

产品质量检验报告

《AGI果椒 α -葡萄糖苷酶抑制活性检测》



国药集团健康产业研究院有限公司

2017 年 9 月 17 日

实验题目：AGI果椒 α -葡萄糖苷酶抑制活性检测

委托机构：养生之家生物科技有限公司

受托机构：国药集团健康产业研究院有限公司

研究责任人：胡海峰（总经理）

分析测试：田勋

实验目的：本实验在 α -葡萄糖苷酶抑制活性检测方法下，测定果椒的 α -葡萄糖苷酶抑制活性，并比较其与阿卡波糖的对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 抑制浓度。

实验材料及方法:

1. 样品处理

将委托机构提供的AGI果椒和市售普通辣椒(图1)洗净,摘蒂并擦拭残留水分。两份100g样本中添加10ml蒸馏水,并利用粉碎机将其进行粉碎后通过消毒纱布提取其汁液。随后在500g样本中进行离心过滤去除沉淀物,仅提取上层液体作为100%样本,1mL代表1g样品,以去离子水稀释不同浓度,作为测定对 α -葡萄糖苷酶抑制活性的样品。



图1 辣椒受试样品

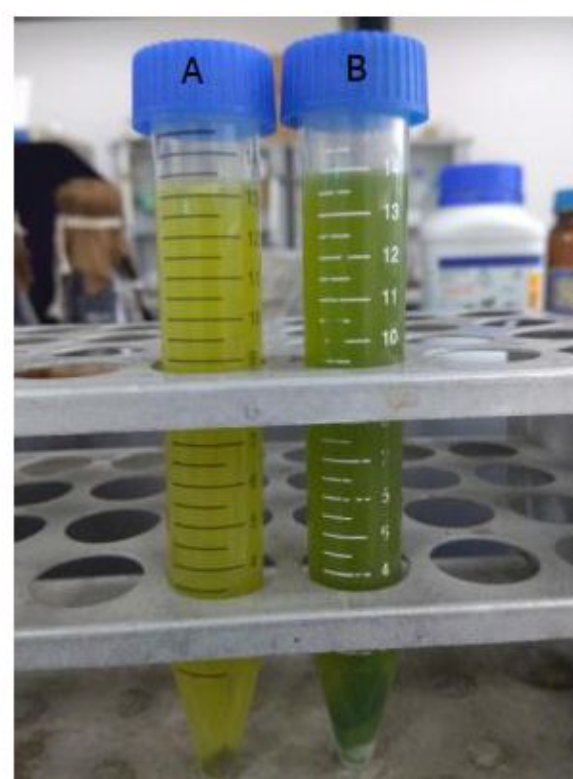


图2 辣椒样品100%汁液过滤离心样品

A: 委托机构提供AGI果椒; B: 市售普通辣椒

2. 试剂及配制

试剂: 对-硝基苯酚- α -D-吡喃葡萄糖苷 (p-Nitrophenyl- α -D-Glucopyranosid pNPG), sigma 公司; α -葡萄糖苷酶 (alpha-glucosidase), 纯度 ≥ 10 U/mg, sigma 公司; 阿卡波糖, 拜耳医药保健有限公司; 其他试剂均为分析纯, 国药试剂。

试剂配制: 0.1mol/L 磷酸盐缓冲液 (PB 溶液): pH=7, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ (71.64g/L): $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (31.21g/L)=6: 4。2.67mM 底物 (pNPG, 301g/mol): 0.8g/L, 20mg pNPG 溶于 25mL PB 缓冲液中。 α -葡萄糖苷酶: 0.17U/mL: 规格 20U/mg, 称取 0.5mg 的 α -葡萄糖苷酶溶于 60mL PB 溶液中。终止液(0.1mol/L 碳酸钠); 阳性药(阿卡波糖): 5mg/mL,

5mg 溶于 1mL 水中。

3. 测定方法

α-葡萄糖苷酶抑制率测定与步骤如下

$$\alpha - \text{葡萄糖苷酶抑制率}(\%) = \frac{(A - B) - (C - D)}{A - B} \times 100\%$$

表 1 α-葡萄糖苷酶抑制活性测定实验步骤

	对照组·A	对照空白组 B	样品组 C	样品空白组 D
受试物（uL）	500 PB	500 PB	500	500
α-葡萄糖苷酶（uL）	300	300 PB	300	300 PB
		混匀		
pNPG 底物（uL）	400	400	400	400
		混匀，水浴加热 37℃，20min		
终止液（uL）	800	800	800	800
总反应体积（uL）	2000	2000	2000	2000
		406nm 测定吸光值		

4. 统计分析

采用 SPSS 17.0 统计软件统计分析，结果以 mean±SEM 表示。使用 IC₅₀ 表示受试物对 α-葡萄糖苷酶的抑制情况，对使用 ANOVA 进行多组均数间统计学检验，两两比较采用 LSD 法。单位间 α-葡萄糖苷酶活性中若存在重要性差异，则用不同的英文字母(a-c)表示。P<0.05 为差异有统计学意义。

结果

α-葡萄糖苷酶活性抑制效果测试表明结果如图3、表2。各AGI果椒A(100-1000ug/mL)具有5.5-34%的α-葡萄糖苷酶抑制效果(p<0.05)，而参与测试的阿卡波糖在相同条件下其α-葡萄糖苷酶抑制活性较强，同时参与测试的一般辣椒B并不具有明显的α-葡萄糖苷酶抑制活性。对不同辣椒的α-葡萄糖苷酶活性抑制效果分析(图2)结果显示，不同浓度AGI果椒A的α-葡萄糖苷酶抑制活性差异性显著(p<0.05)。以1000ug/mL样本的辣椒A的抑制效果(约34%)较100ug/mL样品的抑制效果(约5.5%)极为显著(p<0.05)。对样本中的α-葡萄糖苷酶抑制活性效果进行计算IC₅₀，结果显示(表2)，两批次阿卡波糖的α-葡萄糖苷酶的IC₅₀无显著差异，说明本批次与之前批次检测结果相吻合，其中根据辣椒的α-葡萄糖苷酶的IC₅₀计算，其IC₅₀为2281ug/mL，说明 AGI果椒A对α-葡萄糖苷酶有抑制作用，但作用效果远低于阿卡波糖(p<0.05)，一般辣椒B不具备α-葡萄糖苷酶抑制活性。

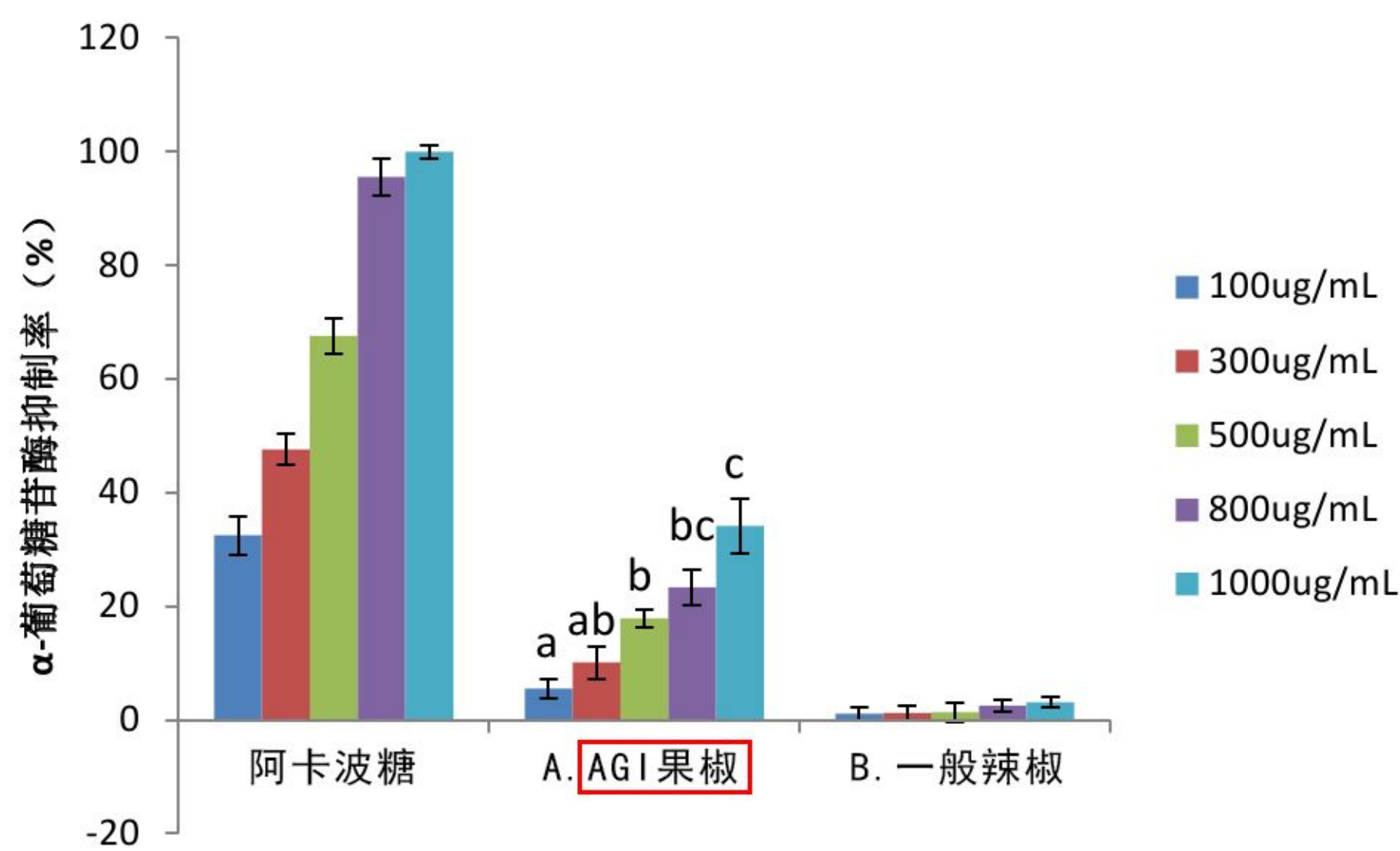


图 3 不同浓度辣椒和阿卡波糖对 α-葡萄糖苷酶的抑制效果

表 2 辣椒和阿卡波糖对 α-葡萄糖苷酶的 IC₅₀ 抑制浓度

	阿卡波糖	阿卡波糖	A 辣椒	B 辣椒
	(之前实验结果)			
IC ₅₀ 浓度(ug/mL)	325±11	334±16	2281±152**	-

**，差异性极显著