

蜂胶掺假鉴别技术研究进展

郅婉宁, 耿越*

(山东师范大学食品营养和安全重点实验室, 山东省动物抗性生物学重点实验室,
山东师范大学生命科学学院, 济南 250014)

摘要: 蜂胶具有广泛的生物活性, 如抗氧化、防辐射、防龋齿、消炎抑菌及调节免疫等, 是较为珍贵的蜜蜂产品。蜂胶依据胶源植物的不同可分为杨树型蜂胶、巴西绿蜂胶、红蜂胶等7大类。我国的蜂胶类型主要为杨树型蜂胶, 其化学成分与杨树芽提取物相似, 蜂胶资源紧缺和高利润导致杨树胶掺假冒充蜂胶现象日益严重。蜂胶掺假鉴别一直是蜂产品等天然产物的研究热点, 本文综述近15年国内外研究者关于蜂胶掺假鉴别技术的研究进展, 其中主要包括气相色谱法、液相色谱法、红外光谱法、核磁共振技术、薄层色谱法和特征物质鉴别等, 其中液相-质谱技术应用最为广泛, 鉴别结果较优。同时本文对多种蜂胶鉴别技术进行比较和总结, 为蜂胶品质的鉴定和蜂胶的掺假鉴别提供资料参考和依据。

关键词: 杨树型蜂胶; 掺假鉴别; 气相色谱法; 液相色谱法; 红外光谱法; 核磁技术

Research progress of propolis adulteration identification technology

KUAI Wan-Ning, GENG Yue*

(Key laboratory of Food Nutrition and Safety of SDNU, Provincial Key Laboratory of Animal Resistant Biology, College of Life Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

ABSTRACT: Propolis has a wide range of biological activities, such as anti-oxidation, radiation, dental caries, anti-inflammatory and bacteriostatic regulation and immune regulation, which is a relatively precious bee product. Propolis can be divided into 7 categories include poplar propolis, Brazilian green propolis, red propolis and others according to the different gum source plants. The type of propolis in our country is mainly poplar propolis, its chemical composition is similar to poplar bud extract. The shortage of propolis resources and high profit cause the phenomenon of poplar propolis mixed as false increasingly serious. Propolis adulterated identification has been the focus of natural bee products. This article reviewed the research progress of propolis adulterated identification at home and abroad in the nearly 15 years, mainly including gas chromatography, liquid chromatography, infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance (NMR) technology, thin layer chromatography (TLC) and the characteristics of material identification, etc., among which liquid chromatography-mass spectrometry was the most widely used technology, and had a better identification result. At the same time, this paper compared and summarized various identification techniques of propolis to provide references and basis for quality identification of propolis and adulteration identification of propolis.

KEY WORDS: poplar propolis; adulteration identification; gas chromatography; liquid chromatography; infrared spectrometry; nuclear magnetic resonance technology

*通讯作者: 耿越, 教授, 主要研究方向为营养学与食品功能因子。E-mail: gengy@sdnu.edu.cn

*Corresponding author: GENG Yue, Professor, Department of Food Science and Technology, Shandong Normal University, No.88, Wenhua Road, Lixia District, Jinan 250014, China. E-mail: gengy@sdnu.edu.cn

1 引言

蜂胶是蜜蜂从胶源植物的芽苞、树皮或树干上采集的树脂类物质, 并混入上颌腺、蜡腺的分泌物和少量花粉反复加工而成的芳香胶状混合物, 多为黄褐色、青褐色, 是较为珍贵的蜜蜂产品^[1]。蜂胶可用于修复蜂箱的裂缝和损坏, 抵御微生物和入侵昆虫污染蜂箱^[2]。据研究, 蜂胶中含有 300 多种化合物, 包括酚酸及其酯、黄酮类化合物、萜烯类、芳香醛类和醇类等^[3]。

蜂胶提取物具有无毒性和抗氧化特性, 能够有效清除自由基缓解氧化, 其抗氧化性能与合成抗氧化剂相似或优于合成抗氧化剂^[4]; 蜂胶内活性物质通过降低细胞内活性氧和一氧化氮水平降低脂多糖诱导的炎症反应, 下调小鼠 RAW264.7 巨噬细胞中 IL-1 β 和 IL-6 的表达, 从而抑制炎症的发生^[5]; 蜂胶中的咖啡酸苯乙酯 (caffeic acid phenethyl ester, CAPE) 和阿替匹林 C (artepillin C) 对 T 淋巴细胞亚群具有明显的免疫抑制作用和潜在的抗肿瘤特性, 可以阻断特定的癌基因信号通路, 调节肿瘤微环境^[6]; 蜂胶水提物 (aqueous extract of propolis, PWE) 中的芳香酸可以抑制细胞凋亡, 降低由电离辐射引起的肠粘膜损伤^[7]; 蜂胶醇提物 (ethanolic extract of propolis, EEP) 对炭疽杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌等革兰氏阳性菌有明显的抗菌作用, 且对白色念珠菌的生长具有抑制作用^[8]。

蜂胶的生物活性主要归因于胶源植物的树脂成分, 同时也受蜂胶采集季节^[9]、采集地周围的地理特征和植被组合类型的影响^[10]。Woźniak 等^[11]利用超高效液相串联光电二极管矩阵对 3 个季节采集的蜂胶提取物的化学成分进行分析, 结果表明春季采集的样品中黄酮和酚酸的测定值之和最高, 秋季采集的样品中测定值之和最低, 酚类物质的浓度差别不大。蜂胶的化学成分具有明显的地域性, 因此要想实现蜂胶的品控, 需对不同产地的蜂胶成分进行研究^[12]。

蜂胶依据胶源植物的不同分为 7 种类型: 杨树型蜂胶的胶源植物为杨属植物, 其中以欧洲黑杨最为常见^[13], 主要的生物活性物质为黄酮类、黄烷酮类、酚类物质、肉桂酸及其衍生物等^[14]; 巴西绿蜂胶 (酒神菊属型, *Baccharis*) 来源于酒神菊类植物, 主要的生物活性物质为萜烯类化合物和 *p*-香豆酸及其衍生物, 巴西绿蜂胶中独特的酚酸成分阿替匹林 C 对肿瘤细胞和癌细胞的增殖和转移具有显著抑制作用^[15]; 俄罗斯的桦树型蜂胶的胶源植物为疣桦 (*Betula verrucosa* Ehrh.), 主要成分为黄酮类和黄酮醇^[16]; 古巴、墨西哥及巴西地区的红蜂胶, 来源于黄檀属植物, 主要含紫檀素和异黄酮类化合物^[17]; 太平洋区域、印尼、冲绳和中国台湾的太平洋型蜂胶, 主要包含异戊二烯基黄烷酮类化合物, 特殊胶源植物为木桐属植物 (*Macaranga* Thou)^[18]; 西西里岛、希腊和马耳他有一种特殊的蜂胶称为地中海蜂

胶, 富含二萜化合物 (主要为拉布丹酸)^[19], 其胶源植物为柏木属植物^[20]; 桉树型蜂胶其胶源植物为杨树、桉树, 主要生物活性成分是芳香酸、肉桂酸及其酯类衍生物^[21]。我国的蜂胶的胶源植物为杨属型植物, 含有高含量的总酚和黄酮类物质, 萜类物质含量较低^[22], 但近代引入我国的意蜂可能还没有适应采集我国本土杨树品种的树脂, 如毛白杨、钻天杨等, 则主要采集欧洲黑杨及其杂交品种—加拿大杨的树脂^[23]。

一群蜜蜂每天只能生产蜂胶 0.2~1.2g, 1 年只能生产 100~500 g 蜂胶, 我国虽然是世界养蜂大国, 蜂胶年产量为 300 吨左右, 但实际年销量却高达 1000 吨^[24]。我国蜂胶的化学成分与杨树芽提取物极其相似, 造假现象层出不穷且日益严重^[25]。Zhang 等^[26]利用高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 法, 以水杨苷为指标监测了 67 个在中国市场流通的蜂胶半成品或成品中杨树胶的含量, 实验结果只有 34% 的产品被鉴定为正宗的蜂胶产品。随着蜂胶商品化进程的不断推进, 蜂胶与杨树胶的区分成为蜂胶真伪鉴别的热点。本文针对不同技术和指标对蜂胶掺假鉴别技术进行了综述, 以期对蜂胶真伪鉴别提供依据。

2 鉴别技术研究进展

2.1 气相-质谱联用技术 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)

目前的食品检验上普遍采用气相色谱-质谱联用技术^[27]。GC 适用于蜂胶中易挥发有机化合物的定性、定量分析^[28]。

余兰平等^[29]利用 GC-MS 技术初步确定苯甲醇、2,6-二羟基-4-甲氧基查耳酮、3,4-二甲氧基肉桂酸、3-苯基-2,3-二甲基环丙烷和柯因等几种物质在蜂胶和杨树胶中的含量差异较大, 于是将它们作为蜂胶中标志性物质, 也可以通过检测蜂胶中是否存在 4-羟基-3-甲基苯乙酮和佛手油烯来鉴别蜂胶掺假。

李雅萍等^[30]用固相微萃取 (solid-phase microextraction, SPME) 和乙醇、乙酸乙酯提取剂对蜂胶中挥发性成分进行提取, GC-MS 对提取液进行测定共得到蜂胶主要挥发性成分 28 种, 包括十几种萜烯类及醇类物质。

王向平等^[31]利用 GC-MS 技术分析蜂胶和杨树胶, 结果表明 2,6-二羟基-4-甲氧基查耳酮、高良姜素和柚木柯因在蜂胶和杨树胶中的含量存在明显差异。1-十九烯、3,4-二甲氧基肉桂酸、1-二十六烷醇、棕榈酸 4 种物质只存在于蜂胶中且含量高于 2%, 愈创木醇、1-甲基-4-(6-甲基-5-庚烯-2-基) 苯、2-苯基苯并咪唑只存在于杨树胶中。

程焕等^[32]分别采用 SPME 法、动态顶空 (dynamic headspace collection, DHS) 法和 GC-MS 法对蜂胶和杨树胶挥发性成分进行提取、分析和鉴定, SPME 法鉴定出 37 种

挥发性化合物,占整个峰面积的 97.71%;DHS 法鉴定出 52 种化合物,占比 92.46%。实验得到蜂胶特有物质包括烯炔类物质八氢二甲基-2-(1-亚异丙基)萘、酯类物质(壬酸乙酯、棕榈酸乙酯、月桂酸乙酯等 7 种)、醇类物质(3-戊烯-2-醇、3-甲基-2-丁烯-1-醇、 α -桉叶醇)、萜烯类物质(β -葑草烯、雪松烯)。杨树胶特有物质为醇类物质(+/-)- α -红没药醇、烯炔类物质 α -姜黄烯和 2,6,6,9-四甲基-三环[5.4.0.0(2,8)]-9-十一烯。

2.2 液相色谱法(liquid chromatography, LC)

液质联用技术(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)将色谱的高分离能力与质谱的高选择性、高灵敏度和高定性能力相结合,适合蜂胶中复杂成分、痕量物质的分析,并能提供分子量和结构信息^[33],是蜂胶研究中应用最广泛的技术,但分析成本高,仪器价格及维护费用较贵^[34]。

陈磊等^[35]采用高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, HPLC-Q-TOF-MS)分析检测中国杨树型蜂胶、巴西绿蜂胶、杨树胶中 23 种主要酚类化合物,并进行了差异性分析。结果得到杨树型蜂胶掺假鉴别物质为香豆酸、水杨苷、咖啡酸和肉桂酸,巴西蜂胶和中国杨树型蜂胶差异鉴别物质为阿替匹林 C、香豆酸、咖啡酸苯乙酯、咖啡酸、山柰素、高良姜素、阿魏酸、异鼠李素、白杨素和松属素等。姚静等^[36]采用液相色谱串联离子阱飞行时间质谱法(liquid chromatography tandem ion trap time-of-flight mass spectrometry, LC-IT-TOF-MS)鉴定中国蜂胶(山东泰安)中的 25 种黄酮类化合物和 6 种酚酸类化合物,利用改良后的流动相,将离子阱与飞行时间质谱结合得到精确分子质量和碎片离子,从而对蜂胶中各成分进行准确定性。

建立液相指纹图谱也是蜂胶掺假鉴别的主要手段之一。周萍等^[37]建立了 62 个不同产地蜂胶样品的高效液相指纹图谱,并将图谱分为 6 个区,以第 4 区的 1 号峰、2 号峰、5 号峰为蜂胶鉴别的主要依据。根据各区域特征峰分布鉴别蜂胶与杨树胶,此法仅能定性鉴别纯杨树胶,未找到其特有成分。沙娜等^[38]应用反相 HPLC 法建立了 18 批不同来源原蜂胶的指纹图谱,并比较了乙醇、甲醇、乙醇-水和甲醇-水 4 种溶剂的提取效果,发现甲醇-水系统提取效果最充分。实验参照对照品指认了 15 个共有峰中的 14 个成分,并利用指纹图谱对样品进行了质量鉴定。李樱红等^[39]利用 HPLC 建立蜂胶与杨树胶的指纹图谱模板,选取代表性蜂胶和杨树胶样品各 10 批,并限定蜂胶、杨树胶、掺假蜂胶和既非蜂胶又非杨树胶等样品的相似度范围,最终选定了 15 个蜂胶共有峰和 14 个杨树胶共有峰生成各自的指纹图谱。通过比对样品图谱和已建立的蜂胶、杨树胶图谱差异,即可辨别蜂胶真伪。

韩红祥等^[40]采用 HPLC-MS 法对 10 批不同来源的蜂胶进行色谱分析,建立了精密度高、重现性较好的指纹图谱,并对其进行相似度评价。实验得到 16 个分离度良好的蜂胶共有峰,不同基源蜂胶共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 2%,相对峰面积 RSD 均小于 3%,与指纹图谱相关要求相符。刘莉敏等^[41]利用 UPLC-Q-TOF-MS 对 9 个国内外蜂胶样品进行了一级阳离子化总离子流色谱和总质谱的采集分析。结果显示色谱指纹未检出芦丁和槲皮素且判定出 2 个广东蜂胶异常,总质谱指纹主成分分析(principal component analysis, PCA)结果与上述结果相符。此实验将色谱图、质谱指纹和化学计量学数据处理技术相结合,对异常蜂胶的鉴别能力较强,但存在质谱指纹复杂,蜂胶产地、品牌及真伪判别模型专项研究不充分的问题。

专利 CN 108169375 A^[42]提出利用指纹图谱测定、氧自由基吸收能力测定和样品鉴定 3 个步骤。在相同实验条件下,将样品指纹图谱与同时测定的蜂胶、杨树胶指纹图谱进行比对,并选定指纹特征峰。同时以抗氧化特定指数的限定为辅助共同鉴定蜂胶真伪。专利 CN106770763A^[43]利用高效液相色谱-自由基检测系统联用技术对杨树胶和蜂胶进行检测,对色谱图进行比对后鉴别二者,同时以抗氧化活性组分为对照,既克服指纹图谱重现性差的缺点,又克服了活性成分在检测中降解带来的样品不稳定性。

2.3 红外光谱法(fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)

每个物质都存在特定的吸收从而形成红外光谱信息,继而可以用红外光谱对蜂胶中的物质进行定量或定性分析^[44]。

Wu 等^[45]收集了 43 个蜂胶和 5 个杨树芽,通过对比其红外光谱选择了 2 个代表性的蜂胶、芽胶样品。傅立叶红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)和二阶导数红外光谱结果表明蜂胶提取物红外光谱的 $\nu(\text{CH}_2)$ 吸收带位于 2917cm^{-1} 和 2849cm^{-1} 的低频段。杨树芽提取物红外光谱的 $\nu(\text{CH}_2)$ 带在 2927cm^{-1} 和 2854cm^{-1} 有更高的频率,同时二维红外光谱对二者的差异进行了补充和验证,此方法可有效快速鉴别两种高度相似天然产物。Luo 等^[46]利用 FTIR 采集 41 种中国蜂胶、1 种美国蜂胶和 2 种树胶的红外谱图,以青海蜂胶为标准品分析相似度,并结合 PCA 进行数据分析。结果表明,树胶和蜂胶红外光谱图具有显著差异性,且蜂胶特征峰区域为 $2849.08\sim 2848.53\text{cm}^{-1}$ 和 $2917.74\sim 2916.76\text{cm}^{-1}$,树胶的特征峰区域为 $1150\sim 1300\text{cm}^{-1}$ 和 $1550\sim 1650\text{cm}^{-1}$,此方法已获得国家专利 CN103837494A^[47]。

祁龙凯等^[48]利用 FTIR 建立不同产地的 26 批蜂胶提取物红外指纹图谱,应用 OMNIC 软件预处理数据,发现在波数 $1800\sim 600\text{cm}^{-1}$ 范围内吸收峰的吸光度差异明显,并利用聚类分析将蜂胶分为 5 类。蜂胶红外图谱经一阶导

数处理后, 其聚类分析结果与实际情况更为相符, 图谱经二阶导数处理后可明显发现不同产地蜂胶的差异性。

2.4 电子鼻法(electronic nose)

电子鼻, 也称人工嗅觉系统, 其工作原理是模仿人类对气味的识别机制^[49], 对蜂胶样品中挥发性物质灵敏度较高。目前国内外对电子鼻的蜂胶研究较少, 主要进行样品区域划分和掺假的判断^[50]。

董捷等^[51]用德国 AirSense 公司的 PEN3 电子鼻对 52 个蜂胶样品进行初探研究, 并建立 PCA 分析模型, 依据蜂胶的产地, 将相同省份的蜂胶划分为一组, 14 个省份的 52 个样品分为 14 组, 假蜂胶单独为 1 组, 共 15 组。结果显示 14 个省份的蜂胶中, 其中 7 个省份的蜂胶区分度较好, 且假胶与其他 7 个省份区分度较差。

延莎等^[52]对 17 个省份的 75 个样品(包括所有蜂胶样品和杨树胶)的电子鼻传感器响应值进行 PCA 分析, 发现蜂胶和杨树胶具有显著差异, 其中 3 种不同来源的杨树胶与蜂胶均有明显区分; 甘肃蜂胶与其他来源蜂胶区分度和质量差别较大, 余下蜂胶相似性较大。研究初步表明, 蜂胶的品质很大程度上是依赖胶源植物, 并不是简单地根据地域来源区分的。

廖敏等^[53]利用电子鼻对不同地域的 10 个蜂胶样品、5 个模拟掺假蜂胶和自制杨树胶进行鉴别, 结合 PCA 分析数据。实验表明 3 类样品存在显著差异, PCA 结果表明 3 个主成分总贡献率达 97.492%。

2.5 核磁图谱法(nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR)

专利 CN 108459038 A^[54]采用无水乙醇作提取剂, 400MHz 核磁共振波谱仪测定提取液, 通过分析样品不同位置的核磁共振氢谱(¹H-nuclear magnetic resonance, ¹HNMR)的化学位移异同, 找出区分真假蜂胶的特征标记峰, 利用核磁指纹图谱法实现蜂胶样品质量的定性鉴别。

除了水杨酸外, 杨树中存在独有的未知化学成分, 通过质谱、¹H NMR 确定该物质为邻苯二酚且只存在于杨树胶中^[55]。研究发现蜜蜂在采集蜂胶的咀嚼过程中, 植物细胞被破坏, 蜜蜂分泌的多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)使植物细胞中的邻苯二酚氧化成醌, 从而在蜂胶中检测不到, 因此邻苯二酚可用于蜂胶掺假的检测。

2.6 薄层色谱法(thin-layer chromatography, TIC)

Tang 等^[56]首先通过图像分析获得密度图, 得到中国蜂胶样品的色谱图的 5 个主要斑点, 并观察中国蜂胶样品与杨树胶样品在薄层色谱图上的差异。利用已知样本的密度图生成 1 个共同的模式, 构造样本数据库。训练神经网络和支持向量机判别模型对样品进行分类正确率达 100%, 为蜂胶样品的准确分类提供了依据。

文萍等^[57]在全国范围内采(收)集了 160 多批次合格或不合格的蜂胶样品, 以及造假主要原料杨树芽, 利用薄层色谱技术, 确定蜂胶及其提取物的专属性薄层色谱, 通过比对杨树胶与药材色谱相应的位置上的斑点差异来判断假蜂胶或杨树芽胶。

Dušanka 等^[58]采用高效薄层色谱法(high performance thin layer chromatography, HPTLC)技术、图像分析和化学计量学表征塞尔维亚、斯洛文尼亚和克罗地亚蜂胶中的酚类化合物, 并测定其植物和地理来源。3 个地区的蜂胶主要来源于杨树分泌物, TLC 色谱结果表明杨树提取物与蜂胶的化学成分存在差异。对植物源和地理源的酚类物质表征结果发现中欧和东南欧蜂胶样品中含有丰富的黄酮类物质。此外, 酚类化合物被证明是测定欧洲杨树型蜂胶真伪的合适标记物。

2.7 以其他物质做指标

杨茂森等^[59]用极性较低的有机溶剂萃取蜂胶发现其含有叶绿素。杨树(芽)胶是假蜂胶的主要类型, 其叶绿素含量是蜂胶的 16.5 倍。蜂胶中叶绿素含量最高为 11.47mg/100g, 平均含量为 6.73mg/100g; 杨树(芽)胶中叶绿素含量最低为 74.7 mg/100g, 平均含量为 111.2mg/100g。在综合分析的基础上设定蜂胶叶绿素安全限值为 15mg/100g, 可通过检测叶绿素含量准确鉴别蜂胶掺假。此方法已获得国家专利 CN102778437 B^[60]。

胡福良等^[61]研究发现蜂胶中的 β 葡萄糖苷酶能够水解杨属植物中的特征性物质酚苷产生水杨苷, 并以水杨苷为参照, 建立了区分蜂胶与杨树胶的 HPLC 方法。赵晓亚等^[62]利用线性离子阱-静电场轨道阱(linear ion trap-electrostatic field track trap, LTQ-Orbitrap)高分辨质谱仪对蜂胶和杨树胶进行鉴定, 也证实了水杨苷可以作为蜂胶掺假鉴别。马巍^[63]通过正交实验优化水杨苷提取条件, 利用 HPLC 验证特征性物质邻苯二酚仅存在于杨树胶中。设置水杨苷定量限为 0.25mg/g, 超过该浓度即为检出。若待测样品中未检测到水杨苷而检测到邻苯二酚, 则为杨树胶样品。

专利 CN 108181388 A^[64]提出蜂胶中 9-羧基-反,顺-共轭亚油酸和/或 9-羧基-反,反-共轭亚油酸的含量与蜂胶中固有物质含量之比, 可用来鉴别蜂胶掺假。实验选定蜂胶固有物质为短叶松素, 若蜂胶中 9-羧基-反,顺-共轭亚油酸和/或 9-羧基-反,反-共轭亚油酸的含量与短叶松素比值 D 小于 1, 则不存在杨树胶; 比值 D 大于等于 1, 则蜂胶样品中含有杨树胶。

3 结论

现有蜂胶掺假技术多为研究蜂胶和/或杨树胶中特定组成成分及其含量的差异, 从而区分两者。其检测主要依

靠 HPLC 法, 相对于 GC 可以分析蜂胶中高沸点(酯类物质)和热不稳定化合物(黄酮物质), 但存在分离度不够、只能检测紫外吸收特性成分、流动相消耗大、耗时长等缺点。且色谱方法提供的蜂胶特征标记物一旦被攻破, 不良厂家便会以此对假蜂胶做文章, 造成检测难度增高, 可采用色谱与质谱等技术联用解决, 在采集液相色谱指纹的同时对应各自的质谱指纹, 结合化学计量学对数据进行精确分析从而提高蜂胶掺假鉴别率。

光谱法在蜂胶掺假研究中具有耗时短、成本低、无损分析等优点^[44]。红外指纹图谱有利于蜂胶掺假鉴别, 对蜂胶产地区分具有一定的实际意义, 但结果易受环境影响, 灵敏度和精度稍低。核磁共振技术具有重现性好、检测速度快, 定性精准等优点, 但面对化合物复杂的蜂胶研究尚存在数据处理量大、处理工作繁琐等缺点, 应用较少。电子鼻响应时间短、操作简便、灵敏度高, 主要应用于蜂胶的快速检测, 对蜂胶中的挥发性物质的评估具有客观性, 可避免人为评估的模糊性和主观性, 但检测结果易受环境因素波动。此外, 利用特定物质也能对蜂胶和杨树胶进行很好区分, 比如水杨苷、叶绿素、邻苯二酚等, 但单一标准无法进行准确鉴别, 需辅助其他指标如氧化活性等。同时薄层色谱法可以对蜂胶样品进行指纹分析, 用于鉴别蜂胶的真实性。

蜂胶作为药食同源的食品, 具有广阔的市场前景, 因此建立蜂胶质量标准、定期监测市场中掺假发生率、开发新型系统的蜂胶鉴别技术十分必要。目前应用最为广泛的蜂胶掺假鉴别技术为液质联用技术, 并不断优化通过检测化合物的含量差异寻找蜂胶与杨树胶间的差异代谢物, 从而达到区分两者的目的。与此同时我们应利用先进技术完善和提高蜂胶检测手段, 利用高分辨率和高灵敏度的检测手段建立全面系统、高效科学的质控体系, 以保障蜂胶及其制品产业有序发展。

参考文献

- [1] 胡福良. 蜂胶的化学成分、质量控制及生物学活性研究进展[J]. 经济动物学报, 2017, 21(4): 187-196, 200, 184.
Hu FL. Advances on the chemical composition, quality control and biology activity of propolis [J]. J Econ Anim, 2017, 21(4): 187-196, 200, 184.
- [2] 申小阁, 胡福良. 蜂胶的研究历史及应用[J]. 中国蜂业, 2014, 65(2): 63-64.
Shen XG, Hu FL. Research history and application of propolis [J]. Apic China, 2014, 65(2): 63-64.
- [3] Sumeyya A, Gulfer O, Zeynep G, *et al.* *In vivo* and *in vitro* antineoplastic actions of caffeic acid phenethyl ester (CAPE): Therapeutic perspectives [J]. Nutr Cancer, 2013, 65(4): 515-526.
- [4] Cavalaro RI, Cruz RGD, Dupont S, *et al.* *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of bioactive compounds from green propolis obtained by ultrasound-assisted extraction [J]. Food Chem: X, 2019, 4: 100054.
- [5] Asgharpour F, Moghadamnia AA, Motallebnejad M, *et al.* Propolis attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses through intracellular ROS and NO levels along with downregulation of IL-1 β and IL-6 expressions in murine RAW 264. 7 macrophages [J]. J Food Biochem, 2019, 43(8): e12926.
- [6] Chan CF, Cheung KW, Sze MY. The immunomodulatory and anticancer properties of propolis [J]. Clin Rev Allerg Immun, 2013, 44(3): 262-273.
- [7] Khayyal MT, Abdel-Naby DH, El-Ghazaly MA. Propolis extract protects against radiation-induced intestinal mucositis through anti-apoptotic mechanisms [J]. Environ Sci Pollut R, 2019, 26(24): 24672-24682.
- [8] Abdulkhani A, Hosseinzadeh J, Ashori A, *et al.* Evaluation of the antibacterial activity of cellulose nanofibers/poly(lactic acid) composites coated with ethanolic extract of propolis [J]. Polym Composite, 2017, 38(1): 13-19.
- [9] Katekhaye S, Fearnley H, Fearnley J, *et al.* Gaps in propolis research: challenges posed to commercialization and the need for an holistic approach [J]. J Apicult Res, 2019, 58(4): 604-616.
- [10] José MS, Bankova V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 133(2): 253-260.
- [11] Woźniak M, Mrówczyńska L, Waśkiewicz A, *et al.* The role of seasonality on the chemical composition, antioxidant activity and cytotoxicity of Polish propolis in human erythrocytes [J]. Rev Bras Farmacogn, 2019, 29(3): 301-308.
- [12] 刘安洲. 泰山蜂胶化学成分研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2009.
Liu AZ. Studies on chemical constituents of propolis from Mountain Tai [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2009.
- [13] Bankova V. Recent trends and important developments in propolis research [J]. Evid-Based Compl Alt Med, 2005, 2(1): 29-32.
- [14] Gardana C, Scaglianti M, Pietta P, *et al.* Analysis of the polyphenolic fraction of propolis from different sources by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed, 2007, 45(3): 390-399.
- [15] Santana AJK, Denadai M, De OCS, *et al.* Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region [J]. Food Res Int (Ottawa, Ont), 2017, 101: 129-138.
- [16] Bankova V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization [J]. J Ethnopharm, 2005, 100(1-2): 114-117.
- [17] Piccinelli AL, Campo FM, Cuesta-Rubio O, *et al.* Isoflavonoids isolated from Cuban propolis [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(23): 9010-9016.
- [18] Groot ACD. Propolis: A review of properties, applications, chemical composition, contact allergy, and other adverse effects [J]. Dermatitis Contact Atopic Occup Drug, 2013, 24(6): 263-282.
- [19] Pellati F, Prencipe FP, Benvenuti S. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry characterization of propolis volatile compounds [J]. J Pharm Biomed, 2013, 84: 103-111.
- [20] Aminomoghadamfarouj N, Nematollahi A. Propolis diterpenes as a remarkable bio-source for drug discovery development: A Review [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(6): 1290.
- [21] Silici S, Unlü M, Vardar-nlü G. Antibacterial activity and phytochemical evidence for the plant origin of Turkish propolis from different regions [J]. World J Microb Biot, 2007, 23(12): 1797-1803.
- [22] 于梦娇, 韩苏苏, 高蓬勃, 等. 3 种不同产地蜂胶的成分差异[J]. 中国

- 蜂业, 2018, 69(6): 68–72.
- Yu MJ, Han SS, Gao PB, *et al.* Differences in the components of propolis from three different habitats [J]. *Apic China*, 2018, 69(6): 68–72.
- [23] 王雪, 罗照明, 张红城, 等. 中国蜂胶胶源植物研究[J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(11): 385–392.
- Wang X, Luo ZM, Zhang HC, *et al.* Study on propolis plants in China [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2015, 43(11): 385–392.
- [24] 朱海华, 杨强, 田春华, 等. 蜂产品质量安全与现状分析[J]. *中国蜂业*, 2011, 62(9): 30–32.
- Zhu HH, Yang Q, Tian CH, *et al.* Analysis on the quality and safety of bee products [J]. *Apic China*, 2011, 62(9): 30–32.
- [25] Cui PZ, Shuai H, Wen TW, *et al.* Development of high-performance liquid chromatographic for quality and authenticity control of Chinese propolis [J]. *J Food Sci*, 2014, 79(7): C1315–1322.
- [26] Zhang CP, Ping S, Wang K, *et al.* A survey of the incidence of poplar tree gum in propolis products on the Chinese retail market [J]. *J Apicult Res*, 2015, 54(1): 1–6.
- [27] 蔡仕能. 气相色谱质谱联用在食品检验中的应用[J]. *食品安全导刊*, 2015, (3): 57–58.
- Cai SN. Application of GC-MS in food inspection [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2015, (3): 57–58.
- [28] 吉喆. 气相色谱技术在食品安全检测中的应用[J]. *粮食与食品工业*, 2019, 26(4): 62–3, 6.
- Ji Z. Application of gas chromatography in food safety detection [J]. *Cereal Food Ind*, 2019, 26(4): 62–3, 6.
- [29] 余兰平, 盛文胜. 气相色谱-质谱法分析蜂胶和杨树胶的化学成分[J]. *蜜蜂杂志*, 2006, (6): 3–5.
- Yu LP, Sheng WS. GC/MS analysis the chemical composition of propolis and poplar gum [J]. *J Bee*, 2006, (6): 3–5.
- [30] 李雅萍, 贺丽苹, 陈玉芬, 等. SPME-GC/MS 联用技术分析蜂胶中挥发性成分的研究[J]. *现代食品科技*, 2007, (7): 78–80.
- Yang YP, He LP, Chen YF, *et al.* Identification of volatile components in Chinese propolis by solid phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry(SPME-GC/MS) [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2007, (7): 78–80.
- [31] 王向平, 吕斌, 刘伟忠, 等. 气相色谱-质谱法分析蜂胶与杨树胶化学组分及鉴别研究[J]. *湖北农业科学*, 2012, 51(2): 382–384.
- Wang XP, Lv B, Liu ZW, *et al.* Analysis of components in propolis and poplar gum by GC-MS [J]. *Hubei Agric Sci*, 2012, 51(2): 382–384.
- [32] 程焕, 秦子涵, 胡小松, 等. 固相微萃取/动态顶空-气相色谱-质谱联用法对蜂胶与杨树胶挥发性成分的分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2012, 3(1): 1–9.
- Cheng H, Qin ZH, Hu XS, *et al.* Analysis of volatile compounds of propolis and poplar tree gum by SPME/DHS-GC-MS [J]. *J Food Saf Qual*, 2012, 3(1): 1–9.
- [33] 米建萍, 徐远金, 朱平川, 等. 液质联用技术在滥用食品添加剂及食品中违法添加物测定中的应用及研究进展[J]. *基因组学与应用生物学*, 2015, 34(7): 1579–1586.
- Mi JP, Xu YJ, Zhu PC, *et al.* Application and research progress of high performance liquid chromatography-mass spectrometry in determination of the abuse of food additives and illegal additives [J]. *Genomics Appl Biol*, 2015, 34(7): 1579–1586.
- [34] 黄思瑜. 液质联用技术在食品真菌毒素检测中的应用[J]. *现代食品*, 2019, (7): 173–175.
- Huang SY. Application of liquid chromatography-mass spectrometry in detection of mycotoxins in food [J]. *Mod Food*, 2019, (7): 173–175.
- [35] 陈磊, 刘芸, 陈雷, 等. 高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱检测中国杨树型蜂胶、巴西绿蜂胶和杨树胶中的酚类化合物及真伪鉴别[J]. *色谱*, 2019, 37(1): 40–45.
- Chen L, Liu Y, Chen L, *et al.* Determination of phenolic compounds in Chinese poplar propolis, Brazil green propolis, and poplar gum by high performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry and preliminary study of the identification of adulteration [J]. *J Chromatogr*, 2019, 37(1): 40–45.
- [36] 姚静, 孙建国, 吴亮, 等. 蜂胶化学成分 LC-IT-TOF-MS 鉴别[J]. *中国药科大学学报*, 2017, 48(2): 178–183.
- Yao J, Sun JG, Wu L, *et al.* Identification of major constituents from propolis by LC-IT-TOF-MS [J]. *J China Pharm Univ*, 2017, 48(2): 178–183.
- [37] 周萍, 陈建清, 胡福良, 等. 不同产地蜂胶 HPLC 指纹图谱测定及真伪判定[J]. *中国蜂业*, 2009, 60(10): 5–8.
- Zhou P, Chen JQ, Hu FL, *et al.* HPLC fingerprint graphs identification of different geographical origin of propolis and its authenticity [J]. *Apic China*, 2009, 60(10): 5–8.
- [38] 沙娜, 黄慧莲, 张金强, 等. 蜂胶的 HPLC 指纹图谱研究[J]. *中国药科大学学报*, 2009, 40(2): 144–146.
- Sha N, Huang HL, Zhang JQ, *et al.* Study on HPLC fingerprint of propolis [J]. *J China Pharm Univ*, 2009, 40(2): 144–146.
- [39] 李樱红, 周萍, 罗金文, 等. 蜂胶与杨树胶 HPLC 指纹图谱的建立及应用[J]. *药物分析杂志*, 2014, 34(2): 349–354.
- Li YH, Zhou P, Luo JW, *et al.* Establishment and application of HPLC fingerprints in distinguishing propolis and poplar tree gum [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2014, 34(2): 349–354.
- [40] 韩红祥, 王维, 陈雪松, 等. 应用 HPLC-MS 联用技术研究不同基源蜂胶指纹图谱[J]. *吉林中医药*, 2011, 31(12): 1221–1223.
- Han HX, Wang W, Chen XS, *et al.* Study on fingerprint of propolis from different sources by HPLC-MS [J]. *Jilin J Tradit Chin Med*, 2011, 31(12): 1221–1223.
- [41] 刘莉敏, 郭军, 米智慧, 等. 蜂胶样品乙醇提取物的 UPLC-Q-TOF-MS 指纹特征[J]. *食品科学*, 2014, 35(18): 96–99.
- Liu LM, Guo J, Mi ZH, *et al.* UPLC-Q-TOF-MS fingerprint profiling of ethanol extracts of propolis [J]. *Food Sci*, 2014, 35(18): 96–99.
- [42] 邵卫樑, 杭晓敏, 夏祎稚, 等. 一种指纹图谱与抗氧化活性联合鉴别蜂胶真伪的方法 CN, 201711440609. 0 [P]. 2017–12–27.
- Shao WL, Hang XM, Xia YZ, *et al.* A method of identification of propolis by fingerprint and antioxidant activity CN, 201711440609. 0 [P]. 2017–12–27.
- [43] 杨红丽, 叶意群, 林琳. 一种蜂胶和杨树胶的鉴别方法: CN, 201611188905. 1 [P]. 2016–12–21.
- Yang HL, Ye YQ, Lin L. Identification of propolis and poplar gum: CN, 201611188905. 1 [P]. 2016–12–21.
- [44] 陈超, 柳琦, 李钊, 等. 红外光谱技术在食品安全检测中的研究与应用[J]. *食品研究与开发*, 2019, 40(14): 219–224.
- Chen C, Liu Q, Li F, *et al.* Research and application of infrared spectroscopy technology in food safety testing [J]. *Food Res Dev*, 2019, 40(14): 219–224.

- [45] Wu YW, Sun SQ, Zhao J, *et al.* Rapid discrimination of extracts of Chinese propolis and poplar buds by FT-IR and 2D IR correlation spectroscopy [J]. *J Mol Struct*, 2008, 883-884: 48-54.
- [46] Luo HL, Liu XX, Gong SJ, *et al.* Infrared spectrum analysis of propolis and tree gum collected from different areas [J]. *Spectrosc Spec Anal*, 2015, 35(11): 3058-3062.
- [47] 罗丽萍, 郭夏丽, 龚上估, 等. 一种蜂胶中树脂掺假的鉴别方法: CN, 201310469209. 8 [P]. 2013-10-10.
Luo LP, Guo XL, Gong SJ, *et al.* A method to identify false gum in propolis: CN, 201310469209. 8 [P]. 2013-10-10.
- [48] 祁龙凯, 林励, 邓韬, 等. 蜂胶提取物红外指纹图谱研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2014, 25(2): 197-200.
Qi LK, Lin L, Deng T, *et al.* Study on infrared fingerprint of propolis extract [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharm*, 2014, 25(2): 197-200.
- [49] Liu T, Zhang W, Ye L, *et al.* A novel multi-odour identification by electronic nose using non-parametric modelling-based feature extraction and time-series classification [J]. *Sensor Actuat: B-Chem*, 2019, 298.
- [50] 邹慧琴, 刘勇, 林辉, 等. 电子鼻技术及应用研究进展[J]. *传感器世界*, 2011, 17(11): 6-11.
Zou HQ, Liu Y, Lin H, *et al.* Research progress of electronic nose technology and application [J]. *Sensor World*, 2011, 17(11): 6-11.
- [51] 董捷, 张红城, 李春阳. 电子鼻对不同地域的蜂胶气味测定的初步研究[J]. *食品科学*, 2008, (10): 468-470.
Dong J, Zhang HC, Li CY. Pilot study on determination of odor differences among bee propolis samples from different areas by electronic nose [J]. *Food Sci*, 2008, (10): 468-470.
- [52] 延莎, 张红城, 董捷. 电子鼻对蜂胶质量的判别[J]. *食品科学*, 2012, 33(20): 201-205.
Yan S, Zhang HC, Dong J. Application of electronic nose in quality evaluation of propolis [J]. *Food Sci*, 2012, 33(20): 201-205.
- [53] 廖敏, 陈玉, 沈艺楠, 等. 基于电子鼻的蜂胶真伪鉴别研究[J]. *农产品加工*, 2017, (1): 77-80.
Liao M, Chen Y, Shen YN, *et al.* Identify the authenticity of propolis based on electronic nose [J]. *Farm Prod Process*, 2017, (1): 77-80.
- [54] 徐锦忠, 鲁惠玲, 孙青霞. 杨树型蜂胶真伪快速鉴别的核磁共振谱法: CN, 201711327961. 3 [P]. 2017-12-13.
Xu JZ, Lu HL, Sun QX. Fast identification of poplar propolis by NMR fingerprint: CN, 201711327961. 3 [P]. 2017-12-13.
- [55] 胡福良, 黄帅, 张翠平, 等. 一种杨树胶中特有成分的分离纯化方法及应用: CN, 201310721079. 2 [P]. 2013-12-24.
Hu FL, Huang S, Zhang CP, *et al.* Separation and purification of a specific component in poplar tree gum and its application: CN, 201310721079. 2 [P]. 2013-12-24.
- [56] Tang TX, Guo WY, Xu Y, *et al.* Thin-layer chromatographic identification of Chinese propolis using chemometric fingerprinting [J]. *Phytochem Analysis: PCA*, 2014, 25(3): 266-272.
- [57] 文萍, 戴希希, 刘丹, 等. 蜂胶质量控制技术研究[J]. *实用中西医结合临床*, 2016, 16(2): 81-83.
Wen P, Dai XX, Liu D, *et al.* Research of the quality control for propolis [J]. *Pract Clin J IntegraTradit ChinWest Med*, 2016, 16(2): 81-83.
- [58] Dušanka MO, Petar R, Jelena T, *et al.* TLC Fingerprinting and pattern recognition methods in the assessment of authenticity of poplar-type propolis [J]. *J Chromatogr Sci*, 2016, 54(7): 1077-1083.
- [59] 杨茂森, 刘泊, 王鑫, 等. 应用检测叶绿素含量鉴别蜂胶和杨树(芽)胶的研究[J]. *中国蜂业*, 2012, 63(2): 81-85.
Yang MS, Liu P, Wang X, *et al.* Application of detecting chlorophyll content of propolis and poplar identification (bud) adhesive research [J]. *Apic China*, 2012, 63(2): 81-85.
- [60] 杨茂森, 刘泊, 王鑫. 一种通过检测叶绿素含量鉴别蜂胶与杨树胶的方法: CN, 201210175857. 8 [P]. 2012-05-31.
Yang MS, Liu P, Wang X. A method to identify propolis and poplar tree gum by detecting chlorophyll content: CN, 201210175857. 8 [P]. 2012-05-31.
- [61] GB/T 34782-2017 国家标准蜂胶中杨树胶的检测方法高效液相色谱法 [S].
GB/T 34782-2017 National standard Method for the determination of poplar tree gum in propolis—High performance liquid Chromatography [S].
- [62] 赵晓亚, 付晓芳, 李晶, 等. 高效液相色谱-线性离子阱-静电场轨道阱高分辨质谱测定杨树胶的指标性成分水杨苷[J]. *分析测试学报*, 2016, 35(3): 342-346.
Zhao XY, Fu XF, Li J, *et al.* Determination of Salicin, a characteristic component of poplar tree gum by HPLC-LTQ-orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. *J Instr Anal*, 2016, 35(3): 342-346.
- [63] 马巍. 以水杨苷和 CCP 为参照的蜂胶中杨树胶检测方法分析[J]. *食品安全导刊*, 2018, (21): 130.
Ma W. Analysis of detection method of poplar tree gum in propolis based on salicin and CCP [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2018 (21): 130.
- [64] 张红城, 胡浩, 乔江涛, 等. 一种鉴别杨树型蜂胶与杨树胶的方法: CN, 201711383753. 5 [P]. 2017-12-20.
Zhang HC, Hu H, Qiao HT, *et al.* A method of distinguishing propolis and poplar tree gum: CN, 201711383753. 5 [P]. 2017-12-20.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



郜婉宁, 硕士, 主要研究方向为食品质量与控制
E-mail: kuaiwanning@stu.sdnu.edu.cn



耿 越, 教授, 主要研究方向为营养学与食品功能因子。
E-mail: gengyue@sdnu.edu.cn