

加工处理对甘薯糖蛋白免疫调节和降胆固醇功能的影响

阚建全¹, 夏雪娟¹, 李冠楠², 吴金松¹, 郑炯¹, 陈宗道¹

(1. 西南大学食品科学学院, 农业部农产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室(重庆), 重庆 400715;

2. 西南大学生物技术学院, 重庆 400715)

摘要:目的: 以实验室提取的甘薯糖蛋白-1 (sweet potato glycoprotein-1, SPG-1) 为原料, 研究不同加工处理对其蛋白免疫调节和降胆固醇功能的影响。方法: 研究热处理、酸碱处理、紫外光照射、微波处理对甘薯糖蛋白SPG-1的免疫调节作用(包括巨噬细胞吞噬功能、细胞吞噬功能和血清溶血素含量)和降血清总胆固醇作用的影响。结果: 热处理温度和pH值对甘薯糖蛋白SPG-1的免疫调节和降胆固醇作用的影响较大, 热处理温度超过100℃、pH<3.5或>7.5时, 糖蛋白处理组的吞噬指数(k)、酸性 α -醋酸萘酯酶阳性率、半数溶血值(HC_{50})和血清胆固醇下降率(ΔTC)均显著性降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 糖蛋白处理组的吞噬指数(k)和血清胆固醇下降率(ΔTC)在紫外光照射条件下与对照组相比差异不显著($P>0.05$), 而微波处理60 s以上时, 与对照组相比有显著性或极显著性差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论: 甘薯糖蛋白SPG-1加工处理过程中应避免70℃以上的高温, 选择合适的pH值范围(3.5~7.5), 避免较长时间(>60 s)的微波处理。

关键词: 甘薯糖蛋白; 加工处理; 免疫调节; 胆固醇

Effect of Processing on Immunoregulation and Cholesterol-Lowering Activity of Sweet Potato Glycoprotein

KAN Jianquan¹, XIA Xuejuan¹, LI Guannan², WU Jinsong¹, ZHENG Jiong¹, CHEN Zongdao¹

(1. Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Agro-products on Storage and Preservation (Chongqing), Ministry of Agriculture, College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. College of Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Objective: To investigate the effect of different processing methods on immunoregulation and cholesterol-lowering activity of sweet potato glycoprotein SPG-1. Methods: The influence of heat, acid-alkali, ultraviolet and microwave treatment on immunoregulatory activities, including macrophage phagocytic function, phagocytic function and serum hemolysin content, and cholesterol-lowering activity of SPG-1. Results: Heat and acid-alkali treatments were obviously affect the immunoregulation and cholesterol-lowering activity of SPG-1. The phagocytic index (k), acid α -naphthyl acetate esterase (ANAE) positive rate, serum 50% hemolytic value (HC_{50}) and serum cholesterol reduction rate (ΔTC) of SPG-1 were significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$) by heat (higher than 100℃), acid (pH smaller than 3.5) and alkali (pH above 7.5) treatments when compared with the control group. Ultraviolet treatment did not affect k value or ΔTC ($P>0.05$), although resulting in a significant difference in both parameters compared with the control when conducted for more than 60 s ($P<0.05$ or $P<0.01$). Conclusion: SPG-1 should avoid heat treatment at high temperature (>70℃) and long-time microwave treatment (>60 s), and the appropriate pH range should be 3.5–7.5.

Key words: sweet potato glycoprotein; processing; immunoregulation; cholesterol

中图分类号: TS215

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2015)07-0194-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201507036

甘薯 (*Ipomoea batatas* L.) 属根茎类旋花科一年蔓生草本植物, 产量高, 适应性广、抗逆性和再生能力强、营养价值丰富、具有多种保健功效、利用价值高^[1]。糖蛋白是一类由糖类与蛋白中氨基酸以共价键结合而成的结合蛋白^[2]。甘薯糖蛋白广泛存在于甘薯块根中^[3], 具有抑

制胆固醇在体内沉积、增强机体免疫力、减少高血压发生率、减慢人体器官老化速度等特殊生理功能^[4]。

由于其低廉的价格和突出的保健功效, 以甘薯为原料提取糖蛋白作为保健食品功能成分进行市场开发具有长远的战略意义。但保健食品在加工过程中必然

收稿日期: 2014-06-15

作者简介: 阚建全 (1965—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品化学与营养学、食品生物技术。E-mail: ganjq1965@163.com

要经过特定的处理,其功能性成分在处理后还能否保持其活性是保健食品研究中一个值得关注的问题。目前,国内外有关甘薯糖蛋白的研究多集中在提取、分离、纯化、结构和生理功能等的研究。如赵梅^[5]、李亚娜^[6]、师超^[7]等对甘薯糖蛋白的提取、分离和纯化条件进行了优化;阚建全^[8]、孟宪军^[9]等对甘薯糖蛋白的结构进行了研究;Kusano^[10]、梁婧婧^[11]、阚建全^[8]、Tsai Shunjen^[12]等分别研究了甘薯糖蛋白的抗糖尿病、降血脂、免疫调节和抗突变作用。而有关加工处理对甘薯糖蛋白的活性影响研究相对较少。本研究选取食品加工中较常见的影响因素:热处理、酸碱处理、紫外光照射和微波处理,研究其对甘薯糖蛋白的免疫调节和降胆固醇作用的影响,以期对甘薯糖蛋白保健品的加工提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

甘薯购自西南大学实验农场,西南大学甘薯研究中心鉴定为北京2号甘薯(Beijing No.2 *Ipomoea batatas* L.)。

1.1.2 实验动物

昆明种小白鼠: BALB/c纯系小鼠,雌雄各半,体质量18~20 g, 8~10 周龄(医动字第24301035号); Wistar大鼠,雌雄各半,体质量150~210 g(医动字第24301035号),由重庆市中药研究院实验动物中心提供。

1.1.3 饲料

基础饲料由重庆市中药研究院实验动物中心提供,配方为:小麦粉35%、玉米粉31%、生豆饼粉15%、鱼粉10%、奶粉5%、骨粉3%、食盐1%。每100 kg饲料中含鱼肝油125 g,混合维生素10 g及微量元素50 g。

脂肪乳剂由重庆市中药研究院药理病理研究室提供:猪油20%、胆固醇10%、猪胆盐2%、甲基硫氧嘧啶1%。每100 mL脂肪乳剂中含5 mL吐温-80, 10 mL丙二醇。

1.1.4 试剂与仪器

印度墨汁 北京索莱宝科技有限公司; α -醋酸萘酯 上海纪宁实业有限公司; 肝素 苏州东吴医用生化制品厂; 豚鼠血清、绵羊红细胞 华美生物工程公司; 聚蔗糖-泛影葡胺分层液、胆固醇、猪胆盐 上海广锐生物科技有限公司; 总胆固醇(total cholesterol, TC)测定试剂盒(批号1213051) 四川迈克生物科技股份有限公司; 副品红、酚红、孔雀绿、甲基绿、乙二醇单甲醚、戊二醛、碳酸钠、碳酸氢钠、柠檬酸钠、亚硝酸钠、氰化钾、高铁氰化钾均为分析纯。

BX41电子显微镜 日本奥林巴斯公司; 752型分光

光度计 上海精密科学仪器有限公司分析仪器总厂; TGL-16B型离心机 上海安亭科学仪器厂; 日立7020型全自动生化分析仪 日本日立公司。

1.2 方法

本实验用甘薯糖蛋白纯品SPG-1是从甘薯中分离提取,经DEAE-52纤维素柱层析和Sephadex G-100柱层析纯化,高效液相色谱法测定其分子质量为 50.83×10^4 D, 苯酚硫酸法测定总糖含量为97.32%, Folin-酚法测定蛋白质含量为2.15%。

1.2.1 加工处理方法^[13]

1.2.1.1 热处理

将2.0 g/100 mL的甘薯糖蛋白溶液分别在60、70、100、121 °C分别加热处理0、5、10、15、20、25、30 min,冷却后待用。

1.2.1.2 酸碱处理

将2.0 g/100 mL的甘薯糖蛋白溶液用0.5 mol/L盐酸或氢氧化钠溶液调pH值至1.5、2.5、3.5、4.5、5.8、6.5、7.5、8.5、9.5,室温下放置30 min,待中和后放在超纯水中透析24 h进行脱盐处理,真空浓缩后待用。

1.2.1.3 紫外光照射处理

取50 mL 2.0 g/100 mL的甘薯糖蛋白溶液放置于小烧杯中,置于距30 W紫外灯下0.5 m处分别照射6、12、24、48、96 h后待用。

1.2.1.4 微波处理

取50 mL 2.0 g/100 mL的甘薯糖蛋白溶液放置于小烧杯中,在900 W美的微波炉中分别微波(100%火力)处理10、20、40、60、80、100 s后待用。

1.2.2 加工处理对甘薯糖蛋白免疫调节作用的影响

免疫是指机体免疫系统对抗原物质的生理学应答过程,具有“识别”和“排除”抗原性异物、维持机体生理平衡的功能。免疫调节功能包括非特异性免疫、细胞免疫和体液免疫^[14-15],本实验分别对其相应指标^[16]:巨噬细胞吞噬功能、细胞吞噬功能和血清溶血素含量的变化进行研究。

1.2.2.1 小鼠碳粒廓清实验检测巨噬细胞吞噬功能

取20 只雌雄各半18~20 g的健康小白鼠,随机分成实验组和对照组,每组10 只。实验组每天灌胃80 mg/kg(以体质量计)处理后的甘薯糖蛋白样品,对照组给予等体积的生理盐水,持续10 d。末次灌胃30 min后,向各小鼠尾静脉注射0.05 mL/10 g体质量印度墨汁,分别在2 min(t_1)和7 min(t_2)时在小鼠眼眶后静脉丛取血0.25 mL。将血溶于2 mL 0.1 g/100 mL Na_2CO_3 溶液中,摇匀后在680 nm波长处测定吸光度(A),以空白 Na_2CO_3 溶液作对照。将小鼠颈椎脱臼处死,称取肝脏、脾脏质量,计算吞噬指数(k)^[17-18]。

$$k = \frac{\lg A_1 - \lg A_2}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

式中： A_1 、 A_2 分别为在时间 t_1 、 t_2 时所取血样的吸光度。

1.2.2.2 酸性 α -醋酸萘酯酶（acid α -naphthyl acetate esterase, ANAE）染色法测定细胞吞噬功能

取20只雌雄各半18~20 g的健康小白鼠，随机分成实验组和对照组，每组10只。实验组每天灌胃80 mg/kg（以体质量计，下同）处理后的甘薯糖蛋白样品，对照组给予等体积的生理盐水，持续10 d。第10天灌胃后，心脏取血，并用Hank's溶液稀释2倍备用。向试管中加入4 mL聚蔗糖-泛影葡胺分层液，并用毛细管吸取稀释后的血液缓慢加到分层液上，使血液与分层液体积比为2:1。2 000 r/min离心30 min后，用毛细管轻轻插到单个核细胞层，吸出界面层细胞，并移入试管中，与5倍体积的Hank's溶液混匀，1 500 r/min离心15 min，弃上清液。将沉淀细胞同法重复洗涤2次后，加入少量的Hank's溶液，吸取一滴于载玻片上。向标本片上滴加体积分数2.5%戊二醛溶液，混匀后4℃固定10 min。取出，自然干燥后流水冲洗3次。吹干后浸入反应液中，37℃孵育1 h，取出，流水冲洗，吹干后用复合对比染液复染10 min，流水冲洗，吹干后油镜下观察计数，计算ANAE阳性率^[19-20]。

实验用试剂配制：pH 7.2~7.6 Hank's溶液：A液：分别称取160 g NaCl、2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、8 g KCl、2 g $\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ，溶于800 mL超纯水中；另称取2.8 g CaCl_2 溶于100 mL超纯水中。混合两溶液，并用超纯水定容至1 000 mL。

B液：分别称取3.04 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、20.0 g葡萄糖、1.2 g KH_2PO_4 ，溶于800 mL超纯水中；另称取酚红0.4 g，逐滴加入约10 mL 0.1 mol/L NaOH使其完全溶解，用超纯水定容至100 mL，得0.4 g/100 mL酚红溶液。混合两溶液，并用超纯水定容至1 000 mL。

将A液、B液、超纯水按体积比1:1:18混合，121℃高压蒸汽灭菌15 min，临用前用无菌5.6 g/100 mL NaHCO_3 调pH值至7.2~7.6。

2.5%戊二醛溶液：取1 mL体积分数25%戊二醛溶液与9 mL 0.1 mol/L pH 7.4磷酸盐缓冲液混合即为固定液，置4℃冰箱保存备用。

副品红溶液：取副品红4 g溶于100 mL 2 mol/L盐酸中，置37℃水浴中溶解，过滤后置4℃冰箱避光保存备用。

六偶氮副品红溶液：取3 mL 4 g/100 mL亚硝酸钠，缓慢滴入3 mL副品红溶液，边滴边充分振荡1 min后备用，现用现配。

反应液：先后向89 mL 0.067 mol/L pH 7.6磷酸盐缓冲液中滴加6 mL六偶氮副品红液和2.5 mL α -醋酸萘酯乙二醇单甲醚，混匀。

复合对比染色：取3 mL 1 g/100 mL孔雀绿水溶液，6 mL 2 g/100 mL甲基绿水溶液，150 mL 0.2 mol/L醋酸盐缓冲液（pH 4.8），与150 mL纯水混匀后备用。

1.2.2.3 绵羊红细胞（sheep red blood cells, SRBC）免疫法测定血清溶血素含量

取20只雌雄各半18~20 g的健康小白鼠，随机分成实验组和对照组，每组10只。实验组每天腹腔注射80 mg/kg（以体质量计，下同）处理后的甘薯糖蛋白样品，对照组给予等体积的生理盐水。SRBC用生理盐水洗涤3次，每次洗涤后2 000 r/min离心5 min弃上清液。洗涤后加入体积比为3:5的生理盐水，使细胞浓度约为 2×10^8 个/mL。每只小鼠腹腔注射0.2 mL稀释后的SRBC悬浮进行免疫，4 d后眼眶取血。用生理盐水将血清稀释至500倍，吸取1 mL于反应管中，加入0.5 mL SRBC，冰浴，加入1 mL稀释后的豚鼠血清，立即37℃水浴10 min。之后放入冰浴中终止反应，2 000 r/min离心10 min，取1 mL上清液，加入3 mL都氏试剂（每1 000 mL纯水中含有1.0 g NaHCO_3 、0.05 g KCN、0.2 g高铁氰化钾），充分混匀后放置10 min，在540 nm波长处测定吸光度，对照组不加血清，按下式计算半数溶血值（ HC_{50} ）^[21]。

$$\text{HC}_{50} = \frac{\text{样品} A_{540 \text{ nm}}}{\text{SRBC半数溶血时} A_{540 \text{ nm}}} \times \text{稀释倍数} \quad (2)$$

式中：SRBC半数溶血时的吸光度测定：取0.25 mL稀释后的SRBC，加入4 mL都氏试剂，摇匀后放置10 min，离心取上清液，在540 nm波长处测定吸光度。

1.2.3 甘薯糖蛋白对大鼠胆固醇的影响

取雌雄各半的健康Wistar大鼠，饲喂基础饲料7 d后，随机分为高脂对照组和实验组，各组13只。每组每天下午灌胃脂肪乳剂10 mL/kg（以体质量计，下同）。实验组每天上午腹腔注射15 mg/kg处理后的甘薯糖蛋白样品，高脂对照组注射无菌纯水，连续30 d。实验结束时所有动物禁食12 h后，腹腔注射50 mg/kg戊巴比妥钠，麻醉后从颈总动脉取血，将全血于3 000 r/min离心5 min，然后取上层血清。酶联试剂盒测定血清总胆固醇（TC）含量，计算胆固醇下降率（ ΔTC ）^[22]。

$$\Delta \text{TC}/\% = \frac{\text{TC}_{\text{HL}} - \text{TC}_{\text{SPG}}}{\text{TC}_{\text{HL}}} \times 100 \quad (3)$$

式中： ΔTC 为胆固醇下降率/%； TC_{HL} 、 TC_{SPG} 分别为高脂对照组和实验组大鼠血清胆固醇值。

1.3 数据处理

采用SPSS 20.0统计软件进行 t 检验和方差分析, 检验的显著性水平设定为 $P<0.05$ (显著水平) 和 $P<0.01$ (极显著水平)。

2 结果与分析

2.1 加工处理对甘薯糖蛋白免疫调节作用的影响

2.1.1 热处理对甘薯糖蛋白免疫调节作用的影响

加工对温度的要求一般为100、121 °C或巴氏灭菌(60~70 °C), 故对处理温度为60、70、100、121 °C时甘薯糖蛋白的免疫调节作用影响进行研究, 结果见表1。

表1 热处理对甘薯糖蛋白SPG-1免疫调节作用的影响
Table 1 Effect of heat treatment on immunoregulation of SPG-1

热处理温度/°C	吞噬指数 (k)	溶血素含量 (HC_{50})	ANAE阳性率/%
对照组	0.140 2±0.007 6	456±32	65.3±5.7
60	0.130 4±0.010 2	372±41	63.1±6.4
70	0.138 9±0.011 4	345±38	49.1±5.8
100	0.101 1±0.009 5 ^b	277±36 ^b	34.3±5.6 ^b
121	0.051 5±0.008 9 ^a	152±30 ^a	22.9±5.7 ^a

注: a. 与对照组相比差异极显著 ($P<0.01$); b. 与对照组相比差异显著 ($P<0.05$)。下表同。

由表1可知, 与60 °C相比, 70 °C处理条件下吞噬指数(k)略有上升, 差异不显著($P>0.05$); 当温度达到100 °C时, k 值迅速从60 °C的0.130 4下降为0.101 1, 差异显著($P<0.05$); 在121 °C条件下, 吞噬指数达到最低值(0.051 5), 与60 °C相比下降幅度为63%, 差异极显著($P<0.01$)。热处理对甘薯糖蛋白的 HC_{50} 和ANAE阳性率的影响趋势是一致的, 随着温度的不断升高, HC_{50} 和ANAE阳性率均呈下降趋势。121 °C时 HC_{50} 和ANAE阳性率均达到最低, 与对照组差异极显著($P<0.01$)。这说明热处理温度对甘薯糖蛋白SPG-1的免疫调节作用影响较大, 当温度超过70 °C时, 其免疫作用明显下降, 其原因可能是高温破坏了糖蛋白的结构^[23]。因此在甘薯糖蛋白加工中, 应尽量避免70 °C以上的高温。

2.1.2 酸碱处理对甘薯糖蛋白SPG-1免疫调节作用的影响

表2 酸碱处理对甘薯糖蛋白SPG-1免疫调节作用的影响
Table 2 Effect of acid and alkali treatment on immunoregulation of SPG-1

pH	吞噬指数 (k)	溶血素含量 (HC_{50})	ANAE阳性率/%
对照组 (5.8)	0.143 9±0.010 3	458±36	64.2±5.4
1.5	0.020 7±0.007 8 ^b	191±26 ^c	20.5±3.2 ^c
2.5	0.037 9±0.009 2 ^a	225±29 ^a	27.0±3.9 ^a
3.5	0.118 6±0.008 6	329±30 ^b	41.3±4.1 ^b
4.5	0.124 1±0.010 3	408±36	53.0±4.3
5.8	0.144 8±0.010 5	455±31	63.8±4.0
6.5	0.131 0±0.009 7	391±28	55.3±3.8
7.5	0.127 6±0.009 4	382±34	51.8±4.2
8.5	0.084 8±0.008 5 ^c	313±29 ^b	49.3±4.1
9.5	0.060 7±0.008 1 ^a	210±28 ^a	36.8±3.9 ^b

由表2可知, 酸碱处理对甘薯糖蛋白的吞噬指数(k)、 HC_{50} 和ANAE阳性率的影响基本一致。在pH 3.5~7.5范围内, 3种指标均基本稳定, 但当pH<3.5或>7.5时, 3种指标随着pH值的增加或减少迅速下降, 与对照组差异显著或极显著($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。这说明甘薯糖蛋白SPG-1的免疫调节活性在pH 3.5~7.5范围内较高, 超过这个范围其免疫调节活性都有不同程度的降低, 甚至失活。这是因为甘薯糖蛋白的糖链和肽链在较强的酸性和碱性条件下都会发生不同程度的水解, 破坏其链间结构, 从而使其免疫活性降低^[24]。因此在加工过程中, 应当考虑适宜的pH值范围, 以确保其免疫活性。

2.1.3 紫外光照射和微波处理对甘薯糖蛋白SPG-1免疫调节作用的影响

表3 紫外光照射和微波处理对甘薯糖蛋白SPG-1免疫调节作用的影响
Table 3 Effect of ultraviolet light and microwave treatment on immunoregulation of SPG-1

紫外光处理时间/h	吞噬指数 (k)	微波处理时间/s	吞噬指数 (k)
对照组 (0)	0.142 7±0.009 8	对照组 (0)	0.143 2±0.010 9
6	0.139 6±0.010 6	10	0.139 8±0.009 7
12	0.139 0±0.011 0	20	0.132 9±0.010 5
24	0.140 6±0.009 5	40	0.124 8±0.010 1
48	0.139 2±0.009 4	60	0.101 6±0.009 8 ^b
96	0.138 8±0.010 4	80	0.078 4±0.009 2 ^a
		100	0.043 2±0.009 5 ^a

由表3可知, 紫外光照射对甘薯糖蛋白SPG-1的吞噬指数(k)影响较小, 各组差异不显著; 微波处理对其影响较大。随着微波处理时间的延长, k 值不断下降, 照射60 s时已显著低于对照组($P<0.05$), 照射80 s时差异即达到极显著性水平($P<0.01$)。这些结果说明紫外光照射对甘薯糖蛋白的免疫调节作用影响较小, 而微波处理影响较大。

2.2 加工处理对甘薯糖蛋白降胆固醇作用的影响

2.2.1 热处理对甘薯糖蛋白降胆固醇作用的影响

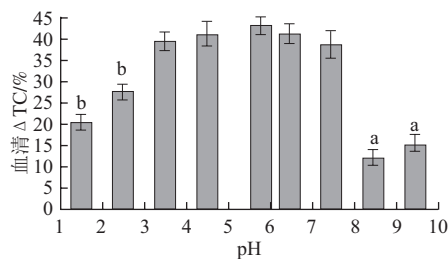
表4 热处理对甘薯糖蛋白降胆固醇作用(ΔTC)的影响
Table 4 Effect of heat treatment on cholesterol-lowering activity (ΔTC) of SPG-1

热处理时间/min	热处理温度/°C			
	60	70	100	121
对照组 (0)	50.9±4.3	50.9±4.3	50.9±4.3	50.9±4.3
5	52.8±4.7	48.2±4.5	31.5±4.2 ^a	14.8±1.5 ^a
10	52.2±4.2	49.8±4.7	27.4±3.4 ^a	10.9±1.5 ^a
15	52.0±5.0	48.2±4.2	25.9±3.0 ^a	7.4±1.0 ^a
20	52.8±4.6	49.8±5.0	22.3±2.7 ^a	5.6±0.9 ^a
25	53.7±5.1	49.6±4.8	24.4±2.5 ^a	6.1±0.9 ^a
30	49.1±5.0	45.7±4.9	20.4±2.8 ^a	3.7±1.0 ^a

由表4可知, 随着热处理温度的提高, 甘薯糖蛋白SPG-1降血清胆固醇作用明显下降。在60 °C条件下, 甘薯糖蛋白降血清胆固醇作用最强, 且不同处理时间下差异不

显著 ($P>0.05$)；70℃时，血清胆固醇下降率 (ΔTC) 略有减少，但与对照组相比差异不明显 ($P>0.05$)；当温度达到100℃时， ΔTC 迅速减少，如当处理5 min时，与对照组相比差异极显著 ($P<0.01$)，且随处理时间的延长 ΔTC 不断减少；在121℃时， ΔTC 达到最低值，此时几乎完全丧失降胆固醇功能。因此温度对甘薯糖蛋白的降血清胆固醇活性影响较大，在70℃以内，活性较大且较为稳定；当温度超过70℃时，活性迅速降低。

2.2.2 酸碱处理对甘薯糖蛋白SPG-1降胆固醇作用的影响



a. 与对照组 (自然pH值组, pH 5.8) 相比差异极显著 ($P<0.01$)；b. 与对照组相比差异显著 ($P<0.05$)。

图1 酸碱处理对甘薯糖蛋白SPG-1降胆固醇作用 (ΔTC) 的影响
Fig.1 Effect of acid and alkali treatment on cholesterol lowering activity (ΔTC) of SPG-1

由图1可知，甘薯糖蛋白SPG-1在其水溶液自然pH值 (5.8) 时，降胆固醇功能最好。在pH 3.5~7.5范围内，甘薯糖蛋白SPG-1的降胆固醇功能较好，且各组与自然pH值组相比差异不显著 ($P>0.05$)。当pH<3.5时，其降胆固醇活性显著性 ($P<0.05$) 降低。而pH>7.5时，甘薯糖蛋白的降胆固醇活性与对照组相比极显著性 ($P<0.01$) 降低，这可能是甘薯糖蛋白在碱性溶液中容易发生异构化、烯醇化和分解等反应^[25]，破坏了甘薯糖蛋白分子的完整性，从而使其降胆固醇活性降低。因此对甘薯糖蛋白进行加工时，应考虑在适宜的pH值范围内进行，以保持其活性。

2.2.3 紫外光照射和微波处理对甘薯糖蛋白SPG-1降胆固醇作用的影响

表5 紫外光照射和微波处理对甘薯糖蛋白SPG-1降胆固醇作用 (ΔTC) 的影响

Table 5 Effect of ultraviolet light and microwave treatment on cholesterol lowering activity (ΔTC) of SPG-1

紫外光处理时间/h	血清 ΔTC / %	微波处理时间/s	血清 ΔTC / %
对照组 (0)	45.9±4.4	对照组 (0)	45.9±4.4
6	42.7±3.2	20	42.6±5.6
12	47.1±4.1	40	40.1±4.8
24	41.9±3.8	60	32.6±5.1 ^b
48	42.6±3.7	80	25.0±4.9 ^d
96	38.5±4.0	100	13.8±4.6 ^d

由表5可知，紫外光照射对甘薯糖蛋白SPG-1的血清胆固醇下降率 (ΔTC) 影响较小，不同照射时间下 ΔTC 变化不显著 ($P>0.05$)。但微波处理对 ΔTC 影响较大，随着处理时间的延长， ΔTC 明显降低，照射60 s以上时，与对照组比较即有显著性或极显著性差异 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。这说明与免疫调节作用相似，紫外光照射对甘薯糖蛋白SPG-1的降胆固醇作用影响较小，而微波处理影响较大。

3 结论

当热处理温度超过70℃，pH<3.5和>7.5的酸碱处理以及微波处理，对甘薯糖蛋白的免疫调节作用影响较大，而在热处理温度低于70℃，酸碱范围pH 3.5~7.5和紫外光照射条件下甘薯糖蛋白的免疫调节作用较稳定。热处理、酸碱处理、紫外光照射和微波处理对甘薯糖蛋白SPG-1的降胆固醇作用的影响与其对免疫调节作用的影响结果一致。在甘薯糖蛋白SPG-1加工处理过程中应尽量避免70℃以上的高温，选择合适的酸碱度范围 (pH 3.5~7.5)，避免较长时间的微波处理。

参考文献:

- [1] BARNES S L, SANDERS S A. Advances in functional use of sweet potato, [*Ipomoea batatas* (L.) Lam][J]. Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture, 2012, 4(2): 148-154.
- [2] GEYER H, GEYER R. Strategies for analysis of glycoprotein glycosylation[J]. Biochimica et Biophysica Acta: Proteins and Proteomics, 2006, 1764(12): 1853-1869.
- [3] 龚魁杰. 甘薯糖蛋白研究进展[J]. 食品科学, 2007, 28(6): 359-362.
- [4] 怡谷章夫, 上野川修一. 食品由采の免疫賦活物質[J]. バイオサニケストリ, 1993, 51(9): 30-33.
- [5] 赵梅, 唐文婷, 于春娣. 甘薯糖蛋白的分离纯化及其性质研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(7): 49-51.
- [6] 李亚娜. 甘薯糖蛋白降血脂功能的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2001: 14-21.
- [7] 师超, 何雅蕾, 卞科. 黄肉甘薯糖蛋白提取工艺的研究[J]. 安徽农学通报, 2013, 19(19): 119-121.
- [8] 阙建全. 甘薯糖蛋白的糖链结构与保健功能研究[D]. 重庆: 西南大学, 2003: 87-174.
- [9] 孟宪军, 包红娜, 梁婧婧. 甘薯糖蛋白的氨基酸组成分析[J]. 食品工业科技, 2009, 30(8): 303-305.
- [10] KUSANO S, ABE H, TAMURA H. Isolation of antidiabetic components from white-skinned sweet potato (*Ipomoea batatas* L.)[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2001, 65(1): 109-114.
- [11] 梁婧婧, 苏锡辉, 史铁嘉, 等. 甘薯糖蛋白对高血脂大鼠体重及脏器指数的影响[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(3): 9-11.
- [12] TSAI Shunjen, LIN Jinyuan. Purification and characterization of desmutagenic components extracted from sweet potato leaves[J]. Food Science and Agricultural Chemistry, 2001, 13(4): 132-138.
- [13] MA Chunhui, YANG Lei, YANG Fengjian, et al. Content and color stability of anthocyanins isolated from *Schisandra chinensis* fruit[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(11): 14294-14310.

- [14] PROVENZA F D, VILLALBA J J. The role of natural plant products in modulating the immune system: an adaptable approach for combating disease in grazing animals[J]. Small Ruminant Research, 2010, 89(2/3): 131-139.
- [15] ZIEMSEN T, ZIEMSEN F. The role of the humoral immune system in multiple sclerosis (MS) and its animal model experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)[J]. Autoimmunity Reviews, 2005, 4(7): 460-467.
- [16] BOUME N, BRAVO F J, BEMSTEIN D I. Cyclic HPMPC is safe and effective against systemic guinea pig cytomegalovirus infection in immune compromised animals[J]. Antiviral Research, 2000, 47(2): 103-109.
- [17] GUPTA A, GAUTAM M K, SINGH R K, et al. Immunomodulatory effect of *Moringa oleifera* Lam extract on cyclophosphamide induced toxicity in mice[J]. Indian Journal of Experimental Biology, 2010, 48(11): 1157-1160.
- [18] 姚肖华. 桑葚多糖对妊娠小鼠免疫功能的影响[J]. 营养学报, 2013, 35(5): 492-495.
- [19] 姜世勃. 改进的T淋巴细胞ANAE染色的复合对比染色法[J]. 中华医学检验杂志, 1983, 6(4): 234-237.
- [20] VARKI A. Biological roles of oligosaccharides: all theories are correct[J]. Glycobiology, 1993, 3(2): 97-130.
- [21] 徐学璞, 李元. 一个改进的体液免疫测定方法: 溶血素测定法[J]. 药理学报, 1979, 14(7): 443-445.
- [22] LIU Xiong, OGAWA H, KISHIDA T, et al. The effect of high-amylose cornstarch on lipid metabolism in OVX rats is affected by fructose feeding[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2010, 21(2): 89-97.
- [23] FARACH-CARSON M C, CARSON D D. Extraction and isolation of glycoproteins and proteoglycans[J]. Biotechniques, 1989, 7(5): 482-493.
- [24] MAKINO Y, KURAYA N, OMICHI K, et al. Classification of sugar chains of glycoproteins by analyzing reducing end oligosaccharides obtained by partial acid hydrolysis[J]. Analytical Biochemistry, 1996, 238(1): 54-59.
- [25] 吴东儒. 糖类的生物化学[M]. 上海: 高等教育出版社, 1987: 307.