



贵州民族大学学术文库

贵州民族大学学术著作出版基金资助

国家自然科学基金 (NO.30972211) 资助

油菜花粉

超微粉有效成分溶出、
代谢特征及指纹图谱研究

姚秋萍◎著



西南科技大学出版社



贵州民族大学学术文库

贵州民族大学学术著作出版基金资助

国家自然科学基金 (NO.30972211) 资助

S634.3
21

油菜花粉



超微粉有效成分溶出、
代谢特征及指纹图谱研究

姚秋萍◎著



西南交通大学出版社

· 成 都 ·

图书在版编目 (C I P) 数据

油菜花粉超微粉有效成分溶出、代谢特征及指纹图谱研究 / 姚秋萍著. — 成都: 西南交通大学出版社, 2014.10

(贵州民族大学学术文库)

ISBN 978-7-5643-3491-8

I. ①油… II. ①姚… III. ①油菜—花粉—研究
IV. ①S634.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 235328 号

贵州民族大学学术文库

油菜花粉超微粉有效成分溶出、

代谢特征及指纹图谱研究

姚秋萍 著

责任编辑	牛 君
封面设计	墨创文化
出版发行	西南交通大学出版社 (四川省成都市金牛区交大路 146 号)
发行部电话	028-87600564 028-87600533
邮政编码	610031
网 址	http://www.xnjdcbs.com
印 刷	成都蓉军广告印务有限责任公司
成品尺寸	148 mm × 210 mm
印 张	7.5
字 数	207 千字
版 次	2014 年 10 月第 1 版
印 次	2014 年 10 月第 1 次
书 号	ISBN 978-7-5643-3491-8
定 价	30.00 元

图书如有印装质量问题 本社负责退换
版权所有 盗版必究 举报电话: 028-87600562

《贵州民族大学学术文库》编委会

主任委员：高万能 王凤友

副主任委员：唐建荣 刘黔生 刘 雷 杨昌儒
吴晓萍（常务） 范允龙

委 员：肖远平 周相卿 王 林 吴有富
杨正万 张艾清 石开忠 夏五四
汪文学 肖唐金 颜春龙 王建山
童 红 贺华中 任达森 王建平
龚 锐 岑燕坤 田 铁 索红敏
白明政 龙耀宏 张鹏程 张 平
何兴发 吕映红 王道铭 杜国景
管 兵 莫子刚

办公室主任：吴有富（兼）

办公室成员：柳远超 张琪亚

前 言

油菜花粉是一种丰富的花粉资源,具有提高免疫活性、降血脂、抗肿瘤等生物学功能。目前对油菜花粉的研究侧重于基础和应用研究,而对于其结构与功能深入系统的研究较少。本研究以油菜花粉为实验材料,采用超微粉碎技术使花粉破壁,以普通粉碎方式作为对照,对比了两种粉碎方式对所得的超微粉和细粉中主要营养成分、有效成分的影响及组织形态学上的差异;比较油菜花粉超微粉、细粉中槲皮素和山奈酚在实验动物体内的药代动力学参数;对油菜花粉超微粉多糖进行分级,筛选抗氧化和免疫活性部位,对活性部位多糖进行结构表征;建立油菜花粉超微粉黄酮类成分的 HPLC 指纹图谱,使这一丰富资源的开发和应用提高到新的水平。主要结果如下:

(1) 分析比较了超微粉碎和普通粉碎方式对油菜花粉主要营养成分含量的影响,并比较了扫描电镜下超微粉和细粉形态学上的差异。结果表明:除粗纤维含量降低外,粗蛋白、粗脂肪、灰分、还原糖和总黄酮含量都有不同程度的提高。

在电镜下观察,油菜花粉细粉基本可以看到完整的细胞形态,而超微粉的颗粒变小、大小均匀,绝大多数细胞壁破裂,基本无完整的细胞存在,破壁率为 98.86%

(2) 分别采用高效液相色谱法、比色法分析比较了油菜花粉超微粉和细粉中黄酮类成分(槲皮素、山奈酚)、不同浸提时间下多糖的溶出差异。结果表明:在相同的提取条件下,油菜花粉超微粉中槲皮素和山奈酚的溶出率比细粉分别提高了 45.16%和 27.86%;油菜花粉超微粉多糖的溶出量和溶出速度都大于细粉,浸提时间为 10 min 时多糖的溶出率较细粉提高了 252.54%。红外光谱结果显示,油菜花粉超微粉和细粉多糖的主要基团无明显差异。可见,超微粉碎可显著提高油菜花粉有效成分的溶出率。

(3) 采用高效液相色谱法测定家兔灌胃给予油菜花粉超微粉和细粉后血浆中槲皮素和山奈酚的浓度, 血药浓度-时间数据经药代动力学分析软件 (PKS 软件) 处理, 比较油菜花粉超微粉和细粉中槲皮素和山奈酚在家兔体内的药代动力学参数。结果表明: 油菜花粉超微粉和细粉中槲皮素和山奈酚的药代动力学最佳模型均为二室开放模型。油菜花粉超微粉槲皮素的主要药动力学参数: $K_a=0.579\ 3\ h^{-1}$, $t_{1/2\alpha}=2.43\ h$, $t_{1/2\beta}=18.33\ h$, $AUC_{0\rightarrow\infty}=0.361\ 3\ \mu g \cdot L^{-1} \cdot h$, $V_d=804.8\ L \cdot kg^{-1}$, $T_{peak}=2.571\ 4\ h$, $C_{max}=0.019\ 08\ \mu g \cdot mL^{-1}$; 油菜花粉细粉槲皮素的主要药动力学参数: $K_a=1.279\ 0\ h^{-1}$, $t_{1/2\alpha}=2.63\ h$, $t_{1/2\beta}=28.00\ h$, $AUC_{0\rightarrow\infty}=0.341\ 1\ \mu g \cdot L^{-1} \cdot h$, $V_d=997.3\ L \cdot kg^{-1}$, $T_{peak}=3.048\ h$, $C_{max}=0.018\ 769\ \mu g \cdot mL^{-1}$ 。油菜花粉超微粉山奈酚的主要药动力学参数: $K_a=0.413\ 6\ h^{-1}$, $t_{1/2\alpha}=2.29\ h$, $t_{1/2\beta}=2.97\ h$, $AUC_{0\rightarrow\infty}=1.889\ 7\ \mu g \cdot L^{-1} \cdot h$, $V_d=33.056\ L \cdot kg^{-1}$, $T_{peak}=3.642\ 9\ h$, $C_{max}=0.280\ 79\ \mu g \cdot mL^{-1}$; 油菜花粉细粉山奈酚的主要药动力学参数: $K_a=0.443\ 62\ h^{-1}$, $t_{1/2\alpha}=1.74\ h$, $t_{1/2\beta}=1.99\ h$, $AUC_{0\rightarrow\infty}=1.459\ 9\ \mu g \cdot L^{-1} \cdot h$, $V_d=31.418\ L \cdot kg^{-1}$, $T_{peak}=3.714\ 3\ h$, $C_{max}=0.245\ 53\ \mu g \cdot mL^{-1}$ 。与细粉组比较, 油菜花粉超微粉组血浆槲皮素和山奈酚的达峰时间缩短、达峰浓度提高, 相对生物利用度较细粉分别提高了 46.00%、29.44%。可见, 超微粉碎技术可提高油菜花粉有效成分槲皮素和山奈酚的生物利用度。

(4) 采用不同截留相对分子质量 (100 kD、50 kD 和 10 kD) 的超滤膜对油菜花粉超微粉粗多糖进行分级纯化, 分析了压力和时间对超滤过程的影响, 确定最适操作条件, 3 种截留相对分子质量的超滤膜运行时间分别控制在 28 min、36 min 和 48 min 以内, 操作压力分别为 1.1 MPa、1.3 MPa 和 1.6 MPa。油菜花粉超微粉粗多糖 M 按相对分子质量分成 $M_1>100\ kD$ 、 $50\ kD<M_2<100\ kD$ 、 $10\ kD<M_3<50\ kD$ 及 $M_4<10\ kD$ 4 个级别, 所得多糖质量分布比例约为 2.3:1:1.1:1.6, 获得各段相对分子质量的多糖制品纯度均高于 68%。通过体外抗氧化、体内抗氧化和免疫活性试验相结合对分级的产物跟踪筛选活性组分。体外清除 $\cdot OH$ 和 $O_2\cdot^-$ 的试验结果表明, 油菜花粉多糖的

抗氧化活性与其相对分子质量分布密切相关, M_3 、 M_4 两个级分的抗氧化作用较低, 在后续试验中合并作为一个组分 M_3 进行研究。由体内抗氧化、免疫活性试验筛选得到高活性组分 M_2 和低活性组分 M_3 , M_2 级分多糖比其他组分有较好的抗氧化和免疫活性, 各组分的抗氧化和免疫活性大小顺序为 $M_2 > M > M_1 > M_3$ 。

(5) M_2 级分多糖先后经 DEAE-Sephadex A-25 离子交换柱层析和 Sephadex G-100 凝胶柱层析纯化得到 RPP1-2。经高效液相凝胶色谱鉴定其纯度及计算相对分子质量, RPP1-2 为单一对称峰, 重均相对分子质量为 65 358 Da。离子色谱测定 RPP1-2 中 SO_4^{2-} 含量为 2.81%。紫外光谱、红外光谱和核磁共振分析结果表明, RPP1-2 为糖蛋白缀合物, 为 α -糖苷键构型, 分子结构中存在 α -1,3、 α -1,6 糖苷键, RPP1-2 为由 3 种不同单糖残基组成的杂多糖, 糖链中重复单位包含葡萄糖、甘露糖和半乳糖。

(6) 采用高效液相色谱法对不同产地的油菜花粉超微粉的指纹图谱进行比较, 应用中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件对油菜花粉超微粉黄酮类成分 HPLC 指纹图谱进行分析评价。以芦丁为内标物, 采用 Diamonsil C_{18} 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 为分析色谱柱, 乙腈-0.4%磷酸水溶液为流动相梯度洗脱, 流速 0.8 mL $\cdot$ min $^{-1}$, 检测波长 254 nm, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$ 。结果表明: 10 批不同产地的油菜花粉超微粉黄酮类成分 HPLC 指纹图谱较相似, 各成分得到较好的分离, 并根据检测结果确定了 10 个共有指纹峰。该方法具有重现性好、特征性强、方法简便、快速等特点, 能够客观反映油菜花粉超微粉的指纹特征, 可以成为油菜花粉超微粉质量评价及控制的表征指标。

由于作者水平有限, 书中难免存在不足之处, 敬请读者及同行专家批评指正。

作 者

2014 年 3 月

目 录

1 绪 论	1
1.1 油菜花粉的研究概况	2
1.2 超微粉碎技术在食品工业中的应用研究进展	9
1.3 黄酮类化合物药代动力学研究概况	14
1.4 指纹图谱研究概况	18
1.5 本研究的立题依据、研究内容及研究意义	24
2 油菜花粉超微粉主要成分分析及组织形态学研究	26
2.1 材料与仪器	27
2.2 实验方法	27
2.3 结果与分析	31
2.4 讨论与结论	35
3 油菜花粉超微粉和细粉中功能性成分——多糖和 黄酮类物质的溶出研究	37
3.1 材料与仪器	38
3.2 实验方法	39
3.3 结果与分析	41
3.4 讨论与结论	50
4 油菜花粉有效成分槲皮素和山奈酚在家兔体内的 药代动力学研究	53
4.1 材料与仪器	54
4.2 实验方法	55
4.3 结果与分析	57
4.4 讨论与结论	64

5	油菜花粉超微粉多糖分级分离及抗氧化、免疫活性研究	67
5.1	材料与仪器	67
5.2	实验方法	69
5.3	结果与分析	76
5.4	讨论与结论	95
6	油菜花粉超微粉多糖活性级分的结构表征	98
6.1	材料与仪器	98
6.2	实验方法	99
6.3	结果与分析	102
6.4	讨论与结论	111
7	油菜花粉超微粉黄酮类成分 HPLC 指纹图谱的研究	112
7.1	材料与仪器	113
7.2	实验方法	114
7.3	结果与分析	118
7.4	讨论与结论	141
8	总结与展望	145
8.1	本研究结论	145
8.2	本研究创新点	146
8.3	本研究还需进一步解决的问题	147
	参考文献	148
	附 录 已发表的论文	167
	附录 A 超微粉碎对油菜花粉多糖溶出率的影响	167
	附录 B 超微粉碎技术对油菜花粉中 槲皮素和山奈素溶出率的影响	176
	附录 C 固相萃取-高效液相色谱法 测定兔血浆中山奈素的含量	185

附录 D	油菜花粉有效成分山奈酚 在家兔体内的药代动力学研究	193
附录 E	油菜花粉超微粉有效成分 山奈酚在家兔体内的药代动力学研究	203
附录 F	基于高效液相色谱指纹图谱的 油菜花粉质量评价研究	215

1 绪 论

花粉含有丰富的营养物质，是一种新型的植物食品资源，并且蜜蜂采集的花粉所含的营养素更为丰富^[1]。蜂花粉（Bee Pollen）是蜜蜂从显花植物花药内采集的花粉粒，经过蜜蜂向其内部加入了花蜜与唾液，混合成不规则扁圆形的、上面带有蜜蜂后肢嵌挟痕迹的团状物，其营养丰富，除含有糖、蛋白质、脂肪、矿物质、氨基酸、维生素等成分外，还含有多种生物活性物质，主要有酶类、激素类、黄酮、多肽、微量元素等。因此，蜂花粉被誉为“最完全的营养食品”“浓缩的营养库”^[2]。人们对花粉的认识和应用已有数千年的历史，我国是世界上认识和应用蜂花粉最早的国家。早在 2000 多年前，《神农本草经》就将其列为上品，称久服可“强身、益气、延年”，《本草纲目》中称之具有“润心肺、益气、除风、止血”等功效^[3]。花粉在国外也不陌生，中美洲和南美洲最古老的居民印第安人以玉米为粮食，他们不仅吃玉米的籽粒，连玉米花粉也被他们做成味美而富于营养的汤食用。希腊、罗马、中东和亚洲其他地区的古书也都多次提到花粉和花蕊，并赞美花粉是健美的源泉。随着科学技术的发展，人类对蜂花粉的研究更加深入，越来越清楚地了解到，蜂花粉不但能提供人体各种营养成分，为机体组织细胞的生长和修复提供丰富的原料，同时蜂花粉中的营养成分和生物活性物质对机体的生理功能有不同程度的调节作用，因此具有防治心血管疾病、降血脂、调节神经系统机能、提高机体免疫功能、抗衰老、抗癌等多种生理功能^[4]。随着人们对花粉营养品的需求量增加，花粉的研究也显得越来越重要。

1.1 油菜花粉的研究概况

1.1.1 油菜花粉破壁研究

油菜花粉既是一种新型的植物食品资源,又可作为药物用于临床治疗^[5-6],油菜花粉为黄色,扁球形状或环状近球形,极面观为三裂圆形,颗粒大小为 27~50 μm ,具三沟,内壁薄、外壁厚,表面具网状纹饰。目前学术上对油菜花粉破不破壁有两种理论:破壁论者认为油菜花粉壁是由高分子聚合物构成的,异常坚硬,耐酸碱、耐高压高温,对消化酶也非常稳定,长期以来对花粉的开发利用受到限制,生物利用率也不高;不破壁论者通过高等动物空腹饲喂试验,发现高等动物食用不破壁油菜花粉,在渗透压作用下,通过油菜花粉细胞壁的分子间隙及萌发孔可以吸收其中部分或大部分营养。由此可见,油菜花粉在应用前是否要破壁,不能一概而论。食物在人体肠胃中停留时间一般为 3~4 h,在 5 h 以内进行有效的消化吸收,即使胃肠的消化酶能酶解花粉壁,花粉的萌发孔膜的裂开和内含物流露在 5 h 内也完成不了。因此,从油菜花粉中营养成分在机体内吸收程度的角度来看,破壁又具有了科学性和必要性。

目前,国内外的花粉破壁方法归纳为两种:生物法和物理法。物理破壁方法是通过机械的摩擦或骤冷骤热来使花粉壁破裂。周顺华等^[7]利用液氮将油菜花粉进行深低温超快速冷冻处理,胞外总糖较未经冻结、解冻处理的上升了 31.25%,破壁率达 94.97%。丘泰球等^[8]指出单一超声法的破壁效果尚不显著,仍须与冷冻融化相结合。张智维等^[9]通过冻融和超声波作用,可使油菜花粉的破壁率达 98.5%。超声波破壁的最佳工艺条件为:在持续辐射状态下,变幅杆末端直径 3 mm,超声功率 100 W,超声时间 10 min,花粉液浓度 10%,辐射循环占空比 90%,温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 。生物破壁法是通过使花粉壁上某些成分分解破坏及花粉内容物分解,体积膨胀而导致花粉壁胀裂来破壁。李柏勋等^[10]用高糖酵母使油菜花粉破壁,破壁率达最大值

92.35%。张星海等^[11]对比了两种曲霉产生酶,两种曲霉单独产生的酶液和二者的混合酶液对油菜花粉的破壁研究,结果表明,一定比例的混合酶液的破壁效果远远高于两种单独酶液作用的效果,破壁率达 97%以上。王永宁等^[12]采用酶法技术,对青藏高原产油菜蜂花粉进行破壁,破壁率高达 90%以上。卢挺^[13]采用纤维素复合酶辅加适量果胶酶等活性物质制成复合酶制剂,对青藏高原油菜蜂花粉进行破壁处理,用时 12 h 左右,破壁率 $\geq 90\%$ 。江涓^[14]探讨了水合法、冷冻酶解法、直接酶解法、水合-酶解二步法和三步法等多种破壁方法,比较得出,对于油菜成熟花粉,水合法破外壁最为理想,其中以 1 mol/L 蔗糖水合液最好,破壁率可达 92.4%。杨晓萍等^[15]比较了机械破壁法、温差破壁法、发酵破壁法和酶解破壁法对油菜花粉的破壁效果:酶解法破壁率最高,可达 92.86%,其次为发酵破壁法,最低为机械破壁法,仅为 63.56%。上述方法各有优缺点,如何寻求一种手续简便、破壁效率高、易满足生产工艺要求的破壁技术,是食品科学家正在探讨的课题。

1.1.2 油菜花粉多糖研究进展

花粉所含的糖类成分中,值得关注的是花粉中的多糖。Rowley^[16]研究表明花粉外壁的孢粉素受体含部分多糖,Kress^[17]从细胞水平上证明了植物花粉内壁含有酸性多糖和中性多糖。我国对花粉多糖的研究尚不多,任金山^[18]从破壁的油菜花粉中提取出 5 种多糖组分,有 3 种为中性多糖,其单糖组成有 L-岩藻糖、L-阿拉伯糖、D-木糖、D-半乳糖、D-葡萄糖及 L-鼠李糖;2 种为酸性多糖,除含以上单糖组分外,还含有己糖醛酸,但不含硫酸基。屈洪岩等^[19]用高效液相色谱法测得油菜花粉多糖含量为 28.78%,葡萄糖含量为 0.29%,相对分子质量大于 4 万。杨晓萍等^[20]对油菜花粉多糖提取工艺进行研究,确定最佳提取工艺条件:料液比为 1:4,90 ℃水浴条件下,浸提 4 次,每次浸提 4 h,在此工艺条件下水溶性多糖提取率为 1.45%。凝胶色谱法测得多糖的相对分子质量大于 25 kD,经气相色谱分析单

糖组成主要为阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖。

1.1.3 油菜花粉黄酮类成分研究进展

由蜜蜂采集的油菜花粉——油菜蜂花粉，包含了蜜蜂的唾液和花蜜，富含包括黄酮类物质在内的多种营养成分^[21]。最早报道从花粉中提取出黄酮的是 Lewis，以后日本的久道周次和德国的威尔曼先后报道了对花粉中含黄酮类的检测结果。花粉中黄酮类化合物含量广泛而丰富，大多数是以糖苷的形式存在，是一个糖分子的一个或多个羟基通过半缩醛键与一个非糖分子连接，非糖的部分称为糖苷配基，在体内通过葡萄糖苷酶的作用而产生^[22]。目前从花粉中发现的黄酮类化合物有：黄酮醇、槲皮酮、山奈酚、杨梅黄酮、木樨黄素、异鼠李素、原花青素、二氢山奈酚、柚（苷）配基和芹菜（苷）配基等^[23]。黄酮类化合物是植物中非常重要的一类次生代谢产物，关于油菜蜂花粉中黄酮类化合物的含量测定，目前已有较多的文献报道，有采用比色法测定^[24]，也有将提取的黄酮类化合物中的黄酮甙水解为黄酮甙元后，利用 HPLC 法测定^[25-27]。但是对油菜花粉中黄酮类成分的分离报道很少。李军等^[28]从油菜花粉的甲醇提取物中分离出 4 种黄酮类成分：山奈素-3,4-双-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖甙、山奈素-3-*O*- β -槐糖甙、槲皮素-3,4-双-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖甙、白奈素。Lu 等^[29]用毛细管电泳法从青海油菜花粉中检测出了 6 种黄酮类化合物。Han 等^[30]对新疆油菜花粉的成分进行了研究，制备出 5 种黄酮类化合物。任玉翠等^[31]报道黄酮类是花粉中的药效成分，并且指出不同的花粉有着不同的药效作用，可能与所含的黄酮类物质种类有一定关系。Kroyer^[32]曾指出蜂花粉含有相当数量的多酚类物质，其主要是黄酮类物质，黄酮类物质是蜂花粉中基本的标志性成分，可以借此建立花粉的质量标准，用于商业上花粉的质量控制。Serra Bonvehí^[33]指出在蜂花粉化学成分中，黄酮类物质和其生物活性已经是研究的热点，可以用来建立蜂花粉的质量参数。

1.1.4 油菜花粉的药理作用

蜂花粉含有丰富的营养成分和多种生物活性物质,具有增强免疫功能、抗衰老、降血脂、改善消化道功能、抑制前列腺增生、抗贫血、抗肝中毒损伤及促生长和抗疲动等药理作用。

1.1.4.1 降血脂作用

蜂花粉具有阻止膳食诱致血清 TC 和 TG 水平升高的作用,喂饲油菜蜂花粉的胆固醇大鼠的血清 TC、TG 及脂肪酸含量明显低于喂饲胆固醇大鼠,而花生四烯酸含量则明显高于^[34]。连续 4 周给高脂血症大鼠灌花粉多糖,同时继续给予高脂颗粒饲料喂饲,结果表明花粉多糖能显著降低大鼠血清中 TC 含量,但对大鼠血清中 TG 和 HDL-C 含量作用不明显^[35]。陈小夏等^[36]的研究表明油菜花粉的提取物中的不饱和脂肪酸,能降低高脂血症大鼠血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量,升高高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量,使 TC/HDL-C 比值明显降低。

1.1.4.2 抗肿瘤作用

研究表明,花粉多糖液具有抑制肿瘤和提高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬作用^[37]。油菜花粉多糖能明显提高机体非特异性的细胞免疫和特异性的体液免疫,提高机体 NK 细胞对肿瘤细胞的杀伤能力^[38]。杨晓萍等^[39,40]的研究表明,油菜蜂花粉多糖 RPP 能明显抑制肿瘤细胞生长,抑瘤率可高达 51.26%,并可拮抗化疗药物对机体的损害,同时 RPP 还能显著提高荷瘤小鼠体内抗氧化酶 SOD、GSH-Px 的活性,减少脂质过氧化产物 MDA 含量及降低 LDH 活性。

1.1.4.3 抑制前列腺增生

用花粉治疗前列腺疾病,欧洲国家早在 20 世纪 60 年代就有报道^[41]。临床实践均证明,蜂花粉及其制剂是治疗前列腺疾病的理想

药物^[42]，其机理可能与其抗雄性激素作用和改善尿道黏膜及其周围组织水肿有关^[43]。钱伯初等^[44]的研究表明，给老年犬饲喂天然油菜蜂花粉，在治疗开始时的高剂量可能有助于前列腺增生的迅速控制，延长疗程则可提高疗效。油菜花粉的醇提物对试验动物有抑制前列腺增生的功效，并对泌尿系统平滑肌张力有调节作用^[45]。

1.1.4.4 增强机体免疫功能作用

诸多研究表明，蜂花粉中的核酸、维生素、植物多糖和其他许多生物活性物质可促进免疫细胞的增殖和分化，增强细胞活性^[46]。这是蜂花粉能强身健体、延缓细胞老化、增强机体抗病能力的依据。经口给予小鼠油菜花粉，对小鼠的细胞免疫功能有较好的增强作用。研究表明^[47,48]，油菜蜂花粉能促进正常小鼠血清溶血素的生成和增加 IgM 含量，还能部分拮抗环磷酰胺对小鼠血清溶血素和 IgG 的抑制作用，并能对抗环磷酰胺所致小鼠 wBc 减少，加快小鼠血液中碳粒廓清速度，增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能，增强 ConA 诱导的脾淋巴细胞增殖能力，明显提高迟发型变态反应水平，促进抗体生成细胞的生成，增强小鼠 NK 细胞活力。

张金明等^[49]通过给小鼠灌服油菜花粉，能明显促进小鼠脾淋巴细胞增殖，且随着 RPP 浓度增大，增殖能力增强；能明显促进小鼠脾 NK 细胞对靶细胞的细胞毒作用，提高 NK 细胞的杀伤活性；能明显增加小鼠脾指数、胸腺指数，同时也提高了小鼠单核吞噬细胞功能；能促进小鼠血清溶血素的形成；能明显增强机体对半抗原 DNFB 所致的迟发型超敏反应强度。

花粉多糖的主要作用是使参与细胞免疫的细胞数量增加、活性增强，使参与体液免疫的抗体增多^[50]。油菜花粉多糖能明显增强鸡的体液免疫力，显著提高巨噬细胞功能，巨噬细胞与淋巴细胞间通过释放的免疫因子形成一个调节环路，以调节免疫应答，促进抗体产生^[51]。油菜蜂花粉以正己烷浸提后的醋酸乙酯及其硅胶柱层析的甲醇洗脱部分，对可的松小鼠胸腺萎缩有明显抑制作用，油菜蜂花粉直接以醋酸乙酯浸提的提取物，能明显延长 5-Fu 中毒小鼠存活时

间^[52]。

1.1.4.5 抗氧化作用

花粉中发挥抗氧化能力的主要是黄酮类化合物和多糖类物质。油菜花粉对超氧阴离子自由基、羟自由基和脂质过氧化都有较高的抑制能力。Kroyer 和 Maria 等^[53,54]证明了蜂花粉清除自由基的过程中黄酮类起到了重要作用。石玉平等^[55]研究了油菜蜂花粉提取液中黄酮类化合物在 $12.5 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内对羟基自由基有着较好的清除效率,且浓度与清除效率呈线性关系。赵新合^[56]的研究表明,油菜花粉甲醇提取物的抗氧化活性大于水部溶剂萃取物。油菜蜂花粉酶解物浓度在 $50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时清除羟自由基和超氧阴离子自由基的能力明显高于水提物,而抑制脂质过氧化的能力与水提物之间无明显差异^[57]。吴素芳等^[58]的研究表明,油菜蜂花粉提取物对羟基自由基介导 2-脱氧核糖降解的保护机理主要是作为自由基清除剂,不是依靠配合能力来发挥清除羟基自由基的作用。曹炜等^[59]指出,油菜花粉黄酮对氧自由基致红细胞膜损伤的保护作用可能是油菜花粉具有抗衰老、保护机体免受外源自由基损伤的主要原因之一。小鼠摄入蜂花粉后红血球中脂肪的氧化产物水平降低;大鼠灌服蜂花粉后脂质过氧化反应,抗氧化防御系统和肝功能水平均有提高^[60]。用含蜂花粉的日粮饲喂兔子 1 个月,能免疫激活兔体内 IgM 和 IgE 的初级和次级水平,发挥这些活性的关键成分可能是蜂花粉中的天然抗氧化物质——黄酮类和其他酚类成分^[53,54]。

1.1.4.6 其他作用

花粉在增加机体对运动负荷的适应能力、抵抗疲劳产生和加速疲劳消除方面具有明显的作用^[62]。许立薇^[65]等的研究结果表明,油菜花粉混悬剂对幼年小鼠的体重增长无明显促进作用,但可增强小鼠学习记忆功能。花粉多糖对多杀性巴氏杆菌、猪丹毒杆菌、沙门氏菌等有抑制作用^[63]。