

巴西蜂胶化学成分的研究及安全性评价

周 静¹, 王飞飞¹, 俞美香², 徐 娟^{1,3}, 邱惠群³, 沈丽花³, 胡秋辉^{1,*}

(1. 南京农业大学食品科技学院, 江苏 南京 210095; 2. 江苏省环境监测中心, 江苏 南京 210036; 3. 常熟理工学院生物科学与工程系, 江苏 常熟 215500)

摘 要: 本研究对巴西蜂胶样品中的营养成分、农药残留及重金属的种类及含量进行了定性和定量检测, 并对其质量和食品安全性进行了评价。结果表明巴西蜂胶中总黄酮含量为 7.3%, 与国家标准进行对照, 高于优质蜂胶的总黄酮含量 5% 的标准。乙醇提取物含量为 46.07%; 蛋白质和脂肪含量分别为 106、152g/kg; 维生素 A、维生素 E 含量分别为 161、1382mg/kg。同时巴西蜂胶中还含有 17 种氨基酸, 10 种脂肪酸, 17 种矿质元素。此外, 巴西蜂胶的农药残留量和重金属含量较低, 甲胺磷、对硫磷、六六六、滴滴涕、汞均未检出。这些结果表明, 巴西蜂胶是一种高营养且无污染的高质量安全食品, 这为蜂胶的功能性食品的开发和研究提供一个可靠的基础。

关键词: 巴西蜂胶; 化学成分; 研究; 安全性评价

The Chemical Constituents Detection of Brazilian Propolis and Its Safety Evaluation

ZHOU Jing¹, WANG Fei-fei¹, YU Mei-xiang², XU Juan^{1,3}, QIU Hui-qun³, SHEN Li-hua³, HU Qiu-hui^{1,*}

(1.College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. Jiangsu Environmental Monitoring Center, Nanjing 210036, China;

3. Department of Biology, Changshu Institute of Science and Technology, Changshu 215500, China)

Abstract : The chemical constituents of Brazilian propolis were determined and its quality and safety were also evaluated. Results indicated that the total polyphenol and flavonoids content in Brazilian propolis was 7.3 %, which is much higher than that mentioned in the national standard. The content of 75% ethanolic extract was 46.07%.The content of protein was 106g/kg. The content of fat was 152g/kg. Fat-soluble vitamins Vitamin A and Vitamin E were 161mg/kg, 1382mg/kg respectively. Meanwhile, 17 kinds of amino acid were identified in Brazilian propolis. 10 fatty acids and 17 microelements were found in Brazilian propolis. However, the pesticide residue was very low. DDT, methamidophos, parathion, benzene hexachloride (BHC) were not detected. And heavy metal mercury (Hg) was not detected, the content of Arsenic (As) was 0.01 mg/kg. These data suggest that Brazilian propolis is nutritional, safe and of high quality. The research gives a solid base to the development of functional foods with Brazilian propolis.

Key words: Brazilian propolis; chemical constituents; safety evaluation

中图分类号: S896.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)10-0236-04

蜂胶(Propolis)是蜜蜂从植物花苞及树干上采集的树脂, 混入其上颚腺分泌物和蜂蜡等物质而成的一种具有芳香气味的胶状固体物质, 是蜜蜂用来防护、抵御病虫害和病原微生物入侵巢房的御敌物质, 同时也是作为修补巢房和内环境消毒杀菌的一种特殊物质^[1]。

目前在蜂胶内发现的化学物质的种类有: 蜂蜡、树脂类、香脂类、芳香油、脂溶性油类、花粉和其它有机物。不同地区的蜂胶所含化合物的种类和数量差别很大, 这就决定了不同地区的蜂胶具有不同的生理活

性。

新采集的蜂胶约含有 55% 树脂和香膏, 30% 蜂蜡, 10% 芳香挥发油, 5% 的花粉等杂物。经分析表明, 从蜂胶中分离出多种化学成分, 证明其成分极为复杂。随着新技术、新设备的采用, 对蜂胶成分分析也逐渐深入。目前在蜂胶中鉴定的化合物有黄酮类化合物 71 种, 芳香酸与芳香酸酯类化合物 59 种, 酚类、醇类和其他化合物 24 种, 醛与酮类化合物 17 种, 氨基酸 25 种, 脂肪酸与脂肪酸酯 50 种。萜类化合物 19 种, 甾类化

收稿日期: 2005-04-13

* 通讯作者

作者简介: 周静(1970-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品营养化学。

合物6种,碳水化合物9种,烃类化合物25种,从北京蜂胶中测得35种矿物元素^[2,3]。

近代研究证明,蜂胶具有多种生物学功能,如降血糖、降血脂、抗菌、消炎、止痒、麻醉、促进组织再生等作用,其中,抗菌作用^[4~6],抗氧化作用^[7~10],抗癌作用^[11~13]和免疫调节作用^[14~17]应用较为广泛,并已应用于医药、畜牧兽医、食品保鲜,功能性食品和日用化妆品。

蜂胶具有广泛的生理活性和药理作用,已越来越受到人们的普遍重视。蜂胶的化学成分依其来源而有差异,国内对巴西蜂胶化学组分及其质量安全的报道较少。本研究对巴西蜂胶中各种化学组分进行测定,并对其食品安全性进行了评价,为进一步开发和利用自然资源提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

蜂胶 南京季福标蜂业有限公司提供,原产巴西。

α -生育酚、维生素C标准品(Sigma);甲醇、乙醚为色谱纯,其他所用试剂为分析纯。

1.2 分析方法

1.2.1 总黄酮和酚类化合物含量的测定

实验方法按照中华人民共和国国家标准--蜂胶 SB/T 10096-92^[18]。

1.2.2 75%乙醇提取物含量的测定

称取2g蜂胶样品(称准至0.001g)在瓷研钵中用25ml乙醇研成糊状放入锥形瓶中用少量乙醇将研钵冲洗干净,并放入锥形瓶中。盖好瓶塞在室温下浸泡24h。将瓶中浸液通过事先称重过的滤纸及波纹漏斗过滤到另一锥形瓶中,再用少量乙醇冲洗原锥形瓶及滤纸两次,将残渣及滤纸在室温下干燥至恒重,在相同条件下做平行试验。

1.2.3 蛋白质含量的测定 凯氏定氮法测定^[19]

1.2.4 脂溶性维生素分析

1.2.4.1 样品处理

准确称取一定量样品,放入磨口三角瓶中,加乙醇60ml,50%NaOH 20ml,50℃回流30min,在两个分液漏斗中分别加50ml乙醚,将三角瓶中的皂化物缓缓加入分液漏斗,轻轻摇动,然后静置分层,上层移入容量瓶中,下层再提取一次,取上层与前一次提取物合并,提取液经水洗至中性,再以无水硫酸钠脱水,蒸发乙醚,立即用1.0ml无水甲醇溶解,上机(Agilent 6810)测定。

1.2.4.2 仪器条件

VA分析:色谱柱u-Bondpak C-18,250×4mm,流动相:90%甲醇,流速:1.0ml/min,紫外检测波长:325nm,纸速0.5cm/min,进样量20 μ l。

VE分析:色谱柱LichrosorbSi-60,300×3.9mm,流动相:含0.6%异辛烷甲醇,流速:1.0ml/min,紫外检测波长:280nm,纸速0.5cm/min,进样量20 μ l。

1.2.5 氨基酸组成的测定

准确称取一定量样品,放入特制试管,抽真空,封口,35℃水解24h,在日立835型氨基酸分析仪上侧氨基酸组成。

1.2.6 脂肪含量的测定 索氏提取法测定^[20]

1.2.7 脂肪酸组成的测定

1.2.7.1 样品处理

样品以石油醚为溶剂,经索氏提取24h后,将溶剂减压蒸去,称取100mg提取物,加入1mol/L KOH溶液皂化,然后加乙醚去除皂化物,水层以硫酸调pH至2.0,再以乙醚萃取,用无水硫酸钠脱水后,蒸去乙醚,与甲醇酯化,以乙醚萃取酯化物,脱水,浓缩,用微量进样器进样,用岛津14A进行气谱分析。

1.2.7.2 仪器条件

色谱柱填充20%DEGS/ChromosorbW(AW),60~80目,玻璃柱3mm×3m,柱温150~185℃程序升温,升温速率2℃/min,进样量20 μ l。

1.2.8 微量元素测定与分析

1.2.8.1 样品处理

准确称取一定量样品,加入硝酸,加热消解,至溶液澄清透明,洗入50ml容量瓶。

用原子吸收(AA300型)法测定铅(Pb)含量;

用原子荧光(AFS230)测定砷(As)、汞(Hg)含量;

用等离子发射光谱法测定其他矿物质元素含量。

1.2.8.2 仪器条件

原子吸收法测Pb的条件:助燃气:7.5L/min,乙炔:1.5L/min,灯电流8mA,波长2883.3nm,狭缝3.0nm,燃烧器高度14mm。1原子荧光法同时测As、Hg的条件:载气:1.0L/min,保护气:0.4L/min,灯电流As:40mA,Hg:60mA,燃烧器高度12mm,副高压:300mA,载流5%盐酸,所有试剂均为优级纯。

等离子发射光谱条件:射频功率1150W,雾化压力25PSI,蠕动泵速100RPM,积分时间2s,分析线为:Fe,238.204;Cu,224.700;Zn,213.857;Mn,259.372;Mg,285.213;Na,589.592;Ca,317.993;P,178.22;Ba,455.403;Ni,232.003;B,208.957;V,292.402;Si,251.611;S,180.663;Al,396.153;K,766.490;Sr,407.700nm。

1.2.9 农药残留

测定方法: GB/T 5009.19-1996 食品中六六六、滴滴涕的残留量的测定方法^[21]。

GB/T 5009.20-1996 食品中有机磷农药残留量的测定方法^[22]。

2 结果与讨论

2.1 巴西蜂胶中总黄酮、75% 乙醇提取物和脂溶性维生素的测定结果

表1 巴西蜂胶中总黄酮、75% 乙醇提取物和脂溶性维生素的测定结果

Table 1 The content of total polyphenol and flavonoid, 75% ethanolic extract and fat-soluble vitamins in the Brazilian propolis

成分	含量
总黄酮(%)	7.30
75% 乙醇提取物含量(%)	46.07
维生素 A (mg/kg)	1382.00
维生素 E (mg/kg)	161.00

表1 表明巴西蜂胶总黄酮得含量为 7.3%，乙醇提取物含量为 46.07%。巴西蜂胶中总黄酮含量为 7.3%，而北京蜂胶的总黄酮含量为 4.4%，杭州蜂胶的总黄酮含量为 12.5%，表明蜂胶中总黄酮的含量会因产地和检测方法的不同而不同。黄酮化合物有抗菌、消炎、抑制肿瘤细胞生长、预防紫外线损伤、稳定血液循环、增加酶类活性、提高免疫水平、调节新陈代谢和生理功能等作用^[23,24]。

黄酮化合物是公认的天然抗氧化剂，同时还能显著提高人体内的 SOD 活性，因而能稳定和清除自由基^[25]，减少脂质过氧化物和脂褐素的生成与沉积^[26]，保护细胞膜，增强细胞活力^[27]，调节器官组织功能，有效延缓衰老，并避免人体患某些癌症、心脏病等其它与年龄有关的疾病^[28]。因此巴西蜂胶所具有的生物活性和保健功能与其较高的总黄酮含量是密切相关的。

因为蜂胶是一种难溶于水的胶状物质，在适当的 pH 条件下可溶于乙醇，因此蜂胶中水溶性维生素很少^[29]。维生素 E 在体内具有多种生理功能，主要为抗氧化作用，维护机体正常免疫功能，与蜂胶的此类生物活性密切相关。

2.2 巴西蜂胶中蛋白质和氨基酸组成的测定结果

表2 表明蛋白质含量为 10.6%，蜂胶中的蛋白质，含量较丰富，接近于蛋类，是一种良好的蛋白质来源。

蜂胶中氨基酸种类丰富，虽然含量较低，但其必需氨基酸的构成接近人体氨基酸模式，故蛋白质在体内的利用率较高。

2.3 巴西蜂胶中脂肪及脂肪酸的测定结果

表3 表明巴西蜂胶中脂肪含量较高，其中棕榈油的含量最高，月桂酸的含量最少。亚油酸、亚麻酸、24 碳烯酸和花生烯酸等为不饱和脂肪酸，且它们的含量均

表2 巴西蜂胶中蛋白质和氨基酸组成的测定结果

Table 2 The content of protein and amino acid in the Brazilian propolis

氨基酸	含量(g/kg)	氨基酸	含量(g/kg)
蛋白质	106	缬氨酸	5.9
酪氨酸	3.1	甲硫氨酸	3.9
苯丙氨酸	4.5	异亮氨酸	5.4
赖氨酸	6.0	亮氨酸	7.5
组氨酸	1.9	天门冬氨酸	8.6
精氨酸	5.2	苏氨酸	4.0
脯氨酸	4.0	丝氨酸	4.0
丙氨酸	5.4	谷氨酸	10.2
胱氨酸	1.8	甘氨酸	4.6

表3 巴西蜂胶中脂肪及脂肪酸的测定结果

Table 3 The content of fat and fatty acid in the Brazilian propolis

成分	含量(g/kg)	成分	含量(g/kg)
脂肪	152	油酸	155.2
月桂酸	3.1	亚油酸	111
豆蔻油酸	42	亚麻酸	43.9
棕榈酸	59.1	花生酸	3.8
棕榈油	328.3	花生烯酸	53.6
硬脂酸	18.2	24 碳烯酸	14.6

较高。

2.4 巴西蜂胶中微量元素含量的测定结果

表4 巴西蜂胶中微量元素含量的测定结果

Table 4 The content of trace elements and macrominerals content in the Brazilian propolis

微量元素	含量(mg/kg)	微量元素	含量(mg/kg)
铜 Cu	7.84	钡 Ba	22.99
铁 Fe	30.98	镍 Ni	3.37
锰 Mn	21.69	锶 Sr	12.74
锌 Zn	37.65	硼 B	39.68
镁 Mg	2596.07	钒 V	1.10
钾 K	9399.83	硅 Si	40.50
钠 Na	115.91	硫 S	1381.24
钙 Ca	2097.85	铝 Al	35.51
磷 P	2910.90		

表4 表明蜂胶中含有十几种与人体有关的矿物元素，其中钾、钙、镁、磷和硫含量较高。这些元素对于人体维持正常的生理功能甚为重要。特别是钾含量最高，而钠含量很低，钾/钠比相差很大，这种高钾低钠的特点具有重要的应用价值。

2.5 巴西蜂胶中农药残留及重金属含量测定

表6 表明了巴西蜂胶中的农药残留量及重金属含量。由表可知，巴西蜂胶产地的植物所使用的农药溴氰菊酯为中等毒性农药，具有高效、低毒、低残留的特点，合理使用，不会造成危害^[30]，巴西蜂胶产地周围环境的砷污染较轻，无汞、镉污染。

3 结 论

表5 巴西蜂胶中农药残留及重金属含量测定结果
Table 5 The content of pesticide residue and heavy metal in the Brazilian propolis

农药	含量(mg/kg)	重金属	含量(mg/kg)
溴氰菊酯	0.02	砷(As)	0.01
甲胺磷	未检出	汞(Hg)	未检出
对硫磷	未检出		
六六六	未检出		
滴滴涕	未检出		

按照中华蜂胶协会蜂胶品质标准规范：类黄酮含量须达5%以上，才是合格的蜂胶。巴西蜂胶中总黄酮含量7.3%。与北京、贵阳蜂胶相比，巴西蜂胶的挥发油和微量元素铁(Fe)和钙(Ca)含量较高。此外，巴西蜂胶的农药残留量和重金属含量较低，其中汞和砷均未检出。国内有关巴西蜂胶的化学组分的报道较少，巴西蜂胶是一种高营养且无污染的高质量安全食品，这为巴西蜂胶的生理生化功能研究和巴西蜂胶功能性食品的开发提供了理论依据。

参考文献：

[1] Burdock G A Review of the biological properties and toxicity of bee propolis [J]. Food and Chemical Toxicology, 1998, 36:347-363.

[2] 周立东. 蜂胶的化学成分研究进展(综述)[J]. 中国养蜂, 2000,51(3): 21-28.

[3] 玄红专. 蜂胶化学成分的最近研究进展[J]. 养蜂科技, 2003, (1): 27-29.

[4] Garedewa egid. Microbiological and calorimetric investigations on the antimicrobial actions of different propolis extracts: an in vitro approach [J]. Thermochemica Acta, 2004, 442(1-2):115-124.

[5] Kujumgiev. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin[J]. Journal of Ethnopharmacology, 1999, 64(3):235-240.

[6] 侯晓薇. 在模拟口腔条件下对蜂胶防龋作用的研究[J]. 中国生物医学工程学报, 2003, 22(2): 55-58.

[7] 金毅, 尹小梅, 刘义. 蜂胶黄酮类提取物对培养心肌细胞氧化损伤的保护作用[J]. 锦州医学院学报, 2003, 24(6): 17-20.

[8] 王桂云. 蜂胶提取物对小鼠胸腺一氧化氮与抗氧化作用的影响[J]. 中医药学报, 2004, 32(3): 67-70.

[9] 崔桂友. 蜂胶中具有抗氧化活性的木脂素[J]. 食品科学, 2002, 23(12): 117-120.

[10] 张燕平. 天然蜂胶对食用油脂的抗氧化性研究[J]. 食品工业, 2002, (3): 5-7.

[11] 张建. 蜂胶体外抗肿瘤实验及其诱发肿瘤细胞凋亡的研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2000, 22(6): 468-471.

[12] JENG S.-N. Antimutagenicity of ethanol extracts of bee glue against environmental mutagens[J]. Food and Chemical Toxicology, 2000, 38(10):893-897.

[13] 郭秀婵, 叶梁. 国产蜂胶对肝癌细胞体外杀伤作用的研究[J]. 中国肿瘤, 2002, 11(7): 431-433.

[14] 毛晓明, 徐彩菊. 皇浆蜂胶对小鼠免疫功能的影响[J]. 实用预防医学, 2002, 9(5): 559-560.

[15] 张其康, 吴珍红, 缪晓青, 等. 蜂胶囊对巨噬细胞吞噬能力的影响及其急性毒理[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2003, 32(4): 25-28.

[16] 于晓红, 李淑华. 蜂胶对小鼠免疫功能影响的实验研究[J]. 中医药信息, 2001, 18(4): 53-55.

[17] Blonska M, Bronikowska J. Effects of ethanol extract of propolis (EEP) and its flavones on inducible gene expression in J774A.1 macrophages [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2004, 91(1):25-30.

[18] 中华人民共和国国家标准--蜂胶[S]. SB / T - 10096 - 92.

[19] Helrich K, et al. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists[S]. (AOAC) 15thed. Arlington, VA. USA: Association of Official Analytical Chemists, 1990. 342.

[20] Helrich K, et al. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists[S]. (AOAC) 15thed. Arlington, VA. USA: Association of Official Analytical Chemists, 1990. 770-1.

[21] 食品中六六六、滴滴涕的残留量的测定方法[S]. GB/T 5009. 19-1996.

[22] 食品中有机磷农药残留量的测定方法[S]. GB/T 5009. 20-1996.

[23] Grunberger D, Banerjee R, Risinger K, et al. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis[J]. Experientia, 1988, 44(3):23.

[24] Scheller S, Krol W, Swiacik S, et al. Antitumoral property of ethanolic extract of propolis in mice-bearing[J]. Z Naturforsch C, 1989, 44(11-12):1063.

[25] 张燕平. 天然蜂胶对自由基的清除作用[J]. 食品与发酵工业, 2003, 28(1): 48-52.

[26] 曹炜. 蜂胶抗油脂氧化作用的研究[J]. 食品科学, 2002, 23(2): 30-33.

[27] 王春玲, 张玉军. 蜂胶中有效成分的提取及其抗氧化性能的研究[J]. 食品科学, 2004, 25(5): 94-98.

[28] 乞永艳. 蜂胶乙醇提取物抗氧化性能研究[J]. 食品科技, 2000, (4): 43-46.

[29] 茅力, 杨森, 陈景衡, 等. 蜂胶醇溶液营养成分分析[J]. 南京医科大学学报, 1998,18(6):543-545.

[30] 吴永宁. 现代食品安全科学[M]. 化学工业出版社, 2003.