

基于顶空气相色谱离子迁移谱技术 探索鉴别单花蜜和杂花蜜

李崇勇¹, 孟怡璠^{1*}, 黄微¹, 王蓓蓓¹, 李婷¹, 李春梅²

(1. 汉中市食品药品监督检验检测中心, 陕西汉中 723000)

(2. 城固县食品药品检验检测中心, 陕西城固 723200)

摘要: 为了简便、快速、准确的对市场中的单花蜜和杂花蜜样品进行鉴别, 该文采用顶空-气相色谱离子迁移色谱联用技术 (Headspace Gas Chromatography-ion Mobility Spectroscopy, HS-GC-IMS) 对 4 种单花蜜和 4 种杂花蜜样品中挥发性有机物 (Volatile Organic Compounds, VOCs) 差异进行分析。指纹图谱实验发现两种花蜜检测出 76 种挥发性有机物, 主要包含 17 种醛类, 16 种酯类、9 种酮类、17 种醇类、5 种酸类、6 种烯类、2 种呋喃类、4 种杂环及杂原子化合物。杂花蜜 S1、S2、S4 相比单花蜜 S5、S6、S7, 其大部分挥发性物质含量明显较高, 呈现明显差异, 例如杂花蜜中酯类含量在 17.51%~32.90%, 而单花蜜中酯类约占 7.20%~22.81%。主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA) 模型中 2 个主成分 (PCA_1 和 PCA_2) 累计贡献值达到 62%, 说明通过挥发性物质差异可以明显区分单花蜜和杂花蜜样品。同时发现杂花蜜 S3 中含有的 12 种特征挥发性物质, 不同于其他的单花蜜和杂花蜜样品。研究表明 HS-GC-IMS 是一种非常快捷, 简便的 VOCs 检测技术, 无需对样品进行复杂处理, 对单花蜜和杂花蜜的鉴别具有一定的潜力, 为市场各种蜂蜜样品的快速鉴别提供了一定参考。

关键词: 蜂蜜; 挥发性化合物; GC-IMS; 指纹图谱; PCA

文章编号: 1673-9078(2024)08-311-319

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.8.1132

Identification of Single Nectar and Multifloral Honey Using HS-GC-IMS

LI Chongyong¹, MENG Yifan^{1*}, HUANG Wei¹, WANG Beibei¹, LI Ting¹, LI Chunmei²

(1. Institute for Food and Drug Control of Hanzhong City, Hanzhong 723000, China)

(2. Institute for Food and Drug Control of Chenggu County, Chenggu 723200, China)

Abstract: This study sought to facilitate the easy, quick, and accurate identification of single nectar and multifloral honey in the market. To this end, volatile organic compounds (VOCs) in four kinds of single nectar and four kinds of multifloral honey were analyzed using HS-GC-IMS. The fingerprint spectra found 76 types of volatile organic compounds, including 17 aldehydes, 16 esters, 9 ketones, 17 types of alcohol, five acids, six alkenes, two furans, and four heterocyclic and heteroatom compounds. The experimental results showed marked differences in the VOCs between multifloral honey (S1, S2, and S4) and single-nectar honey (S5, S6, S7). For example, the content of ester compounds in multifloral honey

引文格式:

李崇勇, 孟怡璠, 黄微, 等. 基于顶空气相色谱离子迁移谱技术探索鉴别单花蜜和杂花蜜 [J]. 现代食品科技, 2024, 40(8):311-319.

LI Chongyong, MENG Yifan, HUANG Wei, et al. Identification of single nectar and multifloral honey using HS-GC-IMS [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(8): 311-319.

收稿日期: 2023-09-20

基金项目: 陕西省市场监督管理局科技项目计划 (2021KY023)

作者简介: 李崇勇 (1980-) 男, 高级工程师, 研究方向: 食品安全、生产工艺与检验检测, E-mail: 1780195000@qq.com

通讯作者: 孟怡璠 (1990-) 女, 硕士, 工程师, 研究方向: 食品质量与安全检验检测, E-mail: 839127576@qq.com

was 17.51%~32.90%, while that in single-nectar honey was 7.20%~22.81%. Principal component analysis (PCA) was used to distinguish single nectar and multifloral honey based on the additive value (62%) of two principal components (PCA_1 and PCA_2). As a result, multifloral honey S3 was found to possess 12 types of characteristic volatile organic compounds, showing a significant difference from those of the other multifloral honey and single nectar components. These findings highlight the potential of HS-GC-IMS for use in the identification of single nectar and multifloral honey, as well as in the detection of VOCs both rapidly and with the need for any pretreatment. Thus, this paper serves as an important reference for honey identification in market supervision and quality evaluation.

Key words: honey; volatile organic compounds; GC-IMS; fingerprint spectra; PCA

蜂蜜是一种天然食物,由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^[1]。蜂蜜含有丰富的糖、蛋白质、黄酮、有机酸、氨基酸、矿物质、维生素、芳香物、类胡萝卜素等^[2],其中黄酮类化合物、维生素、过氧化氢酶具有一定的生物活性,如抗细菌、抗氧化、抗炎、润肤等多种医疗保健功效^[3-5]。天然蜂蜜所特有的花香气味主要与挥发性化合物有关,大多数挥发性化合物来源于植物,其分析结果很大程度上也依赖于分离和检测技术^[6]。目前蜂蜜中有 600 多种挥发性化合物被鉴定出来,这些挥发性化合物主要分属于醇类、醛类、芳香族类、酯类、酮类、醚类、酸类、酚类、萜烯类和烷烃类,其中醇类、醛类、芳香类和酯类物质含量较高^[7]。

依据蜜源植物的单一程度可分为单花蜜和杂花蜜,单一花蜜纯度超过 80% 则为单花蜜^[8],研究较多的单花蜜有油菜花蜜、刺槐蜜、荔枝蜜、椴树蜜、枇杷蜜等^[9],因其独特的作用与功效被广大消费者所喜爱。国内市场销售的蜂蜜以单花蜜为主,但是近年来野花蜜以原生态、传统养殖、无污染等方式生产受到市场追捧,市场售价已经高于单一蜜源的单花蜜,比如油菜蜜等,使得野花蜜成为市场热宠。但是现有国家标准中仅对蜜源及常规质量指标进行了规定,检测技术中尚无有效方法从本质上鉴别单花蜜和杂花蜜。本文探索了通过香气组分差异区分单花蜜与杂花蜜,为市场监管及有关研究单位鉴别单花蜜与杂花蜜以及蜂蜜真实产地溯源提供了新的技术思路。

目前常用的鉴别蜂蜜的方法有感官鉴别、质量指标检测、特征成分分析等,主要使用色谱技术,如顶空固相微萃取-气相色谱-质谱(HS-SPME GC-MS, Headspace Solid Phase Microextraction-gas Chromatography-mass Spectrometry)^[10]、高效液相色谱-质谱联用^[11]、近红外光谱法^[12]、薄层法^[13]等,但是这些国家标准方法需要对样品进行复杂的物理及化学

前处理,费时费力,消耗大量的化学药品,又有一定使用限制,实验成本较贵,时间效率也不高。离子迁移谱(Ion Mobility Spectroscopy, IMS)作为一种分析检测工具,具有高灵敏度、快速响应和操作简便等特点^[14],在 20 世纪 80 年代主要用于化学战剂、机场的爆炸物检测及毒品的挥发性痕量现场检测。IMS 可以检测多类小分子化合物,主要为醇类、醛类、芳香族、胺类、酯类、酮类、部分杂环类等,基于 IMS 高灵敏度和低选择性的特点,因此将气相色谱与离子迁移谱联用(GC-IMS),该联用技术有高的灵敏度同时具有较高选择性,广泛应用于食品检测、药物监测、危险化学品检测、呼吸分析、生物分析等领域。GC-IMS 在食品领域主要用于进行产地溯源、真伪鉴别、品质分级、风味一致性等研究^[15]。本文采用气相色谱-离子迁移谱联用技术(GC-IMS)^[16,17],研究单花蜜和杂花蜜挥发性物质的差异,从而对单花蜜和杂花蜜进行鉴别区分。整个检测过程无需对样品进行处理,检测速度快,操作便捷,为市场中单花蜜和杂花蜜的快速鉴别提供了新的技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料

杂花蜜分别取自秦岭四个不同地区,每个地区取三个样品(编号例如:S1-1、S1-2、S1-3),单花蜜分别为四种不同蜜源,每种蜜源取三个样品(编号例如:S4-1、S4-2、S4-3),详细信息见表 1。

1.2 仪器与设备

FlavourSpec 1H1-00053 型 GC-IMS,德国 G.A.S 公司;CTC-PAL 自动进样装置,瑞士 CTC Analytics AG 公司;FS-SE-54-CB-1 15 m ID, 0.53 mm 毛细管柱,美国 Restek 公司;BSA24S,万分之一电子天平,德国赛多利斯公司。

表 1 杂花蜜和单花蜜样品信息

Table 1 Sample information of multifloral honey and single nectar

样品编号	样品说明	地区	采集时间
S1-1、S1-2、S1-3	杂花蜜（秦岭山区，各种开花蜜源植物都有）	汉中市留坝县	5~6 月份
S2-1、S2-2、S2-3	杂花蜜（秦岭山区，各种开花蜜源植物都有）	汉中市镇巴县	5~6 月份
S3-1、S3-2、S3-3	杂花蜜（秦岭山区，各种开花蜜源植物都有）	安康市镇坪县	5~6 月份
S4-1、S4-2、S4-3	杂花蜜（秦岭山区，各种开花蜜源植物都有）	汉中市佛坪县	5~6 月份
S5-1、S5-2、S5-3	单花蜜（枣花蜜源）	张掖市临泽县	5~6 月份
S6-1、S6-2、S6-3	单花蜜（枸杞蜜源）	宁夏中宁市	5~6 月份
S7-1、S7-2、S7-3	单花蜜（柑橘蜜源）	汉中市城固县	5~6 月份
S8-1、S8-2、S8-3	单花蜜（野玫瑰蜜源）	贵州安顺市	5~6 月份

1.3 GC-IMS 检测条件

顶空进样条件：称取约 3.00 g 样品置于 20 mL 顶空瓶中，80 °C 孵育 15 min 后进样，进样 500 μ L，进样针温度 65 °C，载气为高纯 N₂（纯度 \geq 99.999%）；气相色谱条件：色谱柱：FS-SE-54-CB-1 15 m ID：0.53 mm；色谱柱温：60 °C；运行时间：20 min；载气为高纯 N₂，载气流量为起始 2 mL/min，2~20 min 线性上升至 100 mL/min；离子迁移谱条件：离子源为 Tritium（6.5 keV），正离子模式，漂移管长度为 9.8 cm，漂移气流量为 150 mL/min；漂移管温度为 45 °C。

1.4 数据处理

采用 GC \times IMS Library Search 和 LAV(Laboratory Analytical Viewer) 软件采集数据和处理谱图，应用内置 NIST 和 IMS 数据库定性分析挥发性风味成分，Dynamic PCA 插件聚类分析挥发性有机物主成分，通过 Reporter 和 Gallery Plot 插件定量比较样品中挥发性有机物的差异。

2 结果与讨论

2.1 通过GC-IMS技术得到四种杂花蜜及四种单花蜜的3D图谱

通过 FlavourSpec® 风味分析仪，分别对四种杂花蜜及四种单花蜜的挥发性成分进行分析鉴别。由气相色谱（Gas Chromatography, GC）的保留时间（单位 s）、离子迁移谱（IMS）迁移时间（单位 ms）及各种挥发性成分的信号强度（峰强度）值，

采用设备自带 LAV (Laboratory Analytical Viewer) 分析软件得到单花蜜和杂花蜜共计 8 个样品挥发性物质的 3D 谱图（图 1）。Y 轴标表示保留时间，X 轴表示迁移时间，Z 轴表示信号强度，图中从左向右 8 张 3D 图分别代表四个产地杂花蜜样品 S1、S2、S3、S4 及四个产地单花蜜样品 S5、S6、S7、S8。图中每个点代表一种挥发性有机物，颜色的深浅表示挥发性有机物含量的高低，红颜色越深表示含量越高，颜色偏白越浅表示含量越低。基于离子迁移谱的原理，同一保留时间下一种挥发性有机物可能在图上产生 1、2 个或多个斑点（分别代表这种挥发性有机物的单体、二聚体或三聚体），其主要与挥发性有机物浓度及其质子亲和能有关，当挥发性有机物的浓度小于水和质子峰的浓度时形成单体，当挥发性有机物的浓度大于水合质子的浓度时开始形成二聚体，当挥发性物质的浓度远大于水合质子的浓度时开始产生多聚体^[18]。3D 图中红色框中挥发性有机物点的颜色在 S1、S2、S3、S4 中整体是深于 S5、S6、S7、S8 的，说明这一种挥发性有机物在四个杂花蜜样品 S1、S2、S3、S4 中含量是高于四个单花蜜样品 S5、S6、S7、S8 的。同红框，黑框中这一种挥发性有机物定性为糠醛，其在杂花蜜样品 S1、S2、S3 中含量也略高于四种单花蜜样品 S5、S6、S7、S8，而其中较特殊的是汉中佛坪产的杂花蜜 S4 黑框中的挥发性有机物含量是低于 4 个单花蜜的。在 3D 图中可以明显找到一些特征标记物，在杂花蜜和单花蜜种含量有显著差异，通过特征挥发性有机物含量的差异可以区分杂花蜜和单花蜜。

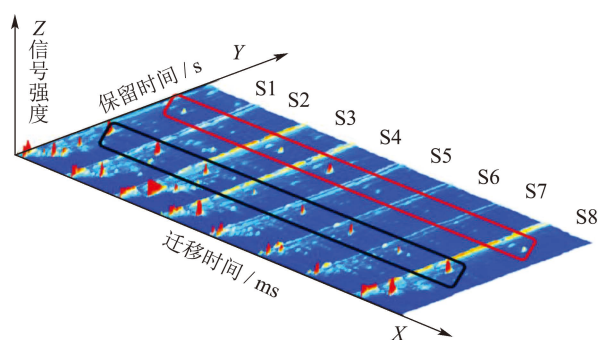


图 1 杂花蜜和单花蜜的 GC-IMS 三维图谱

Fig.1 Three dimensional GC-IMS spectra of multifloral honey and single nectar

2.2 通过GC-IMS技术所得杂花蜜及单花蜜的挥发性风味物质定性分析

GC-IMS 使用外标 C₄-C₉ 的正构酮（例如：2- 丁酮、2- 戊酮、2- 己酮、2- 庚酮、2- 辛酮和 2- 壬酮）校准^[19,20]，通过借助对比外标化合物的保留时间和迁移时间，确定挥发性物质的保留指数，再通过 IMS 迁移时间数据库匹配实现对挥发性物质的定性。图 2 为杂花蜜挥发性物质定性的分析图谱（以野花蜜 S1 样品为例），图 3 为单花蜜挥发性物质定性的分析图谱（以单花蜜 S5 样品为例）。图中的数字标记点表示定性的一种挥发性有机物，点的红颜色越深代表这种挥发性物质含量越高，点的颜色偏白越浅表示这种挥发性有机物含量越低。从图 2 和图 3 种可以看出，两种花蜜定性出相同种类和数量的挥发性物质 76 种（包含单体及多聚体），但同种挥发性有机物含量有显著差异，其中包含 17 种醛类化合物、16 种酯类化合物、9 种酮类化合物、17 种醇类、5 种酸类、6 种烯类、2 种呋喃类、4 种部杂环及杂原子化合物，可以看出杂花蜜和单花蜜中检测的小分子挥发性物质主要为醇类、醛类、酮类、酯类，具体信息见表 2。对比采用 GC-MS 发表的一些科研成果，GC-IMS 与 GC-MS 检测到大部分挥发性物质种类一致，主要包括醛类，酯类、酮类、醇类、酸类、烯类、呋喃类化合物。然而 GC-IMS 检测得挥发性物质没有烷烃，而气相色谱质谱联用仪（Gas Chromatography Mass Spectrometry, GC-MS）检测化合物中含有烷烃。其主要得原因是由于 GC-IMS 原理对烷烃化合物没有响应信号，因此检测不到。同时可以发现采用 GC-MS 检测挥发性物质中还有大量难挥发性的长链脂肪酸，例如：十二酸、肉豆蔻酸、

棕榈酸等，而 GC-IMS 中没有检测到分子量较大的脂肪酸^[21]。

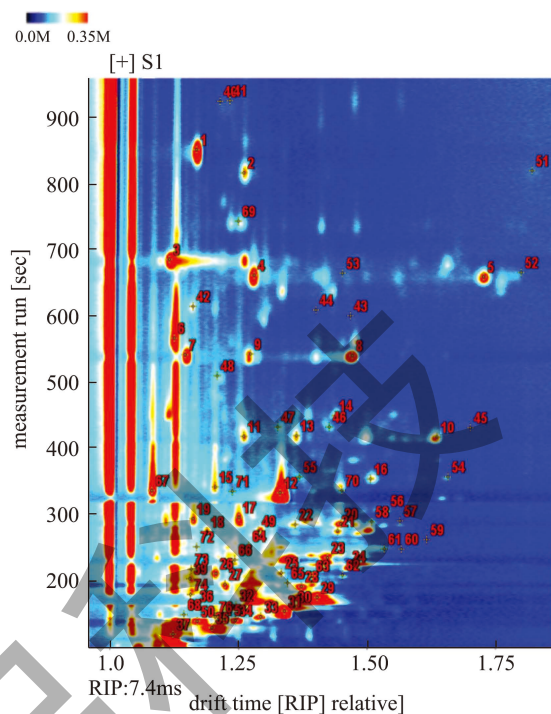


图 2 杂花蜜挥发性成分 GC-IMS 定性分析

Fig.2 GC-IMS qualitative analysis of volatile compounds of multifloral honey

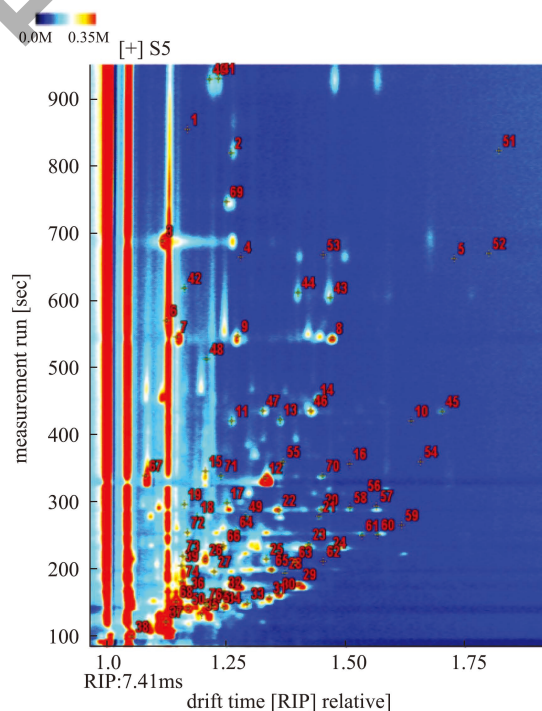


图 3 单花蜜挥发性成分 GC-IMS 定性分析

Fig.3 GC-IMS qualitative analysis of volatile compounds of single nectar

表 2 杂花蜜和单花蜜定性的挥发性化合物列表

Table 2 Qualitative analysis of volatile compounds of multifloral honey and single nectar

序号	化合物中文名	化合物英文名	Rt/s	CAS#	分子式	Mw	RI	Dt[a.u.]	备注
1	2-乙酰基-3-甲基吡嗪	2-acetyl-3-methylpyrazine	854.039	C23787806	C ₇ H ₈ N ₂ O	136.2	1 080.4	1.170 5	
2	氧化芳樟醇	linalool oxide	818.923	C60047178	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170.3	1 067.6	1.262	D
3	2-乙酰基噻唑	2-acetylthiazol	688.038	C24295032	C ₅ H ₅ NOS	127.2	1 014.5	1.117 4	
4	3-萜烯(二聚体)	3-carene	663.563	C13466789	C ₁₀ H ₁₆	136.2	1 003.5	1.281 9	D
5	3-萜烯(单体)	3-carene	661.435	C13466789	C ₁₀ H ₁₆	136.2	1 002.5	1.729	M
6	5-甲基糠醛	5-methyl-2-furfural	568.858	C620020	C ₆ H ₆ O ₂	110.1	964.1	1.126 7	
7	2-甲基-3-甲硫基呋喃	2-methyl-3-methylthiofuran	544.384	C63012975	C ₆ H ₈ OS	128.2	953.2	1.147 9	
8	苯甲醛	Benzaldehyde	542.255	C100527	C ₇ H ₆ O	106.1	952.3	1.473	
9	(E)-2-庚烯醛	(E)-2-heptenal	545.448	C18829555	C ₇ H ₁₂ O	112.2	953.7	1.275 3	
10	2-庚酮(单体)	2-heptanone	419.486	C110430	C ₇ H ₁₄ O	114.2	888.5	1.637 9	M
11	2-庚酮(二聚体)	2-heptanone	420.187	C110430	C ₇ H ₁₄ O	114.2	888.9	1.262 1	D
12	2-糠醛(单体)	2-furfural	334.625	C98011	C ₅ H ₄ O ₂	96.1	827.2	1.332 8	M
13	异硫氰酸烯丙酯	allyl isothiocyanate	421.59	C57067	C ₄ H ₅ NS	99.2	889.8	1.364 2	
14	(E,E)-2,4-己二烯醛	(E,E)-2,4-Hexadienal	451.747	C142836	C ₆ H ₈ O	96.1	907.1	1.440 5	
15	异戊酸	3-methyl butanoic acid	344.444	C503742	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.1	835	1.207 1	
16	2-己烯醛	2-hexenal	356.366	C505577	C ₆ H ₁₀ O	98.1	844.3	1.508 9	
17	己烯醛	Hexanal	297.454	C66251	C ₆ H ₁₂ O	100.2	795.3	1.253 1	
18	2-甲基丁酸甲酯	methyl 2-methylbutanoate	276.415	C868575	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.2	775.6	1.190 3	
19	丁酸	butanoic acid	295.35	C107926	C ₄ H ₈ O ₂	88.1	793.3	1.163 4	
20	1-辛烯	1-octene	287.636	C111660	C ₈ H ₁₆	112.2	786.2	1.450 6	
21	顺-2-戊烯醇	(Z)-2-penten-1-ol	277.817	C1576950	C ₅ H ₁₀ O	86.1	776.9	1.445	
22	2,3-丁二醇	2,3-butanediol	286.935	C513859	C ₄ H ₁₀ O ₂	90.1	785.5	1.361 9	
23	3-甲基-3-丁烯-1-醇(单体)	3-methyl-3-buten-1-ol	236.68	C763326	C ₅ H ₁₀ O	86.1	734.5	1.424 5	M
24	乙酸丙酯	propyl acetate	223.913	C109604	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.1	719.8	1.466 5	
25	1,4-二氧六环	1,4-dioxane	214.337	C123911	C ₄ H ₈ O ₂	88.1	708.3	1.335 7	
26	甲酸丁酯	butyl formate	213.14	C592847	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.1	706.8	1.207 8	
27	羟基丙酮	1-hydroxy-2-propanone	195.985	C116096	C ₃ H ₆ O ₂	74.1	683.2	1.226	
28	2-戊酮	2-pentanone	192.793	C107879	C ₅ H ₁₀ O	86.1	677.4	1.373 9	
29	3-甲基丁醛	3-methylbutanal	176.834	C590863	C ₅ H ₁₀ O	86.1	646.8	1.404 4	
30	异丁醇	Isobutanol	162.471	C78831	C ₄ H ₁₀ O	74.1	616.8	1.360 5	
31	乙酸乙酯	ethyl acetate	156.486	C141786	C ₄ H ₈ O ₂	88.1	603.5	1.341 4	
32	四氢呋喃	Tetrahydrofuran	164.466	C109999	C ₄ H ₈ O	72.1	621.1	1.247	
33	正丁醛	Butanal	147.709	C123728	C ₄ H ₈ O	72.1	583.1	1.295 6	
34	正丙醇	1-propanol	141.724	C71238	C ₃ H ₈ O	60.1	568.4	1.246	
35	乙酸甲酯	methyl acetate	131.351	C79209	C ₃ H ₆ O ₂	74.1	541.5	1.200 2	
36	异丁醇	Isobutanol	163.668	C78831	C ₄ H ₁₀ O	74.1	619.4	1.169 7	
37	丙酮	2-propanone	120.978	C67641	C ₃ H ₆ O	58.1	512.4	1.124 8	
38	乙醇	Ethanol	99.034	C64175	C ₂ H ₆ O	46.1	441.5	1.053 2	
39	乙醇	ethyl propanoate	204.762	C105373	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.1	696.2	1.157 2	

续表 2

序号	化合物中文名	化合物英文名	Rt/s	CAS#	分子式	Mw	RI	Dt[a.u.]	备注
40	芳樟醇	Linalool	927.969	C78706	C ₁₀ H ₁₈ O	154.3	1 105.7	1.216 7	
41	2-甲氧基苯酚	2-methoxyphenol	929.002	C90051	C ₇ H ₈ O ₂	124.1	1 106.1	1.234 7	
42	6-甲基-5-庚烯-2-酮	6-methyl-5-hepten-2-one	616.898	C110930	C ₈ H ₁₄ O	126.2	984.1	1.163 5	
43	3-甲硫基丙醇	3-methylthio-1-propanol	603.088	C505102	C ₄ H ₁₀ OS	106.2	978.5	1.469 1	
44	正庚醇	1-heptanol	611.144	C111706	C ₇ H ₁₆ O	116.2	981.8	1.402 1	
45	庚醛(单体)	Heptanal	433.909	C111717	C ₇ H ₁₄ O	114.2	897.2	1.702 9	M
46	苯乙烯	Styrene	435.06	C100425	C ₈ H ₈	104.2	897.8	1.427 9	
47	庚醛(二聚体)	Heptanal	435.06	C111717	C ₇ H ₁₄ O	114.2	897.8	1.328	D
48	α -蒎烯	alpha-Pinene	511.911	C80568	C ₁₀ H ₁₆	136.2	938	1.209 9	
49	甲酸异戊酯	isopentyl formate	277.517	C110452	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.2	776.6	1.291 1	
50	2,3-丁二酮	2,3-butanedione	140.277	C431038	C ₄ H ₆ O ₂	86.1	564.8	1.171 8	
51	氧化芳樟醇(单体)	linalool oxide	822.038	C60047178	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170.3	1 068.8	1.822 7	M
52	(Z)-乙酸-3-己烯酯	(Z)-3-hexenyl acetate	668.612	C3681718	C ₈ H ₁₄ O ₂	142.2	1 005.8	1.801 3	
53	2-辛醇	2-octanol	667.45	C123966	C ₈ H ₁₈ O	130.2	1 005.2	1.454 5	
54	2-甲基丁酸乙酯	ethyl 2-methylbutanoate	359.435	C7452791	C ₇ H ₁₄ O ₂	130.2	846.6	1.658 8	
55	糠醇	2-furanmethanol	358.978	C98000	C ₅ H ₆ O ₂	98.1	846.2	1.370 1	
56	2-(丙酰氧基)乙醇	Propanoic acid 2-hydroxyethyl ester	308.204	C97643	C ₅ H ₁₀ O ₃	118.1	804.9	1.539 7	
57	正己醛	Hexanal	292.811	C66251	C ₆ H ₁₂ O	100.2	791	1.565 8	
58	2-己酮	2-hexanone	291.327	C591786	C ₆ H ₁₂ O	100.2	789.6	1.510 3	
59	乙酸异丁酯	2-methylpropyl acetate	264.242	C110190	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.2	763.7	1.618 4	
60	异丁酸乙酯	ethyl 2-methylpropanoate	250.143	C97621	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.2	749.2	1.568 8	
61	2-甲基戊醛	2-Methylpentanal	249.772	C123159	C ₆ H ₁₂ O	100.2	748.8	1.535 1	
62	丙酸乙酯	ethyl propanoate	210.814	C105373	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.1	703.9	1.454 8	
63	2-甲基丁醛	2-methylbutanal	209.33	C96173	C ₅ H ₁₀ O	86.1	702	1.395 3	
64	2-甲基丁醛	4-methyl-2-pentanol	254.606	C108112	C ₆ H ₁₄ O	102.2	753.8	1.272	
65	丙酸	propanoic acid	198.152	C79094	C ₃ H ₆ O ₂	74.1	687.1	1.347 1	
66	3-甲基-1-丁醇(二聚体)	3-methyl-1-butanol	233.609	C123513	C ₅ H ₁₂ O	88.1	731.1	1.244 8	D
67	2-糠醛(二聚体)	2-furfural	338.193	C98011	C ₅ H ₄ O ₂	96.1	830.1	1.082 7	D
68	2-丁醇	2-butanol	150.914	C78922	C ₄ H ₁₀ O	74.1	590.7	1.146	
69	罗勒烯	beta ocimene	745.964	C13877913	C ₁₀ H ₁₆	136.2	1 039.2	1.252	
70	六甲基环三硅氧烷	Hexamethylcyclotrisiloxane	338.251	C541059	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃	222.5	830.1	1.452 8	
71	乙酸丁酯	n-butyl acetate	337.808	C123864	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.2	829.8	1.240 2	
72	3-甲基-2-戊酮	3-methyl-2-pentanone	253.264	C565617	C ₆ H ₁₂ O	100.2	752.4	1.170 5	
73	乙酸丙酯	propyl acetate	218.989	C109604	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.1	714	1.160 2	
74	乙酸	acetic acid	180.844	C64197	C ₂ H ₄ O ₂	60.1	654.7	1.159	
75	2-甲基-2-丙烯醛(单体)	2-methyl-2-propenal	142.872	C78853	C ₄ H ₆ O	70.1	579.3	1.224	M
76	2-甲基-2-丙烯醛(二聚体)	2-methyl-2 propenal	146.945	C78853	C ₄ H ₆ O	70.1	581.2	1.207 4	D

注: M. 代表化合物单体, D. 代表化合物二聚体。

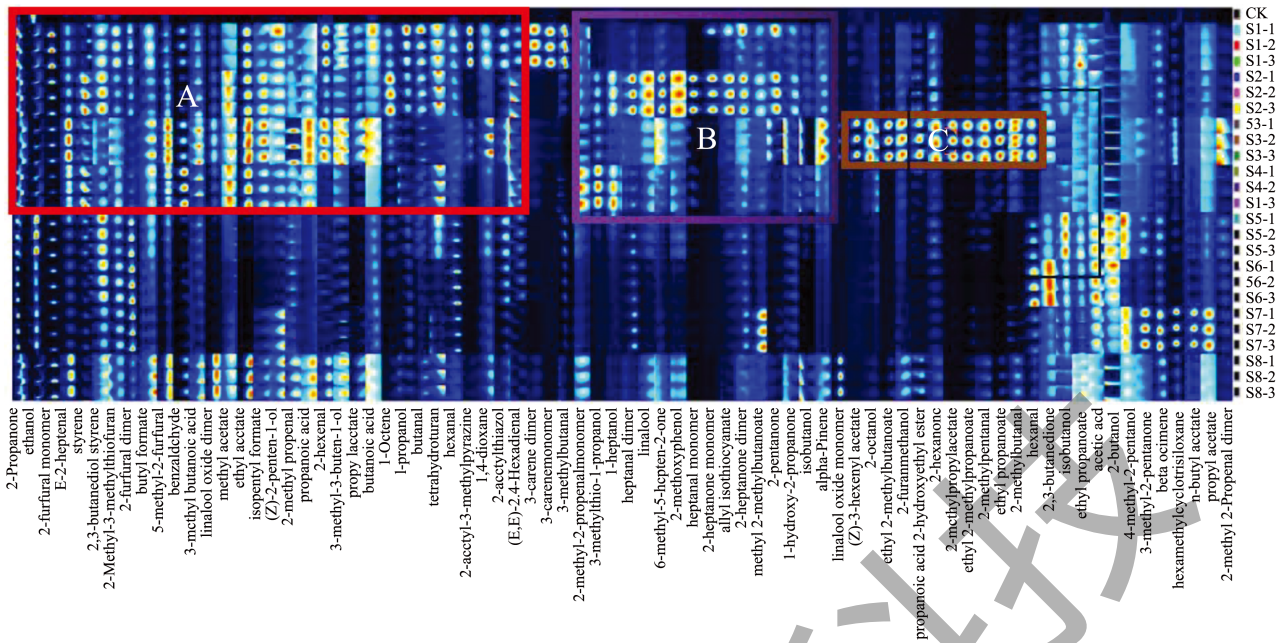


图4 杂花蜜和单花蜜挥发性有机物指纹图谱

Fig.4 Fingerprint of volatile organic compounds of multifloral honey and single nectar

2.3 通过GC-IMS技术的到的杂花蜜和单花蜜所含挥发性物质的指纹图谱分析

图4是四种杂花蜜(S1、S2、S3、S4)和四种单花蜜(S5、S6、S7、S8)通过GC-IMS技术分析后得到的挥发性物质差异的指纹图谱,CK样品为空白对照样品。图中每一列代表一种挥发性有机物,每一行代表一个样品。点的红颜色越深表示挥发性有机物的含量是越高的,颜色偏白越浅表示挥发性有机物的含量是越低的。杂花蜜S1、S2、S3、S4样品中红框A的挥发性有机物的含量整体是高于单花蜜S5、S6、S7、S8,主要为醛类、酮类、醇类、酯类化合物,其中乙酸乙酯(Methyl Acetate)、乙酸丙酯(Propyl Acetate)、甲酸异戊酯(Isopentyl Formate)、(Z)-2-戊烯醇乙酸酯((Z)-2-Penten-1-ol)、2-甲基丙烯醛(2-Methyl-2-Propenal)、2-己烯醛(2-Hexenal)、丙酸(Propanoic Acid)、正丁酸(Butanoic Acid)、3-甲基-3-丁烯-1-醇(3-Methyl-3-Buten-1-ol)含量最高。同样紫色框B区域挥发性有机物在杂花蜜样品中含量也是高于单花蜜样品的。通过这两个特征框中的挥发性有机物含量的差异,很明显的可以区分杂花蜜和单花蜜。图中比较特殊的是棕色框C中的12种挥发性有机物只大量存在于杂花蜜的S3样品中,而在其他杂花蜜及所有单花蜜中含量都非常低,属于S3样品特有的挥发性物质,使得S3样品明显

区别于其他样品。这也说明了该产地(安康镇坪县)的杂花蜜具有其独特的香气。对应的标记物为:氧化芳樟醇(Linalool Oxide)、顺-3-己烯基乙酸酯((Z)-3-Hexenyl Acetate)、2-辛醇(2-Octanol)、2-甲基丁酸乙酯(Ethyl 2-Methylbutanoate)、2-呋喃甲醇(2-Furanmethanol)、2-羟乙基丙酸酯(Propanoic Acid, 2-Hydroxyethyl Ester)、2-己酮(2-Hexanone)、乙酸异丁酯(2-Methylpropyl Acetate)、异丁酸乙酯(Ethyl 2-Methylpropanoate)、2-甲基戊醛(2-Methylpentanal)、丙酸乙酯(Ethyl Propanoate)、2-甲基丁醛(2-Methylbutanal)、正己醛(Hexanal)、2,3-丁二酮(2,3-Butanedione)。综上从指纹图谱中明显可以看出,单花蜜和杂花蜜所含的挥发性物质从含量上还是有明显的差异,杂花蜜大部分挥发性物质的含量还是明显高于单花蜜样品的,其次也从指纹图谱中可以直观看到一些样品所含的特征标记物可以明显区别于其他样品。

2.4 通过各类化合物相对含量不同对杂花蜜和单花蜜样本差异性分析

在图5中,为清晰地对比单花蜜和杂花蜜中各类挥发性化合物差异,根据检测到的各种挥发性有机物的峰体积,通过归一化处理获得样品间气味化合物种类的相对含量。单花蜜和杂花蜜中气味化合物大体分为醛类、醇类、酮类、酯类、酸类、呋喃类、烯类化合物。在杂花蜜S1、S2、S3、S4中醛类约

占 25.20%~33.30%、醇类约占 17.10%~22.20%、酮类约占 12.60%~19.11%、酯类约占 17.51%~32.90%、酸类约占 2.60%~3.20%、呋喃约占 1.50%~3.91%、烯类约占 2.40%~5.90%。在单花蜜 S5、S6、S7、S8 中醛类约占 28.91%~39.71%、醇类约占 17.10%~26.10%、酮类约占 11.70%~23.60%、酯类约占 7.20%~22.81%、酸类约占 3.00%~6.30%、呋喃约占 3.01%~4.30%、烯类约占 2.02%~5.30%。在表 3 通过两种蜂蜜中主要的四类化合物（醛类、醇类、酮类、酯类）的相对含量做差异显著性分析，通过独立样本 *t* 检验分析得，S1-S4 组（杂花蜜）与 S5-S8 组（单花蜜）的酯类、醛类、醇类、及酮类对比结果 *P* 值均大于 0.05，说明杂花蜜和单花蜜中四类化合物相对含量都未呈现显著性差异。因此通过四类化合物相对含量差异并不能显著区分杂花蜜和单花蜜。

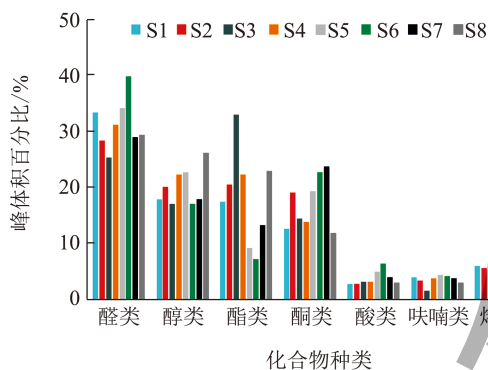


图 5 单花蜜和杂花蜜中各类气味化合物相对含量

Fig.5 Realitive content of odor chemical kinds in multifloral honey and single nectar

表 3 独立样本 *t* 检验 (%)

Table 3 *t*-test of Independent sample

变量	类别	个案数	平均值	标准差	<i>T</i>	<i>P</i>
酯类	S1-S4	4	23.28	6.704	2.110	0.079
	S5-S8	4	13.10	6.931		
醛类	S1-S4	4	29.43	3.561	-1.175	0.284
	S5-S8	4	33.05	5.036		
醇类	S1-S4	4	19.300	2.287	-0.686	0.518
	S5-S8	4	20.95	4.231		
酮类	S1-S4	4	14.93	2.8709	-1.429	0.203
	S5-S8	4	19.30	5.410		

2.5 单花蜜和杂花蜜样本的相似度分析

很多研究成果通过 GC-IMS 技术检测的挥发性化合物的峰体积数据，结合主成分分析 PCA^[22]、欧

氏距离^[23]、偏最小二乘等^[24]化学计量学方法比较分析，反映样品间的相似度，本文通过主成分分析 PCA 的方法对 4 个杂花蜜和 4 个单花蜜的挥发性化合物的信息进行分析得到图 6。在图中每一种颜色的点表示一个样品，点的距离越近表示样本的相似度越高，点的距离越远表示样本的相似度越低^[25,26]。图中蓝色圈中的三个样品分别是单花蜜 S5、S6、S7，红圈中的样品为杂花蜜 S1、S2、S4，两个区域分别属于单花蜜和杂花蜜 b 的主要分布区域，两个区域各自集中但又距离较远，说明这三个单花蜜和三个杂花蜜相似度较低，有明显的差异，而对于杂花蜜 S3 样品和单花蜜 S8 样品由于其特有的一些挥发性物质，因此具有其独特性，不同于其他大部分的杂花蜜和单花蜜样品。其次从图中可以看到两个维度的贡献度 PC1 和 PC2 分别为 43% 和 19%，合计达 62%，表明了 PCA 图可以比较好的区分杂花蜜和单花蜜样品。总之，通过 PCA 相似度分析也可以有效的区分三种杂花蜜和三种单花蜜。

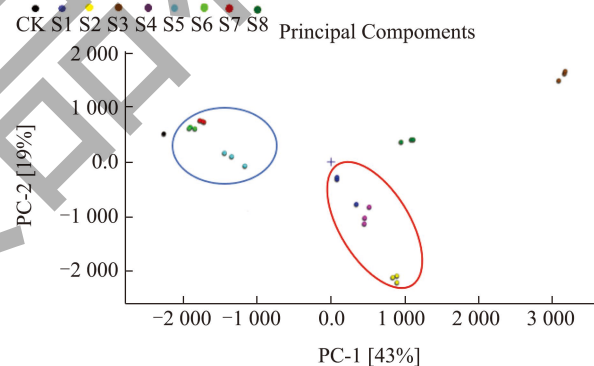


图 6 杂花蜜和单花蜜的挥发性成分相似度分析

Fig.6 Similarity analysis of volatile organic compounds in multifloral honey and single nectar

3 结论

通过对 4 种杂花蜜和 4 种单花蜜挥发性物质差异分研究，可以发现 GC-IMS 是一种具有一定开发潜力检测技术，无需对样品进行复杂处理，快速通过特征挥发性标记物含量的差异对所取样本杂花蜜和单花蜜进行区分，指纹图谱中可以明显的找到区分 2 大类蜂蜜的特征标记物，其在含量上有明显的差异。其次对杂花蜜和单花蜜中四类主要挥发性物质的相对含量差异做了显著性分析，*P* 值均大于 0.05，未呈现出显著性差异。使用主成分分析 (PCA) 的统计方法 2 个主成分累计贡献值达到 62%，基本可以区分单花蜜和杂花蜜。实验结果可

以看到, GC-IMS 在鉴别杂花蜜和单花蜜时采用指纹图谱中特征标记物差异区分效果较好, 具有前处理简单, 高效等特点, 为杂花蜜和单花蜜的鉴别探索提供了新思路。

参考文献

- [1] 刘振平, 聂青玉, 庞珂靖, 等. 气相离子迁移谱技术鉴别重庆三峡库区特色中蜂蜜研究 [J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(22): 273-278.
- [2] KORTESNIEMI M, SLUPSKY C M, OLLIKKA T, et al. NMR profiling clarifies the characterization of finnish honeys of different botanical origins [J]. Food Research International, 2016, 86: 83-92.
- [3] TETTE P A S, GUIDI L R, BASTOS E M A F, et al. Synephrine-a potential biomarker for orange honey authenticity [J]. Food Chemistry, 2017, 229: 527-533.
- [4] SILVA L R, LIMA S M P, VASCONCELOS N A E L M. Cultural diversity- dialogue between interdisciplinary indigenous peoples and non indigenous - an experiment in initial teacher training [J]. Revista Ambivalências, 2016, 4(7): 309-323.
- [5] NAGAI T, SAKAI M, INOUE R, et al. Antioxidative activities of some commercially honeys royal jelly and propolis [J]. Food Chemistry, 2001, 75(2): 237-240.
- [6] ANA C V D C, JANAINA M B S, TALIANA K A B, et al. Volatile profile of monofloral honeys produced in Brazilian semiarid region by stingless bees and key volatile compounds [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 94: 198-207.
- [7] ESRICHE I, VISQUERTN M, JUAN B M, et al. Influence of simulated industrial thermal treatments on the volatile fractions of different varieties of honey [J]. Food Chemistry, 2009, 112(2): 329-338.
- [8] 赵立夫, 徐云友, 董蕊, 等. 单花蜜的化学成分研究进展 [J]. 食品科学, 2013, 34(7): 330-334.
- [9] 潘成涛, 陈志敏, 范明玉, 等. 贵州黄花梨蜂蜜的品质分析 [J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 13(17): 5748-5753.
- [10] PASINI P, GARDINI S, MARCAZZAN G L, et al. Buckwheat honeys: screening of composition and properties [J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 2802-2811.
- [11] SUN J, ZHAO H A, WU F H, et al. Molecular mechanism of mature honey formation by GC-MS- and LC-MS based metabolomics [J]. Food Chemistry, 2021, 69: 3362-3370.
- [12] 王小燕, 王锡昌, 刘源, 等. 近红外光谱技术在食品掺伪检测应用中的研究进展 [J]. 食品科学, 2011, 32(1): 265-269.
- [13] 张路遥, 陈瑞盈, 张萌, 等. 基于固相萃取-薄层色谱图像分析法鉴别糖浆掺假蜂蜜 [J]. 中国食品学报, 2021, 21(3): 263-273.
- [14] MAYKEL H, ANTOINE E, FABRICE M, et al. Current applications and perspectives of ion mobility spectrometry to answer chemical food safety issues [J]. Trac Trends in Analytical Chemistry, 2017, 94: 39-53.
- [15] ARMENTA S, ALCALA M, BLANCO M. A review of recent, unconventional applications of ion mobility spectrometry (IMS) [J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 703(2): 114-123.
- [16] YANG L Z, LIU J, WANG X Y, et al. Characterization of volatile component changes in jujube fruits during cold storage by using headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry [J]. Pubmed, 2019, 24(21): 2211-2219.
- [17] ZHU J C, XIAO Z B. Characterization of the major odor-active compounds in dry jujubes cultivars by application of gas chromatography- olfactometry and odor activity value [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 52: 67- 87.
- [18] TIAN L L, ZENG Y Y, ZHENG X Q, et al. Detection of peanut oil adulteration mixed with rapeseed oil using gas chromatography and gas chromatography-ion mobility spectrometry [J]. Springer US, 2019, 12(10): 2282-2292.
- [19] 金文刚, 刘俊霞, 赵萍, 等. 基于顶空气相-离子迁移色谱分析洋县不同色泽糙米蒸煮后挥发性风味物质差异 [J]. 食品科学, 2022, 43(18): 258-264.
- [20] JIN W G, ZHANG Z H, ZHAO S B, et al. Characterization of volatile organic compounds of different pigmented rice after puffing based on gas chromatography-ion migration spectrometry and chemometrics [J]. Food Research International, 2023, 169: 112879.
- [21] 粟有志, 谢丽琼, 王强, 等. 4种新疆单花蜜挥发性成分的 SPME-GC-MS分析 [J]. 食品科学, 2010, 31(24): 293-298.
- [22] 李军山, 高晗, 张浩, 等. 气相离子迁移谱结合化学计量法快速鉴别不同产地连翘 [J]. 中国民族民间医药, 2021, 30(12): 47-50.
- [23] 王茹, 褚奋飞, 孙雅丽, 等. 利用 GC-IMS分析不同核桃品种叶片中挥发性物质的指纹差异 [J]. 果树学报, 2021, 38(11): 1930-1941.
- [24] EVA B, JOAN F, RICARD B, et al. Olive oil sensory defects classification with data fusion of instrumental techniques and multivariate analysis (PLS-DA) [J]. Food Chemistry, 2016, 203: 314-322.
- [25] 曾桥, 吕生华, 段洁, 等. 基于气相离子迁移谱技术分析杜仲叶茯砖茶加工过程中挥发性成分 [J]. 食品工业科技, 2021, 42 (21): 73-82.
- [26] ZHOU C X, ZHENG F P, SUN B G. Research progress on the application of ion mobility spectrometry (IMS) in food flavor analysis [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(18): 309-318.