

색소생성 균주 *Kocuria* sp. K70의 특징과 색소생성 최적 조건 및 물리적 안정성

김영숙¹ · 박진숙^{2*}

¹대구대학교 식품영양학과, ²한남대학교 생명공학과

Characterization of Pigment-Producing *Kocuria* sp. K70 and the Optimal Conditions for Pigment Production and Physical Stability

Young-Sook Kim¹ and Jin-Sook Park^{2*}

¹Department of Food and Nutrition, Daegu University, Gyongsan 712-714, Korea

²Department of Biotechnology, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea

Abstract Marine bacterium producing pigment was isolated from the solar saltern of Mijo-myeon, Namhae, Korea. Based on phenotypic characteristics and 16S rRNA sequence analysis, the strain was identified as *Kocuria* sp., which produced a yellow pigment. The pigment showed UV absorption maximum at 469nm. The bacterial strain grew well on Marine broth 2216 culture medium. Productivity of the pigment reached the maximum value after 44 hours at 30°C, 2% NaCl and pH 6.0. The pigment was produced best when supplied by 1% lactose as a carbon source and 1% beef extract as a nitrogen source. The result of the color stability study showed that pigment extracted from the strain by ethanol was stable at -20-25°C and also showed higher stability over 70% for 14 days in light conditions at 25°C. The pigment extract was also stable for all metal ions tested, except for FeCl₂.

Keywords: bacterial pigment, *Kocuria* sp., marine bacteria, stability

서 론

식품의 색소는 시각적 효과를 부여하며 식욕증진 및 식품의 품질을 높이는데 기여한다. 식품의 색소에 대하여 단순히 시각만이 아닌 기능성에 대한 관심도 높아지면서 식품의 천연색소에 대한 선호도는 날로 증가하고 있다. 기능성을 갖는 색소가 인체에 미치는 긍정적 효과가 크다는 사실이 알려지면서 최근 pigment microbiology, phytochemical 등의 분야에서 식품의 천연색소의 기능성에 관한 연구도 활발히 수행되고 있다 [1,2].

식물 및 동물로부터의 색소 추출은 많은 양의 원료를 필요로 하며 추출과정이 복잡하고 그 수율이 또한 낮아서 효율성

이 매우 낮다 [3]. 식품에 다양하게 이용되는, 비교적 합성이 용이하며 가격이 저렴한 인공합성 착색료의 경우 인체에 대한 발암성 혹은 위해 요인으로 작용하는 경우가 보고되고 있어 안전성을 갖는 천연색소의 개발이 요구되고 있다 [3,4]. 동물 및 식물로부터 추출되는 천연색소의 경우 자연환경에 따라 품질의 변화가 심하여 색소의 안정성이 결여되기 쉬우며 [5,6], 이러한 단점을 극복하기 위하여 최근에는 안정된 품질을 유지하며 대량생산 가능한 미생물 색소에 대한 관심이 증가되고 있다 [4]. 또한 미생물에 의해 생산되는 천연색소의 경우 항산화능, 항균성 등 다양한 생리활성을 지닌 경우가 많아 미생물을 이용한 천연색소의 생산에 관한 관심이 날로 높아지고 있다 [7]. 미생물을 이용한 천연색소 생산의 예로는 곰팡이로부터 분리한 *Rhodospseudomonas viridis*의 녹색색소, *Azotobacter vinelandii*와 *Streptomyces californicus*의 청색색소, *Monascus anka*의 적색색소 [8-10]가 있으며 그밖에 효모 [11-13] 및 세균 [14-18] 등을 이용한

*Corresponding author

Tel: +82-42-629-8771, Fax: +82-42-629-8769

e-mail: jspark@hnu.kr

경우가 보고되고 있다.

해양세균에서는 *Pseudoalteromonas psicida*로부터 오렌지 색과 황색색소의 생산이 보고되어 [19] 있으며, 특히 해양세균은 높은 염 농도에서 자라기 때문에 오염도가 낮고, 낮은 염농도에서도 세포 용해가 용이하여 색소를 추출하는데 있어서 경제성이 높다 [20]. 한편, 천연 색소 추출물은 열, pH, 자외선, 금속이온 등에 대한 내성이 약하고 식품의 가공, 저장 중에 쉽게 탈색되는 등 안정성이 낮은 경우가 많아 [4], 이러한 결점을 보완할 경우 항산화제, 식품첨가물, 착색제, 화장품 및 의약품생산 등의 산업 [21-23]에 활용 범위가 넓다. 따라서 본 연구에서는 염전으로부터 색소 생성능이 우수한 해양미생물 *Kocuria* sp. K70를 분리하여, 최적 색소생성 조건을 검토하고 식품첨가용 천연색소로서의 개발가능성을 탐색하기 위하여 색소의 온도, 광선, 금속이온에 대한 안정성을 조사하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배양 조건

본 실험에 사용한 균주는 남해 미조면 구들녀 염전의 해수로부터 분리하였다. 해수는 멸균된 용기에 담아 4°C에서 운반 후, 인공해수를 사용하여 단계희석법으로 희석한 후 MA (Marine agar 2216, Difco, USA) 배지를 이용하여 30°C에서 3일간 배양 후 색소 생성능이 우수한 균주를 1차적으로 선별한 후 최종적으로 황색색소를 생산하는 *Kocuria* sp. K70 균주를 선별하여 본 실험에 사용하였다. 순수 분리된 균주는 20% glycerol을 첨가하여 -80°C에 보관하며 사용하였다.

균주의 형태 및 생화학적 특성

분리된 *Kocuria* sp. K70 균주는 MA 배지를 이용하여 30°C에서 배양하여 Yeon 등 [24]의 방법에 의해 그람염색, 운동성, 최적생장 pH와 NaCl 농도를 조사하였다. pH는 KOH와 HCl로 pH 5에서 pH 10까지 조정하여 사용하였다. 최적생장 NaCl 농도의 조사에는 *Ventosa* 등의 기초배지를 변형하여 사용하였다 [25,26]. 즉, MgSO₄ · 7H₂O, 4.8 g; MgCl₂ · 6H₂O, 3.5 g; KCl, 1.0 g; CaCl₂ · 2H₂O, 0.18 g; NaHCO₃, 0.03 g; NaBr, 0.013 g을 주요 염성분으로 사용하였고, Bacto-Peptone (Difco, USA), 2.5 g; Yeast extract (Difco, USA), 5.0 g; Glucose (Sigma, USA), 1.0 g; 증류수 1,000 mL, pH 7.2에 NaCl은 각각 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%와 7%가 첨가된 배지를 사용하여 최적 생장 NaCl 농도를 구하였으며, 당으로부터 산 생성능의 조사는 glucose와 lactose를 최종 농도 1%가 되도록 첨가하여 사용하였다.

16S rDNA 염기서열 증폭 및 분석

DNA 증폭 및 염기서열 결정은 Yeon 등의 방법 [24]을

이용하여 염기서열을 결정하였다. 염기서열의 결정은 16S rDNA 염기서열의 341f (5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3') primer와 926r (5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3') primer를 사용하였고 ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA)를 사용하여 결정하였다. 또한 16S rDNA 염기서열의 상동성은 Gen Bank database에서 정보를 입수하여 Blast 검색에 의해 조사하였다.

색소의 추출 및 특성

색소의 추출을 위하여 *Kocuria* sp. K70 균주를 MB (Marine broth, Difco, USA)배지에서 30°C, 200 rpm으로 48시간 진탕배양하였다. 배양액은 6,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 분리한 후 물, methanol, ethanol, acetone 및 methanol : acetone (7 : 2, v/v)의 4종류의 용매를 이용하여 각각 3회 반복 추출하였다. 추출한 색소는 spectrophotometer (Spectronic Genesys 5, Miltonroy, USA)를 이용하여 350-900 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

색소의 최적 생성조건 및 안정성

온도, pH, NaCl

색소 생성 최적조건을 조사하기 위한 온도, pH 그리고 NaCl 시험은 MB 배지에 배양액 1% (v/v)를 접종한 후, 배양 시간 4시간 마다 균체량은 660 nm, 색소량은 최대 흡광도를 나타낸 469 nm에서 측정하였다. 색소의 최적생성 온도는 25°C, 30°C, 37°C, 45°C에서 조사하였다. 색소 생성 최적 pH는 KOH와 HCl를 사용하여 pH 5, pH 6, pH 7, pH 8, pH 9, pH 10으로 조정하여 사용하였으며 색소 생성 최적 NaCl 농도는 균주의 최적생장 NaCl 농도를 조사하기 위한 배지와 동일배지를 사용하였으며 NaCl 농도는 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%로 조정하여 사용하였다.

탄소원과 질소원

탄소원과 질소원이 *Kocuria* sp. K70 균주의 색소 생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 Kim 등 [15]의 배지를 변형하여 사용하였다. 변형된 배지 조성은 casamino acid 0.75%, yeast extract 1.0%, sodium citrate 3%, potassium chloride 0.2%, magnesium sulfate 2.0%, ferric sulfate (pH 7.4) 0.0023%로 조성하였다. 여기에 NaCl 농도를 2%로 한 배지에 탄소원과 질소원의 최종농도 1%가 되도록 첨가하였다. 단, 질소원에 대한 조사시에는 yeast extract 대신 시험하고자 하는 질소원을 첨가하였다. 탄소원은 glucose, lactose, maltose, galactose, arabinose, sucrose, manitol, sorbitol, glycerol을 첨가하여 확인하였고, 유기질소원으로는 yeast extract, malt extract, beef extract, tryptone, peptone을 사용하였으며, 무기질소원으로는 potassium nitrate, ammonium nitrate, sodium nitrate를 사용하였다. 배양조건은 30°C에서 48시간 진탕배양하면서 spectrophotometer (Spectronic Genesys 5, Miltonroy,

USA)를 사용하여 균체량은 660 nm, 색소량은 469 nm에서 흡광도를 측정하여 조사하였다.

온도, 광선 및 금속이온의 영향

온도에 대한 안정성의 조사는 50 µg/mL의 색소추출물을 3 mL 시험관에 넣은 후 빛이 없는 조건에서 -20°C, 4°C, 25°C, 40°C에서 15일간 보존하면서 24시간 간격으로 색소 추출물의 최대 흡수파장인 469 nm에서 흡광도를 측정하여 조사하였다.

광선에 대한 안정성은 50 µg/mL의 색소 추출물을 3 mL 시험관에 넣은 후 110 V, 30 W의 조명으로부터 30 cm의 거리에 위치시키고, 25°C에서 15일간 보존하면서 24시간 간격으로 469 nm에서 흡광도를 측정하여 조사하였다. 대조구는 빛을 완전히 차단하고 같은 조건하에서 실험을 수행하였다.

금속이온에 대한 안정성은 50 µg/mL의 색소 추출물 3 mL에 1.0 × 10² M 농도의 NaCl, AlCl₃, FeCl₂, CaCl₂, CuCl₂, AnCl₂, MgCl₂와 KCl의 금속이온 용액을 각각 1.0% 첨가하여 [11], 25°C의 암소에서 15일간 보존하면서 24시간 간격으로 469 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 금속이온을 첨가하지 않고 같은 조건에서 실험을 수행하였다.

결과 및 고찰

분리균주의 동정

염전으로부터 분리한 황색 색소를 생성하는 *Kocuria* sp. K70 균주는 그람양성의 비운동성 구균으로 pH 6-10, 온도 20°C-45°C에서 생장이 가능하며, 최적생장조건은 pH 6과 30°C였다. 16S rRNA 염기서열분석 결과 *Kocuria flava* HM 20976 [27]과 97%의 유사성을 나타내었다 (Table 1). Catalase 양성, oxidase 음성반응 나타냈으며, 이러한 특성은 *Kocuria flava*와 일치하는 결과이다 [27]. Glucose와 lactose로부터 산을 생성하지 않으며 mannitol을 이용한다는 점에서 *Kocuria flava*와 차이를 나타내었다. *Kocuria* sp. K70은 45°C의 비교적 고온에서도 생장이 활발하였으며, 이는 천일 염전의 생태환경에 적응한 특성으로 파악된다.

색소의 추출 및 특성

Kocuria sp. K70으로부터 추출된 색소는 469 nm에서 최대흡수파장을 나타내어 카로티노이드 계열의 색소로 추정된다. 사용된 4종류의 유기용매에서의 추출효율은 Fig. 1에 제시한 바와 같이 *Kocuria* sp. K70의 색소는 지용성 색소로서 물을 제외하고 ethanol, methanol, acetone, methanol : acetone (7 : 2, v/v)에서 사용된 모든 유기용매에서 추출이 가능하였다. 각 유기용매에서 추출효율은 유사하였으나, 사용된 용매 중 ethanol이 가장 높은 추출효율을 나타내었다. 따라서 본 색소추출물을 식품색소로 개발할 경우 비교적 독성

이 낮은 추출용매를 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 1. Taxonomic characteristics of the pigment-producing *Kocuria* sp. K70

Strain	K70	<i>K. flava</i> ¹⁾
Gram stain	+	+
Colony colour	Yellow	Yellow
Spore	-	-
Motility	-	-
Shape	Cocccoid	Cocccoid
Oxidase	-	-
Catalase	+	+
Utilization of mannitol	+	-
Acid from glucose	-	+
Acid from lactose	-	+
Ranges for growth		
Temp (°C)	20-45	28-45
NaCl (%)	0-10	0-10
pH	6-10	7-9
ABS (nm) ²⁾	469	
16S rRNA sequence similarity (%)	<i>K. flava</i> (97%)	
Isolation site	seawater	air

¹⁾ Cited from reference 27; *K. flava*, *Kocuria flava*.

²⁾ Maximum absorbance of the pigment extraction.

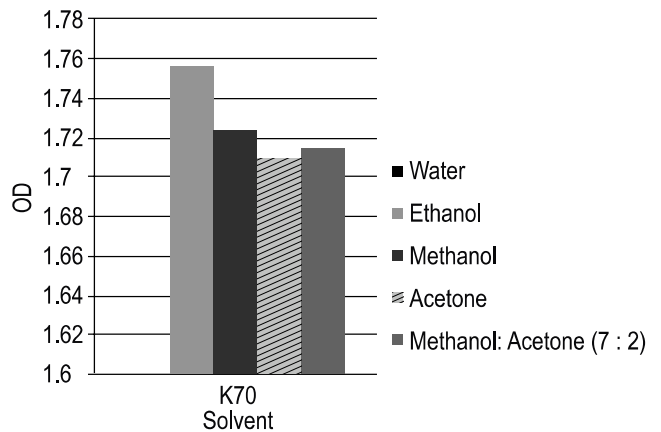


Fig. 1. Effects of solvents on the pigment extraction.

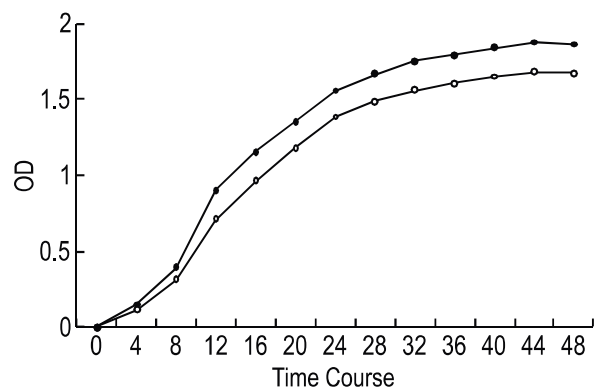


Fig. 2. The cell growth and pigment production at 30°C and pH 6. ○, cell; ●, pigment.

색소의 최적 생성조건 및 안정성

온도, pH, NaCl

Kocuria sp. K70 색소의 온도에 대한 최적 생성조건을 검토한 결과 30°C에서 균체량 생산과 색소생성능이 가장 우수하였다. 본 균주는 최적 pH 6, 30°C의 조건에서 배양 44시간에 최대의 균체량과 색소 생성을 나타내었으며, 색소생성은 균체량의 증가에 비례하여 생성되는 것으로 확인되었다. 본 연구결과는 균체의 증식과 색소의 생성이 동시에 최대치를 이루는 해양성 균주인 *Pseudoalteromonas* sp. Ju 14의 경우 [26]와, 배양 48시간에 최대의 색소 생성을 나타내는 해양세균의 경우 [4]와 유사한 결과이다. 해양세균인 *Erythrobacter*, *Vibrio*, *Bacillus*속 세균의 경우, 21°C~25°C의 낮은 온도에서 색소생성이 최대치를 나타낸 것 [15-17]과 비교할 때, *Kocuria* sp. K70은 30°C에서 최대의 색소생성능을 보여 차이를 나타내었다.

색소 생성에 미치는 배지의 초기 pH에 대한 영향을 검토한 결과, pH 6에서 황색 색소가 최대로 형성되었다. pH가 높아질수록 색소생성능이 근소한 차이로 감소하였으나 pH 9까지 색소 생성능은 비교적 안정한 것으로 조사되었다 (Fig. 3). 최대 색소 생성능을 나타내는 pH는 균주의 최적 성장 pH와 일치하였다. 특징적인 것은 pH 5에서는 균주의 성장과 색소의 생성이 거의 나타나지 않았으며 이는 *Pseudoalteromonas* sp. Ju11-1, Ju 14 [26]의 경우와 유사한 결과이다.

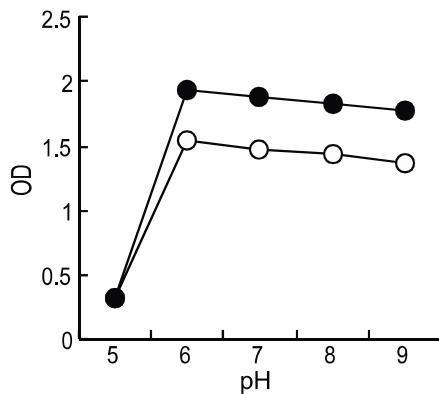


Fig. 3. Effects of pH on the cell growth and the pigment production. ○, cell; ●, pigment.

색소 생성에 미치는 NaCl 농도 의존도를 조사하기 위해 배지의 NaCl 농도를 0-7%까지 검토한 결과, 2%의 NaCl 농도에서 최적의 균체 성장과 가장 우수한 색소 생성이 관찰되었으며 3%에서 7%까지는 점차 균체량과 색소량이 감소되었다 (Fig. 4). 본 실험에서 사용한 *Kocuria* sp. K70 균체의 생산과 색소 생산은 모두 2% NaCl에서 최대치를 나타내었으며, 이 결과는 해양세균 *Pseudoalteromonas* sp. Ju14의 경우와 유사한 결과이다 [26]. 그러나 해양성 *Vibrio* sp.가 생산하는 적색 색소의 경우, 균체의 생산은 0% NaCl에서 최대이나, 색소 생성은 1-2% NaCl 농도에서 최적인 것으로 보고되

어 [15] 균체의 생산과 색소 생성의 최적 조건이 항상 일치하지 않음을 나타내었다.

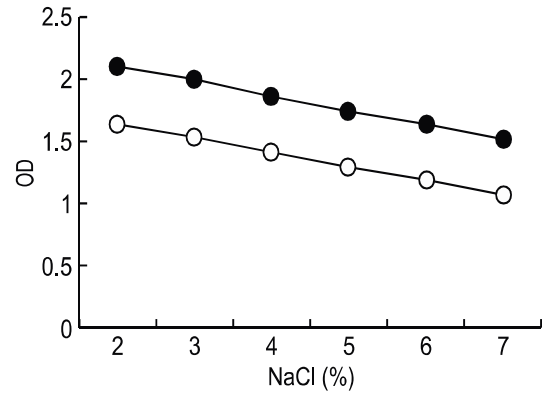


Fig. 4. Effects of NaCl on the cell growth and the pigment production. ○, cell; ●, pigment.

Kocuria sp. K70은 2%의 NaCl이 첨가된 조건에서 최적 성장과 색소생성이 관찰되므로 낮은 염농도에서 최적 성장하는 균주와 비교할 때 식품 첨가 색소로 개발할 경우, 오염의 빈도를 줄일 수 있을 것으로 생각된다.

탄소원과 질소원의 영향

탄소원이 색소생성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 glucose를 포함하여 총 9종류의 탄소원을 각각 최종농도 1% (v/v)로 첨가하여 조사한 결과, *Kocuria* sp. K70 균주는 lactose를 사용하였을 경우 최대의 균주 성장과 색소의 생성을 나타내었으며 그 다음은 glucose 순으로 나타났다 (Table 2). 균주의 성장과 색소의 형성이 lactose 첨가시 가장 우수한 것은 붉은 색소를 생성하는 *Pseudoalteromonas* sp. Ju11-1 균주의 경우 [26]와 동일한 결과이다. 반면 황색 색소를 생성하는 *Pseudoalteromonas* sp. Ju14와 오렌지색을 생성하는 *Pseudoalteromonas piscida* TA20 균주의 경우 maltose를 첨가하였을 때 균주의 성장과 색소의 형성이 최대로 나타났다 [26]. 본 연구 사용한 *Kocuria* sp. K70 균주는 mannitol에서 균주의 성장 및 색소생성율이 가장 낮았다. Carotenoid를 생산하는 해양세균 *Erythrobacter*의 경우 mannitol이 첨가된 경우 최적의 색소생성 [17]을 보였으며, 또한 *Vibrio*의 경우 fructose가 최적의 탄소원인 것으로 보고되어 [15] 균주에 따라 색소생성의 최적 탄소원이 다를 수 있었다.

질소원의 영향을 조사하기 위하여 탄소원으로 1% lactose가 포함된 배지에 각각 3종의 무기질소원과 5종의 유기질소원을 첨가하여 유기질소원과 무기질소원의 영향에 대하여 조사한 결과 대체로 유기질소원에서 색소생성능이 우수하였다 (Table 3). 이 결과는 무기질소원에 비해 유기질소원을 첨가한 경우의 색소 생성능이 우수하다는 연구 결과들 [4,15,26]과 유사한 결과이다. 유기질소원으로 beef extract를 첨가하였을 때 균체의 성장과 색소생성이 가장 우수하였으며 그 다음 tryptone, yeast extract, peptone, sodium nitrate,

potassium nitrate, ammonium nitrate 순으로 균체의 성장과 색소 생성능이 우수하였다. Malt extract를 첨가하였을 경우 균체의 생산과 색소생성능이 매우 낮았으며 ammonium nitrate의 경우 균체의 생장이 가장 낮았다 (Table 3). 이는 *Pseudoalteromonas*속 균주들의 색소 생성 최적조건 [26]과 일치하는 것이며 또한 *Monascus purpureus* p-57 곰팡이를 이용한 색소 생산의 경우 [28] 질소원으로 beef extract를 사용한 경우에 색소의 색소 생성이 가장 우수하며, malt extract를 첨가하였을 경우 균체의 성장과 색소의 생성이 저해된다는 결과와 일치하는 것이다. 질소원이 색소생성에 미치는 영향은 미생물의 종류에 따른 물질대사의 차이에 기인한 것으로 볼 수 있을 것이다. 또한 본 균주의 색소의 생산은 균체 성장율과 거의 비례하는 것으로 나타났다.

Table 2. Effects of carbon sources on the cell growth and the pigment production

Carbon sources	Cell	Pigment
none	1.245	1.321
Glucose	1.251	1.434
Lactose	1.331	1.584
Maltose	1.063	1.246
Galactose	1.102	1.128
Arabinose	1.115	1.184
Sucrose	1.113	1.155
Mannitol	0.845	0.949
Sorbitol	1.121	1.157
Glycerol	1.128	1.143

Table 3. Effects of nitrogen sources on the cell growth and the pigment production

Nitrogen sources	Cell	Pigment
none	1.342	1.671
Yeast extract	1.532	1.744
Malt extract	1.062	1.19
Beef extract	1.905	2.216
Tryptone	1.559	1.816
Peptone	1.358	1.685
Potassium nitrate	1.258	1.574
Ammonium nitrate	0.911	1.201
Sodium nitrate	1.318	1.568

색소의 안정성에 대한 광선과 금속이온의 영향

온도에 대한 색소의 안정성을 조사한 결과, 빛이 없는 조건에서 15일간 온도 -20℃일 때 94%, 4℃에서 92%, 25℃에서 70%, 40℃에서 65%의 색소 잔존율을 나타내어 저온일수록 높은 색소안정성을 나타내었으나 상온 25℃에서도 70%의 잔존율을 나타내어 *Kocuria* sp. K70의 색소는 온도에 비교적 안정한 것으로 나타났다.

빛이 색소의 안정성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 25℃의 빛이 있는 조건과 없는 조건에 보관하며 색소의 변화를 관찰하였다. 25℃에서 빛이 없는 조건에서는 14일이 경과한 후 황색 색소가 90% 이상의 잔존율을 나타내었다 (Fig 5). 빛이 있는 경우 6일째 85%, 14일째 70%까지 안정하였다. 본 연구

와는 대조적으로 빛이 있는 경우 *Rhodospirillum rubrum*의 황색색소는 50% 이하의 낮은 잔존율 [18]을 나타내었으며, 또한 호염세균으로부터 ethanol 추출한 carotenoid 색소는 2일 이후 88% 이상의 색소가 파괴되는 현상이 보고된 것 [15]과 비교할 때 *Kocuria* sp. K70의 황색 색소는 빛에 대한 안정성이 매우 높은 것으로 나타나 다양한 식품첨가물 및 의약품에 이용 가능할 것으로 생각된다.

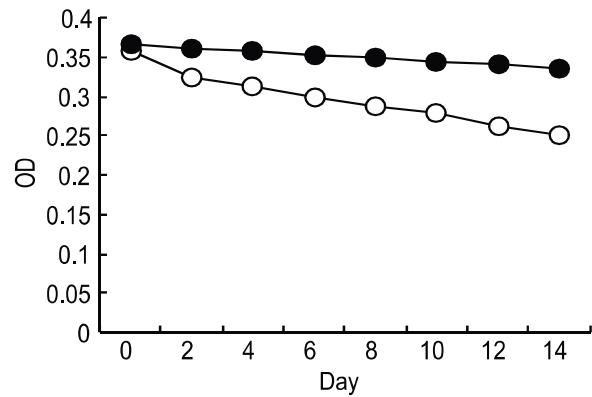


Fig 5. Effects of light on the stability of pigment at 25°C. O, light; ●, Dark.

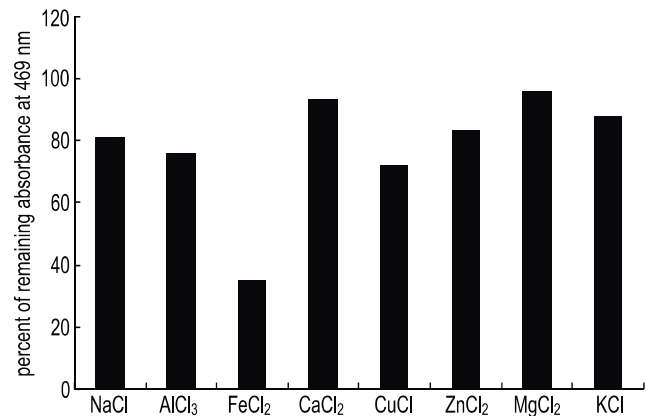


Fig 6. Effects of various metal ions on the stability of pigment.

금속이온이 색소에 미치는 영향은 빛이 없는 25℃ 조건에서 AlCl₃을 포함하여 8종의 금속에 대하여 조사하고 금속이온을 첨가하지 않은 경우와 비교하였다 (Fig. 6). MgCl₂의 경우 색소 잔존율이 96%, CaCl₂의 경우 93%를 나타내어 이들 금속이온에 대하여 매우 높은 안정성을 나타내었다. KCl, ZnCl₂, NaCl, AlCl₃의 경우 88-76% 잔존율을 나타내어 비교적 안정한 것으로 나타났다. 그러나 FeCl₂의 경우 35%의 잔존율을 나타내어 안정성이 비교적 낮은 것으로 나타났다. 금속이온은 대부분 식품성분에 처음부터 함유되어 있는 경우 혹은 포장성분에 포함되어 있거나 식품의 가공과정에서 오염되는 등 식품가공과 밀접하게 관련되어 있다 [4]. 본 연구에서 사용한 *Kocuria* sp. K70 균주의 색소는 금속이온 FeCl₂를 제외한 7종의 금속이온에 대하여 14일까지 잔존율 96%-76%

를 나타내어 매우 안정한 것으로 조사되었다.

본 실험에 사용한 균주 *Kocuria* sp. K70은 비교적 높은 염농도인 2% NaCl농도에서 최적생장을 나타내며 이 균주가 생산하는 황색색소는 다른 해양성 균주들의 색소에 비하여 온도, 빛 그리고 금속이온 등에 높은 내성을 나타내어 식품 색소로의 개발 가능성이 있는 것으로 판단된다. 그러나 식품 색소로 개발하기 위해서는 급성 및 아급성 독성시험 등, 식품 색소로서의 안전성과 독성 평가가 이루어져야 하며 나아가 항균성, Free radical 소거능, DNA 손상보호 효과 등의 연구를 수행하여 기능성에 관한 연구도 아울러 수행할 필요가 있을 것으로 사료된다.

결 론

남해 미조면 염전으로부터 황색색소를 생산하는 *Kocuria* sp. K70을 분리하였다. 표현형적 특징과 16S rRNA 염기서열 분석 결과 *Kocuria* sp.로 확인되었다. 이 균주의 색소 최대 흡수파장은 469 nm로 나타났으며, Marine broth 2216 배지에서 잘 생육하였다. *Kocuria* sp. K70의 색소생성 최적조건은 30°C, 2% NaCl, pH 6의 배양조건에서 배양 44시간에 최대의 색소 생성을 나타내었다. 탄소원으로 lactose 1%, 질소원으로 beef extract 1%를 첨가하였을 경우 최적의 색소생성을 나타내었다. 에탄올에 의해 추출한 황색 색소는 -20°C ~ 25°C에서 안정하였으며, 광선의 조사하에 25°C, 14일 동안 70% 이상의 잔존율을 나타내는 높은 안정성을 나타내었다. FeCl₂를 제외하고 실험한 모든 종류의 금속이온에 대하여 높은 안정성을 나타내었다.

감 사

이 논문은 2010학년도 한남대학교 학술연구조성비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

접수 : 2010년 11월 24일, 게재승인 : 2010년 12월 25일

REFERENCES

- Margalith, P. Z. (1992) Pigment microbiology, pp. 32-44. Chapman & hall, London SE1 8HN.
- Ian, J. and W. Gary (2003) Phytochemical functional foods. pp. 114-124. Woodhead Publishing Ltd and CRC press, NY, washington DC.
- Kim, E. Y. and M. R. Rhyu (2008) Antimicrobial activities of *Monascus Koji* extract. *Korean J. Sci. Technol.* 40: 76-81.
- Ryu, B. H. and M. K. Kim (2000) Production of red pigment from marine bacterium utilizing colloidal chitin. *Kor. J. Microbial. Biotechnol.* 28: 264-269.
- Fowler, M. W. (1983) Production of commercially useful compounds by plant cell culture. pp. 3-38. In S. H. Mantell and H. Smith (eds.). Plant Biotechnology, Cambridge University press, London, UK.
- Hannagata, N., A. Ito, Y. Fukuju, and K. Murata (1992) Red pigment formation in cultured cells of *Carthamus Tinctorius* L. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56: 44-47.
- Kim, J. S., M. C. Kim, R. Harikrishnan, Y. J. Han, and M. S. Heo (2009) Taxonomical characterization and antimicrobial activity of red pigment-producing marine bacterium strain JE-34. *Kor. J. Microbiol.* 45: 368-376.
- Kim, M. H., T. K. Lee, and H. C. Yang (1992) Red pigment production from *Monascus anka* abidus. *Korean J. Food Sci. Technol.* 24: 451-455.
- Lee, S. M., H. S. Kim, and T. S. Yu (2003) The optimal condition for production of red pigment by *Monascus anka* on solid culture. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 155-160.
- Romero, M. R., M. Wheeler, A. Guerreroplasta, G. Rico, and H. T. Guerrero (2000) Biosynthesis and functions of melanin in *Sporothrix schenckii*. *Infect. Immun.* 68: 3696-3703.
- Costa, I., H. L. Martelli, I. M. da Silva, and D. Pomeroy (1978) Production of β -carotene by a *Rhodotorula* strain. *Biotechnol. Lett.* 9: 373-375.
- Kim, Y. H. and S. S. Lee (1994) A study on pigments from *Rhodopila globiformis* by acetone extraction: stability of red pigments. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23: 25-29.
- Nam, H. S. and J. S. Rhee (1991) Effect of carbon source and carbon to nitrogen ratio on carotenogenesis of *Rhodotorula glutinis*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 1: 75-78.
- Bae, S. J., K. H. Kim, B. W. Kim, and Y. H. Kim (1995) Isolation and characterization of *Azotobacter vinelandii* strain A80 production water-soluble blue pigment. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 23: 43-46.
- Kim, H. J., H. J. Park, S. K. Bae, J. D. Kim, I. S. Kong, and J. Y. Kong (1996) Characterization of red-pigment produced by marine bacterium *Vibrio* sp. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25: 294-300.
- Kim, Y. H. and S. S. Lee (1994) A study of greenish pigments from *Rhodospseudomonas viridis* by acetone extraction: Characteristics of potential food colorant. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 93-97.
- Kim, J. D., D. S. Kang, M. Y. Kim, S. B. Roh, M. R. Choi, S. H. Song, S. H. Baek, H. J. Seo, D. H. Kim, and J. Y. Kong (2001) Production of carotenoid from halophilic *Erythrobacter* sp. and characterization of physiological properties. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 143-151.
- Kim, Y. H. and S. S. Lee (1993) Yellow pigment from *Rhodospirillum rubrum* by acetone extraction. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 6: 322-328.

19. Park, J. S., D. W. Jeong, and M. H. Kang (2009) The physicochemical stabilities and biological activities of pigment extract from marine bacterium *Pseudoalteromonas psicida* TA20. *J. life Sci.* 19: 1132-1138.
20. Jeong, Y. G., B. D. Choi, S. J. Kang, S. H. Jeong, Y. K. Lee, H. Y. Kim, and M. J. Jung (2001) Characteristic of carotenoid component from halophilic bacteria, *Haloarcula* sp. EH-1. *J. Mol. Biol.* 15: 673-676.
21. Kobayashi, J. and M. Ishibashi (1993) Bioactive metabolites of symbiotic marine microorganism. *Chem. Rev.* 93: 1753-1771.
22. Lee, S. A., J. H. Lee, S. J. Kim, and H. K. Kim (2005) Hydrolysis of triglyceride with cold-adapted lipase of *Psychrobacter* sp. S3 isolated from intertidal flat. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 33: 29-34.
23. Liu, G. Y., A. Essex, J. T. Buchanan, V. Datta, H. M. Hoffman, J. F. Bastian, J. Fierer, and V. Nizet (2005) *Staphylococcus aureus* golden pigment mpairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. *J. Exp. Med.* 202: 209-215.
24. Yeon, S. H., W. J. Jeong, and J. S. Park (2005) The diversity of culturable organotrophic bacteria from local solar salterns. *J. Microbiol.* 43: 1-10.
25. Ventosa, A., M. C. Marquez, F. RuiZ-Berraquero, and M. Kocur (1990) *Salinicoccus riseus* gen. nov., sp. nov., a new moderately halophilic Gram-positive coccus. *System. Appl. Microbiol.* 13: 29-33.
26. Jeong, D. W and J. S. Park (2008) Characterization of pigment-producing *Pseudoalteromonas* spp. from marine habitats and their optimal conditions for pigment production. *J. Life Sci.* 18: 1752-1757.
27. Zhou, G., X. Luo, Y. Tang, L. Zhang, Q. Yang, Y. Qiu, and C. Fang (2008) *Kocuria flava* sp. nov. and *Kocuria turfanensis* sp. nov., airborne actinobacteria isolated from Xinjiang, China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 1304-1307.
28. Park, C. D., H. J. Jung, and T. S. Yu (2005) Optimization of pigment production of *Monaascus purpureus* p-57 in liquid culture. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 20: 66-70.