

裂褶菌发酵西洋参工艺优化及体外抗氧化能力研究

王崑仑, 管立军, 高扬, 严松, 李家磊, 季妮娜, 李波, 周野

Optimization of Fermentation Process of *Panax quinquefolius* L. by *Schizophyllum commune* and Its Antioxidant Capacity *in Vitro*

WANG Kunlun, GUAN Lijun, GAO Yang, YAN Song, LI Jialei, JI Nina, LI Bo, and ZHOU Ye

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023040063>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

西洋参多糖对克林霉素磷酸酯诱导的抗生素相关性腹泻的改善作用

Ameliorative Effect of *Panax quinquefolius* Polysaccharides on Antibiotic-associated Diarrhea Induced by Clindamycin Phosphate

食品工业科技. 2021, 42(12): 354-361 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090144>

响应面法优化三七渣固态发酵产红色素工艺

Processing Optimization of Red Pigment Produced from *Panax notoginseng* residues in Solid State Fermentation by Response Surface Methodology

食品工业科技. 2020, 41(16): 97-101,107 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.16.016>

响应面法优化复合菌种发酵葡萄玫瑰花饮品及其抗氧化能力的测定

Optimization of Fermentative Technic by Response Surface and Determination of Antioxidant Capacity of Grape-Rose Compound Strains Fermentative Beverage

食品工业科技. 2019, 40(15): 311-317 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.15.051>

米根霉和乳酸菌混合固态发酵大麦仁工艺优化及其抗氧化活性

Optimization of Mixed Solid-state Fermentation Process of Dehusked Barley with *Rhizopus oryzae* and *Lactobacillus* and Its Antioxidant Activity

食品工业科技. 2018, 39(22): 169-174 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.22.030>

七种药食两用中药膳食纤维体外抗氧化及胆酸盐结合能力研究

Study on the *in Vitro* Antioxidant and Bile Salts Binding Activity of the Dietary Fibers from Seven Edible Rraditional Chinese Medicines

食品工业科技. 2021, 42(11): 314-320 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070159>

响应面法优化托盘根总皂苷提取工艺及抗氧化活性研究

Optimization of Extraction Process of Total Saponins from *Rubus crataegifolius* Bunge. Root by Response Surface Methodology and Its Antioxidant Activity

食品工业科技. 2021, 42(18): 183-189 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020120266>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

王昆仑, 管立军, 高扬, 等. 裂褶菌发酵西洋参工艺优化及体外抗氧化能力研究 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(7): 142-151. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040063

WANG Kunlun, GUAN Lijun, GAO Yang, et al. Optimization of Fermentation Process of *Panax quinquefolius* L. by *Schizophyllum commune* and Its Antioxidant Capacity *in Vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(7): 142-151. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040063

· 生物工程 ·

裂褶菌发酵西洋参工艺优化及体外 抗氧化能力研究

王昆仑^{1,2}, 管立军^{1,2,*}, 高扬^{1,2}, 严松^{1,2}, 李家磊^{1,2}, 季妮娜³, 李波^{1,2}, 周野^{1,2}

(1.黑龙江省农业科学院食品加工研究所, 黑龙江哈尔滨 150086;

2.黑龙江省食品加工重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150086;

3.黑龙江省农业科学院大豆研究所, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要:为提高西洋参的经济价值, 本研究以西洋参为原料, 利用裂褶菌固态发酵西洋参, 提高西洋参中活性成分的含量, 并对发酵工艺进行优化。本研究以西洋参中总人参皂苷含量为指标, 先从 3 种裂褶菌株中筛选出 2 号菌株作为固态发酵西洋参用菌。再对影响裂褶菌西洋参发酵物的总人参皂苷含量的 4 个因素(发酵温度、裂褶菌接种量、pH 和发酵时间)进行单因素实验。在此结果基础上, 利用响应面 Box-Behnken 试验设计进一步优化裂褶菌固态发酵西洋参工艺, 确定优化后的工艺条件为: 裂褶菌接种量 10.90%, 发酵温度 31 °C、发酵时间 10 d, 发酵 pH5.9。在上述条件下, 裂褶菌西洋参发酵物的总人参皂苷含量为 10.28%, 粗多糖含量为 12.85%, 总黄酮含量为 0.67%, 均比未发酵西洋参的高。并且大分子人参皂苷 Rb₁、Rg₂ 和 Re 含量降低, 小分子人参皂苷 Rg₁、Rc、Rb₂、Rd、Rg₃、s-Rh₂、r-Rh₂ 和拟人参皂苷 CK 含量升高。其中, 稀有参皂苷 Rg₃、s-Rh₂、r-Rh₂ 和拟人参皂苷 CK 为新出现皂苷。体外抗氧化实验表明裂褶菌西洋参发酵物的 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除能力的 IC₅₀ 值分别为 31365 和 10910 μg/mL, 均强于未发酵西洋参。本研究证明了裂褶菌固态发酵西洋参提高了总人参皂苷、粗多糖、总黄酮和稀有参皂苷的含量, 增强了抗氧化能力, 为西洋参的开发利用提供数据支持。

关键词: 西洋参, 裂褶菌, 固态发酵, 响应面, 人参皂苷, 抗氧化

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)07-0142-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040063



本文网刊:

Optimization of Fermentation Process of *Panax quinquefolius* L. by *Schizophyllum commune* and Its Antioxidant Capacity *in Vitro*

WANG Kunlun^{1,2}, GUAN Lijun^{1,2,*}, GAO Yang^{1,2}, YAN Song^{1,2}, LI Jialei^{1,2}, JI Nina³, LI Bo^{1,2}, ZHOU Ye^{1,2}

(1. Heilongjiang Province Academy of Agricultural Sciences Institute of Food Processing, Harbin 150086, China;

2. Heilongjiang Province Key Laboratory of Food Processing, Harbin 150086, China;

3. Soybean Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: In order to improve the economic value of *Panax quinquefolius* L., this study used *Panax quinquefolius* L. as raw material to solid state ferment *Panax quinquefolius* L. by *Schizophyllum commune*, increased the content of active components in *Panax quinquefolius* L., and optimized the fermentation technology. In this study, the total ginsenoside content of *Panax quinquefolius* L. was used as the indicator. First, strain 2 was selected from three strains of *Streptomyces* as the solid state fermentation strain for *Panax quinquefolius* L.. Then single factor experiment was conducted on four factors affecting total ginsenoside content. The four factors included: fermentation temperature, inoculation amount of *Schizophyllum commune*, pH value and fermentation time. On the basis of these results, the technology of solid state

收稿日期: 2023-04-16

基金项目: 黑龙江省农业科学院创新工程资助项目(CX23GG16-04); 黑龙江省重点研发计划(2022ZX02C13-02)。

作者简介: 王昆仑(1982-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 植物有效成分, 食品工程与营养, E-mail: white19820708@163.com。

* 通信作者: 管立军(1983-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 植物有效成分, 食品工程与营养, E-mail: qqaiiph@sina.com。

fermentation of *Panax quinquefolius* L. by *Schizophyllum commune* was further optimized by response surface Box Behnken experimental design. The optimized process conditions were determined as follows: inoculation amount of *Schizophyllum commune* 10.90%, fermentation temperature 31 °C, fermentation time 10 d, pH value 5.9. Under the above conditions, the total ginsenoside content of *Panax quinquefolius* L. fermented by *Schizophyllum commune* was 10.28%, the content of crude polysaccharide was 12.85%, and the content of total flavonoids was 0.67%, which were higher than that of unfermented *Panax quinquefolius* L., and the contents of macromolecules ginsenoside Rb₁, Rg₂ and Re decreased, while the contents of micromolecules ginsenoside Rg₁, Rc, Rb₂, Rd, Rg₃, s-Rh₂, r-Rh₂ and pseudo-ginsenoside CK increased. Among them, rare ginsenoside Rg₃, s-Rh₂, r-Rh₂, and pseudo-ginsenoside CK were new saponins. *In vitro* antioxidant tests showed that the IC₅₀ values of DPPH and ABTS⁺ free radicals scavenging ability of the fermented products of *Panax quinquefolius* L. by *Schizophyllum commune* were 3165 and 10910 μg/mL, respectively, which were stronger than those of unfermented *Panax quinquefolius* L.. This study proved that the solid state fermentation of *Panax quinquefolius* L. by *Schizophyllum commune* increased the contents of total ginsenoside, crude polysaccharide, total flavone and rare ginsenoside, and enhanced the antioxidant capacity, which provided data support for the development and utilization of *Panax quinquefolius* L..

Key words: *Panax quinquefolius* L.; *Schizophyllum commune*; solid state fermentation; response surface; ginsenoside; antioxidation

西洋参(*Panax quinquefolius* L.), 又名洋参、花旗参等, 系五加科人参属植物, 原产于美国和加拿大, 其化学成分丰富, 生物活性广泛, 药用价值高, 受到全世界人民的喜爱^[1]。西洋参具有补气养阴、清热生津之功效, 用于改善气虚阴亏、虚热烦倦、咳喘痰血、内热消渴和口干舌燥等症状。西洋参的活性成分主要有有人参皂苷、多糖、黄酮等, 其中皂苷 Rg₁、Rb₁、Re、Rb₂、Rc、Rd、Rg₂ 是西洋参中含量较高的 7 种, 质量分数占总人参皂苷的 90% 以上^[2]。随着国内外对西洋参研究的深入, 发现西洋参的人参皂苷, 尤其是二醇系人参皂苷, 在酸、碱、高温和微生物的作用下, 可以分解为西洋参中没有的稀有皂苷 Rg₃、s-Rh₂、r-Rh₂ 和拟人参皂苷 CK 等^[3-4]。其中, Rg₃ 具有很强的抗氧化能力, 并能提高人体对多种癌细胞的抗增殖作用^[5-6]。Rh₂ 是抗肿瘤效果最好的人参皂苷类, 能通过抑制肿瘤细胞分裂周期, 来抑制肿瘤细胞扩散^[7]。拟人参皂苷 CK 在抗肿瘤、抗菌和治疗白血病方面具有良好功效^[8-10]。西洋参中多糖是仅次于皂苷的活性成分, 具有抗氧化、提高机体免疫力和抗肿瘤等作用^[11-13]。西洋参黄酮具有抗氧化和降血压等作用^[14-15]。

裂褶菌(*Schizophyllum commune* Fr.) 又称白参、树花、八担柴, 是一种营养丰富的大型真菌^[16]。它多在针叶树或阔叶树的腐木、枯枝、倒木上发现, 是典型的木腐菌; 味道鲜美, 口感鲜嫩, 具有浓郁菇类香味, 可在不同的环境下生长^[17]。裂褶菌具有滋补强壮、清肝明目、镇静作用, 在民间常用于治疗白带异常, 药用价值明显^[18]。目前对裂褶菌的研究颇为广泛, 欧美国家、日本等国在裂褶菌多糖的抗癌活性物质、分子生物学、优良菌株的选育等方面研究较多^[19-20], 国内主要在裂褶菌的人工驯化栽培及栽培现状、裂褶菌多糖利用、药用价值及发酵条件等方面展开研究^[21]。经研究发现裂褶菌主要功效成分裂褶菌多糖具有抗肿瘤^[22-23]、提高免疫力^[24]、抗疲劳和抗氧化等作用^[25-26]。利用裂褶菌进行发酵有效物质生物转化

成为新的热点。刘海英^[27] 利用裂褶菌发酵转化大豆异黄酮, 结果表明大豆异黄酮糖苷被转化为苷元。

鉴于此, 本研究以西洋参为原料, 创新性采用裂褶菌作为固态发酵西洋参的菌种, 将裂褶菌的活性物质与西洋参的活性物质结合, 产生稀有人参皂苷, 获得更多的人参皂苷、多糖、黄酮等活性成分, 产生极具保健价值的裂褶菌西洋参发酵物。并通过单因素实验和响应面 Box-Behnken 试验设计, 对裂褶菌固态发酵西洋参工艺进行优化, 建立一个高效的发酵方法, 为西洋参的发酵工艺提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

西洋参 黑龙江省海林西洋参种植基地; 标准品: 人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rg₂、Rc、Rb₂、Rd、Rg₃、s-Rh₂、r-Rh₂、拟人参皂苷 CK 99.5%, 上海纯优生物科技有限公司; 芦丁对照品 上海源叶生物科技有限公司; 无水乙醇 分析纯, 沈阳迈科麦科技有限公司; 裂褶菌(*Schizophyllum commune*)1 号菌株, 编号 336356 云南食用菌研究所; 裂褶菌(*Schizophyllum commune*)2 号菌株(编号 SHBCC D11505)和 3 号菌株(编号 SHBCC D61817) 上海保藏生物技术中心; 马铃薯葡萄糖琼脂培养基、马铃薯葡萄糖肉汤 北京奥博星生物技术有限责任公司; 葡萄糖 天津市天力化学试剂有限公司; 浓硫酸 天津市祥瑞鑫化工科技有限公司; 苯酚 天津市红岩化学试剂厂; 无水乙醇、正丁醇、甲醇(分析纯) 天津市永大化学试剂有限公司; 乙腈、甲醇 色谱纯, 上海阿拉丁股份有限公司; 实验用去离子水 娃哈哈集团。

KQ-400KDE 型高功率超声波清洗器 济宁亨达超声波有限公司; CARY100 型紫外分光光度计 上海精科有限公司; XS204 型分析天平 瑞士 METTLER TOLEDO 公司; 3-18K 型冷冻离心机 德国 SIGMA 公司; NAI-T1-50 型台式真空冷冻干燥机 上海那艾精密仪器有限公司; SW-CJ-2D 型双人净化工作台 上海苏净实业有限公司; LHS-250HC-

11 型恒温恒湿箱 上海一恒科学仪器有限公司; HQZ-F100 型振荡培养箱 哈尔滨市东联电子技术开发有限公司; BL-50A 型立式压力蒸汽灭菌器 上海东亚压力容器制造有限公司; TSE240V-ULTS 型立式超低温冰箱、U3000 型高效液相色谱仪 美国赛默飞公司; SHB-III 型循环水式真空泵 无锡市长庆化工防腐设备有限公司; DYF-500 型万能粉碎机 浙江瑞昊机械制造有限公司; DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱 苏州德沃斯烘箱制造有限公司; DK-98-IIA 型电热恒温水浴锅 天津市泰斯特仪器有限公司; QT-1 型旋涡混合器 上海琪特分析仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程 西洋参→冷冻干燥→粉碎(过 80 目)→西洋参粉→灭菌→接种裂褶菌→培养→冷冻干燥→粉碎(过 80 目)→西洋参发酵产物→活性物质含量检测

操作要点: 将西洋参冷冻干燥磨粉(过 80 目)制成西洋参粉。称取 5.0 g 西洋参粉放入 50 mL 三角瓶中, 加入蒸馏水 2.5 g 搅拌均匀, 生物透气膜封口, 在灭菌锅内 121 °C 灭菌 20 min, 放冷, 备用。在无菌环境下, 向三角瓶中加入 6%(w/w) 接种量的裂褶菌和 2.5 g 无菌水, 搅拌均匀后, 在 25 °C、80% 湿度下培养 8 d, 使裂褶菌白色菌丝布满三角瓶, 冷冻干燥, 粉碎过 80 目筛, 即得西洋参发酵物。检测西洋参发酵物中活性物质人参皂苷、粗多糖和总黄酮的含量。

1.2.2 人参皂苷含量测定 人参皂苷对照品溶液的制备: 精密称取标准品人参皂苷(Rg₁、Re、Rb₁、Rg₂、Rc、Rb₂、Rd、Rg₃、CK、s-Rh₂、r-Rh₂), 溶于甲醇溶液中, 定容, 稀释成合适的浓度梯度, 过滤待检测。

色谱条件: 色谱柱(Waters-C₁₈, 250 mm×4.6 mm, 5 μm); 检测波长: 203 nm; 流速: 1.0 mL/min, 柱温: 40 °C; 流动相为乙腈溶液; 梯度洗脱程序为: 0~25 min, 乙腈的体积分数为 20%; 25~60 min, 乙腈的体积分数由 20% 增至 40%; 60~90 min, 乙腈的体积分数由 40% 增至 55%; 90~120 min, 乙腈的体积分数 55%^[28]。

精密称取 1.0 g 西洋参发酵物, 加入 50.0 mL 水饱和正丁醇, 称定重量, 水浴加热回流 1.5 h, 放冷再称定重量, 用水饱和正丁醇补足减轻重量, 摇匀过滤。精密量取滤液 25 mL 蒸干, 残渣加 50% 甲醇适量使其溶解, 定容于 10 mL 容量瓶, 摇匀滤过, 针入高效液相色谱检测, 按下面公式计算人参皂苷含量:

$$W_1(\%) = \frac{C_1 \times V_1 \times D_1}{M_1} \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

式中: W₁ 表示人参皂苷含量, %; C₁ 表示根据峰面积计算出的溶液质量浓度, mg/mL; V₁ 表示供试品溶液体积, mL; D₁ 表示溶液稀释倍数; M₁ 表示取样

量, mg。

1.2.3 粗多糖含量测定 葡萄糖对照品溶液的制备: 精密称取葡萄糖对照品若干, 配成浓度 0.2 mg/mL 对照溶液, 备用。

标准曲线的绘制: 采用苯酚-硫酸法, 精密移取葡萄糖对照溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 放于 20 mL 具塞比色管中, 用蒸馏水补至 1.0 mL。移液管取 1.0 mL 5% 苯酚溶液于比色管中, 再以较快的速度加入 5.0 mL 浓硫酸, 静置 10 min。将比色管置于涡旋振荡器上振荡十几秒, 使溶液充分反应, 然后把试管放置在水浴锅中 30 °C 下反应 20 min, 于 490 nm 波长下, UV 测吸光度^[29]。以葡萄糖浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线。

西洋参发酵物粗多糖含量的测定: 精密称取 1.0 g 西洋参发酵物, 加入无水乙醇 40 mL, 在 280 W、60 °C、超声提取 40 min, 提取液在 8000 r/min 下离心 15 min, 去上清, 残渣加 15 mL 的水, 超声提取 3 次, 每次 30 min, 每次 8000 r/min 离心 15 min, 合并三次的上清液于 50 mL 容量瓶中, 加水定容至刻度, 摇匀, 即得样品粗多糖待测液。移取粗多糖待测液 0.5 mL, 照标准曲线的方法测定吸光值, 带入标准曲线中, 计算粗多糖浓度。按下面公式计算粗多糖含量:

$$W_2(\%) = \frac{C_2 \times V_2 \times D_2}{M_2} \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

式中: W₂ 表示粗多糖含量, %; C₂ 表示供试品溶液质量浓度, mg/mL; V₂ 表示供试品溶液体积, mL; D₂ 表示溶液稀释倍数; M₂ 表示取样量, mg。

1.2.4 总黄酮含量测定 总黄酮对照品溶液的制备: 精密称取芦丁标准品若干, 溶于 60% 乙醇溶液中, 配制 0.1 mg/mL 的对照溶液, 备用。

标准曲线的绘制: 采用亚硝酸钠-硝酸铝法, 从芦丁对照溶液中分别移取 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL 放入 10 mL 比色管, 加 60% 乙醇溶至总体积 5 mL。加入 0.3 mL 质量分数为 5% 的 NaNO₂, 震荡混匀后, 静置 8 min, 再加 0.3 mL 质量分数为 10% 的 Al(NO₃)₃, 振荡摇匀后, 静置 10 min, 最后加 4 mL 质量分数为 4% 的 NaOH 溶液, 用 60% 乙醇定容, 摇匀静置 10 min 后, 在 500 nm 最大吸收波长测定吸光度^[30]。绘制芦丁浓度与吸光度的标准曲线。

西洋参发酵物总黄酮含量的测定: 精密称取 1.0 g 西洋参发酵物, 加入 60% 乙醇溶液 30 mL, 在 280 W、50 °C 条件下, 超声提取 3 次, 每次 40 min, 每次 8000 r/min 离心 15 min, 合并三次的上清液于 100 mL 容量瓶中, 加 60% 乙醇溶液定容至刻度, 摇匀, 即得样品总黄酮待测液。精密移取总黄酮待测液 1.0 mL, 照标准曲线的方法测定吸光值, 带入标准曲线中, 计算总黄酮浓度。按下面公式计算总黄酮含量:

$$W_3(\%) = \frac{C_3 \times V_3 \times D_3}{M_3} \times 100 \quad \text{式 (3)}$$

式中: W_3 表示总黄酮含量, %; C_3 表示供试品溶液质量浓度, mg/mL; V_3 表示供试品溶液体积, mL; D_3 表示溶液稀释倍数; M_3 表示取样量, mg。

1.2.5 裂褶菌菌株的筛选 初选用于培养裂褶菌子实体的裂褶菌 1 号菌株(编号 336356)、用于科研生产 L-苹果酸的裂褶菌 2 号菌株(编号 SHBCC D11505)和用于分解木质素的裂褶菌 3 号菌株(编号 SHBCC D61817), 以期通过 1 号菌株旺盛生长能力, 2 号菌株分泌的 L-苹果酸和 3 号菌株分解木质素能力来转化西洋参中人参皂苷、粗多糖和黄酮等活性成分。按 1.2.1 方法分别制备西洋参发酵物。并检测裂褶菌 1 号菌株西洋参发酵物、裂褶菌 2 号菌株西洋参发酵物、裂褶菌 3 号菌株西洋参发酵物和未发酵西洋参中的总人参皂苷的含量、粗多糖的含量和总黄酮含量, 选取适合菌株。

1.2.6 单因素实验 根据 1.2.1 方法, 恒定培养湿度 80%, 选取在条件 pH7, 接种量 8%, 发酵 8 d, 考察不同发酵温度(20、25、30、35 和 40 °C)对发酵物中总人参皂苷含量的影响; 固定条件 pH7, 温度为 30 °C, 裂褶菌固态发酵西洋参 8 d, 考察不同裂褶菌的接种量(4%、6%、8%、10%、12% 和 14%)对发酵物中总人参皂苷含量的影响; 固定条件发酵温度 30 °C, 接种量 10%, 发酵 8 d, 考察不同 pH(4、5、6、7、8 和 9)对发酵物中总人参皂苷含量的影响; 固定条件 pH7, 发酵温度 30 °C, 接种量 10%, 考察不同发酵时间(2、4、6、8、10 和 12 d)对发酵物中总人参皂苷含量的影响。

1.2.7 响应面优化试验 为全面考察裂褶菌发酵西洋参工艺中各因素的影响, 在单因素实验结果的基础上, 运用响应面软件 Design-expert 8.0 进行 Box-Behnken 试验设计。精密称取 5.0 g 西洋参粉放入 50 mL 三角瓶中, 以裂褶菌接种量(X_1)、发酵温度(X_2)、发酵时间(X_3)和发酵 pH(X_4)为自变量, 总人参皂苷含量(Y_1)为响应值, 采用 4 因素 3 水平响应面试验模型进行优化。因素水平和编码见表 1。

表 1 响应面试验因素水平编码表

Table 1 Response surface test factor level coding table

水平	因素			
	X_1 (%)	X_2 (°C)	X_3 (d)	X_4
-1	8	25	9	5
0	10	30	10	6
+1	12	35	11	7

1.2.8 裂褶菌固态发酵西洋参对活性成分的影响 在优化裂褶菌固态发酵工艺后, 检测裂褶菌西洋参发酵物中各人参皂苷的变化、粗多糖含量的变化和总黄酮含量的变化, 阐明裂褶菌固态发酵西洋参过程中对各活性成分的影响。

1.3 体外抗氧化实验

1.3.1 DPPH 自由基清除率实验 通过 DPPH 自由

基清除率实验评价未发酵西洋参、西洋参发酵物及 V_C 对照品的清除自由基的能力。分别称取 10.0 g 未发酵西洋参和西洋参发酵物用 100 mL 40% 乙醇超声提取 1 h, 50 °C 减压旋蒸去乙醇, 冻干成粉。参考 Bai 等^[31]的方法略有修改, 分别配制(62.5、1000、2500、5000、10000、20000、40000 和 80000 $\mu\text{g/mL}$)浓度的未发酵西洋参和西洋参发酵物冻干粉溶液, 再配制(62.5、125、250、500、1000、1500、5000、10000、20000、40000 和 80000 $\mu\text{g/mL}$)浓度的 V_C 对照品溶液, 取样品溶液 1.5 mL 到比色管中, 再加入等体积的 0.1 mmol/L DPPH 95% 乙醇溶液, 混匀, 室温避光反应 30 min, 517 nm 波长下检测吸光值, 按公式计算 DPPH 自由基清除率:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(4)}$$

式中: A 为 DPPH 待测样品的吸光值; A_0 为空白样品的吸光值。

1.3.2 ABTS⁺自由基清除率实验 通过 ABTS⁺法评价未发酵西洋参、西洋参发酵物及 V_C 对照品的清除自由基的能力。按 1.3.1 处理样品, 配制 V_C 对照品溶液和样品溶液, 再参考 ARTS 等^[32]的方法略有修改, 配制在 734 nm 波长下的吸光度为 0.70 ± 0.02 的 ABTS⁺稀释液, 分别取不同浓度的 V_C 对照品溶液和样品溶液各 0.1 mL 与 4.9 mL ABTS⁺稀释液混合, 常温下避光反应 6 min, 在 734 nm 波长下检测吸光值。按公式计算 ABTS⁺自由基清除率:

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \times 100 \quad \text{式(5)}$$

式中: A_0 为空白样品的吸光值; A_i 为 ABTS⁺待测样品的吸光值。

1.4 数据处理

上述实验均重复 3 次, 并取平均值为实验结果。利用 DPS 数据处理系统、Design-Expert 11 软件、Origin 8.06 和 IC₅₀ 计算器分别对实验结果进行统计学分析、作图、响应面分析和抗氧化实验的 IC₅₀ 值计算。

2 结果与分析

2.1 活性物质标准曲线的建立

人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 、 R_{g_2} 、 R_c 、 R_{b_2} 、 R_d 、 R_{g_3} 、 $s\text{-Rh}_2$ 、 $r\text{-Rh}_2$ 、拟人参皂苷 CK、粗多糖和总黄酮的线性回归方程见表 2。由表 2 可知, 各皂苷、粗多糖和总黄酮的相关系数 R^2 均大于 0.999, 说各成分在表 2 指定的浓度范围内, 线性关系良好。

2.2 裂褶菌菌株筛选结果

检测 3 种裂褶菌西洋参发酵物和未发酵西洋参的活性成分, 结果如表 3 所示: 总人参皂苷含量中裂褶菌 2 号菌株 > 裂褶菌 1 号菌株 > 裂褶菌 3 号菌株 > 未发酵西洋参; 粗多糖含量中裂褶菌 3 号菌株 > 裂褶菌 2 号菌株 > 未发酵西洋参 > 裂褶菌 1 号菌株; 总黄酮含量中裂褶菌 2 号菌株 > 裂褶菌 1 号菌株 > 裂褶

菌3号菌株>未发酵西洋参。所以,裂褶菌2号菌株更适合于生产人参皂苷,裂褶菌3号菌株更适合于生产多糖。由于总皂苷价值高于粗多糖,因此选择裂褶菌2号菌株为后续实验的菌株。

表2 活性物质标准曲线
Table 2 Standard curve of active substance

成分	回归方程	R ²	线性范围(mg/mL)
人参皂苷 Rg ₁	y=38.056x+0.7341	0.9999	0.28~2.22
人参皂苷 Re	y=49.251x+0.8111	0.9999	0.24~1.89
人参皂苷 Rb ₁	y=38.056x+0.7341	0.9999	0.29~2.22
人参皂苷 Rg ₂	y=67.803x+0.0279	0.9998	0.06~0.56
人参皂苷 Rc	y=46.459x+0.1264	0.9999	0.05~0.56
人参皂苷 Rb ₂	y=43.575x+0.1734	0.9999	0.05~0.56
人参皂苷 Rd	y=49.523x+1.1788	0.9998	0.21~2.13
人参皂苷 Rg ₃	y=59.902x+0.0276	0.9999	0.03~0.27
拟人参皂苷 CK	y=91.097x+0.232	0.9999	0.05~0.60
人参皂苷 s-Rh ₂	y=93.638x-0.0038	0.9995	0.002~0.014
人参皂苷 r-Rh ₂	y=84.055x+0.0455	0.9994	0.002~0.021
粗多糖	y=4.9367x-1.2955	0.9992	0.04~0.20
总黄酮	y=0.0469x-0.0011	0.9994	0.05~0.30

表3 西洋参发酵物与未发酵西洋参活性成分比较
Table 3 Comparison of active components between fermented and unfermented *Panax quinquefolius* L.

种类	总人参皂苷含量(%)	粗多糖含量(%)	总黄酮含量(%)
裂褶菌1号	7.14±0.15	3.94±0.08	0.31±0.01
裂褶菌2号	9.30±0.13	12.52±0.12	0.60±0.07
裂褶菌3号	6.68±0.08	24.72±0.23	0.25±0.01
西洋参	6.03±0.09	11.83±0.06	0.17±0.01

2.3 单因素实验结果

2.3.1 发酵温度对总人参皂苷含量的影响 由图1可知,发酵温度对总人参皂苷含量具有显著性影响($P<0.05$),裂褶菌固态发酵西洋参温度在20~30℃条件下,总人参皂苷含量缓慢增加,在30℃时达到最大值9.2%±0.1%。在30~40℃条件下,总人参皂苷含量快速下降。这是因为30℃以上裂褶菌生长缓慢,35℃以上裂褶菌停止生长,40℃裂褶菌出现

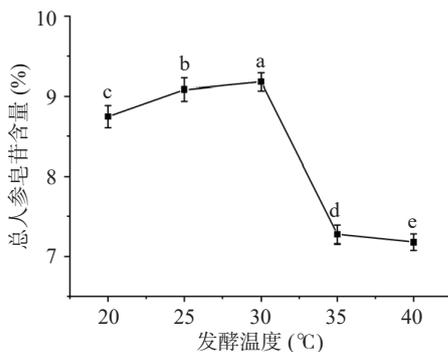


图1 发酵温度对总人参皂苷含量的影响
Fig.1 Effect of fermentation temperature on total ginsenoside content

注:同一指标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),图2~图4同。

死亡^[33],不能发挥转化人参皂苷作用。故最适发酵温度选择为30℃。

2.3.2 裂褶菌接种量对总人参皂苷含量的影响 由图2可知,裂褶菌接种量对总人参皂苷含量具有显著性影响($P<0.05$),当裂褶菌接菌量在4%~10%时,随着接菌量的增大,总人参皂苷含量也逐渐增加,当裂褶菌接菌量达到10%时总人参皂苷含量最高,达9.3%±0.1%;当裂褶菌接菌量高于10%时,总人参皂苷含量逐渐下降。这是因为接种量的增加明显提高了固态发酵体系中裂褶菌的含量,提高了发酵效率;当接种量高于10%时,发酵三角瓶中裂褶菌数量过多,产生竞争性抑制,影响菌体生长代谢,减弱了发酵效果;同时会消耗部分人参皂苷用于菌种繁殖,降低其含量^[34]。故最适接种量选择为10%。

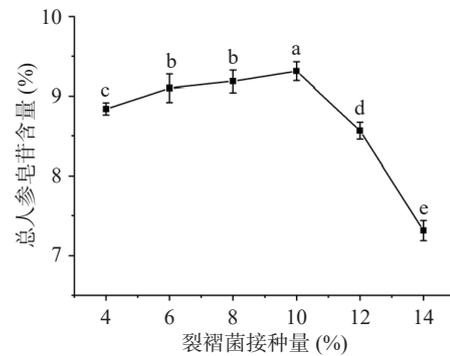


图2 裂褶菌接种量对总人参皂苷含量的影响
Fig.2 Effect of inoculation amount of *Schizophyllum commune* on total ginsenoside content

2.3.3 pH对总人参皂苷含量的影响 由图3可知,pH对总人参皂苷含量具有显著性影响($P<0.05$),裂褶菌固态发酵西洋参pH在4~6条件下,总人参皂苷含量逐渐增加;在pH6时达到最大值9.4%±0.2%。在pH6~8条件下,总人参皂苷含量缓慢下降;pH9时,总人参皂苷含量大幅下降。这是由于裂褶菌生长喜酸性环境,菌丝生长的pH适宜为5~6^[33];发酵体系中,裂褶菌分泌的β-葡萄糖苷酶在pH6~8之间具有较好的活性^[29]。故最适发酵pH选择为6。

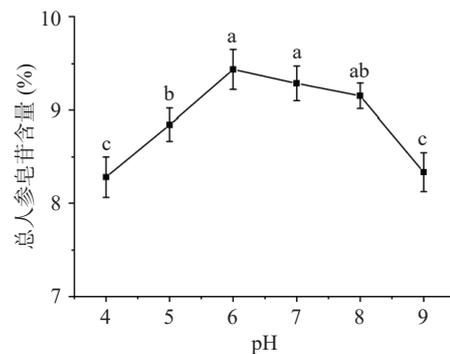


图3 pH对总人参皂苷含量的影响
Fig.3 Effect of pH value on total ginsenoside content

2.3.4 发酵时间对总人参皂苷含量的影响 由图4可知,发酵时间对总人参皂苷含量具有显著性影响

($P<0.05$), 裂褶菌固态发酵西洋参时间 2~10 d, 总人参皂苷含量快速增加, 在 10 d 时达到最大值 $10.3\% \pm 0.3\%$ 。发酵 10~12 d, 总人参皂苷含量逐渐下降。这是因为在裂褶菌发酵初期, 发酵三角瓶中营养物质充足, 裂褶菌代谢旺盛, 有利于向人参皂苷的转化; 时间过长, 营养物质消耗完, 裂褶菌消耗部分人参皂苷用于菌种繁殖, 在皂苷水解酶作用下生成皂苷元或次皂苷^[34]。故最适发酵时间选择为 10 d。

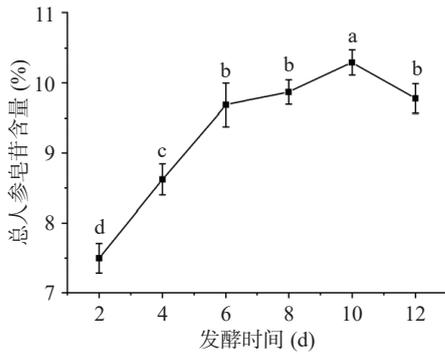


图 4 发酵时间对总人参皂苷含量的影响

Fig.4 Effect of fermentation time on total ginsenoside content

2.4 响应面优化发酵工艺

2.4.1 Box-Behnken 试验设计 根据单因素实验结果, 利用响应面 Box-Behnken 法以裂褶菌接种量 (X_1)、发酵温度 (X_2)、发酵时间 (X_3) 以及发酵 pH (X_4), 4 个因素为自变量, 以总人参皂苷含量 (Y_1) 为响应值, 设计 4 因素 3 水平试验模型。设计方案及试验结果见表 4。

通过 Design-Expert 8.06 软件对表 4 中的试验数据进行多元二次多项式回归拟合, 得到总人参皂苷含量 (Y_1) 回归方程:

$$Y_1 = 10.22 + 0.51X_1 + 0.62X_2 - 0.43X_3 - 0.37X_4 + 0.51X_1X_2 - 0.54X_1X_3 + 0.41X_1X_4 + 0.34X_2X_3 + 0.029X_2X_4 + 0.39X_3X_4 - 0.89X_1^2 - 1.29X_2^2 - 1.01X_3^2 - 1.03X_4^2$$

由表 5 可知, 总人参皂苷含量 (Y_1) 回归模型的 P 值 <0.01 , 极显著, 说明这个二次回归方程模型可靠。并且, Y_1 模型的失拟项不显著 ($P>0.05$), 说明 Y_1 模型未失拟, 拟合可信。模型决定系数 $R^2=96.50\%$, 调整决定系数 $R^2_{adj}=91.20\%$, 说明 91.20% 的响应值可变性可以被该模型解释, 该模型拟合良好。下述方差结果表明, Y_1 模型可以准确描述各因素与总人参皂苷含量的关系。模型中因素 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 和 X_4^2 对总人参皂苷含量影响极显著 ($P<0.01$), 因素 X_1X_4 和 X_3X_4 对总人参皂苷含量的影响显著 ($P<0.05$), 其余因素不显著。通过 F 值大小可知, 各因素对总人参皂苷含量影响强弱的顺序为 X_2 (发酵温度) $> X_1$ (裂褶菌接种量) $> X_3$ (发酵时间) $> X_4$ (发酵 pH)。

2.4.2 各因素交互作用分析 如图 5 所示, 裂褶菌接种量 (X_1) 和发酵温度 (X_2)、裂褶菌接种量 (X_1) 和发

表 4 Box-Behnken 设计方案及结果

Table 4 Design and result of Box-Behnken

试验号	水平编码				Y_1 (%)
	X_1	X_2	X_3	X_4	
1	0	-1	1	0	6.22±0.12
2	-1	0	1	0	7.70±0.18
3	0	-1	0	1	6.81±0.14
4	1	0	1	0	7.78±0.23
5	0	0	0	0	10.29±0.18
6	0	-1	0	-1	7.55±0.26
7	-1	1	0	0	7.50±0.17
8	0	0	-1	1	7.97±0.22
9	-1	0	-1	0	7.62±0.21
10	0	1	-1	0	8.95±0.18
11	0	0	-1	-1	9.15±0.14
12	1	0	0	1	8.65±0.25
13	0	0	0	0	10.80±0.24
14	0	-1	-1	0	7.90±0.17
15	0	1	1	0	8.62±0.28
16	-1	0	0	-1	8.77±0.19
17	0	0	0	0	9.82±0.22
18	-1	-1	0	0	7.82±0.13
19	1	0	-1	0	9.87±0.21
20	1	0	0	-1	8.96±0.15
21	0	0	1	1	8.15±0.18
22	0	0	0	0	9.99±0.27
23	1	1	0	0	9.42±0.13
24	0	0	0	0	10.19±0.12
25	1	-1	0	0	7.70±0.23
26	-1	0	0	1	6.81±0.15
27	0	0	1	-1	7.78±0.16
28	0	1	0	1	8.15±0.24
29	0	1	0	-1	8.78±0.15

表 5 方差分析结果

Table 5 ANOVA of test results

来源	平方和	自由度	均差	F 值	P 值	显著性
模型	34.75	14	2.48	21.73	<0.0001	**
X_1	3.16	1	3.16	27.69	0.0001	**
X_2	4.58	1	4.58	40.10	<0.0001	**
X_3	2.27	1	2.27	19.87	0.0005	**
X_4	1.66	1	1.66	14.50	0.0019	**
X_1X_2	1.05	1	1.05	9.15	0.0091	**
X_1X_3	1.18	1	1.18	10.31	0.0063	**
X_1X_4	0.68	1	0.68	5.96	0.0285	*
X_2X_3	0.46	1	0.46	4.01	0.0651	
X_2X_4	3.27×10^{-3}	1	3.27×10^{-3}	0.029	0.8682	
X_3X_4	0.61	1	0.61	5.31	0.037	*
X_1^2	5.19	1	5.19	45.41	<0.0001	**
X_2^2	10.84	1	10.84	94.91	<0.0001	**
X_3^2	6.56	1	6.56	57.44	<0.0001	**
X_4^2	6.84	1	6.84	59.90	<0.0001	**
残差	1.6	14	0.11			
失拟项	1.05	10	0.1	0.75	0.6743	不显著
纯误差	0.55	4	0.14			
总离差	36.35	28				
R^2	0.965					
R^2_{adj}	0.912					

注: *表示差异显著 ($P<0.05$); **表示差异极显著 ($P<0.01$)。

酵时间(X_3)、裂褶菌接种量(X_1)和发酵 pH(X_4)、发酵时间(X_3)和发酵 pH(X_4)的各 2D 等高线图均呈现椭圆状,表明各组因素间的交互作用显著^[35];从 3D 响应面图中可见,各变量对总人参皂苷含量影响均呈现先增后减的趋势,响应面趋于抛物线,且曲面斜率陡峭,表明各组因素间的交互作用显著^[36],与 Y_1 模型方差结果一致;而且深色部分主要集中在

10.0% 范围内,说明模型拟合出的最高总人参皂苷含量大于 10.0%。

2.4.3 模型验证结果 根据二次回归方程,拟合裂褶菌固态发酵西洋参工艺条件及结果。预测优化工艺条件为,裂褶菌接种量 10.86%,发酵温度 31.40 °C、发酵时间 9.69 d,发酵 pH5.85,总人参皂苷含量 10.51%±0.3%。根据实际操作需要,现实优化工艺条

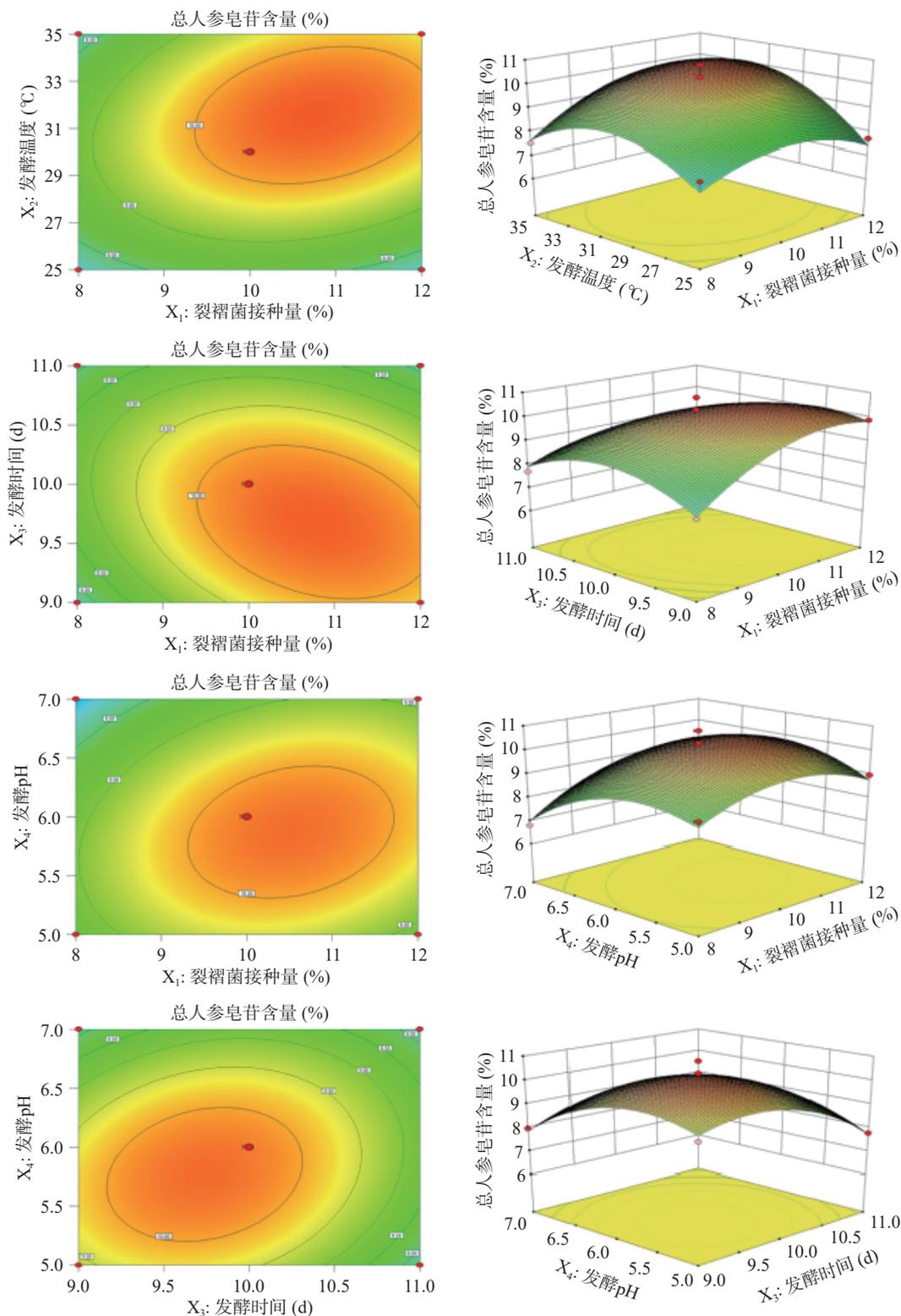


图 5 各因素交互作用对总人参皂苷含量影响的等高线与相应曲面图

Fig.5 Contours and response surface plots of the effect of various factors interactions on the influence of total ginsenoside content

件为, 裂褶菌接种量 10.9%, 发酵温度 31 ℃、发酵时间 10 d, 发酵 pH5.9, 总人参皂苷含量 10.28%±0.2%。误差在 2.0% 之内, 说明响应面拟合的工艺模型准确可靠。

2.4.4 裂褶菌固态发酵西洋参对活性成分的影响结果 在裂褶菌固态发酵西洋参的优化工艺条件下发酵西洋参, 结果如表 6 所示, 人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₂ 含量大幅下降, 人参皂苷 Re 含量小幅下降; 人参皂苷 Rg₁、Rc、Rb₂、Rd 含量均上升, 其中人参皂苷 Rd 含量大幅上升; Rg₃、s-Rh₂、r-Rh₂ 和拟人参皂苷 CK 为新出现皂苷。这说明西洋参原有人参皂苷 Rb₁、Rg₂ 和 Re 经裂褶菌微生物转化, 分解为 Rg₁、Rc、Rb₂、Rd、Rg₃、s-Rh₂、r-Rh₂、拟人参皂苷 CK, 其中人参皂苷 Rd 为主要分解产物。同时, 西洋参中粗多糖含量从 11.83%±0.06% 上升为 12.85%±0.05%, 说明裂褶菌发酵西洋参过程中产生多糖; 西洋参中黄酮含量从 0.17%±0.01% 上升为 0.67%±0.01%, 说明裂褶菌发酵西洋参过程中产生黄酮类物质。

表 6 裂褶菌固态发酵西洋参对活性成分的影响
Table 6 Effect of solid state fermentation of *Panax quinquefolius* L. by *Schizophyllum commune* on active components

成分	未发酵西洋参(%)	发酵物(%)
人参皂苷Rb ₁	3.31±0.03	1.41±0.05
人参皂苷Rg ₂	0.41±0.01	0.21±0.01
人参皂苷Re	1.31±0.05	1.24±0.06
人参皂苷Rg ₁	0.11±0.01	0.14±0.01
人参皂苷Rc	0.43±0.02	0.65±0.01
人参皂苷Rb ₂	0.44±0.02	0.69±0.02
人参皂苷Rd	0.58±0.02	4.17±0.02
人参皂苷Rg ₃	0.00±0.00	0.36±0.02
人参皂苷s-Rh ₂	0.00±0.00	0.02±0.01
人参皂苷r-Rh ₂	0.00±0.00	0.04±0.01
拟人参皂苷CK	0.00±0.00	0.43±0.01
粗多糖	11.83±0.06	12.85±0.05
总黄酮	0.17±0.01	0.67±0.01

2.5 体外抗氧化能力实验结果

2.5.1 DPPH 体外抗氧化实验结果 如图 6 所示, 对照 V_C、西洋参发酵物和未发酵西洋参对 DPPH 自由基均有清除作用, 随着溶液浓度增加清除能力增强, 其中 V_C 溶液浓度从 62.5 μg/mL 增加到 1000 μg/mL 时, 对 DPPH 自由基的清除率从 37.23% 增加到 89.95%, 后续浓度 V_C 溶液对 DPPH 自由基的清除率达到 100%; 西洋参发酵物待测溶液浓度从 62.5 μg/mL 增加到 80000 μg/mL 时, 对 DPPH 自由基的清除率从 1.52% 增加到 86.65%, 在相同浓度下未发酵西洋参待测溶液对 DPPH 自由基的清除率从 1.24% 增加到 80.55%。将各 R 值与对应的溶液浓度, 分别带入 IC₅₀ 计算器软件中进行计算。结果, V_C 的 IC₅₀ 值为 134 μg/mL, 西洋参发酵物的 IC₅₀ 值为

31365 μg/mL, 未发酵西洋参的 IC₅₀ 值为 44169 μg/mL。因此, 清除 DPPH 自由基能力的强弱为: V_C>西洋参发酵物>未发酵西洋参。这是因为裂褶菌西洋参发酵物中抗氧化能力强的西洋参多糖、总黄酮和稀有皂苷含量均高于未发酵西洋参^[37-38], 所以裂褶菌西洋参发酵物清除 DPPH 自由基能力好于未发酵西洋参。

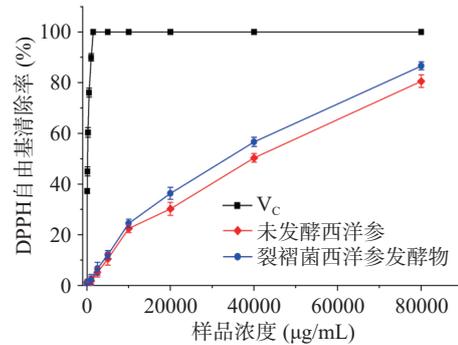


图 6 DPPH 自由基清除曲线
Fig.6 DPPH free radical removal curve

2.5.2 ABTS⁺体外抗氧化实验结果 如图 7 所示, 对照 V_C、西洋参发酵物和未发酵西洋参对 ABTS⁺自由基均有清除作用, 随着溶液浓度增加清除能力增强, 其中 V_C 溶液浓度从 62.5 μg/mL 增加到 1000 μg/mL 时, 对 ABTS⁺自由基的清除率从 29.83% 增加到 97.86%, 后续浓度 V_C 溶液对 ABTS⁺自由基的清除率达到 100%; 西洋参发酵物待测溶液浓度从 62.5 μg/mL 增加到 80000 μg/mL 时, 对 ABTS⁺自由基的清除率从 3.22% 增加到 89.71%, 在相同浓度下未发酵西洋参待测溶液对 ABTS⁺自由基的清除率从 2.42% 增加到 82.57%。将各 R 值与对应的溶液浓度, 分别带入 IC₅₀ 计算器软件中进行计算。结果, V_C 的 IC₅₀ 值为 87 μg/mL, 西洋参发酵物的 IC₅₀ 值为 10910 μg/mL, 未发酵西洋参的 IC₅₀ 值为 18713 μg/mL。因此, 清除 ABTS⁺自由基能力的强弱为: V_C>西洋参发酵物>未发酵西洋参。虽然西洋参发酵物和未发酵西洋参较 V_C 的清除 ABTS⁺自由基的能力存在差距, 但西洋参发酵物和未发酵西洋参具有抗氧化能力。由于, 清除 ABTS⁺自由基能力与清除 DPPH 自

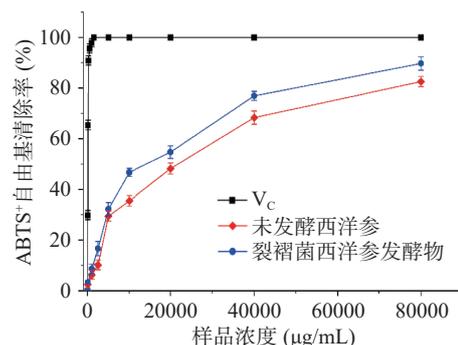


图 7 ABTS⁺自由基清除曲线
Fig.7 ABTS⁺ free radical removal curve

由基能力呈极显著正相关^[39],所以裂褶菌西洋参发酵物清除 ABTS⁺自由基的能力好于未发酵西洋参。

3 结论

本研究以西洋参为原料,筛选适合裂褶菌菌种,通过单因素和响应面试验优化裂褶菌发酵西洋参工艺,得到优化条件:裂褶菌接种量 10.9%,发酵温度 31 °C,发酵时间 10 d,发酵 pH5.9。结果显示:裂褶菌西洋参发酵物的总人参皂苷含量为 10.28%,粗多糖含量为 12.85%,总黄酮含量为 0.67%,较未发酵西洋参的三者含量均有提高。并且大分子人参皂苷 Rb₁、Rg₂ 和 Rg₃ 含量降低,小分子人参皂苷 Rg₁、Rc、Rb₂、Rd、Rg₃、s-Rh₂、r-Rh₂ 和拟人参皂苷 CK 含量升高。其中,稀有人参皂苷 Rg₃、s-Rh₂、r-Rh₂ 和拟人参皂苷 CK 为新出现皂苷。抗氧化实验证明:裂褶菌西洋参发酵物的 DPPH 和 ABTS⁺自由基清除能力的 IC₅₀ 值分别为 31365 和 10910 μg/mL,均好于未发酵西洋参,但低于 V_C。本研究表明裂褶菌固态发酵西洋参能提高总人参皂苷、粗多糖、总黄酮和稀有人参皂苷的含量,增强其抗氧化能力,为西洋参的开发利用提供数据支持。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] RIAZ M, RAHMAN N U, ZIA-UI-HAQ M, et al. Ginseng: A dietary supplement as immune-modulator in various diseases[J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 83: 12–30.
- [2] XU X D, LIANG W X, YAO L, et al. Production of ginsenoside by *Chaetomium* sp. and its effect on enhancing the contents of ginsenosides in *Panax ginseng* adventitious roots[J]. Biochemical Engineering Journal, 2021, 174: 108100-1~108100-2.
- [3] SASIKUMAR A P, BYEONG M S, KARTHIYAINI D, et al. Fermentative transformation of ginsenoside Rb₁ from *Panax ginseng* C. A. Meyer to Rg₃ and Rh₂ by *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* MJM60396[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2016, 21(5): 587–594.
- [4] MOHANAPRIYA M, RAMYA M, VINOTHINI B, et al. Production of minor ginsenoside CK from major ginsenosides by bio-transformation and its advances in targeted delivery to tumor tissues using nanoformulations[J]. Nanomaterials, 2022, 12(19): 3427–3427.
- [5] WEI X, FEI S, SU X, et al. Stereospecific antioxidant effects of ginsenoside Rg₃ on oxidative stress induced by cyclophosphamide in mice[J]. Fitoterapia, 2012, 83(4): 636–642.
- [6] KEUM-JOO S, RYUNG C K, JAE L S, et al. Immunogenic cell death induced by ginsenoside Rg₃: Significance in dendritic cell-based anti-tumor immunotherapy[J]. Immune Network, 2016, 16(1): 75–84.
- [7] CHEN F, SUN Y, ZHENG S L, et al. Antitumor and immunomodulatory effects of ginsenoside Rh₂ and its octyl ester derivative in H₂₂ tumor-bearing mice[J]. Journal of Functional Foods, 2017, 32: 382–390.
- [8] LI X L, YIN Q, WANG W, et al. Effect of ginsenoside CK

combined with cisplatin on the proliferation and migration of human cervical cancer HeLa cells via Ras/ERK/MAPK pathway[J]. Journal of Functional Foods, 2023, 102: 105438.

- [9] NIU X D, DUAN X H, SIWEN L, et al. Antifungal activity of ginsenoside CK against *Botrytis cinerea* by targeting sterol 14 α -demethylase cytochrome P450 (CYP51) and the application on cherry tomato preservation[J]. Postharvest Biology and Technology, 2023, 199: 112294.
- [10] HOU Y Z, MENG X R, SUN K J, et al. Anti-cancer effects of ginsenoside CK on acute myeloid leukemia *in vitro* and *in vivo* [J]. Heliyon, 2022, 8(12): e12106.
- [11] 王国明, 徐清华, 谢丽娟, 等. 人参、西洋参中多糖成分分析及其抗氧化活性研究[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(6): 143–146,150. [WANG G Q, XU Q H, XIE L J, et al. Analysis of polysaccharide from ginseng and *Panax quiquefolium* L. and their antioxidant activity[J]. Cereals & Oils, 2022, 35(6): 143–146,150.]
- [12] AKHTER K F, MUMIN M A, LUI E M. K, et al. Transdermal nanotherapeutics: *Panax quinquefolium* polysaccharide nanoparticles attenuate UVB-induced skin cancer[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 181: 221–231.
- [13] YU X H, LIU Y, LING X, et al. Isolation, purification, characterization and immunostimulatory activity of polysaccharides derived from American ginseng[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 156: 9–18.
- [14] 郑朝华, 陈建秋. 西洋参总黄酮的提取及其对羟基自由基清除的作用[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(32): 15903–15904,15907. [ZHENG Z H, CHEN J Q. Study on extraction of total flavonoids from *Panax quinquefolium* and its antioxidation effects[J]. Journal of Anhui Agri, 2012, 40(32): 15903–15904,15907.]
- [15] 魏春雁, 李向高, 杜雪荣, 等. 国产西洋参叶总黄酮对心血管作用的药理研究[J]. 中国药理学通报, 2000(2): 229–230. [WEI C Y, LI X Y, DU X R, et al. Pharmacological effects of the total flavone of leave of *Panax quinquefolium* (cultured in China)[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2000(2): 229–230.]
- [16] SERGIY B. The local populations of the fungus *Schizophyllum commune* Fr. as drivers of its biodiversity[J]. Folia Forestalia Polonica, 2021, 63(4): 308–316.
- [17] SINGH S, RAJ C, SHARMA S K, et al. Characterization and development of cultivation technology of wild split gill *Schizophyllum commune* mushroom in India[J]. Scientia Horticulturae, 2021, 289: 110399.
- [18] 马布平, 罗祥英, 刘书畅, 等. 裂褶菌研究进展综述[J]. 食用菌, 2017, 25(5): 303–307,322. [MA B P, LUO X Y, LIU S C, et al. Advances in the research of *Schizophyllum commune* Fr.[J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2017, 25(5): 303–307,322.]
- [19] NAZAN G T, ÖZLEM K, İBRAHİM T, et al. Green synthesis of silver nanoparticles using; *Schizophyllum commune*; and; *Geopora sumneriana*; extracts and evaluation of their anticancer and antimicrobial activities[J]. Particulate Science and Technology, 2022, 40(7): 801–811.
- [20] MOHADDESEH Z, HALE A, ASHRAFALSADAT H Z, et al. *Schizophyllum commune*; -derived chitin glucan complex wound dressing: Antibacterial activity and wound healing properties in a second degree burn animal model[J]. Journal of Natural Fibers, 2022, 19(16): 12870–12882.
- [21] 马布平, 袁清风, 李春琴, 等. 一株裂褶菌的分离鉴定与种植初探[J]. 耕作与栽培, 2022, 42(5): 91–95. [MA B P, YUAN Q F, LI C Q, et al. Isolation identification and planting of a strain of *Schizophyllum*[J]. Tillage and Cultivation, 2022, 42(5): 91–95.]

- [22] 李翘楚,张璐,王红艳,等.裂褶菌胞内多糖的提取纯化及生物活性分析[J].食品工业科技,2023,44(4):252-260. [LI Q H ZHANG L, WANG H Y, et al. Extraction and purification of intracellular polysaccharide from *Schizophyllum commune* and its biological activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(4): 252-260.]
- [23] 李雪.裂褶菌液体发酵条件及发酵产物的药理活性研究[D].长春:吉林农业大学,2008. [LI X. Primarily research on liquid fermentation condition and pharmacologic activity of fermentation production from *Schizophyllum commune*[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2008.]
- [24] 贺凤,黄龙花,刘远超,等.裂褶菌多糖的研究进展[J].食用菌学报,2016,23(2):88-93. [HE F, HUANGL H, LIU Y C, et al. Progress in schizophyllan research[J]. Edible Fungi of China, 2016, 23(2): 88-93.]
- [25] 李加凤,陈进.裂褶菌对小鼠抗疲劳作用的研究[J].中国食用菌,2019,38(12):40-42. [LI J F, CHEN J. Study on the anti-fatigue effect of *Schizophyllum commune* on mice[J]. Acta Edulis Fungi, 2019, 38(12): 40-42.]
- [26] SHARMA A, POOJA C, SHARMA K, et al. An endophytic *Schizophyllum commune* possessing antioxidant activity exhibits genoprotective and organprotective effects in fresh water fish *Channa punctatus* exposed to bisphenol A[J]. BMC Microbiology, 2022, 22(1): 291.
- [27] 刘海英.裂褶菌发酵转化大豆异黄酮的条件优化[J].粮食与油脂,2017,30(1):79-82. [LIU H Y. Optimization of conversion process of soybean isoflavone by *Schizophyllum commune*[J]. Cereals & Oils, 2017, 30(1): 79-82.]
- [28] BROWN P N, YU R. Determination of ginsenoside content in *Panax ginseng* C. A. Meyer and *Panax quinquefolius* L. root materials and finished products by high-performance liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection: Interlaboratory study[J]. Journal of Aoac International, 2013, 96(1): 9-12.
- [29] RAO G M, SATHISH T, CHINNA E M. Doehlert matrix-assisted optimization of *Salmonella typhi* Vi polysaccharide purification parameters[J]. Journal of Applied Biology and Biotechnology, 2021, 9(5): 141-147.
- [30] 雒江蕊,崔琳琳,李敏等.地胆草总黄酮的提取、纯化及抑菌机理研究[J].食品工业科技,2020,41(18):70-74. [LUO J H, CUI L L, LI M, et al. Extraction, purification and antibacterial mechanism of total flavonoids from *Elephantopus scaber*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(18): 70-74.]
- [31] BAI X L, ZHANG H W, SHUANG R. Antioxidant activity and HPLC analysis of polyphenol-enriched extracts from industrial apple pomace[J]. J Sci Food Agric, 2013, 93(10): 2502-2506.
- [32] ARTS M J T J, HAENEN G R M M, VOSS H P, et al. Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay[J]. Food Chem Toxicol, 2004, 42(1): 45-49.
- [33] 岳诚,马静,邱彦芳.裂褶菌生物学特性及栽培研究现状[J].食药菌,2019,27(2):117-121. [YUE C, MA J, QIU Y F. The current research status of biological characteristics and cultivation of *Schizophyllum commune*[J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2019, 27(2): 117-121.]
- [34] 崔乃菠,马境谦,余河水,等.生物发酵菊叶薯蓣富集薯蓣皂苷的研究[J].中南药学,2022,20(2):340-344. [CUI N B, MA J Q, YU H S, et al. Enriched dioscin from *Dioscorea composita* Hemsl. by biological fermentation[J]. Central South Pharmacy, 2022, 20(2): 340-344.]
- [35] 王崑仑,管立军,高扬,等.离子液体辅助超声法提取工业大麻叶中大麻二酚的工艺优化[J].食品工业科技,2023,44(3):203-212. [WANG K L GUAN L J, GAOY, et al. Process optimization of the method of ionic liquid assisted ultrasonic extraction of cannabidiol from industrial hemp leaves[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(3): 203-212.]
- [36] 王锦秀,赵晴晴,徐心怡,等.响应面优化超声波辅助酸法提取百香果皮果胶工艺及其抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2022,43(13):162-170. [WANG J X, ZHAO Q Q, XU X Y, et al. Optimization of response surface for ultrasonic acid extraction of pectin from passion fruit peel and its antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(13): 162-170.]
- [37] 吕世鑫,田潇然,王洪涛等.西洋参不定根总皂苷的响应面优化提取工艺及抗氧化活性研究[J].食品科技,2019,44(9):248-254. [LÜ S X, TIAN X R, WANG H T, et al. Extracting process and antioxidant activity analysis of total ginsenoside from adventitious roots of *Panax quinquefolius* by response surface methodology[J]. Food Science and Technology, 2019, 44(9): 248-254.]
- [38] 李珊珊,祁玉丽,曲迪等.西洋参果多糖的纯化及DPPH自由基清除活性研究[J].特产研究,2019,41(1):1-4. [LI S S, QI Y, QU D, et al. Research on purification and DPPH free radicals scavenging activity of polysaccharide from *Panax quinquefolius* berry[J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 2019, 41(1): 1-4.]
- [39] ANNA F, DO K, SJ C, et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2011, 24(7): 1043-1048.