

# 激光诱导击穿光谱技术对工蜂体质微量元素的初步分析

吴小波<sup>1</sup>, 姚明印<sup>2</sup>, 林永增<sup>2</sup>, 韩旭<sup>1</sup>

(1. 江西农业大学蜜蜂研究所, 江西南昌 330045; 2. 江西农业大学生物光电技术及应用实验室, 江西南昌 330045)

**摘要:** 试验以中华蜜蜂和意大利蜜蜂为材料, 应用激光诱导击穿光谱技术对两蜂种工蜂 3 个生长阶段(初生蜂、哺育蜂、采集蜂) 体质主要微量元素进行初步定性和半定量分析。结果表明, 中华蜜蜂和意大利蜜蜂的初生蜂、哺育蜂及采集蜂体质中富含 Fe、Ca、Ba、Li、K、Na 等元素, 其中 Ca 元素的相对含量最高, 明显高于其他几种元素的相对含量。另外, 同种蜜蜂不同生长阶段及不同蜂种同一生长阶段中各元素的相对含量也不一样。因此, 激光诱导击穿光谱技术能够用于检测蜜蜂体质中的微量元素, 并具有快速的定性和半定量分析能力。

**关键词:** 激光诱导击穿光谱技术; 工蜂; 微量元素

中图分类号: S893

文献标识码: B

文章编号: 1671-7236(2012)12-0219-03

蜜蜂是重要的经济昆虫之一, 它不仅可以为人类提供营养丰富的蜂产品, 而且通过蜜蜂授粉使农作物产量增加, 改善品质, 还可以保护生物多样性, 维持生态平衡。研究人员对蜜蜂生物学特性、蜜蜂饲养管理及蜂产品生产与深加工等方面进行深入研究。然而, 关于蜜蜂的营养需求及蜜蜂个体体质微量元素的分析相对较少, 特别是对中国特有的蜜蜂资源——中华蜜蜂, 主要原因在于目前微量元素的检测方法——原子吸收光谱法, 相对比较复杂, 而且每次样品的检测也仅对某一种元素进行分析, 这也制约了蜜蜂体质微量元素的深入研究与分析。激光诱导击穿光谱技术(laser induced breakdown spectroscopy, LIBS)是一种全新的物质元素分析方法, 它具有不需要对检测样品进行预处理, 强激光可以击穿任何物质, 信息量大, 并可以同时多种元素进行定性和定量分析的优点。目前 LIBS 技术广泛应用于农产品检测中(刘木华, 2011)。张大成等(2008, 2009)利用激光诱导击穿光谱进行了 3 种水果样品中微量元素及百合与土豆中微量元素的分析; 李秋连等(2011)和张旭等(2012)分别应用激光诱导击穿光谱分析了脐橙中的金属元素和海带中铬的含量, 并验证了方法的可行性。然而, 国内外利用

LIBS 技术对蜜蜂体内微量元素的研究鲜有报道。因此, 本试验拟采用激光诱导击穿光谱技术对蜜蜂工蜂个体中体质微量元素进行初步分析, 以探索 LIBS 在该领域应用的可行性, 为进一步研究打下基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品采集** 试验样品来自江西农业大学蜜蜂研究所饲养的中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)和意大利蜜蜂(*Apis mellifera ligustica*)。分别选取两蜂种刚出房的工蜂、育王框中饲喂幼虫的哺育蜂及巢门口带有花粉团的采集蜂(剔除蜜蜂腿部的花粉团)各 25 只, 每 5 只蜜蜂为 1 个试验样品, 5 个平行样, 所有蜜蜂样品放入  $-80^{\circ}\text{C}$  冷冻保存 10 min。考虑到蜜蜂个体不同身体部位微量元素的差异性, 在液氮条件下对蜜蜂个体进行研磨处理, 并把粉碎后的样品放入瓶中待检测分析。

**1.1.2 试验装置** 试验采用的激光诱导击穿光谱试验装置示意图(徐媛等, 2011; 陈添兵等, 2012; Yao 等, 2012; Chen 等, 2012), 主要由调 Q 脉冲 Nd(YAG 激光器(Beamtech, Nimma-200, 镭宝, 北京)、光纤光谱仪(AvaSpec-2048FT-8RM, 爱万提斯, 法国)、内部集成 2048 像素的 CCD 探测器、高精密度字延时发生器 DG535(SRS 公司, 美国)、二维精密移动平台(卓立汉光, 北京)和计算机 5 部分组成。激光器工作波长为 1064 nm, 脉宽为 8 ns, 频率为 2 Hz, 单脉冲最大输出能量为 200 MJ。本次试验选择经过优化后的激光能量 110 MJ, 延迟时间 1.1  $\mu\text{s}$ 。

收稿日期: 2012-05-16

作者简介: 吴小波(1983-), 男, 江西人, 博士生, 讲师, 主要从事蜜蜂科学教学与研究工作。

基金项目: 国家公益性行业专项(200903006); 国家自然科学基金项目(30972052)。

快触发型通道光纤光谱仪采用外触发采样方式工作,是由 DG535 提供脉冲信号进行触发工作的,测量波长范围为 200 ~ 1050 nm,分辨率为 0.06 ~ 0.13 nm,积分时间为 2 ms。工作中,脉冲激光光束通过一个 450 °C 的反射镜和一个焦距 100 mm 的凸透镜后聚焦到样品表面产生激光等离子体,试验样品放在二维精密旋转移动平台上,避免激光脉冲打在样品的同一点,光纤探头收集等离子体是通过一个特制的穿孔反射镜反射到水平面,传导到光谱仪入口,再由数据线传输到计算机中记录存储。

**1.2 方法** 将粉碎后中华蜜蜂和意大利蜜蜂样品表面抹平,然后放入仪器的旋转位移平台上,用激光作用在样品表面的不同位置上,避免样品局部出现严重烧损,同时检测样品的不同区域,有利于样品检测的均一性,在一定程度上减少了由于样品成分不均匀所造成的点测量的缺陷。激光与样品作用后产生等离子体,其发射光谱信号由光纤传导进入光谱仪,再由数据线传输到计算机中记录存储。对于每个检测样品,分别采集 10 个等离子体激光光谱,每幅光谱图均是 100 次激光脉冲作用在样品表面不同点的平均结果。

**2 结果与分析**

**2.1 蜜蜂体质微量元素定性分析** 参照美国 NIST 原子光谱数据库,并查阅相关文献仔细鉴别分析。由表 1 可知,得到中华蜜蜂和意大利蜜蜂样

表 1 中华蜜蜂和意大利蜜蜂样品的 LIBS 光谱谱线

波长( nm)	元素种类
415.74	CN
421.05	Fe( I)
422.66	Ca( I)
443.52	Fe( I)
444.648	N( I)
452.49	Ba( I)
459.90	Fe( I)
460.286	Li( I)
462.63	P( II)
742.44	N( I)
744.33	N( I)
746.94	N( I)
766.55	K( I)
769.92	K( I)
777.47	O( I)
818.37	Na( I)
824.34	N( I)
844.73	O( I)

品中 Fe( I)、Ca( I)、Ba( I)、P( II)、K( I)、Na( I) 等特征波长分别是 421.05、422.66、452.49、462.63、766.55、818.37 nm。Ca( I)、Fe( I)、Ba( I)、Li( I) 等特征波段分布于 400 ~ 470 nm 波段中,K( I)、Na( I) 特征波段分布于 720 ~ 850 nm (表 2)。

表 2 谱线选取表

波段( nm)	参考谱线( nm)	分析元素	特征谱线( nm)
400 ~ 470	N 444.648	Ca	422.66
		Fe	443.52
		Ba	452.49
		Li	460.29
720 ~ 850	N 742.440	K	766.55
		Na	818.37

**2.2 蜜蜂体质主要微量元素相对含量分析** 由于 N 元素是蜜蜂不同发育阶段中最基本的元素,而且随着不同环境和生理状态的不同而变化,因此蜜蜂体质样品分析应以 N 为参考元素。本试验在 400 ~ 470 nm 波段中选取 N 的参考谱线为 444.648 nm,在 720 ~ 850 nm 波段选取 N 的参考谱线为 742.440 nm,比较两蜂种蜜蜂工蜂个体不同阶段中主要元素 Ca、Fe、Ba、Li、K、Na 的相对强度见图 1。由图 1A 可知,中华蜜蜂 3 个时期工蜂在 400 ~ 470 nm 波段中 Ca 的相对含量明显高于 Fe、Ba、Li,且中华蜜蜂采集蜂中 Ca 的含量明显高于哺育蜂和初生蜂,初生蜂中 Ca 的相对含量最低;Fe、Ba、Li 3 种元素在初生蜂、哺育蜂内的相对含量接近,但采集蜂的这 3 种元素略高于初生蜂和哺育蜂。意大利蜜蜂 3 个时期工蜂在 400 ~ 470 nm 波段中 Ca 的相对含量也明显高于 Fe、Ba、Li,但不同的是意大利哺育蜂中 Ca 的相对含量明显高于初生蜂和采集蜂,初生蜂的相对含量最低;初生蜂 Fe、Ba、Li 的相对含量略高于采集蜂和哺育蜂(图 1B)。中华蜜蜂 3 个时期工蜂在 500 ~ 850 nm 波段中 K 的相对含量明显高于 Na,且哺育蜂中 K 和 Na 的含量明显高于采集蜂和初生蜂,初生蜂 K 和 Na 的相对含量最低(图 1A)。意大利蜜蜂 3 个时期工蜂在 500 ~ 850 nm 波段中 K 的相对含量也明显高于 Na,但采集蜂中 K 的相对含量高于哺育蜂和初生蜂,初生蜂含量最低;在 Na 的相对含量方面,初生蜂和哺育蜂中的含量高于采集蜂(图 1B)。

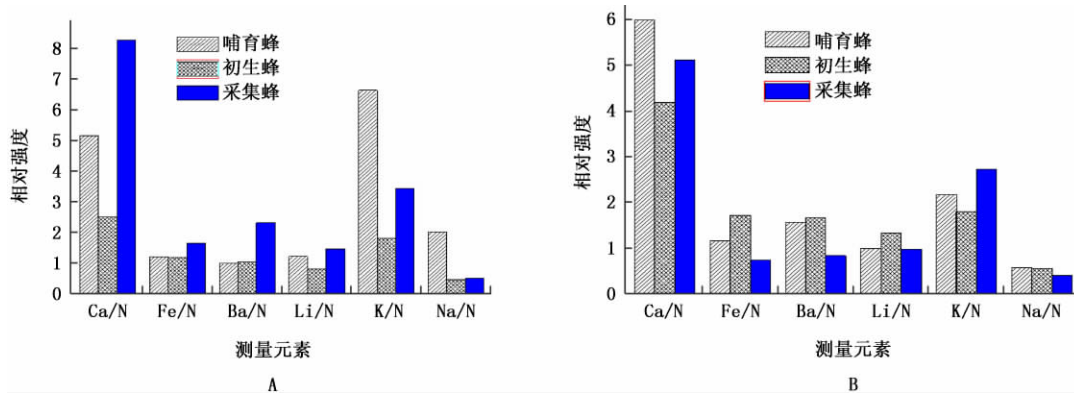


图 1 蜜蜂体质中主要微量元素的相对含量

注: A 为不同发育时期中华蜜蜂主要元素的相对含量; B 为不同发育时期意大利蜜蜂主要元素的相对含量。

### 3 讨论

应用激光诱导击穿光谱技术对中华蜜蜂和意大利蜜蜂两种工蜂个体中的微量元素进行了初步分析, 并发现主要微量元素为 Ca、Fe、Ba、Li、K、Na。对这些元素的相对含量进一步分析, 结果发现在两蜂种中 Ca 的相对含量较高, 主要原因在于蜜蜂个体体表是几丁质构成的。中华蜜蜂和意大利蜜蜂刚出房的初生蜂体内 Ca 的相对含量低于哺育蜂和采集蜂, 这可能是初生蜂体质柔弱, 几丁质未硬化。中华蜜蜂采集蜂中 Ca 的相对含量高于哺育蜂, 而意大利蜜蜂采集蜂中 Ca 的相对含量却低于哺育蜂, 这可能是种质差异, 因为意大利蜜蜂个体比中华蜜蜂大, 体内 Ca 的绝对含量与 N 的绝对含量比例不一致。另外, 在体质 K 的相对含量方面, 意大利蜜蜂初生蜂和中华蜜蜂初生蜂的相对含量相近, 但中华蜜蜂哺育蜂中的含量高于采集蜂, 而意大利蜜蜂采集蜂中的含量却高于哺育蜂, 其具体原因有待于进一步研究与分析。

#### 参 考 文 献

1 刘木华. 农产品质量安全光学无损检测技术及应用[M]. 武汉: 华

中科技大学出版社 2011.

2 张大成, 马新文, 朱小龙, 等. 激光诱导击穿光谱应用于三种水果样品微量元素的分析[J]. 物理学报, 2008, 57(10): 6348 ~ 6353.  
 3 张旭, 姚明印, 刘木华, 等. 海带中铬含量的激光诱导击穿光谱研究分析[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(1): 187 ~ 190.  
 4 李秋连, 姚明印, 胡淑芬, 等. 应用激光诱导击穿光谱定量分析脐橙中的金属元素[J]. 江西农业大学学报, 2011, 33(4): 830 ~ 834.  
 5 陈添兵, 姚明印, 刘木华, 等. 用激光诱导击穿光谱技术定量分析土壤中 Ba 和 Sr[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(6): 1 ~ 5.  
 6 徐媛, 姚明印, 刘木华, 等. 水溶液中铬元素的激光诱导击穿光谱研究[J]. 光学学报, 2011, 31(12): 282 ~ 286.  
 7 刘楠楠, 薛运波, 王志, 等. RNA 干扰技术及其在蜜蜂基因功能研究中的应用前景[J]. 中国畜牧兽医, 2011, 38(1): 105 ~ 107.  
 8 Chen T B, Yao M Y, Liu M H, et al. Influence of laser energy and accumulation number on the spectral characteristics. Sensor Letters, 2012, 10(1 ~ 4): 615 ~ 618.  
 9 Yao M Y, Lin J L, Liu M H, et al. Detection of chromium in wastewater from refuse incineration power plant near Poyang lake by laser induced breakdown spectroscopy. Applied Optics, 2012, 51(10): 1552 ~ 1557.

## Analysis of Microelements on Worker Bees in *Apis* by Laser Induced Breakdown Spectroscopy

WU Xiao-bo<sup>1</sup>, YAO Ming-yin<sup>2</sup>, LIN Yong-zeng<sup>2</sup>, HAN Xu<sup>1</sup>

(1. Honeybee Research Institute, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China;

2. Laboratory of Biological Optics-electronics and Application, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

**Abstract:** In this paper, the microelements of worker bees with three growth stages (emerge workers, nurse bees and forger bees) in *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica* were studied by laser induced breakdown spectroscopy. The results showed that the physique of emerge workers, nurse bees and forger bees were rich in Fe, Ca, Ba, Li, K, Na, while the content of Ca was higher than that of other elements. In addition, the relative content of the elements in different stages of the same species or the same stage of different species was different. The experimental results also showed that laser induced breakdown spectroscopy could be used for the analysis of microelements in bees physique, and it was a rapidly qualitative and comparatively quantitative method.

**Key words:** laser induced breakdown spectroscopy; worker bees; microelements