

# 荔枝蜜拉曼光谱指纹图谱的研究

祁龙凯<sup>1</sup>, 林励<sup>1</sup>, 陈地灵<sup>2</sup>, 谭东山<sup>3</sup>

(1. 广州中医药大学中药学院, 广东广州 510006) (2. 华南师范大学药物研究院, 广东广州 510631)

(3. 广州市谭山蜂业有限公司, 广东从化 510925)

**摘要:** 本文以 20 批从化荔枝蜜为研究对象, 采用显微共焦拉曼光谱技术, 在 785 nm 下建立荔枝蜜的拉曼光谱指纹图谱。荔枝蜜的拉曼光谱在 424、521、629、706、820、867、918、1079、1122、1266、1460  $\text{cm}^{-1}$  处出现强峰, 在 452、596、776、918、981、1337  $\text{cm}^{-1}$  处出现较明显的拉曼峰, 其拉曼谱峰显示出了酰胺类、氨基酸类、蛋白质类、碳水化合物类等的拉曼光谱特征, 可以基本判定荔枝蜜中含蛋白质、氨基酸、糖类物质, 这与已知荔枝蜜生化成分基本相符; 同时运用 Matlab 指纹图谱分析软件进行相似度分析, 不同批次荔枝蜜相似度在 0.97 以上, 显示出建立的荔枝蜜指纹图谱具有特征性。通过一阶和二阶导数分析, 显示出荔枝蜜加工前后在峰形及峰强上有显著变化。研究显示拉曼光谱可以直接、快速鉴别荔枝蜜中的主要成分, 其指纹图谱的建立可为蜂蜜的鉴别及在线质量控制提供一定的理论依据。

**关键词:** 拉曼光谱; 指纹图谱; 荔枝蜜

文章编号: 1673-9078(2014)3-201-205

## Fingerprint of the Litchi Honey by Raman Spectroscopic

QI Long-kai<sup>1</sup>, LIN Li<sup>1</sup>, CHEN Di-ling<sup>2</sup>, TAN Dong-shan<sup>3</sup>

(1.College of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

(2.Southern Institute of Pharmaceutical Research, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

(3.Guangzhou Tanshan apiculture Co.Ltd., Conghua 510925,China)

**Abstract:** Laser Raman spectrum technology under 785 nm was used to establish the litchi honey fingerprints. The Raman spectra of litchi honey showed that several characteristic strong peaks were found at 424, 521, 629, 706, 820, 867, 918, 1079, 1122, 1266 and 1460  $\text{cm}^{-1}$ . And a few obvious Raman peaks appeared at 452, 596, 776, 918, 981 and 1337  $\text{cm}^{-1}$ . The Raman peaks showed spectral features of amide, amino acids, proteins, carbohydrates, etc. It was basically confirmed that litchi honey contained protein, amino acid and carbohydrate, which was basic consistent with the known litchi honey biochemical components. Meanwhile, Matlab fingerprint analysis software was used for similarity analysis, it was demonstrated that the similarity of different batches of litchi honey was no less than 0.97 indicating the litchi honey fingerprint had characteristic. There were significant changes before and after processing litchi honey in peak shapes and peak intensities through analysis of first and second order derivatives. Thus, the main ingredients in litchi honey can be directly identified by Raman spectra and the established fingerprint Raman spectroscopy can provide certain theoretical basis for the identification and quality control of litchi honey.

**Key words:** Raman spectra; fingerprint; litchi honey

荔枝蜜是中国南方地区生产的上等蜂蜜, 是岭南特有的蜜种, 颜色为琥珀色, 芳香馥郁, 带有浓烈的荔枝花香。主要分布于我国华南地区, 如广东、福建、广西等省。荔枝蜜具有促进消化吸收, 增进食欲, 镇静安眠, 提高人体免疫能力, 促进婴幼儿的成长、发育等辅助作用。除此以外, 荔枝蜜还有提高人体免疫功能、增强体质、消除疲劳、防止心血管疾病、抗衰老、抑制肿瘤和美容等功能<sup>[1-3]</sup>。然而当前市场上存

收稿日期: 2013-10-20

基金项目: 广东省教育部产学研结合项目 (2011B090400124)

作者简介: 祁龙凯, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药资源开发与新药研究

通讯作者: 林励, 研究员, 从事中药资源开发与新药研究

在诸多劣质蜜、掺假蜜, 造成荔枝蜜质量参差不齐; 同时荔枝蜜质量控制指标与创新的、标准化的质量控制体系的缺乏, 也给消费者的食用安全带来严重隐患。

目前, 傅里叶近红外光谱法、高效液相色谱法、超高效液相色谱仪-质谱联用法及气相色谱仪-质谱联用法等已广泛应用于蜂蜜的检测及质量控制, 但样品处理复杂, 操作不便。红外光谱法应用于蜂蜜等食品的监测分析<sup>[4-6]</sup>, 具有快速、成本低、无损和易于操作等优点。红外光谱基于吸收现象, 由分子振动或转动时的偶极距变化引起, 相比之下拉曼光谱是散射现象, 由分子振动或转动时的极化率变化引起, 拉曼光谱和红外光谱同属分子光谱, 具有与近红外光谱法类似的

优点<sup>[7-8]</sup>,且相比红外光谱,拉曼光谱对水等极性物质极其不敏感,从而使其在液态及半固态类食品质量安全检测方面具有良好的应用前景。已有文献报道拉曼光谱可用于蜂蜜中果糖和葡萄糖的定量分析及检测蜂蜜用甜菜糖浆和甘蔗糖浆掺假<sup>[9-10]</sup>,但对于荔枝蜜及其拉曼光谱指纹图谱鲜有报道。因此,本文针对目前荔枝蜜生产中存在的问题,利用拉曼光谱独特的优势,开展荔枝蜜的拉曼光谱分析,以期通过建立荔枝蜜的拉曼光谱指纹图谱来进一步完善其质量控制体系。

## 1 仪器与试剂

Renishaw in Via 显微共焦激光拉曼光谱仪(英国);20 批次荔枝蜜样品由广东从化谭山蜂业提供,分为未经加工处理的原蜜以及经过加热去水分处理的炼蜜,样品详情见表 2,并经广州中医药大学中药学院林励研究员鉴定,样品标本保存于广州中医药大学中药学院实验管理中心。

## 2 方法与结果

### 2.1 样本处理

实验前,将所有蜂蜜从4℃冰箱中取出,室温放置,然后在45℃水浴条件下使蜂蜜结晶融化,充分摇匀,取适量。

### 2.2 仪器条件

InVia+Plus共聚焦显微拉曼光谱仪(Renishaw in Via),物镜:50倍,激发光源:785 nm半导体激光,激光功率50%,光谱扫描范围385~1540 cm<sup>-1</sup>,检测器:CCD检测器,光谱分辨率:1 cm<sup>-1</sup>,积分时间:20 s,激光功率:9.15 mW,背向接收的方式采集拉曼信号。

### 2.3 试验方法

将荔枝蜜样品置于洁净载玻片上,使其位于激光显微拉曼光谱仪载物台的物镜视野下,通过微机屏幕上的影像窗口调整焦距,测定荔枝蜜的拉曼光谱。

### 2.4 拉曼光谱测定及结果分析

实验中测得的荔枝蜜拉曼光谱如图1和图2所示。拉曼光谱中,在424、521、629、706、820、867、1079、1122、1266、1460 cm<sup>-1</sup>处有明显的特征峰;452、564、596、776、918、981、1337 cm<sup>-1</sup>处出现较明显的拉曼峰,实验所获得的荔枝蜜拉曼谱峰信号,显示了荔枝蜜中生物物质的指纹特性。

表1 荔枝蜜拉曼特征峰频率和振动基团

频率/cm <sup>-1</sup>	振动基团	化合物
424	“椅式伸展”	正烷烃类
521	SS 伸缩	二烷基二硫化物
564	CCI 伸缩、T <sub>HHH</sub> 构想	叔氯代烷烃
629	环形变	单基取代苯
706	C-S 伸缩振动、	二烷基二硫化物、 烷基硫化物
820	C <sub>3</sub> H 骨架伸缩振动 环振动	仲醇 对位双取代苯
867	骨架伸缩振动 对称 C-N-C 伸缩振动 对称 C-O-C 伸缩振动	异丙基基团 仲胺 酯族醚
981、1079、1122	C-C 骨架伸缩振动 C-C 伸缩振动	n 烷烃 n 烷烃
1266	平面 C-H 形变振动 CH <sub>2</sub> 扭曲和摆动	顺式二烃 n 烷烃
1337	C-H 形变振动	异丙基基团
1460	CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> 形变振动	n 烷烃

由于化合物分子间的相互作用,一种化学成份处在化合物中的拉曼特征峰和作为一种纯净物直接测其拉曼光谱所得的特征峰会有所偏移。对照特征拉曼频率初步指定表<sup>[7-9]</sup>,推测本实验所测荔枝蜜拉曼光谱中拉曼特征峰频率和振动基团见表1。

#### 2.4.1 拉曼谱峰的初步指认

参照文献<sup>[12-16]</sup>,对照单糖、多糖、氨基酸的特征拉曼频率和初步指定表,因此推断在荔枝蜜拉曼光谱中:521 cm<sup>-1</sup>峰说明荔枝蜜中含有环己直链淀粉;820 cm<sup>-1</sup>为果糖特征谱带,867 cm<sup>-1</sup>为葡萄糖特征谱带,说明荔枝蜜中可能含有支链淀粉;1122 cm<sup>-1</sup>峰表明荔枝蜜中可能有葡萄糖醛酸、D-葡萄糖、氨基葡萄糖、氘代氨基葡萄糖、N-乙酰基葡萄糖、氘代 N-乙酰基葡萄糖、麦芽糖;1266 cm<sup>-1</sup>附近出现的拉曼峰表明荔枝蜜可能含有 N-乙酰基葡萄糖、氘代 N-乙酰基葡萄糖、糖原、环己直链淀粉、麦芽三糖;1460 cm<sup>-1</sup>峰表明荔枝蜜可能含有 N-乙酰基葡萄糖、氘代 N-乙酰基葡萄糖。这与已有的荔枝蜜化学成分研究报道相符。

由图1和图2直观分析,荔枝原蜜和炼蜜的拉曼光谱差异性不明显,只是加工后较加工前各拉曼峰强度明显高一些,这说明加工前后荔枝蜜在化学成分种类上没有显著变化,只是仅在相关成分含量上有较显著差异。

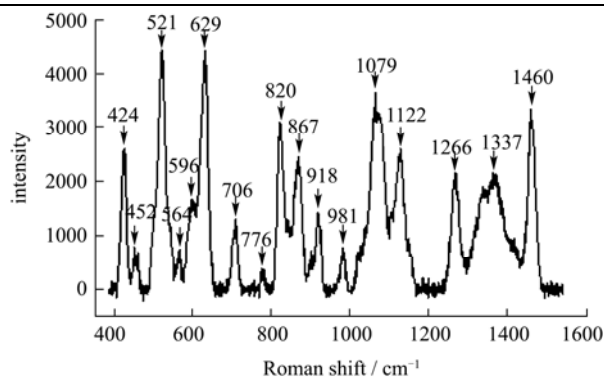


图1 荔枝原蜜拉曼光谱扫描图

Fig.1 Raman spectrum of raw litchi honey

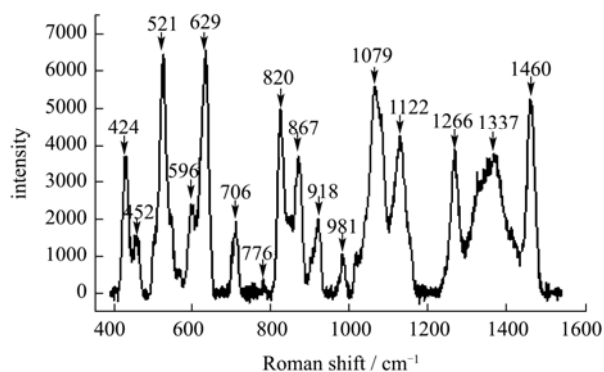


图2 荔枝炼蜜拉曼光谱扫描图

Fig.2 Raman spectrum of processed litchi honey

2.4.2 荔枝蜜拉曼指纹图谱的相似度分析

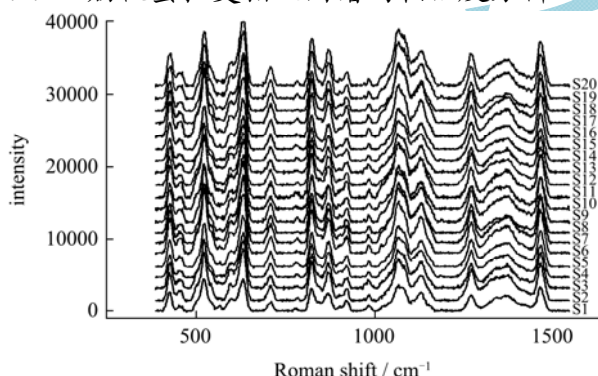


图3 20批荔枝蜜拉曼光谱图

Fig.3 Raman spectrum of twenty batches of litchi honey

相似度作为数字信号科学中的一个定量定性参数,已被国家药典委员会确定为中药指纹图谱标准中的一项重要评价指标,本研究采用 OMNIC 软件将采集得到的光谱作自动基线校正,5 点平滑以降低噪声干扰,并纵坐标归一化至 1.0,将 3 次测得的光谱经加和取平均处理后得到各样品的拉曼光谱;而后利用 Origin 8.0 软件绘制 20 批荔枝蜜拉曼光谱指纹图谱;同时采用 MatLAB 指纹图谱相似度分析软件对所有样品色谱图的原始数据进行分析,经自动匹配,计算 20 批次荔枝蜜拉曼谱峰的相似度(中位数),结果见表 1。20 批荔枝蜜拉曼谱峰的相关系数(中位数)在

0.9747~0.9915 之间、相合系数(中位数)在 0.9792~0.9960 之间。

表 1 样品来源及相似度分析结果

Table 1 The different sources of samples and similarity

加工状态	蜜源 编号	采集地点 (从化)	采集时间	相似度/(中位数)	
				相关系数	相合系数
原蜜 荔枝	S1	从化良口镇	2012.5.2	0.9865	0.9929
	S2	从化锦一村	2012.4.28	0.9857	0.9925
	S3	从化凤凰村	2012.5.3	0.9909	0.9952
	S4	从化吕田镇	2012.4.27	0.9795	0.9893
	S5	从化太平村	2012.4.28	0.9888	0.9941
	S6	从化菜地壟	2012.4.30	0.9915	0.9955
	S7	从化锦二村	2012.4.28	0.9826	0.9907
	S8	从化东明村	2012.5.1	0.9825	0.9892
	S9	从化神岗村	2012.4.28	0.9889	0.9941
	S10	从化连麻村	2012.5.2	0.9747	0.9864
炼蜜 荔枝	S11	从化太平村	2012.4.28	0.9852	0.9922
	S12	从化高峰村	2012.5.1	0.9885	0.9939
	S13	从化神岗村	2012.5.5	0.9853	0.9922
	S14	从化街口村	2012.5.13	0.9747	0.9864
	S15	从化锦一村	2012.5.18	0.9923	0.9960
	S16	从化塘下村	2012.6.3	0.9814	0.9903
	S17	从化凤凰村	2012.6.10	0.9922	0.9954
	S18	从化吕田镇	2012.6.18	0.9616	0.9792
	S19	从化东明村	2012.6.23	0.9756	0.9858
	S20	从化黄围村	2012.6.28	0.9908	0.9952

2.4.3 一、二阶导数分析

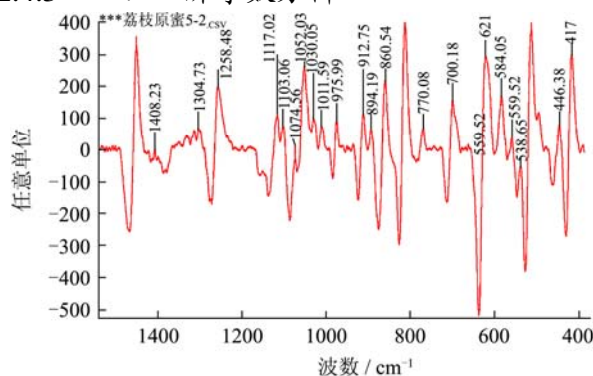


图4 荔枝原蜜拉曼光谱一阶导数图

Fig.4 First derivative Raman spectrum of raw litchi honey

用 OMNIC 软件对荔枝蜜拉曼光谱原始数据进行一、二阶导数处理,得到其一、二阶导数谱图(见图 4~7),一阶导数谱图显示在荔枝蜜加工前后均在 416、513、621、697、812、1052、1256、1451  $\text{cm}^{-1}$  处出现明显特征峰,在 446、584、770、860、912  $\text{cm}^{-1}$  处出现较明显的特征峰。荔枝蜜加工后在 491、840、1147

$\text{cm}^{-1}$ 处出现一些较明显的峰, 可能为加工后特征峰。

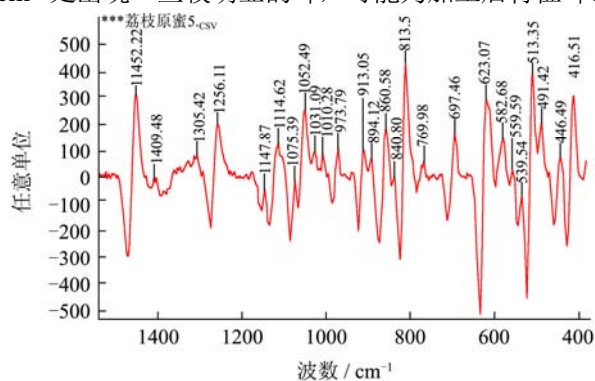


图5 荔枝炼蜜拉曼光谱一阶导数图

Fig.5 First derivative Raman spectrum of processed litchi honey

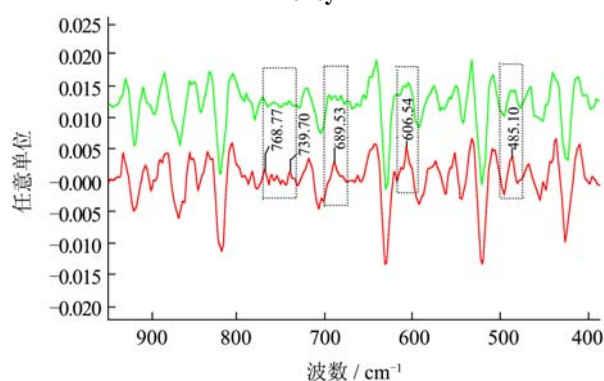


图6 荔枝原蜜拉曼光谱二阶导数图

Fig.6 Second derivative Raman spectrum of raw litchi honey

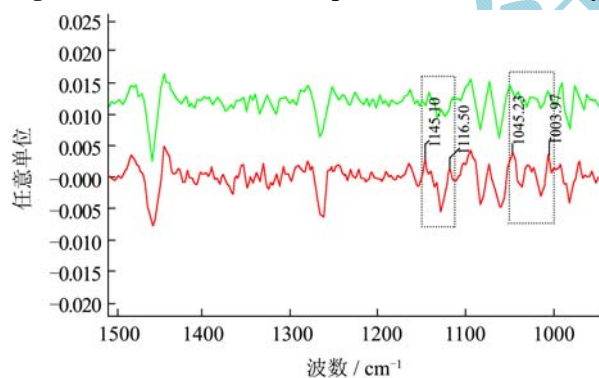


图7 荔枝炼蜜拉曼光谱二阶导数图

Fig.7 Second derivative Raman spectrum of processed litchi honey

直观分析二阶导数谱图显示荔枝蜜加工前后在  $458, 606, 689 \text{ cm}^{-1}$  处及  $739\sim 768 \text{ cm}^{-1}, 1003\sim 1045 \text{ cm}^{-1}, 1116\sim 1145 \text{ cm}^{-1}$  范围内峰形存在显著差异: 荔枝蜜加工后较加工前在  $458, 606, 689 \text{ cm}^{-1}$  的峰强;  $739\sim 768 \text{ cm}^{-1}, 1003\sim 1045 \text{ cm}^{-1}, 1116\sim 1145 \text{ cm}^{-1}$  范围内峰形及峰强差异明显。

### 3 结论

3.1 荔枝蜜拉曼光谱中出现的  $424, 520, 629, 705,$

$820, 1263, 1460 \text{ cm}^{-1}$  强峰, 可认为是其特征峰。。分析实验数据并结合图 1~2, 可以看出荔枝蜜加工前后主要成分种类并没有明显变化, 这是由于蜂蜜加工过程中只会加热浓缩并减少部分水分, 所以普遍炼蜜相比原蜜的拉曼光谱吸收强度略高。

3.2 20批荔枝蜜拉曼指纹图谱相似度在  $0.9747\sim 0.9955$  之间, 说明本实验所采集的荔枝蜜质量比较一致, 建立的荔枝蜜指纹图谱具有特征性, 能为荔枝蜜的鉴别及质量控制提供一定的参考。

3.3 荔枝蜜拉曼一阶导数谱在  $416, 513, 619, 697, 812, 1053, 1255, 1451 \text{ cm}^{-1}$  处出现明显特征峰; 二阶导数谱图显示荔枝蜜加工前后在  $458, 606, 689 \text{ cm}^{-1}$  处及  $739\sim 768 \text{ cm}^{-1}, 1003\sim 1045 \text{ cm}^{-1}, 1116\sim 1145 \text{ cm}^{-1}$  范围内峰形存在显著差异。一、二阶导数分析不但可以清晰的表现荔枝蜜加工前后拉曼光谱的变化, 更可作为荔枝蜜拉曼光谱精确分析的补充。

3.4 本实验表明激光拉曼光谱技术可以直接、快速地对荔枝蜜进行检测, 并初步判定其中的主要营养物质, 该方法样品使用量少、检测迅速, 特别适合荔枝蜜生产上的在线监测。未来通过采集更多的样本数据来建立数学模型, 进而达到对荔枝蜜的定性定量分析将是 我们下一步工作中努力的方向。

### 参考文献

- [1] 骆尚骅. 百花酿百蜜功用皆神奇[J]. 家庭医药, 2008, 2: 52  
LUO SHANG-hua. Flowers make hundred honey function all magic [J]. Journal of family medicine, 2008, 2: 52
- [2] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局《关于批准对昌平草莓、富岗苹果、店子长红枣、从化荔枝蜜、六堡茶实施地理标志产品保护的的公告》[J]. 中国食品, 2011, 10: 89  
The people's Republic of China State Administration of Quality Supervision Inspection and Quarantine about the approval of "Changping strawberry, apple Fugang, Dian Zichang red dates, Conghua litchi honeyhoney, Liubao tea to implement the protection of geographical indications products notice" [J]. Chinese food, 2011, 10: 89
- [3] Liu J R, Ye Y L, Lin T Y, et al. Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan [J]. Food Chem., 2013, 8, 139(1-4): 938-943
- [4] Downey G, Fouratier V, Kelly J D. Detection of honey adulteration by addition of fructose and glucose using near-infrared transreflectance spectroscopy [J]. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 2003, 11(6): 447-456
- [5] Zhu X R, Li S F, Shan Y, et al. Detection of adulterants such

- as sweeteners materials in honey using near-infrared spectroscopy and chemometrics [J]. *Journal of Food Engineering*, 2010, 101(1): 92-97
- [6] Kelly J D, Petisco C, Downey G J. Potential of near-infrared transfectance spectroscopy to detect adulteration of irish honey by beet invert syrup and high fructose corn syrup [J]. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2006, 14(2): 139-146
- [7] 林文硕,陈荣,李永增,等.山药近红外拉曼光谱分析[J].*光谱学与光谱分析*,2008,05:1095-1097  
LIN Wen-shuo, CHEN Rong, LI YONG-zeng et al. Near Infrared Raman Spectra Analysis of Rhizoma Dioscoreae [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2008, 5: 1095-1097
- [8] 张欣.近红外和拉曼光谱法测定蜂蜜掺假研究[D].长沙,中南大学,2011  
ZHANG Xin. Studies on Discrimination of Honey Adulteration by Near Infrared and Raman Spectroscopy [D]. Chang Sha, Central South University, 2011
- [9] LISBETH G T, METRE M L. Vibrational microspectroscopy of food: Raman VS. Fr-IR [J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2003, 14(1): 50-57
- [10] Batsoulis A N, Siatis N G, Kimbaris A C, et al. FT-Raman spectroscopic simultaneous determination of fructose and glucose in honey [J]. *Agric. Food Chem.*, 2005, 53: 207-210
- [11] Paradkar M M, Irudayaraj J. Discrimination and classification of beet and cane inverts in honey by FT-Raman spectroscopy [J]. *Food Chemistry*, 2001, 76: 231-239
- [12] 许以明编著.拉曼光谱及其在结构生物学中的应用[M].北京市:化学工业出版社,2005  
XU Yi-ming. *Raman Spectroscopy in Application of Structure Biology* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005
- [13] (美) F R 多林希, W G 佛特利, F F 本特利.有机化合物的特征拉曼频率[M].中国化学会,1980  
Dollish F R, Fateley W G, Bentley F F. *Characteristic Raman Frequencies of Organic Compounds* [M]. Beijing: Chinese Chemical Academy Press, 1980
- [14] L.J.Bellamy. *Infrared spectra of complex molecules*. Methuen, London 1954
- [15] L.J.Bellamy. *Advances in infrared group frequencies*. Methuen, London 1968
- [16] 万秋娥,刘汉平,张鹤鸣,等.激光拉曼光谱法无损鉴别人参及其伪品[J].*光谱学与光谱分析*,2012,4:989-992  
WAN QIU-e, LIU HAN-ping, ZHANG MING-he, et al. Identification of Ginseng and Its Counterfeit by Laser Raman Spectroscopy [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2012, 04: 989-992