杨树桑黄子实体总黄酮提取工艺优化及其生物活性评价

关艳丽，李剑梅*，郭玲玲，张疏雨，韩　冰，朱万芹

（辽宁省微生物科学研究院，辽宁 朝阳　122000）

摘　要　为提高杨树桑黄（*Sanghuangporus vaninii*）子实体总黄酮得率，并对其生物活性进行评价，以杨树桑黄子实体为原料，采用超声波辅助法提取其总黄酮，以总黄酮得率为考察指标，利用响应面法优化总黄酮提取工艺，测定其降血糖活性及抗氧化活性。结果表明，杨树桑黄总黄酮最佳提取工艺为以 60% 乙醇为提取剂，液料比 42∶1（mL/g）、提取时间 2.7 h、提取温度 75 ℃，总黄酮得率为（49.31 ± 0.45）mg/g。体外抗氧化实验结果显示，杨树桑黄总黄酮具有较好的总抗氧化能力，其清除 DPPH 自由基、羟自由基的半抑制质量浓度（IC_{50}）分别为（1.31 ± 0.06）、（73.62 ± 1.50）μg/mL。体外降血糖实验显示，杨树桑黄总黄酮抑制 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶活性的 IC_{50} 分别为（0.042 ± 0.002）、（0.324 ± 0.083）μg/mL，抑制类型均为竞争性-非竞争性混合抑制。杨树桑黄总黄酮提取工艺简单、易行，提取的总黄酮具有较好的抗氧化活性和降血糖活性。

关键词　杨树桑黄（*Sanghuangporus vaninii*）子实体；总黄酮；提取优化；抗氧化活性；降血糖活性

中图分类号　Q939.9　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　1005 - 7021（2026）03 - 0064 - 09

doi：10.3969/j.issn.1005 - 7021.2026.03.006

Optimization of Extraction Process and Bioactivity Evaluation for Total Flavonoids from *Sanghuangporus vaninii* Fruiting Body

GUAN Yan-li, LI Jian-mei*, GUO Ling-ling, ZHANG Shu-yu, HAN Bing, ZHU Wan-qin

(*Liaoning Institute of Microbial Sciences*, *Chaoyang* 122000)

Abstract　In order to improve the yield of total flavonoids from fruiting body of *Sanghuangporus vaninii*, and to evaluate biological activity of the total flavonoids, the ultrasonic-assisted method was used to extract total flavonoids from raw material of *S. vaninii* fruiting body with the yield of total flavonoids as indicator, the extraction process was optimized using response surface methodology, and the hypoglycemic activity and antioxidant activity were determined. The results showed that the optimal extraction process of *S. vaninii* total flavonoids was with 60% ethanol as solvent, liquid-solid ratio of 42∶1 mL/g, extraction time of 2.7 h, and extraction temperature of 75 ℃, and the yield of *S. vaninii*total flavonoids was (49.31 ± 0.45) mg/g, and the total antioxidant capacity of *S. vaninii* total flavonoids through the experiments *in vitro* are good. The IC_{50} of *S. vaninii* total flavonoids for scavenging DPPH free radicals and hydroxyl free radicals were (1.31 ± 0.06) μg/mL and (73.62 ± 1.50) μg/mL, respectively. The results of hypoglycemic activity analysis *in vitro* showed that IC_{50} of *S. vaninii* total flavonoids for inhibiting α-glucosidase and α-amylase were (0.042 ± 0.002) μg/mL and (0.324 ± 0.083) μg/mL with both of competitive-noncompetitive mixed inhibition, respectively. The extraction process of *S. vaninii* total flavonoids is simple and feasible to conduct, and *S. vaninii* total flavonoids have good antioxidant and hypoglycemic activity.

Keywords　*Sanghuangporus vaninii* fruiting body; total flavonoids; extraction optimization; antioxidant activity; hypoglycemic activity

---

基金项目：辽宁省农业科学院协同创新专项（2024XTCX0403）；辽宁省科技厅应用基础研究计划项目（2025080179-JH2/1013）

作者简介：关艳丽　女，副研究员，硕士。主要研究方向为珍稀食药用菌研发。E-mail：ylguan2008@163.com

* 通讯作者。女，研究员。主要研究方向为珍稀食药用菌研发。E-mail：84386120@qq.com

收稿日期：2025-10-28

桑黄(*Sanghuangporus*),别名桑耳、桑臣、桑黄菇[1-2],是最早收录于我国中药古籍中的一类大型珍稀食药用真菌的统称[3-4]。在我国的云南、四川、辽宁、吉林以及黑龙江等地分布较为广泛。研究表明,桑黄子实体中含有多糖、多酚、黄酮等多种成分,具有降血糖、降血脂[5-7]、抗氧化[8-9]、免疫调节、抗肿瘤[10]以及护肝等功效[11-12]。目前可人工栽培的桑黄品种有鲍姆桑黄(*Sanghuangporus baumii*)、瓦尼桑黄(又称杨树桑黄,*Sanghuangporus vaninii*)和粗毛纤孔菌(*Inonotus hispidus*)等。其中,杨树桑黄在市场中占有最大份额,具有高产稳产、价格适中等特点[13],因此,杨树桑黄生物活性物质的提取及功能研究对其药用价值挖掘与产品开发具有重大意义。杨树桑黄子实体的主要活性成分为多糖、黄酮类化合物、三萜等[14-16]。目前,针对杨树桑黄活性物质的研究主要集中于子实体或液体发酵液中的多糖成分,而对黄酮类化合物的研究则相对较少,且子实体和菌丝体活性物质存在较大差异,因此对杨树桑黄子实体黄酮提取工艺进行研究显得尤为重要。黄酮类化合物具有抗氧化、降血糖以及抑菌等多重功效[17]。总黄酮的提取方法主要有酶提取法、溶剂提取法、微波辅助提取法、超声波辅助提取法[18-19]以及深共熔溶剂提取法[20]等。其中超声波辅助提取法具有提取效率高、作用温和、节能环保、可操作性强等特点,能提高目标物质的传质速率。因此,本研究采用超声波辅助法提取袋料栽培杨树桑黄子实体总黄酮,利用响应面法优化其提取工艺,检测总黄酮的体外抗氧化活性、降血糖活性,并对降血糖活性类型进行了分析,以期为袋料栽培杨树桑黄产品开发及高值化利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试材料 杨树桑黄(*Sanghuangporus vaninii*)由辽宁省微生物科学研究院药用蕈菌研究室分离驯化,子实体为袋料栽培子实体。取新鲜无霉变的杨树桑黄子实体 60 ℃烘干至恒重,粉碎过 60 目筛,得到子实体粉末备用。

1.1.2 主要试剂与仪器设备 芦丁(标准品)、α-淀粉酶(100 U/mg)、对硝基苯基-α-D-吡喃葡萄糖苷(pNPG)(纯度 > 99%)、磷酸盐缓冲液(PBS)(0.2 mol/L,pH 7.0)均购自上海源叶生物科技有限公司;羟自由基清除能力测定试剂盒、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除能力测定试剂盒、总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒(苏州格锐思生物科技有限公司);阿卡波糖(酷尔化学科技(北京)有限公司);维生素 C(天津博迪化工股份有限公司);α-葡萄糖苷酶(北京索莱宝科技有限公司);DNS 显色剂(飞净生物科技有限公司)。电子天平(PR224ZH/E,奥豪斯仪器(常州)有限公司);超声波清洗器(KQ-50E,昆山市超声仪器有限公司);多功能粉碎机(150,永康市松青五金厂);紫外可见分光光度计(723N,上海仪电分析仪器有限公司);光吸收全波长酶标仪(ReadMax 1200,上海闪谱生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 总黄酮得率测定 以芦丁为标准品,采用 $NaNO_2$-$Al(NO_3)_3$ 比色法[21]测定杨树桑黄子实体提取液的总黄酮得率,获得标准曲线方程为 Y = 2.914 9X − 0.011 7,决定系数 R^2 = 0.999 1。以标准曲线相同方法测定并计算提取液中杨树桑黄总黄酮得率,总黄酮得率按公式(1)计算。

$$总黄酮得率(mg/g) = \frac{C \times V \times N}{W} \quad (1)$$

式中:C 为待测样品中黄酮浓度(mg/mL);V 为测试样品总体积(mL);N 为样品稀释倍数;W 为测试样品的质量(g)。

1.2.2 单因素试验 称取杨树桑黄子实体粉末 0.500 0 g 于锥形瓶中,加入提取溶剂,于超声波清洗器中进行提取。设置液料比(子实体粉末:乙醇)40:1(mL/g)、乙醇浓度 70%、提取时间 2.0 h、提取温度 60 ℃为单因素试验的基础条件,每次改变一个因素值,按照乙醇浓度(0、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%)、液料比(20:1、30:1、40:1、50:1、60:1、70:1、80:1(mL/g))、提取温度(30、40、50、60、70、80 ℃)、超声时间(1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 h)对杨树桑黄子实体总黄酮进行提取,离心,收集上清液过 0.22 μm 微孔滤膜,得到杨树桑黄总黄酮粗提液,测定总黄酮得率。

1.2.3 响应面试验设计 根据单因素试验结果,经 Box-Behnken 设计三因素三水平试验,以总黄酮得率为响应值,试验设计见表 1。

表 1 响应面试验因素与水平

Table 1 Factors and levels of response surface test

水平	因素		
	A 液料比/(mL·g^{-1})	B 提取时间/h	C 提取温度/℃
-1	30:1	2.5	60
0	40:1	3.0	70
1	50:1	3.5	80

1.2.4 体外抗氧化活性评价 分别按照总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒、DPPH 自由基清除能力测定试剂盒、羟自由基清除能力测定试剂盒使用说明书进行总黄酮活性测定,以维生素 C 作阳性对照。计算公式如下:

总抗氧化能力(μmol Trolox/mL) = 0.3 × (ΔA + 0.029 1) × N (2)

式中:$\Delta A = A_{空白} - (A_{测定} - A_{对照})$,其中 $A_{对照}$ 为样品与 PBS 的吸光度;$A_{测定}$ 为样品与 2,2′-联氨-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)的吸光度;$A_{空白}$ 为 ABTS 与 PBS 的吸光度;N 为样品的稀释倍数。

$$羟自由基清除率(\%) = \frac{A_{空白} - (A_{测定} - A_{对照})}{A_{空白}} \times 100 \quad (3)$$

式中:$A_{空白}$ 为空白管的吸光度;$A_{测定}$ 为测定管的吸光度;$A_{对照}$ 为对照管的吸光度。

$$DPPH\ 自由基清除率(\%) = \frac{1 - (A_{测定} - A_{对照})}{A_{空白}} \times 100 \quad (4)$$

式中:$A_{测定}$ 为样品管的吸光度;$A_{对照}$ 为对照管的吸光度;$A_{空白}$ 为空白管的吸光度。

1.2.5 体外降血糖活性测定 ①α-葡萄糖苷酶抑制活性测定:参考罗丽平等[22]的方法,以阿卡波糖作阳性对照。取不同浓度杨树桑黄总黄酮提取液 50 μL 加入 100 μL α-葡萄糖苷酶(0.25 U/mL),37 ℃反应 10 min,加入 100 μL pNPG(2.0 mmoL/L),37 ℃孵育 20 min,最后加入 1 mL 碳酸钠(1 moL/L)终止反应,测定 OD_{400}。α-葡萄糖苷酶抑制率计算见公式(5)。

$$抑制率(\%) = \frac{1 - (A_s - A_b)}{A_0} \times 100 \quad (5)$$

式中:A_s 为样品管的吸光度;A_b 为 PBS 缓冲液代替 α-葡萄糖苷酶溶液的吸光度;A_0 为缓冲液代替样品的吸光度。②α-葡萄糖苷酶活性的抑制动力学分析:参考 Morteza 等[23]的方法,并稍作改动。固定 α-葡萄糖苷酶浓度为 0.25 U/mL,配制不同浓度的杨树桑黄总黄酮提取液(0、0.5、1.0 μg/mL)及不同浓度的 PNPG(1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mmol/L),按照①中的方法进行实验,采用 Lineweaver-Burk 双倒数作图法,以酶活力(V)的倒数对底物浓度(S)的倒数作图,根据反应速率(V_{max})与米氏常数(K_m)的变化,确定杨树桑黄总黄酮对 α-葡萄糖苷酶的抑制类型。③α-淀粉酶抑制活性测定:参考张琪婧等[24]的方法。50 μL α-淀粉酶(1 U/mL)中加入不同浓度杨树桑黄总黄酮提取液 50 μL,37 ℃反应 10 min 后,加入 100 μL 1% 可溶性淀粉反应 10 min,再加入 100 μL DNS 显色剂,沸水浴 5 min,冷却至室温,加入 1 mL 蒸馏水,用酶标仪于 520 nm 波长处测吸光度,以不同浓度阿卡波糖代替总黄酮提取液作阳性对照组,按照公式(5)计算 α-淀粉酶抑制率。④α-淀粉酶活性抑制作用类型分析:参考董仕豪等[25]的方法。固定 α-淀粉酶浓度为 1.0 U/mL,分别配制杨树桑黄总黄酮提取液(0、3.0、5.0 μg/mL)及可溶性淀粉(2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mg/mL),按照③中的方法进行实验,绘制 Lineweaver-Burks 双倒数曲线图,确定对 α-淀粉酶的抑制类型。

1.2.6 数据处理与统计学分析 采用 Office 2010 Excel 进行数据处理并绘图,采用 Design-expert 10.0.7 进行响应面试验设计及结果分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 乙醇浓度对杨树桑黄总黄酮得率的影响 总黄酮得率随乙醇浓度的升高先增加后减少(图 1A),乙醇浓度为 60% 时,总黄酮得率最高为(20.36 ± 1.01) mg/g,分析可能因为乙醇达到一定浓度后,其他的醇溶性物质被溶出,导致总黄酮得率降低,乙醇浓度在 50% ~70% 时总黄酮得率差异不显著,从节约成本考虑,选择乙醇浓度 60% 为最佳。

2.1.2 杨树桑黄总黄酮提取液液料比的确定 液料比对杨树桑黄子实体总黄酮得率的影响见图 1B。由图 1B 可知,杨树桑黄子实体提取液总黄酮得率随着液料比增加先升高后降低。液料比为 20:1 ~40:1时,随着乙醇用量的增加总黄酮得率显著提高,液料比为 40:1 时,杨树桑黄提取液总黄酮

得率达到最高值(42.04 ±2.30) mg/g,当液料比为40:1 ~80:1 时,随着乙醇用量的增加总黄酮得率显著下降后趋于平稳,可能是液料比升高有利于黄酮类化合物与溶剂的接触,提高了其溶解度,但过高的液料比会导致黄酮的结构遭到破坏[26]。因此,选择液料比为 30:1 ~50:1 进行后续试验。

2.1.3 *杨树桑黄总黄酮提取时间的确定* 随着提取时间的延长,总黄酮得率先显著增加后减少(图 1C),当提取时间为 3.0 h 时,总黄酮得率达到峰值,可能是随着提取时间的延长促进了原料与溶剂的充分接触,使黄酮类物质溶解增多,但随着时间的继续延长,总黄酮得率急速下降,分析原因一方面由于较长的提取时间使溶剂挥发;另一方面可能是提取时间过长黄酮类物质发生分解和氧化。因此,选择提取时间为 2.5 ~3.5 h 进行后续试验。

2.1.4 *杨树桑黄总黄酮提取温度的确定* 由图 1D 可知,随着提取温度的升高,杨树桑黄总黄酮得率先增加后趋于平稳,提取温度为 70 ℃时,总黄酮得率最高。可能高温使黄酮类物质的扩散速率和溶解度增加,但温度过高会导致黄酮成分的分解和氧化,故选择提取温度 60 ~80 ℃进行后续试验。

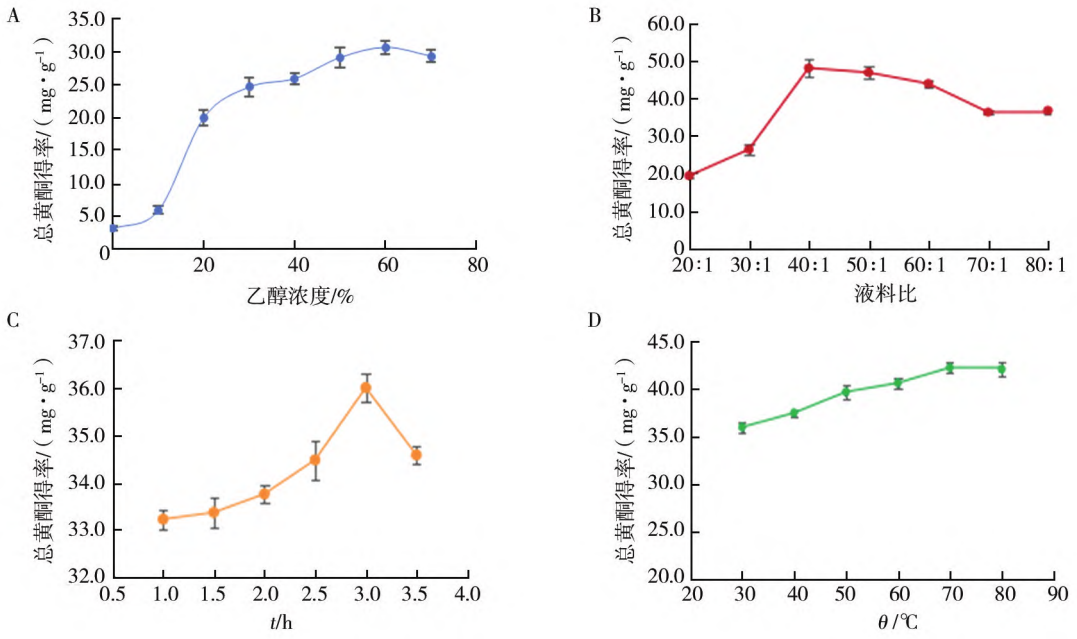


图 1 不同因素对杨树桑黄总黄酮得率的影响

Fig. 1 Effect of different factors on total flavonoid yield of *Sanghuangporus vaninii*

2.2 响应面优化结果

2.2.1 *响应面试验结果分析* 根据单因素试验结果,进行响应面试验设计优化杨树桑黄子实体总黄酮提取工艺,得到总黄酮得率试验结果(表 2)。采用 Design Exprt 10.0.7 进行数据分析,得到二元回归方程:$Y = 48.92 + 2.33A - 1.73B + 4.41C + 0.65AB - 0.34AC - 3.55BC - 5.14A^2 - 3.68B^2 - 6.44C^2$。由杨树桑黄总黄酮提取响应面优化方差分析结果(表 3)可知,模型 $P < 0.000\ 1$,差异极显著,各因素对杨树桑黄总黄酮得率影响顺序为提取温度(C) > 液料比(A) > 提取时间(B);失拟项 $P = 0.149\ 9 > 0.05$ 不显著,说明模型对数据拟合良好;$R^2 = 0.983\ 2$,$R^2_{Adj} = 0.961\ 6$,说明模型拟合度高,误差小,回归方程可以用于总黄酮提取参数的理论预测和分析。模型中,因素 A^2、B^2、C^2、BC、A、B、C 的 $P < 0.01$,说明其对总黄酮得率的影响极显著,AC、AB 的影响不显著。经分析得到杨树桑黄总黄酮最佳提取条件为提取时间 2.73 h、提取温度 74.64 ℃、液料比 41.48:1 (mL/g),总黄酮得率 50.48 mg/g。

2.2.2 *各因素的交互作用对总黄酮得率的影响*

各因素间交互作用对响应值的影响程度可以通过等高线图和响应面直观地反映出来,响应曲面陡峭程度反映因素影响的敏感性,平缓则影响较小,等高线椭圆形说明两因素交互作用显著,圆形则与之相反[27-29]。由图 2 可知,提取时间(B)和

提取温度(C)的响应面曲线较为陡峭,且等高线为椭圆形,说明其对总黄酮得率影响显著。而AB、AC的响应面坡度均平缓,等高线较为稀疏、近圆形,说明其对总黄酮得率影响均不显著,该结果与方差分析结果一致。

表2 杨树桑黄总黄酮提取工艺优化响应面法试验结果

Table 2 Optimization of extraction process for total flavonoids from *Sanghuangporus vaninii* by response surface methodology

试验号	因素			Y 总黄酮得率/(mg·g^{-1})
	A 液料比/(mL·g^{-1})	B 提取时间/h	C 提取温度/℃	
1	50:1	3.5	70	40.57
2	50:1	3.0	80	44.08
3	50:1	3.0	60	35.06
4	40:1	3.0	70	47.62
5	40:1	2.5	60	32.14
6	40:1	3.5	80	38.37
7	40:1	3.0	70	49.08
8	30:1	3.5	70	34.41
9	30:1	3.0	80	40.29
10	30:1	2.5	70	40.93
11	40:1	2.5	80	47.16
12	40:1	3.5	60	37.53
13	50:1	2.5	70	44.50
14	40:1	3.0	70	48.64
15	40:1	3.0	70	49.12
16	40:1	3.0	70	50.15
17	30:1	3.0	60	29.93

表3 杨树桑黄总黄酮提取响应面法优化结果方差分析

Table 3 Analysis on variance of response surface optimization results for total flavonoids extraction from *Sanghuangporus vaninii*

来源	平方和	自由度	均方	*F* 值	*P* 值
模型	655.73	9	72.86	45.58	< 0.000 1
A	43.48	1	43.48	27.20	0.001 2
B	23.98	1	23.98	15.00	0.006 1
C	155.23	1	155.23	97.10	< 0.000 1
AB	1.68	1	1.68	1.05	0.339 8
AC	0.45	1	0.45	0.28	0.612 6
BC	50.27	1	50.27	31.44	0.000 8
A^2	111.23	1	111.23	69.58	< 0.000 1
B^2	57.01	1	57.01	35.66	0.000 6
C^2	174.75	1	174.75	109.31	< 0.000 1
残差	11.19	7	1.60		
失拟项	7.84	3	2.61	3.12	0.149 9
纯误差	3.35	4	0.84		
总离差	666.92	16			
R^2			0.983 2		
R^2_{Adj}			0.961 6		

2.2.3 *最适条件和回归模型的验证* 基于对响应面试验结果的分析得到杨树桑黄总黄酮最佳提取条件,考虑到试验的可操作性,验证试验的条件调整为液料比42∶1(mL/g)、提取时间2.7 h、提取温度75 ℃,进行3次重复,杨树桑黄总黄酮得率为(49.31±0.45) mg/g,与模型预测值的偏差仅为2.37%,说明响应面法优化得到的模型参数具有可靠性。

2.3 抗氧化活性评价

2.3.1 *总抗氧化能力分析* 由图3可知,杨树桑黄总黄酮提取液具有较好的总抗氧化能力。当杨树桑黄总黄酮提取液和维生素C质量浓度为10~50 μg/mL时,总抗氧化能力随着其浓度的增加均增强,且杨树桑黄总黄酮提取液的总抗氧化能力始终高于维生素C,当质量浓度为20 μg/mL时,杨树桑黄总黄酮的总抗氧化能力(1.52±0.25 μmolTrolox/mL)是维生素C(1.10±0.12 μmol Trolox/mL)的1.38倍,说明杨树桑黄总黄酮具有良好的总抗氧化能力。

2.3.2 *DPPH自由基清除率分析* 由杨树桑黄总黄酮提取液对DPPH自由基的清除能力结果(图4)可知,当杨树桑黄总黄酮提取液和维生素C质量浓度为0~5 μg/mL时,DPPH自由基清除率随其质量浓度的增加而增强,且杨树桑黄总黄酮提取液对DPPH自由基的清除率始终高于相同质量浓度的维生素C,杨树桑黄总黄酮提取液IC_{50}为(1.31±0.06) μg/mL,维生素C的质量浓度为5 μg/mL时的抑制率仅为38.4%。可见,杨树桑黄总黄酮提取液具有较好的DPPH自由基清除能力。

2.3.3 *羟自由基清除率分析* 杨树桑黄总黄酮提取液及维生素C溶液对羟自由基清除率试验结果见图5。由图5可知,当杨树桑黄总黄酮提取液质量浓度为20~120 μg/mL时,羟自由基清除率随着其浓度的增加逐渐增强,当质量浓度为80 μg/mL时,羟自由基的清除率达到53.5%,IC_{50}为(73.62±1.50) μg/mL,是维生素C溶液IC_{50}(0.95±0.83) mg/mL的7.75%。可见,杨树桑黄总黄酮提取液对羟自由基清除能力优于维生素C。

2.4 降血糖活性评价

2.4.1 *杨树桑黄总黄酮对α-葡萄糖苷酶的活性抑制及抑制类型分析* 杨树桑黄总黄酮对α-葡萄糖苷酶抑制作用结果见图6A。由图6A可知,当质量浓度为0.05~1.00 μg/mL时,阿卡波糖对α-葡萄糖苷酶的抑制效果优于杨树桑黄总黄酮,两者对

α-葡萄糖苷酶的抑制率均随质量浓度的升高而增强，且差距逐渐缩小，两者对 α-葡萄糖苷酶的 IC_{50} 分别为（0.042 ± 0.002）、（0.160 ± 0.001）μg/mL，说明杨树桑黄总黄酮具有较好的 α-葡萄糖苷酶抑制活性。由 α-葡萄糖苷酶抑制类型的双倒数 Lineweaver-Burk 图（图 6B）可以看出，随着总黄酮粗提液质量浓度的升高，直线在纵轴和横轴的截距均增大，即 V_{max} 和 K_m 均随总黄酮提取液质量浓度增加而减小，说明杨树桑黄总黄酮对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用类型为竞争-非竞争性混合抑制。

2.4.2　杨树桑黄总黄酮对 α-淀粉酶的抑制作用

由图 7A 可知，当质量浓度为 0.5 ~ 5.0 μg/mL 时，杨树桑黄总黄酮对 α-淀粉酶抑制作用优于阳性对照阿卡波糖，表现出较好的 α-淀粉酶抑制作用，且具有浓度依赖效应，杨树桑黄总黄酮、阿卡波糖对 α-淀粉酶的 IC_{50} 分别为（0.324 ± 0.083）μg/mL 和（0.432 ± 0.112）μg/mL。从杨树桑黄总黄酮抑制 α-淀粉酶的 Lineweaver-Burk 图（图 7B）可以看出，各直线相交于第二象限，随着杨树桑黄总黄酮提取液质量浓度的升高，K_m 值增大，V_{max} 减小，可推测杨树桑黄总黄酮对 α-淀粉酶的抑制类型为混合抑制。

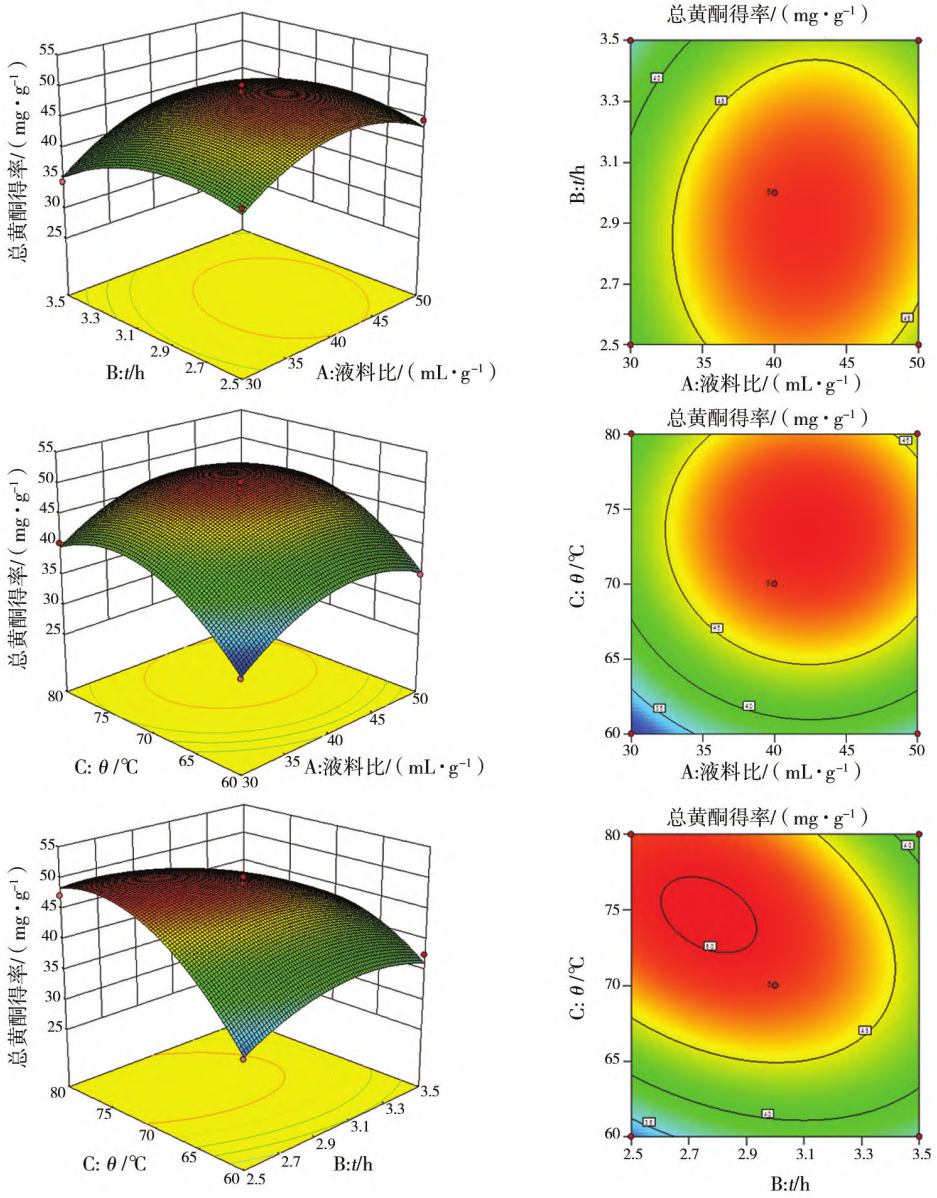


图 2　响应面法两两因素交互作用对总黄酮得率的影响

Fig. 2　Response surface and conteur plots of the interaction between two factors

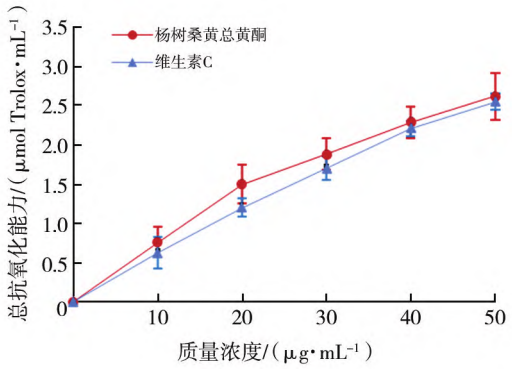


图 3　杨树桑黄总黄酮和维生素 C 的总抗氧化能力

Fig. 3　Total antioxidant activity of *Sanghuangporus vaninii* total flavonoids and Vc

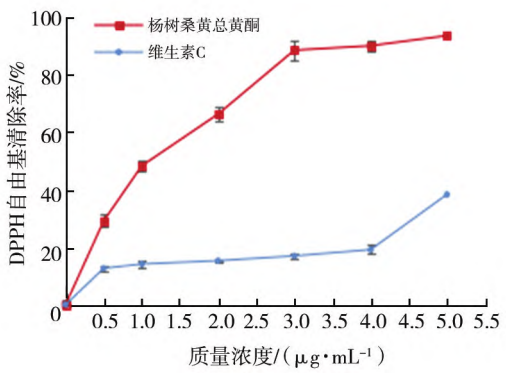


图 4　杨树桑黄总黄酮和维生素 C 对 DPPH 自由基清除能力

Fig. 4　DPPH free radicals scavenging capacity of *Sanghuangporus vaninii* total flavonoids and Vc

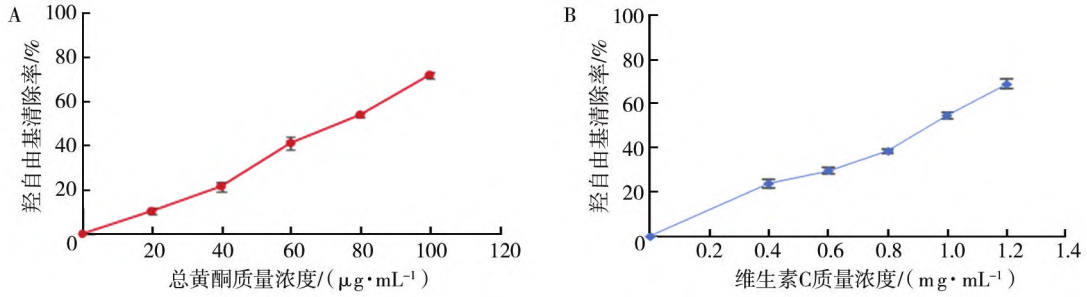


图 5　杨树桑黄总黄酮(A)和维生素 C(B)的羟自由基清除率

Fig. 5　Hydroxyl free racicals scavenging capacity of *Sanghuangporus vaninii* total flavonoids and Vc

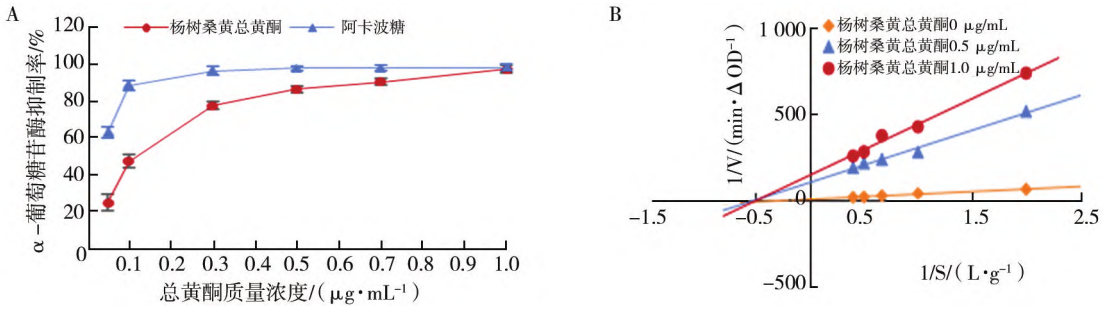


图 6　杨树桑黄总黄酮对 α-葡萄糖苷酶抑制作用

Fig. 6　Inhabitory effect of *Sanghuangporus vaninii* total flavonoids on α-glucosidase

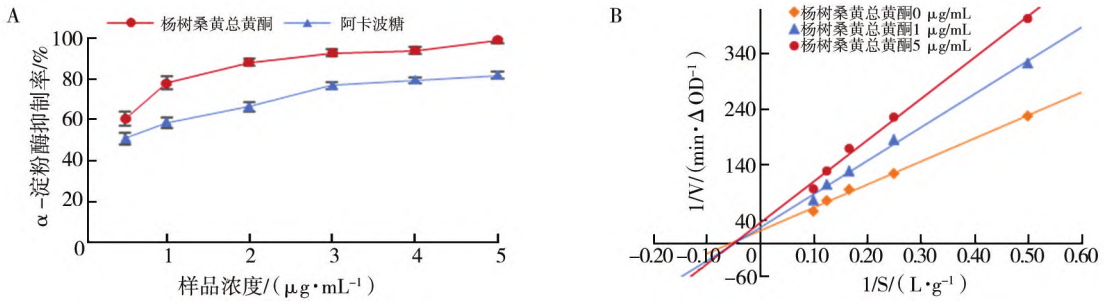


图 7　杨树桑黄总黄酮对 α-淀粉酶抑制作用

Fig. 7　Inhabitory effect of *Sanghuangporus vaninii* flavonoids on α-amylase

3 讨 论

近年来,随着桑黄人工栽培规模的不断扩大,其产品的开发利用越来越受到研究人员的广泛关注,黄酮作为桑黄的主要活性成分之一,其提取工艺及其生物活性也成为研究的热点。乙醇提取法提取黄酮具有方法简单、安全性高、成本较低等优点,但仍存在着提取时间长、效率低等不足。因此,本研究利用响应面分析方法对超声波辅助乙醇法提取杨树桑黄总黄酮的提取工艺进行优化,模型对数据拟合良好,模型验证结果与预测值的偏差仅为 2.37%,说明本研究的工艺可应用于实际生产。程俊文等[30]优化了超声波辅助提取粗毛纤孔菌桑黄子实体总黄酮的工艺,总黄酮平均得率为 2.51%。郎明紫等[31]利用超声波辅助醇提法对桑树桑黄总黄酮提取工艺进行优化,黄酮得率为 4.41%。伞迦楠[32]使用超声波辅助乙醇提取法优化三种野生桑黄总黄酮提取工艺,杨树桑黄总黄酮得率为(11.489 ±0.153) mg/g,松树桑黄总黄酮得率为(4.327 ±0.192) mg/g,丁香桑黄总黄酮得率为(1.419 ±0.093) mg/g。杨娟娟等[33]采用响应面法优化忍冬桑黄总黄酮提取工艺,其总黄酮得率为 0.80%;付婷伟等[34]优化了乙醇回流法提取杨树桑黄总黄酮的工艺,总黄酮得率为 2.68% 桑黄的品种、培育方式、提取方法对桑黄总黄酮得率影响显著,而本研究所获得的提取工艺更有利于杨树桑黄总黄酮提取,杨树桑黄子实体总黄酮得率为(49.31 ±0.45) mg/g,明显优于以上文献报道的结果。

桑黄黄酮类活性物质可直接捕获或清除氧化反应中产生的自由基,阻断自由基链反应,起到抗氧化作用[35]。本研究发现,当质量浓度为 10 ~ 50 μg/mL 时,杨树桑黄总黄酮具有较好的抗氧化活性,其对 DPPH 自由基、羟自由基的清除率及总抗氧化活性始终高于相同质量浓度维生素 C 溶液,并表现出浓度依赖效应。本研究杨树桑黄总黄酮对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶的抑制作用均随其质量浓度的升高而增强,其 IC_{50} 分别为(0.042 ± 0.002)、(0.324 ±0.083) μg/mL,对 α-淀粉酶的抑制效果优于阿卡波糖(IC_{50} = (0.432 ± 0.112) μg/mL),对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶的抑制类型均为混合型抑制。因能抑制 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶活性,黄酮类化合物被认为具有较大潜力替代商品降糖药物[36]。综上,杨树桑黄子实体总黄酮具有较好的体外抗氧化和降血糖活性,由于本研究采用的是桑黄总黄酮的粗提液,其中含有的蛋白质、多糖等成分会影响桑黄总黄酮提取物的生物活性。因此,后续将对桑黄总黄酮的组成成分、分子结构、提取纯化技术及其与抗氧化、降血糖活性的相关性等进行深入研究,进一步挖掘总黄酮中生物活性优良的单体化合物,为桑黄黄酮类产品的研发提供参考。

参考文献:

[1] 季诗博,蔡建辉,车成日. 药用桑黄化学成分和药理作用的研究进展[J]. 吉林医药学院学报,2024,45(1):69-73.

[2] 王华,朱荣才,崔胜,等. 一株野生桑黄菌的分离鉴定及活性成分分析[J]. 北方园艺,2024(12):108-114.

[3] 杨娟娟,孙波,王卓仁,等. 响应面法优化黑桑椹黄酮超声波提取工艺[J]. 河南农业科学,2024,53(5):172-180.

[4] 曹乃馨,罗阳兰,阎勇,等. 桑树桑黄 JM-1 胞外多糖液态培养基优化及其抗氧化性研究[J]. 浙江农业学报,2024,36(6):1245-1255.

[5] 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.

[6] 王庆琳,陈渝珂,陆瑶,等. 桑黄属种源、活性成分及生物活性的研究进展[J]. 江苏农业科学,2025,53(3):1-8.

[7] 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.

[8] 包海鹰,杨烁,李庆杰,等. "桑黄"的本草补充考证[J]. 菌物研究,2017,15(4):264-270.

[9] 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.

[10] 李媛媛,李奉楠,杨小明,等. 桑黄菌丝体多糖的分离纯化及抗氧化、抗肿瘤活性分析[J]. 食品工业科技,2023,44(11):127-135.

[11] Ikekawa T, Nakanishi M, Uehara N, et al. Antitumor action of some basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*[J]. GANN Japanese Journal of Cancer Research, 1968, 59(2): 155-157.

[12] Wu SJ, Liaw CC, Pan SZ, et al. *Phellinus linteus* polysaccharides and their immunomodulatory properties in human monocytic cells[J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(2): 679-688.

[13] 杨焱,陈晓华,戴玉成,等. 我国桑黄产业发展现状、问题及展望:桑黄产业发展千岛湖宣言[J]. 菌物学报, 2023, 42(4):855-873.

[14] Wang H, Ma JX, Wu DM, et al. Identifying bioactive ingredients and antioxidant activities of wild *Sanghuangporus* species of medicinal fungi[J]. Journal of Fungi, 2023, 9(2): 242.

[15] Hwang BS, Lee IK, Choi HJ, et al. Anti-influenza activities of

polyphenols from the medicinal mushroom *Phellinus baumii* [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2015, 25(16): 3256-3260.
[16] Wang GJ, Tsai TH, Chang TT, et al. Lanostanes from *Phellinus igniarius* and their iNOS inhibitory activities[J]. Planta Medica, 2009, 75(15): 1602-1607.
[17] 彭真福,陈庆发,白永亮,等. 桑黄残渣黄酮提取工艺研究[J]. 农产品加工(学刊),2014,12(23):28-30,35.
[18] 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,2022,49(4):31-36.
[19] 朱姝枚,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(21):239-244.
[20] 巫永华,黄莉莉,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]. 食品与发酵工业,2024,50(11):128-136.
[21] 刘艳芳,杨焱,贾薇,等. 药用真菌桑黄总黄酮测定方法研究[J]. 食用菌学报,2006,13(2):45-48.
[22] 罗丽平,李冰晶,赵景芳,等. 三种食用菌提取物体外抗氧化与降血糖活性研究[J]. 食品与工业科技,2020,40(20):324-329.
[23] Morteza S,Mehran M,Mustafa G,et al. Exploring the inhibitory properties between biflavonoids and α-glucosidase;computational and experimental approaches[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2023,253(P7):127380.
[24] 张琪婧,耿振甲,李敏,等. 覆盆子总黄酮的酶辅助闪式提取及其抗氧化、降血糖和降血脂活性分析[J]. 粮食与油脂,2025,38(1):115-126.
[25] 董仕豪,徐柠檬,资璐熙,等. 云南小粒咖啡果皮多酚生物活性评价及成分鉴定[J]. 精细化工,2025,42(2):370-387.
[26] 王振伟. 响应面法优化桑椹多糖提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 饲料研究,2022,45(21):87-92.
[27] 唐森,李璐彬,覃逸明,等. 刀豆壳总黄酮提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发,2021,42(6):76-84.
[28] 宋佳敏,王鸿飞,孙朦,等. 响应面法优化金蝉花多糖提取工艺及抗氧化活性分析[J]. 食品科学,2018,39(4):275-281.
[29] 魏晴,卢虹志,张俊,等. 响应面法优化艳山姜多糖提取工艺及抗氧化研究[J]. 食品研究与开发,2021,42(7):70-75.
[30] 程俊文,贺亮,魏海龙,等. 超声波辅助提取桑黄黄酮工艺优化[J]. 浙江林业科技, 2017, 37(6): 35-39.
[31] 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.
[32] 伞迦楠. 长白山三种桑黄比较研究[D]. 长春:吉林大学,2020.
[33] 杨娟娟,孙波,王卓仁,等. 响应面法优化忍冬桑黄总黄酮提取工艺[J]. 河南农业科学, 2024, 53(5): 172-180.
[34] 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.
[35] 张慧莹, 吴海龙, 姚德坤, 等. 桑黄素的研究进展[J]. 中国林副特产, 2016(2):99-101.
[36] 杨继晨. 黄酮类化合物对 α-淀粉酶/α-葡萄糖苷酶的抑制机制及其构效关系研究[D]. 天津:天津大学,2021.