林书宇, 张召, 熊尧, 等. 植物乳杆菌发酵黄芪提高抗氧化与抗炎功效 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(3): 432−442. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020274

LIN Shuyu, ZHANG Zhao, XIONG Yao, et al. Fermentation with *Lactiplantibacillus plantarum* Enhances the Antioxidative and Anti-inflammatory Activities of *Astragali Radix*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(3): 432−442. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020274

·营养与保健·

植物乳杆菌发酵黄芪提高抗氧化与抗炎功效

林书宇[1], 张　召[2], 熊　尧[3], 陈宏远[1], 陈　涛[2,3,*], 芮　雯[1,*]

（1.广东药科大学, 广东广州 510006;
2.广东芯选检验检测有限公司, 广东广州 510700;
3.广东南芯医疗科技有限公司, 广东广州 510700）

摘　要: 目的：为创新开发药食两用中药黄芪，利用植物乳杆菌 NX-1 发酵黄芪增强其抗氧化和抗炎功效，并揭示发酵工艺对黄芪成分的影响。方法：比较发酵和传统热水提取法加工黄芪对总酚含量、体外自由基清除能力以及缓解斑马鱼炎症功效的影响，并结合非靶向代谢组学技术分析黄芪发酵前后的成分差异。结果：发酵黄芪的体外自由基清除率和总酚含量显著提高（P<0.05），并均显著优于传统水提法加工的黄芪（P<0.05）。在斑马鱼炎症模型中，发酵黄芪可以显著抑制炎症部位中性粒细胞聚集（P<0.05），其清除一氧化氮和活性氧水平的功效显著优于水提法产物（P<0.05）。非靶向代谢组学分析表明 9 种具有潜在抗氧化或抗炎活性的成分在发酵后显著增加，包括山竹子素、丁香醛、鞣花酸、胭脂树橙、西伯利亚远志糖 A6、3,4-二羟基苯基丙酸、4-乙酰氧基酚、异鼠李素-3-O-芸香糖苷和对香豆酸。结论：植物乳杆菌 NX-1 发酵黄芪能够显著提高黄芪的体内外抗氧化与抗炎活性以及总酚含量，并且对黄芪的加工效果优于传统水提法，活性的增强可能与植物乳杆菌代谢活动引起潜在功效成分含量增加有关。

关键词: 黄芪, 植物乳杆菌, 发酵, 抗氧化, 抗炎, 非靶向代谢组学

中图分类号: TS201.3　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)03−0432−11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020274

本文网刊:

Fermentation with *Lactiplantibacillus plantarum* Enhances the Antioxidative and Anti-inflammatory Activities of *Astragali Radix*

LIN Shuyu[1], ZHANG Zhao[2], XIONG Yao[3], CHEN Hongyuan[1], CHEN Tao[2,3,*], RUI Wen[1,*]

（1.Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;
2.Guangdong Longseek Testing Co., Ltd., Guangzhou 510700, China;
3.Guangdong Longsee Biomedical Co., Ltd., Guangzhou 510700, China）

Abstract: Objective: *Astragali Radix* (AR) is a traditional Chinese medicinal herb that has been reported to have both medicinal and dietary applications. In this study, fermentation with *Lactiplantibacillus plantarum* NX-1 was employed to enhance the antioxidant and anti-inflammatory properties of AR, while also investigating its influence on the composition of AR. Methods: The enhancement of fermentation on antioxidative and anti-inflammatory activities in AR was assessed using *in vitro* free radical scavenging assays and a lipopolysaccharide (LPS)-induced zebrafish inflammation model. Meanwhile, the antioxidative and anti-inflammatory bioactivities and total phenol content of fermented AR (FAR) were compared with the AR processed via traditional hot water extraction. Following this, untargeted metabolomics was employed to analyze compositional differences of AR before and after fermentation. Results: Fermentation significantly improved the antioxidant capacity and total phenol content of AR (P<0.05), that significantly increased DPPH and

收稿日期: 2025−03−03

基金项目: 国家自然科学基金（82074017）; 粤港澳大湾区（佛山）先进制造业国家卓越工程师创新研究院联合培养扶持项目（2023FCXM015）。

作者简介: 林书宇（1999−）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 药物研发与转化, E-mail: SULEMIO702@163.com。

*** 通信作者:** 陈涛（1979−）, 男, 博士, 副主任技师, 研究方向: 微生物筛选与食品药品应用, E-mail: eric@longseemed.com。

芮雯（1981−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 中药药效物质基础和炮制机制、药物体内代谢、代谢组学, E-mail: gyruiwen@gdpu.edu.cn。

superoxide anion scavenging activities. Compared to the AR processed by water extraction, FAR had a better antioxidant performance *in vitro* and higher total phenol content (P<0.05). In the zebrafish experiment, FAR significantly inhibited neutrophil recruitment (P<0.05) and reduced nitric oxide (NO) and reactive oxygen species (ROS) levels in zebrafish model of inflammation. FAR gave a better performance in elimination of excess NO and ROS as compared to water-extracted AR (P<0.05). The untargeted metabolomics analysis between AR before and after fermentation revealed that fermentation significantly increased the level of multiple compounds with potential antioxidant and anti-inflammatory activities, including garcinol, syringaldehyde, ellagic acid, bixin, sibiricose A6, 3,4-dihydroxyphenylpropanoate, 4-acetoxyphenol, isorhamnetin3-O-rutinoside and p-coumaric acid. Conclusion: Fermentation with *L. plantarum* NX-1 could significantly improve the antioxidative activity, anti-inflammatory activity and total phenol content of AR. The enhancement could be attributed to the increasement on relative abundance of bioactive compounds by fermentation, suggesting the significant advantages of fermentation as compared to traditional water extraction in AR processing.

Key words: *Astragali Radix*; *Lactiplantibacillus plantarum*; fermentation; antioxidant activity; anti-inflammatory capacity; untargeted metabolomics

黄芪（*Astragali Radix*，AR）作为典型的药食同源中药，为豆科植物膜荚黄芪或蒙古黄芪的干燥根茎，传统中医认为其具有补中益气、扶正固本之效，现代药理学研究则发现黄芪富含多糖类、黄酮类及皂苷类等活性成分，具有抗氧化、免疫调节和降血糖等多种生物活性[1]。黄芪药材多加工为黄芪饮片和黄芪粉，日常通过热水煎煮冲泡食用，即利用热水提取法将黄芪活性成分转移至水中后摄入体内。另外黄芪水提液可与其他原料复配制成饮料，增添产品功效的同时丰富风味和口感[2]。然而热水提取法存在活性成分溶出率低、能耗高等问题，对原料的利用率较低[3]。在此背景下，微生物发酵为黄芪的现代化开发提供了创新路径。现代发酵技术反应条件温和，过程可控，并能通过酶解转化、代谢产物合成等机制促进已有成分释放和结构转化，有利于原料利用率与功效的提高[4]。例如经过非解乳糖链球菌发酵后的黄芪各部位的粗多糖、总黄酮和总皂苷成分含量均得到了显著增加[5]；保加利亚乳杆菌和植物乳杆菌发酵黄芪能提高黄芪对脂多糖诱导肠道细胞氧化损伤的保护作用[6]。通过发酵加工为饮料是发酵黄芪的转化方向之一，如黄芪和枸杞复配水提后加入沙果汁并用酵母菌发酵可制备果醋，发酵产物口感酸甜、气味芳香并具有良好的体外抗氧化功效[7]。目前国内对发酵黄芪功效研究主要集中于增强动物的免疫力和生长能力，代替抗生素用于饲料添加剂[8−9]。同时关于发酵加工或优化发酵工艺对功效影响的研究较多，涉及黄芪成分变化主要是关注多糖或黄酮等某类物质的含量变化，缺乏全面的分析以及成分与活性变化关联的探讨。因此探究发酵黄芪促进人体健康的功效以及发酵前后黄芪成分的具体差异，能够进一步丰富已有的研究并为发酵黄芪的功能食品开发提供理论支持。

氧化应激是指机体内产生过多的活性氧（Reactive oxygen species，ROS）等氧化物质并无法正常清除的失衡状态，会对机体组织的结构和功能造成损伤并参与炎症的进行和多种疾病的发展[10]。炎症是免疫系统清除有害刺激的一种防御措施，但过激或不可控的炎症反应会引起氧化应激等不良反应并对机体造成损伤。炎症和氧化应激相互促进会形成恶性循环，而通过抗氧化与抗炎功效协同干预阻断这一恶性循环，可有效延缓疾病进展并促进人体健康[11]。研究表明黄芪提取物能通过减少炎症因子和 ROS 起到缓解炎症和氧化应激的作用，若能证明相关活性在发酵后进一步提高将有利于支持该方向功能食品的开发[12]。斑马鱼（*Danio rerio*）是评估发酵黄芪抗氧化和抗炎活性的良好实验对象，其基因与人类高度相似，拥有类似的炎症病理特征和先天免疫功能，因此斑马鱼的炎症模型已成为评估潜在抗炎活性的成熟工具，涵盖免疫细胞、炎症因子和基因等多层次实验指标[13−14]。同时，斑马鱼的胚胎和幼鱼通体透明，通过基因编辑使细胞表达荧光蛋白或利用荧光染料染色后，能在荧光显微镜下直接观察斑马鱼体内特定细胞的数量及分布情况或关键生物标志物的表达水平，从而直观高效地评估疾病的发展及药物的疗效[15]。目前斑马鱼炎症模型已被用于其他发酵中药的相关活性研究中，但在发酵黄芪中的应用仍有待开发[16]。此外，黄芪的物质组成与功效密切相关，而非靶向代谢组学作为一种无偏向性地检测、鉴定样本中所有小分子代谢物的分析技术，可用于全面对比发酵前后样品的物质组成并寻找显著差异代谢物，为发酵工艺对黄芪活性的影响提供科学依据并揭示潜在机制[17]。

因此，本研究利用植物乳杆菌 NX-1 对黄芪进行发酵，通过斑马鱼炎症模型进行抗氧化和抗炎功效评估，并比较益生菌发酵与传统的热水提取法对黄芪功效的影响；利用非靶向代谢组学对发酵前后黄芪的成分变化进行分析，揭示发酵过程对黄芪的影响以及成分变化与功效变化的关联，为发酵黄芪的功能食品开发提供更丰富和深入的理论支持。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

黄芪饮片　广东大翔中药制药有限公司，批号 HX23B01，经广东药科大学中药学院刘基柱教授鉴

定为豆科蒙古黄芪 *Astragalus memdranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根; 植物乳杆菌 NX-1 广东南芯医疗科技有限公司, 保存于中国普通微生物菌种保藏管理中心(CGMCC No.20109); Tg (mpx:eGFP)转基因斑马鱼、AB 系野生型斑马鱼 中国斑马鱼资源中心; MRS 培养基 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司; 琼脂 北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司; 没食子酸、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、Tris-HCl 缓冲液 上海麦克林生化科技股份有限公司; 邻苯三酚 阿法埃莎(中国)化学有限公司; 地塞米松 大连美仑生物技术有限公司; 脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS) 西格玛化学品公司; 福林酚、二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)、苯基硫脲(1-Phenyl-2-thiourea, PTU) 上海源叶生物科技有限公司; 三卡因 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司; 以上试剂及其他实验过程中使用的试剂均为分析纯或更高。

SW-CJ-2D 双人单面垂直送风净化工作台 科凯特(广州)净化设备科技有限公司; MB-820 智能光照全温振荡培养箱 浙江美壁仪器有限公司; LX-165T2R 海尔台式高速微量冷冻离心机 青岛海尔生物医疗股份有限公司; FD100A 灭菌器 致微(厦门)仪器有限公司; BioTek Epoch 2 微孔板分光光度计、1290 Infinity II 超高效液相色谱系统、6545 Q-TOF 四极杆飞行时间液质联用系统 安捷伦科技(中国)有限公司; NIB950-FL 荧光显微镜 广州市明慧科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 植物乳杆菌 NX-1 发酵黄芪 参照 Li 等[18] 的发酵工艺并进行调整。称取粉碎后的黄芪饮片粉, 以 10%(w/v)的比例加入纯水, 于 118 ℃ 灭菌 15 min, 冷却至室温; 发酵黄芪组(Fermented AR, FAR 组)按 4%(v/v)的比例接种植物乳杆菌 NX-1 菌液, 于 37 ℃ 培养箱静置发酵 72 h; 发酵结束后于 4000 r/min 离心 20 min 收集上清液作为待测样品存储于 4 ℃ 冰箱, 用于后续实验。

1.2.2 不同加工方式的黄芪样品制备 发酵黄芪组制备工艺同 1.2.1; 另外参照 1.2.1, 取灭菌后的黄芪培养基不接种植物乳杆菌 NX-1 作为生黄芪组(AR 组); 称取黄芪粉按 1∶8(w/v)加入纯水, 加热至 80 ℃ 后提取 40 min, 过滤收集上清, 滤渣加入等量纯水再次水提和过滤, 合并两次的滤液加热浓缩至黄芪投料量与水提液体积比为 10%(w/v), 118 ℃ 灭菌 15 min 并冷却至室温作为传统热水提取法加工的黄芪水提组(AR processed by water extraction, ARW 组); FAR 组进行静置发酵时, AR 组和 ARW 组也同时放置于恒温箱中, 发酵结束后待测样品制备同 1.2.1。以上 FAR 组、AR 组和 ARW 组均属于样品组。

1.2.3 DPPH 自由基清除率测定 根据 Tanaka 等[19] 的方法加以改动。将样品(取 0.25 mL 加纯水至 1 mL)与以无水乙醇为溶剂制备的 0.1 mmol/L DPPH 溶液(1 mL)混合, 在黑暗下反应 30 min, 使用微孔板分光光度计在 517 nm 处测定吸光度。以 1 mg/mL 抗坏血酸(Vitamin C, V_C)溶液为阳性对照组, 纯水代替样品为空白组。另外, 用等量无水乙醇代替样品组或阳性组中的 DPPH 溶液作为样品背景组。DPPH 自由基清除率按式(1)计算。

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%)=\frac{A_{空白}-(A_{样品}-A_{背景})}{A_{空白}}\times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: $A_{空白}$指空白组(水+DPPH+乙醇)的吸光度; $A_{样品}$指的是样品组或阳性组(各样品或 V_C+DPPH+乙醇)的吸光度; $A_{背景}$指的是样品背景组(各样品或 V_C+乙醇)的吸光度。

1.2.4 超氧阴离子自由基清除率测定 根据 Yu 等[20] 和 Song 等[21] 的方法加以改动。取 0.2 mL 样品与 1 mL Tris-HCl 缓冲液(50 mmol/L, pH8.0)混合, 37 ℃ 孵育 10 min。加入 0.1 mL 邻苯三酚溶液(25 mmol/L), 37 ℃ 孵育 4 min。最后加入 0.2 mL HCl 溶液(1 mol/L)终止反应, 在 320 nm 处用微孔板分光光度计测定吸光度。以 1 mg/mL V_C 为阳性对照, 蒸馏水为空白组。另外, 用等量蒸馏水代替样品组或阳性组中的邻苯三酚溶液作为样品背景组。超氧阴离子自由基清除率按式(2)计算。

$$\text{超氧阴离子自由基清除率}(\%)=\frac{A_{空白}-(A_{样品}-A_{背景})}{A_{空白}}\times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中: $A_{空白}$指空白组(水+邻苯三酚)的吸光度; $A_{样品}$指的是样品组或阳性组(各样品或 V_C+邻苯三酚)的吸光度; $A_{背景}$指的是样品背景组(各样品或 V_C+水)的吸光度。

1.2.5 总酚含量测定 根据 Park 等[22] 的方法加以改动。取各待测样品 3 mL 加入 9 mL 的无水乙醇混匀后 4 ℃ 冰箱静置过夜醇提。取静置过夜醇提后的上清液 0.1 mL, 加入 0.05 mL 的 1 mol/L 的福林酚试剂及 0.4 mL 纯水混匀。3 min 后加入 0.1 mL 20% 的无水碳酸钠溶液和 0.35 mL 蒸馏水混匀, 于室温下避光反应 1 h。15000 r/min 离心 10 min, 于 725 nm 处测定吸光度。另取没食子酸配制为 0.2 mg/mL 的母液, 采用逐级稀释法用纯水梯度稀释, 制备 0~0.2 mg/mL 浓度间隔为 0.04 mg/mL 的没食子酸标准溶液系列, 以浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标进行标准曲线绘制, 得标准曲线为 y=2.9362x+0.0445(R^2=0.995)。结果以没食子酸当量(mg GAE/mL)表示。

1.2.6 斑马鱼养殖 雌雄的成年 AB 系野生型斑马鱼和成年荧光转基因斑马鱼 Tg (mpx:eGFP)养殖于循环水系统中, 采用 E3 水产养殖水(pH6.9~7.5, 盐

度 0.03%~0.04%), 温度 28.5±1.0 ℃, 14 h 光照/10 h 黑暗循环模拟昼夜。斑马鱼每日喂食两次卤虾。实验前, 随机选取成年斑马鱼, 按 1∶1 的雌雄比例进行配种。胚胎在光照期开始时产生, 随后统一轻轻地收集到干净的培养皿中。所有实验程序均经广东芯选检验检测有限公司机构动物伦理委员会批准, 项目编号 IACUC LS 0601-012024。

1.2.7　斑马鱼模型中抑制中性粒细胞募集功效评估

根据 Zhou 等[23] 的方法加以改动, 将受精 6~8 h 后的健康 Tg (mpx:eGFP)斑马鱼幼鱼放入含有 PTU 的 4 mL E3 水中孵育至受精 3 d 后。采用 0.02% 三卡因麻醉斑马鱼幼鱼, 于斑马鱼卵黄囊微注射 2 nL LPS (1 mg/mL)建立炎症模型, 空白组斑马鱼微注射 2 nL PBS 代替 LPS。移至六孔板后, 受试组分别加入 4 mL AR、FAR、ARW(0.5%, v/v), 阳性药物组加入地塞米松(Dexamethasone, DEX)(4 mL, 50 μg/mL), 模型组和空白组加入 PBS(4 mL), 同时避光孵育 6 h。孵育结束后, 用 E3 水清洗 3 次后再次使用 0.02% 三卡因麻醉斑马鱼, 荧光显微镜下观察荧光中性粒细胞募集情况, 拍照记录并统计炎症部位中性粒细胞个数。

1.2.8　斑马鱼模型中降低 NO 和 ROS 水平功效评估

根据 Yang 等[24] 的方法加以改动, 利用氧化敏感荧光探针染料(4-Amino-5-methylamino-2',7'-difluorofluorescein diacetate, DAF-FM-DA)检测斑马鱼体内一氧化氮(Nitric oxide, NO)的生成, 用 2',7'-二氯二氢荧光素(2',7'-Dichlorofluorescin diacetate, DCFH-DA)检测 ROS 生成。将受精 6~8 h 后的健康 AB 系斑马鱼幼鱼放入含有 PTU 的 4 mL E3 水中孵育至受精 3 d 后。采用 0.02% 三卡因麻醉斑马鱼幼鱼, 于斑马鱼卵黄囊微注射 2 nL LPS(1 mg/mL)建立炎症模型, 空白组斑马鱼微注射 2 nL PBS 代替 LPS。将斑马鱼转移至六孔板, 受试组分别加入 AR、FAR、ARW 各 4 mL (0.5%, v/v), 阳性药物组加入 DEX(4 mL, 50 μg/mL), 空白组和模型组加入 PBS 4 mL, 避光孵育 6 h。用 E3 水洗斑马鱼后加入终浓度为 0.005 mmol/L 的 DAF-FM-DA, 28.5 ℃ 避光孵育 1 h。孵育结束后使用 E3 水清洗 3 次, 0.02% 三卡因麻醉, 采用荧光显微镜观察 NO 荧光强度并拍照, 用 ImageJ 软件量化荧光分析体内 NO 含量。ROS 含量检测的步骤与分组与 NO 相同, 仅将染料由 DAF-FM-DA 改为同浓度的 DCFH-DA, 孵育条件改为 28.5 ℃ 避光孵育 30 min。

1.2.9　非靶向代谢组学分析　参考 Truver 等[25]、Tsugawa 等[26] 和 Dunn 等[27] 的方法加以修改, 采用 LC-MS 进行非靶向代谢组学分析。取 100 μL 样品置于 EP 管中, 加入 10 μL 内标(L-2-氯苯丙氨酸, 0.3 mg/mL, 甲醇配制), 涡旋振荡 10 s。加入 300 μL 蛋白质沉淀剂甲醇/乙腈(2/1, v/v), 涡旋振荡 1 min, 冰水浴超声提取 10 min, −20 ℃ 静置 30 min。4 ℃, 13000 r/min 离心 15 min, 取 200 μL 上清液用于 LC-MS 分析。质控样本(QC)由所有样本的提取液各取 20 μL 等体积混合制备而成。样品进样于 ACQUITY UPLC HSS T3 柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 流速 0.4 mL/min, 线性梯度 15 min。流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, 流动相 B 为含 0.1% 甲酸的乙腈。柱温设定为 40 ℃。梯度洗脱: 0~1 min, 2% 流动相 B; 1~9 min, 2%~98% 流动相 B; 9~12 min, 98% 流动相 B; 12~12.1 min, 98%~2% 流动相 B; 12.1~15 min, 2% 流动相 B。Q-TOF 质谱设置为正离子模式和负离子模式, 质量范围为 50~1300 Da。正离子模式下毛细管电压为 4000 V, 负离子模式下为 3500 V。雾化器的压力设定为 35 psig。护套气流量为 12 L/min, 护套气温度为 350 ℃。干燥气流量为 8 L/min, 干燥气温度为 320 ℃。碰撞能量设定为 10~30 V。原始数据使用软件 MS-DIAL(ver. 4.90)进行处理后基于公共数据库 MASSBANK 和 METLIN 对正负离子模式下的检出峰进行定性分析, 定量分析则通过计算物质峰的峰面积, 在样本内进行归一化处理, 获取物质的相对表达量, 之后在样本间对物质进行统计学分析。组间差异化分析由 R 工具包 MetaboAnalystR 完成。

1.3　数据处理

使用 GraphPad Prism 软件(8.0.2 版本)进行数据的统计分析, 组间差异显著性采用单因素 ANOVA 分析, 结果以 Mean±SEM 表示。采用 Origin 2018 进行绘图, 图中各组标注的小写字母表示各组间差异性, 相同的小写字母表明组间的差异不显著, 即 $P>0.05$, 无统计学意义; 不同的小写字母表明组间存在显著性差异, 即 $P<0.05$, 具有统计学意义。

2　结果与分析

2.1　不同加工方式黄芪的体外抗氧化功效及总酚含量

基于 DPPH 和超氧阴离子自由基清除实验评估不同加工方式黄芪的体外抗氧化活性。自由基拥有不成对电子, 会夺取其他物质的电子稳定自身而导致机体损伤, 清除过多的自由基有利于维持人体健康[28]。结果由图 1 可知, 各加工方式的黄芪均能有效清除 DPPH 自由基, 其中发酵黄芪 FAR 的清除率为 89.74%±1.03%, 相较于未加工的生黄芪 AR 的 85.58%±0.37% 以及传统水提法加工黄芪 ARW 的 83.28%±0.44% 有显著提高($P<0.05$)。同时, FAR 对超氧阴离子自由基的清除率为 98.54%±1.18%, 显著高于 AR 的 48.99%±0.36% 和 ARW 的 48.91%±2.04% ($P<0.05$)。有研究表明 DPPH 自由基的清除基于电子转移, 而超氧阴离子自由基的清除基于氢转移, 说明发酵黄芪可能可以通过不同方式将自由基转化为稳定的形式起到抗氧化作用[29]。

酚类化合物是植物中一类重要的次生代谢产物, 并具有优秀的抗氧化活性, 能够清除自由基、抑制脂质过氧化和缓解自动氧化链式反应的进行[30]。

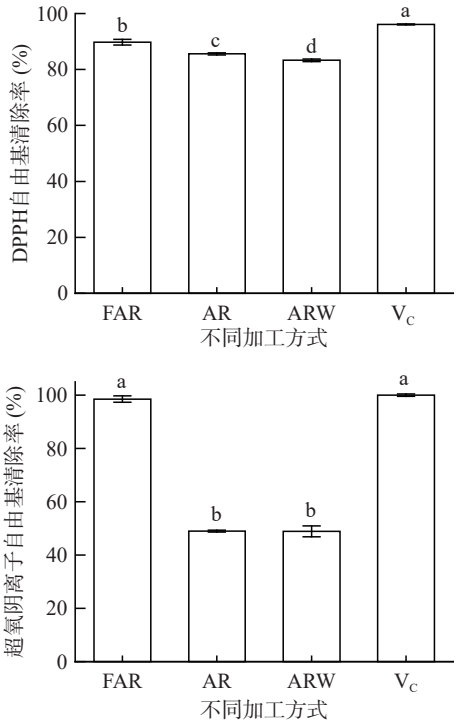


图 1　不同加工方式的黄芪的体外抗氧化活性(n=3)

Fig.1　Antioxidant activities of AR processed by different ways *in vitro* (n=3)

注: 不同字母表示差异显著(P<0.05); 图 2、图 4、图 6、图 8 同。

前人研究发现通过发酵可提高沙棘汁的总酚含量并增强其体外抗氧化能力[31]。通过福林酚法测定不同加工方式的黄芪的总酚含量, 结果如图 2 所示。未加工的 AR 的总酚含量为 0.30±0.0018 mg GAE/mL, 而 FAR 和 ARW 的总酚含量分别为 0.34±0.0085 和 0.28±0.0026 mg GAE/mL, 各组间均具有显著差异(P<0.05)。可见, 经发酵后黄芪的总酚含量得到了显著提高, 而水提法加工对总酚的提取效果有限。

综上, 实验结果证明经植物乳杆菌 NX-1 发酵能

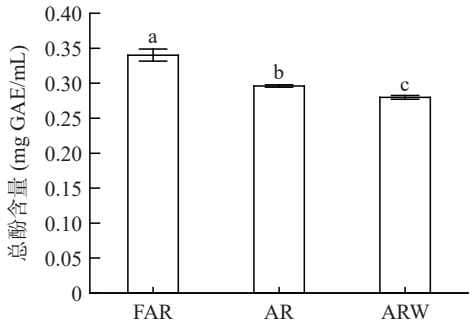


图 2　不同加工方式的黄芪的总酚含量(n=3)

Fig.2　Total phenol content of AR processed by different ways (n=3)

够提高黄芪的体外清除自由基功效以及总酚含量, 与 Park 等[22] 利用植物乳杆菌发酵黄芪后 DPPH 自由基清除率和总酚含量提高的结果相一致, 表明发酵可能是通过提高相关功效成分含量以增强黄芪的功效。同时对比传统水提法, 发酵工艺加工后的黄芪具有更优秀的体外抗氧化功效和更高的总酚含量, 体现了发酵工艺相较常规物理提取法的优势。

2.2　斑马鱼炎症模型评估不同加工方式黄芪的抗氧化和抗炎功效

为进一步评估不同加工方式的黄芪的抗氧化和抗炎功效, 通过显微注射 LPS 至卵黄囊构建斑马鱼炎症模型, 观察不同样品对斑马鱼炎症反应的缓解效果。预实验阶段通过梯度浓度暴露实验确定样品安全性, 将受精后的斑马鱼胚胎暴露于含不同浓度样品(0%~2%, v/v)的 E3 水中孵育 72 h, 结果表明 0.5%(v/v)的各组样品对斑马鱼胚胎的存活率和孵化率均在 90% 及以上, 且均不会引起斑马鱼发育畸形, 故选定该浓度进行后续实验。

2.2.1　抑制炎症部位中性粒细胞聚集　中性粒细胞在炎症发生后能快速聚集至炎症部位参与清除入侵

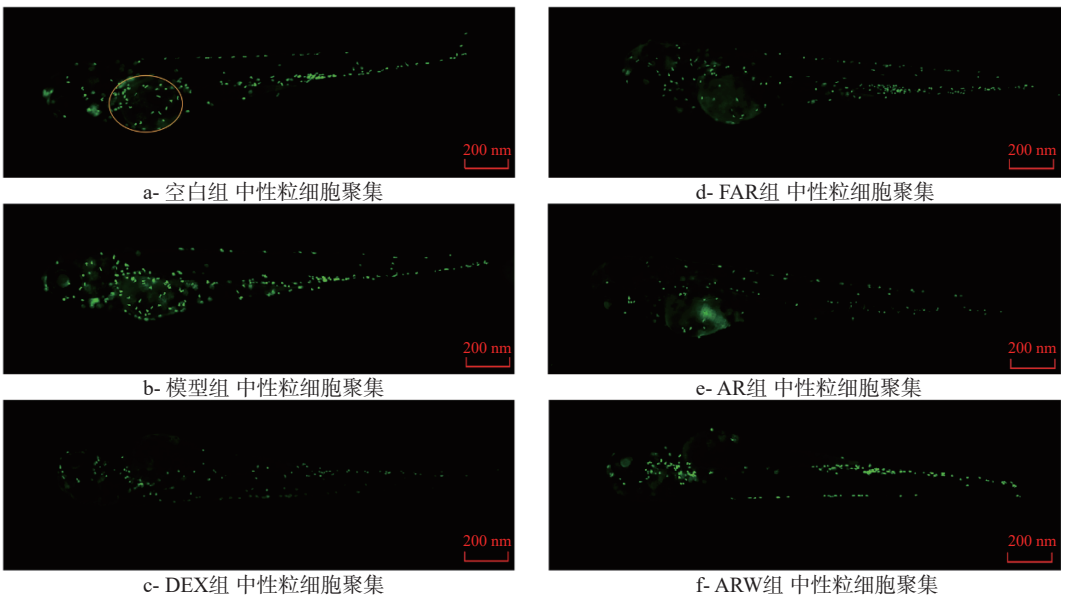


图 3　不同加工方式黄芪对斑马鱼卵黄囊处中性粒细胞聚集的影响

Fig.3　Effects of AR processed by different ways on neutrophil aggregation in the yolk sac region of zebrafish inflammation models

的微生物和调控炎症反应，但过度活跃会产生大量 ROS 及其他细胞毒性产物引发组织损伤和氧化应激，减少中性粒细胞的聚集有利于改善炎症反应[32]。对卵黄囊处荧光蛋白标记的中性粒细胞数量进行统计，结果如图 3 和图 4 所示，炎症模型组斑马鱼卵黄囊内中性粒细胞数量相较空白组的 17.17±2.79 个显著增加至 34±4.05 个（P<0.05），表明炎症模型构建成功。DEX 组使用地塞米松进行干预，炎症部位的中性粒细胞数量减少至 5.67±1.03 个，显著地抑制了炎症部位中性粒细胞聚集（P<0.05），表现出良好的抗炎活性。与模型组相比，AR、FAR 和 ARW 组同样显著抑制了中性粒细胞的聚集（P<0.05），各组的中性粒细胞数量分别为 14.33±2.73 个、17.17±1.33 个和 15±1.26 个，与空白组无显著差异（P>0.05）。以往研究表明通过断尾、硫酸铜和脂多糖诱导斑马鱼炎症均会引起中性粒细胞聚集至炎症部位，而给予药物干预后对应部位中性粒细胞均明显减少，表明抑制中性粒细胞聚集可有效缓解各种诱因引起的炎症[33]。同理，不同加工方式的黄芪样品干预下炎症部位的中性粒细胞均降低至与空白组相近的水平，表明三种样品均具有良好的抗炎活性。而三个样品组之间中性粒细胞数量无显著差异（P>0.05），表明当前的发酵工艺和水提法并未对黄芪减少中性粒细胞聚集的作用产生显著影响。

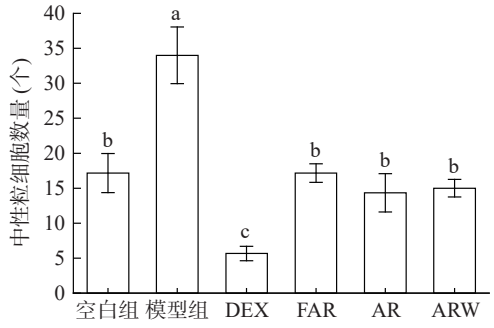


图 4　不同加工方式黄芪干预斑马鱼炎症模型卵黄囊处中性粒细胞数量的定量分析（n=6）

Fig.4　Quantitative analysis of the number of neutrophils in the yolk sac region of zebrafish inflammation models treated with AR processed by different ways (n=6)

2.2.2　减少炎症引起的 NO 过量产生　炎症反应引起免疫细胞聚集至炎症部位并释放 NO 杀伤外来微生物和调控炎症反应进行，但过量产生的 NO 会引起正常细胞和组织损伤并延长炎症反应[34]。不同加工方式的黄芪对斑马鱼炎症模型的 NO 水平影响结果如图 5 和图 6 所示。LPS 诱导的炎症模型组中 NO 的荧光强度为 2982.66±396.90 a.u.，与 NC 组的 1425.49±352.97 a.u.相比显著提高（P<0.05），表明炎症反应会引起 NO 大量产生。DEX 组的荧光强度为 2045.90±193.67 a.u.，相较于模型组显著降低（P<0.05），表明缓解炎症会引起体内 NO 水平的降低。而各样品组中斑马鱼体内荧光强度相较于模型组均显著降低（P<0.05），其中 FAR 组的 NO 荧光强度最低，为 1393.13±312.06 a.u.，与空白组相近（P>0.05），并显著低于 AR 组的 2084.12±484.43 a.u.和 ARW 组的 2288.29±448.48 a.u.（P<0.05）。LPS 诱导下炎症模型组 NO 的生成显著增加，以往研究表明通过抑制炎症诱导的一氧化氮合酶（Inducible Nitric Oxide Synthase, iNOS）mRNA 和相关蛋白表达可有效减少 NO 的产生，从而改善炎症反应[35]。结果表明，不同加工方式的黄芪均能显著减少炎症引起的 NO 大量产生，其中发酵工艺能提高黄芪原有的抑制效果并优于水提法对黄芪的加工效果，可能与发酵引起成分变化进而增强对 iNOS 的抑制作用有关。

2.2.3　减少炎症引起的 ROS 过量产生　炎症过程中免疫细胞可通过 NADPH 氧化酶催化 ROS 的产生用于杀死入侵微生物，但过量的 ROS 会引起氧化应

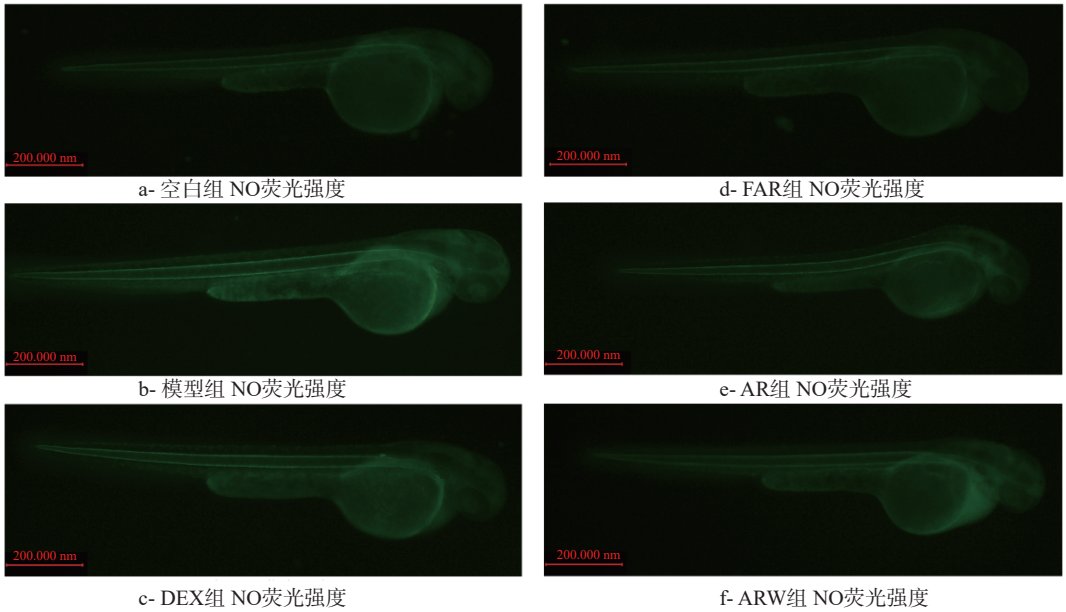


图 5　不同加工方式黄芪对斑马鱼炎症模型全身 NO 荧光强度的影响

Fig.5　Effects of AR processed by different ways on whole-body NO fluorescence intensity in zebrafish inflammation models

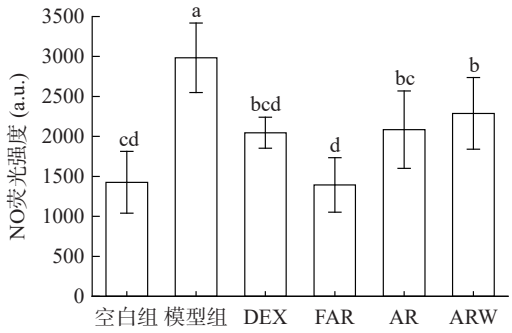


图 6 不同加工方式黄芪干预斑马鱼炎症模型全身 NO 荧光强度的定量分析(n=6)

Fig.6 Quantitative analysis of whole-body NO fluorescence intensity in zebrafish inflammation models treated with AR processed by different ways (n=6)

激、诱导 iNOS 表达上调并进一步放大炎症反应[36]。

由图 7 和图 8 可知, LPS 诱导后炎症模型组的 ROS 荧光强度为 1611.16±157.10 a.u., 相较于空白组的 954.10±92.17 a.u.显著提高(P<0.05)。经地塞米松和各黄芪样品干预后可显著降低斑马鱼炎症模型的 ROS 水平(P<0.05), 且均显著低于空白组(P<0.05)。其中 FAR 组的 ROS 荧光强度为 629.17±4.11 a.u., 与 AR 组的 636.84±13.37 a.u.相近(P>0.05), 并显著低于 ARW 组的 740.32±45.76 a.u.(P<0.05)。结果表明各黄芪样品能够有效抑制 LPS 引起的 ROS 过量产生, 并且发酵工艺加工黄芪可保持其良好的抗氧化功效, 而水提法加工后的黄芪对 ROS 的清除效果显著弱于生黄芪(P<0.05), 可能是由于水提法对黄芪活性成分的提取率较低[37]。

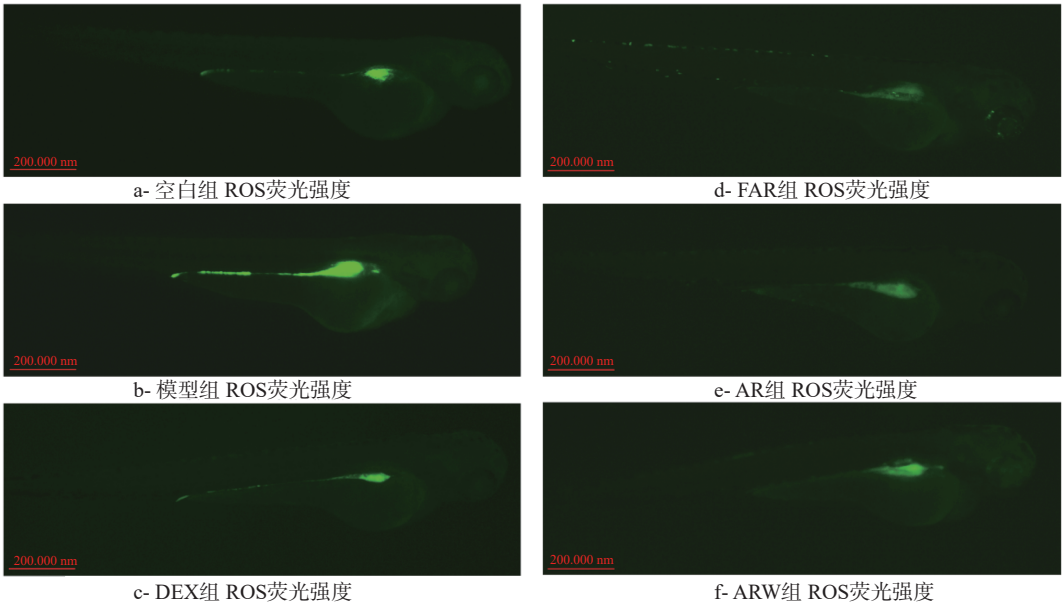


图 7 不同加工方式黄芪对斑马鱼炎症模型全身 ROS 荧光强度的影响

Fig.7 Effects of AR processed by different ways on whole-body ROS fluorescence intensity in zebrafish inflammation models

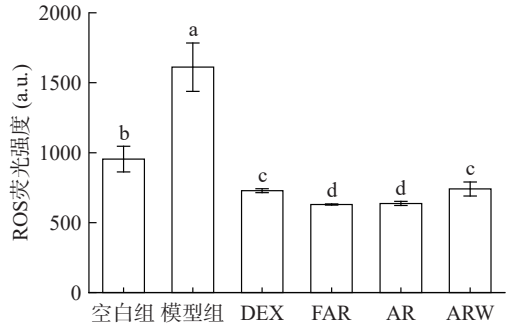


图 8 不同加工方式黄芪干预斑马鱼炎症模型全身 ROS 荧光强度的定量分析(n=6)

Fig.8 Quantitative analysis of whole-body ROS fluorescence intensity in zebrafish inflammation models treated with AR processed by different ways (n=6)

通过注射 LPS 诱导斑马鱼炎症的方法简便且稳定, 且更贴近临床的感染性炎症, 已被用于多种中药复方或发酵产物的抗炎功效评估, 但在发酵黄芪中的应用尚未开发[38]。通过对斑马鱼炎症模型中多项指标的评估, 证明发酵黄芪能够减少炎症部位中性粒细胞的聚集, 抑制斑马鱼体内过量 NO 和 ROS 的产生, 进而缓解 LPS 诱导的炎症反应和氧化应激, 其效果与抗炎药物地塞米松近似。并且发酵能够明显提高黄芪降低 NO 水平的功效, 发酵黄芪对 NO 和 ROS 的清除能力也优于黄芪水提物, 表明发酵相较传统水提法加工黄芪效果更佳。

2.3 非靶向代谢组学分析发酵前后黄芪成分变化

经植物乳杆菌 NX-1 发酵后黄芪的抗氧化和抗炎活性有显著提高, 可能与发酵对黄芪成分的改变有关, 因此利用非靶向代谢组学对发酵前后的黄芪进行分析。首先基于质控样品的变异系数(CV)对 AR 组和 FAR 组数据进行预处理, 排除大于 30% CV 的样品峰值, 然后对余下的样本峰值进行物质鉴定及归一化处理和主成分分析。主成分分析(Principal component analysis, PCA)结果表明, FAR 组和 AR 组相互独立且明显分离, 说明黄芪在发酵后代谢谱发

生了显著变化(图 9)。对所有代谢物进行差异倍数(Fold change, FC)分析，并于火山图中突出显示 FC>1.5 或 FC<0.67 且 P 值<0.05 的差异代谢物。结果(图 10)表明 FAR 组和 AR 组之间代谢物谱具有

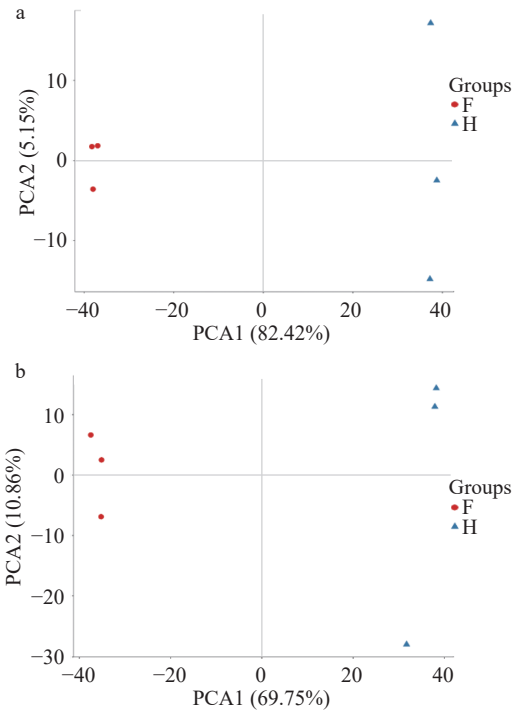


图 9　正负离子模式下发酵前后黄芪成分的 PCA

Fig.9　PCA for AR components before and after fermentation in positive mode and negative mode

注：a：正离子模式，b：负离子模式；F 组代表 FAR 即发酵黄芪，H 组代表 AR 即生黄芪；图 10~图 11 同。

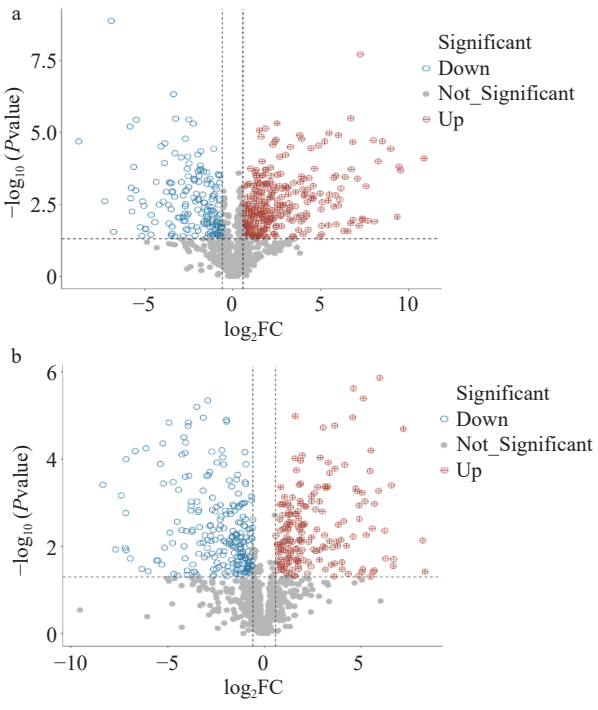


图 10　正负离子模式下发酵前后黄芪成分差异的火山图

Fig.10　Volcano plots of compositional differences in AR before and after fermentation in positive mode and negative mode

显著差异。与生黄芪相比，发酵有 439 个代谢产物上调(负离子模式 177 个，正离子模式 275 个，重复 13 个)，367 个代谢产物下调(负离子模式 224 个，正离子模式 167 个，重复 24 个)。

对 FAR 组和 AR 组的数据进行偏最小二乘法判别分析(Partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)。结果显示 PLS-DA 模型稳定可靠，两组间有显著性差异(图 11)。采用 t 检验进行差异代谢物的筛选，选取 PLS-DA 变量权重值(Variable important in projection, VIP 值)>1 且 P<0.05 的代谢物作为差异代谢物。与生黄芪相比，发酵后黄芪共检测到 192 种代谢物上调(正离子模式 120 种，负离子模式 76 种，重复 4 种)，157 种代谢物下调(正离子模式 71 种，负离子模式 97 种，重复 11 种)。此外，35 个化合物仅在 FAR 组中检测到，17 个化合物仅在 AR 组中出现。

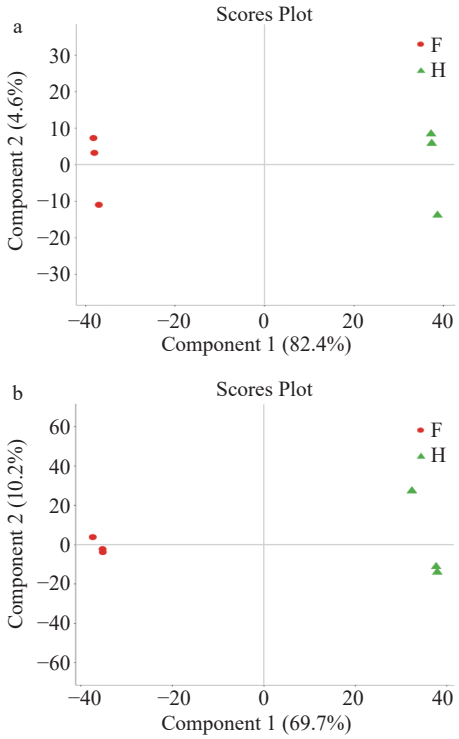


图 11　正负离子模式下发酵前后黄芪成分的 PLS-DA 得分图

Fig.11　PLS-DA scores plot of AR components before and after fermentation in positive mode and negative mode

在发酵后显著增加的差异代谢物中，有 9 种代谢物在过往研究中被发现具有抗氧化或抗炎活性(表 1)，分别为山竹子素(Garcinol)、丁香醛(Syringaldehyde)、鞣花酸(Ellagic acid)、胭脂树橙(Bixin)、西伯利亚远志糖 A6(Sibiricose A6)、3,4-二羟基苯基丙酸(3,4-Dihydroxyphenylpropanoate)、4-乙酰氧基酚(4-Acetoxyphenol)、异鼠李素-3-O-芸香糖苷(Isorhamnetin-3-O-rutinoside)和对香豆酸(p-Coumaric acid)。这 9 种代谢物已知可通过多种方式发挥缓解炎症或氧化应激的作用，包括清除机体内

表 1 黄芪发酵后显著增加的具有抗氧化或抗炎功效的代谢物

Table 1 Metabolites with antioxidant or anti-inflammatory properties significantly increased after fermentation of AR

名称	VIP值	*P*	功效
山竹子素	3.4657	0.0098	抗氧化和抗炎[39]
丁香醛	2.6819	<0.001	抗氧化和抗炎[41]
鞣花酸	2.3884	0.0432	抗氧化和抗炎[40]
胭脂树橙	1.9109	0.0027	抗氧化和抗炎[42−43]
西伯利亚远志糖A6	1.5335	<0.001	抗氧化[44]
3,4-二羟基苯基丙酸	1.4904	<0.001	抗氧化和抗炎[45−46]
4-乙酰氧基酚	1.3788	<0.001	抗氧化[47]
异鼠李素-3-O-芸香糖苷	1.3085	<0.001	抗氧化和抗炎[48]
对香豆酸	1.535	0.0341	抗氧化[49]

过多的 ROS、NO 和脂质过氧化物(丙二醛),减少肿瘤坏死因子和白细胞介素等促炎因子的释放,增强超氧化物歧化酶、过氧化氢酶等多种抗氧化酶活性,并涉及调控相关基因表达和信号通路激活。如山竹子素可以通过激活 toll 样受体 4(Toll like receptors 4, TLR4)和抑制核因子 κB(nuclear factor κ-B, NF-κB)的活化,降低丙二醛和 NO 水平,增强超氧化物歧化酶活性起到抗炎抗氧化的功效[39]。鞣花酸能够增强超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽活性,抑制白细胞介素 1β 和肿瘤坏死因子 α(Tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)等促炎因子水平的升高,可能是通过降低 *MyD88* 和 *TLR4* 基因表达进而抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路的激活发挥活性[40]。此外,9 种代谢物中山竹子素、丁香醛、鞣花酸、异鼠李素-3-O-芸香糖苷、对香豆酸和 3,4-二羟基苯基丙酸均属于酚类化合物,与 2.1 中发酵后黄芪总酚含量显著提高的结果相一致。因此,发酵后具有潜在功效的代谢物的显著增加可能是发酵黄芪抗氧化和抗炎活性增强的原因之一,具体的物质及其作用途径可作为后续深入验证发酵黄芪功效机制的出发点。

3 结论

本研究利用植物乳杆菌 NX-1 对黄芪进行发酵,对其抗氧化、抗炎功效以及相关功能成分的变化进行深入分析。首先,发酵黄芪的 DPPH 自由基和超氧阴离子自由基清除率分别达到 89.74%±1.03% 和 98.54%±1.18%,总酚含量为 0.34±0.0085 mg GAE/mL,相较于生黄芪有显著提高(P<0.05),并显著优于传统热水提取法加工的黄芪(P<0.05)。其次,对于 LPS 诱导的斑马鱼炎症,发酵黄芪能有效抑制炎症部位的中性粒细胞聚集,降低斑马鱼体内 ROS 和 NO 水平,表现出良好的抗氧化和抗炎活性且清除 ROS 和 NO 效果优于黄芪水提物。最后,通过非靶向代谢组学分析,证明发酵能显著改变黄芪的物质组成,引起包括 9 种潜在功效成分在内的 192 种代谢物上调,以及 157 种代谢物下调,探讨了发酵后黄芪成分变化与活性增强之间的关联。本研究为黄芪资源的现代化开发提供了新型的益生菌发酵工艺思路,丰富了发酵黄芪的功效评估方法并揭示了植物乳杆菌发酵对黄芪成分的改变情况,推测出与其功效提高的因果关系,为后续产品研发提供理论支持。然而,发酵黄芪抗氧化、抗炎功效的靶向机制还缺乏直接证据,且最大化放大黄芪功效的发酵工艺未被开发。因此,基于小鼠与细胞实验的机制挖掘与适用于工业化生产的发酵工艺优化是今后的研究重点。

© The Author(s) 2026. 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] 张栀偎, 刘海龙, 王瑞琼, 等. 黄芪化学成分和药理作用及 Q-marker 预测分析[J]. 中国新药杂志, 2023, 32(4): 410−419. [ZHANG Yixuan, LIU Hailong, WANG Ruiqiong, et al. Chemical constituents and pharmacological effects of *Astragali Radix* and predictive analysis on quality markers[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2023, 32(4): 410−419.]

[2] 李明泽, 李国锋, 黄玉龙, 等. 黄芪活性成分生理功能及在食品中的应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(13): 398−407. [LI Mingze, LI Guofeng, HUANG Yulong, et al. Research progress on physiological function of active components of *Astragalus* and their application in food[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(13): 398−407.]

[3] 王兰英, 唐萌, 徐盼菊, 等. 4 种方法提取花脸香蘑胞内多糖及其理化性质比较研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2017, 38(3): 61−66. [WANG Lanying, TANG Meng, XU Panju, et al. Four methods for the extraction of intracellular polysaccharides from *Lepista sordida* (Fr.) Singer and their physicochemical properties comparative study[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2017, 38(3): 61−66.]

[4] 王光强, 杨忠达, 吴倩, 等. 益生菌发酵中草药的研究进展[J]. 上海理工大学学报, 2024, 46(4): 357−363. [WANG Guangqiang, YANG Zhongda, WU Qian, et al. Research advance of probiotics in the fermentation of Chinese herbal medicine[J]. University of Shanghai for Science and Technology, 2024, 46(4): 357−363.]

[5] 苏贵龙, 张景艳, 张凯, 等. 益生菌发酵提高黄芪根、茎、叶活性成分含量的研究[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(6): 1877−1883. [SU Guilong, ZHANG Jingyan, ZHANG Kai, et al. Study on improving active ingredients of *Astragalus* root, stem and leaf by probiotic fermentation[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2017, 44(6): 1877−1883.]

[6] 王萍, 王长福, 韩士林, 等. 益生菌发酵黄芪对 LPS 诱导的人正常结肠上皮细胞 NCM-460 氧化损伤保护作用的机制研究[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(9): 1464−1471. [WANG Ping, WANG Changfu, HAN Shilin, et al. Mechanism of the protective effect of probiotic fermented *Astragali Radix* on lipopolysaccharide-induced oxidative damage in normal human colon epithelial cell NCM-460[J]. Natural Product Research and Development, 2024, 36(9): 1464−1471.]

[7] 杜国军, 李占锋, 洪婉婷, 等. 黄芪、枸杞、沙果果醋的研制及其抗氧化活性研究[J]. 中国调味品, 2024, 49(6): 131−134. [DU Guojun, LI Zhanfeng, HONG Wanting, et al. Study on development and antioxidant activity of *Astragalus membranaceus*, *Lycium barbarum* and *Malus asiatica* fruit vinegar[J]. China Condiment, 2024,

49(6)：131−134.］
［8］ 李月勤, 史洪涛, 张利卫, 等. 发酵黄芪对肉鸡脾脏指数及淋巴细胞增殖的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2022(24)：113−115,139.［LI Yueqin, SHI Hongtao, ZHANG Liwei, et al. Effects of fermented *Astragalus* on spleen index andits lymphocyte proliferation in broilers[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2022(24)：113−115,139.］
［9］ 王军, 吴树清. 发酵黄芪对羔羊生长性能、血清免疫指标及抗氧化能力的影响[J]. 饲料研究, 2023, 46(11)：27−30.［WANG Jun, WU Shuqing. Effect of fermented *Astragalus* on growth performance, serum immune index and antioxidant capacity of lambs[J]. Feed Research, 2023, 46(11)：27−30.］
［10］ 云博, 吴景东. 氧化应激与相关疾病及其作用机制[J]. 沈阳医学院学报, 2018, 20(3)：272−276.［YUN Bo, WU Jingdong. Oxidative stress and related diseases and their mechanisms[J]. Journal of Shenyang Medical College, 2018, 20(3)：272−276.］
［11］ AGGARWAL B B, SHISHODIA S, SANDUR S K, et al. Inflammation and cancer: How hot is the link?[J]. Biochemical Pharmacology, 2006, 72(11)：1605−1621.
［12］ ADESSO S, RUSSO R, QUARONI A, et al. *Astragalus membranaceus* extract attenuates inflammation and oxidative stress in intestinal epithelial cells via NF-κB activation and NRF2 response[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(3)：800.
［13］ ZANANDREA R, BONAN C D, CAMPOS M M. Zebrafish as a model for inflammation and drug discovery[J]. Drug Discov Today, 2020, 25(12)：2201−2211.
［14］ 李玉姣, 郭健敏, 黄远铿, 等. 斑马鱼在药理毒理研究中的应用进展[J]. 中南药学, 2024, 22(10)：2725−2728.［LI Yujiao, GUO Jianmin, HUANG Yuankeng, et al. Progress in the application of zebrafish in pharmacological and toxicological research[J]. Central South Pharmacy, 2024, 22(10)：2725−2728.］
［15］ 李嘉琪, 陈小橹, 吴嘉瑞, 等. 斑马鱼在中药品质评价中的应用进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(4)：58−70.［LI Jiaqi, CHEN Xiaolu, WU Jiarui, et al. Application of zebrafish in quality evaluation of traditional Chinese medicine[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2025, 31(4)：58−70.］
［16］ TANG N, XU X, GUO Z, et al. Preparation of safflower fermentation solution and study on its biological activity[J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15：1472992.
［17］ 李曦明, 温燕龙, 杨雪莹, 等. 基于非靶向代谢组学分析辣木叶发酵前后营养物质及代谢物变化[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(23)：105−110.［LI Ximing, WEN Yanlong, YANG Xueying, et al. Nutrient and metabolite changes before and after fermentation of *Moringa oleifera* leaves based on non-targeted metabolomics[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(23)：105−110.］
［18］ LI J, MA Y, LI X, et al. Fermented *Astragalus* and its metabolites regulate inflammatory status and gut microbiota to repair intestinal barrier damage in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9：1035912.
［19］ TANAKA N, NISHIKAWA K, ISHIMARU K. Antioxidative capacity of extracts and constituents in *Cornus capitata* adventitious roots[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(20)：5906−5910.
［20］ YU Q, LI W, LIANG M, et al. Preparation, characterization, and antioxidant activities of extracts from *Amygdalus persica* L. flowers[J]. Molecules, 2024, 29(3)：633.
［21］ SONG S, LIU X, ZHAO B, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* fermentation on the chemical structure and antioxidant activity of polysaccharides from bulbs of Lanzhou lily[J]. ACS Omega, 2021, 6(44)：29839−29851.
［22］ PARK H M, LEE J Y, KIM M Y, et al. Anti-oxidative and anti-inflammatory activities of *Astragalus membranaceus* fermented by *Lactiplantibacillus plantarum* on LPS-induced RAW 264.7 cells[J]. Fermentation, 2021, 7(4)：252.
［23］ ZHOU C H, YANG H, ZOU L F, et al. Ethyl lithospermate reduces lipopolysaccharide-induced inflammation through inhibiting NF-κB and STAT3 pathways in RAW 264.7 cells and zebrafish[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2023, 29(12)：1111−1120.
［24］ YANG Y, ZHENG K, MEI W, et al. Anti-inflammatory and proresolution activities of bergapten isolated from the roots of *Ficus hirta* in an *in vivo* zebrafish model[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2018, 496(2)：763−769.
［25］ TRUVER M T, CHRONISTER C W, KINSEY A M, et al. Toxicological analysis of fluorofentanyl isomers in postmortem blood[J]. Journal of Analytical Toxicology, 2022, 46(8)：835−843.
［26］ TSUGAWA H, CAJKA T, KIND T, et al. MS-DIAL: Data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis[J]. Nature Methods, 2015, 12(6)：523−526.
［27］ DUNN W B, BROADHURST D, BEGLEY P, et al. Procedures for large-scale metabolic profiling of serum and plasma using gas chromatography and liquid chromatography coupled to mass spectrometry[J]. Nature Protocols, 2011, 6(7)：1060−1083.
［28］ 杨悦, 刘鸣畅, 杨艳歌, 等. 不同品种蜂花粉总黄酮含量与自由基清除能力的相关性分析[J]. 沈阳农业大学学报, 2018, 49(6)：671−677.［YANG Yue, LIU Mingchang, YANG Yange, et al. Analysis of correlation between total flavonoids content and free radical scavenging capacities of bee pollen[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2018, 49(6)：671−677.］
［29］ 曾文俊, 吕彩梦, 丁建宝, 等. 体外抗氧化活性评价方法的反应机理研究进展[J]. 化学与生物工程, 2022, 39(12)：13−19.［ZENG Wenjun, LÜ Caimeng, DING Jianbao, et al. Research progress in reaction mechanism of evaluation methodfor antioxidant activity *in vitro*[J]. Chemistry & Bioengineering, 2022, 39(12)：13−19.］
［30］ 华晓雨, 陶爽, 孙盛楠, 等. 植物次生代谢产物-酚类化合物的研究进展[J]. 生物技术通报, 2017, 33(12)：22−29.［HUA Xiaoyu, TAO Shuang, SUN Shengnan, et al. Research progress on phenolic compounds of plant secondary metabolites[J]. Biotechnology Bulletin, 2017, 33(12)：22−29.］
［31］ 陈彦辉, 李亚凤, 李璞钰, 等. 植物乳杆菌 YHG1-155 发酵沙棘汁促糖苷类多酚生物转化[J]. 中国食品学报, 2024, 24(11)：289−299.［CHEN Yanhui, LI Yafeng, LI Puyu, et al. The biotransformation of glycoside polyphenols in sea buckthorn juice by *Lactobacillus plantarum* YHG1-155 fermented[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(11)：289−299.］
［32］ MORTAZ E, ALIPOOR S D, ADCOCK I M, et al. Update on neutrophil function in severe inflammation[J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9：2171.
［33］ ZHANG Y, WANG C, JIA Z L, et al. Isoniazid promotes the anti-inflammatory response in zebrafish associated with regulation of the PPARγ/NF-κB/AP-1 pathway[J]. Chemico-Biological Interactions, 2020, 316：108928.
［34］ HWANG J H, KIM K J, RYU S J, et al. Caffeine prevents LPS-induced inflammatory responses in RAW264.7 cells and zebrafish[J]. Chemico-Biological Interactions, 2016, 248：1−7.
［35］ JI S Y, CHA H J, MOLAGODA I M N, et al. Suppression of

lipopolysaccharide-induced inflammatory and oxidative response by 5-aminolevulinic acid in RAW 264.7 macrophages and zebrafish larvae[J]. Biomolecules & Therapeutics, 2021, 29(6): 685−696.

[36] KO E Y, CHO S H, KWON S H, et al. The roles of NF-κB and ROS in regulation of pro-inflammatory mediators of inflammation induction in LPS-stimulated zebrafish embryos[J]. Fish Shellfish Immunol, 2017, 68: 525−529.

[37] CHANG X, CHEN X, GUO Y, et al. Advances in chemical composition, extraction techniques, analytical methods, and biological activity of *Astragali Radix*[J]. Molecules, 2022, 27(3): 1058.

[38] 何彭可, 区锦莹, 余林中, 等. 斑马鱼内毒素炎症模型及相关复方、中药及活性成分研究进展[J]. 中药药理与临床, 2025, 41(4): 118−124. [[HE Pengke, OU Jinying, YU Linzhong, et al. Advances in zebrafish models of endotoxin-induced inflammation and treatment with traditional Chinese medicine[J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2025, 41(4): 118−124.]

[39] KANG Y, SUN Y, LI T, et al. Garcinol protects against cerebral ischemia-reperfusion injury *in vivo* and *in vitro* by inhibiting inflammation and oxidative stress[J]. Molecular and Cellular Probes, 2020, 54: 101672.

[40] ZHAO L, MEHMOOD A, SOLIMAN M M, et al. Protective effects of ellagic acid against alcoholic liver disease in mice[J]. Frontiers in Nutrition, 2021, 8: 744520.

[41] SHAHZAD S, MATEEN S, KAUSAR T, et al. Effect of syringic acid and syringaldehyde on oxidative stress and inflammatory status in peripheral blood mononuclear cells from patients of myocardial infarction[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2020, 393(4): 691−704.

[42] YU Y, WU D M, LI J, et al. Bixin attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis by suppressing TXNIP/NLRP3 inflammasome activity and activating NRF2 signaling[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 593368.

[43] MA J Q, ZHANG Y J, TIAN Z K, et al. Bixin attenuates carbon tetrachloride induced oxidative stress, inflammation and fibrosis in kidney by regulating the Nrf2/TLR4/MyD88 and PPAR-γ/TGF-β1/Smad3 pathway[J]. International Immunopharmacology, 2021, 90: 107117.

[44] SHAN X, YANG X, LI D, et al. Research on the quality markers of antioxidant activity of Kai-Xin-San based on the spectrum-effect relationship[J]. Frontiers in Pharmacology, 2023, 14: 1270836.

[45] LU R, WANG Y G, QU Y, et al. Dihydrocaffeic acid improves IL-1β-induced inflammation and cartilage degradation via inhibiting NF-κB and MAPK signalling pathways[J]. Bone & Joint Research, 2023, 12(4): 259−273.

[46] OLIVEIRA M M, RATTI B A, DARE R G, et al. Dihydrocaffeic acid prevents UVB-induced oxidative stress leading to the inhibition of apoptosis and MMP-1 expression via p38 signaling pathway[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, 2019: 2419096.

[47] HANUS J, KOLKIN A, CHIMIENTI J, et al. 4-Acetoxyphenol Prevents RPE oxidative stress-induced necrosis by functioning as an NRF2 stabilizer[J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2015, 56(9): 5048−5059.

[48] FU Y, JIA Y, SUN Y, et al. Dietary flavonoids alleviate inflammation and vascular endothelial barrier dysfunction induced by advanced glycation end products *in vitro*[J]. Nutrients, 2022, 14(5): 1026.

[49] SAKAMULA R, THONG-ASA W. Neuroprotective effect of p-coumaric acid in mice with cerebral ischemia reperfusion injuries [J]. Metabolic Brain Disease, 2018, 33(3): 765−773.