

## Monascus 균주의 적색색소 생산 특성과 육제품에서의 항균 및 착색 효과

박시용 · 마재형 · 최양일<sup>1</sup> · 김동훈<sup>2</sup> · 황한준\*

고려대학교 생명공학원, <sup>1</sup>충북대학교, <sup>2</sup>농촌진흥청 축산기술연구소

**Optimization of Red Pigmentation and Effect of the Metabolites Produced by *Monascus* Strains on Microbial Inhibition and Colorization in Processed Ham. Park, Si-Yong, Jae-Hyung Mah, Yang-Il Choi<sup>1</sup>, Dong-Hoon Kim<sup>2</sup>, and Han-Joon Hwang\*.** Graduate School of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea, <sup>1</sup>Department of Animal Science, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Korea, <sup>2</sup>National Livestock Research Institute, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea - In this study, we tested possibility of replacing nitrite salts, which were always added during the meat product processing, with the metabolites produced by antimicrobial and red pigment producing *Monascus* strains. We have already shown that *Monascus* No. 116 strain has the highest antimicrobial activity among the strains isolated from Ang-Khak. *Monascus* isolate No. 229 was chosen due to its outstanding red pigment producing ability. The red pigment production by No. 229 was highest in the medium containing 8% sucrose, 2% yeast extract, 0.1% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.5% MgSO<sub>4</sub>. Optimum pH and temperature for the red pigment production were pH 6.2 and 30°C, respectively. The antimicrobial activity of ethyl acetate extract of *Monascus* No. 116 culture concentrate was found in spot of R<sub>f</sub> value 0.54 on TLC plate using ethyl acetate-acetone-water (4:4:1, v/v/v) as development solvent system. Isolate No. 116 and No. 229 were cultured in a optimal condition for the antimicrobial activity and red pigmentation. The culture concentrates were applied *in situ* to the production of instantly processed ham. Mixed application of 89 ppm Na-nitrite and 300 ppm of culture broth concentrate of *Monascus* isolate No. 116 and 500 ppm of red color produced by *Monascus* isolate No. 229 showed similar results with the single application of 94 ppm Na-nitrite. These results confirmed that the antimicrobial activity and red pigment of *Monascus* strains might be valuable to replace Na-nitrite salt in meat processing.

**Key words:** *Monascus*, antimicrobial activity, red pigment, Na-nitrite, microbial preservatives, meat product

육가공 산업에 있어서 아질산염은 육색고정, 유해미생물의 생육억제, 풍미증진 및 항산화 작용 등에 기여[3, 7, 10]하므로 가공기술상 없어서는 안 될 중요한 첨가물이다. 그러나 이러한 복합 다기능의 아질산염은 유아 식이에서 methemoglobinemia를 유발할 수 있으며, 2차 아민과의 반응에 의하여 발암성인 nitrosamines이 생성될 수 있음이 알려져 있다. Nitrosamines은 식품에 이미 존재할 수도 있으며, 인체 내에서 생길 수도 있다[1]. 또한 채소류에 다량 함유되어 있는 질산염은 아질산염으로 환원될 수 있으며, 이에 대한 역학적 연구결과 사람에게 있어서 높은 nitrate 부담은 위암을 일으킬 수 있는 위험도를 높여 준다고 한다 [4, 6, 13]. 그러므로 이와 같은 nitrite, nitrate 및 nitrosamine 등의 문제에서 가장 효과적인 노력은 총체적인 외적 급원으로부터 이들의 함량을 낮추는 것이다.

국내의 경우 육제품의 소비량은 연간 햄과 소시지를

합쳐 약 120만톤의 생산량과 1920억원 규모의 출하액으로 매년 크게 증가하고 있으며, 점차 선진국형 소비형태로의 변화에 따라 이러한 증가추세는 계속될 전망이다. 따라서 육가공 산업의 비중이 큰 서구의 식생활 양식의 경우는 말할 것도 없이 전세계적으로 인체에 보다 안전한 아질산염의 효과를 대체하거나 또는 첨가량 감소효과를 가져 올 수 있는 물질 개발에 대한 노력이 있었으며 [5], 지속적인 연구가 절실히 요청되고 있다. 이 점에 있어서 *Monascus* 균종에 대한 적색색소 생산력[8, 14], 항균활성[11, 15, 16] 등의 기능이 알려져 있어, 그의 두 기능을 이용한 아질산염의 대체 가능성을 확인하고자 우선 본연구실에서는 항균성에 대한 연구를 수행하여 이미 보고[9, 12]한 바 있다.

따라서 본 연구에서는 홍국으로부터 분리된 *Monascus* 균주들로부터 색소생성능력 우수 균주를 선발하고, 이의 적색색소 생산을 위한 배양 최적조건을 검토하고, 이미 선발된 항균성 우수 균주와 더불어 각각 최적조건에서 생산된 배양물을 실제 육제품제조에 적용하여 착색

\*Corresponding author  
Tel. 82-415-860-1434, Fax. 82-415-865-0220  
E-mail: hjhwg@kuccnx.korea.ac.kr

도 및 미생물 검사에 의해 이용가능성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### *Monascus* 색소시험액 제조 및 색소 생성능력 측정

*Monascus* 균주는 국내외에서 수집된 홍국으로부터 분리되어 고려대학교 생명공학원 식품위생저장학 연구실에 냉장 보관 중인 것을 사용하였다. 색소시험액은 균체 외 색소를 기준으로 활성을 검색하였으며, 류들[12]과 마들[9]이 행한 배양방법에 준하여, 쌀추출액 배지(rice extract broth: REB)에 진탕배양하여 얻은 배양액(culture broth)을 여과(Whatman No. 1 및 42)하여 사용하였다. 색소생성 능력은 500 nm에서 흡광도(UV-1601 Spectrophotometer, Shimadzu Co., Japan)를 측정하여 나타냈다.

### 항균시험액 제조 및 활성 측정방법

항균시험액 제조 및 항균활성 측정은 이미 보고한 마들[9]이 행한 방법에 의해 수행되었다. 즉, 500 ml-삼각 플라스크에서 REB 200 ml에 각 균주의 포자현탁액( $10^8$  cfu/ml) 0.1 ml를 접종한 것을 32.5°C, 150 rpm으로 10일간 진탕 배양하여 여과시킨다. 여액(약 160 ml)은 감압증발관을 사용하여 45°C, 150 rpm에서 1/5(약 32 ml)로 농축시킨 다음, membrane filter( $\phi$  0.65  $\mu$ m, Milipore)로 제균한 것을 항균시험액으로 사용하였다.

항균활성은 항균시험액으로 시험미생물에 대한 agar diffusion test(ADT)와 dilution test(DT)를 실시하여 측정하였다. ADT는 시험미생물 배양액(균수  $10^5$ /ml 수준)에서 0.1 ml를 취해 도말한 hard agar 평판배지 위에 항균시험액을 0.01~0.05 ml의 해당량을 취해 분주된 disc( $\phi$ : 6 mm)를 올려놓아 배양한 후, 12~24시간 사이에 저해환이 생성된 경우 항균활성이 있는 것으로 판정하였고, 저해환의 직경을 측정, 비교하였다. DT는 250 ml 삼각플라스크에 nutrient broth 30 ml씩, 항균시험액을 해당량 주입하고, 시험미생물의 배양액 0.1 ml를 취해서 가한 후, 37°C에서 진탕배양하였다. 그 후 각 플라스크에서 1 ml씩 취해 640 nm에서 흡광도를 측정하여 시험미생물의 성장 여부를 판단하였다.

### *Monascus*로부터 얻은 항균활성물질의 박층크로마토그래피

*Monascus* 균주의 배양여액 20 ml을 pH 5.5로 조절하여 100 ml의 ethyl acetate로 추출하여 얻은 유기획분을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 에 의해 탈수하고 1 ml로 농축한 후 각각의 농도(0.014 ml, 0.018 ml, 0.02 ml)에서 TLC(Silica gel 60)로 물질 분리를 시도하였다. 이 때 ethyl acetate-acetone-water(4:4:1)을 전개용매로 사용하고, 자외선패

프 하에서 관찰하였다. 이 plate 위에 시험미생물이 혼합된 한천배지(50°C)를 부어 배양하여 나타난 clear zone으로 항균성분 spot을 확인하였고, 이 spot의 R<sub>f</sub>치를 산출하였다. 한편 확인된 항균 분획을 plate로부터 분리하여 methanol 1 ml에 용해시켜 활성을 다시 확인하였다.

### 배양조건에 따른 색소 생성능력

탄소원, 질소원, 인산염, 금속이온 등의 각 영양원과 pH 및 온도 변화 등에 따른 색소생성 능력을 측정하였다. 탄소원으로서 sucrose, glucose, soluble starch, fructose, galactose, maltose, dextrin, 질소원으로서  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , peptone, yeast extract, 인산염은  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 와  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 금속이온으로  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{MnSO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4$  등을 각각 REB에 첨가하여 30°C에서 10일간 배양한 후 적색색소 생성력에 미치는 영향을 온도 변화에 따라 측정하였다. 또한, 배양 초기 pH 변화 및 배양온도의 변화가 색소생성에 미치는 영향도 검토하였다.

### 즉석햄 제조 및 미생물학적, 관능적 품질 측정

선정된 항균시험액의 식품에의 이용 가능성 검토를 위해 다음과 같이 즉석햄을 제조하였다. 원료육으로부터 지방을 제거하여 획득된 순돈육 90 kg을 30 kg씩 3등분하여 각각에 아질산염을 돈육 1 kg 당 0.079 g, 그리고 0.089 g/kg, 0.094 g/kg씩 첨가한 후, 이를 기준으로 하여 300 및 500 ppm의 항균시험액 및 색소시험액의 조합 적용으로 100 g 단위의 즉석햄을 제조한 후 진공포장하였다. 향신료와 얼음 첨가 및 기타 제조방법은 일반적인 즉석햄 제조 방법에 따라 실시하였다. 이 때 Na-nitrite 0.094 g/kg을 첨가하여 제조된 햄을 대조구로 사용하였다.

이후 4°C에 저장하면서 5일 간격으로 취하여 EMB(eosin methylene blue agar), MRS(lactobacilli MRS agar), PCA(plate count agar) 및 TNA(tryptic nitrate agar) 배지를 사용하여 각각 대장균군(35°C), 젖산균(30°C), 호기성 총균(30°C) 및 저온성균(25°C)을 24시간 배양하여 생성된 집락을 계수하였다. 또한 즉석햄의 적색도는 5 cm×5 cm 크기로 자른 면을 Chroma-meter(Minolta CR-300)에 의해 10회 측정하여 +a 값의 평균치를 산출하여 표시하였다.

## 결과 및 고찰

### *Monascus* 분리주의 항균활성과 색소 생산능력

수집된 홍국으로부터 분리된 *Monascus* 균주들에 대한 항균활성에 대해서 이미 우리는 분리주 No. 116이 우수한 활성을 나타냈음을 보고한 바 있다[9, 12]. 이후 지속적인 분리가 진행되어 왔지만 아직까지 분리주 No. 116보다 우수한 활성의 균주가 발견되지 않아 본 연구에서

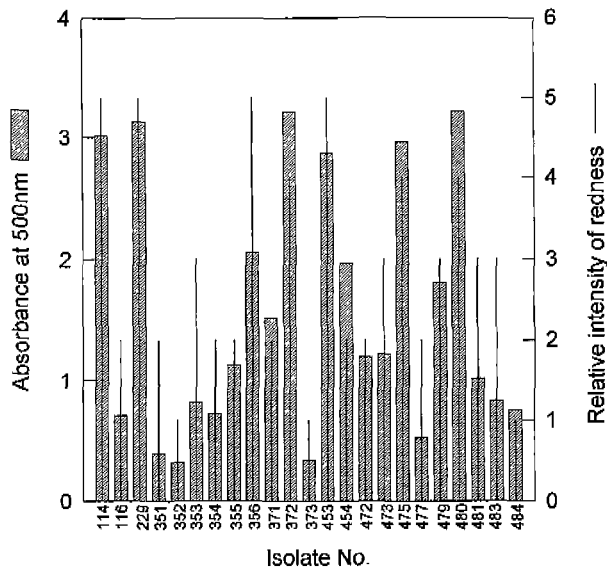


Fig. 1. Red pigment producing activity of *Monascus* strains evaluated by differentiating the relative intensity of redness and by the measuring the absorbance at 500 nm.

는 이 분리주의 항균활성을 다시 확인한 후 항균활성 우수 균주로 활용하였다.

한편 적색색소 생성에 대해서 우선 *Monascus* 분리주 총 23주의 배양액에 대한 상대적 적색도와 흡광도 측정 에 따른 색소생산력을 비교하였다. 이 때 상대적 적색도 는 실험실원 8인에 의해 각 배양액의 농담(濃淡)에 따라 5 단계로 등급화한 평가 결과를 종합하여 육안판별 결과 로 나타냈다. 그 결과, Fig. 1에서와 같이 분리주 No. 356 및 No. 453은 육안판별에 의해서, 분리주 No. 372 및 No. 480은 흡광도 측정 결과에서 비교적 우수한 것으로 나타났 으며, 분리주 No. 229 및 No. 114는 육안판별 및 흡광도 측정에서 우수한 색소생성 능력을 보였다. 이상의 결과로 우수 적색색소 생성균주로서는 분리주 No. 229가 가장 뛰어난 것으로, 분리주 No. 114도 우수한 결과를 나타냈다.

우수 활성 균주들의 혼합배양에 의한 활성 변화

상기의 색소생산성이 우수한 분리주 No. 114와 No. 229를 항균활성이 우수한 분리주 No. 116과의 조합에 의해 두 활성이 각각의 단독배양시의 활성을 유지 또는 증진시킬 수 있는지를 검토하기 위하여 혼합배양을 시도 하였다. 그 결과는 Fig. 2에서 나타낸 바와 같이 혼합배 양의 결과는 단독배양에 의한 각각의 활성에 크게 못 미 쳤다. 따라서 식품에의 적용을 위해서 단독배양에 의한 각각의 배양물을 사용하였다.

영양원별 색소생성 능력의 변화

항균활성을 위한 최적 배양조건은 이미 보고한 바 있 으므로[9] 여기서는 적색색소 생성에 가장 우수한 균주

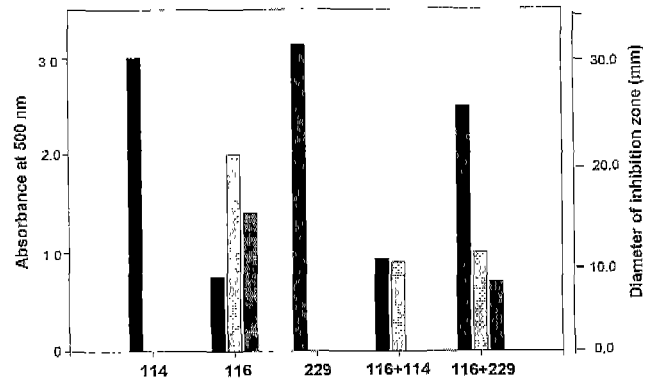


Fig. 2. Effect of mono- and mixed-culture by combination of *Monascus* strains on antimicrobial activity and red pigmentation.

Red pigmentation  
 Antimicrobial activity against *Bacillus subtilis*  
 Antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*  
*Monascus* No. 116: selected stain because of the antimicrobial activity. *Monascus* No. 229 and No. 114: selected strains because of the red pigmentation.

로 선정된 분리주 No. 229에 대한 탄소원, 질소원 및 무기염류들의 변화가 어떤 영향을 미치는지 검토하였고, 그 결과는 Table 1과 같다.

탄소원 및 질소원의 영향

적색색소 생성에 가장 우수한 균주로 선정된 분리주 No. 229에 대한 각종 탄소원의 변화가 색소생성에 미치는 능력은 Fig. 3에서와 같이 고정농도(각 10%)에서 sucrose 또는 fructose 첨가 시 뚜렷한 활성의 증대를 보 였으나, 그 중 sucrose가 가장 우수한 색소생성력을 보였 으므로 이를 탄소원으로 사용하여 농도변화에 따른 색소 생성활성을 검토하였다. 즉 sucrose 8% 첨가시 대조구에 비해 현저히 향상된 활성을 나타냈으며, 가장 우수한 결 과를 나타냈다. 질소원으로는 고정농도에서(각 2%) yeast extract가 우수하였으며, 그 밖의 질소원을 첨가했 을 때는 색소생성 활성이 미약하였다. Yeast extract 2.0% 이상의 농도에서 우수한 효과를 나타냈음을 확인 하였다.

무기염류의 영향

인산염으로는  $K_2HPO_4$ 를 0.1% 첨가했을 때, 이의 1%, 또는 1.5%를 첨가하거나,  $KH_2PO_4$ 의 시험된 어떤 농 도에서보다도 탁월한 활성을 나타냈다. 또한 Mg, Mn 및 Fe 등 금속이온이 색소생성에 미치는 영향은  $MgSO_4$ 에 대해서만 효과를 나타냈고, Mn이나 Fe는 색소활성 증대 에 영향을 주지 않았다. 따라서 금속이온 중  $MgSO_4$  0.5 %의 농도가 가장 양호한 조건으로 판단되었다. 따라서 분리주 No. 229의 적색색소생성을 위한 영양조건으로 sucrose 8%, yeast extract 2.0%,  $K_2HPO_4$  0.1%,  $MgSO_4$

**Table 1. Effect of various nutrients on red pigmentation of *Monascus isolata* No. 229**

Nutrients	Concentration	Pigment producing activity <sup>1)</sup>		
		OD	RI	
C-source	Sucrose	6	++ <sup>2)</sup>	+++
		8	++++	++++
		10	+++	++++
		12	+++	+++
		15	+	+
		18	+	±
N-source	Yeast extract	1.8	+++	+++
		2.0	++++	++++
		2.2	++++	++++
		2.4	++++	++++
Phosphates	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.1	++++	++++
		1.0	+	+
		1.5	+	±
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.1	+	±
		1.0	+	±
		1.5	++	++
Metallic compounds	MgSO <sub>4</sub>	0.05	±	±
		0.1	+	++
		0.5	++++	++++
	MnSO <sub>4</sub>	0.05	±	±
		0.1	+	±
		0.5	+	±
FeSO <sub>4</sub>	0.05	+	±	
	0.1	+	-	
	0.5	ng	ng	

<sup>1)</sup>Pigment producing activity.

OD: optical density at 500 nm, RI: relative intensity of redness evaluated by the naked eye.

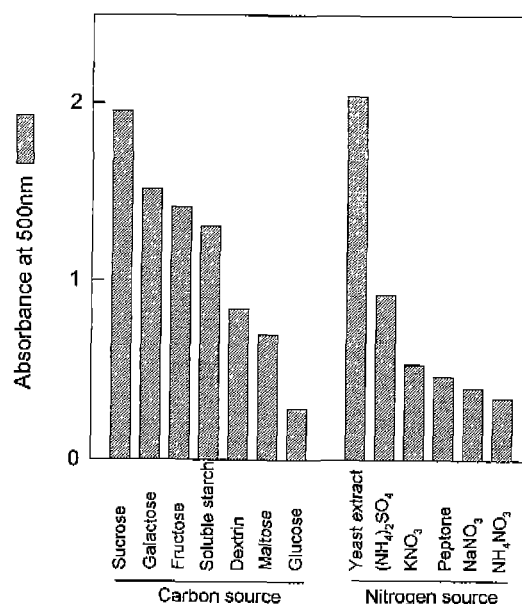
<sup>2)</sup>±: orange color, -: pigment producing activity of control or the level of pigment producing activity corresponding to control, +: indicates OD up to 1.0 or pale red, ++: indicates OD up to 1.5 or light red, +++: indicates OD up to 2.0 or red, ++++: indicates OD over 2.0 or dark red, ng: no-growth.

0.5% 첨가 시 현저히 증가된 결과를 보였다.

**배양초기 pH 및 배양온도의 영향**

배지의 초기 pH의 변화에 대한 영향은 Table 2에서 보는 바와 같이 분리주 No. 229는 pH가 5.9~6.2 범위에서 비슷하게 우수한 결과를 보였으나, pH 6.2일 때 가장 우수한 색소생성력을 보였다. 또한 배양 최적온도 조건은 Table 3에서 보는 바와 같이 30℃에서 배양했을 때였다. 따라서 분리주 No. 229의 배양 초기의 pH는 6.2, 배양온도는 30℃에서 적색도가 우수한 색소물질을 생성할 수 있었다.

**항균성 *Monascus* 균주 배양물로부터 항균물질의 분리**



**Fig. 3. Red pigment producing activity of *Monascus* No. 229 with various carbon and nitrogen sources evaluated by measuring the absorbance at 500 nm.**

**Table 2. Effect of pH on red pigmentation of *Monascus* isolate No. 229**

pH	Pigment producing activity <sup>1)</sup>	
	OD	RI
5.0	1.639	++ <sup>2)</sup>
5.3	1.725	++
5.6	1.589	++
5.9	2.255	++++
6.2	2.261	++++
6.5	1.593	++

<sup>1)</sup>Pigment producing activity

OD: optical density at 500 nm, RI: relative intensity of redness evaluated by the naked eye.

<sup>2)</sup>+: indicates light red, ++: indicates red, +++: indicates dark red, ++++: indicates blackish red.

**Table 3. Effect of temperature on red pigmentation of *Monascus* isolate No. 229**

Temp	Pigment producing activity <sup>1)</sup>	
	OD	RI
22.5	0.525	+ <sup>2)</sup>
27.0	1.890	+++
27.5	1.850	+++
30.0	2.265	++++
32.5	1.065	+

<sup>1)</sup>Pigment producing activity. OD: optical density at 500 nm, RI: relative intensity of redness in comparison with activity of control.

<sup>2)</sup>+: indicates light red, ++: indicates red, +++: indicates dark red, ++++: indicates blackish red.

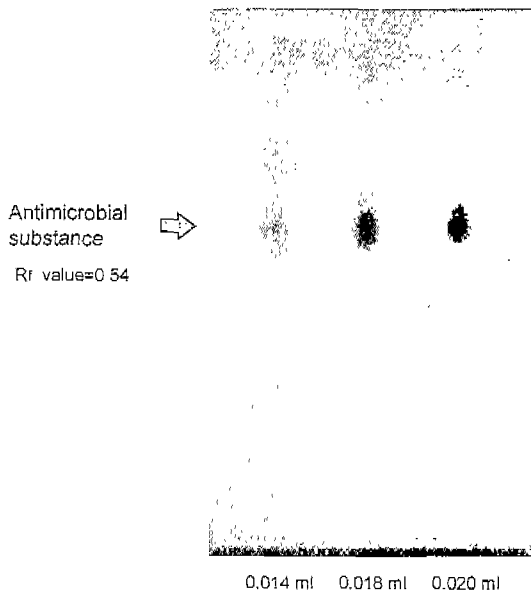


Fig. 4. TLC Chromatogram by the different loading amount of antimicrobial substance extracted from *Monascus* No. 116 culture liquid.

항균활성이 가장 우수한 분리주로 확인되었던 *Monascus* No. 116의 ethyl acetate 추출물을 TLC plate에 전개시켜 Fig. 4와 같은 결과를 얻었다. 항균활성을 나타낸 spot의 R<sub>f</sub>값은 0.54로 산출되었다. 이는 동일한 방법으로 수행하여 산출된 곰팡이독소의 일종인 citrinin의 R<sub>f</sub>치 0.54와 동일하며, 어떤 *Monascus* sp. 균주에서 얻은 항균물질이 citrinin인 것으로 보고[2]된 점으로 미루어, 본 항균물질의 citrinin 관련성을 규명할 필요가 있다고 판단되어 이를 위한 심도있는 연구가 현재 진행 중에 있다.

이 후 다시 0.02 ml를 loading하여 얻은 분획을 plate로부터 분리하여 methanol 1 ml에 용해시킨 후 0.5 ml를 취하여 *Bacillus subtilis*에 대한 DT 실험결과 Fig. 5와 같이 30시간까지 저해하는 항균활성을 보여 주었다. 또한

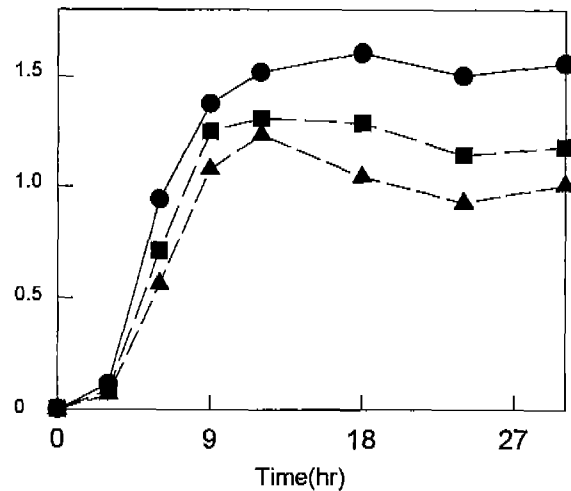


Fig. 5. Changes in cell growth against *Bacillus subtilis* of antimicrobial substance removed from the TLC plate.

● : blank  
 ■ : 0.5 ml of methanol  
 ▲ : 0.5 ml of solution which 0.02 ml of antimicrobial substance were removed from TLC plate and then solved in MeOH 1 ml.

*B. anthracis*에 대한 ADT에서 0.03 ml를 주입했을 때 (결과 미제시) 직경이 10 mm, 0.05 ml를 주입했을 경우 직경 13 mm의 항균활성을 나타내어 배양농축액만을 사용한 경우보다 ADT 및 DT에서 우수한 활성을 나타냈다. 따라서 이상의 결과로 본 연구에서는 *Monascus* 분리주 No. 116과 No. 229를 최적 배양조건에 의하여 생산한 후 죽석햄에 적용하여 Na-nitrite에 의한 항균성과 육색고정 효과의 대체 가능성을 검토하였다.

죽석햄에서의 미생물학적 및 관능적 품질 측정

항균성과 적색색소 생산성을 지닌 *Monascus* 균주 배양액을 육제품 제조에 필수적으로 첨가되는 아질산염의 첨가량 감소효과를 가져올 수 있는지의 여부를 검토하기 위해 햄제조에 직접 적용하여 보존성과 육의 적색도를

Table 4. Changes in cell count of stored ham produced by application of *Monascus* No. 116 concentrate

Samples	Group of microorganisms	CFU/ml				
		1 day	6 day	11 day	16 day	21 day
A	Aerobic total microbes	1.0×10 <sup>2</sup>	N.D.	1.0×10 <sup>4</sup>	1.6×10 <sup>4</sup>	1.4×10 <sup>4</sup>
	Lactic acid bacteria	5.0×10 <sup>2</sup>	2.0×10 <sup>2</sup>	3.7×10 <sup>3</sup>	2.7×10 <sup>3</sup>	2.1×10 <sup>3</sup>
	Lactose fermenting microbes	N.D.	N.D.	7.4×10 <sup>3</sup>	1.6×10 <sup>4</sup>	1.2×10 <sup>4</sup>
	Psychrotrophic microbes	2.0×10 <sup>2</sup>	8.0×10 <sup>2</sup>	2.7×10 <sup>4</sup>	1.2×10 <sup>5</sup>	1.1×10 <sup>5</sup>
B	Aerobic total microbes	N.D.	7.0×10 <sup>2</sup>	1.9×10 <sup>3</sup>	6.3×10 <sup>3</sup>	8.1×10 <sup>3</sup>
	Lactic acid bacteria	N.D.	1.0×10 <sup>2</sup>	1.2×10 <sup>3</sup>	2.3×10 <sup>3</sup>	2.1×10 <sup>3</sup>
	Lactose fermenting microbes	1.0×10 <sup>2</sup>	N.D.	2.3×10 <sup>3</sup>	4.3×10 <sup>3</sup>	2.1×10 <sup>3</sup>
	Psychrotrophic microbes	N.D.	8.2×10 <sup>3</sup>	1.7×10 <sup>4</sup>	5.2×10 <sup>4</sup>	6.3×10 <sup>4</sup>

\* N.D. Not Detected (<20)

A : added 0.094 g of Na-nitrite per kg ham weight

B : added 0.089 g of Na-nitrite+0.3 g of culture concentrates by *Monascus* No. 116 per kg ham weight.

Table 5. Changes in redness during the storage of ham produced by application of *Monascus* No. 229 culture liquid

Sample	Hunter's a value						
	1 day	6 day	11 day	16 day	21 day	26 day	31 day
A	12.99	12.62	12.47	12.55	13.15	12.38	12.60
B	13.07	12.64	12.48	12.57	13.22	12.39	12.61
C	13.09	12.73	12.56	13.07	13.24	12.47	12.81
D	13.11	12.77	12.60	13.11	13.28	12.51	12.85

A: added 0.089 g of Na-nitrite per kg ham weight

B: added 0.094 g of Na-nitrite per kg ham weight

C: added 0.089 g of Na-nitrite+0.5 g of culture liquid by *Monascus* No. 229 per kg ham weight

D: added 0.094 g of Na-nitrite+0.5 g of culture liquid by *Monascus* No. 229 per kg ham weight

측정 비교하였다.

Table 4에서와 같이 89 ppm의 Na-nitrite농도에 *Monascus* No. 116의 농축 항균시험액 300 ppm을 첨가하여 21일간 균수의 변화를 관찰한 결과, lactose 분해성균의 수는 11일까지 대조구 햄과 유사하거나 보다 적게 관찰되었다. 호기성 총균수를 측정한 결과는 21일까지 저해 효과가 있었으며, 젖산균수는 11일까지 저해효과를 나타냈다. 또한 저온성 균수는 6일째에는 대조구 햄보다 많은 수가 관찰되었지만, 11일 이후로는 감소된 수치를 나타냈다.

한편 Na-nitrite 89 ppm 이외에 *Monascus* No. 229로부터 얻은 색소시험액을 500 ppm을 첨가하여 제조된 즉석햄을 31일간 관찰한 육의 착색능력 역시 안정된 상태를 유지하여 Table 5와 같이 전반적으로 대조구의 햄과 유사한 적색도를 나타냈다.

이상의 결과로 *Monascus* 균주 배양물의 항균기능과 착색기능이 실제 식품시스템 내에서 두 기능을 모두 발현할 수 있음을 확인하였고, 이로써 아질산염의 첨가량 감소에 기여할 수 있다. 아질산염은 제 2급 또는 제 3급 이민류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine을 생성할 수 있으므로 아질산염의 첨가량 감소효과는 곧 육제품의 안전성이 한층 강화될 수 있음을 의미한다. 금후로는 한층 더 고도의 항균물질 생산최적화 및 배양물의 정제를 통한 항균물질의 구조분석, 육제품 내에서의 착색기구 및 다양한 농도변화에 따른 저장성 그리고 육에서 균일하게 작용할 수 있는 기술개선 등이 뒤따라야 할 것이며, 무엇보다도 본 항균물질의 citrinin 관련성 규명이 선행되어야 할 것이다.

## 요 약

본 연구는 항균성 및 적색색소 생산성을 지닌 *Monascus* 균주들의 대사산물을 육제품 제조시 사용되는 아질산염의 대체 또는 감소 첨가에 대한 가능성을 알아보기 위하여 수행되었다. 항균성에 있어서는 홍국으로부터 분

리된 모든 분리주 중 분리주 No. 116이 가장 항균활성이 뛰어났음을 이미 보고한 바 있다. 적색색소 생산성에 있어서는 *Monascus* 분리주 No. 229가 가장 우수한 균주로 선정되었다. 이 균주의 영양원 및 배양조건 변화에 따른 색소생성활성에 대해 검토한 결과 탄소원으로는 sucrose 8%, 질소원으로는 yeast extract 2.0%, 인산염으로  $K_2HPO_4$  0.1% 그리고 금속성분으로  $MgSO_4$  0.5% 첨가시 그리고 배양초기의 pH는 6.2, 배양온도는 30.0℃에서 최적의 결과를 보였다. TLC상에서 확인된 *Monascus* No. 116의 항균성 spot은 ethyl acetate-acetone-water (4:4:1, v/v/v)을 전개용매로 사용했을 때 0.54의 R<sub>f</sub>값을 나타냈다. *Monascus* 균주 No. 116과 No. 229를 최적 배양조건에서 배양한 배양농축액을 직접 즉석햄 제조에 적용하였을 때 Na-nitrite 89 ppm과 *Monascus* No. 116의 항균시험액 300 ppm과 *Monascus* No. 229의 색소시험액 500 ppm이 적용된 경우는, 94 ppm의 Na-nitrite만을 적용했을 때와 저장성과 육의 적색도면에서 유사한 결과를 보여 *Monascus* 균주의 항균물질과 적색 색소를 육가공에서 Na-nitrite의 부분적 대체가능성을 확인할 수 있었다.

## 감사의 말

본 연구는 1995년도 농림수산부 특정연구과제의 일부로서 연구비 지원에 감사드립니다. 또한 연구수행에 도움을 주신 대전충남 양돈축산업협동조합 관계자 여러분들께 감사드립니다.

## 참고문헌

- Biedermann, R., D. Leu, and W. Vogelsanger. 1980. Nitrate in Lebensmitteln, eine Standortbestimmung. *Deutsch. Lebensmittel-Rundschau*. 76: 149-156, 198-207.
- Blanc, P. J., J. P. Laussac, J. Le Bars, M. O. Loret, A. Pareilleux, D. Prome, J. C. Prome, S. L. Santerre, and G. Goma. 1995. Characterization of monascidin A from *Mo-*

- nascus* as citrinin. *Internat. J. Food Microbiol.* **27**: 201.
3. Cassens, R. G., T. Ito, M. Lee, and D. Buege. 1978. The use of nitrite in meat. *Bioscience* **28**: 633–637.
  4. Dutt, M. C. and H. Y. Lim. 1987. Nitrate consumption and the incidence of gastric cancer in Singapore. *Fmd. Chem. Toxic.* **25**: 515–520.
  5. Fink-Gremmels, J., J. Dresel, and L. Leistner. 1991. Einsatz von *Monascus*-Extrakten als Nitrat-Alternative bei Fleischerzeugnissen. *Flw.* **71**: 329–331.
  6. Forman, D. S. A.-D. and R. Dlli. 1985. Nitrates, nitrites and gastric cancer in Great Britanian. *Nature* **313**: 620–625.
  7. Gray, J. I. and A. M. Pearson. 1984. Cured meat flavor. *Advanc. Food Res.* **29**: 1–86.
  8. Lin, C. F. and H. Iizuka. 1982. Production of extracellular pigment by a mutant of *Monascus kaoliang* sp. nov. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**: 671–676.
  9. Mah, J. H. and H. J. Hwang. 1996. Screening of *Monascus* strains for antimicrobial activity and effect of change of nutrients and incubation conditions on antimicrobial activity. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **25**(6): 1080–1086.
  10. Möhler, K. 1980. Das Pökeln. *Fleischforschung und Praxis*. Schriftenreihe Heft 7, Verl. Rhein Hess, Druchwerkst te, Alzey.
  11. Ober, P. and B. Kunz. 1989. Wirkung von Stoffwechselproduktion des *Monascus purpureus* auf Bakterien. *Flw.* **69**: 123–125.
  12. Ryu, C. S., Y. B. Kim, and H. J. Hwang. 1995. Antimicrobial effect of *Monascus* strains isolated from Ang-Khak. *J. Fd. Hyg. Safety.* **10**(4): 271–277.
  13. Takacs, S. 1987. Nitrate content of drinking water and tumors of the digestive organs. *Zbl. Bakt. Hyg.* **B184**: 269–279.
  14. Yoshimura, M., S. Yamanaka, K. Mitsugi, and Y. Hirose. 1975. Production of *Monascus*-pigment in a submerged culture. *Agr. Biol. Chem.* **39**: 1789–1795.
  15. Wong, H. C. and P. E. Koehelr. 1981. Production and isolation of an antibiotic from *Monascus purpureus* and its relationship to pigment production. *J. Food. Sci.* **46**: 589–592.
  16. Wong, H. C. and Y. S. Bau. 1977. Pigmentation and antibacterial activity of fast neutron- and X-ray-induced strains of *Monascus purpureus* Went. *Plant Physiol.* **60**: 578–581.

(Received December 10, 1998)