

薛茗阁,卜翠萍,赵祥祥,等. 3 种单花蜜总黄酮含量测定的比较[J]. 江苏农业科学,2016,44(4):341-343.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.097

3 种单花蜜总黄酮含量测定的比较

薛茗阁^{1,2}, 卜翠萍², 赵祥祥², 纪丽莲²

(1. 扬州大学食品科学与工程学院, 江苏扬州 225127; 2. 淮阴师范学院生命科学院/

江苏省环洪泽湖生态农业生物技术重点实验室/江苏省高校区域现代农业与环境保护协同创新中心, 江苏淮安 223300)

摘要:采用酶标仪微量法,以芦丁为对照品对市售不同品牌的 3 种单花蜜(枣花蜜、紫云英蜜、洋槐蜜)总黄酮含量进行测定比较。结果表明,3 种单花蜜均含有黄酮类化合物,且不同单花蜜间总黄酮含量存在显著性差异,其中枣花蜜的总黄酮含量最高(1.72 mg/100 g),紫云英蜜次之(1.26 mg/100 g),洋槐蜜含量最低(1.11 mg/100 g);不同品牌瓶装单花蜜间总黄酮含量不同,品牌 2 的 3 种单花蜜总黄酮含量均低于品牌 1 和品牌 3。因此,蜂蜜中总黄酮含量可作为不同单花蜜品质评价的标准之一;酶标仪微量法具有简便、准确等优点,可广泛应用于蜂蜜及相关产品的快速检测。

关键词:蜂蜜;总黄酮;酶标仪微量法

中图分类号: S896.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2016)04-0341-02

蜂蜜是蜜蜂采集植物的花蜜、分泌物或蜜露,与自身分泌物混合后,经充分酿造而成的天然甜物质^[1]。根据蜜源植物不同,分为单花蜜和杂花蜜。《本草纲目》中将蜂蜜的药用功效描述为清热、补中、解毒、润燥、止痛^[2]。现代医学也证明蜂蜜具有增强免疫力,治疗胃肠道疾病、呼吸道疾病、心脏病和不同炎症的疗效^[3]。黄酮类化合物是蜂蜜中主要的有效成分之一,主要来自植物花蜜、花粉和蜂胶,以配基和糖苷形式存在^[4]。由于其对人体内自由基有明显的清除作用,并可抑制细胞的凋亡,常是治疗心血管疾病药物的主要成分。不同的单花蜜中黄酮类化合物种类和含量差别很大,而同种单花蜜中产地不同含量也可能相差悬殊^[5-6]。已有研究报道,根据蜂蜜中黄酮类化合物含量的不同,评价蜂蜜质量、推测蜂蜜地理来源^[7-8]。

常见的黄酮成分含量测定方法有高效液相色谱法、紫外分光光度计比色法、酶标仪微量法。高效液相色谱法所需样品剂量少,但操作复杂、成本较高。紫外分光光度计比色法操作简便、节约成本,但样品用量大。酶标仪微量法同时具有所需试剂用量少、单次测样多、效率高等优点,是测量总黄酮含量的理想方法,正逐渐被广大科研工作者所采用。本试验选用酶标仪微量法对市场销量较大的 3 种单花蜜总黄酮含量进行测定比较,希望利用简单准确的检测方法为蜂蜜质量的综合评价及消费者的选购提供一些参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

于淮安市大型超市购买销售量较好的 3 种品牌瓶装单花

蜜(洋槐蜜、枣花蜜、紫云英蜜),所选品牌均为 2014 年中国蜂产品协会抽检合格产品。

芦丁对照品(Sigma 公司);无水三氯化铝、硝酸铝、氢氧化钠、甲醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);蒸馏水。

1.2 仪器与设备

Infinite M200 PRO 酶标仪(瑞士 Tecan 公司);超声波清洗器 KQ-500B(昆山市超声仪器有限公司);旋转蒸发器 RE-2000(上海亚荣生化仪器厂);循环水式多用真空泵 SHZ-D(III)(巩义市英裕予华仪器厂);BS210S 电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 标准曲线的制备 精确称取干燥至恒质量的芸香苷对照品 20 mg,加甲醇定容于 100 mL 容量瓶中,即得 0.2 mg/mL 芸香苷标准液。准确移取对照品溶液 0.00、0.08、0.16、0.24、0.32、0.40、0.48 mL,分别置于 2 mL Ep 管中,各加水 0.32 mL,加 0.08 mL 5% 亚硝酸钠溶液,摇匀,放置 6 min,加 0.08 mL 10% 硝酸铝溶液,摇匀,放置 6 min,加 0.80 mL 4% 氢氧化钠溶液,再加水至刻度,摇匀,放置 15 min。在 510 nm 处用酶标仪测定吸光度。以芸香苷质量浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线。回归方程: $y = 7.7579x - 0.0009$ ($r^2 = 0.9992$)。芸香苷对照品溶液在 0~0.048 mg/mL 范围内吸光度和浓度线性关系良好。

1.3.2 样品溶液的制备 参考张文霁等^[9]、罗显来等^[10]的方法,分别准确称取 3 种单花蜜各 3 种不同品牌的 9 种蜂蜜 25 g 于锥形瓶中,加入无水乙醇 25 mL,在常温下超声萃取 25 min,重复 3 次,合并萃取所得上清液,于旋转蒸发器中蒸干,用甲醇溶解定容于 10 mL 容量瓶中,作为样品溶液。

1.3.3 样品总黄酮含量测定 取 0.16 mL 样品溶液置于 2 mL Ep 管中,依照“1.3.1”节的方法测定吸光值,同时取 0.16 mL 甲醇代替待测液处理作空白对照。根据标准曲线求出待测液的总黄酮浓度,计算出样品中浓度,单位为 mg/100 g 蜂蜜,以芸香苷计。

收稿日期:2015-10-13

基金项目:国家自然科学基金(编号:31300463);江苏省自然科学基金(编号:BK20130414)。

作者简介:薛茗阁(1989—),女,天津人,硕士研究生,研究方向营养与食品卫生学。E-mail:909442465@qq.com。

通信作者:纪丽莲,女,博士,教授,研究方向为食品化学与营养学。E-mail:jll2663@sina.com。

1.4 试验方法考察

对样品溶液和检测方法,分别进行精密度试验、重复性试验、稳定性试验、加样回收率试验等。

1.5 数据处理

所有样品均测定 3 次,分析和处理结果以平均值 ± 标准差表示。采用 SPSS 19.0 软件进行分析。统计方法为单因素方差分析,Duncan's 检验。

2 结果与分析

2.1 样品总黄酮含量测定结果

3 种单花蜜总黄酮含量均在 1.00 mg/100 g 以上,其中枣

花蜜总黄酮含量最高(1.72 mg/100 g),紫云英蜜次之(1.26 mg/100 g),洋槐蜜含量最低(1.11 mg/100 g)。不同单花蜜间总黄酮含量存在显著性差异,单花蜜中总黄酮的含量与蜜源植物的种类密切相关(表 1)。

不同品牌瓶装单花蜜的总黄酮含量也存在一定差异。品牌 2 中 3 种单花蜜的总黄酮含量均低于品牌 1 和品牌 3;3 种品牌的枣花蜜总黄酮含量变化较大,品牌 2 枣花蜜黄酮含量明显低于品牌 1 和品牌 3;紫云英蜜品牌 1 和品牌 3 中黄酮含量相近,略高于品牌 2;洋槐蜜 3 种品牌的黄酮含量变幅最小,无显著性差异。蜂蜜产地、加工工艺、保存时间等因素均可引起单花蜜总黄酮含量的不同(图 1)。

表 1 枣花蜜、紫云英蜜、洋槐蜜的总黄酮含量

蜂蜜种类	总黄酮含量(mg/100 g)				差异显著性	
	品牌 1	品牌 2	品牌 3	平均	5%	1%
枣花蜜	1.87 ± 0.023	1.46 ± 0.008	1.84 ± 0.082	1.72	a	A
紫云英蜜	1.34 ± 0.043	1.17 ± 0.035	1.28 ± 0.018	1.26	b	B
洋槐蜜	1.11 ± 0.013	1.09 ± 0.039	1.12 ± 0.011	1.11	c	C

注:不同大写字母代表差异极显著($P < 0.01$),不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),图 1 同。

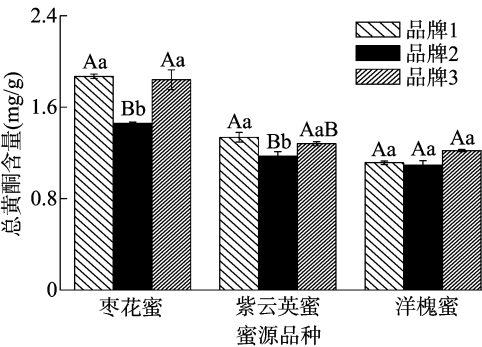


图 1 3 种品牌单花蜜的总黄酮含量比较

2.2 方法学考察结果

量取同一蜂蜜样品溶液,在相同波长条件下,连续检测 6 次,测得吸光值 RSD 为 2.16%,表明仪器精密度良好。称取同一蜂蜜样品溶液,分别在 0、20、40、60、80、100、120 min 的放置时间进样,测定吸光值 RSD 为 0.56%,表明样品在 120 min 内稳定。称取同一蜂蜜 25 g 共 6 份,按照样品溶液制备方法,计算含量 RSD 为 1.16%,表明该方法重复性好。精确量取已知黄酮含量的蜂蜜供试品溶液,平行 3 组,3 组中分别加入芸香苷标准品 0.05、0.20、0.50 mg,按上述制备方法和条件进行处理和测定,计算平均加样回收率为 91.67%, RSD 为 2.11%,回收率良好。

3 讨论

黄酮作为生物活性物质,在不同蜜源植物中的含量不同。Yao 等研究产于澳大利亚的 5 种单花蜜(*Melaleuca* honey, *Guioa* honey, *Lophostemon* honey, *Banksia* honey 和 *Helianthu* honey)发现 *Melaleuca* honey 含量最高,为 6.35 mg/100 g,*Helianthu* honey 含量最低,为 1.79 mg/100 g,5 种单花蜜总黄酮含量差异显著,可有效地区分蜂蜜来源^[11]。郭夏丽等利用高效液相色谱法对江西地区枣花蜜、紫云英蜜、洋槐蜜中的总黄酮进行含量测定,比较得到枣花蜜黄酮含量最高,洋槐蜜最低^[25],本研究结果与之相一致。孙兰凤等检测沈阳地区枣花

蜜黄酮含量(4.68 $\mu\text{g/g}$)也高于槐花蜜(3.16 $\mu\text{g/g}$)^[12]。但不同地区相同单花蜜间黄酮含量存在一定差异。此外,加工工艺、保存条件和保存时间等因素也会影响黄酮含量^[13]。

黄酮类化合物可以和铝离子形成络合物而显色,常采用比色法测定总黄酮含量。酶标仪微量法相比较传统紫外分光光度计法,检测原理、操作方法、结果判定基本一致,不同之处是所需样品试剂用量更少、单次检测样品更多、耗时更短。本研究测得的方法学考察结果中 RSD 值均小于 5%,表明酶标仪微量法测定蜂蜜中黄酮含量具有较高的精密度、重复性、稳定性和回收率,满足试验要求,可替代传统的紫外分光光度计,用于大批量蜂蜜样品的快速测试。果葡糖浆勾兑的假蜂蜜中没有源于植物的黄酮类物质,通过检测黄酮的含量及种类,可以判断蜂蜜的真假,评价蜂蜜的质量。我国于 2011 年正式实施 GB 14963—2011《食品安全国家标准 蜂蜜》,其中对理化指标进行了相应修改,但还未将总黄酮含量纳入其中,建议加入黄酮含量指标,为蜂蜜质量控制评价提供更全面的科学依据。

参考文献:

[1] Cabafiero A I, Recio J L, Rup  rez M. Liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry: a new perspective on honey adulteration detection [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(26): 9719 - 9727.

[2] 曹 炜, 尉亚军. 蜂产品保健原理与加工技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 1 - 2.

[3] Aljadi A M, Kamaruddin M Y. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys [J]. Food Chemistry, 2004, 85(4): 513 - 518.

[4] 罗红霞, 王 丽, 李淑荣. 10 种蜂蜜中的抗氧化物质及其抗氧化能力分析 [J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(2): 626 - 632.

[5] 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.

[6] Amiot H J, Aubert S, Gonnet M, et al. The phenolic compounds in honeys: preliminary study upon identification and family quantification [J]. Apidologie, 1989, 20(2): 115 - 125.

余璐璐,曹中权,朱秋杰,等. 二氧化氯在草莓采后保鲜中的作用[J]. 江苏农业科学,2016,44(4):343-346.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.098

二氧化氯在草莓采后保鲜中的作用

余璐璐¹, 曹中权¹, 朱秋杰¹, 徐 飞^{1,2}

(1. 武汉生物工程学院生命科学与技术学院,湖北武汉 430415;2. 武汉生物工程学院应用生物技术研究中心,湖北武汉 430415)

摘要:二氧化氯(ClO_2)是一种安全、高效、绿色无毒的杀菌剂。通过不同浓度 ClO_2 处理,研究 ClO_2 对草莓(*Fragaria × ananassa* Duch)果实采后储藏保鲜的影响。结果表明, ClO_2 处理能明显减少草莓储藏期间的感病损伤, ClO_2 处理浓度越高,效果越好。但是,高浓度 ClO_2 处理对草莓果皮有漂白损伤作用,草莓储藏后期色泽较差。低浓度 ClO_2 处理在抑菌的同时能起到较好的果实保鲜效果,其中 20 mg/L ClO_2 处理效果最好,处理后的果实在常温(20 ± 1) °C 下的储藏时间达 6 d 以上。此外,20 mg/L ClO_2 处理组草莓采后储藏期间腐烂率明显降低,果实硬度、持水量、含糖量等均高于对照组,表明 ClO_2 在草莓果实保鲜中具有较好的应用前景。

关键词:二氧化氯;草莓;采后储藏;果实保鲜;腐烂率

中图分类号: TS255.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)04-0343-04

草莓(*Fragaria × ananassa* Duch)系蔷薇科草莓属多年生常绿草本植物,原产于欧洲,于 20 世纪初引入我国。草莓为浆果类水果,其外观呈心形,果实呈红色,柔软多汁,酸甜可口,水果芳香浓郁,且富含花青素等多种活性成分,营养丰富,素有“水果皇后”之称,受到广大消费者的喜爱,市场需求量大^[1-2]。近年来,我国草莓设施栽培面积日益扩大,但设施栽培易形成高温多湿的小气候,草莓在采收前后极易感病,严重影响草莓的产量、品质。草莓病害主要包括灰霉病、白粉病、草莓炭疽病、烂果病等^[3-5]。其中,灰霉病是草莓设施生产及果实采后储藏过程中最主要的病害之一。灰霉病主要危害草莓花、果实,在适温高湿条件下易大量发生,病菌通过伤口侵入,造成发病,极大影响草莓种植及采后储藏^[6-8]。草莓果实含水量高,组织娇嫩,果皮薄,在采收、贮存过程中易受到机械损伤,常温下极不耐贮藏,放置 1~2 d 开始变色、变味,甚至腐烂,商品率迅速下降^[9]。目前,草莓储藏保鲜技术主要包

括低温、气调、辐射、化学试剂等。低温储藏草莓保鲜效果好,但成本高,长时间储藏易引起冻害,影响果实口感^[1]。气调保鲜是通过控制环境中氧气(O_2)与二氧化碳(CO_2)浓度,降低草莓呼吸速率,抑制微生物的繁殖和代谢活动,控制并减少乙烯、花青素、可溶性糖等物质的生成,从而延缓草莓生理代谢,延长草莓储藏时间^[10]。但常规气调储藏技术对仪器、技术要求较高,还会加大长途运销成本。辐射贮藏可以杀菌保鲜,但剂量过大易加速草莓果实组织软化^[9]。化学试剂普遍具有毒性,对环境及人体健康造成影响。因此,寻求更为安全、有效的草莓采后保鲜措施十分必要。二氧化氯(ClO_2)是联合国世界卫生组织(WHO)确认的安全、高效、广谱、强力无毒杀菌剂,其有效氯是氯气的 2.63 倍,杀菌能力是氯气的 5 倍,是次氯酸钠的 50 倍以上,由于它不会发生氯替代反应,因而不会产生致癌、致畸变的有机氯代产物,被 WHO 列为 A1 级安全消毒剂^[11]。近年来, ClO_2 在哈密瓜、蟠桃、荔枝、番茄、青椒等果蔬采后保鲜研究中效果明显,产生了巨大的经济效益、社会效益^[12-16]。本研究通过不同浓度 ClO_2 处理,研究 ClO_2 对草莓采后保鲜的影响,以期对草莓保鲜技术改进提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试草莓选购于武汉生物工程学院后街晶晶草莓园,品种为中国蜂业,2010,61(4):10-13。

- [11] Yao L H, Jiang Y E, Singanusong R, et al. Flavonoids in Australian *Melaleuca*, *Guioa*, *Lophostemon*, *Banksia* and *Helianthus* honeys and their potential for floral authentication [J]. Food Research International, 2004, 37(2): 166-174.
- [12] 孙兰凤, 孙 倩, 穆春旭, 等. 蜂蜜中 7 种成分含量 HPLC 切换波长法测定[J]. 中国公共卫生, 2013, 29(4): 604-605.
- [13] Moniruzzaman M, Sulaiman S A, Azlan S A, et al. Two-year variations of phenolics, flavonoids and antioxidant contents in acacia honey[J]. Molecules, 2013, 18(12): 14694-14710.

收稿日期:2015-10-16

基金项目:国家自然科学基金(编号:31400242);湖北省教育厅指导性项目(编号:B2015395)。

作者简介:余璐璐,女,硕士,讲师,主要从事植物生理生态研究。
E-mail:785837433@qq.com。

通信作者:徐 飞,博士,副研究员,硕士生导师,主要从事植物抗逆与果蔬生理研究。E-mail:feixu666@hotmail.com。

- [7] Dina A, Nassima C, Meriem B, et al. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants [J]. Food Chemistry, 2009, 112(2): 303-309.
- [8] Iurlina M O, Saiz A I, Fnit R, et al. Major flavonoids of Argentinean honeys: optimisation of the extraction method and analysis of their content in relationship to the geographical source of honeys [J]. Food Chemistry, 2009, 115(3): 1141-1149.
- [9] 张文霁, 和绍禹, 方敬会, 等. 蜂蜜中黄酮提取实验条件的研究 [J]. 蜜蜂杂志, 2009(8): 10-12.
- [10] 罗显来, 刘 吟, 黄 文. 湖北油菜蜂蜜的指纹图谱研究 [J].