

贵州蓝莓蜜的成分分析及其抗氧化活性

冉曜琦¹, 孙丽萍², 曾海英³, 黎华君¹, 林黎¹, 贺兴江¹, 韦小平¹

(1. 贵州省现代农业发展研究所, 贵州贵阳 550006) (2. 农业农村部蜂产品质量安全控制重点实验室, 北京 100093) (3. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025)

摘要:以贵州蓝莓蜜为研究对象, 对其理化指标、抗氧化活性、多酚成分进行研究。结果显示, 贵州蓝莓蜜酸度值 44.69 mmol/kg, 总糖含量 79.30%, 葡萄糖含量 (40.88%) 高于果糖含量 (38.41%); 总酚酸和总黄酮含量分别为 20.27~24.72 mg GAE/100 g 和 3.88~6.77 mg RE/100 g, DPPH 和 ABTS 自由基半抑制率分别为 119.04~136.56 mg/mL 和 140.56~212.34 mg/mL; 蓝莓蜜含 15 种多酚类物质 (原儿茶酸、对羟基苯甲酸、香草酸、咖啡酸、对香豆酸、芦丁、阿魏酸、杨梅酮、木犀草素、桑色素、槲皮素、芹菜素、山奈酚、异鼠李素、高良姜素), 其中, 黄酮类物质含量最高为槲皮素, 酚酸含量由高到低为: 对羟基苯甲酸>对香豆酸>阿魏酸>咖啡酸>香草酸>原儿茶酸。研究表明, 蓝莓蜜酸度偏高、易结晶, 结合槲皮素含量高的特点与酚酸含量高低规律, 可作为蓝莓蜜鉴定与检测的参考指标。

关键词: 蓝莓蜜; 理化指标; 抗氧化活性; 多酚

文章编号: 1673-9078(2020)05-81-87

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.5.012

Composition Analysis and Antioxidant Activity of Blueberry Honey from Guizhou

RAN Yao-qi¹, SUN Li-ping², ZENG Hai-ying³, LI Hua-jun¹, LIN Li¹, HE Xing-jiang¹, WEI Xiao-ping¹

(1. Guizhou Institute of Integrated Agricultural Development, Guiyang 550006, China) (2. Key Laboratory of Bee Products for Quality and Safety Control, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100093, China) (3. School of Liquor and Food Engineering, GuiZhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: Taking the blueberry honey of Guizhou as the research object, its physicochemical indices, antioxidant activity, and polyphenol composition of blueberry honey of Guizhou were analyzed. The results showed that blueberry honey of Guizhou had an acid value of 44.69 mmol / kg, total sugar content of 79.30%, with its glucose content (40.88%) higher than its fructose content (38.41%). The total phenolic acid and total flavonoid contents were 20.27~24.72 mg GAE/100 g and 3.88~6.77 mg RE/100 g, respectively. The IC₅₀ values for the DPPH free radical and ABTS free radical scavenging rates were 119.04~136.56 mg/mL and 140.56~212.34 mg/mL, respectively. The blueberry honey contains a total of 15 polyphenolic compounds (protocatechuic acid, p-hydroxybenzoic acid, vanillic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, rutin, ferulic acid, myricetin, uteolin, morin, quercetin, apigenin, kaempferol, isorhamnetin, galangin). Quercetin had the highest content among flavonoids, with the content of individual phenolic acid decreasing in the order of p-hydroxybenzoic acid>p-coumaric acid>ferulic acid>caffeic acid>vanillic acid>protocatechuic acid. The research showed that blueberry honey had a relatively high acidity and tended to crystallize. The high quercetin content along with the changing pattern of phenolic acid content can be used as the reference indices for blueberry honey identification and detection.

Key words: blueberry honey; physicochemical properties; antioxidant activity; polyphenol

引文格式:

冉曜琦, 孙丽萍, 曾海英, 等. 贵州蓝莓蜜的成分分析及其抗氧化活性[J]. 现代食品科技, 2020, 36(5): 81-87

RAN Yao-qi, SUN Li-ping, ZENG Hai-ying, et al. Composition analysis and antioxidant activity of blueberry honey from Guizhou [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 81-87

收稿日期: 2019-11-04

基金项目: 贵州省科技支撑计划项目 (20192270; 20192293); 贵州省科技平台及人才计划项目 (20165203); 黔科合基础项目 (20191453), 黔科合支撑项目 (20182283)

作者简介: 冉曜琦 (1991-), 男, 硕士研究生, 研究助理, 研究方向: 食品和蜂产品

通讯作者: 韦小平 (1977-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 蜜蜂生物学和环境生态学

蓝莓又名越橘(*Vaccinium uliginosum*)、蓝浆果, 杜鹃花科(Ericaceae)越橘属(*Vaccinium* spp.)植物^[1]。我国主要种植区域分布在东北、华南和西南地区, 其中, 贵州省种植面积 8000 hm²^[2], 居全国首位。蓝莓果实营养价值高, 富含花色苷、类黄酮、酚酸等活性成分, 具有抗氧化、抗炎、治疗肥胖、增强人体免疫力、改善血液循环、预防和改善视力等功效^[3,4]。蓝莓花蜜粉丰富, 是春季优良的蜜源植物, 蓝莓蜜作为蓝莓产业的高附加值产品, 广受市场青睐, 具有良好经济效益和开发潜力^[5]。

蜂蜜是一种化学成分复杂的天然食品, 成分主要为糖(70%~85%)和水(14%~25%), 此外, 蜂蜜还含有氨基酸、有机酸、多酚、萜类、微量元素、活性酶等人体所需的营养物质^[6-8], 具有抗菌、抗氧化、促进伤口愈合、调节血糖、提高免疫力等多种生物学功能^[9-11]。蜜源植物决定了蜂蜜的理化性质, 如香味、口感、结晶状况、活性物质的种类与含量。同时, 蜂蜜的活性成分与蜜源植物的生长环境有着重要关系。蓝莓蜜是蜜蜂采集蓝莓蜜腺分泌的花蜜, 经蜜蜂充分酿造而成的天然成熟蜜, 其颜色为浅琥珀色, 结晶后浅黄色, 气味芳香、口感细腻、香甜、微酸, 深受消费者喜爱。贵州作为国内唯一生产商品蓝莓蜜的省份, 其蜂蜜特征的相关研究较少, 目前有关蓝莓蜜理化性质与抗氧化性方面尚未见文献报道。鉴于此, 本文以贵州蓝莓蜜为研究对象, 对其理化指标、抗氧化指标、多酚进行了系统研究, 以期对蓝莓蜜鉴定与质量检测提供参考数据, 为地方特色农业产业化发展提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

蓝莓蜜于2018年5月采集于贵州省蓝莓主要种植区域, 麻江县宣威镇翁保村(WB)和龙山镇龙山村(LS)。两村生态环境相似, 种植的蓝莓品种均为兔眼, 树龄5~7年, 果园管理情况相似。每个村选择2个蜂场进行取样, 共4个样点(WBA、WBB、LSA、LSB), 同一时间取蜜, 每批样品取3个平行样, 采集后-18℃冰箱贮藏。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸、Amberlite XAD-2树脂, 美国Sigma公司; Folin-Ciocalteu, 北京索莱宝科技有限公司; 甲醇(色谱级), Fisher公司; 结晶氯化铝、过二硫酸钾, 西陇化工股份有限公司; 无水乙醇、乙酸乙酯, 国产分析纯。

阿魏酸、槲皮素、芦丁、杨梅酮、山奈酚、高良姜素、白杨素, 美国Sigma公司; 咖啡酸, 瑞士Adamas-beta®公司; 对香豆酸、香草酸、异鼠李素、木犀草素, 北京百灵威公司; 原儿茶酸、没食子酸、对羟基苯甲酸、柚皮素、桑色素、芹菜素、松属素、咖啡酸苯乙酯, 上海源叶生物科技公司。

1.2 主要仪器设备

Milli-Q超纯水仪, 默克密理博公司; 6460LC-MS/MS液质联用仪(带二极管阵列检测器和串联质谱), 美国安捷伦科技有限公司; BUCHI旋蒸仪, 瑞士Buchi公司; Synergy HT酶标仪, BioTek基因有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 理化指标测定

共检测10项指标, 水分采用SN/T 0852-2012《进出口蜂蜜检验规则》测定^[12]; 淀粉酶值、羟甲基糠醛采用GH/T 18796-2012《蜂蜜》系列方法测定^[13]; 葡萄糖、果糖、蔗糖和麦芽糖采用GB/T 18932.22-2003《蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖含量测定方法液相色谱示差折光检查法》测定^[14]; 总酸度采用GH/T 1141-2017《蜂蜜及其制品酸度的测定电位滴定法》测定^[15]; 蛋白质采用GB/T 5009.5-2016《食品安全国家标准食品中蛋白质的测定》凯氏定氮法测定^[16]。

1.3.2 总酚酸及总黄酮测定

总酚酸: 采用Folin-Ciocalteu比色法^[17]进行测定, 用烧杯精准称取3 g蜂蜜样品, 加入少量纯净水后超声溶解, 用纯净水于10 mL容量瓶中定容; 吸取1 mL加入到5 mL容量瓶中, 加去离子水4 mL, 福林酚0.25 mL, 摇匀静置5 min, 再加20%碳酸钠溶液0.75 mL, 摇匀, 室温下避光静置30 min; 取100 μL于96孔板中, 在763 nm处测吸光度, 平行测定3次求平均值及±SD值。标准品没食子酸按一定的浓度制定标准曲线, 再计算出样品中总酚酸含量, 以没食子酸当量(gallic acid equivalent, GAE)表示。

总黄酮: 采用ALCl₃法^[18]进行测定, 用烧杯准确称取10 g蜂蜜样品, 加入少量纯净水后超声溶解, 用纯净水于10 mL容量瓶中定容; 取7 mL溶液置于10 mL容量瓶中, 加入1%三氯化铝乙醇溶液1 mL, 再用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 静置10 min; 取100 μL于96孔板中, 在405 nm处测吸光度, 平行测定3次求平均值及±SD值。标准品芦丁按一定的浓度制定标准曲线, 再计算出样品中总黄酮含量, 结果以芦丁当量(rutin equivalent, RE)表示。

1.3.3 DPPH自由基半抑制率测定

参照杨佳林等^[19]的方法,略做修改。在96孔板中加入100 μL不同浓度样品,再加入100 μL(0.08 mg/mL) DPPH·乙醇溶液,室温避光反应30 min,于517 nm处测吸光度。DPPH自由基半抑制率计算公式:

$$\text{DPPH自由基半抑制率}\% = (A_1 - A_{\text{样}} + A_0) / A_1 \times 100\%$$

式中: A_1 为100 μL DPPH·加100 μL无水乙醇的吸光度, g ; $A_{\text{样}}$ 为100 μL样液加100 μL DPPH的吸光度, g ; A_0 为100 μL样液加100 μL无水乙醇的吸光度,以样品浓度为横坐标,清除率为纵坐标,计算样品半抑制率 IC_{50} 值(mg/mL)。

1.3.4 ABTS自由基半抑制率测定

参照Thaipong等^[20]的方法,略做修改。在96孔板中加入40 μL不同浓度样品,再加入160 μL ABTS工作液,室温避光反应6 min,于734 nm处测定吸光度。

$$\text{ABTS自由基半抑制率}\% = (A_1 - A_{\text{样}} + A_0) / A_1 \times 100\%$$

式中: A_1 为40 μL乙醇加160 μL ABTS工作液的吸光度, g ; $A_{\text{样}}$ 为40 μL样液加160 μL ABTS工作液的吸光度, g ; A_0 为40 μL样液加160 μL水的吸光度,以样品浓度为横坐标,清除率为纵坐标,计算样品半抑制率 IC_{50} 值(mg/mL)。

1.3.5 蓝莓蜜多酚类物质提取

使用Amberlite XAD-2树脂对样品中多酚类物质进行提取,参照穆雪峰^[21]的方法,略做修改。精确称取100 g蜂蜜样品,溶于500 mL盐酸水(pH=2)溶液;再称取50 g活化好的Amberlite XAD-2树脂,纯净水反复冲洗至无味后填入层析柱(25 cm×2 cm);恒流泵接通层析柱,以1.0 mL/min的流速过柱,再用150 mL纯净水以6.0 mL/min的流速洗掉柱中残留糖,最后用80%乙醇150 mL以4.0 mL/min的流速洗脱并收集洗脱

液;洗脱液50 °C减压旋蒸至液体完全蒸发,复溶于10 mL纯净水中,等体积乙酸乙酯萃取三次,萃取液40 °C减压旋蒸至液体完全蒸发,75%甲醇水溶液3 mL将其转移至-18 °C的冰箱中待用。

1.3.6 蓝莓蜜多酚提取物分析

用75%甲醇水溶液稀释蜂蜜多酚提取物5倍,再过0.22 μm有机滤膜制成上机液。

色谱条件: Agilent EC-C18 色谱柱(4.6 mm×150 mm 2.7 μm);流动相 A 为纯水和0.1%甲酸溶液;流动相 B 为乙腈;流速0.2 mL/min;柱温30 °C;进样量5 μL;洗脱梯度为B, 0~15 min 10%~25%, 15~20 min 25%~30%, 20~30 min 30%~35%, 30~35 min 35%~70%, 35~40 min 70%~70%, 40~42 min 70%~10%。

质谱条件:电喷雾 ESI 离子源;负离子模式,多反应监测模式 NRM;雾化气为氮气;雾化气温度350 °C;干燥气温度350 °C;干燥气流速6 L/min;喷雾器压力35 psi;Vcap 电压3500 V;雾化气流速9 L/min;碰撞电压1000 V。

1.4 数据处理

所有样品均测定三次平行,结果以平均值(Mean)±标准差(SD)表示,方差分析和相关性分析通过SPSS19.0完成。

2 结果与分析

2.1 理化指标分析

表1 蓝莓蜜理化指标

Table 1 Physicochemical indicators of blueberry honey

理化指标	龙山村		翁保村		平均值	GH/T 18796-2012 中华人民共和国供销合作行业标准	
	WBA	WBB	LSA	LSB		1级	2级
酸度/(mmol/kg)	44.50±0.67 ^a	45.79±0.70 ^a	41.54±0.65 ^b	41.94±0.58 ^b	44.69±0.65	≤40	
水分/%	21.03±0.10 ^a	21.36±0.15 ^a	21.43±0.10 ^a	21.88±0.06 ^a	21.43±0.10	≤20	≤24
蛋白质/(g/100 g)	-	-	-	-	-	-	
羟甲基糠醛/(mg/kg)	-	-	-	-	-	≤40	
淀粉酶值/[mL/(g·h)]	15.87±0.21 ^a	14.72±0.31 ^b	10.47±0.15 ^c	10.89±0.11 ^c	12.99±0.78	≥4	
总糖/%	79.19±0.34 ^a	79.62±0.41 ^a	79.31±1.09 ^a	79.06±0.93 ^a	79.30±0.69	≥60	
葡萄糖/%	40.99±0.23 ^a	41.21±0.24 ^a	40.40±0.93 ^a	40.91±0.52 ^a	40.88±0.48	-	
果糖/%	38.18±0.11 ^a	38.41±0.17 ^a	38.91±0.16 ^a	38.15±0.41 ^a	38.41±0.21	-	
蔗糖/%	-	-	-	-	-	≤5	
麦芽糖/%	-	-	-	-	-	-	

注: -表示未检出,同行右肩字母不同表示差异显著性($p < 0.05$)。

如表1所示,蓝莓蜜平均酸度值44.69 mmol/kg,高于国标40 mmol/kg,翁保村样本酸度值显著高于龙山村($p<0.05$)。蜂蜜的酸度值主要源于蜂蜜中有机酸含量,与蜜源植物和地理位置直接相关^[22]。对比研究发现,不同国家均存在酸度值较高的蜂蜜,如委内瑞拉蜂蜜酸度最高值为53.3 mmol/kg^[23],印度为41.5 mmol/kg^[24],巴西为50.0 mmol/kg^[25]。不同国家对蜂蜜酸度标准的要求不同,如欧盟和巴西的蜂蜜酸度上限为50 mmol/kg^[26]。贵州4批蓝莓蜜酸度值均高于中国国家标准上限,说明此项标准设置时,未有酸度超过40 mmol/kg的蜂蜜样品作为参考,也表明酸度偏高是贵州蓝莓蜜的特点之一。

蓝莓蜜平均水分含量21.43%,低于1级标准,表明蓝莓蜜的采集环境湿度较高;平均总糖含量为79.30%,葡萄糖和果糖的比值为1.06,属易结晶蜂蜜^[27];蛋白质未检出,说明取蜜过程较好,样品花粉和死蜂等杂质较少^[28];羟甲基糠醛未检出,淀粉酶值翁保村显著龙山村,平均淀粉酶值12.99 mL/(g·h)高于标准4 mL/(g·h),说明样品未经过加工热处理,新鲜度和成熟度良好^[29,30]。

2.2 多酚类物质的定量分析

采用高效液相色谱-串联质谱法对混标和蓝莓蜜 Amberlite XAD-2 树脂提取物进行检测,在质谱负离子模式下,总离子流图如图1所示,由于采用多反应监测离子对(MRM)模式,样品中其他物质不会对检测成分产生干扰,且色谱分离度对检测结果影响小。

4批蓝莓蜜均检出15种多酚(表2),对比研究发现,蓝莓蜜与蓝莓果实中均含有原儿茶酸、对羟基苯甲酸、香草酸、咖啡酸、对香豆酸、芦丁、阿魏酸、杨梅酮、槲皮素、山奈酚10种多酚类物质^[31,32],此外,木犀草素、异鼠李素、桑色素、高良姜素、芹菜素5种多酚类物质也在蓝莓蜜中检出。4批蓝莓蜜所含多酚含量均有一定差异,就酚酸类物质而言,在蓝莓蜜中检测出7种,翁保村蓝莓蜜的对羟基苯甲酸、香草酸和对香豆酸含量均低于龙山村($p<0.05$),酚酸类物质呈现酸味,而理化指标结果显示翁保村酸度值高于龙山村,说明这几种酚酸含量的高低对蓝莓蜜酸度影响不大。就黄酮类物质而言,在蓝莓蜜中检出8种,其中翁保村蓝莓蜜的芦丁、木犀草素、槲皮素、芹菜素、山奈酚、异鼠李素含量均显著高于龙山村($p<0.05$)。

整体而言,4批蓝莓蜜酚酸类多酚物质含量由高到低的顺序为:对羟基苯甲酸>对香豆酸>阿魏酸>咖啡酸>香草酸>原儿茶酸,且黄酮类物质含量最高的为槲皮素。蜂蜜中相对含量较多的多酚类物质可以作为

单花蜜的检测标准,如油菜蜜(柚皮素、槲皮素)、柑橘蜜(柚皮素、木犀草素)、紫云英蜜(槲皮素、山奈酚)、薰衣草蜜(木犀草素、柚皮素)、太阳花蜜(槲皮素、圣草酚)^[33,34]。根据蓝莓蜜的酚酸含量的高低顺序,结合较高含量的槲皮素特点,可作蓝莓蜜的多酚检测标准。

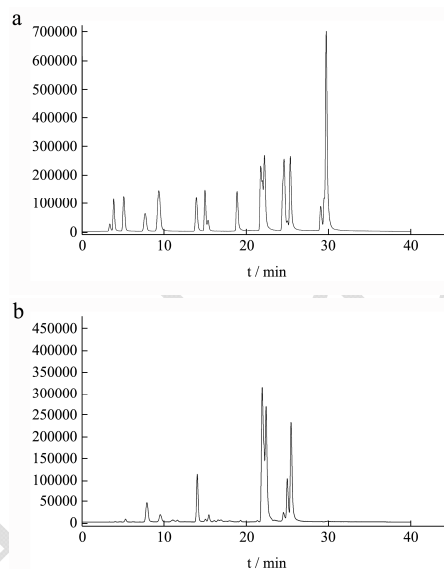


图1 标品和蓝莓蜜离子流图

Fig.1 TIC chromatograms of the components in standard reference substances and blueberry honey

注: a为混标的离子流图; b为蓝莓蜜的离子流图。

2.3 体外抗氧化活性检测

现有研究表明,多酚类物质在蜂蜜抗氧化活性中起主要作用^[35]。如表3所示,4批蓝莓蜜总酚酸含量在20.27~24.72 mg GAE/100 g之间,差异显著($p<0.05$)。总黄酮含量在3.88~6.77 mg RE/100 g之间,差异显著($p<0.05$)。总酚酸含量和总黄酮含量由高到低为WBA>WBB>LSA>LSB,说明4批蓝莓蜜的总酚酸和总黄酮含量具有显著差异,与蓝莓蜜多酚类物质的检测结果一致。DPPH自由基清除率 IC_{50} 值为119.04~136.56 mg/mL, ABTS自由基清除率 IC_{50} 值为140.56~212.34 mg/mL,翁保村的DPPH和ABTS自由基清除率 IC_{50} 值均低于龙山村,表明前者抗氧化能力优于后者。蜂蜜的总酚酸含量与其颜色呈正相关关系^[36],蓝莓蜜为浅琥珀色蜂蜜,与其他浅色蜂蜜相比,蓝莓蜜的总酚酸含量高于槐花蜜13.30 mg RE/100 g、黄芪蜜17.77 mg RE/100 g、五倍子蜜20.34 mg RE/100 g^[37]。起抗氧化活性与洋槐蜜相比较,洋槐蜜DPPH自由基清除率 IC_{50} 值为366.67~975.72 mg/mL, ABTS自由基清除率 IC_{50} 值为349.48~1018.81 mg/mL^[38],蓝莓蜜抗氧化活性较强。

表2 蓝莓蜜多酚种类与含量

Table 2 The variety and content of polyphenols in blueberry honey

化合物	Rt 保留时间/min	[M-H] ⁻¹	回归方程	R ²	线性范围/(μg/mL)	WBA 含量 /(μg/100 g)	WBB 含量 /(μg/100 g)	LSA 含量 /(μg/100 g)	LSB 含量 /(μg/100 g)
没食子酸	4.121	168.7	y=162929.26x-12689.60	0.999	0.1~10	-	-	-	-
原儿茶酸	5.774	153.0	y=144866.47x+2084.84	0.999	0.1~25	7.37±0.22 ^c	10.57±0.42 ^a	9.46±0.21 ^b	9.96±0.05 ^{ab}
对羟基苯甲酸	9.260	137.0	y=76668.30x+8675.95	0.999	0.25~25	101.04±0.48 ^b	100.19±0.18 ^b	106.31±1.56 ^a	106.03±1.21 ^a
香草酸	10.760	167.0	y=2473.36x-2039.54	0.999	0.25~25	11.31±1.77 ^b	10.77±0.22 ^b	17.93±0.50 ^a	16.79±0.19 ^a
咖啡酸	11.040	179.0	y=242641.56+3522.31	0.997	0.1~25	27.82±0.21 ^a	27.31±0.62 ^a	28.14±2.26 ^a	26.84±2.07 ^a
对香豆酸	15.171	162.7	y=136556.43x+110.21	0.999	0.1~25	46.29±2.42 ^c	44.44±1.67 ^c	60.29±1.51 ^a	55.17±1.27 ^b
芦丁	15.460	609.1	y=84520.67x-6846.89	0.997	0.05~10	10.88±0.46 ^a	8.95±0.16 ^b	5.04±0.08 ^c	4.89±0.31 ^c
阿魏酸	16.427	193.1	y=21119.59x-609.04	0.999	0.1~25	35.08±0.76 ^a	33.72±0.34 ^b	29.26±0.38 ^c	25.32±0.38 ^d
杨梅酮	19.552	301.0	y=131424.91x-139942.64	0.999	0.25~25	2.57±0.02 ^a	2.58±0.01 ^a	2.59±0.04 ^a	2.59±0.01 ^a
桑色素	19.864	301.0	y=122219.19x-13841.62	0.997	0.1~25	4.94±0.12 ^a	4.87±0.01 ^a	4.86±0.03 ^a	4.91±0.04 ^a
木犀草素	22.668	269.0	y=272678.79x+14266.43	0.999	0.05~25	144.73±1.08 ^a	140.10±1.03 ^b	4.47±0.49 ^c	4.81±0.28 ^c
槲皮素	22.940	301.0	y=285768.07x-9109.99	0.998	0.25~10	146.77±2.00 ^a	147.61±2.48 ^a	67.6±0.42 ^b	69.57±0.87 ^b
芹菜素	25.072	269.0	y=194681.17x+8816.84	0.999	0.1~10	9.87±0.31 ^a	8.85±0.28 ^b	2.26±0.09 ^c	2.37±0.06 ^c
柚皮素	25.292	271.1	y=123418.52x+7107.57	0.997	0.05~10	-	-	-	-
山奈酚	25.586	285.0	y=16065.75x-1128.22	0.996	0.1~25	76.04±1.13 ^a	72.75±1.75 ^a	46.67±1.12 ^b	40.75±0.52 ^c
异鼠李素	25.941	315.1	y=305108.05x-61674.82	0.997	0.25~25	131.06±4.83 ^a	127.67±4.01 ^a	38.39±1.06 ^b	38.28±1.91 ^b
白杨素	29.620	253.1	y=116259.45x-5770.99	0.999	0.05~10	-	-	-	-
松属素	29.999	255.1	y=67932.07x+4998.67	0.999	0.05~10	-	-	-	-
高良姜素	30.097	269.0	y=16686.55x-3701.34	0.999	0.1~10	0.72±0.06 ^a	0.70±0.01 ^a	0.82±0.13 ^a	0.78±0.09 ^a
咖啡酸苯乙酯	30.202	283.1	y=564738.04x+52427.90	0.998	0.05~10	-	-	-	-

注: -表示未检出, 数据中不同小写字母代表每行样品的含量差异显著 $p < 0.05$ 。

表3 蓝莓蜜的总酚酸、总黄酮和抗氧化活性

Table 3 Total phenolic acids, total flavonoid and antioxidant activity of blueberry honey

样品	总酚酸/(mg GAE/100 g)	总黄酮/(mg RE/100 g)	DPPH自由基清除率/(IC ₅₀ mg/mL)	ABTS自由基清除率/(IC ₅₀ mg/mL)
WBA	24.72±0.24 ^a	6.77±0.04 ^a	119.04±0.41 ^a	140.56±0.62 ^a
WBB	23.10±0.05 ^b	5.93±0.05 ^b	123.64±0.79 ^b	156.81±2.39 ^b
LSA	22.44±0.26 ^c	4.08±0.04 ^c	128.04±0.50 ^c	190.93±2.99 ^c
LSB	20.27±0.30 ^d	3.88±0.03 ^d	136.56±0.62 ^d	212.34±3.15 ^d

注: 数据后不同小写字母表明每列样品间差异显著 $p < 0.05$, -表示未检出。

表4 蓝莓蜜的总酚酸、总黄酮与抗氧化活性相关性分析

Table 4 Correlations of antioxidant substance and antioxidant activity of blueberry

	总酚酸	总黄酮	DPPH自由基	ABTS自由基
总酚酸	1	0.890	-0.993**	-0.956**
总黄酮		1	-0.909	-0.977*
DPPH自由基			1	0.975*
ABTS自由基				1

注: *代表 $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

蓝莓蜜总酚酸和总黄酮含量与其抗氧化活性的相关性分析如表 4 所示, 蓝莓蜜的总酚酸含量与 DPPH 自由基清除率 IC₅₀ 值和 ABTS 自由基清除率 IC₅₀ 值都具有极显著负相关性 ($r = -0.993^{**}$, $r = -0.956^{**}$), 说明总酚酸含量越高, 抑制 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的能力就越强。总黄酮含量与 ABTS 自由基清除率 IC₅₀ 值具有显著负相关性 ($r = -0.977^{*}$), 说明总黄酮含量越高, 抑制 ABTS 自由基等能力就越强。此外 DPPH 自由基清除率 IC₅₀ 值和 ABTS 自由基清除率 IC₅₀ 值具有显著正相关性 ($r = 0.975^{*}$)。

3 结论

本研究首次对蓝莓蜜的理化成分及抗氧化活性进行了研究分析, 结果显示: 蓝莓蜜的特点为酸度偏高和易结晶, 具有一定的抗氧化能力, 且总酚酸和总黄酮含量与抗氧化活性具有显著正相关性。在蓝莓蜜 XAD-2 的树脂提取物中检测到 15 种多酚: 原儿茶酸、对羟基苯甲酸、香草酸、咖啡酸、对香豆酸、芦丁、阿魏酸、杨梅酮、木犀草素、桑色素、槲皮素、芹菜素、山奈酚、异鼠李素、高良姜素, 其中黄酮类物质槲皮素含量最高, 酚酸类物质含量由高到低为: 对羟基苯甲酸 > 对香豆酸 > 阿魏酸 > 咖啡酸 > 香草酸 > 原儿茶酸, 这一结果可为蓝莓蜜的鉴定及功能开发提供理论基础。

参考文献

[1] 刘静波, 陈晶晶, 王二雷, 等. 蓝莓果实中花色苷单体的色谱分离纯化[J]. 食品科学, 2017, 38(2): 206-213
LIU Jing-bo, CHEN Jing-jing, WANG Er-lei, et al. Separation

of anthocyanin monomers from blueberry fruits through chromatographic techniques [J]. Food Science, 2017, 38(2): 206-213

[2] 李亚东, 孙海悦, 陈丽. 我国蓝莓产业发展报告[J]. 中国果树, 2016, 5: 1-10

LI Ya-dong, SUN Hai-yue, CHEN Li. Blueberry industry development report in China [J]. China Fruits, 2016, 5: 1-10

[3] Bowtell J L, Aboobakkar Z, Conway M, et al. Enhanced task related brain activation and resting perfusion in healthy older adults after chronic blueberry supplementation [J]. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism, 2017, 42(7): 2016-2550

[4] Su X, Zhang J, Wang H, et al. Phenolic acid profiling, antioxidant, and anti-inflammatory activities, and miRNA regulation in the polyphenols of 16 blueberry samples from China [J]. Molecules, 2017, 22(2): 312

[5] 林黎, 韦小平, 徐祖荫, 等. 中华蜜蜂蓝莓蜜产量研究[J]. 中国蜂业, 2017, 68(7): 38-39

LIN li, WEI Xiao-ping, XU Zu-yin, et al. Research on yield of blueberry honey by *Apis cerana* [J]. Apiculture of China, 2017, 68(7): 38-39

[6] 赵立夫, 徐云友, 董蕊, 等. 单花蜜的化学成分研究进展[J]. 食品科学, 2013, 34(7): 330-334

ZHAO Li-fu, XU Yun-you, DONG Rui, et al. Research progress of chemical components in monofloral honey [J]. Food Science, 2013, 34(7): 330-334

[7] 岳锦萍, 徐雨欣, 范佳慧, 等. 蜂蜜的主要成分及其鉴别技术[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(19): 118-125

YUE Jin-ping, XU Yu-xin, FAN Jia-hui, et al. Main

- components of honey and its identification technology [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2018, 9(19): 118-125
- [8] Roshan A R A, Gad H A, El-Ahmady S H, et al. Characterization and discrimination of the floral origin of sidr honey by physicochemical data combined with multivariate analysis [J]. Food Analytical Methods, 2017, 10(1): 137-146
- [9] 郝彬秀,应剑,刘婷,等.蜂蜜活性和功效的研究进展[J].食品研究与开发,2015,36(01):148-152
- HAO Bin-xiu, YING Jian, LIU Ting, et al. Research progress of honey bioactivities and functions [J]. Food Research and Development, 2015, 36(1): 148-152
- [10] 汪思凡,曹振辉,潘洪彬,等.蜂蜜化学成分及其主要生物学功能研究进展[J].食品研究与开发,2018,1:176-181
- WANG Si-fan, CAO Zhen-hui, PAN Hong-bin, et al. Research progress on chemical composition and major biological function of honey [J]. Food Research and Development, 2018, 1: 176-181
- [11] Kek S P, Chin N L, Yusof Y A, et al. Classification of entomological origin of honey based on its physicochemical and antioxidant properties [J]. International Journal of Food Properties, 2017
- [12] SN/T 0852-2012 进出口蜂蜜检验规程[S].
- [13] GH/T 18796-2012 蜂蜜[S].
- [14] GB/T 18932.22-2003 蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖含量的测定方法液相色谱示差折光检测法[S].
- [15] GH/T 1141-2017 蜂蜜及其制品酸度的测定电位滴定法[S].
- [16] GB 5009.5-2016 食品中蛋白质的测定[S].
- [17] Chen L Y, Cheng C W, Liang J Y. Effect of Esterification condensation on the Folin-ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols [J]. Food Chemistry, 2015, 170(12): 10-15
- [18] 罗仕琼.蜂蜜的体外抗氧化研究[D].广州:暨南大学,2017
- LUO Shi-qiong. Study on antioxidant activity of honey *in vitro* [D]. Guangzhou:Jinan University, 2017
- [19] Davidson, Aharon, Rubin, et al. Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoneys [J]. Food Chemistry, 2009, 113(2): 568-574
- [20] Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts [J]. Journal of Food Composition & Analysis, 2012, 19(6): 669-675
- [21] 穆雪峰,孙丽萍,徐响,等.枣花蜜中抗氧化成分提取工艺优化[J].食品科学,2011,32(16):98-102
- MU Xue-feng, SUN Li-ping, XU Xiang, et al. Optimization of purification process for DPPH free radical scavenging components from acidic aqueous extract from Chinese date honey by macroporous resin adsorption [J]. Food Science, 2011, 32(16): 98-102
- [22] Meda A, Lamien C E, Millogo J, et al. Physicochemical analyses of Burkina Fasan honey [J]. Acta Veterinaria Brno, 2005, 74(1): 147-152
- [23] Graciela ODR, Betzabé SDF, Ferrer A, et al. Characterization of honey produced in Venezuela [J]. Food Chemistry, 2004, 84(4): 499-502
- [24] Singh N, Bath PK. Quality evaluation of different types of Indian honey [J]. Food Chemistry, 1997, 58(1-2): 129-133
- [25] Costa LSM, Albuquerque MLS, Trugo LC, et al. Determination of non-volatile compounds of different botanical origin Brazilian honeys [J]. Food Chemistry, 1999, 65(3): 347-352
- [26] 叶雪珠,杨桂玲,袁玉伟,等.我国与欧盟蜂蜜标准比较分析[J].中国蜂业,2010,61(3):7-10
- YE Xue-zhu, YANG Gui-ling, YUAN Yu-wei, et al. Comparative analysis of honey standards between China and EU [J]. Apiculture of China, 2010, 61(3): 7-10
- [27] 赵亚周,田文礼,国占宝,等.蜂蜜结晶的影响因素及评价指标[J].中国农业科技导报,2010,12(3):50-55
- ZHAO Ya-zhou, TIAN W, Z Guo, et al. Influencing factor and evaluation criterion of honey crystalliation [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2010, 12(3): 50-55
- [28] Alqarni A S, Owayss A A, Mahmoud A A, et al. Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia [J]. Journal of Saudi Chemical Society, 2014, 18(5): 618-625
- [29] Tosi E, Ciappini M, Re E, et al. Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content [J]. Food Chemistry, 2002, 77(1): 71-74
- [30] 余林生,贺锋,葛倩,等.温度对蜂蜜淀粉酶值和羟甲基糠醛相关指标的影响[J].中国蜂业,2009,60(9):41-43
- YU Lin-sheng, HE Feng, GE Qian, et al. Effect of temperature on amylase value and HMF of honey [J]. Apiculture of China, 2009, 60(9): 41-43

(下转第287页)