

# 清净方法对甘蔗糖蜜组分及抗氧化活性的影响

王湘茹, 于淑娟

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 通过分析检测清净处理后糖蜜的组分、抗氧化能力(采用 DPPH 法)和金属还原能力(采用普鲁士蓝法)的变化, 考察了不同清净方法对甘蔗糖蜜组分及抗氧化活性的影响, 结果表明, 糖蜜经 6 倍质量水稀释后, 采用聚丙烯酰胺(添加磷酸作为辅助澄清剂)进行絮凝, 然后离心并进行酸解, 其所得的甘蔗糖蜜的还原糖含量最高, 糖蜜的抗氧化能力和金属还原能力的损失很小。

**关键词:** 甘蔗糖蜜, 清净处理, DPPH, 金属还原力

文章编号: 1673-9078(2010)1-55-4

## Influence of Pretreatment Process on the Components and Anti-oxidative Activity of Sugarcane Molasses

WANG Xiang-ru, YU Shu-juan

(College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** Sugarcane molasses was pretreated with different clarification methods and the components and properties of molasses after clarification were analyzed. Results showed that the contents of colloid and ash decreased and reducing sugar increased evidently. Moreover, the reducing power and free radical-scavenging activity on DPPH of molasses were determined after clarification. It was showed that the best pretreatment procedure was diluting the molasses by water with the water-molasses mass ratio of 6; flocculating the diluted molasses with poly (acrylamide); and then centrifugating the mixture for further acidolysis. Using this procedure, the highest reducing sugar of the molasses reached and the loss of anti-oxidative activity of molasses was the lowest.

**Key words:** sugarcane molasses, clarification, DPPH, reducing power

甘蔗废糖蜜是糖厂精炼过程副产品, 富含蔗糖及多种天然多糖聚合物, 其 80% 的干物质中有一半是糖类, 其中蔗糖、葡萄糖、果糖等占干物质的 45%~50%, 多糖为 2%~5%, 另还含有许多游离的氨基酸、有机酸、无机盐和胶体。但因受各地的生产过程、原料品种和种植条件的影响, 及工艺操作条件的差异, 废蜜中非糖成分和含量有一定的差别。由于废蜜中含有大量的非糖成分, 不宜再进行结晶制糖, 常作廉价的碳源回收利用。

研究表明, 废糖蜜除含有大量的糖外, 还含有很多抗氧化活性物质, 目前国内外常利用废糖蜜作为碳源发酵生产酒精、柠檬酸、味精等产品<sup>[1,2]</sup>, 很少对其中的抗氧化活性进行研究。要考察废糖蜜中的抗氧化活性物质的活性, 必须采用相应的清净处理方法除去影响废蜜深加工的各种杂质和抑制成分。目前已有多种澄清处理方法纯化原料糖蜜, 如: 离子交换树脂柱

脱盐<sup>[3]</sup>、活性炭脱色<sup>[4]</sup>、磷酸三钙絮凝离心<sup>[5]</sup>、微生物法<sup>[6]</sup>、磷酸及絮凝剂助清净法<sup>[7]</sup>、亚铁氰化钾和 EDTA 沉淀重金属等<sup>[8]</sup>, 此外, 还有通过硫酸酸解提高糖蜜中的还原糖含量, 促进糖蜜深加工。本文建立了不同的糖蜜清净方法, 并研究分析清净处理对糖蜜成分及其抗氧化活性的影响, 为进一步开发利用甘蔗废蜜提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与设备

废糖蜜购于广东大华糖厂; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、磷酸、磷酸氢钠、石灰乳、NaOH、絮凝剂(PAM)、三氯乙酸、铁氰化钾、三氯化铁、乙醇为分析纯, 购于北京化工厂; 1,1-二苯代苦基苯肼(DPPH)为生化试剂, 购于 Sigma 公司; 试验用水为双蒸水, 实验室自制。

TU-1810 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); Mikro 高速冷冻离心机(Hettick zentrifugen, Germany)。

#### 1.2 糖蜜的清净处理

收稿日期: 2009-08-29

基金项目: 广东省科技计划项目(2007B080401010)

作者简介: 王湘茹(1986-), 女, 硕士研究生, 研究方向为糖蜜深加工

本文采用的糖蜜取自广东大华糖厂，原料糖蜜主要成分如表 1。

表 1 原料糖蜜的主要成分

Table 1 Main components of the sugarcane molasses

成分	锤度(°Bx)	总糖分/%	蔗糖/%	转化糖/%	胶体/%	pH	灰分/%	总氮/%	K/%
组分	76.14	48.82	40.07	8.75	6.42	6.85	7.72	0.35	2.915

根据文献以及糖蜜加工工业现有的清净处理方法，设计了四个糖蜜清净处理步骤，分别简记为 PP0~PP3，糖蜜清净处理程序如图 1 所示<sup>[9]</sup>。PP0 为仅经六倍稀释的糖蜜。图 1 中其它糖蜜清净处理详细步骤如下：

(1) 6 倍稀释：在 100 g 糖蜜中加入 6 倍质量的蒸馏水将溶液稀释至 600 g；

(2) 酸解：用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 调 pH 值至 2，100 °C 水浴加热 90 min，使甘蔗糖蜜中的蔗糖尽可能多地转化为还原糖；

(3) 絮凝：絮凝剂采用聚丙烯酰胺（PAM），并添加 250 mg/kg 磷酸作为辅助澄清剂<sup>[7]</sup>。石灰水调 pH 值至中性后加入 5 mg/kg 的 PAM，在 85 °C 恒温水浴中保温 10 min 进行二次絮凝，沉淀微细悬浮物及胶体；

(4) 离心：在常温下 4000 r/min 离心 30 min，过滤除去絮凝沉淀物，以提高原料糖蜜的纯度。

OD 值：紫外分光光度计测定。

1.4 清净处理后糖蜜的二苯代苦基苯肼（DPPH）消除能力

按文献<sup>[12]</sup>方法稍加修改。

取清净处理后糖蜜 400 μL，40 倍稀释，加入 0.12 mmol/L 的 DPPH 溶液 2 mL，充分混匀，于培养箱（33 °C）中密闭静置 30 min，用无水乙醇与水混合液（体积比为 1:1）作参比，于 517 nm 波长处测定吸光度。计算清除率公式如下：

$$\text{清除率}(\%) = (1 - (A_i(517\text{nm}) - A_j(517\text{nm}))) / A_0(517\text{nm}) \times 100$$

式中，A<sub>i</sub> 为加糖蜜后 DPPH 溶液的吸光度；A<sub>j</sub> 为糖蜜稀释后溶液的吸光度；A<sub>0</sub> 为未加糖蜜时 DPPH 溶液的吸光度。

由于 pH 值对 DPPH 自由基离子清除率影响较大，强酸、强碱均会使 DPPH 溶液迅速失效，同一物质在 pH 值 2~10 范围内 DPPH 自由基离子清除率随 pH 值升高而降低，丰永红<sup>[13]</sup>（2003）研究得出甘蔗提取物抗氧化成分清除 DPPH 自由基离子能力在 pH 值 3~5 范围相对较稳定。因此，不同方法清净处理后的糖蜜测定 DPPH 自由基离子清除率时，均先调 pH 值至 5.0。

1.5 清净处理后糖蜜的金属还原能力

参考文献<sup>[14]</sup>的方法，稍加修改。即清净处理糖蜜经 40 倍稀释，取 1 mL 放入 10 mL 具塞比色管中，添加 0.2 mol/L 的磷酸缓冲液 1 mL 以及 1% 浓度（w/v）的铁氰化钾 1 mL，混合均匀后，置于 50 °C 的恒温水浴锅孵化 20 min，取出后，加入 10% 浓度（w/v）的三氯乙酸 1 mL，然后在 750g 离心力、20 °C 条件下离心 10 min 去除混浊沉淀物，取上清液 1 mL，加 1 mL 的双蒸水以及 200 μL 的三氯化铁，于 700 nm 波长处测定吸光度，平行 3 次，吸光度值增加表明还原能力增强。

1.6 数据分析

所有数据均重复 3 次，取平均值。数值分析采用 Excel 软件。

## 2 结果与讨论

2.1 清净处理对糖蜜组分的影响

甘蔗糖蜜成分复杂，含有大量的胶体、灰分和重金属等，这些会对糖蜜深加工产品产生不良影响，如：

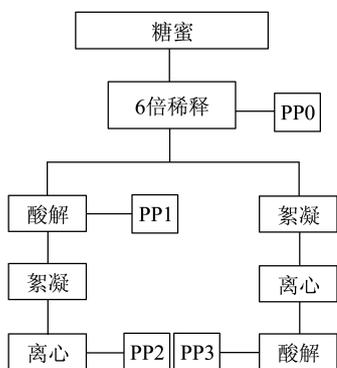


图 1 糖蜜清净处理方法示意图

Fig.1 Diagram of the clarification process of sugarcane molasses

1.3 测定方法

总糖：采用苯酚—硫酸法测定<sup>[10]</sup>；

还原糖：采用 DNS 法测定<sup>[11]</sup>；

游离氨基酸：采用甲醛滴定法 GB/T 5009, 39-2003；

灰分：目前糖厂测定灰分多采用重量法和电导法，本文采用电导法。电导法测定溶液的电导率，从而反映糖蜜中离子型物质（如盐类、游离酸等）含量。

苦涩味重、易焦化、不稳定，因此，必须采用清净处理去除糖蜜中影响生产加工的各种因素。经过图 1 中设计的四个清净处理方法，糖蜜组分变化如表 2 所示。

表 2 清净处理后糖蜜的成分比较

Table 2 Comparison of the main components of sugarcane molasses with or without clarification

清净处理方法	总糖	还原糖	氨基酸	胶体	灰分	pH	锤度
PP0	39.46	16.89	0.1765	6.42	7.72	6.85	13.19
PP1	36.01	78.91	0.1681	4.18	8.34	2.44	13.82
PP2	41.48	77.14	0.1595	3.40	4.76	6.58	11.08
PP3	45.22	80.40	0.1597	0.51	3.57	2.05	11.21

注：表中组分以未稀释时计。

其中，PP0为原糖蜜经6倍稀释后的糖蜜，作为其它清净处理方法的空白对照，其未稀释时的总糖、还原糖、胶体和灰分等组分见表2。

PP1是PP0糖蜜经酸解处理后所得的糖蜜，从表2可知，PP1糖蜜的还原糖含量明显增加，这是由于糖蜜中的蔗糖被水解为具还原性的葡萄糖和果糖所致。同时，由于糖蜜中的胶体带负电荷，越接近胶体的等电点，越利于胶体的聚集和沉淀，因此酸解处理可以去除部分胶体，但是灰分含量反而有所提高，这是由于灰分采用电导法测定，反映的是糖蜜中离子型物质（如盐类、游离酸等）含量，酸解使得游离的离子型物质增加<sup>[15]</sup>。

PP2在PP1清净处理的基础上，增加了絮凝和离心处理步骤所得的糖蜜，从表2可知，PP2糖蜜的胶体和灰分明显减少。

PP3是先经絮凝离心再酸解处理后的所得的糖蜜，从表2可知，此方法效果最好，不但有效的去除胶体和灰分，并且提高了还原糖的含量，效果明显，并且絮凝沉淀的滤泥还可作为天然肥料。

## 2.2 清净处理后糖蜜的二苯代苦基苯肼 (DPPH) 消除能力

DPPH 是一种稳定的以氮为中心的自由基，其乙醇水溶液呈深紫色，在 517 nm 处有强吸收，当有自由基清除剂存在时，由于与其单电子配对而使其吸收逐渐消失，其褪色程度与其接受的电子数成正比，广泛用于评价各种样品的抗氧化能力<sup>[16]</sup>，其能力可用清除率来表示，清除率越大，其抗氧化能力越强<sup>[17]</sup>。

甘蔗中起抗氧化作用的是酚类物质，赵振刚<sup>[18]</sup>（2008）采用反相高效液相色谱法同时测定出甘蔗提取物中含有的十种主要的酚酸，有没食子酸、绿原酸、香草酸、咖啡酸、对肉桂酸、阿魏酸、芥子酸、原儿

茶酸、对水杨酸和紫丁香酸，而这些抗氧化成分在甘蔗榨糖过程中大部分累积汇聚到副产物废蜜中。不同清净处理方法去除胶体和灰分等杂质时，一定程度上会带走糖蜜中部分的酚类物质，但酚类物质作为抗氧化剂清除 DPPH 自由基的作用与它们的供氢能力有关。PP0-PP3 清净处理糖蜜的 DPPH 自由基清除率如图 2。

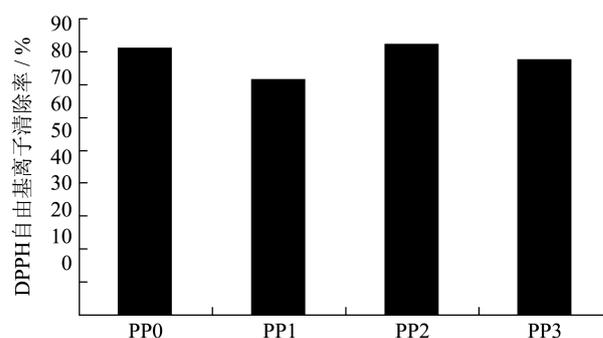


图 2 PP0-PP3 清净处理糖蜜的 DPPH 自由基清除率

Fig.2 Scavenging effect of sugarcane molasses after PP0-PP3 clarification on DPPH

从图 2 可知，各清净方法对其供氢能力影响不大，因此总体上对糖蜜的 DPPH 自由基清除率影响不大，PP2 和 PP3 清净处理糖蜜的清除率与原糖蜜 PP0 接近，仅 PP1 酸解处理的糖蜜清除率略微下降，主要是由于酸解 pH 值过低影响了酚类物质的供氢能力。

## 2.3 清净处理后糖蜜的金属还原能力

还原能力的测定是以样品是否为良好的电子供应者为指标，若是良好的电子供应者，其供应的电子除可以使 Fe<sup>3+</sup> 还原成 Fe<sup>2+</sup> 外，还可以与自由基形成较惰性的物质，从而中断自氧化链锁反应。因此，具有还原能力的化合物可能具有潜在的抗氧化能力<sup>[19]</sup>，一般情况下，物质的还原能力与其抗氧化活性之间存在显著的相关性，还原能力的高低可以间接反映抗氧化能力的强弱。本试验对 PP0-PP3 清净处理后糖蜜的金属还原能力进行测定，结果如图 3 所示。

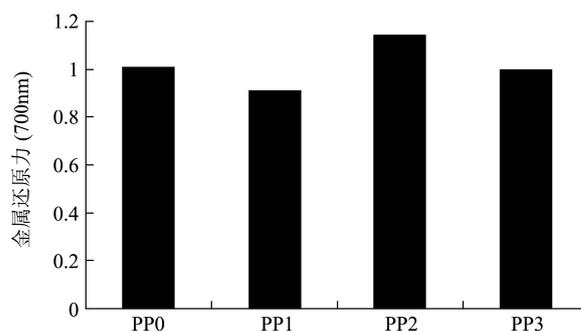


图 3 PP0-PP3 清净处理糖蜜的金属还原能力

**Fig.3 Metal-reduction effect of sugarcane molasses after PP0-PP3 clarification**

根据普鲁士蓝测定法<sup>[20]</sup>, 样品在波长 700 nm 处测定的吸光值越大, 则表明其还原能力越强。由图 3 可知 PP2 清净处理糖蜜的金属还原能力最强, 且高于原糖蜜, 可见该清净处理方法去除糖蜜中胶体杂质的同时, 还释放出被胶体包裹钝化的具有还原性的成分。PP3 清净处理糖蜜的金属还原能力与原糖蜜接近, 仅 PP1 过程处理的糖蜜稍有下降, 与 DPPH 自由基清除率变化相一致。

### 3 结论

糖蜜经 PP0-PP3 四种清净处理步骤后, 糖蜜组分各有变化。PP1 法使还原糖含量明显增加, 同时胶体含量略有下降, 但电导灰分由于离子型物质增多而有所上升。PP2 和 PP3 清净处理的糖蜜, 除还原糖含量增加外, 胶体和灰分均有所下降, PP3 处理效果更为明显, 且絮凝沉淀的滤泥 pH 值较接近中性, 还可作为天然肥料。同时采用 DPPH 自由基离子清除率和普鲁士蓝测定法测定清净处理后糖蜜的抗氧化能力和金属还原能力。PP2 和 PP3 处理后的糖蜜接近原糖蜜, 清净处理过程中抗氧化物成分未有明显损失, 而 PP1 处理糖蜜其抗氧化能力和金属还原能力均有略微下降。综上所述, PP3 清净处理更利于糖蜜深加工。

### 参考文献

- [1] 张良健, 岳丕昌, 甜菜废蜜的综合利用[J]. 中国甜菜糖业, 1996, (2): 49-52
- [2] 杨芳, 陈宁, 张克旭. 甘蔗糖蜜发酵生产谷氨酸的研究. 现代食品科技, 2006, (3): 45-47
- [3] Hatano K, Kikuchi S, Miyakawa T, et al. Separation and characterization of the colored material from sugarcane molasses[J]. *Chemosphere*, 2008, 71: 1730-1737
- [4] Lazaridou A, Roukas T, Biliaderis C G, et al. Characterization of pullulan produced from beet molasses by *Aureobasidium pullulans* in a stirred tank reactor under varying agitation [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2002, 31: 122-132
- [5] Roukas T. Pretreatment of beet molasses pullulan production to increase pullulan production[J]. *Process Biochemistry*, 1998, 33(8): 805-810
- [6] 陈沃洪, 赵继伦. 云芝用于糖蜜废水脱色处理的研究, 现代食品科技, 2009, (5): 487-490
- [7] 保国裕. 糖蜜清净方法与作用探讨[J]. 甘蔗糖业, 2000, (6): 48-51
- [8] Lazaridou A, Biliaderis C G, Roukas T, et al. Production and characterization of pullulan from beet molasses using a nonpigmented strain of *aureobasidium pullulans* in batch culture[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2002, 97: 1-22
- [9] Guzide C, Meliha B, Fatma G, et al. Pretreatment processes of molasses for the utilization in fermentation process[J]. *Engineering and Manufacturing for Biotechnology*, 2001: 21-28
- [10] 田广文, 陈德育, 李学俊, 等. 猪苓多糖苯酚-硫酸法测定条件的优选[J]. 中国农学通报, 2007, 23(7): 75-78
- [11] 安宏. 纤维素稀酸水解制取燃料酒精的试验研究[D]. 浙江大学硕士学位论文, 2005, 112-113
- [12] Singh N, Rajini P S. Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel. *Food Chemistry*, 2004, 85: 611-616
- [13] 丰永红, 于淑娟, 李国基. DPPH 法测甘蔗提取物氧化活性研究[J]. 甘蔗糖业, 2003, (1): 31-33
- [14] Chung Y C, Chen S J, Hsu C K, et al. Studies on the antioxidative activity of *Graptopetalum paraguayense* E Walther[J]. *Food Chemistry*, 2005, 91(3): 419-424
- [15] 汤兴俊, 卢林海, 黄晓丹, 等. 甘蔗糖蜜生产焦糖色素的研究[J]. 食品工业科技, 2003, 19(3): 1-2
- [16] Jung M J, Chung H Y, Kang S S, et al. Antioxidant activity from the stem bark of *Albizia julibrissin*[J]. *Arch. Pharm. Res.*, 2003, 26(6): 458-462
- [17] Ctelte N, Bernier J L, Catteac J P, et al. Antioxidant properties of hydroxy-flavones[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 1998, 20(1): 35-43
- [18] Zhao Zhen gang, Zhu li cai, Yu shu juan, et al. Simultaneous determination of ten major phenolic acids in sugarcane by a reversed phase HPLC method[J]. *Sugar Industry*, 2008, 133(8): 503-506
- [19] 刘丽丽, 张建新. 光皮木瓜多酚粗提液的抗氧化活性研究[J]. 中国酿造, 2009, (5): 95-98
- [20] 姜平平, 吕晓玲, 姚秀玲, 等. 紫心甘薯花色苷抗氧化活性体外实验研究[J]. 中国食品添加剂, 2002, (6): 9-11