粗毛纤孔菌活性物质提取及其黄嘌呤氧化酶抑制作用

陈子慧[1]，蔡斯乔[2]，文欣妍[1]，黄梓芮[1,3]，刘斌[1,3,4]，曾峰[1,3*]

（1.福建农林大学食品科学学院，福建福州 350002）（2.福建农林大学生命科学学院，福建福州 350002）

（3.福建省亚热带果蔬加工工程技术研究中心，福建福州 350002）

（4.福建农林大学国家菌草工程技术研究中心，福建福州 350002）

摘要：为了实现粗毛纤孔菌（*Inonotus hispidus*）的高效利用和开发，该研究在单因素实验的基础上，采用响应面法优化超声波辅助提取粗毛纤孔菌醇提物（*Inonotus hispidus* Ethanol Extract，IHE），依次制备粗毛纤孔菌水提物（*Inonotus hispidus* Water Extract，IHW）和酶解物（*Inonotus hispidus* Enzymatic Hydrolysate，IHEH），并对粗毛纤孔菌三种提取物进行成分分析。此外，为评价粗毛纤孔菌三种不同提取物对黄嘌呤氧化酶（Xanthine Oxidase，XOD）的抑制作用，进一步探究了其对 XOD 活性的抑制效果。结果发现，超声波辅助提取 IHE 的最佳工艺为超声温度 53 ℃，超声时间 1.7 h，料液比 1:53 *m/V*，在此条件下 IHE 的得率为 27.14%。黄嘌呤氧化酶活性抑制实验结果显示，粗毛纤孔菌三种不同提取物均具有显著的抑制 XOD 活性效果，且在一定质量浓度范围下呈剂量依赖性，IHE、IHW、IHEH 的 EC_{50} 值分别为 2.19、3.18、2.97 mg·mL^{-1}，由此可知 IHE 抑制效果最好。综上，粗毛纤孔菌不同提取物均具有潜在的降尿酸活性，可为粗毛纤孔菌降尿酸功能性食品的开发提供理论依据。

关键词：粗毛纤孔菌；超声波提取；高尿酸血症；降尿酸

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.12.1455

Extraction of Active Substances from *Inonotus hispidus* and Inhibitory Effects on Xanthine Oxidase

CHEN Zihui[1], CAI Siqiao[2], WEN Xinyan[1], HUANG Zirui[1,3], LIU Bin[1,3,4], ZENG Feng[1,3*]

(1.College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

(2.College of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

(3.Engineering Research Center of Fujian Subtropical Fruit and Vegetable Processing, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China) (4.National Engineering Research Center of JUNCAO Technology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: In order to achieve efficient utilization and development of *Inonotus hispidus*, this study optimized the ultrasonic-assisted extraction of the ethanol extract of *Inonotus hispidus* (IHE) based on single-factor experiments using response surface methodology. Subsequently, the water extract (IHW) and enzymatic hydrolysate (IHEH) of *Inonotus hispidus* were prepared in sequence, and the components of the three extracts of *Inonotus hispidus* were analyzed. In addition, to evaluate the inhibitory effects of the three different extracts of *Inonotus hispidus* on xanthine oxidase (XOD), the inhibitory effects on XOD activity were further investigated. The results show that the optimal process for ultrasonic-assisted extraction of IHE is an ultrasonic temperature of 53 ℃, ultrasonic time of 1.7 h, and solid-liquid ratio of 1:53 *m/V*. Under these conditions, the yield of IHE is 27.14%. The results of the xanthine oxidase (XOD) activity inhibition experiment show that the three different extracts of *Inonotus hispidus* all have significant inhibitory effects on XOD activity, and the inhibitory effects are dose-dependent within a certain concentration range. The EC_{50} values of IHE, IHW, and IHEH are 2.19, 3.18, 2.97 mg mL^{-1}, respectively.Therefore, it can be concluded that IHE has the best inhibitory effect. In conclusion, the different extracts of active substances from *Inonotus hispidus* all have potential uric acid-lowering activity, which provides a theoretical basis for the development of uric acid-lowering functional foods from *Inonotus*

收稿日期：2025-10-15；修回日期：2025-12-14；接受日期：2025-12-19

基金项目：福建省科技计划项目（2023N3004）

作者简介：陈子慧（2000-），女，硕士研究生，研究方向：食品加工技术，E-mail：1045352203@qq.com

通讯作者：曾峰（1984-），男，博士，副教授，研究方向：功能性食品与分子营养学，E-mail：fengzengfz@163.com

hispidus.

Key words: *Inonotus hispidus*; ultrasonic extraction; hyperuricemia; uric acid-lowering

高尿酸血症（Hyperuricemia，HUA）是由于机体嘌呤代谢紊乱或尿酸排泄减少等因素引起的一组代谢性疾病，与心血管疾病、慢性肾脏病、代谢综合征等相关。近年来，由于人们生活水平的提高和饮食结构的改变，高尿酸血症已成为继糖尿病之后又一常见代谢性疾病，有研究显示，我国高尿酸血症的总患病率高达 13.3%[1]，其中男性（21.2%）显著高于女性（8.5%）[2]。目前高尿酸血症的治疗主要依赖于药物，然而，长期服用西药往往会出现一些副作用，患者很难长期服用并耐受，并且在停用后容易复发，因此从自然界中寻求一种安全、高效、用于改善或治疗高尿酸血症的天然物质已成为当今国内外研究的热点之一。

粗毛纤孔菌（*Inonotus hispidus*）是一种珍贵的食药两用菌类，也叫粗毛黄孔菌或粗毛黄褐孔菌，隶属于担子菌门（Basidiomycota），蘑菇纲（Agaricomycetes），锈革孔菌目（Hymenochaetales），锈革孔菌科（Hymenochaetaceae）。国内外学者对其活性成分进行了研究，研究表明粗毛纤孔菌主要由多糖类、多酚类、甾体类、萜类、色素类、脂肪酸、氨基酸等活性成分组成，其中多糖类、萜类、黄酮类、多酚类、甾醇类是其重要的活性成分[3]。现代药理学研究发现粗毛纤孔菌具有抗炎[3]、抗肿瘤[4]、抗氧化[5]、抗肥胖[6]、抗痛风[7]、保肝[8]、降血糖[9]、抑菌[10]等多种药理作用。等多种药理作用。

黄嘌呤氧化酶（Xanthine Oxidase，XOD）能够将次黄嘌呤氧化为黄嘌呤，并进一步将黄嘌呤氧化为尿酸，高尿酸血症的发生与机体内尿酸含量过高有直接关系[11,12]。郎文悦等[13]通过建立 HUA 小鼠模型，探究粗毛纤孔菌提取物对高尿酸血症小鼠的降尿酸效果及对肝肾的保护作用，研究结果显示粗毛纤孔菌可通过上调 ABCG2 的蛋白表达，下调 GLUT9、NLRP3 表达水平从而起到降尿酸和肝肾保护作用。李知格[14]同样建立 HUA 模型，通过对 HUA 最基础的标志物 UA 的测定来判断杨树桑黄和粗毛纤孔菌是否可以降低 UA 的含量。在 HUA 小鼠中，杨树桑黄和粗毛纤孔菌可以通过降低血清中的 UA 含量和血清、肝脏中的 XOD 活性来缓解 HUA。因此，通过抑制黄嘌呤氧化酶的活性来减少尿酸生成，已成为缓解高尿酸血症的有效手段。本文采用单因素结合响应面法优化粗毛纤孔菌醇提物（*Inonotus hispidus* Ethanol Extract，IHE）超声波提取工艺，并测定 XOD 活性来验证粗毛纤孔菌醇提物、水提物（*Inonotus hispidus* Water Extract，IHW）及酶解物（*Inonotus hispidus* Enzymatic Hydrolysate，IHEH）的降尿酸作用；进一步利用 EC_{50} 评价粗毛纤孔菌不同提取物的降尿酸功效，从而为粗毛纤孔菌降尿酸功能性食品的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

粗毛纤孔菌，上海国森生物科技有限公司；无水乙醇、盐酸（分析纯），国药集团化学试剂有限公司；甲酸，上海梯希爱化成工业发展有限公司；2-氯-L-苯丙氨酸，上海阿拉丁生化科技股份有限公司；甲醇、乙腈（分析纯），赛默飞世尔科技公司；甲酸铵，美国 sigma 公司；黄嘌呤、黄嘌呤氧化酶、别嘌醇，上海源叶生物科技有限公司；磷酸盐缓冲液（PBS）10×，北京兰杰柯科技有限公司；纤维素酶、中性蛋白酶，南宁庞博生物工程有限公司；果胶酶，山东隆科特酶制剂有限公司。

1.2 仪器与设备

DK-10D 恒温水浴锅，上海百典仪器设备有限公司；KQ-400DE 超声波清洗机，昆山市超声仪器有限公司；Spectra Max i3x 多功能酶标仪，美谷分子仪器有限公司；FD-3 型冷冻干燥机，博医康实验仪器有限公司；KDC-40 型低速离心机，科大创新股份有限公司中佳分公司；R-1005 旋转蒸发仪，郑州长城科工贸有限公司；H1850-R 冷冻离心机，湖南湘仪实验室仪器开发有限公司；BE-2600 混匀仪，海门市其林贝尔仪器制造有限公司；Orbitrap Exploris 120 质谱仪、Vanquish 液相质谱仪，赛默飞世尔科技公司。

1.3 实验方法

1.3.1 粗毛纤孔菌醇提物的制备工艺优化

1.3.1.1 单因素试验

利用粉碎机将粗毛纤孔菌子实体粉碎，然后置于 70 ℃下烘干后过 80 目筛，得到粗毛纤孔菌子实体粉备用。

取上一步所得粗毛纤孔菌子实体粉，设计单因素实验，考察不同提取温度（40、50、60、70、80 ℃）、不同提取时间（0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h）、不同料液比（1:20、1:30、1:40、1:50、1:60 *m/V*）对得率的影响。

称量 5g 粗毛纤孔菌子实体粉 ，选择不同超声温度（40、50、60、70、80 ℃）、不同超声时间（0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h）、不同料液比（1:20、1:30、1:40、1:50、1:60 *m/V*），以 70%的乙醇配制成提取液，进行单因素试验，提取次数为 1 次。所得提取液在 4 000 r·min^{-1} 条件下离心 15 min，分离沉淀和上清液，取上清液旋蒸浓缩，冷冻干燥，计算 IHE 得率。

1.3.1.2 响应面优化实验

在单因素结果试验条件上，选取 Box-Behnken 响应面法对粗毛纤孔菌醇提物制备工艺进行优化。超声温度、超声时间和料液比是主要的影响因素，因此以三因素为自变量，将粗毛纤孔菌醇提物得率当作响应值，设计三因素三水平的响应面试验，拟合得到最优粗毛纤孔菌醇提物制备工艺，并根据醇提物得率验证最佳响应面工艺。

表 1 Box-Benhnken 设计因素与水平

Table 1 Box-Benhnken design factors and levels

实验因素	水平		
	-1	0	1
A-超声温度/℃	50	60	70
B-超声时间/h	1	1.5	2
C-料液比/（*m/V*）	1:40	1:50	1:60

1.3.2 粗毛纤孔菌醇提物的制备

称量 5 g 粗毛纤孔菌子实体粉，按照“1.3.1 粗毛纤孔菌醇提物的制备工艺优化”所得最优制备工艺，进行提取制备粗毛纤孔菌醇提物，在 4 000 r·min^{-1} 条件下离心 15 min，分离沉淀和上清液，取上清液旋蒸浓缩，冷冻干燥，得到 IHE。沉淀用于粗毛纤孔菌水提物的制备。

1.3.3 粗毛纤孔菌水提物的制备

取 1.3.2 粗毛纤孔菌醇提得到的沉淀以 1:30（*m/V*）加入蒸馏水，超声辅助提取（1.5 h，70 ℃，300 W），然后在 4 000 r·min^{-1} 条件下离心 15 min，收集上清液，沉淀继续用水重复二次提取，分离沉淀和上清液，合并上清液，旋蒸浓缩至一定体积，冷冻干燥得到 IHW。沉淀用于粗毛纤孔菌酶解物的制备。

1.3.4 粗毛纤孔菌酶解物的制备

取 1.3.3 粗毛纤孔菌水提物沉淀，以 1:30（*m/V*）加入蒸馏水，超声辅助提取（1.5 h，70 ℃，300 W），调节 pH 值为 6.5，再加入 2%复合酶（纤维素酶:果胶酶:蛋白酶=2:1:1），50 ℃酶解 50 min，然后 80 ℃灭酶 10 min。在 4 000 r·min^{-1} 条件下离心 15 min，分离得上清液，旋蒸浓缩，冷冻干燥得到 IHW。

1.3.5 粗毛纤孔菌不同提取物化合物组成测定

由苏州帕诺米克生物医药科技有限公司采用超高效液相色谱-质谱技术对粗毛纤孔菌三种提取物检测并进行非靶向成分分析。

前处理：精确称量适量样本于 2 mL 离心管中，加入 600 μL 甲醇含 2-氯-L-苯丙氨酸（4 mg·L^{-1}），涡旋振荡 30 s；加入钢珠，放入组织研磨器中，55 Hz 研磨 60 s；室温超声 15 min；12 000 r·min^{-1} 4 ℃离心 10 min，取上清液过 0.22 μm 膜过滤，过滤液加入到检测瓶中，用于 LC-MS 检测[15]。

色谱条件：Thermo Vanquish（Thermo Fisher Scientific，USA）超高效液相系统，采用 ACQUITY UPLC® HSS T3（2.1×100 mm，1.8 μm）(Waters, Milford, MA，USA)色谱柱，流量 0.3 mL·min^{-1}，柱温 40 ℃，进样量 2 μL；正离子模式，流动相为 0.1%甲酸乙腈（B2）和 0.1%甲酸水（A2），梯度洗脱程序为：0~1 min，10% B2；1~5 min，10%~98% B2；5~6.5 min，98% B2；6.5~6.6 min，98%~10% B2；6.6~8 min，10% B2；负离子模式，流动相为乙腈（B3）和 5 mM 甲酸铵水（A3），梯度洗脱程序为：0~1 min，10% B3；1~5 min，10%~98% B3；5~6.5 min，98% B3；6.5~6.6 min，98%~10% B3；6.6~8 min，10% B3[16]。

质谱条件：Thermo Orbitrap Exploris 120 质谱检测器（Thermo Fisher Scientific，USA），电喷雾离子源（ESI），正负离子模式分别采集数据；正离子喷雾电压为 3.50 kV，负离子喷雾电压为-2.50 kV，鞘气体积流量为 40 μL·min^{-1}，

辅助气体积流量为 10 μL·min^{-1}，毛细管温度 325 ℃，以分辨率 60 000 进行一级全扫描，一级离子扫描范围 *m/z* 100~1 000，并采用 HCD 进行二级裂解，碰撞能量为 30%，二级分辨率为 15 000，采集信号前 4 离子进行碎裂，同时采用动态排除去除无必要的 MS/MS 信息[17,18]。

1.3.6 黄嘌呤氧化酶抑制率的测定

1.3.6.1 工作液的配制

取 2 mmol Ł$^{-1}$ 黄嘌呤溶液（XA)：先用 0.1 mol Ł$^{-1}$ 的氢氧化钠溶液溶解 0.304 g 黄嘌呤粉末制成母液，使用时用 PBS 定容至 1 L，现配现用。母液和稀释后的溶液处于 4 ℃避光保存。黄嘌呤氧化酶溶液（XOD)：用 pH 值为 7.5 的 PBS 将 10 mg 9.8 U mg^{-1} 的黄嘌呤氧化酶配置成 10 U mL^{-1} 的母液，每次实验前现取母液用 PBS 稀释得到 0.1 U mL^{-1} 黄嘌呤氧化酶溶液。别嘌醇溶液：称取别嘌醇 0.1 g 溶于超纯水中超声辅助溶解，定容至 10 mL，得到 10 mg mL^{-1} 别嘌醇母液，后续根据实验所需配制不同质量浓度的别嘌醇溶液。

1.3.6.2 测定方法

体外黄嘌呤氧化酶抑制能力的评价方法参考李雨鸿等[19]，并稍加改动。取 0.6 mL PBS、0.2 mL 黄嘌呤溶液、0.1 mL 不同样品溶液混匀后，加入 0.2 mL 黄嘌呤氧化酶溶液，在 25 ℃中水浴反应 30 min，再加入 1 mol Ł$^{-1}$ 盐酸 0.2 mL 终止反应，此为样品组（A)；用 PBS 代替黄嘌呤氧化酶溶液、样品、黄嘌呤氧化酶溶液和样品，为样品对照组（B)、空白组（C)、空白对照组（D)。以别嘌醇作为阳性对照组，测定反应液在 290 nm 处的吸光值，XOD 抑制率计算公式如下：

$$I=\frac{OD_A-OD_B}{OD_C-OD_D}\times 100\% \quad (1)$$

式中:

I——XOD 抑制率，%;

OD_A——样品组在 290 mm 处的吸光度;

OD_B——样品对照组在 290 mm 处的吸光度;

OD_C——空白组在 290 mm 处的吸光度;

OD_D——空白对照组在 290 mm 处的吸光度。

1.4 数据处理

试验设置 3 个平行，结果以平均值±标准差表示。响应面试验设计采用 Design-Expert 13.0 软件，方差分析采用 SPSS 27.0 软件，作图采用 Prism 软件。P<0.05 表示差异显著，P<0.01 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 超声温度对 IHE 得率的影响

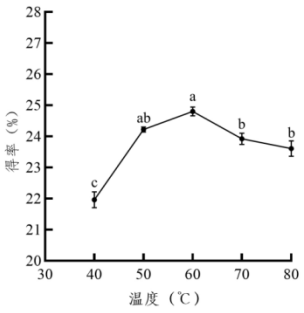

图 1 超声温度对粗毛纤孔菌醇提物得率的影响

Fig.1 Effect of ultrasound temperature on the yield of ethanol extract from *Inonotus hispidus*

注：图中的不同字母 a~c 表示具有显著性差异（P < 0.05）。

超声温度对粗毛纤孔菌醇提物得率的影响如图 1 所示，在 40~60 ℃范围内，粗毛纤孔菌醇提物的得率随温度的升高而逐渐增加，并在 60 ℃时达到最大，此时粗毛纤孔菌醇提物的得率为 24.80%。之后随着温度继续升高，粗毛纤孔菌醇提物得率发生下降，原因可能在于高温导致粗毛纤孔菌醇提物中的多糖、多酚、黄酮等物质发生热降解，结构遭到破坏[20,21]。因此，超声温度选择 60 ℃。

2.1.2 超声时间对 IHE 得率的影响

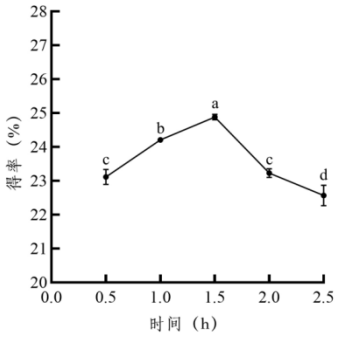

图 2 超声时间对粗毛纤孔菌醇提物得率的影响

Fig.2 Effect of ultrasound time on the yield of ethanol extract from *Inonotus hispidus*

注：图中的不同字母 a~d 表示具有显著性差异（$P<0.05$）。

超声时间对粗毛纤孔菌醇提物得率的影响如图 2 所示，从图中可以看出，提取时间为 0.5~1.5 h 时，提取时间越长，粗毛纤孔菌醇提物的得率越高，当提取时间为 1.5 h 时，其得率为 24.88%，达到最大值，当提取时间超过 1.5 h 时，则得率相应降低，可能是因为超声时间过长，导致有其他物质溶出[22]；或者部分活性物质，如黄酮，在长时间的提取环境下不稳定，发生降解反应，并且杂质的过度溶出对其扩散形成阻碍，从而使得 1.5 h 后醇提物的得率下降[23]。因此提取时间选择为 1.5 h。

2.1.3 料液比对 IHE 得率的影响

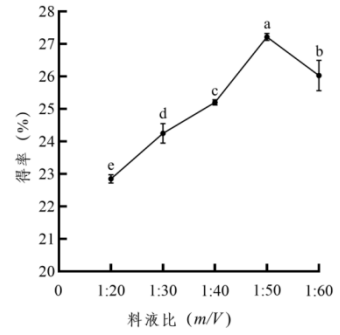

图 3 料液比对粗毛纤孔菌醇提物得率的影响

Fig.3 Effect of liquid-material ratio on the yield of ethanol extract from *Inonotus hispidus*

注：图中的不同字母 a~e 表示具有显著性差异（$P<0.05$）。

料液比对粗毛纤孔菌醇提物得率的影响如图 3 所示，由图可知，料液比为 1:20~1:50 *m/V* 时，料液比越高，粗毛纤孔菌醇提物的得率越高。当料液比为 1:50 *m/V* 时，得率达到最大值 27.22%。料液比为 1:60 *m/V* 时，其提取率有所降低。在提取的过程中，料液比的改变对溶剂与固体基质间的接触面积、溶剂的渗透效能及溶质分子的扩散传质过程具有直接影响，当料液比较低时，溶剂与样品的接触不充分，对其活性物质的有效溶出产生限制，随着料液比的升高，溶剂与样品的接触面积扩大，有利于活性物质的充分提取，但当料液比超出最优阈值后，过量的溶剂会导致提取液质量浓度降低，从而使提取率降低，同时增加提取成本[24]。因此，综合考虑其经济效益，选取料液比为 1:50 *m/V*。

2.2 响应面试验结果分析

2.2.1 响应面回归模型的建立及方差分析

基于响应面中心组合 Box-Behnken 设计实验，影响粗毛纤孔菌醇提物得率的三个因素为：超声温度（A）、超声时间（B）和料液比（C），以 IHE 得率为考察指标，确定了其最佳的提取工艺。试验回归模型设计与结果见表 2：

表 2 Box-Benhnken 实验结果

Table 2 Results of Box-Benhnken experiments

编号	A-提取温度	B-提取时间	C-料液比	得率/%
1	-1	-1	0	26.32
2	1	-1	0	26.44
3	-1	1	0	27.20
4	1	1	0	26.02
5	-1	0	-1	24.52
6	1	0	-1	25.64
7	-1	0	1	26.74
8	1	0	1	24.36
9	0	-1	-1	24.46
10	0	1	-1	25.50
11	0	-1	1	26.02
12	0	1	1	25.68
13	0	0	0	27.56
14	0	0	0	27.24
15	0	0	0	27.68
16	0	0	0	27.10
17	0	0	0	26.92

采用 Box-Benhnken 对试验结果进行响应面二次回归拟合分析，方程为：$Y=-68.12+1.049A+11.87B+2.194\ 5C-0.065AB-0.008\ 75AC-0.069BC-0.004\ 525A^2-1.41B^2-0.015\ 325C^2$，方差分析见表 3。

由表 3 可知，该模型具有极显著性（$P<0.01$），其中因素 C、AC、A^2、C^2 对得率的影响极显著（$P<0.01$），因素 A、AB、BC、B^2 对得率的影响显著（$P<0.05$）。根据 F 值的大小可判断 A、B、C 中因素 C 对得率的影响最大，B 则最小，各因素交互作用的影响顺序为 AC>BC>AB。失拟项 $P=0.820\ 1>0.05$，失拟项不显著，说明该方程拟合程度较好；相关系数 $R^2=0.972\ 9$，这说明该模型有效拟合了实验值，实际值和预测值相关性较高；响应值的变异系数 C.V.为 1.01%，故该实验数据精度高且可靠；校正决定系数 $R_{Adj}^2=0.9381$，表明该模型可以解释 93.81%响应值的变化，有较高的精密度。因此，该模型能够较好地反映响应值与变量之间的关系，对于粗毛纤孔菌醇提物提取得率的预测具有适用性[25]。

表 3 Box-Benhnken 实验结果分析

Table 3 Results of Box-Benhnken experiments

来源	平方和	自由度	均方	*F*	*P*-value	显著性
模型	17.7	9	1.97	27.96	0.000 1	**
A	0.672 8	1	0.672 8	9.57	0.017 5	*
B	0.168 2	1	0.168 2	2.39	0.165 9	
C	0.897 8	1	0.897 8	12.77	0.009 1	**
AB	0.422 5	1	0.422 5	6.01	0.044 0	*
AC	3.06	1	3.06	43.55	0.000 3	**
BC	0.476 1	1	0.476 1	6.77	0.035 3	*
A^2	0.862 1	1	0.862 1	12.26	0.010 0	**
B^2	0.523 2	1	0.523 2	7.44	0.029 4	*
C^2	9.89	1	9.89	140.64	<0.000 1	**
残差	0.492 2	7	0.070 3			

失拟项	0.092 2	3	0.030 7	0.307 3	0.820 1
净误差	0.4	4	0.1		
总误差	18.19	16			
C.V. %=1.01	R^2=0.972 9		R^2_{Adj}=0.938 1	R^2_{Pre}=0.884 5	
Adeq Pre=14.284 0					

注：**表示差异极显著（P<0.01），*表示差异显著（P<0.05）。

2.2.2 交互作用分析

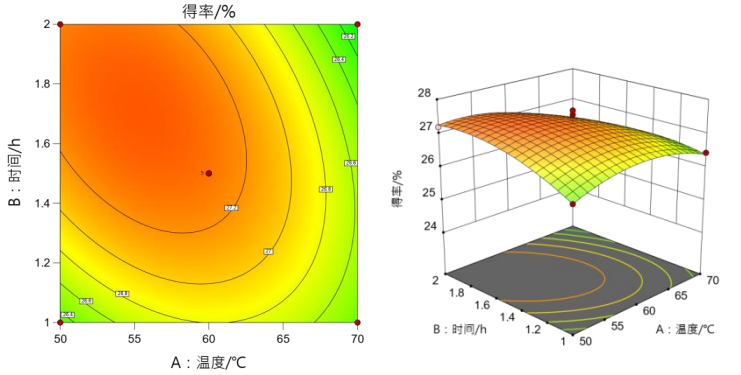

图 4 超声温度和时间对粗毛纤孔菌醇提物得率的影响

Fig.4 Effect of ultrasound temperature and time on the yield of ethanol extract from *Inonotus hispidus*

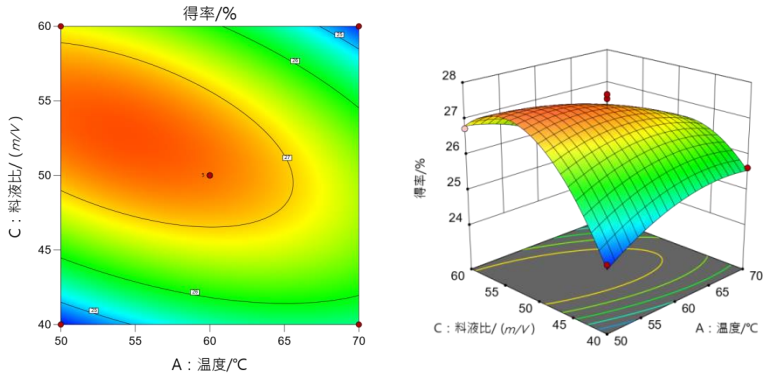

图 5 超声温度和料液比对粗毛纤孔菌醇提物得率的影响

Fig.5 Effect of ultrasound temperature and liquid-material ratio on the yield of ethanol extract from *Inonotus hispidus*

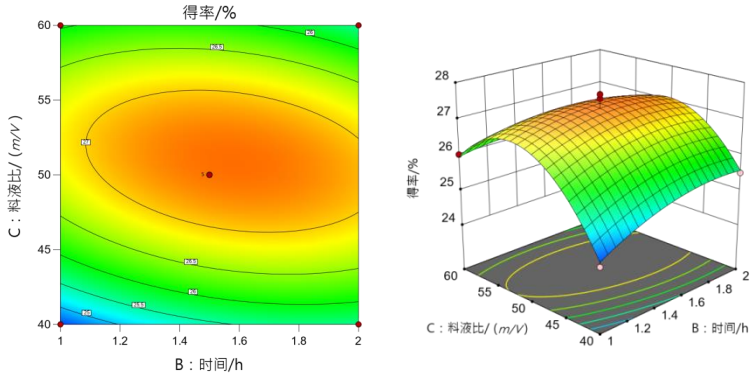

图 6 超声时间和料液比对粗毛纤孔菌醇提物得率的影响

Fig.6 Effect of ultrasound time and liquid-material ratio on the yield of ethanol extract from *Inonotus hispidus*

根据 Box-Benhnken 实验结果，运用 Design-Expert 13.0 软件对响应面图和等高线图进行绘制。响应面 3D 图是由每个影响因素上的响应值生成的立体三维空间图，能够直观地看出每个参数之间的交互作用，实验结果见图 4~6。

从三维立体图来看，提取温度与时间、提取温度与料液比、提取时间和料液比交互作用的曲面均开口向下且分别有不同的陡峭程度。提取温度与料液比、提取时间与料液比交互作用的曲面较为陡峭，这表明该交互作用对

粗毛纤孔菌醇提物得率影响极显著。相比之下，提取温度与时间交互作用的曲面相对平缓，其交互作用对醇提物得率的影响较其他两组交互作用更弱，这也与表 3 中的结果相符合。

2.3 最优条件验证

应用响应面软件 Design-Expert 13.0 分析，由 RSM 预测最优值，优化获得粗毛纤孔菌醇提物的提取条件为：提取温度（A）52.71 ℃，提取时间（B）1.70 h，料液比（C）1:52.72 *m/V*，此时预测的醇提物得率响应值为 27.48%。实验时为便于实际操作，其最佳提取条件可以设置为提取温度（A）53 ℃，提取时间（B）1.7 h，料液比（C）1:53 *m/V*。按照最佳条件，重复实验 3 次。与理论预测值相比，平均 IHE 得率为 27.14%，相对误差小于 1%，表明该模型优化出的 IHE 的提取工艺参数准确可靠，具有实际应用价值。

2.4 粗毛纤孔菌不同提取物化学组成分析

表 4 粗毛纤孔菌三种提取物化学组成分析

Table 4 Analysis of the chemical composition of the three extracts of the *Inonotus hispidus*

	化学成分	质荷比	ppm	置信水平	结构式	离子类型	含量/%		
							IHE	IHW	IHEH
有机酸	共轭亚油酸 Conjugated Linoleic Acid	279.2363	11.374	2	$C_{18}H_{32}O_2$	[M-H]-	8.71	0.01	-
	α-青蒿酸 alpha-Artemisic acid	295.2287	1.951	2	$C_{18}H_{32}O_3$	[M-H]-	5.95	2.58	2.28
	9-氧化辛二烯酸 9-OxoODE	293.2128	1.282	2	$C_{18}H_{30}O_3$	[M-H]-	2.94	0.14	0.04
	肉桂酸 Cinnamic acid	166.0865	1.492	1	$C_9H_8O_2$	$[M+NH_4]+$	1.79	-	-
	诺亮氨酸 Norleucine	132.1024	0.182	2	$C_6H_{13}NO_2$	[M+H]+	1.31	-	0.37
	9-羟基-10E,12Z-十八碳二烯酸 9-hydroxy-10E,12Z-octadecadienoic acid	295.2286	1.612	2	$C_{18}H_{32}O_3$	[M-H]-	1.22	0.40	-
	16-羟基十六碳酸 16-Hydroxypalmitic acid	271.2288	2.492	2	$C_{16}H_{32}O_3$	[M-H]-	1.09	0.18	0.26
	9,10-环氧硬脂酸 9,10-Epoxystearic acid	297.2428	3.109	2	$C_{18}H_{34}O_3$	[M-H]-	1.03	0.36	0.10
	9,12-十八碳二炔酸 9,12-Octadecadiynoic acid	277.2163	0.274	2	$C_{18}H_{28}O_2$	[M+H]+	0.78	-	-
	(Z)-5,8,11-三羟基-九烯酸 (Z)-5,8,11-trihydroxyoctadec-9-enoic acid	329.2337	0.073	2	$C_{18}H_{34}O_5$	[M-H]-	0.77	0.43	0.33
	苹果酸 Malate acid	133.0133	6.943	3	$C_4H_6O_5$	[M-H]-	-	-	3.19
生物碱	甜菜碱 Betaine	118.0867	0.203	2	$C_5H_{11}NO_2$	[M+H]+	0.74	1.30	0.91
	丁酰肉碱 Butyrylcarnitine	232.1548	0.327	2	$C_{11}H_{21}NO_4$	[M+H]+	0.74	0.45	0.34
酚类	松柏醛 Coniferaldehyde	177.0554	1.777	2	$C_{10}H_{10}O_3$	[M-H]-	1.39	0.63	0.71

	3-羟基-3',4'-二甲氧基黄烷酮 3-Hydroxy-3',4'-dimethoxyflavone	316.1181	0.705	2	$C_{17}H_{14}O_5$	$[M+NH_4]+$	0.83	0.21	0.11
醇类	山梨醇 D-Sorbitol	181.0728	3.181	2	$C_6H_{14}O_6$	[M-H]-	1.33	1.31	0.81
核苷酸及其衍生物	9-阿糖腺苷 9-Arabinofuranosyladenine	268.1048	3.640	2	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	[M+H]+	2.21	1.53	1.05
其他	月桂基二乙醇胺 Lauryldiethanolamine	274.2735	3.558	2	$C_{16}H_{35}NO_2$	[M+H]+	1.07	4.04	2.57

注：-表示未被检出。

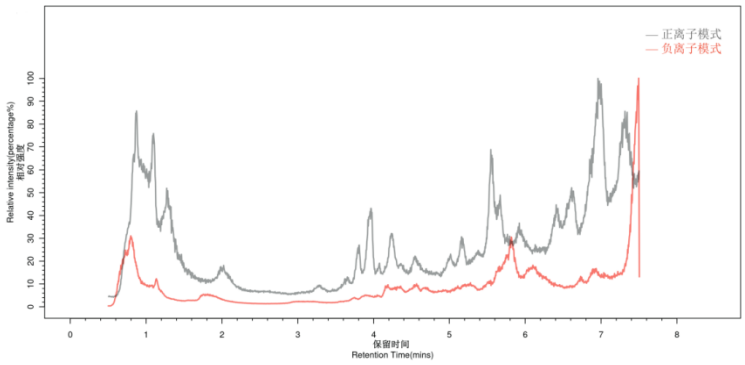

图 7 粗毛纤孔菌醇提物总离子流图

Fig.7 Total ion flow diagram of ethanol extract of the *Inonotus hispidus*

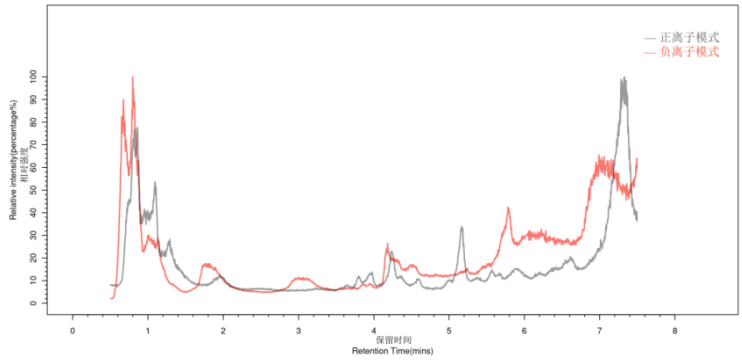

图 8 粗毛纤孔菌水提物总离子流图

Fig.8 Total ion flow diagram of water extract of the *Inonotus hispidus*

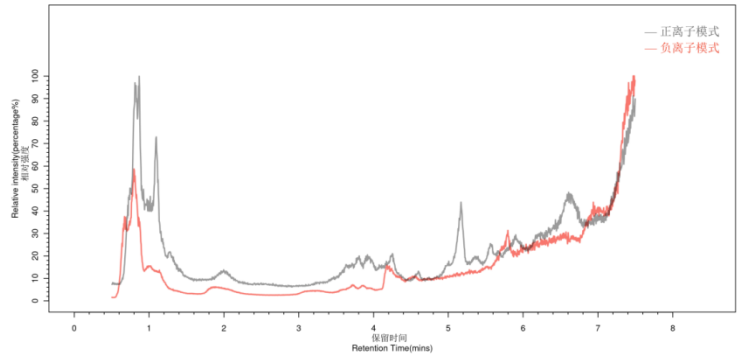

图 9 粗毛纤孔菌酶解物总离子流图

Fig.9 Total ion flow diagram of enzymatic hydrolysate of the *Inonotus hispidus*

利用 LC-MS 技术，对原始数据进行处理，并与专业数据库的一级和二级质谱数据进行比对。粗毛纤孔菌三种不同提取物主要组成化合物如表 4 所示。在正、负离子模式下分析粗毛纤孔菌醇提物、水提物、酶解物组分，得到的总离子流图分别如图 7~9 所示。由表 4 中可知，IHE、IHW 和 IHEH 中含量最高的化合物分别为共轭亚油

酸、月桂基二乙醇胺和苹果酸。其中，共轭亚油酸已被证实具有一定的降尿酸效果，它能够显著降低大鼠血清中的尿酸，从而起到改善高尿酸血症大鼠尿酸代谢能力的作用[26]，共轭亚油酸存在于 IHE 中，而在 IHW、IHEH 中含量极少或未被检出，但其衍生物 *α*-青蒿酸、9-氧化辛二烯酸均存在于三种提取物中。此外，三种提取物中月桂基二乙醇胺的含量也较高，由此可推测共轭亚油酸及其衍生物、月桂基二乙醇胺等化合物在粗毛纤孔菌活性物质中具有潜在的降尿酸作用。

2.5 粗毛纤孔菌对 XOD 的抑制作用

2.5.1 粗毛纤孔菌不同提取物对黄嘌呤氧化酶的抑制率分析

评价降尿酸水平最主要的指标之一为黄嘌呤氧化酶的抑制能力，郎文悦等[13]通过动物实验研究发现粗毛纤孔菌水提物组以及其石油醚提取物组血清中的黄嘌呤氧化酶浓度较模型组分别降低 0.4、1.22 U Ł$^{-1}$。赵克芳等[27]探究了粗毛纤孔菌游离酚提取物对 XOD 的抑制效果，研究结果显示栽培粗毛纤孔菌游离酚提取物以及野生粗毛纤孔菌游离酚提取物对 XOD 的半数抑制浓度（IC_{50} 值）分别为 94.63、106.32 μg·mL^{-1}，均对 XOD 有显著的抑制作用。测定样品 IHE、IHW、IHEH 与阳性对照组别嘌醇对 XOD 的抑制率如图 10 所示。从图中可看出三种提取物对 XOD 均有一定的抑制作用，且在 0.5~5.0 mg mL^{-1} 的质量浓度下，其抑制率随着质量浓度的增加而上升，呈现出剂量依赖性。IHE 与 IHEH 在 2.5 mg mL^{-1} 质量浓度下 XOD 抑制率均已超过 50%，同时阳性药物在 0.5 mg mL^{-1} 质量浓度下已经能展示出极好的抑制效果。

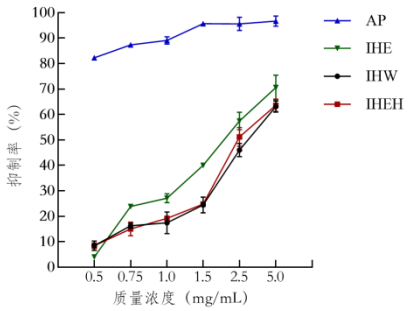

图 10 粗毛纤孔菌不同提取物对黄嘌呤氧化酶抑制能力

Fig.10 Inhibitory ability of XOD of the different extracts from *Inonotus hispidus*

2.5.2 粗毛纤孔菌不同提取物对黄嘌呤氧化酶的抑制能力测定

表 5 不同提取物黄嘌呤氧化酶抑制能力毒力回归方程及 EC_{50} 值

Table 5 The regression equations and EC_{50} values of the inhibitory effects of different extracts on xanthine oxidase and their virulence

样品	毒力回归方程	R^2	EC_{50}/(mg mL^{-1})
AP	y=2.144 2x+2.215 9	0.87	0.09
IHE	y=3.141 3x-1.071 6	0.87	2.19
IHW	y=2.912 6x-1.461 6	0.98	3.18
IHEH	y=3.016 1x-1.424 4	0.97	2.97

在生态毒理学领域，EC_{50} 是广泛使用的终点，其作用是明确化学物质经急性暴露后，对非目标生物产生特定显著影响时的质量浓度水平[28]。通常情况下，EC_{50} 值越小，该药物发挥的抑制作用越强。应用 SPSS 27.0 拟合计算，得到不同提取物黄嘌呤氧化酶抑制能力毒力回归方程及 EC_{50} 值。如表 5 所示，阳性对照组别嘌醇以及粗毛纤孔菌三种不同提取物对 XOD 的 EC_{50} 分别为 AP（0.09 mg mL^{-1}）、IHE（2.19 mg mL^{-1}）、IHW（3.18 mg mL^{-1}）、IHEH（2.97 mg mL^{-1}）。提取物对 XOD 的抑制能力与其 EC_{50} 呈负相关，且线性方程的斜率绝对值越大，该提取物对 XOD 的抑制效率随着质量浓度提升而增长速率越快。同时决定系数 R^2 越接近 1，说明线性回归方程拟合的效果越好，数据相关性越强。因此可知粗毛纤孔菌三种提取物的 EC_{50} 值大小顺序为 IHE＜IHEH＜IHW，其对 XOD 的抑制能力大小为 IHE＞IHEH＞IHW。

3 结论

以粗毛纤孔菌为原料，采用单因素试验结合响应面法优化超声波辅助提取 IHE，确定最佳提取工艺条件为：超声温度 53 ℃，超声时间 1.7 h，料液比 1:53 *m/V*，此条件下 IHE 的得率为 27.14%。LC-MS 结果表明，三种提取物中活性物质均主要由有机酸组成。经体外 XOD 活性抑制试验测试，粗毛纤孔菌醇提物、水提物、酶解物 EC_{50} 预测值分别为 2.19、3.18、2.97 $mg \cdot mL^{-1}$，不同提取物所表现出的降尿酸效果不尽相同，但三者在一定质量浓度范围内均可对 XOD 活性起到抑制作用，显示出较好的降尿酸功效。然而，本研究也存在着一定的局限性，粗毛纤孔菌发挥降尿酸作用的具体分子层面机制尚未得到阐明，这一问题亟待通过动物实验进一步研究，以更全面深入地开发粗毛纤孔菌在降尿酸以及功能性食品方面的应用。

参考文献

[1] LIU R, HAN C, WU D, et al. Prevalence of hyperuricemia and gout in mainland China from 2000 to 2014: a systematic review and Meta-analysis [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 1-12.

[2] PIAO W, ZHAO L, YANG Y, et al. The prevalence of hyperuricemia and its correlates among adults in China: results from CNHS 2015-2017 [J]. Nutrients, 2022, 14(19): 4095.

[3] 曹润康,李诣,包海鹰,等.粗毛纤孔菌多糖提取工艺优化及体外抗炎作用[J].食用菌学报,2023,30(5):83-93.

[4] YANG H, LI S, QU Y, et al. Anti-Colorectal cancer effects of *Inonotus hispidus* (Bull.:Fr.) P. Karst. spore powder through regulation of gut microbiota-mediated JAK/STAT signaling [J]. Nutrients, 2022, 14(16): 3299.

[5] MACHADO-CARVALHO L, MARTINS T, AIRES A, et al. Optimization of phenolic compounds extraction and antioxidant activity from *Inonotus hispidus* using ultrasound-assisted extraction technology [J]. Metabolites, 2023, 13(4): 524.

[6] YONGFENG Z, XIN Z, XINGHUI J, et al. Structural characterization of polysaccharide isolated from *Inonotus hispidus* and its anti-obesity effect based on regulation of the interleukin-17-mediated inflammatory response [J]. International Journal of Biological Macromolecules. Macromol, 2025, 291: 138975.

[7] 常畅,陈哲漪,张泓,等.裙带菜蛋白黄嘌呤氧化酶抑制肽的酶法制备及作用机制[J].食品科学技术学报,2025,43(1):55-62.

[8] JIN X, LI Z, ZHANG Y, et al. Protection of *Inonotus hispidus* (bull.) P. Karst. against chronic alcohol-induced liver injury in mice via its relieving inflammation response [J]. Nutrients, 2023, 15(16): 3530.

[9] 范俐红,殷朝敏,张琪,等.杨树桑黄与粗毛纤孔菌醇提物化学组成、体外抗氧化活性与降血糖潜力比较[J].现代食品科技,2025,14(11):117-126.

[10] ANGELINI P, GIROMETTA C, TIRILLINI B, et al. A comparative study of the antimicrobial and antioxidant activities of *Inonotus hispidus* fruit and their mycelia extracts [J]. International Journal of Food Properties, 2019, 22(1): 768-783.

[11] 姚依岚,潘美晨,周斌,等.槐耳固体发酵提取物对黄嘌呤氧化酶抑制活性[J].食用菌学报,2025,32(4):47-56.

[12] 任平国,任逸飞,徐启红,等.刺梨黄酮提取工艺优化及抑制黄嘌呤氧化酶活性研究[J].食品科技,2025,50(3):199-206.

[13] 郎文悦,包海鹰,贾淞贺,等.粗毛纤孔菌提取物对高尿酸血症小鼠的降尿酸及肝肾保护作用[J].菌物学报,2024,43(10):144-162.

[14] 李知格.杨树桑黄和粗毛纤孔菌缓解高尿酸血症及急性痛风性关节炎的研究[D].长春:吉林大学,2024.

[15] VASILEV N, BOCCARD J, LANG G, et al. Structured plant metabolomics for the simultaneous exploration of multiple factors [J]. Scientific Reports, 2016, 6:37390.

[16] ZELENA E, DUNN W B, BROADHURST D, et al. Development of a robust and repeatable UPLC-MS method for the long-term metabolomic study of human serum [J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(4): 1357-1364.

[17] WANT E J, MASSON P, MICHOPOULOS F, et al. Global metabolic profiling of animal and human tissues via UPLC-MS [J]. Nature Protocols, 2013, 8(1): 17-32.

[18] 胡甜.薄壳山核桃青皮多酚提取鉴定及活性研究[D].扬州:扬州大学,2025.

[19] 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.

[20] FATIMAH F, CHRISTIN LARASATI N, WICAKSONO R, et al. Optimization of temperature and time of extraction of kecombrang stem and leaf (etlingera elatior) based on the quality of product bioactive components [J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019, 406(1): 012015.

[21] NURMAMAT E, XIAO H, ZHANG Y, et al. Effects of different temperatures on the chemical structure and antitumor activities of polysaccharides from cordyceps militaris [J]. Polymers, 2018, 10(4): 430.

[22] 周占富,谭其军.超声辅助酶法优化富硒黑茶多糖提取工艺及其抗肿瘤活性研究[J].天然产物研究与开发,2025,37(6):993-1003.

[23] 卢忠英,张孟琴,陈祥.超声辅助提取苦丁茶多糖的工艺优化及其对黄嘌呤氧化酶抑制活性[J].食品工业科技,2023,44(8): 228-235.

[24] 尕让索安,杨越鹏,黄淑解,等.基于响应面分析法优化超声辅助提取女贞子总黄酮工艺[J].西南民族大学学报(自然科学版),2025,51(4):404-412.

[25] 黄安,梁伟军,王薪权,等.七叶莲总皂苷提取工艺优化及其对黄嘌呤氧化酶抑制作用研究[J].保鲜与加工,2025,25(9):103-112.

[26] 谭建扬.共轭亚油酸对果糖诱导代谢综合征大鼠的干预作用研究[D].武汉:武汉大学,2020.

[27] 赵克芳,肖阳,邢东旭,等.桑黄游离酚提取物体外降尿酸活性研究[J].食品与发酵工业,2024,50(10):119-126.

[28] IOVINE N, TOROPOVA A P, TOROPOV A A, et al. Models for the no-observed-effect concentration (NOEC) and maximal half-effective concentration (EC_{50}) [J]. Toxics, 2024, 12(6): 425.