

蜂蜜真伪鉴别及检测方法研究

张波, 王楠楠*, 袁婧威

承德市食品药品检验检测中心 河北承德

【摘要】为了建立蜂蜜检测方法以及进行真伪鉴别,以市场及蜂农处购买的共计 40 个不同产地、不同蜜源的蜂蜜为研究样本,通过近红外光谱法对真实蜂蜜和一定比例的糖浆进行测定,对比二者区别。利用电感耦合等离子质谱仪(ICP-MS)和液相色谱仪对蜂蜜中的 26 种不同元素和 8 种酚酸及黄酮的种类及含量建立方法并对其进行方法学验证,应用已建立的方法对所购买的样本测定分析。通过实验结果可知,红外光谱法对于蜂蜜的掺杂检测能够提供一定的支持,不同种类、不同产地的蜂蜜样本中元素含量及酚酸和黄酮的含量有所差异。测定结果可为今后研究及方法制定提供理论依据。

【关键词】蜂蜜; 近红外光谱; 电感耦合等离子质谱; 液相色谱; 矿物质; 酚酸和黄酮类化合物

【收稿日期】2023 年 4 月 12 日 **【出刊日期】**2023 年 5 月 17 日 **【DOI】**10.12208/j.jafs.20230012

Study on the identification and detection methods of honey authenticity

Bo Zhang, Nannan Wang*, Jingwei Yuan

Chengde Food and Drug Inspection and Testing Center, Chengde, Hebei

【Abstract】 In order to establish a honey detection method and identify authenticity, a total of 40 honey samples from different origins and sources purchased by the market and bee farmers were used as research samples. Real honey and a certain proportion of syrup were measured using near-infrared spectroscopy to compare their differences. A method was established using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and liquid chromatography to determine the types and contents of 26 different elements, 8 phenolic acids, and flavonoids in honey. The established method was applied to determine and analyze the purchased samples. According to the experimental results, infrared spectroscopy can provide certain support for the doping detection of honey, and the element content, phenolic acid and flavonoid content in honey samples from different types and origins vary. The measurement results can provide a theoretical basis for future research and method development.

【Keywords】 Honey; Near-infrared spectroscopy; Inductively coupled plasma mass spectrometry; Liquid chromatography; Minerals; Phenolic acids; Flavonoids

蜂蜜作为一种天然甜味剂,其中含有糖类、矿物质、有机酸、黄酮、多酚等成分^[1-2],以营养价值和医疗功效受到消费者青睐。研究发现,蜂蜜有预防便秘、改善睡眠、帮助伤口愈合等作用^[3-5],在治疗心血管疾病、癌症等方面也具有很高的应用价值。但近年来市场上蜂蜜质量问题频繁发生,如混淆植物源和地理源,向蜂蜜中掺杂糖浆等,蜂蜜来源识别和掺假鉴别成为中国乃至世界蜂业亟需解决的问题。蜂蜜造假主要通过添加果葡糖浆,并在其中加入香精、增稠剂、防腐剂、甜味剂、色素等物质,

果糖和葡萄糖的含量在蜂蜜中占比约为 38%和 31%左右^[6]。近红外光谱技术具有成本低、操作简单、分析快、能同时测定多组物质的优点,广泛应用于食品、医药等行业中^[7-8]。就目前的研究来看,蜂蜜中的矿物质含量与土壤和植物种类存在一定的相关性,同时,人为因素也有可能影响其含量,如在收取、制备中可能存在污染的情形^[9]。因此,对蜂蜜中矿物质含量的检测、统计及安全性分析是十分有必要的。蜂蜜中普遍存在着各种酚酸和黄酮类化合物,不同的植物所产生的此类次级代谢产物会有

*通讯作者: 王楠楠

所不同^[10-11], 因此, 产蜜植物不同可能会造成酚酸和黄酮种类和含量的差异。通常, 蜂蜜中的酚酸类物质为苯甲酸类和肉桂酸类, 黄酮类物质包括黄酮、黄酮醇以及黄烷酮类。目前, 相关方面的检测方法主要涉及高效液相色谱法、液相色谱-质谱联用法等。蜂蜜中的酚酸和黄酮类物质的测定在一定程度上可为蜂蜜种类及真伪的判别提供支持^[12-13]。本文通过对蜂蜜中的糖类物质、矿物质、酚酸和黄酮进行方法开发和检测, 为蜂蜜检测方法研究及真伪鉴别提供理论依据和数据支持。

1 材料与方法

1.1 糖类物质

(1) 样品

自蜜源地购买的自制蜂蜜及超市部分成品蜂蜜。

(2) 实验方法

将适量蜂蜜样品倒入烧杯中, 注意倾倒过程中不产生气泡, 使用近红外光谱仪进行扫描, 扫描范围: 12000cm^{-1} - 4000cm^{-1} 。将果糖、葡萄糖、水按 38%、31%、31% 的比例进行混合, 测近红外光谱, 与所购买的蜂蜜样品进行对比。

1.2 矿物质

(1) 样品

从市场及蜂农处购买的蜂蜜共计 40 个, 其中产自河北省承德市 8 个, 河北省廊坊市 4 个, 江西省南昌市 2 个, 江西省宜春市 4 个, 福建省福州市 4 个, 浙江省金华市 2 个, 天津市 14 个, 囊括百花蜂蜜、椴树蜂蜜、荆花蜂蜜、洋槐蜂蜜、野山花蜂蜜、枣花蜂蜜、雪莲脂蜂蜜、党参蜂蜜等 8 个品种。

(2) 实验方法

称取蜂蜜样品 0.5g, 加入 8mL 硝酸, 使用微波消解仪消解、赶酸, 将所得溶液用水定容至 50mL, 使用 ICP-MS, 以铕、锆、铟为内标元素测定其中的铅、镉、砷、汞、硒、铬、锡、铜、铁、锰、锌、镍、铝、镉、钾、钠、钙、镁、硼、钡、锶、钼、铊、铉和钴共计 26 种元素的含量。微波消解程序见表 1, ICP-MS 条件见表 2。

1.3 酚酸和黄酮类化合物

(1) 样品制备

称取 2g 样品, 溶于 10mL 水中, 用一定量的稀盐酸调节至 $\text{pH}=2$, 离心收取上清液, 过固相萃取柱去除糖类物质, 定容至 1mL, 上机待测。

(2) 高效液相色谱仪仪器条件

液相条件: 流动相: A: 0.1%甲酸 B: 乙腈
波长: 280nm 进样量: 10 μL 色谱柱: Agilent XDB C₁₈ 250mm*4.6, 5 μm 。梯度程序见表 3。

2 结果

2.1 糖类物质

所购买蜂蜜谱图如图 1 所示, 由真蜂蜜近红外谱图和掺入果葡糖浆的蜂蜜谱图对比可知: 蜂蜜样品在 4500cm^{-1} - 5500cm^{-1} 之间有较强的特征吸收, 而果葡糖浆在此波段的吸收峰较弱, 进而可在一定程度上分辨出真蜂蜜与掺杂蜂蜜样本。

2.2 矿物质

(1) 标准曲线、检出限与定量限的测定

如表 4 所示, 按 (2) 的实验条件测定, 以各元素浓度值为横坐标, 所测得各元素强度值为纵坐标, 得到回归方程, 所测得 26 种元素的相关系数均大于 0.999。

(2) 方法的回收率和精密度

选一个蜂蜜样品, 在相同的实验条件下做三组不同浓度的加标, 浓度分别为定量限的 1 倍、2 倍、10 倍, 每个浓度的加标样品重复测定 7 次, 加标回收率在 81.1%-108.7%, 相对标准偏差 (RSD) 在 0.30%-3.24% 之间, 符合 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范食品理化检测》规定, 该方法的准确度和精密度良好。

(3) 蜂蜜中矿物质含量结果分析

由表 5 中实验结果得知, 蜂蜜中含量最高的是钾元素, 此外, 含量相对较高的元素是钠、镁、钙、等元素, 其他元素相比来说含量较低硼、铝、钛、铬、锰、铁、钴、镍、铜、锌、砷、锶、铅, 在这 26 种元素中, 钒、硒、钼、镉、锡、铋、钡、汞、铊未检出。并且, 元素含量与蜂蜜产地存在一定的相关性。蜂蜜中含有的矿物质元素可以为人类身体提供不可或缺的营养物质, 同时也可以通过此类检测来判断当地是否存在有害元素污染。

2.3 酚酸和黄酮类化合物

(1) 标准曲线、检出限与定量限的测定

混合标准曲线:

没食子酸: 2, 4, 8, 16, 32, 64mg/L; 槲皮素:

1, 2, 4, 8, 16, 32mg/L; 其他 6 种物质: 0.5, 1, 2, 4, 8, 16mg/L。线性方程等见表 6。各物质保留时间:

没食子酸: 5.038、p-香豆酸: 7.992、咖啡酸: 11.706、槲皮素: 11.849、香草酸: 12.061、丁香酸:

12.855、芦丁: 14.211、阿魏酸: 16.802。

(2) 方法的回收率和精密度

选一个蜂蜜样品, 在相同的实验条件下做三组不同浓度的加标, 浓度分别为定量限的 1 倍、2 倍、10 倍, 每个浓度的加标样品重复测定 7 次, 加标回

收率在 82.5%-102.3%, 相对标准偏差 (RSD) 在 0.80%-2.52%之间, 符合 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范食品理化检测》规定, 该方法的准确度和精密度良好。

(3) 蜂蜜中酚酸和黄酮含量结果分析

表 1 微波消解条件

步骤	控制温度 (°C)	升温时间 (min)	恒温时间 (min)
1	90	10	10
2	120	10	15
3	150	10	15

表 2 ICP-MS 仪器条件

参数名称	参数	参数名称	参数
射频功率	1600W	雾化气流量	0.94L/min
等离子体气流量	15L/min	分析模式	碰撞反应池
辅助气流量	1.2L/min	氦气压力	0.2MPa

表 3 液相色谱梯度程序

时间 (min)	A: 0.1%甲酸 (%)	B: 乙腈 (%)
3	95	5
12	75	25
18	40	60
20	40	60
20.1	95	5
23	95	5

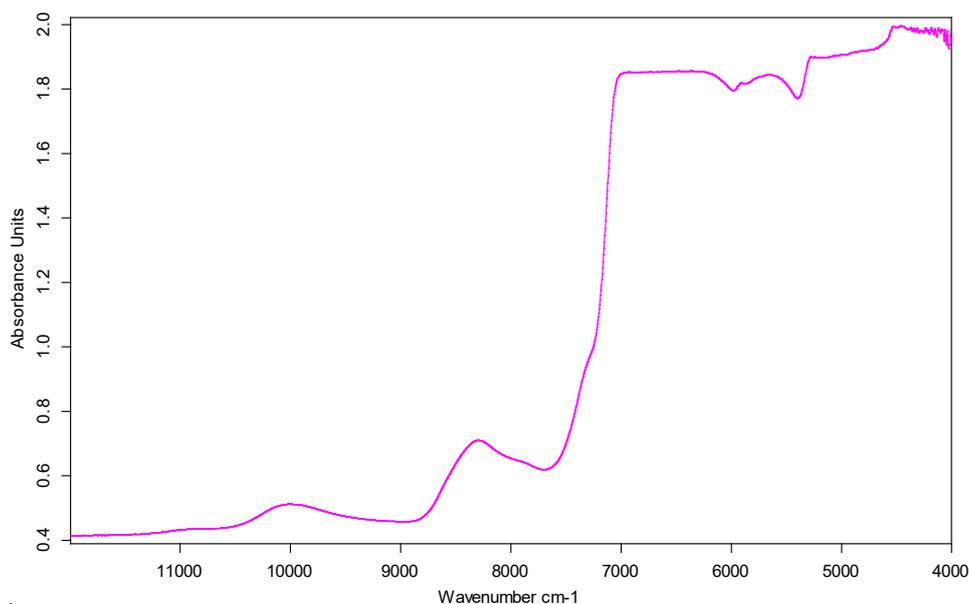


图 1 蜂蜜近红外光谱图

表 4 不同元素的回归方程、检出限和定量限

序号	矿物质种类	回归方程	检出限 (mg/kg)	定量限 (mg/kg)
1	硼	$y=9.31*10^{-5}x$	0.0786	0.262
2	钠	$y=9.87*10^{-6}x$	0.861	2.87
3	镁	$y=7.54*10^{-6}x$	0.588	1.96
4	铝	$y=3.35*10^{-5}x$	0.154	0.512
5	钾	$y=2.68*10^{-6}x$	0.717	2.39
6	钙	$y=8.82*10^{-7}x$	0.699	2.33
7	钛	$y=2.13*10^{-4}x$	0.00399	0.0133
8	钒	$y=1.08*10^{-3}x$	0.000711	0.00237
9	铬	$y=1.50*10^{-3}x$	0.00165	0.00551
10	锰	$y=4.92*10^{-4}x$	0.00105	0.00350
11	铁	$y=3.78*10^{-5}x$	0.0360	0.120
12	钴	$y=2.56*10^{-3}x$	0.0000588	0.000196
13	镍	$y=7.97*10^{-4}x$	0.000942	0.00314
14	铜	$y=7.56*10^{-4}x$	0.00162	0.00540
15	锌	$y=9.06*10^{-4}x$	0.00804	0.0268
16	砷	$y=1.56*10^{-4}x$	0.00130	0.00432
17	硒	$y=3.67*10^{-5}x$	0.00194	0.00647
18	锶	$y=2.05*10^{-5}x$	0.0111	0.0371
19	钼	$y=6.82*10^{-5}x$	0.000200	0.000665
20	镉	$y=4.93*10^{-5}x$	0.0000120	0.0000400
21	锡	$y=9.63*10^{-5}x$	0.000121	0.000402
22	铋	$y=1.38*10^{-4}x$	0.000275	0.000917
23	钡	$y=1.50*10^{-6}x$	0.00786	0.0262
24	汞	$y=3.41*10^{-5}x$	0.0000441	0.000147
25	铊	$y=5.53*10^{-4}x$	0.0000274	0.0000914
26	铅	$y=4.71*10^{-4}x$	0.00104	0.00348

表 5 蜂蜜中 26 种矿物质含量范围

序号	矿物质种类	含量范围 (mg/kg)
1	硼	0.106-5.85
2	钠	4.96-164
3	镁	4.78-40.2
4	铝	0-1.57
5	钾	17.0-1.60×10 ³
6	钙	6.43-218
7	钛	0-2.67
8	钒	0
9	铬	0-1.32
10	锰	0.0506-2.04
11	铁	0-10.2
12	钴	0-0.0208
13	镍	0-0.0213
14	铜	0-0.306
15	锌	0.357-9.63
16	砷	0-0.0644
17	硒	0
18	锶	0-1.89
19	钼	0
20	镉	0
21	锡	0
22	铋	0
23	钡	0
24	汞	0
25	铊	0
26	铅	0-0.324

表 6 酚酸与黄酮类物质的回归方程、相关系数、检出限、定量限

组分名称	回归方程	相关系数	检出限 (mg/g)	定量限 (mg/g)
没食子酸	$Y=2.83*10^4X-2.44*10^4$	0.999824	0.0051	0.017
P-香豆酸	$Y=1.61*10^4X+9.41e*10^2$	0.999892	0.016	0.053
咖啡酸	$Y=4.58*10^4X+1.09*10^3$	0.999687	0.016	0.053
香草酸	$Y=3.03*10^4X+1.54*10^3$	0.999830	0.020	0.067
丁香酸	$Y=7.04*10^3X+1.68*10^3$	0.999514	0.010	0.033
芦丁	$Y=2.94*10^4X+1.19*10^3$	0.999761	0.0055	0.018
阿魏酸	$Y=2.10*10^4X-1.41*10^3$	0.998777	0.026	0.087
槲皮素	$Y=1.21*10^4X+1.21*10^3$	0.999733	0.041	0.14

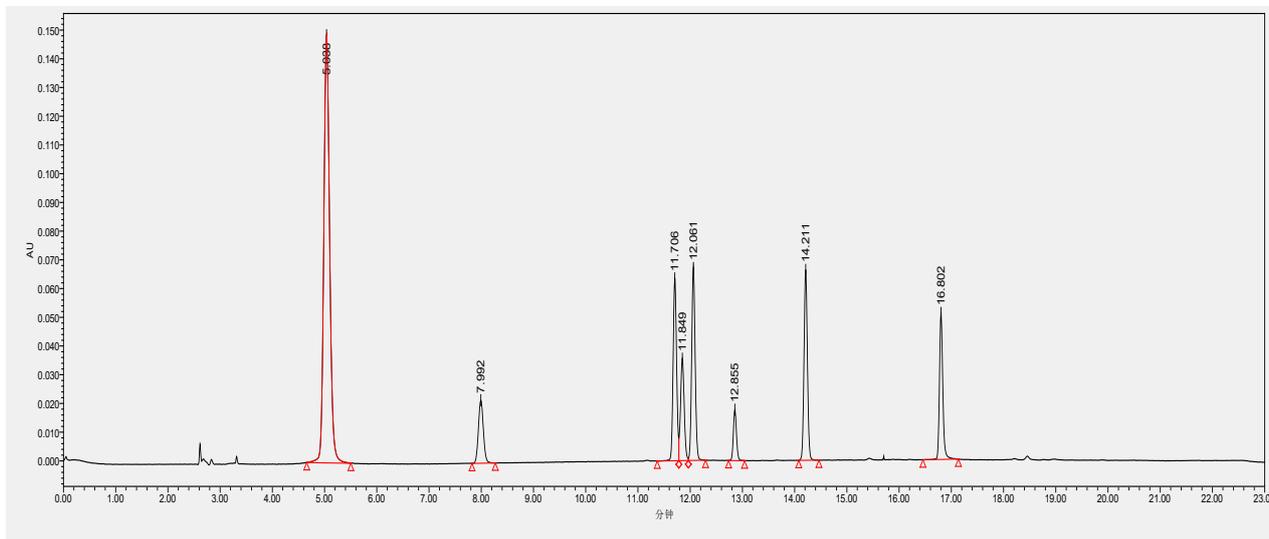


图2 酚酸与黄酮类物质标准品液相色谱图

表7 不同种类蜂蜜中酚酸和黄酮类物质含量范围

蜂蜜种类	椴树蜂蜜	荆花蜂蜜	洋槐蜂蜜	枣花蜂蜜	党参蜂蜜
没食子酸 ($\mu\text{g/g}$)	0.07-0.09	1.25-5.01	0.52-6.03	0.09-0.15	/
P-香豆酸 ($\mu\text{g/g}$)	0.07-0.09	0.05-0.15	0.08-0.12	0.12-0.17	/
咖啡酸 ($\mu\text{g/g}$)	0.15-0.20	0.01-0.12	0.02-0.05	0.34-0.42	/
香草酸 ($\mu\text{g/g}$)	/	/	0.17-0.52	0.80-1.01	/
丁香酸 ($\mu\text{g/g}$)	0-0.25	0-0.02	0-0.05	0.32-0.41	/
芦丁 ($\mu\text{g/g}$)	0-0.01	0-0.05	0.03-0.12	0.01-0.02	0.15-0.23
阿魏酸 ($\mu\text{g/g}$)	0.06-0.09	0-0.20	0-0.22	0.36-0.50	0.45-0.63
槲皮素 ($\mu\text{g/g}$)	0.02-0.03	0.04-6.60	0.04-8.52	0.01-0.03	/

由实验结果可知,不同蜜源的蜂蜜中酚酸和黄酮类物质的含量有所不同,椴树蜂蜜中含量较高的是咖啡酸和丁香酸,荆花蜂蜜中含量较高的是没食子酸、槲皮素等,洋槐蜂蜜中没食子酸、香草酸、槲皮素等含量较高,枣花蜂蜜中咖啡酸、香草酸、丁香酸、阿魏酸含量较高,该项试验研究可为蜂蜜种类和真伪的鉴别提供理论依据。

3 讨论与结论

通过本次研究,建立了近红外光谱识别掺杂蜂蜜的方法,实验结果表明,真蜂蜜与果葡糖浆在红外光谱上存在明显的区别。建立26种矿物质元素以及酚酸和黄酮类物质的检测方法,并进行方法学验证,测定已购蜂蜜中的物质含量,得出结论,蜂蜜中的矿物质种类及含量存在一定的特性,并且在一定程度上和当地环境存在相关性,不同蜜源的蜂蜜中酚酸和黄酮类物质的种类及含量存在显著差异,

利用这些数据可以在一定程度上对蜂蜜真伪的鉴别提供理论依据和数据支持。

参考文献

- [1] Machado De-Melo A A, Almeida-Muradian L B D, Sancho M T, et al. Composition and properties of Apis mellifera honey: A review [J]. Journal of Apicultural Research, 2018, 57(1): 5-37.
- [2] Naila A, Flint S H, Sulaiman A Z, et al. Classical and novel approaches to the analysis of honey and detection of adulterants [J]. Food Control, 2018, 90: 152-165.
- [3] Hossen M S, Ali M Y, Jahurul M H A, et al. Beneficial roles of honey polyphenols against some human degenerative diseases: A review [J]. Pharmacological Reports, 2017, 69(6): 1194-1205.

- [4] Khan S U, Anjum S I, Rahman K, et al. Honey: Single food stuff comprises many drugs [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2018, 25(2): 320-325.
- [5] Meo S A, Al-Asiri S A, Mahesar A L, et al. Role of honey in modern medicine [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2017, 24(5): 975-978.
- [6] White J W, Riethof M L, Subers M H, et al. Technical Bulletin, 1962, 1261:1.
- [7] Bokobza L. Near Infrared Spectroscopy[J]. J Near Infrared Spec-trosc, 1998,6:3-17.
- [8] Batten GD. An Appreciation of the Contribution of NIR to Agri-culture[J].J Near Infrared Spectrosc, 1998,6:105-114.
- [9] 岳锦萍,徐雨欣,范佳慧,等.蜂蜜的主要成分及其鉴别技术[J].食品安全质量检测学报,2018,9(19):5138-5145.
- [10] 刘芸, 丁涛, 吴斌, 等. 核磁共振技术结合化学计量学方法用于蜂蜜的掺假鉴别[J]. 分析测试学报, 2016, 35(10): 1248-1254.
- [11] 孙丽萍, 穆雪峰, 施海燕, 等. 北京洋槐蜜化学成分及其抗氧化活性[C]. 全国蜂产品市场信息交流会, 2012: 77-80.
- [12] 张敏,黄京平,赵文等.超高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中 24 种酚酸和黄酮类化合物[J].分析测试学报, 2022, 41(11): 1636-1643.
- [13] 孙崇臻,王超,蔡子哲,等.高效液相色谱测定蜂蜜中的脱落酸、黄酮和酚酸[J].食品科学,2013,34(10):281-285.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS