

# 绿原酸清洁提取及其体外生物活性评价

王星敏<sup>1,2</sup>, 李鑫<sup>2</sup>, 邵承斌<sup>2</sup>, 张宇<sup>2</sup>

(1. 催化与功能有机分子重庆市重点实验室, 重庆 400067; 2. 重庆工商大学 环境与资源学院, 重庆 400067)

**摘要:** 植物纤维组织致密结构阻碍天然生物活性成分绿原酸的溶出, 为减少绿原酸溶出的传质阻力, 选取复配酶(纤维素酶和木质素酶)催化水解金银花叶溶浸获得绿原酸, 并采用 DPPH 自由基清除法、铁氰化钾还原法评价提取物绿原酸的体外抗氧化性。分析酶解金银花叶后的 SEM 照片发现, 酶能有效破坏植物纤维组织结构, 有助于形成内部疏松结构, 而金属离子对酶催化水解活性作用依次为  $Mg^{2+} > Na^+ > Ca^{2+} > K^+ > Cu^{2+}$ ; 选取纤维素酶-木质素酶酶活比为 3:2 的复配酶, 在水浴温度 45 °C、pH 4 的条件下, 当复配酶投加量为 50 U/g 时, 在  $Mg^{2+}$  诱导催化水解 2 g 金银花叶 11 h 后, 绿原酸浸提率达 94.68%, 比超声醇提法提高了 19.60%, 所得绿原酸具备高抗氧化性和还原性, 为资源化利用金银花叶以及绿原酸生产提供了新途径。

**关键词:** 绿原酸; 酶促反应; 金银花叶; 抗氧化性

中图分类号: TQ 09 文献标志码: A 文章编号: 1673-1689(2017)02-0172-07

## Eco-Friendly Extraction of Chlorogenic Acid and its Biological Activity Evaluation in Vitro

WANG Xingmin<sup>1,2</sup>, LI Xin<sup>2</sup>, SHAO Chengbin<sup>2</sup>, ZHANG Yu<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Catalysis Science and Technology of Chongqing Education Commission, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China; 2. College of Environment and Resources, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China)

**Abstract:** The chlorogenic acid was a natural bioactive ingredient which was usually hindered in the dense structure of plant fibers and difficult to be extracted. An enzymatic cell wall-breaking process was thus developed using the combination of cellulase and ligninase to reduce transfer resistance during extraction and to improve the extraction efficiency of chlorogenic acid from *Lonicera japonica* leaves. The antioxidant activity in vitro of chlorogenic acid was evaluated by DPPH free radical scavenging method and ferricyanide reduction analysis. The product of enzymatic hydrolysis by the dual-enzyme complex was characterized by SEM. The complex was confirmed to effectively destruct the plant fiber structure and help to form the internal loose structure. The effect of various metal ions on the enzyme activity were weakened in the order of  $Mg^{2+}, Na^+, Ca^{2+}, K^+, and Cu^{2+}$ . The optimized

收稿日期: 2015-01-19

基金项目: 重庆市科技攻关项目 (cstc2013yykfB20001)。

作者简介: 王星敏(1975—), 女, 重庆人, 工学博士, 教授, 主要从事农业废弃物资源化利用及健康产品开发研究。

E-mail: wang\_chem@tom.com

引用本文: 王星敏, 李鑫, 邵承斌, 等. 绿原酸清洁提取及其体外生物活性评价[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(02): 172-178.

extraction condition was determined using 3:2 of cellulase to ligninase ratio (U/U) with 50 U/g of enzymes/substrate and  $Mg^{2+}$  at 45 °C and pH 4.0 for 11 h. Under the optimal condition, the extraction rate of chlorogenic acid could reach as high as 94.68%, which was 19.60% higher than that of ultrasound-assisted ethanol extraction. The anti-oxidative of reductive activities of chlorogenic acid were improved. This study provides a theoretical foundation to the comprehensive utilization of *Lonicera japonica* leaves and industrialization of chlorogenic acid.

**Keywords:** chlorogenic acid, enzymatic reaction, *Lonicera japonica* leaf, antioxidant activity

绿原酸, 1,3,4,5-四羟基环己烷羧酸-(3,4-二羟基肉桂酸酯), 又称“植物铂金”, 是由咖啡酸与奎尼酸组成的羧酚酸, 具有抗病毒、降血脂、降血压等功效<sup>[1-3]</sup>, 常作为护肝益肾, 防治心血管系统疾病、糖尿病等有显著疗效的重要药物的合成原料。绿原酸也是一种有效的酚型抗氧化剂, 因其分子式中含有 R—OH 基<sup>[4]</sup>, 能形成具有抗氧化作用的氢自由基, 可捕获并中和羟基自由基和超氧阴离子, 生成较稳定的半醌式自由基, 从而保护组织免受氧化作用的损害<sup>[5]</sup>。现代科学对绿原酸生物活性的研究已深入到医药保健、食品及日用化工等行业。目前绿原酸国际市场需求量超过 8 000 t/年, 国内达 7 000 t/年以上, 需求量逐年攀升, 其价格随纯度增大而升高。

我国绿原酸提取技术主要有水提法、稀醇法、冷浸法、渗漉法、乙醇回流法等<sup>[6-10]</sup>, 这些技术或多或少还存在能耗大、成本高、污染重、纯度低等问题, 加之工艺中高温、强光以及长时间加热等, 加速绿原酸水解及其异构化。关键技术的桎梏降低了绿原酸产品品质和国际市场竞争力, 高效清洁提取绿原酸越来越引起人们的关注。金银花叶中绿原酸质量分数约 4%, 但金银花叶纤维组织的结晶结构所形成天然屏障阻碍了绿原酸的溶出、扩散<sup>[11]</sup>。基于此, 将酶促反应<sup>[12-13]</sup>应用于金银花叶中绿原酸的提取, 利用生物催化剂酶的专一性和高效性, 研究催化裂解植物纤维组织的酶活性, 减少绿原酸扩散、迁移的传质阻力, 高效获得生物活性完备的提取物绿原酸, 为绿原酸的功能特性研究以及金银花叶资源化利用, 提供理论依据和实践基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

**1.1.1 原料** 金银花叶, 取自重庆市秀山县的种植农户。

**1.1.2 仪器** 1260 型高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司制造; 320-S pH 计, KQ-400KDB 超声波清洗机, 昆山市超声仪器有限公司制造; 80-2 型高速离心机, 上海君竺仪器制造有限公司制造。

**1.1.3 试剂** 绿原酸(标品), 甲醇, 冰乙酸(色谱纯), 乙醇, 柠檬酸, 磷酸氢二钠, 抗坏血酸 VC, 铁氰化钾(分析纯), 国药集团化学试剂有限公司产品。纤维素酶(1 000 U/g), 北京奥博星生物技术有限公司制品; 木质素酶(1 400 U/g), 海林万力达集团公司制品。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 绿原酸的浸提

1) 酶催化辅助浸提方法: 分别称取 120 目金银花叶 2 g 左右置于 250 mL 的锥形瓶中, 投加 20~200 U/g 的复配酶(纤维素酶和木质素酶的质量比为 1:1~3:1), 金银花叶与水比例为 1:10(g/mL), 调节 pH 为 4, 于 35 °C 水浴温度下摇床酶解 2~14 h 后, 加入体积分数为 62.5% 的乙醇, 加入量与固态原料质量比为 1 g:12 mL, 经 100 W 超声波于 30 °C 超声浸提 30 min 后过滤, 分别收集滤渣和滤液, 滤液即含有绿原酸<sup>[14]</sup>; 滤渣集中收集后待二次利用。其中, 酶解温度、固液比(g/mL)、体系 pH 值的参数值是利用均匀设计法分析及实验验证所得(另作报道); 本文着重探讨的酶催化活性影响因素及考察范围为: 复配酶质量比为 1:1~3:1, 复配酶投加量为 20~200 U/g, 酶解时间为 2~14 h; 金属离子主要考察  $Mg^{2+}$ 、 $Na^{+}$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $K^{+}$ 、 $Cu^{2+}$  等的影响。

2) 超声醇提方法: 超声醇提法主要考察非酶催化辅助的超声作用下的绿原酸浸提能力。其中, 除复配酶投加量为 0 U/g、水浸泡时间为 11 h 外, 其余参数与酶催化浸提方法中参数一致。

**1.2.2 绿原酸的检测** 采用高效液相色谱法<sup>[14]</sup>测定绿原酸质量浓度, 检测溶浸液中主要成分。条件: 色

谱柱为 C18 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相是 V (甲醇):V(冰乙酸):V(超纯水)为 18:1:81, 体积流量 0.8 mL/min, 柱温 30 ℃, 进样量 20 μL, 检测波长 327 nm。绘制标准曲线

$$y=80.973x-9.5329 \quad (r=0.9999) \quad (1)$$

金银花叶中绿原酸溶出率

$$r=\frac{c \times V \times N}{m \times 4.5\%} \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中,  $c$  为酶解后溶出的绿原酸质量浓度, 取平行样均值, g/L;  $V$  为浸提液体积, mL;  $N$  为浸提液测定前稀释倍数;  $m$  为金银花叶质量, g; 4.5% 为当批次金银花叶中绿原酸的质量分数, 即采用传统化学法<sup>[12]</sup>多次浸提直至绿原酸质量浓度检测为零时的所有量加和与金银花叶质量的比值。

**1.2.3 酶解后底物 SEM 扫描及图像分析** 制备样品固定于样品台, 经离子溅射仪上真空干燥、铂喷镀后, 于扫描电子显微镜下观察、拍摄取图。电镜工作电压为 5 kV, 放大 2 000 倍。

**1.2.4 绿原酸清除 DPPH· 的活性分析** 准确量取 0.1 mL 不同浓度的绿原酸浸提液, 与 2.9 mL 0.017 mg/mL DPPH·-甲醇溶液混匀后, 在暗处静置 30 min, 采用紫外分光光度计法, 以甲醇作为参比液, 于 517 nm 处测定待测样品加入前后 DPPH·-甲醇溶液的吸光度<sup>[15]</sup>, 通过 DPPH· 吸光度的改变量, 评价绿原酸的抗氧化能力, 清除率

$$R=(1-\frac{A_s-A_b}{A_0}) \times 100\% \quad (3)$$

式(3)中,  $A_0$  为甲醇 + DPPH·-甲醇溶液的吸光度;  $A_s$  为样品液 + DPPH·-甲醇溶液的吸光度;  $A_b$  为样品液 + 甲醇的吸光度。

**1.2.5 绿原酸还原能力分析** 采用铁氰化钾还原法<sup>[15]</sup>评价绿原酸还原能力。在不同浓度的绿原酸浸提液中加入 2.5 mL 0.2 mol/L、pH 6.6 的磷酸盐缓冲液, 加入 2.5 mL 100 g/L 的三氯乙酸, 离心取上清液 2.5 mL, 加 2.5 mL H<sub>2</sub>O、0.5 mL 1 g/L 的 FeCl<sub>3</sub>, 于 700 nm 波长测定吸光度, 评价绿原酸还原能力。

## 2 结果与分析

### 2.1 酶催化活性对绿原酸溶浸的促进作用

**2.1.1 促进绿原酸溶浸的不同配比酶活性比较** 金银花叶中木质素和半纤维素交联形成网状结构, 将纤维素包埋其中, 形成天然屏障阻碍绿原酸溶出

及扩散。分析金银花叶组分及其结构, 选用纤维素酶和木质素酶, 探讨不同配比复配酶对绿原酸溶浸的影响。由图 1 可知, 纤维素酶对绿原酸溶浸能力虽略优于木质素酶, 但纤维素酶和木质素酶协同溶浸绿原酸效果明显优于各单一组成酶, 原因在于纤维素酶由 C1 酶、Cx 酶和 β 葡萄糖苷酶组成, C1 酶破坏着纤维素的结晶结构, Cx 酶是分解 β-1, 4-糖苷键的纤维素酶, β 葡萄糖苷酶可以将纤维二糖、纤维三糖及其他低分子纤维糊精分解为葡萄糖; 纤维素酶的这种复杂酶系分步协同并保障促进了对纤维组织的水解; 而木质素酶可强化对木质素的降解, 从而增大纤维素酶进入并水解底物中纤维素, 二者协同作用, 加大催化活性中心与底物的结合几率, 提高水解能效。即, 当纤维素酶与木质素酶的质量比为 2:1 (酶活比为 3:2) 时, 金银花叶中绿原酸浸提率达最大值 89.8%。此外, 超声醇提所得绿原酸浸提率为 78.81%, 明显低于任一单一酶或复配酶催化作用下的绿原酸浸提率, 表明酶催化水解有助于提高绿原酸的提取率。

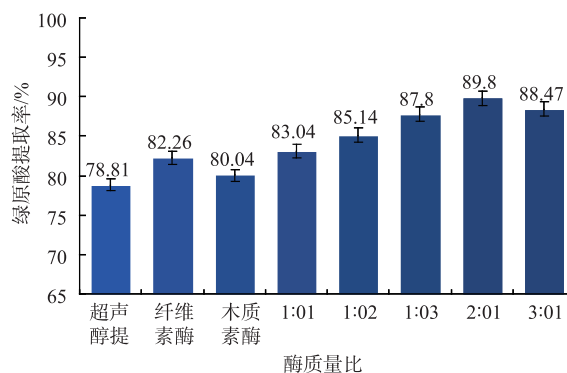


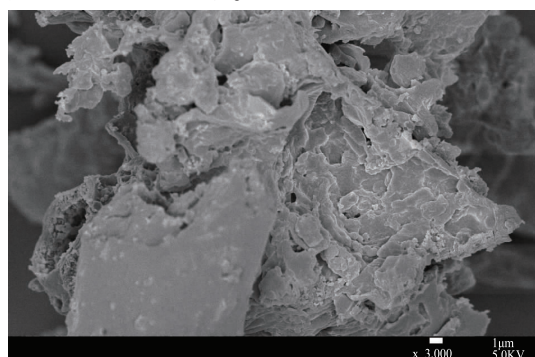
图 1 不同复配酶比对绿原酸溶浸的影响

Fig. 1 Effect of different mass ratio of enzyme on chlorogenic acid extraction

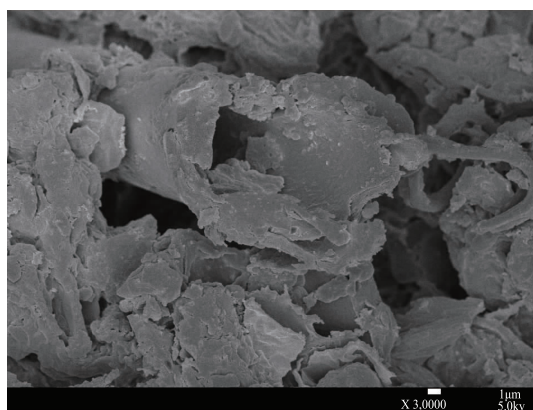
对比分析超声醇提处理和复配酶催化水解后的金银花叶的 SEM 照片 (见图 2) 可知, 超声醇提后金银花叶 (见图 2(a)) 表面虽有空隙, 可见部分蚀, 但叶体连续; 经酶催化水解处理后的金银花叶 (见图 2(b)) 组织间孔隙较大, 且叶体断层清晰, 内部结构疏松, 表面蚀现象明显。表明酶与底物结合, 能催化裂解植物纤维组织, 达到破坏植物纤维组织的结晶结构的目的, 从而提高了绿原酸破壁溶出、运移、扩散的能力。

**2.1.2 复配酶投加量对绿原酸溶浸的影响** 酶催

化活性中心与底物的结合数量,影响单位时间酶反应速度<sup>[6]</sup>。为进一步提高绿原酸溶浸能效,探讨纤维素酶和木质素酶的酶活比 3:2 时复配酶不同投加量对绿原酸溶浸的影响。由图 3 可知,相同条件下,当复配酶投加量为 50 U/g 时,绿原酸溶浸效果最好,浸提率可达 90.24%,表明单位时间里适当的酶投加量可增大酶与底物结合几率,从而增加被催化水解的植物组织,绿原酸浸提率得以提高。原因在于纤维素酶中水解次要地位的外切型- $\beta$ -葡糖苷酶(CBH)组分的水解程度依赖于内切型- $\beta$ -葡糖苷酶(EG)水解所产生的非还原糖端基;酶投加量适量时,EG 组分与底物结合充分,CBH 组分的水解程度随之加快,有利于水解;随着投加量的增加,水解程度相对减缓;当投加量增加至过于饱和时,底物吸附位置趋于有限,导致 EG 水解逐渐停止,而 CBH 组分占主导作用。此外,当酶投加量为 0 U/g,超声醇提所得绿原酸浸提率为 79.16%,明显低于任一酶催化作用下的绿原酸浸提率,表明酶催化水解有助于提高绿原酸的提取率。



(a)超声醇提



(b)酶催化水解

图 2 金银花叶 SEM 扫描图片

Fig. 2 Scanning electron micrographs of Lonicera japonica leaf

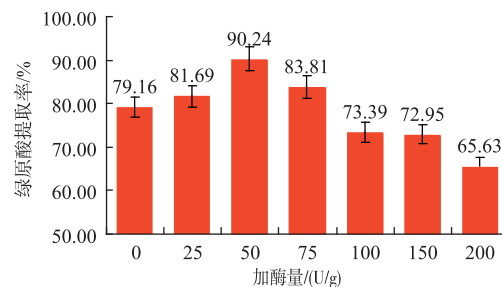


图 3 不同酶投加量对绿原酸溶浸的影响

Fig. 3 Effect of different amount of enzyme on chlorogenic acid extraction

**2.1.3 复配酶催化水解活性随时间的变化** 酶与底物结合形成 ES 构型需要一定的作用时间,酶活性及其催化水解反应过程均与酶解时间相关联,复配酶投加量为 50 U/g 时,探讨绿原酸浸提率随酶解时间的变化。由图 4 可知,随着复配酶与底物作用时间的延长,绿原酸浸提率随之增加,当酶解时间为 11 h 时,体系中绿原酸浸提率可达 92.46%。这说明木质素和半纤维素的交联形式虽影响纤维素酶水解纤维素大分子,但木质素酶与纤维素酶协同作用,因酶的专一特性,同时强化植物纤维中纤维素和木质素的降解,但在这过程中,纤维素酶与木质素酶的协同催化既是连续进行的过程,也是分别作用的过程,故存在时间滞后现象;加之底物中其他组分伴随绿原酸的溶出而溶出,不仅引发绿原酸扩散及传质阻抗<sup>[7]</sup>,其中底物含有的金属离子也会增大对酶活性的抑制作用,从而导致绿原酸浸提率降低。

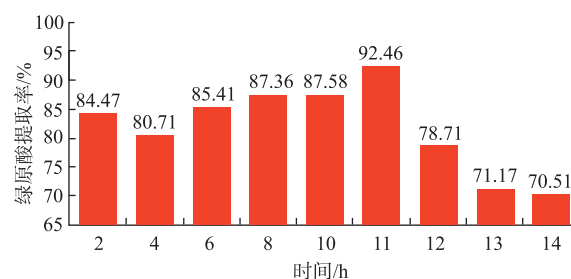


图 4 复配酶随时间对绿原酸溶浸的影响

Fig. 4 Effect of different time on extraction of chlorogenic acid

**2.1.4 不同介质环境促进酶催化水解** 金属离子常常在代谢酶的协同调控中发挥作用<sup>[18-19]</sup>。金属离子对酶活性作用,主要通过金属离子与酶产生底物形变,诱导底物分子内敏感键更加敏感,产生“电子张力”发生形变,从而增强或抑制酶活化能力。对比图 5 中各金属离子对复配酶的相对活力可知,当投

加 50 U/g 的复配酶酶解 11 h 时, 不同金属离子作用的酶活力差异较大, 其对酶催化性能的促进作用依次为  $Mg^{2+} > Na^{+} > Ca^{2+} > K^{+} > Cu^{2+}$ , 表明  $K^{+}$  和  $Cu^{2+}$  溶液体系中复配酶的酶活性相对受到抑制, 而碱金属或碱土金属, 如  $Na^{+}$ 、 $Mg^{2+}$  或  $Ca^{2+}$  则有较明显的促进作用, 其中  $Mg^{2+}$  诱导作用下, 酶催化水解浸提绿原酸浸提率可达 94.64%。

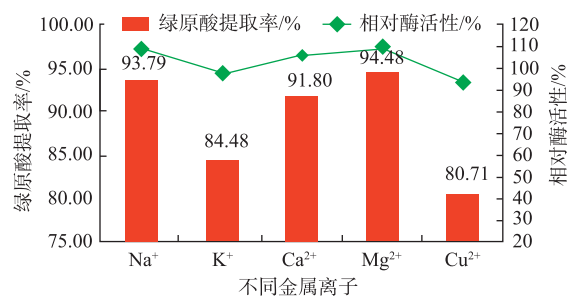


图 5 不同金属离子对绿原酸溶浸及酶活力的影响

Fig. 5 Effect of different metal ion on extraction of chlorogenic acid

## 2.2 绿原酸的抗氧化性分析

**2.2.1 绿原酸清除 DPPH· 能力评价** DPPH 自由基清除法是评价抗氧化活性高低的一种目前常用的方法, 其效果能体现抗氧化剂给出氢原子的能力。当有自由基清除剂存在时, DPPH 自由基捕捉一个电子与游离电子配对, 生成稳定的分子态  $DPPH_2$ <sup>[20]</sup>, 如图 6 所示, 致使深紫色溶液褪色, 其褪色程度与自由基清除剂的数量和清除能力呈定量关系。对比图 7 中不同纯度绿原酸与抗坏血酸对 DPPH· 清除能力可知, 绿原酸清除 DPPH· 能力明显强于抗坏血酸, 能使自由基成为更为稳定的物质, 从而终止有害自由基的链式反应; 且清除 DPPH· 的清除速度很快, 粗提物清除率达 84.2%, 纯度 98% 绿原酸清除率达 86.78%。由图 8 可知, 当反应 15 min 以后, 清除自由基的趋势变得平缓, 直至 25 min 及以后, DPPH· 清除率可达 91%。由此可以看出, 绿原酸能中断自氧化链式反应, 使自由基成为更稳定的物质, 在一定质量浓度范围内, 纯度越高, 所生成的稳定物质越快也越多。

**2.2.2 绿原酸还原能力分析** 还原能力的测定, 可检验受试物是否为良好的电子供应者, 通过体系溶液颜色改变 (所供应电子使  $Fe^{3+}$  还原为  $Fe^{2+}$ ), 反映出体系中氧化还原状态的改变。对比分析纯度 98% 绿原酸、纯度 95% 绿原酸、绿原酸粗提物以及抗坏

血酸加入化合物后在 700 nm 处的吸光度值, 由图 9 可知, 质量浓度低于 0.01 mg/mL 时, 绿原酸的吸光度值均低于抗坏血酸, 说明低质量浓度下绿原酸还原能力比较差; 但随着其质量浓度及纯度的增大, 纯度 95% 绿原酸、纯度 98% 绿原酸、绿原酸粗提物的吸光度值增大, 并在实验范围内表现出良好量效关系, 表明绿原酸可作为电子提供者与自由基反应, 具有良好的还原能力, 纯度越高, 还原能力越强。

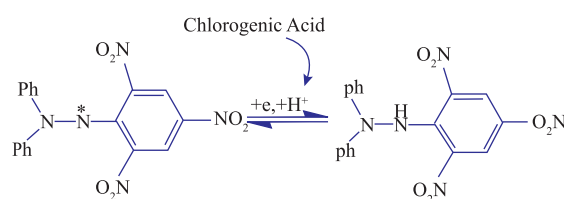


图 6 DPPH 自由基转化为  $DPPH_2$  示意图

Fig. 6 Conversion of DPPH free radicals to  $DPPH_2$

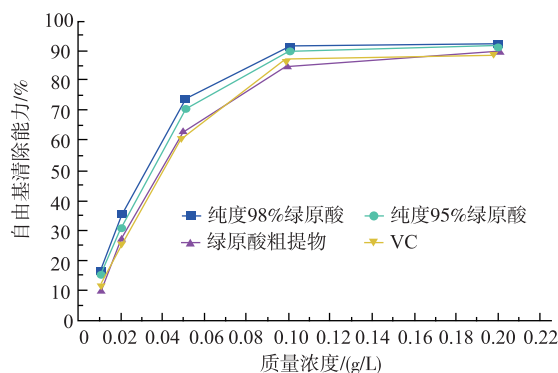


图 7 不同纯度绿原清除 DPPH· 随质量浓度变化

Fig. 7 Comparison of different purity of chlorogenic acid on DPPH· scavenging effect with mass concentration

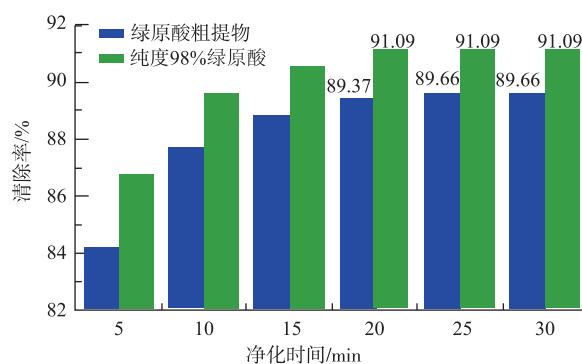


图 8 绿原酸清除 DPPH· 的时间变化

Fig. 8 Comparison of chlorogenic acid on DPPH· scavenging effect with different time

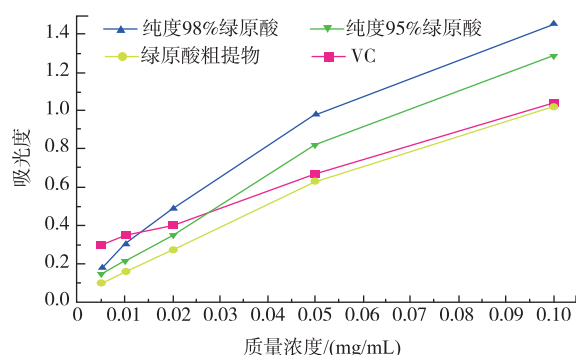


图9 不同纯度绿原酸清除还原能力比较

Fig. 9 Comparison of reduction ability of different purity of chlorogenic acid

### 3 结 语

应用纤维素酶和木质素酶协同催化水解金银花叶植物组织浸提绿原酸,对比分析酶解前后金银

花叶 SEM 照片发现,酶催化水解能有效破坏金银花叶植物组织结晶结构,有助于植物内部形成疏松结构,减少绿原酸溶出阻力。分析获得不同组配的溶出绿原酸的纤维素酶和木质素酶的组配,以及不同价态金属离子对酶催化活性的影响。实验表明:在  $Mg^{2+}$  诱导作用下,纤维素酶-木质素酶酶活比为 3:2 的复配酶 50 U/g,于水浴温度 45 ℃、pH 4 的条件下催化水解 2 g 金银花叶 11 h 后,绿原酸浸提率达 94.68%,比超声醇提法的提高 19.60%。采用 DPPH 自由基清除法、铁氰化钾还原法评价提取物绿原酸的体外抗氧化性,发现浸提绿原酸具备较高的抗氧化性,清除 DPPH· 能力明显强于抗坏血酸;也是良好的电子供应者,且随着质量浓度及纯度的增大,其还原能力增强,为资源化利用金银花叶以及绿原酸生产应用提供了新的途径。

### 参考文献:

- [1] CROZIER A, JAGANATH B, CLIFFORD M N. Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health[J]. *Nat Prod Rep*, 2009, 26: 1001-1043.
- [2] HENRY-VITRAC C, IBARRA A, ROLLER M, et al. Contribution of chlorogenic acids to the inhibition of human hepatic glucose-6-phosphatase activity in vitro by Svetol, a standardized decaffeinated green coffee extract[J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58: 4141-4144.
- [3] LIU Ying, GUO Mingye, BAI Gengben. The research progress of chlorogenic acid[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2012, 35(7): 1180-1185. (in Chinese)
- [4] ZHANG L, HUANG D, KONDO M, et al. Novel high-throughput assay for antioxidant capacity against superoxide anion[J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57: 2661-2667.
- [5] LAN Xiaoyan, ZHANG Xuejun, GONG Guizhen. The progress of chlorogenic acid in encomia leaf[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(21): 86-89. (in Chinese)
- [6] LI Yarong, YANG Peilin. Progress on detection of active ingredients in honeysuckle[J]. *Western Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2012, 25(6): 109-110. (in Chinese)
- [7] MULLEN W, NEMZER B, OU B, et al. The antioxidant and chlorogenic acid profiles of whole coffee fruits are influenced by the extraction procedures[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59: 3754-3762.
- [8] CHEN Wenxing, PENG Zesheng, YE Shaoling, et al. Honeysuckle extract conditions on the content of chlorogenic acid[J]. *Guide of China Medicine*, 2013, 11(2): 429-430. (in Chinese)
- [9] ZHANG B, YANG R Y, ZHAO Y, et al. Separation of chlorogenic acid from honeysuckle crude extracts by macroporous resins[J]. *Journal of Chromatography B*, 2008, 867: 253-258.
- [10] AYAZ A M, NAJMA M, MUHAMMAD I B. Micelle-mediated extraction of chlorogenic acid from *Morus laevigata* W. leaves[J]. *Separation and Purification Technology*, 2010, 76(2): 179-183.
- [11] JAISWAL R, SOVDAT T, VIVAN F, et al. Profiling and characterization by LC-MSn of the chlorogenic acids and hydroxycinnamoylshikimate esters in *mat\_e* (*Ilex paraguariensis*) [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58: 5471-5484.
- [12] WANG Xingmin, XU Longjun, YIN Zhongyi, et al. Improved extraction of solanesol from tobacco waste by enzymatic cell wall breaking[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2013, 29(11): 1-5. (in Chinese)
- [13] KIM Y, MOSIER N S, LADISCH M R. Enzymatic digestion of liquid hot water pretreated hybrid poplar[J]. *Biotechnol Progr*,

2009, 25(2):340-348.

- [14] HU Juwu, LI Xionghui, XIONG Wei, et al. Phase separation and extraction with n-hexane for the preparation of high purity chlorogenic acid[J]. **Food Science**, 2010, 31(14):37-41. (in Chinese)
- [15] 乌兰. 金银花中绿原酸的提取及抗氧化性的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2005.
- [16] FANG Xu, QIN Yuqi, LI Xuezhi, et al. Progress on cellulase and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic Biomass[J]. **Chin J Biotech**, 2010, 25; 26(7):864-869. (in Chinese)
- [17] JAISWAL R, PATRAS M A, ERAVUCHIRA P J, et al. Profile and characterization of the chlorogenic acids in green robusta coffee beans by LC-MSn: Identification of seven new classes of compounds[J]. **J Agric Food Chem**, 2010, 58:8722-8737.
- [18] GUGLIUCCI A, DEBORAH H, MARKOWICZ B, et al. Caffeic and chlorogenic acids in *Ilex paraguariensis* extracts are the main inhibitors of AGE generation by methylglyoxal in model proteins[J]. **Fitoterapia**, 2009, 80:339-344.
- [19] LIN Chunmei, ZHOU Mingqian. Optimization by orthogonal array design of extraction of chlorogenic acid from burdock root peels[J]. **Food Science**, 2013, 34(6):64-67. (in Chinese)
- [20] LI Xuanjun, CUI Shengyun. DPPH radical scavenging mechanism of ascorbic acid[J]. **Food Science**, 2011, 32(1):86-90. (in Chinese)

## 科技信息

### 欧盟评估链格孢霉毒素在不同人群中的膳食暴露风险

据欧盟食品安全局(EFSA)消息, 2016年12月23日欧盟食品安全局发布不同人群中链格孢霉(*alternaria*)毒素的膳食暴露风险评估报告。

链格孢霉毒素是真菌产生的一种次级代谢产物, 可污染谷物、油籽、果蔬。欧盟食品安全局对四种链格孢霉毒素的慢性膳食暴露风险进行了分析, 使用了15563份分析结果, 4249份样本(3648份针对格链孢菌醇(AOH), 3654份针对交链孢醇单四醚(AME), 4168份针对细交链孢菌酮酸(TeA), 4093份针对腾毒素(TEN))。分析发现, 学步儿童对四种链格孢霉毒素的膳食暴露量最大。

[信息来源]食品伙伴网. 欧盟评估链格孢霉毒素在不同人群中的膳食暴露风险 [EB/OL]. (2017-1-4). <http://news.foodmate.net/2017/01/411191.html>