

高效液相色谱法测定蜂王浆中6种糠醛类物质含量

高夫超¹, 崔长日², 魏月³, 吴黎明^{3*}

(1. 黑龙江省农业科学院牡丹江分院, 牡丹江 157041; 2. 黑龙江省林口县蜂业管理站, 牡丹江 157600;
3. 中国农业科学院蜜蜂研究所, 北京 100093)

摘要: **目的** 建立同时测定蜂王浆中 5-羟甲基-2-糠醛 (5-HMF)、5-甲基糠醛 (5-MF)、2-糠醛 (F)、2-糠酸 (2-OIC)、3-糠酸 (3-OIC)、5-羟甲基-2-糠酸 (5-HMFacid) 等 6 种糠醛类物质含量的高效液相色谱分析方法。**方法** 样品经去离子水提取, 亚铁氰化钾和乙酸锌溶液沉淀蛋白后, 用 C₁₈ 色谱柱分离, 0.5% 甲酸水溶液和甲醇梯度洗脱, 在各化合物的最佳吸收波长处进行检测。**结果** 在测试范围内, 6 种糠醛类物质的浓度与相应的峰面积呈线性关系, 相关系数(R^2)不小于 0.9993。方法定量和定性检出限分别在 0.07~0.26 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.02~0.08 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 加标回收率为 86.2%~99.7%, 相对标准偏差小于 2.40%。**结论** 该方法操作简单, 灵敏度高, 适合蜂王浆中 6 种糠醛类化合物的测定。

关键词: 高效液相色谱法; 蜂王浆; 糠醛类物质

Determination of 6 furfural compounds contents in royal jelly by high performance liquid chromatography

GAO Fu-Chao¹, CUI Chang-Ri², WEI Yue³, WU Li-Ming^{3*}

(1. Institute of Mudanjiang, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Mudanjiang 157041, China;
2. Linkou Apiculture Administrative Station of Heilongjiang, Linkou 157600, China; 3. Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093, China)

ABSTRACT: Objective To establish a reversed-phase high performance liquid chromatography method for determining 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF), 5-methyl-2-furfuraldehyde (5-MF), 2-furfuraldehyde (F), furan-2-carboxylic acid (2-OIC), furan-3-carboxylic acid (3-OIC) and 5-hydroxymethyl-2-furancarboxylic acid (5-HMF acid) in royal jelly (RJ). **Methods** Samples were extracted with purity water and proteins in them were removed by zinc acetate and potassium ferrocyanide solutions. Before injection, the solutions were passed through 0.45 μm filters for determination by a liquid chromatography UV detection at different wavelengths. **Results** Within the test ranges, 6 furfural compounds concentrations and their peak areas showed good linear correlations ($R^2 \geq 0.9993$). The limits of quantitation and detection were 0.07~0.26 $\mu\text{g/mL}$ and 0.02~0.08 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The recoveries ranged from 86.2% to 99.7% and the overall relative standards were lower than 2.40%. **Conclusion** The method is simple, sensitive and suitable for analyzing 6 furfural compounds in RJ.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; royal jelly; furfural compounds

基金项目: 国家现代蜂产业技术体系项目(CARS-45)、国家自然科学基金项目(31372385)

Fund: Supported by the Modern Agricultural Technology System (CARS-45-KXJ8) and the National Natural Science Foundation of China(31372385)

*通讯作者: 吴黎明, 研究员, 博士生导师, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: apiswu@126.com

*Corresponding author: WU Li-Ming, Researcher, Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, No.1, North Street, Xiangshan District, Beijing 100093, China. E-mail: apiswu@126.com

1 引言

蜂王浆(royal jelly, RJ)是由蜜蜂哺育蜂头部咽下腺(hypopharyngeal gland)和上颚腺(mandibular gland)共同分泌,具有酸、涩、辣、甜且略带特殊芳香气味的乳白色或淡黄色的浆状物,在蜜蜂的级型分化中发挥着重要作用^[1]。蜂王浆组分非常复杂,富含蛋白质、碳水化合物和脂类等^[2],具有抗疲劳、抗菌消炎、抗肿瘤、降血压、促生长等多方面的营养保健作用^[3]。但蜂王浆在贮存过程中会产生系列化学反应,其营养保健功效也会随之降低。

糠醛类物质的含量是研究食品在加工贮藏过程中质量变化的一个重要参数,尤其是糠醛(F)和 5-羟甲基糠醛(HMF)目前已成为衡量许多食品是否过度受热和贮存时间是否过长的指标,如蜂蜜^[4,5],奶粉^[6,7],桔汁^[8,9],葡萄汁^[10,11],酒类^[12,13]等。其产生通常有两条途径:第一是在酸性条件下,食品中的单糖降解为 5-HMF;第二是食品中的氨基化合物和羰基化合物之间发生美拉德反应形成 5-HMF 及其他糠醛类物质^[14-16]。在这个过程中,美拉德反应造成了食品中部分氨基酸降解,并产生一些损害营养的物质,其中部分可能还有毒性。因此,5-HMF 及其他相关化合物的研究已成为食品研究的焦点之一^[17,18]。

正因为 5-HMF 等糠醛类物质可作为一些食品的质量指标,科研工作者对其展开了大量研究,形成了很多测定方法,如紫外分光光度法^[19],液相色谱法^[20],液相色谱质谱法^[21],气相色谱质谱法^[22],这些方法被广泛应用于蜂蜜、果汁、面包等食品中糠醛类物质的测定。

蜂王浆富含蛋白、糖和酸类物质,在其贮存的不同阶段也必然会产生不同的糠醛类物质。但目前尚未见有关蜂王浆中糠醛类物质分析方法的报道。本文的目的在于建立一种同时测定蜂王浆中 6 种糠醛类物质,即 5-羟甲基-2-糠醛(5-hydroxymethyl-2-furaldehyde, hydroxymethylfurfural, 5-HMF)、5-甲基糠醛(5-methyl-2-furaldehyde, 5-MF)、2-糠醛(2-furaldehyde, furfural, F)、2-糠酸(furan-2-carboxylic acid, 2-furoic acid, 2-OIC)、3-糠酸(furan-3-carboxylic acid, 3-furoic acid, 3-OIC)、5-羟甲基-2-糠酸(5-hydroxymethyl-2-furancarboxylic acid, 5-HMF acid)的高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)分析方法,为研究蜂王

浆贮存过程中糠醛类物质产生规律,进而评价蜂王浆品质和新鲜度提供技术支撑。

2 材料与方法

2.1 材料与仪器

蜂王浆样品:用于建立分析方法的蜂王浆样品,从浙江平湖种蜂场采集;用于实际样品分析的蜂王浆样品,随机从北京地区的蜂产品专卖店购买。

标准品:5-羟甲基-2-糠醛(5-HMF)、5-甲基糠醛(5-MF)、2-糠醛(F)、2-糠酸(2-OIC)、3-糠酸(3-OIC)、5-羟甲基-2-糠酸(5-HMF acid)(Sigma 公司)。

甲酸(色谱纯, DIMA 公司);甲醇(色谱纯, J. K. BAKER 公司);乙酸锌溶液(150 g/L)(国药集团化学试剂有限公司):称取 15.0 g 乙酸锌,加 2 mL 冰乙酸,加水溶解并稀释至 100 mL;亚铁氰化钾溶液(300 g/L)(国药集团化学试剂有限公司):称取 30.0 g 亚铁氰化钾,加水溶解并稀释至 100 mL;氢氧化钠溶液(0.1 mol/L)(国药集团化学试剂有限公司):称取 0.4 g 氢氧化钠,加水溶解并稀释至 100 mL;实验用水为超纯水。

高效液相色谱仪(Ultimate 3000), CHROMELEON 工作站(Dionex 公司);2K15 型高速离心机(SIGMA 公司);VORTEX-QilinBeier®-5 涡旋振荡器(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司);KQ-100B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);德国 SKRITORITUS AG GOTTINGEN 电子天平,感量 0.0001 g(GOTTINGEN 公司);Milli-Q 纯水机(BEDFORD, MA, 美国)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液配制

标准贮备液的配制:准确称取 100 mg 标准品,置于 100 mL 容量瓶中,甲醇定容,配制成 1.0 mg/mL 的标准贮备液。

标准工作液的配制:分析前用流动相配制一系列浓度的标准工作溶液。

2.2.2 液相色谱条件

色谱柱:Symmetry 300™ C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm);

流速:1.0 mL/min;

进样量:20 μL;

柱温:30 ℃。

检测波长:由于所测的 6 种糠醛类化合物的最佳吸收波长并不一致,因此,本试验共确定 3 个波长,

使各化合物在最佳吸收波长或接近最佳吸收波长处进行检测。

其中: 5-羟甲基-2-糠醛(5-HMF)、5-甲基糠醛(5-MF)和 2-糠醛(F)在 285 nm 测定;

2-糠酸(2-OIC)和 3-糠酸(3-OIC)在 243 nm 测定;

5-羟甲基-2-糠酸(5-HMFacid)在 270 nm 测定。

流动相分别为 0.5%甲酸水溶液(A)和甲醇(B), 梯度洗脱。洗脱程序见表 1。

表 1 糠醛类物质分析梯度洗脱程序
Table 1 Furfurals analysis solution gradient separation conditions

time (min)	A (%)	B (%)
0.0	98.0	2.0
15.0	98.0	2.0
20.0	95.0	5.0
35.0	65.0	35.0
36.0	15.0	85.0
46.0	15.0	85.0
47.0	98.0	2.0
75.0	98.0	2.0

2.2.3 蜂王浆样品处理

称取 1.0 g 试样于 10 mL 具盖塑料离心管中, 精确到 0.01 g, 加入 5 mL 去离子水, 涡旋振荡 5 min, 超声提取 3 min 后, 12000 r/min 离心 10 min, 取上清液; 在残渣中重新加入 3 mL 去离子水, 重复以上步

骤, 弃去残渣。合并两次上清液, 加入 1 mL 亚铁氰化钾溶液, 混匀后再加入 1 mL 乙酸锌溶液, 充分混匀, 静止 30 min 后在 10000 r/min 离心 10 min, 取上清液至 10 mL 容量瓶中, 用去离子水定容至刻度。样液用 0.45 μm 滤膜过滤后, 供液相色谱仪测定。

以保留时间和各化合物特征光谱确定各种糠醛类物质, 利用建立起来的标准曲线计算含量。

3 结果与分析

3.1 提取方法的优化

由于蜂王浆富含蛋白类物质, 在提取过程中必须去除蛋白质以减少基质干扰和提高回收率。常用的沉淀蜂王浆蛋白的试剂有无水乙醇、强酸、乙酸锌和亚铁氰化钾溶液、三氯乙酸(TCA)等, 基于糠醛类物质的化学性质, 本试验选择三氯乙酸和乙酸锌与亚铁氰化钾溶液分别沉淀蜂王浆蛋白质, 并比较了其沉淀效果。结果显示: 用三氯乙酸沉淀蛋白质后的色谱图有很多杂质峰, 而用乙酸锌和亚铁氰化钾溶液沉淀蛋白后杂质峰明显少很多, 说明乙酸锌和亚铁氰化钾溶液沉淀蜂王浆蛋白质比用三氯乙酸效果好(见图 1)。

因此, 本试验采用乙酸锌和三氯乙酸溶液作为蜂王浆蛋白质的沉淀剂。通过优化实验确认, 先加入 150 g/L 乙酸锌溶液 1 mL, 再加入 1 mL 浓度为 300 g/L 的亚铁氰化钾溶液, 充分振荡, 能够有效沉淀蜂王浆中蛋白, 并获得很好的提取回收率。

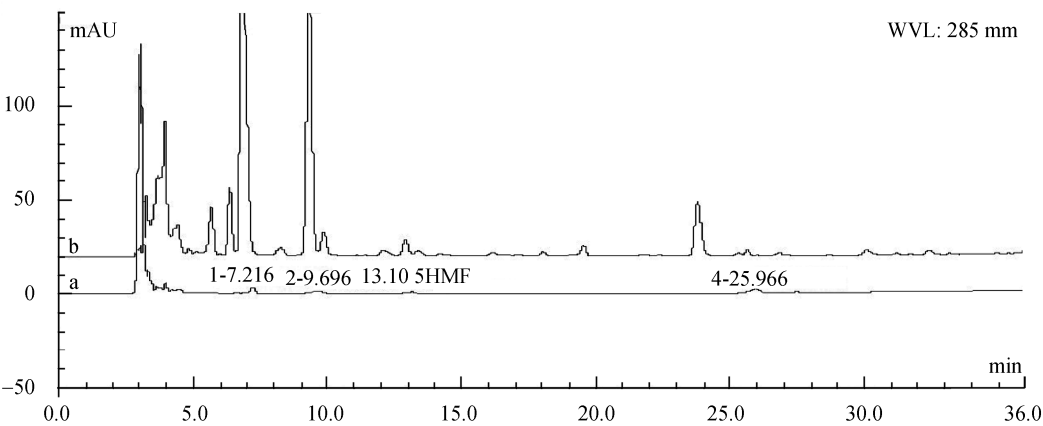


图 1 使用乙酸锌与亚铁氰化钾(a)和三氯乙酸(b)沉淀蛋白质后的蜂王浆色谱图
Fig. 1 Chromatogram of royal jelly after protein precipitation using potassium and zinc acetate solutions (a) and TCA solution(b)

通过优化提取方法,进行添加回收率比较。分别用纯水、不同浓度的乙酸水溶液、甲酸溶液、磷酸溶液提取,结果发现使用纯水提取时,6种糠醛类物质的回收率均在85%以上。因此,最终选择纯水提取蜂王浆中的糠醛类物质。

为了减少基质干扰和进一步浓缩样液,提高检测限,对比了BAKERBOND SPETM C₁₈ (500 mg/6 mL)、ODS(C₁₈)PHASE (500 mg/6 mL)、ACCUBOND ODS(C₁₈) (500 mg/6 mL)、Oasis HLB (500 mg/6 mL)小柱和ENVI-C₁₈ (500 mg/6 mL) 5种反相固相萃取柱对蜂王浆样品的净化效果。实验表明,由于6种糠醛类物质的极性存在较大差异,利用固相萃取小柱只能保证一种或几种化合物具有较高回收率,而不能使6种化合物同时具有较高回收率,加上部分化合物,如糠醛可能在最后的氮气吹干过程中有部分损失。因此,使用固相萃取柱的效果并不理想。

3.2 色谱条件的优化

3.2.1 流动相和色谱柱的选择

由于要分离的6种糠醛类物质的极性差别很大,为了将它们充分分离,必须选择合适的流动相。流动相的pH值能改变色谱柱的选择性,在很大程度上影响化合物,尤其是对酸性较强化合物在色谱柱上的保留能力。为了获得较好的试验效果,其中一种流动相应是酸性的。试验最终选择甲酸水溶液和甲醇作为

流动相,并在保持甲醇比例为2%的基础上,分别测试了不同浓度甲酸水溶液(0.1%~1.0%之间)对6种化合物的分离效果,结果发现甲酸浓度为0.5%时,6种化合物之间最小的分离度达到1.5以上,且灵敏度和峰型良好,因此试验选择0.5%的甲酸溶液作为流动相之一。

由于3-OIC和5-MF在色谱柱上的保留能力很强,为了减少检测时间,试验采用了梯度洗脱程序(见表1)。

试验选用多种C₁₈色谱柱对蜂王浆中糠醛类物质进行了分离实验,结果发现Symmetry C₁₈柱灵敏度和峰型均很好,能将6种化合物完全分开,分离度均大于1.5,所以试验选用Symmetry C₁₈ 5 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm色谱柱进行测定。

3.2.2 柱温的选择和检测波长的确定

随着柱温的升高,各种化合物在色谱柱上的保留时间会缩短。为了尽量减少分析时间,分别测定了柱温为25、30、35、40、45 $^{\circ}$ C各种糠醛类化合物在色谱柱上的保留时间和分离度。结果表明,30 $^{\circ}$ C是最合适的柱温。

由于各种化合物的最佳吸收波长不一样,为了定量的准确性,尽量选择在各种化合物的最佳波长或接近最佳波长处进行分析测试。本试验中,5-HMF、5-MF和F在285 nm处测定,2-OIC和3-OIC在243 nm下测定,而5-HMFacid在270 nm下测定。优化条件下标准样品分离图谱见图2。

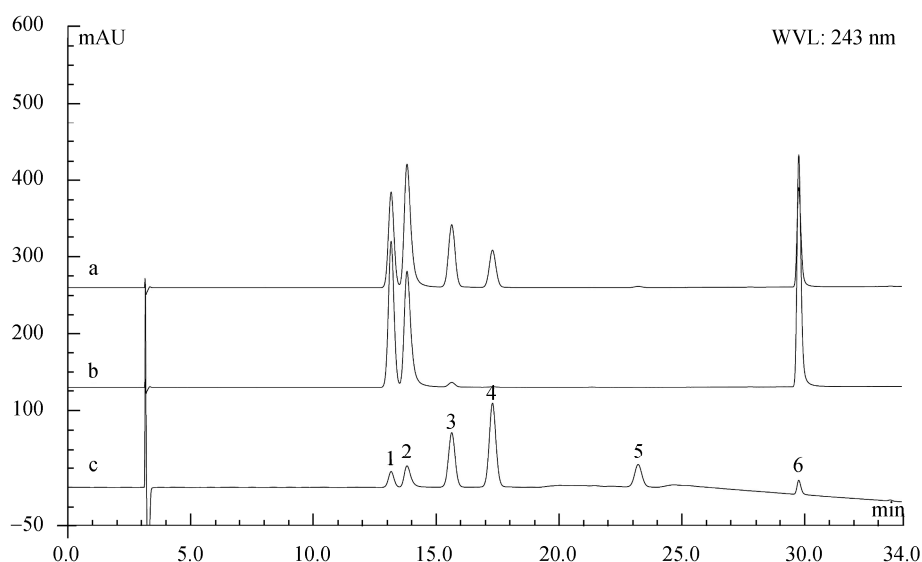


图2 6种化合物标准样品色谱图

Fig. 2 The chromatogram of six furfural standards
a. 270 nm; b. 285 nm; c. 243 nm
1. 5-HMF; 2. F; 3. 5-HMFacid; 4. 2-OIC; 5. 3-OIC; 6. 5-MF

3.3 线性关系与检测限

配制 7 个不同浓度的混合标准样品工作液, 其中 5-HMF 浓度在 0.03~20.0 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 5-MF、F、2-OIC、3-OIC、5-HMFacid 浓度在 0.03~15.0 $\mu\text{g/mL}$ 之间。按照优化的色谱条件对标准样品进样测试, 以标准样品浓度 x 为横坐标, 峰面积 y 为纵坐标作图, 得 6 种标准样品峰面积与浓度线性关系, 并计算线性相关系数, 见表 2。结果表明, 在各自的线性范围内, 6 种化合物含量与峰面积有良好线性关系, 线性相关系数 $R^2 \geq 0.9993$ 。

表 2 6 种标准样品的线性方程及相关系数($n=5$)
Table 2 Linear equation of six furfural standards

糠醛类物质	线性方程 ($\mu\text{g/mL}$)	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 R^2
5-HMF	$Y = 2.0494X + 0.6273$	0.03~20.0	0.9998
5-MF	$Y = 2.1044X + 1.8597$	0.03~10.0	0.9995
F	$Y = 1.9713X + 1.6150$	0.03~10.0	0.9997
2-OIC	$Y = 1.3631X + 0.5503$	0.03~10.0	0.9995
3-OIC	$Y = 1.4223X + 0.4747$	0.03~10.0	0.9993
5-HMFacid	$Y = 1.0691X + 0.2566$	0.03~10.0	0.9993

配制不同浓度的混合标准样品工作液, 进样分析, 以信噪比(S/N)分别为 10 和 3 为标准, 确定定量检出限(LOQ)和定性检出限(LOD), 见表 3。

表 3 分析方法的检出限、精密度和重现性
Table 3 LOD, LOQ and reproducibility of the analytic method

糠醛类物质	LOD $\mu\text{g/mL}$	LOQ $\mu\text{g/mL}$	精密度 (RSD, %)	重现性 (RSD, %)
5-HMF	0.03	0.10	2.17	2.24
5-MF	0.02	0.07	1.96	2.47
F	0.02	0.08	2.52	3.15
2-OIC	0.02	0.07	1.76	2.87
3-OIC	0.08	0.26	1.94	4.01
5-HMFacid	0.03	0.11	2.11	3.49

3.4 精密度和重现性

配制 6 种化合物浓度均为 0.10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工

作溶液, 重复进样分析 6 次, 计算 6 次所得样品浓度的相对标准偏差(RSD), 其 $RSD \leq 2.52\%$, 见表 3。

在相同条件下连续 6 d 取同一样品 1.0 g, 分别加入 50 μL 6 种 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准贮备液, 按照相同的样品处理方式制备样品溶液, 进样分析后计算 6 种糠醛类物质浓度, 分析相对标准偏差(RSD), 结果 $RSD \leq 4.01\%$, 见表 3。说明该方法的精密度和重现性均较好。

3.5 回收率

取新采集的蜂王浆样品(经测定 6 种化合物含量均在检测限以下)1.0 g, 分别加入 6 种标准样品。共设置 3 个添加梯度, 使各种标准样品在进样液中的理论最终浓度分别为 0.5、1.0、3.0 $\mu\text{g/mL}$ 。按照上述方法提取, 计算回收率。结果表明, 6 种糠醛类物质的平均添加回收率在 86.2%~99.7%之间, 相对标准偏差小于 2.40%, 能够满足蜂王浆中糠醛类物质含量的常规分析, 见表 4。

3.6 实际样品测定结果

随机从市场上购买蜂王浆样品 10 个, 采用本实验建立的高效液相色谱方法对样品进行分析, 实际测定结果见表 5。

结果表明, 90%的样品中检出了 5-HMF, 检出样品中 5-HMF 含量在 1.3~37.5 mg/kg 之间。5-HMF 含量较高的 5 个样品中, 同时检出了 F, 其含量在 0.6~3.4 mg/kg 之间。在 5-HMF 含量高达 37.5 mg/kg 的蜂王浆样品中, 同时也检出了 2-OIC。而 5-MF、3-OIC 和 5-HMFacid 在所有样品中均未检出。结合蜂王浆的感官评价, 糠醛类物质可能用来综合评价蜂王浆新鲜度。

4 结 论

蜂王浆富含蛋白质、脂肪、色素等, 基质十分复杂, 待测糠醛类物质化学性质差异较大, 利用简单仪器同时测定较为困难。本实验利用去离子水提取目标化合物, 亚铁氰化钾和乙酸锌溶液沉淀蛋白, 并在各化合物在最佳吸收波长下分别测定。方法定量和定性检出限分别在 0.07~0.26 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.02~0.08 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 加标回收率为 86.2%~99.7%, 相对标准偏差小于 2.40%。该方法操作简单、灵敏度高、所用仪器设备简单, 是一种适合蜂王浆中 6 种糠醛类化合物测定的方法, 能为仪器配置较为简单的地方快速监测蜂王浆质量提供一种适宜的技术手段。

表 4 回收率试验
Table 4 Results of recovery assays

糠醛类物质	添加水平(μg/mL)	测定平均值(μg/mL)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
5-HMF	0.5	0.5062	101.24	99.2	2.31
	1.0	0.9965	99.65		
	2.0	1.9346	96.70		
5-MF	0.5	0.5115	102.30	99.7	2.40
	1.0	0.9754	97.54		
	2.0	1.9891	99.45		
F	0.5	0.4968	99.35	97.1	2.04
	1.0	0.9647	96.47		
	2.0	1.8883	94.42		
2-OIC	0.5	0.4199	83.98	86.2	2.22
	1.0	0.8841	88.41		
	2.0	1.7241	86.20		
3-OIC	0.5	0.4512	90.24	88.0	2.04
	1.0	0.8743	87.43		
	2.0	1.7254	86.27		
5-HMFacid	0.5	0.4734	94.68	93.8	1.88
	1.0	0.9512	95.12		
	2.0	1.8335	91.67		

表 5 实际样品中六种糠醛类物质含量分析结果(mg/kg)
Table 5 Analysis results of six furfurals contents in royal jelly samples (mg/kg)

	5-HMF	5-MF	F	2-OIC	3-OIC	5-HMFacid
1	5.3	ND	ND	ND	ND	ND
2	1.3	ND	ND	ND	ND	ND
3	4.7	ND	ND	ND	ND	ND
4	6.7	ND	ND	ND	ND	ND
5	12.1	ND	0.6	ND	ND	ND
6	37.5	ND	3.4	0.5	ND	ND
7	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	9.4	ND	0.7	ND	ND	ND
9	22.6	ND	2.1	ND	ND	ND
10	11.3	ND	0.9	ND	ND	ND

参考文献

[1] Buttstedt A, Moritz RFA, Erler S. Origin and function of the major royal jelly proteins of the honeybee (*apis mellifera*) as members of the yellow gene family [J]. Biol Rev, 2014, 89(2): 255–269.

[2] Kupke J, Spaethe J, Mueller MJ, *et al.* Molecular and biochemical characterization of the major royal jelly protein in bumble-

- bees suggest a non-nutritive function [J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 2012, 42(9): 647–654.
- [3] 张娟, 赵利, 刘建涛, 等. 蜂王浆中生物活性物质贮藏稳定性的研究进展[J]. *食品科学*, 2006, 27(11): 529–531.
- Zhang J, Zhao L, Liu JT, *et al.* Review on storage stability of biological activity substance in royal jelly [J]. *Food Sci*, 2006, 27(11): 529–531.
- [4] Spano N, Ciulu M, Floris I, *et al.* Chemical characterization of a traditional honey-based Sardinian product: Abbamele [J]. *Food Chem*, 2008, 108(1): 81–85.
- [5] Kowalski S. Changes of antioxidant activity and formation of 5-hydroxymethylfurfural in honey during thermal and microwave processing [J]. *Food Chem*, 2013, 141(2): 1378–1382.
- [6] Ferrer E, Alegria A, Farre R, *et al.* High-performance liquid chromatographic determination of furfural compounds in infant formulas-changes during heat treatment and storage [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 947(1): 85–95.
- [7] Thomsen MK, Lauridsen L, Skibsted LH, *et al.* Temperature effect on lactose crystallization, Maillard reactions, and lipid oxidation in whole milk powder [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(18): 7082–7090.
- [8] Tu D, Xue S, Meng C, *et al.* Simultaneous determination of 2 furfuraldehyde and 5 hydroxymethyl-2-furfuraldehyde by derivative SPE ctrophotometry[J]. *J Agric Food Chem*, 1992, 40(6): 1022–1025.
- [9] Rassis D, Saguy IS. Kinetics of aseptic concentrated orange juice quality changes during commercial processing and storage [J]. *Int J Food Sci Technol*, 1995, 30(2): 191–198.
- [10] Gogus F, Bozkurt H, Eren S. Kinetics of maillard reactions between the major sugars and amino acids of boiled grape juice [J]. *Food Sci Technol-Lebensm-Wiss Technol*, 1998, 31(2): 196–200.
- [11] Buglione M, Lozano J. Nonenzymatic browning and chemical changes during grape juice storage [J]. *J Food Sci*, 2002, 67(4): 1538–1543.
- [12] Li M, Yang Z, Yang M, *et al.* Determination of Furfural in Beer by High-Performance Liquid Chromatography with Solid-Phase Extraction [J]. *J Instit Brew*, 2009, 115(3): 226–231.
- [13] Tsai SW, Kao KY. Determination of furfural in beers, vinegars and infant formulas by solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Int J Environ Anal Chem*, 2012, 92(1): 76–84.
- [14] Yildiz O, Sahin H, Kara M, *et al.* Maillard reactions and importance of reaction products in foods [J]. *Akademik Gida*, 2010, 8(6): 44–51.
- [15] Oral RA, Dogan M, Sarioglu K. Monitoring of the hydroxymethylfurfural amount as an indicator of maillard products in sweet whey and skim milk powder stored under different conditions [J]. *Milchwissenschaft-Milk Sci Int*, 2011, 66(4): 398–401.
- [16] Cepo DV, Mornar A, Nigovic B, *et al.* Optimization of roasting conditions as an useful approach for increasing antioxidant activity of carob powder [J]. *Lwt-Food Sci Technol*, 2014, 58(2): 578–586.
- [17] Chen PX, Tang Y, Zhang B, *et al.* 5-Hydroxymethyl-2-furfural and Derivatives Formed during Acid Hydrolysis of Conjugated and bound phenolics in plant foods and the effects on phenolic content and antioxidant capacity [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(20): 4754–4761.
- [18] Lo CY, Li S, Wang Y, *et al.* Reactive dicarbonyl compounds and 5-(hydroxymethyl)-2-furfural in carbonated beverages containing high fructose corn syrup [J]. *Food Chem*, 2008, 107(3): 1099–1105.
- [19] Wang CN, Yi XX, Qi JH, *et al.* Determination for 5-hydroxymethyl-2-furfural(HMF) in chinese chestnut (*castanea mollissima blume*) [J]. *Inter Confer Biol, Med Chem Eng (Bmce 2013)*, 2013, 368–374.
- [20] Serra-Cayuela A, Castellari M, Bosch-Fuste J, *et al.* Identification of 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF) in cava sparkling wines by LC-DAD-MS/MS and NMR spectrometry [J]. *Food Chem*, 2013, 141(4): 3373–3380.
- [21] Teixeira E, Moyano E, Santos FJ, *et al.* Liquid chromatography multi-stage mass spectrometry for the analysis of 5-hydroxymethylfurfural in foods [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1185(1): 102–108.
- [22] Teixeira E, Santos FJ, Puignou L, *et al.* Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in foods by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1135(1): 85–90.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



高夫超, 本科, 副研究员, 现代蜂产业技术体系牡丹江综合试验站站长, 主要研究方向为蜂产品优质高效生产和评价。
E-mail: mdjgfc@126.com



吴黎明, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要研究方向为蜂产品质量安全。
E-mail: apiswu@126.com