DOI:10.12441/spyswjs.20250326002 [文章编号] 1673-1689(2026)02-0108-10

微生物固态发酵商桔梗的工艺优化及抗氧化活性分析

陈亚蓝[1,2] 任 双[1,2] 杨玲玲[1,2] 蒋曼芳[1] 郑雪珂[1,2] 朱 静[1,2*]

(1. 信阳农林学院食品科学与工程学院,河南 信阳 464399; 2. 河南省大别山特色食物资源综合利用工程技术研究中心,河南 信阳 464399)

摘要:【目的】探究微生物发酵对商桔梗中活性物质的影响。**【方法】**以总黄酮和总多酚质量分数为指标筛选出优势菌种,将优势菌种添加到商桔梗中,以发酵时间、发酵温度、料液比、接种质量分数为影响因素进行单因素试验和正交试验,以获得最佳发酵工艺条件。以DPPH自由基清除率、$ABTS^+$自由基清除率和总还原力为指标,分析微生物发酵对商桔梗体外抗氧化活性的影响。**【结果】**优势发酵菌为黑曲霉H,最优发酵工艺条件为:发酵时间4 d、发酵温度33 ℃、料液比1 g∶5.5 mL、接种质量分数11%。在此条件下总黄酮质量分数为(5.32±0.13) mg/g,比未发酵时提高了1.19倍;总多酚质量分数为(156.88±0.88) mg/g,比未发酵时提高了1.20倍。未发酵商桔梗与发酵商桔梗DPPH自由基清除率的IC_{50}值分别是0.030、0.025 mg/mL,$ABTS^+$自由基清除率的IC_{50}值分别是0.033、0.021 mg/mL,发酵商桔梗的总还原力也有所增强。**【结论】**利用黑曲霉H对商桔梗进行发酵,可有效提升其活性物质质量分数和抗氧化能力,为商桔梗的进一步研究与开发提供了理论依据。

关键词:固态发酵;商桔梗;正交试验;抗氧化活性

Microbial Solid-state Fermentation Process Optimization and Antioxidant Activity Evaluation of *Platycodonis* Radix from Shangcheng

CHEN Yalan[1,2] *REN Shuang*[1,2] *YANG Lingling*[1,2] *JIANG Manfang*[1] *ZHENG Xueke*[1,2] *ZHU Jing*[1,2*]

(1. School of Food Science and Engineering, Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang 464399, China; 2. Henan Provincial Engineering Research Center for Comprehensive Utilization of Characteristic Food Resources in Dabie Mountains, Xinyang 464399, China)

Abstract: [**Objective**] This study aims to explore the effect of microbial fermentation on the active substances in *Platycodonis* Radix from Shangcheng. [**Method**] With the mass fractions of total flavonoids and total polyphenols as evaluation indicators, the dominant microbial strains were screened. The selected strain was subsequently applied to the fermentation of *Platycodonis* Radix from Shangcheng. Single-factor experiments and orthogonal experiments were conducted to optimize the critical fermentation parameters including time, temperature, solid-to-liquid ratio, and inoculum mass fraction. The effect of microbial fermentation on the antioxidant activity *in vitro* of *Platycodonis* Radix from Shangcheng was evaluated with DPPH free radical

基金项目:河南省重点研发专项项目(231111312800);河南省高校研究性教学改革与实践研究项目(2022SYJXLX119);河南省高等学校重点科研项目计划(24B550017,24B180016,26B550012);河南省重点研发与推广专项(科技攻关)项目(242102110090,242102110144)。

通信作者:朱静(1983—),女,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事食品生物技术研究。E-mail:250665021@qq.com

收稿日期:2025-03-26 **修回日期:**2025-05-29

scavenging rate, $ABTS^+$ free radical scavenging rate, and total reducing power as indicators. [**Result**] *Aspergillus niger* (*A. niger*) H was identified as the dominant strain for fermentation. The fermentation conditions were optimized as follows: fermentation with a solid-to-liquid ratio of 1 g∶5.5 mL and an inoculum mass fraction of 11% at 33 ℃ for 4 d. Under these conditions, the mass fraction of total flavonoids reached (5.32±0.13) mg/g (representing a 1.19-fold increase compared with that before fermentation) and that of total polyphenols achieved (156.88±0.88) mg/g (representing a 1.20-fold enhancement compared with that before fermentation). *Platycodonis* Radix from Shangcheng before and after fermentation showed the IC_{50} values of 0.030 mg/mL and 0.025 mg/mL for scavenging DPPH free radicals and 0.033 mg/mL and 0.021 mg/mL for scavenging $ABTS^+$ free radicals, respectively. Total reducing power of *Platycodonis* Radix from Shangcheng was also substantially enhanced after fermentation. [**Conclusion**] The fermentation of *Platycodonis* Radix from Shangcheng with *A. niger* H could effectively improve the mass fractions of active ingredients and antioxidant capacity, which provided a theoretical basis for further research and development of *Platycodonis* Radix from Shangcheng.

Keywords: solid-state fermentation; *Platycodonis* Radix from Shangcheng; orthogonal experiment; antioxidant activity

桔梗（*Platycodon grandiflorum*）是桔梗科、桔梗属的多年生草本植物[1]。桔梗始记于《神农本草经》，早于2002年收录在我国首批药食同源名录中[2]。桔梗具有宣肺祛痰、利咽排脓、载药上行的功效，为肺经引经药[3]。我国东北地区也常用其作为腌制泡菜的原材料，是一种良好的膳食补充剂。研究表明，桔梗中含有皂苷类、黄酮类、多酚类、多糖类、聚炔类等多种植物活性成分，使其在抗肿瘤、抗氧化、抗肥胖、降糖等方面表现出优良效果[4]，具有药食同源的特性，在食用过程中对人体副作用小，因而近年来受到科研工作者的广泛关注。Nam等[5]和Jang等[6]分别利用乙醇和乙酸乙酯从桔梗中分离出了8种和3种黄酮类化合物。Li等[7]从桔梗根部甲醇提取物中分离出了21种酚类成分。孙晓春等[8]研究表明，桔梗总黄酮具有一定的抗氧化活性。许瑞如[9]研究发现，桔梗总多酚的抗氧化能力较强，有较好的抗炎作用和抑菌作用，表现出良好的生物活性。

目前对桔梗的研究多集中于功能成分的提取鉴定，以及与其他中药的配伍使用。而微生物发酵是一种传统的中药炮制工艺，该工艺可通过分解与转化形成新的活性成分，同时产生大量次级代谢产物[10]。研究显示，相较于未经发酵的中药，发酵处理的中药具有更显著的药理效果，且其作用机制更多元。与传统提取法和化学转化法相比，中药经发酵后，能增效减毒，实现中药的多级利用。彭灿灿等[11]利用酶协同红曲菌对茯苓进行固态发酵，发现其能有效提高茯苓中多糖、还原糖、三萜类化合物和莫娜卡林K的含量。邢君梅等[12]发现米曲霉与地衣芽孢杆菌组合固态发酵辣木粕后，其DPPH自由基清除率最高可达96.31%。已有研究利用乳酸菌发酵来探究样本中总皂苷含量变化及苦味抑制情况[2,10]，且有研究表明，与乳酸菌相比，酵母菌和霉菌在固态发酵中能释放或合成更多的多酚类物质[13]。因此以信阳商城地区具有地理标志保护的桔梗为研究对象，利用本课题组从土壤及食物源筛选的霉菌和酵母菌对商桔梗进行固态发酵，探究其总黄酮、总多酚等活性成分水平及抗氧化活性变化，为该资源的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1）PDA培养基：200 g土豆去皮，切块，放入800 mL水中煮沸30 min，经4层纱布过滤，蒸馏水定容至1 000 mL，向滤液中加入20 g葡萄糖，121 ℃灭菌20 min。PDA固体培养基则需另外加入20 g琼脂粉。

2）YPD培养基：称取酵母膏和蛋白胨各1 g、葡萄糖2 g，蒸馏水溶解并定容至100 mL，121 ℃灭菌20 min。YPD固体培养基则需另外加入2 g琼脂粉。

商桔梗：信阳市大森林大药房，60 ℃干燥2 h，粉碎机粉碎，过60目筛，密封保存；白地霉S12（*Galactomyces geotrichum* CCTCCAF2012005）、白地

霉 S13（*Geotrichum* sp. CCTCCAF2012006）：由本课题组分离自土壤，现保存于中国典型微生物保藏中心；黑曲霉 H、青霉 Q（分离自土壤）和酵母 A2（分离自商城筒鲜鱼）：由本课题组分离，保存于信阳农林学院食品科学与工程学院实验室；硝酸铝、氢氧化钠、亚硝酸钠、无水乙醇、VC、水杨酸、无水碳酸钠、过硫酸钾、甲醇、铁氰化钾、三氯乙酸、三氯化铁、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、葡萄糖：分析纯，郑州派尼化学试剂厂；福林酚（分析纯）、芦丁标准品（纯度≥95%）、没食子酸标准品（纯度≥99%）：上海源叶生物科技有限公司；DPPH、ABTS：上海麦克林生化科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

高速破碎机：RS-FS553 型，北京科伟永兴仪器有限公司；电子分析天平：YP6001 型，上海强运科技有限公司；电热鼓风干燥箱：JC101-2A 型，上海成顺仪器仪表有限公司；紫外-可见分光光度计：A390 型，翱艺仪器（上海）有限公司；恒温恒湿培养箱：SPX-150C 型，上海博迅实业有限公司医疗设备厂；超声波清洗机：UC-5240L 型，深圳市佳源达科技有限公司；循环水式多用真空泵：SHB-IIIA 型，上海沪析实业有限公司；旋转蒸发仪：UC-5240L 型，上海亚荣生化仪器厂；真空冷冻干燥机：WT-H50001 型，北京科伟永兴仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 菌种的活化

将白地霉 S12、白地霉 S13、青霉 Q、黑曲霉 H 分别划线接种于 PDA 固体培养基上；将酵母 A2 划线接种于 YPD 固体培养基上。将接种后的固体培养基放在 30 ℃恒温培养箱中培养 2 d。培养完成后，采用无菌操作技术，挑取活化的菌种，转接到液体培养基中进行扩大培养。

1.3.2 商桔梗固态发酵工艺流程

取 3 g 过筛后的商桔梗放入三角瓶中，按照一定料液比加入蒸馏水，搅拌均匀后于 121 ℃灭菌 20 min，冷却后在无菌操作台上接种 6.4×10^6 CFU/mL 的菌悬液，在 30 ℃恒温培养箱中培养 3 d。将发酵好的发酵物移入离心管中，加入体积分数 70% 的乙醇溶液，在 40 ℃的超声波清洗机中浸提 2 h。过滤后取其上清液测定其总黄酮和总多酚质量分数。

1.3.3 优势菌种筛选

取干燥粉碎后的商桔梗于锥形瓶中，在 121 ℃的高压蒸汽灭菌锅中灭菌 20 min，在无菌环境中冷却备用。设置 3 个组别：空白组（水+商桔梗原料）、试验 A 组（水+商桔梗原料+菌种）、试验 B 组（水+商桔梗原料+菌种+碳源），进行试验。将活化后的菌种按照料液比 1 g∶3.5 mL、接种质量分数 9% 接种到固体培养基中，在 30 ℃的恒温培养箱中发酵 3 d，测定商桔梗提取液中总黄酮和总多酚质量分数。

1.3.4 总黄酮质量分数的测定

参照王炬等[14]的测定方法并稍加修改。取不同体积的芦丁标准溶液至 10 mL 容量瓶中，配制成系列标准溶液。分别向含有不同质量浓度的芦丁标准溶液中加水至总体积为 2.0 mL，再加入 0.4 mL 的 5 g/dL 亚硝酸钠溶液，充分摇匀，静置 6 min；加入 0.4 mL 的 10 g/dL 硝酸铝溶液，充分摇匀，静置 6 min；再加入 4.0 mL 的 4 g/dL 氢氧化钠溶液，加水定容至刻度，充分摇匀，静置 15 min。用相应试剂作为空白对照，在 510 nm 波长处测定吸光度，绘制标准曲线。在 0~60.0 mg/L 质量浓度范围内，有较好的线性关系，线性回归方程为 $y=0.011\ 4x-0.023\ 4$，$R^2=0.990\ 5$。

取 1 mL 商桔梗提取液替代芦丁标准溶液，反应后代入标准曲线，得到总黄酮质量浓度，并根据式（1）计算出商桔梗中总黄酮质量分数。

$$W=\frac{C_1\times V_1\times f_1}{m_1} \tag{1}$$

式中：

W——样品中总黄酮质量分数，mg/g；

C_1——样品中总黄酮质量浓度，mg/L；

V_1——样品提取液定容体积，mL；

f_1——稀释倍数；

m_1——样品的质量，g；

1.3.5 总多酚质量分数的测定

参照许瑞如等[15]的测定方法并稍加调整。分别取 0.125、0.250、0.500、1.000、1.500、2.000、3.000、4.000、5.000 mL 没食子酸标准储备液于 25 mL 试管中，加入 6.00 mL 蒸馏水、1.00 mL 的 1.0 mol/L 福林酚试剂，摇匀后静置 6 min，再各加入 4.00 mL 的 10 g/dL 碳酸钠溶液，摇匀后静置 60 min。待反应完全后，用蒸馏水定容至 25 mL，在 760 nm 处测定吸光度，绘制标准曲线。在 0~100.0 mg/L 范围内时，线性回归方程为：$y=0.006\ 6x+0.032$，$R^2=0.997\ 1$，吸光

度与质量浓度之间呈良好的线性关系。

取0.1 mL商桔梗提取液替代没食子酸标准储备液，反应后代入标准曲线，得到总多酚质量浓度，根据式(2)计算出商桔梗中总多酚质量分数。

$$X=\frac{C\times V_2\times f}{m} \quad (2)$$

式中：

X——样品中总多酚质量分数，mg/g；

C——样品中总多酚质量浓度，mg/mL；

V_2——样品提取液定容体积，mL；

f——稀释倍数；

m——样品的质量，g；

1.3.6 单因素试验

1)发酵时间：固定料液比1 g∶3.5 mL、菌种接种质量分数9%，在30 ℃条件下，探究发酵时间(2、3、4、5、6 d)对总黄酮和总多酚质量分数的影响。

2)发酵温度：固定料液比1 g∶3.5 mL、菌种接种质量分数9%，在发酵时间为3 d的条件下，探究发酵温度(28、30、33、35、37 ℃)对总黄酮和总多酚质量分数的影响。

3)料液比：固定菌种接种质量分数9%、发酵温度30 ℃，在发酵时间为3 d的条件下，探究料液比(1 g∶1.5 mL、1 g∶2.5 mL、1 g∶3.5 mL、1 g∶4.5 mL、1 g∶5.5 mL)对总黄酮和总多酚质量分数的影响。

4)接种质量分数：固定料液比1 g∶3.5 mL、发酵温度30 ℃，在发酵时间为3 d的条件下，探究菌种接种质量分数(5%、7%、9%、11%、13%)对总黄酮和总多酚质量分数的影响。

1.3.7 正交试验

参考焦奕豪等[16]的方法，在单因素试验的基础上，设计四因素三水平的正交试验。通过熵权法计算总黄酮和总多酚的权重，采用2个指标的综合评分作为考察依据，结合正交试验的方法，对发酵工艺进行优化。

1.3.8 商桔梗活性物质抗氧化活性的测定

将商桔梗在最佳发酵工艺下按照1.3.2的方法进行发酵处理，以未发酵的商桔梗和VC作为对照，将发酵前后的商桔梗提取液分别于50 ℃旋转蒸发以除去乙醇，冷冻干燥成粉末后备用。

1)DPPH自由基清除率的测定：参考俞耀文等[17]的方法进行测定，并按照式(3)计算DPPH自由基清除率。

$$I=\left(A_0-\frac{A_1-A_2}{A_0}\right)\times 100\% \quad (3)$$

式中：

I——DPPH自由基清除率，%；

A_0——加入无水乙醇和DPPH-乙醇溶液的吸光度；

A_1——加入待测样品和DPPH-乙醇溶液的吸光度；

A_2——加入待测样品和无水乙醇的吸光度。

2)$ABTS^+$自由基清除率的测定：参考吴均等[18]的方法进行测定，并按照式(4)计算$ABTS^+$自由基清除率。

$$P=\left(1-\frac{A_3-A_4}{A_5}\right)\times 100\% \quad (4)$$

式中：

P——$ABTS^+$自由基清除率，%；

A_3——加入待测样品和ABTS溶液的吸光度；

A_4——加入待测样品和无水乙醇的吸光度；

A_5——加入无水乙醇和ABTS溶液的吸光度。

3)总还原力的测定：参考李游[19]的方法并稍加调整。吸取待测样液2.0 mL于离心管中，依次加入2.0 mL的0.2 mol/L磷酸缓冲液(pH=6.6)和2.0 mL的10 g/L铁氰化钾溶液，振荡混匀，于50 ℃水浴反应20 min，冷却至室温，加入2.5 mL的10 g/dL三氯乙酸溶液，混匀后于4 000 r/min离心10 min。取2.5 mL上清液于具塞比色管中，加入等体积的蒸馏水和0.5 mL的0.1 g/dL三氧化铁溶液，混匀，室温静置10 min，在700 nm波长处测定吸光度。以样品反应体系吸光度与对照体系吸光度的差值表示总还原力。

1.3.9 数据处理

试验所有数据用SPSS 20进行处理和分析，用Origin 2018进行绘图，用平均值±标准差表示。

2 结果与讨论

2.1 优势菌种筛选结果

优势菌株的固态培养筛选结果见表1，与空白组相比，经白地霉S13、白地霉S13+C、青霉Q、黑曲霉H发酵后，商桔梗中总黄酮和总多酚的质量分数增加，其中黑曲霉H对商桔梗中总黄酮和总多酚质量分数的影响最大，因此选取黑曲霉H作为本试验的优势菌株。

表 1 优势菌种筛选表

Table 1 Screening of dominant strains

组别	总黄酮质量分数/（mg/g）	总多酚质量分数/（mg/g）
空白组	1.45±0.04^{d}	37.12±2.68^{d}
白地霉 S12	1.28±0.55^{cd}	45.27±2.41^{cd}
白地霉 S12+C	2.02±0.41^{cd}	45.27±5.62^{cd}
白地霉 S13	2.50±0.86^{bc}	58.52±1.88^{bc}
白地霉 S13+C	2.10±0.38^{b}	51.71±2.95^{cd}
酵母 A2	1.55±0.47^{cd}	43.37±4.02^{cd}
酵母 A2+C	1.61±0.03^{cd}	49.43±1.88^{cd}
青霉 Q	1.96±0.06^{b}	62.31±3.48^{b}
青霉 Q+C	1.50±0.18^{cd}	53.60±7.23^{bc}
黑曲霉 H	2.76±0.51^{a}	83.33±3.21^{a}
黑曲霉 H+C	1.97±0.49^{cd}	54.17±5.89^{bc}

注：同列不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。

2.2 单因素试验

2.2.1 发酵时间对总黄酮和总多酚质量分数的影响

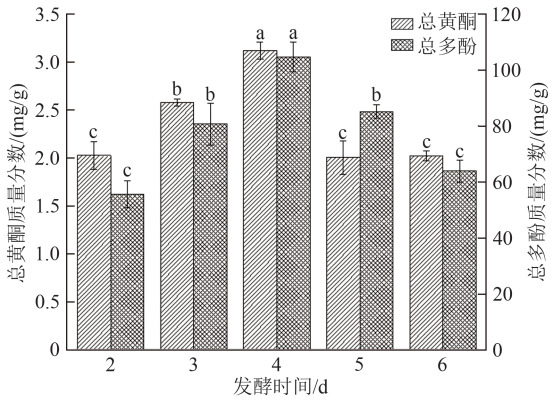
如图 1 所示，当发酵时间为 4 d 时，商桔梗总黄酮和总多酚质量分数分别为（3.12±0.01）mg/g 和（104.55±5.36）mg/g。当发酵时间为 2~6 d 时，总黄酮和总多酚的质量分数总体呈现先增加后减少的趋势。当发酵时间在 2~4 d 时，黑曲霉 H 的繁殖、代谢功能逐渐增强，产生的木质纤维素酶、果胶酶、蛋白酶等会分解植物细胞壁和其他复杂的细胞结构[20]，使得黄酮和多酚化合物得以释放，因此，总黄酮和总多酚水平上升。随着发酵时间的延长，培养基质中有效碳源被耗尽，黑曲霉 H 代谢速率减缓，甚至开始利用活性物质作为碳源，致使活性物质质量分数下降[21]。此外，由于环境中酶活性的持续作用，原本增加的总黄酮和总多酚可能进一步被降解或转化为其他化合物，这种代谢产物的转变也可能导致总黄酮和总多酚质量分数下降。因此，选择 4 d 为最佳发酵时间。

2.2.2 发酵温度对总黄酮和总多酚质量分数的影响

由图 2 可知，当发酵温度为 28~37 ℃时，商桔梗总黄酮和总多酚质量分数随着发酵温度的升高呈先增加后减少的趋势，当发酵温度为 35 ℃时达到最大值，分别为（4.16±0.01）mg/g 和（102.71±2.06）mg/g。在发酵过程中，微生物酶的活性和代谢速率对温度非常敏感：在较低的温度条件下，微生物的代谢活动会受到一定程度的抑制，导致酶活性降低，从而使得总黄酮和总多酚的释放量有限；随着温度的升高，微生物大量繁殖、代谢活性增强，产生的酶类活性增强，可以促进商桔梗中的总黄酮和总多酚的释放，从而导致其水平上升；但当温度继续升高后，发酵温度不适于菌株的生长繁殖，菌体数量减少[22]，且温度过高会抑制酶活性，最终导致总黄酮和总多酚质量分数下降。因此，选择 35 ℃为最佳发酵温度。

2.2.3 料液比对总黄酮和总多酚质量分数的影响

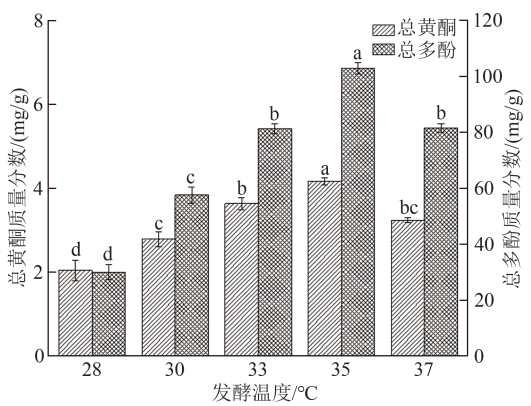
由图 3 可知，当料液比为 1 g∶4.5 mL 时，总黄酮和总多酚质量分数最高，分别为（3.85±0.26）mg/g 和（109.09±8.25）mg/g。随着料液比的降低，商桔梗总黄酮和总多酚质量分数呈先增加后减少的趋势。这可能是因为适当的料液比可以使原料溶解更充分，给黑曲霉 H 提供了足够的营养，使商桔梗



同一物质不同字母代表显著差异（P<0.05）。

图 1 发酵时间对总黄酮和总多酚质量分数的影响

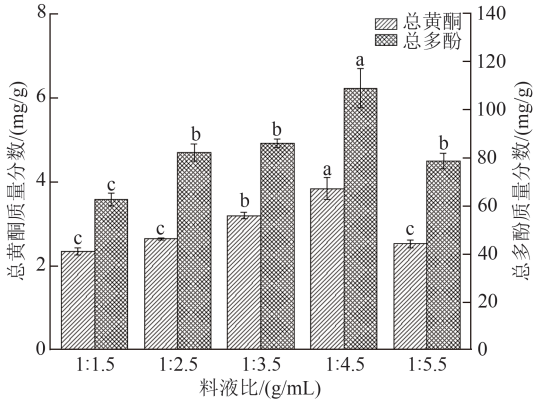
Fig. 1 Effects of fermentation time on the mass fractions of total flavonoids and total polyphenols



同一物质不同字母代表差异显著（P<0.05）。

图 2 发酵温度对总黄酮和总多酚质量分数的影响

Fig. 2 Effect of fermentation temperature on the mass fractions of total flavonoids and total polyphenols



同一物质不同字母代表差异显著（P<0.05）。

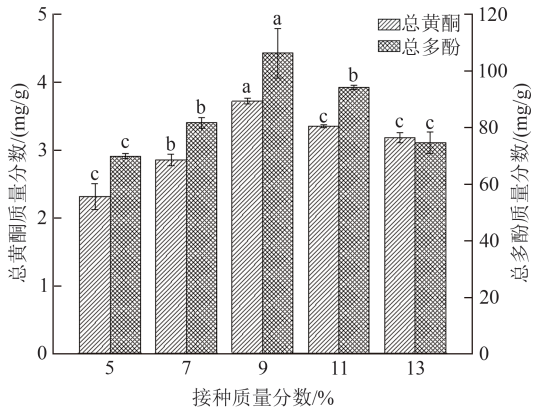
图3　料液比对总黄酮和总多酚质量分数的影响

Fig. 3　Effects of solid-to-liquid ratio on the mass fractions of total flavonoids and total polyphenols

发酵更加彻底，从而提高了总黄酮和总多酚的质量分数；当料液比偏高或偏低时，黑曲霉H的正常生长代谢受到抑制，对商桔梗的发酵效果降低，导致总黄酮和总多酚的质量分数较低。因此，选择1 g∶4.5 mL为最佳料液比。

2.2.4　菌种接种质量分数对总黄酮和总多酚质量分数的影响

由图4可知，当菌种接种质量分数为5%~9%时，商桔梗的总黄酮和总多酚质量分数随着接种质量分数的增加而增加，并在接种质量分数为9%时达到峰值，分别为（3.72±0.04）mg/g和（106.25±8.84）mg/g。然而，随着接种质量分数的进一步增加，商桔梗的总黄酮和总多酚质量分数呈现下降趋势。这可能是因为在一定范围内，随着接种质量分数的增加，黑曲霉H可以通过其代谢活动促进商桔梗的总黄酮和总多酚的生物合成，使商桔梗的总黄酮和总多酚质量分数增加；当接种质量分数增加到一定程度后，菌株之间可能发生争夺资源的情况，使菌种的代谢活动受到影响，从而抑制总黄酮和总多酚的合成；当接种质量分数过高时，营养物质被快速消耗，会造成发酵后劲不足[23]。此外，菌株的接种可能会影响一些关键酶的活性，这些酶参与了总黄酮和总多酚的生物合成。当接种质量分数适中时，可能激活这些酶的活性；接种质量分数过高则可能导致这些酶的活性降低，从而影响商桔梗的总黄酮和总多酚质量分数。因此，选择9%为最佳接种质量分数。



同一物质不同字母代表差异显著（P<0.05）。

图4　接种质量分数对总黄酮和总多酚质量分数的影响

Fig. 4　Effects of inoculum mass fraction on the mass fractions of total flavonoids and total polyphenols

2.3　正交试验

2.3.1　综合权重的确定

参考陆玉婷等[24]的方法，以熵权法确定发酵后总黄酮和总多酚质量分数权重，赋值于正交试验结果中的综合指标，将原始数据代入熵权法计算公式可得各项指标的信息熵（E_j）和权重（W_j），结果见表2。

2.3.2　正交试验结果

在单因素试验的基础上，以发酵时间（A）、发酵温度（B）、料液比（C）、接种质量分数（D）为影响因素设计正交试验，正交试验的因素水平设计见表3，结果见表4。

由表4数据分析可知，各因素对商桔梗各项指标综合评分影响程度由大到小的顺序为：发酵时

表2　熵权法所得的信息熵及权重

Table 2　Information entropy and weights obtained by the entropy weight method

评价指标	E_j	W_j
总黄酮质量分数	1.00	0.01
总多酚质量分数	0.82	0.99

表3　正交试验因素水平表

Table 3　Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素			
	发酵时间/d	发酵温度/℃	料液比/（g∶mL）	接种质量分数/%
1	3	33	1∶3.5	7
2	4	35	1∶4.5	9
3	5	37	1∶5.5	11

表4 正交试验结果

Table 4 Orthogonal experimental results

序号	发酵时间/d	发酵温度/℃	料液比/（g∶mL）	接种质量分数/%	总黄酮质量分数/（mg/g）	总多酚质量分数/（mg/g）	综合评分
1	3	33	1∶3.5	7	3.96	100.42	99.36
2	3	35	1∶4.5	9	3.82	96.25	95.23
3	3	37	1∶5.5	11	4.08	124.79	123.46
4	4	33	1∶4.5	11	5.20	156.88	155.21
5	4	35	1∶5.5	7	4.10	123.96	122.64
6	4	37	1∶3.5	9	4.28	138.54	137.07
7	5	33	1∶5.5	9	4.14	112.71	111.52
8	5	35	1∶3.5	11	4.57	111.04	110.97
9	5	37	1∶4.5	7	3.81	99.58	98.53
K_1	318.05	366.09	347.40	320.53			
K_2	414.92	328.84	348.97	343.82			
K_3	321.02	359.06	357.62	389.64			
k_1	106.02	122.03	115.80	106.84			
k_2	138.31	109.61	116.32	114.61			
k_3	107.00	119.69	119.21	129.88			
R	32.29	12.42	3.41	23.04			

注：K_i表示因素水平的总和（i=1，2，3）；k_i表示因素水平的平均值（i=1，2，3）。

间>接种质量分数>发酵温度>料液比。由表5可知，发酵时间、接种质量分数和发酵温度都具有显著差异。通过正交试验极差分析得到最优组合为$A_2B_1C_3D_3$，即发酵时间4 d、发酵温度33 ℃、料液比1 g∶5.5 mL、接种质量分数11%。

2.3.3 验证试验

根据最优发酵工艺组合（发酵时间4 d、发酵温度33 ℃、料液比1 g∶5.5 mL、接种质量分数11%）进行验证试验，以未发酵商桔梗作为对照组。如表6所示，黑曲霉H发酵后的商桔梗中总黄酮和总多酚质量分数明显增加，试验组总黄酮质量分数是对照组的2.19倍，总多酚质量分数是对照组的2.20倍，表明经过优选后的发酵工艺表现出良好的稳定性和可行性。

表5 正交试验方差分析

Table 5 Analysis of variance of orthogonal experiment

方差来源	平方和	自由度	F	P
发酵时间	4 091.06	2	193.31	<0.05
发酵温度	555.43	2	26.25	<0.05
料液比	46.72	2	2.21	不显著
接种质量分数	1 593.12	2	75.28	<0.05

表6 验证试验

Table 6 Validation experiments

指标	总黄酮质量分数/（mg/g）	总多酚质量分数/（mg/g）
试验组	5.32±0.13	156.88±0.88
对照组	2.43±0.04	71.25±1.16

2.4 抗氧化活性分析

2.4.1 DPPH自由基清除率

由图5可知，当商桔梗质量浓度为0.01~0.07 mg/mL时，未发酵商桔梗、发酵商桔梗和VC对DPPH自由基的清除能力随着其质量浓度的增加而增强，随着质量浓度的增加，发酵商桔梗的DPPH自由基清除率与VC越来越接近。未发酵商桔梗DPPH自由基清除率的IC_{50}值为0.030 mg/mL，发酵商桔梗DPPH自由基清除率的IC_{50}值为0.025 mg/mL，VC的DPPH自由基清除率IC_{50}值为0.023 mg/mL。有研究表明，相同水平的VC对DPPH自由基的清除能力通常强于植物来源的多酚及黄酮[25]。本研究中发酵前后的商桔梗提取物成分复杂，总多酚和总黄酮纯度有限，其他物质的抗氧化能力低于总多酚及总黄酮，使得其对DPPH自由基的清除能力弱于VC。结果表明，微生物发酵可以增强商桔梗对DPPH自由基的清除能力，但发酵商桔梗的DPPH自由基清除率略低于VC。

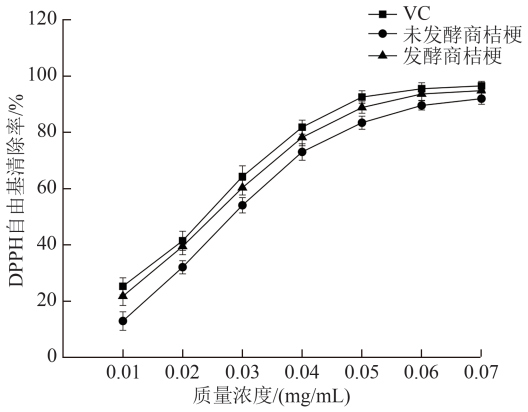


图5　商桔梗的DPPH自由基清除率

Fig. 5　DPPH free radical scavenging rate of *Platycodonis* Radix from Shangcheng

2.4.2　ABTS⁺自由基清除率

由图6可知，随着质量浓度的增加，未发酵商桔梗、发酵商桔梗和VC的ABTS⁺自由基清除率呈上升趋势，且发酵商桔梗对ABTS⁺自由基的清除能力强于VC，未发酵商桔梗对ABTS⁺自由基的清除能力弱于VC。未发酵商桔梗ABTS⁺自由基清除率的IC_{50}值为0.033 mg/mL，发酵商桔梗ABTS⁺自由基清除率的IC_{50}值为0.021 mg/mL，VC的ABTS⁺自由基清除率的IC_{50}值为0.026 mg/mL。结果表明，商桔梗经发酵后的抗氧化能力有所提高。

2.4.3　总还原力

由图7可知，当商桔梗质量浓度为0.01~0.06 mg/mL时，未发酵商桔梗、发酵商桔梗和VC对铁离子的还原能力随着质量浓度的增加而增加，且总还原力的大小顺序为：发酵商桔梗>VC>未发酵商桔梗。高燕等[26]研究表明，发酵可促进药材中活性更强的总黄酮和总多酚物质的释放，从而提高活性物质水平，与本研究结果一致。结果表明，发酵商桔梗的抗氧化活性增强。

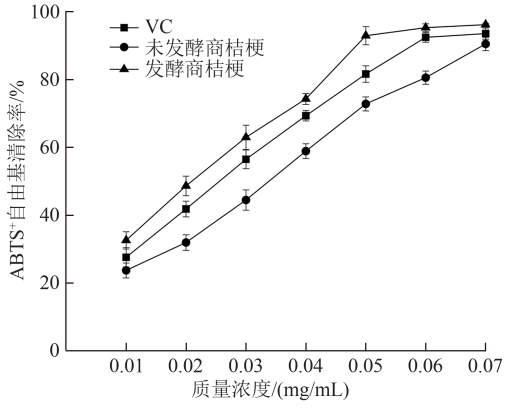


图6　商桔梗的ABTS⁺自由基清除率

Fig. 6　ABTS⁺ free radical scavenging rate of *Platycodonis* Radix from Shangcheng

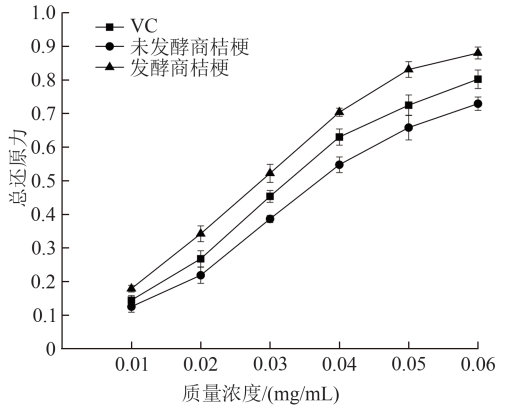


图7　商桔梗的总还原力

Fig. 7　Total reducing power of *Platycodonis* Radix from Shangcheng

3　结论

本研究以商桔梗为原料，以黑曲霉H为优势菌种，通过单因素试验和正交试验确定最佳发酵工艺为：发酵时间4 d、发酵温度33 ℃、料液比1 g∶5.5 mL、接种质量分数11%。在此条件下，发酵商桔梗中总黄酮、总多酚质量分数分别为（5.32±0.13）mg/g和（156.88±0.88）mg/g，分别是未发酵商桔梗的2.19倍和2.20倍，说明以黑曲霉H为出发菌株的固态发酵能促进商桔梗游离态总多酚和总黄酮的释放。体外抗氧化试验结果表明，发酵商桔梗的DPPH自由基清除率、ABTS⁺自由基清除率和总还原力均高于未发酵商桔梗。结果表明，微生物发酵可促进商桔梗中总黄酮和总酚的高效释放和富集，为商桔梗功能成分的开发和利用提供了理论依据。但本研究中未对发酵前后商桔梗中总黄酮和总多酚结构进行分类分析，在后续研究中可进一步分析微生物发酵对总黄酮和总多酚构象的影响。

参考文献

[1] 张英男．乳杆菌转化对桔梗皂苷抗炎活性的影响及其产物的应用[D]．沈阳：沈阳农业大学，2023．
[2] 崔彤．乳酸菌发酵桔梗总皂苷及其产物的降脂活性研究[D]．沈阳：沈阳农业大学，2024．
[3] 郭静英，易海燕，郑郁清，等．百合制桔梗质量标准研究[J]．时珍国医国药，2023(4)：873-877．

GUO J Y，YI H Y，ZHENG Y Q，et al. Quality standards of lily juice-processed *Platycodonis* Radix[J]. Journal of Li-Shizhen Traditional Chinese Medicine，2023（4）：873-877.（in Chinese）

[4] 李超，张欢，汲晨锋. 桔梗化学成分、药理作用及现代应用研究进展[J]. 中国药学杂志，2025，60（1）：9-20.
LI C，ZHANG H，JI C F. Research progress on chemical constituents，pharmacological effects and modern application of *Platycodonis* Radix [J]. Chinese Pharmaceutical Journal，2025，60（1）：9-20.（in Chinese）

[5] NAM Y H，KIM E B，KANG J E，et al. Ameliorative effects of flavonoids from *Platycodon grandiflorus* aerial parts on alloxan-induced pancreatic islet damage in zebrafish[J]. Nutrients，2023，15（7）：1798.

[6] JANG D S，LEE Y M，JEONG I H，et al. Constituents of the flowers of *Platycodon grandiflorum* with inhibitory activity on advanced glycation end products and rat lens aldose reductase *in vitro* [J]. Archives of Pharmacal Research，2010，33（6）：875-880.

[7] LI W，YANG H J. Phenolic constituents from *Platycodon grandiflorum* root and their anti-inflammatory activity[J]. Molecules，2021，26（15）：4530.

[8] 孙晓春，黄文静，任飞. 桔梗总黄酮提取工艺优化及其体外抗氧化性[J]. 北方园艺，2021（20）：104-110.
SUN X C，HUANG W J，REN F. Optimization of extraction process and antioxidant activity of total flavonoids from *Platycodonis* Radix [J]. Northern Horticulture，2021（20）：104-110.（in Chinese）

[9] 许瑞如. 桔梗多酚的提取、生物活性及其微胶囊化的研究[D]. 哈尔滨：东北农业大学，2021.

[10] 谢耀慧，李成义，冯慧敏，等. 中药活性成分微生物发酵研究进展[J]. 中成药，2025，47（1）：182-187.
XIE Y H，LI C Y，FENG H M，et al. Research progress on microbial fermentation of active components of traditional Chinese medicine [J]. Chinese Traditional Patent Medicine，2025，47（1）：182-187.（in Chinese）

[11] 彭灿灿，刘涛，邓俊劼，等. 酶处理协同红曲菌固态发酵茯苓对其化学成分的影响[J]. 食品与机械，2025，41（3）：17-25.
PENG C C，LIU T，DENG J J，et al. Effects of enzyme treatment combined with *Monascus solid*-state fermentation on chemical composition of *Poria cocos*[J]. Food and Machinery，2025，41（3）：17-25.（in Chinese）

[12] 邢君梅，张重权，王有琼，等. 混菌固态发酵辣木粕的营养价值和功能特性[J]. 食品与生物技术学报，2024，43（5）：26-36.
XING J M，ZHANG Z Q，WANG Y Q，et al. Exploring the nutritional value and functional characteristics of *Moringa* seed meal by mixed bacteria solid-state fermentation [J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43（5）：26-36.（in Chinese）

[13] 刘丽娟，郎双静，王立东. 微生物固态发酵对绿豆酚类物质含量及抗氧化活性的影响[J]. 食品安全质量检测学报，2024，15（21）：216-227.
LIU L J，LANG S J，WANG L D. Effects of microbial solid-state fermentation on phenolic content and antioxidant activity of *Vigna radiata*[J]. Journal of Food Safety & Quality，2024，15（21）：216-227.（in Chinese）

[14] 王炬，张秀玲，高宁，等. 老山芹全株及其不同部位酚类物质含量及抗氧化能力分析[J]. 食品科学，2019，40（7）：54-59.
WANG J，ZHANG X L，GAO N，et al. Polyphenolic content and antioxidant capacity of whole plants and different parts of *Heraclenm dissectum* [J]. Food Science，2019，40（7）：54-59.（in Chinese）

[15] 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.
XU R R，ZHANG X L，LI C，et al. Optimization of microwave-assisted extraction polyphenols from *Platycodon grandiflorum* roots and study of its antioxidant properties[J]. Food and Fermentation Industries，2020，46（4）：187-196.（in Chinese）

[16] 焦奕豪，高腾雨，龚建刚，等. 混菌固态发酵对改善沙棘果渣营养价值工艺优化的研究[J]. 饲料研究，2024，47（24）：75-79.
JIAO Y H，GAO T Y，GONG J G，et al. Study on optimization of solid-state fermentation with mixed bacteria to improve nutritional value of seabuckthorn fruit residue[J]. Feed Research，2024，47（24）：75-79.（in Chinese）

[17] 俞耀文，戴国庆，华浩立，等. 乙醇-硫酸铵双水相体系提取桃花总黄酮及其抗氧化性能[J]. 食品工业科技，2022，43（4）：187-195.
YU Y W，DAI G Q，HUA H L，et al. Ethanol-ammonium sulfate aqueous two-phase extraction of total flavonoids from peach blossom and its antioxidant activity [J]. Science and Technology of Food Industry，2022，43（4）：187-195.（in Chinese）

[18] 吴均，吴俊葶，杨碧文，等. 超声-酶辅助低共熔溶剂提取桑叶总黄酮的工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技，2024，45（3）：31-39.
WU J，WU J T，YANG B W，et al. Optimization of ultrasonic-enzyme-assisted deep eutectic solvents extraction process of total flavonoids from mulberry leaves and its antioxidant activity [J]. Science and

Technology of Food Industry，2024，45（3）：31-39.（in Chinese）

[19] 李游. 板栗壳多酚的提取及抗氧化、抑菌特性研究[D]. 泰安：山东农业大学，2021.

[20] 吴玉苹，崔艳红，朱艳平，等. 微生物发酵中草药及其在养殖业中替抗应用[J]. 畜牧与兽医，2024，56（5）：146-151.
WU Y P，CUI Y H，ZHU Y P，et al. Fermentation of Chinese herbal drugs by microorganism and its application to replacing antibiotics in breeding industry [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine，2024，56（5）：146-151.（in Chinese）

[21] 王懿文，谢纯良，朱作华，等. 黑曲霉固态发酵对金银花多酚类物质释放及增效作用[J]. 食品研究与开发，2023，44（22）：23-29.
WANG Y W，XIE C L，ZHU Z H，et al. Solid-state fermentation of *Lonicerae japonica* by *Aspergillus niger*：effects on release of polyphenols and improving function [J]. Food Research and Development，2023，44（22）：23-29.（in Chinese）

[22] 张微漾，陈毅保，王怡雯，等. 花生粕固态发酵产物的抗氧化活性研究[J]. 粮食与油脂，2023，36（9）：123-127.
ZHANG W Y，CHEN Y B，WANG Y W，et al. Study on antioxidant activity of solid-state fermentation products of peanut meal[J]. Cereals & Oils，2023，36（9）：123-127.（in Chinese）

[23] 杨英歌，李荣，宋凯，等. 灵芝-黄芪药渣固体双向发酵工艺优化及菌质多糖对肠癌HCT116的抑制作用研究[J]. 中国食品添加剂，2023，34（11）：110-118.
YANG Y G，LI R，SONG K，et al. Optimization of solid bi-directional fermentation process of *Ganoderma lucidum-Astragalus* residue and mycoplasmic polysaccharide antitumor activity to HCT116 cancer [J]. China Food Additives，2023，34（11）：110-118.（in Chinese）

[24] 陆玉婷，毕明月，卓燊，等. 熵权-正交法优化赤苍藤中多糖、多酚和黄酮的提取工艺[J]. 广西科技大学学报，2024，35（1）：123-130.
LU Y T，BI M Y，ZHUO S，et al. Optimization of multi-index extraction process of *Erythropalum scandens* Bl. by entropy weight-orthogonal method [J]. Journal of Guangxi University of Science and Technology，2024，35（1）：123-130.（in Chinese）

[25] PRIOR R L，WU X L，SCHAICH K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2005，53（10）：4290-4302.

[26] 高燕，刘昆仑，朱晓艾，等. 黑苦荞固态发酵富集总酚、总黄酮工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 河南工业大学学报（自然科学版），2024，45（4）：1-10，28.
GAO Y，LIU K L，ZHU X A，et al. Optimization of total phenolics and total flavonoids enrichment process of black Tartary buckwheat by solid-state fermentation and its antioxidant activity[J]. Journal of Henan University of Technology（Natural Science Edition），2024，45（4）：1-10，28.（in Chinese）