

# 乳酸菌发酵转化人参皂苷

夏晚霞<sup>1</sup>, 张尚微<sup>2</sup>, 葛亚中<sup>3</sup>, 任杰<sup>1</sup>, 余庆涛<sup>3</sup>, 杨继国<sup>1,2</sup>, 宁正祥<sup>2</sup>

(1. 华南协同创新研究院, 广东东莞 523808) (2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

(3. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 510640)

**摘要:** 筛选适合发酵转化人参皂苷的乳酸菌, 并对发酵工艺进行优化, 探讨人参提取物发酵过程中人参皂苷的生物转化路径。结果显示: 植物乳杆菌转化人参皂苷的效果最好, 得到的稀有皂苷含量相对较高; 发酵工艺为: 发酵温度 35℃、发酵时间 16 d、初始 pH 6.0、底物浓度 10%、接种量 10%; 得到的发酵液中稀有皂苷的含量可达到 106.52 μg/mL(F2)、74.62 μg/mL(Rg3)和 100.56 μg/mL(CK), 较发酵前分别提高 188.13%、203.21%和 395.86%。人参皂苷的可能转化路径与发酵过程中 6 种常见皂苷含量的变化是一致的。研究结果表明: 植物乳杆菌发酵人参提取物过程中常见皂苷向稀有皂苷转化, 通过发酵工艺优化使得稀有皂苷含量显著提高, 得到的发酵产物用于人参产品的开发具有一定的优势, 为人参产品的深加工奠定基础。

**关键词:** 人参皂苷; 乳酸菌; 发酵; 生物转化; 工艺优化

文章编号: 1673-9078(2018)09-136-142

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.9.020

## Fermentation Transformed Ginsenoside by *Lactic acid bacteria*

XIA Wan-xia<sup>1</sup>, ZHANG Shang-wei<sup>2</sup>, GE Ya-zhong<sup>3</sup>, REN Jie<sup>1</sup>, YU Qing-tao<sup>3</sup>, YANG Ji-guo<sup>1,2</sup>, NING Zheng-xiang<sup>2</sup>

(1.South China Institute of Collaborative Innovation, Dongguan 523808, China)(2.College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(3.Infinity (China) Company Ltd, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** *Lactic acid bacteria* suitable for ginsenosides bioconversion were screened and the fermentation conditions were optimized. The bioconversion pathway of the ginsenosides during the fermentation was discussed. The results showed that *Lactobacillus plantarum* exhibited the strongest ability to produce rare ginsenosides. Optimal fermentation conditions were 35 °C, pH 7.0, incubation time of 16 days, 7% inoculum size and 10% substrate concentration. The contents of 3 rare ginsenosides were 106.52 μg/mL(F2), 74.62 μg/mL(Rg3) and 100.56 μg/mL(CK), which were enhanced 188.13%, 203.21% and 395.86%, respectively. The changes in major ginsenosides content were consistent with the possible transformation pathway of ginsenosides. The results indicated that the ginsenosides were converted to rare ginsenosides through *Lactic acid bacteria* fermentation and the reasonable fermentation process was constructed to improve the content of rare ginsenosides. This work has important significance for microbial transformation of ginsenoside, and the fermentation broth have an advantage in deep-processing ginseng products.

**Key words:** ginsenoside; *Lactic acid bacteria*; bioconversion; fermentation; process optimization

人参 (*Panax ginseng* C. A. Mey) 为五加科多年生植物人参的根, 是传统名贵中药, 人参皂苷 (ginsenoside, GS) 是人参生理活性的主要物质基础, 也是人参成分中最有效的药用成分, 其中含量较少的稀有人参皂苷 (rare ginsenosides) 具有极高的药用价值和前景<sup>[1,2]</sup>。例如, 稀有人参皂苷 Compound K (CK) 在抗肿瘤、抗炎、抗糖尿病、抗血栓形成、抗老化和保肝等方面具有很好的作用<sup>[3,4]</sup>; Rg3 最初从红参中分

离得到<sup>[5]</sup>, 它主要作用于细胞增殖周期的 G2/M 期, 具有诱导肿瘤细胞凋亡, 选择性抑制肿瘤细胞黏附和浸润, 抑制肿瘤新生血管的形成, 增强机体免疫力等作用。但这些稀有皂苷天然含量极低, 如 Rg3 在白参中的含量仅为 0.0003%, 在红参中的含量约为 0.03%, 因此从人参中直接提取这些稀有皂苷较为困难<sup>[6]</sup>。为了获得大量人参皂苷, 尤其是生理活性较强的稀有皂苷, 国内外学者展开了一系列的研究和探索, 稀有人参皂苷能够从人参中含量较高的 Rb1、Rb2、Rc 和 Rd 等主皂苷 (major ginsenosides) 转化得到<sup>[7]</sup>。

乳酸菌是公认的人体益生菌, 具有安全性高, 生长速度快, 代谢机制较明确, 副产物少等特点, 常用于制造酸奶、乳酪、啤酒、泡菜和其他发酵食品; 在

收稿日期: 2018-04-17

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFC1601000)

作者简介: 夏晚霞 (1988-), 女, 博士后, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 杨继国 (1977-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品生物学

生物工程、工农业和食品加工等领域具有广泛的应用前景<sup>[8]</sup>。大量研究表明,乳酸菌能够调节胃肠道正常菌群,从而改善胃肠道功能;控制肠道内腐败菌生长;提高食物消化率和生物效价;降低血液中的胆固醇含量,对冠心病和脑血管疾病具有很好的疗效<sup>[9]</sup>。并且,另有研究表明,乳酸菌能够产胞外 $\beta$ -葡萄糖苷酶,该酶能够水解多种 $\beta$ -葡萄糖苷<sup>[10]</sup>。对比人参皂苷分子结构,由于所连接的糖苷配基不同,会有多种单体人参皂苷。利用 $\beta$ -葡萄糖苷酶水解人参皂苷的葡萄糖苷,从而产生活性更高、药效更强的稀有皂苷已成为人参研究的热点问题。研究表明,发酵方法可以改变人参皂苷的糖链结构,促使其向稀有皂苷转化,从而改变人参中皂苷和稀有皂苷的含量,增强人参的药理活性,促进肠道吸收<sup>[11-13]</sup>。

因此,本研究选取5种乳酸菌对人参提取物进行发酵,通过定向生物转化将部分人参皂苷转化成稀有皂苷,使发酵后的人参提取物中稀有皂苷的含量提高,同时研究发酵条件对转化生成稀有皂苷含量的影响,并确定最适宜的发酵条件,为开发各种人参深加工产品提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

人参提取物(粉),无限极有限公司提供;浓缩苹果汁,秦安长城果汁饮料有限公司;干酪乳杆菌、副干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌和发酵乳杆菌,广东省微生物菌种保藏中心;色谱纯乙腈、磷酸、甲酸、分析纯正丁醇购自天津科密欧化学试剂有限公司;人参皂苷标准品,上海源叶生物科技有限公司;Thermo U3000 高效液相色谱仪;Agilent HPLC-6500 Q-TOF 飞行时间质谱联用仪。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 人参提取物的乳酸菌发酵

利用5种乳酸菌分别对人参提取物进行发酵,以浓缩苹果汁为糖源,初始发酵液中含人参提取物和浓缩苹果汁分别为15%和10% ( $m/m$ ),初始总糖量为5% ( $m/m$ )。于60℃下,消毒45 min,冷却后以1%的接种量加入培养好的植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、副干酪乳杆菌和发酵乳杆菌,混合均匀后封口于35℃培养箱中静置发酵10 d。

#### 1.2.2 人参皂苷 LC-MS 定性分析

样品制备:取等量5种乳酸菌发酵液混合后冷冻干燥,得粉末状样品,精密称取粉末1.0022 g,以料

液比为1:20 mL,加入超纯水20 mL于50 mL锥形瓶。以超声频率100 Hz,室温超声30 min,并补足损失的体积。静置滤纸过滤,滤液用水饱和和正丁醇萃取3次,合并上层液,在45℃旋转蒸发仪减压浓缩至近干,加甲醇5 mL溶解。以备分析用。

样品分析:色谱分离采用岛津 Intestinal ODS-SP C18 column (4.6×250 mm, 5  $\mu$ m),梯度洗脱条件如下:流动相A为0.1%甲酸水,B为乙腈,梯度洗脱条件如下:0~25 min,19%~20% B;25~60 min,20%~40% B;60~70 min,40%~100% B。流速:1 mL/min,波长:203 nm,柱温:35℃,进样量:10  $\mu$ L。质谱条件:MS-Q-TOF 检测器;干燥气( $N_2$ )流速,8 L/min;干燥气温度,320℃;雾化器压力,35 psig;毛细管电压,3500 V;OCT RFV,750 V;碎片电压,100 V。用负离子模式采集数据,离子扫描范围为  $m/z$  60~1500。数据采集及处理分别采用 Agilent Mass Hunter Acquisition Software Version B.05.00 和 Mass Hunter Workstation Software Version B.05.00 软件(Agilent 科技有限公司)。

#### 1.2.3 人参皂苷 HPLC 定量分析

样品制备:取10 mL发酵液置于分液漏斗中,向其中加入100 mL的乙醚脱脂,分三次进行。然后取100 mL水饱和和正丁醇萃取发酵液中的皂苷,分三次进行。最后,将三次萃取液收集,45℃减压蒸发至干,用3 mL甲醇溶解,备用。

样品分析:Agilent Zorbax SB-C18 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5  $\mu$ m),流动相为乙腈(A)和0.1%磷酸水(B),按表1梯度洗脱,柱温为30℃,检测波长为203 nm,流速为1.0 mL/min,进样量10  $\mu$ L。

表1 梯度洗脱方法

Table 1 Gradient elution method

时间/min	A/%	B/%
0	20	80
25	20	80
34	25	75
40	30	70
65	33	67
75	40	60
90	50	50
100	54	46
110	20	80

标准曲线的确定:分别精密称取人参皂苷 Rg1、Re、Rb1、Rb2、Rd、Rg3、F2、CK、Rh1 标准品,甲醇配制成各单体皂苷浓度为1 mg/mL的混合溶液,将该混合液稀释成50、100、200、400、800、1000  $\mu$ g/mL

六个浓度，以峰面积和标准品浓度做标准曲线。

精密度和稳定性实验：取 200 μg/mL 对照品混合溶液重复进样 6 次，计算各峰面积 RSD。取 200 μg/mL 对照品混合溶液在 0、2、4、8、16、24 h 分别进样，计算各峰面积 RSD。

### 1.2.4 发酵工艺优化

通过单因素实验探究发酵时间、初始 pH、接种量和底物浓度对乳酸菌发酵人参提取物生成稀有皂苷的影响。发酵时间为 28 d，取样时间 0 d、1 d、4 d、8 d、12 d、16 d、20 d、24 d 和 28 d；接种量采用 1%、5%、10% 和 15% 4 个水平，初始 pH 按 4.0、5.0、6.0、7.0 和 8.0 设置，底物浓度采用 5%、10%、15% 和 20% 4 个水平。其他发酵条件同 1.2.1，以发酵液中生成稀有皂苷的含量为筛选指标。

### 1.2.5 数据分析

采用 Origin 8.5 和 SPSS 19.0 对本文数据进行处理和分析，每组重复 3 次，实验数据表示为平均值±标准偏差。采用单因素分析和 Tukey's HSD 法进行多重比较，显著水平为  $p < 0.05$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 人参皂苷的 LC-MS 检测

人参提取物发酵液中皂苷 LC-MS 检测的离子流图如图 1。根据保留时间、质谱峰、精确的分子离子峰的质荷比等信息解析得出 A 和 B 各自峰形对应的物质，见表 2。

由图 1 和表 2 分析表明，发酵液中检测到 38 个人参皂苷的峰，其中有 6 个同分异构体，同时，在发酵液中检测到稀有皂苷 F2、Rg3、和 CK。结果表明人参提取物经乳酸菌发酵后含有多个人参皂苷和稀有皂苷，确定了发酵后人参提取物中有效活性成分的存在。

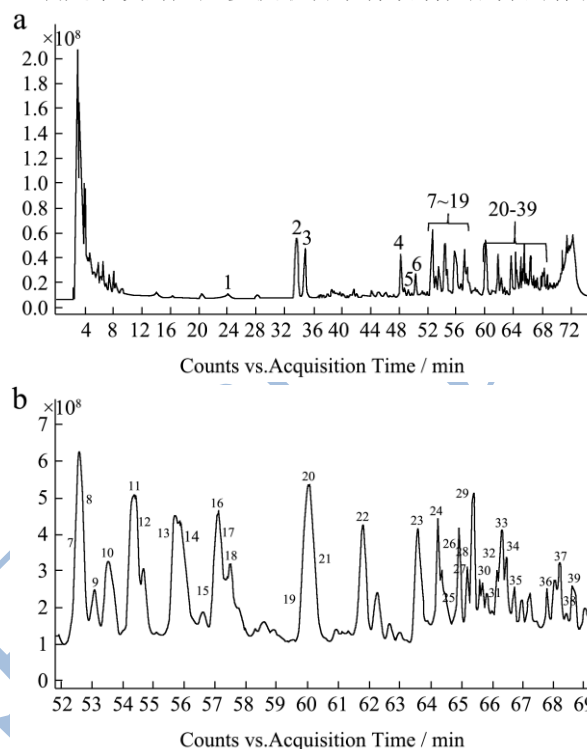


图 1 人参提取物发酵液中皂苷 LC-MS 检测离子流图

Fig.1 LC-MS extracted ion chromatogram of ginsenosides from ginseng extracts fermentation broth

表 2 人参提取物发酵液中皂苷 LC-MS 检测图谱解析

Table 2 The analysis results of the mass spectra of ginsenosides from ginseng extracts fermentation broth

Peak	Identity	t <sub>R</sub> /min	Molecular formula	Extracting Ion (m/z) [M-H+HCOOH] <sup>-</sup>
1	Notoginsenoside R <sub>1</sub>	28.103	C <sub>47</sub> H <sub>80</sub> O <sub>18</sub>	977.5317
2	Rg1	33.597	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>	845.4967
3	Re	34.755	C <sub>48</sub> H <sub>82</sub> O <sub>18</sub>	991.5469
4	Rf	48.268	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>	845.4883
5	20(S)-notoginsenoside R2	50.227	C <sub>41</sub> H <sub>70</sub> O <sub>13</sub>	815.4787
6	20(R)-notoginsenoside R2	51.849	C <sub>41</sub> H <sub>70</sub> O <sub>13</sub>	815.4792
7	20(S)-Rg2	52.643	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub>	829.4942
8	20(S)-Rh1	52.461	C <sub>36</sub> H <sub>62</sub> O <sub>9</sub>	683.4392
9	20(R)-Rg2	53.007	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub>	829.4942
10	20(R)-Rh1	53.520	C <sub>36</sub> H <sub>62</sub> O <sub>9</sub>	683.4392
11	Rb1	54.325	C <sub>54</sub> H <sub>92</sub> O <sub>23</sub>	1153.6001
12	Ma-Rb1	54.689	C <sub>57</sub> H <sub>94</sub> O <sub>26</sub>	1193.5932[M-H]-
13	Rc	55.682	C <sub>53</sub> H <sub>90</sub> O <sub>22</sub>	1123.5878
14	Ma-Rc	56.583	C <sub>56</sub> H <sub>92</sub> O <sub>25</sub>	1163.5829[M-H]-

转下页

接上页				
15	Rb2	57.072	C <sub>53</sub> H <sub>90</sub> O <sub>22</sub>	1123.5892
16	Ma-Rb2	57.254	C <sub>56</sub> H <sub>92</sub> O <sub>25</sub>	1163.5829[M-H] <sup>-</sup>
17	Rb3	57.568	C <sub>53</sub> H <sub>90</sub> O <sub>22</sub>	1123.5886
18	ChikusetsusaponinIVa	59.957	C <sub>42</sub> H <sub>66</sub> O <sub>14</sub>	793.4368[M-H] <sup>+</sup>
19	Rd	60.050	C <sub>48</sub> H <sub>82</sub> O <sub>18</sub>	991.5461
20	Ma-Rd	60.294	C <sub>51</sub> H <sub>84</sub> O <sub>21</sub>	1031.541[M-H] <sup>-</sup>
21	Zingibroside R1	65.650	C <sub>42</sub> H <sub>66</sub> O <sub>14</sub>	793.4369[M-H] <sup>+</sup>
22	Notoginsenoside Ft <sub>1</sub>	63.608	C <sub>47</sub> H <sub>80</sub> O <sub>17</sub>	961.5365
23	unknown	64.237	C <sub>47</sub> H <sub>80</sub> O <sub>17</sub>	961.5355
24	Rg6	64.459	C <sub>42</sub> H <sub>70</sub> O <sub>12</sub>	811.4835
25	F4	64.922	C <sub>42</sub> H <sub>70</sub> O <sub>12</sub>	811.4838
26	RK1	68.066	C <sub>42</sub> H <sub>70</sub> O <sub>12</sub>	811.4841
27	Rg5	68.231	C <sub>42</sub> H <sub>70</sub> O <sub>12</sub>	811.4836
28	RK3	64.971	C <sub>36</sub> H <sub>60</sub> O <sub>8</sub>	665.4256
29	Rh4	65.005	C <sub>36</sub> H <sub>60</sub> O <sub>8</sub>	665.4256
30	S-PPT	66.841	C <sub>47</sub> H <sub>80</sub> O <sub>17</sub>	521.3836
31	20(S)-Rs3	66.256	C <sub>44</sub> H <sub>74</sub> O <sub>14</sub>	825.499
32	20(R)-Rs3	66.421	C <sub>44</sub> H <sub>74</sub> O <sub>14</sub>	829.4925
33	20(S)-F1	55.986	C <sub>36</sub> H <sub>62</sub> O <sub>9</sub>	683.4392
34	20(S)-F2	65.302	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub>	829.4947
35	20(R)-F2	65.451	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub>	829.4944
36	20(S)-Rg3	66.312	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub>	829.4948
37	20(R)-Rg3	66.477	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub>	829.4943
38	20(S)-CK	68.546	C <sub>36</sub> H <sub>62</sub> O <sub>8</sub>	667.4415

表3 人参皂苷标准曲线、稳定性和精密度

Table 3 The working curve, stability and accuracy experiments (RSD) of standard samples of ginsenosides(n=6)

皂苷种类	标准曲线	R <sup>2</sup>	线性范围/(μg/mL)	精密度 RSD%	稳定性 RSD%
Rg1	y=11.86x+120.67	0.9991	50~1000	0.22	1.45
Re	y=19.61x+30.16	0.9991	50~1000	0.27	1.26
Rb1	y=17.01x-114.3	0.9997	50~1000	0.31	1.58
Rh1	y=12.01x-19.76	0.9991	50~1000	0.44	1.44
Rb2	y=4.09x+234.69	0.9994	50~1000	0.28	1.71
Rd	y=6.4x+257.99	0.9992	50~1000	0.35	1.36
F2	y=11.86x-20.24	0.9999	50~1000	0.18	1.22
Rg3	y=6.8x-12.65	0.9991	50~1000	0.43	1.79
CK	y=7.31x+30.01	0.9993	50~1000	0.57	0.98

## 2.2 线性关系和方法学考察

以峰面积和标准品浓度做标准曲线。各单体人参皂苷标准曲线及线性范围见表3所示。精密度和稳定性实验表明该方法精密度良好且在24 h内保持稳定(表3)。

## 2.3 乳酸菌的筛选

本研究选取了5种乳酸菌,植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、副干酪乳杆菌和发酵乳杆菌对人参提取物进行发酵,通过比较5种乳酸菌发酵人参提取物后,发酵液中生成的3种稀有皂苷F2, Rg3和CK的水平,来筛选适合人参提取物发酵的乳酸菌。检测结果表明,5种乳酸菌均能转化人参提取物中的皂苷生成稀有皂苷,稀有皂苷含量比较结果如图2所示。结果显示,植物乳杆菌发酵产生的稀有皂苷F2

和 Rg3 含量相对较高, 生成的 CK 含量无明显差异。因此植物乳杆菌为最适人参提取物发酵生成稀有皂苷的菌种。

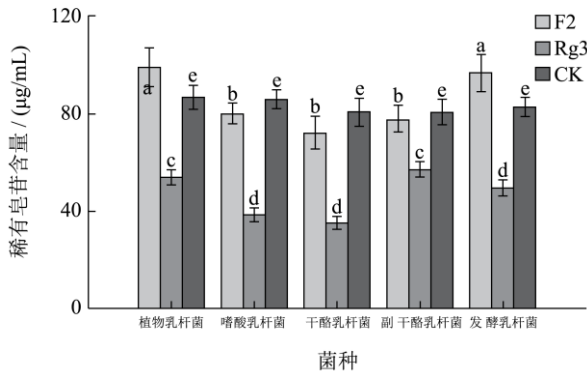


图 2 不同乳酸菌发酵对稀有皂苷含量的影响

Fig.2 Lactic acid bacteria fermentation on the influence of rare ginsenoside contents

注: 字母不同表示差异显著  $p < 0.05$ 。

## 2.4 植物乳杆菌发酵工艺的优化

### 2.4.1 发酵时间的优化

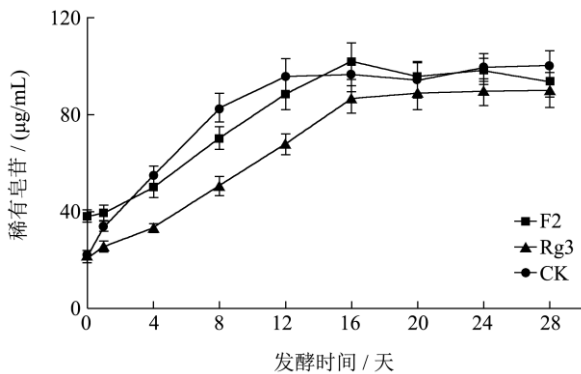


图 3 发酵时间对稀有皂苷含量的影响

Fig.3 Fermentation time on the influence of rare ginsenoside contents

比较植物乳杆菌发酵不同时间发酵液中 F2、Rg3 和 CK 含量的变化, 见图 3。

结果表明, 在发酵前期, 随着发酵时间的延长, 3 种稀有皂苷的含量均逐渐增加, 发酵 16 d 后, 稀有皂苷的升降趋势已经不是很明显, 趋于稳定, 因此确定最优发酵时间为 16 d。

### 2.4.2 发酵初始 pH 的优化

发酵前, 调发酵液初始 pH 至不同的值, 考察初始 pH 对发酵生成稀有皂苷的影响。比较发酵完成后发酵液中 F2, Rg3 和 CK 的含量, 由图 4 可知, 当发酵液初始 pH 为 6 时, 植物乳杆菌发酵完成后各稀有皂苷含量达到最大。因此确定植物乳杆菌发酵人参的最优初始 pH 为 6。

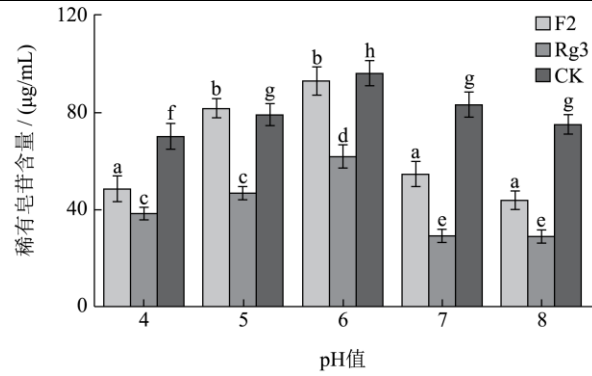


图 4 发酵初始 pH 对稀有皂苷含量的影响

Fig.4 Fermentation PH on the influence of rare ginsenoside contents

注: 字母不同表示差异显著  $p < 0.05$ 。

### 2.4.3 接种量的优化

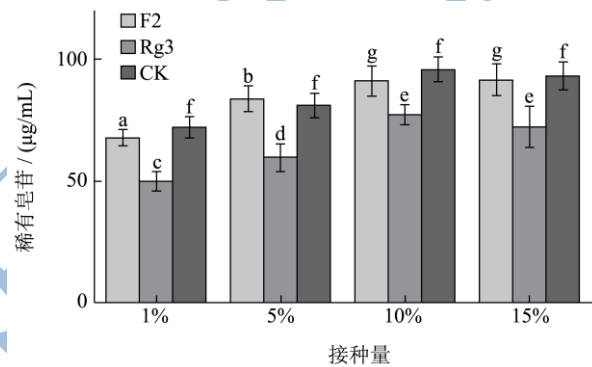


图 5 接种量对稀有皂苷含量的影响

Fig.5 Inoculation quantity on the influence of rare ginsenoside contents

注: 字母不同表示差异显著  $p < 0.05$ 。由图 5 可知, 随着接种量的增加, 稀有皂苷 F2 和 Rg3 含量增加, CK 含量无明显差异, 当接种量达到 10% 时, 接种量增加对稀有皂苷含量无明显影响。故选择 10% 为最佳接种量。

### 2.4.4 底物浓度的优化

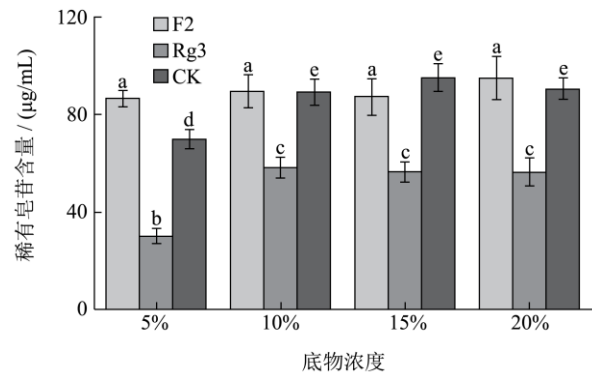


图 6 底物浓度对稀有皂苷含量的影响

Fig.6 Substrate concentration on the influence of rare ginsenoside contents

注: 字母不同表示差异显著  $p < 0.05$ 。

通过比较最终发酵液中稀有皂苷的含量来确定最适底物浓度,由图6可知,综合考虑3种稀有皂苷的含量,F2含量无明显差异,Rg3和CK含量在底物浓度为10%时相对较高,随着底物浓度的增加,稀有皂苷的含量基本不变,故选择10%作为最佳发酵底物浓度。

## 2.5 最佳发酵工艺验证实验

根据工艺优化实验结果,可确定植物乳杆菌发酵人参提取物生成稀有皂苷的工艺条件为:发酵时间16 d、初始pH 6、初始底物浓度10%、接种量10%。依据此发酵条件对人参进行发酵,人参提取物经植物乳杆菌发酵后,其发酵产物中3种稀有人参皂苷的含量分别可达到106.52  $\mu\text{g/mL}$  (F2)、74.62  $\mu\text{g/mL}$  (Rg3)和100.56  $\mu\text{g/mL}$  (CK)。根据文献报道,植物乳杆菌、副干酪乳杆菌、发酵乳杆菌对人参皂苷皆有转化作用,但不同亚种转化的种类与含量皆不相同<sup>[14-16]</sup>。大部分文献报道都是对单一普通皂苷如Rb1等的转化效率进行研究<sup>[7]</sup>。付建国等<sup>[17]</sup>研究了人参固态微生物发酵转化人参皂苷,其研究表明发酵后烘干人参中CK含量有0.2%;陈贺等<sup>[18]</sup>研究人参固体发酵,最终CK含量为0.11 mg/g。这两位研究者对人参进行固态发酵,考察发酵后的人参中CK的含量。杨艳文等<sup>[19]</sup>报道了人参饮料生脉饮和人参健脾丸中F2、Rg3、CK,的含量,其中生脉饮中F2、Rg3、CK,的含量分别为0.056%、0、0;人参健脾丸中F2、Rg3、CK,含量分别为0、0.18%、0.26%。对比现有人参产品中的稀有皂苷含量,人参提取物经植物乳杆菌发酵后,发酵液中F2(0.106 mg/g)虽然没有人参饮料中的含量高,但发酵液中含

有稀有皂苷Rg3和CK,含量可达到0.074 mg/g和0.100 5 mg/g。发酵液还能够进行进一步浓缩,使得F2含量能够进一步提高而达到现有人参饮料的水平。人参健脾丸中Rg3和CK含量较发酵液中两种稀有皂苷含量高,一方面人参健脾丸为固态产品;另一方面本研究发酵液含有人参健脾丸不含有的稀有皂苷F2,因此本研究的人参发酵液用于人参产品的开发具有一定的优势。

## 2.6 植物乳杆菌发酵过程中人参皂苷生物转化途径分析

本研究中HPLC方法检测了人参提取物发酵前后9种人参皂苷含量的变化,结果见表4。由表4可以得出,发酵后Rg1、Re、Rb1和Rb2含量分别降低18.27%、47.3%、23.21%、和18.2%,Rd含量则基本保持不变。Rh1、F2、Rg3和CK分别增加58.12%、188.13%、203.21%和395.86%。常见皂苷向稀有皂苷的转化是通过糖苷键的断裂进而去糖基化发生的,从结构上分析,涉及本实验中检测到的6种常见人参皂苷的可能转化途径有以下5种:Rb1→CK; Re→CK; Rb1→Rh1; Re→Rh1; Rb1→Rd→F2→Rg3→CK。这几种转化路径与发酵过程中这几种皂苷含量的变化是一致的。Re和Rb1可通过去糖基化转化为Rh1和F2、Rg3和CK,因此前者含量降低,后者含量升高,而Rd是Rb1向稀有皂苷转化的中间产物,因此其含量基本保持不变。通过转化途径的分析,再次证实发酵过程中常见皂苷向稀有皂苷的转化,因此表明微生物发酵是人参皂苷转化的一种重要途径。

表4 发酵后各皂苷含量 ( $\mu\text{g/mL}$ )

Table 4 Contents of each ginsenoside after fermentation with *Lactobacillus* ( $\mu\text{g/mL}$ )

皂苷	发酵前/ $(\mu\text{g/mL})$	发酵后/ $(\mu\text{g/mL})$	含量变化百分比/%
Rg1	508.42 $\pm$ 22.14	439.54 $\pm$ 19.64	18.27↓
Re	910.56 $\pm$ 31.56	430.72 $\pm$ 26.51	47.3↓
Rb1	687.77 $\pm$ 44.19	528.11 $\pm$ 39.06	23.21↓
Rh1	1376.35 $\pm$ 61.33	2176.27 $\pm$ 68.62	58.12↑
Rb2	828.64 $\pm$ 19.65	679.34 $\pm$ 41.08	18.02↓
Rd	992.28 $\pm$ 59.04	946.92 $\pm$ 44.66	-
F2	36.97 $\pm$ 3.55	106.52 $\pm$ 5.88	188.13↑
Rg3	24.61 $\pm$ 3.13	74.62 $\pm$ 5.01	203.21↑
CK	20.3 $\pm$ 2.55	100.56 $\pm$ 4.27	395.86↑

注:“↓”表示降低;“↑”表示升高;“-”表示无明显差异。

## 3 结论

本研究用乳酸菌对人参提取物进行发酵,得到的

发酵液中含有稀有皂苷F2、Rg3和CK,通过菌种筛选和工艺优化,从植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、副干酪乳杆菌和发酵乳杆菌中确定植物乳杆菌

为最适发酵菌种,确定最适发酵条件为发酵时间 16 d、初始 pH 6、初始底物浓度 10%、接种量 10%。用该发酵条件进行人参提取物的转化,得到稀有皂苷含量为 106.52  $\mu\text{g/mL}$ (F2)、74.62  $\mu\text{g/mL}$ (Rg3)和 100.56  $\mu\text{g/mL}$ (CK)。植物乳杆菌为人体益生菌,人参是名贵中药,植物乳杆菌发酵后的人参提取物同时兼具发酵菌株与发酵底物的生理活性与功效,用于人参产品的开发具有一定的优势,为人参品的深加工奠定基础。

## 参考文献

- [1] 郭从亮,崔秀明,杨晓艳,等.人参皂苷生物转化研究进展[J].中国中药杂志,2014,39(20): 3899-3904  
GUO Cong-liang, CUI Xiu-ming, YANG Xiao-yan, et al. Advances in studies on biotransformation of ginsenosides [J]. China Journal of Chinese Materia medica, 2014, 39(20): 3899-3904
- [2] 陈旻,王义,孙亮,等.植物乳杆菌发酵转化人参皂苷的研究[J].中国中药杂志,2014,39(8):1435-1440  
CHEN Yang, WANG Yi, SUN Liang, et al. Fermentation transformed ginsenoside by *Lactobacillus plantarum* [J]. China Journal of Chinese Materia medica, 2014, 39(8): 1435-1440
- [3] Park J, Shin J A, Jung J, et al. Anti-inflammatory mechanism of compound k in activated microglia and its neuroprotective effect on experimental stroke in mice [J]. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2012, 341(1): 59-67
- [4] Law C K, Kwok H, Poon P, et al. Ginsenoside compound K induces apoptosis in nasopharyngeal carcinoma cells via activation of apoptosis-inducing factor [J]. Chinese Medicine, 2014, 9(11)
- [5] Qi L, Wang C, Yuan C. American ginseng: Potential structure-function relationship in cancer chemoprevention [J]. Biochemical Pharmacology, 2010, 80(7): 947-954
- [6] 崔磊,金护定,尹成日.人参总皂苷的发酵及其产物的抗癌活性研究[J].延边大学学报(自然科学版),2014,4:314-319  
CUI Lei, JIN Hu-ding, YIN Cheng-ri. Fermentation of ginseng total saponins and anticancer activity of fermentation products [J]. Journal of Yanbian University (Natural Science), 2014, 4: 314-319
- [7] 邵淇,陈贺,尹成日.乳酸菌对人参皂苷 Rb1 的生物转化研究[J].延边大学学报(自然科学版),2016,2:177-180  
SHAO Qi, CHEN He, YIN Cheng-ri. Biotransformation of Ginsenoside Rb1 by *Lactic acid bacteria* [J]. Journal of Yanbian University (Natural Science), 2016, 2: 177-180
- [8] Gardner N J, Savard T, Obermeier P, et al. Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures [J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 64(3): 261-275
- [9] Kiessling G, Schneider J, Jahreis G. Long-term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol [J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2002, 56(9): 843-849
- [10] 万振堂,杨丽杰.产胞外  $\beta$ -葡萄糖苷酶乳酸菌的筛选及其酶学性质的初步研究[J].食品与发酵工业,2009,4:28-32  
WAN Zhen-tang, YANG Li-jie. Screening *Lactic Acid Bacteria* to produce extracellular [J]. Food and Fermentation Industries, 2009, 4: 28-32
- [11] Park C, Yoo M, Noh K, et al. Biotransformation of ginsenosides by hydrolyzing the sugar moieties of ginsenosides using microbial glycosidases [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 87(1): 9-19
- [12] 南博,游颖,王雨珊,等.微生物法转化人参皂苷的研究进展[J].食品研究与开发,2017,14:196-199  
NAN Bo, YOU Ying, WANG Yu-shan, et al. Research progress on microbial transformation of ginsenosides [J]. Food Research and Development, 2017, 14: 196-199
- [13] 赵方允,陈自宏,虞泓,等.微生物转化人参皂苷研究进展[J].中国医药生物技术,2010,5(3): 216-219  
ZHAO Fang-yun, CHEN Zi-hong, YU Hong, et al. Progress in the research of microbial conversion ginsenoside [J]. Chin Med Biotechnol, 2010, 5(3): 216-219
- [14] 方磊,陈红,余晓斌.高转化人参皂苷菌株筛选鉴定及发酵培养基优化[J].食品与发酵工业,2017,43(4):147-151  
FANG Lei, CHEN Hong, YU Xiao-bin. Isolation of high-conversion ginsenoside strain and optimization of fermentation medium [J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(4): 147-151
- [15] 王文宝.人参的活性成分及其发酵产物的定量研究[D].延吉:延边大学,2006  
WANG Wen-bao. Quantitative study on active components and fermentation outputs of panax ginseng C.A.Meyer [D]. Yanji: Yanbian University, 2006
- [16] 张留记,周志敏,屠万倩.人参的提取工艺和人参皂苷的转化研究[J].中医临床研究,2016,8(34):5-10  
ZHANG Liu-ji, ZHOU Zhi-min, TU Wan-qian. A study on extraction process of ginseng and transformation of ginsenosides [J]. Clinical Journal of Chinese Medicine, 2016, 8(34): 5-10

- [17] 付建国.人参皂苷微生物转化的研究[D].长春:吉林农业大学,2004  
FU Jian-guo. Study on the microbiological transformation of ginsenoside [D]. Changchun: Jilin Agriculture University, 2004
- [18] 陈贺,宋晓琳,崔勇虎,等.微生物固体发酵提高人参药材中稀有人参皂苷的研究[J].食品科技,2015,12:31-34  
CHEN He, SONG Xiao-lin, CUI Yong-hu, et al. Increasing ginsenoside contents in panax ginseng by solid-state fermentation [J]. Food Science and Technology, 2015, 12: 31-34
- [19] 杨艳文,孟凡双,郜玉钢,等.高效液相色谱法同时测定人参制剂中 20 种人参皂苷方法的建立[J].食品科学,2016,37(22):131-135  
YANG Yan-wen, MENG Fan-shuang, GAO Yu-gang, et al. Simultaneous determination of twenty ginsenosides in ginseng preparations by HPLC [J]. Food Science, 2016, 37(22): 131-135

现代食品科技