

Monascus 속 균주의 균체 생산 및 고체배양에 의한 Monacolin K 생산

정혁준 · 유대식*

계명대학교 자연과학대학 미생물학과

홍국균으로부터 기능성 홍국의 대량생산을 위한 균사체 접종법을 개발하기 위하여 *Monascus* sp. KM1001을 대상으로 균체 생산에 미치는 최적배양조건을 비교·검토하였다. 색소 생산능과 monacolin K 생성능이 우수한 *Monascus* sp. KM1001의 균체생산은 3% glucose, 2% yeast extract, 0.2% L-asparagine, 0.05% MgSO₄·7H₂O, 0.1% KH₂PO₄, pH 4.5의 배지조성이 가장 양호하였으며, 1.5 × 10⁶ spores/0.5 ml의 포자현탁액을 접종하여 배양온도 28°C에서 150 rpm으로 3일간 배양하였을 때 4.1 g/l의 균체를 생산할 수 있었다. 생산된 균체 0.15 g을 무균적으로 500 g의 백미에 접종하여 비닐 bag (30.6 × 44 cm)에서 30°C, 85% 습도로 15일간 홍국을 제조한 결과, 2,930 mg/lactone form monacolin K가 생성되었으며 15일 이후부터는 생산량이 감소하였다.

Key words □ cell mass, monacolin K, *Monascus* sp. KM1001, mycelium

붉은 곰팡이(*Monascus*, 홍국균)는 반자낭균과(*Hemiascomycetaceae*) 중의 홍국균속(*Monascaceae*)으로서 균사가 붉은색을 띠기 때문에 홍국균이라고 한다(6, 21). 홍국균은 우리나라의 전통누룩으로부터도 분리되며, *Monascus purpureus*, *M. ruber*, *M. pilosus*, *M. kaoliang* 등이 동정되어 알려져 있다(4). *Monascus* 속에서 분비되는 색소는 적색색소인 monascorubramine과 rubropunctamine, 황색색소인 ankaflavin과 monascin, 그리고 오렌지색소인 monascorubrin과 rubropunctatin이 알려져 있으며(10, 11, 17, 18) 새로운 황색색소로서 xanthomonasin A와 B가 발견되었다(16). 이는 독성이 없는 색소성분으로 천연적색소로서 의약품 제조 및 식품 첨가제로 각광을 받고 있다.

*Monascus*속 균주에 관한 연구는 60년대 이후부터 시작되어 오늘날까지도 많은 연구가 진행되고 있다. *Monascus*균주를 이용한 천연색소 및 그 밖의 이차대사산물 생산은 현재 액체배양 및 쌀을 이용한 고체배양이 일반화되어 있다(6, 7, 8, 19). 1977년 *M. purpureus*의 추출물은 *Bacillus*, *Streptococcus*와 *Pseudomonas*에 대하여 항세균성 효과가 있으며(15) 최근에는 *Monascus*의 액체 배양액의 추출물이 항세균성 효과 뿐 아니라 항진균성, 면역억제 효과, 배독성(embryotoxic)과 조직의 기형효과를 나타낸다는 보고도 있다(10).

홍국균이 생산하는 가장 대표적인 생리활성물질로서 monacolin K (lovastatin)가 잘 알려져 있으며 이 물질은 cholesterol 합성에 관여하는 효소인 HMG-CoA (3-Hydroxy-3-Methyl Glutaryl CoA) reductase의 활성을 저해하여 혈중 cholesterol 저하작용을 갖는 것으로 알려져 있다(1, 9, 12, 13).

사상균의 접종법은 일반적으로 포자접종법이 가장 유리하지만

홍국균은 포자형성능력이 약하여 포자접종법은 매우 어려우므로 홍국균을 액체배지에 배양한 균사체를 홍국균 접종에 직접 사용하기 위하여 많은 양의 균사체를 생산할 필요성이 대두되어 균사체 생산 최적조건을 검토하고, 균사체를 직접 접종하여 홍국을 제조하고 monacolin K의 생산효과를 검토하고 자 했다. 본 연구에서는 균사체를 직접 접종하기 위하여 분양 받은 10 균주의 *Monascus* 종 및 NTG (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)로 변이처리에 의해 분리된 변이주를 대상으로 monacolin K의 생산능이 우수한 균주를 선별하고 monacolin K 생산성을 검토한 결과를 보고하고 자 한다.

재료 및 방법

실험 균주

본 실험에 사용한 홍국균은 한국미생물보존센터 (KCCM)와 한국생명공학연구원 유전자은행 (KCTC)에서 분양 받은 *Monascus purpureus* KCCM60016, KCCM11832, KCCM11847, KCCM35473, KCCM60170, *M. ruber* KCCM60167, KCTC6122, *M. pilosus* KCCM60398, KCCM60160, *M. kaoliang* KCCM60154를 사용하였다. 특히, *M. purpureus* KCCM60016으로부터 NTG (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA)로 변이처리하여 분리한 변이주로부터 색소생성이 우수한 *Monascus* sp. KM1001과 *Monascus* sp. KM1002를 선별하여 사용하였다.

균주배양 및 선별

분양균주 및 분리변이주를 potato dextrose agar (Difco, Detroit, USA)배지에서 28°C, 7일간 배양하여 0.08% Tween-80 용액으로 포자 및 균사체를 현탁한 후, cotton filter로 여과하여 포자현탁액을 제조하였다. 균주 선별을 위하여 백미 (안계산, 황

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 053-580-5252, Fax: 053-580-5164
E-mail: tsyu@kmu.ac.kr

토쌀) 30 g을 250 ml erlenmeyer flask에 넣고 물에 하루밤 침지한 후, 물을 제거하고 121°C에서 30분간 가압멸균으로 증자하였다. 증자백미에 포자현탁액 (4.6×10^5 spores/ml)을 접종하여 30°C, 85% 습도에서 15일간 배양하여 각 균주가 생산하는 색소 및 monacolin K 생산능을 비교·검토하여 균주를 선별하였다.

종균배양을 위한 배지 및 생육조건

종균배양을 위하여 5% glucose, 1% polypeptone, 0.1% KH_2PO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2% L-asparagine, pH 4.3의 기본배지 50 ml에 선별균주의 포자현탁액 500 μl (4.6×10^5 spores/ml)를 무균적으로 접종하여 30°C에서 3일간 150 rpm으로 진탕 배양하였다. 건조균체량은 filter paper를 이용하여 균체를 모아 증류수로 2회 세척한 다음, 80°C에서 일정한 함량이 될 때까지 건조하여 filter paper의 무게를 뺀 값을 건조균체량으로 했다.

균체생산의 최적조건 검토

균체생산에 미치는 탄소원의 영향을 알아보기 위하여 탄소원으로 glucose, sucrose, lactose, fructose, maltose, glycerol, soluble starch 및 dextrin을 각각 5%되게 첨가한 기본배지에 배양하여 생산된 균체량을 측정하여 균체생산이 가장 양호한 탄소원을 결정하였다. 균체생산이 가장 양호한 탄소원인 glucose의 양을 1~8%되게 첨가하여 포자현탁액을 접종 후, 30°C에서 3일간 150 rpm으로 진탕 배양하여 균체생산에 미치는 최적 탄소원의 농도를 결정하였다.

질소원의 경우, 기본배지에 최적 탄소원을 첨가하고 질소원으로 polypeptone, casamino acid, beef extract, Bacto-tryptone, Bacto-peptone, Bacto-soytone, malt extract 및 yeast extract를 각각 1%되게 첨가하여 실험균주를 배양한 후, 균체생산이 가장 양호한 질소원을 결정하였다. 균체생산에 비교적 양호한 yeast extract를 0.5~5%되게 첨가한 기본배지에 포자현탁액을 접종한 후, 30°C에서 3일간 150 rpm으로 진탕 배양하여 균체생산이 가장 양호한 질소원의 농도를 결정하였다.

균체생산에 미치는 pH 및 온도의 영향을 알아보기 위하여 최적 탄소원 및 질소원을 첨가한 기본배지의 pH를 3.5~7.0까지 조절된 배지에 포자현탁액을 접종하여 30°C에서 3일간 150 rpm으로 진탕 배양한 후, 건조균체량을 측정하여 최적 pH를 결정하였다. 최적 배양온도는 20~40°C의 온도에서 실험균주를 배양한 다음, 건조균체량을 측정하여 최적 배양온도를 결정하였다. 균체생산에 미치는 진탕속도 및 초기 접종량의 영향은 최적배지에 동량의 실험균주의 포자를 접종하고 0~200 rpm으로 진탕속도를 달리하여 배양한 후, 건조균체량을 측정하여 최적의 진탕속도를 결정하였으며, 최적배지에 초기 포자접종량을 달리하여 실험균주를 배양한 후, 건조균체량을 측정함으로써 최적 접종량을 결정하였다. 배양일수에 따른 균체생산량은 최적배지에 포자현탁액을 접종한 후, 9일간 진탕배양하여 건조균체량을 측정하여 최적배양시간을 결정하였으며 3회 이상 반복실험을 통해 결과를 나타내었다.

홍국의 제조

안계산 황토 백미를 수돗물에 침지하여 24시간 방치하고 초기

수분함량이 25~30%되게 건조한 다음 비닐 bag (30.6 × 44 cm)에 넣어서 121°C에서 30분 증자하였다. 증자한 백미 500 g에 균체 생산배지에서 배양한 홍국 균사체를 건조균체량으로 환산하여 0.1~0.15 g을 접종하여 30°C, 85% 습도로 21일간 배양하였으며 홍국균 배양체의 덩어리를 1일에 2번씩 흔들어 주어 덩어리 형성을 방지시켰다. 배양이 완료된 홍국은 50°C에서 건조하였으며 냉동 보관하면서 실험에 사용하였다.

색소 추출 및 정량

홍국 분말 1 g에 80% 에탄올 5 ml를 첨가하여 25°C에서 2시간 진탕하면서 색소를 추출하였다. 색소를 추출한 후, 8,000 × g에서 10분간 원심분리하여 색소추출 상등액을 취하고, 색소추출 상등액을 80% 에탄올로 적정 배수로 희석하여 분광광도계 (Specgene, TECHNE Co., England)를 이용하여 적색색소는 500 nm, 오렌지색색소는 470 nm, 황색색소는 400 nm의 흡광도를 측정하여 색소생산량을 OD값으로 나타내었다.

Monacolin K 추출 및 정량

홍국분말 0.2 g에 100% methanol 1 ml를 넣어 25°C에서 20분간 sonication한 후, 8,000 × g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 원심분리하여 얻은 침전물에 1 ml의 추출용매를 첨가하여 위와 같은 방법으로 5회 반복하여 monacolin K를 추출하였으며 최종 추출물을 5 ml로 되게 하였다. 추출물은 최종적으로 HPLC 분석을 위해 syringe filter (pore size 0.45 μm)로 여과하였다. 실험균주는 미량의 acid form monacolin K를 생산하며 lactone form monacolin K를 다량 생산하므로 본 실험에서는 lactone form monacolin K를 정량하였다. Lactone form monacolin K의 정량을 위해 각각의 추출물 10 μl 를 HPLC (Knauer HPLC system, Berlin, Germany)에 주입하여 분석하였다. 분석 column은 Higgins Analytical CLIPPEUS C_{18} column과 Merck LiChrospher® 100 RP-18 column을 사용하였으며 전개용매는 acetonitrile:0.1% trifluoroacetic acid (60:40)를 사용하여 1 ml/min의 유속으로 전개하여 분석하였다. 분석결과는 standard monacolin K (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA)와 비교하여 각각의 홍국에 함유되어 있는 lactone form monacolin K의 양을 측정하였다.

결과 및 고찰

균주의 선별

실험균주로부터 홍국색소 및 monacolin K를 다량 생산하는 균주를 선별한 결과, Table 1에 나타난 바와 같이, *M. purpureus* KCCM60016에서 색소생산능이 우수할 뿐 아니라 monacolin K의 생산량도 높음을 확인할 수 있었다. 색소생산이 비교적 우수한 *M. kaoliang* KCCM60154와 KM1002 변이주는 0.1% 이하의 monacolin K 생산량을 보인 반면 15일간 배양하므로 KM 1001 변이주는 황색색소, 오렌지색색소와 적색색소생산이 실험균주 중 가장 높은 값을 나타내었을 뿐 아니라 monacolin K의 생산량도 2,900 mg/kg로 다른 실험균보다 매우 높은 값을 나타내었다. 이

Table 1. Production of *Monascus* pigments and lactone form monacolin K from various *Monascus* strains^a

Strains	Pigments (OD) ^b			Monacolin K (mg/kg)
	Yellow (400 nm)	Orange (470 nm)	Red (500 nm)	
<i>M. kaoliang</i> KCCM60154	136.8	79.2	113	180
<i>M. purpureus</i> KCCM60016	198	139.2	199.2	180
<i>M. purpureus</i> KCCM11832	83	44.2	62.4	ND ^c
<i>M. purpureus</i> KCCM35473 ^T	46.2	24.8	29.6	ND
<i>M. purpureus</i> KCCM11847	4.9	1.4	0.9	ND
<i>M. purpureus</i> KCCM60170	7.8	2.9	2.1	ND
<i>M. pilosus</i> KCCM60160	1.3	0.6	0.9	ND
<i>M. pilosus</i> KCCM60398	2.7	1.9	2.7	ND
<i>M. ruber</i> KCCM60167	10.3	4.8	5.9	ND
<i>M. ruber</i> KCTC6122	10.6	5	5.9	ND
KM1001 mutant	575	610	504	2,900
KM1002 mutant	172	117	154	900

^a*Monascus* strains were inoculated into steamed rice and incubated at 30°C, 85% humidity for 15 days. *Monascus* pigments were extracted with 80% ethanol from red rice koji after incubation. Lactone form monacolin K was extracted with 100% methanol from red rice koji and analyzed by HPLC.

^bIn case of above OD 2.00, each value describes absorbance × dilution rate.

^cND, Not detected.

상의 결과로 KM 1001 변이주로부터 홍국색소 및 monacolin K 를 다량 생산하기 위한 균사체 접종법을 적용하기 위하여 균체생 산의 최적배양조건을 규명하고 자 다음의 실험을 수행하였다.

균체생산에 미치는 탄소원의 영향

홍국제조에 있어서의 균사체 접종에 사용할 균체생산을 위한 최적 탄소원을 알아보기 위하여 glucose, sucrose, lactose, fructose, maltose, glycerol, soluble starch 및 dextrin을 각각 5% 씩 첨가하여 포자현탁액을 접종한 후, 150 rpm, 30°C에서 3일간 진탕배양하였다.

Fig. 1(A)에 나타난 바와 같이, KM1001 변이주의 균체생산에 미치는 탄소원은 soluble starch, sucrose와 glucose가 양호하였으며 특히, glucose의 경우 2.54 g/l로 가장 높은 건조균체량을 나타 내었으며, glycerol의 경우 0.94 g/l로 가장 낮은 건조균체량을 나 타내었다. 균체생산에 가장 양호한 glucose의 최적농도를 알아보 기 위하여 glucose를 1~8%의 농도로 배지에 각각 첨가하여 3일 간 진탕배양하였다. Fig. 1(B)에 나타난 바와 같이, 3%의 glucose를 첨가하였을 때 2.74 g/l로 가장 많은 균체가 생산되었 으나 그 이상의 농도에서는 오히려 균체생산량이 감소하였다. 이 상의 결과로 KM1001 변이주의 홍국제조를 위한 균체배양 조건

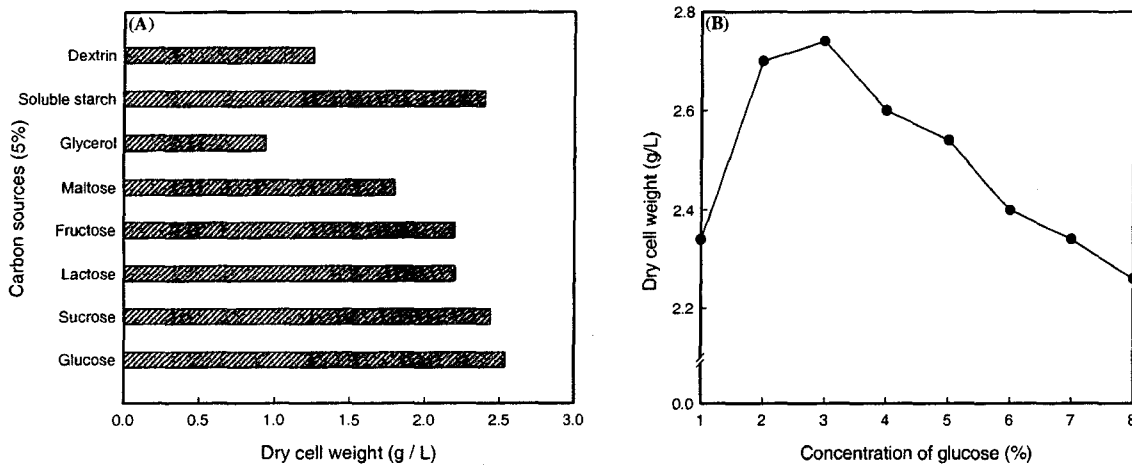


Fig. 1. Effect of carbon sources (A) and glucose concentration (B) on the production of cell mass from *Monascus* sp. KM1001. (A) The inoculated media containing various carbon sources were incubated on 150 rpm rotary shaker at 30°C for 3 days. (B) The inoculated media containing various concentrations of glucose were incubated on 150 rpm rotary shaker at 30°C for 3 days. For determination of dry cell weight, culture broths were filtered through predried and preweighed filter paper, washed several times with distilled water and dried at 80°C until constant weight was attained.

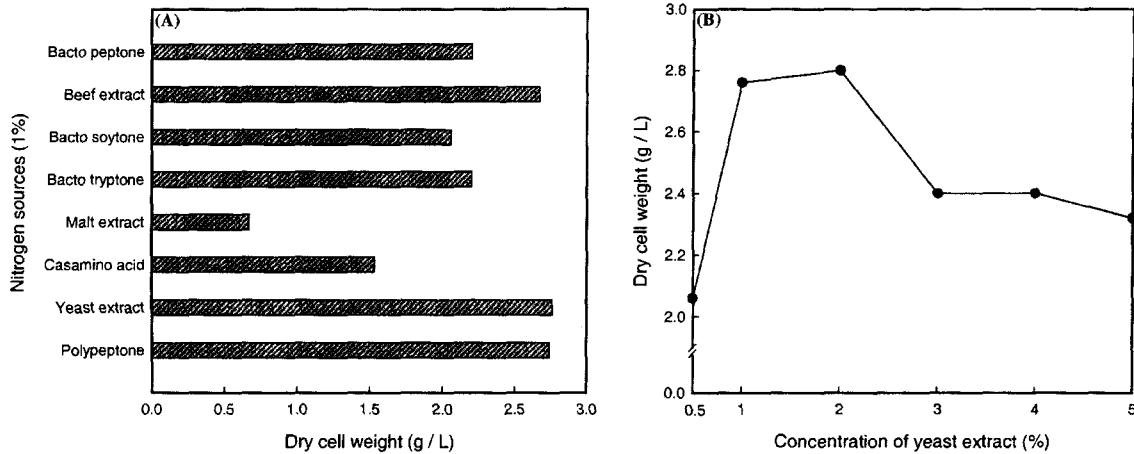


Fig. 2. Effect of nitrogen sources (A) and yeast extract concentration (B) on the production of cell mass from *Monascus* sp. KM1001. (A) The inoculated media containing 3% glucose and various nitrogen sources were incubated on 150 rpm rotary shaker at 30°C for 3 days. (B) The inoculated media containing 3% glucose and various concentrations of yeast extract were incubated on 150 rpm rotary shaker at 30°C for 3 days. For determination of dry cell weight, culture broths were filtered through predried and preweighed filter paper, washed several times with distilled water and dried at 80°C until constant weight was attained.

으로 3% glucose가 가장 양호한 탄소원이었다.

질소원의 영향

KM1001 변이주의 균체생산에 미치는 최적 질소원을 알아보기 위하여 3% glucose를 첨가한 기본배지에 polypeptone, casamino acid, beef extract, Bacto-tryptone, Bacto-peptone, Bacto-soytone, malt extract 및 yeast extract를 질소원으로 각각 1%되게 첨가하여 진탕배양하였다.

Fig. 2(A)에 나타난 바와 같이, yeast extract와 polypeptone에서는 각각 2.76 g/l, 2.74 g/l의 가장 많은 균체가 생산되었으며 malt extract에서는 0.67 g/l의 가장 낮은 건조균체 생산능을 보였다. 균체생산에 미치는 yeast extract의 최적농도를 알아보기 위하여 0.5~5%의 농도로 기본배지에 각각 첨가하여 진탕배양한 결과, Fig. 2(B)에 나타난 바와 같이 2%의 yeast extract를 첨가하였을 때

2.8 g/l의 가장 높은 균체생산능을 나타내었으며 3% 이상의 yeast extract 농도에서는 약 2.4 g/l의 균체를 생산하여 균체생산능이 극히 저조하였다. KM 1001 변이주에 의한 홍국제조에 있어서 균사체 접종법을 위한 균체배양 조건으로 3% glucose와 2% yeast extract를 사용하였을 때 가장 높은 균체생산능을 나타내었다.

pH의 영향

KM1001 변이주의 균체생산에 미치는 pH의 영향을 알아보기 위하여 3% glucose, 2% yeast extract, 0.05% MgSO₄ · 7H₂O, 0.1% KH₂PO₄, 0.2% L-asparagine을 함유한 기본배지의 pH를 3.5~7.0으로 조절한 후, 포자현탁액을 접종하고 150 rpm, 30°C에서 3일간 진탕배양하였다. Fig. 3(A)에 나타난 바와 같이, pH 4.5에서 3.33 g/l의 균체를 생산하여 가장 양호한 pH를 나타내었으며, pH 5.5 이상의 배지에서는 2.33 g/l 이하의 균체가 생산되어 저조

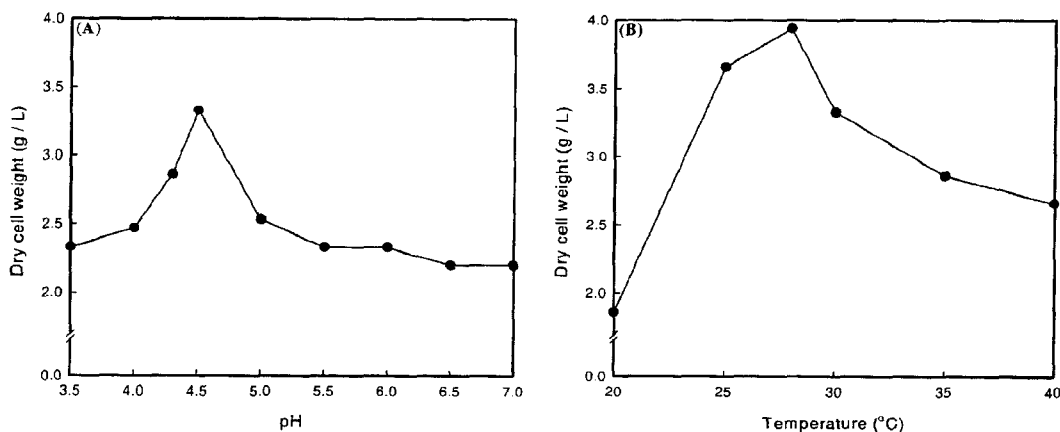


Fig. 3. Effect of pH (A) and temperature (B) on the production of cell mass from *Monascus* sp. KM1001. (A) The inoculated media (containing 3% glucose, 2% yeast extract) with various pH (3.5-7.0) were incubated on 150 rpm rotary shaker at 30°C for 3 days. (B) The inoculated media (containing 3% glucose, 2% yeast extract, pH 4.5) were incubated on 150 rpm rotary shaker at 20-40°C for 3 days.

한 균체생산능을 나타내었다. 이상의 결과로 KM1001 변이주의 액체배양에서의 균체생산은 배지의 pH에 매우 민감하게 작용하여 pH 의존성이 매우 높음을 알 수 있었다.

배양온도의 영향

KM1001 변이주의 균체생산에 미치는 최적 배양온도를 검토한 결과, Fig. 3(B)에 나타난 바와 같이 28°C에서 배양하였을 때 가장 많은 3.94 g/l의 균체가 생산되었으며 25°C에서도 3.66 g/l의 비교적 양호한 균체생산능을 보였으나, 28°C 이상에서는 균체생산능이 급격히 감소하는 양상을 나타내었다. 이상의 결과로 KM1001 변이주의 균사체접종을 위한 다량의 균체생산을 위한 최적 배양온도는 28°C였다.

진탕속도 및 초기 포자접종량의 영향

KM1001 변이주의 균체생산에 미치는 진탕속도의 영향을 알아보기 위하여 최적배지에 포자현탁액을 접종하여 28°C에서 진탕속도를 0~200 rpm으로 달리하여 3일간 배양하였다. Fig. 4에 나타난 바와 같이, 50 rpm 이상에서 급격히 균체생산이 증가하였으며 150 rpm에서 3.94 g/l의 균체를 생산하여 최대에 도달하였으며 150 rpm 이상의 진탕속도에서는 균체생산이 진탕속도의 증가에 비례하여 계속 증가하지는 않았다.

균체생산에 미치는 포자접종량의 영향을 알아보기 위하여 최적배지 50 ml에 0.5×10^5 ~ 2×10^6 spores/0.5 ml의 포자현탁액을 0.5 ml 씩 각각 접종하여 배양한 결과, Fig. 5에 나타난 바와 같이 1.5×10^6 spores의 포자를 접종하였을 때 4.1 g/l로 가장 많은 건조균체가 생산되었으며, 1.0×10^6 spores의 포자를 접종하더라도 KM1001의 균체생산에는 별다른 문제점이 없다고 생각되었다.

배양시간의 영향

KM1001 변이주의 균체생산에 미치는 배양시간의 영향을 알아보기 위하여 최적배지 50 ml에 1.5×10^6 spores/0.5 ml의 포자현

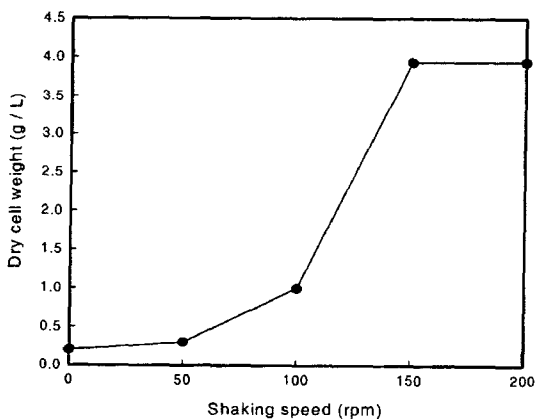


Fig. 4. Effect of shaking speed on the production of cell mass from *Monascus* sp. KM1001. *M. sp.* KM1001 was incubated at 28°C for 3 days on rotary shaker with various shaking speed 0 to 200 rpm.

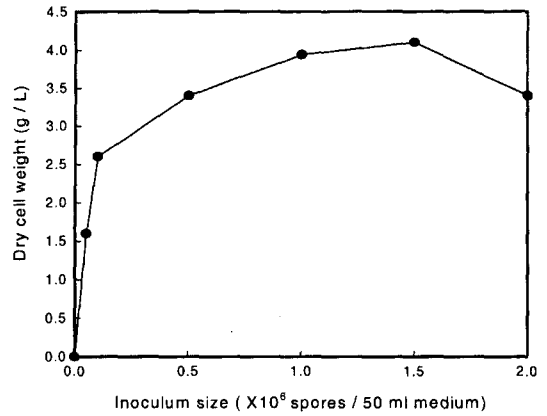


Fig. 5. Effect of inoculum size on the production of cell mass from *Monascus* sp. KM 1001. *M. sp.* KM1001 was incubated on 150 rpm rotary shaker at 28°C for 3 days.

탁액을 0.5 ml 씩 접종하여 28°C, 150 rpm으로 9일간 배양하면서 균체생산량을 측정하였다. Fig. 6에 나타난 바와 같이, 배양 1일 이후부터 급격히 균체생산량이 증가하였으며 배양 3일 4.1 g/l의 균체가 생산되었으며, 배양 9일 5.8 g/L의 균체를 생산할 수 있었다. 배양 3일 이후부터 균체생산량은 비교적 완만한 증가율을 보였으며, 홍국제조를 위한 균사체는 오히려 배양 3일이 최적배양시간이라고 사료된다.

Monascus sp. No 2로부터 25°C, 7일 배양으로 9.5 g/l의 균체가 생산되었으며(20), *M. anka* UN2602-8로부터 8일 배양으로 1.88 g/l(3)의 균체가 생산된 것과 비교할 때 3일 배양으로 비교적 많은 양의 균체를 생산할 수 있었으며 이로부터 홍국의 대량 생산을 위한 균사체 접종에 사용될 다량의 균체를 얻을 수 있다고 사료된다.

Monacolin K 및 색소 생산

KM1001 변이주로부터 홍국의 대량생산을 위하여 비닐 bag (30.6 × 44 cm)에서 증자한 백미 500 g에 균체 생산배지에서 생산

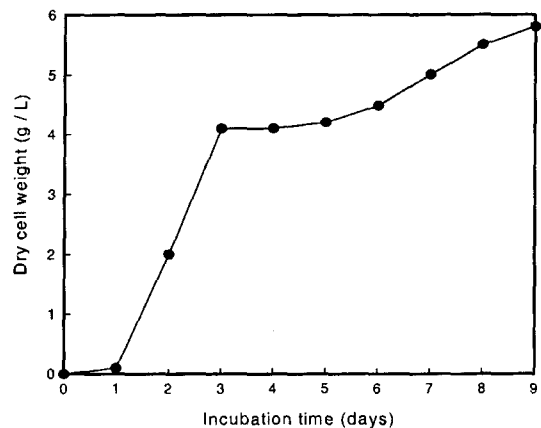


Fig. 6. Effect of incubation time on the production of cell mass from *Monascus* sp. KM 1001. *M. sp.* KM 1001 was incubated on 150 rpm rotary shaker at 28°C for 0 to 9 days.

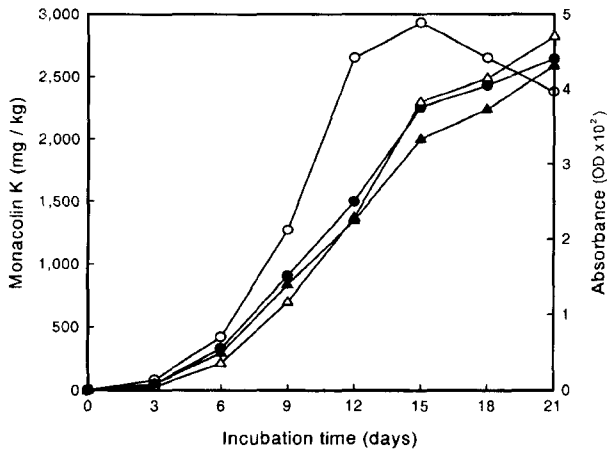


Fig. 7. Effect of incubation time on the production of lactone form monacolin K and *Monascus* pigments. *Monascus* sp. KM1001 was inoculated into 500 g of steamed rice and incubated at 30°C, 85% humidity for 21 days. Monacolin K was extracted with 100% methanol from red rice koji and analyzed by HPLC. *Monascus* pigments were extracted with 80% ethanol from red rice koji. Symbols ○, Concentration of monacolin K; ●, Absorbance at 500 nm; △, Absorbance at 470 nm; ▲, Absorbance at 400 nm.

된 균체를 건조균체량으로 환산하여 0.15 g을 접종하여 항온 항습 장치에서 30°C, 85% 습도로 21일간 배양하였다. 배양이 완료된 홍국을 건조 후, lactone form monacolin K 및 홍국 색소를 추출하여 그 함량을 측정하였다.

Fig. 7에 나타난 바와 같이, monacolin K의 생성량은 배양 3일 이후 급격히 증가하여 배양 15일째 2,930 mg/kg의 monacolin K가 생산되었으며 배양 15일 이후에는 그 함량이 조금씩 감소하였다. 색소생산은 배양 15일까지 급격히 생산량이 증가하였으며, 배양 21일까지 계속적으로 증가하는 양상을 나타내었다.

M. purpureus CCRC31615로부터 0.0378%의 monacolin K가 생산되었으며(14), *Aspergillus terreus* ATCC74135로부터 액체배양에 의해 304 mg/L(2), *A. terreus*로부터 액체배양에 의해 140 mg/L(12), *A. terreus* DRCC122로부터 fed-batch process에 의해 2,000 mg/L(5)의 monacolin K가 생산된 것과 비교할 때 본 연구의 결과로 다량의 monacolin K를 함유하는 홍국의 제조가 가능하리라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2003년도 동일문화장학재단의 학술연구비와 과학기술부·한국과학재단 지정 계명대학교 전통미생물자원 개발 및 산업화 연구센터의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- Friedrich, J., M. Zuzek, M. Bencina, A. Cimerman, A. Strancar, and I. Radez. 1995. High-performance liquid chromatographic

- analysis of mevinolin as mevinolic acid in fermentation broths. *J. Chromatogr. A.* 704, 363-367.
- Hajjaj, H., P. Niederberger, and P. Duboc. 2001. Lovastatin biosynthesis by *Aspergillus terreus* in a chemically defined medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2596-2602.
- Hiroi, T., T. Shima, T. Suzuki, M. Tsukioka, and N. Ogasawara. 1979. Hyperpigment-productive mutant of *Monascus anka* for solid culture. *Agr. Biol. Chem.* 43, 1975-1976.
- Juzlova, P., L. Martinkova, and V. Krent. 1996. Secondary metabolites of the fungus *Monascus*. *J. Ind. Microbiol.* 16, 163-170.
- Kumar, M.S., S.K. Jana, V. Senthil, V. Shashanka, S.V. Kumar, and A.K. Sadhukhan. 2000. Repeated fed-batch process for improving lovastatin production. *Process Biochem.* 36, 363-368.
- Lee, Y.K., D.C. Chen, S. Chauvatcharin, T. Seki, and T. Yoshida. 1995. Production of *Monascus* pigments by a solid-liquid state culture method. *J. Ferment. Bioeng.* 79, 516-518.
- Li, C., M.S. Yan Zhu, M.S. Yinye Wang, M.D. Jia-Shi, J. Chang, and D. Kritchevsky. 1998. *Monascus purpureus*-fermented rice (Red Yeast Rice): A natural food product that lowers blood cholesterol in animal models of hypercholesterolemia. *Nutri. Res.* 18, 71-81.
- Lotong, N., and P. Suwanarit. 1990. Fermentation of ang-kak in plastic bags and regulation of pigmentation by initial moisture content. *J. Appl. Bacteriol.* 68, 565-570.
- Manzoni, M., and M. Rollini. 2002. Biosynthesis and biotechnological production of statins by filamentous fungi and application of these cholesterol-lowering drugs. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58, 555-564.
- 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.
- Morovjan, G., G. Szakacs, and J. Fekete. 1997. Monitoring of selected metabolites and biotransformation products from fermentation broths by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 763, 165-172.
- Strode, J.T.B., L.T. Taylor, A.L. Howard, and D. Ip. 1999. Feasibility of lovastatin analysis by packed column supercritical fluid chromatography with ultraviolet detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 20, 137-143.
- Su, Y.C., J.J. Wang, T.T. Lin, and T.M. Pan. 2003. Production of the secondary metabolites α -aminobutyric acid and monacolin K by *Monascus*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 30, 41-46.
- Wang, H.C., and T.S. Bau. 1977. Pigmentation and antibacterial activity of fast neutron and X-ray-induced strains of *Monascus purpureus* Went. *Plant. Physiol.* 60, 578-581.
- Watanabe, T., A. Yamamoto, S. Nagai, and S. Terabe. 1997. Separation and determination of *Monascus* yellow pigments for food by micellar electrokinetic chromatography. *Anal. Sci.* 13, 571-575.
- Wild, D., G. Toth, and H. Humpf. 2002. New *Monascus* metabolite isolated from red yeast rice. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3999-4002.
- Wu, W.T., P.M. Wang, Y.Y. Chang, T.K. Huang, and Y.H. Chien. 2000. Suspended rice particles for cultivation of *Monascus purpureus* in a tower-type bioreactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 53, 542-544.
- Yongsmith, B., S. Krairak, and R. Bavavoda. 1994. Production of

- yellow pigments in submerged culture of a mutant of *Monascus* spp. *J. Ferment. Bioeng.* 78, 223-228.
20. Yoshimura, M., S. Yamanaka, K. Mitsugi, and Y. Hirose. 1975. Production of *Monascus*-pigments in a submerged culture. *Agri. Biol. Chem.* 39, 1789-1795.
21. Yu, T.S. 1999. Hong-ju and pigments produced by filamentous fungus *Monascus*. *J. Inst. Nat. Sci. Keimyung University* 18, 87-92.

(Received May 31, 2004/Accepted June 4, 2004)

ABSTRACT : Production of Cell Mass and Monacolin K from *Monascus* sp. on Rice Solid Culture
Hyuck-Jun Jung and Tae-Shick Yu (Department of Microbiology, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea)

The optimal conditions for production of *Monascus* sp. KM1001 cell mass on submerged culture and production of monacolin K on rice solid culture were investigated. An overproducing mutant of *Monascus* pigments, KM 1001 mutant, from *Monascus purpureus* KCCM60016 was selected by NTG treatment. The optimal medium for the production of KM1001 mutant cell mass is instructed to be composed of 3% glucose, 2% yeast extract, 0.1% KH_2PO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2% L-asparagine, pH 4.5, and the optimal inoculum size and shaking speed were 1.5×10^6 spores/50 ml medium and 150 rpm, respectively. On optimal conditions, 4.1 g/l of the cell mass was obtained at 28°C for 3 days. The mycelium were inoculated on 500 g of steamed rice using vinyl bag (30.6 × 44 cm) and incubated at 30°C, 85% humidity for 21 days. Lactone form monacolin K was rapidly increased for 2 days and reached highest concentration of monacolin K (2,930 mg/kg) for 15 days, and monacolin K was decreased after 15 days.