

배양 조건에 따른 *Spirulina platensis*의 성장 및 지방산 조성

주동식 · 조만기* · 레이너 부홀츠** · 이응호***

부경대학교 해양식량자원개발센터, *동서대학교 식품공학과, **베를린공대 생물공학과, ***부경대학교 식품공학과

Growth and Fatty Acid Composition with Growth Conditions for *Spirulina platensis*

Dong-Sik JOO, Man-Gi CHO*, Rainer Buchholz** and Eung-Ho LEE

Marine Food Resource Development Center, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

*Department of Food Science and Technology, Dongseo University, Pusan 617-012, Korea

**Institut für Biotechnologie Fachgebiet Bioverfahrenstechnik, Technische

Universität Berlin, D-13355 Berlin, Germany

***Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

Owing to their high growth rate, marine microalgae such as *Chlorella*, *Spirulina*, *Porphyridium* and *Dunaliella* have been believed to be potentially useful for the production of foods, drugs and energy from light, CO₂ and minerals. In this study, we investigated the relationship between the growth and fatty acid composition in the blue green alga *Spirulina platensis* when the temperature and light intensity of culture conditions were changed. The optimal growth conditions for *Spirulina platensis* from the biomass and lipid contents were 30°C on 6391 μE/m²/sec and 35°C on 4235 μE/m²/sec. The difference of lipid contents between exponential phase and stationary phase were very large according to growth conditions. According to growth conditions the fatty acid compositions of *Spirulina platensis* differed, but regardless of growth conditions the main fatty acids were C16 : 0 and C20 : 0 in saturated fatty acid, C16 : 1, C18:1 and C18 : 2 in unsaturated fatty acid.

Key words: marine microalgae, *Spirulina platensis*, fatty acid composition, temperature, light intensity

서 론

미세조류는 주로 광합성을 통해 성장, 증식을 행하는 식물로서 chlorophyll-a와 간단한 증식구조를 가지며, 일반 미생물과 마찬가지로 환경 적응성이 뛰어나 대부분의 자연 환경에 존재하며 크기나 그 형태에서 있어서 다양성을 보여주고 있다. 특히 빛과 이산화탄소를 이용하여 효율적으로 성장하며, 단백질, 지질, 당질, 색소 그리고 생물고분자 물질과 같은 다양한 유기물질을 체내에 축적하는 것으로 알려져 있고, 대사속도가 매우 빨라 몇시간 내에 증식이 이루어지는 것으로 밝혀져 있다 (Richmond, 1986). 이러한 미세조류에 대한 연구는 생물분류학적인 측면뿐만 아니라 미세조류의 배양과 이용에 대한 연구도 많이 이루어져 있다 (Aaronson et al., 1980). 한편, 국내에서도 일부 미세조류의 연구와 배양은 주로 치어 사육을 위한 사료로서가 대부분이고 여러 환경적 요인으로 인해 그 생산 규모도 매우 작다. 특히 배양지 확보와 기후의 부적합성으로 상업적이고 경제적인 미세조류의 배양은 아직까지 이루어지지 않고 있는데, 배양기술을 이용한 미세조류의 생산에 대한 연구가 심도있게 행해져야 할 것으로 판단된다.

한편, 미세조류에 대한 최근의 연구는 경제성이 있는 것으로 판별된 *Spirulina* 속 (Nichols and Appleby, 1969; Boussiba and Richmond, 1979), *Porphyridium* 속 (Ramus, 1973; Percival and Foyle, 1979), *Dunaliella* 속 (Ben-Amotz et al. 1982; Ben-Amotz and Avron, 1983) 등에서 집중적으로 행해지고 있다. 이들 미세조류는 단백질원으로서뿐만 아니라 지질, 당질, 색소 등의 세포 성분의 측면에서도 유용한 것으로 알려지고 있으며, 최근에는 이들 미세조류의 세포 성분에 대한 관심이 더욱 높아지고 있다. 특히, 물질 함유나 생산성이 높고 수확, 처리 방법이 용이한 *Spirulina* 속에 대한 관심이 높는데, 이는 오래전부터 아프리카와 같은 주로 열대지방의 원주민들이 식량으로 이용하였고, 최근에 지역마다 독특한 방법으로 가공하거나 식품제조시에 첨가하여 섭취하고 있다 (Ciferri and Tiboni; 1983, Ciferri, 1983). 이러한 *Spirulina*는 단백질, 색소, 비타민, 지질 등의 성분을 이용할 수 있는 미세조류인 것으로 분류되고 있다. 본 연구는 산업적 이용가치가 있는 것으로 확인된 *Spirulina platensis*의 한 종을 선택하여 특정 배양장치를 이용하여 여러 배양 조건에 따른 성장과 성장에 따른 지질의 축적, 특정 지방산의 함유 및 추출에 대한 연구로부터 본 균

주의 지질 생산 가능성을 평가해보고자 시도하였다.

본 논문에서는 배양 조건에 따른 *Spirulina platensis*의 성장과 지질 축적 및 지방산 변화에 대한 결과를 정리하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 사용 균주

본 연구에서 사용된 균주는 독일 베를린 공대 생물공학 연구실에서 biomass 생산과 색소 생산을 위해 연구되고 있는 균주 (*Spirulina platensis* SAG 20750.80)로 배양 조건에 따른 물질 축적에 대한 상세한 자료가 없는 균주로 일반적인 *Spirulina* 속의 균이 가지는 특성을 가지고 있는 미세조류였다.

2. 배양 배지 및 조건

1) 배양 배지

본 미세조류 배양에 사용된 배지는 일반적으로 *Spirulina platensis* 배양에 적합한 알칼리성 무기 배지인데, 그 조성은 다음과 같다.

배지 A : NaHCO_3 13.6 g, Na_2CO_3 4.03 g, K_2HPO_4 0.05 g, D.W. 500 ml

배지 B : NaNO_3 2.5 g, K_2SO_4 1.0 g, NaCl 1.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.04 g, EDTA 0.08 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, Micro soln. (H_3BO_3 2.0 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.0 g, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g, EDTA 0.4, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.7 g in 1000 ml D.W.) 5 ml, D.W. 500 ml

배지 A와 B를 혼합하여 pH를 9.0-9.5로 조절하고 Vitamin B₁₂ (10 mg/100 ml)를 1 ml 가하여 배양 배지로 하였다.

2) 배양 조건

배양 온도와 빛 강도를 변화시키면서 pH 및 균체량을 측정하였고, 배양중에 pH 조절을 위한 CO₂의 첨가는 없었으며, 각 배양 조건의 대수증식기와 정지기에서 시료를 취하여 조지방 함량과 지방산 조성을 분석하였다.

3. 배양 시스템

배양은 증균배양과 본배양의 두 단계로 나누어 행하였는데, 먼저 종균의 증균을 위해 1000 ml 용 실린더형 배양장치를 이용하였고, 적절한 농도로 증균된 배양액을 판형 배양 장치 (plate type bioreactor: Vol 10L)에 적정 농도로 첨가하여 본배양하였는데, 각 실험 조건별에 따른 증균액량의 차이에 의한 오차를 최대한 줄이기 위해 항상

동일한 농도의 종균을 접종하였다. 배양 장치는 온도, 빛 및 pH 조절이 가능하도록 설계되어있고, 배양 과정중의 측정용 시료는 멸균 주사기를 부착하여 언제든지 시료를 채취할 수 있도록 만들었다. 한 배양 조건이 완료되면 완전한 멸균 과정을 거친후 다른 조건의 실험을 행하는 불연속 (batch system) 배양을 하였다 (Fig.1).

4. 분석 방법

1) pH 측정 및 균체량 (Biomass weight) 측정 - 배양의 pH 측정은 배양장치에 부착된 pH meter로부터 먼저 pH를 측정하고, 다시 일정 온도 조건에서 pH meter (GREINSINGER electronic, Germany)로 재측정하여 배양장치 pH와 비교하여 결정하였다.

균체량 측정은 *Spirulina* 속의 균이 가지는 특성상 O. D. 값을 측정하기 곤란하기에 직접 건조 균체의 무게를 측정하였는데, Microfilter paper (0.2 μm)를 100°C에서 2 시간 가열 건조하고 30분 데시케이터에서 방냉한후 무게를 측정하여 여과지 무게를 구한후, 얻어진 시료를 무게가 측정된 여과지에서 감압여과하여 동일한 조건에서 2 시간 건조한 후 방냉하여 얻어진 총무게로부터 건조 여과지 무게를 계산하여 균체량을 구하였다. 구해진 균체량을 이용하여 비성장 속도 및 시간당 균체 성장량 등을 계산하였다.

2) 조지방 함량 및 지방산 조성 분석 - 각 배양 조건과 배양 시간에 따른 조지방 추출은 혼합용매 (클로로포름 : 메탄올 = 2 : 1)를 이용하였는데 (Bligh and Dyer, 1959), 즉 배양액을 원심분리하여 얻어진 균체에 sea sand를 일정량 첨가하여 먼저 균체를 파쇄한 후, 추

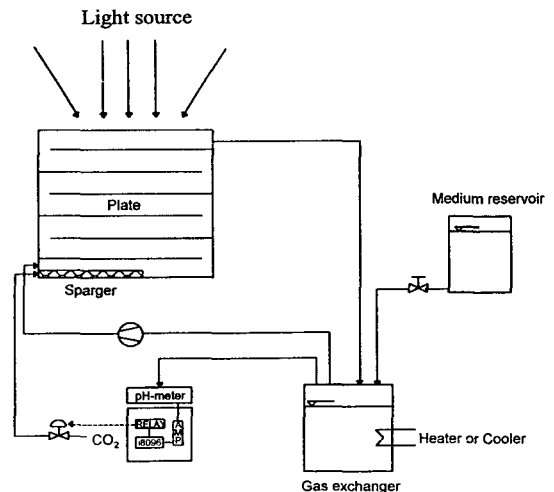


Fig. 1. Diagram of plate type photobioreactor.

출 용매를 몇회에 나누어 첨가하면서 잘 마쇄하면서 조지방을 추출하였다. 지질이 함유된 추출액을 감압농축한 다음 건조시킨 후 무게를 측정하여 조지방 함량을 결정하였다.

상기 방법으로 얻어진 지방질을 Metcalfe and Schmitz (1949)의 방법에 따라 검화 및 methylation하여 gas chromatography로 지방산 조성을 분석하였다. 지방산 조성 분석은 Shimadzu GC-14A와 Shimadzu AOC-14 자동주입기를 이용하였고, 칼럼은 SP 2380 (30 m×φ0.25 mm)를 사용하였고, 승온 분석(100→220, 5°C/min)을 행하였다.

결과 및 고찰

1. 배양

1) 빛 강도-2695 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ 에서 온도 변화에 따른 미세 조류의 성장

가) pH, 균체량 및 비증식 속도 변화-상기 빛 강도에서 온도를 달리하여 배양하였을 때의 pH, 균체량 변화 및 비증식 속도 변화를 Fig.2에 나타내었다. 온도에 관계없이 배양 50시간까지는 pH가 초기 상태를 유지하였고, 균체량의 변화도 미세하였는데, 이는 새로운 배지에 대한 미세조류의 적응기인 것으로 판단되었다. 이후 배양 온도에 따라 급격한 pH 변화를 나타내었는데 40°C에서는 배양 150시간에 최대인 pH 9.6에 도달한 후 더 이상 변화가 없었고, 25, 30 및 35°C 조건에서는 배양 400시간까지 직선의 증가를 보였는데 특히, 30°C 배양 조건에서는 340시간 경에 최대인 pH 10.8에 도달하였다. pH 변화와 관련하여 균체량의 변화를 관찰해보면, 40°C에서는 pH 최대점인 배양 150시간을 기준하여 균체량이 서서히 감소함을 알 수 있었고, 다른 세 온도 경우도 비슷한 형태의 결과를 보였는데, 30°C에서는 배양 312시간, 25°C, 35°C 조건에서는 배양 350시간까지 지속적으로 균체 및 비증식 속도의 증가를 보여주고 있어서 배양액의 pH 변화와 밀접한 관련이 있음을 알 수 있다. 이는 미세조류의 경우 균체 성장과 배지에 존재하는 CO₂의 잔존량과 밀접한 관련이 있는데 균체량이 증가하게 되면 광합성에 필요한 용존 CO₂의 급속한 감소로 pH의 상승이 반드시 일어난다는 것과 이러한 pH 상승은 균의 성장을 억제하기 때문에 지속적인 CO₂ 공급으로 pH를 조절해야 하는 것으로 언급되고 있는데 (Gudin and Chaumont, 1980), 본 연구에서는 CO₂의 지속적인 공급없이 실험을 행하였기에 지속적인 성장과 함께 pH의 상승

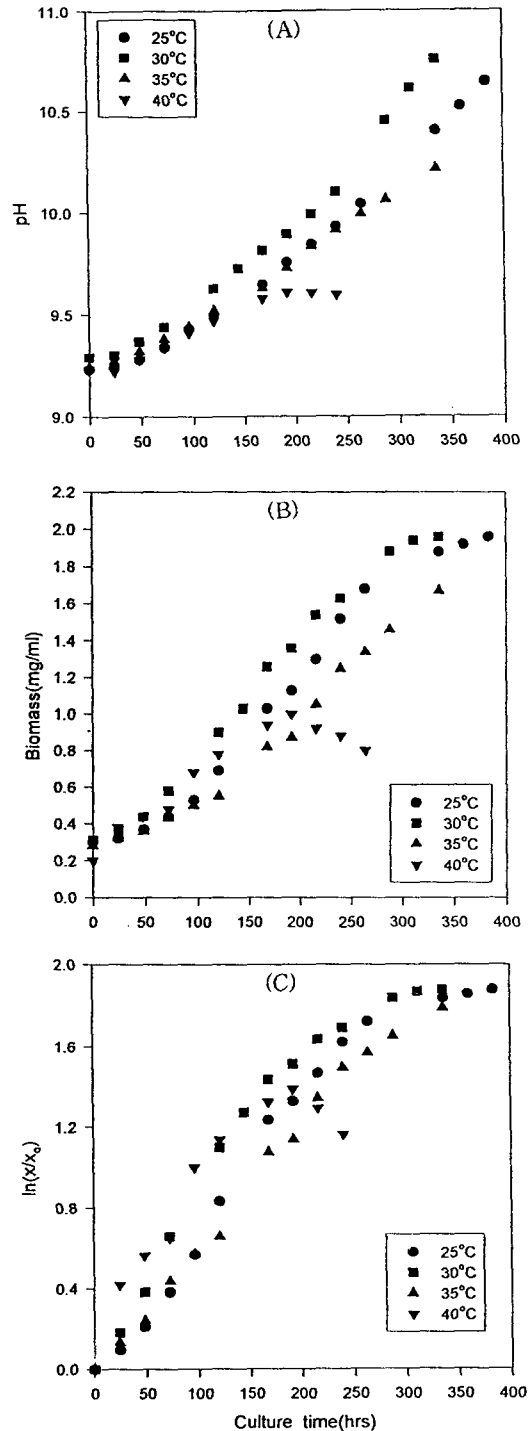


Fig. 2. Change of the pH (A), biomass (B) and specific growth rate (C) with culture time on light intensity-2695 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ -at each temperature.

을 보여주고 있다. 그러나 35°C 배양 조건에서는 350시간 까지 지속적인 pH 증가와 균체량 증가를 보여주고 있으나 시간당 균체 증가는 240시간 이후로 감소하였고, 배양 300시간이 지나면서 미세조류의 성장 감소 현상인 탈색 현상이 관찰되었다. 30°C와 35°C 배양에서 최대 성장 점에서의 균체량은 두 배양 조건 모두 2.0 mg/ml였다. 그러나 배양 온도 40°C 조건은 배양 150~200시간 사이에 최대 성장을 보인후(균체량 1.0 mg/ml), 급격한 균체량 감소를 보였으며, 실제 배양기내에서 150시간 이후 급격한 탈색 현상을 나타내었다. 이는 미세조류가 15~20°C의 저온 영역에서는 사멸과 같은 급격한 성장 변화를 가져오지 않지만, 35~40°C의 고온 영역에서는 미세조류에 따라 2~3°C 차이의 온도 변화에도 급격한 균체 사멸을 가져온다고 보고하고 있다 (Kruger and Eloff, 1978). 한편, 빛 강도-2695 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ 에서 30°C와 35°C 비슷한 성장 정도를 보였으나, 정지기에서의 균의 상태로 판단해보면 30°C 더 양호한 배양 조건임을 알 수 있었다.

나) 온도 조건에 따른 지질 함량 및 조성-각 온도에 따른 지질 함량을 대수증식기인 배양 7일과 정지기로 판단되는 11~18일(배양 온도에 따라 차이가 있음)의 시료를 채취하여 용매로 추출한 지질의 함량 변화는 Fig. 3과 같다. 25°C 배양 시료의 경우 7일과 18일째의 균체량은 1.0 mg/ml와 2.0 mg/ml로 두배의 차이를 보이고 있으나 지질 함량에서는 7일 배양의 경우 0.01 mg/ml인 반면, 18일째 배양 시료는 0.18 mg/ml로 7일째 시료의 약 20배 정도로 높은 값을 나타내었는데, 이는 실험에 사용한 *Spirulina* 속이 이 배양 조건에서 chlorophyll의 축적이 매우 높은 것으로 판단되었다 (data not shown). 30°C 배양에서는 7일째 시료가 0.04 mg/ml, 15일째 시료가 0.05 mg/ml로 배양일 수 경과에 따른 균체량 증가와 지질 함량의 증가는 비례하지 않았다. 그러나 35°C와 비교해 볼 때 30°C 배양 조건이 지질 축적이 크다는 것을 간접확인하였고, 일반적으로 균체 성장과 세포 물질 축적은 온도와 매우 밀접한 관련이 있고, 지질의 경우도 마찬가지이며, 대개 지질 함량도 최적 성장 조건에서 가장 많이 축적되는 것으로 알려져 있다 (Sato and Murata, 1980). 한편, 이들 추출 지방질의 지방산 조성을 분석한 결과 Table 1과 같다. 전체적으로 온도에 관계없이 C16:0의 함량이 43~49%로 가장 높았고, 다음으로 C20:0가 30~40% 정도로 전체 포화 지방산이 70~90%로 대부분이었으며, C16:1을 주로하는 단순 지방산은 7~8%, 고도 불포화 지방산은 C18:2가 5~15%를 차지하였다. 본 실험에서 기대했던 C18:3은 30°C와 35°C에서 미량 확인되었을 뿐이다.

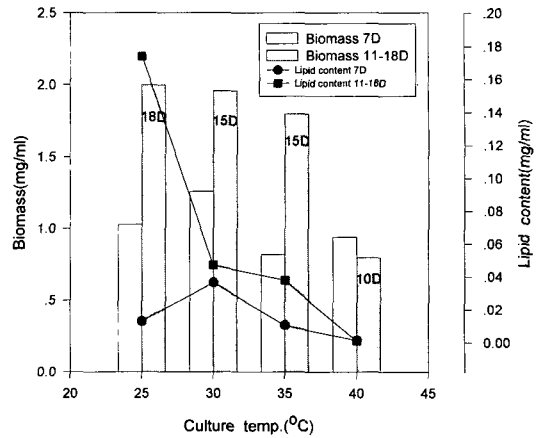


Fig. 3. The biomass and lipid contents of *S. platensis* grown on light intensity-2695 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ at each temperature for 7~18 days (D).

Table 1. The composition of fatty acids in *S. platensis* grown at 2695 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ on each temperature

Fatty acids	LE1 ¹							
	25 ²		30		35		40	
	A ³	B	A	B	A	B	A	B
C14 : 0	1.4	1.0	1.0	1.3	1.6	-	-	-
C16 : 0	46.8	44.3	49.2	48.3	43.5	47.9	-	49.2
C16 : 1	5.8	6.8	3.9	5.2	3.1	3.7	-	-
C18 : 0	1.3	0.8	1.0	0.8	1.8	-	-	8.1
C18 : 1	2.0	2.3	1.4	1.8	3.4	3.3	-	-
C18 : 2	5.2	8.8	6.7	5.3	14.8	14.4	-	9.1
C18 : 3	-	-	-	0.1	0.1	0.2	-	-
C20 : 0	37.6	36.1	40.0	37.2	31.7	30.5	-	33.6
C22 : 0	-	-	-	-	-	-	-	-
Satura. fatty acid	85.0	82.2	91.1	87.6	78.6	78.4	-	90.9
Monounsat. fatty acid	7.7	9.1	5.2	7.0	6.5	7.0	-	-
Polyunsat. fatty acid	5.2	8.8	6.7	5.3	14.8	14.4	-	9.1

¹Light intensity ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$) - LE1 : 2695

²Temperature (°C)

³Culture time - A : 7 days, B : 10~18 days

2) 빛 강도-4235 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ 에서 온도 변화에 따른 미세 조류의 성장

가) pH, 균체량 및 비증식 속도 변화-빛 강도를 4235 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ 로 높여서 배양할 때의 pH, 균체량 및 비증식 속도의 변화를 관찰한 결과 Fig.4와 같다. 상기 2695 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ 조건에서 25°C에서는 성장 속도가 매우 느렸고, 40°C에서는 균체의 성장이 비정상적인 것으로 확인

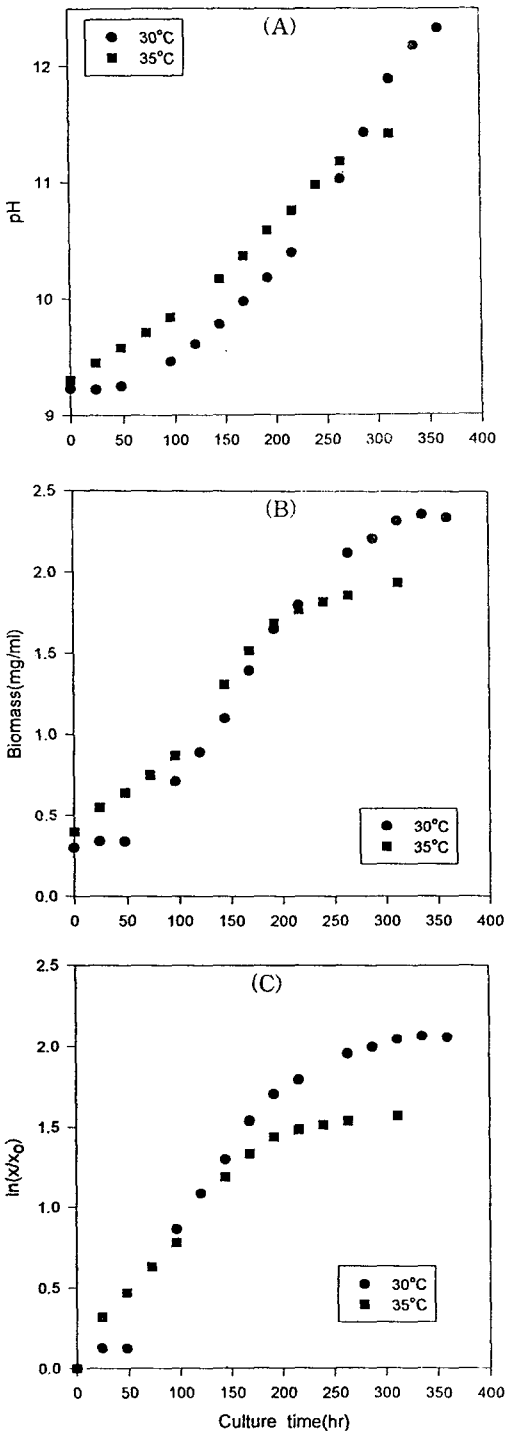


Fig. 4. Change of the pH (A), biomass (B) and specific growth rate (C) with culture time on light intensity-4235 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ -at each temperature.

되어 본 4235 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ 의 빛강도 조건에서는 30°C와 35°C 두 조건에서만 성장을 관찰하였다. 30°C의 경우 배양 50시간까지는 pH의 증가가 나타나지 않았으나, 배양 70시간 이후 급격한 pH 상승이 시작되어 배양 360시간에 이르러서는 최대인 pH 12.5에 도달하였고, 그 이후는 약간씩 감소하는 경향을 보여주었다. 균체량은 336시간까지 증가하였으나 최대 균체량 2.4 mg/ml를 나타내었고, 360시간에는 균체량의 증가가 나타나지 않았고, 비증식 속도는 250시간까지 증가하였다. 35°C 조건에서는 배양 초기부터 급격한 pH의 상승을 보여 312시간에 최대 pH 11에 도달하였으며, 균체량은 200시간까지 거의 직선적으로 증가한 후 312시간까지는 매우 완만한 증가를 보였고, 250시간을 기점으로 비증식 속도는 변화가 거의 없었다. 빛 강도 4325와 2695 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ 와 비교해 볼 때 최대 균체량 도달 시간이 동일 온도에서 빛 강도 4235 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ 가 1~3일 정도 빠른 것으로 확인되었고, 최대 균체량도 높음을 알 수 있었는데, Richmond (1986)는 광산화와 같은 작용으로 균체 성장 억제가 되지 않는다면 동일 온도의 경우 높은 빛 강도에서 균체 성장이 빠르고 높은 것으로 언급하고 있다.

나) 온도 조건에 따른 지질 함량 및 조성-두 온도 조건 모두 대수증식기는 배양 7일째를, 최대 성장은 30°C에서 14일째, 35°C에서는 12일째의 시료를 채취하여 지질 함량을 측정된 결과는 Fig.5와 같다. 대수증식기 시료는 30°C, 35°C 경우 지질 함량이 각각 0.05, 0.03 mg/ml였고, 정지기 시료에서는 배양 온도 30°C 경우 균체량이 약 2.3 mg/ml, 지질함량이 0.11 mg/ml였고, 35°C는 균체량과 지

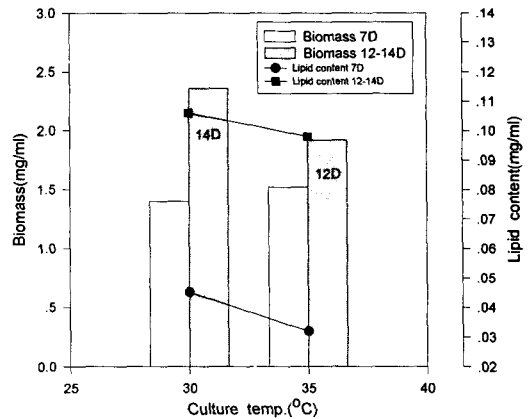


Fig. 5. The biomass and lipid contents of *S. platensis* grown on light intensity-4235 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ -at each temperature for 7~14 days (D).

질 함량이 각각 19, 0.1 mg/ml 정도였다. 30°C 배양 시료가 지질 축적량이 높은 것으로 나타났으며, 2695 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 빛 강도의 동일 온도와 비교해 볼 때 훨씬 높은 균체량과 지질함량을 보여주고 있는데 이는 4235 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 빛 강도 조건이 확실히 본 시험 균주의 배양과 지질 축적에 좋은 조건임을 알 수 있었다. 지질 조성의 변화를 분석한 결과 (Table 2), 30°C에서는 2695 $\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 빛 강도와는 큰 차이를 보여주고 있는데, 특히 C16 : 0의 값이 35% 부근으로 10% 이상 감소한 반면, C20 : 0가 배양 7일째에 45%로 증가하였고, 14일째에는 32%로 감소하였다. 한편, C18 : 2의 함량 변화는 7일째에 8%였으나, 14일째에는 17%로 크게 증가하였으며, C18 : 1도 약 10 증가하였고 아울러 C18 : 3의 값도 미량 증가되었음을 알 수 있었다. 이러한 변화는 단순한 빛 강도의 변화에 의한 것이기보다는 온도와 빛 강도의 적절한 결합에 따른 변화인 것으로 관찰되며, 단순한 균체량과 지질 함량만의 비교로 판단해보면 2695 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 보다는 4235 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 빛 강도 배양에 적절한 조건임을 알 수 있다.

3) 빛 강도-6391 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 에서 온도 변화에 따른 미세 조류의 성장

가) 온도에 따른 pH, 균체량 및 비증식 속도 변화-6391 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 의 빛 강도에서 30°C와 35°C에서는 각각 배양 316시간과 240시간에 최대 pH에 도달하였고 (Fig.6),

Table 2. The composition of fatty acids in *S.platensis* grown at 4235 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ on each temperature

Fatty acids	LE2 ¹			
	30 ²		35	
	A ³	B	A	B
C14 : 0	1.6	1.5	2.2	2.1
C16 : 0	38.2	33.2	46.5	45.4
C16 : 1	3.3	4.6	2.2	3.5
C18 : 0	1.3	1.8	1.6	1.6
C18 : 1	1.1	9.4	4.3	4.0
C18 : 2	8.4	16.9	13.6	13.5
C18 : 3	0.8	0.3	-	0.2
C20 : 0	45.4	32.5	29.7	29.9
C22 : 0	-	-	-	-
Satura. fatty acid	86.4	68.9	80.1	79.0
Monounsatur. fatty acid	4.4	14.0	6.5	7.5
Polyunsatur. fatty acid	9.2	17.1	13.6	13.5

¹Light intensity ($\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$) - LE2 : 4235

²Temperature (°C)

³Culture time - A : 7 days, B : 10~18 days

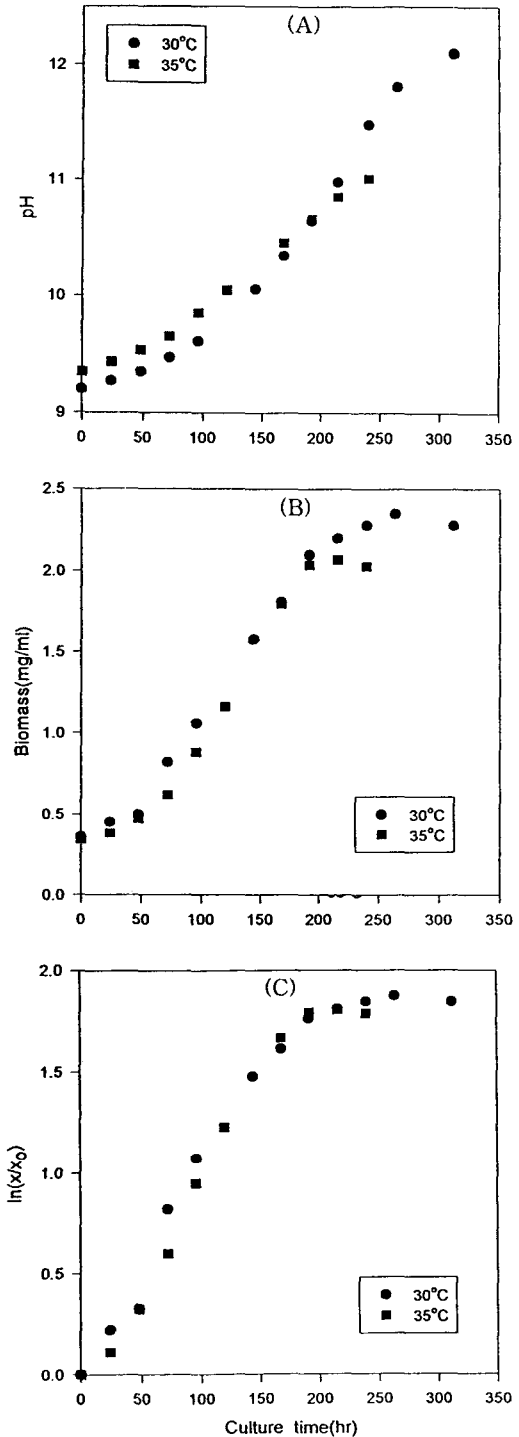


Fig. 6. Change of the pH (A), biomass (B) and specific growth rate (C) with culture time on light intensity-6391 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ -at each temperature.

균체량은 각각 264시간에 2.35 mg/ml와 200시간에 2.0 mg/ml로 최대에 도달한 후 약간 감소하는 경향을 보였으며 1(Fig.6), 비증식 속도도 이와 비슷한 경향을 보여주었다(Fig.6). 시간당 균체 증가량을 계산해보면(data not shown) 7~8일째 최대를 보였다가 이후에는 급속한 감소를 보여주고 있다.

나) 온도 조건에 따른 지질 함량 및 조성-빛 강도 6391 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 의 30°C 조건에서 13일 배양한 시료의 지질 함량은 4235 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 에서 14일 배양한 것과 비슷한 0.11 mg/ml였고, 35°C에서 10일 배양한 시료는 0.09 mg/ml였다(Fig.7). 균체량과 지질 함량만으로 비교해 본다면 6391 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 와 4235 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 가 큰 차이가 없지만, 에너지 유용성의 측면에서 4235 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 빛 강도 조건이 최적의 빛 강도로 생각되어졌다. 지질 조성을 비교해보면(Table 3), 30°C와 35°C의 조건에서 C16:0가 각각 약 40%, 45%를 나타내었는데, 4235 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 조건과 비교해보면 C16:0가 5~10% 다시 증가한 결과를 보였다. 이와 관련하여 30°C 조건에서는 C20:0은 큰 변화가 없는 반면, C18:2가 크게 증가했음을 알 수 있고, C18:3도 1.5% 가량 증가한 결과를 보였다. 전체적으로는 포화 지방산의 함량이 감소하였고, 불포화 지방산의 함량이 다소 증가했음을 알 수 있다.

요 약

판형 배양조를 이용하여 온도와 빛 강도를 변화시키면서 *Spirulina platensis*의 성장과 이에 따른 균체내 지질 축적량 및 지방산의 조성을 분석하였다. 균체량으로부터 빛 강도에 대해서 고찰해본다면 2695 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 의 낮은

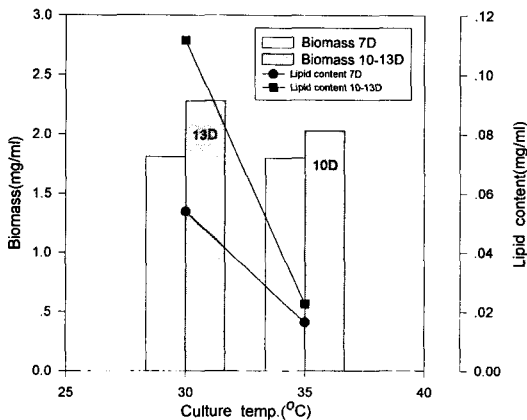


Fig. 7. The biomass and lipid contents of *S. platensis* grown on light intensity-6391 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ at each temperature for 7~13 days (D).

Table 3. The composition of fatty acids in *S. platensis* grown at 639 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ on each temperature

Fatty acids	LE3 ¹			
	30 ²		35	
	A ³	B	A	B
C14:0	1.3	1.8	2.0	1.1
C16:0	41.2	38.5	45.7	45.2
C16:1	4.0	4.1	1.5	1.5
C18:0	0.9	1.3	1.8	2.3
C18:1	2.2	3.3	5.0	10.2
C18:2	17.7	15.4	6.2	14.0
C18:3	2.0	1.2	0.2	—
C20:0	30.6	34.6	37.7	25.8
C22:0	—	—	—	—
Satura. fatty acid	74.0	76.1	87.2	74.3
Monounsat. fatty acid	6.2	7.3	6.6	11.8
Polyunsat. fatty acid	19.8	16.6	6.2	14.0

¹Light intensity ($\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$) - LE3 : 6931

²Temperature (°C)

³Culture time - A : 7 days, B : 10~18 days

빛 강도는 적절한 배양 빛 강도가 아니었고, 온도에 따라 다소의 차이는 있지만 4235 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 와 6391 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 사이의 빛 강도가 적절했다. 온도의 경우 40°C에서는 빛 강도에 관계없이 균체 성장이 억제되고 결국에는 사멸이 일어나는 것으로 판단되었고, 25°C의 낮은 온도에서는 성장이 지연되었다. 30°C와 35°C가 적절한 온도였는데, 빛 강도에 따라 온도의 선택이 달라져야 한다는 것을 알 수 있었다. 지질 함량은 30~35°C 온도와 4235-6391 $\mu\text{E}/\text{m}^3/\text{sec}$ 사이의 빛 강도에서 최대를 보여주고 있으며, 지질 조성은 배양 조건에 관계없이 C16:0가 가장 높은 비율을 차지하였고, C20:0, C18:2의 순이었으며, 특정 지질 성분의 생산이라는 측면에서 기대했던 C18:3의 함량은 몇몇 조건에서만 극히 소량으로 검출되었다.

감사의 말

본 연구는 96년도 한국학술진흥재단의 국외 박사후과정 연구비 지원으로 독일 베를린 공과대학 생물공학 연구실에서 이루어진 결과이며, 아울러 부경대학교 해양식량자원개발센터의 일부 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다. 한국학술진흥재단과 베를린 공과대학 생물공학 연구실의 모든 연구원들에게 깊은 감사의 뜻을 전하고자 한다.

참 고 문 헌

- Aaronson, S., T. Berner and Z. Dubinsky. 1980. Microalgae as a source of chemicals and natural products. In *Algae Biomass*, ed. by Shelef, G and C.J. Soeder, Elsevier/North Holland, Amsterdam.
- Ben-Amotz, A., A. Katz and M. Avron. 1982. Accumulation of beta-carotene in halotolerant algae: purification and characterization of beta-carotene-rich globules from *Dunaliella Bardawil* (chlorophyceae). *J. Phycol.*, 18, 539~542.
- Ben-Amotz, A. and M. Avron. 1983. Accumulation of metabolites by halotolerant algae and its industrial potential. *Ann. Rev. Microbiol.*, 37, 95~99.
- Bligh, E.G. shutdown and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911~917.
- Boussiba, S. and A.E. Richmond. 1979. Isolation and characterisation of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Arch. Microbiol.*, 120, 155~159.
- Ciferri, O. and O. Tiboni. 1983. The biochemistry and industrial potential of *Spirulina*. *Ann. Rev. Microbiol.*, 39, 503~526.
- Ciferri, O. 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiol. Rev.*, 47, 551~578.
- Gudin, C. and D. Chaumont. 1980. A biotechnology of photosynthetic cells based on the use of solar energy. *Biochem. Soc. Trans.*, 8, 481~482.
- Kruger, G.H.J. and J.N. Eloff. 1978. The effect of temperature on specific growth rate and activation energy microcystis and synechococcus isolates relevant to the onset of natural blooms. *J. Limnol. Soc. S. Afr.*, 4, 9.
- Metcalfe, L.D. and A.A. Schimitz. 1949. The rapid preparation of fatty acids esters for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, 177, 751.
- Nichols, B.W. and R.S. Appleby. 1969. The distribution and biosynthesis of arachidonic acid in algae. *Phytochemistry*, 8, 1907~1911.
- Percival, E. and R.A.J. Foyle. 1979. The extracellular polysaccharides of *Porphyridium cruentum* and *Porphyridium aerugineum*. *Carbohydr. Res.*, 72, 165~171.
- Ramus, J. 1973. Cell surface polysaccharides of the red alga *Porphyridium*, in *Biogenesis of plant cell wall polysaccharides*, Loewus, F., Ed., Academic Press, New York, p.333.
- Richmond, A. 1986. Microalgae of economic potential. In *Handbook of Microalgal Mass Culture*. CRC Press, ed. A. Richmond, Florida, pp.199~243.
- Richmond, A. 1986. Cell response to environmental factors. in *Handbook of Microalgal Mass Culture*. ed. Amos Richmond, CRC Press, Florida, pp.69~99.
- Sato, N. and N. Murata. 1980. Temperature shift-induced responses in lipids in the blue green alga. *Anabaena variabilis*. The central role of diacylmonoalactosylglycerol in thermo-adaptation. *Biochim. Biophys. Acta*, 619, 353~358.

1998년 2월 25일 접수

1998년 5월 8일 수리