

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2017.06.032

麦冬发酵工艺优化及保湿性能研究

江南, 贺黎铭, 许晓燕, 余梦瑶, 李芳, 罗霞

(四川省中医药科学院 菌类药材研究所, 成都 610041)

摘要: 采用单因素实验, 以麦冬发酵液的保湿性为指标, 优化发酵底物制备方式, 麦冬浓度, 嗜酸乳杆菌接种量, 发酵温度, 发酵时间及摇床转速等发酵工艺参数; 基于响应曲面法, 获得的麦冬液体发酵工艺为: 发酵温度为 30℃、发酵时间为 2.18 d、摇床转速为 0 r/min. 研究得到的麦冬发酵液具有良好保湿性能, 可作为化妆品原料开发.

关键词: 嗜酸乳杆菌; 发酵工艺优化; 麦冬; 保湿性

中图分类号: R283.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2017)06-1329-05

The optimization of *Ophiopogon japonicus* fermentation and the moisture retention

JIANG Nan, HE Li-Ming, XU Xiao-Yan, YU Meng-Yao, LI Fang, LUO Xia

(Institute of fungus medicinal materials, Sichuan Academy of Chinese Medicine Science, Chengdu 610041, China)

Abstract: Single factor test was used to adjust fermentation parameters such as the preparation method of fermentation substrate, *Ophiopogon japonicus* concentration, inoculum, fermentation temperature, fermentation time and rotational speed with the moisture retention of the *Ophiopogon japonicus* fermentation liquid. Based on response surface methodology, optimized fermentation process parameters of *Ophiopogon japonicus* was as follows: the fermentation temperature was 30℃, the fermentation time was 2.18 d, and the shaking speed was 0 r/min. The fermentation liquid of *Ophiopogon japonicus* has good moisturizing properties and can be used in cosmetic raw materials.

Keywords: Lactobacillus acidophilus; Fermentation process optimization; *Ophiopogon japonicus*; Moisture retention

1 引言

麦冬(*Ophiopogon japonicus*)是传统中医药学中的一味药材,始载于东汉《神农本草经》。目前我国药典中规定药用的麦冬为百合科植物麦冬的干燥块根。《中华人民共和国药典》(2015版)记载^[1]麦冬具有养阴生津,润肺清心等功效。麦冬主要化学成分为多糖、甾体皂苷类、高异黄酮类、氨基酸

等^[2]。麦冬是我国《已使用化妆品原料名称目录》(2015版)的成员之一,具备开发成为化妆品原料的资格。麦冬富含多糖、皂苷类等化学成分,常被当做化妆品中的天然保湿原料进一步开发。

保湿是保证皮肤健康、维护皮肤屏障功能重要条件之一。保湿剂按来源可分为天然保湿剂和合成保湿剂,目前常用的合成保湿剂,如甘油、丙二醇等吸湿性能显著,但保湿性能一般,作为保湿产品存

收稿日期: 2017-02-24

基金项目: 四川省科研院所科技成果转化资金(14010156);四川省青年基金(2016JQ0057);省科技厅项目(2016GFW0186, 2017SZ0024);国家现代农业产业技术体系(川农业[2009]156号);省科技条件平台(15010302)。

作者简介: 江南(1976-),女,四川成都人,博士,副研究员,主要研究领域为菌类药材开发及应用。E-mail: jnan12@sina.com.

通讯作者: 罗霞。E-mail: 287748567@qq.com

在一定不足^[3],而广泛存在于自然界,特别是化妆品原料目录中的中药提取物具有保湿功能,符合化妆品保湿剂的发展方向和市场对天然原料的需求。

近年来发酵类化妆品原料在日本、韩国高档化妆品中得到较好地应用,并将此风潮带到我国化妆品原料及产品市场。市场应用效果显示发酵类化妆品较传统的化学成分化妆品具有效果好、副作用小的优势。但由于生物转化技术还没有得到普及,目前只有国外少数公司才拥有生物转化技术生产出来的成熟产品,一般仅应用于高档化妆品中。在我国,生物转化化妆品也受到越来越多的关注,消费者开始追求更天然、功效更明确的护肤产品,化妆品企业开始涉足这一领域,如百雀羚推出了含有酵母和乳酸菌产物的气韵臻白如玉洁容膏,酵制原料在我国的化妆品产业领域方兴未艾,具有广阔的市场潜力。

本文顺应市场需求,为提高麦冬作为化妆品原料的保湿功效,采用液体发酵技术,以嗜酸乳杆菌为发酵菌株,对麦冬进行液体发酵,以麦冬发酵液的保湿性能为指标优化其发酵工艺,获得具有高保湿性的麦冬乳酸发酵液。

2 材料与方法

2.1 材料

2.2.1 中药材 麦冬购自四川省绵阳市三台县麦冬 GAP 种植基地,经四川省中医药科学院李青苗副研究员鉴定为川麦冬(*Ophiopogon japonicus*)。

2.2.2 发酵菌株 嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*),购自中科院微生物研究所。

2.2.3 主要实验试剂 MRS 肉汤,广东环凯微生物科技有限公司;琼脂粉,成都市科龙化工试剂厂;氯化钠,成都长联化工试剂有限公司;氯化镁,成都市科龙化工试剂厂;硫酸铵,成都市科龙化工试剂厂。

2.2.4 实验仪器 分析天平:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司,型号:AL204;隔水式电热恒温培养箱:上海跃进医疗器械厂,型号:PYX-DHS-50X;恒温培养振荡器:上海苏坤实业有限公司,型号:NSKY-1112B;pH 计:OHAUS,型号:ST20。

2.2 方法

2.2.1 发酵底物制备方式优化 水提液发酵:称取麦冬 50 g,加入 10 倍体积水加热煮沸后持续 1 h,过滤,提取 3 次,混合 3 次水提液,浓缩,定容至 500 mL,使其麦冬含量为 10%,115 °C 高压灭菌 40min。接种嗜酸乳杆菌,接种量为 10^8 CFU/mL,36 °C 培养 2d。

醇提液发酵:称取麦冬 50 g,通过 95%乙醇提取 3 次,混合 3 次醇提液,浓缩,定容至 500 mL,使其麦冬含量为 10%。115 °C 高压灭菌 40min。接种嗜酸乳杆菌,接种量为 10^8 CFU/mL,36 °C 培养 2d。

水提、醇提混合发酵:用上述方法提取的水提液和醇提液混合,各取 50%组成水提、醇提混合液,使其麦冬含量为 10%,115 °C 高压灭菌 40min。接种嗜酸乳杆菌,接种量为 10^8 CFU/mL,36 °C 培养 2d。

药材直接发酵:分别将蒸馏水加入麦冬和粉粹后的麦冬,混合,使其麦冬含量为 10%,115 °C 高压灭菌 40min。接种嗜酸乳杆菌,接种量为 10^8 CFU/mL,36 °C 培养 2d。

每种发酵方式做 3 个平行,发酵 2d 后测定麦冬发酵液的保湿率。

2.2.2 麦冬含量的优化 分别称取麦冬 5g、10g、15g 和 20 g,依次加入蒸馏水 115mL、130mL、145mL 和 160mL,麦冬吸水率为 3mL/g,制成麦冬含量为 5%、10%、15%和 20%的培养基,115 °C 高压灭菌 40min。接种嗜酸乳杆菌,接种量为 10^8 CFU/mL,36 °C 培养 2d。每个麦冬含量做 3 个平行,发酵 2d 后测定麦冬发酵液的保湿率。

2.2.3 嗜酸乳杆菌接种量的优化 制作麦冬含量为 20%的培养基,115 °C 高压灭菌 40min。接种嗜酸乳杆菌,接种量为 10%,36 °C 培养 2d。测定活化 24h 的嗜酸乳杆菌菌落数为 10^9 CFU/mL,分别按接种量为 10^8 、 10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 CFU/mL 接种嗜酸乳杆菌,36 °C 培养 2d。每个接种量做 3 个平行,发酵 2d 后测定麦冬发酵液的保湿率。

2.2.4 发酵温度 制作麦冬含量为 20%的培养基,115 °C 高压灭菌 40min。接种活化 24h 的嗜酸乳杆菌,分别放置于温度为 25°C、30°C、35°C 和 40°C 的培养箱中,静置培养 2d。每个温度做 3 个平行,发酵 2d 后测定麦冬发酵液的保湿率。

2.2.5 发酵时间 制作麦冬含量为 20%的培养基,115 °C 高压灭菌 40min。接种活化 24h 的嗜酸乳杆菌,在 36°C 培养箱中分别培养 1d、2d、3d、4d 后取出。每个培养时间做 3 个平行,测定麦冬发酵液的保湿率。

2.2.6 摇床转速 制作麦冬含量为 20%的培养基,115 °C 高压灭菌 40min。接种活化 24h 的嗜酸乳杆菌,分别放置于转速为 0 r/min、50 r/min、100 r/min 和 150 r/min 的摇床中 36 °C 培养 2d。每个转速做 3

个平行, 发酵 2d 后测定麦冬发酵液的保湿率。

2.2.7 麦冬醇制原料制备 获得麦冬嗜酸乳杆菌发酵液后, 加热挥发至麦冬浓度为 0.375g/mL(以生药计), 调节 pH 至 7.0, 普通滤纸过滤后的滤液再经 0.45 μm 的滤纸过滤, 获得的滤液用于保湿实验研究。

2.2.8 保湿实验^[4] 配制氯化镁和硫酸铵饱和溶液分别放入两个干燥器里, 形成湿度为 33% 和 81% 的两个湿度环境。用移液器分别吸取 1 mL 醇制原料到直径为 90mm 的结晶皿中, 放入不同湿度环境, 24h 后取出, 准确称量各试样的重量, 由实验前后试样的重量差, 用下式计算试样的保湿率:

$$\text{保湿率}(\%) = 100 \times (W1 - W2) / W1$$

式中 W1 为试样实验前重量; W2 为试样实验后(24h)重量。

2.2.8 基于响应曲面法的麦冬嗜酸乳杆菌发酵参数优化^[5] 采用响应曲面法, 利用 Design-Expert 软件对实验影响因素: 发酵温度、发酵时间、摇床转速进行分析研究, 设计因素及编码见表 1, 参数设计组合见表 2, 按照参数设置条件进行麦冬发酵实验与保湿实验, 最终筛选出最优的参数组合。

表 1 中心旋转设计水平及编码

Tab. 1 Design level and coding of center rotation

影响因素	参数设置		
	-1	0	1
发酵温度(°C)	30	35	40
发酵时间(d)	2	3	4
摇床转速(r/min)	0	50	100

表 2 相应曲面法参数设计组合

Tab. 2 Parameter design combination of corresponding surface method

组合	Factor1	Factor2	Factor3
	A: 温度(°C)	B: 时间(d)	C: 转速(r/min)
1	35.0	3.0	50.0
2	35.0	3.0	50.0
3	30.0	2.0	50.0
4	40.0	2.0	50.0
5	35.0	2.0	100.0
6	35.0	4.0	100.0
7	40.0	3.0	100.0
8	35.0	3.0	50.0
9	30.0	3.0	100.0
10	35.0	2.0	0.0
11	30.0	4.0	50.0
12	35.0	3.0	50.0
13	40.0	4.0	50.0
14	40.0	3.0	0.0
15	35.0	4.0	0.0
16	35.0	3.0	50.0
17	30.0	3.0	0.0

2.2.9 功效评价 根据响应曲面法获得的发酵参数制备醇制麦冬原料、未发酵麦冬对照, 参照前述保湿率测定方法进行保湿功效评价。

3 实验结果

3.1 发酵底物制备优化

采用 5 种发酵底物的制备方式, 分别获得对应的麦冬醇制原料, 对其保湿率进行考察。实验结果见表 3。5 种发酵方式中, 麦冬直接发酵和粉碎后发酵在高相对湿度(81%)和低相对湿度下(33%)的保湿率都最高。从成本上直接发酵比粉碎后发酵工艺更简单, 因此后续实验的发酵方式选择为麦冬直接发酵。

表 3 不同发酵底物制备方式对麦冬醇制原料保湿率的影响

Tab. 3 Effects of different substrate preparation methods on the moisture retention of *Ophiopogon japonicus* fermentation liquid

发酵底物制备方式	保湿率(%)	
	相对湿度(RH=33%)	相对湿度(RH=81%)
麦冬水提	90.42±0.83	96.11±1.15
麦冬醇提	85.67±2.45	90.32±1.27
麦冬水醇混合	90.05±1.79	95.86±0.91
麦冬直接发酵	90.88±0.78	96.73±1.42
麦冬粉碎发酵	90.90±0.74	96.62±1.65

3.2 麦冬含量的优化

实验结果见表 4, 不同麦冬含量制成的麦冬醇制原料在高相对湿度下的保湿率差异很小, 都稳定在 96.90% 左右; 但在低相对湿度下 20% 麦冬含量制成的醇制原料的保湿率最高, 同时, 麦冬含量为 20% 发酵得到的醇制原料产量最高, 在相近的功效下, 成本最低。因此后续发酵实验选择麦冬底物含量为 20%。

表 4 不同麦冬含量对麦冬醇制原料保湿率的影响

Tab. 4 Effects of different *Ophiopogon japonicus* concentration on the moisture retention of *Ophiopogon japonicus* fermentation liquid

麦冬含量(%)	保湿率(%)	
	相对湿度(RH=33%)	相对湿度(RH=81%)
5%	91.00±2.03	96.89±1.05
10%	91.19±1.96	96.95±1.17
15%	91.31±1.74	96.88±1.58
20%	91.46±0.99	96.90±1.44

3.3 嗜酸乳杆菌接种量的优化

从实验结果(见表 5)可知,在高相对湿度下,接种量为 10^8 CFU/mL 制成的醇制原料的保湿率最高;在低相对湿度下,接种量为 10^7 CFU/mL 制成的醇制原料的保湿率最高,但不同接种量制成的麦冬醇制原料的保湿率之间的差异很小,无统计学意义.因此,后续发酵实验选用了嗜酸乳杆菌接种量为 10^8 CFU/mL.

表 5 不同嗜酸乳杆菌接种量对麦冬醇制原料保湿率的影响

Tab. 5 Effects of different inoculum on the moisture retention of *Ophiopogon japonicus* fermentation liquid

接种量 (CFU/ml)	保湿率(%)	
	相对湿度 (RH=33%)	相对湿度 (RH=81%)
10^5	90.32±0.94	96.14±2.56
10^6	90.20±1.11	96.07±2.17
10^7	90.55±2.41	96.34±1.38
10^8	90.20±0.87	96.57±1.05

3.4 发酵温度优化

采用不同的 4 个温度参数进行发酵,从实验结果(表 6)可知,在高相对湿度下和低相对湿度下,均是发酵温度为 35℃ 时制成的麦冬醇制原料保湿率最高,从保湿功效评价,后续实验麦冬醇制原料的发酵温度参数选择为 35℃.

表 6 不同培养温度对麦冬醇制原料保湿率的影响

Tab. 6 Effects of different fermentation temperature on the moisture retention of *Ophiopogon japonicus* fermentation liquid

发酵温度	保湿率(%)	
	相对湿度 (RH=33%)	相对湿度 (RH=81%)
25℃	90.20±1.57	95.47±2.16
30℃	90.03±2.33	96.06±1.84
35℃	90.90±2.47	96.56±1.69
40℃	90.72±1.88	96.37±2.32

3.5 发酵时间优化

从实验结果(见表 7)可知,发酵时间为 3d 时制成的麦冬醇制原料,在高相对湿度下和低相对湿

度下,其保湿率均较高,因此后续实验中,醇制麦冬发酵时间的参数选择为 3d.

表 7 不同发酵时间对麦冬醇制原料保湿率的影响

Tab. 7 Effects of different fermentation time on the moisture retention of *Ophiopogon japonicus* fermentation liquid

发酵时间	保湿率(%)	
	相对湿度 (RH=33%)	相对湿度 (RH=81%)
1d	88.84±1.06	96.40±0.97
2d	88.83±2.03	96.89±1.74
3d	89.30±1.28	97.13±1.33
4d	88.83±2.27	97.08±1.68

3.6 发酵工艺优化——摇床转速

实验结果见从表 8 可知,在高相对湿度下,0r/min 和 50r/min 培养的醇制原料保湿率最高;在低相对湿度下,50r/min 的转速培养的醇制原料保湿率最高.从保湿功效考虑,后续实验选择 50r/min 为摇床转速.

表 8 不同摇床转速制备的麦冬醇制原料的保湿率

Tab. 8 Effects of different rotational speed on the moisture retention of *Ophiopogon japonicus* fermentation liquid

摇床转速	保湿率(%)	
	相对湿度 (RH=33%)	相对湿度 (RH=81%)
0 r/min	89.30±1.33	96.91±1.57
50 r/min	89.75±1.71	96.90±1.87
100 r/min	89.50±1.28	96.78±2.04
150 r/min	89.32±1.93	96.80±1.76

3.7 响应曲面法优化结果

根据各参数组合制备的醇制原料保湿率如表 9 所示,经 Design-Expert 软件分析的最佳发酵参数组合是:发酵温度为 30℃、发酵时间为 2.18 d、摇床转速为 0r/min.

3.8 麦冬醇制原料保湿性能研究

实验结果见从表 10. 在低相对湿度下,麦冬醇制原料的保湿率比未发酵麦冬对照高,存在显著性差异($P < 0.01$);在高相对湿度下,麦冬醇制原料的保湿率也比未发酵对照高,存在显著性差异($P < 0.01$).说明通过相应曲面法获得的最优发酵参数得到的麦冬醇制原料具有良好的保湿性能.

表9 响应曲面法获得的麦冬醇制原料的参数优化

Tab.9 Optimization of fermentation parameters of *Ophiopogon japonicus* based on response surface method

参数组合	保湿率(%)	
	相对湿度 (RH=33%)	相对湿度 (RH=81%)
1	92.49±1.78	97.55±2.45
2	92.76±1.69	97.37±1.14
3	93.16±0.86	97.69±1.33
4	93.26±2.17	97.13±0.95
5	92.19±1.83	97.46±2.44
6	91.60±1.77	97.18±2.43
7	92.81±0.69	97.37±1.54
8	92.70±0.83	97.07±1.47
9	92.87±1.33	97.51±0.96
10	92.77±2.11	97.67±0.88
11	92.23±2.41	97.35±1.76
12	92.82±1.68	97.45±0.93
13	92.40±1.53	96.87±2.17
14	93.07±2.49	97.65±2.54
15	92.57±1.43	97.40±2.05
16	92.57±1.93	97.34±1.43
17	93.12±2.44	97.85±2.07

表10 发酵对麦冬保湿率的影响

Tab.10 Effects of fermentation on the moisture retention of *Ophiopogon japonicus*

样品	保湿率(%)	
	相对湿度 (RH=33%)	相对湿度 (RH=81%)
麦冬醇制原料	92.82±1.27**	97.61±1.63**
未发酵对照	88.67±0.73	95.32±1.19

注:与未发酵麦冬对照比较, ** $P < 0.01$.

4 讨论

生物转化中的发酵工艺是传统中药加工炮制的重要方法之一。陈永强^[6]等通过微生物发酵转化甘草,提高其抗炎镇痛作用,汪红^[7]等通过微生物发酵,转化黄芩中的黄芩苷生产为黄芩素,于志伟^[8]等以腐皮镰刀菌发酵生产大黄素,均说明通过微生物发酵,可提高中药材的生物利用度,提高活性成分的产生,增强其药用功效。

我国运用中药美容化妆品具有悠久的历史^[9],随着一些国外大厂商,如资生堂、高丝、欧莱雅等率先重视并推广中药化妆品,并将中药化妆品列为其开发重点。以佰草集、相宜本草等为代表的国内大型化妆品厂商以贴切传统文化的定位异军突起,带动了国内中小企业的发展,使得中药提取物在化妆品中的应用日益广泛^[10]。

麦冬资源主要分布在四川、浙江、贵州等省地。四川绵阳的三台地区是麦冬的主产区,种植面积超过5

万亩,居全国之首。年均产量达1.2万吨,占全国麦冬总产量的70%以上,出口量占全国的80%。“川麦冬1号”、“川麦冬2号”是四川省已审定的麦冬新品种,具有性状稳定、产量高、有效组分含量高特性,在主产区已推广辐射达90%以上。为延长三台地区麦冬的产业链,提高麦冬精深加工产品的附加产值,本文特选用三台地区生产的川麦冬进行研究。

目前,中药提取物和酵母菌、乳酸菌发酵产物已分别广泛应用于化妆品的开发中,但尚无将二者有机融合,应用于化妆品开发的报道。本文利用嗜酸乳杆菌对川产道地药材麦冬进行发酵工艺优化研究,以保湿性能为指标,通过单因素优化和响应曲面法获得麦冬乳酸发酵的最佳发酵工艺为:麦冬含量为20%、乳酸菌接种量为 10^8 、发酵温度为30℃、发酵时间为2.18 d、摇床转速为0r/min。麦冬醇制原料的保湿率与未发酵麦冬对照相比,在高湿度环境和低湿度环境下均显著提高,说明醇制麦冬原料具有良好的保湿性能,可作为化妆品保湿原料进行相关产品的开发。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015: 6, 155.
- [2] 袁春丽,孙立,袁胜涛,等. 麦冬有效成分的药理活性及作用机制研究进展[J]. 中国新药杂志, 2013, 22: 2496.
- [3] 陈刚,郭晓蕾,宝丽. 银耳、麦冬、燕麦多糖的抗氧化活性及吸湿保湿性能研究[J]. 中国中医药学, 2013, 31: 212.
- [4] 施昌松,崔凤玲,张洪广,等. 化妆品常用保湿剂保湿吸湿性能研究[J]. 日用化学品科学, 2007, 31: 25.
- [5] 周莉君,黄丽杰,杨志荣,等. 响应曲面法优化超临界CO₂萃取巨尾桉挥发油的工艺研究[J]. 四川大学学报:自然科学版, 2014, 51: 1319.
- [6] 陈永强,徐春,徐凯,等. 微生物发酵转化甘草提高其药效的研究[J]. 四川大学学报:自然科学版, 2007, 44: 1147.
- [7] 汪红,高陪,廖勇,等. 微生物发酵转化黄芩苷生产黄芩素的研究[J]. 四川大学学报:自然科学版, 2009, 46: 795.
- [8] 于志伟,杨欣,曾宪军,等. 腐皮镰刀菌 R13 发酵产大黄素的初步研究[J]. 四川大学学报:自然科学版, 2015, 52: 1135.
- [9] 胡侃,李向阳. 全面解读中草药化妆品市场[J]. 中国化妆品, 2008, 20: 24.
- [10] 赵洁. 我国药妆市场的发展前景[J]. 日用化学品科学, 2008, 31: 1.