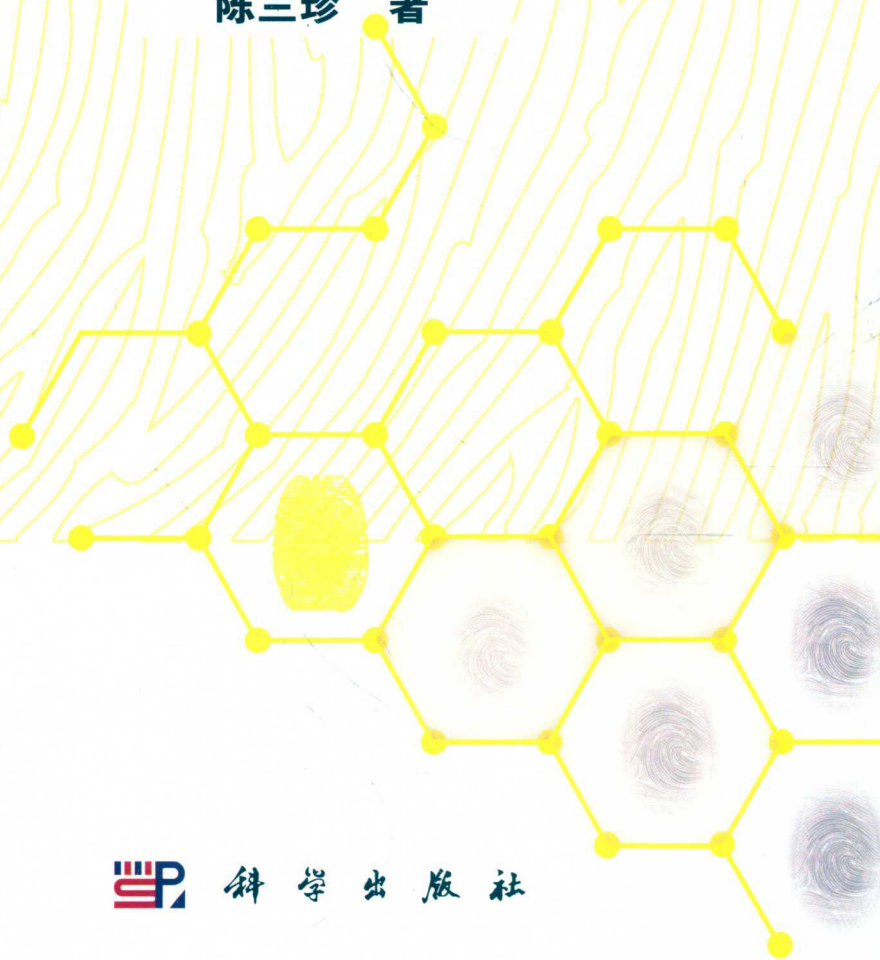




多种指纹图谱技术 在蜂产品溯源中的应用

陈兰珍 著



科学出版社

多种指纹图谱技术在 蜂产品溯源中的应用

陈兰珍 著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书共分为7章，第一章为绪论，主要介绍蜂产品的概况，以及指纹图谱分析技术在农产品和食品溯源中的应用研究进展。第二章至第七章分别阐述了近红外光谱指纹分析技术、中红外光谱指纹分析技术、拉曼光谱指纹分析技术、核磁共振波谱技术、稳定同位素指纹分析技术、矿物元素指纹分析技术在蜂产品溯源中的应用，具体包括各个指纹图谱分析技术的基本原理、仪器简介、应用进展，以及鉴别蜂蜜或蜂胶品种的应用实例。书中应用实例融入了作者多年的科研成果，通过阐述蜂产品不同指纹信息的变化机制、数据处理方法、实验技巧及研究结果，为蜂产品品种溯源技术体系的建立和完善提供理论及技术支撑。

本书可作为仪器分析、食品质量安全等相关领域的科技人员、本科生及研究生的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

多种指纹图谱技术在蜂产品溯源中的应用/陈兰珍著. —北京: 科学出版社, 2017.6

ISBN 978-7-03-053427-9

I. ①多… II. ①陈… III. ①蜂产品—品种鉴定—图谱 IV. ①S896.8-64

中国版本图书馆CIP数据核字(2017)第133675号

责任编辑: 王玉时 文 茜 / 责任校对: 郑金红

责任印制: 吴兆东 / 封面设计: 迷底书装

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京中石油彩色印刷有限责任公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2017年6月第 一 版 开本: B5 (720×1000)

2017年6月第一次印刷 印张: 6 1/4

字数: 150 000

定价: 39.80 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

养蜂业属于我国传统农业，也是现代农业的重要组成部分，在维护生态平衡、提高农产品质量、改善农产品品质、促进农民增收等方面发挥重要作用。蜜蜂为农作物授粉的同时，附加产出高营养价值的纯天然蜂产品。蜂产品，顾名思义，是来源于蜜蜂的产品，主要包括蜂蜜、蜂王浆、蜂花粉、蜂胶、蜂蜡、蜂毒、蜜蜂幼虫等。蜂产品富含多种生物活性物质，极具药用价值和保健功效，不仅是蜂群的主要食物来源，也是维护人类健康的重要物质之一。因此，蜂产品的质量与来源关乎我国养蜂业的稳定、健康发展，对于提高蜂业的生态效益和经济效益具有重要意义。

我国是世界养蜂大国，蜂群数量、蜂产品产量、蜂产品出口量、蜂产品消费量、养蜂业从业人数均居世界前列。然而，目前我国蜂产品质量存在良莠不齐、造假掺假现象，严重削弱了消费者的消费信心，影响蜂业健康持续发展。造成这一现象的原因很多，其中主要原因包括蜂产品价格相对较高、产量难以满足市场需求，且种类繁多、成分复杂，尤其是品种、产地及真实性来源不清，而现有鉴别方法和标准不足，鉴别技术难度大。因此，很有必要结合多种有效溯源技术来系统、客观地评价蜂产品品种和产地来源。

近年来，在农产品和食品品种、产地及真伪溯源研究方面，指纹图谱分析技术被广泛应用并取得较好鉴别效果。常用的指纹图谱分析技术有色谱（GC、HPLC）、光谱（UV、IR、NIR、NMR）、质谱（MS、IRMS、ICP-MS）等，样品通过这些分析手段得到能指示样品唯一性的谱图或特征性数据，表征样品的特征属性，像人的指纹一样具有专一性和代表性，以达到有效鉴别来源的目的。指纹图谱分析技术涉及光学、信息处理等多种学科领域，通过结合化学计量学方法建立识别模型，最终实现样品有效分类及未知样品类别预测，在水果、茶叶、酒类、食用油、肉类、中药等领域应用较多。指纹图谱分析技术以快速、准确、灵敏等优点成为农产品、食品、药品溯源技术研究的热点和未来发展趋势。

目前，尚无相关书籍能够系统、全面地介绍多种指纹图谱分析技术在蜂产品溯源中的应用。本书主要以作者近年来采用的近红外光谱、中红外光谱、拉曼光谱、核磁共振波谱、稳定同位素、矿物元素等指纹分析技术为主线，不仅分别介绍了这6种指纹图谱分析技术的技术原理及特点、应用进展，并以蜂蜜、蜂胶为例，融入作者多年科研成果，重点阐述了这6种不同指纹图谱分析技术在鉴别不

同品种或不同来源蜂蜜及蜂胶样品中的前处理方法、仪器分析条件、数据处理手段,以及基于化学计量学方法构建的识别模型优化等方法技巧和研究思路,为实现蜂产品品种及产地有效溯源提供技术参考和研究思路,以期为今后的相关研究提供借鉴。

本书是在科技部国际科技合作专项(2012DFA31140-5)、公益性行业科研专项(201203046-4)、国际原子能机构(IAEA)项目(CRP 16567)等科研项目的支持下完成的。在项目研究过程中,我的导师叶志华研究员给予了大力支持与帮助,我指导的硕士研究生杨娟、吴招斌分别协助完成了样品测试和数据处理工作。清华大学林光辉教授、北京工商大学刘翠玲教授和孙晓荣副教授等专家参与了部分实验设计与指导工作,中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、中国农业科学院蜜蜂研究所及其挂靠单位农业部蜂产品质量监督检验测试中心(北京)和农业部蜂产品质量安全风险评估实验室(北京)的领导、老师、同事们对研究内容提出了许多建设性意见,尽管这里没有一一列出姓名,但他们对该研究的帮助我始终铭记于心。另外,在本书撰写过程中,我的同事李熠研究员给予了鼓励与支持,我指导的硕士研究生余僧、宋晓莹帮助查阅了大量参考文献。在此一并表示衷心的感谢!希望本书对从事农产品和食品品种、产地及真伪溯源研究的科技工作者有一定的参考意义。

由于作者水平有限,书中难免存在错误和不足,恳请读者不吝指正。

陈兰珍

中国农业科学院蜜蜂研究所

2017年5月于北京

目 录

前言

第一章 绪论	1
第一节 蜂产品概述	1
一、蜂产品的定义、分类及功效	1
二、蜂产品产业及质量安全现状	6
第二节 指纹图谱分析技术应用进展	7
一、红外光谱技术	8
二、拉曼光谱技术	9
三、核磁共振波谱技术	10
四、稳定同位素技术	10
五、矿质元素技术	11
六、化学计量学方法	12
主要参考文献	14
第二章 近红外光谱指纹分析技术在蜂产品溯源中的应用	19
第一节 近红外光谱指纹分析技术简介	19
一、基本原理及特点	19
二、仪器简介	20
三、在蜂产品中的应用进展	21
第二节 近红外光谱指纹分析技术鉴别蜂胶品种	22
一、实验材料与主要仪器设备	22
二、样品处理与光谱采集	23
三、数据处理与分析	23
四、结果与分析	26
主要参考文献	26
第三章 中红外光谱指纹分析技术在蜂产品溯源中的应用	28
第一节 中红外光谱指纹分析技术简介	28
一、基本原理及特点	28

二、红外光谱仪	29
三、在蜂产品溯源中的应用进展	30
第二节 中红外光谱指纹分析技术鉴别蜂蜜和蜂胶品种	31
一、实验材料与主要仪器设备	31
二、光谱采集与仪器条件	31
三、蜂蜜中红外光谱数据处理与分析	32
四、蜂胶中红外光谱数据处理与分析	36
五、结果与讨论	40
主要参考文献	41
第四章 拉曼光谱指纹分析技术在蜂产品溯源中的应用	42
第一节 拉曼光谱指纹分析技术简介	42
一、基本原理及特点	42
二、仪器简介	43
三、在蜂产品中的应用进展	44
第二节 拉曼光谱指纹分析技术鉴别蜂蜜品种	45
一、实验材料与主要仪器设备	45
二、样品处理与光谱采集	45
三、数据处理与分析	45
四、结果与分析	50
主要参考文献	50
第五章 核磁共振波谱技术在蜂产品溯源中的应用	52
第一节 核磁共振波谱技术简介	52
一、基本原理及特点	52
二、仪器简介	53
三、在蜂产品中的应用进展	54
第二节 核磁共振氢谱技术鉴别蜂蜜品种	55
一、实验材料与主要仪器设备	55
二、样品处理与分析	55
三、数据处理与分析	56
四、结果与讨论	60
主要参考文献	61
第六章 稳定同位素指纹分析技术在蜂产品溯源中的应用	63
第一节 稳定同位素指纹分析技术介绍	63

一、基本原理及特点	63
二、稳定同位素仪器	64
三、在蜂蜜品种溯源中的应用进展	65
第二节 碳稳定同位素技术鉴别蜂蜜品种	65
一、实验材料与主要仪器设备	66
二、样品处理与分析	66
三、数据处理与分析	67
四、结果与讨论	69
第三节 氢、氧稳定同位素技术鉴别蜂蜜品种	69
一、实验材料与主要仪器设备	70
二、样品处理与分析	70
三、数据处理与分析	71
四、结果与讨论	73
主要参考文献	73
第七章 蜂蜜品种的矿物元素指纹分析技术	76
第一节 矿物元素指纹分析技术介绍	76
一、基本原理及特点	76
二、电感耦合等离子体质谱仪简介	76
三、在蜂产品溯源中的应用进展	78
第二节 电感耦合等离子体质谱法测定蜂蜜中多种矿质元素的含量	79
一、实验原理	79
二、实验材料与主要仪器设备	79
三、样品处理与分析	80
四、数据处理与分析	80
五、结果与讨论	83
第三节 碳氢氧稳定同位素与矿物元素相结合鉴别蜂蜜品种	83
一、实验材料与主要仪器设备	83
二、样品处理与分析	84
三、数据处理与分析	84
四、结果与讨论	90
主要参考文献	90
作者简介	92

第一章 绪 论

第一节 蜂产品概述

一、蜂产品的定义、分类及功效

蜂产品又称蜜蜂产品，指蜜蜂在生殖繁衍过程中形成的有用物质，主要包括蜂蜜、蜂花粉、蜂胶、蜂王浆、蜂毒、蜂蜡、蜜蜂幼虫、雄蜂蛹等，自古以来就是我国传统中医和食疗的重要组成部分。其中蜂蜜、蜂花粉、蜂胶属于蜜蜂采集物，蜂王浆、蜂毒、蜂蜡属于蜜蜂分泌物，蜜蜂幼虫、雄蜂蛹属于蜜蜂生殖繁衍物。除蜂蜡和蜂毒主要用于化工和医药原料外，蜂蜜、蜂王浆、蜂花粉、蜂胶、蜂幼虫、雄蜂蛹等均可直接或间接食用。蜂蜜、蜂花粉、蜂王浆可以直接食用，蜂胶需进一步加工处理成胶囊或片剂食用。

由于我国市场上常见的用于食品和保健品的蜂产品主要有蜂蜜、蜂王浆、蜂花粉、蜂胶，因此本章节主要围绕这四大类蜂产品进行阐述。

（一）蜂蜜

蜂蜜是蜜蜂采集植物的花蜜、分泌物或蜜露，带回巢房与自身分泌物混合后，经充分酿造而成的天然甜物质（CAC，2001）。经研究表明，蜂蜜中含有至少 200 种物质，除了富含糖类物质，还包括水分和其他营养物质，如氨基酸、维生素、矿物质、活性酶、花粉、多酚类、酚酸等。其中糖类物质包括果糖、葡萄糖、低聚糖、寡糖等，占蜂蜜成分的 65%~80%。氨基酸包括人体不能自身合成的 8 种必需氨基酸，含量约占 0.3%。维生素包括维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆。矿物质元素包括铁、钾、钠、钙、铜、锰、镁等。挥发性物质包括黄酮类、酚酸类等（Baroni et al., 2006）。不同地理来源和植物来源的蜂蜜组分含量和感官状态不同。

蜜蜂酿造蜂蜜的原料主要来源于植物开花时由蜜腺分泌的花蜜，然而有的植物蜜腺不发达不能产生花蜜。因此，我们把具有蜜腺且能分泌花蜜并被蜜蜂采集酿造成蜂蜜的植物称为蜜源植物。我国国土辽阔、气候适宜、蜜源植物丰富，能被蜜蜂利用的蜜源植物有 5000 多种。根据泌蜜量的多少和利用程度的高低，可将蜜源植物分为主要蜜源植物和辅助蜜源植物。主要蜜源植物是指数量多、分布广、花期长、分泌花蜜量多、蜜蜂爱采集、能作为大量商品蜜来源的植物。例如，粮食作物中的荞麦；油料作物中的油菜、向日葵、芝麻；豆科牧草和绿肥中的紫花苜蓿、草木犀、紫云英、苕子；果树中的柑橘、枣、荔枝、龙眼、枇杷；树木中的刺槐、椴树、乌桕、桉树和荆条、野坝子等灌木；野草中的老瓜头、水苏等。

辅助蜜源植物是指具有一定数量，能够分泌花蜜、产生花粉，能被蜜蜂采集利用，供蜜蜂本身维持生活和繁殖之用的植物。例如，苹果、山楂等各种果树，以及瓜类、蔬菜、花卉等（徐万林，1983）。在外界蜜源缺乏时，蜜蜂也采集蜜露或甘露来酿造蜂蜜。甘露是半翅目昆虫吸食植物叶片、枝条等组织分泌的汁液，经消化吸收之后排泄在植物表面的一种含有较多糖分的物质。蜜蜂采集甘露形成的甘露蜜是一种较特殊的蜂蜜。主要在欧洲一些国家生产。我国蜂农以追花放蜂方式生产蜂蜜，甘露蜜很少。

蜂蜜种类很多，目前较常见的分类方法是按照蜜源植物分类。蜜蜂只采集一种蜜源植物的花蜜酿造而成的蜂蜜，通常以蜜源植物的名称来命名，如洋槐蜜、油菜蜜、枣花蜜、椴树蜜、柑橘蜜、荔枝蜜、龙眼蜜、枇杷蜜、桉树蜜、白刺花蜜、草木樨蜜、鹅掌柴蜜（鸭脚木蜂蜜）、胡枝子蜜、老瓜头蜜、野桂花蜜、荞麦蜜、乌柏蜜、向日葵蜜（葵花蜂蜜）、野坝子蜜、苕子蜜、芝麻蜜、紫花木樨蜜、紫云英蜜等。由蜜蜂采集两种或两种以上蜜源植物的花蜜或分泌物酿造的蜂蜜，也就是说主要蜜源是多种植物的称为杂花蜜或百花蜜（吴杰，2012）。在我国，花期持续时间比较长的单花蜜有油菜蜜、椴树蜜、枣花蜜、荆条蜜、龙眼蜜、荔枝蜜等。由于气候环境对植物的生长和花期有较大影响，有些蜂蜜品种的产量并不是很稳定，如洋槐蜜、紫云英蜜、党参蜜、柑橘蜜等。我国还有一些特有蜂蜜品种，产量较低而且品种稀少，如益母草蜜、野菊花蜜、五味子蜜、枸杞蜜等。

每一种单花蜂蜜的色泽、气味、滋味、状态等感官特征与蜜源植物有关。在色泽方面，由水白色（几乎无色）、白色、特浅琥珀色、浅琥珀色、琥珀色至深色（暗褐色）。例如，洋槐蜜呈水白色，枣花蜜呈琥珀色。在气味方面，单花种蜂蜜具有该种蜜源植物的花的气味，没有酸或酒的挥发性气味和其他异味。例如，洋槐蜜具有槐花的清香味，荔枝蜜具有荔枝香味。在滋味方面，蜂蜜具有甜、甜润或甜腻，少数品种有微苦、涩等刺激味道。在状态方面，常温下蜂蜜呈黏稠流体状，或部分及全部结晶，如油菜蜜、椴树蜜容易结晶成白色。我国主要蜂蜜品种的分布区域及其感官特征如表 1.1 所示。

表 1.1 我国主要蜂蜜品种分布及特征

蜂蜜品种	主要分布区域	感官特征
油菜蜜	南方各省（直辖市）分布较广，如云南、贵州、四川、重庆、湖南、湖北、江西、浙江、安徽、江苏等，以及河南、青海等北方省份	特浅琥珀色，具有油菜花香，极易结晶，结晶细腻呈乳白色
紫云英蜜	江苏、浙江、安徽、江西、广东、湖南等省	淡白微显青色，有清香气味，不易结晶
苕子蜜	南方和长江流域各省的水稻产区	色泽淡白微显青色，有清香气，结晶较慢
柑橘蜜	福建、广东、广西、四川、浙江、湖北、湖南等南方区域	浅琥珀色，具有柑橘味，微有酸甜，结晶粒细，呈油脂状

续表

蜂蜜品种	主要分布区域	感官特征
荔枝蜜	主要分布在华南地区，以福建、广东、广西居多	特浅琥珀色，具有荔枝香味，稍有刺喉的感觉，结晶粒细腻
龙眼蜜	海南、广西、台湾、福建、广东等省（自治区）	琥珀色，具有龙眼花香味，不易结晶
洋槐蜜	山东、河南、河北、安徽、陕西、甘肃、山西、辽宁南部等地	水白色，具有槐花的清香气味，不易结晶
枣花蜜	河南、山东、河北、陕西、山西、宁夏等省（自治区）	琥珀色，具有浓郁的枣花香味，不易结晶
荆条蜜	主要分布在华北、东北南部山区	浅琥珀色，具有草香味，易结晶，结晶粒细腻
椴树蜜	东北长白山和兴安岭林区	特浅琥珀色，具有薄荷的清香味，易结晶，结晶粒细腻呈油脂状
向日葵蜜	东北三省、内蒙古等地区	浅琥珀色，具有向日葵花香味，易结晶，结晶粒细，色淡黄
荞麦蜜	主要分布在我国东北、华北和西北等地区	深琥珀色，具有浓郁的荞麦花香味，味道特殊，结晶粒粗

蜂蜜是一种营养丰富、药食同源的纯天然传统食品，自古以来深受广大消费者的青睐。人类食用蜂蜜历史悠久，汉朝的《神农本草经》和明代的《本草纲目》中均有记载。蜂蜜味甘性平，归肺、脾、大肠经，具补中、润燥、止痛、解毒功效。用于脘腹虚痛、肺燥干咳、肠燥便秘；可解乌头药类毒；外治疮疡不敛、水火烫伤等。临床实践及现代药理研究证明，蜂蜜具有抗氧化、抗菌消炎、解毒、保护创面、促进细胞再生和渗液吸收等功能与所含营养组分和活性物质有关（曹炜等，2002；Meda et al., 2005；Escuredo et al., 2012）。蜂蜜中所含有的糖类物质（果糖和葡萄糖）不需要机体进行分解就可以直接被吸收利用，帮助促进消化、润肠通便（Chatterjee et al., 1978）；蜂蜜通过提高血液中血红素的含量，可以增强心肌活力，对心脏病有较好的预防作用（Yaghoobi et al., 2008）；蜂蜜中少量的矿物质元素（铜、铁、镁等）也是机体活动不可或缺的成分，如铁离子是血红蛋白的重要组成部分，能有效地防止贫血，铜离子对电子的传递有着不可替代的作用，深色蜂蜜中的含量较浅色蜂蜜中的含量高（Murat et al., 2007）。蜂蜜的高渗作用以及含有许多抗细菌生长的酶，如溶菌酶和葡萄糖抗氧化酶等，使蜂蜜的综合抗菌效果有较大提升。例如，蜂蜜对化脓性金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、绿脓杆菌、部分大肠杆菌都有明显的抑制效果。蜂蜜不仅可以内服，还可以外用，对一些皮肤疾病有显著的疗效。蜂蜜中有机酸和各种氧化酶的生物活性是蜂蜜消炎杀菌、促进组织再生、治疗创面必需的物质基础。将蜂蜜涂抹于烫伤部位，可以有效减轻疼痛、减少渗出液，以及预防伤口感染。将蜂蜜涂抹于蚊虫叮咬处，可以杀菌消肿。除此之外，蜂蜜还有很好的美容功效，可以去皱、保湿，是真正意

义上的天然护肤品 (Fahey et al., 2002; Kilicoglu et al., 2006)。

(二) 蜂胶

蜂胶 (propolis) 是蜜蜂从植物的芽孢、树皮、腋芽等处采集的树脂, 并混入花粉、蜂蜡和自身分泌物等物质而得到的一种具有特殊芳香气味的黏性固体胶状物 (Ghisalberti, 1979)。在蜂箱里, 蜜蜂是利用蜂胶填补和阻塞蜂箱间框架的缝隙, 维持蜂群内的适宜温度, 并利用蜂胶抑制有害微生物的生长繁殖, 防止蜂蜜和花粉等产品的腐败变质和蜂群疾病的发生 (Marcucci, 1995)。

蜂胶是一种成分复杂的纯天然产物, 不同地区、不同植物来源、不同生产季节所产蜂胶颜色和化学成分存在很大差异 (Bankova et al., 2015)。目前, 蜂胶已经鉴定出来的物质有 400 多种, 大约含 55% 树脂和树香、30% 蜂蜡、10% 芳香挥发油和 5% 花粉及杂物等。主要成分有黄酮类化合物、酚酸及其酯类化合物、萜烯类物质、芳香类物质、脂肪酸和类固醇类物质等。其中黄酮类化合物有 136 种, 酚酸类化合物 132 种和萜烯类化合物 190 种 (Greenaway et al., 2015)。蜂胶颜色呈现暗绿、褐色、灰绿、棕黄或黑褐等颜色, 少数色深者与黑色相似。蜂胶具有低温硬脆、高温变黏的质地特异性, 不溶于水, 部分溶于乙醇等有机溶剂。一般不建议直接食用蜂胶原料 (毛胶), 需要经过提纯、净化、除杂后使用。

不同地区由于纬度、气候等差异, 植物的品种也呈现多样化。蜂胶化学成分与其胶源植物有着显著关系 (Kumazawa et al., 2004), 因此蜂胶的命名也主要以其胶源植物为主。目前已发现的蜂胶主要可以分为 5 种类型: 杨树属型、酒神菊属型、克鲁西属型、血桐属型和地中海东部地区型等。早在 1980 年, Popravko 等鉴别出温带地区蜂胶植物源以黑杨为主的杨树属及其杂交品种, 其特征性化学成分是 B 环无取代基的类黄酮以及苯丙酸及其酯类, 如松属素、短叶松素、高良姜素、柯因和咖啡酸苯乙酯 (Hegazi et al., 2001)。酒神菊属型蜂胶, 以巴西东南部分布较多, 俗称巴西绿蜂胶, 主要成分为异戊烯苯丙类, 如阿替匹林 C 和咖啡酰奎尼酸。俄罗斯高海拔地区, 横跨亚欧大陆, 适合桦树生长, 以桦树型蜂胶为主。古巴、巴西、墨西哥的红蜂胶胶源植物是黄檀属植物。希腊和意大利的蜂胶属于地中海型, 胶源植物是柏科植物, 二萜烯类化合物含量丰富 (Milena et al., 2010)。太平洋区域的蜂胶则来自于血桐属 (*Macaranga*) 植物。

我国地处温带, 气候类型多变, 植物种类较多, 蜂胶植物来源多样。目前一般认为, 中国蜂胶的植物来源是杨树属植物, 也有研究者提出松树、柳树、桦树等植物也可能是蜂胶来源 (延莎等, 2012; 王雪等, 2015)。中国台湾蜂胶植物来源是血桐属植物, 蜂胶特征性成分是香叶基黄酮类 (Chen et al., 2008)。然而, 目前缺少对中国蜂胶胶源植物的系统研究, 采自不同地域的蜂胶是采自单一植物还是多种植物, 是否存在差异, 尚无定论。

人们使用蜂胶已有数千年之久, 古代已有关于蜂胶的记述。古埃及人利用蜂

胶的防腐性质制作木乃伊,希腊人和罗马的外科医生用蜂胶促进伤口愈合和口腔消毒,南美的印第安人将蜂胶作为一种退热剂。17 世纪的《伦敦药典》中已将蜂胶列为正式药物。我国 2005 年版的《中国药典》已将蜂胶收录。现代研究结果表明,蜂胶具有抗菌消炎、抗病毒、抗肿瘤、抗氧化、调节血脂血糖、促进组织再生等生物学和药理作用,受到了医学界的广泛重视和深入研究。蜂胶中的多酚类物质对自由基的活性有抑制作用,可缓解糖尿病、心脑血管病等疾病发生(Kumazawa et al., 2004; Farooqui et al., 2010; Wu et al., 2007);蜂胶中咖啡酸苯乙酯和阿替匹林 C 可以抑制瘤细胞 DNA 合成,与诱导肿瘤细胞凋亡有关,具有抗肿瘤活性。蜂胶中的酚酸类物质能有效抑制 RNA 聚合酶的活性,阻止细菌、真菌、病毒的生长繁殖(Basim et al., 2006, Rahman et al., 2010; Takaisi-Kikuni et al., 2007);蜂胶被用于治疗口腔和皮肤疾病,对创伤、烧伤、糖尿病也具有一定的疗效。蜂胶还可以用于食品保鲜,对某些病毒、真菌和细菌有较好的抑制作用,是一种天然无害的保鲜剂。

(三) 蜂花粉

蜂花粉(bee pollen)是蜜蜂采集植物花粉后,加入自身的唾液和花蜜,混合成的颗粒状物质。蜂花粉和蜂蜜混合,是蜜蜂的主要食物。蜂花粉富含蛋白质、氨基酸、碳水化合物、维生素、脂类等多种营养成分,以及酶、辅酶、多酚类和黄酮类物质、多糖、微量元素等生物活性物质,具有“微型营养库”之美誉。

我国幅员辽阔的地理优势提供了丰富的花粉资源。粉源植物是指能产生较多花粉,且花粉能被蜜蜂采集利用的植物。蜜粉源植物是指既有花蜜又有花粉供蜜蜂采集的植物。蜜粉源植物是蜜蜂食物的主要来源之一,是发展养蜂生产的物质基础。据初步调查,我国已知的蜜源植物中有大部分植物属于粉源植物。蜜蜂有蜜源植物开花期优势吸引其专访的特点,如油菜蜜期间,相对集中采集油菜花粉。因此,根据蜜粉源植物开花情况命名,我国主要蜂花粉有油菜蜂花粉、茶花蜂花粉、荞麦蜂花粉、向日葵蜂花粉、玉米蜂花粉等。不同植物来源的蜂花粉,其营养价值和化学成分、含量也略有差异。

现代研究表明,蜂花粉具有提高机体的免疫功能、调节人体新陈代谢、抗氧化、抗疲劳、抗辐射、降血脂、保护肝脏、治疗前列腺增生以及抗衰老等功效。

(四) 蜂王浆

蜂王浆(royal jelly)又名蜂皇浆、王浆、蜂乳、王乳,是由 5~15 日龄工蜂头部舌腺(咽下腺)和上颚腺共同分泌的一种乳白或浅黄色,有酸涩、辛辣味,微甜并具有特殊香气的浆状物,是用于饲喂蜂王及幼虫的食物。蜂王成虫终生吃蜂王浆,寿命一般为 3~4 年,最长可达 8 年,而没吃蜂王浆的工蜂成虫的寿命在生产季节仅能活 50 天左右,即使在半冬眠状态的越冬季节,最多也只能存活 11

个月左右。蜂王浆采自蜂群中的王台，且由哺育蜂所分泌，而哺育蜂食用酿制的蜂蜜和经发酵的花粉，从中摄取营养和能量合成蜂王浆。因此，合成蜂王浆的原料物质来源于花粉和蜂蜜。

蜂王浆化学组分十分复杂，富含蛋白质、糖类、脂类、多种维生素、氨基酸和活性物质王浆酸等物质。不同蜂种、蜜源、产地、季节、气候、蜂群群势、哺育蜂年龄和采浆时间等因素都会影响蜂王浆的感官特征和化学组分含量。一般而言，蜂王浆中水分含量为 62.5%~70%，干物质占 30%~37.5%。干物质中含有蛋白质 36%~55%，糖类 20%~30%，脂肪酸 7.5%~15%，矿物质 0.9%~3%，维生素 1%，此外含有有机酸、酶、激素及其他未知活性成分。

目前已确定的蜂王浆蛋白有 10 多种，其中 2/3 是清蛋白，1/3 是球蛋白，与人体血液中清蛋白与球蛋白比例大致相同。蜂王浆中含有 20 多种氨基酸，约占王浆干物质的 0.8%，其中包括人体所必需的 8 种氨基酸，蜂王浆中脯氨酸、赖氨酸、谷氨酸、精氨酸含量最高。蜂王浆中含量最高的两种糖是果糖和葡萄糖，其中果糖占干物质的 52%，葡萄糖占 45%，此外含有少量的蔗糖、麦芽糖和龙胆二糖。蜂王浆中含有 26 种以上的脂肪酸，其中最主要的是 10-羟基-2-癸烯酸（俗称王浆酸，简称 10-HDA），约占脂肪酸重的 50%，王浆酸是蜂王浆特有的天然不饱和脂肪酸，是鉴定蜂王浆质量的重要指标。蜂王浆中含有多种维生素，其中 B 族维生素含量最高。蜂王浆含有多种矿物元素，包括钾、钠、镁、钙、磷常量元素和锌、硒、铜、铁微量元素，此外含有有机酸、酶类及其他未知活性成分。

蜂王浆的分类有多种方式，最常见的分类方式是按照蜜粉源植物种类划分。习惯上，将在自然环境中处于某种或某几种蜜粉源花期的、从蜂群中采集的蜂王浆，以蜜粉源植物命名，如油菜浆、洋槐浆、椴树浆、荆条浆。按照王浆采集的季节分，有春浆、夏浆、秋浆。按照产浆的蜂种分，有中蜂浆和西蜂浆。

根据文献记载，蜂王浆作为珍贵的保健食品已经有几百年的食用历史，其记载遍布世界各国，至今仍是全世界最受欢迎的天然保健品之一。国内外多年科研和医学临床实践证明，蜂王浆能激发免疫细胞的活力，调节和增强机体免疫功能，具有延缓衰老、抗菌消炎、抗氧化等多种生物学功能。同时，蜂王浆的抗氧化、抗菌、抗过敏、吸湿和保湿等方面的功效使得蜂王浆成为多种化妆品的原料，不仅可以营养肌肤，为肌肤提供足够的营养，而且可使皮肤更加洁白、细腻、光泽、富有弹性，减少皱纹和黄褐斑。

二、蜂产品产业及质量安全现状

我国是世界养蜂大国，蜂群数量、蜂产品产量和出口量、养蜂从业人员均居世界前列。据不完全统计，目前全国蜂群已达 800 多万群，占世界蜂群数的 1/8，居世界首位。我国蜂蜜年均加工量约 40 万 t，约占世界蜂蜜总产量的 20%，约 30% 出口到欧洲、美国、日本等发达国家和地区，但蜂蜜的出口价格低于其他国家。

蜂胶是近几年最畅销的蜂产品之一,国内和国际市场对优质蜂胶的需求很大,每年国内蜂胶原料产量约 350t。我国对蜂王浆的开发和利用始于 20 世纪 50 年代末,60 年代已有批量生产,70 年代以来发展迅速,目前蜂王浆年产量约 3500t,出口量增加,主要销往日本、欧洲、美国和东南亚等国家和地区。蜂王浆及其王浆冻干粉内销市场比较平稳,自产自销逐年扩大。蜂花粉近年来产量和出口量有所下降,年产量约 5000t。另外,还有数量不定的蜂蜡、蜂毒、蜂蛹、蜜蜂幼虫等产品。蜂毒产品目前尚处于研发阶段,市场化较少。我国蜂蜡产品主要用于出口,目前虽产量较低,市场化功能较弱,仅限于研究或自产自销,但潜在的开发能力较大,前景乐观。

随着社会经济的发展和人们生活水平的提高,蜂产品和其他食用农产品一样,其质量安全备受政府、公众的关注。蜂产品质量与安全受饲养环境、养殖方式、加工、流通、市场需求等多种因素影响。目前,我国蜂产品质量安全主要存在以下几个问题:①药物残留问题。主要包括抗生素残留、农药残留,蜂产品中药物残留不仅降低原有的保健营养价值和食疗功能,危害人体健康,而且对蜂群健康也带来极大危害,影响整个蜜蜂种群,采集能力下降。我国养蜂业属于劳动密集型产业,蜂场规模小,蜜蜂良种化程度不高,蜂螨、白垩病、美洲幼虫腐臭病、欧洲幼虫腐臭病、孢子虫病、囊状幼虫病和爬蜂综合征等疫病还比较突出,蜂群健康状况与国外相比差距较大。由于缺乏科学规范用药知识、蜜蜂疾病防控体系薄弱及经济利益驱使,生产中滥用或乱用抗生素药物现象仍然普遍存在。另外,蜂场周边的粮油作物、果树、蔬菜等农作物在流蜜期间喷洒的部分农药不仅造成蜜蜂大批死亡,而且可能导致蜂巢中农药残留。②重金属残留问题。主要为蜂胶中的铅、砷、汞等重金属残留。③微生物污染问题。主要为花粉的霉菌污染。④掺假造假问题。其中蜂蜜、蜂胶掺假造假的问题不容忽视,掺假手段层出不穷。最初,造假者只是在蜂蜜中加入水、蔗糖、转化糖、饴糖、羧甲基纤维素、糊精等物质。近年来,在蜂蜜中掺入糖浆,如甜菜糖浆、甘蔗糖浆、高果糖玉米糖浆以及大米糖浆等。更有甚者,以葡萄糖、果糖、工业糖浆和工业淀粉酶等为原料,制造全假蜂蜜,蒙骗消费者,牟取暴利。蜂胶造假主要是用大量的杨树胶充当蜂胶,制成蜂胶软胶囊、蜂胶片剂或其他蜂胶制品销售。2010 年 11 月中央电视台《每周质量报告》分别以《甜蜜的谎言》《蜂胶里的秘密》为题曝光了假蜂蜜、假蜂胶事件。假蜂蜜、假蜂胶事件的曝光降低了消费者对蜂产品质量安全的信任,也改变了很多消费者一贯追求便宜低价蜂产品的消费观念。因此,如何从源头上遏制蜂产品质量安全已经变得刻不容缓。

第二节 指纹图谱分析技术应用进展

指纹分析术语起源于法医学中对人指纹的鉴别,人的指纹有拱形、环形和螺

纹形三种基本模式,但每一个人的指纹在细微处却绝对不同,这是指纹的唯一性。20 世纪 90 年代初,指纹技术开始以生物识别的方式出现,如指纹识别、面部识别、声纹识别等,并逐渐发展成为指纹图谱的化学模式识别分析技术。随着仪器分析技术和多元统计方法的不断发展,指纹分析技术以光谱技术、核磁共振技术、同位素技术等为分析手段,获得样品的系列特征性图谱或数据,结合多元统计方法建立识别模型。指纹分析技术有两个基本特征:“模糊性”和“整体性”。“模糊性”是指很难通过某几个特定组分含量或某些局部特征来完全描述样品的属性、特征或品质。“整体性”是指必须从宏观上对尽可能多的所有细微特征进行综合分析才能较客观地描述样品的属性、特征或品质。指纹分析技术近年来以快速、准确、灵敏等优点成为农产品、食品、药品的品种、产地及真伪溯源的研究热点。下面分别介绍与本书后面章节有关的分析技术如红外光谱技术、核磁共振光谱技术、稳定同位素技术、矿物元素技术及化学计量学方法的应用。

一、红外光谱技术

(一) 近红外光谱技术

近红外光是指波长在 780~2526nm 的电磁波。近红外光谱 (near infrared spectroscopy, NIR) 指纹分析技术利用样品中含氢基团 (如 C—H、O—H、N—H、S—H 等) 化学键伸缩振动倍频和合频在近红外光区的吸收光谱,通过选择合适的化学计量学方法,将具有代表性的真实样品的近红外吸收光谱吸光度值与样品组分浓度或性质数据进行关联,建立样品吸收光谱与其组分浓度或性质之间的关系,称之为校正模型,运用建立好的校正模型快速预测未知样品组成或性质。近红外指纹分析技术是一种间接分析的技术,具有分析速度快、可实现多组分同时测量以及样品不需要复杂的前处理过程等优点,非常适合于实时在线分析和无损检测。而农产品或食品由于成分较复杂,传统的分析方法繁琐,通常无法实时在线检测。

随着计算机技术、化学计量学及仪器分析技术的发展与融合,近红外光谱技术是目前指纹分析技术中研究最多的技术之一,已被广泛用于农产品、食品、药品、石油、化工等产品的内部组分定量、真伪鉴别、产地识别、种类识别等。近红外光谱结合峰位识别、主成分分析、判别分析、聚类分析等统计学和化学计量学方法,不仅可以对农产品及食品的真伪进行鉴别,还可以对不同种类、不同类型的农产品及食品进行定性分析。近年来,近红外光谱指纹分析技术在农产品的品种、产地溯源方面,尤其对水果、食用油、茶叶、葡萄酒、蜂蜜等产品的溯源发挥重要作用。郝勇等应用可见/近红外光谱分析方法结合软独立模式分类 (SIMCA) 和偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 模式识别方法对赣南脐橙的品种进行识别,实现了纽贺尔、奈弗宁娜、华脐以及朋娜 4 种脐橙的 100% 的识别,为脐橙优良品种的选育提供快速鉴别分析方法。李晓丽等应用可见-近红外光谱仪测定

5 个品种茶叶的光谱曲线, 用主成分分析法和人工神经网络技术对不同品种茶叶进行聚类分析, 对未知的 25 个样本进行鉴别, 品种识别准确率达到 100%。

(二) 中红外光谱技术

中红外光指波长为 $4000\sim 400\text{cm}^{-1}$ 的电磁波。中红外光谱 (mid-infrared spectroscopy, MIR) 又称分子振动转动光谱, 检测到的是分子振动的基频吸收。传统的中红外光谱技术是基于样品光谱图中的峰位、峰形、峰强度代表着体系中各种基团的谱峰, 反映的是一个混合物中各种成分的叠加谱图, 混合物中的组成、含量等因素的变化都会引起光谱整体谱图的变化, 凭借这些宏观特征, 实现食品的鉴定与质量控制。而中红外光谱指纹分析技术是在利用样品的红外光谱数据基础上结合多元统计技术, 挖掘红外特征指纹信息, 通过识别模型建立实现鉴别效果。中红外光谱指纹分析与 NIR 技术一样, 都具有采集数据速度快、前处理简单、无损、信息量大等优点。不同的是, 中红外技术比近红外的检测限要好 $1\sim 2$ 个数量级, 谱峰重叠没有近红外区严重, 所表达的样品信息量更加丰富。除此之外, 中红外光谱受水分影响较小并且能够反映出样本分子振动基频和合频的强吸收 (褚小立, 2011), 因此中红外光谱的分辨率更高、采集信息的能力更强。

近年来, 中红外光谱指纹分析技术结合化学计量学分析方法在奶产品、食用油、茶叶、中药等农产品溯源方面得到了很好的应用。Pappas 等利用傅里叶中红外漫反射光谱技术鉴别山羊奶和绵羊奶, 发现 $1840\sim 950\text{cm}^{-1}$ 光谱区域是羊奶的指纹区域, 1745cm^{-1} 与糖的羧基甲基酯化有关, 是鉴别羊奶的主要谱峰, 结合聚类分析和判别分析可鉴别不同来源的羊奶。梁鹏娟等应用傅里叶变换红外光谱法测定纯核桃油和分别混合大豆油、茶籽油和葵花籽油的掺伪核桃油的红外光谱, 结合主成分分析法 (PCA) 以及马氏距离判别法对核桃油的纯度进行判别, 3 个判别模型的准确率可达到 100%。

二、拉曼光谱技术

拉曼光谱 (Raman spectra) 是一种散射光谱, 反映的是与物质分子简正振动的频率大小以及与振动和转动能级有关的信息 (Michal et al., 2016)。不同物质的拉曼光谱不一样, 即拉曼光谱又称为“指纹谱”。拉曼光谱技术是基于拉曼散射效应而发展起来的一种光谱分析技术, 可以有效地反映单一或混合体系的结构特征, 在物质的定性分析中起着十分重要的作用。在拉曼光谱中 $\text{C}\equiv\text{N}$ 、 $\text{C}=\text{O}$ 等键的吸收表现为强峰吸收, 而在红外光谱中为弱峰吸收; $\text{C}-\text{H}$ 、 $\text{O}-\text{H}$ 、 $\text{S}-\text{H}$ 等键在拉曼光谱中表现为弱峰吸收, 而在红外中表现为强峰吸收。因此, 拉曼光谱所反映的信息与红外光谱所反映的信息可以实现互补效果。

与其他光谱技术一样, 拉曼光谱技术无需对样品进行处理, 样品用量较少, 操作时间短, 灵敏度高。同时, 具有谱峰尖锐, 可明显表征特定分子的结构, 更