

Monascus sp. MK2-2가 생산하는 홍국천연색소의 특성

전춘표 · 김창숙 · 이중복 · 신지원 · 최성연 · 최충식¹ · 이오석¹ · 권기석*

안동대학교 생명자원과학부, ¹(주) 한스바이오

Received September 28, 2006 / Accepted November 20, 2006

Characteristics of Monascus Natural Pigments Produced by Monascus sp. MK2-2. Chun-Pyo Jeon, Chang-Suk Kim, Jung-Bok Lee, Ji-Won Shin, Sung-Yeon Choi, Chung-Sig Choi¹, Oh-seuk Lee¹ and Gi-Seok Kwon. School of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Korea, ¹Hans Bio Co., B.I. center 303, Andong National University, Andong 760-749, Korea – For the production of natural pigments with microbe, the strains which produced monascus pigment were isolated, and then culture condition and extraction condition were investigated. These results are summarized as follows; The strain which can produce monascus natural pigment was isolated from natural microbial sources and we made mutant of this strain with UV(235_{nm}, 30 second) irradiation. The mutant was identified as *Monascus* sp. MK2-2. The optimal culture conditions were investigated optimal medium containing 0.3% rice powder, 0.2% yeast extract, 0.3% NH₄H₂PO₄, and 30°C in a rotary shaker (120 rpm) for 5 days (initial pH 5.0), while the pigment production was determined at 24 hr intervals. The effective carbon sources were wheat flour > rice powder > fructose, and effective nitrogen sources were sodium nitrate > KNO₃ for production of the monascus natural pigment. The pigment capacity is good from 17 to 22 in C/N ratio. The production amount of monascus natural pigment was 0.38 g per 1 kg of rice. Also, extract of red yeast rice had anti-thrombosis activity like a degree of aspirin.

Key words – *Monascus* sp., Monascus natural pigment, Optimal conditions, Anti-thrombosis activity

서 론

홍국(紅麴)은 중국, 대만, 일본 등지에서 오래 전부터 착색, 양조, 방부 등을 목적으로 식품뿐만이 아니라 한약재로도 사용되어 온 *koji*로써 붉은색을 띠는 곰팡이인 홍국균(*Monascus* sp.)을 주로 쌀에 배양시켜 건조시킨 것을 말한다[5,18]. 현재까지 식품공업에서 가장 많이 사용되어 온 색소는 대부분 타르게 합성색소로 그 발암성 등 안전성에 문제가 발생하여 점차 천연색소에 대한 소비자의 요구가 증대됨에 따라 천연색소의 사용량이 점차 증가되고 있는 실정이다[10]. 천연색소는 천연 물질에서 추출하고 정제한 색소로서 인공 합성색소와는 달리 안전성과 신뢰성이 높아 모든 식품의 착색에 사용되고 있는데 특히, 식품에 착색 시 색조가 자연스럽고 거부 반응이 없으므로 사용자가 부담 없이 사용할 수 있고 또한 사용량에 대한 제한도 없다. 천연색소는 식물의 열매, 잎, 뿌리 및 어패류 등에서 추출하고 있고, 미생물을 이용한 천연색소의 생산에도 관심과 연구가 활발하게 진행되고 있다[14]. 이처럼 미생물을 이용한 천연색소의 생산은 계절에 관계없이 원료의 수급이 용이하고 대사의 조절이 용이하며, 균주의 개발을 통하여 질과 양적인 면에서의 향상이 가능하다. 미생물이 생산하는 천연색소에는 *Streptomyces californicus*가 생산하는 청자색소[11], *Serratia marcescens*가 생산

하는 적색소[19], *Phycomyces blakesleeanus*가 생산하는 색소[16], *Streptomyces propurpuratus*와 *Bacillus* sp.의 혼합배양에 의해 생산되는 색소[15], *Monascus anka*에 의한 홍국색소의 생산에 관한 연구[9] 등이 있다. 홍국균은 Ascomycotina 강, Plectomycetes 목, Monascaceae 과에 속하며[1], 이 균의 균사는 홍색을 띠므로 일반적으로 홍국균이라고 부르고 있다. 홍국균은 2000년 전부터 중국, 말레이시아 등에서 주류, 두부, 육류 등의 가공식품에 사용되었으며, 홍국곰팡이는 α -amylase, β -amylase, glucoamylase, lipase 등의 가수분해효소를 생성하며 홍국적색소를 이용한 중국의 홍주(Kaoliang liquor, Shaohsing wine), 홍두부, red-rice 등의 착색에 이용되었다[7]. 이 균은 항균력이 있어서 소화불량, 타상, 이질 및 탄저 등의 치료에 효과가 있다고 본초강목에 기록되어 있다. 홍국에서 monacolin A, J, K 및 그 유도체, GABA (γ -aminobutyric acid), dimeric acid, 색소와 미지의 성분 등을 유도할 수 있으며, 이들은 혈당 강하, 혈압 강하, 항산화, 항생, 항혈전, 착색 및 방부작용이 있다. 이 같은 항생물질에 대한 저항성을 이용하여 육류의 저장시 냉장하기 전에 사용하였으며 근래에는 햄, 소시지 및 어묵의 가공시에 방부 목적으로 이용되며, 토마토케첩 등의 제조시에 식품의 착색 목적으로도 쓰이고 있다[17].

이러한, 홍국 적색색소와 홍국 황색색소는 우리나라의 식품첨가물공전에 착색료로 등록되어 있으며, 바이오기술을 이용한 천연착색료로 분류된다.

본 연구에서는 자연계의 각종 식품관련 균원 시료로부터

*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5909, Fax : +82-54-820-6252
E-mail : gskwon@andong.ac.kr

유색집락을 형성하거나 색소를 분비하는 균주를 선발하였으며, 분리한 균주들 중에서 전통누룩(곡자)으로부터 분리되어 홍국 천연색소를 생산하는 균주 및 한국식품연구원으로부터 분양받은 *Monascus*속 균주를 대상으로 홍국색소 생성능을 조사하여 우량 균주를 선발하였다. 그 중 홍국색소 생산능이 가장 우수한 *Monascus purpureus* KFRI 1134에 UV조사를 통하여 색소의 생성능이 우수한 MK2-2 돌연변이 균주를 개발하였고, 식품에 첨가할 수 있는 천연색소를 생산할 목적으로 홍국 천연색소의 생산조건 검토와 함께 항혈전능을 조사하였기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

균주의 분리 및 선발

홍국천연색소를 분비하는 균주를 선발하기 위하여 한국식품연구원에서 분양받은 균주 및 자연계의 각종 식품관련 균원 시료를 삼단희석법으로 희석하여 YPD (yeast extract 0.5%, peptone 0.5%, glucose 1.0%) 배지에 도말하고 30°C에서 5일간 배양하면서 색소를 분비하며 유색의 집락을 형성하는 균주를 선발하였다. 분리균주는 UV(235nm, 30 second) 조사하여 변이주 형성을 유도하였으며, 집락의 크기와 색소의 분비상태를 모균주와 비교하여 홍국천연색소의 생산량이 높은 변이주를 선발하여 MK2-2라 명명하고 이를 본 실험에 사용하였다.

균주의 보존

균주의 장기적인 활성유지 및 보존을 위해서 MK2-2 균주를 25% (v/v) glycerol 용액에 현탁하여 -20°C에 냉동 보관하였다. 또한 단기보존을 위해 YPD배지에 한천을 첨가한 고체배지에 접종하여 30°C에서 5일 동안 배양하여 균의 증식유무를 확인 후 4°C에 보관하면서 사용하였다.

균주의 배양

색소 생산을 위해 *Monascus* sp. MK2-2의 전배양은 색소 생산용 배지로 널리 알려진 Lin's medium (rice powder 5%, NaNO₃ 0.15%, MgSO₄ · 7H₂O 0.1% 및 KH₂PO₄ 0.25%)[13]을 사용하였으며, 종배양은 전배양액 1% (v/v)를 접종하여 30°C에서 120 rpm의 속도로 5일간 진탕 배양하였고, 본 배양은 종 배양 배지와는 다른 별도의 배지에 종 배양액을 1% (v/v)로 첨가한 후 초기 pH 5.0, 배양온도 30°C에서 120 rpm으로 5일간 진탕 배양하였다.

홍국 천연색소 생산을 위한 액체배양조건 조사

Monascus sp. MK2-2의 홍국 천연색소 생산에 영향을 미치는 배지조성의 영향을 조사하기 위하여 Glucose 20 g, MSG (monosodium glutamate) 12.6 g, K₂HPO₄ 2.4 g,

KH₂PO₄ 2.4 g, MgSO₄·7H₂O 1 g, KCl 0.5 g, ZnSO₄·7H₂O 0.01 g, FeSO₄·7H₂O 0.001 g 및 MnSO₄ 0.003 g을 기본 배지로 하여 탄소원, 질소원의 종류 및 농도의 영향을 조사하고, 최적 배지 조건과 배양 조건하에 30°C, 5일 동안 배양하면서 일정 간격으로 배양액을 취하여 홍국 천연색소 생성 정도를 측정하였다.

홍국 천연색소 생산을 위한 고체배양조건 조사

쌀을 침지·세척한 후, 배양 용기에 넣어서 121°C에서 30분간 증자하였다. 30°C부근으로 온도가 떨어지면 최적배지에서 배양한 배양액을 2% (v/v)가 되도록 집중하여 30°C에서 배양하였고, 홍국균 배양체의 덩어리를 간헐적으로 흔들어서 주어 덩어리 형성을 방지시켰다.

색소의 정량

색소의 측정을 위하여 배양액을 12,000 rpm으로 15분간 원심분리하여, 그 상등액을 UV-VIS spectrophotometer (Hewlett Packard 8453, Germany)를 이용하여 400 nm와 500 nm에서 측정된 흡광도 값을 각각 황색색소와 적색색소의 값으로 나타내었다. 이때, 500 nm에서의 흡광도 1.0은 0.38 mg/ml의 조색소에相当하였다.

항혈전능 조사

홍국추출물의 항혈전능을 조사하기 위하여 thrombin 저해활성을 측정하였다. 37°C에서 0.5U thrombin (Sigma Co., USA) 50 µl와 20mM CaCl₂ 50 µl, 다양한 농도의 시료 추출액 10 µl를 Amelung coagulometer KC-1A (Baxter Co., Japan)의 튜브에 혼합하여 2분간 반응시킨 후, 혈장 100 µl를 첨가하여 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였다[8]. 대조구로는 aspirin (Sigma Co., USA)을 사용하였으며, 용매 대조구로는 시료 대신 DMSO를 사용하였다. DMSO의 경우 32.1초의 응고시간을 나타내었다. Thrombin 저해활성은 3회 이상 반복한 실험의 평균치로 나타내었으며, 시료 첨가시의 응고시간을 용매 대조구의 응고시간으로 나눈 값에 100을 곱하여 저해율(%)로 나타내었다[12].

결과 및 고찰

균주의 분리

한국식품연구원에서 분양받은 *Monascus purpureus* KFRI 1134 균주로부터 UV (235nm, 30 second) 조사를 통해 변이주 형성을 유도하였으며, 집락의 크기와 색소의 분비상태를 모균주와 비교하였을 때 홍국천연색소의 생산능이 가장 우수한 변이주를 선발하여 MK2-2라 명명하고 이를 본 실험에 사용하였다.

홍국 천연색소 생산을 위한 액체배양조건의 조사

Monascus sp. MK2-2가 생산하는 홍국색소의 생산을 위하여 탄소원과 질소원의 종류에 따른 영향을 조사하였다.

탄소원의 영향

홍국색소의 생산에 영향을 미치는 탄소원의 영향을 조사하기 위하여 MSG 12.6g, K₂HPO₄ 2.4g, KH₂PO₄ 2.4g, MgSO₄·7H₂O 1g, KCl 0.5g, ZnSO₄·7H₂O 0.01g, FeSO₄·7H₂O 0.001g, MnSO₄ 0.003g을 기본배지로 하여 glucose, galactose, maltose, sucrose, lactose, dextrin, fructose, glycerol, EtOH, tapioca, mannitol, soluble starch, rice powder 및 wheat flour를 탄소원으로 각각 1.0% 첨가하여 30℃에서 5일 동안 배양하여 황색색소와 적색색소의 생산량을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다.

탄소원이 색소 생산에 미치는 영향을 조사한 결과, Fig. 1과 같이 wheat flour > rice powder > fructose > corn starch > tapioca의 순으로 색소의 생성능력이 높은 것으로 조사되었으며, wheat flour와 rice powder가 다른 탄소원에 비하여 색소생성능이 우수한 것은 색소생산에 영향을 미치는 미량의 아미노산, 무기염, 비타민 및 생육인자를 포함하고 있기 때문인 것으로 생각된다. 또한, rice powder 이외의 곡류 및 서류에 대한 탄소원 농도별 색소의 생성능을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 그 결과, Fig. 2와 같이 potato starch, corn starch, buckwheat flour 및 soybean powder를 농도별로 첨가했을 경우에 색소의 생성이 높은 것을 알 수 있었다. corn starch는 1% 첨가시에 색소생성능이 가장 높았으며 rice powder, potato starch, buckwheat flour, soybean powder 및 wheat flour는 3% 이상의 농도에서 색

소생성능이 높았다.

예비실험에서 각 시료별 6% 이상의 첨가농도에서는 배지 점성의 증가와 진탕효과의 감소로 인하여 색소생성능이 감소하는 것으로 나타났다. 특히, soybean powder와 wheat flour의 첨가가 색소의 생성능이 높아 단순한 색소의 생산만을 위한다면 서류와 곡류의 이용이 보다 효율적일 것으로 판단된다. 하지만, 본 실험의 목적이 rice를 이용한 천연 홍국색소의 생산이므로 rice powder에 대한 실험에 초점을 두어 이후의 실험을 진행하였다.

질소원의 영향

홍국 천연색소 생산을 위한 효소의 생합성과 미생물 증식에 중요한 인자인 무기질소원과 유기질소원의 첨가에 따른 색소의 생성능을 조사하였다. 질소원은 *Monascus* sp.의 포자의 형태 및 수에 영향을 미쳐 색소생성에 영향을 미친다고 알려져 있다[3].

기본배지로는 K₂HPO₄ 2.4 g, KH₂PO₄ 2.4 g, MgSO₄·7H₂O 1 g, KCl 0.5 g, ZnSO₄·7H₂O 0.01 g, FeSO₄·7H₂O 0.001 g, MnSO₄ 0.003 g을 첨가하였으며, peptone, yeast extract, casamino acid, soybean powder, sodium nitrate, ammonium sulfate, (NH₄)₂HPO₄, KNO₃, NH₄Cl 및 malt extract를 0.1%(w/v)로 넣어 주고, 30℃에서 5일 동안 배양하여 황색색소와 적색색소의 값을 측정된 결과는 Fig. 3과 같다.

홍국 천연색소의 생산을 위한 질소원의 영향을 조사한 결과 Fig. 3과 같이 sodium nitrate를 첨가한 경우 KNO₃를 첨가한 경우에 비하여 색소의 생성능이 높았으며, 다른 질소원에서는 색소의 생성능이 약한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 유기질소원이 색소생산에 효과적이라는 Jin[20]의 보고와는 상이하였으나, 무기질소원이 색소생산에 유리하다는 Carels 와 Shepherd[3]의 결과와는 일치하였다.

무기질소원인 sodium nitrate를 사용한 경우 다른 무기질소원보다 색소생성능이 좋은 이유는 nitrate를 가진 배지의 경우 배양초기에 영양성분의 소모는 분생자의 형성에 의해 필요한 물질로 전환되어 nitrogen limitation으로 인한 대사경로의 저해로 균체의 성장은 급격히 증가하지 않으나, ammonium이 첨가된 배지에는 배양초기에 영양물질이 균체 성장에 이용되어 ammonium의 소비로 인한 nitrogen limitation이 없으므로 색소가 생산되기 전에 균체의 성장이 이루어진다고 Carels와 Shepherd[3]가 보고하였으며, Broder와 Koehler[2]은 색소의 질과 양에 관한 연구에서 액체배지의 색소량은 배지내의 수용성 탄백질이나 아미노산 양에 의해 영향을 받는다고 보고하였다.

홍국 천연색소 생산을 위한 고체배양조건 조사

쌀을 원료로 하여 홍국 천연색소를 생산하기 위해 초기 수분함량을 24, 28, 30, 32, 및 36%로 조절하여 색소생산량을

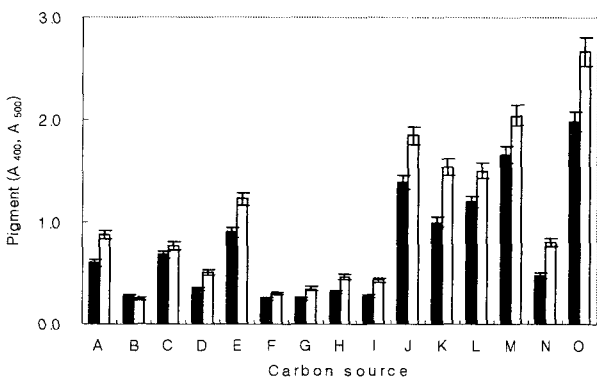


Fig. 1. Effect of various carbon sources on the production of the monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2-2 in submerged culture. (A; glucose, B; galactose, C; maltose, D; sucrose, E; soluble starch, F; lactose, G; dextrin, H; EtOH, I; glycerol, J; fructose, K ; corn starch, L; tapioca, M; rice powder, N; mannitol and O; wheat flour, □-(A₄₀₀, Yellow pigment), -■-(A₅₀₀, Red pigment)

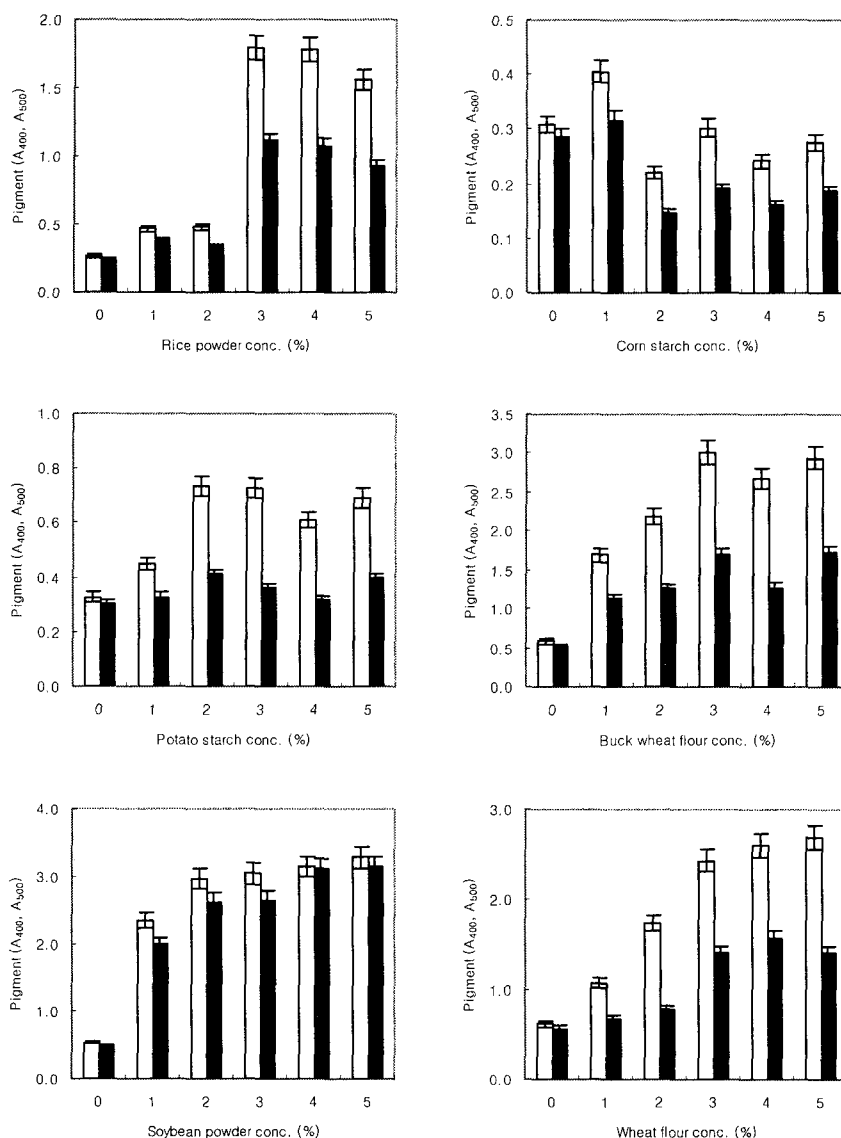


Fig. 2. Effect of carbon sources and each carbon concentrations for the production of monascus natural pigment, -□-(A₄₀₀, Yellow pigment), -■-(A₅₀₀, Red pigment).

측정한 결과는 Fig. 4와 같다.

홍국 천연색소의 생산을 위해 쌀을 물에 침지하여 *Monascus* sp. MK2-2 배양액을 접종한 후 초기 수분함량에 따른 색소의 생성능을 조사한 결과 Fig. 4와 같이 초기 수분함량이 28%일 때 가장 높은 색소의 생성능을 나타내었다. 사용한 쌀의 수분함량은 9~12%였으며, 세척 후 쌀 표면에 흐르는 물을 자연 배출시킨 후에는 22% 내외의 수분함량이 되었다. 초기 수분함량이 24%일 때는 배양기간 중 건조하여 색소의 생성능이 낮았으며, 30% 이상일 때는 쌀 표면이 포화수분 이상의 질퍽한 상태로 되어 공기의 공급이 차단됨에 따라 생육 및 색소의 생성에 있어서 나쁜 영향을 미치는 것으로 나타나 이후의 배양에서는 최적 수분함량을 28%로 조절한 후 실험을 진행하였다.

항혈전능 조사

홍국추출물의 항혈전 활성을 조사한 결과 Fig. 5와 같이 5, 10, 20, 40 mg/ml의 농도에서 각각 344.83%, 359.88%, 382.96% 및 542.49%의 높은 항혈전 활성을 나타내는 것을 알 수 있었으며, 홍국추출물의 첨가 농도가 높아짐에 따라 항혈전 활성 또한 높아지는 것으로 나타났다. 또한, 혈행 개선제로 사용되고 있는 aspirin이 40 mg/ml의 농도에서 540%의 활성을 나타내는 것을 알 수 있었다.

대조구로 사용한 aspirin은 예로부터 해열·진통·소염제로 사용되었으며, 혈전 생성에 중요한 역할을 하는 프로스타글란딘의 합성을 억제함으로써 혈소판 응집을 억제하기 때문에 최근 심근경색 예방 목적으로 널리 사용되고 있다 [6]. 이러한 aspirin 투여로 혈전색전성 혈관질환의 위험을

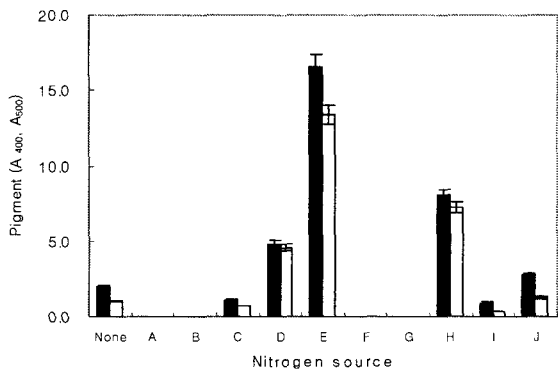


Fig. 3. Effect of various nitrogen source on the production of the monascus natural pigments by *Monascus purpureus* MK2-2 in submerged culture. (A; peptone, B; yeast extract, C; casamino acid, D; soybean flour E; sodium nitrate, F; ammonium sulfate, G; $(NH_4)_2HPO_4$, H; KNO_3 , I; NH_4Cl , J; malt extract, \square -(A₄₀₀, Yellow pigment), \blacksquare -(A₅₀₀, Red pigment)

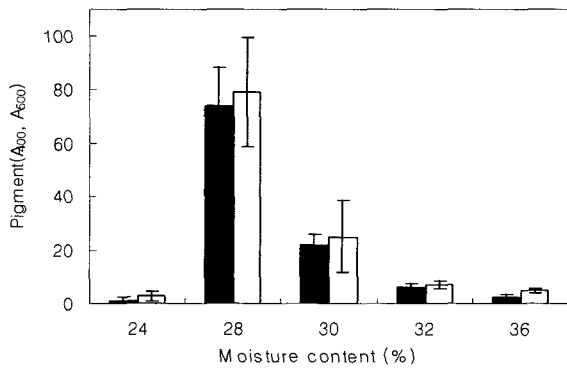


Fig. 4. Effect of initial moisture for the production of monascus natural pigment, \square -(A₄₀₀, Yellow pigment), \blacksquare -(A₅₀₀, Red pigment).

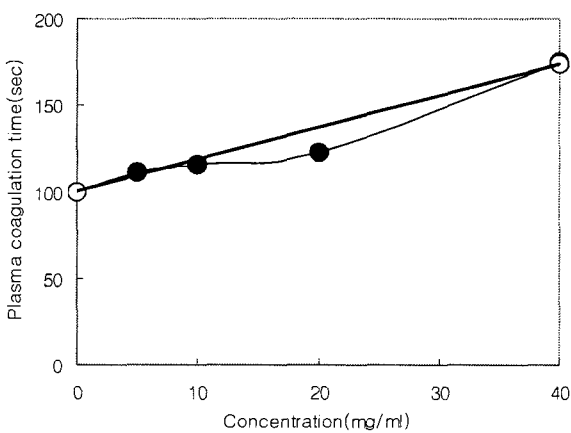


Fig. 5. Anti-thrombosis activity measured by plasma coagulation analysis. (○--○; Aspirin, ●--●; Extract of *Monascus* sp. MK2-2)

약 25% 감소시킬 수 있는 것으로 보고[4]되어 있으며, Fig. 5와 같이 aspirin과 홍국추출물의 농도별 thrombin 저해활성이 거의 일치하였으므로 *Monascus* sp. MK2-2를 쌀에 배양시켜 섭취할 경우에도 비슷한 효과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

Monascus purpureus KFRI 1134 균주에 대해 UV (235_{nm}, 30 second) 조사를 통한 변이주 형성을 유도하여 *Monascus* sp. MK2-2를 분리하였다. 홍국 천연색소 생산의 최적조건은 rice powder 0.3%와 0.2% yeast extract, 0.3% $NH_4H_2PO_4$ 의 배지 조성에서 초기 pH 5.0, 배양온도 30℃ 및 배양기간은 5일이었으며, 홍국 천연색소 생산에 미치는 탄소원의 영향은 wheat flour > rice powder > fructose 순으로 높았다. 질소원은 sodium nitrate > KNO_3 의 순서로 생성능이 높았으며, C/N ratio가 17~22일 때 색소의 생성능이 우수하였다. Anti-thrombosis activity 측정결과 *Monascus* sp. MK2-2 추출물은 aspirin과 유사한 항혈전 기능을 지니고 있음을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 경상북도/안동시 바이오산업기술개발(산업화) 과제(B03-11-03)의 지원에 의한 연구결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Ainsworth, G. C., F. K. Sparrow and A. S. Sasseman. 1973. *The Fungi*. Academic Press. New York, p.35.
2. Broder, C. U. and P. E. Koehler. 1980. Pigments produced by *Monascus purpureus* with regard to quality and quantity. *J. Food Sci.* **45**, 567-569.
3. Careles, M. and D. Shepherd. 1977. The Effect of Different Nitrogen Sources on Pigment Production and Sporulation of *Monascus* species in Submerged, Shaken Culture. *J. Can. Appl. Microbiol.* **23**, 1360-1372.
4. Dietrich, W., A. Barankay, G. Dilthey, R. Henze, E. Niekan and F. Sebening. 1989. Reduction of homologous blood requirement in cardiac surgery by intraoperative aprotinin application : Clinical experience in 152 cardiac surgical patients. *J. Thorac Cardiovasc surg.* **37**, 92-98.
5. Editorial department. 2000. Useful microbe as health food material. *Food and development.* **35**, 44-48.
6. Gavaghan, T. P., V. Gebeski and D. W. Baron. 1991. Immediate post-operative aspirin improves vein graft patency early and late after coronary artery bypass graft

- surgery. *Circulation* **83**, 1526-1533.
7. Hwang, J. and T. H. Hseu. 1980. Specificity of the Acid Protease from *Monascus kaoliang* Toward the-B-chain of Oxidized Insulin. *Biochemica et Biophysica Acta*. **614**, 607-612.
 8. Hsieh, K. H. 1997. Thrombin interaction with fibrin polymerization sites. *Thrombosis Research*. **86**, 301-316.
 9. Kang, S. G., J. W. Rhim, S. T. Jung and S. J. Kim. 1996. Production of Red and Yellow Pigments from *Monascus anka* in a Jar Fermenter. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**, 756-762.
 10. Kim, J. Y. and K. H. Kim. 1997. Isolation and characterization of *Bacillus* sp. PY123 producing water-soluble yellow pigment. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**, 454-458.
 11. Lee, B. H. and S. H. Lee. 1994. Production of Bluish Purple Pigment from *Streptomyces californicus* KS - 89. *Korean J. Biol. Bioeng.* **9**, 147-156.
 12. Lee, H. J., j. S. Kim, G. Y. Heo, K. B. Lee, I. K. Rhee and K. S. Song. 1999. Inhibitory activities of Basidiomycetes on prolyl endopeptidase, acetylcholine esterase and coagulation. *J. Korean Soc. Agri. Chem. Biotechnol.* **42**, 336-343.
 13. Lin, C. F. 1973. Isolation and cultural conditions of *Monascus* sp. for the production of pigment in a submerged culture. *J. Ferment. Technol.* **51**, 107-114.
 14. Lin, C. F. and H. Iizuka. 1982. Production of extracellular pigments by mutant of *Monascus kaoliang* sp. nov. *Appl Environ. Microbiol.* **43**, 671-676.
 15. Oshima, M., N. Ishizaki, A. Handa, Y. Tonooka and N. Kanda. 1981. Formation of a Purplish-Red Pigment by Mixed Culture of *Streptomyces propurpuratus* with Other Microorganism. *J. Ferment. Technol.* **59**, 209-213.
 16. Shlomai, P., B. A. Ami and P. Margalith. 1991. Production of Carotene stereoisomers by *Phycomyces blakesleeanus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **34**, 458-462.
 17. Sweny, J. G., M. C. Estrada-Valdes, G. A. Iacobucci, H. Sato and S. Sakamura. 1981. Photoprotection of the Red Pigments of *Monascus anka* in Aqueous Media by 1,4,6-Trihydroxynaphthalene. *J. Agric. Food Chem.* **29**, 1189-1193.
 18. Wild, D., G. Toth and H. U. Humpf. 2002. New *Monascus* metabolite isolated from red yeast rice (angak, red koji). *J. Agric. Food Chem.* **50**, 3999-4002.
 19. Williams, R. P. 1973. Biosynthesis of Prodigiosin, A Secondary Metabolite of *Serratia marcescens*. *Appl. Microbiol.* **25**, 396-402.
 20. Yu, C. B. and Y. H. Jin. 1998. Isolation and cultural condition of *Monascus* sp. YH-69 for the Production of the Pigments. *Korean J. of Life Science* **8**, 1-7.