

孙春丽,王紫燕,李春阳,等.市售洋槐蜜多酚类成分及其抗氧化活性研究[J].江苏农业科学,2016,44(4):321-327.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.092

市售洋槐蜜多酚类成分及其抗氧化活性研究

孙春丽¹,王紫燕^{1,2},李春阳³,张红城¹

(1.中国农业科学院蜜蜂研究所/农业部农产品加工中心蜂产品加工分中心,北京 100093;

2.南京农业大学食品科技学院,江苏南京 210095; 3.江苏省农业科学院农产品加工研究所,江苏南京 210014)

摘要:收集了在全国范围内销售的15种洋槐蜜样品,通过HPLC-DAD对蜂蜜样品多酚类成分进行分析,测定了总酚酸和总黄酮含量,以及蜂蜜清除DPPH自由基、ABTS⁺自由基、超氧自由基的能力和还原力。结果表明,市售洋槐蜜质量参差不齐,总酚酸含量从3.7 mg/g到23.3 mg/g;总黄酮含量从2.2 mg/kg到12.9 mg/kg。15种商品洋槐蜜均具有一定的抗氧化活性。此外,在15种商品洋槐蜜中只有4种样品具有蜂蜜来源纯正、成分齐全的特点,是品质好的洋槐蜂蜜。

关键词:洋槐蜜;多酚类成分;抗氧化;黄酮;酚酸;质量监控依据

中图分类号: S896.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)04-0321-07

蜂蜜是蜜蜂将采集的植物花蜜,混以蜜蜂唾液腺的分泌物,经过充分酿造而贮藏在巢脾内的甜物质。其中糖类成分占70%以上,水分占16%~25%,蛋白质平均含量为0.16%^[1]。蜂蜜不仅是一种营养价值高的保健食品,而且具

有多种生物学活性,如抗氧化、解毒、消炎^[2]、抗癌^[3]、保护创面、促进细胞再生^[4]等。一些研究证明,多酚类物质(如酚酸和黄酮)具有强的抗氧化能力^[5]。蜂蜜中含有丰富的多酚类成分,这些成分不仅具有很强的抗氧化活性,而且具有多种生物活性。因此本研究收集了市售15种洋槐蜜样品,对其中的多酚类成分及其抗氧化活性进行分析,为洋槐蜜产品的质量监控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 样品 收集在商场及专卖店销售的15种洋槐蜜样品,品牌种类用A、B、C、…、O代替,其详细信息如表1所示。

京:中国标准出版社,2008。

[5] GB 5009.5—2010 食品中蛋白质的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2010。

[6] 王廷华,张云辉,邹晓莉. 蛋白质理论与技术[M]. 北京:科学出版社,2005:53-54。

[7] 李凤英,崔蕊静,李春华. 葡萄籽蛋白质的提取工艺研究[J]. 中国油脂,2005,30(4):50-53。

[8] 高德艳,胡文效,魏彦峰,等. 葡萄籽中原花青素的提取与分离[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2013(5):6-11。

[9] 王 侠. 葡萄籽中化学成分的提取分离及结构鉴定[D]. 长春:长春中医药大学,2008。

[10] 夏 辉,丁丹华,万 辉. 葡萄籽蛋白提取工艺的研究[J]. 粮油加工,2010(8):37-39。

[11] 叶 润,马宝英,牟德华. 从脱脂葡萄籽中提取蛋白质的工艺研究[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2009(1):17-21。

[12] 陆 健. 蛋白质纯化技术及应用[M]. 北京:化学工业出版社,2005:111-112。

[13] 王洪新,胡昌云. 茶叶蛋白质提取及初步纯化研究[J]. 食品工业科技,2004,25(12):69-71,73。

[14] 徐梦辰,丁 轲,吕 莹,等. 山药蛋白酶解液的分离纯化[J]. 北京农学院学报,2014,29(3):94-96。

收稿日期:2015-03-04

基金项目:中国农业科学院科技创新工程(编号:CAAS-ASTIP-2015-IAR)。

作者简介:孙春丽(1988—),女,山东泰安人,硕士研究生,研究方向为食品科学。E-mail:1036724016@qq.com。

通信作者:张红城,副研究员,主要从事食品科学研究。E-mail:460414874@qq.com。

泳对蛋白纯化效果进行分析,为后续制备高纯葡萄籽分离蛋白、食源蛋白产品开发、多肽制备及活性研究等内容奠定基础。

3.2 结论

本研究采用碱液浸提法提取脱脂脱酚葡萄籽粕蛋白质,优化确定的最佳提取条件为温度88℃、浸提液pH值11.5、料液比1 g:25 mL、提取130 min,该条件下蛋白提取率达到83.5%。采用吸附脱色、盐析-pI沉淀、超滤、纳滤等方法对蛋白提取液进行了纯化分离,探索纯化工艺中各关键技术点的工艺条件。最后通过SDS-PAGE电泳分析纯化前后的样品蛋白,发现样品中含有4种蛋白亚基,分子量分别为40、37、19、17 ku,纯化后4种蛋白亚基占总蛋白的相对含量为91.5%。

参考文献:

[1] 许申鸿,杭 璐,郝晓丽. 葡萄籽化学成分分析及其抗氧化性质的研究[J]. 食品工业科技,2000,21(2):18-20。

[2] 李彦奎,蒋锡龙,魏彦峰,等. 超临界CO₂萃取葡萄籽油工艺研究[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2013(5):31-34。

[3] 梁红敏,高德艳,张晶莹,等. 葡萄籽多酚功能特性及应用开发现状[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2014(5):55-59。

[4] GB/T 21305—2007 谷物及谷物制品水分的测定常规法[S]. 北

1.1.2 试验试剂 4-二羟基苯甲醛酸,香草酸,咖啡酸,*p*-香豆酸,阿魏酸,异阿魏酸,苯甲酸,3,4-二甲氧基肉桂酸,肉桂酸,脱落酸,咖啡酸苯乙酯,短叶松素,山奈酚,山姜素,松属素,柯因,高良姜素,芸香苷,来自 Sigma 公司;咖啡酸苄酯来自 Funakoshi 公司;短叶松素-3-乙酸酯来自 BioBioPha 公司;5-甲氧基短叶松素是笔者所在实验室从蜂胶中收集获得。1,1-二苯基-2-苦基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH), 2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acids) (ABTS), 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), 荧光素钠(sodium fluorescein), 2,2,-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (ABAP), 来自 Sigma 公司。

表 1 不同品牌洋槐蜜的生产日期、批号及生产地址

品牌	生产日期	批号	生产地址
A	2014-04-17	14CD2015	北京
B	2014-04-13	—	上海
C	2014-05-10	—	湖南长沙
D	2014-05-29	083239V3	上海
E	2014-08-11	140811A01	北京
F	2014-06-10	—	江西南昌
G	2014-04-02	13:01Y140401	北京
H	2014-05-10	—	江苏南京
I	2014-05-03	—	北京
J	2014-05-12	—	陕西西安
K	2014-07-07	105716H21	上海
L	2014-06-03	F14F01	江苏南京
M	2014-08-05	14080101	江苏南京
N	2014-11-29	—	江苏南京
O	2014-04-21	—	江苏南京

1.1.3 主要仪器与设备 LC-6AD 高效液相色谱仪[配有二极管阵列紫外检测器(PDA)、SIL-自动进样器、CTO-10A 柱温箱、LCsolution 数据处理系统],日本岛津公司生产; Synergy™ HT 型多功能酶标仪,美国 Bio-tek 公司生产;24 孔固相萃取装置,美国 Supelco 公司生产;固相萃取小柱 Strata-X-A (60 mg/3 mL),美国菲罗门公司生产;恒温水浴氮吹仪,北京科林工贸有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 蜂蜜中多酚类成分的提取^[6] 准确称取 20 g 洋槐蜜样品,蒸馏水 5 倍稀释,玻璃棒搅拌至蜂蜜完全溶解。8 000 × *g* 离心 10 min 除去固体不溶物,取上清液倒入提前处理好的 Strata-X-A 固相小柱。上样结束后,用 3 mL 超纯水(pH 值 7)清洗,后用 5 mL 甲酸-甲醇(5:95, *V/V*)溶解洗脱,收集洗脱液。将洗脱液在 45 ℃ 恒温水浴氮吹仪中干燥,用 2 mL 色谱级乙酸甲醇(2:98, *V/V*)溶解。

1.2.2 蜂蜜提取物中总酚酸含量的测定^[7] 采用 Folin-Ciocalteu 法,以没食子酸作为对照建立总酚酸含量标准曲线,吸取 150 μL 蜂蜜提取液,以没食子酸相对含量表示。

1.2.3 蜂蜜提取物中总黄酮含量的测定^[7] 采用 AlCl_3 法,以芸香苷作为对照建立总黄酮标准曲线,吸取 1 mL 蜂蜜提取物溶液,以芸香苷的相对含量表示。

1.2.4 ABTS⁺ 自由基清除能力测定^[8] 吸取 200 μL 不同浓

度 Trolox,加入 3 mL ABTS⁺ 溶液,震荡 30 s,静置 6 min 后,在 734 nm 处测定吸光度。蜂蜜样品稀释为不同浓度,测定方法与 Trolox 一致。清除率按照如下公式计算: ABTS^+ 自由基清除率 = $(D_0 - D)/D_0 \times 100\%$ 。式中: D_0 表示空白试剂吸光度, D 表示样品溶液吸光度。

1.2.5 DPPH 自由基清除能力测定^[9] 取 1 mL 不同浓度的蜂蜜溶液,加入 4 mL 0.2 mol/L DPPH 乙醇溶液,避光静置 30 min,于波长 517 nm 处测定吸光度,计算不同蜂蜜样品对 DPPH 自由基的清除率。DPPH 自由基清除率 = $(D_0 - D)/D_0 \times 100\%$ 。式中: D_0 表示空白试剂吸光度, D 表示样品溶液吸光度。

1.2.6 还原力测定^[10] 取 200 μL 稀释成不同浓度的蜂蜜溶液,依次加入 0.2 mol/L、pH 值 6.6 磷酸盐缓冲液 2.5 mL, 1% 铁氰化钾 2.5 mL,50 ℃ 水浴 20 min,加入 10% 三氯乙酸 1 mL,取上清液 2.5 mL,加入蒸馏水 5 mL,0.1% 三氯化铁 0.5 mL 混匀,在 700 nm 下测定吸光度。

1.2.7 过氧阴离子清除能力(ORAC 法)^[11] 吸取 20 μL 的稀释后的样品液至 96 孔板,加入 150 μL 0.081 6 μmol/L 荧光素(FL) 溶液,覆膜,37 ℃ 孵育 10 min。加入 30 μL 153 mmol/L ABAP 启动反应。酶标仪测定条件为:激发波长 485 nm,发射波长 528 nm,每分钟测定 1 次,测定 50 min。ORAC 值采用美国农业部的单位,即 μmol Trolox 当量/100 g 样品。抗氧化能力(antioxidant capacity) = $AUC_{\text{antioxidant}} - AUC_{\text{blank}}$ 。面积差代入 Trolox 标准曲线即得 Trolox 当量。

1.2.8 HPLC 色谱条件 HPLC 条件为 Shim-Pack PREP-ODS (250 × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;柱温箱温度 35 ℃;检测波长 280 nm;进样量 20 μL;流动相: B 相为甲醇(2% 乙酸), A 相为水(2% 乙酸);梯度洗脱程序如下: 0 ~ 30 min, 9% ~ 12% B; 30 ~ 80 min, 22% ~ 40% B; 80 ~ 130 min, 40% ~ 65% B; 130 ~ 150 min, 65% ~ 80% B; 流速为 0.7 mL/min。

1.2.9 数据处理 使用 SAS 9.1 软件,邓肯法对数据进行方差分析^[12]。采用克拉默(Kramer)检验法来评价蜂蜜的综合抗氧化能力^[13]。

2 结果与分析

2.1 15 种蜂蜜总酚酸和总黄酮含量的测定

国内外对于蜂蜜的化学组成研究报道较多^[14],主要是针对不同种类的单花蜜,而对于目前市售蜂蜜研究相对较少。本试验选取 15 种市售洋槐蜜作为试验材料,对其总酚酸、总黄酮含量进行了测定,从表 2 中可以看出,各品牌的洋槐蜜总酚酸和总黄酮含量具有一定的差异。品牌 F 的酚酸含量最低仅为 3.7 mg/kg,品牌 J 酚酸含量最高为 23.3 mg/kg,约是品牌 F 的 7 倍。根据酚酸含量之间的差异性可以将 15 个样品分为 3 组,第 1 组酚酸含量均大于 14.0 mg/kg,主要包括样品 B、E、J、K、L;第 2 组酚酸含量范围为 11.1 ~ 14.0 mg/kg,主要包括样品 A、C、H、M;第 3 组酚酸含量偏低,均小于 10.0 mg/kg,包括样品 D、F、G、I、N、O。

此外,不同品牌洋槐蜜黄酮含量也表现出显著的差异。品牌 F 含量仅为 2.2 mg/kg,品牌 J 黄酮含量为 12.9 mg/kg,约为品牌 F 的 6 倍。根据黄酮含量之间的差异性,将 15 个样品分为 3 组,第 1 组黄酮含量均大于 7.0 mg/kg,主要包括 A、

表 2 15 种市售洋槐蜜总酚酸、总黄酮含量及其抗氧化能力

样品	总酚酸 (mg/kg 蜂蜜)	总黄酮 (mg/kg 蜂蜜)	IC ₅₀		还原力 (mg Trolox/100 g 蜂蜜)	ORAC 值 (μmol Trolox/100 g 蜂蜜)
			ABTS (mg/mL)	DPPH (mg/mL)		
Trolox			26.21 ± 0.77	66.53 ± 3.02		
J	23.3 ± 0.6h	12.9 ± 13.0i	537.36 ± 48.38beg	336.67 ± 3.64e	73.28 ± 2.80c	57.67 ± 0.59f
K	17.4 ± 2.4e	7.3 ± 4.3ad	590.07 ± 92.48be	455.55 ± 5.18d	51.33 ± 4.46ad	54.76 ± 0.24if
E	16.6 ± 2.8e	6.8 ± 1.1d	917.61 ± 11.05f	550.29 ± 99.19a	58.32 ± 4.60c	48.04 ± 2.39jk
B	14.3 ± 2.0a	8.9 ± 0.9f	1 018.81 ± 15.96f	670.03 ± 34.85f	46.77 ± 3.07a	43.93 ± 0.49ej
L	14.1 ± 4.4a	7.6 ± 0.9a	599.60 ± 231.61be	408.82 ± 10.29de	48.44 ± 2.17a	37.82 ± 4.40a
A	13.9 ± 1.2a	7.3 ± 1.7a	495.69 ± 11.39a	475.47 ± 1.46a	48.77 ± 2.39a	51.72 ± 3.75k
M	13.1 ± 2.8ad	5.4 ± 0.6c	746.17 ± 16.41d	579.11 ± 133.64a	48.20 ± 1.98a	41.67 ± 1.52eg
C	11.7 ± 9.1dg	7.7 ± 1.3a	972.23 ± 3.95f	795.49 ± 33.28c	62.72 ± 3.09e	38.98 ± 1.17eg
H	11.1 ± 8.7c	4.1 ± 1.3h	639.78 ± 36.33e	975.72 ± 111.91g	36.06 ± 3.98b	41.97 ± 1.27eg
G	9.6 ± 7.5b	5.9 ± 1.5cg	349.48 ± 51.31c	621.54 ± 56.55af	46.65 ± 2.10d	38.43 ± 6.97hg
D	9.4 ± 3.0bc	5.5 ± 13.0c	405.28 ± 16.32ac	366.44 ± 27.92e	47.27 ± 3.41a	36.29 ± 3.46ah
O	9.4 ± 0.8bc	3.7 ± 2.2b	391.93 ± 9.80ac	778.42 ± 48.06c	40.41 ± 2.39b	31.19 ± 2.42bc
I	7.8 ± 2.8b	3.9 ± 7.1b	567.98 ± 22.71be	877.38 ± 1.25b	41.85 ± 4.29b	23.75 ± 1.58d
N	9.6 ± 3.2c	6.2 ± 0.4g	553.35 ± 31.68beg	475.25 ± 12.57d	35.96 ± 1.70b	33.20 ± 1.12ac
F	3.7 ± 2.0f	2.2 ± 1.3e	460.28 ± 80.76ag	659.93 ± 2.62f	55.67 ± 1.23a	47.39 ± 2.85bd

注:A ~ O 表示不同品牌洋槐蜜;数据后不同小写字母表示样品之间差异显著 ($P < 0.05$);统计分析软件 SAS,统计分析方法为单因素方差分析,使用邓肯检验法进行多重比较。

B、C、J、K、L;第 2 组黄酮含量范围为 5.0 ~ 7.0 mg/kg,包括 D、E、G、M、N;第 3 组黄酮含量偏低,均小于 5.0 mg/kg,包括 F、H、I、O。除去样品 C、D、G、N,各样品黄酮含量与酚酸含量之间都具有一定的相关性,且不同组别之间差异显著 ($P < 0.05$)。这说明同一样品蜂蜜总酚酸和总黄酮含量之间具有一定的正相关关系,但是同一品种的蜂蜜总酚酸和总黄酮含量因地域不同存在一定的区别。

2.2 15 种蜂蜜抗氧化活性的测定结果分析

2.2.1 ABTS⁺ 自由基清除能力 Trolox 作为阳性对照,以不同浓度样品清除 ABTS⁺ 自由基的能力计算 IC₅₀,由试验结果可知,清除率随着浓度升高而增加,从 15 种蜂蜜清除 ABTS⁺ 自由基 IC₅₀ 值(表 2)可以看出样品 G 清除 ABTS⁺ 自由基能力最强,IC₅₀ 值为(349.48 ± 51.31) mg/mL,样品 B 的 IC₅₀ 值为(1 018.81 ± 15.96) mg/mL,是 15 种洋槐蜜中清除 ABTS⁺ 自由基能力最弱的,两者相差 2 倍。15 个品牌洋槐蜜清除 ABTS⁺ 自由基能力由大到小依次为 G > O > D > F > A > J > N > I > K > L > H > M > E > C > B。

2.2.2 DPPH 自由基清除能力 由表 2 可知,15 种样品对 DPPH 自由基均具有不同程度的清除能力。总酚酸和总黄酮含量较高的 J 样品和 D 样品具有较高的清除自由基的能力,IC₅₀ 值分别为(336.67 ± 3.64)、(366.44 ± 27.92) mg/mL;样品 H 清除自由基的能力最弱,IC₅₀ 值为 975.72 mg/mL。这表明同一品种蜂蜜地域不同,抗氧化能力也存在差异。

2.2.3 还原力的测定 还原力的测定是评价样品是否具有良好的电子供应能力,还原力强的样品为良好的电子供应者,同时还还原力越强,表示抗氧化性越强^[15]。由试验结果可知,15 种洋槐蜜均具有还原力,可作为电子供应者,与自由基反应,转化为更为稳定的物质。

由表 2 可得,品牌 J 的还原能力最强,每 100 g 蜂蜜相当于(73.28 ± 2.80) mg Trolox;品牌 N 还原力最弱,每 100 g 蜂

蜜仅相当于(35.96 ± 1.70) mg Trolox,仅为品牌 C 的 49%。15 个品牌洋槐蜜还原力存在一定的差异。15 个品牌洋槐蜜还原力由大到小依次为 J > C > E > F > K > A > L > M > D > B > G > I > O > H > N。

2.2.4 过氧阴离子清除能力(ORAC 法) 氧化自由基吸收能力测定法(oxygen radical absorbance capacity,ORAC),与其他抗氧化能力分析方法相比,具有显著的优点。美国农业部 2007 年、2010 年公布的一系列食品的抗氧化能力都是采用 ORAC 法测定的^[16-17]。由表 2 可知,不同品牌洋槐蜜都有明显的抗氧化性。其中样品 J 抗氧化能力最强,ORAC 值为 57.67 μmol Trolox/100 g,且与其他各品牌 ORAC 数值之间差异显著 ($P < 0.05$);品牌 I 的抗氧化性最弱,ORAC 值为 23.75 μmol Trolox/100 g,与其他品牌之间也差异显著 ($P < 0.05$)。品牌 A、E、F、J、K 具有相对较强的抗氧化性,ORAC 值均大于 45.00 μmol Trolox/100 g,且这 5 个品牌之间差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2.5 15 种洋槐蜜综合抗氧化性能 综合上述 4 种抗氧化能力,采用克拉默(Kramer)检验法^[13],对 15 种不同品牌洋槐蜜的综合抗氧化性能进行评价,结果如表 3 所示。查克拉默顺序检验表: $n = 4, m = 15$,上段数据 $a \sim b = 10 \sim 54$,因为 $\max Q_i = 54, \min Q_i = 10$,所以对置信度 $\alpha = 5\%$,15 种洋槐蜜之间差异不显著。

查克拉默顺序检验表: $n = 4, m = 15$,下段数据 $c \sim d = 18 \sim 46$,对于品牌 J 和品牌 K, $Q_i = 10, 17 < 18$,所以对置信度 $\alpha = 5\%$,品牌 J、K 与其他品牌洋槐蜜之间差异显著;品牌 H、I 的 $Q_i > 46$,所以对置信度 $\alpha = 5\%$,品牌 H、I 与其他品牌洋槐蜜之间差异显著。

这说明品牌 J、K 洋槐蜜综合抗氧化性能最强,品牌 H、I 洋槐蜜综合抗氧化性能最弱。15 种洋槐蜜综合抗氧化性能由大到小依次为 J > K > A > F > E > L > G > M > C > N > D >

表 3 不同品牌蜂蜜抗氧化性能

商品蜜	清除 ABTS 能力	清除 DPPH 能力	还原力	ORAC	Q_i
J	5	2	1	1	10a
K	9	1	5	2	17b
A	4	5	6	3	18b
F	3	9	4	5	21c
E	13	6	3	4	27d
L	10	2	7	10	30e
G	1	8	11	12	33f
M	12	7	8	8	36f
C	14	12	2	9	38fg
N	6	4	15	13	40gh
D	7	13	9	11	41gh
O	2	11	13	14	41gh
B	15	10	10	6	42i
H	11	15	14	7	47j
I	8	13	12	15	49j

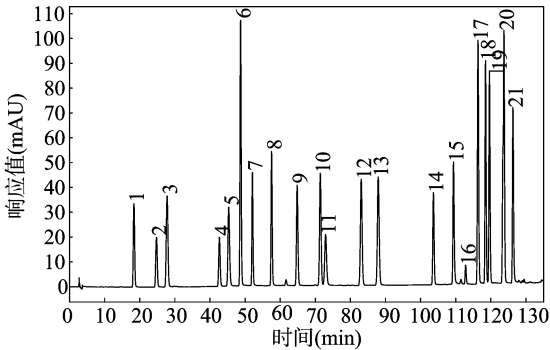
注:将 15 种不同品牌洋槐蜜分别按照抗氧化能力大小排序,依次给予 1~10 分; Q_i 表示每个品牌洋槐蜜 4 个方面得分值的总和;数据后不同小写字母表示样品之间差异显著($P<0.05$)。

O>B>H>I。

2.3 15 种蜂蜜提取物中多酚类成分

通过标准品建立标准曲线,对不同品牌蜂蜜提取物的成分进行定性定量分析,标准品的结果见图 1。

根据不同品牌洋槐蜜中多酚类成分种类以及特征性成分含量,可以将 15 个蜂蜜样品分为 3 组。第 1 组样品多酚类成分齐全,含有 9~16 个活性成分,包括 A、B、C、D 4 个品牌(表 4、图 2)。该组样品提取物中主要包括咖啡酸、*p*-香豆酸、3,4-二甲氧基肉桂酸、脱落酸和丁香酸甲酯等成分。据文献报



1—4-羟基苯甲酸; 2—香草酸; 3—咖啡酸; 4—*p*-香豆酸; 5—苯甲酸; 6—阿魏酸; 7—异阿魏酸; 8—丁香酸甲酯; 9—3,4-二甲氧基肉桂酸; 10—脱落酸; 11—肉桂酸; 12—5-甲氧基短叶松素; 13—短叶松素; 14—山姜素; 15—山奈酚; 16—松属素; 17—咖啡酸苄酯; 18—短叶松素-3-乙酸酯; 19—柯因; 20—咖啡酸苯乙酯; 21—高良姜素

图 1 蜂蜜提取物的 HPLC 标准品图谱

道,脱落酸因其在洋槐蜜中广泛存在而可以作为原料洋槐蜜的标志性成分^[18-20]。此外,高含量的丁香酸甲酯被认为是油菜蜜的典型特征^[21]。根据该组样品中丁香酸甲酯与脱落酸含量的比值小于 0.5 的特征,以及与原料洋槐蜜中多酚类成分的比较^[22-23]等,可以断定该组样品洋槐蜜来源纯正、纯度高、品质高,初步认为是品质好的洋槐蜜。

第 2 组中包括 E、F、G、H、I 5 个品牌,含有 10~17 个多酚类成分,该组样品丁香酸甲酯与脱落酸的含量比值相对第 1 牌洋槐蜜中该成分峰值低(图 3)。综上所述,该组洋槐蜜产品多酚类化合物种类齐全,丁香酸甲酯与脱落酸含量比值相对第 1 组有稍微升高,因此,这 5 个品牌的样品属于一般品质洋槐蜜。

表 4 不同品牌洋槐蜜提取物中多酚类化合物的含量

化合物	含量								$\mu\text{g/kg}$
	A	B	C	D	E	F	G	H	
4-羟基苯甲酸	—	534.4±3.9	369.1±9.4	—	423.3±0.2	—	398.0±2.4	425.6±2.9	
香草酸	—	625.5±5.2	—	—	155.4±1.2	—	—	—	
咖啡酸	84.3±4.2	232.2±4.9	196.2±2.1	—	170.8±4.2	—	22.7±3.5	—	
<i>p</i> -香豆酸	170.3±20.2	144.1±4.5	—	—	122.9±0.5	196.6±0.5	—	65.9±2.8	
苯甲酸	1 235.4±27.2	—	—	—	1 210.2±1.3	1 013.2±8.2	—	1 372.5±5.0	
阿魏酸	245.6±16.7	590.4±7.4	—	—	—	—	—	—	
异阿魏酸	—	—	93.2±0.8	—	—	—	—	57.0±0.1	
3,4-二甲氧基肉桂酸	148.6±0.1	845.3±0.1	114.7±3.9	125.4±0.6	—	150.3±2.2	98.7±4.1	—	
脱落酸	2 012.7±3.0	2 117.1±1.8	1 000.1±6.2	746.3±4.4	882.9±5.1	867.1±7.4	554.9±0.6	567.9±2.3	
肉桂酸	8.4±0.8	—	7.8±0.1	5.7±0.6	5.4±1.0	—	—	—	
丁香酸甲酯	468.5±46.4	265.5±99.2	465.6±24.4	332.4±13.0	495.1±0.8	511.3±99.2	400.7±65.1	474.1±1.3	
咖啡酸苄酯	582.7±6.3	—	—	—	655.6±3.7	—	—	—	
咖啡酸苯乙酯	—	—	—	—	261.6±11.0	—	—	—	
短叶松素-3-乙酸酯	—	—	—	—	261.7±11.0	1 183.1±15.7	—	—	
5-甲氧基短叶松素	371.1±5.5	364.6±3.5	—	246.3±0.8	270.0±1.1	270.6±2.3	265.8±2.4	—	
短叶松素	498.6±8.8	—	—	16.9±0.6	235.1±0.1	258.2±0.4	—	133.8±4.7	
山姜素	417.5±3.2	—	—	—	—	7.0±2.3	71.7±2.1	—	
山奈酚	78.0±2.7	166.5±2.3	77.5±3.0	64.3±1.0	166.5±2.3	124.4±2.7	63.1±1.0	23.1±3.4	
松属素	189.8±9.9	101.0±5.8	—	62.7±0.1	122.9±3.3	113.8±7.4	69.3±2.8	114.9±6.3	
柯因	419.0±7.6	287.6±7.8	227.2±0.1	196.7±4.2	308.0±3.3	305.6±0.6	233.0±2.4	257.0±2.5	
高良姜素	217.1±1.9	170.6±2.0	—	—	173.8±7.4	—	—	163.4±5.9	

续表 4

化合物	含量						
	I	J	K	L	M	N	O
4-羟基苯甲酸	444.9±7.1	—	—	—	—	—	—
香草酸	—	174.9±0.4	—	265.6±10.3	—	395.4±1.5	—
咖啡酸	537.8±0.5	98.3±6.5	445.6±11.3	—	—	—	—
<i>p</i> -香豆酸	411.1±2.3	168.6±6.6	103.0±3.2	92.2±1.0	—	—	—
苯甲酸	—	3 603.7±9.1	757.7±2.1	1 372.5±5.0	1 569.1±14.8	638.7±3.6	—
阿魏酸	—	1 075.2±1.9	—	—	224.4±20.6	—	—
异阿魏酸	401.7±1.6	86.9±0.7	—	104.1±6.2	—	—	—
3,4-二甲氧基肉桂酸	247.7±7.0	—	144.1±2.7	136.2±2.7	—	—	—
脱落酸	854.4±6.3	917.4±15.7	867.7±14.5	406.5±2.3	346.6±112.7	16.3±0.8	—
肉桂酸	—	—	13.6±2.9	9.2±0.6	—	—	3.0±0.1
丁香酸甲酯	508.8±2.9	5 015.0±12.8	2 144.6±8.6	3 016.4±141.4	2 503.7±19.2	2 150.6±15.1	1 525.2±119.8
咖啡酸苄酯	—	—	—	—	—	—	—
咖啡酸苯乙酯	—	—	157.5±1.6	—	—	—	79.4±0.4
短叶松素-3-乙酸酯	—	—	—	—	—	—	—
5-甲氧基短叶松素	258.8±3.9	398.6±4.7	279.5±13.6	269.9±6.4	249.1±3.0	—	—
短叶松素	145.6±7.1	237.4±6.5	188.7±0.8	210.3±1.2	—	—	—
山姜素	—	165.5±3.3	—	—	—	—	—
山奈酚	120.6±2.5	251.6±1.1	82.5±0.9	97.2±5.6	87.0±2.4	72.1±0.9	75.2±5.0
松属素	120.7±0.2	118.3±2.1	92.8±1.7	106.1±3.7	84.4±1.1	—	—
柯因	303.7±5.6	—	—	274.9±0.2	240.7±8.3	288.7±0.2	—
高良姜素	270.9±14.3	—	262.7±0.8	161.0±3.0	—	—	—

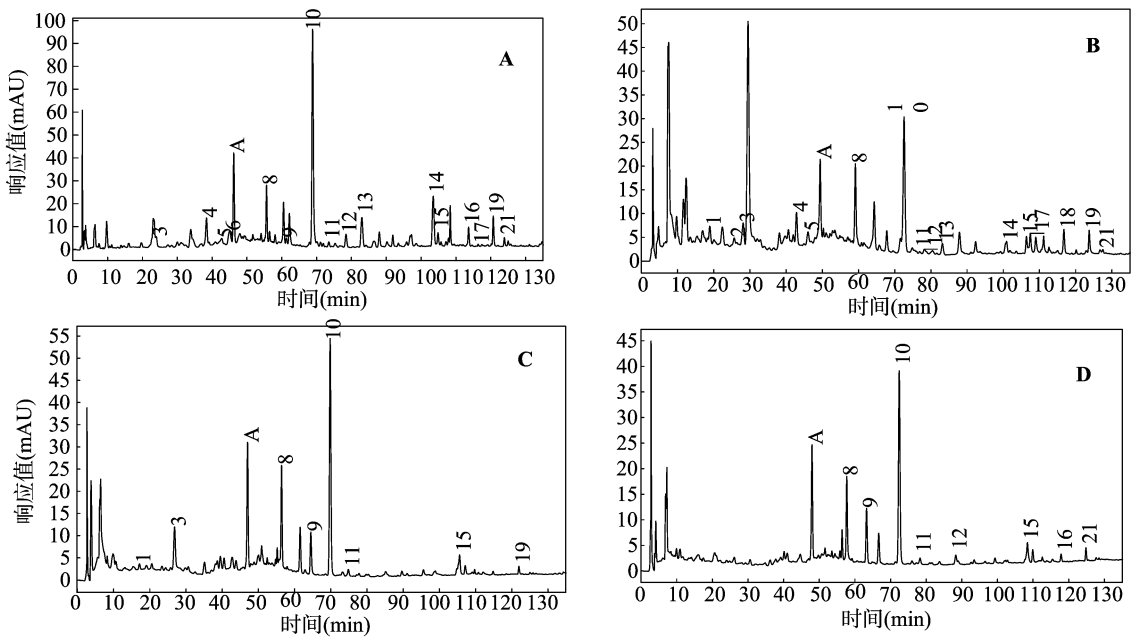


图2 第1组商品洋槐蜜 HPLC 图谱

第3组样品包含J、K、L、M、N、O 6个品牌,多酚类成分种类存在一定差异,例如品牌L中鉴定出14种多酚类成分,而品牌O中仅鉴定出4种成分。丁香酸甲酯含量对比前2组样品明显升高,平均含量为2 726.0 μg/kg,是第1组样品平均含量的7倍。此外,脱落酸平均含量也仅为第1组含量的1/3,品牌O中未鉴定到脱落酸(表4、图4)。除去品牌O,该组丁香酸甲酯与脱落酸的含量比值范围为2.47~131.91。

J、K、L、M中多酚类成分与原料蜜^[19-20,23]相比,种类差距

不大,主要含有香草酸、咖啡酸、*p*-香豆酸、3,4-二甲氧基肉桂酸、脱落酸和丁香酸甲酯。根据文献报道,脱落酸是洋槐蜜的标志性成分^[18-20],丁香酸甲酯是油菜蜜的典型特征^[21],这4个样品脱落酸含量低,丁香酸甲酯含量高,两者比值范围为2.47~7.42,因此推断这些洋槐蜜样品可能是添加油菜蜜。此外,样品N、O中分别仅鉴定出4种和6种化合物,且品牌N中丁香酸甲酯与脱落酸含量比值高达131.9,因此可推断其原料蜜可能是油菜蜜为主的蜂蜜。

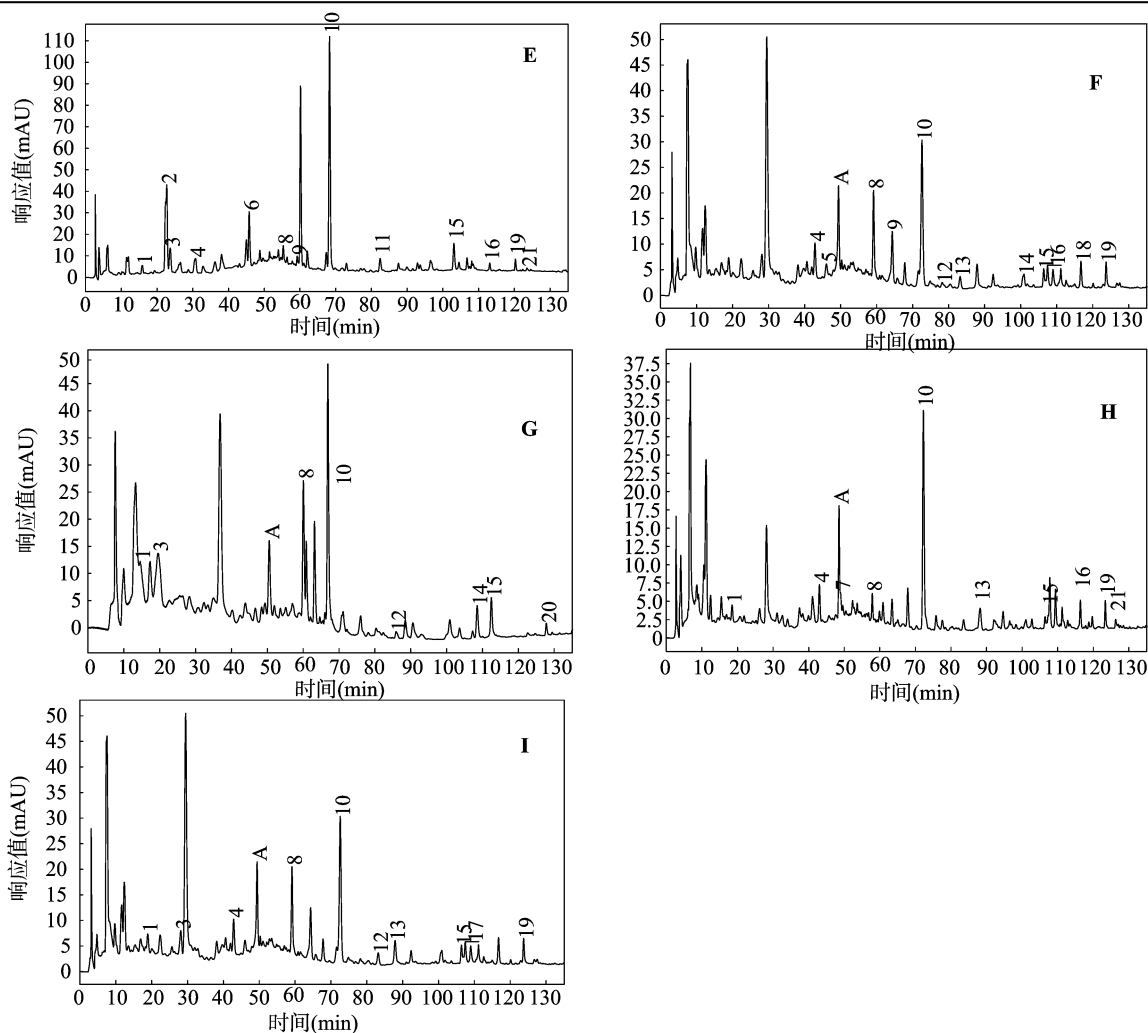


图3 第2组商品洋槐蜜HPLC图谱

3 结论

根据克拉默(Kramer)检验法,15种商品洋槐蜜中,品牌J和K综合抗氧化性能最强,品牌H和I综合抗氧化性能最弱。15种洋槐蜜综合抗氧化性能由大到小依次为J>K>A>F>E>L>G>M>C>N>D>O>B>H>I。通过HPLC-DAD对其多酚类成分分析表明,15种商品洋槐蜜中只有4个品牌样品具有蜂蜜来源纯正、成分齐全特点,是高品质蜂蜜;有5个品牌属于中等品质洋槐蜜;另外有6个样品可能添加了油菜蜜。

总之,按照多种方法综合鉴定蜂蜜方法,根据原料蜜中主要多酚类成分的组成比值范围,可以更好地评价蜂蜜产品的质量,控制蜂蜜产品中有效成分,保持其质量稳定,维护了消费者的利益。

参考文献:

- [1]郭夏丽,罗丽萍,冷婷婷,等. 7种不同蜜源蜂蜜的化学组成及抗氧化性[J]. 天然产物研究与开发,2010,22(4):665-670.
- [2]顾雪竹,李先端,钟银燕,等. 蜂蜜的现代研究及应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(6):70-73.
- [3]温玉顺. 蜂蜜蜂王浆有助抗癌[J]. 蜜蜂杂志,2005(3):17.
- [4]玄红专,吴玉厚,桑青,等. 不同蜂蜜抗氧化活性的测定[J]. 食

- 品研究与开发,2008(3):116-118.
- [5]罗照明,张红城. 中国蜂胶化学成分及其生物活性的研究[J]. 中国蜂业中旬刊:学术,2012,63(2):55-62.
- [6]Dimitrova B, Gevrenova R, Anklam E. Analysis of phenolic acids in honeys of different floral origin by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography [J]. Phytochemical Analysis, 2007,18(1):24-32.
- [7]Aline M, Lamien C E, Romito M, et al. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honeys, as well as their radical scavenging activity [J]. Food Chemistry, 2005, 91(3):571-577.
- [8]Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. Free Radical Biology & Medicine, 1999,26(9/10):1231-1237.
- [9]Scherer R, Godoy H T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method [J]. Food Chemistry, 2009,112(3):654-658.
- [10]董捷,张红城,李慧,等. 八种蜂花粉醇提物的体外抗氧化能力研究[J]. 营养学报,2010,32(3):309-312.
- [11]Wu C, Duckett S K, Neel J P, et al. Influence of finishing systems on hydrophilic and lipophilic oxygen radical absorbance capacity (ORAC) in beef [J]. Meat Science, 2008,80(3):662-667.

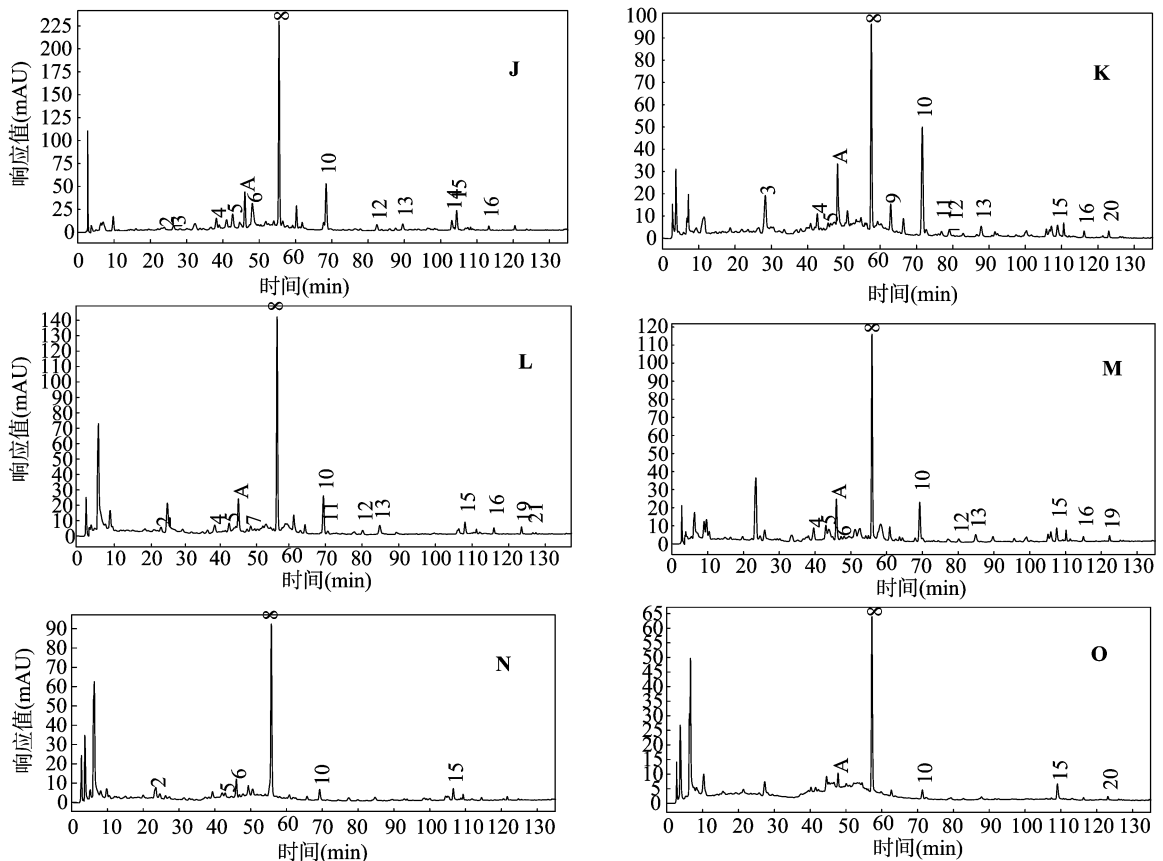


图4 第3组商品洋槐蜜HPLC图谱

- [12] Lai L S, Chou S T, Chao W W. Studies on the antioxidative activities of Hsian - tsao (*Mesona procumbens* Hemsl) leaf gum[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(2): 963 - 968.
- [13] 金万浩. 食品物性学[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1991: 125 - 129.
- [14] 李琦智, 朱敏, 任德曦, 等. 蜂蜜的功效与应用[J]. 四川中医, 2004, 22(1): 30 - 31.
- [15] 张红城, 董捷, 任向楠, 等. 十种蜂花粉醇提物的抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2008, 29(10): 75 - 79.
- [16] 刘波静. 气相色谱/质谱法分析研究蜂胶中化学成分[J]. 分析化学, 2001, 29(7): 861.
- [17] Midorikawa K, Banskota A H, Tezuka Y, et al. Liquid chromatography - mass spectrometry analysis of propolis[J]. Phytochemical Analysis, 2001, 12(6): 366 - 373.
- [18] Bertonecelj J, Polak T, Kropf U, et al. LC - DAD - ESI/MS analysis of flavonoids and abscisic acid with chemometric approach for the

classification of Slovenian honey[J]. Food Chemistry, 2011, 127(1): 296 - 302.

- [19] Ferreres F, Andrade P, Tomas - Barberan F A. Flavonoids from portuguese heather honey[J]. Zeitschrift fuer Lebensmittel - Untersuchung und - Forschung, 1994, 199(1): 32 - 37.
- [20] Sadiki M, Martin N. Solid - Phase extraction and procedure for determination of phenolic compounds in maple syrup[J]. Food Analytical Methods, 2013, 6(3): 737 - 744.
- [21] 常丹, 周梦遥, 徐瑞晗, 等. 蜂蜜抗氧化成分的研究进展[J]. 中国蜂业, 2010, 61(11): 38 - 40.
- [22] 刘海丰. 洋槐蜜的色谱指纹图谱构建与加工贮藏对其酚类化合物含量的影响[D]. 西安: 西北大学, 2012.
- [23] Sergiel I, Pohl P, Biesaga M. Characterisation of honeys according to their content of phenolic compounds using high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2014, 145: 404 - 408.