

Monascus

(Monascus)

Marijan Katelenić

Hrvatski zavod za javno zdravstvo

Ključne riječi: monascus (m. purpureus, m. pilosus, m. ruber), Angkak, prirodno bojilo, bojenje namirnica, mesni proizvodi

Kvasci vrste *Monascus* fermentirajući rižu proizvode crvene, ljubičaste i žute pigmente. Bojila se zajedno s podlogom ili izdvojena koriste za bojenje namirnica, ali i kao osnova za razne vrste pripravaka tradicionalne istočno Azijske medicine.

Uporaba *Monascus* pigmentata za bojenje namirnica nema zakonsku podlogu u Hrvatskoj, a istraživanja provedena u laboratorijski fermentiranim uzorcima nalaze mikotoksin citrinin i druge neidentificirane spojeve.

Kao i za sva "prirodna bojila" koja se dodaju u namirnice, jasno se postavlja pitanje razgraničenja između tehnološke nužnosti i krivotvorenja osnovnog sastava proizvoda, a time i zdravstvene ispravnosti namirnica.

Dodavanje bojila namirnicama koje prolaze tehnološku obradu ima svrhu održavanja izvorne boje namirnica. Tehnološkom nužnošću smatra se naknadno dodavanje prirodnih bojila sirovina od koje je namirnica napravljena. U posebnim slučajevima pod time se razumijeva i dodavanje drugih bojila, jer originalno prirodno bojilo ili nije postojano nakon dodavanja ili ga nije moguće izdvojiti u potrebnoj količini i nijansi boje prirodne sirovine. Pod drugim bojilima, osim prirodnih misli se i na sintetska organska bojila.

Za bojila kao i za sve ostale aditive obavljaju se prije stavljanja na pozitivnu listu aditiva složena i određena ispitivanja. Ispitivanjima se utvrđuje točna kemijska formula, biološko, biokemijsko, toksikološko, tehnološko djelovanje, utvrđuje maksimalna količina dodavanja i dozvoljeni dnevni unos.

Često se postavlja pitanje jesu li aditivi, pa tako i bojila iz prirodnih sirovina "sigurniji" od aditiva sintetiziranih kemijskim putem? U osnovi ta razlika ne postoji, jer su aditivi koji se dobivaju iz prirodnih sirovina kao i aditivi sintetizirani kemijskim putem podvrgnuti kontroliranom kemijskom postupku, pa se radi samo o različitim izvornim sirovinama. Kao i sintetska organska bojila i prirodna bojila se zlorabe u svrhu krivotvorenja dodanih sirovina, ali je otkrivanje takvih krivotvorina analitički teže dokazati.

No kod nekih proizvoda postoji tehnološka nužnost koja opravdava uporabu bojila.

Pelargonidin, antocijansko bojilo kod proizvoda koji sadrže jagodu kao osnovnu sirovinu, nije postojano nakon termičke obrade, a boja jagode mijenja se u smeđe-crvenu neprivlačnu boju iako okus ostaje očuvan. Za neke proizvode sa dodatkom jagode dozvoljena je uporaba postojanijeg bojila Cochenille E120 ili Betaina E162 (koje se dobiva iz cikle). Za razliku od pelargonidina, druga antocijanska bojila cyanidin i delphinidin su dovoljno postojana u borovnici i mogu izdržati termičku obradu, utjecaj svjetla i sačuvati izvornu boju namirnica. Količina cyanidina iz trešnje ipak nije dovoljna i postojana i mora se u kompotima i kandiranom voću nadomjestiti sintetskim organskim bojilom Erythrosine E127 ili nekim drugim Antocijanima E163. Postoje još neke točno određene iznimke koje se opravdavaju tehnološkom nužnošću, a potrošač se ispravnim deklariranjem i dodanim sirovinama ne dovodi u zabludu u pogledu sastava proizvoda.

Na žalost vrlo često se tehnološka nužnost zlorabi te se bojila dodaju iako za to ne postoji tehnološko opravdanje, a u svrhu zamjene prirodnih sirovina sličnima, manje vrijednim. Kod drastičnijih slučajeva udio prirodnih sirovina mijenja se aditivima, najčešće zgušnjivačima, a postizanjem konzistencije, boje i arome učine proizvod sličan prirodnom. Ako uz to i deklaracija ne slijedi sastav, neupućeni potrošač kupuje rog za svijeću.

Isticanje boje proizvoda u svrhu razlikovanja od istih učestali je oblik zlouporabe tehnološke nužnosti. Takav način zlouporabe naziva se "nuđenje" ili "razlikovanje od istog". Najčešće se koristi kod posebnih vrsta tjestenina od povrća zamjenom povrća prirodnim bojilom Klorofilom E140 ili čak Bakrenim kompleksom klorofila E141 što nije dozvoljeno ali je teško dokazivo ili povećanim dodavanjem Karotena E160 brašnu za tjesteninu koje ga ne sadrži u dovoljnim količinama, što je nažalost dozvoljeno. Takva tjestenina je žuća (kao da su dodana jaja) i time privlačnija za potrošača. Bojila se dodaju i u mliječne proizvode osim sladoleda na bazi voća, kakao praha, čokolade i jaja. Paste za sladolede na bazi voća su najčešći primjer zlouporabe prirodnih bojila, jer se prirodnom bojom, zgušnjivačima, šećerom i aromom bitno smanjuje udio prirodnih sirovina. Tako je bila hit

pasta za sladoled "zelena jabuka" obojena modificiranim prirodnim bojilom, Bakrenim kompleksom klorofila E141 uz dodatak par rezanaca jabuke zelene kore. Sladoled menta sa dva sintetska organska bojila (E102,E131) još je jedan takav primjer u nizu.

Od grupa namirnica kojima je dozvoljeno dodavanje bojila posebno se ističu bombonski proizvodi, keksi i kolači, neke grupe osvježavajućih bezalkoholnih pića i sirupa, neke grupe alkoholnih pića, prašak za puding, kreme i deserte gdje bojila uz arome smiju u potpunosti zamijeniti prirodnu sirovinu.

Monascus Red (honqu hong)

U nizu bojila koje se zlorabe u svrhu "nuđenja" , javljaju se i bojila koja nastaju kao produkt fermentacije kvasaca roda *Monascus* na riži kao podlozi. To su kvasci :

- *Monascus purpureus*
- *Monascus pilosus*
- *Monascus ruber*

Kao podloga koristi se polirana riža koja se najprije potapa u vodu, nakon močenja sterilizira, inokulira čistom kulturom *Monascus*, fermentira 7 dana na 25-35 oC, prosijava, melje, suši na 60 oC, pasterizira , pakira i prodaje. U ovom slučaju fermentirana riža sadrži i biomasu *Monascus*, a iz biomase *Monascus* mogu se ekstrahirati čisti pigmenti crvene, narančaste i žute boje. Tako izdvojeni pigmenti koriste se u azijskim zemljama kao bojila za prehramne proizvode. Odnedavno se koriste i u zemljama EU, ali je njihovo korištenje nelegalno i nije zakonski uređeno.

Tablica 1 - Prikaz kemijske formule i relativne molekularne mase izdvojenih pigmenta

naziv izdvojenog pigmenta	kemijska formula	rel. mol. masa
Rubropunctatin (crveni Pigment)	$C_{21}H_{22}O_5$	354,40
Monascin (narančasti Pigment)	$C_{21}H_{26}O_5$	358,43
Monascorubrin (crveni Pigment)	$C_{23}H_{26}O_5$	382,46
Ankaflavin (narančasti Pigment)	$C_{23}H_{30}O_5$	386,49
Rubropunctamin (purpurno crveni Pigment)	$C_{21}H_{23}NO_4$	339,39
Monascorubramin (ljubičasti Pigment)	$C_{23}H_{27}NO_4$	367,44

Fermentirana crvena riža osim bojila čiji su sastav i kemijska struktura poznati, sadrži i veći broj drugih nepoznatih sastojaka.

Komercijalni proizvodi u prahu određenog sastava aktivnih tvari, TIP 600 - 1,000 - 2,000 otopljeni u otapalima, spektrofotometrijskim testom pokazuju različite apsorbcije na valnim dužinama. Te apsorbcije su provjera sastava proizvoda, a o sastavu proizvoda ovisi kvaliteta i namjena proizvoda.

Tablica 2 - Prikaz adsorbancija crvenog praha *Monascus* u ovisnosti o vrsti otapala i apsorpcionom maksimumu

Boja	crvena, tamno crvena	valna dužina	TIP 600	TIP 1,000	TIP 2,000
	U VODI	(E490nm)	1,568	2,070	2,415
Otopljeno u	U ETANOLU	(E510nm)	5,890	12,080	8,700
	U METANOLU	(E495nm)	8,540	8,100	13,700

Kemijska ispitivanja su pokazala da laboratorijski uzgojene kulture *Monascus purpureus* DSM1379 fermentiraju rižu stvarajući mikotoksin citrinin u količinama 600 - 800 mg/kg. U paralelnim ispitivanjima fermentirane riže s tržišta (Tablica 2), nađene količine citrinina su manje od 50 mg/kg, što je i razumljivo jer različiti tipovi proizvoda sadrže različitu količinu fermentirane riže pa time i bojila. Ipak po nekim drugim svojstvima može se zaključiti da su nuđeni proizvodi nestandardni po sastavu i načinu pripreme.

Za razliku od drugih mikotoksina, sadržaj citrinina je posebno velik što implicira da je i toksičnost puno manja u poređenju s drugim mikotoksinima.

Kemijski naziv citrinina je (3R-trans)-4,6-dihidro-8-hidroksi-3,4,5-trimetil-6-okso-3H-2-benzopiran-karboksilna kiselina. Proizvode ga i razne vrste *Penicillium* i *Aspergillus* koje kontaminiraju hranu, a nađen je kod voća, povrća i naročito kikirikija. Čovjek oralnim putem unosi citrinin u organizam. U kontroliranim testovima na karcinogeno djelovanje kod muških štakora nađeno je da citrinin izaziva tumore na bubrezima, a kod nekih drugih pokusa na glodavcima i promjene na embrijima.

U pogledu kancerogenog djelovanja na čovjeka nema epidemiološki prijavljenih slučajeva.

Ipak za razliku od mikotoksina koji nastaju kao produkt mikrobiološke kontaminacije namirnica, *Monascus* se uzgaja za namjerno dodavanje namirnicama te je određivanje količina citrinina, kao i poznavanje točnog sastava osnova za pokretanje zakonske procedure za legalno dodavanje u neke namirnice.

U Tablici 3 prikazane su namirnice i količine fermentirane riže / bojila koji se dodaju u namirnice. Raspon u količinama koje se dodaju je naznačen i ovisi o proizvošaču fermentirane crvene riže kao i o količini bojila koja je prisutna* . (vidi i Tablicu 2).

Tablica 3 - Vrste proizvoda i preporučene količine fermentirane riže / bojila

Naziv proizvoda	Preporučene količine u % *	Naziv proizvoda	Preporučene količine u % *
Kobasica/šunka/meso	0.005 - 0.2	morski proizvodi	0.1 - 0.2
Sladoled	0.02 - 0.1	Umak	0.02 - 0.1
Koncentrat rajčice	0.5 - 2	Đem/konfitura	0.02 - 3
Cumy /začin	0.005	Slastice	0.001 - 0.005
Snek proizvodi	0.02 - 0.1	ferm. bean curd	0.2 - 2
pečena patka/pile	0.5 - 1	Crveno vino	0.2 - 1
Voćni sokovi/pulpa	0.002 - 0.005	Za umak pri kuhanju	0.5 - 2 žličice ili tablete
Drugi proizvodi	prema zahtjevu	Kozmetika	prema zahtjevu
Boje za kosu	prema zahtjevu	Obojani tekstil	prema zahtjevu

Metode dokazivanja

a) dokazivanje u proizvodu

Prvi korak :

Izrezati mesne polutrajne i obarene proizvode sa dosta prata kod kojih je uočljiva roskasto crvenkasta boja. Ostaviti proizvode stajati na zraku oko 2 sata. Ako ne dođe do bitnog gubljenja boje, može se sumnjati na bojenje proizvoda bojilima dobivenim od *Monascus*. To se posebno odnosi na vegetarijanske proizvode slične oblikom mesnim proizvodima.

Drugi korak:

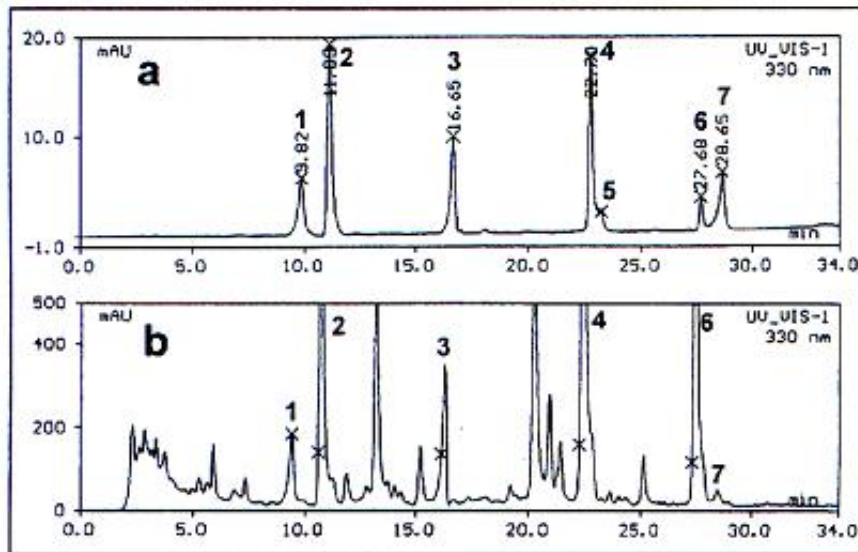
Ekstrahirati 10 g proizvoda prvog koraka s acetonitrilom te snimiti spekatar u spektralnom području 360 - 450 nm. Apsorpcijski maksimumi na 390 i 386 nm ukazuju na moguće prisustvo bojila *Monascina* i *Ankaflavina*

b) određivanje u proizvodu

Proizvode na koje se opravdano sumnja (prvi i drugi korak) ekstrahirati acetonitrilom (kvanitativno) i analizirati na HPLC-u uz gradijent i određenu kolonu te posebno pripremljene eluente.

Dobiveni kromatogram trebao bi sadržavati jednu ili više Monascin bojila kako je i prikazano na Slici 1.

Slika 1 - Kromatogram tekućinske kromatografije s dokazanim i određenim bojilima tipa Monascus



Kromatogram a predstavlja standarde bojila Monascususa kako slijedi:

1. Rubropunctamin
2. Citrinin
3. Monascorubramin
4. Monascin
5. Rubropunctatin
6. Ankaflavin
7. Monascorubin

Kromatogram b predstavlja ekstrahirana Monascin bojila iz sirovine za bojenje.

Potrebno je istaknuti da je citrinin u ovom slučaju dokazan i u sirovini koja je namijenjena za bojenje proizvoda, što u svakom slučaju implicira i potvrđuje potrebu pomnijeg razmatranja uporabe ove vrste bojila.

Zaključak:

Dodavanje dozvoljenih bojila u namirnice mora pratiti dobar razlog koji se može opravdati tehnološkom nužnošću. To bi značilo ponovno razmatranje Pravilnika o aditivima koji se mogu nalaziti u namirnicama posebno u poglavlju dodavanja bojila u namirnice. Bez obzira na globalne dogovore koji su danas na snazi, potrošači se bezuvjetno moraju zaštititi od pretjerane, nepotrebne i nadasve široke uporabe bojila u namirnicama.

Svaka uporaba sintetskih organskih ili prirodnih bojila nosi sa sobom mogućnost krivotvorenja prirodnih sirovina koje se dodaju u proizvode, a time i varanja potrošača. Novijim pogledima na definiciju zdravstvene ispravnosti jasno se nazire da i sastav ili kakvoća namirnice utječu na zdravlje ljudi, a ne samo mikrobioške promjene, količina kontaminanta ili prehrambenih aditiva. Upravo prehrambeni aditivi često se koriste radi mijenjanja sastava proizvoda na način koji je teško utvrditi analitičkim putem. Količina dodanih aditiva je zanemariva učinku koji postižu, a ušteda proizvođaču i od 1 % na originalnoj sirovini, bitno povećava financijski dobitak.

Bojila koja nastaju fermentacijom Monascususa na riži samo potvrđuju traženja proizvođača za manje skupim, ali atraktivnim bojilima iz kategorije "prirodnih bojila". No ponovno otvaranje pitanja dodavanja bojila u namirnice, legalizaciju uporabe bojila iz crvene riže bila bi bito odgođena.

Također količina citrinina koja se razlikuje u komercijalnim proizvodima kao i nedostatak podataka o procjeni zdravstvene ispravnosti fermentirane crvene riže kao dodatka ili čak prehrambenog aditiva, jasno određuje da crvenu fermentiranu rižu u treba do daljnjega zabraniti.