

# 对比福林酚法和高效液相色谱法测定酒神菊属蜂胶和国产蜂胶中酚酸类化合物含量

孙圣伟<sup>1</sup>, 何 健<sup>1</sup>, 刘美娟<sup>1</sup>, 李坤平<sup>2</sup>, 张旭光<sup>1</sup>, 殷光玲<sup>1\*</sup>

(1. 汤臣倍健股份有限公司, 珠海 519040; 2. 广东药科大学, 广州 510006)

**摘 要:** **目的** 比较福林酚法和高效液相色谱法测定酒神菊属蜂胶和国产蜂胶中的酚酸含量的差异。**方法** 采用福林酚法(Folin-酚法)测总酚酸, 以没食子酸为对照品, 765 nm 下检测样品的吸光值; 采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测总酚酸, 以绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、咖啡酸苯乙酯、阿替匹林 C 为对照品, 优化 HPLC 洗脱条件, 利用标准品的进样量和色谱峰面积进行线性拟合, 线性回归方程以计算各个单体的含量。**结果** Folin-酚法下, 酒神菊属蜂胶总酚酸含量为 5.71%~14.68%, 平均为 11.34% ( $n=14$ ), 国产蜂胶总酚酸含量为 5.87%~28.99%, 平均值为 16.98% ( $n=12$ ); HPLC 法下, 酒神菊属蜂胶总酚酸含量为 2.13%~9.20%, 均值为 5.71% ( $n=14$ ), 国产蜂胶总酚酸含量为 1.69%~9.13%, 均值为 5.05% ( $n=12$ )。**结论** 2 种蜂胶都含有比较高含量的酚酸类成分, 不同测定方法下酚酸类成分含量存在明显差异, 选择合适的方法用于检测蜂胶中的酚酸类成分含量显得尤为重要。

**关键词:** 酒神菊属蜂胶; 国产蜂胶; 福林酚法; 高效液相色谱法; 酚酸类化合物

## Comparison of determination of phenolic compounds in the *Baccharis dracunculifolia* propolis and domestic propolis by Folin-phenol method and high performance liquid chromatography

SUN Sheng-Wei<sup>1</sup>, He Jian<sup>1</sup>, LIU Mei-Juan<sup>1</sup>, LI Kun-Ping<sup>2</sup>, ZHANG Xu-Guang<sup>1</sup>, YIN Guang-Ling<sup>1\*</sup>

(1. BY-HEALTH Co., Ltd., Zhuhai 519040, China; 2. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Zhuhai 510006, China)

**ABSTRACT: Objective** To compare the determination of phenolic compounds in *Baccharis dracunculifolia* propolis and domestic propolis by Folin-phenol method and high performance liquid chromatography. **Methods** The total phenolic acid was determined by Folin-phenol method. The gallic acid was used as the reference substance, and the absorbance of the propolis samples was detected at 765 nm. Total phenolic acid was determined by high performance liquid chromatography, with chlorogenic acid and caffeic acid. Isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, phenethyl caffeate, and ethipirin C as reference materials. Meanwhile, the HPLC elution conditions were optimized, and the linear fitting was established with standard injection volume and chromatographic peak area. And then, the regression equation was used to calculate the content of each monomer of phenolic acid. **Results** Under the Folin-phenol method, the total phenolic acid content of the *Baccharis dracunculifolia* propolis was 5.71%–14.68%, with an average of 11.34% ( $n=14$ ). The total phenolic acid content of the domestic propolis was

\*通讯作者: 殷光玲, 工程师, 主要研究方向为功能食品、制药工程、药物开发与分析。E-mail: yingl@by-health.com

\*Corresponding author: YIN Guang-Ling, Engineer, BY-HEALTH Co., Ltd., No. 3, Kehui Jingu, Kehui 3rd Street, No. 99 Science Avenue, Huangpu District, Zhuhai 510006, China. E-mail: yingl@by-health.com.

5.87%–28.99%, with an average of 16.98% ( $n=12$ ). Under the HPLC method, the total phenolic acid content of the *Baccharis dracunculifolia* propolis was 2.13%–9.20%, the average value was 5.71% ( $n=14$ ), and the total phenolic acid content of the domestic propolis was 1.69%–9.13%, with the mean was 5.05% ( $n=12$ ). **Conclusion** Both propolis contain relatively high content of phenolic acid components, and there are significant differences in the content of phenolic acid components under different determination methods. Therefore, it is particularly important to choose an appropriate method to detect the content of phenolic acid components in propolis.

**KEY WORDS:** *Baccharis dracunculifolia* propolis; domestic propolis; Folin-phenol method; high performance liquid chromatography method; phenolic compounds

## 1 引言

蜂胶一直是国内外研究和产品开发的热点,近年来的科学研究表明蜂胶中存在黄酮类、萜类、酚酸类化学成分,在其生物活性的发挥上起积极作用<sup>[1,2]</sup>。根据蜜蜂所采集的胶原植物不同,各地蜂胶在色泽、香气特征及化学成分上存在很大差异<sup>[3]</sup>,特别是来自巴西东南部的酒神菊属型蜂胶,也称作绿蜂胶。目前对酒神菊属型蜂胶的研究大多集中在其所含的黄酮类化合物,其酚酸类化合物研究鲜有报道<sup>[4]</sup>。蜂胶中含有大量的肉桂酸系列衍生物,如咖啡酸、绿原酸、咖啡酸苯乙酯等<sup>[5,6]</sup>。这些酚酸类物质具有很强的生物活性,如咖啡酸苯乙酯具有很强的抗氧化和抗肿瘤作用<sup>[7]</sup>,阿替匹林 C 具有很强的抗菌、抗氧化作用<sup>[8,9]</sup>。因此,对蜂胶中酚酸类化合物的分析研究,尤其是比较不同产地的蜂胶<sup>[10]</sup>,具有非常重要的意义。高效液相色谱法常被用来分析蜂胶中的化学成分<sup>[11]</sup>,采用福林酚法(Folin-酚法)测定蜂胶中的总酚酸研究报道较少。本研究采用福林酚法和高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)同时检测酒神菊属型蜂胶和国产蜂胶中的酚酸类物质含量,通过比较 2 种方法的差异以及不同种类蜂胶中酚酸含量,以期对蜂胶质量控制提供依据。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器、材料与试剂

LC-20AT 高效液相色谱仪、UV-2450 紫外分光光度计(日本岛津公司)。

甲醇(色谱纯,默克公司);无水乙醇、碳酸钠(分析纯,广州化学试剂厂);没食子酸(P0049, 98%)(广州齐云生物科技有限公司);绿原酸(AB1094-0020, 98%)、异绿原酸 A(AB1228-0020, 98%)、异绿原酸 C(AB0572-0020, 98%)、咖啡酸(AB1087-0020, 98%)、咖啡酸苯乙酯(AB0160-0020, 98%)(分析纯,成都埃法生物科技有限公司);阿替匹林 C(016-19131, 98%)(日本和光纯药);12 个国产蜂胶由国家蜂胶协会提供;14 个酒神菊属蜂胶(*Baccharis dracunculifolia* propolis, BPs)由不同国外生产厂家提供。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 福林酚法测定蜂胶中的总酚酸

参考 Ainsworth<sup>[12]</sup>的方法,并加以改进,对 26 份供试蜂胶样品采用 Folin-Ciocalteu 试剂进行总酚酸含量测定。取粉碎后的蜂胶样品 20 mg,与 2 mL 95%甲醇一起加入微量管中,孵育 48 h。将样品离心(10000 r/min, 室温下 5 min),收集上清液于新的微量管中。收集该上清液 100 mL 加入到相同的微管中,补充 Folin-Ciocalteu 试剂 200 mL,并进行涡旋振荡。再向每个微管中加入 800 mL 的碳酸钠(700 mmol/L),在室温下孵育 2 h。最后,取混合样品溶液 200 mL 加入 96 孔板,在 765 nm 处读取每个孔的吸光值。再根据没食子酸的标准曲线方程,计算样品中所含的总酚酸含量

#### 2.2.2 HPLC 法测定蜂胶中的酚酸类成分

##### (1) 对照品储备液的配制

精密称取绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、咖啡酸苯乙酯、阿替匹林 C 各 1.5、1.8、1.5、1.7、1.7、1.3 mg,置于 5 mL 容量瓶中,以甲醇溶解并定容,得到对照品储备液,4 °C 保存,备用。

##### (2) 供试品溶液的配制

分别精密称取蜂胶样品 0.3 g,加入 10 mL 95%乙醇,超声辅助(360 W, 25 kHz)溶解 1 h,经 3000 r/min 离心 10 min,取上清 1 mL,再用乙醇定容至 10 mL,经 0.45 μm 滤膜过滤,即为供试溶液。

##### (3) 色谱条件

采用岛津公司 LC-20AT 高效液相色谱仪,安捷伦 ZORBAX Eclipse XDB-C18(250 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温 25 °C,流动相为甲醇(A)和水(含 0.1% 甲酸水溶液, B);梯度洗脱程序如下:0~22 min, 75%→55% (B); 22~45 min, 55%→45% (B); 45~58 min, 45%→30% (B); 58~75 min, 30%→20% (B); 75~80 min, 20%→5% (B); 80~88 min, 5% (B)。流速为 1 mL/min,进样量 10 μL,检测波长为 310 nm。

##### (4) 方法学考察与含量测定

考查上述 HPLC 法的科学性,设计线性关系、精密度、稳定性、重复性和回收率试验。按上述方法进行样分析后,得到典型的色谱图。将每份样品所测得上述 6 种酚酸类化合

物的峰面积代入相应的线性回归方程, 计算相应的含量, 以结果 $\pm$ 标准偏差(standard deviation, SD)表示。

### 3 结果与分析

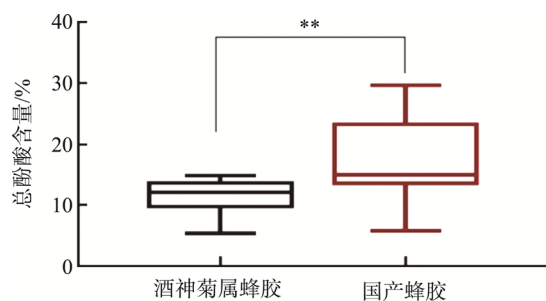
#### 3.1 福林酚法测定蜂胶中的总酚酸

结果如表 1 和图 1 显示, 2 组供试蜂胶样品的总酚酸含量有显著性差异( $P<0.01$ )。其中, 酒神菊属型蜂胶总酚酸含量平均为 11.34% ( $n=14$ ), 国产蜂胶总酚酸含量为 16.98% ( $n=12$ )。酒神菊属型蜂胶总酚酸含量整体变异率较国产蜂胶要小; 国产蜂胶不同批次样品之前变化幅度较大, 最高 28.99%, 最低 5.87%。

表 1 供试蜂胶样品总酚酸含量测定结果  
Table 1 Results of total phenolic acid content of tested propolis samples

样品编号	(均值 $\pm$ SD)/%	样品编号	(均值 $\pm$ SD)/%
CP01	14.59 $\pm$ 0.47	BP01	13.83 $\pm$ 0.22
CP02	28.99 $\pm$ 0.79	BP02	12.39 $\pm$ 0.30
CP03	23.95 $\pm$ 0.52	BP03	13.48 $\pm$ 0.09
CP04	13.74 $\pm$ 0.34	BP04	8.79 $\pm$ 0.09
CP05	14.90 $\pm$ 0.41	BP05	10.42 $\pm$ 0.37
CP06	25.32 $\pm$ 1.06	BP06	11.68 $\pm$ 0.33
CP07	10.63 $\pm$ 0.35	BP07	13.38 $\pm$ 0.16
CP08	5.87 $\pm$ 0.10	BP08	14.15 $\pm$ 0.15
CP09	13.20 $\pm$ 0.06	BP09	9.74 $\pm$ 0.38
CP10	18.17 $\pm$ 0.57	BP10	13.55 $\pm$ 0.41
CP11	19.05 $\pm$ 0.16	BP11	14.68 $\pm$ 0.11
CP12	14.05 $\pm$ 0.25	BP12	6.08 $\pm$ 0.13
		BP13	5.71 $\pm$ 0.24
		BP14	10.95 $\pm$ 0.47

注: CP 表示国产蜂胶; BP 表示酒神菊属型蜂胶。



注: CP 表示国产蜂胶; BP 表示酒神菊属型蜂胶。

图 1 供试蜂胶样品总酚酸含量

Fig.1 Total phenolic acid content of the tested propolis samples

#### 3.2 HPLC 法测定蜂胶中的酚酸类成分

##### 3.2.1 线性关系

取适量对照品储备液进行混合, 用甲醇稀释成不同的浓度, 得到系列混合对照品溶液。按上述条件进行分析, 记录色谱图。以进样量为横坐标( $X$ ), 峰面积为纵坐标( $Y$ ), 进行线性回归, 求得绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、咖啡酸苯乙酯和阿替匹林 C 的回归方程依次为:  $Y_1=1.25\times 106X_1-5405.19$  ( $r=0.9996$ ),  $Y_2=3.51\times 106X_2+16277.8$  ( $r=0.9992$ ),  $Y_3=2.25\times 106X_3+18885.5$  ( $r=0.9994$ ),  $Y_4=2.53\times 106X_4-55085.1$  ( $r=0.9975$ ),  $Y_5=2.36\times 106X_5-9337.66$  ( $r=0.9990$ ),  $Y_6=3.14\times 106X_6+63207.59$  ( $r=0.9987$ )。结果表明 6 种酚酸类成分分别在 3.75~22.5、2.70~21.6、11.3~90.0、8.50~51.0、3.40~20.4、12.3~98.3  $\mu\text{g}$  范围内呈现良好的线性关系。

##### 3.2.2 蜂胶中酚酸类成分含量测定

对上述供试蜂胶样品, 按上述方法进样分析后, 得到典型的色谱图, 如图 2 所示。将每份样品所测得上述 6 种酚酸类化合物的峰面积代入相应的线性回归方程, 计算相应的含量。

如表 2 和表 3 的结果显示, 通过 HPLC 法测得的 2 种不同蜂胶中酚酸类化合物方法经验证可行, 酒神菊属蜂胶总酚酸总含量为 2.13%~9.20%, 均值为 5.71% ( $n=14$ ), 国产蜂胶总酚酸总含量为 1.69%~9.13%, 均值为 5.05% ( $n=12$ ), 含量无显著性差异, 酒神菊属型蜂胶中的酚酸含量偏高。酒神菊属型蜂胶中的阿替匹林 C 含量较高, 而国产蜂胶中未检测出此物质, 国产蜂胶中的咖啡酸苯乙酯含量较高, 蜂胶中单体物质定性定量研究可为蜂胶质量控制提供参考, 制定出更合适的标准。

##### 3.2.3 精密度试验

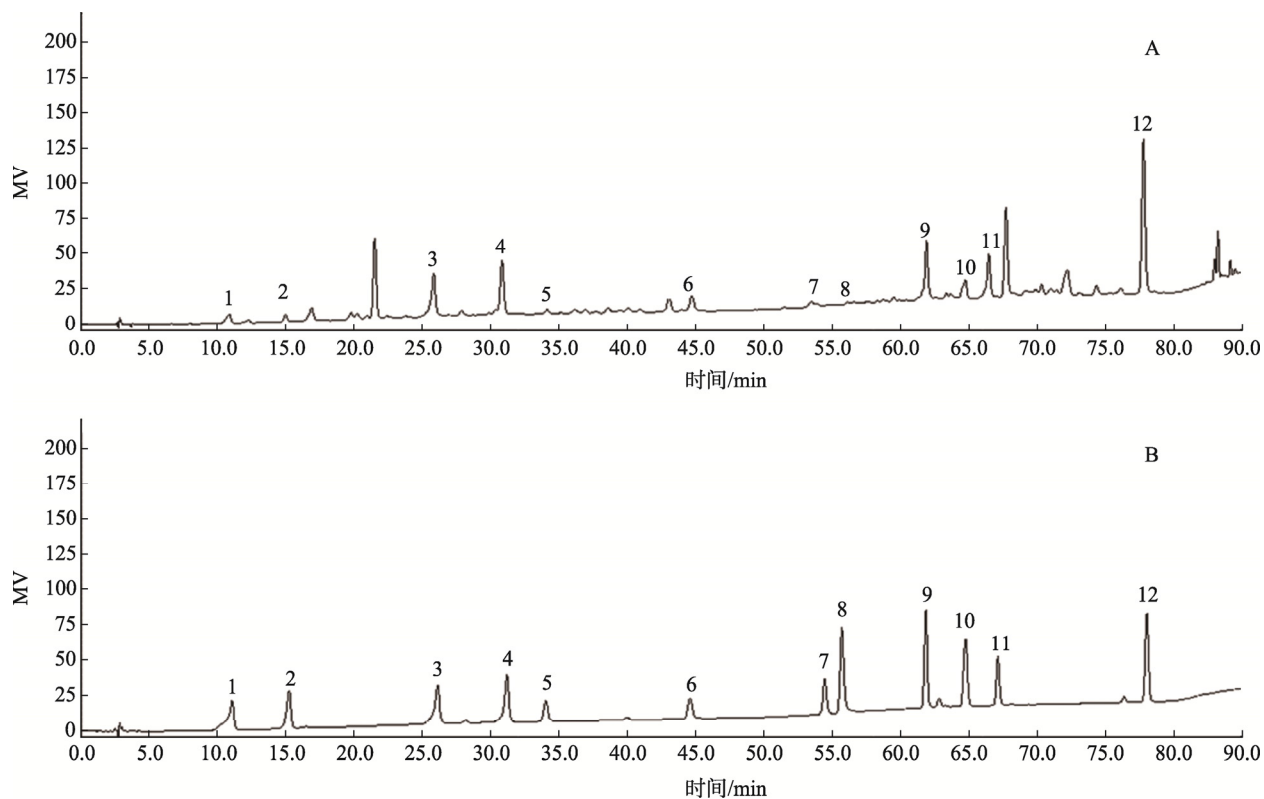
取同一浓度混合对照品溶液, 按上述条件连续进样 6 针, 6 次 HPLC 图谱的相似度 $>98\%$ , 6 种酚酸类成分的峰面积相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 1.78%、1.46%、1.78%、1.46%、1.46%、1.78%, 均 $<2.0\%$ , 表明仪器精密度良好。

##### 3.2.4 稳定性试验

取同一份蜂胶供试品溶液, 分别于 0、4、8、12 及 24 h 进样, 比较不同时间点所测 HPLC 图谱的相似度 $>98\%$ , 并且, 6 个化合物的峰面积 RSD 为 1.33%、1.54%、1.33%、1.54%、1.33%、1.54%, 均小于 2.0%, 说明蜂胶供试品溶液在 24 h 内稳定。

##### 3.2.5 重复性试验

从同一份蜂胶样品中取 6 份约重 0.25 g 的样品, 精密称定后按上述条件进行供试品制备, 以相同的液相色谱条件进行检测, 6 份蜂胶所测 HPLC 图谱的相似度 $>98\%$ , 其中 6 种酚酸类化合物含量的 RSD 为 0.49%、1.25%、1.33%、1.54%、1.33%、1.54%, 均小于 2%, 表明此方法重复性良好。



注: 1. 绿原酸 2. 咖啡酸 3. 异绿原酸 A 4. 异绿原酸 C 10. 咖啡酸苯乙酯 12. 阿替匹林 C。

图 2 蜂胶样品(A)和混合对照品(B)液相色谱分析结果

Fig.2 Liquid chromatography results of propolis samples and mixed controls

表 2 酒神菊属型蜂胶中主要酚酸类成分的百分含量

Table 2 Percentage of main phenolic acids in the *Baccharis dracunculifolia* propolis

样品编号	化合物 <sup>*</sup>						总含量
	C1	C2	C3	C4	C10	C12	
BP01	0.484%	0.095%	1.238%	2.662%	0.669%	2.906%	8.055%
BP02	0.221%	0.111%	0.220%	0.588%	0.706%	1.087%	2.933%
BP03	0.405%	0.095%	0.953%	1.525%	0.471%	3.509%	6.958%
BP04	0.408%	0.181%	0.644%	0.917%	0.288%	1.728%	4.165%
BP05	0.360%	0.055%	0.785%	1.117%	0.375%	1.901%	4.593%
BP06	0.442%	0.070%	1.069%	1.899%	0.429%	2.628%	6.537%
BP07	0.478%	0.093%	0.971%	1.901%	0.598%	3.993%	8.034%
BP08	0.347%	0.080%	0.902%	1.501%	0.392%	2.891%	6.113%
BP09	0.753%	0.178%	0.749%	1.370%	0.263%	1.504%	4.817%
BP10	0.502%	0.097%	1.242%	2.780%	0.755%	3.824%	9.200%
BP11	0.540%	0.094%	1.313%	2.232%	0.621%	3.273%	8.073%
BP12	0.092%	0.017%	0.171%	0.494%	0.037%	1.327%	2.138%
BP13	0.183%	0.024%	0.275%	0.797%	0.288%	2.069%	3.636%
BP14	0.246%	0.060%	0.575%	1.110%	0.601%	2.097%	4.689%

注: \*C1; 绿原酸; C2; 咖啡酸; C3; 异绿原酸 A; C4; 异绿原酸 C; C10; 咖啡酸苯乙酯; C12; 阿替匹林 C。

表 3 国产蜂胶中主要酚酸类成分的百分含量  
Table 3 Percentage of main phenolic acids in domestic propolis

样品编号	化合物*						总含量
	C1	C2	C3	C4	C10	C12	
CP01	0.057%	0.265%	0.100%	0.344%	3.124%	n.d.	3.889%
CP02	0.053%	0.396%	0.120%	0.438%	3.291%	n.d.	4.298%
CP03	0.052%	0.531%	0.193%	0.646%	5.842%	n.d.	7.264%
CP04	0.071%	0.439%	0.176%	0.082%	3.009%	n.d.	3.777%
CP05	0.081%	0.558%	0.211%	0.668%	3.714%	n.d.	5.232%
CP06	0.138%	1.571%	0.487%	1.605%	5.331%	n.d.	9.132%
CP07	0.041%	0.099%	0.080%	0.265%	1.864%	n.d.	2.349%
CP08	0.032%	0.134%	0.118%	0.245%	1.165%	n.d.	1.694%
CP09	0.066%	0.487%	0.176%	0.591%	3.822%	n.d.	5.144%
CP10	0.061%	0.610%	0.308%	0.619%	3.862%	n.d.	5.460%
CP11	0.103%	0.677%	0.899%	1.593%	4.954%	n.d.	8.226%
CP12	0.033%	0.327%	0.121%	0.444%	3.265%	n.d.	4.191%

注: \*C1; 绿原酸; C2; 咖啡酸; C3; 异绿原酸 A; C4; 异绿原酸 C; C10; 咖啡酸苯乙酯; C12; 阿替匹林 C; n.d.: 未检出。

### 3.2.6 加样回收试验

精密称取一份蜂胶 6 份, 每份 0.1 g, 分别加入等量的对照品混合溶液, 经上述样品处理方法和相同的色谱条件进行测定, 6 种酚酸类化合物平均回收率分别为 100.5%、96.7%、101.6%、103.85%、98.5%、99.9%, 其 RSD 分别为 0.61%、1.66%、0.98%、0.48%、1.54%、1.33%, 均小于 2%, 此测定方法回收率良好。

## 4 结论与讨论

目前, 关于蜂胶中的酚酸检测方法方面的研究报道较少。姚静等<sup>[13]</sup>利用液相色谱质谱联用法检测国产蜂胶中的化学成分, 鉴定出 6 种酚酸类化合物, 该方法仅对其有效成分进行定性分析, 尚未定量研究。Falcão 等<sup>[14]</sup>利用高效液相-二极管阵列检测器-电喷雾电离技术鉴定出蜂胶中 76 种多酚类化合物, 有一些化合物甚至从未报道过, 但研究只限于蜂胶化学成分的鉴定, 尚未涉及定量及方法学开发的研究。本研究结合福林酚法和 HPLC 法测定蜂胶中酚酸类化合物成分, 并对 HPLC 方法进行方法学的开发鉴定研究, 填补了现有研究报道的不足之处。从研究结果来看, 酒神菊属型蜂胶和国产蜂胶在酚酸类化合物含量上存在较明显的差异。福林酚法下, 国产蜂胶中的酚酸类物质含量高于酒神菊属型蜂胶, HPLC 法下, 二者无显著差异。HPLC 法测得的酚酸类物质含量明显低于福林酚法, 因为福林酚法测的是蜂胶中的总酚酸含量, HPLC 法只是检测了 6 个代表性的酚酸类化合物含量。蜂胶成分复杂, 其中酚酸类化合物达 131 种<sup>[5]</sup>, 本试验条件下, HPLC 法分离度较好、回

收率高, 该方法可用于蜂胶中酚酸类化合物单体的研究<sup>[15]</sup>, 可以为蜂胶质量控制评价的方法提供参考。2 种方法的综合使用大大解决了蜂胶酚酸类物质的检测难度大、灵敏度低等问题。

与此同时, 从酚酸类成分检测结果来看, 酒神菊属型蜂胶中阿替匹林 C 含量较高<sup>[16]</sup>, 国产蜂胶中不含阿替匹林 C, 阿替匹林 C 是巴西绿蜂胶中最主要生物学活性成分之一, 也是巴西绿蜂胶最重要的质量评价指标, 因此, 其纯品的获得不仅有利于其药理活性的深入研究, 也为巴西绿蜂胶质量控制提供参考。目前, 已从巴西绿蜂胶中分离纯化出阿替匹林 C, 市场上也有人工合成的阿替匹林 C<sup>[17,18]</sup>。本研究的方法可为阿替匹林 C 的制备富集提供了一定的思考空间。

### 参考文献

- [1] Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine [J]. *Fitoterapia*, 2002, 73(Suppl-1): S1-6.
- [2] Kuropatnicki AK, Szliszka E, Krol W. Historical aspects of propolis research in modern times [J]. *Evid-Based Complement Altern Med*, 2013, 2013: 1-11.
- [3] 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, 4: 187-196, 200.  
Hu FL. Advances in Research on chemical composition, quality control and biological activity of propolis [J]. *Chin J Econ Anim*, 2017, (4): 187-196, 200.
- [4] 杨亚飞, 胡焯敏, 钱蔚. 多种蜂胶中总黄酮检测方法的适用性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, (9): 3708-3712.  
Yang YF, Hu YM, Qian W. Applicability of detection methods for total

- flavonoids in various propolis [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, (9): 3708–3712.
- [5] 张翠平, 王凯, 胡福良. 蜂胶中的酚酸类化合物[J]. *中国现代应用药*学, 2013, 30(1): 102–105.  
Zhang CP, Wang K, Hu FL. Phenolic acids in propolis [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2013, 30(1): 102–105.
- [6] Avci CB, Gündüz C, Baran Y, *et al.* Caffeic acid phenethyl ester triggers apoptosis through induction of loss of mitochondrial membrane potential in CCRF-CEM cells [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(1): 41–47.
- [7] Banskota AH, Nagaoka T, Sumioka LY, *et al.* Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines [J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 80(1): 67–73.
- [8] 王凯, 张翠平, 胡福良. 巴西绿蜂胶主要生物活性成分的研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2013, 25(1): 140–145.  
Wang K, Zhang CP, Hu FL. Research progress of main bioactive components of brazilian green propolis [J]. *Nat Prod Res Devel*, 2013, 25(1): 140–145.
- [9] Veiga RS, De Mendonça S, Mendes PB, *et al.* Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC [J]. *J Appl Microbiol*, 2017, 122(4): 911–920.
- [10] 于梦娇, 韩苏苏, 高蓬勃. 3 种不同产地蜂胶的成分差异[J]. *中国蜂业*, 2018, 399(6): 63–67.  
Yu MJ, Han SS, Gao PB. Compositional differences of propolis in three different producing areas [J]. *Chin Bee Ind*, 2018, 399(6): 63–67.
- [11] Kumazawa S, Hayashi K, Kajiya K, *et al.* Studies of the constituents of uruguayan propolis [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(17): 4777–4782.
- [12] Ainsworth E, Gillespie KM. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent [J]. *Nat Protocols*, 2007, 2(4): 875.
- [13] 姚静, 孙建国, 吴亮. 蜂胶化学成分的 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. Identification of propolis chemical constituents by LC–IT–TOF–MS [J]. *J China Pharm Univ*, 2017, 48(2): 178–183.
- [14] Falcão SI, Vale N, Gomes P, *et al.* Phenolic profiling of portuguese propolis by LC–MS spectrometry: Uncommon propolis rich in flavonoid glycosides [J]. *Phytochem Anal*, 2013, 24(4): 309–318.
- [15] 于世锋, 符军放, 陈卫军. 高效液相色谱法测定蜂胶中 4 种酚酸的含量[J]. *中国蜂业*, 2007, 58(9): 8–10.  
Yu SF, Fu JF, Chen WJ. Determination of four phenolic acids in propolis by high performance liquid chromatography [J]. *Apicul China*, 2007, 58(9): 8–10.
- [16] Sun S, Liu M, He J, *et al.* Identification and determination of seven phenolic acids in brazilian green propolis by UPLC–ESI–QTOF–MS and HPLC [J]. *Molecules*, 2019, 24(9): 1791.
- [17] Lee YN, Chen CR, Yang HL, *et al.* Isolation and purification of 3, 5–diprenyl–4–hydroxycinnamic acid (artepillin C) in Brazilian propolis by supercritical fluid extractions [J]. *Separat Purificat Technol*, 2007, 54(1): 130–138.
- [18] Uto Y, Hirata A, Fujita T, *et al.* First total synthesis of artepillin C established by o, o'–Diprenylation of p–Halophenols in water [J]. *J Organic Chem*, 2002, 67(7): 2355–2357.

(责任编辑: 王 欣)

## 作者简介



孙圣伟, 硕士, 研发工程师, 主要研究方向为功能食品、食品化学、药物分析等。  
E-mail: 1554714208@qq.com



殷光玲, 研发工程师, 主要研究方向为功能食品、制药工程、药物开发与分析。  
E-mail: yingl@by-health.com