

复合酶协同超声提取藜麦皂苷及其抗氧化性

雷蕾, 张炜*, 刘龙, 于小栋, 辛小丽, 田格

(青海师范大学 化学化工学院, 青海 西宁 810008)

摘要: 采用复合酶协同超声提取藜麦种皮皂苷, 并对其抗氧化活性进行了测定。以藜麦皂苷的提取率为指标, 考察了酶配比 m (纤维素酶): m (果胶酶)、酶用量、酶解温度、pH、酶解时间对藜麦皂苷提取率的影响, 并用响应面法进行了优化。得到最佳工艺条件为: 总酶用量 (以藜麦种皮质量为基准, 下同) 为 1.5%, 酶配比 m (纤维素酶): m (果胶酶) 为 3:2, 酶解温度为 50.5 °C, pH 为 5.5, 酶解时间为 0.25 h。在该条件下, 藜麦皂苷的提取率较高, 达到 85.32%; 该法对藜麦种皮皂苷的提取率比单一纤维素酶提取率 (81.56%) 高 4.41%, 比单一果胶酶提取率 (82.20%) 高 3.66%, 比单独超声提取率 (73.07%) 高 16.76%。采用清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基 (DPPH·) 的能力, 分析藜麦皂苷的抗氧化活性, 结果表明, 藜麦皂苷具有显著的抗氧化活性, 且与皂苷的质量浓度呈剂量依赖性。

关键词: 藜麦种皮; 皂苷; 复合酶; 超声; 响应面法; 抗氧化活性; 中药现代化技术

中图分类号: O629.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2019) 03-0469-07

Complex Enzyme Assisted Ultrasonic Extraction of Saponins from Quinoa Husk and Its Antioxidant Activity

LEI Lei, ZHANG Wei*, LIU Long, YU Xiao-dong, XIN Xiao-li, TIAN Ge

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Qinghai Normal University, Xining 810008, Qinghai, China)

Abstract: Saponins were extracted from quinoa husk using complex enzyme assisted ultrasonic technology and its antioxidant activity was measured. The effects of enzyme ratio (mass ratio of cellulase to pectinase), enzyme dosage, enzyme hydrolysis temperature, pH value and enzyme hydrolysis time on the extraction yield of quinoa saponins by single factor experiment. On the basis of the single factor experiment, response surface methodology was used to optimize the technical parameters, and the optimum parameters were as follows: total enzyme dosage (based on the mass of quinoa husk, the same below) 1.5%, enzyme ratio (mass ratio of cellulase to pectinase 3:2), enzyme hydrolysis temperature 50.5 °C, pH=5.5, and enzyme hydrolysis time 0.25 h. Under these optimum conditions, the extraction yield of quinoa saponins reached a maximum of 85.32%, which was 4.41% higher than that using only cellulase (81.56%), 3.66% higher than that using only pectinase (82.20%), and 16.76% higher than that using only ultrasonic extraction (73.07%). The antioxidant activity of the extracted saponins was evaluated by DPPH·. The results showed that the saponins extracted from quinoa husk had significant antioxidant activity, and saponins' concentration and antioxidant activity was in a dose-dependent manner.

Key words: quinoa husk; saponins; complex enzyme; ultrasonic; response surface methodology; antioxidant activity; modernization technology of traditional Chinese medicines

Foundation item: Basic Research Project of Qinghai Province (2017-ZJ-712)

藜麦 (*Chenopodium quinoa Willd L.*) 又称南美藜, 是起源于南美洲安第斯山脉地区的双子叶植物^[1-4], 富含维生素、微量元素 (如矿物质钾、铁、钙等)、膳食纤维、蛋白质及人体必

收稿日期: 2018-06-22; 定用日期: 2018-11-19; DOI: 10.13550/j.jxhg.20180458

基金项目: 青海省基础研究计划项目 (2017-ZJ-712)

作者简介: 雷蕾 (1994—), 女, 硕士生, E-mail: 1257502773@qq.com。联系人: 张炜 (1972—), 女, 教授, E-mail: zhangwei@qhnu.edu.cn。

需的氨基酸^[5-7],同时含有皂苷、多酚类、黄酮类、植物甾醇等生物活性成分,具有抗真菌、抗病毒、抗癌、降胆固醇、降血糖、抗血栓、利尿、抗炎等多种功效^[8-10],被称为“粮食之母”,被定义为“21世纪的粮食之一”^[11-12]。

虽然藜麦引种已遍布全球,成为食品领域的研究热点,但中国对藜麦的研究仍处于育种、种植和初加工阶段,对藜麦营养价值、活性物质及其应用的研究较少^[13-15]。藜麦种皮中含有丰富的皂苷,是天然皂苷的重要来源,质量分数为 0.14%~2.30%^[16],占藜麦中皂苷含量的 68%^[17]。提取皂苷的方法主要为有机溶剂提取法、酸水解法、超临界流体二氧化碳法和超声提取法^[18-20],但单一的提取方法存在提取率低、提取时间长、样品回收率差等缺点^[21-24]。生物酶可以水解蛋白质、纤维素、果胶等,具有操作时间短、成本低、作用条件温和等优点,被逐渐应用于天然产物的提取中。超声提取法(提取率 73.07%)通过超声空化、机械作用和热效应来加速细胞内活性物质的释放、扩散和溶解。为此,在超声提取前加入酶解工艺,以提高皂苷的提取率。但由于酶特异性强,作用范围较小,细胞壁破除率不高,皂苷的提取率(果胶酶 82.20%;纤维素酶 81.56%)较低。考虑到藜麦种皮中含有大量的纤维素以及果胶质等,因此,采用纤维素酶和果胶酶复合酶制剂,改变细胞壁的通透性,以提高皂苷的提取率^[25]。

本文以藜麦种皮为研究对象,采用复合酶辅助超声波法提取皂苷,综合了生物酶法以及超声波提取法的优点,并以对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基(DPPH·)的清除率为指标,考察了藜麦皂苷的体外抗氧化活性,实现了资源的再利用和可持续发展,为藜麦种皮皂苷的进一步开发利用提供了理论依据。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

藜麦种皮,青海三江沃土生态农业科技有限公司(经青海省食品药品检定所姜世贤研究员鉴定);纤维素酶(50000 U/g)、果胶酶(100000 U/g),宁夏和氏璧生物技术有限公司;齐墩果酸标准品、DPPH,上海源叶生物科技有限公司;香草醛、冰醋酸、高氯酸、乙醇和盐酸,AR,国药集团化学试剂有限公司。

TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司。

1.2 方法

1.2.1 香草醛-冰醋酸溶液的配制

准确称取 5 g 香草醛,用冰醋酸溶解并定容至

100 mL,摇匀,制得 50 g/L 的香草醛-冰醋酸溶液,备用。

1.2.2 齐墩果酸标准曲线的绘制^[15]

由于藜麦种皮皂苷主要为齐墩果酸型的三萜皂苷,选择齐墩果酸作标准品,用香草醛-高氯酸比色法进行皂苷浓度测定^[13,26]。其反应原理为:皂苷在强氧化性酸作用下发生脱氢,被氧化,与香草醛结合,生成一种紫色络合物。准确称取齐墩果酸标准品 25 mg,加少量乙醇溶解后,定容于 25 mL 容量瓶中,摇匀,制成 1 g/L 齐墩果酸标准溶液;用移液枪准确移取 10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 μ L 于 10 支 10 mL 试管中,70 $^{\circ}$ C 水浴下,挥发除去溶剂;加入 50 g/L 香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL、高氯酸 0.8 mL,摇匀;60 $^{\circ}$ C 水浴加热 15 min,取出后立即用冰水浴冷却 5 min;加入 4 mL 乙酸乙酯,以不加标准品溶液的样品作空白,在 400~800 nm 处进行紫外扫描,测得该样品在 550 nm 处有最大吸收。以标准物质量浓度和吸光度关系作线性回归,得标准曲线方程为 $A=0.04904\rho-0.01141$, $R^2=0.9994$ 。

1.2.3 藜麦种皮的预处理

将藜麦种皮样品过 80 目筛,在 50 $^{\circ}$ C 的烘箱中干燥至恒重,备用。

1.2.4 藜麦种皮的酶解以及皂苷的提取

准确称取 2 g 藜麦种皮粉于 250 mL 圆底烧瓶中,加入 30 mL 去离子水和酶制剂(总酶用量为 1.5%,以藜麦种皮粉质量为基准,下同)[m (纤维素酶): m (果胶酶)=3:2],调节体系 pH 为 5.0,电磁搅拌在 50 $^{\circ}$ C 下酶解 0.5 h;待酶解完成后,90 $^{\circ}$ C 下 30 s 灭酶^[27-28];加入 70 mL 无水乙醇,超声提取 20 min。将提取液减压过滤,滤渣重复提取 1 次(50 mL 体积分数为 70%的乙醇溶液),合并滤液。提取过程重复 5 次。采用分光光度法测定藜麦种皮皂苷浓度,并按式(1)计算皂苷提取率。

$$\text{提取率}/\% = \frac{m_1}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: m_1 为只提取 2 次的皂苷提取量,mg; m_0 为总皂苷质量,mg,即根据响应面实验得出的最佳提取工艺进行多次提取,直至提取液中皂苷质量为 0,并将其多次提取量进行加和所得。

1.2.5 藜麦皂苷的抗氧化性实验

将样品母液分别稀释为 200、400、600、800、1000、1200、1400、1600、1800、2000 mg/L。采用文献^[29]的方法进行测定,并用式(2)计算清除率。

$$\text{清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad (2)$$

式中: A_0 为空白对照实验测定的吸光度, 即未加样品的 DPPH 吸光度 (DPPH·溶液+溶剂); A_1 为样品组测定的吸光度, 即加入样品反应平衡后的吸光度 (DPPH·溶液+样品溶液); A_2 为干扰组测定的吸光度, 即样品本身的吸光度 (样品溶液+溶剂)。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验

2.1.1 纤维素酶用量对藜麦皂苷提取率的影响

准确称取 2 g 藜麦种皮粉, 控制酶解温度为 45 °C, 调节体系 pH 为 5.0, 酶解时间为 0.5 h, 选取纤维素酶用量 (以藜麦种皮质量为基准, 下同) 分别为 0、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%, 实验方法同 1.2.4 节。以提取率为评价指标, 考察了纤维素酶用量对提取率的影响, 结果如图 1 所示。

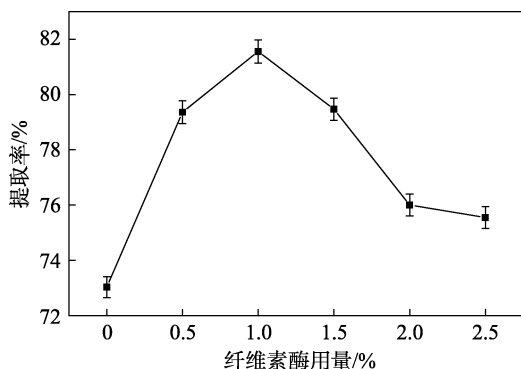


图 1 纤维素酶用量对提取率的影响

Fig. 1 Effect of dosage of cellulase on the extraction yield

如图 1 所示, 加酶量为 0~1% 时, 藜麦皂苷提取率随加酶量的增加而上升。可能是因为酶用量较低时, 酶能够全部参加反应, 上升速度较快, 在加酶量达到 1.0% 时, 提取率达到最大值, 为 81.56%; 但加酶量高于 1.0% 时, 提取率下降。可能是由于过多的酶使浸提液的黏稠度增加, 阻碍了皂苷的游离扩散, 不利于分离提取^[30-31]。因此, 选取最佳纤维素酶用量为 1.0%。

2.1.2 果胶酶用量对藜麦种皮皂苷提取率的影响

准确称取 2 g 藜麦种皮, 控制酶解温度为 50 °C, 调节体系 pH 为 5.0, 酶解时间为 1.0 h, 实验方法同 1.2.4 节。考察了果胶酶用量 (以藜麦种皮质量为基准, 下同) 对提取率的影响, 结果如图 2 所示。

如图 2 所示, 随着果胶酶用量的增加, 皂苷提取率不断增加, 说明酶催化反应速度与酶浓度呈正相关性, 尤其果胶酶用量在 1.0% 以下时, 增加较为明显; 酶用量在 1.5% 时, 达到最大值, 为 82.2%。从节约的角度考虑, 选取最佳果胶酶用量为 1.5%。

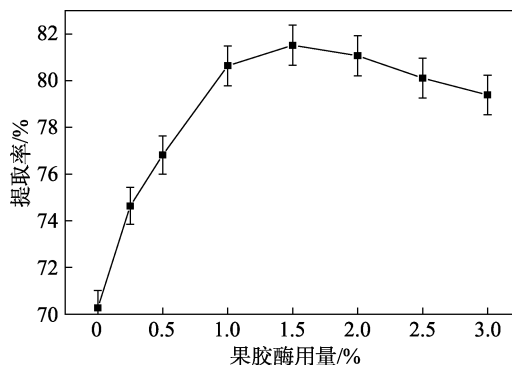


图 2 果胶酶用量对提取率的影响

Fig. 2 Effect of dosage of pectinase on the extraction yield

2.1.3 酶比对藜麦种皮皂苷提取率的影响

基于以上纤维素酶和果胶酶单独水解藜麦种皮提取皂苷的酶用量结果, 并考虑到经济成本, 准确称取 2 g 藜麦种皮, 控制总酶用量为 1.0%、1.5%, 酶解温度为 50 °C, 调节体系 pH 为 5.0, 酶解时间为 0.5 h, 实验方法同 1.2.4 节。考察了酶配比 m (纤维素酶) : m (果胶酶) 分别为 0 : 1、1 : 2、2 : 3、1 : 1、3 : 2、2 : 1、1 : 0 时对提取率的影响, 其余步骤同上。结果如图 3 所示。

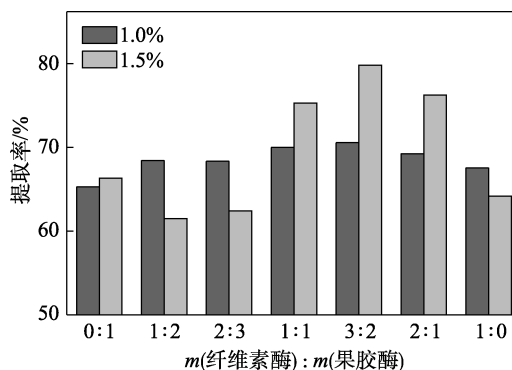


图 3 酶比对提取率的影响

Fig. 3 Effect of mass ratio of cellulase to pectinase on the extraction yield

如图 3 所示, 总酶用量为 1.5%, 酶配比为 3 : 2 时, 藜麦种皮皂苷的提取率最高。酶配比为 0 : 1 (只添加果胶酶), 总酶用量为 1.0% 的提取率比 1.5% 的提取率低; 酶配比为 1 : 0 (只添加纤维素酶), 总酶用量为 1.0% 的提取率比 1.5% 的提取率高。符合单酶单因素实验结果。主要是由于, 藜麦种皮中含有大量的纤维素以及果胶质, 添加纤维素酶以及果胶酶促进了皂苷向溶剂中的扩散。因此, 选取最佳总酶用量为 1.5%, m (纤维素酶) : m (果胶酶) = 3 : 2 进行后续实验。

2.1.4 酶解温度对藜麦种皮皂苷提取率的影响

准确称取 2 g 藜麦种皮, 控制总酶用量为 1.5%, 酶配比为 3 : 2, 调节体系 pH 为 5.0, 酶解时间为

0.5 h, 实验方法同 1.2.4 节。考察了酶解温度对提取率的影响, 结果见图 4。

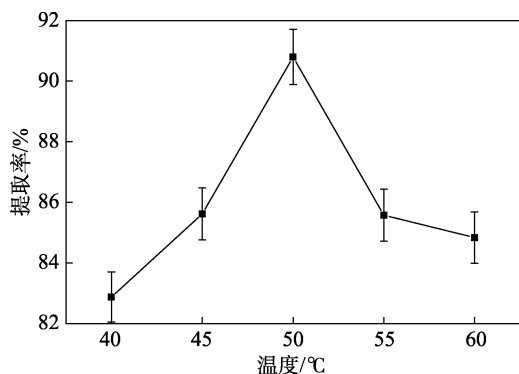


图 4 温度对提取率的影响

Fig. 4 Effect of temperature on the extraction yield

如图 4 所示, 酶解温度小于 50 °C 时, 随酶解温度的升高, 藜麦皂苷的提取率不断增加, 说明酶解温度与提取率呈正相关性; 当酶解温度大于 50 °C 时, 藜麦皂苷的提取率逐渐降低。这可能是由于温度过高, 导致酶活性降低。因此, 选取酶解温度为 50 °C 进行后续实验。

2.1.5 pH 对藜麦种皮皂苷提取率的影响

准确称取 2 g 藜麦种皮, 控制总酶用量为 1.5%, 酶配比为 3 : 2, 酶解温度为 50 °C, 酶解时间为 0.5 h, 实验方法同 1.2.4 节。考察了 pH 对提取率的影响, 结果如图 5 所示。

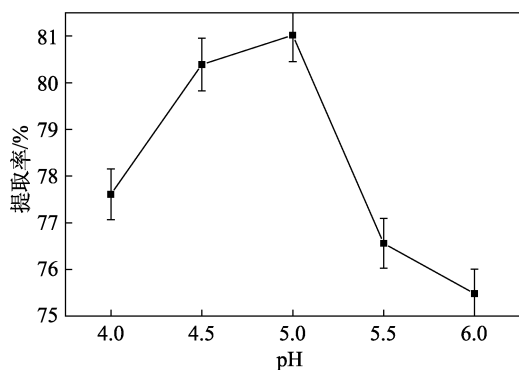


图 5 pH 对提取率的影响

Fig. 5 Effect of pH value on the extraction yield

如图 5 所示, 在 pH 为 4.0~5.0 时, 藜麦皂苷提取率逐渐上升; pH 超过 5.0 时, 藜麦皂苷提取率逐渐下降。这可能是由于 pH 不在酶的适用 pH 范围内, 导致酶活性降低。因此, 选取 pH 5.0 进行后续实验。

2.1.6 酶解时间对藜麦皂苷提取率的影响

准确称取 2 g 藜麦种皮粉, 控制总酶用量为

1.5%, 酶配比为 3 : 2, 酶解温度为 50 °C, 调节体系的 pH 为 5.0, 实验方法同 1.2.4 节。考察了酶解时间对提取率的影响, 结果如图 6 所示。

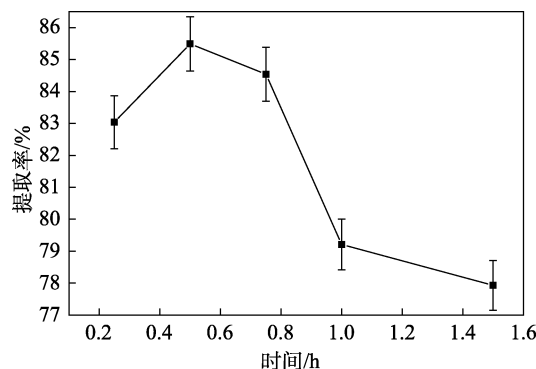


图 6 酶解时间对提取率的影响

Fig. 6 Effect of enzyme hydrolysis time on the extraction yield

如图 6 所示, 皂苷的提取率随酶解时间的延长呈现先上升后下降的趋势。当水解时间为 0.5 h 时, 皂苷的提取率达到最大值。随着时间的增加, 在一定范围内, 可促进皂苷的溶出; 但酶解时间过长导致皂苷降解, 使皂苷的提取率下降。因此, 为了缩短工作时间和减少能耗, 选取最佳酶解时间为 0.5 h [15]。

2.2 Box-Behnken 响应面优化实验

2.2.1 水平与因素的选取

由于酶配比对藜麦种皮皂苷提取率影响的原理和对实验结果的影响较为复杂, 在较低酶用量下酶解时间较长, 酶用量对提取率的影响与酶解时间一致。考虑到实验成本, 选择温度、pH 和时间进行响应面实验设计, 以提取率为响应值, 探究提取藜麦种皮皂苷的最佳工艺条件, 因素与水平的选择见表 1。

表 1 藜麦种皮皂苷响应面因素水平设计表
Table 1 Factor and level in response surface design

水平	因素		
	A 温度/°C	B pH	C 时间/h
-1	45	4.5	0.25
0	50	5.0	0.50
1	55	5.5	0.75

2.2.2 响应面实验设计和结果

选取酶解温度 (A)、pH (B)、酶解时间 (C) 进行三因素三水平的 Box-Behnken 响应面实验设计, 响应面实验设计及结果见表 2。

表 2 响应面实验设计及结果

Table 2 Response surface design and experimental results

序号	A 温度/°C	B pH	C 时间/h	提取率/%
1	45	5	0.25	77.96
2	55	5	0.75	76.87
3	50	5	0.5	84.59
4	55	5	0.25	85.17
5	50	5	0.5	84.13
6	50	5	0.5	84.24
7	50	5.5	0.75	82.82
8	45	5	0.75	82.7
9	55	5.5	0.5	84.07
10	50	5	0.5	84.13
11	50	4.5	0.25	83.11
12	50	5.5	0.25	86.17
13	55	4.5	0.5	80.09
14	50	4.5	0.75	83.25
15	50	5	0.5	84.53
16	45	4.5	0.5	81.05
17	45	5.5	0.5	79.67

2.2.3 回归模型的建立与检验

对表 2 数据用多元回归拟合后, 得到藜麦种皮皂苷提取率 (E) 与酶解温度 (A)、pH (B)、酶解时间 (C) 的回归方程: $E = -187.659 + 11.2775A - 23.1725B + 170.167C + 0.536AB - 2.608AC - 6.98BC - 0.12533A^2 + 0.117B^2 - 8.252C^2$ 。说明单因素对响应值的影响不是简单的线性关系。对回归方程进行方差分析, 结果见表 3。

由表 3 可知, 该模型 $F = 113.52$, $P < 0.0001$, 说明所建立的模型达到极显著水平, 只有 0.01% 的可能模型 F 值是由误差造成的。模型的调整确定系数 R^2 为 0.9932, 该模型能解释 99.32% 响应值的变化, 校正决定系数 R^2_{Adj} 为 0.9844, 可知该回归方程拟合度和可信度均很高; 失拟项 F 值为 3.72, 说明失拟

项对纯误差来说是不显著的, P 值为 0.1183, 说明由于误差造成失拟项 F 值的可能为 11.83%, 该模型拟合程度较高, 实验误差小, 故可用于设计范围内的预测。对表 3 回归模型系数的显著性分析可见, 一次项中, A 、 B 、 C 极显著, 交互作用项 AB 、 AC 、 BC 差异极显著, 二次项 A^2 极显著, C^2 差异显著, 而另一项 B^2 不显著。影响作用大小顺序: 时间 > pH 值 > 温度。因此, 酶解时间被认为是最重要的因素。

表 3 提取率线性回归分析表

Table 3 ANOVA for response of the extraction yield

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	108.21	9	12.02	113.52	<0.0001	**
A-温度	2.90	1	2.90	27.42	0.0012	**
B-pH	3.42	1	3.42	32.28	0.0007	**
C-时间	5.73	1	5.73	54.09	0.0002	**
AB	7.18	1	7.18	67.81	<0.0001	**
AC	42.51	1	42.51	401.37	<0.0001	**
BC	3.05	1	3.05	28.75	0.0011	**
A^2	41.34	1	41.34	390.28	<0.0001	**
B^2	0.00	1	0.004	0.03	0.8589	
C^2	1.12	1	1.12	10.57	0.0140	*
残差	0.74	7	0.106			
失拟项	0.55	3	0.182	3.72	0.1183	不显著
纯误差	0.20	4	0.049			
总和	108.95	16				

注: 不显著 ($P > 0.1$); *, 差异显著, $P < 0.05$; **, 差异极显著, $P < 0.01$ 。

2.2.4 响应曲面分析及最佳工艺条件的确定

两因素交互作用见图 7。根据图 7 结果, 使用软件 Design-Expert 8.0.6 为藜麦种皮皂苷提供最佳提取条件, 最佳条件为: 总酶量为 1.5%, 酶配比 m (纤维素酶) : m (果胶酶) = 3 : 2, 酶解温度为 50.61 °C, 体系 pH 值为 5.36, 酶解时间为 0.29 h。在此条件下, 藜麦皂苷提取率的预测值为 86.1705%。

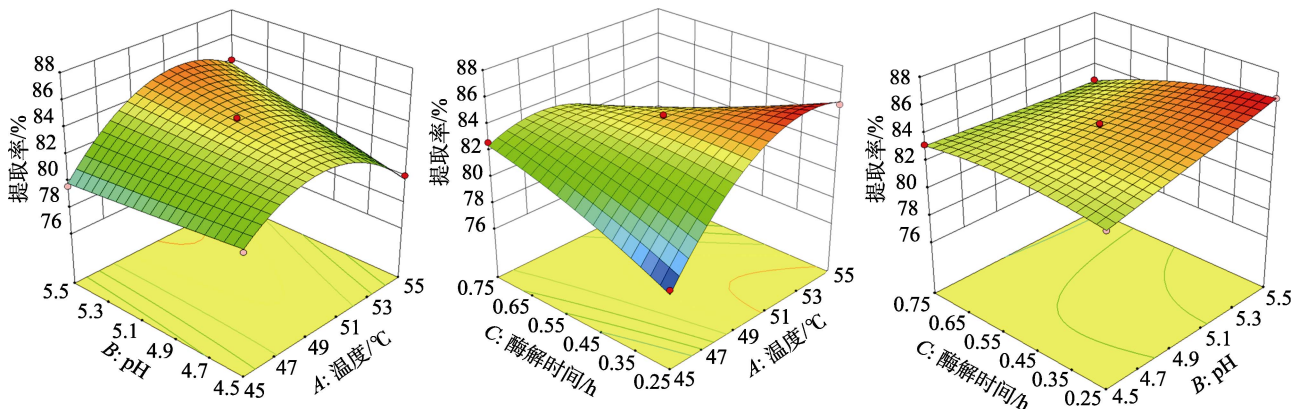


图 7 响应曲面 3D 图

Fig. 7 Response surface 3D plots for interaction

为验证预测模型的可靠性,采用响应面法预测条件进行验证实验。结合实际需求,优化条件分别为:总酶用量 1.5%,酶配比 m (纤维素酶): m (果胶酶)=3:2,酶解温度 50.5 °C, pH 5.5,酶解时间 0.25 h。在上述条件下,藜麦种皮皂苷的提取率为 85.32%,与预测值非常接近。说明采用响应面法得到的拟合模型能很好地预测提取率与各实验因素之间的关系,工艺条件参数可靠,具有一定的实际应用价值。

2.3 藜麦皂苷抗氧化性实验

藜麦皂苷对 DPPH· 的清除能力见图 8。如图 8 所示,藜麦种皮中的皂苷有清除 DPPH· 的能力,且清除力随皂苷质量浓度增大而升高,当质量浓度小于 1200 mg/L 时,线性关系良好,其相关系数为 0.9993,相关性显著;当质量浓度大于 1200 mg/L 后,清除力增长缓慢。皂苷对 DPPH· 的清除率最高可达到 85.53%,清除力良好。

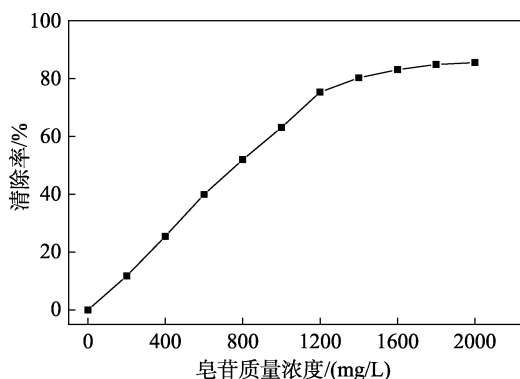


图 8 藜麦皂苷对 DPPH· 清除能力

Fig. 8 Removal ability of total saponins toward DPPH·

3 结论

在单因素实验的基础上,以提取率为评价指标,根据 Box-behnken 实验设计原理,采用响应曲面法优化藜麦种皮皂苷的提取工艺,得出最佳工艺条件:总酶用量为 1.5%,酶配比 m (纤维素酶): m (果胶酶)为 3:2,酶解温度为 50.5 °C, pH 为 5.5,酶解时间为 0.25 h。在此条件下,藜麦皂苷的提取率较高,达到 85.32%。复合酶协同超声提取藜麦种皮皂苷的提取率比单一纤维素酶的提取率(81.56%)高 4.41%,比单一果胶酶的提取率(82.20%)高 3.66%,比单独超声提取(73.07%)高 16.76%。结果表明,复合酶协同超声提取是一种高效、低耗能、低成本的藜麦种皮皂苷提取方法。对藜麦皂苷活性进行分析表明,藜麦皂苷具有清除 DPPH· 的能力,且呈现剂量效应,抗氧化能力与皂苷质量浓度相关性显著,为藜麦种皮皂苷的进一步开发利用提供了理论依据和实验参考。

参考文献:

- [1] Li G, Zhu F. Molecular structure of quinoa starch[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 158: 124-132.
- [2] Vilcacundo R, Hernández-Ledesma B. Nutritional and biological value of quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.)[J]. Current Opinion in Food Science, 2017, 14: 1-6.
- [3] Navruz-Varli S, Sanlier N. Nutritional and health benefits of quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.)[J]. Journal of Cereal Science, 2016, 69: 371-376.
- [4] Li G, Zhu F. Physicochemical properties of quinoa flour as affected by starch interactions[J]. Food Chemistry, 2017, 221: 1560-1568.
- [5] Lorusso A, Verni M, Montemurro M, et al. Use of fermented quinoa flour for pasta making and evaluation of the technological and nutritional features[J]. LWT - Food Science and Technology, 2017, 78: 215-221.
- [6] Nickel J, Spanier L P, Botelho F T, et al. Effect of different types of processing on the total phenolic compound content, antioxidant capacity, and saponin content of *Chenopodium quinoa* Willd grains[J]. Food Chemistry, 2016, 209: 139-143.
- [7] Nowak V, Du J, Charrondièrre U R. Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)[J]. Food Chemistry, 2016, 193: 47-54.
- [8] González-Teuber M, Vilo C, Bascuñán-Godoy L. Molecular characterization of endophytic fungi associated with the roots of *Chenopodium quinoa* inhabiting the Atacama Desert, Chile[J]. Genomics Data, 2017, 11: 109-112.
- [9] James L E A. Chapter 1 quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.) : Composition, chemistry, nutritional, and functional properties[J]. Advances in Food & Nutrition Research, 2009, 58: 1-31.
- [10] Graf B L, Rojas-Silva P, Rojo L E, et al. Innovations in health value and functional food development of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2015, 14(4): 431-445.
- [11] Kowalski R J, Medina-Meza I G, Thapa B B, et al. Extrusion processing characteristics of quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.) var. Cherry Vanilla[J]. Journal of Cereal Science, 2016, 70: 91-98.
- [12] Kuljanabhadgavad T, Wink M. Biological activities and chemistry of saponins from *Chenopodium quinoa*, Willd.[J]. Phytochemistry Reviews, 2009, 8(2): 473-490.
- [13] Vermeulen K, Verspreet J, Courtin C M, et al. Reduced particle size wheat bran is butyrogenic and lowers Salmonella colonization, when added to poultry feed[J]. Veterinary Microbiology, 2016, 198: 64-71.
- [14] Chen Y, Xie M Y, Gong X F. Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum*[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 81 (1): 162-170.
- [15] Kuljanabhadgavad T, Thongphasuk P, Chamulitrat W, et al. Triterpenesaponins from *Chenopodium quinoa* Willd.[J]. Phytochemistry, 2008, 69(9): 1919-1926.
- [16] Du Jingting (杜静婷), Chen Chao (陈超), Fan Sanhong (范三红). Optimization of extraction conditions for saponins from *Chenopodium quinoa* bran by response surface method and its antioxidant activities[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences (山西农业科学), 2016, 44(7): 932-937.
- [17] Wang Chenjing (王晨静), Zhao Xiwu (赵习武), Lu Guoquan (陆国权), et al. A review of characteristics and utilization of *Chenopodium quinoa*[J]. Journal of Zhejiang A & F University (浙江农林大学学报), 2014, 31(2): 296-301.
- [18] Ghasemzadeh A, Jaafar H Z E, Rahmat A, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of zerumbone from *Zingiber zerumbet* L. rhizome and evaluation of antiproliferative activity of optimized extracts[J]. Chemistry Central Journal, 2017, 11(1). DOI: 10.1186/s13065-016-0235-3.