양액의 부피이

며, 넓이는 광도가 조사되는 배양기의 단면적을 의미한다. 시간이 지남에 따라 세포 농도가 증가하면서 세포 하나당 받는 광량이 적어지는 것을 비조사 속도로 나타내고자 하였다. 비조사속도의 값이 높을수록 세포당 이용 가능한 광량이 높아 광효율이 높음을 의미한다.

$$\text{Specific irradiance rate } (\mu\text{mol/cell/s}) = \frac{\text{Light intensity } (\mu\text{mol/m}^2/\text{s}) \times \text{Volume}(\text{m}^3)}{\text{Area}(\text{m}^2) \times \text{Cell concentration} (\text{cells/m}^3)} \quad (2)$$

### 5. 총 카로티노이드 생산량 분석

미세조류의 총 카로티노이드 함량을 측정하기 위해 *C. reinhardtii* 세포를 원심분리 후 상등액을 제거하고 남은 세포에 100% 아세톤을 첨가하여 카로티노이드를 추출하였다. 상등액의 흡광도는 분광광도계(UV-1800, Shimazu, Kyoto, Japan)로 측정된 후 기준에 발표된 식(3-5)에 따라 계산하였다[22].

$$C_a = 11.24A_{661.6} - 2.04A_{644.8} \quad (3)$$

$$C_b = 20.13A_{644.8} - 4.19A_{661.6} \quad (4)$$

$$C_{x+c} = 1000A_{470} - 1.90C_a - 63.14C_b \quad (5)$$

$C_a$ 와  $C_b$ 는 각각 Chlorophyll *a*와 Chlorophyll *b*를 뜻하며,  $C_{x+c}$ 는 총 카로티노이드 농도를 나타낸다.

### 결과 및 고찰

*C. reinhardtii* dZL 균주의 카로티노이드 생산량을 높이기 위해 다양한 광도를 조사하여 세포 성장성 및 총 카로티노이드 함유량을 비교하였다. *C. reinhardtii* dZL의 selection pressure인 hygromycin을 사용하여 8일간 배양을 진행하였다.

*C. reinhardtii* dZL 균주의 세포 농도는 Figure 2와 같이 광도가 높아질수록 증가하는 모습을 나타냈다. 가장 높은 광도인 240  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 8일째에  $3.8 \times 10^7$  cells/mL로 가장 빠른 세포 성장성을 나타냈다. 그 다음으로 180과 120  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 각각  $3.7 \times 10^7$  cells/mL와  $3.1 \times 10^7$  cells/mL로 성장했으며, 60  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서  $1.0 \times 10^7$  cells/mL로 가장 낮은 세포 농도를 나타냈다. 고광도인 240  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 는 3일째

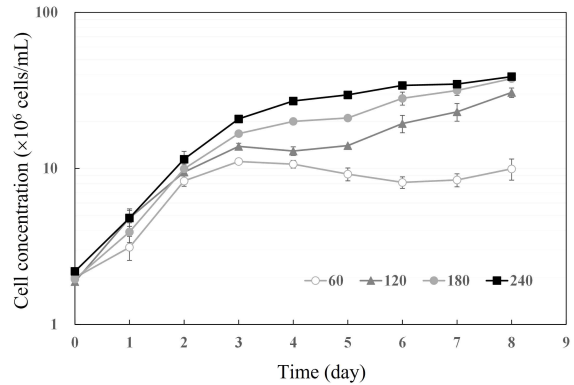


Figure 2. Changes in cell concentration of *C. reinhardtii* grown at various light intensities (60, 120, 180, and 240  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ ).

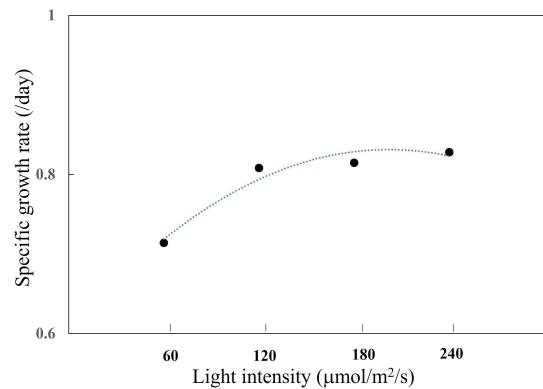


Figure 3. Comparison of specific growth rate (/day) under various light intensities (60, 120, 180, and 240  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ ).

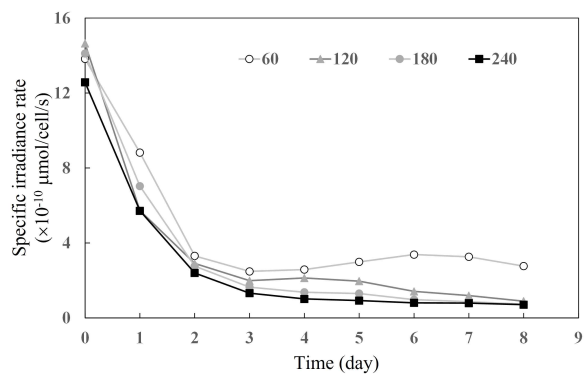


Figure 4. Changes in the specific irradiance rate ( $\times 10^{-10}$   $\mu\text{mol/cell/s}$ ) under various light intensities (60, 120, 180 and 240  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ ).

$2.0 \times 10^7$  cells/mL의 세포 농도에서 선형적으로 성장하기 시작하였다. 180  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 의 조건 또한 3일째에 광량이 부족한 선형적인 성장 형태를 나타내며 8일째 240  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 과 유사한 세포 농도를 나타냈다. 120과 60  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 의 조건은 2일 이후 광량이 부족한 성장형태를 보였으나, 120  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 은 꾸준

히 성장성을 나타냈고, 60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 은  $1 \times 10^7$  cells/mL에서 더 이상 성장하지 못하였다. 세포 농도를 이용하여 계산한 *C. reinhardtii* dZL 균주의 비성장속도는 Figure 3과 같이 나타난다. 60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 은 다른 조건에 비해 낮은 성장속도를 나타냈지만, 120  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  이상에서는 차이가 크게 나타나지 않았다. 따라서, 2일차에 60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 조건에서 광도가 제한인자로 작용하여 성장속도가 느려지는 것으로 판단된다.

세포 당 이용 가능한 광량을 확인하기 위해 Figure 4와 같이 비조사속도를 계산하여 각 광도 별로 비교하였다. 세포 농도가 높아지게 되면 광원에 가까운 세포들의 그림자에 의해 광원으로부터 멀리 있는 세포들은 받을 수 있는 빛에너지가 적어지면서 전술한 바와 같이 공급되는 광도에 의존적인 생장이 나타나게 된다. 이러한 현상은 미세조류 간 상호간섭효과 (mutual shading)로 광원과 멀리 떨어진 세포는 충분한 광자를 받지 못해 광합성 효율이 낮아지는 데 기인한다[23]. 소규모 실험에서는 배양기의 두께가 얇기 때문에 상대적으로 상호간섭효과의 영향이 적으나, 대규모 반응기의 경우 배양기의 두께가 증가하기 때문에 상호간섭효과의 영향을 많이 받는다. 따라서 빛의 짧은 투과 길이를 극복하기 위해서 배양기 안쪽 영역과 광원 사이의 거리를 가능한 한 줄여야 한다[24]. 미세조류의 대규모 배양을 위해 단위 체적당 표면적의 비율이 높은 평판형 반응기가 주목받고 있다[25]. 최근에는 반응기 내부의 불균형적인 광분포를 조절하기 위해 반응기 내부에 조명을 넣어 반응기 규모가 확대되더라도 세포에 일정한 빛에너지가 전달되도록 내부조명 광생물반응기가 개발되었다[26]. 따라서, 비조사속도를 계산하여 상호간섭효과가 일어나지 않도록 평판형 반응기 또는 내부조명 광생물반응기 등을 이용하여 세포 당 받는 광량을 조절해야 한다.

Figure 4와 같이 비조사속도는 120  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  이상의 광도에서는  $2.0 \times 10^{-10}$   $\mu\text{mol}/\text{cell}/\text{s}$  이하가 되면 세포 성장 지연이 일어나는 것을 볼 수 있다. 60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서의 세포 당 이용 가능한 광에너지는 다른 광도 조건보다 높은  $4.0 \times 10^{-10}$   $\mu\text{mol}/\text{cell}/\text{s}$  부근에서 효율이 낮아지는 것을 알 수 있다. 따라서 대규모 배양시 상호간섭효과를 피하기 위해 저광도의 경우  $4.0 \times 10^{-10}$   $\mu\text{mol}/\text{cell}/\text{s}$ 로, 고광도의 경우  $2.0 \times 10^{-10}$   $\mu$

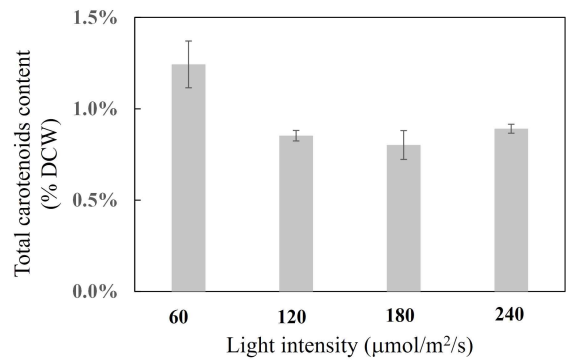


Figure 5. Total carotenoid content (% dry cell weight).

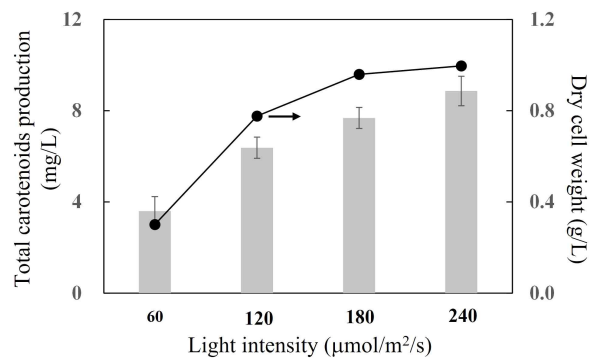


Figure 6. Total carotenoid production (mg/L) and dry cell weight (g/L).

mol/cell/s이 되도록 광에너지를 조절해야 하는 것을 확인할 수 있었다. 빛의 강도는 미세조류가 최적으로 성장할 수 있도록 유지되어야 한다. 적은 양의 빛은 광합성의 제한요소로 작용하여 세포 성장을 지연시키고, 과도한 빛은 광억제로 인해 발생된 광산화 과정에 의해 세포 손상이 유발된다[27]. 이를 해결하면서 배양 규모를 확대하기 위해 세포 당 받는 광량이 균일하도록 광도를 세포 성장에 따라 지속적으로 변경해주는 루모스탯(lumostat) 형태의 배양 공정이 알려져 있다 [28]. *C. reinhardtii* dZL 균주 배양의 스케일업을 위해서는 고광도에서  $2.0 \times 10^{-10}$   $\mu\text{mol}/\text{cell}/\text{s}$  이상 유지하기 위한 루모스탯 배양 공정이 필요할 것으로 판단된다. 기존 연구에서 *Haematococcus pluvialis*의 루모스탯 배양을 위해 필요한 광에너지는  $3.0 \times 10^{-8}$   $\mu\text{mol}/\text{cell}/\text{s}$ 로 본 연구의  $2.0 \times 10^{-8}$   $\mu\text{mol}/\text{cell}/\text{s}$ 보다 높게 나타났다[28]. 세포 당 흡수하는 에너지량은 바이오매스에 의존적이며, 바이오매스는 세포 농도와 크기, 밀도로 나타낼 수 있다[29]. *C. reinhardtii* dZL과 *H. pluvialis*의 크기는 각각 9~12  $\mu\text{m}$ 와 18~40  $\mu\text{m}$ 로, *C. reinhardtii* dZL과 *H.*

*pluvialis*의 세포 크기 차이가 바이오매스에 영향을 미쳐 세포 당 이용 가능한 광에너지량의 차이를 나타내는 것으로 보인다[30,31].

다양한 광도 조건 아래에 있는 세포를 8일째에 수거하여 총 카로티노이드 생산량과 함유량을 측정하였다. 건조중량 당 총 카로티노이드 함량은  $60 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 1.2%로 높게 나타났고, 120과 180, 240  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 의 광도에서는 각각 0.85%와 0.80%, 0.89%로 유사한 함유량을 나타냈다(Figure 5). 이전 연구에서 발표된 *Chlamydomonas* 야생형의 광도 실험에서도 확인할 수 있듯이 총 카로티노이드의 함량은 고광도인  $200 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 보다 저광도인  $30 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 높은 총 카로티노이드 함유량을 나타냈다[32]. *C. reinhardtii* dZL 균주는 저광도에서 생산되는 1차 카로티노이드의 생산경로를 차단하였음에도 불구하고 야생형 균주와 같이 총 카로티노이드 함량이 증가되는 모습을 나타냈다. *C. reinhardtii* dZL 균주는 1차 카로티노이드가 생산되지 않지만 저광도에서 2차 카로티노이드를 생산하여 확장된 스펙트럼을 제공함으로써 더 많은 광에너지를 흡수할 수 있었다. *C. reinhardtii* dZL은  $60 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 3.6 mg/L을 생산한 반면,  $240 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 2배 이상인 8.9 mg/L를 생산하였다. Figure 6과 같이 바이오매스 생산량이 높을수록 카로티노이드 생산량 또한 같이 증가하였으며, 카로티노이드 생산량에 세포량이 영향을 미치는 주요 인자임을 확인하였다.

## 결론

본 연구는 다양한 광도 조건에서 형질전환체인 *C. reinhardtii* dZL의 세포 성장성과 비조사속도, 총 카로티노이드 함량, 총 카로티노이드 생산량을 분석하였다. 그 결과 광도가 높아짐에 따라 세포 성장성은 향상되었으나, 세포당 조사된 광량이  $2 \times 10^{-10} \mu\text{mol/cell/s}$  이하에서는 상호간섭효과에 의해 세포 성장속도가 낮아지는 것을 확인하여 세포의 성장성을 높이기 위해서는 상기 광량을 유지하는 것이 중요할 것으로 판단된다.  $60 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 총 카로티노이드 함량이 높았으나, 세포 농도가 높은  $240 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ 에서 가장 높은 총 카로티노이드 생산량을 나타냈다. 이를 토대로 총 카로티노이드 생산량을 증대시키기 위한 주요인자로 세포 농도가 연관되어

있음을 확인하였다. 본 연구는 대량 배양 공정에 적용하여 *C. reinhardtii* 세포 성장과 총 카로티노이드 생산성을 높일 수 있는 광도 조건에 대한 토대가 될 것으로 기대된다.

## 감사의 글

이 연구는 2022년도 교육부의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업(NRF-2022R1I1A1A01052953)과 환경부의 재원으로 국립낙동강생물자원관에서 지원(NNIBR202303113)을 받아 수행된 연구입니다.

## References

- Priyadarshani, I., and Rath, B. 2012. Commercial and industrial applications of micro algae-A review. *J. algal biomass util.* **3**, 89-100.
- Kim, B., Lee, S.Y., Narasimhan, A.L., Kim, S., and Oh, Y.-K. 2022. Cell disruption and astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis*: Recent advances. *Bioresour. Technol.* **343**, 126124.
- Oh, Y.-K., Kim, S., Ilhamsyah, D.P.A., Lee, S.-G., and Kim, J.R. 2022. Cell disruption and lipid extraction from *Chlorella* species for biorefinery applications: Recent advances. *Bioresour. Technol.* **366**, 128183.
- Sasso, S., Pohnert, G., Lohr, M., Mittag, M., and Hertweck, C. 2012. Microalgae in the postgenomic era: a blooming reservoir for new natural products. *FEMS Microbiol. Rev.* **36**, 761-785.
- Varela, J.C., Pereira, H., Vila, M., and Leon, R. 2015. Production of carotenoids by microalgae: achievements and challenges. *Photosynth. Res.* **125**, 423-436.
- Muller, P., Li, X.-P., and Niyogi, K.K. 2001. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiol.* **125**, 1558-1566.
- Sandmann, G. 2019. Antioxidant protection from UV and light-stress related to carotenoid structures. *Antioxidants* **8**, 219.
- Chiu, H.F., Liao, J.Y., Lu, Y.Y., Han, Y.C., Shen, Y.C., Venkatakrishnan, K., Golovinskaia, O., and Wang, C.K. 2017. Anti-proliferative, anti-inflammatory and pro-apoptotic effects of *Dunaliella salina* on human KB oral carcinoma cells. *J. Food Biochem.* **41**, e12349.
- Fimbres-Olivarria, D., Carvajal-Millan, E., Lopez-Elias, J.A., Martinez-Robinson, K.G., Miranda-Baeza, A., Mart

- inez-Cordova, L.R., Enriquez-Ocana, F., and Valdez-Holguin, J.E. 2018. Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharides from *Navicula* sp. *Food Hydrocoll.* **75**, 229-236.
10. Cezare-Gomes, E.A., Mejia-da-Silva, L.d.C., Perez-Morales, L.S., Matsudo, M.C., Ferreira-Camargo, L.S., Singh, A.K., and de Carvalho, J.C.M. 2019. Potential of microalgae carotenoids for industrial application. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **188**, 602-634.
  11. Wang, S.K., Stiles, A.R., Guo, C., and Liu, C.Z. 2014. Microalgae cultivation in photobioreactors: An overview of light characteristics. *Eng. Life Sci.* **14**, 550-559.
  12. Bechet, Q., Shilton, A., and Guieysse, B. 2013. Modeling the effects of light and temperature on algae growth: state of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation. *Biotechnol. Adv.* **31**, 1648-1663.
  13. Ralph, P.J., and Gademann, R. 2005. Rapid light curves: a powerful tool to assess photosynthetic activity. *Aquat. Bot.* **82**, 222-237.
  14. Imaizumi, Y., Nagao, N., Yusoff, F.M., Taguchi, S., and Toda, T. 2014. Estimation of optimum specific light intensity per cell on a high-cell-density continuous culture of *Chlorella zofingiensis* not limited by nutrients or CO<sub>2</sub>. *Bioresour. Technol.* **162**, 53-59.
  15. Yoon, J.H., Shin, J.-H., and Park, T.H. 2008. Characterization of factors influencing the growth of *Anabaena variabilis* in a bubble column reactor. *Bioresour. Technol.* **99**, 1204-1210.
  16. Koller, A.P., Lowe, H., Schmid, V., Mundt, S., and Weuster-Botz, D. 2017. Model-supported phototrophic growth studies with *Scenedesmus obtusiusculus* in a flat-plate photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* **114**, 308-320.
  17. Lee, C.-G. 1999. Calculation of light penetration depth in photobioreactors. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **4**, 78-81.
  18. Song, I., Kim, J., Baek, K., Choi, Y., Shin, B., and Jin, E. 2020. The generation of metabolic changes for the production of high-purity zeaxanthin mediated by CRISPR-Cas9 in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Microb. Cell. Fact.* **19**, 1-9.
  19. Hanwool, P., Jiho, M., Seonghoon, Y., Seong-Joo, H., EonSeon, J., and Choul-Gyun, L. 2020. Enhancement of biomass productivity of the zeaxanthin producing Microalga *Chlamydomonas reinhardtii* dZL in 100 L flat-panel photobioreactors by changing initial cell density. *KSBB J.* **35**, 78-83.
  20. Kim, Z.-H., Park, H., Ryu, Y.-J., Shin, D.-W., Hong, S.-J., Tran, H.-L., Lim, S.-M., and Lee, C.-G. 2015. Algal biomass and biodiesel production by utilizing the nutrients dissolved in seawater using semi-permeable membrane photobioreactors. *J. Appl. Phycol.* **27**, 1763-1773.
  21. Yoon, J.H., Choi, S.S., and Park, T.H. 2012. The cultivation of *Anabaena variabilis* in a bubble column operating under bubbly and slug flows. *Bioresour. Technol.* **110**, 430-436.
  22. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: (eds), *Methods in enzymology*, vol 148, Elsevier, pp 350-382.
  23. Rajendran, A., Anderson, G.A., Yan, X., and Gent, S. 2013. Light in a Photobioreactor. American Society of Agricultural and Biological Engineers. SD14-007.
  24. Solovchenko, A., and Chekanov, K. 2014. Production of carotenoids using microalgae cultivated in photobioreactors. In: H.N.M. Kee-Yoeup Paek, Jian-Jiang Zhong (eds), *Production of biomass and bioactive compounds using bioreactor technology*, Springer Dordrecht, pp 63-91.
  25. Zuccaro, G., Yousuf, A., Pollio, A., and Steyer, J.-P. 2020. Microalgae cultivation systems. In: A. Yousuf (ed), *Microalgae cultivation for biofuels production*, Academic Press, pp 11-29.
  26. Heining, M., and Buchholz, R. 2015. Photobioreactors with internal illumination-a survey and comparison. *Biotechnol. J.* **10**, 1131-1137.
  27. Carvalho, A.P., Silva, S.O., Baptista, J.M., and Malcata, F.X. 2011. Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **89**, 1275-1288.
  28. Choi, S.-L., Suh, I.S., and Lee, C.-G. 2003. Lumostatic operation of bubble column photobioreactors for *Haematococcus pluvialis* cultures using a specific light uptake rate as a control parameter. *Enzyme Microb. Technol.* **33**, 403-409.
  29. Lee, H.-S., Seo, M.-W., Kim, Z.H., and Lee, C.-G. 2006. Determining the best specific light uptake rates for the lumostatic cultures in bubble column photobioreactors. *Enzyme Microb. Technol.* **39**, 447-452.
  30. Fae Neto, W.A., Dosselli, R., Kennington, W.J., and Tomkins, J.L. 2023. Correlated responses to selection for different cell size in *Chlamydomonas reinhardtii* using divergent evolutionary pathways. *J. Appl. Phycol.* **35**,

1621-1634.

31. Park, Y.H., Park, J., Choi, J.S., Kim, H.S., Choi, J.S., and Choi, Y.-E. 2023. Ultrasonic Treatment Enhanced Astaxanthin Production of *Haematococcus pluvialis*. *J. Microbiol.* **61**, 633-639.
32. Bohne, F., and Linden, H. 2002. Regulation of carotenoid biosynthesis genes in response to light in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biochim. Biophys. Acta-Gene Struct. Expression.* **1579**, 26-34.