

# 不同产地油菜蜂花粉抗氧化活性比较研究

程 妮, 王毕妮, 邓建军, 高 慧, 曹 炜

(西北大学化工学院食品科学与工程系, 陕西 西安 710069)

**摘 要:** 为研究不同产地油菜蜂花粉的抗氧化活性, 本实验以青海、湖北、陕西、安徽、新疆、四川、福建 7 个油菜主产区的油菜蜂花粉为研究对象, 测定其乙醇提取物的总酚含量、总黄酮含量、还原力和对 DPPH 自由基清除率, 结果表明, 新疆与湖北油菜蜂花粉提取物的抗氧化活性显著高于青海、陕西、福建、四川、安徽 ( $P < 0.05$ ), 安徽油菜蜂花粉提取物的抗氧化活性显著低于其他产地 ( $P < 0.05$ )。

**关键词:** 产地; 油菜蜂花粉; 抗氧化活性

## Antioxidant Activities of Ethanol Extracts of Rape Pollen Collected from Different Regions

CHENG Ni, WANG Bi-ni, DENG Jian-jun, GAO Hui, CAO Wei

(Department of Food Science and Engineering, School of Chemical Engineering, Northwest University, Xi'an 710069, China)

**Abstract:** Rape pollens collected from different regions including Qinhai, Hubei, Shannxi, Anhui, Xinjiang, Sichuan and Fujian were extracted by 80% aqueous ethanol and total phenolic content, total flavonoid content, reducing power activity and DPPH radical scavenging activity of the resulting extracts were measured. The results revealed that rape pollens from Xinjiang and Hubei had significantly higher antioxidant activity than those from other regions ( $P < 0.05$ ). The antioxidant activity of the rape pollen extract from Anhui was significantly lower than other regions ( $P < 0.05$ ).

**Key words:** region; rape pollen; antioxidant activity

中图分类号: S896.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)21-0034-03

蜂花粉是蜜蜂采集植物的花粉后, 加入花蜜和唾液形成的粒状物质, 因其含有丰富的酚类物质, 成为抗氧化研究领域的热点之一<sup>[1-4]</sup>。

油菜是我国普遍种植的油料作物, 其花朵中含有丰富的花蜜, 在盛花期引来大量的蜜蜂采蜜, 因此油菜蜂花粉也成为我国最富产的花粉之一。近年来, 关于油菜蜂花粉抗氧化方面的研究较多, 大多集中在酚类物质含量与抗氧化活性的关系<sup>[5-7]</sup>, 未见到不同产地对油菜蜂花粉抗氧化活性影响的研究相关报道。我国油菜花粉的产地较多, 有必要开展地域对其抗氧化性的影响研究。本实验以我国 7 个油菜主产区(青海、湖北、陕西、安徽、新疆、四川、福建)的油菜蜂花粉为研究对象, 比较不同产地油菜蜂花粉的总酚含量、总黄酮含量、还原力和对 DPPH 自由基的清除能力, 以期对油菜蜂花粉功能食品的研究与开发提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

不同产地油菜蜂花粉, 由陕西老蜂农生物科技有限责任公司提供。

1,1-二苯基-2-苦肟基(DPPH) 美国 Sigma 公司; 乙醇、硫酸亚铁、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、铁氰化钾、三氯化铁、碳酸钠、三氯乙酸、原儿茶酸、芦丁、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠等均为国产分析纯; Folin-Ciocalteu 显色剂为实验室配制。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 样品溶液的制备

准确称取油菜蜂花粉 10.0g 于 250mL 圆形烧瓶中, 加入 150mL 80% 乙醇加热回流 2h, 离心分离, 取出上清液。向残渣中再加入 80% 乙醇 150mL, 加热回流 1h, 离心分离, 取上清液, 合并两次提取液, 过滤, 浓缩, 冷冻干燥得油菜蜂花粉提取物。将提取物配制成

收稿日期: 2011-06-30

基金项目: 陕西省农业科技攻关计划项目(2011K01-29); 西安市科技计划项目(NC1008(18))

作者简介: 程妮(1980—), 女, 讲师, 硕士, 主要从事抗氧化功能食品研究。E-mail: chengni@nwu.edu.cn

\* 通信作者: 曹炜(1969—), 男, 教授, 博士, 主要从事蜂产品深加工研究。E-mail: caowei@nwu.edu.cn

2mg/mL 的溶液, 置于 $-4^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

### 1.2.2 总酚含量测定

参考曹炜等<sup>[8]</sup>的方法, 并加以改进。准确称取 5mg 原儿茶酸, 用蒸馏水溶解, 配制成 0.1mg/mL 的原儿茶酸标准溶液。取 7 支 25mL 具塞刻度试管, 分别移取 0.0、0.2、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8mL 标准溶液于试管中, 加入 1mL Folin-Ciocalteu 显色剂, 然后各试管中加入 5mL 1mol/L 的碳酸钠水溶液, 用蒸馏水定容至 10mL, 混合均匀后, 在室温下避光放置 1h, 于波长 760nm 处测定吸光度。以原儿茶酸溶液的质量浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标制作标准曲线。

准确移取不同产地的油菜蜂花粉提取液 0.8mL, 进行样品测定。提取物中总酚含量表示为每克提取物相当于原儿茶酸的毫克数。

### 1.2.3 总黄酮含量的测定

准确称取芦丁标准品 0.01g, 用 80% 的甲醇溶液定容至 50mL 容量瓶中, 配制质量浓度为 0.2mg/mL 芦丁标准液, 分别吸取 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0mL 的标准液, 分别于 10mL 容量瓶中, 加入 5%  $\text{NaNO}_2$  溶液 0.4mL, 摇匀, 放置 6min 后, 加入 10%  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  溶液 0.4mL, 摇匀, 放置 6min 后, 加入 4%  $\text{NaOH}$  溶液 4mL, 摇匀, 最后用 80% 乙醇定容, 15min 后于波长 510nm 处测定吸光度。以芦丁质量浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

准确移取不同产地的油菜蜂花粉提取液 1.0mL 进行样品测定。提取物中总黄酮含量表示为每克提取物相当于芦丁的毫克数。

### 1.2.4 还原能力的测定<sup>[9]</sup>

准确移取不同产地油菜蜂花粉提取液 200 $\mu\text{L}$ , 用磷酸盐缓冲溶液(0.2mol/L, pH6.6)定容至 2.5mL, 加入 1% 铁氰化钾 5mL, 置于 $50^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应 20min, 然后加 10% 三氯乙酸 5mL, 混匀。吸取上清液 2.5mL, 依次加入蒸馏水 2.5mL, 0.1% 三氯化铁 0.5mL, 反应 5min 后在波长 700nm 处测吸光度。

### 1.2.5 DPPH 自由基清除实验

根据参考文献<sup>[10]</sup>所述方法加以改进。称取 20mg DPPH, 置于 500mL 容量瓶中, 配成 0.04mg/mL DPPH 甲醇溶液, 分别吸取 7 个不同产地油菜蜂花粉提取液 0.6mL, 加入 DPPH 甲醇溶液 5mL, 室温下避光放置 1h, 于波长 517nm 处测吸光度 $A_{\text{样品}}$ , 同时测定 0.04mg/mL DPPH 甲醇溶液 5mL 与 0.6mL 甲醇溶剂混合后的吸光度 $A_{\text{空白}}$ , 并以 2mg/mL VC 溶液做对照样品。DPPH 的清除率通过下式计算。

$$\text{清除率}/\% = (1 - \frac{A_{\text{样品}}}{A_{\text{空白}}}) \times 100$$

### 1.3 数据处理

用 SAS 8.1 软件 PROC ANOVA 程序对所有数据进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同产地油菜蜂花粉提取物总酚、总黄酮含量

表 1 不同产地油菜蜂花粉提取物的总酚、总黄酮含量( $n=3$ )

Table 1 Total phenolic and total flavonoid contents of rape pollen extracts ( $n=3$ )

产地	总酚含量/(mg/g)	总黄酮含量/(mg/g)
新疆	$30.23 \pm 0.61^a$	$32.21 \pm 0.55^a$
湖北	$30.02 \pm 0.31^a$	$30.41 \pm 0.17^b$
青海	$29.41 \pm 0.21^b$	$26.22 \pm 0.52^c$
陕西	$29.23 \pm 0.22^b$	$21.42 \pm 1.14^d$
福建	$27.96 \pm 0.22^c$	$19.80 \pm 0.19^e$
四川	$23.27 \pm 0.27^d$	$19.61 \pm 0.17^e$
安徽	$17.24 \pm 0.16^e$	$17.71 \pm 0.22^f$

注: 同列数据肩标不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下同。

由表 1 可知, 新疆和湖北油菜蜂花粉中的总酚含量显著高于青海和陕西( $P < 0.05$ ), 安徽油菜蜂花粉的总酚含量最低, 显著低于其他产地的油菜蜂花粉总酚含量( $P < 0.05$ )。总黄酮含量的大小顺序为新疆>湖北>青海>陕西>福建 $\approx$ 四川>安徽, 除福建和四川外, 其余各产地油菜蜂花粉的总黄酮含量差异均显著( $P < 0.05$ )。不同产地油菜蜂花粉总酚和总黄酮含量的差异可能与植物生长环境的昼夜温差、湿度以及光照时间等因素有关<sup>[11-12]</sup>。

### 2.2 不同产地油菜蜂花粉提取物对 $\text{Fe}^{3+}$ 还原能力的影响

表 2 不同产地油菜蜂花粉提取物还原能力( $n=3$ )

Table 2 Reducing power activity of rape pollen extracts ( $n=3$ )

项目	VC	新疆	湖北	青海
$A_{700\text{nm}}$	$0.236 \pm 0.003^a$	$0.172 \pm 0.002^b$	$0.169 \pm 0.003^b$	$0.165 \pm 0.002^c$
项目	陕西	四川	福建	安徽
$A_{700\text{nm}}$	$0.160 \pm 0.003^d$	$0.160 \pm 0.002^d$	$0.158 \pm 0.002^d$	$0.155 \pm 0.001^e$

由表 2 可知, 不同产地油菜蜂花粉提取物对  $\text{Fe}^{3+}$  的还原能力不同, 其大小次序为: 新疆>湖北>青海>陕西 $\approx$ 四川 $\approx$ 福建>安徽, 各产地油菜蜂花粉提取物的还原力均显著低于同质量浓度的 VC( $P < 0.05$ )。虽然福建油菜蜂花粉提取物中的总酚含量显著高于四川油菜蜂花粉( $P < 0.05$ ), 但是二者的还原力相同, 表明油菜花粉中的总酚含量与其还原力相关性低。不同产地油菜花粉对  $\text{Fe}^{3+}$  的还原能力与总黄酮相关系数为  $R^2 = 0.9760$ , 二者呈显著正相关( $P < 0.05$ ), 表明油菜花粉提取物的还

原能力主要依靠黄酮类物质给出电子,即黄酮类物质含量越高,油菜花粉的还原力越强。

### 2.3 不同产地蜂花粉提取物对 DPPH 自由基的清除作用

表 3 不同产地油菜蜂花粉提取物对 DPPH 自由基的清除能力( $n=3$ )  
Table 3 Scavenging capacity of rape pollen extracts against DPPH free radicals ( $n=3$ )

项目	VC	新疆	湖北	青海
清除率/%	86.87 ± 0.719 <sup>a</sup>	65.15 ± 0.835 <sup>b</sup>	64.33 ± 0.719 <sup>b</sup>	52.63 ± 0.736 <sup>c</sup>
项目	陕西	福建	四川	安徽
清除率/%	42.78 ± 0.868 <sup>d</sup>	38.04 ± 0.761 <sup>e</sup>	33.89 ± 0.756 <sup>f</sup>	32.74 ± 0.958 <sup>g</sup>

由表 3 可知,新疆和湖北油菜蜂花粉提取物对 DPPH 自由基的清除能力最强,显著高于其他 5 个产地( $P < 0.05$ ),其余各组对 DPPH 自由基的清除能力大小顺序为:青海 > 陕西 > 福建 > 四川 > 安徽,且各组间差异均显著( $P < 0.05$ )。不同产地油菜花粉乙醇提取物对 DPPH 自由基的清除率与其总酚和总黄酮含量的相关系数分别为  $R^2 = 0.5466$  和  $R^2 = 0.984$ ,表明在油菜蜂花粉提取物中,黄酮类物质为主要的自由基清除剂。

### 3 结 论

黄酮类是油菜蜂花粉提取物中的主要抗氧化物质。不同产地油菜蜂花粉提取物的抗氧化活性存在显著差异,新疆和湖北的油菜蜂花粉总酚、总黄酮含量、还原力和 DPPH 自由基清除率显著高于其他产地,建议开发油菜蜂花粉抗氧化功能食品时,可选择上述产地的油菜蜂花粉。

### 参考文献:

- [1] MORAIS M, MOREIRA L, FEÁS X, et al. Honeybee-collected pollen from five portuguese natural parks: palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity[J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49(5): 1096-1101.
- [2] LEBLANC B W, DAVIS O K, BOUE S, et al. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen[J]. Food Chemistry, 2009, 115(4): 1299-1305.
- [3] MĂRGHITAȘ L A, STANCIU O G, DEZMIREAN D S, et al. *in vitro* antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania[J]. Food Chemistry, 2009, 115(3): 878-883.
- [4] ŠARIĆ A, BALOG T, SOBOČANEĆ S, et al. Antioxidant effects of flavonoid from Croatian *Cystus incanus* L. rich bee pollen[J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(3): 547-554.
- [5] 孙丽萍, 徐响, 廖磊, 等. 油菜蜂花粉黄酮醇苷的体外抗氧化研究[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 359-362.
- [6] 孙丽萍, 杨桂林, 徐响, 等. 油菜蜂花粉酚类化合物的初步分离和抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(23): 52-56.
- [7] 杨佳林, 孙丽萍, 徐响, 等. 油菜蜂花粉黄酮醇的测定及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(3): 79-82.
- [8] 曹伟, 索志荣. Folin-Ciocalteu 比色法测定蜂蜜中总酚酸的含量[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(12): 80-82.
- [9] SIDDHURAJU P, BECKER K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(8): 2144-2155.
- [10] LARRAUR J A, SÁNCHEZ-MORENO C, SAURA-CALIXTO F. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(7): 2694-2697.
- [11] SANTOS-GOMES P C, SEABRA R M, ANDRADE P B, et al. Phenolic antioxidant compounds produced by *in vitro* shoots of sage (*Salvia officinalis* L.)[J]. Plant Science, 2002, 162(6): 981-987.
- [12] COHEN S D, TARARA J M, KENNEDY J A. Assessing the impact of temperature on grape phenolic metabolism[J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 621(1): 57-67.