

· 实验工艺与经验 ·

剧烈运动对尿中乳酸含量的影响

江培红, 陆红

(复旦大学 生命科学学院生物化学教学实验室, 上海 200433)

摘要: 生物化学教学实验室在学生自选实验的基础上, 探索用分光光度法对人体运动前后尿中乳酸含量进行测定。实验得出静止时人体乳酸含量约为 0.3 mmol/L , 剧烈运动后提高 50~300 倍的结论, 具体提高倍数视个体和运动程度而有所差异, 运动后休息 2h 左右尿乳酸含量可恢复正常。该实验在本科生教学实验中试做, 效果良好, 有利于加深同学们对 Cori 循环的理解。

关键词: 尿乳酸; 分光光度法; Cori 循环

中图分类号: Q 446

文献标识码: B

文章编号: 1006-7167(2002)04-0084-02

Effect on Lactic Acid in Urine by Strenuous Exercise

J IANG Pei-hong, LU Hong

(School of Life Sciences, Fudan Univ., Shanghai 200433, China)

Abstract: In our teaching lab based on optional experiments for students, a new experiment was designed to determine the quantities of lactic acid in human urine by spectrophotometry before and after exercise. The method for sampling is simple, convenient and accurate. The results show that the concentration of lactic acid in urine when at rest is 0.3 mmol/L and after strenuous exercise the concentration increases by 50 to 300 times which differs according to the difference of the individual subjects and the intensities of exercises. Rest of 2 hours after exercise can make the concentration of lactic acid in urine drop to the normal level. The experiment improved by our lab staff was tested among undergraduates. By deeping the understanding of Cori cycle in students it has a good teaching effect.

Key words: lactic acid in urine; spectrophotometry; Cori cycle

人体正常代谢情况下, 供能来自于葡萄糖有氧代谢, 血乳酸含量很低, 因而尿乳酸含量极少。人体剧烈运动时, 肌体在氧供应相对不足的情况下, 糖酵解作用加强, 此时大部分能量来自 Cori 循环, 生成的大量乳酸由尿中排出, 从而导致尿中乳酸含量激增。其原理如图 1 所示。

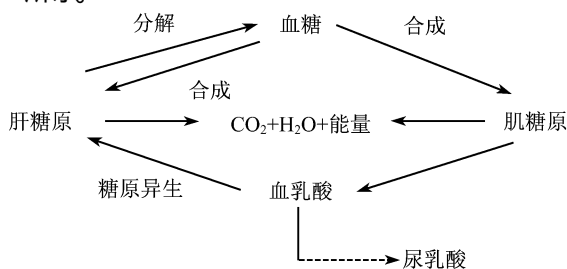


图 1 Cori 循环示意图

从可以检索查到的实验方法来看, 血乳酸含量的定量测定实验已有成熟的方法, 但对于学生实验来说, 取样太复杂, 身体肌肤受损, 不宜为学生所接受; 而尿乳酸含量测定只有定性实验, 无定量实验方法可寻。我们实验小组将上述两种方法取长补短, 设计和尝试了测定人体运动前后尿乳酸含量的定量测定方法, 让同学们以自己的代谢产物为样本, 实实在在地将抽象的生化代谢循环化为实验的具体数字来理解, 不仅加深了同学们对 Cori 循环的理解, 而且极大地提高了同学们的实验兴趣, 增强了学生相互之间的协作能力、动手能力和思维能力。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器

试管及试管架

- 容量瓶
- 离心机
- 漏斗
- 水浴锅
- 煤气
- 恒温水浴装置
- 滴管
- 751 分光光度仪

1.1.2 试剂

钨酸试剂: 10% 钨酸钠, 0.667mol/L 硫酸, 使用前

1.1.1 稀释

硫酸铜(4%)

浓硫酸

硫酸(1mol/L)

氢氧化钠(0.5%)

对羟基联苯(1.5%, 以0.5% 氢氧化钠配)

乳酸标准液: 40μg/mL。

1.2 实验原理

乳酸与浓硫酸共热可以生成乙醛, 在铜离子存在的情况下, 能与对羟基联苯作用生成在 560nm 处有特征吸收的有色物质, 在一定范围内, 乳酸浓度和 560nm 的光吸收呈线性关系, 因此可以通过测定 560nm 处的光吸收而对乳酸进行定量。

1.3 实验方法

1.3.1 取尿样

尿样 1: 禁食 5h 后(早晨起床), 排尿弃去, 饮水 200mL, 30min 后取尿样(此过程中勿运动), 即为正常静止时尿样;

尿样 2: 饮水 200mL 后, 剧烈运动至腿酸, 30min 后取尿样, 即为运动后尿样;

尿样 3: 运动后休息 2h, 排尿弃去, 饮水 200mL, 30min 后取尿样, 即为休息后尿样。

1.3.2 尿样的预处理

2mL 尿样加入 2mL 钨酸试剂混匀, 室温放置 15min 后 10 000r/min 离心 1min, 取上清, 上清加入 0.3g 活性炭, 反复摇后置室温 30min, 过滤, 待用。

1.3.3 标准曲线的绘制

40μg/mL 乳酸标准液同尿样同样预处理后, 按下表数量在预先编好号的试管中加入乳酸和水。

	mL						
	试管号						
	1	2	3	4	5	6	7
滤液	0.00	0.15	0.30	0.45	0.60	0.75	0.90
水	1.00	0.85	0.70	0.55	0.40	0.25	0.10

各管中分别加入 4 滴 4% 硫酸铜, 混匀后, 冷水浴中加入 5mL 浓硫酸, 边加边摇, 然后沸水浴 4min 后冷

至 15℃ 以下, 加入 0.25mL 对羟基联苯, 摇匀使白色絮状物散开, 置 30℃ 水浴中保温 30min, 每隔 10min 摇一次, 然后沸水浴 2min 使溶液澄清透明, 各管冷至室温, 以管 1 为对照, 测定 560nm 处的光吸收。所得数据以乳酸含量为横坐标, 以 560nm 处的光吸收为纵坐标, 作标准曲线。

1.3.4 尿中乳酸含量的测定

尿样 1 和尿样 3 的滤液稀释 2 倍, 尿样 2 的滤液稀释 50 倍后, 按下表数量在预先编好号的试管中加入乳酸和水。

	mL						
	样 品						
	空白对照	尿样 1		尿样 2		尿样 3	
试管号	1	2	3	4	5	6	7
滤液	0.00	0.20	0.40	0.30	0.60	0.20	0.40
水	1.00	0.80	0.60	0.70	0.40	0.80	0.60

然后按标准曲线的测定方法测定尿样在 560nm 处的光吸收。所得数据在标准曲线上查得相应的乳酸含量, 乘以稀释倍数即为尿样中的乳酸含量。

2 结果与讨论

三个班 80 位同学的实验结果得出静止时人体乳酸含量约为 0.3mmol/L, 剧烈运动后提高 50~300 倍的结论, 具体提高倍数视个体和运动程度而有所差异, 运动后休息 2h 左右尿乳酸含量可恢复正常。

在改进实验的过程中, 针对尿样和血样的区别, 在尿样的预处理中加入了活性炭脱色, 钨酸试剂去杂质的步骤, 尽可能地消除其他因素对测定的影响, 并且实验中将乳酸标准液进行同步处理, 以保证对照和所测样品背景的一致性。对比实验证明改进效果良好。

为了将各尿样的测定值落在标准曲线之内, 反复进行了稀释度的调整, 按本文所列稀释度各尿样基本上都会有一个数据落在标准曲线的线形范围内, 从而保证实验数据的可信性。

综上所述, 本实验的选择和改进是可信、可行和成功的。经过我们的不懈努力, “剧烈运动对尿中乳酸含量的影响”可以作为一个成熟的实验为本科生开设。

参考文献:

[1] 方家驹, 等. 生物化学教程[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1972
 [2] 贵州医学院, 衡阳医学院, 广州医学院, 湛江医学院和汕头大学医学院生物化学教研室. 生物化学实验[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1988
 [3] Miller B. F. and Muntz J. A. J. Biol Chem [J]. 1938, (126): 413
 [4] Barker S. B. and Summerson W. M. Ibid [J]. 1941, (138): 535

第一作者简介: 江培(1969-), 女, 博士, 讲师。