

## 배지에 따른 *Genus Monascus*의 증식도와 색소함량

윤은경 · 김미정\* · 김순동

대구가톨릭대학교 식품산업학부, \*신성대학 호텔식품계열

### Growth and Pigment Formation of *Genus Monascus* on Medium Compositions

Eun-Kyung Yoon, Mee-Jung Kim\* and Soon-Dong Kim

Faculty of Food Science and Industrial Technology, Catholic University of Daegu, Kyungsan 712-900, Korea

\*Department of Food Service and Industry, Shinsung College, Chungnam 343-860, Korea

#### Abstract

Growth and pigment formation in *Genus Monascus*(*M. pilosus* and *M. purpureus*) related 15 kinds of culture media(Lin medium, SP medium, YM medium, YE medium, GMIN medium, SMO medium, MY medium, GY medium, Nishikawa medium, sucrose medium, stock culture, Mizutani medium, modified Lin medium, Toya medium and rice medium) were investigated. Mizutani medium and Lin medium among 15 kinds of the culture media showed good growth for *M. pilosus* and *M. purpureus*, fresh mycelium weight cultivated for 10 days at 30℃ was each 24.5~26.9 or 15.9~17.2 g/100 mL. The culture media which showed higher content of pigment production in two fungi were Lin medium(OD: 1.2~1.6) and Mizutani medium(OD: 0.8~1.0) that showed higher in *M. pilosus*.

Key words : growth, pigment, *Monascus pilosus*, *Monascus purpureus*

## 서 론

홍국(Beni-koji)은 증백미에 *Monascus*속 곰팡이를 번식시킨 것으로 적색계 색소를 함유하여 우리나라를 비롯한 중국, 일본, 인도네시아 등 동아시아권 국가들에서 홍주, 홍두부 등을 제조하여 왔다(1). 홍국의 색소는 물에는 난용이지만 ethanol에 녹고 단백질, 펩티드 등에 대한 친화성이 강하고, 열에 안정할 뿐만 아니라 사용 가능한 pH 범위가 넓으며 염착성이 양호하여, red rice wine, kaoliang brendy, soy been cheese 등 착색제로도 상용되고 있다(2, 3). 이들 색소는 monascin과 ankaflavin 등의 황색계와 rubropunctatin, monascorubrin 등의 갈은 적색계, rubropunctamine, monascorubramine 등의 자색계 색소로 구성되어 있으며(4), 사용균주, 영양성분 및 배양조건에 따라 색소의 구성성분과 생산량이 달라지는 것으로 알려져 있고(5), 이들 색소는 압 예방효과(6)가 있는 것으로 보고되어 있다. 또, 홍국에는 monacolin K가 함유되어 있는데 이 물질은 아주 낮은 농도(20 ng/mL)에서 체내 콜레스테롤(특히 LDL 콜레스테롤)의 합성과정에 관여하는 HMG-CoA reductase의 활성을 억제시키는 것으로 밝혀져(7-9). 다기능성

의 천연 신소재로 각광받고 있다. 홍국의 생산은 증백미를 이용한 고체 배양법(10,11)으로 행해왔으나 1970년대 이후는 대량생산을 위하여 균주(12-14)와 액체배양방법(15,16)에 관한 연구가 많이 이루어졌으며 색소생성과 탄소원, 질소원, 통기량 및 교반속도와의 관계를 중심으로 한 연구들이 주류를 이루고 있다. 최근 홍국을 이용한 발효식품 제조에 관한 연구(17,18)가 이루어지기 시작함에 따라 성장과 색소생성이 우수한 배지개발의 필요성이 강조되고 있으나 이에 관한 연구는 매우 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 *Monascus*속 주요 미생물인 *M. pilosus*와 *M. purpureus*의 성장과 색소 생성이 우수한 배지를 선발할 목적으로 관련 배지 15종에 대하여 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 균주

한국중균협회에서 분양 받은 *Monascus purpureus* KCCM 11832, *Monascus pilosus* KCCM 60084를 사용하였다.

### 배지

본 실험에 사용한 배지는 Table 1과 같이 Lin, SP, YM,

Corresponding author : Soon-Dong Kim, Faculty of Food Science and Industrial Technology, Catholic University of Daegu, Kyungsan 712-900, Korea  
E-mail : kimsd@cataegu.ac.kr

YE, GMIN, SMO, MY, GY, Nishikawa, sucrose, stock culture, Mizutani, modified Lin, Toya 및 쌀배지 등 15종(19)을 사용하였다. 배지의 pH는 모두 6.0으로 조정하였다.

**Table 1. Culture media for growth and pigment formation of *M. pilosus* and *M. purpureus***

Media	Components (g/100mL)
Lin medium(LM)	rice powder(3.0), NaNO <sub>3</sub> (0.15), MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.10), KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.25)
SP medium(SP)	sucrose(10.0), peptone(1.0), KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.1), MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.01), tartaric acid(0.1), L-aspartic acid(0.3)
YM medium(YM)	yeast extract(0.3), malt extract(0.3), peptone(0.5), glucose(1.0)
YE medium(YE)	glucose(4.0), KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.3), yeast extract(1.0)
GMIN medium(GM)	glucose(4.0), KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.1), MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.05), NaCl(0.05), FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.01)
SMO medium(SMO)	sucrose(10.0), peptone(0.1), KNO <sub>3</sub> (0.2), tartaric acid(0.3), (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (0.2), MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.05), ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.05), CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O(0.01)
MY medium(MY)	malt extract (2.0), yeast extract(0.2)
GY medium(GY)	glucose(10.0), yeast extract(0.8)
Nishikawa medium(NM)	sucrose(10.0), peptone(1.0), (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (0.2), KNO <sub>3</sub> (0.2), MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.5), ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.01), CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O(0.01), tartaric acid(0.3), AS <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (0.05)
Sucrose medium(SM)	sucrose(10.0), yeast extract(0.3), casamino acid(0.5), NaNO <sub>3</sub> (0.2), KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.1), MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.05), KCl(0.05), FeSO <sub>4</sub> (0.001)
Stock culture(SC)	sucrose(10.0), KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.1), MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.02), NaNO <sub>3</sub> (0.2), KCl(0.02), FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.001), yeast extract(0.3), casamino acid(0.5)
Mizutani medium(MM)	glucose(5.0), peptone(2.0), KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.8), MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.05), CH <sub>3</sub> COOK(0.2), NaCl(0.1)
Modified Lin medium(ML)	glucose(3.0), NaNO <sub>3</sub> (0.15), MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.1), KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.25)
Toya medium(TM)	glucose(10.0), yeast extract(3.0), malt extract(3.0), peptone(5.0)
Rice medium(RM)	rice powder(5.0), NaNO <sub>3</sub> (0.15), KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.25), MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O(0.1)

## 종 배양

종배양은 Mizutani 배지(19) 사용하였으며, 보존 중인 균주는 동일배지를 사용하여 30°C, 150 rpm의 shacking incubator에서 7일 간격으로 수차 계대배양하여 활성화시킨 후 동일 배지 7 mL를 넣은 캡 시험관을 사용하여 같은 조건으로 7일간 배양하여 사용하였다.

## 본 배양

본 배양은 250 mL의 삼각플라스크에 배지 100 mL를 넣어 121°C에서 15분간 멸균한 후 종 배양액을 넣어 30°C,

150 rpm의 shacking incubator에서 10일간 배양하였다.

## 균의 증식도

균의 증식도는 배지에 번식한 균체를 핀셋으로 꺼내어 습기를 제거시킨 후 생체중량을 측정하였으며, 배지 100 mL당 성장한 균체 g 수로 나타내었다.

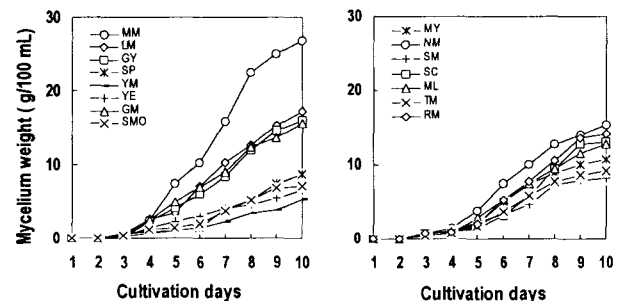
## 색소함량

색소의 함량은 Kang과 Jung(20)의 방법에 따라 배양액과 균체를 균질기(Nihonseili, kaisha Ltd, Japan)로 12,000 rpm에서 5분간 파쇄한 후 10 mL을 취하고 95% ethanol 용액 50 mL을 가하여 15분 동안 색소를 추출하였으며 Whatman No. 3 여과지로 여과한 여액의 흡광도를 500 nm에서 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 균의 증식도

배지 15종에 대한 *M. pilosus*와 *M. purpureus* 균주의 증식도를 조사한 결과는 Fig. 1, 2와 같다. *M. pilosus*의 경우 30°C에서 10일간 배양한 균체의 무게는 MM에서 26.9 g/100 mL로 가장 높았으며, LM, GY 및 GM에서는 15.5~17.2 g/100 mL이었다. 또, NM, RM, ML, SC, MY, TM 및 SM에서는 8.2~15.4 g/100 mL을 나타내었다. *M. purpureus*의 경우는 MM에서 24.5 g/100 mL로 가장 높았으며, LM과 GY는 14.5~15.9 g/100 mL, SMO, ST, YE 및 YM은 2.1~6.5 g/100 mL, NM, RM, SC, ML, MY, TM 및 SM은 7.5~14.0이었다.



**Fig. 1. Changes in growth of *M. pilosus* KCCM 60084 in the various medium during cultivation at 30°C.**

Abbreviations: See Table 1. Values are mean of triplicate determinations.

이상의 결과 균주별로는 *M. pilosus*가 *M. purpureus*보다 전반적으로 생육도가 양호하였으며 증식도가 가장 우수한 배지는 MM배지였다. Jang 등(21)은 *M. purpureus*의 경우 7일까지는 급격한 증가를 보이나 그 이후는 큰 변화를 보이지 않았

다고 하였으나 본 실험에서는 10일간 지속적인 증가를 보였다. Rhu(22)는 *M. araneosus*(KFR100371), *M. pilosus*(IFO 4485), *M. ruber*(IFO9203, IFO 32318)를 사용한 고기능성 홍국제조 및 생리활성물질 생산공정 개발연구에서 CaCl<sub>2</sub> 1%를 함유하는 MM배지를 사용하여 한 결과 30℃에서 10일간 배양하였을 때의 건조 균체량이 2.0~2.3 g/100 mL이라 하였으며, 균체의 증식도는 pH, 통기량, 탄소 및 질소원, 탄소와 질소의 비 및 무기질 원에 따라 상당한 차이를 보인다고 하였다.

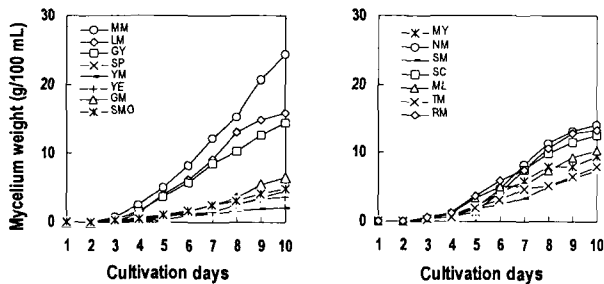


Fig. 2. Changes in growth of *M. purpureus* KCCM 11832 in the various medium during cultivation at 30℃.

Abbreviations: See Table 1. Values are mean of triplicate determinations.

### 색소생성량

*M. pilosus*와 *M. purpureus*의 색소생성량을 조사한 결과는 Fig. 3, 4와 같다. 홍국균이 생성하는 색소는 monascin과 ankaflavin 등의 황색계와 rubropunctatin, monascorubrin 등의 같은 적색계, rubropunctamine, monascorubramine 등의 자색계 색소 등 6~8종으로 구성되어 있으며(4), 사용균주, 영양성분 및 배양조건에 따라 색소의 구성성과 생산량이 달라지는 것으로 알려져 있다(5). 본 실험에서는 이들 색소들이 혼합된 total 색소함량을 흡광도로 나타내었다. 그 결과 *M. pilosus*의 경우 30℃에서 10일간 배양한 색소의 생성량은 LM에서 흡광도 1.6으로 가장 높았으며, MM과 GY는 0.6~1.0범위였다. 균체 생성량이 높았던 GM에서는 0.3으로 낮은 값을 보였다. SP, YM, YE, SMO, NM, RM, ML, SC, MY, TM 및 SM에서도 0.3~0.7범위로 비교적 낮은 값을 나타내었다. *M. purpureus*의 경우는 LM에서 1.2로 가장 높았으며, MM과 GY는 각각 0.8과 0.6이었다. SMO, SP, YE, YM 및 GM은 0.4~0.6, SC에서는 0.78, MY, NM, SM, ML, TM, RM에서는 0.2~0.5범위의 값을 나타내었다. 따라서 *M. pilosus*가 *M. purpureus*보다 전반적으로 색소생성량이 높았으며, 가장 우수한 배지는 LM으로 10일간 배양했을 때의 흡광도는 1.2~1.6 범위였다. Jang 등(21)은 *M. purpureus*의 색소생성은 pH에 상당한 영향을 받는다고 하였으며 pH는 5.5가 색소생성에 최적이라 하였다. Kim 등(23)은 LM 배지를 이용한 *Monascus*속 12 균주의 색소 생성량을 조사한 결과 평균 색소 생성량은 흡광도로 0.97이라고 보고하여 본 실험의 결과

와 유사하였다. 본 실험의 결과는 Kim 등(24)이 실험한 monascorubrin 0.0025%의 흡광도(500nm)를 1로 환산할 경우 3.0~4.0 mg/100 mL 이었다. 그러나 이 값은 *M. anka albidus*의 색소 생성능 0.39~0.49 mg/mL(24) 보다 낮은 뿐만 아니라 Lin과 Suen(12), Su(24) 및 Yoshimura 등(15)의 결과보다도 색소 생성능이 낮았다.

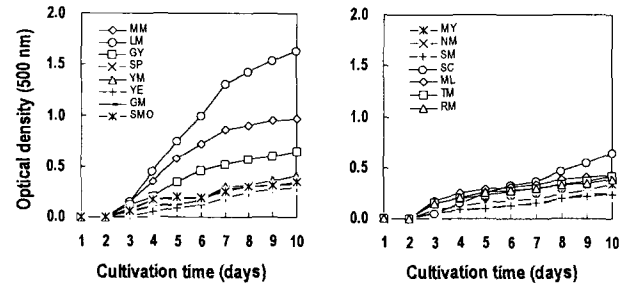


Fig. 3. Pigment production by *M. pilosus* KCCM 60084 in the various medium during cultivation at 30℃.

Abbreviations: See Table 1. Values are mean of triplicate determinations.

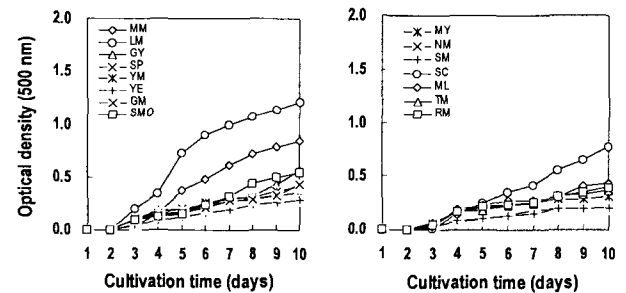


Fig. 4. Pigment production by *M. purpureus* KCCM 11832 in the various medium during cultivation at 30℃.

Abbreviations: See Table 1. Values are mean of triplicate determinations.

## 요약

*Genus Monascus*(*M. pilosus*, *M. purpureus*)의 배지(Lin, SP, YM, YE, GMIN, SMO, MY, GY, Nishikawa, sucrose, stock culture, Mizutani, modified Lin, Toya 및 쌀배지)에 따른 균의 증식도와 색소생성량을 조사하였다. *M. pilosus* 및 *M. purpureus*의 증식도가 높은 배지는 Mizutani 배지와 Lin 배지였으며 30℃에서 10일간 배양하였을 때 생균체 무게는 각각 24.5~26.9 g/100 mL 및 15.9~17.2 g/100 mL이었고 *M. pilosus*의 성장률이 높았다. 색소생성량이 높은 배지는 두 균주 다같이 Lin 및 Mizutani 배지였으며 각각 흡광도는 1.2~1.6 및 0.8~1.0이었다. 균주 중에서는 *M. pilosus*에서 높았다.

## 감사의 글

본 연구는 대구대학교 RRC의 연구비 지원에 의한 연구결과로서 이에 감사를 드립니다.

## 참고문헌

- Lee, S.T. (1979) The anka, in Penchakanmu(Chinese herbal medicine). Yeh Book Co., Taipei, p. 1518-1593
- Shikeo, M. (1990) Function and utilization of *Monascus sp.* Technical Journal on Food Chemistry & Chemicals, 12, 42-45
- Chen, M.H. and Johns, M.R. (1993) Effect of pH and nitrogen sources on pigment production by *Monascus purpureus*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 40, 132-138
- Eizyro, N. (1932) Pigment of *Monascus pulpurus* Went(Part 1). J. Agr. Chem. Soc., Japan, 8, 1007-1015
- Juzlova, P., Martinkova, L. and Kren, V. (1996) Secondary metabolite of the fungus *Monascus*. J. Ind. Microbiol., 16, 163-170
- Yasukawa, K., Takahashi, M., Yamanouchi, S. and Takido, M. (1996) Inhibitory effect of oral administration of *Moascus* pigment on tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mouse skin. Oncology, 53, 247-249
- Rodwell, V.W., Nordstrom, J.L. and Mitschelen, J.J. (1971) Regulation of HMG-CoA reductase. Adv. Lipid Res., 14, 1-4
- Choi, Y.S., Ide, T. and Sugano, M. (1987) Age-related change in the regulation of cholesterol metabolism in rats. Exp. Gerontol., 22, 339-344
- Dorothee, K. and Timm, A. (1990) Antibiotics from *Basidiomycetes xxxvII* new inhibitors of cholesterol biosynthesis from cultures of *Xerula melanotricha* Dorfelt. J. Antibiotics, 13, 1413-1420
- Eizyro, N. (1932) Pigment of *Monascus pulpurus* Went (Part 1). J. Agr. Chem. Soc., Japan, 8, 1007-1015
- Wakore, K.S. (1932) Japanese patent, 76898
- Lin, C.F. and Suen S.J.T. (1973) Isolation of hyperpigment-productive mutants of *Monascus sp.* F-2. J. Ferment. Technol., 51, 757-759
- Tsukioka, M.T., Suzuki, H.T. and Kono, T. (1986) Pigment production by mutants of *Monascus anka*(Studies on alcoholic beverage production using genus *Monascus*, Part 1. Nippon Nogeikagaku Kaishi, 60, 451-455
- Wong, H.C. and Koehler P.E. (1981) Mutant for *Monascus*-pigment production. J. Food Sci., 46, 956-960
- Yoshimura, M.S., Yamanaka, K. Mitsugi, and Hirose, Y. (1975) Production of *Monascus* pigment in a submerged culture, Agr. Biol. Chem., 39, 1789-1795
- Bau, Y.S. and Wong, H.C. (1979) Zinc effects on growth, pigmentation and antibacterial activity of *Monascus purpureus*. Physiol. Plant., 46, 63-67
- Park, M.Z., Kim M.J., Lee, Y.K. and Kim, S.D. (2002) Quality of soy sauce brewed by *Monascus pilosus* soybean koji., Korean J. Food Preservation, 9, 28-35
- Chung, S.H., Suh, H.J., Hong, J.H., Lee, H.K. and Cho, W.D. (1999) Characteristics of *Kochujang* prepared by *Monascus anka koji*. J. Korean Soc., 28, 61-66
- Park, M.Z. (2001) Study on soy sauce preparation fermented by *Monascus pilosus* KCCM 60084. Ph. D. Dissertation, Catholic University, Daegu, Korea
- Kang, S.G. and Jung, S.T. (1995) Pigment prodeuction and color difference of liquid Beni-koji under submerged cultural conditions. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 23, 472-478
- Jang, Y.K., Byoun, K.E. and Chang, S.K. (1995) Studies on the production of natural food pigments in rice with *Monascus purpureus*. J. Natural Sci., 1, 95-114
- Rhu, M.R. (2000) Development of the hypotensive-food supplements by use of red rice fermented with *Monascus*. Research Report of Ministry of Agriculture & Forestry in Korea
- Kim, H.S., Kim, D.H., Yang, H.S., Pyun, Y.R. and Yu, J.H. (1979) Studies on the red pigment produced by *Monascus sp.* in submerged culture. Part 1. Isolation of strain and cultural conditions of pigment produced. Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng., 7, 23-30
- Kim, M.Y., Lee, T.Y. and Yanh, H.C. (1992) Red pigment production from *Monascus anka albidus*. Korean J. Food Sci. Technol., 24, 451-455