

## 论著

## 红曲霉中桔霉素定量分析及其合成相关基因簇的研究

梁彬<sup>1</sup>, 郭会<sup>1</sup>, 杜欣军<sup>1</sup>, 李萍<sup>1</sup>, 孙焯焯<sup>1</sup>, 王硕<sup>1,2</sup>

(1. 天津科技大学营养与食品工程学院, 天津 300457; 2. 南开大学医学院, 天津 300071)

**摘要:**目的 对红曲霉中真菌毒素桔霉素进行定量分析,并研究桔霉素合成相关基因簇,为从基因水平上对桔霉素的产生进行调控、提高红曲霉相关食品的安全性提供理论依据。方法 采用高效液相色谱(HPLC)法对3株红曲霉(紫色红曲霉 YY-1、M2, 丛毛红曲霉 FJ-1)在液态发酵过程中产生的桔霉素开展定量分析,采用二代测序技术鉴定桔霉素合成基因簇的序列特征,应用实时定量聚合酶链式反应(RT-PCR)法进行相关基因表达水平分析。结果 在固态培养和液态发酵过程中,3株红曲霉菌体生长情况无明显差异;在液态发酵过程中,HPLC结果显示M2桔霉素产量最高,其次为YY-1,FJ-1产量最少;M2、YY-1、FJ-1桔霉素合成基因簇相似度达99.9%;膜转运蛋白基因(*orf5*)、聚酮合酶基因(*pksCT*)、氧化还原酶基因(*ctnB*)、转录调节蛋白基因(*ctnA*)、脱氢酶基因(*orf1*、*ctnE*)六个基因表达水平在M2中最高,在FJ-1中最低。结论 桔霉素的产量差异与桔霉素合成基因簇所表达酶的种类无关,而与其基因表达的调控相关。

**关键词:**红曲霉; 食品安全; 真菌毒素; 桔霉素; 定量分析; 基因簇; 高效液相色谱

中图分类号:R155 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2018)05-0451-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2018.05.001

**Study on quantitative analysis of citrinin produced by *Monascus* and its related gene cluster**LIANG Bin<sup>1</sup>, GUO Hui<sup>1</sup>, DU Xinjun<sup>1</sup>, LI Ping<sup>1</sup>, SUN Chanchan<sup>1</sup>, WANG Shuo<sup>1,2</sup>

(1. College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 2. Medical School, Nankai University, Tianjin 300071, China)

**Abstract: Objective** In order to regulate the production of citrinin from the gene level and to provide a theoretical basis for improving the safety of *Monascus* used in food production, the quantitative analysis of citrinin in three strains of *Monascus* was performed, and the related gene clusters were studied. **Methods** The quantitative analysis of citrinin in three strains of *Monascus* during liquid fermentation was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The citrinin gene clusters were sequenced at Novogene Corporation (Beijing, China) and expression levels of genes involved in citrinin gene cluster were analyzed by real time polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** There was no significant difference in the growth of *Monascus purpureus* YY-1, M2 and *Monascus pilosus* FJ-1 in both solid-state culture and liquid fermentation. In the liquid fermentation process, the yield of citrinin in M2 was the highest, followed by YY-1, and the production of citrinin in FJ-1 was the lowest. The similarity of the citrinin synthesis gene clusters in YY-1, M2 and FJ-1 reached 99.9%, exhibiting high conservation on gene level. The expression levels of six genes including membrane transport protein gene (*orf5*), polyketide synthetase gene (*pksCT*), oxidoreductase gene (*ctnB*), transcriptional regulation protein gene (*ctnA*) and dehydrogenase genes (*orf1*, *ctnE*) in the gene cluster were the highest in M2 and the lowest in FJ-1. **Conclusion** The citrinin yield was not related to the gene composition of citrinin synthesis gene cluster, but related to gene expression levels.

**Key words:** *Monascus*; food safety; mycotoxin; citrinin; quantitative analysis; gene cluster; high performance liquid chromatography

红曲霉属(*Monascus* spp.)是一类非常重要的

传统发酵微生物,主要应用于食品和医药领域。按照安斯沃思(Ainsworth)分类系统,红曲霉属归于真菌界、真菌门、子囊菌亚门、不整子囊菌纲、散囊菌目、红曲科、红曲霉属。红曲霉在培养过程中产生大量次级代谢产物,如红曲色素、莫纳克林、 $\gamma$ -氨基丁酸、桔霉素等。其中,红曲色素、莫纳克林和 $\gamma$ -氨基丁酸均为有益次级代谢产物。红曲色素在食品(如肉类、酒、腐乳、鱼等)中常被用作天然食品着色

收稿日期:2018-05-25

基金项目:国家科技支撑计划项目(2014BAD04B03);天津市应用基础与前沿技术研究计划(15JQCQNJC44600)

作者简介:梁彬 男 博士生 研究方向为食品安全与卫生

E-mail:liangbin1989311@163.com

通信作者:王硕 男 教授 研究方向为食品营养与安全

E-mail:elisasw2002@aliyun.com

剂,此外还具有抗炎、抗动脉粥样硬化、抗糖尿病和抗癌等功效<sup>[1-2]</sup>,莫纳克林具有降低血清胆固醇的作用<sup>[3]</sup>, $\gamma$ -氨基丁酸具有明显的降血压作用<sup>[4]</sup>。

培养过程中,红曲霉还会不可避免地产生一种有毒的次级代谢产物——桔霉素。桔霉素是一种真菌毒素,具有肾毒性、肝毒性以及一定的致癌性<sup>[5-6]</sup>。桔霉素污染会对红曲霉相关食品安全性和卫生造成严重影响,是制约红曲霉相关产品使用的重大障碍。日本食品添加剂协会于2000年制定红曲色素中桔霉素的限量值为0.2 mg/kg,欧盟于2014年制定桔霉素在红曲霉发酵大米食品补充剂中的限量值为2 mg/kg<sup>[7]</sup>。2008年我国发布GB/T 5009.222—2008《红曲类产品中桔青霉素的测定》<sup>[8]</sup>规定红曲类产品中桔霉素定量限为50  $\mu$ g/L(液态)和1 mg/kg(固态)。

为了提高红曲霉相关食品的安全性,限制桔霉素的产生已成为关键环节。许多研究者通过优化发酵工艺从而实现了在一定程度上降低桔霉素的产生<sup>[9]</sup>。然而,这种方法不仅费时耗力,而且不能完全抑制桔霉素的污染。越来越多的研究者致力于利用分子生物学手段来解决红曲霉相关产品的安全和卫生问题,如对桔霉素的合成途径<sup>[10]</sup>、桔霉素合成相关基因簇<sup>[11]</sup>开展研究,通过敲除桔霉素合成相关基因(如 *ctnA*、*ctnB*、*ctnE*)来抑制桔霉素的合成<sup>[12-14]</sup>。

然而到目前为止,桔霉素的合成机理还不明确,为了从基因水平上对桔霉素的合成进行调控,本研究以桔霉素产量不同的3株红曲霉作为研究对象,采用高效液相色谱法对其液态发酵过程中的桔霉素进行定量分析,应用实时定量聚合酶链式反应(RT-PCR)技术开展桔霉素合成基因的表达水平分析,研究桔霉素与合成基因簇构成、基因表达水平的关系,为降低红曲霉中桔霉素的产生、提高红曲霉相关产品的安全性提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌种

紫色红曲霉 YY-1 由中国福建省某色素生产企业提供,紫色红曲霉 M2 和丛毛红曲霉 FJ-1 均由天津科技大学省部共建食品营养与安全国家重点实验室保存。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

全自动压力蒸汽灭菌锅,超纯水系统(美国 Milipore),PCR 仪(美国 Biometra),RT-PCR 仪(德国 Eppendorf),低温恒温培养箱,高效液相色谱仪

(日本 Shimadzu), $C_{18}$  色谱柱(美国 Agilent)。

桔霉素标准品(CAS:518-75-2,美国 Sigma),乙腈、甲醇均为色谱纯,KOD FX 高保真扩增酶(日本 TOYOBO),RNA 提取试剂盒(德国 QIAGEN),反转录、RT-PCR 试剂盒均购自宝生物工程(大连)有限公司。

孢子培养液(g/L):蔗糖 30 g,蛋白胨 3 g,硫酸镁 0.5 g,磷酸二氢钾 0.5 g,磷酸调节 pH 值至 5.5 ~ 6.0。大米培养基(g/L):大米粉 20 g,葡萄糖 20 g,蛋白胨 1 g,硝酸钠 2 g,磷酸二氢钾 1.5 g,硫酸镁 1 g。麦芽汁斜面培养基(g/L):11°麦芽汁-蒸馏水(1:1, V:V),琼脂糖 15 g。上述培养基均在 115 °C 条件下高压灭菌 15 min。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 红曲霉的液态发酵培养

将红曲霉接种到麦芽汁斜面培养基上,30 °C 正置静态培养 7 ~ 10 d。取 2 支红曲霉斜面分别加入 5 ml 无菌水,轻刮菌体表面充分释放孢子<sup>[15]</sup>。获得的孢子液按 1:10 的体积比接种到孢子培养液中,170 r/min 30 °C 振荡培养 40 h。20 ml 孢子液转接到大米培养基中,170 r/min 30 °C 振荡培养 15 d,每株红曲霉设置 3 组对照组。第 3 天开始每 3 d 取样一次,每次取样 10 ml 发酵液。

#### 1.2.2 红曲霉液态发酵菌体生物量的测定

纱布过滤发酵样品,无菌水冲洗菌体 2 次,置于 60 °C 电热烘箱中烘干至恒重,准确称量菌体质量即为红曲霉液态发酵生物量。

#### 1.2.3 红曲霉液态发酵桔霉素定量分析

##### 1.2.3.1 桔霉素标准曲线的绘制

准确称量 0.005 g 桔霉素标准品,采用甲醇溶液溶解并定容至 100 ml,获得 50 mg/ml 桔霉素标准溶液。将桔霉素标准溶液梯度稀释成一系列标准工作溶液(5、10、50、100、500  $\mu$ g/L 以及 1、2、5、10 mg/L),使用高效液相色谱仪进行进样检测,分别以桔霉素质量浓度和对应的峰面积为横、纵坐标,准确绘制桔霉素标准曲线。

色谱条件<sup>[16]</sup>: $C_{18}$  色谱柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m);检测器为荧光检测器,激发波长为 331 nm,发射波长为 500 nm;流动相为乙腈-水(45:55, V:V);流速为 1.0 ml/min;进样量为 20  $\mu$ l;柱温为 38 °C。

##### 1.2.3.2 红曲霉液态发酵桔霉素定量分析

参照 GB/T 5009.222—2008<sup>[8]</sup>,取红曲霉液态发酵产物进行过滤,烘干至恒重。准确称取一定量的菌体,液氮研磨,加入 1 ml TEF 溶液(甲苯-乙酸乙酯-甲酸,7:3:1, V:V),超声处理 10 min,3 000 r/min 离心 20 min 取上清液,重复处理 3 次,真空浓缩至干后色谱纯甲醇定容,0.22  $\mu$ m 有机滤膜过滤,进高效液相

色谱仪进行分析,色谱条件同 1.2.3.1。按照公式计算桔霉素产量:

$$C1 = C \times \frac{V}{M}$$

其中,  $C1$  为固态样品中桔霉素的含量,  $\text{mg}/\text{kg}$ ;  $C$  为仪器检测的质量浓度,  $\text{mg}/\text{L}$ ;  $V$  为最终定容体积,  $\text{ml}$ ;  $M$  为称取的样品质量,  $\text{g}$ 。

### 1.2.4 红曲霉桔霉素合成基因簇序列的扩增

参考文献 [17] 描述分别提取红曲霉 M2、FJ-1 的基因组 DNA。结合 YY-1 以及美国生物技术信息中心 (NCBI) 中发布的橙色红曲霉桔霉素合成基因簇序列 (GenBank: EU309474.1) 设计 7 对引物 (表 1), PCR 分段扩增红曲霉 FJ-1 和 M2 的桔霉素合成基因簇序列, 相邻序列间设计大约 1 000 bp 重叠区域。胶回收 PCR 产物, 送到北京诺禾致源生物信息科技有限公司进行测序。

表 1 桔霉素合成相关基因簇序列扩增引物

Table 1 Primers of gene cluster of citrinin synthesis

引物名称	引物序列 (5'-3')
PKS-1-F	ACGCCTCGTTCCTCTGATACTT
PKS-1-R	ATGTGGATGGATAGATGATGTT
PKS-2-F	CCGCTACAGTCTTTGCTCCTT
PKS-2-R	CAACAACCTGCTCGCTCCATC
PKS-3-F	ATCGCTCATCTTCTGCAACT
PKS-3-R	GTGCGTGACTCATAGGATTTACT
PKS-4-F	ACAACAGCAGCAGAGCAACA
PKS-4-R	ACTAATGAAAATGCCTATCAGC
PKS-5-F	CTCACCACTATTGGGCAGC
PKS-5-R	GTTCCCACTGAGCCTTTGTA
PKS-6-F	CTGCTGTACGAGCTTGGACC
PKS-6-R	GACAACGCAACCTAAGACGAG
PKS-7-F	CGTTCCTAAGGCACAACAGG
PKS-7-R	GATTCTCGGTCGCTCAGGTC

### 1.2.5 红曲霉桔霉素合成基因簇中基因表达量的测定

参照 RNeasy® Plant Mini Kit 试剂盒中描述的方法, 分别提取红曲霉 YY-1、M2、FJ-1 的总 RNA, 反转录后利用 SYBR® Premix Ex Taq™ II 试剂盒进行 RT-PCR 反应。RT-PCR 反应条件: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 34 s, 40 个循环。

## 2 结果与分析

### 2.1 3 株红曲霉的生长表型以及生物量

分别将红曲霉 YY-1、M2、FJ-1 接种到马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基上, 培养 15 d 后, M2 和 YY-1 在菌落大小、颜色等方面差别很小, 生长表型相似。FJ-1 菌落表面气生菌丝较多, 菌落较大, 菌落颜色略浅。

液态发酵 15 d 过程中红曲霉菌体生物量如图 1

所示。3 株红曲霉菌体生物量无明显差异, 发酵初期发酵液中营养物质丰富, 菌体生物量快速增加, 直至 9 ~ 12 d 出现菌体生物量最大值。随后进入衰减生长阶段, 碳源、氮源等营养物质大量消耗, 营养物质供应不足, 菌体生物量降低。

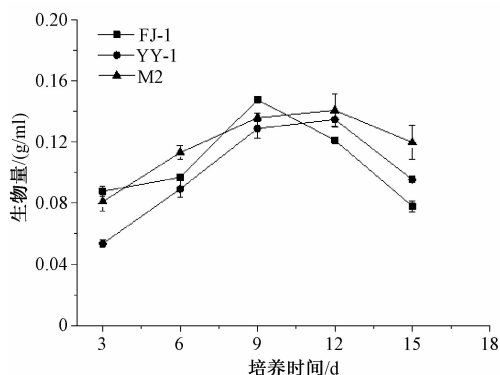


图 1 红曲霉 YY-1、FJ-1、M2 在液态发酵过程中产生的菌体生物量

Figure 1 Biomass of *Monascus* YY-1, FJ-1 and M2 during liquid fermentation

### 2.2 3 株红曲霉液态发酵桔霉素的定量分析

分别以桔霉素标准溶液的质量浓度和相对应的峰面积为横、纵坐标, 准确绘制桔霉素的标准曲线, 回归方程为  $y = 7427.9x - 319903$ , 其中相关系数  $R^2 = 0.9938$ , 表明桔霉素在  $5 \mu\text{g}/\text{L} \sim 10 \text{mg}/\text{L}$  浓度范围内线性关系良好。

红曲霉 YY-1、M2、FJ-1 在大米培养基液态发酵过程中, 桔霉素定量分析结果如图 2 所示。M2 的桔霉素产量最高, 其次为 YY-1, 而 FJ-1 产量最低。此外, 结合图 1 中 3 株红曲霉的生物量变化趋势发现, 在菌体生长无明显差异的情况下 3 株红曲霉的桔霉素合成能力不同, 因此, 推测是由桔霉素合成基因簇所表达酶的种类不同或各基因表达量的不同所导致。

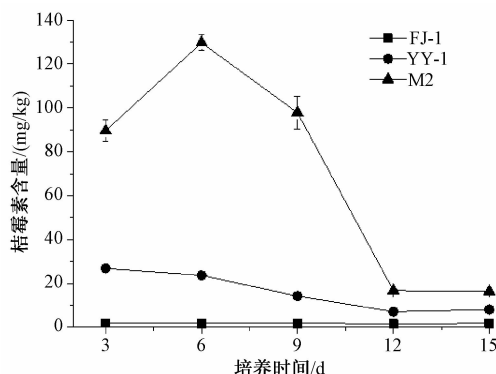


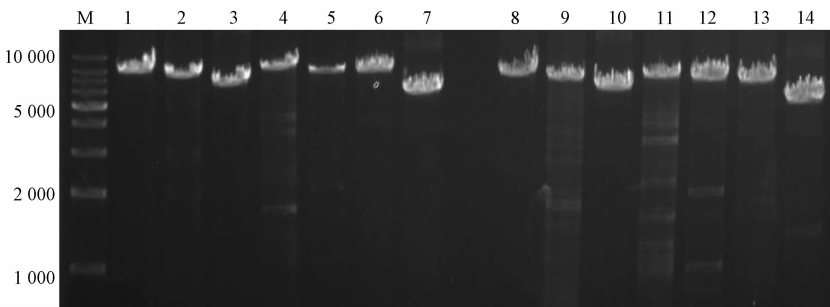
图 2 红曲霉 YY-1、FJ-1、M2 在液态发酵过程中桔霉素的定量分析

Figure 2 Quantitative analysis of citrinin in *Monascus* YY-1, FJ-1 and M2 during liquid fermentation

### 2.3 3 株红曲霉桔霉素合成基因簇的序列比较

根据 YY-1 已经公布的基因组信息设计 7 对引物,分段扩增 FJ-1 和 M2 的桔霉素合成基因簇序列,琼脂糖凝胶电泳验证 PCR 结果,结果如图 3 所示。测序和拼接结果显示,FJ-1 和 M2 的桔霉素合成基因簇序列均为 44 kb,与 YY-1 桔霉素合成基因簇序列相似度高达 99.9%。此外,基因功能预测结果显示 3 株红曲霉的桔霉素合成基因簇都包含 16 个基因(图 4),分别为氧化还原酶基因(*ctnD*、*ctnB*)、脱

氢酶基因(*ctnE*、*orf1*)、乙二醛酶基因(*orf6*)、转录调节蛋白基因(*ctnA*)、加氧酶基因(*orf3*)、聚酮合酶基因(*pksCT*)、膜转运蛋白基因(*orf5*)、变位酶基因(*ctnF*)、假设蛋白基因(*orf7*、*orf8*)、WD 重复蛋白基因(*ctnR1*)、碳酸酐酶基因(*ctnG*)、短链脱氢酶基因(*ctnH*)和乙酰辅酶 A 合成酶基因(*ctnI*)。这些结果表明红曲霉桔霉素合成基因簇序列高度保守,3 株红曲霉液态发酵过程中桔霉素的产量差异与桔霉素合成基因簇所表达酶的种类无关。



注:M:DL10000;1~7:FJ-1 桔霉素合成基因簇;8~14:M2 桔霉素合成基因簇

图 3 FJ-1 和 M2 桔霉素合成基因簇扩增

Figure 3 Amplification of gene cluster of citrinin synthesis in *Monascus* FJ-1 and M2

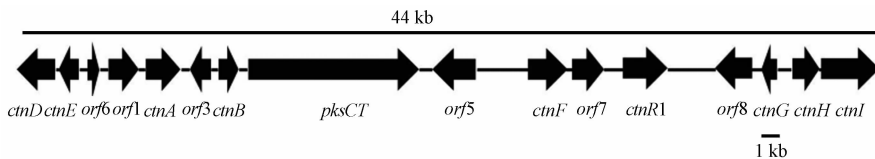


图 4 红曲霉桔霉素合成基因簇

Figure 4 Gene cluster of citrinin in *Monascus*

### 2.4 3 株红曲霉桔霉素合成基因簇中基因表达水平分析

取液态发酵第 4 天的发酵液提取 RNA,反转录后利用 RT-PCR 技术分析 3 株红曲霉桔霉素合成基因簇中基因表达水平。选择甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参基因,将 FJ-1 中基因的表达水平定为标准 1,计算其他基因的相对表达水平,结果如图 5 所示。所有 16 个基因在 M2 中的表达水平比 FJ-1 中高 2.6~12.2 倍,在 YY-1 中的表达水平比 FJ-1 中高 2.6~12.6 倍,这与液态发酵过程中 FJ-1 的桔霉素产量最低这一现象是一致的。此外,*orf5*、*pksCT*、*ctnB*、*ctnA*、*orf1*、*ctnE* 等基因的表达水平在 M2 中是 YY-1 中的 1.7 倍左右,这与 M2 桔霉素产量最高这一现象是一致的。由此推测 3 株红曲霉液态发酵过程中桔霉素的产量差异与桔霉素合成基因簇所表达酶的种类无关,而与基因表达的调控有关。

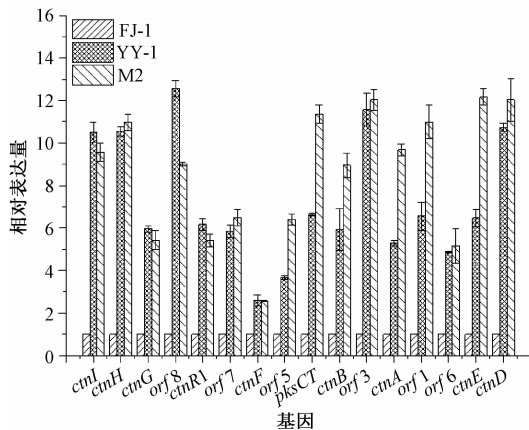


图 5 3 株红曲霉桔霉素合成基因簇中基因的表达水平

Figure 5 Expression levels of genes in *Monascus* M2, YY-1 and FJ-1

曲霉 FJ-1) 液态发酵过程中的桔霉素进行定量分析,发现 M2 的桔霉素产量最高,其次为 YY-1, FJ-1 产量最低。根据 YY-1 已经公布的基因组信息,完成对 M2 和 FJ-1 桔霉素合成基因簇序列的测序和分析。结果发现,FJ-1、M2 与 YY-1 桔霉素合成基因簇序列相似度高达 99.9%。RT-PCR 结果显示在 3 株

### 3 小结

采用高效液相色谱法对菌体生长情况无明显变化的 3 株红曲霉(紫色红曲霉 YY-1、M2,丛毛红

红曲霉桔霉素合成基因簇中, *orf5*、*pksCT*、*ctnB*、*ctnA*、*orf1* 和 *ctnE* 基因表达水平与液态发酵过程中桔霉素产量变化趋势一致,表明红曲霉桔霉素合成基因簇序列高度保守,桔霉素的产量差异与桔霉素合成基因簇所表达酶的种类无关,而与基因表达的调控相关。上述研究结果不仅为解析桔霉素的生物合成提供了理论基础,还为实现红曲霉中桔霉素的控制、提高红曲霉相关食品的安全性提供有益参考,对获得不产桔霉素的红曲霉安全菌种具有重要意义。

## 参考文献

- [ 1 ] PATAKOVA P. *Monascus* secondary metabolites: production and biological activity [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2013, 40(2): 169-181.
- [ 2 ] VENDRUSCOLO F, BÜHLER R M, DE CARVALHO J C, et al. *Monascus*: a reality on the production and application of microbial pigments [J]. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 2015, 178(2): 211-223.
- [ 3 ] HUANG C H, SHIU S M, WU M T, et al. Monacolin K affects lipid metabolism through SIRT1/AMPK pathway in HepG2 cells [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2013, 36 ( 12 ): 1541-1551.
- [ 4 ] DHAKAL R, BAJPAI V K, BAEK K H. Production of gaba ( $\gamma$ -aminobutyric acid) by microorganisms: a review [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2012, 43(4): 1230-1241.
- [ 5 ] LIU B H, WU T S, SU M C, et al. Evaluation of citrinin occurrence and cytotoxicity in *Monascus* fermentation products [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2005, 53(1): 170-175.
- [ 6 ] FINKGREMELS J. Mutagenicity of commercial *Monascus* fermentation products and the role of citrinin contamination [J]. *Mutation Research/Fundamental & Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 1999, 444(1): 7-16.
- [ 7 ] 石侃,夏枫耿,吴振强. 红曲色素发酵生产过程桔霉素控制技术研究进展[J]. *中国酿造*, 2016, 35(4): 1-6.
- [ 8 ] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. 红曲类产品中桔霉素的测定:GB/T 5009.222—2008 [S]. 北京:中国标准出版社,2008.
- [ 9 ] 计融. 食品工业用菌安全性检测与评价技术的研究简介[J]. *中国食品卫生杂志*, 2004, 16(3): 195-200.
- [ 10 ] HAJJAJ H, KLAEBE A, LORET M O, et al. Biosynthetic pathway of citrinin in the filamentous fungus *Monascus ruber* as revealed by <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1999, 65(1): 311-314.
- [ 11 ] LI Y P, XU Y, HUANG Z B. Isolation and characterization of the citrinin biosynthetic gene cluster from *Monascus aurantiacus* [J]. *Biotechnology Letters*, 2012, 34(1): 131-136.
- [ 12 ] SHIMIZU T, KINOSHITA H, NIHIRA T. Identification and in vivo functional analysis by gene disruption of *ctnA*, an activator gene involved in citrinin biosynthesis in *Monascus purpureus* [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2007, 73 ( 16 ): 5097-5103.
- [ 13 ] LI Y P, PAN Y F, ZOU L H, et al. Lower citrinin production by gene disruption of *ctnB* involved in citrinin biosynthesis in *Monascus aurantiacus* Li AS3.4384 [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(30): 7397-7402.
- [ 14 ] NING Z Q, CUI H, XU Y, et al. Deleting the citrinin biosynthesis-related gene, *ctnE*, to greatly reduce citrinin production in *Monascus aurantiacus* Li AS3.4384 [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2017, 241:325-330.
- [ 15 ] 李凤琴,吴多加,武淑真,等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱检测与鉴定食品真菌的研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2007, 19(5): 385-393.
- [ 16 ] SHIMIZU T, KINOSHITA H, ISHIHARA S, et al. Polyketide synthase gene responsible for citrinin biosynthesis in *Monascus purpureus* [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2005, 71(7): 3453-3457.
- [ 17 ] SHAO Y C, DING Y D, ZHAO Y, et al. Characteristic analysis of transformants in T-DNA mutation library of *Monascus ruber* [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, 25(6): 989-995.

## · 资讯 ·

### 美国修订生咖啡豆中螺甲螨酯的最大残留限量

2018年9月11日,据美国联邦公报消息,环保署发布2018-19760号文件通知,修订螺甲螨酯(spiromesifen)在杏仁等产品中的最大残留限量。

美国环保署对螺甲螨酯开展了风险评估,分别评估了其毒性、致癌性以及以及对婴幼儿的影响,最终认为生咖啡豆中螺甲螨酯的最大残留限量为0.20 ppm是安全的。

本法规于发布之日起生效,异议和听证请求需在2018年11月13日前反馈。

(来源食品伙伴网,相关链接:<http://news.foodmate.net/2018/09/484544.html>)

**关键词:**美国;螺甲螨酯;杏仁;生咖啡豆;最大残留限量