

# 糖蜜酒精废液色素物的抗氧化活性研究\*

周文红<sup>1</sup>, 王标诗<sup>2</sup>, 刘慧霞<sup>1</sup>, 刘曼萍<sup>1</sup>

1(广西大学轻工与食品工程学院, 广西南宁, 530004) 2(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州, 510641)

**摘要** 采用羟自由基、亚硝酸盐、超氧阴离子自由基和 DPPH· 体系初步研究 2 个典型的糖蜜酒精废液色素物的抗氧化活性。结果表明: 色素试样 A 和色素试样 B 都具有一定的抗氧化活性, 随着浓度的增加其抗氧化能力也相应增加; 且色素物经提纯后其抗氧化能力显著提高, 在羟自由基体系中, 试样 B 的 IC<sub>50</sub> 约为 4.5 mg/mL; 在 DPPH· 体系中, 试样 B 对 DPPH· 的清除率的 IC<sub>50</sub> 约为 0.07 mg/mL。

**关键词** 糖蜜酒精废液, 色素, 抗氧化活性

甘蔗糖蜜酒精废液色素是一种天然色素, 其主要来源于糖蜜本身, 是多种色素的混合物<sup>[1]</sup>。这些色素由甘蔗中原有色素和制糖、酒精发酵过程中形成的色素组成。甘蔗中最主要的植物色素是酚类物质, 生产过程中所生成的色素主要是还原糖与氨基酸反应(美拉德反应)所生成的高分子量的褐色聚合物, 此外, 还有糖热分解所生成的深咖啡色焦糖色素。

据报道, 甘蔗中的色素物质具有良好的抗氧化活性, 如其中的废蜜、蔗汁等的氧自由基吸收能力(oxy-gen-radical absorbance capacity, ORAC)均较一般的水果高, 其抗氧化能力与其色值密切相关<sup>[2]</sup>。丰永红等<sup>[3]</sup>用 DPPH 法研究了甘蔗提取物(如废蜜、糖浆、压榨汁), 结果表明, 各种原料均具有较强的抗氧化活性, 初步推断该活性物质为酚类物质, 且抗氧化活性的高低与色值成正相关关系。段兴军等研究了从酒精废液中提取的色素经小鼠急性毒性试验证实该产品毒性较低, 安全性较高, 配成 1% 的溶液在 pH2.5~11 稳定, 具有较高的紫外可见光稳定性和一定的热稳定性, 可适用于任何加工条件的食品介质的调色<sup>[1]</sup>。有关美拉德色素的抗氧化活性也已有大量的报道。如果能将具有抗氧化活性的色素从废液中回收利用, 不但可以大大降低酒精废液中 COD 的含量, 减少污染, 保护环境, 同时也可以实现废物的资源化。因此研究酒精废液色素物的抗氧化活性具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

第一作者: 硕士, 讲师。

\* 国家科技攻关计划(2003BA901A07)资助项目

收稿日期: 2006-07-17, 改回日期: 2006-12-12

色素试样 A 和色素试样 B 为酒精废液经过预处理和喷雾干燥等工艺处理后所得到的固体粉末状色素。其中试样 A 经提纯以后得到试样 B。将 2 者配制成不同浓度的溶液, 备用。

邻二氮菲、FeSO<sub>4</sub>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、NaNO<sub>2</sub>、盐酸萘乙二胺、对氨基苯磺酸、盐酸、连苯三酚均为分析纯(A.R); Tris 生化试剂; DPPH·, Sigma 公司。

TDL-80-2B 台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; 722 可见分光光度计, 上海菁华科技仪器有限公司; HJ-3 恒温磁力搅拌器, 江苏国华仪器厂; 旋转蒸发器, 紫外可见分光光度计, 日本岛津公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 色素清除羟自由基(·OH)的试验

参照文献[4]方法, 修改进行。在试管中分别加入 2 mL pH7.4 的磷酸盐缓冲液, 1 mL 1.5 mmol/L 的邻二氮菲溶液, 充分混匀后, 加入 1 mL 1.5 mmol/L FeSO<sub>4</sub> 溶液, 加入后立即混匀。然后向其中加入 1 mL 一定浓度的色素溶液, 混匀, 再加入 0.02% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 mL, 最后用蒸馏水补充体积至 8 mL。同时做样品空白试验。另做损伤管和未损伤管, 其中损伤管中加入 0.02% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 mL, 未损伤管不加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 最后补充各管体积至 8 mL。于 37℃ 下保温 1 h, 测 510 nm 下的吸光度, 重复 2 次, 计算其平均值。

$$\cdot \text{OH 清除率} \% = \frac{A_2 - A_1}{A_0 - A_1} \times 100$$

式中: A<sub>0</sub>—未损伤管的吸光度; A<sub>1</sub>—损伤管的吸光度; A<sub>2</sub>—加色素液并扣除样品空白后的吸光度。

#### 1.2.2 色素清除模拟胃液条件下亚硝酸盐(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)的试验

按文献[5]的方法进行, 略加修改。取试样液 3 mL 于比色管中, 然后每管中加入 200 μg/mL NaNO<sub>2</sub> 0.1 mL, 用 pH 为 3.0 的柠檬酸缓冲液定容

至 5 mL 混匀,立即置 37℃ 水浴中保温 1 h。每样品管同时做不加 NaOH<sub>2</sub> 的本底管(空白管),并做 NaNO<sub>2</sub> 的标准管,然后用盐酸萘乙胺比色法测各管的光密度(OD)值(总体积为 10 mL)。

$$\text{NaNO}_2 \text{ 清除率} / \% = \frac{OD_{\text{标}} - (OD_{\text{样}} - OD_{\text{空}})}{OD_{\text{标}}} \times 100$$

### 1.2.3 色素清除超氧阴离子自由基试验

参照文献[6]方法,修改进行。取 5.6 mL Tris-HCl 缓冲溶液,加入 0.2 mL 样品液混匀后,在 25℃ 水浴锅中保温 10 min,取出后立即加入在 25℃ 预热锅的连苯三酚溶液 0.2 mL,迅速摇匀,倒入比色皿(光径为 1 cm),每隔 30 s 测吸光度 1 次,平行试验 3 次,得 3 组数据取其平均值,根据所测得数据绘制曲线,计算抑制率,同时做空白试验。

$$\text{抑制率} / \% = \frac{(A_{\text{样}} - A_{\text{空}})}{A_{\text{空}}} \times 100$$

### 1.2.4 酒精废液色素清除 DPPH· 的试验

按文献[7,8]方法进行,略加修改。色素试样配成不同浓度的溶液备用,同时用乙醇配制  $2 \times 10^{-4}$  mol/L 的 DPPH· 溶液,避光保存备用。分别取 2 mL 不同浓度色素的试样于试管中,加入 2 mL 所配制的 DPPH· 溶液,混合均匀,30 min 后倒入光径为 1 cm 的比色皿中在 517 nm 处测定其吸光度值,同时测定色素样品空白以及不加色素样的空白样的吸光度值。按下式计算其对 DPPH· 的抑制率。

$$\text{抑制率} / \% = \left[ 1 - \frac{(A_i - A_j)}{A_0} \right] \times 100$$

其中:  $A_i = 2$  mL DPPH· 溶液 + 2 mL 色素样品液的吸光度值;  $A_j = 2$  mL 色素样品液 + 2 mL 乙醇的吸光度值;  $A_0 = 2$  mL DPPH· 溶液 + 2 mL 样品溶剂的吸光度值。

## 2 结果与讨论

### 2.1 色素物清除羟自由基的试验

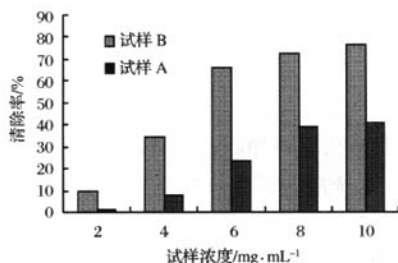


图 1 不同浓度的试样对·OH 的清除作用

由图 1 可以看出,试样 B 对·OH 的清除能力要高于相同浓度下的试样 A,说明经过提纯以后废液色素物对·OH 的清除能力显著提高了。

### 2.2 色素清除模拟胃液条件下亚硝酸盐的试验

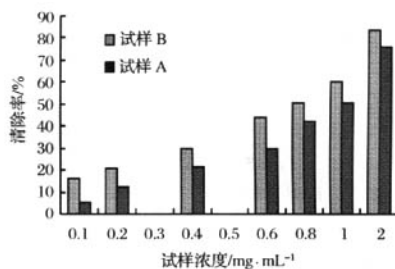


图 2 不同浓度的试样对亚硝酸盐的清除作用

由图 2 可见,2 种色素试样对亚硝酸盐都具有一定的清除能力,随着浓度的增加了其清除能力也增加。试样 B 对亚硝酸盐的清除能力明显高于相同浓度的色素试样 A,说明经过提纯之后能够提高色素对亚硝酸盐的清除能力。据报道,在模拟胃液的条件下,一些物质对亚硝酸盐的清除作用主要取决于其氧化还原能力,它们能够使 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 还原,从而消除亚硝酸盐:  $\text{NO}_2^- + 16\text{H}^+ + 12\text{e}^- = 2\text{NH}_4^+ + 4\text{H}_2\text{O}$ 。酒精废液中的多酚类色素物质具有还原性,能够有效地清除 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 而阻断 N-亚硝基化合物的合成,这可能是其能够清除亚硝酸盐的原因。

### 2.3 色素清除超氧阴离子自由基的试验

从图 3 和图 4 可知,2 种色素试样随着浓度的增加其对超氧阴离子自由基的清除率也增加,而在相同浓度的条件下,色素试样 B 对超氧阴离子自由基的清除率明显高于色素试样 A,说明提纯后色素对超氧阴离子自由基的清除作用明显增加。

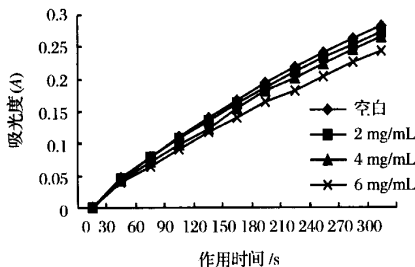


图 3 不同浓度的色素试样 A 抑制连苯三酚自氧化曲线图

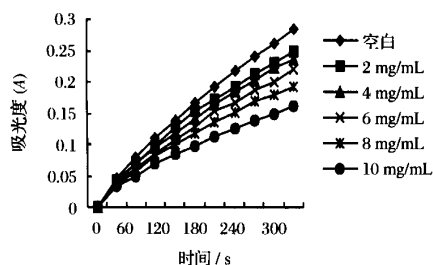


图4 不同浓度的色素试样B抑制连苯三酚自氧化曲线图

## 2.4 色素清除 DPPH· 的试验

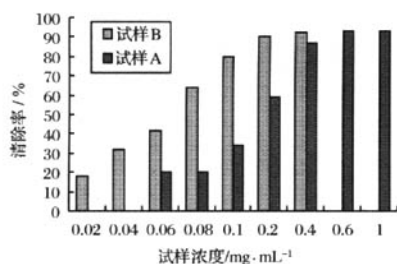


图5 不同浓度的试样对 DPPH· 的清除作用

由图5可知,2种色素试样对 DPPH· 都有良好的清除率,随着浓度的增加清除率也跟着增加;在低浓度范围内对 DPPH· 的清除率增加幅度较大,而当浓度增加到一定时,清除率的增加不明显,说明在高浓度条件下,2种色素试样对 DPPH· 的清除作用无显著差异;2种色素相比较而言,色素试样B对 DPPH· 的清除率明显高于同浓度的色素试样A,说明提纯后色素对 DPPH· 的清除率明显增加。

## 3 小 结

研究表明,糖蜜酒精废液中的色素具有一定的抗氧化活性,并且经提纯后色素的抗氧化活性明显增强,例如,在羟自由基体系中,试样B的 IC<sub>50</sub>(清除率达到50%时所需要的试样浓度)约为4.5mg/mL,而试样A的 IC<sub>50</sub> 约为11mg/mL;在 DPPH· 体系中,试样B对 DPPH· 的清除率的 IC<sub>50</sub> 约为0.07mg/mL,试样A的 IC<sub>50</sub> 约为0.18mg/mL。如果能将色素中具有高活性的单一组分提取出来并鉴定其结构,无疑对于天然抗氧化剂的开发具有重要意义。所以,酒精废液中的色素很有希望用于医疗和保健食品等方面,具有很大的开发潜力,其应用前景非常广阔。

## 参 考 文 献

- 1 吴振强,梁世中. 甘蔗糖蜜及其发酵废液的色素[J]. 广州食品科技,1997,13(1):1~5
- 2 扶 雄,于淑娟,闵亚光,等. 从甘蔗中提取天然抗氧化活性物质[J]. 甘蔗糖业,2003(5):37~41
- 3 丰永红,于淑娟,李国基,等. DPPH 法测甘蔗提取物抗氧化活性研究[J]. 甘蔗糖业,2003(1):31~33
- 4 Amarowicz R. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies [J]. Food Chemistry, 2004,84:551~562
- 5 宁正祥,张水华. 一些果蔬对活性自由基及亚硝酸盐的清除作用[J]. 食品与发酵工业,1995,21(2):31~35
- 6 马庆一,张 侠,熊卫东,等. 连苯三酚法条件的优化及其在红薯梗活性评价中的应用[J]. 食品科学,2004,25(7):131~135
- 7 彭长连,陈少薇. 用清除有机自由基 DPPH 法评价植物抗氧化能力[J]. 生物化学与生物物理进展,2000,27(6):658~661
- 8 万素英,赵亚军,李 琳,等. 食品抗氧化剂[M]. 北京:中国轻工业出版社,1998. 152~162

## Study on the Antioxidant Activity of Pigments from Molasses Alcohol Wastewater

Zhou Wenhong<sup>1</sup>, Wang Biaoshi<sup>2</sup>, Liu Huixia<sup>1</sup>, Liu Manping<sup>1</sup>

<sup>1</sup> (Light Industry and Food Engineering Institute, Guangxi University, Nanning 530004, China)

<sup>2</sup> (College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

**ABSTRACT** The antioxidant activity of two typical pigments of alcohol wastewater was studied by four systems ( $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{O}_2^-$  and  $\text{DPPH}\cdot$ ). The result shows that the two samples both have definite antioxidant activity and their antioxidant activity enhances with the adding of concentration and purification. In  $\cdot\text{OH}$  systems, the IC<sub>50</sub> of sample B was about 4.5 mg/mL. In  $\text{DPPH}\cdot$  systems, the IC<sub>50</sub> of sample B was about 0.07mg/mL.

**Key words** molasses alcohol wastewater, pigments, antioxidant activity