

Monascus sp. 의 적색색소생성에 대한 용존산소량의 영향

박노환, 성문수, 오영숙, 정옥진*

명지대학교 환경생물공학과*

전화(0335)330-6389, FAX(0335)337-2902

Abstract

In general, pigment production can be influenced by the medium composition, pH and physical factors such as aeration, agitation, and visible light. The influence of gaseous environments on the pigment production by *Monascus purpureus* ATCC 16365 was investigated by controlling the DO (dissolved oxygen) concentration through aeration and agitation. When the DO concentration was controlled below 20%, the production of red pigment significantly increased whereas the biomass production decreased. Therefore, the dissolved oxygen concentration could significantly affect the biosynthesis of red pigment as a secondary metabolite by a wild-type filamentous fungus under the anaerobic condition. The results indicate a high potential of enhancing the productivity of the red pigment as a secondary metabolite through controlling the DO concentration.

서론

천연 색소에 대한 선호도가 급격히 증가함에 따라 합성색소와 화학합성보존료 등의 인체 안전성에 대한 대체 색소 및 보존제의 개발이 요구 되고 있다. 특히 *Monascus* 적색색소는 천년이상 중국과 동남아시아 등에서 식용으로 사용되어 왔으며 빛이나 온도에 안정적이므로 음료 및 육가공 제품 같은 식품에 첨가물로서 사용되고 있다. *Monascus*는 이차대사물질인 polyketide를 다량으로 생산하며 *Monascus*색소는 polyketide 화합물로부터 색소가 합성되는 것으로 알려져 있다. 탄소원, 질소원, 교반속도, 통기량, pH등은 이차대사산물의 생성에 영향을 준다. 특히, 통기량은 균체량 및 이차산물생산에 중요한 역할을 하는데, 통기량의 제한으로 TCA-cycle의 activation을 저하하여 대사흐름을 이차산물인 적색색소의 생합성 방향으로 유도하고자 하였다.

재료 및 방법

균 주

사용된 균주는 ATCC에서 구입한 wild type 균주인 *Monascus purpureus* ATCC 16365이다. 균주는 -80℃에서 YMPG glycerol stock으로 보관하였다.

배지 및 배양조건

플라스크 및 발효조로의 접종을 위한 seed culture로는 YMPG 배지를 사용하였다. 조성은 yeast extract 3g/L, malt extract 3g/L, peptone 5g/L, glucose 10g/L, pH 6.5이다. Homogenizer를 이용하여 균질화된 접종원을 전 배양 배지에 1.8g/L의 농도로 접종한 후 2일 배양한 균주를 본 배양의 접종 균주로 사용하였다. 배양은 2.5L fermenter (한국발효기 KF 5L)를 사용하여 5일간 수행하였으며 교반속도 (100-700 rpm)와 통기속도 (1-4vvm)를 조절하여 통기량을 제한하였다. 과대한 교반속도에 의해 유발되는 shear stress에 의한 세포성장 및 이차대사산물 생성 저해를 최소화하기 위하여 통기속도에 의한 통기량을 조절하였다.

색소의 추출 및 측정

배양액에 90% ethanol을 1:1 (v/v) 되게 혼합 후, 24시간 동안 진탕시키며 색소를 추출하였다. 추출액을 membrane filter (Whatman No.4) 로 여과 시킨 후 여과액을 HP 8890 UV/VIS spectrophotometer를 이용하여 흡수 극대치인 495nm에서 흡광도 값을 측정하여 색소량을 나타내었다.

건조균체량 측정

여과 후 여과지에 모인 잔사를 증류수로 2회이상 세척하여 80℃에서 24시간 건조한 후 냉각후 건조균체량을 측정하였다.

결과 및 고찰

산소가 충분히 공급되면 기질은 acetyl CoA로 전환된 후 TCA cycle을 통해 CO₂와 H₂O로 대사 되거나 균체량을 생산하게 된다. 이에 반하여 산소의 공급을 제한하면 균체량의 생산이 억제되며 이차대사과정이 활성화 될 것이다. DO 80%이상과 20%이하로 각각 조정할 경우, 균체와 색소량을 비교한 결과, 고농도의 균체량과 저농도의 적색색소, 저농도의 균체량과 고농도의 적색색소를 생산하였다. 적색색소 비교시 DO 20%이하 조절 시, DO 80%이상 조절 시의 색소 생산량보다 1.5배가 증가하였다. 이로써, TCA-cycle blocking을 통한 이차대사과정의 활성을 확인할 수 있었다. 유가식 배양을 이용할 경우 1차 배양 시 산소공급량을 최대로 하여 균체 생산의 활성을 유도, 2차 배양시 산소공급량을 제한하여 적색색소의 생산량을 극대화

시킬 수 있을 것이다.

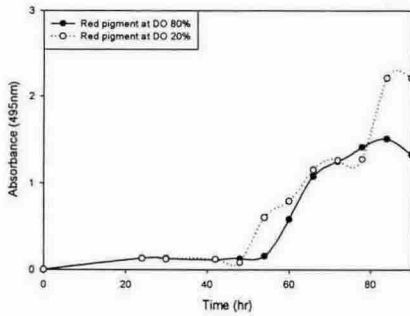


Fig 1. Effect of DO concentration on the production during the time course of fermentation

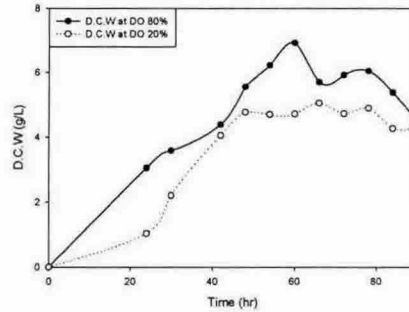


Fig 2. Effect of DO concentration on the biomass during the time course of fermentation

요약

이차대사산물의 생산에 영향을 미치는 인자 중 통기성의 조절을 통한 *Monascus* 적색색소의 생산을 증가 시켰다. 높은 산소공급조절은 균체량을 증가 시켰으며, 낮은 산소공급조절은 고농도의 적색색소를 생산하였다. 따라서, 산소 공급량의 조절을 통하여 적색색소 생합성 과정을 활성화 시킬 수 있다.

참고문헌

1. Ohantaek Han(1990), Optimization of *Monascus* pigment production in solid state fermentation, Univ. Massachusetts, 42-56
2. Eock Kee Hong, Kwang soo Kim, Effect of Dissolved Oxygen concentration on nar Promoter Activity in Batch and Semi-Continuous Cultivations(1999), Biotechnol. & Bioeng. 4, 181-184
3. Tzann F. Lin and Arnold L. Demain, Effect of nutrition *Monascus* sp. on formation of red pigment(1991), Appl Microbiol Biotechnol, 36, 70-75
4. P Juzlova, Secondary metabolites of the fungus *Monascus*(1996), Journal of industrial Microbiology, 16, 163-170
5. G-T.Chun, Studies of Cyclosporin A Biosynthesis under the conditions of Limited Dissolved Oxygen or Carbon source in Fed-batch Culture(1998), Korean J.Biotechnol. Bioeng. vol.13. No.2, 203-208

6. H. Hajjaj, Improvement of Red pigment/Citrinin production Ratio as a Function of Environmental Conditions by *Monascus ruber*(1999), *Biotechnology and Bioengineering*. vol, 64, No. 4, 497-501
7. P Juzlova, Secondary metabolites of the fungus *Monascus*(1996), *Journal of industrial Microbiology*, 16, 163-170