

## 미세조류로부터 색소물질 생산 증대를 위한 추출 조건 최적화

강민호<sup>1</sup> · 박제훈<sup>1</sup> · 박하영<sup>1</sup> · 김소희<sup>1</sup> · 김진우<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>선문대학교 식품과학과, <sup>2</sup>선문대학교 차세대반도체기술연구소, <sup>3</sup>프렉스프로 바이오테크놀로지

## Optimization of Extraction Conditions to Enhance Production of Bioactive Compounds from Microalgae

Min Ho Kang<sup>1</sup>, Jae Hoon Park<sup>1</sup>, Ha Young Park<sup>1</sup>, So Hee Kim<sup>1</sup> and Jin Woo Kim<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science, Sun Moon University, Asan 31460, Republic of Korea

<sup>2</sup>Center for Next-Generation Semiconductor Technology, Sun Moon University, Asan 31460, Republic of Korea

<sup>3</sup>FlexPro Biotechnology, Asan 31460, Republic of Korea

We optimized ultrasound-assisted extraction to improve the extraction efficiency of bioactive compounds from the microalgae *Acutodesmus reginae*. To optimize this extraction process, we investigated the effects of solvent type, solvent concentration, extraction time, extraction number, and extraction power on the production of lutein,  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, and chlorophylls a, and b. After sequential optimization of these main variables, the maximum amount of each compound was extracted at 30°C with an ultrasound power of 80 W and using 99.5% methanol. Under these optimum conditions, the amount of lutein,  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, and chlorophylls a, and b, were measured as 10.43, 8.66, 3.76, 15.43, and 6.39 mg/g dry matter respectively.

Keywords: Ultrasound-assisted extraction, Optimization, *Acutodesmus reginae*, Lutein, Carotene

### 서 론

최근 식품, 화장품과 의약품 등 다양한 산업에서 신규 기능성 소재 발굴을 위한 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 육상생물 자원으로부터 유용소재 개발의 한계 및 고갈 문제 해결을 위해 해양 및 담수 생물 자원에 대한 관심이 높아지고 있다(Chisti, 2007; Park et al, 2018). 해양 및 담수 생물자원인 미세조류는 광합성을 통해 탄수화물 및 지질 등을 합성하고 세포 성장에 필요한 단백질을 합성하는 독립영양생물로 기존 화석연료를 대체할 뿐 아니라 이산화탄소를 흡수하는 온실가스 저감효과가 우수한 지속가능한 바이오매스로 각광받고 있다(Park et al., 2020). 또한 최근 육상생물 대비 50배 이상 빠른 성장특징과 함께 배양조건과 배지 최적화를 통한 고농도배양 기술이 개발됨에 따라 바이오 디젤과 같은 1차 대사산물 이외에 다양한 2차 대사산물 생산을 위한 산업적 활용도가 증가하고 있다(Sun et al., 2016; Shin et al., 2020). 미세조류 생산 2차 대사산물에는

유용 색소인 알파카로틴( $\alpha$ -carotene), 베타카로틴( $\beta$ -carotene), 클로로필(chlorophyll)과 루테인(lutein) 등이 존재하며 이들은 항산화, 항균, 항염증 및 항암 등의 효과가 있다고 보고되었다(Fábryová et al., 2021). 특히 루테인은 시세포와 망막의 황반 영역에 분포해 빛 손상, 산화스트레스 및 청색광의 고에너지 광자로부터 눈을 보호하고 림프구 활성화 및 증식에 관여하여 면역 체계를 강화한다고 알려져 있다(Promphet et al., 2014; Roberts and Dennison, 2015; Perrone et al., 2016). 미세조류로부터 다양한 유용물질의 생산 가능성과 함께 대사산물의 생리활성이 보고됨에 따라 상업화를 목적으로 대량배양을 위한 배양조건 확립, 발광다이오드 배양과 광생물반응기 등의 연구가 다양하게 진행되고 있으나 미세조류로부터 2차 대사산물 추출을 위한 공정 최적화 연구는 부족한 실정이다(Kim et al., 2011; Lee et al., 2011). 따라서 본 연구는 담수미세조류인 *Acutodesmus reginae*로부터 대표적인 2차 대사산물인 색소물질 루테인, 카로틴과 클로로필의 생산을 증대하고자 초음파 추출법을 적용

\*Corresponding author: Tel: +82. 41. 530. 2226 Fax: +82. 41. 541. 7424

E-mail address: kimjw1028@sunmoon.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<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.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0028>

Korean J Fish Aquat Sci 56(1), 28-32, February 2023

Received 2 July 2022; Revised 26 July 2022; Accepted 18 January 2023

저자 직위: 강민호(대학생), 박제훈(대학생), 박하영(대학생), 김소희(대학원생), 김진우(교수)

하고 추출 조건 최적화를 진행하여 색소 물질의 대량생산을 통한 제약, 식품 및 사료용 소재로 활용하기 위한 추출조건 최적화에 대한 기초자료를 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

담수 미세조류인 *A. reginae*는 국립 낙동강 생물자원관 (Sangju, Korea)에서 동결건조 분말(0.71 mm) 상태로 제공받아 4°C에서 보관하여 실험에 사용하였다. 추출 용매는 증류수와 에탄올, 메탄올, 아세톤과 에틸 아세테이트(Samchun, Pyeongtaek, Korea; >99.5%)를 사용하였으며 이외 실험에 사용된 표준물질과 시약은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)의 순도 99.5% 이상의 특급 시약을 사용하였다. *A. reginae* 추출물의 주요물질 분석을 위한 HPLC (high performance liquid chromatography)용 이동상은 아세토니트릴과 메탄올은 Sigma-Aldrich의 순도 99.5% 이상을 사용하였다.

### 초음파 추출

*A. reginae*로부터 색소 물질 추출을 위해 건조 시료 0.2 g과 용매 2 mL를 혼합한 후 예비실험을 통해 선정된 4개의 영향인자(용매, 시간, 출력, 농도)의 처리조건을 Table 1과 같이 변경하여 초음파 추출실험을 진행하였다. 초음파 추출은 시료와 용매(증류수, 에탄올, 메탄올, 아세톤, 에틸 아세테이트)를 각각 혼합한 후 초음파 추출기(KFS-150N; Korea Process Technology Co., Seoul, Korea)를 이용하여 진행하였다. 초음파 주파수는 20 kHz로 고정하고 출력을 48.0 W, 64.0 W와 80.0 W로 변경하여 추출하였으며, 이후 2분간 냉각수에 침지하고 탁상용 초음파기(SD-250H; Mujigae Co., Seoul, Korea)를 사용하여 30°C, 40 kHz에서 30분간 2차 초음파 추출을 진행하였다. 추출물은 10,000 rpm에서 2분간 원심분리 후 상등액을 취하여 분석 실험에 사용하였다.

### 클로로필 분석

클로로필 추출은 Lee et al. (2005)의 방법을 일부 변경하여 진행하였으며 용매 추출을 위해 *A. reginae*와 95% 메탄올을 1:100 (v/v)으로 혼합하였고 색소 물질 분석을 위해 상등액을 분리해서 0°C에 보관하고 필요에 따라 희석하여 분석실험을 진행하였다(Cho et al., 2019). 클로로필 a와 b 측정에 있어 분광광

도계(UV-1650PC; Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 663 nm와 645 nm에서 흡광도를 측정하였고 클로로필 함량을 아래의 식으로 계산하였다(AOAC, 1965).

$$\text{클로로필a} = 12.72A_{663\text{nm}} - 2.58A_{645\text{nm}}$$

$$\text{클로로필b} = 22.88A_{645\text{nm}} - 5.50A_{663\text{nm}}$$

$A_{663\text{nm}}$ : 흡광도 663 nm

$A_{645\text{nm}}$ : 흡광도 645 nm

### 색소 물질 분석

색소 물질 분석은 Kim et al. (2011)의 방법을 일부 변형하여 진행하였다. *A. reginae* 추출물에 포함된 색소 물질의 정성 및 정량 분석을 위해 diode array detector (DAD)와 페놀류, 루테인, 제아잔틴과 카로틴류 분석에 특화 된 ODS1 컬럼(4.6 mm × 250 mm; Waters, Milford, MA, USA)이 장착된 HPLC (1260 series Infinity; Agilent Tech., Santa Clara, CA, USA)를 사용하였다. 분석에 앞서 추출물을 0.22 μm 시린지 필터(PVDF syringe filter, 0.22 μm; Hyundai Micro Co., Seoul, Korea)로 여과한 후 10 μL의 시료를 주입하였으며 이동상의 유속과 컬럼 온도를 0.5 mL/min과 30°C로 고정하고 이동상 A (아세토니트릴)와 이동상 B (메탄올)의 혼합비를 변경하며 물질 분리를 수행하였다. 이동상 조성은 시간에 따라 0-7분, 0.0-50.0% A; 7-12분, 50.0-100.0% A; 12-15분, 100.0-100.0% A; 15-17분, 100.0-50.0% A로 이동상 B와의 혼합비율을 변경하여 분석하였으며 검출물의 물질 특성 확인을 위해 DAD를 이용하여 190-640 nm에서 흡수 스펙트럼을 측정하였다. 검출물질의 정성 분석은 표준 물질의 머무름 시간(retention time) 및 흡수 스펙트럼 특성을 비교하였고 정량 분석은 표준 물질과 검출 피크인 Fig 1의 면적을 비교하여 농도를 계산하였다.

## 결과 및 고찰

### 추출 용매 최적화

*A. reginae*로부터 루테인, 카로틴과 클로로필 등의 색소 물질 추출 증진을 위해 용매(증류수, 에틸 아세테이트, 아세톤, 에탄올과 메탄올)에 따른 추출물의 색소물질 추출을 비교하였다. 에틸 아세테이트, 아세톤, 에탄올과 메탄올을 용매로 추출을 진행

Table 1. Experimental conditions for optimizing the extraction of pigment in *A cutodesmusreginae*

Extraction condition	Extraction solvent				
	Water	Ethyl acetate	Ethanol	Methanol	Acetone
Extraction solvent					
Extraction time (min)	1.0	1.5	2.0	3.0	4.0
Extraction power (W)	48.0	64.0	80.0		
Extraction concentration (%)	0.0	20.0	50.0	80.0	100.0

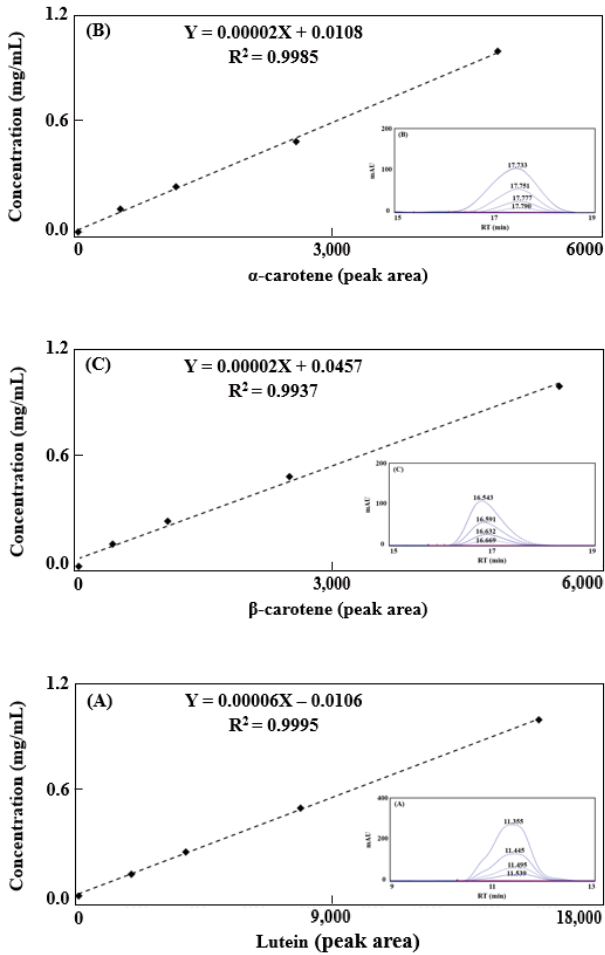


Fig. 1. Standard material calibration curve for the analysis of pigment substances. A, The calibration curve and extracted ion chromatogram of lutein containing 0.0-1.0 mg/mL; B, The calibration curve and extracted ion chromatogram of  $\alpha$ -carotene containing 0.0-1.0 mg/mL; C, The calibration curve and extracted ion chromatogram of  $\beta$ -carotene containing 0.0-1.0 mg/mL.

했을 때, 루테인, 알파카로틴과 베타카로틴이 검출되었으나 증류수를 이용한 추출에서는 루테인만 검출됨에 따라 미세조류에 함유된 색소는 증류수보다는 극성이 낮은 용매에서 추출 효율이 높은 것으로 Fig. 2와 같이 확인되었다. 메탄올 추출물의 루테인, 알파카로틴과 베타카로틴의 함량은 각각 5.91, 8.14와 3.06 mg/g dry matter (DM)로 메탄올 추출 시 가장 높은 추출 효율을 나타냈다. 또한 메탄올, 에틸 아세테이트, 에탄올과 아세톤 추출물의 루테인, 알파카로틴과 베타카로틴 함량 합이 각각 17.1, 7.58, 9.47과 16.4 mg/g DM로 에틸 아세테이트가 추출 효율이 가장 낮은 것으로 확인되었다. 본 실험에 사용된 용매의 상대 극성(relative polarity)은 증류수(1.0)>메탄올(0.762)>에탄올(0.654)>아세톤(0.355)>에틸 아세테이트(0.228)로 차이를

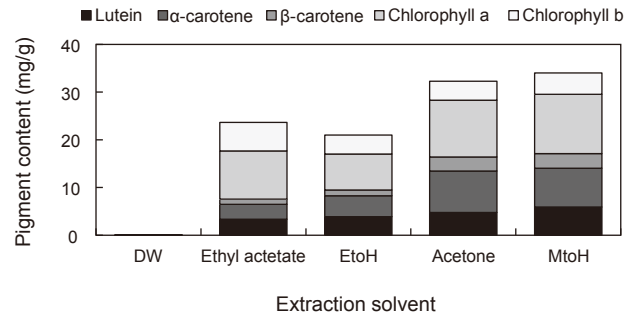


Fig. 2. Effect of extraction solvents on extraction of lutein,  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, chlorophyll a and b of *Acutodesmus reginae*. DW, Distilled water.

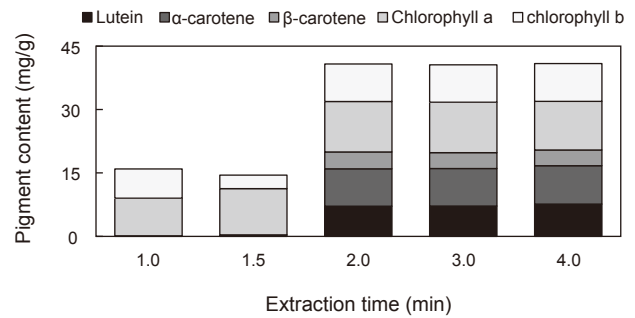


Fig. 3. Effect of extraction times on extraction of lutein,  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, chlorophyll a and b of *Acutodesmus reginae*.

보임에 따라 *A. reginae*에는 메탄올의 상대 극성인 0.7 부근에서 색소물질 추출이 증진되는 것으로 예측된다(Shin and Lee, 2011). 또한 클로로필 a와 b를 측정된 결과 메탄올 추출물에서 클로로필 a와 b가 각각 12.44와 4.46 mg/g DM로 메탄올이 가장 우수한 추출 효율을 보였다. 이는 마테로부터 유기용매를 이용한 추출에 있어 메탄올 추출물의 클로로필 a와 b의 함량이 각각 10.9와 1.18 mg/g DM로 메탄올이 기타 용매에 비해 색소물질인 클로로필 추출에 효과적인 용매라는 연구결과와 유사하여 *A. reginae*로부터 색소물질 추출을 위한 용매로 메탄올을 선정하였다(Yoo et al., 2013).

추출 시간 최적화

앞선 실험의 결과에 따라 메탄올을 추출 용매로 선정하여 추출시간에 따른 색소 추출량을 비교하였을 때 추출시간 1.0과 1.5분에서 알파카로틴과 베타카로틴이 검출되지 않았으나 추출 시간 2분 이후에서는 두 물질이 검출이 됨 Fig. 3에서 확인되었다. 추출 시간 2분에서 루테인, 알파카로틴과 베타카로틴 함량이 각각 7.14, 8.83과 3.97 mg/g DM로 나타났으며, 4분은 각각 7.64, 9.07과 3.71 mg/g DM로 나타나 추출시간 증가에 따

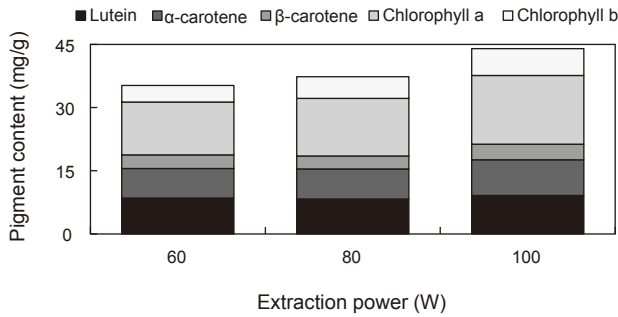


Fig. 4. Effect of extraction powers on extraction of lutein, α-carotene, β-carotene, chlorophyll a and b of *A. cutodesmus reginae*.

라 색소 추출이 유의적으로 변화가 없는 것으로 확인된다. 이는 루테인을 포함한 색소물질 추출에 있어 추출 시간 증가에 따라 자외선 및 산소 노출 확률이 증가하고 이에 의한 색소물질의 분해 또는 중합체 생성에 의해 추출 효율이 감소된다고 알려져 있다(Gao et al., 2009; Li et al., 2017). 따라서 베타카로틴은 추출 시간이 증가함에 따라 색소 추출이 증가하다가 특정 시간 이후 분해가 발생함으로써 인해 추출 효율이 감소된 것으로 예측된다. 또한 추출 시간에 따른 *A. reginae* 추출물의 클로로필 a와 b의 함량 변화를 확인한 결과, 추출 시간 2분까지 클로로필 a와 b의 함량이 증가했으나 루테인, 카로틴과 동일하게 추출 시간 3분 이상에서 함량 변화가 확인되지 않아 앞선 루테인, 알파카로틴과 베타카로틴의 추출 경향성과 일치하는 것으로 확인되어 추출 시간 증가에 따른 색소물질의 분해가 발생하는 것으로 판단되어 향후 실험에 경제성을 고려하여 메탄올을 용매로 하여 최적 추출 시간은 2분으로 결정하였다.

### 추출 출력 최적화

*A. reginae*로부터 색소 추출 증진을 위해 초음파 출력이 색소 물질 추출에 미치는 영향 평가를 위해 초음파 출력을 48 W, 64 W와 80 W로 설정하여 색소를 추출을 진행하여 Fig. 4에 나타냈을 때, 추출 출력 증가에 따라 색소물질 함량이 비례하여 증가하는 경향을 보였으며 48, 64와 80 W로 초음파 출력을 적용했을 때 루테인, 알파카로틴과 베타카로틴 함량의 합이 각각 18.8, 18.5와 21.3 mg/g DM로 80 W 추출에 있어 48 W와 64 W 추출 대비 약 1.12 배 증가한 것으로 나타나 추출 출력이 색소물질 추출에 주요 영향 인자임이 확인하였다. 이러한 결과는 추출 출력이 증가함에 따라 공동현상의 증가에 의해 작은 기포가 파괴되며 발생하는 압력 변화에 의해 세포벽과 전체 유기체가 파괴되어 색소 추출 효율이 증가한 것으로 예측할 수 있었다(Lee et al., 2006). 따라서 앞선 실험 결과를 기반으로 색소물질 최대 생산을 위한 최적 추출조건을 메탄올을 용매로 80 W에서 2분으로 선정하였다.

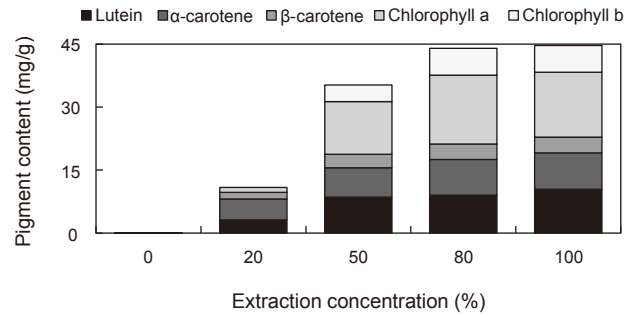


Fig. 5. Effect of extraction methanol concentrations on extraction of lutein, α-carotene, β-carotene, chlorophyll a and b of *Acutodesmus reginae*.

### 추출 용매 농도 최적화

추출 용매로 선정된 메탄올 농도에 따른 색소 물질 함량 비교를 위해 메탄올 농도를 0, 20, 50, 80과 99.5%로 설정하여 색소물질 추출을 진행하여 Fig. 5에 나타냈다. 메탄올 20, 50, 80, 99.5% 추출물의 루테인, 알파카로틴과 베타카로틴 함량의 합이 각각 9.70, 18.75, 21.20과 22.85 mg/g DM로 메탄올 99.5% 추출물의 루테인, 알파카로틴과 베타카로틴의 합이 최대 58% 증가됨이 확인되었다. 또한 메탄올 농도 증가에 따라 클로로필 a와 b의 추출이 증가하는 것으로 나타났으며 메탄올 99.5% 추출 시 클로로필 a와 b가 각각 15.4과 6.39 mg/g DM로 최댓값임이 확인되었다. 이러한 결과는 *A. reginae*로부터 색소 추출 시, 메탄올의 상대 극성 0.762에 용해도가 높은 색소의 분포가 높고 99.5% 메탄올이 시료의 공극에 더욱 효과적으로 침투하여 나타난 것으로 예측된다(Kim, 2013). 따라서 앞선 실험결과를 기반으로 최적 추출 효율을 나타내는 메탄올의 농도를 99.5%로 선정하였다.

### 최적 추출 조건 최적화

*A. reginae*로부터 색소물질 추출 증진을 위해 추출에 영향을 미치는 변수 4종(추출 용매, 추출 시간, 추출 횟수, 추출 출력과 추출 용매 농도를 설정하여 색소 추출 조건 최적화를 수행하였다. 그 결과 각 추출 변수의 순차적 최적화에 따라 루테인, 알파카로틴, 베타카로틴, 클로로필 a와 b의 추출 효율이 증가하는 것으로 확인되었다. 하지만 분해물과 생성물에 대한 정확한 연구 사례는 보고된 게 없으며, 본 연구에서도 측정되지 않았다. 향후 추가적인 연구를 통해 분해물과 생성물의 보다 면밀한 정성 및 정량 분석을 통해 본 부분을 해결하려 한다. 최적조건에서 루테인, 알파카로틴, 베타카로틴, 클로로필 a와 b의 함량은 각각 10.43, 8.66, 3.76, 15.43과 6.39 mg/g DM로 확인되었으며 이는 최적화 이전 조건에 비해 각각 1.43, 1.06, 1.23, 1.24와 1.43 배 증가한 것으로 주요 추출 변수 최적화에 따라 *A. reginae* 추출물 내 존재하는 5종의 색소 물질이 6-43% 증가한 것으로 확

인되었다. 최종적으로 도출된 최적 추출 조건은 메탄올 99.5%, 추출 출력 80 W, 추출시간 2분으로 확인되었다. 따라서 본 연구를 통해 *A. reginae*로부터 색소 추출 조건을 최적화함에 따라 친환경적 추출 방법인 초음파 공정을 이용하고 순차적 조건 최적화를 통해 향후 식품, 화장품 및 의약품 소재로써 상업적 사용 시 한정적으로만 이용되어왔던 미세조류로부터 고부가가치 기능성 물질의 생산이 가능할 것으로 사료된다.

## References

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1965. *Official Methods of Analysis*. Arlington, VA, U.S.A., 55-56.
- Chisti Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Adv* 25, 294-306. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>.
- Cho AR, Pyo MJ, Kang MJ and Shin JH. 2019. Evaluation of phytochemical contents and physiological activity in *Panax ginseng sprout* during low-temperature aging. *Korean J Food Preserv* 26, 38-48. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2019.26.1.38>.
- Gao Y, Nagy B, Liu X, Simándi B and Wang Q. 2009. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of lutein esters from marigold (*Tagetes erecta L.*) enhanced by ultrasound. *J Supercrit Fluids* 49, 345-350. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2009.02.006>.
- Fábryová T, Kubáč D, Kuzma M, Hrouzek P, Kopecký J, Tůmová L and Cheel J. 2021. High-performance counter-current chromatography for lutein production from a chlorophyll-deficient strain of the microalgae *Parachlorella kessleri* HY<sub>1</sub>. *J Appl Phycol* 33, 1999-2013. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02434-y>.
- Kim JT, Ahn DG, Park JR, Park JW and Jeong SH. 2011. Recent trends of the development of photobioreactors to cultivate microalgae. *J Korean Soc Precis Eng* 28, 125-132.
- Kim GS, Park CG, Lee KH, Choi JH, Lee SE, Noh HJ, Lee JH and Kim SY. 2011. Investigation of shikonin pigments and antioxidant activity of the roots from *Lithospermum erythrorhizon* according to the different growth stages and areas of cultivation. *Korean J Medicinal Crop Sci* 19, 435-440. <https://doi.org/10.7783/KJMCS.2011.19.6.435>.
- Kim DS. 2013. A study on fractionation process of tulip tree based on subcritical water pretreatment. Ph.D. Dissertation, Seoul University, Seoul, Korea.
- Lee BS, Ko MS, Kim HJ, Kwak IS, Kim DH and Chung BW. 2006. Separation of 6-gingerol from ginger [*Zingiber officinale Roscoe*] and antioxidative activity. *KSBB J* 21, 484-488.
- Lee MH, Han JS and Kozukue N. 2005. Changes of chlorophyll contents in spinach by growth periods and storage. *Korean J Food Cook Sci* 21, 339-345.
- Lee TY, Choi VR, Lee JK and Lim JH. 2011. Cultivation of *Chorella* sp. using light emitting diode. *J Korean Soc Environ Eng* 33, 591-597. <https://doi.org/10.4491/KSEE.2011.33.8.591>.
- Li M, Jang GY, Lee SH, Hwang SG, Sin HM, Kim HS, Lee JS and Jeong HS. 2017. Lutein,  $\beta$ -carotene, and polyphenol contents of sweet potato leaves under different extraction conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 46, 1343-1349. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2017.46.11.1343>.
- Park H, Yim KJ, Min JH, Kang SM, Han CW, Lee CS, Jung JY, Hong SJ, Lee CG and Kim ZH. 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. <https://doi.org/10.4014/mbl.1912.12020>.
- Park HW, Yim KJ, Min JH, Kang SM, Han CW, Lee CS, Jung JY, Hong SJ, Lee CG and Kim ZH. 2018. Study on photo-aging inhibition effect of microalgae-derived oil for cosmetic material development. *J Mar Biosci Biotechnol* 10, 83-90. <https://doi.org/10.15433/ksmb.2018.10.2.083>.
- Perrone S, Tei M., Longini M and Buonocore G. 2016. The multiple facets of lutein: A call for further investigation in the perinatal period. *Oxid Med Cell Longev* 2016, 5381540. <https://doi.org/10.1155/2016/5381540>.
- Promphet P, Bunarsa S, Sutteerawattananonda M and Kuntalart D. 2014. Immune enhancement activities of silk lutein extract from *Bombyx mori* cocoons. *Biol Res* 47, 15. <https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-15>.
- Roberts JE and Dennison J. 2015. The photobiology of lutein and zeaxanthin in the eye. *J Ophthalmol* 2015, 687173. <https://doi.org/10.1155/2015/687173>.
- Shin SL and Lee CH. 2011. Screening of effective extraction conditions for increasing antioxidant activities from fronds of *Osmunda japonica*. *Korean J Plant Res* 24, 174-180. <https://doi.org/10.7732/kjpr.2011.24.2.174>.
- Shin CY, Noh YJ, Jeong SY and Kim TG. 2020. Characterization of cellular growth, CO<sub>2</sub> assimilation and neutral lipid production for 4 different algal species. *Microbiol Biotechnol Lett* 48, 547-555. <https://doi.org/10.48022/mbl.2008.08017>.
- Sun Y, Huang Y, Liao Q, Fu Q and Zhu X. 2016. Enhancement of microalgae production by embedding hollow light guides to a flat-plate photobioreactor. *Bioresour Technol* 207, 31-38. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.136>.
- Yoo HJ, Ahn C and Narantuya L. 2013. Extractions of chlorophyll from spinach and mate powders and their dyeability on fabrics. *J Korean Soc Cloth Text* 37, 413-423. <https://doi.org/10.5850/JKSCT.2013.37.3.413>.