DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250910008
引用格式: 范亚菲, 杜一男, 王文霞, 等. 桉树蜂蜜特征性成分鉴定及其抑菌活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(5): 59–69.
FAN YF, DU YN, WANG WX, *et al*. Identification of characteristic components of *Eucalyptus* honey and its antibacterial activity [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(5): 59–69. (in Chinese with English abstract).

桉树蜂蜜特征性成分鉴定及其抑菌活性研究

范亚菲[1], 杜一男[2], 王文霞[1], 张文想[1], 拓馨宇[1], 乔江涛[1], 刘利强[1*], 张红城[2*]
(1. 河北工程大学生命科学与食品工程学院, 邯郸 056021; 2. 中国农业科学院蜜蜂研究所, 北京 100093)

摘 要: 目的 分析桉树蜂蜜中特征性成分及其抑菌效果。**方法** 本研究采用高效液相色谱-串联质谱法对桉树蜂蜜中特征性成分进行定性与定量分析, 并探究桉树蜂蜜对大肠杆菌及金黄色葡萄球菌抑菌活性。**结果** 在桉树蜂蜜中鉴定出 7 个特征性成分, 包括去氢吐叶醇、3-羰基紫罗兰醇、3’-甲氧基槲皮素、3’,4’,5’,5,7-五羟基黄酮、3’,5’,2,5,7-五羟基黄酮、木犀草素、N1-对香豆酰葡萄糖苷-N10-对甲氧基肉桂酰亚精胺, 其中, N1-对香豆酰葡萄糖苷-N10-对甲氧基肉桂酰亚精胺为首次在蜂蜜中报道; 定量结果显示, 去氢吐叶醇和 3-羰基紫罗兰醇为主要成分。通过抑菌实验及最低抑菌浓度测定, 桉树蜂蜜在 5.0 mg/mL 质量浓度下对金黄色葡萄球菌表现抑菌作用, 在 7.5 mg/mL 质量浓度下对大肠杆菌具有抑制效果。**结论** 本研究对桉树蜜的植物性化合物成分进行了系统的定性定量, 并证明了桉树蜜具有良好的抑菌效果, 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌表现出较为优秀的抑菌活性, 该研究为桉树蜂蜜的真实性评价、品质控制及功能产品开发提供理论基础。

关键词: 桉树蜂蜜; 特征性成分; 高效液相色谱-串联质谱法; 抑菌活性; 真实性评价

Identification of characteristic components of *Eucalyptus* honey and its antibacterial activity

FAN Ya-Fei[1], DU Yi-Nan[2], WANG Wen-Xia[1], ZHANG Wen-Xiang[1], TUO Xin-Yu[1], QIAO Jiang-Tao[1], LIU Li-Qiang[1*], ZHANG Hong-Cheng[2*]
(1. *School of Life Sciences and Food Engineering*, *Hebei University of Technology*, *Handan* 056021, *China*; 2. *Institute of Apicultural Research*, *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Beijing* 100093, *China*)

ABSTRACT: Objective To analyze the characteristic components and antibacterial effects of *Eucalyptus* honey. **Methods** This study employed high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for both qualitative and quantitative analysis of the characteristic components in *Eucalyptus* honey. Additionally, the antibacterial activity of *Eucalyptus* honey against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were explored. **Results** The 7 compounds were identified in *Eucalyptus* honey, including dehydrovomifoliol, 3-oxo-*α*-lonol, 3’-methoxyquercetin, 3’,4’,5’,5,7-pentahydroxyflavone, 3’,5’,2,5,7-pentahydroxyflavone, luteolin and N1-*p*-coumaroylglucoside-N10-*p*-

收稿日期: 2025-09-10
基金项目: 中国农业科学院创新工程项目(CAAS-ASTIP-2015 IAR)
第一作者: 范亚菲(2002—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为食品加工与安全。E-mail: 1608813336@qq.com
***通信作者:** 刘利强(1978—), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品加工与安全。E-mail: 464703755@qq.com
张红城(1967—), 男, 研究员, 主要研究方向为功能食品与生物活性物质、食品生物技术。E-mail: zhanghongcheng@caas.cn

methoxycinnamoyl spermidine, among them, N1-*p*-coumaroylglucoside-N10-*p*-methoxycinnamoyl spermidine was reported for the first time in honey. The quantitative analysis results indicated that dehydrovomifoliol and 3-oxo-*α*-lonol were the main components. Through the antibacterial experiment and minimum inhibitory concentration determination, *Eucalyptus* honey exhibited antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* at a concentration of 5.0 mg/mL and inhibitory effects against *Escherichia coli* at a concentration of 7.5 mg/mL. **Conclusion** This study conductes a systematic qualitative and quantitative analysis of the phytochemical compounds in *Eucalyptus* honey and demonstrates its favorable antimicrobial efficacy. *Eucalyptus* honey exhibites notable inhibitory activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The research provides a theoretical foundation for the authenticity assessment, quality control and functional product development of *Eucalyptus* honey.

KEY WORDS: *Eucalyptus* honey; characteristic compounds; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; antibacterial activity; authenticity evaluation

0 引 言

蜂蜜是一种由工蜂采集植物花蜜、植物分泌物或寄生昆虫排泄物后，在蜂巢中经过特殊酿造过程形成的天然甜味物质。工蜂会采集植物分泌的花蜜、嫩芽分泌物或蚜虫等昆虫的蜜露，将其带回蜂巢后混入自身分泌的转化酶等活性物质，经过反复酿造、水分蒸发、糖分浓缩等一系列生化过程，最终在蜂房中成熟为具有独特风味和营养价值的天然蜂蜜[1]。蜂蜜作为一种天然甜味剂，兼具食用与药用双重价值，其丰富的营养含量和悠久的药用历史使其广受消费者青睐[2–3]。近年来，大量研究表明，蜂蜜具有多种健康益处，包括抗氧化[4–5]、抗菌[6–7]和抗炎[8–9]，以及调节胃肠道和促进伤口愈合等[10–12]。蜂蜜的功能活性主要归因于其丰富的成分和独特的生物活性物质[13–14]。蜂蜜中天然成分包括果糖和葡萄糖，还含有少量的低聚糖、蛋白质、氨基酸、有机酸、酚酸、类黄酮等，其成分及含量，受蜜源植物、地理环境、蜂种及蜂群状态、加工及贮存条件等因素的影响[15–16]。

随着蜂蜜需求量的持续增长，不法商家利用价格低廉的糖浆进行掺假，牟取暴利。蜂蜜的掺假案件仅次于牛奶和橄榄油，已成为全球关注性问题[17]。因此，快速准确地进行蜂蜜真实性鉴别已成为遏制掺假的关键。传统的蜂蜜的掺假主要包括添加糖浆，改变蜂种或地理来源、使用不同的蜜源进行混合，传统鉴别蜂蜜真实性的手段主要是感官识别结合孢粉学检查[18–19]。但由于花粉含量的自然变化以及易过滤或添加等可能导致误判。现代鉴别蜂蜜真实性的方法有稳定碳同位素比率法[20–21]、糖浆标志物检测法[22–24]、氢-核磁共振法[25–26]、高分辨质谱法[27]等方法也都存在其局限性。因此，以蜂蜜中的特征性成分(内源性标志物)，进行真实性鉴别得到越来越多的关注。

桉树蜂蜜其蜜呈琥珀色，其蜜源植物为桃金娘科桉属植物桉树(*Eucalyptus robusta* Smith)的单花蜜，尤以大叶桉、小叶桉、柠檬桉为主要蜜源。该类蜜种主要产地集中于中国南方地区，包括广东、广西、海南、福建及台湾省。目前中国桉树蜂蜜的功能活性成分研究相对较少，研究桉树蜂蜜中的特征性成分及其抑菌活性对提高其附加值具有重要意义。本研究运用高效液相色谱-串联质谱技术，系统分析了桉树蜂蜜中的植物源性活性成分，并其化学结构的鉴定与含量测定，在此基础上，构建了桉树蜂蜜的特征性高效液相色谱指纹图谱，并将其应用于市售桉树蜂蜜产品的真实性鉴别与质量评价，为相关研究和产品开发提供了理论依据；此外，对桉树蜂蜜抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌效果进行了研究，以期为桉树蜂蜜质量评价和提高其附加值提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

本研究所用的桉树蜂蜜样品由中国农业科学院蜜蜂研究所提供，样本取自我国桉树蜜主要产区——云南与广西两省。依据采集地与时间顺次编号为 S1 至 S8。

甲酸(纯度≥98%)、甲醇、氨水(分析纯，上海麦克林生化科技股份有限公司)；甲醇、乙酸(纯度≥99.9%，色谱级，美国赛默飞世尔科技有限公司)；去离子水(18.2 MΩ·cm，实验室制备)；去氢吐叶醇、3’-甲氧基槲皮素、3’,4’,5’,5,7-五羟基黄酮、3’,5’,2,5,7-五羟基黄酮、木犀草素(纯度>98%，美国 Sigma 公司)；3-羰基紫罗兰醇，N1-对香豆酰葡萄糖苷-N10-对甲氧基肉桂酰亚精胺(纯度>98%，本实验室制备)。

1.2 仪器与设备

BSA124S-CW 型分析天平(精度 0.1 mg，美国 Sartorius 公司)；SevenEasy S20 型 pH 计(瑞士 Mettler Toledo 公司)；Thermo Sorvall Biofuge Stratos 台式离心机、Finnpipette F1 单道移液器(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)；SB-80DTD 全自动超声波清洗装置(昆山超声仪器有限公司)；DN-24W 氮吹仪(上海达洛科学仪器有限公司)；0.22 μm 微孔滤膜(德国 Millipore 公司)；Strata-X-A 固相萃取柱(美国 Phenomenex 公司)；Phenomenex Gemini C_{18} 色谱

柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm, 美国 Phenomenex 公司); LC-6AD 型高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); 6500 型 Q-TOF 液相质谱联用仪(美国 Agilent 公司); Milli-Q 纯水系统(德国默克密理博公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 花粉孢子学分析方法

根据 GB/T 23194—2008《蜂蜜中植物花粉的测定方法》标准要求, 采用光学显微镜检测技术对蜂蜜样品进行花粉分析。具体检测方法为: 对每个样品随机选取 20 个显微视野进行花粉种类鉴定和数量统计, 当检测结果显示单一植物来源的花粉孢子比例超过 45%时, 即可判定该蜂蜜样品为单花蜜。

1.3.2 桉树蜂蜜中特征性成分的富集

桉树蜂蜜样品前处理方法如下: 精确称取 20.0 g 蜂蜜样品, 加入 80 mL 超纯水充分溶解后, 用氨水调节溶液 pH 至 7.0。将蜂蜜水溶液在 9000 r/min 条件下离心 15 min, 去除不溶性杂质, 收集上清液备用。固相萃取柱依次用 3 mL 分析纯甲醇活化、3 mL pH=7 的超纯水平衡后, 加入蜂蜜上清液以富集多酚类化合物。富集完成后, 依次用 4 mL 超纯水淋洗、3 mL 含 10% (*V*:*V*)甲酸的甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液。洗脱液用氮气吹干浓缩后, 用 2 mL 色谱级甲醇复溶, 最后经 0.22 μm 微孔滤膜过滤至液相进样小瓶中待测[28]。

1.3.3 桉树蜂蜜高效液相色谱分析条件

采用高效液相色谱-串联质谱法对桉树蜂蜜样品进行分析, 使用 Phenomenex Gemini C_{18} 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm)实现分离。柱温维持在 35 ℃。样品检测波长设置为 254 nm, 进样量为 20 μL, 总流速维持 0.7 mL/min。采用梯度洗脱模式, 流动相 A 为 0.2%乙酸水溶液(*V*:*V*), 流动相 B 为含 0.2%乙酸甲醇溶液(*V*:*V*)。桉树蜂蜜梯度洗脱程序如表 1。

1.3.4 质谱分析条件

质谱分析条件在文献[29]的基础上进行了微调, 质谱分析条件: 离子源为电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI), 喷射电压为 4 kV, 出口电压 130 V、加热温度 350 ℃、氮气(N_2)流速 11 L/min, 碰撞气体为氦气, 雾化气流速为 80 kPa、雾化器的压力 40 psi (1 psi=6895 Pa), 质量扫描范围 *m*/*z* 为 100~900。选择 ESI 正离子模式是基于前期文献调研和样品特性分析, 认为桉树蜂蜜中可能存在的化合物在正离子模式下更容易离子化和稳定。质量扫描范围覆盖广泛, 可以检测桉树蜂蜜中多种不同分子量的化合物。

1.3.5 桉树蜂蜜中特征性成分定量分析

称取一定质量的去氢吐叶醇、3-羰基紫罗兰醇、3'-甲氧基槲皮素、3',4',5',5,7-五羟基黄酮、3',5',2,5,7-五羟基黄酮、木犀草素、N1-对香豆酰胺葡萄糖苷、N10-对甲氧基肉桂酰亚精胺标准品, 配制成 5 mL 的标准品储备液。按照梯度洗脱方法进样分析, 根据上样量和不同的峰面积建立标准曲线; 其中 *Y* 表示峰面积, *X* 表示上样量(ng)。

1.3.6 桉树蜂蜜的抑菌实验

(1)抑菌效果测定

将–80 ℃冻存菌株划线接种于 LB 平板, 37 ℃培养 18 h 后, 挑取单菌落接种 20 mL LB 肉汤中, 37 ℃培养 16 h。稀释后取 200 μL 金黄色葡萄球菌和大肠杆菌菌悬液(10^8 CFU/mL)分别涂布于平板, 分别取 100 μL 桉树蜂蜜溶液(2.0 g/mL)加入牛津杯中, 并以 100 μL 氨苄青霉素(30 μg/mL)为阳性对照、100 μL 灭菌的蒸馏水为阴性对照。将菌株置于 37 ℃培养箱培养 14 h, 用游标卡尺测量每个样品对应的抑菌圈直径。每组设置 3 次平行重复, 以确保数据的可靠性, 所得结果以平均值的方式进行表示, 反映抑菌效果的重复性和稳定性[30]。

(2)最低抑菌浓度的测定

用灭菌蒸馏水配制不同质量浓度的蜂蜜水溶液(25.0、12.5、5.0、2.5、1.0、0.5 mg/mL)。取蜂蜜水溶液和菌悬液(10^5 CFU/mL)于 96 孔细胞培养板进行加样。样品组每孔依次加入菌悬液(10^5 CFU/mL) 10 μL 和不同浓度的蜂蜜水溶液 190 μL, 以菌悬液(10^5 CFU/mL) 10 μL 加入无菌 LB 液体培养

表 1　桉树蜂蜜高效液相色谱分析条件

Table 1　Analysis conditions of *Eucalyptus* honey by high performance liquid chromatography

序号	洗脱液 B 浓度/%	维持时间/min	序号	洗脱液 B 浓度/%	维持时间/min
1	5~9	0~10	10	36~40	71~80
2	9~15	11~17	11	40~44	81~90
3	15~18	18~30	12	44~51	91~100
4	18~23	31~33	13	51~55	101~105
5	23~27	34~39	14	56~58	106~110
6	27~31	40~46	15	58~63	111~120
7	31~34	47~55	16	63~70	121~130
8	34~35	56~60	17	70~80	131~135
9	35~36	61~70	18	5~9	136~145

基菌株 190 μL 作为对照组，重复测定 3 次。用酶标仪于 600 nm 测定培养前和 35 ℃培养 18 h 后的吸光度值。分别记为 $OD_{0\ h}$ 和 $OD_{18\ h}$ 蜂蜜对细菌的抑制率按照公式(1)计算，抑制率大于 90%的最低蜂蜜水溶液浓度被认为是最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。

$$抑制率/\%=[1-(OD_{样品18\ h}-OD_{样品0\ h})/(OD_{对照18\ h}-OD_{对照0\ h})]\times100\% \quad (1)$$

式中: $OD_{样品18\ h}$ 为样品组培养 18 h 后的 OD 值; $OD_{样品0\ h}$ 为样品组培养 0 h 时的 OD 值; $OD_{对照18\ h}$ 为对照组培养 18 h 后的 OD 值; $OD_{对照0\ h}$ 为对照组培养 0 h 时的 OD 值。

1.4 数据处理

定量实验重复 3 次以保证结果的可靠性，数据处理使用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。色谱指纹图谱分析和相似度评价则借助高效液相色谱和中药色谱指纹图谱相似度评价系统完成。

2 结果与分析

2.1 桉树蜂蜜孢粉学分析

蜜蜂在采集花蜜的过程中会同时采集并携带花粉，从而使花粉成为蜂蜜中的重要成分。通过对蜂蜜中的孢粉学分析、鉴别其蜜源植物的种类，实现蜂蜜单花种的溯源和鉴定。该研究采用光学显微镜方法，在 400×镜头下对桉树蜂蜜的花粉孢子进行鉴别分析，样品 S1~S8 桉树蜂蜜花粉孢子形态如图 1 所示，花粉平均粒径为 50~60 μm，桉树蜂蜜花粉比一般花粉粒径更大。

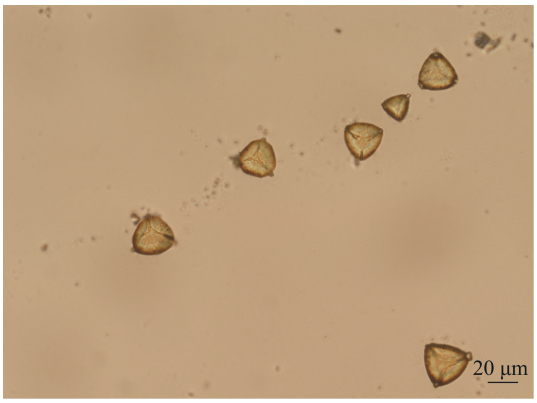
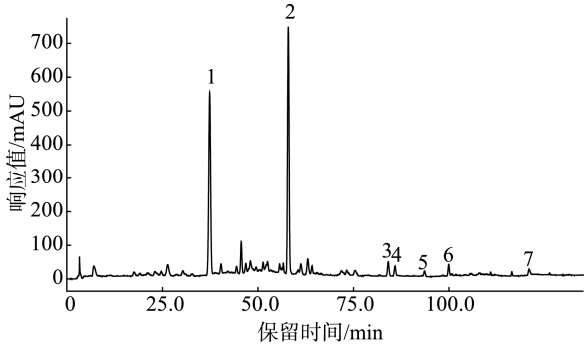


图 1 桉树蜂蜜花粉光学显微照片

Fig.1 Optical micrograph of *Eucalyptus* honey pollen



注: 1. 去氢吐叶醇; 2. 3-羰基紫罗兰醇; 3. 3'-甲氧基槲皮素; 4. 3',4',5',5,7-五羟基黄酮; 5. 3',5',2,5,7-五羟基黄酮; 6. 木犀草素; 7. N1-对香豆酰葡萄糖苷-N10-对甲氧基肉桂酰亚精胺。

图 2 桉树蜂蜜的高效液相色谱图

Fig.2 High performance liquid chromatogram of *Eucalyptus* honey

2.2 桉树蜂蜜中特征性成分鉴定

由图 2 可见，桉树蜂蜜样品在设定的高效液相色谱分析条件下表现出多个清晰且分离良好的特征色谱峰。主要化合物包括去氢吐叶醇(峰 1)、3-羰基紫罗兰醇(峰 2)、3'-甲氧基槲皮素(峰 3)、3',4',5',5,7-五羟基黄酮(峰 4)、3',5',2,5,7-五羟基黄酮(峰 5)、木犀草素(峰 6)以及 N1-对香豆酰葡萄糖苷-N10-对甲氧基肉桂酰亚精胺(峰 7)。其中，去氢吐叶醇(峰 1)、峰 2(3-羰基紫罗兰醇)为桉树蜂蜜的主要特征峰。7 种物质相关信息如表 2。

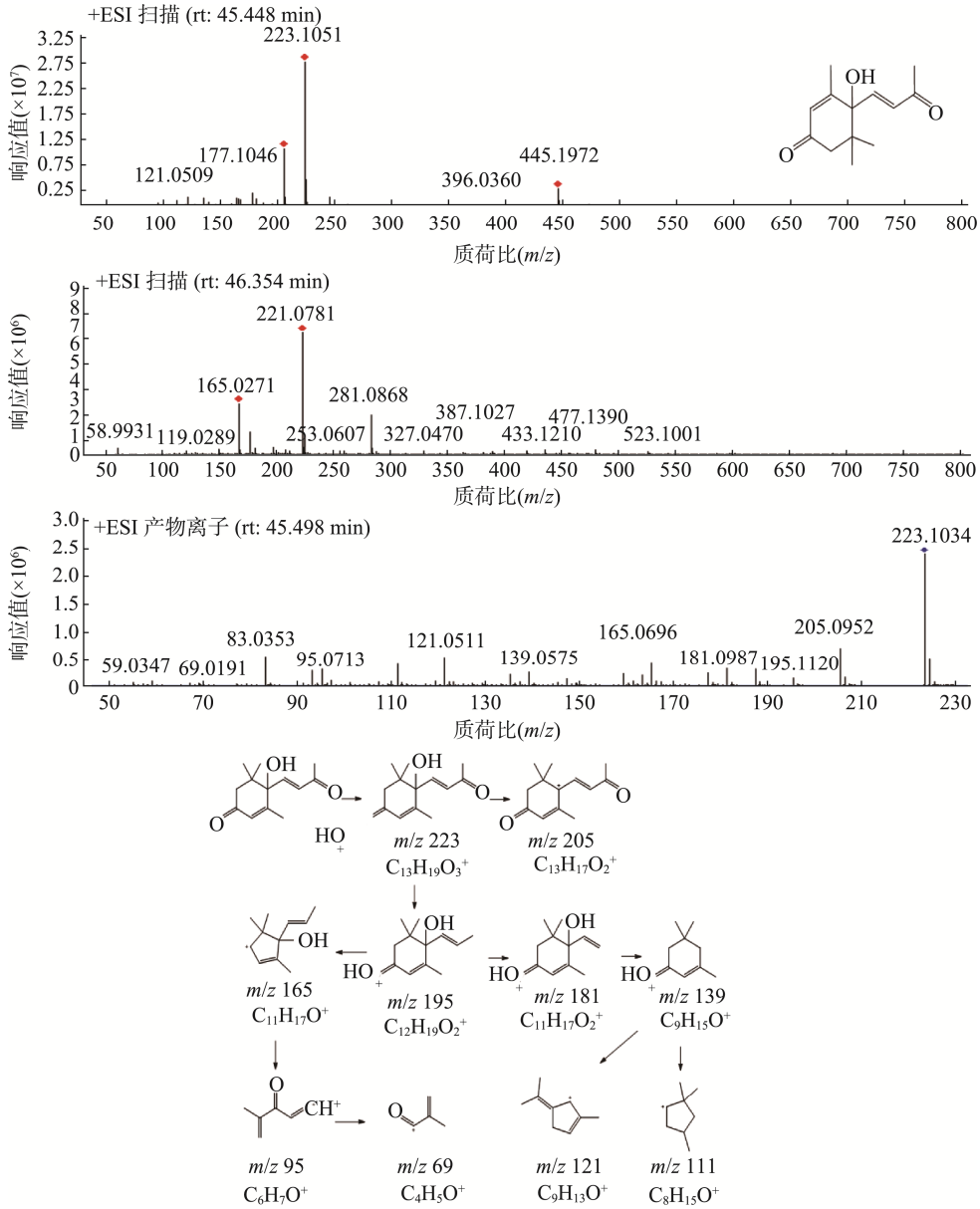
如图 3 所示，正离子模式下有 *m/z* 223.1051 $[M+H]^+$ 的准分子离子峰和 *m/z* 445.1972 $[2M+H]^+$的加合离子峰，负离子模式下有 *m/z* 221.0781$[M-H]^-$的准分子离子峰和 *m/z* 433.1210 $[2M-H]^-$的加合离子峰，判断其分子量为 222 Da。通过相关文献[31]、二级质谱断裂信息并结合化合物的最大紫外吸收波长，借助标准品验证，最终确认该化合物为去氢吐叶醇。

如图 4 所示，正离子模式下有 *m/z* 207.1516 $[M+H]^+$的准分子离子峰和 *m/z* 413.2695 $[2M+H]^+$的加合离子峰，判

表 2 桉树蜂蜜样品成分信息

Table 2 Ingredients informations of *Eucalyptus* honey sample

编号	成分	保留时间/min	λ_{max}	分子量	$[M+H]^+$	$[M-H]^-$
1	去氢吐叶醇	37.348	241	222	223.1051	221.0781
2	3-羰基紫罗兰醇	57.940	242	206	207.1516	205.1817
3	3'-甲氧基槲皮素	84.073	356	332	333.0628	331.0713
4	3',4',5',5,7-五羟基黄酮	85.844	348	302	303.0520	301.0568
5	3',5',2,5,7-五羟基黄酮	93.575	365	302	303.0866	301.0196
6	木犀草素	99.906	349	286	287.0470	285.0059
7	N1-对香豆酰葡萄糖苷-N10-对甲氧基肉桂酰亚精胺	116.429	299	613	614.2199	612.2077



注：保留时间(retention time, rt)。

图 3　化合物 1 在正离子模式下的一级和二级质谱图及断裂规律

Fig.3　First and second mass spectra of compound 1 in the positive ion mode and the fragmentation patterns

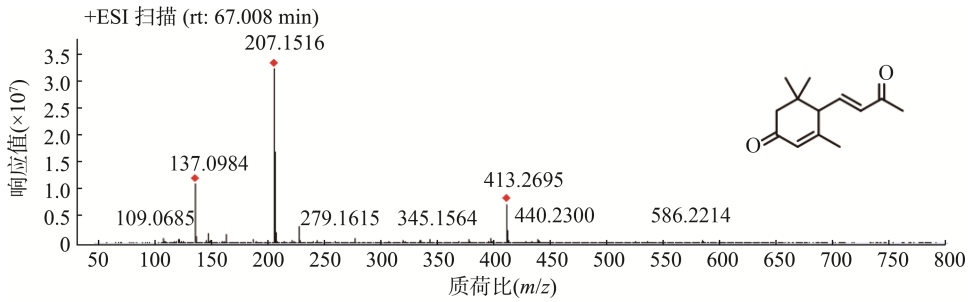


图 4　化合物 2 在正离子模式下的一级和二级质谱图及断裂规律

Fig.4　First and second mass spectra of compound 2 in the positive ion mode and the fragmentation patterns

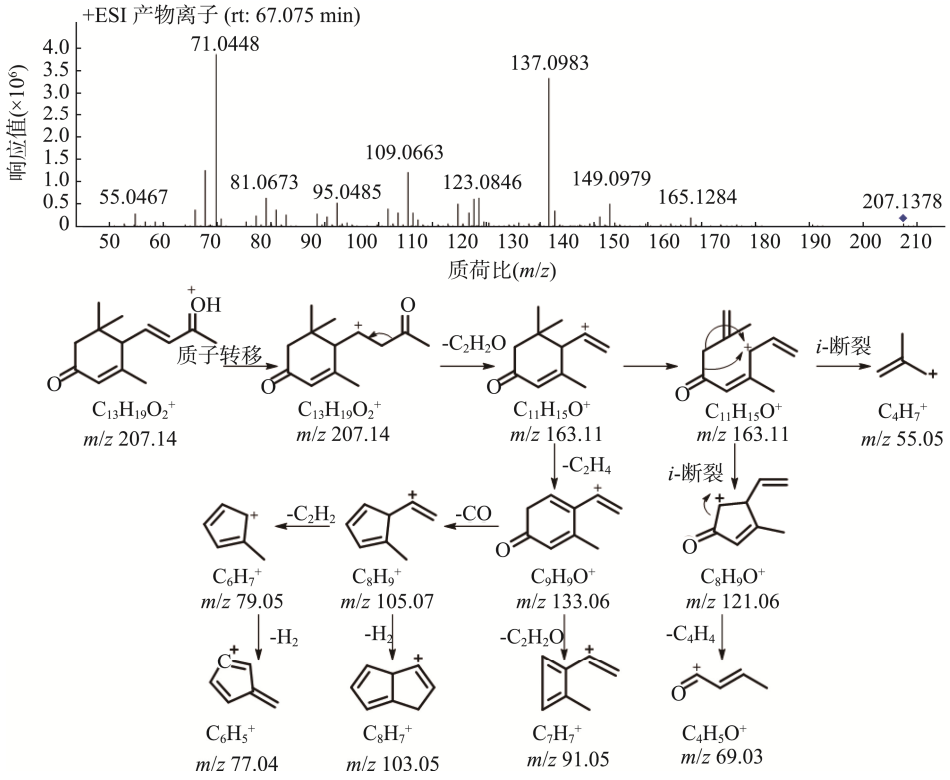


图 4(续) 化合物 2 在正离子模式下的一级和二级质谱图及断裂规律

Fig.4 First and second mass spectra of compound 2 in the positive ion mode and the fragmentation patterns

断其分子量为 206 Da，通过相关文献[32]、二级质谱断裂信息并结合化合物的最大紫外吸收波长，最终通过标准品验证验证，确定该化合物为 3-羰基紫罗兰酮。

在正离子模式下的质谱分析中，如图 5 所示，观察到 *m/z* 333.0628 处的准分子离子峰，其分子离子形式为 $[M+H]^+$。负离子模式下有 *m/z* 331.0713 $[M-H]^-$的准分子离子峰和 *m/z* 663.1426 $[2M-H]^-$的加合离子峰。判断其分子量为 332 Da，通过相关文献[33]、二级质谱断裂信息并结合化合物的最大紫外吸收波长，借助标准品验证，最终确认该化合物为 3’-甲氧基槲皮素。

如图 6 所示，正离子模式下有 *m/z* 303.0520 $[M+H]^+$的准分子离子峰，负离子模式下有 *m/z* 301.0568 $[M-H]^-$的准分子离子峰和 *m/z* 603.1142 $[2M-H]^-$的加合离子峰。判断其分子量为 302 Da，通过相关文献[33]、二级质谱断裂信息并结合化合物的最大紫外吸收波长，借助标准品验证，最终确认该化合物为 3’,5’,2,5,7-五羟基黄酮。

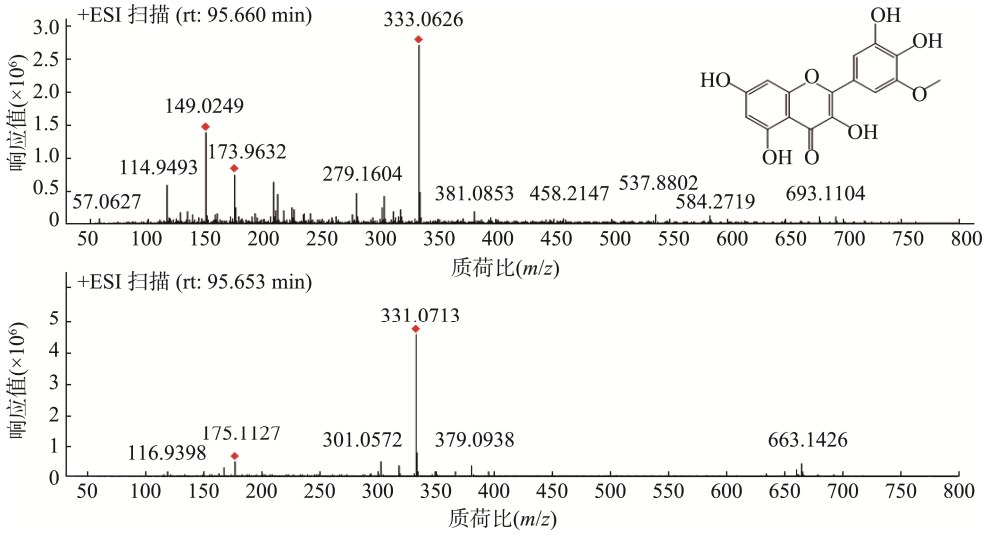


图 5 化合物 3 在正负离子模式下一级质谱图及正离子模式下的二级质谱图

Fig.5 First and second mass spectra of compound 3 in the positive ion mode

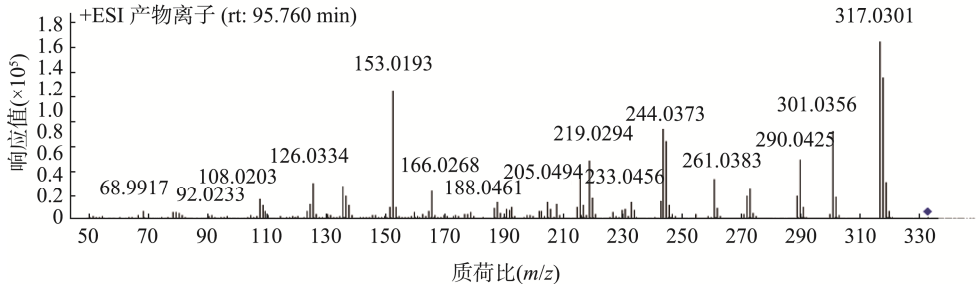


图 5(续)　化合物 3 在正负离子模式下一级质谱图及正离子模式下的二级质谱图

Fig.5　First and second mass spectra of compound 3 in the positive ion mode

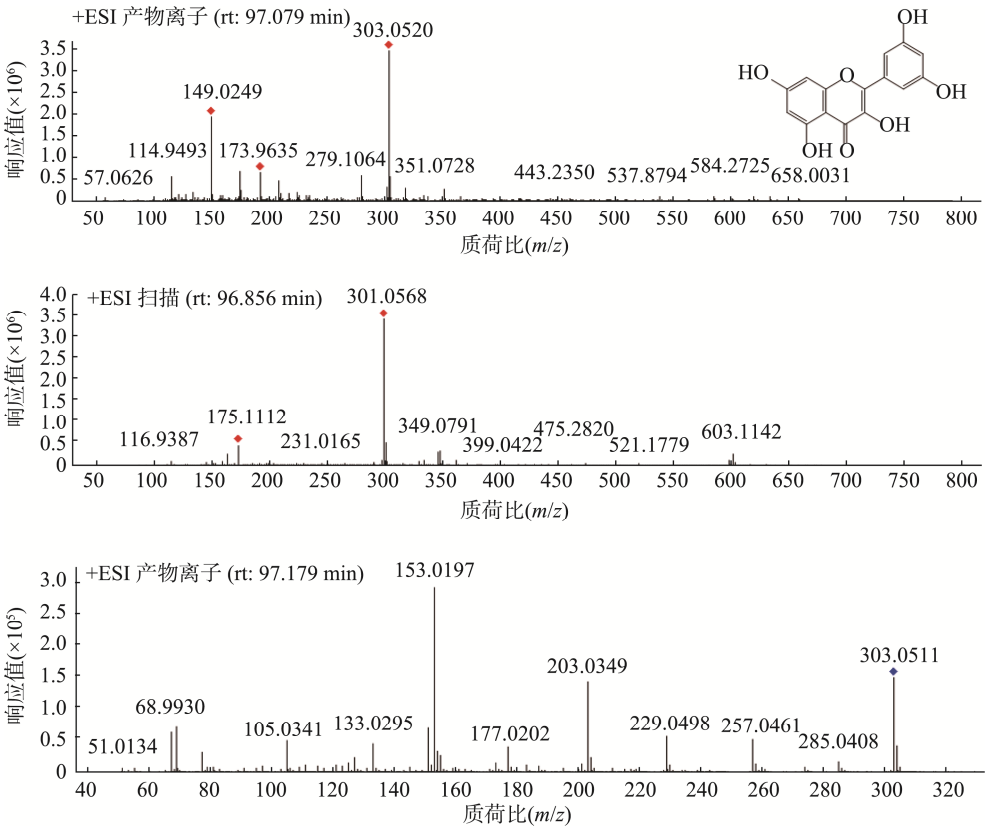


图 6　化合物 4 在正负离子模式下一级质谱图及正离子模式下的二级质谱图

Fig.6　First and second mass spectra of compound 4 in the positive ion mode

如图 7 所示质谱分析结果表明，正离子模式下存在 *m/z* 303.0866 $[M+H]^+$准分子离子峰；负离子模式下存在 *m/z* 301.0196 $[M-H]^-$的准分子离子峰的加合离子峰。考虑到质子的质量(约为 1 Da)，正负离子模式下的加氢和去氢离子的质量差异支持该化合物的分子量为 302 Da，通过相关文献[33]、二级质谱断裂信息并结合化合物的最大紫外吸收波长，借助标准品验证，最终确认该化合物为 3’,4’,5’,5,7-五羟基黄酮。

如图 8 所示，正离子模式下有 *m/z* 287.0470 $[M+H]^+$的准分子离子峰，负离子模式下有 *m/z* 285.0059 $[M-H]^-$的准分子离子峰和 *m/z* 571.0112 $[2M-H]^-$的加合离子峰，判断其分子量为 286 Da，通过相关文献[34]、二级质谱断裂信息并结合化合物的最大紫外吸收波长，借助标准品验证，最终确认该化合物为木犀草素。

质谱分析结果如图 9 所示，正离子模式下存在 *m/z* 614.2199 $[M+H]^+$的准分子离子峰，在负离子模式下检测到 *m/z* 612.2077 $[M-H]^-$的准分子离子峰。基于质子的质量，正负离子模式的数据共同支持该化合物的分子量为 613 Da。结合现有文献[35]、二级质谱断裂信息，鉴定该化合物为 N1-对香豆酰葡萄糖苷-N10-对甲氧基肉桂酰亚精胺，分析结果表明该化合物是首次在蜂蜜中被发现。

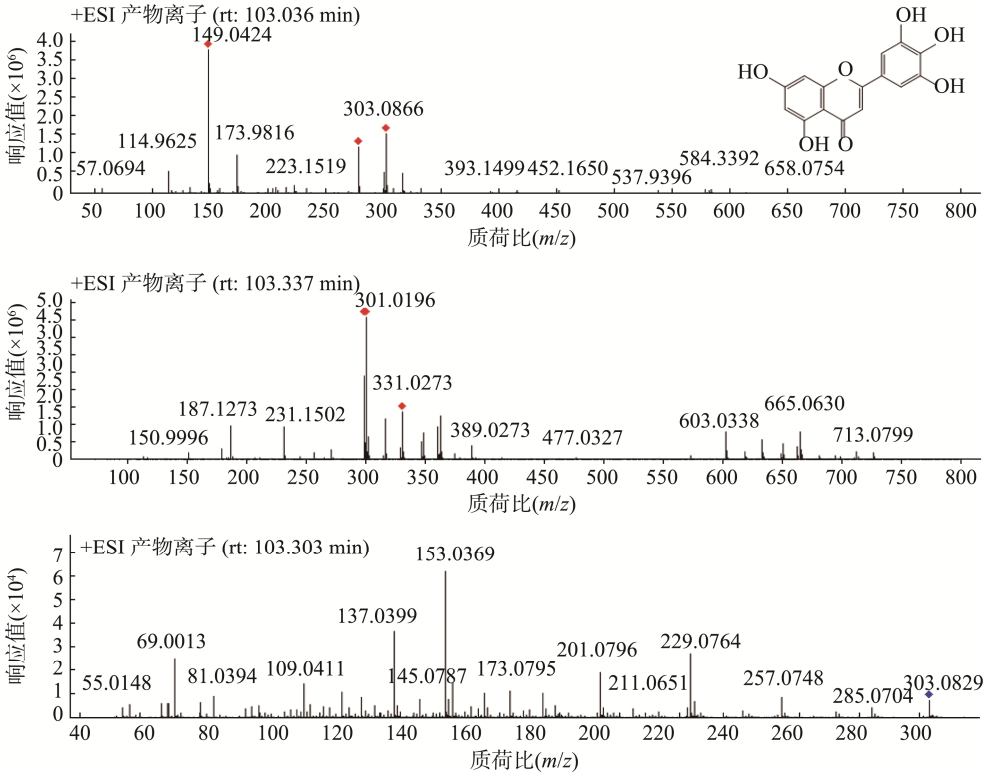


图 7 化合物 5 在正负离子模式下一级和二级质谱图

Fig.7 First and second mass spectra of compound 5 in the positive ion mode

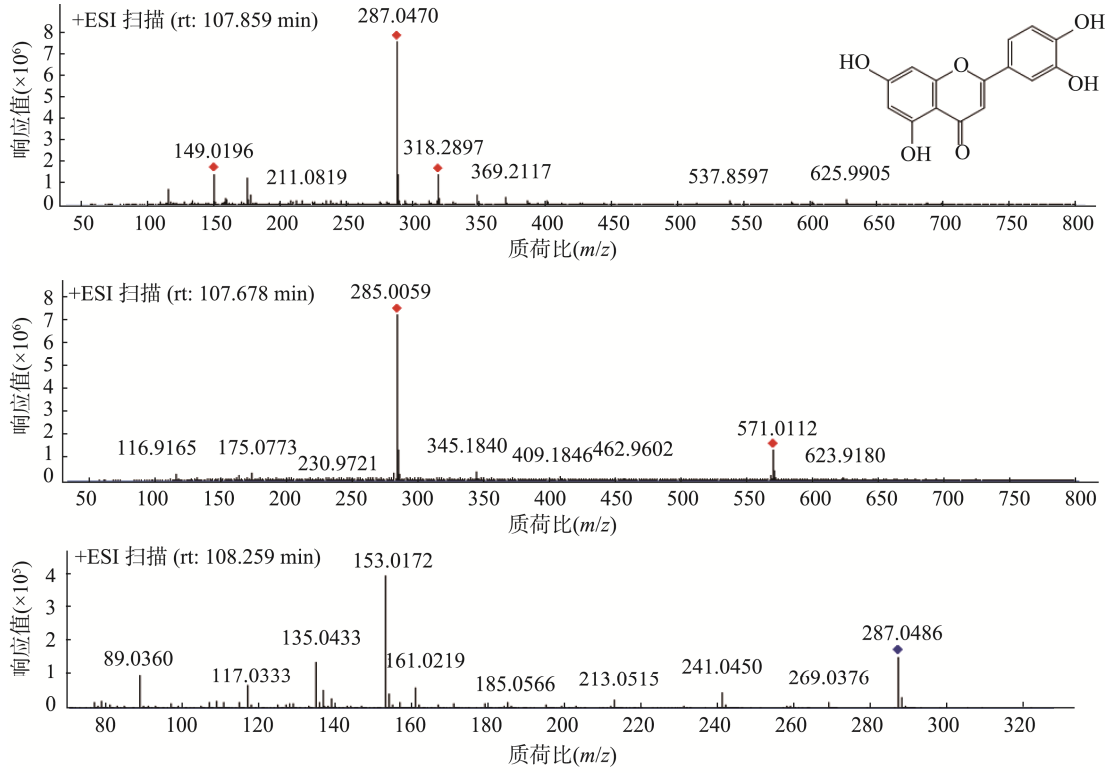


图 8 化合物 6 在正负离子模式下的一级和二级质谱图及断裂规律

Fig.8 First and second mass spectra of compound 6 in the positive ion mode and the fragmentation patterns

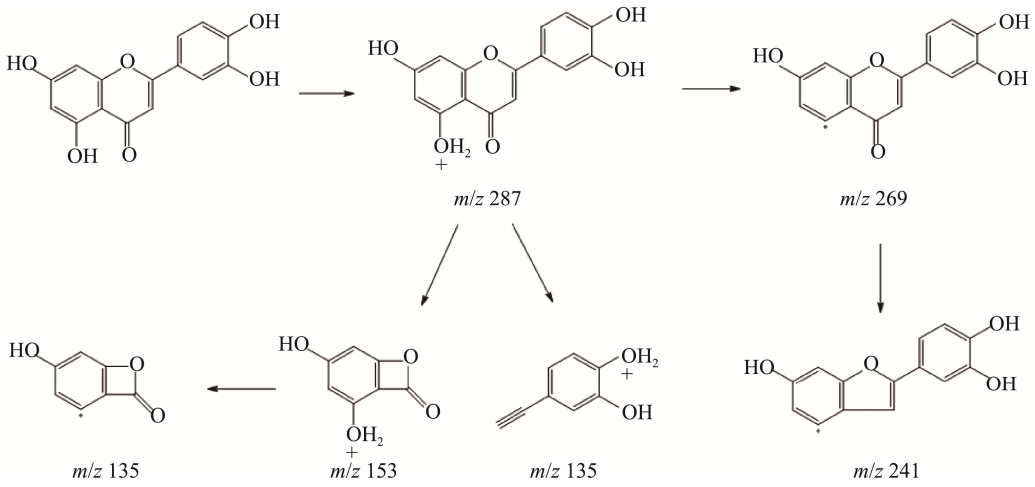


图 8(续)　化合物 6 在正负离子模式下的一级和二级质谱图及断裂规律

Fig.8　First and second mass spectra of compound 6 in the positive ion mode and the fragmentation patterns

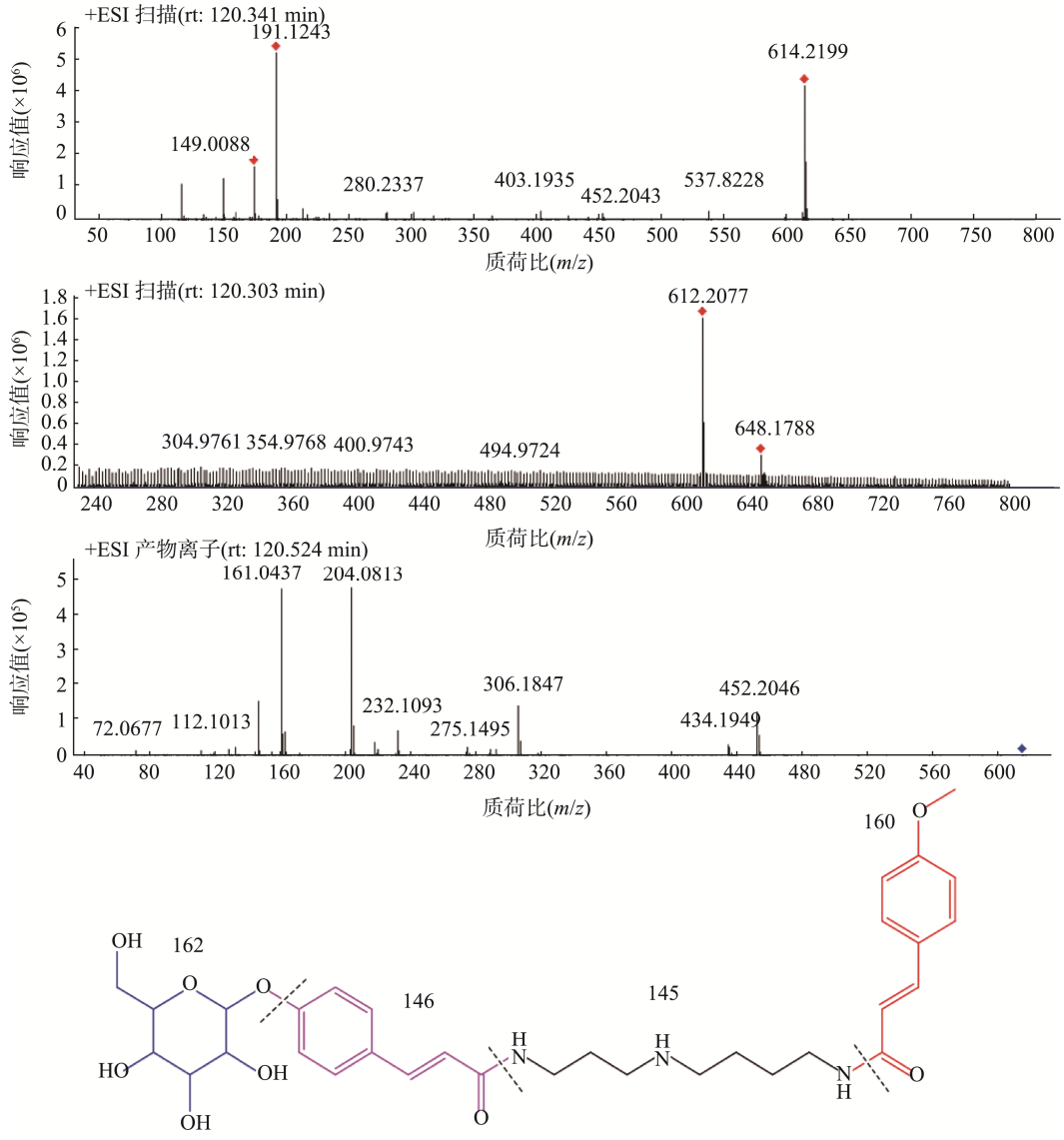


图 9　化合物 7 在正负离子模式下的一级和二级质谱图及断裂规律

Fig.9　First and second mass spectra of compound 7 in the positive ion mode and the fragmentation patterns

2.3 桉树蜂蜜中特征性成分定量分析结果

在该研究中，测定了 8 个桉树蜂蜜样品中 7 个特征性成分的含量如表 3。结果显示，不同样品间各化合物的含量存在一定差异，但整体水平相对稳定。从整体趋势来看，去氢吐叶醇在各样品中含量最高，范围为 10.60~13.20 mg/kg，平均含量为 12.16 mg/kg，其次是 3-羰基紫罗兰醇，含量范围在 7.90~9.10 mg/kg，平均含量为 8.43 mg/kg。相比之下，其他特征性成分含量普遍较低，多集中在 0.4~1.5 mg/kg 之间。其中，3’,5’,2,5,7-五羟基黄酮含量略高于其他化合物，在 2.45~2.62 mg/kg 范围内。综上所述，桉树蜂蜜中特征性成分以萜烯类和黄酮类物质为主，具有一定的组成特异性。

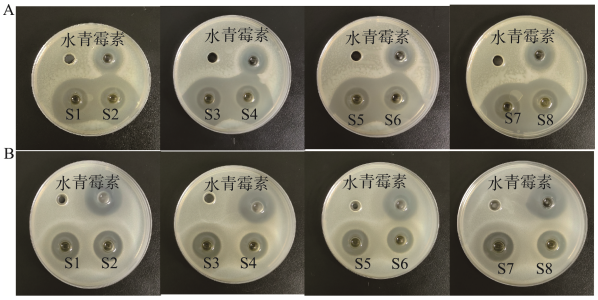
2.4 桉树蜂蜜抑菌效果测定结果

桉树蜂蜜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果为 30 μg/mL 氨苄青霉素>2.0 g/mL 桉树蜂蜜>水，由图 10 中可以看出 30 μg/mL 氨苄青霉素和桉树蜂蜜和对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均表现出明显的的抑菌活性，桉树蜂蜜对大肠杆菌的抑菌圈直径为 17.37 mm；作为阳性对照，30 μg/mL 氨苄青霉素对大肠杆菌抑菌圈直径达 25.42 mm。同时，桉树蜂蜜对金黄色葡萄球菌的抑菌效果达到 23.37 mm；作为阳性对照，30 μg/mL 氨苄青霉素对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径为 30.43 mm。

表 3 桉树蜂蜜中多酚类化合物含量(mg/kg)

Table 3 Content of polyphenols compounds in *Eucalyptus* honey (mg/kg)

化合物	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
去氢吐叶醇	12.30±0.16	11.80±0.21	13.00±0.18	10.60±0.17	12.10±0.12	11.50±0.11	13.20±0.13	12.80±0.15
3-羰基紫罗兰醇	8.50±0.13	7.90±0.12	8.30±0.11	9.10±0.15	8.60±0.12	8.40±0.16	8.20±0.14	8.80±0.13
3’-甲氧基槲皮素	0.42±0.01	0.40±0.03	0.41±0.02	0.39±0.01	0.43±0.02	0.41±0.01	0.40±0.03	0.42±0.01
3’,5’,2,5,7-五羟基黄酮	2.56±0.13	2.48±0.15	2.61±0.12	2.53±0.14	2.45±0.16	2.50±0.13	2.58±0.13	2.62±0.12
3’,4’,5’,5,7-五羟基黄酮	1.39±0.13	1.43±0.15	1.38±0.12	1.40±0.11	1.37±0.13	1.41±0.15	1.42±0.17	1.40±0.13
木犀草素	0.72±0.02	0.70±0.03	0.74±0.03	0.71±0.02	0.73±0.04	0.75±0.02	0.71±0.04	0.72±0.01
N1-对香豆酰葡萄糖苷-N10-对甲氧基肉桂酰亚精胺	0.63±0.01	0.60±0.01	0.65±0.02	0.61±0.03	0.62±0.02	0.64±0.02	0.62±0.02	0.63±0.01



注：A 和 B 分别为桉树蜂蜜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌抑菌效果图；图中分别为水、30 μg/mL 氨苄青霉素、S1~S8 桉树蜂蜜的抑菌效果。

图 10 桉树蜂蜜抑菌效果

Fig.10 Antibacterial effects of *Eucalyptus* honey

2.5 最低抑菌浓度测定结果

为进一步比较桉树蜂蜜对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌活性强度，对不同质量浓度(0.5~25.0 mg/mL)的蜂蜜水溶液进行了 MIC 测定。结果显示，桉树蜂蜜对两种菌株的抑菌作用均呈明显的浓度依赖性。当蜂蜜质量浓度低于 1.0 mg/mL 时，菌体仍能正常生长，OD_{600}值与对照组差异不显著；当质量浓度升高至 2.5 mg/mL 时，菌体生长受到一定抑制；而在大于等于 5.0 mg/mL 时，菌体生长明显受限，OD 值显著降低(P<0.05)。继续提高质量浓度至 12.5 mg/mL 及以上时，菌体生长几乎完全被抑制，培养液保持澄清。根据 OD 值计算抑菌率，桉树蜂蜜对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 5.0 mg/mL，对大肠杆菌的 MIC 为 7.5 mg/mL。说明桉树蜂蜜对革兰阳性菌表现出更强的抑菌活性。其原因可能与蜂蜜中的黄酮及萜类等活性物质共同作用有关，这些成分能够破坏细胞膜结构、抑制蛋白质合成或干扰能量代谢，从而导致细菌生长受抑[36]。

3 结 论

本研究采用高效液相色谱-串联质谱法对桉树蜂蜜中特征性成分进行分析，共鉴定出 7 个特征性化合物，其中 N1-对香豆酰葡萄糖苷-N10-对甲氧基肉桂酰亚精胺为首次在蜂蜜中报道。去氢吐叶醇和 3-羰基紫罗兰醇为主要特征性成分，平均含量分别分为 12.16 mg/kg 和 8.43 mg/kg。抑菌实验结果表明，桉树蜂蜜能够抑制金黄色葡萄球菌和大肠杆菌生长，MIC 值分别为 5.0 mg/mL 和 7.5 mg/mL，对金黄色葡萄球菌抑制作用更强。该研究为桉树蜂蜜的真实性评价、功能开发及品质提升提供了理论依据。

参考文献

[1] KAYGUSUZ H, TEZCAN F, ERIM FB, *et al*. Characterization of Anatolian honeys based on minerals, bioactive components and principal component analysis [J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 68: 273–279.

[2] JIANG L, XIE M, CHEN G, *et al*. Phenolics and carbohydrates in

buckwheat honey regulate the human intestinal microbiota [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2020, 2020: 1–11.

[3] BUCEKOVA M, BUGAROVA V, GODOCIKOVA J, *et al*. Demanding new honey qualitative standard based on antibacterial activity [J]. Foods, 2020, 9(9): 12–63.

[4] CZERNICKA MA, SOWA-BOROWIEC P, DUDEK T, *et al*. Antioxidant capacity of honey enriched by wildflowers [J]. Applied Sciences, 2024, 14(5): 18–20.

[5] DŻUGAN M, TOMCZYK M, SOWA P, *et al*. Antioxidant activity as biomarker of honey variety [J]. Molecules, 2018, 23(8): 20–69.

[6] COKCETIN N, MATTHEW P, CAMPBELL LT, *et al*. The antibacterial activity of Australian *Leptospermum* honey correlates with methylglyoxal levels [J]. PLoS One, 2016, 11(12): 67–78.

[7] ALBARIDI NA. Antibacterial potency of honey [J]. International Journal of Microbiology, 2019, 2019(1): 1–10.

[8] NAVAEI-ALIPOUR N, MASTALI M, FERNS GA, *et al*. The effects of honey on pro-and anti-inflammatory cytokines: A narrative review [J]. Phytotherapy Research, 2021, 35(7): 3690–3701.

[9] ACERETO-ESCOFFIÉ P, SEGURA-CAMPOS MR. *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of *Melipona beecheii* honey protein fractions [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2018, 12: 2636–2642.

[10] SARANRAJ P, SIVASAKTHI S. Comprehensive review on honey: Biochemical and medicinal properties [J]. Medicine, Biology, 2018, 6: 165–181.

[11] GOVERNA P, CARULLO G, BIAGI M, *et al*. Evaluation of the *in vitro* wound-healing activity of Calabrian honeys [J]. Antioxidants, 2019, 8(2): 3–6.

[12] HERMANNS R, MATEESCU C, THRASYVOULOU A, *et al*. Defining the standards for medical grade honey [J]. Journal of Apicultural Research, 2020, 59(2): 125–135.

[13] DE-ALMEIDAMURADIAN LB, STRAMM KM, HORITA A, *et al*. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera* [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2013, 48(8): 1698–1706.

[14] DE-MELO AAM, ALMEIDA-MURADIAN LBD, MARÍA TS, *et al*. Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review [J]. Journal of Apicultural Research, 2017(13): 1–33.

[15] DA-SILVA PM, GACHE C, GONZAGA LV, *et al*. Honey: Chemical composition, stability and auth enticity [J]. Food Chemistry, 2016, 19(6): 309–323.

[16] WANG H, LI L, LIN GLG. Composition, functional properties and safety of honey: A review [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2023, 103(14): 6767–6779.

[17] 陈黎红, 陈亮, 王建梅. 国际蜂联(APIMONDIA)针对伪劣蜂蜜的声明[J]. 中国蜂业, 2019, 70(4): 11–14.
CHEN LH, CHEN L, WANG JM. APIMONDIA's statement on counterfeit honey [J]. China Beekeeping, 2019, 70(4): 11–14.

[18] SILICI S, GÖKCEOGLU M. Pollen analysis of honeys from Mediterranean region of Anatolia [J]. Grana, 2007, 46(1): 57–64.

[19] ZKK A, BILGI HA, KOSUKCU C, *et al*. Comparing the melissopalynological and next generation sequencing (NGS) methods for the determining of botanical origin of honey [J]. Food Control, 2023, 148: 109630.

[20] PERINI M, PIANEZZE S, GUARDINI K, *et al*. Authentication and geographical characterisation of Italian grape musts through glucose and fructose carbon isotopic ratios determined by LC-IRMS [J]. Molecules, 2023, 28(3): 1411.

[21] WU L, DU B, VANDER-HEYDEN Y, *et al*. Recent advancements in detecting sugar-based adulterants in honey–A challenge [J]. Trac Trends in Analytical Chemistry, 2016: 25-38. DOI: 10.1016/j.trac.2016.10.013

[22] XUE X, WANG Q, LI Y, *et al*. 2-acetylfuran-3-glucopyranoside as a novel marker for the detection of honey adulterated with rice syrup [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(31): 7488–7493.

[23] MEGHERBI M, HERBRETEAU B, FAURE R, *et al*. Polysaccharides as a marker for detection of corn sugar syrup addition in honey [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2009, 57(6): 2105–2111.

[24] DU B, WU L, XUE X, *et al*. Rapid screening of multiclass syrup adulterants in honey by ultra high-performance liquid chromatography/quadrupole time of flight mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2015, 63(29): 6614–6623.

[25] REBOURS A, LEES M, ROGERS KM, *et al*. Fast and global authenticity screening of honey using 1H-NMR profiling [J]. Food Chemistry, 2015, 189: 60–66.

[26] HE C, LIU Y, LIU H, *et al*. Compositional identification and authentication of Chinese honeys by 1H NMR combined with multivariate analysis [J]. Food Research International, 2019, 130: 108936.

[27] 熊文慧, 陈磊, 程晓澳, 等. 核磁共振技术在蜂产品检测中的应用进展[J]. 实验室检测, 2023, 1(4): 53–59.
XIONG WH, CHEN L, CHENG XAO, *et al*. Application progress of nuclear magnetic resonance technology in bee product detection [J]. Laboratory Testing, 2023, 1(4): 53–59.

[28] 乔江涛. 四种单花蜜中标志性成分鉴定及真实性评价[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
QIAO JT. Identification and authenticity evaluation of characteristic components in four types of single-flower honey [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019.

[29] 汪玥, 杜一男, 路运才, 等. 柑橘蜜中特征性成分鉴定及真实性评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(6): 298–308.
WANG Y, DU YN, LU YC, *et al*. Identification and authenticity evaluation of characteristic components in citrus honey [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(6): 298–308.

[30] 王银, 刘彩玲, 苟心怡, 等. 秦岭中蜂蜂蜜酚类提取物的鉴定及其抑菌活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(7): 154–159.
WANG Y, LIU CL, GOU XY, *et al*. Identification and antibacterial activity study of phenolic extracts from Qinling Chinese honeybee honey [J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(7): 154–159.

[31] HAUSLER M, MONTAG A. Isolation, identification and quantitative determination of the norisoprenoid (S)-(+)-dehydrovomifoliol in honey [J]. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, 1989, 189(2): 113–115.

[32] KUS PM, JERKOVIC I, TUBEROSO CIG, *et al*. Cornflower (*Centaurea cyanus* L.) honey quality parameters: Chromatographic fingerprints, chemical biomarkers, antioxidant capacity and others [J]. Food chemistry, 2014, 142: 12–18.

[33] MARTOS I, FERRERES F, TOMAS-BBARBERAN FA. Identification of flavonoid markers for the botanical origin of *Eucalyptus* honey [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(5): 1498–1502.

[34] NYARKO K, MENSAH S, GREENLIEF CM. Examining the use of polyphenols and sugars for authenticating honey on the US market: A comprehensive review [J]. Molecules, 2024, 29(20): 4940.

[35] QIAO J, FENG Z, ZHANG Y, *et al*. Phenolamide and flavonoid glycoside profiles of 20 types of monofloral bee pollen [J]. Food Chemistry, 2023, 405: 134800.

[36] 武鑫, 陈子龙, 郑敏, 等. 椴树蜜体外抑菌活性分析[J]. 食品科技, 2024, 49(2): 67–71.
WU X, CHEN ZL, ZHENG M, *et al*. Analysis of the *in vitro* antibacterial activity of linden honey [J]. Food Science and Technology, 2024, 49(2): 67–71.

(责任编辑: 韩晓红　冯东慧)