

付婷伟, 周紫微, 邵颖, 等. 桑黄总黄酮的提取、组分分析及其生物活性评价 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(7): 191–200. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023050290

FU Tingwei, ZHOU Ziwei, SHAO Ying, et al. Extraction, Component Analysis and Biological Activity Evaluation of Total Flavonoids from *Phellinus igniarius*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(7): 191–200. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023050290

· 工艺技术 ·

桑黄总黄酮的提取、组分分析及其生物活性评价

付婷伟¹, 周紫微¹, 邵颖^{1,2,*}, 张朋³, 宁晓雅¹, 杨洋¹, 陈安徽^{1,2}

(1. 徐州工程学院食品(生物)工程学院, 江苏徐州 221111;

2. 江苏省食品资源开发与质量安全重点实验室, 徐州工程学院, 江苏徐州 221111;

3. 徐州天益食品科技研究院有限公司, 江苏徐州 210009)

摘要:为系统研究桑黄中总黄酮的提取工艺, 明晰总黄酮中黄酮类化合物的组成及含量, 探讨桑黄总黄酮的生物活性, 本研究采用响应面法优化了桑黄总黄酮的提取工艺, 高效液相色谱法分析了桑黄总黄酮的组成, 并检测其生物活性。实验结果表明, 以桑黄总黄酮得率为指标的最优提取条件为提取温度 73 ℃、固液比 1:50 g/mL、提取时间 3 h, 在此提取条件下桑黄总黄酮的得率达到了 2.68%; 采用高效液相色谱法测定了桑黄总黄酮中的黄酮种类及其含量, 发现桑黄总黄酮中主要含有花旗松素、槲皮素和山奈酚, 其中花旗松素含量最高达到 3727.31 mg/kg; 桑黄总黄酮生物活性分析结果显示, 其具有一定的体外抗氧化、降脂、降糖活性, 在其浓度为 14 μg/mL 时对 DPPH 自由基的清除率达到 58.63%±0.45%, 浓度为 0.08 mg/mL 时, 对羟基自由基的清除率达到 52.51%±1.49%; 桑黄总黄酮的降脂活性实验结果显示, 桑黄总黄酮在浓度为 6 mg/mL 时对胰脂肪酶的抑制率达到 10.56%±0.06%, 在浓度为 4 mg/mL 时对胆固醇胶束溶解度的抑制率达到了 32.59%±0.78%; 桑黄总黄酮具有明显的降糖活性, 其对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶的 IC₅₀ 分别为 71.42 mg/mL 和 97.28 mg/mL。

关键词:桑黄, 总黄酮, 提取, 组分分析, 生物活性

中图分类号: Q939.9

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2024)07-0191-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023050290

本文网刊:



Extraction, Component Analysis and Biological Activity Evaluation of Total Flavonoids from *Phellinus igniarius*

FU Tingwei¹, ZHOU Ziwei¹, SHAO Ying^{1,2,*}, ZHANG Peng³, NING Xiaoya¹, YANG Yang¹, CHEN Anhui^{1,2}

(1. College of Food (Biological) Engineering, Xuzhou University of Technology, Xuzhou 221111, China;

2. Jiangsu Key Construction Laboratory of Food Resource Development and Quality Safe, Xuzhou University of Technology, Xuzhou 221111, China;

3. Xuzhou Tianyi Food Research Institute Company Limited, Xuzhou 210009, China)

Abstract: In order to study the extraction technology of total flavonoids from *Phellinus igniarius* systematically, clarify the composition and content of flavonoids in total flavonoids, and explore the biological activity of total flavonoids from *Phellinus igniarius*. The extraction technology of *Phellinus igniarius* total flavonoids was optimized by response surface method, the composition of *Phellinus igniarius* total flavonoids was analyzed, and some of its biological activities were also detected. The results showed that the optimal extraction conditions were extraction temperature of 73 ℃, solid-liquid ratio of 1:50 g/mL and extraction time of 3 h, under which the yield of *Phellinus igniarius* total flavonoids reached 2.68%. The

收稿日期: 2023-05-29

基金项目: 江苏省科技计划 (XZ-SZ202150); 徐州市科技计划重点研发项目 (KC20047)。

作者简介: 付婷伟 (2000-), 女, 本科, 研究方向: 微生物资源开发, E-mail: 2976873837@qq.com。

* 通信作者: 邵颖 (1979-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 应用微生物学, E-mail: shyzbo2005@126.com。

types and contents of flavonoids in *Phellinus igniarius* total flavonoids were determined by HPLC. Total flavonoids of *Phellinus igniarius* mainly contained taxifolin, quercetin and kaempferol, and the content of taxifolin was 3727.31 mg/kg. The analysis of biological activities of *Phellinus igniarius* total flavonoids showed that it had certain antioxidant, lipid-lowering and hypoglycemic activities *in vitro*, and the scavenging rate of DPPH free radicals reached 58.63%±0.45% when its concentration was 14 µg/mL, and the scavenging rate of hydroxyl free radicals reached 52.51%±1.49% when its concentration was 0.08 mg/mL. The experimental results of lipid-lowering activity showed that the inhibitory rate of *Phellinus igniarius* total flavonoids on pancreatic lipase reached 10.56%±0.06% at the concentration of 6 mg/mL, and the inhibitory rate on cholesterol micelle solubility reached 32.59%±0.78% at the concentration of 4 mg/mL. *Phellinus igniarius* total flavonoids had obvious hypoglycemic activity, and its IC₅₀ for α-glucosidase and α-amylase was 71.42 mg/mL and 97.28 mg/mL respectively.

Key words: *Phellinus igniarius*; total flavonoids; extraction; component analysis; biological activity

桑黄是多年生大型药用真菌,在分类学上属担子门 Basidiomycota、蘑菇纲 Agaricomycetes、锈革菌目 Hymenochaetales、锈革菌科 Hymenochaetaceae、桑黄孔菌属 *Sanghuangporus*, 俗称桑耳、胡孙眼等^[1-4]。桑黄在我国的药用记载最早起源于《神农本草经》中的桑耳,与此同时桑黄的临床应用也表明其治病奇效与无毒属性。随后《药性论》、《本草纲目》、《本经逢原》中均对桑黄的活血止血、滋阴补肾等药用功效有所记载^[5-7]。随着现代生物技术的不断发展,桑黄中的生物活性成分及其作用机制被深入探讨。大量研究表明,桑黄在预防或治疗肿瘤^[8-9]、保护器官^[10]、降血糖^[11]、抑菌^[12]、抗炎^[13]、抗氧化^[14]、提高免疫^[15-17]等方面具有良好效果,因此桑黄因其天然的多重功效属性已成为国内外医药及保健领域研发的热点^[18]。

桑黄中的主要活性成分包括多糖、黄酮、三萜、多酚及多种酶类等^[19],而黄酮类物质防止细胞衰老、扩张血管、增强免疫及抗癌等重要的药理活性更是倍受关注^[20]。目前,桑黄中黄酮的提取方式主要有超声辅助提取、微波提取、超临界萃取法等^[21-24]。在不同的提取工艺及提取条件下,桑黄黄酮提取率间存在一定的偏差^[25-27]。此外,桑黄种类繁多,不同种质及同种不同生长周期的桑黄中黄酮含量及组成会有不同,因此针对不同种桑黄其黄酮提取工艺也存在差别,但现有的诸多关于桑黄黄酮的提取工艺研究对象大多较为笼统。

桑黄中功能因子的提取、纯化工艺技术的发展可有效保障桑黄资源的高值化应用,促进桑黄产业发展。基于此,本研究以一年半生杨树桑黄为研究对象,对桑黄中总黄酮的提取工艺进行了优化,对提取出的总黄酮进行组分分析并对其抗氧化活性、降脂、降糖活性进行探讨,以期桑黄资源在药品、保健品等领域的应用提供参考,也为桑黄的高值化精准开发应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

桑黄子实体 由通化承诚药业有限公司提供,为一年半生杨树桑黄;胰脂肪酶(250 U/mg) 上海

麦克林生化科技有限公司;胆固醇 中国惠兴生化试剂有限公司;油酸、三油酸甘油酯 国药集团化学试剂有限公司;酚酞、水杨酸 天津市福晨化学试剂厂;聚乙烯醇 深圳市伯顺化工有限公司;芦丁 成都埃法生物科技有限公司;α-淀粉酶(10 U/mg) 山东隆科特酶制剂有限公司;DNS 显色剂 广州和为医药科技有限公司;阿卡波糖 酷尔化学科技(北京)有限公司;α-葡萄糖苷酶(50 U/mg)、对硝基苯基-α-D-吡喃葡萄糖苷 南京都莱生物技术有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) 合肥巴斯夫生物科技有限公司;总胆固醇(total cholesterol, TC)测定试剂盒 南京建成生物工程研究所;二氢杨梅素、花旗松素、香橙素、杨梅素、圣草酚、槲皮素、柚皮素、木犀草素、山奈酚、芹菜素 上海瀚香生物科技有限公司;其余试剂均为分析纯。

L550 电动离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;TGL-16G 台式离心机 上海安亭科学仪器厂;KQ3200E 超声波清洗器 昆山市超声仪器;FA2104N 电子天平 上海精密科学仪器有限公司;BJ-400A 多功能粉碎机 永康市铂欧五金制品有限公司;SENCOR201L 旋转蒸发器 巩义市英峪予华仪器厂;TU-1810 紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司。

1.2 实验方法

1.2.1 芦丁标准曲线的绘制及总黄酮含量测定 配制浓度为 0.2 mg/mL 的芦丁标准溶液。分别吸取 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 芦丁标准溶液于试管中,各试管中分别加入 30% 乙醇溶液补至 6 mL,摇匀。依次向试管中加入 5% 的亚硝酸钠溶液 0.3 mL,混匀后放置 5 min,再加入 10% 的硝酸铝溶液 0.6 mL,混匀并静置 5 min,再加入 1 mol/L 的 NaOH 溶液 2 mL,混匀。最后用 30% 的乙醇将各管中溶液定容至 10 mL,混匀。各管中溶液分别于 510 nm 处测定吸光度。以标准溶液浓度(C)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标,绘制芦丁的标准曲线。标准曲线回归方程为 $Y=9.95X+0.0024$,决定系数 $R^2=0.9994$,说明样品浓度在 0~0.10 mg/mL 范围内,浓度与吸光值间相关性良好。提取液测定吸光值后,代入回归方程,按照

下式计算桑黄总黄酮的得率。

$$\text{总黄酮得率}(\%) = \frac{C \times V \times N}{W} \times 10^{-3} \times 100$$

式中: C 为通过吸光值代入回归方程计算出的样品浓度(mg/mL); V 为测试样品体积(mL); N 为稀释倍数; W 为测试样品的质量(g)。

1.2.2 桑黄总黄酮提取工艺

1.2.2.1 提取时间对桑黄总黄酮得率的影响 桑黄子实体于 50 ℃ 条件下烘干至恒重, 粉碎后过 80 目筛。准确称取 1.0 g 桑黄子实体粉末 5 份, 按照 1:40 的固液比(质量体积比)加入 70% 乙醇, 于 50 ℃ 条件下分别水浴处理 1、2、3、4、5 h, 提取液于 5000 r/min 条件下离心 10 min 后收集上清液, 进行总黄酮得率测定。

1.2.2.2 固液比对桑黄总黄酮得率的影响 桑黄子实体于 50 ℃ 条件下烘干至恒重, 粉碎后过 80 目筛。准确称取 1.0 g 桑黄子实体粉末 5 份, 分别按照 1:20、1:30、1:40、1:50、1:60 的固液比(质量体积比)加入 70% 乙醇, 于 50 ℃ 条件下水浴处理 3 h, 提取液于 5000 r/min 条件下离心 10 min 后收集上清液, 进行总黄酮得率测定。

1.2.2.3 提取温度对桑黄总黄酮得率的影响 桑黄子实体于 50 ℃ 条件下烘干至恒重, 粉碎后过 80 目筛。准确称取 1.0 g 桑黄子实体粉末 5 份, 按照 1:60 的固液比(质量体积比)加入 70% 乙醇, 分别于 40、50、60、70、80 ℃ 条件下水浴处理 3 h, 提取液于 5000 r/min 条件下离心 10 min 后收集上清液, 进行总黄酮得率测定。

1.2.2.4 Box-Behnken 试验设计及响应面分析 在单因素实验结果基础上, 采用 Box-Behnken 设计方案, 以提取温度(A)、提取时间(B)、固液比(C)为考察因素, 以桑黄总黄酮得率为响应值, 使用 Design-Expert 8.06 软件优化桑黄总黄酮的提取工艺参数。因素水平见表 1。

表 1 响应面因素水平设计
Table 1 Design of factor levels of response surface test

水平	因素		
	A提取温度(℃)	B提取时间(h)	C固液比(g/mL)
-1	60	2	1:40
0	70	3	1:50
1	80	4	1:60

1.2.3 桑黄子实体中总黄酮的组分分析

1.2.3.1 黄酮标准品标准曲线的绘制 分别适量称取二氢杨梅素、花旗松素、香橙素、杨梅素、圣草酚、槲皮素、柚皮素、木犀草素、山奈酚、芹菜素标准品, 置于 10 mL 棕色容量瓶中, 使用甲醇溶液溶解并摇匀使其定容配制成质量浓度为 1000 mg/L 的标准储备溶液。再利用甲醇准确配制浓度为 100 mg/L 的 10 种标准品的中间标准储备溶液, 再利用甲醇逐步

稀释中间标准储备混合溶液, 配制得到浓度为 1、5、10、20、80 mg/L 的梯度标准溶液。

色谱条件为: 色谱柱为 Thermo Synchronis C18 (250×4.6 mm, 5 μm); 柱温 35 ℃, 流速 1.0 mL/min, 进样量 5.0 μL。流动相 A: 甲醇; 流动相 B: 1.0% 冰乙酸溶液。梯度洗脱程序为: 0~2.0 min, 10%~15% A; 2.0~8.5 min, 15%~30% A; 8.5~12.0 min, 30%~85% A; 12.0~14.0 min, 85%~100% A; 14.0~16.0 min, 10% A。按照此色谱条件采用外标法进行 HPLC 测定。以标准品质量浓度(mg/L)为 X 轴, 峰面积为 Y 轴绘制 10 种黄酮标准品的标准曲线。

1.2.3.2 组分分析与含量测定 称取桑黄子实体 10 g, 按照 1:50 的质量体积比加入 70% 乙醇, 于 70 ℃ 条件下提取 180 min 后于 4000 r/min 条件下离心 10 min 收集上清液。上清液过 0.22 μm 滤膜后进行高效液相色谱分析, 以确定桑黄总黄酮中黄酮类化合物的组成及含量。

1.2.4 抗氧化活性测定

1.2.4.1 桑黄总黄酮对 DPPH 自由基的清除能力测定 参照 BETTY 等^[28] 的实验方法。准确量取 2 mL 不同质量浓度的待测试样于试管中, 再添加 2 mL 80% 乙醇配制的浓度为 0.1 mmol/L 的 DPPH 溶液, 摇匀后静置于阴凉暗处反应 30 min。之后于 6000 r/min 条件下离心 10 min, 收集上清。将上清液于 517 nm 处测量吸光度。V_C 为阳性对照。DPPH 自由基清除率按下式计算:

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%) = \left(\frac{A_3 - A_1 + A_2}{A_3} \right) \times 100$$

式中: A₁ 为 2 mL 总黄酮溶液+2 mL DPPH 的吸光值; A₂ 为 2 mL 总黄酮溶液+2 mL 70% 乙醇的吸光值; A₃ 为 2 mL DPPH+2 mL 70% 乙醇的吸光值。

1.2.4.2 桑黄总黄酮对羟基自由基(·OH)的清除能力测定 参照 SMIRNOFF 等^[29] 的实验方法。量取不同浓度桑黄总黄酮样品各 1 mL 于试管中, 向其中添加 6 mmol/L FeSO₄ 溶液 1 mL, 充分摇匀。再加入 6 mmol/L H₂O₂ 溶液 1 mL, 充分摇匀并放置 10 min, 之后再添加 6 mmol/L 水杨酸 1 mL, 充分摇匀, 于 37 ℃ 下水浴反应 30 min。反应后将反应混合液于 3000 r/min 条件下离心 10 min, 收集上清液。上清液于 510 nm 处测定吸光值。阴性对照组是以 80% 的乙醇代替桑黄总黄酮样品; 空白对照组以蒸馏水代替水杨酸; V_C 作为阳性对照。羟基自由基(·OH)清除率按下式计算:

$$\cdot\text{OH清除率}(\%) = \left(\frac{Y_0 - Y_1 + Y_2}{Y_0} \right) \times 100$$

式中: Y₀ 为阴性对照组吸光度值; Y₁ 为桑黄总黄酮处理组吸光度值; Y₂ 为空白对照组吸光度值。

1.2.5 桑黄总黄酮体外降脂活性

1.2.5.1 桑黄总黄酮对胰脂肪酶活性的影响 参考

苏建辉^[30]的方法并改进。准确吸取 4 mL pH 为 7.4 的磷酸缓冲液(0.025 mol/L)于烧杯中,再加入聚乙烯醇三油酸甘油酯乳化液 4 mL 作为反应底物。烧杯于 37 ℃ 保温 10 min。之后准确吸取 2 mL 事先配制的不同浓度的总黄酮样品于烧杯中,再加入 0.5 mg/mL 胰脂肪酶 1 mL 静置反应 15 min。反应结束后使用 5 mL 95% 的乙醇终止反应。用纯水替代样品液作为空白对照。

聚乙烯醇三油酸甘油酯乳化液:称取 4 g 聚乙烯醇(PVA)于烧杯并加水 80 mL 于沸水浴中溶解。冷却至室温后定容至 100 mL。准确量取 20 mL 并与 10 mL 三油酸甘油酯混合均匀备用。

胰脂肪酶:用 pH 为 7.4 的磷酸缓冲液配制浓度为 0.5 mg/mL 的胰脂肪酶溶液。胰脂肪酶酶活抑制率按照下式进行计算:

$$X(\%) = \frac{V_0 - V}{V_0} \times 100$$

式中: X 为胰脂肪酶酶活抑制率; V_0 为空白对照组所消耗的 NaOH 的体积(mL); V 为加入样品溶液的实验组所消耗的 NaOH 的体积(mL)。

1.2.5.2 桑黄总黄酮对胆固醇胶束溶解度的影响
参照 KIRANA 等^[31]的实验方法配制胆固醇胶束化溶液。称取 0.0772 g 胆固醇于烧杯中,加入 100 mL 乙醚,搅拌至充分溶解。1 mL 胶束溶液中含有比例为 10:2:5:132:15 的牛磺胆酸钠、胆固醇、油酸、NaCl、pH7.4 的磷酸缓冲液。蒸馏水替代桑黄总黄酮作为空白对照。分别向蒸馏水和桑黄总黄酮中添加胆固醇及胶束溶液,摇匀振荡并于 37 ℃ 下反应 60 min。反应结束后,于 4000 r/min 条件下离心 10 min,收集上清。按照总胆固醇测定试剂盒操作指南实施规范操作并计算结果。胆固醇胶束溶解度的抑制率按照下式进行计算:

$$X(\%) = \frac{A - B}{A} \times 100$$

式中: X 为对胆固醇胶束溶解度的抑制率; A 为空白溶液中的胆固醇溶解度(g/mL); B 为样品溶液中的胆固醇溶解度(g/mL)。

1.2.6 桑黄总黄酮降糖活性

1.2.6.1 桑黄总黄酮对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性
参照赵文竹^[32]的方法并改进,将 5 μ L 的 α -葡萄糖苷酶溶液和不同浓度的桑黄总黄酮依次加入到 620 μ L 浓度为 0.1 mol/L 的磷酸钾缓冲溶液中,在 37.5 ℃ 下预热 20 min,然后向其加入 10 μ L 对硝基苯基葡萄糖苷(pNPG,浓度为 10 mmol/L)作为反应底物,以启动反应,于 37.5 ℃ 条件下反应 30 min,最后加入 650 μ L 浓度为 1 mol/L 的 Na_2CO_3 终止反应,并在 410 nm 处测定。以阿卡波糖为阳性对照,以蒸馏水为空白对照。 α -葡萄糖苷酶抑制率的计算公式如下:

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率}(\%) = \frac{E_1 - E_2}{E_1} \times 100$$

式中: E_1 为空白对照组的吸光值; E_2 为总黄酮组的吸光值。

1.2.6.2 桑黄总黄酮对 α -淀粉酶的抑制活性 参照於雨蝶等^[33]的方法并改进。将 10 μ L α -淀粉酶水溶液(1 U/L)与 10 μ L 不同质量浓度的桑黄总黄酮混合后预热 15 min,并向其加入 500 μ L 质量分数为 1% 的淀粉溶液(溶解于 pH 为 6.9 的磷酸钠缓冲溶液)以启动反应。反应启动后,于 37.5 ℃ 条件下反应 5 min 后,向其中滴加 600 μ L DNS 试剂以终止反应。反应结束后,将反应混合物置于沸水浴中保温 15 min,冷却至室温后,于 540 nm 处测定吸光值。以阿卡波糖为阳性对照,以蒸馏水为空白对照。 α -淀粉酶抑制率的计算公式如下:

$$\alpha\text{-淀粉酶抑制率}(\%) = \frac{L_1 - L_2}{L_1} \times 100$$

式中: L_1 为空白对照组的吸光值; L_2 为总黄酮组的吸光值。

1.3 数据处理

实验重复 3 次;实验数据使用 SPSS 24.0 处理软件进行分析,结果采用平均值 $\pm$ 标准差表示;绘图采用 Origin 2023 软件绘制; IC_{50} 值为曲线增长阶段拟合线性方程后计算获得。

2 结果与分析

2.1 桑黄总黄酮提取工艺优化

2.1.1 桑黄总黄酮提取时间的确定 提取时间对桑黄总黄酮提取的影响如图 1 所示。由图 1 可知,随着浸提时间的延长桑黄总黄酮不断浸出,其得率逐渐升高,在提取时间为 3 h 时,桑黄中总黄酮的得率最高为 2.03% $\pm$ 0.06%,显著高于其他提取条件下的总黄酮得率($P < 0.05$)。但继续延长提取时间,总黄酮得率反而下降,这可能与提取溶剂挥发致使溶剂量减少有关。总黄酮的最佳提取时间选择为 3 h。

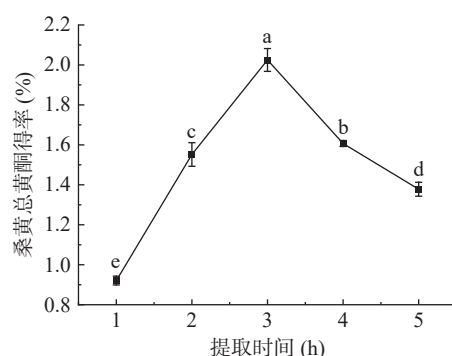


图1 提取时间对桑黄总黄酮得率的影响

Fig.1 Effect of extraction time on the yield of total flavonoids from *Phellinus igniarius*

注:图中 a、b、c、d、e 表示不同提取时间对桑黄总黄酮得率影响的差异显著性($P < 0.05$)。

2.1.2 提取固液比的确定 固液比会对桑黄中黄酮类物质的提取产生影响。考察了不同固液比对桑黄中总黄酮提取的影响,结果见图 2。

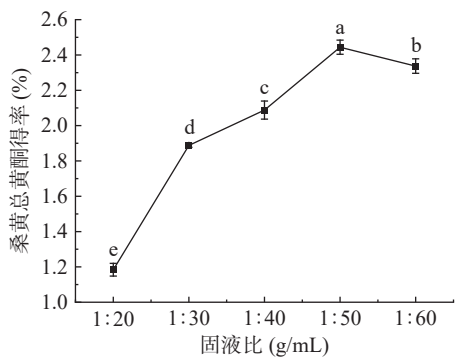


图 2 固液比对桑黄总黄酮得率的影响

Fig.2 Effect of solid-to-liquid ratio on the yield of total flavonoids from *Phellinus igniarius*

注: 图中 a、b、c、d、e 表示不同固液比对桑黄总黄酮得率影响的差异显著性($P<0.05$)。

由图 2 可以看出,使用提取溶剂越多桑黄总黄酮得率越高,在固液比为 1:50 时总黄酮得率达到最大值为 $2.44\%\pm0.04\%$,随后得率呈下降趋势,可能在固液比 1:50 的条件下总黄酮的溶出量达到较高的水平,当提取溶剂使用量提高后却不利于已溶出黄酮对未浸出黄酮的协同作用,反而不利于协同浸提,导致总黄酮得率降低。所以选择最佳固液比为 1:50。

2.1.3 提取温度的确定 考察了提取温度对桑黄总黄酮提取的影响。结果如图 3 所示。

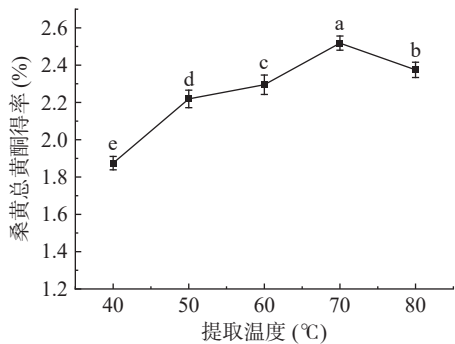


图 3 提取温度对桑黄总黄酮得率的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on the yield of total flavonoids from *Phellinus igniarius*

注: 图中 a、b、c、d、e 表示不同提取温度对桑黄总黄酮得率影响的差异显著性($P<0.05$)。

由图 3 可知,桑黄中总黄酮得率会随着提取温度的提高而增加,在提取温度为 70 °C 时得率最高达到 $2.52\%\pm0.04\%$ 。但当提取温度超过 70 °C 后得率显著降低($P<0.05$),这可能与高温引起黄酮类物质变性有一定的关系;此外,提取溶剂乙醇在提取温度过高时因为过度挥发减少也会引起得率的降低。因此,选择最优提取温度为 70 °C。

2.1.4 响应面试验设计及结果 以桑黄总黄酮得率为响应值,采用 Box-Behnken 设计方案优化了桑黄总黄酮的提取工艺。试验设计及结果见表 2,方差分析结果见表 3。利用 Design Expert 8.06 软件对表中数据进行分析,得到响应值对几个自变量的回归方程

为总黄酮得率 $=2.61+0.14A+0.096B+0.050C-0.090AB-0.053AC-0.032BC-0.19A^2-0.25B^2-0.085C^2$ 。

表 2 Box-Behnken 响应面设计及其结果

Table 2 Box-Behnken response surface design arrangement and experimental results

试验号	A提取温度	B提取时间	C固液比	总黄酮得率(%)
1	0	1	-1	2.35±0.06
2	-1	0	-1	2.31±0.09
3	-1	0	1	2.05±0.05
4	-1	1	0	2.25±0.07
5	1	0	-1	2.52±0.15
6	0	0	0	2.61±0.07
7	0	0	0	2.61±0.17
8	0	0	0	2.61±0.12
9	0	0	0	2.61±0.09
10	1	1	0	2.31±0.08
11	0	-1	1	2.13±0.05
12	0	0	0	2.61±0.06
13	1	-1	0	2.27±0.18
14	-1	-1	0	1.85±0.14
15	1	0	1	2.48±0.21
16	0	-1	-1	2.25±0.19
17	0	1	1	2.36±0.16

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

来源	自由度	平方和	均方	F值	P值	显著性
模型	2.5	9	0.28	48.19	<0.0001	**
A-提取温度	0.97	1	0.97	168.9	<0.0001	**
B-提取时间	0.039	1	0.039	6.8	0.035	*
C-固液比	0.23	1	0.23	39.55	0.0004	**
AB	0.09	1	0.09	15.62	0.0055	**
AC	0.00003	1	0.00003	0.0043	0.9493	
BC	0.068	1	0.068	11.73	0.0111	*
A ²	0.79	1	0.79	137.51	<0.0001	**
B ²	0.021	1	0.021	3.71	0.0954	
C ²	0.33	1	0.33	57.82	0.0001	**
残差	0.04	7	0.006			
失拟项	0.04	3	0.013	0.7785	0.5642	不显著
纯误差	0	4	0			
总和	2.54	16				

$R^2=0.9841$ $R^2_{adj}=0.9637$ $R^2_{Predicted}=0.7459$

由方差分析结果可知,该回归模型极显著($P<0.01$),表明试验值与预测值显著相关($R^2=0.9841$, $R^2_{adj}=0.9637$),模型与试验拟合良好,该模型可以反映桑黄总黄酮得率的预测及分析。由表 3 还可以发现自变量对响应值的影响程度,其影响大小排序依次为提取温度(A)>固液比(C)>提取时间(B),其中因素 A、C 和 AB 间的交互作用对桑黄总黄酮得率的影响达到极显著水平($P<0.01$),因素 B 和 BC 的交互作用对总黄酮得率的影响显著($P<0.05$)。由图 4 可知,AB、BC 的响应曲面较为陡峭,说明提取温度和提取时间间的交互作用与提取时间与固液比的交互作用显著,而 AC 曲面弯曲程度较小,因此提取温度和固液比之间的交互作用不显著,这与表 3 方差分析结果一致。

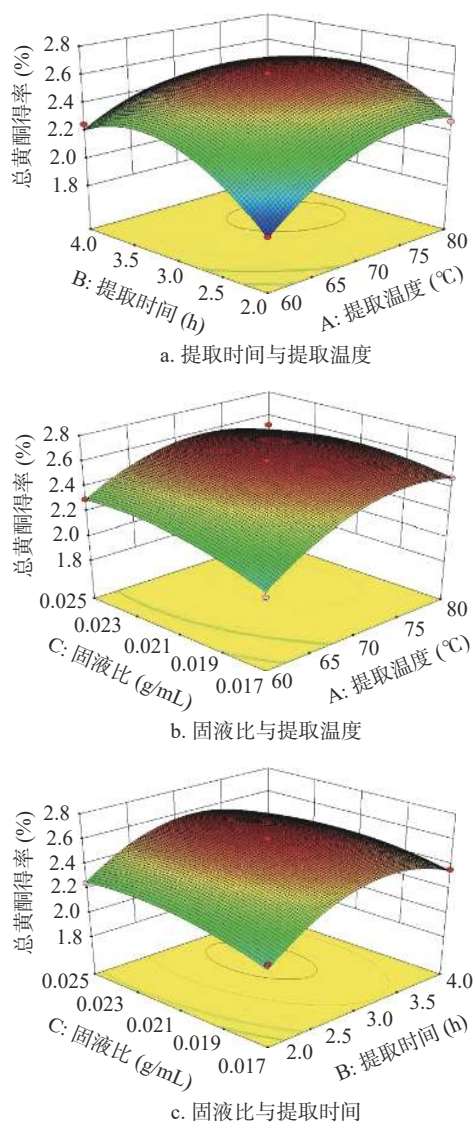


图4 两两因素交互作用对桑黄总黄酮得率影响的响应面图

Fig.4 Response surface diagram of the interaction of two factors on the yield of total flavonoids from *Phellinus igniarius*

使用软件分析,桑黄总黄酮的最优提取参数为:

提取温度 73.24 ℃、固液比 1:45.46 g/mL、提取时间 3.12 h,此条件下桑黄总黄酮得率为 2.64%。经综合考虑,修正提取参数为:提取温度 73 ℃、固液比 1:50 g/mL、提取时间 3 h。经验证,此条件下总黄酮得率为 2.68%。预测值与实际值间的相对偏差为-0.02,说明可以使用该模型预测桑黄总黄酮的得率。

2.2 桑黄总黄酮组分分析

2.2.1 黄酮标准品标准曲线的绘制 采用 1.2.3.1 的方法对 10 种黄酮标样进行了标准曲线绘制,混合标样色谱图如图 5 所示。10 种标准品的回归方程如表 4 所示。

表 4 黄酮标准品的回归方程

Table 4 Regression equation of flavonoid standard products

标准品	回归方程	R^2
二氢杨梅素	$Y=0.1724X+0.0364$	0.9994
花旗松素	$Y=0.2193X+0.0258$	0.9996
香橙素	$Y=0.2869X-0.0198$	0.9997
杨梅素	$Y=0.1937X+0.2611$	0.9971
圣草酚	$Y=0.1933X+0.0057$	0.9996
槲皮素	$Y=0.5691X+0.3031$	0.9989
柚皮素	$Y=0.2236X+0.0509$	0.9994
木犀草素	$Y=0.6129X-0.0933$	0.9997
山奈酚	$Y=0.4776X-0.0549$	0.9997
芹菜素	$Y=0.9961X-0.1896$	0.9997

图 5 和表 4 的结果显示,10 种黄酮标准品在该色谱条件下实现了良好分离。以标准品质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标得到各黄酮标准品的线性回归方程的相关系数均达到 0.997 以上,标准品质量浓度与峰面积呈现良好的线性关系,因此在测定样品时即可根据峰面积通过以上关系定量分析样品中黄酮类组分的含量。

2.2.2 桑黄总黄酮组分测定 桑黄总黄酮提取液在 1.2.3.2 的色谱条件下进行高效液相色谱检测,测定结果如表 5 所示。

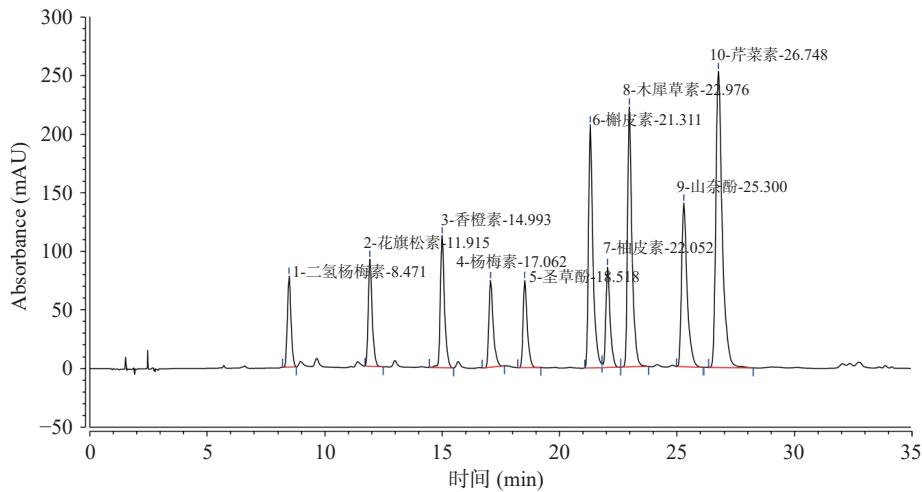


图5 黄酮混合标样色谱图

Fig.5 Chromatographic diagram of flavonoids mixed standard samples

表 5 桑黄总黄酮组分及含量
Table 5 Components and contents of total flavonoids of *Phellinus igniarius*

组分	花旗松素	槲皮素	山奈酚
含量(mg/kg)	3727.31	125.75	220.88

由表 5 的实验结果可知, 在供试的 10 种黄酮标准品中, 桑黄总黄酮中仅含有花旗松素、槲皮素和山奈酚 3 种组分, 其中花旗松素是桑黄总黄酮中的主要成分, 其含量最多达到 3727.31 mg/kg, 显著高于槲皮素和山奈酚的含量。

2.3 桑黄总黄酮生物学活性分析

2.3.1 桑黄总黄酮的抗氧化活性

2.3.1.1 桑黄总黄酮的 DPPH 自由基清除活性 以 V_C 为阳性对照, 对桑黄总黄酮不同质量浓度的样品进行了 DPPH 自由基清除活性测定。实验结果如图 6 所示。

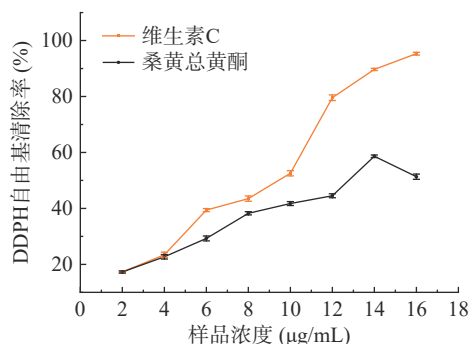


图 6 桑黄总黄酮的 DPPH 自由基清除率

Fig.6 DPPH radical scavenging rate of total flavonoids from *Phellinus igniarius*

由图 6 可知, 桑黄总黄酮具有一定的 DPPH 自由基清除活性。随着桑黄总黄酮浓度的增加, 其 DPPH 自由基清除活性逐渐增强, 在浓度为 14 $\mu\text{g/mL}$ 时清除率达到最大值为 $58.63\% \pm 0.45\%$, 随后清除率又呈现出下降趋势。桑黄总黄酮对 DPPH 自由基清除率的 IC_{50} 为 13.33 $\mu\text{g/mL}$, 阳性对照 V_C 的 IC_{50} 为 8.15 $\mu\text{g/mL}$ 。说明桑黄总黄酮具有较强的 DPPH 自由基清除活性。

2.3.1.2 桑黄总黄酮的羟基自由基清除活性 桑黄总黄酮羟基自由基清除结果如图 7 所示。

图 7 的结果表明, 桑黄总黄酮具有羟基自由基清除能力, 且清除活性会随着黄酮浓度的提高而增强, 桑黄总黄酮浓度与羟基自由基清除活性间存在一定的量效关系。在总黄酮浓度为 0.08 mg/mL 时, 其羟基自由基清除率达到 $52.51\% \pm 1.49\%$, 经计算桑黄总黄酮对羟基自由基清除率的 IC_{50} 为 0.0737 mg/mL, 阳性对照 V_C 的 IC_{50} 为 0.0332 mg/mL。显示桑黄总黄酮具有良好的羟基自由基清除活性。

2.3.2 桑黄总黄酮的降脂活性

2.3.2.1 桑黄总黄酮对胰脂肪酶的抑制活性 对桑

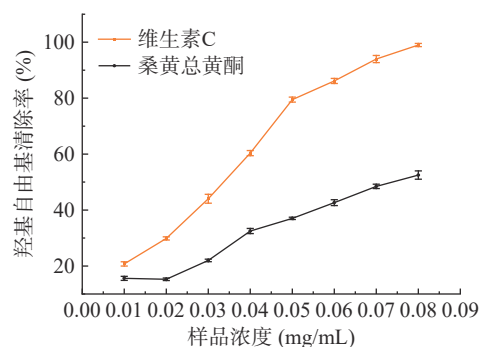


图 7 桑黄总黄酮羟基自由基清除率

Fig.7 Hydroxyl radical scavenging rate of total flavonoids from *Phellinus igniarius*

黄总黄酮的胰脂肪酶抑制活性进行了测定。由图 8 所示的实验结果可以看出, 桑黄总黄酮可以有效抑制胰脂肪酶的活性。当桑黄总黄酮的浓度在 2~6 mg/mL 范围内时, 胰脂肪酶抑制率随样品浓度的增加而提高, 在 6 mg/mL 时抑制率达到 $10.56\% \pm 0.06\%$, 显著高于其他浓度下的抑制率 ($P < 0.05$)。但当浓度超过 6 mg/mL 时, 胰脂肪酶抑制率呈下降趋势。

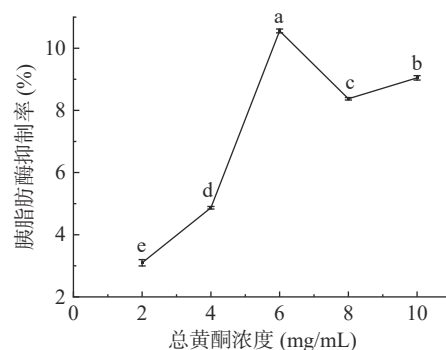


图 8 桑黄总黄酮对胰脂肪酶的抑制作用

Fig.8 Inhibitory effect of total flavonoids from *Phellinus igniarius* on pancreatic lipase

注: 图中 a、b、c、d、e 表示不同总黄酮浓度对胰脂肪酶抑制率影响的差异显著性 ($P < 0.05$)。

2.3.2.2 桑黄总黄酮对胆固醇胶束溶解度的抑制作用 降低胆固醇胶束的溶解度可有效抑制胆固醇的消化吸收, 从而起到降脂的作用。对桑黄总黄酮的胆固醇胶束溶解度抑制活性进行了测定, 结果如图 9 所示。

由图 9 可知, 桑黄总黄酮具有降低胆固醇胶束溶解度的效果。当总黄酮浓度为 4 mg/mL 时对胆固醇胶束溶解度的抑制率达到了 $32.59\% \pm 0.78\%$, 但之后随着总黄酮浓度的提高对胆固醇胶束溶解度的抑制效果反而下降。

随着桑黄总黄酮浓度的增加, 对胰脂肪酶及胆固醇胶束溶解度的抑制作用均呈现先上升后下降的趋势, 推测出现造成这种结果的原因可能是因为提取物中还同时存在对胰脂肪酶活力及胆固醇胶束溶解度具有促进作用的物质, 是多种成分共同作用的结果^[34-35]。

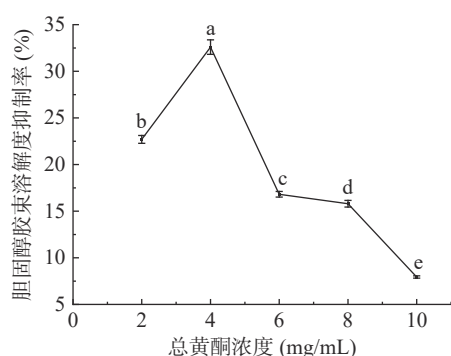


图9 桑黄总黄酮对胆固醇胶束溶解度的抑制作用

Fig.9 Inhibitory effect of total flavonoids from *Phellinus igniarius* on solubility of cholesterol micelle

注:图中a、b、c、d、e表示不同总黄酮浓度对胆固醇胶束溶解抑制率影响的差异显著性($P<0.05$)。

2.3.3 桑黄总黄酮的降糖活性

2.3.3.1 桑黄总黄酮对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性

桑黄总黄酮对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果如图10所示。由图可知,桑黄总黄酮具有抑制 α -葡萄糖苷酶的能力,且抑制能力随着总黄酮浓度的提高而增强。经分析桑黄总黄酮对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 为71.42 mg/mL,阳性对照阿卡波糖的 IC_{50} 为28.54 mg/mL,桑黄总黄酮具有一定的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

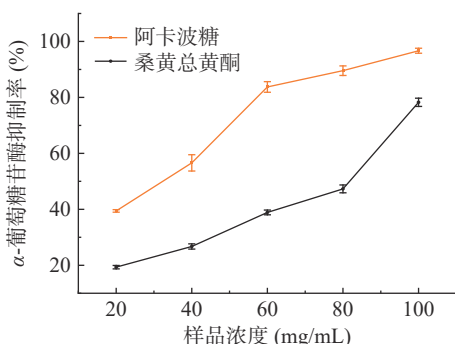


图10 桑黄总黄酮对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用

Fig.10 Inhibitory of α -glucosidase by total flavonoids from *Phellinus igniarius*

2.3.3.2 桑黄总黄酮对 α -淀粉酶的抑制活性

桑黄总黄酮对 α -淀粉酶的抑制作用结果如图11所示。由图11可以看出,桑黄总黄酮对 α -淀粉酶的抑制

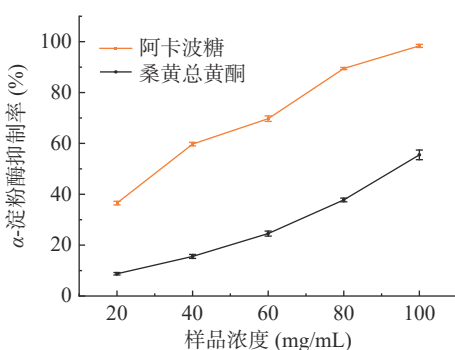


图11 桑黄总黄酮对 α -淀粉酶的抑制作用

Fig.11 Inhibitory of α -amylase by total flavonoids from *Phellinus igniarius*

率随其浓度的升高而增强。桑黄总黄酮对 α -淀粉酶的 IC_{50} 为97.28 mg/mL,阿卡波糖的 IC_{50} 为32.92 mg/mL。

3 结论

本研究采用响应面法优化了桑黄中总黄酮的提取工艺,建立的桑黄总黄酮提取率的预测模型为 $Y=2.61+0.14A+0.096B+0.050C-0.090AB-0.053AC-0.032BC-0.19A^2-0.25B^2-0.085C^2$ 。最优提取条件为提取温度73℃、固液比1:50 g/mL、提取时间3 h。在该条件下桑黄总黄酮得率为2.68%。该预测模型可有效预测桑黄总黄酮的提取情况;采用高效液相色谱法对桑黄总黄酮的组分进行了分析,发现花旗松素是桑黄总黄酮中的主要成分,含量高达3727.31 mg/kg;本实验条件下,桑黄总黄酮显示出了较好的DPPH自由基和羟基自由基清除能力,对胰脂肪酶和胆固醇胶束溶解度也具有一定的抑制作用,同时对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶显示了抑制作用,说明桑黄总黄酮具有体外抗氧化、降脂、降糖活性,值得将其作为多重功效因子进行深度开发利用。

桑黄种类繁多,子实体中总黄酮含量及黄酮化化合物的组分间存在差异。本研究仅以杨树桑黄作为研究对象探讨了其总黄酮的传统浸提工艺及黄酮类化合物的组成,研究的开展可以为桑黄资源精深加工和高值化利用提供一定的理论参考。研究中桑黄总黄酮显示了体外抗氧化活性、降脂、降糖活性,但在实验数值上与巫永华等^[36]的研究结果有偏差,这可能与桑黄种类及总黄酮的纯度有一定的关系。桑黄总黄酮的生物活性验证了桑黄及桑黄总黄酮的保健及药用功能,至于相关功效的靶向活性物质种类的确定则需要对桑黄中的化合物进行分离纯化研究,此外后续也有必要对不同种类及不同生长时间的桑黄中的活性物质种类、含量及生物活性进行系统探讨以精准开发桑黄资源。

© The Author(s) 2024. 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] 王伟科,宋吉玲,巫优良,等.药用真菌桑黄分子鉴定及遗传多样性分析[J].浙江农业学报,2019,31(2):307-314. [WANG W, SONG J L, WU Y Y, et al. Molecular identification and genetic diversity analysis of medicinal fungus *Phellinus igniarius* [J]. Zhejiang Agricultural Journal, 2019, 31(2): 307-314.]
- [2] 吴声华,戴玉成.药用真菌桑黄的种类解析[J].菌物学报,2020,39(5):781-794. [WU S H, DAI Y C. Analysis of the species of medicinal fungi *Sanghuang* [J]. Journal of Microbiology, 2020, 39(5): 781-794.]
- [3] 朱琳,崔宝凯.药用真菌桑黄的研究进展[J].菌物研究,2016,14(4):201-209. [ZHU L, CUI B K. Research progress on medicinal fungus *Sanghuang* [J]. Microbial Research, 2016, 14(4): 201-209.]
- [4] 曹红妹,胡桂萍,石旭平,等.药用真菌桑黄的研究进展[J].

- 蚕业科学, 2019, 45(2): 285–292. [CAO H M, HU G P, SHI X P, et al. Research progress on medicinal fungus Sanghuang[J]. Sericulture Science, 2019, 45(2): 285–292.]
- [5] 程玉鹏, 李欣虹, 刘思佳, 等. 桑黄的药理作用研究进展[J]. 广东药科大学学报, 2022, 38(1): 137–142. [CHENG Y P, LI X H, LIU S J, et al. Research progress on the pharmacological effects of Sanghuang[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2022, 38(1): 137–142.]
- [6] 李君梅, 徐红艳, 刘笑笑, 等. 桑黄活性成分及其功能研究现状[J]. 四川蚕业, 2022, 50(3): 37–39. [LI J M, XU H Y, LIU X X, et al. Current status of research on active ingredients and functions of Sanghuang[J]. Sichuan Sericulture, 2022, 50(3): 37–39.]
- [7] 叶晶晶, 曹宁宁, 吴建梅, 等. 桑黄黄酮的研究进展[J]. 四川蚕业, 2021, 49(3): 38–41, 52. [YE J J, CAO N N, WU J M, et al. Research progress on flavonoids from Sanghuang[J]. Sichuan Sericulture, 2021, 49(3): 38–41, 52.]
- [8] 陶裕玲, 李杨蕾, 陈冬铭, 等. 桑黄水提物诱导胃癌 SGC-7901 细胞凋亡和自噬机制研究[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(3): 120–127. [TAO Y L, LI Y L, CHEN D M, et al. Study on the mechanism of apoptosis and autophagy induced by Sanghuang water extract in gastric cancer SGC-7901 cells[J]. Pharmacology and Clinical Application of Traditional Chinese Medicine, 2021, 37(3): 120–127.]
- [9] WANG Y Q, MAO J B, ZHOU M Q, et al. Polysaccharide from *Phellius ignarius* activates TLR4-mediated signaling pathways in macrophages and shows immune adjuvant activity in mice[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 123: 157–166.
- [10] SU X, LIU K, XIE Y, et al. Protective effect of a polyphenols-rich extract from *Inonotus sanghuang* on bleomycin-induced acute lung injury in mice[J]. *Life Sciences*, 2019, 230: 208–217.
- [11] FENG H, ZHANG S, WAN J M-F, et al. Polysaccharides extracted from *Phellinus linteus* ameliorate high-fat high-fructose diet induced insulin resistance in mice[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 200: 144–153.
- [12] 杨树东, 包海鹰, 王辉, 等. 粗毛纤孔菌挥发油的抑菌及抗氧化作用[J]. 吉林农业大学学报, 2020, 42(2): 148–153. [YANG S D, BAO H Y, WANG H, et al. Antibacterial and antioxidant effects of volatile oil from *Streptomyces hirsutum*[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2020, 42(2): 148–153.]
- [13] JIANG Z, JIN M, ZHOU W, et al. Anti-inflammatory activity of chemical constituents isolated from the willow bracket medicinal mushroom *Phellinus ignarius* (Agaricomycetes)[J]. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2018, 20(2): 119–128.
- [14] 应瑞峰, 黄梅桂, 李婷婷, 等. 桑黄子实体与桑黄菌丝多糖抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(21): 1–5. [YING R F, HUANG M G, LI T T, et al. Study on antioxidant activity of polysaccharide from fruit bodies and mycelium of *Phellinus ignarius*[J]. Food studies and Development, 2017, 38(21): 1–5.]
- [15] JHY A, YSLA B, SKK C, et al. *Phellinus baumii* enhances the immune response in cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice[J]. *Nutrition Research*, 2020, 75: 15–31.
- [16] WEN Y, WAN Y Z, QIAO C X, et al. Immunoregenerative effects of the bionically cultured Sanghuang mushrooms (*Inonotus sanghuang*) on the immunodeficient mice[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2019, 245.
- [17] 陈万超, 杨焱, 张劲松, 等. 桑黄类真菌活性代谢产物的研究进展[J]. 食用菌学报, 2020, 27(4): 188–201. [CHEN W C, YANG Y, ZHANG J S, et al. Research progress on active metabolite of mulberry yellow fungi[J]. *Journal of Edible Fungi*, 2020, 27(4): 188–201.]
- [18] 李雨鸿, 殷朝敏, 范秀芝, 等. 桑黄提取物的体外抗氧化、降血糖及降尿酸活性[J]. 现代食品科技, 2022, 38(5): 71–80. [LI Y H, YIN C M, FAN X Z, et al. *In vitro* anti-oxidant, hypoglycemic, and hypouricemic activities of *Sanghuangporus vaninii* extracts[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2022, 38(5): 71–80.]
- [19] 何策, 王超, 陈纯, 等. 桑树桑黄总三萜提取工艺优化及其降血脂、抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(7): 208–215. [HE C, WANG C, CHEN C, et al. Optimization of extraction technology of total triterpenoids from *Inonotus sanghuang* and their hypolipidemic and antioxidant activities[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(7): 208–215.]
- [20] 李小群, 梁贵秋, 刘开莉, 等. 桑黄活性成分的提取方法及应用研究进展[J]. 广西蚕业, 2022, 59(1): 41–50. [LI X Q, LIANG G Q, LIU K L, et al. Research progress on extraction methods and applications of active ingredients from Sanghuang[J]. *Guangxi Sericulture*, 2022, 59(1): 41–50.]
- [21] 郎明紫. 桑黄黄酮类化合物的免疫药理学研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2019. [LANG M Z. Researches on immunopharmacology of flavonoids from *Phellinus baumii*[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019.]
- [22] 朱妹枚, 郭璐, 张少冰, 等. 超声波辅助乙醇提取忍冬桑黄菌丝体中黄酮的研究[J]. 食品科技, 2022, 47(2): 239–244. [ZHU S M, GUO L, ZHANG S B, et al. Study on ultrasonic-assisted ethanol extraction conditions of flavonoids from *Sanghuangporus lonicericola* mycelium[J]. *Food Science and Technology*, 2022, 47(2): 239–244.]
- [23] 郎明紫, 刘明明, 解鸿青, 等. 桑黄黄酮的超声波辅助醇提工艺优化及其体外抗氧化活性测定[J]. 蚕业科学, 2019, 45(2): 262–268. [LANG M Z, LIU M M, XIE H Q, et al. Optimizing ultrasonic-assisted ethanol extracting conditions of total flavonoids from *Phellinus baumii* and its antioxidant effect *in vitro*[J]. *Science of Sericulture*, 2019, 45(2): 262–268.]
- [24] 于翠翠. 桑黄总黄酮提取及抗氧化功效研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2014. [YU C C. Study on the extraction of *Phellinus* total flavonoids and its antioxidant function[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2014.]
- [25] 回晶, 李其久, 边媛媛, 等. 桑黄总黄酮超声提取工艺及其生物活性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 195–198. [HUI J, LI Q J, BIAN Y Y, et al. Ultrasound-assisted extraction and biological activity of total flavonoids from *Phellinus ignarius*[J]. *Food Science*, 2010, 31(24): 195–198.]
- [26] 陈晓平, 于翠翠. 响应面法优化微波辅助乙醇提取桑黄黄酮工艺的研究[J]. 食品与发酵科技, 2013, 49(4): 31–36. [CHEN X P, YU C C. Study on optimization of extraction of *Phelligrins* technology of microwave-assisted ethanol by response surface method[J]. *Food and Fermentation Technology*, 2013, 49(4): 31–36.]
- [27] 张倩, 孙端祥, 王妍, 等. 桑黄、蛹虫草超临界 CO₂ 萃取物的抗氧化活性及其黄酮和三萜含量[J]. 食用菌, 2020, 42(5): 65–67. [ZHANG Q, SUN R X, WANG Y, et al. Antioxidant activity and content of flavonoids and triterpenes of supercritical CO₂ extracts from *Phellinus ignarius* and *Cordyceps militaris*[J]. *Edible Fungi*, 2020, 42(5): 65–67.]
- [28] BETTY H, IAN M C, KEN N. Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm, *Hyphaene thebaica*[J]. *Food Chemistry*, 2005, 98(2): 317–328.
- [29] SMIRNOFF N, CUMBES Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes[J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(4):

1057-1060.

[30] 苏建辉. 牡丹籽油及其复方降血糖、降血脂活性及机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2016. [SU J H. Study on the hypoglycemic and lipid-lowering activities and mechanisms of peony seed oil and its compound[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016.]

[31] KIRANA C, ROGERS P F, BENNETT L E, et al. Naturally derived micelles for rapid *in vitro* screening of potential cholesterol-lowering bioactives[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(11): 4623-4627.

[32] 赵文竹. 玉米须功能因子活性评价及其降血糖机理研究[D]. 长春: 吉林大学, 2014. [ZHAO W Z. Study on the activity evaluation of corn silk functional factors and its hypoglycemic mechanism[D]. Changchun: Jilin University, 2014.]

[33] 於雨蝶, 张佳妍, 张酥, 等. 桦褐孔菌子实体多糖的提取及体外降血糖活性[J]. 菌物学报, 2021, 40(1): 189-202. [YU Y D, ZHANG J Y, ZHANG S, et al. Molecular screening of medicinal fungus *Inonotus obliquus* and anti-breast cancer activity of its submerged fermentation broth[J]. *Mycosystema*, 2021, 40(1): 189-

202.]

[34] 肖晔, 卢芯仪, 任天宇, 等. 长茎葡萄蕨藻提取物对胰脂肪酶与 α -葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(3): 17-25. [XIAO Y, LU X Y, REN T Y, et al. Inhibitory effects of *Caulerpa lentillifera* extracts on pancreatic lipase and α -glucosidase[J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(3): 17-25.]

[35] 商曰玲, 王清, 吴燕铃, 等. 特种沙棘酵素的制备及其体外降脂性能分析[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(22): 61-67. [SHANG Y L, WANG Q, WU Y L, et al. Seabuckthorn Jiaosu: Preparation and lipid-lowering performance *in vitro*[J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(22): 61-67.]

[36] 巫永华, 黄丽丽, 王解语, 等. 深共熔溶剂提取桑黄黄酮及体外降血糖、结合胆酸盐能力分析[J/OL]. *食品与发酵工业*: 1-12. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.035525>. [WU Y H, HUANG L L, WANG J Y, et al. Deep eutectic solvent extraction of *Phellinus igniarius* flavonoids and its hypoglycemic and bile salts-binding abilities[J/OL]. *Food and Fermentation Industries*: 1-12. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.035525>.]