

발효조를 이용한 *Monascus anka*의 적색소와 황색소의 생산

강성국 · 임종환 · 정순택* · 김선재
목포대학교 공과대학 식품공학과

Production of Red and Yellow Pigments from *Monascus anka* in a Jar Fermenter. Seong-Gook Kang, Jong-Whan Rhim, Soon-Teck Jung* and Sun-Jae Kim. Department of Food Engineering, Mokpo National University Chonnam, 534-729, Korea - In order to develop the method for mass production of natural food colorant from *Monascus anka*, optimum cultivation conditions for producing red and yellow pigments by cultivating the mold in a jar fermenter and their color characteristics were investigated. The mold produced red and yellow pigments both intracellularly and extracellularly. These pigments showed unique light absorption characteristics with maximum absorption of 494, 380, 506, and 388 nm for extracellular red pigment (ERP), extracellular yellow pigment (EYP), intracellular red pigment (IRP), and intracellular yellow pigment (IYP), respectively. Optimum conditions for producing red pigments were found to be temperature 30°C, initial pH 6.0, rice powder 3~5%, peptone 0.05%, magnesium sulfate 0.25%, aeration rate 0.1 vvm. Optimum temperature for producing yellow pigments was around 35°C which is higher than that of producing red pigments. The initial pH and rice powder concentration for producing yellow pigments were the same as those of producing red pigments. The higher concentration of nitrogen source and inorganic salt, aeration rate, the more the yellow pigments were produced. The optimum agitation speed was 100~300 rpm for pigment production.

최근에 식품에 사용되고 있는 인공 합성색소의 안전성 문제가 심각하게 대두되면서 이를 대체할 수 있는 천연 식용색소의 개발에 대한 관심이 고조되고 있다(1-3). 천연 식용색소는 동물이나 식물 및 미생물 등으로부터 얻고 있는데, 일반적으로 동물이나 식물을 천연 식용색소원으로 사용할 경우에는 원료의 수급이나 품질이 천연 식용색소원으로 사용하는 동식물의 생육 및 생육시기, 생육 조건 등에 의해 영향을 받게 된다. 반면에 미생물을 사용하여 발효법에 의해 천연 식용색소를 사용하게 되면 이러한 문제를 해결할 수 있을 뿐만 아니라 년중 균일한 제품의 생산이 가능하다.

홍국곰팡이(*Monascus* spp.)은 오래 전부터 중국, 일본, 인도네시아 등지에서 전통적으로 홍주, 홍두부 등의 발효 식품 제조에 이용되어 왔으며(4,5) 최근에는 홍국곰팡이를 이용하여 홍국색소를 생산하는 연구가 이루어져 왔다(6,7). 홍국곰팡이가 생산하는 색소는 황색계, 적색계 및 자색계의 3종으로 구분되며 황색계 색소로는 monascin과 ankaflavin, 적색계 색소로는 rubropunctatin과 monascorubrin, 자색계 색소로는 rubropunctamine과 monascorubra-mine 등이 알려져 있으며(8-10). 홍국색소의 안정성도 확인되어 천연 식용색소원으로 이용이 기대되고 있다.(11,12). 홍국색소가 산업적으로 개발되기 시작한 것은 비교적 최근이며, 일본에서는 월간 20톤 정도의 홍국색소를 산업적으로 생산하여 사용하고 있으나(13) 우리나라의 경우 아직 실용화 단

계에 이르지 못하고 있는 실정이다. 뿐만 아니라 홍국색소 생산에 관한 연구도 주로 액침진탕배양에 의한 홍국색소 생산 조건에 관한 연구(14-20)가 대부분이며 대량생산을 위하여 필수적인 발효조를 이용하여 색소생산을 시도한 경우는 거의 없는 형편이다.

따라서 본 연구에서는 발효조를 이용하여 홍국(*Monascus anka*)이 생산하는 적색소와 황색소의 생산을 극대화시키기 위한 최적 배양조건과 발효조의 운전조건을 확립하여 홍국색소의 대량생산을 위한 기초 자료를 마련코자 하였다.

재료 및 방법

사용균주와 배지

본 실험에 사용한 균주는 한국종균협회 부설 미생물보존 센터(KCCM)에서 분양 받은 *Monascus anka* KCCM 11832를 사용하였으며 기본 배지는 강 등(21)이 사용한 2% 쌀가루, 0.05% peptone, 0.15% KH_2PO_4 , 0.25% $MgSO_4$ 를 초기 pH 6.0으로 조절하여 사용하였다.

발효조를 이용한 *Monascus anka*의 색소생성을 위한 최적 배양 조건

진탕 배양 조건에서 적색 색소 생산을 위한 기본 배지를 사용하여 발효조(BIOFLO III, New Brunswick Scientific Co., USA) 조건에서 영양원의 영향을 검토하기 위하여 온도를 30°C, 초기 pH를 6.0, 통기량을 0.1 vvm, 배지량 4 L, 그리고 교반속도를 300으로하여 최적 탄소원인 쌀가루를 1~5%, 최적 질소원인 peptone의

*Corresponding author.

Key words: *Monascus anka*, natural food colorant, red pigment, yellow pigment

농도를 0.01~0.2%, 무기염으로 MgSO₄의 농도를 0.10~0.30%까지 농도를 각각 달리하여 최적 농도를 결정하였으며 *Monascus*속의 적색 색소의 생산 촉진 인자로 알려진 MSG(monosodium glutamate)를 peptone과 같은 비율로 첨가하여 색소 생산력을 검토하였다. 또한 *M. anka*의 적색 색소 생산을 위한 발효조에서의 최적 운전조건을 검토하기 위하여 온도를 25~35°C, 초기 pH를 5.0~6.5, 통기량을 0.05~2.0 vvm, 그리고 교반 속도를 100~600 rpm으로 달리하여 실험하였다.

색소 생산량의 측정

발효가 끝난 후 *Monascus anka* 배양액을 회수하여 7,000 rpm(9,000×g)에서 15분 동안 원심 분리하여 상등액과 균체를 분리하였다. 상등액을 여과(Whatman filter paper No. 2)한 후 얻어진 여액을 진공증발기(Rotavapor R-124, B chi Laboratorium Technik AG, Switzerland)를 사용하여 농축하고 농축액에 대해 용매분획을 행하였다(Fig. 1). 농축액을 petroleum ether와 70% EtOH로 분획하여 petroleum ether-soluble fraction을 균체의 황색색소(Extracellular yellow pigment, EYP), 70% EtOH-soluble fraction을 균체의 적색 색소(Extracellular red pigment, ERP)로 구분하였다. 균체는 동결 건조기(Christ, Beta 1-8K, Germany)를 이용하여 24시간 동결 건조시킨 후 70% EtOH을 용매로 하여 5시간 동안 3회 초음파 파쇄기(BRANSON Sonifier 450, BRANSON ULTRASONICS Co., USA)를 이용하여 균체를 파쇄한 후 여과(Whatman filter paper No. 2)하여 얻어진 여액에 대해 농축을 행하고 petroleum ether와

70% EtOH로 분획하여 petroleum ether-soluble fraction을 균체내 황색소(Intracellular yellow pigment, IYP), 70% EtOH-soluble fraction을 균체내 적색소(Intracellular red pigment, IRP)로 구분하였다. 각 색소 획분은 농축하여 각각 추출 용매 200 ml에 용해시킨 후 분광광도계(HP 8452A, Hewlett Packard Co., USA)를 이용하여 흡광도를 측정하여 배양 조건에 따른 적색소와 황색소의 생산량을 조사하였다.

색조의 특성 검토

용매분획에 의하여 얻어진 각각의 획분을 적색소는 70% EtOH, 황색소는 petroleum ether 20 ml에 용해시킨 다음 색차계(colorQUEST, Hunter Lab., USA)를 이용하여 각 배양 조건에 따른 색조의 변화를 Hunter value L, a, b값으로 측정하였다(22).

균체량의 측정

색소를 완전히 추출한 균체를 증류수로 3회 세척하여 배양과정중 이용되지 않은 전분 등을 완전히 제거한 후 105°C 건조법으로 항량이 될 때까지 건조한 후 무게를 측정하여 균체량을 측정하였다.

결과 및 고찰

홍국색소의 흡광도

*Monascus anka*에 의해 생성된 색소를 Fig. 1의 방법에 따라 추출하고 용매분획한 후 각 획분을 300~600 nm 사이의 흡광도변화를 조사한 결과는 Fig. 2에 나타난 바와 같으며 균체의 적색소(ERP)는 494 nm에서, 균체의 황색소(EYP)는 380 nm에서, 균체내 적색소(IRP)는 506 nm에서 그리고 균체내 황색소(IYP)는 388 nm에서 최대 흡광도를 나타냈다. Broder와 Koehler(23)는 *Monascus purpureus*에 의해 생산된 색소에 대해 methanol, ethanol, acetone 및 chloroform의 용매를 사용하여 추출하고 각 추출액의 흡수스펙트럼을 조사한 결과 황색소는 390 nm 부근에서 적색소는 500 nm 부

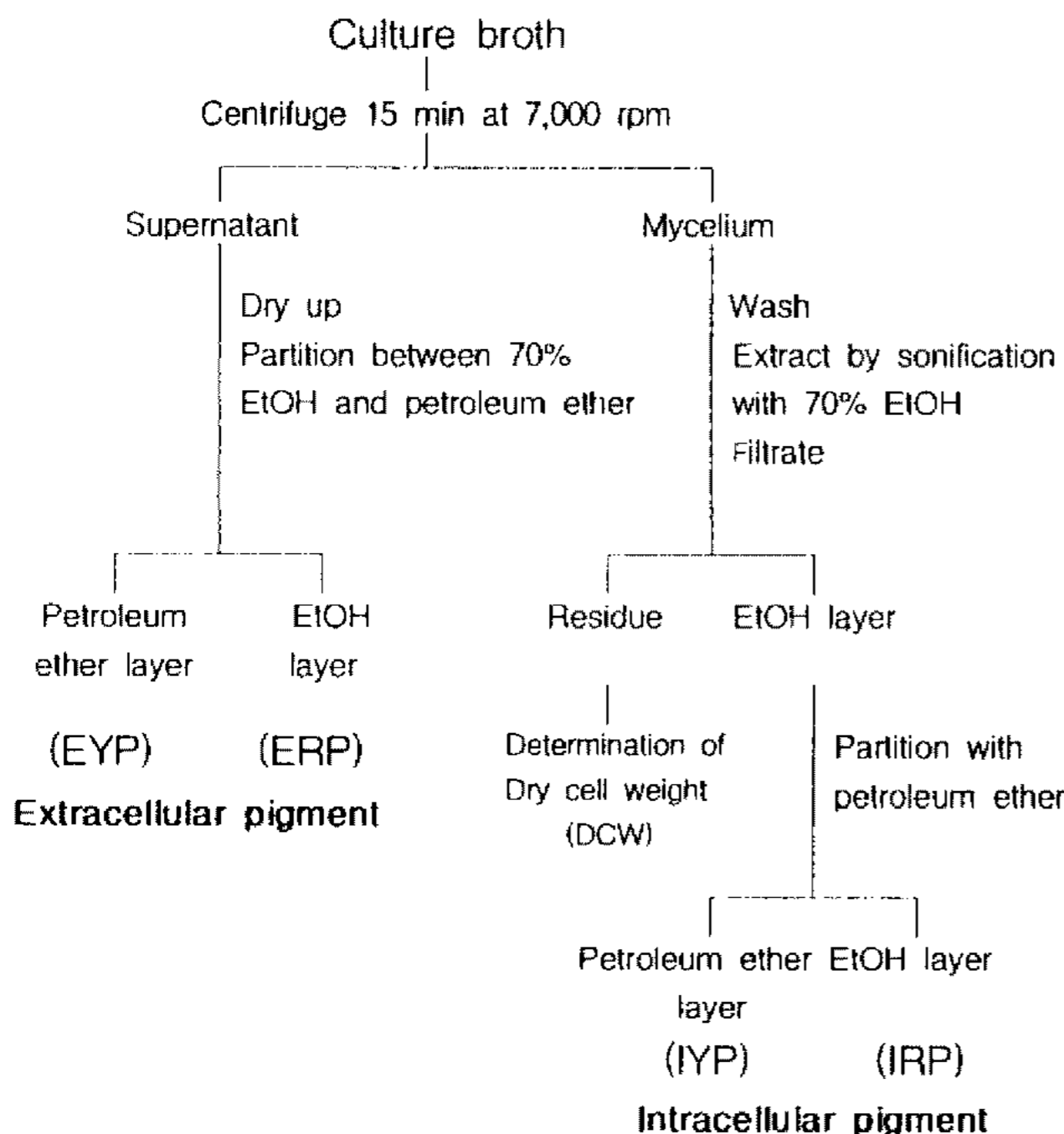


Fig. 1. Procedure for extraction and solvent fractionation of pigment of *Monascus anka* culture broth.

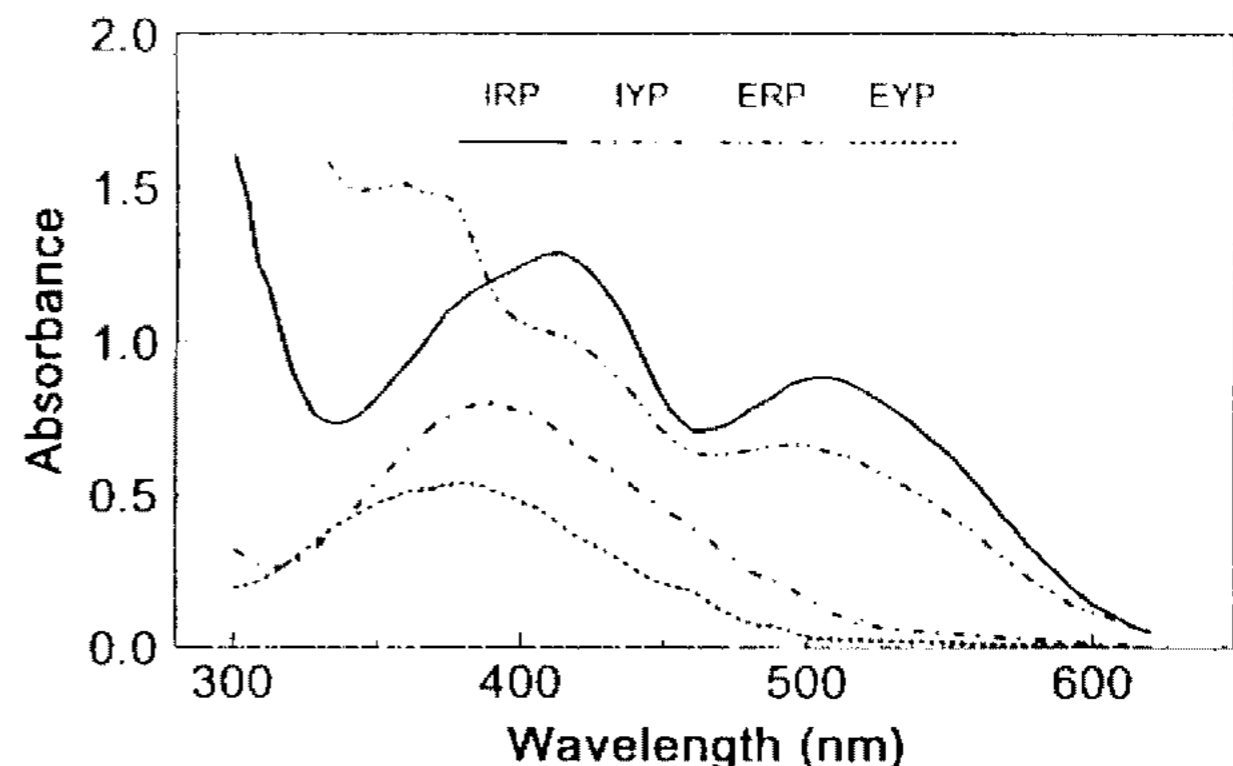


Fig. 2. Absorbion spectra of the pigments produced by *Monascus anka*.

근에서 최대 흡수파장을 보였다고 보고하였으며 김 등(18,23)은 *Monascus* sp.에서 생산된 색소를 60% ethanol과 petroleum ether(1:2)의 복합 용매를 사용하여 추출한 후 추출액의 흡수 스펙트럼을 조사한 결과 황색소는 400 nm 부근에서 적색소는 500 nm 부근에서 최대 흡수 파장을 보였다고 보고하여 본 연구 결과와 유사한 결과를 보였다.

발효조 조건에서 *Monascus anka*의 색소생산을 위한 최적 배양조건

기본배지와 운전조건에서 *Monascus anka*의 적색소와 황색소 생산능을 향상시키기 위한 쌀가루의 농도, peptone의 농도 및 $MgSO_4$ 의 농도의 영향 그리고 배양온도, 초기 pH, 통기량 및 교반속도의 영향을 검토하였다. 배양기간은 기본배지와 운전조건에서 최대 색소생산능과 균체증식력을 보인 5일째 배양액을 조사하였으며 색소생산능 및 균체증식력은 Table 1에, 색조의 특성은 Table 2에 나타내었다.

배지 중의 쌀가루 농도를 1~5%까지 달리하여 배양한 배양액의 색소를 추출하고 용매분획하여 각 획분에 대하여 색소 생산력과 균체증식력을 조사한 결과 ERP, EYP, IRP 및 IYP 그리고 균체증식력 모두 쌀가루 함량이 많을수록 생산량이 증가하는 경향을 보였으나 5% 이상에서는 배지의 가열 멸균 처리 과정에서 호화되어 점도가 크게 증가하여 발효조의 교반이 불가능하였다. 5%에서의 색소 생산력은 각각 A_{494nm} 0.85, A_{380nm} 0.68, A_{506nm} 1.12, A_{388nm} 1.03을 나타냈으며 균체증식력은 7.3 g/l를 나타냈다. ERP, EYP, IRP 및 IYP의 색깔 특성을 조사한 결과 L값은 각각 32.55, 6.48, 35.10, 9.08, a값은 각각 6.54, -1.16, 11.06, -1.54, b값은 각각 19.06, 3.37, 26.18, 6.11을 보였다. 그러나 3%와 5%에서의 색소생산능, 색조의 특성 및 균체증식력의 차이가 크지 않아 경제성을 고려할 때 3%가 더 적합한 것으로 판단되었다. Su(7)는 *Monascus anka* V-204를 이용하여 액침진탕조건과 발효조조건에서 적색소 생산력에 대해 탄소원으로 쌀가루를 3, 5, 7%로 달리하여 조사한 결과 균체와 색소는 5%에서 균체내 색소는 7%에서 최대를 보였는데 이는 본 연구결과와 다소 차이가 있으나 균체증식력이 쌀가루 농도가 높아짐에 따라 증가한다는 경향은 일치하고 있다. 그러나 액침진탕배양에 의한 적색소 생산에 관한 많은 연구(9,11,14-16,19-21)들의 경우 쌀가루의 최적 농도가 2~3%라고 보고하였는데 이는 발효조를 이용한 경우와 다를 수 있었다.

쌀가루의 농도를 5%로 하고 질소원인 peptone의 농도를 달리하여 배양한 배양액의 색소를 추출하고 용매분획하여 각 획분에 대하여 색소생산력과 균체증식력을 조사한 결과 ERP와 IRP는 0.05%에서 최대의 색소생산력을 보여 각각 A_{494nm} 0.84와 A_{506nm} 1.18을 보였으며 0.05% 이상의 농도에서는 현저히 감소하는 경향을

보였다. 한편 EYP와 IYP는 0.05%까지 급격히 증가하였으며 이후에도 적색소 생산의 경우와는 달리 계속하여 완만한 증가를 보여 0.2% 농도에서 각각 A_{380nm} 0.81과 A_{388nm} 1.25를 보였다. 균체증식력도 0.05%까지 급격한 증가를 보여 7.2 g/l를 나타냈으며 이후에는 큰 차이를 보이지 않았다. 색깔의 특성을 조사한 결과 ERP와 IRP의 경우 0.05% peptone 농도에서 L값은 각각 32.40과 34.98, a값은 각각 5.76과 11.83, b값은 각각 18.91과 27.26을 보여 현저하게 높은 적색소 특성을 보였으며 EYP와 IYP는 0.2% peptone 농도에서 L값은 각각 18.44와 17.04, a값은 각각 -2.89와 -1.93, b값은 각각 12.37과 13.65를 보였다. Su(7)는 *Monascus*속의 색소 생산을 촉진하기 위한 질소원으로 monosodium glutamate(MSG)가 우수하였다고 보고한 바 있어 본 연구에서도 질소원으로 peptone 대신에 MSG를 같은 농도로 첨가하여 색소생산을 검토한 결과 적색소 생산력이 완전히 상실되는 결과를 보였으며 반면에 황색소 생산능은 증가하였다.

쌀가루의 농도를 5%, peptone의 농도를 0.05%로 하고 무기염인 $MgSO_4$ 의 농도를 달리하여 배양한 배양액의 색소생산력과 균체증식력을 측정된 결과 모든 획분에서 $MgSO_4$ 농도 0.25%까지 색소생산력과 균체증식력이 유사하게 증가하는 경향을 보였으며 그 이상의 농도에서는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 배지중의 $MgSO_4$ 0.25% 농도에서 ERP, EYP, IRP 및 IYP는 각각 A_{494nm} 0.83, A_{380nm} 0.74, A_{506nm} 1.13, A_{388nm} 0.96을 보였다. 균체증식력은 $MgSO_4$ 농도 0.20%까지 급격히 증가하는 경향을 보였으며 이후에는 큰 차이를 보이지 않았고 0.25% 농도에서 7.1 g/l를 보였다. 각 획분에 대한 색깔의 특성을 조사한 결과 L값은 각각 27.40, 6.29, 33.61, 8.95, a값은 각각 5.75, -1.05, 11.34, -1.50, b값은 각각 17.95, 3.44, 23.95, 6.81을 보였다.

최적 배지조건에서 운전조건중 온도를 달리하여 배양한 배양액의 색소를 추출하고 용매분획하여 각 획분에 대하여 색소량과 균체증식력을 조사한 결과 적색소인 ERP와 IRP는 30°C에서 최대의 색소생산력을 보여 각각 A_{494nm} 0.72와 A_{506nm} 1.15을 보였으나 그 이상의 온도에서는 색소 생산력이 급격히 감소하는 경향을 보였으며 황색소인 EYP와 IYP는 32.5°C 이상에서 급격히 증가하여 35°C에서 각각 A_{380nm} 1.17과 A_{388nm} 1.36을 보였다. 균체증식력은 30°C까지 온도가 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였으나 그 이상에서는 큰 차이를 보이지 않았다. 발효조에서 *M. anka*를 이용하여 적색소를 생산하기 위해서는 30°C에서 배양하는 것이 유리하며 그 이상에서는 황색소 생산능이 증가하였으며 35°C에서는 거의 황색소만을 생산함을 알 수 있었다. 또한 생산된 색소의 각 획분에 대해 색차계를 이용한 색깔의 특성을 조사한 결과 30°C에서 ERP와 IRP의 L값은 각각 26.68과 31.10, a값은 각각 5.23과 8.54, b

Table 1. Effects of various factors on pigment production and mycelial growth of *Monascus anka* in fermentor conditions.

Factor		Pigment production(O.D)				Mycelial growth (g/l)
		ERP ¹	EYP ²	IRP ³	IYP ⁴	
		(O.D at 494 nm)	(O.D at 380 nm)	(O.D at 506 nm)	(O.D. at 388 nm)	
Rice powder conc. (%)	1	0.53	0.49	0.75	0.59	3.2
	2	0.65	0.57	0.99	0.74	5.2
	3	0.76	0.65	1.03	0.94	6.0
	4	0.81	0.67	1.06	0.97	6.7
	5	0.85	0.68	1.12	1.03	7.3
Peptone conc. (%)	0.01	0.27	0.19	0.36	0.27	4.1
	0.02	0.36	0.31	0.55	0.53	4.9
	0.03	0.65	0.50	0.83	0.67	5.8
	0.04	0.81	0.63	0.99	0.87	6.6
	0.05	0.84	0.71	1.18	1.10	7.2
	0.10	0.51	0.77	0.57	1.22	7.3
	0.20	0.36	0.81	0.25	1.25	7.3
MgSO ₄ conc. (%)	0.10	0.47	0.39	0.62	0.49	2.2
	0.15	0.61	0.54	0.87	0.72	4.1
	0.20	0.74	0.68	1.08	0.86	6.6
	0.25	0.83	0.74	1.13	0.96	7.1
	0.30	0.85	0.74	1.04	0.97	7.2
Temperature (°C)	25.0	0.60	0.43	0.78	0.71	5.0
	27.5	0.63	0.49	0.83	0.77	6.1
	30.0	0.72	0.54	1.15	0.80	7.4
	32.5	0.67	0.61	0.89	0.84	7.5
	35.0	0.26	1.17	0.31	1.36	7.5
Initial pH	4.5	0.25	0.21	0.31	0.20	1.5
	5.0	0.46	0.46	0.63	0.53	3.5
	5.5	0.63	0.61	0.91	0.71	6.8
	6.0	0.72	0.67	1.16	0.86	7.4
	6.5	0.68	0.62	1.06	0.74	6.8
	7.0	0.57	0.53	0.86	0.67	6.5
Air flow rate (vvm)	0.05	0.84	0.71	1.18	0.75	7.2
	0.10	0.86	0.69	1.16	0.77	7.3
	0.15	0.83	0.70	1.17	0.77	7.4
	0.20	0.81	0.73	1.15	0.79	7.6
	0.25	0.80	0.77	1.11	0.80	7.7
	0.50	0.75	0.82	1.04	0.84	7.8
	1.00	0.69	0.87	0.92	0.91	7.8
	2.00	0.38	0.95	0.55	1.04	7.8
Agitation speed (rpm)	100	0.83	0.74	1.18	1.10	7.4
	200	0.82	0.73	1.19	1.10	7.5
	300	0.84	0.71	1.17	1.08	7.4
	400	0.85	0.69	1.18	1.10	7.3
	500	0.84	0.70	1.14	1.12	7.3
	600	0.86	0.68	1.10	1.14	7.2

¹ERP; Extracellular red pigment ²EYP; Extracellular yellow pigment ³IRP; Intracellular red pigment ⁴IYP; Intracellular yellow pigment

Table 2. Effects of various factors on color characteristics of pigments by *Monascus anka* in fermentor conditions.

Factor		Color characteristics											
		L-value				a-value				b-value			
		ERP ¹	EYP ²	IRP ³	IYP ⁴	ERP	EYP	IRP	IYP	ERP	EYP	IRP	IYP
Temperature(°C)	25.0	20.36	5.94	23.8	7.38	3.96	-20.86	7.01	-0.89	11.61	1.06	14.50	2.18
	27.5	22.74	6.11	24.6	8.33	4.31	-0.87	7.66	-0.93	12.44	1.22	16.33	2.27
	30.0	26.68	6.25	31.1	8.76	5.23	-0.91	8.54	-1.03	13.64	1.35	18.71	2.36
	32.5	23.65	8.93	26.3	10.89	4.70	-0.81	7.70	-1.18	12.55	1.47	17.36	2.81
	35.0	15.44	11.83	18.7	14.50	-0.83	-0.83	-1.04	-1.11	8.60	2.81	12.15	6.35
Initial pH	4.5	7.60	4.36	5.3	4.51	0.46	-1.30	0.29	-1.88	3.21	1.41	5.37	1.33
	5.0	15.93	5.21	18.5	6.21	2.71	-0.93	3.98	-1.83	7.55	2.10	11.60	1.64
	5.5	23.45	6.15	28.6	7.75	4.45	-1.02	8.36	-1.22	12.80	2.37	18.30	2.11
	6.0	26.68	6.93	31.1	8.21	5.23	-0.81	9.57	-1.18	15.06	2.81	22.08	2.81
	6.5	24.36	6.64	29.1	7.51	4.71	-0.65	8.66	-0.98	13.61	2.55	19.50	2.50
	7.0	21.07	5.85	20.6	6.36	3.86	-0.43	4.36	-1.53	11.31	2.38	12.40	1.84
Rice powder conc. (%)	1	18.19	6.62	20.41	3.87	1.45	-0.98	1.98	-1.25	8.87	3.22	9.06	1.87
	2	27.31	6.75	32.23	8.22	5.41	-1.23	9.81	-1.33	16.74	3.06	22.15	2.76
	3	29.84	6.87	32.85	8.51	51.87	-1.11	10.18	-11.41	17.54	13.18	23.01	2.54
	4	31.65	61.39	314.41	8.76	6.23	-1.06	10.55	-1.40	18.33	3.41	24.17	2.83
	5	32.55	6.48	35.13	9.08	6.54	-1.16	11.06	-1.54	19.06	13.37	26.18	3.11
Peptone conc. (%)	0.01	11.60	3.97	5.67	3.15	0.94	-0.67	0.71	-0.95	5.36	1.04	4.35	1.15
	0.02	12.80	4.63	13.44	4.66	1.18	-0.81	2.31	-1.14	7.89	1.83	8.11	1.89
	0.03	21.60	5.14	26.73	5.14	4.17	-0.87	6.91	-1.19	11.44	2.22	14.85	2.14
	0.04	28.30	5.91	32.33	7.71	5.11	-1.23	9.63	-1.24	17.64	3.09	24.61	3.06
	0.05	32.40	6.44	34.98	8.94	5.76	-1.08	11.83	-1.55	18.91	3.41	27.26	3.16
	0.10	18.36	17.65	15.49	14.36	1.23	-12.06	2.41	-1.87	19.87	10.94	13.64	11.42
	0.20	13.24	18.44	13.18	17.04	0.49	-2.89	1.03	-1.93	6.53	12.37	9.98	13.65
MgSO ₄ conc. (%)	0.10	17.93	4.11	23.55	6.25	2.87	-1.73	6.56	-1.21	9.45	2.57	11.93	4.71
	0.15	22.42	4.89	28.45	6.54	3.91	-1.55	8.94	-1.31	13.60	2.91	18.05	4.98
	0.20	25.91	5.99	31.20	7.79	4.89	-2.08	10.78	-1.35	15.80	3.11	22.89	5.00
	0.25	27.44	6.29	33.61	8.95	5.75	-1.05	11.34	-1.50	17.95	3.44	23.95	5.15
	0.30	27.83	6.33	33.94	8.87	5.77	-1.08	11.36	-1.34	18.01	3.46	24.03	5.17
Air flow rate (vvm)	0.05	29.4	6.44	34.98	8.94	5.76	-1.11	11.83	-1.55	18.91	3.41	27.26	3.56
	0.10	29.3	6.45	34.88	8.79	5.74	-1.12	11.76	-1.57	18.79	3.43	27.18	3.56
	0.15	28.9	6.51	34.43	8.83	5.72	-1.13	11.74	-1.59	18.55	3.42	27.11	3.61
	0.20	28.4	6.77	33.24	8.88	5.67	-1.16	11.69	-1.61	18.22	3.45	27.01	3.65
	0.25	27.5	6.89	30.65	9.23	5.21	-1.32	11.54	-1.74	17.98	3.51	26.89	3.84
	0.50	26.7	7.35	28.56	9.76	4.86	-1.54	10.76	-1.94	16.54	3.56	25.00	3.91
	1.00	21.6	7.98	22.87	10.36	3.67	-1.88	8.78	-2.22	13.99	3.68	21.56	4.12
	2.00	17.6	8.32	16.98	12.67	1.87	-2.23	4.86	-2.55	6.86	3.94	12.88	4.91
Agitation speed (rpm)	100	29.25	6.47	33.59	9.03	5.74	-1.08	11.25	-1.51	18.85	3.39	27.08	3.15
	200	29.43	6.46	34.14	9.01	5.75	-0.98	10.92	-1.53	18.89	3.40	26.45	3.14
	300	29.40	6.44	34.98	8.94	5.76	-1.08	11.83	-1.55	18.91	3.41	27.26	3.16
	400	29.51	6.45	34.93	8.94	5.68	-1.12	11.43	-1.54	18.90	13.39	27.51	3.21
	500	29.49	6.43	34.50	81.68	5.74	-1.04	11.76	-1.49	18.91	13.67	25.38	3.16
	600	29.45	6.42	314.98	8.71	51.76	-1.11	11.69	-1.53	18.91	3.81	26.99	3.19

¹ERP; Extracellular red pigment ²EYP; Extracellular yellow pigment ³IRP; Intracellular red pigment ⁴IYP; Intracellular yellow pigment

값은 각각 13.64와 18.71을 보였으며 35°C에서 EYP와 IYP의 L값은 각각 11.83과 14.50, a값은 각각 -0.83과 -1.11, b값은 각각 2.81과 6.35를 보여 적색소와 황색소의 뚜렷한 색깔 특성을 나타냈다. Su(7)는 *Monascus anka* V-204를 이용하여 액침진탕조건과 발효조조건에서 적색소 생산력을 조사를 하였는데 28~30°C일 때 적색소 생산력이 가장 우수하였으며 30°C 이상에서는 적색소 생산력이 현저하게 감소된다고 하였고 균체증식력도 35°C까지 온도가 증가함에 따라 증가한다고 하였는데 이는 본 실험의 결과와도 일치하였다. Yoshimura 등(16)과 강 등(21)의 보고에 따르면 액침진탕배양의 경우 적색소 생산을 위한 최적 배양온도가 25~27.5°C라고 하였는데 이는 액침진탕배양조건이 발효조를 이용한 경우와 다르기 때문인 것으로 생각된다.

최적 배지조건과 온도 조건에서 배양액의 초기 pH를 달리하여 배양한 배양액의 색소를 추출하고 용매분획하여 각 획분에 대하여 색소량과 균체증식력을 조사한 결과 ERP, EYP, IRP 및 IYP 모두 초기 pH 6.0에서 최대의 색소생산량을 보여 각각 A_{494nm} 0.72, A_{380nm} 0.67, A_{506nm} 1.08, A_{388nm} 0.86을 나타냈으며 균체량도 초기 pH 6.0에서 최대를 보여 6.8 g/l이었다. 색소생산력과 균체증식력 모두 초기 pH가 6.0보다 높거나 낮을 때 현저하게 감소하는 경향을 보였다. 또한 각 획분의 색차계에 의한 색깔특성을 조사한 결과 적색소의 경우 색소생산량이 많을수록 L, a 및 b값이 증가하는 경향을 보였으며 황색소의 경우 색소생산량이 많을수록 L값과 b값은 증가하나 a값은 감소하는 경향을 보였다.

최적 배지조건에서 30°C, 초기 pH 6.0, 교반속도 300 rpm으로 조절하고 통기량을 달리하여 배양한 배양액의 색소생산력과 균체증식력을 조사한 결과 ERP와 IRP 모두 0.05 vvm에서 0.1 vvm까지는 색소 생산능이 약간 증가하는 경향을 보였으며 그 이상에서는 통기량이 많을수록 색소생산능이 감소하는 경향을 보여 0.1 vvm에서 각각 A_{494nm} 0.86와 A_{506nm} 1.16을 나타냈다. EYP와 IYP의 경우도 0.05 vvm에서 0.25 vvm까지는 ERP와 IRP의 경우와 마찬가지로 큰 차이를 보이지 않았으나 0.25 vvm 이상에서도 꾸준히 증가하여 2.0 vvm에서 각각 A_{380nm} 0.95와 A_{388nm} 1.04를 나타냈다. 균체증식력은 0.25 vvm까지는 다소 증가하는 경향을 보였으나 이후에는 거의 변화하지 않았으며 0.25 vvm에서 균체량은 7.7 g/l을 보였다. 또한 각 획분의 색깔 특성을 검토한 결과 ERP와 IRP의 경우 0.1 vvm에서 L값은 각각 29.3과 34.88, a값은 각각 5.74와 11.76, b값은 각각 18.79와 27.18이며 ERP와 IRP의 경우 2.0 vvm에서 L값은 각각 6.45와 8.79, a값은 각각 -1.22와 -1.57, b값은 각각 3.43과 3.56을 보였다. 발효조조건에서 *Monascus*속의 적색소 생산에 관한 연구(7,16)에서 통기량의 영향에 대한 연구는 조사되지 않았는데 본 연구결과 발효조조건에서 홍국곰팡이를 이용하여 적색소 또는 황색소를

생산하고자 할 때 각 색소의 생산력은 통기량에 의해 크게 영향을 미치는 것으로 나타났다. 적색소 생산능은 생육을 위한 최소량의 공기를 공급하는 것이 필요하며 황색소 생산능은 충분한 공기를 공급하여 생육조건을 최적화 했을 때 촉진됨을 알 수 있었다.

기본배지중의 쌀가루의 농도를 5%, peptone의 농도를 0.05%, 그리고 $MgSO_4$ 의 농도를 0.25%로 하고 배양온도 30°C, 초기 pH 6.0에서 배지량 4L, 통기량 0.1 vvm의 조건에서 교반속도를 100 rpm에서 600 rpm까지 조절하여 배양한 배양액의 각 획분에 대하여 색소생산력과 균체증식력을 조사한 결과 모든 획분에서 색소생산력과 균체증식력은 교반속도에 거의 영향을 받지 않았으며 균사의 증식형태는 낮은 교반속도에서는 pellet 형태로 증식하였으나 높은 교반속도에서는 pulp 형태로 증식하는 경향을 보였다. 300 rpm에서 ERP, EYP, IRP 및 IYP는 각각 A_{494nm} 0.84, A_{380nm} 0.71, A_{506nm} 1.17, A_{388nm} 1.10, 균체량은 7.3 g/l이었으며 색깔의 특성은 L값이 각각 29.40, 6.44, 34.98, 8.94, a값은 각각 5.76, -1.08, 11.83, -1.55, b값은 각각 18.91, 3.41, 27.26, 6.16을 보였다. 따라서 5l 발효조를 이용한 홍국곰팡이의 색소생산을 위해서는 높은 교반속도에서 균체가 분산되어 회수하기 어렵기 때문에 100~300 rpm의 속도로 교반하는 것이 유리할 것으로 생각된다. Yoshimura 등(16)은 *Monascus* sp. No. 2의 small glass 발효조조건(1 l)에서 교반속도를 300 rpm에서 1200 rpm까지 달리하고 색소생산력을 비교한 결과 800 rpm에서 최대 색소 생산력을 보였다고 보고하였으며 균사의 증식형태도 교반속도가 높을수록 pellet 형태로 증식한다고 하였는데 본 연구에서는 pulp형태의 증식을 보였다. 이와 같은 차이는 발효조의 용량과 교반방식이 다르기 때문으로 생각된다. 한편 Su(7)는 본 연구에서 사용한 것과 같은 용량인 5l 발효조를 이용하여 *Monascus anka* V-204의 색소생산조건을 검토한 결과 200~300 rpm이 적합하다고 하였는데 이는 본 연구결과와 잘 일치하였다.

요 약

*Monascus anka*를 이용하여 천연식용색소를 대량생산하기 위한 방법을 개발하기 위하여 발효조를 이용하여 적색소와 황색소의 색소생산의 최적 배양 조건과 생산된 색소의 색깔 특성을 조사하였다. *Monascus anka* 적색소와 황색소를 생산하였는데, 이들 색소는 균체내 색소와 균체외 색소로 구분되었다. 균체외 적색소(ERP)는 494 nm에서, 균체외 황색소(EYP)는 380 nm에서, 균체내 적색소(IRP)는 506 nm에서 그리고 균체내 황색소(IYP)는 388 nm에서 최대 흡광도를 나타냈다. 적색소와 황색소 생산, 색소의 특성 및 균체증식력을 배양 온도, pH, 쌀가루 농도, peptone 농도, magnesium sul-

fate 농도, 통기량 및 교반속도에 대하여 조사한 결과 적색소 생산력은 30°C, 초기 pH 6.0, 쌀가루 농도 3~5%, peptone 농도 0.05%, magnesium sulfate 농도 0.25%, 통기량 0.1 vvm 교반속도 300 rpm의 조건에서 최대치를 보였으며, 이때 ERP, EYP, IRP 및 IYP는 각각 A_{494nm} 0.84, A_{380nm} 0.71, A_{506nm} 1.18, A_{388nm} 1.10, L값은 각각 29.40, 6.44, 34.98, 8.94, a값은 각각 5.76, -1.08, 11.83, -1.55, b값은 각각 18.91, 3.41 27.26, 6.16 그리고 균체량은 7.4 g/l을 보였다. 또한 황색소 생산력은 온도의 경우 적색소 생산을 위한 최적온도 보다 높은 35°C 부근에서 우수하였으며 초기 pH와 쌀가루 농도는 적색소 생산을 위한 최적조건과 같았고, 질소원과 무기염의 농도가 높을수록 그리고 통기량이 많을수록 황색소 생산력이 우수하였다. 적색소와 황색소 생산을 위한 발효조의 교반속도는 100~300 rpm이 적합하였다.

감사의 말

본 연구는 '서남권 식품가공연구 및 기술지원 센터'의 지역협력 연구과제 연구비 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 尾上良, 片山誠. 1977. 微生物界 赤色 天然色素 モナスカラ의 諸性質と 利用技術. 食品工業 8: 52.
2. 鈴木秀昭. 1988. 天然色素의 市場 動向. Food Chem. 88: 76.
3. 林孝三. 1988. 植物色素. 養賢堂發行. p. 406. 4. 宮路憲二. 1951. 應用微生物學. 岩波書店. 東京. 上卷 p. 183-184.
5. Frazier, W.C. 1967. Food Microbiology, McGraw-Hill Book Co., New York, p. 23, 411.
6. Lin, T.F., K. Yakushijin, G.H. Buchi and A.L. Demain. 1992. Formation of water-soluble *Monascus* red pigments by biological and semi-synthetic processes. J. Industrial Microbiology, 9: 173-179.
7. Su, Y.C. 1983. Fermentative production of anka-pigments (*Monascus* pigments). Kor. J. Appl. Microbiol. Bieng., 11(4): 325-337.
8. Kumasaki, S., K. Nakanishi, E. Nishikawa and M. Ohashi 1962. Structure of monascorubrin. Tetrahedron, 18: 1171.
9. Lin, T.F. 1983. The identification and practical classification of *Monascus* spp. (In Chinese). Spec. Top. Sci. Technol. Alc. Bevs., 5: 104-113.
10. Manchand P.S. and W.B. Whalley 1989. Isolation and structure of ankaflavin : A new pigment from *Monascus anka*. Phytochemistry, 12: 2531-2532.
11. Huang, T.L. 1981. Fermentative production and toxic test of natural pigment-*Monascus* pigments. M.S. T., National Taiwan University, Taipei, Taiwan.
12. Su, Y.C. and W.H. Wang 1983. Chinese red rice : Anka. In: Handbook of Indigenous Fermented Foods. (K.H. Steinkraus, R.E. Cullen, C.S. Pederson, L.F. Nellis and B.K. Gavitt, eds), p. 547-553, Marcel Dekker, New York.
13. 井庄一. 1993. 紅麴素材의 開發と利用. 食品と開發, 28(1): 47.
14. Wong, H.C. and P.E. Koehler. 1983. Production of red water-soluble *Monascus* pigments. J. Food Sci. 48: 1200.
15. Lin, C.F. 1973. Isolation and cultural conditions of *Monascus* sp. for the production of pigment in a submerged culture. J. Ferment. Technol. 51(6), 407.
16. Yoshimura, M., S. Yamanaka and K. Mitsugi. 1975. Production of *Monascus*-pigment in a submerged culture. Agric. Biol. Chem., 39(9): 1789.
17. Carels, M. and D. Shepherd. 1977. The effect of different nitrogen sources on pigment production and sporulation of *Monascus* species in submerged, shaken culture. Can. J. Microbiol. 23: 1360.
18. 김현수, 김두현, 양호석, 변유량, 유주현. 1979. 액침 진탕 배양에 의한 *Monascus* sp.가 생산하는 적색색소에 관한 연구. 제1보 균주의 분리 및 색소생산 배양 조건. 한국산업미생물학회지, 7(1): 23.
19. 김현수, 박효성, 양호석, 변유량, 유주현. 1979. 액침 진탕 배양에 의한 *Monascus* sp.가 생산하는 적색색소에 관한 연구. 제2보 적색색소의 생산과 물리적 성질 및 생리적 성질. 한국산업미생물학회지, 7(1): 31.
20. 김창식, 이숙희, 김일. 1977. 홍국곰팡이를 이용한 식용 적색색소의 제조 및 이의 성상에 관한 연구. 한국식품과학회지, 9: 277.
21. 강성국, 정순택. 1995. 액체홍국의 배양조건에 따른 색소 생산과 색조의 변화. 한국산업미생물학회지, 23: 472.
22. 鎌田榮基, 片山脩 공저. 1970. 食品의 色. 光琳書院. p. 15-16 23. Broder, C.U. and Koehler, P.E. 1980. Pigments produced by *Monascus purpureus* with regard to quality and quantity. J. Food Sci., 45: 567-569.
24. 김현수, 장욱, 이희인, 배종찬, 유주현. 1980. *Monascus* sp.가 생산하는 황색색소에 관한 연구. 제2보 황색색소의 분리 및 정제. 한국산업미생물학회지, 8(3): 167-172.

(Received 2 July 1996)