

樟芝发酵产物中安卓奎诺尔的提取纯化

路瑞秋, 张薄博, 许赣荣*

(江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 对樟芝发酵产物中的生理活性物质安卓奎诺尔的提取纯化工艺技术进行了研究。结果表明, 安卓奎诺尔的最佳的提取条件为: 提取溶剂为 95% 乙醇, 料液比 1:25(g/mL), 提取温度为 35 ℃, 提取时间为 85 min。提取液再经过二次柱层析进一步纯化。第一次硅胶柱层析最佳条件为: 上样量 1:40($w_{\text{样品}}:w_{\text{硅胶}}$), 径高比 1:30, 洗脱流速 2.0 BV/h, 产物中安卓奎诺尔的纯度为 70.2%; 第二次硅胶柱层析最佳条件为: 洗脱剂 $v_{\text{苯}}:v_{\text{丙酮}}=7:3$, 上样量 $w_{\text{样品}}:w_{\text{硅胶}}=1:30$, 径高比 1:10, 洗脱流速 1.0 BV/h, 最终产品中安卓奎诺尔的纯度达到 91.0%。

关键词: 安卓奎诺尔; 提取; 纯化; 层析; 樟芝菌

中图分类号: S 642.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2016)05—0549—07

Recovery and Purification of Antroquinonol from *Antrodia camphorata* Fermentation Products

LU Ruiqiu, ZHANG Bobo, XU Ganrong*

(School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: This paper discusses the antroquinonol purification process, the response surface method was used to extract more antroquinonol, and silica gel column chromatography to obtain high purity of antroquinonol. The experimental results show that the optimal conditions for the extraction were as follows: material ratio 1:25(g/mL), the extraction temperature was 35 ℃, the extraction time was 85 min. The best conditions for the first silica gel column chromatography: sample volume 1:40, diameter-length ratio 1:30, elution flow rate 2.0 BV/h, the purity is 70.2%; The second optimum separation was achieved with eluant benzene:acetone=7:3 (v/v), sample volume at 1:40, diameter-length ratio 1:10 and elution velocity at 1.0 BV/h, the purity is 91%.

Keywords: Antroquinonol, recovery, purification, chromatography, *Antrodia camphorata*

樟芝(*Antrodia camphorata*), 俗称牛樟芝、红樟菇, 是中国台湾特有的珍稀食用与药用真菌, 含有多种药理活性成分, 有“灵芝之王”、“森林红宝石”之称^[1-2]。樟芝培养物具有保肝、抗癌、调节免疫力、抗炎症等药理活性^[3]。

2007 年, Lee^[4]等人用正己烷萃取樟芝固态发酵粉末, 得到一个新化合物安卓奎诺尔(Antroquinonol), 属于泛醌类化合物。Yu^[5]等人研究显示, 安卓奎诺尔对胰腺癌具有显著地抑制作用。Kumar^[6]等人研究显示在肝癌细胞中安卓奎诺尔可

收稿日期: 2014-09-19

* 通信作者: 许赣荣(1957—), 男, 江西赣州人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事发酵工程与生物化工方面的研究。

E-mail: grxu123@126.com

以显著的抑制乙醇诱导产生的 AST、ALT、ROS、NO、MDA 和 GSH 的消耗。Kumar^[7]等人研究显示, 安卓奎诺尔可以显著的抑制 3 种 NSCLS 癌细胞的增殖。安卓奎诺尔具有显著的抗癌活性, 并且它对于肝癌细胞与正常细胞有选择性^[8], 目前已进入 FDA 二期临床实验, 是具有优良前景的抗癌化合物。

研究者及产品开发者对樟芝人工培养菌丝体产物特征代谢产物仍缺乏系统的鉴定, 特征性代谢产物的分离、纯化、鉴定、标准品的制备、分析方法的建立是高质量樟芝产物开发的瓶颈之一^[9]。而对于安卓奎诺尔的提取、纯化技术的报道几乎是空白。由于市场上并无安卓奎诺尔标准品的销售, 这使得对发酵及制备过程中安卓奎诺尔的浓度无法准确定量, 严重阻碍含安卓奎诺尔樟芝发酵产品的研究和开发。

作者利用响应面设计优化了从樟芝发酵产物中提取安卓奎诺尔的工艺, 将有效成分从发酵物中高效浸提出来, 同时探讨了安卓奎诺尔的两次柱层析条件, 获得了安卓奎诺尔纯度较高的产品, 为樟芝产品的进一步研究及开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 原料及试剂

樟芝发酵产物: 作者所在实验室自制; 无水乙醇、石油醚、正己烷、乙酸乙酯、苯等: 均为分析纯; 薄层色谱硅胶板、硅胶柱填料 100–200 目柱层析硅胶: 青岛海洋化工厂分厂。

1.2 仪器

海耐高速万能粉碎机: 浙江屹立工贸有限公司; AB204–N 电子天平: METTLER TOLEDO; DKZ–2 型电热恒温振荡水槽: 上海福玛实验设备有限公司; YH6–300BS 型远红外鼓风恒温干燥箱: 上海康路仪器设备有限公司; 色谱柱: Eclipse XDB–C18 (4.6 mm×250 mm; 5 μm); RE–52 AAB 旋转蒸发器: 上海嘉鹏科技有限公司; BS2–100 自动部分收集器、HL–1 恒流泵: 上海沪西分析仪器厂有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 安卓奎诺尔的分析检测方法 樟芝产品中的安卓奎诺尔的 HPLC 分析检测方法: 参照文献[10]。纯度的测定方法: 用面积归一化法计算样品的峰面积百分比。

1.3.2 安卓奎诺尔的提取实验

1) 樟芝发酵产物的预处理实验: 取樟芝发酵产物在 45 °C 的鼓风烘干条件下烘干 36 h。将烘干产物置于磨粉机中磨粉, 得到樟芝发酵粉末。

2) 提取溶剂对安卓奎诺尔提取率的影响: 取樟芝发酵粉末 10 g, 以料液比 1:10 (g/mL) 的比例添加有机溶剂浸提, 将物料混合均匀后放入恒温水浴锅内 20 °C 振荡 120 min, 取出样品, 放置过夜, 然后进行高效液相测定。有机溶剂有正己烷、乙酸乙酯、乙醚、甲醇、60%乙醇、70%乙醇、80%乙醇、95%乙醇。

3) 料液比对安卓奎诺尔提取率的影响: 分别选取 1:5、1:10、1:15、1:20、1:25、1:30、1:60 (g/mL) 不同的料液比, 乙醇浓度为 95%, 温度为 35 °C, 提取时间为 120 min, 筛选出对安卓奎诺尔提取效果最佳的料液比。

4) 提取时间对安卓奎诺尔提取率的影响: 将水浴提取时间分别设定为 30、60、90、120、150、180 min, 料液比 1:20 (g/mL), 乙醇体积分数为 95%, 温度为 35 °C 进行提取, 筛选出安卓奎诺尔提取效果最佳的提取时间。

5) 提取温度对安卓奎诺尔提取率的影响: 将水浴温度分别设定为 25、30、35、40、50 °C, 料液比 1:20 (g/mL), 乙醇体积分数为 95%, 提取时间为 90 min 进行提取, 筛选出对安卓奎诺尔提取效果最佳的提取温度。

6) 响应面法优化樟芝发酵产物中安卓奎诺尔提取条件: 综合单因素实验结果, 应用 Design Expert 8.05 软件, 采用 Box–Behnken Design 建立数学模型, 以料液比 *A*、提取温度 *B*、提取时间 *C* 为自变量, 以安卓奎诺尔提取量 *Y* 为因变量共设立了 17 个处理组, 因子编码及水平见表 1。

表 1 响应面 3 因素 3 水平试验设计

Table 1 Factors and levels in response surface analysis

因素	水平		
	–1	0	1
<i>A</i> 料液比/(g/mL)	1:10	1:20	1:30
<i>B</i> 提取温度/°C	25	35	45
<i>C</i> 提取时间/min	30	90	150

1.3.3 硅胶柱层析纯化安卓奎诺尔

1) 第一次硅胶柱层析分离: 硅胶 (100~200 目) 作为固定相, 装柱前在烘箱中 110 °C 活化 1 h, 冷却后以正己烷为溶剂湿法装柱^[11]。将安卓奎诺尔粗提

浓缩液与硅胶混合进行干法上样,选择合适的正己烷/乙酸乙酯体积比为流动相,调节洗脱流速,每5分钟收集一次样品,对各管进行检测,合并含安卓奎诺尔的洗脱液进行浓缩。

2)第二次硅胶柱层析分离:装柱方法同上。将合并的含有效成分的部分与硅胶混合,置于通风橱中,常温下风干,进行干法上样,选择合适苯/丙酮体积比为流动相进行洗脱,每5分钟收集一次样品,对各管进行检测,合并含安卓奎诺尔的洗脱液进行浓缩。

1.3.4 硅胶层析得到物质的鉴定 将上述经两次硅胶层析得到的物质进行质谱、核磁检测。

2 结果与讨论

2.1 安卓奎诺尔的提取实验

2.1.1 提取溶剂对安卓奎诺尔提取率的影响 在不同的提取溶剂条件下,安卓奎诺尔的提取率明显不同,乙醚对安卓奎诺尔的提取效果最好,提取率达到81.42%,95%乙醇次之,提取率为81.13%。极性最小的正己烷提取效果最差,提取率仅有30.01%。乙醚对安卓奎诺尔的提取效果虽然稍高于95%乙醇,但是95%乙醇的危险性要远低于乙醚。因此,选用95%乙醇作为提取樟芝发酵样品中活性产物安卓奎诺尔的有机溶剂。

2.1.2 料液比对安卓奎诺尔提取率的影响 不同的料液比对安卓奎诺尔的提取率有着较为明显的影响。随着料液比的增大,安卓奎诺尔的提取率逐渐增加;当料液比达到1:20(g/mL)时,安卓奎诺尔的提取率最大,约为95.15%;料液比超过1:20(g/mL)时安卓奎诺尔的提取率几乎不再发生变化。所以选择料液比为1:20(g/mL)作为提取安卓奎诺尔的最适料液比。

2.1.3 提取时间对安卓奎诺尔提取率的影响 樟芝发酵产物粉末的颗粒度比较小,物料与提取溶剂的接触面积大,因此90 min内安卓奎诺尔提取率基本趋于稳定。在前90分钟内,随着提取时间的延长,安卓奎诺尔提取率也显著上升,90 min时安卓奎诺尔的提取率为95.16%。但当提取时间超过90 min后,安卓奎诺尔提取率几乎不再发生变化,因此选择提取时间为90 min。

2.1.4 提取温度对安卓奎诺尔提取率的影响 随着提取温度的上升,安卓奎诺尔的提取率也随之显

著上升,35℃时安卓奎诺尔提取率达到最高为95.13%,但在温度超过35℃后,安卓奎诺尔的提取率几乎不再发生变化,因此选择提取的温度为35℃。

2.1.5 响应面法优化樟芝固态发酵粉末中安卓奎诺尔提取条件

1)由Box-Behnken Design实验:实验结果见表2。

表2 Box-Behnken 设计方案及响应值

Table 2 Box-Behnken experimental design and corresponding experimental polysaccharide yields

试验号	A 料液比/(g/mL)	B 提取温度/℃	C 提取时间/min	安卓奎诺尔提取率 Y/%
2	-1	-1	0	78.45
17	1	-1	0	88.23
10	-1	1	0	79.83
9	1	1	0	95.78
1	-1	0	-1	76.69
13	1	0	-1	95.13
12	-1	0	1	84.14
6	1	0	1	95.23
4	0	-1	-1	87.74
3	0	1	-1	89.23
15	0	-1	1	90.21
11	0	1	1	95.21
8	0	0	0	95.31
7	0	0	0	95.13
14	0	0	0	94.23
16	0	0	0	96.03
5	0	0	0	95.21

2)数学模型的建立:按照Design Expert8.05软件中的Box-Behnken Design模型对试验获得的安卓奎诺尔提取率响应值进行回归,建立二次回归模型。得到的回归方程为:

$$Y = 95.18 + 6.91A + 1.93B + 2.00C + 1.54AB - 1.84AC + 0.88BC - 6.20A^2 - 3.40B^2 - 1.18C^2$$

对回归方程进行检验,相关系数 $R^2=0.9939$, $P<0.0001$,表明回归模型显著,拟合程度好,有实际应用价值。对回归方程系数进行显著性检验见表3。表明料液比A、料液比二次项 A^2 及提取温度二次项 B^2 对樟芝发酵产物粉末中安卓奎诺尔提取率有极度显著影响;提取温度B、提取时间C、料液比和提取温度的交互项AB、料液比和提取时间的交互项AC对樟芝发酵产物粉末中安卓奎诺尔提取率的影

响高度显著;提取时间的二次项 C^2 对樟芝发酵产物粉末提取液中安奎诺尔提取率有显著影响;其他变量的影响均不显著 ($P>0.05$)。一次系数估计值 $A=6.91$ 、 $B=1.93$ 、 $C=2.00$, 可知因素的主效应关系为料液比>提取时间>提取温度。

表 3 回归方程方差分析

Table 3 Analysis of variance for the fitted regression equation with polysaccharide yield as a function

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	702.86	9	78.10	127.26	<0.000 1	***
A	381.71	1	381.71	622.00	<0.000 1	***
B	29.72	1	29.72	48.43	0.000 2	**
C	32.00	1	32.00	52.14	0.000 2	**
AB	9.52	1	9.52	15.51	0.005 6	**
AC	13.51	1	13.51	22.01	0.002 2	**
BC	3.08	1	3.08	5.02	0.060 1	
A^2	162.10	1	162.01	264.15	<0.000 1	***
B^2	48.81	1	48.81	79.54	0.000 1	***
C^2	5.86	1	5.86	9.55	0.017 6	*
残差	4.30	7	0.61			
失拟性	2.65	3	0.88	2.15	0.236 9	
纯误差	1.65	4	0.41			
总差	707.15	16				

注:*** 差异极度显著 ($P<0.0001$);** 差异高度显著 ($P<0.01$);* 差异显著 ($P<0.05$)

3) 响应面分析与优化:由图 1 可以看出,料液比和提取温度的交互影响及料液比和提取时间的交互影响对樟芝发酵产物粉末中安奎诺尔的提取率均有较显著的影响。

4) 模型验证性试验:从上述回归模型中求得最优工艺条件为料液比 1:25.50 (g/mL),提取温度 35.02 °C,提取时间 85.08 min,樟芝发酵产物粉末中安奎诺尔的提取率为 97.02%。由于以上最佳条件未包括在响应面优化的 17 组试验中,需进一步验证。为了操作方便,将以上条件修正为料液比 1:25 g/mL,提取温度 35 °C,提取时间 85 min。验证试验结果表明,在最佳提取条件下,樟芝发酵产物粉末中安奎诺尔的提取率为 96.97% (RSD=0.17%) 与预测值相差不大,说明该方程与实际情况拟合较好,充分验证了所建模型的正确性,说明响应面法适用于樟芝固态发酵粉末中安奎诺尔物质提取工艺。

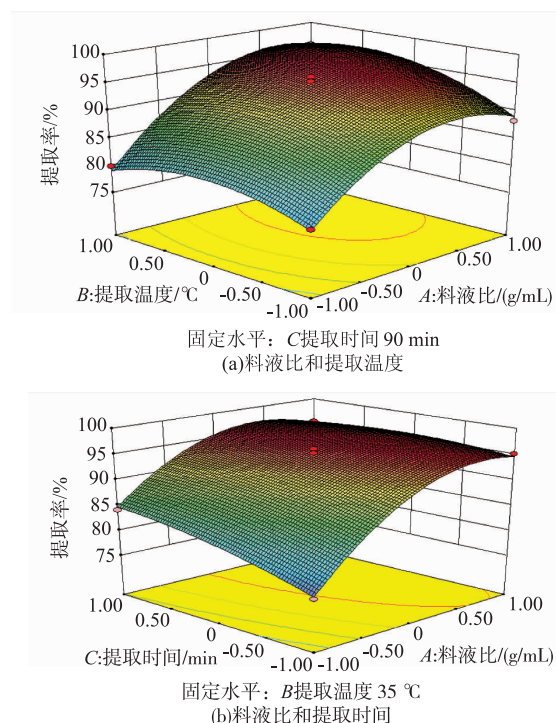


图 1 各两因素交互作用对樟芝固态粉末安奎诺尔提取率的影响

Fig. 1 Response surface of the effect of any two factors on extraction rate of polysaccharides from longan seeds

2.2 硅胶柱层析纯化安奎诺尔

2.2.1 第一次硅胶柱层析

1) 洗脱剂的选择:由于樟芝发酵产物粉末乙醇提取物中含有多种物质,有许多未知的物质,所以在洗脱时应选择合适的洗脱剂进行梯度洗脱,去掉大部分的杂质。不同展开剂的薄层层析结果见表 4。

表 4 不同展开剂的 TLC 结果

Table 4 TLC results of different developing solvents

洗脱剂	正己烷	$v_{\text{正己烷}}:v_{\text{乙酸乙酯}}=8:2$	$v_{\text{正己烷}}:v_{\text{乙酸乙酯}}=7:3$	$v_{\text{正己烷}}:v_{\text{乙酸乙酯}}=5:5$
TLC 现象	安奎诺尔未展开	$R_f=0.142$ 安奎诺尔未与杂质分离	$R_f=0.317$ 安奎诺尔与杂质分开	$R_f=0.812$ 安奎诺尔与杂质未分开

根据 TLC 的结果,当 $v_{\text{正己烷}}:v_{\text{乙酸乙酯}}$ 为 7:3 时,安奎诺尔与杂质分开,可实现安奎诺尔的初步除杂;展开剂为 $v_{\text{正己烷}}:v_{\text{乙酸乙酯}}=8:2$ 时,安奎诺尔虽与杂质未分开,但有一部分杂质的 $R_f \geq 0.75$,因此第一次柱层析依序采用不同比例的正己烷:乙酸乙酯为流动相进行梯度洗脱 (100%~50%),对含安奎诺尔

诺尔的部分进行收集。

2) 上样量对分离效果的影响: 柱层析时, 选择径高比为 1:40 的层析柱, 流速为 2.0 BV/h, 考察不同的上样量对分离效果的影响, 结果见图 2。

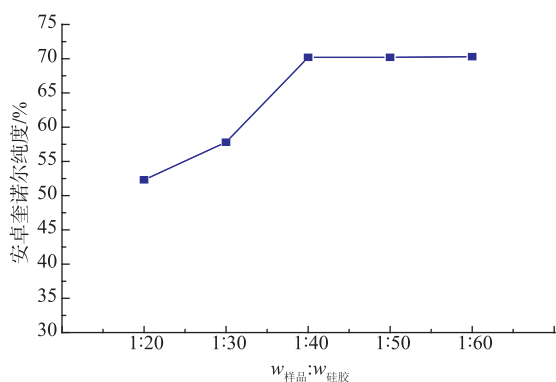


图 2 不同的上样量对安卓奎诺尔纯度的影响

Fig. 2 Effect of sample volume on antroquinonol purity

由图 2 可知, 随着上样量的减少, 安卓奎诺尔纯度逐渐升高后趋于稳定, 这是因为上样量大时, 硅胶对樟芝发酵产物粉末提取浓缩物的吸附达到饱和, 过量的浓缩物随着安卓奎诺尔一起被洗脱下来, 所以最适上样量应选择 1:40 ($w_{\text{样品}}:w_{\text{硅胶}}$)。

3) 装柱径高比对安卓奎诺尔纯化的影响: 柱层析时, 上样量为 1:40 ($w_{\text{样品}}:w_{\text{硅胶}}$), 流速为 2.0 BV/h, 考察不同的径高比对分离效果的影响, 结果见图 3。

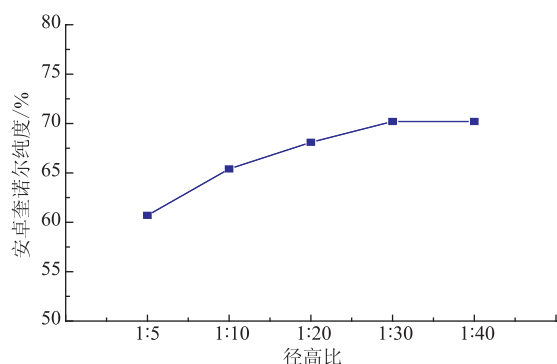


图 3 不同的径高比对安卓奎诺尔纯度的影响

Fig. 3 Effect of diameter-length ratio on antroquinonol purity

由图 3 可知, 随着径高比的增加, 安卓奎诺尔纯度呈现先升高后趋于稳定的趋势。由于樟芝发酵产物乙醇萃取浓缩物中的物质较多, 较高的径高比有利于安卓奎诺尔的纯化, 径高比越大, 理论塔板数越高, 分离效果越好, 当径高比太大时, 虽然达到了分离纯化的目的, 但所消耗的溶剂及洗脱时间较

长, 使工作效率降低, 所以最适径高比为 1:30。

4) 洗脱流速对安卓奎诺尔纯化的影响: 柱层析时, 选择上样量为 1:40 ($w_{\text{样品}}:w_{\text{硅胶}}$), 径高比为 1:30, 考察不同流速对安卓奎诺尔纯化的影响, 结果见图 4。

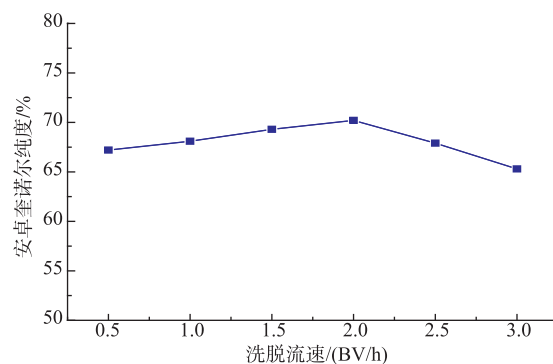


图 4 不同的洗脱流速对安卓奎诺尔纯度的影响

Fig. 4 Effect of eluant flow rate on antroquinonol purity

由图 4 可知, 随着洗脱流速的增大, 安卓奎诺尔的纯度呈现先增大后降低的趋势, 当洗脱流速较低时, 导致安卓奎诺尔的轴向扩散较严重, 使得层析结果变差; 当洗脱流速达到并超过 2.0 BV/h 时, 硅胶还未对安卓奎诺尔形成有效的吸附便被洗脱剂带走, 没有达到层析效果, 导致安卓奎诺尔纯度较低, 因此安卓奎诺尔纯化最适洗脱流速为 2.0 BV/h。

第一次硅胶柱层析纯化安卓奎诺尔的最佳上样量为 1:40 ($w_{\text{样品}}:w_{\text{硅胶}}$), 径高比为 1:30, 洗脱流速为 2.0 BV/h, 在此条件下得到的安卓奎诺尔纯度为 70.2%。

2.2.2 第二次硅胶柱层析 采用 2.2.1 所用到的方法确定了第二次硅胶柱层析的条件, 利用溶剂体系 $v_{\text{苯}}:v_{\text{丙酮}}=7:3$ 作为洗脱剂, 最佳上样量为 1:30 ($w_{\text{样品}}:w_{\text{硅胶}}$), 最适径高比为 1:10, 洗脱流速为 1.0 BV/h。经过第二次硅胶柱层析后, 安卓奎诺尔的纯度达到了 91.0% 以上, 见图 5。

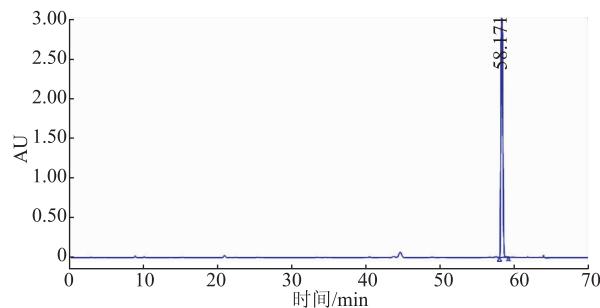


图 5 硅胶纯化后安卓奎诺尔的 HPLC 检测图谱

Fig. 5 Antroquinonol HPLC analysis

2.2.3 硅胶层析得到物质的鉴定结果 分离纯化得到的物质为淡黄色油状液体,UV(乙醇)最大吸收波长为 268.2 nm,EIMS m/z :391 $[M+1]^+$ 、373、341、

181、169。为进一步确认其结构,随后对该物质进行 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 的分析,结果见图 6-7。

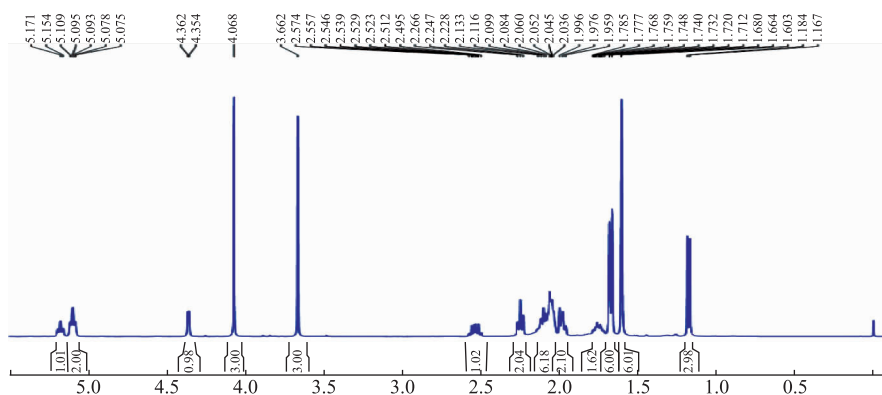


图 6 纯化物的 $^1\text{H-NMR}$ (400 Hz, CDCl_3 , δ : $\mu\text{g/g}$)

Fig. 6 $^1\text{H-NMR}$ of Antroquinol

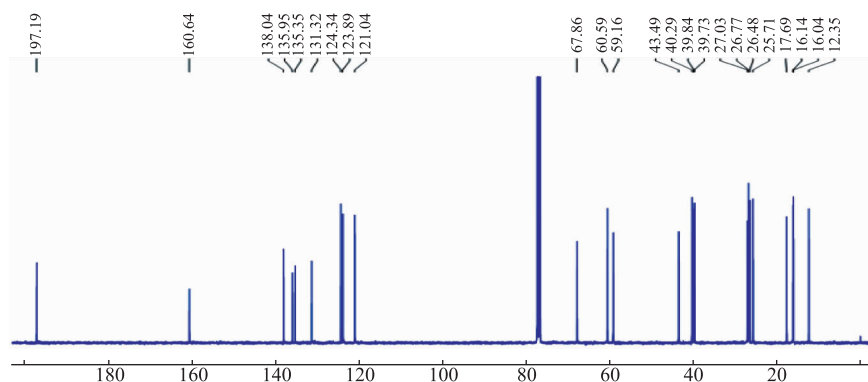


图 7 纯化物的 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 Hz, CDCl_3 , δ : $\mu\text{g/g}$)

Fig. 7 $^{13}\text{C-NMR}$ of Antroquinol

3 结 语

利用试验设计软件 Design Expert8.05, 采用 Box-Behnken Design 建立了物料比 A 、提取温度 B 和提取时间 C 与樟芝发酵产物粉末安素奎诺尔提取率之间的二次多项数学模型:

$$Y = 95.18 + 6.91A + 1.93B + 2.00C + 1.54AB - 1.84AC + 0.88BC - 6.20A^2 - 3.40B^2 - 1.18C^2$$

参考文献:

- [1] 陈菲, 刘训红, 杨念云, 等. 樟芝的研究概述[J]. 中药材, 2011, 34: 1804-1808.
CHEN Fei, LIU Xunhong, Yang Nianyun, et al. *Antrodia cinnamomea* research overview [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2011, 34: 1804-1808. (in Chinese)
- [2] 宋爱荣. 台湾樟芝对碳素营养源利用的研究[J]. 中国食用菌, 2002, 21: 42-44.

回归分析表明, 相关系数 $R^2=0.9939$, $P<0.0001$, 表明回归模型显著, 拟合程度好, 有实际应用意义。通过模型系数显著性检验, 得到因素的主效应关系为: 物料比>提取时间>提取温度。

柱层析法是一种非常有效的分离纯化方法, 广泛应用于天然产物的分离纯化过程中^[12]。作者采用正相硅胶柱层析法对有效成分进行了分离纯化, 经过两次硅胶柱层析后获得了纯度较高的有效成分。

- SONG Airong. Study on the utilization of C source of *Antrodia camphora* in Taiwan[J]. **Edible Fungi of China**, 2002, 21: 42-44. (in Chinese)
- [3] 陈娟,姜兴华,范青生,等. 樟芝的食用安全性研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2010, 22: 857-860.
- CHEN Juan, JANG Xinghua, FAN Qingsheng, et al. Advance in researches on the safety of *Antrodia camphorate* [J]. **Chinese Journal of Microecology**, 2010, 22: 857-860. (in Chinese)
- [4] Lee T H, Lee C K, Tsou W L. A new cytotoxic agent from solid state fermented mycelium of *Antrodia camphorata* [J]. **Planta Letter**, 2007, 73: 1-3.
- [5] Yu C C, Chiang P C, Lu P H, et al. Antroquinonol, a natural ubiquinone derivative, induces a cross talk between apoptosis, autophagy and senescence in human pancreatic carcinoma cells[J]. **J Nutr Biochem**, 2011, 21(3): 11-15.
- [6] Kumar K J, Chu F H, Hsieh H W, et al. Antroquinonol from ethanolic extract of mycelium of *Antrodia cinnamomea* protects hepatic cells from ethanol-induced oxidative stress through Nrf-2 activation[J]. **J Ethnopharmacol**, 2011, 136: 168-177.
- [7] Kumar V B, Yuan T C, Liou J W, et al. Antroquinonol inhibits NSCLC proliferation by altering PI3K/mTOR proteins and miRNA expression profiles[J]. **Mutat Res**, 2011, 707: 42-52.
- [8] Chiang P C, Lin S C, Shioh L P, et al. Antroquinonol displays anticancer potential against human hepatocellular carcinoma cells: A crucial role of AMPK and mTOR pathys[J]. **Biochem Pharmacol**, 2010, 79: 162-171.
- [9] 张薄博,夏永军,许赣荣. 樟芝发酵产品的研究进展[J]. 食品科技, 2012, 37: 89-91.
- ZHANG Bobo, XIA Yongjun, XU Ganrong. Advance on the fermented products of *Antrodia camphorate* [J]. **Food Science and Technology**, 2012, 37: 89-91. (in Chinese)
- [10] 夏永军,李炜疆,许赣荣. 樟芝固态发酵产品活性代谢产物分析[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37: 86-90.
- XIA Yongjun, LI Weijiang, XU Ganrong. Study and analysis on active components of *Antrodia camphorate* by solid state fermentation[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2011, 37: 86-90. (in Chinese)
- [11] 凌伟军,余倩,黄淋佳,等. 柱层析分离提纯麝香草酚的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(7): 242-244, 247.
- LING Weijun, YU Qian, HUANG Linjia, et al. Study on separation and purification for thymol by column chromatography[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2010, 31(7): 242-244, 247. (in Chinese)
- [12] 付亮,袁璟亚,杨瑞武,等. 正交试验优化淫羊藿总黄酮和多糖的分步提取工艺优化[J]. 食品科学, 2012, 33(24): 56-60.
- FU Liang, YUAN Jingya, YANG Ruiwu, et al. Orthogonal array design for the optimization of successive extraction of total flavonoids and polysaccharides from epimedium brevicornum maxim[J]. **Food Science**, 2012, 33(24): 56-60. (in Chinese)

科技信息

欧盟批准食品添加剂聚天门冬氨酸用于葡萄酒

2016年3月17日,据欧洲食品安全局消息,依据(EC)1331/2008法规的规定,对食品添加剂聚天门冬氨酸作为稳定剂用于葡萄酒的安全性进行了评估。评估结果认为,聚天门冬氨酸作为稳定剂使用于葡萄酒(红、桃红、白葡萄酒)时,最大用量 300mg/L 是安全无害的。

[信息来源]国家质量监督检验检疫总局. 欧盟批准食品添加剂聚天门冬氨酸用于葡萄酒 [EB/OL]. (2016-3-21). http://www.aqsiq.gov.cn/xxgk_13386/zxxxgk/201603/t20160321_463250.htm