

# 麦卢卡蜂蜜特征标志物及其分析方法研究进展

康海宁<sup>1</sup>, 陈波<sup>1</sup>, 蓝芳<sup>1</sup>, 张峰<sup>2</sup>, 冯峰<sup>2</sup>, 宫本宁<sup>1</sup>, 梁通雯<sup>1</sup>, 陈沛金<sup>1</sup>

(1. 深圳海关食品检验检疫技术中心, 广东深圳 518045)

(2. 中国检验检疫科学研究院食品安全研究所, 北京 100176)

**摘要:** 麦卢卡蜂蜜是产自新西兰的医疗级蜂蜜, 具有独特的非过氧化抗菌活性, 抗菌活性与其特征标志物有密切联系。随着国外学者对麦卢卡蜂蜜中抗菌活性物质的深入研究, 其中的抗菌活性物质被不断地发现和证实, 目前已发现的麦卢卡蜂蜜的特征标志物包括甲基乙二醛、3,5-二甲氧基苯甲酸甲酯-4-双葡萄糖苷、3-苯基乳酸、2-甲氧基苯乙酮、2-甲氧基苯甲酸、4-羟苯基乳酸、Lepterdine 等, 这些化合物也已应用于麦卢卡蜂蜜的质量评价和真伪鉴别中。麦卢卡蜂蜜在我国进口蜂蜜中所占的比重越来越大, 但国内对麦卢卡蜂蜜的研究起步较晚, 本文针对与麦卢卡蜂蜜质量评价及真伪鉴别相关的特征标志物及其分析方法进行了综述, 以期对麦卢卡蜂蜜的质量评价和真伪鉴别研究提供参考。

**关键词:** 麦卢卡蜂蜜; 特征标志物; 质量评价; 分析方法

文章编号: 1673-9078(2019)12-322-328

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.12.041

## Research Progress in Defining Marker Substances Characteristic for Manuka Honey and Developing Their Analytical Methods

KANG Hai-ning<sup>1</sup>, CHEN Bo<sup>1</sup>, LAN Fang<sup>1</sup>, ZHANG Feng<sup>2</sup>, FENG Feng<sup>2</sup>, GONG Ben-ning<sup>1</sup>, LIANG Tong-wen<sup>1</sup>, CHEN Pei-jin<sup>1</sup>

(1. Food Inspection and Quarantine Technology Center of Shenzhen Customs, Shenzhen 518045, China)

(2. Institute of Food Safety, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China)

**Abstract:** Manuka honey is a medical grade honey from New Zealand, and has unique non-peroxide antibacterial activity. The antibacterial activity of manuka honey is closely related to its characteristic marker substances. With the increase of the number of in-depth studies on the antibacterial substances in manuka honey by foreign scholars, more and more antimicrobial substances have been found and confirmed in manuka honey. The characteristic markers of manuka honey that have been found so far include methylglyoxal, leptosperin, 3-phenyllactic acid, 2'-methoxyacetophenone, 2-methoxybenzoic acid, 4-hydroxyphenyllactic acid, lepterdine, etc. These compounds have also been used in quality evaluation and authenticity identification for manuka honey. Manuka honey accounts for an increasing proportion of imported honey into China, but the domestic study on manuka honey started relatively late. In order to offer a reference for quality evaluation and authenticity identification of manuka honey, this paper provides an overview of the marker substances characteristic for manuka honey and relevant to the quality evaluation and authenticity identification, together with their analysis methods.

**Key words:** manuka honey; characteristic markers; quality evaluation; analytical method

蜂蜜是一种非常传统的药食同源食品, 具有润肠、护肝、护心、抗菌、消炎等作用<sup>[1]</sup>。蜂蜜的抗菌作用主要由其理化性质决定<sup>[2]</sup>, 主要依靠蜂蜜的高渗透压、酸性环境、酶类物质、过氧化氢、酚酸类、黄酮类化合物等。麦卢卡蜂蜜 (Manuka honey) 是产自新西兰的一种医疗级蜂蜜, 因采自麦卢卡树 (*Leptospermum scoparium*) 而得名, 以其优越的抗菌活性得到了广大消费者的认可, 除了具有一般蜂蜜的抗菌活性外, 麦

收稿日期: 2019-06-25

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFF0211000)

作者简介: 康海宁 (1983-), 女, 高级工程师, 研究方向: 食品营养与安全

卢卡蜂蜜的抗菌活性不依赖于过氧化物, 具有独特的非过氧化抗菌活性<sup>[2,3]</sup> (non-peroxide antibacterial activity, NPA), 是近年来国际蜂蜜研究的一大热点。Molen 等<sup>[3]</sup>最早报道了麦卢卡蜂蜜抗菌活性的物质基础, 并将其命名为“独麦素” (unique manuka factor, UMF), 经过近二十多年的研究, 麦卢卡蜂蜜优越的抗菌活性不断得到确认, 具有抗细菌、抗真菌、抗病毒的功效。随着研究的不断深入, 其中的抗菌活性物质被不断地发现和证实, 有些化合物作为麦卢卡蜂蜜的特征标志物已应用于麦卢卡蜂蜜的质量评价及真伪鉴别, 已发现的麦卢卡蜂蜜的特征标志物包括甲基乙

二醛、3,5-二甲氧基苯甲酸甲酯-4-双葡萄糖苷、3-苯基乳酸、2-甲氧基苯乙酮、2-甲氧基苯甲酸、4-羟苯基乳酸、Lepterin 等。近年来, 麦卢卡蜂蜜在我国进口蜂蜜中所占的比重越来越大, 不同级别的麦卢卡蜂蜜价格差异巨大, 虚假标示抗菌活性等级甚至完全没有抗菌活性的麦卢卡蜂蜜掺假现象时有报道, 国外研究者围绕麦卢卡蜂蜜的特征标志物、质量评价、真伪鉴别技术进行了比较深入的研究, 国内研究者近年来对麦卢卡蜂蜜也进行了一些研究, 但起步较晚, 本文针对麦卢卡蜂蜜的质量评价进展、麦卢卡蜂蜜的特征标志物及其检测方法进行综述, 希望能对国内麦卢卡蜂蜜的研究工作提供一些帮助。

## 1 麦卢卡蜂蜜质量评价进展

对于普通蜂蜜, 我国已有明确的质量评价和理化指标的标准<sup>[4-7]</sup>, 标准中对蜂蜜的一些理化指标如水分、酸度、果糖、葡萄糖、蔗糖含量、羟甲基糠醛、淀粉酶值等作出了规定, 并用于蜂蜜的质量分级, 对蜂蜜中的污染物限量、农药残留限量、兽药残留限量做了明确规定。然而, 麦卢卡蜂蜜产自新西兰, 与我国蜂蜜相比, 含有独有的功效成分, 因此我国现行国家标准并不完全适用于麦卢卡蜂蜜的质量评价和真伪鉴定。麦卢卡蜂蜜因其售价比一般的蜂蜜要高, 所以存在较多掺假情况或者以普通蜂蜜冒充麦卢卡蜂蜜进行销售的现象。新西兰政府初级产业部最早对麦卢卡蜂蜜的外包装提出要求<sup>[8]</sup>, 即商家可以在外包装标明特殊功效或特殊成分, 但需提供具体的检测方法和标准。现市面上出售的麦卢卡蜂蜜大多数以“MGO”和“UMF”划分等级, 其数值越高, 代表着抗菌能力越强, 售价也更高。新西兰蜜纽康蜂蜜公司(Manuka Health)注册了“MGO”商标<sup>[9]</sup>, 麦卢卡蜂蜜外包装标示“MGO100”、“MGO250”等, 这表示该蜂蜜中甲基乙二醛含量为 100 mg/kg 以上和 250 mg/kg 以上, 其分级标准和对应的 UMF 等级见表 1。“UMF”商标是新西兰麦卢卡蜂蜜协会(Unique Manuka Factor Honey Association, UMFHA)所注册的商标<sup>[10]</sup>, 最开始“UMF”的等级是依据微生物法测定 UMF 值来进行划分, 如“UMF10+”表示该蜂蜜的稀释液与 10% 浓度苯酚水溶液的抗菌能力相同。新西兰麦卢卡蜂蜜协会最初并不认同蜜纽康蜂蜜公司的“MGO”分级标准, 协会认为仅测定蜂蜜中某种化合物来说明蜂蜜的等级没有体现麦卢卡蜂蜜具有天然抗菌能力的特点。但后来随着对甲基乙二醛的研究, 新西兰麦卢卡蜂蜜协会也通过测定甲基乙二醛的含量来换算“UMF”等级。新西兰麦卢卡蜂蜜协会的等级评价标准以甲基乙

二醛、羟甲基糠醛和 Leptosperin (3,5-二甲氧基苯甲酸甲酯-4-双葡萄糖苷) 三种化合物的含量划分等级。其质量评价体系要求羟甲基糠醛 <40 mg/kg, Leptosperin 含量需 >100 mg/kg, 甲基乙二醛含量越高, 等级也越高。

表 1 麦卢卡蜂蜜分级标准

Table 1 Grading standard of manuka honey<sup>[9]</sup>

MGO 等级	甲基乙二醛 (MGO) 含量/(mg/kg)	对应 UMF 等级
83+	≥83	5+
100+	≥100	6+
250+	≥250	10+
400+	≥400	13+
550+	≥550	16+
700+	≥700	18+
850+	≥850	20+

注: 麦卢卡蜂蜜来自蜜纽康蜂蜜公司。

新西兰初级产业部 (Ministry for Primary Industries, MPI) 于 2017 年在政府官网上公布了麦卢卡蜂蜜真伪鉴定标准<sup>[11]</sup>, MPI 首先根据大量文献列出可能作为真伪鉴定的化合物, 并收集了大量麦卢卡植物和其他植物的花蜜样本和新西兰各地区的蜂蜜样本及不同国家的蜂蜜样本进行分析检测。通过分析和数据处理, 以该化合物是否仅在麦卢卡植物中发现、能否区分不同花种的蜂蜜、能否区分单一花种和多花种麦卢卡蜂蜜、在长期贮存和升温过程中的稳定性为标准, 最终选取四种化合物和花粉中的 DNA 标记物作为真伪鉴定标准。MPI 规定麦卢卡蜂蜜鉴别需检测四种化合物和麦卢卡树花粉 DNA 浓度, 同时满足五个指标才能判定为麦卢卡蜂蜜。四种化合物为 3-苯基乳酸 (3-Phenylactic acid, 3-PA)、2-甲氧基苯乙酮 (2'-Methoxyacetophenone, 2'-MAP)、2-甲氧基苯甲酸 (2-Methoxybenzoic acid, 2-MBA)、4-羟苯基乳酸 (4-Hydroxyphenylactic acid, 4-HPA)。单一花种麦卢卡蜂蜜需满足 3-苯基乳酸 ≥400 mg/kg, 2-甲氧基苯乙酮、2-甲氧基苯甲酸、4-羟苯基乳酸 ≥1 mg/kg; 混合花种麦卢卡蜂蜜需满足 20 mg/kg ≤ 3-苯基乳酸 <400 mg/kg, 2-甲氧基苯乙酮、2-甲氧基苯甲酸、4-羟苯基乳酸 ≥1 mg/kg。单一混合花种的麦卢卡蜂蜜中的麦卢卡树花粉的 DNA 浓度都应该小于 Cq 36, 约为 3 fg/μL (Cq=quantification cycles, qPCR 测试计量单位)。

## 2 麦卢卡蜂蜜的特征标志物及其分析方法

### 2.1 甲基乙二醛 (Methylglyoxal, MGO)

甲基乙二醛被认为是麦卢卡蜂蜜的一种标志性成分,德国研究学者 Mavric 等<sup>[12]</sup>最早于 2008 年发现麦卢卡蜂蜜中主要起到抗菌活性的物质是甲基乙二醛,且相关性高达 98%,麦卢卡蜂蜜中甲基乙二醛的含量非常高,含量在 38~761 mg/kg,是普通蜂蜜的 100 倍。甲基乙二醛的前体分子是麦卢卡树花蜜中的二羟基丙酮(Dihydroxyacetone, DHA)。新鲜的麦卢卡蜂蜜中二羟基丙酮含量较高,甲基乙二醛含量较少,在蜂蜜慢慢成熟的过程中 DHA 逐渐转化为 MGO。有学者曾对麦卢卡蜂蜜进行贮存实验<sup>[13]</sup>,在 21 °C 下贮存四年,蜂蜜样本中 MGO 含量平均增加二倍, DHA 含量减少三倍,说明 DHA 和 MGO 随时间和温度的变化在蜂蜜中并不稳定。Atrott 等<sup>[14]</sup>人发现成熟的麦卢卡蜂蜜中二羟基丙酮和甲基乙二醛的比例约为 2:1。Megan 等人<sup>[15]</sup>研究了二羟基丙酮在苜蓿蜜、麦卢卡蜂蜜和人造蜂蜜基质中转化为甲基乙二醛的反应机理。二羟基丙酮在麦卢卡蜂蜜主要以单体或者二聚体的形态存在,二聚体在酸性条件下分解成二羟基丙酮单体,二羟基丙酮形成烯二醇的结构,随后异构化形成甲基乙二醛。Megan 的研究团队在后续的研究中还发现,蜂蜜中的氨基酸、多酚类化合物以及亚铁盐离子对该转化反应都有影响。向不含 DHA 的苜蓿蜜中人为添加 DHA,在室温转化为 MGO 符合一级反应动力学。麦卢卡蜂蜜中的 MGO 转化反应较为复杂,其中的副反应较多,麦卢卡蜂蜜中的其他化合物也会对反应中的某些步骤产生协同或者拮抗作用。因此麦卢卡蜂蜜中的反应动力学非常复杂。DHA 较易在市场上购买,已经作为食品添加剂<sup>[16]</sup>进行商业出售,可对非麦卢卡蜂蜜进行人为掺假,仅通过测定 MGO 含量来判断麦卢卡蜂蜜的真伪可信度较低。因此,甲基乙二醛可作为麦卢卡蜂蜜等级划分的依据,但不能作为真伪鉴别的唯一指标。

蜂蜜中甲基乙二醛的检测方法主要有液相色谱法<sup>[12,17-22]</sup>和液相色谱-串联质谱法<sup>[23]</sup>。甲基乙二醛属于二羰基化合物,紫外吸收较弱,一般需衍生化反应后再进行检测,常用的衍生试剂有邻苯二胺<sup>[12,18-21]</sup>, Weigel 等<sup>[19]</sup>报道甲基乙二醛能与邻苯二胺反应生成喹噁啉类化合物,在反相色谱上有较好的保留,且紫外吸收强。Mavric 等<sup>[12]</sup>和 Oelschlaegel 等<sup>[20]</sup>建立的甲基乙二醛检测方法均是在 Weigel 等<sup>[19]</sup>报道的基础上进行了适度修改。Windsor 等<sup>[22]</sup>采用邻-(2,3,4,5,6-五氟苄基)羟胺盐酸盐(PFBHA)作为衍生试剂,可同时检测蜂蜜中的甲基乙二醛、二羟基丙酮和羟甲基糠醛。国内对蜂蜜中甲基乙二醛测定的研究起步较晚,陈磊<sup>[18]</sup>和赵琼晖<sup>[17]</sup>等人报道了蜂蜜中甲基乙二醛的检测方法,陈磊等<sup>[18]</sup>

采用邻苯二胺作为衍生试剂,赵琼晖等<sup>[17]</sup>采用 2,4-二硝基苯肼作为衍生化试剂,建立了蜂蜜中甲基乙二醛的超高效液相色谱检测方法,使得分析时间较文献报道的时间缩短至 6 min 以内。2015 年,中华全国供销合作总社也发布了蜂蜜中甲基乙二醛测定的行业标准<sup>[24]</sup>。徐丽等<sup>[23]</sup>人建立了蜂蜜中甲基乙二醛的高效液相色谱-串联质谱测定方法,采用 2,3-二氨基萘作为衍生化试剂,在电喷雾离子源正离子模式下进行定性和定量分析,检出限可达 0.2 mg/kg。

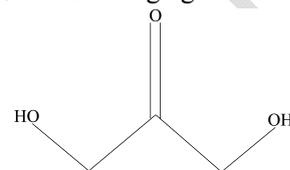


图1 二羟基丙酮

Fig.1 Dihydroxyacetone

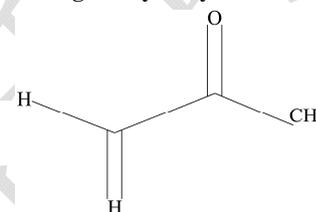


图2 甲基乙二醛

Fig.2 Methylglyoxal

## 2.2 3,5-二甲氧基苯甲酸甲酯-4-双葡萄糖苷 (Leptosperin)

2012 年,日本学者 Kato 等<sup>[25]</sup>人利用核磁共振谱仪(NMR spectra)发现了麦卢卡蜂蜜中的一种特征标志物 3,5-二甲氧基苯甲酸甲酯-4-双葡萄糖苷(Leptosperin), Leptosperin 是丁香酸甲酯的配糖体,仅在大洋洲地区的蜂蜜中发现这种物质,麦卢卡蜂蜜和产自澳大利亚 *Leptospermum polygalifolium* 属的果冻灌木蜂蜜中含有大量的这种配糖体,含量约为 0.2~1.2 μmol/g 蜂蜜。在 Kato 的研究中, Leptosperin 被认为是一种很好的麦卢卡蜂蜜的特征标志物,且 Leptosperin 的浓度与麦卢卡蜂蜜的 UMF 数值呈正相关。

Leptosperin 是丁香酸甲酯的配糖体,之前丁香酸甲酯也被认为是麦卢卡蜂蜜抗菌活性的一种特征标志物,具有抗氧化、抗菌的功能<sup>[26,27]</sup>。Wilkins 等<sup>[28]</sup>人提出丁香酸和苯基乙酸可作为植物化学标记物用于鉴别麦卢卡蜂蜜,但是, Joerg 和 Sonntag 等<sup>[29]</sup>人发现在油菜和三叶草蜂蜜中也含有大量的丁香酸甲酯,苯基乙酸也普遍存在于大量欧洲蜂蜜中。Roderick 等人<sup>[30]</sup>在研究中发现,尽管麦卢卡蜂蜜中的丁香酸甲酯占酚类

提取物的 45%以上, 但丁香酸甲酯和苯基乙酸均不是蜂蜜抗菌活性的重要贡献者, 且在具有抗菌活性的蜂蜜和不具有抗菌活性的蜂蜜中都含有丰富的丁香酸甲酯, 这与 Joerg 和 Sonntag 等<sup>[29]</sup>人的研究结论一致。Kato 在后续的研究<sup>[31]</sup>中发现, Leptosperin 的稳定性也很好, 在 50 °C 条件下贮存三十天, 丁香酸甲酯浓度下降明显, 而 Leptosperin 的浓度可以保持稳定, 并且 Leptosperin 的浓度与麦卢卡蜂蜜的非过氧化抗菌值成正比。麦卢卡蜂蜜中 Leptosperin 的最大检出量为 1700 mg/kg<sup>[32]</sup>, 最低检出量有 93<sup>[33]</sup>~126 mg/kg<sup>[25]</sup>。因此, 可以认为麦卢卡蜂蜜中至少含有 100 mg/kg 的 Leptosperin。新西兰麦卢卡蜂蜜协会将 Leptosperin 作为麦卢卡蜂蜜的真伪鉴定指标, 要求含有 100 mg/kg 以上。

Leptosperin 的检测方法有液相色谱-二极管阵列检测器法<sup>[25,31]</sup>、液相色谱-串联质谱法<sup>[31,34]</sup>、液相色谱-荧光检测器法<sup>[35]</sup>、酶联免疫吸附法<sup>[36]</sup>、免疫层析法<sup>[37]</sup>。液相色谱-串联质谱法检测 Leptosperin, 一般在电喷雾离子源负离子模式下检测, Kato 等人<sup>[31]</sup>比较了液

相色谱-二极管阵列检测器法 (HPLC-DAD)、液相色谱-电喷雾离子源串联质谱法 (HPLC-ESI-MS/MS)、液相色谱-大气压化学电离离子源串联质谱法 (HPLC-APCI-MS/MS) 检测麦卢卡蜂蜜中 Leptosperin 的差异, APCI-MS/MS 测定 Leptosperin 的定量限 (LOQ=30 nM) 要高于 ESI-MS/MS 法的定量限 (LOQ=3 nM), 且质谱法特别是 APCI-MS/MS 的结果要低于 HPLC 法的结果, APCI-MS/MS 法测定 Leptosperin 结果的可靠性要低于 HPLC-DAD 和 HPLC-ESI-MS/MS 法。沈崇钰<sup>[34]</sup>等人建立了一种全自动在线固相萃取-液质联用法检测 Leptosperin, 在对实际样品测试的结果中, 20.5%的麦卢卡巢蜜和 25%的麦卢卡商品蜜无法满足新西兰麦卢卡蜂蜜协会对 Leptosperin 的要求。Kato 等<sup>[36,37]</sup>人还建立了 Leptosperin 测定的酶联免疫吸附法和免疫层析法, 可同时对大量蜂蜜样品进行处理和分析, 为麦卢卡蜂蜜中 Leptosperin 的测定提供了经济、快捷、便利的选择, 养蜂人、制造商、检查员、零售商、消费者可采用免疫层析法<sup>[37]</sup>对蜂蜜样品进行现场质量检查。

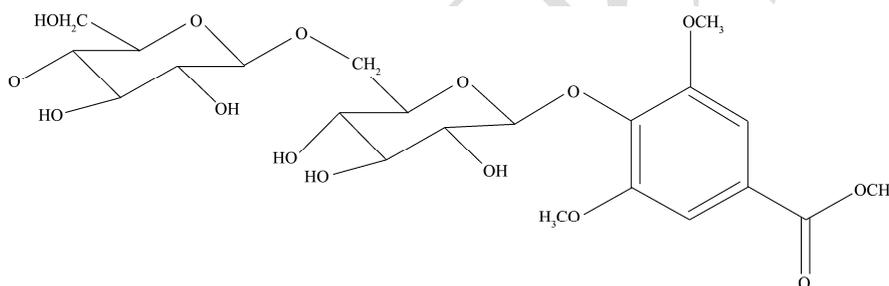


图 3 3,5-二甲氧基苯甲酸甲酯-4-双葡萄糖苷

Fig.3 3,5-dimethoxybenzoate-4-diglucoside (Leptosperin)

### 2.3 新西兰初级产业部 (MPI) 规定的真伪鉴

定的标志物

新西兰初级产业部 (Ministry for Primary Industries, MPI) 于 2017 年在其政府官网上公布了麦卢卡蜂蜜真伪鉴定标准<sup>[38]</sup>, MPI 规定麦卢卡蜂蜜鉴别需检测四种化合物和麦卢卡树花粉 DNA 含量, 需同时满足五个指标才能判定为麦卢卡蜂蜜。四种化合物为 3-苯基乳酸 (3-PA)、2-甲氧基苯乙酮 (2'-MAP)、2-甲氧基苯甲酸 (2-MBA)、4-羟苯基乳酸 (4-HPA)。

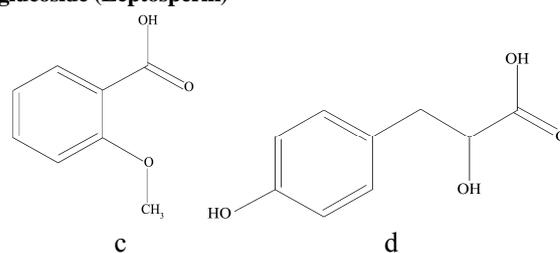
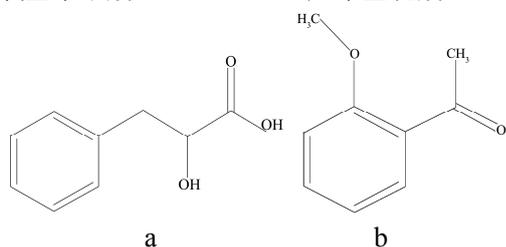


图 4 (a) 3-苯基乳酸, (b) 2-甲氧基苯乙酮, (c) 2-甲氧基苯甲酸, (d) 4-羟苯基乳酸

Fig.4 (a) 3-Phenyllactic acid, (b) 2'-Methoxyacetophenone, (c) 2-Methoxybenzoic acid, (d) 4-Hydroxyphenyllactic acid

MPI 建立了 LC-MS/MS 法<sup>[39]</sup>分析麦卢卡蜂蜜中四种特征化合物, 建立了 PCR 法<sup>[40]</sup>分析蜂蜜中花粉 DNA 含量。MPI 在对实际样品检测的结果发现, 存在检测结果与蜂蜜供应商标识标签不一致的现象。例如: 供应商提供的 273 份单花种麦卢卡蜂蜜中, 仅有 74% 的样品判定为单花种麦卢卡蜂蜜, 12% 判定为多花种麦卢卡蜂蜜, 14% 判定为非麦卢卡蜂蜜; 30 份卡奴卡

蜂蜜样品中,有 12 份判定为麦卢卡蜂蜜。出现这种现象的原因,可能是供应商对蜂蜜分类的标准不一样,可能是蜜蜂采集花蜜具有随机性,或是蜜源区存在其他植物。郭思言等<sup>[41]</sup>认为 MPI 提供的方法中采用氯吡脲为内标物质,此内标物质非待测化合物的同位素内标,且内标物在负离子模式下扫描而待测化合物在正离子下扫描,缺乏一定的科学性,蜂蜜基质中富含的糖类及一些极性成分会对化合物测定造成干扰,采用 HLB 固相萃取柱净化蜂蜜基质并用外标法定量。方法优化后对采集于新西兰不同产地的 12 个品种的 114 个巢蜜样本和 4 个国家的 50 个商品化蜂蜜进行了验证,能对蜂蜜中 4 种特征化合物进行准确定性和定量分析,也发现检测结果与蜂蜜供应商标识标签不一致的现象,可为判别单花种、多花种及非麦卢卡蜂蜜提供参考。

## 2.4 Leptericidine

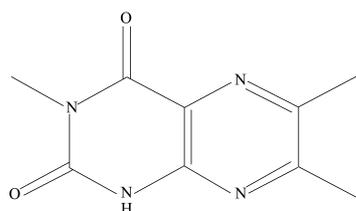


图5 Leptericidine

Fig.5 Leptericidine

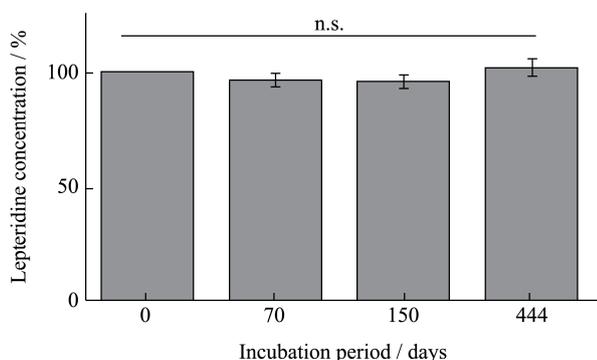


图6 Leptericidine 贮存实验

Fig.6 The storage experiment of leptericidine

Daniels<sup>[42]</sup>于 2016 年从麦卢卡植物中分离和提纯 Leptericidine,并对其进行了结构阐明和合成,可作为麦卢卡蜂蜜的生物标志物。蜂蜜中的 Leptericidine 采用液相色谱-紫外检测器法进行检测<sup>[42,43]</sup>,从新西兰不同地区采集的麦卢卡蜂蜜和卡卢卡蜂蜜中都能检测到 Leptericidine,但是其他新西兰蜂蜜如三叶草蜂蜜、忍冬花蜂蜜和圣诞花蜂蜜中不含有 Leptericidine。Bin Lin<sup>[43]</sup>等人随后对该化合物进行研究,麦卢卡蜂蜜中 Leptericidine 的含量在 5~52 mg/kg,麦卢卡花蜜中 Leptericidine 的含量在 80~205 mg/kg 范围。Leptericidine

的化学稳定性也较好,在 37 °C 条件下贮存 444 d 含量没有明显的变化,稳定性较好,见图 6。Leptericidine 在 MM2 (激发 330 nm-发射 470 nm) 波长中有荧光信号,有别于 Leptosperin 在 MM1 (激发 270 nm-发射 365 nm) 的荧光信号<sup>[44]</sup>,还发现 Leptericidine 的荧光信号与 Leptosperin 的荧光信号呈正比。Jessie Bong 等人<sup>[45]</sup>对这两种荧光物质进行进一步的研究,在 119 个麦卢卡蜂蜜样本的分析中,Leptericidine 的含量与 Leptosperin 的含量有很强的相关性,他们的研究结果表明,Leptericidine 和 Leptosperin 是麦卢卡蜂蜜特有的化学性质稳定的标志物,可用于单花种麦卢卡蜂蜜的鉴别,因此 Leptericidine 和 Leptosperin 一样,均可作为鉴别麦卢卡蜂蜜的特征荧光标志物。

## 3 总结与展望

麦卢卡蜂蜜作为一种天然保健食品,其成分较为复杂,对其质量评价体系和真伪鉴别的方法仍在不断地研究和探索中<sup>[46]</sup>。单一特征标志物的检测不适用于作为麦卢卡蜂蜜质量评价和真伪鉴别的标准,甲基乙二醛作为麦卢卡蜂蜜的主要非过氧化抗菌物质,可由二羟基丙酮转化而来,可作为等级划分的标准,但不能作为真伪鉴别的唯一指标。新西兰麦卢卡蜂蜜协会和新西兰初级产业部的质量评价和真伪鉴别标准均是对蜂蜜中的多个特征标志物进行检测,但仍然存在误判的可能。Jessie Bong 等人<sup>[45]</sup>的研究认为麦卢卡蜂蜜中的 2-甲氧基苯乙酮和特征的荧光标志物 Leptosperin 和 Leptericidine 具有稳定的化学性质,含量不随储存时间的延长而发生改变,可用于麦卢卡蜂蜜的鉴别。随着对麦卢卡蜂蜜的深入研究,不断地有新的特征标志物和新的质量评价及真伪鉴别方法被发掘<sup>[47]</sup>。本文总结了一些近年来国内外学者对麦卢卡蜂蜜中特征标志物的研究及比较实用的分析方法,希望能对国内麦卢卡质量评价及真伪鉴别研究提供一些思路和参考。

## 参考文献

- [1] 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):70-72  
GU Xue-zhu, LI Xian-duan, ZHONG Yin-yan, et al. Modern research and application of honey [J]. China Experimental Traditional Medical Formulae, 2007, 13(6): 70-72
- [2] 张言政,胡福良.麦卢卡蜂蜜的抗菌活性及其机理[J].蜜蜂杂志(月刊),2015,7:1-5  
ZHANG Yan-zheng, HU Fu-liang. Antibacterial activity of manuka honey and its mechanism [J]. Journal of Bee, 2015, 7: 1-5

- [3] Allen K L, Molan P C, Reid G M. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1991, 43(12): 817-822
- [4] NY/T 752-2012, 中华人民共和国农业部绿色食品蜂产品 [S]  
NY/T 752-2012, Ministry of agriculture of the People's Republic of China Green Food-bee Product [S]
- [5] GB 14963-2011, 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准蜂蜜[S]  
GB 14963-2011, Ministry of Health of the People's Republic of China. National Food Safety Standards Honey [S]
- [6] GH/T 1001-1998, 中华全国供销合作总社. 预包装食用蜂蜜 [S]  
GH/T 1001-1998, China National Supply and Marketing Cooperative General Agency. Pre-packaging Edible Honey [S]
- [7] GH/T 18796-2012, 中华全国供销合作总社蜂蜜 [S]  
GH/T 18796-2012, China National Supply and Marketing Cooperative General Agency Honey [S]
- [8] Ministry for primary industries. Questions and answers for labelling of New Zealand honey for export. [EB/OL]. <https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/27351-questions-and-answers-for-labelling-of-new-zealand-honey-for-export>, 2019-06-25
- [9] Manuka Health New Zealand. MGO™ Manuka Honey [EB/OL]. <https://www.manukahealth.co.nz/en-nz/manuka-honey/mgo-manuka-honey/>, 2019-06-25
- [10] Unique Mānuka Factor Honey Association. UMF Grading System [EB/OL]. <https://www.umf.org.nz/grading-system-explained/>, 2019-06-25
- [11] Ministry for primary industries. Criteria for identifying manuka honey [OL/DB]. MPI Technical Paper No: 2017/28
- [12] Mavric E, Wittmann S, Barth G, et al. Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2008, 52(4): 483-489
- [13] Changes in DHA, MGO and Leptosperin in Honey Stored for four years [DB/OL]. <http://www.umf.org.nz/portfolio/changes-in-dha-mgo-and-leptosperin-in-honey-stored-for-four-years/>
- [14] Atrott J, Haberlau S, Henle T. Studies on the formation of methylglyoxal from dihydroxyacetone in manuka (*Leptospermum scoparium*) honey [J]. *Carbohydrate Research*, 2012, 361(1): 7-11
- [15] Megan N.C. Grainger, Marilyn Manley-Harris, et al. Effect of high pressure processing on the conversion of dihydroxyacetone to methylglyoxal in New Zealand mānuka (*Leptospermum scoparium*) honey and models thereof [J]. *Food Chemistry*, 2014, 153: 134-139
- [16] Thorburn B, Anne D, et al. A critical review of the factors available for the identification and determination of manuka honey [J]. *Food Analytical Methods*, 2018, 11(6): 1561-1567
- [17] 赵琼晖, 金晓蕾, 胡晓苑, 等. 超高效液相色谱法快速检测麦卢卡蜂蜜中的丙酮醛[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(11): 3482-3486  
ZHAO Qiong-hui, JIN Xiao-lei, HU Xiao-yuan, et al. Determination of methylglyoxal in manuka honey by ultra performance liquid chromatography [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2014, 5(11): 3482-3486
- [18] 陈磊, 栾军, 费晓庆, 等. 高效液相色谱法检测新西兰 manuka 蜂蜜中的甲基乙二醛[J]. *色谱*, 2014, 32(2): 189-193  
CHEN Lei, LUAN Jun, FEI Xiao-qing, et al. Determination of methylglyoxal in manuka honey of New Zealand by high performance liquid chromatography [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2014, 32(2): 189-193
- [19] Weigel K, Opitz T, Henle T. Studies on the occurrence and formation of 1,2-dicarbonyls in honey [J]. *European Food Research and Technology A*, 2004, 218(2): 147-151
- [20] Oelschlaegel S, Gruner M, Wang P N, et al. Classification and characterization of manuka honeys based on phenolic compounds and methylglyoxal [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(29): 7229-7237
- [21] Christopher J Adams, Cherie H Boulton, Benjamin J Deadman, et al. Isolation by HPLC and characterisation of the bioactive fraction of New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey [J]. *Carbohydrate Research*, 2008, 343(4): 651-659
- [22] Windsor S, Pappalardo M, Brooks P, et al. A convenient analysis for dihydroxyacetone and methyl glyoxal in Australian honeys [J]. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 2012, 4(1): 6-11
- [23] 徐丽, 李宗芮, 张帅, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中的甲基乙二醛[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(7): 1700-1705  
XU Li, LI Zong-rui, ZHANG Shuai, et al. Determination of methylglyoxal in honey by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of food safety and quality*, 2018, 9(7): 1700-1705
- [24] GH/T 1109-2015, 中华全国供销合作总社. 蜂蜜中丙酮醛含量的测定高效液相色谱法 [S]

- GH/T 1109-2015, China National Supply and Marketing Cooperative General Agency Determination of Methylglyoxal in Honey-high Performance Liquid Chromatography [S]
- [25] Kato Y, Umeda N, Maeda A, et al. Identification of a novel glycoside, leptosin, as a chemical marker of manuka honey [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(13): 3418-3423
- [26] Rosado T, Bernardo P, Koci K, et al. Methyl syringate: An efficient phenolic mediator for bacterial and fungal laccases [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 2012(124): 371-378
- [27] Inoue K, Murayama S, Seshimo F, Takeba K, et al. Identification of phenolic compound in manuka honey as specific superoxide anion radical scavenger using electron spin resonance (ESR) and liquid chromatography with coulometric array detection [J]. *J Sci Food Agr*, 2005, 85(5): 872-878
- [28] Wilkins A L, Lu Y, Molan P C, et al. Extractable organic substances from New Zealand uni-oralmanuka (*Leptospermum scoparium*) honeys [J]. *Journal of Apicultural Research*, 1993, 32: 3-9
- [29] Joerg, E. and Sonntag, G. Multichannel coulometric detection coupled with liquid chromatography for determination of phenolic esters in honey [J]. *Journal of Chromatography*, 1993(635): 137-142
- [30] Roderick J Weston, Kevin R Mitchell, Kerry L Allen. Antibacterial phenolic components of New Zealand Manuka honey [J]. *Food Chemistry*, 1999, 64(3): 295-301
- [31] Kato Y, Fujinaka R, Ishisaka A, Nitta Y, Kitamoto N, Takimoto Y. Plausible authentication of manuka honey and related products by measuring leptosperin with methyl syringate [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(27): 6400-6407
- [32] Jonathan M. Stephens, Kerry M. Loomes, Terry J. Braggins, et al. *Honey Analysis* [M]. London: IntechOpen, 2017: 95-113
- [33] Bong J, Prijic G, Braggins TJ, et al. Leptosperin is a distinct and detectable fluorophore in *Leptospermum* honeys [J]. *Food Chemistry*, 2017, 214: 102-109
- [34] 沈崇钰,郭思言,丁涛,等.全自动在线固相萃取-液相色谱-高分辨质谱法测定麦卢卡蜂蜜中的特征标志物[J].*色谱*, 2017, 35(10):1068-1072
- SHEN Chong-yu, GUO Si-yan, DING Tao, et al. Determination of characteristic compound in manuka honey by automatic on-line solid phase extraction-liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2017, 35(10): 1068-1072
- [35] 王雪婷,丁涛,吴斌,等.高效液相色谱-荧光检测法测定麦卢卡蜂蜜中的特征标志物[J].*食品安全质量检测学报*,2018, 9(23):6140-6144
- WANG Xue-ting, DING Tao, WU Bin, et al. Determination of characteristic compound in manuka honey by high performance liquid chromatography with fluorescence detector [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2018, 9(23): 6140-6144
- [36] Kato Y, Araki Y, Juri M, et al. Immunochemical authentication of manuka honey using a monoclonal antibody specific to a glycoside of methyl syringate [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(44): 10672-10678
- [37] Yoji Kato, Yukako Araki, Maki Juri, et al. Competitive immuno chromatographic assay for Leptosperin as a plausible authentication marker of manuka honey [J]. *Food Chemistry*. 2016, 194: 362-365
- [38] Criteria for identifying manuka honey [DB/OL]. <https://www.mpi.govt.nz/growing-and-harvesting/honey-and-bees/manuka-honey/>
- [39] Ministry for primary industries. Determination of Four Chemical Characterisation Compounds in Honey by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry [OL/DB]. MPI Technical-Paper No: 2017/30
- [40] Ministry for primary industries. Multiplex qPCR for detection of *Leptospermum Scoparium* DNA from pollen in Honey [OL/DB]. MPI Technical Paper No: 2017/31
- [41] 郭思言,丁涛,吴斌,等.固相萃取/液相色谱-串联质谱法测定麦卢卡蜂蜜特征化合物[J].*分析测试学报*,2018,37(4):434-439
- GUO Si-yan, DING Tao, WU Bin, et al. Determination of characteristic compounds in manuka honey by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with solid phase extraction [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2018, 37(4): 434-439

(下转第336页)