

홍국균 발효 메밀에서의 rutin과 monacolin K의 함량 변화

강동주¹ · 엄주방^{1,2} · 이성구² · 이종훈^{1,*}

¹경기대학교 식품생물공학과, ²머슈빌

Content of Rutin and Monacolin K in the Red Buckwheat Fermented with *Monascus ruber*

Dong Zhou Kang¹, Joo Bang Um^{1,2}, Song Koo Lee² and Jong-Hoon Lee^{1,*}

¹Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University

²Mushville Co., Ltd.

Buckwheat contains dietary rutin, a flavonol glycoside, which is able to antagonize hypertension in human and has antioxidant activity. Monacolin K, a secondary metabolite produced by fungi *Monascus* species, is an effective specific inhibitor of cholesterol biosynthesis. To develop functional health food, dehulled buckwheat was fermented with *Monascus ruber* to produce Anka, and contents of rutin and monacolin K in Anka were determined. The rutin content in dehulled buckwheat decreased slightly after germination, but increased with the growth of sprout. Growth of fungi had no influence on rutin content in dehulled buckwheat Anka, Monacolin K content in fermented dehulled buckwheat malt was lower than that in dehulled buckwheat Anka. Monacolin K content in dehulled buckwheat Anka decreased with increasing length of sprout in fermented dehulled buckwheat malt, probably due to consumption of nutrients, such as polysaccharides as carbon sources, during sprouting for growth of *M. ruber*.

Key words: buckwheat, *Monascus*, rutin, monacolin K

서 론

메밀(*Fagopyrum esculentum* Moench)은 마디풀과에 속하는 일년생 초본식물로, 분류학상 곡류와 구별되지만 낱알의 성분조성이 곡류와 비슷하여 보통 잡곡으로 취급된다. 과거 식량이 부족할 때 구황(救荒)작물로 이용되었지만, 최근 들어 좋은 영양조성과 독특한 맛을 가지고 있어 건강기능성 별미식으로 인기가 높다. 식품용도 외에도 향약구급방(鄉藥救急方), 식요본초(食療本草), 동의보감(東醫寶鑑) 등의 고의서에서 치료용으로 사용된 예를 찾아볼 수 있고, 이러한 약효는 메밀에 함유된 tocopherols, phenolic acids, flavonoids를 포함한 여러 항산화물질에 기인하는 것으로 사료된다⁽¹⁾. 특히 항산화효과, 항당뇨활성, 혈압강화작용을 가지고 있는 rutin(querctin 3-rhamnosylglucoside)이라는 flavonol 배당체를 다량 함유하고 있는 것으로 보고되어 건강기능식품소재로 주목받고 있다⁽²⁻⁴⁾.

홍국균(*Monascus*속 곰팡이)은 중국과 대만을 중심으로 600여년 이상 전부터 발효식품의 제조뿐만 아니라 천연색소나 보존제로 사용되어 왔다. 또한 홍국균을 곡류에 배양시켜 건조시킨 홍국은 한방약으로도 이용되어, 다양한 약리효능이 중국의 고서 본초강목(本草綱目) 및 천공개물(天工開物)에 기재되어 있다. 최근에는 홍국균의 콜레스테롤 생합성 억제작용, 항암효과, 혈압강화효과 및 혈관이완효과 등의 다양한 기능성이 과학적으로 입증되고 있다^(5,6). 홍국의 약리효과 중, 순환기계와 관련된 성분으로는 1979년 Endo가 *Monascus ruber*로부터 cholesterol 생합성 저해물질 monacolin K의 존재를 확인하였고^(7,8), 이 물질과 유사한 구조를 갖는 다른 활성물질도 분리하였다⁽⁹⁻¹¹⁾. 이들 물질은 모두 독성이 극히 낮고 cholesterol 저하작용은 cholesterol 생합성 경로에서 cholesterol synthetase(HMG-CoA reductase)의 저해제로서의 작용에 의한 것으로 보고되었다. 현재 monacolin K를 비롯한 홍국의 뛰어난 약리효능을 새로운 건강기능식품 개발에 활용하려는 연구가 적극적으로 이루어지고 있고 홍국을 소재로 한 건강기능식품이 많이 상품화되고 있다.

본 연구에서는 메밀과 홍국균이 가지는 건강기능성을 동시에 보유한 새로운 건강기능식품을 제조하여 국민 건강에 기여하는 것을 목적으로 메밀과 홍국균을 재료로 한 발효식품을 제조하여 두 식품소재의 대표적 건강기능성분으로

*Corresponding author : Jong-Hoon Lee, Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Suwon 442-760, Korea

Tel: 82-31-249-9656

Fax: 82-31-253-1165

E-mail: jhl@kyonggi.ac.kr

주목받고 있는 rutin과 monacolin K의 함량변화를 검토해 보았다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에서 사용한 메밀은 강원도 봉평읍 농협협동조합에서 판매되고 있는 도정한 메밀을 구입하여 사용하였다. HPLC에 사용된 시약은 모두 HPLC 용을 사용하였고, 표준물질로 사용한 rutin 및 monacolin K(mevinolin)는 Sigma (USA)로부터 구입하였으며, 증류수는 탈이온 처리하여 사용하였다. 그 외 추출 및 조제용 시약은 일급을 사용하였다.

균주 및 배지

본 연구에 사용한 홍국균 *M. ruber* ATCC 20657 및 *M. ruber* KCCM 60167은 각각 American Type Culture Collection과 한국미생물보존센터에서 구입하였다. 균주의 배양과 보존에는 PDB(potato dextrose broth) 배지 및 PDA(potato dextrose agar) 배지를 사용하였다.

메밀의 발아

도정한 메밀을 22~23°C 물에서 18~20시간 침지한 다음, 물에서 건져내어 24~26°C에서 발아시켰고, 발아된 메밀은 영양분이 파괴되지 않도록 50°C에서 건조하여 발아를 정지시켰다.

Rutin의 정량 분석

50°C에서 12시간 이상 건조하여 수분이 제거된 시료를 Cyclone mill(Cyclotech, Sweden)로 1분간 분쇄하였고, 분쇄된 1g의 시료를 Ohara 등⁽¹²⁾의 방법을 수정하여 methanol 20 mL로 80°C에서 1시간 환류추출하였다. 추출액은 0.45 µm membrane filter로 여과하여 HPLC로 분석하였다. HPLC 분석은 Symmetry C18 column(5-µm pore size; 3.9×150 mm; Waters)을 사용하였고 이동상은 2.5% acetic acid, methanol, acetonitrile을 40:5:10의 체적비로 혼합하여 사용하였다. 이동상의 흐름은 0.8 mL/min의 속도로 하였고 시료는 10 µL 투입하였다. Peak는 UV detector를 사용하여 350 nm에서 검출하였다⁽¹²⁾. Rutin의 정량에는 표준물질로 작성한 정량곡선을 이용하였다.

홍국 제조

홍국균 *M. ruber* ATCC 20657 및 *M. ruber* KCCM 60167을 각각 PDA 배지, 25°C에서 7일간 사면배양하여 포자를 충분히 생성시키고, 살균된 핀셋으로 포자를 취하여 PDB 배지에 접종한 다음, 250 mL 삼각플라스크에서 7일간 진탕 배양하여 균사체를 형성시켰다. 균사체는 무균 상태에서 마쇄하고 적당량의 식염수에 현탁하여 홍국 제조의 종균으로 사용하였다. 홍국은 수세한 20g의 백미, 도정한 메밀, 발아시킨 메밀을 acetic acid를 첨가하여 약 pH 4로 조정된 물에서 3시간 불린 후, 물기를 제거하고 250 mL 삼각플라스크에 넣어 121°C에서 15분 동안 살균한 다음, 종균을 접종하여 제조하였다. 종균 균사체는 10% (v/w)되게 접종하였고 배양은 25°C에서 10일간 호기적으로 진행하였다.

Monacolin K의 정량 분석

50°C에서 12시간 이상 건조하여 수분이 제거된 홍국 시료를 메밀의 분쇄와 같은 조건으로 분쇄한 다음, 1g의 시료를 75% ethanol 10 mL에 용해시켜 2시간 동안 추출하고 0.45 µm membrane filter로 여과하여 HPLC로 분석하였다. HPLC 분석에는 Symmetry C18 column(5-µm pore size; 3.9×150 mm; Waters)을 사용하였고 이동상은 물, methanol, phosphoric acid를 24.9:75:0.1의 체적비로 혼합하여 사용하였다. 이동상의 흐름은 1.0 mL/min의 속도로 하였고 시료는 10 mL 투입하였다. Peak는 UV detector를 사용하여 237 nm에서 검출하였다⁽⁶⁾. Monacolin K의 정량에는 표준물질로 작성한 정량곡선을 이용하였다.

결 과

메밀의 발아에 따른 rutin 함량의 변화

도정메밀을 발아시켜 발아된 싹의 크기에 따른 rutin 함량의 변화는 Table 1과 같다. 도정메밀에서 검출된 rutin 함량(10.61 mg/100 g)은 기존에 보고된 국내산 메밀의 rutin 함량보다는 약간 떨어지기는 하지만 가장 많은 rutin을 포함하고 있는 것으로 알려진 껍질부분이 제거된 메밀을 사용한 점을 고려한다면 기존의 보고와 큰 차이는 없다⁽¹³⁻¹⁵⁾. Rutin 함량은 발아초기에 약간 감소하였다가 발아가 진행됨에 따라 증가하는 것으로 나타났다. HPLC 분석 결과, rutin peak는 2.60분에서 검출되었다(Fig. 1).

홍국에서의 rutin 함량

도정메밀 및 발아시킨 도정메밀에 홍국균을 접종하여 만든 홍국의 rutin 함량은 크게 변화하지 않았지만 홍국균을 접종하기 전보다는 조금씩 낮게 나타났다(Table 2). 이러한 현상은 홍국균의 증식에 따라 시료 단위 무게 당 메밀이 차지하는 비율이 조금 감소한 결과로 홍국균의 증식이 rutin의 함량에는 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

홍국에서의 monacolin K 함량

홍국 시료로부터의 monacolin K peak는 표준품과 일치하는 7.23분에서 검출되었다(Fig. 1). 도정메밀과 발아시킨 도정메밀로 제조한 홍국 시료의 monacolin K 함량은 발아시키지 않은 도정메밀에서 가장 높게 나타났으며, 메밀 싹 길이의 증가에 따라 monacolin K 함량은 점차 감소하는 것으로 나타났다(Table 3). 이러한 메밀의 발아에 따른 monacolin K

Table 1. Rutin content in the dehulled buckwheat at different germination (n=3)

Sprout size (mm)	Rutin content (mg/100 g) ± SD
0 ¹⁾	10.61 ± 0.412
1	9.93 ± 0.649
3	11.84 ± 0.354
7	17.55 ± 0.375
10	24.56 ± 0.501
12	27.55 ± 0.626

¹⁾Ungerminated dehulled buckwheat is described as sprout size 0 mm.

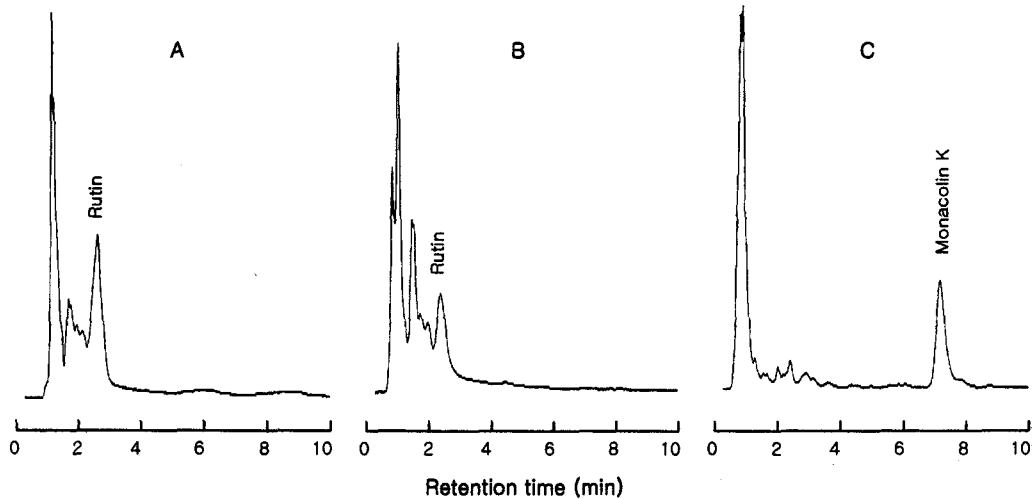


Fig. 1. HPLC profiles for the detection of rutin and monacolin K.

A, the methanol extract from dehulled buckwheat; B, the methanol extract from dehulled buckwheat after the growth of *M. ruber*; C, the ethanol extract from dehulled buckwheat after the growth of *M. ruber*.

Table 2. Rutin content in the dehulled buckwheat after the growth of *M. ruber* ATCC 20657 at different germination (n=3)

Germination size (mm)	Rutin content (mg/100 g) ± SD
0 ¹⁾	10.23 ± 0.2928
1	9.46 ± 0.2815
3	10.56 ± 0.7544
7	15.30 ± 0.5093
10	23.32 ± 0.9464
12	25.39 ± 0.5151

¹⁾Ungerminated dehulled buckwheat is described as sprout size 0 mm.

함량 감소는 메밀의 발아에 따라 소비된 탄소원 및 영양분의 감소가 홍국균의 증식을 감소시킨 결과로 추정된다. 메밀에서 성장하는 홍국균의 증식을 실험으로 측정하는 점에 어려움이 있어 도정메밀과 발아시킨 도정메밀에서의 홍국균의 생장을 비교하지 못하였지만, 홍국균의 생장에 따른 홍국의 색 변화가 도정메밀에서 가장 먼저 관찰되었고 메밀의 싹 길이에 따라 늦어진다는 점이 생장과 관계 있는 한 근거이다. 따라서 메밀에 홍국균을 증식시키는 경우, monacolin K의 생산량은 홍국균의 생장과 비례 관계에 있는 것으로 추정된다. 한편 백미에 홍국균을 증식시킨 홍국에서는 ATCC 20657 균주를 사용한 경우 0.0236 mg/g, KCCM 60167 균주에서는 0.0272 mg/g의 monacolin K가 생산되었다. 따라서 일반적으로 홍국 제조에 사용되는 백미보다는 메밀이 monacolin K의 생산에 더 우수한 재료로 사료된다.

고 찰

본 실험에서 사용한 ATCC 20657 균주는 Endo 등이 사용한 *M. ruber* No. 1005 균주와 동일한 균주이다^(7,8). ATCC 20657 균주는 도정메밀에서 0.3510 mg/g의 monacolin K를 생산한 것에 반해 KCCM 60167 균주는 더 많은 양인 0.4138 mg/g을 생산하였다. Monacolin K의 생성은 균주의 종류에

Table 3. Monacolin K content in the dehulled buckwheat after the growth of *M. ruber* at different germination (n=3)

Strain number	Sprout size (mm)	Monacolin K content (mg/g) ± SD
ATCC 20657	0 ¹⁾	0.3510 ± 0.0084
	1	0.2835 ± 0.0046
	3	0.0489 ± 0.0017
	7	0.0156 ± 0.0006
	10	0.0018 ± 0.0004
	12	0.0017 ± 0.0002
KCCM 60167	0 ¹⁾	0.4138 ± 0.0068
	1	0.3922 ± 0.0046
	3	0.3793 ± 0.0032
	7	0.2377 ± 0.0016
	10	0.1572 ± 0.0021
	12	0.1176 ± 0.0018

¹⁾Ungerminated dehulled buckwheat is described as sprout size 0 mm.

따라 차이가 있는 것으로 추정된다.

백미와 도정한 메밀에서의 monacolin K의 생산을 비교한 결과, 두균주 모두 메밀에서 백미보다 15배 정도의 많은 monacolin K 생산을 하는 것으로 나타났다(Table 3). 이러한 결과는 메밀이 백미에 비해서 단위 무게당 표면적이 넓어 홍국균의 생육에 도움을 준 것으로 사료되고, 메밀에 홍국의 생장을 촉진하는 성분이 함유되어 있을 가능성도 있다.

발아메밀을 이용한 홍국발효식품의 최적 생산조건 검토를 위해, 발아에 따른 rutin과 monacolin K 함량의 변화를 비교한 결과, 메밀의 발아에 따라 rutin의 함량은 증가하지만 monacolin K의 함량이 감소하는 경향을 보이고 있어 어떤 한 화합물에 초점을 맞추지 않는다면 혈압에 도움을 주는 두 가지 성분 모두의 증가 효과는 기대하기 힘들다. 그러나 쌀이나 보리에 비해 메밀은 rutin을 함유하고 있을 뿐 아니라 단위 무게당 표면적이 넓어 기존에 판매되고 있는 홍국쌀이나 홍국보리에 비해 많은 monacolin K를 함유하고 있는 건

강기능식품 제조에 기여할 수 있는 식품재료로 사료된다.

요 약

좋은 아미노산 조성의 단백질과 높은 식이섬유 함량을 비롯한 좋은 영양조성을 가지고 있어 건강기능식품의 재료로 주목을 받고 있는 메밀에는 항산화효과, 혈압강화작용 등에 효과가 있는 것으로 알려진 rutin이라는 flavonol 배당체가 많이 함유되어 있다. 홍국의 제조에 쓰이는 *Monascus*속 곰팡이는 cholesterol 생합성 저해효과를 나타내는 monacolin K라는 대사산물을 생산하는 것으로 보고되었다. 본 연구에서는 두가지 성분을 모두 함유한 건강기능식품의 제조를 위해 도정메밀과 발아시킨 도정메밀을 이용한 홍국을 제조하여 두가지 성분의 변화를 검토하였다. 도정메밀의 발아에 따른 rutin 함량은 초기에 약간 감소하였으나 싹의 길이에 비례하여 증가했고, 홍국균의 증식이 메밀에 함유된 rutin 함량에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 발아시킨 도정메밀로 제조한 홍국의 monacolin K 함량은 발아시키지 않은 도정메밀에서 보다 낮게 나타났으며, 메밀 싹 길이의 증가에 따라 monacolin K 함량은 점차 감소하는 것으로 나타났다. 발아시킨 메밀을 이용한 홍국의 제조에서는 발아에서 오는 탄소원 및 영양분 감소가 홍국균의 증식에 영향을 주어 monacolin K의 함량을 떨어뜨리는 것으로 추정된다.

감사의 글

본 연구는 (주)머슈빌의 연구비 지원으로 수행되었습니다.

문 헌

1. Dietrych-Szostak, D. and Oleszek, W. Effect of processing on the flavonoid content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) grain. J. Agric. Food Chem. 47: 4384-4387 (1999)
2. Kreft, S., Knapp, M. and Kreft, I. Extraction of rutin from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seeds and determination by capillary electrophoresis. J. Agric. Food Chem. 47: 4649-4652

- (1999)
3. Lee, J.S., Son, H.S., Maeng, Y.S., Chang, Y.K. and Ju, J.S. Effects of buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean J. Nutr. 27: 819-827 (1994)
4. Lee, J.S., Lee, M.H., Chang, Y.K., Ju, J.S. and Son, H.S. Effects of buckwheat diet on serum glucose and lipid metabolism in NIDDM. Korean J. Nutr. 28: 809-817 (1995)
5. Kim, E.-Y. and Rhyu, M.-R. The chemical properties of *doenjang* prepared by *Monascus koji*. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 1114-1121 (2000)
6. Ma, J., Li, Y., Ye, Q., Li, J., Hua, Y., Ju, D., Zhang, D., Cooper, R. and Chang, M. Constituents of red yeast rice, a traditional Chinese food and medicine. J. Agric. Food Chem. 48: 5220-5225 (2000)
7. Endo, A. Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. J. Antibiotics 32: 852-854 (1979)
8. Endo, A. Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent that specifically inhibits 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. J. Antibiotics 33: 334-336 (1980)
9. Endo, A., Hasumi, K. and Negishi, S. Monacolins J and L, new inhibitors of cholesterol biosynthesis produced by *Monascus ruber*. J. Antibiotics 38: 420-422 (1985)
10. Endo, A., Komagata, D. and Shimada, H. Monacolin M, a new inhibitor of cholesterol biosynthesis. J. Antibiotics 39: 1670-1673 (1985)
11. Nakamura, T., Komagata, D., Murakawa, S., Sakai, K. and Endo, A. Isolation and biosynthesis of 3 α -hydroxy-3,5-dihydromonacolin L. J. Antibiotics 43: 1597-1600 (1990)
12. Ohara, T., Ohinata, H., Muramatsu, N. and Matsuhashi, T. Determination of rutin in buckwheat food by high performance chromatography. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 36: 114-120 (1989)
13. Maeng, Y.-S., Park, H.-K. and Kwon, T.-B. Analysis of rutin contents in buckwheat and buckwheat foods. Korean J. Food Sci. Technol. 22: 732-737 (1990)
14. Lee, M.S. and Sohn, K.H. Content comparison on dietary fiber and rutin of Korean buckwheat according to growing district and classification. J. Korean Soc. Food Sci. 10: 249-253 (1994)
15. Kim, J.S., Park, Y.J., Yang, M.H. and Shim, J.W. Variation of rutin content in seed and plant of buckwheat germplasms. Korean J. Breed. 26: 384-388 (1994)

(2003년 1월 20일 접수; 2003년 4월 7일 채택)