

田盛, 王祎, 吴德超, 等. 黑曲霉发酵牛蒡根的化学成分及对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制作用 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(10): 50–55. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060161

TIAN Sheng, WANG Yi, WU Dechao, et al. Chemical Composition of *Arctium lappa* Roots Fermented by *Aspergillus niger* and Its Inhibition on α -Glucosidase and α -Amylase[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(10): 50–55. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060161

· 研究与探讨 ·

黑曲霉发酵牛蒡根的化学成分及对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制作用

田 盛, 王 祎, 吴德超, 曲 扬*
(辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600)

摘 要:为明确黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 发酵对牛蒡 (*Arctium lappa*) 根的化学成分及其降糖活性的影响, 本文采用黑曲霉发酵牛蒡根, 分析不同发酵时间不同的发酵品对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制作用和化学成分的变化。酶抑制实验结果表明, 牛蒡根对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制作用随发酵时间延长而增强, 牛蒡根发酵后对二者的抑制率分别提升 17.8% 和 27.9%。采用主成分分析法 (PCA) 对化学成分分析结果进行统计分析, 结果表明不同时间的发酵产品可依据其化学组成为三个阶段, 即第一阶段 (1~5 d)、第二阶段 (6~14 d) 和第三阶段 (15~20 d)。通过偏最小二乘判别分析法 (PLS-DA) 对三个阶段的差异性成分进行分析, 发现绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A 是不同发酵时间牛蒡根中的主要差异性成分。在发酵后牛蒡根中的绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A 的含量升高, 分别可达到发酵前的 2.1、148.7 和 1.2 倍。相关性分析结果表明, 牛蒡根经黑曲霉发酵后对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制作用增强与绿原酸、咖啡酸和异绿原酸 A 含量升高有关。因此, 可以通过控制黑曲霉发酵的时间来达到提高牛蒡根中具有降糖作用的物质含量的目的。

关键词:牛蒡根, 黑曲霉, 微生物发酵, 咖啡酰基奎宁酸, 降糖活性

中图分类号: R151

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)10-0050-06

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060161



本文网刊:

Chemical Composition of *Arctium lappa* Roots Fermented by *Aspergillus niger* and Its Inhibition on α -Glucosidase and α -Amylase

TIAN Sheng, WANG Yi, WU Dechao, QU Yang*

(College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

Abstract: In order to clarify the influence on chemical constituents and antihypoglycemic activity of root of *Arctium lappa* (AL) after fermented by *Aspergillus niger* (*A. niger*), *A. niger* was applied to conduct fermentation process on AL, and effect of fermentation time on the inhibitory on α -glucosidase and α -amylase as well as on the chemical compositions were revealed. Results showed the inhibitory on α -glucosidase and α -amylase of AL was enhanced after fermentation with increase of 17.8% and 27.9%, respectively. Principle components analysis (PCA) was applied to analyze the chemical components in fermented AL, which clustered into three stages, i.e. first stage (1~5 d), second stage (6~14 d), and third stage (15~20 d). Partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) was applied to find the different components between fermented AL from different stages. The main different components were chlorogenic acid, caffeic acid, and isochlorogenic acid A, etc. The contents of chlorogenic acid, caffeic acid, and isochlorogenic acid A increased after fermentation, which were 2.1, 148.7, and 1.2 folds of unfermented AL, respectively. The increasing of inhibition on α -glucosidase and α -amylase of AL was related with the contents of chlorogenic acid, caffeic acid, and isochlorogenic acid A. Therefore, the

收稿日期: 2021-06-21

基金项目: 辽宁省教育厅 2019 科学研究项目 (L201949); 辽宁中医药大学大学生创新创业训练计划项目 (201910162059)。

作者简介: 田盛 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药分析化学, E-mail: 2837816525@qq.com。

* 通信作者: 曲扬 (1983-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 中药化学成分, E-mail: quyang_7@aliyun.com。

content of substances with antihypoglycemic activity in *Arctium lappa* root could be increased by controlling the fermentation time of *Aspergillus niger*.

Key words: *Arctium lappa* roots; *Aspergillus niger*; microbial fermentation; caffeoylquinic acid; antihypoglycemic activity

牛蒡(*Arctium lappa*)在世界范围内得到广泛应用,牛蒡子作为解表药被中国药典收录,牛蒡根主要作为蔬菜和茶饮食用,具有抗炎、抗肿瘤、降糖等多种活性^[1-3]。牛蒡根中的绿原酸等咖啡酰基奎宁酸具有抑制胃肠道内 α -葡萄糖苷酶的作用,这可能是其具有降糖作用的机制之一^[4-6]。绿原酸、咖啡酸等酚酸类化合物在植物体内与细胞壁结合,因减少了其酯化程度和位点限制了其发挥生物活性^[7-8]。

在微生物发酵过程中,微生物产生的酶能够将植物中的结合型酚类化合物转化为游离型,从而可以增强其活性^[9-10]。黑曲霉(*Aspergillus niger*)作为常用发酵菌株可产生纤维素酶、淀粉酶、脂酶等多种酶,能够分解细胞壁、降解食品原料中的成分,用于生产发酵食品^[9,11]。发酵食品的生物活性的提升与其中化学成分的变化密切相关,例如以黑曲霉发酵牛蒡茶后,其中可溶性糖和总黄酮含量均提高,并产生多种风味物质,但对牛蒡根经黑曲霉发酵前后的其他化学成分以及其对胃肠道消化酶的作用尚未见报道^[12-16]。因此,本文对黑曲霉发酵牛蒡根中的化学成分以及其对 α -葡萄糖苷酶及 α -淀粉酶的抑制作用进行研究,为采用发酵手段提升食品的生物活性提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

牛蒡 采自山东临沂,经辽宁中医药大学许亮教授鉴定为菊科、牛蒡属植物牛蒡(*Arctium lappa*)的根,切片后自然风干,粉碎后过 3 号筛备用;黑曲霉(编号 41125) 中国工业微生物菌种保藏管理中心(CICC);沙氏葡萄糖琼脂培养基 杭州微生物试剂有限公司; α -葡萄糖苷酶 Sigma 化学公司; α -淀粉酶、可溶性淀粉、还原型谷胱甘肽、对硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷(pNPG) 上海阿拉丁试剂有限公司;葡萄糖、乙醇 天津大茂化学试剂厂;生理盐水 山东齐都药业有限公司;磷酸缓冲液(pH6.8) 北京索莱宝科技有限公司;甲醇 色谱级,天津科密欧化学试剂有限公司;色谱级乙腈 Oceanpak Alexative Chemical;绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A 标准品 四川维克奇生物技术有限公司;超纯水 采用 Mili-Q system 自制。

UU2100 型紫外可见分光光度计 上海尤尼柯仪器有限公司;立式压力蒸汽灭菌器 上海博迅实业有限公司医疗设备厂;HD-650 型桌上台式洁净工作台 苏州净化设备有限公司;DNP-9082 电热恒温培养箱 上海精宏实验设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌种活化及孢子混悬液的制备 黑曲霉经沙

氏培养基培养 7 d 后,以生理盐水清洗琼脂表面收集孢子混悬液。在波长为 600 nm 下,用紫外分光光度仪测孢子混悬液的光密度(OD 值),以超纯水稀释使 OD 值为 2.0,备用。

1.2.2 黑曲霉发酵牛蒡根 牛蒡根粉 70 g 置于 500 mL 锥形瓶中,于 120 °C 灭菌 30 min 后加入黑曲霉孢子混悬液 30 mL 以及 70 mL 无菌水。充分混匀后于 28 °C 发酵 20 d。每天取样 1 g,于 120 °C 灭菌 30 min,于烘箱中 40 °C 烘干、保干器中保存,用于测定化学成分及酶抑制活性。

1.2.3 样品提取 取发酵牛蒡样品 0.2 g 以 2 mL 95% 乙醇超声(400 W)提取 30 min,上清液作为用于测定酶抑制活性的样品溶液。另取 1.5 mL 上清液氮气吹干后以 50 μ L 色谱甲醇涡旋复溶,14000 r/min 离心 10 min 后取上清液用于 HPLC 测定。取发酵牛蒡样品 0.6 g 以 6 mL 水超声提取 30 min,12000 r/min 离心 15 min 后取上清液用于测定总糖。

1.2.4 酶抑制实验

1.2.4.1 α -葡萄糖苷酶抑制实验 采用 pNPG 法测定发酵牛蒡对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用^[17]:空白管-加酶不加药(A_1)、空白对照管-不加酶不加药(A_2)、抑制管-加酶加药(A_3)、背景对照管-不加酶加药(A_4)。首先在各管中加入 0.003 mol/L GSH 20 μ L、0.0096 mol/L pNPG 50 μ L,在 3 和 4 号管中加入 50 μ L 样品溶液;随后在 1~4 号管中分别加入 PBS (pH6.8)480、520、430、470 μ L,于 37 °C 孵育 5 min;再在 1 和 3 号管中加入 5 U/mL α -葡萄糖苷酶溶液 40 μ L,继续孵育 20 min;最后在各管中加入 590 μ L 乙醇终止反应,于 400 nm 测定吸光度。抑制率(IP)以下式计算:

$$IP(\%) = \frac{(A_1 - A_2) - (A_3 - A_4)}{(A_1 - A_2)} \times 100$$

式中: $A_1 \sim A_4$ 代表 4 个测定管的吸光度。

1.2.4.2 α -淀粉酶抑制实验 采用碘比色法测定发酵牛蒡对 α -淀粉酶的抑制作用^[7]:空白管-加酶不加药(A_1)、空白对照管-不加酶不加药(A_2)、抑制管-加酶加药(A_3)、背景对照管-不加酶加药(A_4)。首先在 3 和 4 号管中加入 100 μ L 样品溶液,1 和 2 号管中加入等体积 95% 乙醇;1 和 3 号管中加入 50 U/ μ L α -淀粉酶 100 μ L,2 和 4 号管中加入等体积 PBS;随后于 37 °C 孵育 10 min 后于各管中加入 5 g/L 可溶性淀粉 1000 μ L,继续孵育 5 min 后加入 200 μ L 终止液(含 1% 氯化铜(w/v)、0.37% 盐酸(v/v));吸取反应液 200 μ L,加入碘液(含 0.012% 碘(w/v)、0.3% KI(w/v)),充分摇匀后立即在 580 nm 处测定吸光度。抑制率(IP)以下式计算:

$$IP(\%) = \frac{(A_2 - A_1) - (A_4 - A_3)}{(A_2 - A_1)} \times 100$$

式中: $A_1 \sim A_4$ 代表 4 个测定管的吸光度。

1.2.5 化学成分分析及含量测定 于 Agilent 1100 高效液相色谱仪上测定发酵牛蒡的化学组成。色谱柱: Diamonsil C_{18} (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 0.1% 磷酸水(A)-乙腈(B)(v/v)梯度洗脱, 洗脱梯度如下: 0~10 min, 3% B~10% B; 11~15 min, 10% B~16% B; 16~25 min, 16% B~22% B; 26~30 min, 22% B~26% B; 31~50 min, 25% B; 51~61 min, 25% B~55% B; 61~75 min, 55% B~90% B。流速: 1 mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量 10 μ L。检测波长: 220 nm^[18]。采用外标法测定发酵牛蒡中的绿原酸、咖啡酸和异绿原酸 A。绿原酸和异绿原酸 A 在 3.3~1000 μ g/mL 内线性关系良好, 咖啡酸在 3.3~330 μ g/mL 范围内线性关系良好。绿原酸、咖啡酸和异绿原酸 A 的线性回归方程分别为: $Y=18525X-86.738(r=0.9999)$, $Y=17290X+60.617(r=0.9997)$, $Y=22588X-23.476(r=0.9996)$ 。

1.3 数据处理

含量及抑制率测定结果用平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。色谱分析结果采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统转换为含有保留时间和峰面积的数据表格, 随后采用 SIMCA-P 12.0 进行主成分分析(PCA)和偏最小二乘判别分析(PLS-DA)。采用 SPSS 20.0 进行化学成分与酶抑制活性的相关性分析。

2 结果与分析

2.1 牛蒡根发酵品对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性

未发酵的牛蒡根即对 α -葡萄糖苷酶具有较好的抑制作用, 抑制率为 80%。牛蒡根对 α -葡萄糖苷酶抑制率在发酵后提升。在发酵第 1~3 d 增加明显, 在第 4~5 d 抑制率缓慢增强, 第 6 d 即增长至 90%, 在随后的发酵过程中, 该抑制率基本保持在 90% 以上, 并且随着发酵时间的延长, 抑制率升高。在发酵第 20 d, 抑制率达到 97.8%。未发酵的牛蒡根对 α -淀粉酶的抑制率较低, 仅为 4.17%, 在发酵后随着发酵时间的延长, 抑制率升高(见图 1A 和 1B), 在发酵第 20 d, 抑制率达到 32.1%。该结果表明可以通过调整发酵时间调节牛蒡根对两种酶的抑制活性。牛蒡子中的咖啡酰基奎宁酸类成分对 α -葡萄糖苷酶有抑制作用, 其中 5-O-咖啡酰基奎宁酸(绿原酸)和 3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸(异绿原酸 A)的抑制作用优于 3-O-咖啡酰基奎宁酸(新绿原酸)和 3, 4-O-二咖啡酰基奎宁酸(异绿原酸 B)^[19], 小鼠在体实验表明咖啡酸能够抑制小鼠体内 α -葡萄糖苷酶活性^[20]; 此外, 咖啡酰基奎宁酸类物质能够抑制 α -淀粉酶的活性, 双咖啡酰基奎宁酸的效果优于单取代咖啡酰基奎宁酸^[21], 绿原酸的半数抑制浓度(IC_{50})是咖啡酸的 5 倍^[22], 牛蒡根经黑曲霉发酵后对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制

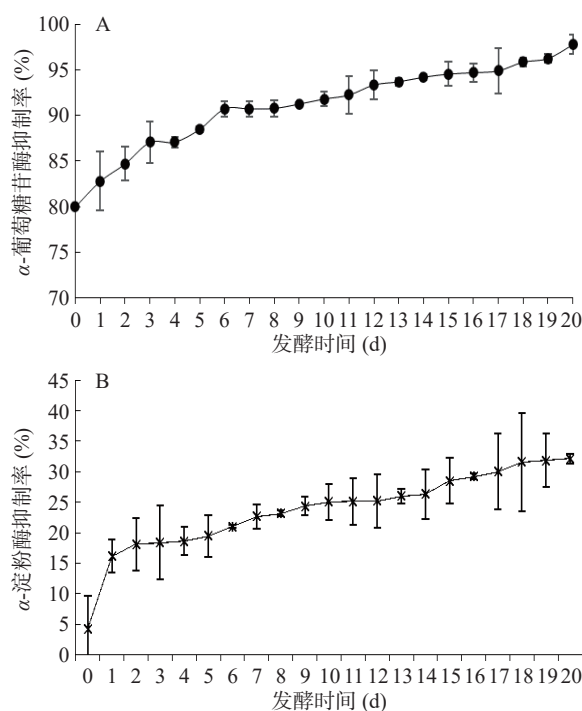


图1 黑曲霉发酵牛蒡根对 α -葡萄糖苷酶(A)和 α -淀粉酶(B)的抑制作用

Fig.1 Inhibition effect of of *Arctium lappa* roots fermented by *Aspergillus niger* on α -glucosidase(A) and α -amylase (B)

作用升高可能与该类成分的含量变化有关。

2.2 牛蒡根发酵品的化学成分

2.2.1 HPLC 分析牛蒡根发酵品的化学成分 采用 HPLC 分析牛蒡根发酵品中的化学成分, HPLC 指纹图谱见图 2, 共匹配出 23 个共有峰, 各谱图与对照谱图的相似度在 0.21~0.74, 表明经过黑曲霉发酵后牛蒡根中的化学成分发生变化。将谱图信号转换为包含峰面积和保留时间数据表进行 PCA 和 PLS-DA 等多元统计分析。

2.2.2 牛蒡根发酵品化学成分的 PCA 分析 对牛蒡根发酵品中的化学成分进行 PCA 分析, 结果见图 3。根据各样品在图中的分布情况可知, 牛蒡根发酵品依其化学组成及发酵时间可大致分为三组, 即第一组(1~5 d)、第二组(6~14 d)、第三组(15~20 d)。对数据进一步进行 PLS-DA 分析, 表明峰 8、9、14 的 VIP 值较大(见图 4), 是区分不同发酵阶段牛蒡根发酵品的主要成分。通过与对照品进行比对, 将峰 8、9、14 确认为绿原酸、咖啡酸和异绿原酸 A。牛蒡根在发酵后对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制作用发生变化可能与这些化学成分有关。

2.2.3 牛蒡根发酵品中绿原酸、咖啡酸和异绿原酸 A 的含量测定 牛蒡根发酵品中的绿原酸、咖啡酸和异绿原酸 A 的含量变化趋势如图 5 所示。绿原酸的含量在牛蒡根发酵过程中逐渐升高, 从最初的 0.26 mg/g(0 d) 升至 0.54 mg/g(18 d), 随后略有降低。在未发酵的牛蒡根中咖啡酸的含量仅为 0.003 mg/g, 远低于绿原酸的含量; 在发酵的第 4 d, 咖啡酸含量

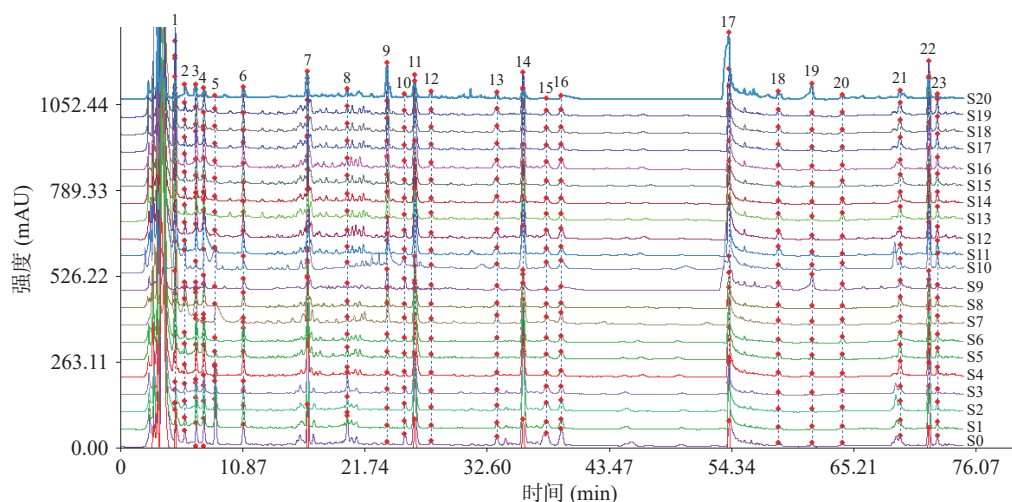


图 2 牛蒡根发酵品的指纹图谱

Fig.2 Fingerprint of fermented *Arctium lappa* root

注: S0 为未发酵的牛蒡根样品, S1~S20 分别为发酵 1~20 d 的牛蒡根样品; 图 3 同。

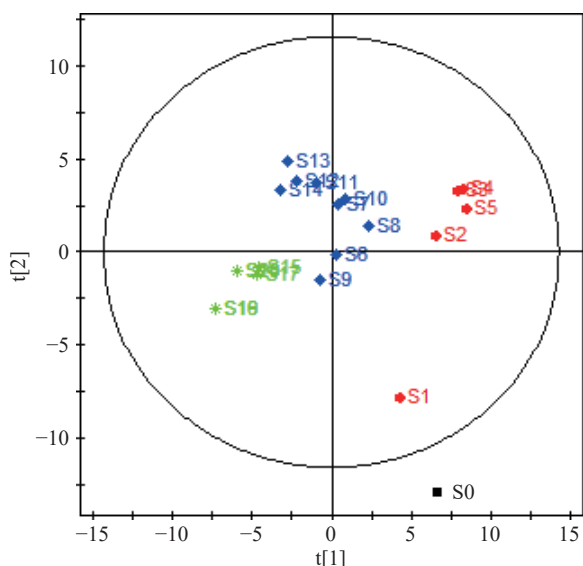


图 3 牛蒡根发酵品化学成分的 PCA 分析
(R^2X : 0.66, Q^2 : -0.0345)

Fig.3 Principal component analysis (PCA) scores plots A for fermented *Arctium lappa* (R^2X : 0.66, Q^2 : -0.0345)

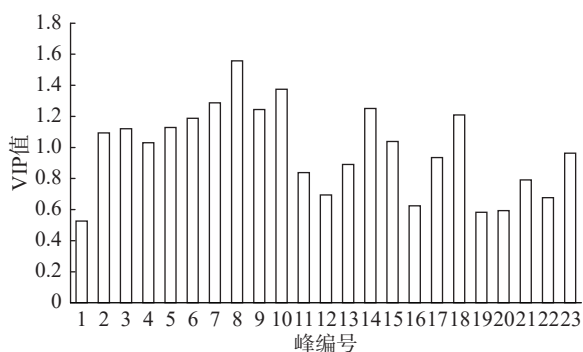


图 4 牛蒡根发酵品化学成分 PLS-DA 分析中的 VIP 值

Fig.4 Variables with VIP values generated from PLS-DA of fermented *Arctium lappa*

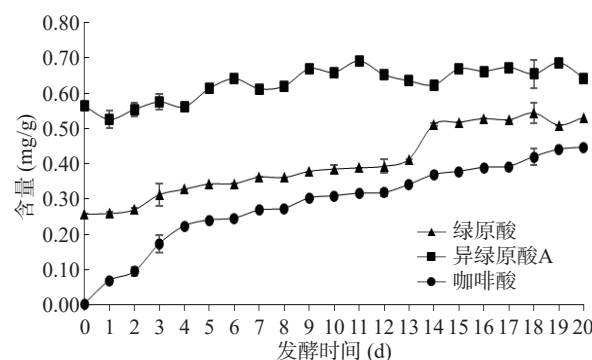


图 5 牛蒡根发酵品中的绿原酸、咖啡酸和
异绿原酸 A 的含量

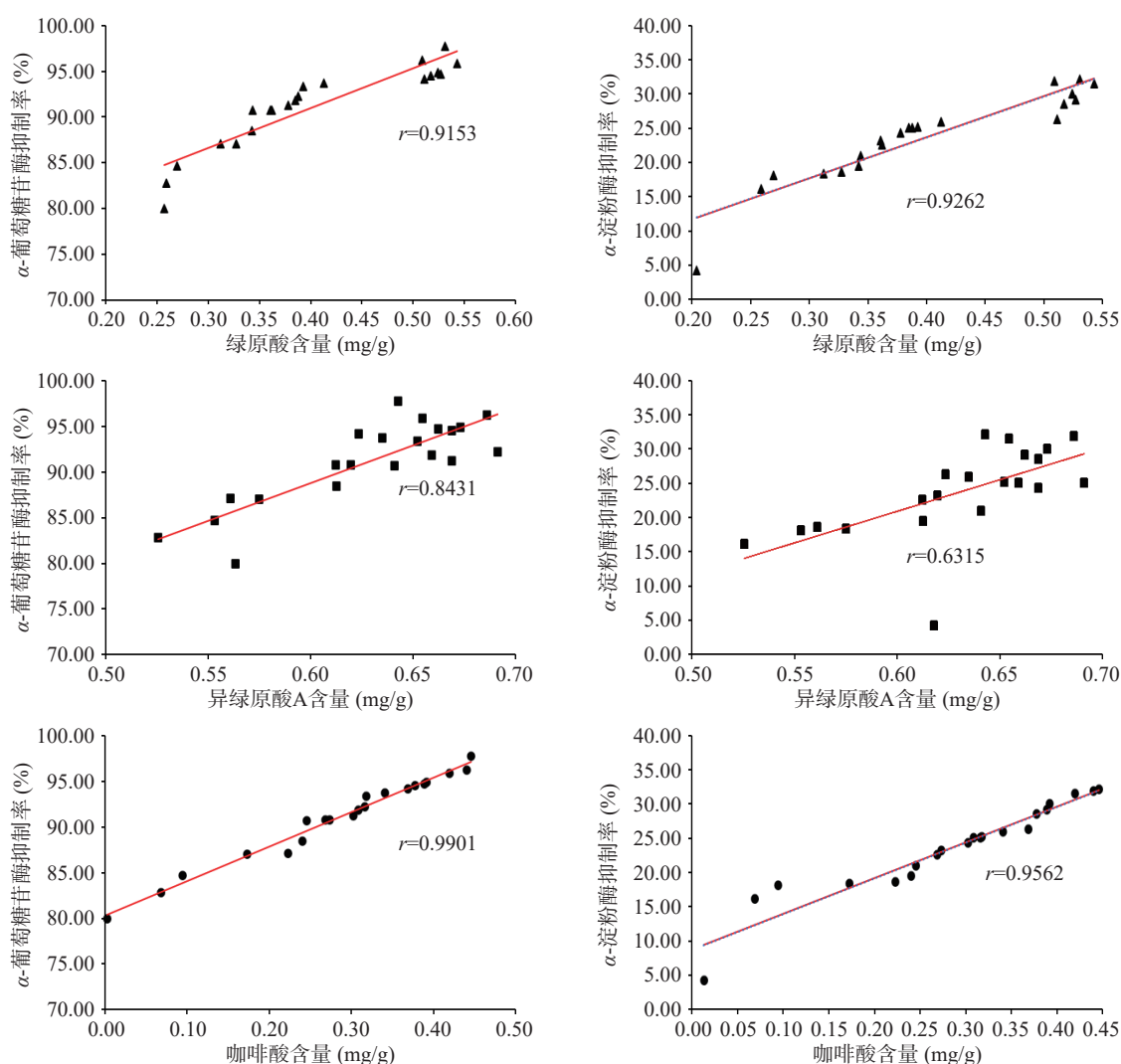
Fig.5 Contents of chlorogenic acid, caffeic acid, and isochlorogenic acid A in fermented *Arctium lappa*

发酵牛蒡根中为 0.56 mg/g, 在发酵的第 11 d 升至 0.69 mg/g, 随后保持在 0.62~0.68 mg/g 之间。与绿原酸和咖啡酸不同的是, 异绿原酸 A 的含量升高趋势不如绿原酸和咖啡酸明显。由于异绿原酸 A 是由两分子咖啡酸和一分子奎宁酸组成, 并且可以分解为绿原酸, 因此在发酵过程中释放出的异绿原酸 A 有可能分解为咖啡酸或绿原酸, 导致其含量上下波动^[23-24]。

2.3 牛蒡根发酵品对 α -葡萄糖苷酶抑制活性与化学成分相关性分析

前两部分的实验结果表明, 牛蒡根经黑曲霉发酵后对 α -葡萄糖苷酶抑制活性的提升与绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A 以及糖含量变化有关。相关性分析结果表明, 牛蒡根发酵品对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制作用与绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A 含量极显著相关 ($P < 0.01$) (见图 6)。对牛蒡子中的 α -葡萄糖苷酶抑制剂的筛选结果表明, 咖啡酰基奎宁酸类成分是牛蒡子的降糖成分, 在体外实验中异绿原酸 A 的活性最强, 而在体内实验中绿原酸的活性最佳^[19]。绿原酸和异绿原酸 A 在体内约有 1/3 被吸收入血,

即升至 0.22 mg/g, 并且在整个发酵过程中不断升高, 在第 20 d, 达到 0.44 mg/g。异绿原酸 A 的含量在未

图6 牛蒡根中化学成分与 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性相关性Fig.6 Correlation between AL chemical composition and α -glucosidase and α -amylase inhibitory

此外还可小肠中糖苷酶和酯酶的作用下生成奎宁酸和咖啡酸^[25-27]。咖啡酸能降低2型糖尿病大鼠的空腹血糖^[28]。发酵牛蒡根对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制作用的增强与牛蒡根经发酵后绿原酸、咖啡酸以及异绿原酸A等酚酸类成分的含量升高有关,与文献报道的该类成分在体内体外模型中具有降糖活性的研究结果相吻合。相关性分析结果表明黑曲霉发酵牛蒡根的酶抑制活性变化与其化学成分变化相关,二者均与发酵时间有关。

3 结论

本研究对不同发酵时间的黑曲霉发酵牛蒡根中的化学成分及其对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用进行研究。经过发酵后,牛蒡根对 α -葡萄糖苷酶抑制率最高可提升17.8%(20 d),对 α -淀粉酶的抑制率可提升27.9%(20 d),绿原酸、咖啡酸、异绿原酸A的含量分别可达到发酵前的2.1(18 d)、148.7(20 d)和1.2(11 d)倍,相关性分析结果表明牛蒡根对 α -葡萄糖苷酶和淀粉酶的抑制作用与该三个成分的含量相关。控制发酵时间能够使牛蒡根对 α -葡萄糖苷酶和淀粉酶的抑制活性提升。此外,绿原酸、咖啡酸、异绿原酸

A的含量在牛蒡根发酵初期明显升高,因此牛蒡根发酵品也可作为咖啡酰基奎宁酸的制备原料。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2020, 73. [.State Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Part I)[S]. Beijing: China Medical Science and Technology Standard Press, 2020, 73.]
- [2] CHAN Y S, CHENG L N, WU J H, et al. A review of the pharmacological effects of *Arctium lappa* (burdock)[J]. *Inflammopharmacology*, 2010, 19(5): 245-254.
- [3] ROMUALDO G R, SILVA E D A, DA SILVA T C, et al. Burdock (*Arctium lappa* L.) root attenuates preneoplastic lesion development in a diet and thioacetamide-induced model of steatohepatitis-associated hepatocarcinogenesis[J]. *Environmental Toxicology*, 2020, 35(4): 518-527.
- [4] FERRACANE R, GRAZIANI G, GALLO M, et al. Metabolic profile of the bioactive compounds of burdock (*Arctium lappa*) seeds, roots and leaves[J]. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 2010, 51(2): 399-404.
- [5] 刘雪辉, 李觅路, 谭斌, 等. 紫甘薯茎叶中绿原酸及异绿原酸对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(3): 103-107. [LIU X H, LI M L, TAN B, et al. Inhibitory effects of

- chlorogenic acid and isochlorogenic acid from purple sweet potato leaves on α -glucosidase[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(3): 103–107.]
- [6] ZHENG Y X, YANG W H, SUN W X, et al. Inhibition of porcine pancreatic α -amylase activity by chlorogenic acid[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 64: 103587.]
- [7] 张雪娇, 田欢, 刘春叶, 尤静. 可见分光光度法测定 α -淀粉酶活力[J]. *化学与生物工程*, 2020, 37(3): 65–68. [ZHANG X J, TIAN H, LIU C Y, et al. Determination of the activity of α -amylase by visible spectrophotometry[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2020, 37(3): 65–68.]
- [8] PADAYACHEE A, NETZEL G, NETZEL M, et al. Binding of polyphenols to plant cell wall analogues-part 2: Phenolic acids[J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(4): 2287–2292.]
- [9] YIN Z N, WU W J, SUN C Z, et al. Comparison of releasing bound phenolic acids from wheat bran by fermentation of three *Aspergillus* species[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2017, 53(5): 1120–1130.]
- [10] HAN C H, HONG S Y, LEE H H, et al. Enhancement of 1-deoxyojirimycin content in leaf extracts of *Morus alba* L. by lactic acid bacteria fermentation[J]. *Research on Crops*, 2017, 18(4): 783–788.]
- [11] LI C, ZHOU J W, DU G C, et al. Developing *Aspergillus niger* as a cell factory for food enzyme production[J]. *Biotechnology Advances*, 2020, 44(15): 107630.]
- [12] ZHANG X Y, CHEN J, LI X L, et al. Dynamic changes in antioxidant activity and biochemical composition of tartary buckwheat leaves during *Aspergillus niger* fermentation[J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 32: 375–381.]
- [13] XIAO Y, WU X, YAO X, et al. Metabolite profiling, antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of buckwheat processed by solid-state fermentation with *Eurotium cristatum* YL-1[J]. *Food Research International*, 2021, 143(11): 110262.]
- [14] WANG X, HAN M, ZHANG M, et al. *In vitro* evaluation of the hypoglycemic properties of lactic acid bacteria and its fermentation adaptability in apple juice[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 136(1): 110363.]
- [15] RYAN C M, KHOO W, YE L, et al. Loss of native flavanols during fermentation and roasting does not necessarily reduce digestive enzyme-inhibiting bioactivities of cocoa[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2016, 64(18): 3616–3625.]
- [16] 屠玥之, 姜启兴, 于沛沛, 等. 发酵牛蒡茶的风味物质与营养成分研究[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(17): 337–342. [TU Y Z, JIANG Q X, YU P P, et al. Volatile flavor compounds and nutrients analysis of fermented burdock tea[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(17): 337–342.]
- [17] NATSIR H, WAHAB A W, LAGA A, et al. Inhibitory activities of *Moringa oleifera* leaf extract against α -glucosidase enzyme *in vitro*[J]. *Journal of Physics Conference Series*, 2018, 979: 012019.]
- [18] 孙小玲, 何凡. 牛蒡根 RRLC 指纹图谱研究[J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(2): 382–384. [SUN X L, HE F. RRLC fingerprint of *Arctium lappa* root[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2017, 28(2): 382–384.]
- [19] 张华婷, 王源, 阮克锋, 等. 中药牛蒡子中的 α -葡萄糖苷酶抑制剂研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(2): 163–168. [ZHANG H T, WANG Y, RUAN K F, et al. Study on α -glucosidase inhibitors in *Arctii Fructus*[J]. *Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology*, 2020, 31(2): 163–168.]
- [20] 郑子新, 宋瑞霞, 滕俊英, 等. 咖啡酸对正常小鼠糖脂代谢的影响[J]. *中国临床康复*, 2005, 9(23): 121–123. [ZHENG Z X, SONG R X, TENG J Y, et al. Effects of caffeic acid on carbohydrate and lipid metabolism of normal mice[J]. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation*, 2005, 9(23): 121–123.]
- [21] 徐冬兰, 王晴川, 曾晓雄, 等. 苦丁冬青苦丁茶咖啡酰奎尼酸类物质与 α -淀粉酶的相互作用特性[J]. *食品科学*, 2016, 37(13): 6–12. [XU D L, WANG Q C, ZENG X X, et al. Interaction properties of caffeoylquinic acid derivatives from *Ilex kudringcha* C. J. Tseng with α -amylase[J]. *Food Science*, 2016, 37(13): 6–12.]
- [22] NARITA Y, INOUE K. Kinetic analysis and mechanism on the inhibition of chlorogenic acid and its components against porcine pancreas α -amylase isozymes I and II[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2009, 57(19): 9218–25.]
- [23] KOJIMA M, KONDO T. An enzyme in sweet potato root which catalyzes the conversion of chlorogenic acid, 3-caffeoylquinic acid, to isochlorogenic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1985, 49(8): 2467–2469.]
- [24] DAWIDOWICZ A L, TYPEK R. Transformation of chlorogenic acid during the coffee beans roasting process[J]. *European Food Research and Technology*, 2017, 243: 379–390.]
- [25] 李云, 周明眉, 邢丽娜, 等. 绿原酸的肠道菌群代谢研究进展[J]. *中草药*, 2015, 46(4): 610–614. [LI Y, ZHOU M M, XING L N, et al. Advances in study on gut flora metabolism of chlorogenic acid[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2015, 46(4): 610–614.]
- [26] 程凝格, 王素军, 曾洁, 等. 异绿原酸 A 在大鼠体内的生物利用度和药物代谢动力学[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(16): 79–82. [CHENG X G, WANG S J, ZENG J, et al. Absolute bioavailability and pharmacokinetics of isochlorogenic acid in rats[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2015, 21(16): 79–82.]
- [27] WANG J, CAO G, WANG H, et al. Characterization of isochlorogenic acid A metabolites in rats using high-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Biomedical Chromatography*, 2017: e3927.]
- [28] 裴瑜, 董旭, 唐心一, 等. 咖啡酸对 2 型糖尿病大鼠血糖浓度的影响[J]. *中国当代医药*, 2018, 25(25): 16–18, 22. [PEI Y, DONG X, TANG X Y, et al. Influence of caffeic acid on blood glucose concentration in rats with type 2 diabetes mellitus[J]. *China Modern Medicine*, 2018, 25(25): 16–18, 22.]