



การสังเคราะห์สารสีแคโรทีนอยด์ในจุลินทรีย์ Microbial Carotenoid Biosynthesis

ประดิษฐ์ เอี่ยมสะอาด^{1*}

Received: February, 2017; Accepted: May, 2017

บทคัดย่อ

สารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) จัดเป็นสารที่มีมูลค่าและมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมหลายประเภท ปัจจุบันการผลิตแคโรทีนอยด์สามารถทำได้โดยการสังเคราะห์ทางเคมีและการสกัดจากพืชธรรมชาติ ซึ่งพบปัญหาในเรื่องของคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นอยู่กับฤดูกาลและสภาพภูมิอากาศ และยังพบปัญหาในส่วนของการต้นทุนการผลิตที่ไม่สอดคล้องกับปริมาณผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการศึกษาวจัยเพื่อใช้จุลินทรีย์ในการผลิตจึงมีความสำคัญเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการควบคุมคุณภาพให้คงที่ รวมไปถึงการลดต้นทุนการผลิตโดยการเลือกใช้วัสดุราคาถูกหรือวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเป็นสารตั้งต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์แคโรทีนอยด์ ในบทความนี้ได้กล่าวถึงการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ในจุลินทรีย์ทั้งเชื้อรา แบคทีเรีย และสาหร่ายที่ใช้ในระดับอุตสาหกรรม และยังได้รายงานเกี่ยวกับวิธีการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ในจุลินทรีย์ รวมทั้งยีนและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ทั้งนี้เพื่อนำไปสู่การประยุกต์ใช้ความรู้ทางเทคโนโลยีชีวภาพร่วมกับการศึกษาพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในการเพิ่มปริมาณแคโรทีนอยด์และนำไปสู่การผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ : สารสีแคโรทีนอยด์; จุลินทรีย์; วิธีการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์

¹ The Faculty of Science and Technology, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University

* Corresponding Author E - mail Address: pradinunt@gmail.com

Abstract

Carotenoid pigments serve as essential and more valuable molecules in several industries. Nowadays, commercial carotenoid is completely synthesized by chemical process and natural plant extraction. This results in variation of product quality based on season and climate change as well as low yield with high production costs. Hence, the study of the microbial carotenoid production is very crucial, especially for constant control of product quality and cost reduction by using low-cost substrates from industrial waste. This article focused on the industrial carotenoid synthesis through the potential microorganism including fungi, bacteria and algae. In addition, the review also highlights the regulation mechanism of carotenoid biosynthesis pathway in term of genes and related enzymes as well as modern biotechnology application to increase the efficiency of carotenoid production level for industrial production in the future.

Keywords: Carotenoid Pigment; Microorganism; Carotenoid Biosynthesis Pathway

บทนำ

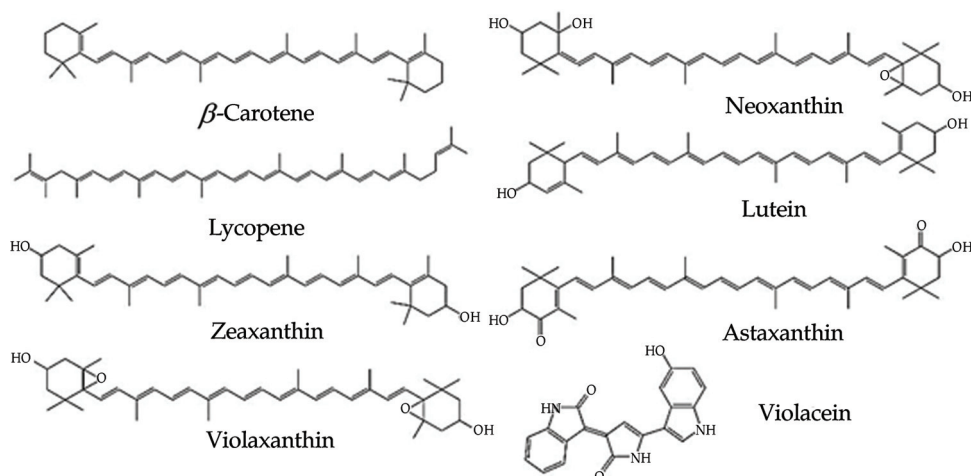
ธรรมชาติจัดเป็นแหล่งของสารสี (Pigment) มากมายหลายชนิด ซึ่งสามารถพบได้ในพืช ผัก ผลไม้ กลุ่มแร่ธาตุ และยังมีหลายชนิดที่ผลิตขึ้นได้โดยจุลินทรีย์ และเนื่องจากแหล่งของสารสีที่กล่าวมานั้นเกิดขึ้นในธรรมชาติ จึงสามารถเรียกสารสีเหล่านั้นว่า “Biocolors” ซึ่งเป็นการเรียกชื่อสารสีในธรรมชาติ ที่นำมาใช้ในอาหาร (Food Additives) เป็นส่วนใหญ่ [1] ปัจจุบันความต้องการใช้สารสีได้แพร่หลายในกลุ่มอุตสาหกรรมหลายประเภท ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร เสื้อผ้า เครื่องสำอางค์ และยารักษาโรค ซึ่งสารสีจากธรรมชาติส่วนใหญ่แล้วเป็นสารในกลุ่ม Carotenoid โดยบทบาทสำคัญของสารสีกลุ่ม Carotenoid ในสิ่งมีชีวิตเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช รวมไปถึงกระบวนการสังเคราะห์สารผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ (Secondary Metabolite) โดยอาจพบในรูปสีเหลือง ส้ม และแดง เป็นต้น [2] ตัวอย่างเช่น การนำ β -Carotene และ Astaxanthin ไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ประเภทมากรีน เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์ขนมปัง และยังมีนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอ ในผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์และอุตสาหกรรมยา จากคุณสมบัติของการต้านอนุมูลอิสระเพื่อวัตถุประสงค์ในการยับยั้งการเสื่อมสภาพของเซลล์และเนื้อเยื่อต่าง ๆ [3] - [6] และยังพบว่า Carotenoid เป็นสารที่มีความสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์ ช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันต่าง ๆ ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ ยับยั้งการเกิดเซลล์ผิดปกติ หรือมะเร็ง บทบาทการต้านการเกิดอนุมูลอิสระ (Anti-Oxidant) และ Carotenoid บางชนิดยังมีความสำคัญกับระบบการมองเห็นอีกด้วย [7] - [10] เนื่องจากประโยชน์ที่หลากหลายของ Carotenoid จึงทำให้ความต้องการใช้สารสี Carotenoid มีมากขึ้นเพื่อตอบสนองต่อความต้องการใช้ในอุตสาหกรรม

หลายประเภท รวมทั้งแหล่งของ Carotenoid ที่เลือกใช้การสกัดจากพืช เช่น คันชาด (Annatto) [11] พริกหยวกหรือพริกหวาน [12] หรือหญ้าฝรั่น (Saffron) [13] ซึ่งมีข้อจำกัดในด้านการควบคุมคุณภาพของสีที่สกัดได้เนื่องมาจากปัจจัยทางสภาพอากาศหรือปริมาณวัตถุดิบที่ไม่เพียงพอ ทั้งยังพบรายงานเกี่ยวกับความเป็นพิษจากการใช้สีสังเคราะห์ [14] - [15] จึงทำให้แนวโน้มการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์สารสี Carotenoid เป็นที่สนใจมากยิ่งขึ้น ดังนั้นการผลิต Carotenoid ด้วยจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ หรือสาหร่าย โดยอาศัยพื้นฐานเทคนิคด้านเทคโนโลยีชีวภาพจึงนับว่าเป็นทางเลือกที่สำคัญในปัจจุบัน

Carotenoids ในจุลินทรีย์

1. การจัดประเภทของสารกลุ่ม Carotenoid

Carotenoid เป็นสารกลุ่มที่ละลายได้ในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว จัดเป็นสารประเภท Triterpenoid โครงสร้างประกอบด้วย คาร์บอน 40 อะตอม และมีพันธะคู่ 15 ตำแหน่ง (Conjugated Double Bond) โดยทั่วไป Carotenoid ถูกจัดแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ ได้แก่ Carotene และ Xanthophyll ตามโครงสร้างทางเคมีซึ่ง Carotene ประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจน เช่น β -Carotene และ torulene เป็นต้น ในขณะที่กลุ่ม Xanthophyll จะพบออกซิเจนอย่างน้อย 1 โมเลกุล นอกจากคาร์บอนและไฮโดรเจน เช่น Astaxanthin และ Canthaxanthin ในรูปที่ 1 แสดงตัวอย่าง Carotenoid บางชนิดที่พบในจุลินทรีย์ ซึ่งความแตกต่างของตำแหน่งพันธะคู่และหมู่ฟังก์ชันในโครงสร้างทำให้ Carotenoid แต่ละชนิดมีสีและคุณสมบัติที่แตกต่างกันโดยเฉพาะคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ [11], [16] - [19]



รูปที่ 1 ตัวอย่างโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม Carotenoid ที่พบในจุลินทรีย์ (ปรับปรุงจาก [19])

เนื่องจากสารที่จัดอยู่ในกลุ่ม Carotenoid มีมากกว่า 600 ชนิด การเรียกชื่อสารจึงมีความสำคัญ ซึ่งโดยทั่วไปเรียกชื่อแบบ Semi-Systematic Name ตามระบบ IUPAC (International Union of Biochemistry Commissions on Biochemical Nomenclature) มีการใช้ตัวอักษรกรีกนำหน้าชื่อ

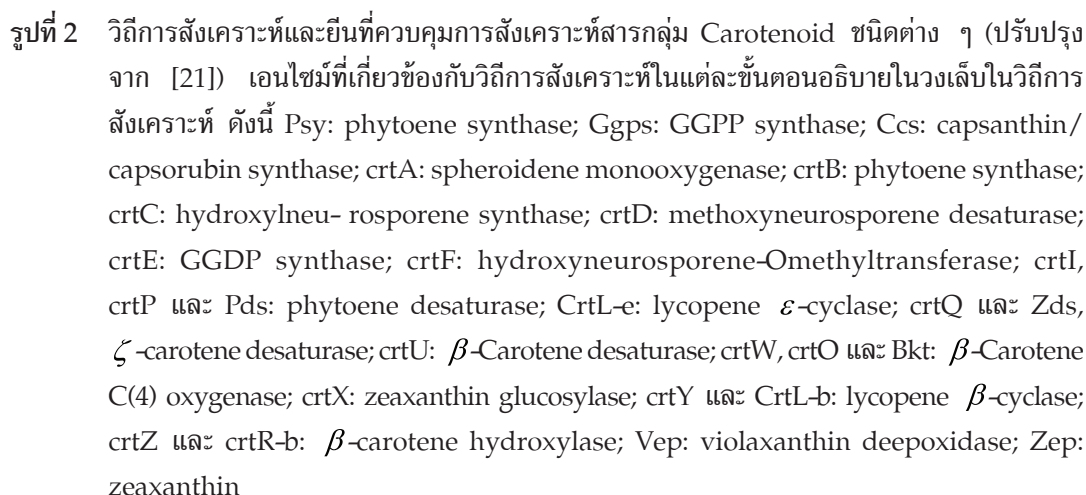
ซึ่งมีทั้งหมด 7 กลุ่ม ($\psi, \beta, \varepsilon, \gamma, \kappa, \Phi$ และ $\mathcal{X}$) เพื่อเป็นการระบุโครงสร้างทางเคมีของสาร ตัวอย่าง เช่น β - β' -Carotene และ 3, 3'-dihydroxy- β, β -carotene -4,4'-dione เป็นชื่อตามระบบ Semi-Systematic Name ของ β -Carotene และ Astaxanthin เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามในบางครั้ง การเรียกชื่อสารกลุ่มนี้อาจเรียกตามแหล่งที่พบเป็นอันดับแรก เช่น β -Carotene พบครั้งแรกในพืช ประเภทแครอท จึงมีชื่อเรียกที่สอดคล้องกับแครอท [17], [20]

2. วิธีการสังเคราะห์ Carotenoid ในจุลินทรีย์ (Carotenoid Biosynthesis Pathway)

การสังเคราะห์สารกลุ่ม Carotenoid ในจุลินทรีย์ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก ๆ ได้แก่

- 1) การเปลี่ยนรูปของ acetyl Co-A เป็น 3-hydroxy-3-methyl glutaryl CoA (HMG-CoA) และเปลี่ยนไปเป็น Mevalonic Acid (MVA) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีคาร์บอนจำนวน 6 อะตอม ซึ่งเป็นสารตั้งต้นชนิดแรกในวิธีการสังเคราะห์สารกลุ่ม Terpenoid จากนั้น MVA จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น Isopentyl Pyrophosphate (IPP) โดยการทำงานของเอนไซม์ MVA Kinase และตามด้วยปฏิกิริยา Decarboxylation เป็นลำดับ
- 2) ปฏิกิริยา Isomerization ของ IPP เป็น Dimethylallyl Pyrophosphate (DMAPP) โดยการเติม IPP จำนวน 3 โมเลกุลใน DMAPP โดยการทำงานของเอนไซม์ Prenyl Transferase เพื่อให้ได้สาร Geranyl Geranyl Pyrophosphate (GGPP) ที่มีจำนวนคาร์บอน 20 อะตอม ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญของสารกลุ่ม Carotenoid และขั้นตอนที่ 3) การทำปฏิกิริยาระหว่าง GGPP 2 โมเลกุลแบบ Head to Head โดยการทำงานของเอนไซม์ Phytoene Synthase ทำให้เกิดสารตัวกลาง Phytoene เป็นสารที่ไม่มีสี และจัดเป็น Carotenoid ชนิดแรก จากวิธีการสังเคราะห์ และเมื่อเกิดปฏิกิริยา Desaturation ในการเติมพันธะคู่แบบ Conjugated Double Bond จะได้เป็น Lycopene ตามด้วยการสังเคราะห์สารกลุ่ม Carotenoid ชนิดอื่น ๆ ทั้งชนิด Cyclic และ Acyclic Carotenoid โดยวิธีการสังเคราะห์ Carotenoid ซึ่งเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ ที่จำเพาะในแต่ละขั้นตอนแสดงในรูปที่ 2 [11], [16], [21] - [22]

เอนไซม์ Phytoene Synthase จัดเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการกำหนดและควบคุม วิธีการสังเคราะห์ Carotenoid ในสิ่งมีชีวิต หรือเรียกว่าเป็น Rate-Limiting Enzyme ซึ่งอาจมีลักษณะที่แตกต่างกันไปในแต่ละกลุ่มจุลินทรีย์ [23] - [24] ตัวอย่างเช่น จุลินทรีย์ที่มีการสังเคราะห์แสง กลุ่มสาหร่ายสีเขียว *Chlamydomonas reinhardtii*, *C. vulgaris* และ *Volvox carteri* สาหร่ายกลุ่มไดอะตอม *Thalassiosira pseudonana* และ *Phaeodactylum tricornutum* มีหน้าที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ Phytoene Synthase (PSY) ที่มีความใกล้เคียงกันมาก แต่พบว่ายีน PSY ในกลุ่มดังกล่าวมีความแตกต่างกับ PSY ในสาหร่ายสีเขียวชนิด *Dunaliella salina* ซึ่งความแตกต่างของยีน PSY ทั้งสองกลุ่มนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะในการเจริญและการตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมที่อยู่อาศัยที่แตกต่างกัน [25] - [26] จากการศึกษาเกี่ยวกับยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในวิธีการผลิต Carotenoid พบว่ามีมากกว่า 150 ยีน ที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ 24 ชนิดที่ต่างกัน [21] จึงทำให้เป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาการสังเคราะห์ Carotenoid โดยเทคนิคการตัดต่อพันธุกรรม โดยการเลือกใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงได้ง่าย สามารถใช้สารตั้งต้นราคาถูกหรือวัตถุดิบเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมหรือการเกษตรเป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ นับเป็นการช่วยพัฒนากระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ



การผลิตสารสี Carotenoid ทางการค้าในปัจจุบันมักใช้วิธีการสกัดจากพืช ผักในธรรมชาติ เช่น Lycopene จากมะเขือเทศ ฝรั่ง หรือมะละกอ [27] - [28] และ Lutein จากผักสีเขียว เช่น ผักชี ฝรั่ง ผักโขม และบล็อคโคลี่ [29] หรือใช้วิธีการสังเคราะห์ทางเคมี เช่น Lycopene, Astaxanthin, และ Zeaxanthin [30] แต่เนื่องจากข้อจำกัดเกี่ยวกับสภาพภูมิอากาศและฤดูกาลที่ส่งผลให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพสารสกัดได้ ในขณะที่เดียวกับการสังเคราะห์ทางเคมีส่งผลให้เกิดสารพิษบางชนิดที่มีผลข้างเคียงต่อสุขภาพของมนุษย์ รวมไปถึงของเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์ซึ่งมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

[31] - [32] ดังนั้นการผลิต Carotenoid จากจุลินทรีย์ทดแทนการสกัดจากพืชหรือการสังเคราะห์ทางเคมี จึงนับว่าเป็นทางเลือกที่น่าสนใจและมีความปลอดภัยทั้งต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ซึ่งนอกจากเรื่องคุณภาพของสารสกัดแล้วนั้นพบว่าการผลิตสารสี Carotenoid จากจุลินทรีย์ยังสามารถลดต้นทุนการผลิตได้ โดยการเลือกใช้วัตถุดิบราคาถูกหรือวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอื่น ๆ เป็นสารตั้งต้นในการเพาะเลี้ยง เชลล์จุลินทรีย์อีกทางหนึ่งด้วย [33] - [34] ปัจจุบันมีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการผลิต Carotenoid ในระดับอุตสาหกรรมหลายชนิด

การสะสมสารสีกลุ่ม Carotenoid พบได้ในจุลินทรีย์หลายชนิดทั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ [35] นอกจากนี้ Carotenoid บางชนิด เช่น Lutein และ Zeaxanthin ยังมีบทบาทหน้าที่เกี่ยวกับการป้องกันและตอบสนองต่อแสง เพื่อป้องกันอวัยวะรับแสง ถูกทำลายโดยเฉพาะในสิ่งมีชีวิตกลุ่มสาหร่ายที่มีอวัยวะในการสังเคราะห์แสง [36] - [37] ปัจจุบันมีการใช้ จุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ รา และสาหร่าย ตัวอย่างเช่น *Dunaliella salina*, *Xanthophyllomyces dendrorhous*, *Haematococcus pluvialis*, และ *Blakeslea trispora* [38] - [41] เพื่อการผลิต Carotenoid ในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งในการผลิตนั้นนอกเหนือจากสภาวะการเพาะเลี้ยงที่จำเป็นต้องมีการควบคุมให้มีความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อและการสังเคราะห์สารที่ต้องการแล้ว ยังพบว่าการสังเคราะห์ Carotenoid เกี่ยวข้องกับเอนไซม์และอัตราการไหลเวียนคาร์บอน (Carbon Flux) ที่สอดคล้องกับวิธีการสังเคราะห์ (Carotenoid Biosynthesis) ของจุลินทรีย์แต่ละชนิด แต่อย่างไรก็ตามการเลือกใช้ จุลินทรีย์ในการผลิตยังมีความซับซ้อนในขั้นตอนของการศึกษาคุณสมบัติและลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นเทคนิคทางเทคโนโลยีพันธุวิศวกรรมจึงเป็นวิธีที่สำคัญในการเพิ่มปริมาณและกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง [42] - [43] โดยการเลือกใช้จุลินทรีย์ตัดต่อพันธุกรรมโดยได้รับยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ Carotenoid จากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น เพื่อลดความยุ่งยากและระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง รวมทั้งสามารถควบคุมการสังเคราะห์ Carotenoid ได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย ในตารางที่ 1 แสดงตัวอย่าง Carotenoid และเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม และคุณสมบัติที่สำคัญของ Carotenoid ที่นำมาใช้ประโยชน์ทางการค้า

ปัจจุบันการใช้จุลินทรีย์ตัดต่อพันธุกรรมสำหรับการผลิต Carotenoid ถือเป็นวิธีการที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก สิ่งสำคัญที่ต้องพิจารณาเป็นอันดับแรกคือ การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสม ซึ่งอาจมีการปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อให้สามารถผลิตสารเมแทบอไลต์ได้ในปริมาณสูง มีรายงานเกี่ยวกับการสังเคราะห์ Carotenoid ด้วยวิธีการตัดต่อพันธุกรรมจากจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถผลิต Carotenoid ได้ (Non-Carotenogenic) ตัวอย่างเช่น การสังเคราะห์ Zeaxanthin ใน *Pseudomonas putida* จากการโคลนยีน *idi*, *ispA*, *crtE*, *crtB*, *crtI*, *crtY* และ *crtZ* จากแบคทีเรีย *Pantoea ananatis* และ *Escherichia coli* ซึ่งทำให้ได้ผลผลิต Zeaxanthin ในปริมาณ 7 mg/g [44] การตัดต่อยีน *crtB* ที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ Phytoene Synthase จากแบคทีเรีย *Kocuria gwangalliensis* ร่วมกับยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ Lycopene ใน *E. coli* ทำให้เชื้อสามารถผลิต Lycopene ได้ [45] นอกจากนี้ยังพบว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่สามารถสังเคราะห์ Carotenoid ด้วยเทคนิคพันธุวิศวกรรม เช่น การใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis* ในการผลิต β -Carotene, Lycopene หรือ Astaxanthin จากการโคลนยีนที่เกี่ยวข้องในวิธีการสังเคราะห์ Carotenoid จากเชื้อแบคทีเรีย

Erwinia uredovora, *Agrobacterium aurantiacum* และยีสต์สายพันธุ์ *Xanthophyllomyces dendrorhous* นอกจากจะสามารถสังเคราะห์ Carotenoid ได้ในปริมาณสูงแล้ว การเลือกใช้ยีสต์ยังผ่านการรับรองจาก FDA (US) ถึงความปลอดภัยในการใช้กับอาหารอีกด้วย [11]

ตารางที่ 1 การใช้ประโยชน์ทางการค้าจากสารกลุ่ม Carotenoid และตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต

Carotenoid	Commercial benefit	Microorganism	References
Lycopene	-ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ และมะเร็งบางชนิด	<i>Dietzia natronolimnaea</i>	[46]
	เช่น ต่อมลูกหมาก	<i>Rhodotorula glutinis</i>	[47]
	-ใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางค์	<i>Blakeslea trispora</i>	[48]
β -carotene	-สารต้านมะเร็ง	<i>Dunaliella salina</i>	[49]
	-สารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอ	<i>Blakeslea trispora</i>	[50]
	-แหล่งของสีที่ใช้ในการปรุงแต่งอาหาร		
	-ใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางค์		
Astaxanthin	-ส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำ	<i>Haematococcus pluvialis</i>	[51]
	-แหล่งของสีที่ใช้ในการปรุงแต่งอาหาร	<i>Phaffia rhodozyma</i>	[52]
		<i>Paracoccus carotinifaciens</i>	[53]
Lutein	-ป้องกันการเกิดโรคจอตาเสื่อมในผู้สูงอายุ	<i>Chlorella protothecoides</i>	[54]
	(Age related macular degeneration; AMD)	<i>Scenedesmus almeriensis</i>	[55]
		<i>Galdieria sulphuraria</i>	[56]
	-ใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางค์	Mix culture: <i>Trichosporon asahii</i> และ <i>Paenibacillus amylolyticus</i>	[57]
Zeaxanthin	-ป้องกันการเกิดโรคจอตาเสื่อมในผู้สูงอายุ	<i>Paracoccus</i>	[58]
	(Age related macular degeneration; AMD)	<i>zeaxanthinifaciens</i>	[59]
	-แหล่งของสีที่ใช้ในการปรุงแต่งอาหาร	<i>Flavobacterium multivorum</i>	
	-ใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางค์		
	-ส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงสัตว์		

4. เทคโนโลยีการผลิตสารกลุ่ม Carotenoid ในจุลินทรีย์

นับเป็นเวลานานหลายปีที่นักวิจัยได้ทำการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับวิธีการผลิตสารกลุ่ม Carotenoid โดยเป็นการศึกษาวิธีการสังเคราะห์ Carotenoid ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด และปรับปรุงวิธีการสังเคราะห์ด้วยการใช้เทคนิคการตัดต่อพันธุกรรมหรือแม้แต่วิธีการกระตุ้นการสังเคราะห์ด้วยวิธีการต่าง ๆ ทางชีวภาพ นำมาซึ่งการพัฒนากระบวนการผลิตสารกลุ่ม Carotenoid หลายชนิด ตัวอย่างเช่น Astaxanthin, Zeaxanthin, และ Lutein เป็นต้น ซึ่งในการศึกษารายงานวิจัยที่กล่าวถึงการสังเคราะห์สารกลุ่ม Carotenoid พบว่ามีการกล่าวถึงการพัฒนาเทคโนโลยีที่สนับสนุนการสังเคราะห์สารกลุ่ม Carotenoid ดังเช่น การพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์สำหรับการผลิต Carotenoid โดยการ

ปรับปรุงข้อมูลพันธุกรรมของยีนที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ในวิถีการผลิต (Pathway Engineering for Carotenoid Production) หรือแม้กระทั่งการปรับปรุงข้อมูลพันธุกรรมในวิถีการสังเคราะห์อื่น ๆ (Heterologous Pathway) ที่เกี่ยวข้องกับการผลิต Carotenoid ในเซลล์เจ้าบ้าน (Genome Engineering for Strain Development) [60] - [61] แต่อย่างไรก็ตาม 2 เทคนิคที่กล่าวมานั้นนับว่าเป็นเทคนิคการปรับปรุงพันธุกรรมที่สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสังเคราะห์สารกลุ่ม Carotenoid ได้หลายชนิด ตัวอย่างเช่น การผลิต Zeaxanthin โดยใช้ Lycopene เป็นสารตั้งต้น จากการใช้เทคนิค Tunable Intergenic Regions (TIGRs) ในการโคลนยีนหลายยีนในการผลิต Zeaxanthin ได้แก่ Lycopene β -cyclase gene (*crtY*) และ β -carotene 3-hydroxylase gene (*crtZ*) ลงในจีโนม (Genome) ของ *E. coli* ทำให้เชื้อสามารถผลิต Zeaxanthin ได้สูงถึง 11.95 g/g DCW [62] นอกจากนี้ยังพบการศึกษาการผลิต Lycopene ใน *E. coli* ด้วยการใช้เทคนิค Gene Knockout ของยีน Gene glucose-6-phosphate dehydrogenase (*zwf*) เพื่อช่วยเพิ่มปริมาณสารตั้งต้นคาร์บอนเข้าสู่วิถีการผลิตควบคู่กับการกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ Lycopene จำนวน 3 ยีน ได้แก่ *idi* (Isopentenyl Diphosphate Isomerase), *dxs* (1-deoxyxylulose-5-phosphate synthase) และ *ispDF* (4-diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol synthase และ 2C-methyl-D-erythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase) ทำให้เชื้อสามารถสังเคราะห์ Lycopene ได้สูงถึง 6.85 - 7.55 mg/g DCW [63]

สรุป

สารกลุ่ม Carotenoid เป็นสารสีจากธรรมชาติที่มีความสำคัญและได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด มีบทบาทและคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ที่น่าสนใจ นอกเหนือจากการใช้เป็นสีย้อมประกอบเพื่อเพิ่มสีสันในอาหารแล้วนั้น คุณสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและประโยชน์ทางโภชนาการนับเป็นสิ่งสำคัญที่ทำให้เกิดความสนใจในการศึกษาเพื่อหาแนวทางพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ Carotenoid เพื่อให้ได้ปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการ ดังนั้นการผลิต Carotenoid จากจุลินทรีย์ทั้งในกลุ่มที่สามารถสังเคราะห์ได้เองโดยธรรมชาติและกลุ่มที่ไม่สามารถสังเคราะห์ได้แต่สามารถใช้เป็นสายพันธุ์ในการตัดต่อพันธุกรรมได้นั้นจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจ ทั้งนี้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์จุลินทรีย์เพื่อให้มีการผลิต Carotenoid ให้ได้ปริมาณมากนั้นจำเป็นต้องมีการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม เช่น แสง อุณหภูมิ องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและแร่ธาตุต่าง ๆ รวมทั้งการศึกษาปัจจัยที่สนับสนุนการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับวิถีการผลิตซึ่งจำเป็นต้องพิจารณาทั้งปริมาณและกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ที่เหมาะสม ดังนั้นการศึกษาวិถีการสังเคราะห์ Carotenoid ในจุลินทรีย์แต่ละชนิดจึงเป็นเรื่องสำคัญ ทั้งนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้ความรู้ด้านเทคโนโลยีชีวภาพในการใช้เทคนิคการตัดต่อพันธุกรรมให้ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์สารกลุ่ม Carotenoid ที่มีมูลค่าทางการค้าและเป็นที่ต้องการในอุตสาหกรรม ทั้งยังสามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถใช้วัตถุดิบหรือสารตั้งต้นราคาถูกเพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตได้อีกทางหนึ่งด้วย

References

- [1] Parmar M. and Phutela U.G. (2015). Biocolors: The New Generation Additives. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science (IJCMAS)*. Vol. 4. Number. 7. pp. 688-694
- [2] Valduga E., Val e'rio A., Treichel H., Di Luccio M. and Furigo J.A. (2008). Study of the Bio-Production of Carotenoids by *Sporidiobolus salmonicolor* (CBS 2636) Using Pre-treated Agro-Industrial Substrates. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. Vol. 83. No. 9. pp. 1267-1274
- [3] Guerin M., Huntley M.E. and Olaizola M. (2003). *Haematococcus astaxanthin*: Applications for Human Health and Nutrition. *Trends Biotechnology*. Vol. 21. No. 5. pp. 210-216. DOI: 10.1016/S0167-7799(03)00078-7
- [4] Mortensen A. (2006). Carotenoids and Other Pigments as Natural Colorants. *Pure and Applied Chemistry*. Vol. 78. No. 8. pp. 1477-1491. DOI: 10.1351/pac200678081477
- [5] Anunciato T.P. and da Rocha Filho P.A. (2012). Carotenoids and Polyphenols in Nutricosmetics, Nutraceuticals, and Cosmeceuticals. *Journal of Cosmetic Dermatology*. Vol. 11. No. 1. pp. 51-54. DOI: 10.1111/j.1473-2165.2011.00600.x
- [6] Tominaga K., Hongo N., Karato M. and Yamashita E. (2012). Cosmetic Benefits of Astaxanthin on Humans Subjects. *The Journal of the Polish Biochemical Society and of the Committee of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences*. Vol. 59. No. 1. pp. 43-47
- [7] Palozza P., Serini S., Di Nicuolo F., Piccioni E. and Calviello G. (2003). Prooxidant Effects of β -carotene in Cultured Cells. *Molecular Aspects of Medicine*. Vol. 24. No. 6. pp. 353-362
- [8] Tapiero H., Townsend D.M. and Tew K.D. (2004). The Role of Carotenoids in the Prevention of Human Pathologies. *Biomedical and Pharmacology Journal*. Vol. 58. No. 2. pp. 100-110
- [9] Krinsky N.I. and Johnson E.J. (2005). Carotenoid Actions and their Relation to Health and Disease. *Molecular Aspects of Medicine*. Vol. 26. No. 6. pp. 459-516. DOI: 10.1016/j.mam.2005.10.001
- [10] Voutilainen S., Nurmi T., Mursu J. and Rissanen T.H. (2006). Carotenoids and Cardiovascular Health. *The American Journal of Clinical Nutrition*. Vol. 83. No. 6. pp. 1265-1271

- [11] Rodrigues S.M., Soares V.L.F., Oliveira T.M., Gesteira A.S., Otoni W.C. and Costa M.G.C. (2007). Isolation and Purification of RNA from Tissues Rich in Polyphenols, Polysaccharides, and Pigments of Annatto (*Bixa orellana* L.). *Molecular Biotechnology*. Vol. 37. No. 3. pp. 220-224. DOI: 10.1007/s12033-007-0070-9
- [12] Park J., Kim S. and Moon B. (2011). Changes in Carotenoids, Ascorbic Acids, and Quality Characteristics by the Pickling of Paprika (*Capsicum annuum* L.) Cultivated in Korea. *Journal of Food Science*. Vol. 76. No. 7. pp. 1075-1080
- [13] Bolhassani A., Khavari A. and Bathaie S.Z. (2014). Saffron and Natural Carotenoids: Biochemical Activities and Anti-Rumor Effects. *Biochimica et Biophysica Acta*. Vol. 1845. No. 1. pp. 20-30. DOI: 10.1016/j.bbcan.2013.11.001
- [14] Zeni J., Colet R., Cence K., Tiggemann L., Toniazzo G., Cansian R.L., Di Luccio M., Oliveira D. and Valduga E. (2011). Screening of Microorganisms for Production of Carotenoids. *CyTA - Journal of Food*. Vol. 9. No. 2. pp. 160-166. DOI: 10.1080/19476337.2010.499570
- [15] Mata-Gómez L.C., Montaño J.C., Méndez-Zavala A. and Aguilar C.N. (2014). Biotechnological Production of Carotenoids by Yeasts: an Overview. *Microbial Cell Factories*. Vol. 13. No. 2. pp. 1-11. DOI: 10.1186/1475-2859-13-12
- [16] Goodwin T.W. (1980). *The Biochemistry of the Carotenoids*. Vol. 1. New York: Chapman and Hall.
- [17] Britton G. (1995). Structure and Properties of Carotenoids in Relation to Function. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*. Vol. 9. No. 15. pp. 1951-1958
- [18] Bhosale P. and Bernstein P.S. (2005). Microbial Xanthophylls. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 68. No. 4. pp. 445-455. DOI: 10.1007/s00253-005-0032-8
- [19] Kirti K., Amita S., Priti S., Kumar A.M. and Jyoti S. (2014). Colorful World of Microbes: Carotenoids and their Applications. *Advances in Biology*. Vol. 2014. Article ID 837891. pp. 1-13. DOI: 10.1155/2014/837891
- [20] Britton G. (1993). *Structure and Nomenclature of Carotenoids*. Carotenoids in Photosynthesis. Netherlands : Chapman and Hall.
- [21] Schmidt-Dannert C. (2000). Engineering Novel Carotenoids in Microorganisms. *Current Opinion in Biotechnology*. Vol. 11. No. 3. pp. 255-261
- [22] Paniagua-Michel J., Olmos-Soto J. and Ruiz M.A. (2012). Pathways of Carotenoid Biosynthesis in Bacteria and Microalgae. *Methods in Molecular Biology*. Vol. 892. pp. 1-13. DOI: 10.1007/978-1-61779-879-5_1

- [23] Yan Y., Zhu Y.H., Jiang J.G. and Song D.L. (2005). Cloning and Sequence Analysis of the Phytoene Synthase Gene from a Unicellular Chlorophyte, *Dunaliella salina*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 53. No. 5. pp. 1466-1469
- [24] Li S. and Li L. (2008). Carotenoid Metabolism: Biosynthesis, Regulation, and Beyond. *Journal of Integrative Plant Biology*. Vol. 50. No. 7. pp. 778-785
- [25] Ye Z.W., Jiang J.G. and Wu G.H. (2008). Biosynthesis and Regulation of Carotenoids in *Dunaliella*: Progresses and Prospects. *Biotechnology Advances*. Vol. 26. No. 4. pp. 352-360
- [26] Tran D., Haven J.H. and Qiu W.G. (2009). An Update on Carotenoid Biosynthesis in Algae: Phylogenetic Synthase Evidence for the Existence of Two Classes of Phytoene Synthase. *Planta*. Vol. 229. No. 3. pp. 723-729
- [27] Poojary M.M. and Passamonti P. (2015). Optimization of Extraction of High Purity All-Trans-Lycopene from Tomato Pulp Waste. *Food Chemistry*. Vol. 188. No. 1. pp. 84-91. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.04.133
- [28] Mezzomo N. and Ferreira S.R.S. (2016). Carotenoids Functionality, Sources, and Processing by Supercritical Technology: A Review. *Journal of Chemistry*. Vol. 2016. pp. 1-16. Article ID 3164312. DOI: 10.1155/2016/3164312
- [29] Fratianni A., Mignogna R., Niro S. and Panfili G. (2015). Determination of Lutein from Fruit and Vegetables through an Alkaline Hydrolysis Extraction Method and HPLC analysis. *Journal of Food Science*. Vol. 80. No. 12. pp. C2686-C2691. DOI: 10.1111/1750-3841.13122
- [30] Ernst H. (2002). Recent Advances in Industrial Carotenoid Synthesis. *Pure and Applied Chemistry*. Vol. 74. No. 11. pp. 2213-2226. DOI: 10.1351/pac200274112213
- [31] Buzzini P. (2001). Batch and Fed-Batch Carotenoid Production by *Rhodotorula glutinis*-*Debaryomyces castellii* Co-Cultures in Corn Syrup. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 90. No. 5. pp. 843-847
- [32] Frengova G.I. and Beshkova D.M. (2009). Carotenoids from *Rhodotorula* and *Phaffia*: Yeasts of Biotechnological Importance. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. Vol. 36. pp. 163-180. Doi: 10.1007/s10295-008-0492-9
- [33] Malisorn C. and Suntornsuk W. (2008). Optimization of β -carotene Production by *Rhodotorula glutinis* DM28 in Fermented Radish Brine. *Bioresource Technology*. Vol. 99. No. 7. pp. 2281-2287
- [34] Schneider T., Graeff-Hönniger S., French W.T., Hernandez R., Merkt N., Claupein W., Hetrick M. and Pham P. (2013). Lipid and Carotenoid Production by Oleaginous Red Yeast *Rhodotorula glutinis* Cultivated on Brewery Effluents. *Energy*. Vol. 61. No. 1. pp. 34-43

- [35] Bhosale P. (2004). Environmental and Cultural Stimulants in the Production of Carotenoids from Microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 63. No. 4. pp. 351-361
- [36] Takaichi S. (2011). Carotenoids in Algae: Distributions, Biosyntheses and Functions. *Marine Drugs*. Vol. 9. No. 6. pp. 1101-1118
- [37] Jahns P. and Holzwarth A.R. (2012). The Role of the Xanthophyll Cycle and of Lutein in Photoprotection of Photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. Vol. 1817. No. 1. pp. 182-193. DOI: 10.1016/j.bbabi.2011.04.012
- [38] Mehta B.J., Obratsova I.N. and Cerda-Olmedo E. (2003). Mutants and Intersexual Heterokaryons of *Blakeslea trispora* for Production of Beta-Carotene and Lycopene. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 69. No. 7. pp. 4043-4048
- [39] Olaizola M. (2000). Commercial Production of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* Using 25,000-Liter Outdoor Photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*. Vol. 12. Issue. 3-5. pp. 499-506. DOI: 10.1023/A:1008159127672
- [40] Raja R., Hemaiswarya S. and Rengasamy R. (2007). Exploitation of *Dunaliella* for Beta-Carotene Production. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 74. No. 3. pp. 517-523. DOI: 10.1007/s00253-006-0777-8
- [41] Schmidt I. Schewe H., Gassel S., Jin C., Buckingham J. Hübner M., Sandmann G. and Schrader J. (2011). Biotechnological Production of Astaxanthin with *Phaffia rhodozyma*/ *Xanthophyllomyces dendrorhous*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 89. Vol. 3. pp. 555-571. DOI: 10.1007/s00253-010-2976-6
- [42] Das A., Yoon S.H., Lee S.H, Kim J.Y., Oh D.K. and Kim S.W. (2007). An Update on Microbial Carotenoid Production: Application of Recent Metabolic Engineering Tools. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 77. No. 3. pp. 505-512. DOI: 10.1007/s00253-007-1206-3
- [43] Ye V.M. and Bhatia S.K. (2012). Pathway Engineering Strategies for Production of Beneficial Carotenoids in Microbial Hosts. *Biotechnology Letters*. Vol. 34. No. 8. pp. 1405-1414
- [44] Beuttle H., Hoffmann J., Jeske M., Hauer B., Schmid R.D., Altenbuchner J. and Urlacher V.B. (2011). Biosynthesis of Zeaxanthin in Recombinant *Pseudomonas putida*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 89. No. 4. pp. 1137-1147
- [45] Seo Y.B., Choi S.S., Lee J.K., Kim N.H., and Choi M.J., Kim J.M., Jeong T.H., Nam S.W., Lim H.K. and Kim G.D. (2015). Molecular Cloning and Co-Expression of Phytoene Synthase Gene from *Kocuria gwangalliensis* in *Escherichia coli*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 25. No. 11. pp. 1801-1809. DOI: 10.4014/jmb.1505.05035

- [46] Nasri Nasrabadi M.R. and Razavi S.H. (2010). High Levels Lycopene Accumulation by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 Using Lycopene Cyclase Inhibitors in a Fed-Batch Process. *Food Science and Biotechnology*. Vol. 19. No. 4. pp. 899-906
- [47] Kot A.M., Btażejak S., Kurcz A., Gientka I. and Kieliszek M. (2016). *Rhodotorula glutinis*-Potential Source of Lipids, Carotenoids, and Enzymes for use in Industries. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 100. No. 14. pp. 6103-6117. DOI: 10.1007/s00253-016-7611-8
- [48] Wang H.B., Xu R.G., Yu L.J., Luo J., Zhang L.W., Huang X.Y., Zou W.A., Zhao Q. and Lu M.B. (2014). Improved Beta-Carotene and Lycopene Production by *Blakeslea trispora* with Ultrasonic Treatment in Submerged Fermentation. *Zeitschrift für Naturforschung C: A Journal of Biosciences*. Vol. 69. No. 5-6. pp. 237-244
- [49] Prieto A., Canavate J.P. and Garcia-Gonzalez M. (2011). Assessment of Carotenoid Production by *Dunaliella salina* in Different Culture Systems and Operation Regimes. *Journal of Biotechnology*. Vol. 151. No. 2. pp. 180-185. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2010.11.011
- [50] Papaioannou, E.H. and Liakopoulou-Kyriakides, M. (2010). Substrate Contribution on Carotenoids Production in *Blakeslea trispora* Cultivations. *Food and Bioproducts Processing*. Vol. 88. No. 2-3. pp. 305-311
- [51] Panis G. and Carreon J.R. (2016). Commercial Astaxanthin Production Derived by Green Alga *Haematococcus pluvialis*: A Microalgae Process Model and a Techno-Economic Assessment all Through Production Line. *Algal Research*. Vol. 18. pp. 175-190
- [52] Montanti J., Nghiem N.P. and Johnston D.B. (2011). Production of Astaxanthin from Cellulosic Biomass Sugars by Mutants of the Yeast *Phaffia rhodozyma*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. Vol. 164. No. 5. pp. 655-665
- [53] Katsumata T., Ishibashi T. and Kyle D. (2014). A Sub-Chronic Toxicity Evaluation of a Natural Astaxanthin-Rich Carotenoid Extract of *Paracoccus carotinifaciens* in rats. *Toxicology Reports*. Vol. 1. pp. 582-588
- [54] Shi X.M., Jiang Y. and Chen F. (2002). High-Yield Production of Lutein by the Green Microalga *Chlorella protothecoides* in Heterotrophic Fed-Batch Culture. *Biotechnology Progress*. Vol. 18. No. 4. pp. 723-727
- [55] Sa'nchez J. F., Fern'andez J. M., Aci'e'n F. G., Rueda A. and Pe'rez-Parra J. (2008). Influence of Culture Conditions on the Productivity and Lutein Content of the New Strain *Scenedesmus almeriensis*. *Process Biochem*. Vol. 43. No. 4. pp. 398-405
- [56] Graziani G., Schiavo S., Nicolai M.A., Buono S., Fogliano V., Pinto G. and Pollio A. (2013). Microalgae as Human Food: Chemical and Nutritional Characteristics of the Thermo-Acidophilic Microalga *Galdieria sulphuraria*. *Food & Function*. Vol. 4. No. 1. pp. 144-152

- [57] Rodriguez-Bustamante E., Maldonado-Robledo G., Ortiz M.A., Diaz- A'valos C. and Sanchez S. (2005). Bioconversion of Lutein Using a Microbial Mixture-Maximizing the Production of Tobacco Aroma Compounds by Manipulation of Culture Medium. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 68, No. 2. pp. 174-182
- [58] Joshi C. and Singhal R.S. (2016). Modelling and Optimization of Zeaxanthin Production by *Paracoccus zeaxanthinifaciens* ATCC 21588 Using Hybrid Genetic Algorithm Techniques. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. Vol. 8. pp. 238-235
- [59] 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*. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 96. No. 3. pp. 623-629
- [60] Wang C., Kim J.H. and Kim S.W. (2014). Synthetic Biology and Metabolic Engineering for Marine Carotenoids: New Opportunities and Future Prospects. *Marine Drugs*. Vol. 12. No. 9. pp. 4810-4832
- [61] Li Y. and Pfeifer B.A. (2014). Heterologous Production of Plant-Derived Isoprenoid Products in Microbes and the Application of Metabolic Engineering and Synthetic Biology. *Current Opinion in Plant Biology*. Vol. 19. pp. 8-13
- [62] Li X.R., Tian G.Q., Shen H.J. and Liu J.Z. (2014). Metabolic Engineering of *Escherichia coli* to Produce Zeaxanthin. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. Vol. 42. No. 4. pp. 627-636
- [63] Zhou Y., Nambou K., Wei L., Cao J., Imanaka T. and Hua Q. (2013). Lycopene Production in Recombinant Strains of *Escherichia coli* is Improved by Knockout of the Central Carbon Metabolism Gene Coding for glucose-6-phosphate Dehydrogenase. *Biotechnology Letters*. Vol. 35. No. 12. pp. 2137-2145