

青稞酒糟脂溶性成分超临界 CO₂ 提取 工艺优化及其组成分析

张佳丽¹, 罗毅皓^{1*}, 孙万成¹, 冯声宝², 李善文²

(1. 青海大学农牧学院, 青海西宁 810016) (2. 青海互助天佑德青稞酒股份有限公司, 青海西宁 810016)

摘要: 以青稞酒糟为研究对象, 采用超临界 CO₂ 萃取法提取青稞酒糟脂溶性成分, 利用单因素和响应面试验确定最佳的提取条件, 并用气相色谱-质谱联用法 (Gas Chromatography-Mass Spectrometer, GC-MS) 对酒糟脂溶性成分中脂肪酸和甾醇的组成及含量进行分析。结果表明, 青稞酒糟脂溶性成分的最佳提取条件为: 装料系数 0.6, 萃取压力 25 MPa, 萃取温度 40 °C, 萃取时间 120 min, 脂溶性成分的提取得率达 5.50%。通过谱图解析和峰面积归一化法得出, 酒糟脂溶性成分中共分离鉴定出 18 种脂肪酸, 主要为亚油酸、棕榈酸和油酸, 不饱和脂肪酸 (Unsaturated Fatty Acid, USFA) 含量为 67.09%, 单不饱和脂肪酸 (Monounsaturated Fatty Acid, MUFA) 含量为 19.66%, 多不饱和脂肪酸 (Polyunsaturated Fatty Acid, PUFA) 含量高达 47.43%; 此外, 脂溶性成分中共分离鉴定出 9 种甾醇, β -谷甾醇的相对含量最高, 为 52.78%, 其次是樟脑酚即菜油甾醇 (12.80%) 和豆甾醇 (5.10%)。该研究可为青稞酒糟的深度开发和高值化利用提供理论依据。

关键词: 青稞酒糟; 脂溶性成分; 响应面法; 成分分析; 脂肪酸; 甾醇

文章编号: 1673-9078(2023)04-231-238

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.4.0507

Optimization of the Supercritical CO₂ Extraction Process and Composition Analysis of the Fat-soluble Components of Highland Barley Brewer's Spent Grains

ZHANG Jiali¹, LUO Yihao^{1*}, SUN Wancheng¹, FENG Shengbao², LI Shanwen²

(1. College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016, China)

(2. Qinghai Huzhu Tianyoude Highland Barley Spirit Co. Ltd., Xining 810016, China)

Abstract: The fat-soluble components of highland barley brewer's spent grains were extracted via supercritical CO₂ extraction, and the optimal extraction conditions were determined using single factor and response surface experiments. The composition and content of fatty acids and sterols in the fat-soluble components of brewer's spent grains were analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The optimal extraction conditions for the fat-soluble components of highland barley brewer's spent grains were as follows: loading coefficient, 0.6; extraction pressure, 25 MPa; extraction temperature, 40 °C; and extraction time, 120 min, which led to an extraction rate of 5.50%. According to spectral analysis and peak area normalization method, 18 types of fatty acids were isolated and identified from the fat-soluble components of brewer's spent grains, mainly linoleic acid, palmitic acid, and oleic acid. The content of unsaturated fatty acids (USFA) was 67.09%, that of monounsaturated fatty acid (MUFA) was 19.66%, and that of polyunsaturated fatty acid (PUFA) was 47.43%. Nine sterols were isolated and identified as fat-soluble components. β -sitosterol accounted for the highest relative content (52.78%), followed by camphorol (12.80%) and stigmaterol (5.10%). This study may provide a theoretical basis for the in-depth development and high-value utilization of highland barley

引文格式:

张佳丽, 罗毅皓, 孙万成, 等. 青稞酒糟脂溶性成分超临界 CO₂ 提取工艺优化及其组成分析[J]. 现代食品科技, 2023, 39(4): 231-238.

ZHANG Jiali, LUO Yihao, SUN Wancheng, et al. Optimization of the supercritical CO₂ extraction process and composition analysis of the fat-soluble components of highland barley brewer's spent grains [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(4): 231-238.

收稿日期: 2022-04-24

作者简介: 张佳丽 (1993-), 女, 硕士, 研究方向: 功能食品, E-mail: 2198913910@qq.com

通讯作者: 罗毅皓 (1976-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 功能食品, E-mail: 291649347@qq.com

brewer's spent grains.

Key words: highland barley brewer's spent grains; fat-soluble components; response surface method; component analysis; fatty acid; sterols

青稞是高原谷类作物,主要种植于我国青藏高原,是我国藏区人民的主食杂粮之一^[1,2]。它因其高营养价值和良好的适口性等优点而受到消费者的欢迎,已成为具有广阔应用前景的经济作物。此外,青稞是许多生物活性成分的潜在来源,摄入青稞有助于降低一些慢性、代谢性疾病的风险,如肥胖、癌症、冠心病和II型糖尿病^[3,4]。而青稞酒是由青稞经过一系列的酿造工艺后制成的,青稞酒的生产过程会产生大量富含蛋白质、多肽、脂肪、粗纤维、酚类、 β -葡聚糖、B族维生素和其他生物活性成分的酒糟。然而,湿酒糟具有高含水量和高酸度的特点,如果不进行适当处理和加工,不仅会造成巨大的资源浪费,而且还极易发生腐败变质,导致环境污染^[5]。如能进一步开发利用青稞酒糟及其中的活性成分,将对提高青稞酒副产物的再利用及青稞产业的发展具有非常重要的意义。

超临界流体具有气体和液体的双重特性,其中,CO₂因其性质稳定、廉价易得、无毒无臭、无污染应用最为普遍^[6]。超临界CO₂萃取技术工艺简单、易操控、效率高,主要是利用超临界流体的特点,使提取物溶解度发生改变,可在低温条件下调节活性成分在CO₂中的溶解度,从而将目标物质中的活性成分提取出来^[6,7]。同时发挥了精馏和液液萃取的优势,并结合了提取和分离,克服了活性成分提取的各种难题,代表了天然产物提取技术的发展趋势^[8]。超临界CO₂萃取技术已开始广泛应用于各种天然产物的提取,特别是脂溶性成分的提取,例如植物油、黄酮等,超临界CO₂萃取技术适合用于脂肪酸、甾醇的提取^[9]。脂肪酸对人体健康发挥着重要作用,特别是一些功能性单不饱和、多不饱和脂肪酸在预防炎症、癌症、调节血压与血脂^[10]以及预防心脑血管疾病^[11]等方面发挥着重要的生理作用。植物甾醇是植物中的一类活性成分,具有降低胆固醇^[12]、抑制肿瘤^[13]、调节免疫^[14]等作用。因此,本研究对青稞酒糟中脂肪酸、甾醇的含量及成分进行分析具有重要的现实意义。

目前对于酒糟活性成分的研究主要集中于多酚类^[15]、蛋白质^[16]、有机酸类^[17]、风味^[18]、膳食纤维^[19]等,但对于青稞酒糟的研究较少。本研究使用超临界CO₂从青稞酒糟中提取脂溶性成分,并采用响应面法优化提取工艺。同时,通过GC-MS对脂溶性成分中的脂肪酸、甾醇的组成和含量进行分析,为青稞酒糟的高值化利用和高原食品的深度开发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

青稞酒糟,由青海互助天佑德青稞酒股份有限公司提供;二氧化碳(纯度>99.99%):西宁磊豪商贸有限公司;甲醇(分析纯),天津市百世化工有限公司;氢氧化钾(分析纯),上海广诺化学科技有限公司;三氟化硼甲醇(分析纯),成都艾科达化学试剂有限公司;BSTFA(分析纯),上海安谱实验科技股份有限公司。

1.2 主要仪器设备

超临界CO₂萃取仪(Spe-ed SFE-2):美国Applied Separation公司;高速粉碎机:浙江屹立工贸有限公司;水浴锅:国华电器有限公司;TSQTM9000气质联用仪:赛默飞世尔科技。

1.3 试验方法

1.3.1 青稞酒糟脂溶性成分的提取

酒糟脂溶性成分的提取流程如下:

青稞湿酒糟→晾晒→除杂→干酒糟→粉碎→酒糟粉→过筛(60目)→称量→装入萃取釜→调节萃取所需各项参数→萃取→脂溶性成分

$$R = \frac{m}{M} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

R ——脂溶性成分得率, %;

M ——青稞酒糟粉质量, g;

m ——脂溶性成分质量, g。

1.3.2 单因素试验设计

本次试验的开展以提取得率为考察指标,固定装料系数0.5,萃取压力30 MPa,温度40℃,CO₂泵频率6 mL/min,萃取时间2 h。分别考察不同装料系数(0.4、0.5、0.6、0.7、0.8)、不同萃取压力(15、20、25、30、35 MPa)、不同萃取温度(35、40、45、50、55℃)、不同萃取时间(1、1.5、2、2.5、3 h)对酒糟脂溶性成分得率的影响。

1.3.3 响应面试验设计

利用Box-Behnken设计响应面试验的因素与水平,见表1。

表 1 响应面分析因素水平设计

水平	因素		
	A (萃取压力) /MPa	B (萃取温度) /°C	C (萃取时间) /min
-1	20	35	100
0	25	40	120
1	30	45	140

1.3.4 脂肪酸 GC-MS 分析

脂肪酸 GC-MS 前处理及气相色谱-质谱分析条件参考文献^[20]中的方法。

气相色谱-质谱分析: 柱子型号为 DB-5MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm, 广州费尼根仪器有限公司; 色谱柱: 柱子型号为 ZB-5MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm。起始温度 60 °C 保持 1 min, 以 10 °C/min 升至 180 °C, 再以 4 °C/min 升至 280 °C, 保持 20 min; 再以 20 °C/min 升至 300 °C, 保持 2 min。进样孔温度为 280 °C。载气: 高纯 He (99.999%), 流速为 1 mL/min。连接杆温度为 285 °C, 离子源温度为 250 °C, 溶剂延迟时间 7 min, 质量扫描范围: 40~550 m/z。

通过谱图库检索进行脂肪酸谱图解析, 并通过峰面积归一化法计算各脂肪酸的相对含量。

1.3.5 甾醇 GC-MS 分析

甾醇 GC-MS 前处理及色谱、质谱条件参考行业标准^[21]NY/T 3111-2017《植物油中甾醇含量的测定气相色谱-质谱法》并稍作修改。

(1) 色谱条件:

色谱柱: DB-5MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm 毛细管气相色谱柱或等效柱; 载气: 氦气, 体积流量为 1 mL/min, 无分流; 进样口温度: 320 °C, 进样量 1 μL; 柱温箱升温程序: 初始温度 180 °C, 保持 1 min; 然后以 4 °C/min 升至 300 °C, 并保持。

(2) 质谱条件:

检测方式: 全扫模式, 扫描质量数从 50~650 m/z; 电离方式: 电子轰击电源 (EI 源电子能量 70 eV); 离子源温度 250 °C, 传输线温度 300 °C。

通过谱图库检索进行甾醇谱图解析, 并通过峰面积归一化法计算各甾醇的相对含量。

1.3.6 数据处理

使用 Prism 作图以及数据分析; 使用 Design-Expert 进行响应面试验相关分析。计量数据以平均值±标准差的形式呈现。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 装料系数对酒糟脂溶性成分提取得率的影响

如图 1 所示, 在 0.4~0.8 的装料系数范围内, 脂溶性成分的提取得率先增后减, 在装料系数为 0.6 时, 脂溶性成分提取得率达到最大值, 为 5.25%。造成这种趋势的原因主要是: 初始状态酒糟粉较少, 与 CO₂ 的接触空间较大, 能将脂溶性成分充分提取出来, 提取得率较高; 随着酒糟粉不断增加, 与 CO₂ 流体的接触空间减小, 使得 CO₂ 流体提取脂溶性成分的阻力增大, 提取得率降低。李芳香等^[6]的研究也表明提取效率随着装料系数呈现先增后减的趋势, 当装料系数达到一定程度时, 颗粒之间互相挤压、与气体之间不均匀, 易形成返混现象。因此, 选择装料系数为 0.6 为宜。

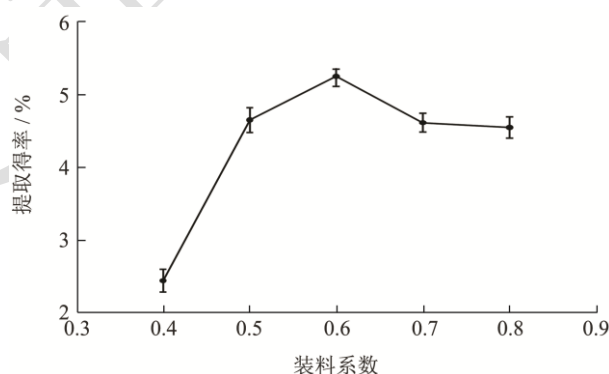


图 1 装料系数对脂溶性成分提取得率的影响

Fig.1 Effect of loading coefficient on extraction rate of fat-soluble components

2.1.2 萃取压力对于酒糟脂溶性成分提取得率的影响

如图 2 所示, 在萃取压力 15~35 MPa 的范围内, 提取得率先呈上升趋势, 在 25 MPa 时达到最大值, 为 5.50%, 当压力超过 25 MPa 后呈下降趋势。其主要原因是超临界流体的密度随着压力的增加而增加^[7]; 压力在 15~25 MPa 的范围内增加时, 酒糟粉在 CO₂ 中的溶解度不断增大, 流体对于脂溶性成分的提取得率不断增加。但当压力达到一定程度时, 虽然流体的密度增加, 但同时 CO₂ 的扩散系数下降, 对传质有所阻碍, 从而影响提取得率。因此, 萃取压力以 25 MPa 为宜。

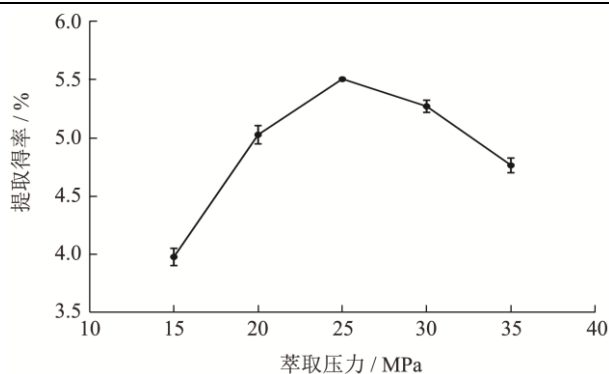


图2 萃取压力对脂溶性成分提取得率的影响

Fig.2 Effect of extraction pressure on extraction yield of fat-soluble components

2.1.3 萃取温度对于酒糟脂溶性成分提取得率的影响

如图3, 在萃取温度为20~60℃的范围内, 脂溶性成分的提取得率呈现先增后减的趋势, 在40℃时脂溶性成分提取得率达到最大值, 为5.48%。主要是因为温度对萃取效果具有双重影响^[6], 一方面萃取温度的升高可使二氧化碳流体的密度降低, 溶解能力下降, 萃取率降低; 但另一方面, 随着萃取釜温度的升高, 萃取液热运动加快, 蒸汽压、挥发性增加, 增加了萃取率。由此可知, 温度对于提取得率的影响取决于这两种相反作用的优势一方。在20~40℃时, 分子运动增加, 其对酒糟粉的萃取效果产生积极的影响; 然而, 当温度超过40℃时, 超临界流体的密度随着温度的升高而降低, 使脂溶性成分的提取得率不断下降。因此, 40℃是合适的萃取温度。

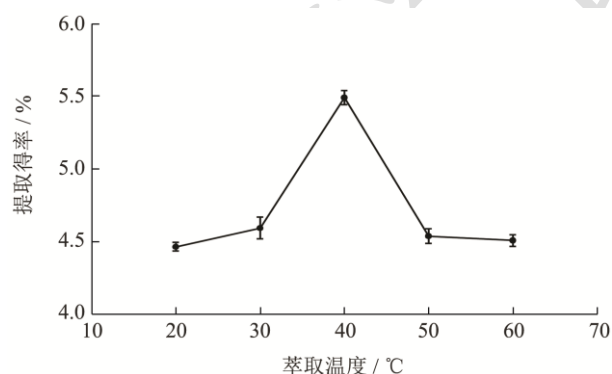


图3 萃取温度对脂溶性成分提取得率的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on extraction yield of fat-soluble components

2.1.4 萃取时间对于酒糟脂溶性成分提取得率的影响

如图4, 在1~3 h的时间范围内, 脂溶性成分的提取得率先大幅增加, 当萃取时间超过2 h后提取得率的增加速度变得缓慢。这主要是由于脂溶性成分随着时间的推移更充分地溶解在超临界流体中。然而, 萃取时间若长于2 h后, 酒糟粉在CO₂中的溶解达到平衡, 导致脂溶性成分提取得率的增加速度减缓。因此, 萃取时间2 h是最经济的选择。

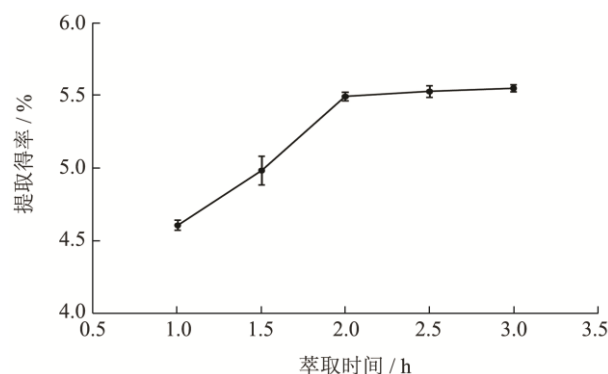


图4 萃取时间对脂溶性成分提取得率的影响

Fig.4 Effect of extraction time on extraction yield of fat-soluble components

2.2 响应面试验设计结果与分析

2.2.1 响应面试验结果与方差分析

根据单因素试验的结果, 用Design-Expert 11.1.0.1软件设计响应面试验, 并对其结果进行分析, 以考察各因素对于青稞酒糟脂溶性成分提取得率的影响以及优化得到最佳工艺条件, 结果见表2。通过对表2的试验数据进行多元回归拟合得到目标函数为提取得率(Y)的二次回归模型方程:

$$Y=5.47+0.21A+0.20B+0.069C-0.15AB-0.033AC+0.045BC-0.25A^2-0.34B^2-0.23C^2$$

从表3中可知, 此模型高度显著 ($P<0.0001$), 失拟项不显著 ($P=0.0822>0.05$), 此模型的相关系数 $R^2=0.9868$, 调整后复相关系数 $R^2_{Adj}=0.9698$, 说明模型的偏差值较小, 拟合性较高, 因此可以预测分析酒糟脂溶性成分的得率。由F值可以推出, 各因素影响脂溶性成分提取得率的顺序如下: A (萃取压力) > B (萃取温度) > C (萃取时间)。根据回归方程显著性检验的结果, 对得率影响高度显著的是一次项 A、B、二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 ($P<0.001$); 一次项 C 及交互项 AB ($P<0.05$) 影响显著; 结果表明, 各因素对于青稞酒糟脂溶性成分提取得率影响并不是简单的线性关系。

表2 响应面试验设计及结果

Table 2 Response surface test design and results

试验号	A (萃取压力) /MPa	B (萃取温度) /°C	C (萃取时间) /min	脂溶性成分提取得率/%
1	1	1	0	5.12
2	-1	1	0	5.07
3	-1	0	-1	4.68
4	1	-1	0	4.98
5	0	0	0	5.47
6	0	0	0	5.48
7	0	-1	1	4.78
8	0	1	-1	4.93
9	0	0	0	5.45
10	0	0	0	5.52
11	0	-1	-1	4.67
12	-1	-1	0	4.33
13	0	0	0	5.42
14	1	0	1	5.23
15	-1	0	1	4.82
16	0	1	1	5.22
17	1	0	-1	5.22

表3 响应面回归模型的方差分析

Table 3 Analysis of variance of response surface regression model

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A 萃取压力	0.34	1	0.34	94.70	<0.000 1**
B 萃取温度	0.31	1	0.31	86.84	<0.000 1**
C 萃取时间	0.038	1	0.038	10.52	0.014 2*
AB	0.09	1	0.09	25.04	0.001 6*
AC	4.225×10 ⁻³	1	4.225×10 ⁻³	1.18	0.314 2
BC	8.100×10 ⁻³	1	8.100×10 ⁻³	2.25	0.177 0
A ²	0.27	1	0.27	74.85	<0.000 1**
B ²	0.49	1	0.49	135.65	<0.000 1**
C ²	0.22	1	0.22	60.78	0.000 1**
模型	1.88	9	0.21	58.04	<0.000 1**
残差	0.025	7	3.594×10 ⁻³		
失拟项	0.020	3	6.588×10 ⁻³	4.79	0.082 2
净误差	5.480×10 ⁻³	4	1.370×10 ⁻³		
总和	1.9	16			

$R^2=0.986 8$; $R^2_{Adj}=0.969 8$

注: **表示差异极显著 ($P<0.01$); *表示差异显著 ($0.01<P<0.05$)。

2.2.2 响应面分析

各因素间相互影响的大小, 最直接的表现现在响应曲面的坡度大小以及等高线图形的形状上, 而其相互影响的大小则代表着各因素对响应值(提取得率)影响的程度^[22]。图 5 中的 3D 图形表明, 响应面的坡度

大小为 $A>B>C$, 表明各因素对酒糟脂溶性成分萃取效率的影响大小为 $A>B>C$; 再通过等高线图可知: AB、BC 呈椭圆形, AC 呈圆形, 表明 A 与 B、B 与 C 交互作用显著, A 与 C 交互作用不显著。此响应面的分析结论同表 3 方差分析结论保持一致。

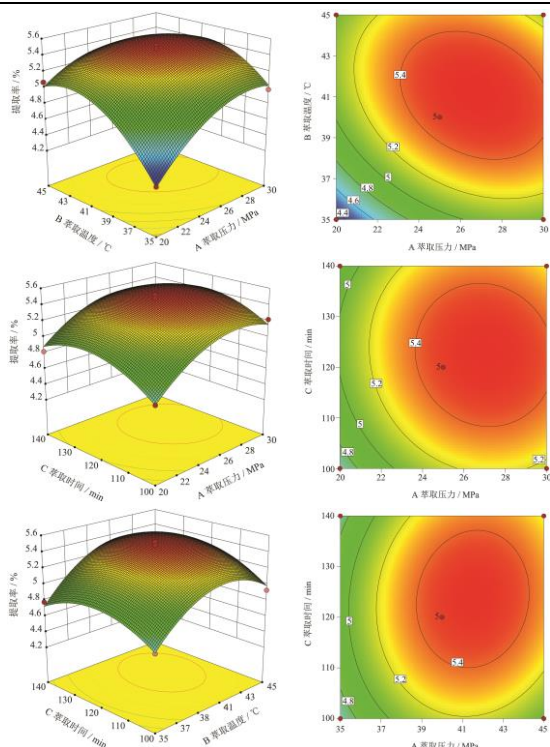


图5 各因素交互作用对酒糟脂溶性成分提取得率的影响

Fig.5 Effects of interaction of various factors on the extraction rate of fat-soluble components in distillers' grains

2.2.3 提取工艺条件的优化及验证

通过试验设计评估温度、压力、时间对提取得率的影响，并使用数学模型拟合二次回归方程对最优条件进行预测。结果表明，超临界 CO₂ 萃取的最高得率为 5.53% (在 26.659 MPa、41.134 °C、122.994 min 下)。为验证所得结果是否可靠，同时考虑到实际操作情况，选取最佳条件的近似值 (25 MPa、40 °C、120 min) 进行三次平行试验。试验结果表明，脂溶性成分提取得率为 5.50%，与模型预测理论值一致，相对误差仅为 0.54%，表明回归模型优化得到的萃取条件是准确、有效的。

2.3 脂肪酸的测定与分析

利用 GC-MS 对青稞酒糟脂溶性成分中的脂肪酸进行了分析，色谱图如图 6，组成成分分析见表 4。

表 4 的结果显示，酒糟脂溶性成分中共有 18 种脂肪酸，以亚油酸、棕榈酸和油酸为主，还检测到花生四烯酸和芥酸等。SFA 占 24.00%，其中，PA (棕榈酸) 的含量最高 22.44%；USFA 占 67.09%，MUFA 占 19.66%，PUFA 占 47.43%，PUFA 中亚油酸的含量最高 40.70%；超长链脂肪酸 0.68%，支链脂肪酸 0.24%。李华等^[23]研究了黄酒酒糟的脂肪酸组成，发现其含有 17 种脂肪酸，其中大部分是不饱和脂肪酸。其中，C16:0 (棕榈酸) 含量最丰富 34.00%，必需脂

肪酸 C18:2n-6 (亚油酸) 和 C18:3n-3 (α -亚麻酸) 约 11.27%。与黄酒糟相比，青稞酒糟 SFA 更低、USFA 更高，更符合人体健康的需求。

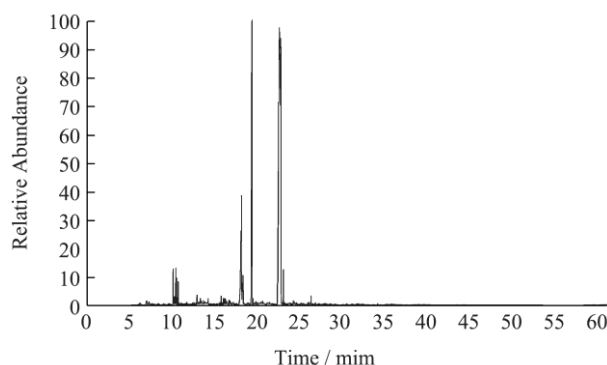


图6 脂肪酸 GC-MS 色谱图

Fig.6 GC-MS chromatogram of fatty acids

表 4 酒糟脂溶性成分中脂肪酸含量

Table 4 Fatty acid content of fat-soluble components in distillers' lees

序号	脂肪酸组成	保留时间/min	相对含量/%
1	Iso C14:0	15.83	0.18±0.02
2	C18:2n-10,13	17.97	6.46±0.37
3	C18:1n-11	18.15	2.20±0.05
4	C16:1n-9	18.77	0.07±0.01
5	Iso C18:0	18.94	0.06±0.02
6	C16:0	19.25	22.44±0.76
7	C22:1n-13	21.59	0.05±0.00
8	C18:2n-9,12	22.43	40.70±1.02
9	C18:1n-9	22.59	16.96±0.53
10	C18:0	22.89	1.10±0.00
11	cis-C19:1n-10	24.45	0.07±0.01
12	C20:4n-5,8,11,14	25.02	0.10±0.02
13	C18:3n-9,12,15	25.27	0.08±0.00
14	C18:3n-6,9,12	25.88	0.09±0.03
15	cis-C20:1n-11	26.18	0.31±0.02
16	C20:0	26.65	0.11±0.00
17	C22:0	30.40	0.06±0.01
18	C24:0	33.99	0.05±0.00
19	饱和脂肪酸		24.00
20	不饱和脂肪酸		67.09
21	单不饱和脂肪酸		19.66
22	多不饱和脂肪酸		47.43
23	超长链脂肪酸		0.68
24	支链脂肪酸		0.24

另外，青稞酒糟富含亚油酸，可为其更深层次的开发利用提供更多的可能。亚油酸是一种人和动物必需的 ω -6 型不饱和脂肪酸，其对于心血管疾病的改善

以及血糖控制、胰岛素抵抗、维持血脂代谢平衡等具有重要的作用,被称为“血管清道夫”^[11,24]。其在医药上应用范围很广,如用于预防和治疗动脉粥样硬化、高血压、心肌梗死等疾病^[10]。

2.4 甾醇的测定与分析

采用 GC-MS 对酒糟脂溶性成分中甾醇的组成及相对含量进行分析,如表 5 所示。

表 5 酒糟脂溶性成分中甾醇含量

种类	保留时间/min	含量/%
樟脑酚 (Campesterol)	30.76	12.80±0.34
胆甾烷-3-醇 (Cholestan-3-ol)	30.91	0.41±0.03
β -谷甾醇 (β -Sitosterol)	32.16	52.78±5.11
豆甾醇 (Stigmasterol)	32.32	0.49±0.01
豆甾醇 (Stigmasterol)	32.43	5.10±0.02
麦角甾-5,22-二烯-3-醇 (Ergosta-5,22-dien-3-ol)	33.18	0.71±0.05
链甾醇 (Desmosterol)	33.47	0.96±0.02
9,19-环羊毛甾烷-3-醇 (9,19-Cyclolanostan-3-ol)	34.29	2.18±0.07
胆甾烷-26-油酸 (Cholestan-26-oic acid)	36.64	0.41±0.00

根据表 5,从酒糟脂溶性成分中鉴定出 9 种甾醇。其中,以 β -谷甾醇占比最高,此外,还发现了一些新的甾醇类化合物。从表中可知,不同种类甾醇之间存在差异,就甾醇组成而言, β -谷甾醇的相对含量最高,约为 52.78%,其次是樟脑酚即菜油甾醇 (12.80%) 和豆甾醇 (5.10%),以及其他相对含量较低的甾醇。胡光源等^[25]采用超声辅助提取结合气相色谱-质谱联用技术 (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) 发现茅台酒糟中共有 9 种甾醇类生物活性物质,分别为胆甾醇、麦角甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、 γ -谷甾醇、豆甾-5,24(28)-二烯-3-醇、羊毛甾醇、环阿屯醇、 β -扶桑甾醇氧化物,对其中甾醇类物质进行了溯源分析后明确了酿酒原料是甾醇类物质的主要来源。植物甾醇是植物中天然存在的以环戊烷多氢菲为主要骨架的生物活性成分^[26],其结构与胆固醇相似。植物甾醇具有不同的存在形式,包括游离植物甾醇 (FSs)、植物甾醇酯 (SEs)、植物甾醇糖苷 (SGs) 和酰基植物甾醇糖苷 (ASGs)^[27]。研究表明,FSs 通过与胆固醇竞争肠道吸收位点以降低血清胆固醇水平,每天摄入 3 g FSs 可使 LDL 胆固醇降低 12%^[28]。SEs 需要在胰腺胆固醇脂肪酶的作用下水解成酸和 FSs 才能达到效果^[29]。植物甾醇的存在形式与其多样的生物活性密切相关,且对其营养功能的进一步评估发挥着非常重要的作用^[27]。因此,不仅要研究植物甾醇的含量,而且要了解植物甾醇的组成模式。本研究发现青稞酒糟脂溶性成分中含有多种甾醇,且以 β -谷甾醇、菜油甾醇和豆甾醇为主,具有较高的研究价值,可进一步纯化,使其更好地应用于食品、医药、化妆品和化工等行业。

3 结论

本研究首先采用了超临界 CO₂ 萃取法提取青稞酒糟中的脂溶性成分,然后再通过响应面法对其工艺条件进行了优化,得装料系数 0.6,萃取压力 25 MPa,萃取温度 40 °C,萃取时间为 120 min 为其最优条件。在此条件下,有效成分的提取得率为 5.50%,相对误差仅为 0.54%。表明了此回归模型合理可信,经优化得到的提取工艺条件也实际可行。同时通过气相色谱-质谱法对脂溶性成分中脂肪酸、甾醇的组成及含量进行分析得出,不饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸分别占 67.09%、19.66%、47.43%,其中亚油酸的含量高达 40.70%。脂溶性成分中甾醇含量也非常丰富,主要有 β -谷甾醇、樟脑酚、豆甾醇,分别占 52.78%、12.80%、5.10%。在这项研究中,通过响应面法优化青稞酒糟脂溶性成分的提取工艺,并对其脂溶性成分的组成及含量进行了初步探讨,为青稞酒糟更深层次的研究和开发提供了理论基础。

参考文献

- [1] 张文刚,张垚,杨希娟,等.不同品种青稞炒制后挥发性风味物质 GC-MS 分析[J].食品科学,2019,40(8):192-201.
- [2] 姚豪颖叶,聂少平,鄢为唯,等.不同产地青稞原料中的营养成分分析[J].南昌大学学报(工科版),2015,37(1):11-15.
- [3] Wood P J, Beer M U, Butler G. Evaluation of role of concentration and molecular weight of oat β -glucan in determining effect of viscosity on plasma glucose and insulin following an oral glucose load [J]. British Journal of Nutrition, 2000, 84(1): 19-23.

- [4] 刘冲冲.青稞原料对青稞酒发酵过程微生物菌群演替的影响[D].无锡:江南大学,2019.
- [5] 乾伟.《传统白酒酿造技术》第二版出版发行[J].酿酒科技,2017,7:98.
- [6] 李芳香,贺国君,郁建平,等.茅台酒糟超临界二氧化碳萃取技术工艺研究[J].中国酿造,2018,37(8):82-86.
- [7] Coelho J P, Filipe R M, Robalo M P, et al. Recovering value from organic waste materials: supercritical fluid extraction of oil from industrial grape seeds [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2018, 141: 68-77.
- [8] Goncalves S, Romano A. Application of supercritical CO₂ for enhanced oil recovery [J]. Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science: Supercritical Carbon Dioxide as Green Solvent, 2020: 67-84.
- [9] Coelho J P, Filipe R M, Robalo M P, et al. Supercritical CO₂ extraction of spent coffee grounds. Influence of co-solvents and characterization of the extracts [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2020, 161: 102825.
- [10] Yoon S Y, Ahn D, Hwang J Y, et al. Linoleic acid exerts antidiabetic effects by inhibiting protein tyrosine phosphatases associated with insulin resistance [J]. Journal of Functional Foods, 2021, 83: 104532.
- [11] Marangoni F, Agostoni C, Borghi C, et al. Dietary linoleic acid and human health: Focus on cardiovascular and cardiometabolic effects [J]. Atherosclerosis, 2020, 292: 90-98.
- [12] Schonewille M, Brufau G, Shiri-Sverdlov R, et al. Serum TG-lowering properties of plant sterols and stanols are associated with decreased hepatic VLDL secretion [J]. Journal of Lipid Research, 2014, 55(12): 2554-2561.
- [13] Awad A B, Downie A C, Fink C S, et al. Dietary phytosterol inhibits the growth and metastasis of MDA-MB-231 human breast cancer cells grown in SCID mice [J]. Anticancer Research, 2000, 20(2A): 821-824.
- [14] Rajavel T, Mohankumar R, Archunan G, et al. Beta sitosterol and daucosterol (phytosterols identified in *Grewia tiliaefolia*) perturbs cell cycle and induces apoptotic cell death in A549 cells [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 18-34.
- [15] Wang X Y, Wang S S, Huang S S, et al. Purification of polyphenols from distiller's grains by macroporous resin and analysis of the polyphenolic components [J]. Molecules, 2019, 24(7): 1284.
- [16] Wang X, Ullah N, Sun X, et al. Development and characterization of bacterial cellulose reinforced biocomposite films based on protein from buckwheat distiller's dried grains [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 96: 353-360.
- [17] Zhou X, Pu Z. Spirit-based distillers' grain as a promising raw material for succinic acid production [J]. Biotechnology Letters, 2013, 35(5): 679-684.
- [18] 江思瑶,宋昊,陈晨,等.白酒酒糟中有机酸的分离提取及香气成分分析[J].食品工业科技,2019,40(17):206-211.
- [19] Zhang H J, Cao X R, Yin M, et al. Soluble dietary fiber from Qing Ke (highland barley) brewers spent grain could alter the intestinal cholesterol efflux in Caco-2 cells [J]. Journal of Functional Foods, 2018, 47: 100-106.
- [20] 罗鑫,孙万成,罗毅皓,等.牦牛酥油中鞘磷脂的提取及其脂肪酸组成分析[J].现代食品科技,2020,36(3):72-79.
- [21] NY/T 3111-2017,植物油中甾醇含量的测定气相色谱-质谱法[S].
- [22] 叶芝红,赵艳,朱艳萍,等.响应面法优化微波辅助提取平卧菊三七三萜的工艺研究[J].食品工业科技,2016,37(2):291-295.
- [23] 李华,施佳慧.黄酒糟的氨基酸组成及脂类成分分析[J].安徽农业科学,2009,37(34):17142-17143.
- [24] 王兴国,金青哲.油脂化学[M].北京:科学出版社,2012.
- [25] 胡光源,陈宗校,杨理章,等.茅台酒糟中生育酚类、甾醇类和三萜类物质的检测及溯源[J].食品科学,2022,43(8):297-302.
- [26] Moreau R A, Nyström L, Whitaker B D, et al. Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and health-promoting uses [J]. Progress in Lipid Research, 2018, 70: 35-61.
- [27] Feng S, Wang L, Shao P, et al. Simultaneous analysis of free phytosterols and phytosterol glycosides in rice bran by SPE/GC-MS [J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132742.
- [28] Ras R T, Geleijnse J M, Ea Trautwein. LDL-cholesterol-lowering effect of plant sterols and stanols across different dose ranges: A meta-analysis of randomised controlled studies [J]. The British Journal of Nutrition, 2014, 112(2): 214-219.
- [29] Amiot M J, Knol D, Cardinault N, et al. Phytosterol ester processing in the small intestine: Impact on cholesterol availability for absorption and chylomicron cholesterol incorporation in healthy humans [J]. Journal of Lipid Research, 2011, 52(6): 1256-1264.