DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260211001
引用格式: 邹佳良, 邢睿, 徐欢欢, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法分析蜂蜜黄酮类成分及其抗氧化活性评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(12): 181–188.
ZOU JL, XING R, XU HH, *et al*. Analysis of flavonoid components in honey by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry and evaluation of its antioxidant activity [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(12): 181–188. (in Chinese with English abstract).

超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法分析蜂蜜黄酮类成分及其抗氧化活性评价

邹佳良[1,2], 邢　睿[1,2], 徐欢欢[1,2], 王若兰[1,2], 张　媛[1,2], 王　鹏[1,2], 陈鸿平[1,2], 陈　林[1,2], 王　福[1,2], 胡　媛[1,2*], 刘友平[1,2*]

(1. 成都中医药大学药学院, 成都　611137; 2. 成都中医药大学中药种质资源创新与高效利用四川省重点实验室, 成都　611137)

摘　要: 目的　建立超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS)分析不同产地蜂蜜的黄酮类成分的方法, 并进行抗氧化活性评价。**方法**　样品处理后采用 UPLC-Q-TOF-MS 进行分析, 利用主成分分析(principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘法(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)等化学计量学方法筛选不同产地蜂蜜差异化合物, 并依据 2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸盐)[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS]阳离子自由基、2,2-联苯基-1-苦基肼基(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)自由基清除率评估其抗氧化活性差异。**结果**　采用 UPLC-Q-TOF-MS 共鉴定出 79 种黄酮类化合物, 能明显区分不同产地蜂蜜, 并筛选出槲皮素、川陈皮素和山奈酚等 17 种黄酮可作为区分不同产地的特征化合物; 红旗村产蜂蜜(HQC)表现出最高的 ABTS 阳离子自由基和 DPPH 自由基清除率。**结论**　采用 UPLC-Q-TOF-MS 结合化学计量学方法能有效区分不同产地蜂蜜, 该研究可为蜂蜜产地的区分提供参考。

关键词: 蜂蜜; 不同产地; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法; 黄酮; 化学计量学; 抗氧化活性

Analysis of flavonoid components in honey by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry and evaluation of its antioxidant activity

ZOU Jia-Liang[1,2], XING Rui[1,2], XU Huan-Huan[1,2], WANG Ruo-Lan[1,2], ZHANG Yuan[1,2], WANG Peng[1,2], CHEN Hong-Ping[1,2], CHEN Lin[1,2], WANG Fu[1,2], HU Yuan[1,2*], LIU You-Ping[1,2*]

收稿日期: 2026-02-11
基金项目: 成都中医药大学"杏林学者"学科人才科研提升计划乡村振兴专项(XCZX2022003); 大学生创新训练计划项目(202410633016)
第一作者: 邹佳良(1998—), 男, 博士研究生, 主要研究方向为中药药效物质与质量评价研究。E-mail: zoujialiang@stu.cdutcm.edu.cn
***通信作者:** 胡媛(1981—), 女, 博士研究生, 副教授, 主要研究方向为中药化学有效成分与质量标准应用研究。E-mail: huyuan@cdutcm.edu.cn
刘友平(1964—), 女, 博士, 研究员, 主要研究方向为中药药效物质与质量评价研究。E-mail: youpingliu@cdutcm.edu.cn

(1. *School of Pharmacy*, *Chengdu University of Traditional Chinese Medicine*, *Chengdu* 611137, *China*;
2. *Chinese Medicine Germplasm Resources Innovation and Effective Uses Key Laboratory of Sichuan Province*, *Chengdu University of Traditional Chinese Medicine*, *Chengdu* 611137, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the flavonoid components of honey from different geographical origins by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) and conduct an evaluation of antioxidant activity. **Methods** After sample preparation, UPLC-Q-TOF-MS was employed for analysis. Chemometric methods including principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were used to screen differential compounds of honey from different geographical origins. Additionally, the differences in their antioxidant activities were evaluated based on the scavenging rates of 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) (ABTS) cation radical and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical. **Results** The 79 kinds of flavonoid compounds were identified by UPLC-Q-TOF-MS. Honeys from different origins were clearly distinguished, and 17 kinds of flavonoids, including quercetin, nobiletin and kaempferol, were screened as characteristic markers for origin differentiation. Hongqi village honey (HQC) exhibited the strongest scavenging rates against ABTS radical cation and DPPH radical. **Conclusion** The combination of UPLC-Q-TOF-MS and chemometrics can effectively differentiate honey from different geographical origins. This study provides a reference for the authentication of honey origin.

KEY WORDS: honey; different origins; ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry; flavonoids; chemometrics; antioxidant activity

0 引 言

蜂蜜为蜜蜂科昆虫中华蜜蜂(*Apis cerana* Fabricius)或意大利蜂(*Apis mellifera* Linnaeus)所酿的蜜, 由蜜蜂采集植物的花蜜、分泌物或蜜露, 与自身分泌物混合后酿造而成[1−2]。人类在距今 9000 年前就已经掌握了蜂蜜的采集加工技术[3], 蜂蜜作药用最早以石蜜之名载于《神农本草经》[4], 有补中、润燥、止痛、解毒的作用。蜂蜜在现代炮制中也常作为矫味剂、黏合剂、防腐剂等使用[5], 其含有 75%~80%的碳水化合物、15%~20%的水分, 以及氨基酸、维生素、矿物质等多种有益成分, 具有较高的食用及营养价值[6]。蜂蜜还含有丰富的黄酮类化合物, 主要来源于植物, 通过花蜜、花粉等进入蜂蜜[7], 是蜂蜜中重要的生物活性物质[8]。不同产地、蜜源、蜜蜂种类的蜂蜜黄酮类化合物有很大区别, 根据黄酮类化合物的类型和含量可以对不同产地的蜂蜜进行区分[9]。然而, 蜂蜜作为一些地区的主要经济来源之一, 却少见用于产地鉴别的特征化合物的报道。蜂蜜为汶川县红旗村特色农产品资源, 年产 4000 kg, 但交通不便、蜂蜜品质不明等原因, 导致蜂蜜滞销。红旗村蜂蜜作为川产特色蜂蜜, 其化学成分特征尚未明确, 缺乏可用于产地鉴别的科学依据。

液相色谱-质谱技术在复杂化合物的识别和检测方面有很大的优势, 有研究通过超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS)对黄芪蜂蜜进行研究, 筛选到毛蕊异黄酮和芒柄花素可以作为该蜂蜜的化学标志物[10], 类似地在红花蜂蜜中检测到了红花素 A 作为其化学标志物, 而在市售红花蜂蜜中均未检出[11]。液相色谱-质谱技术不仅能鉴定出蜂蜜中的特征性成分, 还能够用于识别蜂蜜真伪[12]、昆虫来源[13]以及蜜源和产地等信息[14]。但液相色谱-质谱技术的高灵敏度和检测到的物质过多, 常会掩盖掉蜂蜜之间的差异, 而针对某一类成分进行分析, 会更加直观地体现出它们之间的差异。

蜂蜜中的黄酮类化合物受产地影响显著, 通过对不同产地蜂蜜的黄酮代谢谱进行解析, 对于蜂蜜的产地区分具有重要意义。鉴于此, 本研究通过 UPLC-Q-TOF-MS 对从四川省汶川县收集的蜂蜜与其他 6 种不同产地蜂蜜黄酮类化合物进行分析, 并比较其抗氧化活性, 以期揭示不同产地蜂蜜间的差异, 为不同产地蜂蜜的区分提供参考, 并为进一步的蜂蜜溯源提供支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

红旗村蜂蜜与得荣蜂蜜经成都中医药大学严铸云教授鉴定为蜂蜜, 5 种市售蜂蜜于电商平台购买, 详细样品信息见表 1。

2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸盐)[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate, ABTS]、2,2-联苯基-1-苦基肼基(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)(分析纯, 上海易恩化学技术有限公司); 过硫酸钾、

甲醇(分析纯, 成都市科隆化学品有限公司); 丙酮(分析纯, 成都临江化工厂)。

表 1　蜂蜜样品信息

Table 1　Information of honey sample

样品编号	产地	样品来源
HQC	四川省汶川县	四川省汶川县绵虒镇红旗村
DR	四川省得荣县	四川省甘孜藏族自治州得荣县奔都乡
GSY	上海市奉贤区	上海冠生园蜂制品有限公司
BH	北京市密云区	北京百花蜂业科技发展有限公司
HXS	福建省福州市	福建乐之食品有限公司
TRT	浙江省衢州市	北京同仁堂蜂产品(江山)有限公司
HM	黑龙江省牡丹江市	黑龙江小慈生态农业发展有限公司

1.2　仪器与设备

ACQUITY UPLC 型超高效液相色谱仪、Synapt XS 型高分辨四极杆飞行时间质谱仪、ACQUITY UPLC CSH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司); SB-5200DT 型超声波清洗机(宁波新艺超声设备有限公司); TDZ5-WS 低速平衡离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); HH-S2 数显电子恒温水浴锅(郑州生元仪器有限公司); MS105DM 万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多集团)。

1.3　方　法

1.3.1　样品制备

蜂蜜于 60 ℃水浴 30 min 融化, 取融化后的蜂蜜约 15 g, 精密称定, 置于 50 mL 具塞锥形瓶, 加入 9 mL 丙酮, 超声(150 W, 40 kHz)处理 20 min, 随后涡旋振荡 5 min, 重复 3 次, 取出放冷, 离心(4000 r/min, 15 min)。取上清液于蒸发皿中, 60 ℃水浴蒸干, 加入 5 mL 甲醇溶解, 离心(4000 r/min, 15 min), 取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。样品溶液用于 UPLC-Q-TOF-MS 分析, 甲醇稀释 10 倍用于抗氧化活性测定。

1.3.2　色谱条件

色谱柱为 ACQUITY UPLC CSH C_{18} (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相 A 相为水, B 相为乙腈; 梯度洗脱(0~1 min, 98%~93% A; 1~3 min, 93%~89% A; 3~8 min, 89%~85% A; 8~13 min, 85%~70% A; 13~16 min, 70%~64% A; 16~20 min, 64%~30% A; 20~26 min, 30%~15% A; 26~28 min, 15% A; 28~30 min, 15%~5% A; 30~31 min, 5%~98% A; 31~33 min, 98% A); 柱温 35 ℃; 流速 0.3 mL/min; 进样量 3 μL。使用电喷雾电离(electrospray ionization, ESI)离子源进行离子化, 并通过质谱模块进行检测。离子源温度 120 ℃, 脱溶剂温度 400 ℃, 脱溶剂流速 1000 L/hr, 毛细管电压 2.5 kV, 锥孔电压 25 V, 扫描范围 100~1200 amu, 正离子和负离子模式分别测试, 质荷比(m/z)范围为 100~1200 Da 全扫描。测试前, 先通过 5 mmol/L 的甲酸钠溶液进行质量轴多点校准, 再通过 1 ng/μL 的亮氨酸脑啡肽(leucine enkephalin, LE)溶液进行单点校准, 确保特征离子的误差均低于 1×10^{-6}。

1.3.3　抗氧化活性

参考王海帆等[15]的方法配制 ABTS 工作液, 在 96 孔板加入样品后避光反应 40 min, 在波长 734 nm 处测定吸光度, 按如下公式(1)计算清除率:

$$\text{ABTS 阳离子自由基清除率}/\% = [1-(A_1-A_2)/A_0]\times100\% \quad (1)$$

式中: A_0 为 175 μL ABTS 工作液+25 μL 甲醇的吸光度; A_1 为 175 μL ABTS 工作液+25 μL 供试品的吸光度; A_2 为 25 μL 供试品溶液+175 μL 甲醇的吸光度。

参考王海帆等[15]的方法配制 DPPH 工作液, 96 孔板加入样品后避光反应 30 min, 在波长 517 nm 处测定吸光度, 按如下公式(2)计算清除率:

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\% = [1-(A_1-A_2)/A_0]\times100\% \quad (2)$$

式中: A_0 为 100 μL DPPH 工作液+100 μL 甲醇的吸光度; A_1 为 100 μL DPPH 工作液+100 μL 供试品的吸光度; A_2 为 100 μL 供试品溶液+100 μL 甲醇的吸光度。

1.4　数据处理

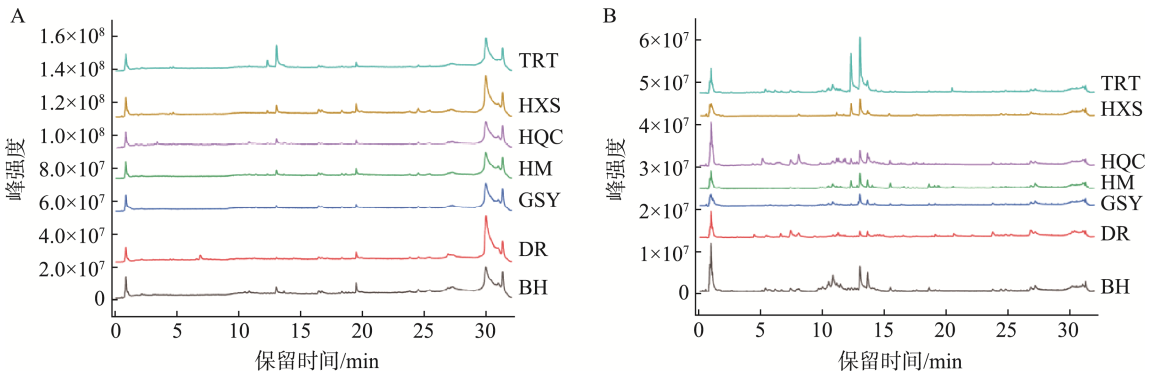
对 UPLC-Q-TOF-MS 得到的数据进行处理, 首先将 Waters 与平台自建数据库导入 UNIFI 1.8 在线软件进行化学成分定性鉴定, UNIFI 数据条目已包含化合物名称、分子式以及碎片离子等基本信息。随后使用 Waters MassLynx 4.1 软件进行数据处理, 结合二级碎片离子信息以及 PubChem、Pubmed、Chemspider 等公共数据库对化合物进行比对和鉴定。使用 Origin 2022 绘制 UPLC-Q-TOF-MS 总离子流图。将峰面积数据导入 MetaboAnalist 6.0 进行归一化处理, 随后进行主成分分析(principal component analysis, PCA)。归一化后数据在迈维云平台(https://cloud.metware.cn/#/tools/detail?id=377)进行聚类分析, 利用 SIMCA 14.1 进行正交偏最小二乘法(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)分析。使用 GraphPad Prism 10 绘制柱状图, 并进行单因素方差分析, P<0.05 代表差异显著。同样使用迈维云平台进行皮尔逊相关性分析。所有测试均重复进行 3 次。

2　结果与分析

2.1　UPLC-Q-TOF-MS 分析

在 7 种蜂蜜中共检测到 79 种黄酮类化合物, 其中正离子模式下共鉴定出 42 种黄酮类化合物, 负离子模式下共检测到 37 种黄酮类化合物, 结果见图 1。主要包括 18 种黄酮(22.78%)、12 种黄酮醇(15.19%)、9 种黄酮苷(11.39%)、8 种黄酮醇苷(10.13%)等。

异鼠李素-3-O-新橙皮糖苷(化合物 C74)是一种具有较好活性的黄酮类化合物, 仅在四川产地蜂蜜(DR 和 HQC)



注: A 为正离子模式; B 为负离子模式。

图 1 UPLC-Q-TOF-MS 总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of UPLC-Q-TOF-MS

中检测到, 以异鼠李素-3-O-新橙皮糖苷为例, 本研究构建了其可能的裂解途径。在保留时间 10.85 min 检测到准分子离子峰(*m/z*) 625.18, 其加合物为$[M+H]^+$, 二级质谱观测到(*m/z*) 317.06558 $[M+H-C_{12}H_{21}O_9]$、309.11801 $[M-H-C_{16}H_{12}O_7]$、165.07575 $[M-H-C_{16}H_{12}O_7-C_6H_{12}O_5]$、147.04406 $[M+H-C_{16}H_{12}O_7-C_6H_{12}O_4]$等碎片离子。异鼠李素-3-O-新橙皮糖苷首先裂解为黄酮苷元(异鼠李素)(*m/z*) 317.06558 $[M+H-C_{12}H_{21}O_9]$与糖苷配基(新橙皮糖苷)(*m/z*) 309.11801 $[M-H-C_{16}H_{12}O_7]$, 随后糖苷配体裂解为一分子 *D*-葡萄糖(*m/z*) 165.07575 $[M-H-C_{16}H_{12}O_7-C_6H_{12}O_5]$ 和一分子 *L*-鼠李糖(*m/z*) 147.04406 $[M+H-C_{16}H_{12}O_7-C_6H_{12}O_4]$, 可能的裂解途径如图 2 所示。

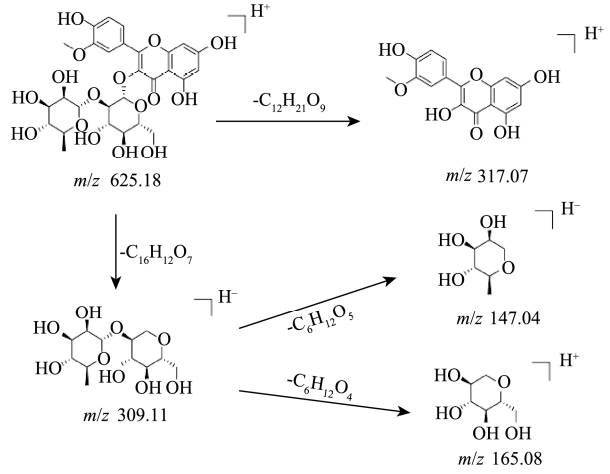


图 2 异鼠李素-3-O-新橙皮糖苷可能的裂解途径

Fig.2 Proposed fragmentation pathway of isorhamnetin-3-O-neohesperidoside

2.2 聚类分析

聚类分析结果见图 3, 结果表明 HXS 单独聚为一类, 其余蜂蜜聚为一类, 说明 HXS 与其他蜂蜜之间存在较大差异, 而 DR 与 HQC 聚为一类, 差异较小。从每种蜂蜜中检出成分数量来看, HXS 中检测出来的成分数量最少, 远低于其他蜂蜜, 与其他蜂蜜差异较大。而对于其他蜂蜜, 检测到成分数量相差不多, 而其中 DR 和 HQC 则可能是因为同样来源于四川, 地理位置更为接近, 因此它们聚为一类。

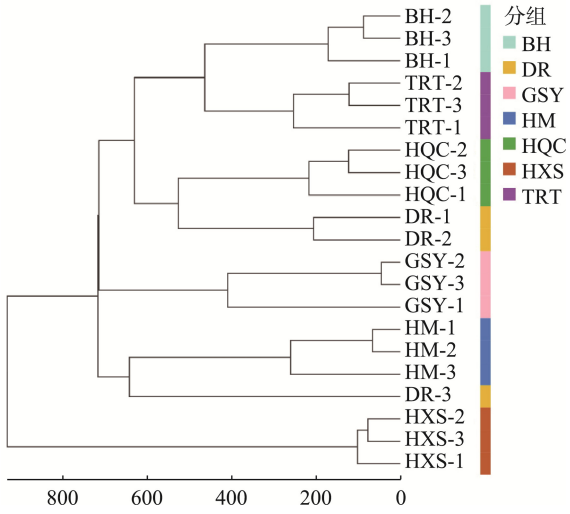


图 3 蜂蜜样品聚类分析

Fig.3 Cluster analysis of honey samples

2.3 多元统计学分析

2.3.1 主成分分析

PCA 可以通过几个主成分来体现多维数据下的特征, 有助于阐明组内和组间样品间的差异。PCA 结果如图 4 所示, 本研究在 PCA 得分图中提取到 2 个主成分(分别为 41.6%和 17.6%), 每个样品均处于 95%置信区间内。所有的蜂蜜均能较好地分开, 体现了他们之间的差异。此外, HXS 距离其余蜂蜜都很远, 与之前聚类树 HXS 单独聚为一类相吻合。除 HXS 外的蜂蜜都能分开的同时又距离较近, 说明他们在组成上具有相似性。

2.3.2 正交偏最小二乘法

为了进一步寻找不同产地蜂蜜样品的差异标志物, 随后进行了 OPLS-DA 分析, 可以明显观察到所有蜂蜜样

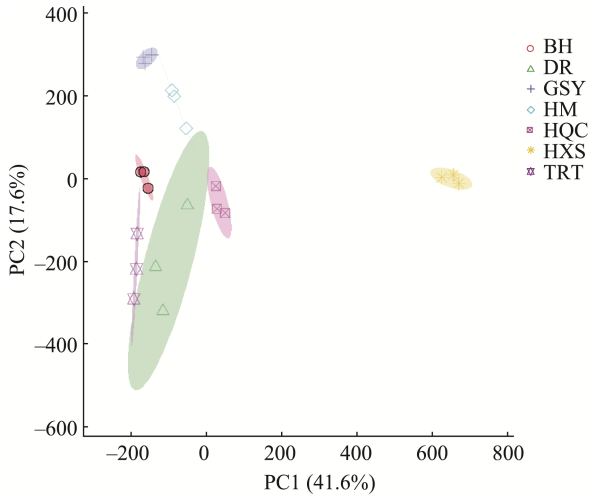
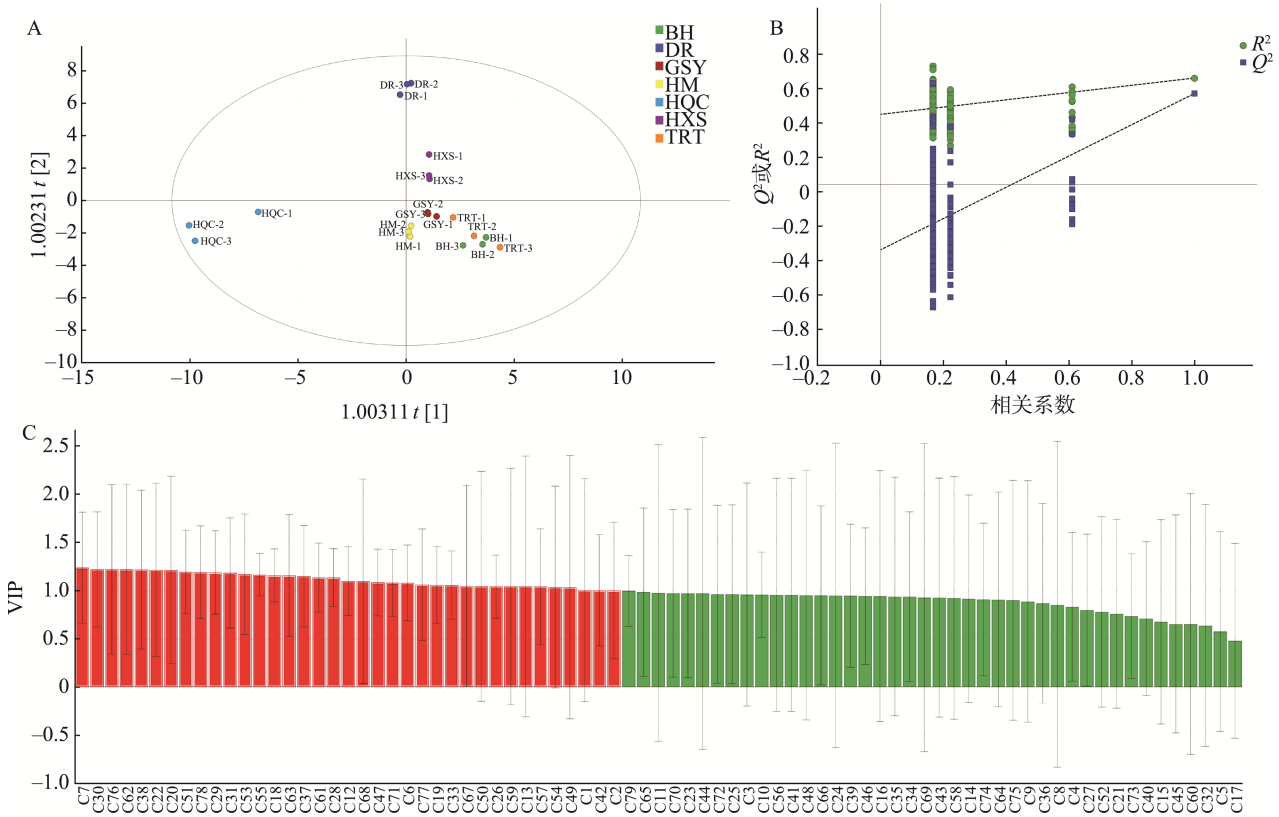


图 4　PCA 分析
Fig.4　Analysis of PCA

品大致分为 4 类，HQC、DR 与 HXS 分别聚为一类，而其他蜂蜜聚为一类，见图 5A。在 OPLS-DA 模型中，模型组解释能力参数 R^2X 和 R^2Y 分别为 0.693、0.946，预测能力参数 Q^2=0.824，表明模型预测能力强，预测性可靠。随后进行 200 次置换检验，模型原始 R^2 和 Q^2 均要大于置换后相应值，且 Q^2 截距小于 0，说明模型可靠，未出现过拟合现象见图 5B。根据 OPLS-DA 结果，筛选出变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)>1 的化合物 37 个，结合 t 检验 P<0.05 筛选到 17 个差异化学成分(图 5C，表 2)。按 VIP 值从大到小为 C7 (2’-羟基-4’,6’-二甲氧基二氢查耳酮)、C30(白杨黄素)、C38(川陈皮素)、C51(高良姜素-3-甲醚)、C29(白矢车菊素)、C31(薄荷异黄酮苷)、C55(猫眼草黄素 B)、C18 (5,7-二羟基色原酮)、C63(山柰酚)、C61(桑白皮素 D)、C28 (Undulatoside A)、C12 (3-甲氧基草棉黄素)、C47(槲皮素)、C77(柚皮素)、C26 (Gardenin C)、C57(芹菜醇)和 C42(德鸢尾素)，推测这些差异化合物是不同产地蜂蜜产生差异的原因，可作为区分它们的特征成分，应多加关注。

2.4　抗氧化活性评价

对 7 种蜂蜜进行抗氧化活性测定，结果如图 6 所示，两种方式测定结果趋势基本一致。HQC 均表现出最强的 ABTS 阳离子自由基、DPPH 自由基清除率，稍强于 BH，而 DR 和 HXS 均表现出最低的自由基清除率，又以 HXS 最低。随后对抗氧化活性与前面 17 个差异化学成分进行皮尔逊相关性分析，结果表明大多数成分均与抗氧化呈现正相关关系，而化合物 C12 (3-甲氧基草棉黄素)、C42(德鸢尾素)、C47(槲皮素)和 C51(高良姜素-3-甲醚)更是与 ABTS 阳离子自由基和 DPPH 自由基清除率均呈显著正相关(P<0.05)。



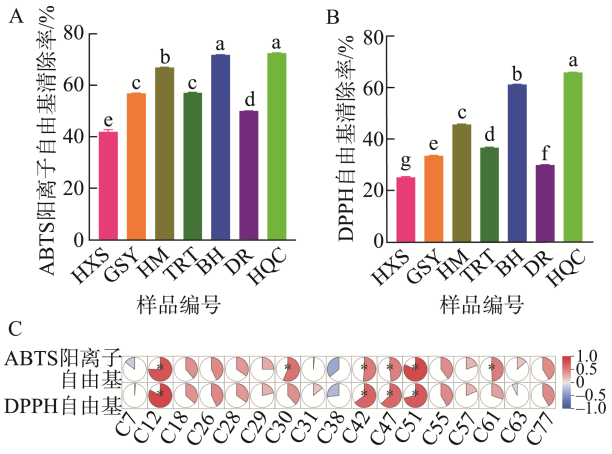
注：A 为 OPLS-DA 分析；B 为 OPLS-DA 模型验证；C 为 VIP 得分图。
图 5　OPLS-DA 分析
Fig.5　Analysis of OPLS-DA

表 2 17 个差异黄酮类成分

Table 2 The 17 differential flavonoid compounds

编号	化合物名称	CAS	离子模式	分子式	理论值	实测值	质量误差/ppm	二级碎片(*m*/*z*)	分类
C7	2’-羟基-4’,6’-二甲氧基二氢查耳酮	74919-57-6	正离子	$C_{17}H_{18}O_4$	286.1205	286.1195	–3.4	91.05568, 105.07137, 77.04039, 135.08310, 79.05614	二氢查尔酮
C12	3-甲氧基草棉黄素	-	负离子	$C_{16}H_{12}O_7$	316.0583	316.0578	–1.6	284.03378, 300.02864, 165.99215, 299.05672, 139.00461	黄酮醇
C18	5,7-二羟基色原酮	31721-94-5	负离子	$C_9H_6O_4$	178.0266	178.0265	–0.7	109.03114, 137.02641, 162.03205	色原酮
C26	Gardenin C	29550-05-8	正离子	$C_{20}H_{20}O_9$	404.1107	404.1116	2.1	375.07342, 357.06324, 347.07731, 390.09885, 360.04843	黄酮
C28	Undulatoside A	58108-99-9	负离子	$C_{16}H_{18}O_9$	354.0951	354.0958	2	161.02779, 85.03125, 177.02110, 111.04726	黄酮苷
C29	白矢车菊素	69256-15-1	负离子	$C_{15}H_{14}O_7$	306.074	306.0744	1.3	133.02944, 179.03625, 177.02063, 93.03525, 161.02812	黄烷-3-醇
C30	白杨黄素	480-40-0	负离子	$C_{15}H_{10}O_4$	254.0579	254.0573	–2.2	151.00404, 107.01448, 213.05651, 145.03041, 211.03881	黄酮
C31	薄荷异黄酮苷	-	正离子	$C_{36}H_{36}O_{17}$	740.1953	740.1952	–0.1	135.04572, 216.10130, 194.11987, 77.04070, 142.02286	黄酮苷
C38	川陈皮素	478-01-3	正离子	$C_{21}H_{22}O_8$	402.1315	402.1315	0.1	161.06272, 373.09443, 109.02999, 95.05167, 111.04675	黄酮
C42	德鸢尾素	41653-81-0	负离子	$C_{16}H_{10}O_6$	298.0477	298.0493	4.6	285.04020, 151.00469, 117.03558, 93.03552, 145.03097	异黄酮
C47	槲皮素	117-39-5	负离子	$C_{15}H_{10}O_7$	302.0427	302.0431	1.4	125.02507, 149.02679, 285.04339, 151.00538, 145.03063	黄酮醇
C51	高良姜素-3-甲醚	6665-74-3	负离子	$C_{16}H_{12}O_5$	284.0685	284.0685	0.1	211.04015, 268.03878	黄酮
C55	猫眼草黄素 B	603-56-5	正离子	$C_{19}H_{18}O_8$	374.1002	374.1007	1.4	287.05914, 317.06848, 299.05917, 359.07563, 329.06822	黄酮醇
C57	芹菜醇	520-36-5	负离子	$C_{15}H_{10}O_5$	270.0528	270.0526	–0.9	117.03481, 151.00468, 107.01530, 227.03862	黄酮
C61	桑白皮素 D	78277-79-9	负离子	$C_{40}H_{38}O_{12}$	710.2363	710.2354	–1.3	187.04217, 203.03644, 157.03191, 125.02516, 145.03320	黄酮
C63	山奈酚	520-18-3	负离子	$C_{15}H_{10}O_6$	286.0477	286.0478	0.1	151.00476, 107.01491, 93.03545, 227.03753, 229.05166	黄酮醇
C77	柚皮素	480-41-1	负离子	$C_{15}H_{12}O_5$	272.0685	272.0678	–2.5	253.05138, 125.02538, 151.00502, 107.01498, 124.01841	二氢黄酮

注: -表示未查询到该化合物 CAS 号。



注: C 为相关性分析图。图中不同的小写字母代表差异显著;图 C 中红色代表正相关, 蓝色代表负相关,*表示差异显著 $P<0.05$。

图 6 7 种蜂蜜抗氧化活性

Fig.6 Antioxidant activity of 7 kinds of honey samples

3 讨论与结论

蜜源、地理位置、气候条件以及蜜蜂种类的不同都会影响蜂蜜的成分、气味和活性[16], 基于质谱技术的代谢组学方法结合化学计量学法能够将不同来源的蜂蜜进行区分[17–20]。本研究基于 UPLC-Q-TOF-MS 在 6 个产地蜂蜜中共鉴定到 79 种黄酮类化合物, 含量最多的是黄酮、黄酮醇、黄酮苷和黄酮醇苷。聚类分析表明 HXS 聚为一类, 其他蜂蜜聚为一类, 在 PCA 图中也呈现类似的结果。OPLS-DA 分析也表明所有蜂蜜可分为 3 类, HQC 与 DR 各自为一类, 其他蜂蜜为一类。以 VIP>1 且 $P<0.05$ 为筛选标准筛选到 17 个黄酮化合物可作为区分不同产地蜂蜜的特征化合物, 分别是 2’-羟基-4’,6’-二甲氧基二氢查耳酮、白杨黄素、川陈皮素、高良姜素-3-甲醚、白矢车菊素、薄荷异黄酮苷、猫眼草黄素 B、5,7-二羟基色原酮、山奈酚、桑白皮素 D、Undulatoside A、3-甲氧基草棉黄素、槲皮素、柚皮素、Gardenin C、芹菜醇和德鸢尾素。在这些成分中, 薄荷异黄酮苷在所有样品中均检出, 该成分广泛分布于薄荷属植物中, 花期较长, 为蜂类采集提供稳定来源[21–22]。本研究还发现 Gardenin C 仅未在 DR 和 HQC 中检测到, 该成分此前在菊科及唇形科植物中被报道[23–24]。与之相反的是异鼠李素-3-O-新橙皮糖苷, 它虽然没在这 17 个化合物中, 但它却仅在 DR 和 HQC 中被检测到, 是蒲黄质量的重要评价指标[25], 提示 DR 与 HQC 产地蜜源中蒲黄属植物分布更

为丰富。德鸢尾素主要存在于川产道地药材川射干中, 在 DR 和 HQC 中含量高于其他蜂蜜, 表明上述产地蜂蜜中鸢尾科植物花粉贡献度更高[26]。上述结果表明, 蜂蜜黄酮类成分组成与产地及蜜源植物高度相关, 通过对蜂蜜特征性黄酮进行剖析, 能在一定程度上反映蜂蜜的蜜源与产地信息。

抗氧化活性是蜂蜜核心品质指标之一[27], 黄酮是蜂蜜发挥抗氧化功能的主要物质, 已有研究表明蜂蜜抗氧化能力与其总黄酮含量显著正相关[28–30]。抗氧化活性结果表明 HQC 表现出最强的 ABTS 阳离子自由基、DPPH 自由基清除率, 与之相反的是 HXS, 其自由基清除率最低。相关性分析表明, 3-甲氧基草棉黄素、德鸢尾素、槲皮素和高良姜素-3-甲醚与 ABTS 阳离子自由基和 DPPH 自由基清除率均显著正相关。德鸢尾素常存在于鸢尾科植物中, 具有多种生物活性[31–34]。槲皮素是一种在植物中广泛分布的黄酮类化合物, 已有大量的研究证实了其强大的抗氧化能力[35–36]。虽然山奈酚在本研究中并未作为特征化合物, 但在其他研究中, 山奈酚与槲皮素一起作为蜂蜜的质量评价指标之一[37]。

综上, 本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS 结合化学计量学方法, 对不同产地蜂蜜的黄酮类成分进行了分析, 明确蜂蜜之间黄酮差异, 并筛选出 17 个可作为产地区分蜂蜜的标志物, 揭示了关键的黄酮成分与抗氧化活性的相关性。研究为不同产地蜂蜜的区分提供参考, 为保障蜂蜜品质具有重要意义。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国科技医药出版社, 2025.
National Pharmacopoeia Committee. Chinese pharmacopoeia [M]. Beijing: China Science and Technology Medicine Publishing House, 2025.

[2] 雷露, 许浩翔, 李婷, 等. 黄花梨蜂蜜与其他蜜源蜂蜜的抗氧化特性研究[J]. 轻工学报, 2025, 40(1): 32–40.
LEI L, XU HX, LI T, *et al*. Research on the antioxidant properties of Huanghuali honey compared with other honey sources [J]. Journal of Light Industry, 2025, 40(1): 32–40.

[3] DUNNE J, HÖHN A, FRANKE G, *et al*. Honey-collecting in prehistoric west africa from 3500 years ago [J]. Nature Communications, 2021, 12(1): 2227.

[4] 陈德兴, 张玉萍, 徐丽莉. 神农本草经-注释[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 2012.
CHENG DX, ZHANG YP, XU LL. Shennong's classic of materia medica-annotations [M]. Fuzhou: Fujian Science and Technology Publishing House, 2012.

[5] 彭苑哲, 任智先, 杨华, 等. 蜂蜜在古今中药制剂中的应用概况[J]. 中成药, 2024, 46(5): 1565–1569.
PENG YZ, RENG ZX, YANG H, *et al*. The application overview of honey in traditional Chinese medicines throughout history [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2024, 46(5): 1565–1569.

[6] KAMAL MA, KLEIN P. Determination of sugars in honey by liquid chromatography [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2011, 18(1): 17–21.

[7] KOULIS GA, TSAGKARIS AS, AALIZADEH R, *et al*. Honey phenolic compound profiling and authenticity assessment using hrms targeted and untargeted metabolomics [J]. Molecules, 2021, 26(9): 2769.

[8] VELÁSQUEZ P, MONTENEGRO G, VALENZUELA LM, *et al*. K-carrageenan edible films for beef: Honey and bee pollen phenolic compounds improve their antioxidant capacity [J]. Food Hydrocolloids, 2022(124): 107250.

[9] BADJAH-HADJ-AHMED AY, OBBED MS, WABAIDUR SM, *et al*. High-performance liquid chromatography analysis of phenolic acid, flavonoid, and phenol contents in various natural Yemeni honeys using multi-walled carbon nanotubes as a solid-phase extraction adsorbent [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(24): 5443–5450.

[10] ZHAO T, ZHAO L, WANG M, *et al*. Identification of characteristic markers for monofloral honey of *Astragalus membranaceus* var. mongholicus Hsiao: A combined untargeted and targeted MS-based study [J]. Food Chemistry, 2023, 404(Pt A): 134312.

[11] ZHAO L, REN C, XUE X, *et al*. Safflomin A: A novel chemical marker for *Carthamus tinctorius* L. (Safflower) monofloral honey [J]. Food Chemistry, 2022, 366: 130584.

[12] GUO N, ZHAO L, ZHAO Y, *et al*. Comparison of the chemical composition and biological activity of mature and immature honey: An HPLC/QTOF/MS-based metabolomic approach [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(13): 4062–4071.

[13] WANG X, LI Y, CHEN L, *et al*. Analytical strategies for LC-MS-based untargeted and targeted metabolomics approaches reveal the entomological origins of honey [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(4): 1358–1366.

[14] TIAN L, BILAMJIAN S, CUTHBERTSON D, *et al*. Identification of botanical marker candidates for buckwheat honey using a non-targeted approach based on liquid chromatography coupled with high resolution mass spectrometry [J]. Food Research International, 2025, 208: 116080.

[15] 王海帆, 王鹏, 王福, 等. 不同栽培品种柑橘橘皮黄酮类成分含量及抗氧化活性比较研究[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(1): 117–124.
WANG HF, WANG P, WANG F, *et al*. Comparative study on flavonoid content and antioxidantactivity of different cultivars of citrus peel [J]. Natural Product Research and Development, 2024, 36(1): 117–124.

[16] DA-SILVA PM, GAUCHE C, GONZAGA LV, *et al*. Honey: Chemical composition, stability and authenticity [J]. Food Chemistry, 2016(196): 309–323.

[17] 沈菡, 杨奕, 王晶波, 等. 基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱的非靶向代谢组学用于不同来源单花蜜的差异分析[J]. 色谱, 2021, 39(3): 291–300.
SHENG R, YANG Y, WANG JB, *et al*. Analysis of differences between unifloral honeys from differentbotanical origins based on non-targeted metabolomicsby ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2021, 39(3): 291–300.

[18] GAO Y, XUE A, LI X, *et al*. Analysis of chemical composition of nectars and honeys from *Citrus* by extractive electrospray ionization high resolution mass spectrometry [J]. LWT-Food Science and Technology, 2020(131): 109748.

[19] WU F, ZHAO H, SUN J, *et al*. ICP-MS-based ionomics method for discriminating the geographical origin of honey of *Apis cerana* Fabricius [J]. Food Chemistry, 2021(354): 129568.

[20] WANG X, ROGERS KM, LI Y, *et al*. Untargeted and targeted discrimination of honey collected by *Apis cerana* and *Apis mellifera* based on volatiles using HS-GC-IMS and HS-SPME-GC-MS [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(43): 12144–12152.

[21] 刘佳欣, 王秀芹, 黄卫东, 等. 薄荷的功能成分研究及其在农产品加工中的应用[J]. 中国农学通报, 2025, 41(12): 130–141.
LIU JX, WANG XQ, HUANG WD, *et al*. Studies on functional composition of mint and its application in processing of agricultural products [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2025, 41(12): 130–141.

[22] 孟宪鑫, 赵亮, 宋宁, 等. 鲜(干)薄荷叶、薄荷花及花苞挥发油的 GC-MS 比较分析[J]. 中国林副特产, 2019(3): 1–3, 6.
MENG XX, ZHAO L, SONG N, *et al*. Comparative analysis on essential oil in cultivated *Mentha haplocalyx* Briq leaves, *Mentha haplocalyx* Briq flowers and buds by GC-MS [J]. Forest By-Product and Speciality in China, 2019(3): 1–3, 6.

[23] MBARGA PE, FOUOTSA H, NDEMANGOU B, *et al*. Two new secondary metabolites with antibacterial activities from *Conyza aegyptiaca* (Asteraceae) [J]. Natural Product Research, 2023, 37(11): 1806–1815.

[24] KHAN S, ALI MS, AHMED Z, *et al*. Sessilifol A and B, urease inhibitory pimarane-type diterpenes from *Hymenocrater sessilifolius* [J]. Natural Product Communications, 2017, 12(12): 1831-1833.

[25] 胡立宏, 房士明, 刘虹, 等. 蒲黄的化学成分和药理活性研究进展 [J]. 天津中医药大学学报, 2016, 35(2): 136–40.
HU LH, FANG SM, LIU H, *et al*. Research progress on chemical ingredients and pharmacoactive of Puhuang [J]. Journal of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2016, 35(2): 136–40.

[26] 尹竹君, 陈世龙, 李莉, 等. 川射干的基础研究与临床转化应用 [J]. 世界中医药, 2020, 15(2): 200–207.
YIN ZJ, CHEN SL, LI L, *et al*. Fundamental research and clinical translational application of iris tectorum maxim [J]. World Chinese Medicine, 2020, 15(2): 200–207.

[27] 王笑笑, 周勇, 俞婷婷, 等. UPLC-MS/MS 法分析 10 种不同蜜源蜂蜜中的黄酮类组分[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(12): 2180–2189.
WANG XX, ZHOU Y, YU TT, *et al*. Flavonoids components analysis of ten different kind of nectarhoney by UPLC-MS/MS [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2016, 36(12): 2180–2189.

[28] 李震, 李淑云, 曾青, 等. 江西 5 种中蜂蜂蜜的理化性质及抗氧化活性研究[J]. 江西农业大学学报, 2025, 47(3): 730–743.
LI Z, LI SY, ZENG Q, *et al*. Study on physicochemical properties and antioxidant activities offive kinds of *Apis cerana* cerana honey from Jiangxi Province [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2025, 47(3): 730–743.

[29] 张敏, 黄京平, 赵文, 等. 不同蜂蜜抗氧化活性和抑制酪氨酸酶活性的比较[J]. 现代食品科技, 2023, 39(1): 113–119.
ZHANG M, HUANG JP, ZHAO W, *et al*. Comparison of the antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of different types of honey [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(1): 113–119.

[30] 陈燕燕, 银倍侨, 梁翰白, 等. 九龙藤蜂蜜成分分析及其抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(17): 211–218.
CHEN YY, YIN BQ, LIANG HB, *et al*. Study on component analysis and antioxidant activity of *Bauhinia championii* honey [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(17): 211–218.

[31] OMAROVA BA, SHULTS EE, ZHAKIPBEKOV KS, *et al*. Biological effects and phytochemical study of the underground part of *Iris scariosa* Willd. ex Link extract: A new source of bioactive constituents [J]. Fitoterapia, 2024(175): 105920.

[32] AUSTIN JR, LI K, RIVERA-RODRÍGUEZ R, *et al*. Irilone, a red clover isoflavone, combined with progesterone enhances pr signaling through the estrogen and glucocorticoid receptors [J]. Journal of Natural Products, 2021, 84(12): 3090–3099.

[33] LEE JH, DEAN M, AUSTIN JR, *et al*. Irilone from red clover (*Trifolium pratense*) potentiates progesterone signaling [J]. Journal of Natural Products, 2018, 81(9): 1962–1967.

[34] SITUMORANG H, HESTIANTORO A, PURBADI S, *et al*. IN-SILICO dynamic analysis of *Sulawesi propolis* as anti-endometriosis drug: Interaction study with TNF alpha receptor, NF-*k*B, estrogen receptor, progesterone receptor and prostaglandin receptor [J]. Annals of Medicine and Surgery, 2021(67): 102459.

[35] OH WY, AMBIGAIPALAN P, SHAHIDI F. Preparation of quercetin esters and their antioxidant activity [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(38): 10653–10659.

[36] ATALA E, FUENTES J, WEHRHAHN MJ, *et al*. Quercetin and related flavonoids conserve their antioxidant properties despite undergoing chemical or enzymatic oxidation [J]. Food Chemistry, 2017(234): 479–485.

[37] 袁琛凯, 杨俊, 石敏, 等. 基于指标成分指纹图谱技术结合 LC-MS 的蜂蜜质量分析[J]. 粮食与食品工业, 2022, 29(2): 68–72.
YUAN CK, YANG J, SHI M, *et al*. Quality analysis of honey based on index componentfingerprint technology combined with LC-MS [J]. Cereal & Food Industry, 2022, 29(2): 68–72.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)