

Monascus 속 균주를 이용한 발효 홍국마 추출물의 생리학적 특성

전춘표* · 박세철* · 이준걸*

*안동과학대학교 의약품질분석과

Physiological characteristics of Extracts from *Monascus*-Fermented Chinese Yam by *Monascus* sp. strain

Chun-pyo Jeon* · Se-cheol Park* · Joon-geol Lee*

*Andong Science College

E-mail : cpjeon@asc.ac.kr

요 약

본 연구는 발효 홍국마로부터 에탄올 추출물 농도에 따른 생리활성 효과를 조사하기 위하여 실시하였다. 발효 홍국마 에탄올 추출물로부터 색소, DPPH radical 소거활성, 환원력 및 monacolin K 함량을 조사하였다. 그 결과, 기질로서 장마를 *Monascus* sp. MK805 균주로 발효하였을 때 홍국색소는 29.6(황색), 15.1(오렌지색), 20.4(적색), DPPH radical 소거활성은 72.8%, 환원력은 1.74 및 monacolin K 함량은 480.6 mg/kg으로 각각 조사되었다. 이처럼 발효 홍국마는 항산화 및 항고지혈증 관련 기능성 식품 및 의약품 소재로의 이용 가능성이 높은 것으로 사료된다

ABSTRACT

This study was conducted to investigate antioxidative and physiological activities of ethanol extracts concentration from *Monascus*-Fermented Chinese Yam (MFCY). The ethanol extracts from MFCY were measured to examine pigments, DPPH radical scavenging activity, reducing power and monacolin K contents. As a results show that *Monascus* sp. MK805, with *Dioscorea japonica* as the substrate can produce pigments (yellow, orange and red), DPPH radical scavenging activity, reducing power and monacolin K content at 29.6 (yellow), 15.1 (orange), 20.4 (red), 72.8%, 1.74(OD at 700nm), 480.6 mg/kg in EtOH extract, respectively. Therefore, fermented chinese yam (*Dioscorea japonica*) was estimated to be effective biological activity material.

키워드

Dioscorea japonica, Fermented chinese yam, *Monascus* sp., Monacolin K, Physiological activities

1. 서 론

홍국(紅麴)은 한국, 중국, 대만, 일본 및 말레이시아 등 벼를 재배하는 지역에서 오래 전부터 착색, 양조, 방부 등을 목적으로 주류, 두부, 육류 등 식품 뿐 만이 아니라 한약재로도 사용되어 온국(*koji*)으로 붉은색을 띄는 곰팡이인 홍국균(*Monascus* sp.)을 주로 쌀에 배양시켜 건조시킨

것을 말한다[9]. 이러한 홍국으로부터 monacolin A, J, K 및 그 유도체, GABA (γ -aminobutyric acid), dimeric acid, 색소와 미지의 성분 등을 유도할 수 있으며, 이들은 혈당 강하, 혈압 강하, 항산화, 항생, 항혈전, 착색 및 방부작용이 있는 것으로 알려져 있다[7].

마(*Dioscorea* sp.)는 다년생 덩굴성 초본으로 전세계의 열대 및 아열대 지방에서 널리 분포하는 식량 작물로서[6], 최근 제약산업에서도 산약을 이

용한 제품 개발에 응용되고 있으며 관절염 치료제 cortisone은 야생마에서 뽑아낸 corticosteroid가 주원료이다[8]. 마의 기능성에 관한 연구로는 마 점질물이 중금속 제거능과 Angiotensin Converting Enzyme (ACE) 저해효과를 나타낸다는 보고[4]와, 생약학적 약효 연구[1], 마의 항균, 항산화 및 항혈전 활성 연구[5] 등이 보고되어 있다.

본 연구에서는 다양한 약리적인 효과가 인정되고 있는 홍국균을 이용하여 마의 발효를 유도함으로써, 마 발효물의 에탄올 추출 농도에 따른 우수한 항산화 활성과 monacolin K 생산 등의 생리활성 효과를 확인하였다.

II. 재료 및 방법

사용균주 및 배양

본 실험에 사용한 균주는 monacolin K 생산능이 우수한 것으로 조사된 *Monascus* sp. MK805 균주를 발효마 제조에 필요한 실험균주로 선별하여 본 실험에 사용하였으며, 발효마의 제조를 위해 *Monascus* sp. MK805의 배양을 위한 기본배지로 3% rice powder, 0.15% NaNO₃, 0.1% MgSO₄·7H₂O 및 0.25% KH₂PO₄, pH6.0로 구성된 Lin's 배지(Lin, 1973)를 사용하여 배양온도 30℃에서 130 rpm으로 5일간 진탕 배양하여 종균으로 사용하였다.

발효 홍국마의 제조

본 실험에 사용한 마 시료는 2013년 경북 안동에서 재배한 장마(*Dioscorea japonica*)를 구입하여 사용하였다. 발효 홍국마를 제조하기 위해 마는 흐르는 물에 세척하여 뿌리 표면에 부착된 이물질을 없애고 말단 부분과 껍질을 제거한 후, 약 3 mm 정도로 절단하고 60℃에서 항량 건조하여 사용하였다. 발효 홍국마의 제조는 건조된 마를 물에 침지한 후 초기 수분함량을 30%로 조정하여 100g씩 배양통에 분취하였다. 이후 121℃에서 15분간 가압 멸균하고 실온으로 냉각시킨 다음 *Monascus* sp. MK805 배양액을 5%(v/w)로 접종한 후 30℃에서 7일간 발효를 실시하고, 수분함량 10% 이하로 건조한 후 분쇄하여 실험에 필요한 시료로 사용하였다.

발효 홍국마 색소 측정

발효 홍국마로부터 색소의 측정은 에탄올을 농도별로 하여 각각 추출한 후 추출액을 6,500x g에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상등액을 적정배수까지 희석하여 UV-VIS spectrophotometer (Hewlett Packard 8453, Germany)를 사용하여 yellow 색소는 400 nm, orange 색소는 470 nm 및 red 색소는 500 nm에서 측정한 흡광도 값을 각각의 홍국색소 값으로 나타내었다.

발효 홍국마의 DPPH radical 소거활성

발효 홍국마 에탄올 농도별 추출물의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거활성은 Blois 등[2]의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 각각의 시료 200 μ l에 DPPH 용액을 800 μ l를 가하여 혼합한 다음 실온에서 10분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 DPPH radical 소거활성은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 비교하여 나타내었으며, 양성대조군으로 ascorbic acid를 사용하였다.

발효 홍국마의 환원력(reducing power)

발효 홍국마 에탄올 추출물의 환원력 측정은 Ferreira 등[3]의 방법을 변형하여 측정하였다. 원심분리 한 각각의 시료 1ml에 200mM 인산완충용액 (pH 6.6) 및 1% potassium ferricyanide 1ml를 차례로 가한 다음 50℃에서 30분간 반응하였다. 여기에 10% TCA 용액 1ml를 가하여 반응을 정지시킨 다음 5,000x g에서 5분간 원심분리한 후 얻은 상등액 1ml에 증류수 및 ferric chloride 용액을 각 1ml씩 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 환원력을 흡광도 값으로 나타내었다.

발효 홍국마의 monacolin K 함량

발효 홍국마로부터 monacolin K 함량은 에탄올을 농도별(0, 25, 50, 75 및 95%)로 하여 각각 추출한 후 추출액을 6,500x g에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상등액을 사용하였다. 즉, monacolin K의 추출은 홍국마 1 g에 0~95% 에탄올 20 ml를 첨가하여 150 rpm으로 3시간 동안 교반하고 정지시킨 후 6,500x g에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상등액을 membrane filter (0.45 μ m, Millipore)로 여과하여 시료로 사용하였으며, 이때 사용한 HPLC 분석조건은 다음과 같다.

Monacolin K의 정량은 Luna 5 μ Phenyl-Hexyl column (250 × 4.6 mm, Phenomenex Inc., USA)이 장착된 HPLC (Sykam, Germany)를 이용하여 flow rate : 1.0 ml/min, UV 237 nm에서 검출하면서 injection volume 20 μ l로 하여 acetonitrile : 0.1% phosphoric acid = 55 : 45의 비율로 용출시킨 후 표준 monacolin K (Sigma co., USA)를 이용하여 peak의 면적비로 비교 정량분석 하였다.

III. 결과 및 고찰

발효 홍국마 색소 측정

본 연구에서는 홍국 색소 생산능에 대하여 보고한 바 있는 *Monascus* sp. MK805 균주를 이용하여 장마의 발효를 실시하였으며, 발효 홍국마의 에탄올 농도에 따른 추출물의 색소 생산량은 Table 1과 같다.

Table 1. Effect of ethanol concentrations on Monascus pigments content from Monascus-Fermented Yam.

Ethanol (%)	Monascus Pigments (unit)		
	Yellow	Orange	Red
0	2.8 ¹⁾ ±0.17 ²⁾	1.9±0.15	2.7±0.06
25	8.6±0.11	4.7±0.22	6.2±0.09
50	20.8±0.19	12.7±0.29	15.8±0.31
75	29.6±0.26	15.1±0.57	20.4±0.29
95	26.9±0.12	13.4±0.22	17.8±0.28

¹⁾Means are three replication. ²⁾Data are expressed as mean±SE.

Table 1과 같이 에탄올 농도에 따른 발효 홍국마 추출물의 색소 생산능을 보면 에탄올 농도가 75%일 때 yellow, orange 및 red 색소는 각각 29.6, 15.1 및 20.4 unit으로 가장 높은 색소의 추출효율을 보였으며, 증류수만을 추출에 사용하였을 경우에는 yellow, orange 및 red 색소가 각각 2.8, 1.9 및 2.7 unit으로 낮은 색소의 추출효율을 나타내었다. 또한 에탄올 농도가 95%일 경우에도 yellow, orange 및 red 색소가 각각 26.9, 13.4 및 17.8 unit으로 낮은 색소의 추출효율을 나타내었다.

발효 홍국마의 DPPH radical 소거활성

발효 홍국마의 에탄올 농도별 추출물의 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 대조구로서 발효를 하지 않은 마와 비교하여 측정한 결과, 대조구의 경우 에탄올 농도가 50% 일 때 59.9%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 그 이후에는 에탄올 농도가 높아질수록 DPPH radical 소거활성은 낮아지는 것으로 조사되었다.

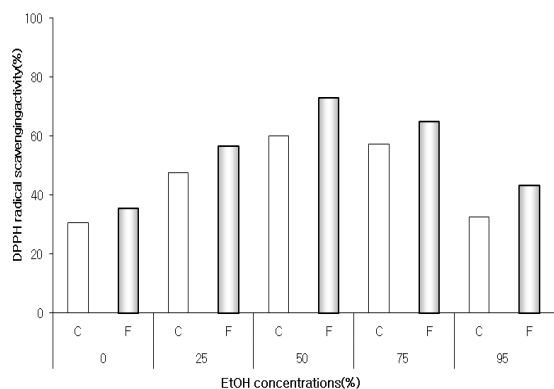


Fig. 1. Effect of ethanol concentrations on DPPH radical scavenging activity from Yam and Monascus-Fermented Yam. (C: Not fermented yam, F: Monascus-fermented yam)

발효 홍국마 에탄올 농도별 추출물의 경우 대조구와 마찬가지로 에탄올 농도가 높아질수록 DPPH radical 소거활성 또한 높아지다가 에탄올 농도가 50% 일 때 72.8%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 그 이후에는 에탄올 농도가 높아질수록 DPPH radical 소거활성 역시 낮아지는 것으로 조사되었다.

발효 홍국마의 환원력(reducing power)

발효 홍국마의 에탄올 농도별 추출물의 환원력을 측정한 결과는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 대조구로서 발효를 하지 않은 마와 비교하여 측정한 결과, 대조구의 경우 에탄올 농도가 50% 일 때 흡광도 값이 0.97로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 그 이후에는 에탄올 농도가 높아질수록 환원력은 낮아지는 것으로 조사되었다.

발효 홍국마 에탄올 농도별 추출물의 경우 대조구와 마찬가지로 에탄올 농도가 높아질수록 환원력 또한 높아지다가 에탄올 농도가 50% 일 때 흡광도 값이 1.74로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 그 이후에는 에탄올 농도가 높아질수록 환원력은 낮아지는 것으로 조사되었다.

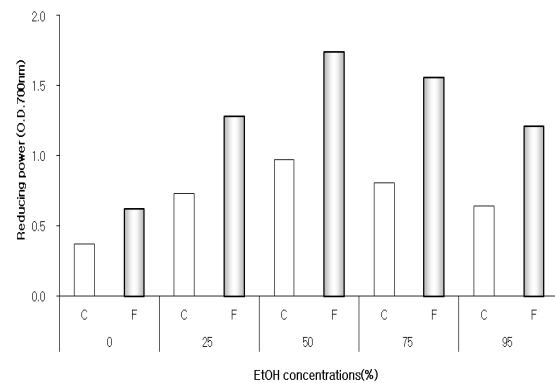


Fig. 2. Effect of ethanol concentrations on reducing power from Yam and Monascus-Fermented Yam. (C: Not fermented yam, F: Monascus-fermented yam)

발효 홍국마의 monacolin K 함량

Fig. 3에 나타난 바와 같이, 30℃에서 7일간 발효하였을 때 monacolin K 생산량은 에탄올 농도가 높아질수록 monacolin K 함량이 점차 높아지다가 에탄올 농도 75% 일 때 480.6 mg/kg으로 가장 높은 monacolin K의 함량을 나타내었으며, 에탄올 농도가 95% 일 때는 추출량에 큰 차이를 볼 수 없었으나 432.9 mg/kg로 monacolin K의 함량이 다소 낮게 추출되는 것을 알 수 있었다. 이처럼 monacolin K가 물에서는 거의 추출되지 않고 유기용매인 에탄올에 잘 추출되는 것으로 보았을 때 유기용매에 가용성인 것을 알 수 있었다.

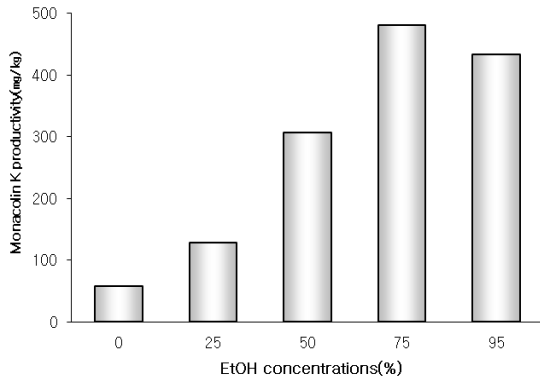


Fig. 3. Effect of ethanol concentrations on monacolin K contents from and Monascus-Fermented Yam.

IV. 결 론

본 실험에서는 발효 홍국마를 기능성 식·의약품 소재로 활용 가능성을 알아보기 위하여 발효 홍국마를 에탄올 농도별로 추출하여 색소, DPPH radical 소거활성, 환원력 및 monacolin K 함량을 측정함으로써 생리활성 효과를 알아보려고 하였다. 그 결과, 에탄올 농도에 따른 색소의 추출량은 에탄올 농도가 80% 일 때 yellow, orange 및 red 색소는 각각 29.6, 15.1 및 20.4 units으로 나타났다으며, DPPH radical 소거활성은 에탄올 농도가 50% 일 때 72.8%로 가장 높게 나타났다. 환원력은 50% 일 때 흡광도 값이 1.74로 가장 높게 나타났으며, monacolin K 함량은 에탄올 농도가 75% 일 때 480.6 mg/kg으로 가장 높게 나타났다. 이상의 결과를 종합하였을 때 *Monascus* 속 균주를 이용한 마의 발효는 다양한 생리활성 물질의 생산성 증대에 효과적임을 나타내었으며 향후 능성 식·의약품 소재로의 개발이 가능하다고 사료된다.

참고문헌

[1] Asper, V. and Coursey, D.G. Properties of starches of some west african yams. *J. Sci. Food Agric.* **18**, 240. 1967.

[2] Blois, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* **181**, 1199-1200. 1958.

[3] Ferreres, F., Gomes, D., Valentão, P., Gonçalves, R., Pio, R., Chagas, E.A., Seabra, R.M., and Andrade, P.B. Improved loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars: Variation of phenolics and antioxidative potential. *Food Chem.* **114**, 1019-1027. 2009.

[4] Ha, Y.D., Lee, S.P., and Kwak, Y. G. Removal of Heavy metal and ACE

inhibition of yam mucilage. *Kor. J. Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 751-755. 1998.

[5] Kim, J.I., Jang, H.S., Kim, J.S., and Shon, H.Y. Evaluation of antimicrobial, antithrombin and antioxidant activity of *Dioscorea batatas* Dence. *Kor. J. Microbial. Biotech.* **37**, 133-139. 2009.

[6] Purseglove, J.W. Dioscoreaceae. In 'Tropical crops monocotyledons' Longman, I.(ed.). London. **97**. 1972.

[7] Sweny, J.G., Estrada-Valdes, M.C., Iacobucci, G.A., Sato, H., and Sakamura, S. Photoprotection of the red pigments of *Monascus anka* in aqueous media by 1,4,6-trihydroxynaphthalene. *J. Agric. Food Chem.* **29**, 1189-1193. 1981.

[8] Tanaka, O. Recent studies on glycosides from plant drugs of himalaya and south western china: Chemogeographical correlation of panax species. *Pure Appl. Chem.* **62**, 1281-1284. 1990.

[9] Wild, D., Tech, G., and Humpf, H.U. New *Monascus* metabolite isolated from red yeast rice (*ang-kak*, red *koji*). *J. Agric. Food Chem.* **50**, 3999-4002. 2002.