

식품유해균에 대한 홍국 추출물의 항균활성

김은영 · 류미라*
한국식품연구원

Antimicrobial activities of *Monascus koji* extracts

Eun Young Kim and Mee Ra Rhyu*
Korea Food Research Institute

Abstract Currently, natural food colorants and preservatives are being used for their general health benefits. *Monascus koji*, the product of certain fungi that grow on rice grains, has been added to many foods for coloring and preservation. In this study, the antimicrobial activities of *Monascus koji* ethanol extracts were investigated. Six *Monascus* strains (*M. araneosus* KFRI 00371, *M. kaoliang* ATCC 46597, *M. pilosus* IFO 4520, *M. purpureus* IFO 4482, *M. ruber* IFO 32318 and *M. sp.* ATCC 16437) were selected based on their relative intensity of red pigment. Two *Monascus* extracts, *M. kaoliang* ATCC 46597 and *M. purpureus* IFO 4482, displayed antimicrobial activities against *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* in concentration-dependent manners. The two extracts showed their strongest antimicrobial activity against *S. typhimurium*, a cause of food poisoning. Therefore, these results suggest that *Monascus koji* could be used as a natural food colorant and preservative.

Key words: *Monascus koji*, red pigment, antimicrobial activity, food preservatives

서 론

최근 식품산업의 발전과 더불어 식생활의 간편화로 각종 가공 식품이나 인스턴트식품의 섭취가 늘어나고 있으며 각 식품제조 업체에서는 다양한 가공식품의 제조에 따라 식품의 가치를 상승 시키기 위하여 여러 가지 첨가제의 사용을 증가시키고 있다(1). 이중 식품 보존제는 가공식품의 저장기간 연장을 위하여 대부분의 가공식품에 사용되고 있으나 인공 합성된 식품보존제의 경우 높은 농도를 사용 시 안전성의 문제가 대두되고 있다. 따라서 안전성에 문제가 없는 천연 보존제의 개발과 이용에 대한 소비자 들의 요구가 증대되고 있으며 이로 인하여 다양한 천연물질의 항균력에 대한 연구가 이루어지고 있다(2-4). 또한 식품의 관능적 가치증진을 위하여 주로 사용되는 색소의 경우 1856년 Perkin이 최초로 색소를 합성한 후부터 지난 100여 년 동안 타르계 합성 색소가 주로 식품의 착색제로 폭넓게 사용되어 왔으나 최근 들어 합성색소의 인체에 대한 발암성과 위험성이 제기되고 있으며 (5), 소비자들의 건강식품에 대한 관심 증대로 천연색소의 사용 과 요구가 증가하고 있는 추세이다.

홍국(紅麴, *Monascus koji*)은 *Monascus* 속의 곰팡이를 쌀 등의 곡류에 배양시켜 제조한 *koji*로 중국 남부나 대만을 중심으로 600 여년 이상 전부터 사용되어 왔다. 홍국은 그 자체로 홍색을 띠는

*koji*로 예로부터 식품 뿐 아니라 식품재료에 붉은 색의 천연 착색료로 이용되어 왔다(6). 홍국의 항균작용과 관련하여 중국 명 시대의 宋應星의 저서 “天工開物” 하권에 ‘어육은 가장 부패하기 쉬운 것이나 홍국을 얇게 발라 놓으면 한여름에도 그 질을 유지할 수 있다. 10일이 지나도 모기나 파리가 가까이 하지 않으며 색이나 맛은 원래 그대로이니 신기한 약이다’로 기록되어 있다. 홍국색소는 일찍부터 발암성으로 문제가 있는 합성 타르계 색소를 대체할 수 있는 천연색소로 주목받아 왔으며 Wong과 Baw(7,8)는 *Monascus* 균주에서 항미생물활성을 가지는 색소물질을 처음으로 보고하고 홍국에서 분리한 wild type과 변이주에서 *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*에 대해 항미생물활성을 가지는 물질을 분리, 이를 monascidin A라고 명명하였다. 또한 Nozaki 등(9)도 *M. anka*에서 분리한 ankalactone이 *Escherichia coli*와 *B. subtilis*의 생육을 저해하는 것으로 보고하였다. Martikova 등(10)은 *M. ruber*와 *M. purpureus*가 액체배양 시 항균활성과 독성을 나타내었다고 보고한 반면 Frink-Gremmels와 Leistner(11)는 *M. purpureus* DMS 1379를 액체배양한 추출물에서 40종 이상의 mycotoxin은 존재하지 않으며 쥐에서 급성독성 또한 나타내지 않는 것으로 보고하였다.

따라서 본 연구는 식품의 천연보존제 및 색상개선을 위한 소재로서 홍국의 활용가능성을 검토하기 위한 기초자료로 다양한 식중독을 일으키는 미생물에 대한 홍국추출물의 항균활성을 검 색, 이의 사용가능성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

홍국 추출물의 제조

종이 다른 *Monascus* 균주 6종(*M. araneosus* KFRI 00371, *M. kaoliang* ATCC 46597, *M. pilosus* IFO 4520, *M. purpureus*

*Corresponding author: Mee Ra Rhyu, Food Function Research Center, Korea Food Research Institute, 516 Baekhyun-dong, Bundang-gu, Sungnam-si, Gyeonggi-do 463-746, Korea
Tel: 82-31-780-9268
Fax: 82-31-709-9876
E-mail: mrrhyu@kfri.re.kr
Received January 4, 2008; accepted January 18, 2008

IFO 4482, *M. ruber* IFO 32318 및 *M. sp.* ATCC 16437)을 홍국 제조용 균주로 사용하였다. 홍국을 제조하기 위하여 칩지 후 멸균한 정백미에 홍국 균주를 접종하여 30°C에서 2일, 25°C에서 6일간 호기적으로 정치 배양한 후 이를 90°C에서 20분간 가열하고 다시 50°C에서 수분함량이 10%이하가 되도록 건조한 후 분쇄기(Food mixer FM-707T, Hanil, Seoul, Korea)로 분쇄하여 균종에 따른 홍국 분말을 얻었다.

또한, 배양기간에 따른 홍국의 색소생산력 측정을 위한 실험을 위하여 접종후의 배양기간을 8-22일까지 증가시키면서 동일한 방식으로 홍국분말을 제조하였다. 제조한 각 홍국분말에 4배량의 70% ethanol을 가한 후 80°C에서 3회 반복 추출하여 감압건조 후 동결건조한 홍국 추출물을 얻었으며 항균활성 측정 시 동결건조한 홍국추출물을 증류수에 녹여 사용하였다.

홍국 색도 측정

배양기간을 달리하여 제조한 홍국 건조분말의 색도는 색도계(Chroma meter CR-200, Minolta, Osaka, Japan)로 측정하여 Lab 색도 scale을 이용하여 표기하였다. 명도를 나타내는 L값, 적색도를 나타내는 a값 및 황색도를 나타내는 b값을 측정하였으며 이로부터 채도를 나타내는 C값과, 색상을 나타내는 hue angle value를 각각 계산하여 나타내었다.

사용균주 및 배지

본 실험에 사용한 균주는 Gram 양성균인 *Clostridium botulinum*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogens* 6종, Gram 음성균인 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris* 3종, 효모 *Saccaromyces cerevisiae*, *Candida albicans* 2종, 곰팡이 *Aspergillus flavus* 1종을 사용하였다(Table 1). 각 균의 생육 및 보존을 위하여 세균류는 Nutrient borth와 agar(Difco, Sparks, MD, USA) 및 MRS broth와 agar(Difco)를, 효모는 YM broth와 agar를, 곰팡이는 Potato dextrose broth 및 agar(Difco)를 사용하였다.

항균력 측정

홍국 추출물질 항균력은 agar diffusion test(12)를 사용하여 측정하였다. 즉, 각 시험미생물에 적합한 배지에 10⁷ CFU/mL 농도로 시험미생물을 배양한 soft agar를 petri dish에 분주한 후 홍국 추출물출물 40 µL를 분주한 paper disc를 올려놓고 배양하여 저

해환의 생성을 관찰하였다. 24시간 이내에 저해환이 생성된 경우 항균활성이 양성인 것으로 판정하였으며, 저해환의 직경을 측정, 비교하였다.

미생물 증식억제 효과

Paper disc를 이용한 항균력 검색에서 활성이 확인된 시료에 대하여 dilution test를 통한 시간 경과에 따른 미생물 증식억제 효과를 측정하였다. 즉 125 mL 삼각 플라스크에 시험미생물 균주에 적합한 액체배지 30 mL, 농도를 달리한 홍국추출액 0.1 mL 및 10⁵ CFU/mL의 농도로 희석된 시험미생물 배양액 0.1 mL을 가하여 37°C에서 정치배양하면서 시간별로 각 플라스크에서 1 mL씩 취하여 640 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 홍국추출물이 함유된 액체배지를 대조구로 하여 미생물의 증식억제효과를 측정하였다.

통계분석

모든 실험은 4회 반복 수행하였고, 결과는 SAS program을 이용, t-test 및 분산분석(ANOVA)을 수행하여 유의차를 검증하였다. 분산분석에 의해 차이가 유의적인 경우 Student Newman Keul의 다중 비교법에 의하여 α=0.05 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

홍국추출물의 항균활성

홍국이 생산하는 붉은색소와 항균활성이 관련되어 있음에 따라(7, 8) 실험에 사용한 6종의 *Monascus* 균주는 전보(13)의 37종의 *Monascus* 균주로 제조한 홍국의 색도를 근거로 하여 결정하였다. 즉, 서로 종이 다른 *Monascus* 균주들 중 hue angle value로부터 추정할 수 있는 색상이 붉은색에 가까움을 나타내는 ‘30’ 이하의 균주로 선별하였으며, 이들 균주를 이용하여 제조한 홍국 추출물에 대하여 agar diffusion test를 이용한 항균활성을 검색하였다. 6종의 균주 중 *M. kaoliang* ATCC 46597과 *M. purpureus* IFO 4482의 두 종류만이 5종의 미생물 즉, Gram 양성균 *B. subtilis*, *B. cereus*, *M. luteus* 및 *S. aureus*와 Gram 음성균인 *S. typhimurium*에 대하여 저해환을 형성하였으며 나머지 시험 미생물들에 대한 효과는 나타나지 않았다(Table 2). *M. purpureus* IFO 4482는 항균활성을 나타낸 5종의 시험 미생물 중 *B. cereus*를 제외한 나머지 시험 미생물에 대해 유의적이지는 않으나 *M. kaoliang* ATCC 46597 보다 항균활성이 높았고, *M. purpureus* IFO 4482와 *M. kaoliang* ATCC 46597 두 균주 모두 모든 시험 미생물 중 *S. typhimurium*에 대한 항균활성이 가장 큰 것으로 나타났으나 두 개의 *Monascus* 균주간의 활성을 t-test로 비교 시 유의적인 차이가 없어, 이 두 균주를 다음 단계의 실험을 위한 선발균주로 결정하였다. Wong과 Koehler(6)는 *M. purpureus*의 액체배양액이 *B. subtilis*에 대하여 항균활성이 있음을 보고하였고 Ryu 등(14)과 Mah와 Hwang(15)도 홍국에서 분리한 *Monascus* 균주의 액체 배양물질이 *B. subtilis*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *E. aerogenes* 등에 대하여 항균활성을 나타낸다고 하여 본 연구와 유사한 결과를 보고하였다. Ober와 Kunz(16) 또한 *M. purpureus*에서 *E. coli*, *B. subtilis*, *L. casei* 등에 대하여 항균력을 나타냄을 보고하였으나 본 연구에서 사용한 *M. purpureus*와 *M. kaoliang* 모두 *B. subtilis*에 대해서는 항균활성을 나타내었으나 *E. coli*에서는 항균력이 없는 것으로 나타나 차이를 보였다. 또한 본 연구에서는 Gram 음성균인 *S. typhimurium*에 대해서 가장 높은 항균활성을 나타내었으나 다른 Gram 음성균에 대해서는 활성이 나타나

Table 1. List of bacteria submitted for antimicrobial activity test

	Microorganisms	Address
Gram(+) bacteria	<i>Clostridium botulinum</i>	ATCC ¹⁾ 19397
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
	<i>Bacillus cereus</i>	KCTC ²⁾ 1012
	<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 9341
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
	<i>Listeria monocytogens</i>	ATCC 19111
Gram(-) bacteria	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 10536
	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 19430
	<i>Proteus vulgaris</i>	KCTC 2433
Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 9763
	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
Fungi	<i>Aspergillus flavus</i>	KCTC 1375

¹⁾ATCC: American Type Culture Collection

²⁾KCTC: Korean Collection for Type Culture

Table 2. Antimicrobial activities of *Monascus koji* ethanol extracts¹⁾

Microorganism	M. strains	Inhibition zone (diameter, mm)					
		1 ²⁾	2	3	4	5	6
Gram(+) bacteria							
<i>Cl. botulinum</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	-	8.9 ± 1.1 ³⁾	-	9.8 ± 1.5	-	-	-
<i>B. cereus</i>	-	9.0 ± 0.6	-	8.6 ± 0.9	-	-	-
<i>M. luteus</i>	-	9.8 ± 0.5	-	10.3 ± 2.3	-	-	-
<i>St. aureus</i>	-	8.3 ± 0.6	-	9.0 ± 0.2	-	-	-
<i>L. monocytogens</i>	-	-	-	-	-	-	-
Gram(-) bacteria							
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i>	-	15.3 ± 3.4	-	16.0 ± 0.0	-	-	-
<i>P. vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-	-
Yeast							
<i>Sacch. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-
Fungi							
<i>Asp. flavus</i>	-	-	-	-	-	-	-

¹⁾Concentration of test sample; 0.0625 g/mL

²⁾1, *M. araneosus* KFRI 00371; 2, *M. kaoliang* ATCC 46597; 3, *M. pilosus* IFO 4520; 4, *M. purpureus* IFO 4482; 5, *M. ruber* IFO 32318; 6, *M. sp.* ATCC 16437

³⁾Mean ± S.D (n=4)

지 않아 균주 특이성이 있음을 알 수 있었다. 따라서 *Monascus* 균주가 나타내는 항균력이 색소 생산력과 관련된 것으로 보고되고 있으나(7,8) 유사한 색소 생산력을 가진 본 연구의 균주들 간에서도 차이가 나는 것으로 미루어 *Monascus* 균주의 항미생물 활성은 색소 생산력 뿐 아니라 균주에 따른 특이성인 것으로 사료되었다.

선발균주의 색소 생산력 및 용출특성

항균활성을 나타내는 선발균주 *M. kaoliang* ATCC 46597, *M. purpureus* IFO 4482에 대하여 최적의 색소 생산 및 이의 용출을 가능하게 하기 위하여 배양기간을 달리하여 홍국을 제조하고, 추출용매의 농도를 변화시켜 색소 용출특성을 측정하였다. 색소 측정값 중 L 값은 명도(lightness)를, a 값은 적색도(redness)를, b 값은 황색도(yellowness)를 의미한다. 또한 C 값은 a 값과 b 값으로부터 계산되는 채도(chroma), 즉 색의 선명도이며 이 값이 클수

록 순수한 색임을 나타낸다. Hue angle value 또한 L, a, b 값으로부터 계산되며 hue angle value가 0에 가까울수록 붉은색, 90에 가까울수록 노란색, 180에 가까울수록 초록색, 그리고 270에 가까울수록 파란색을 나타내게 된다. 배양기간을 달리하여 색소생산력을 측정한 결과 배양기간에 따른 변화보다는 실험군에 따른 차이가 컸으나 두 균주 모두에서 8일보다는 9일 이상 배양 시 더 붉은색을 띄는 것으로 나타났고 그 이상 배양기간을 증가시 색도 변화에서 배양기간의 증가에 따른 일관성이 없었다. 즉 *M. kaoliang* ATCC 46597의 경우 붉은 색상이 9일까지는 증가하였으나 12일에는 다시 9일보다 더 낮은 값을 나타내었고 배양기간이 증가할수록 황색도가 증가하는 것을 알 수 있었다(Table 3). 또한 *M. purpureus* IFO 4482는 9일 이상 배양 시 붉은색이 증가하나 채도 즉 색의 선명도가 낮아짐을 알 수 있었다. 따라서 배양기간의 증가에 따라 색도의 변화는 있으나 모두 hue angle value가 30 이하로 붉은색을 나타내므로 9일 배양법을 선택하였다. Schumacher 등(17)은 홍국을 쌀에 접종하여 고체배양한 결과 색소 생성량이 배양 2일부터 증가하기 시작하여 9일까지 계속적으로 증가한다고 하였으며 Kim과 Kim(18)은 홍국균을 Nishikawa 배지에 정지 배양 시 적색소의 증가량이 8일 이후에는 완만해 진다고 하여 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다. 또한 홍국 추출물 제조 시 ethanol의 농도를 변화시킨 결과 ethanol 농도를 70%까지 증가 시 농도 증가에 따라 색소의 추출율이 유의적으로 증가하였으나 100% ethanol에서는 오히려 추출율이 감소함을 알 수 있었다(Table 4). 따라서 색소 생산력이 높으면서 항균력을 갖는 홍국 추출물의 제조를 위하여 홍국균을 접종하여 9일간 배양시킨 후 70% ethanol을 이용하여 추출물을 제조하는 것이 가장 적합한 것으로 나타났다.

선발균주의 배양시간에 따른 미생물 증식 억제 효과

M. kaoliang ATCC 46597, *M. purpureus* IFO 4482를 이용하여 농도별 항균 시험액(100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL, 800 µg/mL)을 제조하고 agar diffusion test에서 활성을 나타낸 시험미생물 5종(*B. subtilis*, *B. cereus*, *M. luteus*, *S. aureus*, *S. typhimurium*)에 대하여 0, 3, 6, 9, 12, 24, 30, 33 및 48시간 후의 증식억제효과를 검토하였다.

M. kaoliang ATCC 46597은 대조구와 비교 시 모든 시험 미생물에 대하여 시간 경과에 따라 첨가한 추출물의 농도 의존적으로 미생물 증식억제효과가 커지는 것으로 나타났다(Fig. 1). *B. cereus*를 제외한 다른 시험미생물에서는 배양 24시간 이후부터 모든 농도에서 강력한 증식 억제효과를 나타내었으며 *B. cereus* 또한 30시간 이후부터는 모든 농도에서 증식 억제효과가 나타나 48

Table 3. Effect of culture periods on color of selected *Monascus koji*

<i>Monascus</i> strains	Culture periods (day)	L	a	b	C	Hue angle value
<i>M. kaoliang</i> ATCC 46597	8	60.1 ± 0.2 ¹⁾²⁾	22.1 ± 0.1 ^d	16.3 ± 0.1 ^a	27.5 ± 0.1 ^c	36.3 ± 0.1 ^a
	9	50.0 ± 2.0 ^c	22.4 ± 0.3 ^c	12.0 ± 1.0 ^b	25.4 ± 0.7 ^d	28.2 ± 1.8 ^c
	12	53.6 ± 0.7 ^b	23.5 ± 0.2 ^b	15.6 ± 0.2 ^a	28.3 ± 0.3 ^b	33.6 ± 0.3 ^b
	22	33.9 ± 0.3 ^d	27.6 ± 0.3 ^a	15.2 ± 0.2 ^a	31.5 ± 0.3 ^a	28.8 ± 0.4 ^c
	8	54.6 ± 0.0 ^a	25.0 ± 0.3 ^b	13.4 ± 0.1 ^b	28.4 ± 0.3 ^b	28.2 ± 0.7 ^a
<i>M. purpureus</i> IFO 4482	9	45.0 ± 1.3 ^c	29.1 ± 0.6 ^a	14.1 ± 0.7 ^a	32.4 ± 0.8 ^a	25.9 ± 0.9 ^b
	12	46.6 ± 0.2 ^b	23.0 ± 0.1 ^c	10.3 ± 0.1 ^c	25.3 ± 0.3 ^c	24.1 ± 0.3 ^c
	22	41.1 ± 0.3 ^d	22.2 ± 0.6 ^d	9.7 ± 0.3 ^c	24.2 ± 0.7 ^d	23.6 ± 0.2 ^c

¹⁾Mean ± S.D (n=4)

²⁾Values within the same column with different superscript are significantly different at $\alpha=0.05$ level among groups by Student-Newman-Keuls test.

Table 4. Effect of ethanol concentration on color of selected *Monascus koji* extracts

<i>Monascus</i> strains	Ethanol Conc. (%)	L	a	b	C	hue angle value
<i>M. kaoling</i> ATCC 46597	0	18.6 ± 0.9 ^{1)a2)}	0.3 ± 0.2 ^d	5.1 ± 0.1 ^a	5.1 ± 0.2 ^b	86.6 ± 1.7 ^a
	30	7.9 ± 0.0 ^b	3.6 ± 0.5 ^c	3.6 ± 0.1 ^c	5.1 ± 0.4 ^b	44.9 ± 3.1 ^b
	50	4.1 ± 0.2 ^c	6.6 ± 0.1 ^a	2.6 ± 0.1 ^d	7.0 ± 0.0 ^a	21.3 ± 1.0 ^e
	70	3.4 ± 0.0 ^e	6.4 ± 0.0 ^a	2.1 ± 0.0 ^d	6.7 ± 0.0 ^a	18.2 ± 0.0 ^d
	100	7.5 ± 2.0 ^b	4.3 ± 0.9 ^b	4.3 ± 1.2 ^b	6.1 ± 1.4 ^{ab}	44.8 ± 2.0 ^b
<i>M. purpureus</i> IFO 4482	0	13.2 ± 0.7 ^a	0.2 ± 0.1 ^c	-0.6 ± 0.1 ^c	0.7 ± 0.1 ^b	69.6 ± 14.2 ^a
	30	10.4 ± 1.3 ^a	4.2 ± 0.9 ^b	2.6 ± 0.6 ^b	4.9 ± 1.1 ^a	31.9 ± 0.1 ^c
	50	4.9 ± 0.3 ^b	6.4 ± 0.3 ^a	2.9 ± 0.2 ^b	7.1 ± 0.4 ^a	24.3 ± 0.0 ^e
	70	3.8 ± 0.3 ^b	6.0 ± 0.5 ^a	2.3 ± 0.2 ^b	6.4 ± 0.5 ^a	20.8 ± 0.3 ^c
	100	13.3 ± 3.7 ^a	4.2 ± 1.5 ^b	5.2 ± 1.6 ^a	6.7 ± 2.1 ^a	51.6 ± 1.6 ^b

¹⁾Mean ± S.D (n=4)

²⁾Values within the same column with different superscript are significantly different at α=0.05 level among groups by Student-Newman-Keuls test.

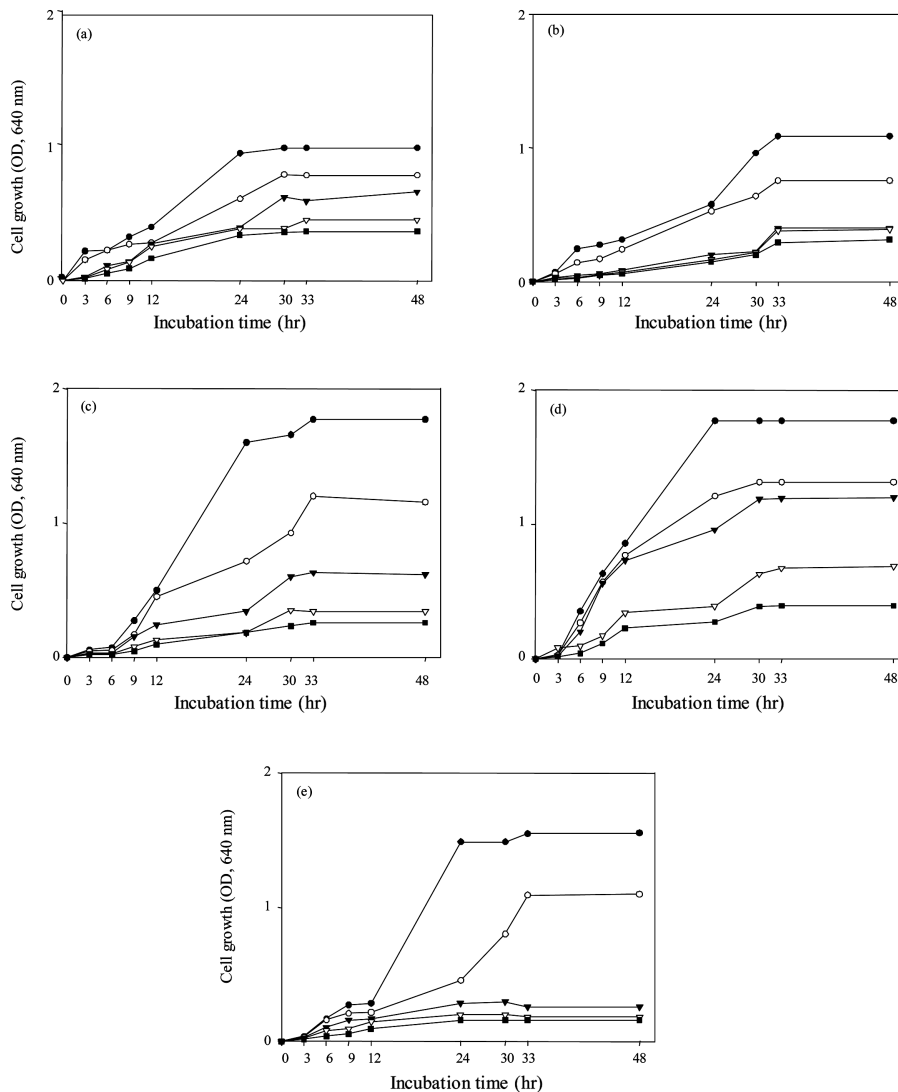


Fig. 1. Inhibitory effect of 70% ethanol extracts of fermented rice with *M. kaoliang* ATCC 46597 on the growth of (a) *B. subtilis*, (b) *B. cereus*, (c) *M. luteus*, (d) *S. aureus*, (e) *S. typhimurium*. -●-: Control, -○-: 100 µg/mL, -▼-: 200 µg/mL, -▽-: 400 µg/mL, -■-: 800 µg/mL.

시간까지 지속되었다. 특히 대표적 식중독세균인 *S. typhimurium*에 대해서는 200 µg/mL 이상의 농도에서 농도 의존적으로 강력한 미생물증식 억제 효과를 나타내어 *Monascus* 분리균주가 *S.*

*aureus*에 대하여 배양 24시간부터 농도 의존적으로 미생물증식억제 활성을 나타낸다고 한 Ryu 등(14)의 연구 결과와 유사한 결과를 나타내었다.

M. purpureus IFO 4482 또한 모든 시험 미생물에서 농도 의존적으로 시간 경과에 따라 미생물 증식억제효과가 나타났으며, 그 효과는 48시간까지 지속되었다(Fig. 2). 선발한 두 균주 추출물의 각 시험 미생물에 대한 미생물 증식억제 효과를 비교 시 *B. subtilis*에서는 agar diffusion test와 동일하게 *M. purpureus* IFO 4482가 더욱 강력한 효과를 나타내었고 *M. luteus*와 *S. typhimurium*에 대해서도 100 µg/mL의 낮은 농도에서부터 좀 더 강력한 증식억제 효과를 나타내었다. *S. typhimurium*과 *S. aureus*는 강력한 식중독 유발균으로 김 등은 다양한 천연물질에서 이들에 대한 항균력을 검색하여 ethanol 추출물 1 mg/mL 농도에서 약 30% 정도의 항균활성을 나타낸다고 보고하였다(19-21). 본 연구에 사용한 모든 농도에서 시험미생물에 대하여 증식억제효과를 나타내었으며 특히 *S. typhimurium*과 *S. aureus*에서 24시간 배양 시 30-90%의 저해활성을 나타내었으므로 홍국 색소 추출물이 이들과 비교 시 더 높은 활성을 나타내었다.

결론적으로 색소 생산력이 높은 일부 *Monascus* 균주가 항균력을 나타낼 수 있음을 확인할 수 있었으며, 이 활성은 균주에 따

라 차이를 나타내었다. *Monascus* 균주의 색소 추출물이 일부 식중독균(*B. subtilis*, *B. cereus*, *M. luteus*) 및 특히 대표적인 식중독균인 *S. aureus*와 *S. typhimurium*에 대해서 유의적인 활성을 나타냄에 따라 식품의 색상 및 천연보존제로서 홍국의 적용이 가능할 것으로 사료되었다.

요 약

항균활성을 나타내는 색소물질을 함유하고 있는 것으로 알려진 *Monascus* 균주 중 붉은 색소 생산력이 높은 6종의 *Monascus* 균주(*M. araneosus* KFRI 00371, *M. kaoliang* ATCC 46597, *M. pilosus* IFO 4520, *M. purpureus* IFO 4482, *M. ruber* IFO 32318 및 *M. sp.* ATCC 16437)로 홍국을 제조하고 색소 추출력이 높은 70% ethanol을 사용하여 추출물을 제조하였다. 6종의 Gram 양성균(*Clostridium botulinum*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogenes*), 3종의 Gram 음성균(*Escherichia coli*, *Salmonella typhimu-*

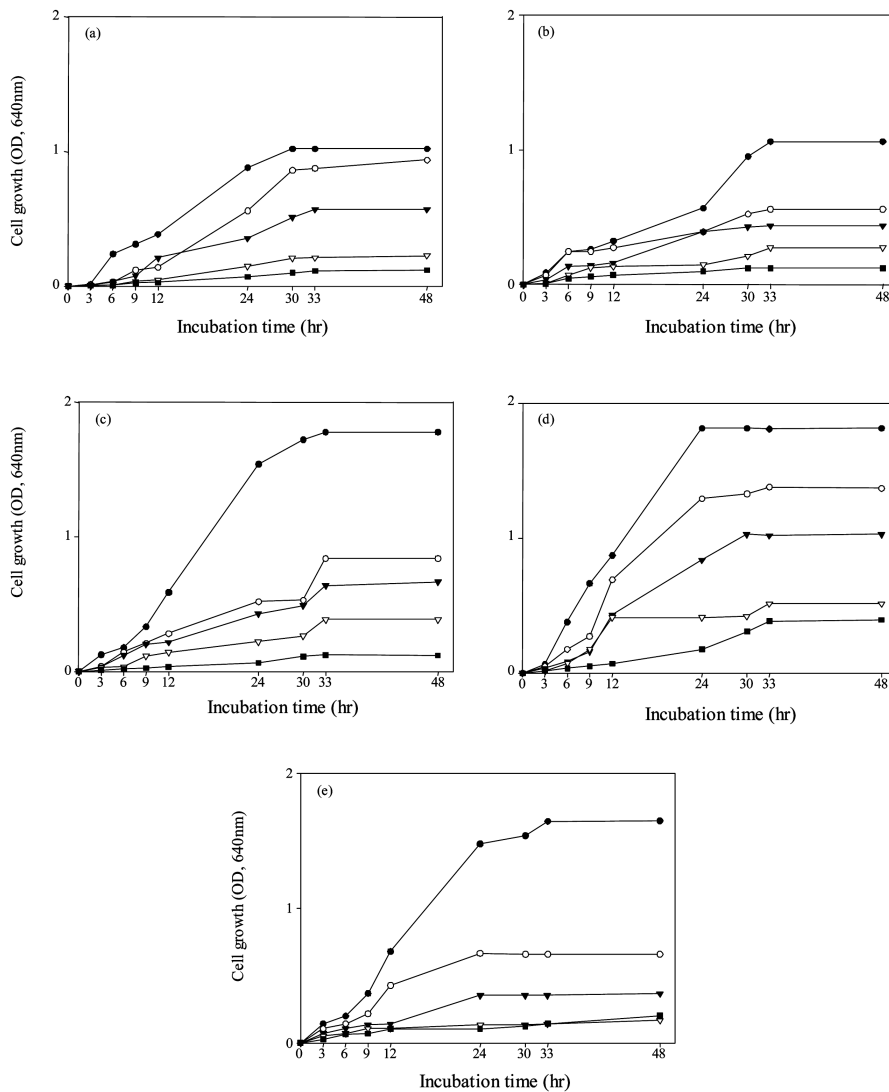


Fig. 2. Inhibitory effect of 70% ethanol extracts of fermented rice with *M. purpureus* IFO 4482 on the growth of (a) *B. subtilis*, (b) *B. cereus*, (c) *M. luteus*, (d) *S. aureus*, (e) *S. typhimurium*. -●-: Control, -○-: 100 µg/mL, -▼-: 200 µg/mL, -▽-: 400 µg/mL, -■-: 800 µg/mL.

rium, *Proteus vulgaris*), 2종의 효모(*Saccaromyces cerevisiae*, *Candida albicans*) 및 1종의 곰팡이(*Aspergillus flavus*)에 대한 항균활성과 미생물 증식억제 효과를 측정된 결과 *M. kaoliang* ATCC 46597과 *M. purpureus* IFO 4482가 *B. subtilis*, *B. cereus*, *M. luteus*, *S. aureus* 및 *S. typhimurium*에 대해 항균활성을 갖는 것으로 나타났다. 두 균주 중 *M. purpureus* IFO 4482가 *M. kaoliang* ATCC 46597에 비해 활성이 높았으며, 특히 대표적 식중독균의 하나인 *S. typhimurium*에 대해 가장 높은 활성을 나타내었다. *M. kaoliang* ATCC 46597과 *M. purpureus* IFO 4482의 시험 미생물 증식억제효과를 측정된 결과 농도에 따른 증식억제효과가 나타났으며 이는 배양 48시간까지 지속적으로 유지되었다. 따라서 천연의 붉은색을 띠는 홍국 추출물이 식품의 천연착색제 및 보존제 소재로의 적용 가능성이 나타났다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업(GA0330-0215)의 지원으로 수행한 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다. 또한 실험에 도움을 아끼지 않은 정경숙, 이경옥씨에게 감사드립니다.

문헌

1. Park SK, Lee TS, Park SK. Estimation of daily dietary intake of food red colors. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 75-80 (2005)
2. Beuchat LR, Golden DA. Antimicrobials occurring naturally in food. *Food Technol.* 43: 134-139 (1989)
3. Kim HY, Lee YJ, Kin SH, Hong KH, Kwon YK, Lee JY, Ha SC, Cho HY, Chang IS, Lee CW, Kim KS. Studies on the development of natural preservatives from natural products. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 1667-1678 (1999)
4. Lee YC, Oh SW, Hong HD. Antimicrobial characteristics of edible medicinal herbs extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 700-709 (2002)
5. Dees C, Askari M, Garrett S, Gehrs K, Henley D, Ardies CM. Estrogenic and DNA-damaging activity of Red No 3 in human breast cancer cells. *Environ. Health Perspect.* 105: 625-632 (1997)
6. Bau YS, Mo CF. The uses and culturing methods of *Monascus purpureus* Went. *New Asia Coll. Acad. Ann.* 17: 335-357 (1975)
7. Wong HC, Bau YS. Pigmentation and antibacterial activity of fast neutron- and X-ray-induced strains of *Monascus purpureus* Went. *Plant Physiol.* 60: 578-581 (1977)
8. Wong HC, Koehler PE. Production and isolation from *Monascus purpureus* and its relationship to pigment production. *J. Food Sci.* 46: 589-592 (1981)
9. Nozaki H, Date S, Kondo H, Kiyohara H, Takaoka D, Tada T, Nakayama M. Ankalactone, a new α,β -unsaturated γ -lactone from *Monascus anka*. *Agr. Biol. Chem.* 55: 899-900 (1991)
10. Martikova L, Juzlova P, Vesely D. Biological activity of polypeptide pigments produced by the fungus *Monascus*. *J. Appl. Bacteriol.* 79: 609-616 (1995)
11. Fink-Gremmels J, Dresel J, Leistner L. Use of *Monascus* extracts as an alternative to nitrite in meat products. *Fleischwirtsch* 71: 329-331 (1991)
12. Piddock LJV. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* 68: 307-318 (1990)
13. Rhyu MR, Kim EY, Kim HY, Ahn BH, Yang CB. Characteristics of the red rice fermented with fungus *Monascus*. *Food Sci. Biotechnol.* 9: 21-26 (2000)
14. Ryu CS, Kim YB, Hwang HJ. Antimicrobial effect of *Monascus* strain isolated from An-Khak. *J. Food Hyg. Safety* 10: 271-277 (1995)
15. Mah JH, Hwang HJ. Screening of *Monascus* strain for antimicrobial activity and effect of change of nutrition and incubation conditions on antimicrobial activity. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 25: 1080-1086 (1996)
16. Ober P, Kunz B. Effect on bacteria of the metabolic products on *Monascus purpureus*. *Fleischwirtsch* 69: 123-125 (1989)
17. Schumacher JD, Kunz B, Byoun KE. A study of natural pigment production with *Monascus purpureus* by solid state fermentation model systems. *Adv. Food Sci.* 18: 113-120 (1996)
18. Kim SU, Kim JG. Pigment production in *Monascus anka*. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 3: 239-246 (1990)
19. Kim JY, Lee JA, Park SY. Antibacterial activities of *Oenothera lacinata* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 255-261 (2007)
20. Kim JY, Lee JA, Kim KN, Yoon WJ, Lee WJ, Park SY. Antioxidative and antimicrobial activities of *Sargassum muticum* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 663-669 (2007)
21. Kim JY, Lee JA, Kim KN, Song GP, Park SY. Antioxidative and antimicrobial activities of *Euphorbia helioscopia* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 1106-1112 (2007)