

벼화분의 영양학적 가치 및 항산화 활성

홍인표* · 우순옥 · 한상미 · 김세건 · 장혜리 · 이만영 · 최용수 · 김혜경 · 이명렬
국립농업과학원 농업생물부

Evaluation of Nutritional Potential and Antioxidant Activity of *Oryza sativa* (Rice) Pollen Collected by Honey Bee, *Apis mellifera*

In-Pyo Hong*, Soon-Ok Woo, Sang-Mi Han, Se-Gun Kim, Hye-Ri Jang, Man-young Lee, Yong-Soo Choi, Hye-Kyung Kim and Myeong-Lyeol Lee

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences, R.D.A., Wan-ju 55365, Republic of Korea
(Received 30 August 2016; Revised 26 September 2016; Accepted 26 September 2016)

Abstract

We investigated the nutritional composition including proximate, amino acid, vitamin, minerals, and the antioxidant activity of rice (*Oryza sativa*) pollen grains collected by *Apis mellifera* bees, to be used as sources for feeding bee colonies and as healthy human food supplements with *Quercus acutissima* (acorn) and *Actinidia arguta* pollen grains. Crude protein and fat content were found 15.66% and 5.31%, respectively. Eighteen amino acids from rice pollen were found, including 8 essential amino acids and 10 non-essential amino acids. The predominant amino acids were proline, glutamic acid, aspartic acid and lysine accounting for about 47.7% of total free amino acids. The concentration of vitamin B₃ (niacin) was the highest value, followed by C and B₂ among the detected vitamins. The predominant minerals were potassium (514.45mg/100g), followed by phosphorus and calcium, whereas sodium (Na), zinc (Zn) and iron (Fe) were detected as minor elements. Antioxidant activity and phenolic content accounted for 36.09% and 15.67μg/mg, respectively.

Key words: Antioxidant activity, Amino acid, *Apis mellifera*, Mineral, Rice Pollen, Vitamin

서 론

인간의 평균 수명이 연장되고 생활수준이 점차 향상되면서 건강에 대한 관심이 고조되고 있다. 최근에는 생활환경과 식생활 등의 변화로 심혈관계 질환과 내분비계 질환인 당뇨병 등 성인병이 증가하는 추세

이다(Zhang *et al.*, 2008). 노화와 질병의 원인은 다양하지만 일반적으로 생체내의 산화적 스트레스에 의해 생성되는 활성산소(reactive oxygen species, ROS)의 축적이 세포를 손상시켜 노화가 촉진된다. 활성산소는 물질대사에 의한 부산물로, 산소가 전자를 얻어 환원되면 초과산화(superoxide, O₂⁻), 과산화수소(hydrogen

*Corresponding author. E-mail: iphong20@korea.kr

peroxide, H_2O_2), 수산(hydroxyl radical, HO), 물(H_2O)이 순차적으로 생성되는데 이때 생성된 물질들을 일반적으로 활성 산소라 한다. 활성 산소는 반응성이 매우 높은 물질로 세포를 손상시켜 동맥경화, 당뇨병, 암, 노화 등을 유발하는 것으로 알려져 있다(Wiseman and Halliwell, 1996; Yhe *et al.*, 2003). 이러한 노화 억제와 성인병 예방을 위한 항산화 물질 등 건강식품에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 항산화 활성은 활성산소를 소거함으로써 식품이나 인체 내의 산화작용을 줄여주는 역할을 한다. 항산화 물질은 동, 식물계에 널리 분포하고 있으며, 페놀성화합물과 플라보노이드, 아스코르빈산, 토코페롤 등의 물질은 성인병을 예방하고 노화를 지연시킨다고 알려져 있다(Block and Langseth, 1994). 벌꿀과 화분은 플라보노이드계 물질이 함유된 항산화 활성이 높은 항산화제이다(Andrade *et al.*, 1997; Sabatier *et al.*, 1992). 꿀벌화분(bee pollen)은 일벌이 어린 벌에게 먹이기 위해서 다리에 묻혀오는 화분에 꿀과 효소가 혼합되어 경단처럼 뭉쳐진 덩어리로 영양성분이 풍부하여 오래전부터 자연 건강식품으로 이용되어 왔다(정 등, 1984; Todd and Bretherick, 1942). 꿀벌화분은 꿀벌의 유충과 성충의 단백질원으로 탄수화물, 지방, 비타민, 무기질 등의 영양성분이 풍부하며, 또한 로열젤리의 원료이다(최, 1995). 화분은 이용가치가 매우 높은 자연식품으로 혈관 및 순환계, 소화계, 신진대사계, 노화 등 다양한 질환에 효과가 있다고 알려져 있으며, 최근에는 항균 및 면역증강 효과, 전립선 비대증 및 전립선염 치료 효과 등이 보고되었다(최 등, 2007; Fang *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2009; Abouda *et al.*, 2011).

국내에서 생산이 되는 화분은 봄철에 수확되는 도토리화분과 다래화분이 가장 많으며 소비량이 급격히 증가하는 여름부터는 화분 공급이 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 재배되는 농작물 중 재배면적이 가장 많은 벼 화분을 수집하여 영양성분, 항산화 활성 등을 평가하여 여름 화분으로 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

시험재료

벼화분은 농촌진흥청 국립식량과학원 계화도 시험포장에서 꿀벌 벌통 입구에 화분 채집기를 설치하여 2015년 6월 1일부터 약 2주간 수집하였으며, 수집된 시료는 현미경 관찰하에서 95% 이상 순도를 유지하는 시료를 선별한 다음 $-20^{\circ}C$ 에서 냉동보관하면서 분석에 이용하였다.

일반성분 분석

화분시료의 일반성분 분석은 식품공전 분석방법(2008)에 따라 수분정량은 상압건조방법으로 $105^{\circ}C$ 에서 건조하여 정량하였고, 조단백질은 semimicro-Kjeldahl법으로 자동 단백질 분석기(Kjeltec 2400 Auto Analyzer, Foss Tecator, Denmark)로 분석하였으며, 조지방은 Soxhlet 추출기(Soxtec System HT 1043 extraction unit, Foss Tecator, Denmark)를 사용하여 diethyl ether로 추출하여 정량하였으며, 조회분은 $600^{\circ}C$ 직접 회화법으로 측정하였고, 조섬유는 1.25% H_2SO_4 및 NaOH 분해법으로 측정하였다.

아미노산 분석

아미노산 조성 분석은 식품공전 분석방법(2008)에 따라 Pico Tag System(Waters, USA)를 사용하였다. 먼저 40mg의 시료를 채취하여 vial에 담고 6N HCl 15ml를 가하여, vial의 산소 등을 질소로 치환한 후 $110^{\circ}C$ 오븐에서 24시간동안 가수분해하였다. 가수분해된 용액으로부터 50ul을 취하여 Pico Tag의 표준방법에 의하여 PTC-amino acid 유도체를 제조하여 분석용 시료로 사용하였다. 분석에 사용한 이동상 용액은 A 용액은 sodium acetate trihydrate 19.5g, triethylamine 550ul, IL milli Q water를 혼합한 후 인산을 사용하여 pH 6.4로 고정하여 제조한 용액 935ml와 CH_3CN 65ml를 혼합하여 제조하였다. B 용액은 60%의 CH_3CN 을 그대로 사용하였다.

비타민 분석

비타민 함량은 식품공전 분석방법(2008)에 따라 비

Table 1. Operating condition of HPLC for vitamin B2, B3 and C analysis

Classification	Conditions
Instrument	Nanospace SI-2
Detector	PDA detector(Theromo Fisher, USA)
Column	Shiseido MG120 C ₁₈
Oven temperature	40°C
Mobile phase	0.05 M KH ₂ PO ₄ : ACN = 98 : 2(v/v)
Flow rate	0.5mL/min
Wave length (nm)	254nm
Injection volume	5µl

타민 B2(riboflavain), B3(niacin), C(ascobic acid)를 분석하였다.

비타민 B2 분석은 균질화된 시료 2g을 0.1N HCl 용액 25mL에 넣고 비등수욕 중에 60분간 침출하여 가수분해한 다음 2N Sodium acetate buffer로 pH를 4.5로 맞춘 후 Takadiastase 300mg을 가한 후 37°C에서 18시간 침지하였다. 총량을 50mL로 맞춘 다음 원심분리기(5804R, Eppendorf, Germany)에서 3,000rpm, 5분간 원심분리하여 상층액을 0.2µm syringe filter로 여과하여 HPLC(Shiseido Nanospace SI-2, Japan)로 함량을 측정하였으며, HPLC의 조건은 Table 1과 같다.

비타민 B3 분석은 시료 2g을 0.1N HCl 용액 25mL에 넣고 비등수욕 중에 60분간 침출하여 가수분해한 후 총량을 50mL로 맞춘 다음 shaker로 5분간 교반하였다. 원심분리기에서 3,000rpm, 5분간 원심분리하여 상층액을 0.2µm syringe filter로 여과하여 HPLC로 함량을 측정하였다.

비타민 C 분석은 시료 15g을 5% metaphosphoric acid(Wako) 20mL로 균질화(Ultra-Turrax T25, IKA Labo, Germany)하여 총량을 50mL로 맞춘 후, 초음파추출기로 30분간 추출하였다. 원심분리기에서 12,500g로 10분간 원심분리한 후 상등액을 0.45µm 필터로 여과하여 시험용액으로 하였다. 분석은 HPLC(Shiseido Nanospace SI-2, Japan)로 하였으며, 검출기는 UV 254nm를 사용하였다.

미량원소 분석

미량원소 함량은 식품공전 분석방법(2008)에 따라 분석하였다. 시료를 105°C에서 16시간 건조하여 마쇄

한 다음 0.5g을 취하여 600°C 회화로에서 2시간 회화시킨 다음 냉각하였다. 회화된 시료는 microwave(Mars5, Mars6, CEM, USA) 분해용기에 넣고 질산용액(HNO₃:H₂O = 1:1) 7mL을 첨가하여 24시간 분해시킨 후 염산용액(HCl:H₂O = 1:1)을 가하여 24시간 용해시킨 다음 여과지(Whatman No. 6, Maidstone, England)로 여과하여 분석시료로 이용하였다. 미량원소 분석은 유도결합플라즈마(Inductively Coupled Plasma, PerkinElmer Optima 8300, USA)를 이용하여 정량하였으며, 미량원소의 검출 파장은 칼슘 317.933nm, 철 238.204nm, 칼륨 766.490nm, 마그네슘 285.213nm, 나트륨 588.995nm, 아연 213.856nm이었다.

항산화 활성 측정

벼화분의 항산화 활성은 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)를 사용하여 자유라디칼소거능으로 측정하였다(Liangli 등, 2002). 96 well plate에 화분 추출물 10µl와 0.2mM DPPH 190µl을 균일하게 혼합하여 실온에서 30분간 정치한 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능을 구하는 식은 다음과 같다.

$$\text{전자공여능(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

총 페놀 함량

총 phenol함량은 Folin-Ciocalteu 방법을 사용하여 측정하였고, 표준 검량선은 gallic acid(mg gallic acid/g)로 산출하였다(Beretta et al., 2005). 96 well plate에 화분 추출물과 Folin-Ciocalteu reagent를 혼합하여 5분간 잘 섞어준 후, 7% Na₂CO₃을 첨가하고 실온에서 90분간 정

Table 2. Proximate chemical composition of rice bee pollen grains

Crude component (unit: % wet basis)				
Moisture	Ash	Fat	Protein	Carbohydrate
23.65 ± 0.08	1.67 ± 0.00	5.31 ± 0.38	15.66 ± 0.11	53.71 ± 0.12

치한 후 630nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

일반성분 분석

벼화분의 일반성분을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 벼화분의 수분 함량은 23.7%로 김(1986)이 수집 지역(남부지방, 중부지방, 북부지방)에 따라 조사한 35.4~42.5%보다 낮았다. 화분의 수분 함량은 기원식 물체, 채집시기, 밀원의 조건, 꿀 함유 상태에 따라 다르며, 특히 벌이 화분을 수집하기 위해 이용하는 꿀의 수분함량(40~60%)에 영향을 많이 받는다(김, 1986; Stanley and Linskens, 1974). 벼화분의 회분 함량은 1.67%로 도토리화분 2.7%(최와 정, 2004), 다래화분 2.3%(홍 등, 2013a), 송화분 3.2%(이 등, 1997)보다 낮았다. 조단백질 함량은 15.66%로 도토리화분 22.3%(최

와 정, 2004), 다래화분 35.8%(홍 등, 2013a), 족제비싸리화분 23.05%(Hong *et al.*, 2016), 뱃나무화분 24.6%(김과 손, 1990)보다 낮았으나 송화분 14.0%(이 등, 1997)보다는 월등히 높았다. 김(1986)이 수집 지역에 따라 조사한 조단백질 함량은 10.75~20.24%이었다. 벼화분의 조지방 함량은 5.31%로 도토리화분 11.8%과 다래화분 8.7%(홍 등, 2013a)보다 낮았으나 족제비싸리화분 3.12%(Hong *et al.*, 2016), 송화분 3.0%(이 등, 1997)과 유채화분 3.2%(김과 손, 1990)보다는 높았다. 한편 김(1986)이 수집 지역에 따라 조사한 조지방 함량은 1.65~2.05%이었다. 벼화분의 탄수화물 함량은 53.71%로 도토리화분 47.9%와 다래화분 48.1%(홍 등, 2013a), 송화분 31.9%(이 등, 1997)보다 높았으며 족제비싸리화분 59.94%(Hong *et al.*, 2016)와 비슷하였다. 화분의 일반 성분은 밀원과 지역의 외적 환경요인에 따라 차이가 있다. 탄수화물 함량의 비중이 높으면 밀원 분포상 초본류식물의 화분 유입이 많

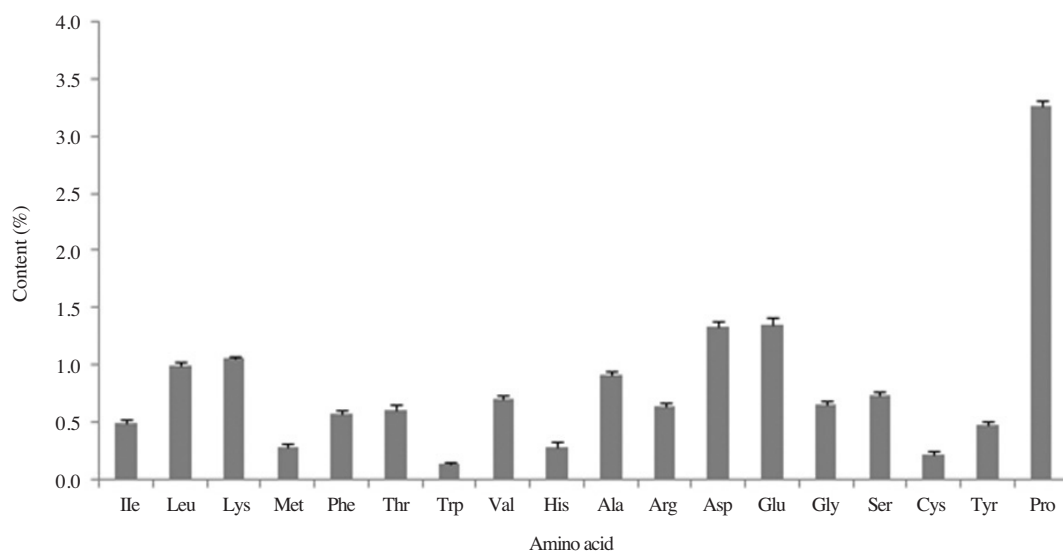


Fig. 1. Content of amino acid composition in rice bee pollen grains. Ile; soleucine, Leu; leucine, Lys; lysine, Met; methionine, Phe; Phenylalanine, Thr; Threonine, Ttp; tryptophan, Val; valine, His; histidine, Ala; alanine, Arg; Arginine, Asp; aspartic acid, Glu; glutamic acid, Gly; glycine, Ser; serine, Cys; cysteine, Tyr; tyrosine, Pro; proline.

Table 3. Vitamin content of rice bee pollen grains

Vitamin content (mg/100g)		
B ₂	B ₃	C
0.69±0.0	4.28±0.25	0.6±0.62

Table 4. Mineral content of rice bee pollen grains

Mineral content (mg/100g)						
P	Ca	Fe	K	Mg	Na	Zn
347.02	89.68	3.85	514.45	84.2	16.11	5.18

은 것으로 판단되며 이는 화분 함유량 중 glucose 량과의 관계로 해석된다(김, 1986).

아미노산 조성

벼화분의 아미노산 조성을 분석한 결과는 Fig. 1에 서와 같이 glutamic acid 등 18종의 아미노산이 존재하며, 특히 phenylalanine, leucine, threonine, lysine, valine, tryptophan, isoleucine, methionine 등 필수아미노산 8종을 모두 함유하고 있다. 함량면에서는 비필수 아미노산 proline이 3.270%로 가장 많이 함유되어 있으며, glutamic acid 1.356%, aspartic acid 1.334%, lysine 1.054% 순이었으며, cystine, histidine, methionine 등은 소량 존재하였다. 도토리화분과 다래화분의 아미노산 조성은 aspartic acid, glutamic acid, leucine, lysine 순으로 분포하며(이 등, 1997; 홍 등, 2013b), 송화분은 aspartic acid, glutamic acid, arginine 순으로 존재하며(한 등, 2004), 족제비싸리화분과 해바라기화분은 glutamic acid, aspartic acid, proline 순으로 분포하였다(Hong *et al.*, 2016; 윤 등, 1985). 따라서 벼화분의 아미노산 조성은 glutamic acid와 aspartic acid가 가장 많이 분포하며, 그 다음으로 도토리화분과 다래화분에는 leucine, 송화분에는 arginine, 족제비싸리화분과 해바라기화분, 벼화분에는 proline이 많이 함유되어 있었다. 또한 cystine, histidine, methionine 등의 아미노산은 모든 화분에 소량 존재하였다. 위 결과는 Solberg and Remedios(1980) 등은 화분에는 aspartic acid, glutamic acid, arginine, leucine, proline, lysine 등 6종의 아미노산이 전체 아미노산 함량의 60%를 차지한다는 보고와 유사한 결과

이다. 일반적으로 화분에는 모든 필수아미노산을 함유하고 있으며 함량은 식물의 종에 따라 차이가 있다(Leblanc *et al.*, 2009).

비타민 함량

벼화분의 비타민 B₁, B₂, B₃, C의 함량을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 비타민 B₁은 벼화분에서 검출되지 않았으며, 비타민 B₂, B₃, C의 함량은 각각 0.69mg/100g, 4.28mg/100g, 0.60mg/100g으로 나타났다. 벼화분의 비타민 B₂ 함량은 이 등(1997)이 보고한 도토리화분 0.8mg/100g과 송화분 0.6mg/100g과 비슷하였다. 비타민 C의 함량은 송화분(한 등, 2004)과 유사하였으나 족제비싸리화분 57.81mg/100g보다 적었다.

미량원소 함량

벼화분의 대표적인 7종 미량원소 함량을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 분석한 7종의 미량원소 중 칼륨(K)이 514.45mg/100g으로 가장 많이 함유되어 있으며, 철분(Fe)이 3.85mg/100g으로 가장 적게 함유되어 있었다. 한 등(2004)이 분석한 송화분의 미량원소에서도 칼륨(K)과 인(P)의 함량이 가장 많았으며, 철분(Fe)가 가장 적게 함유되어 있었다. K/Na 비는 31.93으로 도토리화분 12.59과 송화분 10.88보다 높았으나(이 등, 1997) 족제비싸리화분 44.03보다는 낮았다. Ca/P비는 0.26으로 인에 비해 칼슘이 매우 적은 것으로 나타났다.

향산화 활성 및 총페놀 함량

벼화분의 향산화 활성 및 총페놀 함량을 분석한 결과는 Table 5와 같다. 벼화분의 자유라디칼소거능에

Table 5. Antioxidant activity and polyphenol content of rice bee pollen grains

Antioxidant activity ($\mu\text{g/ml}$ extract)	Polyphenol content ($\mu\text{g/mg}$ extract)
36.09 \pm 0.74	15.67 \pm 0.16

대한 항산화 활성은 추출물 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서 36.09%이었으며, 총페놀함량은 mg당 15.56 μg 이었다. DPPH radical 소거능은 산화작용에 의하여 발생하는 hydroxyl radical, superoxide radical 등을 제거하는 항산화 능력을 평가할 때 가장 널리 이용되는 지표이다(김 등, 2000; 이 등, 2011). 항산화 효과는 페놀 또는 플라보노이드 함량이 많을수록 높은 것으로 알려져 있으며(Kim *et al.*, 2015), 항산화 활성은 폴리페놀성 물질의 수산기를 통한 수소 공여와 페놀 고리구조의 공명구조 안정화로 인하여 나타낸다고 알려져 있다(이 등, 2009).

적 요

국내에서 재배되는 농작물 중 재배면적(778ha)이 가장 많은 벼 화분을 여름 화분으로 개발하고자 영양성분, 미량원소, 항산화 활성 등을 평가하였다. 일반성분 분석결과 수분 23.65%, 회분 1.67%, 조단백질 15.66%, 조지방 5.31%, 탄수화물 함량은 53.71%였다. 벼화분에는 proline, glutamic acid, aspartic acid, lysine 등의 아미노산이 많이 존재하였으며, cystine, histidine, methionine 등은 소량 존재하였다. 비타민 함량은 B₂ 0.69mg/100g, B₃ 4.28mg/100g, C 0.60mg/100g으로 나타났다. 미량원소 함량은 칼륨(K)이 514.45mg/100g으로 가장 많이 함유되어 있으며, 철분(Fe)이 3.85mg/100g으로 가장 적게 함유되어 있었다. 벼화분의 DPPH에 대한 항산화 활성은 36.09%이었으며, 총페놀함량은 mg당 15.56 μg 이었다. 벼화분의 조지방 함량은 도토리화분과 다래화분에 비해 적었으나 족제비싸리화분, 송화분, 유채화분보다 많았다. 아미노산 조성은 필수아미노산 8종을 포함하여 18종의 아미노산이 풍부하게 존재하였으며, 항산화 활성도 우수하여 여름 화분으로 개발이 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 공동연구국책기술개발사업(과제번호: PJ 010837)의 지원에 의해 수행된 결과입니다.

인 용 문 헌

- 김재길. 1986. 화분하 화학적 조성 및 아미노산 함량. 한국양봉학회지 1: 91-96.
- 김재길, 손재형. 1990. 화분립 파쇄에 따른 이화학적 성분조성의 변화. 한국양봉학회지 5: 23-30.
- 김현구, 권영주, 김공환, 정운화. 2000. 마이크로웨이브 추출 조건에 따른 섬썩부쟁이 추출물의 총 폴리페놀 함량 및 전자공여 작용 변화. 한국식품과학회지 153: 1022-1028.
- 이나현, 홍정일, 김진영, 장매희. 2009. 금불초 추출물의 항산화 효과 및 산화 스트레스에 대한 신경세포 보호 작용. 한국식품과학회지 41: 87-92.
- 이부용, 최희돈, 황진봉. 1997. 국내산 화분 및 화분 추출물의 성분 분석. 한국식품과학회지 29: 869-875.
- 이진하, 박애리, 최대운, 김종대, 김진철, 안주희, 이현용, 최면, 최근표, 신인철, 박희준. 2011. 산나물류의 식품화학적 성분과 전자 공여능. 한국약용작물학회지 19: 111-116.
- 윤수홍, 안정임, 권정숙. 1985. 해바라기 화분립의 아미노산 조성과 rat 간 alcoholhydrogenase 활성에 미치는 영향. 한국영양과학회지 14: 27-32.
- 정영건, 윤수홍, 권정숙, 배만중. 1984. 화분립의 영양생화학적 연구(I). 한국영양과학회지 13: 169.
- 최수정, 정운화. 2004. 화분에서의 조단백질 및 환원당 추출시 단백질 분해 효소가 미치는 영향. 한국영양과학회지 33: 1353-1358.
- 최승윤. 1995. 신제양봉학. 집현사. 서울.
- 최준혁, 임기영, 장세영, 정용진. 2007. 도토리 화분의 발아 조건에 따른 식품유해균 억제 효과. 한국식품저장유통학회지 14: 87-93.
- 한명륜, 이수정, 김명환. 2004. High impact planetary mill 공정을 이용한 송화분의 세포벽 파쇄 기술. 단국대학교 신소재 연구논문집 12: 43-54.
- 홍인표, 이만영, 우순옥, 심하식, 최용수, 한상미, 김혜경, 변규호, 이명렬, 김정봉. 2013a. 도토리 화분과 다래화분의 일반성분, 지방산 분석 및 형태 관찰, 한국잡사학회지 51: 119-122.
- 홍인표, 이만영, 우순옥, 심하식, 최용수, 한상미, 김혜경, 변

- 규호, 이명렬, 하남규. 2013b. 도토리 화분(꽃가루)의 물리적 처리에 의한 성분 변화. 한국양봉학회지 28: 217-221.
- 한국식품공전. 2008. 한국식품의약품안전처.
- Abouda, Z., I. Zerdani, I. Kalalou, M. Faid and M.T. Ahami. 2011. The Antibacterial activity of Moroccan bee bread and bee-pollen (fresh and dried) against pathogenic bacteria. Res. J. Microbiol. 6: 376-384.
- Andrade, P., F. Ferreres, M.I. Gil and F.A. Tomás-Barberán. 1997. Determination of phenolic compounds in honeys with different floral origin by capillary zone electrophoresis. Food Chemistry 60: 79-84.
- Beretta, G., P. Granata, M. Ferrero, M. Orioli and R.M. Facino. 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. Analytica Chimica Acta. 533: 185-191.
- Block, G. and L. Langseth. 1994. Antioxidant vitamins and disease prevention. Food Technol. 48: 80-84.
- Fang, K.F., Y.N. Wang, T.Q. Yu, L.Y. Zhang, F. Baluska, J. Samaj and J.X. Lin. 2008. Isolation of de-exined pollen and cytological studies of the pollen intines of *Pinus bungeana* Zucc. Ex Endl. and *Picea wilsonii* Mast. Flora 203: 332-340.
- Hong, I.P., S.O. Woo, S.M. Han, S.G. Kim, H.R. Jang, M.Y. Lee, Y.S. Choi, H.K. Kim and M.L. Lee. 2016. Evaluation of nutritional potential of *Amorpha fruticosa* pollen collected by honey bees. Korean J. Apiculture 31: 73-77.
- Kim, S.B., Y.H. Jo, Q. Liu, J.H. Ahn, I.P. Hong, S.M. Han, B.Y. Hwang and M.K. Lee. 2015. Optimization of extraction condition of bee pollen using response surface methodology: Correlation between anti-melanogenesis, antioxidant activity and phenolic Content. Molecules. 20: 1-13.
- LeBlanc, B.W., O.K. Davis, S. Boue, A. Delucca and T. Deeby. 2009. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. Food Chem. 115: 1299-1305.
- Li, F., Q.P. Yuan and F. Rashid. 2009. Isolation, purification and immunobiological activity of a new water-soluble bee pollen polysaccharide from *Crataegus pinnatifida* Bge. Carbohydrate Polymers 78: 80-88.
- Liangli, Y., A. Scott, P. Jonathan, H. Mary, W. John and Q. Ming. 2002. Antioxidant properties of hard winter wheat extracts. J. Agric. Food Chem. 60: 1619-1624.
- Sabatier, S., M.J. Amiot, M. Tacchini and S. Aubert. 1992. Identification of flavonoids in sunflower honey. J. Food Sci. 57: 773-777.
- Solberg, Y. and G. Remedios. 1980. Chemical composition of pure and bee collected pollen, Meld. Norg. Landbruk. 59: 1-12.
- Stanley, R.G. and H.F. Linskens. 1974. Pollen Biology, Chemistry and Management, Springer Verlag, New York.
- Todd, F.E. and O. Bretherick. 1942. The composition of pollens. J. Econ. Entomol. 35: 312-317.
- Wiseman, H. and B. Halliwell. 1996. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. Biochem J. 313: 17-329.
- Yeh, G.Y., D. M. Eisenberg, T. J. Kaptchuk and R. S. Phillips. 2003. Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. Diabetes Care 26: 1277-1294.
- Zhang, W., Y. C. Xu, F. J. Guo, Y. Meng and M. L. Li. 2008. Antidiabetic effects of cinnamaldehyde and berberine and their impacts on retinol-binding protein 4 expression in rats with type 2 diabetes mellitus. Chin Med J (Engl) 121: 2124-2128.