

神农架林区中蜂蜜理化指标及抗氧化活性分析

蔡雨娇^{1,2,3,4}, 孙丽萍^{1,2,3,4,*}, 张雪琦^{1,2,3,4,5}

(1. 中国农业科学院 蜜蜂研究所, 北京 100093; 2. 农业农村部蜂产品质量安全控制重点实验室, 北京 100093; 3. 农业农村部蜂产品质量安全风险评估实验室, 北京 100093; 4. 农业农村部蜂产品质量监督检验测试中心, 北京 100093; 5. 海南大学 环境与植物保护学院, 海南海口 570100)

摘要: 该研究以湖北神农架林区 5 个中蜂蜜样品为研究对象, 对其理化指标和总酚酸、总黄酮含量进行测定, 采用 DPPH· 和 ABTS⁺ 自由基清除试验测定其抗氧化活性。试验结果表明, 神农架林区 5 个中蜂蜜样品理化指标均符合 GH/T 18796-2012《蜂蜜》, 总黄酮含量为 (9.95±0.04) mg/100 g~(13.66±0.04) mg/100 g; 总酚酸含量为 (20.69±0.03) mg/100 g~(31.71±0.07) mg/100 g; 5 个中蜂蜜样品均具有 DPPH· 和 ABTS⁺ 自由基清除能力, IC₅₀ 值分别在 (39.14±0.16) mg/mL~(106.63±0.38) mg/mL 和 (48.48±0.22) mg/mL~(127.07±1.41) mg/mL 之间。其中总酚酸含量与清除 DPPH· 和 ABTS⁺ 自由基能力存在显著正相关, 其相关系数分别为 0.973、0.920。该研究首次报道了神农架林区中蜂蜜的理化性质及其抗氧化活性, 为神农架林区中蜂蜜的开发利用提供了理论依据。

关键词: 中蜂蜜; 总酚酸; 总黄酮; 自由基清除能力; 抗氧化能力

Analysis of Physicochemical Characterization and Antioxidant Activity of Honey Produced by *Apis cerana* in Shennongjia Forestry District

CAI Yu-jiao^{1,2,3,4}, SUN Li-ping^{1,2,3,4,*}, ZHANG Xue-qi^{1,2,3,4,5}

(1. Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093, China; 2. Key Laboratory of Bee Products for Quality and Safety Control, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100093, China; 3. Laboratory of Risk Assessment for Quality and Safety of Bee Products, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100093, China; 4. Bee Products Quality Supervision and Testing Center, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100093, China; 5. College of Environment and Plant Protection, Hainan University, Haikou 570100, Hainan, China)

Abstract: Five honey varieties from Shennongjia forestry district in Hubei were assessed including physical and chemical indicators, contents of total phenolics and total flavonoid. Their antioxidant activities were determined by DPPH· and ABTS⁺ free radical scavenging experiments. The results showed that the physical and chemical indicators of five honey varieties from Shennongjia forestry district were conformed with honey <GH/T 18796-2012>. The contents of total flavonoids ranged from (9.95±0.04) mg/100 g to (13.66±0.04) mg/100 g. The contents of total phenolic acids ranged from (20.69±0.03) mg/100 g to (31.71±0.07) mg/100 g. The five honey varieties were identified DPPH· and ABTS⁺ free radical scavenging capacity with IC₅₀ of (39.14±0.16) mg/mL to (106.63±0.38) and (48.48±0.22) mg/mL to (127.07±1.41) mg/mL. The total phenolics content was positively correlated with DPPH· and ABTS⁺ free radical scavenging ability, and the correlation coefficients was 0.973 and 0.920, respectively. It was reported the physical and chemical indicators and antioxidant activities of honey in Shennongjia forestry district for the first time in this study, which provided a theoretical basis for the

基金项目: 国家蜂产业技术体系(CARS-45-KXJ10); 国家特色农产品风险评估专项(GJFP2019010); 中国农业科学院创新工程项目(CAAS-ASTIP-2019-IAR)

作者简介: 蔡雨娇(1994—), 女(汉), 硕士, 研究方向: 蜂产品化学和功效。

* 通信作者: 孙丽萍(1963—), 女(汉), 研究员, 硕士, 研究方向: 蜂产品化学和功效。

development and utilization of honey in Shennongjia forestry district.

Key words: *Apis cerana*; total phenolics; flavonoids; free radical scavenging ability; antioxidant capacity

引文格式:

蔡雨娇,孙丽萍,张雪琦. 神农架林区中蜂蜜理化指标及抗氧化活性分析[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(14): 183-187
CAI Yujiao, SUN Liping, ZHANG Xueqi. Analysis of Physicochemical Characterization and Antioxidant Activity of Honey Produced by *Apis cerana* in Shennongjia Forestry District[J]. Food Research and Development, 2020, 41(14): 183-187

蜂蜜是一种天然食品,主要由糖和其他活性成分组成,如酶、氨基酸、有机酸、维生素、矿物质和芳香物质等。它富含酚酸类(如苯甲酸、阿魏酸、肉桂酸)和黄酮类(如山奈酚、短叶松素、白杨素)化合物^[1],具有广泛的生物利用价值,如:抗氧化^[2]、抗炎^[3]、抑菌^[4]、抗病毒^[5]、抗肿瘤^[6]、抗癌^[7]等。中蜂蜜是中华蜜蜂(*Apis cerana*)采集野山花蜜充分酿制而成的蜂蜜,其色泽深、口味独特、香甜味浓,含有多种能被人体直接吸收的微量元素^[8]。古代医学家李时珍在《本草纲目》中记述其对人体健康有益,是药引的首选蜜,堪称“蜜中精品”^[8-9]。

近年来,国内外对意蜂蜂蜜的化学组成及抗氧化活性的研究报道较多,而对中蜂蜂蜜的研究报道相对较少。湖北省是中国养蜂业比较发达、蜂群饲养量较大的省份之一,饲养的蜂种既有意大利蜜蜂,也有中华蜜蜂。而神农架林区是湖北省唯一没有饲养西方蜜蜂的行政区域。关于神农架林区中蜂蜜的研究罕见报道,本试验选择了神农架林区5个区域所产的中蜂蜜为试验材料,对其理化指标以及总酚酸、总黄酮含量和自由基清除能力进行了测定,并对各指标之间的相关性进行了分析,丰富中蜂蜜的研究内容,旨在为神农架林区中蜂蜜的开发利用提供一些理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

试验所用样品为采自神农架林区的5个中蜂蜜,11-1#、11-3#和11-4#采集自红坪镇(分别产自红坪镇高坪村、红坪镇红举村、红坪镇板包村),11-2#采集自松柏镇掌坊村。11-5#采集自宋洛乡,采集后于-20℃保存备用。

芦丁标准品:美国Sigma公司;没食子酸标准品:上海源叶生物科技有限公司;福林酚(Folin-Ciocalteu)试剂:北京索莱宝科技有限公司;96孔细胞培养板:美国Costar公司;甲醇(色谱纯):Fisher公司;无水乙醇、乙酸乙酯(均为分析纯):北京化工厂;结晶氯化铝、过硫酸钾(均为分析纯):西陇化工股份有限公司。

1.2 仪器与设备

Milli-Q超纯水仪:默克密理博公司;BUCHI旋转蒸发仪:瑞士Buchi公司;KQ-500DB数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司;AL204电子分析天平:梅特勒-托利多公司;UV-2550紫外-可见分光光度计:日本岛津公司;Synergy ne02酶标仪:BioTek美国伯腾仪器有限公司;微量移液器:德国Eppendorf公司;LC-20AD高效液相色谱仪:日本岛津公司;WAY-Y18阿贝折光仪:上海精密科学公司。

1.3 方法

1.3.1 理化指标的测定

葡萄糖、果糖含量测定参照《食品安全国家标准食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定》(GB 5009.8-2016):采用HPLC法进行测定,氨基色谱柱:4.6 cm×250 mm,流动相为超纯水:乙腈=3:7,流速为1 mL/min。检测器温度为40℃;进样量为15 μL。

酸度测定参照GH/T1141-2017《蜂蜜及其制品酸度的测定-电位滴定法》,水分测定参照SN/T 0852-2012《中华人民共和国出入境检验检疫行业标准-进出口蜂蜜检验规程》、淀粉酶值测定参照GB/T 18932.16-2003《蜂蜜中淀粉酶值的测定方法-分光光度法》、羟甲基糠醛的检测参照GB/T 18932.18-2003《蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定方法-液相色谱-紫外检测法》。

1.3.2 总酚酸含量的测定

总酚酸含量的检测方法采用Folin-Ciocalteu法^[10],准确称取3g蜂蜜样品,加超纯水超声溶解、混匀,定容至10 mL。8 000 r/min离心后吸取1 mL上清液于5 mL容量瓶中,加超纯水3 mL,Folin-Ciocalteu显色剂0.25 mL,混匀后静置5 min,然后加入20%的Na₂CO₃溶液0.75 mL,超纯水稀释定容混匀后室温下避光静置30 min。取0.1 mL反应液于96孔板中,在波长763 nm处测定吸光度,平行测定3次。以没食子酸(quercetin equivalent, QE)为标准,绘制标准曲线,计算样品中总酚酸的含量。

1.3.3 总黄酮含量的测定

总黄酮含量的检测方法采用三氯化铝比色法^[11]并适当调整。准确称取 10.0 g 蜂蜜样品,加超纯水溶解,超声后定容至 10 mL,混匀 8 000 r/min 离心后量取 3 mL~4 mL 上清液,加 1% AlCl₃ 乙醇溶液 1.0 mL,用 95% 乙醇稀释定容、摇匀,静置 10 min。吸取 0.1 mL 反应液于 96 孔板中,在波长 405 nm 处测定吸光值,平行测定 3 次。以芦丁当量(rutinin equivalent, RE)为标准,绘制标准曲线,计算蜂蜜样品中总黄酮的含量。

1.3.4 DPPH 自由基清除能力测定

DPPH 自由基清除能力测定参照杨佳林等^[12]的方法,经过适当的修改。100 μL 不同浓度的蜂蜜水溶液中加入 100 μL 0.08 mg/mL DPPH 乙醇溶液(现用现配),混合均匀,室温 25 °C 下避光反应 30 min,于 517 nm 波长处测定吸光度,记为 A₁。同时以 100 μL DPPH 溶液与 100 μL 乙醇溶液混合后的吸光度作为样品空白对照,记为 A₂,以 100 μL 乙醇与 100 μL 蜂蜜水溶液混合后的吸光度记为溶剂空白对照,记为 A₀,平行测定 3 次。以试样质量浓度和清除率计算其半抑制浓度

(IC₅₀ 值)。DPPH·清除率/%=[1-(A₁-A₀)/A₂]×100。

1.3.5 ABTS⁺自由基清除能力测定

ABTS⁺自由基清除能力参照 Re 等的方法^[13],不同浓度的蜂蜜水溶液按体积比 1:4 分别加入 ABTS⁺工作液,混合均匀后静置 6 min,于 734 nm 波长处测定吸光度,记为 A₁;同时以 ABTS⁺工作液与无水乙醇溶液按体积比 4:1 混合后的吸光度作为样品空白对照,记为 A₂;以无水乙醇与蜂蜜样品水溶液按 4:1 混合后的吸光度作为试剂空白对照,记为 A₀,平行测定 3 次。以试样质量浓度和清除率计算其半抑制浓度(IC₅₀ 值)。ABTS⁺·清除率/%=[1-(A₁-A₀)/A₂]×100。

1.4 数据处理

所有样品均测定 3 个平行,结果以平均值(Mean)±标准差(SD)表示。各组数据间的差异显著性分析均采用 SPSS 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 理化指标分析

神农架林区 5 个中蜂蜜样品的理化指标测定结果见表 1。

表 1 5 种中蜂蜜样品理化指标比较

Table 1 Chemical and physical indices comparison of five *Apis cerana* honeys

项目名称	样品					行业级标准	
	11-1#	11-2#	11-3#	11-4#	11-5#	优级	合格
水分/%	21.92±0.68	18.73±0.11	16.65±0.20	19.51±0.11	16.71±0.41	≤20	≤24
酸度/(mL/kg)	32.56±1.25	23.55±1.25	26.56±0.24	24.14±0.72	26.57±0.25		≤40
还原糖/%	65.37±0.45	74.28±0.28	77.19±0.69	74.99±0.49	74.74±0.64		≥60
果糖/%	36.04±0.07	43.87±0.08	39.36±0.67	43.38±0.31	39.33±0.56		/
葡萄糖/%	29.33±0.90	30.41±0.47	37.83±0.72	31.61±0.69	35.41±0.71		/
蔗糖/%	-	-	-	-	-		≤5
羟甲基糠醛/(mg/kg)	3.53±0.13	2.15±0.05	9.75±0.09	3.67±0.11	9.85±0.03		≤40
淀粉酶值/[mL/(g·h)]	16.59±1.09	14.27±0.32	10.40±0.30	15.47±0.61	15.2±0.44		≥4

注:-表示未检出;/表示无标准。

蜂蜜中的水分含量是评价蜂蜜质量的一个重用指标,可以用来判断蜂蜜是否达到自然成熟^[14-15]。行业标准规定优级蜜的水分含量低于 20%,合格蜜水分含量不高于 24%,5 个中蜂蜜水分含量均达到行业标准,且 11-2#、11-3#、11-4#、11-5# 已达到优级蜜标准;酸度一般是指中和每 100 g 试样所需 1 mol/L 氢氧化钠溶液的毫升数,SN/T 0852-2012《中华人民共和国出入境检验检疫行业标准-进出口蜂蜜检验规程》规定蜂蜜的酸度值不得大于 40 mL/kg (1 mol/L 氢氧化钠)。试验测得 5 个中蜂蜜的酸度值在 23.55 mL/kg~32.56 mL/kg 之间,达到行业标准,其中 11-1# 酸度值最高,明显高于相邻地区产的 11-3# 和 11-4# 蜂蜜样

品。说明蜂蜜酸度值与所产地域有关,证实蜜源植物对酸度值影响较大^[16],除此之外,酸度还与地理环境、采样过程和储存条件有关^[17]。糖类物质是蜂蜜的主要成分^[18],果糖是影响蜂蜜甜味的糖,而葡萄糖含量则取决于花蜜的来源^[19]。5 个中蜂蜜的还原糖(葡萄糖和果糖)含量均超过 60%,符合行业标准要求。纯天然蜂蜜中蔗糖含量低是由于蔗糖在蜂蜜中转化酶的作用下被分解^[20]。5 个中蜂蜜均未检测出蔗糖。蜂蜜中有很多活性酶,淀粉酶的稳定性较差,研究表明,蜂蜜的是否掺假、是否经过热处理都可以参照淀粉酶值^[21]。5 个中蜂蜜的淀粉酶值在 10.40 mL/(g·h)~16.59 mL/(g·h)之间,均达到行业标准(≥4 [mL/(g·h)])。蜂蜜样品中羟

甲基糠醛的测定反映了样品的新鲜度,国标中规定羟甲基糠醛不应超过 40 mg/kg,羟甲基糠醛水平的升高与蜂蜜样品在高温或过热条件下贮藏时间的延长有关^[22-23]。5 个中蜂蜜样品的羟甲基糠醛值均远低于行业标准(40 mg/kg)。

2.2 抗氧化指标含量分析

5 个中蜂蜜样品中总黄酮、总酚酸含量检测结果分析如表 2 所示。

表 2 5 种中蜂蜜样品中总酚酸、总黄酮含量

Table 2 Total contents of phenolic and flavonoid compounds of five *Apis cerana* honeys

编号	黄酮/(mg/100 g)	总酚酸/(mg/100 g)
11-1#	13.66±0.04	30.96±0.07
11-2#	12.72±0.04	31.71±0.07
11-3#	9.95±0.04	20.69±0.03
11-4#	10.47±0.04	31.10±0.10
11-5#	10.11±0.02	29.78±0.05

多酚类抗氧化剂对自由基有很强的清除作用,可以通过转移氢原子或电子并形成苯氧自由基阳离子来阻断自由基导致的链式反应,从而起到抗氧化的作用,而多酚类化合物主要来源于蜜源植物^[24]。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^[25],也是评价蜂蜜真伪的重要指标性化合物^[26]。5 个中蜂蜜总黄酮含量检测范围为 9.95 mg/100 g~13.66 mg/100 g,其中 11-1# 的总黄酮含量最高,达(13.66±0.04) mg/100 g。此外,不同中蜂蜜的总酚酸含量存在明显差异,11-2# 中总酚酸含量最高达 31.71 mg/100 g,总酚酸含量最低的是 11-3#,其含量为 20.69 mg/100 g,明显低于 11-1# 和 11-4# 样品的总酚酸含量。神农架林区 5 个不同区域的中蜂蜜含有丰富的多酚类化合物,但其总黄酮、总酚酸含量具有差异性,这与中蜂采集的蜜源植物有着很大的关系,也与局部地域土壤成分有关^[27]。

2.3 自由基清除能力

DPPH 自由基和 ABTS⁺自由基清除能力是两种评估蜂蜜体外抗氧化水平的方法,且这两种方法的重现性、稳定性良好。DPPH·是一种合成的、稳定的、具有单电子的有机自由基。DPPH 自由基有机溶液呈现紫色,在 517 nm 处有最大吸收峰,当加入抗氧化剂时,DPPH·与抗氧化剂发生反应后,溶液从深紫色变为黄色,在 517 nm 处的吸收值降低,其变化程度与自由基清除作用呈线性关系,通过线性变化计算自由基清除率,通常用 IC₅₀ 值来表示,即当对 DPPH·抑制率达到

50%时,所需抗氧化剂的量,因此 IC₅₀ 值越小,说明对 DPPH·清除作用就越强^[28-29]。5 种中蜂蜜抗氧化能力见表 3。

表 3 5 种中蜂蜜抗氧化能力

Table 3 Antioxidant capacity of five *Apis cerana* honeys

编号	IC ₅₀ -DPPH/(mg/mL)	IC ₅₀ -ABTS/(mg/mL)
11-1#	56.90±0.26	58.57±0.19
11-2#	46.14±0.08	48.48±0.22
11-3#	106.63±0.38	127.07±1.41
11-4#	39.14±0.16	54.44±0.15
11-5#	52.52±0.35	93.08±0.27

通过表 3 可知,5 个不同区域的中蜂蜜对 DPPH 自由基和 ABTS⁺自由基都有不同程度的清除作用。IC₅₀ 值越小,说明蜂蜜对自由基的清除能力越强。表 3 为 5 个中蜂蜜 IC₅₀ 值的比较,11-3# 清除 DPPH 自由基能力远小于其他 4 种蜂蜜,IC₅₀ 值为 106.63 mg/mL。11-4# 的 IC₅₀ 值为 39.14 mg/mL,表明其具有较好的清除自由基能力,5 种蜂蜜对 ABTS⁺自由基清除能力由强到弱的顺序为:11-2#>11-4#>11-1#>11-5#>11-3#,其中 11-3# 对 ABTS⁺自由基清除能力最弱,IC₅₀ 值最高达 127.07 mg/mL。总的来说,11-2# 和 11-4# 的清除自由基能力最强,抗氧化性最好。

2.4 蜂蜜抗氧化物质及清除自由基能力之间的相关性分析

5 个不同中蜂蜜抗氧化物质与清除自由基能力之间相关性分析结果见表 4。

表 4 中蜂蜜抗氧化物质与抗氧化活性相关性

Table 4 Correlations of antioxidant substance and antioxidant activities of *Apis cerana* honey

项目	总黄酮	总酚	清除 DPPH·自由基能力	清除 ABTS ⁺ 自由基能力
总黄酮	1.000	0.546	0.352	0.673
总酚		1.000	0.973**	0.920*
清除 DPPH·自由基能力			1.000	0.881*
清除 ABTS ⁺ 自由基能力				1.000

注:*表示 $P<0.05$ 差异性显著;**表示 $P<0.01$ 差异性极显著。

由表 4 可知蜂蜜的总酚酸含量与清除 DPPH 自由基能力相关性极显著 ($r=0.973$),说明总酚酸含量越高,蜂蜜清除 DPPH 自由基能力就越强。蜂蜜的总酚酸含量与清除 ABTS⁺自由基能力值相关性显著 ($r=0.920$),说明总酚酸含量越高,清除 ABTS⁺自由基的活性越高。DPPH 与 ABTS 自由基清除能力呈显著的正相关($r=0.881$)。

3 结论

本研究发现神农架林区中蜂蜜理化指标符合行业标准,其总黄酮、总酚酸含量在不同的区域存在着显著性差异。试验结果也显示蜂蜜中含有的总酚酸含量越高,蜂蜜的抗氧化能力也越强。而蜂蜜中酚类物质来于蜜源植物,因此,虽同样采集于神农架林区,也会因蜜源植物分布的差异,而导致蜂蜜抗氧化能力的差异,这与前人文献报道一致。神农架林区中蜂蜜其他指标及成分还需进一步研究,为当地蜂产品开发提供理论基础。

参考文献:

- [1] Pyrzynska K, Biesaga M. Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2009, 28(7): 893-902
- [2] Kishore R K, Halim A S, Syazana M, et al. Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources[J]. *Nutrition Research*, 2011, 31(4): 322-325
- [3] Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, et al. Functional properties of honey, *Propolis*, and royal jelly[J]. *Journal of Food Science*, 2008, 73(9): R117-R124
- [4] STAGOS D, SOULITSIOTIS N, TSADILA C, et al. Antibacterial and antioxidant activity of different types of honey derived from Mount Olympus in Greece[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2018, 42(2): 726-734
- [5] van den Berg A J J, van den Worm E, van Ufford H C Q, et al. An *in vitro* examination of the antioxidant and anti-inflammatory properties of buckwheat honey[J]. *Journal of Wound Care*, 2008, 17(4): 172-178
- [6] Ferreira I C F R, Aires E, Barreira J C M, et al. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract[J]. *Food Chemistry*, 2009, 114(4): 1438-1443
- [7] Alhawiti N. Cytotoxicity, Toxicity and Anticancer Activity of Manuka Honey, Saudi's Honey and Peganum harmala Plant Against Cancer Cells[D]. Melbourne: Dissertations & Theses - Gradworks, 2015
- [8] 李时珍. 紫图编绘图解本草纲目[M]. 西安: 陕西师范大学出版社, 2012: 566
- [9] 张学文, 罗卫庭, 张祖芸, 等. 不同饲养方式中蜂形态学初探[J]. *中国蜂业*, 2013, 64(2): 12-15
- [10] SINGLETON V L, ORTHOFER R, LAMUELA-RAVENTÓS R M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent[J]. *Methods in Enzymology*, 1999, 299(1): 152-178
- [11] 裴咏萍, 李维林, 张涵庆. 三氯化铝比色法测定中药中总黄酮含量的方法改进[J]. *现代中药研究与实践*, 2009, 23(4): 58-60
- [12] 杨佳林, 孙丽萍, 徐响, 等. 油菜蜂花粉黄酮醇的测定及其抗氧化活性研究[J]. *食品科学*, 2010, 31(3): 79-82
- [13] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 26(9/10): 1231-1237
- [14] 中国标准出版社第一室. 蜂产品标准汇编[M]. 北京: 中国标准出版社, 2010: 29-30
- [15] Ying S. Exploration of the Ili mature and immature honey honey water and sugar ingredients[J]. *Apiculture of China*, 2014, 65(Z2): 62-63
- [16] Nanda V, Singh B, Kukreja V K, et al. Characterisation of honey produced from different fruit plants of northern India[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2009, 44(12): 2629-2636
- [17] Qamer S, Ahamed F, Ali S, et al. Effect of storage on various honey quality parameters of *Apis dorsata* honey from Nepal[J]. *Pakistan Journal of Zoology*, 2013, 45(3): 741-747
- [18] Ramanauskienė K, Stelmakienė A, Briedis V, et al. The quantitative analysis of biologically active compounds in Lithuanian honey[J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(3): 1544-1548
- [19] Aljohar H I, Maher H M, Albaqami J, et al. Physical and chemical screening of honey samples available in the Saudi market: an important aspect in the authentication process and quality assessment[J]. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2018, 26(7): 932-942
- [20] Rybak H. High performance liquid chromatography (HPLC) study of sugar composition in some kinds of natural honey and winter stores processed by bees from starch syrup[J]. *Research*, 2007, 51(1): 23-38
- [21] Junsheng L I, Ren H E, Quanshen J, et al. The Amylase Activity of Honey was Used as New Target for Detecting Honey Adulteration[J]. *Food Science*, 2004, 56(4): 445-448
- [22] Bogdanov S. Nutritional and functional properties of honey [J]. *Voprosy Pitaniia*, 2010, 79(6): 4-13
- [23] Zappalà M, Fallico B, Arena E, et al. Methods for the determination of HMF in honey: a comparison[J]. *Food Control*, 2005, 16(3): 273-277
- [24] Jasicka-Misiak I, Poliwoła A, Dere M, et al. Phenolic compounds and abscisic acid as potential markers for the floral origin of two Polish unifloral honeys[J]. *Food Chemistry*, 2012, 131(4): 1149-1156
- [25] Al-Mamary M, Al-Meerri A, Al-Habori M. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey[J]. *Nutrition Research*, 2002, 22(9): 1041-1047
- [26] Tomás-Barberán F A, Martos I, Ferreres F, et al. HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2001, 81(5): 485-496
- [27] di Marco G, Gismondi A, Panzarella L, et al. Botanical influence on phenolic profile and antioxidant level of Italian honeys[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2018, 55(10): 4042-4050
- [28] 熊双丽, 卢飞, 史敏娟, 等. DPPH 自由基清除活性评价方法在抗氧化剂筛选中的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(8): 380-383
- [29] 韦献雅, 殷丽琴, 钟成, 等. DPPH 法评价抗氧化活性研究进展[J]. *食品科学*, 2014, 35(9): 317-322