牛蒡多酚超声辅助酶法提取工艺及抗氧化活性

马艳弘[1]，孟 勇[2]，崔 晋[1]，张宏志[1]，曹培杰[1]，孟 超[2]
（1. 江苏省农业科学院 农产品加工研究所，江苏 南京 210014；2. 徐州世缘食品有限公司，江苏 徐州 221723）

摘要：研究了牛蒡多酚的超声辅助酶法提取工艺及抗氧化活性。在单因素试验基础上，通过响应面分析法优化牛蒡多酚的提取工艺，并检测提取物对1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl，DPPH）自由基、超氧阴离子自由基、羟自由基的清除能力。结果表明：牛蒡多酚的最佳提取条件为乙醇体积分数45%、液料体积质量比为20 mL/g、超声时间6 min、纤维素酶质量浓度1.25 mg/mL、酶解时间80 min、酶解温度50 ℃，此条件下多酚的提取率为41.33 mg/g，比超声波辅助法和纤维素酶法分别提高了39.30%、25.13%。所提多酚具有较强的抗氧化活性，且在一定质量浓度范围内，多酚的抗氧化能力与其质量浓度呈现一定的剂量效应关系，0.5 mg/mL的多酚溶液对DPPH自由基的清除率达55.66 %，接近同质量浓度VC对DPPH自由基的清除率。

关键词：牛蒡；多酚；超声波；纤维素酶；响应面法；抗氧化性
中图分类号：TS 201.2　**文章编号：**1673-1689(2020)01-0038-08　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.01.006

Optimization of Ultrasonic-Assisted Enzyme Extraction of Polyphenols from Burdock and Its Antioxidant Activity Evaluation

MA Yanhong[1]，*MENG Yong*[2]，*CUI Jin*[1]，*ZHANG Hongzhi*[1]，*CAO Peijie*[1]，*MENG Chao*[2]
（1. Institute of Agro-Product Processing，Jiangsu Academy of Agricultural Sciences，Nanjing 210014，China；2. Xuzhou Shiyuan Food Co. Ltd.，Xuzhou 221723，China）

Abstract：Optimization of the experimental conditions for extracting polyphenols from burdock by ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis method and evaluation of the antioxidant activities were performed. On the basis of single factor experiment，the extraction conditions of polyphenols was optimized using response surface methodology. Antioxidant capacity was determined by DPPH radical scavenging capacities，superoxide anion scavenging capacities as well as hydroxyl radical scavenging capacities. Results showed that the optimum extraction parameiers were as follows: ethanol concentration 45% ，solid to liquid ratio 1∶20 （g/mL），ultrasonic time 6 min，cellulase concentration 1.25 mg/mL，reaction time 80 min，reaction temperature 50℃. The extraction rate of polyphenols（41.33 mg/g） increased by 39.30% and 25.13% compared to treatment with ultrasonic or cellulose individually under optimal conditions. The polyphenols derived from burdock displyed

收稿日期：2018-05-08
基金项目：江苏省苏北科技发展计划项目（BN2016001）；江苏省农业自主创新基金项目（CX(17)2003）。
作者简介：马艳弘（1972-），女，博士，副研究员，主要从事食品生物技术研究。E-mail：ma_yhhyy@126.com.

strong antioxidant activity, and the antioxidant capacity of polyphenol has a dose effect on its mass concentration within a certain concentration range. Under the concentration of 0.5 mg/mL, the radical scavenging rate on DPPH was 55.66% which is close to that of Vitamin C with the same concentration.

Keywords: Burdock (*Arctium lappa* L.), polyphenols, ultrasonic, cellulose, response surface methodology, antioxidant activity

牛蒡(*Arctium lappa* L.)又名大力子、蒡翁菜、牛菜等，是公认的食药同源性蔬菜。年蒡含蛋白质、多种氨基酸、微量元素、维生素等，还含有菊糖、绿原酸、牛蒡苷、膳食纤维、多酚等生物活性成分[1-3]，具有清除氧自由基，提高人体免疫力等多种保健功效[4-6]，其营养和经济价值高，开发应用前景广阔。

目前国内外对牛蒡的研究主要集中在牛蒡苷、木脂素、菊糖等物质的检测、分析，分离和纯化及其功能鉴定等方面[7-9]。多酚是牛蒡生物保健功能的主要物质基础之一[10-12]，其提取方法包括溶剂提取、酶法辅助提取、微波辅助提取、超声提取等方法。采用超声辅助酶法提取活性物质的提取时间短、提取效率高、而且产物易纯化，已广泛应用于花色苷、蛋白质、多糖等物质的高效制备[13-15]，但有关牛蒡多酚超声辅助酶法提取的研究鲜见报道。作者采用超声辅助纤维素酶法提取牛蒡多酚，优化其提取工艺并探讨提取物的抗氧化活性，为拓宽牛蒡加工途径、延长产业链、实现牛蒡多酚的产业化提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

牛蒡：徐州世缘食品有限公司提供。牛蒡清洗干净后置于恒温干燥箱 60℃干燥至恒重，粉碎过筛，低温保藏备用。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)：上海源叶生物科技公司产品；羟自由基测定试剂盒、抗超氧阴离子自由基测定试剂盒：南京建成生物工程研究所产品；苯酚、无水乙醇、柠檬酸、盐酸、氯化钾等试剂为分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

KQ-2500E 超声波机：昆山禾创仪器公司产品；真空冷冻干燥机：美国 Thermo 公司产品；RE5220型旋转蒸发仪：上海亚荣生化仪器厂产品；D-8 紫外分光光度计：南京菲勒仪器有限公司产品；MJ-BL15U11破壁搅拌机：广东美的电器制造有限公司产品。

1.3 方法

1.3.1 牛蒡多酚提取工艺 牛蒡粉称重，加入乙醇溶液，置于 450 W 功率下进行超声处理，然后按比例加入纤维素酶，恒温提取一段时间，4 500 r/min 离心 15~20 min，分离上清，将沉淀再提取 1 次，2 次提取所得上清即为多酚提取液。浓缩提取液，通过大孔树脂 AB-8 进行纯化，经乙醇溶液洗脱、浓缩，冷干，即得牛蒡多酚。

1.3.2 总酚的测定 福林酚比色法测定多酚质量分数[16]，以没食子酸为标品制标曲，分别加入 5 mL蒸馏水，1 mL FC 试剂和 3 mL 质量分数 7.5% Na_2CO_3 溶液，45 ℃水浴加热 90 min 后，在波长 760 nm 处测吸光度，得到没食子酸质量浓度与吸光度的回归方程：$y=0.005\ 3x-0.015\ 2$($R^2=0.998\ 9$)，据此标曲计算牛蒡多酚质量分数(按没食子酸计)，再按照公式(1)计算其多酚得率 Y。

$$Y=(C\times V/m)\times 100\ \% \quad (1)$$

式中：Y 为多酚得率，(mg/g)；C 为多酚质量浓度，(mg/mL)；V 为提取液的总体积，(mL)；m 为牛蒡粉质量，(g)。

1.3.3 单因素试验设计 分别考察不同乙醇体积分数(30 %、40 %、50 %、60 %、70 %)、不同液料体积质量比(5、10、15、20、25 mL/g)、不同超声波时间(3、6、9、12、15 min)、不同纤维素酶质量浓度(0.5、1、1.5、2、2.5 mg/mL)、不同酶解温度(45、50、55、60、65 ℃)、不同酶解时间(30、45、60、75、90 min)等 6 个因素对多酚提取率的影响，根据结果确定适宜的提取条件。

1.3.4 Box-Behnken 试验设计及响应面分析 采用 Box-Behnken 设计方案，在单因素试验的基础上，以乙醇质量分数 (A)、纤维素酶质量浓度/(mg/mL)(B)、酶解时间/min(C)、酶解温度/℃(D)为考察因素，以牛蒡多酚得率为响应值，利用 Design-Expert 8.05 软件优化工艺参数。因素水平见表 1。

表 1 Box-Behnken 试验设计因素和水平编码表

Table 1 Factors and levels of Box-Behnken experimental design

水平	因素			
	乙醇体积分数/%	酶质量浓度/(mg/mL)	酶解时间/min	酶解温度/℃
1	40	0.5	60	45
2	50	1.0	75	50
3	60	1.5	90	55

1.3.5 牛蒡多酚抗氧化活性分析[17-18]

1)牛蒡多酚对 DPPH 自由基清除能力测定 配置 0.05 mg/mL 的 DPPH 自由基溶液,取不同体积的多酚溶液,加去氧水补足 1 mL,分别加入 5 mL DPPH 溶液,混合均匀后避光反应 30 min,用分光光度计分别测定 517 nm 处的吸光度值 A_1,5 mL DPPH溶液与 1 mL 无水乙醇混合后测得的吸光度值 A_0,5 mL 无水乙醇与 1 mL 多酚溶液混合后测得的吸光度值 A_2。按照公式(2)计算 DPPH 自由基清除率。

$$DPPH\text{自由基清除率}/\%=(A_0-(A_1-A_2))/A_0\times 100\% \quad (2)$$

式中:A_1 为样品管吸光度值;A_2 为对照管吸光度值;A_0 为空白管吸光度值。

2)牛蒡多酚抗超氧阴离子自由基能力测定 按照试剂盒说明书,分别取 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL 的多酚溶液及同质量浓度 VC 溶液,测定 550 nm 处的吸光度值。对照组用无水乙醇代替样品,按照式(3)计算抗超氧阴离子自由基活力单位。

$$\text{抗超氧阴离子活力单位 (U/L)}=(A_2-A_1)/(A_2-A_0)\times\text{标准品质量浓度}\times 1000 \quad (3)$$

式(3)中:A_1 为样品管吸光度值;A_2 为对照管吸光度值;A_0 为标准管吸光度值。

3)牛蒡多酚清除羟自由基能力测定 按照试剂盒说明书操作,分别取 500 μL 不同质量浓度(0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL)的多酚溶液和 VC 溶液,测定 550 nm 处的吸光值。按照式(4)计算羟自由基清除率。

$$\text{羟自由基清除率}/\%=((A_0-A_1)/A_0)\times 100\% \quad (4)$$

式中:A_1 为试验管吸光度值;A_0 为对照管吸光度值。

2 结果与分析

2.1 牛蒡多酚提取单因素试验结果

2.1.1 乙醇体积分数对牛蒡多酚提取量的影响

由图 1 可知,乙醇体积分数在 30%~50%之间,随着乙醇体积分数的提高,多酚提取率逐渐提高,在乙醇体积分数达到 50%时,多酚的提取率达到最大值 23.78 mg/g;乙醇体积分数在 50%~60%之间,多酚得率变化平缓;乙醇体积分数大于 60%,多酚得率随着质量分数提高反而下降。这是由于高体积分数提取溶剂会引起细胞蛋白质变性,间接影响多酚溶出,最终导致了得率的降低[19]。因此选择乙醇的适宜体积分数为 50%。

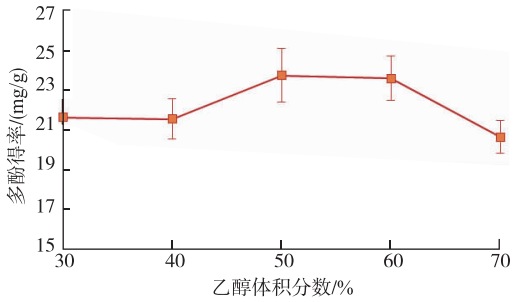


图 1 乙醇体积分数对多酚得率的影响

Fig. 1 Effect of ethanol concentration on extraction rate of polyphenols from burdock

2.1.2 液料体积质量比对牛蒡多酚提取量的影响

由图 2 可知,多酚得率会随液料体积质量比的增加而逐渐增大,在 20 mL/g 时,提取率达到峰值 25.52 mg/g,之后再增大液料体积质量比,多酚得率变化平缓,表明 20 mL/g 的液料体积质量比即可使多酚溶出达到平衡,由此将 20 mL/g 确定为牛蒡多酚的最佳液料体积质量比。

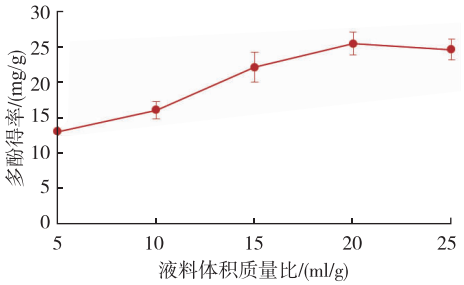


图 2 液料体积质量比对多酚得率的影响

Fig. 2 Effect of solid to liquid radio on extraction rate of polyphenols from burdock

2.1.3 超声时间对牛蒡多酚提取量的影响

图 3 可见,3~6 min 范围内多酚得率随着超声

时间延长而提高，到 6 min 时，提取率达到最大(29.68 mg/g),这是由于 6 min 内,超声的空化效应随时间的延长而增强,细胞破坏程度增大,从而导致多酚溶出、得率提高;超过 6 min 后多酚得率开始下降,是由于长时间的超声波作用引起了多酚的共价键断裂进而引发了多酚的降解,因此,确定适宜的超声时间为 6 min。

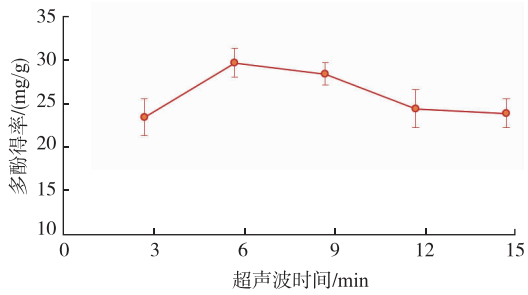


图 3　超声时间对多酚得率的影响

Fig. 3　Effect of ultrasonic time on extraction rate of polyphenols from burdock

2.1.4　纤维素酶量对牛蒡多酚提取量的影响　由图 4 可见,在 0.5~1.0 mg/mL 添加范围内,随着纤维素酶用量的加大,多酚得率也明显提高,当酶用量为 1.0 mg/mL 时,多酚得率达到最大值 39.03 mg/g。之后继续提高酶的用量,多酚得率反而降低。表明适量纤维素酶的添加有利于破坏牛蒡的细胞壁结构,增强多酚的溶出效率,但是酶用量过多,会导致溶剂粘度增高、阻塞细胞内含物的溶出通道,从而导致其提取率的下降。

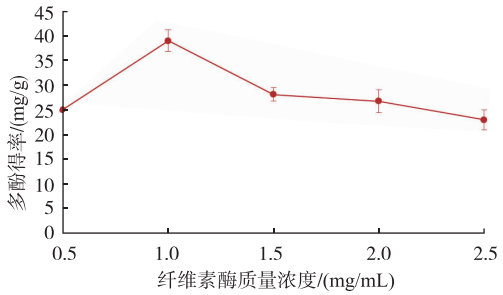


图 4　纤维素酶质量浓度对多酚得率的影响

Fig. 4　Effect of cellulase concentration on extraction rate of polyphenols from burdock

2.1.5　酶解温度对牛蒡多酚得率的影响　由图 5 可知,酶解温度在 45~50 ℃之间,多酚得率随酶解温度的升高而升高，在酶解温度达到 50 ℃时达到峰值 38.05 mg/g；而多酚得率在 55~60 ℃之间则基本趋于稳定;超过 60℃后,多酚得率反而下降。表明温度过高会使酶蛋白变性,酶活性降低,从而导致多酚提取率降低。由此确定牛蒡多酚的适宜酶解温度为 50℃。

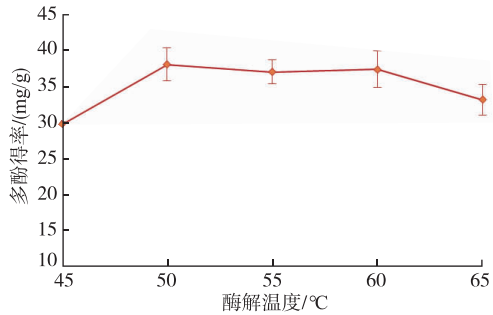


图 5　酶解温度对多酚得率的影响

Fig. 5　Effect of cellulase reaction temperature on polyphenols yield from burdock

2.1.6　酶解时间对牛蒡多酚提取量的影响　从图 6 可以看出,酶解时间在 30~75 min 之间,酶解时间越长,多酚得率越高,在 75 min 时多酚得率达到最大(39.71 mg/g),大于 75 min 后多酚提取率反而下降。这是由于适宜的反应时间能够促使底物和酶接触充分,进而提高了牛酚得率。由此可确定 75 min 为牛蒡多酚的最佳酶解时间。

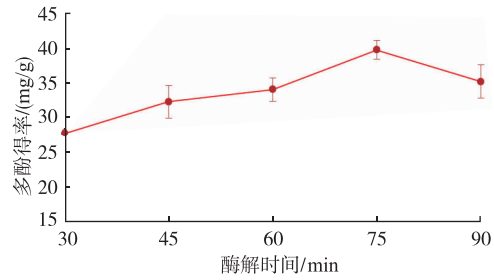


图 6　酶解时间对多酚得率的影响

Fig. 6　Effect of cellulase reaction time on polyphenols yield from burdock

2.2　牛蒡多酚提取条件响应面优化结果

2.2.1　回归模型建立与显著性检验　根据 Box-behnken 的中心组合设计原则，以多酚得率为响应值，优化牛蒡多酚的提取工艺。结果见表 2。利用 Design Expert8.05 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:

$$Y=41.21-0.21A+1.75B-0.40C+0.29D-0.53AB-1.13AC+1.13AD+0.99BC+0.50BD+1.28CD-0.55A^2-2.571B^2-1.46C^2-1.00D^2$$

表 2 Box-Behnken 实验设计及结果

Table 2 Box-Behnken experimental design and results

序号	A:乙醇体积分数/%	B:纤维素酶质量浓度/(mg/mL)	C:酶解时间/min	D:酶解温度/℃	多酚得率/(mg/g)
1	40	0.5	75	50	35.684 9
2	40	1	90	50	40.045 3
3	50	1	75	50	40.873 6
4	50	1.5	75	55	39.752 8
5	50	1	60	55	37.892 5
6	50	1.5	60	50	38.247 2
7	50	1	75	50	41.118 9
8	60	1.5	75	50	39.120 6
9	50	0.5	75	55	35.819 8
10	60	1	90	50	37.447 2
11	50	1	60	45	39.917 0
12	60	1	75	55	41.035 8
13	50	1	75	50	41.1962
14	40	1	75	55	39.517 0
15	50	0.5	75	45	37.018 9
16	50	0.5	60	50	36.318 9
17	50	1.5	90	50	39.858 5
18	40	1	75	45	40.364 2
19	50	1.5	75	45	38.957 5
20	40	1	60	50	39.169 8
21	60	1	75	45	37.373 2
22	60	1	60	50	41.105 7
23	40	1.5	75	50	40.377 4
24	50	1	90	45	36.752 8
25	60	0.5	75	50	36.537 7
26	50	1	75	50	41.652 6
27	50	0.5	90	50	33.952 8
28	50	1	90	55	39.828 3
29	50	1	75	50	41.222 6

由方差分析结果表 3 可知,该回归模型高度显著(P<0.000 1),失拟项(P=0.092 8)不显著,表明试验值与预测值高度相关(R^2=0.969 3,R^2_{Adj}=0.938 7),模型与实验拟合良好,该模型可以反应牛蒡多酚得率的预测与分析[20]。表 3 还反应了 4 个自变量对响应值多酚得率的影响程度,其影响大小排序依次为纤维素酶质量浓度(B)>酶解时间(C)>酶解温度(D)>乙醇体积分数(A),其中因素 C 对多酚得率影响显著(P<0.05),因素 B 和 AC、AD、BC、CD 的交互作用对多酚得率的影响极显著(P<0.01)。

表 3 方差分析表

Table 3 The table of variance analysis

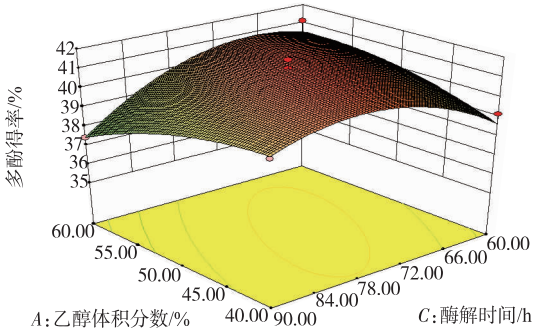
来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	113.17	14	8.08	31.61	< 0.000 1	**
A	0.54	1	0.54	2.1	0.169 3	
B	36.68	1	36.68	143.45	< 0.000 1	**
C	1.89	1	1.89	7.4	0.016 6	*
D	1	1	1	3.91	0.068 1	
AB	1.11	1	1.11	4.35	0.055 8	
AC	5.14	1	5.14	20.1	0.000 5	**
AD	5.08	1	5.08	19.88	0.000 5	**
BC	3.95	1	3.95	15.47	0.001 5	**
BD	0.99	1	0.99	3.89	0.068 7	
CD	6.5	1	6.5	25.43	0.000 2	**
A_2	2	1	2	7.8	0.014 4	
B^2	42.88	1	42.88	167.69	< 0.000 1	
C^2	13.83	1	13.83	54.07	< 0.000 1	
D^2	6.46	1	6.46	25.28	0.000 2	
残差	3.58	14	0.26			
失拟项	3.26	10	0.33	4.11	0.092 8	
误差	0.32	4	0.079			
总和	116.75		28			

注:R^2=0.9693,R^2_{Adj}=0.9387,* 表示 0.05 水平影响显著;** 表示 0.01 水平影响极显著。

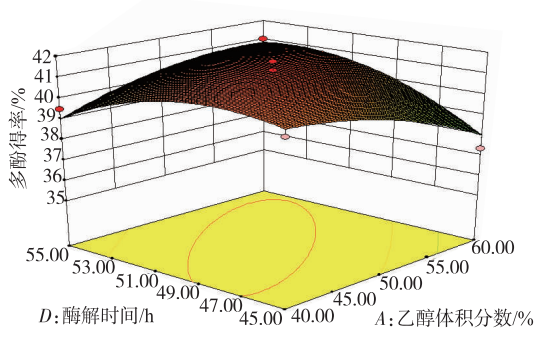
2.2.2 牛蒡多酚提取量响应面分析与优化 图 7 反映了两两因素间的交互作用对牛蒡多酚提取量的影响情况。曲面越陡,表明变量对多酚得率影响越大[21]。由图可见,除乙醇体积分数与酶质量浓度(AB)、酶质量浓度与酶解温度(BD)的交互作用对提取量的影响不显著(P>0.05)外,乙醇体积分数与酶解时间(AC)、乙醇体积分数与酶解温度(AD)、酶质量浓度与酶解时间(BC)、酶解温度与时间(CD)的互作效应对牛蒡多酚得率的影响极显著 (P<0.01)。经软件分析,得到的最佳提取参数为:乙醇体积分数 43.68%、纤维素酶质量浓度 1.24 mg/mL、酶解时间 79.81 min、酶解温度 50.56 ℃,此条件下牛蒡多酚得率为 41.65 mg/g。经综合考虑,修正为:乙醇体积分数 45%、纤维素酶质量浓度 1.25 mg/mL、酶解时间 80 min、酶解温度 50 ℃。经验证,此条件下多酚

提取率为 41.33 mg/g，实测值与预测值相对偏差在0.76%左右，证明该模型可用于预测牛蒡多酚提取状况。

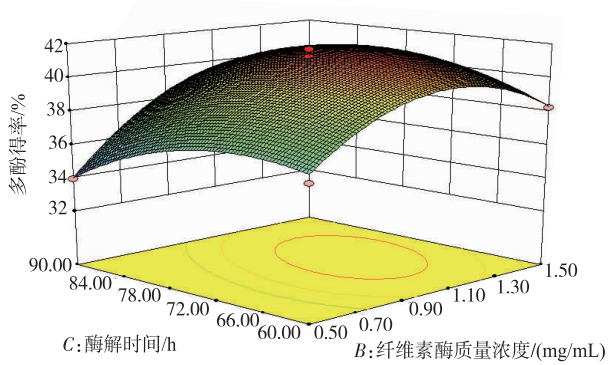
2.2.3 超声波辅助纤维素酶法与其他提取方法的比较 比较超声辅助酶法提取方法、超声提取、酶法提取方法对牛蒡多酚提取量的影响,结果发现 3种方法的多酚得率分别为 41.33、29.67、33.03 mg/g,超声辅助酶法提取的多酚得率比其他 2 种方法分别提高了 39.30 %、25.13 %。这是由于一方面纤维素酶可破坏牛蒡细胞壁结构,促使多酚外溢;另一方面,超声波的空化效应和振动作用,也能促使牛蒡



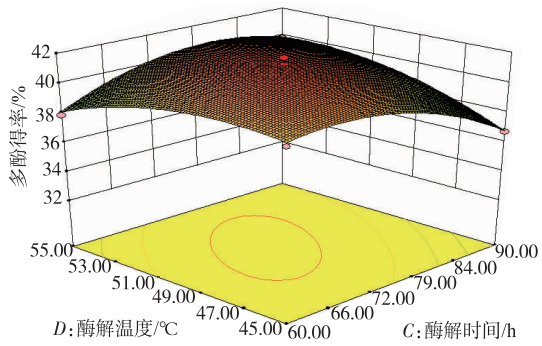
(a)乙醇体积分数与酶解时间



(b)乙醇体积分数与酶解温度



(c)酶解时间与纤维酶质量浓度



(d)酶解时间与酶解温度

图 7 各因素交互作用影响牛蒡多酚提取量的响应面图

Fig. 7 Response surface plot showing the effects of ethanol concentration, cellulase concentration, cellulase reaction temperature, and time on the yield of polyphenols from burdock

细胞破裂,导致多酚从细胞中溶出;同时,短时间的超声处理还能够促进酶分子空间构象发生变化、加速底物与酶的接触,从而增强纤维素酶活力、提高酶解效率[22-24]。

2.3 牛蒡多酚抗氧化活性分析

2.3.1 牛蒡多酚对 DPPH 自由基的清除作用 如图 8 所示,牛蒡多酚的 DPPH 自由基清除率随其质量浓度的提高而逐渐增强,当质量浓度为 0.5 mg/mL时,对 DPPH 自由基的清除率达最大(55.66%),与同质量浓度 VC 溶液对 DPPH 自由基的清除率(55.81%)相比并无差异,表明牛蒡多酚具有很强的DPPH 自由基清除能力。

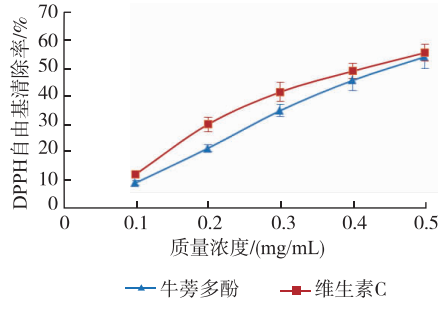


图 8 牛蒡多酚的 DPPH 自由基清除能力

Fig. 8 DPPH radical scavenging capacity of polyphenols from burdock

2.3.2 牛蒡多酚的抗超氧阴离子活力 如图 9 所示,牛蒡多酚的抗超氧阴离子自由基能力随着多酚质量浓度增大而增强，但是略低于同质量浓度 VC的抗超氧阴离子活力。

2.3.3 牛蒡多酚对羟自由基的清除作用 由图 10

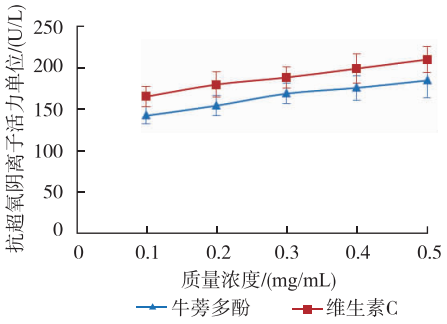


图 9 牛蒡多酚的抗超氧阴离子自由基能力

Fig. 9 Superoxide anion radical scavenging capacity of polyphenols from burdock

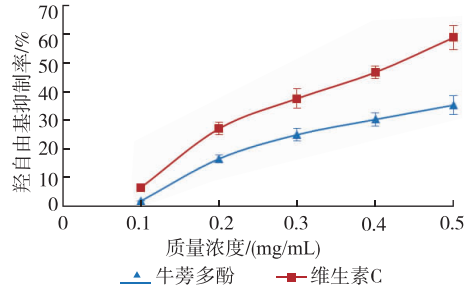


图 10 牛蒡多酚的羟自由基清除能力

Fig. 10 Hydroxyl radical scavenging capacity of polyphenols from burdock

可示，牛蒡多酚对羟自由基的清除率随着多酚质量浓度提高而增强，具有明显的量效关系。但牛蒡多酚对羟自由基的清除效果明显低于同质量浓度的VC。

3 结 语

以多酚提取率为指标，在单因素试验基础上通过响应面分析法优化了牛蒡多酚超声辅助酶法提取工艺，建立的牛蒡多酚预测模型为 $Y = 41.21 - 0.21A + 1.75B - 0.40C + 0.29D - 0.53AB - 1.13AC + 1.13AD + 0.99BC + 0.50BD + 1.28CD - 0.55A^2 - 2.571B^2 - 1.46C^2 - 1.00D^2$，最优提取条件为：乙醇体积分数 45%、液料体积质量比 20 mL/g、450 W 超声功率下超声处理 6 min，纤维素酶质量浓度 1.25 mg/mL、酶解时间80 min、酶解温度 50 ℃。此条件下牛蒡多酚的提取量最大，达 41.33 mg/g，比超声波辅助法和纤维素酶法分别的多酚得率分别提高了 39.30%、25.13%。

通过检测牛蒡多酚的 DPPH 自由基清除能力、抗超氧阴离子自由基能力、羟自由基清除能力发现，所提牛蒡多酚具有较强的抗氧化活性，其对 DPPH 自由基的清除作用最强，对羟基自由基的清除作用较弱。

参考文献：

[1] HUANG Jiapeng,ZHANG Min,ZHENG Danan. Effects of frozen pre-treatment and pulse-spouted microwave vacuum drying on the quality of dehydrated burdock[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2015,34(12):1262- 1268. (in chinese)

[2] FAN Jinbo,CAI Xitong,FENG Xuqiao,et al. Optimization of process for ultra high pressure-assisted synchronous extraction of polyphenols and flavones from burdock roots and their antioxidant activity[J]. **Food Science**,2015,36(6):69-75. (in chinese)

[3] HU Xi1an,XU Ruibo,CHEN Yu. Extraction and Biological Activity of Polysaccharides from of Burdock (*Arctium lappa* L.) Leaves[J]. **Food Science**,2013,34(2):78-82. (in chinese)

[4] MIN-SEONG H,JI-HYEON K,YOU-SIN K. Effects of aquarobic exercise and burdock intake on serum blood lipids and vascular elasticity in Korean elderly women[J]. **Experimental Gerontology**,2018,101: 63- 68.

[5] ZAIXIANG L,HONGXIN W,DANXI W,et al. Preparation of inulin and phenols-rich dietary fibre powder from burdock root[J]. **Carbohydrate Polymers**,2009,78(4):666-671.

[6] Moro TMA,Celegatti,CM,Pereira APA,et al. Use of burdock root flour as a prebiotic ingredient in cookies[J]. **LWT–Food Science and Technology**,2018,90: 540-546.

[7] WANG Liwen,PAN Jiazhen. Extraction process of micro jet of supercritical fluid under hyper high pressure of inulin from arctium lappa L[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2008,27(6):61-64. (in chinese)

[8] XIE Jie,LI Hongjuan,ZHU Xingyi,et al. Optimization of homogenate extraction for arctiin from arctium lappa L. by response surface methodology[J]. **Food Science**,2010,31(24):33-36. (in chinese)

[9] WANG Ning,LIN Haizhu,LIU Hong,et al. On isolation and preparation of lignans from arctium lappa L.[J]. **Journal of Southwest China Normal University** (Natural Science Edition),2013,38(8):104-107. (in chinese)

[10] Hsueh-ChiaoLiuafMing-KunKubfFu-YenChung,et al. Effectiveness of great burdock essence compounds in the adjuvant

treatment of gastric ulcer patients infected with Helicobacter *pylori*[J]. **Genomic Medicine, Biomarkers, and Health Sciences**, 2012,4(3):81-84.

[11] LI Fenfang,MA Yanhong,ZHAO Mizhen,et al. Optimization of strawberry polyphenol extraction and antibacterial activity evaluation[J]. **Jiangsu Agricultural Sciences**,2017,45(3):155- 158.(in chinese)

[12] WU Jianhua,WU Zhigui,PEI Jianguo,et al. Advances in studies on polyphenols[J]. **Modern Chinese Medicine**,2015,17(6):630-636.(in chinese)

[13] LI Yahui,MA Yanhong,HUANG Kaihong,et al. Ultrasonic- assisted enzymatic extraction and bioactivity assessment of anthocyanins from blackberry wine pomace[J]. **Food Science**,2015,36(6):63-67.(in chinese)

[14] YANG Hua,LIU Zhenchun,LIU Xiang,et al. Optimization of millet protein ultrasonic-assisted enzymatic extraction technology by response surface methodology[J]. **Journal of Jilin Agricultural University**,2017,39(4):477-482.(in chinese)

[15] LI Yahui,MA Yanhong,HUANG Kaihong,et al. Extraction of aloe polysaccharides by cellulase assisted with ultrasonic and studies on antitumor activity[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**,2015,15(11):91-96.(in chinese)

[16] Reza Mahdavi,Zeinab Nikniaz,Maryam Rafraf,et a1. Determ ination and comparison of total polyphenol and vitamin C contents of natural fresh and commercial fruit juices[J]. **Pakistan Journal of Nutrition**,2010,9(10):968- 972.

[17] MA Yanhong,LIU Zhaoting,LI Yahui,et al. Preparation and biological activities of crude extract from blueberry wine lees[J]. **Food Science**,2016,37(18):34-39.(in chinese)

[18] XU Jingzhu,WU Caie,YING Ruifeng,et al. Hypoglycemic and antioxidant activity of various polysaccharides from cyclocarya paliurus leaves in vitro[J]. **Journal of Nanjing Forestry University**(Natural Sciences),2017,41(4):6-12.(in chinese)

[19] YAN Dongmei,LI Renju,QIU Hua,et al. Extraction of tea polyphenols in camellia chryscath[J]. **Modern Food ScienceE and Technology**. 2007,23(9):45-49.(in chinese)

[20] CHEN Chun,WANG Tingsheng,LUO Zisheng,et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from sugarcane skin by response surface methodology[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**,2013,13(7):95-100.(in chinese)

[21] Yisa MG,Terao H,Noguchi N,et al. Stability criteria for tractor-implement operation on slopes[J]. **Journal of Terramechanics**,1998,35(1):1-19.

[22] 袁丽.球磨结合稀酸、真菌和超声处理法降解木质纤维素的研究[D].长沙:湖南大学,2012.

[23] Luíza M.G. Dalagnol,Vitória C.C. Silveira,Halisson Baron,et al. Improvement of pectinase,xylanase and cellulase activities by ultrasound: Effects on enzymes and substrates,kinetics and thermodynamic parameters[J]. **Process Biochemistry**,2017,61: 80-87.

[24] P. Alvira,E. Tomás-Pejó,M. Ballesteros ,et al. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis:A review[J]. **Bioresource Technology**,2010,101(13):4851-4861.