

## ROD *Monascus* A JEHO SEKUNDÁRNÍ METABOLITY

MARKÉTA HUSÁKOVÁ

Ústav biotechnologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6  
husakovm@vscht.cz

Došlo 14.12.20, přijato 1.2.21.

Klíčová slova: rod *Monascus*, sekundární metabolity, monakoliny, citrinin, pigmenty, biologická aktivita

### Obsah

1. Úvod
2. Rod *Monascus*
  - 2.1. Charakteristika rodu
  - 2.2. Výskyt a druhové zastoupení
3. Metabolity
  - 3.1. Monakoliny
  - 3.2. Citrinin
  - 3.3. Pigmenty
  - 3.4. Dimerumová kyselina
  - 3.5.  $\gamma$ -Aminomáselná kyselina
4. Závěr

### 1. Úvod

Rod *Monascus* patří do říše Fungi, jedná se o vláknité mikromycety tvořící hyalinní až hnědě zbarvené mycelium. Přestože byl tento rod poprvé popsán až v 19. století, je v Asii (hlavně Číně, Japonsku, Thajsku a Indonésii) znám a využíván již po staletí. Tradičně se používá k produkci fermentovaných potravin, jako součást čínské medicíny nebo jako potravinářské barvivo. Nejvýznamnějším produktem je fermentovaná rýže, označovaná jako MFR (*Monascus-fermented rice*)<sup>1</sup>. Zástupci rodu produkují různé sekundární metabolity, nejvýznamnější jsou azafilónové pigmenty, monakoliny a mykotoxin citrinin. Roční produkce pigmentů produkovaných houbou *Monascus* je jen v Číně 20 000 tun. Uvádí se, že více než miliarda lidí konzumuje produkty fermentované houbou *Monascus* každý den<sup>2</sup>.

### 2. Rod *Monascus*

Rod *Monascus* byl poprvé popsán a definován francouzským botanikem van Tieghemem v roce 1884 (cit.<sup>3</sup>). Rod taxonomicky patří do říše Fungi, kmene Ascomycota, třídy Eurotiomycetes, řádu Eurotiales a čeledi Mo-

nascaceae<sup>4</sup>, v některé literatuře je rod řazen do čeledi Aspergillaceae<sup>5</sup>. Nejblíže fylogeneticky příbuzné rodu *Monascus* jsou xerofilní rody *Xerochrysum*, *Xeromyces* a také rod *Leiothecium*. Typovým druhem je *Monascus ruber* van Tieghem<sup>5</sup>.

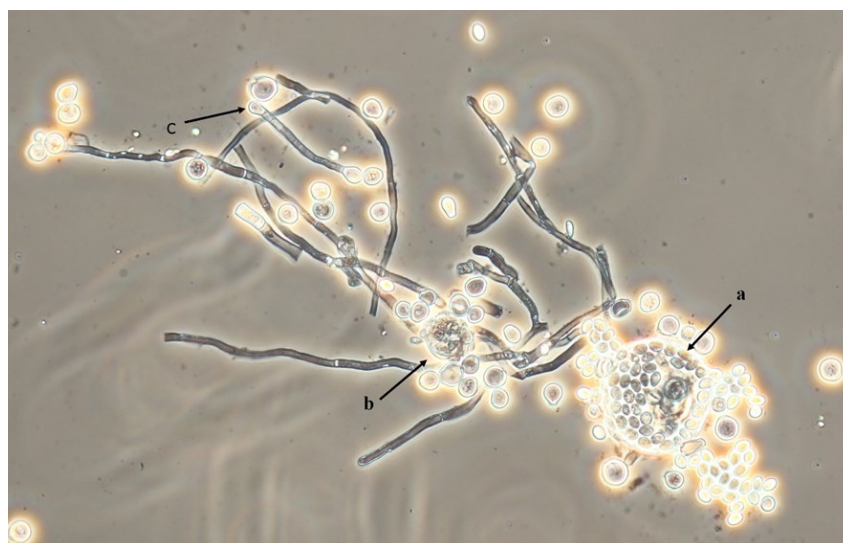
Označení rodu jako *Monascus* naznačuje, že zástupci tohoto rodu se pohlavně rozmnožují prostřednictvím jednobuněčného vřetka (neboli monoasku), což však platí pouze výjimečně u některých kmenů<sup>6</sup>.

Nejstarší doložená zmínka o rýžových produktech fermentovaných houbou *Monascus* pochází z období dynastie Song (16. století), jedná se o tzv. Jiuqu nebo Qu, tedy startovací kulturu pro výrobu rýžového vína. Kromě zástupců rodu *Monascus* obsahovaly startovací kultury a využitá rýžová zrna i rod *Rhizopus*, *Mucor*, *Aspergillus* a některé druhy kvasinek<sup>7</sup>. Nejvýznamnějším produktem využívajícím houbu *Monascus* je bezesporu fermentovaná rýže, označovaná jako MFR (*Monascus-fermented rice*), Hung-Chu, Hong Qu, Ang-kak, Ankak rice, Red yeast rice, Red mold rice nebo Beni-Koji<sup>1</sup>. Kromě fermentace rýže se houba *Monascus* používá také k fermentaci sójových bobů nebo jako konzervant a barvivo používané při výrobě masných výrobků<sup>7</sup>.

#### 2.1. Charakteristika rodu

Zástupci rodu *Monascus* v závislosti na kmenu tvoří hyalinní až hnědé mycelium a liší se rychlostí růstu v různých médiích a schopností produkce jednotlivých sekundárních metabolitů<sup>8,9</sup>. Zástupci rodu *Monascus* jsou aerobní, mezofilní organismy vyznačující se respiračně-fermentativním metabolismem, při nadbytku glukosy za aerobních podmínek produkují ethanol<sup>10</sup>. Produkují amylolytické, proteolytické, lipolytické a celulólytické enzymy, jsou proto schopny využívat širokou škálu substrátů, včetně například celulosy (*M. ruber*)<sup>11</sup>.

Většina zástupců rodu *Monascus* jsou homothalické kmény rozmnožující se pohlavně, jedná se tedy o telemorfa. Nepohlavně se rozmnožující forma (anamorfa) je nazvána *Basipetospora*. Rozmnožování probíhá pohlavně prostřednictvím askospor, askospory mají oválný tvar. Nepohlavní rozmnožování probíhá prostřednictvím jednobuněčných kulatých konidií (obr. 1)<sup>5</sup>. Při pohlavním rozmnožování se askospory vytváří v askokarpu. Askokarp, v případě rodu *Monascus* se jedná o kleistothecium, vzniká v různých velikostech s různým počtem askospor<sup>12</sup>. Po rozrušení askokarpu jsou spory uvolněny a po vyklíčení vytváří nové hyfy. Na různou velikost kleistothecií a počet askospor v nich má vliv počet jader v askogonech (samičí gametangia). Pokud obsahují menší počet jader, tak dochází ke vzniku méně askogenních hyf. Dále pak při vývoji asků z askogenních hyf může u některých asků docházet k degradaci<sup>12,13</sup>.



Obr. 1. Mikroskopický snímek kleistothecia (zralé (a), nezralé (b)) a konidií (c) kmene *Monascus purpureus* CBS 109.07, zvětšeno 400×

## 2.2. Výskyt a druhové zastoupení

Zástupce rodu *Monascus* můžeme nalézt hlavně jako kontaminanty potravin bohatých na škrob. Nejčastěji se jedná o houby fermentující rýži, vyskytují se také jako kontaminanty obilnin a jiných škrobnatých i neškrobnatých plodin. Nalézt je kromě potravin můžeme také v silážích či jiných zemědělských produktech<sup>7,14</sup>. Jsou však popsány i izoláty získané z říčního sedimentu<sup>15</sup>, půdy<sup>14</sup>, rostlinných tkání<sup>16</sup> nebo z medu, pylu a hnízd bezžihadlových včel (*Melipona scutellaris*)<sup>17</sup>.

V roce 1985 britský mykolog David L. Hawksworth definoval tři zástupce rodu, *Monascus pilosus* K. Sato, *Monascus purpureus* Went a *Monascus ruber* van Tieghem<sup>18</sup>. Během let bylo izolováno a popsáno více než 20 druhů. Dnes je však mezinárodně uznáváno pouze devět druhů rodu *Monascus*<sup>8</sup>. Jedná se o *Monascus ruber* Van Tieghem, *Monascus pilosus* K. Sato ex D. Hawksworth and Pitt, *Monascus purpureus* Went<sup>18</sup>, *Monascus floridanus* Cannon and Barnard<sup>16</sup>, *Monascus pallens* Canon, Abdullah and Abbas<sup>15</sup>, *Monascus sanguineus* Canon, Abdullah and Abbas<sup>15</sup>, *Monascus eremophilus* Hocking and Pitt<sup>19</sup>, *Monascus lunisporas* Udagawa and Baba<sup>20</sup> a *Monascus argentinensis*<sup>14</sup>.

Taxonomické zařazení zástupců rodu *Monascus* se stále vyvíjí, u některých druhů bylo během dalších genetických i morfologických výzkumů zjištěno, že se jedná o nové kmeny již známých, popsaných druhů. Například *M. kaoliang*, *M. rubiginosus*, *M. anka*, *M. albidus*, *M. araneosus*, *M. major* jsou shodné s druhem *M. purpureus*, dále *M. pubigerus*, *M. rubropunctatus*, *M. serorubescens* jsou shodné s druhem *M. pilosus* a *M. paxii*, *M. vitreus*, *M. fuliginosus* jsou shodné s druhem *M. ruber*<sup>9</sup>.

Zástupce rodu *Monascus* lze na základě morfologických znaků a charakteristik rozdělit do dvou skupin, *Flori-*

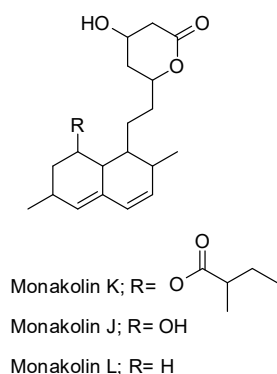
*dani* a *Ruberi*. Skupina *Floridani* odpovídá vlastnostmi druhu *Monascus floridanus*, do skupiny patří například druhy *M. pallens*, *M. argentinensis*, *M. lunisporas*. Skupina *Ruberi* odpovídá vlastnostmi druhu *Monascus ruber*, do skupiny dále patří například *M. pilosus* či *M. purpureus*. Zástupci skupiny *Ruberi* jsou charakterizováni jako producenti biologicky aktivních sekundárních metabolitů, např. pigmentů, monakolinů a citrininu<sup>17</sup>. Avšak i v rámci skupiny se jednotlivé kmeny liší svou schopností tvorby jednotlivých metabolitů<sup>21</sup>. Zástupci skupiny *Floridani* tyto skupiny sekundárních metabolitů neprodukují, některé kmeny však produkují specifické sekundární metabolity. Jedná se například o questin či bisdechlorogeodin<sup>17</sup>.

## 3. Metabolity

Rod *Monascus* se vyznačuje, jako mnoho dalších askomycet, produkcí široké škály sekundárních metabolitů. Nejvýznamnějšími a nejvíce využívanými sekundárními metabolity jsou pigmenty. Jedná se o azafilonové pigmenty se žlutým, oranžovým nebo červeným zabarvením. Kromě pigmentů produkují zástupci rodu také statiny, například monakolin K, L, J či dihydromonakolin L. Významným metabolitem je také mykotoxin citrinin. Dalšími produkovánými metabolity jsou například GABA ( $\gamma$ -aminomáselná kyselina), dimerumová kyselina, ethanol, organické kyseliny (jablečná, fumarová, jantarová) či enzymy (amylasy, proteasy, lipasy, celulasy či esterasy)<sup>1,6,10,11,22–24</sup>.

### 3.1. Monakoliny

Monakoliny patří do skupiny statinů. Statiny jsou látky působící jako inhibitory 3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzym A (HMG-CoA) reduktasy. HMG-CoA re-



Obr. 2. Strukturální vzorec monakolinu K, J a L

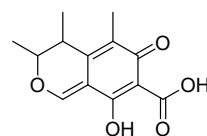
duktasa katalyzuje hlavní krok biosyntézy cholesterolu, kdy je HMG-CoA redukován na kyselinu mevalonovou. Nejvýznamnějším monakolinem je monakolin K, označovaný také jako lovastatin či mevinolin. Jeho struktura je uvedena na obr. 2. Jedná se o komerčně produkované léčivo používané pod názvem Mevacor ke snižování množství cholesterolu v krevní plazmě (hypercholesterolemii). Hypercholesterolemie vede k ateroskleróze a kardiovaskulárním onemocněním<sup>1</sup>. V Evropské unii je možné používat zdravotní tvrzení „Monakolin K z červené fermentované rýže přispívá k udržení normální hladiny cholesterolu v krvi“ pokud je příjem monakolinu K z doplňků stravy na bázi MFR 10 mg/den (cit.<sup>25</sup>).

Biosyntéza monakolinů probíhá z acétátu polyketidovou dráhou, syntézy se účastní například enzymy lovastatin-nonaketidsynthasa a lovastatin-diketidsynthasa z rodiny polyketidsynthas (PKSs)<sup>26,27</sup>. Je známo více než 27 sloučenin ze skupiny monakolinů. Monakolin K je nejúčinnější sloučeninou ze skupiny, hypolipidemické účinky můžeme pozorovat i u jeho strukturálních analogů, například monakolinu J, L a další derivátů<sup>28–30</sup>.

U monakolinů však byly pozorovány i závažné nežádoucí účinky, hlavně na muskuloskeletální systém (například rhabdomyolýza) či na játra. Nežádoucí účinky monakolinů při užívání doplňků stravy na bázi MFR byly pozorovány při dávkách 10 mg monakolinu/den, v některých případech již při 3 mg/den. Nebyla však stanovena bezpečná denní dávka příjmu monakolinu jako doplňku stravy pro běžnou populaci<sup>31</sup>.

### 3.2. Citrinin

Citrinin, označovaný původně jako monascidin A, je mykotoxin s nefrotoxickými a hepatotoxickými účinky<sup>1</sup>. Jedná se o žlutou krystalickou látku s bakteriocidními účinky na grampozitivní bakterie, jeho struktura je uvedena na obr. 3 (cit.<sup>6,32</sup>). Biosyntéza citriniu probíhá nejprve prostřednictvím enzymů dráhy biosyntézy mastných kyselin, kdy synthasa mastných kyselin (FAS) katalyzuje kondenzaci acetylCoA se třemi malonylCoA. Poté pokračuje podobně jako syntéza monakolinů polyketidovou dráhou<sup>32</sup>. Kromě houby *Monascus* citrinin produkují i jiné mikroor-



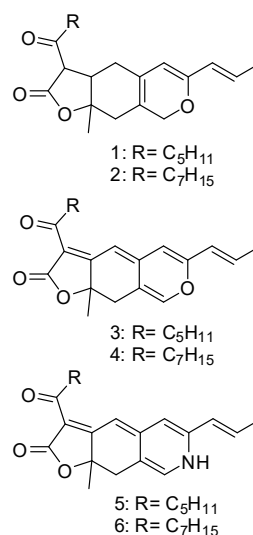
Obr. 3. Strukturální vzorec citriniu

ganismy, například zástupci rodu *Aspergillus* či *Penicillium*<sup>33</sup>.

Množství citriniu je v Evropské unii regulováno nařízením evropské komise č. 2019/1901, kde jsou stanoveny maximální limity citriniu v doplňcích stravy na bázi MFR (100  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ). V některých asijských zemích je limit nastaven podobně, například v Japonsku 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (cit.<sup>34</sup>) a v Jižní Koreji 50  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (cit.<sup>35</sup>). Akutní letální dávka ( $\text{LD}_{50}$ ) byla u myši stanovena na 100  $\text{mg kg}^{-1}$  tělesné váhy<sup>33</sup>.

### 3.3. Pigmenty

Pigmenty produkované houbou *Monascus* jsou látky dobře rozpustné ve vodě i ethanolu, jedná se o barviva s azafilonovou strukturou. Jedná se o směs různých pigmentů, které můžeme dělit na základě jejich absorpčních maxim do tří skupin: na žluté (330–450 nm), oranžové (460–480 nm) a červené (490–530 nm). Je známo 44 žlutých, 8 oranžových, 42 červených pigmentů, nejvýznamnější pigmenty jsou ankaflavin, monascin (žluté), rubropunktatin, monaskorubrin (oranžové) a rubropunktamin, monaskorubramin (červené). Jednotlivé skupiny pigmentů se liší svou strukturou, jak je vidět na obr. 4 (cit.<sup>2</sup>). Kromě azafilonových pigmentů jsou známy také



Obr. 4. Strukturální vzorce hlavních pigmentů produkovaných zástupci rodu *Monascus* (1, Monascin; 2, Ankaflavin; 3, Rubropunktatin; 4, Monaskorubrin; 5, Rubropunktamin; 6, Monaskorubramin)

jejich deriváty označované jako monafily<sup>36</sup>. Biosyntéza probíhá jako v případě monakolinů a citrininu polyketidovou dráhou za působení specifických enzymů<sup>2</sup>.

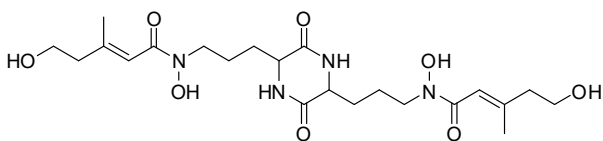
U pigmentů produkovaných houbou *Monascus* byly pozorovány protizánětlivé, protinádorové (antiproliferační) (cit.<sup>36–39</sup>) a antimikrobiální účinky – proti bakteriím, kvasinkám i mikromycetám<sup>40</sup>.

Tyto pigmenty nachází využití v potravinářství, kdy se používají k barvení masa a masných produktů, výrobě sójových produktů a rýžového vína nebo ke konzervaci sušeného masa a ryb. Slibné je jejich použití ve farmaceutickém i kosmetickém průmyslu či jako průmyslová barviva<sup>2</sup>.

### 3.4. Dimerumová kyselina

Dimerumová kyselina (DMA), jejíž struktura je uvedena na obr. 5, je produktem rozpadu sideroforu coprogenu B. Siderofory jsou extracelulární nízkomolekulární organické látky produkované mikromycetami i bakteriemi s vysokým chelatačním účinkem na ionty železa ( $\text{Fe}^{3+}$ ) (cit.<sup>41,42</sup>).

Jedná se o přírodní antioxidant, jeho působení proti reaktivním formám kyslíku je vyšší než například v případě resveratrolu či kurkuminu. DMA má také protizánětlivé, hepatoprotektivní a chemopreventivní účinky<sup>43</sup>.



Obr. 5. Struktura dimerumové kyseliny (DMA)

### 3.5. $\gamma$ -Aminomáselná kyselina

$\gamma$ -Aminomáselná kyselina (GABA) je neproteinogenní aminokyselina přítomná nejen v houbách, ale i dalších mikroorganismech či rostlinách. Vzniká dekarboxylací L-glutamové kyseliny a je známa jako hlavní inhibitor neurotransmiterů v centrální nervové soustavě (CNS)<sup>6,44</sup>.

GABA má významnou roli s ohledem na lidské zdraví, vykazuje totiž širokou škálu biologických aktivit. Například má hypotenzní, antialergenní, protirakovinné, antimikrobiální, neuro-, hepato- a renoprotektivní účinky, působí také jako prevence neurologických onemocnění, insomnie, deprese či diabetu<sup>44</sup>.

## 4. Závěr

Zástupci rodu *Monascus* produkují širokou škálu metabolitů, z nichž některé vykazují významnou biologickou aktivitu. Tradičně se houby rodu *Monascus* využívají v asijských zemích, k barvení a konzervaci potravin či jako součást tradiční čínské medicíny. V Evropě se zatím rod *Monascus* využívá převážně k výrobě doplňků stravy

k udržení normální hladiny cholesterolu. Průmyslové využití houby v potravinářství například k barvení a konzervaci masa a masných výrobků však zůstává otázkou z důvodu bezpečnosti produktů s využitím houby *Monascus*, respektive možné regulace produkce nežádoucích látek, hlavně mykotoxinu citrininu. Doufejme, že budoucí výzkumy vnesou do této problematiky nové poznatky a otevře se tak cesta širší produkci a využití rodu *Monascus*.

## LITERATURA

1. Lin Y.-L., Wang T.-H., Lee M.-H., Su N.-W.: Appl. Microbiol. Biotechnol. 77, 965 (2008).
2. Chen W. a 16 spoluautorů: Chem. Sci. 8, 4917 (2017).
3. van Tieghem M. P.: Bull. Soc. Bot. France 31, 226 (1884).
4. Geiser D. M. a 10 spoluautorů: Mycologia 98, 1053 (2006).
5. Houbraken J. a 10 spoluautorů: Stud. Mycol. 95, 5 (2020).
6. Patakova P., Branska B., Patrovsky M., v knize: *Fungal Metabolites* (Mérillon J.-M., Ramawat K. G., ed.), str. 821. Springer International Publishing, Cham 2017.
7. Wang T.-H., Lin T.-F.: Adv. Food Nutr. Res. 53, 123 (2007).
8. Shao Y., Lei M., Mao Z., Zhou Y., Chen F.: Appl. Microbiol. Biotechnol. 98, 3911 (2014).
9. Park H. G., Jong S.-C.: Mycoscience 44, 25 (2003).
10. Chen M.-H., Johns M. R.: Enzyme Microb. Technol. 16, 584 (1994).
11. Bridge P. D., Hawksworth D. L.: Lett. Appl. Microbiol. 1, 25 (1985).
12. Carels M., Shepherd D.: J. Bacteriol. 122, 288 (1975).
13. Young E. M.: Am. J. Bot. 18, 499 (1931).
14. Stchigel A. M., Cano J., Abdullah S., Guarro J.: Stud. Mycol. 50, (2004).
15. Cannon P. F., Abdullah S. K., Abbas B. A.: Mycol. Res. 99, 659 (1995).
16. Barnard E. L., Cannon P. F.: Mycologia 79, 479 (1987).
17. Barbosa R. N., Leong S. L., Vinnere-Pettersson O., Chen A. J., Souza-Motta C. M., Frisvad J. C., Samson R. A., Oliveira N. T., Houbraken J.: Stud. Mycol. 86, 29 (2017).
18. Hawksworth D. L., Pitt J. I.: Aust. J. Bot. 31, 51 (1983).
19. Hocking A. D., Pitt J. I.: Mycologia 80, 82 (1988).
20. Udagawa S. I., Baba H.: Cryptogam. Mycol. 19, 269 (1998).
21. Higa Y., Kim Y.-S., Altaf-UI-Amin M., Huang M., Ono N., Kanaya S.: BMC Genomics 21, 679 (2020).
22. Hajjaj H., Blanc P., Groussac E., Uribelarrea J.-L., Goma G., Loubiere P.: Enzyme Microb. Technol. 27, 619 (2000).
23. Chen M., Liu H., Zhen D., Fang S. L.: Afr. J. Biotechnol. 10, 5166 (2011).

24. Lumyong S., Tomita F.: *World J. Microbiol. Biotechnol.* **9**, 383 (1993).
25. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA): *EFSA J.* **9**, 2304 (2011).
26. Moore R. N., Bigam G., Chan J. K., Hogg A. M., Nakashima T. T., Vederas J. C.: *J. Am. Chem. Soc.* **107**, 3694 (1985).
27. Manzoni M., Rollini M.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **58**, 555 (2002).
28. Endo A., Hasumi K., Negishi S.: *J. Antibiot.* **38**, 420 (1985).
29. Wei R., Ma Q., Jiang W., Zhong G., Sang Z.: *Chem. Nat. Compd.* **55**, 1072 (2020).
30. Li G., Kusari S., Spiteller M.: *Nat. Prod. Rep.* **31**, 1175 (2014).
31. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS): *EFSA J.* **16**, 05368 (2018).
32. Li Y.-P., Tang X., Wu W., Xu Y., Huang Z.-B., He Q.-H.: *Food Addit. Contam. Part A* **32**, 577 (2014).
33. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM): *EFSA J.* **10**, 2605 (2012).
34. Fu G., Xu Y., Li Y., Tan W.: *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **16**, 137 (2007).
35. Kim H.-J., Ji G. E., Lee I.: *Food Sci. Biotechnol.* **16**, 142 (2007).
36. Hsu Y.-W., Hsu L.-C., Liang Y.-H., Kuo Y.-H., Pan T.-M.: *J. Agric. Food Chem.* **58**, 8211 (2010).
37. Hsu L.-C., Hsu Y.-W., Liang Y.-H., Kuo Y.-H., Pan T.-M.: *J. Agric. Food Chem.* **59**, 1124 (2011).
38. Hsu L.-C., Liang Y.-H., Hsu Y.-W., Kuo Y.-H., Pan T.-M.: *J. Agric. Food Chem.* **61**, 2796 (2013).
39. Hsu Y.-W., Hsu L.-C., Liang Y.-H., Kuo Y.-H., Pan T.-M.: *J. Agric. Food Chem.* **59**, 4512 (2011).
40. Martínková L., Jůzlová P., Veselý D.: *J. Appl. Bacteriol.* **79**, 609 (1995).
41. Sharma A., Johri B. N.: *Microbiol. Res.* **158**, 243 (2003).
42. Burt W. R.: *Infect. Immun.* **35**, 990 (1982).
43. Lee B.-H., Pan T.-M.: *J. Funct. Foods* **5**, 2 (2013).
44. Ngo D.-H., Vo T. S.: *Molecules* **24**, 2678 (2019).

**M. Husáková** (*Department of Biotechnology, University of Chemistry and Technology Prague*): **Genus *Monascus* and Its Secondary Metabolites**

Genus *Monascus* belongs to the kingdom *Fungi*. These are ascomycetes known and used in Asia for centuries for food dyeing and conservation, or as part of traditional Chinese medicine. In the western world, *Monascus* fungus is used to produce food supplements. The representatives of genus *Monascus* produce a wide range of secondary metabolites, some of them having significant biological effects. The most important metabolites are azaphilone pigments, monacolins and mycotoxin citrinin. However, wider production of pigments and use of genus *Monascus* in food industry proves to be problematic because of the production of undesirable compounds such as citrinin.

Keywords: genus *Monascus*, secondary metabolites, monacolins, citrinin, pigments, biological activity