

비지홍국의 색소 및 Monacolin K 함량

윤은경 · 김영희* · 김순동

대구가톨릭대학교 식품산업학부, *양산대학 호텔조리과

Pigment and Monacolin K Content of Beni-koji Fermented with Soybean Curd Residue

Un-Kyung Youn, Young-Hee Kim* and Soon-Dong Kim

Faculty of Food Science and Industrial Technology, Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea

*Department of Hotel Culinary Arts, Yangsan College, Yangsan 626-704, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate the preparation possibility of Beni-koji by *Monascus pilosus* using dried soybean curd residue(Biji). The additional effect of water(0-50%), glucose(0-10%, w/w), monosodium glutamate(0-0.1%, w/w) and citrus peel water extracts (0-0.5%, v/w) on the pigment and monacolin K content of the Biji Beni-koji were examined. Optimal added amounts of water was 20% of dried Biji. The highest pigment content(OD at 500 nm) of Biji Beni-koji was 1.06 in 10% glucose, 2.26 in 0.01% monosodium glutamate and 2.61 in 0.4% citrus peel water extracts. The content of monacolin K in the Biji Beni-koji added with 10% glucose, 0.01% monosodium glutamate and 0.4% citrus peel water extracts showed 96.38 mg%(w/w), 118.25 mg%(w/w) and 104.50 mg%(w/w), respectively.

Key words : *Monascus pilosus*, soybean curd residue, Beni-koji, pigments, monacolin K

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 강하며, 열에 안정할 뿐만 아니라 사용 가능한 pH 범위가 넓으며 점착성이 양호하여 착색제로도 사용되고 있다(2, 3). 색소 성분은 monascin과 ankaflavin 등의 황색계와 rubropunctatin, nonascorubrin 등의 같은 적색계 및 rubropunctamine, nonascorubramine 등의 자색계 색소로 구성되어 있고(4), 사용균주, 영양성분 및 배양조건에 따라 색소의 구성성분과 생산량이 달라지는 것으로 알려져 있으며(5) 항암효과(6)가 있는 것으로 보고되고 있다. 또, 홍국에는 monacolin K가 함유되어 있는데 이 물질은 20 ng/mL의 아주 낮은 농도에서 레네 콜레스테롤(특히 LDL 콜레스테롤)의 합성과정에 관여하는 HMG CoA reductase의 활성을 50% 수준으로 억제시키

는 것으로 밝혀져 다기능성의 천연 신소재로 각광받고 있다((7-9). 홍국의 생산은 증백미를 이용한 고체 배양법(10, 11)으로 행해왔으나 1970년대 이후는 대량생산을 위하여 여러 가지 균주의 특성(12-14)과 액체배양방법(15, 16)에 관한 연구가 많이 이루어졌으며 색소함량에 미치는 탄소원, 질소원, 통기량 및 교반속도와와의 관계를 중심으로 한 연구들이 이루어져 왔다. 최근에는 홍국을 이용한 발효식품의 제조에 관한 연구(17, 18)가 이루어지기 시작함에 따라 다양한 천연배지를 이용한 홍국제조의 필요성이 강조되고 있으나 이에 관한 연구는 매우 부족한 실정이다.

두부 제조시에 부산물로 얻어지는 비지는 옛날에는 발효시켜 부식으로 활용하였으나 쉽게 부패되는 특성을 지녀 최근에는 거의 버려지고 있는 실정이다. 본 연구에서는 비지를 이용한 홍국제조의 가능성을 검토하기 위하여 색소와 monacolin K의 함량에 미치는 glucose, monosodium glutamate 및 감귤과피물추출물의 첨가효과를 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 균주

실험용 대두는 두부제조용의 백태(은하콩)를 사용하였으

Corresponding author : Soon-Dong Kim, Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea
E-mail : kimsd@cu.ac.kr

며, 감귤과피는 제주도산 온주밀감(조생종)의 과피를 음건한 후 60 mesh로 분쇄하여 사용하였다. 균주는 한국중균협회에서 분양 받은 *Monascus pilosus* KCCM 60084를 사용하였다.

비지의 제조

실험용 비지의 제조는 콩 100 g에 대하여 1000 mL의 수돗물로 8시간 동안 침지시킨 후 적당량의 물을 가하면서 파쇄하여 두유를 추출하고 남은 잔사를 비지로 사용하였다. 첨가한 물의 양은 원료콩 량에 대하여 10배 량으로 조절하였다. 분리된 비지는 60°C의 열풍건조기(Hwashin Co., Korea)에서 24시간동안 건조시킨 후 사용하였다.

감귤추출물의 제조

감귤과피분말 100 g에 증류수 2 L을 가하여 냉각관을 부착한 플라스크를 사용하여 3시간동안 추출하여 100 mL로 농축하여 사용하였다.

종 배양

종 배양용 배지는 glucose 50 g, peptone 20 g, KH_2PO_4 8 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, CH_3COOK 2 g, NaCl 1 g, d-water 1 L, pH 6.0를 조성으로 한 Mizutani 배지(19) 7 mL씩을 넣은 캡시험관에 활성화시킨 균주를 이식하여 30°C의 shacking incubator에서 150 rpm으로 10일간 배양하였다.

비지홍국의 제조

건조비지 10 kg에 증류수를 가하여 골고루 혼합한 다음 2 L 삼각플라스크에 300 g씩 넣어 autoclave를 사용하여 121°C에서 15분간 증자하였다. 다음에 무균실로 옮겨 실온이 될 때까지 냉각시킨 후 플라스크 1개당 종 배양한 시험관 3개씩을 부어 골고루 혼합하여 30°C에서 12일간 배양하였다.

환경인자의 영향

균의 생육에 미치는 환경인자의 영향을 조사하기 위하여 비지의 수분함량을 10, 20 및 30%로, 탄소원으로는 glucose(Duksan Pure Chemical Co., Ltd.)를 0~10%, 질소원으로는 monosodium glutamate(Duksan Pure Chemical Co., Ltd.)를 0~0.5%, 그리고 감귤과피 추출물을 0~0.5%첨가하였다.

색소함량

홍국색소의 함량은 Kang과 Jung(20)의 방법에 따라 시료 1 g에 95% ethanol 50 mL을 가하여 균질기(Nihonseili, kaisha Ltd, Japan)로 12,000 rpm에서 5분간 파쇄 추출하였으며 Whatman No. 3 여과지로 여과한 여액의 흡광도를 500 nm에서 측정하였다.

Monacolin K 함량

시료 1 g을 정확히 취하여 50% ethanol 20 mL와 0.5 M KOH 용액 10 mL을 가한 후 30분간 환류추출하였으며 냉각시킨 다음 50% ethanol용액으로 정확히 50 mL로 정용하여 HPLC로 측정하였다. 측정조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Operating Conditions of HPLC for analysis of monacolin K content

Specifications	Opreating conditions
Column materials	YMC Jsphere ODS-H80 4.6×150 mm
Mobile phase	acetonitril/0.1% phosphoric acid(45 : 55)
Wave length	UV at 237 nm
Flow rate	1.0 mL/min
Temperature	42°C

결과 및 고찰

수분과 색소함량

비지의 수분함량이 비지홍국의 색소생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 60°C에서 충분히 건조시킨 비지에 물의 첨가량을 0~50%범위로 조정하여 증자한 후 *M. pilosus* 종 배양액을 첨가하여 30°C에서 10일간 배양, 색소함량을 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. 그 결과 첨가하지 않은 경우에는 색소생성이 미미하였으며 20%첨가한 경우에 500 nm에서의 흡광도가 0.28로 가장 높았다. 10%에서는 0.17, 30~50% 첨가 시에는 0.12~0.14를 나타내었어 수분함량이 색소생성에 상당한 영향을 미쳤다.

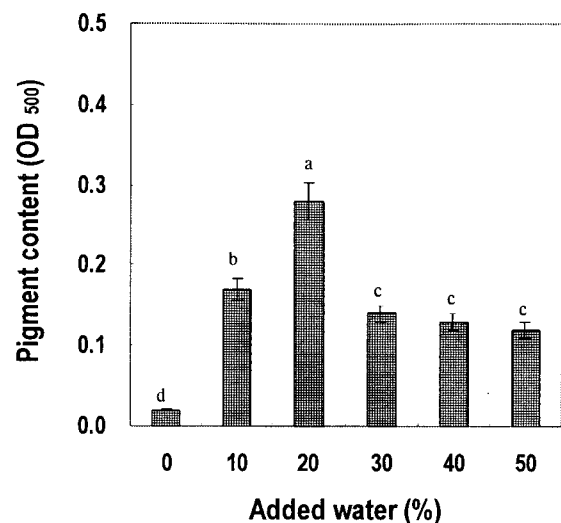


Fig. 1. Pigment content in Beni-koji prepared by soybean curd residue(SCR Beni-koji) with different amounts of water fermented for 10 days.

Values are mean±standard deviations of triplicate determinations.

홍국의 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 구성성분과 생산량이 달라지는 것으로 알려져 있다(5). Boonprab 등(21)은 홍국의 제조시 수분함량이 높으면 glucoamylase의 활성은 높아지나 색소함량은 크게 감소한다고 하였다.

포도당과 색소함량

수분의 첨가량을 20%로 하고 glucose의 농도를 0~10%범위로 조정된 비지홍국의 발효중 색소생성량을 비교한 결과는 Fig. 2와 같다. Glucose 첨가구의 색소함량은 무첨가구에 비하여 높았으며 첨가량에 비례하여 높았다. 배양 10일째의 색소함량(500 nm에서의 흡광도)은 무첨가와 1%첨가구에서는 0.26~0.28, 2%와 4% 첨가구에서는 각각 0.57과 0.74, 6%에서는 0.91, 8%와 10%에서는 0.98과 1.06을 나타내었으며 3%첨가와 10%첨가간의 유의적인 차이가 없음을 미루어 볼 때 10%이상의 첨가는 10%와 큰 차이를 보이지 않을 것으로 생각된다.

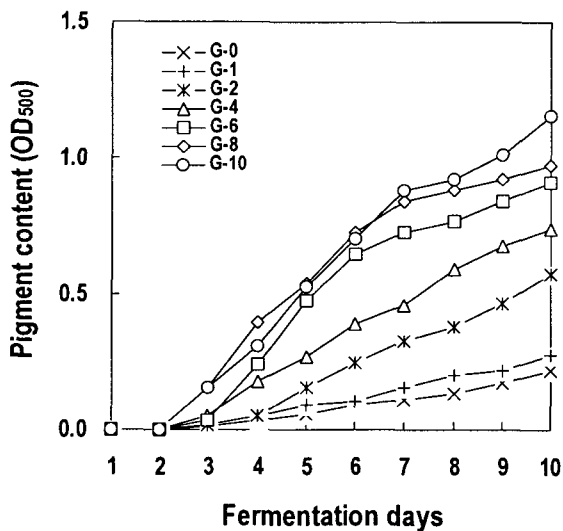


Fig. 2. Changes in pigment content of SCR Beni-koji with different amounts of glucose during fermentation.

Symbols: G-0, glucose 0%; G-1, glucose 1%; G-2, glucose 2%; G-4, glucose 4%; G-6, glucose 6%; G-8, glucose 8%; and G-10, glucose 10%. Values are mean of triplicate determinations.

Kim(22)은 LM 배지를 이용한 *Monascus*속 12 균주의 평균 색소 생성량이 OD 0.97정도라 보고하여 본 실험에서 glucose 10%를 첨가한 경우와 비슷한 값을 나타내었다. 이 OD값은 monascorubrin 0.0025%의 OD값(23)을 1로 환산할 경우 3.0~4.0 mg/100mL로 계산된다. Su(23)는 *M. anka albidus*의 색소 생성능이 0.39~0.49 mg/100mL이라 하여 균주와 배

지에 따른 색소 생성량이 차이가 있음을 나타내었다.

탄소원에 따른 *Monascus*속 미생물의 색소 생성능은 glucose, fructose, maltose 및 sucrose 등 당류에 비하여 가용성 전분 등 다당류가 높은 것으로 알려져 있으나, 액체배양시에는 균체 pellet의 크기, 배양시간, 배지의 가격 등을 고려할 때 glucose 또는 potato dextrose가 양호하다고 하였다(24).

MSG 및 감귤물추출물과 색소함량

비지량에 대하여 20%의 증류수와 monosodium glutamate (MSG) 0~0.1%와 감귤과피 물추출물을 0~0.5%범위로 각각 첨가하여 10일간 배양하면서 색소함량을 측정된 결과는 Fig. 3, 4와 같다. MSG의 경우, 0.01%에서 OD 2.26으로 가장 높았으며, 0.03~0.1%에서는 OD 0.22~0.74를 나타내었다. 홍국제조시 질소원으로는 보통 peptone과 NaNO₃ 및 (NH₄)HPO₄ 등이 사용되며 적정농도는 0.1~0.2%범위로 사용된다(25).

감귤 과피 물 추출물의 경우는 0.4%에서 O.D. 2.61로 가장 높았으며 0.3%에서는 O.D. 2.03, 0.2%에서는 O.D. 1.12를 나타내었다. 그리고 무첨가 및 0.1%첨가와 0.5%첨가에서는 O.D. 0.22~0.39를 나타내었다. 감귤껍질은 가공폐기물로서 hesperidin과 naringin을 비롯한 bioflavonoid 등 다양한 기능성 성분을 함유하여 앞으로 발효자원으로의 활용이 기대된다 (26-28).

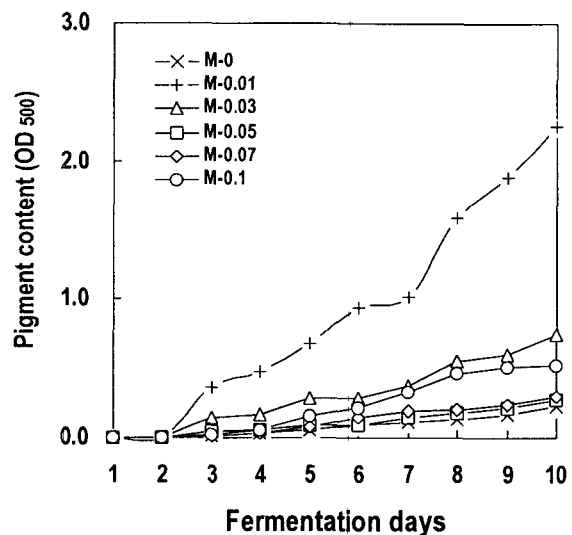


Fig. 3. Changes in pigment content of SCR Beni-koji with different amounts of monosodium glutamate during fermentation by *M. pilosus*.

Symbols: M-0.01, monosodium glutamate(MSG) 0.01%; M-0.03, MSG 0.03%; M-0.05, MSG 0.05%; M-0.07, MSG 0.07%; M-0.1, MSG 0.1%. Values are mean of triplicate determinations.

Monacolin K 함량

*M. pilosus*를 이용한 비지홍국의 제조 시 수분의 첨가량을

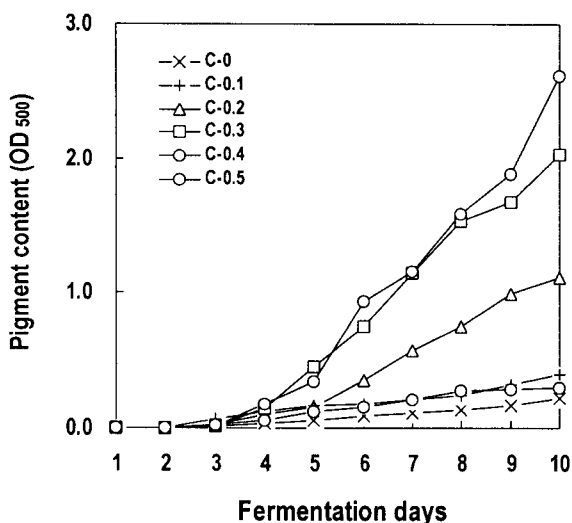


Fig. 4. Changes in pigment content of SCR Beni-koji with different amounts of citrus peel water homogenate during fermentation by *M. pilosus*.

Symbols: C-0.2, citrus peel water homogenate(CPWH) 0.2%; C-0.4, CPWH 0.4%; C-0.6, CPWH 0.6%; C-0.8, CPWH 0.8%; C-1.0, CPWH 1.0%. Values are mean of triplicate determinations.

20%로하고 상기에서 색소생성의 결과가 비교적 우수한 glucose 10%, MSG 0.01% 및 감귤과피물추출물 0.4%를 각각 첨가하여 10일간 배양하여 제조한 홍국의 monacolin K 함량을 조사한 결과는 Fig. 5와 같다. Glucose 10%를 첨가한 경우는 96.38 mg%, MSG 0.01%를 첨가한 경우는 118.25mg%, 감귤과피 물추출물을 0.4% 첨가한 경우는 104.50 mg%를 나타내었다.

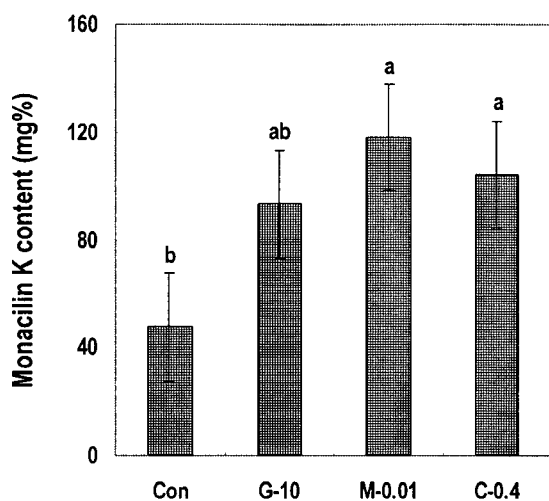


Fig. 5. Monacolin K content of SCR Beni-kojis fermented for 10 days.

Abbreviations: See Fig. 2-4. Values are mean of triplicate determinations and different letters(a-c) indicates significant differences at $p < 0.05$. Values are mean \pm standard deviations of triplicate determinations.

홍국에는 monacolin K(mevinolin 또는 lovastatin)를 비롯하여 dihydromonacholin L, 3-hydroxy dihydromonacholin L, monacholin L, monacholin J, monacholin X 등의 동족체들이 알려져 있으나 체내콜레스테롤 합성을 저해하는 활성은 monacolin K가 가장 높으며(29), 체내 콜레스테롤의 함량을 50%수준으로 감소시킬수 있는 농도는 20 ng/mL으로 알려져 있다(7-9).

요약

두부폐기물인 비지와 *M. Pilosus*를 이용한 홍국제조의 가능성을 검토하기 위하여 건조분말 비지에 20%양의 물을 첨가하여 증자한 비지에 glucose(0~10%), monosodium glutamate(0~0.1%), 감귤과피물추출물(감귤과피 양으로 0~0.5%)의 첨가에 따른 색소 및 monacolin K 함량을 조사하였다. Glucose 첨가량을 10%로 하였을 때 색소 생성량이 O.D. 1.06으로 가장 높았으며 이 때의 monacolin K 함량은 96.38 mg%(w/w)이었다. Monosodium glutamate는 0.01%에서 색소 생성량이 O.D. 2.26으로 가장 높았으며 이때의 monacolin K 함량은 118.25 mg%(w/w) 이었다. 감귤과피 물추출물(g/mL)의 경우는 0.4%(v/w) 첨가하였을 때 색소 생성량이 O.D. 2.61로 가장 높았으며 이때의 monacolin K 함량은 104.50 mg%(w/w) 이었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 한국과학재단 지정 대구대학교 농산물 가공·저장 및 산업화 연구센터의 일부지원에 의한 것입니다.

참고문헌

1. Lee, S.T. (1979) The anka, in Penchakanmu(Chinese herbal medicine). Yeh Book Co., Taipei., 1518-1593
2. Shikeo, M. (1990) Function and utilization of *Monascus sp.* Technical Journal on Food Chemistry & Chemicals., 12, 42-45
3. 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
4. Eizyro, N. (1932) Pigment of *Monascus pulpurus* Went(Part 1). Japan J. Agr. Chem. Soc., 8, 1007-1015
5. Juzlova, P., Martinkova, L. and Kren, V. (1996) Secondary

- metabolite of the fungus *Monascus*. J. Ind. Microbiol., 16, 163-170
6. Yasukawa, K., Takahashi, M., Yamanouchi, S. and Takido, M. (1996) Inhibitory effect of oral administration of *Monascus* pigment on tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mouse skin. Oncology., 53, 247-249
 7. Rodwell, V.W., Nordstrom, J.L. and Mitschelen, J.J. (1971) Regulation of HMG-CoA reductase. Adv. Lipid Res., 14, 1-4
 8. 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
 9. Dorothee, K. and Timm, A. (1990) Antibiotics from *Basidiomycetes* xxxvII new inhibitors of cholesterol biosynthesis from cultures of *Xerula melanotricha* Dorfeld. J. Antibiotics., 13(11), 1413-1420)
 10. Eizyro, N. (1932) Pigment of *Monascus purpureus* Went (Part 1). Japan J. Agr. Chem. Soc., 8, 1007-1015
 11. Wakore, K.S. (1979) Japanese patent, 76898
 12. 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
 13. 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
 14. Wong, H.C. and Koehler P.E. (1981) Mutant for *Monascus*-pigment production. J. Food Sci., 46, 956-960
 15. Yoshimura, M.S., Yamanaka, K. Mitsugi, and Hirose, Y. (1975) Production of *Monascus* pigment in a submerged culture, Agr. Biol. Chem., 39, 1789-1795
 16. Bau, Y.S. and Wong, H.C. (1979) Zinc effects on growth, pigmentation and antibacterial activity of *Monascus purpureus*. Physiol. Plant., 46, 63-67
 17. 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
 18. 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
 19. Park, M.Z. (2001) Study on soy sauce preparation fermentes by *Monascus pilosus* KCCM 60084. Catholic University, Taegu
 20. Kang. S.G., 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
 21. Boonprab, K., Suwanarit, P. and Lotong, N. (1996) Selection of glucose derepression mutants for the improvement of 무하마 production and their regulation of pigmentation. Proceeding of Kasetsart University Annual Conference, 30, January-1, Februar, Bangkok, Thailand
 22. 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
 23. Kim. M.Y., Lee. T.Y., Yanh. H.C. (1992) Red pigment production from *Monascus anka albidus*. Korean J. Food Sci. Technol., 24, 451-455
 24. 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
 25. Kim, S.D., Kim, I.D., Park, H.D. and Park, M.Z. (2001) Pigment content in Meju fermented by a *Monascus* species with different materials. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 30, 1047-1052
 26. Monforte, M.t. Trovato A. Kirjavainen, S., Foresieri, A.M. and Galati E.M. (1995) Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (note II): hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rat. Farmaco., 50, 595-599
 27. Kawaguchi, K., Mizuno, T. and Aida, K. (1997) Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcate pancrease and *Pseudomonas*. Biosci. Biotech. Biochem., 61, 102-104
 28. Bok, S.H., Lee, S.H., Park, Y.B., Bae, K.H., Son, K.H., Feong, T.S. and Choi, M.S. (1999) Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rat fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. J. Nutr., 129, 1182-1185
 29. Endo, A. (1980) Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent that specifically inhibits 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. J. Antibiotics., XXXIII(3), 334-336