

Carotenoids의 생리 기능성과 생산기술

- 총 설 -

홍상필[†] · 김명희 · 황재관*

한국식품개발연구원

*연세대학교 생물산업소재연구센터

Biological Functions and Production Technology of Carotenoids

Sang-Pill Hong[†], Myung-Hee Kim and Jae-Kwan Hwang*

Korea Food Research Institute, Songnam 463-420, Korea

*Bioproducts Research Center, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

Abstract

Carotenoids are yellow to orange-red pigments that are ubiquitous in the nature and its annual production amounts to one hundred million ton. This review discussed physicochemical properties, antioxidative activity, anticancer activity of carotenoids and its production technology. Carotenoids, mainly used as food colourants, are characterized by its strong reactive conjugated double bonds, related to oxidation by heat, light, acid, and metal ions. The provitamin A activity of carotenoids is higher in *trans* form than in *cis* form. Antioxidative properties of carotenoids are related to β -ionone structure and long, conjugated polyene chain number. In particular, β -carotene, astaxanthin, canthaxanthin, and lycopene possess strong antioxidant activity, compared with tocopherol. Especially, β -carotene, astaxanthin, α -carotene, fucoxanthin, halocynthiaxanthin and peridinin impart strong anticancer activity against lung cancer, breast cancer, buccal pouch cancer and nerve cell cancer. β -Carotene and astaxanthin are produced by biotechnology using algae such as *Dunaliella salina* and *Haematococcus pluvialis*. But the change of cultivation conditions and screening of algae, efficiently producing carotenoids, are needed for its commercial production. Carotenoids are expected to be used in the various fields through explanation of its biological activity and establishment of commercial production technology.

Key words: carotenoids, functions, production, β -carotene, astaxanthin

서 론

Carotenoids는 1813년 Wackenroder가 당근의 뿌리에서 적자색 결정물인 β -carotene을 처음 발견한 이후 일련의 카로틴을 통칭하는 의미로 통하고 있다. Carotenoids는 녹색식물, 곰팡이, 효모, 버섯 및 세균 등이 만들어 내는 황색 혹은 적색 그리고 자색의 polyene 색소로 자연계에서 약 1억톤/년 생산되고 있는 막대한 자원으로 카로틴의 산업적 이용은 매우 중요하다. Carotenoids는 현재 약 600여종 밝혀져 있으며 대표적인 천연색소군으로 식물의 엽록체에 클로로필과 일정한 비율로 공존하여 광합성에 간접적으로 관여하고 있으며, 동물체, 난소, 난, 간장 등에도 존재한다(1).

Carotenoids는 발색의 원인이 되는 공액 이중결합이

중복된 장쇄상의 구조를 가지고 있어 생체에 유해한 것으로 알려진 자유 라디칼(free radical)을 포집하거나 항산화 기능을 나타내는 것으로 알려지고 있다(2). Carotenoids 중 특히 β -carotene과 astaxanthin 등은 암발생을 억제하고 강력한 항산화성을 나타낼 뿐만 아니라 동물의 번식 촉진, 성장을 개선, 질병발생 억제, 어육의 색상개선 등 유용한 기능성을 나타내는 것으로 알려지고 있어 의약품, 사료, 건강식품 등에 이용가치가 클 것으로 기대되고 있다(3-5).

현재 carotenoids는 천연품과 화학 합성품으로 생산되고 있으며 천연품의 경우, 소비자들의 선호도가 높지만 원재료비의 비중이 높아 경제성에 문제가 있다. 반면에 합성품의 경우에는 천연품보다는 경제적이지만 생물기능이나 화학구조가 천연품과 차이가 있고 유해가

[†]To whom all correspondence should be addressed

능성이 있으며, 소비자들의 거부감이 높다는 점이 문제가 되고 있다(5,6).

천연 carotenoids의 생산을 위해서 최근에는 *Dunaliella salina*, *Haematococcus pluvalis* 등의 해양 조류와 *Phaffia rhodozyma* 등의 효모를 이용한 생물공학적 생산기술이 개발 중에 있으나 아직도 해결해야 될 과제가 많이 남아 있다(7-9).

본 총설에서는 carotenoids의 종류와 특성, 산화억제 기작에 의한 생체방어 역할과 발암억제 작용 등 생리 기능성 및 천연 carotenoids의 생물공학적 생산기술에 대해 살펴보고자 하였다.

Carotenoids의 종류와 특성

Carotenoids는 β -carotene 및 lycopene 등과 같이 분자내에 산소를 함유하지 않는 카로틴(carotene)과 lutein, zeaxanthin, violaxanthin 등 분자내에 산소를 함유하는 잔토펴(xanthophyll)로 대별되고 있다. 또한 carotenoids는 β -carotene, xanthophyll, cryptoxanthin, lutein, zeaxanthin 등의 황색 계통과 lycopene, capxanthin, canthaxanthin, astaxanthin, capsorubin 등의 적색 계통으로 대별되며 상당류의 채소가 이들 색소를 가지고 있다(10).

자연 추출액 중에 함유된 carotenoids는 오래 전부터 식품착색에 이용되어 왔다(Table 1). 특히 β -carotene과 bixin으로 구성된 annatto, crocetin의 배당체인 saffron, capsanthin과 capsorubin이 주요성분인 paprika, xanthophyll 추출물, 당근 추출액 및 red palm oil 등이 대표적이다(Fig. 1) (11-13). Carotenoids가 식품의 착색제로서 이용되는 이유는 carotenoids가 대부분의 식품 pH 범위와 고온 및 blanching, retorting, frozen 등 각종 가공 조건에서도 안정하며 ascorbic acid와 같은 항산

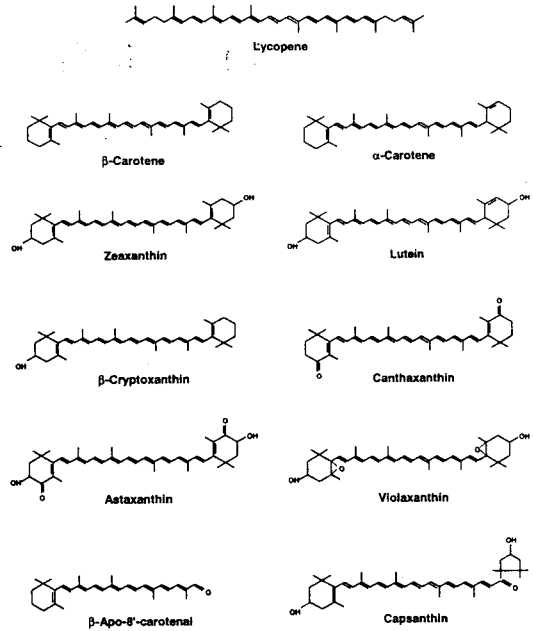


Fig. 1. Chemical structures of some carotenoids(4).

화 물질에 의해서 영향을 받지 않고 provitamin A로서의 활성을 나타내기 때문이다(5,10,14).

Carotenoids는 일반적으로 지용성이며 공액 이중결합의 수가 많을수록 황색에서 적색으로 이행하는 것으로 알려져 있으며 불포화도가 매우 높기 때문에 열, 산, 조사, 금속이온, 과산화물 및 peroxidase, 화학약품 등에 쉽게 산화되어 파괴되는 특징이 있다(10). 특히 분말화된 carotenoids는 빛, 산소, 금속이온, 과산화물 및 지질산화효소 등에 의해 산화가 심하게 일어난다(14). 또한 carotenoids가 들어있는 식용유지 등은 광선에 의해서 유발되는 광감광 산화반응에 있어서 활성화된 산소에 대해 강력한 소거제로 작용하여 광감광 산화반응시

Table 1. Uses of carotenoids(12)

Species	Color	Existence	Use
β -Carotene	yellow-orange	carrot, orange, tomato	butter, margarine, cheese, ice cream, wheat products, vegetable oils, cake mixes, candies, soup, fruit juices, beverage, etc.
β -Apo-8'-carotenal	orange-red	reddish, orange	toppings, frostings, candies, confections, pastry fillings, cheese sauces, cheese spreads, cake mixes, soups, salad dressings, etc.
Canthaxanthin	red	mushroom, salmon, trout	tomato products, soups, barbecue sauces, fruit drinks, simulated meat, shrimp and products
Annatto	yellow	annatto	cheese, butter, ice cream, margarine, butter cream, etc.
Saffron	yellow	saffron extract	confections, refreshing drink, etc.
Paprika	red	paprika extract	ice cream, cakes, noodles, refreshing drink, etc.

형성되는 활성화된 일중항 산소와 반응하여 전체적인 반응의 진행을 억제한다(2). 한편, carotenoids에 항산화제를 첨가하면 pH 2~7 범위에서도 색조변화가 없을 정도로 안정성이 높아지고 ascorbic acid와 같은 항산화제는 β -carotene과 β -apo-8'-carotenal을 안정화시키는 것으로 알려져 있다(14). Carotenoids는 산화적으로 분해되는 성질 외에도 이성화, 에폭사이드 이성화가 특징적이다(5).

Carotenoids의 비타민 A 전구체 기능

Carotenoids는 미생물, 조류, 곰팡이류 및 고등식물에 의해 생합성되고 있으며 이들의 광합성 관련 조직과 밀접한 관계가 있다. 식물에 있어서는 phytoene에서 β -carotene을 시작으로 하는 수종의 carotenoids가 생합성되고 있다(Fig. 2)(1). 동물은 *de novo* 합성이 불가능하기 때문에 비타민 A 활성물질을 합성할 수 없고 체내에서 레티놀과 그의 배당체나 전구물질을 만들어 낼 수 없다(15). 비타민 A 전구물질이 존재하는 식품은 우유, 계란, 간, 생선간유 등으로 영양학적인 면에서 중요하다(16).

체내에서 β -carotene의 비타민 A 전환율은 섭취할 때의 흡수율 등에 따라 다르지만, β -carotene 6 μ g은 레티놀 1 μ g에 해당하는 것으로 평가되어 있다(15). 미국에서는 성인에게 하루 평균 7,500IU(2,250RE)의 비타민 A가 요구되므로 채소에서 3,500IU(1,050RE), 유지에

서 2,000IU(600RE), 그리고 고기, 생선, 계란 등으로부터 2,000IU(600RE)를 섭취하도록 권장되고 있다(17).

Table 2에는 β -carotene의 비타민 A 활성을 100%로 보았을 때 cryptoxanthin, isocryptoxanthin, citranaxanthin 등의 상대적 활성을 나타내었다. 또한 분자구조에 의한 비타민 A 활성을 비교해 보면 분자 속에 *trans*-형을 갖고 있는 carotenoids가 *cis*-형의 carotenoids보다 생물학적 활성이 큰 것으로 알려지고 있다(17).

비타민 A 섭취가 부족하거나 과용하였을 경우에는 체내 이상을 일으키는데 부족시에는 성장부진, 감염에 대한 저항력 감소, 실명을 일으키는 xerophthalmia라는 결핍증을 나타내며(18-20), 과용시에는 손, 발 등의 피부가 노랗게 변하고 carotenoids의 혈청수치가 300 μ g/dl을 넘게 되는 hypercarotenemia라는 대사이상을 나타낸다(21,22).

Carotenoids의 활성산소 소거기능

Carotenoids는 생체반응에서 일중항 산소의 소거와 자유라디칼 반응의 억제 기작에 의해 발생하는 활성산소로부터 세포와 조직을 보호하는 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다(23). 활성산소는 핵산, 단백질, 지질 등에 산화적 장애를 일으켜 염증, 노화, 암 등 다양한 질병을 유발시키는 것으로 carotenoids의 산화억제기작은 생물학적으로 매우 중요하며, 생물체의 SOD, 토코페롤과 함께 생체방어의 역할을 갖게 된다(Fig. 3)(24).

β -Carotene은 산소분압이 낮으면 자유 라디칼 포착

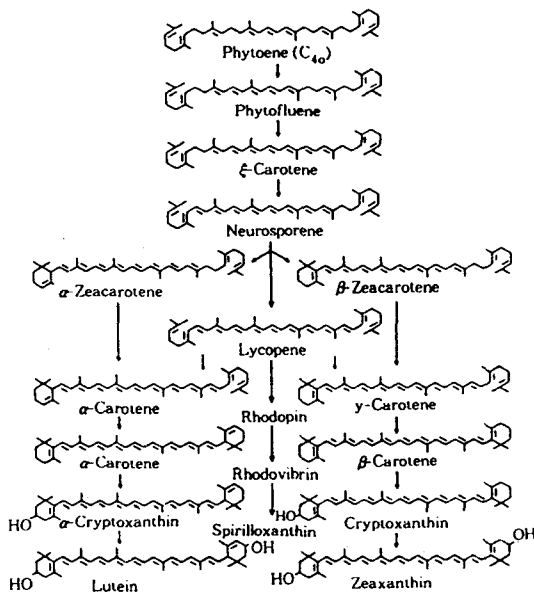


Fig. 2. Biosynthetic path way of carotenoids(1).

Table 2. Provitamin A activity of common carotenoids(13)

Carotenoid	Activity (%)
β -Carotene	100
α -Carotene	50~54
3, 4-Dehydro- β -carotene	75
γ -Carotene	42~45
7', 8'-Dehydro- γ -carotene	20~40
β -Carotene 5',6'-monoepoxide	21
β -Carotene 5',8'-monofuranoxide	50
3-Hydroxy- β -carotene (cryptoxanthin)	50~60
4-Hydroxy- β -carotene (isocryptoxanthin)	48
5, 6-Dihydroxy- β -carotene	Active
β -Apo-2'-carotenal	Active
β -Apo-8'-carotenal	72
β -Apo-10'-carotenal	Active
β -Apo-12'-carotenal	120
β -Apo-8'-carotenoic acid	Active
Torularhodin	Active<50
Citranaxanthin	44

제로서 작용하고 산소분압이 높아지면 이 기능은 약화되어 자유 라디칼 생성반응을 촉진한다(25). 즉 사람의 생체내 산소분압은 조직액에서는 40mmHg, 세포 주변에서는 약 1mmHg로 낮기 때문에 carotenoids가 자유 라디칼 소거 역할을 담당하고 있다고 생각될 수 있다(26).

Terao(27)는 methyl linoleate의 자유 라디칼 산화 연구에서 canthaxanthin과 astaxanthin이 β -carotene보다 항산화 효과가 크며, 이것은 canthaxanthin과 astaxanthin의 C-4와 C-4'에 위치한 oxo- 그룹 때문인 것으로 가정하여 설명하고 있으며, 또한 잔소필류인 zeaxanthin, canthaxanthin, astaxanthin이 자유 라디칼 연쇄반응을 일으키는 지질 페록사이드의 생성을 β -carotene보다 강하게 억제한다고 하였다(28,29). Astaxanthin은 특히 Fe^{2+} 가 일으키는 정상의 쥐 간장 미토콘드리아의 지질 과산화 반응 α -토코페롤보다 1,000배 강력한 저해활성을 나타낸다고 보고되고 있다(30,31). 한편 *in vivo*에서의 시험은 적으나 사염화탄소 처리에 의한 지질 과산화를 canthaxanthin, β -carotene이 억제한다는 보고가 있고 반응성이 상당히 높은 하이드록시 라디칼에 대해 astaxanthin 등의 소거활성이 인정되고 있다(29).

Foote 등(32)에 의하면 강한 생체산화물을 일으키는 일중항산소를 소거하는 능력은 β -carotene이 α -토코페롤보다 200배나 높다고 하였으며, Mascio 등(33)은 lycopene이 가장 높은 일중항 산소 소거효율을 나타낸다고 하였는데, 이는 β -요논환이 열려있는 구조를 갖는 것에 기인한다고 하였다. 또한 carotenoids의 일중항 산소 소거활성은 공액 이중결합수가 7개에서 5개로 감소함에 따라 현저히 저하되는 것으로 조사되었으며, 생체계에 가까운 조건에서는 xanthophyll이 활성이 강한 것으로 평가되고 있다(34).

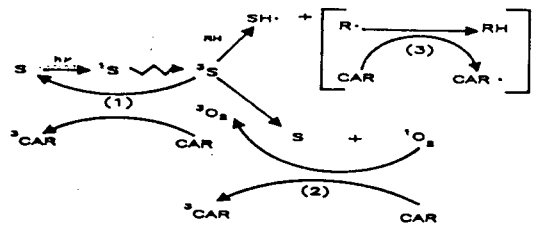


Fig. 3. Mechanisms of carotenoid on protection against oxidations: (1) quench tripletsensitizers; (2) quench singlet oxygen; (3) quench free radical intermediates.

hv=light; S=sensitizer molecule; 1S =singlet excited species; 3S =triplet sensitizer; 1O_2 =singlet oxygen; 3O_2 =triplet oxygen; R=free radical species; CAR=carotenoids; 3CAR =triplet state of carotenoid.

Carotenoids의 암세포 증식억제 기능

Carotenoids의 항종양 활성은 비타민 A 활성 기능과 관련이 있을 것으로 추정되어 왔으나 최근에는 비타민 A활성이 없는 carotenoids에서도 항종양 활성이 나타나는 것으로 밝혀지면서 다양한 종류의 carotenoids에 대한 항종양 활성 연구가 계속되고 있다(35). Carotenoids의 항암성에 관한 연구는 크게 *in vivo* 및 *in vitro*에서의 실험적 연구와 역학조사로 나눌 수 있다(36-66).

Carotenoids의 항암효과에 대한 실험에서는 동물체내외에 직접 암을 유발시켜 다음과 같은 결과를 얻었다. β -카로틴의 경우 Goodwin(40)은 마우스의 UV-A, UV-B, benzpyrene(BP), BP/UV-A와 8-methoxysoralein에 의해 유도된 종양을 억제하고 또한 9, 10-dimethyl-1,2-benzanthracene(DMBA)으로 유도된 종양을 억제한다고 하였다. 반면에 β -carotene 전구체인 phytoene은 DMBA/croton 또는 DMBA/UV-B로 유도된 종양에 대해서는 β -carotene이나 canthaxanthin보다 억제효과가 더 낮게 나타났다고 하였다. Temple과 Basu(41)도 β -carotene이 마우스에서 1,2-dimethylhydrazine(DMH)으로 유도된 클론 종양에 대하여 강한 억제효과를 나타내었고, Schwartz와 Shklar(42,43)는 DMBA로 유도된 햄스터의 구강종양 억제에 대해 β -carotene과 canthaxanthin이 효과적이라고 하였다.

과거, α -carotene은 비타민 A 전구체로서의 활성이 β -carotene의 1/2에 불과하기 때문에 주목을 받지 못하였으나 최근에는 β -carotene보다 강한 발암 억제작용을 가지고 있는 것이 확인되고 있다(44-46). α -Carotene은 TPA에 의한 EBV-EA 발현유도에 대한 억제효과에서 β -carotene보다 강력한 항 promoter 활성을 가지고 있음이 확인되었고 *in vivo* 실험에서도 α -carotene은 강력한 발암 억제효과를 가지고 있음이 확인되었다(47). α -Carotene은 또한 initiator로서 4-nitroquinoline-1-oxide를, promoter로서 glycerol을 사용한 마우스 폐 2단 발암 실험에서 평균 폐 종양수를 유의하게 감소시켰고 ICR 암컷 마우스의 등피부에 initiator로서 DMBA, promoter로서 TPA를 도포하였을 때 발생하는 종양수를 현저하게 감소시킨 바 있다(47).

Lutein의 경우, 피부 발암 시험계에서 initiation을 D-MBA로, promotion을 TPA 및 mezerein으로 행하고 lutein을 1st stage promoter 처리전에 2회 도포한 것만으로도 유의하게 평균 피부 종양수를 감소시키는 것으로 나타났다(47-49).

Fucoanthin의 경우, 10 μ g/ml 이상의 농도로 신경 아세포 배양액 중에 첨가시 신경 아세포의 증식이 완전히

저해되고 5 μ g/ml 이하의 농도에서는 증식속도가 저하하며, 2 μ g/ml 농도에서도 신경 아세포의 증식 억제가 인식되고 있어 강력한 항종양 활성을 가지는 물질로 평가되고 있다(47). 또한 마우스 피부 2단계 발암시험에서 fucoxanthin을 발암 promoter 처리시에 동시에 도포하면 강력하게 종양발생을 억제하고 fucoxanthin을 발암 promoter인 TPA의 380배량을 투여한 경우에는 피부 종양의 발생이 전실험기간(20주) 동안 전혀 관찰되지 않았고, C57Bl/6마우스에 N-ethyl-N-nitrosoguanidine을 투여한 경우에 발생하는 십이지장 종양에 대해서도 유의한 억제효과를 보였다(Table 3)(47,50,51). 또한 fucoxanthin의 대사산물인 haloacynthiaxanthin은 fucoxanthin보다 강력한 항종양활성을 나타내고 있다(47,52).

한편, 역학조사에 의한 carotenoids의 항암효과는 혈청 카로틴 함량과 식품 중의 카로틴에 밀접한 관련이 있다(38,52-56). Wald 등(57,58)은 16,000명의 성인 남자에 대한 혈청을 수집하여 레티놀 함량을 비교해 본 결과, 혈청 레티놀 수치가 낮게 나타난 86명에서 폐암과 위장암이 나타났으며, 5,004명의 여자를 대상으로 혈청을 수집하여 β -carotene과 비타민 E의 수치를 비교하여 유방암의 발생율을 조사한 결과에서는 β -carotene과 비타민 E 수치는 유방암과 크게 관련성이 없는 것으로 나타났다.

Hinds 등(59)은 하와이에서 다민족을 대상으로 carotenoids와 암발생과의 관계를 검토하기 위해서 1979년부터 1982년까지 364명의 초기 폐암 환자와 627명의 정상적인 대조군으로부터 식품섭취에 대해 상세한 조사를 한 결과 여자의 경우에는 유의성 있는 차이가 없었으나 남자의 경우는 carotenoids로서 비타민 A를 섭취하게 한 군에서 섭취량과 폐암 발생율이 역비례하는 것으로 나타났다고 하였다.

Sporn 등(60)은 항암치료에 거대한 암을 유발할 수 있는 세포독성과 대사경로를 막아 암세포를 죽이도록

하는 화학요법과는 달리 chemoprevention이라는 새로운 약물 접근으로 악성이 되기 전의 세포가 거대한 악성세포로 진전되지 못하도록 바꾸거나 멈추게 하는 방법을 사용하였다. 이 방법은 종양생성 이전 기간동안 생리적 기작을 이용하여 세포독성을 없애는 것으로 β -carotene, 비타민 A, C, E, 합성 유사화합물 등이 이용되고 있는데 비타민 A보다 합성 레티노이드와 carotenoids가 암의 chemoprevention에 더욱 적절한 것으로 여겨지고 있다. 이는 비타민 A가 세포조직에는 강한 독성을 나타내기 때문이다(61). 이와 같은 이유로 1970년대 이후로 새로운 비타민 A 유도체들이 만들어졌는데(62), 스위스의 Roche社에 의해서 약 1,000여종의 새로운 carotenoids와 레티노이드가 합성되어 생물학적 실험에 이용되었다.

Mathews(63,64)는 β -carotene과 다른 종류의 carotenoids를 광감성 질병의 치료에 이용하여 좋은 결과를 얻었으며, β -carotene의 장기간 섭취로 암의 유발을 막는 결과를 얻었다. Stich 등(65)은 β -carotene과 retinol은 구강암 억제에 중요한 역할을 한다고 하였다. 특히 β -carotene 및 40개의 유사물질에 대한 소핵시험 결과, 37개의 물질에서 소핵발생율이 감소하는 경향을 나타내었으며, β -carotene의 경우는 3배나 감소시키는 것으로 나타났다.

Munoz 등(66)에 의하면 중국사람들을 대상으로 한 시험에서 carotenoids 및 아연을 함께 처리한 결과 낮은 식도암 발생율을 나타내었다고 하였다. 즉 35세에서 64세에 이르는 610명의 남녀에게 매주 무작위로 carotenoids로서 비타민과 아연을 투여한 그룹과 placebo를 투여한 그룹으로 나누어 14개월 후에 조사한 결과 placebo를 투여한 그룹에서는 차이가 없었으나 비타민과 아연을 투여한 그룹에서는 식도암 억제에 우세한 효과를 나타내었다고 하였다.

한편, NCI와 국립 심, 폐, 혈액 연구소에서 평균 40대의 20,000명의 남자를 대상으로 5년간 β -carotene을 섭취하게 한 후 조사한 결과 암발생율이 감소하였으며, canthaxanthin을 구강투여한 결과 UV에 의한 피부암이 억제된 것으로 조사되었다(61).

따라서 β -carotene을 비롯하여 astaxanthin, fucoxanthin 등 carotenoids는 폐암, 구강암, 신경세포암 등과 같은 각종 암과 종양에 대하여 강력한 억제물질로서 이용이 기대된다.

Carotenoids의 생산

Carotenoids는 색소로서 뿐만 아니라 식음료 첨가

Table 3. Anticancer activity of natural carotenoids(47)

Group of experiments	Incidence rate of tumor	Tumor no./mouse
Lung cancer		
Control	93.8	4.06
α -Carotene	73.3	1.33
β -Carotene	93.3	4.93
Liver cancer		
Control	100	6.31
α -Carotene	94.1	3.00
β -Carotene	100	4.71
Duodenum cancer		
Control	66.7	1.05
Fucoxanthin	35.0	0.45

물, 사료첨가물, 의약품제로서 다양하게 이용되면서 수요가 높아지고 있다(5). 특히 미국 FDA에서 carotenoids의 항산화 효능을 정식으로 공인한 후 노화방지, 항암 효과 및 영양강화 등의 의약품으로서 수요가 폭증하게 되었다(67). 1953년 스위스의 Roche사에 의해 β -carotene이 공업적으로 합성되기 시작하였으며 현재는 canthaxanthin, β -apocarotenal, astaxanthin 등의 공업적 제조법이 확립되어(Fig. 4) 각종 가공식품, 음료류 등과 축육, 계란, 연어 및 송어 등의 착색제로 이용되고 있다(67). 그러나 최근 미국 FDA의 식품착색제의 표시 의무화와 건강예방에 대한 사회적 욕구 및 합성품에 대한 소비자들의 거부감, 유해가능성 등으로 천연 카로티노이드의 수요가 급증하고 있다. 실제로 합성색소는 인체에 미치는 독성으로 생체기능에 변화를 가져오고 유전적인 영향을 미치게 된다는 보고가 있다(5,6). 또한, 미국 FDA에 의해 천연 carotenoids가 합성품보다 10배 정도 뛰어난 항산화 효능이 있는 것으로 발표된 바 있어 천연품에 대한 선호도가 증가되고 있다. 천연 carotenoids 중 특히 β -carotene과 astaxanthin은 그 기능이 우수하여 이들의 생산 기술에 관한 연구가 집중되고 있다(7,9). 천연 carotenoids의 생산은 야채, 과실류, 감작

류 등에서 생산이 가능하지만 원재료비 비중이 높고 함유량이 최대 1% 이내로 합성품보다 가격이 높아 경쟁력에 한계가 있으므로 미국, 호주 및 이스라엘 등지에서는 *Dunaliella salina*(68,69), *Haematococcus pluvalis*(70,71), *Phaffia rhodozyma*(72,73) 등 조류 혹은 균체로부터 얻는 생물공학적인 생산 기술이 연구되고 있다(2,7,9). 연구용 균주로는 β -carotene의 경우 *Blakes trisopora*, *Phycomyces blakesleanus*, *Mucorales*, *Erwinia herbicola*, *Dunaliella salina*, *Phaffia rhodozyma* 등을 들 수 있고(7) astaxanthin의 경우는 *Mycobacterium lacticola*, *Brevibacterium 103*, *Peniophora sp.*, *Phaffia rhodozyma*, *Haematococcus* 등을 들 수 있다(9). 현재까지 이들 색소는 *P. rhodozyma*의 돌연변이 유발을 통하여 발암에 관여하는 대사를 제어함으로써 고수율로 합성하는데 성공하고 있으며, UV, ethyl-methane sulfonate(EMS), NTG에 의한 돌연변이 유발, novozyme sp299(Novo Nordisk), PEG, $CaCl_2$ 를 이용한 원형질체 융합 등의 방법으로 균의 개량을 도모하고 있다(74). Carotenoids의 추출은 dimethyl sulphoxide(DMSO)로 균체를 파괴하고 아세톤과 석유에테르로 추출하는 방식을 취하고 있으며, 곰팡이류의 경우, 글루코스 농도가

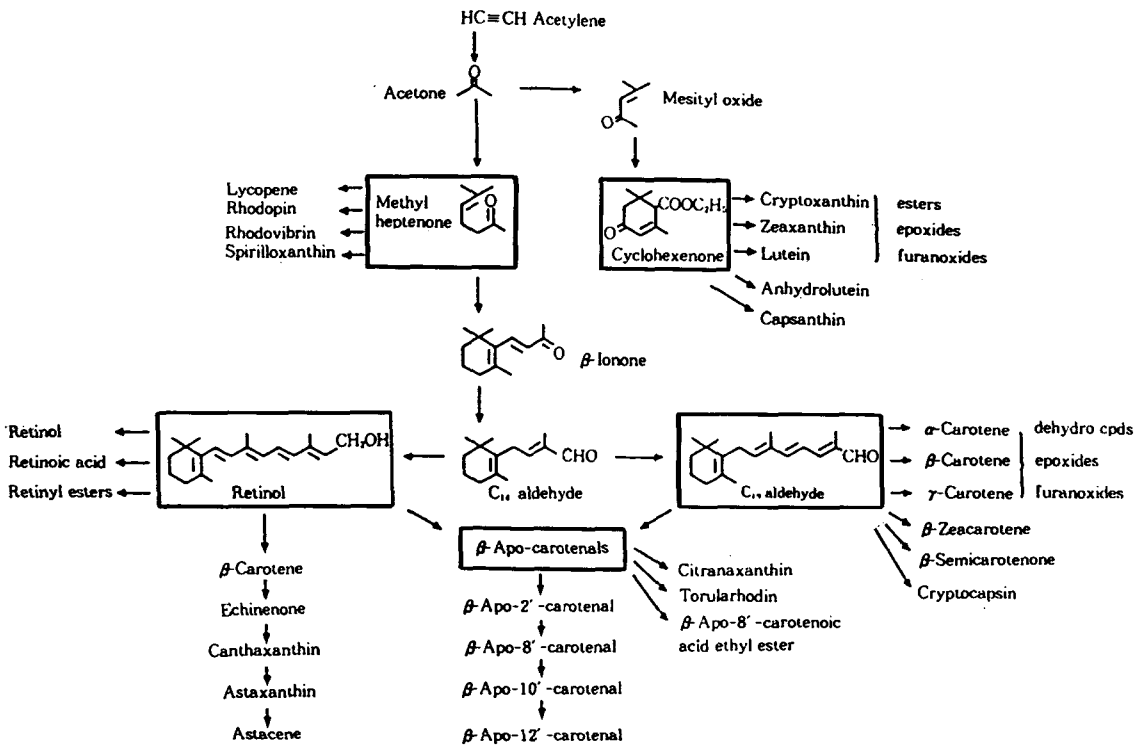


Fig. 4. Chemosynthesis of carotenoids(67).

높은 조건에서는 astaxanthin 생산이 감소하므로 클루코스 유사화합물 저항 돌연변이체를 분리하여 사용할 필요가 지적되고 있다(75). 일반적으로 과잉의 astaxanthin 생산 돌연변이체는 균체성장이 느리고 균체량이 적어 생성수율이 낮다(76). 생화학적으로 대사경로를 특수하게 방해하거나 배지조성을 적당히 조정하여 β -carotene의 수율을 상당히 향상시킬 수 있을 것으로 예상되는데, erosterol auxotroph 분리, β -carotene을 echinenone으로 전환시킬 수 없는 oxidase negative mutant 선별, 니코틴과 유사한 화학물질을 이용하여 lycopen을 세포내에 축적하는 생물공학기술의 확립이 필요하다(77).

β -Carotene의 생산은 미세조류인 *Dunaliella salina*에 의해 생물공학적으로 이루어지고 있다(68,69). 오스트레일리아의 생산자는 5ha 이상의 shallow pond를 그대로 이용하고 있으며, 미국과 이스라엘의 경우에는 조류의 성장을 위해 paddle-wheel mixed race way pond를 이용하고 있다. β -Carotene은 주로 엑스분, 야채오일 현탁액 혹은 건조분말 형태로 출하되고 있으며, 이는 천연제품, 건강식품, 암 예방제, 유리 라디칼 소거제, 양식어류의 체색개선제 등에 이용되고 있다. *Dunaliella salina*의 β -carotene 생산공정의 장점으로는 *Dunaliella salina*는 호염성이 가장 큰 진핵생물로 최적 염도는 해수의 7~8배인 22%이며 30% 이상의 염에도 견딜 수 있어 광범위한 open culture가 가능하며, 이 조류는 건조물 중량당 14%라는 높은 β -carotene 함량을 보여 부

가가치가 매우 높은 생물이라고 할 수 있다. 반면에 문제점으로는 growth pond에 biomass가 1g/L에 불과하고 밀도 역시 배지의 밀도와 유사하다는 점이며, 이에 따라 양식이 복잡하고 비용이 많이 든다는 점이다.

Astaxanthin은(70,71) *Haematococcus pluvialis*에 의해서 생물공학적으로 생산이 가능한 것으로 알려지고 있으나 상업적인 수준의 배양이 어려운 몇 가지 단점이 있다. 첫째, *Haematococcus pluvialis*는 담수조류로 open-air 배양시 불필요한 조류에 의해 오염이 되기 쉬우므로 tubular photo bioreactor와 같은 밀폐형 배양체계를 필요로 하며 섬세한 고안을 요구하고 있다. 둘째, *Haematococcus pluvialis*는 동적이고 편모가 달린 세포에서 성장회전 동안에는 정적이고 세포벽이 두터운 aplanospore로 변하는데 여기에 astaxanthin이 축적된다. 이러한 현상은 세포의 물리적 성질 및 영양요구가 배양과정 중에 변화하고 있음을 의미하며 이러한 변화는 성장회전 동안 성장에 필요한 최적 조건을 변화시킨다. 셋째, aplanospore의 astaxanthin 함량은 건물중량당 단지 1~2%에 불과하며 이 포자의 두터운 세포벽은 astaxanthin의 추출이나 동물의 소화 흡수를 위해 사전에 파괴시켜야 할 필요가 있다.

*Dunaliella salina*의 β -carotene은 천연품이고 대부분이 trans-형인 합성품과는 달리 cis-와 trans-의 혼합형이어서 생리활성이 훨씬 강하다. 앞으로 β -carotene의 생산성과 세포내 β -carotene 함량을 높이는 조류배양공정의 개선이 필요하다. 이를 위해서는 생산 plant

Table 4. Comparison of the *Dunaliella salina* β -carotene process with the *Haematococcus pluvialis* astaxanthin process(68)

	<i>Dunaliella salina</i>	<i>Haematococcus pluvialis</i>
Product	β -carotene	astaxanthin
Product of formulation	1% solution in oil; up to 30% suspension in oil; dry algal powder	dry algal powder
Carotenoid content in the cell	8~15% of dry wt	1~2% of dry wt
Properties of algae	wall-less flagellate; fragile	motile, cell wall-less flagellate, fragile; In-stationary phase, thick-walled aplanospore
Optimal environment for growth	salinity >20% w/v NaCl optimum temperature 30~40°C high light	salinity <1% w/v NaCl optimum temperature 15~20°C high light
Large-scale culture systems	very extensive, unstirred ponds, paddle wheel ponds; concentration, stabilization formulation	paddle wheel ponds(culture unstable); tubular photobioreactors stabilization
Harvesting	relatively complex-flocculation and/or centrifugation	relatively simple-settling and/or centrifugation
Processing	relatively complex-extraction, purification, concentration, stabilization, formulation	relatively simple-drying, homogenization, stabilization
Approximate value of biomass (based on carotenoid content in cell as shown in [])	US\$30.00/kg[5%] US\$60.00/kg[10%]	US\$30.00/kg[1%]

의 design 개선, *Dunaliella*의 생리적 특성의 이해, 우수유전자 탐색 혹은 변이, 유전자공학 등을 통한 우수 유전자의 개발이 필요하다. 또한 상업적 수준의 조류 astaxanthin의 생산기술개발을 위해서는 높은 색소함량을 가지고 고온에 견딜 수 있는 조류의 선발과 효과적인 폐쇄 배양체계의 개발을 필요로 하고 있다(68-71) (Table 4).

요 약

생물계의 색소성분인 동시에 연간 1억톤 이상 생산되고 있는 carotenoids의 특성, 산화억제 및 발암 억제 작용 등 생리기능성 및 생물공학적인 생산기술에 관하여 조사하였다. Carotenoids는 황적색 색소로서 각종 식품의 착색에 이용되어 왔으며 공액 이중결합이 많은 특성으로 열, 광, 산 및 금속이온 등에 의하여 산화가 쉽게 일어나는 특징을 나타내었다. Carotenoids는 비타민 A의 활성을 나타내고 활성의 강도는 *trans*-형이 *cis*-형보다 큰 것으로 나타났다. Carotenoids는 생체에 유해한 활성산소의 소거기능을 나타내며, 특히 β -carotene, canthaxanthin, astaxanthin 및 lycopene 등은 토코페롤보다 강력한 생체 항산화성을 나타내었으며, 이러한 특징은 carotenoids 특유의 공액 이중결합수와 β -ionone의 화학구조와 깊은 관련이 있는 것으로 추정되었다. β -Carotene을 비롯하여 astaxanthin, α -carotene, fucoxanthin, halocynthiaxanthin 및 peridinin 등은 폐암, 구강암, 피부암, 신경 세포암 및 십이지장 종양 등을 강하게 억제하는 활성을 나타내어 향후 이에 대한 해석과 유사물질에 대한 깊이 있는 연구가 필요한 것으로 지적되었다. Carotenoids 중 천연 β -carotene 및 astaxanthin은 유용성이 인정되어 현재 *Dunaliella* 및 *Haematococcus* 등의 해양조류를 이용한 생물공학적 생산기술에 대한 연구가 진행되고 있으나, 이들 carotenoids가 상업적 수준으로 생산되기 위해서는 아직도 배양체계의 조절과 부가 가치가 높은 조류(algae)의 선발이 요구되었다. 향후 carotenoids의 생물활성에 대한 해명과 상업적인 생산기술 개발을 통해 carotenoids가 다양한 분야에 이용될 것으로 기대된다.

문 헌

- Macrae, R., Robinson, R. K. and Sadler, M. J.: *Encyclopedia of food science and technology*. Academic Press, London, p.293(1992)
- Tee, E. S.: Carotenoids and retinoids in human nutrition. *Cri. Rev. Food Sci. Nutr.*, **31**, 103(1992)
- Bauerfeind, J. C.: *Carotenoids as colorants and vitamin A precursors*. Academic Press, New York, p.1(1981)
- Pierre, A.: Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research. *Trends in Food Sci. Tech.*, **8**, 406(1997)
- 홍상필: 천연카로티노이드의 생물활성과 이용전망. *식품기술*, **9**, 127(1996)
- 食品化學新聞社: Marketing Research. 月刊フードケミカル, **11**, 48(1992)
- Nelis, H. J. and De Leenheer, A. P.: Microbial sources of carotenoid pigments used in foods and feeds. *J. Appl. Bacteriol.*, **70**, 181(1991)
- 홍상필: Micro-algae의 이용. *식품기술*, **8**, 159(1995)
- Johnson, E. A.: Astaxanthin from microbial sources. *Cri. Rev. Biotech.*, **11**, 297(1991)
- 김동훈: 식품화학. 탐구당, p.50(1990)
- Britton, G. and Goodwin, W.: *Carotenoid chemistry and biochemistry*. Pergmon Press, Oxford, p.1(1982)
- Borenstein, B. and Bunnell, R. H.: Carotenoids: properties, occurrence and utilization in food. *Adv. Food Res.*, **15**, 195(1966)
- Bauernfeind, J. C., Brubacher, G. B., Klaui, H. M. and Marusich, W. L.: Use of Carotenoids. *Carotenoids*, **11**, 1(1971)
- 송재철, 조원대: 가공식품과 식용색소. *식품기술*, **10**, 66(1997)
- Simpson, K. L.: Carotenoids in fish feeds. In "*Carotenoids as colorants and vitamin A precursors*" Bauernfeind, J. C.(ed.), Academic Press, New York, p.463(1981)
- Wolf, G.: Vitamin A, in human nutrition. A comprehensive Treatise, Plenum Press, New York, Vol. 3, p.1(1980)
- Bauernfeind, J. C.: Carotenoid Vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. *J. Agric. Food Chem.*, **20**, 456(1972)
- Bauernfeind, J. C.: Vitamin A deficiency and its control. Academic Press, Orlando, p.1(1986)
- Tielsch, J. M. and Sommer, A.: The epidemiology of vitamin A deficiency and xerophthalmia. *Annu. Rev. Nutr.*, **4**, 183(1984)
- Underwood, B. A.: Underpinning vitamin A deficiency prevention and control programmes. *Food Nutr. Bull.*, **11**, 41(1989)
- Hathcock, J. N., Hattan, D. G., Jenkins, M. Y., MacDonald, J. T., Sundaresan, P. R. and Wilkening, V. L.: Evaluation of vitamin A toxicity. *Am. J. Clin. Nutr.*, **52**, 183(1990)
- Leug, A. K. C.: Carotemia. *Acta Pediatr.*, **34**, 223(1987)
- Krinsky, N. I.: Carotenoid protection against oxidation. *Pure Appl Chem.*, **51**, 649(1979)
- Krinsky, N. I.: Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biol. Med.*, **7**, 617(1989)
- Palozza, P. and Krinsky, N. I.: Antioxidant effects of Carotenoids in vivo and in vitro, An Overview. *Methods Enzymol.*, **213**, 403(1992)
- 韓涉: 카로티노이드의 생물활성. 恒星社厚生閣, p.80(1994)
- Terao, J.: Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biol. Med.*, **7**, 617(1989)

28. Lim, B. P. : Antioxidant activity of xanthophylls on peroxy radical-mediated phospholipid peroxidation. *Biochem. Biophys. Acta*, **1126**, 178(1992)
29. Terao, J. : Antioxidant activity of β -carotene related carotenoids in solution. *Lipids*, **24**, 659(1989)
30. Miki, W. : Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure Appl. Chem.*, **63**, 141(1991)
31. 倉繁迪, 岡添陽子, 中増英治 : フリーラジカルによる生體膜障害とアスタザンチンによるその防止. *サイトプロテクションシマンドバヘオロジー*, **7**, 383(1989)
32. Foote, C. S., Chang, Y. C. and Denny, R. W. : Chemistry of singlet oxygen. Carotenoid quenching parallels biological protection. *J. Amer. Chem. Soc.*, **92**, 5216(1970)
33. Di Mascio, P., Kaiser, S. and Sies, H. : Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch. Biochem. Biophys.*, **274**, 532(1989)
34. Mayne, S. T. : Antioxidant Nutrients and cancer incidence and mortality. *Adv. Pharmacol.*, **38**, 657(1997)
35. Nishino, H. : Cancer chemoprevention by natural carotenoids and their related compounds. *J. Cell Biochem.*, **22**, 231(1995)
36. Mathews Roth, M. M. : Carotenoids and cancer prevention-experimental and epidemiological studies. *Pure Appl. Chem.*, **57**, 717(1985)
37. Krinsky, N. I. : The evidence for the role of carotenes in preventive health. *Clin. Nutr.*, **7**, 107(1988)
38. Ziegler, R. G. : Review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer. *J. Nutr.*, **119**, 116(1989)
39. Williams, C. M. and Dickerson, J. W. : Nutrition and cancer-some biochemical mechanism. *Nutr. Res. Rev.*, **3**, 75(1990)
40. Goodwin, T. W. : Metabolism, nutrition and function of carotenoids. *Annu. Rev. Nutr.*, **6**, 273(1986)
41. Temple, N. J. and Basu, T. K. : Protective effect of β -carotene against colon tumors in mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, **78**, 1211(1987)
42. Schwartz, J. and Shklar, G. : Regression of experimental oral carcinomas by local injection of β -carotene and canthaxanthin. *Nutr. Cancer*, **11**, 36(1988)
43. Schwartz, J., Shklar, G., Reid, S. and Trickler, D. : Prevention of experimental oral cancer by extracts of Spirulina-Dunaliella algae. *Nutr. Cancer*, **11**, 127(1988)
44. Ziegler, R. G. : The importance of α -carotene, β -carotene and other phytochemicals in the etiology of lung cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, **88**, 612(1996)
45. 西野輔翼 : α -カロテンによるガン豫防. *New Food Industry*, **36**, 6(1994)
46. Murakoshi, M. : Potent preventive action of α -carotene against carcinogenesis, spontaneous liver carcinogenesis and promoting stage of lung and skin carcinogenesis in mice are suppressed more effectively by α -carotene than by β -carotene. *Cancer Res.*, **52**, 6583(1992)
47. 西野輔翼 : 癌細胞増殖抑制活性. *New Food Industry*, **11**, 105(1994)
48. Kostic, D., White, W. S. and Olson, J. A. : Intestinal absorption, serum clearance, and interactions between lutein and β -carotene when administered to human adults in separate or combined oral doses. *Am. J. Clin. Nutr.*, **62**, 604(1995)
49. Khachik, F. : Lutein, lycopene, and their oxidative metabolites in chemoprevention of cancer. *J. Cell Biochem.*, **22**, 236(1995)
50. Krinsky, N. I. : Micronutrients and their influence on mutagenicity and malignant transformation. *Ann. New York Acad. Sci.*, **686**, 229(1993)
51. Krinsky, N. I. : Carotenoids and cancer, basic research studies, natural antioxidants in human health and disease. *Ann. New York Acad. Sci.*, **239**, 1(1994)
52. Gerster, H. : Anticarcinogenic effects of common carotenoids. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **63**, 93(1993)
53. Campbell, D. R. : Plasma carotenoids as biomarkers of vegetable and fruit intake. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **3**, 493(1994)
54. Ziegler, R. G. : Vegetables, fruits, and carotenoids and the risk of cancer. *Am. J. Clin. Nutr.*, **53**, 251(1991)
55. Van Poppel, G. and Goldbohm, A. : Epidemiologic evidence for β -carotene and cancer prevention. *Am. J. Clin. Nutr.*, **62**, 1393S(1995)
56. Block, G. : Fruits and vegetables and cancer prevention, a review of the epidemiologic evidence. *Nutr. Cancer*, **18**, 1(1992)
57. Wald, N., Idle, M., Boreham, J. and Bailey, A. : Low serum-vitamin A and subsequent risk of cancer, Preliminary results of a prospective study. *Lancet*, **2**, 813(1980)
58. Wald, N., Boreham, J., Hayward, J. L. and Bulbrook, R. D. : Plasma retinol, β -carotene and vitamin E levels in relation to the future risk of breast cancer. *British J. Cancer*, **49**, 321(1984)
59. Hinds, M. W., Kolonel, L. N., Hankin, J. H. and Lee, J. : Dietary vitamin A, carotene, vitamin C and risk of lung cancer in Hawaii. *Am. J. Epidemiol.*, **119**, 227(1984)
60. Sporn, M. B., Dunlop, N. M., Newton, D. L. and Smith, J. M. : Prevention of chemical carcinogenesis by vitamin A and its synthetic analogs(retinoids). *Fed. Proc.*, **35**, 1332(1976)
61. Greenwald, P. : Diet and chemoprevention in NCI's research strategy to achieve national cancer control objectives. *Annu. Rev. Public Health*, **7**, 267(1986)
62. Bollag, W. and Matter, A. : From vitamin A to retinoids in experimental and clinical oncology, achievements, failures, and outlook. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **359**, 9(1981)
63. Mathews, R. M. M. : Carotenoids in medical application. In "Carotenoids as colorants and vitamin A precursors" Academic Press, New York, p.8(1981)
64. Mathews, R. M. M. : Photosensitization by porphyrins and prevention of photosensitization by carotenoids. *J. Natl. Cancer Inst.*, **69**, 279(1982)
65. Stich, H. F., Rosin, M. P. and Vallejera, M. O. : Reduction with vitamin A and β -carotene administration of proportion of micronucleated buccal mucosal cells in Asian betel nut and tobacco chewers. *Lancet*, **1**, 1204(1984)
66. Munoz, N., Wahrendorf, J., Lu, J. B., Crespi, M.,

- Thurnham, D. I., Day, N. E., Zheng, H. J., Grassi, A., Li, W. Y., Lin, G. L., Lang, Y. Q., Zhang, C. Y., Zheng, S. F., Li, J. Y., Correa, P., O'Connor, G. T. and Bosch, X. : No effect of riboflavin, retinol, and zinc on prevalence of precancerous lesions of oesophagus. *Lancet*, **2**, 111(1985)
67. 伊藤良仁 : カロテノイド. 恒星社厚省閣, p.69(1994)
68. Michael, A. B. : Products from microalgae. *Infofish International*, **5**, 21(1993)
69. Rau, W. : Mechanism of photoregulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Pure Appl. Chem.*, **57**, 777(1985)
70. Makio, K. : Effects of light intensity, light quality, and illumination cycle on astaxanthin formation in a green alga, *Haematococcus pluvialis*. *J. Ferm. Bioen.*, **74**, 61(1992)
71. Makio, K. : Growth and astaxanthin formation of *Haematococcus Pluvialis* in heterotrophic and mixotrophic conditions. *J. Ferm. Bioen.*, **74**, 17(1992)
72. Sedmak, J. J. : Extraction and quantitation of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*. *Biotechnol. Tech.*, **4**, 107(1990)
73. Tony, J. F. : Improvement of astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* through mutation and optimization of culture conditions. *J. Ferm. Bioen.*, **75**, 466(1993)
74. Meyer, P. S. : Selection and evaluation of astaxanthin-overproducing mutants of *Phaffia rhodozyma*. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **9**, 514(1993)
75. Chen, H. M. and Meyers, S. P. : Extraction of astaxanthin pigment from crawfish waste using a soy oil process. *J. Food Sci.*, **47**, 892(1982)
76. No, H. K. and Meyers, S. P. : Utilization of crawfish processing wastes as carotenoids, chitin, and chitosan sources. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**, 319(1992)
77. Favati, F. : Supercritical carbon dioxide extraction of carotene and lutein from leaf protein concentrates. *J. Food Sci.*, **53**, 1532(1988)

(1998년 7월 16일 접수)