

L-茶氨酸对断乳大鼠血清及肝脏氨基酸谱的影响

童海鸥^{1,2}, 李成舰¹, 颜琼娴^{2,*}, 谭支良², 韩雪峰^{2,3}

(1.湖南农业大学园艺园林技术学院, 湖南 长沙 410128; 2.中国科学院亚热带农业生态研究所,

亚热带农业生态过程重点实验室, 湖南省农业生态工程重点实验室, 湖南 长沙 410125;

3.湖南农业大学 湖南省植物功能成分利用协同创新中心, 湖南 长沙 410128)

摘 要:以断乳大鼠为实验对象,通过灌胃L-茶氨酸溶液,分析大鼠血清及肝脏中氨基酸谱变化,探究L-茶氨酸对大鼠氨基酸吸收与代谢及生长发育的影响。实验使用64只断乳大鼠(雌雄各半),随机分为对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组,分别灌胃L-茶氨酸0、50、200、400 mg/(kg·d)(以体质量计,下同)。连续灌胃14 d后采集肝脏和血液,利用氨基酸分析仪检测样品中氨基酸和氨的含量。结果表明:L-茶氨酸显著增加了断乳大鼠的日增体质量、末体质量以及肝脏中生糖氨基酸(Gly、Ser、Ala、Met、His、Val、Pro、Asp、Asn、Glu、Gln)或兼性生糖氨基酸(Thr、Ile、Phe、Tyr)的含量。与对照组相比,肝脏中所有必需氨基酸及多数非必需氨基酸含量在200 mg/(kg·d) L-茶氨酸处理组显著提高($P<0.05$)。血清中大多数氨基酸含量在400 mg/(kg·d) L-茶氨酸剂量处理组显著降低($P<0.05$)。L-茶氨酸显著增加($P<0.05$)血液及肝脏中Gln的含量,血氨含量随L-茶氨酸剂量增加呈线性降低($P<0.001$)。由此说明,L-茶氨酸能够促进大鼠对日粮氨基酸的吸收,影响血清及肝脏中氨基酸含量,进而调节大鼠的生长发育。此外,L-茶氨酸通过增加Gln和Glu含量从而促进血氨的排出,减少氨对大鼠机体的毒害。

关键词:L-茶氨酸;大鼠;氨基酸谱;血清;肝脏

Effect of L-Theanine on Serum and Liver Amino Acid Compositions in Weaning Rats

TONG Haiou^{1,2}, LI Chengjian¹, YAN Qiongxiang^{2,*}, TAN Zhiliang², HAN Xuefeng^{2,3}

(1. College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Key Laboratory of Agricultural Ecological Engineering in Hunan Province, Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 3. Hunan Collaborative Innovation Center for Utilization of Functional Ingredients from Botanicals, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: In order to investigate the effect of L-theanine on amino acid (AA) metabolism, growth and development of rats, weaning rats were administered with L-theanine solution to determine changes in AA compositions in serum and liver. Sixty-four healthy SD rats with half males and females were randomly divided into 4 groups, which were administered with L-theanine at the dosages of 0, 50, 200 and 400 mg/(kg·d), respectively. On the 15th day of the experiment, all rats were sacrificed after 24 h fasting to collect serum and liver for measurement of free AA and ammonia by an AA analyzer. The results showed that L-theanine increased the daily weight gain, final body weight and glucogenic AAs (Gly, Ser, Ala, Met, His, Val, Pro, Asp, Asn, Glu and Gln) or facultative glucogenic AAs (Thr, Ile, Phe and Tyr) in the liver of rats. Compared with the control group, the contents of total essential AAs and some nonessential AAs in the liver of rats administered with 200 mg/(kg·d) L-theanine were increased significantly, and the contents of most AAs in serum were decreased significantly. L-theanine significantly elevated the concentration of Glu in serum and liver, and the content of ammonia decreased linearly with L-theanine dose. All results indicated that L-theanine could promote the absorption of dietary AAs, affect AA concentrations in serum and liver and regulate the growth and development of rats. Meanwhile, L-theanine could increase Glu concentration and subsequently promote the emission of ammonia to alleviate its harm to the organism.

Key words: L-theanine; rat; amino acid composition; serum; liver

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201615042

中图分类号: TS202.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2016)15-0247-06

收稿日期: 2015-09-16

基金项目: 中央驻湘科研机构技术创新发展专项(2013TF3006)

作者简介: 童海鸥(1990—),女,硕士,研究方向为药用植物资源工程。E-mail: tonghaiou@sina.com

*通信作者: 颜琼娴(1984—),女,助理研究员,博士,研究方向为动物营养生态学。E-mail: yanqx14@isa.ac.cn

引文格式:

童海鸥, 李成舰, 颜琼娟, 等. *L*-茶氨酸对断乳大鼠血清及肝脏氨基酸谱的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(15): 247-252.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201615042. <http://www.spkx.net.cn>

TONG Haiou, LI Chengjian, YAN Qiongjuan, et al. Effect of *L*-theanine on serum and liver amino acid compositions in weaning rats[J]. Food Science, 2016, 37(15): 247-252. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201615042. <http://www.spkx.net.cn>

茶氨酸, 即谷氨酸 γ -乙基酰胺, 分子式为 $C_7H_{14}N_2O_3$, 天然构型为*L*型。它是由Sakato研究玉露茶时首次分离鉴定出的一种有助于茶叶增鲜的非蛋白游离氨基酸, 仅在干茶、蘑菇、油茶等植物中微量存在, 其中在茶叶中含量高达2%^[1]。随着*L*-茶氨酸生理功能和医药价值的发现, *L*-茶氨酸逐渐被应用到了医疗、保健、食品和饮料等精细化工等领域中。

目前, 对*L*-茶氨酸的研究主要侧重于其增强记忆力^[2-3]、抗肿瘤^[4-6]、抗氧化^[7-8]、增强免疫力^[9-11]、抗疲劳^[12]、抗抑郁^[13-14]和增强抗压能力^[15-16]等生理作用, 而关于*L*-茶氨酸调控动物机体营养物质吸收与代谢方面的研究相对较少。体内代谢研究表明, *L*-茶氨酸是在动物小肠内的刷状缘部位由钠偶联的活性转运蛋白介导促进其吸收^[17], 与谷氨酰胺(Gln)的吸收机制相同^[18]。*L*-茶氨酸吸收进入人体内后酶促水解为谷氨酸(Glu)和乙胺^[19], Glu是动物黏膜的主要能源物质^[20], 能与酮酸反应合成其他的氨基酸, 乙胺可调节免疫细胞细胞因子(干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)等)的分泌而提高机体的先天性免疫功能。此外, 体内代谢动力学实验发现^[21], 用4 g/kg(以体质量计)的*L*-茶氨酸灌胃幼龄大鼠1 h后, 血液和肝脏组织中*L*-茶氨酸的浓度显著增加, 之后逐渐减少; 灌胃后24 h内, 血清中Glu和天冬氨酸(Asp)含量增加, 蛋氨酸(Met)和赖氨酸(Lys)含量减少; 肝脏中甘氨酸(Gly)和苯丙氨酸(Phe)含量增加, 而丙氨酸(Ala)的含量随着用药时间延长逐渐减少, Gln的含量随用药时间延长逐渐增加。100 mg/(kg·d) *L*-茶氨酸处理老年小鼠, 肝脏中Glu及谷胱甘肽含量增加^[22]。将16 mg/(kg·d) *L*-茶氨酸与*L*-胱氨酸(剂量比为2:5)的混合制剂灌胃24月龄的老年大鼠, 2周后, 血清中免疫球蛋白M(immunoglobulin M, IgM)和IgG含量及谷胱甘肽合成量显著增加^[23]。以上实验结果表明, *L*-茶氨酸这种非蛋白氨基酸在代谢过程中可引起动物机体血清和肝脏中其他氨基酸的含量发生动态变化。由于血液及肝脏中的游离氨基酸含量及氨基酸谱的组成可反映幼龄动物机体的健康状况及生长情况, 所以推测*L*-茶氨酸能够调控断乳大鼠血液和肝脏中部分氨基酸及蛋白质的合成。

鉴于断乳大鼠处于快速生长发育阶段, 对日粮营养物质的需求较大, 雌雄大鼠4周内体质量变异度不是很大^[24], 所以本实验以3周龄大鼠为实验对象, 灌胃不同浓度*L*-茶氨酸,

通过氨基酸自动分析仪检测血清及肝脏中氨基酸和氨含量, 分析*L*-茶氨酸对大鼠血清及肝脏中氨基酸谱的影响, 以探究*L*-茶氨酸对大鼠氨基酸代谢及生长发育的调节作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

所用动物为21~25日龄清洁级Sprague-Dawley(SD)大鼠, 实验动物和饲料由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供。

1.2 试剂与仪器

L-茶氨酸(纯度99.2%) 洪雅县雅星生物科技有限公司; 磺基水杨酸 国药集团化学试剂有限公司。

L-8800氨基酸分析仪、CR22GII日式高速冷冻离心机 日本日立公司; PowerGen125高速匀浆机 赛默飞世尔科技公司; Allegra X-22R台式离心机 美国贝克曼公司; M2104电子天平 梅特勒-托利多公司。

1.3 方法

1.3.1 实验设计

64只SD断乳大鼠随机分为对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组, 每组16只, 雌雄各半。自由饮水和采食饲料。各组按大鼠体质量分别灌胃0、50、200、400 mg/(kg·d)的*L*-茶氨酸溶液。*L*-茶氨酸溶解于生理盐水, 根据灌胃用药剂量配制相应的药物浓度。每天清晨记录大鼠体质量, 根据空腹体质量灌胃茶氨酸制剂, 每天一次, 连续灌胃14 d。禁食不禁水24 h后进行麻醉采样。断头取血于10 mL离心管中, 静置2 h, 3 000 r/min离心15 min, 取上层血清, -80℃冰箱冻存。肝脏取出后, 生理盐水冲洗, 剪碎后锡箔纸包裹, 液氮速冻, -80℃冰箱冻存。

1.3.2 样品处理方法

取1 mL血清待测样品加入等体积0.08 g/mL磺基水杨酸4℃过夜, 10 000 r/min离心15 min, 0.45 μ m滤膜过滤上机待测。500 mg肝脏样品加入1 mL 0.01 mol/L盐酸, 匀浆, 定容至10 mL, 取4 mL与血清进行同样处理后上机。血清和肝脏样品均由氨基酸分析仪检测氨基酸和氨含量。

1.4 数据统计分析

实验数据通过SAS 9.2进行单因素方差分析, 检验性水平为 $P<0.05$, 结果以 $\bar{x}\pm s_x$ 表示。

2 结果与分析

2.1 大鼠体质量及肝脏质量

表 1 *L*-茶氨酸对大鼠体质量及肝脏质量的影响
Table 1 Effect of *L*-theanine on body and liver weights of rats

指标	0 mg/ (kg·d)	50 mg/ (kg·d)	200 mg/ (kg·d)	400 mg/ (kg·d)	P值	
					一次回归	二次回归
初体质量/g	84.82±1.10	85.68±1.07	86.48±1.07	85.29±1.07	NS	NS
末体质量/g	160.29±2.59 ^b	169.82±2.51 ^a	172.43±2.51 ^a	169.06±2.51 ^a	**	**
日增体质量/(g/d)	5.24±0.17 ^b	6.01±0.17 ^a	6.15±0.17 ^a	5.98±0.17 ^a	**	**
肝脏质量/g	5.02±0.13	5.19±0.13	5.03±0.13	4.93±0.13	NS	NS

注：同行小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)；**、 $P < 0.01$ ；NS. 差异不显著。下同。

由表1可知，与对照组相比，*L*-茶氨酸能够显著增加大鼠末体质量及日增体质量 ($P < 0.05$)，但对肝脏质量无显著影响 ($P > 0.05$)。

2.2 血清中必需氨基酸含量的变化

表 2 *L*-茶氨酸对血清中必需氨基酸含量的影响
Table 2 Effect of *L*-theanine on free essential amino acids in serum

项目	含量/(μmol/L)				P值	
	0 mg/(kg·d)	50 mg/(kg·d)	200 mg/(kg·d)	400 mg/(kg·d)	一次回归	二次回归
Thr	148.29±10.89 ^b	179.83±10.25 ^a	165.78±9.61 ^{ab}	107.78±11.37 ^c	**	**
Val	112.28±8.13 ^a	129.01±7.66 ^a	114.27±7.18 ^a	73.41±8.13 ^b	***	*
Met	28.36±1.83 ^a	32.00±1.72 ^a	29.96±1.62 ^a	18.22±1.95 ^b	***	**
Ile	76.45±5.74 ^a	86.44±5.40 ^a	76.97±5.06 ^a	46.62±5.74 ^b	***	*
Phe	42.46±3.77 ^{ab}	53.20±3.55 ^a	47.53±3.33 ^a	32.52±4.02 ^b	**	*
Lys	213.94±20.36 ^b	284.15±17.98 ^a	240.55±16.86 ^{ab}	155.54±19.10 ^c	**	*
His	28.78±2.92 ^b	42.37±2.77 ^a	41.07±2.42 ^a	29.68±2.74 ^b	NS	**

注：*、 $P < 0.05$ ；***、 $P < 0.001$ 。下同。

由表2可知，与对照组相比，低剂量处理组Thr、Lys和His含量显著升高 ($P < 0.05$)，中剂量处理组His含量显著升高 ($P < 0.05$)，高剂量处理组除His和Phe外，其他必需氨基酸的含量都显著降低 ($P < 0.05$)。大鼠血清中的His含量随着*L*-茶氨酸剂量的增加呈二次方增加 ($P < 0.01$)，在低剂量处理组时达最大值。其他必需氨基酸的含量随*L*-茶氨酸剂量的增加先增加后降低，呈线性 ($P < 0.01$) 及二次方效应 ($P < 0.05$)，且在低剂量处理组达最大值。

2.3 血清中非必需氨基酸含量的变化

由表3可知，与对照组相比，低剂量处理组Asp、Glu、Gln和β-Ala含量显著升高 ($P < 0.05$)，中剂量处理组Asp、Glu、Gln、β-Ala和羟基脯氨酸 (Hypro) 含量显著升高 ($P < 0.05$)，高剂量处理组Ser、Ala、Pro、Cit、Tyr、Asn、Glu、Leu和Arg含量显著降低 ($P < 0.05$)，Gln、3-甲基组氨酸 (3-Mehis) 和Hypro含量显著升高 ($P < 0.05$)。*L*-茶氨酸处理组牛磺酸 (Tau) 和鸟氨酸 (Orn) 与对照组相比无显著影响 ($P > 0.05$)。大鼠血清中非必需氨基酸Ala、Tyr、Glu、Gln、3-Mehis和Hypro

的含量随*L*-茶氨酸剂量的增加呈线性效应 ($P < 0.05$)，Asp的含量随*L*-茶氨酸剂量的增加呈二次方效应 ($P < 0.01$)，其中，Ala、Glu和Asp在*L*-茶氨酸低剂量处理组时含量达到最大值，Tyr的含量随剂量的增加而降低，3-Mehis的含量随剂量的增加先降低后升高并在高剂量组达到最大值，Hypro的含量随*L*-茶氨酸剂量的增加而升高。Ser、Gly、Pro、Cit、Asn、Leu和Arg的含量随*L*-茶氨酸剂量的增加既呈线性又呈二次方效应，除Cit的含量随*L*-茶氨酸剂量的增加而降低以外，其他氨基酸都随*L*-茶氨酸剂量的增加先升高后降低，且在低剂量处理组达到最大值。

表 3 *L*-茶氨酸对血清中非必需氨基酸含量的影响
Table 3 Effect of *L*-theanine on free nonessential amino acids in serum

项目	含量/(μmol/L)				P值	
	0 mg/(kg·d)	50 mg/(kg·d)	200 mg/(kg·d)	400 mg/(kg·d)	一次回归	二次回归
蛋白质类						
Tau	118.57±1.00 ^a	134.90±10.64 ^a	119.78±1.00 ^a	101.22±1.00 ^{ab}	NS	NS
Ser	156.66±10.47 ^a	182.39±9.86 ^a	166.39±9.24 ^a	109.59±10.94 ^b	**	**
Gly	170.86±14.27 ^{ab}	202.50±13.43 ^a	200.62±13.11 ^a	133.85±14.27 ^b	*	**
Ala	260.85±20.10 ^a	304.78±18.92 ^a	261.97±17.74 ^a	163.19±20.10 ^b	***	NS
Pro	381.09±37.12 ^a	426.78±30.74 ^a	435.74±29.21 ^a	275.23±31.79 ^b	**	**
Cit	53.45±3.60 ^a	51.76±3.39 ^a	50.62±3.18 ^a	30.09±3.60 ^b	***	*
Tyr	53.43±3.81 ^a	47.86±3.59 ^a	47.72±3.36 ^a	31.77±3.98 ^b	**	NS
Orn	34.29±2.64 ^a	32.61±2.48 ^a	32.54±2.33 ^a	27.62±2.81 ^b	NS	NS
Asp	22.01±2.68 ^b	32.02±2.53 ^a	31.21±2.37 ^a	19.15±2.97 ^b	NS	**
Asn	46.96±5.73 ^a	59.44±5.54 ^a	56.88±5.06 ^a	30.01±6.35 ^b	*	**
Glu	87.81±4.89 ^b	106.19±4.53 ^a	91.91±4.13 ^a	73.28±6.47 ^c	*	NS
Gln	1753.89±108.60 ^b	2137.17±102.30 ^a	2194.37±95.90 ^a	2155.01±150.10 ^a	*	NS
Leu	98.34±7.61 ^a	114.79±7.16 ^a	98.37±6.72 ^a	65.72±7.61 ^b	**	*
Arg	103.22±7.46 ^a	122.83±7.02 ^a	109.86±6.58 ^a	61.81±7.46 ^b	***	**
非蛋白质类						
β-Ala	10.32±1.68 ^b	16.68±1.58 ^a	15.37±1.48 ^a	14.38±2.27 ^{ab}	NS	NS
3-Mehis	1.90±0.30 ^b	1.78±0.27 ^b	2.45±0.24 ^b	3.87±0.32 ^a	***	NS
Hypro	27.15±7.41 ^b	32.71±5.01 ^b	49.86±5.01 ^a	51.76±6.53 ^a	*	NS

注：Tau. 牛磺酸 (taurine)；Cit. 瓜氨酸 (citrulline)；Orn. 鸟氨酸 (ornithine)；3-Mehis. 3-甲基组氨酸 (3-methylhistidine)；Hypro. 羟基脯氨酸 (hydroxyproline)。

2.4 肝脏中必需氨基酸含量的变化

表 4 *L*-茶氨酸对肝脏中必需氨基酸含量的影响
Table 4 Effect of *L*-theanine on essential amino acids in liver

项目	含量/(mg/kg)				P值	
	0 mg/(kg·d)	50 mg/(kg·d)	200 mg/(kg·d)	400 mg/(kg·d)	一次回归	二次回归
Thr	150.63±9.39 ^b	136.96±10.34 ^b	233.67±9.07 ^a	130.16±9.80 ^b	NS	***
Val	154.22±12.88 ^b	157.25±15.23 ^b	276.26±12.44 ^a	139.85±12.88 ^b	NS	***
Met	81.47±6.30 ^b	77.43±6.57 ^b	142.34±6.08 ^a	71.96±6.30 ^b	NS	***
Ile	95.27±8.54 ^b	84.46±9.41 ^b	167.78±8.25 ^a	78.40±8.54 ^b	NS	***
Phe	125.79±11.32 ^b	118.31±12.23 ^b	219.42±11.32 ^a	123.17±11.72 ^b	NS	***
Lys	254.48±16.40 ^b	244.38±17.11 ^b	418.74±15.84 ^a	237.93±16.94 ^b	NS	***
His	108.85±5.70 ^b	107.23±5.90 ^b	158.21±5.70 ^a	92.07±5.70 ^b	NS	***

由表4可知,与对照组相比,肝脏中所有必需氨基酸的含量在中剂量组都显著升高($P<0.05$),随L-茶氨酸剂量的增加先降低后升高,在中剂量组达到最高值,且皆呈二次方效应($P<0.001$)。

2.5 肝脏中非必需氨基酸含量的变化

表5 L-茶氨酸对肝脏中非必需氨基酸的影响
Table 5 Effect of L-theanine on nonessential amino acids in liver

项目	含量/(mg/kg)				P值	
	0 mg/(kg·d)	50 mg/(kg·d)	200 mg/(kg·d)	400 mg/(kg·d)	一次回归	二次回归
蛋白质类						
Ser	220.47±12.91 ^b	204.85±13.47 ^b	335.52±12.47 ^a	202.62±12.91 ^b	NS	***
Gly	252.09±10.51 ^b	258.51±10.51 ^b	341.09±10.51 ^a	240.43±10.87 ^b	NS	***
Ala	304.09±15.70 ^b	269.79±16.25 ^{bc}	415.82±15.70 ^a	237.65±16.25 ^b	NS	***
Pro	766.48±32.17 ^{bc}	825.48±32.17 ^b	1 069.71±33.30 ^a	724.33±33.30 ^b	NS	***
Tyr	147.18±11.39 ^b	123.77±11.89 ^b	213.15±11.01 ^a	129.20±11.39 ^b	NS	***
Orn	161.32±10.51 ^b	153.61±10.97 ^b	273.60±10.16 ^a	154.31±10.51 ^b	NS	***
Asp	164.94±11.63 ^b	178.18±11.24 ^b	251.78±11.24 ^a	154.73±11.63 ^b	NS	***
Asn	103.14±8.37 ^b	87.87±8.74 ^b	183.25±8.37 ^a	87.39±8.37 ^b	NS	***
Glu	462.45±31.59 ^b	428.85±31.59 ^b	575.39±31.59 ^a	446.77±32.69 ^b	NS	*
Gln	1 696.74±202.10 ^b	2 210.30±202.10 ^{ab}	2 603.18±202.10 ^a	2 325.13±209.20 ^a	*	*
Leu	209.59±19.42 ^b	185.54±21.39 ^b	378.41±18.76 ^a	179.21±19.42 ^b	NS	***
Arg	7.88±1.38 ^{ab}	6.24±1.41 ^a	8.80±1.24 ^a	7.77±1.67 ^a	NS	NS
非蛋白质类						
β-Ala	32.70±3.52 ^{bc}	30.45±3.80 ^c	42.25±3.76 ^b	61.73±3.64 ^a	***	NS
P-Ser	14.62±1.53 ^b	19.29±2.05 ^{ab}	19.83±1.45 ^a	16.90±1.49 ^{ab}	NS	*
GABA	6.51±1.46 ^b	4.50±1.67 ^b	22.33±1.46 ^a	3.83±1.77 ^b	NS	***

注: P-Ser. 磷酸丝氨酸; GABA. γ-氨基丁酸(γ-aminobutyric acid)。

由表5可知,与对照组相比,肝脏中除Arg和β-Ala以外的非必需氨基酸的含量在中剂量处理组都显著升高($P<0.05$),Gln和β-Ala的含量在高剂量处理组显著升高($P<0.05$)。随L-茶氨酸剂量的增加β-Ala的含量呈线性效应($P<0.001$),Gln的含量既呈线性又呈二次方效应($P<0.05$),除Arg无显著影响外,其余氨基酸的含量都呈二次方效应($P<0.05$),且都在中剂量组含量达到最大值。

2.6 血清及肝脏中氨含量的变化

表6 L-茶氨酸对血清及肝脏中氨含量的影响
Table 6 Effect of L-theanine on ammonia in liver and serum

项目	0 mg/(kg·d)	50 mg/(kg·d)	200 mg/(kg·d)	400 mg/(kg·d)	P值	
					一次回归	二次回归
血清中氨含量/(μmol/L)	63.31±3.17 ^a	62.76±3.31 ^a	53.76±3.39 ^a	40.81±3.82 ^b	***	NS
肝脏中氨含量/(mg/kg)	37.92±1.43 ^a	30.21±1.43 ^b	37.25±1.43 ^a	33.80±1.48 ^{ab}	NS	NS

由表6可知,与对照组相比,血清中氨的含量在高剂量组显著降低($P<0.05$),肝脏中氨的含量在低剂量组显著降低($P<0.05$)。血氨的含量随L-茶氨酸剂量的增加线性降低($P<0.001$),且在高剂量组达到最小值。

3 讨论

本研究发现,L-茶氨酸灌胃增加了断乳大鼠的日增质量与末体质量。该结果与前人的研究并不一致。据报道^[21],含0.04%L-茶氨酸饲料喂养雌性小鼠16周,体质量增重及腹腔内脂肪质量显著降低。用含80 mg/kg L-茶氨酸的饲料饲喂断乳仔猪,发现仔猪生产性能无明显差别^[25]。含100、200、400、800 mg/kg L-茶氨酸的饲料饲喂黄羽肉鸡,1~3周100 mg/kg L-茶氨酸组的体质量增重显著低于其他各组,1~7周的体质量增重无显著影响,但其他茶氨酸饲喂组略高于对照组($P=0.074$)^[9]。这可能是实验动物的种属、生长阶段以及处理时间不同导致。

本实验发现,在中剂量组必需氨基酸(Thr、Met、Ile、Lys、His、Phe、Val)及多数非必需氨基酸(Gly、Ser、Ala、Tyr、β-Ala、Orn、Pro、P-Ser、GABA、Asp、Asn、Glu、Gln、Leu)的含量在肝脏中显著升高,但在血清中仅His、β-Ala、Hypro、Asp、Glu、Gln的含量显著升高。此外,断乳大鼠血清中大多数氨基酸(Thr、Val、Met、Ile、Lys、Ser、Ala、Pro、Cit、Tyr、Asn、Glu、Leu、Arg)在高剂量组显著降低,但对肝脏中相应的氨基酸却无显著影响,由此说明血液和肝脏中氨基酸的合成与代谢与L-茶氨酸的剂量相关,且L-茶氨酸对不同器官的氨基酸代谢存在不同的调控机制。Terashima等^[21]研究表明灌胃4 g/kg(以体质量计,下同)的L-茶氨酸24 h内,肝脏中Gly、Phe和Gln含量增加,血清中Glu和Asp含量增加,而Met和Lys含量减少。这一结果与本研究结果一致。而Terashima等^[21]发现大鼠肝脏中Ala的含量随着用药时间逐渐减少,却与本研究结果正好相反。这可能是由于L-茶氨酸灌胃剂量和处理时间不同造成的。

由于必需氨基酸只能通过食物获得,因此必需氨基酸含量的升高表明200 mg/(kg·d) L-茶氨酸灌胃能够促进机体对日粮中氨基酸的吸收。本实验还发现,肝脏中含量升高的氨基酸大部分为生糖氨基酸(Gly、Ser、Ala、Met、His、Val、Pro、Asp、Asn、Glu、Gln)或兼性生糖氨基酸(Thr、Ile、Phe、Tyr),生糖氨基酸能在动物体内代谢生成葡萄糖,参与供能^[26],氨基酸的分解代谢转化主要在肝脏中进行,肝脏中生糖氨基酸含量增多,表明供能充足;在供能充足的情况下氨基酸通常不参与或很少参与供能,而作为合成蛋白质的原料^[27]。所以推测L-茶氨酸能够促进断乳大鼠机体蛋白质的合成,从而增加日增质量和末体质量。

Gln是机体内最丰富的氨基酸,占全部游离氨基酸一半以上。Gln可作为高效的供能物质,是肝糖原衍生的重要底物;在神经组织中又是神经递质的前体物质,还

是血液中排氨的重要物质。此外, Gln还能增强免疫力, 抗肿瘤^[28-30]、维护肠道健康^[31-34], 增加蛋白质合成^[35]等作用。本研究表明, *L*-茶氨酸处理组中大鼠肝脏及血液中Gln含量与对照组相比都显著升高, 推测*L*-茶氨酸可促进大鼠肝脏糖原异生能力, 增强大鼠的免疫力, 促进机体蛋白质的合成。

L-茶氨酸通过机体代谢可水解为Glu, Glu是脑内含量最多的氨基酸, 是中枢神经系统的兴奋性神经递质^[36], 可由Gln水解而来。Glu能与一些组织中的氨作用生成Gln, 运输到肝脏生成尿素排出体外从而调节体内氨水平^[37]。本研究发现, 大鼠血清中Glu的含量在低、中剂量处理组显著升高, 高剂量处理组显著降低, 肝脏中的含量在中剂量处理组显著升高。这可能是与Glu在体内和谷氨酰胺的相互转换以及不同组织中含量不同相关。本研究结果与前人的研究结果相吻合, Sugiyama等^[22]研究发现用100 mg/(kg·d)的*L*-茶氨酸给小鼠腹腔注射用药, 其肝脏中Glu含量显著增加, Terashima等^[21]用4 g/kg的*L*-茶氨酸灌胃大鼠, 大鼠血清中Glu含量随时间延长逐渐增加。

氨在机体含量过高会降低大脑内的ATP水平, 进而影响神经元的功能和神经细胞的新陈代谢^[38]。肝脏是其主要代谢场所, 血液中氨的来源主要为体内蛋白质代谢以及肠道微生物分解。本实验发现, 血氨含量随*L*-茶氨酸剂量的增加而减少, 肝脏中氨含量在低剂量处理组显著降低($P<0.05$), 高剂量处理组呈降低趋势。究其原因, *L*-茶氨酸通过增加血液和肝脏中Glu与Gln含量从而促进排氨, 减少氨在肝脏和血液中的含量, 从而降低氨对大鼠器官组织的毒害。

综上所述, *L*-茶氨酸能够促进大鼠生长和对日粮氨基酸的吸收, 调节血清及肝脏中氨基酸的含量, 且具有剂量效应; 升高血液及肝脏中Glu和Gln的含量, 从而显著降低游离氨的含量。本研究初步证实了*L*-茶氨酸对幼龄动物营养物质的代谢具有调控作用, 这为*L*-茶氨酸的代谢和生理功能的深入研究提供了必要的基础资料。

参考文献:

- [1] SAKATO Y. The chemical constituents of tea: III. A new amide theanine[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1949, 23: 262-267.
- [2] GASHIRA N, ISHIGAMI N, PU Fengling, et al. Theanine prevents memory impairment induced by repeated cerebral ischemia in rats[J]. Phytotherapy Research, 2007, 22(1): 65-68. DOI:10.1002/ptr.2261.
- [3] YAMADA T, TERASHIMA T, HONMA H, et al. Effects of theanine, a unique amino acid in tea leaves, on memory in a rat behavioral test[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2008, 72(5): 1356-1359. DOI:10.1271/bbb.70669.
- [4] 胡安拉, 李李, 胡传来, 等. 茶氨酸体外对人胃癌细胞MGC803增殖的作用及与阿霉素的联合作用[J]. 营养学报, 2010(1): 60-63. DOI:10.13325/j.cnki.acta.nutr.sin.2010.01.033.
- [5] 莫贵艳, 李敏, 胡成平, 等. 茶氨酸对上皮细胞生长及肺癌血管生成的影响[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(20): 2043-2046. DOI:10.16016/j.1000-5404.2012.20.028.
- [6] 李艳东, 郑建云, 刘冰, 等. 茶氨酸对鼻咽癌细胞CNE2增殖及凋亡影响的研究[J]. 山西医科大学学报, 2011(8): 633-635. DOI:10.3969/j.issn.1007-6611.2011.08.006.
- [7] KENTARO N, ERI Y, KAZUKI N, et al. Altered levels of oxidation and phospholipase C isozyme expression in the brains of theanine-administered rats[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2008, 31(5): 857-860. DOI:10.1248/bpb.31.857.
- [8] LI Guilan, YE Yin, KANG Jingjing, et al. *L*-Theanine prevents alcoholic liver injury through enhancing the antioxidant capability of hepatocytes[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(2): 363-372. DOI:10.1016/j.fct.2011.10.036.
- [9] 文慧, 魏时来, 张石蕊, 等. *L*-茶氨酸对黄羽肉鸡生产性能和免疫功能的影响[J]. 动物营养学报, 2012(10): 1946-1954. DOI:10.3969/j.issn.1006-267x.2012.10.014.
- [10] 谭俊峰, 林智, 李靛. 茶氨酸复合制剂增强免疫力的功能研究[J]. 茶叶科学, 2012(3): 224-228. DOI:10.13305/j.cnki.jts.2012.03.001.
- [11] BUKOWSKI J F, PERCIVAL S S. *L*-Theanine intervention enhances human gamma delta T lymphocyte function[J]. Nutrition Reviews, 2008, 66(2): 96-102. DOI:10.1111/j.1753-4887.2007.00013.
- [12] 谭俊峰, 林智, 彭群华, 等. 茶氨酸复合制剂缓解体力疲劳功能评价[J]. 茶叶科学, 2012(6): 530-534. DOI:10.13305/j.cnki.jts.2012.06.006.
- [13] 彭彬, 刘仲华, 林勇, 等. *L*-茶氨酸改善慢性应激大鼠抑郁行为作用研究[J]. 茶叶科学, 2014(4): 355-363. DOI:10.3969/j.issn.1000-369X.2014.04.007.
- [14] LU K, GRAY M A, OLIVER C, et al. The acute effects of *L*-theanine in comparison with alprazolam on anticipatory anxiety in humans[J]. Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental, 2004, 19(7): 457-465. DOI:10.1002/hup.611.
- [15] TIAN Xia, SUN Lingyan, GOU Lingshan, et al. Protective effect of *L*-theanine on chronic restraint stress-induced cognitive impairments in mice[J]. Brain Research, 2013, 15(3): 24-32. DOI:10.1016/j.brainres.2013.01.048.
- [16] GONG Yushun, LUO Yunfeng, HUANG Jianan, et al. Theanine improves stress resistance in *Caenorhabditis elegans*[J]. Journal of Functional Foods, 2012, 4(4): 988-993. DOI:10.1016/j.jff.2012.04.005.
- [17] ESCHENAUER G, SWEET B V. Pharmacology and therapeutic uses of theanine[J]. American Journal of Health-System Pharmacy, 2006, 6(3): 26; 28-30. DOI:10.2146/ajhp050148.
- [18] KITAOKA S, HAYASHI H, YOKOGOSHI H, et al. Transmural potential changes associated with the *in vitro* absorption of theanine in the guinea pig intestine[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1996, 60(11): 1768-1771. DOI:10.1271/bbb.60.1768.
- [19] UNNO T, SUZUKI Y, KAKUDA T, et al. Metabolism of theanine, gamma-glutamylethylamide, in rats[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(4): 1593-1596. DOI:10.1021/jf981113t.
- [20] REEDS J P, BURRIN G D, STOLL B, et al. Intestinal glutamate metabolism[J]. Journal of Nutrition, 2000, 130: 978-982.
- [21] TERASHIMA T, TAKIDO J, YOKOGOSHI H, et al. Time-dependent changes of amino acids in the serum, liver, brain and urine of rats administered with theanine[J]. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 1999, 63(4): 615-618. DOI:10.1271/bbb.63.615.
- [22] SUGIYAMA T, SADZUKA Y. Theanine, a specific glutamate derivative in green tea, reduces the adverse reactions of doxorubicin by changing the glutathione level[J]. Cancer Letters, 2004, 212(2): 177-184. DOI:10.1016/j.canlet.2004.03.040.

- [23] TAKAGI Y, KURIHARA S, HIGASHI N. Combined administration of *L*-cystine and *L*-theanine enhances immune functions and protects against influenza virus infection in aged mice[J]. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2010, 72(2): 157-165. DOI:10.1292/jvms.09-0067.
- [24] 项华, 章晓玲, 查捷, 等. SD大鼠生长发育指标和主要脏器正常参考值的探讨[J]. *中国卫生检验杂志*, 2008, 18(2): 299-301. DOI:10.3969/j.issn.1004-8685.2008.02.043.
- [25] HWANG Y, PARK B, LIM J, et al. Effects of β -glucan from *Paenibacillus polymyxa* and *L*-theanine on growth performance and immunomodulation in weanling piglets[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2008, 21: 1753-1759.
- [26] BATTEZZATI A, RISO P. Amino acids: fuel, building blocks for proteins, and signals[J]. *Nutrition*, 2002, 18(9): 773-774. DOI:10.1016/S0899-9007(02)00898-5.
- [27] WU Guoyao. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition[J]. *Amino Acids*, 2009, 37(1): 1-17. DOI:10.1007/s00726-009-0269-0.
- [28] 王文渊, 梁小波, 王文达. 大肠癌术后应用丙氨酰-谷氨酰胺的临床观察[J]. *临床医学实践*, 2005, 14(2): 118-119. DOI:10.3969/j.issn.1671-8631.2005.02.01.
- [29] 张万红, 苏长春. 国内谷氨酰胺强化的肠外营养对胃癌患者免疫功能影响的Meta分析[J]. *中华普通外科学文献*, 2011, 5(4): 343-346. DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0793.2011.04.020.
- [30] 赵岩, 张楚辞, 郑国良, 等. 添加丙氨酰谷氨酰胺的胃肠外营养对存在营养风险的胃癌根治术患者免疫功能、营养状态及术后恢复的临床意义[J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(19): 3693-3697. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2012.19.048.
- [31] 王晶. 注射用丙氨酰谷氨酰胺联合肠内营养在重症患者中的疗效观察[J]. *吉林医学*, 2013, 34(6): 1071. DOI:10.3969/j.issn.1004-0412.2013.06.061.
- [32] 林燕. 谷氨酰胺对幼建鲤肠道功能和免疫力的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2005.
- [33] 张军民. 谷氨酰胺对早期断奶仔猪肠道的保护作用及其机理研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2000.
- [34] 何秋颖, 孙梅. 谷氨酰胺对甲氨蝶呤所致大鼠肠U膜炎症的保护作用[J]. *现代肿瘤医学*, 2015(4): 457-460.
- [35] OEHLER R, ROTH E. Regulative capacity of glutamine[J]. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 2003, 6(3): 277-282. DOI:10.1097/01.mco.0000068962.34812.ac.
- [36] HINOI E, TAKARADA T, UNO K, et al. Glutamate suppresses osteoclastogenesis through the cystine/glutamate antiporter[J]. *American Journal of Pathology*, 2007, 170(4): 1277-1290. DOI:10.2353/ajpath.2007.061039.
- [37] 王秋菊, 许丽, 范明哲. 谷氨酸和谷氨酰胺转运系统的研究进展[J]. *动物营养学报*, 2011(6): 901-907.
- [38] 刘北航. 血氨检验方法以及临床意义[J]. *中外健康文摘*, 2010, 7(22): 142-143. DOI:10.3969/j.issn.1672-5085.2010.22.117.