

红曲霉发酵转化人参皂苷 Rg₃ 的研究

丛悦怡^{1,2}, 孙佳^{1,2}, 于恩^{1,2}, 孙亮^{1,2}, 陈旻^{1,2}, 王康宇^{1,2}, 李俐^{1,2}, 王艳芳^{2,3}, 孙春玉^{1,2}, 胡可心^{1,2}, 赵明珠^{1,2}, 陈静^{1,2}, 张美萍^{1,2}, 王义^{1,2*}

1. 吉林农业大学生命科学学院, 吉林 长春 130118

2. 吉林省人参基因资源开发与利用工程研究中心, 吉林 长春 130118

3. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

摘要: 目的 探索红曲霉对人参的固态发酵工艺, 将人参中部分主要人参皂苷转化为生物活性更强的稀有人参皂苷 Rg₃ (Rg₃)。方法 采用静止暗培养方法进行微生物发酵; 香草醛-冰醋酸法测定发酵前后人参总皂苷含量; HPLC 法测定发酵前后 Rg₃ 含量。结果 红曲霉发酵人参的最优工艺参数为发酵时间 6 d、发酵温度 32 °C、发酵 pH 7.0、基质含水量 50%。发酵 6 d 时, 发酵产物人参总皂苷质量分数增加 40%, Rg₃ 质量分数为 6.047 mg/g, 是未发酵人参的 2.3 倍。最终根据单体皂苷含量随发酵时间的变化趋势, 推断稀有皂苷 Rg₃ 的转化路径为人参皂苷 Rb₁ 或 Rb₂→Rd→Rg₃。结论 建立的红曲霉固态发酵工艺合理, 为稀有皂苷 Rg₃ 定向化生产奠定了基础, 更为日后体外制备稀有人参皂苷提供了理论支持。

关键词: 人参; 固态发酵; 红曲霉; 生物转化; 人参皂苷 Rg₃; 静止暗培养; 总皂苷; HPLC

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)06-1298-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.06.010

Study on transformation of ginsenoside Rg₃ fermented by *Monascus purpureus*

CONG Yue-yi^{1,2}, SUN Jia^{1,2}, YU En^{1,2}, SUN Liang^{1,2}, CHEN Yang^{1,2}, WANG Kang-yu^{1,2}, LI Li^{1,2}, WANG Yan-fang^{2,3}, SUN Chun-yu^{1,2}, HU Ke-xin^{1,2}, ZHAO Ming-zhu^{1,2}, CHEN Jing^{1,2}, ZHANG Mei-ping^{1,2}, WANG Yi^{1,2}

1. College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2. Research Center for Ginseng Genetic Resources Development and Utilization, Changchun 130118, China

3. College of Traditional Chinese Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

Abstract: Objective To explore the solid fermentation process of *Panax ginseng* by *Monascus purpureus*, which can transfer some major ginsenoside into rare ginsenoside Rg₃ with stronger biological activity. **Methods** The static dark culture method was used to perform microbial fermentation; Vanilline-glacial acetic acid method was used to detect the total saponins before and after fermentation, and the ginsenoside Rg₃ was detected by HPLC. **Results** The optimum process parameters of *Monascus purpureus* fermentation was fermentation 6 d, fermentation temperature 32 °C, pH 7.0, and water content of substrate 50%. After 6 d of fermentation, the content of total saponins in fermentation products increased by 40%, and the content of ginsenoside Rg₃ was 6.047 mg/g, which was 2.3 times as much as that of non-fermented *P. ginseng*. According to the change of monomer saponin content along with the fermentation time, it was deduced that the transformation path was Rb₁ (Rb₂)→Rd→Rh₂→Rg₃. **Conclusion** The solid fermentation process of *Monascus purpureus* established in this study is reasonable, which not only lays a foundation for the directional production of rare saponins Rg₃ but provides a theoretical support for preparing rare ginsenoside *in vitro*.

Key words: *Panax ginseng* C. A. Mey.; solid fermentation; *Monascus purpureus* Went; biotransformation; ginsenoside Rg₃; static dark culture method; total saponins; HPLC

收稿日期: 2017-11-29

基金项目: 国家高技术研究发展计划(“863”)项目(2013AA102604-3); 吉林省发改委-吉林省省级产业创新专项(2016C064)

作者简介: 丛悦怡(1992—), 女, 在读硕士, 研究方向为生物技术。Tel: 15543491162 E-mail: 15543491162@163.com

*通信作者 王义(1964—), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为生物技术与药用植物种质资源创新。

Tel: 13504315977 E-mail: wanglaoshi0606@163.com

红曲霉常被用于酿酒、入药、食品发酵和着色等方面的加工生产,随着研究的不断深入,关于其产胞外 β -葡萄糖苷酶的研究也引起了科研人员的广泛关注^[1-2], β -葡萄糖苷酶是纤维素酶类中的一种水解酶,能够水解多种 β -葡萄糖苷,如水杨苷、纤维二糖^[3],同时生成 β -D-葡萄糖及相应的配基^[4]。人参皂苷是由皂苷元与糖苷组成,因 C-3、C-6、C-20 位结构及所连糖苷配基不同,存在多种人参皂苷单体^[5-6]。

利用 β -葡萄糖苷酶水解人参皂苷使糖苷键断裂,获得稀有人参皂苷^[7-10]已成为人参研究的热点问题。现代药理学研究证明,人参皂苷 Rg_3 (Rg_3) 能够诱导肿瘤细胞凋亡^[11],抑制肿瘤细胞的增殖和转移^[12-13],提高机体免疫力^[14-15]。本研究选取红曲霉对 5 年生人参根进行整体固态发酵,旨在利用红曲霉产胞外 β -葡萄糖苷酶水解主要人参皂苷,从而提高发酵后产物中的 Rg_3 含量。

1 材料与仪器

1.1 材料

红曲霉 *Monascus purpureus* Went 购买于中国工业微生物菌种保藏管理中心,人参干燥根由吉林省人参基因资源开发与利用工程研究中心基地提供,经吉林农业大学王义教授鉴定为五年生人参干燥根。 Rg_3 对照品,批号 110804-200603,质量分数 99.5%,购买于中国食品药品检定研究院;乙腈、甲醇均为分析纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪,美国 Waters 公司,配有 Waters e2695 四元液相色谱泵、Waters e2695 型自动进样器、Waters allinced 柱温箱、Waters 2489 紫外光检测器和 Empower 3 色谱工作站;pH Meter GLP22,西班牙 Crison 公司;T6 紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;恒温培养箱,上海博迅实业有限公司;HZQ-F160 震荡培养箱,哈尔滨市东联电子技术开发有限公司。

2 方法

2.1 培养基配制

菌种活化培养基采用 PDA 培养基,配方为马铃薯 200 g 切成小块放入锅中,加 1 000 mL 蒸馏水煮沸 15 min,8 层纱布滤过,加葡萄糖 20 g、磷酸二氢钾 3 g、七水合硫酸镁 1.5 g、维生素 B_1 (VB_1) 0.5 g、琼脂 20 g 定容至 1 000 mL,调节溶液 pH 值

为 6.0。

微生物产 β -葡萄糖苷酶鉴定培养基采用七叶苷-R2A 培养基,配方为七叶苷 1 g、柠檬酸铁 0.5 g、水解酪蛋白 0.5 g、酵母浸粉 0.5 g、蛋白胨 0.25 g、葡萄糖 0.5 g、可溶性淀粉 0.5 g、磷酸二氢钾 0.3 g、硫酸镁 0.1 g、丙酮酸钠 0.3 g、琼脂 12 g,溶于 1 000 mL 蒸馏水中。

2.2 发酵菌株的筛选

将红曲霉种子液涂布于七叶苷-R2A 培养基平板一侧,另一侧做空白对照。恒温避光培养,然后进行观察。

2.3 红曲霉生长曲线的测定

对红曲霉进行常规的 PDA 培养基生长曲线的测定,通过菌丝干质量的变化确定其生长阶段。

2.4 人参发酵前处理

每组选取大小、形态、质量相似的完整人参根 40 g 进行灭菌处理。

2.5 人参总皂苷含量的测定

采用超声波和索氏提取联合法提取人参皂苷;紫外-可见分光光度法测定人参总皂苷含量^[16]。

2.6 红曲霉发酵工艺的实验设计

本实验选取的发酵时间(A)分别为 4、6、8、10 d;发酵温度(B)分别为 28、30、32、34 $^{\circ}\text{C}$;发酵 pH 值(C)分别为 6.0、6.5、7.0、7.5;基质含水量(D)分别为 40%、50%、60%、70%。对上述工艺参数 A、B、C、D 进行 4 因素 4 水平的正交试验。

2.7 HPLC 定量测定 Rg_3

Waters C_{18} 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;进样量 10 μL ;体积流量 1 mL/min;流动相水-乙腈,梯度洗脱:0~35 min, 19%乙腈;35~55 min, 19%~29%乙腈;55~70 min, 29%乙腈;70~100 min, 29%~40%乙腈;100~100.1 min, 40%~19%乙腈;100.1~120 min, 19%乙腈;检测波长 203 nm。对发酵人参供试品及未发酵人参阴性供试品中 Rg_3 含量进行 HPLC 检测。

3 结果

3.1 红曲霉产 β -葡萄糖苷酶的鉴定

将红曲霉接种于七叶苷-R2A 培养基培养 4 d 后观察平板,发现红曲霉长势良好且涂有菌株一侧培养基变黑,根据显色原理可以判断红曲霉产生 β -葡萄糖苷酶将七叶苷水解,七叶苷元遇游离的铁离子显黑色。见图 1。

3.2 红曲霉生长曲线的测定

微生物菌株的生长分为适应期、生长期、稳定期及衰亡期,为尽可能地缩短菌株的适应期,需将菌种充分活化。红曲霉的生长曲线如图 2 所示,培养至 4 d 时,菌丝生长进入稳定期,而 β -葡萄糖苷酶的产生主要发生在这一阶段,因此确定红曲霉的培养时间为 4 d。

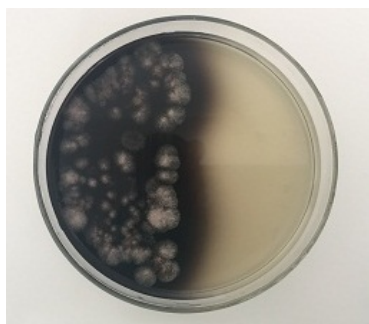


图 1 红曲霉七叶苷-R2A 显色实验

Fig. 1 Esculin-R2A chromogenic reaction of *Monascus purpureus*

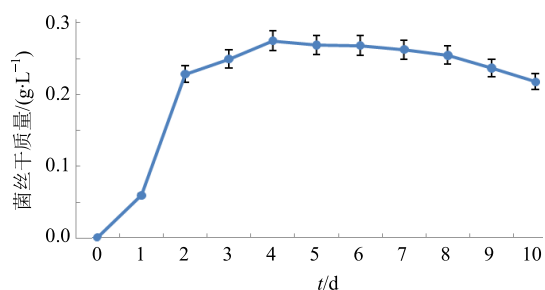


图 2 红曲霉生长曲线

Fig. 2 Determination of *Monascus purpureus* growth curve

3.3 红曲霉发酵人参工艺参数的确定

根据“2.6”项正交试验对 16 组实验组发酵后得到的产物进行人参皂苷的测定,利用人参皂苷在酸性条件下与香草醛发生络合反应产生紫色络合物,在 556 nm 处进行比色测定其吸光度(A)值后,得到正交试验设计结果见表 1、2。

由正交试验结果分析得到红曲霉发酵人参的最优发酵工艺为 $A_2B_3C_3D_2$,即发酵时间为 6 d、发酵温度 32 °C、发酵 pH 值为 7.0、基质含水量为 50%。4 种因素对总皂苷转化的影响能力依次为 $A>D>C>B$,其中发酵时间和基质含水量对实验结果的影响具有显著差异。

3.4 最佳发酵工艺参数发酵人参实验

在最优发酵工艺条件下红曲霉发酵人参根,按“2.5”项方法对供试品进行总皂苷含量测定。根据

表 1 红曲霉发酵工艺正交试验设计与结果

Table 1 Design and results of orthogonal experiment of *Monascus purpureus* fermentation

实验组	A/d	B/°C	C	D/%	E (空白)	A 值
1	4 (1)	28 (1)	6.0 (1)	40 (1)	(1)	1.297
2	4 (1)	30 (2)	6.5 (2)	50 (2)	(2)	1.335
3	4 (1)	32 (3)	7.0 (3)	60 (3)	(3)	1.312
4	4 (1)	34 (4)	7.5 (4)	70 (4)	(4)	1.268
5	6 (2)	28 (1)	6.5 (2)	60 (3)	(4)	1.351
6	6 (2)	30 (2)	6.0 (1)	70 (4)	(3)	1.490
7	6 (2)	32 (3)	7.5 (4)	40 (1)	(2)	1.627
8	6 (2)	34 (4)	7.0 (3)	50 (2)	(1)	1.735
9	8 (3)	28 (1)	7.0 (3)	70 (4)	(2)	1.207
10	8 (3)	30 (2)	7.5 (4)	60 (3)	(1)	1.166
11	8 (3)	32 (3)	6.0 (1)	50 (2)	(4)	1.314
12	8 (3)	34 (4)	6.5 (2)	40 (1)	(3)	1.218
13	10 (4)	28 (1)	7.5 (4)	50 (2)	(3)	1.471
14	10 (4)	30 (2)	7.0 (3)	40 (1)	(4)	1.296
15	10 (4)	32 (3)	6.5 (2)	70 (4)	(1)	1.144
16	10 (4)	34 (4)	6.0 (1)	60 (3)	(2)	1.058
K_1	5.212	5.326	5.159	5.438	5.342	
K_2	6.203	5.287	5.048	5.855	5.227	
K_3	4.905	5.397	5.550	4.887	5.491	
K_4	4.969	5.279	5.532	5.109	5.229	
R	1.298	0.118	0.502	0.968	0.264	

表 2 方差分析结果

Table 2 Results of variance analysis

误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	0.271 689 688	3	23.304	$P<0.05$
B	0.002 178 688	3	0.187	
C	0.049 432 188	3	4.240	
D	0.133 034 688	3	11.411	$P<0.05$
E (误差)	0.011 658.688	3		

$$F_{0.05}(3, 3)=9.280 \quad F_{0.01}(3, 3)=29.500$$

《中国药典》2015 年版人参总皂苷含量测定法^[16]制备对照品溶液,以人参皂苷 Re 的质量为纵坐标(Y), A 值为横坐标(X) 绘制标准曲线,得到线性回归方程 $Y=0.189 6 X+0.018 4$, $R^2=0.999 1$,发酵前后人参总皂苷质量分数见表 3,发酵后总皂苷含量增加 40%。

3.5 发酵前后 Rg_3 的 HPLC 分析

通过对未发酵人参(阴性对照品)及经过红曲

霉发酵后的人参样品进行 HPLC 检测, 色谱图见图 3。发酵 6 d 时, 发酵产物中 Rg₃ 的质量分数最高为 6.047 mg/g, 是发酵前的 2.3 倍。根据发酵 2、4、6 d 产物中各单体皂苷的含量变化 (图 4), 推测可能的转化路径为 Rb₁ 或 Rb₂→Rd→Rg₃。

表 3 发酵前后人参总皂苷质量分数变化 (n=3)

Table 3 Changes of total saponins content in ginseng before and after fermentation (n=3)

供试样品	A 平均值	人参总皂苷/%
未发酵人参	1.587	3.19
发酵人参	2.262	4.47

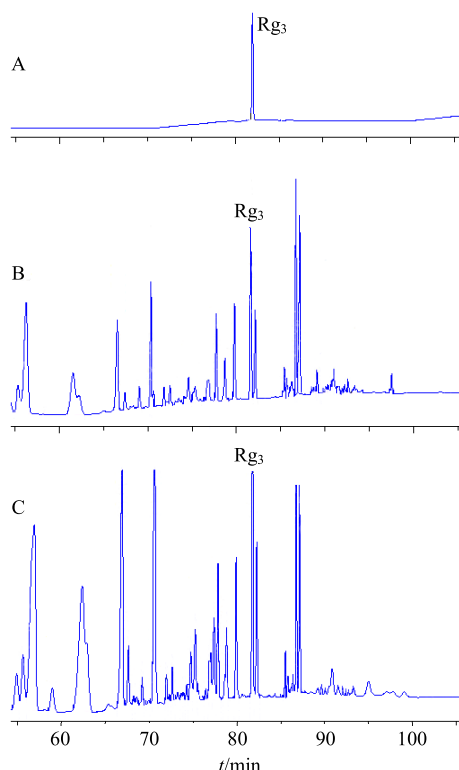


图 3 Rg₃ 对照品 (A)、阴性对照品 (B)、发酵 6 d 产物 (C) 的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC of Rg₃ reference substance (A), negative sample (B), and fermentation 6 d sample (C)

4 讨论

4.1 发酵处理对人参总皂苷含量的影响

截止到目前, 国内外科研人员从人参属植物中发现的人参皂苷已超过 180 种, 其中天然人参皂苷 150 余种^[17], 确定结构的有 60 余种, 人参总皂苷与单体人参皂苷之间呈量的加和关系。大多数的研究主要集中在关于人参有效成分的生物活性方面, 而关于不同加工方法对人参总皂苷含量影响的报道较

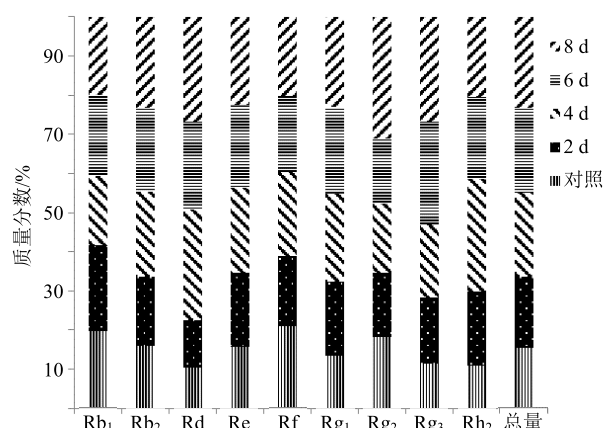


图 4 发酵前后人参产物中单体皂苷质量分数的变化

Fig. 4 Changes of monomer saponin content in ginseng products before and after fermentation

少。红参是由新鲜人参经高温、高压处理后干燥而成^[16], 在加工过程中发生化学成分的改变甚至有新物质生成, 其总皂苷含量与鲜参和白参相比有所增加^[18-21]。对红参的炮制工艺进行研究后发现, 不同的处理方法导致红参的总皂苷含量不同^[22]。研究人员以灵芝发酵西洋参提取物废渣, 发酵 30 d 后发现人参皂苷 Re、Rb₁、Rc 含量下降, Rg₁、Rd、CK 含量增加, 灵芝除具有转化人参皂苷的 β -葡萄糖苷酶活性外, 还具有降解纤维素、半纤维素、木质素的酶活性, 这些酶的存在可破坏植物细胞壁, 使西洋参提取物残渣得到充分发酵, 增加人参皂苷提取率^[23]。本研究选取红曲霉对人参进行发酵, 发酵后人参总皂苷含量增加, 可能由以下几点原因导致: ①红曲霉在发酵人参的过程中, 代谢产生的 β -葡萄糖苷酶为纤维素类水解酶, 可水解人参木质部细胞壁从而提高人参皂苷的提取率, 导致总皂苷含量增加; ② β -葡萄糖苷酶具有转苷活力, 通过转糖苷作用合成新的人参皂苷单体, 导致总皂苷含量提高; ③发酵菌株代谢产生的连接酶, 把经 β -葡萄糖苷酶等酶水解掉的糖苷重新与人参中的次级苷或苷元相连, 形成新的人参皂苷导致总苷含量增加; ④酶的催化反应可能引起人参中其他化学成分的改变, 经过一系列的复杂反应生成人参皂苷或拟人参皂苷, 导致总皂苷含量增加; ⑤微生物的生命活动是一个复杂的历程, 在代谢过程中释放多种酶, 总皂苷含量增加可能是多种酶协同作用的结果。但以上反应机制还有待进一步深入研究发掘。

4.2 人参皂苷体外转化过程

微生物体外转化法是利用微生物在代谢过程中

产生的酶对外源底物进行结构修饰来获得目标产物的过程,该方法作为获取稀有皂苷的有效途径之一,近几年来备受关注。据报道,枝孢霉 *Cladosporium cladosporioide* KACC 43926 释放的 β -葡萄糖苷酶可水解人参皂苷 C-3 和 C-20 位糖苷键,转化路径为人参皂苷 $Rb_1 \rightarrow Rd \rightarrow F_2 \rightarrow CK \rightarrow PPD$, 以及强脱氢酶活性使 C-3 位酮基化将人参皂苷 Rb_1 转化为人参皂苷 3-氧代-CK 和 3-氧代-PPD, 之后的研究发现稀有皂苷 CK、皂苷元 PPD 及 3-氧代-PPD 对肺癌细胞 A459 具有抑制作用^[24]。与此同时,科研人员从泡菜中分离乳酸菌,经鉴定植物乳杆菌 CRNB22、类食品乳杆菌 LH4、短乳杆菌 Wikim19、肠膜明串珠菌 DC102 等有较强的 β -葡萄糖苷酶活性,可转化人参皂苷 Rb_1 得到稀有人参皂苷 CK、 Rg_3 和 Rg_5 ^[25-28]。

本研究选取产 β -葡萄糖苷酶的红曲霉为发酵菌株,该菌株在中药及食品加工领域应用广泛,且转化后人参皂苷 Rg_3 含量显著提高,与庠守权^[1]利用红曲霉固体发酵人参粉,得出红曲霉具有转化人参皂苷的能力,并可以转化出稀有皂苷 Rg_3 的结论一致。通过与未发酵人参(阴性对照品)对比,发酵 6 d 人参的 Rg_3 质量分数最高为 6.047 mg/g,是未发酵人参的 2.3 倍。以 2 d 为 1 个时间节点,随时间的推移,经 HPLC 检测发酵 2、4、6 d 的产物,发现部分单体人参皂苷的含量变化明显,因此推断可能的转化路径为人参皂苷 Rb_1 或 $Rb_2 \rightarrow Rd \rightarrow Rg_3$, 但转化机制有待于进一步研究。截止到目前,利用红曲霉转化人参皂苷的研究鲜有报道,本实验在没有破坏人参完整性的前提下,提高了稀有人参皂苷 Rg_3 含量,不仅为体外制备稀有人参皂苷提供了参考,更为人参皂苷的定向化生产奠定了理论基础。

参考文献

- [1] 庠守权. 红曲霉-人参双向固体发酵及其产物药理活性研究 [D]. 延吉: 延边大学, 2014.
- [2] 杨静云, 赖永勤, 李宇兴, 等. 山楂、泽泻、决明子与红曲霉混合发酵制备调血脂中药工艺研究 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2100-2107.
- [3] Sestelo A B F, Poza M, Villa T G. β -Glucosidase activity in a *Lactobacillus plantarum* wine strain [J]. *World J Microb Biot*, 2004, 20(6): 633-637.
- [4] Chen M, Qin Y Q, Liu Z Y, *et al.* Isolation and characterization of a β -glucosidase from *Penicillium decumbens* and improving hydrolysis of corncob residue by using it as cellulase supplementation [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2010, 46(6): 444-449.
- [5] 张均田. 人参冠百草: 人参化学、生物学活性和药代动力学研究进展 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2012.
- [6] 张艳海, 金 燕, 王峥涛. 在线二维多中心切割液相色谱法测定三七、人参及其相关产品中 8 种人参皂苷 [J]. 中草药, 2017, 48(5): 894-901.
- [7] 王 梓, 赵立春, 李 伟, 等. 响应曲面法 (RSM) 优化人参皂苷 Rh_4 和 Rk_3 的制备工艺 [J]. 中草药, 2017, 48(11): 2207-2211.
- [8] 杨 宁, 杨世林, 赵余庆. 稀有人参皂苷糖苷化合成方法的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2014, 29(5): 574-582.
- [9] 姬 庆, 郜玉钢, 赵 岩, 等. 酶法转化制备人参皂苷单体的研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(22): 3356-3360.
- [10] 于兆慧, 刘其媛, 崔 莉, 等. 微球固定化蜗牛酶转化人参皂苷 Rb_1 制备人参稀有皂苷 Compound K 研究 [J]. 中草药, 2014, 45(21): 3092-3097.
- [11] Aziz F, Wang X, Liu J, *et al.* Ginsenoside Rg_3 induces FUT4-mediated apoptosis in *H. pylori* CagA-treated gastric cancer cells by regulating SP1 and HSF1 expressions [J]. *Toxicol In Vitro*, 2016, 31: 158-166.
- [12] Shan X, Fu Y S, Aziz F, *et al.* Ginsenoside Rg_3 inhibits melanoma cell proliferation through down-regulation of histone deacetylase 3 (HDAC3) and increase of p53 acetylation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e115401.
- [13] Kim Y J, Choi W I, Jeon B N, *et al.* Stereospecific effects of ginsenoside 20- Rg_3 inhibits TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition and suppresses lung cancer migration, invasion and anoikis resistance [J]. *Toxicology*, 2014, 322(1): 23-33.
- [14] Wu R, Ru Q, Chen L, *et al.* Stereospecificity of ginsenoside Rg_3 in the promotion of cellular immunity in hepatoma H22-bearing mice [J]. *J Food Sci*, 2014, 79(7): 1430-1435.
- [15] 程 慧, 宋新波, 张丽娟. 人参皂苷 Rg_3 与 Rh_2 的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(4): 307-311.
- [16] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [17] Yang X D, Yang Y Y, Ouyang D S, *et al.* A review of biotransformation and pharmacology of ginsenoside compound K [J]. *Fitoterapia*, 2015, 100: 208-220.
- [18] 李向高. 人参加工原理研究新进展 [J]. 中药材, 1990, 13(2): 22-25.
- [19] Chang Y H, Ng P K. Effects of extrusion process variables on extractable ginsenosides in wheat-ginseng extrudates [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(6): 2356-2362.
- [20] Wang C Z, Aung H H, Ni M, *et al.* Red American ginseng: Ginsenoside constituents and antiproliferative activities of heat-processed *Panax quinquefolius* roots [J].

- Planta Med*, 2007, 73(7): 669-674.
- [21] Lau A J, Seo B H, Woo S O, *et al.* High-performance liquid chromatographic method with quantitative comparisons of whole chromatograms of raw and steamed *Panax notoginseng* [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1057(1/2): 141-149.
- [22] 翟 宁, 贺 燕, 李玉春, 等. 红参的炮制工艺与高效液相色谱法对比红参与生晒参的研究 [J]. 吉林医学, 2007, 28(17): 1852-1853.
- [23] Hsu B Y, Lu T J, Chen C H, *et al.* Biotransformation of ginsenoside Rd in the ginseng extraction residue by fermentation with lingzhi (*Ganoderma lucidum*) [J]. *Food Chem*, 2013, 141(4): 4186-4193.
- [24] Jin Y, Jung S Y, Kim Y J, *et al.* Microbial deglycosylation and ketonization of ginsenoside by *Cladosporium cladosporioide* and their anticancer activity [J]. *Anton Leeuw*, 2016, 109(2): 179-185.
- [25] Renchinkhand G, Park Y W, Song G Y, *et al.* Identification of β -glucosidase activity of *Enterococcus faecalis* CRNB-A3 in airag and its potential to convert ginsenoside Rb₁ from *Panax ginseng* [J]. *J Food Biochem*, 2016, 40(1): 120-129.
- [26] Quan L H, Kim Y J, Li G H, *et al.* Microbial transformation of ginsenoside Rb₁ to compound K by *Lactobacillus paralimentarius* [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2013, 29(6): 1001-1007.
- [27] Park B, Hwang H, Lee J, *et al.* Evaluation of ginsenoside bioconversion of lactic acid bacteria isolated from kimchi [J]. *J Ginseng Res*, 2017, 41(4): 524-530.
- [28] Quan L H, Piao J Y, Min J W, *et al.* Biotransformation of ginsenoside Rb₁ to prosapogenins, gypenoside XVII, ginsenoside Rd, ginsenoside F2, and compound K by *Leuconostoc mesenteroides* DC102 [J]. *J Ginseng Res*, 2011, 35(3): 344-351.