J. Fd Hyg. Safety 12(1), 15 - 19(1997)

홍국의 황색색소 Monascin에 대한 안정성 연구

박영현† · 채지민
순천향대학교 자연과학대학 식품영양학과

Stability of Monascin Pigment Isolated from *Monascus purpureus*

Young-Hyun Park† and Ji-Min Chae
Department of Food Science and Nutrition, Soonchunhyang University, Asan, 336-745 Korea

ABSTRACT—The stability of monascin yellow pigment isolated from Monascus purpureus was determined over a period of storage for the wide range of pH, various metal ions and antioxidants. The absorption maximum of monascin pigment was 385 nm. Monascin pigment was more stable in acid solutions than in alkaline (pH 9 and pH 11) during storge period. It was also observed the reduction of absorption was occur after 3 days storage. The stability of monascin pigment was not changed by adding the various metal ions of the concentration of 10^{-4} M, however, it was unstable by adding the Zn^{2+}, Al^{3+} and Fe^{3+} of 10^{-3} M concentration. The antioxidants, BHA, BHT, cysteine and L-ascorbic acid, have no effects on the stability of monascin yellow pigment. Thus, it may be concluded that the monascin pigment is stable and useful food additives as the natural colorant except for the alkaline food and food containing the Zn^{2+}, Al^{3+} and Fe^{3+}.

Key words □ *Monascus purpureus*, monascin, stability, pH, metal ions, antioxidants

식품의 색은 기호성 및 품질에 큰 영향을 주는 요인이라고 할 수 있다.[1] 그런 이유로 식품의 착색에 대한 다양한 노력이 기울여져 왔고, 여러 종류의 착색료가 개발되어 왔다.[2] 그중에 타르계 합성색소는 물리화학적 안정성으로 식품 가공 및 저장 과정중에 많이 이용되어 왔으나, 소비자의 인식과 식품위생 및 인체의 안전성으로 인하여 천연착색료의 필요성이 요구되고 있는 실정이다. 천연착색료중에 홍국은 전통적으로 중국 및 동남아 지역에서 술, 두부, 고기 및 야채의 가공에 이용되어져 왔고, Went가 1895년 *Monascus purpureus* 곰팡이를 분리한 이래 균주선발, 배양조건, 색소의 분리 및 이용 등의 연구[3-10] 뿐만 아니라 항균작용, 콜레스테롤 합성 및 monoamine oxidase의 억제작용 등의 생리활성을 갖는 2차 대사물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.[2]

천연착색료는 가공 및 저장시 변색의 화학적 안정성에 대한 문제점이 크다고 하겠다. 예를 들면, 자근에서 분리한 식물색소 acetylshikonin과 isobutylshikonin은 온도와 Fe^{++}, Cu^{++} 등의 금속이온에 크게 영향을 나타내지 않았지만, pH에는 불안정하여 푸른색으로 변색을 일으키며,[14] 진도홍주색소 *naphthoquinone*류는 보존중 광(가시영역), 온도, pH, 금속이온 등에 변색을 받아서 상품가치가 떨어진다고 한다.[15] 홍국은 내열성이 강하고 사용가능한 pH 범위도 광범위하며 염착성도 안정하나 내광성이 약하다고 한다.[16] 그러나, 홍국은 현재까지 알려진 황색색소(monascin, ankaflavin), 적색색소(rubropunctatin, monascorubin) 그리고 자색색소(rubropunctamine, monascorubramine) 등[17-20]의 다양하고 복잡한 색소성분들로 인하여 안정성에 미치는 영향은 아직 명확하게 밝혀져 있지 않다고 하겠다. 최근, 박[21]은 홍국균 *Monascus purpureus*에서 황색색소를 분리하여 화학적 특성을 보고하였다. 이 방법에 따라 monascin 황색색소를 대량으로 순수 분리하여 안정성에 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

본 연구는 *Monascus purpureus*에서 분리된 monascin 황색색소에 대한 실온에서 21일 저장중 pH, 금속이온 및 항산화제 등의 안정성에 대하여 연구하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

배양조건

Monascus purpureus Went(DSM 1379)를 malt extract 20

† Author to whom correspondence should be addressed.

g, pepton 15 g, yeast extract 3 g, glucose 20 g, agar 15 g 등의 배지조성에 따라 25°C에서 pH를 5.5~6.0으로 맞춘 후 평판배지에 10일간 배양하였다.

황색색소 monascin의 분리

평판배지의 집락을 methanol로 추출하여 농축한 methanol 추출물을 hexane, ethylacetate, n-buthanol, 증류수 등의 용매 순서로 추출하였다. 박[21]의 분리방법에 따라 ethylacetate분획을 silicagel컬럼에서 용매(hexane/ethylacetate=2/1)로 용출되는 흡광도 400 nm에서 강한 흡수력을 갖는 분획을 분취용 칼럼(Shimpack ODS, 20×250 mm)을 사용하여, HPLC(80% methanol, 8 ml/min, 400 nm)로 분리 정제하여 monascin을 얻었다.

pH에 대한 안정성

Monascin 황색색소의 pH에 대한 영향을 알아보기 위하여 pH 3, pH 5 및 pH 7 등은 citrate-phosphate 완충용액 그리고 pH 9와 pH 11은 glycine-NaOH 완충용액을 사용하였고, monascin의 최종농도가 0.05 mM로 하였다. 이 색소 용액을 실온의 자연 광선 조건에서 저장하면서 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21일째에 UV-Visible spectrophotometer(model 1601, shimadzu)을 이용하여 200 nm~600 nm파장에서 색소의 흡광도를 측정하였다.

금속이온에 대한 안정성

금속이온이 monascin에 미치는 영향을 알아보기 위하여 1가 무기이온(NaCl, KCl), 2가 무기이온($ZnCl_2$, $MgCl_2$, $CaCl_2$, $CuCl_2$), 3가 무기이온($FeCl_3$, $AlCl_3$)을 pH 7 citrate-phosphate 완충용액 에 10^{-3} M과 10^{-4} M이 되도록 녹인 후 사용하였다.

Monascin 0.05 mM에 금속이온의 최종 함량이 10^{-3} M, 10^{-4} M이 되도록 조절한 후 실온의 자연광선 조건에서 저장하면서 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21일째에 spectrophotometer을 이용하여 200 nm~600 nm파장에서 색소의 흡광도를 측정하였다.

항산화제에 대한 안정성

Monascin 0.05 mM에 항산화제 BHA, BHT, cysteine, L-ascorbic acid 등의 최종함량이 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M이되도록 pH 7 citrate-phosphate 완충용액에 녹인 후 실온의 자연 광선 조건에서 저장하면서 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21일째에 spectrophotometer을 이용하여 200 nm~600 nm파장에서 색소의 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

대부분 식품의 pH 범위인 pH 3~7과 알카리 범위인 pH 9~11에서 pH별로 조절한 황색색소 monascin의 안정성을 살펴보았다. 홍국균(*Monascus purpureus* Went)에서 분리한 monascin 황색색소는 cyclohexenone의 화학구조로 UV-visible spectrum에서 최대 흡수파장이 385 nm로 나타났다 (Fig. 1). 최대 흡광도를 기준으로 보면, 저장기간에 따른 pH별 monascin의 흡수스펙트럼의 변화는 Fig. 2에서와 같이 산성 및 중성에서 저장 21일 동안 흡광도의 변화가 거의 없지만, pH 9와 11인 알카리성에서 저장일이 지날수록 비교적 흡광도의 감소치가 증가하였다. 저장 시작일의 흡광도를 100% 기준으로 하였을 때, 저장 21일째에 pH 9는 40%, pH 11은 80%의 흡광도의 감소를 나타내었다.

Monascin의 흡수파장인 200~600 nm에서의 pH별 흡광도의 변화는 Fig. 3에서와 같이 pH 3(pH 5)과 pH 7에서는 385 nm에서의 흡광도의 변화가 거의 없지만, pH 9와 pH 11에서 저장일이 지날수록 흡광도가 낮아지는 것을 관찰할 수 있었다. 이로 미루어 monascin 황색색소는 알카리에서 불안정한 것을 확인 할 수 있었다. Monascin 황색색소가 산성범위에서 안정하며, 대부분 식품의 pH가 3.0~7.0사이이므로 이 색소의 식품에 대한 적용범위는 넓을 것으로 사료

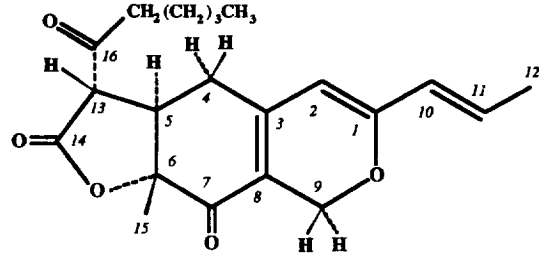

Fig. 1. Chemical structure of monascin yellow pigment.

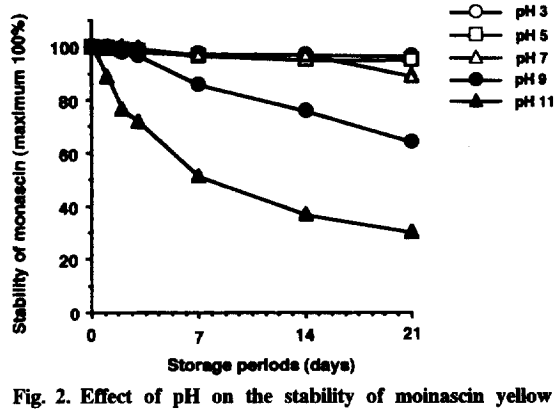

Fig. 2. Effect of pH on the stability of moinascin yellow pigment during storge periods at room temperature.

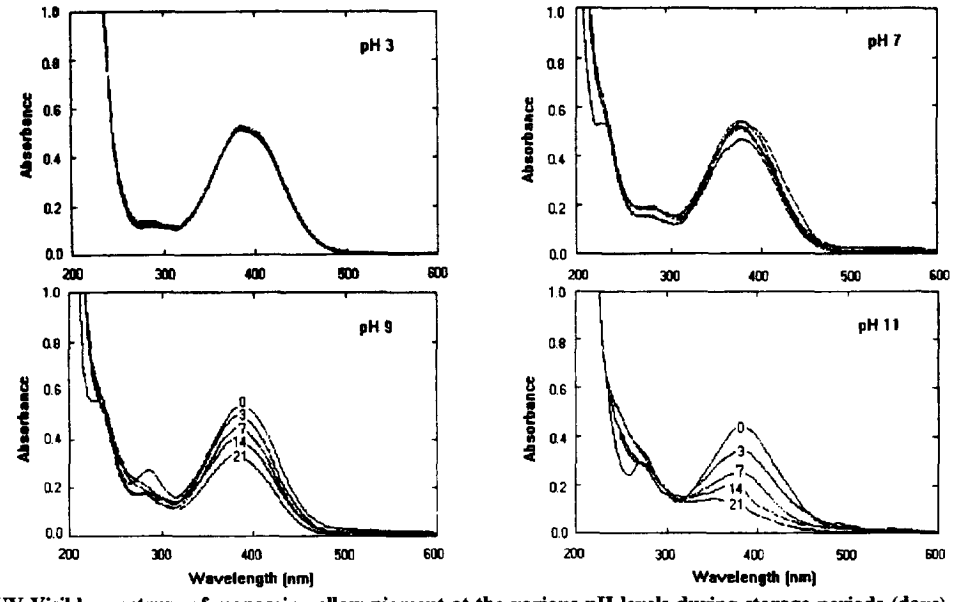

Fig. 3. UV-Visible spectrum of monascin yellow pigment at the various pH levels during storage periods (days).

된다.

식품공전에 중금속의 규격기준은 따로 정하여지지 아니한 식품의 경우 10 mg/kg을 초과하여서는 안되므로 실험농도는 1~10배 희석한 10^{-3}~10^{-4}M로 설정하였다. 8종의 금속이온이 monascin 색소에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 1과 같다. Monascin에 농도별로 금속이온을 첨가하여 측정한 시작일(0일)의 흡광도를 100%로 하였을 때, Na^{+}, K^{+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Cu^{2+} 등의 금속이온은 10^{-3} M~10^{-4} M 농도에서는 별다른 영향이 없었으나, Zn^{2+}와 Al^{3+}의 경우 10^{-3} M 농도에서 저장 1일째부터 흡광도가 급격히 감소하여 저장 21일째에 30%정도 monascin의 최대 흡수파장인 385 nm에서 흡광도가 감소하였다. Fe^{3+}의 경우 10^{-3} M 농도에서는 저장 시작일부터 다량의 혼탁이 발생하고 흡광도가 급격히 낮아져 안정성에 치명적인 해를 나타내었는데, 10^{-4}M 농도에서는 저장기간동안 20%정도 흡광도의 감소를 나타내었다. 이와같은 혼탁성 물질은 monascin과 결합하여 불용성인 Fe-monascin로 추정하였다. Rhodopsendomonas viridis의 천연식물색소에도 금속이온 Fe^{3+}이 10^{-2} M농도에서 1일경과부터 혼탁이 발생하며 신속히 퇴색하여 안정성에 불안정함을 보고하였다.[22] 금속이온 가운데 알루미늄, 아연, 주석, 철 등은 환원제로 작용하므로 일반적인 색소의 퇴색을 일으킬 수 있으며 구리는 색소를 어둡게 하는 경향이 있으므로 합성 및 천연 색소를 첨가하는 가공 공정이나 가공 후 저장 및 유통시에 이상과 같은 금속과의 접촉을 금지하고 있다.[23] 또한, 금속이온은 전자 공여체 및 수용체로 작용할 수 있으므로 친전자성 중심부를 불안정하게 하여 발색단의 파괴 및 관련된 화학결합의 재배열을 유발하여 결국 변색을 일으키게 된다.[24] 이상과 같이 황색색소

Table 1. Effect of metal ions on the stability of monascin yellow pigment during storage periods (days) at room temperature *monascin 0.05 mM only

metal ions. \ days		0	1	2	3	7	14	21
control*		100	100	100	98	96	96	93
KCl	10^{-3} M	100	94	94	94	93	89	89
	10^{-4} M	100	98	96	96	95	93	86
NaCl	10^{-3} M	100	100	100	94	94	91	88
	10^{-4} M	100	98	96	96	95	93	90
$CaCl_2$	10^{-3} M	100	98	97	97	95	94	94
	10^{-4} M	100	100	98	96	96	92	92
$CuCl_2$	10^{-3} M	100	95	93	93	90	90	88
	10^{-4} M	100	100	100	100	98	98	95
$MgCl_2$	10^{-3} M	100	96	95	95	95	93	90
	10^{-4} M	100	100	96	96	96	96	94
$ZnCl_2$	10^{-3} M	100	70	70	69	69	69	69
	10^{-4} M	100	100	100	96	93	92	88
$AlCl_3$	10^{-3} M	100	100	98	95	90	85	81
	10^{-4} M	100	98	95	93	90	90	87
$FeCl_3$	10^{-4} M	100	97	97	95	95	87	84

Table 2. Effect of antioxidants on the stability of monascin yellow pigment during storage periods (days) at room temperature *monascin 0.05 mM only

antioxidants	days	0	1	2	3	7	14	21
control*		100	100	100	98	96	96	93
BHA	10^{-4} M	100	96	96	96	96	96	95
	10^{-5} M	100	100	100	100	98	98	97
	10^{-6} M	100	100	100	98	98	98	96
BHT	10^{-4} M	100	89	89	88	88	88	88
	10^{-5} M	100	93	91	91	90	90	90
	10^{-6} M	100	100	100	98	98	98	98
cysteine	10^{-4} M	100	98	95	95	95	93	93
	10^{-5} M	100	100	100	98	98	98	97
	10^{-6} M	100	100	100	100	99	98	97
L-ascorbic acid	10^{-4} M	100	100	95	95	89	83	83
	10^{-5} M	100	96	93	92	92	92	91
	10^{-6} M	100	100	100	100	98	98	97

monascin는 식품의 천연착색료로 사용할 때에는 Zn^{2+}, Al^{3+} 및 Fe^{3+} 등이 존재하지 않는 용기에서 사용하고, 가공 공정 중 이들이 제거된 식품에 사용하면 높은 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

식품첨가물공전에 허용된 산화방지제로 알려진 BHA과 BHT는 사용식품에 따라 0.1~1 g/kg 이하로 첨가하도록 되어 있어 실험농도는 10~1000배 희석한 10^{-4}~10^{-6} M로 설정하였다. 그래서, BHA, BHT, cysteine, L-ascorbic acid를 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M 농도로 monascin 색소용액에 첨가하여 최대 흡수파장인 385 nm에서의 흡광도를 검토하였다. Table 2는 황색색소 monascin에 농도별로 항산화제를 첨가하여 측정한 0일의 흡광도를 100%로 하여 나타낸 결과로 산화방지제는 그다지 큰 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다. 이로 미루어 식품의 사용범위가 넓을 것으로 사료된다.

국문요약

홍국균 *Monascus purpureus*에서 분리된 황색색소 monascin는 385 nm에서 최대 흡수파장을 나타내며, 실온의 21일 저장 중 pH에 의한 영향은 산성에서 큰 변화가 없지만, 알카리성에서 저장 3일부터 흡광도가 급격히 감소하여 불안정함을 나타내었다. Na^{+}, K^{+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} 및 Fe^{3+} 금속이온에 의한 영향은 10^{-4} M에서는 별다른 영향이 없지만, 10^{-3} M에서 Zn^{2+}, Al^{3+} 및 Fe^{3+}의 첨가시에는 불안정함을 관찰할 수 있었다. BHA, BHT, cysteine 및 L-ascorbic acid 항산화제에 대한 영향은 10^{-4} M에서도 큰 영향을 주지 못했다.

참고문헌

1. 김동훈 : 식품의 색깔, 식품화학, 탐구당. pp. 39 (1990).
2. 登卷正生 : 着色料, 食料工業, 桓星社. pp. 1157 (1985)
3. Went, F.A.F.C.: *Monascus purpureus*, le champignon de l'Ang-Quac, une nouvelle Thelebolee. *Ann. Sci. Nat. Bot. Ser.* VIII 1, 325 (1895).
4. Lilly, V. G. and H. L. Barnett : The utilization of sucrose and its constituent sugars by *Monascus purpureus, Proc. West Virginia Acad. Sci.*, **34**, 27 (1962).
5. Lin, C.F.: Isolation and cultural conditions of *Monascus* sp. for the production of pigment in a submerged culture. *J. Ferment. Technol*, **51**, 407 (1973).
6. Yoshimura, M., Yamanaka, S., Mitsugi, K., and Hirose, Y.: Production of *Monascus*-pigment in a submerged culture, *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 1789 (1975).
7. 김현수,곽효정,양호성,유주현 : 액침 진탕 배양에 의한 *Monascus* sp.가 생산하는 적색 색소에 관한 연구. 한국산업미생물학회지, **7**, 31 (1979).
8. Broder, C.U. and Koehler, P.E.: Pigments produced by *Monascus purpureus* with regard to quality and quantity, *J. Food Sci.*, **45**, 567 (1980).
9. 鈴木秀昭 : 加工食品へのモナスカスの利用について, New Food Industry, **30**, pp. 21 (1988).
10. 고영주, 변광의, 장성근 : *Monascus purpureus*를 이용한 쌀로부터 천연식용색소생산에 관한 연구. 순천향대학교 자연연구, **1**, 95 (1995).
11. Wong, H.C. and Koehler, P.E.: Production and isolation of an antibiotic from *Monascus purpureus* and its relationship to pigment production, *J. Food Sci.*, **46**, 589 (1981).
12. Endo, A.: Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species, *J. Antibiot.*, **32**, 852 (1979).
13. Endo, A., Komagata, D. and Shimada, H.: Monacolin M, a new inhibitor of cholesterol biosynthesis, *J. Antibiot.*, **39**, 1670 (1986).
14. 정미숙, 이미순: 자근으로부터 분리한 Naphthoquinone류

색소의 pH 안정성 및 관능검 사. 한국식품과학회지 **26**, 152-156 (1994).

15. 김선재, 박근형: 진도 홍주 색소의 저장 안정성에 대한 연구, 한국식품과학회지 **24**, 183-186 (1992).
16. 김창식, 이숙희, 김일: 홍국 곰팡이를 이용한 식용 적색 색소의 제조 및 이의 성상에 관한 연구. 한국식품과학회지 **9**, 277 (1977).
17. Fielding, B.C., Haws, E.J., Holker, J.S.E., Powell, A.D. G., Robertson, A., Stanway, D.N. and Whalley, W.B.: Monascorubrin. *Tetrahedron Lett.*, **5**, 24 (1960).
18. Fielding, B.C., Holker, J.S.E., Jones, F., Powell, A.D.G., Richimond, I.W. and Whalley, W.B.: The chemistry of fungi. part XXXIX. The structure of monascin, *J. Chem. Soc.*, 4579 (1961).
19. Manchand, P. S. and Whalley, W.B.: Isolation and structure of ankaflavin, a new pigment from *Monascus anka, Phytochemistry*, **12**. 2531 (1973).
20. Haws, E. J., Holker, J.S.E., Powell, A.D.G. and Robertson, A.: The chemistry of fungi. Part XXXVII. The structure of rubropunctatin, *J. Chem. Soc.*, 3598 (1959).
21. 박영현: Monascus purpureus에서 황색색소의 분리 및 화학적 특성, 한국식품위생안전성학회지 **11**. 123-127 (1996).
22. 김용환, 이상섭: Acetone 추출한 Rhodopseudomonas viridis 녹색 색소에 대한 연구 : 식용 색소로서의 일반적 성질. 한국식품과학회지 **26**. 93-97 (1994).
23. 정미숙, 이미순: 자근으로부터 분리한 Naphthoquinone류 색소의 온도 및 금속에 대한 안정성. 한국식품과학회지 **27**. 97 (1995).
24. Pasch, J.H. and Van Elbe, J.H.: Betamine stability in buffered solution containing organic acids, metal cations, antioxidants or sequestrants. *J. Food Sci*, **44**. 72 (1979).