

乳酸菌发酵对铁皮石斛抗氧化活性和酚类化合物的影响

蒋丙婷¹, 李如蕊¹, 方越¹, 郑文杰¹, 周莹², 李能波², 何霞红¹, 王振兴^{1*}

(1. 西南林业大学云南省林下资源保护与利用重点实验室/生物与食品工程学院, 昆明 650224;

2. 龙陵县石斛研究所, 保山 678300)

摘要: 乳酸菌发酵可以促进食品中多酚等活性物质的生物转化, 改善其功能活性。为探究乳酸菌发酵对铁皮石斛中酚类化合物的影响, 该研究选用 3 种常见乳酸菌对云南省 5 个地区的铁皮石斛进行发酵, 测定发酵前后铁皮石斛的总酚和总黄酮含量及体外抗氧化活性, 并采用高效液相色谱和超高效液相色谱-串联质谱对其酚类成分和代谢物组成进行分析。结果表明: 3 种乳酸菌发酵均可提高铁皮石斛的总酚、总黄酮含量和抗氧化活性, 其中云南文山产铁皮石斛经保加利亚乳杆菌发酵 48 h 的增效作用最为明显, 该条件下发酵的铁皮石斛总酚、总黄酮含量分别为 120.67 和 23.39 mg/g, 其 2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸阳离子自由基 (ABTS) 和 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基清除能力 (DPPH) 以及铁还原能力 (FRAP) 最高, 分别为 288.51、34.34 和 136.32 mg/g, 较发酵前增加了 0.81、2.11 和 0.52 倍。选取该条件下发酵的铁皮石斛, 利用高效液相色谱对其 16 种酚类化合物进行定量分析, 发现丁香酸和香草酸含量显著增加, 表没食子儿茶素没食子酸酯含量显著降低, 而水杨酸仅在发酵后铁皮石斛中被检测到。进一步的非靶向代谢组学分析表明, 所检测到的 1 298 种共有代谢物中, 发酵后下调的代谢物显著多于上调代谢物。相关性分析表明, 抗氧化活性与酚类化合物高度相关。分别在正负离子模式下筛选出 75 和 76 个上调、103 和 89 个下调的酚类化合物, 表明乳酸菌发酵促使铁皮石斛中的酚类化合物发生了生物降解或转化。采用京都基因与基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 对铁皮石斛发酵过程中的代谢通路进行富集, 结果表明: 蛋白质的消化和吸收、苯丙氨酸代谢、丙烷生物碱生物合成、各种次生代谢产物的生物合成-第二部分、黄酮类生物合成和 ABC 运输通路是最有可能的代谢通路。综上, 乳酸菌尤其是保加利亚乳杆菌发酵可显著改善铁皮石斛的抗氧化活性, 这可能与酚类化合物在发酵过程中的转化释放有关。该研究可为利用乳酸菌对铁皮石斛进行发酵增效提供新的思路。

关键词: 铁皮石斛; 乳酸菌; 发酵; 酚类成分; 抗氧化; 高效液相色谱; 代谢组学

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202408119

中图分类号: TS255.36

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2025)-02-0328-10

蒋丙婷, 李如蕊, 方越, 等. 乳酸菌发酵对铁皮石斛抗氧化活性和酚类化合物的影响[J]. 农业工程学报, 2025, 41(2): 328-337. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202408119 <http://www.tcsae.org>

JIANG Bingting, LI Rurui, FANG Yue, et al. Effects of lactic acid bacteria fermentation on the antioxidant activity and phenolic compounds of *Dendrobium officinale*[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2025, 41(2): 328-337. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.202408119 <http://www.tcsae.org>

0 引言

铁皮石斛 (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) 为兰科石斛属草本植物, 是一种珍贵的传统药食两用资源。其富含多糖、多酚、石斛碱、芪类及其衍生物等成分, 具有抗肿瘤、抗氧化、抗衰老、抗疲劳、降血糖、降血压、降血脂和增强免疫力等功能活性^[1-2]。云南是中国铁皮石斛的主产区之一, 但目前云南的铁皮石斛仍主要以鲜条和初加工品的方式销售, 深加工产品不到总产量的 5%, 迫切需要加强其研究开发力度, 提升产品附

加值^[3]。

多酚类物质是植物中的重要次生代谢产物, 包括酚酸类、类黄酮、单宁类化合物等, 具有抗氧化、抗菌、抗炎、抗癌等活性, 对肠炎、高血糖、肥胖、心脑血管疾病和神经性疾病等有良好的改善作用, 因此被称为“第七类营养元素”^[4]。酚类物质是铁皮石斛的重要活性组分之一。研究表明, 铁皮石斛茎、叶、花中总酚含量可达 7.18%、10.29% 和 15.71%^[5]。黄彪等^[6]发现铁皮石斛不同部位中酚类组分含量不同, 其中茎部主要酚类物质为阿魏酸、对羟基苯甲酸、芦丁和香草酸等。但铁皮石斛中的酚类物质由于容易与其多糖、蛋白等成分结合, 影响其生物利用度和药理作用^[7]。此外, 大分子酚类化合物尤其是结合态多酚的溶解性往往较差, 这导致它们不能有效地穿过肠道黏膜, 从而限制了其吸收代谢^[8]。因此, 采取各种生物、化学、物理手段来有效提高多酚类物质的生物利用度成为了研究热点。

乳酸菌是一类能够利用碳水化合物产生乳酸的细菌的总称, 主要包括乳杆菌科 (Lactobacillaceae)、链球

收稿日期: 2024-08-15 修订日期: 2024-11-18

基金项目: 云南省农业联合专项面上项目 (202101BD070001-109 和 202101BD070001-089); 国家中药材产业技术体系岗位项目 (CARS-21-05B); 云南省“兴滇英才支持计划”青年人才项目 (2024-2029); 云南省专家工作站 (202205AF150018)。

作者简介: 蒋丙婷, 研究方向为林下药食资源的功能活性。

Email: 2236190528@qq.com

*通信作者: 王振兴, 博士, 副教授, 研究方向为林下药食资源的开发利用。Email: zhenxing_wang@swfu.edu.cn

菌科 (Streptococcaceae)、明串珠菌科 (Leuconostocaceae) 等, 常用于各种食品和中草药的发酵剂。在发酵过程中, 乳酸菌产生的糖基水解酶等微生物酶系可通过氢化、去糖基化、脱脂等反应, 将大分子多酚或者结合酚分解代谢为小分子化合物^[9], 进而提高其生物利用度。如 LIU 等^[10] 研究发现植物乳杆菌 NCU137 发酵枸杞汁可显著转化结合多酚, 提高其游离多酚含量, 增强抗氧化活性, 增加多酚氧化酶和过氧化物酶的活性; WU 等^[11] 采用 6 种乳酸菌发酵苹果汁, 发现其抗氧化活性均有所增强, 可能与发酵后根皮苷含量的增加有关; LI 等^[12] 研究发现, 枣汁经 4 种乳酸菌发酵后, 总酚含量和抗氧化能力显著提高, 且与咖啡酸和芦丁含量呈正相关。因此, 乳酸菌发酵是转化食品中酚类成分及提高其生物活性的有效手段。

目前对铁皮石斛多酚的报道主要集中在分离鉴定等领域^[13], 关于利用乳酸菌发酵对铁皮石斛中酚类成分进行转化的研究较少。黄振勇等^[14] 研究表明乳酸菌发酵可提高铁皮石斛活性物质的溶出率, 增强其抗氧化功能, 但未对其酚类成分进行详细分析。YU 等^[15] 从铁皮石斛的啤酒酵母发酵液中鉴定出了 6 种类黄酮和 4 种酚酸, 但未对发酵前后的相关成分进行比较。因此, 该研究采用 3 种常见乳酸菌 (植物乳杆菌、保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌) 对铁皮石斛进行发酵, 评估乳酸菌发酵对铁皮石斛抗氧化活性及其酚类成分的影响。以期对铁皮石斛多酚的微生物转化研究提供理论依据, 为充分利用铁皮石斛资源开发提供帮助。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

铁皮石斛, 2021 年 6 月采集于云南德宏、云南屏边、云南龙陵、云南腾冲、云南文山; 植物乳杆菌、德氏乳杆菌保加利亚亚种、嗜热乳酸链球菌, 广东省微生物菌种保藏中心; 乙腈 (色谱级)、氨水 (色谱级), 德国 Merck 公司; 没食子酸、D (+)-无水葡萄糖、阿卡波糖、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (4-nitrophenyl- α -D glucopyranoside, PNPG)、奎诺二甲基丙烯酸酯 (trolox), 上海源叶生物科技有限公司; 芦丁、2,4,6-三(2-吡啶基)三嗪 (2,4,6-tripyridin-2-yl-1,3,5-triazine, TPTZ), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; α -葡萄糖苷酶 (700 000 U/mL), 北京索莱宝科技有限公司; 乙腈、甲醇、甲酸 (均为色谱级), 美国 Millipore 公司; 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

1290 Infinity LC 超高压液相色谱仪, 美国安捷伦公司; AB Triple TOF 6600 质谱仪, 美国爱博才思公司; DHG-9240A 电热恒温干燥箱, 上海齐欣科学仪器有限公司; SUPERR-SS 电子天平, 烟台钧杰衡器有限公司;

SpectraMax Plus384 酶标仪, 美谷分子仪器有限公司; RV3 V 旋转蒸发器, 艾卡仪器设备有限公司; SB25-12DTDS 超声波清洗机, 宁波新艺超声设备有限公司; ZZ11-ZHQ702 漩涡振荡仪, 北京莱伯泰科仪器。

1.3 试验方法

1.3.1 铁皮石斛的发酵

参考林华嗣等^[16] 的方法, 将乳酸菌按 2% 接种量接种至 MRS (de man, rogosa and sharp medium) 液体培养基中, 在 37 °C 下培养 24 h 活化 2 代, 菌落总数用菌落形成单位 (colony forming units, CFU) 表示, 使用平板计数法配制活菌数为 1×10^9 CFU/mL 的菌悬液备用。铁皮石斛经清洗后切断, 在 60 °C 条件下热烫 10 min, 取出沥干, 按照 1:20 的比例加蒸馏水打浆榨汁, 高压灭菌 (121 °C, 15 min), 取出后放置于无菌操作台冷却至室温, 按照 2% (v/v) 的量接种菌悬液, 分别在 37 °C 恒温培养箱中发酵 0、12、24、36、48、60 h, 摇匀后取 20 mL 发酵液, 在 4 000 r/min 下离心 10 min, 取上清液, 冷冻干燥, 最后置于 -20 °C 冰箱中待测。每组发酵样品设置 3 个生物学平行。

1.3.2 总酚和总黄酮含量的测定

总酚含量的测定: 采用 Folin-Ciocalteu^[17] 方法测定总酚含量 (total phenolic content, TPC)。结果表示为 mg 没食子酸当量/g 干物质, (mg/g)。

总黄酮含量的测定: 采用 NaNO_2 - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 方法测定总黄酮含量 (total flavonoids content, TFC)^[18]。结果表示为 mg 芦丁当量/g 干物质, (mg/g)。

1.3.3 抗氧化活性的测定

ABTS 自由基清除能力的测定: 参考 WANG 等^[19] 的方法。结果表示为 μg Trolox 当量/mg 干物质 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)。

DPPH 自由基清除能力的测定: 参考 BOUYAHIA 等^[20] 的方法。结果表示为 μg Trolox 当量/mg 干物质, (mg/g)。

铁离子还原能力 (ferric ion reducing antioxidant power, FRAP): 参考 KUT 等^[21] 的方法, 样品的 FRAP 值用 FeSO_4 当量表示, 即为每毫克样品相当于 FeSO_4 的质量, ($\mu\text{g}/\text{mg}$)。

1.3.4 高效液相色谱分析

根据总酚和总黄酮含量、以及抗氧化活性的结果, 选择发酵前后增效最明显的铁皮石斛样品进行高效液相色谱分析。参考 ABDELLATIF 等^[22] 的方法, 将冻干的样品溶于 1 000 μL 甲醇中, 然后用 0.22 μm 滤膜过滤, 进样体积为 20 μL , 流动相包括乙腈 (A) 和含 0.1% 甲酸水 (B), 梯度洗脱程序如下: 0~4 min, 5% A; 5~6 min, 10% A; 7~51 min, 30% A; 52~65 min, 100% A; 66~75 min, 5% A。以对羟基苯甲酸、香草酸、丁香酸、丁香醛、阿魏酸、表没食子儿茶素没食子酸酯、水杨酸、肉桂酸、芹菜素和黄芩苷为标准品。通过比较相应标准品在 280 nm 波长处的保留时间、色谱吸收峰型和峰面积来进行鉴定和定量, 结果表示为 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ 干提取物 ($\mu\text{g}/100 \text{ g}$)。

1.3.5 非靶向代谢组学分析

进一步对同样条件下的发酵前后的铁皮石斛样品进行超高效液相色谱-串联质谱(UHPLC-Q-TOF MS)分析。条件如下^[12]。流速 0.40 mL/min, 柱温 40 ℃, 进样体积 2 μ L。流动相 A: 醋酸铵(25 mol/mL)和甲酸水(0.5%), 流动相 B: 甲醇。梯度洗脱程序如下: 0~0.5 min, 5% B; 0.6~9.0 min, 5~100% B; 10.0~11.0 min, 100% B; 12.0~12.1 min, 100% 至 5% B; 13.0~16.0 min, 5% B。在 AB Triple TOF 6 600 上使用电喷雾电离(electrospray ionization, ESI)在正离子和负离子模式下进行。ESI 源条件设置如下: 离子源 Gas1 为 60 (pounds per square inch, psi)、离子源 Gas2 (60 psi)、离子源气帘(30 psi)、源温度(600 ℃)、离子源电压浮动(± 5 500 V)、TOF-MS 扫描 m/z 范围(60~1 000 Da)、分散电位($\pm$

60 V)、碰撞能量(35 ± 15 eV)。

1.4 数据处理

试验结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。采用 SPSS 20.0 软件进行差异显著分析($P < 0.05$), 采用 Origin 2021 和 R 语言(版本 4.0.3)对数据进行绘图和数据分析。相关系数通过双尾 Pearson 检验计算。

2 结果与分析

2.1 活菌数和 pH 值

由图 1 可知, 随着发酵的进行, 铁皮石斛发酵液的活菌数逐渐增加, pH 值逐渐下降, 符合正常微生物生长曲线。其中在发酵 0~24 h 内, 活菌数增长速率最快, pH 值下降速率最快, 其原因是乳酸菌的迅速增长产生了大量乳酸等有机酸, 导致 pH 值下降。

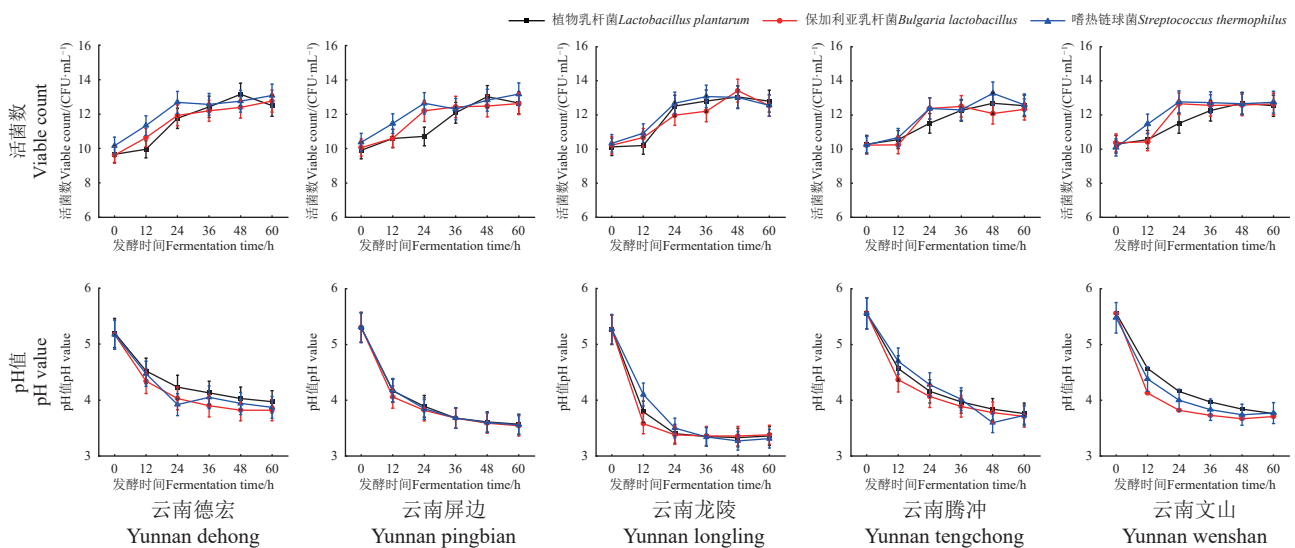


图 1 发酵过程中铁皮石斛活菌数和 pH 值变化情况

Fig.1 Changes in the viable cell count of and pH value during the *Dendrobium officinale* fermentation process

在 3 种乳酸菌中, 嗜热链球菌发酵后的活菌数增长速率最为突出, 其次是植物乳杆菌和保加利亚乳杆菌。在发酵 48 h 后, 植物乳杆菌的活菌数出现了减少的趋势, 原因是植物乳杆菌将碳水化合物代谢成乳酸, 产酸多使得 pH 值下降, 抑制了植物乳杆菌的生长^[23]。

2.2 总酚和总黄酮含量

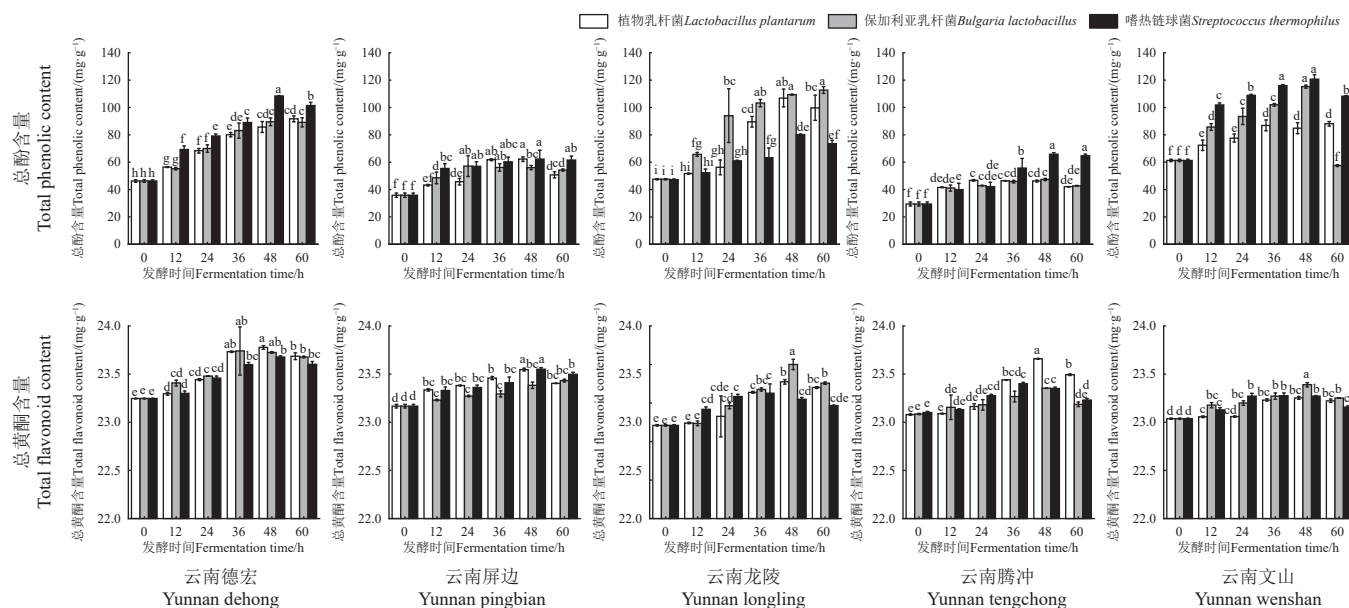
从图 2 可知, 总酚含量均随发酵时间的延长而增加, 在发酵 48 h 时达到最高值, 5 个产地的铁皮石斛之间, 总酚含量高低依次为: 云南文山、云南龙陵、云南德宏、云南屏边、云南腾冲, 经不同菌株发酵后, 分别提高了 43%、52%、51%、40% 和 45%。其中云南文山铁皮石斛经过嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌在发酵 48 h 后的总酚含量在 5 个产地里最高, 二者无显著差异($P > 0.05$), 分别为 120.67 和 115.23 mg/g。相关研究表明, 微生物发酵可使植物中的总酚含量增加^[24]。但本试验发现, 总酚含量在发酵 48 h 后整体呈下降趋势, 可能是铁皮石斛中酚类物质被乳酸菌降解转化, 导致总酚含量降低^[25]。

如图 2 所示, 总黄酮含量随着发酵时间的延长而增加, 在发酵 48 h 时达到最高值, 5 个产地的铁皮石斛之

间, 总黄酮含量高低依次为: 云南龙陵、云南德宏、云南腾冲、云南屏边、云南文山。云南文山铁皮石斛经保加利亚乳杆菌发酵 48 h 时总黄酮含量较高, 为 23.39 mg/g。总黄酮含量在发酵早期增加的原因可能是微生物的旺盛生长, 消耗了铁皮石斛中的淀粉、蛋白质、果胶等成分, 导致酚类和类黄酮的释放^[26]。在发酵 48 h 后总黄酮含量有降低的趋势, 原因同样可能是乳酸菌对黄酮类化合物的降解和转化作用。

2.3 抗氧化能力

由图 3 可得, 铁皮石斛对 ABTS 自由基均有一定的清除作用, 并且随着发酵时间的延长清除能力也随之升高, 当发酵时间到达 48 h 时, 清除能力达到顶峰, 随后下降。铁皮石斛经保加利亚乳杆菌发酵 48 h 时 ABTS 自由基清除能力增效较强, 依次为: 云南文山、云南屏边、云南德宏、云南腾冲、云南龙陵, 分别提高了 32%、33%、31%、21% 和 38%, 云南文山铁皮石斛 ABTS 自由基清除能力由 159.08 mg/g 上升到 288.51 mg/g, 增加了 0.81 倍。由此可得, 保加利亚乳杆菌对云南文山铁皮石斛的 ABTS 自由基清除能力的增幅更大, 这与总酚和总黄酮含量的变化趋势一致^[27]。



注：相同指标间不同字符表示差异显著 ($P < 0.05$)，下同。

Note: Different characters of the same index indicate significant differences ($P < 0.05$), the same below.

图2 发酵过程中铁皮石斛总酚含量和总黄酮含量变化情况

Fig.2 Changes in the total phenolic content and total flavonoid content of *Dendrobium officinale* during the fermentation process

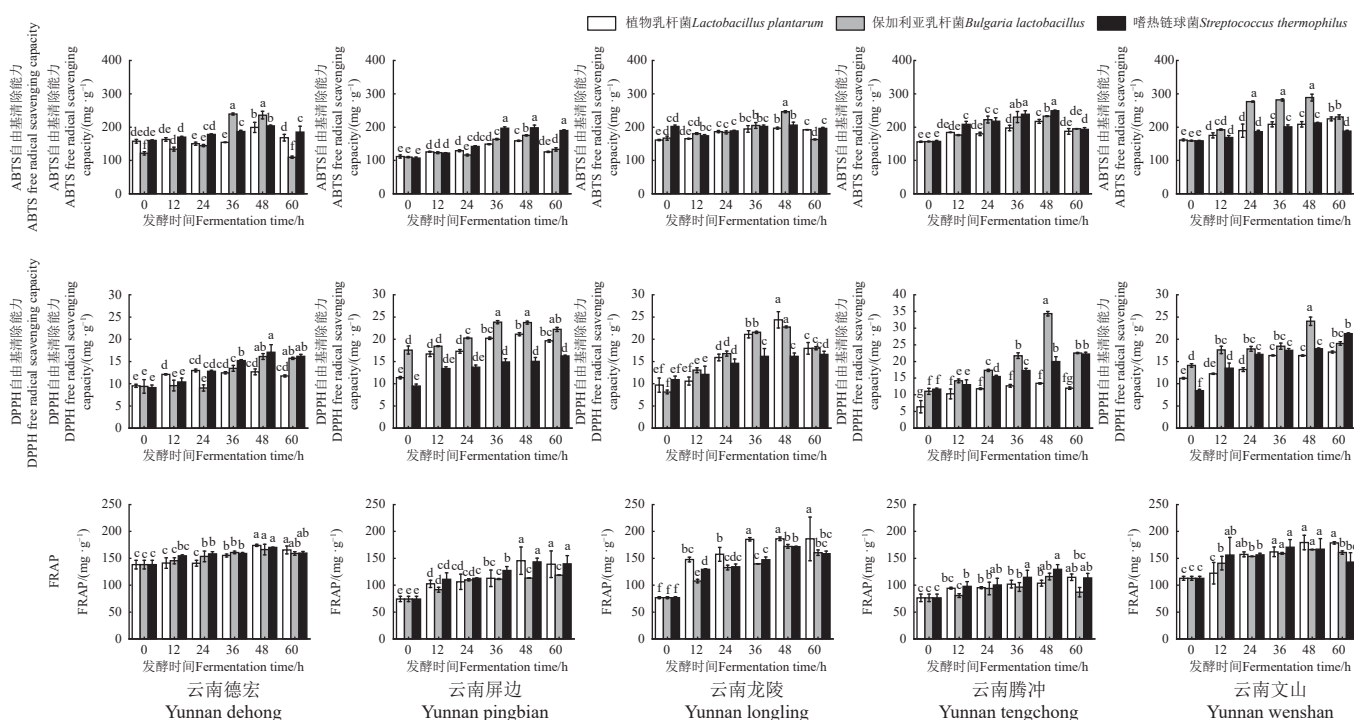


图3 乳酸菌发酵对铁皮石斛 ABTS、DPPH 自由基清除能力和铁离子还原能力的影响

Fig.3 Effects of lactic acid bacteria fermentation on the ABTS (2, 2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical scavenging abilities and FRAP (ferric ion reducing antioxidant power) of *Dendrobium officinale*

由图3可得，DPPH 自由基清除能力与 ABTS 趋势一致，铁皮石斛对 DPPH 自由基均有一定的清除作用，并且随着发酵时间的延长清除能力也随之升高，当发酵时间到达 48 h 时，清除能力达到顶峰，随后下降。总的来看，各地铁皮石斛经保加利亚乳杆菌发酵 48 h 后 DPPH 自由基的清除能力较强，顺序依次为：云南文山>云南龙陵>云南腾冲>云南屏边>云南德宏，与未发酵相比分别提高了 57%、55%、42%、36% 和 39%。云南腾冲铁皮石斛经保加利亚乳杆菌发酵 48 h 时 DPPH 自由基

清除能力最强，由 11.04 mg/g 上升到 34.34 mg/g，增加了 2.11 倍，该结果与黄庆等^[28]的报道一致。

由图3可得，铁离子还原能力的总体变化趋势与 DPPH 和 ABTS 自由基清除能力的变化趋势一致，当发酵时间到达 48 h 时，铁离子还原能力达到最高值，随后下降。不同地区的铁皮石斛发酵后还原能力各有不同，由强到弱依次为：云南腾冲>云南龙陵>云南德宏>云南屏边>云南文山。在经植物乳杆菌发酵 48 h 后，其分别提高了 57%、34%、19%、45%、34%。其中，云南文山

铁皮石斛经嗜热链球菌发酵后其铁离子还原能力由 112.71 mg/g 上升到 170.83 mg/g, 增加了 0.52 倍。铁离子还原能力的试验结果与 DPPH 和 ABTS 自由基清除能力的结果并不一致, 原因是它们之间的抗氧化机制不同^[28]。

2.4 铁皮石斛发酵前后酚类成分的变化情况

基于前文总酚和总黄酮含量、以及抗氧化试验的结果进行综合分析, 云南文山铁皮石斛经保加利亚乳杆菌发酵 48 h 时其功能活性最强, 因此选择该条件下的样品进行高效液相色谱分析, 并与未发酵样品进行比较。由表 1 和图 4 可知, 从发酵前后的铁皮石斛中共鉴定出 16 种酚类化合物。在发酵后, 有 4 种化合物发生了显著的变化, 其中丁香酸的含量 (峰 5) 由 0.65 mg/g 增加到 1.14 mg/g, 增加了 75.38%, 香草酸 (峰 16) 由 2.60 mg/g 增加到 3.19 mg/g, 增加了 22.70%, 而表没食子儿茶素没食子酸酯 (峰 10) 由 2.92 mg/g 减小到 0.47 mg/g, 减小了 83.90%。此外, 水杨酸 (峰 12) 仅在发酵后的样品中检测到。上述结果说明, 在保加利亚乳杆菌的发酵过程中, 发生了酚类化合物的降解和转化, 同时也产生了一些新的酚类化合物^[29]。

表 1 发酵前后酚类化合物含量变化表

Table 1 Changes in phenolic compound content before and after fermentation (mg·100 g⁻¹)

编号 No.	化合物 Compound	发酵前 Before fermentation	发酵后 After fermentation
1	没食子酸	0.59±0.01	0.31±0.02
2	原儿茶酸	1.15±0.02	1.64±0.04
3	对羟基苯甲酸	0.67±0.02	1.07±0.05
4	表儿茶素	2.58±0.06	2.36±0.04
5	丁香酸	0.65±0.05	1.14±0.04
6	二氢杨梅素	ND	ND
7	丁香醛	0.10±0.01	0.34±0.04
8	阿魏酸	0.42±0.05	0.37±0.03
9	咖啡酸	1.06±0.04	0.98±0.02
10	表没食子儿茶素没食子酸酯	2.92±0.01	0.47±0.03
11	槲皮素	0.11±0.02	0.09±0.02
12	水杨酸	ND	3.29±0.04
13	肉桂酸	0.15±0.03	0.23±0.02
14	黄芩素	0.37±0.03	0.38±0.03
15	芹菜素	5.73±0.10	6.17±0.05
16	香草酸	2.60±0.20	3.19±0.04

注: ND 表示未检测到
Note: ND indicates not detected

2.5 代谢组学分析

2.5.1 代谢物分析

同样对经保加利亚乳杆菌发酵 48 h 的云南文山铁皮石斛进行非靶向代谢组学分析, 在发酵前后的样品中共鉴定出 1 298 种代谢物, 其中在正离子模式下检测到 748 种, 负离子模式下检测到 550 种, 说明正离子模式能检测到更多的代谢物。结果由表 2、表 3 所示, 父类水平上的代谢物主要为有机杂环化合物、有机酸及其衍生物、苯丙烷类和聚酮类、木质素、新信号素和相关化合物、脂类和类脂分子、苯丙素和聚酮、苯类和有机氧化合物; 在亚类一级, 它们主要是黄酮类化合物、呋喃木脂素、有机氧化合物、脂肪酰基、吡啶和衍生物、羧酸及其衍生物、羟基酸及其衍生物以及苯和取代衍生物; 在子类水平上, 则主要是吡啶类、氨基酸、肽和类似物、萜烯糖苷类、呋喃酮类、呋喃香豆素、三萜类和脂肪酰胺等化合物。在不同水平上, 发酵前后的化合物均有显

著差异, 这表明发酵后铁皮石斛的初级代谢物和次级代谢物的含量与种类发生了变化。

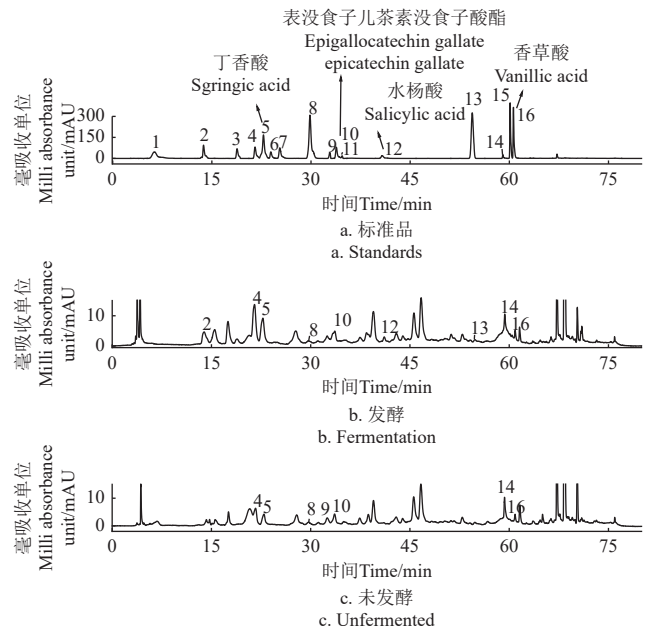


图 4 铁皮石斛发酵前后的高效液相色谱图
Fig.4 High-performance liquid chromatography chromatogram of *Dendrobium officinale* before and after fermentation

表 2 正离子模式下差异代谢产物在父类/亚类/子类的占比
Table 2 Proportion of differential metabolites in parent/subclass/subclass in positive ion mode

类别 Category	化合物 Compound	占比 Percentage/%
父类	苯丙烷类和聚酮类	12.30
父类	脂类和脂质样分子	20.60
父类	类苯甲类化合物	9.10
父类	有机杂环化合物	11.10
亚类	异戊烯醇脂质	12.40
亚类	有机杂环化合物	6.70
亚类	苯及其取代衍生物	6.70
亚类	羧酸及其衍生物	5.90
子类	氨基助剂、肽和类似物	5.50
子类	二萜类化合物	2.80
子类	碳水化合物和碳水化合物偶联物	4.30
子类	倍半萜类化合物	2.30

表 3 负离子模式下差异代谢产物在父类/亚类/子类的占比
Table 3 Proportion of differential metabolites in parent/subclass/subclass in negative ion mode

类别 Category	化合物 Compound	占比 Percentage/%
父类	苯丙烷类和聚酮类	17.60
父类	脂类和脂质样分子	25.60
父类	类苯甲类化合物	11.10
父类	有机酸及其衍生物	8.10
亚类	脂肪酰基	14.20
亚类	类黄酮	8.40
亚类	苯及其取代衍生物	7.30
亚类	异戊烯醇脂质	6.30
子类	脂肪助剂和偶联物	9.30
子类	类黄酮糖苷	4.70
子类	碳水化合物和碳水化合物偶联物	5.20
子类	苯甲酸及其衍生物	3.40

2.5.2 差异代谢物分析

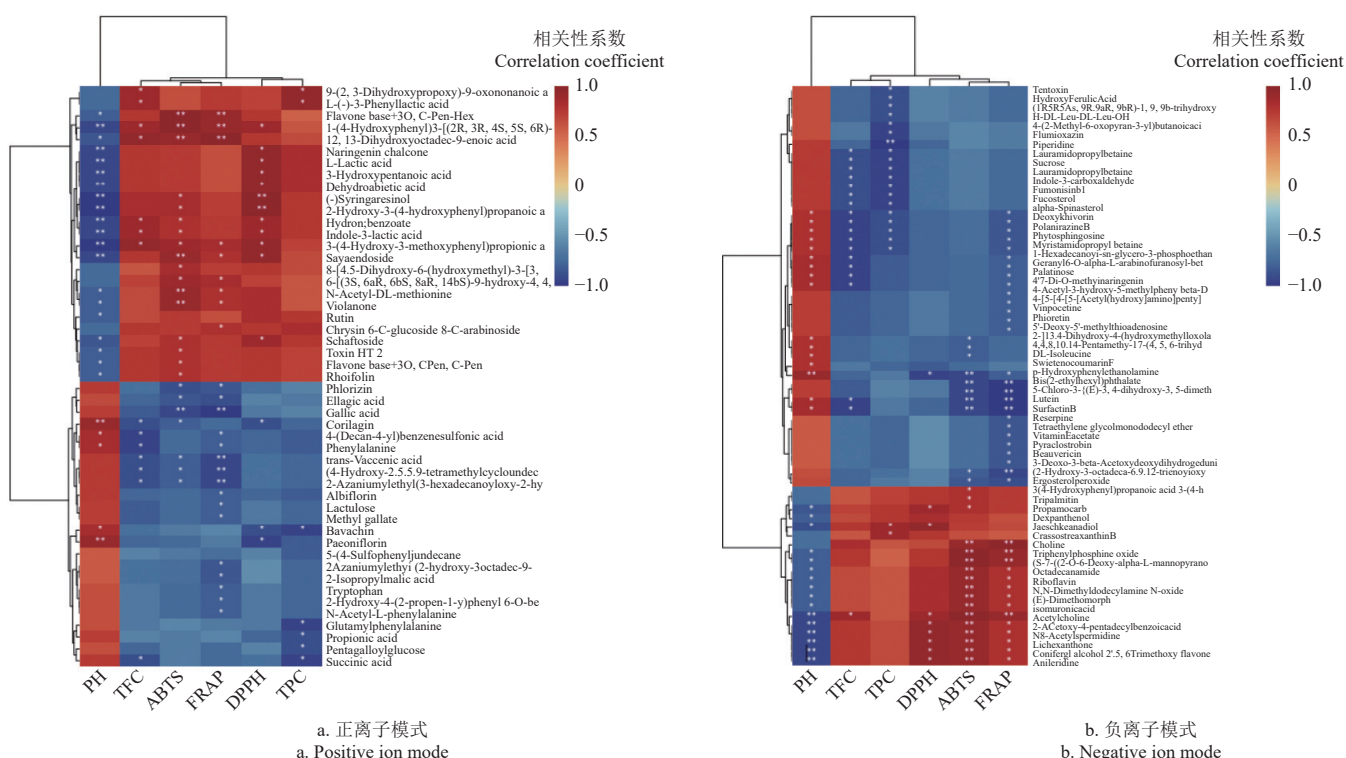
对发酵前后的代谢物进行差异性分析, 根据正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares

discriminant analysis, OPLS-DA) 投影中的变量重要性 (variable importance in the projection, VIP) >1 和 $P < 0.05$, 在正离子模式下, 筛选出 100 种代谢物显著上调, 211 种显著下调, 而在负离子模式下有 85 种代谢物明显上调, 180 种显著下调 (图 5)。这些差异代谢物主要包括初级代谢物 (脂肪酸、脂类和核苷) 和次级代谢物 (生物碱、类黄酮、酚类和萜类), 最明显的是有机杂环化合物和有机酸及其衍生物。可以发现, 发酵后下调的代谢物比上调的数量更多。

2.5.3 相关性分析

采用 Spearman 相关性分析将代谢物与抗氧化活性及其他指标进行关联, 结果以相关性热图表示, 如图 5 所示。在正、负离子模式下, 分别有许多不同类别的代谢物与抗氧化活性显著相关, 这说明发酵铁皮石斛的抗氧

化活性是许多代谢物协同作用的结果, 而不是单一几个化合物的作用。其中, 在负离子模式下, (E)-二甲基吗啡 ((E)-dimethylmorphine)、胆碱 (choline) 与抗氧化能力显著正相关, 另外它们还与 pH 值显著负相关, 说明这些物质除了贡献抗氧化活性外, 还参与调控发酵进程; 在正离子模式下, 芦丁 (rutin)、柚皮苷二氢查尔酮 (naringenin chalcone) 等一些类黄酮化合物与总酚、总黄酮含量和抗氧化能力显著正相关。类黄酮是一大类天然存在于植物中的多酚类化合物, 包括黄酮、黄酮醇、异黄酮、花青素等多种亚类。它们广泛存在于水果、蔬菜、茶叶、葡萄酒、中草药等植物性食品中, 具有抗氧化、抗炎、抗菌、抗病毒等多种生物活性^[30]。相关性分析进一步说明了铁皮石斛中的酚类成分是其抗氧化等功能活性的主要贡献者。



注: pH、TFC、TPC 分别为 pH 值、总酚含量、总黄酮含量。

Note: pH, TFC and TPC represents pH value, total phenolic content and total flavonoid content, respectively.

图 5 正负离子模式下差异代谢物与抗氧化活性的相关性分析

Fig.5 Correlation analysis of differential metabolites and antioxidant activity in positive and negative ion mode

2.5.4 酚类化合物分析

高效液相色谱分析通常用于定量分析已知特定化合物的含量, 而基于高分辨质谱的非靶向代谢组学分析则提供了一种全面的方法来鉴定和相对定量样品中的所有代谢物, 包括那些未知的或意外的化合物, 有利于揭示发酵过程中未知的代谢变化。因此, 根据代谢组学结果对铁皮石斛中的酚类化合物进行分析, 可以更全面地反映发酵前后铁皮石斛中酚类物质的变化情况。分别在正负离子模式下筛选出 75、76 个上调的酚类化合物, 103、89 个下调的酚类化合物。可以发现, 发酵后下调的酚类化合物数量更多, 这与发酵后下调的差异代谢物数量更多的结论是一致的 (章节 2.5.2)。其中, 对羟基苯甲酸 (p-hydroxy-benzonic acid)、苜蓿素 (tricin)、对羟基

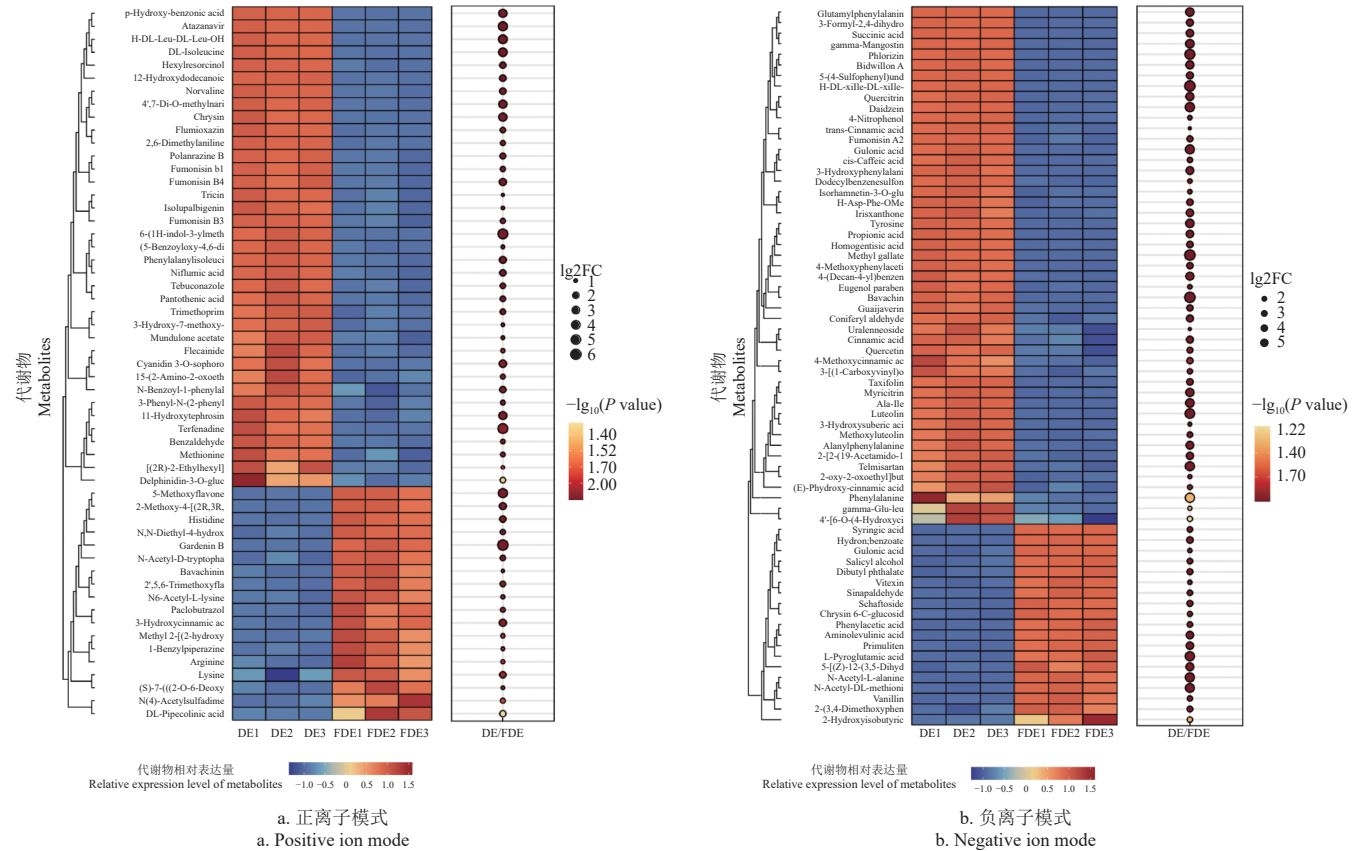
肉桂酸 [(E)-p-hydroxy-cinnamic acid]、丁香酚 (eugenol) 等酚类化合物均在正负离子模式下检测到, 这些化合物也已被报道是石斛属中所含有的酚类化合物^[31]。进一步选择折叠变化 (fold change, FC) ≥ 1 、 $P \leq 0.05$ 的差异酚类化合物绘制热图 (图 6), 发现经发酵后下调的酚类化合物更多。但本研究 2.2 部分总酚含量的结果表明, 经保加利亚乳杆菌发酵后, 铁皮石斛总酚含量上升。原因可能是铁皮石斛中酚类化合物种类多样, 经发酵后进一步降解或转化为分子量更小的化合物或者基团, 而这些新产生的化合物未能匹配到代谢组学采用的化合物数据库。

2.6 代谢通路分析

将差异代谢物数据上传至京都基因与基因组百科全书数据库 (kyoto encyclopedia of genes and genomes,

KEGG, <http://www.kegg.jp/>) 进行富集分析, 以研究铁皮石斛在发酵过程中的代谢通路。通过 KEGG 富集分析,

共有 51 条信号通路途径显著富集, 并绘制了前 13 条最富集的通路以气泡图 (图 7a) 表示。



注: 以 DE1、DE2、DE3 为例, 分别为铁皮石斛多酚提取物的 3 个平行样品。同理 FDE1、FDE2、FDE3 分别代表发酵铁皮石斛多酚提取物的 3 个平行样品。
log2FC 为差异倍数, $-\lg(P \text{ value})$ 为 P 值的负对数, DE/FDE 为两组样本的代谢产物含量的比值, 下同。
Note: DE1, DE2, and DE3 are taken as examples to represent three parallel samples of polyphenol extracts from *Dendrobium officinale*, respectively. In the same way, FDE1, FDE2 and FDE3 represent three parallel samples of fermented polyphenol extracts from *Dendrobium officinale*, respectively. log2FC represents the difference multiple, and $-\lg(P \text{ value})$ represents the negative logarithm of P value, DE/FDE is the ratio of the metabolite content of the groups of samples, the same below.

图 6 正负离子模式发酵前后酚类化合物差异分析

Fig.6 Analysis of differences in phenolic compounds before and after fermentation in positive and negative ion mode

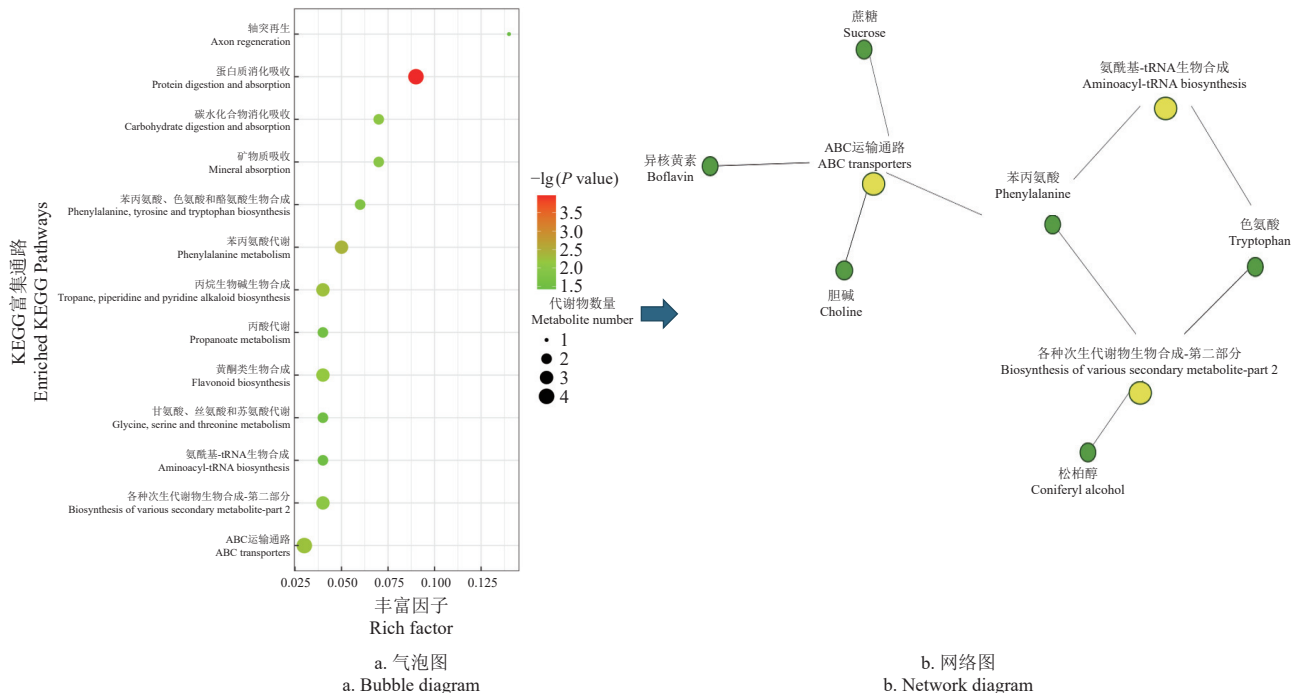


图 7 KEGG 富集分析

Fig.7 Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KGEE) enrichment analysis

由气泡图可知,在蛋白质的消化和吸收、苯丙氨酸代谢、丙烷生物碱生物合成、各种次生代谢产物的生物合成-第二部分、黄酮类生物合成和 ABC 运输通路是 6 条通路中差异代谢物数量较多的。

其中,各种次生代谢产物的生物合成-第二部分代谢通路与它们对应的生物活性最为相关,黄酮类化合物是酚类物质中的一个重要分支,是植物中主要的次生代谢产物之一,在其生物学功能中发挥着重要作用。

此外,根据丰富因子绘制了信号通路和差异代谢物的网络图(图 7b),其中胆碱、苯丙氨酸、核黄素、蔗糖是代谢通路 ABC 运输通路的主要代谢物,针叶树醇、苯丙氨酸和色氨酸参与次生代谢产物的生物合成-第二部分通路合成,柚皮素查尔酮、根皮甙对羟基苯乙醇胺、羟基阿魏酸和鞣花酸主要参与黄酮类和异黄酮类合成通路,其中有报道称柚皮素查尔酮具有抗炎和抗过敏作用^[32]。总之,KEGG 富集分析的结果进一步揭示了益生菌发酵铁皮石斛代谢途径的多样性。

3 结 论

采用 3 种乳酸菌对 5 个地区的铁皮石斛进行发酵,并对其活性成分和功能活性在发酵过程中的动态变化进行了评价,结果表明:

1) 3 种乳酸菌发酵对不同铁皮石斛均有一定增效作用,其中保加利亚乳杆菌发酵云南文山铁皮石斛 48 h 时的增效作用最为明显,经发酵后其 2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 自由基清除能力、铁离子还原能力分别为 288.51、34.34、136.32 mg/g,增加了 0.81、2.11 和 0.57 倍。

2) 高效液相色谱分析表明,铁皮石斛中的酚类化合物在发酵过程中发生了不同程度的降解和转化,同时也产生了一些新的酚类化合物。在发酵后,铁皮石斛有 4 种化合物有显著的变化,其中丁香酸增加了 75.38%,香草酸增加了 22.70%,而表没食子儿茶素没食子酸酯减小了 83.90%。此外,水杨酸仅在发酵后检测到。

3) 非靶向代谢组学结果表明,从发酵前后的铁皮石斛中共鉴定出 1 298 种代谢物,其中有 100 和 85 种代谢物分别在正负离子模式下显著上调,211 和 180 种代谢物显著下调,上调的代谢物明显少于下调的代谢物,上调代谢物主要集中在脂肪酸、核苷和生物碱,下调代谢物主要集中在类黄酮、酚类和萜类化合物,说明这些代谢物在发酵的过程中可能作为底物被逐渐消耗或被代谢转化。蛋白质的消化和吸收、苯丙氨酸代谢、丙烷生物碱生物合成、各种次生代谢产物的生物合成-第二部分、黄酮类生物合成和 ABC 运输通路是其可能的代谢通路。

受非靶向代谢组学的数据库限制,本研究未能对铁皮石斛中酚类化合物在发酵过程中的变化进行全面的表征,今后可进一步开发针对铁皮石斛中酚类化合物的检测方法、提高其检测灵敏度、丰富酚类化合物数

据库。

综上,该研究结果可为铁皮石斛的开发利用提供科学依据,为天然产品/食品中活性成分的生物转化提供参考。

[参 考 文 献]

- [1] 倪凯,何鹏飞,梁志庆,等.铁皮石斛化学成分、药理作用及毒理学评价研究进展[J].云南中医中药杂志,2023,44(10): 86-93.
- [2] TZI B, LIU J Y, WONG J H, et al. Review of research on *Dendrobium*, a prized folk medicine[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 93(5): 1795-1803.
- [3] 马红梅.云南铁皮石斛产业发展思考[J].林业建设,2016(3): 39-41.
MA Hongmei. Opinion on the development of Yunnan *Dendrobium officinale* industry[J]. *Forestry Construction*, 2016(3): 39-41. (in Chinese with English abstract)
- [4] 张娅妮,王国良,韩齐齐,等.猕猴桃皮多酚提取及其对 B16 细胞黑色素的影响[J].农业工程学报,2022,38(7): 317-325.
ZHANG Yani, WANG Guoliang, HAN Qiqi, et al. Extraction of the polyphenols from kiwifruit peel and its effect on melanin in B16 cells[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2022, 38(7): 317-325. (in Chinese with English abstract)
- [5] 唐文文,夏俊丽,陈垣.铁皮石斛茎、叶、花功能性成分、抗氧化活性及其相关性[J].食品与机械,2021,37(7): 45-50.
TANG Wenwen, XIA Junli, CHEN Yuan. Analysis of functional composition, antioxidant activity and their correlation in stem, leaf and flower from *Dendrobium officinale*[J]. *Food & Machinery*, 2021, 37(7): 45-50. (in Chinese with English abstract)
- [6] 黄彪,何伟,吴建鸿,等.UPLC-MS/MS 同时测定铁皮石斛茎、叶、花中酚类组分的含量[J].食品科学,2021,42(10): 262-268.
HUANG Biao, HE Wei, WU Jianhong, et al. Simultaneous determination of phenolic components in *Dendrobium officinale* stems, leaves and flowers by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2021, 42(10): 262-268. (in Chinese with English abstract)
- [7] 王丽颖,李福香,杨雅轩,等.多糖与多酚相互作用机制及其对多酚特性的影响研究进展[J].食品科学,2017,38(11): 276-282.
WANG Liying, LI Fuxiang, YANG Yaxuan, et al. Simultaneous interaction mechanism between polyphenols and polysaccharides and effect on polyphenolic properties: A review[J]. *Food Science*, 2017, 38(11): 276-282. (in Chinese with English abstract)
- [8] LI C X, WANG F R, ZHANG B, et al. Stability and antioxidant activity of phenolic compounds during in vitro digestion[J]. *Journal of Food Science*, 2023, 88(2): 696-716.
- [9] 黄宁馨,丁士勇,刘睿,等.主成分分析法优选枸杞乳酸菌发酵饮品发酵剂[J].农业工程学报,2021,37(8): 286-292.
HUANG Ningxin, DING Shiyong, LIU Rui, et al. Optimizing

- lactic acid bacteria starter culture for wolfberry juice fermentation using principal component analysis[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2021, 37(8): 286-292. (in Chinese with English abstract)
- [10] LIU S, HE Y X, HE W W, et al. Exploring the biogenic transformation mechanism of polyphenols by lactobacillus plantarum NCU137 fermentation and its enhancement of antioxidant properties in wolfberry juice[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2024, 72(22): 12752-12761.
- [11] WU C Y, LI T L, TIAN L, et al. Effects of lactic acid fermentation-based biotransformation on phenolic profiles, antioxidant capacity and flavor volatiles of apple juice[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 122:109064.
- [12] LI T L, JING T, LIU N, et al. Biotransformation of phenolic profiles and improvement of antioxidant capacities in jujube juice by select lactic acid bacteria[J]. *Food Chemistry*, 2020, 339: 127859.
- [13] YANG D, LIU L Y, CHENG Z Q, et al. Five new phenolic compounds from *Dendrobium aphyllum*[J]. *Fitoterapia*, 2015, 100: 11-18.
- [14] 黄振勇, 张娥珍, 淡明, 等. 乳酸菌发酵对铁皮石斛活性物质含量及其抗氧化能力的影响[J]. *热带作物学报*, 2020, 41(03): 572-578.
- HUANG Zhenyong, ZHANG Ezhen, DAN Ming, et al. Effects of lactobacillus fermentation on active substance and antioxidant activity of *Dendrobium candidum*[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2020, 41(03): 572-578. (in Chinese with English abstract)
- [15] YU G, XIE Q F, SU W F, et al. Improvement of antioxidant activity and active ingredient of *Dendrobium officinale* via microbial fermentation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1061970.
- [16] 林华嗣, 黄庆, 田胜兰, 等. 乳酸菌发酵前后铁皮石斛汁中功能活性物质与风味成分的比较[J]. *现代食品科技*, 2023, 39(12): 253-261.
- LIN Huasi, HUANG Qing, TIAN Shenglan, et al. Comparison of functional active substances and flavor components in *Dendrobium officinale* juices before and after lactic acid bacteria fermentation[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2023, 39(12): 253-261. (in Chinese with English abstract)
- [17] MWAMATOPE B, TEMBO D, CHIKOWE I, et al. Total phenolic contents and antioxidant activity of senna singueana, melia azedarach, moringa oleifera and lannea discolor herbal plants[J]. *Scientific African*, 2020, 9: e00481.
- [18] 朱晓雪, 龚绵红, 杨秉坤, 等. 不同种类及加工方式对杂粮酸奶体外抗氧化活性的比较[J]. *农业工程学报*, 2023, 39(8): 268-275.
- ZHU Xiaoxue, GONG Mianhong, YANG Bingkun, et al. Comparative study on antioxidant activity of multigrain yoghurt by different types and processing methods of coarse cereals[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2023, 39(8): 268-275. (in Chinese with English abstract)
- [19] WANG X L, ZHOU X, WANG K, et al. Structural characterisation and bioactivity of polysaccharides isolated from fermented *Dendrobium officinale*[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2022, 102(1): 280-290.
- [20] BOUYAHIA C, SLAOUI M, GOUITI M, et al. Total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity of *Cedrus atlantica* extracts[J]. *Polish Journal of Natural Sciences*, 2022, 1(37): 63-74.
- [21] KUT K, BARTOSZ G, SOSZYNSKI M, et al. Antioxidant properties of hispidulin[J]. *Natural Product Research*, 2022, 24(36): 6401-6404.
- [22] ABDELLATIF F, BEGAA S, MESSAOUDI M, et al. HPLC-DAD analysis, antimicrobial and antioxidant properties of aromatic herb melissa officinalis L., aerial parts extracts[J]. *Food Analytical Methods*, 2023, 16(1): 45-54.
- [23] 黄庆. 铁皮石斛乳酸菌发酵关键技术及其营养组分分析[D]. 南昌: 南昌大学, 2022.
- HUANG Qing. Study on the Key Technologies of Lactobacillus Fermentation and Analysis of Nutritional Components of *Dendrobium Candidum*[D]. Nanchang: Nanchang University, 2022. (in Chinese with English abstract)
- [24] 张居新. 铁皮石斛汁乳酸菌发酵特性及其乳酸菌饮料制备[D]. 芜湖: 安徽工程大学, 2020.
- ZHANG Juxin. Fermentation Characteristics for Lactic Acid Bacteria in *Dendrobium officinale* Juice and Preparation of Beverage with Lactic Acid Bacteria[D]. Wuhu: Anhui Polytechnic University, 2020. (in Chinese with English abstract)
- [25] 宫晓玥. 铁皮石斛植物乳杆菌发酵及其发酵物活性研究[D]. 海口: 海南大学, 2020.
- GONG Xiaoyue. Study on Fermentation of *Dendrobium candidum* by Lactobacillus Plantarum and its Fermentation Activity[D]. Haikou: Hainan University, 2020. (in Chinese with English abstract)
- [26] CAMACHO M D M, ZAGO M, GARCIA M E, et al. Free and bound phenolic compounds present in orange juice by-product powder and their contribution to antioxidant activity[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(9): 1748.
- [27] TUERS T, WANG Z H, ZHANG M, et al. Different preparation methods affect the phenolic profiles and antioxidant properties of qingke barley foods[J]. *Cereal Chemistry*, 2021, 98(3): 729-739.
- [28] 黄庆, 林华嗣, 王国鑫, 等. 乳酸菌发酵铁皮石斛活性成分与抗氧化功能动态分析[J]. *南昌大学学报 (理科版)*, 2022, 46 (4): 473-480.
- HUANG Qing, LIN Huasi, WANG Guoxin, et al. Dynamic analysis of active components and antioxidant function of *Dendrobium officinale* fermented by lactic acid bacteria[J]. *Journal of Nanchang University(Science Edition)*, 2022, 46(4): 473-480. (in Chinese with English abstract)
- [29] SHARMA R, DIWAN B, SINGH B P, et al. Probiotic fermentation of polyphenols: Potential sources of novel functional foods[J]. *Food Production Processing and Nutrition*, 2022, 4:21.
- [30] 王菁, 乔勇进, 柳洪入, 等. 超高压在植物活性物质提取中的应用研究进展[J]. *农业工程学报*, 2024, 40(18): 272-282.

- WANG Jing, QIAO Yongjin, LIU Hongru, et al. Research progress of ultra-high pressure on the extraction of plant active substances[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2024, 40(18): 272-282. (in Chinese with English abstract)
- [31] 李汉芬, 秦诗慧, 周泽琴, 等. 大苞鞘石斛酚类化学成分研究[J]. 中草药, 2024, 55(3): 711-719.
- LI Hanfen, QIN Shihui, ZHOU Zeqin, et al. Phenolic chemical components from *Dendrobium wardianum*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2024, 55(3): 711-719. (in Chinese with English abstract)
- [32] 夏莎莎, 王启明, 饶哲楠, 等. 柚皮素及其纳米递送体系研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(7): 338-345.
- XIA Shasha, WANG Qiming, RAO Zhenan, et al. Naringenin and its nano-delivery system: A review[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(7): 338-345. (in Chinese with English abstract)

Effects of lactic acid bacteria fermentation on the antioxidant activity and phenolic compounds of *Dendrobium officinale*

JIANG Bingting¹, LI Rurui¹, FANG Yue¹, ZHENG Wenjie¹, ZHOU Ying², LI Nengbo²,
HE Xiahong¹, WANG Zhenxing^{1✉}

(1. Key Laboratory of Conservation and Utilization of Southwest Mountain Forest Resources, College of Biological Science and Food Engineering, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. Institute of Caulis *Dendrobii* of Longling County, Baoshan 678300, China)

Abstract: The fermentation of lactic acid bacteria can enhance the transformation of active substances, such as polyphenols in food. This study aims to explore the effects of lactic acid bacteria fermentation on their functional activities and phenolic compounds in *Dendrobium officinale* (DO). Three commonly used lactic acid bacteria were first selected to ferment the DO from five regions. Then, a systematic investigation was implemented to determine the total phenolic and flavonoid contents and the antioxidant activity of DO before and after fermentation. The phenolic components and metabolite composition were finally characterized using high-performance liquid chromatography (HPLC) and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The results showed that the viable cell counts gradually increased in the DO fermentation broth, as the fermentation progressed, whereas, there was a gradual decrease in the pH value. The growth rate of viable cells was highest during the first 0 to 24 h fermentation, as the decline rate of pH value. All three lactic acid bacteria enhanced the contents of total phenolic and total flavonoid, as well as the antioxidant activity of DO. The most significant enhancement was observed to ferment with *Lactobacillus bulgaricus* for 48 h in the DO in Wenshan City, Yunnan Province. The total phenolic and total flavonoid contents of the fermented DO were 120.67 and 23.39 mg/g, respectively, under the same condition. Additionally, the radical scavenging abilities against the cationic ABTS radical (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) and DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) as well as the ferric reducing ability (FRAP) were highest at 288.51, 34.34, and 136.32 mg/g, respectively, which increased of 0.81, 2.11, and 0.58 times than before fermentation. 16 phenolic compounds were selected before and after DO fermentation using HPLC. Specifically, the content of sinapic acid increased from 0.65 to 1.14 mg/g (an increase of 75.38%), while the content of vanillic acid rose from 2.60 to 3.19 mg/g (an increase of 22.70%). However, the content of (-)-epicatechin gallate decreased from 2.92 mg/g to 0.47 mg/g (a decrease of 83.90%). Moreover, the salicylic acid was only detected in the post-fermentation samples. Non-targeted metabolomics analysis revealed that a total of 1,298 metabolites were identified from *Dendrobium officinale* before and after fermentation. Among them, 100 and 85 metabolites were significantly upregulated in the positive and negative ion modes, respectively, while 211 and 180 metabolites were significantly downregulated. The number of upregulated metabolites was notably lower than that of downregulated metabolites. The upregulated metabolites were primarily concentrated in the fatty acids, nucleosides, and alkaloids, whereas, the downregulated metabolites were found mainly in the flavonoids, phenolic compounds, and terpenes. It infers that these metabolites were gradually consumed or metabolically transformed during fermentation. Correlation analysis demonstrated a high correlation between antioxidant activity and phenolic compounds. Enrichment analysis of metabolic pathways was performed during *Dendrobium officinale* fermentation using the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). The most likely metabolic pathways were the ABC transport pathway, biosynthesis of various secondary metabolites - part II, and metabolism of alanine, aspartate, and glutamate. In conclusion, the fermentation of lactic acid bacteria significantly improved the antioxidant activity of DO, especially *Lactobacillus bulgaricus*. This improvement was closely related to the transformation and release of phenolic compounds during fermentation. *Dendrobium officinale* can be expected to serve as the biotransformation of active components in natural products/foods.

Keywords: *Dendrobium officinale*; lactobacillus; fermentation; phenolic compounds; antioxidant; high-performance liquid chromatography; metabolomics