

제주 연안해역에서 분리한 규조류 *Melosira nummuloides*의 성장 특성김가영¹ · 장건강² · 고경민³ · 김형섭^{1*}¹국립군산대학교 해양생물자원학과
(54150) 전라북도 군산시 대학로 558²(주) 더스
(54166) 전라북도 군산시 산북로 118³(주)JDK바이오
(63296) 제주특별자치도 제주시 연삼로 723Growth Response in Culture Conditions for a Clone of Marine Diatom
Melosira nummuloides Isolated from Jeju Coastal WatersGa-Young Kim¹, Keon-Gang Jang², Gyung-Min Go³, and Hyung-Seop Kim^{1*}¹Department of Marine Biology, Kunsan National University, Gunsan 54150, Korea²The Healthier Ocean Eco-System Corporation, Gunsan 54166, Korea³JDK Bio Corporation, Jeju 63296, Korea

Abstract : *Melosira nummuloides* (KNU-HAPCC-101), which is a biological resource for fucoxanthin extraction, was separated from single cells, and optimal growth conditions were derived according to temperature, salinity, light intensity, light emitting diode, N:P ratio of culture medium, and dilution ratio of culture medium. These parameters were assessed to ascertain the best culture conditions for the most economical and efficient indoor mass production. The specific growth rate was the highest at 25°C in temperature, but there was no significant difference between 15°C and 20°C. *M. nummuloides* died at 0 psu in salinity, and the specific growth rate was the highest at 30 psu in respect to salinity. The light intensity was similar in all experimental groups except for 5 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The maximum biomass and specific growth rate in the light-emitting diode experiment were revealed at the red wavelength, but the concentration of chlorophyll-a was the lowest at the red wavelength whereas the white wavelength produced the highest chlorophyll-a concentration. In the experiment according to the ratio of nitrogen and phosphorus (N:P) based on the f/2 culture medium, the growth rate was significantly higher in the 15:1 to 50:1 ratio range. The growth rate according to the dilution concentration of the f/2 culture medium was the highest in the f/2 culture medium, but did not show a significant difference from the f/4 culture medium. *M. nummuloides* can be mass-cultured under conditions of a temperature of 15–25°C, a salinity of 15–35 psu, light intensity of 25–150 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, and f/4 media concentration level with an N:P ratio 15:1 or more. Based on the data of this study, it is expected that fucoxanthin can be produced in a highly efficient manner through the development of a mass culture system.

Key words : *Melosira nummuloides*, Fucoxanthin, maximum biomass, growth rate, optimal culture conditions

1. 서론

미세조류는 수중에 서식하는 광합성 단세포 조류를 총칭하는 것으로 광합성 산물의 30-50%를 담당하는 1차 생산자로서 수중 생태계에 중요한 역할을 하고(Chen et al. 2011), 광합성 과정에서 빛에너지를 화학에너지로 변환시켜 단백질, 지방, 탄수화물, 비타민 이외에도 EPA나 DHA 등과 같은 인체에 필요로 하는 불포화 지방산이나 카로티노이드 계통의 이차대사물질 등 유용 물질을 생산한다(김과 최 2014). 이러한 고부가가치 생산력을 가지는 미세조류를 건강보조식품, 수산 양식용 사료, 의약품 등 다양한 응용 분야에 산업적으로 이용하고자 하는 연구개발이 활발히 진행되고 있으나(Hong et al. 2019), 현재까지 몇 종을 제외한 대부분의 관련 연구는 연구 개발 단계 또는 실증화 연구 정도만 수행되고 있으며, 미세조류 대량 배양시 비용적, 기술적 문제로 인해 충분히 활용되지 못하고 있는 실정이다. 그중에서도 해수와 담수 미세조류의 주요 구성요소로서 지구상에 널리 분포하는 규조류(Bacillariophyceae)는 지구 전체 1차 생산량의 약 40%를 차지하여 미세조류 중에서도 가장 중요한 분류군이며(장 등 2014), 전 세계 탄소 고정량의 20%를 기여하는 것으로 추정되고 있다(Caldwell 2009). 또한 규조류는 다른 미세조류와 다르게 구조 성분의 껍질(frustule)이 사멸한 뒤에도 분해되지 않고 수중에 퇴적토의 형태로 남아 축적되는데, 이것을 규조토라고 하며(홍 등 2020), 여과재나 단열재 등 여러 분야에서 이용되고 있다. 또한 규조류가 합성하는 지방산 중 약 25%가 다불포화지방산(PUFA)으로 구성되고(Lopez et al. 2005), 식물플랑크톤 중 다른 분류군(phylum)에 비해 DHA/EPA 비율이 높은 것으로 알려져 있다(Jónasdóttir 2019).

Chlorophyll-a 및 c (c1, c2) 두 종류의 엽록소를 가지는 규조류는 광합성 보조색소인 카로티노이드 색소계열 7종류(diadinoxanthin, diatoxanthin, violaxanthin, antheraxanthin, zeaxanthin, β -carotene, fucoxanthin)를 함유하고 있으며(Kuczynska et al. 2015), 그중 fucoxanthin은 갈조류와 규조류의 크산토펜계 카로티노이드 색소로, 항염, 항산화, 항비만, 항당뇨, 항암 등 인체 건강에 대한 다양한 효능이 입증되어 세계적으로 수요가 증가하고 있다(Seth et al. 2021). fucoxanthin의 상업적 생산을 위해 다시마, 미역, 대황과 같은 거대 갈조류를 이용한 연구가 이루어지고 있으나, 해조류인 갈조류 톳(*Hizikia fusiformis*)과 미세조류인 규조류 *Phaeodactylum tricorutum*의 fucoxanthin 함유량을 비교했을 때 미세조류가 약 10배 이상 더 높은 농도를 함유하는 것으로 보고되었다(Kim et al. 2012). 또한 해조류는 주정 추출시 fucoxanthin 이외에도 다당체와 같은 다른 물질이 많아 미세조류 추출 비용보다 정제 비용

이 고가이며(이 등 2009), 성장 주기가 길고 fucoxanthin을 추출할 수 있는 종이 국한되어있어 제약이 크다. 그에 반해 규조류는 성장이 빠르고 수중 환경에서 대량으로 분포할 뿐만 아니라 지속적 생산이 가능하고, fucoxanthin 추출 효율이 높다. 최근 미세조류를 통한 fucoxanthin 생산 관련 연구가 활발히 진행되고 있으며, 그중 *Chaetoceros gracilis*는 2.24 mg g⁻¹, *Isochrysis galbana*는 6.04 mg g⁻¹, *Nitzschia* sp.는 4.92 mg g⁻¹을 함유하는 것으로 보고되었다(Xia et al. 2013).

*Melosira nummuloides*는 저서성 규조류로, 주로 물속 바다에서 관찰되는데, 돌과 같은 표면에 부착하여 서식하며, 타원형의 세포가 연결된 긴 사상체(filament)를 이루기 때문에 상대적으로 다른 미세조류에 비해 수확이 용이하다는 장점이 있다. *M. nummuloides*와 관련된 국내 연구로는 넓적 양식용 사료의 첨가제로서 성장 및 면적 촉진 반응에 미치는 영향에 관한 연구(노 등 2020)와 제주도 지하해수로 배양하여 fucoxanthin의 최적 수확 조건 탐색 및 특성을 분석한 연구(김 등 2022)가 진행되었다. *M. nummuloides*는 우리나라 전국 연안에 서식하며, 안정적으로 배양할 수 있어, fucoxanthin 추출을 위한 대체 소재로서 이용 가능성이 매우 크나, 순수 배양체를 이용한 실내 최적 배양조건과 관련된 연구는 찾아볼 수 없었다.

따라서 본 연구에서는 *M. nummuloides* 종주(strain)를 대상으로 다양한 환경 인자에 대한 최적 성장조건을 도출함으로써 향후 대량 배양을 위한 기초자료로 활용하고, fucoxanthin을 보다 더 효율적이고 경제적으로 생산하는데 활용 가능한 실용성 높은 성과를 얻는데 기여하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

단종 배양체 확보

제주특별자치도 서귀포시 표선면에 위치한 양식어장의 해수에서 *M. nummuloides* (KNU-HAPCC-101) 단일 균체를 Pasteur micro-pipette을 이용하여 단종 배양체를 확보하였다. 온도 20°C, 염분 30 psu, 광도 100 μ mol photons m⁻² s⁻¹ (백색 LED 조명, 연속광)의 항온 항습 배양조건과 고압 멸균한 해수를 기반으로 f/2+Si 배지를 제조하여 직전 세대 배양체를 접종하는 방식의 계대배양을 통해 종주를 유지하였다.

최적 성장 조건 규명

M. nummuloides 종주의 최적 성장조건을 규명하기 위하여 온도, 염분, 광도, 발광다이오드, N:P 비율, f/2 배양액 희석 비율에 대한 성장실험을 수행하였다. 실험 용기로 250 ml 둥근 PC (polycarbonate) 병을 사용하였고 실험 용

Table 1. Experimental conditions for growth response of a marine diatom *Melosira nummuloides*

Type of experiment	Experimental conditions
Temperature	5, 10, 15, 20, 25, 30°C
Salinity	0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35psu
Light intensities	5, 25, 50, 100, 150 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Light Emitting Diode	RED (630 nm), Blue (460 nm), Green (530 nm), Yellow (590 nm), White (mix)
N:P ratio	1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1
f/2 medium ratio	control (no addition), f/16, f/8, f/4, f/2

량은 200 ml, 초기 접종농도는 200 cells ml^{-1} 로 설정하였다. 각각의 환경요인별 실험 조건은 Table 1과 같으며, 실험시 해당 환경요인을 변경하여 실험구를 설정하였고, 기본 조건은 온도 20°C, 염분 30 psu, 광도 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (백색 LED 조명, 연속광), f/2+Si 배지이었다.

배양실험 기간 동안 매일 같은 시각에 실험용기에서 일정량(5 ml)을 취하여 Lugol 용액으로 고정된 다음 Sedgwick-Rafter 계수판(S-R chamber)과 광학현미경(Nikon ECLIPSE E100)을 이용해 계수하였다. 또한 지수성장 기간 중에 최대 생물량(maximum biomass)과 성장률(specific growth rate)을 계산하였고, 실험 종료 후 남은 배양체에 대하여 일정량을 취한 후 엽록소 a (chlorophyll-a)를 측정하였다.

3. 결과

수온 및 염분

수온 조건별 최대 생물량은 5°C에서 5,200 cells ml^{-1} , 10°C에서 8,692 cells ml^{-1} , 15°C에서 23,433 cells ml^{-1} , 20°C에서 25,650 cells ml^{-1} , 25°C에서 34,050 cells ml^{-1} , 30°C에서 364 cells ml^{-1} 로, 30°C를 제외하고 온도가 높을수록 생물량이 많아지는 경향을 보였다(Fig. 1a). 지수성장 시기의 일간성장률은 15°C에서 1.21 d^{-1} , 20°C에서 1.25 d^{-1} , 25°C에서 1.36 d^{-1} 로 다른 온도 조건에 비해 유의적($p < 0.05$)으로 높은 성장률을 보였으며, 실험 종료 후 엽록소 a 농도는 20°C에서 334.8 $\mu\text{g l}^{-1}$, 25°C에서 352.0 $\mu\text{g l}^{-1}$ 로 다른 온도 조건에 비해 유의적으로 높은 농도를 보였다(Table 2).

염분 조건별 최대 생물량은 염분 5 psu에서 6,133 cells ml^{-1} , 10 psu에서 20,175 cells ml^{-1} , 15 psu에서 23,517 cells ml^{-1} , 20 psu에서 26,283 cells ml^{-1} , 25 psu에서 25,117 cells ml^{-1} , 30 psu에서 26,750 cells ml^{-1} , 35 psu에서 27,850 cells ml^{-1} 로 나타났으며, 0 psu에서는 전량 사멸하였다(Fig. 1b). 일간성장률은 30 psu에서 1.26 d^{-1} 으로 가장 높았으며, 엽록소 a 농도는 20 psu에서 346.3 $\mu\text{g l}^{-1}$, 25 psu에서 356.9 $\mu\text{g l}^{-1}$, 30 psu에서 323.5 $\mu\text{g l}^{-1}$ 로, 20-30 psu의

염분 범위에서 유의적으로 높은 엽록소 a 농도를 보였다(Table 3).

광도 및 광원

광도별 최대 생물량은 5 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 9,833 cells ml^{-1} , 25 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 22,608 cells ml^{-1} , 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 25,688 cells ml^{-1} , 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 26,358 cells ml^{-1} , 150 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 23,267 cells ml^{-1} 로, 25-150 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서 최대 생물량은 유사하게 나타났다(Fig. 1c). 지수성장기의 일간성장률은 광량 세기별로 25-150 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서 일간성장률은 유의한 차이를 보이지 않았으며, 엽록소 a 농도 또한 25-150 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서 유의한 차이가 없었다(Table 4).

광원의 파장별 최대 생물량은 적색에서 33,250 cells ml^{-1} , 청색에서 25,360 cells ml^{-1} , 녹색에서 25,530 cells ml^{-1} , 황색에서 23,770 cells ml^{-1} , 백색에서 23,510 cells ml^{-1} 로, 적색 파장에서 생물량이 가장 많았고(Fig. 1d), 일간 성장률 또한 적색에서 1.31 d^{-1} 로 가장 높은 성장률을 보였다. 그러나, 엽록소 a 농도는 적색에서 108.6 $\mu\text{g l}^{-1}$ 로 가장 낮고, 백색에서 364.8 $\mu\text{g l}^{-1}$ 로 나타나 차이를 보였다. 또한 실험 종료 후 *M. nummuloides*의 세포 크기를 측정된 결과, 평균 크기는 적색에서 9.37 \pm 0.44 μm , 청색에서 10.58 \pm 0.81 μm , 녹색에서 10.77 \pm 0.81 μm , 황색에서 10.38 \pm 0.72 μm , 백색에서 12.32 \pm 0.51 μm 로 광원에 따라 세포의 크기 차이를 보였다(Table 5).

영양염 비율 및 농도

질소와 인 비율(N:P)에 따른 *M. nummuloides*의 최대 생물량은 1:1 비율 조건에서 15,217 cells ml^{-1} , 5:1 비율 조건에서 19,600 cells ml^{-1} , 10:1 비율 조건에서 19,367 cells ml^{-1} , 15:1 비율 조건에서 25,333 cells ml^{-1} , 20:1 비율 조건에서 25,350 cells ml^{-1} , 50:1 비율 조건에서 25,067 cells ml^{-1} 로, 질소의 비율이 높은 15:1, 20:1, 50:1 비율 조건이 다른 조건에 비해 높은 생물량은 보였다(Fig. 1e). 일

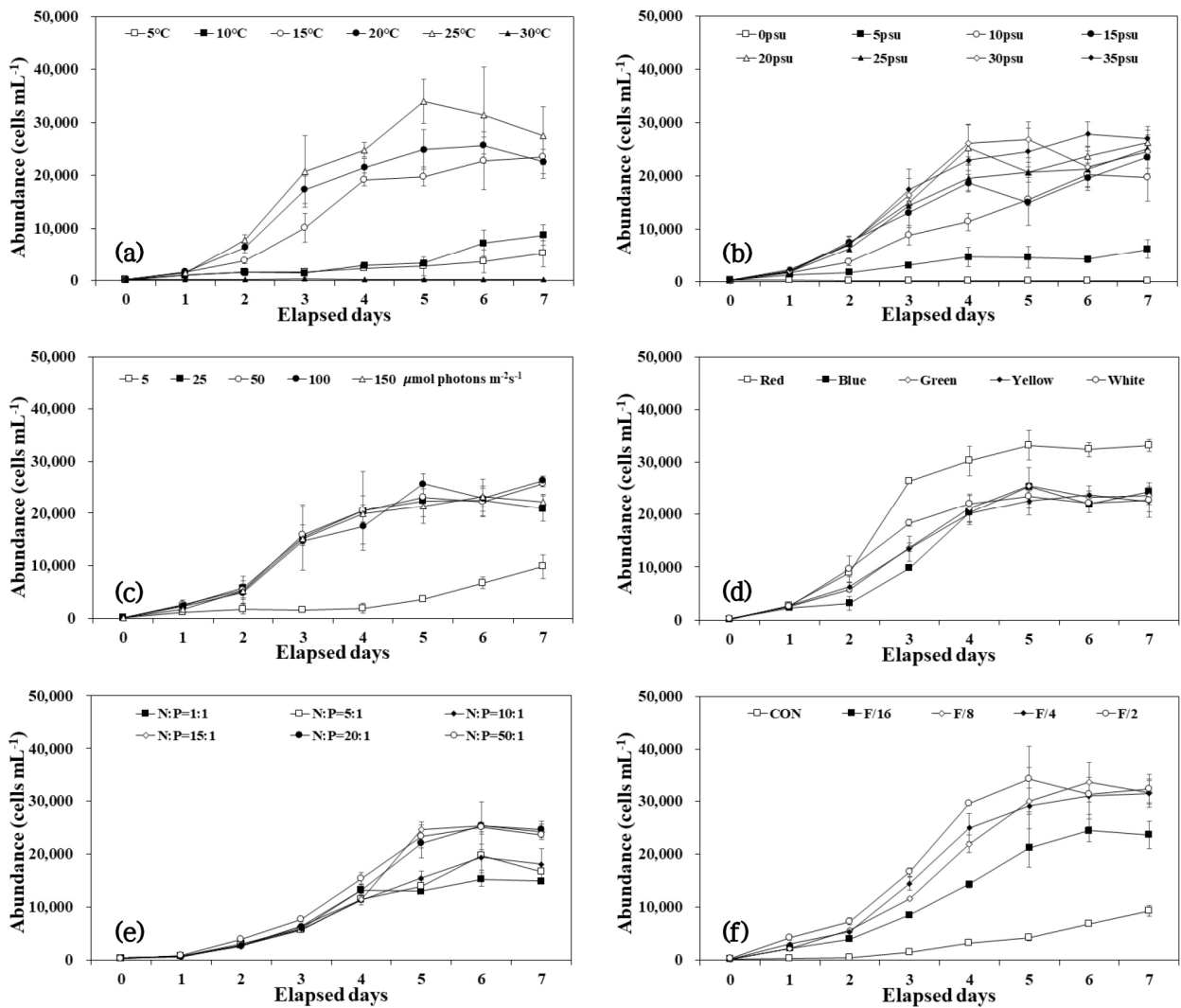


Fig. 1. Variations in daily growth of a diatom clone *Melosira nummuloides* under different temperature (a), salinity (b), light intensity (c), LED light source (d), N:P ratio (e), different dilution ratio on f/2 medium (f)

Table 2. Growth rates and chlorophyll-a concentrations of a diatom clone *Melosira nummuloides* under different temperature

Temperature (°C)	Specific growth rate (d ⁻¹)	Chlorophyll-a (μg l ⁻¹)
5	0.65±0.12 ^b	39.74±3.64 ^d
10	0.72±0.05 ^b	106.15±7.11 ^c
15	1.21±0.03 ^a	234.59±6.58 ^b
20	1.25±0.02 ^a	334.77±27.74 ^a
25	1.36±0.09 ^a	352.00±14.72 ^a
30	-0.01±0.03 ^c	9.02±1.74 ^e

* Different letters in the same column were indicated significantly difference at the level of 95%.

간성장률은 20:1 비율 조건에서 0.87 d⁻¹로 가장 높은 일간 성장률을 보였고, 15:1 비율 이상의 조건과 유의적인 차이가 없었으나, 엽록소 a 농도 기준으로는 5:1 비율 이상에

서 유의적인 차이가 없었다(Table 6).

f/2 배지의 농도별 최대 생물량은 배지가 첨가되지 않은 대조구(control)에서 9,248 cells ml⁻¹, f/16 농도 24,433

Table 3. Growth rates and chlorophyll-a concentrations of a diatom clone *Melosira nummuloides* under different salinity

Salinity (psu)	Specific growth rate (d ⁻¹)	Chlorophyll-a (μg l ⁻¹)
0	-0.38±0.48 ^c	6.50±4.16 ^d
5	0.71±0.17 ^b	25.96±11.42 ^d
10	0.99±0.13 ^{ab}	159.68±10.28 ^c
15	1.10±0.01 ^{ab}	288.52±13.37 ^b
20	1.18±0.06 ^{ab}	346.31±20.93 ^a
25	1.17±0.03 ^{ab}	356.88±6.06 ^a
30	1.26±0.03 ^a	323.47±15.92 ^a
35	1.18±0.01 ^{ab}	280.56±7.38 ^b

*Different letters in the same column were indicated significantly difference at the level of 95%.

Table 4. Growth rates and chlorophyll-a concentrations of a diatom clone *Melosira nummuloides* under different light intensities

Light intensity (μmol photons m ⁻² s ⁻¹)	Specific growth rate (d ⁻¹)	Chlorophyll-a (μg l ⁻¹)
5	0.56±0.01 ^b	144.48±17.49 ^b
25	1.19±0.01 ^a	346.15±11.49 ^a
50	1.17±0.13 ^a	325.34±23.67 ^a
100	1.14±0.03 ^a	351.68±11.11 ^a
150	1.26±0.07 ^a	313.07±13.20 ^a

*Different letters in the same column were indicated significantly difference at the level of 95%.

Table 5. Growth rates, chlorophyll-a concentrations, and cells size of a diatom clone *Melosira nummuloides* under different LED light source

LED light source	Specific growth rate (d ⁻¹)	Chlorophyll-a (μg l ⁻¹)	Cell size (μm)
Red (630 nm)	1.31±0.01 ^a	108.63±8.89 ^c	9.37±0.44 ^d
Blue (460 nm)	1.11±0.07 ^b	162.57±5.11 ^b	10.58±0.81 ^{bc}
Green (530 nm)	1.13±0.02 ^b	169.33±13.80 ^b	10.77±0.81 ^b
Yellow (590 nm)	1.16±0.03 ^b	108.06±17.29 ^c	10.38±0.72 ^c
White (mixed)	1.17±0.07 ^b	364.76±15.61 ^a	12.32±0.51 ^a

*Different letters in the same column were indicated significantly difference at the level of 95%.

Table 6. Growth rates and chlorophyll-a concentrations of a diatom clone *Melosira nummuloides* under different N:P ratios of culture medium

N:P Ratio	Specific growth rate (d ⁻¹)	Chlorophyll-a (μg l ⁻¹)
1:1	0.77±0.01 ^b	169.00±1.89 ^b
5:1	0.82±0.03 ^{ab}	330.00±10.48 ^a
10:1	0.81±0.01 ^{ab}	328.63±16.27 ^a
15:1	0.86±0.03 ^a	367.76±17.74 ^a
20:1	0.87±0.01 ^a	366.35±15.25 ^a
50:1	0.83±0.03 ^a	373.53±26.77 ^a

*Different letters in the same column were indicated significantly difference at the level of 95%.

Table 7. Growth rates and chlorophyll-a concentrations of a diatom clone *Melosira nummuloides* under different dilution ratio of f/2 medium

Culture medium ratio	Specific growth rate (d ⁻¹)	Chlorophyll-a (μg l ⁻¹)
Control	0.77±0.09 ^c	55.82±17.63 ^d
f/16	0.98±0.03 ^b	251.43±23.76 ^c
f/8	1.08±0.02 ^{ab}	335.12±9.11 ^b
f/4	1.10±0.04 ^a	385.27±20.51 ^a
f/2	1.12±0.01 ^a	385.19±9.21 ^a

*Different letters in the same column were indicated significantly difference at the level of 95%.

cells ml⁻¹, f/8 농도 33,650 cells ml⁻¹, f/4 농도 31,467 cells ml⁻¹, f/2 농도에서 34,233 cells ml⁻¹로 나타났다(Fig. 1f). 일간성장률은 f/4 실험구에서 1.11 d⁻¹, f/2 실험구에서 1.12 d⁻¹로, f/4와 f/2 실험구에서 유의적으로 높은 성장을 보였으며, 엽록소 a 농도 또한 f/4 실험구에서 385.3 μg l⁻¹, f/2 실험구에서 385.2 μg l⁻¹로 높아 다른 실험구와 유의적인 차이를 보였다(Table 7).

4. 고 찰

규조류는 부영양화 지역일수록 개체군의 밀도가 높고 세포 내 규산질과 엽록소 a 농도가 높다(Miyajima et al. 1994). 특히, *M. nummuloides*는 BOD 및 부유 물질과 양의 상관관계를 가지며, 오염도가 높은 연안에서 지배적으로 성장한다고 보고(McLean et al. 1981)했고, 이는 오염의 정도가 심한 연안에서 성장이 가능한 오염 지표종임을 시사한다. 이렇듯 *Melosira* spp.는 부영양화 환경에서도 적응력이 뛰어나며, 해양 규조류 중 우점도가 높은 종에 속한다(Castenholz 1963). 또한 *Melosira* spp.는 전 세계적으로 분포하며 이는 다양한 환경 조건에 대한 내성을 갖는다는 것을 의미하고(Thomson et al. 1980), 특히 수온과 염분 변동에 대한 내성이 매우 높은 것을 의미한다(Wulff and McIntire 1972).

본 연구에서 *M. nummuloides*는 15–25°C 조건에서 최적 성장을 보였고(p < 0.05), 엽록소 a 농도는 25°C에서 가장 높게 나타났다. 이와 유사하게 *Navicula* sp.의 최적 성장에 부합하는 온도는 20–25°C로 나타났는데, 이는 저서성 규조류가 다른 종에 비해서 넓은 범위의 온도에 적응이 가능한 특성을 갖는 것을 의미한다(권 등 2011). 또한 Prelle et al. (2021)은 저서성 규조류가 15–20°C에서 최대성장률을 보였다고 보고하였다. 같은 속의 *Melosira moniliformis*도 21°C에 비해 26°C에서 빠른 성장을 보이며, 상대적으로 높은 온도에서 높은 성장률을 보인다고 알려졌다(Lora-Vilchis et al. 2018). 동일 종을 대상으로 한

연구에서 김 등 (2022)은 17°C와 20°C에서 유의적으로 높은 성장을 하는 것으로 보고해 본 연구보다 다소 낮은 온도를 제시하였다. 따라서 *M. nummuloides*는 15–25°C 조건에서 배양하는 것이 가장 적합한 것으로 판단되며, 30°C 조건에서 전량 사멸한 점을 볼 때, 산업적으로 활용할 경우 높은 온도에 주의해야된다.

Suryaningtyas et al. (2022)은 염분 10, 15, 20, 25, 30, 35 psu 조건으로 배양한 *Melosira* sp.의 성장과 지질 생산성에 관한 연구를 통해 저 염분 자극이 지질 생산에 효율적인 영향을 미치지만, 생물량은 높은 염분에서 증가한다고 보고하였다. 또한 *M. nummuloides*는 염분 변화에 대한 내성이 강한 광염성 종이나 매우 낮은 염분에서는 성장할 수 없는 해양성 규조류의 특징을 가지며, 높은 염분에서 상대적으로 성장률이 높다고 보고된 바 있다(Prelle et al. 2021). 본 연구의 염분 실험에서 0 psu 조건은 사멸하였고 30 psu 조건에서 최대 성장을 보였으며, 10–35 psu의 성장률 또한 높게 나타났다(p < 0.05). *M. nummuloides*는 앞서 언급한 것처럼 넓은 범위의 염분 조건에 잘 적응하며, 엽록소 a 농도 또한 20–30 psu 조건에서 유의하게 높아(p < 0.05), 일반 연안 환경과 유사한 염분 조건에서 최적으로 성장할 수 있을 것으로 판단된다.

Raharianto (2020)은 *Melosira* sp.의 성장에 있어 빛과 광주기는 중요한 요소로 작용하며, 4,310 lux (약 74 μmol photons m⁻² s⁻¹), 2,230 lux (약 38 μmol photons m⁻² s⁻¹)에서 성장을 비교한 결과, 2,230 lux에서 세포의 성장과 규산염 및 인산염의 흡수가 더 높게 이루어진다고 보고하였다. 또한 명암주기는 연속 광 조건일 때 엽록소 a와 카로티노이드 농도가 증가했으며, 이는 연속 광 조건이 *M. nummuloides*의 유용 물질 생성에 더 효과적임을 나타냈다. 본 연구의 광도 실험 결과, 25–150 μmol photons m⁻² s⁻¹ 조건에서 유사하게 성장하는 경향을 보였고(p < 0.05), 엽록소 a 농도 또한 높게 나타나, 광도에 큰 영향을 받지 않고 상대적으로 저광도 조건에서도 효율적으로 성장하는 저서 규조류의 특징을 갖는 것으로 판단된다.

발광다이오드(LED)를 이용한 *M. nummuloides*의 성장 실험 결과, 적색(630 nm)에서 가장 높은 생물량과 일간성장률을 보였던 반면, 청색, 녹색, 황색, 백색은 이보다 낮은 생물량과 일간성장률을 보이면서 서로 유사한 것으로 나타났다. 또한 세포 크기를 측정된 결과, 적색 LED 실험구의 세포 크기가 백색 LED 실험구에 비해 소형인 점이 확인됨에 따라 Schulze et al. (2014)의 연구 결과와 같이 적색 파장이 미세조류의 높은 성장을 촉진시키며, 급속한 성장으로 인해 세포의 크기가 작아지는 결과를 얻었다. 또한 식물플랑크톤의 엽록소 a 농도와 세포수 및 생체량과의 상관관계에 관해 두 가지 관점이 보고되고 있는데, 주 등 (2011)은 엽록소 a 농도는 생체량보다는 세포수와 상관관계가 더 높다고 보고하였고, Jin et al. (1998)은 엽록소 a 농도는 출현 밀도의 차이보다 우점종의 생체량과 그 안에 포함되는 엽록소의 함량 문제로, 일반적으로 엽록소 함량은 세포 밀도, 광량, 수온, 영양염 등 서식 환경에 따라 다른 양상을 나타내고, 특히 광량에 따라 변화한다고 보고하였다. 본 연구에서 적색 파장보다 세포의 크기가 큰 백색 파장에서 엽록소 a 농도가 높게 나타난 점을 볼 때, *M. nummuloides*는 chlorophyll-a와 생체량 간의 상관관계가 더 높은 것으로 판단된다. 그리고 엽록소 a는 주로 660 nm와 429 nm 파장의 빛을 효과적으로 흡수하는데, 이는 적색(630 nm)과 청색(460 nm) 파장에 해당되며, 백색광은 이 두 개의 파장을 포함하기 때문에 엽록소 a 농도가 가장 높게 나타난 것으로, 파장대에 따른 엽록소 a의 축적률에 차이가 있는 것으로 판단된다(안 등 2014). 따라서 적색광을 이용해 *M. nummuloides*의 빠른 성장을 유도하고, 청색광으로 색소체의 함량을 증진시키는 광원 교대 실험도 고려할 수 있을 것으로 생각된다.

미세조류에 있어 질산염과 인산염의 농도는 서식에 적합한 환경을 결정하며, 해수로부터 영양염을 흡수하고 세포성분을 구성하는 성장에 필수적인 요소로 작용한다(안 등 2013). Redfield ratio는 해양 유기물의 평균 조성고 호흡하는데 필요한 산소를 의미하고(Lenton and Watson 2000), 일반적으로 C:N:P=106:16:1로 나타나며, 일반적인 미세조류의 성장 최적 비율은 16:1로 알려져 있다. 그러나 와편모조류의 경우 *Gymnodinium* sp.는 6:1 (NO₃), *Gonyaulax polygramma*는 4-8:1 (Dissolved Nitrogen, 이하 DN), *Prorocentrum minimum*은 4-13:1 (DN)로 20:1보다 낮은 비율, 규조류의 경우 *Skeletonema costatum*은 15-30:1 (DN), *Cylindrotheca closterium*은 160:1 (NO₃)로 20:1보다 높은 비율에서 효율적으로 성장하며, 종에 따라 적합한 N:P 비율과 질소의 형태가 다르다(Zhang and Hu 2011). 본 연구의 N:P 비율 실험 결과, 15:1-50:1 조건에서 유의적으로 높은 성장을 보였고($p < 0.05$), 엽록소 a 농도는 5:1-50:1 조건 간에는 유사하게 나타났다($p < 0.05$). Rehmanju et

al. (2022)은 규조류 *Phaeodactylum tricornutum*의 배양 시 질소 함량이 높을수록 바이오매스가 증가하고, EPA 및 fucoxanthin과 같은 대사물질 생산 효율을 증진한다고 보고하였다. 따라서 *M. nummuloides*는 15:1 이상의 N:P 비율 조건에서 배양하는 것이 적절하나, fucoxanthin의 함량을 증가시키기 위한 N:P의 적정 비율 연구가 필요하다고 판단된다.

미세조류의 배양 시 미량금속 및 비타민이 포함된 배양액 제조를 통해 영양염을 공급하는데 이는 대량 배양할 때 비용적 측면에서 부담이 크며, 미세조류의 일반적인 배양에 사용되는 f/2 배지의 경우 질소와 인의 공급량을 줄이면 전체 비용의 약 45% 이상을 절감할 수 있는 것으로 알려졌다(강 2016). 본 연구의 배양액 희석 비율 실험 결과, f/4와 f/2 배양액을 투여했을 때 최적의 성장을 보였으며, 엽록소 a 농도 또한 f/4와 f/2 배양액에서 가장 높았다. 따라서 비용 절감 측면을 고려할 때 f/2 배양액을 1/2로 줄인 f/4 배양액 수준의 농도가 적절할 것으로 판단된다.

본 연구는 *M. nummuloides*의 온도, 염분, 광도, 발광다이오드, N:P 비율, 배양액 희석 비율에 따른 최적 성장조건을 도출하여 바이오매스 및 fucoxanthin의 경제적 대량 생산을 목적으로 진행하였다. *M. nummuloides*는 온도 15-25°C, 염분 30psu, 광도 25 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이상의 조건이 성장에 적합하다. f/2 배양액의 N:P 비율은 16.9:1로, 최적 성장을 보인 15:1 이상의 N:P 비율 조건과 유사하다. 또한 f/4와 f/2 배양액에서 최적의 성장을 보였고, 엽록소 a 농도가 높은 것으로 볼 때, f/4 수준의 저농도 배양액을 사용하면 저비용 생산이 가능할 것으로 판단되기 때문에 본 연구 결과를 *M. nummuloides*의 효율적인 대량생산을 위한 기초자료로 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 해양수산과학기술진흥원(KIMST)의 해양수산신산업기술사업화 지원사업(20220255)과 전북씨그랜트사업(20220163)으로 수행되었습니다.

참고문헌

- 강수화 (2016) 축산폐수를 이용한 미세조류 배양. 석사학위논문, 부경대학교, 39 p
- 권형규, 오석진, 양한섭, 유영문 (2011) 식물환경복원을 위한 저서미세조류의 성장에 미치는 수온과 염분의 영향. 한국해양환경공학회지 14(2):130-137
- 김대근, 최윤이 (2014) LED 광원을 활용한 미세조류의 배양. 한국화학공학회지 52(1):8-16

- 김윤영, 신현아, 최정우, 김미연, 고경민 (2022) 제주도 용암 해수로 대량배양한 미세조류 (*Melosira nummuloides*)의 성분 특성. 한국수산과학회지 **55**(2):91-101
- 노윤혜, 김기혁, 문혜나, 고경민, 여인규 (2020) 규조류 및 유산균 첨가 사료 공급에 따른 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 성장 및 비특이적 면역 촉진 반응에 미치는 영향. 한국수산과학회지 **53**(4):597-605
- 안치용, 이재연, 오희목 (2013) N:P 조절에 의한 미세조류 성장과 경쟁 제어. 한국환경생물학회지 **31**(2):61-68
- 안희춘, 배재현, 권오남, 박흥기, 박진철 (2014) LED (Light-Emitting Diode)를 이용한 미세조류(*Chaetoceros calcitrans*)의 성장 및 생화학적 조성 변화. 수산해양기술연구 **50**(4):447-454
- 이보미, 김철진, 김종태, 서정주, 김인환 (2009) 초임계 이산화탄소를 이용하여 감태로부터 Fucoxanthin 농축. 한국식품영양과학회지 **38**(10):1452-1456
- 장의경, 신현경, 백승필 (2014) 무기소재 및 생물환경 소재로서의 규조류 활용 연구 동향. 한국생물공학회지 **29**(1):9-21
- 주형민, 이진환, 정승원 (2011) 식물플랑크톤 군집의 개체수, 생체량, chlorophyll a의 상관성- 인천, 통영, 울산 해역을 중심으로. 한국환경생물학회지 **29**(4):312-320
- 홍혜진, 류병곤, 김정민 (2020) 규조류 바이오 실리카 추출 및 활용 기술 동향. 한국화학공학회지 **38**(5):466-473
- Caldwell GS (2009) The Influence of bioactive oxylipins from marine diatoms on invertebrate reproduction and development. Mar Drugs **7**(3):367-400
- Castenholz RW (1963) An experimental study of the vertical distribution of littoral marine diatoms. Limnol Oceanogr **8**(4):450-462
- Chen CY, Yeh KL, Aisyah R, Lee DJ, Chang JS (2011) Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. Bioresour Technol **102**(1):71-81
- Hong JW, Kang NS, Jang HS, Kim HJ, An YR, Yoon M, Kim HS (2019) Biotechnological potential of Korean marine microalgal strains and its future perspectives. Ocean Polar Res **41**(4):289-309
- Jin H, Egashira S, Chau KW (1998) Carbon to chlorophyll-a ratio in modeling long-term eutrophication phenomena. Wat Sci Tech **38**(11):227-235
- Jónasdóttir SH (2019) Fatty acid profiles and production in marine phytoplankton. Mar Drugs **17**(3):151
- Kim SM, Jung YJ, Kwon ON, Cha KH, Um BH, Chung DW, Pan CH (2012) A potential commercial source of fucoxanthin extracted from the microalga *Phaeodactylum tricorutum*. Appl Biochem Biotechnol **166**:1843-1855
- Kuczynska P, Jemiola-Rzeminska M, Strzalka K (2015) Photosynthetic pigments in diatoms. Mar Drugs **13**(9):5847-5881
- Lenton TM, Watson AJ (2000) Redfield revisited: 1. regulation of nitrate, phosphate, and oxygen in the ocean. Glob Biogeochem Cycles **14**(1):225-248
- Lopez PJ, Desclés J, Allen AE, Bowler C (2005) Prospects in diatom research. Curr Opin Biotechnol **16**(2):180-186
- Lora-Vilchis MC, Huanacuni-Pilco JI, López-Fuerte FO, Pérez-Rojas CA (2018) Growth rate, lipid, fatty acids, and pigments content of *Melosira moniliformis* (Bacillariophyta) in laboratory cultures. Rev Latinoam Biotechnol Amb Algal **9**(1):1-16
- McLean RO, Corrigan J, Webster J (1981) Heterotrophic nutrition *Melosira nummuloides*, a possible role in affecting distribution in Clyde Estuary. Br Phycol J **16**(1):95-106
- Miyajima T, Nakanishi M, Nakano S, Tezuka Y (1994) An autumnal bloom of the diatom *Melosira granulata* in a shallow eutrophic lake: physical and chemical constraints on its population dynamics. Arch Hydrobiol **130**(2):143-162.
- Prell LR, Albrecht M, Karsten U, Damer P, Giese T, Jähns J, Müller S, Schulz L, Viertel L, Glaser K (2021) Ecophysiological and cell biological traits of benthic diatoms from coastal wetlands of the southern Baltic Sea. Front Microbiol **12**:642811
- Raharianto RB (2020) The effect of light intensity and photoperiod on marine diatom *Melosira* sp.. Indone Int Inst Life Sci BT **20-001**:T202010047
- Rehmanju M, Nesamma A, Khan N, Fatma T, Jutur P (2022) Media engineering in marine diatom *Phaeodactylum tricorutum* employing cost-effective substrates for sustainable production of high-value renewables. Biotechnol J **17**(10):2100684
- Schulze PSC, Barreira LA, Pereira HGC, Perales JA, Varela JCS (2014) Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production. Trends Biotechnol **32**(8):422-430
- Seth K, Kumar A, Rastogi RP, Meena M, Vinayak V (2021) Bioprospecting of fucoxanthin from diatoms- Challenges and perspectives. Algal Res **60**:102475
- Suryaningtyas IT, Permadi S, Solikin, Jasmadi, Sapulete S, Suparmo, Widyartini DS (2022) Growth and lipid profiles of *Melosira* sp. in response to different salinity levels. J Aquacult Fish Health **11**(2):216-226
- Thomson BE, Worrest RC, Dyke HV (1980) The growth response of an estuarine diatom (*Melosira nummuloides* [dillw.] Ag.) to UV-B (290-320 nm) radiation. Estuaries **3**(1):69-72
- Wulff BL, McIntire C (1972) Laboratory studies of assemblages of attached estuarine diatoms. Limnol Oceanogr

17(2):200–214

Xia S, Wang K, Wan L, Li A, Hu Q, Zhang C (2013) Production, characterization, and antioxidant activity of fucoxanthin from the marine diatom *Odontella aurita*. *Mar Drugs* **11**(7):2667–2681

Zhang Q, Hu G (2011) Effect of nitrogen to phosphorus ratios on cell proliferation in marine micro algae. *Chin J Oceanol Limnol* **29**(4):739–745

국문 참고자료의 영문표기

English translation / Romanization of references originally written in Korean

Kang SH (2016) Utilization fo swine manure for microalgae cultivation. *Fis. Master Thesis, Pukyong National University*, 39 p

Kwon HK, Oh SJ, Yang HS, Yu YM (2011) Effects of temperature and salinity on the growth of marine benthic microalgae for phytoremediation. *J Korean Soc Mar Environ Eng* **14**(2):130–137

Kim DG, Choi YE (2014) Microalgae cultivation using LED light. *Korean Chem Eng Res* **52**(1):8–16

Kim Y, Shin HA, Choi JW, Kim MY, Go GM (2022) Compositional characteristics of the microalga *Melosira nummuloides* mass-cultured using Jeju lava seawater. *Korean J Fish Aquat Sci* **55**(2):91–101

Noh YH, Kim KH, Moon HN, Go GM, Yeo IK (2020) Effect of dietary supplementation of diatom *Melosira nummuloides* and lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* on the growth and immune stimulation responses of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* **53**(4):597–605

Ahn CY, Lee JY, Oh HM (2013) Control of microalgal growth and competition by N:P ratio manipulation. *Korean J Environ Biol* **31**(2):61–68

An HC, Bae JH, Kwon ON, Park HG, Park JC (2014) Changes in the growth and biochemical composition of *Chaetoceros calcitrans* cultures using light-emitting diodes. *J Kor Soc Fish Technol* **50**(4):447–454

Lee BM, Kim CJ, Kim CT, Seo JJ, Kim IH (2009) Concentration of fucoxanthin from *Ecklonia cava* using supercri-

tical carbon dioxide. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **38**(10):1452–1456

Jang EK, Shin HK, Paek SP (2014) Recent researches for diatom as inorganic and bioenvironmental materials. *Korean Soc Biotechnol Bioeng J* **29**(1):9–21

Joo HM, Lee JH, Jung SW (2011) Correlations between cell abundance, bio-volume and chlorophyll a concentration of phytoplankton communities in coastal waters of Incheon, Tongyeong and Ulsan of Korea. *Korean J Environ Biol* **29**(4):312–320

Hong HJ, Ryu BK, Kim JM (2020) Technological trends on extraction and utilization of bio-silica from the diatom cells. *News and Info Chem Eng* **38**(5):466–473

Author's Information

Ga-Young Kim

Graduate Student, Kunsan National University

Keon-Gang Jang

CEO, The Healthier Ocean Eco-System Corporation

Gyung-Min Go

CEO, JDK Bio Corporation

Hyung-Seop Kim

Professor, Kunsan National University

Received 23 Aug. 2023

Revised 15 Dec. 2023

Accepted 19 Dec. 2023

Copyright © 2023 Ocean and Polar Research

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 educational and non-commercial use, provided the original work is properly cited.