碳-4 植物糖超标蜂蜜样品的多维分析

罗海英，罗东辉，冼燕萍，侯向昶，郭新东，吴玉銮，董浩
（广州市质量监督检验研究院，国家加工食品质量监督检验中心（广州），广州市食品安全检测技术重点实验室，广州市食品安全风险动态监测与预警研究中心，广东广州 510110）

摘要：本文从124份市面蜂蜜样品中筛选出21份C-4植物糖超标蜂蜜样品，应用元素分析-同位素质谱联用技术（EA-IRMS）、液相色谱-同位素质谱联用技术（LC-IRMS）、液相色谱测定蜂蜜还原糖含量等检测方法，对C-4植物糖超标蜂蜜样品进行多维分析。结果表明：C-4植物糖超标样品在市面上仍占有一定比例，本批次检出超标率为16.94%，且存在少量严重超标样品，最高达到82.35%。C-4植物糖超标蜂蜜样品大致可归纳为以下三类：一是源于生产操作不规范的轻微超标型，该类样品的碳-4植物糖含量为7~10%之间，$\Delta\delta^{13}C_{F\text{-}G}$、$\Delta\delta^{13}C_{max}$跟真实蜂蜜要求相差不远；二是人为掺入碳-4植物源淀粉转化产物型，该类样品寡糖含量较高，$\Delta\delta^{13}C_{max}$较大。三是人为掺入碳-4植物源果葡糖浆型，该类样品本身不含寡糖，$\delta^{13}C_F$、$\delta^{13}C_G$完成丧失碳-3植物特征。

关键词：蜂蜜；碳-4植物糖；掺假；同位素比值质谱
文章篇号：1673-9078(2013)8-1989-1993

Multidimensional Analysis of Honey Samples with Excessive Amounts of C-4 Plant Sugar

LUO Hai-ying, LUO Dong-hui, XIAN Yan-ping, HOU Xiang-chang, GUO Xin-dong, WU Yu-luan, DONG Hao
(Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, National Centre for Quality Supervision and Testing of Processed Food (Guangzhou), Guangzhou City Key Laboratory of Detection Technology for Food Safety, Guangzhou City Research Center of Risk Dynamic Detection and Early Warning for Food Safety, Guangzhou 510110, China)

Abstract: In this paper, 21 honey samples with excessive amounts of C-4 plant sugar were chosen from 120 specimens obtained from food market.Element analyzer-isotope ratio mass spectrometry (EA-IRMS), liquid chromatography-isotope ratio mass spectrometry (LC-IRMS) and liquid chromatography (LC) were adopted to detect the $\delta^{13}C$ values and the amount of C-4 plant sugar. The results indicated that the honey samples with excessive amounts of C-4 plant sugar still occupy a certain proportion in food market and the over-standard rate of this batch was 16.94%. Several samples were detected with serious excessive C-4 plant sugar, one of which haDs the highest amount of 82.35%. The honey samples with excessive C-4 plant sugar can be summarized as the following three categories. (1) Samples with slightly excessive C-4 plant sugar: the standard-exceeding rate of those samples was 7~10% , and their $\triangle\delta^{13}C_{F\text{-}G}$ and $\triangle\delta^{13}C_{max}$ values were not far from the requirements of the real honey. (2) Samples adulterated with starch products of C-4 plant source: these samples had a high amount of oligosaccharide and larger $\triangle\delta^{13}C_{ma.}$ (3) Samples adulterated with high fructose corn syrup; no oligosaccharide was found in these samples and their $\delta^{13}C_F$ and $\delta^{13}C_G$ completely lost the characteristics of C-3 plant.

Key words: honey; C-4 plant sugar; adulteration; isotope ratio mass spectrometry (IRMS)

蜂蜜始载于《神农本草经》，又称“岩蜜”、“石蜜”、“石饴”和“蜂糖”，GB 14963-2011《食品安全国家标准蜂蜜》[1]对蜂蜜术语明确为：蜜蜂采集植物的花蜜、分泌物或蜜露，与自身分泌物混合后，经充分酿造而成的天然甜物质。天然蜂蜜具有护肤美容、促进组织再生、促进消化、提高免疫力、改善睡眠、促进儿童生长发育等特殊功效，从而倍受各国消费者青睐。我国蜂业历史悠久，是传统的特色产业之一，也是典型的外向型产业，蜜蜂饲养量、蜂蜜产量和出口量均居世界前列，蜂蜜的世界年贸易总量约在20万吨左右，其中我国出口量约占40%。

源于不正当利益的驱使，部分不法厂家针对蜂蜜的掺假掺杂行为长期存在。国外对蜂蜜真伪检测进行

收稿日期：2013-07-21
基金项目：广州市科技计划项目(2011J2200016；[2011]233-34)；广东省质量技术监督局科技项目（2011ZS01）
作者简介：罗海英（1976-），女，博士，高级工程师，主要从事食品安全及风险预警方面的研究
通讯作者：吴玉銮（1965-），女，博士，教授级高工，主要从事食品安全及风险预警方面的研究

了长期研究，早在20世纪70年代，White博士采用稳定同位素质谱法收集蜂蜜中碳同位素比值基础数据以鉴别蜂蜜真伪，最初以蜂蜜的$\delta^{13}C$值为作为为掺假判定依据，被测蜂蜜样品的$\delta^{13}C$值小于-23.5‰，样品为真实蜂蜜，体现碳-3植物特征，$\delta^{13}C$值大于-21.5‰时，判定为掺假蜂蜜，-21.5~-23.5‰为难以判定的“灰色区域”[2~3]，相继建立蜂蜜内标碳同位素比值分析(ISCIRA)方法[4-5]，并且可以计算出掺假（碳-4植物糖）的百分数，计算公式如下：

$$Y(\%)=\frac{\delta^{13}C_P-\delta^{13}C_H}{\delta^{13}C_P-(-9.7)}\times 100$$

Y表示蜂蜜中碳-4植物糖的百分含量；$\delta^{13}C_P$表示蜂蜜中蛋白质$\delta^{13}C$值；$\delta^{13}C_H$表示蜂蜜$\delta^{13}C$值；-9.7为玉米糖浆的平均值。当Y>7时，可认为蜂蜜中含有明显的碳-4植物糖。我国随后制定了国家标准GB/T18932.1-2002《蜂蜜中碳-4植物糖含量测定方法 稳定碳同位素比率法》[6]，鉴于大多数花蜜源植物属于碳-3植物，而碳-4植物基本上不是花蜜源植物，另外，目前绝大多数的葡萄糖粉、葡萄糖浆、果葡糖浆等都是通过玉米等碳-4植物淀粉转化而来，因此通过碳同位素组成鉴定可判断蜂蜜产品中是否掺入碳-4植物糖，国标的实施对遏止蜂蜜掺假掺杂行为和规范蜂产品行业及市场产生了积极的作用。在此基础上，相关研究者采用液相色谱-同位素质谱联用技术进一步揭示了掺假掺杂蜂蜜的相关手段，完善了蜂蜜的真伪检测鉴别技术[7~12]。

与此同时，碳-4 植物糖超标（Y>7）的蜂蜜样品仍不时检出，针对碳-4 植物糖超标蜂蜜样品的跟踪分析较少报道。本文从 124 份市面蜂蜜样品中筛选出 21 份碳-4 植物糖超标蜂蜜样品，应用元素分析-同位素质谱联用技术（EA-IRMS）、液相色谱-同位素质谱联用技术（LC-IRMS）、液相色谱测定蜂蜜还原糖含量等检测方法，对碳-4 植物糖超标蜂蜜样品进行多维分析，分析碳-植物糖超标蜂蜜样品的潜在原因，以期进行有针对性的监管，为保障蜂蜜质量安全提供技术参考。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

元素分析仪（Flash 2000 EA）、液相色谱仪（Surveryor LC）、同位素质谱仪（DELTA V PLUS IRMS），EA-IRMS 用于测定蜂蜜的 $\delta^{13}C$ 值和蜂蜜中蛋白质的 $\delta^{13}C$ 值，LC-IRMS 用于测定蜂蜜中各种糖组分的 $\delta^{13}C$ 值，LC、EA 和 IRMS 均购置于 Thermo Fisher 公司。配有示差检测器的液相色谱仪（岛津 LC-10AT），用于蜂蜜中还原糖和蔗糖的含量测定。

过二硫酸钠（纯度≥99%，购于 Fluka 公司）；磷酸（纯度≥99%，购于 Fluka 公司）；钨酸钠和硫酸为分析纯；锡杯（3 mm×2 mm×5 mm，购于 Element Microanalysis 公司）；果糖标准品（为生化试剂，纯度不低于 99.5%）；葡萄糖标准品(分析纯，纯度不低于 91%)；蔗糖标准品（分析纯，纯度均不低于 99.5%)；Milli-Q 超纯水仪制备的超纯水（电阻率为 18.2 MΩ·cm）；乙腈（色谱纯）；0.45 μm 过滤膜；同位素质谱标准物质为 IA-R00513C（甜菜糖）（$\delta^{13}C$ 值为 -26.03‰，Sercon 公司），LC-IRMS 和 EA-IRMS 测定时采用 IA-R00513C 分别校正参考气 CO_2。

124 份蜂蜜样品，来源于市面采购样品，自编号 X1 至 X124。

1.2 样品处理

用于 EA-IRMS 测定蜂蜜蛋白质的 $\delta^{13}C$ 值的样品处理：称取 10~12 g 样品置于离心管中，加入水 4 mL、沉淀剂 10%钨酸钠溶液和 0.335 mol/L 硫酸溶液各 2 mL，混匀置于 80 ℃水浴中加热不少于 30 min，间歇性振荡观察是否有絮状物析出，含有絮状物样品以水注满离心管并混合后，离心 5 min，弃去上清液，反复洗涤沉淀物 5 次，得到蜂蜜蛋白质，75 ℃烘箱中干燥 3 h 以上待检。移取适量的蜂蜜和蜂蜜蛋白质至锡杯，密封备用。未有絮状物析出的样品，继续补加沉淀剂钨酸钠溶液和硫酸溶液各 2 mL，离心 5 min 仍未见沉淀，判定为无蛋白蜂蜜样品，移取适量蜂蜜至锡杯密封备用。

用于 LC-IRMS 分析的样品处理：将蜂蜜样品溶于超纯水中，配制成质量浓度约 1 g/L 的水溶液，经 0.45 μm 滤膜过滤，滤液稀释至约 100 mg/L，用于测定。

用于液相色谱示差法分析的样品处理：准确称取蜜样 2.5 g，精确至 0.0001 g，置于 100 mL 烧杯中，加入 25 mL 水，用玻璃棒不断搅拌使其溶解，转移至 50.0 mL 容量瓶中，用 5 mL 水洗涤烧杯 2 次，并将洗涤液转移到容量瓶中，用乙腈定容至刻度，混匀，经 0.45 μm 滤膜过滤后进样测定[13]。

1.3 测试条件

EA-IRMS 条件：燃烧反应温度为 950 °C，氦气流速为 120 mL/min，每个样品平行测定 2 次；LC-IRMS 条件：色谱柱为 Carbomix Ca-NP5 柱（交联度为 8%；300 mm×7.8 mm，5 μm；Sepax Technologies 公司），流动相为超纯水，流速为 350 μL/min，柱温为 99.9 ℃。同位素质谱进行样品测定时，每个样品的分析起始阶

段和结尾阶段通入 CO_2 参考气进行系统稳定性评价。样品燃烧氧化产生的 CO_2 和其它杂质分开，进入质谱仪，在电场和磁场作用下因质量数不同（m44、m45、m46）发生偏转分离，法拉第杯收集器收集样品 m/z 44、45、46 的离子流并积分，由计算机自动计算 $\delta^{13}C$ 值。$\delta^{13}C$ 值的计算是基于一个国际标准物质（Vienna Pee Dee Belemnite Standard-VPDB），计算公式为：$\delta^{13}C=(R_{Sample}-R_{VPDB})/R_{VPDB}\times1000$，其中 R 为同位素比率 $^{13}C/^{12}C$，R_{VPDB} = 0.0112372。$\delta^{13}C_H$ 表示蜂蜜 $\delta^{13}C$ 值，$\delta^{13}C_P$ 表示蜂蜜蛋白 $\delta^{13}C$ 值，$\triangle\delta^{13}C_{P-H}$ 表示蜂蜜蛋白 $\delta^{13}C_P$ 和蜂蜜 $\delta^{13}C_H$ 差值，$\delta^{13}C_F$ 表示蜂蜜中葡萄糖 $\delta^{13}C$ 值，$\delta^{13}C_G$ 表示蜂蜜中果糖 $\delta^{13}C$ 值，$\delta^{13}C_D$ 表示蜂蜜中二糖 $\delta^{13}C$ 值，$\delta^{13}C_T$ 表示蜂蜜中三糖 $\delta^{13}C$ 值，$\delta^{13}C_O$ 表示蜂蜜中寡糖 $\delta^{13}C$ 值，$\triangle\delta^{13}C_{max}$ 表示各类蜂蜜中糖组分的 $\delta^{13}C$ 值最大差值，$\triangle\delta^{13}C_{F-G}$ 表示蜂蜜中葡萄糖和果糖 $\delta^{13}C$ 差值。

液相色谱示差检测法条件：氨基柱色谱柱（250.0 mm×4.6 mm，5 μm），柱温 25 ℃，流动相为乙腈:水=77:23，流速为 1.0 mL/min，检测池温度为 35℃，进样量为 15 μL。结果按下式计算：Z=C×W/m。式中，Z 为试样中被测组分含量（10^{-2} g/g）；C 为从标准工作曲线上得到的被测组分溶液浓度（10^{-2} g/mL）；V 为样品溶液定容体积（mL）；m 为所称试样的质量（g）。计算结果应扣除空白值。

2 结果与讨论

2.1 EA-IRMS 分析碳-4 植物糖超标蜂蜜样品的 $\delta^{13}C$ 值

针对 124 份蜂蜜样品进行测试筛选，发现其中 21 份样品碳-4 植物糖超标，本批次碳-4 植物糖检出超标率为 16.94%。21 份碳-4 植物糖超标蜂蜜样品的 $\delta^{13}C_H$、$\delta^{13}C_P$、$\delta^{13}C_{P-H}$、碳-4 植物糖含量测定结果见表 1。

由表 1 可以看出，碳-4 植物糖超标样品的 $\delta^{13}C_H$ 值分布范围较宽，最大值与最小值相差 12.5‰，相互之间存在明显差异，X11 等 8 个样品的 $\delta^{13}C_H$ 值大于-21.5‰，X2 等 11 个样品 $\delta^{13}C_H$ 值分布在-21.5~-23.5‰“灰色区域”内，X16 和 X88 样品的 $\delta^{13}C_H$ 值分别为-24.33‰和-24.56‰，皆小于-23.5‰。相对 $\delta^{13}C_H$ 而言，碳-4 植物糖超标样品的 $\delta^{13}C_P$ 分布范围较窄，最大值与最小值相差 4.82‰，且除了 X94 的 $\delta^{13}C_P$ 值为-21.63‰以外，其余 20 份样品的 $\delta^{13}C_P$ 值皆小于-23‰，$\delta^{13}C_P$ 小于-23‰的样品所占比例高达 95.24%，说明碳-4 植物糖超标样品的掺假掺杂手段对蜂蜜蛋白本身影响不大[2~3]。鉴于碳-4 植物糖超标样品的 $\delta^{13}C_P$ 分布范围较窄，碳-4 植物糖超标样品的 $\delta^{13}C_{P-H}$、碳-4 植物糖含量与其 $\delta^{13}C_H$ 值相关性更强，$\delta^{13}C_H$ 越大，$\delta^{13}C_{P-H}$ 的绝对值更大，碳-4 植物糖含量越高。X16 和 X88 样品的 $\delta^{13}C_H$ 值分别为-24.33‰和-24.56‰，其碳-4 植物糖含量分别为 7.10%和 7.01%，处于碳-4 植物糖超标的临界范围。X115 蜂蜜样品的 $\delta^{13}C_H$ 值为-12.07‰，碳-4 植物糖含量高达 82.35%，可见该样品中天然蜂蜜源碳-3 植物糖含量很低，蜂蜜真实成分含量很低，掺假程度严重。

表 1 EA-IRMS 测定的不同蜂蜜样品的稳定碳同位素比值

Table 1 Stable carbon isotope ratios and contents of C_4 sugar of different honey samples by EA-IRMS

Sample	$\delta^{13}C_H$ /‰	$\delta^{13}C_P$ /‰	$\delta^{13}C_{P-H}$ /‰	Content of C_4 sugar /%
X2	-23.24	-24.32	-1.08	7.39
X11	-16.64	-26.02	-9.38	57.49
X12	-16.60	-25.46	-8.86	56.22
X13	-16.77	-25.82	-9.05	56.15
X16	-24.33	-25.45	-1.12	7.10
X25	-21.42	-24.35	-2.93	20.01
X26	-21.66	-23.10	-1.44	10.74
X40	-19.40	-23.88	-4.48	31.59
X46	-22.30	-24.33	-2.04	13.91
X48	-22.65	-24.01	-1.36	9.53
X79	-14.91	-23.07	-8.16	61.05
X80	-14.82	-23.12	-8.31	61.87
X81	-16.70	-23.55	-6.85	49.48
X88	-24.56	-25.68	-1.12	7.01
X94	-17.51	-21.63	-4.13	34.58
X95	-22.94	-24.22	-1.28	8.84
X112	-23.15	-24.25	-1.11	7.59
X115	-12.07	-23.12	-11.05	82.35
X116	-21.74	-23.39	-1.65	12.03
X117	-21.75	-25.05	-3.30	21.51
X124	-23.93	-26.45	-2.52	15.04
Min	-24.56	-26.45	-11.05	7.01
Max	-12.07	-21.63	-1.08	82.35
Max-min	12.50	4.82	9.97	75.34

2.2 LC-IRMS 分析碳-4 植物糖超标蜂蜜样品各类糖组分的 $\delta^{13}C$ 值

应用 LC-IRMS 对 X2 等 21 份碳-4 植物糖超标蜂蜜样品进一步研究，测定的不同蜂蜜样品的稳定碳同

位素比值见表 2。由表 2 可以看出，X11、X12、X13、X40 样品葡萄糖、果糖、二糖、三糖、寡糖都有检出，其△$\delta^{13}C_{max}$ 皆大于 12.81‰，根据同一来源的各组分 $\delta^{13}C$ 值相近的原理[2~3]，可见 X11、X12、X13、X40 明显是碳-3 植物源甜味料和碳-4 植物源甜味料的掺和体。X11、X12、X13 的二糖、三糖、寡糖的 $\delta^{13}C$ 值相近，并且皆大于-12.3‰，由此可推测 X11、X12、X13 掺入碳-4 植物源淀粉转化产物，寡糖的大量存在，说明该产物转化成葡萄糖和果糖的过程不彻底。

表 2 LC-IRMS 测定的不同蜂蜜样品的稳定碳同位素比值（‰）

Table 2 Stable carbon isotope ratios of different honey samples by LC-IRMS

Sample	$\delta^{13}C_F$	$\delta^{13}C_G$	$\delta^{13}C_D$	$\delta^{13}C_T$	$\delta^{13}C_O$	$\Delta\delta^{13}C_{F-G}$	$\Delta\delta^{13}C_{max}$
X2	-23.24	-23.22	-24.68	n.d.	n.d.	-0.02	1.46
X11	-23.59	-21.23	-12.54	-10.05	-11.46	-2.37	13.54
X12	-23.63	-21.25	-12.39	-9.97	-11.58	-2.39	13.66
X13	-23.58	-21.24	-12.30	-10.70	-11.82	-2.34	12.87
X16	-23.74	-24.42	-26.73	n.d.	n.d.	0.68	2.99
X25	-20.70	-21.97	-22.42	n.d.	n.d.	1.28	1.72
X26	-21.73	-21.76	-21.63	n.d.	n.d.	0.04	0.13
X40	-19.35	-18.34	-18.62	-6.54	-12.58	-1.01	12.81
X46	-21.76	-21.75	-23.19	-18.77	n.d.	0.00	4.41
X48	-22.45	-22.33	-23.87	-21.63	n.d.	-0.12	2.24
X79	-14.59	-14.36	-12.34	n.d.	n.d.	-0.23	2.25
X80	-14.38	-14.22	-11.91	n.d.	n.d.	-0.16	2.48
X81	-17.78	-17.68	-11.65	-15.32	n.d.	-0.10	6.13
X88	-24.61	-24.85	-26.58	-19.85	n.d.	0.24	6.72
X94	-16.75	-16.73	-19.22	-18.38	n.d.	-0.02	2.49
X95	-22.60	-22.42	-23.60	-23.16	n.d.	-0.18	1.19
X112	-23.00	-23.45	-23.44	-20.17	n.d.	0.45	3.28
X115	-16.22	-11.45	-11.17	n.d.	-11.10	-4.78	5.13
X116	-23.51	-23.72	-23.58	-18.58	n.d.	0.21	5.14
X117	-23.44	-25.31	-27.10	n.d.	n.d.	1.87	3.67
X124	-22.39	-22.43	-24.17	n.d.	n.d.	0.04	1.78
Min	-24.61	-25.31	-27.10	-23.16	-27.10	-4.78	0.13
Max	-14.38	-11.45	-11.17	-6.54	-11.17	1.87	13.66

注：n.d.: not detected。

天然蜂蜜中以葡萄糖、果糖为主，同时含有低剂量的二糖，葡萄糖、果糖和二糖的 $\delta^{13}C$ 值基本接近，X11、X12、X13 三个样品的△$\delta^{13}C_{F-G}$ 分别为-2.37‰、-2.39‰和-2.34‰，远远超出真实蜂蜜葡萄糖和果糖 $\delta^{13}C$ 差值范围±1.0‰[9]，属于典型的掺假掺杂蜂蜜。X11、X12、X13 对应的产品名称分别为枣花蜜、党参蜜和枸杞蜜，属于同一生产厂家的产品，结合表 1 和表 2 数据，根据 X11、X12、X13 整体、蛋白及各糖组分的对应 $\delta^{13}C$ 值基本一致的情况，可推测 X11、X12、X13 属于同一掺假配方，包装并以不同产品名称出售。X11、X12、X13、X79、X80 的碳-4 植物糖含量都介于 56~62%之间，但 X79、X80 的△$\delta^{13}C_{max}$ 分别为 2.25‰和 2.48‰，远远低于 X11、X12、X13 对应的△$\delta^{13}C_{max}$。原因可能如下：X11、X12、X13 掺入的碳-4 植物源淀粉转化产物转化成单糖（葡萄糖和果糖）的程度不高，成分以寡糖、三糖和二糖为主，从而使 X11、X12、X13 样品中葡萄糖、果糖的 $\delta^{13}C$ 值所受影响相对较小，保留碳-3 植物特征的 $\delta^{13}C_F$ 和 $\delta^{13}C_G$，与掺入具有碳-4 植物特征的寡糖、三糖、二糖组分的 $\delta^{13}C_O$、$\delta^{13}C_T$ 和 $\delta^{13}C_D$ 相差较远，从而蜂蜜样品其△$\delta^{13}C_{max}$ 较大。X79、X80 所掺入的碳-4 植物糖为碳-4 植物源果葡糖浆，果葡糖浆主要以葡萄糖和果糖为主，不含寡糖和三糖，从而使 X79、X80 样品中 $\delta^{13}C_F$ 和 $\delta^{13}C_G$ 所受影响相对较大，丧失碳-3 植物特征，其△$\delta^{13}C_{max}$ 相对而言较小。碳-4 植物糖含量高达 82.35%的 X115 样品，其△$\delta^{13}C_{F-G}$ 为-4.78‰，在 21 份碳-4 植物糖超标样品中偏离± 1.0‰范围最远，因为掺入的碳-4 植物糖比例较大，样品中天然蜂蜜含量较低，除了 $\delta^{13}C_P$ 仍然保持碳-3 植物特征以外，天然蜂蜜的葡萄糖、果糖等糖组分 $\delta^{13}C$ 值显著变大，从而导致△$\delta^{13}C_{max}$ 为 5.13‰，所以 X115 样品虽然碳-4 植物糖超标程度最严重，但是其△$\delta^{13}C_{max}$ 反而不是最大的。

2.3 液相示差法分析蜂蜜中还原糖及蔗糖含量

X2等21份碳-4植物糖超标蜂蜜样品中还原糖含量及蔗糖含量见表3，如表3所示，5份样品的还原糖含量低于0.60 g/g，其余16份样品的还原糖含量均大于0.60 g/g，满足GB 14963-2011《食品安全国家标准 蜂蜜》的还原糖含量规定[1]，还原糖含量低于0.60 g/g的样品编号分别为X11、X12、X13、X81和X115，其中X12样品还原糖含量低至0.37 g/g。GB 14963-2011《食品安全国家标准 蜂蜜》规定[1]，除了胺树蜂蜜、柑橘蜂蜜、紫苜蓿蜂蜜、荔枝蜂蜜和野桂花蜜5种蜂蜜的蔗糖含量≤0.10 g/g，其他蜂蜜蔗糖含量≤0.05 g/g，X81的蔗糖含量为0.18 g/g，其蔗糖含量远远超标，其余样品（所占比例为总量的95.23%）蔗糖含量指标皆≤0.05 g/g，说明往蜂蜜中掺入蔗糖的行为仍然存在，但不具有普遍性。除X11、X12、X13、X81和X115外，其余样品还原糖含量均大于0.60 g/g，说明部分不法商贩可能人为加入转化为葡萄糖和果糖的碳-4植物糖，从而使碳-4植物糖

超标样品中还原糖总量满足要求。

表 3 蜂蜜样品的糖含量分析

Table 3 Sugar contents in the analyzed honeys

Sample	Sugar content (10^{-2}g/g)[a]		Sample	Sugar content (10^{-2}g/g)[a]	
	R.S	Sucrose		R.S	Sucrose
X2	73.5	4.9	X80	73.3	3.3
X11	43.5	2.5	X81	56.4	17.8
X12	36.7	2.2	X88	67.8	2.4
X13	40.4	2.3	X94	68.1	1.5
X16	73.2	1.3	X95	68	4
X25	76.4	1.7	X112	71.6	2.6
X26	75.8	1.7	X115	45.4	0.6
X40	75.8	0.8	X116	71.7	2
X46	72.2	2.9	X117	75.9	1.2
X48	70.2	2.5	X124	60.7	3
X79	69.8	3.7			

注：R.S=Reducing sugar (Fructose + Glucose); [a]Mean value obtained after three repetitions。

3 结论

针对 124 份来源于市面采购的蜂蜜样品进行测试筛选，发现其中 21 份样品碳-4 植物糖超标，本批次碳-4 植物糖检出超标率为 16.94%。通过多种检测方法针对 21 份碳-4 植物糖超标蜂蜜样品进行分析，大致可归纳为以下三类：（1）以 X2、X6、X88 为典型的轻微超标型，碳-4 植物糖含量为 7~10%之间，$\triangle\delta^{13}C_{F\text{-}G}$、$\triangle\delta^{13}C_{max}$ 跟真实蜂蜜要求相差不远。一方面源于部分蜂农在采花间歇期间采用蔗糖喂养蜜蜂，蜜蜂身体部位沾污蔗糖引入蜂蜜所致，另一方面源于部分企业及厂家存在侥幸心理，为了使蜂蜜产量最大化，瞄准碳-4 植物糖等于 7 的“底线”人为添加具有价格差优势的碳-4 植物糖。（2）以 X11、X12、X13 为典型的碳-4 植物源淀粉转化产物掺假型，寡糖含量较高，$\triangle\delta^{13}C_{max}$ 较大。（3）以 X115 为典型的掺入碳-4 植物源果葡糖浆型，样品本身不含寡糖，$\delta^{13}C_F$、$\delta^{13}C_G$ 完成丧失碳-3 植物特征。

参考文献

[1] GB 14963-2011,食品安全国家标准 蜂蜜[S]
GB/T 14963-2011, National food safety standards honey [S]

[2] White J W, Winters K. Honey protein as internal standard for stable carbon isotope ratio detection of adulteration honey [J]. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 1989, 72: 907-911

[3] White J W. Internal standard stable carbon isotope ratio method for determination of C4 plant sugars in honey: collaborative study and evaluation of improved protein preparation procedure [J]. J. Assoc. Official Anal. Chem., 1992, 75: 543-548

[4] AOAC Official Method 978.17 corn and cane sugar products in honey [M]. Arlington, Virginia, USA: AOAC International, 1989

[5] AOAC Official Method 991.41 C-4 plant sugars in honey [M]. Arlington, Virginia, USA: AOAC International, 1995

[6] GB/T 18932.1-2002, 蜂蜜中碳-4 植物糖含量测定方法 稳定碳同位素比率法[S]
GB/T 18932.1-2002, Determination method of C-4 plant sugar content in honey Stable carbon isotope ratio method [S]

[7] White J W, Winters K. Honey protein as internal standard for stable carbon isotope ratio detection of adulteration honey [J]. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 1989, 72: 907-911

[8] L da C Azeredo, M A A Azeredo, S R de Souza, et al. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of Apis mellifera of different floral origins [J]. Food Chemistry, 2003, 80(2): 249-254

[9] Elflein L, Raezke K P. Improved detection of honey adulteration by measuring differences between $^{13}C/^{12}C$ stable carbon isotope ratios of protein and sugar compounds with a combination of elemental analyzer-isotope ratio mass spectrometry and liquid chromatography-isotope ratio mass spectrometry (δ^{13}C-EA/LC-IRMS) [J]. Apidologie, 2008, 39(5): 574-587

[10] 胡柳花,李沈轶,李玉伟,等.利用稳定碳同位素的 EA-IRMS 分析法研究植物糖浆对蜂蜜的影响[J].中国食品学报,2010,10(2):239-242
Hu L H, Li S Y, Li Y W, et al. The Effect of Plant syrup on Honey by Carbon EA-IRMS Method [J] Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2010, 10(2): 239-242

[11] 费晓庆,吴斌,沈崇钰,等.液相色谱/元素分析-同位素比值质谱联用法鉴定蜂蜜掺假[J].色谱,2011,29(1):15-19
Fei X Q, Wu B, Shen C Y, et al. Honey adulteration detection using liquid chromatography/elemental analysis-isotope ratio mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2011, 29(1): 15-19

[12] 罗东辉,罗海英,冼燕萍,等.同位素质谱联用技术鉴别无蛋白蜂蜜的真实性[J].现代食品科技, 2012,28(7): 862-866
Luo D H, Luo H Y, Xian Y P, et al. Identification the Authenticity of no Protein Honey by IRMS [J]. Modern Food

Science and Technology, 2012, 28(7): 862-866

[13] GB/T 18932.22-2003,蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖含量的测定方法-液相色谱示差折光检测法[S].2003

GB/T 18932.22-2003, Method for the determination of fructose, glucose, sucrose, maltose contents in honey - Liquid chromatography refractive index detection method [S]. 2003

现代食品科技