

# HPLC 法分析不同提取方法对桦褐孔菌中 3 种成分含量的影响

陈佳慧<sup>1,2</sup>, 张勇<sup>3</sup>, 王战伟<sup>1,2</sup>, 庞舒月<sup>1,2</sup>, 刘虹妃<sup>1,2</sup>, 吴志兰<sup>4</sup>, 王晶<sup>1,2,4\*</sup>

(1. 长春师范大学 化学学院, 吉林 长春 130032; 2. 长春师范大学 科技创新研究院, 吉林 长春 130032;  
3. 铜仁市疾病预防控制中心, 贵州 铜仁 554300; 4. 长春师范大学 生命科学学院, 吉林 长春 130032)

**摘要:** 建立高效液相色谱检测桦褐孔菌粗提物中原儿茶酸、原儿茶醛和紫萹酮 3 种化合物含量的方法, 对比评价超声辅助提取法、回流提取法、微波辅助提取法、酶解提取法 4 种不同提取方法对桦褐孔菌粗提物中活性成分含量的影响。结果表明, 该检测方法精密度较高, 3 种化合物的精密度的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 分别为 0.14%、0.06%、0.20%; 重复性 RSD 分别为 1.67%、1.98%、2.22%; 在 24 h 内稳定性较好, 其 RSD 分别为 0.20%、0.61%、0.25%。对比不同提取方法对 3 种化合物的影响, 发现采用超声辅助提取法得到的目标化合物产量较高, 适用于桦褐孔菌中主要活性成分的提取。该研究建立的 HPLC 法检测桦褐孔菌粗提物中原儿茶酸、原儿茶醛和紫萹酮含量的结果准确。

**关键词:** 桦褐孔菌; 高效液相色谱; 提取方法; 原儿茶酸; 原儿茶醛; 紫萹酮

## HPLC Analysis of Effects of Different Extraction Methods on the Content of Three Components in *Inonotus obliquus*

CHEN Jiahui<sup>1,2</sup>, ZHANG Yong<sup>3</sup>, WANG Zhanwei<sup>1,2</sup>, PANG Shuyue<sup>1,2</sup>, LIU Hongfei<sup>1,2</sup>, WU Zhilan<sup>4</sup>,  
WANG Jing<sup>1,2,4\*</sup>

(1. College of Chemistry, Changchun Normal University, Changchun 130032, Jilin, China; 2. Institute of Science and Technology Innovation, Changchun Normal University, Changchun 130032, Jilin, China;  
3. Tongren Centre for Disease Control and Prevention, Tongren 554300, Guizhou, China; 4. College of Life Sciences, Changchun Normal University, Changchun 130032, Jilin, China)

**Abstract:** A high performance liquid chromatography (HPLC) method was established to determine the content of protocatechuic acid, protocatechuic aldehyde, and osmundacetone in the crude extract of *Inonotus obliquus*. The effects of four different extraction methods, *i. e.*, ultrasonic extraction, reflux extraction, microwave-assisted extraction, and enzyme-assisted extraction, on the content of active ingredients in the crude extract of *I. obliquus* were compared and evaluated. The results indicated that the assay had high precision, with relative standard deviations (RSD) of 0.14%, 0.06%, and 0.20% for the three compounds. It also showed good reproducibility, with RSD values of 1.67%, 1.98%, and 2.22%, respectively, and good stability over 24 h, with RSD values of 0.20%, 0.61%, and 0.25%, respectively. A comparison of the effects of different extraction methods on the three compounds revealed that the target compounds obtained by ultrasound-assisted extraction gave higher yields and were suitable for the extraction of the main active components in *I. obliquus*. The HPLC method established in this study for determining the content of protocatechuic acid, protocatechuic aldehyde, and osmundacetone in the crude extract of *I. obliquus* produced accurate results.

**Key words:** *Inonotus obliquus*; high-performance liquid chromatography (HPLC); extraction method; protocatechuic acid; protocatechuic aldehyde; osmundacetone

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20240402045GH)

作者简介: 陈佳慧(1998—), 女(汉), 硕士研究生, 研究方向: 天然药物及食品分析。

\*通信作者: 王晶(1984—), 女(满), 副教授, 博士研究生, 研究方向: 天然药物及食品分析。

引文格式:

陈佳慧,张勇,王战伟,等. HPLC法分析不同提取方法对桦褐孔菌中3种成分含量的影响[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(2): 178-182.

CHEN Jiahui, ZHANG Yong, WANG Zhanwei, et al. HPLC Analysis of Effects of Different Extraction Methods on the Content of Three Components in *Inonotus obliquus*[J]. Food Research and Development, 2025, 46(2): 178-182.

桦褐孔菌(*Inonotus obliquus*)又称斜纤孔菌、斜生纤孔菌、白桦茸、茶卡等,属于担子菌亚门、层菌纲、锈革孔菌目、锈革孔菌科、纤孔菌属<sup>[1-2]</sup>。桦褐孔菌主要分布在温度较低地区,如芬兰、波兰、俄罗斯、日本等国家,在我国主要分布于黑龙江、吉林和内蒙古等地<sup>[3]</sup>。据报道,桦褐孔菌中富含多糖、多酚、三萜类、黑色素和木质素等活性成分<sup>[4-5]</sup>。桦褐孔菌作为传统药物,数百年来被广泛用于治疗各种疾病。现代药理作用研究表明,桦褐孔菌具有降血脂、降血糖、抗癌、抗氧化、抗炎、抗疲劳和免疫调节等活性<sup>[5-6]</sup>。

目前,桦褐孔菌提取方法可分为传统提取方法、新型提取方法和生物提取方法等。传统提取方法包括热水浸提、溶剂提取、回流提取、索氏提取等;新型提取方法包括超声辅助提取、微波辅助提取、超临界CO<sub>2</sub>萃取、超高压提取等;生物提取法主要是酶解法<sup>[7-9]</sup>。据报道,应用现代分析方法从桦褐孔菌中鉴定出200多个化合物<sup>[10-11]</sup>。高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法因其高效、准确的优点在天然产物分析中广泛应用。Wang等<sup>[12]</sup>采用高效液相色谱-质谱联用(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)技术从桦褐孔菌中分析并鉴定原花青素、咖啡酸、对香豆酸、异鼠李素-3-O-葡萄糖苷等10种化合物。张勇等<sup>[13]</sup>建立了桦褐孔菌提取物中紫萹酮的HPLC测定方法,并比较了不同溶剂和提取方法得到的提取物中紫萹酮含量。段雨晴等<sup>[14]</sup>采用HPLC法同时检测了桦褐孔菌中栓菌酸、桦褐孔菌醇、麦角甾醇、羊毛甾醇4种化合物含量,并对桦褐孔菌子实体的黑褐色外壳和内部黄色菌肉中4种成分的含量进行比较。张士彦等<sup>[15]</sup>采用超高效液相色谱法同时测定桦褐孔菌中原儿茶醛、丁香酸和(*E*)-4-(3,4-二羟基苯基)丁-3-烯-2-酮3种化合物含量。由于不同产地的桦褐孔菌中主要活性成分的含量均有不同,因此建立桦褐孔菌中主要活性成分检测的分析方法具有重要的意义。

本研究以桦褐孔菌中原儿茶酸、原儿茶醛和紫萹酮为研究对象,建立高效液相色谱法对桦褐孔菌中3种化合物含量的分析方法,并对该检测技术进行方法学考察,同时采用超声辅助提取、回流提取、微波辅助提取、酶解提取4种方法提取桦褐孔菌子实体中活性成分,应用建立的HPLC法对比评价不同粗提物中3种有效成分的含量,考察不同提取方法对桦褐孔菌中有效成

分含量的影响,以期为桦褐孔菌的研发提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

桦褐孔菌:吉林延边华夏有限公司(来自于俄罗斯西伯利亚地区,生长期为8年以上),经过长春师范大学时东方教授鉴定为桦褐孔菌。桦褐孔菌子实体试验前进行切片,经高速万能粉碎机粉碎,过60目筛,粉末密封保存。

甲醇(分析纯):北京精细化学品有限公司;甲酸、醋酸(均为色谱级):加拿大Caledon Laboratories公司;磷酸二氢钠、木瓜蛋白酶(100 000 U/g)(均为分析纯):国药集团化学试剂有限公司;纤维素酶(50 000 U/g)(分析纯):宁夏和氏璧生物科技有限公司;原儿茶酸标准品、原儿茶醛标准品:上海源叶生物科技有限公司;紫萹酮标准品:成都普思生物科技股份有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

Finnigan Surveyor Plus 高效液相色谱仪:美国赛默飞公司;KQ-400DE型数控超声波清洗器:昆山禾创超声仪器有限公司;RV10型旋转蒸发器:德国艾卡公司;MSU224S-CE型电子分析天平:德国赛多利斯公司;FW-100高速万能粉碎机:北京中兴伟业仪器有限公司;HH-6数显恒温水浴锅:江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;MAS-I型微波合成仪:新仪微波化学科技有限公司。

### 1.2 色谱条件

色谱柱:ZORBOX SB-C18色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:A为色谱甲醇,B为0.5%醋酸水溶液;梯度洗脱条件:0~20 min(20%~40% A);20~50 min(40%~80% A);50~58 min(80%~100% A);58~60 min(100%~20% A)。柱温25℃;检测波长280 nm;流速0.50 mL/min;进样量5 μL。

#### 1.3 标准溶液配制及标准曲线绘制

精密称取原儿茶酸、原儿茶醛、紫萹酮标准品用色谱级甲醇溶解,均配制成1.0 mg/mL的母液备用。向1.5 mL离心管中加入3种化合物溶液各200 μL,并加入400 μL的色谱级甲醇,制成混合对照品溶液,3种化合物最终浓度均为200 μg/mL。

将上述配制好的标准溶液,用色谱级甲醇逐级稀释,得到6个系列浓度(6.25、12.5、25、50、100、200 μg/mL)。按照1.2中色谱条件依次进样分析,进样体积5 μL。

## 1.4 不同提取方法制备桦褐孔菌粗提物

### 1.4.1 回流提取法

参考高文庚等<sup>[16]</sup>的方法,并略作修改。准确称取样品 4.997 7 g,按 1:20 (g/mL)料液比加入甲醇,架好回流装置,放置于水浴锅中进行回流提取,回流时间 1.5 h,回流温度 85 °C,抽滤,重复提取 3 次,合并滤液,减压浓缩至溶剂挥干,加入 4 mL 甲醇溶解,过 0.45 μm 滤膜,4 °C 保存备用。

### 1.4.2 超声辅助提取法

参照张勇<sup>[17]</sup>的提取方法,并略作修改。准确称取桦褐孔菌粉末 5.000 7 g,按照 1:20 (g/mL)料液比加入甲醇,超声时间 1 h,超声功率 400 W,抽滤,重复提取 3 次,合并滤液。减压浓缩至溶剂挥干,加入 4 mL 甲醇溶解,过 0.45 μm 滤膜,4 °C 保存备用,粗提物终浓度为 1 250 mg/mL。

### 1.4.3 微波辅助提取法

参考荣丹等<sup>[18]</sup>的方法,并作修改。准确称取样品 5.000 0 g,按料液比 1:20 (g/mL)加入甲醇溶解,提取时间 60 s,提取温度 50 °C,微波功率 500 W,重复提取 3 次,抽滤,合并滤液。减压浓缩至溶剂挥干,加入 4 mL 甲醇溶解,过 0.45 μm 滤膜,4 °C 保存备用。

### 1.4.4 酶解提取法

参考丁霄霄等<sup>[19]</sup>的方法,并作修改。称取桦褐孔菌子实体样品粉末 4.999 9 g 置于 250 mL 烧杯中,加入 pH5.0 的复合酶(30% 纤维素酶、30% 木瓜蛋白酶)磷酸缓冲液 45 mL,37 °C 恒温水浴中酶解 60 min。酶解结束后,在 90 °C 热水中灭酶 10 min,取出冷却,加入 100 mL 的甲醇,400 W 功率条件下,超声辅助提取 1 h,提取结束后抽滤。减压浓缩至溶剂挥干,加入 4 mL 甲醇溶解,过 0.45 μm 滤膜,4 °C 保存备用。

## 1.5 方法学考察

### 1.5.1 精密度考察

将 1.3 中配制的混合对照品溶液,按照 1.2 色谱条件连续进样 5 次,记录峰面积并计算 3 种化合物峰面积的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

### 1.5.2 稳定性考察

将超声辅助提取法得到的粗提物样品稀释 1 倍,分别于 0、2、6、14、24 h 时进行 HPLC 测定,计算所得到的上述 3 种化合物峰面积的 RSD。

### 1.5.3 重复性考察

称取等质量的桦褐孔菌样品粉末 5 份,采用超声辅助提取法制备粗提物,稀释 1 倍后按照 1.2 色谱条件进行测定,计算上述 3 种化合物峰面积的 RSD。

### 1.5.4 加标回收率考察

精密称取桦褐孔菌粉末 5 份,每份约 2.500 g,得到粗提物溶液,按每种化合物质量比 1:1 的比例加入混合对照品,按照 1.2 色谱条件进样测定,并计算峰面

积的 RSD。

## 1.6 粗提物含量计算

将所得粗提物溶液,用甲醇稀释 1 倍(625 mg/mL),与标准溶液相同色谱条件进入 HPLC 分析。粗提物含量( $H, \%$ )计算公式如下。

$$H = \frac{C \times n}{V \times m \times 10^6} \times 100$$

式中: $C$  为将色谱图中化合物峰面积代入标准曲线后求得的浓度,μg/mL; $n$  为稀释倍数; $V$  为粗提物溶液的总体积,mL; $m$  为桦褐孔菌粉末质量,g。

## 1.7 数据统计与分析

标准曲线图采用 Origin 2018 软件制作,提取率、精密度、稳定性、重复性、加标回收率由 3 次重复试验获得,数据均由 Office Excel 2021 软件处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 方法学评价

#### 2.1.1 精密度

计算得到原儿茶酸、原儿茶醛、紫萹酮 3 种化合物峰面积的 RSD 分别为 0.14%、0.06%、0.20%,表明仪器精密度良好。

#### 2.1.2 稳定性

计算得到原儿茶酸、原儿茶醛、紫萹酮 3 种化合物峰面积的 RSD 分别为 0.20%、0.61%、0.25%,表明粗提物样品在 24 h 内粗提物样品稳定性较好。

#### 2.1.3 重复性

计算上述 3 种化合物峰面积的 RSD 分别为 1.67%、1.98%、2.22%,表明该提取方法重复性良好。

#### 2.1.4 加标回收率

桦褐孔菌中 3 种化合物加标回收率计算结果如表 1 所示。

表 1 桦褐孔菌中 3 种化合物加标回收率试验结果

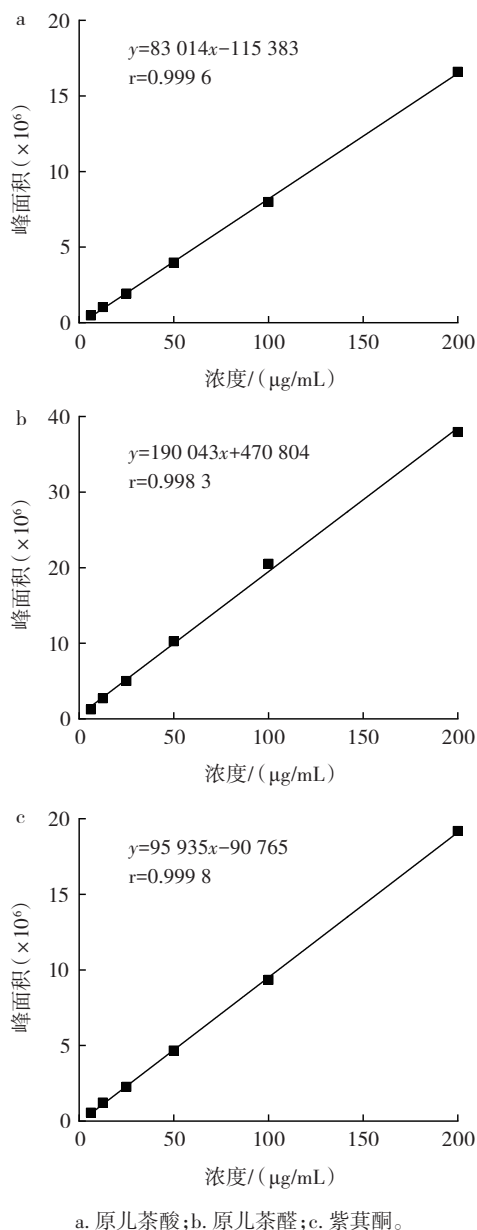
Table 1 Spiked recovery test of three compounds in *Inonotus obliquus*

化合物	样品含量/ng	加标量/ng	检测量/ng	加标回收率/%	回收率/%	RSD/%
原儿茶酸	87.655 8	87.500 0	176.124 9	101.11	100.56	0.85
	85.031 5	87.500 0	173.299 8	100.88		
	85.670 9	87.500 0	172.380 6	99.10		
	84.476 0	87.500 0	172.460 0	100.55		
原儿茶醛	84.103 3	87.500 0	172.624 2	101.17		
	248.349 8	231.250 0	496.532 3	107.32	108.67	0.78
	238.632 9	231.250 0	490.030 8	108.71		
	235.665 5	231.250 0	489.138 3	109.61		
紫萹酮	240.811 4	231.250 0	493.030 3	109.07		
	243.593 6	231.250 0	494.715 0	108.59		
	201.466 7	237.500 0	388.391 4	78.71	77.87	0.93
	213.503 2	237.500 0	399.522 9	78.32		
210.207 5	237.500 0	392.663 8	76.82			
209.761 0	237.500 0	393.977 4	77.56			
208.782 7	237.500 0	393.862 3	77.93			

由表1可知,3种化合物峰面积的RSD分别为0.85%、0.78%、0.93%,加标回收率平均值分别为100.56%、108.67%、77.87%。

### 2.2 3种化合物标准曲线的绘制

以对照品浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,结果见图1。



a. 原儿茶酸;b. 原儿茶醛;c. 紫萸酮。

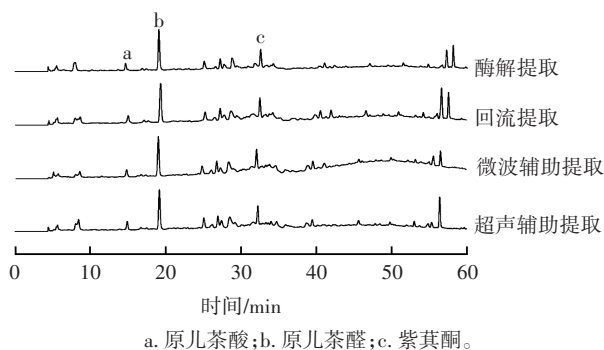
图1 3种化合物的标准曲线

Fig.1 Standard curves of three compounds

由图1可知,3种化合物的标准方程为原儿茶酸: $y=83014x-115383, r=0.9996$ ;原儿茶醛: $y=190043x+470804, r=0.9983$ ;紫萸酮: $y=95935x-90765, r=0.9998$ 。3种化合物的线性范围均为6.25~200 μg/mL。

### 2.3 不同提取方法对3种化合物含量的影响

不同方法的桦褐孔菌粗提物经HPLC分析得到的谱图如图2所示。



a. 原儿茶酸;b. 原儿茶醛;c. 紫萸酮。

图2 桦褐孔菌4种不同方法提取物的HPLC结果

Fig.2 HPLC plots of the extracts of four different methods of *Inonotus obliquus*

由图2可以看出,所检测的桦褐孔菌中3种主要成分均得到较好地分离,能够进一步定量分析。

通过回归3种化合物的标准曲线方程计算得到4种提取方法中主要活性成分的含量如表2所示。

表2 4种提取方法所得化合物含量比较

Table 2 Comparison of the content of compounds obtained by four extraction methods

提取方法	样品 质量/mg	含量/%			
		原儿茶酸	原儿茶醛	紫萸酮	
超声辅助 提取法	超声时间 1 h 重复 3 次	5.000 7	0.011	0.021	0.017
回流提取法	回流时间 1.5 h 重复 3 次	4.997 7	0.010	0.022	0.017
微波辅助 提取法	微波时间 60 s 重复 3 次	5.000 0	0.011	0.024	0.020
酶解提取法	酶解时间 1 h 超声时间 1 h 重复 1 次	4.999 9	0.007	0.015	0.013

由表2可知,对于原儿茶酸的含量,微波辅助提取法和超声辅助提取法差别不大,二者含量均较高,为0.011%,约是酶解提取法的1.6倍,回流提取法的1.1倍;对于原儿茶醛,微波辅助提取法测得含量最高,为0.024%,是酶解提取法的1.6倍,回流提取法与超声辅助提取法的1.1倍;对于紫萸酮,微波辅助提取法得到的含量最高,为0.020%,是酶解提取法的1.6倍,回流提取法和超声辅助提取法的1.2倍。

综上所述,微波辅助提取与超声辅助提取所得到的原儿茶酸、原儿茶醛和紫萸酮的含量相近,相较于其他两种方法,均能更加快速、高效地提取目标化合物。超声辅助提取会产生空化作用,而微波产生的电磁波可以引起分子的高频振动,均促使有效成分从物料中快速分离,二者相较于回流法都能加速目标化合物分离。酶解提取法所得到的提取物中,目标化合物含量最低,推测原因可能是由于酶解液的存在,在加入100 mL 甲醇后,甲醇被稀释,导致所测含量下降;另一种可能是酶解提取法需严格控制条件(温度、时间、pH

值、酶添加量等),当条件不合适时,对所测含量影响较大,从而导致测得含量低。

### 3 结论

本研究建立了可以同时定量测定桦褐孔菌粗提物中原儿茶酸、原儿茶醛、紫萹酮3种化合物含量的高效液相色谱法。采用超声辅助提取法、微波辅助提取法、回流提取法和酶解提取法4种方法,以甲醇为溶剂提取桦褐孔菌子实体中有效成分,并用所建立的HPLC法比较评价4种不同提取方法对粗提物中原儿茶酸、原儿茶醛、紫萹酮含量的影响。结果表明,采用微波辅助提取法和超声辅助提取法得到的目标化合物产量相近且较高,相较于另外两种方法操作简便易行,因此微波辅助提取和超声辅助提取更加适用于提取桦褐孔菌,但超声辅助提取比微波辅助提取安全性更高,且仪器价格较低,适合于大规模的提取,因此超声辅助提取更加适用于提取桦褐孔菌。在后续研究中,将以主要活性成分的含量为指标,采用响应面方法对提取工艺优化。因此,本研究所建立的HPLC法操作简便,精密度、重复性较好,回收率较高,样品的稳定性较好,可为桦褐孔菌质量标准提供参考。

### 参考文献:

- [1] 陈正启,周汐,华蓉,等.桦褐孔菌的研究现状及应用前景[J].中国食用菌,2021,40(10):1-6.  
CHEN Zhengqi, ZHOU Xi, HUA Rong, et al. Research status and application prospects of *Inonotus obliquus*[J]. Edible Fungi of China, 2021, 40(10): 1-6.
- [2] 刘怡,刘红丽,程秀峰,等.西藏林芝桦褐孔菌的化学成分与抗肿瘤活性[J].食用菌学报,2021,28(6):126-134.  
LIU Yi, LIU Hongli, CHENG Xiufeng, et al. Chemical composition and antitumor activity of *Inonotus obliquus* from Tibet[J]. Acta Edulis Fungi, 2021, 28(6): 126-134.
- [3] 李艳婷,郭尚,徐莉娜,等.桦褐孔菌资源分布及其地域环境条件分析[J].中国林副特产,2019(4):60-65.  
LI Yanting, GUO Shang, XU Lina, et al. Study on review of the distribution and environmental conditions of *Inonotus obliquus*[J]. Forest by-Product and Speciality in China, 2019(4): 60-65.
- [4] WOLD C W, GERWICK W H, WANGENSTEEN H, et al. Bioactive triterpenoids and water-soluble melanin from *Inonotus obliquus* (Chaga) with immunomodulatory activity[J]. Journal of Functional Foods, 2020, 71: 104025.
- [5] LUO L S, WANG Y, DAI L J, et al. Triterpenoid acids from medicinal mushroom *Inonotus obliquus* (Chaga) alleviate hyperuricemia and inflammation in hyperuricemic mice: Possible inhibitory effects on xanthine oxidase activity[J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(3): e13932.
- [6] LU Y P, JIA Y N, XUE Z H, et al. Recent developments in *Inonotus obliquus* (Chaga mushroom) polysaccharides: isolation, structural characteristics, biological activities and application[J]. Polymers, 2021, 13(9): 1441.
- [7] 陈盛宇,张淑梅,王玉霞,等.桦褐孔菌菌丝体多糖提取工艺优化及其降血糖能力测定[J].食品研究与开发,2023,44(19):110-117.  
CHEN Shengyu, ZHANG Shumei, WANG Yuxia, et al. Optimization of extraction process and determination of blood glucose-lowering ability of polysaccharides from *Inonotus obliquus* mycelia[J]. Food Research and Development, 2023, 44(19): 110-117.
- [8] ZHANG Z, LIANG X, TONG L J, et al. Effect of *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilat extract on the regulation of glycolipid metabolism via PI3K/Akt and AMPK/ACC pathways in mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 273: 113963.
- [9] ZHANG C J, GUO J Y, CHENG H, et al. Spatial structure and anti-fatigue of polysaccharide from *Inonotus obliquus*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 151: 855-860.
- [10] GAO X D, SANTHANAM R K, XUE Z H, et al. Antioxidant,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase activity of various solvent fractions of *I. obliquus* and the preventive role of active fraction against  $H_2O_2$  induced damage in hepatic L02 cells as fungisome[J]. Journal of Food Science, 2020, 85(4): 1060-1069.
- [11] 玄光善,李青,王艳波.桦褐孔菌多糖脱色方法及其成分分析[J].食品科学,2014,35(10):207-211.  
XUAN Guangshan, LI Qing, WANG Yanbo. Decolorization and monosaccharide composition analysis of polysaccharides from *Inonotus obliquus*[J]. Food Science, 2014, 35(10): 207-211.
- [12] WANG Y, OUYANG F J, TENG C Y, et al. Optimization for the extraction of polyphenols from *Inonotus obliquus* and its antioxidation activity[J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2021, 51(9): 852-859.
- [13] 张勇,牛俊博,李福森,等.RP-HPLC法测定桦褐孔菌中紫萹酮含量[J].食品研究与开发,2020,41(13):172-175.  
ZHANG Yong, NIU Junbo, LI Fusen, et al. Determination of osmundacetone in *Inonotus obliquus* by RP-HPLC[J]. Food Research and Development, 2020, 41(13): 172-175.
- [14] 段雨晴,朱田密,陈树和,等.高效液相色谱法测定桦褐孔菌4种成分含量及不同部位含量比较[J].医药导报,2023,42(3):339-345.  
DUAN Yuqing, ZHU Tianmi, CHEN Shuhe, et al. Determination of four components of *Inonotus obliquus* by HPLC and comparison of contents in different parts[J]. Herald of Medicine, 2023, 42(3): 339-345.
- [15] 张士彦,卢秋霞,贺丽波,等.超高效液相色谱法同时测定桦褐孔菌中三种主要化合物的含量[J].资源开发与市场,2019,35(4):543-546.  
ZHANG Shiyan, LU Qiuxia, HE Libo, et al. Simultaneous content determination of three main compounds in *Inonotus obliquus* (Fr.) pilat by UPLC[J]. Resource Development & Market, 2019, 35(4): 543-546.
- [16] 高文庚,胡琼方,董建生.灵芝发酵粉中三萜化合物提取、纯化及结构初步分析[J].中国食品添加剂,2019,30(10):86-92.  
GAO Wengeng, HU Qiongfang, DONG Jiansheng. Extraction, purification and preliminary structural analysis of triterpenoids from *Ganoderma lucidum* fermentationbaking powder[J]. China Food Additives, 2019, 30(10): 86-92.
- [17] 张勇.药用真菌桑黄和桦褐孔菌中有效成分提取分离及抗痛风活性研究[D].长春:长春师范大学,2020.  
ZHANG Yong. Extraction and separation of effective components from medicinal fungi *Phellinus igniarius* and *Inonotus obliquus* and their anti-gout activities[D]. Changchun: Changchun Normal University, 2020.
- [18] 荣丹,唐梦瑜,么越,等.桑黄活性物质提取分离及药理作用研究进展[J].中国食用菌,2022,41(6):1-6.  
RONG Dan, TANG Mengyu, YAO Yue, et al. Research progress on extraction, separation and pharmacological action of the active substances from Sanghuang[J]. Edible Fungi of China, 2022, 41(6): 1-6.
- [19] 丁霄霄,李凤伟,余晓红.响应面法优化复合酶提取灵芝总三萜工艺[J].食品工业,2018,39(8):40-44.  
DING Xiaoxiao, LI Fengwei, YU Xiaohong. Optimization of complex enzyme extraction technology of total triterpenoids from *Ganoderma lucidum* by response surface methodology[J]. The Food Industry, 2018, 39(8): 40-44.