

羊肉中 L-肉碱抗疲劳作用的研究

王丽霞, 刘安军, 朱晓萍, 韩雪

(天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300222)

摘要: 研究羊肉中 L-肉碱抗疲劳作用。将昆明种小鼠分组, 分别用平行实验和交叉实验测定抗疲劳功能, 观察 L-肉碱对实验小鼠游泳时间、身体指数、血清生理生化指标和腿部肌肉 L-肉碱含量的影响。L-肉碱可以有效延长实验小鼠平均游泳时间, 减轻体重及腹部脂肪量, 显著降低血清中甘油三酯及总胆固醇的水平、乳酸及尿素氮含量; 液相色谱显示小鼠体内 L-肉碱含量与游泳时间有显著的相关性。L-肉碱有显著的抗疲劳作用。

关键词: L-肉碱; HPLC; 抗疲劳

中图分类号: R392; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)06-0509-04

Study of the Antifatigue Effects of L-Carnitine in Mutton

WANG Li-xia, LIU An-jun, ZHU Xiao-ping, HAN Xue

(College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300222, China)

Abstract: The antifatigue effects of L-carnitine in mutton were studied. The influences of L-carnitine on swimming time, body index, physiological and biochemical parameters in serum and L-Carnitine contents in leg muscle of Kunming mice were determined by parallel and cross experiments. The results showed that L-carnitine could prolong the average swimming time, lower body weight and abdomen fat, and decrease the contents of CHO, TC, urea nitrogen and lactic acid in serum. HPLC analysis showed that the L-carnitine contents correlated closely with the swimming time of the mice.

Key words: L-carnitine; HPLC; antifatigue

L-肉碱 (L-Carnitine) 又称左旋肉碱, 化学名为 L-β-羟基-γ-三甲胺丁酸 (L-β-hydroxy-γ-butyrobetaine), 是一种与动物体内脂肪酸代谢有关的化合物^[1], 它正常地存在于人体内, 起到携带长链脂肪酸通过线粒体膜的功能。由于线粒体膜对酰基 CoA 衍生物的不透过性, 所以长链脂肪酸只有与 L-肉碱酯化后才能进入线粒体内进行 β-氧化^[2]。另一方面, 它调节体内的酰基、辅酶 A 的比率, 及时运送支链氨基酸的代谢产物支链酰基, 排除体内过量的酰基, 从而排除因机体内酰基积累而造成的毒性, 是一种营养、医药型的物质^[3]。L-肉碱由于其特殊的营养价值一直受到人们的关注, 本文旨在研究 L-肉碱的抗疲劳作用机理, 为其在食品添加剂领域的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

未经成熟的新鲜羊肉: 用于提取 L-肉碱。合成肉碱: 张家港新宇化工厂。

收稿日期: 2007-12-18

作者简介: 王丽霞 (1966-), 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 生物资源利用与功能食品开发

1.2 主要试剂和仪器

L-肉碱标准品 (Sigma 公司), 胆固醇试剂盒、甘油三酯试剂盒 (中生北控生物科技股份有限公司), IPR-B₇ (天津市化学试剂二厂)。

高效液相设备 labAlliance Series III (天津兰博实验仪器设备有限公司), DY89-I 型电动玻璃匀浆机 (宁波新芝科器研究所), SP-2102UV 紫外可见分光光度计 (上海光谱仪器有限公司)。

1.3 实验动物

昆明种小鼠, 洁净级, 25±3 g, 购自天津市公共卫生监督所动物研究中心。

1.4 实验方法

1.4.1 抗疲劳实验^[4]

将昆明种小鼠分为 4 组: 对照组、实验组 I、II 和 III, 具体如下:

对照组: 不添加肉碱

实验 I: 添加成人推荐量的 10 倍合成肉碱, 即添加量为 200 mg/kg(bw)

实验 II: 添加羊肉提取肉碱, 添加量为 200 mg/kg(bw)。

实验 III: 添加合成肉碱, 添加量为 600 mg/kg(bw)。

前 21 d 四组都正常饮食, 21 d 后实验组每天添加 L-肉碱, 称体重, 测游泳时间。实验结束后断头取血, 分离血清; 取出头、心、肝、肺、腹部脂肪和胴体, 分别称重; 取出小鼠腿部肌肉测定水分和 L-肉碱含量。

1.4.2 交叉试验

另取昆明种小鼠分为 3 组, 雌雄各半, 每组 8 只, 按如下分组:

实验 1 组: 喂养 24 d 后添加 200 mg/kg 的提取肉碱。

实验 2 组: 添加 200 mg/kg(bw)的合成肉碱, 24 d 后停止添加。

实验 3 组: 添加 200 mg/kg(bw)的提取肉碱, 24 d 后停止添加。

以上 3 组在未添加肉碱时都给予小鼠正常饮水, 实验中测定游泳时间, 实验结束后测定小鼠腿肌 L-肉碱含量。

1.5 检测指标与方法

1.5.1 游泳时间测定

利用运动方法观察某种物质是否可以提高动物的运动耐力, 是检测抗疲劳功能的最直接和最有利的直观表现。目前多采用试验动物的游泳时间或爬竿时间长短来验证抗疲劳功效。本试验采用测定游泳时间, 水槽保持温度 30 °C, 小鼠游泳条件保持相对恒定, 减少系统误差。

1.5.2 小鼠身体指标测定^[5]

将小鼠头、心、肝、肺、腹部脂肪取出, 在 0.9% 生理盐水中洗去血污, 用滤纸擦干, 称重。将小鼠内脏、腹部和背部脂肪去净, 去除全身皮毛, 称重, 记录小鼠胴体体重。将小鼠腿部肌肉冷冻干燥, 测定并记录水分含量。

1.5.3 血清生理生化指标测定

甘油三脂、总胆固醇^[6]: 采用试剂盒酶比色法。

尿素氮^[7]: 采用二乙酰-胍法。

乳酸^[8]: 采用乳酸氧化酶法。

1.5.4 L-肉碱含量测定

采用液相色谱-反相离子对色谱法^[9]。色谱分析条件: 流动相用双重蒸馏水 1900 mL, 加入 10 mL 磷酸, 摇匀, 用 1 mol/L NaOH 调 pH 值为 2.4, 再加 200 mg B₇ 离子对试剂, 1040 mL 甲醇, 流速为 1 mL/min; 测定波长 225 nm。

1.6 统计分析

所有数据经统计学处理后用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异

经 t 检验。

2 结果与讨论

2.1 各组小鼠生长曲线

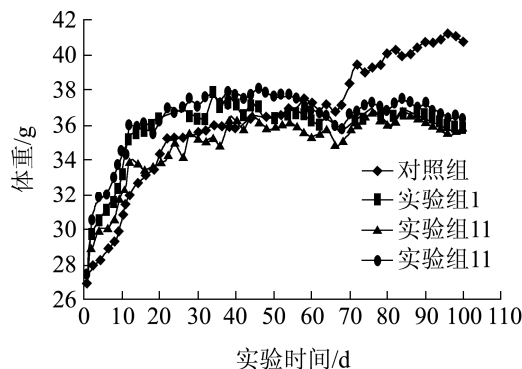


图 1 小鼠平均体重变化图

Fig.1 Time course of the average weight of mice

图 1 清楚地反映了小鼠在喂肉碱前后体重的变化情况, 实验组和对照组体重变化的情况。前 21 d 未喂肉碱时, 各组增幅一致。21 d 后开始喂肉碱, 对照组的生长仍按原来的趋势, 其他实验组增长趋势平缓, 并随着喂食肉碱时间的延长, 体内脂肪代谢旺盛, 体重有所降低。结果显示 L-肉碱有明显的减肥作用。

2.2 各组小鼠平均游泳时间

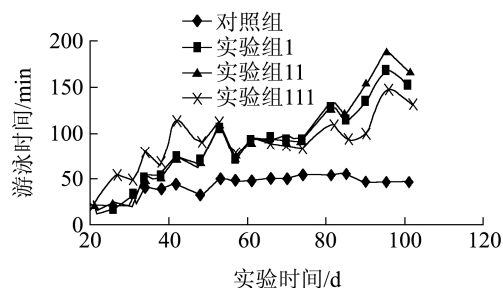


图 2 小鼠平均游泳时间

Fig.2 Average swimming time of mice

图 2 所示, 实验组小鼠的游泳时间明显增长, 而对照组小鼠游泳时间增幅很小, 从第 34 d 游泳时间没有明显的增加。说明在服用肉碱以后, 加速了体内脂肪氧化速度, 提供较多的运动能量, 而使机体不易产生疲劳, 以实验 II 组为最好, 可能是因为肉碱是从羊肉中提取的天然物质, 易被人体吸收, 并且没有副作用, 高剂量试验 III 组在实验后期, 游泳时间缩短, 可能是因为肉碱是合成品, 剂量太大, 对机体产生了伤害。

2.3 各组小鼠身体指数测定结果

表1 小鼠身体各部位指数 (mean±std.)

Table 1 Body indices of mice (mean±std.)

	n	体重/g	腹部脂肪/g	水分/g	胴体重/(g/g)	肝脏重/g	身长/cm	肺重/g	肾重/g
对照组	8	42.16±6.2	3.37±1.13	18.10±1.43	0.676±0.04	1.63±0.18	8.3±0.4	0.27±0.06	0.40±0.03
实验组 I	7	36.51±3.19 ^a	1.46±0.36 ^A	17.28±1.59	0.633±0.07	1.55±0.18	8.1±0.4	0.26±0.09	0.38±0.07
实验组 II	8	36.57±3.42 ^a	1.32±0.20 ^A	16.56±1.81	0.634±0.07	1.53±0.25	8.1±0.3	0.26±0.03	0.38±0.04
实验组 III	8	36.23±2.01 ^a	1.30±0.23 ^A	16.89±1.12	0.662±0.03	1.57±0.21	8.1±0.3	0.27±0.05	0.39±0.04

注: 与对照组比较, a: $p < 0.05$, A: $p < 0.01$ 。

由表1可知, 实验组小鼠与对照组小鼠相比, 各组之间的体重差别显著, 而身长和胴体重无明显差异, 说明肉碱的摄入并未影响小鼠身体的正常生长。体重差别显著的原因, 可以通过腹腔内脂肪含量差别的显著看出。其他器官, 例如心、肺、肾、肝重量差别很小, 进一步验证了L-肉碱对身体生长无副作用; 体内

水分含量的大小主要是通过测定及肉中所含的水分得到的, 可以比较身体内脂肪的含量与水分的关系, 两者无明显相关性, L-肉碱的摄入并未影响小鼠体内的肌肉生长。

2.4 小鼠生理生化指标测定结果

表2 小鼠血清的生理生化指标 (mean±std.)

Table 2 Biochemical and physiological indices of mice serum (mean±std.)

	n	N 甘油三酯/(mmol/L)	总胆固醇/(mmol/L)	乳酸/(mmol/L)	尿素氮/(mmol/L)
对照组	8	1.436±0.259	3.066±0.901	5.4±1.6	15.82±1.96
实验组 I	7	0.991±0.084 ^A	2.168±0.104 ^A	2.6±0.8 ^A	9.36±0.98 ^A
实验组 II	8	0.969±0.086 ^A	2.127±0.143 ^A	2.6±0.8 ^A	9.41±1.25 ^A
实验组 III	8	0.971±0.103 ^A	2.210±0.194 ^A	2.7±0.6 ^A	9.49±1.62 ^A

注: 与对照组比较, a: $p < 0.05$, A: $p < 0.01$ 。

由表2可以看出, 实验组小鼠与对照组小鼠比较, 血清中的甘油三酯和总胆固醇有了显著降低。虽然血脂含量与全身脂类总量相比只占极少部分, 但它转运于各组织之间, 故往往可反映小鼠体内脂类代谢情况, 也在一定程度上反映小鼠体内的脂含量指标^[11]。血清中的总胆固醇和甘油三酯含量长时间过高, 可以引起动脉粥样硬化, 因此, L-肉碱可以帮助脂肪酸穿越线粒体进行氧化作用, 降低总胆固醇和甘油三酯在体内的存储和蓄积, 防止发生动脉粥样硬化, 有益于身体健康。

2.5 交叉试验小鼠游泳试验

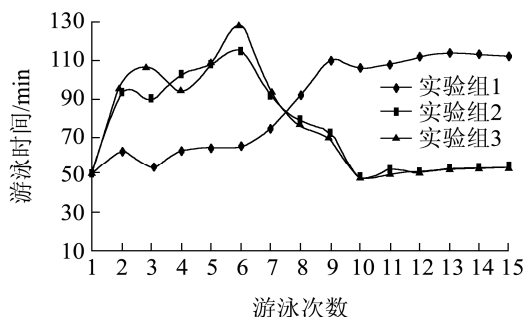


图3 交叉实验小鼠游泳时间

Fig.3 Swimming time of mice in cross matching experiment

图3反映了小鼠15次游泳实验的结果, 每次游泳

时间间隔为4 d。在第六次游泳完毕后, 调整各组小鼠的饮食: 第1组饮用含有肉碱的水, 同时第2、3组停止摄入肉碱。可以看出第1组小鼠在服用肉碱后游泳能力快速明显提高, 而停止补充肉碱的第2、3组小鼠游泳能力立即降低, 说明L-肉碱具有很好的抗疲劳作用, 且代谢过程较快。

2.6 交叉试验小鼠体内L-肉碱含量的测定结果

由图4~6可知, 喂饲L-肉碱的小鼠腿部肌肉L-肉碱含量明显高于没有喂饲的小鼠。实验1组小鼠补充外源性L-肉碱, 膳食中的L-肉碱优先经过脂肪酸循环, 运输到长链脂肪酸进入线粒体氧化产生能量, 补充机体运动所耗能。

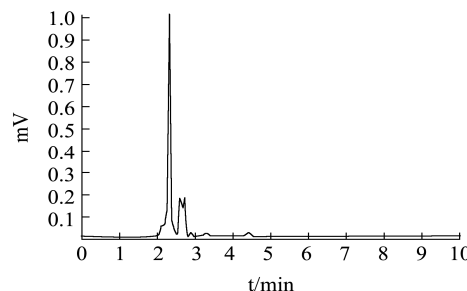


图4 实验组1小鼠腿部L-肉碱液相图谱

Fig.4 HPLC chromatography of L-carnitine from mice leg in group 1

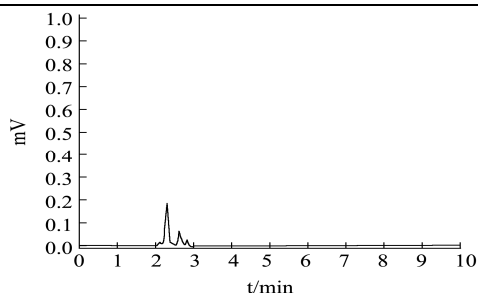


图5 实验组2 小鼠腿部L-肉碱液相图谱

Fig.5 HPLC chromatography of L-carnitine from mice leg in group 2

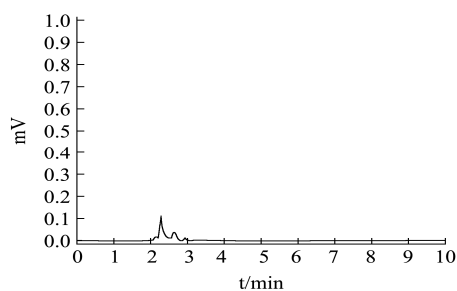


图6 实验组3 小鼠腿部L-肉碱液相图谱

Fig.6 HPLC chromatography of L-carnitine from mice leg in group 3

3 结论

L-肉碱可以有效延长实验小鼠平均游泳时间,减轻体重及腹部脂肪量,并不会影响实验小鼠正常的生长发育;L-肉碱可显著降低血清中甘油三酯、总胆固醇的水平;L-肉碱使小鼠的平均游泳时间比对照组显著降低,同时降低小鼠体内的乳酸及尿素氮含量;液相色谱显示小鼠体内L-肉碱含量与游泳时间有显著的相关性,提示L-肉碱有显著的抗疲劳作用。

参考文献

- [1] 杨能,张惟杰.L-肉碱的生理功能与生物学方法生产[J].生物化学与生物物理进展,1992,19(2): 81-85
- [2] Bremer J. Trends in Biochem [J].Sciences, 1977,2:207
- [3] Blanchard G, Paragon B M, Milliat F, et al. Dietary L-carnitine supplementation in obese cats alters carnitine metabolism and decreases ketosis during fasting and induced hepatic lipodosis[J]. J Nutr, 2002, 132 (2):204-210
- [4] Hoppel CL ,Genuth SM.Urinary excretion of acetylcarnitine during human diabetic and fasting ketosis. AmJ Physiol, 1982,243(2):168-172
- [5] Mensink, R.P et al., J.Lipid Res.,1992,33:1493-1501
- [6] Ball E G Energy Metabolism[M]. Reading,Mass: Addison-Wesley Publishing Company Inc.,1973:125-126
- [7] Wybenga D R, Giorgio J D, Poleggi V J. Manual and automated methods for urea nitrogen in whole serum[J]. Clin Chem. 1971(9): 891-895
- [8] King J. A routine method for the estimation of lactic dehydrogenase activity [J].J Med Lab Tech.1959,16:265-270
- [9] Barrero M J , Marrero P F , Haro D. Regulation of the rat liver carnitine palmitoyltransferase I gene transcription by thyroid hormone[J]. Biochem Biophys Res Commun ,2000, 279:81- 88
- [10] 李政科,何小青,张展霞.微波消解衍生化气相色谱-质谱法测定鲨鱼软骨中的脂肪酸[J].色谱,2000.18(4):337-339
- [11] Vacha GM ,et al. Favorable effects of L-carnitine treatment on hypertriglyceridemia in hemodialysis patients : decisive role of low levels of high-density lipoprotein-cholesterol AM J Clin Nutr 1983;38(4):532-540

欧盟全面禁用 6 种食品色素

欧洲多个消费者保护组织日前敦促欧盟全面禁止使用 6 种食品色素,因为研究报告结果显示,它们可能会引起儿童过度亢奋。

这 6 种食品色素分别是晚霞黄、蓝光酸性红、柠檬黄、胭脂红、喹啉黄和艳红。据称,在欧洲市场上,这些人工色素已被广泛使用于糖果和软饮料中。

欧洲消费者组织(BEUC)说,有足够的证据表明这些人工色素添加剂会对儿童的行为产生影响。为此,BEUC 已与 40 多个欧洲消费者保护组织和食品安全组织致信欧盟负责公共卫生事务的委员安德鲁拉·瓦西利乌,要求在欧盟范围内全面禁止使用这 6 种食品色素。

英国食品标准局去年 9 月公布的一份研究报告显示,儿童在饮用了含有这 6 种色素的饮料后,可能会出现行为冲动,注意力不集中等症状。

(新闻来源:中国食品商务网)