

不同取材的食源性低聚肽嘌呤含量测定及其在痛风患者营养治疗中的应用探讨*

林 峰,马 勇,徐亚光,金镇涛,任 玮,蔡木易

(中国食品发酵工业研究院,北京,100027)

摘 要 利用高效液相色谱法对7种不同取材的食源性低聚肽样品进行嘌呤含量检测,检测结果由低到高分别为玉米蛋白低聚肽、乳清蛋白低聚肽、卵白蛋白低聚肽、大豆蛋白低聚肽、海洋蛋白低聚肽、海洋胶原低聚肽以及海洋骨原低聚肽。其中前3种为低嘌呤食物,后2种为高嘌呤食物,中间的2种为中嘌呤食物。这与各自取材原料的食品嘌呤等级相一致。鉴于上述低嘌呤肽达到低嘌呤食品的要求,结合肽自身的生理功能,探讨其在痛风患者营养治疗中的应用,认为低嘌呤肽可作为优质的蛋白补充源,缓解痛风患者的合并症,促进尿酸的排泄。

关键词 食源性低聚肽,嘌呤,痛风,营养治疗

痛风是由于嘌呤代谢失调,导致尿酸产生过多或排泄减少,血中尿酸水平增高,引起反复发作的关节炎、结石,导致关节畸形、肾脏病变等的一组疾病。痛风的发生与遗传、性别、年龄、生活方式、饮食习惯、药物治疗、其他疾病等因素有关,其中高嘌呤饮食和饮酒是导致痛风的重要危险因素。科学的膳食和营养干预可以减少外源性嘌呤的摄入,减少尿酸的来源和促进尿酸的排泄,有利于减轻和缓解痛风的发作^[1]。

普通食物中的核酸多与蛋白质结合形成核蛋白存在于细胞内,食用蛋白质不可避免地摄入核酸,从而增加了嘌呤代谢的负担。因此,在痛风患者的营养治疗中,一般建议低蛋白质饮食。而蛋白质作为六大营养素之首,承担着构建机体、修复组织、构成体内重要化合物以及供给能量等功能,为人体正常代谢所必需^[2]。因此,选择和补充合适的蛋白质源,减少嘌呤物质的生成显得尤为重要。

食源性低聚肽,作为一类新型的营养补充剂,有着比大分子蛋白质更加突出的营养和功能。它溶解性好、黏度低,在体内吸收快、利用率高,还具有降高血压、降胆固醇、抗血栓形成、改善脂质代谢、抗疲劳等诸多功能^[3]。本研究利用高效液相色谱法^[4,5]对7种不同取材的食源性低聚肽进行嘌呤含量检测,并进一步探讨低嘌呤肽在痛风患者营养治疗中的应用。

1 材料与方法

1.1 材 料

第一作者:硕士(蔡木易教授为通讯作者)。

* 863 国家高技术研究发展计划(No. 2007AA10Z327),“十一五”国家科技支撑计划(No. 2006BAD27B08)

收稿日期:2008-08-01,改回日期:2008-09-05

由中国食品发酵工业研究院提供的7种食源性低聚肽粉样品,取材来源见下表1。

表1 不同取材的食源性低聚肽

样品号	样品名称	取来源
1#	海洋胶原低聚肽	海洋鱼皮
2#	海洋骨原低聚肽	海洋鱼骨
3#	海洋蛋白低聚肽	海洋鱼肉
4#	乳清蛋白低聚肽	牛 奶
5#	卵白蛋白低聚肽	鸡蛋蛋清
6#	大豆蛋白低聚肽	大 豆
7#	玉米蛋白低聚肽	玉 米

1.2 仪器与试剂

LC-20AD型高效液相色谱仪(日本 SHIMADZU 公司),AB104-N型电子天平(METTLER TOLEDO 公司),KQ-100型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),SHB-III A型循环水式多用真空泵(郑州长城科贸有限公司),GSY-II型电热恒温水浴锅(北京市医疗设备厂)。

嘌呤标准品:腺嘌呤、鸟嘌呤、黄嘌呤、次黄嘌呤;KOH、 KH_2PO_4 、 H_3PO_4 、 HClO_4 ,为分析纯;超纯水。

1.3 试验方法

1.3.1 标准嘌呤样品的制备

取腺嘌呤、鸟嘌呤、黄嘌呤、次黄嘌呤粉末各10 mg溶于100 mL,0.02 mol/L KH_2PO_4 的磷酸缓冲液(pH=3.10)中,以嘌呤碱基溶液浓度为100 μg 的标准溶液作为嘌呤标准液储备液。

1.3.2 样品的前处理

取1g样品定容至10 mL,并转移至25 mL具塞试管中,加入10 mL质量分数70%高氯酸溶液,立即置于沸水浴锅中,在100℃下水解1 h,冰浴冷却,以

10 mol/L 的 KOH 调整 pH 至 4.0,接着先以滤纸(55mm)滤去大部分沉淀物,滤液加超纯水至 50 mL,再以 0.2 μ m 膜过滤后上机进样。

1.3.3 液相色谱条件

色谱柱:Prevail Organic Acid 5u,4.6 mm \times 250 mm (GRACE 公司);PDA 检测器;流动相:0.02 mol/L KH₂PO₄ 缓冲液,用磷酸将 pH 调至 3.75;流速:1.0 mL/min;紫外检测器波长:UV254 nm;柱温:27 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L。

2 结果与讨论

2.1 嘌呤含量的测定

2.1.1 嘌呤标准品色谱图

根据液相操作条件首先得到 4 种嘌呤标准品的

色谱图,结果见图 1。

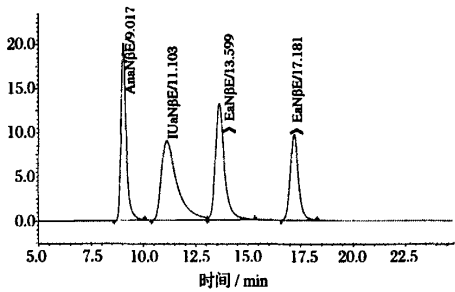


图 1 四种嘌呤标准品色谱图(254nm)

2.1.2 样品嘌呤检测结果

通过检测得出 7 种低聚肽样品的嘌呤含量,检测结果见表 2。并结合食物嘌呤含量等级(表 3)对各低聚肽样品进行评价。

表 2 各种低聚肽粉的嘌呤含量检测结果 mg/g

样品号	样品名	鸟嘌呤	腺嘌呤	黄嘌呤	次黄嘌呤	总嘌呤
1 $^{\#}$	海洋胶原低聚肽	0.958 0	0.102 9	0.895 3	0.094 3	2.050 4
2 $^{\#}$	海洋骨原低聚肽	0.946 6	0.254 0	1.311 8	0.020 0	2.532 4
3 $^{\#}$	海洋蛋白低聚肽	0.795 9	0.159 4	0.503 3	0.009 9	1.468 5
4 $^{\#}$	乳清蛋白低聚肽	0.008 8	0.000 3	0.0169	0.005 8	0.031 9
5 $^{\#}$	卵白蛋白低聚肽	0.108 2	0.006 7	0.072 3	0.0053	0.192 5
6 $^{\#}$	大豆蛋白低聚肽	0.386 6	0.106 7	0.117 6	0.043 7	0.654 6
7 $^{\#}$	玉米蛋白低聚肽	0.010 5	0.000 6	0.008 5	0.010 7	0.030 3

表 3 食物嘌呤等级表^[6]

种 类	嘌呤含量/(mg \cdot g ⁻¹)
低嘌呤食物	<0.25
中嘌呤食物	0.25~1.5
高嘌呤食物	1.5~10

由表 3 可知,海洋胶原低聚肽、海洋骨原低聚肽的嘌呤含量高于 1.5 mg/g,为高嘌呤食物。其中骨原肽含量最高,达到 2.53 mg/g。海洋蛋白低聚肽、大豆蛋白低聚肽分别位于中嘌呤食物的嘌呤区间上限和下限。乳清蛋白低聚肽、卵白蛋白低聚肽以及玉米蛋白低聚肽等 3 种低聚肽的嘌呤含量都在 0.25 mg/g 以下,为低嘌呤食品。其中乳清肽和玉米肽的嘌呤含量仅为 0.03 mg/g。

结合 7 种低聚肽的不同取材,不难理解各个样品的嘌呤含量差异。从常见食物嘌呤含量表^[6]来看,高嘌呤食物包括海洋鱼类、家禽畜牧类动物等。海洋胶原低聚肽、海洋骨原低聚肽和海洋蛋白低聚肽均来自于海洋鱼类,嘌呤含量自然相对较高。同时,骨原肽来自海洋鱼骨组织,该部位的骨髓及神经细胞较多,核蛋白含量高于鱼皮组织和鱼肉组织,所以其嘌呤含

量最高。与海洋鱼低聚肽相比,大豆蛋白低聚肽嘌呤含量要低得多,为中嘌呤食品,卵白蛋白低聚肽、乳清蛋白低聚肽以及玉米蛋白低聚肽等 3 种低聚肽则为低嘌呤食物。因为牛奶、鸡蛋无细胞结构,不含核蛋白,故嘌呤含量较低。玉米肽取自玉米胚芽部分,核蛋白较少,同样嘌呤含量也低。

2.2 低嘌呤肽在痛风患者营养治疗中的应用探讨

2.2.1 低嘌呤肽为痛风患者最理想的蛋白补充源

痛风发作的诱因主要由于摄入过多的嘌呤,使血尿酸水平升高。营养治疗时,根据病情采取限制饮食中嘌呤供给量的措施。在急性期应严格限制嘌呤摄入少于 150 mg/d,可选择嘌呤含量低的食物(<0.25 mg/g)。在缓解期,视病情可限量选用嘌呤含量中等的食物(0.25~1.50 mg/g),禁用含嘌呤高的食物(>1.50 mg/g)^[7]。此外,普通食物中的核酸多与蛋白质结合形成核蛋白存在于细胞内,食用蛋白质不可避免地摄入核酸,从而增加了嘌呤代谢的负担。因此,在痛风患者的营养治疗中,一般建议低蛋白质饮食,其推荐摄入量约为 0.8~1.0 g/(kg \cdot d)。而蛋白质作为六大营养素之首,承担着构建机体、修复组

织、构成体内重要化合物以及供给能量等功能,为人体正常代谢所必需。因此,选择和补充合适的蛋白质源,减少嘌呤物质的生成显得尤为重要。

由表 2 可知,卵白蛋白低聚肽、乳清蛋白低聚肽以及玉米蛋白低聚肽等 3 种低聚肽为低嘌呤食物,大豆蛋白低聚肽嘌呤含量略高些,划为中嘌呤食品。上述 4 种肽嘌呤含量之所以很低,除了因为制备原料的嘌呤含量较低外,还因为在从蛋白质提取肽的过程中破坏了蛋白与核酸的结合,有效地分离了核酸。另外,低嘌呤肽本身作为低聚肽,其分子质量大多在 1 000 以下,具有比单一氨基酸和大分子蛋白质更易吸收的特点。它可不经消化被人体直接吸收,吸收率提高 2~2.5 倍。低聚肽在消化道内直接进入血液只需几分钟至十几分钟的时间就可完成,它的吸收利用程度几乎可达到 100%。这表明肽的生物效价和营养价值均比游离氨基酸和大分子蛋白质要高。而且肽在微量的状态下,就能发挥强大的生理活性^[8]。因此,上述 4 种低嘌呤肽为痛风患者最理想的蛋白补充源,可在营养治疗的不同阶段搭配使用。对于痛风患者来说,低聚肽的一般推荐摄入量为 4~5 g。即使全部使用海洋骨原肽,嘌呤的总摄入量只不过 10~12mg,与痛风急性期时的嘌呤限量 150 mg/d 相比,仍是较低的水平。

2.2.2 低嘌呤肽可缓解痛风患者的合并症

在朱英等人^[9]对 79 例痛风患者的营养治疗过程中,患者均有程度不同的合并症,有的患者尚有 2 种或 2 种以上的合并症。其中肥胖 35 例,占 44.13%;高脂血症 28 例,占 35.14%;糖尿病 9 例,占 11.13%。我国进行的饮食因素及生活方式与高尿酸血症及痛风关系的调查显示,中老年人超重和肥胖、高甘油三酯(TG)血症的人群中高尿酸血症检出率显著高出正常体质量人群^[10]。因此,在痛风营养治疗中,控制饮食能量的摄入,减轻体重并予维持正常范围内,避免肥胖是防治高尿酸血症及痛风的重要环节。

在已证实的具有调节血脂活性和减肥功能的物质也包括了肽类,目前关于血脂调节肽的研究主要集中在大豆活性肽。有研究表明,从大豆球蛋白的酶解物中获得了多种具有减肥和降低胆固醇作用的生物活性肽,如 Leu-Pro-Tyr-Pro-Arg。由胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶水解这种球蛋白可释放出一种减肥和降低胆固醇效果更明显的活性肽 Val-Pro-Asp-Pro-Arg。动物实验研究发现,喂饲 5.10g/kg 大豆活性

肽能显著降低高脂饲料造成的高脂血症 Wistar 大鼠血清总胆固醇(TC)和总甘油三酯(TG)水平,2 项指标分别下降 26.0%和 24.4%,而高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)没有明显变化。以乳蛋白水解物喂饲小鼠同样可使小鼠血清中的胆固醇浓度明显降低^[8]。

此外,肽还具有调节血糖的作用。目前研究发现,抑胃肽可促进胰岛素分泌、促进胰高血糖素样肽-1 分泌、缓解胰岛素清除。C 肽与胰岛素具有协同降血糖作用,并可增加葡萄糖的摄取、转运和利用,同时可改善糖尿病的多种并发症^[8]。

综上所述,低嘌呤肽的应用不仅提供了优质的蛋白补充源,而且具有减肥、辅助降血脂和血糖的作用,可缓解痛风患者的合并症。

3 结 论

利用高效液相色谱法对 7 种不同取材的食源性低聚肽粉样品进行嘌呤含量检测,检测结果由低到高分别为玉米蛋白低聚肽、乳清蛋白低聚肽、卵白蛋白低聚肽、大豆蛋白低聚肽、海洋蛋白低聚肽、海洋胶原低聚肽以及海洋骨原低聚肽。其中玉米蛋白低聚肽、乳清蛋白低聚肽、卵白蛋白低聚肽等 3 种低聚肽为低嘌呤食物,大豆蛋白低聚肽、海洋蛋白低聚肽为中嘌呤食物,海洋胶原低聚肽以及海洋骨原低聚肽为高嘌呤食物。这与各自取材原料的食品嘌呤等级相一致。

鉴于低嘌呤肽达到低嘌呤食品的要求,结合低聚肽本身的生理功能,探讨在痛风患者营养治疗中的应用,认为低嘌呤肽可作为优质的蛋白补充源,缓解痛风患者的合并症,促进尿酸的排泄。

参 考 文 献

- 1 曾高峰,曾祥伟. 膳食和营养辅助治疗痛风的观察[J]. 广西医科大学学报,2007,24(4): 589~590
- 2 黄承钰. 医学营养学[M]. 北京:人民卫生出版社,2003
- 3 王志超,安玉会. 生物活性肽的研究进展[J]. 河南医学研究,2004,13(4): 353~356
- 4 Jou J H, Ker K C. The investigation of analytical method of purine content in high purine foods[J]. Nutr Sci, 1999, 24(4): 366~378
- 5 Lou J H, Chen T Y. Studies on the analytical method of the purine contents in fishery products[J]. Food Sci, 1997, 24(1): 1~11
- 6 常见食物嘌呤含量表. <http://www.people.com.cn/GB/paper39/11476/1035783.html>
- 7 李 勇. 营养与食品卫生学[M]. 北京:北京大学医学出

版社. 2005

[J]. 福建医药杂志, 2002. 3(24), 122~123

8 李 勇, 蔡木易. 肽营养学[M]. 北京: 北京大学医学出版社. 2007

10 曾 珊. 老年高尿酸血症及痛风的营养治疗实用老年医学[J]. 实用老年医学, 2005. 6(19), 290~292

9 朱 英, 陈洁碧, 郑 滨. 79 例痛风病患者的营养治疗

Determination of Purines in Different Foods and Its Application in Nutritional Therapy for Gout Patient

Lin Feng, Ma Yong, Xu Yaguang, Jin Zhentao, Ren Wei, Cai Mui

(China National Research Institute of Food & Fermentation Industries, Beijing 100027, China)

ABSTRACT The content of Purines in seven different food — derived oligopeptides was determined by HPLC. The arrangement of results from low to high was as followed: corn protein oligopeptides, whey protein oligopeptides, albumin protein oligopeptides, soy protein oligopeptides, marine protein oligopeptides, marine collagen oligopeptides, and marine ossein oligopeptides. The first three were low purine foods, the last two were high purine foods, and the middle two were middle purine food. The oligopeptides with low purine complied with the standard of low purine food. Due to their physiologic functions, the applications on nutritional therapy for gout patients were discussed. It is suggested that oligopeptides with low purine could be used as good supplements of protein. it could ease the symptom of gout and help to excrete the uric acid.

Key words food-derived oligopeptides, purine, gout, nutritional therapy

(上接第 12 页)

Separation of α -ionone and β -ionone by Supercritical CO₂ Fluid Chromatography

Cheng Jie, Xie Jianchun, Sun Baoguo

(School of Chemical and Environmental Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

ABSTRACT The isomers α -ionone and β -ionone have been separated by supercritical CO₂ fluid chromatography (SFC) using a silica column (250 mm × 4.6 mm I. D. 6 μ m). Effect of chromatographic parameters including content of isopropanol (IPA) in mobile phase of CO₂ fluids, the column temperature and the column pressure on the capacity factor (K') and resolution (R_s) were studied, and the best conditions for separation were optimized as follows: the mobile phase as CO₂-IPA (99 : 1, V/V) at the flow rate of 2 mL/min; the column temperature at 40°C; the initial column pressure at 80 bar ramping to 12 MPa in 3 bar/min; UV detection wavelength set at 254 nm; 2 μ l of sample solution injected at the concentration of 480 mg/mL (the sample containing α -ionone and β -ionone dissolved in CH₂Cl₂). Under these conditions, the separation time was about 10 min, with R_s at 3.3.

Key words supercritical CO₂ fluid chromatography (SFC), α -Ionone, β -Ionone, separation