

Monascus purpureus MK2의 수용성 홍국 천연색소를 생산하기 위한 최적 배양조건

전춘표 · 이중복 · 최성연 · 이오석¹ · 최충식² · 권기석*

안동대학교 생명자원과학부, ¹경북대학교 농업과학기술연구소, ²(주) 한스바이오

Optimal Conditions for Production of Water-soluble Monascus Natural Pigments by *Monascus purpureus* MK2. Jeon, Chun-Pyo, Jung-Bok Lee, Sung-Yeon Choi, Oh-Seuk Lee¹, Chung-Sig Choi², and Gi-Seok Kwon*. ¹School of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Korea, ²Institute of Agricultural Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea, ³HansBio Co., BI center303, Andong National University, Andong 760-749, Korea – The optimum cultural conditions for production of Monascus natural pigment by *Monascus purpureus* MK2 were investigated in submerged culture. This strain was showed the maximum production of monascus natural pigment in the optimal medium of 3.0% wheat flour, 0.15% NaNO₃, 0.2% K₂HPO₄ and 0.05% MgSO₄·7H₂O, at pH 7.0. The maximum production of this pigment was achieved at 30°C for 7 day cultivation under 130 rpm shaking. At optimal condition, *Monascus purpureus* MK2 produced 29.10, 36.84 and 48.92 units of yellow, orange and red pigment, respectively.

Key words: *Monascus purpureus*, natural pigment, optimal conditions

색소는 식품, 의약품, 화장품 그리고 의류염색 등 매우 다양한 용도로 이용되어져 왔으며, 그 중에서도 특히 식품에 있어서의 색소는 관능성을 높여 제품의 가치를 높이고, 소비자의 구매 충동과 식욕을 돋우어 주는 중요한 역할을 한다[3, 6, 9]. 식용으로 사용되어지는 색소는 일반적으로 화학적 합성색소와 천연색소로 구분되어 지며, 가격이 저렴하고 착색이나 염색하기 쉬운 것 등의 장점으로 인하여 타르계 인공합성 색소가 오늘날까지 각종 식품에 성공적으로 적용되어 왔다[24]. 그러나 1960년대 타르계 색소에서 발암물질이 검출된 후 최근에 이르기까지 식품에 사용되고 있는 인공합성 색소의 안전성에 대한 여러 가지 문제점이 대두되면서 이에 대한 각종 규제가 강화되고 있으며 현재 사회에서 많은 문제로 대두되고 있다[25]. 따라서 천연색소에 대한 소비자의 요구가 증대됨에 따라 천연색소의 사용량이 증가하고 있는 실정이다[10]. 이러한 천연색소의 공급원으로는 특정 식물의 꽃, 잎, 뿌리 및 열매로부터 얻는 식물성 천연색소와 미생물이 생산하는 미생물천연색소가 그 주류를 이루고 있다. 특히 미생물 유래의 천연색소는 그 배양기간이 타 천연색소 공급원보다 짧고 비교적 저비용으로 생산이 가능하다는 점에서 많은 장점을 가지고 있다[19]. 미생물 색소의 공급원으로 역사상 가장 오래전부터 주목받아 온

것은 홍주, 육류가공, 홍두부, 기타 음식물의 착색에 이용되는 홍국(Ang-khak)이 있다[11]. 홍국색소를 생산하는 홍국균의 분류에 대해서는 통상적인 분류학상으로 *Monascus*속의 홍국균은 분류학상 *Ascomycotina* 강, *Plectomycetes* 아강, *Plectrascales* 목, *Hemiascomycetaceae* 과(반자낭균과), *Aspergillaceae* 과, *Monascaceae* 속에 속하며, 자웅동체(hemothallic)이고, 무성생식기간에는 분생포자를 형성하고 유성생식기간에는 폐자기를 만들며, 격벽을 가지고 있다[1, 27]. 이들 색소에 관한 연구는 1895년에 Went[22, 23]가 처음으로 홍국에서 *Monascus purpureus* 곰팡이를 분리한 후, 1960년경에 Fielding이 이 균체로부터 적색 및 황색색소를 결정화하여 monascorubin과 monascin의 정확한 구조와 화학적 성질이 밝혀지게 되었으며, 홍국의 천연색소는 황색색소 성분인 monascin과 ankaflavin이 함유되어 있고, 오렌지 색소인 rubropunctatin과 monascorubrin 및 적색색소인 rubropunctamine과 monascorubramine이 함께 존재하는 것으로 알려져 있으며[12], 홍국색소에 대한 국내의 연구는 1970년대 말부터 액체배양에 의한 홍국색소의 대량생산에 관한 연구가 시작된 것으로 보인다[13]. 하지만 홍국색소와 관련한 대부분의 연구들이 알코올 용해성 색소생산에 연구의 주안점이 맞추어져 있을 뿐만 아니라 수용성 홍국 천연색소에 관련된 연구에서는 그 효율성이 좋지 못한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 수용성 홍국 천연색소 생성능이 우수한 *Monascus purpureus* MK2를 이용하여 세포외부로 분

*Corresponding author

Tel: 82-54-820-5909, Fax: 82-54-820-6252

E-mail: gskwon@andong.ac.kr

비되는 수용성 홍국 천연색소를 식품에 이용성을 위한 목적으로 색소 생성에 관여하는 배지의 조성 및 배양조건에 대하여 최적 조건을 설정하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

사용기기 및 시약

본 실험에 사용된 시약인 PDA(Potato dextrose agar, Difco), 밀가루(중력 1등급, CJ주식회사) 및 NaNO_3 , KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 등은 Junsei Chemical Co.(Japan) 제품을 사용하였다.

사용 균주

본 실험에 사용한 균주는 한국식품연구원에서 분양받은 *Monascus purpureus* KFRI 1134를 UV 조사로 돌연변이를 유도한 다음 wild strain보다 색소 생산능이 우수한 균주를 선발하여 *Monascus purpureus* MK2라 명명하고 이를 본 실험에 사용하였다.

균주의 보존

변이균주인 *Monascus purpureus* MK2을 장기간 보관할 경우에는 활성유지 및 보존을 위해서 PDB 배지에서 5일간 배양한 균주를 25% glycerol(V/V)용액을 첨가하여 -20°C 에 냉동 보관하였다. 또한 단기보존을 위해 PDA배지에 접종하여 30°C 에서 5일간 배양한 후 4°C 에 보관하면서 사용하였으며, 균의 생리적 활성을 유지하기 위하여 2주 간격으로 계대 배양하였다.

균주의 배양

색소의 생산을 위해 기본배지는 3% rice flour, 0.15% NaNO_3 , 0.25% KH_2PO_4 및 0.1% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 로 구성된 Lin's 배지[20]를 사용하였으며, 종 배양은 포자 현탁액 1 ml을 접종하여 30°C 에서 130 rpm의 속도로 5일간 진탕 배양하였고, 본 배양은 종 배양과 동일한 Lin's 배지에 종 배양액을 2%(v/v)로 첨가한 후 초기 pH 5.5, 배양온도 30°C 에서 130 rpm으로 5일간 진탕 배양하였다.

색소의 정량

세포외 분비형의 수용성 홍국 천연색소의 정량은 각 배양 조건에서 배양한 배양액을 12,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상층액을 증류수로 적정배수까지 희석하여 UV-VIS spectrophotometer(Hewlett Packard 8453, Germany)를 사용하여 황색색소는 400 nm에서 오렌지 색소는 470 nm에서 적색색소는 500 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 흡광도(OD) 1.0을 1 unit로 나타내었다. 또한, 적색색소와 황색색소의 생성량을 500 nm/400 nm의 비율로서 상대적으로 비교하였고, 1.0을 기준으로 하여 그 이상은 적색색소의 생성

비율이 높은 것으로 그 이하는 황색색소의 생성 비율이 높은 것으로 나타내었다.

결과 및 고찰

탄소원에 의한 영향

탄소원은 미생물의 증식에 있어 그 구성성분뿐만 아니라 증식에 필요한 에너지원으로 사용되는데, 미생물이 생성하는 2차 대사산물은 사용되어지는 탄소원의 종류 및 함량 그리고 투여 방법에 따라서 productivity가 달라진다. 또한, 균 종 혹은 균주에 따라 그 이용성에 있어서 많은 차이가 있다. *Monascus* 속의 균주도 탄소원의 종류에 따라 홍국색소의 생성능에 큰 차이를 나타냄에 따라 변이주인 *Monascus purpureus* MK2의 색소생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 0.15% NaNO_3 , 0.25% KH_2PO_4 , 0.1% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 로 구성된 기본 배지에 탄소원으로 glucose, sucrose, maltose, rice flour, barley flour, soybean flour, wheat flour 및 buckwheat flour를 각각 3%(w/v)되게 첨가하여 탄소원의 종류별 색소의 생성능을 조사하였다(Table 1).

Table 1과 같이, *Monascus purpureus* MK2는 탄소원으로 wheat flour를 사용하였을 때 yellow, orange 및 red 색소를 각각 11.78, 14.37, 14.53 unit의 수용성 홍국 천연색소를 생산하였으며, buckwheat flour, barley flour, rice flour도 효과적인 탄소원인 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 Kim 등[11]과 Park 등[26]이 각각 *Monascus* sp. 및 *Monascus purpureus*를 이용한 연구에서 4% rice flour가 최적 탄소원이라고 보고한 것과는 다른 결과를 나타내었으며, Ethanol을 탄소원으로 사용한 경우 홍국색소의 생산량이 증가 하였다는 Yoshimura 등[31]과 Kim 등[15]의 보고와는 일치하지 않았다. 한편 배지에 첨가하는 탄소원의 종류에 따라 생성되는 수용성 홍국 천연색소의 구성비가 현저히 달랐는데, 탄소원으로 maltose 및 glucose를 첨가하였을 때 적색색소는 각각 1.64, 2.91로 적었으나, 황색색소의 생성량은 각각 8.27,

Table 1. Effect of various carbon sources on the production of the water-soluble monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2 in submerged culture

Carbon source (3%)	Production of Monascus Pigment (unit)			Red/Yellow
	Yellow	Orange	Red	
Sucrose	0.69	0.57	0.39	0.57
Maltose	8.27	2.68	1.64	0.20
Glucose	14.28	4.74	2.91	0.20
Rice flour	10.52	7.58	7.64	0.73
Barley flour	7.97	7.24	7.87	0.99
Soybean flour	2.69	1.87	1.72	0.64
Wheat flour	11.78	14.37	14.53	1.23
Buckwheat flour	10.37	11.28	13.68	1.32

14.28 unit로 비교적 높게 생산하였다. 이러한 결과는 maltose, glucose 등 비교적 분자량이 작은 탄소원은 황색색소의 생성에 유용하였다는 Kim 등[13]과 Chang 등[2]의 보고와 일치하였으며, wheat flour, buckwheat flour, barley flour, rice flour 등 고분자 탄소원은 적색색소 생산에 효율적인 탄소원인 것으로 생각되며 이처럼 주로 전분질이 탄소원으로 이용되었을 때 색소의 생성이 높다는 것을 알 수 있었다. 이것은 Tsai 등[30]과 Lizuka & Mineki[21]는 전분 이외의 다양한 영양물질과 *Monascus* 속이 생산하는 여러 종류의 효소작용에 의해 색소의 생성이 높은 것으로 보고 하였다.

Wheat flour 농도에 의한 영향

최적 탄소원으로 조사된 wheat flour를 사용하여 첨가농도에 따른 수용성 홍국 천연색소 생성능을 각각 1~5%(w/v) 까지 첨가하여 조사하였다(Table 2). 그 결과 wheat flour의 농도가 3%일 때 yellow, orange 및 red 색소의 생산이 각각 14.97, 14.37, 15.71 unit가 생산됨으로서 가장 높은 색소의 생성능을 보였다. 하지만 4% 이상의 농도에서는 오히려 색소의 생산능이 급격히 감소함을 볼 수 있었다. 이러한 결과는 rice flour를 첨가하였을 때보다 홍국색소의 생산능이 약 2배 정도 증가하였으며, 최적 탄소원으로 3% wheat flour를 사용하였을 때 홍국색소의 생성능이 가장 높았다는 Jeon 등[5]의 보고와 일치하였다. 또한, Park 등[26]이 홍국색소 생산성에 미치는 rice flour와 wheat flour의 영향을 조사한 결과에서 rice flour를 첨가하였을 때가 wheat flour를 첨가하였을 때 보다 약 4배정도 더 높은 홍국색소의 생성능을 보인다는 사실과는 상당한 차이를 나타내었다. 이러한 차이점은 연구에 사용된 균주의 특성 차이에 기인한 것으로 추정된다.

질소원에 의한 영향

질소원은 홍국색소의 생산에 있어서 가장 중요한 인자중의 하나로 알려져 있으며, 홍국균이 무성생식보다 주로 유성생식에 의해 성장할 때 많이 생산된다고 한다[29].

Table 2. Effect of wheat flour concentrations on the production of the water-soluble monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2 in submerged culture

Wheat flour concentration (%)	Production of Monascus Pigment (unit)			Red/Yellow
	Yellow	Orange	Red	
0.0	0.41	0.38	0.20	0.49
1.0	3.79	3.15	3.35	0.88
2.0	6.91	6.90	7.28	1.05
3.0	14.97	14.37	15.71	1.05
4.0	6.77	8.35	8.48	1.25
5.0	3.77	5.35	5.33	1.41

Monascus purpureus MK2의 수용성 홍국 천연색소의 생산에 미치는 질소원의 종류와 농도의 영향을 조사하기 위하여 3.0% wheat flour, 0.25% KH₂PO₄, 0.1% MgSO₄·7H₂O로 구성된 기본 배지에 유기태 질소원으로 malt extract, yeast extract, peptone과 무기태 질소원으로 NaNO₃, KNO₃, NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄을 각각 0.15%(w/v)되게 첨가하여 30°C에서 130 rpm으로 진탕 배양하여 수용성 홍국 천연색소의 생성능을 조사하였다(Table 3).

그 결과, Table 3과 같이, 무기태 질소원인 NaNO₃를 사용하였을 때 yellow, orange 및 red 색소의 생산이 15.16, 15.81, 17.72 unit로 가장 높게 나타났으며, KNO₃와 yeast extract도 비교적 높은 색소 생성능을 나타내었다. 이러한 결과는 NH₄NO₃ 0.15%를 첨가했을 때가 색소 생성이 가장 높았다는 Kim 등[14]의 결과와는 달랐으며, Seo 등[28]의 결과와는 비슷한 경향을 나타내었다. 이것은 유기질소원은 균체의 성장은 높일 수 있으나 색소의 생성에 있어서는 무기질소원보다 효과가 떨어지는 것으로 보고[29]된 것과 일치하였다.

NaNO₃ 농도에 의한 영향

최적 질소원으로 결정된 NaNO₃ 농도에 따른 수용성 홍국 천연색소의 생성능을 조사하기 위하여 0.05~0.25%까지 0.05% 단위로 NaNO₃를 첨가하여 배양하였다. 그 결과, Table 4와 같이 NaNO₃ 첨가 농도가 0.1% 이상부터 색소의 생산능이 급격히 증가하여 0.15%에서 yellow, orange 및 red 색소의 생산이 17.17, 17.63, 19.29로 가장 높은 색소 생성능을 나타내었고, 0.2% 이상의 농도에서는 색소의 생성능이 서서히 감소함을 알 수 있었다. 이러한 결과는 무기질소원 중 NaNO₃를 0.15% 첨가 했을 때 가장 높은 색소의 생성력을 보였다는 Jeon 등[5]과 Kang & Jung[8]의 결과와 일치 하였으며, 0.25% NaNO₃에서 가장 높은 색소의 생성을 보였다는 Han[4]의 결과와는 다소 차이를 보였다.

인산염에 의한 영향

Monascus purpureus MK2의 수용성 홍국 천연색소 생성

Table 3. Effect of various nitrogen sources on the production of the water-soluble monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2 in submerged culture

Nitrogen source (0.15%)	Production of Monascus Pigment (unit)			
	Yellow	Orange	Red	Red/Yellow
Malt extract	6.22	3.22	2.94	0.47
Yeast extract	9.07	7.78	8.63	0.95
Peptone	4.59	3.24	3.43	0.75
NaNO ₃	15.16	15.81	17.72	1.17
KNO ₃	9.64	9.29	10.76	1.12
NH ₄ Cl	4.43	2.56	2.14	0.48
(NH ₄) ₂ SO ₄	3.15	1.57	1.25	0.40

Table 4. Effect of NaNO₃ concentrations on the production of the water-soluble monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2 in submerged culture

NaNO ₃ concentration (%)	Production of Monascus Pigment (unit)			Red/Yellow
	Yellow	Orange	Red	
0.00	5.68	2.18	1.97	0.35
0.05	5.76	3.50	3.62	0.63
0.10	6.58	5.94	6.78	1.03
0.15	17.17	17.63	19.29	1.12
0.20	7.88	8.10	10.02	1.27
0.25	7.44	7.90	9.80	1.32

에 미치는 인산염의 영향을 조사하기 위하여 3.0% wheat flour, 0.15% NaNO₃, 0.1% MgSO₄·7H₂O로 구성된 기본 배지에 NH₄H₂PO₄, K₂HPO₄, KH₂PO₄, NaH₂PO₄, Na₂HPO₄·12H₂O의 각종 인산염을 0.25%(w/v)되게 첨가하여 배양온도 30°C에서 130 rpm으로 진탕 배양하였다. 그 결과, Table 5와 같이 K₂HPO₄를 사용하였을 때 수용성 홍국색소인 yellow, orange 및 red 색소의 생산이 17.48, 18.28, 23.03 unit로 가장 높게 나타났으며, 그 다음으로는 Na₂HPO₄·12H₂O가 색소 생성능이 높았다. 이러한 결과는 Jeon 등[5]과 Seo 등[28]이 각각 *Monascus purpureus* 및 *Monascus ruber*를 이용한 연구에서 홍국색소 생성능에 Na₂HPO₄·12H₂O가 효율적이라는 연구결과와 유사하였으며, NaH₂PO₄·3H₂O 및 KH₂PO₄를 첨가하였을 때 비교적 높은 색소 생성능을 나타내었다.

K₂HPO₄ 농도에 의한 영향

수용성 홍국 천연색소의 생성능에 K₂HPO₄가 가장 좋은 결과를 나타내었으므로 최적농도를 결정하기 위하여 0.15~0.35%(w/v)까지 0.05% 단위로 구간을 설정하여 조사하였다. 그 결과 Table 6과 같이 K₂HPO₄ 농도가 0.2%일 때 yellow, orange 및 red 색소의 생산이 18.58, 18.78, 23.38 unit로 가장 높은 색소의 생성능을 나타내었으며, 0.25% 이상의 농도에서는 수용성 홍국색소의 생성능이 저하됨을 알 수 있었다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 potassium 이온

Table 5. Effect of various phosphate sources on the production of the water-soluble monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2 in submerged culture

Phosphate source (0.25%)	Production of Monascus Pigment (unit)			Red/Yellow
	Yellow	Orange	Red	
NH ₄ H ₂ PO ₄	8.91	5.65	5.22	0.59
K ₂ HPO ₄	17.48	18.28	23.03	1.32
KH ₂ PO ₄	10.71	10.60	12.11	1.13
NaH ₂ PO ₄ ·3H ₂ O	13.43	12.56	13.78	1.03
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	17.09	18.18	21.29	1.25

또는 phosphate 이온이 촉진 및 저해 등의 방법으로 홍국색소의 생성에 관여하고, 홍국균의 생육에는 일정 농도만이 필요하며 그 이상의 농도에서는 오히려 색소의 생성을 저하시키는 것으로 생각된다.

MgSO₄·7H₂O 농도에 의한 영향

미생물 균체의 세포벽 및 세포막의 구성성분 활성인자로 작용하는 MgSO₄·7H₂O의 농도에 따른 *Monascus purpureus* MK2의 수용성 홍국 천연색소의 생성에 미치는 영향을 조사하기 위해 3.0% wheat flour, 0.15% NaNO₃, 0.2% K₂HPO₄의 기본 배지에 MgSO₄·7H₂O를 0.05~0.2%(w/v)까지 첨가하여 색소 생성능을 조사하였다. 그 결과, Table 7과 같이, MgSO₄·7H₂O의 농도가 0.05%일 때 yellow, orange 및 red 색소의 생산이 각각 17.79, 20.24, 24.77 unit로 가장 높은 생성능을 나타내었다. 이러한 결과는 무기염류로 MgSO₄·7H₂O를 0.05% 첨가하였을 때 색소의 생성능이 가장 높았다는 Lee[18]의 보고와 일치하였으며, MgSO₄·7H₂O의 농도가 0.25%일 때 색소의 생성능이 높았다는 Jeon 등[5]의 보고와는 첨가 농도에서 다소 차이가 있었다. 한편, MnO₂가 첨가된 것이 가장 높은 색소의 생성능을 보였다는 Kim 등[17]의 보고와는 다른 결과를 나타내었다.

온도에 의한 영향

Monascus purpureus MK2의 수용성 홍국 천연색소 생산

Table 6. Effect of K₂HPO₄ concentrations on the production of the water-soluble monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2 in submerged culture

K ₂ HPO ₄ concentration (%)	Production of Monascus Pigment (unit)			Red/Yellow
	Yellow	Orange	Red	
0.00	10.58	10.42	11.64	1.10
0.15	10.70	11.28	14.36	1.34
0.20	18.58	18.78	23.38	1.26
0.25	17.35	16.67	20.40	1.18
0.30	16.46	15.74	18.99	1.15
0.35	11.47	7.65	11.46	1.00

Table 7. Effect of MgSO₄·7H₂O concentrations on the production of the water soluble monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2 in submerged culture

MgSO ₄ ·7H ₂ O concentration (%)	Production of Monascus Pigment (unit)			Red/Yellow
	Yellow	Orange	Red	
0.00	9.80	8.92	9.40	0.96
0.05	17.79	20.24	24.77	1.39
0.10	15.47	14.04	16.03	1.04
0.15	13.89	12.62	14.69	1.06
0.20	12.16	12.56	13.88	1.14

에 미치는 배양온도의 영향을 조사하기 위해 상기 실험에서 얻어진 3.0% wheat flour, 0.15% NaNO₃, 0.2% K₂HPO₄, 0.05% MgSO₄·7H₂O로 구성된 최적배지에 접종하여 20, 25, 30, 35 및 40°C에서 각각 배양하여 색소 생성능을 조사하였다. 그 결과, Fig. 1과 같이 *Monascus purpureus* MK2는 30°C의 배양온도에서 yellow, orange 및 red 색소의 생산이 18.29, 20.34, 25.83 unit로 가장 높은 생성능을 나타내었다. 배양온도를 35°C 이상으로 설정하였을 경우 색소의 생산능이 급격하게 저하되는 현상을 관찰할 수 있었다. 이처럼 배양온도 35°C 이상에서 색소의 생산이 급격히 감소한 것은 균체의 세포막 파괴 등으로 인한 결과로 생각되며, 이러한 결과는 배양온도를 각각 26~36°C로 조절하여 배양한 결과 색소 생성력은 30~32°C에서 가장 우수하였다는 Kim 등[16]의 결과와 Juzlova 등[7]의 액체배양에서 *Monascus sp.* 균주들의 배양온도 범위가 25~37°C이며 그 중 가장 적합한 온도가 30°C임을 밝힌 결과와 일치하였고, 색소 생산을 위한 최적온도에 대한 조사에서 30°C에서 가장 높은 색소 생성력을 보였다는 Jeon 등[5]과 Lee[18]의 결과와 일치하였다.

초기 pH의 영향

배지의 초기 pH에 따른 *Monascus purpureus* MK2의 수용성 홍국 천연색소 생성능을 조사하기 위하여 3.0% wheat flour, 0.15% NaNO₃, 0.2% K₂HPO₄, 0.05% MgSO₄·7H₂O를 기본 배지로 하고, 초기 pH를 5.0~8.0으로 0.5 단위로 조절하여 5일간 30°C, 130 rpm으로 진탕 배양하였다. 그 결과, 초기 pH를 7.0로 하였을 때 yellow, orange 및 red 색소가 30.13, 37.15, 48.01로서 가장 높은 색소의 생성능을 나타내었다(Fig. 2). 초기 pH를 7.5 이상으로 하였을 경우에는 색소의 생산능이 현저히 저하됨을 알 수 있었다. 이러한 결과는 Yoshimura 등[31]이 보고한 최적 pH와 Jeon 등[5],

Lin[20], Su[27]가 색소 생산의 최적 pH가 6.0이라는 보고와 유사 하였으나, 초기 pH 4.5에서 최대 색소 생성력을 보였다는 Chang 등[2]의 결과와는 달랐다.

배양 시간의 영향

Monascus purpureus MK2의 배양시간에 따른 수용성 홍국 천연색소 생성능을 조사하기 위하여 최적 배지와 최적 배양조건하에서 배양하면서 색소의 생성능을 조사한 결과, Fig. 3과 같이 배양 2일까지는 색소의 생성이 거의 이루어지지 않았으며, 4일 이후부터 급격하게 증가하는 경향을 나타내었다. 최대의 색소 생성능을 나타낸 배양시간은 7일간이었으며, 그 후로는 급격히 감소하였다. 최적조건과 최적배양 시간에서 생산할 수 있는 최대의 홍국색소량은 yellow, orange 및 red 색소가 각각 29.10, 36.84, 48.92 unit인 것으로 나타났다. 이러한 결과는 이미 발표된 Jeon 등[5]의 보고에서 *Monascus purpureus* 변이균주와 비교하였을 때 색소의 생

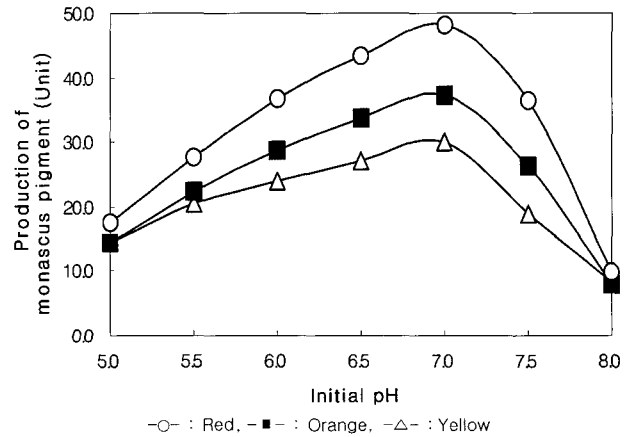


Fig. 2. Effect of initial pH on the production of the water-soluble monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2 in submerged culture.

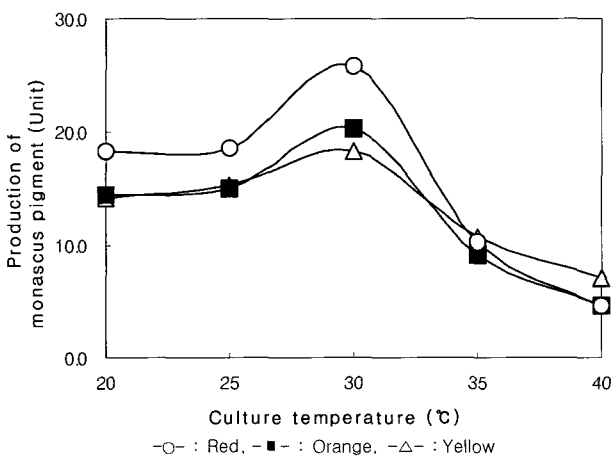


Fig. 1. Effect of culture temperature on the production of the water-soluble monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2 in submerged culture.

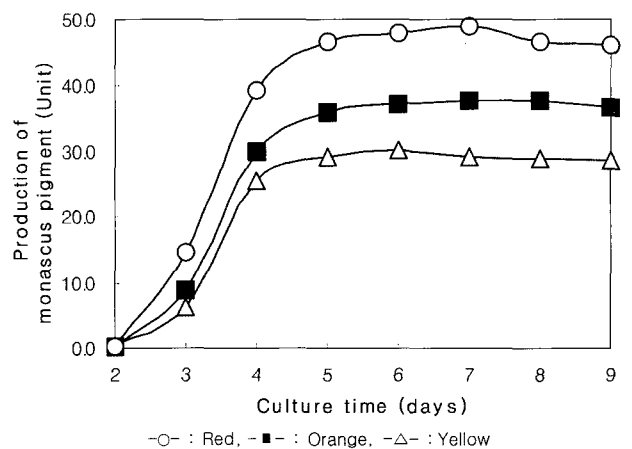


Fig. 3. Effect of culture times on the production of the water-soluble monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2.

성력이 약 1.18배 높아진 것을 알 수 있었으며, 두 변이균주 간의 혼합배양 시에는 보다 효율적으로 수용성 홍국 천연색소를 생산할 수 있을 것으로 판단되어 향후 연구가 계속 진행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

Monascus purpureus MK2를 이용하여 수용성 홍국 천연색소 생산을 위한 최적 배양조건에 대한 연구 결과, 탄소원으로 wheat flour 3.0% 첨가, 질소원으로 NaNO_3 0.15%, 인산염으로 K_2HPO_4 의 농도가 0.2% 및 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 의 농도가 0.05%일 때 가장 높은 수용성 홍국 천연색소 생성을 나타내었다. 또한 배양온도는 30°C, 초기 pH가 7.0, 진탕속도 130 rpm 및 배양시간 7일 일 때 수용성 홍국 천연색소의 생성능은 모 균주의 생성능인 3.12 unit(황색), 1.87 unit(오렌지), 1.77 unit(적색)에 비해 각각 9.33, 19.70, 27.64배 높은 29.10 unit(황색), 36.84 unit(오렌지), 48.92 unit(적색)로 가장 높은 수용성 홍국 천연색소의 생성능을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 경상북도/인동시 바이오산업기술개발(산업화)과제(B03-11-03)의 지원에 의한 연구결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Ainsworth, G. C., F. K. Sparrow, and A. S. Sasser. 1973. *The fungi*, 35. Academic press, New York.
- Chang, U., H. S. Kim, C. h. Son, J. C. Bae, and J. H. Yu. 1980. Studies on the yellow pigment production by *Monascus* sp. CS-2 (Part1) cultural conditions for yellow pigment production. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **8**: 119-123.
- Francis, F. J. 1986. *Handbook of Food Colorant Patents*, p. 181. Food and Nutrition Press, Westport, CT.
- Han, Y. R. 1989. Quality of Kochuzang using *Monascus anka*. Ph.D. Dissertation. Dept. of Food Science. Seoul Woman's University. Seoul.
- Jeon, C. P., J. B. Lee, S. Y. Choi, J. W. Shin, O. S. Lee, C. S. Choi, C. H. Rhee, and G. S. Kwon. 2006. Optimal culture condition for production of water-soluble red pigments by *Monascus purpureus*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**: 493-498
- Judie, D. D. 1987. Applications food colorants, *Food Technology*, 78-88.
- Juzlova, P., L. Martinkova, and V. Kren. 1996. Secondary metabolites of the fungus *Monascus*: a review. *J. Ind. Microbiol.* **16**: 163-170.
- Kang, S. G. and S. T. Jung. 1995. Pigment production and color difference of liquid beni - koji under submerged cultural conditions. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 472-478
- Kim, S. J., J. W. Rhim, L. S. Lee, and J. S. Lee. 1996. Extraction and characteristics of purple sweet potato pigment. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **28**: 345-351.
- Kim, J. Y. and K. H. Kim. 1997. Isolation and characterization of *Bacillus* sp. PY123 producing water-soluble yellow pigment. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 454-458.
- Kim, C. S., S. H. Rhee, and I. Kim. 1977. Studies on production and characteristics of edible red color pigment produced by mold (*Monascus* sp.). *Kor. J. Food Sci. Technol.* **9**: 277-283.
- Kim, S. Y. and J. K. Kim. 1990. Pigment production in *Monascus anka*. *J. Korean. Agric. Chem. Soc.* **3**: 239-246.
- Kim, H. S., D. H. Kim, H. S. Yang, Y. R. Pyen, and J. H. Yu. 1979. Studies on the yellow pigment produced by *Monascus* sp. in sub-merged culture. Part I. Isolation of strain and cultural conditions of pigment produced. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **7**: 23-30.
- Kim, M. H., T. K. Lee, and H. C. Yang. 1992. Red pigment production from *Monascus anka albidus*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **24**: 451-455
- Kim, S. U. and J. G. Kim. 1990. Pigment production in *Monascus anka*. *J. Kor. Agric. Chem. Soc.* **33**: 239-246.
- Kim, H. G., G. T. Park, and H. J. Son. 1998. Characterization of red pigment production by *Monascus anka*. *Kor. J. Food Nutr.* **11**: 612-616.
- Kim, H. S., D. H. Kim, H. S. Yang, Y. R. Pyen, and J. H. Yu. 1979. Studies on the red pigment produced by *Monascus* sp. in submerged culture. Part I. Isolation of strain and cultural conditions of pigment produced. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **7**: 23-30.
- Lee, J. H. 2001. Production of natural red color from *Monascus pilosus* IFO 8201 and safety test. M.S. Thesis. Dept. of Microbiology. Busan National University. Busan.
- Lin, C. F. and H. Iizuka. 1982. Production of extracellular pigments by mutant of *Monascus kaoliang* sp. nov. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**: 671-676.
- Lin, C. F. 1973. Isolation and cultural conditions of *Monascus* sp. for the production of pigment in a submerged culture. *J. Ferment. Technol.* **51**: 107-114.
- Lizuka, H. and S. Mineki. 1977. Studies on the genus *Monascus*. I. Purification and properties of two forms of glucoamylase from *Monascus kaoliang* nov F-1. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **23**: 217-224.
- Nakanawa, R. and K. Sato. 1930. On the *Monascus* of taiwan the red seed of rice. *J. Agric. Chem. Soc. Jpn.* **6**: 353-355.
- Nishikawa, E. 1932. Studies on the biochemistry of mold. The pigments of *Monascus purpureus* Went. *J. Agric. Chem. Soc. Jpn.* **8**: 1007-1011.
- Oser, B. L. and R. L. Hall. 1975. p. 70. Recent progress in the consideration of flavoring ingredients under the food

- additives amendment, 5. GRAS substance, Food Technol.
25. Oser, B. L. and R. L. Hall. 1978. p. 60. Recent progress in the consideration of flavoring Ingredients under the food additives amendment, 5. GRAS substance, Food Technol.
26. Park, C. D., H. J. Jung, and T. S. Yu. 2005. Optimization of pigment production of *Monascus purpureus* P-57 in liquid culture. *Kor. J. Biol. Bioeng.* **20**: 66-70.
27. Su, Y. C. 1975. Properties of *Monascus anka* and its utilization, *J. Ferment. Assoc.* **33**: 28-34.
28. Seo, S. G., C. H. Lee, and C. J. Woo. 2004. Studies on the optimal culture condition for production of red pigments by *Monascus ruber* on liquid culture. *Kor. J. Food Pre.* **11**: 111-116.
29. Su, Y. C. 1983. Fermentative production of *anka*-pigments (*Monascus*-pigment). *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **11**: 325-337.
30. Tsai, M. S., T. H. Hseu, and Y. S. Shen. 1978. Purification and characterization acid protease from *Monascus kaoliang*. *Int. J. Pept. Protein Res.* **12**: 293-298.
31. Yoshimura, M., S. Yamanaka, K. Mitsugi, and Y. Hirose. 1975. Production of *Monascus* pigment in submerged culture. *Agric. Biol. Chem.* **39**: 1789-1795.

(Received May 19, 2006/Accepted June 14, 2006)