

网红抗糖食品阻糖有效性检测方法的研究

何柳¹, 林铿¹, 谢一丹¹, 林梦芝¹, 林芝¹, 武贞¹, 王国军^{1,2*}

¹台州方圆质检有限公司, 浙江 台州

²台州市产品质量安全检测研究院, 浙江 台州

收稿日期: 2021年10月13日; 录用日期: 2021年11月16日; 发布日期: 2021年11月23日

摘要

目的: 本文对网络销售的网红抗糖、阻糖食品进行检测, 优化检测方法, 以为食品监管及规范网络市场提供技术支撑。方法: 采用碘比色法、Bernfeld法等方法对网络销售的25种配料表中均标注添加白芸豆水解蛋白的网红抗糖、阻糖食品进行检测, 优化检测方法。结果: 通过对 α -淀粉酶浓度的梯度筛选, 确定当 α -淀粉酶浓度为0.10 mg/mL时, 碘比色法和Bernfeld法既能区分不同阻糖食品的抑制效果, 又能让方法选择对测试结果的影响减至最小。结论: 在 α -淀粉酶浓度较低时, Bernfeld法能更灵敏的区分阻糖食品的抑制效果。当在 α -淀粉酶浓度较高或有复合阻糖成分时, 碘比色法能较好区分阻糖食品的抑制效果。同时, 本文用PCR法未在7种无抑制效果但宣称能抗糖的食品中检出芸豆成分, 网售抗糖食品存在一定的虚假宣传, 为食品监管及规范网络市场提供一定的技术支撑。

关键词

抗糖食品, 抑制剂, 白芸豆, α -淀粉酶, Bernfeld法

Research on the Detection Method of the Effectiveness of Carb-Control Foods

Liu He¹, Keng Lin¹, Yidan Xie¹, Mengzhi Lin¹, Zhi Lin¹, Zhen Wu¹, Guojun Wang^{1,2*}

¹Taizhou Fangyuan Test Co., Ltd., Taizhou Zhejiang

²Taizhou Institute of Product Quality and Safety Inspection, Taizhou Zhejiang

Received: Oct. 13th, 2021; accepted: Nov. 16th, 2021; published: Nov. 23rd, 2021

Abstract

This article uses iodine colorimetry, Bernfeld method and other methods to test the net red anti-sugar and carb-control foods with white kidney bean hydrolyzed protein added in the 25 ingre-

dent lists sold online, and it is found that there is a certain amount of false propaganda in online anti-sugar foods. Through the gradient screening of the concentration of α -amylase, it is determined that when the concentration of α -amylase is 0.10 mg/mL, the iodine colorimetric method and the Bernfeld method can distinguish the inhibitory effects of different samples from sugar-resistant foods. At the same time, the kidney bean component was not detected by PCR in 7 samples, which claimed to have inhibitory effect. There was some false publicity in the online sale of sugar resistant foods, which provided some technical support for food supervision and regulating the online market.

Keywords

Carb-Control Food, Inhibitory, Kidney Bean, α -Amylase, Bernfeld Method

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

目前, 肥胖成为困扰人类的一大难题。中国人的饮食习惯, 容易淀粉摄入过多增加肥胖风险, 而淀粉酶抑制剂在控制人体血糖及淀粉类食物的消化性吸收方面应用广泛[1] [2] [3]。特别是白芸豆的 α -淀粉酶抑制剂在餐前服用相应剂量可产生一定的减肥功效已经得到临床研究的证实[1] [2] [3]。因此, “白芸豆阻糖” 变成“网红药”, 被添加至网络销售的食物中。但是, 日常检验过程中, 这些网红阻糖食品, 通常产品类型均为紧实型压片糖果。一些减肥类、降血脂类和润肠通便类食品在功能宣称可以“抗糖”, 但与产品原料功能不符。网售阻糖食品作为一种新生事物, 监管体系不健全, 也未建立对其阻糖有效性的检测方法。针对网红抗糖食品阻糖有效性分析检测方法的缺失和标准落后的情况, 本文初步研究能测试阻糖食品有效性的检测方法。并采用该方法对网络销售的 25 种配料表中有标注添加白芸豆水解蛋白的网红抗糖、阻糖食品进行检测, 以期为食品监管及规范网络市场提供技术支持。

2. 材料与方法

2.1. 材料与仪器

磷酸二氢钾(临安青山化工试剂厂、99.5%); 可溶性淀粉(麦克林、AR99.0%); 碘(中国湖州化学试剂厂、99.8%); 碘化钾(麦克林、99.0%); 芸豆 α -淀粉酶抑制剂(云南天保桦生物资源开发有限公司); Tris 饱和酚(上海源叶生物科技有限公司、PH > 7.8);

国药集团化学试剂有限公司: 三氯甲烷($\geq 99.0\%$); 冰乙酸($\geq 99.8\%$); 无水乙醇($\geq 99.7\%$); 异戊醇($\geq 98.5\%$); 异丙醇($\geq 99.7\%$); 氢氧化钠(97.0%~100.5%); 盐酸(36.0%~38.0%); 三水乙酸钠($\geq 99.0\%$); 琼脂糖(电泳纯); 三-(羟甲基)氨基甲烷(99.8%~100.2%); 二水乙二胺四乙酸二钠盐($\geq 99.0\%$); 氯化镁(98.0%); 乙醇(99.7%);

上海麦克林生化科技有限公司: 可溶性淀粉(99.0%); 无水亚硫酸钠(98.0%); 酒石酸钾钠(99.5%);

上海阿拉丁生化科技股份有限公司: 蔗糖(99.0%); 3,5-二硝基水杨酸(99.0%); 苯酚(99.0%); 阿尔法淀粉酶(阿拉丁、BR)。

双光束紫外可见分光光度计(岛津仪器有限公司、UV-2700i);

ABI 荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Fishe、rViiA7)。

2.2. 实验方法

2.2.1. 试样制备

将芸豆 α -淀粉酶抑制剂和网购的 25 种配料表中有标注添加白芸豆水解蛋白的网红抗糖、阻糖食品标号为 2~26 样品, 纯芸豆 α -淀粉酶抑制剂样品标为 1 号。适量称取每种样品, 碾碎制粉, 准确称取试样粉末 1 g (精确至 0.0001 g) 溶于去离子水中, 并定容至 100 mL 制成待测液。

2.2.2. 碘比色法测定抗糖食品对 α -淀粉酶活力的抑制效果

分别移取 0.05 mL、0.25 mL、0.5 mL、0.75 mL、1.00 mL 浓度为 1.00 mg/mL 用磷酸盐缓冲液(pH 6.0)配制的 α -淀粉酶溶液, 加入 0.25 mL 试样, 37°C 反应 30 min。加入 1% 可溶性淀粉溶液 1 mL, 37°C 恒温反应 15 min 后加碘显色, 上述比色原液加水至 5.00 mL, 摇匀, 于 660 nm 处测定吸光度值。空白管不加样品和淀粉酶, 对照管不加样品。根据吸光度的差异计算样品的相对抑制效果, 两次平行试验相对偏差小于 3.0%, 取算术平均值为分析结果[4]。

2.2.3. Bernfeld 法测定抗糖食品对 α -淀粉酶活力的抑制效果

分别移取 0.05 mL、0.25 mL、0.5 mL、0.75 mL、1.0 mL 浓度为 1mg/mL 用磷酸盐缓冲液(pH 6.0)配制的 α -淀粉酶储备液, 加入 100 μ L 浓度为 10.0 g/L 的可溶性淀粉, 37°C 反应 5 min。反应完成后加入 500 μ L 3,5-二硝基水杨酸(DNS), 加入 0.25 mL 试样, 沸水浴 10 min, 取出反应液冷却 15 min, 上述比色原液加水至 5 mL, 摇匀, 在 546 nm 处测定吸光度值。空白管不加样品和淀粉酶, 对照管不加样品。根据吸光度的差异计算样品的相对抑制效果, 两次平行试验相对偏差小于 3.0%, 取算术平均值为分析结果。

2.2.4. PCR 法测定抗糖食品中芸豆成分

参考 GB/T 23814-2009 莲蓉制品中芸豆成分定性 PCR 检测方法[5], 对上述试验中抑制比为“0”的 6 号、7 号、10 号、14 号、17 号、19 号、25 号等共计 7 个抗糖样品进行芸豆成分检测。

3. 实验结果

3.1. 碘比色法测定抗糖食品对 α -淀粉酶活力的抑制效果

由表 1 可以看出, 1 号芸豆 α -淀粉酶抑制剂随着 α -淀粉酶浓度的增加抑制效果减弱[6], 18 种有抑制效果的阻糖食品也有相同趋势, 这与抑制剂吸附的抑制原理相一致[7]。碘比色法测定抗糖食品对 α -淀粉酶活力的抑制效果, 在 α -淀粉酶浓度 0.10 mg/mL 至 0.20 mg/mL 时, 已经能较好区分阻糖食品的抑制效果, 但在 α -淀粉酶浓度 0.01 mg/mL 至 0.05 mg/mL 时, 无法区分阻糖食品的抑制效果。

Table 1. Determination of 25 kinds of anti sugar foods by iodine colorimetry α -Inhibitory effect of amylase activity
表 1. 碘比色法测定 25 种抗糖食品对 α -淀粉酶活力的抑制效果

酶浓度(mg/L) 抑制比(%) 编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
0.01	100	100	100	100	99	0	0	100	100	0	98	99	100
0.05	100	96	98	99	98	0	0	95	94	0	98	97	99
0.10	100	85	78	86	88	0	0	78	72	0	70	55	75
0.15	96	55	65	78	70	0	0	68	59	0	50	42	55
0.20	88	34	44	65	56	0	0	59	50	0	33	19	41

Continued

酶浓度(mg/L) 抑制比(%) 编号	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
0.01	0	94	95	0	100	0	100	98	100	99	100	0	100
0.05	0	92	94	0	100	0	99	97	98	99	96	0	100
0.10	0	75	66	0	100	0	87	70	90	62	70	0	89
0.15	0	55	45	0	90	0	75	54	81	51	53	0	79
0.20	0	32	23	0	88	0	59	41	69	42	34	0	63

3.2. Bernfeld 法测定抗糖食品对 α -淀粉酶活力的抑制效果

由表 2 可以看出, 1 号芸豆 α -淀粉酶抑制剂随着 α -淀粉酶浓度的增加抑制效果减弱[6], 13 种有抑制效果的阻糖食品也有相同趋势, 5 种阻糖食品在 α -淀粉酶浓度 0.15 mg/mL 至 0.20 mg/mL 时, 随着 α -淀粉酶浓度的增加抑制效果增强, 这 5 种阻糖食品的配料表中均添加其他功能性成分[8]。Bernfeld 法测定抗糖食品对 α -淀粉酶活力的抑制效果, 在 α -淀粉酶浓度 0.01 mg/mL 至 0.10 mg/mL 时, 已经能更好区分阻糖食品的抑制效果, 但当 α -淀粉酶浓度达到 0.15 mg/mL 至 0.20 mg/mL 时, 无法区分阻糖食品的抑制效果。

Table 2. Determination of 25 kinds of anti sugar foods by Bernfeld α -inhibitory effect of amylase activity

表 2. Bernfeld 法测定 25 种抗糖食品对 α -淀粉酶活力的抑制效果

酶浓度(mg/L) 抑制比(%) 编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
0.01	100	98	96	93	99	0	0	99	99	0	98	90	100
0.05	98	96	89	90	91	0	0	95	90	0	90	89	90
0.10	95	85	70	85	83	0	0	80	68	0	79	55	75
0.15	90	55	65	80	76	0	0	72	61	0	69	40	53
0.20	65	58	58	63	61	0	0	68	58	0	59	49	41

酶浓度(mg/L) 抑制比(%) 编号	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
0.01	0	94	95	0	100	0	100	92	99	99	100	0	99
0.05	0	90	90	0	99	0	94	86	98	99	91	0	94
0.10	0	75	66	0	92	0	84	70	90	62	70	0	89
0.15	0	55	45	0	90	0	76	54	81	51	53	0	81
0.20	0	49	53	0	44	0	59	41	59	62	65	0	63

3.3. PCR 法测定抗糖食品中芸豆成分

上述表格中抑制比为“0”的7种抗糖食品中,均未检出芸豆成分。

4. 结果与讨论

4.1. 两种检测方法的比较

碘比色法测定抗糖食品对 α -淀粉酶活力的抑制效果,在 α -淀粉酶浓度0.10 mg/mL至0.20 mg/mL时,能较好区分阻糖食品的抑制效果[9] [10]。在18种阻糖食品中,对浓度0.20 mg/mL抑制比达到50%及以上的有8种。这8种阻糖食品配料表中,有的标注白芸豆提取物含量在25%以上,有的添加酒糟发酵精华、匙羹藤精华、藤黄果精华、绿咖啡提取物、软猕猴桃提取物、膳食纤维、针叶樱桃果粉、菊粉等抑制糖分的添加剂[11] [12] [13] [14]。

Bernfeld 法测定抗糖食品对 α -淀粉酶活力的抑制效果,在 α -淀粉酶浓度0.01 mg/mL至0.10 mg/mL时,能更灵敏的区分阻糖食品的抑制效果,但当 α -淀粉酶浓度达到0.15 mg/mL至0.20 mg/mL时,无法区分阻糖食品的抑制效果,特别是无法区分复合抗糖食品的抑制效果[15]。

由图1可以看出,当 α -淀粉酶浓度为0.10 mg/mL时,碘比色法和 Bernfeld 法既能区分不同试样的区分阻糖食品的抑制效果,又能让方法选择对测试结果的影响减至最小。人体肠道、胃和血清中的总淀粉酶含量在 $8.3 \times 10^2 \sim 6.3 \times 10^4$ C/g 之间[10] [16] [17] [18],食物中的淀粉酶含量在0.1~50 μ g/mL 之间[19] [20],均包含在试验中 α -淀粉酶最佳检测浓度。

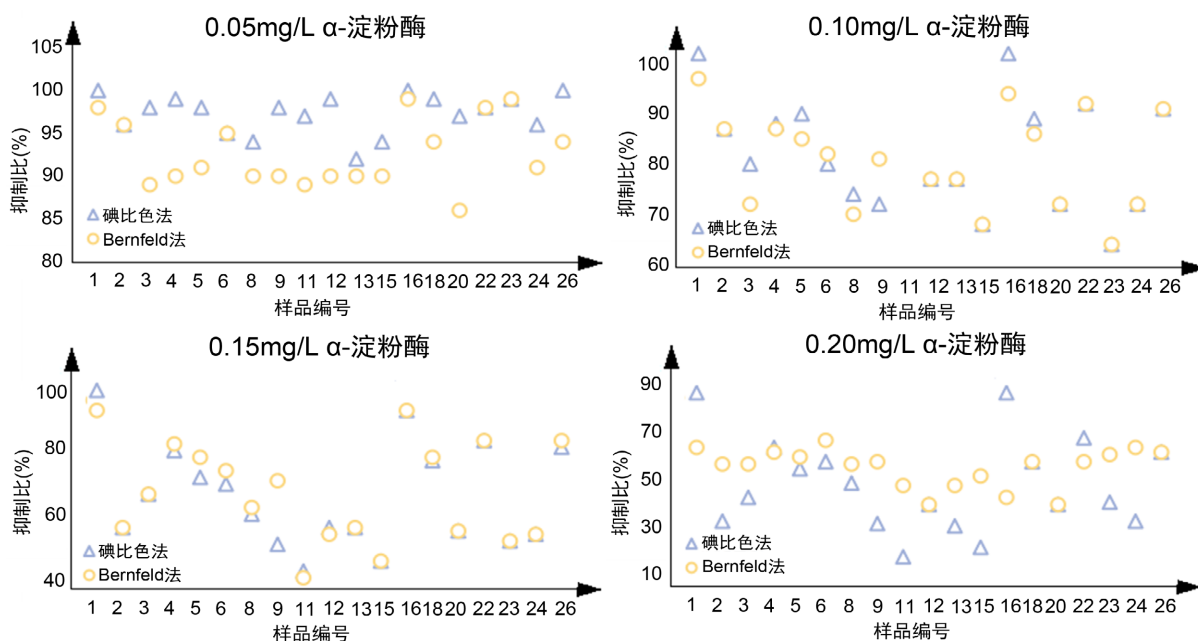


Figure 1. Two test methods for different concentrations α -Comparison of inhibitory effects of amylase activity

图1. 两种测试方法对不同浓度 α -淀粉酶活力的抑制效果影响的比较

4.2. 结论

本文采用碘比色法和 Bernfeld 法对网络销售的25种配料表中均标注添加白芸豆水解蛋白的网红抗糖、阻糖食品进行检测。通过对 α -淀粉酶浓度的梯度筛选,确定当 α -淀粉酶浓度为0.10 mg/mL时,碘比色法和 Bernfeld 法既能区分不同试样的区分阻糖食品的抑制效果,又能让方法选择对测试结果的影响减

至最小。在 α -淀粉酶浓度较低时, Bernfeld 法能更灵敏的区分阻糖食品的抑制效果。当在 α -淀粉酶浓度较高或有复合阻糖成分时, 碘比色法能较好区分阻糖食品的抑制效果。同时, 本文用 PCR 法未在 7 种无抑制效果但宣称能抗糖的食品中检出芸豆成分, 网售抗糖食品存在一定的虚假宣传。

参考文献

- [1] 刘文芝, 郭德军, 衣海龙. 粘玉米中 α -淀粉酶抑制剂的分离纯化及性质研究[J]. 食品工业科技, 2009, 30(6): 116-119.
- [2] 魏鹏娟, 王鲁峰, 徐晓云, 潘思轶. α -淀粉酶蛋白类抑制剂的研究进展[J]. 食品科学, 2011, 32(9): 312-318.
- [3] Kataoka, K. and Dimagno, E.P. (1999) Effect of Prolonged Intraluminal α -Amylase Inhibition on Eating, Weight, and the Small Intestine of Rats. *Nutrition*, **15**, 123-129. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(98\)00170-1](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(98)00170-1)
- [4] Pereira, P.J.B., Lozanov, V., Patthy, A., Huber, R., Bode, W., Pongor, S., et al. (1999) Specific Inhibition of Insect α -Amylases: Yellow Meal Worm α -Amylase in Complex with the *Amaranth* α -Amylase Inhibitor at 2.0 Å Resolution. *Structure*, **7**, 1079-1088. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(99\)80175-0](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(99)80175-0)
- [5] 蔡依军, 覃芳芳, 罗海英, 邓鸿铃, 郭新东, 吴玉玺, 蓝芳. GB/T 23814-2009 莲蓉制品中芸豆成分定性 PCR 检测方法[S]. 2009.
- [6] 贾光锋. α -淀粉酶抑制剂的制备及检测[J]. 食品与药品, 2007, 9(2): 34-36.
- [7] Gebriel, A.Y., Amin, A.A., Madkour, M.F., El Raima, H.A. and Mahmoud, K.F. (2007) Biological Evaluation of the Purified α -Amylase Inhibitor from Kidney Bean (Giza 133). *Egyptian Journal of Food Science*, **35**, 115-121.
- [8] Berre-Anton, V.L., Bompard-Gilles, C., Payan, F. and Rougé, P. (1997) Characterization and Functional Properties of the Alpha-Amylase Inhibitor (Alpha-AI) from Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris*) Seeds. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, **1343**, 31-40. [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(97\)00100-3](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(97)00100-3)
- [9] 王敏. 环糊精与 α -淀粉酶相互作用的研究[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 武汉轻工大学, 2019
- [10] 让一峰, 赵伟, 杨瑞金, 吴梨, 孟丹阳. 白芸豆 α -淀粉酶抑制剂在加工和消化过程中的活性变化研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(17): 53-57.
- [11] 迟永楠, 孙艳, 钟毓, 等. 白芸豆中 α -淀粉酶抑制剂的提取及其性能研究[J]. 食品科技, 2017, 42(12): 225-230.
- [12] 程敏, 田童童, 李甜, 朱新荣, 张建. 白芸豆中 α -淀粉酶抑制剂的提取工艺研究[J]. 中国酿造, 2015, 34(6): 89-93.
- [13] 张雪苍, 薛红梅. 白芸豆-马齿苋餐前控糖片的工艺研究及控糖效果评价[J]. 食品科技, 2020, 45(7): 44-49.
- [14] 赵建光, 张烽, 闫继爱, 等. α -淀粉酶抑制剂(白芸豆提取物)对 2 型糖尿病改善效果研究[EB/OL]. 北京: 中国科技论文在线. <http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/202005-212>, 2020-05-28.
- [15] Powers, J.R. and Whitaker, J.R. (2010) Purification and Some Physical and Chemical Properties of Red Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris*) α -Amylase Inhibitor. *Journal of Food Biochemistry*, **1**, 217-238. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1978.tb00183.x>
- [16] Tanizaki, M.M. and Lajolo, F.M. (1985) Kinetics of the Interaction of Pancreatic α -Amylase with a Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris*)-Amylase Inhibitor. *Journal of Food Biochemistry*, **9**, 71-89. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1985.tb00340.x>
- [17] Alizadeh, H., Leung, D. and Cole, A. (2010) Concurrent Occurrence of α -Amylase Inhibitor and Stimulator in Red Kidney Bean Seed: Physiological Implications. *Biologia Plantarum*, **54**, 195-197. <https://doi.org/10.1007/s10535-010-0034-y>
- [18] Chun, S.H., Ryu, I.H., Park, S.T. and Lee, K.S. (2001) Purification of α -Amylase Inhibitor from White Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of the Korean Society for Food Science*, **33**, 117-121.
- [19] Mosca, M., Boniglia, C., Carratù, B., Giammarioli, S., Nera, V. and Sanzini, E. (2008) Determination of α -Amylase Inhibitor Activity of Phaseolamin from Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris*) in Dietary Supplements by HPAEC-PAD. *Analytica Chimica Acta*, **617**, 192-195. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.12.046>
- [20] Haruki, Y., Hiroyuki, F. and Hiroyuki, I. (1992) Structures of Sugar Chains of the Subunits of an α -Amylase Inhibitor from *Phaseolus vulgaris* White Kidney Beans. *Journal of Biochemistry*, **111**, 388-395. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a123767>