

액체배양에서 *Monascus purpureus* P-57 변이주의 색소생성 최적조건

박치덕 · 정혁준 · †유대식

계명대학교 미생물학과

(접수 : 2005. 1. 27., 게재승인 : 2005. 2. 20.)

Optimization of Pigment Production of *Monascus purpureus* P-57 in Liquid Culture

Chi Duck Park, Hyuck Jun Jung, and Tae Shick Yu†

Department of Microbiology, Keimyung University, Taegu 701-704, Korea

(Received : 2005. 1. 27., Accepted : 2005. 1. 20.)

Optimization of culture conditions for pigment production of *Monascus purpureus* P-57 mutant was investigated in liquid culture.

The optimum composition of medium for the pigment production was 4% rice power, 0.1% beef extract, 0.03% glutamic acid, 0.1% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.25% KH_2PO_4 , the optimum initial pH was 5.0. And the optimum culture conditions was at 30°C for 8 days under 150 rpm with shaking. *M. purpureus* P-57 mutant produced the highest pigment as 356.04 units at red pigment and as 268.20 units at yellow pigment, and produced high cell mass as 15.00 g/L in liquid culture under the optimum conditions.

Key Words : *Monascus purpureus*, optimal condition, red pigment

서 론

홍국균 (*Monascus* sp.)이 생산하는 색소는 중국, 대만, 한국 등지에서 오랫동안 홍주, 홍두부 등의 식품 착색제로 사용되어 왔는데, 그 색소로는 황색 색소인 monascin, ankaflavin, 오렌지색 색소인 rubropunctatin, monascorubrin, 그리고 적색 색소인 rubropunctamine, monascorubramine이 알려져 있다(1).

Monascus 속은 진균군문 (Eumycota) 중의 자낭균아문 (Ascomycotina), 부정자낭균강 (Plectomycetes), 완전국균목 (Eurotiales), Monascaceae과에 속하는 사상균으로서 유성생식을 할 수 있는 완전세대 사상균이다(2). 일반적으로 붉은 곰팡이라고 불리는 *Monascus*속 균주는 적색, 황색, 홍색 등 10여 가지 이상의 색소 혼합물을 생성하며 polyketide 경로를 통해 생성되어 polyketide pigment라 하기도 한다(3, 4). 최근에는 동물실험을 통한 색소의 안정성이 확인되어 일본 및 국내에서 각종 가공식품의 착색제로 이용되는 등 합성색소를 대신하는 천연색소로 각광받고 있다(1).

*Monascus*속 균주에 관한 연구는 60년대부터 시작되어 현재까지 많은 연구가 진행되고 있다. *Monascus*속 균주를 이용한 천연색소 및 그 밖의 이차대사산물 생산은 현재 액체배양 및 쌀을 이용한 고체배양이 일반화되어 있다. 1977년 *M. purpureus*의 추출물은 *Bacillus*, *Streptococcus*와 *Pseudomonas*에 대하여 항세균성 효과가 있으며, 최근에는 *Monascus*의 액체 배양액 추출물이 항세균성 효과 뿐 아니라 항진균성, 면역억제 효과, 배독성 (embryotoxic)과 조직의 기형효과를 나타낸다는 보고도 있다(3).

Kang과 Jung(5)은 동남아시아 각 지역에서 분리한 *Monascus* sp.의 액체배양을 통해 탄소원과 질소원의 종류 및 농도, pH, 통기효과, 아미노산 첨가, 비타민 첨가, 진탕 효과, 배양온도 등에 따른 색소 생성능의 차이를 보고하였으며, 균주를 N-methyl-N'-nitrosoguanidine 처리로 변이를 유발하여 색소 생성능을 증가 시켰다. Yoshimura 등(6)은 *Monascus* sp. 균주를 이용하여 다양한 조건에서 액체배양을 통한 세포의 색소 생성의 조건을 검토한 바 있다.

홍국균은 색소 이외에도 cholesterol 생합성에 관여하는 효소인 hydroxy-3-methyl glutaryl CoA (HMG-CoA) reductase 저해제인 monacolin K와 Na 배설 작용을 촉진함으로써 혈압강하 작용을 하는 γ -aminobutyric acid (GABA)를 생성한다(4, 7). 홍국의 색소와 기능성 물질의 생산은 균주, 영양 기질, 배양조건에 따라 구성 색소의 비율이 달라지고 배양

† Corresponding Author : Department of Microbiology,
Keimyung University, Taegu 701-704, Korea
Tel : +82-53-580-5252, Fax : +82-53-580-5164
E-mail : tsyu@kmu.ac.kr

조건 중에서도 배지의 성분과 pH 조절 등으로 황색 및 적색 색소의 생성량과 기능성 물질의 생성량이 달라지는 것으로 알려져 있다.

따라서 본 연구에서는 색소 생성능이 우수한 변이주인 *Monascus purpureus* P-57 변이주를 이용하여 액체배양에서의 세포내 색소 생성의 최적 조건을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

사용 기기 및 시약

본 실험에 사용된 시약으로 PDA (Potato dextrose agar; Difco), 백미 (안계산), 그리고 KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaNO_3 , 등은 Sigma Co. (USA) 제품을 사용하였다. 그리고 색소 측정을 위해 UV-VIS spectrophotometer (Techne Co. Specgene, England)를 사용하였다.

공시균주 및 사용배지

실험에 사용된 공시균주는 본 연구실에서 보유하고 있는 색소 생성 변이주인 *M. purpureus* P-57 변이주를 사용하였다. 그리고 PDA (0.4% potato starch, 2% dextrose, 1.5% agar, pH 5.6 ± 0.2) 배지는 공시균주의 포자 생성을 위한 전 배양배지로 사용하였고, 색소생성을 위한 액체배양은 Lin's 배지 (3% rice powder, 0.15% NaNO_3 , 0.25% KH_2PO_4 , 0.1% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, pH 6.0)를 기본배지로 사용하였다.

공시균주의 배양

공시균주를 PDA 배지에서 30°C, 7일간 배양한 후 멸균수를 약 10 ml 첨가하고 백금이를 이용하여 배지로부터 포자를 회수한 후, cotton filter를 이용하여 균사와 포자를 분리하고 멸균수로 3회 세척하여 포자현탁액을 제조하였다. 실온에서 3,500 rpm으로 원심분리하고, hemocytometer를 이용하여 포자수를 개수한 후 2×10^5 spores/ml 되게 희석하여 접종원으로 사용하였다.

색소 생산을 위해 Lin's 배지를 100 ml 삼각플라스크에 30 ml씩 분주하여 121°C에서 15분간 멸균한 후, 포자현탁액 300 µl를 접종하여 30°C, 150 rpm에서 7일간 배양하였다.

건조 균체량 측정

배양된 공시균주의 건조 균체량 측정은 여과지 (Toyo No.2)를 이용하여 측정하였다. 80°C에서 3시간 미리 건조한 여과지를 이용하여 배양액을 여과하고 증류수로 3회 세척하여 균체를 회수한 후, 80°C에서 항량이 될 때까지 건조하여 여과지의 무게를 뺀 값으로 건조 균체량을 측정하였다.

색소 추출 및 정량

색소의 추출은 건조된 균체 0.05 g에 80% 에탄올 10 ml를 가하여 30°C, 150 rpm으로 2시간 추출하였다. 추출된 색소를 적정배수로 희석한 후, UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 적색색소는 500 nm, 황색색소는 400 nm에서 흡광도를 측정하고, 이를 전체 균체량으로 환산하여 흡광도 (OD) 1을 1 unit으로 각각 세포내 적색색소와 황색색소로 나타내었다.

결과 및 고찰

배양 온도의 영향

Monascus purpureus P-57 균주의 색소 생성에 미치는 온도의 영향을 알아보기 위하여 배양 온도를 각각 25°C, 28°C, 30°C, 35°C, 40°C로 조정하여 배양한 결과, Table 1에 나타난 바와 같이 30°C에서 적색색소가 103.25 unit, 황색색소가 80.35 unit으로 가장 높은 색소 생성력을 나타내었고, 40°C 이상에서는 색소 생성이 급격하게 감소됨을 알 수 있었다. 그리고 균체량의 경우에는 30°C보다는 28°C에서 9.83 g/L로 가장 많은 균체가 생성되었으며 색소 생성과는 다르게 25°C에서 5.67 g/L로 균체 생성이 저조하였다.

Table 1. Effect of temperature on the production of pigments by *Monascus purpureus* P-57

Temperature (°C)	Pigment production		Dry cell weight (g/L)	Final pH
	Red	Yellow		
25	61.06	50.32	5.67	5.79
28	89.92	72.22	9.83	4.96
30	103.25	80.35	9.00	5.02
35	41.50	43.40	8.33	5.04
40	7.46	17.52	8.00	5.44

배양 pH의 영향

배양 초기 pH에 의한 색소 생성의 차이를 비교하기 위하여 pH를 3.5~7.0까지 0.5 단위로 조정하여 배양한 결과, Table 2에 나타난 바와 같이 pH 4.5~5.5 사이의 약산성 조건에서 높은 색소 생산력을 나타내었고, pH 5.0에서 적색색소 156.68 unit, 황색색소 123.38 unit으로 가장 높은 색소를 생산하였다. 하지만 pH가 중성으로 갈수록 색소 생산이 감소하는 경향을 나타내었고, pH 7.0에서는 적색색소가 20.16 unit, 황색색소가 20.21 unit로 가장 낮은 색소를 생산하였다.

균체 생성의 경우는 pH 4.5에서 10.33 g/L로 가장 높게 나타났지만, 산성영역에서는 큰 차이가 나지 않음을 알 수 있었다. 그러나 중성영역으로 갈수록 감소하였고 pH 7.0에서는 8.0 g/L로 균체 생성이 가장 저조하게 나타났다.

Table 2. Effect of pH on the production of pigments by *Monascus purpureus* P-57

pH	Pigment production		Dry cell weight (g/L)	Final pH
	Red	Yellow		
3.5	84.25	73.75	9.83	5.93
4.0	77.45	75.39	10.10	6.08
4.5	130.95	109.62	10.33	5.91
5.0	156.68	123.38	10.20	5.59
5.5	125.17	99.85	9.77	4.92
6.0	94.66	78.42	9.67	5.00
6.5	64.69	57.41	8.67	5.28
7.0	20.16	20.21	8.0	5.93

탄소원의 영향

탄소원이 색소 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 탄소원으로 여러 종류의 전분류, 2당류와 단당류 등을 각각 3% 첨가하여 배양한 결과, Table 3에서 처럼 rice

powder가 적색색소 132.70 unit, 황색색소 105.34 unit으로 가장 높게 생성되었으며, 균체량 역시 9.50 g/L로 가장 높게 나타났다. 그리고 주로 전분질이 탄소원으로 이용되었을 때 색소 생성이 높다는 것을 알 수 있었으며, 순수한 전분질보다는 백미 가루가 가장 높은 색소를 나타내는 것은 전분 이외의 다양한 영양물질들 때문인 것으로 사료된다. 그러나 fructose, maltose, sucrose, glucose, lactose같은 당류에서는 균체 생산력과 색소 생산력 모두가 전분질보다는 약하게 나타났다. 특히 lactose의 경우에는 생육 자체가 거의 이루어지지 않음을 확인 할 수 있었다.

Table 3. Effect of carbon sources on the production of pigments by *Monascus purpureus* P-57

Carbon sources (3%)	Pigment production		Dry cell weight (g/L)	Final pH
	Red	Yellow		
Rice powder	132.70	105.34	9.50	5.98
Wheat starch	32.56	28.60	7.33	4.63
Corn starch	79.34	58.82	6.33	4.85
Rice starch	38.29	31.64	5.83	4.76
Potato starch	15.86	13.68	4.33	4.39
Soluble starch	4.44	3.78	3.33	3.85
Fructose	4.21	3.48	0.83	5.12
Maltose	6.41	5.24	1.17	4.36
Sucrose	1.20	1.22	0.83	4.91
Glucose	34.32	25.39	1.83	4.50
Lactose	-	-	-	5.07

Table 4. Effect of rice powder concentration on the production of pigments by *Monascus purpureus* P-57

Rice powder concentration(%)	Pigment production		Dry cell weight (g/L)	Final pH
	Red	Yellow		
1	27.50	25.06	3.00	5.98
2	32.26	57.72	6.17	5.93
3	120.84	98.27	9.50	5.67
4	134.47	108.89	13.00	4.95
5	122.39	107.51	15.50	5.05
6	129.17	106.27	18.00	4.69

Rice powder 농도의 영향

탄소원으로 가장 우수한 rice powder의 농도가 색소 생성에 미치는 영향을 검토하기 위해 1~6%까지 첨가하여 배양한 결과, Table 4에서 보는 바와 같이 적색색소의 경우 3%부터 급격하게 증가되기 시작하여 4%에서 134.47 unit으로 가장 높게 나타났고, 5% 이상에서는 감소됨을 알 수 있었다. 하지만 균체량의 경우에는 탄소원이 증가함에 따라서 계속적으로 증가됨을 알 수 있었는데, 이는 백미가 루가 물에 녹지 않으므로 첨가량이 증가됨에 따라서 균체량도 같이 증가되는 것으로 생각된다. 이상의 결과는 Park 등(8)과 Kang과 Jung(5)의 보고와는 다소 차이가 있었다.

질소원의 영향

색소 생성에 미치는 질소원의 영향을 조사하기 위하여 4% rice powder를 함유한 Lin's 배지에 NaNO₃대신 soytone, bacto peptone, yeast extract, beef extract, mono sodium glutamate (MSG), corn steep liquor (CSL), NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄를 0.15%씩 첨가하여 배양한 결과, Table 5에서

보는 바와 같이, beef extract에서 적색 색소가 248.30 unit, 황색 색소가 189.58 unit으로 가장 높게 나타났으며, MSG, NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄에서도 적색 색소가 200 unit 이상으로 높게 나타났다. 그러나 soytone, yeast extract, CSL의 경우는 색소 생성이 저조함을 알 수 있었다.

균체량의 경우에는 Table 5에서와 같이 beef extract와 MSG에서 13.67 g/L로 가장 많은 균체를 생산하였지만, 다른 질소원들과 현격한 차이는 나타나지 않았다. 이상의 결과는 MSG가 색소 생성에 가장 우수하다고 보고한 Lee 등(9)과 Su(10)와는 상이한 결과를 나타내었다.

Table 5. Effect of nitrogen sources on the production of pigments by *Monascus purpureus* P-57

Nitrogen source (0.15%)	Pigment production		Dry cell weight (g/L)	Final pH
	Red	Yellow		
Soytone	95.31	95.61	12.33	4.41
Bacto peptone	158.81	126.36	13.00	3.58
Yeast extract	92.07	92.10	12.50	4.10
Beef extract	248.30	189.58	13.67	4.47
MSG	206.31	162.03	13.67	4.28
CSL	108.26	102.02	13.00	4.25
NaNO ₃	168.90	134.10	12.50	4.82
NH ₄ NO ₃	211.40	165.90	13.17	3.20
(NH ₄) ₂ SO ₄	201.60	167.04	13.33	2.28

MSG ; Mono sodium glutamate

CSL ; Corn steep liquor

Beef extract 농도의 영향

질소원으로 가장 우수한 beef extract를 0~0.25%까지 0.05% 단위로 각각 첨가하여 질소원 농도에 따른 색소 생성능을 비교하였다. 그 결과 Table 6에서 처럼 0.1%를 첨가했을 때 적색색소가 236.99 unit, 황색 색소가 186.18 unit으로 가장 높은 색소 생성능을 나타냈었으며, 균체 생성량 역시 0.1%에서 14.50 g/L로 가장 높게 나타남을 알 수 있었다. 그러나 균체 생성량의 경우는 질소원의 농도에 관계 없이 큰 차이가 나타나지 않음을 확인할 수 있었다.

Table 6. Effect of beef extract concentration on the production of pigments by *Monascus purpureus* P-57

Beef extract concentration(%)	Pigment production		Dry cell weight (g/L)	Final pH
	Red	Yellow		
0	116.43	98.19	12.67	3.42
0.05	152.06	128.48	13.83	3.72
0.1	236.99	186.18	14.50	3.90
0.15	191.95	159.96	14.33	4.31
0.2	151.02	132.10	14.33	4.44
0.25	143.45	124.53	14.17	5.02

Amino acid의 영향

아미노산이 색소생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 13종류의 아미노산을 배지에 0.1%되게 첨가하여 각각의 색소 생성능을 비교하여 보았다. 그 결과 Table 7에 나타난 바와 같이 아미노산을 첨가하지 않은 대조구와 비교해 보았을 때 glutamic acid만이 적색 색소가 223.86 unit, 황색 색소가 201.29 unit로 높은 색소 생성능을 나타내었다. 그리고 tryptophan, methionine, cystine, lysine의 경우에는 색

소 생성이 극히 저조하였다.

균체량의 경우도 역시 glutamic acid에서 15.17 g/L로 가장 많은 균체가 생성되었으며, 색소 생성이 약하게 나타난 tryptophan, methionine, cystine, lysine에서는 균체 생성량도 10 g/L 정도로 적게 생성된다는 것을 알 수 있었다. 이 결과는 glutamic acid가 색소 생성에 우수하다고 보고한 Kim 등(11)과 동일한 결과를 나타내었다.

Table 7. Effect of amino acid on the production of pigments by *Monascus purpureus* P-57

Amino acid (0.1%)	Pigment production		Dry cell weight (g/L)	Final pH
	Red	Yellow		
DL-tryptophan	23.74	36.48	10.67	3.45
L-arginine	159.04	166.70	14.50	4.13
L-asparagine	120.03	128.83	14.67	4.94
DL-methionine	20.62	25.44	10.17	3.82
L-glutamic acid	223.86	201.29	15.17	5.30
DL-valine	93.96	104.58	13.83	4.49
L-aspartic acid	122.51	120.18	13.83	4.85
Glycine	132.24	137.11	14.50	4.58
L-tyrosine	130.90	131.92	14.17	4.12
L-cystine	13.89	14.20	10.33	3.09
L-leusine	76.69	89.31	13.83	4.43
L-lysine	42.80	45.60	13.33	3.06
L-alanine	103.60	118.55	14.83	4.71
Control	190.10	171.95	14.83	4.10

Glutamic acid 농도의 영향

색소 생성에 가장 우수한 아미노산으로 나타난 glutamic acid를 배지에 0.01, 0.03, 0.05, 0.1, 0.2% 되게 각각 첨가하여 아미노산의 농도에 따른 색소 생성능을 비교해 본 결과, Table 8에 나타난 바와 같이 0.03% glutamic acid를 첨가했을 때 적색 색소는 241.96 unit, 황색 색소는 200.33 unit으로 가장 높았으며, 아미노산 첨가량이 증가할수록 색소 생성이 감소되는 경향을 나타내었다. 그러나 균체 생성량에서는 0.05%에서 14.43 g/L로 가장 많은 균체를 생산하였지만, 전체적인 차이가 미미함을 알 수 있었다.

Table 8. Effect of glutamic acid concentration on the production of pigments by *Monascus purpureus* P-57

Glutamic acid concentration (%)	Pigment production		Dry cell weight (g/L)	Final pH
	Red	Yellow		
0.01	171.02	152.54	13.67	4.26
0.03	241.96	200.33	14.10	4.38
0.05	177.01	157.96	14.43	4.80
0.1	161.70	151.54	13.67	5.14
0.2	70.19	81.02	13.67	5.19

진탕 속도에 대한 영향

진탕 속도에 따른 색소 생성능을 비교하기 위하여 최적 조건의 배지에서 진탕 속도를 각각 50, 100, 150, 180 rpm으로 조정하여 30℃에서 7일간 배양을 실시하였다. 그 결과, Table 9에 나타난 것처럼 50, 100 rpm에서는 색소 생성이 극히 약했지만 150 rpm에서는 급격히 증가하여 180 rpm에서는 오히려 소폭 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 색소 생성의 최적 진탕 속도는 150 rpm이었으며, 색소 생

성량은 적색색소가 315.04 unit, 황색 색소가 243.58 unit이었다. 균체 생성량의 경우에도 역시 150 rpm에서 14.67 g/L로 가장 우수하였고 색소 생성과 비슷한 경향으로 증가됨을 확인할 수 있었다.

Table 9. Effect of shaking speed on the production of pigments by *Monascus purpureus* P-57

Shaking speed (RPM)	Pigment production		Dry cell weight (g/L)	Final pH
	Red	Yellow		
0	24.38	24.24	6.23	3.82
50	7.22	7.84	7.67	3.54
100	30.94	43.11	10.57	4.13
150	315.04	243.58	14.67	4.25
180	248.43	190.15	13.57	4.37

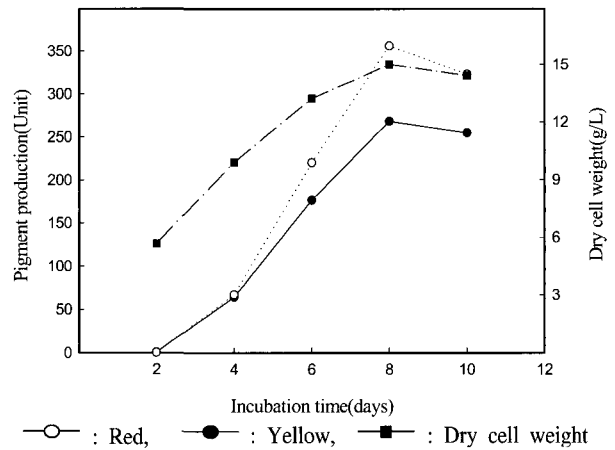


Figure 1. Effect of incubation times on the production of pigments by *Monascus purpureus* P-57.

배양시간에 따른 영향

M. purpureus P-57 변이주의 액체배양 시간에 따른 색소 생성능을 비교하기 위하여 최적 배지조건으로 30℃, 150 rpm에서 각각 2~10일까지 2일 단위로 색소 생성능을 비교한 결과, Fig. 1에서처럼 배양 2일까지는 색소 생성이 거의 이루어지지 않았으며, 4일 이후부터 급격하게 증가되는 것을 알 수 있었다. 그리고 배양 8일째 적색 색소가 356.04 unit, 황색 색소가 268.20 unit으로 가장 높게 나타났고, 10일 배양에서는 오히려 소폭 감소되는 것을 알 수 있었다. 공시균주를 고체배양 했을 시의 색소생성은 배양 21일에 최고값을 나타내었으나(12), 액체배양에서는 색소생성이 8일로 최고값에 도달하여 액체배양이 고체배양보다 색소생성 시간이 단축됨을 알 수 있었다.

공시균주의 균체 생성량은 액체배양 8일에서 15.00 g/L로 가장 많았으며, 색소와 마찬가지로 4일 이후에 급격히 증가하였으며, 배양 10일 이후에는 오히려 소폭 감소되는 것을 확인할 수 있었다.

요 약

본 연구는 *Monascus purpureus* P-57 변이주를 이용하여

액체배양을 통한 세포내 색소 생성의 최적 배양조건을 규명하고자 하였다.

M. purpureus P-57의 색소생성을 위한 최적 배지조성은 4% rice powder, 0.1% beef extract, 0.03% glutamic acid, 0.1% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.25% KH_2PO_4 이며, 배지의 pH는 5.0 이었다. 그리고 최적 배양조건은 30℃, 150 rpm에서 8일간 배양했을 때 가장 높은 색소 생성력을 나타내었다. *M. purpureus* P-57을 이상의 최적 조건에서 배양했을 때 적색 색소가 356.04 unit, 황색 색소가 268.20 unit으로 가장 많은 색소를 생성하였고, 균체량은 15.00 g/L를 생산할 수 있었다.

감 사

본 연구는 산업자원부의 지역혁신 인력양성사업과 과학기술부, 한국과학재단 지정 계명대학교 전통미생물자원 개발 및 산업화 개발연구 센터의 지원에 의한 연구 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Kim, S. Y. and J. K. Kim (1990), Pigment Production in *Monascus anka*, *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **3**, 239-246.
- Yu, T. S. (1999), Hong-ju and pigments produced by filamentous fungus *Monascus*, *J. Inst. Nat. Sci. Keimyung University* **18**, 87-92.
- Martinkova, L., P. Juzlova, and D. Vesely (1995), Biological activity of polyketide pigments produced by the fungus *Monascus*, *J. Appl. Bacteriol.* **79**, 609-616.
- Martinkova, L., P. Juzlova, V. Krent, Z. Kucerova, V. Havlicek, P. Olsovsky, O. Hovorka, and B. Rihova (1999), Biological activities of oligoketide pigments of *Monascus purpureus*, *Food Addit. Contam.* **16**, 15-24.
- Kang, S. K. and S. T. Jung (1995), Pigment production and color difference of liquid Beni-Koji under submerged cultural conditions, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**, 427-478.
- Yoshimura, M., Y. Shigeru, M. Koji, and H. Yoshio (1975), Production of monascus-pigment in a submerged culture, *Agr. Biol. Chem.* **39**, 1789-1795.
- Su, Y. C., J. J. Wang, T. T. Lin, and T. M. Pan (2003), Production of the secondary metabolites γ -aminobutyric acid and monacolin K by *Monascus*, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **30**, 41-46.
- Park, H. E., C. H. Kim, and K. H. Min (1991), Isolation of pigment-producing mutants from *Monascus* sp. KS2 and optimization of cultural conditions, *Kor. J. Mycol.* **19**, 120-127.
- Lee, B. K., N. H. Park, H. Y. Piao, and W. J. Chung (2001), Production of red pigments by *Monascus purpureus* in submerged culture, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **6**, 341-346.
- Su, Y. C. (1983), Fermentative production of anka-pigments (*Monascus* pigments), *Kor. J. Appl. Microbiol. Bieng.* **11**, 325-337.
- Kim, H. S., D. H. Kim., H. S. Yang., Y. R. Pyun, and J. H. Yu (1979), Studies on the red pigment produced by *Monascus* sp. in submerged culture, *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **7**, 23-30.
- Park, C. D., H. J. Jung, and T. S. Yu. (2005), Optimization of pigment production and isolation of mutant overproducing pigment from *Monascus purpureus*, *Kor. J. Microbiol.* **41**.