

## 미생물로부터 분리한 Carotenoid 색소의 구조분석과 기능성 검토

김해윤 · 정명주, 최병대<sup>1</sup>, 정영기동의대학교 미생물학과, 경상대학교 식품과학과<sup>1</sup>

전화 (051) 890-1534, FAX (051) 894-0840

## 서론

양식어류의 채색개선을 목적으로 이용되는 색소는 전량 수입된 합성색소뿐이다<sup>1)</sup>. 합성색소는 가격이 고가일 뿐만 아니라 안전성이 검토되지 않은 상태에서 양식어류 먹이에 첨가제로 사용되고 있는 실정이다. 더군다나 미생물 유래의 carotenoid 색소는 vitamine A의 식이원으로서의 중요성 외에도 식이성 지방질의 분산<sup>2)</sup>, 면역기능의 활성화, 항산화 작용에 의한 생체의 노화억제<sup>3)</sup>, oxygen radical의 제거에 의한 질병의 예방<sup>4)</sup> 등 여러 가지 기능을 가지고 있다. 그런 이유로 미생물 유래의 carotenoid 색소를 유기용매로 추출하여 TLC로 그 구조를 분석하고 동물실험을 통한 기능성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

*Haloarcular* sp. EH-1을 배양하여 원심분리한 뒤 얻어진 균체를 D.W.와 actone을 처리하여 균체를 파쇄한 후 diethylether, D.W., actone을 각각 1 : 1 : 1의 비율로 첨가하여 전용한 뒤 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 이용하여 수분을 제거한 후 filter를 이용하여 이물질을 제거하고 vacuum evaporator를 이용하여 완전히 농축한 다음 다시 diethylether로 색소를 녹여서 순수한 carotenoid 색소만을 얻었다. 그리고 얻어진 색소를 acetone : petroleum ether = 3 : 7의 전개용매를 사용하여 Silica gel 60 F<sub>254</sub>(MERCK Co.) TLC plate에서 색소를 분석하였을 때 8개의 spot을 확인 할 수 있었으며 그 중에는 β-carotene, astaxanthin 등의 물질도 포함되어 있음을 알 수 있었다. 그리고 동물실험을 통한 항암효과를 알아본 결과 종양세포의 증식을 억제함을 알 수 있었다.

## 결과 및 고찰

*Haloarcular* sp. EH-1 유래의 색소를 acetone : petroleum ether = 3 : 7의 비율로 섞은 전개용매를 이용하여 TLC를 행한 결과 Fig. 1.에서 나타난 것처럼 8개의 spot을 확인할 수 있었고, β-carotene, astaxanthin 등의 물질도 포함되어 있음을 알 수 있었다.

그리고 색소의 기능성을 검토하기 위하여 동물실험을 행한 결과 Table 1에서 나타난 것처럼 종양세포인 Sarcoma-180(mouse lymphocytic leukemia)에 대하여 직접

적인 세포살해 효과를 나타내었고, 농도가 증가함에 따라 총 종양세포수가 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 따라서, 종양세포가 감소함에 따라 생 세포수가 90% 이상 감소하지만 세포 증식율에 있어 거의 변화가 없는 것으로 보아 본 carotenoid 색소는 암 세포에 대하여 직접적인 세포 독성을 나타내는 것보다 세포의 증식 메커니즘을 차단하여 암세포가 감소하는 것을 알 수 있었다.

그리고 또 다른 종양세포인 K-562(human chronic myelogenous)에 대하여 직접적으로 세포살해 효과를 실험한 결과, Table 2에서 나타낸 것처럼 0.25mg/ml에서 가장 높은 세포 살해능을 보였으므로 carotenoid 색소가 human 종양세포에 대하여 세포 증식의 억제 효과를 나타내는 것을 볼 수 있었다.

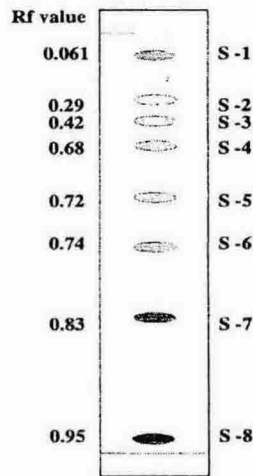


Fig. 1. Thin layer chromatogram of carotenoid extracted from halophilic marine microorganism on silical G.

Developing solvent : acetone/petroleum ether (3:7, v/v).

Table 1. Cytotoxicity of carotenoid against S-180 tumor cells

Tumor cell lines	Dose(mg/ml)	Total cell number( $\times 10^5$ /ml) <sup>1)</sup>	Viability of the cell(%) <sup>2)</sup>
S-180	0(control)	0.98 $\pm$ 0.09	99.5 $\pm$ 0.52
	0.25	0.99 $\pm$ 0.03*	96.5 $\pm$ 1.32
	0.5	0.69 $\pm$ 0.08	96.0 $\pm$ 0.90
	1.0	0.33 $\pm$ 0.05*	90.2 $\pm$ 0.48

<sup>1)</sup>All data are expressed as means  $\pm$  standard error.

<sup>2)</sup>Viable cells were counted by trypan blue dye exclusion method.

Viability = viable cells/(dead+viable cells)

\* P<0.05 as compared to the tumor cell line control.

Table 2. Cytotoxicity of carotenoid 2 against K-562 tumor cells

Tumor cell lines	Dose(mg/ml)	Total cell number( $\times 10^5$ /ml) <sup>1)</sup>	Viability of the cell(%) <sup>2)</sup>
K-562	0(control)	2.23 $\pm$ 0.13	98.5 $\pm$ 0.65
	0.25	0.98 $\pm$ 0.09	97.8 $\pm$ 0.53
	0.5	1.59 $\pm$ 0.16	97.0 $\pm$ 1.23
	1.0	1.41 $\pm$ 0.09*	99.2 $\pm$ 0.48*

<sup>1)</sup>All data are expressed as means  $\pm$  standard error.

<sup>2)</sup>Viable cells were counted by trypan blue dye exclusion method.

Viability = viable cells/(dead+viable cells)

\* P<0.05 as compared to the tumor cell line control.

또한, 마우스 복강대식세포(mouse peritoneal macrophage)의 Yac-1 살해능을 알아본 결과 Table 3에서 처럼 Control보다 Carotenoid를 첨가한 실험구에서 Dead cell의 수치가 증가함을 알 수 있었다.

Table 3. 마우스 복강대식세포(mouse peritoneal macrophage)의 Yac-1 살해능

Sample	Dead cells(%)
Control	70.86 $\pm$ 3.35
Carotenoid	91.82 $\pm$ 0.86

그리고, LPS(Lipo Poly Saccharide) 존재하에서 IL-6의 생성에 대한 carotenoid의 영향을 검토한 결과 Table 4에서 나타낸 것처럼 LPS만의 존재시 생성되는 IL-6(Interlukine-6)의 생성량 보다 1 $\mu$ g의 carotenoid 색소가 첨가 될 경우 IL-6의 생성량이 월등히 감소하였다. 이 결과는 염증의 억제효과에도 carotenoid 색소가 유

효한 것을 간접적으로 시사하는 것을 알 수 있다.

Table 4. In vitro IL-6 producing effect of carotenoid

Sample	Concentration( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	IL-6 production( $\text{pg}/\text{ml}$ )
Control		$5.55 \pm 0.98$
LPS	1.0	$82.53 \pm 2.94$
	0.1	$72.42 \pm 5.89$
LPS+Carotenoid	1.0	$54.10 \pm 0.98^*$
	0.1	$71.43 \pm 6.87$

All data are expressed as means  $\pm$  standard error.

P<0.05 as compared to the control

#### 참고문헌

1. Tanaka, Y., Katayama, T., Simpson, K. L. and Chicheester, C. O.  
: The biosynthesis of astaxanthin-XIX.  
The distribution of -doradexantin and the metabolism of carotenoid in goldfish. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 42, 885(1976)
2. Mathews-Roth, M. M. : Carotenoid Chemistry & Biochemistry.  
Press, London, pp. 297(1982)
3. Krinsky, N. L. : Carotenoid protection against oxidation.  
*Pure Appl. Chem*, 51, 649(1979)
4. Krinsky, N. L. And Deneke, S. M. : Interaction of oxygen and oxyradical with carotenoid. *J. Natl. Canar. Inst.* 69. 649(1979).