

复合菌株发酵桔梗的工艺优化及其对LPS诱导肺炎小鼠心脏损伤的保护作用

左承润¹, 景娜¹, 李佳¹, 王雨卉¹, 高世琦¹, 刘宸¹, 姚琳², 霍金海², 王伟明², 王楠^{1*}

(1. 天津科技大学生物工程学院, 教育部工业发酵微生物学重点实验室, 天津 300457)

(2. 黑龙江省中医药科学院, 黑龙江哈尔滨 150036)

摘要: 为了优化桔梗发酵工艺以提高多糖得率, 并探究其发酵产物对 LPS 诱导肺炎相关心脏损伤的保护作用。通过将植物乳杆菌 xdx-6801 与戊糖片球菌 ZY-23 按 1:1 的比例进行复配, 结合单因素试验筛选发酵条件参数范围, 进而利用正交试验优化发酵条件, 最后通过 C57BL/6J 小鼠体内试验验证优化后桔梗发酵液 (FPG) 对 LPS 诱导的急性肺损伤 (ALI) 小鼠的肺部及心脏损伤的保护作用。结果显示, 最佳发酵工艺条件为菌液接种量 4%、发酵温度 38 ℃、发酵时间 60 h。在此条件下制备的 FPG 多糖质量浓度达 237.48 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和总皂苷质量浓度 222.39 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 较未发酵样品分别提高 2.54 倍和 1.02 倍。FPG 能有效缓解 LPS 诱导的 ALI 小鼠的肺部及心脏损伤, 降低炎症因子 IL-6 (72.30%)、IL-1 β (54.66%) 和 TNF- α (53.44%) 的表达, 提升抗氧化酶 GSH (28.01%)、SOD (44.35%)、T-AOC (37.81%) 的活性, 减少氧化损伤标志物 MDA (53.25%) 的积累。此外, FPG 还显著改善了 ALI 小鼠的心脏泵血功能, 提高了射血分数 (44.50%) 和短轴缩短率 (79.48%), 并有效降低心肌损伤标志物 cTnI (65.95%) 的水平。总之, 优化后的桔梗发酵工艺不仅显著提高了桔梗的多糖质量浓度, 还对肺炎引发的心脏损伤具有显著的保护作用, 为桔梗在防治肺炎及其并发症中的应用提供了理论依据。

关键词: 发酵; 桔梗; 肺炎; 心脏功能

文章编号: 1673-9078(2026)06-158-169

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.6.0535

Process Optimization of Composite Strain Fermentation of *Platycodon grandiflorus* on LPS-Induced Cardiac Injury in Mice with Pneumonia

ZUO Chengrun¹, JING Na¹, LI Jia¹, WANG Yuhui¹, GAO Shiqi¹, LIU Chen¹, YAO Lin², HUO Jinhai²,

WANG Weiming², WANG Nan^{1*}

(1. College of Bioengineering, Tianjin University of Science and Technology, Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, Tianjin 300457, China)

(2. Heilongjiang Academy of Chinese Medical Sciences, Harbin 150036, China)

Abstract: The fermentation process of *Platycodon grandiflorus* was optimized to enhance polysaccharide yield and the protective effect of the fermentation products on LPS-induced pneumonia-related cardiac injury in mice was investigated. *Lactobacillus plantarum* xdx-6801 and *Pediococcus pentosaceus* ZY-23 were cocultured in a 1:1 ratio. The appropriate ranges of

引文格式:

左承润, 景娜, 李佳, 等. 复合菌株发酵桔梗的工艺优化及其对LPS诱导肺炎小鼠心脏损伤的保护作用[J]. 现代食品科技, 2026, 42(6): 158-169.

ZUO Chengrun, JING Na, LI Jia, et al. Process optimization of composite strain fermentation of *Platycodon grandiflorus* on LPS-induced cardiac injury in mice with pneumonia [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(6): 158-169.

收稿日期: 2025-04-15; 修回日期: 2025-06-10; 接受日期: 2025-06-16

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (ZD2024H005); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202410057186)

作者简介: 左承润 (2004-), 女, 本科生, 研究方向: 药食同源活性物质的研究与开发, E-mail: zuochengrun@163.com

通讯作者: 王楠 (1979-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 药食同源活性物质的研究与开发, E-mail: nanwang@tust.edu.cn

fermentation parameters were determined using single-factor experiments, and the fermentation conditions were optimized using an orthogonal experiment. The protective effect of optimized *P. grandiflorus* fermentation liquid (FPG) on LPS-induced acute lung injury (ALI) and cardiac damage in C57BL/6J mice was verified through *in-vivo* experiments. The optimal fermentation conditions were 4% inoculum, temperature of 38 °C, and duration of 60 h. Under these conditions, the polysaccharide content in FPG reached 237.48 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, and the total saponin content was 222.39 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. These values were 2.54 times and 1.02 times higher, respectively, than those in unfermented samples. FPG effectively alleviated lung and cardiac injury in LPS-induced ALI model mice, reduced the expression of the inflammatory factors interleukin 6 (72.30%), interleukin 1 β (54.66%), and tumor necrosis factor alpha (53.44%), increased the activity of the antioxidant enzymes glutathione (28.01%) and superoxide dismutase (44.35%), as well as total antioxidant capacity (37.81%), and suppressed the accumulation of oxidative damage marker malondialdehyde (53.25%). Furthermore, FPG significantly improved cardiac pumping function in ALI mice, increasing the ejection fraction (44.50%) and fractional shortening (79.48%), while markedly reducing the level of the cardiac injury marker cardiac troponin I (65.95%). In conclusion, the optimized fermentation process significantly increases the polysaccharide content of *P. grandiflorus*, and the fermentation product exerts a marked protective effect against pneumonia-related cardiac injury, providing a theoretical basis for the application of *P. grandiflorus* in the prevention and treatment of pneumonia and its complications.

Key words: fermentation; *Platycodon grandiflorus*; pneumonia; cardiac function

急性肺损伤 (Acute Lung Injury, ALI) 是由病原体引发的急性呼吸道感染性损伤, 主要的特征是肺部发生严重的炎症反应。根据世界卫生组织的数据, 2020 至 2021 年全球因肺炎相关死亡人数约为 1 490 万^[1]。在肺炎住院患者中高达 30% 都会引发心血管并发症, 如心肌梗塞、心律不齐和心力衰竭等, 这些并发症通常是肺炎患者死亡的重要原因^[2,3]。其中, 由于肺炎引起的过度炎症和氧化应激的失衡可能是导致肺炎患者发生心脏损伤的关键因素^[4]。已有研究表明, ALI 大鼠在肺炎后常常伴随心律失常现象, 伴有心脏功能受损^[5]。Cangemi 等^[6]研究发现, 肺炎患者血清中的心肌钙蛋白水平升高与氧化应激引起的心肺损伤密切相关。黄磊等^[7]的研究则表明, 肺炎大鼠的左室射血分数和左室短轴缩短率均显著下降, 这进一步揭示了肺炎与心脏功能的密切关系。此外, Kheiry 等^[8]通过研究 ALI 大鼠, 发现心脏组织中的脂质发生过氧化, 且细胞炎症因子水平如肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 发生了明显的紊乱。其中关键的是, 由于肺炎引发的多种促炎介质会从肺部渗透到体循环中, 激发持续的全身性炎症反应, 进而来诱发心脏损伤^[9]。目前临床上通常使用甾体抗炎药地塞米松治疗肺炎及心脏损伤^[10,11], 其主要通过降低体内促炎因子起到缓解肺部炎症和改善心血管通透性的作用^[12]。但是这类药物长时间使用后, 对身体脏器具有较强的毒副作用, 不利于患者机体的健康^[13]。

中药在我国有着悠久的历史, 多种中药成分和处方可改善肺部和心脏损伤^[14]。其中, 桔梗 (*Platycodon grandiflorus*, PG) 作为食药同源物质, 历

来被记载具有宣肺、祛痰、镇咳等功效。现代药理研究也表明, 桔梗具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种生物活性^[15,16]。Tao 等^[17]发现桔梗皂苷 D 能够有效降低 IL-6 和 TNF- α 的水平, 从而发挥对 ALI 的抗炎作用。孟庆雯等^[18]也发现桔梗中的桔梗皂苷 D 能够改善急性心肌梗死大鼠的心脏功能, 缓解心肌细胞的凋亡。但传统桔梗中的活性成分较低, 往往需要较高的剂量才能发挥作用。近年来益生菌发酵被认为是提高中药活性功效的有利措施, 特别是发酵后的活性成分 (如黄酮和多糖等) 质量浓度能得到有效提高^[19,20]。如桔梗与植物乳杆菌共同发酵后能够更好的抑制 TNF- α 诱导的促炎细胞因子和趋化因子的产生^[21]。然而, 关于发酵桔梗对肺炎引起的心脏损伤的研究尚未见报道, 尤其是复配多菌株发酵后桔梗的功效研究仍然较少。

因此, 该文旨在探讨复合菌株发酵桔梗的工艺优化及其对 LPS 诱导肺炎小鼠心肌损伤的保护作用及其潜在机制。这为中药治疗肺炎引起的心脏并发症治疗提供了有力的理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物、材料与试剂

桔梗购买自安徽正和堂中药饮片有限公司。植物乳杆菌 xdx-6801 (CGMCC No. 29046)、戊糖片球菌 ZY-23 (CGMCC No. 29047) 和小鼠巨噬细胞 RAW264.7 均来自天津科技大学生物工程学院微生物与分子药理学研究室自有。

18~20 g 雄性 SPF 级 C57BL/6J 小鼠 24 只购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司。使用许可证号:

SCXK（京）2022-0002。

地塞米松（碧云天，ST1258-1g）、MRS 培养基（索莱宝，M8330）、DMEM/ 高糖培养基（索莱宝，11995）、LPS（赛默飞，00-4976-93）、一氧化氮（Nitric Oxide，NO）检测试剂盒（碧云天，S0021S）、抗氧化酶谷胱甘肽（Glutathione，GSH）检测试剂盒（南京建成，A005-1-2）、超氧化物歧化酶（Superoxide Dismutase，SOD）检测试剂盒（南京建成，A001-3-2）、丙二醛（Malondialdehyde，MDA）检测试剂盒（南京建成，A003-1-2）、总抗氧化能力（Total Antioxidant Capacity，T-AOC）检测试剂盒（南京建成，A015-2-1）、苏木素伊红（Hematoxylin-Eosin，HE）染色试剂盒（索莱宝，G1120）、TRNzol 试剂（赛默飞，15596026CN）。PerfectStart® Green qPCR SuperMix（全式金，AQ601）。

1.2 设备与仪器

RE-5203 旋转蒸发器，上海亚荣公司；Venus2.5L-90℃低温真空冷冻干燥机，杭州富睿捷科技有限公司；DW-86L388J -80℃冰箱，青岛海尔特种电器有限公司；BCE124I-1CCN 电子天平，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司；ZQZY-78CES 发酵箱，上海知楚仪器有限公司；VINNO6 小动物心脏超声仪，飞依诺科技股份有限公司；BX53 正置荧光电子显微镜，日本olympus 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 发酵工艺优化单因素试验

设置基础条件为植物乳杆菌 xdx-6801: 戊糖片球菌 ZY-23=1:1（混合菌液浓度为 1.6×10^9 CFU/mL⁻¹）、发酵时间 72 h、发酵温度 37℃、菌液接种量 5%（体积分数）。通过改变单一条件，试验设计为：（1）发酵温度为 37℃，菌液接种量为 5%，发酵时间分别为 24、36、48、72 h；（2）菌液接种量为 5%，发酵温度分别为 35、37、39、41℃，发酵时间 72 h；（3）菌液接种量分别为 1%、3%、5%、7%，在 37℃条件下发酵 72 h。以总多糖为主要指标，筛选更优的发酵条件，同时检测总皂苷质量浓度、总多酚质量浓度、总黄酮质量浓度、还原糖的质量浓度变化。

1.3.2 发酵工艺优化正交试验

根据单因素的试验结果来设计正交试验，以确定桔梗复配发酵的最佳工艺条件。以发酵温度（A）、发酵时间（B）、菌液接种量（C）为考察因素，以总多糖质量浓度为评价指标，进行 3 因素 4 水平正交试验。

表 1 桔梗复配发酵工艺优化正交试验因素与水平
Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment for optimization of compound fermentation process of

Platycodon grandiflorus			
序号	A 发酵温度/℃	B 发酵时间/h	C 接种量/%
1	32	24	2
2	35	36	3
3	38	48	4
4	41	60	5

1.3.3 总多糖、总皂苷、总黄酮、总多酚和还原糖的检测方法

本研究采用经典比色法，对发酵桔梗冻干粉中总多糖^[22]、总皂苷^[23]、总黄酮^[24]、总多酚^[25]以及还原糖^[19]含量进行测定。各指标测定均通过配制标准品溶液构建质量浓度梯度，经显色反应后于特定波长测定吸光度，建立标准曲线（总多糖 $y=5.4979x+0.4505$ ；总皂苷 $y=4.7884x+0.1231$ ；总黄酮 $y=2.039x+0.0407$ ；总多酚 $y=4.7845x+0.0377$ ；还原糖 $y=4.0604x-0.2034$ ）。将发酵桔梗冻干粉配制成相应质量浓度溶液，按文献^[19,22-25]报道的标准流程操作，基于标准曲线计算各成分质量浓度。

1.4 细胞试验

1.4.1 细胞处理

将小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 培养在含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素的 DMEM/ 高糖基本培养基中，置于 37℃、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养至对数生长期。当细胞密度达到 60%~70% 时，分为五组试验。CON 组：不处理细胞，作为对照组；LPS 组：用 LPS（1 μg·mL⁻¹）刺激细胞，模拟炎症反应；PG 组：用 200 μg·mL⁻¹ 的 PG 处理细胞；FPG 组：根据预试验优化结果，选择较优发酵条件的 FPG（200 μg·mL⁻¹）处理细胞，其中 200 μg·mL⁻¹ 剂量根据课题组前期试验结果选定^[26]。

1.4.2 检测对LPS诱导的RAW 264.7细胞中NO释放的影响

建立 CON 组、LPS 组、PG 组、FPG 组，进行 NO 水平的检测，试剂盒保存在冰箱 4℃，试验前将试剂盒从冰箱使其恢复至室温。根据试剂盒说明书的要求，先稀释标准品，然后分别加入 50 μL Griess 试剂 I 和 50 μL Griess 试剂 II，于 540 nm 波长下检测 OD 值并制作标准曲线： $y=61.226x-4.3428$ 。按照说明书步骤测定样品的 OD 值，并带入标准曲线后计算 NO 水平。

1.5 动物试验

1.5.1 模型建立

该研究选用了 24 只 4~6 周龄、体质量介于 18~22 g 的 C57BL/6J 小鼠，并对其进行为期一周的适应性喂养，确保昼夜各 12 h 的光照周期，并提供自由饮水条件，遵循试验动物伦理，并获得天津科技大学动物伦理审查委员会的批准许可（SWXY-20250119006）。模型建立主要是通过乙醚将小鼠处于半昏迷状态后向小鼠气管内滴注 LPS（5 mg·kg⁻¹），气管滴注后旋转小鼠，使药物能在小鼠肺部均匀布散，当观察到小鼠出现呼吸频率急剧加快、伴随明显粗重喘息声时，即可判定 LPS 成功滴入气道。试验共分为 4 组，NC 组、MOD 组、DXMS 组和 FPG 组。其中 NC（空白对照）组和 MOD（LPS 模型）组灌胃无菌水，DXMS 组按照 2 mg·kg⁻¹ 剂量灌胃阳性药物地塞米松，FPG 按照 200 mg·kg⁻¹ 剂量^[27]灌胃发酵桔梗，连续灌胃 7 d 后 MOD 组、DXMS 组和 FPG 组利用 LPS 建立 ALI 小鼠。

1.5.2 心脏功能检测

采用气体（异氟烷）麻醉的方法将小鼠麻醉，将小鼠四肢与电极相连监测心率。小鼠胸部脱毛并涂抹超声波耦合剂，切换至 M 模式检测射血分数、频率分数等参数，记录测量数据后进行统计分析。

1.5.3 HE染色切片

将获取的肺部组织迅速置于 4% 福尔马林固定液中，固定 48 h。随后，将固定后的组织依次浸入不同体积分数的乙醇溶液中进行逐级脱水处理，脱水顺序为 50%、60%、70%、80%、90%、95% 乙醇。脱水完成后进行石蜡包埋与切片、HE 染色，置于显微镜下进行观察。

1.5.4 炎症因子的检测

采用 TRNzol 法提取样本 RNA，取适量组织 / 细胞加入 TRNzol 试剂，充分匀浆裂解后，加入氯仿振荡离心，分离水相和有机相。将上层水相转移至新管，加入异丙醇沉淀 RNA，经 $\varphi=75\%$ 乙醇洗涤、干燥后，用 RNase-free 水溶解沉淀。在提取完总 RNA 并定量后，再用 Fast Quant cDNA 第一条链合成试剂盒（去基因组）合成 cDNA，按照全式金荧光定量检测试剂盒进行操作，反应体系为 20 μL ，引物序列见表 2。

1.5.5 氧化应激能力检测

取小鼠组织，进行氧化应激评价：利用试剂盒说明过程测定小鼠脏器总抗氧化能力（T-AOC）、超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-px）及丙二醛（MDA）的浓度变化。

表 2 qPCR引物序列

Table 2 qPCR primer sequences

序号	引物名称	引物序列
1	TNF- α -F	GCTCTGTGAAGGGAATGGGTGTT
2	TNF- α -R	GTCCAGGTCACTGTCCCAGCATC
3	IL-6-F	ACTTCCATCCAGTTGCCTTCTTG
4	IL-6-R	TGTTGGGAGTGGTATCCTCTGTG
5	IL-1 β -F	CAGAGTTCCCCAACTGGTACATC
6	IL-1 β -R	GGGAAGGCATTAGAAACAGTCC
7	CTnI-F	AGGAGGAGGAGGAAGGAG
8	CTnI-R	AGGTGACATGGAGACAGG
9	GAPDH-F	GAGAAACCTGCCAAGTATGATGAC
10	GAPDH-R	TAGCCGTATTTCATTGTCATACCAG

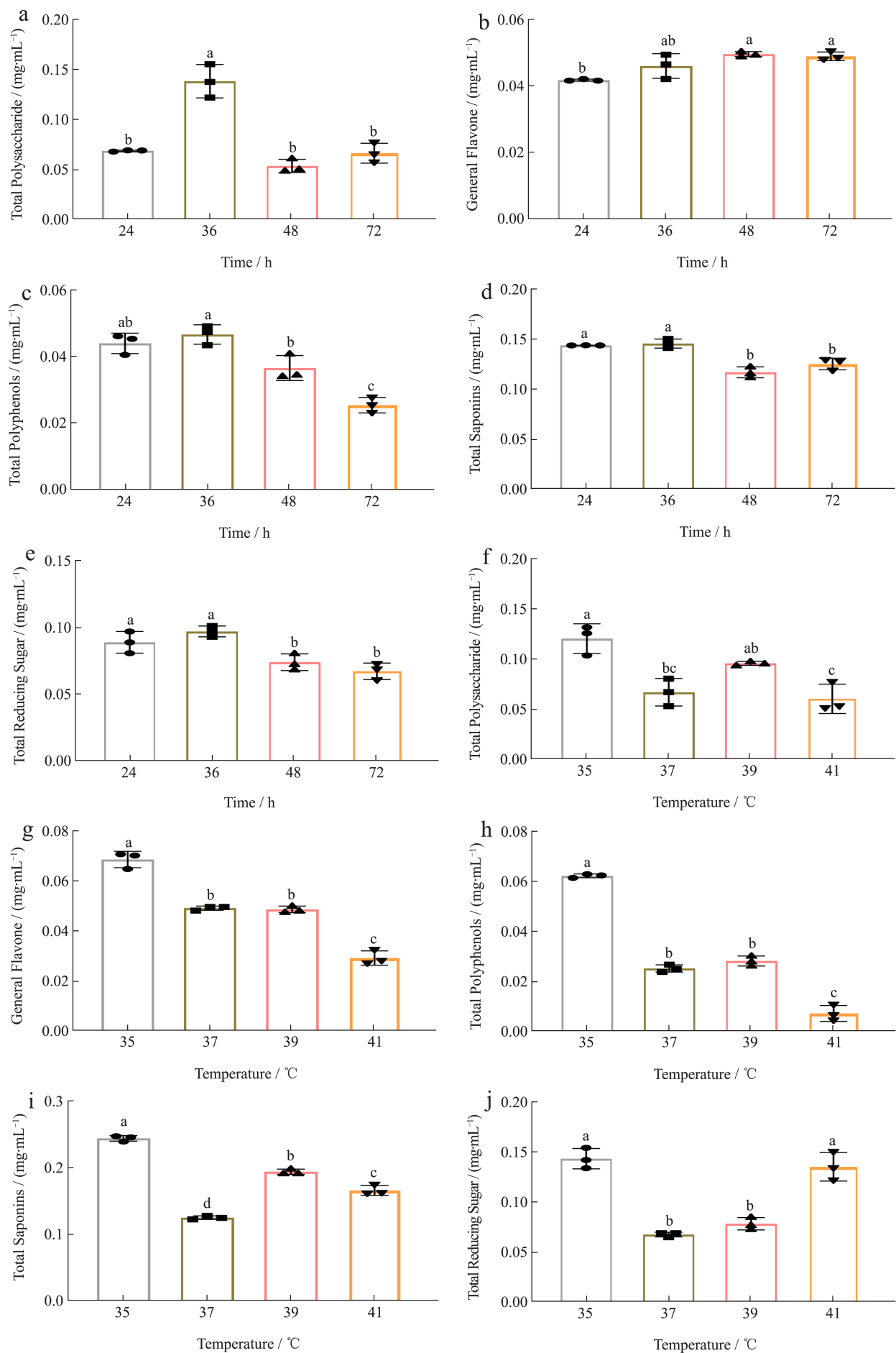
1.6 数据统计学分析

数据用 Statistix 8.1 和 GraphPad Prism 10.0 分析软件进行统计分析，每组试验均重复 3 次。采用单因素方差分析进行组间比较。

2 结果与分析

2.1 单因素条件优化

通过单因素试验，优化发酵时间（图 1a~1e）、发酵温度（图 1f~1j）和菌液接种量（图 1k~1o）等因素。结果表明，在发酵温度为 35 $^{\circ}\text{C}$ 时，桔梗中各活性成分的质量浓度都有显著提升：总黄酮为 68.64 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，总多糖为 120.20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，总多酚为 62.34 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，总皂苷为 244.46 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，总还原糖为 143.09 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。若发酵时间为 36 h，虽然各项成分的提升幅度略低于温度优化，但仍然取得了显著效果，总黄酮为 46.25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，总多糖为 138.26 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，总多酚为 46.53 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，总皂苷为 145.82 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，总还原糖为 97.07 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。而在菌液接种量为 3% 时，总黄酮为 52.13 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，总多糖为 73.27 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，总多酚为 27.37 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，总皂苷为 151.80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，总还原糖为 64.59 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。与相关文献的研究相比，本试验结果具有一定的相似性。于婷^[28]采用乳酸菌和酵母菌共同发酵，发现桔梗中的总皂苷、总多糖、总黄酮和总多酚的分别由 3.50%、5.46%、0.86% 和 0.82% 提升至 5.44%、9.11%、2.59% 和 3.36%。此外，Kim 等^[29]通过植物乳杆菌 P1201 与短乳杆菌 BMK184 的混合发酵，显著提高了桔梗中的酚类和黄酮类化合物质量浓度。这些研究结果进一步证明了发酵过程在提升桔梗活性成分方面的有效性。综上所述，单因素试验表明，最佳发酵条件为发酵温度 35 $^{\circ}\text{C}$ 、发酵时间 36 h 和菌液接种量 3%。在这些条件下，桔梗中的总多糖质量浓度显著提升，其他活性成分也得到了较大改善。为进一步提高目标产物的产量，将以总多糖作为主要优化指标，进行后续的研究。



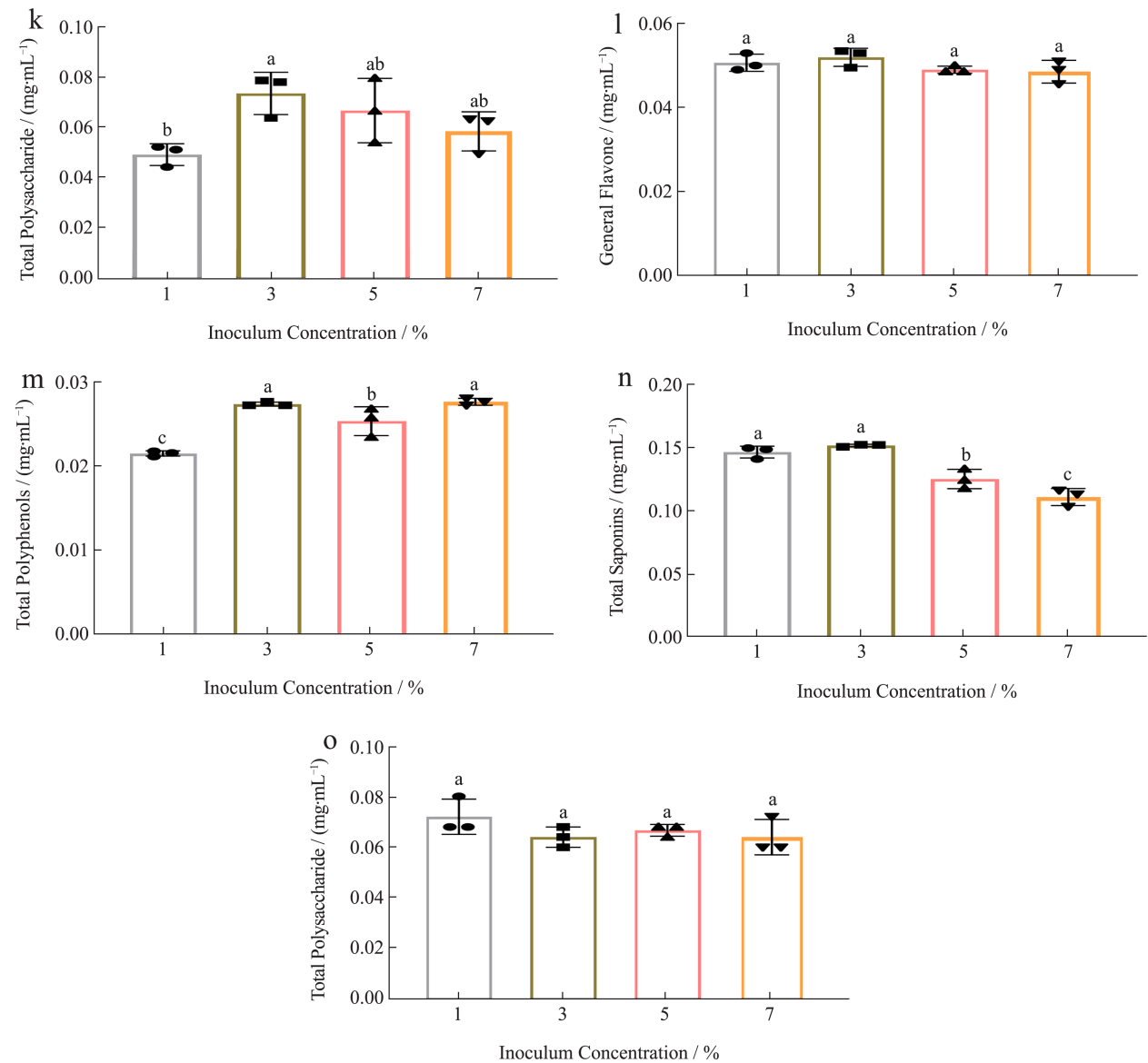


图 1 单因素对活性物质的影响

Fig.1 Effect of single-factor optimization on active substances

注：不同字母之间代表存在显著性差异， $P<0.05$ 。

2.2 正交试验结果

根据单因素正交试验结果，以发酵温度（A）、发酵时间（B）及菌液接种量（C）为自变量，以总多糖为评价指标，进行 3 因素 4 水平的正交试验。表 3 中数据能够看出，影响发酵液产物总多糖的因素主次顺序为 $A>B>C$ ，即发酵温度对总多糖影响最大，其次为发酵时间和菌液接种量。且筛选出最优组合为 $A_3B_4C_3$ ，即发酵温度为 38℃，发酵时间为 60 h，菌液接种量为 4%。从表 4 可看出，在此条件下优化后的条件进行发酵，检测发现其多糖质量浓度为 $237.48\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，相比未发酵提高了 2.54 倍。同时，其他活性成分也得到了不同程度的提升。

2.3 PG、FPG对LPS诱导的RAW 264.7细胞中NO释放的影响

为了研究 FPG 对 RAW 264.7 细胞中 NO 的影响，选取正交试验优化条件后多糖质量浓度上升较为明显的组分对 RAW 264.7 细胞处理，并对上清液中 NO 的浓度进行了检测。结果如图 2 所示，与对照组相比，LPS 组的 NO 极显著上升 ($P<0.001$)。与 LPS 组相比，经过 PG 和 FPG 处理的细胞中 NO 表达水平下降，且 FPG 的抑制作用优于 PG，其中 FPG (38℃；60 h；4%) 处理组中 NO 水平相比 LPS 组下降存在极显著差异 ($P<0.001$)，故后续动物试验选择该发酵条件下的桔梗。

表 3 发酵工艺正交试验表				
Table 3 Orthogonal experiment of fermentation process				
序号	A	B	C	总多糖质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
1	1	1	1	$109.16 \pm 8.01^{\text{k}}$
2	1	2	2	$183.07 \pm 7.02^{\text{c}}$
3	1	3	3	$180.71 \pm 11.02^{\text{cd}}$
4	1	4	4	$190.41 \pm 6.43^{\text{b}}$
5	2	1	2	$132.93 \pm 7.44^{\text{i}}$
6	2	2	3	$170.22 \pm 6.44^{\text{g}}$
7	2	3	4	$106.98 \pm 7.03^{\text{k}}$
8	2	4	1	$198.53 \pm 7.29^{\text{a}}$
9	3	1	3	$176.28 \pm 9.37^{\text{ef}}$
10	3	2	4	$172.52 \pm 12.33^{\text{fg}}$
11	3	3	1	$178.95 \pm 9.44^{\text{de}}$
12	3	4	2	$175.86 \pm 10.33^{\text{ef}}$
13	4	1	4	$132.41 \pm 9.25^{\text{j}}$
14	4	2	1	$140.75 \pm 8.24^{\text{h}}$
15	4	3	2	$134.69 \pm 5.34^{\text{i}}$
16	4	4	3	$108.44 \pm 7.98^{\text{k}}$
K1	663.35	541.78	627.39	
K2	608.66	666.56	626.55	
K3	703.61	601.33	635.65	
K4	507.29	673.24	593.32	
k1	221.12	180.59	209.13	
k2	202.87	222.19	208.85	
k3	234.54	200.44	211.88	
k4	169.10	224.41	197.77	
R	65.44	43.82	14.11	
主次顺序 A>B>C				
优组合	A3	B4	C3	

注：A 为发酵温度，B 为发酵时间，C 为菌液接种量。同一列之间不同字母代表存在显著性差异， $P<0.05$ 。

2.4 FPG对LPS诱导肺炎心肌损伤的保护作用

为了评估桔梗发酵物对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺部

表 4 优化条件后的活性成分质量浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)					
Table 4 Content of active ingredients after optimized conditions					
指 标	总多糖	总黄酮	总多酚	总皂苷	还原糖
发酵桔梗	$237.48 \pm 10.38^{\text{a}}$	$35.01 \pm 4.62^{\text{a}}$	$59.49 \pm 5.83^{\text{a}}$	$222.39 \pm 14.68^{\text{a}}$	$158.41 \pm 7.43^{\text{a}}$
未发酵桔梗	$66.66 \pm 8.24^{\text{b}}$	$20.91 \pm 0.57^{\text{b}}$	$24.26 \pm 3.44^{\text{b}}$	$110.10 \pm 9.34^{\text{b}}$	$61.13 \pm 6.04^{\text{b}}$

注：同一列之间不同字母代表存在显著性差异， $P<0.05$ 。

及心脏并发损伤的保护作用，该研究先通过 HE 染色法对各组小鼠的肺脏和心脏组织进行了观察。结果显示，MOD 组小鼠的肺组织出现了明显的炎症反应，肺泡壁显著增厚，且伴随大量炎性细胞浸润及肺泡腔内出血现象。相比之下，经 DXMS 和 FPG 处理后，肺部的炎症反应明显减轻，炎性细胞浸润显著减少，肺组织结构得到改善。在心脏组织的观察中，NC 组小鼠心脏结构完整、纹理清晰且稳定，没有出现心肌纤维断裂或破坏。而 MOD 组小鼠则表现出明显的心肌细胞损伤，部分心脏组织纹理模糊，结构紊乱，提示心脏组织受损严重。经 DXMS 和 FPG 治疗后，心脏组织的损伤得到了显著修复，心肌细胞结构趋于正常。综合分析，发酵桔梗对 LPS 诱导的小鼠肺部炎症及心脏损伤具有显著的保护作用，能够有效减轻肺部炎症反应并修复心脏组织损伤。

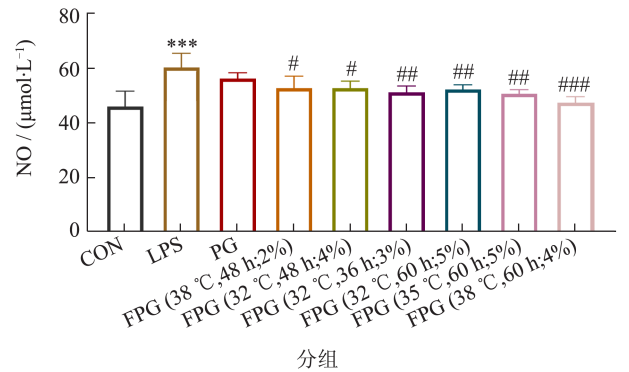


图 2 PG、FPG 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 的影响
Fig.2 Effects of PG and FPG on LPS induced NO in RAW 264.7 cells
注：*** 与 CON 组相比具有显著性差异， $P<0.001$ ；# 与 LPS 组相比具有显著性差异， $P<0.05$ ；## $P<0.01$ ；### $P<0.001$ 。

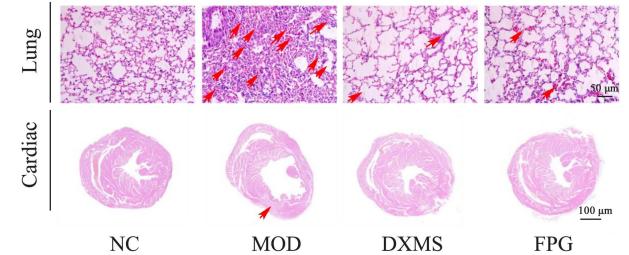


图 3 肺部和心脏组织的 H&E 染色
Fig.3 H&E staining of lung and heart tissue
注：肺 20 $\times$ ，心脏 10 $\times$ 。

2.5 FPG对炎症因子的抑制作用

为了进一步评估桔梗发酵液对ALI小鼠心脏炎症反应的影响,进一步检测了小鼠肺部和心脏中炎症因子的表达变化。结果显示,LPS诱导的ALI小鼠中,IL-6、IL-1 β 和TNF- α 的水平显著高于NC组($P<0.05$)。在经过FPG和DXMS处理后,小鼠心脏中IL-6、IL-1 β 和TNF- α 的表达水平显著降低($P<0.05$)。相较MOD组,FPG组小鼠的IL-6下降了72.30%,IL-1 β 下降了54.66%,TNF- α 下降了53.44%。这些结果表明,桔梗发酵液能够有效减轻ALI小鼠体内的炎症反应,其效果与DXMS相似,提示桔梗发酵液具有一定的抗炎作用。类似地,Kheiry等^[8]研究发现,香豆酸p-CA预处理

能够减轻LPS诱导的ALI大鼠的全身炎症反应,并显著降低LPS组大鼠心脏组织中的氧化应激水平,以及TNF- α 和IL-6的表达。综合来看,桔梗发酵液可能通过抑制炎症因子的释放来发挥保护作用。万凯波等^[30]通过利用植物乳杆菌发酵无患子水提物,研究结果表明,发酵过程显著改变了多糖和皂苷的含量。同时,发酵产物能够有效降低LPS诱导的RAW 264.7细胞中炎症因子TNF- α 、IL-6及活性氧(ROS)的水平(分别降低57.5%、56.2%和35.9%),从而对面部痤疮的改善起到了积极作用。而在本研究中,发酵桔梗液对炎症因子具有类似的降低活性,其中对IL-6的降低效果更明显(降低72.30%)。

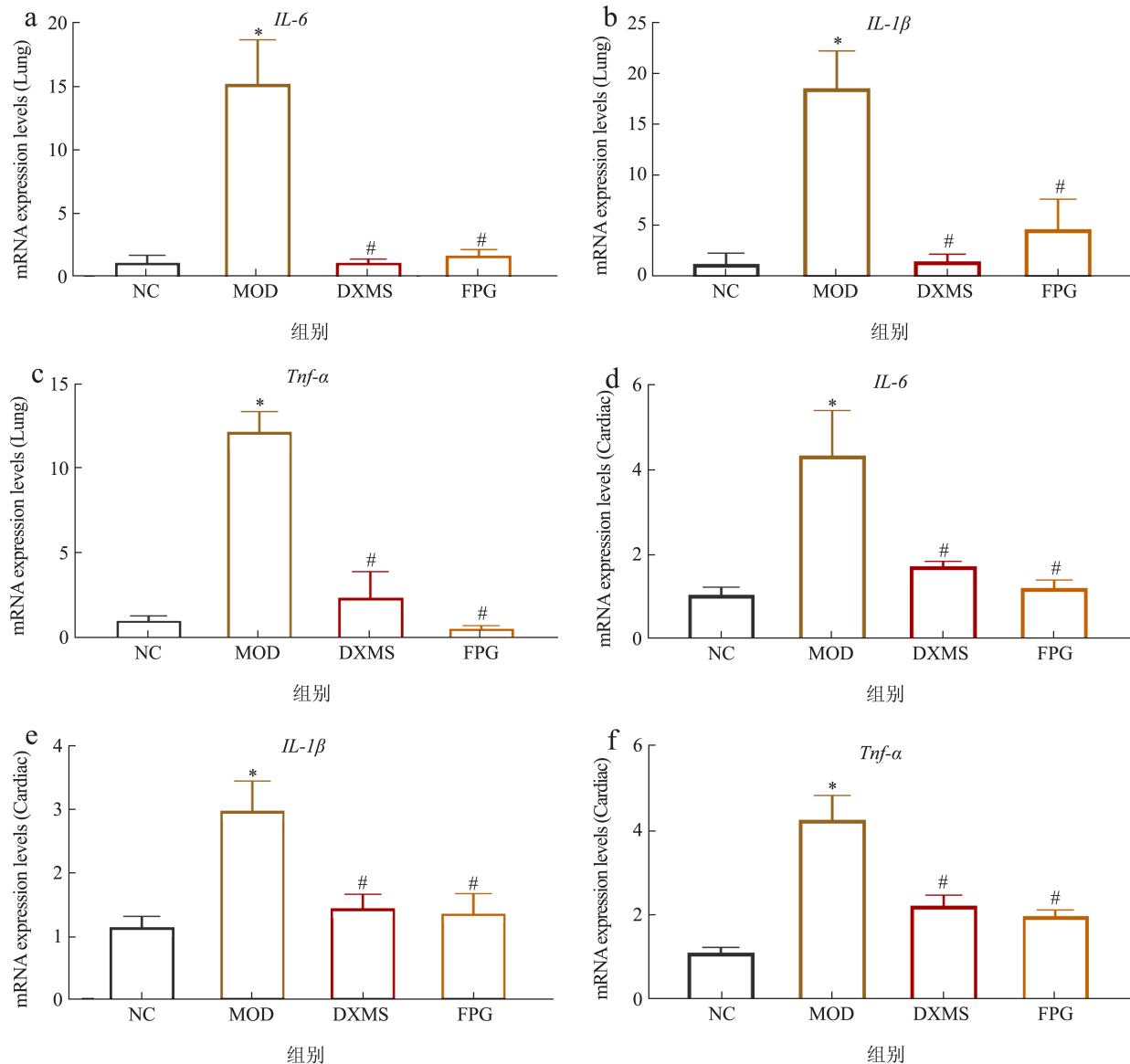


图4 FPG对ALI小鼠炎症因子的影响

Fig.4 Effect of FPG on inflammatory factors in ALI mice

注: NC: 正常对照组; MOD: 急性肺损伤模型组; DXMS: 地塞米松组; FPG: 发酵桔梗组; *: 与NC组相比具有显著性差异, $P<0.05$, #: 与MOD组相比具有显著性差异, $P<0.05$ 。下同。

2.6 FPG对氧化应激稳态的调节作用

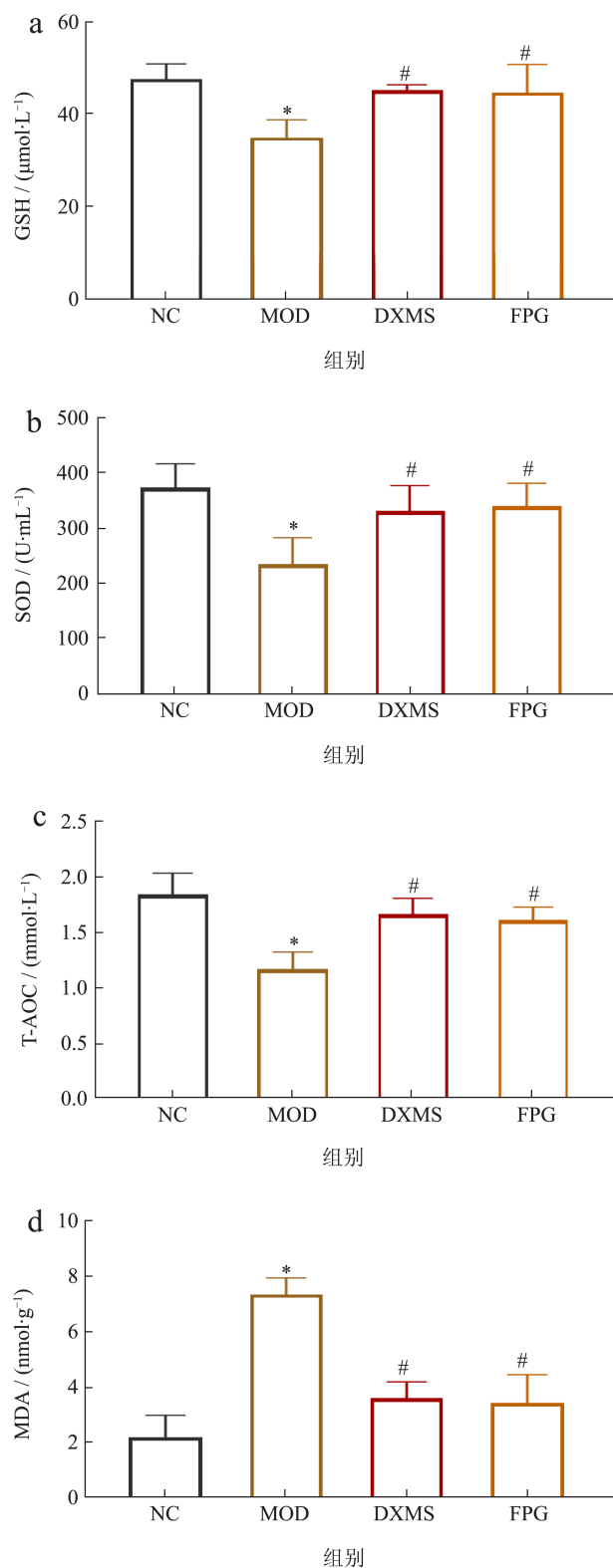


图5 FPG对ALI小鼠抗氧化能力的影响

Fig.5 Effect of FPG on antioxidant capacity in ALI mice

为了进一步探讨桔梗发酵液对ALI小鼠心脏保护

作用的机制,该研究检测了小鼠组织中的氧化应激相关指标。结果显示,MOD组小鼠中,GSH、SOD和T-AOC的水平显著低于正常NC组($P<0.05$),而MDA的水平则明显升高($P<0.05$),提示模型组小鼠可能处于氧化应激状态,脂质过氧化反应加剧,且抗氧化能力下降。经过DXMS和FPG处理后,小鼠心脏组织中的GSH、SOD和T-AOC水平显著升高($P<0.05$),GSH提升至 $44.66\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,较MOD组提升了28.01%;SOD提升至 $343.46\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$,较MOD组提升了44.35%;T-AOC提升至 $1.61\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,较MOD组提升了37.81%。而MDA显著降低($P<0.05$),降低至 $3.44\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$,较MOD组降低了53.25%。这说明桔梗发酵液中的抗氧化活性得到了有效提升,You等^[31]利用酿酒酵母CGMCC17452对三七进行发酵处理,结果显示发酵后多糖含量显著增加。同时,发酵产物能够有效逆转氧化应激所致的CAT、GSH-Px和SOD活性降低,与未发酵水提液相比,表现出更强的抗氧化活性。Liu等^[32]对比了发酵前后藜茎叶多糖的抗氧化活性,结果表明,发酵后的藜多糖在DPPH自由基清除、羟基自由基清除和还原能力方面表现出更强的活性。同时,发酵产物在细胞水平上有效提高了GSH水平,并显著降低了MDA含量。由此可见,桔梗发酵液中由于菌株的作用提高了多糖的含量,进而体现出了更强的抗氧化效果。氧化应激和炎症反应是肺部与心脏损伤的重要病理基础,而发酵桔梗能精准作用于这两个关键环节,可能是因为其中具有更高含量的多糖、多酚等活性成分,可高效清除超氧阴离子、羟自由基等,提升CAT、GSH-Px等抗氧化酶活性,从根源上阻断氧化应激引发的细胞损伤^[33]。同时,皂苷成分还能抑制TNF- α 、IL-6等促炎因子释放,避免过度炎症对肺组织和心肌细胞的破坏^[34]。总的来说发酵桔梗通过双向调节,切断二者的恶性循环,进而有效保护肺部和心脏免受损伤。

2.7 FPG对ALI小鼠心脏功能的影响

为了探讨桔梗发酵液对ALI小鼠心脏的影响,对小鼠心脏进行了超声检查,并对各组小鼠的左室射血分数(Ejection Fraction, EF)和左室缩短率(Fractional Shortening, FS)进行了统计分析。同时,还检测了血清中心肌肌钙蛋白I(Cardiac Troponin I, cTnI)的表达变化。结果如图6所示。NC组小鼠的心脏功能正常,心跳和心脏壁运动无明显病理变化。相比之下,LPS诱导的MOD组小鼠心脏壁运动明显异常,EF和

FS 显著下降,表明小鼠心脏功能受损。经过 DXMS 和 FPG 治疗的小鼠,其心脏超声图像显示心脏壁运动有所改善,EF 和 FS 恢复。较 MOD 组小鼠,FPG 组的 EF 提高了 44.50%,FS 提高了 79.48%,表明心功能得到了一定程度的恢复。相比 NC 组,cTnI 的表达在 MOD 组显著增加,但经过 DXMS 和 FPG 治疗后,cTnI 的表达恢复至接近正常水平,FPG 组小鼠较 MOD 组小鼠 cTnI 表达水平降低了 65.95%。这些结果进一步表明,FPG 能够有效促进心脏功能的恢复。综上所述,FPG 能够在一定程度上改善 ALI 小鼠的心脏功能。此外,相关研究也表明中医方剂在类似疾病中的治疗效果。例如,肖剑忠等^[35]发现茯苓四逆汤联合稳心颗粒能提高肺源性心脏病患者的 EF。张卓等^[36]研究表明,麻杏石甘汤合小陷胸汤加减在治疗肺炎合并心肌损伤的患者中同样具有良好疗效,不仅能提高 EF,还能降低体内的 TNF- α 和 IL-6 水平。Hao 等^[37]对因化疗引起的心脏损伤进行研究,发现 PG 可降低 cTnI 水平,减少 LVEF 下降程度。本研究对 FPG 影响的心脏功能变化进行了深入探索,发现 EF 和 FS 的数值均得到有效改善,降低了 cTnI 的表达。这些数据均说明了 FPG 在预防肺炎引起的心脏损伤方面具有良好的保护作用。

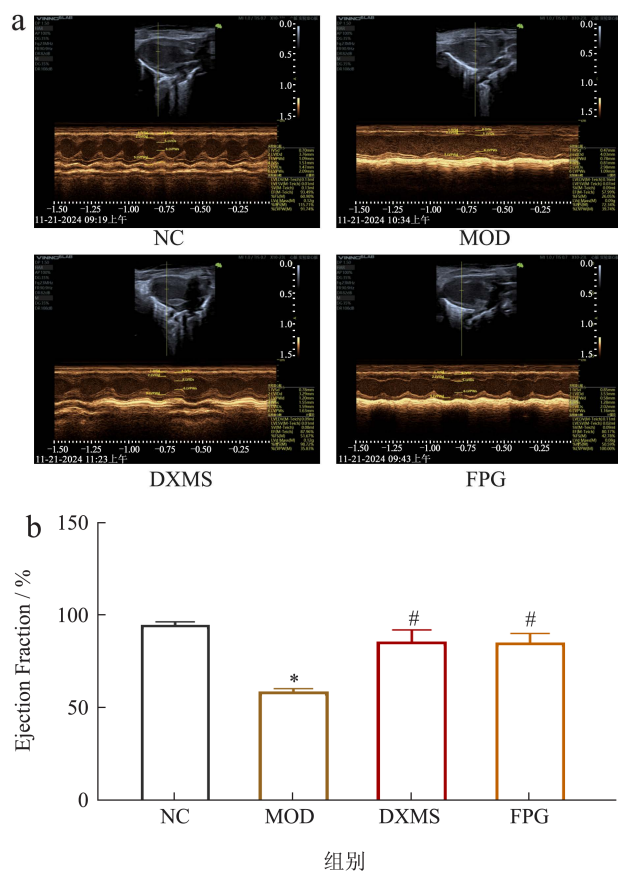


图 6 饲喂发酵桔梗后 ALI 小鼠心脏功能的改善

Fig.6 Improvement of cardiac function in ALI mice after feeding fermented frangipani

注: a: 不同组小鼠心脏超声图; b: 各组小鼠心脏血分数统计图; c: 各组小鼠心脏短轴缩短率统计图; d: 各组小鼠心肌钙蛋白 mRNA 水平的检测。

3 结论

该研究以桔梗为原料,基于单因素试验和正交试验对发酵工艺加以优化,确定了桔梗发酵的最佳工艺条件为:菌液接种量为 4%、发酵温度为 38 °C、发酵时间为 60 h。在此发酵条件下,总多糖质量浓度为 237.48 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,相比未发酵前提高了 2.54 倍,并同步使总黄酮、总多酚、总皂苷和还原糖的含量分别提高了 0.67 倍、1.45 倍、1.02 倍和 1.59 倍。除此之外,还有效提高了该研究还深入探讨了 FPG 对 ALI 引发的心脏功能的损伤影响,结果发现 FPG 能够保护 ALI 小鼠的肺部和心脏部位免受炎症的损伤,且能够显著降低炎症因子 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的表达,增强其 GSH、SOD 和 T-AOC 的表达,降低 MDA 水平。同时,该研究还对 FPG 影响的心脏功能变化进行了深入探索,发现 EF 和 FS 的数值均得到有效改善,降低了 cTnI 的表达。这些结果为桔梗在预防和治疗肺炎及其并发症方面的应用提供了有力的理论支持。

参考文献

- [1] WHO. 14.9 million excess deaths associated with the COVID-19 pandemic in 2020 and 2021 [EB/OL]. (2023-05-19)[2025-04-15]. <https://www.who.int/zh/news/item/05-05-2022-14.9-million-excess-deaths-were-associated-with-the-covid-19-pandemic-in-2020-and-2021>.
- [2] CORRALES-MEDINA V F, ALVAREZ K N, WEISSFELD L A, et al. Association between hospitalization for pneumonia and subsequent risk of cardiovascular disease [J]. *Jama*, 2015, 313(3): 264-274.
- [3] DESAI A, ALIBERTI S, AMATI F, et al. Cardiovascular complications in community-acquired pneumonia [J]. *Clinical Pulmonary Medicine*, 2015, 22(2): 62-67.
- [4] YAO X, CARLSON D, SUN Y X, et al. Mitochondrial ROS induces cardiac inflammation via a pathway through mtDNA damage in a pneumonia-related sepsis model [J]. *Plos One*, 2015, 10(10): e0139416.
- [5] WANG H, LISCO S J L S J, ZUCKER I H Z I H. Time-course of cardiac gene profiles post-acute lung injury [J]. *European Heart Journal*, 2023, 44(2): ehad655.3094.
- [6] CANGEMI R, CALVIERI C, BUCCI T, et al. Is NOX2 upregulation implicated in myocardial injury in patients with pneumonia [J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2013, 20(18): 1-13.
- [7] 黄磊,孙献梅,马沛然,等.试验性肺炎大鼠肌钙蛋白T的变化及其与心脏收缩功能的关系[J].*中国地方病学杂志*,2006,25(1):54-56.
- [8] KHEIRY M, DIANAT M, BADAVI M, et al. P-Coumaric acid protects cardiac function against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by attenuation of oxidative stress [J]. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2019, 22(8): 949-955.
- [9] STOTTS C, CORRALES-MEDINA V F, RAYNER K J. Pneumonia-induced inflammation, resolution and cardiovascular disease: causes, consequences and clinical opportunities [J]. *Circulation Research*, 2023, 132(6): 751-774.
- [10] 赵婧.地塞米松辅助治疗小儿重症肺炎合并心力衰竭的临床效果分析[J].*中西医结合心血管病电子杂志*,2020,8(21):54.
- [11] TSCHANZ S A, DAMKE B M, BURRI P H. Influence of postnatally administered glucocorticoids on rat lung growth [J]. *Biology of the Neonate*, 1995, 68(4): 229-245.
- [12] OSPINA-QUINTERO L, JARAMILLO J C, TABARES-GUEVARA J H, et al. Reformulating small molecules for cardiovascular disease immune intervention: low-dose combined vitamin D/Dexamethasone promotes IL-10 production and atheroprotection in dyslipidemic mice [J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 743.
- [13] AKIN S, GUCUK-IPEK E, HAYTA U, et al. Long-term Dexamethasone treatment increases cardiac Galectin-3 levels [J]. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 2023, 37(5): 1027-1029.
- [14] FAN L, DING X. Potential effects of traditional Chinese medicine on COVID-19 and cardiac injury: mechanisms and clinical evidence [J]. *Journal of Multidisciplinary Healthcare*, 2023, 16: 2863-2872.
- [15] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].北京:中国医药科技出版社,2020.
- [16] ZHANG L, WANG X, ZHANG J, et al. Ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology, and product application of *Platycodon grandiflorum*: a review [J]. *Chinese Herbal Medicines*, 2024, 16(3): 327-343.
- [17] TAO W, SU Q, WANG H, et al. Platycodin D attenuates acute lung injury by suppressing apoptosis and inflammation *in vivo* and *in vitro* [J]. *International Immunopharmacology*, 2015, 27(1): 138-147.
- [18] 孟庆雯,刘华江,黄珊,等.桔梗皂苷D通过抑制AT1-CARP通路改善AMI大鼠心肌细胞凋亡和心脏功能的研究[J].*重庆医学*, 2021,50(3):372-377.
- [19] 张月,赵崇杰,韩先磊,等.发酵桔梗活性成分分析及抗氧化能力研究[J].*中国现代中药*,2022,24(11):2101-2108.
- [20] 姜立春,张雨洁,刘钰佳,等.响应面法优化桔梗发酵工艺初探[J].*绵阳师范学院学报*,2023,42(8):20-26,41.
- [21] CHOI S I, CHOI Y E, HAN X, et al. Fermented *Platycodon Grandiflorum* extract alleviates TNF- α /IFN- γ -induced inflammatory response in HaCaT cells and modulates immune balance on 1-chloro-2,4-dinitrobenzene-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice [J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 85: 104617.
- [22] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. *Anal Chem*, 2002, 28(3): 350-356.
- [23] 李妍,张崇禧,魏建和,等.桔梗总皂苷含量测定方法研究[J].*时珍国医国药*,2009,20(7):1580-1581.
- [24] 钟方丽,王文姣,王晓林,等.微波协同双水相提取桔梗茎总黄酮及抗氧化活性研究[J].*食品工业科技*,2016,37(12):267-271,277.
- [25] 许瑞如,张秀玲,李晨,等.微波提取桔梗根多酚工艺优化及抗氧化特性研究[J].*食品与发酵工业*,2020,46(4):187-196.
- [26] HAN X, ZHANG Y, ZHANG F, et al. Network pharmacology and phytochemical composition combined with validation *in vivo* and *in vitro* reveal the mechanism of platycodonis radix ameliorating PM2.5-induced acute lung injury [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2025, 337(P1): 118829.
- [27] JI Y J, KANG M H, KIM G S, et al. *Platycodon grandiflorum* exhibits anti-neuroinflammatory potential against beta-amyloid-induced toxicity in microglia cells [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2024, 11: 1427121.
- [28] 于婷.发酵对桔梗降血糖主要成分的影响及降血糖作用研究[D].延吉:延边大学,2015.
- [29] KIM S R, PARK E J, DUSABIMANA T, et al. *Platycodon grandiflorus* fermented extracts attenuate endotoxin-induced acute liver injury in mice [J]. *Nutrients*, 2020,12(9): 2802.
- [30] 万凯波,陈殿松,马铃,等.无患子水提液的微生物发酵纯化及无患子乳酸杆菌发酵液抗痤疮功效[J].*精细化工*,2024,41(5):1076-1083.
- [31] YOU S, SHI X, YU D, et al. Fermentation of *Panax notoginseng* root extract polysaccharides attenuates oxidative stress and promotes type I procollagen synthesis in human dermal fibroblast

cells [J]. BMC Complementary Medicine and Therapies, 2021, 21(1): 1-11.

[32] LIU N, WANG Y, AN X, et al. Composition, antioxidant and development-promoting activity of fermentation modified crude polysaccharides from stem and leaves of *Chenopodium album* L. [J]. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 2024, 11(1): 1-20.

[33] CHEN J, JI X, DU X, et al. Research progress on structure and bioactivity of polysaccharides from *Platycodon grandiflorum* [J]. Starch-Stärke, 2024, 77(2): 2400086.

[34] MENG Y, YANG Y, LU W, et al. The inhibition of Platycodin D on *Mycoplasma Pneumoniae* proliferation and its effect on promoting cell growth after anti-*Mycoplasma pneumoniae* treatment [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2014, 4(192): 1-7.

[35] 肖建忠,郭苗苟,萧勋立,等.茯苓四逆汤联合稳心颗粒治疗慢性肺源性心脏病的临床效果研究[J].右江医学,2023,51(8):701-706.

[36] 张卓,余奕言,左小波,等.麻杏石甘汤合小陷胸汤加减对病毒性肺炎合并心肌损伤患者心功能,心肌损伤指标及炎症因子的影响[J].中国中医急症,2023,32(11):2012-2016.

[37] HAO W, SHI Y, QIN Y, et al. *Platycodon grandiflorum* protects against anthracycline-induced cardiotoxicity in early breast cancer patients [J]. Integrative Cancer Therapies, 2020, 19(4): 1-9.