

# 陈皮表面微生物及其转化黄酮类物质的研究进展

傅曼琴<sup>1</sup>, 陈玉婷<sup>1,2</sup>, 吴继军<sup>1</sup>, 余元善<sup>1</sup>, 温靖<sup>1</sup>, 徐玉娟<sup>1\*</sup>

(1. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610) (2. 广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088)

**摘要:** 陈皮是传统中药材, 药食两用, 具有“理气健脾, 燥湿化痰”等功效, 富含黄酮类、挥发油类、生物碱类、柠檬苦素类、微量元素等。其活性成分以黄酮类化合物为主, 具有多种药理活性, 包括抗炎、抗氧化、抗血栓、抗菌、抗病毒、降血糖、降血脂等, 被广泛应用到食品和保健品等诸多领域。但是由于黄酮类化合物溶解性差、生物利用率低, 限制其应用, 随着生物技术的不断发展, 微生物转化黄酮以及其他活性物质已成为国内外研究热点。已有报道对陈皮的活性成分的结构特征、生物活性, 以及陈皮中微生物及其转化黄酮类化合物进行了深入系统的研究。该研究综述了陈皮表面微生物及其转化黄酮类物质的研究进展, 为微生物转化陈皮活性黄酮的开发及应用提供参考。

**关键词:** 陈皮、黄酮、微生物转化

文章编号: 1673-9078(2022)04-282-291

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.4.0526

## Research Progress on the Surface Microorganisms of Citri Reticulatae Pericarpium and Derived Microbial Transformation of Flavonoids

FU Manqin<sup>1</sup>, CHEN Yuting<sup>1,2</sup>, WU Jijun<sup>1</sup>, YU Yuanshan<sup>1</sup>, WEN Jing<sup>1</sup>, XU Yujuan<sup>1\*</sup>

(1. Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture/Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China) (2. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

**Abstract:** Citri reticulatae pericarpium is a traditional Chinese herbal medicine, which can be used as both medicine and food. It has functions related to the regulation of Qi and spleen strengthening, drying dampness and phlegm reduction. It is rich in flavonoids, volatile oils, alkaloids, limonoids and other trace elements. The flavonoids are the main active components, which exhibit a variety of pharmacological activities, including anti-inflammatory, anti-oxidant, anti-thrombotic, anti-bacterial, anti-viral, hypoglycemic and hypolipidemic effects. It has been widely used in many fields, such as food and healthcare products. However, the applications of flavonoids have been restricted due to their poor solubility and low bioavailability. With the continuous development of biotechnology, microbial transformation of flavonoids and other active substances has become a research hotspot domestically and abroad. It has been reported that the structural characteristics, biological activities of the active components of citri reticulatae pericarpium, as well as its microorganisms and their transformed flavonoids have been deeply and systematically studied. This article reviews the research progress of the microorganisms on the surface of citri reticulatae pericarpium, and their roles in the biotransformation of flavonoids, which provides a reference for the development and application of microbial transformation of active flavonoids from citri reticulatae pericarpium.

**Key words:** citri reticulatae pericarpium, flavonoids, microbial transformation

引文格式:

傅曼琴,陈玉婷,吴继军,等.陈皮表面微生物及其转化黄酮类物质的研究进展[J].现代食品科技,2022,38(4):282-291

FU Manqin, CHEN Yuting, WU Jijun, et al. Research progress on the surface microorganisms of citri reticulatae pericarpium and derived microbial transformation of flavonoids [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(4): 282-291

收稿日期: 2021-05-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31901713); 国家重点研发计划项目 (2021YFD1600100); 广东省自然科学基金项目 (2021A1515011049); 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设项目 (2020KJ110); 广东省扬帆计划引进创新创业团队项目 (2017YT05H045); 广东省农业科学院人才项目 (R2020PY-JX011)

作者简介: 傅曼琴 (1985-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 农产品加工, E-mail: fumanqin84@126.com

通讯作者: 徐玉娟 (1974-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 农产品加工, E-mail: xyj6510@126.com

陈皮 (*Citri Reticulatae Pericarpium*, CRP), 是植物橘及其栽培品种的果皮经干燥制成<sup>[1]</sup>, 陈皮中含有黄酮类、柠檬苦素类、挥发油类、生物碱类等物质, 主要以黄酮类化合物为主<sup>[1]</sup>。大量研究表明, 陈皮在陈化期间黄酮类化合物逐渐积累, 大幅度地提高了陈皮的药用功效。黄酮类化合物有抗炎<sup>[2]</sup>、抗氧化<sup>[3]</sup>、抗肿瘤<sup>[4]</sup>、抗菌<sup>[5]</sup>、抗病毒<sup>[6]</sup>、降血脂<sup>[7]</sup>、抗过敏<sup>[8]</sup>、抗肥胖<sup>[9,10]</sup>、促消化<sup>[11]</sup>、祛痰平喘、解痉<sup>[12]</sup>、改善学习记忆能力<sup>[13]</sup>等生物活性。但传统的自然陈化, 时间漫长, 效率低且容易受到污染导致品质不稳定。另外, 陈皮中黄酮类化合物难溶于水、生物利用率低, 极大程度地限制了黄酮类化合物的临床应用, 微生物转化黄酮类化合物的反应周期短、条件温和, 可产生一些新颖活性物质用于新药的开发以及临床的应用。

### 1 陈皮微生物

陈皮是传统特色中药材, 现有研究报道多集中在陈皮化学成分尤其是黄酮类化合物及其生物活性, 另有报道在陈皮贮藏放置过程中微生物对其中的活性物质含量有显著影响。阳洁等<sup>[14]</sup>从陈皮中分离鉴定出的

细菌均属于芽孢杆菌属 *Bacillus* 或者类芽孢杆菌属 *Paenibacillus*, 未分离出放线菌和真菌。王福等<sup>[15]</sup>从不同批次的陈皮样品中分离得到青霉、桔青霉、黑曲霉和黄曲霉等 25 株真菌。刘素娟等<sup>[16]</sup>也从陈皮样品中共分离鉴定出子囊菌类曲霉属和青霉属真菌等 10 株真菌, 黑曲霉和黄曲霉为优势菌群。陈聪聪<sup>[17]</sup>对广陈皮进行了研究, 结果表明, 广陈皮样品中菌属有假单胞菌属 *Pseudomonas*、乳球菌属 *Lactococcus*、肠球菌属 *Enterococcus* 和节细菌属 *Arthrobacter*。刘丽娜<sup>[18]</sup>从不同年份陈皮中分离微生物, 其中细菌属有假单胞菌属 *Pseudomonas*、鞘脂单胞菌属 *Sphingomonas*、甲基杆菌属 *Methylobacterium*、乳杆菌属 *Lactobacillus* 等, 检测到的真菌属有耐干霉属 *Xeromyces*、酵母菌属 *Symmetrospora*、蜡菊属 *Xerochrysum*、枝孢霉属 *Cladosporium*、被孢霉属 *Mortierella*、菇属 *Pleurotus*、毛壳菌属 *Chaetomium*、赤霉属 *Gibberella*。张鑫等<sup>[19]</sup>分析了不同产地陈皮表面真菌群落多样性, 主要发现青霉属 *Penicillium*、曲霉属 *Aspergillus*、毛霉属 *Mucor*、枝孢霉属 *Cladosporium*、镰刀菌属 *Fusarium* 等。

表 1 陈皮微生物种属来源

Table 1 Origin of microbial species of citri reticulatae pericarpium

分类	属	种	参考文献
Bacteri 细菌	<i>Pseudomonas</i> 假单胞菌属	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	[18]
		<i>Pseudomonas frugi</i>	
		<i>Pseudomonas veronii</i>	
	<i>Paenibacillus</i> 类芽孢杆菌属	<i>Paenibacillus barengoltizii</i>	[14]
		<i>Paenibacillus thailandensis</i>	
		<i>Bacillus thuringiensis</i>	
	<i>Bacillus</i> 芽孢杆菌属	<i>Bacillus firmus</i>	[18]
		<i>Bacillus cereus</i>	
		<i>Bacillus fiexus</i>	
	<i>Carnobacterium</i> 肉食杆菌属	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	[18]
<i>Cladosporium</i> 枝孢霉属	<i>Cladosporium iperieniae</i>	[18]	
Fungi 真菌	<i>Penicillium</i> 青霉属	<i>Penicillium commune</i>	[19]
		<i>Penicillium italicum</i>	
		<i>Penicillium digitatum</i>	
		<i>Penicillium polonicum</i>	
		<i>Penicillium expansum</i>	
	<i>Aspergillus</i> 曲霉属	<i>Aspergillus fumigatus</i>	[19]
		<i>Aspergillus flavus</i>	
		<i>Aspergillus niger</i>	
	<i>Mucor</i> 毛霉属	<i>Aspergillus tubingensis</i>	[19]
		<i>Mucor circinelloides</i>	
<i>Fusarium</i> 镰刀菌属	<i>Fusarium</i>	[19]	

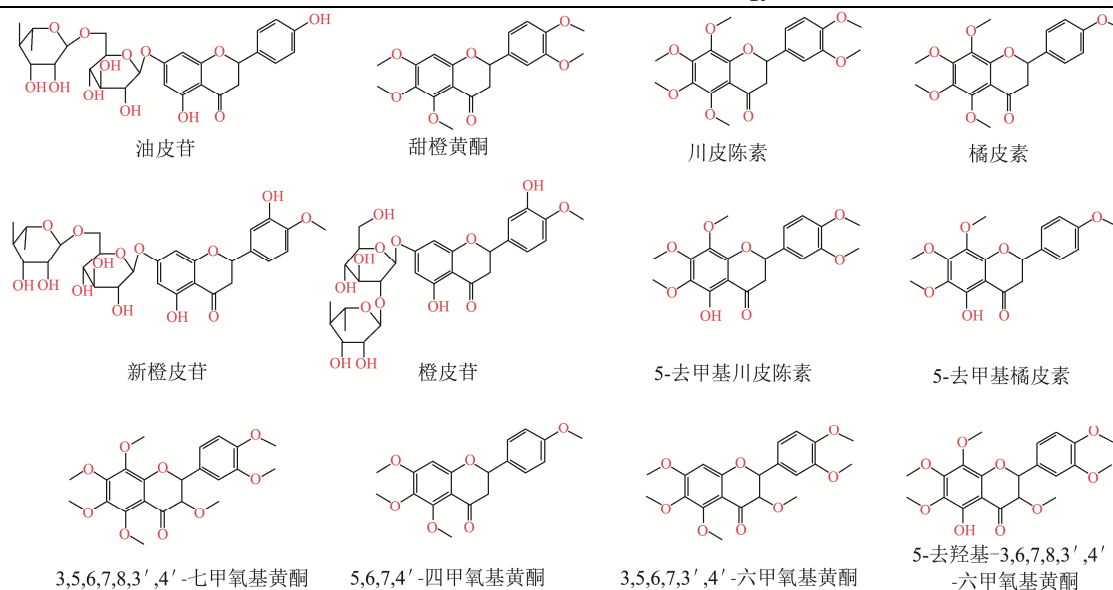


图1 陈皮中12种主要黄酮类化合物的化学结构式

Fig.1 Chemical structure of twelve main flavonoids in citri reticulatae pericarpium

可见, 陈皮表面含有大量微生物, 且可能参与陈皮活性物质的转化, 对陈皮陈化品质的形成产生影响。陈化时间不同, 其微生物种类存在差异, 年份越久的陈皮中的微生物多样性也越丰富。陈皮中的细菌主要是芽孢杆菌属, 真菌主要是曲霉属和青霉属, 其中黑曲霉因其安全性和强大的酶系成为微生物转化的主要菌种之一, 黑曲霉在食药材陈化过程中参与了部分次生代谢产物的形成。陈皮微生物转化其活性成分的机制亟待进一步研究。

## 2 陈皮黄酮类活性物质

黄酮 (flavonoid, 又称类黄酮) 是以 2-苯基色原酮-4-酮骨架的黄酮类化合物<sup>[8]</sup>, 根据化学结构的不同可将黄酮类化合物分为黄酮类 (flavones), 黄酮醇类 (flavonol), 二氢黄酮类 (flavonones), 二氢黄酮醇类 (flavanonol), 花色素类 (anthocyanidins), 双苯吡酮类 (xanthenes), 查尔酮 (chalcones) 和双黄酮类 (biflavonoids) 等十几种<sup>[8]</sup>。陈皮中的黄酮类化合物主要有两种, 一种是黄酮苷类, 如橙皮苷 (hesperidin)、柚皮苷 (naringin) 等, 另一种是多甲氧基黄酮类, 主要有川陈皮素 (nobiletin)、橘皮素 (tangeretin)<sup>[20]</sup>。

### 2.1 黄酮苷类

陈皮中含有的黄酮苷类化合物主要是橙皮苷、新橙皮苷、柚皮苷和芸香柚皮苷 (图 1)<sup>[21,22]</sup>, 橙皮苷由一个黄酮苷元和两个单糖组成, 是陈皮中含量最高的黄酮苷<sup>[23]</sup>, 2015 版药典中定义其为陈皮的指标性成分, 其含量不得低于 3.50%<sup>[24]</sup>。

随着贮藏时间的延长, 陈皮中橙皮苷的含量呈升

高趋势<sup>[2,23,24]</sup>, 刘丽娜等<sup>[25]</sup>研究发现不同贮藏年份陈皮橙皮苷含量在 15 年间增加了 2.61 倍。杨放晴等研究发现广陈皮中黄酮类化合物的含量随陈化时间增加总体呈增加趋势, 其中橙皮苷含量显著增加<sup>[26]</sup>。品种和产地的不一, 也可导致橙皮苷的含量变化不一。张鑫等<sup>[27]</sup>研究发现陈皮中橙皮苷的含量先增加后减少, Fu 等<sup>[28]</sup>发现陈皮在 0~3 陈化期橙皮苷的含量有所下降。魏莹等<sup>[29]</sup>发现随着陈化期的延长陈皮中橙皮苷含量呈下降趋势。陈皮中橙皮苷含量变化可能主要与陈皮中的微生物有关, 刘丽娜<sup>[18]</sup>从不同年份陈皮微生物中筛选出 8 株具有将橙皮苷转化为橙皮素的真菌, 分别为巴西曲霉 *Aspergillus brasiliensis*、黑曲霉 *Aspergillus niger*、塔宾曲霉 *Aspergillus tubingensis*、棘孢曲霉 *Aspergillus aculeatus*、筒青霉 *Penicillium simplicissimum*、互生交链孢霉 *Alternaria alternata*、出芽短梗霉 *Aureobasidium pullulans* 和葡萄牙棒孢酵母 *Clavispora lusitania*。由此说明陈皮陈化过程中橙皮苷含量的变化可能与其微生物有关。此外, 在不同的陈化阶段, 陈皮微生物多样性及其代谢物成分变化亦有显著差异<sup>[17,18]</sup>, 表明微生物转化对于陈皮黄酮类活性物质的积累起到重要作用, 可能是陈皮“越陈越佳”的关键因素。

### 2.2 多甲氧基黄酮类

多甲氧基黄酮是一类高度甲基化的黄酮类化合物, 在柑桔属植物中广泛存在, 尤其是柑桔果皮中, 是柑桔属植物独有的一类天然黄酮化合物<sup>[30]</sup>。迄今为止, 陈皮中鉴定出的多甲氧基黄酮类化合物有五十多种<sup>[30]</sup>, 其中陈皮中含量最高的是川陈皮素<sup>[31]</sup>, 其次是

橘皮素、5-羟基-6,7,8,3',4'-五甲氧基黄酮和3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮<sup>[32]</sup>。张珂等从陈皮中初步鉴定了61个化学成分,主要以黄酮类化合物为主,而从陈皮中首次发现10个含有3-羟基-3-甲基戊二酸取代基的多甲氧基黄酮氧苷成分<sup>[33]</sup>。童超英等首次在陈皮中分离出新圣草次苷、柠檬黄素-3-O-(3-羟基-3-甲基戊二酸)葡萄糖苷及其异构体<sup>[34]</sup>。对于不同陈化年限陈皮中多甲氧基黄酮类化合物也有研究,杨放晴<sup>[26]</sup>等用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法技术分析不同陈化时间广陈皮中的黄酮类化合物,分析结果表明6-去甲氧基橘皮素、川陈皮素、橘皮素的相对含量增加明显。盛钊君等<sup>[35]</sup>通过高效液相色谱与分光光度法两种方法,测定新会柑胎仔、1年青皮、5年陈皮和10年陈皮中多甲氧基黄酮类化合物的含量,两种方法检测结果均表明柑胎仔中多甲氧基黄酮含量远远高于青皮或陈皮。Fu等<sup>[28]</sup>研究陈化时间与黄酮含量是否具有相关性时发现川陈皮素、橘皮素、5-羟基-6,7,8,3',4'-五甲氧基黄酮和3,5,6,7,8,3',4'-七甲

氧基黄酮呈增加趋势,与刘丽娜等<sup>[25]</sup>研究1、5和15年新会陈皮时的结论相一致。相反,杨宜婷等<sup>[36]</sup>研究发现随着贮藏时间的延长,陈皮中多甲氧基黄酮的含量降低,魏莹等<sup>[29]</sup>发现川陈皮素和橘皮素含量随陈化年限的增加(1~19年)而增加,之后出现反复,研究者陈彤<sup>[37]</sup>也进行了验证并且发现七甲氧基黄酮的含量随贮藏时间的延长呈波动性变化,规律性不明显。张怀等<sup>[38]</sup>研究发现陈化年份和川陈皮素没有相关性,陈化年份和橘皮素呈负相关,陈化时间对陈皮橘皮素和川陈皮素的影响也与陈皮的具体产地、品种和采收期有关。在陈皮长期陈化过程中,植物细胞逐渐失去活性,植物自身的酶影响多甲氧基黄酮类成分变化的可能性不大,那么是否与其所含微生物有关?在前文推测陈皮中真菌将橙皮苷脱糖基化生成橙皮素的基础上,进一步假设黄酮苷类脱糖基化生成羟基黄酮,然后通过氧甲基化生成多甲氧基黄酮(图2),具体机制有待进一步验证。

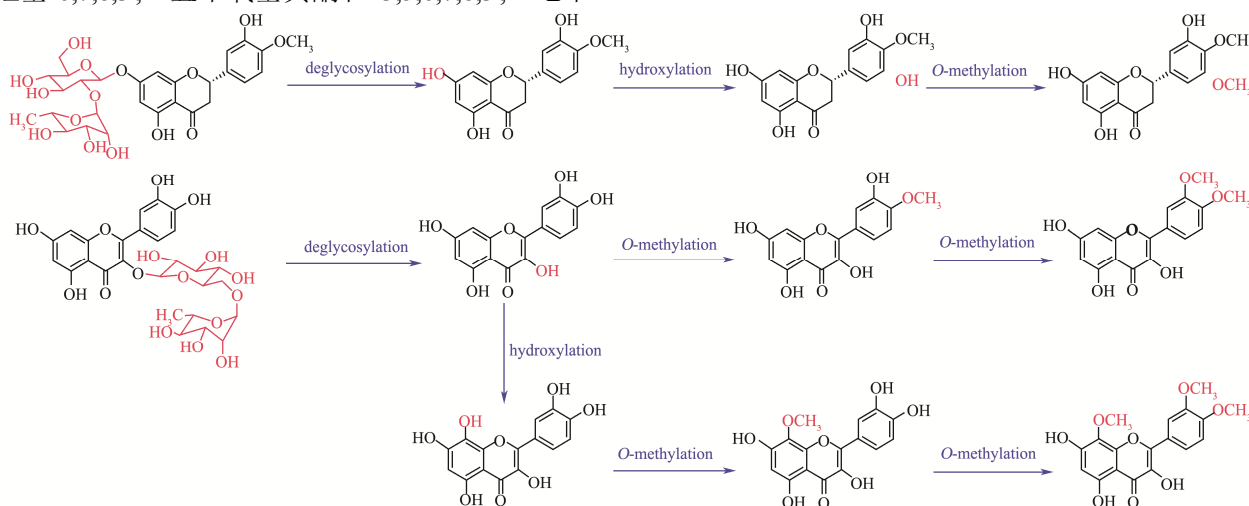


图2 陈皮多甲氧基黄酮形成的可能途径

Fig.2 Possible pathway of polymethoxyl flavonoid formation in citri reticulatae pericarpium

### 3 微生物转化陈皮黄酮类化合物

微生物对陈皮黄酮类化合物的转化主要表现在陈化过程中,陈皮微生物代谢所产生的酶使其黄酮类化合物的组成及含量产生显著变化。王福等<sup>[15]</sup>通过将陈皮微生物接入无菌陈皮中,结果发现陈皮霉变后,橙皮苷的含量呈增加趋势。刘丽娜等<sup>[18]</sup>发现8株真菌对橙皮苷有转化作用,但对其转化机制并未研究。Wang等<sup>[39]</sup>研究发现将黑曲霉接种陈皮后,川陈皮素的含量呈增加趋势,橙皮苷的含量先增加后降低。杨丹等<sup>[40]</sup>研究黑曲霉发酵对陈皮黄酮类化合物的影响,结果表明与未发酵陈皮相比,发酵陈皮黄酮含量较高,随着发酵时间的延长,橙皮苷含量和川陈皮素含量逐渐升

高,总黄酮和橘皮素的含量先增加后降低。张鑫等<sup>[41]</sup>研究发现,将黑曲霉接种陈皮样品后,黄酮成分含量均高于接种前,表明黑曲霉的转化对陈皮活性化合物的积累发挥了重要作用。微生物转化黄酮类物质发生的主要反应有甲氧基化、糖基化、羟基化等,真菌脱糖基化、羟基化、在羟基上进行甲基化等。

#### 3.1 糖基化反应

糖基化反应是活性化合物结构修饰或合成的重要反应,黄酮类化合物化合物的理化性质可极大程度的被改变。Dymarska等<sup>[42]</sup>利用昆虫病原真菌 *Isaria fumosorosea* KCH J2 作为生物催化剂,发现糖基化主要发生在6-甲基黄酮的8位和4'位上(图3),同时糖

基的引入提高了 6-甲基黄酮的水溶性、稳定性及其生物利用率。Dymarska 等<sup>[43]</sup>利用 *I. fumosorosea* (J1.4 和 J1.6) 和 KCH J2 对槲皮素、黄芩素、3-羟基黄酮和 3-甲氧基黄酮 (图 3) 四种黄酮类化合物进行糖基化反应并获得了相应的吡喃葡萄糖苷, 糖基化后的产物水溶性都显著提高。Chiang 等<sup>[44]</sup>通过 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 的糖基转移酶 BsGT110 将 8-羟基黄豆苷元转化成了 2 种新的异黄酮苷类化合物: 8-羟基黄豆苷元-7-O- $\beta$ -葡萄糖苷和 8-羟基黄豆苷元-8-O- $\beta$ -葡萄糖苷, 新的异黄酮糖苷的水溶性分别是 8-羟基黄豆苷元的 9 倍和 4.9 倍, 且其稳定性较 8-羟基黄豆苷元显著提高, 这两种新的异黄酮苷类化合物在医药和化妆品行业具有潜在的应用前景。

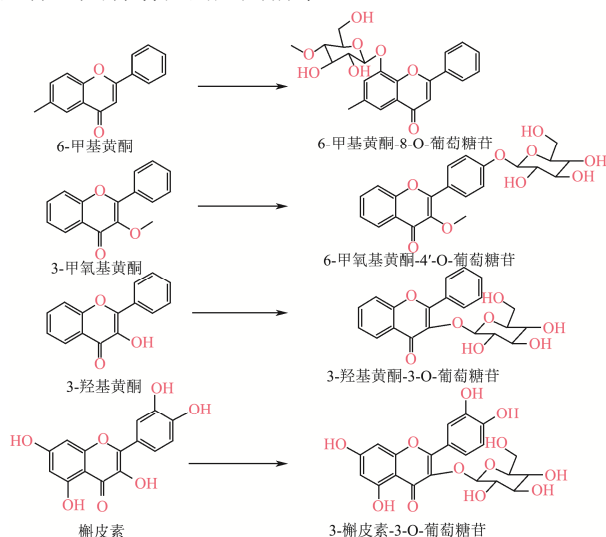


图 3 6-甲基黄酮、3-甲氧基黄酮、3-羟基黄酮和槲皮素在烟草 KCH J2 培养中的微生物转化

Fig.3 Microbial transformation 6-methylflavone, 3-methoxyflavone, 3-hydroxyflavone and 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone (quercetin) in *Isaria fumosorosea* KCH J2 culture

### 3.2 脱糖基化反应

微生物脱糖基化黄酮糖苷以提高苷元的含量是非常普遍的, Da silva 等<sup>[44]</sup>用橙皮苷酶和柚皮苷酶分别

处理橙皮苷和柚皮苷发生脱糖基化反应, 脱掉鼠李糖转变成成为橙皮素-7-O-葡萄糖苷和柚皮素-7-O-葡萄糖苷, 发现脱糖基化后的产物比橙皮苷和柚皮苷的抗氧化活性强。郭瑞等<sup>[45]</sup>研究发现有 8 种益生菌可使 2 种主要异黄酮苷类成分转化为各自苷元, 其中最佳菌株为植物乳杆菌, 随着植物乳杆菌发酵黄芪时间的延长, 2 种异黄酮苷的转化率也随之增加, 最终可达 80.00% 以上。Hsiao 等<sup>[46]</sup>研究了浸泡和加热黑豆奶加工过程中花青素和异黄酮的转化, 以  $\beta$ -葡萄糖苷酶为生物催化剂, 飞燕草苷-3-O-葡萄糖苷和花青素-3-O-葡萄糖苷通过脱糖基化反应生成飞燕草苷和花青素。黄玉军等<sup>[47]</sup>从乳酸菌中筛选出产  $\beta$ -葡萄糖苷酶的菌株, 豆乳经产酶目标菌株发酵后大豆异黄酮苷元总量均有显著提高。Gaya 等<sup>[48]</sup>发现乳酸杆菌和双歧杆菌能催化大豆异黄酮、葛根素和染料木素进行脱糖基化反应, 转化为相应的黄酮苷元。You 等<sup>[49]</sup>利用黑曲霉的  $\alpha$ -L-鼠李糖酶为生物催化剂, 催化芦丁 (图 4) 进行脱糖基化反应转化为槲皮素-3-葡萄糖苷。

### 3.3 羟基化反应

羟基化反应是微生物转化中常见的结构修饰反应, 是在化合物的特定位置引入羟基, 激活不活泼的 C-H 键 (表 2)。利用 *A. niger* MB 和切美辛青霉 113 (*Penicillium chermesinum* 113) 发酵, 黄烷酮羟基化为 6-羟基黄烷酮和 4'-羟基黄烷酮, 6-羟基黄烷酮羟基化为 6,4'-二羟基黄烷酮<sup>[50]</sup>。在菌株 *A. niger* NBRC 4414 作用下 7,4'-二甲氧基异黄酮羟基化为 6-羟基-7,4'-二甲氧基异黄酮, 转化率为 36.00%<sup>[51]</sup>。柚皮素在菌株 *A. niger* CGMCC 3.4628 作用下, C-6, C-8 位羟基化分别生成 6-羟基柚皮素, 8-羟基柚皮素, 转化率分别为 38.00%和 43.00%<sup>[52]</sup>。白曲霉 *A. candidus* 生物转化异雄酮可生成 10 种羟基化衍生物, 羟基化主要发生在 C-1 $\alpha$ , C-11 $\alpha$  和 C-15 $\beta$  位<sup>[53]</sup>。利用链霉菌 MA-4680 发酵, 大豆苷元和染料木素发生羟基化反应生成 3',4',7-三羟基异黄酮, 3',4',5,7-四羟基异黄酮, 羟基化后的产物抗氧化活性显著增强<sup>[54]</sup>。

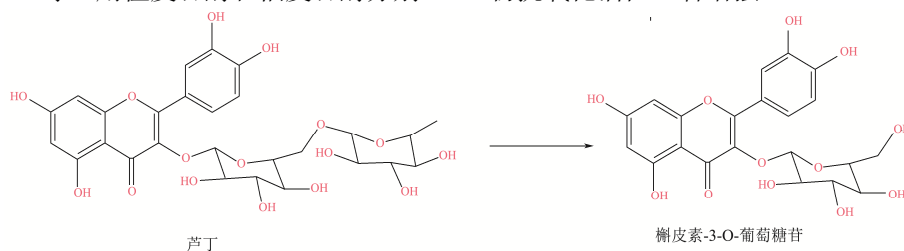


图 4 黑曲霉催化芦丁的脱糖基化反应

Fig.4 The deglycosylation of rutin by *A. niger*

表2 微生物对黄酮类化合物的羟基化作用

Table 2 Hydroxylation of flavonoids by microbial

微生物	黄酮	位置	产物	参考文献
黑曲霉 MB 和黑青霉 113	黄烷酮	6,4'	6-羟基黄酮 4'-羟基黄酮	[50]
黑曲霉 MB 和黑青霉 113	6-羟基黄酮	4'	6,4'-二羟基黄酮	[50]
黑曲霉 NBRC 4414	7,4'-二甲氧基异黄酮	6	6-羟基-7,4'-二甲氧基异黄酮	[51]
黑曲霉 CGMCC 3.4628	柚皮素	6,8	6-羟基柚皮素 8-羟基柚皮素	[52]
链霉菌 MA-4680	大豆苷元	3'	3',4',7-三羟基异黄酮	[53]
链霉菌 MA-4680	染料木素	3'	3',4',5,7-四羟基异黄酮	[53]

表3 微生物对黄酮类化合物的O-去甲基化作用

Table 3 O-demethylation of flavonoids by microbes

微生物	黄酮	位置	产物	参考文献
黑曲霉 NBRC 4414	5,6,7,3',4'-五甲氧基黄酮	4'	4'-甲基-5,6,7,3'-四甲氧基黄酮	[51]
黑曲霉	6,7,4'-三甲氧基异黄酮	4'	4'-羟基-6,7-二甲氧基异黄酮	[51]
黑曲霉	5,7,4'-三甲氧基异黄酮	3	4'-羟基-5,7-二甲氧基异黄酮	[51]
黑曲霉 ATCC 984199	5,6,7,8,4'-五甲氧基黄酮	4'	4'-羟基-5,6,7,8-四甲氧基黄酮	[60]
黑曲霉 ATCC 9142	3-羟基橘红素	4'	3,4'-羟基橘皮素	[60]
黑曲霉 ATCC 9142	橘皮素	4'	4'-羟基橘皮素	[60]

### 3.4 甲基化反应

甲基化反应是黄酮类化合物重要的修饰反应,甲基化修饰后可以增强天然活性物质的活性,从 *Streptomyces* sp. KCTC 0041BP 菌株中获得的甲基转移酶能够以区域选择性方式向 4'-OH 添加甲基<sup>[55]</sup>,通常在 4'-OH 处具有甲基化的类黄酮趋向于生物有效且化学稳定,因此该转移酶可用于生产多种生物活性分子及其衍生物。灰色链霉菌 (*S. griseus*) 对黄酮醇类(如槲皮素和漆黄素)的 O-甲基化大多发生在 C-3'和 C-4'位,对黄酮类(如木犀草素和黄芩素)的 O-甲基化大多发生在 C-6(OH)位<sup>[56]</sup>。在球孢白僵菌 ATCC 7159 的发酵作用下槲皮素甲基化为 3'-甲氧基槲皮素<sup>[57]</sup>。Kostrzewa-Suslow 等<sup>[58]</sup>筛选出曲霉和青霉将 7-羟基黄烷酮邻甲基化为 7-甲氧基黄烷酮和 3',4'-二羟基-7-甲氧基黄烷酮。Kostrzewa-Suslow 等利用 *Chaetomium* sp 菌株催化黄芩苷生成 5,7-二羟基-6-甲氧基黄酮<sup>[59]</sup>。

### 3.5 脱甲基化反应

微生物对多甲氧基黄酮类化合物的去甲基化倾向于发生在 B 环的 C-3'和 C-4'位置(表 2),5,6,7,3',4'-五甲氧基黄酮在菌株 *A. niger* NBRC4414 作用下脱甲基生成 4'-甲基-5,6,7,3'-四甲氧基黄酮<sup>[51]</sup>,两种黄酮类化合物对化学诱变剂均具有显著的抗诱变活性,且 4'-

甲基-5,6,7,3'-四甲氧基黄酮表现出比底物更高的抗诱变活性。在菌株 *A. niger* 的作用下塞尼汀、6,7,4'三甲氧基异黄酮和 5,7,4'-三甲氧基异黄酮脱甲基化分别生成 4'-羟基-5,6,7,3'-四甲氧基黄酮、4'-羟基-6,7-二甲氧基异黄酮和 4'-羟基-5,7-二甲氧基异黄酮<sup>[51]</sup>,7-甲氧基黄酮与之相似,在 C-7 位脱甲基,生成相应转化产物<sup>[51]</sup>。5,6,7,8,4'-五甲氧基黄酮在菌株 *A. niger* ATCC 984199 作用下 C-4'位脱甲基生成 4'-羟基-5,6,7,8-四甲氧基黄酮,转化率为 71%。3-羟基橘红素在菌株 *A. niger* ATCC 9142 作用下 C-4'位脱甲基生成 3,4'-二羟基-5,6,7,8-四甲氧基黄酮,转化率为 60.00%,而川陈皮素在这两种菌株的发酵作用下转化慢且代谢物含量少,证实了微生物转化具有特定选择性<sup>[60]</sup>。

### 3.6 脱氢反应

Kostrzewa-Suslow 等<sup>[61]</sup>通过曲霉属菌株对黄烷酮脱氢反应进行了一些研究。7-羟基二氢黄酮在菌株 *A. niger* KB 作用下发生羰基还原反应,在菌株 *A. niger* 13/5 作用下 C-2, C-3 位脱氢化,其中产量最高的产物分别是 7-羟基黄烷-4-醇,7-羟基黄酮。在菌株 *A. ochraceus* 456 作用下发生脱氢反应,随后羟基化形成 4'-羟基-7-甲氧基黄酮。*A. niger* 6/2 也选择性地 6-羟基黄烷酮的 C2-C3 处脱氢生成 6-羟基黄酮作为单一产物<sup>[62]</sup>。

## 4 展望

陈皮为传统中药材,对于陈皮的生物活性、活性物质以及陈皮中微生物已经进行了深入系统的研究。陈皮中活性物质主要以黄酮类化合物为主,黄酮类化合物存在溶解度差,生物利用度低、含量低、难纯化等问题,很难被开发利用。微生物转化因其具有反应温和,安全性高,产生新颖化合物等优点,从而可以提高化合物的生物利用率。陈皮为久贮药材的代表,其陈化过程中伴随着微生物的生长,已报道的有黑曲霉、朱黄青霉和桔青霉等。将真菌反接陈皮培养,发现黑曲霉对黄酮类成分的影响较大,将黑曲霉反接陈皮培养,动态监测黄酮含量的变化,以黄酮含量上升为指标筛选具有转化功能菌株,下一步研究应在于结合代谢组学和转录组学技术明确其促进黄酮形成的反应途径,以及在代谢途径中相关基因的表达和功能酶活,阐明在陈皮陈化过程中,微生物转化陈皮黄酮的代谢机制,进而为科学仓储、调控陈化过程中,提升陈皮品质提供理论依据。

## 参考文献

- [1] 宋叶,梅全喜,张斌,等.陈皮、广陈皮、新会陈皮的考证[C].2020 第 25 届广东省药师周大会,2020:8  
SONG Ye, MEI Quanxi, ZHANG Bin, et al. Research on *Citri Reticulatae Pericarpium*, mandarin *Citri Reticulatae Pericarpium* and Xinhui *Citri Reticulatae Pericarpium* [C]. The 25th Guangdong Pharmacist Week Congress in 2020, 2020: 8
- [2] 段庆,唐小丹,郑希,等.新会陈皮提取物中四种黄酮成分含量测定及其抗炎活性研究[J].现代食品,2019,11:156-162  
DUAN Qing, TANG Xiaodan, ZHENG Xi, et al. Determination of four flavonoids in extracts of Xinhui *Citri Reticulatae Pericarpium* and their anti-inflammatory activity [J]. Modern Food, 2019, 11: 156-162
- [3] Zaidun N H, Thent Z C, Latiff A A. Combating oxidative stress disorders with citrus flavonoid: naringenin [J]. Life Sciences, 2018, 208: 11-22
- [4] 钟桂云,郑晓瑞.新会陈皮黄酮类化合物的提取及其杀菌抗肿瘤活性研究[J].云南化工,2020,47(8):65-66  
ZHONG Guiyun, ZHENG Xiaorui. Extraction and antitumor activity of flavonoids from Xinhui *Citri Reticulatae Pericarpium* [J]. Yunnan Chemical Industry, 2020, 47(8): 65-66
- [5] Alghazeer R, Elmansori A, Sidati M, et al. *In vitro* antibacterial activity of flavonoid extracts of two selected Libyan algae against multi-drug resistant bacteria isolated from food products [J]. Journal of Biosciences and Medicines, 2017, 5: 26-48
- [6] 徐帆,梁宗锁,韩蕊莲.三叶青中黄酮类化合物及其药理活性研究进展[J].基因组学与应用生物学,2021,4:1-18  
XU Fan, LIANG Zongsuo, HAN Ruilian. Studies on flavonoids and their pharmacological activities in cyclophylla trifoliata [J]. Genomics and Applied Biology, 2021, 4: 1-18
- [7] 俞静静,苏洁,颜美秋,等.陈皮降脂药效与黄酮类成分的相关性研究[J].中国中药杂志,2019,44(15):3335-3342  
YU Jingjing, SU Jie, YAN Meiqiu, et al. Study on the correlation between lipid-lowering effect of *Citri Reticulatae Pericarpium* and flavonoids [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2019, 44(15): 3335-3342
- [8] 吴迪.陈皮总黄酮的提取工艺优化及其抗过敏活性研究[D].长春:吉林大学,2016  
WU Di. Extraction process optimization of total flavonoids from *Citri Reticulatae Pericarpium* and study on its anti-allergic activity [D]. Changchun: Jilin University, 2016
- [9] Tung Y C, Chang W T, Li S, et al. Citrus peel extracts attenuated obesity and modulated gut microbiota in mice with high-fat diet-induced obesity [J]. Food & Function, 2018, 9: 3363-3373
- [10] 冯孔龙.多甲氧基黄酮及陈皮降脂减肥作用研究[D].广州:华南农业大学,2018  
FENG Konglong. Study on lipid-lowering and weight loss effects of polymethoxy flavonoids and *Citri Reticulatae Pericarpium* oil [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018
- [11] 傅曼琴,肖更生,吴继军,等.广陈皮促消化功能物质基础的研究[J].中国食品学报,2018,18(1):56-64  
FU Manqin, XIAO Gengsheng, WU Jijun, et al. Study on the substantial basis of promoting digestion function of *Citri Reticulatae Pericarpium* [J]. Journal of Chinese Food Science and Technology, 2018, 18(1): 56-64
- [12] 罗璇捷,刘硕,杨宜婷.不同产地陈皮多甲氧基黄酮含量及祛痰、理气功效比较研究[J].湖北中医药大学学报,2015, 17(5):38-40  
LUO Huijie, LIU Shuo, YANG Yiting. Study on the content of poly-methoxy flavonoids in *Citri Reticulatae Pericarpium* from different producing areas and the effect of reducing phlegm and regulating qi [J]. Journal of Hubei University of Traditional Chinese Medicine, 2015, 17(5): 38-40
- [13] 毕俊英.川陈皮素改善麻醉后老龄大鼠学习记忆功能损伤的机制研究[D].济南:山东大学,2019

- BI Junying. Study on the mechanism of the improvement of learning and memory function impairment in aged rats after anesthesia with citrine [D]. Jinan: Shandong University, 2019
- [14] 阳洁,尹坤,谭习羽,等.陈皮中微生物的分离与鉴定[J].微生物学报,2015,55(6):700-706
- YANG Jie, YIN Kun, TAN Xiyu, et al. Isolation and identification of microorganisms from Citri Reticulatae Pericarpium [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2015, 55(6): 700-706
- [15] 王福,张鑫,卢俊宇,等.陈皮“陈久者良”之黄酮类成分增加原因探究[J].中国中药杂志,2015,40(24):4890-4896
- WANG Fu, ZHANG Xin, LU Junyu, et al. Study on the causes of the increase of flavonoids in Citri Reticulatae Pericarpium [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(24): 4890-4896
- [16] 刘素娟,张鑫,王智磊,等.陈皮表面优势真菌的分离鉴定及其对药效物质的影响[J].世界科学技术-中医药现代化, 2017,19(4):618-622
- LIU Sujuan, ZHANG Xin, WANG Zhilei, et al. Isolation and identification of dominant fungi on the surface of *Citri Reticulatae Pericarpium* and their effects on medicinal substances [J]. World Science and Technology - Modernization of Traditional Chinese Medicine, 2017, 19(4): 618-622
- [17] 陈聪聪.广陈皮陈化过程中微生物群落多样性解析及代谢物成分变化分析[D].广州:华南理工大学,2017
- CHEN Congcong. Analysis of microbial community diversity and metabolite composition changes in the aging process of *Rhizoctonia chinensis* [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017
- [18] 刘丽娜.基于微生物代谢对陈皮陈化活性物质转化机制的研究[D].湛江:广东海洋大学,2019
- LIU Lina. Study on the transformation mechanism of aging active substances of Citri Reticulatae Pericarpium based on microbial metabolism [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2019
- [19] 张鑫.基于真菌与陈皮药效物质相关性研究陈皮陈化机制[D].成都:成都中医药大学,2017
- ZHANG Xin. Study on the aging mechanism of Tangerine peel based on the correlation between fungi and the medicinal substances of tangerine peel [D]. Chengdu: Chengdu University of Chinese Medicine, 2017
- [20] 杨洁.陈皮化学成分的研究[D].长春:吉林大学,2013
- YANG Jie. Study on chemical constituents of Citri Reticulatae Pericarpium [D]. Changchun: Jilin University, 2013
- [21] Shi X, Niu L, Zhao L, et al. The antiallergic activity of flavonoids extracted from Citri Reticulatae Pericarpium [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2018, 42(4): e13588
- [22] Zhao L H, Zhao H Z, Zhao X, et al. Simultaneous quantification of seven bioactive flavonoids in Citri Reticulatae Pericarpium by ultra-fast liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. Phytochemical Analysis, 2016, 27(3-4): 168-173
- [23] 林林,林子夏,莫云燕,等.不同年份新会陈皮总黄酮及橙皮苷含量动态分析[J].时珍国医国药,2008,6:1432-1433
- LIN Lin, LIN Zixia, MO Yunyan, et al. Dynamic analysis of total flavonoids and hesperidin content in different years of Xinhui Citri Reticulatae Pericarpium [J]. Shizhen Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2008, 6: 1432-1433
- [24] 郑国栋,蒋林,杨雪,等.不同贮藏年限广陈皮黄酮类成分的变化规律研究[C]//第三届中国·新会陈皮产业发展论坛, 2011:7
- ZHENG Guodong, JIANG Lin, YANG Xue, et al. Study on the change rule of flavonoids in different storage years of Citri Reticulatae Pericarpium [C]// The 3rd China Xinhui Citri Reticulatae Pericarpium Industrial Development Forum, 2011: 7
- [25] 刘丽娜,徐玉娟,肖更生,等.不同年份陈皮黄酮成分分析及抗氧化活性评价[J].南方农业学报,2020,51(3):623-629
- LIU Lina, XU Yujuan, XIAO Gengsheng, et al. Analysis of flavonoids from Citri Reticulatae Pericarpium in different years and its antioxidant activity [J]. Journal of Southern Agriculture, 2020, 51(3): 623-629
- [26] 杨放晴,何丽英,杨丹,等.不同陈化时间广陈皮中黄酮类成分的 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(12):125-132
- YANG Fangqing, HE Liying, YANG Dan, et al. Analysis of flavonoids in different aging time of Citri Reticulatae Pericarpium by UPLC-Q-Orbitrap HRMS [J]. Chinese Journal of Experimental Formulae, 2021, 27(12): 125-132
- [27] 张鑫,刘素娟,王智磊,等.模拟加速实验研究陈皮主要药效物质动态变化规律[J].成都中医药大学学报,2016,39(3):8-12
- ZHANG Xin, LIU Sujuan, WANG Zhilei, et al. Study on dynamic changes of main pharmacodynamics of Citri Reticulatae Pericarpium [J]. Journal of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2016, 39(3): 8-12
- [28] Fu M, Xu Y, Chen Y, et al. Evaluation of bioactive flavonoids



- and antioxidant activity in Pericarpium Citri Reticulatae (*Citrus reticulata* 'Chachi') during storage [J]. Food Chemistry, 2017, 230: 649-656
- [29] 魏莹,李文东,杨武亮.HPLC 法测定不同贮存年限广陈皮药材中主要活性成分的含量[J].中国药房,2016,27(15):2131-2134  
WEI Ying, LI Wendong, YANG Wuliang. Determination of the content of main active components in the medicinal herbs of Citri Reticulatae Pericarpium by HPLC [J]. China Pharmacy, 2016, 27(15): 2131-2134
- [30] Shouchuang W, Chenkun Y, Hong T, et al. Characterization and metabolic diversity of flavonoids in citrus species [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 5398-5415
- [31] Zeng S L, Duan L, Chen B Z, et al. Chemicalome and metabolome profiling of poly-methoxylated flavonoids in Citri Reticulatae Pericarpium based on an integrated strategy combining background subtraction and modified mass defect filter in a microsoft excel platform [J]. Journal of Chromatography A, 2017, 1508: 106-120
- [32] 任雪,石凯欣,张震,等.广陈皮中多甲氧基黄酮提取物对脂多糖诱导小鼠急性肺损伤的保护作用[J].华中农业大学学报,2021,40(3):248-255  
REN Xue, SHI Kaixin, ZHANG Zhen, et al. Effects of poly-methoxy flavonoids extract from Citri Reticulatae Pericarpium on acute lung injure in mice induced by lipopolysaccharide [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2021, 40(3): 248-255
- [33] 张珂,许霞,李婷,等.利用 UHPLC-IT-TOF-MS 分析陈皮的化学成分组[J].中国中药杂志,2020,45(4):899-909  
ZHANG Ke, XU Xia, LI Ting, et al. Analysis of chemical composition of Citri Reticulatae Pericarpium by UHPLC-IT-TOF-MS [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(4): 899-909
- [34] 童超英,彭密军,施树云.在线提取-高效液相色谱-二极管阵列检测-四极杆飞行时间质谱法快速鉴定陈皮中黄酮类化合物[J].色谱,2018,36(3):278-284  
TONG Chaoying, PENG Mijun, SHI Shuyun. Rapid identification of flavonoids in Citri Reticulatae Pericarpium by high performance liquid chromatography-diode array detection and quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(3): 278-284
- [35] 盛钊君,葛思媛,张焜,等.新会柑胎仔与青皮、陈皮的黄酮含量分析与比较[J].食品研究与开发,2017,38(20):135-139  
SHENG Zhaojun, GE Siyuan, ZHANG Kun, et al. Analysis and comparison of flavonoids content in Xinhui citrus, green peel and Citri Reticulatae Pericarpium [J]. Food Research and Development, 2017, 38(20): 135-139
- [36] 杨宜婷,罗琥捷,叶勇树,等.不同储存年限广陈皮的多甲氧基黄酮提取研究[J].食品工业科技,2011,32(9):258-260  
YANG Yiting, LUO Hujie, YE Yongshu, et al. Study on the extraction of polymethoxy flavonoids from different storage years of Citri Reticulatae Pericarpium [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(9): 258-260
- [37] 陈彤.陈皮的黄酮和风味物质变化及其机理研究[D].广州:华南农业大学,2016  
CHEN Tong. Study on flavonoids and flavor substances of Citri Reticulatae Pericarpium and their mechanism [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016
- [38] 张怀,陈明权,农根林,等.新会陈皮质量控制研究[J].中国医药导报,2019,16(21):120-124  
ZHANG Huai, CHEN Mingquan, NONG Genlin, et al. Study on quality control of Xinhui Citri Reticulatae Pericarpium [J]. China Medical Review, 2019, 16(21): 120-124
- [39] Wang F, Chen L, Li F Q, et al. The increase of flavonoids in Pericarpium Citri Reticulatae (PCR) induced by fungi promotes the increase of antioxidant activity [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018, 11: 1-12
- [40] 杨丹,杨放晴,燕娜娜,等.黑曲霉发酵对陈皮黄酮类成分及抗氧化活性的影响[J].食品科技,2019,44(12):23-27  
YANG Dan, YANG Fangqing, YAN Nana, et al. Effects of *Aspergillus niger* fermentation on flavonoids and antioxidant activity of Citri Reticulatae Pericarpium [J]. Food Science and Technology, 2019, 44(12): 23-27
- [41] 张鑫,贺仪,刘素娟,等.陈皮“陈久者良”原因探究[J].食品科技,2017,42(1):90-95  
ZHANG Xin, HE Yi, LIU Sujuan, et al. Study on the reason of "old Citri Reticulatae Pericarpium is good" [J]. Food Science and Technology, 2017, 42(1): 90-95
- [42] Monika D, Tomasz J, Edyta K S. Glycosylation of methoxylated flavonoids in the cultures of *Isaria fumosorosea* KCH J2 [J]. Molecules, 2018, 23: 2578
- [43] Chienmin C, Tziyuan W, Szuyi Y, et al. Production of new isoflavone glucosides from glycosylation of 8-hydroxydaidzein by glycosyltransferase from *Bacillus subtilis* ATCC 6633 [J]. Catalysts, 2018, 8(9): 387-387
- [44] Da Silva C M G, Contesini F J, Sawaya A C H F, et al. Enhancement of the antioxidant activity of orange and lime

- juices by flavonoid enzymatic de-glycosylation [J]. Food Research International, 2013, 52: 308-314
- [45] 郭瑞,郭舒臣,王怀友,等.黄芪经益生菌发酵后异黄酮转化研究[J].中药材,2020,11:2675-2678
- GUO Rui, GUO Shuchen, WANG Huaiyou, et al. Studies on isoflavone transformation of *Astragalus membranaceus* fermented by probiotics [J]. Chinese Medicinal Materials, 2020, 11: 2675-2678
- [46] Hsiao Y H, Hsieh J F. The conversion and de-glycosylation of isoflavones and anthocyanins in black soymilk process [J]. Food Chemistry, 2018, 261: 8-14
- [47] 黄玉军,周帆,于俊娟,等.高转化大豆异黄酮乳酸菌的筛选及在豆乳中的发酵特性[J].食品研究与开发,2021,42(3): 157-162
- HUANG Yujun, ZHOU Fan, YU Junjuan, et al. Screening of lactic acid bacteria with high transformation of soybean isoflavones and its fermentation characteristics in soybean milk [J]. Food Research and Development, 2021, 42(3): 157-162
- [48] Gaya P, Peirotén Á, Landete J M. Transformation of plant isoflavones into bioactive isoflavones by lactic acid bacteria and *bifidobacteria* [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 39: 198-205
- [49] Ju Y H, Jin A H, Eog J G. Transformation of rutin to antiproliferative quercetin-3-glucoside by *Aspergillus niger* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58: 10886-10892
- [50] Kostrzewa-Susłow E, Dmochowska-Gładysz J, Janeczko T. Microbial transformation of selected flavanones as a method of increasing the antioxidant properties [J]. Zeitschrift für Naturforschung C, 2010, 65: 55-60
- [51] Miyazawa M, Ando H, Okuno Y, et al. Biotransformation of isoflavones by *Aspergillus niger*, as biocatalyst [J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2003, 27(s2/3): 91-95
- [52] Xu J, Yang L, Zhao S J, et al. An efficient way from naringenin to carthamidine and isocarthamidine by *Aspergillus niger* [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(4): 1803-1806
- [53] Yildirim K, Kuru A. Microbial hydroxylation of epiandrosterone by *Aspergillus candidus* [J]. Biocatalysis and Biotransformation, 2017, 35(2): 120-126
- [54] Roh C, Seo S H, Choi KY, et al. Regioselective hydroxylation of isoflavones by *Streptomyces avermitilis* MA-4680 [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2009, 108(1): 41-46
- [55] Sumangala D, Dipesh D, Biplav S, et al. Characterization of regioselective flavonoid *O*-methyltransferase from the *Streptomyces* sp. KCTC 0041BP [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2018, 113: 29-36
- [56] Cao H, Chen X, Jassbi A R, et al. Microbial biotransformation of bioactive flavonoids [J]. Biotechnology Advances, 2015, 33: 214-223
- [57] Maria D M B C, Cristina P F, Christian L W, et al. Selection of filamentous fungi of the *Beauveria* genus able to metabolize quercetin like mammalian cells [J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2008, 39(2): 405-408
- [58] Kostrzewa-Susłow E, Dmochowska-Gładysz J, Białońska A, et al. Microbial transformations of flavanone by *Aspergillus niger* and *Penicillium chermesinum* cultures [J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2008, 52: 34-39
- [59] Kostrzewa-Susłow E, Dmochowska-Gładysz J, Oszmiański J. Microbial transformation of baicalin and baicalein [J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2007, 49: 113-117
- [60] Didier B, Jérôme Q, Guy L. Biotransformation of poly-methoxylated flavonoids: access to their 4'-*O*-demethylated metabolites [J]. Journal of Natural Products, 2007, 70: 1035-1038
- [61] Kostrzewa-Susłow E, Dmochowska-Gładysz J, Janeczko T, et al. Microbial transformations of 6- and 7-methoxyflavones in *Aspergillus niger* and *Penicillium chermesinum* cultures [J]. Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of Biosciences, 2012, 67(7-8): 411-417
- [62] Kostrzewa-Susłow E, Dmochowska-Gładysz J, Białońska A, et al. Microbial transformations of flavanone and 6-hydroxyflavanone by *Aspergillus niger* strains [J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2006, 39(1): 18-23