

고체배양에 의한 *Monascus anka*의 적색색소 생성의 최적 조건

이승민 · 김현수 · 유대식[†]

계명대학교 미생물학과

The Optimal Condition for Production of Red Pigment by *Monascus anka* on Solid Culture

Seung-Min Lee, Hyun Soo Kim and Tae Shick Yu[†]

Dept. of Microbiology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Abstract

The optimum cultural conditions for production of red pigment from *Monascus anka* KCTC 6121 on solid culture were studied. The optimal conditions were found that the strain was cultivated on polished rice with 25% initial moisture content, at 30°C, 90% humidity for 12 days. It was also found that the maximum red pigment was extracted when the final culture was left in 80% ethanol for 2 days. The light stability of the extracted red pigment was relative stable since the discoloration rate was less than 8% in 30 days under the indirect light.

Key words: *Monascus anka*, red pigment, microbial pigment

서 론

착색료는 화학합성품인 합성 착색료와 천연 착색료로 구분되고 있으며, 합성 착색료는 인체에 대한 안전성이 문제가 제기되면서 그 사용이 점점 규제되어 왔다. 최근 식품분야에서는 일부 합성 착색료를 천연 착색료로 대체 사용하기에 이르렀고, 이 분야의 개발이 증가하고 있다. 천연 색소로는 천연 carotene, xanthophyll, carotenoid phycopyrine, anthocyan, betacyanin, chlorophyll 및 *Monascus*색소 등이 알려져 있으며(1), 이들은 합성 착색료에 비해 인체에 대한 안전성이 대체로 높고 비타민 등과 관련된 영양성이나 약리성을 가지고 있으며 모체 식품에 착색료로 쓰일 경우보다 더 자연스러운 빛깔을 낼 수 있다는 장점이 있으나 생산성이 합성 착색료에 비해 떨어진다는 단점이 있다(2). *Monascus*속은 진정균문(Eumycota)중의 자낭균아문(Ascomycotina), 부정자낭균강(Plectomycetes), 완전국균목(Eurotiales), Monascaceae과에 속하는 사상균으로서 유성생식을 할 수 있는 완전세대 사상균이다(3). *Monascus*가 생성하는 색소는 10여종 이상의 색소 성분으로 이루어져 있는데, 그 중 화학 구조식이 밝혀진 것은 6종으로 monascin(4,5)과 ankaflavin(6)은 yellow pigments로, monasco-rubrin(4)과 rubropunctatin(4)은 orange pigments로, monascorubramine(7)과 rubropunctamine(8)은 red pigments로 알려져 있다. 특히, Wild 등(9)에 의하여 *Monascus purpureus*로부터 monascodilone이란 새로운 적색색소를 분리했으며 이

색소의 분자식은 $C_{15}H_{12}O_4$ 으로 pyrone ring에 propenyl기를 가지고 aromatic ring과 γ -lactone group을 가지는 신물질이다. 더욱이 1977년 *M. purpureus*의 추출물은 *Bacillus*, *Streptococcus*와 *Pseudomonas*에 대하여 항세균성 효과가 있다는 첫 과학적 결과가 발표되었다(10). 최근에는 *Monascus*의 액체 배양액의 추출물이 항 세균성 효과 뿐 아니라 항 진균성, 면역억제효과, 배독성(embryotoxic)과 조직의 기형효과를 나타낸다는 보고도 있다(11). *Monascus*색소는 홍국균을 고체배양 또는 액체 배양하여 얻을 수 있다. Kim 등(12)은 증자한 백미에 홍국균의 고체배양으로 적색색소를 얻은 바 있으나, 1970년대 이후 대량생산이 가능하고 생산 수율이 높은 액체배양 방법에 대해 연구가 이루어져 왔다.

Lin(13)은 *Monascus* sp. F-2, Yoshimura 등(14)은 *Monascus* sp. No. 2의 액체배양조건에 대해 검토하였으며, Bau와 Wong(15)은 *Monascus purpureus*의 색소 생성과 항균성에 미치는 Zn의 영향을 연구하였고, Wong 등(16)은 *Monascus purpureus*의 색소 생성에 미치는 포도당과 ammonium nitrate의 농도비의 영향을 조사하였다.

홍국색소의 배양조건의 최적화와 색소 생성능이 높은 균주를 얻는 연구도 많이 이루어졌는데, Lin과 Suen(17)은 *Monascus* sp. F-2를 NTG로 처리하여 색소 생성능이 친균주보다 5배 높은 변이주를 선별하였으며, Hiroi 등(18)은 *Monascus anka*를 NTG로 처리하여 고체배양에서 적색색소 생성능력이 친균주에 비해 17.7배와 21.4배의 색소 생성능을 갖는 UN2604

[†]Corresponding author. E-mail: tsyu@kmu.ac.kr
Phone: 82-53-580-5252. Fax: 82-53-580-5164

와 UN202-13 변이주를 각각 선발하였으며, Wong과 Koehler (19)은 자외선으로 돌연변이를 유발시켜 색소 생성능은 높고 항균작용은 약해진 돌연변이주를 선발하였다.

한편, *Monascus* 색소의 생산에 있어서 우수한 변이주에 의존하지 않고 배양기술의 개발에 중점을 두어 Evans와 Wong (20)은 홍국균의 고정화를 통하여 세포외로 색소의 배출을 보다 상승시켜 홍국색소로 인한 product inhibition을 감소시킴으로써 색소의 생산량을 높혔다. 우리나라에서 홍국 색소의 생산에 관한 연구는 Kim 등(12)의 적색 색소에 관한 연구와 Chang 등(21)의 황색 색소에 관한 실험실 규모의 생산 조건에 그치고 있는 형편이며, 이후의 연구들도 이 정도의 수준에서 크게 벗어나지 못하고 있다.

본 연구에서는 붉은 곰팡이인 *Monascus anka* KCTC 6121을 사용하여 적색 색소의 생성을 극대화시키기 위하여 최적 배양조건을 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험균주

본 실험에 사용된 실험균주는 붉은 곰팡이인 *Monascus anka* KCTC 6121는 생명공학연구소 유전자은행으로부터 분양 받아 사용하였다.

기본 배지

실험균주의 생육배지는 potato dextrose agar(PDA)배지(20% infusion from potato, 2% Bacto dextrose, 1.5% Bacto agar, pH 5.6±0.2, Difco Co., USA)를 사용하였다.

색소 생성용 배지로는 백미를 사용했으며, 백미(안계산, 황토쌀) 30 g을 250 mL 삼각 플라스크에 넣고 물에 침지한 후, 물을 제거하고 121°C에서 15분간 가압멸균하여 증자한 것을 색소 생성 측정의 기본 고체배지로 사용하였다.

균주의 배양

실험균주를 PDA배지에 1백금이 접종한 후, 30°C에서 7~10일간 배양하였고, 생리적 활성을 유지하기 위하여 2주 간격으로 계대배양하여 4°C에서 보관하여 사용하였다.

포자 혼탁액 조제

포자 혼탁액의 제조는 실험균주를 PDA배지의 시험판에 1백금이 접종하여 28°C에서 사면 배양하여 포자를 충분히 형성시킨 후, 살균된 0.1% Tween 80 용액 5mL를 넣어 살균된 백미이로 서서히 교반시켜 균사로부터 포자를 분리시킨다. 같은 방법으로 2회 포자를 분리시킨 후, 약간의 균사가 함유된 포자 혼탁액을 격렬하게 진탕하여 균사와 포자를 완전히 유리시켜 살균된 탈지면으로 여과하여 균사를 제거한다. 이 포자 혼탁액을 10,000×g에서 15분간 원심 분리하여 포자를 침전시킨다. 침전된 포자를 멸균수로 씻은 다음, 20% glycerol 용액으로 포자수가 2×10^6 spores/mL 되게 포자 혼탁액을 조제하였다. 포자 혼탁액은 -73°C에서 보관하면서 사용했다.

백미의 함수율 측정

백미중의 함수율은 백미를 2일간 물에 침지하면 약 45%의 수분을 함유한 백미가 된다. 즉 침지하기 전의 백미 무게보다 침지한 후의 무게는 약 45% 증가하므로 함수율이 45%라 가정 했다. 최초 45%의 함수율인 백미를 전조시키면서 무게를 측정하여 수분 함유율이 각각 45%, 40%, 30%와 25%인 백미를 증자하여 사용했다.

색소의 추출 및 정량

색소의 추출은 실험균주의 배양물 1 g을 80% 에탄올 5 mL에 넣고 25°C에서 2시간 진탕하면서 추출하였다. 추출 후 8,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상등액을 취하였다. 적색 색소량은 색소추출 상등액을 80% 에탄올로 적정 배수로 희석한 후, Spectrophotometer(TECHNE Co. Specgene, England)로 500 nm에서 각각의 흡광도를 측정하여 OD값으로 나타내었다.

결과 및 고찰

백미의 침지일수에 의한 영향

실험균주의 색소생성에 있어서 백미를 일정 시간 물에 침지시켜서 실험균주를 배양해야 한다. 실험균주에 의한 적색 색소 생성에 미치는 백미의 침지 일수의 영향을 검토하기 위하여, 백미를 각각 1일에서 4일간 25°C의 물로 8시간마다 교환해 주면서 침지시켰다.

실험균주의 색소생성은 침지 일수를 다르게 한 30 g의 백미를 증자한 후, 포자의 접종량을 2×10^6 /mL로 조절한 포자 혼탁액 1 mL를 각각 증자한 백미에 접종하여 습도 80%의 항온 항습기에서 30°C에서 12일간 배양한 후 적색 색소의 생성을 측정하였다. 그 결과는 Table 1에 나타난 바와 같이, 1일간 침지한 백미에서는 적색 색소를 거의 얻을 수 없었으며, 2일간 침지한 백미로부터 색소를 가장 많이 얻을 수 있었다. 그러나 3일 이상으로 침지한 백미는 색소 생성이 급격히 감소하여 2일 침지한 백미보다 약 1/4이상으로 감소했다. 이상의 결과로부터 백미의 침지는 2일간 침지하는 것이 양호했으며 3일간 침지는 색소생성을 억제시켰다.

백미의 초기 함수율의 영향

실험균주에 의한 적색 색소 생성에 미치는 백미 배지의 초기 수분함량의 영향을 검토하기 위하여, 백미 30 g를 250 mL 삼각 flask에 넣고 물 100 mL를 첨가하여 2일간 침지시켜 수분 함유율이 각각 45%, 40%, 35%, 30%, 25%인 백미를 증자하여

Table 1. Effect of swelling days on the production of red pigment by solid culture of *Monascus anka*

Swelling days	Production of red pigment (OD _{500 nm})
1	-
2	4.80
3	1.02
4	1.08

실험균주의 포자($2 \times 10^6/\text{mL}$)를 접종하여 30°C 에서 80% 배양 습도에서 12일간 배양하면서 색소생성 능력을 측정하였다.

실험균주에 의한 적색색소 생성에 미치는 백미 고체배지의 초기 수분율의 영향은 Fig. 1에 나타난 바와 같이, 실험균주의 적색색소는 배양 3일째에서는 거의 색소 생성이 없었으며 배양 3일 이후부터 색소 생성이 시작되었다. 백미의 초기 수분 함수율이 25%에서 12일간 배양하므로 적색색소 생성량은 83을 나타내었다. 그리고 백미의 초기 수분 함수율이 증가하므로 적색색소생성은 서서히 감소하여 수분 함수율 45%에서는 적색색소 생성량이 19를 나타내어 수분 함수율 25%에 비하여 $1/5$ 의 값인 20.4%의 색소 생성 능력을 나타내었다. 이상의 결과는 고체 배양법에서 배양초기의 기질인 백미의 수분함량은 25~30%(*w/w*)가 양호(22)하다는 보고와 일치하는 결과를 나타내었다.

초기 수분 함수율이 다른 백미를 12일간 배양한 각 시료를 60°C 의 건열 전조기에서 하룻밤 전조시켜 실험균주가 배양된 백미의 형태와 적색색소량을 관찰한 결과, 백미의 초기 수분 함수율 25%와 30%에서는 백미의 형태를 그대로 잘 유지하였다. 그러나 수분 함수율 35%에서는 실험균주의 배양 백미를 전조시켰을 때 표면은 약간의 주름이 생겼고, 40%와 45%의 실험균주의 배양 백미는 배양하기 전의 백미 형태를 잃어버리고 심하게 주름이 잡혔으며 백미끼리 서로 엉겨붙는 현상까지 나타났다. 이상의 결과로 실험균주에 의한 색소 생성에 대한 백미 배지의 최적 초기 수분율은 25%임을 알 수 있었다.

접종 포자량의 영향

실험균주의 적색색소 생성에 미치는 접종 포자량의 영향을 검토하기 위하여 포자의 접종량을 $0.5 \times 10^6/\text{mL}$, $1.0 \times 10^6/\text{mL}$, $1.5 \times 10^6/\text{mL}$, $2.0 \times 10^6/\text{mL}$, $2.5 \times 10^6/\text{mL}$ 로 조절한 포자 혼탁액 1 mL를 각각 증자한 백미(증자전 백미 30 g)에 접종한 후,

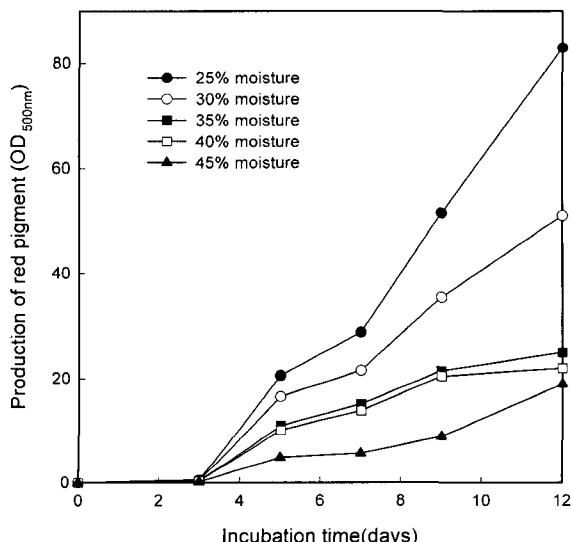


Fig. 1. Effects of initial moisture content of rice on the production of red pigment by solid culture of *Monascus anka*.

30°C , 80% 배양습도에서 12일간 배양하면서 적색색소 생성 능력을 측정하였다.

실험균주의 색소생성에 미치는 접종 포자량의 영향은 Fig. 2에 나타난 바와 같이, 배양 3일 이후부터 색소생성이 시작되었으며 배양 12일에 적색색소 생성량이 최고값에 도달하였다. 접종 포자량은 $2.5 \times 10^6/\text{mL}$ 개로 접종한 시료에서 적색색소가 가장 많이 생성되었으며, 실험에 사용된 포자량이 가장 적은 양인 $0.5 \times 10^6/\text{mL}$ 개로 접종한 시료에서도 적색색소 생성량이 52.5으로 $2.5 \times 10^6/\text{mL}$ 개로 접종한 시료의 적색색소 생성량에 비하여 90.5%를 나타내어 접종 포자량에 관계없이 모든 시료에서 적색색소의 생성이 비슷하게 생성되었다. 이는 상업적인 대량 배양이 아닌 실험실 규모에서 소량의 백미 배지에 접종하였기 때문에 배양 초기 3일째에는 포자량의 영향을 받는 듯 싶었으나, 배양 일수가 길어짐에 따라 적은 수의 포자량으로 같은 수준의 적색색소를 생성하게 되었다.

이상의 결과로부터 실험균주에 의한 적색색소 생성은 실험균주의 접종 포자량에는 영향을 받지 않으므로 최적 접종 포자량은 $0.5 \times 10^6/\text{mL}$ 개로 접종하는 것이 양호하다. 그러나 이 실험에서는 $2.5 \times 10^6/\text{mL}$ 개의 포자량을 접종하여 실험했다.

배양온도의 영향

실험균주의 적색색소 생성에 미치는 온도의 영향을 검토하기 위하여 증자한 백미에 포자를 접종($2.5 \times 10^6/\text{mL}$)하여 80% 배양습도에서 25°C , 30°C 및 37°C 로 온도를 각각 달리하여 12일간 배양하면서 적색색소 생성능력을 측정하였다.

실험균주에 의한 색소 생성에 미치는 온도의 영향은 Fig. 3에 나타난 바와 같이, 배양 2일째까지는 색소가 거의 생성되지 않았고, 3일째부터 서서히 생성되기 시작했다. 색소가 생성되기 시작한 3일째에는 25°C 에서 가장 많은 적색색소가 생성되었다. 그러나 배양 5일 이후부터는 30°C 색소생성이 급격히

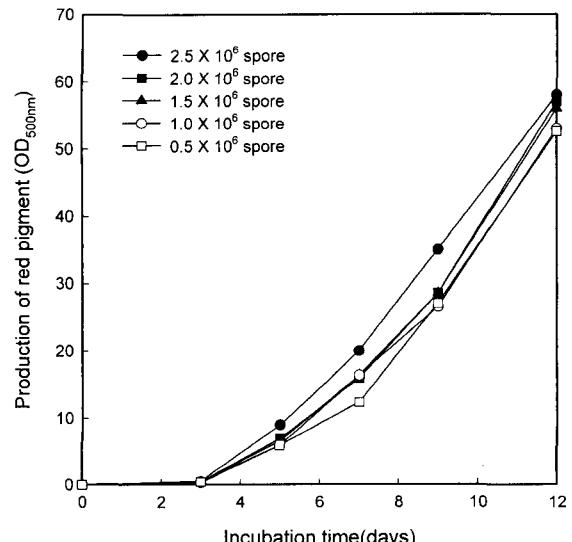


Fig. 2. Effects of inoculum size on the production of red pigment by solid culture of *Monascus anka*.

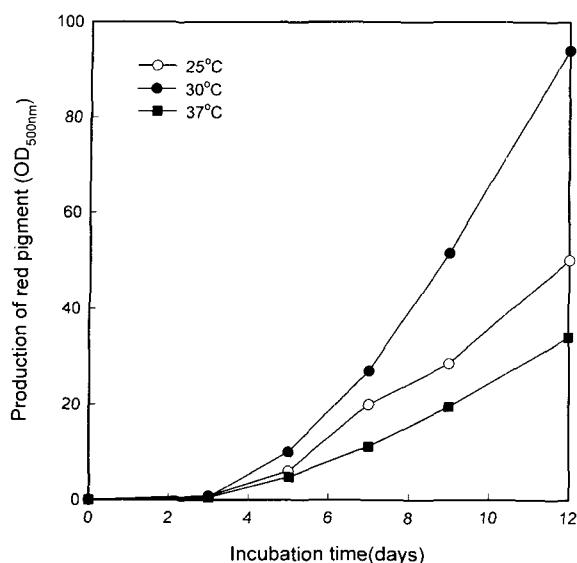


Fig. 3. Effects of incubation temperature on the production of red pigment by solid culture of *Monascus anka*.

증가하기 시작하면서부터 12일째까지 꾸준히 증가하는 양상을 보이며 가장 많은 색소가 생성되었다. 각각의 온도에서 배양시간이 경과함에 따라 색소 생성이 증가하였으나, 37°C에서는 25°C와 30°C에 비해 색소 생성 능력이 급격히 감소했다. 이는 액체배양에 의한 *Monascus* sp.의 색소 생성에 미치는 온도의 영향(23)을 검토한 결과인 32~33°C와 비슷한 결과였으며, Juzlova 등(24)의 액체배양에서 *Monascus* 균주들의 배양온도 범위가 25~37°C이며, 그 중 가장 적합한 온도가 30°C임을 밝힌 결과에는 일치하는 온도였다.

이상의 결과로 실험균주의 색소생성의 최적온도는 30°C임을 알 수 있었으며, 액체배양에서 최적 온도의 범위에서와 같이 고체배양에서도 그 범위를 벗어나지 않는다는 것을 알 수 있었다.

배양습도의 영향

실험균주의 색소생성에 미치는 배양습도의 영향을 검토하기 위하여, 증자한 백미에 포자를 접종($2.5 \times 10^6/mL$)하여 30°C에서 60%, 70%, 80%와 90%의 배양습도에서 12일간 배양하면서 적색 색소생성 능력을 측정하였다.

실험균주의 적색 색소 생성에 미치는 습도의 영향은 Fig. 4에 나타난 바와 같이, 실험에 사용된 모든 배양습도에서 배양 2일째까지 색소가 거의 생성되지 않았고, 3일째부터 모든 습도 조건에서 색소를 생성하기 시작했다. 배양습도 60%와 70%에서는 3일부터 5일째까지는 약간의 색소생성을 보이다가 5일 이후로는 색소 생성이 서서히 진행되었으나 80%와 90% 배양습도에서보다 미약함을 볼 수 있다. 배양습도 90%에서는 배양 3일부터 색소생성이 양호하였고, 5일 이후부터 급격히 증가하여 배양 12일째에 최고값에 도달하여 적색 색소 생성량은 78로 나타났다. 이 값은 60%와 70%의 배양습도에서의 색소생성보다 거의 100배 이상 증가된 수치였으며, 80%의 배양습도에서

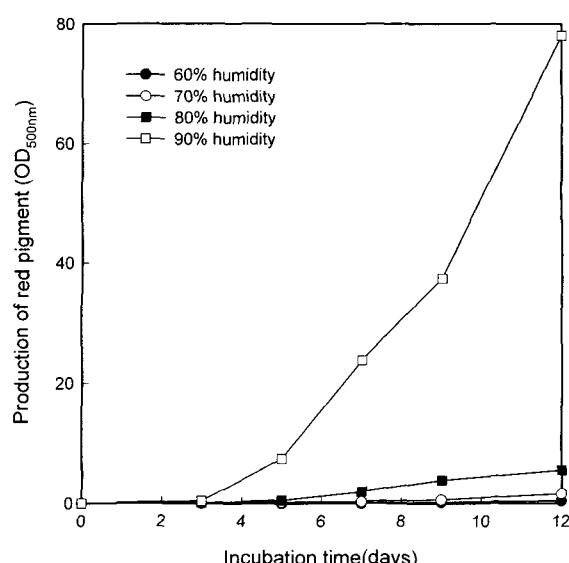


Fig. 4. Effects of incubation humidity on the production of red pigment by solid culture of *Monascus anka*.

보다 2배 이상의 색소생성능력을 나타내는 값이었다. 이상의 결과로 실험균주의 색소생성에 있어 배양습도의 영향이 매우 크다는 것을 알 수 있었으며, 색소생성의 최적 배양습도는 90%임을 알 수 있었다.

적색 색소의 추출에 미치는 에탄올 농도의 영향

실험균주를 증자한 백미에 12일 배양한 배양체 20 g을 250 mL 삼각 flask에 넣고, 10%에서 90%까지 에탄올의 농도별로 각각 100 mL를 첨가한 후, 실온(25°C)에서 2일간 색소를 추출했으며, 추출하면서 6시간마다 1회씩 가볍게 교반하여 추출효과를 높였다.

실험균주가 생성한 적색 색소의 추출용매로서 에탄올을 사용하여 색소추출에 미치는 에탄올 농도의 영향은 Table 2에 나타난 바와 같이, 에탄올 농도 80%에서 2일째 색소의 추출이 최대로 나타났으며, 1일째 색소추출은 2일째 추출의 90.6%가 추출되었으며, 2일간 이상의 추출시간에서는 거의 추출되지 않았다. 실험균주의 적색 색소는 에탄올 70%와 90%에서는 에탄올 80%에서의 추출량에 비하여 약 60%와 83% 추출되었으며, 40% 에탄올에서는 약 30%의 색소만이 추출되었다.

Table 2. Effects of ethanol concentration for red pigment extract

Ethanol concentration	Production of red pigment (OD _{500 nm})	
	1 day	2 day
10%	1.64	1.58
20%	1.61	1.69
30%	1.97	2.06
40%	2.25	2.63
50%	2.83	2.89
60%	3.22	3.84
70%	4.51	4.95
80%	7.36	8.12
90%	6.15	6.69

Table 3. Effects of light on red pigment stability (%)

Light	Relative absorbance (OD _{500 nm})			
	0 day	30 day	60 day	90 day
Refrigerator	100	100	100	100
Dark room	100	96.1	92.3	84.6
Indirect light	100	92.3	84.6	73.0
Direct light	100	46.1	30.7	23.0

이상의 결과로 실험균주의 적색색소의 추출의 최적 에탄올농도는 80%이며, 1일간 추출이 산업적으로는 양호한 것으로 생각되었다.

적색색소의 색상에 미치는 빛의 영향

실험균주의 적색색소의 빛에 대한 색조 안정성의 정도를 검토하기 위하여 색소추출액을 4°C의 냉장고와 실온의 암실, 반직사광선 장소 그리고 직사광선이 쪼이는 창문 곁에 90일간 두어 30일 간격으로 적색색소량을 측정하여 색소량의 감소로 색소의 빛 안정성을 검토한 결과를 Table 3에 정리했다.

실험균주의 적색색소의 빛 안정성은 30일간 반직사광선에 조사하므로 색소의 색상이 4% 미만으로 감소했음을 볼 수 있었고, 90일째에도 27%의 감소를 나타내어 적색색소의 색상이 거의 탈색되지 않았음을 보여주고 있다. 빛이 완전히 차단된 냉장고인 4°C에서 90일간 저장하여도 실험균주의 적색색소 색상은 전혀 변화되지 않았다. 그러나 색소 추출액에 직사광선을 30일간 직접 조사하면 54% 정도로 탈색되며, 90일간 조사하면 적색색소가 23% 남아있어서 실험균주의 적색색소는 직사광선에도 빛 안정성이 비교적 높음을 나타냈다. 그러나 *Monascus anka*를 액체배양하여 얻은 색소는 자외선에 대하여는 비교적 안정하나 태양광선에 상당한 색도의 저하를 초래하여 내광성이 약한 것이 큰 결점이라고 하여(12), 본인의 연구 결과와는 다른 결과를 나타냈다.

이상의 결과로 실험균주의 적색색소는 80% 에탄올내에서 햇빛에 대하여 빛 안정성이 비교적 높음을 알 수 있었다.

요약

Monascus anka KCTC 6121을 이용하여 백미에 의한 고체배양을 통한 실험균의 적색색소의 생산을 위한 배양조건의 최적화에 관한 연구 결과는 다음과 같이 요약된다. 실험균주가 생산하는 적색색소 생산의 최적 배양조건은 초기 수분함량 25%, 2.5×10^6 /mL의 실험균주의 포자, 배양온도 30°C, 배양습도 90%에서 배양 12일째가 가장 양호했다. 생산된 적색색소의 추출은 80% 에탄올에서 2일간 추출이 가장 양호했으며 2일 이후의 색소 추출은 색소 추출량에 거의 변화가 없음을 알 수 있었다. 실험균주로부터 추출한 색소의 빛에 대한 안정성은 반직사광선에서 색소의 색상이 30일간 8% 미만으로 감소하여 햇빛에 대한 안정성은 비교적 높았다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부*한국과학재단 지정 계명대학교 전통미생물자원 개발 및 산업화연구 센터의 지원에 의한 연구 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

문헌

- Moon BS, Bae KY. 1998. *The Newest Food Hygienics*. Soohaksa, Seoul. p 358-361.
- Park SY. 1992. Aesthetics of food color, pigment. *The Monthly Food Industry* 5: 34-49.
- Yu TS. 1999. Hong-ju and pigments produced by filamentous fungus *Monascus*. *J Inst Nat Sci* 18: 87-92.
- Martinkova L, Patakova-Juzlova P, Krent V, Kucerova Z, Havlicek V, Olsovsky P, Hovorka O, Rihova B. 1999. Biological activities of oligoketide pigments of *Monascus purpureus*. *Food Addit Contam* 6: 15-24.
- Chen FC, Manchand PS, Whalley WB. 1973. The chemistry of fungi. Part LXIV. The structure of monascin, the relative stereochemistry of azaphilones. *J Chem Soc* 21: 3577-3579.
- Manhand PS, Whalley WB, Chen FC. 1973. Isolation and structure of ankaflavin, a new pigment from *Monascus anka*. *Phytochem* 12: 2531-2532.
- Hiroi T, Shima T, Isobe A, Kimura S. 1975. Studies on the structure of two pigments obtained from *Monascus* sp. *Jap Soc Food Nutr* 28: 487-491.
- Fowell ADG, Robertson A, Whalley WB. 1956. Monascorubramine. *J Chem Soc Special Publ* 5: 27-35.
- Wild D, Toth G, Humpf H-U. 2002. New *Monascus* metabolite isolated from red yeast rice (Angkak, red kogi). *J Agric Food Chem* 50: 3999-4002.
- Wang HC, Bau YS. 1977. Pigmentation and antibacterial activity of fast neutron and X-ray-induced strains of *Monascus purpureus*. *Went Plant Physiol* 60: 578-581.
- Martinkova L, Juzlova P, Vesely D. 1995. Biological activity of polyketide pigments produced by the fungus *Monascus*. *J Appl Bacteriol* 79: 609-616.
- Kim CS, Rhee SH, Kim I. 1977. Studies on production and characteristics of edible red color pigment by mold (*Monascus* sp.). *Kor J Food Sci Technol* 9: 277-283.
- Lin CF. 1973. Isolation and cultural conditions of *Monascus* sp. for the production of pigment in a submerged culture. *J Ferment Technol* 51: 407-414.
- Yoshimura M, Yamanaka S, Mitsugi K, Hirose Y. 1975. Production of *Monascus*-pigment in a submerged culture. *Agric Biol Chem* 39: 1789-1795.
- Bau YS, Wong HC. 1979. Zinc effects on growth, pigmentation and antibacterial activity of *Monascus purpureus*. *Physiol Plant* 46: 63-67.
- Wong HC, Lin YC, Koehler PE. 1981. Regulation of growth, pigmentation of *Monascus purpureus* by carbon and nitrogen concentrations. *Mycologia* 73: 649-654.
- Lin CF, Suen SJT. 1973. Isolation of hyperpigment productive mutants of *Monascus* sp. F-2. *J Ferment Technol* 51: 757-759.
- Hiroi T, Shima T, Suzuki T, Tsukioka M, Ogasawara N. 1979. Hyperpigment-productive mutant of *Monascus anka* for solid culture. *Agric Biol Chem* 43: 1975-1979.
- Wong HC, Koehler PE. 1981. Mutant for *Monascus*-pigment production. *J Food Sci* 46: 956-957.
- Evans PJ, Wong HY. 1984. Pigment production from immobilized *Monascus* sp. utilizing polymeric resin adsorption.

- Appl Environ Microbiol* 47: 1323-1326.
21. Chang U, Kim HS, Son CH, Bae JH, Yu JH. 1980. Studies on the yellow pigment produced by *Monascus* sp. CS-2. *Kor J Appl Microbiol Bioeng* 8: 119-123.
22. Hesseltin CW. 1965. A millenium of fungi, food and fermentation. *Mycologia* 57: 149-197.
23. Kim HS, Kim DH, Yang HS, Pyun YR, Yu JH. 1979. Studies on the red pigment by *Monascus* sp. in submerged culture. *Kor J Appl Microbiol Bioeng* 7: 23-30.
24. Júzlová P, Martínková L, Křen V. 1996. Secondary metabolites of the fungus *Monascus*: a review. *J Ind Microbiol* 16: 163-170.

(2002년 9월 5일 접수; 2003년 2월 19일 채택)