

# 발광다이오드(LED) 파장에 따른 *Tetraselmis suecica*와 *T. tetrahele*의 탄수화물, 단백질 및 지질 함량에 미치는 영향

한경하\* · 오석진\*\*\*

\* 한국해양과학기술원 해양시료도서관 연구원, \*\* 부경대학교 지구환경시스템과학부 교수

## Effects of Light Quality of a Light-Emitting Diode (LED) on Carbohydrate, Protein, and Lipid Contents of *Tetraselmis suecica* and *T. tetrahele*

Kyong Ha Han\* · Seok Jin Oh\*\*\*

\* Researcher, Library of Marine Samples, Korea Institute of Ocean Science & Technology, Geoje 53201, Korea

\* Professor, Division of Earth and Environmental System Science Pukyong National University, Busan 48513, Korea

**요 약 :** 본 연구는 *Tetraselmis suecica*와 *T. tetrahele*의 영양물질 증진효과를 가져올 수 있는 배양시스템 구축을 위하여, 발광다이오드(LED)의 파장별(청색; 450 nm, 황색; 590 nm, 적색; 630 nm) 탄수화물, 단백질, 지질 함량을 측정하였다. 두 종 모두 단백질 비율(42~69%)이 가장 높았으며, 성장속도가 낮았던 황색파장에서 탄수화물, 단백질, 지질의 높은 함량을 보였고, 성장속도가 가장 높았던 적색파장에서는 낮은 함량을 보였다. 이러한 결과는 세포 분열 속도의 감소로 인해 단백질 합성과 함께 세포의 화학적 조성과 효소 활동에 변화를 주어 지질과 탄수화물 함량이 증가한 것으로 생각된다. 따라서, *T. suecica*와 *T. tetrahele*의 유용한 생화학적 물질의 증대를 위해 대수성장기 초기와 중기는 적색 LED 그리고 대수성장기 후기에는 황색 LED를 주사하는 2단계 LED 배양을 제안하였다.

**핵심용어 :** *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis tetrahele*, 발광다이오드(LED), 탄수화물, 단백질, 지질

**Abstract :** To establish a culture system with enhanced cellular nutrition, we investigated the effects of light quality (blue, 450 nm; yellow, 590 nm; and red, 630 nm) of a light-emitting diode (LED) on the biochemical composition of *Tetraselmis suecica* and *T. tetrahele*. The protein content of both species was higher (42–69%) than the content of other biochemical substances under all wavelengths. Carbohydrate, protein, and lipid contents were higher under the yellow wavelength, which showed a low growth rate, than those under other wavelengths. The contents of all biochemical substances were low under the red wavelength, which showed a high growth rate. These results indicated that protein synthesis occurs in response to decreased cell division rate, while lipid and carbohydrate synthesis occurs owing to altered chemical composition and enzymatic activity. Therefore, we suggested a two-phase LED culture system, which emitted red LED during the early-middle exponential phase and yellow LED during the late exponential and stationary phases, to increase the yield of useful biochemical substances of *T. suecica* and *T. tetrahele*.

**Key Words :** *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis tetrahele*, light emitting diode (LED), Carbohydrate, Protein, Lipid

### 1. 서 론

발광다이오드(Light Emission Diode; LED)는 인화갈륨 또는 비소화갈륨 등의 화합물을 통해 전류를 주어 빛을 조사할 수 있는 반도체 소자이다. 기존의 조명에는 수은이 포함되

어 있지만, LED는 수은이 포함되어 있지 않아 친환경적이라 할 수 있다. 또한 형광등에 비교하여 긴 수명, 전기를 절감한다는 장점이 있어 산업분야에서 급속도로 발전하고 있다. 최근 광반응기(Photobioreactor; PB) 광원으로 형광램프보다 LED가 더 많이 사용되고 있다. LED 칩은 대략 0.25 mm<sup>2</sup>의 크기로 가볍고 작으며, LED 칩을 연결하여 제작하더라도 백열등과 형광램프에 비해 매우 얇아서 PB 중 조명등이 차지

\* First Author : nkt6699@naver.com, 055-639-8421

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

발광다이오드(LED) 파장에 따른 *Tetraselmis suecica*와 *T. tetrahele*의 탄수화물, 단백질 및 지질 함량에 미치는 영향

하는 부피를 줄일 수 있다. 그리고 광반응기의 외부 벽이나 내부에 장착이 가능하여 공간 절약과 동시에 빛 전달 효율을 높일 수 있다(Kim et al., 2011). 또한 LED는 단파장 또는 복수파장을 조절이 가능하여 광합성에 유리한 파장만을 조사해 줄 수 있으며, 조사 시간도 분 단위 또는 초 단위까지 간헐적 제어를 통해 미세조류의 성장속도를 높이거나, 세포 내 영양을 강화시킬 수 있다(Lee and Palsson, 1994; Katsuda et al., 2004; Wang et al., 2007).

미세조류의 세포 내 성분인 탄수화물, 단백질, 지질, 색소 등은 상업적으로 많이 활용되고 있으며(Ben-Amotz et al., 1987), 이러한 생화학적 물질의 조성과 함량은 광 조건에 따라 변화될 수 있다. 특히, 미세조류는 생장이 저해되는 환경 조건에서 영양 강화가 된다는 보고가 많으며, 최근에는 LED 파장을 통해 광 스트레스를 주어 미세조류 내 생화학적 조성을 변화시키거나 강화시키려는 시도가 있었다(Fu et al., 2013). Seo et al.(2014)의 보고에 의하면 *Chlorella* sp.의 경우 적색파장에서 빠른 성장을 보일 뿐 아니라, 다른 광 조건보다 높은 지질생산을 갖는다고 하였다. Kubin et al.(1983)는 *C. vulgaris*의 성장속도가 적색파장에서 높았지만, 녹색파장에서 높은 지질함량을 보고하였으며, Ra et al.(2016)의 연구에서도 적색파장에서 *Nannochloropsis* sp.가 빠른 성장을 보였지만, 녹색파장에서 지질 함량은 최대 56%까지 증진되는 것으로 나타났다.

한편, 본 연구에서 사용된 미세조류는 담녹조장에 속하는 *Tetraselmis* 속으로 광온·광염성의 특성이 있어 대량배양에 용이하며, 광합성색소로 chlorophyll *a*와 *b*를 포함하고, 보조색소로는 여러 가지 카르티노이드 계열을 함유하고 있다(Maddux and Jones, 1964; Kim and Hur, 1998; Min, 2018). 또한 패류나 윤층의 먹이생물로도 활용되며, 영양염 흡수력이 좋아 수질정화를 위한 대상종으로도 가능성이 있다(Michels et al., 2014; Schulze et al., 2017; Cameron et al., 2018). 이러한 장점으로 인해 LED를 활용한 대량배양에 대한 연구가 수행되고 있지만, 연구자에 따라 동일 속 및 종에서도 광에 대한 생리적 특성이 크게 달랐다(Teo et al., 2014; Schulze et al., 2016). 따라서 LED의 파장을 활용하여, 단기간 내 고밀도의 대량배양과 함께 영양물질 증진효과를 가져올 수 있는 배양 시스템 구축을 위하여, *T. suecica*와 *T. tetrahele*의 LED 파장별 탄수화물, 단백질, 지질 함량 변화를 측정하고, 토의하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 *T. suecica*와 *T. tetrahele*의 배양

실험에 사용된 *T. 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  $\mu M$ 이 될 수 있게 첨가하였다. 유지배양을 위한 수온과 염분은 20°C, 30 psu였고, 광량은 100  $\mu mol/m^2/s$  (L:D=12L:12D; Cool-white fluorescent lamp)으로 조절하였다. 실험종의 무균처리를 위해 AM9 항생제를 이용하였고, 실험에 사용된 기구는 2차적인 생물학적 오염을 차단하기 위해 고온·고압 멸균(121°C, 202 kpa, 20 min) 후 사용하였으며, 모든 실험은 Clean bench에서 수행되었다.

### 2.2 *T. suecica*와 *T. tetrahele*의 생화학 물질 측정

파장별 생화학적 물질의 함량을 조사하기 위해 사용된 광원은 복수파장으로 형광램프(fluorescent lamp; RGB 삼파장등, (주) 남영전기), 단일파장으로 청색 LED(450 nm; LUMILEDS, Amsterdam), 황색 LED(590 nm; LUMILEDS, Amsterdam), 적색 LED(630 nm; LUMILEDS, Amsterdam)을 이용하였다. 본 실험의 수온과 염분 조건은 20°C, 30 psu였고, 광량은 모든 파장에서 각각 100  $\mu mol/m^2/s$  (L:D=12L:12D)으로 조절하였다. 2 L PE bottle에 f/2 배지 1 L에 최종 세포밀도가 약  $1.0 \times 10^2$  cells/mL이 되도록 초기 접종하였다. 세포의 계수는 이틀에 한 번 오전 10시에 현미경을 통해 직접 검경하였으며, 대수생장기 후기까지 배양시킨 후, 유리섬유필터(Whatman GF/F)를 통해 여과하였으며, 여과지는 분석시까지 냉암소(-20°C)에서 보관하였다.

탄수화물은 Dubois et al.(1956)에 의거한 Phenol-sulphuric acid 방법으로 분석하였다. 표준용액인 glucose을 통해 5% phenol 1 mL 첨가 후 40분간 방치하였고, 세포 내 탄수화물을 추출한 후,  $H_2SO_4$  5 mL를 첨가하였다. 2000 rpm에서 15분간 원심분리하고, 상등액을 UV/Vis spectrophotometer (X-ma, 3000PC; 490 nm와 750 nm)로 농도를 구하였다. 단백질은 Lowry et al.(1951)의 방법으로 Protein standard solution을 이용하여 표준용액을 조제하고, 혼합시약인 alkaline copper solution 5 mL를 첨가하여 균질하게 혼합하였다. 단백질을 추출한 뒤, folin ciocalteu로 균질 혼합하고, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리시킨 후, 750 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 농도를 구하였다. 지질은 chloroform과 methanol을 이용하여 지질을 추출할 수 있는 Marsh and Weinstein(1966)에 의거한 방법으로 glycerintripalmitat (tripalmitin)을 표준용액으로 사용하였다. chloroform과 methanol에 의해 추출된 지질이 포함된 상등액에 초순수를 넣고, methanol과 초순수 그리고 chloroform과 지질 층으로 나뉘면, 상층의 methanol과 초순수를 제거한 후, 건조하였다(40°C에서 48시간). 시료가 모두 건조되면  $H_2SO_4$ 과 초순수를 첨가하고, 360 nm와 750 nm에서 흡광도를 측정하여 농도를 구하였다.

### 3. 결과 및 고찰

탄수화물은 단당류로 결합된 중합체로써, 동물과 식물에 있어 중요한 에너지원으로 이용된다. 또한 미세조류는 빛 에너지에 의해 광합성을 하여 chlorophyll을 탄수화물로 변환시키기 때문에, 미세조류 내 탄수화물 함량은 광은 중요한 환경요인이다. *T. suecica*는 황색과장에서 가장 높은 탄수화물 함량을 보였고, 형광램프, 청색과장, 적색과장 순으로 나타났다(Fig. 1). Han and Oh(2018)에서 같은 종주를 이용하여, 과장별 광량과 성장속도를 Lederman and Tett(1981)의 모델식으로 분석한 결과, 3개 과장 중 적색과장이 가장 높은 최대 성장속도(maximum growth rate;  $\mu_{max}$ ; 1.21 /day)를 보였으며, 본 연구에서는 동일과장에서 가장 낮은 탄수화물 함량(1.70±2.0 pg/cell)을 나타내었다. 또한 가장 낮은  $\mu_{max}$ 를 보였던 황색과장(0.89 /day; Han and Oh, 2018)은 기존의 배양광원인 형광램프보다 약 1.3배, 적색과장 보다는 약 3.6배 높은 탄수화물 함량을 나타내었다. 즉, *T. tetrahele*의 과장별 탄수화물 함량은 황색 과장에서 가장 높은 함량을 보였고, 형광램프, 청색, 적색과장 순으로 나타났다. *T. tetrahele*의 최대성장속도는 적색과 청색과장에서 각각 0.95 /day와 0.83 /day로(Han and Oh, 2018), *T. suecica*와 같이 적색과장에서 가장 낮은 탄수화물 함량을 보였다(1.73±0.5 pg/cell). 기존의 대량배양에 이용되고 있는 광원인 형광램프와 황색과장의 탄수화물 함량을 비교하면, 황색과장이 1.3배 높은 함량을 보였다. 생장이 가장 빨랐던 적색과장과 비교하여도, 황색과장이 1.4배 높은 함량을 보였다. 결과적으로 두 종 모두 기존 대량배양광원인 형광램프보다 황색과장에서 높은 함량을 보였다.

Markou(2014)는 남조류 *Arthrospira platensis*가 적색 LED에 비해 느린 성장속도를 보인 청색 LED에서 높은 탄수화물 함량을 보였다고 하였으며, 세포 분열 속도의 감소는 단백질 합성과 함께 세포의 화학적 조성과 효소 활동에 변화를 주어 탄수화물 함량을 증가시킨다고 하였다. 또한 적색과장에서는 세포분열에 탄수화물을 적극 이용하기 때문에 세포내 축적시키지 못한 것으로 보고하였다(Siron et al., 1989; Reitan et al., 1994; Huerlimann et al., 2010). *Tetraselmis* 속은 성장촉진을 위해 적색과장이 유용하지만, 탄수화물의 합성은 황색과장에서 효율적으로 유도되는 것으로 판단된다. 하지만, 본 연구와 다른 결과를 보고한 연구도 있는데, Prates et al.(2018)는 남조류 *Spirulina* sp.가 적색과장에서 가장 높은 성장속도를 보였으며, 청색과 녹색과장에서 생장이 억제되었지만, 탄수화물 변화는 과장별로 큰 차이가 없다고 보고했다. 또한 Zicheng et al.(2021)도 홍조류 *Porphyridium cruentum*가 적색과장에서 가장 낮은 성장율을 보였으나, 탄수화물 함량은 동과장에서 가장 높았다. 또한 Marchetti et al.(2012)이 연구한

*Isochrysis* sp.의 결과는 청색과장에서 탄수화물 함량이 낮아지는 대신 단백질 함량은 증가하였다. 이와 같이 미세조류의 종 또는 분리주마다 과장별로 탄수화물 축적이 서로 상의함을 알 수 있어, 미세조류의 과장에 따른 생화학적 물질의 축적능에 대하여 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 본 실험에서 *Tetraselmis* 속의 탄수화물 비율은 전체 생화학적 비율(탄수화물, 단백질, 지질)로 보았을 때, 3~9%를 차지하였으며, 다른 생화적 조성물질에 비하여 상대적으로 낮았다. 하지만 먹이생물로서 이용될 때, 기존 대량배양 광원인 형광램프보다 황색 LED의 경우, 높은 탄수화물 축적을 할 수 있어, 미세조류 내의 탄수화물을 에너지원으로 이용하는 수산자원생물에게 유용할 것으로 생각된다.

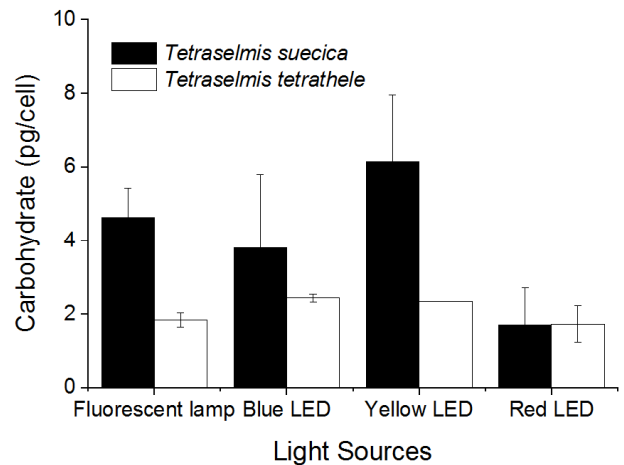


Fig. 1. Carbohydrate contents produced by the *Tetraselmis suecica* and *T. tetrahele* in the late exponential phase under different wavelengths (light intensity; ca. 100  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ).

미세조류는 일반적으로 세포 내에 단백질 함량이 가장 높은 비율로 포함되어 있고(Hsieh and Wu, 2009), 단백질의 대부분 아미노산 형태로 존재한다. 미세조류가 먹이생물로 이용되려면, 주로 지방, 탄수화물, 단백질과 같은 생화학적 물질이 중요하며, 먹이의 영양은 부유유생의 성장과 생존율에 매우 큰 영향을 미친다(Marshall et al., 2010). 또한 단백질과 지방은 생물체 내의 생합성을 위해 사용되기 때문에 미세조류 내 함량의 파악은 중요하다(An et al., 2014). *T. suecica*는 황색 과장에서 탄수화물과 같이 가장 높은 함량을 보였고, 형광램프, 적색과장, 청색과장 순으로 나타났다(Fig. 2). 이를 통해 생장이 가장 느렸던 황색과장에서 가장 높은 단백질 함량을 보이는 것을 확인하였다. 황색과장은 기존의 대량배양 광원인 형광램프보다 약 1.2배, 빠른 성장을 유도했던 적색과장 보다는 약 1.5배 높은 단백질 함량을 보였다.

발광다이오드(LED) 파장에 따른 *Tetraselmis suecica*와 *T. tetrahele*의 탄수화물, 단백질 및 지질 함량에 미치는 영향

*T. tetrahele*의 파장별 단백질 함량도 탄수화물과 같이 황색 파장에서 가장 높은 함량을 보였고, 청색파장, 형광램프, 적색파장 순으로 나타났지만, 그 차이는 크지 않았다. 기존의 대량배양에 이용되고 있는 광원인 형광램프와 황색파장의 단백질 함량을 비교하면, 황색파장이 2.3배 높은 함량을 보였다. 성장속도가 가장 빨랐던 적색파장과 비교하였을 때, 황색파장이 2.5배 높은 함량을 보였다. 이를 통해 *Tetraselmis* 두 종 모두 낮은 생장이 보였던 황색파장에서 가장 높은 단백질 함량을 보였다.

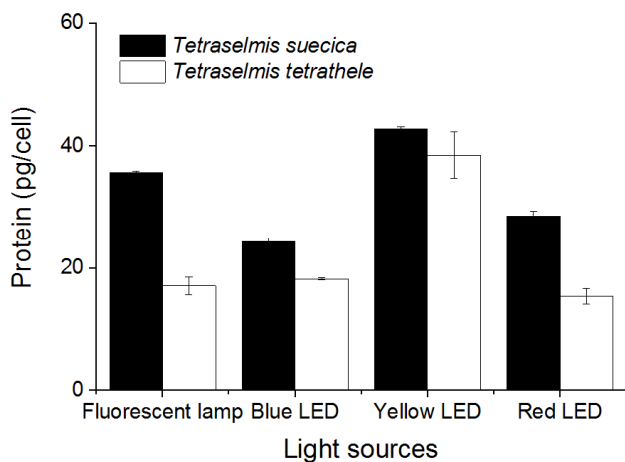


Fig. 2. Protein contents produced by the *Tetraselmis suecica* and *T. tetrahele* in the late exponential phase under different wavelengths (light intensity; ca.  $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ).

황색파장에서 단백질 축적을 보일 수 있었던 이유는 탄수화물과 유사하게 다른 파장에 비해 낮은 성장속도에 따른 세포분열의 감소로 유도된 것으로 판단된다(Huerlimann et al., 2010). Park et al.(2013)의 보고에 의하면 *Nannochloropsis* sp.는 건조중량을 바탕으로 계산된 성장속도는 청색파장에서 가장 높았지만, 필수아미노산의 총량은 낮은 성장속도를 보인 녹색파장에서 높은 함량을 보여, 낮은 성장을 보이는 파장대에서 높은 함성이 유도된 것이라고 보고하였으며, 본 연구결과 유사하였다. 하지만, An et al.(2014)은 규조류 *Chaetoceros calcitrans*는 적색파장에서 높은 성장을, 다른 파장에서 낮은 성장을 보였으나, 아미노산 함량은 파장에 따라 차이가 없었다. Aidar(1994)의 연구 결과에서도 *Cyclotella caspia*와 *T. gracilis*는 특정파장에서 빠른 생장이 유도되었지만, 파장에 따른 단백질 함량에서는 차이가 없었다.

한편, Becker(1994)는 여러 미세조류에 대해 생화학적 조성을 분석한 결과, *Chlorella*, *Dunaliella tertiolecta*, *Chlorella sigmatophora*, *Isochrysis galbana*에서 39~60%의 높은 단백질

비율을 갖는다고 보고하였다. *Tetraselmis* 속은 모든 파장에서 42~69%의 비율을 보였으며, 황색 LED에서 더 높은 단백질 함성을 유도할 수 있기 때문에, *Tetraselmis* 속은 상업적으로 활용이 기대되는 종이기도 하다.

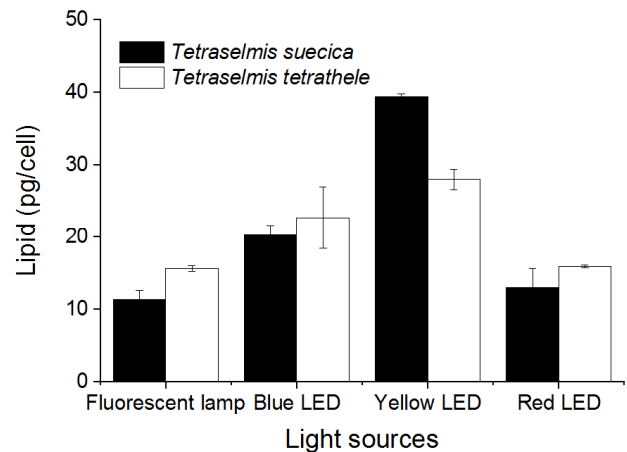


Fig. 3. Lipid contents produced by the *Tetraselmis suecica* and *T. tetrahele* in the late exponential phase under different wavelengths (light intensity; ca.  $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ).

미세조류의 지질은 불포화지방산과 같은 식품보조제, 수산생물사료 및 바이오디젤 등 산업적인 이용을 위해 많은 연구가 진행이 되고 있다(Woo and Park, 2012). 특히, 바이오디젤은 동·식물성 유지의 주성분인 지질이 알코올과 에스테르 전이(Transesterification) 반응을 하여 생성되는 알킬에스테르(Alkylester) 형태이며, 최근에는 미세조류의 바이오디젤 활용 연구가 활발하게 진행되고 있다(Meher et al., 2007; Marchetti et al., 2007; Lim et al., 2015). 또한 미세조류의 세포내 지질은 항상 일정한 함량을 갖는 것이 아니라, 배양환경인 수온, 염분, 영양염 상태 등에 의해 변화된다(Reitan et al., 1994; Huerlimann et al., 2010; Ra et al., 2016). *T. suecica*는 황색 파장에서 다른 생화적물질과 같이 가장 높은 농도를 보였고, 청색파장, 적색파장, 형광램프 순으로 나타났다(Fig. 3). 더욱이 기존의 대량배양에 이용되고 있는 광원인 형광램프와 황색파장의 지질 함량을 비교하면, 황색파장이 약 3.5배 높은 함량을 보였다. 생장이 가장 빨랐던 적색파장과 비교하였을 때, 황색파장이 약 3.0배 높았다. *T. tetrahele*에서도 황색 파장에서 가장 높은 농도를 보였고, 청색파장, 적색파장, 형광램프 순으로 나타났다. 형광램프와 황색파장의 지질 함량을 비교하면, 황색파장이 약 1.8배 높은 함량을 보였다. 적색파장과 비교하였을 때, 황색파장에서 약 1.8배 높았다. 이를 통해 *Tetraselmis* 두 종 모두 낮은 성장속도를 보였

던 황색과장에서 가장 높은 지질 함량을 보였다. 이와 유사한 결과는 *Chlorella* sp.에도 나타났는데, 높은 생장은 적색과장에서, 낮은 생장을 보였던 청색과장에서 높은 지질함량을 보였다(Shu et al., 2012). 이는 탄수화물과 단백질에서와 같이 세포 분열 속도의 감소가 단백질 합성과 함께 세포의 화학적 조성고 효소 활동에 변화를 주어 함량이 증가된 것으로 생각된다(Reitan et al., 1994; Huerlimann et al., 2010). 또한 *T. suecica*와 *T. tetrahele*의 과장별 세포 내 지질은 비율은 단백질 다음 22~52%로 높은 비율을 차지하였다. 미세조류에 대한 지질의 강화는 기존 연구에서 염분과 질소 결핍 등을 통해 유도하는 경우가 많았다(Mata et al., 2010; Ho et al., 2014). 본 연구를 통해서도 비교적 조건변화가 어려운 염분과 질소 결핍 배지제작과 같은 환경요인변화 보다 조절이 수월한 광과장으로도 충분히 지질이 축적됨을 확인하였다. 또한 미세조류에게 스트레스를 주는 환경조건을 복합적으로 가해주면 더 효율적인 지질축적이 가능할 것으로 생각된다.

한편 기존 연구에서는 생화학적 축적을 위해 대부분이 적색, 청색과 녹색 과장을 이용하는 보고가 많았으며(Katsuda et al., 2004; Chen et al., 2010; Shu et al., 2012), 황색과장과 성장속도 및 생화학적 물질의 축적에 관련한 정보는 제한적이었다. 하지만, 일부 보고에서 황색과장의 유용성을 보고하였는데, 황색과장은 청색 과장과 비교하여 규조류 *Cyclotella cryptica*에서 낮은 성장속도를 보였지만, 광 스트레스로 인해 지질함량이 높아졌으며, 남조류 *Spirulina platensis*에서도 적색, 녹색, 청색 과장에 비해 황색과장에서 높은 색소 함량을 보여주었다(Chen et al., 2010; Shih et al., 2014). 또한 Sharmila et al.(2018)은 남조류 *Oscillatoria* sp. 초기생장에서 청색광으로 많은 생물량을 확보하고, 황색과장으로 유용물질을 극대화시킬 수 있는 광을 이용한 다단계 배양방법을 제시하였다. 또한 Kwon(2013)는 유해와편모조류의 유영세포가 생장이 억제되는 황색과장을 퇴적층 상부에 주사함으로써 그곳에서 서식하는 저서미세조류의 광합성으로 산소 방출과 영양염 흡수로 저층의 빈산소 및 부영양화를 저감하는 새로운 생물정화복원기법(Phytoremediation)을 제안하였다. Oh et al.(2008)은 이매패류를 폐사시키는 유해와편모조류 *Heterocapsa circularisquama*의 경우, 75  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 이하황색과장에서 생장이 억제되지만, 규조류 *Skeletonema costatum*은 성장하였고 보고하였다. 따라서 황색 과장이 미세조류에 따라 생장을 촉진시키는 광원으로 부적합할 수 있지만, *T. suecica*와 *T. tetrahele*를 이용한 먹이생물영양 강화, 바이오디젤 그리고 오염해역의 환경 개선 등의 목적에 유용한 과장이 될 수 있다.

최근 미세조류의 성장단계에 따라 서로 다른 배양조건을 구현하는 다단계 배양기법을 통하여, 생리활성물질의 생산을 높이려는 시도가 진행되고 있으며, 이러한 다단계 배양

기법은 배양 초기에 생장을 위한 최적 환경조건으로, 이후 생장에 스트레스를 주는 환경조건으로 생화학적 물질을 유도한다(Converti et al., 2009; Xia et al., 2014; Ra et al., 2016). Xia et al.(2014)은 최적생장조건에서 초기 배양을 거친 녹조류 *Scenedesmus obtusus*를 NaCl 농도가 증가된 배지에 후기 배양을 함으로써 지질생산의 증가와 질 높은 바이오디젤 생산의 가능성을 제시하였다. 또한 Converti et al.(2009)와 Lee et al.(2017)은 미세조류의 온도 변화로 유도된 2단계 배양법에 따라, 지질 및 탄수화물의 축적량 변화를 관찰하였다. 본 연구의 결과는 *Tetraselmis* 속의 배양 시 빛의 과장에 따라 유용한 생화학적 물질을 증진시킬 수 있는 가능성을 제시하였다. Ra et al.(2016)는 대량의 미세조류 생물량의 집적을 위해 청색과장에서 전배양을, 이후 정지기에는 바이오디젤을 증진시키기 위해 생장이 억제된 적색·녹색과장에서 유지해야 한다고 보고하였다. Oh and Han(2018)은 *T. suecica* 속에 대해서 유도기는 황색과장, 대수생장기는 최대성장속도를 보이는 적색과장 그리고 후기 대수생장기와 정상기는 황색과장을 주사하는 3단계 조명배양시스템을 구상하였으며, 이를 활용할 경우, 낮은 소비전력을 사용한 LED에 따라 경제적인 효과 및 생산성 증대에 기여할 수 있다고 제안하였다.

따라서 본 연구의 결과를 통해, *T. suecica*와 *T. tetrahele*의 유용물질의 증대를 위해 대수생장기 중기까지는 적색 LED, 그리고 대수생장기 후기부터는 황색 LED를 조사하는 성장단계별로 달라지는 2단계 광과장 배양기법을 제안한다. 따라서 금후 실제 성장단계별 다단계배양을 통한 유용한 생화학적 물질의 효율평가와 대량배양적용 가능성에 대해 추가 연구가 필요할 것으로 생각되며, 결과가 도출 되는 대로 추가 보고하기로 한다.

## 사 사

이 논문은 부경대학교 자율창의학술연구비(2021년)에 의하여 연구되었습니다.

## References

- [1] An, H. C., J. H. Bae, O. N. Kwon, H. G. Park, and J. C. Park(2014), Changes in the growth and biochemical composition of *Chaetoceros calcitrans* cultures using light-emitting diodes, Fisheries Technology, Vol. 50, No. 4, 447-545.
- [2] Ben-Amotz, A., R. Fishler, and A. Schneller(1987), Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acids, Marine Biology, Vol. 95, No. 1, pp. 31-36.

발광다이오드(LED) 과장에 따른 *Tetraselmis suecica*와 *T. tetrahele*의 탄수화물, 단백질 및 지질 함량에 미치는 영향

- [3] 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, PeerJ, Vol. 6, p. 1-13.
- [4] Chen, H. B., J. Y. Wu, C. F. Wang, C. C. Fu, C. J. Shieh, C. I. Chen, and Y. C. Liu(2010), Modeling on chlorophyll a and phycocyanin production by *Spirulina platensis* under various light-emitting diodes, Biochemical Engineering Journal, Vol. 53, No. 1, pp. 52-56.
- [5] Converti, A., A. A. Casazza, E. Y. Ortiz, P. Perego, and M. Del Borghi(2009), Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production, Chemical Engineering and Processing, Vol. 48, pp. 1146-1151.
- [6] Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith(1956), Colorimetric method for determination of sugars and related substances, Analytical Chemistry, Vol. 28, No. 3, pp. 350-356.
- [7] Fu, W., Ó. Guðmundsson, G. Paglia, G. Herjólfsson, Ó. S. Andrésson, 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.
- [8] 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.
- [9] Huerlimann, R., R. de Nys, and K. Heimann(2010), Growth, lipid content, productivity, and fatty acid composition of tropical microalgae for scale up production, Biotechnology and Bioengineering, Vol. 107, No. 2, pp. 245-257.
- [10] Hsieh, C. H. and W. T. Wu(2009), A novel photobioreactor with transparent rectangular chambers for cultivation of microalgae, Biochemical Engineering Journal, Vol. 46, No. 3, pp. 300-305.
- [11] Ho, S., A. Nakanishi, X. Ye, J. Chang, K. Hara, and T. Hasunuma(2014), Optimizing biodiesel production in marine Chlamydomonasp. JSC4 through metabolic profiling and an innovative salinity-gradient strategy, Biotechnology for Biofuels, Vol. 7, pp. 2-16.
- [12] Katsuda, T., A. Lababpour, K. Shimahara, and S. Katoh (2004), Astaxanthin production by *Haematococcus plucialis* under illumination with LEDs, Enzyme and Microbial Technology, Vol. 35, No. 1, pp. 81-86.
- [13] Kim, J. Y., H. Joo, and J. H. Lee(2011), Carbon dioxide fixation and light source effects of *Spirulina platensis* NIES 39 for LED photobioreactor design, Applied Chemistry for Engineering, Vol. 22, No. 3, 301-307.
- [14] 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.
- [15] Kwon, H. K.(2013), A study on phytoremediation of eutrophic coastal sediments using benthic microalgae and light emitting diode. Ph. D. Thesis, Pukyung National University, Busan, p. 255.
- [16] Kubín, Š., E. Borns, J. Doucha, and U. Seiss(1983), Light absorption and production rate of *Chlorella vulgaris* in light of different spectral composition, Biochemie und Physiologie der Pflanzen, Vol. 178, No. 2-3, pp. 193-205.
- [17] 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.
- [18] Lee, C. G. and B. O. Palsson(1994), High-density algal photobioreactors using Light-Emitting Diodes, Biotechnology and Bioengineering, Vol. 44, No. 10, pp. 1161-1167.
- [19] Lee, Y. J., C. H. Lee, K. C. Cho, H. N. Moon, J. Namgung, K. H. Kim, B. J. Lim, D. K. 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 of Fisheries and Aquatic Sciences, Vol. 50, No. 1, pp. 32-40.
- [20] Lederman, T. and P. Tett(1981), Problems in modelling the photosynthesis-light relationship for phytoplankton, Botanica Marina, Vol. 24, pp. 125-134.
- [21] Lim, S. B., J. W. Jeong, J. S. Yeon, N. K. Lee, and J. I. Won(2015), An analysis of lipid contents produced from three different microalgae depending, Korean Chemical Engineering Research, Vol. 53, No. 4, pp. 468-471.
- [22] Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randall(1951), Protein measurement with the Folin phenol reagent, Journal of Biological Chemistry, Vol. 193, No. 1, pp. 265-275.
- [23] Marchetti, J., G. Bougaran, L. Le Dean, C. Mégrier, E. Lukomska, R. Kaas, E. Olivo, R. Baron, R. Robert and J. P.

- Cadoret(2012), Optimizing conditions for the continuous culture of *Isochrysis affinis galbana* relevant to commercial hatcheries, *Aquaculture*, Vol. 326-329, pp. 106-115.
- [24] Marsh, J. B. and D. B. Weinstein(1966), Simple charring method for determination of lipids, *Journal of Lipid Research*, Vol. 7, No. 4, pp. 574-576.
- [25] Marchetti, J. M., V. U. Miguel, and A. F. Errazu(2007), Possible methods for biodiesel production, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 11, No. 6, pp. 1300-1311.
- [26] Markou, G.(2014), Effect of various colors of light-emitting diodes (LEDs) on the biomass composition of *Arthrospira platensis* cultivated in semi-continuous mode, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 172, No. 5, pp. 2758-2768.
- [27] Marshall, R., S. McKinley, and C. M. Pearce(2010), Effects of nutrition on larval growth and survival in bivalves, *Reviews in Aquaculture*, Vol. 2, No. 1, pp. 33-55.
- [28] Mata, T. M., A. A. Martins, and N. S. Caetano(2010), Microalgae for biodiesel production and other applications: a review, *Renewable and sustainable energy reviews*, Vol. 14, No. 1, pp. 217-232.
- [29] Meher, L., D. Vidyasagar, and S. Naik(2007), Technical aspects of biodiesel production by transesterification-a review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 10, No. 3, pp. 248-268.
- [30] 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.
- [31] 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.
- [32] Oh, S. J., D. I. Kim, T. Sajima, Y. Shimasaki, Y. Matsuyama, Y. Oshima, T. Honjo, and H. S. Yang(2008), Effects of irradiance of various wavelengths from light-emitting diodes on the growth of the harmful dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* and the diatom *Skeletonema costatum*, *Fisheries Science*, Vol. 74, pp. 137-142.
- [33] Prates, D. D. F., E. M. Radmann, J. H. Duarte, M. G. Morais, and J. A. V. Costa(2018), *Spirulina* cultivated under different light emitting diodes: Enhanced cell growth and phycocyanin production, *Bioresource Technology*, Vol. 256, pp. 38-43.
- [34] 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.
- [35] Reitan, K. I., J. R. Rainuzzo, and Y. Olsen(1994), Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine microalgae, *Journal of Phycology*, Vol. 30, No. 6, pp. 972-979.
- [36] Seo, Y. H., C. Cho, J. Lee, and J. Han(2014), Enhancement of growth and lipid production from microalgae using fluorescent paint under the solar radiation, *Bioresource Technology*, Vol. 173, pp. 193-197.
- [37] 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.
- [38] Sharmila, D., A. Suresh, J. Indhuathi, K. Gowtham, and N. Velmurugan(2018), Impact of various color filtered LED lights on microalgae growth, pigments and lipid production, *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, Vol. 6, No. 6, pp 1-7.
- [39] Siron, R., G. Giusti, and B. Berland(1989), Changes in the fatty acid composition of *Phaeodactylum tricoratum* and *Dunaliella tertiolecta* during growth and under phosphorus deficiency, *Marine Ecology Progress. Series*, Vol. 55, pp. 95-100.
- [40] Shih, S. C. C., N. S. Mufti, M. D. Chamberlain, J. Kim, and A. R. Wheeler(2014), A droplet-based screen for wavelength-dependent lipid production in algae, *Energy and Environment Science*, Vol. 7, pp. 2366-2375.
- [41] Shu, C. H., C. C. Tsai, W. H. Liao, K. Y. Chen, and H. C. Huang(2012), Effects of light quality on the accumulation of oil in a mixed culture of *Chlorella* sp. and *Saccharomyces cerevisiae*, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, Vol. 87, No. 5, pp. 601-607.
- [42] Teo, C. L., M. Atta, A. Bukhari, M. Taisir, A. M. Yusuf, and A. Idris(2014) Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths, *Bioresource Technology*, Vol. 162, pp. 38-44.
- [43] Woo, S. G. and J. H. Park(2012), Effects of phosphorus starvation on fatty acid production by microalgae cultivated from wastewater environment, *Journal of Civil and Environmental Engineering Research*, Vol. 32, No. 4B, pp. 253-259.

발광다이오드(LED) 과장에 따른 *Tetraselmis suecica*와 *T. tetrahele*의 탄수화물, 단백질 및 지질 함량에 미치는 영향

- [44] 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, No. 1, pp. 21-25.
- [45] Xia, L., J. Rong, H. Yang, Q. He, D. Zhang, and C. Hu (2014), NaCl as an effective inducer for lipid accumulation in freshwater microalgae *Desmodesmus abundans*, *Bioresource Technology*, Vol. 161, pp. 402-409.
- [46] Zicheng, H., Z. Chen, D. Jingxuan, L. Shuning, Z. Mingmin, H. Yongjin, W. Mingzi, and C. Bilian(2021), Simultaneous enhancement on renewable bioactive compounds from *Porphyridium cruentum* via a novel two-stage cultivation, *Algal Research*, Vol. 55, pp. 1-10.

---

Received : 2023. 01. 20.

Revised : 2023. 02. 10.

Accepted : 2023. 02. 24.