

对一测多评法测定蜂胶类保健食品中 芹菜素等 5 种成分含量的评价研究

杨 玲,刘成浩,韩萧茜,刘 齐,冯曼琳,杜 勇*

(北京市药品检验所,北京 102206)

摘要:目的:建立以蜂胶为单一原料的保健食品中芹菜素、山奈酚、白杨素、松属素及高良姜素的“一测多评”含量测定方法。方法:采用高效液相色谱法,以芹菜素为参照物,建立其与山奈酚、白杨素、松属素、高良姜素的相对校正因子,利用相对校正因子计算 5 种成分的含量,实现一测多评;并对多批样品同时采用标准曲线法测定,将结果进行比较,验证方法的可行性。结果:5 种成分在相应的范围内线性关系良好,相关系数 $r > 0.9999$,平均加标回收率在 96.54%~102.06%,RSD 在 1.4%~2.8%,山奈酚、白杨素、松属素、高良姜素的相对校正因子分别为 1.1929、0.5938、2.7847、0.9727,且在不同实验条件下重现性良好,一测多评法计算值与标准曲线法实测值相对平均偏差在 0.5%~2.1%之间,测定结果基本一致。结论:本文建立的一测多评方法操作简便,重复性好,可为以蜂胶为单一原料的保健食品的质量评价提供参考。

关键词:蜂胶,保健食品,芹菜素,山奈酚,白杨素,松属素,高良姜素,一测多评

Study on Determination of Apigenin and Other Five Components in Propolis Health Foods by Quantitative Analysis of Multi-components by Single-maker

YANG Ling, LIU Cheng-hao, HAN Xiao-qian, LIU Qi, FENG Man-lin, DU Yong*

(Beijing Institute for Drug Control, Beijing 102206, China)

Abstract: Objective: To establish the “quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS)” method for the determination of apigenin, kaempferol, chrysin, pinocembrin and galangin in health food with propolis as a single raw material. Methods: High performance liquid chromatography was used and apigenin as reference substance to establish its relative correction factors with kaempferol, chrysin, pinocembrin and galangin. Using relative correction factor to calculate the content of five components to realize “QAMS”. At the same time, the method of standard curve was used to compare the results and verify the feasibility of the method. Results: Within a certain linear range, 5 components had good linear relationships, $r > 0.9999$. The average recovery rate of 5 components were in the range of 96.54%~102.06%, and the relative standard deviations (RSDs) were in the range of 1.4%~2.8%. The relative correction factors (RCFs) of kaempferol, chrysin, pinocembrin and galangin with reference to isoferulic acid were 1.1929, 0.5938, 2.7847, 0.9727, respectively. The relative correction factors of each component had good reproducibility under different experimental conditions. There was almost no difference between the calculated values of “QAMS” method and the measured values of standard curve method and the relative average deviations were in the range of 0.5%~2.1%. Conclusion: The method of “QAMS” is simple and reproducible, and can provide reference for the quality evaluation of health food with propolis as a single raw material.

Key words: propolis; health food; apigenin; kaempferol; chrysin; pinocembrin; galangin; quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS)

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)01-0229-08

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.01.037

引文格式: 杨玲,刘成浩,韩萧茜,等.对一测多评法测定蜂胶类保健食品中芹菜素等 5 种成分含量的评价研究[J].食品工业科技,2020,41(1):229-235,251.

蜂胶为蜜蜂科昆虫意大利蜂(*Apis mellifera* L)工蜂采集的植物树脂与其上颚腺、蜡腺等分泌物混合

形成的具有黏性的固体胶状物。性苦,辛,寒。归脾,胃经。用于体虚早衰,高脂血症等^[1]。由于蜂胶

收稿日期:2019-03-26

作者简介:杨玲(1982-),女,硕士研究生,主管药师,研究方向:保健食品及化妆品检验,E-mail:ylzyn@126.com。

*通讯作者:杜勇(1973-),男,本科,副主任药师,研究方向:保健食品及化妆品检验,E-mail:dududu1973@sina.cn。

具有多种药理作用,故在保健食品中得到了较为广泛的应用。根据国家食品药品监督管理局网站上的数据查询结果,截止到2018年9月30日,国产和进口保健食品中以蜂胶为原料的共有1459种,主要功效为提高免疫力、抗疲劳、调节血脂等。

黄酮类化合物是蜂胶中的主要活性成分^[2-6],其中高良姜素是天然的黄酮醇,具有抗炎、抗过敏、抗菌、抗氧化、抗肥胖、抗缺氧、清除自由基及抗癌等多种药理作用^[7-9];松属素(又名乔松素)能够保护血管内皮细胞^[10],具有抗菌、抗诱变、抗氧化、杀虫、抗肿瘤、局麻等多种药理活性^[11-12];白杨素(又名柯因)对多种肿瘤细胞具有良好的抗增殖活性,对某些结肠癌、肝癌、胃癌、白血病、黑色素瘤细胞系具有促凋亡作用^[13];山奈酚可抗癌、抗炎、保护肝脏及心肌、防治动脉粥样硬化、骨质疏松及糖尿病^[14];芹菜素具有抗炎、抗痛风、抗氧化、免疫调节等功能^[15]。上述化合物的药理作用与其保健功效相关,可作为质控指标。除此之外,还有杨梅苷、芦丁、槲皮素等其他黄酮。但是很多研究显示中国蜂胶中可能不含有杨梅苷、芦丁^[16-20],或是含量极少。蜂胶中极性相似的成分很多,保留时间接近,很容易造成人为混淆。例如芦丁与3,4-二甲氧基肉桂酸,槲皮素与短叶松素,液相保留时间相近,紫外光谱相似^[2]。符军放^[18]在对9个主产区的30批蜂胶样品成分分析中发现,槲皮素含量甚微,杨梅苷和芦丁均未检测到。本实验测定的12批样品中,均未检出杨梅苷,有3批未检出芦丁,槲皮素含量也较低。故选择芹菜素、山奈酚、白杨素、松属素及高良姜素作为产品的质量指标加以测定。

国标GB/T 19427-2003中采用液相色谱和液质联用方法测定杨梅苷等8种黄酮^[21],中国药典2015年版采用高效液相色谱法(HPLC)测定蜂胶中白杨素、高良姜素、咖啡酸苯乙酯和乔松素^[1]。李熠等^[22],于世锋等^[23],吴毅等^[24]采用超高效液相色谱法(UPLC)及HPLC同时测定蜂胶中的多种黄酮及酚酸的含量。但目前绝大多数蜂胶类保健食品都采用测定总黄酮的含量以控制产品质量,此类方法专属性差,精确度低,难以准确评估产品质量,同时也增加了造假及使用替代原料的风险。蜂胶中化学成分及有效成分的多样性、复杂性,使得测定单一的功效或指标性成分难以准确表达产品质量,只有对其中的多种有效成分或主要成分进行综合性评价,才能达到全面控制质量的目的。多指标质控高昂的检测成本反过来又限制了此种质量控制模式在实际生产、科研、监督中的应用。面对这种情况,急需建立一种科学、高效的质量控制方法。一测多评法整合了内标、校正因子、紫外百分吸收系数等方法的优点,借助待测物中有效成分内在的函数和比例关系,以一个对照品为参照物,建立该成分与其他成分间的相对校正因子,并通过其计算含量,实现多组分的同时测定。该方法已经在中药材^[25-30]、中成药^[31-35]及食品^[36]的质量评价当中得到了应用。

本研究参考文献^[37-39]的技术要求,建立一种简便高效的蜂胶类保健食品中多个黄酮组分的含量测定

方法。以芹菜素为参照物,采用“一测多评法”测定芹菜素、山奈酚、白杨素、松属素及高良姜素的含量,并采用回归方程法同步测定并加以验证。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

芹菜素(批号:111901-201603,纯度99.2%)、山奈酚(批号:110861-201611,纯度95.5%)、白杨素(111701-200501,纯度100%)及高良姜素(批号:111699-201703,纯度99.6%) 中国食品药品检定研究院;松属素(MKCF0471,纯度99%) Sigma公司;甲醇 色谱纯,默克股份两合公司;磷酸 色谱纯,国药集团化学试剂有限公司;水 重蒸馏水;测定用样品为蜂胶液和蜂胶软胶囊 分别由不同厂家生产。

Waters e2695 高效液相色谱仪(方法学考察所用) 沃特世公司;岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪 日本岛津制作所;Aglient-1100 高效液相色谱仪 安捷伦科技有限公司;XS-205 型电子分析天平 梅特勒-托利多集团;SB-25-12D 型超声波清洗器 宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 混合标准品溶液制备 精密称取芹菜素、山奈酚、白杨素、松属素及高良姜素标准品适量,加甲醇制成质量浓度分别为41.74、99.70、185.2、205.2、220.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准品溶液。

1.2.2 供试品提取条件的优化 参考文献[1-2,7-9]提取方法,取编号为001的蜂胶液样品适量,混匀,精密称取0.5 g各2份,分别以甲醇、乙醇为提取溶剂,室温超声处理(功率500 W,频率40 kHz)30 min,进样后记录峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,待测组分为横坐标,制作柱形图后比较最优提取结果,确定提取溶剂后同法操作,精密称取0.5 g各2份,考察15、30、45 min 3种提取时间,进样后记录峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,待测组分为横坐标,制作柱形图后比较最优提取结果,确定最佳提取时间。

1.2.3 供试品溶液制备 取蜂胶液适量混匀,或蜂胶软胶囊内容物适量混匀,精密称取0.5 g(蜂胶液),0.25 g(蜂胶软胶囊内容物)置于25 mL容量瓶中,加甲醇20 mL溶解,超声处理(功率500 W,频率40 kHz)30 min,冷却后用甲醇定容至刻度,摇匀。以0.45 μm 微孔滤膜滤过,取滤液,待测。

1.2.4 色谱条件 色谱柱:Aglient ZORBAX SB-C₁₈,柱长250 mm,内径4.6 mm,粒径5 μm ;流动相甲醇(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(洗脱程序见表1);检测波长为270 nm;柱温为30 $^{\circ}\text{C}$;流速为:1.0 mL/min,进样量10 μL ^[21]。

1.2.5 方法学考察

1.2.5.1 线性关系考察 分别精密吸取系列质量浓度的混合标准品溶液各10 μL 进样,记录色谱图。以峰面积积分值为纵坐标(Y),标准品浓度为横坐标(X)进行线性回归,计算回归方程。

1.2.5.2 相对校正因子的计算 本研究采用以多个标准品质量浓度点计算所得的 f_{si} 取平均值作为定量用 f_{si} 。计算公式为: $f_{\text{si}} = (A_{\text{s}} \times C_{\text{i}}) / (A_{\text{i}} \times C_{\text{s}})$,式中:

表1 梯度洗脱程序
Table 1 Gradient elution sequence

时间(min)	A 甲醇 (%)	B 0.1% 磷酸水溶液 (%)
0~72	30	70
72~76	100	0
76~78	100	0
78~80	30	70
80~85	30	70

f_{si} 为相对校正因子, A_s 为参照物标准品 s 峰面积, C_s 为参照物标准品 s 浓度, A_i 为待测成分标准品 i 峰面积, C_i 为待测成分标准品 i 浓度。

1.2.5.3 相对保留时间的确定 取混合标准品溶液进样,记录 5 组分的保留时间,并分别计算山奈酚、白杨素、松属素及高良姜素的相对保留时间。

1.2.5.4 精密度试验 取同一混合标准品溶液,连续进样 5 次,记录各组分色谱峰峰面积,并计算 RSD 值。

1.2.5.5 稳定性试验 取编号为 001 的蜂胶液样品,按 1.2.3 项下方法制备供试品溶液,分别于制备后 0、4、8、12、24 h 注入液相色谱仪,记录各组分峰面积,并计算 RSD 值。

1.2.5.6 重复性试验 取编号为 001 的蜂胶液样品,按照 1.2.3 项下方法制备 6 份供试品溶液,进行测定,计算芹菜素等 5 组分的含量,并计算 RSD 值。

1.2.5.7 回收率试验 取编号为 001 的样品,精密称定 9 份,每份 0.25 g,分成 3 组,每组 3 份,分别精确添加含芹菜素 0.5218 mg/mL 的标准品溶液 0.10、0.15、0.20 mL,含山奈酚 0.9970 mg/mL 的标准品溶液 0.10、0.15、0.20 mL,含白杨素 1.024 mg/mL 的标准品溶液 0.50、0.75、1.0 mL,含松属素 1.041 mg/mL 的标准品溶液 0.50、0.75、1.0 mL,含高良姜素 0.9621 mg/mL 的标准品溶液 0.50、0.75、1.0 mL,按照“1.2.3”制备供试品溶液,并测定,分别计算回收率:

回收率 (%) = (测得量 - 样品含量) / 加入量 × 100

1.2.5.8 系统耐用性考察 精密吸取混合标准品溶液,进样分析,计算以芹菜素为参照物的其余 4 种成分的相对校正因子及相对保留时间,分别采用 3 台不同品牌的高效液相色谱仪,3 根不同型号的色谱柱,及在同一台高效液相色谱仪上选择 3 种不同的柱温和 3 种不同的流速进行测定。

1.2.6 一测多评法与标准曲线法的测定结果比较 取以蜂胶为单一原料的保健食品 12 批,其中 001、002 为蜂胶液,其余为蜂胶软胶囊,按照 1.2.3 项下方法制备供试品溶液,测定,并采用标准曲线法和一测多评法分别计算芹菜素等 5 组分的含量。

1.3 数据处理

利用 Excel 软件进行数据统计及数据分析。

2 结果与分析

2.1 标准品、样品及空白色谱图

标准品图谱中,芹菜素、山奈酚、白杨素、松属

素、高良姜素的浓度分别为 5.218、12.46、23.15、25.65、27.50 $\mu\text{g/mL}$;供试品由 001 号蜂胶液制备,为阳性样品;空白为样品空白。由图 1 可见,样品中各个组分分离情况良好,空白无干扰。

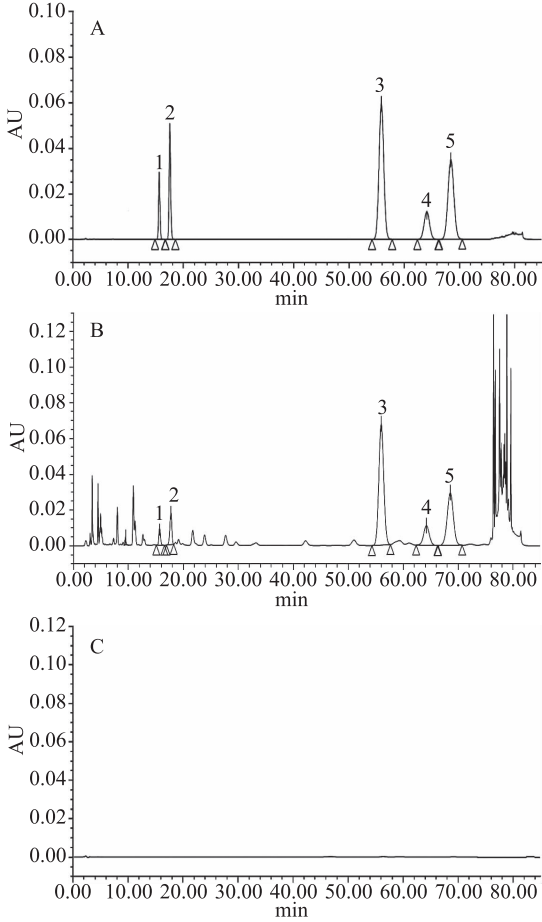


图1 标准品色谱图(A),供试品色谱图(B),空白色谱图(C)

Fig.1 HPLC chromatogram of control (A), sample (B), blank (C)

注:图 A 中,1.芹菜素;2.山奈酚;3.白杨素;4.松属素;5.高良姜素。

2.2 提取方法的优化结果

参考中国药典等相关文献,选择甲醇和乙醇作为提取溶剂进行考察。从图 2 可见,以甲醇为提取溶剂时,白杨素和高良姜素峰面积积分值稍高,其余三组分无明显差别,故选择甲醇为提取溶剂。从图 3 可见,芹菜素、山奈酚、白杨素的峰面积积分值在超声处理 30 min 时为最大,松属素及高良姜素的峰面积积分值在不同处理时间时基本一致,故选择提取时间为 30 min。

2.3 方法学考察结果

2.3.1 线性关系 按 1.2.5.1 项下进行试验,结果表明芹菜素、山奈酚、白杨素、松属素、高良姜素在 1.044~20.87、2.492~49.85、4.630~92.60、5.130~102.6、5.500~110.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好,相关系数均为 0.9999,结果见表 2。

2.3.2 相对校正因子的计算 本研究以芹菜素为参照物,根据不同进样量分别计算山奈酚、白杨素、松属素、高良姜素的相对校正因子,并求平均值作为最

表2 芹菜素等5种组分标准曲线
Table 2 Calibration curve and linear range

待测成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围(μg/mL)
芹菜素	$Y = 48803.5X - 18505.0$	0.9999	1.044~20.87
山奈酚	$Y = 40863.1X - 36792.9$	0.9999	2.492~49.85
白杨素	$Y = 82150.4X - 135382.2$	0.9999	4.630~92.60
松属素	$Y = 17580.2X - 32758.2$	0.9999	5.130~102.6
高良姜素	$Y = 50402.7X - 103473.5$	0.9999	5.500~110.0

表3 山奈酚、白杨素、松属素及高良姜素相对校正因子
Table 3 Relative correcting factors of kaempferol, chrysin, pinocembrin and galangin

待测成分	进样 2.0 μL	进样 5.0 μL	进样 10.0 μL	进样 20.0 μL	平均值	RSD(%)
山奈酚	1.1875	1.1976	1.1901	1.1965	1.1929	0.5
白杨素	0.5968	0.5919	0.5921	0.5945	0.5938	0.4
松属素	2.7891	2.7765	2.7997	2.7736	2.7847	0.5
高良姜素	0.9729	0.9734	0.9758	0.9686	0.9727	0.4

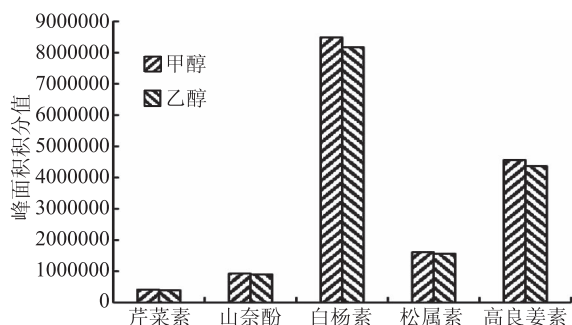


图2 提取溶剂考察结果

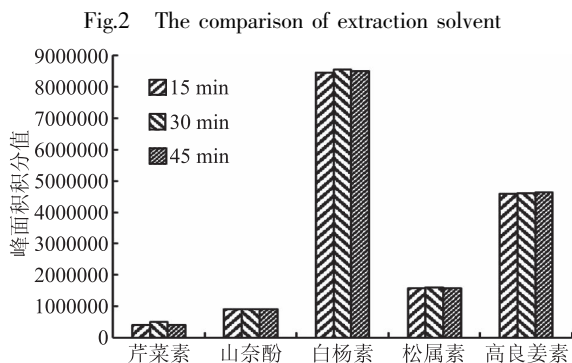


图3 提取时间考察结果

Fig.3 The comparison of extraction time

终结果,山奈酚等4组分的相对校正因子分别为1.1929、0.5938、2.7847、0.9727,见表3。

2.3.3 相对保留时间的确定 色谱峰的准确定位是保证QAMS法应用的前提,本研究以芹菜素为参照物,分别计算山奈酚、白杨素、松属素、高良姜素的相对保留时间(计算公式: $r_{as} = t_{Ra}/t_{Rs}$, t_{Ra} 为待测成分的保留时间, t_{Rs} 为内参物的保留时间, r_{as} 为二者的比值即相对保留时间),以确定其位置。5组分的相对保留时间分别为1.000、1.124、3.582、4.106、4.388,可作为各个组分的定性依据,见表4。在本研究中,每针的分析时间长达85 min,而松属素和高良姜素的保留时间分别为64和68 min,相对保留时间较为接近,如调整梯度,每针的分析时间将继续加长。故在今后的含量测定中,可用增加一个对照品的方式来辅

助确定二者的准确位置。

表4 5种成分相对保留时间

Table 4 Relative retention time of 5 kinds of components

待测成分	相对保留时间
芹菜素	1.000
山奈酚	1.124
白杨素	3.582
松属素	4.106
高良姜素	4.388

2.3.4 精密度试验 按1.2.5.4项下进行试验,芹菜素、山奈酚、白杨素、松属素、高良姜素峰面积的RSD分别为0.3%、0.1%、0.2%、0.2%、0.2%,表明仪器精密度良好。

2.3.5 稳定性试验 按1.2.5.5项下进行试验,取混合对照品溶液,分别于配制后0、2、4、8、12、24 h进样分析,记录各组峰面积,结果芹菜素、山奈酚、白杨素、松属素、高良姜素峰面积的RSD分别为1.1%、0.7%、1.2%、1.0%、0.7%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.3.6 重复性试验 按1.2.5.6项下进行试验,芹菜素、山奈酚、白杨素、松属素、高良姜素的含量测定结果见表5,RSD分别为0.9%、1.0%、0.9%、1.1%、0.7%,表明该方法重复性良好。

2.3.7 回收率试验 按1.2.5.7项下进行试验,结果见表6,芹菜素等5组分的加标回收率在96.54%~102.06%之间,表明各个组分回收率良好。

2.3.8 系统耐用性考察 按1.2.5.8项下进行试验,更换仪器和色谱柱后,相对校正因子的重现性良好,RSD为1.3%~3.1%,表明此方法可适用于不同的色谱系统及不同的色谱柱。另外,在同一色谱系统中采用不同的流速和柱温进行试验,相对校正因子的重现性良好,RSD为0.3%~1.0%,表明此方法可适用于不同的试验环境。另外在更换不同的色谱柱后,考察山奈酚等4组分的相对保留时间,RSD为1.6%~2.1%,表明使用不同的色谱柱,相对保留时间变化幅度较小,可准确定位,相关试验结果见表7~表11。

表5 样品测定结果重复性考察
Table 5 Reproducibility test results

组分	001-1 (mg/g)	001-2 (mg/g)	001-3 (mg/g)	001-4 (mg/g)	001-5 (mg/g)	001-6 (mg/g)	平均值 (mg/g)	RSD (%)
芹菜素	0.2311	0.2326	0.2314	0.2328	0.2340	0.2281	0.2317	0.9
山奈酚	0.5984	0.6011	0.5986	0.5926	0.5958	0.6098	0.5994	1.0
白杨素	2.638	2.652	2.641	2.630	2.618	2.687	2.644	0.9
松属素	2.356	2.366	2.357	2.319	2.394	2.365	2.360	1.1
高良姜素	2.371	2.387	2.377	2.393	2.390	2.351	2.378	0.7

表6 加样回收率测定结果
Table 6 Results of recovery test

组分	取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
芹菜素	0.2593	0.06008	0.05218	0.1103	96.24	96.54	1.4
	0.2611	0.06050	0.05218	0.1117	98.12		
	0.2652	0.06145	0.05218	0.1112	95.34		
	0.2588	0.05996	0.07827	0.1352	96.13		
	0.2595	0.06013	0.07827	0.1378	99.23		
	0.2547	0.05901	0.07827	0.1341	95.94		
	0.2530	0.05862	0.1044	0.1587	95.86		
	0.2545	0.05897	0.1044	0.1594	96.20		
山奈酚	0.2591	0.06003	0.1044	0.16	95.76	97.65	2.2
	0.2593	0.1554	0.0997	0.2523	97.19		
	0.2611	0.1565	0.0997	0.2585	102.31		
	0.2652	0.1590	0.0997	0.2585	99.80		
	0.2588	0.1551	0.1496	0.3000	96.86		
	0.2595	0.1555	0.1496	0.2997	96.39		
	0.2547	0.1527	0.1496	0.2966	96.19		
	0.2530	0.1516	0.1994	0.3422	95.59		
白杨素	0.2545	0.1525	0.1994	0.3454	96.74	101.04	2.4
	0.2591	0.1553	0.1994	0.3502	97.74		
	0.2593	0.6856	0.5120	1.215	103.40		
	0.2611	0.6903	0.5120	1.223	104.04		
	0.2652	0.7012	0.5120	1.214	100.16		
	0.2588	0.6843	0.7680	1.466	101.78		
	0.2595	0.6861	0.7680	1.465	101.42		
	0.2547	0.6734	0.7680	1.416	96.69		
松属素	0.253	0.6689	1.024	1.683	99.03	101.12	2.8
	0.2545	0.6729	1.024	1.696	99.91		
	0.2591	0.6851	1.024	1.739	102.92		
	0.2593	0.6119	0.5205	1.151	103.57		
	0.2611	0.6162	0.5205	1.145	101.59		
	0.2652	0.6259	0.5205	1.168	104.15		
	0.2588	0.6108	0.7808	1.374	97.75		
	0.2595	0.6124	0.7808	1.425	104.07		
高良姜素	0.2547	0.6011	0.7808	1.405	102.96		
	0.253	0.5971	1.041	1.639	100.09		
	0.2545	0.6006	1.041	1.622	98.12		
	0.2591	0.6115	1.041	1.629	97.74		
高良姜素	0.2593	0.6166	0.4810	1.116	103.83		
	0.2611	0.6209	0.4810	1.123	104.39		

续表

组分	取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
	0.2652	0.6306	0.4810	1.121	101.95	102.06	1.7
	0.2588	0.6154	0.7216	1.355	102.49		
	0.2595	0.6171	0.7216	1.368	104.06		
	0.2547	0.6057	0.7216	1.333	100.79		
	0.253	0.6016	0.9621	1.567	100.34		
	0.2545	0.6052	0.9621	1.574	100.70		
	0.2591	0.6161	0.9621	1.578	99.98		

表 7 不同色谱柱测得相对校正因子

Table 7 Relative correcting factors determined by different columns

项目	ZORBAX SB-C ₁₈	资生堂 UG120	Kromasil 100-5-C ₁₈	RSD(%)
山奈酚(f _{si})	1.1929	1.2341	1.1894	2.1
白杨素(f _{si})	0.5938	0.6043	0.6215	2.4
松属素(f _{si})	2.7847	2.7266	2.8769	2.8
高良姜素(f _{si})	0.9727	0.9569	0.9423	1.6

表 8 不同仪器测得相对校正因子

Table 8 Relative correcting factors determined by different instruments

项目	Waters e2695	岛津 LC-20AD	Agilent1100	RSD(%)
山奈酚(f _{si})	1.1929	1.2224	1.2042	1.3
白杨素(f _{si})	0.5938	0.6004	0.6198	2.3
松属素(f _{si})	2.7847	2.6887	2.8599	3.1
高良姜素(f _{si})	0.9727	0.9958	1.0074	1.8

表 9 不同流速测得相对校正因子

Table 9 Relative correcting factors determined by different velocity

项目	1.0 mL/min	1.2 mL/min	0.8 mL/min	RSD(%)
山奈酚(f _{si})	1.1929	1.1887	1.1802	0.6
白杨素(f _{si})	0.5938	0.5998	0.6057	1.0
松属素(f _{si})	2.7847	2.7778	2.7733	0.3
高良姜素(f _{si})	0.9727	0.9864	0.9853	0.8

表 11 不同色谱柱的相对保留时间

Table 11 Relative retention times determined by different columns

项目	ZORBAX SB-C ₁₈	资生堂 UG120	Kromasil 100-5-C ₁₈	RSD(%)
山奈酚(r _{as})	1.124	1.169	1.151	2.0
白杨素(r _{as})	3.582	3.681	3.699	1.8
松属素(r _{as})	4.106	4.276	4.211	2.1
高良姜素(r _{as})	4.388	4.324	4.256	1.6

表 10 不同柱温测得相对校正因子

Table 10 Relative correcting factors
determined by different column temperature

项目	30 ℃	25 ℃	35 ℃	RSD (%)
山奈酚(f _{si})	1.1929	1.1868	1.2001	0.6
白杨素(f _{si})	0.5938	0.6054	0.6013	1.0
松属素(f _{si})	2.7847	2.7524	2.7674	0.6
高良姜素(f _{si})	0.9727	0.9745	0.9886	0.9

2.4 一测多评法与标准曲线法的测定结果比较

采用标准曲线法(SCM)和一测多评法(QAMS)

分别计算 12 批样品(其中 001、002 为蜂胶液,其余为蜂胶软胶囊)中山奈酚、白杨素、松属素、高良姜素的含量,结果见表 12。两种方法测定结果相对平均偏差(RAD)在 0.5%~2.1%之间,测定结果基本一致。

3 结论

本研究采用一测多评法测定以蜂胶为单一原料的保健食品中芹菜素等 5 种组分的含量,并同时采用标准曲线法加以验证,通过 12 批样品的测定,两种方法得到的含量值相对平均偏差为 0.5%~2.1%,结果基本一致,证明本方法准确可靠,可以在对蜂胶中 5 种组分的含量进行测定的同时,节约对照品的

表 12 样品测定结果
Table 12 Results of sample determination

样品	山奈酚 (mg/g)			白杨素 (mg/g)			松属素 (mg/g)			高良姜素 (mg/g)		
	SCM	QAMS	RAD (%)	SCM	QAMS	RAD (%)	SCM	QAMS	RAD (%)	SCM	QAMS	RAD (%)
001	0.5994	0.5772	1.9	2.644	2.574	1.4	2.360	2.328	0.7	2.378	2.308	1.5
002	0.9093	0.8779	1.8	4.928	4.791	1.5	5.805	5.747	0.6	6.501	6.373	1.0
003	0.7614	0.7385	1.6	7.167	7.023	1.1	4.551	4.485	0.8	8.734	8.607	0.8
004	0.6755	0.6535	1.7	5.682	5.612	0.7	3.799	3.770	0.4	6.428	6.373	0.5
005	0.6547	0.6309	1.9	3.897	3.758	1.9	3.662	3.595	1.0	3.230	3.168	1.0
006	0.9344	0.9045	1.7	6.170	6.032	1.2	4.398	4.334	0.8	4.749	4.610	1.5
007	0.5371	0.5187	1.8	2.658	2.587	1.4	1.493	1.454	1.4	2.123	2.064	1.5
008	0.9589	0.9315	1.5	8.349	8.210	0.9	4.897	4.835	0.7	7.994	7.870	0.8
009	0.7295	0.7075	1.6	0.5762	0.5692	0.7	3.387	3.360	0.5	6.078	6.026	0.5
010	1.232	1.187	1.9	5.321	5.181	1.4	1.868	1.796	2.0	5.248	5.108	1.4
011	1.147	1.101	2.1	8.764	8.617	0.9	6.142	6.080	0.6	9.490	9.364	0.7
012	1.095	1.072	1.1	5.120	5.047	0.8	4.292	4.265	0.4	4.272	4.207	0.8

使用,提高检验效率。

参考文献

[1] 国家药典委员会主编. 中华人民共和国药典[M]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 358-359.

[2] 罗照明, 张红城. 中国蜂胶化学成分及其生物活性的研究[J]. 中国蜂业, 2012, 63 (Z2): 55-62.

[3] Shigenori K, Tomoko H, Tsutomu N. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins[J]. Food Chemistry, 2004, 84 (3): 329-339.

[4] Na Sha, Shu - Hong Guan, Zhi - Qiang Lu, et al. Cytotoxic constituents of chinese propolis[J]. Journal of Natural Products, 2009, 72 (4): 799-801.

[5] Claudio Gardana, Martina Scaglianti, Piergiorgio Pietta, et al. Analysis of the polyphenolic fraction of propolis from different sources by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 45 (3): 390-399.

[6] Mok - Ryeon Ahn, Shigenori Kumazawa, Yumiko Usui, et al. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China [J]. Food Chemistry, 2007, 101 (4): 1383-1392.

[7] 张旭光, 尹航, 陈峰, 等. 高良姜素药理活性的研究进展[J]. 中国现代中药, 2016, 18 (11): 1532-1536.

[8] 陈淑梅. 高良姜素诱导人乳头瘤病毒阳性的宫颈癌细胞凋亡实验研究[J]. 中草药, 2017, 48 (5): 941-945.

[9] 汪俊剑, 黄少祥. 高良姜素抑制肺癌细胞 A549 增殖和侵袭的作用和机制[J]. 天津医药, 2017, 45 (11): 1179-1182, 1233.

[10] 李伟, 李东娟, 杨艳. 乔松素对脂多糖诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18 (5): 351-354.

[11] Koo H, Rosalen P L, Cury J A et al. Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity [J]. Antimicrob Agents Chemoother,

2002, 46 (5): 1302-1309.

[12] 李伟, 李东娟, 杨艳, 等. 乔松素对脂多糖诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18 (5): 351-354.

[13] 赵翔, 陈希, 李常虹, 等. 白杨素对人肝癌 BEL-7402 细胞表面超微结构和蛋白质磷酸化及相关通路的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15 (6): 1050-1056.

[14] 张雅雯, 邵东燕, 师俊玲, 等. 山奈酚生物功能研究进展[J]. 生命科学, 2017, 29 (4): 400-405.

[15] 邢志华. 芹菜素及其衍生物药理作用研究新进展[J]. 中国药学杂志, 2018, 53 (1): 1241-1247.

[16] 丽艳. 中国不同地区蜂胶醇提物化学组成及抗氧化活性[D]. 南昌: 南昌大学, 2008.

[17] 陈滨. 中国不同地区蜂胶水提物化学组成及生物活性[D]. 南昌: 南昌大学, 2010.

[18] 符军放. 中国蜂胶中酚类化合物的色谱分析方法研究[D]. 西安: 西北大学, 2006.

[19] Tepy Usia, Arjun H, Banskota, et al. Constituents of Chinese propolis and their antiproliferative activities[J]. Journal of Natural Products, 2002, 65 (5): 673-676.

[20] Haisha Yang, Yuqiong Dong, Huijing Du, et al. Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui China[J]. Molecules, 2011, 16 (4): 3444-3455.

[21] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 19427-2003[S]. 北京: 中国标准出版社.

[22] 李熠, 赵静, 薛晓峰, 等. 超高效液相色谱法同时测定蜂胶中的 12 种活性成分[J]. 色谱, 2007, 25 (6): 857-860.

[23] 于世锋, 符军放, 陈卫军, 等. 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.

[24] 吴毅, 吴良发, 许妍, 等. HPLC 法同时测定蜂胶软胶囊中 8 种黄酮的含量[J]. 中药材, 2013, 36 (2): 314-316.

[25] 国家药典委员会主编. 中华人民共和国药典[M]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 76-77.

[26] 国家药典委员会主编. 中华人民共和国药典[M]. 2015 年

1133-1143.

[10] 王伟, 胡泳华, 黄浩, 等. 亚硫酸氢钠在马铃薯切片过程中防褐变作用机理的研究[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2010, 49(2): 256-259.

[11] Gao J, Luo YG, Turner E, et al. Mild concentration of ethanol in combination with ascorbic acid inhibits browning and maintains quality of fresh-cut lotus root [J]. Postharvest Biology and Technology, 2017, 128: 169-177.

[12] 周纷, 杨文晶, 冯叙桥, 等. 生姜提取物在食品贮藏保鲜中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(10): 287-292.

[13] 郭艳华. 生姜复合抗氧化剂保鲜樱桃番茄的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(10): 608-611.

[14] 李湘利, 刘静, 魏子浩, 等. 姜蒜浸提液与壳聚糖复合保鲜切分莲藕护色效果的研究[J]. 食品科技, 2010, 35(1): 253-259.

[15] 赵东晗. 生姜提取物对鲜切马铃薯褐变的抑制作用[D]. 长春: 吉林大学, 2015.

[16] 李伟锋, 何玲, 冯金霞, 等. 不同生姜提取液处理鲜切苹果感官评定的研究[J]. 食品工艺科技, 2012, 17(33): 73-76.

[17] Zhou W, Yuan HJ, Yao J. Effects of postharvest curing treatment on flesh colour and phenolic metabolism in fresh-cut potato products[J]. Food Chemistry, 2015, 169: 246-254.

[18] 全国果品标准化技术委员会(SAC/TC510). NY/T 2637-2014 水果和蔬菜可溶性固形物含量的测定折射仪法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.

[19] 崔辉梅, 石国亮, 安君和. 马铃薯还原糖含量测定方法的比较研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(19): 4821-4823.

[20] Lin YF, Hu YH, Lin HT, et al. Inhibitory effects of propyl gallate on tyrosinase and its application in controlling pericarp browning of harvested longan fruits[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2013, 61: 2889-2895.

[21] 张学杰, 刘宜生, 金黎平, 等. 马铃薯丝加工抗褐变保鲜剂的筛选[J]. 食品科学, 1999, 173(6): 33-35.

[22] 孟祥春, 黄泽鹏, 黎家妍, 等. 氧化白藜芦醇对鲜切马铃薯褐变的抑制作用[J]. 农产品加工, 2018(12): 6-10, 14.

[23] Liu X, Yang Q, Lu YZ, et al. Effect of purslane (*Portulaca*

oleracea L.) extract on anti-browning of fresh-cut potato slices during storage[J]. Food Chemistry, 2019, 283: 445-453.

[24] 陈豫, 胡伟, 王宇, 等. 生姜、大蒜提取液和海藻酸钠复合处理对茵红李的保鲜效果[J]. 河南农业科学, 2017, 46(9): 104-109.

[25] 方宗庄, 谢辉, 段宙位, 等. 不同预处理方法对鲜切菠萝贮藏品质的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(1): 197-201.

[26] 袁园, 张岩, 杨会歌, 等. 抗菌薄膜包装材料对马铃薯贮藏品质的影响[J]. 包装工, 2018, 39(7): 72-79.

[27] Raigond P, Raigond B, Kaundal B, et al. Effect of zinc nanoparticles on antioxidative system of potato plants[J]. Journal of Environment Biology, 2017, 38(3): 435-439.

[28] 唐世明, 曹君迈. 氯苯胺灵对马铃薯还原糖、膜稳定指数的影响[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(9): 297-300.

[29] 张焱, 韩育梅. 两种贮藏方式对马铃薯贮藏品质的影响[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(10): 185-187.

[30] Wu SJ. Extending shelf-life of fresh-cut potato with cactus *Opuntia dillenii* polysaccharide-based edible coatings [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 130: 640-644.

[31] Ma L, Zhang M, Bhandari B, et al. Recent developments in novel shelf life extension technologies of fresh-cut fruits and vegetables[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 64: 23-38.

[32] Yousuf B, Qadri OS, Srivastava AK. Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 89: 198-209.

[33] 田甲春, 田世龙, 程建新, 等. 贮藏温度对马铃薯品质和采后生理的影响[J]. 保鲜与加工, 2017, 17(3): 16-20.

[34] Jing YJ, Huang JH, Yu XQ. Maintenance of the antioxidant capacity of fresh-cut pineapple by procyanidin-grafted chitosan [J]. Postharvest Biology and Technology, 2019, 154: 79-86.

[35] Li L, Bai JJ, Wu MM, et al. Studies on browning inhibition technology and mechanisms of fresh-cut potato [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41: e13263.

(上接第 235 页)

版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 101.

[27] 国家药典委员会主编. 中华人民共和国药典[M]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 416-417.

[28] 李木子, 王京辉, 郭洪祝, 等. HPLC 法测定白术饮片中多种化学成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(9): 1585-1592.

[29] 田璐, 闫海霞, 傅欣彤, 等. 一测多评法同时测定川芎、当归饮片中多种化学成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(5): 848-854.

[30] 闫丹, 江敏瑜, 王云红, 等. 一测多评法在玄参药材质量控制中的应用[J]. 中草药, 2018, 49(20): 4892-4898.

[31] 国家药典委员会主编. 中华人民共和国药典[M]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 1182-1183.

[32] 国家药典委员会主编. 中华人民共和国药典[M]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 1493-1494.

[33] 赵倩, 冯伟红, 张启伟, 等. “一测多评”法用于栀子金花

丸多成分含量测定研究的可行性研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(10): 1826-1833.

[34] 翟宏宇, 单柏宇, 王海洋, 等. 一测多评法测定保心宁片中 6 个丹参类指标性成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(6): 973-978.

[35] 靳瑞婷, 杨素德, 付娟, 等. 一测多评法测定芪白平肺颗粒中 8 种皂苷类成分[J]. 中草药, 2015, 46(24): 3682-3686.

[36] 魏丽娟, 易倩, 张曲, 等. 一测多评法测定藜麦中 6 种酚类成分[J]. 食品工业科技, 2018, 39(19): 232-23, 242.

[37] 王智民, 钱忠直, 张启伟, 等. 一测多评法建立的技术指南[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 657-658.

[38] 高慧敏, 宋宗华, 王智民, 等. 适合中药特点的质量评价模式——QAMS 研究概述[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(4): 405-416.

[39] 何兵, 杨世艳, 张燕. 一测多评中待测成分校正和定位的新方法研究[J]. 药学学报, 2012, 47(12): 1653-1659.