

Monascus anka 의 적색소 생산 특성

김희구 · 박근태* · 손홍주**

부산대학교 미생물학과, *조아제약, **밀양대학교 생물공학과

Characterization of Red Pigment Production by *Monascus anka*

Hee-Goo Kim, *Geun-Tae Park and **Hong-Joo Son

Dept. of Microbiology, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

*Cho-A Pharm. Co. Ltd., Haman-Kun 637-810, Korea

**Dept. of Biotechnology, Miryang National University, Miryang 627-702, Korea

Abstract

Optimal media and cultural conditions for the production of red pigment were established using *Monascus anka* KFCC 4478. The optimal temperature and initial pH for the production of red pigment were 30°C and 7.0, respectively. Glucose turned out to be most suitable carbon source for red pigment production. Optimal glucose concentration was 3.0%. Addition combined of nitrogen sources of peptone and NaNO₃ induced good red pigment production. Thiamine-HCl and nicotinic acid were increased the production of red pigment. Under optimal conditions, maximum red pigment production and cell growth were observed after 5 days of incubation.

Key words : *Monascus anka*, red pigment, microbial pigment, food additive.

서 론

색소는 식품, 의약품, 화장품 및 의류 등에 다양하게 이용되며, 식품산업에서는 제품의 가치를 높이고, 소비자의 구매욕과 식욕을 향상시키는 역할을 한다¹⁻²⁾.

최근, 식품에 광범위하게 사용되고 있는 타르계 인공 합성색소는 발암성 등 안정성에 대한 문제가 심각하게 대두되면서 그 규제가 강화되고 있다. 이에 따라 소비자들의 천연지향성이 증가함으로써 인공 합성색소를 대체할 수 있는 천연 식용색소의 개발에 대한 관심이 고조되고 있다³⁻⁴⁾.

현재 소수의 동식물 색소들이 일부 식용으로 사용되고 있으나 원료수급 문제, 기후변화, 천재지변 등에 의하여 수확량이 일정하지 못한 문제가 있다⁵⁾. 그러나 미생물 발효에 의한 색소생산은 계절, 지역에 관계없이 지속적으로 생산할 수 있고, 대량생산할 수 있다. 홍국균(*Monascus spp.*)은 동남아시아권에서 홍

주, 홍두부 등의 발효식품 제조에 이용되어 왔으며, 착색제뿐만 아니라 타박상, 소화불량 등의 의약품으로도 이용되어 왔다⁶⁾. 홍국균이 생산하는 홍국색소는 사용균주, 영양원, 배양조건에 따라 색소의 종류가 달라진다⁷⁾. Tsukioka 등⁸⁻⁹⁾은 *M. anka* 변이주는 색소 생성최적배지에서 적색소 생산력이 모균주보다 우수함을 보고한 후, 젖산이 색소 생성력을 감소시켰음을 확인하였다. Kim 등¹⁰⁾은 *Monascus sp.*가 생산하는 황색소를 석유에테르로 추출하는 방법에 대하여 보고하였으며, Ju 등¹¹⁾은 *Monascus sp.* J101에 의한 적색소 생산의 동력학적 분석을 하였다. 그러나 아직까지 *Monascus anka*의 적색소 생산조건에 대한 연구는 미미하다.

본 연구는 홍국균의 색소생산 최적배지조성 및 배양조건에 대하여 분석한 홍국색소 개발을 위한 기초 결과이다.

Corresponding author : Hong-Joo Son

재료 및 방법

1. 사용균주 및 배양조건

균주는 한국중균협회로부터 분양받은 *Monascus anka* KFCC 4478을 사용하였다. 색소생성을 위한 기본배지의 조성은 rice powder 3%, NaNO_3 0.15%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%, KH_2PO_4 0.25%이었으며, pH 7.0, 30°C에서 배양하였다¹²⁾.

2. 색소생성 최적조건 검토

균주를 기본배지에 접종하여 30°C에서 5일간 전배양한 후, 배양온도, pH, 탄소원, 각종 유, 무기질소원 및 비타민(thiamine-HCl, nicotinic acid, biotin 각 10 μg /l) 및 미량원소(ZnSO_4 , FeSO_4 각 10 μg /l)가 각각 적당하게 조절된 본배지에 접종하였다. 왕복진탕 배양기에서 150rpm으로 6일간 배양한 후, 균체량 및 색소생성량을 측정하였다. 색소생성 최적조건하에서의 배양은 5l 용량의 Jar fermentor(한국발효기)에 최적배지 3l를 첨가한 후, 전배양액 5% (v/v)를 접종하여 200rpm, 1vvm의 통기속도로 배양하였다. pH는 조절하지 않았다.

3. 분석방법

균체량은 배양액을 12,000rpm에서 5분간 원심분리하여 cell pellet을 회수한 후, 105°C에서 항량이 될 때까지 건조하여 건조중량으로 나타내었다. 본 연구에서 조사한 색소는 *Monascus anka*의 적색소였다. 적색소의 생성력은 상기의 배양 상등액을 증류수로 단계적으로 희석한 후, 분광광도계(HP 8452A, Hewlett Packard Co., USA)로 495nm에서 흡광도를 측정하여 적색소의 양으로 나타내었다¹³⁾.

결과 및 고찰

1. 배양온도 및 pH의 영향

배양온도를 각각 26~36°C로 조절하여 배양한 결과(Fig. 1), 색소 생성력은 30~32°C에서 가장 우수하였으며, 온도가 증가할수록 색소 생성력은 점차 감소되어 36°C 이상의 온도에서는 색소가 거의 생성되지 않았다. 이와 같은 결과는 Su¹⁴⁾의 결과와 일치하였다. 한편 배지의 초기 pH를 4.0~9.0으로 조절하여 배양한 결과(Fig. 2), pH 6.0~7.0에서 최대 색소 생성력을 보였으며, pH가 낮거나 높을 경우 색소 생성력에 큰 차이를 나타내었다. 이러한 결과는 Yos-

himura 등¹²⁾의 결과와는 유사하였으나 pH 4.5에서 최대 색소 생성력을 보였다는 Chang 등¹⁴⁾의 결과와는 달랐다.

2. 탄소원의 영향

탄소원이 색소 생성력에 미치는 영향을 조사하기 위하여 기본배지에 각종 탄소원을 3.0% 농도로 첨가하여 배양한 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같다. 즉 glucose, sucrose, rice powder 등이 우수한 색소 생성력을 나타내었으나 특히, glucose의 경우 rice powder보다 색소 생성력이 우수하였다. Rice powder는 균체를 과다하게 성장시켜 wall effect를 나타냄으로서 색소 생성에 악영향을 미친 것으로 판단된다. Yu와 Jin¹⁵⁾은 rice powder의 경우, rice의 품종

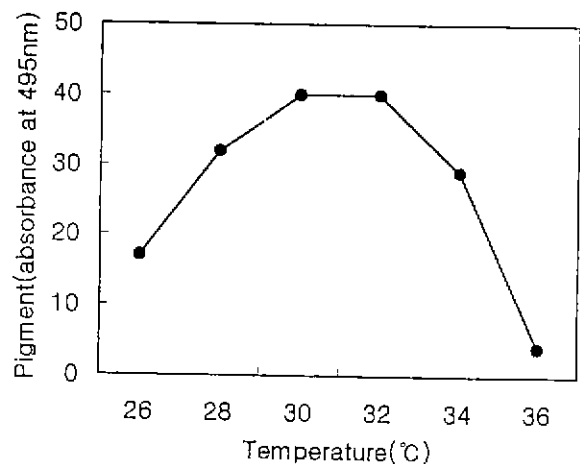


Fig. 1. Effect of temperature on the production of red pigment.

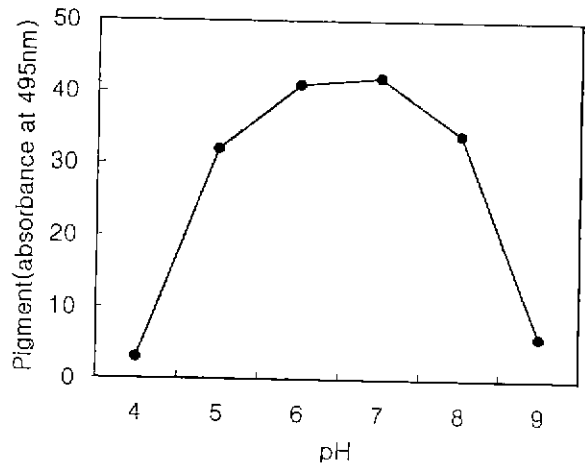


Fig. 2. Effect of pH on the production of red pigment.

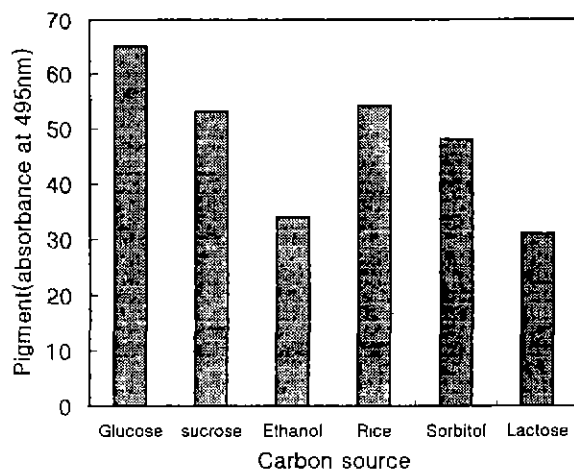


Fig. 3. Effect of carbon source on the production of red pigment.

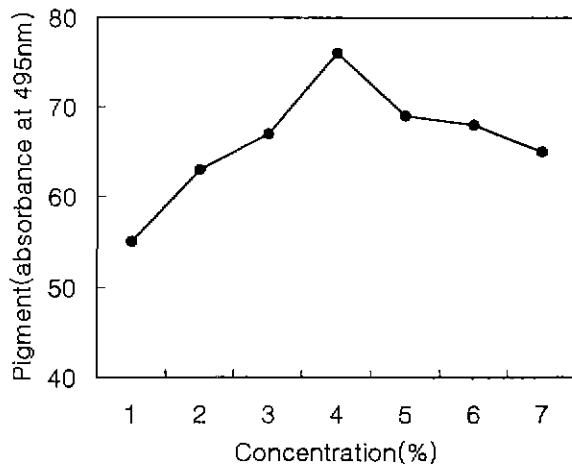


Fig. 4. Effect of glucose concentration on the production of red pigment.

과 제배지, 저장기간 등에 의한 영향으로 색소 생성력이 일정하지 않다고 하였다. 색소생성을 위한 glucose의 최적농도는 4%로 나타났다(Fig. 4).

3. 질소원의 영향

질소원이 색소 생성력에 미치는 영향을 조사하기 위하여 기본배지에 각종 유기질소원을 2.0% 농도로 첨가하여 배양한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. 즉 yeast extract, meat extract는 색소 생성력은 미약하였으나 균체 생육은 우수하였다. 따라서 상기 두 물질은 세포내 대사를 색소생성보다는 균체 생성쪽으로 유도하는 것으로 판단된다. 우수한 균체 생육과 색소 생성력을 나타낸 peptone의 색소생성 최

Table 1. Effect of organic nitrogen source on the production of red pigment

Organic nitrogen source	Pigment production (absorbance at 495nm)	Dry cell weight(g/l)
Casein 2.0%	22	8.2
Yeast extract 2.0%	28	18.2
Meat extract 2.0%	25	17.9
Peptone 0.5%	32	12.4
1.0%	48	12.9
2.0%	54	14.3
3.0%	61	15.7
4.0%	53	15.7
5.0%	29	13.2

Table 2. Effect of inorganic nitrogen source on the production of red pigment

Inorganic nitrogen source (0.15%)	Pigment production (absorbance at 495nm)
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	58
NH_4Cl	53
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	53
NH_4NO_3	57
NaNO_2	60
NaNO_3	65
KNO_3	52

적농도는 3.0%로 나타났다. 한편 3.0%의 peptone이 첨가된 배지에 각종 무기질소원을 0.15% 농도로 첨가하여 배양한 결과(Table 2), NaNO_3 는 색소 생성력을 다소 향상시키는 것으로 나타났다. 아직까지 유기질소원과 무기질소원의 복합효과에 의한 보고는 거의 없다. 따라서 본 균주의 경우 유, 무기질소원을 병행 첨가함으로써 색소 생성력이 향상됨을 확인할 수 있었다.

4. 비타민 및 미량원소의 영향

색소 생성력을 향상시키기 위하여 각종 비타민 및 미량원소를 $10\mu\text{g/l}$ 농도로 첨가하여 배양한 결과, ZnSO_4 등의 미량원소는 색소 생성력을 증가시키지 않았으나 비타민중 thiamine-HCl과 nicotinic acid의 경우 색소 생성력을 6% 정도 증가시키는 것으로 나타났다(Table 3).

5. 생육 최적조건하에서의 색소생성력

상기에서 결정된 색소생성 최적배양조건에서 Jar fermentor를 이용하여 회분배양을 실시한 결과는

Table 3. Effect of vitamin and trace element on the production of red pigment

Vitamin and trace element (10 μ g /l)	Pigment production (absorbance at 495nm)
Control	64
Biotin	64
Nicotinic acid	68
Thiamine-HCl	68
ZnSO ₄	63
FeSO ₄	64

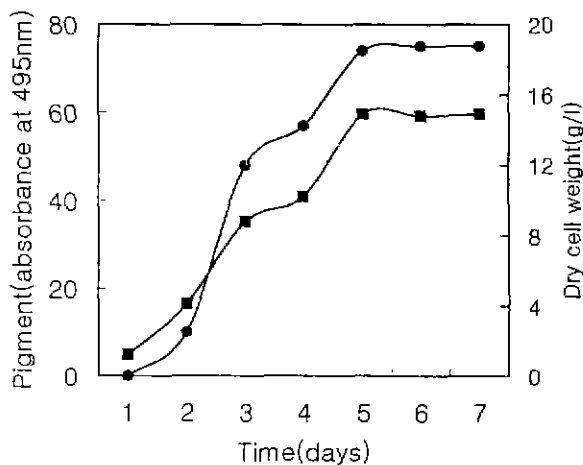


Fig. 5. Time course of growth and red pigment production of *Monascus anka* KFCC 4478 in jar fermentor. ●-, dry cell weight; ■-, pigment production.

Fig. 5와 같다. 배양 1일까지 균체 생육량은 미약하였으나 배양 2일후부터 급격하게 증가하기 시작하여 배양 5일경에 대수증식기 말기에 도달하였다. 색소생성량도 균체 생육과 비례하여 증가되기 시작하였으나 정지기에서 색소생성이 더 이상 일어나지 않았다. 이러한 결과는 본 균주에 의한 색소의 생성형태는 "growth-associated type"임을 의미한다. 또한 균체 생육이 진행됨에 따라 배양액의 pH도 산성으로 변화되어 균체 생육에 negative effect를 나타내었다(미제시). 따라서 색소의 대량생산을 위해서는 배양액의 pH를 일정하게 유지시키면서 탄소원을 주기적으로 첨가시키는 fed-batch culture technique이 필요함을 알 수 있었다.

요 약

Monascus anka KFCC 4478의 적색소 생산력을

증가시키기 위하여 배지조성 및 배양조건에 대하여 검토하였다. 공시균주의 색소 생성력은 탄소원으로 glucose 4.0%, 유기질소원으로 peptone 3.0%, 무기질소원으로 NaNO₃ 0.15%, 비타민 성분으로 thiamine-HCl 및 nicotinic acid 각 10 μ g /l였으며, 배양온도 30 $^{\circ}$ C, 초기 pH 7.0이었다. 특히 유기질소원과 무기질소원을 복합 처리함으로써 색소 생성력이 향상되었다. 결정된 색소생성 최적조건하에서 본 공시균주는 배양 5일만에 최대 균체 증식과 색소 생성력을 나타내었다.

참고문헌

- Francis, F. J. : *Handbook of Food Colorant Patents*, Food and Nutrition Press, Westport, CT. (1986).
- Judie, D.D. : Applications and food colorants, *Food Technol.*, **23**, 78-88 (1987).
- 이춘녕, 김우정 : 천연향신료와 식용색소, 향문사 (1985).
- 임효삼 : 식물색소, 양현당 (1988).
- Takatoshi, K., Takahito, I., Minoru, Y., Yoshie, N. and Jiro, S. : Production of perilla pigment in cell culture of *Perilla frutescens*, *J. Jap. Soc. Food Sci. Technol.*, **39**, 839-844 (1992).
- Frazier, W. C. : *Food Microbiology*, McGraw-Hill Book Co., New York (1967).
- Wong, H. C. and Koehler, P. E. : Production and isolation of an antibiotics from *Monascus purpureus* and its relationship to pigment production, *J. Food Sci.*, **46**, 589-592 (1981).
- Tsukioka, M., Hiroi, T., Suzuki, R. and Konno, T. : Pigment production by mutants of *Monascus anka*, *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **60**, 451-455 (1986).
- Tsukioka, M., Hiroi, T. and Suzuki, R. : Organic acid composition by mutants of *Monascus anka*, *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **62**, 971-973 (1988).
- Kim, H. S., Chang, U., Yi, H. I., Bae, J. C. and Yu, J. H. : Studies on the yellow pigment produced by *Monascus* sp. CS-2; Part II. Isolation and preparation of yellow pigment, *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **8**, 167-172 (1980).
- Ju, J. Y., Nam, H. W., Yoon, J. C. and Shin, C. S. : Extractive fermentation of red pigment using *Monascus* sp. J101, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **22**, 85-91 (1994).
- Yoshimura, M., Yamanaka, S., Mitsugi, K. and Hirose, Y. : Production of *Monascus anka* pigment in a submerged culture, *Agri. Biol. Chem.*, **39**, 1789-1795 (1975).
- Su, Y. C. : Fermentative production of *Monascus anka* pigments, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*,

- 11, 325-337 (1983).
14. Chang, U., Kim, H. S., Son, C. H., Bae, J. C. and Yu, J. H. : Studies on the yellow pigment produced by *Monascus* sp. CS-2: Part I. Cultural conditions for yellow pigment production, *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 8, 119-123 (1980).
15. Yu, C. B. and Jin, Y. H. : Isolation and cultural condition of *Monascus* sp. YH-69 for the production of the pigments, *Kor. J. Life Sci.*, 8, 1-7 (1998).
-

(1998년 9월 23일 접수)