

酒糟多酚类物质纯化及体外抗氧化活性研究

晏俊玲^{1,2} 郑佳^{1,2} 张伟建^{1,2} 李茂^{1,2} 赵佳伟^{1,2} 覃凤阳^{1,2}

(1. 宜宾五粮液股份有限公司技术研究中心, 四川 宜宾 644007;

2. 中国轻工业浓香型白酒固态发酵重点实验室, 四川 宜宾 644000)

摘要: [目的] 纯化并富集具有良好抗氧化活性的酒糟多酚。[方法] 采用有机溶剂萃取和大孔吸附树脂相结合的方法对酒糟深共熔溶剂提取液中的酚类物质进行富集回收, 并测定纯化产物的纯度和抗氧化活性。对萃取剂种类及树脂类型进行筛选, 通过吸附动力学、吸附等温线和热力学阐述吸附机理, 并优化其最佳工艺条件; 以清除 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基和 2, 2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸) 二铵盐 (ABTS) 阳离子自由基的能力为指标, 评价酚类物质的体外抗氧化活性。[结果] 最适宜的萃取溶剂为二氯甲烷, 当 $V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{DES}}$ 为 2:1 时, 多酚回收率为 90.83%; 最适宜纯化酒糟多酚的树脂为 DM130, 其吸附率为 78.70%。DM130 树脂对酒糟多酚的吸附符合准二级动力学模型和 Langmuir 模型, 吸附过程自发且放热。DM130 树脂纯化酒糟多酚的最佳工艺条件为上样液 pH 5、上样液质量浓度 0.8 mg/mL、上样流速 2 BV/h、上样体积 3.4 BV、洗脱剂为 60% 乙醇、洗脱流速 3 BV/h、洗脱剂体积 6.9 BV。酒糟多酚深共熔溶剂提取液经二氯甲烷萃取和 DM130 树脂吸附总体回收率可达到 88.90%, 多酚纯度由原来的 2.11% 提高至 16.05%。纯化产物中共检出 7 种酚类物质, 其中阿魏酸含量最高。纯化后的多酚物质清除 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基的半抑制质量浓度 (IC₅₀) 值分别为 0.080 4, 0.185 0 mg/mL。[结论] 试验建立的酒糟多酚纯化方法有效可行, 且富集的酒糟多酚具有良好的抗氧化活性。

关键词: 酒糟多酚; 大孔吸附树脂; 分离纯化; 机理; 抗氧化活性

Purification of polyphenols from distiller's grains and its antioxidant activity *in vitro*

YAN Junling^{1,2} ZHENG Jia^{1,2} ZHANG Weijian^{1,2} LI Mao^{1,2} ZHAO Jiawei^{1,2} QIN fengyang^{1,2}

(1. Technology Research Center of Wuliangye Distillery Co., Ltd., Yibin, Sichuan 644007, China; 2. Key Laboratory of Wuliangye-flavor Liquor Solid-state Fermentation, China National Light Industry, Yibin, Sichuan 644000, China)

Abstract: [Objective] To purify and enrich the distiller's grain polyphenols (DGPs) with good antioxidant activity. [Methods] Organic solvent extraction combined with macroporous adsorption resin was used to enrich and recover DGPs from the distiller's grains deep eutectic solvent (DES) extraction solution. The purity and antioxidant activity of the purified products were determined. Extraction solvents and resin types were screened, and adsorption kinetics, isotherms, and thermodynamics were used to explain the adsorption mechanism. The optimal process conditions were determined. The *in vitro* antioxidant activity of the polyphenols was evaluated by measuring their ability to scavenge 1, 1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine (DPPH) free radicals and 2, 2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) free radicals. [Results] Dichloromethane was the most suitable extraction solvent, with a polyphenol recovery rate of 90.83% when the ratio of dichloromethane to DES was 2:1. The best resin for purifying DGPs was DM130, with an adsorption rate of 78.70%. The adsorption of DGPs by DM130 resin conformed to pseudo-second-order kinetics and the Langmuir adsorption model, indicating that the process is spontaneous and exothermic. The optimal purification conditions with DM130 resin were a sample solution pH of 5, a sample concentration of 0.8 mg/mL, a flow rate of 2 BV/h, a sample volume of 3.4 BV, and elution with 60% ethanol at a flow rate of

通信作者: 晏俊玲 (1996—), 女, 宜宾五粮液股份有限公司助理工程师, 硕士。E-mail: 1742865.41@qq.com

收稿日期: 2024-07-15 改回日期: 2025-02-08

引用格式: 晏俊玲, 郑佳, 张伟建, 等. 酒糟多酚类物质纯化及体外抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2025, 41(3): 161-170.

Citation: YAN Junling, ZHENG Jia, ZHANG Weijian, et al. Purification of polyphenols from distiller's grains and its antioxidant activity *in vitro*[J]. Food & Machinery, 2025, 41(3): 161-170.

3 BV/h and an elution volume of 6.9 BV. The overall recovery rate of DGPs from the distiller's grains DES extraction solution after dichloromethane extraction and DM130 resin adsorption was 88.90%, with polyphenol purity increasing from 2.11% to 16.05%. Seven phenolic compounds were detected in the purified product, with ferulic acid being the most abundant. The IC_{50} values for scavenging DPPH and $ABTS^+$ free radicals were 0.080 4 mg/mL and 0.185 0 mg/mL, respectively. **[Conclusion]** The purification method for the DGPs established in this study is effective and feasible, and the enriched DGPs exhibit good antioxidant activity.

Keywords: distiller's grain polyphenols (DGPs); macroporous adsorption resin; separation and purification; mechanism; antioxidant activity

酒糟为白酒酿造的主要副产物资源,年产生量高达 2 000 万 t。酒糟中成分复杂多样,不仅含有蛋白质、淀粉、膳食纤维等营养成分,还富含多酚、氨基酸和多糖等生物活性物质,具有较高的应用研究价值^[1]。其中,多酚是天然的强抗氧化剂,对健康具有潜在的积极作用^[2]。酒糟中主要含有表儿茶素、柚皮素、漆黄素和阿魏酸等多种酚类物质,具有良好的抗氧化、抗炎、降血糖等活性^[3]。现阶段酒糟多酚的研究主要围绕粗提物展开,包括提取工艺、活性评价及成分鉴定。汤夕瑶等^[4]优化了超声辅助酸解法提取酒糟多酚的最佳工艺,并测定了其抗氧化活性和 α -淀粉酶抑制活性;钟江等^[5]解析出清酱香型酒糟多酚中主要包括柚皮苷和漆黄素。此外,在提取方面,深共熔溶剂(DES)因其性质稳定、易制备、可再生且提取效率高等特性^[6]备受关注。晏俊玲等^[7]采用 DES 辅助超声制备酒糟多酚提取物,与传统溶剂相比,该法在提取率和功能活性上有一定的优势。然而有关酒糟多酚分离纯化的研究较少,在探究其活性方面直接使用粗提物,但粗提物通常会含有一定量的杂质和色素等成分,其纯度较低。而纯度往往是制约后续酒糟酚类开发利用、发挥生物活性的重要因素^[8]。

大孔树脂因其吸附能力高、价格低廉、可再生等优点^[9],被广泛用于天然产物的纯化分离,在纯化芸豆皮多酚^[10]、金莲花多酚^[11]等中表现出较好的应用效果,而采用大孔树脂纯化酒糟多酚的研究尚未见报道。由于 DES 本身黏度较高、不易挥发等特点,直接用大孔树脂从 DES 提取液中分离纯化多酚比较困难。而运用有机溶剂萃取和大孔吸附树脂相结合的方法可避免 DES 溶剂对树脂吸附造成影响,对酒糟多酚的富集具有促进作用。研究拟采用有机溶剂萃取和大孔吸附树脂技术相结合的方法从酒糟 DES 提取物中富集回收多酚物质,并评价纯化物的体外抗氧化活性,以期为后续相关产品的开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

酒糟:采自四川宜宾;

氯化胆碱、果糖、盐酸、氢氧化钠、碳酸钠、乙醇、氯甲烷、石油醚、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、过硫酸钾等:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

没食子酸标准品:纯度 $\geq 98\%$,标准物质网标准物质

中心伟业计量;

NKA-9、D101、HPD600、XDA-16、D101、DM130、AB-8 等大孔树脂:分析纯,上海化科试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

分析天平:AR124CN 型,奥豪斯仪器有限公司;

酶标仪:Multiskan FC 型,赛默飞世尔仪器有限公司;

超声波提取仪:GTSONIC-L10 型,固特超声股份有限公司;

恒温水浴锅:HWS26 型,上海一恒科技有限公司;

高速离心机:HC-2066 型,科大创新股份有限公司;

真空冷冻干燥机:SCIENTZ-10N/C 型,新芝生物科技股份有限公司;

自动部分收集器:BS-100N 型,上海沪西分析仪器厂有限公司;

数显恒流泵:HL-2B 型,上海沪西分析仪器厂有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 酒糟多酚 DES 提取液的制备及多酚含量测定 酒糟干燥,粉碎,过 60 目筛后备用。称取一定量酒糟粉,按料液比 1:30 (g/mL)加入含水率为 40% 的 DES 溶液(DES 溶液由氯化胆碱和果糖于 80 °C 下加热搅拌 5~7 h 制备而成, $n_{\text{氯化胆碱}}:n_{\text{果糖}}$ 为 1:2),50 °C 超声萃取 30 min,提取 2 次,合并滤液备用。参照谢倩等^[12]的方法测定多酚含量。

1.3.2 萃取溶剂对多酚回收率的影响

(1) 萃取溶剂的筛选:在分液漏斗中用 3 倍体积(60 mL)石油醚、正己烷、环己烷、二氯甲烷或乙酸乙酯萃取 DES 多酚提取物(20 mL)。萃取物经旋转蒸发浓缩,50% 乙醇水溶液溶解,并按式(1)计算多酚回收率。

$$P = \frac{C_1 V_1}{C_m V_m} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

P ——多酚回收率,%;

C_1 ——50% 乙醇水溶液中的多酚质量浓度,mg/mL;

V_1 ——50% 乙醇水溶液体积,mL;

C_m ——DES 提取物中的多酚质量浓度,mg/mL;

V_m ——DES 提取液体积,mL。

(2) 二氯甲烷/DES 比例对多酚回收率的影响:取 20 mL DES 多酚提取物分别与 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 倍体积的二氯甲烷置于分液漏斗中,充分萃取后收集二氯甲烷,旋转蒸发浓缩后用 50% 乙醇水溶液溶解,得到多酚

萃取物,按式(1)计算多酚回收率。

1.3.3 大孔树脂的筛选 参照Chen等^[13]的方法对大孔树脂进行预处理。称取2 g树脂和20 mL质量浓度为0.35 mg/mL的多酚萃取液置于锥形瓶中,25 °C、120 r/min避光振荡24 h,待充分吸附后,过滤,取上清液,测定吸光度值,分别按式(2)、式(3)计算各树脂的平衡吸附量和吸附率。过滤后的树脂,用去离子水冲洗,加入20 mL体积分数为50%的乙醇水溶液,25 °C、120 r/min避光震荡24 h,过滤,测定吸光度值,按式(4)计算解吸率。

$$Q_a = \frac{C_0 - C_e}{m} \times V_0, \quad (2)$$

$$A = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100\%, \quad (3)$$

$$D = \frac{C_d V_1}{(C_0 - C_e) V_0} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

Q_a ——树脂平衡吸附量,mg/g;

m ——树脂质量,g;

A ——吸附率,%;

D ——解吸率,%;

C_0 ——初始多酚质量浓度,mg/mL;

C_e ——吸附平衡时多酚质量浓度,mg/mL;

V_0 ——吸附溶液体积,mL;

C_d ——解吸液中多酚质量浓度,mg/mL;

V_1 ——解吸溶液体积,mL。

1.3.4 静态吸附及解吸试验

(1) 树脂吸附动力学分析:参照盛倩茹等^[8]的方法稍加修改。取2 g DM130型大孔树脂和20 mL 0.35 mg/mL的多酚萃取物置于锥形瓶中混匀,25 °C、120 r/min避光振荡24 h。每隔一段时间测定多酚含量,分别按式(5)~式(7)对数据进行分析。

$$\text{准一级动力学模型: } \ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t, \quad (5)$$

$$\text{准二级动力学模型: } \frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e}, \quad (6)$$

$$\text{颗粒内扩散模型: } q_t = k_f t^{0.5} + C, \quad (7)$$

式中:

q_e ——平衡吸附量,mg/g;

q_t ——树脂在 t 时刻的吸附量,mg/g;

k_1 ——一级速率常数, min^{-1} ;

k_2 ——二阶速率常数, $\text{g}/(\text{mg} \cdot \text{min})$;

k_f ——颗粒内扩散速率常数;

t ——测样时间,min;

C ——常数。

(2) 树脂静态吸附等温线:参照Cao等^[14]的方法稍加修改。取20 mL质量浓度为0.2~1.0 mg/mL的多酚萃取物和2 g DM130树脂混匀,分别于25, 35, 45 °C下,120 r/min避光振荡24 h,测定多酚含量,并按式(8)~式(10)描述吸

附机理。

$$\text{Langmuir: } \frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{k_L q_m} + \frac{c_e}{q_m}, \quad (8)$$

$$\text{Friedrich: } \ln q_e = \frac{1}{n} \ln c_e + \ln k_F, \quad (9)$$

$$\text{Tankin: } q_e = b_T \ln k_T + b_T \ln c_e, \quad (10)$$

式中:

q_m ——最大吸附量,mg/g;

q_e ——稳定吸附量,mg/g;

c_0 ——样品初始质量浓度,mg/mL;

c_e ——吸附平衡后的质量浓度,mg/mL;

k_L ——Langmuir常数;

k_F ——Freundlich常数;

k_T, b_T ——Tankin等温线模型常数。

(3) 吸附热力学试验:参照Zhang等^[15]的方法,分别按式(11)和式(12)计算焓变(ΔH)、熵变(ΔS)和吉布斯自由能变化(ΔG)。

$$\Delta G = -RT \ln K_e, \quad (11)$$

$$\ln K_e = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{RT}, \quad (12)$$

式中:

ΔG ——吉布斯自由能变化,kJ/mol;

ΔH ——焓变,kJ/mol;

ΔS ——熵变, $\text{J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$;

T ——绝对温度,K;

R ——理想气体常数, $8.314 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$;

K_e ——平衡常数。

1.3.5 纯化参数优化

(1) 上样液pH值和乙醇体积分数:取2 g DM130树脂和20 mL萃取液于锥形瓶中,25 °C、120 r/min气浴恒温振荡器中振荡12 h,过滤,测定滤液中多酚含量,并计算吸附率。过滤后的树脂用去离子水冲洗后,加入20 mL乙醇溶液,25 °C、120 r/min振荡12 h,充分解吸后测定多酚含量,并计算解吸率。设定上样液pH为2~8,乙醇体积分数为40%~90%。固定上样液质量浓度0.8 mg/mL、上样液pH 6和乙醇体积分数50%。

(2) DM130树脂动态吸附解吸曲线绘制:层析柱(1.6 cm × 40 cm)中湿法装柱加入DM130树脂,柱床体积为20 mL (1 BV)。25 °C下,以1, 2, 3 BV/h的流速将多酚萃取溶液(0.8 mg/mL, pH 5)上柱。每0.3 BV收集1管,测定多酚含量,并绘制动态渗漏曲线。吸附后的树脂用去离子水冲洗后进行动态脱附处理,用体积分数为60%的乙醇溶液以不同流速(1, 2, 3 BV/h)解吸处理,每0.3 BV采集1次洗脱液样品,测定多酚含量,并绘制动态解吸曲线。

1.3.6 工艺验证 按试验确定的纯化工艺条件进行验证,收集洗脱液,浓缩,冻干成粉末,按式(13)计算多酚纯度。

$$R = \frac{CV}{M} \times 100\%, \quad (13)$$

式中:

R ——多酚纯度, %;

C ——多酚质量浓度, mg/mL;

V ——溶液体积, mL;

M ——冻干后样品质量, mg。

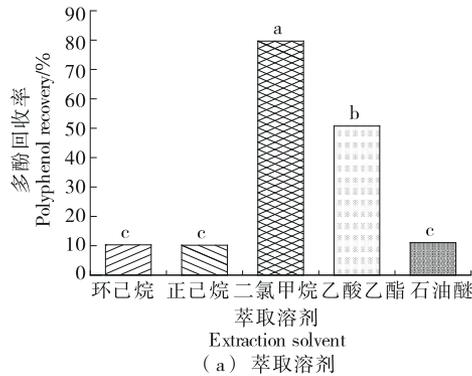
1.3.7 纯化产物中酚类物质测定 参考文献[7]。

1.3.8 体外抗氧化活性测定

(1) DPPH 自由基清除能力: 参照雷嘉昕等^[16]的方法。

(2) ABTS⁺ 自由基清除能力: 参照翟晓娜等^[17]的方法。

1.3.9 数据统计分析 采用 SPSS 18.0 软件对试验数据进行处理, Origin 8.5 软件制图, 各试验样品平行测定 3 次, 结果以均值±标准差表示。

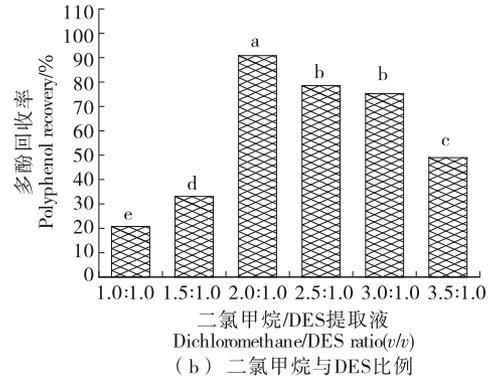


2 结果与分析

2.1 萃取溶剂对多酚回收率的影响

2.1.1 萃取溶剂的筛选 由图 1(a)可知, 二氯甲烷对酒糟 DES 提取液多酚物质的回收效果最佳, 回收率可达 79.71%, 其次是乙酸乙酯。正己烷、环己烷和石油醚的回收率均在 10% 左右, 回收效果较差。这可能是石油醚、环己烷和正己烷的疏水性较强, 无法溶解中等极性的酒糟多酚^[18], 而乙酸乙酯为极性较强的溶剂, 二氯甲烷有一定的极性, 其极性与酒糟多酚物质更接近。因此, 选择二氯甲烷从 DES 提取物中回收多酚。

2.1.2 二氯甲烷/DES 比例对多酚回收率的影响 由图 1(b)可知, 最佳的 $V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{DES}}$ 为 2:1, 此时多酚回收率为 90.83%。因此, 选择 $V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{DES}}$ 为 2:1 从酒糟 DES 提取物中回收多酚。



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 不同萃取溶剂和二氯甲烷/DES 比例对酒糟多酚回收率的影响

Figure 1 Effects of different organic solvents and dichloromethane/DES volume ratio on DGPs recovery

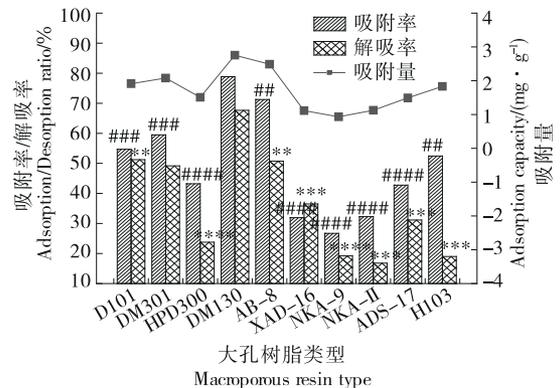
2.2 大孔树脂的筛选

由图 2 可知, DM130、H103、DM301、D101 和 AB-8 树脂对酒糟多酚的吸附能力优于其他树脂, 吸附率均在 50% 以上, 吸附率大小为 $DM130 > AB-8 > DM301 > D101 > H103$ 。这可能与树脂的极性有关, 吸附率较高的树脂的极性较弱, 可推测酒糟中含有弱极性酚类。解吸试验中, DM130 的解吸率最高, 其次是 AB-8 和 DM301, 而 HPD300 和 H103 的解吸能力较弱。综合考虑吸附率和解吸率, 选择 DM130 大孔树脂分离纯化酒糟多酚。

2.3 吸附动力学试验

由图 3 可知, 当吸附时间为 0~120 min 时, DM130 树脂对酒糟多酚的吸附速度较快, 而后随着吸附时间的延长, 吸附速率明显下降, 360 min 左右达到吸附平衡。这可能是刚开始吸附时吸附点较为充足, 但很快就被酒糟多酚占据, 然后趋于饱和。

由图 3 和表 1 可知, 在颗粒内扩散动力学模型中, q_t 与 $t^{1/2}$ 拟合的曲线为混合曲线, 且常数 C 为正值, 表明吸附速率不仅受颗粒内扩散的影响, 还与树脂颗粒表面的液膜



与 DM130 相比较, **/## 为 $P < 0.01$; ***/### 为 $P < 0.001$; ****/#### 为 $P < 0.0001$

图 2 不同大孔树脂的吸附解吸性能比较

Figure 2 Comparison of adsorption and desorption properties of different microporous resins

层扩散有关^[19]。颗粒内扩散模型将酒糟多酚在 DM130 树脂上的吸附拟合成 3 个线性阶段: 第 1 阶段表示酒糟多

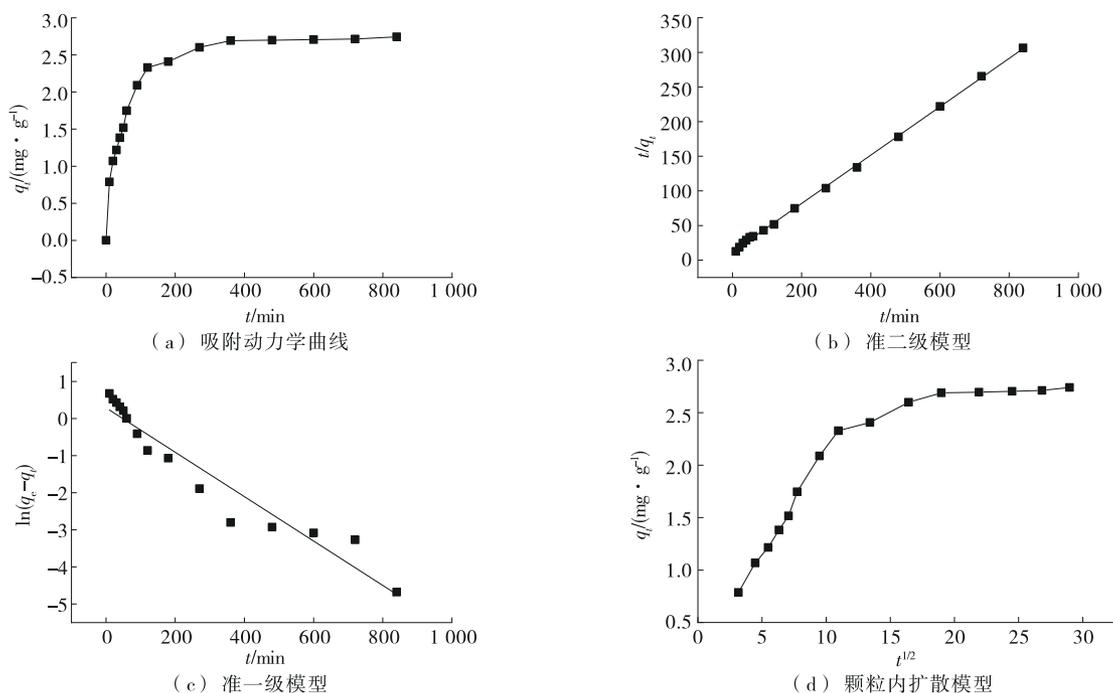


图3 酒糟多酚在DM130树脂上的吸附动力学模型

Figure 3 Adsorption kinetics model of DGPs on DM130 resin

表1 DM130树脂对酒糟多酚的吸附动力学方程及参数

Table 1 Adsorption kinetics equations and parameters of DGPs on DM130 resin

动力学模型	回归方程	R^2	参数
粒子内扩散模型	$q_{t1} = 0.2016t^{0.5} + 0.1381$	0.9977	$k_1 = 0.2016 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{min}^{1/2}), C = 0.1381 \text{ mg/g}$
	$q_{t2} = 0.0474t^{0.5} + 1.7966$	0.9916	$k_2 = 0.0474 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{min}^{1/2}), C = 1.7966 \text{ mg/g}$
	$q_{t3} = 0.0046t^{0.5} + 2.5962$	0.9216	$k_3 = 0.0046 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{min}^{1/2}), C = 2.5962 \text{ mg/g}$
准一级吸附动力学模型	$\ln(q_e - q_t) = 0.2873 - 0.0060t$	0.9661	$k_1 = 0.0060 \text{ min}^{-1}, q_e = 1.3328 \text{ mg/g}$
准二级吸附动力学模型	$t/q_t = 0.3492t + 12.0186$	0.9997	$k_2 = 1.014 \times 10^{-2} \text{ g}/(\text{mg} \cdot \text{min}), q_e = 2.8641 \text{ mg/g}$

酚在树脂表面的吸附,第2阶段为在树脂孔隙中的扩散,第3阶段表示酒糟多酚在树脂内部的吸附^[20]。

此外,对比模型中相关系数 R^2 可知,准二级动力学模型高于准一级和粒子内扩散模型,且准二级动力学模型拟合的 q_e 与试验测定的 q_e 更接近。因此,准二级动力学模型拟合结果的线性关系较好,更适宜对酒糟多酚的吸附。准一级模型主要揭示的是吸附初始阶段,而准二级模型常用于预测整个吸附过程^[21],此外,准二级模型适合于总酚类物质的吸附^[22],与试验结果相似。

2.4 吸附等温模型

由图4(a)可知,在25~45℃范围内,随着温度的升高,平衡时吸附量依次升高,表明适当提高温度有利于目标物质的吸附。此外,同一吸附温度下,酒糟多酚质量浓度较低时,吸附能力随着酒糟多酚质量浓度的增加迅速升高。当酒糟多酚质量浓度为0.80 mg/mL时,吸附能力基本不变。这可能是酒糟多酚质量浓度较低时,DM130树

脂上的吸附点较为充足。随着样品质量浓度的增加,吸附点迅速减小。当质量浓度为0.80 mg/mL时,树脂达到吸附饱和。因此,确定最适宜的酒糟多酚上样质量浓度为0.80 mg/mL。

由表2可知,在25~45℃范围时,随着温度的升高, k_1 、 q_m 逐渐升高,与吸附等温线结论一致。Langmuir模型的 R^2 值高于Friedrich和Tankin模型,表明Langmuir等温模型更适宜描述DM130树脂对酒糟多酚的等温吸附过程。吸附过程为吸热反应,即相对较高的温度有利于DM130树脂对酒糟多酚的吸附。在Freundlich模型中, $1/n < 1$ 时,吸附剂相对容易吸附溶质^[23]。表2中, $1/n$ 值均 < 1 ,说明DM130树脂对酒糟多酚的吸附效果较好。

2.5 热力学试验

由表3可知, ΔG 为负值,说明DM130树脂对酒糟多酚的吸附是自发的, ΔG 的绝对值随着温度的升高而增大,说明该吸附的自发性程度随着温度的升高而提高^[24],

表 2 DM130 树脂对酒糟多酚的吸附等温线方程及参数

Table 2 Adsorption isotherm equations and parameters of DGPs on DM130 resin

吸附等温模型	温度/℃	回归方程	R ²	参数
Langmuir	25	$c_e/q_e = 0.0755 + 0.1896c_e$	0.9766	$k_L = 2.5107 \text{ mL/mg}, q_m = 5.2753 \text{ mg/g}$
	35	$c_e/q_e = 0.0676 + 0.1845c_e$	0.9795	$k_L = 2.7286 \text{ mL/mg}, q_m = 5.4206 \text{ mg/g}$
	45	$c_e/q_e = 0.0605 + 0.1736c_e$	0.9885	$k_L = 2.8680 \text{ mL/mg}, q_m = 5.7604 \text{ mg/g}$
Friedrich	25	$\ln q_e = 0.5169 \ln c_e + 1.4012$	0.9440	$k_F = 4.0599, 1/n = 0.5169$
	35	$\ln q_e = 0.49318 \ln c_e + 1.4475$	0.9482	$k_F = 4.2524, 1/n = 0.4932$
	45	$\ln q_e = 0.4725 \ln c_e + 1.5142$	0.9586	$k_F = 4.5456, 1/n = 0.4725$
Tankin	25	$q_e = 3.8802 + 1.3439 \ln c_e$	0.9599	$k_T = 17.9448, b_T = 1.3439$
	35	$q_e = 4.0815 + 1.3740 \ln c_e$	0.9623	$k_T = 19.5017, b_T = 1.3740$
	45	$q_e = 4.3770 + 1.4359 \ln c_e$	0.9745	$k_T = 21.0774, b_T = 1.4360$

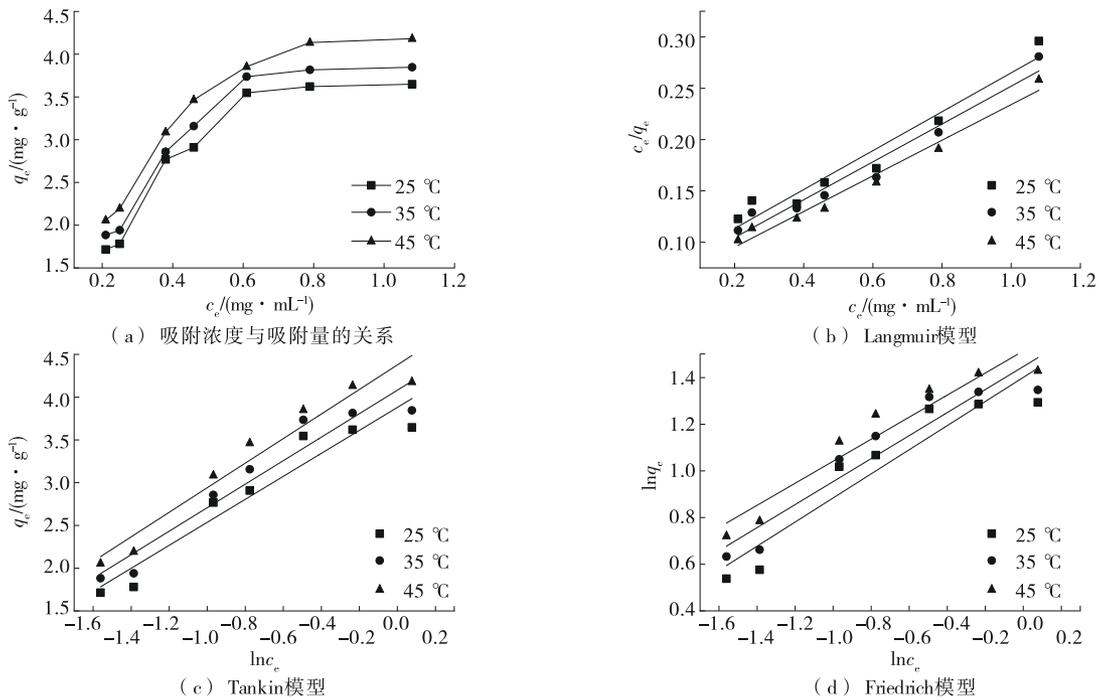


图 4 25, 35, 45 °C 下 DM130 树脂吸附酒糟多酚的吸附等温线

Figure 4 Adsorption isotherms for DGPs on DM130 resin at 25, 35 and 45 °C

与寇亮等^[25]的结论一致。由图 5 可知, $\Delta H > 0$ 表明吸附是吸热的, 与吸附等温线结果一致; $\Delta H < 43 \text{ kJ/mol}$, 说明吸附可能主要受物理机制控制, DM130 树脂对酒糟多酚的吸附主要受范德华力的作用^[26]。 $\Delta S > 0$, 表明该吸附是熵增过程, 即酒糟多酚被吸附到树脂上后整个吸附系统的混乱度增加。

表 3 不同温度下的热力学参数

Table 3 Thermodynamic parameters at different temperatures

$\Delta G / (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$			$\Delta H /$	$\Delta S /$	R^2
25 °C	35 °C	45 °C	$(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$(\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$	
-2.3817	-2.6159	-2.8985	5.3072	3.1016	0.9967

2.6 树脂静态吸附和解吸条件优化

2.6.1 洗脱剂体积分数 由图 6(a) 可知, 乙醇体积分数为 40%~60% 时, 解吸率由 58% 升高到 85% 左右。继续提高乙醇体积分数, 解吸率呈下降趋势, 当乙醇体积分数为 90% 时, 解吸率为 $(77.70 \pm 1.54)\%$ 。这可能是乙醇体积分数越低, 极性越强, 不利于多酚的溶解。而乙醇体积分数过高, 可能会导致醇溶性杂质的竞争性溶解。故选择乙醇体积分数 60% 进行后续试验。

2.6.2 上样液 pH 值 由图 6(b) 可知, 当 pH 值为 2~5 时, DM130 树脂的吸附率迅速增加。当 pH 值 > 5 时, DM130 树脂的吸附率开始迅速下降, 在 pH 5 达到最高值。这可能是酒糟多酚物质中弱酸性多羟基化合物较多, 在弱酸

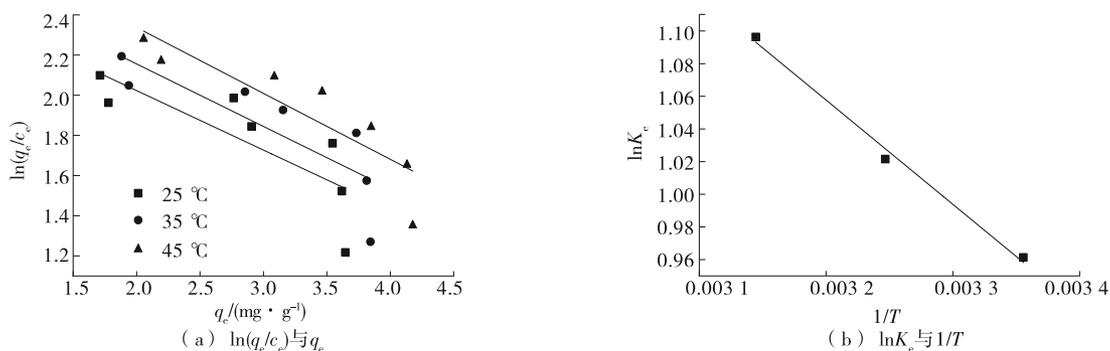


图5 25, 35, 45 °C下 $\ln(q_e/c_e)$ 与 q_e 的对比图和 $\ln K_e$ 与 $1/T$ 的 Van't Hoff 对比图

Figure 5 Plots of $\ln(q_e/c_e)$ versus q_e and Van't Hoff plot of $\ln K_e$ versus $1/T$ at 25, 35 and 45 °C

性条件下以分子状态存在,目标物质很容易通过范德华力被树脂吸收。而在碱性环境中,多酚发生了离子化,与吸附剂位点之间的物理作用减弱^[27]。因此,当上样液 pH 值为 5 时,纯化吸附效果最佳。

2.7 树脂动态吸附和解吸曲线绘制

当流出液质量浓度为上样浓度的 10% 时,被认为达到了泄露点,可作为树脂动态吸附饱和度的判断指标^[28]。由图 7(a)可知,流速越低,达到泄露点所需时间越长,泄露体积越大。这可能是较高的流速缩短了酒糟多酚与树脂的接触时间,导致吸附不完全。当流速为 1, 2, 3 BV/h 时,泄露点分别在 3.4, 3.3, 2.3 BV。流速为 1, 2 BV/h 时的泄露点体积相差不大,因此选择上样流速 2 BV/h 和上样体积 3.4 BV 进行后续试验。

由图 7(b)可知,在 1~7 BV 洗脱体积范围内,1, 2 BV/h 的洗脱峰窄而尖,3 BV/h 的峰较宽。此外,洗脱速度为 1, 2, 3 BV/h 时,洗脱量分别约为 6.0, 6.0, 6.9 BV, 回收率达到 58.44%, 83.49%, 88.26%, 3 BV/h 时的回收率较大。因此,选取洗脱流速 3 BV/h、洗脱体积 6.9 BV 进行后续试验。

通过上述试验,得到最适宜酒糟多酚萃取的工艺条件为:以二氯甲烷为萃取溶剂, $V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{DES}}$ 为 2:1, 上样液

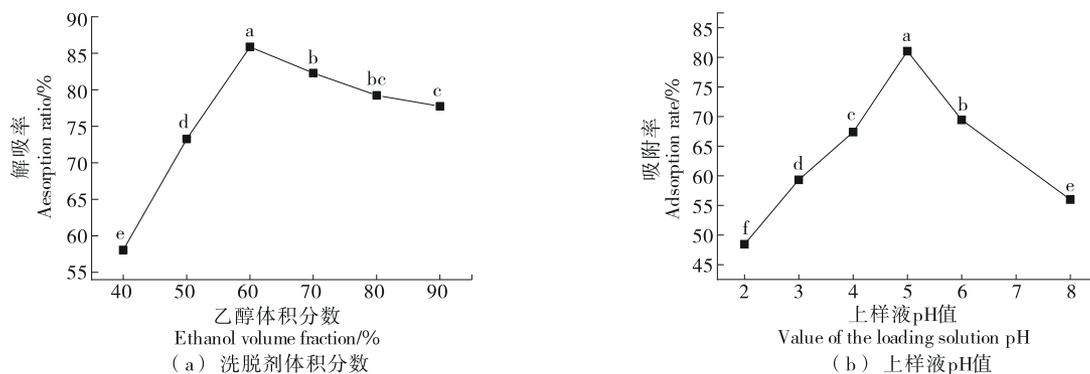
质量浓度为 0.8 mg/mL, 上样液 pH 值为 5, 上样流速为 2 BV/h, 上样体积为 3.4 BV, 洗脱剂为 60% 乙醇溶液, 洗脱流速为 3 BV/h, 洗脱体积为 6.9 BV, 此条件下酒糟多酚回收率可达 $(88.90 \pm 0.56)\%$, 纯度由原来的 $(2.11 \pm 0.31)\%$ 提高至 $(16.05 \pm 0.32)\%$, 提高了 7.61 倍, 证明该工艺条件有效可行, 适宜于酒糟多酚的富集。

2.8 酒糟酚类测定

对纯化产物中的没食子酸、原儿茶素、儿茶素、对羟基苯甲酸、咖啡酸、对香豆酸和阿魏酸 7 种酚类物质进行分析, 多酚类标准品和酒糟多酚的 HPLC 图如图 8 所示。根据标曲计算 7 种酚类物质含量, 结果见表 4。纯化产物除对香豆酸外, 其他 6 种酚类物质含量均在 250 $\mu\text{g/g}$ 以上, 其中阿魏酸含量最高。钟江等^[1]解析了酒糟酚类物质, 其中阿魏酸含量也最高。此外, 阿魏酸为谷物中最丰富的酚类化合物^[29], 与试验结果一致。

2.9 体外抗氧化活性

基于测定酒糟多酚 DES 提取物 (DGPs) 及其纯化液 (DGPs1) 对 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基的清除能力来评估其抗氧化活性。由图 9(a) 可知, DGPs 和 DGPs1 均表现出较强的清除 DPPH 自由基的能力。低质量浓度下 (0.1~0.4 mg/mL), DGPs1 的 DPPH 自由基清除能力均强



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图6 上样液 pH 值和洗脱剂体积分数优化

Figure 6 Sample solution pH and eluent volume fraction optimization

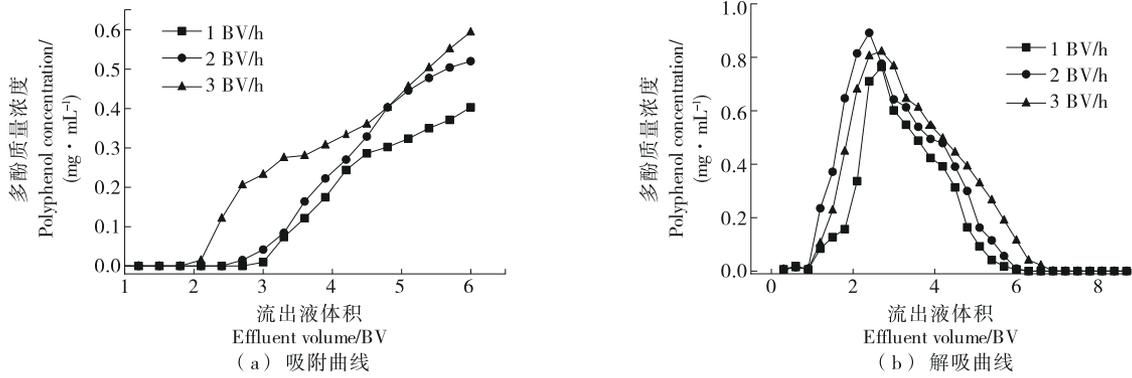
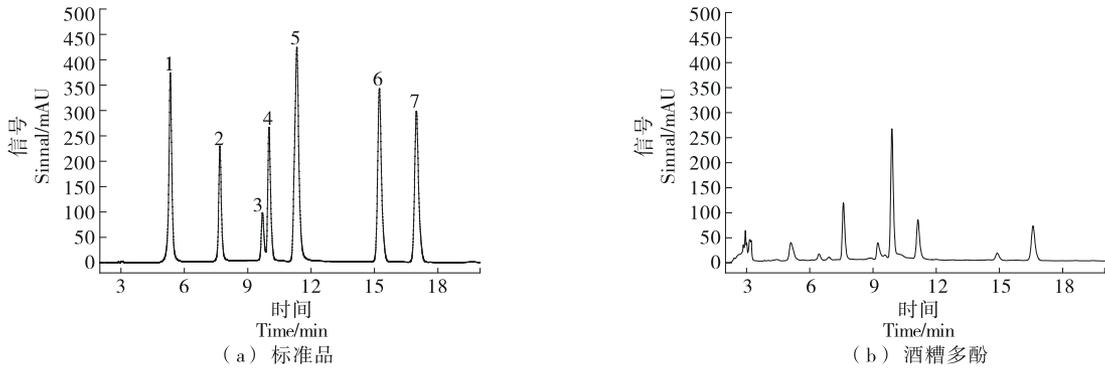


图 7 DM130树脂柱在不同流速下酒糟多酚的动态吸附曲线和解吸曲线

Figure 7 Dynamic adsorption curves and dynamic desorption curves of DGPs on DM130 resin column at different flow rates



1. 没食子酸 2. 原儿茶素 3. 儿茶素 4. 对羟基苯甲酸 5. 咖啡酸 6. 对香豆酸 7. 阿魏酸

图 8 多酚类化合物标准品和酒糟多酚的 HPLC 图

Figure 8 HPLC chromatograms of polyphenol standards and DGPs

表 4 酚类物质标准曲线及酒糟酚类含量

Table 4 Standard curves of phenolic compounds and content of phenolic compounds in DGPs

标准品	回归方程	R ²	保留时间/min	酚类含量/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
没食子酸	$y=30.443x+2.7757$	0.9999	4.998	819.87 ± 0.08
原儿茶素	$y=16.372x-11.430$	0.9996	7.524	269.16 ± 0.12
儿茶素	$y=7.003x-1.6731$	0.9902	9.505	411.76 ± 0.08
对羟基苯甲酸	$y=20.723x-22.816$	0.9990	9.821	535.17 ± 0.41
咖啡酸	$y=48.556x-64.575$	0.9999	11.056	858.66 ± 0.02
对香豆酸	$y=35.036x-4.2243$	0.9998	14.838	71.56 ± 0.05
阿魏酸	$y=32.084x+9.5307$	0.9999	16.527	1334.85 ± 0.17

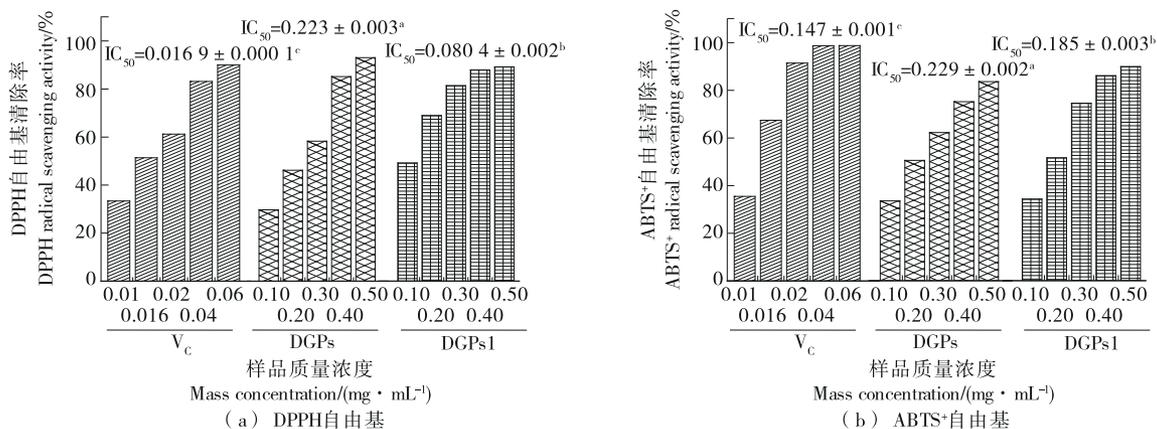
于 DGPs,在质量浓度为 0.5 mg/mL 时,DGPs 的 DPPH 自由基清除率稍高于 DGPs1,而 DGPs1 的半抑制浓度(IC₅₀) 值远低于 DGPs 的。

由图 9(b)可知,DGPs1 和 DGPs 对 ABTS⁺ 自由基均有清除作用,且呈剂量依赖,当 DGPs 和 DGPs1 质量浓度 <0.1 mg/mL 时,对 ABTS⁺ 自由基的清除率低于 50%,而增大样品质量浓度,对 ABTS⁺ 自由基的清除能力显著提高。同等质量浓度下,DGPs1 的 ABTS⁺ 自由基清除率普遍高于 DGPs 的,其 IC₅₀ 值低于 DGPs 的。综上,相较于

DGPs,DGPs1 表现出更强的抗氧化活性。

3 结论

探讨了酒糟多酚有机萃取和大孔吸附树脂相结合的富集工艺,并对其体外抗氧化活性进行了研究。结果表明,酒糟多酚萃取的最优吸附条件为上样液 pH 5、上样液质量浓度 0.8 mg/mL、上样流速 2 BV/h、上样体积 3.4 BV,最优解吸条件为 60% 乙醇溶液洗脱 6.9 BV,洗脱流速 3 BV/h,此时酒糟多酚总体回收率可达 88.90%,多酚纯度



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图9 酒糟多酚对DPPH自由基和ABTS[·]自由基的清除能力

Figure 9 DPPH and ABTS[·] radical scavenging ability of DGPs

由原来的 2.11% 提高至 16.05%, 提高了 7.61 倍。纯化产物中共检出 7 种酚类物质, 除对香豆酸外, 其他 6 种酚类物质含量均在 250 $\mu\text{g/g}$ 以上, 其中阿魏酸含量最高, 且纯化后的多酚具有良好的抗氧化活性能力。试验探究的酚类物质种类还不够全面, 后续将进一步鉴定酒糟提取物中其他酚类物质, 同时研究其他抗氧化活性指标。

参考文献

- [1] 钟江, 黄永光, 周蝶, 等. 酱香型和清香型白酒糟多酚类物质解析及对短链脂肪酸调节作用研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(3): 110-121.
ZHONG J, HUANG Y G, ZHOU D, et al. Analysis of polyphenols in sauce-flavor and light-flavor Baijiu distiller's grain and their effects on the regulation of short-chain fatty acids [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(3): 110-121.
- [2] 尹艳艳, 张健, 陆伦维, 等. 刺梨多酚类物质研究进展[J]. 食品与机械, 2024, 40(1): 234-240.
YIN Y Y, ZHANG J, LU L W, et al. Research progress on polyphenols in chestnut rose fruit[J]. Food & Machinery, 2024, 40(1): 234-240.
- [3] CHEN J H, ZHAO C L, LI Y S, et al. Moutai distiller's grains polyphenol extracts and rutin alleviate DSS-induced colitis in mice: modulation of gut microbiota and intestinal barrier function (R2) [J]. Heliyon, 2023, 9(11): e22186.
- [4] 汤夕瑶, 刘宇佳, 朱杰, 等. 酒糟结合多酚的抗氧化活性及对 α -淀粉酶荧光特性的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(17): 36-44.
TANG X Y, LIU Y J, ZHU J, et al. Antioxidant activity of bound polyphenols from distiller's grains and the effects on fluorescence characteristics of α -amylase[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(17): 36-44.
- [5] 钟江, 黄永光, 胡鹏刚, 等. 清香型白酒糟酚类物质鉴定及其活性功能解析[J]. 中国酿造, 2024, 43(1): 69-76.
ZHONG J, HUANG Y G, HU P G, et al. Identification of phenolics and functional analysis of their activity in light/sauce-flavor Baijiu distiller's grain[J]. China Brewing, 2024, 43(1): 69-76.
- [6] USMANI Z, SHARMA M, TRIPATHI M, et al. Biobased natural deep eutectic system as versatile solvents: structure, interaction and advanced applications[J]. Science of the Total Environment, 2023, 881: 163002.
- [7] 晏俊玲, 李茂, 张伟建, 等. 深共熔溶剂提取酒糟多酚类物质及其体外抗氧化、降血糖活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(18): 265-272.
YAN J L, LI M, ZHANG W J, et al. Deep eutectic solvent extraction of distiller's grains polyphenols and its antioxidant and hypoglycemic abilities *in vitro*[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(18): 265-272.
- [8] 盛倩茹, 王娟. 大孔树脂纯化香蕉皮缩合单宁的吸附特性分析与工艺优化[J]. 农业工程学报, 2024, 40(13): 302-310.
SHENG Q R, WANG J. Optimizing the adsorption and purification of banana peel condensed tannins by macroporous resin[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2024, 40(13): 302-310.
- [9] ZHANG X, SU X Y, YU X Y, et al. Preparative separation of iridoid glucosides and crocins from *Gardeniae Fructus* using sequential macroporous resin column chromatography and evaluation of their anti-inflammatory and antioxidant activities [J]. Journal of Chromatography B, 2023, 1 229: 123887.
- [10] 孙立兰, 王坤, 张友良, 等. 芸豆皮多酚制备、纯化、鉴定及抗油脂氧化作用研究[J]. 食品工业科技, 2025, 46(2): 292-300.
SUN L L, WANG K, ZHANG Y L, et al. Preparation, purification, identification and anti-lipid oxidation of kidney bean skin polyphenols[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(2): 292-300.
- [11] 叶先青, 席俊, 朱晓艾, 等. 金莲花多酚的提取、纯化工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学

- 版), 2024, 45(5): 72-80.
- YE X Q, XI J, ZHU X A, et al. Optimization of extraction, purification process and antioxidation activity of polyphenols from *Flos trollii*[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2024, 45(5): 72-80.
- [12] 谢倩, 王威, 陈清西. 橄榄多酚含量测定方法的比较[J]. 食品科学, 2014, 35(8): 204-207.
- XIE Q, WANG W, CHEN Q X. Comparative study on three different methods for the determination of total phenolics in Chinese olive[J]. Food Science, 2014, 35(8): 204-207.
- [13] CHEN X M, WANG H, HUANG X J, et al. Efficient enrichment of total flavonoids from kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* L.) extracts by NKA-9 resin and antioxidant activities of flavonoids extract *in vitro*[J]. Food Chemistry, 2022, 374: 131508.
- [14] CAO D, BU F J, CHENG X X, et al. Purification of phenolics from *Plantago depressa* by macroporous resin: adsorption/desorption characteristics, chromatographic process development and UPLC-TQ-MS/MS quantitative analysis[J]. LWT, 2024, 203: 116405.
- [15] ZHANG Z W, WANG F, YANG W B, et al. A comparative study on the adsorption of 8-amino-1-naphthol-3, 6-disulfonic acid by a macroporous amination resin[J]. Chemical Engineering Journal, 2016, 283: 1 522-1 533.
- [16] 雷嘉昕, 李政, 莫嘉玮, 等. 管萼山豆根总黄酮的提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 林产化学与工业, 2024, 44(3): 87-96.
- LEI J X, LI Z, MO J W, et al. Extraction process optimization of total flavonoids from *Euchresta tubulosa* Dunn and antioxidant activity[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2024, 44(3): 87-96.
- [17] 翟晓娜, 胡龙彪, 李媛媛, 等. 菜籽饼超微粉酶解制备抗氧化活性肽[J]. 农业工程学报, 2024, 40(4): 284-291.
- ZHAI X N, HU L B, LI Y Y, et al. Preparing antioxidant peptides from ultra-fine powder of rapeseed meal[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2024, 40(4): 284-291.
- [18] LIU X Y, YAN S, ZHOU H, et al. Separation and purification of glabridin from a deep eutectic solvent extract of *Glycyrrhiza glabra* residue by macroporous resin and its mechanism[J]. Separation and Purification Technology, 2023, 315: 123731.
- [19] 许伟, 刘军利, 孙康, 等. 颗粒活性炭对亚甲基蓝的吸附与再生研究[J]. 林产化学与工业, 2024, 44(3): 69-77.
- XU W, LIU J L, SUN K, et al. Adsorption and regeneration properties of granular activated carbon for methylene blue[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2024, 44(3): 69-77.
- [20] KE C R, REN Y, GAO P, et al. Separation and purification of pyrroloquinoline quinone from fermentation broth by pretreatment coupled with macroporous resin adsorption[J]. Separation and Purification Technology, 2021, 257: 117962.
- [21] CHANG X L, WANG D, CHEN B Y, et al. Adsorption and desorption properties of macroporous resins for anthocyanins from the calyx extract of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(9): 2 368-2 376.
- [22] LIMWACHIRANON J, HUANG H, LI L, et al. Recovery of lotus (*Nelumbo nucifera Gaertn.*) seedpod flavonoids using polar macroporous resins: the updated understanding on adsorption/desorption mechanisms and the involved intermolecular attractions and bonding[J]. Food Chemistry, 2019, 299: 125108.
- [23] XI L S, MU T H, SUN H N. Preparative purification of polyphenols from sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves by AB-8 macroporous resins[J]. Food Chemistry, 2015, 172: 166-174.
- [24] BOPARAI H K, JOSEPH M, O'CARROLL D M. Kinetics and thermodynamics of cadmium ion removal by adsorption onto nano zerovalent iron particles[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 186(1): 458-465.
- [25] 寇亮, 刘越敏, 柳娜, 等. 大孔吸附树脂分离纯化湿生扁蕾总(口山)酮[J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(4): 522-530.
- KOU L, LIU Y M, LIU N, et al. Separation and purification of total xanthones from *Gentianopsis paludosa* using macroporous adsorption resin[J]. Traditional Chinese Drug Research and Clinical, 2022, 33(4): 522-530.
- [26] GONG L Z, WU Y Z, QIU X H, et al. Adsorption characteristics and enrichment of emodin from marine-derived *Aspergillus flavipes* HN4-13 extract by macroporous resin XAD-16[J]. Marine Drugs, 2022, 20(4): 231.
- [27] YANG Y H, LIANG Q M, ZHANG B, et al. Adsorption and desorption characteristics of flavonoids from white tea using macroporous adsorption resin[J]. Journal of Chromatography A, 2024, 1 715: 464621.
- [28] 吴萍香, 魏明, 丁凯莉, 等. 大孔树脂纯化艾草多酚及其对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用[J]. 食品与机械, 2023, 39(7): 13-19.
- WU P X, WEI M, DING K L, et al. Purification of polyphenols from wormwood by macroporous resin and inhibitory activity of its against α -glucosidase[J]. Food & Machinery, 2023, 39(7): 13-19.
- [29] 马燕, 魏媛, 王冕, 等. 谷物酚酸合成途径及代谢调控研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(15): 269-276.
- MA Y, WEI Y, WANG M, et al. A review of process in understand biosynthesis pathway and metabolic regulation of phenolic acids in cereals[J]. Food Science, 2019, 40(15): 269-276.