

文章编号: 1673-1689(2008)04-0058-05

贮藏温度和时间对蜂王浆水溶性蛋白质的影响

张娟^{1,2}, 赵利², 魏丽¹, 刘建涛², 曾志将^{*1}

(1. 江西农业大学 蜜蜂研究所, 江西 南昌 330045; 2. 江西科技师范学院 生命科学学院, 江西 南昌 330013)

摘要: 采用 SDS-PAGE 和 Folin-酚试剂法, 对贮存不同温度和时间下的蜂王浆水溶性蛋白进行了初步研究。结果表明: $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, 蜂王浆水溶性蛋白相对稳定, 40 d 后蛋白质中相对分子质量为 88 000(P1) 的谱带才开始降解, 且降解较慢; $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, 蜂王浆水溶性蛋白中相对分子质量为 88 000 (P1) 的谱带在 5 d 内降解迅速, 水溶性蛋白中相对分子质量 80 000 (P2) 的谱带在 40 d 时候已经降解; 在 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时蜂王浆水溶性蛋白中 P1 谱带迅速降解, P2 谱带在 28 d 至 40 d 降解较快。水溶性蛋白中 P1 谱带的变化在一定程度上能够代表蜂王浆的新鲜度的变化。

关键词: 蜂王浆; SDS-PAGE 电泳; Folin-酚; 蛋白质含量

中图分类号: Q 51

文献标识码: A

Effect of Storage Temperature and Time on Water-Soluble Proteins of Royal Jelly

ZHANG Juan¹, ZHAO Li², WEI Li¹, LIU Jian-tao², ZENG Zhi-jiang^{*1}

(1. Honeybee Institute, Jiangxi Agriculture University, Nanchang 330045, China; 2. School of Life Science, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China)

Abstract: The water-soluble proteins of royal jelly were studied by using SDS-PAGE and Folin-phenol methods at different temperature and time in this study. The results indicated that at the temperature of $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, the band of protein with relative molecule weight 88 000(P1) degraded slowly, and during 40 days. However, the band of protein with relative molecule weight 88 000 (P1) is not stable at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ during 5 days. Furthermore, another band of protein with relative molecule weight 80 000(P2) had already degraded at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ during 40 days. And at the temperature of $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, the band of P1 degraded rapidly at the beginning time of storage, the band of P2 degraded quickly at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ during 28 days to 40 days. Therefore, the change of band P1 could be standed for the change of royal jelly freshness.

Key words: royal jelly; SDS-PAGE; folin-phenol; protein content

收稿日期: 2007-10-27.

基金项目: 江西省自然科学基金资助项目(0530031); 江西省教育厅科技计划资助项目(赣教技字 2006130).

作者简介: 张娟(1982-), 女, 江西萍乡人, 蜂产品硕士研究生.

* 通讯作者: 曾志将(1965-), 男, 江西吉水人, 教授, 博士生导师. 主要从事蜜蜂科学方面的研究. Email: bees1965

@sina.com

蜂王浆是6~16日龄工蜂咽下腺分泌和上颚腺的一种乳白色或淡黄色浆状物质,是工蜂用来饲养蜂王和幼虫的一种高营养食物^[1]。据统计中国的蜂王浆年总产量已突破2000吨,占世界总产量的80%~90%,其中约50%出口到日本和德国等国,是我国重要出口创汇农副产品之一^[2]。蜂王浆成分因产地、蜜源、气候、蜂种和取浆时间的不同而存在一定的差异^[1],蜂王浆含有丰富的蛋白质、脂肪酸、糖类、有机酸、氨基酸、维生素、激素和矿物质等。蜂王浆干物质中蛋白质含的质量分数为50%,其中清蛋白约占2/3,球蛋白约占1/3,这和人体血清中清蛋白和球蛋白的比例大致相同^[3]。临床实验证明,蜂王浆具有增强免疫力、延缓衰老、防癌抗癌、降血糖、降血压、抗疲劳等功效,是人类理想的保健品^[4]。

大量研究表明,蜂王浆在常温条件贮存过程中,其表观形态和主要理化指标变化很小,但其保健和医疗效果显著下降。目前所用的蜂王浆理化指标,如蛋白质、脂类、糖类、水分以及10-羟基-2-癸烯酸等,只能作为蜂王浆有无掺假的评判标准,而无法评价蜂王浆生物活性的品质,因而探求评价蜂王浆活性指标是蜂王浆品质管理上一项急需解决的重要课题。

蛋白质是蜂王浆的主要成分之一,而酶、免疫因子和许多激素的组成主要成分都是蛋白质,作者研究蜂王浆中蛋白质,以SDS-PAGE电泳和Folin-酚法来研究其活性蛋白在不同温度和时间下的变化规律,寻找蜂王浆活性指标——活性蛋白质,为蜂王浆的贮存、加工和品质评价提供了理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 蜂王浆的采集 新鲜蜂王浆取自江西农业大学蜜蜂研究所。组织产浆群,将适龄幼虫移入已被蜜蜂修整好的产浆框,移虫后将产浆框插入产浆群中。移虫后一般经过48~68h即可取浆。

1.1.2 新鲜蜂王浆的贮藏 将新鲜蜂王浆装入密封玻璃瓶,并按-20、4、20℃分为I组、II组、III组,按表1的温度和时间进行贮藏。

1.2 实验方法

1.2.1 蜂王浆水溶性蛋白的提取 分别称取各条件下的蜂王浆0.2g,加5mL双蒸水溶解,混匀,在4℃,2000g/min条件下离心30min,上清液即为蜂王浆水溶性蛋白的粗提液。

表1 蜂王浆贮藏时间和温度

Tab. 1 The time and temperature of treated royal jelly

| 贮存日期/d | 温度/℃ | | |
|--------|------|-----|------|
| | I组 | II组 | III组 |
| 5 | -20 | 4 | 20 |
| 11 | -20 | 4 | 20 |
| 17 | -20 | 4 | 20 |
| 28 | -20 | 4 | 20 |
| 40 | -20 | 4 | 20 |

1.2.2 蜂王浆水溶性蛋白的SDS-PAGE分析 根据《分子克隆实验指南》第3版配制9%Tris-甘氨酸SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳分离胶和5g/dL的浓缩胶^[5]。

1.2.3 蜂王浆水溶性蛋白含量的测定 采用Folin-酚法^[6]。

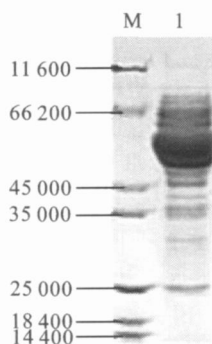
1.3 数据统计分析

实验数据采用StatView5.0的ANOVA and t-tests 进行统计分析,各处理平均数间用ANOVA或ANCOVA进行差异显著性比较及相关分析。

2 结果与讨论

2.1 蜂王浆水溶性蛋白的SDS-PAGE电泳分析

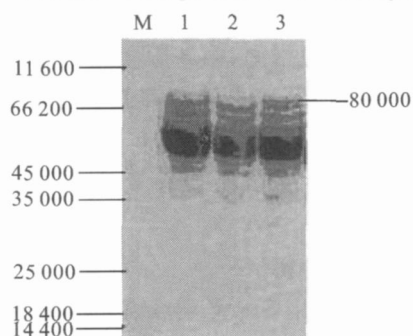
利用SDS-PAGE电泳对不同贮藏条件下的蜂王浆中水溶性蛋白质进行了分析。图2显示新鲜蜂王浆水溶性蛋白质可以得到4个清晰的蛋白质谱带,相对分子质量分别是88000(P1)、80000(P2)、68000(P3)、64000(P4),此外还有多种小分子蛋白质。电泳谱带颜色深,代表蛋白含量高,反之,代表蛋白含量低。图3至图6显示,在-20℃下贮藏的蜂王浆水溶性蛋白较稳定,电泳谱带数变化不明显但P1在40d时候开始降解,到54d时候进一步降解,但降解不完全。在4℃下贮藏的蜂王浆水溶性蛋白谱带P1在5d时候谱带已经消失;水溶性蛋白谱带P2在40d已经开始降解,降解较慢。在20℃下贮藏的蜂王浆水溶性蛋白谱带P1在5d内很快消失;28d时候水溶性蛋白谱带P2开始降解,28~40d降解较快,54d时候几乎完全降解。由此可知,水溶性蛋白谱带P1对贮存温度和时间最敏感,其次是P2蛋白谱带。SDS-PAGE电泳结果显示,蜂王浆至少包含有多种水溶性蛋白,且水溶性蛋白对贮存时间和温度表现出不同程度的敏感性。



注: M 是标准蛋白, 1 是新鲜蜂王浆

图 1 新鲜蜂王浆的电泳图谱

Fig. 1 The SDS-PAGE patterns of fresh royal jelly



注: M 是标准蛋白, 1 是 -20°C 贮藏温度下的蛋白, 2 是 4°C 贮藏温度下的蛋白, 3 是 20°C 贮藏温度下的蛋白。下同。

图 2 贮藏 5 d 后的电泳图谱

Fig. 2 The SDS-PAGE patterns of storing for five days

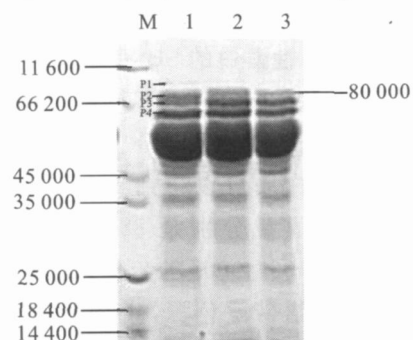


图 3 贮藏 28 d 后的电泳图谱

Fig. 3 The SDS-PAGE patterns of storing for twenty-eight days

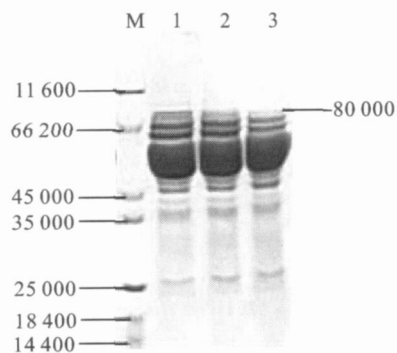


图 4 贮藏 40 d 的电泳图谱

Fig. 4 The SDS-PAGE patterns of storing for forty days

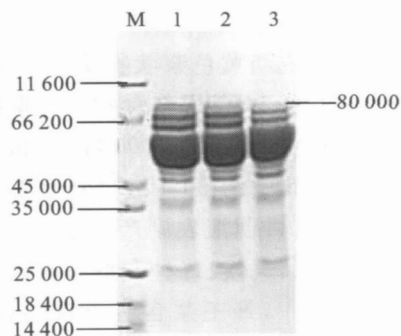


图 5 贮藏 54 d 的电泳图谱

Fig. 5 The SDS-PAGE patterns of storing for fifty-four days

2002 年日本学者镰仓·昌树报道, 蜂王浆中相对分子质量 57 000 的蛋白质随贮藏温度的升高和贮藏时间的延长而降解, 在一定程度上代表蜂王浆的新鲜度^[7]。刘红云等发现相对分子质量 45 000 蛋白质随贮藏温度的升高和时间的延长降解程度增大^[8]。我们发现蜂王浆的水溶性蛋白 P1 谱带和 P2 谱带在贮存过程中对时间温度表现出了一定的敏感性。与镰仓·昌树和刘红云等报道有所不同, 原因有待进一步探讨。另外蛋白质谱带在贮存过程中有若隐若现的现象, 可能是由于随温度的升高会使某些非水溶性蛋白转化为水溶性蛋白, 或是蛋白质聚集造成。

2.2 蜂王浆水溶性蛋白含量的变化

2.2.1 不同贮藏时间对蜂王浆水溶性蛋白的影响

蜂王浆贮存在 3 种不同温度下, 测定各贮藏温度下不同贮藏时间内的水溶性蛋白含量的变化, 检测数据及其统计分析见表 2。从表 2 中可见, 在 3 个不同贮藏温度下蜂王浆水溶性蛋白下降程度不一, -20°C 下蜂王浆水溶性蛋白 40 d 内下降 26.41%, 4°C 下蜂王浆水溶性蛋白 40 d 内下降 37.73%, 20°C 下蜂王浆水溶性蛋白 40 d 内下降 47.17%。-20°C 下蜂王浆水溶性蛋白含量在 11 d 内下降速度较快, 差异极显著 ($p < 0.01$) 地低于新鲜蜂王浆; 11~40 d 下降相对缓慢。4°C 下蜂王浆水溶性蛋白在 11 d 内下降速度最快, 蛋白含量下降了 28.30%; 11~40 d 之间下降 9.43%, 下降速度趋于缓慢。20°C 下蜂王浆水溶性蛋白降解速度一直较快, 0~11 d 下降最快, 其次是 11~17 d 降解较快, 上述谱带颜色深浅相吻合。

2.2.2 不同贮藏温度对蜂王浆水溶性蛋白的影响

从表 3 可知, 随贮藏时间的延长蜂王浆水溶性蛋白含量下降越明显。-20°C 下的蜂王浆水溶性蛋白降解最慢, 而 20°C 下的降解最快。-20°C 下

蜂王浆水溶性蛋白含量在第5~17 d期间下降0.005g,第17~28 d下降速度减慢;4℃下蜂王浆水溶性蛋白含量在0~5 d内下降最快,17 d到28 d下降最慢;20℃下蜂王浆水溶性蛋白含量在5~17 d内下降最快。

从表2和表3中可以看出,相同贮存时间内,蜂王浆水溶性蛋白含量随贮藏温度的升高而降低;相同温度条件下,其含量随贮存时间的延长亦逐渐降低。这可能是由于贮藏过程中,随温度的升高和时间的延长,蜂王浆中一些水溶性蛋白质发生氧化反应生成不溶性物质或降解为其它物质^[9]。低温环境对蜂王浆中的水溶性蛋白质更具保护作用,不易降解消失。

表2 贮藏时间对蜂王浆水溶性蛋白质的影响

Tab. 1 Effect of time in water soluble proteins of royal jelly

| 贮藏温度/℃ | 贮藏时间/d | 蛋白含量/g |
|--------|--------|----------------------------|
| -20 | 0~12 h | 0.053±0.001 ^{aA} |
| | 5 | 0.050±0.001 ^{bAB} |
| | 11 | 0.047±0.001 ^{cB} |
| | 17 | 0.045±0.001 ^{cB} |
| | 28 | 0.042±0.002 ^{cC} |
| | 40 | 0.039±0.001 ^{cC} |
| 4 | 0~12 h | 0.053±0.001 ^{aA} |
| | 5 | 0.044±0.001 ^{bAB} |
| | 11 | 0.038±0.003 ^{cB} |
| | 17 | 0.037±0.003 ^{cB} |
| | 28 | 0.034±0.003 ^{cB} |
| | 40 | 0.033±0.003 ^{cB} |
| 20 | 0~12 h | 0.053±0.001 ^{aA} |
| | 5 | 0.045±0.001 ^{bB} |
| | 11 | 0.037±0.001 ^{cC} |
| | 17 | 0.033±0.005 ^{dD} |
| | 28 | 0.032±0.001 ^{eD} |
| | 40 | 0.028±0.002 ^{eE} |

注:表中有相同小写字母表示差异不显著($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);不同的大写字母表示差异极显著($P<0.01$),下同。

表3 温度对王浆水溶性蛋白的影响

Tab. 3 Effect of temperature in water soluble proteins of royal jelly

| 时间/d | 温度/℃ | 蛋白含量/g |
|------|------|----------------------------|
| 5 | 新鲜王浆 | 0.053±0.001 ^{aA} |
| | -20 | 0.050±0.001 ^{bAB} |
| | 4 | 0.044±0.001 ^{cB} |
| | 20 | 0.045±0.001 ^{cB} |
| 17 | 新鲜王浆 | 0.053±0.001 ^{aA} |
| | -20 | 0.045±0.001 ^{bAB} |
| | 4 | 0.037±0.003 ^{cB} |
| | 20 | 0.033±0.005 ^{cB} |
| 28 | 新鲜王浆 | 0.053±0.001 ^{aA} |
| | -20 | 0.042±0.002 ^{bB} |
| | 4 | 0.034±0.003 ^{cB} |
| | 20 | 0.032±0.001 ^{cB} |

蜂王浆对贮存温度和时间非常敏感^[10],长时间置于常温下会导致蜂王浆所含水溶性蛋白质部分被破坏,使蜂王浆的营养功能丧失,而在冷冻条件下则比较稳定。因此蜂王浆生产后,在随后的收购、加工、销售以及消费等环节,应尽量低温贮存,以最大程度地保留蜂王浆中的活性蛋白。

3 结 语

1) 在-20℃条件下贮藏,蜂王浆水溶性蛋白质较稳定,相对分子质量88 000的谱带在40 d后才开始慢慢降解。

2) 在4℃条件下贮藏,蜂王浆水溶性蛋白中相对分子质量88 000的谱带在5 d内降解迅速,水溶性蛋白中相对分子质量80 000的谱带在40 d时候已经降解。

3) 在20℃条件下贮藏,蜂王浆水溶性蛋白中相对分子质量88 000的谱带迅速降解,相对分子质量80 000的谱带在28~40 d降解较快。

4) 蜂王浆水溶性蛋白中相对分子质量88 000谱带的变化在一定程度上能够代表蜂王浆的新鲜度的变化。

参考文献(References):

- [1] 陈盛禄. 中国蜜蜂学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [2] 曾志将. 养蜂学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [3] 苏晔, 敬璞. 蜂王浆的化学成分生理活性及应用[J]. 蜜蜂杂志, 2000(9): 23-24.
Su Ye, Jing Pu. The physiological activity and application of chemical composition in royal jelly[J]. **Journal of Bee**, 2000(9): 23-24. (in Chinese)
- [4] 扬远帆, 陈靖刚, 倪辉. 蜂王浆中蛋白质及肽类物质的研究进展[J]. 中国养蜂, 2004(4): 27-28
Yang Yuan-fang, Chen Jing-gang, Ni Hui. The study progress of protein and peptide in toyal jelly[J]. **Apicutral of China**, 2004(4): 27-28. (in Chinese)
- [5] 黄培堂. 分子克隆实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [6] 李建武. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 1994.
- [7] 陈东海, 阎德斌. 蜂王浆中新发现衡量品质指标的蛋白质: Roylactin[J]. 养蜂科技, 2002, 23(1): 17-22.
Chen Dong-Hai, Yan De-bin. Founding a new protein of measuring royal jelly' s quality in royal jelly[J]. **Apicutral Science and Technology**, 2002, 23(1): 17-22. (in Chinese)
- [8] 刘红云, 童富淡, 李宜梅, 等. 贮存温度、时间对蜂王浆水溶性蛋白的影响[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(6): 1-4.
LIU Hong-yun, Tong Fu-dan, Li Yi-mei, et al. Effect of storage temperature and time in water-soluble proteins of royal jelly[J]. **Food and Fermentive Industry**, 2003, 29(6): 1-4. (in Chinese)
- [9] 朱丹实, 张愨. 不同温度、湿度条件对蜂王浆及蜂蜜贮藏的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2005, 24(2): 78-84.
Zhu Dan-shi, Zhang Min. Effect of different temperature and humidity in royal jelly and honey[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2005, 24(2): 78-84. (in Chinese)
- [10] 吉挺, 陈晶, 焦雅君. 蜂王浆中 γ -球蛋白分子质量与贮存时间相关分析[J]. 扬州大学学报: 农业与生物技术, 2006, 27(2): 83-85.
Ji Ting, Chen Jing, Jiao Ya-jun. The relation between molecular weight and storage time of γ -globulin in royal jelly[J]. **Journal of Yang Zhou University: Agricultural and Life Science Edit**, 2006, 27(2): 83-85. (in Chinese)

(责任编辑: 杨萌)

《江南大学学报(自然科学版)》 征稿、征订启事

《江南大学学报(自然科学版)》(双月刊)是由教育部主管、江南大学(国家“211工程”重点建设高校)主办的自然科学类学术期刊。本刊主要刊载通信与控制工程、信息工程、机械工程、产品系统设计理论、纺织工程、应用化学、材料工程、土木工程、数理科学等学科的学术论文、研究报告,以及反映学科前沿研究动态的高质量综述。

本刊优先刊登国家自然科学基金和省部级及其以上科研项目析出论文,同时发表与企业及生产实际密切相关的应用性研究成果。热忱欢迎广大高校教学、科研人员及相关领域的专家、学者,在读硕士、博士研究生赐稿。

本刊为A4开本,128页,每册订价8.00元;全年共6期,48.00元;本刊邮发代号:28-189,全国各地邮局均可订阅,亦可向本刊编辑部直接订购。本刊可破季订阅。热忱欢迎广大读者订阅本刊。

邮编:214122

电子邮箱:xbzrkx@jiangnan.edu.cn

地址:江苏省无锡市蠡湖大道1800号

电话:0510-85913519

《江南大学学报(自然科学版)》编辑部