DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260211003
引用格式: 赵姗姗, 安红梅, 武竹英, 等. OIBW64 特殊样品水中氧同位素平衡仪联用稳定同位素比值质谱法测定蜂蜜水中氧稳定同位素比值[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(16): 248–255.
Zhao Shanshan, An Hongmei, Wu Zhuying, et al. Determination of oxygen stable isotope ratio in water of honey by OIBW64 oxygen isotope balancing instrument in water of special samples coupled with stable isotope ratio mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(16): 248–255. (in Chinese with English abstract).

OIBW64 特殊样品水中氧同位素平衡仪联用稳定同位素比值质谱法测定蜂蜜水中氧稳定同位素比值

赵姗姗[1,2], 安红梅[1,2], 武竹英[1,2], 班 楠[3], 岳红卫[1,2], 李国辉[1,2], 王道兵[1,2,4*], 钟其顶[1,2*]

[1. 国家市场监督管理总局技术创新中心(轻工消费品质量安全), 北京 100015; 2. 中轻技术创新中心有限公司, 北京 100015; 3. 北京市产品质量监督检验研究院, 北京 101300; 4. 中轻检验认证(太原)有限公司, 太原 030404]

摘 要: 目的 建立一种高效、准确测定蜂蜜水中 $\delta^{18}O$ 值的方法, 并系统评估该方法在蜂蜜地理溯源与掺假鉴别中的适用性。**方法** 基于 OIBW64 特殊样品水中氧同位素平衡仪联用稳定同位素比值质谱法(OIBW64 oxygen isotope balancing instrument in water of special samples coupled with stable isotope ratio mass spectrometry, OIBW64-IRMS), 建立蜂蜜水中 $\delta^{18}O$ 值的测定方法, 通过乙醇溶解、CO_2-H_2O 平衡及自动进样系统, 实现样品前处理与测定流程的一体化与自动化。通过模拟掺假实验研究蜂蜜水中 $\delta^{18}O$ 值与掺假量的相关性, 并分析了我国 11 个省份、涵盖 9 个品种的 31 份蜂蜜样品。**结果** 该方法进样稳定性好、反应体系气密性高、乙醇及样品含水量对测定结果无影响, 且测定结果与主流分析技术高度一致[决定系数(r^2)>0.999]。模拟掺假实验中, 蜂蜜水中 $\delta^{18}O$ 值与大米糖浆添加比例呈高度线性相关(Y=0.0956X–8.0719, r^2=0.9903), 该技术具有鉴定掺假与定量分析的可能性。样品分析显示, 不同产地蜂蜜的水中 $\delta^{18}O$ 值存在显著地理差异, 且蜜源植物蒸腾特征、采蜜期、成熟度等也会对其水中 $\delta^{18}O$ 产生影响。**结论** 本研究建立的 OIBW64-IRMS 方法稳定可靠, 准确性高, 适用于蜂蜜水中 $\delta^{18}O$ 值分析。蜂蜜水中 $\delta^{18}O$ 值不仅显示出其在鉴别 C3 植物源糖浆掺假方面的应用潜力, 也可作为表征产地特征、植物特性的潜在指标, 为研究蜂蜜产品的真实性问题提供了新的技术手段。

关键词: 蜂蜜; 水中 $\delta^{18}O$ 值; OIBW64 特殊样品水; 氧同位素平衡仪; 稳定同位素比值质谱法; 产地溯源; 掺假鉴别

中图分类号: TS207.3 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)16–0248–08

收稿日期: 2026-02-11

基金项目: 国家重点研发计划项目(2024YFE0102900)

第一作者: 赵姗姗(1990—), 女, 硕士, 初级工程师, 主要研究方向为食品真实性检测。E-mail: 1356184034@qq.com

***通信作者:** 王道兵(1987—), 男, 博士, 正高级工程师, 主要研究方向为食品真实性检测。E-mail: wangdaobing111@163.com
钟其顶(1980—), 男, 博士, 正高级工程师, 主要研究方向为食品真实性检测。E-mail: zhongqiding@163.com

Determination of oxygen stable isotope ratio in water of honey by OIBW64 oxygen isotope balancing instrument in water of special samples coupled with stable isotope ratio mass spectrometry

ZHAO Shan-Shan[1,2], AN Hong-Mei[1,2], WU Zhu-Ying[1,2], BAN Nan[3], YUE Hong-Wei[1,2], LI Guo-Hui[1,2], WANG Dao-Bing[1,2,4*], ZHONG Qi-Ding[1,2*]

[1. *Technology Innovation Center of Light Industrial Consumer Goods Quality and Safety for State Market Regulation*, *Beijing* 100015, *China*; 2. *Sinolight Technology Innovation Center Co*., *Ltd*., *Beijing* 100015, *China*; 3. *Beijing Products Quality Supervision and Inspection Institute*, *Beijing* 101300, *China*; 4. *Sinolight Inspection* & *Certification* (*Taiyuan*) *Co*., *Ltd*., *Taiyuan* 030404, *China*]

ABSTRACT: Objective　To establish an efficient and accurate method for determining of δ^{18}O values in water of honey, and systematically evaluate the applicability of this method in the geographical traceability and adulteration identification of honey. **Methods**　A method for the determination of δ^{18}O values in honey water was established based on the OIBW64 oxygen isotope balancing instrument in water of special samples coupled with stable isotope ratio mass spectrometry (OIBW64-IRMS). Integration and automation of sample pretreatment and measurement procedures were realized via ethanol dissolution, CO_2-H_2O equilibration and an auto-sampling system. The correlation between δ^{18}O values in honey water and adulteration proportion was investigated through simulated adulteration experiments. Furthermore, 31 honey samples covering 9 varieties and collected from 11 provinces across China were analyzed. **Results**　This method had good injection stability, high gas tightness of the reaction system, no influence of ethanol and sample moisture content on the determination results, and the determination results were highly consistent with the mainstream analytical techniques [coefficient of determination (r^2)>0.999]. In the simulated adulteration experiment, there was a highly linear correlation between the δ^{18}O value in water of honey and the proportion of rice syrup added (Y=0.0956X–8.0719, r^2=0.9903). This technique had the potential to identify adulteration and perform quantitative analysis. Sample analysis showed that there were significant geographical differences in the δ^{18}O values in water of honey from different origins, and the transpiration characteristics, honey harvesting period, maturity, and other factors of honey source plants could also affect their δ^{18}O values in water. **Conclusion**　The OIBW64-IRMS method established in this study is stable, reliable and highly accurate, and is suitable for the analysis of δ^{18}O values in water of honey. The δ^{18}O value in water of honey not only demonstrates its potential application in identifying adulteration of C3 plant-based syrup, but also serves as a potential indicator for characterizing the characteristics of the production area and plants. This provides a new technical means for studying the authenticity of honey products.

KEY WORDS: honey; δ^{18}O value in water; OIBW64 special samples water; oxygen isotope balancing instrument; stable isotope ratio mass spectrometry; origin traceability; adulteration identification

0　引　言

蜂蜜作为天然食品, 在人类营养与健康领域具有多样作用。它不仅是供能物质与天然甜味成分, 更含有丰富的酶、维生素、矿物质以及其他生物活性成分, 因此常被用于营养强化、日常养护和辅助治疗[1–2]。无论是在传统医学还是当代功能食品研究中, 蜂蜜均被证实具有清除自由基、抑制微生物、加速组织修复以及调节机体免疫等作用[3–5]。蜂蜜特殊的组成与多重功效, 使其成为连接农业产出、食品产业与人体健康的重要桥梁[6]。市场需求的增长让蜂蜜以次充好、掺假伪造现象日益凸显, 尤其是外源植物糖浆的添加, 使传统检测方法面临挑战[7]。稳定同位素分析技术因其能反映生物代谢过程与环境信息, 已成为食品真实性溯源的有效工具[8–12], 同时, 它在揭示蜂蜜地理来源、掺假等方面具有重要潜力[13–14]。在掺假鉴别方面, 碳同位素是检测 C4 植物糖浆掺假的核心指标[15–16]。然而, 当添加甜菜糖等与蜜源植物同属 C3 植物糖时, 碳同位素技术失去作用, 因此, 亟需建立更加科学、有效的真实性检验方法鉴别蜂蜜掺假。

蜂蜜中水分约占 17%~20%, 这部分水主要源于蜜蜂采集的植物花蜜。因此蜂蜜的水中氧同位素组成直接继承了植物水体的 δ^{18}O 值特征, 并受到温度、湿度、海拔、纬度等环境因子的调控, 从而与产地大气降水的 δ^{18}O 值表现出显著相关性[17–18], 这一特性为利用水中氧同位素进行蜂

蜜地理溯源和掺假鉴别提供理论基础。Kalashnikova 等[14]对俄罗斯不同气候特征地区采集的蜂蜜样本的氢、氧和碳稳定同位素比值进行了分析, 蜂蜜中的平均 δ^2H 和 δ^{18}O 值在很大程度上与蜂蜜产地的大气降水 δ^2H 和 δ^{18}O 平均值相关, 类似方法在我国不同产区蜂蜜的鉴别中也表现出良好的适用性与区分效果[19]。上述成果为利用水中氧同位素开展蜂蜜产地认证与真实性保障奠定了坚实的技术基础。Magdas 等[20]测定了罗马尼亚和法国蜂蜜的水中氧同位素比值, 研究发现蜂蜜的水中 δ^{18}O 值是有效的蜂蜜地理溯源指标, 其值与产地大气降水密切相关, 尤其适用于同一花种内不同产区的区分, 且蜂蜜的水中 δ^{18}O 指标在 LDA 和 SIMCA 模型中都是重要的地理判别指标。然而, 蜂蜜这种复杂基质的水中氧同位素比值测定时, 常用的前处理方法为低温真空蒸馏法提取水分, 该前处理方法设备复杂、通量有限, 不适用大规模筛查或常规检测中的应用[20]。因此, 亟需开发更快速、自动化程度更高的样品前处理与同位素分析联用技术。

本研究聚焦于蜂蜜这种复杂样品的水中 δ^{18}O 值的测定, 针对现有主流技术如离线 CO_2-H_2O 平衡法、多用途在线气体制备与导入系统-稳定同位素质谱仪(GasBench-isotope ratio mass spectrometry, GasBench-IRMS)、高温裂解元素分析仪-稳定同位素质谱仪(high temperature conversion elemental analysis-isotope ratio mass spectrometry, TCEA-IRMS)及激光光谱法等在复杂样品实际应用中存在的分析效率低、前处理复杂、仪器成本高昂或对复杂基质适应性不足等局限[20–24], 建立了一种专门适用于复杂液体基质分析的基于 OIBW64 特殊样品水中氧同位素平衡仪联用稳定同位素比值质谱技术(OIBW64 oxygen isotope balancing instrument in water of special samples coupled with stable isotope ratio mass spectrometry, OIBW64-IRMS)。基于该技术, 本研究构建并优化了适用于蜂蜜样品的水中 δ^{18}O 值的测定方法, 并通过方法学验证及实际样品分析, 系统考察了蜂蜜的水中氧同位素比值的分布特征, 旨在建立一种高效、准确且适用于复杂样品的水中 δ^{18}O 值分析新途径, 从而为蜂蜜地理溯源与真实性鉴别提供可靠的分析依据与数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

收集市售 31 个蜂蜜样品, 涵盖 11 个省份、9 个不同品种; 大米糖浆 2 份。样品信息见表 1。氦气、二氧化碳气体(纯度均≥99.999%, 河北凯昇气体有限公司); 无水乙醇(色谱纯, 德国默克公司); 蔗糖(优级纯, 西格玛奥德里奇贸易有限公司); 稳定同位素标准物质: USGS45 (δ^{18}O=–2.238‰) 、USGS47 (δ^{18}O=–19.80‰) 、USGS50 (δ^{18}O=4.95‰)(美国地质调查局); 实验室标准水样: WSD-6 (δ^{18}O=–7.00‰) 、WSD-7 (δ^{18}O=–19.05‰) 、WSD-8 (δ^{18}O=–0.54‰)(中轻技术创新中心有限公司); 蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司)。

表 1 样品信息

Table 1 Sample informations

样品品种	样品数量	标称产地
百花蜜	2	云南
	1	新疆
椴树蜜	2	吉林
	1	辽宁
	1	黑龙江
黄芪蜜	3	宁夏
葵花蜜	4	内蒙古
枣花蜜	4	河北
荆条蜜	3	河北
洋槐蜜	3	河北
荔枝蜜	2	广西
	2	广东
龙眼蜜	3	福建
大米糖浆	1	芜湖市同力食品有限公司

1.2 仪器与设备

CRA16 气体置换仪、OIBW64 特殊样品水中氧同位素平衡仪(配套全自动进样器和进样针)(北京中仪宇盛科技有限公司); Delta V Advantage 稳定同位素比值质谱仪(配套连续流接口, 德国赛默飞世尔科技公司); 20 mL 顶空进样瓶(配套顶空瓶塞, 江苏杰岛高新材料科技有限公司); XS205 天平(精度 0.1 mg, 瑞士 Mettler-Toledo 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

将蜂蜜与乙醇按照 1:1 (*m*:*m*)的比例混匀, 静置分层。取上清液 4 g 移入 20 mL 顶空进样瓶, 使用钳口式密封盖压紧密封。利用 CRA16 气体置换仪通过导气针向瓶内充入 CO_2 标准气体, 吹扫 15 min 以排尽瓶内杂质气体。待置换完成后, 将顶空瓶倒置于 OIBW64 特殊样品水中氧同位素平衡仪, 设置水浴温度为 25 ℃, 振荡 8 h 以上, 使 CO_2 与水中的氧同位素达到交换平衡, 待测。

1.3.2 氧同位素比值的测定

利用自动进样器抽取顶空瓶内平衡后的气体 5 μL, 注入稳定同位素质谱仪, 每个样品瓶连续进样 10 次, 取后 6 次测定结果的平均值作为样品水中 δ^{18}O 的测定值, 每个样品重复平行测定 3 次。分析条件设定如下: 进样温度 40 ℃, 分流比 36:1, 氦气柱流量 1.3 mL/min, 吹扫流量 10 mL/min。

稳定氧同位素比率的计算是以已知同位素比率的国际通用的同位素测量标准为参照, 计算未知样本的稳定同

位素比率相对值。稳定同位素比值 δ 计算公式如(1)所示:

$$\delta^{18}O/‰=[(R_{样品}/R_{标准})-1]\times1000‰ \quad (1)$$

式中: $R_{样品}$为样品中重同位素和轻同位素之间的丰度比值, 即 $^{18}O/^{16}O$; $R_{标准}$为国际通用的同位素测量标准 V-SMOW 中重同位素与轻同位素丰度比。样品的稳定同位素比值经国际标准物质 USGS45、USGS47、USGS50 进行 3 点校正。

1.4　数据处理

利用 Excel 2021 对进样系统稳定性验证、反应瓶气密性、无水乙醇对样品水中氧比值测定的影响、含水量对样品水中氧比值测定的影响等实验数据进行统计学分析; Origin 2025b 对 OIBW64-IRMS 的方法准确性验证及蜂蜜掺假做相关性图, 并构建不同品种蜂蜜的箱型图, 直观反映样本分布与差异特征。

2　结果与分析

2.1　进样系统稳定性验证

进样系统的稳定性是确保质谱分析准确度与精密度的前提。样品引入的一致性直接影响实验数据的可靠性; 若进样系统出现波动, 可能对分析结果造成影响[25]。为评估系统稳定性, 实验采用标准 CO_2 气体为研究对象, 参照 1.3.2 所述方法进行检测。由表 2 数据可知, 10 次进样中标准 CO_2 气体的离子流强度基本一致, $\delta^{18}O$ 测定值在误差允许范围内表现出良好的重复性, 标准偏差为 0.13‰。结果表明, 该进样系统运行稳定, 对分析精密度无显著影响。

2.2　反应瓶气密性

本研究测定蜂蜜水中的氧同位素比值是采用 CO_2-H_2O 平衡法。为防止反应瓶密封失效导致氧同位素分馏, 对反应体系的气密性进行了验证。以蒸馏水为研究对象, 进行气密性检验, 在平衡达到 8 h 后, 8~30 h 时间区间内进行梯度采样分析(表 3), 每个时间点平行测定 3 个样品。结果显示, 在此期间测得的 $\delta^{18}O$ 值高度一致, 8~30 h 内的标准偏差仅为 0.15‰。这表明所用反应瓶具备优异的密封完整性, 能够确保平衡反应在密封环境下进行, 有效避免了同位素分馏对测定结果的干扰。

表 2　OIBW64-IRMS 测定 CO_2 中 $\delta^{18}O$ 值的稳定性
Table 2　Stability of $\delta^{18}O$ values of CO_2 measured by OIBW64-IRMS

测定次数	信号量/mV	$\delta^{18}O$/‰
1	6533	–30.39
2	6606	–30.72
3	6603	–30.74
4	6592	–30.80
5	6577	–30.69
6	6600	–30.50
7	6572	–30.60
8	6533	–30.66
9	6641	–30.54
10	6652	–30.47

2.3　无水乙醇对样品水中氧比值测定的影响

利用稳定同位素质谱法测定水中氧同位素比值时, 其核心在于监测质荷比(m/z)为 44、45 和 46 的 CO_2 离子流。由于乙醇分子的相对分子质量同样为 46, 若其在测定过程中挥发并进入离子源, 将会对检测结果产生直接干扰。由于本研究采用无水乙醇作为溶剂, 须评估乙醇对 $\delta^{18}O$ 测定的影响。采用蒸馏水配制乙醇浓度为 10%至 90%的溶液各 3 个平行, 并测定其水中 $\delta^{18}O$ 值。结果如表 4 所示, 各乙醇浓度下的 $\delta^{18}O$ 值均在误差允许范围内保持稳定, 平均值为–7.05‰, 标准偏差为 0.18‰。表明乙醇作为蜂蜜的稀释溶剂在蜂蜜的水中 $\delta^{18}O$ 值测定中具有适用性, 乙醇的存在不会对实验结果造成显著影响。

表 3　反应 8~30 h 内蒸馏水的 $\delta^{18}O$ 值
Table 3　$\delta^{18}O$ value of distilled water within 8–30 hours of reaction

反应时间/h	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
$\delta^{18}O$/‰	–7.02 ±0.08	–7.05 ±0.10	–6.81 ±0.05	–6.93 ±0.13	–6.93 ±0.09	–7.12 ±0.10	–6.71 ±0.07	–7.15 ±0.11	–6.75 ±0.12	–7.06 ±0.08	–7.08 ±0.13	–7.04 ±0.06
反应时间/h	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
$\delta^{18}O$/‰	–7.1 ±0.10	–7.12 ±0.09	–6.79 ±0.14	–6.99 ±0.08	–6.98 ±0.11	–6.71 ±0.14	–6.74 ±0.11	–6.95 ±0.07	–7.17 ±0.05	–6.94 ±0.06	–7.16 ±0.09	

2.4　含水量对样品水中氧比值测定的影响

水是蜂蜜中含量最多的无机物, 约占蜂蜜 16%~25%[26], 为探究蜂蜜含水量与水中氧同位素比值的内在关联, 本研究以实验室纯水为溶剂, 配制含水量分别为 15%、18%、20%、23%和 25%的蔗糖糖浆各 3 个平行, 以此模拟不同含水率的蜂蜜样品。在对上述系列样品进行氧同位素分析后, 不同含水率蔗糖糖浆中水体的 $\delta^{18}O$ 值并未呈现出明显差异, 平均值为–7.05‰, 其标准偏差仅为 0.07‰(表 5)。表明蜂蜜自身的含水量变化并不会对水中 $\delta^{18}O$ 值的测定结果产生显著干扰, 从而验证了该方法在不

同含水率蜂蜜样品检测中的稳定性与适用性。

表 4 不同乙醇含量的水中 $\delta^{18}O$ 值
Table 4 $\delta^{18}O$ value of water with different ethanol content

序号	乙醇含量/%	蒸馏水/‰
1	10	–7.27±0.14
2	20	–7.20±0.15
3	30	–7.06±0.13
4	40	–7.13±0.14
5	50	–7.04±0.12
6	60	–6.90±0.09
7	70	–6.72±0.09
8	80	–6.89±0.10
9	90	–7.27±0.15

表 5 不同水分含量的蔗糖水中 $\delta^{18}O$ 值
Table 5 $\delta^{18}O$ value of water in sucrose with different moisture content

序号	含水量/%	蔗糖糖浆/‰
1	15	–7.11±0.10
2	18	–7.11±0.08
3	20	–7.07±0.08
4	23	–7.01±0.06
5	25	–6.95±0.07

2.5 方法准确性

为评估 OIBW64-IRMS 测定水中 $\delta^{18}O$ 值的准确性，本研究选取实验室标准水样 WSD-6、WSD-7 和 WSD-8，分别采用 OIBW64-IRMS、TCEA-IRMS、GasBench II-IRMS 以及离线平衡联用气相色谱-稳定同位素比值质谱法(gas chromatography-isotope ratio mass spectrometry, GC-IRMS)进行对比分析。以各技术对 WSD-6、WSD-7 和 WSD-83 种水样各 6 个平行样品的测定的 $\delta^{18}O$ 值平均值为横坐标，以 OIBW64-IRMS 对上述水样 6 个平行样品测定的 $\delta^{18}O$ 值平均值为纵坐标，将不同方法的测定结果与基准 OIBW64-IRMS 测定结果进行线性回归分析。结果显示，3 种方法的测定结果与 OIBW64-IRMS 均呈现极强的线性相关关系: TCEA-IRMS 方法的回归方程为 Y=1.0431X+0.1218，决定系数 r^2=0.9996; GasBench II-IRMS 方法的回归方程为 Y=1.0111X+0.1803，决定系数 r^2=1; GC-IRMS 方法的回归方程为 Y=1.0082X+0.1095，决定系数 r^2=1。系数均不低于 0.999，表明 OIBW64-IRMS 的测定值与其他 3 种技术的测定值均呈现良好相关性，不存在系统性偏差，该结果验证了 OIBW64-IRMS 技术在测定水中 $\delta^{18}O$ 值方面具有较高的准确性与可靠性。本研究仅通过纯水标准水样验证了 OIBW64-IRMS 与 TCEA-IRMS、GasBench II-IRMS 及 GC-IRMS 方法的一致性，尚未在蜂蜜-乙醇复杂基质中开展方法学比对。因此，本研究中纯水体系的方法学验证结果尚不能完全外推至蜂蜜基质。后续将进一步开展蜂蜜实际样品的多方法平行测定，以更全面地评估 OIBW64-IRMS 技术在蜂蜜 $\delta^{18}O$ 分析中的适用性。

2.6 实际应用

2.6.1 蜂蜜掺假鉴别中的应用

为检验 OIBW64-IRMS 在蜂蜜鉴别中的应用效果，选择天然椴树蜜(水中 $\delta^{18}O$=–8.10‰)和大米糖浆(水中 $\delta^{18}O$=1.00‰)为研究对象，将糖浆与蜂蜜按质量比 2:8、4:6、6:4、8:2 进行梯度混合并充分均质，最终获得大米糖浆质量分数为 0%(纯蜂蜜)、20%、40%、60%、80%和 100%(纯糖浆)的系列模拟样品，并测定其水中 $\delta^{18}O$ 值，以大米糖浆掺入比例为横坐标(X)，模拟样品的水中 $\delta^{18}O$ 平均值和标准偏差为纵坐标(Y)，绘制标准曲线。所得标准曲线方程为 Y=0.0956X–8.0719，决定系数 r^2=0.9903，表明样品水中 $\delta^{18}O$ 值与糖浆添加比例之间具有相关性，具体相关性与蜂蜜及糖浆的水中 $\delta^{18}O$ 值有关，不同来源、不同工艺的 C3 糖浆和蜂蜜的水中 $\delta^{18}O$ 值可能存在差异，本模型的定量应用需要针对具体糖浆建立相应标准曲线。因此，在本研究条件下，该方法在掺假区间内显示出良好的鉴别能力，可视为一种有潜力的技术手段，为蜂蜜真实性监管与掺伪定量分析提供了支持。

2.6.2 蜂蜜样品的水中氧同位素比值分析

利用 OIBW64-IRMS 测定市售蜂蜜的水中氧同位素分布特征，实验数据(表 6)显示，蜂蜜的水中 $\delta^{18}O$ 值范围分布较广，从约–1‰到–11‰，结果较分散。这是由于多种原因造成的。首先可能是产地的影响，新疆产区蜂蜜的水中 $\delta^{18}O$ 值最低，这可能与新疆距海洋较远及降水有关，新疆与最近海洋之间的距离约 2250 km，采样当年平均降水量为 152.2 mm，随着水汽从海洋向内陆输送，含有重同位素 ^{18}O 的水分子优先凝结并降落，导致深入内陆的降水极度贫化 ^{18}O，使得植物水中的氧同位素比值较低[27–28]。东北地区(黑龙江、吉林、辽宁)和内蒙古蜂蜜的水中 $\delta^{18}O$ 均值明显低于河北和华南地区(广东、福建)。采样当年河北、广东、福建的平均气温分别为 12.6、22.7、20.2 ℃；而东北地区地处北纬 40°~54°，内蒙古位于北纬 37°24′~53°23′，纬度较高，气温降低，东北地区平均气温低于 11 ℃，内蒙古平均气温为 5.8 ℃。根据同位素分馏规律，气温每降低 1 ℃，降水中的 $\delta^{18}O$ 值约下降 0.6‰，使得植物吸收的土壤水具有较低的同位素比值[29–31]。云南地区地处北纬 21°8′~29°15′，虽然纬度较低，但其蜂蜜的水中 $\delta^{18}O$ 均值却低于纬度更高的河北、宁夏，因为相较于河北、宁夏，云南海拔较高，平均海拔为 1892 米，随着海拔升高，降水中的重同位素会迅速减少，使其土壤水中 $\delta^{18}O$ 值较低[29]。由此可见，蜂蜜的水中 $\delta^{18}O$ 值通常会受到植物产地经度、纬度、海拔、降水等多方面因素的影响。内蒙古葵花蜜 4 个样本从–10.60‰到–4.05‰，跨度达 6.55‰。虽然气候多变

可能造成差异, 但如此大的跨度在同一产区同种蜜中不常见, 因此怀疑有的样品被人为掺入了水中 δ^{18}O 值偏正或者偏负的 C3 植物糖浆, 此外, 本研究每个产地样本量偏少, 难以客观反映其天然同位素分布特征, 后续将进一步扩充样本采集规模, 构建数据库, 并结合多同位素联用技术开展综合溯源与掺假判别分析。

表 6　不同产地蜂蜜样品中水的 δ^{18}O 值(‰)

Table 6　δ^{18}O values in water of honey samples from different origins (‰)

产地	蜂蜜数量	原始测定值/平均值	标准偏差	最小值	中位数	最大值
新疆	1	–10.75	/	–10.75	–10.75	–10.75
辽宁	1	–8.10	/	–8.10	–8.10	–8.10
黑龙江	1	–6.44	/	–6.44	–6.44	–6.44
吉林	2	–6.16	2.07	–7.62	–6.16	–4.69
云南	2	–6.06	1.47	–7.10	–6.06	–5.02
内蒙古	4	–6.00	3.08	–10.60	–4.68	–4.05
广东	2	–5.36	0.71	–5.86	–5.36	–4.86
广西	2	–3.72	0.40	–4.00	–3.72	–3.44
宁夏	3	–3.80	1.00	–4.94	–3.36	–3.09
河北	10	–3.19	1.69	–6.07	–2.53	–1.46
福建	3	–1.99	0.06	–2.06	–1.97	–1.95

注: 原始测定值/平均值列中, 蜂蜜数量为 1 时, 数据为样品的原始测定值, 蜂蜜数量≥2 时, 数据为对应产地所有样品 δ^{18}O 值的算术平均值。/表示无此项。

同时, 不同品种蜂蜜样品的水中氧同位素比值的箱型图(图 1)可以看出, 不同品种蜂蜜的水中 δ^{18}O 值有差异。植物的水分利用过程均起始于根系对水分的吸收, 在根压与蒸腾作用产生的拉力共同驱动下, 土壤水、降水、地表径流或地下水等水源进入植物根部, 通过木质部的导管或管胞向上输送, 分配至叶片及其他组织, 这些水分最终主要通过蒸腾、蒸发等作用释放到大气中[32]。不同的蜜源植物因其生理结构、生长环境和水分利用策略的差异, 蒸腾、蒸发作用强度不同, 导致同等利用地下水时对 δ^{18}O 的富集不同[33]。例如, 龙眼为常绿乔木, 在稳定湿润环境下, 气孔导度较高且稳定, 蒸腾作用持续且较强, 因此对 δ^{18}O 富集, 导致其值偏正。采蜜期也是导致蜂蜜的水中 δ^{18}O 值产生差异的关键自然因素之一。以洋槐蜂蜜为例, 洋槐花期集中于 4 月至 5 月, 此时华北地区气候干燥、风力较强, 有利于花蜜中水分的蒸发。同时, 洋槐花结构较为开放, 进一步促进了水分散失。在此过程中, 较轻的同位素 δ^{16}O 更易挥发, 致使花蜜中残留水分显著富集 δ^{18}O, 最终导致所产蜂蜜的水中 δ^{18}O 值升高[34]。河北荆条蜜(–6.07‰至–2.10‰)与枣花蜜(–5.54‰至–2.12‰)均呈现较大变幅, 这可能与二者采收期较长、横跨不同季节密切相关, 也有可能存在人为掺假。此外, 蜂蜜的水中 δ^{18}O 值的差异, 还可能是因为在蜂蜜成熟过程中, 蜜蜂通过持续的扇风与酶解作用促使花蜜水分逐步蒸发[35], 因此, 不同阶段所测定的蜂蜜的水中 δ^{18}O 值呈动态变化。

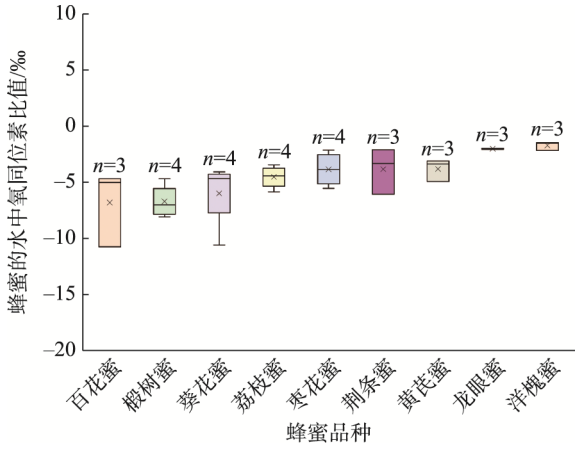


图 1　不同品种蜂蜜样品中水的 δ^{18}O 值分布

Fig.1　Distribution of δ^{18}O values in water of different varieties of honey samples

对蜂蜜的水中 δ^{18}O 值的系统分析, 初步显示了蜂蜜水中 δ^{18}O 值可能受到产地经纬度、海拔、降水等地理气候因素, 以及蜜源植物蒸腾特征、采蜜期、成熟度等因素影响。然而, 部分结论受限于样本量, 可能影响统计显著性与代表性。同时, 数据中出现的某些异常波动提示可能存在人为掺假情况, 需结合其他技术进一步验证。上述发现为蜂蜜的地理溯源与真实性鉴别提供了关键同位素依据, 后续可围绕异常样本开展多指标联合分析, 在扩大样本量的基础上, 建立更完善的产地同位素特征数据库。

3 结 论

本研究基于 OIBW64 特殊样品水平衡仪与稳定同位素比值质谱联用技术，建立了一种适用于蜂蜜这种复杂液体基质中水中氧同位素比值的高通量、高精度测定方法。经系统的方法学验证，该方法在进样稳定性、反应体系气密性、溶剂兼容性、方法适用性及与主流技术的一致性方面均表现优异，为蜂蜜真实性研究提供了稳定可靠的分析工具。利用建立的方法进行掺假模拟实验，结果显示，蜂蜜水中 $\delta^{18}O$ 值与糖浆添加量呈高度线性相关趋势，在已知原蜜本底值的前提下，该方法可用于掺伪的定量估算；对于未知盲样，则可通过 $\delta^{18}O$ 的异常偏离实现初步的定性筛查。同时对我国 11 个省份、9 个品种共计 31 份蜂蜜样品进行系统分析。结果表明，蜂蜜的水中 $\delta^{18}O$ 值可能受产地经纬度、海拔、降水等地理气候因素，以及蜜源植物蒸腾特征、采蜜期、成熟度等多重自然因素的影响。因此，水中 $\delta^{18}O$ 值可与其他指标(如 $\delta^{13}C$)联合使用，作为判断蜂蜜产地及识别 C3 植物源糖浆掺假的潜在指标，在一定程度上能够补充传统碳稳定同位素分析方法的不足，为蜂蜜的地理溯源与真实性鉴别提供了关键同位素依据。本研究受限于样本量不足，未来可围绕异常样本开展多指标联合分析，扩大样本量，构建更完备的样本数据库，并在此基础上开发系统性的鉴别方法，以更有效地解决掺假问题。

参考文献

[1] Bogdanov S, Jurendic T, Sieber R, et al. Honey for nutrition and health: a review [J]. Journal of the American College of Nutrition, 2008, 27(6): 677–689.

[2] Eteraf-Oskouei T, Najafi M. Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: a review [J]. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 2013, 16(6): 731–742.

[3] Alvarez-Suarez J M, Giampieri F, Battino M. Honey as a source of dietary antioxidants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases [J]. Current Medicinal Chemistry, 2013, 20(5): 621–638.

[4] Mandal M D, Mandal S. Honey: its medicinal property and antibacterial activity [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2011, 1(2): 154–160.

[5] Martinotti S, Ranzato E. Honey, wound repair and regenerative medicine [J]. Journal of Functional Biomaterials, 2018, 9(2): 34.

[6] da Silva P M, Gauche C, Gonzaga L V, et al. Honey: chemical composition, stability and authenticity [J]. Food Chemistry, 2016, 196: 309–323.

[7] 隋丽敏. 检测蜂蜜中掺入外源植物糖浆的研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2011: 6–8.
Sui Limin. Studies on research of detecting exogenous plant syrups in the honey [D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2011: 6–8.

[8] 李信萍, 刘亚新, 齐鹏宇, 等. 基于稳定同位素的葡萄酒掺糖鉴别技术研究进展[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2022(6): 96–103.
Li Xinping, Liu Yaxin, Qi Pengyu, et al. Research progress of wine sugar identification based on stable isotope technique [J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2022(6): 96–103.

[9] Gherghely I, Rácz-Fazakas T, Gór C, et al. Effect of the production site on stable isotopes of ethanol in fruit spirits [J]. Talanta Open, 2022, 5: 100107.

[10] Feng Di, Wang Daobing, Wang Dongliang, et al. Stable isotope ratio analysis of carbon to distinguish sialic acid from freshly stewed bird's nest products [J]. Analytical Methods, 2022, 14(43): 4386–4392.

[11] 易冰清, 郭秀秀, 颜治, 等. 乳制品掺假现状与稳定同位素鉴别技术研究进展[J]. 同位素, 2020, 33(5): 293–303.
Yi Bingqing, Guo Xiuxiu, Yan Zhi, et al. Status of adulteration of dairy products and research process of stable isotopes identification technology [J]. Journal of Isotopes, 2020, 33(5): 293–303.

[12] 马玉华, 唐方东, 刘佳煜, 等. 稳定同位素比技术用于橄榄油的掺假鉴定[J]. 质谱学报, 2021, 42(2): 189–196.
Ma Yuhua, Tang Fangdong, Liu Jiayu, et al. Olive oil adulteration identification using stable isotope ratio technique [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2021, 42(2): 189–196.

[13] 佘僧, 李熠, 宋洪波, 等. 稳定同位素技术在蜂蜜真实性溯源中的研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(17): 300–304, 308.
She Seng, Li Yi, Song Hongbo, et al. Research progress of stable isotope ratio mass spectrometry for authenticity and traceability in honey [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(17): 300–304, 308.

[14] Kalashnikova D A, Simonova G V. Stable isotope ratios (H, C, O) of honey samples from different regions of Russia [J]. Journal of Analytical Chemistry, 2022, 77(12): 1612–1620.

[15] 陈亚威, 张业鹏. 元素分析仪与质谱仪联用鉴定蜂蜜掺假的研究[J]. 湖北工业大学学报, 2017, 32(2): 21–23, 28.
Chen Yawei, Zhang Yepeng. Element analyzer with a stable isotope ratio massspectrometry combined with identification of adulteration in honey [J]. Journal of Hubei University of Technology, 2017, 32(2): 21–23, 28.

[16] 刘涛, 邱险辉, 贾艳艳, 等. 碳同位素比率法检测分析市售蜂蜜碳-4 糖浆的掺假情况[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(19): 6952–6955.
Liu Tao, Qiu Xianhui, Jia Yanyan, et al. Detection and analysis of adulteration of carbon-4 syrup in honey by carbon isotope ratio method [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(19): 6952–6955.

[17] 谭阳, 刘志, 韩燕, 等. 青海高原油菜蜜稳定同位素产地特征与环境响应机制研究[J]. 核农学报, 2021, 35(3): 635–642.
Tan Yang, Liu Zhi, Han Yan, et al. Stable isotope signatures of rape honey in Qinghai Province and their response mechanisms to environmental factors [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2021, 35(3): 635–642.

[18] Suzuki Y. Achieving food authenticity and traceability using an analytical method focusing on stable isotope analysis [J]. Analytical Sciences, 2021, 37(1): 189–199.

[19] Li An, Yang Jialin, Ju Yanjun, et al. Multiple stable isotopes characterization as a tool for determination of the geographical origin of honey in Northern China [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2026, 149: 108800.

[20] Magdas D A, Guyon F, Puscas R, et al. Applications of emerging stable isotopes and elemental markers for geographical and varietal recognition of Romanian and French honeys [J]. Food Chemistry, 2021, 334: 127599.

[21] Epstein S, Mayeda T. Variation of ^{18}O content of waters from natural sources [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1953, 4(5): 213–224.

[22] Gehre M, Geilmann H, Richter J, et al. Continuous flow 2H/1H and $^{18}O/^{16}O$ analysis of water samples with dual inlet precision [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2004, 18(22): 2650–2660.

[23] 王磊. 牛乳稳定同位素分布特征及其应用研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2014: 37.
Wang Lei. Distribution characteiustics and application of the stable isotope composition in milk [D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2014: 37.

[24] West A G, February E C, Bowen G J. Spatial analysis of hydrogen and oxygen stable isotopes (“isoscapes”) in ground water and tap water across South Africa [J]. Journal of Geochemical Exploration, 2014, 145: 213–222.

[25] 刘文贵. 关于同位素质谱仪的系统稳定性[J]. 质谱学报, 2001, 22(2): 64–68.
Liu Wengui. System stability of the isotope mass spectrometers [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2001, 22(2): 64–68.

[26] Machado De-Melo A A, de Almeida-Muradian L B, Sancho M T, et al. Composition and properties of *Apis mellifera* honey: a review [J]. Journal of Apicultural Research, 2018, 57(1): 5–37.

[27] Craig H. Isotopic variations in meteoric waters [J]. Science, 1961, 133(3465): 1702–1703.

[28] Vodila G, Palcsu L, Futó I, et al. A 9-year record of stable isotope ratios of precipitation in Eastern Hungary: implications on isotope hydrology and regional palaeoclimatology [J]. Journal of Hydrology, 2011, 400(1–2): 144–153.

[29] Ruppenthal M, Oelmann Y, Wilcke W. Isotope ratios of nonexchangeable hydrogen in soils from different climate zones [J]. Geoderma, 2010, 155(3–4): 231–241.

[30] Robertson J A, Gazis C A. An oxygen isotope study of seasonal trends in soil water fluxes at two sites along a climate gradient in Washington state (USA) [J]. Journal of Hydrology, 2006, 328(1–2): 375–387.

[31] Siyuan H, Richards K. Stable isotopes in monsoon precipitation and water vapour in Nagqu, Tibet, and their implications for monsoon moisture [J]. Journal of Hydrology, 2016, 540: 615–622.

[32] 刘飞, 刘攀, 曹铭, 等. 稳定同位素技术在植物水分关系研究中的应用综述[J]. 生态科学, 2020, 39(6): 224–232.
Liu Fei, Liu Pan, Cao Ming, et al. Review on applications of stable isotope technique in the study of plant and water relation [J]. Ecological Science, 2020, 39(6): 224–232.

[33] Saurer M, Siegwolf R, Borella S, et al. Environmental information from stable isotopes in tree rings of *Fagus sylvatica* [M]. Berlin/Heidelberg: Springer, 2005: 241–253.

[34] Farquhar G D, Lloyd J, Taylor J A, et al. Vegetation effects on the isotope composition of oxygen in atmospheric CO_2 [J]. Nature, 1993, 363(6428): 439–443.

[35] 李娜, 何志强, 姜澳, 等. 山乌桕蜂蜜在后成熟过程中的品质变化研究[J]. 中国蜂业, 2025, 76(9): 60–64.
Li Na, He Zhiqiang, Jiang Ao, et al. Study on quality changes of Sapium sebiferum honey during post-ripening [J]. Apiculture of China, 2025, 76(9): 60–64.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)