

问亚琴, 张金振, 罗帅. 氨基酸含量结合多元统计分析对蜂蜜品种的判别 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(20): 305-310. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110213

WEN Yaqin, ZHANG Jinzhen, LUO Shuai. Discrimination of Botanical Origins for Chinese Honey According to Amino Acids Content with Chemometric Approaches[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(20): 305-310. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110213

· 分析检测 ·

氨基酸含量结合多元统计分析 对蜂蜜品种的判别

问亚琴^{1,*}, 张金振^{2,3}, 罗帅¹

(1.北京电子科技职业学院生物工程学院, 北京 100176;

2.资源昆虫高效养殖与利用全国重点实验室, 中国农业科学院蜜蜂研究所, 北京 100093;

3.中国农业科学院蜜蜂研究所, 北京 100093)

摘要:本研究利用氨基酸分析仪对我国 3 个不同品种单花蜜洋槐蜜、椴树蜜和油菜蜜, 共计 110 个蜂蜜样品中 17 种氨基酸含量进行分析, 并基于氨基酸含量结合统计分析方法进行蜂蜜种类鉴别分析。结果表明, 油菜蜜中水解氨基酸含量高于椴树蜜和洋槐蜜, 16 种氨基酸含量在三个蜂蜜品种间存在差异。主成分分析 (principle component analysis, PCA) 结果表明不同植物源蜂蜜具有聚类趋势, 偏最小二乘法判别分析 (Partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 结果表明油菜蜜可以和洋槐蜜和椴树蜜区分开来。线性判别分析 (Linear discriminant analysis, LDA) 结果表明 3 种蜂蜜整体判别率为 92.7%, 油菜蜜的判别率为 92.3%。本研究为油菜蜜、洋槐蜜和椴树蜜分类鉴别提供数据支撑和参考依据。

关键词:蜂蜜, 品种鉴别, 氨基酸, 多元统计分析

中图分类号: TS209

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)20-0305-06

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110213



本文网刊:

Discrimination of Botanical Origins for Chinese Honey According to Amino Acids Content with Chemometric Approaches

WEN Yaqin^{1,*}, ZHANG Jinzhen^{2,3}, LUO Shuai¹

(1. Beijing Polytechnic, College of Biotechnology, Beijing 100176, China;

2. State Key Laboratory of Resource Insects, Bee Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093, China;

3. Bee Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093, China)

Abstract: In this study, 17 amino acids were analyzed by amino acid analyzer in 110 honey samples from three different monofloral honeys, i.e. acacia honey, linden honey and rape honey in China, and the honey variety discrimination was performed based on amino acid content combined with chemometrics. The results showed that the content of hydrolyzed amino acids was higher in rape honey than in acacia and linden honey, and the content of 16 amino acids showed significant differences among the honey varieties. The results of principal component analysis (PCA) revealed that the botanical origins of honey samples clustered according to their amino acid content. The results of least squares discriminant analysis (PLS-DA) showed that rape honey could be distinguished from acacia honey and linden honey. Linear discriminant analysis (LDA) showed that the overall discriminant rate of the three honeys was 92.7%, and the discriminant rate of rape honey was 92.3%. This study would provide data support and reference for the classification and identification of rape honey, acacia honey and linden honey.

Key words: honey; variety discrimination; amino acid; multivariate analysis

收稿日期: 2023-03-15

基金项目: 国家自然科学基金 (31701669); 北京市教育委员会科学研究计划项目资助 (KM201910858003); 北京市科学技术协会青年人才托举工程 (BYESS2022135); 北京市属高等学校优秀青年人才培养计划项目 (BPHR202203242)。

作者简介/通信作者*: 问亚琴 (1989-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品风味化学, E-mail: wenyuqin1219@163.com.

蜂蜜是蜜蜂采集植物花蜜,结合自身分泌物并在蜂巢经过酿造而成的天然甜味物质。蜂蜜含有多种活性物质,如氨基酸、酶、多酚类物质和矿物质^[1-2]。按照蜜蜂所采集的蜜源植物种类进行划分,蜂蜜可以分为单花蜜(主要蜜源是单一植物)、杂花蜜或者百花蜜(采自多种植物)^[3]。由于单花蜜香味纯正,因此价格会高于百花蜜,例如我国消费者喜欢味道淡的蜂蜜,因此浅色蜜如洋槐蜜和椴树蜜价格比较高。在利益的驱动下,市场上存在蜂蜜品种掺假,蜂蜜品种标识混淆等问题。由于蜂蜜独特的化学特性,不同品种蜂蜜的主要成分含量差别很小,传统的方法难以鉴别蜂蜜品种^[4-5]。因此蜂蜜品种鉴别是蜂产业急需解决的重要问题之一,也是近年来研究的热点。多种检测技术已被应用于蜂蜜品种的鉴别,例如色谱技术(高效液相色谱、液相色谱-质谱联用技术、气相色谱-质谱联用技术)、光谱技术(包括近红外光谱、中红外光谱、拉曼光谱、荧光光谱)^[6],以及核磁共振技术等^[7-8]。这些方法有各自的特点及缺陷,目前尚未有一种检测技术能够有效地鉴别不同品种的蜂蜜。

蜂蜜中氨基酸总量约占1%(W/W),含有超过26种氨基酸^[9]。蜂蜜中氨基酸的来源主要有两个途径:蜜蜂或者蜜源植物,花粉是植物来源氨基酸的唯一途径^[10]。不同植物花粉粒不同,因此花粉氨基酸可以作为蜂蜜植物源鉴别指标,氨基酸也可作为蜂蜜掺假鉴别指标^[11-12]。目前关于蜂蜜中氨基酸和蜂蜜品种鉴别的研究已经很多。Hermosin等^[9]根据31种西班牙蜂蜜中脯氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、赖氨酸、精氨酸、谷氨酸、组氨酸和缬氨酸含量,利用PCA法可以很好的区分薰衣草蜂蜜和其它蜂蜜。Iglesias等^[13]利用PCA和连续判别分析结果表明,氨基酸浓度尤其是谷氨酸和色氨酸可以区分蜂蜜和甘露蜜。Rebane等^[14]分析了爱沙尼亚61种蜂蜜中游离氨基酸含量,脯氨酸和苯丙氨酸是主要的氨基酸。基于氨基酸组成PCA分析可以区分石南蜂蜜和其它蜂蜜。Keckeš等^[15]分析了塞尔维亚192个蜂蜜样品中17种氨基酸的含量,结果表明线性判别分析可以对不同植物源蜂蜜进行区分。Chen等^[16]对我国4种不同植物源(椴树蜜、洋槐蜜、荆条蜜和油菜蜜)87个蜂蜜样品18种游离氨基酸进行分析,利用化学计量学手段可以进行区分。钟舒洁等^[11]分析了鹅掌柴蜂蜜和掺假蜂蜜氨基酸组成,通过贝叶斯判别的方法,建立鹅掌柴蜂蜜中掺假量与氨基酸总量的模型。这些前期的研究表明不同蜂蜜品种氨基酸含量不同,也暗示了利用氨基酸结合化学计量学进行蜂蜜植物源鉴别的可行性^[17-19]。

氨基酸分析仪检测不同品种蜂蜜氨基酸组成,具有操作简单、适用性强等特点^[20]。本研究以来源于我国7个产区的3种不同植物源110个蜂蜜为实验样本,通过酸水解氨基酸自动分析仪对其中的17种水解氨基酸进行了定性定量分析,主要目的是分析我国不同植物源单花蜜油菜蜜、椴树蜜、洋槐

蜜中水解氨基酸含量范围,并基于此利用化学计量学方法进行建模分析,筛选潜在的氨基酸作为品种鉴别标志物。另外,氨基酸也是人类基本营养素之一,氨基酸不仅可以作为植物源鉴别指标,同时可以作为蜂蜜营养指标。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

单花蜜 共3种,均采自我国7个不同省市,覆盖各单花蜜主产区。其中洋槐蜜37个采自陕西省、甘肃省和吉林省。椴树蜜47个采自吉林省和黑龙江省。油菜蜜26个采自江苏省、湖北省和四川省,蜂蜜样品均采自2015年。为了保证样品的真实性,蜂蜜样品直接从蜂农处采集,通过花粉形态分析进行蜂蜜植物源确认。蜂蜜样品保存在4℃冰箱;混合氨基酸标准溶液2.5 mmol/mL Sigma;盐酸、柠檬酸钠的缓冲溶液、茚三酮溶液(39 g 茚三酮溶于979 mL 乙二醇单甲基醚等所有分离用有机溶剂均为国产优级纯。

日立L-8900氨基酸自动分析仪 天美(中国)科学仪器有限公司;UGC-24C水浴氮吹仪 北京优晟联合科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 蜂蜜中水解氨基酸的前处理 准确称取10.0 g蜂蜜加20 mL超纯水,混匀。取上清,加入4 mL 100%三氯乙酸,混匀,-20℃放置15 min,4℃放置1 h沉淀蛋白。10000 r/min,4℃,离心15 min,去除上清,准确吸取10 mL 6 mol/L盐酸溶解沉淀,收集于20 mL耐压螺盖玻璃管,充满氮气,立刻盖紧盖子,110℃水解24 h;冷却至室温后,用普通滤纸过滤蛋白水解液,用超纯水定容至50 mL。取1 mL滤液60℃氮吹干,然后准确吸取1.0 mL 0.2 mol/L盐酸溶液溶解,过0.22 μm水系滤膜后上机分析。

1.2.2 氨基酸的测定 按照氨基酸分析仪标准分离程序,离子交换柱初始温度37℃;反应管温度130℃;流动相:柠檬酸缓冲液,流速:0.45 mL/min;茚三酮溶液流速:0.25 mL/min;进样体积:20 μL;检测器:双通道紫外检测器,570和440 nm。

1.2.3 氨基酸的定性定量方法 用0.02 mol/L盐酸配制成各氨基酸浓度均为5、20、50、100、200 nmol/mL的系列混合氨基酸标准工作溶液。该标准工作溶液在4℃冰箱内可保存3个月。用氨基酸分析仪测定系列混合氨基酸标准工作溶液,得到17种氨基酸的积分峰面积,用峰面积为纵坐标,氨基酸浓度(μg/mL)为横坐标分别建立17种氨基酸的标准工作曲线。

1.3 数据处理

线性判别分析(LDA)是一种通用的数据分类和降维方法。线性判别分析(LDA)采用SPASS 20.0软件分析,分类判别方法选择Wilks' Lambda,描述统计量选择Box'M(博克斯)复选项。PCA和PLSDA分析在代谢组学网站进行(<http://www.metaboanalyst>。

ca/), PCA 和 PLSDA 分析是在数据进行标准化处理后进行的。

2 结果与分析

2.1 蜂蜜中 17 种水解氨基酸含量分析

实验中测定的氨基酸为蛋白水解氨基酸, 蜂蜜中的蛋白水解氨基酸一部分来源于蜜源植物的花粉, 另外一部分来源于蜜蜂的分泌蛋白(包括酶类物质)。洋槐蜜、椴树蜜和油菜蜜中共检测出 16 种氨基酸, 其中半胱氨酸(Cys)均没有检测到, 由于半胱氨酸在酸水解过程中会发生降解, 这与其他水解氨基酸测定结果一致^[21-22]。检测到的氨基酸中包括了 8 种必需氨基酸中的赖氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸。

天冬氨酸、谷氨酸、缬氨酸和亮氨酸是洋槐蜜和椴树蜜中含量较高的氨基酸, 在油菜蜜中赖氨酸含量也相对较高。这与花粉中氨基酸组成相似, Yang 等^[23]的研究结果表明谷氨酸和天冬氨酸是花粉蛋白的主要成分。这说明蜂蜜中水解氨基酸主要来源于花粉。油菜蜜 16 种氨基酸总量为 607.78 μg/g, 高于洋槐蜜和椴树蜜, 这可能与油菜蜜花粉含量相对较高有关^[24]。酪氨酸和天冬氨酸油菜蜜中含量高于洋槐蜜和椴树蜜, 16 种氨基酸含量在三个蜂蜜品种间存在差异(表 1)。

2.2 蜂蜜品种判别分析

2.2.1 PCA 分析 PCA 是统计分析中常用的无监督判别分析方式。首先应用主成分分析进行聚类分析, 观察应用氨基酸进行 3 种蜂蜜辨别的可行性。由于蛋氨酸在水解过程中会有降解, 所以在后面的多元统计分析过程中, 均去除掉蛋氨酸。图 1 显示了 PCA 的主成分分析结果图, 从图中可以看出, 3 种蜂蜜有比较明显的聚集趋势, 尤其是油菜蜜与其他两种蜂

蜜有较明显的区分, 洋槐蜜和椴树蜜部分有交叉。主成分 1 和主成分 2 累计贡献率为 46.4%, 低于其他研究者基于游离氨基酸进行蜂蜜品种鉴别的判别率^[25], 这可能是因为水解氨基酸中有一部分来源于蜜蜂分泌蛋白的水解; 另一部分来源于花粉水解, 洋槐蜜和椴树蜜花粉率含量较低有关^[26], 这些因素都会影响 3 种蜂蜜中水解氨基酸组成与含量, 也会影响 PCA 分类结果。

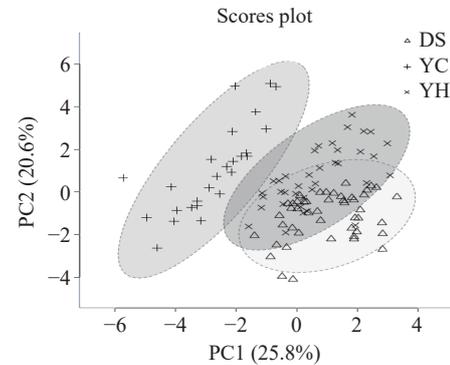


图 1 三个蜂蜜品种 PCA 得分散点图

Fig.1 Principal component analysis (PCA) scores plot of three unifloral honeys.

注: DS 为椴树蜜; YC 为油菜蜜; YH 为洋槐蜜。

2.2.2 PLS-DA 判别分析 PLS-DA 是建立在偏最小二乘法线性回归基础上的一种有监督的模式识别方法, 为了获取更加理想的组间分离及增强对分类贡献大的变量的识别, 进一步进行了有监督的 PLS-DA 分析, 从图 2A 可以看出椴树蜜和洋槐蜜有部分重叠, 而油菜蜜可以很好地和椴树蜜和洋槐蜜分开。通过 PLSDA 分析后, 结合变量重要性投影值(variable importance projection, VIP)及 $P < 0.05$ 可以筛选出潜在的花蜜标志物。图 2B 和图 2C 显示了成分 1 和

表 1 不同品种蜂蜜氨基酸含量范围(mg/kg)

Table 1 Amino acids content of different monofloral honey (mg/kg)

氨基酸	缩写	洋槐蜜(n=37)			椴树蜜(n=47)			油菜蜜(n=26)		
		最大值	最小值	平均值	最大值	最小值	平均值	最大值	最小值	平均值
天冬氨酸	Asp	158.37	19.59	78.96±35.22	162.55	19.11	63.01±37.51	322.53	29.52	92.08±58.16
苏氨酸	Thr	47.50	11.36	24.25±9.33	57.66	11.91	26.46±8.72	98.58	13.19	28.60±17.35
丝氨酸	Ser	70.70	15.82	37.36±14.06	68.73	14.90	39.81±12.58	136.45	18.45	42.00±23.64
谷氨酸	Glu	102.49	24.32	52.87±19.86	101.01	30.70	55.12±16.36	222.40	10.68	66.29±39.59
甘氨酸	Gly	42.56	8.44	18.42±8.46	35.84	7.60	17.55±6.07	77.12	12.95	26.52±12.96
丙氨酸	Ala	42.02	10.23	21.63±8.22	44.23	9.09	23.45±7.96	62.36	12.76	27.99±11.07
缬氨酸	Val	82.63	20.21	45.25±14.28	78.00	25.05	44.20±10.75	136.24	16.67	39.24±23.96
蛋氨酸	Met	23.48	8.84	15.12±3.39	26.12	9.39	16.44±3.71	39.96	0.00	8.71±7.56
异亮氨酸	Ile	56.11	12.40	29.59±11.94	58.52	11.64	31.67±10.03	102.91	9.65	31.10±17.70
亮氨酸	Leu	91.80	20.16	45.18±18.11	89.63	19.61	48.57±14.63	174.80	18.00	53.56±30.04
酪氨酸	Tyr	36.31	0.00	17.87±8.12	33.93	0.00	16.79±6.18	137.39	4.21	37.44±24.89
苯丙氨酸	Phe	60.37	15.42	30.38±10.20	53.86	14.95	30.76±8.03	129.52	17.68	38.36±21.93
赖氨酸	Lys	59.21	15.63	32.52±11.41	54.86	11.85	28.72±9.12	120.53	19.54	42.56±20.75
组氨酸	His	24.18	7.07	13.01±4.44	24.47	6.92	13.79±3.81	46.95	7.47	15.32±7.98
精氨酸	Arg	54.07	7.33	21.80±11.00	43.08	9.45	21.44±7.70	101.23	12.76	30.59±17.71
脯氨酸	Pro	52.19	18.77	29.82±8.19	75.33	0.00	32.28±13.84	75.27	10.53	27.43±12.70
总氨基酸	total	992.62	252.55	514.04±188.17	955.16	207.59	510.05±147.78	1984.22	237.35	607.78±341.40

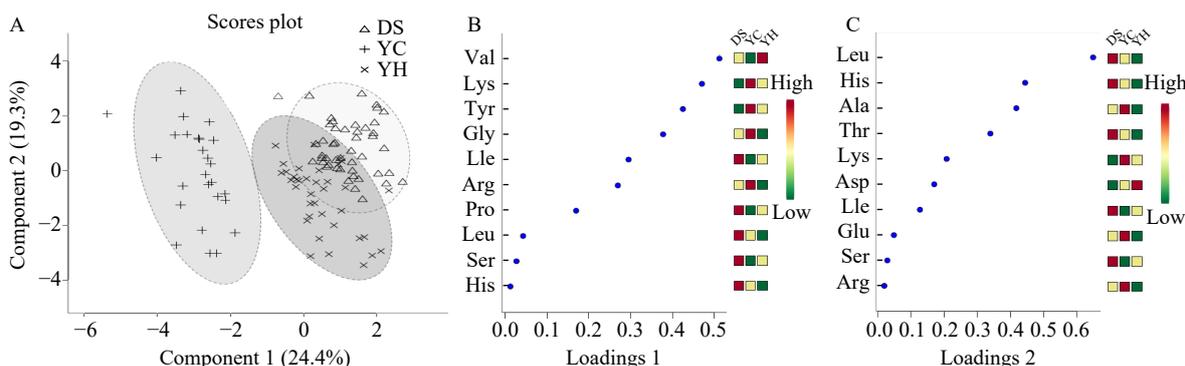


图 2 三个蜂蜜品种 PLS-DA 判别分析结果

Fig.2 Botanical differentiation of the three unifloral honeys based on PLS-DA

注: A 为 PLS-DA 得分散点图; B 为 PLS-DA 成分 1 的 VIP 图; C 为 PLS-DA 成分 2 的 VIP 图; DS 为椴树蜜, YC 为油菜蜜, YH 为洋槐蜜图中(low, high)。红绿色图例指的是相关氨基酸在 3 个蜂蜜品种中的含量分布情况。

成分 2 的 VIP 得分图,从图中可以看出成分 1 中缬氨酸 (Val), 赖氨酸(Lys), 酪氨酸(Tyr), 甘氨酸(Gly)贡献率较大,成分 2 中亮氨酸(Leu)贡献率较大。结合表 1 蜂蜜中氨基酸含量结果,可以得出油菜蜜中缬氨酸 (Val)含量较低,赖氨酸(Lys),酪氨酸(Tyr)和甘氨酸 (Gly)含量相对较高使得可以和椴树蜜和洋槐蜜区分开。

2.2.3 LDA 线性判别分析 线性判别分析(LDA)是一种有监督的模式识别方法。按照类内方差尽量小、类间方差尽量大的准则求得判别函数,然后利用建立的判别函数对待判样本进行分类。LDA 判别分析在蜂蜜品种鉴别中得到广泛应用^[27]。在进行 LDA 的分析过程中,先随机选定一部分样本(原始组)进行建模区分洋槐蜜、椴树蜜和油菜蜜,再对剩余的样本(交叉验证组)进行品种判别验证。以 16 种氨基酸为因变量,3 个蜂蜜品种为自变量构建模型,得到 2 个典型判别函数。由威尔克 Lambda 检验两个判别函数,结果表明,判别函数 1(Wilks' Lambda=0.020, χ^2 (卡方)=392.042, df(自由度)=30, $P=0.000 < 0.01$);判别函数 2 (Wilks' Lambda=0.338, $\chi^2=108.364$, df=14, $P=0.000 < 0.01$), 函数 1 和函数 2 的显著性水平平均小于 0.01,表明判别函数 1 和 2 具有显著差异 ($P < 0.01$)。博克斯检验是对各组协方差是否相等进行检验,检验结果为博克斯 $M=1128.335$, $F=3.675$, $P=0.000 < 0.01$,认为各组整体方差不相等,可以使用变量建立判别函数。

前 2 个典型判别函数累计贡献率占所有变量百分比为 100%,典型判别函数 1 特征值为 16.061,贡献率为 89.1%;典型判别函数 2 特征值为 1.955,贡献率为 10.9%。从三个品种混合判别分析图可以看出,三个不同品种的蜂蜜大体落在三个区域内,椴树蜜和洋槐蜜与油菜蜜可以进行很好的区分(图 3)。原始分类正确率为 96.4%,交叉验证分类正确率为 92.7%(表 2),其中椴树蜜正确分类为 93.6%,油菜蜜为 92.3%,洋槐蜜为 91.9%。分类结果和其他研究一致,蜂蜜中氨基酸可以蜂蜜植物源鉴别指标^[28-29]。

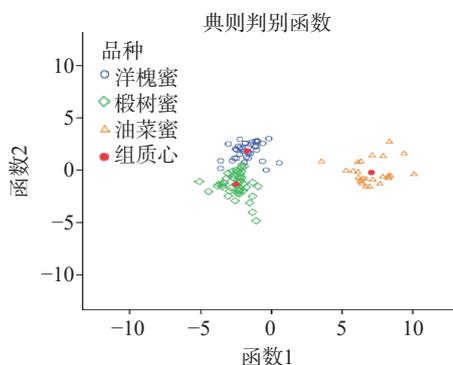


图 3 三个蜂蜜品种 LDA 判别分类图

Fig.3 Botanical differentiation of three unifloral honeys based LDA

表 2 三个蜂蜜品种 LDA 判别分类结果

Table 2 Discriminant result of three unifloral honeys based on LDA

数据来源	数据表示	分类	预测组成员信息 ^{a,c}			总计
			洋槐蜜	椴树蜜	油菜蜜	
原始组	计数	洋槐蜜	36	1	0	37
		椴树蜜	3	44	0	47
		油菜蜜	0	0	26	26
	占比(%)	洋槐蜜	97.3	2.7	0.0	100.0
		椴树蜜	6.4	93.6	0.0	100.0
		油菜蜜	0.0	0.0	100.0	100.0
交叉验证 ^b	计数	洋槐蜜	34	3	0	37
		椴树蜜	3	44	0	47
		油菜蜜	1	1	24	26
	占比(%)	洋槐蜜	91.9	8.1	0.0	100.0
		椴树蜜	6.4	93.6	0.0	100.0
		油菜蜜	3.8	3.8	92.3	100.0

注: a.正确地对 96.4% 个原始已分组个案进行了分类; b.交叉验证仅针对分析中的个案进行交叉验证。在交叉验证中,每个个案都由那些从该个案以外的所有个案派生的函数进行分类; c.正确地对 92.7% 个进行了交叉验证的已分组个案进行了分类。

3 结论

本文采用氨基酸分析仪测定了油菜蜜、椴树蜜和洋槐蜜的氨基酸组成,3 种蜂蜜水解氨基酸含量存在差异,通过 PCA、PLSDA 和 LDA 等多种化学计量学方法进行蜂蜜品种鉴别研究, LDA 判别模型可

以很好区分油菜蜜、洋槐蜜和椴树蜜,为蜂蜜品种鉴别提供依据。蜜源植物来源广泛,为蜂蜜品种鉴别带来一定的困难,未来可以多种成分综合进行品种鉴别,能取得更好的结果。

参考文献

- [1] LIU J R, YE Y L, LI T Y, et al. Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan[J]. *Food Chemistry*, 2013, 139(15): 938–943.
- [2] KUCUK M, KOLAYL S, KARAOGLU S, et al. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia[J]. *Food Chemistry*, 2007, 100(2): 526–534.
- [3] 申永波, 田怀香, 陈臣. 蜂蜜品种鉴别方法的研究进展[J]. *食品工业*, 2016, 37(4): 251–254. [SHEN Y B, TIAN H X, CHEN C. Research on identification methods of varieties of honey[J]. *The Food Industry*, 2016, 37(4): 251–254.]
- [4] 王丹丹, 任虹, 李婷, 等. 蜂蜜掺假鉴别检测技术研究进展[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(16): 362–367. [WANG D D, REN H, LI T, et al. Review of identification technology for honey adulteration[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(16): 362–367.]
- [5] 裴高璞, 史波林, 赵镭, 等. 蜂蜜质量市场动态及掺假检测方法现状分析[J]. *食品科学*, 2013, 15(34): 329–335. [PEI G P, SHI B L, ZHAO L, et al. Current situation analysis of quality market dynamics and detection methods for honey adulteration[J]. *Food Science*, 2013, 15(34): 329–335.]
- [6] 高西贝, 杜欣玥, 王琪琦, 等. 蜂蜜的真实性鉴别方法研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(18): 5842–5848. [GAO X B, DU X Y, WANG Q Q. Research progress on the detection technologies of honey authenticity[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2022, 13(18): 5842–5848.]
- [7] 宋晓莹, 陈兰珍, 李熠, 等. 基于氢核磁共振技术和化学计量学方法鉴别蜂蜜品种[J]. *分析测试学报*, 2019, 38(3): 355–359. [SONG X Y, CHEN L Z, LI Y, et al. Classification of Chinese honeys of different floral origins by ¹H NMR Combined with Chemometrics[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2019, 38(3): 355–359.]
- [8] 李响, 曹悦, 裴岗, 等. 高分辨质谱及核磁共振技术在蜂蜜掺假鉴别中的应用[J]. *热带农业工程*, 2019, 43(5): 179–181. [LI X, CAO Y, PEI G, et al. The application of high resolution mass spectrometry and nmr in honey adulteration detection[J]. *Tropical Agricultural Engineering*, 2019, 43(5): 179–181.]
- [9] HERMOSIN I, CHICON R M and CABEZUDO M D. Free amino acid composition and botanical origin of honey[J]. *Food Chemistry*, 2003, 83: 263–268.
- [10] GRUNFELD E, VINCENT C, BAGNARA D. High-performance liquid chromatography analysis of nectar and pollen of strawberry flowers[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1989, 37(2): 290–294.
- [11] 钟舒洁, 林丹, 李绮敏, 等. 鹅掌柴蜂蜜氨基酸组成识别研究[J]. *食品安全导刊*, 2021(21): 165–168. [ZHONG S J, LIN D, LI Q M. Study on the composition of amino acid in Anthracus anthracus honey[J]. *China Food Safety Magazine*, 2021(21): 165–168.]
- [12] VLASIOU M, KARABAGIAS I, DROUZ C, et al. Authentication of honey using sugar, free amino-acid and organic-acid contents, via ¹h nmr profiling in combination with chemometrics[M]. Newcastle: Cambridge Scholars Publishing, 2021: 166 (2021–4–1).
- [13] IGLESIAS M T, LORENZO C D, POLO M D C, et al. Usefulness of amino acid composition to discriminate between honey-dew and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(1): 84–89.
- [14] REBANE R and HERODES K. Evaluation of the botanical origin of Estonian uni- and polyfloral honeys by amino acid content[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(22): 10716–10720.
- [15] KECKES J, TRIFKOVIC J, ANDRIC F, et al. Amino acids profile of Serbian unifloral honeys[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93: 3368–3376.
- [16] CHEN H, JIN L H, CHANG Q Y, et al. Discrimination of botanical origins for chinese honey according to free amino acids content by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection with chemometric approaches[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97: 2042–2049.
- [17] 孙政, 程妮, 曹炜. 蜂蜜中氨基酸应用研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(1): 260–263. [SUN Z, CHENG N, CAO W. A review of applications of amino acids in honey[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2016, 42(1): 260–263.]
- [18] HU L Q, YIN C L, WANG H, et al. Discrimination of honey varieties based on amino acid derivative fluorescence method combining with multilinear pattern recognition[J]. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi*, 2016, 36(7): 2148–2154.
- [19] 王坤, 李峰, 胡小苗. 基于游离氨基酸对单花种蜂蜜的鉴定方法研究[J]. *中国食品*, 2021(8): 109–111. [WANG K, LI F, HU X M. Identification of botanical origin of unifloral honeys by free amino acid profiles[J]. *China Food*, 2021(8): 109–111.]
- [20] 蚁碧珍, 王锦源. 氨基酸分析仪测定蜂蜜氨基酸组成的研究[J]. *现代食品*, 2020(19): 176–180. [YI B Z, WANG J Y. Determination of amino acids composition in honey by amino acids analyser[J]. *Modern Food*, 2020(19): 176–180.]
- [21] 赵成仕, 臧爱香, 夏莲, 等. 酸水解-全自动氨基酸分析仪测定蜂蜜中 17 种氨基酸[J]. *现代农业科技*, 2013(3): 325–326. [ZHAO C S, ZANG A X, XIA L, et al. Acid hydrolytic method for determination of 17 kinds of amino acids in honey by automatic amino acid analyzer[J]. *XianDai NongYe KeJi*, 2013(3): 325–326.]
- [22] 牛之瑞, 冯雷, 鲁燕骅, 等. 蜂蜜中 17 种水解氨基酸的测定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(10): 4034–4037. [NIU Z R, FENG L, LU Y H, et al. Determination of 17 kinds of hydrolytic amino acids in honey[J]. *Journal of Food Safty and Quality*, 2016, 7(10): 4034–4037.]
- [23] YANG K, WU D, YE X Q, et al. Characterization of chemical composition of bee pollen in China[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(3): 708–718.
- [24] 魏丽, 曾志将. 中国部分商品蜂蜜中植物花粉形态、含量及浓度的研究[J]. *中国蜂业*, 2009, 60(6): 12–14. [WEI L, ZENG Z J. Study on shape, content and concentration of plant pollen in part commercial honey of china[J]. *Apiculture of China*, 2009, 60(6): 12–14.]
- [25] SUN Z, ZHAO L L, CHENG N, et al. Identification of botanical origin of Chinese unifloral honeys by free amino acid profiles and chemometric methods[J]. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2017, 7(5): 317–323.
- [26] WEN Y Q, ZHANG J Z, JIN Y, et al. Characterization of Chinese unifloral honeys based on proline and phenolic content as markers of botanical origin, using multivariate analysis[J]. *Molecules*, 2017, 22(5): 735.
- [27] 陈兰珍, 张妍楠, 吴黎明, 等. 中红外光谱结合线性判别分

- 析快速鉴别蜂蜜品种[J]. *食品科技*, 2014, 39(11): 310-314. [CHEN L Z, ZHANG Y N, WU L M, et al. Mid-infrared spectroscopy with linear discrimination analysis for rapid discrimination of floral origin of honey[J]. *Food Science and Technology*, 2014, 39(11): 310-314.]
- [28] 胡乐乾, 尹春玲, 王欢, 等. 氨基酸衍生三维荧光法结合多维模式识别用于蜂蜜种类辨别研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2016, 7(36): 2148-2154. [HU L Q, YIN C L, WANG H, et al. Discrimination of honey varieties based on amino acid derivative fluorescence method combining with multilinear pattern recognition[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2016, 7(36): 2148-2154.]
- [29] DONG R, ZHANG Y N, XU B J. Floral origin identification and amino acid profiles of chinese unifloral honeys[J]. *International Journal of Food Properties*, 2013, 16(8): 1860-1870.