

单花蜂蜜多酚类物质的抗氧化活性

董蕊, 丛海迪, 郑毅男*

(吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118)

摘要: 以5种中国单花原蜜, 不同产地的42个样本通过Amberlite XAD-2吸附树脂得到的多酚提取物为原料, 采用分光光度法, 测定总酚酸和总黄酮含量、还原能力、抗氧化活性(清除DPPH自由基、 O_2^- 能力), 评估蜂蜜多酚类物质抗氧化活性及蜂蜜品种、颜色和地域差异对清除自由基的影响。结果表明: 样本总黄酮含量为 $(9.41 \pm 0.18) \sim (92.76 \pm 0.13) \text{mg/kg}$; 总酚酸含量为 $(9.10 \pm 0.05) \sim (149.57 \pm 0.14) \text{mg/100g}$; 深色枣花蜜抗氧化能力最强, 对DPPH自由基、 O_2^- 清除作用分别为 $EC_{50} = (0.042 \pm 0.014) \text{g/mL}$ 和 $EC_{50} = (0.038 \pm 0.009) \text{g/mL}$ 。提示蜂蜜的多酚类物质影响抗氧化活性, 酚酸、黄酮含量与抗氧化能力呈现正相关关系; 色深原蜜的酚酸、黄酮含量高于色浅原蜜, 抗氧化能力也强于浅色原蜜。

关键词: 单花蜂蜜; 多酚类物质; 抗氧化活性; 颜色; 地域

Antioxidant Activities of Phenolic Compounds in Unifloral Honey

DONG Rui, CONG Hai-di, ZHENG Yi-nan*

(College of Traditional Chinese Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: A total of 42 samples were collected from honey samples of 5 different unifloral origins (each unifloral origin consisted of different geographic origins in China). Phenolic extract was obtained from these selected samples using Amberlite XAD-2 absorption resin. The contents of total phenolic acids and total flavonoids were spectrometrically determined, and reducing power and the scavenging activity against DPPH and superoxide anion free radicals were tested to evaluate the effects of floral origin, sample color and geographic origin on the antioxidant activity of honey. Total flavonoids content ranged from (9.41 ± 0.18) to $(92.76 \pm 0.13) \text{mg/kg}$ as determined using quercetin as the reference standard. The content of phenolic compounds ranged from (9.10 ± 0.05) to $(149.57 \pm 0.14) \text{mg/100 g}$ as determined using protocatechuic acid as the reference standard. Dark honey had the highest scavenging activity on DPPH and superoxide anion free radicals with EC_{50} of $(0.042 \pm 0.014) \text{g/mL}$ and $(0.038 \pm 0.009) \text{g/mL}$, respectively. Conclusion: phenolic extracts from honey samples have impact on their antioxidant activity. The antioxidant potential is positively correlated with the contents of phenolic or flavonoid compounds. Dark honey has higher contents of phenolic and flavonoid compounds as well as stronger antioxidant potential than other light honey.

Key words: unifloral honey; phenolic extract; antioxidant activity; color; geographic regions

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)11-0094-05

蜂蜜是由蜜蜂从植物花蜜或从植物活体分泌物或植物活体上吸收植物的昆虫分泌物而生产的, 通过蜜蜂采集, 与其自身特殊物质结合而转化、存放、脱水、于蜂巢中贮存并留待成熟后的天然甜物质。按照GB 18796—2005《蜂蜜》国家新标准的定义: 单一花种蜂蜜是指蜂蜜主要采集一种蜜源植物的花蜜或分泌物酿造的蜂蜜^[1]。长期以来, 在世界各地, 蜂蜜一直被作为食品的甜味剂或防腐剂使用^[2]; 蜂蜜还被用于民间医药, 治疗各种疾病, 如: 调节胃肠功能紊乱、哮喘、促进烫伤和烧

伤组织愈合、抵抗病原微生物等疾病^[3]。最近, 当人们越来越关注抗氧化性功能食品时, 又证实蜂蜜在与不稳定的氧分子(即自由基)的破坏斗争中扮演着保护人类健康的重要角色, 蜂蜜具有抗氧化的作用, 可有效的减少心脏疾病、癌症、白内障、免疫系统能力降低和不同的炎症等疾病风险^[2,4]。这主要是由于蜂蜜成分中除了含有多种糖(主要是果糖和葡萄糖), 还含有丰富的抗氧化物质, 包括酶类^[5](过氧化氢酶、过氧化物酶)和非酶类(有机酸、氨基酸、蛋白质、抗坏血酸、生育酚、

收稿日期: 2011-03-16

作者简介: 董蕊(1975—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为天然产物化学与新药开发。E-mail: drjlau@126.com

* 通信作者: 郑毅男(1945—), 男, 教授, 博士, 研究方向为天然产物化学与新药开发。E-mail: zhenyinan@tom.com

类胡萝卜素、梅拉德反应产物)等物质,还有多种多酚类化合物^[6]。Ferreira 等^[7]学者研究:蜂蜜中这些多酚类成分,起到主要抗氧化作用。包括:酚酸和类黄酮两类。其中,苯甲酸和肉桂酸及其酯是蜂蜜中最常见的两种酚酸类化合物;类黄酮类化合物主要是以配基和糖苷形式存在,如:黄酮醇、黄烷酮和二氢黄酮。同时,这些多酚类成分还是区分蜂蜜植物起源的可能性标记^[8]。就是说,由于单一花蜜的蜜源植物不同,其含有的多酚类成分种类和含量也有所差别。此外,蜂蜜的颜色、气味和滋味的不同,都与酚类成分有关^[6]。因此,检测不同蜂蜜中多酚类成分差异进行蜂蜜鉴别和质量评价^[9],是蜂蜜现代研究的一个方向。

中国是世界养蜂大国之一,蜂蜜品种和数量繁多,分布广泛,但对蜂蜜生物活性研究较少^[10-12],尤其是蜂蜜颜色和地理区域差异的研究尚未见报道。本研究将以5种不同产地42个未加工的单一花种原蜜的多酚类成分进行测定,研究不同花源,甚至同种花源而地域不同的蜂蜜多酚类物质对抗氧化作用;蜂蜜颜色(深色或浅色)不同,对抗氧化活性的影响,从而更好地判断中国蜂蜜质量差异,为今后研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黄连蜜,毛茛科植物黄连(*Coptis chinensis* Franch),三角叶黄连(*Coptis deltoidea* C.Y.Chenget Hsiao)(H1~H4);椴树蜜,椴树科紫椴(*Tilia amurensis*)和糠椴(*Tilia mandschurica*)(H5~H15);苕子蜜,豆科广布野豌豆(*Vicia cracca* L.)和长绒毛野豌豆(*Vicia villosa roth* L.)(H16~H25);刺槐蜜,豆科刺槐(*Robinia pseudoacacia* L.)(H26~H37);枣花蜜,鼠李科枣(*Ziziphus jujuba* Mill.var. *inermis* (Bunge)Rehd.)(H38~H42),42个样本均由养蜂人于2009—2010年收集,汪氏蜜蜂园提供,未经任何加工处理的原蜜,避光条件下,贮存在0~4℃。

α -生育酚、抗坏血酸、槲皮素、原儿茶酸(以上标准品纯度均 $\geq 99.8\%$)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、Amberlite XAD-2吸附树脂 美国Sigma公司;钨酸钠、钼酸钠、三氯乙酸(TCA)等(均为分析纯) 天津生化试剂厂。

1.2 仪器与设备

UV2450 紫外-可见分光光度计 日本岛津公司;UPWS 超纯水器 杭州永洁达净化科技有限公司;BP211D 电子分析天平 德国Sartorius公司。

1.3 方法

1.3.1 总黄酮含量测定

多酚类物质提取参考 Aljadi 等^[6]方法:分别称 100g

蜂蜜,100mL 蒸馏水稀释,转入已装好 Amberlite XAD-2 吸附树脂层析柱(25cm $\times$ 2cm)中,800mL 纯净水洗脱除去糖等极性化合物,再用 800mL 甲醇洗脱至无色,40℃ 旋转真空浓缩,甲醇定容至 10mL,待用。总黄酮含量测定采用 NaNO_2 - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 比色法^[13]:吸取 1mg/mL 供试品 2.5mL 至 25mL 容量瓶,加入 5g/100mL NaNO_2 ,混匀,静置 6min,加 1g/mL $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$,放置 6min,加入 10g/mL NaOH ,加水至刻度,静置 15min,波长 510nm 处测定吸光度。槲皮素(纯度 $\geq 99.8\%$)作标准品,绘制标准曲线,建立回归方程: $Y = 10.414X + 0.0031$ ($R^2 = 0.9996$)。蜂蜜样品总黄酮含量(mg/kg)在标准曲线中对应相应值。

1.3.2 总酚酸含量测定

采用 Folin-Ciocalteu 法^[14],移取 3mL 不同质量浓度样品,加入 1mL Folin-Ciocalteu 显色剂,5mL 1mol/L 碳酸钠,蒸馏水定容至 10mL,避光 1h,760nm 波长处测吸光度。标准品原儿茶酸配成 0.1mg/mL 的标准溶液,分别移取 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2mL 按照上述方法测定吸光度,制定标准曲线,得回归方程: $Y = 141.23X + 0.0677$ ($R^2 = 0.9965$)。样品总酚酸含量(mg/100g)在标准曲线中对应值。

1.3.3 还原力测定

以水作空白,抗坏血酸、 α -生育酚(用 95% 乙醇配制)为阳性对照,参照 Oyaizu 等^[15]方法:10mL 试管中分别加入不同质量浓度(0、0.025、0.05、0.075、0.10g/mL)各样品 1mL,磷酸盐缓冲溶液(0.2mol/L, pH6.6) 2.5mL 和 2.5g/L 铁氰化钾,50℃ 水浴反应 20min,10g/mL 三氯乙酸溶液 5mL,摇匀。吸取上清液 2.5mL,2.5mL 蒸馏水、2.5mL 三氯化铁溶液 0.5g/mL,混匀,700nm 波长处测定吸光度。吸光度越大,样品还原能力越强。

1.3.4 DPPH 自由基清除作用

参考 Larrauri 等^[16]方法:吸取 0.1mL 不同质量浓度样品,加 0.5mL 0.025mg/mL DPPH 甲醇溶液,甲醇定容至 5mL,避光 1h,于 517nm 波长处测定吸光度(样品组);未加入样品的 DPPH 甲醇溶液为空白组。抗坏血酸、 α -生育酚为阳性对照。样品对 DPPH 自由基清除率用式(1)计算,然后计算 EC_{50} 。

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_{\text{样}}}{A_0}\right) \times 100 \quad (1)$$

式中: $A_{\text{样}}$ 为样品管吸光度; A_0 为空白管吸光度。

1.3.5 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 清除作用

采用邻苯三酚自氧化法测定^[17]。取 pH8.2 的 100mol/L Tris-HCl 缓冲液 2mL,加入各质量浓度样品,加入 0.3mL

5×10^{-3} mol/L 邻苯三酚溶液至 10 mL, 3 min 后, 于 325 nm 波长处每隔 30 s 测一次吸光度(不加样为自氧化反应), 绘制吸光度 - 时间曲线, 曲线斜率即为自氧化速率。观察不同质量浓度样品对邻苯三酚自氧化速度的抑制作用。抑制率计算公式如式(2)所示, 然后计算 EC_{50} 。

$$O_2^{\cdot -} \text{抑制率} / \% = \frac{A_0 - A_{\text{样}}}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

式中: A_0 为空白管吸光度; $A_{\text{样}}$ 为样品管吸光度。

1.3.6 统计学分析

所有的实验均重复 3 次, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 。用 SPSS 软件里 Duncan's multiple range test 进行每种蜂蜜样本间总酚酸含量和抑制 DPPH 自由基和 $O_2^{\cdot -}$ 的 EC_{50} 值的差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 总黄酮、总酚酸测定结果

由表 1 可知, 提取物总黄酮含量从 (9.54 ± 0.02) mg/kg

表 1 42 个蜂蜜总酚酸、黄酮含量和抗氧化活性 EC_{50} 值

Table 1 Total contents of phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activities of 42 unifloral honey samples

	样本名称	产地	色泽	总酚酸含量/(mg/100g)	总黄酮含量/(mg/kg)	DPPH 自由基 EC ₅₀ /(g/mL)	O ₂ ⁻ • EC ₅₀ /(g/mL)
黄连	H1	吉林临江	黄色	138.46 ± 0.34 ^a	56.73 ± 0.13	0.052 ± 0.014 ^a	0.064 ± 0.007 ^{bc}
	H2	四川 1 号	微黄色	112.41 ± 0.09 ^b	61.39 ± 0.11	0.053 ± 0.012 ^a	0.057 ± 0.003 ^a
	H3	四川 2 号	微黄色	131.93 ± 0.02 ^a	58.21 ± 0.07	0.049 ± 0.010 ^b	0.067 ± 0.001 ^b
	H4	山西忻州	微黄色	128.91 ± 0.11 ^a	51.83 ± 0.15	0.062 ± 0.004 ^a	0.057 ± 0.002 ^a
	H5	吉林 2 号	浅琥珀	106.17 ± 0.23 ^a	23.05 ± 0.05	0.062 ± 0.014 ^a	0.058 ± 0.001 ^b
	H6	吉林延边	特浅琥珀	97.32 ± 0.17 ^{ab}	26.59 ± 0.03	0.059 ± 0.012 ^a	0.078 ± 0.002 ^c
	H7	吉林桦甸 2 号	浅琥珀	91.08 ± 0.06 ^{bc}	30.32 ± 0.06	0.054 ± 0.010 ^b	0.070 ± 0.003 ^c
	H8	吉林延边	浅琥珀	120.39 ± 0.11 ^a	26.84 ± 0.01	0.057 ± 0.016 ^b	0.048 ± 0.001 ^a
	H9	小兴安岭	浅琥珀	107.77 ± 0.02 ^a	30.92 ± 0.15	0.053 ± 0.017 ^b	0.049 ± 0.009 ^a
椴树	H10	大兴安岭 1 号	特浅琥珀	99.53 ± 0.09 ^b	29.65 ± 0.17	0.053 ± 0.018 ^b	0.055 ± 0.001 ^a
	H11	吉林抚松	浅琥珀	116.51 ± 0.04 ^a	23.04 ± 0.05	0.062 ± 0.001 ^a	0.064 ± 0.007 ^b
	H12	大兴安岭 2 号	特浅琥珀	98.94 ± 0.01 ^b	29.28 ± 0.12	0.058 ± 0.002 ^a	0.041 ± 0.002 ^a
	H13	吉林敦化	琥珀	107.72 ± 0.05 ^a	30.23 ± 0.04	0.049 ± 0.023 ^c	0.073 ± 0.006 ^c
	H14	吉林临江	琥珀	91.89 ± 0.01 ^{bc}	21.52 ± 0.07	0.056 ± 0.019 ^b	0.054 ± 0.003 ^a
	H15	吉林舒兰	浅琥珀	108.95 ± 0.10 ^a	29.75 ± 0.14	0.048 ± 0.021 ^c	0.042 ± 0.001 ^a
	H16	陕北	浅琥珀	19.82 ± 0.07 ^b	11.89 ± 0.08	0.092 ± 0.009 ^a	0.072 ± 0.003 ^b
	H17	陕西	浅琥珀	20.34 ± 0.03 ^a	13.02 ± 0.07	0.087 ± 0.018 ^b	0.081 ± 0.001 ^c
	H18	吉林桦甸	浅琥珀	20.53 ± 0.02 ^a	16.45 ± 0.11	0.109 ± 0.017 ^a	0.088 ± 0.002 ^c
苕子	H19	云贵高原	浅琥珀	24.32 ± 0.19 ^a	9.54 ± 0.02	0.086 ± 0.023 ^b	0.071 ± 0.010 ^b
	H20	黑龙江	浅琥珀	17.36 ± 0.07 ^c	12.46 ± 0.08	0.088 ± 0.026 ^b	0.078 ± 0.003 ^b
	H21	河南 1 号	特浅琥珀	18.14 ± 0.31 ^c	10.64 ± 0.02	0.103 ± 0.007 ^a	0.074 ± 0.009 ^b
	H22	河南 2 号	浅琥珀	18.31 ± 0.29 ^c	10.99 ± 0.01	0.098 ± 0.009 ^a	0.094 ± 0.008 ^d
	H23	河南 3 号	浅琥珀	19.01 ± 0.14 ^b	10.42 ± 0.03	0.087 ± 0.001 ^b	0.084 ± 0.002 ^c
	H24	浙江 1 号	特浅琥珀	16.09 ± 0.26 ^c	9.59 ± 0.11	0.109 ± 0.013 ^a	0.088 ± 0.003 ^c
	H25	浙江 2 号	浅琥珀	21.87 ± 0.01 ^a	13.48 ± 0.10	0.086 ± 0.009 ^b	0.076 ± 0.007 ^b
	H26	安徽	水白	10.62 ± 0.16 ^b	9.63 ± 0.07	0.110 ± 0.001 ^a	0.062 ± 0.004 ^a
	H27	河南宝丰	水白	9.32 ± 0.07 ^c	12.95 ± 0.08	0.096 ± 0.002 ^a	0.072 ± 0.002 ^b
刺槐	H28	河南许昌	水白	10.18 ± 0.03 ^b	9.85 ± 0.03	0.109 ± 0.003 ^a	0.074 ± 0.006 ^b
	H29	沈阳	水白	13.18 ± 0.12 ^a	12.71 ± 0.02	0.101 ± 0.006 ^a	0.071 ± 0.001 ^b
	H30	江西 1 号	水白	11.82 ± 0.31 ^{ab}	11.20 ± 0.01	0.106 ± 0.008 ^a	0.082 ± 0.005 ^c
	H31	江西 2 号	水白	15.53 ± 0.04 ^a	14.09 ± 0.05	0.108 ± 0.004 ^a	0.066 ± 0.009 ^a
	H32	陕西南部	白色	9.17 ± 0.26 ^c	13.32 ± 0.09	0.091 ± 0.007 ^b	0.068 ± 0.003 ^a
	H33	南京	白色	13.30 ± 0.02 ^a	12.02 ± 0.04	0.098 ± 0.001 ^a	0.072 ± 0.001 ^b
	H34	河北	白色	13.77 ± 0.05 ^a	14.18 ± 0.07	0.102 ± 0.005 ^a	0.064 ± 0.005 ^a
	H35	吉林 1 号	白色	10.15 ± 0.22 ^b	10.99 ± 0.01	0.098 ± 0.009 ^a	0.077 ± 0.007 ^b
	H36	吉林左家	白色	10.80 ± 0.32 ^b	13.73 ± 0.08	0.108 ± 0.003 ^a	0.068 ± 0.001 ^a
枣花	H37	陕北延安	水白色	9.10 ± 0.05 ^c	9.75 ± 0.04	0.094 ± 0.001 ^b	0.069 ± 0.006 ^a
	H38	新疆和田 1 号	深琥珀	134.52 ± 0.26 ^a	88.02 ± 0.18	0.045 ± 0.001 ^a	0.068 ± 0.004 ^c
	H39	新疆和田 2 号	深琥珀	147.11 ± 0.07 ^a	92.76 ± 0.13	0.042 ± 0.014 ^a	0.054 ± 0.007 ^b
	H40	新疆和田 3 号	深色有光泽	138.95 ± 0.04 ^a	83.51 ± 0.07	0.044 ± 0.019 ^a	0.042 ± 0.005 ^a
	H41	山东 1 号	深色	141.91 ± 0.23 ^a	81.37 ± 0.04	0.052 ± 0.005 ^a	0.038 ± 0.009 ^a
	H42	山东 2 号	深琥珀	134.04 ± 0.15 ^a	73.65 ± 0.08	0.051 ± 0.017 ^a	0.048 ± 0.004 ^a
	抗坏血酸					(0.023 ± 0.008) × 10 ⁻³	(0.025 ± 0.008) × 10 ⁻³
	α - 生育酚					(0.049 ± 0.012) × 10 ⁻³	(0.014 ± 0.011) × 10 ⁻³

注: 色泽描述以 SN/T 0852—2000《进出口蜂蜜检验方法》规定为准; 同列字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

到(92.76 ± 0.13)mg/kg, 颜色最深的新疆和田(2号)枣花蜜总黄酮含量最高, 颜色最浅的云贵高原苕子蜜总黄酮含量最低; 同一品种单花蜜由于地域、颜色差异, 总黄酮含量也有差异, 如: 12个刺槐蜜, 颜色由水白色到白色, 黄酮含量从(9.63 ± 0.07)mg/kg到(14.18 ± 0.07)mg/kg, 相差近两倍; 而相同地域的同种单花蜜, 颜色和总黄酮含量差异不明显。5种蜂蜜平均总黄酮含量大小次序为: 枣花蜜>黄连蜜>椴树蜜>刺槐蜜>苕子蜜。蜂蜜总酚酸含量从(9.10 ± 0.05)mg/100g到(147.11 ± 0.07)mg/100g之间。颜色最深的新疆和田2号枣花蜜总酚酸含量最高, 颜色浅的陕北延安刺槐蜜中的含量最低; 同一品种不同地域的蜂蜜总酚酸含量也有很大差异。实验测得: 同为浅琥珀色, 云贵高原和浙江1号苕子蜜总酚酸含量有一定差异, 分别为(24.32 ± 0.19)mg/100g和(16.09 ± 0.26)mg/100g; 而同一产地, 河南苕子蜜(H21、H22、H23)总酚酸含量相近, 分别为(18.14 ± 0.31)、(18.31 ± 0.29)mg/100g和(19.01 ± 0.14)mg/100g, 说明同一品种蜂蜜总酚酸含量因地域不同而有区别, 但同一产地总酚酸含量相近。5种蜂蜜中平均总酚酸含量大小次序为: 枣花蜜>黄连蜜>椴树蜜>苕子蜜>刺槐蜜。

2.2 还原能力测定结果

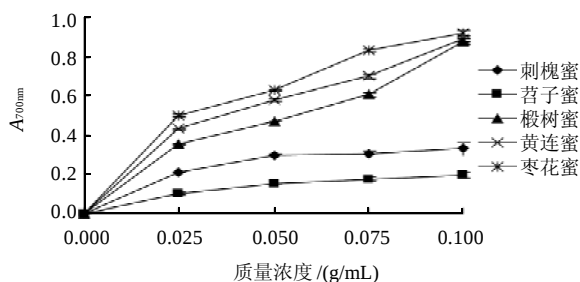


图1 不同质量浓度蜂蜜的还原力

Fig.1 Reducing power of 5 kinds of honey samples with various concentrations

对样品还原能力测定, 可检验其是否为一良好电子供应者。还原能力与抗氧化活性氧自由基之间有显著相关性, 还原能力高低可以间接反映抗氧化能力强弱^[18]。由图1可知, 随着加入蜂蜜样品质量浓度增大, 还原能力逐渐增强, 但5种蜂蜜(色深和色浅)还原能力存在一定差异, 总酚酸含量高的枣花蜜和黄连蜜, 还原力较强。

由图2可知, 当蜂蜜的质量浓度为0.1g/mL时, 还原力最强的是新疆和田2号(深琥珀色)和山东2号枣花蜜(深色), 吸光度分别为 0.984 ± 0.018 和 0.935 ± 0.002 , 而总酚酸含量最低的浙江1号苕子蜜(特浅琥珀色)吸光度仅为 0.091 ± 0.016 。江西产的刺槐蜜H30和H31, 河南的苕子蜜H21、H22和H23, 吉林省大兴安岭的椴树蜜H10和H12, 四川的黄连蜜H6和H8, 新疆和田的枣花蜜H38、H39和H40, 作为同种蜂蜜, 由于地域相同,

颜色相近, 还原能力也相近。5种蜂蜜还原力: 枣花蜜>黄连蜜>椴树蜜>刺槐蜜>苕子蜜, 表明深色蜂蜜多酚提取物比浅色蜂蜜具有更高的还原能力, 总黄酮、总酚酸含量高的蜂蜜样本其还原能力也相对较高。

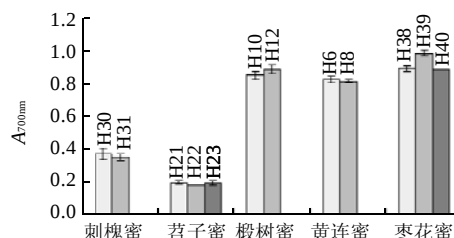


图2 质量浓度0.1g/mL蜂蜜的还原力

Fig.2 Reducing power of honey samples from the same unifloral origin and from the same origin

2.3 对DPPH自由基的清除作用

5种单花蜂蜜酚类提取物对DPPH自由基均有不同程度的抑制作用, 呈现量效关系, 即随着反应体系中蜂蜜量的增加, 对DPPH自由基的抑制作用也相应增加。由表1可知, 总酚酸含量最高、深琥珀色的新疆和田2号H38和山东1号H41枣花蜜有较高清除率, EC_{50} 值分别为(0.042 ± 0.014)、(0.052 ± 0.005)g/mL; 同一品种蜂蜜地域不同, 抗氧化能力也有差异, 如: 四川2号H3和山西忻州H4的黄连蜜, 总黄酮含量分别为(58.21 ± 0.07)、(51.83 ± 0.15)mg/kg, 对DPPH自由基清除能力 EC_{50} 值分别为(0.049 ± 0.010)g/mL和(0.062 ± 0.004)g/mL, 清除自由基作用有一定差异; 同一品种蜂蜜地域相同, 蜂蜜颜色相近: 四川黄连蜜H2、H3均为微黄色; 河南的苕子蜜H21、H22、H23, 浅琥珀色; 大兴安岭的椴树蜜H10、H12, 特浅琥珀色, 对DPPH自由基清除差异不明显。由图3可知, 5种蜂蜜对DPPH自由基清除能力: 枣花蜜>黄连蜜>椴树蜜>苕子蜜>刺槐蜜。说明颜色深的枣花和黄连蜜总酚酸、总黄酮含量很高, 对DPPH自由基的抑制作用高于其他蜂蜜。

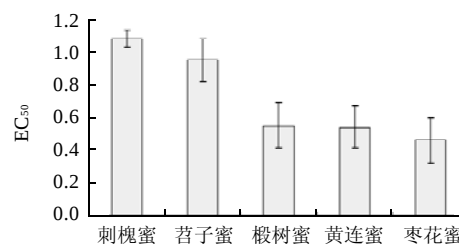


图3 5种蜂蜜对DPPH自由基的清除作用

Fig.3 Scavenging activities of 5 kinds of honey samples on DPPH free radicals

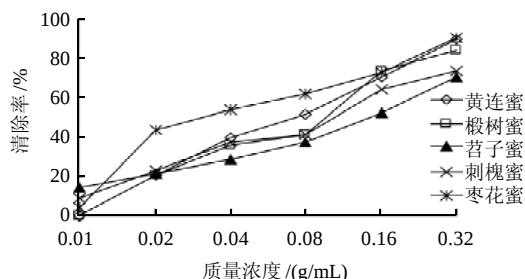
2.4 对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除作用图4 不同蜂蜜对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除作用

Fig.4 Scavenging effect of different samples

由图4可知,5种蜂蜜对 $O_2^{\cdot-}$ 均有较强清除能力,随着蜂蜜加入质量浓度增大,对 $O_2^{\cdot-}$ 清除作用也增强。5种蜂蜜在一定质量浓度范围内对 $O_2^{\cdot-}$ 清除作用呈现较好量效关系,平均清除能力:枣花蜜>黄连蜜>椴树蜜>刺槐蜜>苕子蜜。同时,椴树蜜对 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力接近酚酸和黄酮含量均高,颜色较深的黄连蜜,可能与其化学结构中含有多酚的种类不同有关,通过检测蜂蜜对 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力,可以进一步验证蜂蜜花源不同,生物活性有很大差异。

3 讨论

实验明确了蜂蜜的多酚类成分对抗氧化活性有很大影响,蜂蜜总酚酸、总黄酮含量和还原能力与体外抗氧化能力呈现积极正相关关系,其总酚酸含量与清除DPPH自由基和 $O_2^{\cdot-}$ 的相关系数分别为 $r = 0.95479$ 和 $r = 0.71773$;还原能力与清除DPPH自由基和 $O_2^{\cdot-}$ 的相关系数分别为 $r = 0.92532$ 和 $r = 0.75893$ 。同时,颜色最深,总酚酸和总黄酮含量最高的枣花蜜和黄连蜜,抗氧化能力也强于浅色蜂蜜;颜色浅,总酚酸含量低的苕子蜜,还原力和抗氧化能力也最差。说明蜂蜜的颜色不同、花源不同,甚至同种花源而地域不同对抗氧化能力有明显影响,但是,地域相同的同种花源的蜂蜜抗氧化活性差异较小,可为今后评价蜂蜜质量提供一些参考数据。

总的来看,蜂蜜作为健康营养物质,展示了从深色蜂蜜中提取的多酚类物质的抗氧化活性(主要表现在他们的还原能力和对自由基的清除作用)好与浅色蜂蜜。实验证明,蜂蜜的质量取决于它们的化学成分和植物来源,而蜂蜜中多酚类物质的含量受到植物来源、地理来源等的影响,因而鉴定和量化蜂蜜中的多酚类物质意义重大。此外,蜂蜜中的多酚类物质(如类黄酮和酚酸等)具有很强的抗氧化活性,这一特性对人类的健康有益,所以研究蜂蜜的多酚类物质是很有必要的。

参考文献:

- [1] 国家质量监督检验检疫总局. GB 18796—2005《蜂蜜》国家强制性标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [2] The National Honey Board. Honey-Health and therapeutic qualities[R]. Lashley Street, Longmont, 2003.
- [3] 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(2): 256-262.
- [4] GHELDOLF N, WANG Xiaohong, ENGETH N J. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(21): 5870-5877.
- [5] BERETTA G, GRANATA P, FERRERO M, et al. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics[J]. Analytica Chimica Acta, 2005, 533(2): 185-191.
- [6] ALJADI A M, KAMARUDDIN M Y. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys [J]. Food Chem, 2004, 85(4): 513-518.
- [7] FERREIRA I, AIRES E, BARREIRA J, et al. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract[J]. Food Chem, 2009, 114(4): 1438-1443.
- [8] AL-MAMARY M, AL-MEERI M, AL-HABORI M. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey[J]. Nutrition Research, 2002, 22(9): 1041-1047.
- [9] BALTRUSAITYTE V, VENSKUTONIS P R, CESKTERYT V. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts[J]. Food Chem, 2007, 101(5): 502-514.
- [10] 曹炜, 卢珂, 陈卫军. 不同种类蜂蜜抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 352-356.
- [11] 曹炜, 陈卫军, 宋纪蓉. 不同种类蜂蜜总酚酸含量测定和抗氧化作用的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(1): 48-51.
- [12] 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.
- [13] BLSDS M, CANDIRACCI M, ACCORSI A, et al. Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants[J]. Food Chem, 2006, 97(2): 217-222.
- [14] SINGLETON V L, ORTHOFER R, LAMUELA-RAVENTOS R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent[J]. Methods in Enzymology, 1999, 299(2):152-178.
- [15] OYAIZU M. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine [J]. Japanese Journal of Nutrition, 1986, 44: 307-315.
- [16] LARRAURI J A, SANCHEZ-MORENO C, SAURA-CALIXTO F. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels[J]. J Agric Food Chem, 1998, 46 (7): 2694-2697.
- [17] 汪成东, 卫煜英, 袁培林, 等. 海狗油脂脂肪酸的气相色谱 - 质谱分析 [J]. 分析化学, 2002, 30(5): 634.
- [18] BERTONCELJ J, DOBERSEK U, JAMNIK M, et al. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey[J]. Food Chem, 2007, 105(2): 822-828.