

青稞酒糟多酚的提取鉴定及其生物活性比较分析

陶燕勤¹, 罗毅皓^{1*}, 孙万成¹, 冯声宝², 李善文², 孔令武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, 青海海东 810500)

摘要: 为探究青稞酒糟中酚类物质的组成和含量, 研究其生物活性, 该研究以青稞和不同发酵周期的青稞酒糟为原料, 提取酚类物质, 测定总酚含量并分析物质构成, 比较不同样品之间抗氧化和抑菌活性的差异。结果表明, 青稞酒糟中总酚含量为 4.72~11.25 mg·g⁻¹, 从酒糟提取液中共检测出 22 种酚类化合物, 主要成分包括: 阿魏酸、儿茶素、没食子酸、丁香酸、芦丁、对香豆酸和绿原酸等。不同发酵周期的青稞酒糟中, 丢糟的总酚含量最高, 达 11.25 mg·g⁻¹, 经检测出的酚类物质总量为 1 470.64 μg·g⁻¹, 其游离酚和结合酚提取液对 DPPH、ABTS⁺ 自由基清除能力和 FRAP 还原能力分别为 2 052.72、2 319.20、5 050.71 μg TE·g⁻¹ 和 1 996.89、1 710.69、3 344.82 μg TE·g⁻¹; 对黑曲霉和青霉的抑菌圈直径分别为 15.55、36.56 mm 和 13.07、37.78 mm, 最小抑菌浓度和最小杀菌浓度均为 1.56 和 3.13 mg·mL⁻¹, 具有较强的抗氧化活性和抑菌活性。因此, 丢糟中的酚类物质组成和含量丰富, 抗氧化和抑菌活性突出, 有望在天然植物源保鲜剂和功能性产品中进一步开发应用。

关键词: 青稞; 酒糟; 酚类物质; 抗氧化; 抗真菌

文章编号: 1673-9078(2026)05-128-139 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.5.0355

Phenolic Composition and Bioactivities of Highland Barley Fermentation Spent

TAO Yanqin¹, LUO Yihao^{1*}, SUN Wancheng¹, FENG Shengbao², LI Shanwen², KONG Lingwu²
(1. College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016, China)
(2. Qinghai Huzhu Tianyoude Highland Barley Liquor Co. Ltd., Haidong 810500, China)

Abstract: To investigate the phenolic composition, content, and biological activities of highland barley fermentation spent (HBFS), phenolic compounds were extracted from highland barley and HBFS obtained at different fermentation stages. Total phenolic content was determined, individual phenolic compounds were identified, and differences in antioxidant and antifungal activities among samples were evaluated. Results showed that the total phenolic content of HBFS ranged from 4.72 to 11.25 mg·g⁻¹. A total of 22 phenolic compounds were identified, with ferulic acid, catechin, gallic acid, syringic acid, rutin, p-coumaric acid, and chlorogenic acid as the predominant constituents. Discarded HBFS exhibited the highest total phenolic content (11.25 mg·g⁻¹) and the highest total detected phenolic concentration (1 470.64 μg·g⁻¹). Both free and bound phenolic extracts from discarded HBFS demonstrated strong antioxidant and antifungal activities. The DPPH and ABTS⁺ radical scavenging capacities and FRAP reducing power of free phenolics reached 2 052.72, 2 319.20, and 5 050.71 μg TE·g⁻¹, respectively, while those of bound phenolics were 1 996.89, 1 710.69, and 3 344.82 μg TE·g⁻¹, respectively. Antifungal assays showed inhibition zone diameters of 15.55 and 13.07 mm against *Aspergillus niger* and 36.56 and 37.78 mm against *Penicillium* spp. for free and bound phenolics, respectively. The minimum inhibitory concentration and minimum fungicidal concentration for both extracts were 1.56 and 3.13 mg·mL⁻¹, respectively. These findings demonstrate that discarded HBFS is a rich source of phenolic compounds with pronounced antioxidant

引文格式:
陶燕勤, 罗毅皓, 孙万成, 等. 青稞酒糟多酚的提取鉴定及其生物活性比较分析[J]. 现代食品科技, 2026, 42(5): 128-139.
TAO Yanqin, LUO Yihao, SUN Wancheng, et al. Phenolic composition and bioactivities of highland barley fermentation spent [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(5): 128-139.

收稿日期: 2025-03-12 ; 修回日期: 2025-05-15 ; 接受日期: 2025-05-22
基金项目: 青海省科技厅项目 (2025ZY006)
作者简介: 陶燕勤 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能食品, E-mail : 1364322052@qq.com
通讯作者: 罗毅皓 (1976-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 青藏高原资源加工及食品功能成分与健康机制研究, E-mail : 291649347@qq.com

and antifungal activities, indicating its strong potential for development as a natural preservative or functional ingredient in food and pharmaceutical applications.

Key words: highland barley; fermentation spent; phenolic compounds; antioxidant activity; antifungal activity

青藏地区酿制青稞酒的历史悠久,开发的品类包括啤酒、白酒、保健酒等多种类型^[1],而其副产物—酒糟,是酿酒过程中原料经发酵蒸馏后遗留的固体废弃物^[2]。研究表明,青稞酒糟中不仅含有丰富的粗淀粉、粗纤维、粗蛋白等基础营养成分,还含有多酚、有机酸、活性肽、氨基酸、酯类、多糖等多种活性物质^[3,4],具有较高的研究和利用价值。多酚广泛存在于植物中,作为次级代谢产物,其羟基苯环结构赋予其清除自由基、螯合金属离子以及破坏微生物细胞膜等功效,近年来,多酚因具有抑菌、消炎、抗氧化、抗癌等生物活性而备受关注^[5,6]。大量研究表明,多酚的抗氧化、抑菌活性突出,可用作天然植物源保鲜剂或开发功能性食品、药品。

酒糟中的多酚类物质组成含量丰富,目前,关于酒糟类多酚的研究主要集中在以白酒糟为主的高粱型酒糟,涉及的方面包括基础含量测定、提取条件的探究和工艺优化、抗氧化活性的评定、酚类化合物的鉴定以及功能活性研究;而国外则主要集中在啤酒糟多酚上,如 Bleus 等^[7]利用深共熔溶剂高温水热法萃取有效提高了啤酒糟多酚的提取得率;而将啤酒糟酚类化合物作为抗高血压、抗过敏、抗炎和抗糖尿病的药物,可在慢性疾病中起到预防和控制作用^[8]。多酚是酒糟中重要的生物活性成分之一,明确其组成含量及其功能活性可为酒糟多酚在天然植物源保鲜剂中以及功能性食品、药品的开发应用提供重要依据。但现有研究针对青稞酒糟多酚的内容还相对较少,具体多酚的组成和含量尚不明确,对霉菌的抑制活性也尚未可知。由此,本研究选取自 5 种不同发酵周期内的青稞酒糟作为原料提取酚类物质,利用超高效液相色谱串联质谱法测定其组成和含量,并探究青稞酒糟多酚体外抗氧化活性和对霉菌的抑制活性,旨在为青稞酒糟多酚的功能性研究提供理论依据,开发更多天然植物源保鲜剂以及功能性产品,提高其综合利用价值,致力于解决酒糟的资源浪费问题。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

青稞、青稞酒糟,天佑德青稞酒股份有限公司; 0.45 μm 有机微孔滤膜,上海兴亚净化材料厂;福林酚、多酚标准品、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1, 1-Diphenyl-

2-picrylhydrazine, DPPH)、2,2-二氮-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)铵盐 (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid, ABTS)、2,4,6-三吡啶基三嗪 (2,4,6-Tripyridin-yl-1,3,5-triazine, TPTZ), 北京索莱宝科技有限公司;水溶性维生素 E (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic Acid, Trolox), 安徽酷尔生物工程有限公司;六水合氯化铁、过硫酸钾,国药集团化学试剂有限公司;菌种(青霉、黑曲霉),北京保藏生物科技有限公司;马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (Potato Dextrose Agar, PDA), 北京奥博星生物技术有限公司;RPMI 1640 培养基,北京中生奥邦生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

800A 潮汐研磨机,东莞市华太电器有限公司; TH-500uvf 超声波清洗机,上海拓赫机电科技有限公司; DF-101S 磁力搅拌器,上海迪仪器设备有限公司; J-15/15R 系列高速离心机,贝克曼库尔特国际贸易有限公司; Agilent 6545 超高效液相飞行时间高分辨质谱联用仪,美国 Agilent 公司; YM 高压蒸汽灭菌锅,江苏迅迪仪器科技有限公司; SW-CJ-1D 超净工作台,苏州净化设备有限公司; SPX-250F 恒温培养箱,宁波普朗特仪器有限公司; Multiskan FC 酶标仪,赛默飞世尔科技有限公司。

1.3 青稞酒糟预处理

青稞酒糟经除杂后于 45 $^{\circ}\text{C}$ 下热风干燥 5 h, 粉碎过筛后装袋密封备用。

1.4 酚类物质的提取及含量测定

1.4.1 青稞酒糟游离酚和结合酚的提取

称取青稞酒糟粉末 5.0 g, 按料液比 1:20 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 加入体积分数为 75% 的乙醇, 超声处理后常温磁力搅拌 4 h, 再以 5 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min 收集上清液, 重复 3 次合并上清液, 旋转蒸干后乙醇定容至 50 mL, 过有机滤膜得到游离酚提取液。接着向 5.0 g 残渣中按料液比 1:20 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 加入体积分数为 10% 的盐酸甲醇, 超声处理后 65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴振荡 2 h, 再以 5 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min 收集上清液, 加入乙酸乙酯萃取, 重复 3 次合并上清液, 旋转蒸干后乙醇定容至 50 mL, 过有机滤膜得到结合酚提取液。

1.4.2 青稞酒糟总酚含量的测定

样品溶液稀释后采用 Folin-Ciocalteu 法测定总酚含量。标准品为没食子酸,标准溶液质量浓度 0~300 mg·mL⁻¹,制作标准曲线: $y=0.008\ 15x+0.161\ 69$ ($R^2=0.998$),结果以每克酒糟干物质中没食子酸当量 (mg GAE·g⁻¹) 表示。

1.5 酚类物质的组成及含量分析

参考钟江等^[9]的方法稍作修改,超高效液相色谱-电喷雾电离-四极杆飞行时间串联质谱技术 (UPLC-ESI-QTOF/MS) 对青稞和酒糟提取液中多酚的组成和含量进行分析。色谱条件: ACQUITY UPLC HSS T₃ 色谱柱,柱温 40 ℃,进样 5 μL,流动相为 0.1% 甲酸 (A) 和乙腈 (B),梯度洗脱: 0~1 min, 2% B; 1~14 min, 2%~60% B; 14~17 min, 60%~98% B; 17~18 min, 98% B; 18~20 min, 98%~2% B; 20~25 min, 2% B。以多酚标准品为对照,通过峰面积计算多酚物质含量,结果以每克酒糟干物质 (μg·g⁻¹) 表示。

1.6 酚类物质的抗氧化活性

1.6.1 DPPH 自由基清除能力测定

取 100 μL 样品溶液或不同质量浓度 Trolox 的溶液 (0~200 μg·mL⁻¹) 于离心管,加入 1 900 μL DPPH 溶液,混匀避光静置 30 min,于 517 nm 处测定吸光度值。根据标准曲线计算 DPPH 自由基清除活性,并表示为每克酒糟干物质 Trolox 当量 (TE, Trolox Equivalent) 的微克数 (μg TE·g⁻¹)。标准曲线以 Trolox 标准溶液质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制: $y_1=-0.002\ 06x_1+0.523\ 86$ ($R^2=0.999$)。

1.6.2 FRAP 还原/抗氧化能力测定

取 50 μL 样品溶液或不同质量浓度 Trolox 的溶液 (0~400 μg·mL⁻¹) 于离心管,加入 2 450 μL FRAP 工作液。混匀避光静置 30 min,于 593 nm 处测定吸光度值。根据标准曲线计算 FRAP 还原/抗氧化活性,并表示为每克酒糟干物质 Trolox 当量 (TE) 的微克数 (μg TE·g⁻¹)。标准曲线以 Trolox 标准溶液质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制: $y_2=0.001\ 7x_2+0.285\ 38$ ($R^2=0.999$)。

1.6.3 ABTS⁺ 自由基清除能力测定

取 100 μL 样品溶液或不同质量浓度 Trolox 的溶液 (0~150 μg·mL⁻¹) 于离心管,加入 3 900 μL ABTS 工作液。混匀避光中静置 30 min,于 734 nm 处测定吸光度值。根据标准曲线计算 ABTS⁺ 自由基清除活性,并表示为每克酒糟干物质 Trolox 当量 (TE) 的微克

数 (μg TE·g⁻¹)。标准曲线以 Trolox 标准溶液质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制: $y_3=-0.002\ 9x_3+0.723\ 10$ ($R^2=0.999$)。

1.7 酚类物质的抗霉菌活性

1.7.1 菌种活化及霉菌孢子悬浮液的制备

将黑曲霉和青霉接种于 PDA 斜面,35±2 ℃ 培养 24~48 h 至产生大量孢子。从新鲜平板上挑取活化好的菌种置于无菌生理盐水,调整霉菌悬液为 1~2.5×10⁶ CFU/mL。另从平板上挑取活化菌种好的接种于 RPMI 1640 培养基,调整霉菌悬液为 1~2.5×10⁶ CFU/mL。

1.7.2 抑菌圈的测定

将 PDA 培养基熔化后冷却至 45 ℃ 倒入培养皿,蘸取霉菌悬液涂布于培养基表面,静置 5 min,打孔器打孔 (6 mm),向孔内加入青稞酒糟提取液,35±2 ℃ 恒温培养 24~48 h,测定抑菌圈直径。判定标准参考代安娜等^[10]的方法,高度敏感: 抑菌圈≥15 mm; 中度敏感: 10~15 mm; 低度敏感: 7~9 mm; 无抑菌圈视为不敏感。

1.7.3 最小抑菌浓度和最小杀菌浓度的测定

采用二倍稀释法,将青稞酒糟提取液用 RPMI 1640 培养基进行倍比稀释,在 96 孔板中加入 100 μL 稀释液,向每个含稀释液的孔中加入 100 μL 霉菌悬液,设置阳性对照 (含霉菌悬液不含多酚提取液) 和阴性对照 (含培养基不含霉菌悬液),35±2 ℃ 培养 24~48 h,肉眼观察无可见菌落生长的最低抑菌剂质量浓度即为 MIC (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)。从 MIC 实验无菌生长的孔中吸取 100 μL 液体涂布于 PDA 培养基,35±2 ℃ 培养 24~48 h,无肉眼可见菌落的最低质量浓度即为 MFC (Minimum Fungicidal Concentration, MFC)。

1.8 数据处理

每组 3 个以上有效重复试验 ($n\geq 3$),实验数据通过 Microsoft Excel 2021 软件进行整理,采用 IBM SPSS statistics 27 软件进行统计学分析,通过独立样本 T 检验和单因素 ANOVA 检验结合邓肯氏法进行分析比较,评估不同组样品间的差异性,结果以均值±标准差表示。利用 Origin 2024 软件绘制柱状图,利用 RStudio 2024 软件结合 ggplot2 和 linkET 软件包绘制气泡图和相关性热图。

2 结果与讨论

2.1 青稞及其酒糟的总酚含量

选取未发酵的青稞以及 5 种来自不同发酵周期的

酒糟为原料，测定其酚类物质含量，结果如表 1 所示。青稞中游离酚、结合酚以及总酚含量分别为 1.23、2.38 和 3.61 mg·g⁻¹，与 Yang 等^[11]所测 12 种青稞中游离酚（1.66~2.38 mg·g⁻¹）、结合酚（1.70~2.41 mg·g⁻¹）以及总酚（3.36~4.54 mg·g⁻¹）含量相近，且结合酚占比 65.93%，符合 Deng 等^[12]所测结合酚比例范围（53.76%~68.26%）。同时，结合酚含量高于游离酚含量表明了青稞中的酚类物质主要以结合态形式存在，这一特征与 Obadi 等^[13]关于青稞多酚存在形态的研究结论具有相似性。取自不同发酵周期的青稞酒糟，其提取液中游离酚（1.69~5.40 mg·g⁻¹）、结合酚（3.03~5.85 mg·g⁻¹）以及总酚（4.72~11.25 mg·g⁻¹）含量均大于青稞原料，这可能是由于在青稞酿酒过程中涉及微生物对青稞不同营养成分的利用和转化，一方面，微生物消耗谷物淀粉、葡萄糖等营养物质，释放原料中的多酚，酚类物质一部分转移到酒酿中，另一部分富集在酒糟中，同时，由于消耗了淀粉等营养成分，随着发酵时间的延长，剩余干基的质量逐渐减少，相当于青稞经发酵后在单位质量内浓缩，由此，相同取样量条件下，酒糟占比增加，所富含的多酚含量增加；另一方面，微生物在酿酒过程中改变了原料的含量、结构，进而可能对内环境条件产生影响，如 pH 值、氧化还原电位等，激活了与多酚合成相关的代谢途径，使细胞内合成多酚的基因表达增强，从而影响多酚的代谢和积累或合成新的酚类物质使其含量增加^[14]，例如 Hu 等^[15]采用植物乳杆菌 B7 和纳豆芽孢杆菌复合发酵玫瑰花渣，产生了新的酚类化合物绿原酸。不同发酵周期的青稞酒糟，酚类物质含量差异较大，其中，丢糟的总酚含量最高，为 11.25 mg·g⁻¹，其含量略低于胡志明^[16]所测苦荞酒糟总酚含量（12.47 mg·g⁻¹），但与 Zhong 等^[17]所报道的高粱酒糟（10.78 mg·g⁻¹）、高粱-小麦酒糟（8.70 mg·g⁻¹）以及玉米酒糟（7.14 mg·g⁻¹）相比，其含量更为丰富，不同酒糟提取液中总酚含量的差异与酿造谷物、酿造工艺、酿造环境、酿造周期以及提取方法密切相关。此外，研究还发现青稞及其各组酒糟中结合酚（2.38~5.85 mg·g⁻¹）相较于游离酚

（1.23~5.40 mg·g⁻¹）含量更为丰富，一种情况可能是由于发酵时间较短，酿造体系中的青稞还未充分发酵，结合酚由于与酯键、糖苷键或疏水作用与植物基质结合，没有被完全释放出来；另一种情况则可能是由于发酵增加了不可溶性膳食纤维^[18]，而膳食纤维可以与多酚结合形成稳定的复合物，保护多酚不被氧化降解^[19]。

以上分析表明，青稞酒糟中酚类物质含量丰富，微生物可以消耗谷物淀粉使多酚得到有效富集，且富集的酚类物质有相当一部分被保留在青稞酒糟中，不同发酵周期的酒糟中酚类物质含量差异较大，丢糟的游离酚、结合酚以及总酚含量均最高，可作为青稞酒糟多酚的最佳原料来源。

2.2 青稞及其酒糟酚类物质的组成和含量

采用 UPLC-ESI-QTOF/MS 技术鉴定青稞及其 5 种酒糟提取液中的酚类物质，其总酚、游离酚、结合酚的组成含量如图 1、表 2、3 和 4 所示，在青稞以及青稞酒糟提取液中共定量了 22 种酚类化合物，其中游离酚有 21 种，结合酚有 22 种。

由图 1c 和表 2 可知，青稞和头楂酒糟中共检出 19 种酚类物质，二楂 10 d、三楂 20 d、三楂 30 d 酒糟以及丢糟中共检出 22 种酚类物质，经检测出的酚类物质总量分别为 679.25、1 161.31、1 249.40、1 427.77、1 362.16、1 470.64 μg·g⁻¹。在此基础上而言，酒糟中酚类物质的丰富度和含量整体上高于青稞。分析青稞和酒糟提取液中多酚的组成和含量可以发现，青稞中主要的酚类物质有阿魏酸、儿茶素，其次是没食子酸、丁香酸、芦丁、对香豆酸和绿原酸，这些都是青稞中的特征性酚类化合物，而这些物质在青稞酒糟中均有所保留。阿魏酸是所测青稞及其酒糟提取液中含量最高的酚类化合物，含量范围为（293.60~566.66 μg·g⁻¹），据报道，阿魏酸主要存在于谷物麸皮中，具有很好的抗氧化、抗菌、抗血栓和抗癌等生物活性^[20]，Zhang^[21]和 Sibhatu 等^[22]分别从啤酒糟和白酒糟中富集并提取阿魏酸，由此，青稞酒糟也可作为阿魏酸良好的原料来源。

表 1 青稞及其不同发酵周期酒糟的总酚含量 (mg·g⁻¹)

Table 1 Total phenolic content of highland barley and its fermentation spent at different fermentation durations (mg·g⁻¹)

多酚	青稞	头楂	二楂 10 d	三楂 20 d	三楂 30 d	丢糟
游离酚	1.23 ± 0.11 ^f	1.69 ± 0.08 ^e	3.57 ± 0.18 ^d	4.94 ± 0.21 ^c	4.15 ± 0.19 ^b	5.40 ± 0.19 ^a
结合酚	2.38 ± 0.10 ^e	3.03 ± 0.71 ^d	4.38 ± 0.14 ^c	5.54 ± 0.52 ^b	5.27 ± 0.67 ^{ab}	5.85 ± 0.14 ^a
总酚	3.61 ± 0.21 ^f	4.72 ± 0.79 ^e	7.95 ± 0.31 ^d	10.48 ± 0.72 ^c	9.42 ± 0.85 ^b	11.25 ± 0.32 ^a

注：天佑德青稞酒生产周期约 80 d，头楂、二楂发酵期为 25 d，三楂、四楂为 15 d（合称三楂，共 30 d）四次取酒后作丢糟处理。
表中不同小写字母表示不同样品间差异显著（P<0.05）。

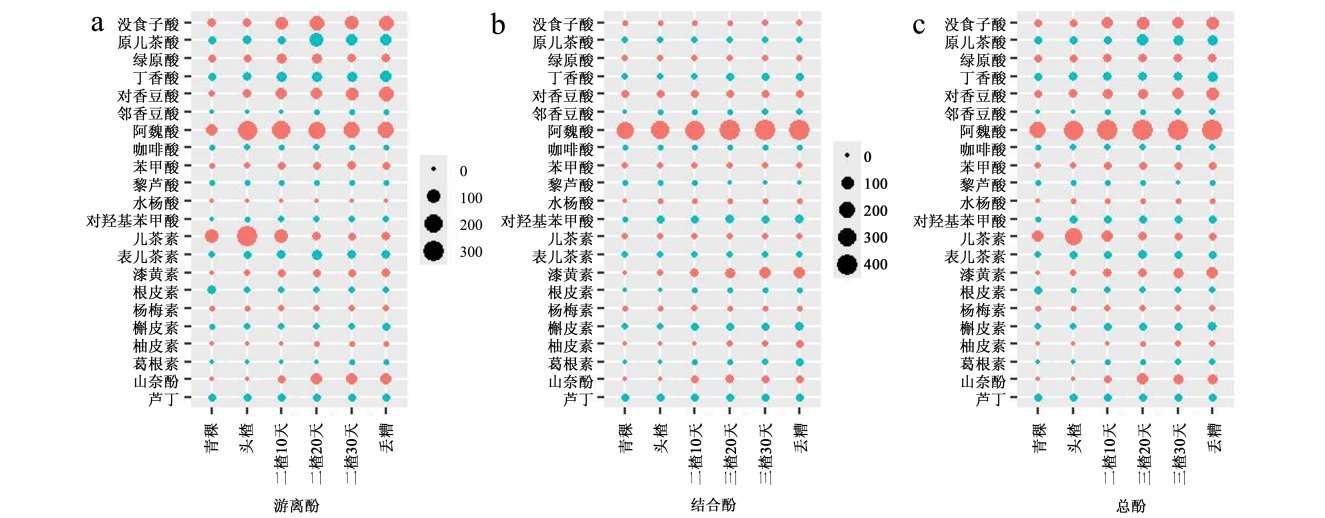


图 1 青稞及其不同发酵周期酒糟多酚的组成含量

Fig.1 Composition of polyphenols in highland barley and its fermentation spent at different fermentation durations

注: (a) 游离酚提取液中酚类物质的组成含量; (b) 结合酚提取液中酚类物质的组成含量; (c) 总酚中酚类物质的组成含量。

表 2 青稞及其不同发酵周期酒糟的总酚测定结果

Table 2 Determination of total phenols of highland barley and its fermentation spent at different fermentation durations (μg·g⁻¹)

酚类化合物	保留时间/min	分子式	质荷比(m/z)	离子峰类型	不同发酵周期内青稞酒糟					
					青稞	头楂	二楂 10 d	三楂 20 d	三楂 30 d	丢糟
没食子酸	3.600	C ₇ H ₆ O ₅	169.014 2	[M-H] ⁻	36.04 ± 0.18 ^d	31.54 ± 0.21 ^e	90.40 ± 0.15 ^e	128.32 ± 2.08 ^a	107.48 ± 1.51 ^b	128.61 ± 0.93 ^a
原儿茶酸	3.746	C ₇ H ₆ O ₄	153.019 9	[M-H] ⁻	25.10 ± 0.40 ^f	32.37 ± 0.17 ^d	29.78 ± 0.40 ^e	107.02 ± 1.00 ^a	73.47 ± 0.80 ^b	69.60 ± 0.59 ^c
绿原酸	5.264	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 8	[M-H] ⁻	28.54 ± 0.06 ^e	28.41 ± 0.05 ^e	57.75 ± 0.28 ^a	50.03 ± 0.10 ^b	44.21 ± 0.36 ^c	42.62 ± 0.44 ^d
丁香酸	5.887	C ₉ H ₁₀ O ₅	197.045 5	[M-H] ⁻	34.12 ± 0.04 ^f	39.86 ± 0.17 ^e	52.79 ± 0.28 ^d	61.29 ± 0.98 ^b	59.25 ± 0.49 ^c	66.99 ± 0.20 ^a
对香豆酸	8.882	C ₉ H ₈ O ₃	163.040 1	[M-H] ⁻	29.71 ± 0.53 ^f	44.40 ± 0.36 ^e	69.97 ± 0.23 ^d	83.88 ± 0.21 ^c	96.77 ± 0.50 ^b	131.84 ± 0.04 ^a
邻香豆酸	7.863	C ₉ H ₈ O ₃	163.040 1	[M-H] ⁻	1.40 ± 0.02 ^f	2.26 ± 0.04 ^d	5.14 ± 0.02 ^e	7.04 ± 0.10 ^a	13.35 ± 0.20 ^b	13.98 ± 0.10 ^c
阿魏酸	5.413	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193.050 6	[M-H] ⁻	293.60 ± 3.69 ^e	490.24 ± 2.56 ^d	559.36 ± 5.22 ^a	566.66 ± 7.59 ^a	543.18 ± 5.15 ^b	528.72 ± 2.71 ^c
咖啡酸	5.086	C ₉ H ₈ O ₄	179.034 9	[M-H] ⁻	8.30 ± 0.08 ^a	12.70 ± 0.26 ^b	10.32 ± 0.16 ^b	11.50 ± 0.19 ^c	7.71 ± 0.21 ^d	11.05 ± 0.32 ^e
苯甲酸	5.011	C ₇ H ₆ O ₂	121.029 5	[M-H] ⁻	13.39 ± 0.91 ^e	17.83 ± 0.08 ^d	30.1 ± 0.52 ^b	28.38 ± 0.38 ^c	35.00 ± 0.86 ^a	31.54 ± 0.54 ^b
黎芦酸	6.452	C ₉ H ₁₀ O ₄	181.050 6	[M-H] ⁻	6.59 ± 0.19 ^a	6.66 ± 0.04 ^a	3.88 ± 0.02 ^b	2.42 ± 0.02 ^d	2.22 ± 0.04 ^d	2.78 ± 0.14 ^c
水杨酸	4.993	C ₇ H ₆ O ₃	137.024 4	[M-H] ⁻	0.79 ± 0.04 ^e	2.77 ± 0.03 ^d	3.79 ± 0.15 ^c	5.21 ± 0.04 ^a	4.05 ± 0.04 ^b	4.03 ± 0.07 ^b
对羟基苯甲酸	7.396	C ₇ H ₆ O ₃	137.024 4	[M-H] ⁻	3.10 ± 0.02 ^f	27.22 ± 0.24 ^c	30.14 ± 0.80 ^d	36.96 ± 0.07 ^b	34.99 ± 0.24 ^c	39.39 ± 0.62 ^a
儿茶素	4.642	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.071 8	[M-H] ⁻	99.92 ± 0.56 ^c	311.41 ± 2.09 ^a	105.48 ± 0.44 ^b	41.35 ± 0.63 ^d	27.28 ± 0.27 ^f	36.96 ± 0.20 ^e
表儿茶素	5.703	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.071 7	[M-H] ⁻	17.97 ± 0.12 ^e	29.36 ± 0.11 ^d	38.12 ± 0.64 ^c	42.75 ± 0.09 ^a	38.96 ± 0.20 ^b	38.01 ± 0.28 ^c
漆黄素	7.144	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.040 5	[M-H] ⁻	1.27 ± 0.02 ^f	18.90 ± 0.09 ^e	45.56 ± 0.21 ^d	57.99 ± 0.73 ^c	82.70 ± 1.44 ^b	104.46 ± 1.69 ^a
根皮素	8.710	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	273.076 8	[M-H] ⁻	26.76 ± 0.22 ^a	7.82 ± 0.15 ^e	9.86 ± 0.08 ^{bc}	9.76 ± 0.24 ^{bc}	10.08 ± 0.01 ^b	9.67 ± 0.06 ^d
杨梅素	6.999	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	317.030 2	[M-H] ⁻	7.20 ± 0.01 ^d	7.27 ± 0.06 ^d	13.64 ± 0.07 ^a	13.59 ± 0.02 ^a	13.24 ± 0.06 ^b	12.81 ± 0.13 ^c
槲皮素	8.541	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301.035 3	[M-H] ⁻	11.81 ± 0.13 ^f	17.07 ± 0.09 ^e	25.45 ± 0.07 ^d	26.92 ± 0.19 ^c	29.73 ± 1.26 ^b	42.46 ± 0.17 ^a
柚皮素	9.774	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.061 2	[M-H] ⁻	nd	nd	1.93 ± 0.04 ^d	9.15 ± 0.06 ^c	13.28 ± 0.01 ^b	21.52 ± 0.32 ^a
葛根素	8.347	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	415.103 5	[M-H] ⁻	nd	nd	2.74 ± 0.04 ^d	7.71 ± 0.06 ^c	14.26 ± 0.07 ^b	19.97 ± 0.25 ^a
山柰酚	7.948	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.040 5	[M-H] ⁻	nd	nd	30.30 ± 0.03 ^d	96.60 ± 0.03 ^a	78.11 ± 0.03 ^b	80.26 ± 0.07 ^c
芦丁	6.630	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.146 1	[M-H] ⁻	33.64 ± 0.22 ^b	33.22 ± 0.13 ^{ab}	32.92 ± 0.60 ^{ab}	33.26 ± 0.19 ^{ab}	32.86 ± 0.01 ^{ab}	33.39 ± 0.25 ^a
总酚类化合物	—	—	—	—	679.25 ± 3.81 ^f	1 161.31 ± 0.88 ^e	1 249.40 ± 4.56 ^d	1 427.77 ± 9.02 ^b	1 362.16 ± 2.47 ^d	1 470.64 ± 1.08 ^a

注: 表中不同小写字母表示不同样品间差异显著 (P<0.05), nd 表示未检出, 下表同。

表 3 青稞及其不同发酵周期酒糟的游离酚测定结果

Table 3 Determination of free phenols of highland barley and its fermentation spent at different fermentation durations (μg·g ⁻¹)						
酚类化合物名称	青稞	头楂	二楂 10 d	三楂 20 d	三楂 30 d	丢糟
没食子酸	31.57 ± 0.22 ^e	26.55 ± 0.02 ^f	85.07 ± 0.08 ^d	122.99 ± 1.65 ^a	99.55 ± 1.47 ^c	118.82 ± 0.92 ^b
原儿茶酸	16.33 ± 0.32 ^f	22.62 ± 0.16 ^d	20.19 ± 0.40 ^e	92.94 ± 0.97 ^a	62.64 ± 0.39 ^b	59.43 ± 0.36 ^c
绿原酸	14.05 ± 0.10 ^e	14.39 ± 0.30 ^e	42.27 ± 0.16 ^a	35.01 ± 0.13 ^b	30.37 ± 0.05 ^c	28.24 ± 0.40 ^d
丁香酸	19.57 ± 0.16 ^f	25.57 ± 0.25 ^e	37.51 ± 0.17 ^d	44.83 ± 0.72 ^b	41.62 ± 0.36 ^c	49.69 ± 0.12 ^a
对香豆酸	11.24 ± 0.12 ^f	26.19 ± 0.26 ^e	49.22 ± 0.19 ^d	63.92 ± 0.35 ^c	78.59 ± 0.66 ^b	110.12 ± 0.23 ^a
邻香豆酸	0.14 ± 0.01 ^f	0.54 ± 0.02 ^e	0.88 ± 0.01 ^d	1.33 ± 0.02 ^c	1.48 ± 0.02 ^b	1.81 ± 0.07 ^a
阿魏酸	64.65 ± 0.90 ^e	227.99 ± 2.54 ^a	210.61 ± 3.43 ^b	164.06 ± 2.06 ^c	152.86 ± 1.92 ^d	148.71 ± 1.38 ^d
咖啡酸	3.90 ± 0.00 ^d	7.55 ± 0.16 ^a	4.86 ± 0.14 ^c	5.66 ± 0.08 ^b	2.12 ± 0.02 ^e	4.53 ± 0.35 ^c
苯甲酸	5.07 ± 0.04 ^e	8.71 ± 0.10 ^d	15.41 ± 0.19 ^c	15.24 ± 0.06 ^c	25.53 ± 0.83 ^a	18.20 ± 0.09 ^b
黎芦酸	4.86 ± 0.15 ^a	4.51 ± 0.01 ^b	2.16 ± 0.01 ^c	1.29 ± 0.00 ^e	1.27 ± 0.02 ^e	1.47 ± 0.07 ^d
水杨酸	nd	nd	nd	nd	nd	nd
对羟基苯甲酸	nd	4.15 ± 0.01 ^d	6.20 ± 0.04 ^c	8.58 ± 0.05 ^a	8.27 ± 0.02 ^b	8.80 ± 0.27 ^a
儿茶素	90.50 ± 0.41 ^c	302.81 ± 1.98 ^a	96.79 ± 0.45 ^b	32.76 ± 0.23 ^d	18.58 ± 0.11 ^f	28.18 ± 0.13 ^e
表儿茶素	8.08 ± 0.09 ^f	20.89 ± 0.01 ^e	29.47 ± 0.22 ^c	33.90 ± 0.06 ^a	30.80 ± 0.05 ^b	28.56 ± 0.22 ^d
漆黄素	nd	6.00 ± 0.13 ^e	11.92 ± 0.03 ^d	12.15 ± 0.05 ^c	16.68 ± 0.06 ^b	28.15 ± 0.15 ^a
根皮素	25.25 ± 0.26 ^a	6.33 ± 0.10 ^d	6.94 ± 0.02 ^c	6.37 ± 0.33 ^d	7.64 ± 0.20 ^b	6.24 ± 0.01 ^d
杨梅素	2.49 ± 0.00 ^e	2.97 ± 0.00 ^d	6.70 ± 0.01 ^c	6.92 ± 0.03 ^{ab}	7.01 ± 0.01 ^a	6.85 ± 0.08 ^b
槲皮素	4.57 ± 0.02 ^d	6.12 ± 0.03 ^c	6.31 ± 0.01 ^c	6.16 ± 0.04 ^c	8.54 ± 0.38 ^b	13.68 ± 0.21 ^a
柚皮素	nd	nd	0.36 ± 0.03 ^d	1.37 ± 0.05 ^c	1.53 ± 0.03 ^b	2.77 ± 0.01 ^a
葛根素	nd	nd	nd	1.16 ± 0.00 ^c	1.56 ± 0.02 ^b	2.29 ± 0.01 ^a
山柰酚	nd	nd	13.79 ± 0.24 ^d	63.08 ± 0.35 ^a	58.72 ± 0.17 ^b	52.30 ± 0.10 ^c
芦丁	17.09 ± 0.09 ^b	16.84 ± 0.17 ^{ab}	16.49 ± 0.39 ^{ab}	17.09 ± 0.04 ^a	16.65 ± 0.08 ^a	17.05 ± 0.17 ^a
总酚类化合物	319.34 ± 0.85 ^e	730.74 ± 0.30 ^b	663.15 ± 3.76 ^d	736.80 ± 4.04 ^a	671.99 ± 0.42 ^c	735.91 ± 0.98 ^{ab}

表 4 青稞及其不同发酵周期酒糟的结合酚测定结果

Table 4 Determination of bound phenols of highland barley and its fermentation spent at different fermentation durations (μg·g ⁻¹)						
酚类化合物名称	青稞	头楂	二楂 10 d	三楂 20 d	三楂 30 d	丢糟
没食子酸	4.47 ± 0.04 ^d	4.99 ± 0.23 ^c	5.33 ± 0.07 ^c	5.32 ± 0.42 ^c	7.93 ± 0.03 ^b	9.80 ± 0.02 ^a
原儿茶酸	8.77 ± 0.08 ^d	9.75 ± 0.32 ^c	9.59 ± 0.01 ^c	14.08 ± 0.03 ^a	10.83 ± 0.41 ^b	10.17 ± 0.23 ^c
绿原酸	14.49 ± 0.04 ^b	14.02 ± 0.25 ^{bc}	15.49 ± 0.11 ^a	15.02 ± 0.03 ^a	13.84 ± 0.41 ^c	14.37 ± 0.04 ^b
丁香酸	14.55 ± 0.12 ^d	14.29 ± 0.08 ^d	15.28 ± 0.10 ^c	16.46 ± 0.26 ^b	17.63 ± 0.13 ^a	17.30 ± 0.09 ^a
对香豆酸	18.47 ± 0.41 ^d	18.21 ± 0.09 ^d	20.74 ± 0.41 ^b	19.96 ± 0.13 ^c	18.18 ± 0.16 ^d	21.72 ± 0.18 ^a
邻香豆酸	1.26 ± 0.01 ^d	1.72 ± 0.02 ^c	4.26 ± 0.04 ^c	5.71 ± 0.08 ^a	11.87 ± 0.22 ^b	12.17 ± 0.03 ^c
阿魏酸	228.96 ± 2.79 ^f	262.25 ± 0.01 ^e	348.75 ± 1.79 ^d	402.60 ± 5.54 ^a	390.32 ± 3.23 ^b	380.00 ± 1.33 ^c
咖啡酸	4.40 ± 0.08 ^d	5.15 ± 0.10 ^c	5.46 ± 0.01 ^{bc}	5.85 ± 0.27 ^b	5.59 ± 0.23 ^b	6.51 ± 0.03 ^a
苯甲酸	8.32 ± 0.86 ^c	9.12 ± 0.02 ^c	14.69 ± 0.33 ^a	13.14 ± 0.43 ^b	9.47 ± 0.03 ^c	13.33 ± 0.45 ^b
黎芦酸	1.74 ± 0.04 ^b	2.15 ± 0.05 ^a	1.72 ± 0.03 ^b	1.13 ± 0.02 ^d	0.95 ± 0.01 ^e	1.31 ± 0.07 ^c
水杨酸	0.79 ± 0.04 ^c	2.77 ± 0.03 ^d	3.79 ± 0.15 ^c	5.21 ± 0.04 ^a	4.05 ± 0.04 ^b	4.03 ± 0.07 ^b
对羟基苯甲酸	3.10 ± 0.02 ^c	23.07 ± 0.23 ^d	23.94 ± 0.76 ^d	28.37 ± 0.02 ^b	26.72 ± 0.26 ^c	30.59 ± 0.35 ^a

续表4

酚类化合物名称	青稞	头楂	二楂 10 d	三楂 20 d	三楂 30 d	丢糟
儿茶素	9.42 ± 0.15 ^a	8.61 ± 0.11 ^b	8.68 ± 0.01 ^b	8.58 ± 0.40 ^b	8.70 ± 0.38 ^b	8.78 ± 0.07 ^b
表儿茶素	9.89 ± 0.03 ^a	8.47 ± 0.12 ^{bc}	8.65 ± 0.42 ^b	8.85 ± 0.03 ^b	8.16 ± 0.15 ^c	9.45 ± 0.06 ^a
漆黄素	1.27 ± 0.02 ^f	12.90 ± 0.04 ^c	33.64 ± 0.18 ^d	45.84 ± 0.68 ^c	66.02 ± 1.38 ^b	76.31 ± 1.54 ^a
根皮素	1.51 ± 0.48 ^c	1.49 ± 0.06 ^c	2.92 ± 0.06 ^{ab}	3.39 ± 0.09 ^a	2.44 ± 0.21 ^b	3.43 ± 0.07 ^a
杨梅素	4.71 ± 0.01 ^e	4.29 ± 0.07 ^f	6.93 ± 0.06 ^a	6.66 ± 0.05 ^b	6.23 ± 0.07 ^c	5.96 ± 0.04 ^d
槲皮素	7.24 ± 0.15 ^e	10.95 ± 0.06 ^d	19.14 ± 0.06 ^c	20.76 ± 0.23 ^{bc}	21.19 ± 1.64 ^b	28.79 ± 0.38 ^a
柚皮素	nd	nd	1.58 ± 0.01 ^d	7.78 ± 0.10 ^c	11.76 ± 0.04 ^b	18.75 ± 0.33 ^a
葛根素	nd	nd	2.74 ± 0.04 ^d	6.55 ± 0.06 ^c	12.69 ± 0.09 ^b	17.68 ± 0.23 ^a
山柰酚	nd	nd	16.50 ± 0.26 ^d	33.52 ± 0.32 ^a	19.39 ± 0.14 ^b	27.96 ± 0.17 ^c
芦丁	16.55 ± 0.13 ^b	16.38 ± 0.05 ^b	16.43 ± 0.21 ^{ab}	16.17 ± 0.15 ^{ab}	16.21 ± 0.07 ^{ab}	16.34 ± 0.08 ^a
总酚类化合物	359.91 ± 2.96 ^e	430.57 ± 1.18 ^d	586.25 ± 0.80 ^c	690.97 ± 4.98 ^b	690.17 ± 2.89 ^b	734.73 ± 0.10 ^a

青稞及其不同发酵周期的酒糟中酚类物质的组成含量具有较大差异，图 1c 结果显示，在青稞提取液中，阿魏酸和儿茶素含量最高；在头楂酒糟提取液中，含有更高含量的阿魏酸和儿茶素；在二楂 10 d 酒糟提取液中，除阿魏酸和儿茶素外，没食子酸含量也较高；在三楂 20 d 酒糟提取液中，阿魏酸、没食子酸、原儿茶酸具有较高含量；同样地，在三楂 30 d 酒糟提取液中，阿魏酸和没食子酸含量较高；而在丢糟中，阿魏酸含量最高，其次是对香豆酸和没食子酸。结合表 2 数据可知，所有样品组中，丢糟中所测得的酚类物质含量最高（1 470.64 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ），是青稞的 2.17 倍，其主要酚类物质组成除阿魏酸、对香豆酸、没食子酸外，还包括漆黄素和山柰酚。此外，头楂酒糟中儿茶素的含量显著偏高，达 311.41 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，而青稞中儿茶素含量仅为 99.92 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，其他组酒糟中儿茶素含量范围为 27.28~105.48 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，儿茶素含量大幅度增加除了与酒糟在单位质量内浓缩有关，还可能与原花青素的降解或没食子酸的生物合成转化有关^[23]。值得注意的是，在青稞和头楂酒糟中未检测到山柰酚、柚皮素和葛根素，在二楂 10 d、三楂 20 d、三楂 30 d 酒糟以及丢糟中均可以检测到，这可能是由于青稞原料本身不含这 3 种酚类物质，或其在青稞中含量极低，而头楂酒糟由于发酵时间短、发酵不完全、谷物中酚类物质未有效释放等因素也未检测到，而二楂 10 d、三楂 20 d、三楂 30 d 酒糟以及丢糟的发酵期均超过 30 d，一方面，酒糟在单位质量内浓缩使固定量的提取原料中酒糟占比增加，含有的酚类物质含量增加，另一方面，发酵过程中，微生物产生的酶可能诱导细胞壁结构破坏使不溶性结合酚与细胞壁大分子的酯键或醚键在发酵过程中释放出来^[24]，由此改变了酚类物质的组成和

含量。青稞和不同酒糟游离酚和结合酚提取液的组成含量也有一定差异，由图 1a 和 b 所示，游离酚提取液中，青稞和头楂提取液中，阿魏酸和儿茶素含量最高；二楂 10 d 酒糟提取液中，阿魏酸、儿茶素，没食子酸含量较高；三楂 20 d 和三楂 30 d 酒糟提取液中，阿魏酸和没食子酸含量较高，在丢糟提取液中，阿魏酸、对香豆酸、没食子酸和原儿茶酸含量较高。结合酚提取液中，除阿魏酸外，三楂 20 d、三楂 30 d 酒糟以及丢糟提取液中漆黄素含量较高。结合表 3 和表 4 数据可知，青稞游离酚提取液中不含对羟基苯甲酸和漆黄素，但在酒糟提取液中均能检测到。5 种酒糟中，三楂 20 d 酒糟的游离酚提取液中所测酚类物质含量最高（736.80 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ），其次是丢糟（735.91 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ）；而结合酚提取液中，丢糟中所测酚类物质含量最高（734.73 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ），其次是三楂 30 d 酒糟（690.97 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ）。青稞中结合酚含量（359.91 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ）略高于游离酚含量（319.34 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ），而头楂中游离酚占比达 62.92%，这可能与其作为初始发酵原料，短期内释放大量游离酚有关。青稞和酒糟提取液中含有丰富的阿魏酸主要以结合态形式存在，而水杨酸仅存在于结合酚提取液中，在游离酚提取液中未检测到，这可能与其化学性质或检测方法有关，Dempsey 等^[25]研究表明水杨酸糖苷化是植物调控水杨酸稳态的核心机制，结合态是水杨酸的主要存在形式。

以上分析表明，青稞酒糟中含有丰富的酚类物质，微生物发酵有助于提高青稞酒糟中酚类物质的丰富度和含量，不同发酵周期的酒糟中酚类物质组成相似，但含量具有较大差异，丢糟的游离酚和结合酚提取液经定量得到的酚类物质总量均最高，与前面所测总酚含量的结果一致。种类多样且含量丰富的酚类物质可

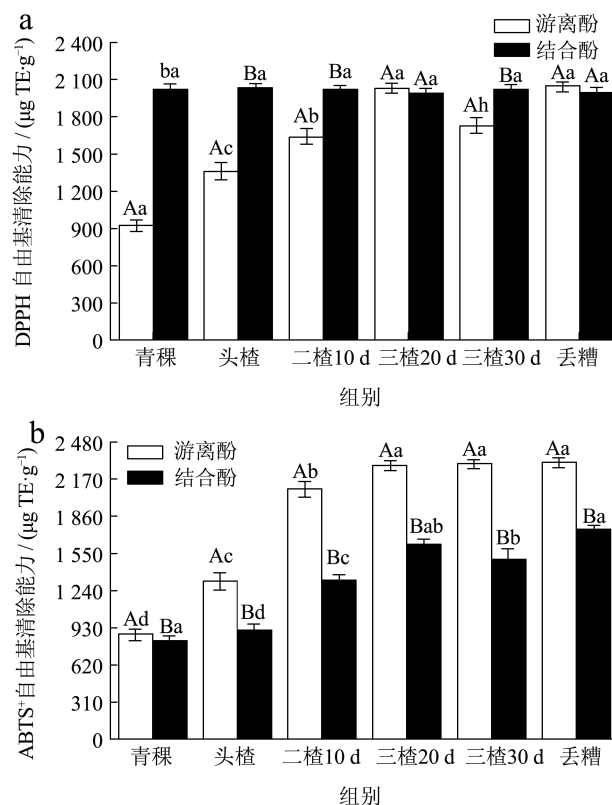
能赋予青稞酒糟更好的生物活性,但组成和含量上的差异也可能对生物活性的强度和作用功效产生一定的影响。

2.3 青稞及其酒糟多酚提取物的抗氧化活性

图2为青稞和酒糟多酚提取液的抗氧化活性测定结果,如图所示,各组样品提取液均具有较好的DPPH、ABTS⁺自由基清除能力和FRAP抗氧化还原能力。与青稞相比,5种不同青稞酒糟游离酚提取液的DPPH自由基清除能力提高了46.74%~121.09%,结合酚提取液的自由基清除活性无显著差异($P \geq 0.05$);不同青稞酒糟游离酚提取液的ABTS⁺自由基清除能力提高了49.21%~160.82%,结合酚提取液提高了10.99%~105.77%;不同青稞酒糟游离酚提取液的FRAP抗氧化还原能力提高了3.71%~63.35%,结合酚提取液提高了63.11%~251.83%。不同酒糟中,丢糟的抗氧化活性最强,其游离酚和结合酚提取液对DPPH、ABTS⁺自由基清除能力和FRAP还原能力分别为2 052.72、2 319.20、5 050.71 $\mu\text{g TE} \cdot \text{g}^{-1}$ 和1 996.89、1 710.69、3 344.82 $\mu\text{g TE} \cdot \text{g}^{-1}$ 。有研究表明,谷物的抗氧化能力与酚类物质的含量呈正相关^[26],这一结论也与前面所测的酚类物质总量和定量的酚类物质总量相印证。

对于DPPH自由基清除能力,三楂20 d酒糟和丢糟的游离酚提取液大于结合酚提取液,其他组均为结合酚提取液大于游离酚提取液,但对于ABTS⁺自由基清除能力和FRAP抗氧化还原能力,游离酚提取液均显著优于结合酚提取液,这可能是由于各组样品游离酚和结合酚提取液中单体酚的组成和含量不同所致。图3a、3b分别为青稞及其酒糟的游离酚和结合酚提取液的抗氧化活性与酚类物质之间的关系,由图可知,青稞及其酒糟多酚提取液的抗氧化活性与多种酚类物质呈显著正相关($P < 0.05$)。在游离酚提取液中,DPPH自由基清除能力与没食子酸、丁香酸、邻香豆酸、表儿茶素和对羟基苯甲酸呈极显著正相关($P < 0.01$);ABTS⁺自由基清除能力与没食子酸、丁香酸、邻香豆酸、表儿茶素、对羟基苯甲酸和杨梅素呈极显著正相关($P < 0.01$);FRAP抗氧化能力与没食子酸、丁香酸、邻香豆酸、表儿茶素、对羟基苯甲酸、杨梅素和山柰酚呈极显著正相关($P < 0.01$)。而在结合酚提取液中,DPPH自由基清除能力无显著差异($P \geq 0.05$);ABTS⁺自由基清除能力与阿魏酸、咖啡酸、漆黄素、根皮素、槲皮素和山柰酚呈极显著正相关($P < 0.01$);FRAP抗氧化能力与阿魏酸、咖啡酸、

漆黄素、槲皮素和山柰酚呈极显著正相关($P < 0.01$)。这表明青稞酒糟游离酚提取液中发挥抗氧化活性的关键酚类物质有没食子酸、丁香酸、邻香豆酸、表儿茶素、对羟基苯甲酸、杨梅素和山柰酚,而结合酚提取液中发挥抗氧化活性的关键酚类物质则是阿魏酸、咖啡酸、漆黄素、根皮素、槲皮素和山柰酚,游离酚和结合酚提取液中发挥抗氧化活性的关键酚类物质差异较大,而不同的单体酚对于清除不同的自由基也具有一定的选择性^[27],从而导致其抗氧化活性具有较大差异。关于青稞酒糟,一些研究者也陆续报道了青稞酒糟较强的抗氧化活性,陈丽花等^[28]测得青稞水酒糟蛋白酶解液的DPPH自由基清除率高达95.02%,其结果显著高于本实验所测的丢糟游离酚提取液的DPPH自由基清除能力(2 052.72 $\mu\text{g TE} \cdot \text{g}^{-1}$,自由基清除率为80.72%)和丢糟结合酚提取液的DPPH自由基清除能力(1 996.89 $\mu\text{g TE} \cdot \text{g}^{-1}$,自由基清除率为78.52%),DPPH自由基清除活性的差异一方面可能是源于青稞酒糟多酚和青稞酒糟蛋白结构上的差异,另一方面,青稞酒糟蛋白在最佳条件下酶解后可能产生更多具有抗氧化活性的多肽结构和片段,因此,其抗氧化活性更强。此外,杨婷婷等^[29]也测定得到青稞酒糟提取液对DPPH·、·OH和·O₂⁻的清除率分别为83.76%、52.05%和76.88%,DPPH自由基的清除活性与本实验所测结果接近。



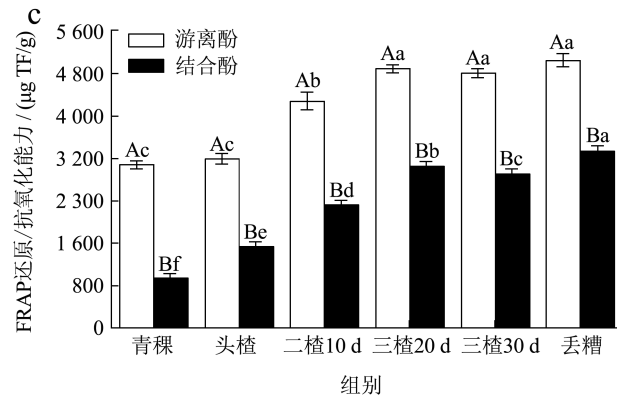


图 2 青稞及其不同发酵周期酒糟多酚的抗氧化活性

Fig.2 Antioxidant activity of polyphenols in highland barley and its fermentation spent at different fermentation durations

注: (a) DPPH 自由基的清除能力; (b) ABTS⁺ 自由基的清除能力; (c) FRAP 抗氧化还原能力。不同的小写字母表示同一类型多酚提取液在不同样品间具有显著差异 ($P<0.05$); 不同的大写字母表示不同类型多酚提取液在同一样品中具有显著差异 ($P<0.05$)。

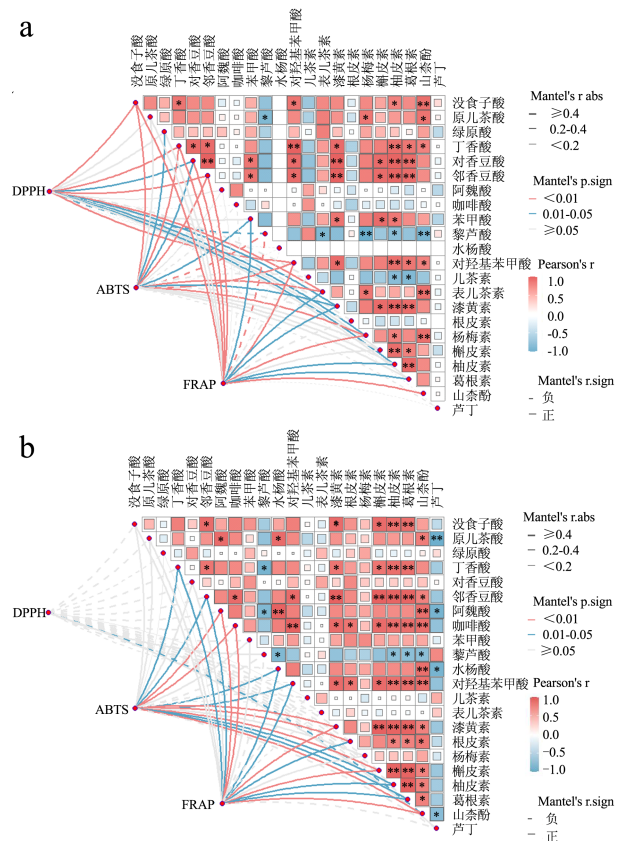


图 3 青稞及其酒糟提取液的抗氧化活性与酚类物质间的相关性分析

Fig.3 Correlation analysis between antioxidant activity and polyphenols of highland barley and its fermentation spent extract

注: (a) 游离酚提取液的抗氧化活性与酚类物质的相关性; (b) 结合酚提取液的抗氧化活性与酚类物质的相关性。

综合而言, 青稞酒糟多酚的抗氧化活性主要与总酚含量和酚类物质的组成密切相关, 青稞酒糟游离酚提取液的抗氧化活性整体强于结合酚提取液, 丢糟的游离酚与结合酚提取液较其他发酵期的酒糟提取液具有更强的 DPPH、ABTS⁺ 自由基清除能力和 FRAP 还原能力。

2.4 青稞及其酒糟多酚提取物的抑菌活性

图 4 和表 5 为青稞和酒糟多酚提取液的抑菌活性测定结果, 如图所示, 对于青霉菌, 头植和二植 10 d 酒糟的结合酚提取液抑菌圈直径范围为 12.30~14.84 mm, 属于中度敏感抑制作用, 其他提取液样品抑菌圈直径范围为 16.12~37.78 mm, 属于高度敏感抑制作用; 对青霉的抑制活性可能与青稞酒糟多酚中含有的原儿茶酸和绿原酸有关^[30], 而对于黑曲霉, 所有样品提取液的抑菌圈直径范围在 10.84~15.55 mm 内, 属于中度敏感抑制作用。对比不同样品提取液, 丢糟对青霉的抑菌活性最为突出, 其游离酚与结合酚提取液的抑菌圈分别达到 36.56 mm 和 37.78 mm, MIC 和 MFC 均降至最低 (1.56 和 3.13 mg·mL⁻¹), 对青霉菌的抑制作用显著优于其他组。同时, 丢糟对黑曲霉的抑制作用也优于其他组, 游离酚和结合酚提取液的抑菌圈分别为 15.55 mm 和 13.07 mm, MIC 和 MFC 为 1.56 和 3.13 mg·mL⁻¹, 青稞酒糟多酚提取液的抑菌活性也呈现出与总酚含量和定量的酚类物质总量呈正相关。

对比游离酚提取液和结合酚提取液, 青稞、头植、二植 10 d、三植 20 d 酒糟的游离酚对青霉菌的抑制效果优于结合酚, 而三植 30 d 酒糟和丢糟中, 结合酚的抑菌效果优于游离酚, 而对于黑曲霉的抑制作用, 游离酚与结合酚的抑制活性相当, 但游离酚的抑菌圈范围略大, 由此, 从整体上看, 游离酚对青霉菌和黑曲霉的抑制效果更佳, MIC 变化范围均在 1.56~6.25 mg·mL⁻¹ 之间。除总酚含量影响外, 抑菌活性的差异可能也与单体酚的组成和含量有关。图 5a、5b 分别为青稞及其酒糟的游离酚和结合酚提取液的抑菌活性与酚类物质之间的关系, 由图可知, 青稞及其酒糟游离酚和结合酚提取液中, 多种酚类物质对其抑菌活性具有显著影响 ($P<0.05$)。在游离酚提取液中, 对青霉菌的抑制活性与丁香酸、对香豆酸、邻香豆酸、漆黄素和柚皮素呈极显著正相关 ($P<0.01$), 对黑曲霉的抑制活性与没食子酸和丁香酸呈极显著正相关 ($P<0.01$)。而在结合酚提取液中, 对青霉菌的抑制活性与没食子酸、邻香豆酸、柚皮素和葛根素呈极显著正相关 ($P<0.01$), 对黑曲霉的抑制活性与咖啡酸、漆黄素、槲皮素和山奈酚呈极显著正相关 ($P<0.01$)。这表明在青稞酒糟游离酚提取液中, 丁香酸、对香豆酸、邻

香豆酸、漆黄素、柚皮素、没食子酸是发挥抑菌活性的关键酚类物质，而在结合酚提取液中，没食子酸、邻香豆酸、柚皮素、葛根素、咖啡酸、漆黄素、槲皮素和山柰酚对发挥抑菌活性具有重要贡献，而上述的这些酚类物质在过往的大量研究中，也都被证实具有一定的抑菌活性，例如对香豆酸对尖孢镰刀菌和串珠镰刀菌的抑制作用接近 100%^[31]，而将对香豆酸与对羟基苯甲酸结合应用制成的混合抗菌剂能有效抑制真菌，对核桃果实中的胶孢子虫产生明显的抑制作用^[32]，漆黄素则被认为是抑菌效果最强的黄酮类物质之一^[33]。此外，有研究者探讨了丁香酚、香芹酚以及丹皮酚三种酚类物质对竹材中常见霉菌桔青霉、绿色木霉和黑曲霉的抑菌性能，研究发现，丁香酚、香芹酚、丹皮酚对桔青霉的 MIC 分别为 1.56、1.56 和 2.15 mg·mL⁻¹，MFC 分别为 1.95、1.95 和 2.34 mg·mL⁻¹；

丁香酚、香芹酚、丹皮酚对黑曲霉的 MIC 分别为 1.37、0.98 和 1.95 mg·mL⁻¹，MFC 分别为 1.56、0.98 和 2.15 mg·mL⁻¹^[34]。而本实验测得丢糟的游离酚和结合酚提取液对青霉和黑曲霉的 MIC 均为 1.56 mg·mL⁻¹，MFC 均为 3.13 mg·mL⁻¹，而此浓度是基于青稞酒糟的质量浓度，由此表明，青稞酒糟多酚的抑菌活性较好，而这可能也与提取液中多种酚类物质通过多种抑菌机制协同作用于多个不同靶点增强了单体酚的抑菌活性有关^[35]。

综合而言，青稞酒糟多酚的抑菌活性与抗氧化活性类似，与总酚含量和酚类物质组成相关，总酚含量高、抗氧化作用强的组别，其抑菌效果也更好，青稞酒糟游离酚提取液的抑菌活性整体优于结合酚提取液，丢糟的游离酚与结合酚提取液较其他发酵期的酒糟提取液也具有更强的青霉和黑曲霉抑制活性。

表 5 青稞及其不同发酵周期酒糟多酚的抑菌活性

Table 5 Antifungal activity of polyphenols in highland barley and its fermentation spent at different fermentation durations

提取液样品	指标	青霉（ <i>Penicillium</i> ）		黑曲霉（ <i>Aspergillus niger</i> ）	
		游离酚	结合酚	游离酚	结合酚
青稞	抑菌圈/mm	25.93 ± 0.45 ^c	12.30 ± 0.26 ^c	12.17 ± 0.31 ^d	10.84 ± 0.50 ^d
	MIC/(mg·mL ⁻¹)	6.25	25.00	6.25	6.25
	MFC/(mg·mL ⁻¹)	12.50	50.00	12.50	12.50
头楂	抑菌圈/mm	27.78 ± 0.92 ^d	13.98 ± 0.33 ^d	12.63 ± 0.39 ^{cd}	11.29 ± 0.83 ^{cd}
	MIC/(mg·mL ⁻¹)	6.25	25.00	6.25	3.13
	MFC/(mg·mL ⁻¹)	12.50	50.00	6.25	6.25
二楂 10 d	抑菌圈/mm	30.26 ± 0.63 ^c	14.84 ± 0.50 ^d	13.07 ± 0.15 ^c	11.74 ± 0.38 ^{bc}
	MIC/(mg·mL ⁻¹)	3.13	12.50	3.13	3.13
	MFC/(mg·mL ⁻¹)	6.25	25.00	6.25	6.25
三楂 20 d	抑菌圈/mm	32.74 ± 0.89 ^b	16.12 ± 0.23 ^c	15.41 ± 0.45 ^a	12.61 ± 0.39 ^{ab}
	MIC/(mg·mL ⁻¹)	3.13	12.50	3.13	1.56
	MFC/(mg·mL ⁻¹)	6.25	12.50	3.13	3.13
三楂 30 d	抑菌圈/mm	30.63 ± 0.70 ^c	32.59 ± 0.66 ^b	14.01 ± 0.26 ^b	12.14 ± 0.31 ^{bc}
	MIC/(mg·mL ⁻¹)	3.13	3.13	3.13	1.56
	MFC/(mg·mL ⁻¹)	6.25	6.25	6.25	3.13
丢糟	抑菌圈/mm	36.56 ± 0.53 ^a	37.78 ± 0.73 ^a	15.55 ± 0.29 ^a	13.07 ± 0.21 ^a
	MIC/(mg·mL ⁻¹)	1.56	1.56	1.56	1.56
	MFC/(mg·mL ⁻¹)	3.13	3.13	3.13	3.13

注：表中不同小写字母表示不同样品间差异显著（*P* < 0.05）。

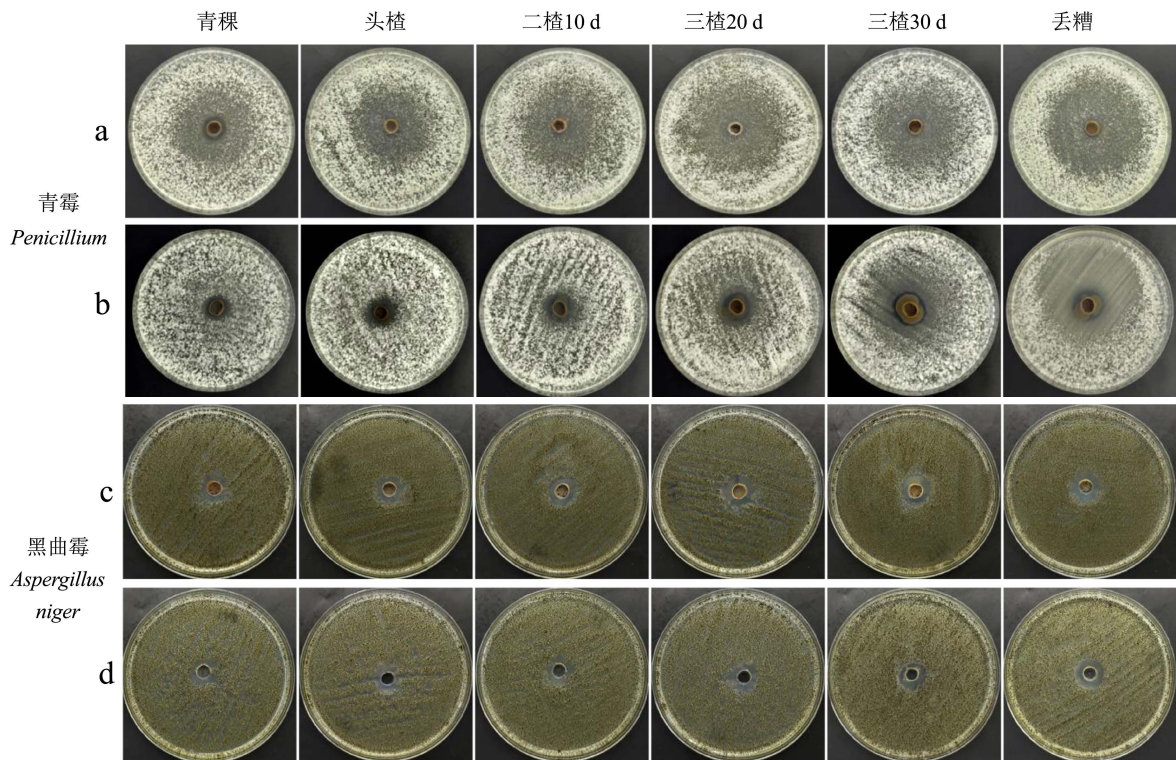


图 4 青稞及其不同发酵周期酒糟多酚对黑曲霉和青霉的抑制作用

Fig.4 Inhibition of polyphenols from highland barley and its fermentation spent at different fermentation durations on *Aspergillus niger* and *Penicillium*

注: (a) 游离酚对青霉的抑制圈; (b) 结合酚对青霉的抑制圈; (c) 游离酚对黑曲霉的抑制圈; (d) 结合酚对黑曲霉的抑制圈。

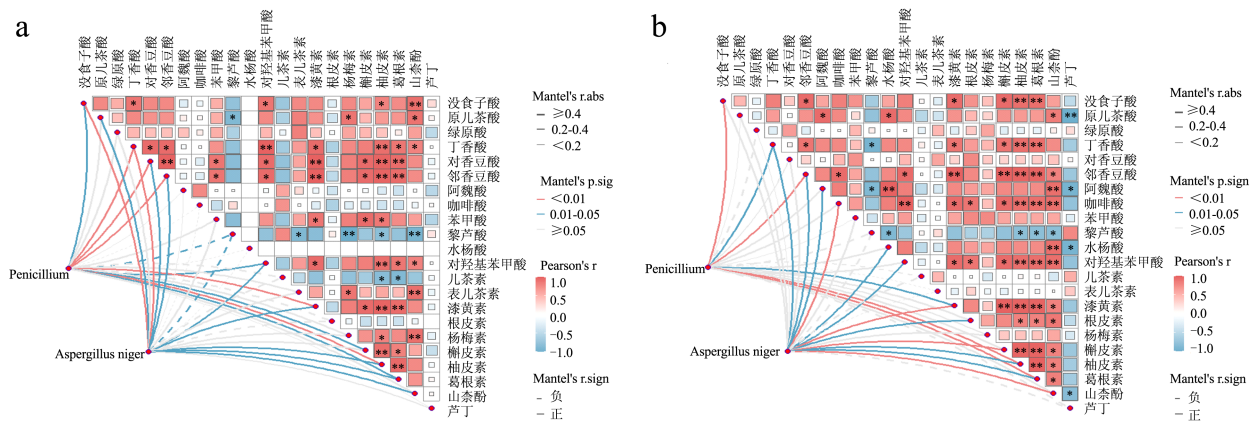


图 5 青稞及其酒糟提取液的抑菌活性与酚类物质间的相关性分析

Fig.5 Correlation analysis between antifungal activity and polyphenols of highland barley and its fermentation spent extract

注: (a) 游离酚提取液的抑菌活性与酚类物质的相关性; (b) 结合酚提取液的抑菌活性与酚类物质的相关性。

3 结论

该研究比较分析了青稞及其不同发酵周期的酒糟中酚类物质的组成含量和生物活性。研究表明,青稞及其 5 种的酒糟的游离酚、结合酚、总酚含量分别为 1.23~5.40、2.38~5.85、3.61~11.25 mg·g⁻¹,从青稞及其酒糟提取液中共定量了 22 种酚类物质,其中游离酚含 21 种,结合酚含 22 种。酚类物质的生物活性与其组成和含量密切相关,其中,抗氧化活性与没食子酸、丁香酸、邻香豆酸、表儿茶素、对羟基苯甲酸、杨梅

素、山柰酚、阿魏酸、咖啡酸、漆黄素、根皮素、槲皮素呈极显著正相关;而对霉菌的抑制活性与丁香酸、对香豆酸、邻香豆酸、漆黄素、柚皮素、没食子酸、葛根素、咖啡酸、槲皮素和山柰酚呈极显著正相关,且抗氧化和抑菌活性均呈现出与总酚含量的正相关性。5 种青稞酒糟中,丢糟的总酚含量和经检测的酚类物质总量均最高,其游离酚和结合酚提取液的抗氧化活性最为突出,对霉菌的抑制作用也更加明显,鉴于其抗氧化和抑菌活性上的优势,后续可将其用作天然植物源保鲜剂的制备和功能性产品的开

发,同时该研究也为青稞酒糟的高值化利用提供了有益的参考和借鉴。

参考文献

- [1] 吴舒颖,高纪儒,杜艳,等.青稞制品加工研究进展[J].食品研究与开发,2021,42(21):201-210.
- [2] LUO L, YANG C, YANG X, et al. Construction of ultra-microporous activated carbons derived from waste distiller's grains for efficient CO₂ adsorption [J]. Separation and Purification Technology, 2022, 302: 122134.
- [3] 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.
- [4] 陈少华.青稞酒糟蛋白生物活性肽的制备及其功能性质研究[D].上海:上海应用技术大学,2023.
- [5] SUN S, LIU Z, LIN M, et al. Polyphenols in health and food processing: antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant insights [J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1456730.
- [6] FERNÁNDEZ-BEDMAR Z, ANTER J, ALONSO-MORAGA A, et al. Red and white wine lees show inhibitory effects on liver carcinogenesis [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2019, 63(9): 1800864.
- [7] BLEUS D, BLOCKX H, GESQUIERE E, et al. High-Temperature hydrothermal extraction of phenolic compounds from Brewer's spent grain and malt dust biomass using natural deep eutectic solvents [J]. Molecules, 2024, 29(9): 1983.
- [8] DE PAULA M, LATORRES J M, MARTINS V G. Potential valorization opportunities for Brewer's spent grain [J]. European Food Research and Technology, 2023, 249(10): 2471-2483.
- [9] 钟江,黄永光,胡鹏刚,等.清酱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.
- [10] 代安娜,张丽媛,钱丽丽.6种植物精油对玉米中霉菌的抑菌作用[J].中国粮油学报,2022,37(1):135-141.
- [11] YANG X J, DANG B, FAN M T. Free and bound phenolic compound content and antioxidant activity of different cultivated blue highland barley varieties from the Qinghai-Tibet Plateau [J]. Molecules, 2018, 23(4): 879.
- [12] DENG N, ZHENG B, LI T, et al. Assessment of the phenolic profiles, hypoglycemic activity, and molecular mechanism of different highland barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(4): 1175.
- [13] OBADI M, SUN J, XU B. Highland barley: Chemical composition, bioactive compounds, health effects, and applications [J]. Food Research International, 2021, 140: 110065.
- [14] GULSUNOGLU-KONUSKAN Z, KILIC-AKYILMAZ M. Microbial bioconversion of phenolic compounds in agro-industrial wastes: a review of mechanisms and effective factors [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(23): 6901-6910.
- [15] HU Y, WANG X Y, QIN C Q, et al. Fermentation of rose residue by *Lactiplantibacillus plantarum* B7 and *Bacillus subtilis* natto promotes polyphenol content and beneficial bioactivity [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2022, 134(6): 501-507.
- [16] 胡志明.苦荞酒糟多酚的制备及配制酒研制[D].四川:成都大学,2024.
- [17] ZHONG J, ZHOU D, HU P, et al. Identification of the chemical composition of distiller's grain polyphenols and their effects on the fecal microbial community structure [J]. Food Chemistry: X, 2023, 20: 101001.
- [18] 郭璞,王晓闻,张宏丽,等.发酵条件对小米酸粥中多酚含量的影响及其主要组分研究[J].粮油食品科技,2022,30(2):190-196.
- [19] 代文婷,王世萍,张晶,等.多酚与膳食成分的相互作用及应用研究进展[J].保鲜与加工, 2024,24(6):120-130.
- [20] DENG J, XIANG Z, LIN C, et al. Identification and quantification of free, esterified, and insoluble-bound phenolics in grains of hulless barley varieties and their antioxidant activities [J]. Lwt, 2021, 151: 112001.
- [21] ZHANG Y, YE Q, LIU B, et al. Fermenting distiller's grains by the domesticated microbial consortium to release ferulic acid [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(16): 9259-9267.
- [22] SIBHATU H K, JABASINGH S A, YIMAM A, et al. Ferulic acid production from brewery spent grains, an agro-industrial waste [J]. Lwt, 2021, 135: 110009.
- [23] SHIN H Y, KIM S M, LEE J H, et al. Solid-state fermentation of black rice bran with *Aspergillus awamori* and *Aspergillus oryzae*: Effects on phenolic acid composition and antioxidant activity of bran extracts [J]. Food Chemistry, 2019, 272: 235-241.
- [24] 谢宁轩,张文刚,党斌,等.冠突散囊菌发酵对青稞多酚组成及其体外抗氧化及糖脂代谢酶抑制活性的影响[J].食品与发酵工业,2024,50(23):87-94.
- [25] DEMPSEY D M A, KLESSIG D F. How does the multifaceted plant hormone salicylic acid combat disease in plants and are similar mechanisms utilized in humans? [J]. BMC Biology, 2017, 15: 1-11.
- [26] RIBEIRO DA SILVA LIMA L, BARROS SANTOS M C, P GOMES P W, et al. Overview of the metabolite composition and antioxidant capacity of seven major and minor cereal crops and their milling fractions [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(34): 19197-19218.
- [27] 杨洋,范蓓,李杨,等.不同加工方式对青稞中酚类物质的影响[J].食品工业科技,2023,44(1):11-18.
- [28] 陈丽花,陈少华,荣玉芝,等.具有抗氧化活性青稞酒糟蛋白酶解液对H₂O₂诱导HepG2细胞的保护作用[J].现代食品科技, 2024,40(3):28-38.
- [29] 杨婷婷,罗毅皓,张艺炜,等.青稞酒糟多酚提取工艺优化及其抗氧化性[J].食品研究与开发,2023,44(19):140-146.
- [30] 王媛,袁亚宏,杨丽霞,等.多酚及植物精油对扩展青霉生长及展青霉素生成的抑制作用研究[J].食品安全质量检测学报, 2015,6(7):2702-2707.
- [31] ZABKA M, PAVELA R. Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant pathogenic and toxinogenic filamentous fungi [J]. Chemosphere, 2013, 93(6): 1051-1056.
- [32] XU H, WANG G, ZHANG J, et al. Identification of phenolic compounds and active antifungal ingredients of walnut in response to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) [J]. Postharvest Biology and Technology, 2022, 192: 112019.
- [33] GABOR M, EPERJESSY E. Antibacterial effect of fisetin and fisetinidin [J]. Nature, 1966, 212(5067): 1273.
- [34] 陈诗琴.三种酚类物质对竹材霉菌的抑制作用及防霉刨切薄竹的防治效力[D].杭州:浙江农林大学,2023.
- [35] 李程程.牡丹花酚类成分提取纯化及其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌生物被膜抑制活性研究[D].无锡:江南大学,2020.