

# Microbial Production of Carotenoids: Biological Functions and Commercial Applications

Yong Bae Seo<sup>1,2</sup> and Gun-Do Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

<sup>2</sup>Institute of Marine Biotechnology, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

Received June 20, 2017 / Revised June 27, 2017 / Accepted June 27, 2017

Carotenoids are isoprenoids with a long polyene chain containing 3 to 15 conjugated double bonds, which determines their absorption spectrum. They typically consist of a C<sub>40</sub> hydrocarbon backbone often modified by different oxygen-containing functional groups, to yield cyclic or acyclic xanthophylls. Much work has also been focused on the identification, production, and utilization of natural sources of carotenoid (plants, microorganisms and crustacean by-products) as an alternative to the synthetic pigment which currently covers most of the world markets. Nevertheless, only a few carotenoids ( $\beta$ -carotene, lycopene, astaxanthin, canthaxanthin, and lutein) can be produced commercially by fermentation or isolation from the small number of abundant natural sources. The market and demand for carotenoids is anticipated to increase dramatically with the discovery that carotenoids exhibit significant anti-carcinogenic activities and play an important role in the prevention of chronic diseases. The increasing importance of carotenoids in the feed, nutraceutical food and pharmaceutical markets has renewed by efforts to find ways of producing additional carotenoid structures in useful quantities. Because microorganisms and plants synthesize hundreds of different complex chemical carotenoid structures and a number of carotenoid biosynthetic pathways have been elucidated on a molecular level, metabolic and genetic engineering of microorganisms can provide a means towards economic production of carotenoid structures that are otherwise inaccessible. The aim of this article is to review our current understanding of carotenoid formation, to explain the perceived benefits of carotenoid in the diet and review the efforts that have been made to increase carotenoid in certain microorganisms.

**Key words** : Astaxanthin, carotenoids, isoprenoid, microbial, pigment

## 서론

카로티노이드(carotenoid)는 이소프레노이드 화합물(isoprenoid compounds)로서 자연계에서 C<sub>30</sub>, C<sub>40</sub>, C<sub>50</sub> 계열의 유용한 색소 군으로 생리활성물질로 알려져 있다. 카로티노이드는 분자 구조에 따라 산소가 없는 카로틴(carotene) 계열과 산소를 포함하는 크산토펜(xanthophyll) 계열로 나뉘지며, 카로틴은 1831년 Wackenroder에 의해 당근에서 최초로 분리되었고[55], 크산토펜은 1837년 Berzelius에 의해 단풍의 노란 색소 성분으로 분리되었다[3]. 이러한 카로틴과 크산토펜을 총칭하여 1911년 Tswett에 의해 카로티노이드라는 이름이 명명되었다[54].

현재까지 밝혀진 카로티노이드의 종류는 600여종 이상으로

알려져 있으며, 이들 대부분은 1종 만으로 존재하는 것이 아니라 다양한 종류들이 함께 존재하는 것으로 알려져 있다. 이러한 카로티노이드의 대표적인 예로서, 카로틴류에는  $\beta$ -carotene (당근, 노른자 등에 존재), lycopene (토마토·수박 등의 과실에 존재) 등이 있고, 크산토펜류에는 lutein (노른자, 녹색 잎, 꽃잎 등에 존재), zeaxanthin (황색옥수수, 노른자 등에 존재), violaxanthin (삼색제비꽃의 노랑꽃잎 등에 존재), astaxanthin (갑각류, 연어 등에 존재) 등이 있다[25].

다양한 생물학적 기능성을 가진 카로티노이드 중 산업적으로 가장 많이 이용되는 카로티노이드는 astaxanthin이며, 이를 생산하는 방법으로는 화학 합성, 갑각류 등에서 추출, 미생물을 이용한 생산 등으로 그 수요량을 충족하고 있다[48]. 하지만 화학 합성에 의해 생산되는 astaxanthin의 경우 안전성 문제로 인하여 제한적(양식 사료용)으로 사용되고 있다. 갑각류 등에서 추출하여 생산되는 astaxanthin의 경우 고비용의 추출 경비, 원료물질의 확보, 추출 후 폐기물 처리 등의 문제점으로 인하여 산업적 이용에 제한이 있다[36]. 이러한 단점을 극복하기 위하여 현재로서는 astaxanthin을 생합성 하는 미생물을 이용하여 생산하는 방법을 선호하고 있으며, 주로 이용되는 미생물로는 *Haematococcus pluvialis* [7]와 *Phaffia rhodozyma* [43]가 있다. 또한, astaxanthin 생합성에 관련된 유전자들을 클

### \*Corresponding author

Tel : +82-51-629-5618, Fax : +82-51-629-5619

E-mail : [gundokim@pknu.ac.kr](mailto:gundokim@pknu.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.

로닝하여 대장균 및 효모에서 생산하는 방법과 돌연변이 유도를 통한 astaxanthin 생산량 증대를 유도하는 연구들이 보고되고 있다[7, 56, 58, 59].

이처럼 다양한 방면에서 산업적으로 이용되는 카로티노이드를 본 논문에서는 생산 미생물, 대량 생산을 위한 대사공학 적 기법 적용, 생물학적 작용기전 및 산업적 이용을 중심으로 설명하고자 한다.

## 본 론

### 카로티노이드 구조와 분류

카로티노이드는 8개의 isoprenoid로 구성된 탄화수소 계열의 물질이며, Fig. 1에서 보는 바와 같이 중심을 제외하고 head-to-tail 페턴의 대칭 구조로 되어있다. 2개의 중심 메틸기는 1, 6번 위치, 나머지 비 말단 메틸기는 1, 5번에 위치한다. 이러한 구조를 바탕으로 다양한 카로티노이드 유도체가 명명된다. 또한 Fig. 2에서 보는 바와 같이 그리스 문자는(예:  $\beta$ -carotene 등) IUPAC 체제에서 분자 구조의 말단 그룹(수소 첨가 및 작용기)을 설명하기 위해 사용된다. 이러한 명명법을 가진 몇몇 카로티노이드의 구조는 Fig. 3에서 나타내었다.

많은 카로티노이드들은 40개 탄소의 polyene 사슬로 이루

어져 있으며, 이는 카로티노이드 분자의 골격을 형성한다. 이 사슬의 말단은 환형으로 끝나는 경우도 있으며, 산소를 포함하는 작용기를 가지는 경우도 있다. 이들의 분자 구조를 바탕으로 카로티노이드는 탄소와 수소로만 구성되어 있는 카로틴계와 산소 작용기를 가지는 크산토펜계, 2개의 그룹으로 분류할 수 있다(Table 1). 또한, 카로티노이드의 polyene 골격에서 단일 결합과 이중 결합 형태의 패턴과 작용기의 차이점은 다른 분자로부터 발생한 잉여 에너지를 흡수할 수 있으며, 이는 *in vivo* 상에서 항산화 활성, 서로 다른 용매에서 최대 흡광도, 색 등의 특성으로 나타난다[5].

### 대표적 카로티노이드의 생리적 기능

자연계에서 카로티노이드의 기능은 식물에서는 광합성 과정에서 blue-green 파장대의 빛을 흡수하여 광합성 반응 중심(reaction center)으로 전이하는 보조색소이며, lutein,  $\beta$ -carotene, violaxanthin, neoxanthin 순으로 엽록체의 구조 형성과 안정성 유지에 기여하고 있으며, 식물의 꽃과 과일의 색깔로 적색, 홍색, 황색 계열의 색소로 축적되어 곤충과 동물의 유인제 역할을 수행함으로써 종자 번식을 위한 역할을 수행하고 있다. 동물에서의 카로티노이드의 역할은 미세조류나 식물을 섭취하여 표피 및 근육 색을 띠게 하는 역할(astaxanthin)과

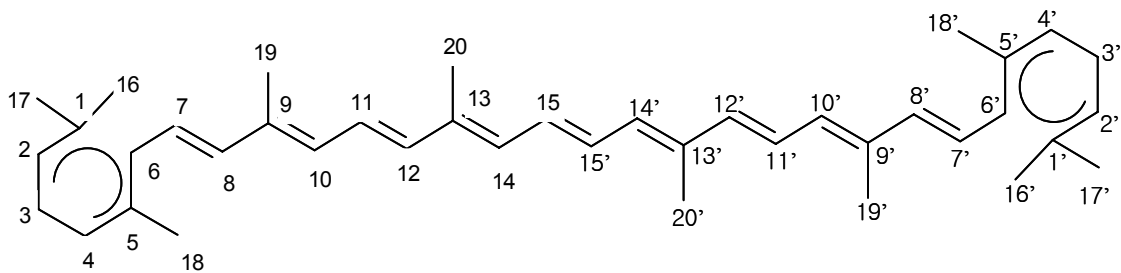


Fig. 1. Structure and numbering of stem name carotene.

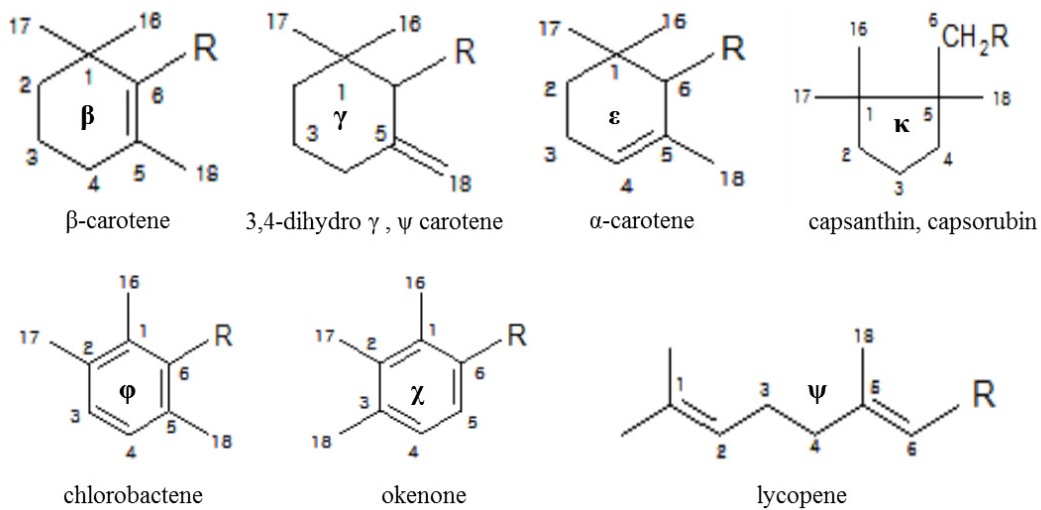


Fig. 2. Characteristic end groups of carotenoids.

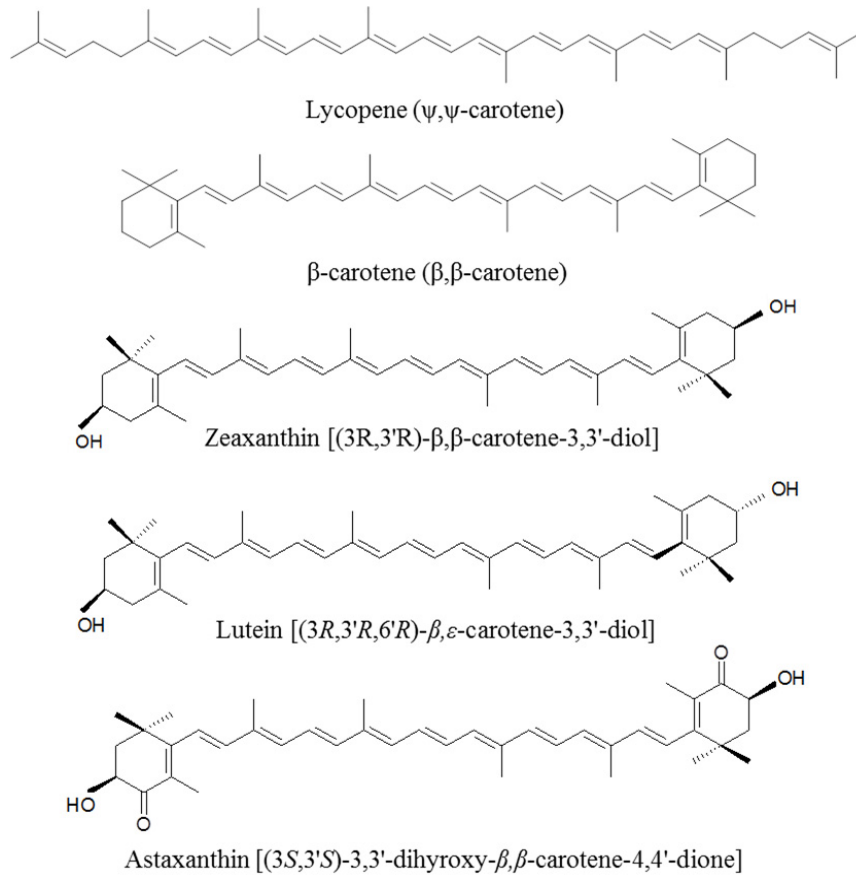


Fig. 3. Structures of important carotenoids.

Table 1. Classification of carotenoids

Basis	Sub group	Characteristics	Examples
Structure	Carotenes	Constituting carbon and hydrogen	$\alpha$ -carotene, $\beta$ -carotene, $\beta$ -cryptoxanthin,
	Xanthophylls	Constituting carbon, hydrogen, and oxygen	Lutein, zeaxanthin, violaxanthin, fucoxanthin
Cyclization	Acyclic	End group not closed	Lycopene
	Alicyclic		
	a. Monocyclic	One end group open, one closed	$\gamma$ -carotene
	b. Bicyclic	Both closed	$\beta$ -carotene
Structural alteration	Allenic	Continuous double bond	Neoxanthin
	Acetylenic	Presence of a triple bond	Dehydro apocarotenoid
	Apocarotenoid	Less than 40 Carbon atoms	Bixin
	Higher carotenoid	More than 40 Carbon atoms	Crocetin
Function	Primary	Required for photosynthetic process	$\beta$ -carotene, zeaxanthin, antheraxanthin, lutein, violaxanthin, neoxanthin
	Secondary	Presence not directly related to plant survival	$\alpha$ -carotene, capsanthin, bixin, lycopene, astaxanthin

조직 성장, 분화 조절 물질(retinoic), 주요 시각 색소(retinal, rhodopsin), 비타민A의 전구물질로써 역할을 한다.

현재 글로벌 시장에서 주로 이용되는 카로티노이드는  $\beta$ -carotene, lutein, astaxanthin, lycopene, zeaxanthin 등 이들 대표적 카로티노이드의 생리적 기능성을 살펴보면 다음과 같

다(Table 2).

Lycopene은 토마토, 수박, 살구 등에 많이 함유된 붉은색 색소이며 다른 카로티노이드와 함께 과일이나 야채류에 널리 존재하며 카로티노이드 중에서도 항산화력이 크기 때문에 유해산소로 인한 질병 예방 및 치료 효과가 우수한 것으로 알려

Table 2. Biological function of carotenoids

Disease	Mechanism of action	Carotenoid associated
Prostate cancer		lycopene
Colorectal cancer		$\beta$ -carotene, lutein
Breast cancer	Inhibition of cell cycle progression at G1 phase	lycopene
Lung cancer	Inhibits cell proliferation, transformation, and micronucleus formation	$\beta$ -carotene wide range of carotenoid
	Modulates expression of certain genes leading to tumor formation	$\beta$ -carotene
Light-induced erythema	Filtering of blue light and scavenging reactive intermediates	$\beta$ -carotene, lycopene, lutein
Eye health xerophthalmia	Quenching active oxygen species	Lutein, Zeaxanthin
CVD	Reduction of LDL oxidation	$\beta$ -carotene, lycopene and
	Reduction of oxidative stress at plaque side	combination of various
	Reduction of lipoprotein sensitivity to oxidative damage	carotenoids
Cataract and macular degeneration	Protect the macula from blue light-induced damage and scavenge free radicals	Lutein Zeaxanthin

져 있다. Stahl과 Sies [51]는 lycopene이 세포간의 상호작용과 세포성장을 조절한다고 보고하였다. 또한, lycopene은 5 $\alpha$ -reductase의 발현을 억제하여 prostatic spermine-binding protein, prostatic steroid-binding protein C2, 그리고 cystatin related protein 2와 같은 androgen target gene의 발현을 억제하기 때문에 전립선 암뿐만 아니라 전립선 비대증에도 효과가 있을 것으로 예상하고 있다[23, 24, 50]. 하지만 다수의 임상 실험에서 토마토 추출물 또는 lycopene이 전립선 암의 치료 및 예방에 효과가 미미하거나 없다는 보고가 있어[10, 28, 31, 33], lycopene의 암 예방 및 치료 효과는 향후 더 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

$\beta$ -carotene은 2개의  $\beta$ -ionone 핵을 가지고 있기 때문에 체내에서 산화, 분해되어 두 분자의 비타민 A를 생성하며 진한 적색이나 농도가 묽으면 노란색을 나타낸다. 유해산소의 해로운 작용을 막아 암, 동맥경화 등 성인병 예방과 노화억제 등에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다[40, 52]

Zeaxanthin 및 lutein은 케일, 시금치, 옥수수, 메밀 등에 풍부하게 함유되어 있는 황색 색소이며 자외선으로부터 눈을 보호하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 특히 노화와 관련한 눈 질환 연구 결과에서 zeaxanthin, lutein을 보충했을 때 후기노인성 황반 변성의 악화를 감소시킨다는 보고가 있으며, 백내장과 황반 퇴화를 예방하고, 시각 퇴화 속도를 지연시키는 것으로 밝혀졌다[20].

Astaxanthin은 불포화성 이소프렌 유도체의 일종으로 지용성 색소의 특징을 가지고 있는 적색 색소이다. Astaxanthin은 자외선으로부터 피부를 보호할 수 있고 고밀도 지방단백 (high-density lipoproteins: HDL)을 증가시키며, 면역 기능성 향상, 구강 암과, 유방 암의 성장을 감소시키는 것으로 보고되었다[9, 53].

### Bacteria에 의한 카로티노이드 생산

카로티노이드를 생합성 하는 다양한 세균을 동정하기 위해 많은 연구자들이 색소 생산 균주를 동정하였다. 분리·동정된 세균은 대부분이 red color 또는 orange color을 나타내는 colonies를 형성한다. 이들 중 *Halobacterium salinarum* [26]이 생산하는 bacterioruberin은 가장 잘 알려진 carotenoid 중 하나이다[1]. 해양세균인 *Flavobacterium* sp., *Haloferax alexandrius*, *Paracoccus haeundaensis*, *Kocuria gwangalliensis*는 각각 zeaxanthin, canthaxanthin, astaxanthin, decaprenoxanthin을 생산한다[2, 12, 34, 38]. 이 외에도 *Agrobacterium aurantiacum*, *Mycobacterium breviciae*, *Mycobacterium lacticola*, *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodococcus maris*, *Streptomyces chrestomycticus*, *Erwinia uredovora* 등도 카로티노이드를 생합성 하는 것으로 알려져 있다[47].

카로티노이드를 생합성 하는 세균은 대부분 비광합성 세균 (Non-photosynthetic bacteria)으로 carotenoids의 생산에 영향을 미치는 요소는 배지 조성, 온도, 교반 속도, aeration이 있다[45]. 이와 관련된 여러 연구에서는 carbon과 nitrogen sources, inorganic salts, chemical agents, metal ions이 카로티노이드 생합성에 영향을 주는 것으로 보고되었다[4, 22, 19, 41]. 하지만 이들 비광합성 세균도 강한 빛으로부터 세포를 보호하기 위해 카로티노이드 생산량을 증가 시킨다는 보고도 있다[17].

### Yeast와 filamentous fungi에 의한 carotenoids의 생산

Carotenoids를 생산하는 yeasts 중에서 가장 잘 알려진 속은 *Rodotorula*, *Rhodospiridium*, *Sporobolomyces*, *Phaffia*, *Sporidiobolus*가 있다. 이 속들의 yeasts가 생산하는 carotenoids는 유사하며, 대부분이  $\beta$ -carotene,  $\gamma$ -carotene, torulene, torularhodin으로 이루어져 있다[60].

많은 연구에서 밝혀진 결과들이 yeasts에서 생산된 car-

otenoids가 carbon sources로서 by-products를 사용함으로써 산업적으로 활용가치가 있는 것으로 보고하고 있다[6]. Yeast에서 카로티노이드 생합성에 영향을 미치는 요소는 세균과 같이 빛의 강도에 의한 영향이 크다. 하지만 세균과 달린 Yeast의 경우 카로티노이드 생합성에 pH의 영향이 지대한 것으로 알려져 있으며, *P. rhodozyma*로 연구한 결과에 따르면 최적 생육 pH는 5.8이지만 pH 5.0에서 가장 높은 astaxanthin 생산 수율을 보였다. *P. rhodozyma*의 다른 연구에 의하면, 초기 pH 6.0으로 하여 최초 80 시간을 배양하고, 이후 144 시간 동안 pH 4.0으로 조정하여 배양하였을 경우, 최대 27 mg/l의 astaxanthin을 생산하는 것으로 보고되었다[29].

Fungi에 의한 색소의 생산은 수 백년전 아시아 대륙에서 시작되었다. 자낭균인 *Monascus purpureus*는 이 곰팡이에 의해 오염된 쌀이 약간의 붉은 색을 띠는 것에서 이름 붙여졌다[15]. *Monascus*에 의해 생산되는 색소는 yellow, orange, red color을 포함하고 있는데, 이중 red color은 산업적인 이용가치가 높아 관심이 고조되고 있다[39]. 체코의 한 회사에서는 sucrose와 molasses(당밀)을 포함하는 배양액으로부터 red color을 생산하는 *Penicillium oxalicum*을 분리하였다[16]. 유럽에서는  $\beta$ -carotene, lycopene와 같은 색소를 산업적으로 생산하기 위해 *Blakeslea trispora*를 사용하고 있다[32].

#### 미세조류에 의한 carotenoids의 생산

India는 미세조류로부터 생산되는 carotenoids의 가장 큰 생산량을 제공하고 있으며 Australia, United State, China가 그 뒤를 따르고 있다. 미세조류의 카로티노이드 생산은 배지 조성 중에서 이용 가능한 염도, 영양성분과 같은 환경요인들에 의해 크게 영향을 받는다[11, 21]. 미세조류는 xanthin, violaxanthin, neoxanthin,  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, lutein 등의 카로티노이드를 생산할 수 있다. 예를 들어 *Chlorella*는 93%의 lutein, 2.6%의  $\alpha$ -carotene과  $\beta$ -carotene, 1.3%의 zeaxanthin, 0.2%의 xanthophylls, 0.2%의  $\beta$ -cryptoxanthin을 함유하고 있다[30]. 산업적으로 활용되는 주요 미세조류에는 *Arthrospira* (*Spirulina*), *Chlorella*, *Dunaliella salina*, *Aphanizomenon flos-aquae*가 있다. *Spirulina*는 prokaryotic 미세조류로서 이를 배양하는 몇몇 국가에서는 cyanobacteria로 분류하기도 하며, 가장 크게 배양하는 곳은 중국이다. *Spirulina*는 phycocyanin과 같은 대사산물을 생산하기 때문에 식품첨가물로서 산업적으로 널리 이용되고 있다[8, 37]. 염의 농도에 강한 내성을 갖는 미세조류인 *Dunaliella salina*는 산업적으로  $\beta$ -carotene를 생산하는데 사용되는 것으로 유명하다[44]. 담수성 미세조류인 *Haematococcus*는 astaxanthin의 높은 생산성을 갖고 있기 때문에 주요 생산국인 미국, 일본, 인도에서 산업적으로 높은 관심을 가지는 미세조류로 분류되고 있다.

#### 카로티노이드 생합성 경로 및 주요 유전자

카로티노이드 생합성 경로는 1970년대부터 방사능으로 표지된 전구물질을 추적하는 방법과 생합성 단계별로 특이 저해제를 처리하는 방법, 카로티노이드 생합성 변이체들의 특성을 규명하는 방법 등 기본적인 생화학적 분석 방법에 의해 그 경로가 밝혀져 왔다. 생합성 경로에 관여하는 효소의 활성을 *in vitro*에서 측정하기 어려운 단점으로 인해 보다 자세한 연구가 어려웠지만 최근에 카로티노이드 생합성에 관여하는 거의 모든 유전자가 bacteria, fungi 및 plant에서 클로닝 됨에 따라 생합성 효소와 생합성 경로의 조절에 대한 새로운 정보를 제공하게 되었다.

카로티노이드 생합성 경로는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 크게 두 단계로 나눌 수 있으며, 그 첫 단계는 전구체를 생합성하는 단계로써 mevalonate 또는 non-mevalonate (DXP, MEP) pathway를 통하여 IPP (isopentenyl pyrophosphate)와 DMAPP (dimethylallyl pyrophosphate)를 생산한다. 현재까지 밝혀진 두 pathway 중 archaea, fungi, 동물 및 식물의 경우는 mevalonate pathway 통해, 진정세균(Eubacteria)의 경우는 non-mevalonate pathway를 통하여 카로티노이드 생합성을 위한 첫 단계의 전구체인 IPP와 DMAPP를 합성하는 것으로 밝혀졌다[54]. 두 번째 단계로는 카로티노이드가 실질적으로 합성이 되는 단계로써 탄소 5개의 DMAPP 한 분자에 IPP 세 분자를 연속적으로 첨가 시키는 CrtE (geranylgeranyl pyrophosphate synthase) 효소의 촉매반응에 의해 탄소 20개의 diterpene 물질인 GGPP (geranylgeranyl pyrophosphate)가 만들어지는 단계이다. 본 논문에서는 본 저자에 의해 연구된 *P. haendaensis*의 astaxanthin 생합성 경로를 중점으로 카로티노이드 생합성경로를 설명하고자 하며, 그 내용은 다음과 같다. CrtE 효소의 촉매반응에 의해 생합성된 GGPP를 기질로 CrtB (phytoen synthase)가 두 분자의 GGPP 중합반응을 촉매하여 탄소 40개의 phytoene을 합성한다. 이후 CrtI (phytoene desaturase) 효소의 불포화 반응 후  $\zeta$ -carotene이 만들어지고, 이와 같은 반응이 2회 반복됨으로써 lycopene이 생산된다. 여기서부터 본격적으로 카로티노이드의 색을 띠게 되며, 항산화 활성 또한 높은 수준으로 올라가게 된다. 비환형 카로티노이드의 최종 산물인 lycopene은 두 종류의 환형 carotene으로 전환되는데, 하나는 lycopene- $\beta$ -cyclase ( $\beta$ -LCY)와 lycopene- $\epsilon$ -cyclase ( $\epsilon$ -LCY)의 공동작용에 의해 각각  $\gamma$ -carotene과  $\delta$ -carotene을 거쳐 만들어지는  $\alpha$ -carotene이다. 다른 하나는 CrtY (lycopene cyclase)에 의해 만들어지는  $\beta$ -carotene이다. 두 종류의 carotene으로부터 산화적 유도체인 xanthophyll계 색소인 zeaxanthin, canthaxanthin, astaxanthin 등이 생합성되며, 관련 효소는 CrtZ ( $\beta$ -carotene hydroxylase), CrtW ( $\beta$ -carotene ketolase)이다. 이와 같이 carotene계 색소와 xanthophyll계 색소의 생합성 경로에는 Fig. 5에서 보는 바와 같이 다양한 관련 효소군이 작용하여 C<sub>30</sub>, C<sub>40</sub>, C<sub>50</sub> 계열의 카로티노

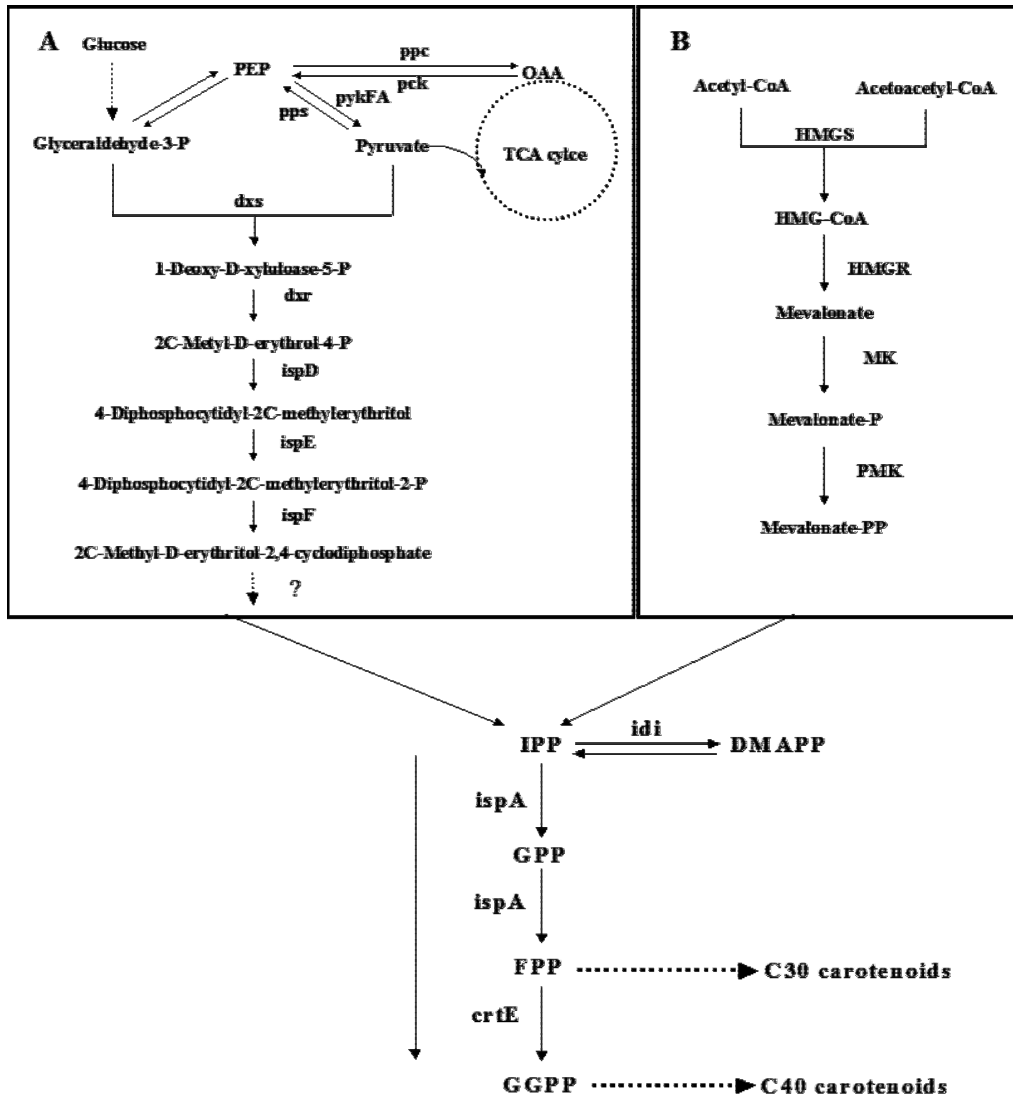


Fig. 4. Biosynthesis of isoprenoids by the non-mevalonate (A) and mevalonate (B) pathway.

이드를 생합성하며, 이와 관련된 유전자군은 Table 3에 요약 정리하였다.

**대사 공학 접근을 통한 카로티노이드 생산**

산업적으로 유용한 카로티노이드의 함량을 증대시킴으로써 적용성 확대 및 가치 증진을 시키려는 노력은 여러 가지 다양한 접근 방법에 의해 시도되었다. 비카로티노이드 생산 미생물인 *E. coli*와 yeast에 카로티노이드 생합성 유전자군을 형질 전환 함으로써, 카로티노이드를 생산하는 대사공학적인 가능성이 검증되었다. 대사공학적인 접근을 통한 카로티노이드 생산량 증진을 위한 다양한 방법 중 CrtB (또는 PSY) 유전자를 과발현 시킴으로써  $\alpha$ -carotene과  $\beta$ -carotene의 생산량이 향상 되고, 이는 전체 카로티노이드의 함량을 50 배 증진 시키는 결과를 도출하였다[49]. 이 결과는 카로티노이드 생산이 CrtB 효소에 의해 생합성되는 phytoene 단계에만 영향을 미치는 것이 아니

라 최종 산물의 카로티노이드로 모두 전환될 수 있음을 보여 준 사례이다. 그러나 벼를 대상으로 한 실험에서는 수선화 유래 PSY유전자를 벼에 도입한 후 과발현 시켰지만, 앞선 결과와 달리 phytoene만 축적되었다[46]. 이는 벼 종자에서 카로티노이드 함량 증대를 위해서는 합성경로에 필요한 여러 다른 유전자를 같이 발현시켜야 함을 시사한다. 이 연구를 바탕으로 벼에서 수선화 유래 PSY와 bacteria 유래 CrtI유전자를 동시에 과발현 시켜  $\beta$ -carotene과 zeaxanthin을 생산하는 'golden rice'가 개발되었다[46]. 이는 CrtI에 의해 생성된 lycopene이 벼에 내재되어 있는 lycopene  $\beta$ -cyclase (CrtY)와  $\beta$ -carotene hydroxylase (CrtZ)에 의해 이후 카로티노이드로 전환되었음을 의미하는 것이다. 이 후 수선화 유래 PSY유전자를 옥수수 유래 PSY유전자로 교체하였을 때,  $\beta$ -carotene 함량이 17배 증가한 'golden rice 2'를 개발하는 성과를 이루었다[42].

전구체 합성 경로인 mevalonate 또는 non-mevalonate

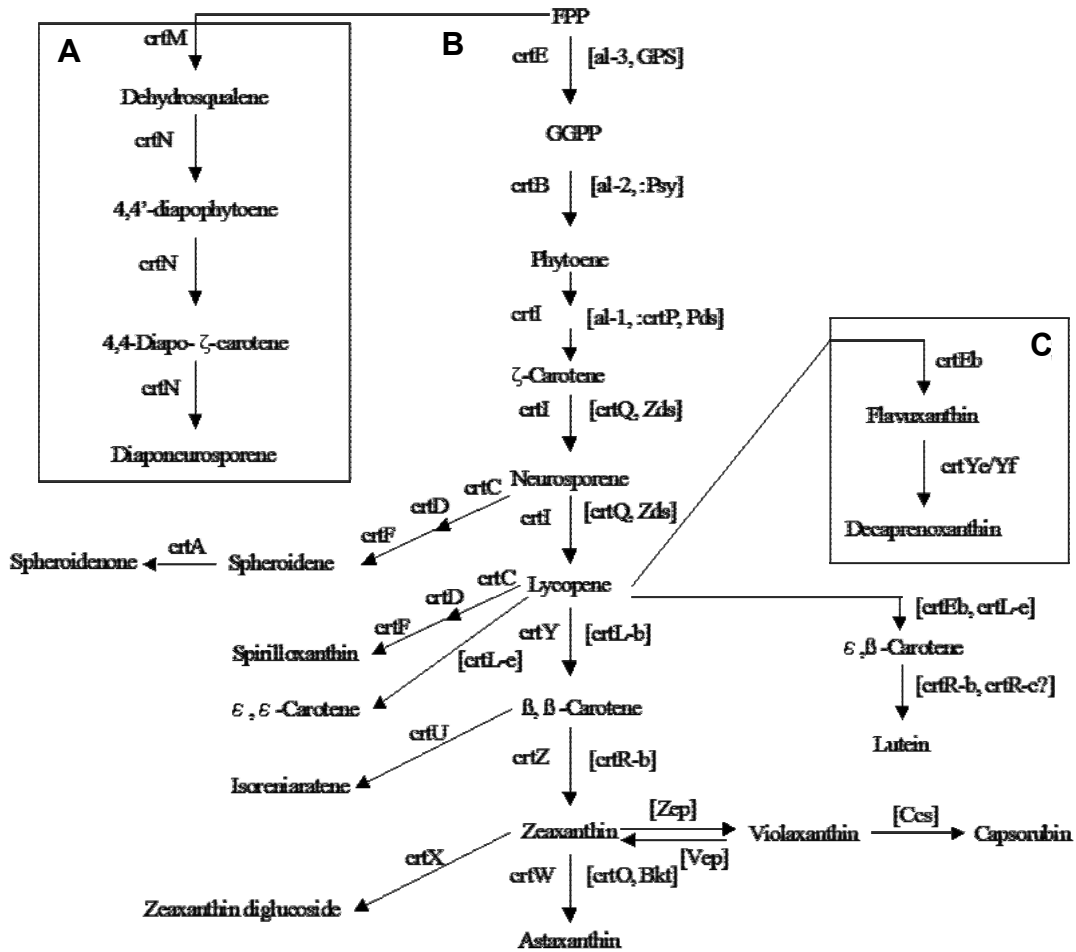


Fig. 5. Carotenoid biosynthesis pathways in microorganisms and plants. Biosynthesis pathways of C<sub>30</sub> (A), C<sub>40</sub> (B) and C<sub>50</sub> (C) carotenoids in microorganisms and plants from which the enzymes have been cloned.

(DXP, MEP) pathway 관련 유전자를 과발현 시킴으로써, 카로티노이드 생산량을 증대 시키는 연구가 진행되었다. Enfissi 은 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase (DXS)를 과발현하여 MEP 경로에 DXP의 양을 증대시켰지만, 동시에 같은 전구체를 이용하는 다른 경로들 또한 증가하여 이 방법은 효율적이지 못하다는 결과를 도출하였다[18]. 그러나 Lee의 연구에서는 대장균 유래 *lytB* (4-hydroxy-3-methylbut-2enyl diphosphate reductase), *ispA* (farnesyl diphosphate synthase), *idi* (isopentenyl diphosphate isomerase) 유전자와 *P. haeundaensis* 유래 카로티노이드 생합성 유전자군을 대장균에서 공발현 시켰을 때, 카로티노이드 생합성 유전자군만 형질전환된 대장균에 비해 3배 이상으로 astaxanthin 함량을 증대 시키는 결과를 도출하였다[35].

카로티노이드 생합성 유전자군, mevalonate 또는 non-mevalonate (DXP, MEP) 경로 관련 유전자군을 이용한 카로티노이드 생산량 증대를 위한 대사공학적 접근법 이외에도 카로티노이드 생합성 효소들을 억제함으로써 특정 카로티노이드의 함량을 증대 시키는 방법도 제안되었다. 예를 들어 감자에서

LCY-e를 억제하였을 때, β-carotene 함량이 14배, 전체 카로티노이드 함량은 2.5배 증가함을 밝혔다[60]. 또한, Diretto et al [14]의 연구에 의하면 감자에서 β-carotene hydroxylase (CHYb)의 억제체는 β-carotene이 zeaxanthin으로 전환되는 것을 억제함으로써 β-carotene이 38배 증대, lutein이 3.7배 증대, zeaxanthin이 0.5배 감소되는 결과를 얻었다.

식물을 이용한 대사공학적 접근법에 의해 카로티노이드 생산량 증대 연구뿐만 아니라 비카로티노이드 생산 균주인 *E. coli*에 형질전환된 카로티노이드 생합성 관련 유전자군의 안정적인 발현을 위한 archaea chaperonin을 공발현 시켜 대장균에서 astaxanthin 생산량을 증대 시키는 연구도 진행 되었다. Seo et al [48]은 *P. haeundaensis* 유래 카로티노이드 생합성 유전자군이 형질전환된 *E. coli*에 초고온성 archaea chaperonin을 공발현 시킴으로써 *E. coli*에서 카로티노이드의 생산량을 2배 이상 증대 시키는 연구 결과를 도출하였다.

대사공학적 접근법 이외에도, 돌연변이 유도를 통한 생산량의 증대를 이루고자 하는 시도가 다수의 연구자들에 의해 행되었으며, 주로 이용되는 균주로는 *H. pluvialis*, *P. rhodocy-*

Table 3. Classification of carotenoids

Enzyme	Gene	Organisms
<u>Formation of carotenoid back bone</u>		
Dehydrosqualene synthase	<i>crtM</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
GGPP synthase	<i>crtE</i>	<i>Erwinia uredevora</i> , <i>Synechocystis</i> PCC6803
	<i>al-3</i>	<i>Neurospora crassa</i>
Phytoene synthase	<i>crtB</i>	<i>Erwinia herbicola</i> , <i>E. uredevora</i> , <i>Flavobacterium</i> sp., <i>Myxococcus xanthus</i> , <i>Rhodobacter capsulatus</i> , <i>R. sphaeroides</i> , <i>Streptomyces griseus</i> , <i>Synechococcus</i> sp., <i>Synechococcus</i> sp., <i>Synechocystis</i> sp., <i>Thermus thermophilus</i> , <i>Paracoccus</i> sp. MBIC1143
	<i>crtYB</i>	<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i>
	<i>carRP</i>	<i>Mucor circinelloides</i>
	<i>carRA</i>	<i>Phycomyces blakesleeanus</i>
	<i>al-2</i>	<i>Neurospora crassa</i>
	<i>psy</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
<u>Dehydrogenatin of phytoene</u>		
Phytoene dehydrogenase	<i>crtI</i>	<i>Rhodobacter capsulature</i> , <i>E. herbicola</i> , <i>E. uredevora</i> , <i>Flavobacterium</i> sp., <i>S. griseus</i> , <i>Paracoccus</i> sp. MBIC1143
	<i>crtP</i>	<i>Synechococcus</i> sp., <i>Synechocystis</i> sp.
ζ-Carotene dehydrogenase	<i>crtQ</i>	<i>Anabaena</i> sp.
<u>Lycopene cyclization</u>		
Lycopene cyclase	<i>crtY</i>	<i>A. aurantiacum</i> , <i>E. herbicola</i> , <i>E. uredevora</i> , <i>Flavobacterium</i> sp., <i>S. griseus</i> , <i>Halobacterium salinarium</i>
	<i>crtL</i>	<i>Synechococcus</i> sp.
	<i>crtYc</i> , <i>crtYd</i>	<i>Brevibacterium linens</i>
	<i>crtYB</i>	<i>X. dendrorhous</i>
	<i>carRP</i>	<i>Mucor circinelloides</i>
	<i>carRA</i>	<i>P. blakesleeanus</i>
	<i>al-2</i>	<i>N. crassa</i>
<u>Formation of acyclic xanthophylls</u>		
Hydroxyneurosporene synthase	<i>crtC</i>	<i>Rhodobacter</i>
Methoxyneurosporene desaturase	<i>crtD</i>	<i>Rhodobacter</i>
Hydroxyneurosporene-O-methyltransferase	<i>crtF</i>	<i>Rhodobacter</i>
Spheroidene monooxygenase	<i>crtA</i>	<i>Rhodobacter</i>
<u>Formation of cyclic xanthophylls</u>		
Zeaxanthin glucosylase	<i>crtX</i>	<i>E. herbicola</i> , <i>E. uredevora</i>
β-Carotene hydroxylase	<i>crtZ</i>	<i>A. aurantiacum</i> , <i>Alcaligenes</i> PC1, <i>E. herbicola</i> , <i>E. uredevora</i> , <i>Flavobacterium</i> sp., <i>Paracoccus</i> sp. MBIC1143
β-Carotene ketolase	<i>crtW</i>	<i>A. aurantiacum</i> , <i>Alcaligenes</i> PC1, <i>Bradyrhizobium</i> sp. ORS278, <i>Paracoccus</i> sp. MBIC1143
	<i>bkt</i>	<i>Haematococcus pluvialis</i>

ma, *A. aurantiacum* 등이 있다. 또한, 본 저자에 의해 개발된 *P. haeundaensis* mutant인 PUE경우 wild type 보다 astaxanthin을 2배 더 생산하였다[48]. 하지만 돌연변이 유도를 통한 카로티노이드의 생산량 증대 기법은 개발 및 개량된 균주의 복귀 돌연변이에 의한 생산성 감소를 초래할 수 있는 단점을 가지고 있다.

**카로티노이드의 산업적 가치 및 적용**

카로티노이드 시장은 현재까지도 합성 카로티노이드가 주류를 이루고 있으나, 천연물 유래 카로티노이드의 수요 또한 꾸준히 증가하는 추세이다. 전 세계 카로티노이드 시장은 2014년 15억 달러를 기록하였으며, 2019년에는 약 18억 달러로 증가할 것으로 예상하고 있다. 특히 xanthophylls계 카로티노이드인 lutein, cantaxanthin, astaxanthin의 가치가 높아지고 있다.



Table 4. Main applications of microalgae due to their carotenoid content

Microalga	Application	Product formula	Price (\$/kg)
<i>Isochrysis galbana</i>	Aquaculture, cosmetics, nutraceutical	Paste, dry powder	100-400
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Aquaculture, nutraceutical	Paste, dry powder	>200
<i>Arthrospira</i>	Cosmetics, nutraceutical	Paste, dry powder	>200
<i>Nannochloropsis gaditana</i>	Aquaculture, cosmetics	Paste, dry powder	300
<i>Pavlova lutheri</i>	Aquaculture	Paste, dry powder	>300
<i>Thalassiosira weissflogii</i>	Aquaculture	Paste, dry powder	>300
<i>Tetraselmis</i>	Aquaculture	Paste, dry powder	600-800
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Aquaculture, nutraceutical	Dry powder	>600
<i>Chorella vulgaris</i>	Aquaculture, cosmetics, nutraceutical, food ingredient	Dry powder, tablets	30-100
<i>Dunaliella salina</i>	Nutraceutical, food ingredients	Dry powder, tablets	100-400

카로티노이드의 산업적 이용 분야는 다양하지만, 천연색소, 향산화제, 비타민 A 전구체, 양식 사료 첨가제 등에 주로 이용되고 있다. 천연 착색제로서 카로티노이드는 주로 카로티노이드 함유 식물의 엑기스분이나 야채오일 현탁액 및 두나리엘라, 클로렐라, 스피루리나 등의 광합성 미세조류의 건조분말 형태로 공급되어 마아가린, 과일 드링크, 샐러드 드레싱, 케이크, 아이스크림 등의 식품 가공과 약품, 화장품 등에 색소첨가제로 사용되고 있다. 향산화제 및 비타민 A 전구체로 사용은 의약품 및 건강 보조식품으로 개발되어 판매되고 있다. 다양한 제품군 중 astaxanthin은 시장에서 kg 당 3,000 달러,  $\beta$ -carotene은 미세조류의 건조 분말 형태로 시장에서 kg 당 600 달러를 호가하고 있는 부가가치가 높은 소재로서 판매되고 있다[27]. 천연 카로티노이드 생산 미세조류 산업은 최근 몇 년 동안 미세조류 관련 연구 중 가장 뛰어난 성과 중 하나이며, 다양한 미세조류의 산업 전반에 응용되는 현황을 Table 4에 요약 정리하였다.

## 결론

이소프레노이드 화합물의 일종인 카로티노이드는 자연계에서 C<sub>30</sub>-C<sub>50</sub> 카로티노이드로 존재하며, 현재까지 600여 종 이상이 존재하는 것으로 알려져 있다. 카로티노이드는 카로틴계와 크산토펠 계열의 색소로 나눌 수 있으며, 이들 각각은 항산화 활성이 높은 생리활성 물질이다. 이러한 카로티노이드 중 산업적으로 이용되는 주된 카로티노이드는 C<sub>40</sub> 계열의 카로티노이드로써 대표적으로 lycopene,  $\beta$ -carotene, zeaxanthin, astaxanthin 등이 있다. 이들 카로티노이드는 인체 내에서 비타민 A의 전구체로서의 역할을 하며, 산화 방지효과와 유해산소 소거작용, 암세포의 증식 억제작용 및 성인병 등을 예방하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 이유로 카로티노이드는 유럽, 미국, 일본 등의 주요 선진국에서 주요 산업 소재(미용 소재, 의약품 및 건강 기능식품 소재, 식품 착색제, 기능성 사료)로 사용되고 있다. 이와 같이 카로티노이드는 다양한 산업에 접목되어 이용되고 있으나 시장에서는 천연물 유래의

카로티노이드 보다는 화학합성에 의해 생산되는 카로티노이드가 주류를 이루고 있다. 이는 천연물 유래 카로티노이드의 생산이 고가이며 소재 또한 제한되어 있기 때문이다.

천연물 유래의 카로티노이드의 생산량을 증대 시키기 위해 다양한 방법이 시도 되었고, 그 중에서도 미세조류를 이용한 카로티노이드 생산법이 획기적으로 발전하였다. 이 뿐만 아니라 카로티노이드 생합성 관련 유전자군이 bacteria, fungi, plant 등에서 클로닝 됨으로써, 대사공학적인 기법이 접목된 대량생산 시스템이 개발되고 있다. 하지만 카로티노이드 대량생산을 위한 대사공학의 접목은 생산될 속도 및 각 효소의 특성에 맞게 접목되어야 큰 효과를 얻을 수 있다. 이 뿐만 아니라 대사공학적인 연구 기법이 접목되어 생산되는 카로티노이드의 경우 GMO 식품 소재로 오인될 수 있으며, 이는 산업적 적용에 한계점으로 작용할 것이다. 또한, 미세조류를 이용한 카로티노이드의 경우 다른 미생물에 비해 배양 시설, 배지 제조 비용 등에서 큰 장점이 있으나, 이들로부터 생산되는 카로티노이드의 분리·정제에 고가의 비용이 들어간다. 이와 같은 단점을 극복하기 위해서는 미세조류의 배양 특성과 유사하며 분리·정제를 위한 저가의 비용이 들어가는 세균을 이용한 카로티노이드 대량생산법을 개발할 필요가 있음을 제시하고 있다. 하지만 세균의 경우 미세조류에 비해 생산량이 떨어지는 단점이 있어, 이를 극복하기 위한 다양한 과학적 방법이 제시될 필요가 있을 것으로 사료된다.

최근 카로티노이드의 연구 동향은 C<sub>40</sub> 계열의 카로티노이드를 생합성하는 균주 및 이들의 유전체 분석 연구, 생합성 효소의 특성 연구, 카로티노이드 섭취에 따른 생리활성 분석에 대한 연구가 주류를 이루고 있다. 이에 비하여, C<sub>30</sub>과 C<sub>50</sub> 카로티노이드 관련 연구는 미미한 실정이다. C<sub>50</sub> 계열 카로티노이드(예: decaprenoxanthin) 경우 C<sub>40</sub> 계열 카로티노이드(예: astaxanthin)와 항산화 활성 능력을 비교하면 대동소이 하나 이를 산업적으로 이용하기에는 생물학적 안전성 등에 관한 미미하여 상업적으로 사용하기 힘든 실정이다. 이와 같은 이유로 카로티노이드의 산업적 적용 분야의 확대를 위해 세균에서 생산되는 카로티노이드의 생산성 향상 연구와 C<sub>30</sub> 또는 C<sub>50</sub>

계열의 카로티노이드에 대한 연구가 필요할 것이다.

## 감사의 글

이 성과는 2015년도 정부(미래창조과학부, 이공분야기초연구사업, 신진연구자지원사업) 재원으로 한국 연구 재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2015R1C1A1A01055431).

## References

1. Asker, D. and Ohta, Y. 1999. Production of canthaxanthin by extremely halophilic bacteria. *J. Biosci. Bioeng.* **88**, 617-621.
2. Asker, D. and Ohta, Y. 2002. *Haloferax alexandrinus* sp. nov., an extremely halophilic canthaxanthin-producing archaeon from a solar saltern in Alexandria (Egypt). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **52**, 729-738.
3. Berzelius, J. J. 1837. Über die gelbe Farbe der Blätter im Herbste. *Ann. Pharm.* **21**, 257-262.
4. Bhosale, P., Larson, A. J. and Bernstein, P. S. 2004. Factorial analysis of tricarboxylic acid cycle intermediates for optimization of zeaxanthin production from *Flavobacterium multivorum*. *J. Appl. Microbiol.* **96**, 623-629.
5. Britton, G. 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB J.* **9**, 1551-1558.
6. Buzzini, P. 2001. Batch and fed-batch carotenoid production by *Rhodotorula glutinis*-*Debaryomyces castellii* co-cultures in corn syrup. *J. Appl. Microbiol.* **90**, 843-847.
7. Cheng, J., Li, K., Yang, Z. B., Zhou, J. H. and Cen, K. 2016. Enhancing the growth rate and astaxanthin yield of *Haematococcus pluvialis* by nuclear irradiation and high concentration of carbon dioxide stress. *Biosresour. Technol.* **204**, 49-54.
8. Chen, J., Wang, Y., Benemann, J. R., Zhang, X., Hu, H. and Qin, S. 2016. Microalgal industry in China: challenges and prospects. *J. Appl. Phycol.* **28**, 715-725.
9. Chew, B. P., Park, J. S., Wong, M. W. and Wong, T. S. 1999. A comparison of the anticancer activities of dietary beta-carotene, canthaxanthin and astaxanthin in mice *in vivo*. *Anticancer Res.* **19**, 1849-1853.
10. Clark, P. E., Hall, M. C., Borden, L. S. Jr., Miller, A. A., Hu, J. J., Lee, W. R., Stindt, D., D'Agostino, R. Jr., Lovato, J., Harmon, M. and Torti, F. M. 2006. Phase I-II prospective dose-escalating trial of lycopene in patients with biochemical relapse of prostate cancer after definitive local therapy. *Urology* **67**, 1257-1261.
11. D'Alessandro, E. B. and Filho, N. R. A. 2016. Concepts and studies on lipid and pigments of microalgae: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **58**, 832-841.
12. Dannert, C. S. 2000. Engineering novel carotenoids in microorganisms. *Curr. Opin. Biotechnol.* **11**, 255-261.
13. Diretto, G., Tavazza, R., Welsch, R., Pizzichini, D., Mourgues, F., Papacchioli, V., Beyer, P. and Giuliano, G. 2006. Metabolic engineering of potato tuber carotenoids through tuber-specific silencing of lycopene epsilon cyclase. *BMC Plant Biol.* **6**, 13.
14. Ireto, G., Welsch, R., Tavazza, R., Mourgues, F., Pizzichini, D., Beyer, P. and Giuliano, G. 2007. Silencing of beta-carotene hydroxylase increase total carotenoid and beta-carotene in potato tubers. *BMC Plant Biol.* **7**, 11.
15. Dufossé, L. 2006. Microbial production of food grade pigments. *Food Technol. Biotechnol.* **44**, 313-321.
16. Dufossé, L., Fouillaud, M., Caro, Y., Mapari, S. A. S. and Sutthiwong, N. 2014. Filamentous fungi are large-scale producers of pigments and colorants for the food industry. *Curr. Opin. Biotechnol.* **26**, 56-61.
17. Dundas, D. I. and Larsen, H. 1962. The physiological role of the carotenoid pigments of *Halobacterium salinarum*. *Arch. Mikrobiol.* **44**, 233-239.
18. Enfissi, E. M. A., Fraser, P. D., Lois, L. M., Boronat, A., Schurch, W. and Bramley, P. M. 2005. Metabolic engineering of the mevalonate and non-mevalonate isopentenyl diphosphate-forming pathways for the production of health promoting isoprenoids in tomato. *Plant Biotechnol. J.* **3**, 17-27.
19. Fang, C., Ku, K., Lee, M. and Su, N. 2010. Influence of nutritive factors on C50 carotenoids production by *Haloferax mediterranei* ATCC 33500 with two-stage cultivation. *Bioresour. Technol.* **101**, 6487-6493.
20. Fraser, P. D. and Bramley, P. M. 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Prog. Lipid Res.* **43**, 228-265.
21. Gateau, H., Solymosi, K., Marchand, J. and Shoefs, B. 2016. Carotenoids of microalgae used in food industry and medicine. *Mini Rev. Med. Chem.* **16**, 1-1.
22. Giotta, L., Agostiano, A. and Italiano, F. 2006. Heavy metal ion influence on the photosynthetic growth of *Rhodobacter sphaeroides*. *Chemosphere* **26**, 1490-1499.
23. Giovannucci, E., Rimm, E. B., Liu, Y., Stampfer, M. J. and Willett, W. C. 2002. A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. *J. Natl. Cancer Inst.* **94**, 391-398.
24. Giovannucci, E. 1999. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *J. Natl. Cancer Inst.* **91**, 317-331.
25. Goodwin, T. W. 1980. Nature and distribution of carotenoids. *Food Chem.* **5**, 3-13.
26. Grant, W. D. and Larsen, H. 1989. Extremely halophilic archaea bacteria order *Halobacteriales* ord. nov., pp. 2216-2233. In: Staley, J. T., Bryant, M. P., Pfenning, N. and Holt, J. G. (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 3. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
27. Gross, G. J., Hazen, S. L. and Lockwood, S. F. 2006. Seven day oral supplementation with Cardax (disodium disuccinate astaxanthin) provides significant cardioprotection and reduces oxidative stress in rats. *Mol. Cell. Biochem.* **283**, 23-30.
28. Heber, D. and Lu, Q. Y. 2002. Overview of mechanisms of action of lycopene. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* **227**, 920-923.
29. Hu, Z. C., Zheng, Y. G., Wang, Z. and Shen, Y. C. 2006. pH control strategy in astaxanthin fermentation bioprocess by *Xanthophyllomyces dendrorhous*. *Enzyme Microb. Technol.* **39**, 586-590.

30. Inbaraj, B. S., Chien, J. T. and Chen, B. H. 2006. Improved high performance liquid chromatographic method for determination of carotenoids in the microalga *Chlorella pyrenoidosa*. *J. Chromatogr. A* **1102**, 193-199.
31. Jatoi, A., Burch, P., Hillman, D., Vanyo, J. M., Dakhil, S., Nikcevic, D., Rowland, K., Morton, R., Flynn, P. J., Young, C. and Tan, W. 2007. North Central Cancer Treatment Group. A tomato-based, lycopene containing intervention for androgen-independent prostate cancer: results of a Phase II study from the North Central Cancer Treatment Group. *Urology* **69**, 289-294.
32. Joshi, V. K., Attri, D., Bala, A. and Bhushan, S. 2003. Microbial pigments. *Indian J. Biotechnol.* **2**, 362-369.
33. Kim, J. W. 2008. Complementary Therapies and Cancer Treatment. *J. Kor. Med. Assoc.* **51**, 427-434.
34. Lee, J. H., Kim, Y. S., Choi, T. J., Lee, W. J. and Kim, Y. T. 2004. *Paracoccus haeundaensis* sp. nov., a Gram-negative, halophilic, astaxanthin-producing bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **54**, 1699-702.
35. Lee, J. H., Seo, Y. B. and Kim, Y. T. 2008. Enhanced production of astaxanthin by metabolic engineered isoprenoid pathway in *Escherichia coli*. *J. Life Sci.* **18**, 1764-177.
36. Lee, J. H., Seo, Y. B., Jeong, S. Y., Nam, S. W. and Kim, Y. T. 2007. Functional analysis of combinations in astaxanthin biosynthesis genes from *Paracoccus haeundaensis*. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **54**, 1699-1702.
37. Lu, Y. M., Xiang, W. Z. and Wen, Y. H. 2011. Spirulina (Arthrospira) industry in Inner Mongolia of China: current and prospects. *J. Appl. Phycol.* **23**, 265-269.
38. Masetto, A., Flores-Cotera, L. B., Diaz, C., Langley, E. and Sanchez, S. 2001. Application of a complete factorial design for the production of zeaxanthin by *Flavobacterium* sp. *J. Biosci. Bioeng.* **92**, 55-58.
39. Mukherjee, G. and Singh, S. K. 2011. Purification and characterization of a new red pigment from *Monascus purpureus* in submerged fermentation. *Process Biochem.* **46**, 188-192.
40. Na, E. J., Jang, H. H. and Kim, G. R. 2016. Review of Recent Studies and Research Analysis for Anti-oxidant and Anti-aging Materials. *Asian J. Beauty Cosmetol.* **14**, 481-491.
41. Naveena, B. J., Altaf, M., Bhadriah, K. and Reddy, G. 2006. Selection of medium components by Plackett-Burman design for production of L (+) lactic acid by *Lactobacillus amylophilus* GV6 in SST using wheat bran. *Bioresour. Technol.* **96**, 485-490.
42. Paine, J. A., Shipton, C. A., Chaggar, S., Howells, R. M., Kennedy, M. J., Vernon, G., Wright, S. Y., Hinchliffe, E., Adams, J. L., Silverstone, A. L. and Drake, R. 2005. Improving the nutritional value of golden rice through increased pro-vitamin A content. *Nat. Biotechnol.* **23**, 482-487.
43. Pan, X., Wang, B., Gerken, H. G., Lu, Y. and Ling, X. 2017. Proteomic analysis of astaxanthin biosynthesis in *Xanthophyllomyces dendrorhous* in response to low carbon levels. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **40**, 1091-1100.
44. Raja, R., Haemaiswarya, S. and Rengasamy, R. 2007. Exploitation of *Dunaliella* for  $\beta$ -carotene production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **74**, 517-523.
45. Roukas, T., Mantzouridou, F. and Kotzekidou, P. 2002. Effect of the aeration rate and agitation speed on  $\beta$ -carotene production and morphology of *Blakeslea trispora* in a stirred tank reactor: mathematical modeling. *Biochem. Eng. J.* **10**, 123-135.
46. Schaub, P., Al-Babili, S., Drake, R. and Beyer, P. 2005. Why is golden rice golden (yellow) instead of red? *Plant Physiol.* **138**, 441-450.
47. Seo, Y. B., Kim, D. E., Kim, G. D., Kim, H. W., Nam, S. W., Kim, Y. T. and Lee, J. H. 2009. *Kocuria gwangalliensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from seawater. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **59**, 2769-2972.
48. Seo, Y. B., Jeong, T. H., Choi, S. S., Lim, H. K. and Kim, G. D. 2017. Enhanced Production of Astaxanthin in *Paracoccus haeundaensis* Strain by Physical and Chemical Mutagenesis. *J. Life Sci.* **27**, 339-345.
49. Shewmaker, C. K., Sheehy, J. A., Daley, M., Colburn, S. and Ke, D. Y. 1999. Seed-specific overexpression of phytoene synthase: increase in carotenoids and other metabolic effects. *Plant J.* **20**, 401-412.
50. Siler, U., Barella, L., Spitzer, V., Schnorr, J., Lein, M., Goralczyk, R. and Wertz, K. 2004. Lycopene and vitamin E interfere with autocrine/paracrine loops in the dunning prostate cancer model. *FASEB J.* **14**, 1-23.
51. Stahl, W. and Sies, H. 1996. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans. *Arch. Biochem. Biophys.* **336**, 1-9.
52. Suh, J. T., Choi, E. Y., Yoo, D. L., Kim, K. D., Lee, J. N., Hong, S. Y., Kim, S. J., Nam, J. H., Han, H. M. and Kim, M. J. 2015. Comparative study of biological activities at different harvesting times and new varieties for highland culture of Gom-chwi. *Kor. J. Plant Res.* **28**, 391-399.
53. Tanaka, T., Makita, H., Ohnishi, M., Mori, H., Satoh, K. and Hara, A. 1995. Chemoprevention of oral carcinogenesis by naturally occurring xanthophylls, astaxanthin and canthaxanthin. *Cancer Res.* **55**, 4059-4064.
54. Tswett, M. 1911. Über den makro und mikrochemischen Nachweis des Carotins. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* **29**, 630-636.
55. Wackenroder, H. W. F. 1831. Über das oleum radices Dauci aetherum, das Carotin, den Carotenzucker und den officinellen succus Dauci; so wie auch über das Mannit, welches in dem Mohrensaft durch eine besondere Art der Gahrung gebildet wird. *Geigers Mag. Pharm.* **33**, 144-172.
56. Wang, N., Guan, B., Kong, Q., Sun, H., Geng, Z. and Duan, L. 2016. Enhancement of astaxanthin production from *Haematococcus pluvialis* mutants by three-stage mutagenesis breeding. *J. Biotechnol.* **236**, 71-77.
57. Ye, X., Al-Babili, S., Klöti, A., Zhang, J., Lucca, P., Beyer, P. and Potrykus, I. 2000. Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* **287**, 303-305.
58. Zhang, Y., He, M., Zou, S., Fei, C., Yan, Y., Zheng, H., Rajper, A. A. and Wang, C. 2016. Breeding of high biomass and lipid producing *Desmodesmus* sp. by Ethylmethane sulfonate-induced mutation. *Bioresour. Technol.* **207**, 268-275.
59. Zhao, Y., Shang, M., Xu, J. W., Zhao, P., Li, T. and Yu, X.

2015. Enhanced astaxanthin production from a novel strain of *Haematococcus pluvialis* using fulvic acid. *Process. Biochem.* **50**, 2072-2077.
60. Zoz, L., Carvalho, J. C., Soccol, V. T., Casagrande, T. C. and

Cardoso, L. 2015. Torularhodin and torulene: Bioproduction, properties and prospective applications in food and cosmetics - a Review. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **58**, 278-288.

## 초록 : 미생물에 의한 카로티노이드 생산; 생물학적 기능성 및 상업적 적용

서용배<sup>1,2</sup> · 김군도<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>부경대학교 미생물학과, <sup>2</sup>부경대학교 해양생명과학연구소)

Carotenoid는 isoprenoid 화합물로서 3-15개의 이중 결합이 결합된 긴 polyene 구조를 가지며, 이러한 구조적 특성에 의해 최대 흡수파장대가 결정된다. 카로티노이드는 전형적으로 C<sub>40</sub> 탄화수소 골격으로 이루어져 있으며, 그 중에는 산소를 포함하고 있는 작용기로 인해 cyclic 또는 acyclic의 크산토피를 형성하기도 한다. 현재 대부분의 세계 시장을 점유하고 있는 합성 카로티노이드의 대안을 찾기 위해 천연물(식물, 미생물, 갑각류 부산물) 유래의 카로티노이드를 생산 및 활용하기 위한 연구가 진행되고 있다. 그럼에도 불구하고, 오직 몇몇 카로티노이드( $\beta$ -carotene, lycopene, astaxanthin, canthaxanthin, lutein)만이 천연물 소재에서 분리 또는 발효되어 상업적으로 이용된다. 카로티노이드가 만성질환 예방 및 발암 억제 작용에 효과가 있음이 밝혀지면서 카로티노이드 시장이 급격히 증가하였다. 사료, 기능성 식품 및 의약품 소재로서의 카로티노이드의 중요성이 증가함에 따라 카로티노이드 생산 방법에 대한 연구가 진행되었으며, 이러한 관점에서 미생물 및 식물을 이용한 대사공학적인 접근법에 의한 카로티노이드 대량생산 법을 개발하게 되었다. 본 논문에서는 생산 균주, 대사공학 적용에 따른 대량 생산 방법, 생물학적 작용기전 및 산업적 이용을 중심으로 설명하고자 한다.