

# The Research on the Anti-Oxidative Effect of Pollen Polysaccharids from Maize

Yunjie Li<sup>1</sup>, Jinju Wu<sup>1</sup>, Bo Yu<sup>1</sup>, Moucheng Wu<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Chemical Engineering and Food Science, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang

<sup>2</sup>College of Food Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan

Email: [272749136@qq.com](mailto:272749136@qq.com), \*[wumch98@mail.hzau.edu.cn](mailto:wumch98@mail.hzau.edu.cn)

Received: Sep. 28<sup>th</sup>, 2014; revised: Oct. 30<sup>th</sup>, 2014; accepted: Nov. 8<sup>th</sup>, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

---

## Abstract

Through the vitro tests to the organization and body fluids of mice, the vitro antioxidant activity of different systems of maize pollen polysaccharide and level points had been researched. The results showed that PPM and grade points could restrain the mouse liver tissue lipid peroxidation, and protect the liver tissue peroxide which was damaged by Fe<sup>2+</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. It also could reduce mitochondria swelling.

## Keywords

PPM (Pollen Polysaccharide from Maize), Mice, Vitro, Antioxidant

---

# 玉米蜂花粉多糖的抗氧化效果研究

李云捷<sup>1</sup>, 吴进菊<sup>1</sup>, 于博<sup>1</sup>, 吴谋成<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>湖北文理学院, 化学工程与食品科学学院, 襄阳

<sup>2</sup>华中农业大学, 食品科技学院, 武汉

Email: [272749136@qq.com](mailto:272749136@qq.com), \*[wumch98@mail.hzau.edu.cn](mailto:wumch98@mail.hzau.edu.cn)

收稿日期: 2014年9月28日; 修回日期: 2014年10月30日; 录用日期: 2014年11月8日

---

\*通讯作者。

## 摘要

通过对小鼠组织及体液的体外试验,研究了不同体系中玉米蜂花粉粗多糖及级分的体外抗氧化活性。结果表明,玉米蜂花粉粗多糖及其级分可抑制小鼠肝组织的脂质过氧化,对 $\text{Fe}^{2+}$ 和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 诱导的肝组织过氧化物损伤具有保护作用,能减轻线粒体肿胀的发生。

## 关键词

玉米蜂花粉多糖, 小鼠, 体外, 抗氧化

## 1. 引言

蜂花粉被誉为“完全营养素”,不仅富含人体所需的各种营养素,而且近年研究表明在提高机体免疫力、延缓衰老、抑制肿瘤等方面具有积极意义[1]。我国玉米产量世界第二,按照2005年全国玉米种植面积3.9亿亩计算,亩产蜂花粉量平均为18.3kg,共可采集玉米蜂花粉713.7万吨。充分利用好该资源,必将产生显著的经济效益和社会效益[2]。

自由基是体内抗氧化过程中产生的有害物质,具有强氧化性,当体内自由基积累,会损害机体组织和细胞,引起慢性疾病和衰老,还可能诱发癌症。玉米蜂花粉中多糖的含量是蜂花粉类中最高的,关于玉米蜂花粉多糖在抗肿瘤、对巨噬细胞的激活作用研究报道很多[3],而其抗氧化的活性研究较少。本文从亚细胞器、组织及动物体水平上评价了玉米蜂花粉多糖的抗氧化作用,并比较了不同玉米蜂花粉多糖级分之间的抗氧化活性大小,以期玉米蜂花粉多糖功能食品的开发利用提供理论依据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 供试材料

试验样品提取玉米蜂花粉多糖并用乙醇分级,得到粗多糖PPM(pollen polysaccharide from maize, PPM)及级分PMA、PMB、PMC-1[4]。

试验动物:昆明种小鼠,雄性,体重 $20 \pm 2$ g。由湖北省医学动物试验中心提供。

### 2.2. 试剂及仪器

主要试剂:牛血清白蛋白:生物试剂,北京双旋微生物培养基制品厂;MDA及活性氧测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;维生素C,硫酸亚铁及其它均为国产分析纯。

主要仪器:紫外可见分光光度计,Shimadzu Co.Japan;电子天平,Sartorius Germany;电子恒温水浴锅,上海医疗器械五厂;干燥箱,重庆试验设备厂一分厂;低温超速离心机,Htachi, Japan。

### 2.3. 试验方法

#### 2.3.1. 对小鼠红细胞自氧化溶血时的丙二醛(MDA)生成的影响

昆明种小鼠20只,雄性,体重 $20 \pm 2$ g,眼球取血,肝素抗凝,3000 r/min离心分离得红细胞,冷生理盐水洗涤三次,制成0.5%悬浮液,取红细胞悬浮液5.0 ml与0.2 ml一定浓度样品液混合,并于37℃温育24 h(对照管以0.2 ml蒸馏水替代样品液)。用生理盐水稀释5倍,3000 r/min离心10 min。取上清液按试剂盒操作步骤进行试验,以蒸馏水做空白,测红细胞溶血时丙二醛的生成量,以吸光度表示丙二醛

生成的量。

### 2.3.2. 对小鼠肝组织匀浆丙二醛(MDA)生成的影响

制备 10% 的小鼠肝组织匀浆液[5] [6]。按 MDA 测定试剂盒方法测定并计算 MDA 含量，并计算抑制率。肝匀浆蛋白质含量用 Lowry 法测定，以牛血清白蛋白为标准。FeSO<sub>4</sub> 诱导组和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导组按文献[7] [8]方法处理。

抑制率% =  $[A_0 - A_1] / A_0 \times 100\%$  (A<sub>0</sub>——空白，A<sub>1</sub>——样品)。

### 2.3.3. 对小鼠肝线粒体肿胀度的影响

取 10% 的肝组织匀浆液 5 ml，先以 3000 r/min 离心 10 min，弃去沉淀，取上清液以 10,000 r/min 离心 10 min，所得的沉淀即为线粒体[9] [10]，用 Lowry 法测定该悬浮液的蛋白质含量，调整成蛋白质浓度为 0.5 mg/ml 的线粒体悬液，在试管中加入不同浓度的样品液 0.4 ml。空白加生理盐水，再加入 3.0 ml 线粒体悬液和 1.4 ml 0.5 mmol/l 的 FeSO<sub>4</sub> 溶液及 0.4 ml 0.5 mmol/l Vc 溶液，迅速混匀后于 520 nm 处比色测定吸光度，吸光度降低表示线粒体发生肿胀。抑制率计算方法同 1.3.2。

### 2.3.4. 对小鼠肝线粒体脂质过氧化的影响

在试管中加入 1.0 ml 线粒体悬液(蛋白质含量 0.5 mg/L)，0.4 ml 样品液，0.4 ml 0.5 mmol/L 的硫酸亚铁溶液和 0.4 ml 0.5 mmol/L 的 Vc 溶液，空白以生理盐水代替样品溶液，混匀后于 37 ℃ 浴 1 h 后，按照试剂盒的方法测定 MDA 的生成量，并计算抑制率。抑制率计算方法同 1.3.2。

## 3. 结果及分析

### 3.1. 玉米蜂花粉多糖对小鼠红细胞自氧化溶血时丙二醛(MDA)生成的影响

玉米蜂花粉多糖级分对 RBC 溶血时 MDA 产生的影响如图 1 所示：在试验剂量范围内，玉米蜂花粉多糖不同级分对 MDA 的生成均有一定程度的抑制作用，表明玉米蜂花粉多糖级分对红细胞自氧化溶血的保护作用与其抑制红细胞膜的脂质过氧化反应有一定的关联。

### 3.2. 玉米蜂花粉多糖对小鼠肝匀浆自发性生成 MDA 的影响

由表 1 所示，玉米蜂花粉多糖各级分 PMA、PMB、PMC-1 及粗多糖 PPM 对肝匀浆 MDA 的生成均有较好的抑制作用，且随着浓度的加大而增大。本实验表明玉米蜂花粉多糖级分可通过对自由基产生的抑制作用来抑制肝组织自氧化，从而达到保护肝组织的目的。

线性回归(见表 2)分析表明，PMA、PMB、PMC-1 及粗多糖 PPM 对小鼠肝匀浆自发性生成 MDA 的抑制效果与它们的浓度符合一元二次方程模型，其相关系数 r<sup>2</sup> 分别是：0.9924、0.9775、0.9962 和 0.9951。

### 3.3. 玉米蜂花粉多糖级分对诱导小鼠肝匀浆生成 MDA 的影响

亚铁离子和双氧水是很强的自由基诱导剂，可见在小鼠肝匀浆中添加自由基诱导剂后其自氧化产生的 MDA 显著增加。如表 3 所示，在这两种体系内，玉米蜂花粉多糖级分均表现出一定的抑制 MDA 生成活性。

### 3.4. 玉米蜂花粉多糖级分对诱导小鼠肝线粒体肿胀度的影响

脂质过氧化会使膜的通透性增加，引起膜内外物质的外泻或内流，造成如线粒体肿胀等现象的发生，加入抗坏血酸和硫酸亚铁可以诱导产生羟基自由基，直接与线粒体膜上的多不饱和脂肪酸发生过氧化反应，改变膜的流动性和通透性，引起线粒体肿胀或破坏其膜结构的完整(表 4)。

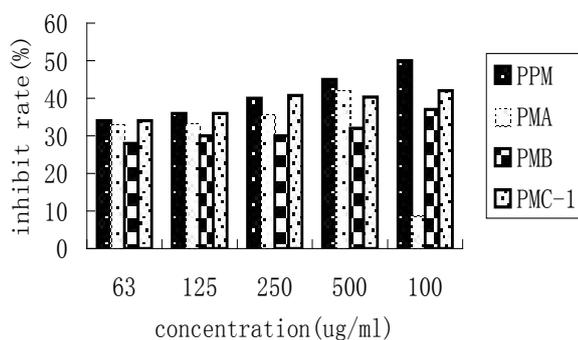


Figure 1. Effect of PPM on MDA formation during the hemolysis of rat RBC

图 1. 玉米蜂花粉多糖级分对小鼠红细胞自氧化溶血时 MDA 生成的影响

Table 1. Effects of PPM on MDA formation of rat liver incubated *in vitro* (n = 3,  $\bar{x} \pm s$ )

表 1. 玉米蜂花粉多糖级分对小鼠肝匀浆自发性生成 MDA 的影响

Sample	Concentration (μg/ml)	MDA formation (A540)	Inhibition rate (%)
PPM	125	0.280 ± 0.005 <sup>a</sup>	16.67
	250	0.246 ± 0.004 <sup>a</sup>	24.79
	500	0.234 ± 0.005 <sup>a</sup>	32.36
	1000	0.180 ± 0.005 <sup>a</sup>	46.43
PMA	125	0.294 ± 0.004 <sup>a</sup>	12.5
	250	0.284 ± 0.007 <sup>a</sup>	17.48
	500	0.184 ± 0.004 <sup>a</sup>	40.24
	1000	0.162 ± 0.011 <sup>a</sup>	51.79
PMB	125	0.280 ± 0.007 <sup>a</sup>	16.67
	250	0.268 ± 0.006 <sup>a</sup>	24.24
	500	0.204 ± 0.006 <sup>a</sup>	39.29
	1000	0.186 ± 0.004 <sup>a</sup>	44.64
PMC-1	125	0.312 ± 0.004 <sup>a</sup>	7.14
	250	0.286 ± 0.003 <sup>a</sup>	14.88
	500	0.232 ± 0.004 <sup>a</sup>	30.95
	1000	0.214 ± 0.006 <sup>a</sup>	36.31
Control	0	0.336 ± 0.002 <sup>a</sup>	-----

a: p < 0.01 vs control; b: p < 0.05 vs control.

Table 2. The relationship of PPM on MDA formation of rat liver incubated

表 2. 玉米蜂花粉多糖级分对抑制小鼠肝匀浆自发性生成 MDA 的量效关系

Sample	Equation	Coefficient (r2)
PPM	$y = -2E-05X^2 + 0.0005X + 0.1126$	0.9924
PMA	$y = -5E-05X^2 + 0.1084X - 2.4083$	0.9775
PMB	$y = -6E-05X^2 + 0.0952X + 5.005$	0.9962
PMC-1	$y = -6E-05X^2 + 0.1005X - 5.26$	0.9951

**Table 3.** Effects of PPM on MDA formation of rat liver induced by Fe<sup>2+</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> *in vitro* (n = 3,  $\bar{x} \pm s$ )  
**表 3.** 玉米蜂花粉多糖对 Fe<sup>2+</sup> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导小鼠肝匀浆生成 MDA 的影响

Sample	Concentration (μg/ml)	Fe <sup>2+</sup> -induced		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -induced	
		MDA (A <sub>540</sub> )	Inhibition rate (%)	MDA (A <sub>540</sub> )	Inhibition rate (%)
PPM	63	0.919 ± 0.026 <sup>b</sup>	23.41	0.682 ± 0.001 <sup>a</sup>	18.42
	125	0.840 ± 0.014 <sup>b</sup>	30.06	0.672 ± 0.008 <sup>a</sup>	19.62
	250	0.830 ± 0.001 <sup>a</sup>	30.89	0.658 ± 0.001 <sup>a</sup>	21.29
	500	0.795 ± 0.021 <sup>b</sup>	33.81	0.650 ± 0.001 <sup>a</sup>	22.25
	1000	0.775 ± 0.035 <sup>b</sup>	35.47	0.624 ± 0.018 <sup>b</sup>	25.36
PMA	63	1.01 ± 0.014 <sup>a</sup>	15.90	0.760 ± 0.035 <sup>b</sup>	9.09
	125	0.990 ± 0.028 <sup>b</sup>	17.57	0.714 ± 0.010 <sup>a</sup>	14.59
	250	0.930 ± 0.028 <sup>b</sup>	22.56	0.708 ± 0.00 <sup>a</sup> 6	15.31
	500	0.840 ± 0.014 <sup>b</sup>	30.06	0.684 ± 0.011 <sup>a</sup>	18.18
	1000	0.830 ± 0.001 <sup>a</sup>	30.89	0.654 ± 0.004 <sup>a</sup>	21.77
PMB	63	1.025 ± 0.021 <sup>b</sup>	14.65	0.754 ± 0.004 <sup>a</sup>	9.81
	125	0.990 ± 0.014 <sup>b</sup>	17.57	0.750 ± 0.004 <sup>a</sup>	10.29
	250	0.975 ± 0.007 <sup>a</sup>	18.82	0.648 ± 0.008 <sup>a</sup>	22.49
	500	0.945 ± 0.007 <sup>a</sup>	21.32	0.640 ± 0.007 <sup>a</sup>	23.44
	1000	0.845 ± 0.007 <sup>a</sup>	29.64	0.622 ± 0.009 <sup>a</sup>	25.60
PMC-1	63	1.025 ± 0.007 <sup>a</sup>	14.65	0.710 ± 0.001 <sup>a</sup>	15.07
	125	1.010 ± 0.014 <sup>a</sup>	15.90	0.694 ± 0.003 <sup>a</sup>	16.99
	250	0.960 ± 0.042 <sup>b</sup>	20.07	0.680 ± 0.007 <sup>a</sup>	18.66
	500	0.925 ± 0.007 <sup>a</sup>	22.98	0.664 ± 0.004 <sup>a</sup>	20.57
	1000	0.905 ± 0.021 <sup>b</sup>	24.65	0.630 ± 0.028 <sup>b</sup>	24.64
control	0	1.201 ± 0.007	-----	0.836 ± 0.003	-----

a: p < 0.01 vs control; b: p < 0.05 vs control.

### 3.5. 玉米蜂花粉多糖级分对小鼠肝线粒体脂质过氧化的影响

由抗坏血酸和硫酸亚铁诱导引起线粒体膜脂质过氧化产生 MDA, 这一过程中由于线粒体膜上的多不饱和脂肪酸过氧化, 会伴随造成线粒体膜结构破坏, 检测 MDA 含量的变化可以间接反应线粒体膜脂质过氧化反应和膜被破坏的程度。如表 5 所示, PMA、PMB、PMC-1 及粗多糖 PPM 可显著抑制肝线粒体 MDA 的生成, 且其抑制率随着浓度的增大而增加。在 125 μg/ml~500 μg/ml 的剂量范围里, 不同玉米蜂花粉多糖级分对小鼠肝线粒体脂质过氧化的抑制活性大小依次为 PMC-1、PMB、PMA、及粗多糖 PPM。

## 4. 结论

(1) 本研究表明玉米蜂花粉多糖级分对各种活性氧均有抗氧化作用, 这表明玉米蜂花粉多糖级分具有直接清除自由基及脂质过氧化的活性, 这为进一步研究其药效, 探讨其作用机理奠定了基础。

(2) 从效果来看, 玉米蜂花粉多糖对脂质抗氧化作用随用量的增加呈递增趋势。其中, 粗多糖 PPM 在对小鼠红细胞自氧化溶血时对 MDA 的抑制作用、对小鼠肝匀浆自发性及诱导性产生 MDA 的抑制作用

**Table 4.** Effects of PPM on mitochondria swelling induced by Fe<sup>2+</sup> + Vc (n = 3,  $\bar{x} \pm s$ )**表 4.** 玉米蜂花粉多糖级分对 Fe<sup>2+</sup> + Vc 诱导小鼠肝线粒体肿胀度的影响

Sample	0 min	10 min	20 min	40 min	Decress rate (%)	Inhibit rate (%)
Control	0.278 ± 0.001	0.249 ± 0.001	0.240 ± 0.001	0.236 ± 0.002	15.11	-----
PPM	0.302 ± 0.006 <sup>a</sup>	0.301 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.284 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.276 ± 0.003 <sup>a</sup>	8.61	43.02
PMA	0.312 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.304 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.290 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.278 ± 0.001 <sup>a</sup>	10.9	27.86
PMB	0.316 ± 0.004 <sup>a</sup>	0.312 ± 0.002 <sup>a</sup>	0.289 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.282 ± 0.002 <sup>a</sup>	10.76	28.79
PMC-1	0.314 ± 0.004 <sup>a</sup>	0.306 ± 0.008 <sup>a</sup>	0.284 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.276 ± 0.003 <sup>a</sup>	12.1	19.92

a: p &lt; 0.01 vs control; b: p &lt; 0.05 vs control.

**Table 5.** Effects of PPM on lipid peroxidation of rat liver mitochondria (n = 3,  $\bar{x} \pm s$ )**表 5.** 玉米蜂花粉多糖对小鼠肝线粒体脂质过氧化的影响

Sample	Concentration (μg/ml)	MDA formation (A540)	Inhibition rate (%)
PPM	125	0.265±0.008 <sup>a</sup>	44.33
	250	0.237±0.018 <sup>a</sup>	50.21
	500	0.214±0.006 <sup>a</sup>	55.04
PMA	125	0.248±0.007 <sup>a</sup>	47.90
	250	0.225±0.006 <sup>a</sup>	52.73
	500	0.212±0.003 <sup>a</sup>	55.46
PMB	125	0.241±0.007 <sup>a</sup>	49.37
	250	0.228±0.008 <sup>a</sup>	52.10
	500	0.209±0.007 <sup>a</sup>	56.09
PMC-1	125	0.267±0.029 <sup>ab</sup>	43.91
	250	0.213±0.005 <sup>a</sup>	55.25
	500	0.206±0.004 <sup>a</sup>	56.72
Control	0	0.476±0.013	-----

a: p &lt; 0.01 vs control; b: p &lt; 0.05 vs control.

及对诱导小鼠肝线粒体肿胀度的抑制作用显示出比其它玉米蜂花粉多糖级分更好的效果,可能是由于 PPM 中含有多糖与蛋白结合形成的糖蛋白结构共同作用的结果,有待于进一步研究。

(3) 玉米蜂花粉多糖抗氧化的机理尚待研究,其对脂质抗氧化的作用与多糖的结构关系仍不明确。因此,从分子水平上阐明其结构与抗氧化作用之间的关系将成为下一步深入研究的重点。

## 参考文献 (References)

- [1] 王开发,主编 (2004) 花粉的功能与运用. 化学工业出版社,北京.
- [2] 杨虎 (2011) 20 世纪中国玉米种业发展研究. 南京农业大学,南京.
- [3] 赵昌辉,李泳财,何东,等 (2010) 玉米花粉成分、功能及其应用的研究. *食品工业科技*, **09**, 414-416.
- [4] 李云捷,吴谋成,邓家庆 (2009) 玉米花粉多糖的提取与结构的研究. *食品工业科技*, **12**, 93-94.
- [5] Xue, Z.H., Wu, M.C. and Yin, J.Z. (2003) Technological optimization for hydrolysis of rapeseed albumin with alcalase. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, **19**, 176-181.
- [6] 汪艳,吴曙光,徐继红 (2001) 米糠多糖与环磷酰胺联合抗肿瘤作用的免疫药理学机制研究. *解放军药学报*,

6, 291-294.

- [7] 张尔贤, 俞丽君, 周意琳, 肖湘 (1996)  $\text{Fe}^{2+}$  诱发脂蛋白 PUFA 过氧化体系及对若干天然产物抗氧化作用的评价. *生物化学与生物物理学报*, **2**, 218-222.
- [8] 黄晓兰, 阎俊, 吴晓曼, 等 (2003) 枸杞多糖对  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的小鼠生殖细胞损伤的影响. *食品科学*, **12**, 116-118.
- [9] 游育红, 林志彬 (2003) 灵芝多糖肽的抗氧化作用. *药学报*, **2**, 85-88.
- [10] Srigiridhar, K., Nair, K.M., Subramanian, R. and Singotarnu, L. (2001) Oralrepletion of iron induces free radical mediated alterations in the gastrointestinal tract of rat. *Molecular Cellular Biochemistry*, **219**, 91-98.