



저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

표영희 교수 지도
석사학위 청구논문

고상발효 기질에서 CoQ10과 천연
스타틴(natural statin) 생산에 대한
홍국균(*Monascus sp.*)과 황국균
(*Aspergillus sp.*)의 영향

2022

성신여자대학교 일반대학원
식품영양학과
이아랑

고상발효 기질에서 CoQ10과 천연
스타틴(natural statin) 생산에 대한
홍국균(*Monascus sp.*)과 황국균
(*Aspergillus sp.*)의 영향

표영희 교수 지도

이 논문을 석사학위논문으로 제출함

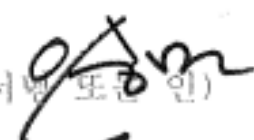
2021년 11월


성신여자대학교 일반대학원
식품영양학과
이아랑


인 준 서

이아람의 석사학위 논문으로 인준함

2021년 11월

심사위원장 이 승 민 (서명 포함 인) 

심 사 위 원 현 정 문 (서명 포함 인) 

심 사 위 원 홍 복 호 (서명 포함 인) 

성신여자대학교 일반대학원

논문개요

홍국균과 황국균을 접종한 고상 기질 발효물에 함유된 이차 대사산물인 메비놀린(mevinolin, 천연 스타틴)과 Coenzyme Q10 (CoQ10, ubiquinone)의 함량을 평가하였다. 고상 발효(solid substrate fermentation)에 사용한 균주는 *Monascus pilosus* KCCM 60084와 *Aspergillus terreus* KCCM 12225를 선정하였다. 고상 기질인 쌀, 발아현미, 백태, 그리고 서리태는 침수하여 건조한 후 고압 멸균한(121°C, 20 min.) 다음 영양 액체 배양액(nutrient broth)을 접종하여 3 주간 30°C 배양기에서 발효하였다. 고상 기질 발효물에 함유된 메비놀린, CoQ10, 그리고 곰팡이 독소(mycotoxin)의 하나인 시트리닌(citrinin)의 함량은 HPLC-MS로 각각 분석하여 정량한 결과는 다음과 같다.

첫째, 고상 발효물에서 두 균주의 접종 후 발효가 진행됨에 따라 메비놀린의 함량은 모든 기질에서 유의적으로 증대되었으며($P < 0.05$), *A. terreus* KCCM 12225로 발효 시킨 기질은 모든 처리구에서 *M. pilosus* KCCM 60084 보다 메비놀린의 함량이 높게 나타났다. 특히 서리태에 *A. terreus* KCCM 12225를 접종하여 3주간 발효한($872.19 \pm 4.55 \mu\text{g/g DW}$) 경우, *M. pilosus* KCCM 60084의 발효물에 비해 메비놀린의 함량은 3.9배 증가하였다.

둘째, CoQ10 함량 역시 두 균주를 접종하여 발효시켰을 때 발효 전에 비해 모든 기질에서 유의적인 증가를 나타내었다($P < 0.05$). 특히 *M. pilosus* KCCM 60084로 발효시킨 고상 기질의 모든 처리구는 *A. terreus* KCCM 12225의 발효물에 비해 CoQ10의 함량이 유의적으로 높았다($P < 0.05$). 가장 높은 CoQ10의 함량은 *M. pilosus* KCCM 60084로 7일간 발효한 서리태에서($72.02 \pm 4.19 \mu\text{g/g DW}$) 동일 조건의 *A. terreus* KCCM 12225의 시료에 비해 1.9배 높은

함량으로 비교되었다.

셋째, 곰팡이 독소의 하나인 시트리닌은 모든 시료에서 검출되지 않아 발효물의 위생적 안전성을 확인하였다.

따라서 고상 발효의 기질은 서리태가 가장 적합하며, 천연 스타틴인 메비놀린과 CoQ10 생산을 위한 균주는 각각 *A. terreus* KCCM 12225와 *M. pilosus* KCCM 60084의 균주로 평가되었으며, 메비놀린과 CoQ10을 동시에 모두 효율적인 생산을 목표로할 경우 *A. terreus* KCCM 12225 균주가 적합한 것으로 밝혀졌다.

목 차

논문개요

I. 서론	1
II. 재료 및 방법	10
1. 실험 재료	10
1) 원료	10
2) 사용균주	10
3) 시약 및 기기	10
2. 실험 방법	11
1) 종 배양 (seed culture)	11
2) 영양 액체배양 (nutrient broth)	11
3) 고상 발효 (solid substrate fermentation)	11
3. HPLC 함량 분석	13
1) 메비놀린 분석	13
2) 유비퀴논 분석	15
3) 시트리닌 분석	17
4. 통계처리	19

Ⅲ. 결과 및 고찰	20
1. 메비놀린 함량	20
2. 유비퀴논 함량	25
3. 시트리닌 함량	29
Ⅳ. 결론	33

참고문헌

ABSTRACT

List of Tables

Table 1. HPLC condition of mevinolins	14
Table 2. HPLC condition of Coenzyme Q10	16
Table 3. HPLC condition of citrinin	18
Table 4. Contents of mevinolin in solid-substrate fermented by <i>Aspergillus terreus</i> KCCM 12225 and <i>Monascus pilosus</i> KCCM 60084	23
Table 5. Contents of coenzyme Q10 in solid-substrate fermented by <i>Aspergillus terreus</i> KCCM 12225 and <i>Monascus pilosus</i> KCCM 60084	28
Table 6. Contents of citrinin in solid-substrate fermented by <i>Aspergillus terreus</i> KCCM 12225 and <i>Monascus pilosus</i> KCCM 60084	32

List of Figures

Fig. 1. Chemical structure of mevinolin (A), HMG-CoA (B).	4
Fig. 2. Cholesterol and coenzyme Q10 synthesis and inhibitory pathway of mevinolin in cholesterol synthesis.....	5
Fig. 3. Chemical structure of Coenzyme Q10 (A), Citrinin (B).	7
Fig. 4. Solid-substrate fermentation process using <i>Monascus pilosus</i> KCCM 60084 and <i>Aspergillus terreus</i> KCCM 12225.	12
Fig. 5. The HPLC chromatograms of mevinolic acid standard and extract of in solid-substrate fermented by <i>Aspergillus terreus</i> KCCM 12225 and <i>Monascus pilosus</i> KCCM 60084.	22
Fig. 6. Changes of mevinolin in solid-substrate fermented by <i>Aspergillus terreus</i> KCCM 12225 and <i>Monascus pilosus</i> KCCM 60084.	24
Fig. 7. The HPLC chromatograms of Coenzyme Q10 standard and extract of in solid-substrate fermented by <i>Aspergillus terreus</i> KCCM 12225 and <i>Monascus pilosus</i> KCCM 60084.	27
Fig. 8. Changes of Coenzyme Q10 in solid-substrate fermented by <i>Aspergillus terreus</i> KCCM 12225 and <i>Monascus pilosus</i> KCCM 60084.	29
Fig. 9. The HPLC chromatogram of citrinin standard and extract of in solid-substrate fermented by <i>Aspergillus terreus</i> KCCM 12225 and <i>Monascus pilosus</i> KCCM 60084.	31

I. 서론

고지혈증(Hyperlipidemia)은 고혈압, 고혈당, 복부비만 등과 함께 대사증후군 중 하나로 혈중 콜레스테롤 또는 중성지방 수치가 높은 상태를 일컫는다. 비정상적으로 높은 콜레스테롤과 중성지방은 동맥 내벽에 죽종의 반점을 형성하여 심혈관 질환(CVD)을 유발하는 주요 위험 요소 중 하나이다(Balarini과 Braga, 2016). 2020년 건강보험심사평가원이 발표한 통계자료에 따르면, 국내 고지혈증 환자는 226만명으로 꾸준히 증가하고 있는 추세이며 5년 전과 비교했을 때 약 1.3배 증가하였다. 이 같은 현상은 서구화된 식생활과 가공식품 소비 증가로 인하여 더욱 증가할 것으로 예상된다. 따라서 이를 예방 또는 치료하기 위한 대사증후군 관리에 대한 중요성이 높아지고 있으며 부작용이 수반되는 약물 치료의 대안으로 천연 소재 탐색에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다(Lee 등, 2015).

Monascus 속의 붉은 곰팡이는 반자낭균과(Hemiascomycetaceae) 홍국균속(Monascaceae)에 속한다. 약 600년 전부터 중국, 한국, 일본 등 동아시아에서 발효 식품의 제조 및 천연 색소나 보존제로 이용되었고 미국, 인도네시아 등의 여러 나라에서는 현재 기능성 식품의 제조에 활용하고 있다(Ma 등, 2000). *Monascus* 속의 발효물은 메비놀린, γ -aminobutyric acid(GABA), 아세틸콜린 등과 같은 대사산물을 생산하여 항콜레스테롤, 혈압 강하효과 등의 다양한 생리활성이 보고되어 왔다(Manzoni와 Rollini, 2002; Morovjan 등, 1997). 한편 *Aspergillus* 속의 누룩곰팡이는 전통 누룩을 생산하는 미생물로서 한국 고유의 발효 식품과 발효공업 등에 중요한 균주로 오랫동안 사용되어 왔다(Kim 등, 2008). *Aspergillus* 속 중 *Aspergillus terreus*는 열대와 아열대 지방 같은 온난한 기후에서 발견되는 토양균류이며 이차 대사산물로 메비놀린, 테레인, 글리오톡신, 시트리닌 등을 생산한다고 보고되었다(Stefan 등, 2009). 특히 *Monascus pilosus*와 *Aspergillus terreus*가 생산하는 이차 대사

산물 중 천연 스타틴인 메비놀린($C_{24}H_{36}O_5$, lovastatin, monacolin K)은 Fig. 1과 같이 acid form과 lactone form으로 존재한다. 활성형인 mevinolinic acid가 lactone 형에 비해 고상발효 기질에서 주로 발견되며(Jin과 Pyo, 2015), 최적 발효 조건 등에 관한 연구가 그동안 활발하게 보고되어 왔다(Kim 등, 2008; Lee, 2014; Kim 등, 2018; Kim과 Kang, 2021).

스타틴(Statins)은 1987년부터 고콜레스테롤 환자나 고지혈증 환자의 치료제로 사용되어 왔으며, 다른 약물에 비해 부작용이 적어 가장 선호도가 높은 고지혈증의 처방약물로 사용되고 있다(Davidson 등, 2002). 스타틴의 콜레스테롤 생합성 저해 기전은, Fig. 2와 같이 콜레스테롤 생합성 경로의 3-hydroxy-3-methylglutaryl co-enzyme A (HMG-CoA)가 메발론산으로 전환되는 단계에서 핵심 효소인 HMG-CoA 환원효소를 경쟁적으로 저해하여 콜레스테롤 생합성을 억제한다(Xia 등, 2015; Cho와 Lee, 2002). 이는 Fig. 1과 같이 메비놀린의 β -hydroxy acid와 HMG-CoA 형태의 구조적 유사성으로 인해 HMG-CoA 대신 스타틴이 HMG-CoA 환원효소와 경쟁적 저해작용에 따른 결과 때문이다. 또한 메비놀린은 LDL(low density lipoprotein-cholesterol) 수용체를 증가시켜 콜레스테롤로 전환될 수 있는 LDL을 우선적으로 낮추는 작용이 있다고 보고되었다(Alberts 등, 1980). 스타틴은 polyketide 구조를 가지며 여러 형태의 화합물이 존재한다. polyketide는 말로닐-CoA가 아세틸-CoA와 축합반응을 수행하여 4개의 탄소로 구성된 사슬을 형성하고 이산화탄소를 방출하는 과정을 거쳐 생성된다. 스타틴은 반 합성 스타틴인 심바스타틴과, 합성 스타틴인 아토르바스타틴, 플루바스타틴 등의 여러 형태로 존재하며 특히 천연 스타틴인 메비놀린은 미생물 발효를 통한 이차대사 산물로 생합성될 수 있다. 메비놀린은 활성형인 β -hydroxyacid form과 비활성형인 lactone form으로 존재하며 pH 의존적으로 상호 전환될 수 있다(Mornar 등, 2013). 생산균주로는 *Monascus* (*M. ruber*, *M. purpureus*, *M. pilosus*, *M. anka*),

Aspergillus (*A. terreus*), *Paecilomyces viridis*, 그리고 *Penicillium* (*P. citrinum*) 등이 보고되어 왔다(Manzoni와 Rollini, 2002).

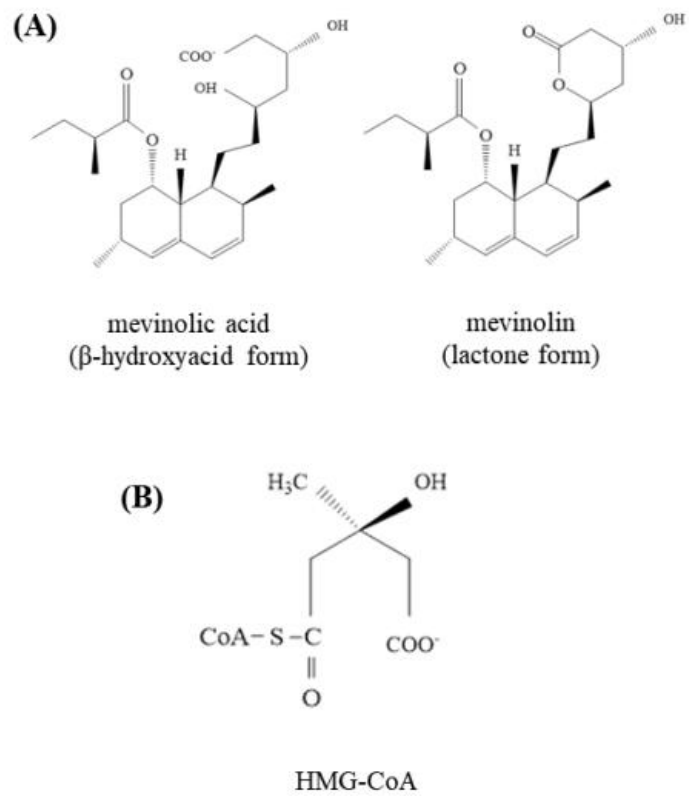


Fig. 1. Chemical structure of mevinolin (A), HMG-CoA (B).

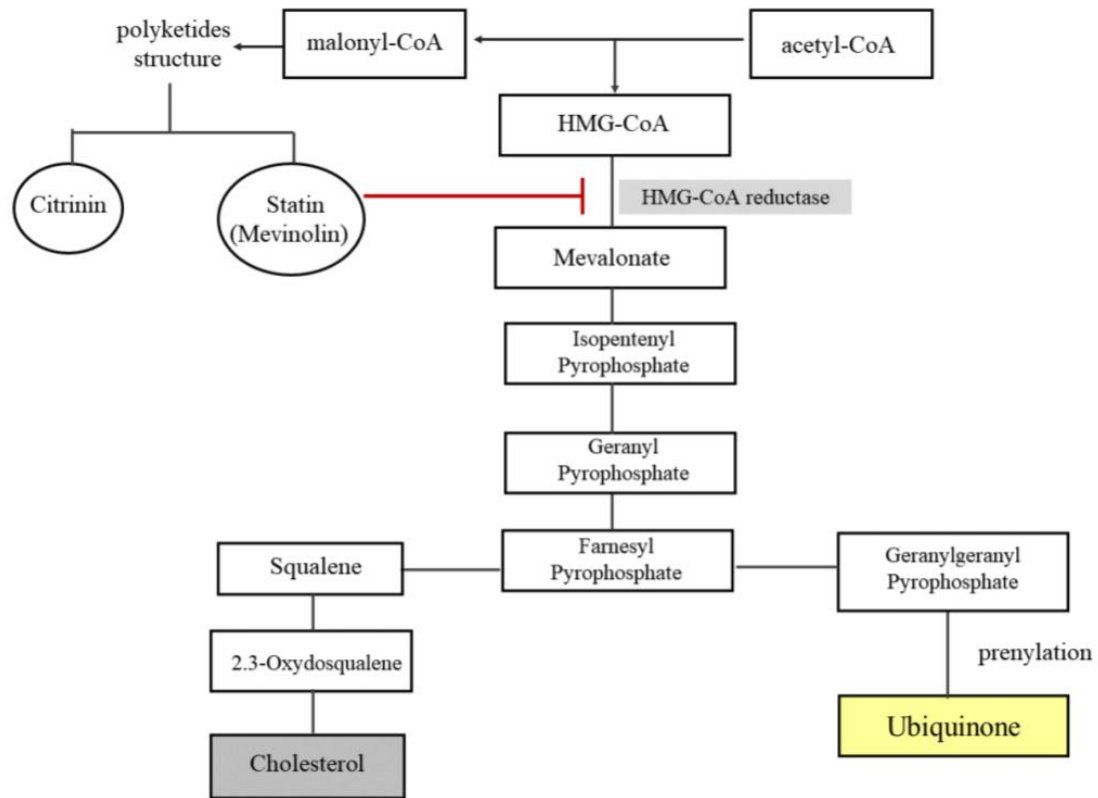


Fig. 2. Cholesterol and coenzyme Q10 synthesis and inhibitory pathway of mevinolin in cholesterol synthesis.

유비퀴논($C_{59}H_{90}O$, Ubiquinone)은 Coenzyme Q10 (CoQ10)으로도 불리우며(Fig. 3), 동식물에 모두 존재하는 지용성 퀴논 화합물의 필수 비타민과 유사한 영양소이다. 유비퀴논은 미토콘드리아 내 전자 전달계의 조효소로 작용하여 ATP를 생산하는 에너지 부스터(Booster)이다. 또한 내인성 항산화 작용을 가지며 세포 신호 전달 및 성장 기능에 없어서는 안되는 필수성분이다(Crane, 2001; López-Lluch 등, 2010). 대부분의 포유류는 유비퀴논을 생합성할 수 있으며(Lester와 Crane, 1959), Fig. 2에서와 같이 아세틸-CoA에서 메발론산을 거쳐 생합성된다. 그러나 그림에서와 같이 CoQ10은 콜레스테롤과 동일한 생합성 경로를 공유하기 때문에 스타틴류의 약물 복용은 CoQ10의 결핍을 야기하는 것으로 알려져 왔다(Rallidis 등, 2012; Kaikkonen 등, 1999; Ghirlanda 등, 1993). CoQ10 결핍은 근육 에너지 대사를 손상시키고 근병증 등의 근육 증상의 발병의 원인으로 알려진다(Thompson 등, 2003, Franc 등, 2003). 따라서 일부 의료계는 스타틴계 약물 복용 시에 CoQ10도 함께 섭취할 것을 권고하며(Choi, 2016), 스타틴과 CoQ10의 복합체 섭취는 각각의 항염증 및 항산화 효과뿐만 아니라 상승적 상호작용으로 인하여 만성 신부전 환자에게 도움을 주며(Okello 등, 2009) 근병증 환자의 증상도 개선시킨다는 결과가 보고되었다(Caso 등, 2007; Derosa 등, 2019).

곰팡이 독소(mycotoxin)의 하나인 시트리닌(Fig. 3)은 *Aspergillus*, *Monascus*, *Penicilium* 속 발효물에서 검출되는 것으로 알려지며, 동물에게 간장독과 신경독 특성을 나타낸다(Franco 등, 1996). 시트리닌은 아세틸-CoA 및 말로닐-CoA 단위의 반복적인 클라이젠 축합으로 구성되며(Schumann와 Hertweck, 2006), 메비놀린과 같은 polyketide 유도체로 공유하는 생합성 경로에서도 동시에 생성될 수 있다. 시트리닌의 생합성 조건은 균종, 기질, 발효 온도, pH, 그리고 수분 함량 등에 따라 달라진다. 대부분의 고상발효 조건에서는 검출되지 않는 것으로 보고되어 왔다(Pattanagul 등, 2007).

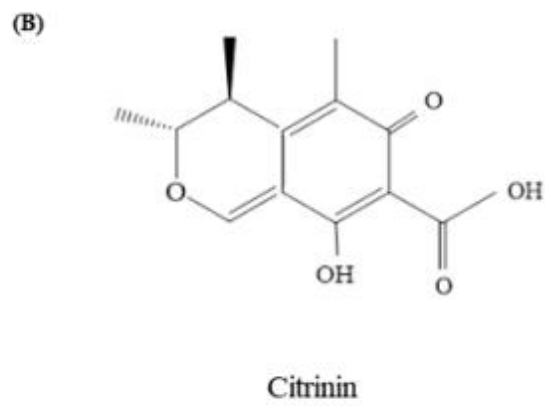
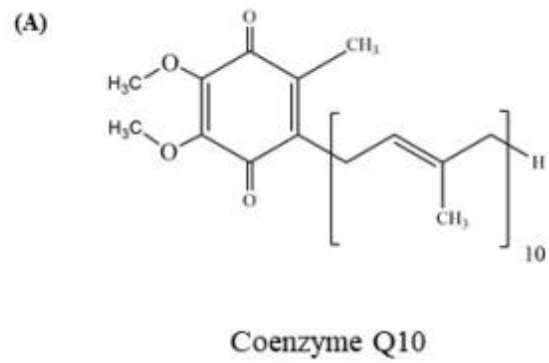


Fig. 3. Chemical structure of Coenzyme Q10 (A), Citrinin (B).

미생물을 이용한 이차 대사산물 생산을 위한 일반적인 발효 방법은 고상 발효법(solid state fermentation, SSF)과 액체배양의 심부 발효법(submerged fermentation, SmF)을 사용한다. 메비놀린 생산에 대한 최적화 연구에서 대부분의 연구는 고상 발효법이 심부 발효법에 비해 많은 장점을 제공하는 것으로 보고되었다. 특히 곰팡이류는 고상 발효법에서 더 많은 효소와 이차 대사산물을 생성할 수 있는 것으로 알려진다(Barrios-González, 2012). 쌀(*Oryza sativa* L.)의 경우, 대표적인 고상발효의 기질로 사용되어 왔으며, 홍국균을 쌀에 배양하여 얻은 홍국쌀, ankak 또는 red yeast rice(RYR)로 불리운다. 현재 스타틴 대용으로 시판되는 홍국쌀 제품은 대표적인 혈행 개선 목적의 기능성 제품으로 알려져 왔다(Patakova, 2005). 쌀 대신 발아 현미에 대한 고상 기질의 장점은 발아되는 과정에서 식이섬유, GABA(γ -aminobutyric acid), 비타민 E 등 각종 영양·기능성 성분들이 증가하는 것으로 밝혀졌으며(Kim 등, 2001; Kim 등 1998; Oh, 2002), 발아 현미에 홍국균을 접종하였을 때 현미와 백미보다 높은 메비놀린 함량을 생산한다고 보고되었다(Lee, 2015). 그 밖의 고상 기질에 대한 소재류는 콩(Soybean, *Glycine max.* L)에 대한 연구 결과이며, 콩에는 이소플라본, 레시틴, GABA 등 다양한 생리활성 물질이 함유되어 있다(Kim 등, 2012). 콩은 종피의 색에 따라 분류되며 검정 콩은 노란 콩과 영양 성분면에서 큰 차이가 없지만 어두운 색의 종피에 다량 함유되어 있는 안토시아닌은 강력한 항산화 효과를 나타내는 것으로 보고되어 왔다(Takahashi 등, 2005; Xu 등, 2007). 따라서 Jin과 Pyo (2015)는 홍국 발효 백태와 서리태를 이용하여 메비놀린과 CoQ10을 동시에 함유하고 있는 소재를 심도있게 탐색하여 보고한 바 있다. 그러나 메비놀린과 CoQ10을 동시에 함유한 소재에 대한 연구는 *Monascus pilosus* KCCM 60084를 대두에 접종하여 발표한 결과(Jin과 Pyo, 2015) 이외에는 다른 균주를 활용한 사례는 지금까지 발견되지 않는다.

따라서 본 연구에서는 메비놀린을 생산하는 새로운 균주로 밝혀진 *Aspergillus* sp.를 이용하여 메비놀린과 CoQ10의 생산 가능성을 *Monascus* sp. 균주와 비교 평가하였다. 즉 그동안 메비놀린 생산에 활용되어 왔던 대표적인 균주, *Monascus pilosus* KCCM 60084와 *Aspergillus terreus* KCCM 12225를 분양받아 쌀, 발아현미, 콩류(백태와 서리태) 등의 고상 기질에 접종하여 메비놀린과 CoQ10의 생산 능력을 기질별, 균주별, 발효일에 따른 결과를 비교 평가하였다. 또한 발효물에 함유될 수 있는 곰팡이 독소인 시트리닌의 농도를 정량하여 안전하면서도 유효한 활성 성분인 메비놀린과 CoQ10 함유의 최적 발효 조건을 탐색하여 천연의 고부가가치 소재를 개발하는 데 본 연구의 목적을 둔다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 원료

본 실험에 사용된 백미는 충청남도 당진시, 발아현미는 경기도 여주시, 서리태와 백태는 충청북도 괴산시에서 생산된 것으로 서울에 있는 대형마트에서 구입하였다.

2) 사용균주

홍국균과 황국균은 한국 미생물 보존센터(KCCM)에서 *Monascus pilosus* KCCM 60084, *Aspergillus terreus* KCCM 12225를 분양 받아 사용하였다.

3) 시약 및 기기

HPLC 함량분석에 사용한 표준물질인 메비놀린(Lovastatin), Coenzyme Q10과 시트리닌은 Sigma Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구매하였다. 분석은 preparative HPLC (AZURA. KNAUER, Berlin, Germany)와 HPLC-MS (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)을 이용하였다.

2. 실험 방법

(1) 종 배양 (seed culture)

홍국균은 potato dextrose agar (PDA, BD DIFCO, MI, USA), 황국균은 Malt extract agar (BD DIFCO, MI, USA) 배지에 30℃에서 5일 동안 배양 후 계대 배양하여 사용하였다.

(2) 영양 액체배양 (nutrient broth)

증류수 120 mL에 영양 액체배양물은 쌀가루, 포도당 (Junsei Chemical Co. Japan), 맥아당 (Junsei Chemical Co. Japan), 펩톤 (Beckton-Dickinson, Le Pont de Claix, France), 글리세롤 (Junsei Chemical Co. Japan), NaNO_2 (DaeJung Cemical Co. Korea), MgSO_4 (Kanto Cemeical Co. Japan), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Junsei Chemical Co. Japan), Yeast extract (BD DIFCO, MI, USA) 조성으로 제조하여 멸균기로 121℃에서 15분간 멸균한 후에 균을 접종하여 33℃에서 5일 동안 진탕배양기에서 130 rpm으로 배양하였다.

(3) 고상발효 (solid substrate fermentation)

백미는 2시간, 발아현미, 서리태와 백태는 12시간 동안 물에 침지한 후 수분을 제거하여 500 mL 삼각플라스크에 50 g씩 담아 멸균기에서 121℃에서 20분간 멸균하였다. 이를 냉각한 후 영양배지 (20%, v/w)를 기질에 접종하고 30℃에서 3주 동안 배양하였다. 시료는 매주 채취하여 동결 건조(FD, Ilshinbiobase, Gyeonggi-do, Korea)하였다(Fig. 4).

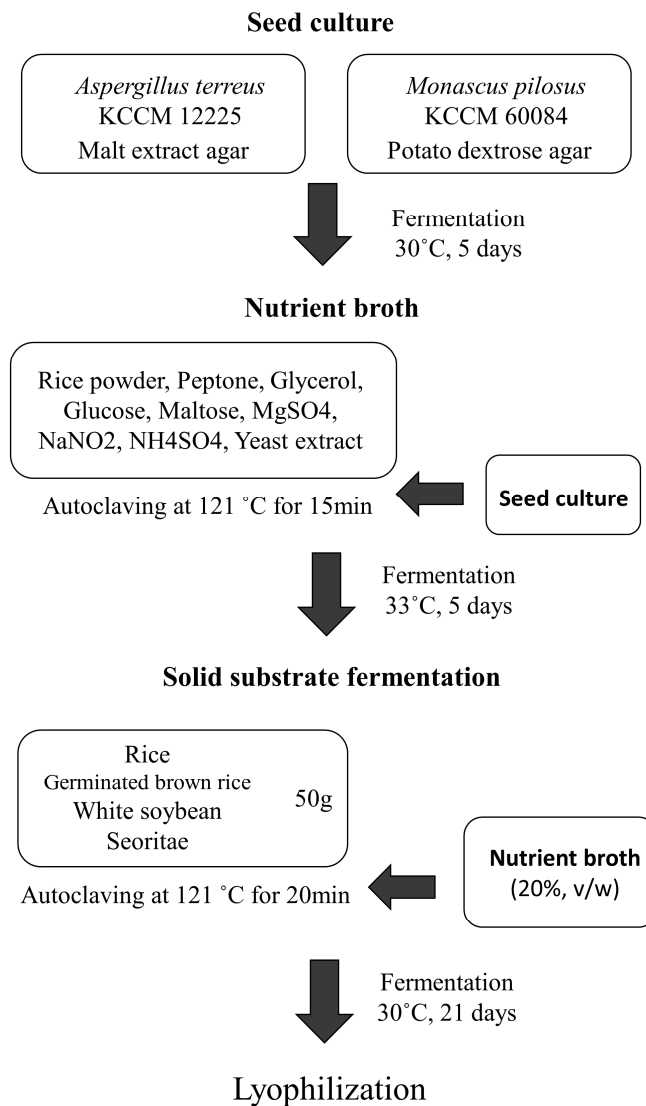


Fig. 4. Solid-substrate fermentation process using *Monascus pilosus* KCCM 60084 and *Aspergillus terreus* KCCM 12225.

3. HPLC 함량 분석

1) 메비놀린 분석

메비놀린은 Jin과 Pyo (2015)의 방법을 일부 수정하여 preparative HPLC (AZURA, KNAUER)을 이용하여 분석하였다. 동결건조 시료 0.1 g을 취하여 70% 에탄올 1 mL를 가해 1시간 동안 초음파 분쇄한 후 원심분리 (13,500 rpm, 7 min.) 하였다. 상층액만을 멤브레인 필터링(0.20 μ m) 후 vial에 넣어 분석하였으며, HPLC 조건은 Table 1과 같다. 메비놀린 lactone form의 표준 용액은 메비놀린 (Sigma-Aldrich Co.) 10 mg을 정확히 칭량하여 70% 에탄올 10 mL에 용해하여 제조하였다. Acid form은 400 ppm으로 희석한 것을 5 mL를 취하여 0.1 M 수산화나트륨 500 μ L를 가하여 50 $^{\circ}$ C에서 1시간 초음파 처리(5510R-DHT, Branson Ultrasonics Clearance, USA)한 후, 0.1 M 염산을 사용하여 pH를 7.7로 조정한 후 표준 용액으로 사용하였다(Friedrich, 1995).

Table 1. HPLC condition of mevinolin

Parameters	mevinolin																	
Instrument	preparative HPLC (AZURA. KNAUER)																	
Detector	UV																	
Absorbance	238nm																	
Column	Poroshell 120 EC-C18 (2.1 x 50mm, 2.7micron particle size; Agilent)																	
	A : 20 mM NaH ₂ PO ₄ /0.1% H ₃ PO ₄																	
	B : CH ₃ CN																	
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time (min)</th> <th>A (%)</th> <th>B (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Initial</td> <td>75</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>5.0</td> <td>60</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>20.0</td> <td>55</td> <td>45</td> </tr> <tr> <td>26.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> </tbody> </table>			Time (min)	A (%)	B (%)	Initial	75	25	5.0	60	40	20.0	55	45	26.0	10	90
Time (min)	A (%)	B (%)																
Initial	75	25																
5.0	60	40																
20.0	55	45																
26.0	10	90																
Mobile phase																		
Flow rate	0.3 mL/min																	
Injection volume	5 μ L																	

2) 유비퀴논 분석

발효물의 유비퀴논 함량은 HPLC-MS (Agilent 6130)를 이용하였다(Pyo와 Oh, 2010). 둥근 플라스크에 Sample 0.5 g과 피로갈롤 2.5 g, 수산화나트륨 10 g을 가해 75% 메탄올 100 mL로 녹인 후 hot plate 상에서 회전하며 30분간 검화하였다. 냉각 후에 n-헥산 60 mL 첨가하여 30분 간 Shaking한 다음 n-헥산층만 모으는 과정을 3번 반복한 후 감압농축(CCA-1110, Eyla, Tokyo, Japan)하였다. 농축물은 2-프로판올 2 mL로 재용해하여 멤브레인 필터링(0.20 μm)으로 여과한 후에 vial에 담아 분석하였고 HPLC-MS 조건은 Table 2와 같다. 표준 용액은 Coenzyme Q10 (Sigma-Aldrich Co.)을 10 mg을 칭량하여 2-프로판올 1 mL에 녹여 희석하여 사용하였다.

Table 2. HPLC condition of Coenzyme Q10

Parameters	Coenzyme Q10
Instrument	LC-MS (Agilent 6130 series)
Detector	MS
Column	M+ 863.7, 880.7, 881.7 m/z ZORBAX Eclipse plus C18 (2.1 x 50 mm, 3.5micron particle size, Agilent)
Mobile phase	A : 5mM NH ₄ HCO ₂ /CH ₃ OH B : C ₃ H ₈ O
Flow rate	50:50, v/v
Injection volume	0.3 mL/min 1 μL

3) 시트린 분석

시트린 함량 측정은 건강기능식품시험법의 시트린 제1시험법(III.2.5.4.1 시트린(제1법))을 응용하였으며, 시트린의 분석 조건은 Lee 등(2015)의 방법을 변형하여 사용하였다. 동결건조한 시료 2.0 g에 에탄올 20 mL를 가하여 30분간 초음파기를 이용하여 균체를 파쇄하고, 추출물은 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상등액만을 회전식 감압농축기를 이용하여 농축한 것을 50% 아세트니트릴로 용해한 후 Bond Elut C18에 필터하여 재농축하였다. 최종적으로 메탄올 0.5 mL에 농축물을 재용해시키고 0.20 µm 멤브레인 필터에 여과하여 사용하였으며, HPLC 분석조건은 Table 3과 같다. 표준용액은 시트린(Sigma-Aldrich Co.) 5 mg을 정확히 칭량하여 100% 메탄올 5 mL에 녹여 제조한 후 희석하여 사용하였다.

Table 3. HPLC condition of citrinin

Parameters	citrinin
Instrument	preparative HPLC (AZURA. KNAUER)
Detector	FLD
Absorbance	excitation 335 nm, emission 502 nm
Column	LUNA 5 μ C18(2) (250 x 4.60 mm, phenomenex)
Mobile phase	A : 0.1% H ₃ PO ₄ /H ₂ O B : CH ₃ CN
Flow rate	65:35, v/v
Injection volume	1.0 mL/min 20 μ L

4. 통계처리

검액의 분석은 3번 반복값을 구하여 평균±표준편차로 나타내었으며, 표준액 검량곡선을 사용하여 함량을 계산하였다. SPSS (version 25, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 각 변수에 대해 일원배치분산분석 (analysis of variation)를 실시하였고, 사후검정으로는 Duncan's multiple range test를 적용하여 $P<0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 메비놀린 함량

고콜레스테롤 환자나 고지혈증 환자의 치료제로 사용되는 스타틴은 콜레스테롤 생합성 경로의 핵심 효소인 HMG-CoA를 저해하여 콜레스테롤 수치를 저하시킨다. 미생물에 발효로 생성되는 이차대사로 생합성된 천연 스타틴은 메비놀린이라 칭하며, 대표적인 메비놀린 생산 균주는 *Monascus sp.*와 *Aspergillus sp.*가 있다. *Monascus pilosus* KCCM 60084와 *Aspergillus terreus* KCCM 12225을 고상 기질에 접종하여 메비놀린 함량을 분석한 대표적인 크로마토그램은 Fig. 5와 같으며, 균주와 발효일에 따른 메비놀린 함량변화는 Table 4와 Fig. 6에 나타내었다. *A. terreus* KCCM 12225을 접종한 네 가지 기질 모두 배양 과정을 거치며 메비놀린의 함량이 증가하였다. 특히 서리태 발효 전 건조시료 g당($\mu\text{g/g DW}$) 0.00 μg 에서 발효 21차에 $872.19 \pm 4.55 \mu\text{g}$ 으로 가장 많은 증가를 보였다($P < 0.05$). 쌀과 발아현미는 각각 발효 21일 차에 건조시료 g당($\mu\text{g/g DW}$) 626.73 ± 8.61 와 $729.87 \pm 9.21 \mu\text{g}$ 이었고, 백태는 14일 차에 $620.84 \pm 9.85 \mu\text{g}$ 으로 증가하였다. 이와 같은 황국균 배양 시 메비놀린 함량의 증가는 *A. terreus* KCCM 12225 발효 마를 이용한 Lee (2014)의 연구와 유사하였으며, 메비놀린 생산량은 병마($514.8 \mu\text{g/g}$), 쌀($272.5 \mu\text{g/g}$)보다 본 실험의 황국 발효 서리태의 메비놀린 생산량이 더 높은 함량으로 비교되었다. 또한 식품의약품안전처는 홍국균의 메비놀린을 500 mg/kg을 함유하는 것을 기능성 홍국발효물의 원료로 인정하고 있으며, 본 연구의 *A. terreus* KCCM 12225의 발효물은 모두 식약처 기준 이상의 메비놀린을 함유하는 것으로 나타났다.

M. pilosus KCCM 60084을 접종하여 발효한 경우, 가장 많은 메비놀린을 생산한 것은 발아현미 14일차($275.74 \pm 11.21 \mu\text{g}$)이었으며, 쌀,

백태, 서리태는 14일 차에 각각 $189.37 \pm 3.11 \mu\text{g}$, $210.34 \pm 4.65 \mu\text{g}$, $231.12 \pm 3.65 \mu\text{g}$ 으로 증가했다. 이 같은 결과는 Park 등(2019)의 *M. pilosus* KFCC 11410P 발효 쌀($187.33 \mu\text{g}$)과 유사하였으나, Lee (2015)의 *M. pilosus* KFCC 11410P 발효 현미($424.89 \pm 8.81 \mu\text{g}$), Jin과 Pyo (2015)의 *M. pilosus* KCCM 60084 발효 백태($568.18 \pm 6.13 \mu\text{g}$), 서리태($411.59 \pm 4.69 \mu\text{g}$)보다는 낮은 함량으로 비교되었다. 선행연구에 따르면, 메비놀린의 생성량은 포도당 함량이나 배양 과정 중 균주의 기질 접촉 면적 등에 영향을 받는다고 하였다(Park 등, 2014). *M. pilosus* KCCM 60084와 *A. terreus* KCCM 12225의 메비놀린 생성량을 균주별로 비교하면, *A. terreus* KCCM 12225로 발효 시킨 경우의 모든 처리구에서 *M. pilosus* KCCM 60084보다 높게 나타났다(Fig. 5). 가장 높은 함량을 나타낸 *A. terreus* KCCM 12225 으로 21일간 발효한 서리태 ($872.19 \pm 4.55 \mu\text{g}$)는 동일 조건의 *M. pilosus* KCCM 60084의 발효물($231.12 \pm 4.55 \mu\text{g}$)에 비해 3.9배 높은 함량으로 비교되었다. 따라서 *A. terreus* KCCM 12225를 서리태에 접종하여 발효할 경우, 쌀, 발아현미, 백태에 비해 높은 메비놀린의 생산을 유도할 수 있는 것으로 평가되었다.

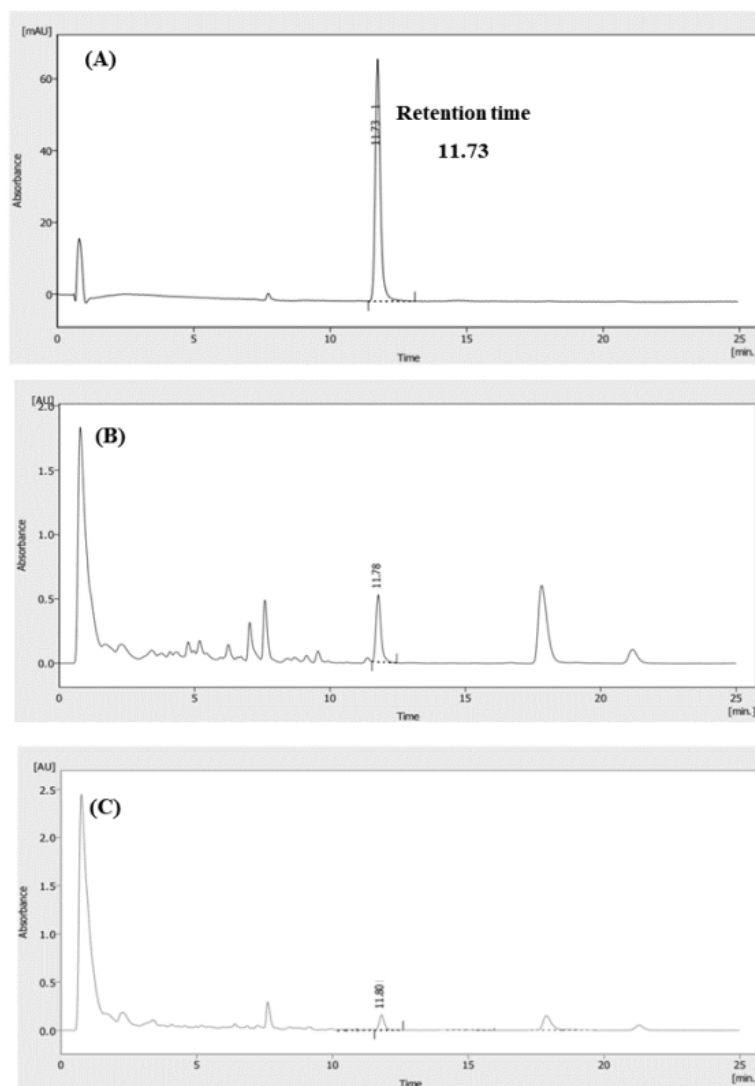


Fig. 5. The HPLC chromatograms of mevinolic acid standard and extract of in solid-substrate fermented by *Aspergillus terreus* KCCM 12225 and *Monascus pilosus* KCCM 60084.

(A) mevinolic acid standards. (B) *A. terreus* KCCM 12225-fermented seoritae after 21 days of fermentation. (C) *M. pilosus* KCCM 60084-fermented seoritae after 21 days of fermentation (C).

Table 4. Contents of mevinolin in solid-substrate fermented by *Aspergillus terreus* KCCM 12225 and *Monascus pilosus* KCCM 60084

Sample ¹⁾	Fermentation (days)	mevinolin ($\mu\text{g/g DW}$)	
		<i>A. terreus</i>	<i>M. pilosus</i>
		KCCM 12225	KCCM 60084
rice	0	0.00 \pm 0.00 ^h	0.00 \pm 0.00 ^j
	7	194.61 \pm 3.28 ^g	74.37 \pm 1.28 ^h
	14	604.61 \pm 30.08 ^d	189.37 \pm 3.11 ^e
	21	626.73 \pm 8.61 ^c	56.12 \pm 8.09 ⁱ
GBR	0	2.40 \pm 0.51 ^h	2.40 \pm 0.51 ^j
	7	200.57 \pm 6.89 ^g	138.14 \pm 9.81 ^f
	14	522.24 \pm 11.21 ^e	275.74 \pm 11.21 ^a
	21	729.87 \pm 4.16 ^b	143.32 \pm 4.16 ^f
WS	0	0.00 \pm 0.00 ^h	0.00 \pm 0.00 ^j
	7	545.04 \pm 23.45 ^e	115.88 \pm 10.41 ^g
	14	620.84 \pm 30.08 ^c	210.34 \pm 4.65 ^d
	21	438.63 \pm 9.85 ^f	128.16 \pm 21.3 ^g
seoritae	0	0.00 \pm 0.00 ^h	0.00 \pm 0.00 ^j
	7	531.17 \pm 7.12 ^e	136.88 \pm 11.34 ^f
	14	535.88 \pm 5.65 ^e	231.12 \pm 3.65 ^b
	21	872.19 \pm 4.55 ^a	221.98 \pm 18.48 ^c

¹⁾ GBR : Germinated brown rice, WS : White soybean

Each value represents the mean \pm S.D. (n=3), ^{a-j}Means within same columns with the different letters are significantly different from the period of fermentation(P<0.05) by Duncan's multiple range tests.

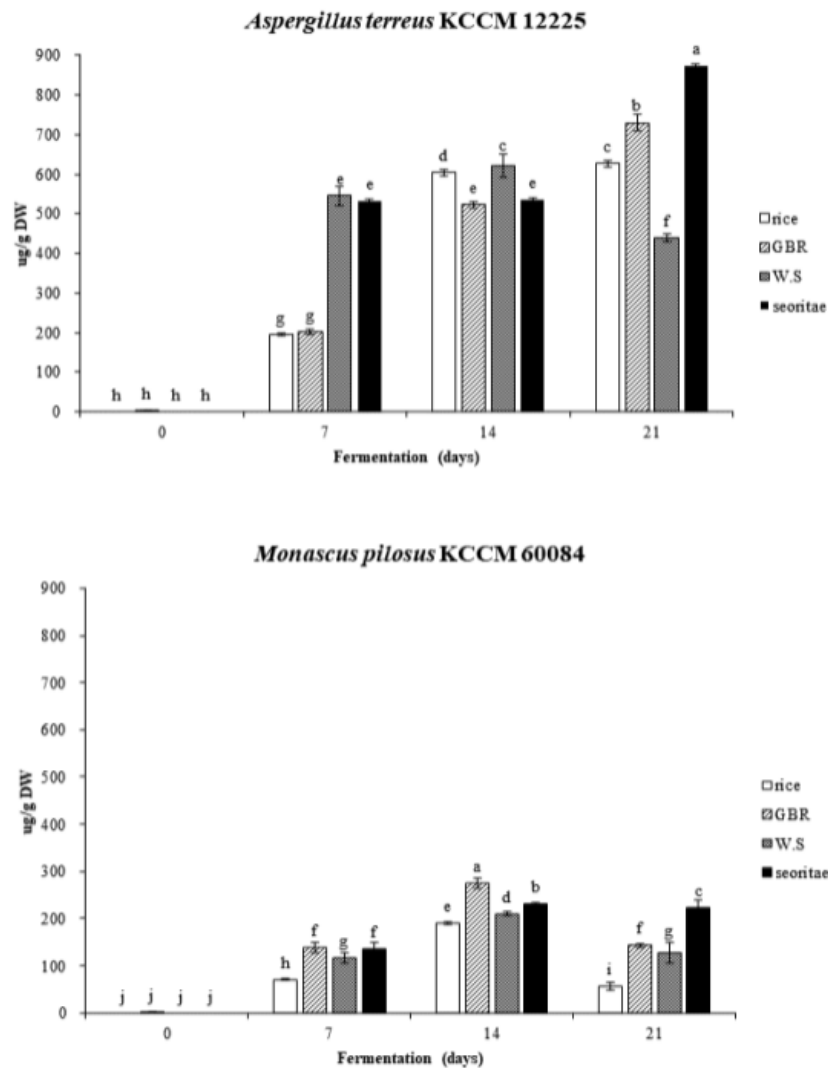


Fig. 6. Changes of mevinolin in solid-substrate fermented by *Aspergillus terreus* KCCM 12225 and *Monascus pilosus* KCCM 60084

GBR : Germinated brown rice, WS : White soybean

Each value represents the mean±S.D. (n=3), Different letters on bars indicate significant difference at the $P < 0.05$ among the same fungi.

2. 유비퀴논 함량

유비퀴논(CoQ10)은 인체의 세포 에너지 생성과 자유 라디칼 소거에 중요한 역할을 하는 필수 비타민 유사 영양소이다. 일반적으로 모든 식품에는 비타민처럼 미량의 CoQ10이 함유되어 있으나 동물성 식품이 식물성에 비해 그 농도가 높으며, 특히 동물의 심장이나 간 등의 내장 기관에 많이 함유된 것으로 알려진다(Mattila 등, 2008). 그 밖에 콩기름 등의 식물성유와 견과류에도 다른 식품에 비해 그 함량이 높은 것으로 보고되었다. CoQ10의 생합성은 스타틴 계열 약물의 콜레스테롤 생합성 저해 경로를 공유하여 메비놀린 섭취 시 CoQ10의 추가적인 섭취 또한 권고된다.-(Choi, 2016). 본 연구에서, *Monascus pilosus* KCCM 60084와 *Aspergillus terreus* KCCM 12225을 고상 기질에 접종시킨 추출물의 coenzyme Q10 함량을 분석한 대표적인 크로마토그램은 Fig. 5와 같으며, 균주와 발효일에 따른 CoQ10 함량변화를 관찰한 결과는 Table 5와 Fig. 8에 나타내었다. 발효 전의 고상기질인 쌀, 발아현미, 백태와 서리태의 CoQ10 함량은 건조시료 g당($\mu\text{g/g DW}$) 각각 $0.00 \mu\text{g}$, $0.00 \mu\text{g}$, $24.16 \pm 1.22 \mu\text{g}$, $6.98 \pm 1.27 \mu\text{g}$ 으로 나타나 두류에는 미량이나마 CoQ10이 함유된 것을 알 수 있다. *A. terreus* KCCM 12225을 접종한 두류는 쌀과 발아현미 보다 발효에 따른 함량의 증가를 보였으며, 발효 전에 비해 백태는 21일 차($46.73 \pm 1.87 \mu\text{g}$)에 1.9배 서리태는 7일 차($38.06 \pm 2.11 \mu\text{g}$)에 6.2배 증가하였다. *M. pilosus* KCCM 60084 발효 백태는 14일차($60.74 \pm 4.45 \mu\text{g}$)에 2.5배, 서리태는 7일차($72.02 \pm 4.19 \mu\text{g}$)에 11.7배 증가하였다. CoQ10 함량은 네 가지 기질 중 두류를 이용했을 때 유의적으로 높게 증대되었으며, 특히 서리태에 발효했을 때 많은 함량을 보였다. 가장 많은 CoQ10 함량을 나타낸 것은 *Monascus pilosus* KCCM 60084로 7일간 발효한 서리태로 나타났다. 이와 같은 결과는 Jin과 Pyo (2015)가 보고한 발효

백태($65.59 \pm 9.53 \mu\text{g}$)와 서리태($64.13 \pm 2.43 \mu\text{g}$) 결과와 유사한 것으로 나타났다. 균주에 따른 CoQ10의 생성량 비교 시, *M. pilosus* KCCM 60084로 발효 시킨 경우 모든 처리구에서 *A. terreus* KCCM 12225의 발효물에 비해 높은 함량으로 평가할 수 있다. 가장 높은 함량을 나타낸 *M. pilosus* KCCM 60084으로 7일간 발효한 서리태($72.02 \pm 4.19 \mu\text{g}$)는 동일 조건의 *A. terreus* KCCM 12225의 발효물($38.06 \pm 2.11 \mu\text{g}$)보다 1.9배 높은 함량으로 비교되었다. 따라서 두 균주 중 *M. pilosus* KCCM 60084를 서리태의 기질에 사용할 경우 CoQ10 생산 증대를 유도할 수 있다.

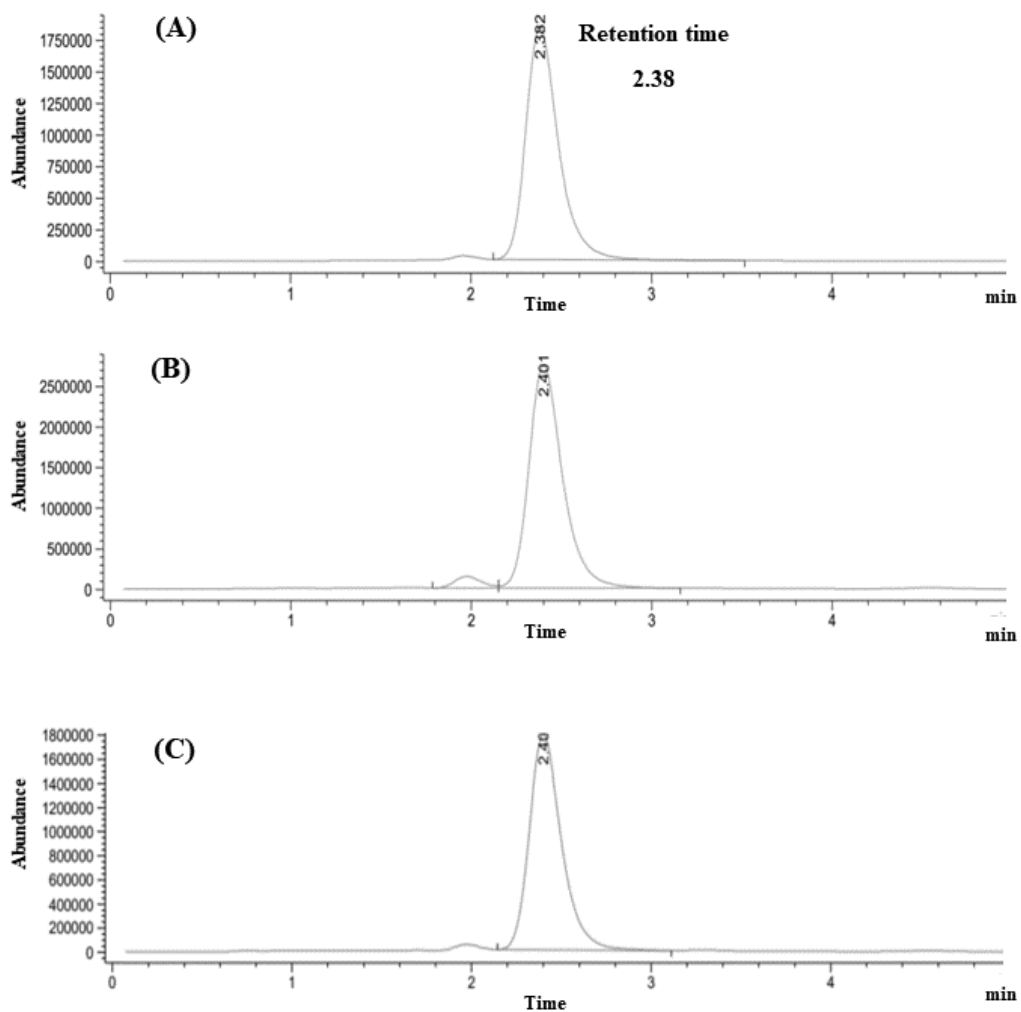


Fig. 7. The HPLC chromatograms of Coenzyme Q10 standard and extract of in solid-substrate fermented by *Aspergillus terreus* KCCM 12225 and *Monascus pilosus* KCCM 60084.

(A) Coenzyme Q10 standard. (B) *M. pilosus* KCCM 60084-fermented scoritae after 7 days of fermentation. (C) *A. terreus* KCCM 12225-fermented scoritae after 7 days of fermentation.

Table 5. Contents of coenzyme Q10 in solid-substrate fermented by *Aspergillus terreus* KCCM 12225 and *Monascus pilosus* KCCM 60084

Sample ¹⁾	Fermentation (days)	coenzyme Q10 (µg/g DW)	
		<i>A .terreus</i>	<i>M. pilosus</i>
		KCCM 12225	KCCM 60084
rice	0	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^o
	7	0.00±0.00 ^f	7.05±1.09 ^j
	14	1.18±0.03 ^f	9.66±0.98 ⁱ
	21	0.23±0.01 ^f	11.07±0.63 ^h
GBR	0	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^o
	7	0.39±0.09 ^f	1.45±0.52 ⁿ
	14	1.72±0.12 ⁱ	2.65±0.91 ^m
	21	1.66±0.16 ⁱ	2.11±0.76 ^l
WS	0	24.68±0.31 ^g	24.68±0.31 ^g
	7	41.02±1.87 ^b	56.14±2.87 ^e
	14	46.73±3.05 ^a	60.74±4.45 ^d
	21	28.76±1.32 ^f	41.12±1.82 ^f
seoritae	0	6.14±0.59 ^h	6.14±0.59 ^k
	7	38.06±2.11 ^c	72.02±4.19 ^a
	14	33.51±4.70 ^d	65.68±3.37 ^b
	21	29.67±0.90 ^e	63.77±1.24 ^c

¹⁾ GBR : Germinated brown rice, WS : White soybean

Each value represents the mean±SD (n=3). ^{a-o}Means within same columns with the different letters are significantly different from the period of fermentation(P<0.05) by Duncan's multiple range tests.

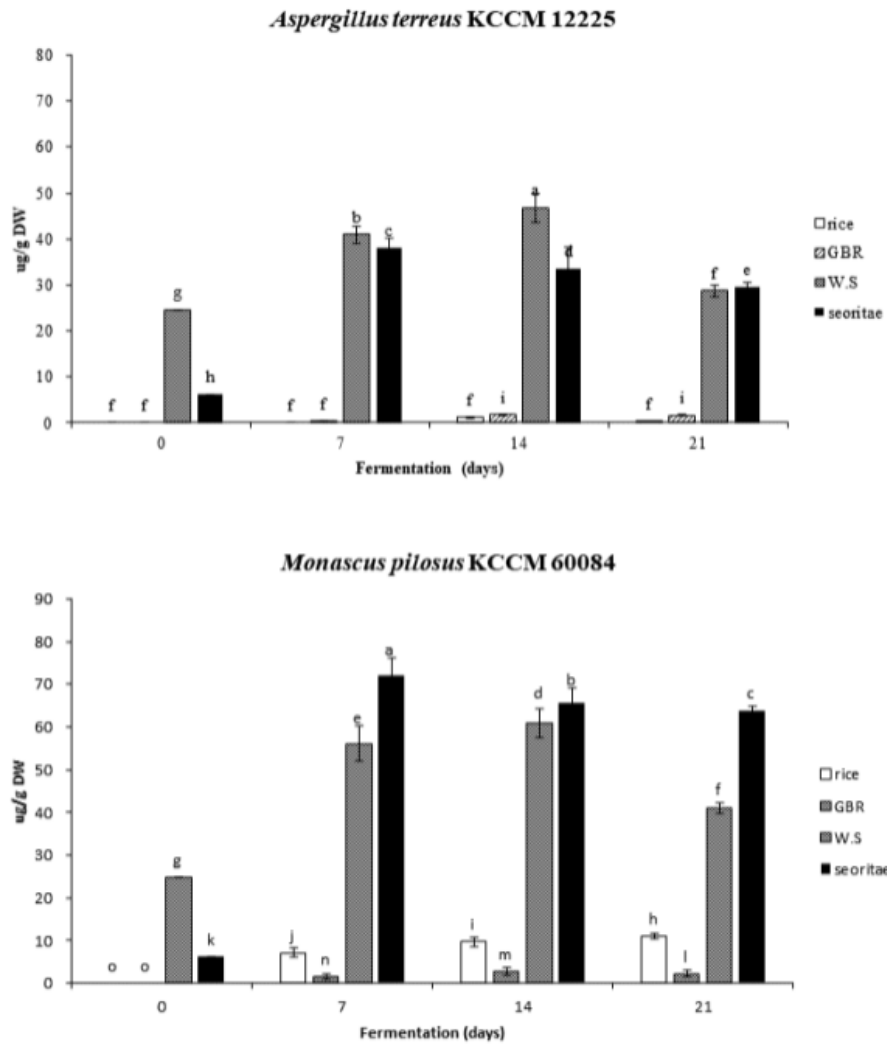


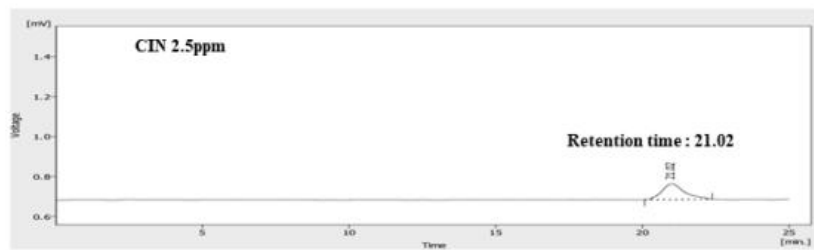
Fig. 8. Changes of Coenzyme Q10 in solid-substrate fermented by *Aspergillus terreus* KCCM 12225 and *Monascus pilosus* KCCM 60084.

GBR : Germinated brown rice, WS : White soybean

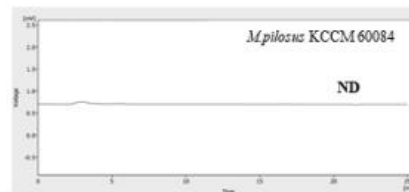
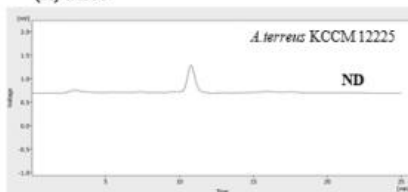
Each value represents the mean±S.D. (n=3), Different letters on bars indicate significant difference at the $P < 0.05$ among the same fungi.

3. 시트리닌 함량

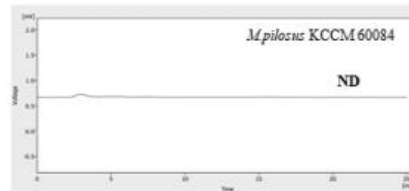
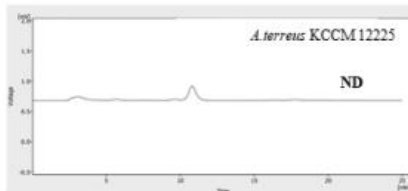
시트리닌은 곰팡이 독소의 일종으로 *Monascus*속과 *Aspergillus* 속의 균주 배양 시 메비놀린과 함께 생성될 수 있다. 시트리닌은 동물에서 신장 독성을 유발한다고 보고되어(Franco 등, 1996) 식품의약품안전처에서는 홍국 제품의 시트리닌 함량을 0.05 mg/kg 이하로 제한하고 있다(KFDA, 2014). 본 연구의 시료와 균주별 대표적인 크로마토그램을 Fig. 9와 같이 나타내었으며, 모든 발효물에서 시트리닌은 검출되지 않았다(Table 6). 따라서 *Monascus pilosus* KCCM 60084와 *Aspergillus terreus* KCCM 12225의 균주는 고상 기질에서 위생적으로 안전하게 메비놀린과 유비퀴논을 생성하는데 사용할 수 있다.



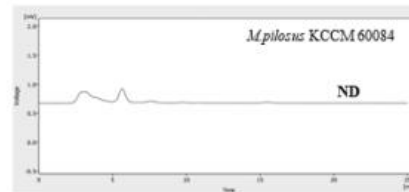
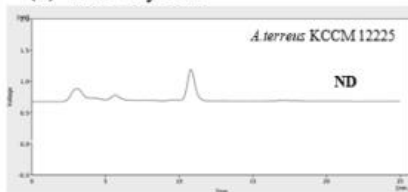
(A) Rice



(B) Germinated brown rice



(C) White soybean



(D) Seoritae

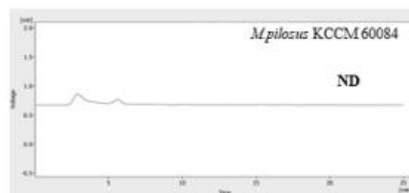
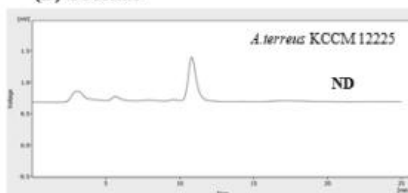


Fig. 9. The HPLC chromatogram of citrinin standard and extract of in solid-substrate fermented by *Aspergillus terreus* KCCM 12225 and *Monascus pilosus* KCCM 60084.

(A) rice. (B) germinated brown rice (C) white soybean. (D) seoritae.

Table 6. Contents of citrinin in solid-substrate fermented by *Aspergillus terreus* KCCM 12225 and *Monascus pilosus* KCCM 60084

Sample ¹⁾	Fermentation (days)	citrinin (mg/kg)	
		<i>A. terreus</i>	<i>M. pilosus</i>
		KCCM 12225	KCCM 60084
rice	0	ND	ND
	7	ND	ND
	14	ND	ND
	21	ND	ND
GBR	0	ND	ND
	7	ND	ND
	14	ND	ND
	21	ND	ND
WS	0	ND	ND
	7	ND	ND
	14	ND	ND
	21	ND	ND
seoritae	0	ND	ND
	7	ND	ND
	14	ND	ND
	21	ND	ND

¹⁾GBR : Germinated brown rice, WS : White soybean

Each value represents the mean±S.D. (n=3), ND : not detected.

IV. 결론

Monascus pilosus KCCM 60084와 *Aspergillus terreus* KCCM 12225으로 발효한 고상 기질인 쌀, 발아현미, 백태, 그리고 서리태에서 곰팡이 독소 성분인 시트리닌을 함유하지 않은 메비놀린과 CoQ10의 생산 능력을 균주별, 발효 기질별, 발효일에 따른 결과를 비교 평가하였다. 메비놀린 함량은 두 균주 모두 네 가지 기질의 발효 후에 농도가 유의적으로 증가하였으며($P < 0.05$), 특히 *A. terreus* KCCM 12225로 발효시킨 경우 모든 처리구에서 *M. pilosus* KCCM 60084의 발효물에 비해 그 함량이 높게 나타났다. 특히 *A. terreus* KCCM 12225을 접종한 서리태는 메비놀린 함량이 발효 21일에 $872.19 \pm 4.55 \mu\text{g}$ 으로 가장 높은 증가를 보였으며, 이는 동일한 조건의 *M. pilosus* KCCM 60084의 발효물 보다 3.9배 높았다. 두 균주 발효로 인한 CoQ10 함량 또한 발효 전에 비해 유의적으로 증가하였으며, *M. pilosus* KCCM 60084로 발효시킨 경우 모든 처리구에서 *A. terreus* KCCM 12225보다 높게 나타났다. 특히 가장 높은 함량을 나타낸 *M. pilosus* KCCM 60084로 7일간 발효한 서리태 ($72.02 \pm 4.19 \mu\text{g}$)의 경우, 동일 조건의 *A. terreus* KCCM 12225($38.06 \pm 2.11 \mu\text{g}$) 보다 1.9배 높은 함량으로 비교되었다. 곰팡이 독소(mycotoxin)의 일종인 시트리닌은 모든 발효물에서 발견되지 않았다.

따라서 메비놀린 생산 증대를 위한 조건으로는 *A. terreus* KCCM 12225를 서리태에 배양하여 3주간 발효하는 것이 적합하며, CoQ10 생산 증대를 위한 조건은 *M. pilosus* KCCM 60084를 서리태에 배양하여 1주간 발효하는 것이 적합한 것으로 평가되었다. 메비놀린과 CoQ10을 동시에 생산하기 위한 상대적인 최적의 조건은 *A. terreus* KCCM 12225를 서리태에 3주간 발효하는 것으로 나타났다.

참고문헌

Alberts AW, Chen J, Kuron G, Hunt V, Huff J, Rothrock J, Lopez M, Joshua H, Harris E, Patchett A, Monaghan R, Currie S, Stapley E, Albers-Schonberg G, Hensens O, Hirschfield J, Hoogsteen K, Liesch J, Springer J. Mevinolin; A highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme a reductase and a cholesterol-lowering agent. *P Natl. A. Sci. Usa.* 77, 3957-3961 (1980).

Barrios-González J. Solid-state fermentation: physiology of solid medium, its molecular basis and applications. *Process Biochem.* 47(2), 175-85 (2012).

Caso G, Kelly P, McNurlan MA, Lawson WE. Effect of Coenzyme Q10 on Myopathic Symptoms in Patients Treated With Statins. *Am. J. Cardiol.*, 99(10), 1409-1412 (2007).

Cho JJ, Lee SH. A comparison of lovastatin and simvastatin in treatment of hyperlipidemia. *Korean j. clin. pharm.*, 12(1), 39-50 (2002).

Choe JS, Ahn HH, Nam HJ. Comparison of nutritional composition in Korean rices. *K Korean Soc Food SciNutr.* 31, 885-892 (2002).

Choi HK, Won EK, Choung SY. Effect of coenzyme Q10 supplementation in statin-treated obese rats. *Biomol. Ther.*, 24(2), 171 (2016).

Crane FL. Biochemical functions of coenzyme Q10. *J. Am. Coll. Nutr.*, 20(6), 591-598 (2001).

Davidson MH, Lukacsko P, Sun JX, Phillips G, Walters E., Sterman A, Niecestro R, Friedhoff L. A multiple-dose pharmacodynamic, safety, and pharmacokinetic comparison of extended-and immediate-release formulations of lovastatin. *Clin. Ther.*, 24(1), 112-125 (2002).

Derosa G, D'Angelo A, Maffioli P. Coenzyme q10 liquid supplementation in dyslipidemic subjects with statin-related clinical symptoms: A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Drug Des., Dev. Ther.*, 13, 3647 (2019).

Franc S, Dejager S, Bruckert E, Chauvenet M, Giral P, Turpin G. A comprehensive description of muscle symptoms associated with lipid-lowering drugs. *Cardiovasc. Drugs Ther.*, 17(5), 459-465 (2003).

Franco CM, Fente CA, Vazquez B, Cepeda A, Lallaoui L, Prognon P, Mahuzier G. Simple and sensitive highperformance liquid chromatography-fluorescence method for the determination of citrinin application to the analysis of fungal cultures and cheese extracts. *J Chromatogr A* 723: 69-75 (1996).

Friedrich J, Žužek M, Benčina M, Cimerman A, Štrancar A, Radež I. High-performance liquid chromatographic analysis of mevinolin as mevinolinic acid in fermentation broths. *J. Chromatogr. A*, 704(2), 363-367 (1995).

Ghirlanda G, Oradei A, Manto A, Lippa S, Uccioli L, Caputo S, Greco

AV, Littarru GP. Evidence of plasma CoQ10-lowering effect by HMG-CoA reductase inhibitors: a double-blind, placebo-controlled study. *J. Clin. Pharmacol.*, 33(3), 226-229 (1993).

Hui DY and Howles PN. Molecular mechanisms of cholesterol absorption and transport in the intestine. *Semin. Cell Develop. Biol.*, 16(2), 183-192 (2005).

Jang JE, Choi HR, Lee JH, In JP, Lee JM, Kim SP, Jin JH, Park TH, Choi MJ, Lee TB. The Effect of Rice with *Aspergillus terreus* on Lipid Metabolism in Rats. *Korean J. Food Sci.*, 47(5), 658-666 (2015).

Jin YJ, Pyo YH. Effect of *Monascus*-Fermentation on the Content of Bioactive Compounds in White and Black Soybeans. *Korean FoodSci.Technol.*, 47(3), 409-412 (2015).

Kaikkonen J, Nyssönen K, Tuomainen TP, Ristonmaa U, Salonen JT. Determinants of plasma coenzyme Q10 in humans. *FEBS Lett.*, 443(2), 163-166 (1999).

KFDA. Health Functional Food Code. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. 113 (2014).

Kim EH, Ro HM, Kim SL, Kim HS, Chung IM. Analysis of isoflavone, phenolic, soyasapogenol, and tocopherol compounds in soybean (*Glycine max.* (L.) Merrill) germ plasms of different seed weights and origins. *J. Agr. Food Chem.*, 60, 6045-6055 (2012).

Kim MJ. Analysis of the factors enhancing *Monascus* pigment

production in mixed culture. PhD Dissertation. Yonsei University, Seoul, Korea (1995).

Kim MY, Lee YJ, Song MS, Oh HA, Jang GY, Kim KM, Lee JS Jeong HS. Effects of High Hydrostatic Pressure and Ultrafiltration Treatment on Physiological Activities of Germinated Black Soybeans. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 47 (8), 780-785 (2018).

Kim SH, Kang SA. Antioxidant and Anti-Diabetic Activities of Soybean Fermented with *Monascus*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 34 (2), 187-195 (2021).

Kim SS, Kim YK, Lee WJ. Microwave vacuum drying of germinated brown rice as a potential raw material for enzyme food. Korean J. Food Sci. Technol. 30, 1107-1113 (1998).

Kim SJ, Ko HS, Kim HS. Development of seed culture using soybean for mass production of lovastatin with *Aspergillus terreus* ATCC 20542 mutant. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 37(5), 666-670 (2008).

Kim SL, Son YK, Son JR, Hur HS. Effect of germination condition and drying methods on physicochemical properties of sprouted brown rice. Korean J. Crop Sci., 46, 221-228 (2001).

Kivipelto M. Apolipoprotein E ϵ 4 Allele, Elevated midlife total cholesterol level, and high midlife systolic blood pressure are independent risk factors for late-life Alzheimer disease. Ann. Inter. Med., 137(3), 149-152 (2002).

Kyoun OY, Oh SH, Kim HJ, Yoon YK, Kim HM, Kim MR. Analyses of nutrients and antinutrients of rice cultivars. *Korean J. Food Cookery Sci.* 22, 949-956 (2006).

Lee GN, Choi HY, Yang SJ. Effects of dietary and physical activity interventions on metabolic syndrome: A meta-analysis. *J. Korean Acad. Nurs.*, 45(4), 483-494 (2015).

Lee JG. Antioxidant Activities and Monacolin K Production on Solid-State Fermentation of Diverse Yam by *Aspergillus* Species Strain. *Korean J. Microbiol.*, 50(1), 53-59 (2014).

Lee SH, Jang GY, Kim MY, Kim SJ, Lee YR, Lee JS, Jeong HS. Effect of *Monascus* Fermentation on Content of Monacolin K and Antioxidant Activities of Germinated Brown Rice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 44(8), 1186-1193 (2015).

Lester RL, Crane FL. The natural occurrence of coenzyme Q and related compounds. *J. Biol. Chem.*, 234(8), 2169-2175 (1959).

Liu KS. Chemistry and nutritional value of soybean components. pp. 25-113. In: *Soybean*. Chapman & Hall, New York, NY, USA (1997).

López-Lluch G, Rodríguez-Aguilera JC, Santos-Ocaña C, Navas P. Is coenzyme Q a key factor in aging?. *Mech. Ageing Dev.*, 131(4), 225-235 (2010).

Ma J, Li Y, Ye Q, Li J, Hua Y, Ju D, Zhang D, Cooper R, Chang M. Constituents of red yeast rice, a traditional Chinese food and medicine.

J. Agric. Food Chem., 48(11), 5220-5225 (2000).

Manzoni M, Rollini M. Biosynthesis and biotechnological production of statins by filamentous fungi and application of these cholesterol-lowering drugs. Appl. Microbiol. Biotechnol., 58(5), 555-564 (2002).

Mornar A, Sertić M, Nigović B. Development of a rapid LC/DAD/FLD/MS method for the simultaneous determination of monacolins and citrinin in red fermented rice products. J. Agric. Food Chem., 61(5), 1072-1080 (2013).

Mo KH, Choi, YM, Choi SG, Lee JS. The change of some compounds in brown rice and germinated by filtrate of loess suspension. J. Agric. Life Sci., 40, 41-48 (2006).

Morovjan G, Szakacs G, Fekete J. Monitoring of selected metabolites and biotransformation products from fermentation broths by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr A 763, 165-172 (1997).

Oh YS. Study on nutritional properties of sprouting brown rice. MS thesis, Kongju National University, Gongju, Korea (2002).

Okello E, Jiang X, Mohamed S, Zhao Q, Wang T. Combined statin/coenzyme Q10 as adjunctive treatment of chronic heart failure. Med. Hypotheses, 73(3), 306-308 (2009).

Park JY, Han SI, Seo WD, Ra JE, Sim EY, Nam MH. Study on *Monascus* strains and characteristic for manufacturing red yeast rice with

high production of monacolin K. *Korean J. CropSci.*, 59(2), 167-173 (2014).

Patakova P. Red yeast rice. In: McGraw-Hill yearbook of science and technology, McGraw-Hill, New York. 286-288. ISBN 0-07-144504-8 (2005).

Pattanagul P, Pinthong R, Phianmongkhon A, Leksawasdi N. Review of angkak production (*Monascus purpureus*). *Chiang Mai J. Sci*, 34(3), 319-328 (2007).

Rallidis LS, Fountoulaki K, Anastasiou-Nana M. Managing the underestimated risk of statin-associated myopathy. *Int. J. Cardiol.* 159: 169-176 (2012).

Schumann, J, Hertweck C. Advances in cloning, functional analysis and heterologous expression of fungal polyketide synthase genes. *J. Biotechnol.*, 124(4), 690-703 (2006).

Stefan B, Arantxa E, Julia K, Carl F, Nising chemistry and biology of mycotoxins and related fungal metabolites. *Chemical Reviews*, 109, 3903-3990 (2009).

Takahashi R, Ohmori R, Kiyose C, Momiyama Y, Ohsuzu F, Kondo K. Antioxidant activities of black and yellow soybeans against low density lipoprotein oxidation. *J. Agr. Food Chem.* 53, 4578-4582 (2005).

Thompson PD, Clarkson P, Karas RH. Statin-associated myopathy. *Jama*, 289(13), 1681-1690 (2003).

Wu HC, Cheng MJ, Wu MD, Chen JJ, Chen YL, Chang HS, Chen KP. Secondary metabolites from the fermented rice of the fungus *Monascus purpureus* and their bioactivities. *Nat. Prod. Res.*, 1-10 (2018).

Xia X, Ma Y, Xing X, Huang C, Li L, Gui G, Liu Q, Xue S. Antioxidant and hepatoprotective effect of different extracts of guizhencao (herba *bidentis bipinnatae*) against liver injury in hyperlipidemia rats. *J. Tradit. Chin. Med.*, 33(4), 518-523 (2013).

Xu BJ, Yuan SH, Chang SKC. Comparative analyses of phenolic composition, antioxidant capacity, and color of cool season legumes and other selected food legumes. *J. Food Sci.*, 72, S167-S177 (2007).

ABSTRACT

Effect of *Monascus pilosus* and *Aspergillus terreus* on the Content of CoQ10 and Natural Statins (mevinolin) in Solid State Fermentation

Lee A Rang

Department of Food & Nutrition

Graduate School of

Sungshin University

Mevinolin (natural statins), a fungal metabolite, is a potent inhibitor of HMG-CoA reductase, the rate-controlling enzyme in cholesterol biosynthesis. Ubiquinone (Coenzyme Q10, CoQ10) is a lipid soluble, endogenous hydroxy benzoquinone compound involved in electron transport in the mitochondrial oxidative phosphorylation, and it protects membrane phospholipids against peroxidation that has been implicated in many processes of tissue injury.

The changes in the contents of mevinolin and CoQ10 were analysed by HPLC-MS during solid-substrate (rice, germinated brown rice, white soybean, and seoritae) fermentation with *Monascus pilosus* KCCM 60084 and *Aspergillus terreus* KCCM 12225 at 30°C for 21 days. The significant increase ($P<0.05$) of mevinolin was observed in *A. terreus*-fermented solid substrates compared with *M. pilosus*-fermented solid substrates. The highest yields of 872.2 µg per g dry weight

seoritae (black soybean) were obtained after 21 days of fermentation. However, CoQ10 content increased by 1.9 times (72.0 µg/g) in *M. pilosus*-fermented seoritae after 7 days of fermentation than those fermented with *A. terreus*. Citrinin was not detected in all samples. Thus, *Aspergillus terreus* KCCM 12225 was suitable for mevinolin, *Monascus pilosus* KCCM 60084 was suitable for CoQ10 production, respectively. Seoritae was found to be the best substrate among rice, germinated brown rice, and white soybean for both mevinolin and CoQ10 production. The results indicate that *Monascus pilosus* KCCM 60084- or *Aspergillus terreus* KCCM 12225-fermented soybean has potential as multi-functional health food supplement.