

## 通微应用案例—HPLC-FLD 助力红曲米中桔青霉素的检测

### 1、背景介绍

在世界范围内，桔青霉素 (Citrinin, CIT) 是最常见的青霉属 (Penicillium) 和曲霉属 (Aspergillus) 某些菌株产生的一种霉菌毒素，主要污染小麦、裸麦、大麦和燕麦等农作物。CIT 含 1 个羧基，有离子态和非离子态 (羧基和相邻的酮基及羟基形成分子内氢键) 2 种形式 (图 1)。CIT 作为一种抗菌素，具有杀死革兰氏阳性细菌的能力，以及抗真菌和抗原虫等功效。但是，同时 CIT 对哺乳动物也具有肾脏毒性。此外，CIT 还经常伴随着肾毒素—赫曲霉毒素一同污染水果、肉类和奶酪等食品。两种或多种霉菌毒素加起来的毒性比任何单一毒素的毒性都大。红曲霉可产生红曲色素 (Monascus pigments, Mps) 和抑菌素等多种次级代谢产物，具有降血压、降血糖和降低胆固醇等功效，但部分红曲菌产生的 CIT 引起了人们对红曲产品安全性的关注。CIT 会污染红曲色素及红曲产品，如霉、酱、红曲米、功能性红曲、酿酒用曲等。近年来的调查研究发现，CIT 对大鼠经口 LD<sub>50</sub> 为 50 mg/kg；小鼠为 112 mg/kg。有文献报道表明，将 CIT 污染的米喂大鼠，动物生长缓慢，并且出现肾脏功能和形态改变，排尿量增加。通过病理学检查可见肾脏明显增大，呈灰白色，肾脏重量为对照组的一倍半。2017 年 10 月 27 日，世界卫生组织国际癌症研究机构公布的致癌物清单中 CIT 在 3 类致癌物清单中。2019 年 11 月 14 日，据欧盟官方公报消息，欧盟委员会发布 (EU) 2019/1901 号条例，修订以红曲霉发酵的大米基食品补充剂中 CIT 的最高限量为 100 μg/kg。

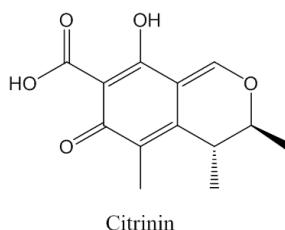


图 1 CIT 结构

本实验参照国家标准《GB 5009.222-2016 食品安全国家标准 食品中桔青霉素的测定》和《QB/T 2847-2007 功能性红曲米》，采用免疫亲和柱-高效液相色谱-荧光法 (HPLC-FLD) 检测了红曲米中 CIT 的含量，助力红曲米质量控制。

## 2、样品制备

参照《GB 5009.222-2016 食品安全国家标准 食品中桔青霉素的测定》中 CIT 前处理和测试方法。

## 3、仪器条件

仪器：通微 EasySep® 3030 二元梯度高效液相色谱仪

色谱柱：通微 C18 柱 (4.6×250 mm, 5 μm)

流动相：乙腈：10 mmol/L 磷酸水溶液=60：40

流速：0.8 mL/min

检测波长：激发波长 330 nm；发射波长 500 nm

柱温：35 °C

进样量：20 μL

## 4、测试结果

方法检出限：5.0 μg/kg；方法定量限：20.0 μg/kg

线性范围：1.0~20.0 ng/mL

相关系数： $r^2=0.9998$

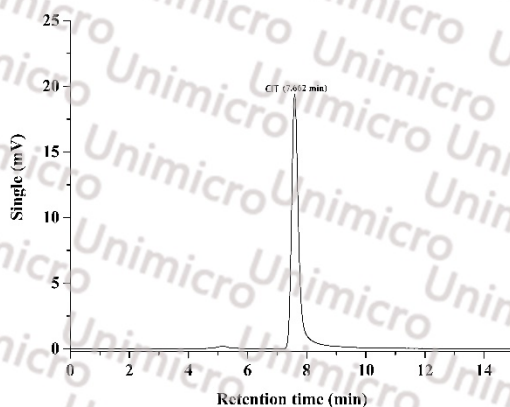


图 2 CIT 标准色谱图

## 5、结论

采用 EasySep<sup>®</sup> 3030 液相色谱系统, 配备荧光检测器, 可以实现红曲米中 CIT 的检测, 满足国家标准要求, 方法准确、灵敏度高。

## 6、配置要求

通微 EasySep<sup>®</sup> 3030 二元梯度高效液相色谱仪 (配自动进样器、柱温箱和荧光检测器)

通微 C18 柱 (4.6×250 mm, 5 μm)

通微 Unimicro ChromStation 色谱工作站