

王婷婷, 徐美余, 张麒麟, 等. 益生菌发酵中草药的活性成分变化及代谢组学分析 [J]. 畜牧与兽医, 2026, 58 (5): 44-52.

WANG T T, XU M Y, ZHANG Q L, et al. Changes in active ingredients and metabolomics analysis of probiotic-fermented Chinese herbs [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2026, 58 (5): 44-52.

益生菌发酵中草药的活性成分变化及代谢组学分析

王婷婷^{1,2}, 徐美余¹, 张麒麟^{1,2}, 林奕岑^{1,2}, 王峰^{1,2}, 林连兵^{1,2*}

(1. 昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500;

2. 云南省高校饲用抗生素替代技术工程研究中心, 云南 昆明 650500)

摘要: 旨在探讨益生菌发酵中草药前后的活性成分变化, 挖掘其益生作用机制。利用清热解毒类中药材作为原料, 结合产酶乳酸菌 (lactic acid bacteria, LAB) 和枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 进行发酵, 应用薄层色谱、高效液相色谱、非靶向代谢组学等技术分析中草药发酵前后活性成分以及代谢物的变化。结果: 发酵后总黄酮、黄芪皂苷、总多糖含量分别提升 71.3%、33.5%、4.9%, 抑菌活性增强; 对发酵前和发酵后的中草药进行非靶向代谢组学测定, 共检测到 2 500 个代谢物, 多变量统计分析筛选出 719 个差异代谢物, 其中显著差异代谢物有 24 个显著上调, 36 个显著下调; 对差异代谢物进行京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析揭示了主要参与的代谢通路, 包括次级代谢物生物合成、类黄酮生物合成、嘌呤代谢、黄酮及黄酮醇生物合成、甘油磷脂代谢、花生四烯酸代谢等; 相较于未发酵中草药, 对发酵中草药中显著上调以及下调的代谢物进行分析发现, 上调的代谢物具有抗炎、抗病毒、抗氧化等活性, 而下调的代谢物与细胞毒性、神经元功能紊乱相关。综上, 中草药发酵可提升有效成分含量, 增强抑菌、抗炎、抗病毒、抗氧化活性, 同时降低细胞毒性。

关键词: 中草药; 发酵; 抗生素替代; 代谢组学

中图分类号: S816.75 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2026)05-0044-09

Changes in active ingredients and metabolomics analysis of probiotic-fermented Chinese herbs

WANG Tingting^{1,2}, XU Meiyu¹, ZHANG Qilin^{1,2}, LIN Yicen^{1,2}, WANG Feng^{1,2}, LIN Lianbing^{1,2*}

(1. School of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China;

2. Yunnan Province Engineering Research Center for Antibiotic Alternatives in Animal Feed, Kunming 650500, China)

Abstract: To explore the changes in active ingredients before and after the fermentation of traditional Chinese medicine by probiotics, and to explore the mechanism of their beneficial effects, a variety of Chinese herbal medicines were used as raw materials, combined with enzyme-producing lactic acid bacteria and *B. subtilis* for fermentation. Then, thin-layer chromatography, high-performance liquid chromatography, and non-targeted metabolomics were applied to analyze the changes in the active ingredients as well as the metabolites of the Chinese herbal medicines before and after fermentation. The results showed that the contents of total flavonoids, total astragalus saponins and total polysaccharides were enhanced by 71.3%, 33.5% and 4.9%, respectively, and the antibacterial activity was enhanced after fermentation. Non-targeted metabolomics was performed on the herbs before and after fermentation, and a total of 2 500 metabolites were detected, and multivariate statistical analysis screened 719 differential metabolites, with 314 significantly up-regulated and 405 significantly down-regulated. KEGG enrichment analysis of the differential metabolites revealed the major metabolic pathways involved, including secondary metabolite biosynthesis, flavonoid biosynthesis, purine metabolism, flavonoid and flavonol biosynthesis, glycerophospholipid metabolism, and arachidonic acid metabolism. Analysis of significantly up-regulated as well as down-regulated metabolites in the fermented herbs, compared with the unfermented herbs, showed that the up-regulated metabolites possessed anti-inflammatory, antiviral, and antioxidant activities, whereas the down-regulated metabolites were associated with cytotoxicity and neuronal dysfunction. In summary, herbal fermentation increased the content of active ingredients and enhanced antibacterial, anti-inflammatory, antiviral and antioxidant activities, and reduced cytotoxicity.

Keywords: herbal medicine; fermentation; antibiotic replacement; metabolomics

收稿日期: 2025-05-13; 修回日期: 2026-03-11

基金项目: 云南省重大科技资助项目 (202202AG050008)

第一作者: 王婷婷, 女, 彝族, 硕士

* 通信作者: 林连兵, 教授, 研究方向为微生物发酵及噬菌体与肠道微生物, E-mail: 570782220@qq.com。

随着全球养殖业集约化发展, 抗生素的长期滥用已引发多重危机, 如药物残留、病原菌耐药性增强及生态环境污染等问题严重威胁着食品安全与公共卫生安全。与抗生素相比, 中药具备天然、毒副作用小、不易在畜禽体内残留、长期使用不易产生耐药性等优点^[1]。近年来, 在传统中药与现代生物技术融合下, 益生菌发酵中草药被广泛应用于中药材的加工与提取工艺中。益生菌发酵过程中, 菌株代谢产生的酶系能够对中草药中的多糖、黄酮、皂苷等活性成分进行生物转化, 生成新的活性物质或提高原有成分的生物利用度^[2]。同时, 益生菌本身作为肠道微生态调节剂, 能够协同中草药的抗菌、抗炎和免疫增强功能, 构建动物肠道健康屏障, 减少病原体定殖。通过益生菌发酵中草药具有提高药效、促进吸收、降低毒副作用等优势^[3]。乳酸菌参与免疫调节、肠道上皮屏障完整性维护, 具有较强抗氧化作用、促进健康和预防疾病等功能^[4]。此外, 乳酸菌对病原菌有明显的抑制作用^[5]。芽胞杆菌不仅具有抑菌、抗病毒活性, 还具有促生长消化、维持肠道菌群平衡、抑制病原菌和提高机体免疫力等功能^[6-8]。本研究用的乳酸菌和芽胞杆菌均为实验室保藏菌株。研究表明, 乳酸菌具有较强的产酸能力和抑菌活性, 芽胞杆菌有较强的产酶性, 在人工胃液中都有较强的耐受性, 无溶血活性、无毒力基因、对抗生素都保持中度敏感以上, 在体外具有较好的益生性和安全性, 可应用于生产实践^[9]。本研究利用乳酸菌和芽胞杆菌优良的发酵特性及益生功能, 结合一类清热解毒中草药进行发酵, 起到协同增效的作用, 并结合代谢组学技术, 系统分析发酵前后活性成分的变化, 揭示其生物转化机制, 为开发高效、安全的抗生素替代产品提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

菌生菌: 唾液乳杆菌 (*Lactobacillus salivarius*)、副干酪乳杆菌 (*Lacticaseibacillus paracasei*)、干酪乳杆菌 (*Lacticaseibacillus casei*)、香肠乳杆菌 (*Lactobacillus farciminis*)、枯草芽胞杆菌 (*Bacillus subtilis*); 指示菌: 金黄色葡萄球菌 ATCC6538、无乳链球菌 SAM12、福氏志贺菌 BS26、肠炎沙门菌 CMCC (B) 50335。以上菌株均为本课题组实验室保藏菌株。

中药材: 蒲公英、黄芪、青蒿、枳实、山楂、桔梗、柴胡、泽泻、大青叶、黄芩、栀子、夏枯草、忍冬藤、苍术、甘草。以上中药材均购自云南源草本生物科技有限公司。

石油醚、乙酸乙酯购自上海泰坦科技股份有限公司; 色谱纯甲醇、色谱纯乙腈购自赛默飞世尔科技

公司。

1.2 发酵条件的优化

本研究中的中草药由不同份量, 具备不同功能的单味中草药混合而成。中草药储存条件为干燥、室温 (15~25 ℃) 密封保存, 发酵前置于 65 ℃ 电热鼓风干燥箱烘干消毒处理 12 h, 每份样本 30 g 称重备用。试验分为未发酵组与发酵组, 其中未发酵组样本不进行发酵处理。

发酵时间优化: 取 10 份混合中草药, 每份加入 24.5 mL 复合益生菌液, 复合益生菌液为唾液乳杆菌、副干酪乳杆菌、干酪乳杆菌、香肠乳杆菌、枯草芽胞杆菌按 2:1:1:1:1 配制。密封, 37 ℃ 恒温发酵。在发酵的 1~10 d 分别取出 1 份制备水提液及醇提液, 4 ℃ 冰箱保存备用。

发酵含水量优化: 取 6 份混合中草药, 加水调节含水量为 25%、30%、35%、40%、45%、50%, 以 10% 的复合益生菌液接种, 密封于 37 ℃ 发酵 7 d。

发酵菌液接种量优化: 取 6 份混合中草药, 以 45% 的含水量, 调节复合益生菌液接种量为 2%、4%、6%、8%、10%、12%, 不同接种量中草药各 1 份, 密封于 37 ℃ 发酵 7 d。

样品的制备: 将不同条件下发酵后的中草药 15 g 用去离子水 (沸水浴 1 h) 提取水提液, 剩下 15 g 用 80% 乙醇 (80 ℃ 恒温水浴 1 h) 提取醇提液, 检测总多糖、总黄酮和黄芪总皂苷的含量, 最后根据各活性成分的含量确定出最佳发酵条件。

1.3 菌株产酶特性测定

菌株筛选培养基配制和菌株培养方法参照文献 [10]。甘露聚糖酶: 用 0.1% 刚果红染色 30 min, 5 mol/L NaCl 脱色, 观察晕圈。纤维素酶: 方法同甘露聚糖酶。淀粉酶: 用卢戈氏碘液染色 15 min, 观察透明圈。蛋白酶: 观察水解圈。分别用游标卡尺测量菌体直径 (d) 和晕圈直径 (D_1)、透明圈直径 (D_2)、水解圈直径 (D_3), D/d 表示各酶活力大小。

1.4 总多糖、总黄酮、黄芪总皂苷含量测定

总多糖: 以水提取液为供试品, 稀释后取 2 mL, 加入 1 mL 5% 苯酚溶液, 混匀后逐滴加入 5 mL 浓硫酸, 沸水浴 20 min, 冷却至室温后测定吸光度, 根据标准曲线计算总多糖含量。

总黄酮: 精密称取 25 mg 芦丁, 用乙醇溶解并定容至 50 mL, 混匀后取 20 mL 溶液加水定容至 50 mL 作为对照品溶液。以乙醇提取液为供试品溶液, 稀释后测定吸光度, 根据标准曲线计算总黄酮含量。

黄芪总皂苷: 精密称取 12.5 mg 黄芪甲苷, 加 25 mL 甲醇溶解, 制得 0.5 mg/mL 对照品溶液。醇提取液 65 ℃ 挥干, 残渣用甲醇定容至 10 mL 得供试品

溶液。取 0.5 mL 稀释供试品溶液，65 °C 烘干后加入 0.2 mL 5% 香草醛-冰醋酸和 0.8 mL HClO_4 ，60 °C 水浴 20 min，冷却后加 5 mL 冰醋酸混匀，测定吸光度并计算黄芪总皂苷含量。

1.5 发酵中草药成分分析

1.2 所得的水提液和醇提液分别用石油醚、乙酸乙酯萃取 3 次，得到石油醚相、乙酸乙酯相备用。分别采用薄层色谱法和高效液相色谱法分析中草药活性成分，试验步骤参照文献 [10]。

1.6 发酵中草药抑菌性能测定

采用双层牛津杯法。挥干萃取液溶剂，用 1 mL 甲醇溶解备用。选取金黄色葡萄球菌、肠炎沙门菌、无乳链球菌、福氏志贺菌，在 37 °C、150 r/min 条件下培养至 OD_{600} 值为 0.6 ~ 0.8，取 100 μL 菌液与 Luria-Bertani (LB) 半固体培养基混合，铺于 LB 固体培养基平板上，取 200 μL 甲醇溶液加入牛津杯中，4 °C 扩散 4 h，37 °C 培养 12 h，测定抑菌圈大小评估抑菌效果。

1.7 发酵中草药代谢组学测定

代谢产物提取：精密称取 50 mg 样品，加入 400 μL 提取液（甲醇：乙腈 = 1 : 1），-10 °C、50 Hz 条件下研磨 6 min，5 °C、40 kHz 超声提取 30 min，-20 °C 静置 30 min，4 °C、13 000 r/min 离心 15 min，取上清液用于分析。每个样本取 20 μL 上清液，混合后作为质控样本。

液相色谱-质谱联用技术 (LC/MS) 检测：使用超高效液相色谱串联傅里叶变换质谱 (UHPLC-Q Exactive HF-X) 系统进行分析。色谱条件：固定相为 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)，流动相 A 为 95% 水+5% 乙腈 (含 0.1% 甲酸)，流动相 B 为 47.5% 乙腈+47.5% 异丙醇 (含 0.1% 甲酸)，进样量 3 μL ，柱温 40 °C。样品经点喷雾电离，然后在正离子扫描模式和负离子扫描模式下分别采集质谱信号。

代谢物的峰提取、注释和定量：使用 Progenesis

QI 进行代谢组学分析。特征峰鉴定：通过质谱数据库鉴定代谢物。数据库比对：将鉴定结果与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 数据库比对，统计代谢物注释情况。质谱匹配：匹配 MS 和 MS/MS 信息，设置 MS 质量误差 $<10 \times 10^{-6}$ ，依据二级质谱得分鉴定代谢物。

差异代谢物的筛选：为分析发酵中草药与未发酵中草药的成分差异，对正负离子模式下的离子峰进行检测，采用 Student's *t*-test 双尾检验分析代谢物差异。差异代谢物的筛选标准为： $P < 0.05$ ，偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 预测的变量重要性投影 (VIP) > 1 ，且差异倍数 (FC) > 1 或 < 0.5 。显著差异代谢物则采用更严格的阈值： $P < 0.05$ ，VIP > 1 ，且 FC > 1.5 或 < 0.7 。

代谢物的功能富集：通过 KEGG 数据库对代谢物进行功能富集分析，结合基因组信息和基因功能，将代谢物按参与的代谢通路或功能分类，并在 KEGG 通路图上展示。利用美吉生物云平台 (<https://cloud.majorbio.com>) 对差异代谢物进行 KEGG 通路富集分析，解析显著差异代谢物涉及的代谢途径。

1.8 数据统计与分析

应用 SPSS 25.0 进行单因素方差分析，结果以“平均值±标准差”表示， $P < 0.05$ 表示有显著性差异。代谢组学原始数据使用 Progenesis QI 软件完成峰提取、定量与代谢物注释，并与 KEGG 数据库进行比对。采用 SIMCA 14.1 软件进行主成分分析 (PCA) 与 PLS-DA 检测，反映样本组间差异，结合 VIP 值、*P* 值及 FC 值筛选差异代谢物。

2 结果与分析

2.1 中草药发酵条件优化

发酵时间、发酵含水量、发酵接种量对总多糖、总黄酮、总黄芪甲苷浓度的影响分别见图 1、图 2、图 3。

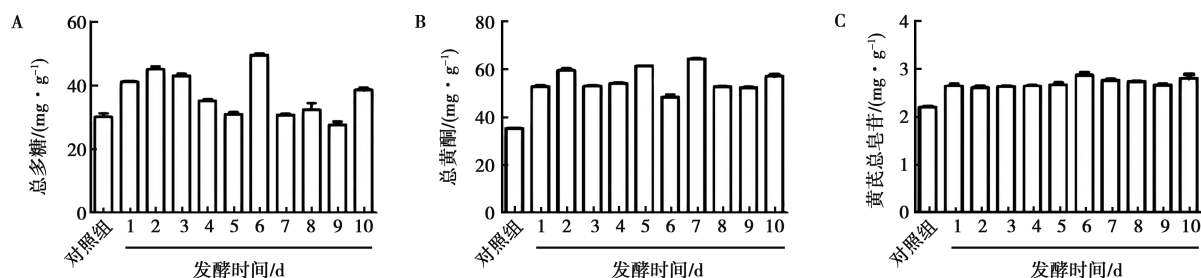


图 1 不同发酵时间对中草药总多糖、总黄酮、黄芪总皂苷浓度的影响

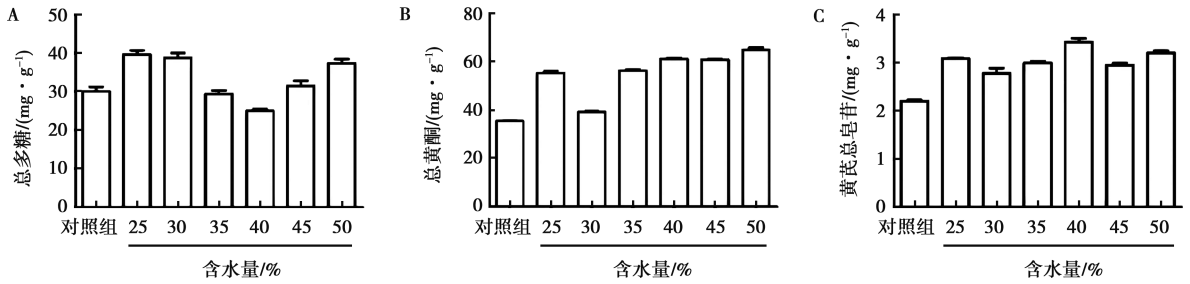


图2 不同发酵含水量对中草药总多糖、总黄酮、黄芪总皂苷浓度的影响

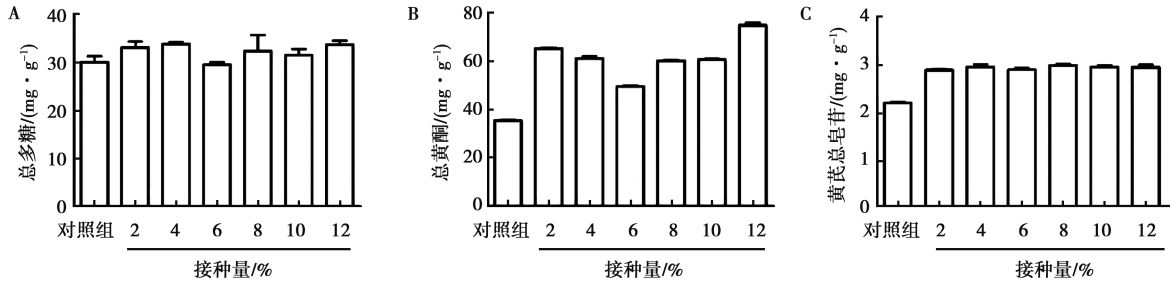


图3 复合益生菌不同发酵接种量对中草药总多糖、总黄酮、黄芪总皂苷浓度的影响

结果表明，发酵中草药的时间为6和7 d，含水量为40%、45%，复合益生菌菌液接种量为8%、10%、12%的条件下，发酵中草药的活性成分含量相对较高。最终选择发酵条件为：发酵时间7 d，含水量45%，菌液接种量10%。

2.2 菌株产酶特性

酶活力计算结果见表1。结果表明，本研究使用的复合益生菌能够产甘露聚糖酶、纤维素酶、淀粉酶和蛋白酶。

表1 发酵菌株酶活力计算结果

酶类别	指标	干酪乳杆菌	副干酪乳杆菌	唾液乳杆菌	香肠乳杆菌	枯草芽胞杆菌	复合益生菌
甘露聚糖酶	D_1/mm	18.00±0.58	19.00±1.90	20.00±1.00	17.00±2.80	5.70±0.29	17.00±3.50
	d/mm	4.00±0.00	4.00±0.00	4.00±0.00	4.00±0.00	4.00±0.00	4.50±0.50
	D_1/d	4.60±0.14	4.70±0.47	4.90±0.26	4.30±0.69	1.40±0.07	4.00±0.95
纤维素酶	D_1/mm	7.80±1.00	8.30±0.58	8.50±0.50	7.80±2.40	9.70±0.76	7.20±1.80
	d/mm	5.50±0.50	5.30±0.58	4.20±0.29	4.00±0.00	5.00±1.00	4.50±0.50
	D_1/d	1.40±0.07	1.60±0.24	2.00±0.18	2.00±0.59	2.00±0.26	1.60±0.23
淀粉酶	D_2/mm	10.00±1.00	9.30±1.20	9.70±2.10	/	14.00±2.90	9.70±2.30
	d/mm	4.80±0.29	5.00±0.50	4.00±0.00	/	4.00±0.00	4.00±0.87
	D_2/d	2.10±0.24	1.90±0.31	2.40±0.52	/	3.40±0.72	2.60±1.00
蛋白酶	D_3/mm	/	/	/	/	31.00±3.20	27.00±1.00
	d/mm	/	/	/	/	7.30±0.58	6.80±1.00
	D_3/d	/	/	/	/	4.10±0.31	4.00±0.43

注：“/”表示该菌株不产对应的酶。

2.3 发酵对中草药总多糖、总黄酮及黄芪总皂苷含量的影响

结果见图4，发酵组总黄酮含量显著高于未发酵组 ($P<0.05$)；发酵组黄芪总皂苷含量显著高于未发

酵组 ($P<0.05$)；发酵组总多糖含量高于未发酵组，但差异不显著。发酵后总黄酮、黄芪总皂苷、总多糖含量分别提升71.3%、33.5%、4.9%。

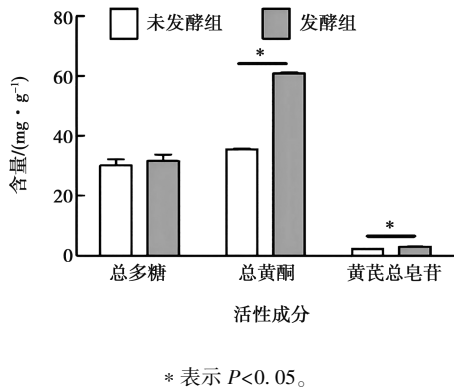


图4 发酵中草药活性成分变化

2.4 发酵中草药成分分析

2.4.1 薄层色谱分析

发酵中草药水提液 (图 5A、5B) 较未发酵液主要成分增多且出现新成分; 发酵醇提液石油醚相 (图 5C、5D) 主要成分减少, 而乙酸乙酯相则产生新成分。

2.4.2 高效液相色谱分析

高效液相色谱分析特征峰出峰时间及峰面积见图 6。根据图 6A、6B 能看出, 水提石油醚相发酵中草药峰的个数增多; 图 6C、6D 能看出, 水提乙酸乙酯相发酵中草药峰的个数增多; 图 6E、6F 能看出, 醇提石油醚相发酵中草药峰的个数减少; 图 6G、6H 能看出, 醇提乙酸乙酯相发酵中草药峰的个数增多。结果提示中药发酵后有新的物质产生。

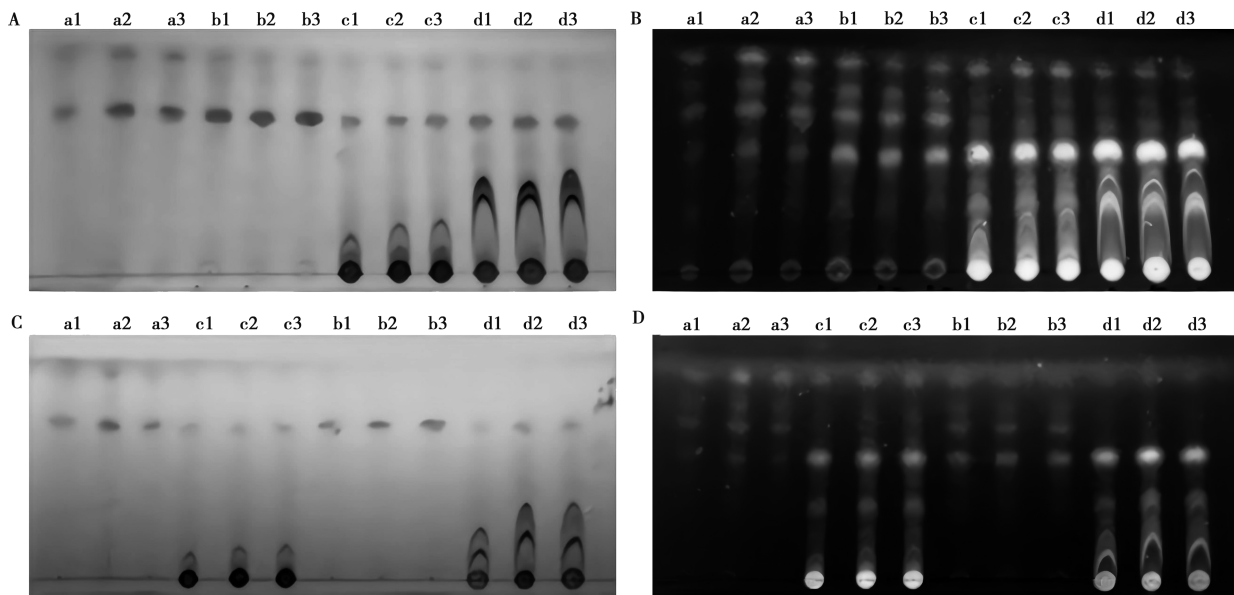
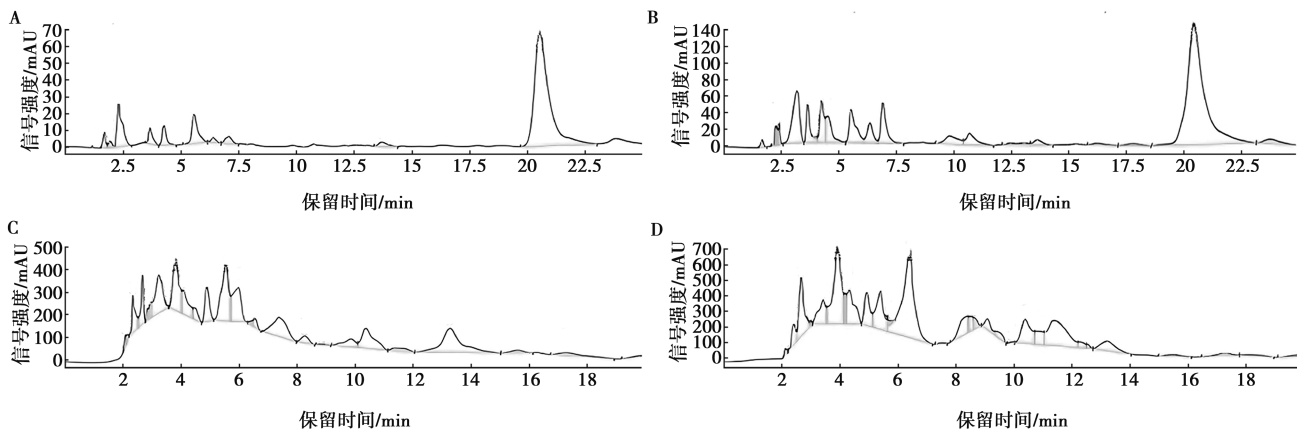
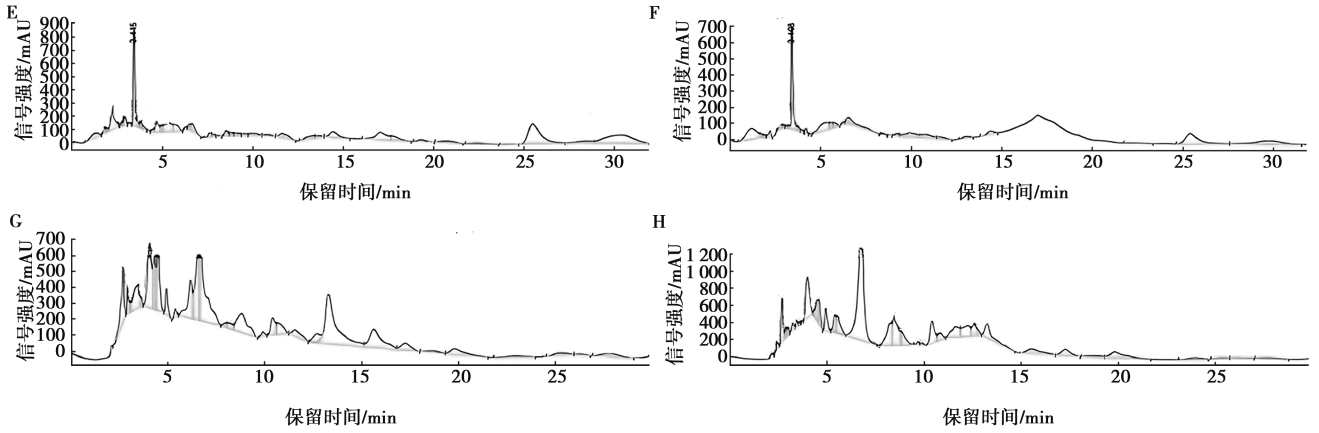


图5 发酵中草药薄层色谱





A. 水提石油醚相中草药; B. 水提石油醚相发酵中草药; C. 水提乙酸乙酯相中草药; D. 水提乙酸乙酯相发酵中草药; E. 醇提石油醚相中草药; F. 醇提石油醚相发酵中草药; G. 醇提乙酸乙酯相中草药; H. 醇提乙酸乙酯相发酵中草药。

图 6 发酵中草药高效液相色谱

2.5 抑菌性能分析

抑菌圈直径结果见表 2。结果表明，发酵中草药

能增强抑菌效果，且乙酸乙酯相的抑菌效果优于石油醚相，抑菌物质主要存在于乙酸乙酯相中。

表 2 发酵中草药抑菌圈直径

指示菌	抑菌样品	中草药抑菌圈直径/mm	发酵中草药抑菌圈直径/mm
金黄色葡萄球菌 ATCC6538	水提石油醚相	8.00±0.00	8.00±0.00
	醇提石油醚相	9.00±1.73	11.00±3.46
无乳链球菌 SAM12	水提石油醚相	9.67±1.56	10.67±1.53
	醇提石油醚相	11.67±1.56	12.00±1.00
福氏志贺菌 BS26	水提石油醚相	8.00±0.00	8.00±0.00
	醇提石油醚相	8.00±0.00	8.00±0.00
肠炎沙门菌 CMCC (B) 50335	水提石油醚相	8.00±0.00	8.00±0.00
	醇提石油醚相	8.00±0.00	8.00±0.00
金黄色葡萄球菌 ATCC6538	水提乙酸乙酯相	12.33±1.16	17.67±2.31*
	醇提乙酸乙酯相	14.67±2.08	18.33±0.58*
无乳链球菌 SAM12	水提乙酸乙酯相	14.67±0.58	21.33±1.53**
	醇提乙酸乙酯相	18.33±0.58	21.33±2.31
福氏志贺菌 BS26	水提乙酸乙酯相	17.33±1.16	25.33±0.58***
	醇提乙酸乙酯相	12.67±0.58	20.33±1.16***
肠炎沙门菌 CMCC (B) 50335	水提乙酸乙酯相	10.00±1.00	14.00±1.00**
	醇提乙酸乙酯相	11.67±0.58	17.00±2.00*

注：同行比较，*表示 $P < 0.05$ ，**表示 $P < 0.01$ ，***表示 $P < 0.001$ 。

2.6 发酵中草药代谢组学

2.6.1 测序分析

经过数据处理，总共识别出代谢物数量为 2 500 个，其中正离子模式下识别出 1 375 个代谢物，负离子模式下识别出 1 125 个代谢物。

2.6.2 多元统计分析

图 7A、7D 结果显示，中草药与发酵中草药样本组内相似度高，组间差异显著，95% 置信区间内分布良好。图 7B、7E 结果表明，组间差异明显，分类效果突出。模型验证（图 7C、7F）显示，置换保留度下降时回归线上升，表明模型无过拟合，验证有效。

这些途径均涉及下调的差异代谢物，主要集中在代谢途径和次级代谢物的生物合成领域，如类黄酮、甘油磷脂、酪氨酸、 α -亚麻酸、嘌呤、黄酮和黄酮醇、

异黄酮、亚油酸、花生四烯酸以及氰基氨基酸的代谢过程。相对地，上调的差异代谢物则主要参与了2条代谢途径，即类黄酮以及黄酮和黄酮醇的生物合成。

表3 显著差异代谢物功能通路统计

通路 ID	通路	种类	代谢物数目	整体调控趋势
map01100	全局与总览图	代谢途径	126	↑↓
map01110	全局与总览图	次级代谢物的生物合成	67	↓
map00941	其他次级代谢产物的生物合成	类黄酮生物合成	18	↑↓
map00350	氨基酸代谢	酪氨酸代谢	14	↓
map00230	核苷酸代谢	嘌呤代谢	11	↓
map00944	其他次级代谢产物的生物合成	黄酮和黄酮醇生物合成	10	↑↓
map00564	脂类代谢	甘油磷脂代谢	9	↓
map00943	其他次级代谢产物的生物合成	异黄酮生物合成	6	↓
map00590	脂类代谢	花生四烯酸代谢	3	↓
map00460	其他氨基酸代谢	氰基氨基酸代谢	1	↓
map00591	脂类代谢	亚油酸	1	↓
map00592	脂类代谢	α -亚麻酸代谢	1	↓

注：箭头表示该通路在发酵后的整体调控趋势：↑表示主要上调，↓表示主要下调，↑↓表示上下调代谢物共存。代谢物数目指映射到该通路的差异代谢物数量。

3 讨论

研究表明，益生菌发酵中药能够显著提高有效成分含量^[11]。本研究结果表明，通过益生菌发酵技术，中草药中的总黄酮、黄芪总皂苷和总多糖含量分别提升了71.3%、33.5%和4.9%。这一结果与益生菌分泌的甘露聚糖酶、纤维素酶等酶类密切相关，这些酶可分解中草药细胞壁，促进活性成分释放^[12]。通过薄层色谱和高效液相色谱技术的分析，发现发酵过程中生成了新的化合物，这一现象表明，益生菌的代谢产物可能与中草药成分发生了化学反应，进而形成了具有更高活性的化合物。在酶催化作用下，微生物通过代谢途径将大分子物质分解转化，并在特定环境条件下重新合成生物活性更强的功能性成分^[13]。研究发现通过益生菌发酵中药可以提高其抗菌和抗病毒作用^[14]。本研究中，发酵中草药的抑菌效果显著增强，尤其是乙酸乙酯相提取物对金黄色葡萄球菌和福氏志贺菌表现出较强的抑制作用，这一现象可能与黄酮类等活性物质含量提升有关。从差异代谢物分析结果来看，中药发酵后显著上调的还有氨基酸衍生物与小肽类等物质，这类物质可能属于抗菌肽或其前体，主要通过破坏细菌胞膜的完整性和干扰细菌胞内的关键生理过程来发挥其抗菌功能^[15]。有机酸可通过降低环境pH值并通过破坏细胞膜结构和影响膜稳定性等方

式发挥抑菌作用^[16]，它们的上调可能协同黄酮类物质增强抑菌效果。

有研究表明，发酵中草药能够改变中草药中的活性成分含量从而提高中草药药效，益生菌在发酵过程中也会产生一些代谢物，作用于中草药并产生新的活性物质，降低某些中草药成分的毒性等特性^[17]，与本研究结果相符。本研究KEGG富集分析表明，上调的代谢物主要涉及类黄酮生物合成、黄酮和黄酮醇生物合成等代谢途径，这些途径与抗炎和抗氧化活性的增强直接相关。类黄酮具有抗氧化活性，对心血管疾病和炎症等疾病有良好的生化作用^[18]。黄酮和黄酮醇具有潜在抗菌作用，可用于辅助治疗由耐药性和机会性细菌引起的传染病^[19]。另一方面，下调代谢物多集中于嘌呤代谢、氰基氨基酸代谢、花生四烯酸代谢等通路，这些通路均与多种疾病相关。在本研究中显著下调的次黄嘌呤是嘌呤代谢的产物，它能诱导中风血管损伤和血脑屏障破坏，增加小鼠中风后梗死面积和神经行为缺陷^[20]。因此，次黄嘌呤含量的下降可能与神经元保护相关。野黑樱苷是氰基氨基酸代谢的代谢物，具有细胞毒性^[21-22]，其显著下调表明发酵中草药可能具有降低细胞毒性的潜质。花生四烯酸代谢产生的前列腺素E2 (PGE₂) 能促进炎性物质渗出，可引发炎症反应^[23]，其下调有利于炎症康复。这些结果共同表明，发酵过程通过代谢重编程降低了

中草药的潜在毒性，同时增强了其功能活性。

综上所述，发酵清热解毒类中草药可以作为一种健康高效的饲料添加剂应用于畜禽养殖中，中草药发酵能提升有效成分含量，增强抑菌活性，提升抗炎和抗病毒活性，降低细胞毒性。发酵中草药作为新型抗生素替代产品在养殖中具有广阔的应用前景。

参考文献：

- [1] 王瑞, 蔡文涛, 王喜亮, 等. 畜禽中药-益生菌复合微生态制剂的研究进展 [J]. 生物工程学报, 2019, 35 (6): 972-987.
- [2] 廖雪莲, 徐夏凯, 王尔心, 等. 发酵中药饲料添加剂对断奶仔猪生长性能和肠道功能的影响研究进展 [J]. 中国畜牧杂志, 2025, 61 (4): 122-127.
- [3] 王静涵, 张斯童, 滕利荣, 等. 益生菌发酵中药的研究现状及产品开发 [J]. 食品工业科技, 2020, 41 (14): 337-343.
- [4] PETER S B, QIAO Z, GODSPOWER H N, et al. Biotechnological innovations and therapeutic application of *Pediococcus* and lactic acid bacteria: the next-generation microorganism [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2022, 9: 802031.
- [5] PRABHURAJESHWAR C, CHANDRAKANTH R K. Probiotic potential of Lactobacilli with antagonistic activity against pathogenic strains: an *in vitro* validation for the production of inhibitory substances [J]. Biomed J, 2017, 40 (5): 270-283.
- [6] 曹树威, 余昌花, 罗鲜青, 等. 芽孢杆菌特性及其在畜牧生态养殖中应用研究进展 [J]. 中国兽药杂志, 2021, 55 (11): 77-85.
- [7] 张宇柔, 陈玉珂, 于梦楠, 等. 益生芽孢杆菌对鱼类生长与抗病力影响的研究进展 [J]. 水产科学, 2022, 41 (2): 325-335.
- [8] YANG J, ZHAN K, ZHANG M. Effects of the use of a combination of two *Bacillus* species on performance, egg quality, small intestinal mucosal morphology, and cecal microbiota profile in aging laying hens [J]. Probiotics Antimicrob Proteins, 2020, 12 (1): 204-213.
- [9] 罗成莹, 何秀, 徐美余, 等. 五株乳酸菌和三株芽孢杆菌的生物学特性和功能 [J]. 微生物学通报, 2024, 51 (1): 172-188.
- [10] 徐美余. 发酵中草药的制备及其饲喂对南丹瑶鸡的影响 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2023.
- [11] 田秋丰, 张红, 尹琚伊, 等. 复方中草药生物发酵对其活性成分的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2023 (8): 116-121.
- [12] XING Y, WANG L, XU G, et al. *Platyedon grandiflorus* polysaccharides inhibit Pseudorabies virus replication via downregulating virus-induced autophagy [J]. Res Vet Sci, 2021, 140: 18-25.
- [13] 李艳凤, 翟梦颖, 李雨昕, 等. 发酵法在中药研究中的应用 [J]. 医学综述, 2020, 26 (4): 753-757.
- [14] 孟欣, 于鹏, 单晓枫, 等. 干酪乳杆菌发酵人参茎叶提取物对锦鲤免疫及抗氧化功能的影响 [J]. 水产学报, 2024, 48 (2): 119-132.
- [15] 梁丽娜, 支岩, 乌云格日乐, 等. 抗菌肽的性质、功能及优化策略研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2025, 52 (7): 3359-3371.
- [16] GONG Y, LI T, LI S, et al. Achieving high yield of lactic acid for antimicrobial characterization in cephalosporin-resistant *Lactobacillus* by the co-expression of the phosphofructokinase and glucokinase [J]. J Microbiol Biotechnol, 2016, 26 (6): 1148-1161.
- [17] 吕战旗, 常娟, 宁长申, 等. 益生菌发酵中草药的特性及在动物生产中的应用 [J]. 中国饲料, 2019 (13): 66-69.
- [18] SHEN N, WANG T, GAN Q, et al. Plant flavonoids: classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity [J]. Food Chem, 2022, 383: 132531.
- [19] DO SOCORRO S CHAGAS M, BEHRENS M D, MORAGAS-TELLIS C J, et al. Flavonols and flavones as potential anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial compounds [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022 (1): 9966750.
- [20] YE J, BI X, DENG S, et al. Hypoxanthine is a metabolic biomarker for inducing GSDME-dependent pyroptosis of endothelial cells during ischemic stroke [J]. Theranostics, 2024, 14 (15): 6071-6087.
- [21] NEWMARK J, BRADY R O, GRIMLEY P M, et al. Amygdalin (Laetrile) and prunasin β -glucosidases: distribution in germ-free rat and in human tumor tissue [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1981, 78 (10): 6513-6516.
- [22] DELPORTE C, MUÑOZ O, ROJAS J, et al. Pharmacotoxicological study of *Kageneckia oblonga*, Rosaceae [J]. Z Naturforsch C J Biosci, 2002, 57 (1/2): 100-108.
- [23] GAO X, WANG J, CHEN X, et al. Reduning Injection prevents carrageenan-induced inflammation in rats by serum and urine metabolomics analysis [J]. Chin Herb Med, 2022, 14 (4): 583-591.