

10种蜂蜜中的抗氧化物质及其抗氧化能力分析

罗红霞, 王 丽, 李淑荣*

(北京农业职业学院, 北京 102442)

摘要: **目的** 分析市售蜂蜜与农家蜂蜜中抗氧化物质含量的多少, 为我国蜂蜜品质的评价和鉴别提供一定的基础。**方法** 采用分光光度计法测定3种市售蜂蜜和7种农家蜂蜜中总酚、总黄酮、脯氨酸含量、DPPH自由基清除能力、超氧阴离子清除能力及总抗氧化能力, 通过数据间的显著性分析和相关性分析明确各指标之间的关系。**结果** 市售蜂蜜和农家蜂蜜总酚含量均值分别为24.93 mg/100 g和30.32 mg/100 g; 市售3种蜂蜜中的总黄酮含量均低于20 mg/100 g, 而农家的7种蜂蜜均高于20 mg/100 g; 农家蜂蜜脯氨酸含量的均值是市售蜂蜜的2.5倍之多。市售蜂蜜的DPPH清除能力、超氧阴离子清除作用和总抗氧化能力均高于农家蜂蜜。蜂蜜的抗氧化能力与总酚、总黄酮和脯氨酸含量呈显著的正相关。**结论** 10种蜂蜜的各项指标间差异显著, 农家蜂蜜的抗氧化物质含量高于市售蜂蜜, 而市售蜂蜜的抗氧化能力高于农家蜂蜜, 蜂蜜的抗氧化物质与抗氧化能力间呈显著的相关性。

关键词: 蜂蜜; 抗氧化物质; 抗氧化能力; 相关性分析

Analysis of antioxidant substance derived from 10 kinds of honey and their antioxidant activity

LUO Hong-Xia, WANG Li, LI Shu-Rong*

(Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing 102442, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the content of antioxidant substance in commercially and farmhouse available honey, which was helpful to the evaluation and identification of honey. **Method** Total phenols, total flavonoids, proline, DPPH free radical scavenging capacity, super oxygen anion removal ability and total antioxidant capacity of 3 kinds of market available honey and 7 kinds of farmhouse available honey were analyzed by spectrophotometer. The relationship of different samples was analyzed by significance analysis and correlation analysis. **Results** The content of total phenols in commercially available and farmhouse available honey was 24.93 mg/100 g and 30.32 mg/100 g, respectively. The content of total flavonoids in commercially available honey was lower than 20 mg/100 g, while in farmhouse available honey was higher than 20 mg/100 g. The content of proline in farmhouse honey was 2.5 times higher than that of commercially available honey. The DPPH free radical scavenging capacity, super oxygen anion removal ability and total antioxidant capacity in commercially available honey were higher than those of farmhouse honey. Total antioxidant capacity of honey had positive relationship with total phenols, total flavonoids and proline.

基金项目: 北京农业职业学院院级课题(XY-YF-13-16)、北京市农委项目(20140204-18)

Fund: Supported by the Beijing Vocational College of Agriculture subject (XY-YF-13-16) and the Beijing Municipal Commission of Rural Affairs subject (20140204-18).

*通讯作者: 李淑荣, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为农产品加工与质量检测。E-mail: shurongl@hotmail.com

*Corresponding author: LI Shu-Rong, Professor, Master's Supervisor, Beijing Vocational College of Agriculture, Fangshan district of Daotian Nanli No.5, Beijing 102442, China. E-mail: shurongl@hotmail.com

Conclusions There is a significant difference in the properties. The content of antioxidant substance in farmhouse honey are higher than that of commercially available honey, but the antioxidant activity has the opposite results. The relationship between the content of antioxidant substance and antioxidant activity is of significant correlation.

KEY WORDS: honey; antioxidant substance; antioxidant capacity; correlation analysis

1 引言

蜂蜜是糖的主要来源, 同时又可以用于食物的保存, 因此很早以前就开始被广泛使用^[1]。经研究发现蜂蜜中含有 180 多种不同的物质, 其主要成分是糖类, 此外蜂蜜中还含有多种氨基酸、维生素、矿物质、酵素、芳香物、色素、激素、酶类和生物活性物质等, 营养十分丰富^[2]。另有一些研究者研究证明, 蜂蜜是一种天然的抗氧化物质, 它可以减少心脏病的发病率, 具有抗癌、抑制免疫系统下降、白内障以及其他不同炎症反应的作用^[3]。蜂蜜同样可以阻止食物中的氧化反应, 如水果和蔬菜的酶促褐变、肉的脂肪氧化以及食物的病原菌滋生和有机物的腐败变质等^[4]。蜂蜜中与抗氧化相关的物质主要是黄酮类、酚酸类、抗坏血酸、过氧化氢酶、类胡萝卜素及美拉德反应产物^[5,6]。

目前国外关于蜂蜜中的抗氧化物质与抗氧化性之间关系研究较多, 如总黄酮、总酚的含量及组成, 及其抗氧化能力的测定。澳大利亚的单花桉树蜂蜜和新西兰的麦卡卢蜂蜜中的酚类和黄酮类物质与抗氧化能力呈显著正相关^[7,8]。另有研究者发现一些氨基酸具有抗氧化能力, Meda^[9]等研究了布基纳法索蜂蜜研究结果发现, 蜂蜜中的脯氨酸含量与蜂蜜的自由基清除能力呈极显著的正相关。近年来, 我国关于蜂蜜抗氧化性的研究也有相关文献报道, 如郭夏丽^[10]等对江西的洋槐蜜、紫云英蜜、党参蜜、土黄连蜜、龙眼蜜、枣花蜜、野桂花蜜等 7 种不同蜜源的总酚、总黄酮及总抗氧化性进行了初步研究, 发现我国蜂蜜的化学组成与抗氧化性之间具有显著的关系。董蕊^[11]等对益母草蜜、蒲公英蜜、枇杷蜜、五味子蜜等 15 种蜜源植物蜂蜜的多酚与抗氧化性进行了研究, 并发现二者之间存在显著的关系。

目前关于我国荆条蜜、洋槐蜜的化学组成与抗氧化性之间关系的研究未见报道, 本文将市售荆条蜜、洋槐蜜和北京市房山区的农家荆条蜂蜜为研究对象, 测定市售蜂蜜和农家蜂蜜中的抗氧化物质(总黄

酮、总酚、脯氨酸)及抗氧化能力(DPPH 清除能力、超氧阴离子清除作用、总抗氧化能力), 并分析抗氧化物质与抗氧化能力之间的相关性。本文的研究目的有两个, 一个是分析市售蜂蜜与农家蜂蜜中抗氧化成分含量的多少; 二是为我国蜂蜜品质的评价和鉴别提供一定的基础。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

2.1.1 主要材料

采集 7 个农家蜂蜜及市购 3 种蜂蜜样品, 其中农家蜂蜜分别命名为荆条蜜 1、荆条蜜 2、荆条蜜 3、荆条蜜 4、荆条蜜 5、荆条蜜 6、荆条蜜 7; 市购蜂蜜分别命名为荆条蜜 8、洋槐蜜 1、洋槐蜜 2(北京市百花蜂蜜有限公司)。

2.1.2 试剂

没食子酸、槲皮素、脯氨酸、DPPH(纯度均大于 99%, Sigma 公司); 其他试剂均为分析纯(北京北化试剂公司)。

2.2 仪器与设备

岛津分光光度计(日本岛津有限公司, UV-2550); 万分之一天平(上海志荣有限公司, FA1104N)。

2.3 实验方法

2.3.1 样品前处理

5 g 蜂蜜样品用蒸馏水定容至 25 mL 容量瓶中, 离心过滤备用。

2.3.2 总酚含量的测定

采用福林酚比色法测定蜂蜜中的总酚含量^[12]。准确吸取没食子酸标准贮备液(2.0 mg/mL)0.00、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、3.50 mL 分别置于 25 mL 容量瓶中, 定容混匀后待测。取各浓度没食子酸上清液 0.5 mL 与 2.5 mL 0.2 mol/L 福林酚溶液混合, 5 min 后加入 100 g/L 的碳酸钠溶液 2 mL, 定容至 10 mL, 反应 2 h 后(避光), 以蒸馏水为空白对照,

在 725 nm 下测定吸光度值。以没食子酸含量(μg)为横坐标, OD 值为纵坐标绘制标准曲线: $Y=0.0042X+0.1996(R^2=0.9980)$ 。取样品上清液 0.5 mL 与 2.5 mL 0.2 N 福林酚溶液混合, 5 min 后加入 100 g/L 的碳酸钠溶液 2 mL, 定容至 10 mL, 反应 2 h 后(避光), 在 725 nm 条件下测定吸光度值。

2.3.3 总黄酮的测定

参考鞠爱华^[13]方法, 略有改动。精密量取槲皮素标准溶液(0.2 mg/mL)0.00、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL, 分别置于 10 mL 容量瓶中, 加入 5%亚硝酸钠溶液 0.3 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加入 10%硝酸铝溶液 0.3 mL, 摇匀, 再放置 6 min, 加入 1%氢氧化钠溶液 4 mL, 分别用 50%乙醇稀释定容至刻度, 摇匀, 放置 15 min, 以未加槲皮素标准溶液的作空白, 在 510 nm 处测定吸光度。以槲皮素含量(μg)为横坐标, OD 值为纵坐标绘制标准曲线: $Y=0.0074X-0.2284(R^2=0.9996)$ 。取 1 mL 蜂蜜滤液两份, 其中一份不加硝酸铝, 作样品空白。其他处理同标准品。显色后用滤纸过滤, 弃去初滤液, 收集滤液备测。以试剂空白溶液调整零点, 在波长 510 nm 处测样品和样品空白的吸光度。测得样品吸光度减去样品空白吸光度, 从标准曲线上查出或用回归方程计算出样品溶液中总黄酮的含量。

2.3.4 脯氨酸的测定

采用 Bogdanov^[14]方法略有改动。准确吸取脯氨酸标准溶液(0.032 mg/mL)0.00、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL 定容至 10 mL 容量瓶中。加入 1 mL 甲酸(80%), 1 mL 水合茚三酮溶液(3%溶于乙二醇单甲醚中), 剧烈震荡 15 min, 混合液置于沸水浴中 15 min 后转移至 70 °C 水浴 10 min, 然后加入 5 mL 50%的 2-异丙醇水溶液 70 °C 水浴 10 min, 冷却, 510 nm 处进行测定。以脯氨酸含量(mg)为横坐标, OD 值为纵坐标绘制标准曲线: $Y=0.0058X+0.1758(R^2=0.9991)$ 。取 0.5 mL 蜂蜜溶液, 与 1 mL 甲酸(80%), 1 mL 水合茚三酮溶液(3%溶于乙二醇单甲醚中), 剧烈震荡 15 min, 混合液置于沸水浴中 15 min 后转移至 70 °C 水浴 10 min, 加入 5 mL 50%的 2-异丙醇水溶液 70 °C 水浴 10 min, 冷却, 510 nm 处测定。测定时以水作为空白。

计算公式:

$$\text{脯氨酸}(\text{mg}/\text{kg}) = (E_s/E_a) \times (E_1/E_2) \times 80$$

其中 E_s 是样品的吸光度; E_a 是脯氨酸标准品的吸光度; E_1 是标准溶液中脯氨酸的毫克数; E_2 是蜂蜜的质量; 80 是稀释因子。

2.3.5 DPPH 自由基清除能力的测定

参考王海敏^[15]测定方法, 略有改动。取 0.5 mL 样品与 1.5 mL 的 0.1 mmol/L DPPH 甲醇溶液混合, 以甲醇定容至 10 mL。对照试验用蒸馏水替代蜂蜜水溶液。摇匀上述反应液, 并在暗处反应 60 min。以甲醇做参比试验。测定波长为 517 nm。

$$\text{自由基清除率 } I\% = \frac{(A_0 - A_s)}{A_0} \times 100\%, \text{ 同时计算}$$

IC₅₀ 值。

其中: A_0 : 对照样品的吸光度值

A_s : 不同浓度的被测混合物的吸光度值

2.3.6 超氧阴离子清除作用的测定

采用邻苯三酚自氧化法^[16]。取 0.05 mol/L Tris-HCl(pH8.2)5 mL, 置于 25 °C 水浴中预热 20 min, 分别加入 4 mL 不同浓度的提取液, 25 °C 水浴中预热 20 min, 再加入 3 mmol/L 25 °C 水浴预热 20 min 的邻苯三酚溶液 1 mL, 混匀后于迅速测定吸光度, 每隔 30 s 测定一次。测定波长为 325 nm。计算 IC₅₀ 值。

计算公式:

$$K(\%) = (V_{\text{空}} - V_{\text{样}}) / V_{\text{空}} \times 100$$

其中, $V_{\text{空}}$ 为不加待测液时的反应速率; $V_{\text{样}}$ 为加入待测液时的反应速率。

2.3.7 总抗氧化能力的测定

采用普鲁士蓝法^[17]。取 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的芦丁标准贮备液各 0.00、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL 定容至 10 mL 容量瓶中。吸取各标准溶液 1 mL, 加入 2.5 mL PBS 缓冲液(0.2 mol/L pH6.6), 加入 2.5 mL 1%的铁氰化钾溶液, 在 50 °C 反应 20 min, 再加入 2.5 mL 10%三氯乙酸摇匀, 静置 10 min, 离心, 取 2.5 mL 上清液, 加入 2.5 mL 蒸馏水和 0.5 mL 0.1%氯化铁, 摇匀, 静置 10 min, 于 700 nm 测定吸光值, 用蒸馏水调零。以芦丁含量(μg)为横坐标, OD 值为纵坐标绘制标准曲线: $Y=0.0041X+0.0189(R^2=0.9994)$ 。取样品 1 mL, 加入 2.5 mL PBS 缓冲液(0.2 mol/L pH6.6), 加入 2.5 mL 1%的铁氰化钾溶液, 在 50 °C 反应 20 min, 再加入 2.5 mL 10%三氯乙酸摇匀, 静置 10 min, 离心, 取 2.5 mL 上清液, 加入 2.5 mL 蒸馏水和 0.5 mL 0.1%氯化铁, 摇匀, 静置 10 min, 于 700 nm 测定吸光值, 以蒸馏水调零。

2.4 数据处理

所有样品均测定三次, 取其平均值作为最终结果。分析和处理结果以平均值 \pm 标准差(SD)表示。各组数据间的显著性和相关性均采用 SPSS 软件进行分析。

3 结果与分析

3.1 抗氧化活性成分分析

3.1.1 蜂蜜中总酚含量分析

研究表明蜂蜜、蜂胶等蜂产品中含有多酚化合物^[18], 这些化合物不仅是蜂蜜中起抗氧化活性的重要物质, 而且能够确定蜂蜜的植物源和地理来源, 也是评价蜂蜜真伪的重要指标性化合物^[19]。本实验 10 种蜂蜜中的总酚含量见表 1。从表 1 可以看出, 不同样品的总酚含量差异显著, 其中总酚含量最低的为市售洋槐蜂蜜 1(20.05 mg/100 g), 其次为市售洋槐蜜 2(25.55 mg/100 g), 农家荆条蜜 1(24.65 mg/100 g)和农家荆条蜜 6(25.60 mg/100 g)。含量最高的为农家荆条蜜 5(34.35 mg/100 g)。从分析结果可以看出, 市售蜂蜜的总酚含量均值(24.93 mg/100 g)显著低于农家蜂蜜的均值(30.32 mg/100 g)。

3.1.2 蜂蜜中总黄酮含量分析

黄酮类化合物是存在于蜂蜜中的一类主要抗氧

化成分, 主要来自植物花蜜花粉和蜂胶, 蜂蜜中的黄酮类化合物主要是以配基和糖苷形式存在。由于蜜源植物的不同, 蜂蜜中黄酮类化合物的含量和种类也有所差别。10 种蜂蜜中总黄酮类化合物见表 1, 从表 1 中可以看出, 不同样品中总黄酮含量差异显著, 其中市售三种蜂蜜中的总黄酮含量最低, 均低于 20 mg/100 g, 而农家的 7 种蜂蜜均高于 20 mg/100 g。

3.1.3 蜂蜜中脯氨酸含量的分析

已有研究表明, 蜂蜜中含有多种游离氨基酸, 其中以脯氨酸的含量最高, 而且是一种独特的氨基酸^[20], 蜂蜜中的脯氨酸含量还与其抗氧化能力有关。因此, 蜂蜜中脯氨酸的含量不仅被作为衡量蜂蜜中游离氨基酸含量的标准, 也被作为蜂蜜成熟度和糖掺假的判定标准^[21]。本实验不同蜂蜜中的脯氨酸含量见表 1, 从表 1 中可以看出, 不同蜂蜜中的脯氨酸含量差异显著, 其变化范围是 9.1 mg/kg~45.40 mg/kg。市售蜂蜜的含量均在 20 mg/kg 以下, 农家蜂蜜脯氨酸含量的均值是市售蜂蜜的 2.5 倍之多。

通过以上分析发现, 农家蜂蜜中的典型抗氧化成分总酚、总黄酮、脯氨酸含量显著高于市售蜂蜜。分析其原因可能有两个, 一是贮藏时间, 农家蜂蜜为新采集蜂蜜, 而市售蜂蜜采收后放置 1 年左右(保质期为 18 个月), 蜂蜜中的抗氧化成分在放置过程中可

表 1 蜂蜜中抗氧化成分及抗氧化性分析表($n=3$)

Table 1 The data of antioxidant substance and their antioxidant activity in honey ($n=3$)

样品名称	总酚含量 (mg GAE/100 g)	总黄酮 (mg QE/100 g)	脯氨酸 (mg/kg)	DPPH 清除能力 IC ₅₀ (μ g/mL)	超氧阴离子清除能力 IC ₅₀ (μ g/mL)	总抗氧化能力 (μ g/100 g)
荆条蜜 1	24.65 \pm 1.41b	22.32 \pm 0.10f	45.4 \pm 0.55i	29.96 \pm 0.52f	438.11 \pm 3.49e	716.38 \pm 2.58de
荆条蜜 2	31.65 \pm 0.14d	22.76 \pm 0.14g	45.4 \pm 0.96i	15.33 \pm 0.27a	467.333 \pm 1.36g	690.47 \pm 7.33cd
荆条蜜 3	32.85 \pm 0.28e	22.22 \pm 0.14f	31.2 \pm 0.60d	26.31 \pm 0.42e	1621.237 \pm 1.39i	585.26 \pm 2.2a
荆条蜜 4	33.4 \pm 0.07ef	22.09 \pm 0.14f	36.4 \pm 0.65f	22.42 \pm 0.21d	510.503 \pm 2.32h	643.82 \pm 5.86b
荆条蜜 5	34.35 \pm 1.27f	21.51 \pm 0.29e	40.6 \pm 0.85g	79.04 \pm 0.39h	420 \pm 2.73d	627.24 \pm 4.36b
荆条蜜 6	25.6 \pm 1.77b	21.01 \pm 0.24d	34.6 \pm 0.55e	30.57 \pm 0.77f	187.476 \pm 1.65a	669.74 \pm 2.59c
荆条蜜 7	29.75 \pm 0.85c	23.74 \pm 0.19h	42.2 \pm 0.55h	17.12 \pm 0.49b	439.22 \pm 2.51f	673.37 \pm 3.05c
均值	30.32 \pm 0.83	22.24 \pm 0.18	34.90 \pm 0.67	31.54 \pm 0.44	583.41 \pm 2.21	658.04 \pm 3.40
荆条蜜 8	29.2 \pm 0.92c	20.57 \pm 0.29c	23.3 \pm 0.55c	40.04 \pm 0.74g	192.2 \pm 2.32b	840.77 \pm 1.37f
洋槐蜜 1	20.05 \pm 0.57a	18.07 \pm 0.29a	13.3 \pm 0.46b	19.11 \pm 0.37c	232.144 \pm 1.46c	702.91 \pm 4.59de
洋槐蜜 2	25.55 \pm 0.57b	18.41 \pm 0.38b	9.1 \pm 0.60a	16.61 \pm 0.44b	190.538 \pm 2.72b	747.48 \pm 4.11e
均值	24.93 \pm 0.69	19.01 \pm 0.32	15.23 \pm 0.54	25.25 \pm 0.52	204.96 \pm 2.17	763.72 \pm 3.36

注: 表中的小写字母为同一列的显著性差异($P<0.05$)

能受到光、热的影响而分解;二是蜜源的不同,农家蜂蜜为纯天然荆条蜜,而市售蜂蜜可能在生产加工过程中混合有其他蜂蜜而导致产品质量有差别,如表1所示,洋槐蜜的总黄酮、总酚和脯氨酸含量显著低于荆条蜜;三是加工过程,农家蜂蜜为纯天然手工摇蜜灌制而成,在加工过程中未经过高温处理,而市售蜂蜜在加工过程中采用高温杀菌、溶解、混合等工艺过程,可能会破坏蜂蜜中的活性成分。

3.2 抗氧化能力分析

3.2.1 DPPH 自由基的清除能力分析

该方法的基本原理是 DPPH 在溶液中生成一个稳定的含氮自由基,且该溶液呈典型的紫色在紫外-可见光区具有较强的吸收光谱,当 DPPH 溶液中加入抗氧化剂时,由于其自由基清除作用使 DPPH 紫色消退导致吸收光谱强度随着抗氧化剂加入量的增加而减少,通过加入抗氧化剂前后吸光度的线性变化计算自由基清除率,常用 IC_{50} 值来表示,即样品的抗氧化能力是用 DPPH 浓度减少 50% 表示的,因此 IC_{50} 值越小,表明对 DPPH 清除效果越强。表 1 显示 10 个蜂蜜样品的 DPPH 清除能力变化范围是 $15.33 \mu\text{g/mL} \sim 79.04 \mu\text{g/mL}$ 。其中农家蜂蜜 DPPH 清除能力的平均值是 $(31.54 \pm 0.44) \mu\text{g/mL}$,市售蜂蜜 DPPH 清除能力的平均值是 $(25.25 \pm 0.52) \mu\text{g/mL}$,说明市售蜂蜜的 DPPH 清除能力高于农家蜂蜜。

3.2.2 超氧阴离子清除作用的分析

利用邻苯三酚在碱性条件下能迅速自氧化,释放出 O_2^- ,使反应体系呈现紫红色,可用分光光度计测其吸光光度。当抗超氧阴离子物质,如蜂蜜的加入可抑制该反应使超氧阴离子自由基 O_2^- 减少,故比色时颜色变浅,而产生超氧阴离子自由基 O_2^- 增加,故比色时颜色变深。依据形成物的颜色深浅计算出抑制或产生超氧阴离子自由基 O_2^- 的能力强弱。从表 1 可以看出,不同样品的超氧阴离子清除作用显著,其中清除作用最强的是农家蜂蜜 6 (IC_{50} 值为 $187.48 \mu\text{g/mL}$),其次为市售荆条蜜 8 ($192.2 \mu\text{g/mL}$),市售洋槐蜜 1 ($232.14 \mu\text{g/mL}$) 和市售洋槐蜜 2 ($190.54 \mu\text{g/mL}$)。市售蜂蜜的超氧阴离子清除作用均值 $[(204.96 \pm 2.17) \mu\text{g/mL}]$ 显著低于农家蜂蜜 $[(583.41 \pm 2.21) \mu\text{g/mL}]$,说明市售蜂蜜的超氧阴离子清除作用高于农家蜂蜜。

3.2.3 总抗氧化能力分析

蜂蜜抗氧化性的强弱取决于蜜源季节环境因素

以及蜜蜂的酿蜜过程,蜂蜜中的抗氧化成分包括黄酮和酚酸酶类(葡萄糖氧化酶、过氧化氢酶)、抗坏血酸、美拉德反应产物、类胡萝卜素物质、有机酸、氨基酸和蛋白质等,这些天然的抗氧化剂具有抗菌、消炎、抗过敏、抗血栓形成和血管扩张等广泛的生物学活性。利用普鲁士兰法测定总抗氧化剂活性时,反应液吸光值越大,抗氧化活性越强,即抗氧化剂浓度与吸光值线性关系斜率越大,其抗氧化能力越强。本实验不同样品的总抗氧化能力见表 1,从表 1 中可以看出,不同样品中的蜂蜜的总抗氧化能力差异显著,其中抗氧化能力最强的为市售荆条蜜 8 ($840.77 \mu\text{g}/100 \text{g}$),市售洋槐蜜 1 ($702.91 \mu\text{g}/100 \text{g}$),市售洋槐蜜 2 ($747.48 \mu\text{g}/100 \text{g}$)。

通过以上分析发现,市售蜂蜜的抗氧化性显著高于农家蜂蜜的抗氧化性,分析其原因有四个,一是贮藏时间,研究表明,随着贮藏时间的延长,蜂蜜抗氧化能力增强,如 Franke 研究的 14 种蜂蜜中,鼠尾草蜂蜜、大豆蜜、蓝果树蜜经过一年的贮存,其抗氧化能力的降低都低于 10%,柑橘蜜、草莓蜜随贮存时间的延长抗氧化能力反而有所上升^[22];二是热加工,随着加热时间的延长和加热温度的升高,蜂蜜的抗氧化能力增强。Turkmen 将蜂蜜在 50、60、70 °C 加热 12 d,蜂蜜的抗氧化能力增强,且温度越高,抗氧化能力增强越快^[23]。Peter 将蜂蜜在 100 °C 下加热 8 min,在 FRAP 实验中抗氧化能力增强^[24];三是蜜源植物不同,Liu^[25]等研究了三叶草蜜、果树蜜、龙眼蜜、荔枝蜜和柚子蜜,结果显示三叶草蜜具有较强的 DPPH 自由基清除能力;四是外来添加物,市售蜂蜜在加工过程中可能添加外来抗氧化成分,如维生素 C 等。

3.2.4 蜂蜜抗氧化成分与抗氧化能力相关性分析

农家 7 种蜂蜜抗氧化物质与抗氧化能力相关性如表 2 所示,市售 3 种蜂蜜抗氧化物质与抗氧化能力相关性如表 3 所示。从表 2 中可以看出,农家蜂蜜的总酚含量与总抗氧化能力呈极显著的正相关 ($r=0.704^{**}$),总黄酮与 DPPH 自由基清除能力呈显著的正相关 ($r=0.543$),脯氨酸与超氧阴离子清除能力和总抗氧化能力呈显著的正相关 ($r=0.554^*$, $r=0.795^*$),超氧阴离子清除能力与总抗氧化能力呈极显著的正相关 ($r=0.725^{**}$),该研究结果与郭夏丽^[10]、Jasna^[26]等研究结果一致。从表 3 中可以看出,市售蜂蜜的总酚、总黄酮、脯氨酸与总抗氧化能力 ($r=0.950^{**}$, $r=0.981^{**}$, $r=0.817^{**}$),总抗氧化能力与

表 2 农家蜂蜜抗氧化成分与抗氧化能力相关性分析表

Table 2 The relationship between antioxidant substance and their antioxidant activity in farmhouse honey

	总酚	总黄酮	脯氨酸	DPPH 清除能力	超氧阴离子清除能力	总抗氧化能力
总酚	1.000					
总黄酮	0.086	1.000				
脯氨酸	-0.238	0.468	1.000			
DPPH 清除能力	-0.299	0.543*	0.021	1.000		
超氧阴离子清除能力	-0.403	-0.126	0.554*	-0.130	1.000	
总抗氧化能力	0.704**	0.247	0.795**	0.319	0.725**	1.000

表 3 市售蜂蜜抗氧化成分与抗氧化能力相关性分析

Table 3 The relationship between antioxidant substance and their antioxidant activity in commercially available honey

	总酚	总黄酮	脯氨酸	DPPH 清除能力	超氧阴离子清除能力	总抗氧化能力
总酚	1.000					
总黄酮	0.870**	1.000				
脯氨酸	0.596*	0.914**	1.000			
DPPH 清除能力	0.740**	-0.975**	0.981**	1.000		
超氧阴离子清除能力	0.904**	0.575*	0.195	0.381	1.000	
总抗氧化能力	0.950**	0.981**	0.817**	0.913**	0.725**	1.000

DPPH 清除自由基能力、超氧阴离子清除均呈极显著的正相关($r=0.913^{**}$, $r=0.725^{**}$), 总酚与总黄酮、脯氨酸均呈显著的正相关($r=0.870^{**}$, $r=0.569^{*}$)。市售蜂蜜各指标之间显著性高于农家蜂蜜各指标的显著性, 具体原因有待于进一步研究。

4 结 论

本实验对农家蜂蜜及市售蜂蜜的抗氧化物质(总酚、总黄酮、脯氨酸)及抗氧化能力(DPPH 清除能力、超氧阴离子清除作用、总抗氧化能力)进行分析, 结果表明, 农家蜂蜜的抗氧化物质含量显著高于市售蜂蜜, 而市售蜂蜜的抗氧化能力显著高于农家蜂蜜。该研究结果与以往文献报道有一定差异, 因此, 该研究为进一步区别市售蜂蜜与农家蜂蜜以及真假蜂蜜的鉴别提供了一定的参考价值。

参考文献

- [1] Cherbuliez T, Domerego R. L'apitherapie, Médecinedesabeilles [M]. Editions Amyris.2003.
- [2] Alvarez-Suarez JM, Tulipani S, Romandini S, *et al.* Contribution of honey in nutrition and human health: a review [J]. Med J Nutr Met, 2010, (3): 15-23.
- [3] Chen L, Mehta A, Berenbaum M, *et al.* Honeys from different floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetable homogenates [J]. J Agric Food Chem, 2000, 48: 4997-5000.
- [4] Nagai T, Inoue R, Kanamori N, *et al.* Characterization of honey from different floral sources. Its functional properties and effects of honey species on storage of meat [J]. Food Chem, 2006, 97: 256-262.
- [5] Habib HM, Al Meqbali F, Kamal H, *et al.* Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions [J]. Food Chem, 2014, 153: 35-43.
- [6] Flores MSR, Escuredo O, Seijo MC. Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of quercus pyrenaica honeydew honeys [J]. Food Chem, 2015, 166: 101-106.
- [7] Martos I, Ferreres F, Yao L, *et al.* Flavonoids in monospecific Eucalyptus honeys from Australia [J]. J Agric Food Chem, 2000, 48: 4744-4748.
- [8] Snow MJ, Manley-Harris M. Study on the nature of non-peroxide antibacterial activity in New Zealand manuka honey [J]. Food Chem, 2004, 84: 145-147.
- [9] Meda A, Lamien CE, Romito M, *et al.* Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity [J]. Food Chem, 2005,

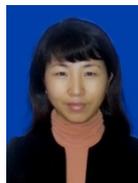
- 91: 571–577.
- [10] 郭夏丽, 罗丽萍, 冷婷婷, 等. 7种不同蜜源蜂蜜的化学组成及抗氧化性[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 2: 665–670.
Guo XL, Luo LP, Leng TT, *et al.* Chemical compositions and antioxidant activities of seven honeys from different floral sources [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2010, 2: 665–670.
- [11] 董蕊, 郑毅楠. 不同蜜源蜂蜜多酚类抗氧化活性比较[J]. 吉大学学报, 2011, 33(6): 654–657.
Dong R, Zheng YN. Comparative study on antioxidative activities of phenolic in honeys of different source [J]. *J Jilin Agric Univ*, 2011, 33(6): 654–657.
- [12] Singleton VI, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents [J]. *Am J Enology Viticul*, 1965, 16: 144–158.
- [13] 鞠爱华, 郭晓凤. 山野豌豆和大叶野豌豆中总黄酮的含量测定[J]. 中药材, 1988, 11(6): 33–34.
Ju AH, Huo XF. The content of total flavonoids determination in *Vicia amoena* and *Vicia pseudorobus* [J]. *Chin Herbal Med*, 1988, 11(6): 33–34.
- [14] Bogdanov S. Harmonised methods of the international honey commission [C]. Swiss Bee Research Center, FAM, Liebefeld, CH-3003 Bern, Switzerland, 1999.
- [15] 王海敏, 虞海霞, 董蕊, 等. 苕子蜜总酚酸和总黄酮含量测定及抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 54–57.
Wang HM, Tu HX, Dong R, *et al.* Antioxidant activities and contents of total phenolic acid and total flavonoids in *vicia villosa roth* honey [J]. *Food Sci*, 2010, 31(1): 54–57.
- [16] 颜平萍, 张永云, 王涛, 等. 五种蜂蜜抗氧化性的测定[J]. 蜂蜜, 2014, 1: 4–8.
Yan PP, Zhang YY, Wang T, *et al.* Measurement on antioxidant activity of honeys [J]. *J Hon*, 2014, 1: 4–8.
- [17] Dina A, Nassina C, Meriem B, *et al.* Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants [J]. *Food Chem*, 2009, 112: 303–309.
- [18] Jasicka-Misiak I, Poliwoda A, Dereń M, *et al.* Phenolic compounds and abscisic acid as potential markers for the floral origin of two polish unifloral honeys [J]. *Food Chem*, 2012, 131(4): 1149–1156.
- [19] Martos I, Tomas-Barberan FA, Ferreres F, *et al.* HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of european unifloral honeys [J]. *J Sci Food Agric*, 2001, 8, (5): 485–496.
- [20] Truzzi C, Annibaldi A, Illuminati S, *et al.* Determination of proline in honey: Comparison between official methods, optimization and validation of the analytical methodology [J]. *Food Chem*, 2014, 150: 477–481.
- [21] Hermosín I, Chicón RM, Cabezero MD. Free amino acid composition and botanical origin of honey [J]. *Food Chem*, 2003, 83: 263–268.
- [22] Frankel S, Robinson GE, Berenbanm M R. Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys [J]. *J Apicult Res*, 1998, 37(1): 27–52
- [23] Turkmen N, Sari F, Ender S, *et al.* Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey [J]. *Food Chem*, 2006, 95: 653–657.
- [24] Peter J, Taormina A, Brendan A, *et al.* Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power [J]. *Int J Food Microbiol*, 2001, 69: 217–225.
- [25] Liu JR, Ye YL, Lin TY, *et al.* Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan [J]. *Food Chem*, 2013, 139(1–4): 938–943.
- [26] Jasna B, Urška D, Mojca J, *et al.* Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of slovenian honey [J]. *Food Chem*, 2007, 105: 822–828.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



罗红霞, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为食品科学。
E-mail: hongxiajun@163.com



李淑荣, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为农产品加工与质量检测。
E-mail: shurongl@hotmail.com