

红曲霉发酵提高金银花的抗氧化活性

徐文流¹, 贝琦^{1,2}, 梁诗雅², 张敬媛², 吴振强²

(1. 广州王老吉大健康产业有限公司, 广东广州 510623)

(2. 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东广州 510006)

摘要: 本研究的主要目的是探索红曲霉固态发酵对金银花多酚类物质及其抗氧化活性的影响。实验结果表明, 红曲霉固态发酵金银花的最优工艺参数为含水量 50%、接种量 10%、发酵时间 9 d。发酵后的红曲金银花总酚含量相比未发酵组增加 62.32%, 达到 36.00 mg GAE/g DM; 而总黄酮含量增加了 40.40%, 达到 70.49 mg RE/g DM。经高效液相色谱 (HPLC) 检测后发现, 红曲金银花多酚提取液中绿原酸含量最高, 达到 20.55 mg/g, 而且咖啡酸含量与未发酵组相比增加了 55.56%; 黄酮类化合物含量也明显增加, 其中异槲皮苷含量达到 1.65 mg/g, 槲皮素含量达到 0.24 mg/g, 分别是未发酵组的 12 和 18 倍。发酵后的红曲金银花具有较强的自由基清除能力, 其中 ABTS⁺清除能力提高了 61.39%, DPPH 清除能力提高了 59.28%。本研究表明红曲霉固态发酵能有效提高金银花的多酚含量, 并增强其抗氧化活性。

关键词: 金银花; 固态发酵; 红曲霉; 多酚; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2020)09-47-53

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.9.0473

Improvement of the Antioxidative Activities of Flos *Lonicerae japonicae* through its Solid-state Fermentation with *Monascus*

XU Wen-liu¹, BEI Qi^{1,2}, LIANG Shi-ya², ZHANG Jing-yuan², WU Zhen-qiang²

(1. Guangzhou Wanglaoji Great Health Industry Co., Ltd., Guangzhou 510623, China)

(2. School of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The effects of solid-state fermentation of Flos *Lonicerae japonicae* (FLJ), in the presence of *Monascus anka*, on its polyphenolic content and antioxidative activities were investigated. The optimal fermentation conditions were found to be a substrate water content of 50%, an inoculum size of 10%, and a fermentation period of 9 d. The total polyphenolic content of the fermented FLJ was 36.00 mg GAE/g DM, which was 62.32% higher than that of the unfermented FLJ. The total flavonoid content was also higher (by 40.40%) at 70.49 mg RE/g DM. According to the HPLC results, chlorogenic acid (at 20.55 mg/g) was the most abundant component in the polyphenolic extract, and the caffeic acid content was 55.56% higher than that of the unfermented FLJ. The flavonoid content was also significantly increased in the fermented FLJ, with isoquercitrin and quercitrin reaching amounts of 1.65 mg/g and 0.24 mg/g, respectively, which were 12 and 18 times higher than those of the unfermented FLJ. The fermented FLJ also exhibited stronger antioxidative activities, with the ABTS⁺ radical- and DPPH radical-scavenging activities increased by 61.39% and 59.28%, respectively. Taken together, these results indicate that the solid-state fermentation of FLJ in the presence of *M. anka* can effectively increase the polyphenolic content and antioxidative activities of this Chinese herb.

Key words: Flos *Lonicerae japonicae*; solid-state fermentation; *Monascus anka*; polyphenolics; antioxidative activity

引文格式:

徐文流, 贝琦, 梁诗雅, 等. 红曲霉发酵提高金银花的抗氧化活性[J]. 现代食品科技, 2020, 36(9): 47-53

XU Wen-liu, BEI Qi, LIANG Shi-ya, et al. Improvement of the antioxidative activities of Flos *Lonicerae Japonicae* through its solid-state fermentation with *Monascus* [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(9): 47-53

收稿日期: 2020-05-18

基金项目: 广东省科技创新战略专项资金(纵向协同管理方向)项目(2018JK35202003)

作者简介: 徐文流(1963-), 男, 高级工程师, 研究方向: 临床药理

通讯作者: 吴振强(1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 大健康产业领域理论与应用

金银花 (*Flos Lonicerae japonicae*, FLJ), 是忍冬科 (*Caprifoliaceae*) 忍冬属 (*Lonicera*) 干燥花蕾或带初开的花, 是一种药用价值极高的药用植物, 收录于《中华人民共和国药典》, 味甘性寒、归肺、心、胃经, 具有清热解毒、疏散风热的功效, 主要用于痈肿疔疮、喉痹、丹毒、热毒血痢、风热感冒、温病发热^[1]。大量研究表明, 金银花中主要的活性成分为有机酸类、黄酮类、挥发油类、环烯醚萜苷类、三帖皂苷类等^[2-4]。其中金银花中主要的有机酸包括有绿原酸、异绿原酸、咖啡酸、原儿茶酸等; 而金银花中具有药理活性的主要黄酮类物质有木犀草素、忍冬苷、金丝桃苷、槲皮素等^[5,6]。

中药发酵是一种较新的中药加工工艺, 是对传统煎、熬、炼、煮等工艺的改变, 该工艺能有效增强天然产物的生物活性, 从而提高其药用保健功能。目前市面上常见的发酵保健药物包括有片仔癀、淡豆豉、沉香曲、红曲米等。现有许多研究表明, 微生物发酵技术能影响天然产物多酚类化合物的生物利用度及生物活性。Liukkonen 等人研究发现, 利用酵母对黑麦进行发酵, 会对其植物化学物质产生影响, 发酵后黑麦的多酚含量提高了 2 倍^[7]。“康复灵”为灵芝发酵菌进行生物发酵转化而成的新制剂, 主要成分有党参、薏苡仁、猪苓、灵芝发酵菌、麦冬、淮山药等, 该发酵制剂具有抑制小鼠 S-180 肉瘤生长的作用^[8]。另一项研究表明, 酵母固态发酵麦麸可以提高游离态的芥子酸, 香豆酸和阿魏酸的含量, 从而显著提高总酚含量和体外抗氧化活性^[9]。天然产物在发酵过程中会伴随着各种生物活性化合物的生成与转化, 从而提高其生物利用度和生物活性^[10,11]。发酵对多酚类化合物的影响与天然产物的种类^[12], 微生物种类^[13], 和发酵条件, 如温度, pH 和时间^[14,15]有关。红曲霉 (*Monascus*) 属于真菌门 (Eumycophyta), 子囊菌纲 (Ascomycetes), 真子囊菌亚纲 (Euascomycetes), 红曲霉属 (*Monascus*), 是传统可食用加工菌。红曲霉可以代谢分泌多种功能性产物, 包括酶、脂肪酸、有机酸、油脂、色素、洛伐他丁、麦角固醇、 γ -氨基丁酸等^[16,17]。由于代谢产物丰富, 红曲霉在我国有深厚的应用历史, 常用于酿酒、入药、食品发酵和天然色素等方面的加工应用。

目前关于金银花发酵的研究相对较少, 而且主要集中于液态发酵。成莹等人以金银花、枸杞、全脂奶粉为原料, 接种乳杆菌等微生物进行发酵, 制作具有独特中药风味的金银花枸杞酸奶^[18]。于军香和郑亚琴以蓝莓和金银花为原料, 以 LM-8 酵母菌为菌种, 发酵成具有独特风味及保健功能的蓝莓金银花发酵酒^[19]。本文以金银花为基质, 利用红曲霉固态发酵技术,

探讨发酵对金银花多酚含量及组成成分的影响, 并进一步探索其生物活性的变化, 为金银花的深加工开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

红曲霉菌株 *Monascus anka* (GIM 3.592), 保藏于广东省微生物菌种保藏中心 (GDMCC/GIMCC); 金银花购买于药材市场。

抗坏血酸 (Vc) ($\geq 99.8\%$)、对羟基苯甲酸 ($\geq 99.8\%$)、绿原酸 ($\geq 99.8\%$)、咖啡酸 ($\geq 99.8\%$)、金丝桃苷 ($\geq 99.8\%$)、异槲皮苷 ($\geq 99.8\%$)、木犀草素 ($\geq 99.8\%$)、槲皮素 ($\geq 99.8\%$)、DPPH ($\geq 99\%$)、ABTS ($\geq 99\%$), 美国 Sigma-Aldrich 公司; 乙腈 (色谱纯), 美国 Fisher 公司; 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

紫外分光光度计 UV-2802S, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; 高效液相色谱仪 Waters2695, 美国 Waters 公司; HPLC 紫外检测器 2475, 美国 Waters 公司; 台式超速大容量离心机 5804R, Eppendorf 公司。

1.3 方法

1.3.1 种子培养及固态发酵

1.3.1.1 种子培养

于活化好的种子平板加入 6 mL 0.1% (m/V) Tween 80 溶液, 洗脱红曲孢子, 取 3 mL 孢子悬液 (约 106 个孢子/mL), 接种至含有 50 mL 种子液的 250 mL 锥形瓶中。种子液于 180 r/min, 30 °C, 恒温摇床培养 28 h。

1.3.1.2 固态发酵

金银花 5.00 g, 置于 250 mL 锥形瓶中, 加入适量的蒸馏水控制其含水量; 补充添加 3.00 g 大米粉作为辅料, 搅拌均匀后, 于 121 °C 灭菌 30 min。冷却至室温后, 将培养好的种子液接种至发酵基质中, 于 30 °C 恒温培养箱发酵。发酵后的样品于 60 °C 烘干 12 h 后, 粉碎至全部通过 40 目筛, 用于样品检测。

1.3.2 发酵工艺条件优化

在固态发酵的方式下, 影响红曲霉菌的生长代谢的培养条件主要有培养基成分、接种量、基质含水量、发酵时间等^[20,21]。本文选取发酵基质初始含水量 (A)、接种量 (B) 和发酵时间 (C) 为调控因素, 以发酵产物中的总酚含量为指标, 进行 L₉(3⁴) 正交实验优化红曲金银花的发酵工艺。正交实验的因素与水平见表 1。

表1 正交实验因素-水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiments

水平	因素		
	A.发酵基质初始含水量/%	B.接种量/%	C.发酵时间/d
1	50	10	3
2	60	15	6
3	70	20	9

1.3.3 发酵金银花提取液的制备

准确称取 0.50 g 干燥的金银花或发酵产物, 加入 10 mL 70%乙醇溶液, 320 W 超声提取 30 min。样品提取液用 0.45 μm 孔径滤膜过滤, 滤液即为金银花提取液。

1.3.4 总黄酮含量的测定

样品中总黄酮含量的测定利用 AlCl_3 比色法^[22]。取 1 mL 适当稀释的提取液于比色管中, 用蒸馏水定容至 5 mL, 依次加入 5% NaNO_2 0.3 mL, 摇匀后静置 5 min, 加入 10% AlCl_3 0.3 mL, 摇匀后静置 6 min, 依次加入 4%的 NaOH 2.0 mL, 摇匀后, 继续添加 2.4 mL 70%乙醇定容至 10 mL, 静置 15 min, 于波长为 510 nm 处测吸光值。样品中总黄酮含量用每克金银花干重(DM)相当于芦丁的毫克数显示(mg RE/g DM)。

1.3.5 总酚含量的测定

总酚含量(TPC)的测定是通过福林酚试剂方法, 并以没食子酸(GAE)表示^[23]。取 1 mL 适当稀释的样品提取液, 加入 0.5 mL 福林酚试剂, 充分摇匀后, 反应 3~8 min 后, 加入 1.5 mL 20% (W/V) Na_2CO_3 溶液, 摇匀, 加蒸馏水定容至 10 mL 后, 于室温下放置反应 60 min, 于 765 nm 下测定吸光值。样品中总多酚含量用每克金银花干重(DM)相当于没食子酸的毫克数显示(mg GAE/g DM)。

1.3.6 多酚组成成分分析

采用高效液相色谱(HPLC)法分析, 紫外检测器(DAD)检测样品提取液的多酚组成成分^[24]。将适当稀释后的提取液, 用 0.22 μm 有机滤膜过滤后进行 HPLC 检测分析。具体检测方法如下: HPLC 色谱系统包括 Waters e2695 分离系统和 Waters 2998 PDA 检测系统; 色谱柱为 Sunfire C18 反相色谱柱(250 \times 4.6 mm, 5 μm), 柱温 30 $^\circ\text{C}$; 样品进样体积 10 μL ; 流动相分 A 相和 B 相, A 相为 0.4%乙酸, B 相为乙腈; 洗脱流速 0.8 mL/min, 采取梯度洗脱(0~16 min, 11% B; 16~50 min, 17% B; 50~60 min, 30% B; 60~65 min, 80% B; 65~70 min, 20% B; 70~75 min, 11% B), 洗脱时间 75 min; PDA 检测器检测波长 200~600 nm,

记录多酚光谱, 提取色谱图波长 280 nm。通过对比标准品的 HPLC 保留时间和 UV 光谱, 对提取液的组成成分进行初步分析鉴定。

1.3.7 抗氧化活性检测

DPPH 自由基清除试验: 取 200 μL 适当稀释的样品提取液, 加入 3.8 mL 现配的 60 μM DPPH 自由基溶液, 充分混合后, 于室温下, 暗处, 静置反应 60 min 后, 于 515 nm 下测吸光值。样品提取液的 DPPH 自由基清除能力表示为 mg Vc/g^[25]。

ABTS⁺清除能力实验: ABTS⁺溶液是由 7 mM ABTS 溶液与 2.45 mM 过硫酸钾溶液以 1:1 的体积比混合, 并于室温下, 暗处反应 16 h 制得。将新鲜配制的 ABTS⁺溶液用蒸馏水稀释至在 734 nm 下吸光值为 0.70 \pm 0.02, 备用。将 1 mL 适当稀释的样品提取液, 加入 4 mL ABTS⁺溶液, 充分混合后, 于室温下, 暗处, 静置反应 60 min 后, 于 734 nm 下测吸光值。样品提取液的 ABTS⁺清除能力表示为 mg Vc/g^[26]。

1.4 数据统计分析

所有实验数据均进行三组平行, 结果采用 Origin 9.0 进行分析处理。

2 结果与讨论

2.1 金银花发酵条件对总酚含量的影响

表2 红曲霉发酵工艺正交实验结果

Table 2 Design and result of orthogonal experiment of Monascus fermentation

编号	A/%	B/%	C/d	总酚含量/ (mg GAE/g DM)
1	50 (1)	10 (1)	3 (1)	32.19
2	50 (1)	15 (2)	6 (2)	33.34
3	50 (1)	20 (3)	9 (3)	34.38
4	60 (2)	10 (1)	6 (2)	29.53
5	60 (2)	15 (2)	9 (3)	31.76
6	60 (2)	20 (3)	3 (1)	25.95
7	70 (3)	10 (1)	9 (3)	38.81
8	70 (3)	15 (2)	3 (1)	21.94
9	70 (3)	20 (3)	6 (2)	35.74
K ₁	33.30	33.51	26.69	
K ₂	29.08	29.01	32.87	
K ₃	32.16	32.02	34.98	
R	4.22	4.50	8.29	

表3 发酵前后金银花总多酚、总黄酮含量的变化

Table 3 Changes of total phenolic content of unfermented FLJ and fermented FLJ (n=3)

样品名称	总酚含量/ (mg GAE/g DM)	总黄酮含量/ (mg RE/g DM)
未发酵金银花	22.18±6.08	50.21±4.66
发酵金银花	36.00±0.37	70.49±1.66

根据表1的正交实验因素-水平表对9组实验组的发酵金银花进行总酚含量的测定,实验结果见表2。实验结果表明红曲霉发酵金银花的最优发酵条件为A₁B₁C₃,即含水量为50%、接种量为10%、发酵时间为9d。三种因素对金银花总酚含量的影响能力依次为C>B>A。

在最优发酵工艺条件下发酵金银花,发酵前后的金银花总酚和总黄酮含量如表3所示。发酵后的金银花总酚含量增加62.32%,达到36.00 mg GAE/g DM;总黄酮含量增加40.40%,达到70.49 mg GAE/g DM,说明红曲霉固态发酵能有效地提高金银花的总酚和总黄酮含量,从而增强其保健价值。

微生物固态发酵技术可促进植物基质和谷物产品的活性成分的释放,从而提高产品的生物活性^[27]。红曲霉一直被广泛用于传统发酵行业,也在中药发酵中用于增强中药的生物活性。杨静云等人利用红曲霉对山楂、决明子、泽泻等中药进行发酵转化,发现发酵产物对高脂血症大鼠血脂水平具有良好的调节作用^[28]。侯衍英等人对中药丹参进行红曲霉固态发酵生物转化,发酵产物的丹参酮含量达到1.32 mg/g^[29]。从悦怡等人研究红曲霉固态发酵人参粉,发现总皂苷质量分数提高40%,并推测是由于发酵过程中红曲霉代谢的β-葡萄糖苷酶起主要转化作用^[30]。本文首次探索了红曲霉固态发酵对金银花多酚类物质的影响,研究发现经过9d发酵,金银花的多酚和黄酮含量显著提高($p<0.05$)。红曲霉能分泌大量的酶,包括淀粉酶、β-葡萄糖苷酶、蛋白酶等水解酶类^[31,32]。在发酵过程中,红曲霉代谢分泌的水解酶类可能通过水解破坏金银花的细胞壁结构,导致大量的游离态多酚、黄酮的释放,使得多酚和黄酮含量的增加。

2.2 发酵对金银花多酚类物质组成的影响

根据对金银花主要多酚类物质的认识,本研究探索了发酵前后金银花的7种主要多酚化合物的变化,包括3种酚酸(*p*-对羟基苯甲酸、绿原酸和咖啡酸)和4种黄酮(金丝桃苷、异槲皮苷、木犀草素和槲皮素)。实验结果显示,发酵前后金银花的多酚组成和含量均发生改变(见图1和表4)。

由表4可知,7种金银花主要的多酚化合物在发酵后含量均有不同程度的提高。对于酚酸类化合物,绿原酸是金银花中含量最高的,具有较好的药理活性,通常被作为金银花质量评价的指标。陈康等人利用植物乳杆菌研制发酵金银花凉茶,发现发酵时间和发酵温度的增加会导致绿原酸含量的下降,推测是由于绿原酸性质不稳定被氧化分解^[33]。在本研究中,发酵后的红曲金银花的绿原酸含量能保持在较高水平,达到20.55 mg/g,说明红曲霉在发酵过程中不会分解利用绿原酸,而且能保持绿原酸的稳定存在。红曲金银花的咖啡酸含量在发酵后也提高了55.56%,达到0.126 mg/g。对于黄酮类化合物,发酵后的红曲金银花的异槲皮苷增长了12倍,含量达到1.65 mg/g,而槲皮素的含量达到0.24 mg/g,提高了18倍。马宇等人对金银花纯化固态发酵酿造花酒的活性成分进行研究,发现金银花酒中含有大量绿原酸、木犀草苷和芦丁等多酚化合物,推测是微生物转化的结果^[34],但该研究并未对金银花固态发酵产物进行检测,未能研究固态发酵对金银花活性成分的影响。

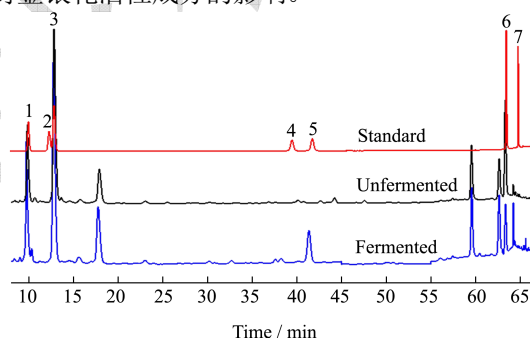


图1 7种多酚标准品和发酵前后金银花提取液的HPLC图谱

Fig.1 High-performance liquid chromatographic (HPLC) chromatograms of a mixture of 7 standard and phenolic extract in unfermented and fermented FLJ.

注: 1: *p*-对羟基苯甲酸; 2: 绿原酸; 3: 咖啡酸; 4: 金丝桃苷; 5: 异槲皮苷; 6: 木犀草素; 7: 槲皮素。

表4 金银花发酵前后主要多酚化合物的含量变化

Table 4 Contents of identified phenolic compounds in unfermented and fermented FLJ.

多酚化合物	未发酵金银花 (mg/g)	发酵金银花 (mg/g)
<i>p</i> -对羟基苯甲酸	0.17±0.02	0.29±0.04
绿原酸	19.69±1.57	20.55±0.06
咖啡酸	0.08±0.01	0.13±0.01
金丝桃苷	0.20±0.02	0.21±0.02
异槲皮苷	0.14±0.01	1.65±0.02
木犀草素	0.06±0.01	0.38±0.01
槲皮素	0.01±0.01	0.24±0.02

多酚类化合物在天然产物中主要有三种存在形式：可溶性的游离态多酚、缀合态多酚和不可溶性的结合态多酚。缀合态多酚是指多酚类化合物以酯化与糖类和其他低分子量化合物结合，而结合态多酚是指多酚类化合物以共价键与细胞壁结构元件结合^[23]。对于天然植物基质的多酚化合物，很少是以可溶性的形式存在的，大多数是以不溶性的结合态形式存在，而不溶性的结合态多酚的生物利用度较低^[35]。在发酵过程中，红曲霉通过分泌一系列的水解酶，可能破坏了多酚类物质与多糖或细胞壁的键合作用，从而使得缀合态和结合态多酚释放，使得游离多酚的含量增加。而且红曲霉能够代谢分泌的β-葡糖苷酶，可以将金银花中的黄酮糖苷转化为黄酮苷元，从而使得黄酮类化合物的含量增加^[30,36]。

2.3 发酵后金银花提取液体外抗氧化活性变化

表 5 发酵前后金银花多酚提取液的抗氧化能力

Table 5 Antioxidant activity of phenolic extract from unfermented and fermented FLJ

抗氧化检测方法	未发酵金银花 / (mg Vc/g)	发酵金银花 / (mg Vc/g)
DPPH 清除能力	15.14±1.11	24.09±0.87
ABTS ⁺ 清除能力	26.98±3.12	43.54±1.66

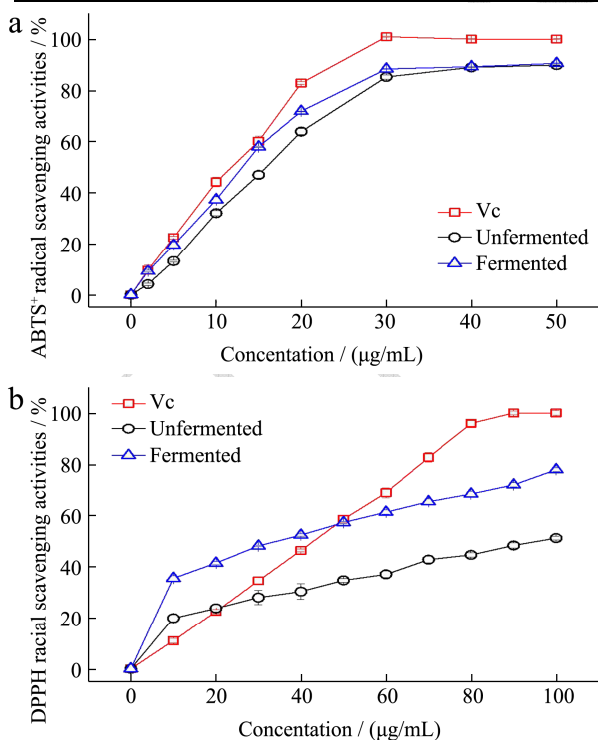


图 2 ABTS⁺自由基清除能力 (a) 和 DPPH 自由基的清除能力 (b)

Fig.2 ABTS⁺ scavenging capacity (a) and DPPH radical scavenging capacity (b)

单一的抗氧化实验不能反映样品的抗氧化能力，

本研究采用 ABTS 自由基阳离子和 DPPH 自由基清除活性两种方法来探索发酵后金银花的抗氧化能力的改变。由表 5 可知，经过 9 d 发酵，在同一浓度下的金银花提取液的 ABTS⁺和 DPPH 自由基清除能力均有明显提高，其中 ABTS⁺清除能力提高了 61.39%，达到 43.54 mg Vc/g；DPPH 清除能力提高了 59.28%，达到 25.09 mg Vc/g。这说明了发酵后的红曲金银花的抗氧化活性明显提高，这跟红曲金银花多酚含量增加有关联作用。

ABTS⁺和 DPPH 自由基的半抑制浓度 (EC₅₀) 是最常见的评价抗氧化剂的检测参数之一，EC₅₀ 值越低，表明其抗氧化性越高^[37]。图 2 是红曲金银花发酵前后多酚提取液对 ABTS⁺和 DPPH 自由基的剂量反应曲线，其中抗坏血酸 (Vc) 作为正对照。

经计算，发酵前的红曲金银花的 ABTS⁺和 DPPH 自由基的 EC₅₀ 值分别为 15.77 mg/mL 和 94.93 mg/mL；发酵后的 ABTS⁺和 DPPH 自由基的 EC₅₀ 值分别为 13.43 mg/mL 和 36.00 mg/mL；正对照 Vc 的 ABTS⁺和 DPPH 自由基的 EC₅₀ 值分别为 12.05 mg/mL 和 42.90 mg/mL。

很多研究表明，微生物发酵能有效提高天然产物的抗氧化活性。陈学红等人发现乳酸菌发酵能有效地提高金银花的抗氧化活性^[38]；闫占鹏利用金银花提取液制作金银花发酵醋，发现发酵后其 DPPH 自由基清除能力提升了 6.14%^[39]，说明发酵能提高金银花的抗氧化活性。红曲发酵金银花的两种自由基的 EC₅₀ 值均比未发酵的金银花低，说明发酵过程能有效提高金银花的抗氧化能力。特别是 DPPH 自由基的清除能力，发酵后的金银花的 EC₅₀ 值比 Vc 还低，说明红曲金银花的多酚提取液具有比 Vc 更强的抗氧化能力，这可能与红曲金银花的黄酮苷元类物质含量较高有关^[36]。

3 结论

红曲霉固态发酵可以有效地提高金银花的总酚和总黄酮含量。发酵后的红曲金银花酚酸和黄酮化合物含量都有不同程度的提高，特别是咖啡酸、异槲皮苷和槲皮素。这说明红曲霉发酵过程中代谢分泌的水解酶类能促进酚类物质的释放。发酵后的红曲金银花具有更好生物活性，其 ABTS⁺和 DPPH 自由基清除能力均高于未发酵金银花。研究成果可为金银花的深加工提供理论基础。

参考文献

[1] 国家药典编委会. 中华人民共和国药典 2005 版一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005

- National Pharmacopoeia Compilation Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2005 [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005
- [2] Iwanhashi H, Negoro Y, Ikeda A, et al. Inhibition by chlorogenic acid of haematin-catalysed retinoic acid 5, 6-epoxidation [J]. *Biochem J*, 1986, 239: 641-646
- [3] 阮鸣, 彭国平. 金银花挥发油的萜类化学成分研究进展[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(1): 59-61
RUAN Ming, PENG Guo-ping. Advances in the study of terpenoid constituents of volatile oil from Flos *Lonicerae japonicae* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2005, 16(1): 59-61
- [4] 夏远, 李弟灶, 裴振昭, 等. 金银花化学成分的研究进展[J]. 中国现代中药, 2012, 4: 26-32
XIA Yuan, LI Di-zao, PEI Zhen-zhao, et al. Advances in the study of chemical constituents of Flos *Lonicerae japonicae* [J]. *Modern Chinese Medicine*, 2012, 4: 26-32
- [5] 冯卫生, 陈欣, 郑晓珂, 等. 金银花化学成分研究[J]. 中国药理学杂志, 2011, 5: 338-340
FENG Wei-sheng, CHEN Xin, ZHENG Xiao-ke, et al. Study on chemical constituents of Flos *Lonicerae japonicae* [J]. *Chinese Journal of Pharmaceuticals*, 2011, 5: 338-340
- [6] 黄丽瑛, 吕植桢, 李继彪, 等. 中药金银花化学成分的研究[J]. 中草药, 1996, 11: 645-64
HUANG Li-ying, LYU Zhi-zhen, LI Ji-biao, et al. Study on the chemical constituents of Flos *Lonicerae japonicae* [J]. *Chinese Herbal Medicine*, 1996, 11: 645-64
- [7] Liukkonen K H, Katina K, Wilhelmsson A, et al. Process-induced changes on bioactive compounds in whole grain rye [J]. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2003, 62(1): 117-122
- [8] 尤建良, 赵景芳, 章克昌, 等. 发酵型中药生物制剂“康复灵”抑瘤实验研究[J]. 实用临床医药杂志, 2005, 9(8): 46-47
YOU Jian-liang, ZHAO Jing-fang, ZHANG Ke-chang, et al. Experimental study on tumor inhibition of "Kang Fu Ling", a fermented Chinese traditional medicine biological preparation [J]. *Journal of Practical Clinical Medicine*, 2005, 9(8): 46-47
- [9] Moore J, CHENG Zhi-hong, HAO Jun-jie, et al. Effects of solid-state yeast treatment on the antioxidant properties and protein and fiber compositions of common hard wheat bran [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(25): 10173-10182
- [10] Priefert H, Rabenhorst J, Steinbuechel A. Biotechnological production of vanillin [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2001, 56(3-4): 296-314
- [11] Katina K, Liukkonen K H, Kaukovirta-Norja A, et al. Fermentation-induced changes in the nutritional value of native or germinated rye [J]. *Journal of Cereal Science*, 2007, 46(3): 348-355
- [12] Dordevic T M, Siler-Marinkovic S S, Dimitrijevic-Brankovic S I. Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals [J]. *Food Chemistry*, 2010, 119(3): 957-963
- [13] Kariluoto S, Aittamaa M, Korhola M, et al. Effects of yeasts and bacteria on the levels of folates in rye sourdoughs [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2006, 106(2): 137-143
- [14] Hansen H B, Andreassen M F, Nielsen M M, et al. Changes in dietary fiber, phenolic acids and activity of endogenous enzymes during rye bread-making [J]. *European Food Research and Technology*, 2002, 214(1): 33-42
- [15] Katina K, Laitila A, Juvonen R, et al. Bran fermentation as a means to enhance technological properties and bioactivity of rye [J]. *Food Microbiology*, 2007, 24(2): 175-186
- [16] 孙艳君, 胡中泽, 高冰. 红曲霉的分离鉴定及红曲色素的测定[J]. 中国酿造, 2011, 1: 52-54
SUN Yan-jun, HU Zhong-zhe, GAO Bing. Isolation and identification of *Monascus* and determination of *Monascus* pigment [J]. *China Brewing*, 2011, 1: 52-54
- [17] 卓林霞. 红曲的研究概况及其产品的前景展望[J]. 轻工科技, 2012, 2: 8-9
ZHUO Lin-xia. The research overview of red Koji and the prospect of its products [J]. *Light Industry Science and Technology*, 2012, 2: 8-9
- [18] 成莹, 袁雪娇, 高星, 等. 响应面法优化金银花枸杞风味酸奶的发酵工艺[J]. 中国酿造, 2020, 39(2): 206-210
CHENG Kun, YUAN Xue-jiao, GAO Xing, et al. Response surface method was used to optimize the fermentation process of honeysuckle wolfberry flavor yogurt [J]. *China Brewing*, 2020, 39(2): 206-210
- [19] 于军香, 郑亚琴. 蓝莓金银花发酵酒加工工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(8): 112-115
YU Jun-xiang, ZHENG Ya-qing. Study on the processing technology of blueberry honeysuckle fermented wine [J]. *Food Research and Development*, 2016, 37(8): 112-115
- [20] 张媛媛. 红曲霉菌发酵糯米红曲的初步探究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2019
ZHANG Yuan-yuan. Preliminary study on the fermentation of red fermented rice by *Monascus* using glutinous rice as

- substrates [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2019
- [21] 李同乐,刘秀河,颜丽.功能性红曲发酵条件的优化[J].中国酿造,2019,38(3):144-148
LI Tong-le, LIU Xiu-he, YAN Li. Optimization of fermentation conditions of functional red koji [J]. China Brewing, 2019, 38(3): 144-148
- [22] Hammi K M, Jdey A, Abdelly C, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Zizyphus lotus* fruits using response surface methodology [J]. Food Chemistry, 2015, 184: 80-89
- [23] BEI Qi, LIU Yan, WANG Lu, et al. Improving free, conjugated, and bound phenolic fractions in fermented oats (*Avena sativa L.*) with *Monascus anka* and their antioxidant activity [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 32: 185-194
- [24] TANG Dan, LI Hui-jun, CHEN Jun, et al. Rapid and simple method for screening of natural antioxidants from Chinese herb *Flos Lonicerae Japonicae* by DPPH-HPLC-DAD-TOF/MS [J]. Journal of Separation Science, 2008, 31(20): 3519-3526
- [25] QIU Yang, LIU Qin, Beta T. Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolic acids [J]. Food Chemistry, 2010, 121(1): 140-147
- [26] XIAO Yu, RUI Xin, XING Guang-liang, et al. Solid state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18 enhanced antioxidant capacity and DNA damage protective effect of oats (*Avena sativa L.*) [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 16: 58-73
- [27] CAI Sheng-bao, WANG Ou, WU Wei, et al. Comparative study of the effects of solid-state fermentation with three filamentous fungi on the total phenolics content (TPC), flavonoids, and antioxidant activities of subfractions from oats (*Avena sativa L.*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(1): 507-513
- [28] 杨静云,李宇兴,赖永勤,等.山楂、泽泻、决明子与红曲霉混合发酵产物对高血脂大鼠调脂作用研究[J].中草药,2017, 48(7):1369-1373
YANG Jing-yun, LI Yu-xing, LAI Yong-qing, et al. Effects of mixed fermentation products of hawthorn, *Alisma orientalis*, cassia seed and *Monascus* on lipid regulation in rats with hyperlipidemia were studied [J]. Chinese Herbal Medicine, 2017, 48(7): 1369-1373
- [29] 侯衍英,刘文忠,李存能,等.红曲霉-丹参双向固态发酵工艺条件优化[J].化学与生物工程,2018,35(9):55-59
HOU Yan-ying, LIU Wen-zong, LI Chun-neng, et al. Optimization of two-way solid-state fermentation process of *Monascus* and *Salvia miltiorrhiza* [J]. Chemical and Biological Engineering, 2018, 35(9): 55-59
- [30] 丛悦怡,孙佳,于恩,等.红曲霉发酵转化人参皂苷 Rg-3 的研究[J].中草药,2018,49(6):1298-1303
CONG Yue-yi, SUN Jia, YU En, et al. Study on the transformation of ginsenoside Rg-3 by fermentation of *Monascus* [J]. Chinese Herbal Medicine, 2018, 49(6): 1298-1303
- [31] Daroit D J, Silveira S T, Hertz P F, et al. Production of extracellular beta-glucosidase by *Monascus purpureus* on different growth substrates [J]. Process Biochemistry, 2007, 42(5): 904-908
- [32] Liang T W, Lin J J, Yen Y H, et al. Purification and characterization of a protease extracellularly produced by *Monascus purpureus* CCRC31499 in a shrimp and crab shell powder medium [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2006, 38(1-2): 74-80
- [33] 陈康,Oh Young Joo,李洪军,等.金银花乳杆菌发酵凉茶的研制[J].食品科学,2016,37(3):131-136
CHEN Kang, Oh Young Joo, LI Hong Jun, et al. Development of herbal tea with fermented *Flos Lonicerae japonicae* [J]. Food Science, 2016, 37(3): 131-136
- [34] 马宇,黄永光,唐东亚,等.金银花纯花固态发酵酒风味特征及活性功能成分分析[J].食品科学,2018,39(24):249-255
MA Yu, HUANG Yong-guang, TANG Dong-ya, et al. Analysis of flavor characteristics and active functional components of fermented *Flos Lonicerae japonicae* wine [J]. Food Science, 2018, 39(24): 249-255
- [35] ZHAO Min, XU Jun, QIAN Da-wei, et al. Ultra performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry for determination of avicularin metabolites produced by a human intestinal bacterium [J]. Journal of Chromatography B, 2014, 949-950(4): 30-36
- [36] WANG Lu, LUO You, WU Ya-nan, et al. Quickly verifying the antioxidant contribution of the individual composition in natural antioxidants by HPLC-free radical scavenging detection [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018: 461-468
- [37] Rufino M S M, Fernandes F A N, Alves R E, et al. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH center dot system [J]. Food Chemistry, 2009, 114(2): 693-695