

核磁共振波谱法结合化学计量学判别油菜蜜的成熟蜜、非成熟蜜和加工蜜

陈辉¹ 张佳琳¹ 鞠晶² 高帅¹ 范春林¹ 张紫娟^{1,†}

1. 中国检验检疫科学研究院农产品安全研究中心, 北京 100176; 2. 北京大学 化学与分子工程学院, 北京 100871;

† 通信作者, E-mail: zhang_zijuan@163.com

摘要 应用核磁共振波谱法, 对采集自安徽、内蒙古和江苏3个地区油菜蜜的成熟蜜、非成熟蜜及加工蜜共计80个样品的氢谱进行测定, 建立区分3种蜂蜜的方法, 解析油菜蜜组分中未重叠的特征峰, 对比3个地区3种蜜代表性样品的核磁波谱图(NOESY 1D), 并分析不同蜂蜜中部分组分的含量。运用隐结构双向正交投影-判别分析法(O2PLS-DA), 对上述蜂蜜进行分组判别, 选取 R^2Y 和 Q^2 值最大的积分间隔, 可清晰地区分3个地区的成熟蜜。虽然加工蜜与非成熟蜜有部分重叠, 但在三维图中可以区分。对同一地区的3种蜂蜜可以清晰地分组区分, 3组 R^2Y 值均大于0.97, Q^2 值均大于0.81。所建立的方法可用于鉴别同一地区的成熟、非成熟与加工油菜蜜, 具有样品用量少、检测用时短和结果重现性好等优势。

关键词 成熟蜜; 非成熟蜜; 加工蜜(浓缩蜜); 核磁共振波谱(NMR); 隐结构双向正交投影-判别分析(O2PLS-DA)

Discrimination of Ripe, Unripe and Processed Rape Honey Based on Nuclear Magnetic Resonance Method with Chemometrics

CHEN Hui¹, ZHANG Jialin¹, JU Jing², GAO Shuai¹, FAN Chunlin¹, ZHANG Zijuan^{1,†}

1. Agro-Product Research Center, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176;

2. College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871;

† Corresponding author, E-mail: zhang_zijuan@163.com

Abstract By investigating 80 samples of ripe, unripe and processed rape honey collected from three regions (Anhui, Inner Mongolia and Jiangsu) in China, a method based on NOESY 1D combined with O2PLS-DA was developed to discriminate the mentioned three types honey. NOESY 1D spectra of representative honey samples were first compared, and some obvious differences among the three types of honey were observed. O2PLS-DA model was applied to discriminate the collected samples successfully. The segmental bin was selected based on the greatest R^2Y and Q^2 values. Three types of honey from three regions could be successfully discriminated, although there was partially overlap among some of the unripe and processed honey samples, but they can be discriminated in 3D graph. The developed method could be used to identify ripe, unripe and processed honey from same region, all R^2Y and Q^2 are higher than 0.97 and 0.81, respectively. This method could be applied to discriminate the ripe, unripe and processed rape honey from the same region. The advantages of this method are small sample amount, short time, good reproducibility and reliable results.

Key words ripe honey; unripe honey; processed honey (concentrated honey); nuclear magnetic resonance Spectroscopy (NMR); orthogonal bidirectional projections to latent structures-discriminant analysis (O2PLS-DA)

蜂蜜的主要成分是以果糖和葡萄糖为主的糖类, 占比为 70%~80%, 此外为水(18%~20%)、氨基酸、有机酸、无机酸、芳香类物质、维生素、醇类、黄酮类、酶类、胆碱和矿物质等^[1]。天然成熟蜜是蜜蜂采集的植物花蜜、分泌物或蜜露与自身分泌物混合后, 经过酿造, 从全封盖巢脾中分离出来的含水量在 18% 以下的蜂蜜^[2], 亦称封盖蜜, 营养价值高, 有消炎抑菌的作用^[3-4], 可用于治疗外伤^[5]。非成熟蜜是蜜蜂采集的花蜜经蜜囊分泌的转化酶类物质加工, 返巢后, 将蜜汁置于蜂巢中形成的蜂蜜, 在蜂巢中停留时间较短, 未经蜜蜂充分酿制、脱水和转化, 含水量和蔗糖量较大, 也称为水蜜, 营养价值低, 容易发酵变质。加工蜜是非成熟蜜经人工脱水后的产品, 也称浓缩蜜, 加工过程中活性酶会被破坏, 风味物质减少, 生成有害物质(如 5-羟甲基糠醛), 增大引入其他有害物质(如重金属)的风险。虽然成熟蜜生产用时较长, 但营养价值高, 易于保存, 因此应提倡和鼓励生产成熟蜜。

关于蜂蜜的定义, 虽然中国食品安全国家标准《蜂蜜 GB 14963—2011》^[6]以及国际食品法典蜂蜜标准《CXS 12-1981》2019 年修订版^[7]中都说明蜂蜜是蜜蜂采集的植物花蜜、分泌物或蜜露与自身分泌物混合后, 经充分酿造而成, 但后者还强调经收集后的花蜜需与蜂蜜自身的物质进行转化、沉淀和脱水后, 贮藏并留存于蜂巢中, 直至成熟。

在蜂蜜收获时, 成熟蜜与非成熟蜜较易区分, 无蜂蜡密封蜂巢中的蜂蜜为非成熟蜜, 而成熟蜜需要将蜂蜡割除后进行采收。但是, 成熟蜜与加工蜜的物理性状不易区分, 需开发鉴别方法。徐贤^[8]将电子鼻技术与数学建模相结合, 可以较好地对 3 种蜂蜜进行区分。张然等^[9]使用液相色谱-三重四极杆串联质谱(LC-MS/MS)检测山东洋槐蜜中的多酚物质, 用于区分成熟蜜与非成熟蜜。

核磁共振波谱(nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR)是利用被检测原子核在外界磁场中经施加射频电磁波产生共振后, 在其弛豫过程中释放的能量产生自由感应衰减信号, 经傅立叶变换后得到的波谱。利用 NMR 技术对样品进行检测, 具有可动态检测、重现性好、信号强度与含量成正比、信号采集时间短以及样品无损等优点^[10], 目前已经广泛地应用于化学、医药、生物以及食品等领域^[11-12]。本文采用 NMR 技术对蜂蜜样品进行检测, 基于 NMR 谱图中较明显的不重叠的特征峰, 比较

成熟蜜、非成熟蜜和加工蜜中特征组分的含量, 然后通过化学计量学方法(O2PLS-DA 法)对样品进行统计和分类。

1 材料和方法

1.1 材料、试剂与仪器设备

实验用蜂蜜样品为来自安徽、江苏和内蒙古的油菜蜜, 各地区采集的蜂蜜样品均包括非成熟蜜、加工蜜(浓缩蜜)和成熟蜜(表 1), 其中加工蜜由对应的非成熟蜜浓缩而成。样品保存于-20℃ 冰箱中。

重水(D₂O, 99.9%)以及 2,2,3,3-氘代三甲基硅烷丙酸钠(TSP, 98%)采购自美国剑桥同位素实验室(Cambridge Isotope Laboratories, CIL), 磷酸二氢钾(KH₂PO₄, 分析纯)购自福晨(天津)化学试剂有限公司, 叠氮钠(NaN₃, 分析纯)采购自 MYM Biological Technology Company Limited, 磷酸(H₃PO₄, 分析纯)购自美国 Sigma-Aldrich 公司, 氢氧化钾(KOH, 分析纯)购自西陇化工股份有限公司。

主要仪器设备: 美国安捷伦科技 Agilent Technologies 600 MHz DD2 核磁共振波谱仪, 配有 One-NMR 5 mm 宽带二合一液体探头, 7510 自动进样器; 梅特勒-托利多 XS104 天平以及 FiveEasy Plus pH 计; 默克密理博 Milli-Q Integral 超纯水系统; THZ-82A 水浴恒温振荡器; 昆山市超声仪器有限公司 KQ-500E 型超声波清洗器; 日本 AS ONE TRIO TM-1N 涡旋混合器; 德国艾本德 Eppendorf 20~100 μL 和 100~1000 μL 可调节移液器; 美国 NORELL 公司 5 mm 核磁管。

1.2 实验方法与实验条件

1.2.1 实验条件

分别称取 50, 100 和 150 mg 蜂蜜样品, 对样品用量进行考察。在数据采集过程中, 50 mg 样品的波谱信号较弱, 150 mg 样品的波谱信号溢出, 因此选取信号强度较大且未溢出的 100 mg 为样品用量。

样品核磁波谱的化学位移与测定时的 pH 值及

表 1 蜂蜜样品信息
Table 1 Information of honey samples

地区	样品数		
	非成熟蜜	加工蜜	成熟蜜
安徽	12	18	14
内蒙古	6	6	6
江苏	6	6	6

温度等条件相关。将测定温度设为常用的室内温度 25°C, 参考本研究组之前的实验条件, 选择 pH 值为 4.50 的缓冲溶液。

水为蜂蜜固有的成分, 并且实验中使用的溶剂为 10% 的重水, 因此在数据采集过程中, 通过普通 Proton 和 NOESY 1D 预饱和和压制法对水的信号峰进行压制。普通 Proton 脉冲序列-预饱和和法压制水信号峰用时较短, 水的信号峰仍然过大, 无法满足数据分析的需求; NOESY 1D 脉冲序列-预饱和和法用时较长, 压制水信号峰的效果明显好于普通 Proton 脉冲序列-预饱和和法。因此, 采用 NOESY 1D 脉冲序列进行样品测试。

1.2.2 实验方法

1) 0.15 mol/L 磷酸缓冲液的制备。称取磷酸二氢钾 8.17 g, 加入 Millipore 超纯水 360 mL, 超声波充分溶解后, 依次加入重水 40 mL, 叠氮钠 80 mg, 2,2,3,3-氘代三甲基硅烷丙酸钠 40 mg, 使用磷酸或氢氧化钾调节浓度为 0.15 mol/L, pH 分别为 3.00, 4.00, 4.50 和 7.40 的磷酸缓冲溶液, 精度为 ± 0.02 。

2) 样品制备。从冰箱中取出蜂蜜样品, 未结晶的样品直接放置至室温备用, 结晶的样品需 50°C 水浴加热溶解, 再放置至室温。称取 100 ± 5 mg 蜂蜜样品, 置于 2 mL 离心管中, 加入 1000 μ L 上述磷酸盐缓冲液, 在涡旋混合器上充分混匀, 用移液器转移 600 μ L 样品溶液至 5 mm 核磁管中待测。

3) 数据采集。使用 Agilent 核磁共振波谱仪自带软件 VnmrJ 4.2 采集数据。采用 NOESY 1D 脉冲序列进行测试, 测试温度为 25°C。使用重水锁场, 90 度脉冲宽度为 10.7 μ s, 混合时间为 100 ms, 延迟等待时间为 4 s。采用预饱和和方法进行水峰压制, 施加功率约为 50 Hz, 持续时间为 2 s (包含在延迟等待时间中), 谱宽为 20 ppm (1 ppm = 10^{-6}), 采集点数为 32k, 累计次数为 64。

4) 数据处理。用 MestReNova 11 软件处理采集的核磁共振波信号, 手动调节相位, 自动基线校正, 以内标物 TSP 信号峰为化学位移的零点, 对采集的化学位移 (δ) 在 0.53~9.53 ppm 范围内的峰面积进行等间隔的分段积分。尽管样品测试过程中使用预饱和和法抑制水分, 但在进行数据处理时仍然需要删除 4.78~4.98 ppm 范围的数据, 尽可能消除水峰对实验结果的影响。 δ 值积分间隔分别为 0.01, 0.02 和 0.05 ppm, 进行面积归一化处理后, 导入 SIMCA 13.0 软件中进行分析。

2 结果与讨论

2.1 油菜蜜核磁信号谱图分析

通常将蜂蜜核磁信号谱图的 δ 值分为 3 个区间: 0~3 ppm 为脂肪区, 主要为无共轭键氨基酸、有机酸和醇类物质的信号谱区间; 3~6 ppm 为糖区, 是各种糖类组分 (主要为果糖和葡萄糖, 还有蔗糖和麦芽糖等低含量的糖分) 的信号谱区间; 6~10 ppm 为芳香区, 主要是羟甲基糠醛、苯丙氨酸和酪氨酸等含共轭双键组分以及甲酸的信号谱区间。图 1 为典型的油菜蜜核磁信号波谱图, 其波谱数据符合蜂蜜的组成, 果葡糖为主要成分, 其他氨基酸、有机酸和醇类物质均为低含量组分, 从中可分辨出无重叠的较明显的信号峰。例如, 脂肪区 1.18 ppm (t, $J_{H-H} = 7.1$ Hz) 为乙醇的甲基 (CH_3CH_2OH) 信号峰, 2.03 ppm (s) 为来自乙酸的甲基信号峰; 糖区 5.23 ppm (d, $J_{H-H} = 3.7$ Hz) 为与葡萄糖 1 位碳相连的氢 (C1-H) 信号峰; 芳香区 8.42 ppm (s) 为来自甲酸的次甲基 ($HCOOH$) 信号峰。以上这些特征信号峰的化学位移以及信号强度均符合蜂蜜成分的组成比例, 与文献 [13] 基本上一致。由于糖类化合物的信号峰较多, 且多数重叠在一起, 本文不一一列出。表 2 中归纳了油菜蜜中可观测的典型非糖组分核磁信号。

2.2 成熟、非成熟与加工的油菜蜜核磁信号谱图对比

比较加工蜜与对应的非成熟蜜的核磁信号谱图 (图 2) 可知, 其主要成分果葡糖无显著差异。在成熟蜜形成过程中, 蜜蜂将蜜汁置于蜂巢后, 会将蜜汁反复吞吐进行加工, 蜜蜂分泌的多种转化酶和蛋白质会混入蜜汁中^[14], 其中的蔗糖会转化成果糖和葡萄糖; 同时, 蜜蜂翅膀的扇动会促进蜜汁中的水分挥发, 使蜂蜜浓缩; 当蜂蜜贮满蜂巢后, 蜜蜂会生产蜂蜡来覆盖蜂巢, 使其与空气隔绝, 利于长期保存。对于非成熟蜜, 蜜蜂在蜂巢中对其加工的时间较短, 水分挥发量较小, 导致其水分含量较高, 长时间保存的非成熟蜜容易发酵而产生乙醇, 乙醇继续发酵会生成乙酸; 即便在低温条件下保存, 也只能减缓发酵速度, 不能完全杜绝发酵现象。从图 2 可以明显地看到, 非成熟蜜中乙醇的甲基 CH_3 信号峰 (1.18 ppm, t) 明显高于其对应的加工蜜和成熟蜜, 而加工蜜中的乙醇含量也比成熟蜜多, 可能是由在加工之前部分非成熟蜜发酵造成的。

非成熟蜂蜜加热脱水时, 如果温度控制不好, 可能会发生美拉德反应 (Maillard reaction), 导致少

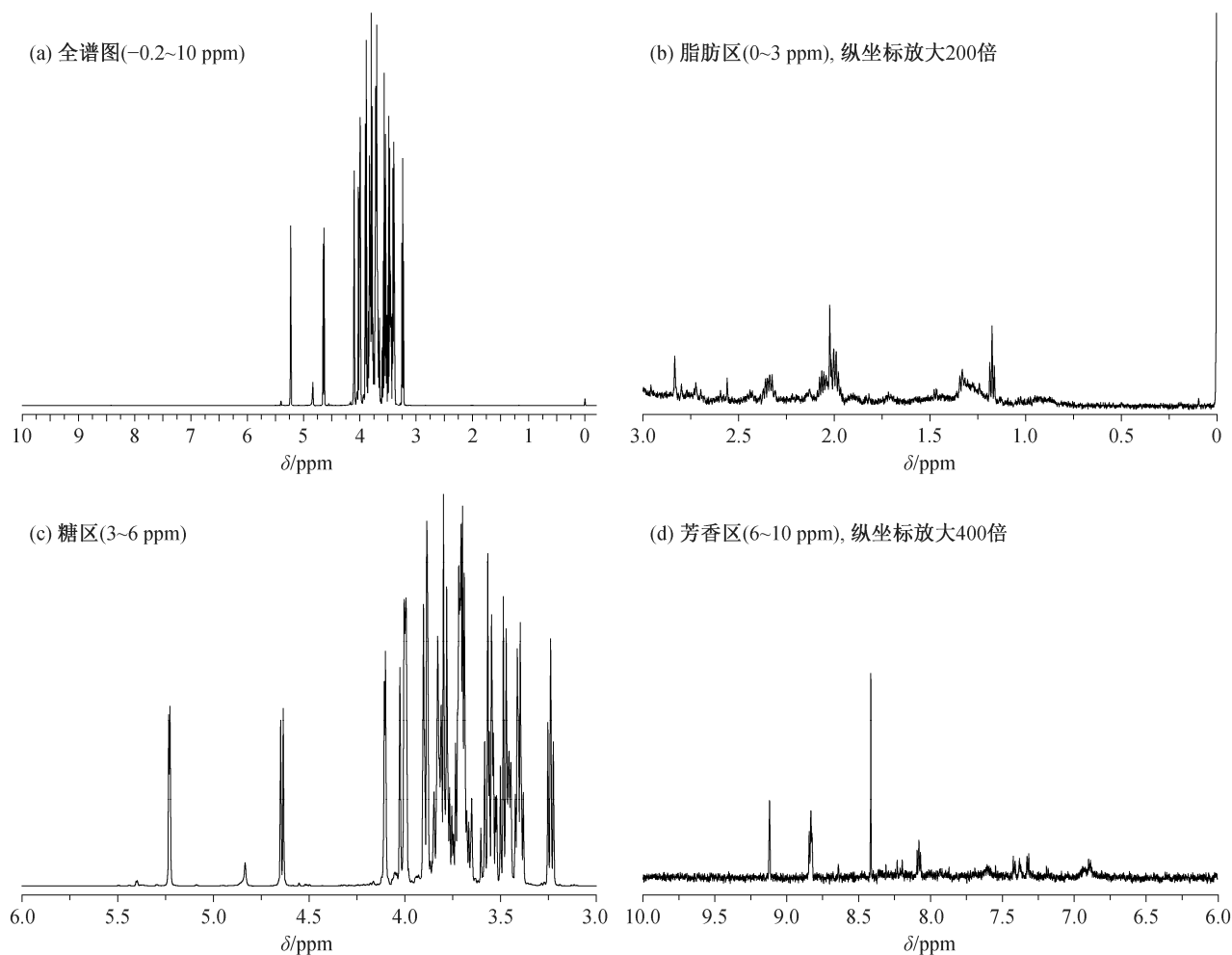
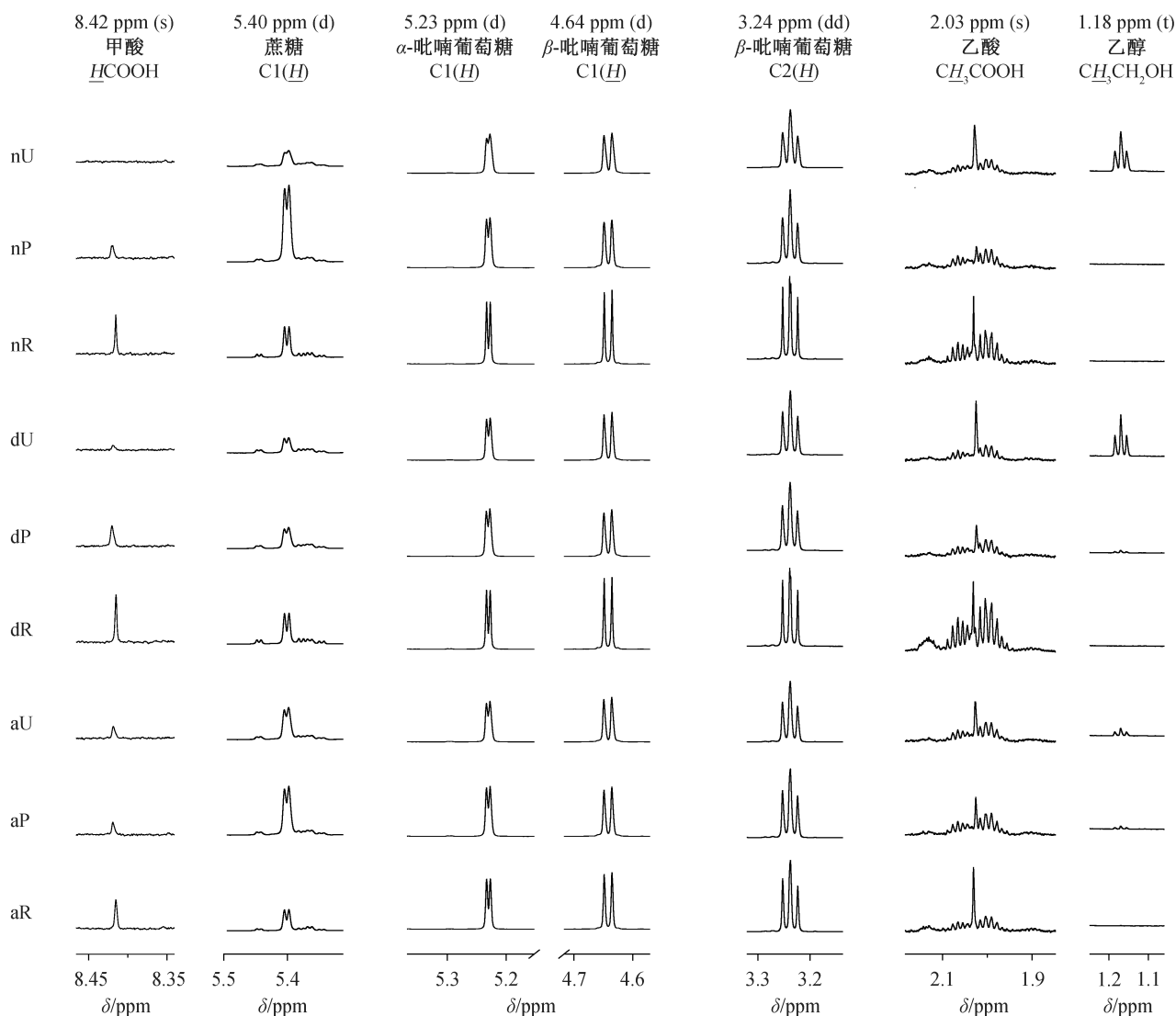


图 1 典型油菜蜜的核磁信号波谱
Fig. 1 NOESY 1D spectrum of a typical rape honey

表 2 油菜蜜中可观测的典型非糖成分核磁氢信号谱数据
Table 2 Data of the observable typical non-saccharide components in rape honey

序号	组分物质	对应基团	δ/ppm	信号峰裂分模式	$J_{\text{H-H}}/\text{Hz}$
1	缬氨酸	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$	0.98, 1.03	d	7.1
2	乙醇	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	1.18	t	7.1
3	乳酸	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$	1.33	d	6.9
4	丙氨酸	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$	1.48	d	7.3
5	乙酸	CH_3COOH	2.03	s	—
6	脯氨酸	$\beta\text{-CH}_2, \gamma\text{-CH}_2$	1.95~2.09, 2.30~2.39	m	—
7	谷氨酰胺	$\beta\text{-CH}_2, \gamma\text{-CH}_2$	2.11~2.16, 2.42~2.47	m	—
8	琥珀酸	$(\text{CH}_2\text{COOH})_2$	2.57	s	—
9	柠檬酸	$\text{C}(\text{OH})(\text{COOH})(\text{CH}_2\text{COOH})_2$	2.83	s	—
10	酪氨酸	$\text{Ar-H}(\text{C}3, \text{C}5)$	6.90	d	8.4
		$\text{Ar-H}(\text{C}2, \text{C}6)$	7.19	d	8.4
		$\text{Ar-H}(\text{C}2, \text{C}6)$	7.32	d	7.5
11	苯丙氨酸	$\text{Ar-H}(\text{C}3, \text{C}5)$	7.37	t	7.4
		$\text{Ar-H}(\text{C}4)$	7.43	t	7.3
12	甲酸	HCOOH	8.42	s	—

说明: 含氢基团用斜体加下划线表示; s 表示 singlet, d 表示 doublet, t 表示 triplet, m 表示 multiplet; $J_{\text{H-H}}$ 为耦合常数。



a 代表安徽, d 代表内蒙古, n 代表江苏; R 代表成熟蜜, P 代表加工蜜, U 代表非成熟蜜

图 2 3 个地区成熟、非成熟和加工油菜蜜核磁信号谱的特征峰

Fig. 2 Characteristic NMR peaks' of ripe, unripe and the cor-responding processed rape honey from three regions

量糖的降解, 甚至可能生成其他有害物质, 如 5-羟甲基糠醛^[15]。由于成熟蜜中含蔗糖转化酶较多, 会将蔗糖转化为葡萄糖和果糖, 所以从图 2 也可以看出葡萄糖的特征峰: β -吡喃葡萄糖 C2(\underline{H})(3.24 ppm, dd); β -吡喃葡萄糖 C1(\underline{H})(4.64 ppm, d); α -吡喃葡萄糖 C1(\underline{H})(5.23 ppm, d)。蔗糖转化酶可以将蔗糖分子酶解成葡萄糖和果糖, 即使在蜂蜜贮存过程中, 该酶解过程仍在继续。实验证明, 蔗糖转化酶对温度敏感, 加热会导致其失去活性^[16], 无法继续将蔗糖转化为果糖和葡萄糖, 导致加工蜜中蔗糖含量较高。因成熟蜜中蔗糖转化酶含量高于非成熟蜜和加工蜜, 所以成熟蜜中葡萄糖含量比非成熟蜜和加工

蜜高。图 2 中蔗糖特征峰 C1(\underline{H})(5.40 ppm, d)也证实, 油菜蜜中加工蜜的蔗糖含量明显高于非成熟蜜和成熟蜜。

甲酸常作为除螨剂, 用于蜂螨的防治^[17-18]。作为昆虫, 蜜蜂会分泌甲酸^[19-20]。蜂蜜长期保存会发生美拉德反应, 生成甲酸^[21-22]。从图 2 中甲酸的特征峰(8.42 ppm, s)可以看到, 成熟蜜中甲酸含量高于非成熟蜜和加工蜜, 原因可能是成熟蜜在蜂巢中停留的时间较长, 无论是除螨剂带来的甲酸, 还是蜜蜂自身分泌的甲酸, 都会增加其含量。加热过程中的美拉德反应, 则造成加工蜜中甲酸含量高于非成熟蜜。

2.3 成熟、非成熟与加工的油菜蜜的核磁信号谱非靶向分析

按照 1.2.2 节的实验步骤以及核磁波谱的范围 (0.53~9.53 ppm), 提取 3 个地区油菜蜜的成熟蜜、加工蜜和非成熟蜜的核磁信号检测数据, 将其导入 SIMCA-P 软件, 采用 O2PLS-DA 模型^[23]和单位方差缩放(Unit Variance Scaling)方法进行判别。

图 3(a)~(c)为二维得分图, 其积分间隔分别为 0.01, 0.02 和 0.05 ppm, 可以看出积分间隔的选取对 3 个地区成熟蜜、非成熟蜜和加工蜜样品间分组的影响, 不同区域的成熟蜜均可以较好地地区分, 但加工蜜与非成熟蜜的区分效果不佳, 有部分重叠而无

明显的界限。这可能是因为加工蜜由非成熟蜜加热脱水而成, 二者主要成分及含量比例基本相同, 而蜂蜜加热过程中损失的活性酶和芳香物质(如酯类)含量较低, 在核磁信号检出限以下, 所以无法明显地区分非成熟蜜与加工蜜。

表 3 列出选取不同积分间隔时 O2PLS-DA 判别的 R^2X , R^2Y 和 Q^2 值, 积分间隔为 0.02 ppm 时 R^2Y 和 Q^2 值最高, 故之后的数据分析采用积分间隔为 0.02 ppm 的数据。图 3(d)为积分间隔为 0.02 ppm 时的三维得分图, 增加一个维度, 可以在三维空间将二维得分图(图 3(b))中重叠在一起的加工蜜与非成熟蜜区分开。

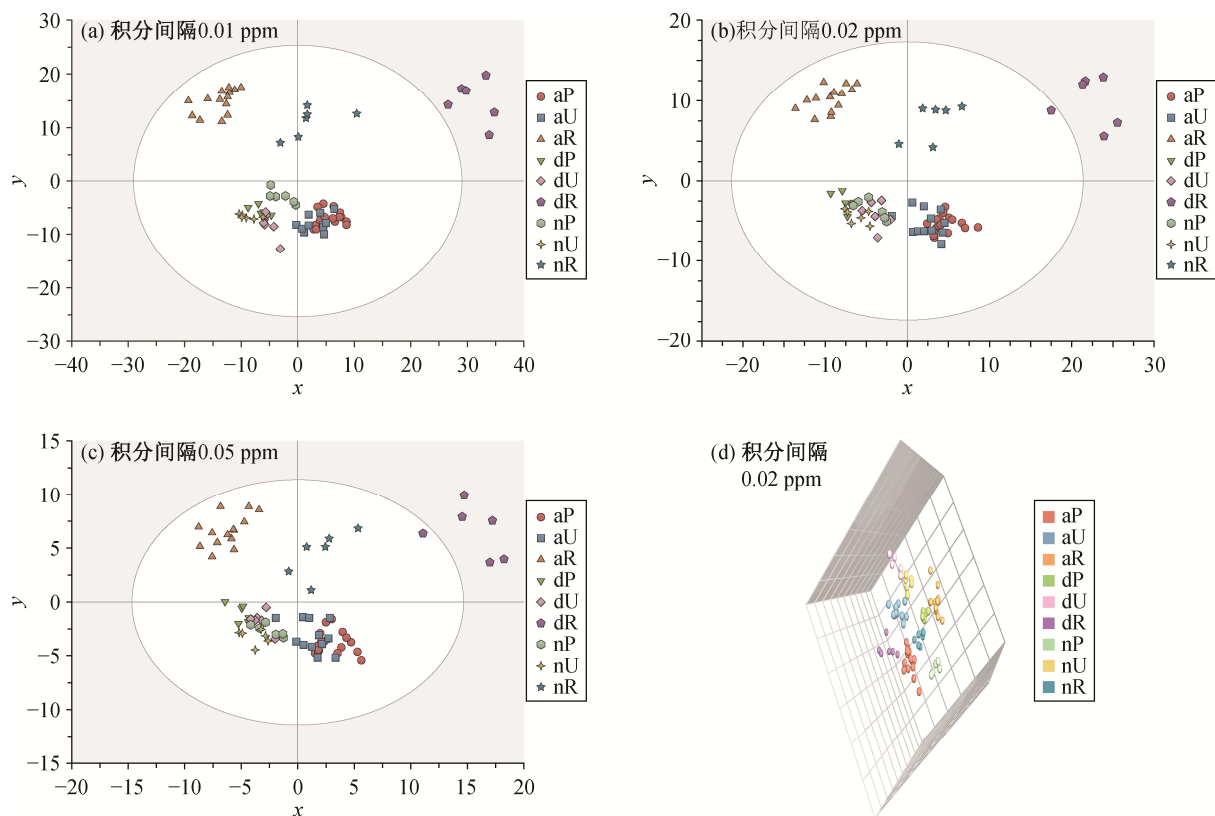


图 3 不同积分间隔时 O2PLS-DA 对 3 个地区成熟、非成熟及加工油菜蜜分组的得分图

Fig. 3 O2PLS-DA grouping score plots of ripe, unripe and processed rape honey from three regions with different segmental bins

表 3 不同积分间隔时 O2PLS-DA 对 3 个地区成熟、非成熟及加工油菜蜜分组的 R^2X , R^2Y 和 Q^2 值

Table 3 R^2X , R^2Y and Q^2 of ripe, unripe and processed rape honey from three regions by O2PLS-DA with different segmental bins

积分间隔/ppm	R^2X	R^2Y	Q^2
0.01	0.640	0.379	0.302
0.02	0.776	0.872	0.603
0.05	0.834	0.787	0.561

说明: R^2X , R^2Y 分别代表训练集中变量 X 和 Y 的拟合值, Q^2 表示测试集中变量 Y 的拟合值^[24]。

图 4 显示,同一地区的成熟蜜、加工蜜与非成熟蜜可以用 O2PLS-DA 方法进行清晰的区分。在相应的得分图中,3 个地区的成熟蜜位于 y 轴零值线的左侧,加工蜜和非成熟蜜位于 y 轴零值线的右侧;成熟蜜集中在 x 轴零值线附近,加工蜜与非成熟蜜则分列 x 轴零值线的两侧。表 4 列出 3 个地区成熟蜜、加工蜜和非成熟蜜分组的 R^2X , R^2Y 和 Q^2 值,其中 R^2Y 值均大于 0.97, Q^2 值均大于 0.81, 分组结果令人满意。

在积分间隔为 0.02 ppm 时,分别对 3 个地区的加工蜜与非成熟蜜、非成熟蜜与成熟蜜以及成熟蜜与加工蜜进行分组,结果如见图 5(a)~(c) 所示,其 R^2X , R^2Y 和 Q^2 值均大于 0.6, 在可接受范围内。与

表 3 相比,表 5 中 R^2X , R^2Y 和 Q^2 值都有所提升。二维图中,只图 5(c) 中两个地区的加工蜜有部分重叠,其余都可以区分开,而重叠的加工蜜在三维图中(图 5(d))完全可以区分开。从图 5(b) 和 (c) 可以看出,3 个地区成熟蜜之间的差别比其非成熟蜜或加工蜜之间的差别大。

3 结论

本文应用 NMR 技术,测定采集自安徽、内蒙古和江苏 3 个地区油菜蜜的 80 个成熟蜜、非成熟蜜和加工蜜样品的氢信号谱,结果表明 3 类蜂蜜的乙醇、蔗糖、葡萄糖和甲酸等未重叠核磁信号特征峰存在一定的差异。应用 O2PLS-DA 方法建立成熟

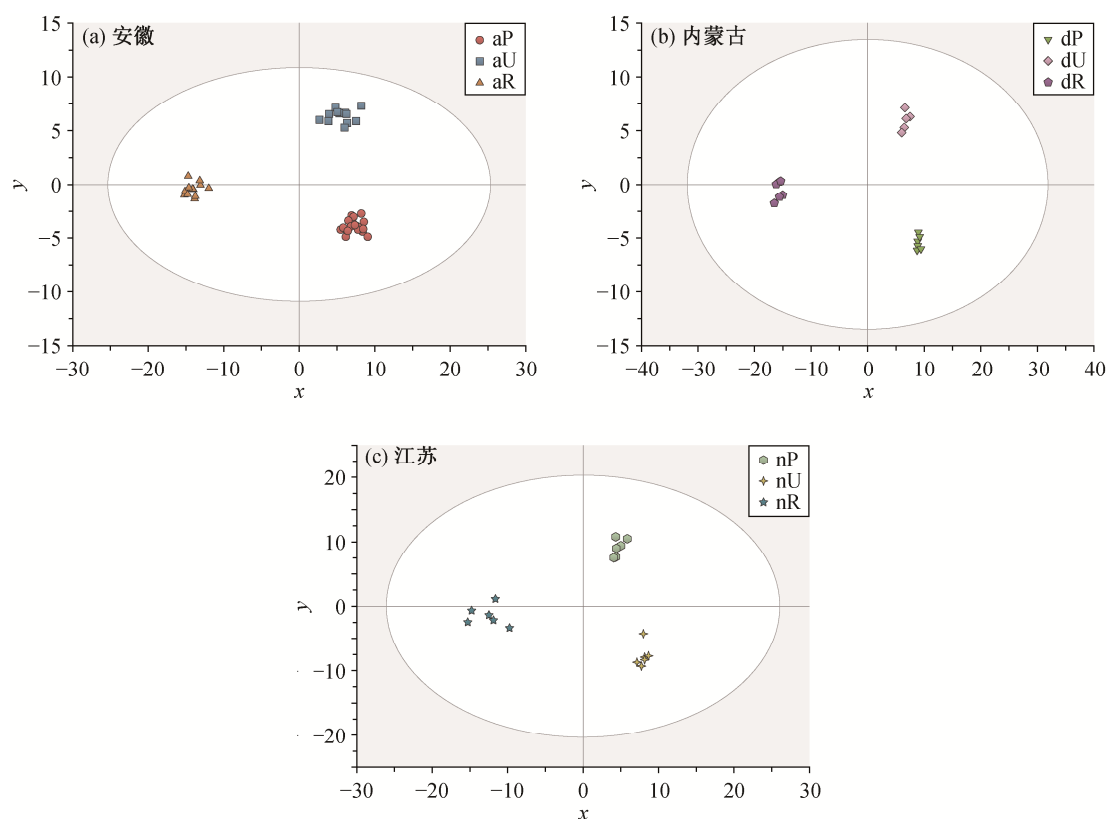


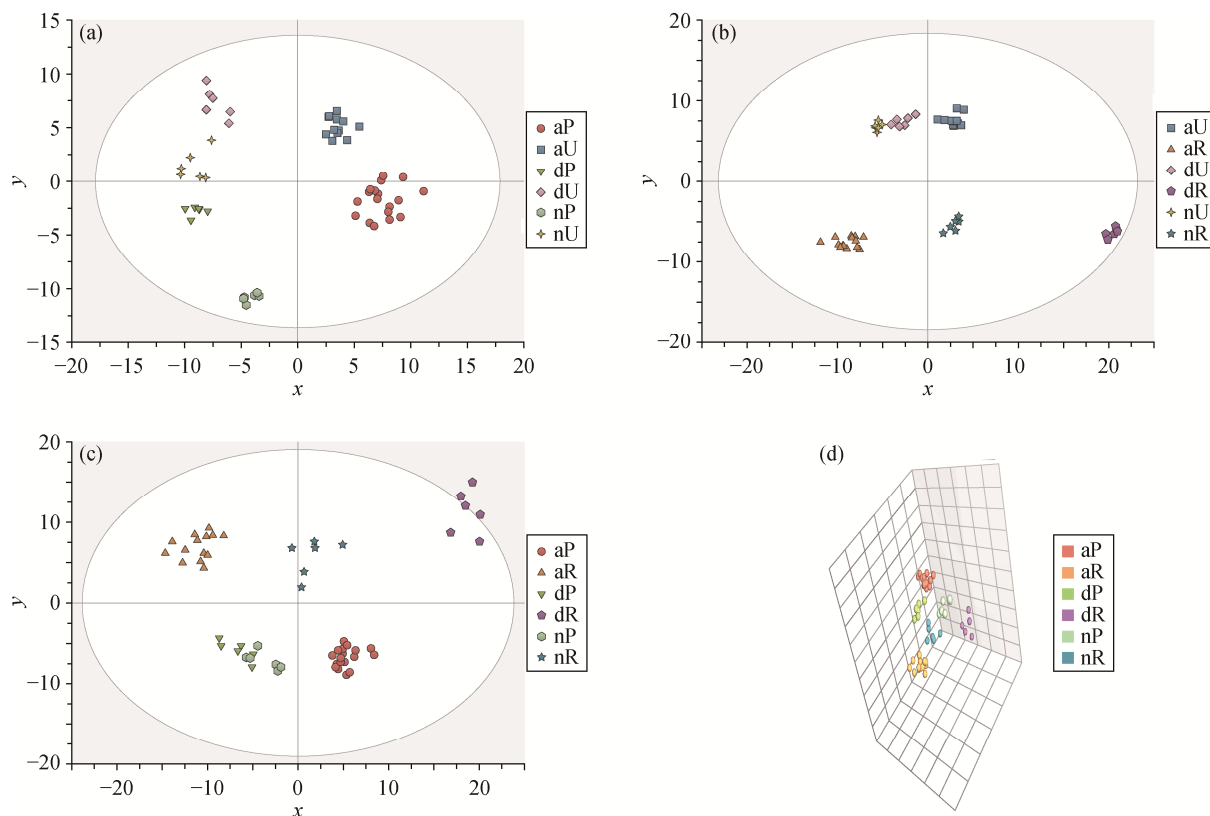
图 4 O2PLS-DA 对同一地区成熟蜜、非成熟蜜和加工蜜分组的得分图

Fig. 4 O2PLS-DA grouping score plots of ripe, unripe and processed rape honey from same region

表 4 O2PLS-DA 对同一地区成熟蜜、非成熟蜜和加工蜜分组的 R^2X , R^2Y 和 Q^2 值

Table 4 R^2X , R^2Y and Q^2 of ripe, unripe and processed rape honey from same region by O2PLS-DA grouping

地区	R^2X	R^2Y	Q^2
安徽	0.732	0.984	0.835
内蒙古	0.846	0.987	0.813
江苏	0.691	0.970	0.845



(a) 非成熟蜜及加工蜜; (b) 成熟蜜与非成熟蜜; (c)和(d) 成熟蜜与加工蜜

图5 O2PLS-DA对3个地区成熟、非成熟和加工油菜蜜两两分组的得分图

Fig. 5 O2PLS-DA grouping score plots of ripe, unripe and processed rape honey from three regions in pairs

表5 O2PLS-DA对3个地区成熟、非成熟和加工油菜蜜两两分组的 R^2X 、 R^2Y 和 Q^2 值Table 5 R^2X , R^2Y and Q^2 of ripe, unripe and processed rape honey by O2PLS-DA grouping in pairs

组别	R^2X	R^2Y	Q^2
成熟蜜和加工蜜	0.738	0.903	0.678
成熟蜜和非加工蜜	0.801	0.946	0.689
非成熟蜜和加工蜜	0.783	0.947	0.658

蜜、非成熟蜜和加工蜜的判别模型,可以基于核磁检测的氢信号谱,清楚地区分同一地区的3类蜂蜜。同时,考虑油菜蜜的产地因素,基于80个样本建立判别模型,可以区分成熟蜜与非成熟蜜和加工蜜,但非成熟蜜与加工蜜在二维图中有部分重叠,增加一个维度后,可以在三维图加以区分。本文方法可以用来区分成熟蜂蜜、非成熟蜜和加工蜜,样品用量少,检测用时短,重复性好,结果可靠,可作为一种鉴别蜂蜜种类和产地的有效方法。

参考文献

[1] White J W, Doner L W. Honey composition and

properties: beekeeping in the United States // Agriculture Handbook. Washington DC: US Government Printing Office, 1980: 82-91

- [2] 吉林省地方标准. 天然成熟蜂蜜 DB22/T 991—2018 [EB/OL]. (2018-05-21) [2020-04-12]. <http://down.foodmate.net/standard/yulan.php?itemid=53388>
- [3] Dustmann J H. Antibacterial effect of honey. *Apiacta*, 1979, 14(1): 7-11
- [4] White J W, Subers Jr M H, Schepartz A I. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. *Biochimica Biophysica Acta*, 1963, 73(1): 57-70

- [5] Majtan J. Honey: an immunomodulator in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 2014, 22(2): 187–192
- [6] 食品安全国家标准. 蜂蜜 GB 14963—2011. 北京: 中国标准出版社, 2011
- [7] Codex Alimentarius. Standard for honey, CXS 12-1981, adopted in 1981, revised in 1987, 2001, amended in 2019 [EB/OL]. (2019) [2020-04-12]. http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B12-1981%252FCXS_012e.pdf
- [8] 徐贤. 蜂蜜种类与品质的鉴别研究. 杭州: 浙江工商大学, 2014: 50–60
- [9] 张然, 孙德鹏, 田洪芸, 等. 山东地区成熟/未成熟洋槐蜂蜜中分类物质比较. *食品与发酵工业*, 2018, 44(5): 256–258
- [10] 江春迎, 王映红. 基于核磁共振技术的定量代谢组学研究. *药学报*, 2014, 49(7): 949–955
- [11] Wishart D S, Sykes B D, Richards F M. The chemical shift index: a fast and simple method for the assignment of protein secondary structure through NMR spectroscopy. *Biochemistry*, 1992, 31(6): 1647–1651
- [12] 陈彬, 孔继烈. 天然产物 结构分析中质谱与核磁共振技术应用新进展. *化学进展*, 2004, 16(6): 863–870
- [13] Boffo E F, Tavares L A, Tobias A C, et al. Identification of components of Brazilian honey by ^1H NMR and classification of its botanical origin by chemometric methods LWT-Food. *Science and Technology*, 2012, 49(1): 55–63
- [14] 陈晓东. 成熟蜜与未成熟蜜质量功用的差别. *蜂蜜杂志*, 2006, 26(12): 25–26
- [15] Martins S, Jongen W, van Boekel M. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science and Technology*, 2000, 11(9/10): 364–373
- [16] 张忠义, 陈辉, 刘振林. 蜂蜜中蔗糖转化酶测定方法探讨. *食品科学*, 2002, 23(11): 116–118
- [17] Mato I, Huidobro J F, Simal-Lozano J, et al. Significance of nonaromatic organic acids in honey. *Journal of Food Protection*, 2003, 66(12): 2371–2376
- [18] Kochansky J, Shimanuki H. Development of a gel formulation of formic acid for control of parasitic mites of honey bees. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1999, 47(9): 3850–3853
- [19] Roubik D W, Smith B H, Carlson R G. Formic acid in caustic cephalic secretions of stingless bee, *Oxytrigona* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Chemical Ecology*, 1987, 13(5): 1079–1086
- [20] Grzycki S, Czerny K. Cytochemical studies on the poison gland of honey-bee sting. *Acta Anatomica*, 1972, 82(1): 91–96
- [21] da Silva P M, Gauche C, Gonzaga L V, et al. Honey: chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 2016, 196: 309–323
- [22] 张翠平, 胡福良. 三种可用于制螨的有机酸. *中国蜂业*, 2008, 59(4): 27–28
- [23] 阿基业, 何骏, 孙润彬. 代谢组学数据处理——主成分分析十个要点问题. *药学报*, 2018, 53(6): 929–937
- [24] Zhang J, Chen H, Fan C, et al. Classification of the botanical and geographical origins of Chinese honey based on ^1H NMR profile with chemometrics. *Food Research International*, 2020, 137: 109714