

Monacolin K 대량생산 *Monascus* 균주의 탐색 및 동정

곽은정 · 이효민 · 임성일*

한국식품개발연구원

Screening and Identification of *Monascus* Strain Producing Monacolin K

Eun Jung Kwak, Hyo Min Lee and Seong Il Lim[†]

Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

Abstract

We had screened the *Monascus* strain capable of producing monacolin K dominantly among 29 *Monascus* strains. Red yeast rice was prepared by culturing each *Monascus* sp. with 200 g of steamed rice (120°C, 20 min) at 30°C for 10 days and drying at 80°C for 20 min. As a result, red yeast rice cultured by *M. purpureus* ATCC 16457, *M. purpureus* IFO 32316, *M. purpureus* IFO 32228, *M. kaoliang* ATCC 46595 and *M. kaoliang* ATCC 46596 produced lots of red pigment and monacolin K. An unidentified *Monascus* sp. showed the highest productivity of red pigment and monacolin K among 29 *Monascus* strains. Its production of red pigment and monacolin K was 1.3~39 times and 2.4~8 times higher than other strains, respectively. Although the morphological characteristics of unidentified *Monascus* strain were a little different from the typical *M. purpureus*, it was identified as *M. purpureus* CBS 281.34 from the result of sequencing of ITS (Internal transcribed spacer) and 28S ribosomal RNA (partial).

Key words: *Monascus* sp., monacolin K, pigment, *Monascus purpureus* CBS 281.34

서 론

紅麴(홍국)이란 붉은색을 띠는 곰팡이인 홍국균(*Monascus* sp.)을 주로 쌀에 배양시켜 건조시킨 것으로(1) 중국, 대만, 일본 등지에서는 오래 전부터 착색, 양조, 방부 등을 목적으로 식품뿐 아니라 한약재로도 사용되어 온 *koji*이기도 하다(1,2). 중국의 고서인 본초강목(本草綱目) 중에는 소식활혈(消食活血)이나 건비조위(健脾燥胃)의 기능이 있는 것으로 기록되어 있기도 하지만(2) 그밖에도 홍국에는 cholesterol 합성을 억제하거나(1-5), 혈압강하, 혈관이완 및 항암효과(1,2, 4-6) 등 다양한 약리 효능을 갖는 것으로 밝혀졌다. 이와 같은 기능은 홍국균의 대사산물 중 monacolin K(mevinolin 혹은 lovastatin)에 의한 것으로 알려져 있다(2). 서구와 일본에서는 이미 홍국을 분말이나 홍국으로부터의 추출물을 엑기스 형태로 하여 건강식품소재로서 판매하고 있으며(2,5), 최근 우리나라에서도 이를 이용한 건강식품개발에 대한 관심이 높아가고 있다.

국내에서의 홍국균 대사산물의 이용은 주로 색소 중심으로 이루어져 있는데, 홍국의 적색색소를 고추장(7), 된장(8), 김치(9), 두부(10)에 첨가해 기호성과 기능성의 증가에 관한 연구가 보고되었고, 시중 유통중의 맛살과 소시지(11)에도 인공색소를 대신해 홍국 색소가 첨가된 것이 확인되었다.

한편, 유효성분인 monacolin K에 관한 연구로서는 임상효과(1-6), 측정조건(12-14), 생성경로(15,16), 국내 각지의 토양에서 monacolin K를 생산해내는 균주 탐색(3) 등에 대해 보고되어 왔다. 또한 Ryu 등(17)은 monacolin K의 대량생산을 목적으로 수종의 홍국균의 선별작업을 행하고 선별된 홍국균의 monacolin K의 최적 생산 조건을 검토하였으나, monacolin K의 기능성을 살린 건강식품의 개발을 위해서는 최우선적으로 보다 많은 양의 monacolin K를 생성하는 균주를 탐색하여 이의 생산 효율성을 높일 필요가 있다. 이에 본 연구에서는 monacolin K의 생산 효율성을 높이고자 29종의 홍국균을 수집하여 monacolin K를 대량생산하는 균주를 탐색하였고 미동정된 1종의 홍국균은 동정하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

백미는 시중 재래시장에서 구입하여 사용하였다. Monacolin K 추출용 에탄올, 메탄올, 물은 HPLC분석용(Fisher Scientific Korea Ltd.)을 사용하였다. 표준품 monacolin K(mevinolin)는 Sigma사로부터 구입하여 사용하였다.

홍국제조

Table 1에서와 같이 실험에 사용한 29종의 모든 홍국균은

*Corresponding author. E-mail: silim@kfri.re.kr
Phone: 82-31-780-9277, Fax: 82-31-709-9876

Table 1. Strain names and addresses of 29 *Monascus* strains containing unidentified strain

No.	Strain	Address	No.	Strain	Address
1	<i>M. anka</i>	IFO 4478	16	"	IFO 32317
2	"	IFO 30873	17	"	IFO 7537
3	<i>M. pilosus</i>	IFO 4520	18	<i>M. araneosus</i>	
4	"	IFO 4480	19	<i>M. fuliginosus</i>	IFO 4483
5	"	IFO 8201	20	<i>M. kaoliang</i>	ATCC 46592
6	"	IFO 4521	21	"	ATCC 46595
7	<i>M. purpureus</i>	ATCC 6405	22	"	ATCC 46596
8	"	ATCC 16427	23	<i>M. ruber</i>	IFO 32318
9	"	ATCC 16436	24	"	ATCC 46598
10	"	ATCC 48162	25	<i>Monascus sp.</i>	ATCC 16437
11	"	IFO 4489	26	"	ATCC 16435
12	"	IFO 32316	27	<i>M. vitreus</i>	IFO 4532
13	"	IFO 32228	28	<i>M. purpurea</i>	IFO 4482
14	<i>M. ruber</i>	IFO 9203	29	<i>Monascus sp.</i>	Unidentified
15	"	IFO 4492			

한국식품개발연구원에서 보관중인 것을 사용하였다. 홍국 제조를 위한 종균은 PDA(potato dextrose agar, Difco) 배지를 사용하여 30°C에서 4일간 균체를 배양하였다. 백미는 하루 밤 수침하여 탈수한 후 200 g을 1 L 삼각플라스틱에 넣고 120°C에서 20분간 증자하고 곡물 건물량의 10%의 멸균수를 첨가하였다. 다음 종균을 5%가 되도록 접종하고 30°C에서 10일간 배양한 후 80°C에서 20분간 건조하였다. 이때 홍국의 수분함량은 37%였으며 건조한 홍국은 후드릭서(Hanil, Korea)로 재분하였다.

홍국 색소 측정

홍국 분말 1 g에 80% 에탄올과 80% 메탄올 또는 물 9 mL을 가한 후 실온에서 1시간 교반하여 색소를 추출하였다. 다음 membrane filter(PVDF, pore size 0.45 µm, diameter 13 mm, Whatman)를 사용하여 추출액을 여과하고 적정 농도로 희석한 후 500 nm에서 흡광도를 측정하여(Hewlett Packard spectrophotometer, model 8753, Germany) 이를 홍국색소 추출양으로 하였다.

Monacolin K의 분석조건

홍국 분말 1 g에 80% 에탄올 9 mL을 가해 1분간 흔들어 추출한 후 상등액을 취해 HPLC(Jasco PU-987 pump, Tokyo, Japan)를 이용하여 monacolin K 함량을 측정하였다. HPLC 분석은 Hypersil ODS column(5 µm pore size, 150×4.6 mm, Supelco Inc.)을 사용하여 acetonitrile : 0.1% phosphoric acid = 65 : 35(v/v)로 한 용액을 이동상으로 하고 1 mL/min의 유속으로 10 µL를 투여 시 238 nm(Jasco UV-975 detector, Tokyo, Japan)에서 측정하였다. Monacolin K 함량은 표준물질을 같은 조건에서 작성한 검량선으로부터 산출하였다.

미동정 홍국균의 동정

미동정 홍국균은 (주) 마이크로아우디에 의뢰하여 ITS (Internal transcribed spacer) 및 28S ribosomal RNA 부분 염기서열을 분석하여 동정하였다. 먼저 ITS 및 28S rDNA 각 유전자를 PCR(GenAmp™ PCR system 9700, Perkin-

Elmer, Boston, USA)에 의해 증폭시켰다. PCR을 위한 반응액의 구성은 10 mM Tris-HCl buffer (pH 9.0), 40 mM KCl, 0.15 mM MgCl₂, 3 mM MgSO₄, 200 µM deoxynucleotide triphosphate, 10 ng DNA 주형, 1 U *Taq* polymerase 및 0.5 µM primer set로 총 부피는 50 µL로 하였다. 사용된 primer 와 probe는 각각 ITS의 경우 ITS5(5'-GGAAGTAAAAG-TCGTAACAAGG-3')와 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATATG C-3'), 28S rDNA의 경우 NL 26(5'-ACCCGCTGAAYTT-AAGCATAT-3')과 NL660(5'-CTCCTTGGTCCGTGT-TTCAAGACGG-3')을 사용하여 행하였다(18). PCR 반응은 predenaturation(94°C, 3분), denaturartion(64°C, 30초), annealing(50°C, 30초), elongation(94°C, 3분), extention(72°C, 10분)을 30회 반복하였다. 증폭된 PCR 산물은 Wizard PCR Prep DNA purification system(Promega, USA)를 이용하여 정제하였고, 염기 서열 분석은 BigDye™ terminator cycle sequencing ready reaction kit(Perkin-Elmer)를 사용하여 PCR로 반응(96°C 10초, 50°C 5초, 60°C 4분)시킨 후 Genetic analyzer(ABI Prism™ 310, Perkin-Elmer)로 하였다. 얻어진 염기서열의 상동성은 NCBI(National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD, USA)의 Blast program으로 분석하였다.

또한 PDA와 MEA(malt extract agar, Difco)배지 상에서의 번식형태 및 광학현미경[Microphot-TXA(자낭포자 관찰), Eclipse E600(분생포자 관찰), Nikon, Japan]을 사용하여 형태학적 관찰을 행하였다.

결과 및 고찰

색소 생산성

색소, monacolin K, 기타 홍국균 대사산물은 공통적인 polyketide pathway를 경유해 합성되므로(15,16) 색소생성량이 많은 홍국균이 monacolin K도 다량 생성할 것으로 예측되었다. 이에 monacolin K함량을 측정하기 전에 1차 스크

리닝으로 색소생성량을 측정하였다. Fig. 1에서와 같이 29종의 홍국균을 쌀에 배양하여 제조한 홍국의 적색 정도는 1, 2, 8, 10, 12, 13, 21, 22, 24, 29번의 홍국에서 높았다. 시료 홍국을 80% 에탄올과 메탄올 및 물을 용매로 사용하여 추출한 추출물의 색소량을 측정한 결과, Table 2에서와 같이 홍국 색소는 메탄올과 에탄올에 잘 추출되나 증류수에서는 잘 추출되지 못하여 수용성 색소는 극히 적게 함유되어 있는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 홍국 색소가 대부분 에탄올, 메탄올, 석유에테르, 클로로포름, 아세톤 등의 유기용매에 의해 추출된다는 보고(11,19-21)와 일치하였다.

시료 중 29번 홍국에서 가장 많은 양의 적색색소가 생산되었으며 이의 색소 생산량은 다른 홍국에 비해 1.3배에서 39배나 많이 생산된 것을 알 수 있었다. 이어서 21, 8, 13, 12, 22, 24번 등의 순으로 높은 생산량을 보였다. 21, 8, 13, 12, 22, 24번 홍국균은 각각 *M. kaoliang* ATCC 46595, *M. purpureus* ATCC 6405, *M. purpureus* IFO 32228, *M. purpureus* 32316, *M. kaoliang* ATCC 46596, *M. ruber* ATCC 46598로 *M. purpureus*와 *M. kaoliang*은 *M. anka*나 *M. pilosus*보다 색소생산량이 우수한 것으로 사료되었다.

Monacolin K 생산성

Monacolin K 측정에는 높은 색소생성량을 보인 1, 2, 7, 8, 10, 12, 13, 20, 21, 22, 24, 26, 29번 홍국균을 배양한 홍국만을 사용하였다. 홍국 분말과 80% 에탄올간의 비율을 10배로 하여 추출한 추출액의 크로마토그램은 Fig. 2와 같다. 표준품과 12번 및 29번 홍국 에탄올 추출물의 monacolin K는 6.30분경에서 검출되었다. 가장 많은 양의 monacolin K를 함유하는 홍국은 29번으로 100 g중의 홍국 중 1.21 g이나 되었다(Ta-

Table 2. Absorbance of the extract of 29 red yeast rices fermented by 29 *Monascus* strains

No.	Strain ¹⁾	Solvent		
		80% ethanol	80% methanol	Water ²⁾
1	<i>M. anka</i>	5.60	5.58	0.36
2	"	7.30	7.49	0.42
3	<i>M. pilosus</i>	0.01	0	0
4	"	0.01	0	0
5	"	0	0	0
6	"	0	0	0
7	<i>M. purpureus</i>	11.60	15.90	0.57
8	"	25.70	26.13	0.74
9	"	0.02	0	0
10	"	10.20	12.03	0.65
11	"	0.01	0	0
12	"	17.10	19.07	0.55
13	"	20.40	20.92	0.68
14	<i>M. ruber</i>	0.02	0	0
15	"	0.32	0	0
16	"	0.01	0	0
17	"	0.01	0	0
18	<i>M. araneosus</i>	0.07	0	0
19	<i>M. fuliginosus</i>	0.01	0	0
20	<i>M. kaoliang</i>	1.20	1.46	0.12
21	"	31.10	30.08	0.74
22	"	16.20	17.86	0.52
23	<i>M. ruber</i>	0.04	0	0
24	"	15.90	19.74	0.66
25	<i>Monascus</i> sp.	0.06	0	0
26	"	10.00	11.57	0.70
27	<i>M. vitreus</i>	0.04	0	0
28	<i>M. purpureua</i>	0.03	0	0
29	<i>Monascus</i> (unidentified)	39.30	41.02	0.65

Absorbance was measured at 500 nm.

¹⁾See the address of Table 1.

²⁾Water for HPLC analysis was used.

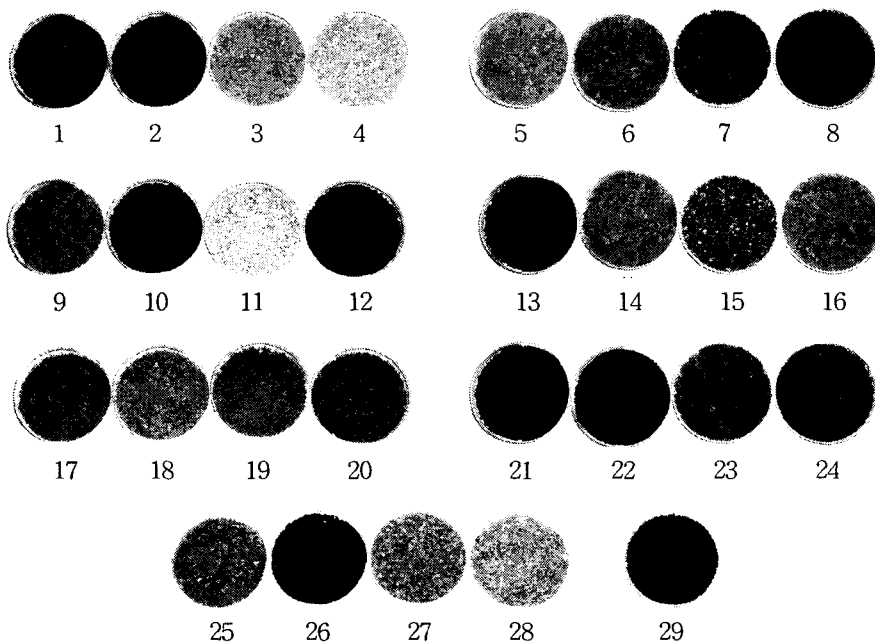


Fig. 1. Red yeast rices prepared by culturing 29 *Monascus* strains.

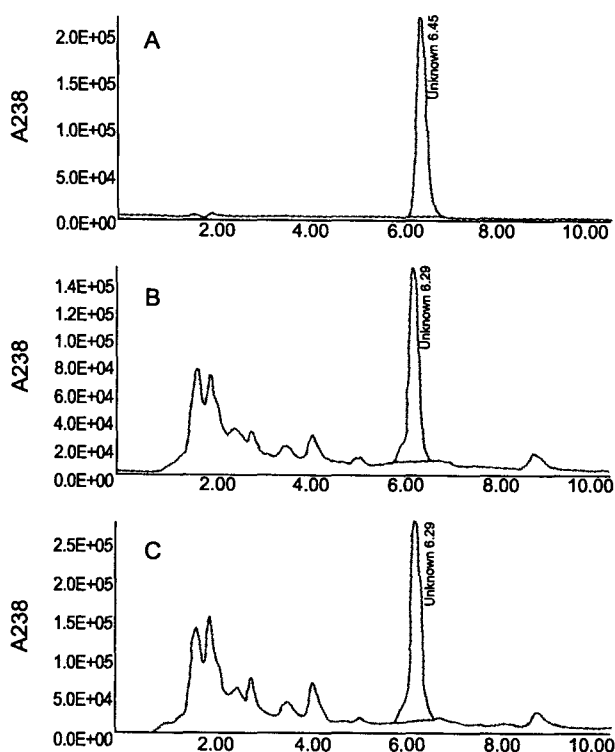


Fig. 2. HPLC chromatograms of monacolin K from standard compound and red yeast rice prepared by culturing No. 12 and No. 29 *Monascus* strains. A: standard compound, B: red yeast rice prepared by culturing No. 12 *Monascus* strain, C: red yeast rice prepared by culturing No. 29 *Monascus* strain.

ble 3). 이어서 12, 8, 10, 13, 22, 21번 홍국 등의 순으로 높은 함량을 보였으며, 이들의 monacolin K 함량은 각각 0.53, 0.25, 0.22, 0.21, 0.15 g/100 g이었다. 12, 8, 10, 13, 22, 21번 홍국은 색소 생성량도 많은 홍국으로 *M. purpureus*와 *M. kaoliang*을 배양한 것이었다. 29번 홍국의 monacolin K 함량은 *M. purpureus*와 *M. kaoliang*을 배양한 홍국보다도 2.4~8배나 높았다. 한편 보고된 홍국중의 monacolin K 함량은 *M. ruber* ATCC 20657과 *M. ruber* KCCM 60167을 메밀에 배양해 제조한 홍국에서 0.03 g과 0.04 g/100 g(22), *M. pilosus* M-15

Table 3. Monacolin K contents in red yeast rices fermented by *Monascus* strains selected

No.	Strain ¹⁾	Monacolin K (g/100 g red yeast rice)
1	<i>M. anka</i>	0.050
2	"	0.068
7	<i>M. purpureus</i>	0.074
8	"	0.253
10	"	0.220
12	"	0.532
13	"	0.220
20	<i>M. kaoliang</i>	0.007
21	"	0.146
22	"	0.209
24	<i>M. ruber</i>	0.107
26	<i>Monascus</i> sp.	0.098
29	<i>Monascus</i> (unidentified)	1.213

¹⁾See the address of Table 1.

로 제조한 홍국에서는 0.02 g/100 g(17), 상업적 홍국에서는 0.2%(5)의 monacolin K가 얻어졌다고 보고되어 있다. 이들 결과로부터 미동정된 29번 홍국균의 monacolin K 생성량은 *M. ruber*나 *M. pilosus*(5,17,22)나 본 연구에 사용된 28종의 홍국균보다도 현저하게 높은 것을 알 수 있었다.

홍국균의 동정

29종의 홍국균 중 미동정된 29번 홍국균이 monacolin K의 대량생산에 가장 적합한 것으로 판정되었기에 이 균주의 동정을 실시하였다. 형태학적 관찰 결과 중 MEA와 PDA 배지 상에서의 번식형태를 보면, Fig. 3에서와 같이 7일간 배양한 균체 모두 뿌리형의 형태로 번식하였으며, MEA배지에서보다는 PDA배지에서 더 잘 배양되었다. 또한 *M. purpureus*는 자낭균속에 속하는 곰팡이로 Fig. 4에서와 같이 자낭포자와 분생포자 뿐만 아니라 후막포자도 생성한다(23). 그러나 *M. purpureus* CBS 281.34는 분생포자보다 자낭포자의 생산이 현저하게 많았고, 다량의 후막포자도 번식 초기에 관찰되어 전형적인 *M. purpureus*와는 다소 다른 형태를 나타내었다(자료는 제시하지 않았음).

한편 ITS와 28S rRNA의 염기서열을 분석한 결과, Table 4와 5에서와 같이 29번 홍국균의 염기서열과 100%의 높은

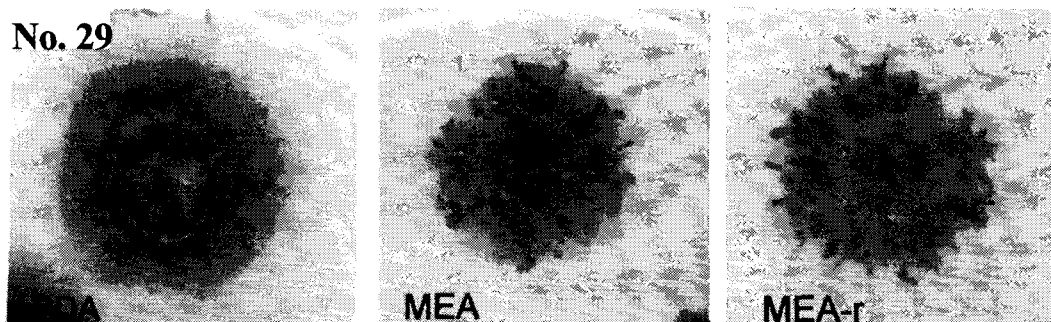


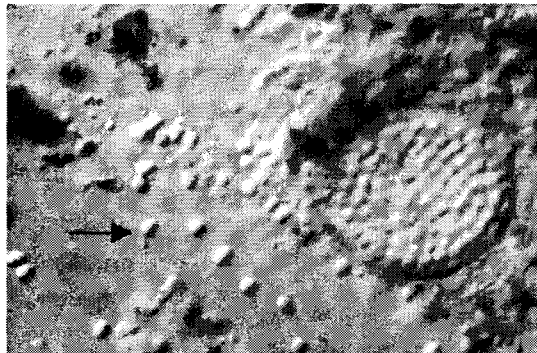
Fig. 3. Photographs of media cultured by *M. purpureus* CBS 281.34. PDA: medium of potato dextrose agar, MEA: medium of malt extract agar, MEA-r: reverse side of medium of malt extract agar.

Table 4. Levels of ITS (internal transcribed spacer) similarity between *Monascus* strain No. 29 and other strains

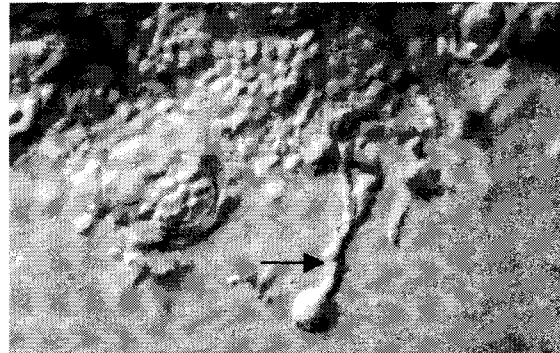
Strain	Accession No.	Similarity (%)	Nucleotide differences
<i>M. araneosus</i> IAM 12152	AF458471	100	0/478
<i>M. kaoliang</i> ATCC 46596	AF451859	100	0/477
<i>M. purpureus</i>	U18356	100	0/493
<i>M. ruber</i> ATCC 22080	AF458470	99.58	2/478
<i>M. pilosus</i> ATCC 16364	AF451856	99.58	2/478
<i>Penicillium brocae</i> NRRL 31485	AF484399	87.84	58/477

Table 5. Levels of 28S rRNA gene similarity between *Monascus* strain No. 29 and other strains

Strain	Accession No.	Similarity (%)	Nucleotide differences
<i>M. purpureus</i> CBS 281.34	AF222496	100	0/540
<i>M. ruber</i> ATCC 96218	AF364984	100	0/540
<i>M. pilosus</i> ATCC 62949	AF364976	100	0/540
<i>M. eremophilus</i> ATCC 62925	AF365023	99.81	1/540
<i>M. pilosus</i> ATCC 16369	AF365003	99.81	1/540
<i>M. barkeri</i> ATCC 16966	AF364983	99.81	1/540



Ascospores, ×500



Conidia, ×500

Fig. 4. Optical microscopic photographs of *M. purpureus* CBS 281.34.

유사성을 갖는 균주는 각각 3종인 것으로 나타났다. 그러나 28S rRNA의 염기서열에서는 100%의 유사성을 나타낸 *M. ruber*와 *M. pilosus*가 ITS의 염기서열의 유사성은 동일하게 99.58%인데 비해서, *M. purpureus*는 ITS와 28S rRNA에서 유사성이 모두 100%로 나타난 결과로부터 29번 홍국균은 *M. purpureus* CBS 281.34(accession No.: AF222496, 유사성: 100%, 염기차: 유사 균체 540종 중 0)인 것으로 확인되었다.

따라서 29번 홍국균의 포자생성 형태는 전형적인 *M. purpureus*와 다소 다르게 나타났으나 이 같은 특성은 환경에 따라 달라질 수 있으므로, 유사성이 100%로 나타난 염기서열 분석결과에 의거하여 이 균주를 *M. purpureus* CBS 281.34로 동정하였다.

1종의 홍국균을 포함해 29종의 홍국균을 수집하여 monacolin K를 대량생산하는 균주를 탐색하였다. 홍국은 PDA배지에서 배양한 홍국균을 침지·증자한 백미에 5%가 되도록 접종 후, 30°C에서 10일간 배양하여 제조하고 이를 건조, 분말로 하여 사용하였다. 그 결과 색소생성량이 많은 *M. purpureus* ATCC 16457, *M. purpureus* IFO 32316, *M. purpureus* IFO 32228, *M. kaoliang* ATCC 46595, *M. kaoliang* ATCC 46596 등의 균체를 배양한 홍국에서 monacolin K 생성량도 높았다. 그러나 색소와 monacolin K 생산량은 미동정된 홍국균이 가장 많은 것으로 나타나 형태학적 관찰과 ITS 및 28S rRNA 부분 유전자 염기서열분석을 실시한 결과, *M. purpureus* CBS 281.34인 것으로 동정되었다.

요 약

최근 콜레스테롤 합성을 억제하는 효능을 가진 것으로 알려진 홍국균 대사생성물의 일종인 monacolin K를 이용한 건강식품의 개발에 대한 관심이 높아지고 있다. 이에 본 연구에서는 monacolin K를 이용한 건강식품의 개발을 위한 기초 연구로 monacolin K의 생산 효율성을 높이고자 미동정된

문 헌

- Wild D, Tóth G, Humpf HU. 2002. New monascus metabolite isolated from red yeast rice (angkak, red koji). *J Agric Food Chem* 50: 3999-4002.
- Editorial department. 2000. Useful microbe as health food material. *Food and development* 35(2): 44-48 (in Japanese).
- Bang IY, Whang SH, Kim JW, Kim SY, Park CS. 2003. Screening of fungal strains producing lovastatin, an anti-

- hypercholesterolemic agent. *Korean J Food Sci Technol* 35: 442-446.
4. Rhyu MR, Kim EY. 2002. The relation between antihypertensive effect and γ -aminobutyric acid, mycelial weight and pigment of *Monascus*. *Korean J Food Sci Technol* 34: 737-740.
 5. Ma J, Li Y, Ye Q, Li J, Hua Y, Ju D, Zhang D, Cooper R, Chang M. 2000. Constituents of red yeast rice, a traditional Chinese food and medicine. *J Agric Food Chem* 48: 5220-5225.
 6. Yu TS, Kim HH, Yoon CG. 2003. Hepatic oxygen free radical metabolizing enzyme activities and serum lipid profile in rats fed diet supplemented with *Monascus* pigment. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 244-249.
 7. Chung SH, Suh HJ, Hong JH, Lee HK, Cho WD. 1999. Characteristics of *kochujang* prepared by *Monascus anka* koji. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 61-66.
 8. Kim EY, Rhyu MR. 2000. The chemical properties of *doenjang* prepared by *Monascus koji*. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1114-1121.
 9. Kim SD, Kim ID, Park MJ. 2001. Effect of *Monascus koji* on the fermentation and quality of *kimchi*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 826-823.
 10. Hwang TI, Kim SK, Park YS, Byoun KE. 2001. Studies on the storage of functional red soybean curd. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1115-1119.
 11. Lee TS, Lee YJ, Kwon YK, Park JS, Ko HS, Sim KC, Lee JY, Shin JW, Song JW, Lee CW. 2001. Studies on the determination method of *Monascus* pigments in foods. *Korean J Food Sci Technol* 33: 641-644.
 12. Kysilka R, Kren V. 1993. Determination of lovastatin (mevinolin) and mevinolinic acid in fermentation liquids. *J Chromatogr* 630: 415-417.
 13. Friedrich J, ZuZek M, Bencina M, Cimerman A, Strancar A, Radez I. 1995. High-performance liquid chromatographic analysis of mevinolin as mevinolinic acid in fermentation broths. *J Chromatogr A* 704: 363-367.
 14. Morovján G, Szakács G, Fekete J. 1997. Monitoring of selected metabolites and biotransformation products from fermentation broths by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 763: 165-172.
 15. Vinci VA, Hoerner TD, Coffman AD, Schimmel TG, Dabora RL, Kirpekar AC, Ruby CL, Stieber RW. 1991. Mutants of lovastatin-hyperproducing *Aspergillus terreus* deficient in the production of sulochrin. *J Ind Microbiol* 8: 113-120.
 16. Hajjaj H, Blanc PJ, Groussac E, Goma G, Uribelarrea JL, Loubiere P. 1999. Improvement of red pigment/citrinin production ratio as a function of environmental conditions by *Monascus ruber*. *Biotechnol Bioeng* 64: 497-501.
 17. Ryu BH, Ahn MK, Park JO. 1995. Production of cholesterol inhibitor, monacolin produced from *Monasces pilosus* M-15. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 92-97.
 18. Dams E, Hendriks L, Van de Peer Y, Neefs J-M, Smits G, Vandembemt I, De Wachter R. 1988. Compilation of small ribosomal subunit RNA sequences. *Nucleic Acids Res* 16 (Sup.): r87-r173.
 19. Park MJ, Yoon EK, Kim SD. 2002. Stability of pigment produced by *Monascus pilosus*. *Korean J Food Sci Technol* 34: 541-545.
 20. Kim SJ, Rhim JW, Kang SG, Jung ST. 1997. Characteristics and stability of pigments produced by *Monascus anka* in a jar fermenter. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 60-66.
 21. Broder CU, Koehler PE. 1980. Pigments produced by *Monascus purpureus* with regard to quality and quantity. *J Food Sci* 45: 567-569.
 22. Kang DZ, Um JB, Lee SK, Lee JH. 2003. Content of rutin and monacolin K in the red buckwheat fermented with *Monascus ruber*. *Korean J Food Sci Technol* 35: 242-245.
 23. 민경찬, 정희종, 정수열, 김재근, 손규복, 김도영. 2003. 식품미생물학. 광문각, 서울. p 68.

(2003년 8월 9일 접수; 2003년 12월 1일 채택)