

L-karnitin jako aditivum potravinových doplňků

Zuzana Nohálová

Bakalářská práce
2006



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav potravinářského inženýrství a chemie
akademický rok: 2005/2006

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Zuzana NOHÁLOVÁ**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **L-carnitin jako aditivum potravinových doplňků**

Zásady pro vypracování:

- 1. teorie aminokyselin a peptidů**
- 2. výskyt L-carnitinu**
- 3. fyziologie L-carnitinu, jeho vliv na lidské zdraví**
- 4. výběr metod pro potencionální stanovení L-carnitinu**
- 5. příloha – preparáty s L-carnitinem**

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Dle doporučení vedoucího BP.

Vedoucí bakalářské práce:

prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.

Ústav potravinářského inženýrství a chemie

Datum zadání bakalářské práce:

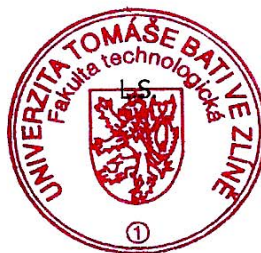
10. října 2005

Termín odevzdání bakalářské práce:

31. května 2006

Ve Zlíně dne 20. dubna 2006


prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
děkan




prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Abstrakt česky

Bakalářská práce je zaměřena na možnosti použití L-karnitinu jako aditiva potravinových doplňků. Zabývá se teorií aminokyselin a peptidů, výskytem a fyziologií L-karnitinu, jeho vlivem na lidské zdraví. Dále se věnuje výběru metod pro potencionální stanovení L-karnitinu.

Klíčová slova: L-karnitin, aminokyseliny, IEC, HPLC

ABSTRACT

Abstrakt ve světovém jazyce

The thesis presents possibilities to use of L-carnitine like aditive substance of food supplements. It includes theory of aminoacids and peptides. It deals with occurence and physiology of L-carnitine, naturally its influence on humain health. Hereafter, the thesis will focused on insert selection methods for its analysis.

Keywords: L-carnitine, aminoacids, IEC, HPLC

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu prof. Ing. Ignáci Hozovi, CSc. za odborné vedení a spolupráci a také Ing. Daniele Kramářové, Ph.D. za cenné rady při zpracování bakalářské práce.

OBSAH

ÚVOD	7
I TEORETICKÁ ČÁST	8
1 AMINOKYSELINY A PEPTIDY	9
1.1 DĚLENÍ A VÝSKYT AMINOKYSELIN	9
1.2 VLASTNOSTI AMINOKYSELIN.....	12
1.3 PEPTIDY	15
1.3.1 Oligopeptidy.....	16
2 L-KARNITIN	17
2.1 CHEMICKÁ STRUKTURA L-KARNITINU.....	17
2.2 VÝSKYT A ÚČINEK L-KARNITINU	18
3 FYZIOLOGIE L-KARNITINU	24
3.1 ODBOURÁVÁNÍ LIPIDŮ.....	24
3.1.1 Mastné kyseliny	24
3.2 B-OXIDACE MASTNÝCH KYSELIN	27
4 STANOVENÍ L-KARNITINU CHROMATOGRAFICKY	33
4.1 VYSOCE ÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRRAFIE (HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY - HPLC).....	35
4.2 IONTOMĚNIČOVÁ CHROMATOGRRAFIE AMINOKYSELIN - IEC	35
4.2.1 Iontoměniče	36
4.2.2 Příprava vzorků	37
4.2.2.1 Hydrolýza kyselinou chlorovodíkovou.....	37
4.2.2.2 Bazická hydrolýza.....	39
4.2.2.3 Příprava tkáňových extraktů pomocí kyseliny pikrové	39
4.2.3 Stanovení L-karnitinu.....	40
ZÁVĚR	42
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	44
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	47
SEZNAM OBRÁZKŮ	48
SEZNAM TABULEK	49
SEZNAM PŘÍLOH	50

ÚVOD

V dnešní době se lidé ženou za úspěchem a málokdo pomýšlí na to, že to nejdůležitější co máme je naše zdraví. Lékařská věda kráčí doslova milovými kroky, ale v některých případech je i ona zatím krátká. Ještě stále existují choroby a onemocnění, která dokáží lidský organismus poškodit natolik, že případná léčba bohužel nestačí a pacient již nemůže vést plnohodnotný život a je odkázán na léky, popř.přístroje, které se mu alespoň z části snaží usnadnit jeho život. Je tedy velmi důležité vážit si vlastního zdraví a hledat cesty jak nemocem předcházet, protože nejlepší léčbou je prevence. Dalším velmi závažným problémem, který se dnes již řadí mezi celosvětové onemocnění je obezita. Vzniká při nevyváženém energetickém příjmu a výdaji.

Jedna z látek, která napomáhá v boji proti některým civilizačním chorobám je L-karnitin. Dnes se tomuto doplňku stravy začíná věnovat široká pozornost a jsou na toto téma vedené odborné studie a výzkumy. Přestože byl poprvé izolován již v roce 1905, začíná se o jeho pozitivních účincích na lidský organismus hovořit až dnes. Jde o látku tělu vlastní, která dokáže přetvářet "tuky na energii". Nefunguje jako univerzální spalovač tuků jak by se mohlo na první pohled zdát, ale jako látka, která ve spojení s fyzickou aktivitou urychluje přenos mastných kyselin přes membránu mitochondrií a tak napomáhá zmenšování tukových zásob. Největší množství L-karnitinu se vyskytuje v mase. Obecně platí, že čím je maso "červenější" na pohled, tím více L-karnitinu obsahuje.

Dnes se L-karnitin podává jako doplněk stravy různým skupinám osob, pro něž je jeho vyšší příjem důležitý, např. vrcholovým sportovcům, těhotným ženám, seniorům, či lidem trpícím obezitou.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 AMINOKYSELINY A PEPTIDY

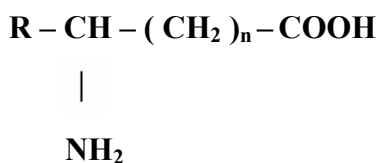
V přírodě se vyskytuje množství sloučenin, jejichž základními stavebními jednotkami jsou aminokyseliny, které jsou navzájem propojeny amidovou vazbou (-CO-NH-), která se nazývá peptidová vazba. Za proteiny jsou považovány sloučeniny, které obsahují 2 až 100 monomerních jednotek aminokyselin. [1]

1.1 Dělení a výskyt aminokyselin

Aminokyseliny jsou stavebními kameny bílkovin a uvolňují se při jejich hydrolyze. V přírodě bylo doposud nalezeno kolem 700 druhů aminokyselin. Běžně se však vyskytuje jen 20 základních, ty označujeme jako kódované aminokyseliny. Za aminokyseliny považujeme sloučeniny, které obsahují ve své molekule alespoň jednu primární aminoskupinu -NH₂ a současně alespoň jednu karboxylovou skupinu -COOH. Všechny ostatní aminokyseliny, mezi něž se řadí i L-karnitin označujeme termínem méně obvyklé aminokyseliny. [2,3]

Podle vzdálenosti aminoskupiny od karboxylové skupiny rozlišujeme aminokyseliny na:

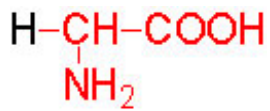
- α – aminokyseliny, n = 0
- β – aminokyseliny, n = 1
- γ – aminokyseliny, n = 2
- δ – aminokyseliny, n = 3
- ε – aminokyseliny, n = 4



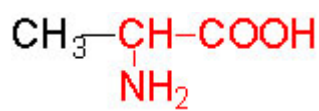
Podle charakteru řetězce můžeme aminokyseliny dělit na:

1) alifatické neutrální aminokyseliny

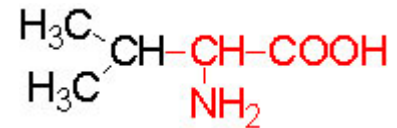
Glycin (Gly)



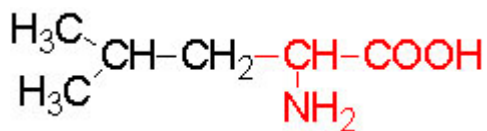
Alanin (Ala)



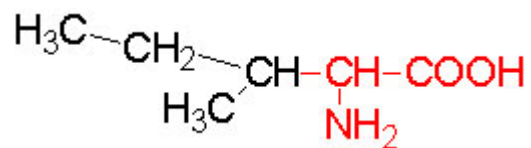
Valin (Val)



Leucin (Leu)

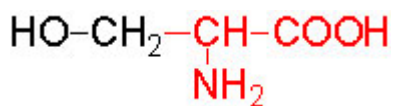


Isoleucin (Ile)

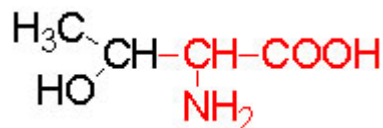


2) hydroxyaminokyseliny

Serin (Ser)

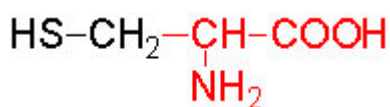


Threonin (Thr)

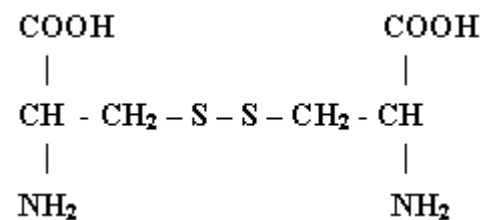


3) sirné aminokyseliny

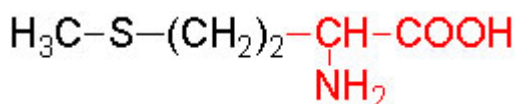
Cystein (Cys)



Cystin

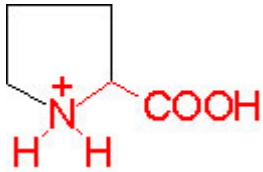


Methionin (Met)

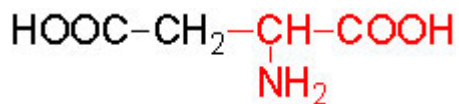


4) iminové aminokyseliny

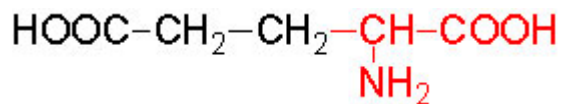
Prolin (Pro)

**5) kyselé aminokyseliny a jejich amidy**

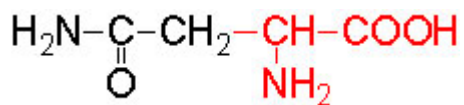
Kyselina asparagová (Asp)



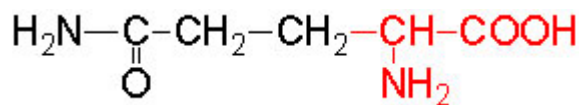
Kyselina glutamová (Glu)



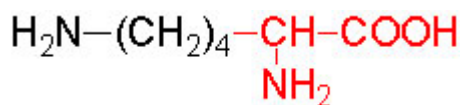
Asparagin (Asn)



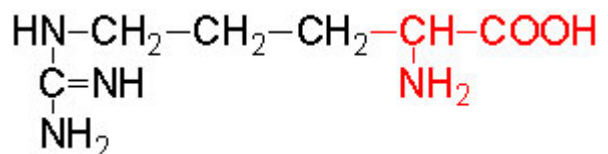
Glutamin (Gln)

**6) bazické aminokyseliny**

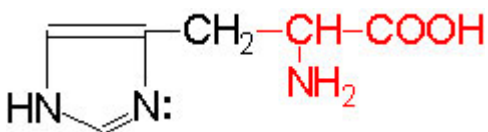
Lysin (Lys)



Arginin (Arg)



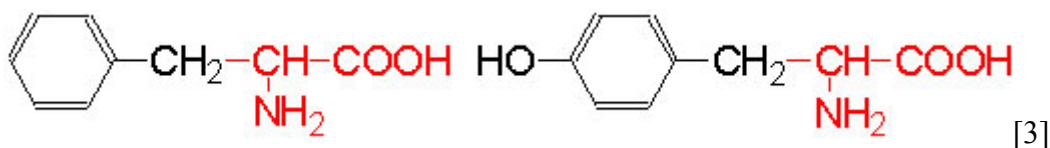
Histidin (His)



7) aromatické aminokyseliny

Fenylalanin (Phe)

Tyrosin (Tyr)

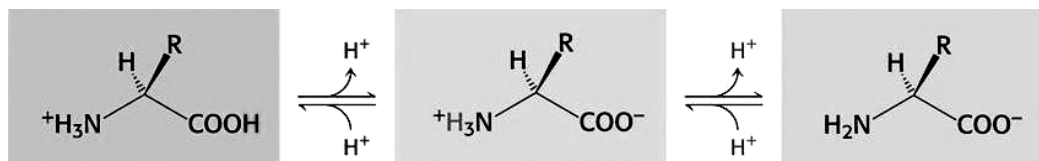


Některé kódované aminokyseliny mohou být v organismu člověka syntetizovány z jiných aminokyselin, glukosy, mastných kyselin a jiných prekurzorů. Jsou však i takové aminokyseliny, které si člověk není schopen syntetizovat vůbec a musí je získávat výhradně z potravy. Tyto aminokyseliny nazýváme aminokyseliny **esenciální**. Řadíme zde valin, leucin, isoleucin, threonin, methionin, lysin, fenylalanin a tryptofan. [1]

U rychle rostoucích organismů (malých dětí, dospívající) se stávají esenciálními aminokyselinami i arginin a histidin, které jsou někdy nazývány jako **semiesenciální** aminokyseliny. Všechny doposud nejmenované aminokyseliny můžeme nazvat jako **neesenciální**. [3]

1.2 Vlastnosti aminokyselin

Vzorce aminokyselin jsou většinou uváděny v neionizovaných formách. Ty se však ve vodných roztocích ve skutečnosti prakticky nevyskytují. Aminokyseliny jsou totiž vnitřně ionizovány a tvoří tzv. vnitřní soli (Obr. 1), které nesou současně kladný i záporný náboj. Iontové formy jsou převládající formou aminokyselin v neutrálním prostředí. Tyto vnitřní soli jsou příčinou vysokých bodů tání či rozkladu (200°C) aminokyselin. Důležitou vlastností aminokyselin je jejich dipolární charakter molekuly. Právě díky němu se aminokyseliny chovají jako soli. Většina aminokyselin je dobře rozpustná ve vodě a slabě rozpustná v organických rozpouštědlech. V závislosti na pH prostředí se mohou chovat jako kyseliny nebo zásady. Proto aminokyseliny řadíme mezi látky amfoterní neboli amfolyty. Hodnota pH, při které je amfolyt stejně disociován v obou svých funkcích (tj. projevuje se ve stejné míře jako kyselina i jako zásada), se nazývá isoelektrický bod pI. V izoelektrickém bodě je maximální koncentrace obojetných iontů. [1,3,4]



Obr. 1 Amfiont

Aminokyseliny vykazují taktéž **optickou aktivitu**. S výjimkou glycinu mají všechny ostatní aminokyseliny chirální atom uhlíku v poloze α ke karboxylové skupině. Každá z nich proto poskytuje dva opticky aktivní isomery L a D (Obr. 2), enantiomery. V bílkovinách se vyskytují aminokyseliny převážně v L-konfiguraci. Aminokyseliny řady D se v přírodě vyskytují jen ojediněle, např. v buněčné stěně bakterií nebo v antibiotikách peptidového charakteru. [1]

Některé volné aminokyseliny jsou stejně jako některé nižší peptidy **senzoricky aktivními látkami** a mohou proto ovlivňovat organoleptické vlastnosti potravin.

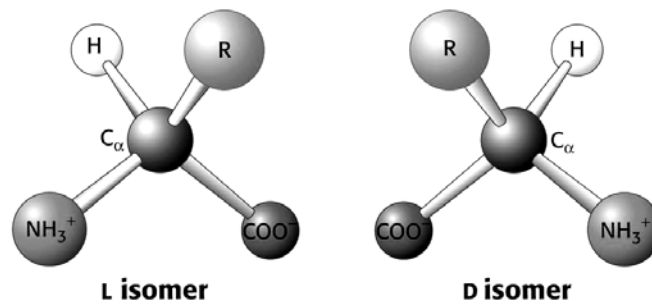
Podle organoleptických vlastností, které vykazují, rozlišujeme aminokyseliny na:

- sladké (glycin, alanin, threonin, prolin)
- kyselé (asparagová a glutamová kyselina)
- hořké (leucin, isoleucin, fenylalanin, tyrosin a tryptofan)
- indiferentní (ostatní aminokyseliny)

Aminokyseliny se jako chuťové látky uplatňují u potravin, při jejichž výrobě probíhá intenzivní proteolýza, např. u některých sýrů, masa či ryb. Zcela výjimečné organoleptické vlastnosti má kyselina glutamová, resp. její sodná sůl. Je slaná, ale navíc vykazuje tzv. chuť *umami*, proto se používá její sůl jako aditivní látka, neboli intenzifikátor chuti masových a zeleninových pokrmů a pro výrobu kořeních přípravků. [1]

Tab. 1 Názvy a symboly základních kódovaných aminokyselin

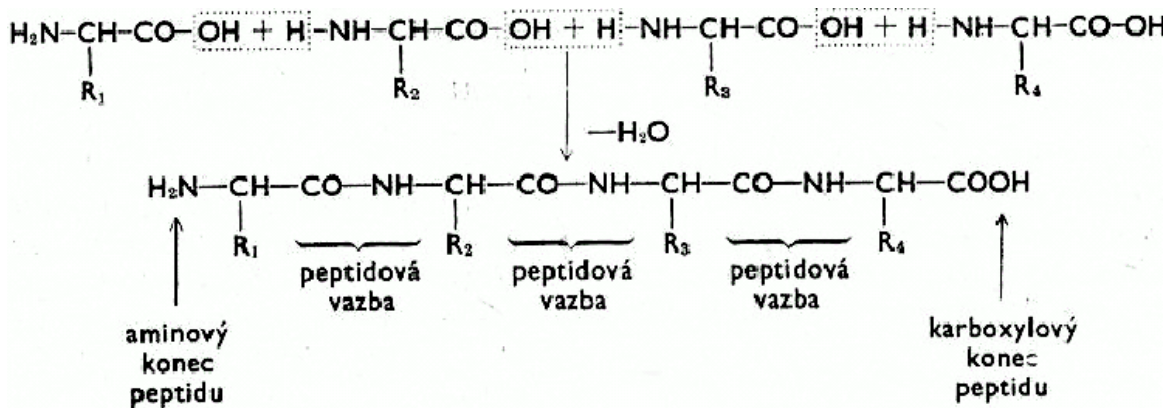
Triviální název	Symboly	
glycin	Gly	G
L-alanin	Ala	A
L-valin	Val	V
L-leucin	Leu	L
L-isoleucin	Ile	I
L-serin	Ser	S
L-threonin	Thr	T
L-cystein	Cys	C
L-methionin	Met	M
L-asparagová kyselina	Asp	D
L-glutamová kyselina	Glu	E
L-asparagin	Asn	N
L-glutamin	Gln	Q
L-lysin	Lys	K
L-arginin	Arg	R
L-histidin	His	H
L-fenylalanin	Phe	F
L-tyrosin	Tyr	Y
L-tryptofan	Trp	W
L-prolin	Pro	P



Obr. 2 L- a D-isomery aminokyselin

1.3 Peptidy

Peptidy jsou sloučeniny, kde je karboxylová skupina jedné aminokyseliny vázána amidovou vazbou na amino skupinu druhé aminokyseliny. Tato vazba se nazývá **peptidová vazba**.



Obr. 3 Peptidová vazba

Peptidy můžeme dělit podle několika hledisek

1) podle složení

- a) pokud obsahují peptidy jen aminokyseliny, pak je nazýváme **homeomerní**
- b) pokud obsahují peptidy aminokyseliny a složky odlišné chemické povahy, pak je nazýváme **heteromerní**.

2) podle typu vazeb

- a) pokud obsahují peptidy jen peptidové vazby, pak je nazýváme **homodetní**
- b) pokud obsahují peptidy vazby peptidové a jiné, pak je nazýváme **heterodetní**

3) podle typu řetězce

- a) lineární
- b) cyklické

4) podle počtu vázaných aminokyselin v řetězci

- a) oligopeptidy (obsahující obvykle 2 až 10 molekul aminokyselin v řetězci)
- b) polypeptidy (obvykle 11 až 100 molekul aminokyselin) [4]

Peptidy se relativně snadno hydrolyticky štěpí na jednotlivé aminokyseliny. Hydrolýza peptidové vazby je reakcí exergonní, tzn. že je potřeba dodat energii. Mimo to, peptidy vykonávají v organismu řadu biologických funkcí. Mezi peptidy řadíme některé hormony (insulin, oxytocin, vasopresin), antibiotika (gramicidin, bacitracin) nebo toxiny. Významnými peptidovými toxiny jsou toxiny mikroorganismů, např. botulotoxin, který je produkován mikroorganismem *Clostridium botulinum*.

1.3.1 Oligopeptidy

Dipeptidy karnosin a anserin se vyskytují ve svalové tkáni člověka a účastní se kontrakce kosterního svalstva. Jsou odvozené od histidinu. Dalšími dipeptidy odvozenými od histidinu jsou balenin a homokarnosin. Organoleptické vlastnosti histidinových dipeptidů připomínají vlastnosti natriumhydrogenlglutamátu (vykazují chuť nazývanou *umami*) a proto se uplatňují jako chuťové látky masa. Mezi dipeptidy patří také dipeptid aspartam, který se používá jako umělé sladidlo. [3]

2 L-KARNITIN

L-karnitin byl poprvé izolován z masa v roce 1905 pány Gulewiche a Krimbergem. Jeho název vznikl z latinského slova *caro, carnis* = maso. V roce 1927 byla potvrzena jeho chemická struktura a r.1935 byl publikován první článek o L-karnitinu a byl zahájen výzkum jeho fyziologických funkcí. [5]

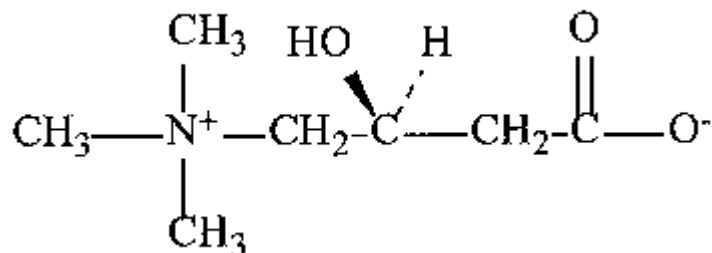
Dnes je na trhu L-karnitin dosažitelný v několika formách:

- a) perorální L-karnitin,
- b) nitrožilní L-karnitin,
- c) L-karnitin (LC): nejlevnější a nejrozšířenější dostupná forma,
- d) L-acetylkarnitin (LAC): tato forma karnitinu se používá pro léčení Alzheimerovy choroby a dalších mozkových chorob.
- e) L-propyonylkarnitin (LPC): tato forma karnitinu je velmi efektivní při bolestech na hrudi a jiných srdečních problémech. [6]

V obchodních sítích je L-karnitin dostupný v několika formách – tekuté, tabletové, práškové (v kapslích) a chemických sloučeninách (acetyl-L-karnitin, L-karnitin-L-tartrát, aj.). Všechny tyto formy L-karnitinu jsou stejně účinné. Dokonce i tekutý L-karnitin se vstřebává stejně rychle jako práškový v kapslích nebo tabletách. Není tedy důležité v jaké formě se L-karnitin dostává do těla, ale v jakém množství. Je proto potřeba věnovat pozornost množství L-karnitinu ve výrobcích, které jsou jím obohaceny. V mnoha případech se stává, že výrobce uvede, že výrobek je obohacený o tento nutrient, avšak přidávané množství je tak malé (obvykle kolem 100 mg), že na lidský organismus nepůsobí. [7]

2.1 Chemická struktura L-karnitinu

L-karnitin je derivát kyseliny hydroxymáselné. Dříve byl považován za jeden z vitaminů skupiny B. L-karnitin je chemicky známý jako ve vodě rozpustný 3-hydroxy-4-N-trimethyl-aminomáselná kyselina. Díky této vlastnosti nemůže dojít k předávkování, přebytek L-karnitinu je totiž vylučován močí. Extrémní dávky mohou způsobit lehčí průjemové stavy, žaludeční nevolnost nebo se může objevit u citlivých jedinců specificky zapáchající pot.



L-karnitin

Kromě L-karnitinu, který se vyskytuje v přírodě, se čistě chemickou syntézou vytváří jeho isomer známý jako D-karnitin. Biologicky aktivní je však pouze přírodní forma L-karnitinu. V přírodě se nevyskytující forma D-karnitinu nemá žádné příznivé účinky a může bránit dostatečnému využití L-karnitinu. D-karnitin je oficiálně zakázán a neměl by se v potravních doplncích objevovat. Stává se ale, že na trhu bývá nabízen D,L-karnitin, který obsahuje z 50 % D-karnitin. Tímto problémem se již od roku 1994 zabývá Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA- Food and Drug Administration) ve Spojených Státech. [8,9]

2.2 Výskyt a účinek L-karnitinu

L-karnitin se běžně vyskytuje v materiálech živočišného původu, pouze výjimečně se vyskytuje v rostlinách. Devadesát procent L-karnitinu se nachází v buňkách srdečního a kosterního svalstva. Základním zdrojem L-karnitinu je červené maso, zvláště hovězí a jehněčí. Obecně platí, že čím je maso na pohled "červenější", tím více L-karnitinu je v něm obsaženo. Jen v malém množství se L-karnitin vyskytuje v rybím či drůbežím mase, mléce a mléčných výrobcích, v tempeh (fermentovaných sojových fazolích), pšenici, chřestu, avokádu a másle z burských oříšků. Cereálie, ovoce, a zelenina obsahují L-karnitinu velmi málo, nebo jej neobsahují vůbec. [10,11,12]

Tab. 2 Množství L-karnitinu v potravinách

Potravina	Množství L-karnitinu (mg.kg ⁻¹)
Zvěřina, hovězí	1000-2200
Jehněčí	1800-1900
Vepřové, králíčí	200-300
Slanina	200-230
Drůbež	60-300
Ryby	60-200
Masné výrobky	10-200
Mléko, sýry, mléčné výrobky	10-100
Zmrzlina	15-30
Houby	10-50
Ovoce, zelenina, oříšky, obiloviny	0-10
Mrkev	3-4
Chléb	3-4
Rýže	2-3
Banán	1-1,5
Rajčata	1-1,5

[9]

V lidském těle je největší množství L-karnitinu obsaženo ve svalech. Tvorba L-karnitinu probíhá především v játrech a ledvinách, kde je syntetizován z esenciálních aminokyselin lysinu a methioninu za účasti kofaktorů (NAD⁺-nikotinamidadeninukleotidu, pyridoxalfosfátu) a za spolupůsobení Fe²⁺ iontů.

Jen pro názornost, průměrný obsah lysinu v bílkovinách přijatých vysráženou stravou je 7 %. Nejvíce lysinu obsahují živočišné bílkoviny, v bílkovinách masa, vajec a mléka se běžně vyskytuje v množství 7 až 9 %. Málo lysinu naproti tomu obsahují rostlinné

bílkoviny. Živočišné bílkoviny také obsahují 2 až 4 % methioninu, rostlinné 1 až 2 %. V luštěninách je methionin limitující aminokyselinou.

Kromě svalstva je L-karnitinem také zásobován mozek, srdce a sperma. L-karnitin zvyšuje aktivitu mozku a to tak, že ovlivňuje hladinu některých nervových přenašečů, funguje jako stimulant procesů odstranění volných radikálů. L-karnitin je také velmi důležitý pro srdeční funkci. Srdce je nejdůležitější sval, který prokazuje vysokou výkonnost. Asi 70 % energie získává srdce z mastných kyselin, proto srdce logicky obsahuje vysokou hladinu L-karnitinu. Z potravy je tělo schopné absorbovat zhruba 60 až 70 % L-karnitinu. Dobře vyvážená strava je schopna poskytnout 100 až 300 mg L-karnitinu denně. Celkové množství L-karnitinu v lidském těle se pohybuje v závislosti na objemu svalové hmoty, přibližně od 20 do 30 gramů. Ačkoliv L-karnitin není pro člověka esenciální složkou potravy, bývá součástí přípravků pro zvláštní výživu. Pro hmyz je L-karnitin vitamínem. [12,13,14,15]

V obchodních sítích je L-karnitin dostupný v několika formách – tekuté, tabletové, práškové (v kapslích) a chemických sloučeninách (acetyl-L-karnitin, L-karnitin-L-tartrát, aj.). Všechny tyto formy L-karnitinu jsou stejně účinné. Dokonce i tekutý L-karnitin se vstřebává stejně rychle jako práškový v kapslích nebo tabletách. Není tedy důležité v jaké formě se L-karnitin dostává do těla, ale v jakém množství. Je proto potřeba věnovat pozornost množství L-karnitinu ve výrobcích, které jsou jím obohaceny. V mnoha případech se stává, že výrobce uvede, že výrobek je obohacený o tento nutrient, avšak přidávané množství je tak malé (obvykle kolem 100mg), že na lidský organismus nepůsobí. [7]

Pro L-karnitin není doporučena denní dávka stanovena tak, jako je tomu v případě vitamínů. Výrobce si nemůže dovolit uvést, že produkt je obohacen vitamíny, pokud ve 100 g nebo v 1 porci není alespoň 15 % doporučené denní dávky. Pro L-karnitin toto pravidlo neplatí, a proto se stává, že je možné se setkat s redukčními koktejly, které obsahují jen 1/50 účinné dávky. Pokud má mít užívání doplňkového L-karnitinu význam, je nutno přijmout minimálně 1000 mg denně, nejlépe ve dvou dávkách. [16]

Spalování tuků pomocí L-karnitinu probíhá ve dvou fázích :

- a) fáze nahřívání
- b) fáze spalování

Pokud má dojít ke spalování tuků, je nejdříve potřeba, aby bylo dosaženo alespoň 1,5 násobku klidové tepové frekvence, a to po dobu minimálně 30 až 40 minut. Jde o fázi, kdy se svaly rozehřívají a nedochází k získávání energie z tukových zásob. Teprve po 40 minutách fyzické námahy začíná působit L-karnitin při získávání energie pro svalstvo z tukových zásob. Proces spalování tuků a tedy i hubnutí začíná až po 40 minutách zvýšené fyzické zátěže. [13]

L-karnitin může významně přispět při dlouhodobém řízení tělesné hmotnosti. Užívání samotného L-karnitinu však nepovede k razantnímu snížení hmotnosti. Studie ukazují, že až kombinace L-karnitinu jako potravinového doplňku a snížení kalorického příjmu, nejlépe v kombinaci s fyzickou námahou, může vést k mírnému snížení hmotnosti. L-karnitin urychluje spalování tuků přijatých potravou, je-li konzumován současně s danou potravinou. Tuky se tak spalují rychleji a v tělesné tkáni se jich usadí méně. L-karnitin může mít také pozitivní účinky na nepříznivou hladinu lipidů v krvi. U zvířat bylo prokázáno, že L-karnitin zmenšuje pocit hladu a umožňuje snižování příjmu potravy.

L-karnitin pomáhá v boji s nadváhou tím, že napomáhá spalování tuků. To ale není jeho jediný pozitivní vliv na lidské zdraví. Jeho tzv. vedlejším účinkem je prevence aterosklerózy, ochrana srdečního svalu, zlepšená obranyschopnost proti nemocím, pomáhá lidem se špatnou funkcí ledvin a jater, a také je u něj dokázán pozitivní vliv na mužskou plodnost. [7]

U jedinců, kteří prodělali srdeční infarkt, se při použití doplňkového L-karnitinu snížilo riziko opětovného srdečního selhání či dokonce úmrtí na nemoci srdce. L-karnitin také pomáhá prodloužit životaschopnost a funkčnost srdečního svalu. Je to dáno tím, že při užívání L-karnitinových doplňků dochází k významnému snížení celkového cholesterolu a vzrůstá hladina HDL – High Density Lipoprotein (tzv. “dobrého“) cholesterolu. [15,17]

L-karnitin, respektive jeho účinná forma L-acetylcarnitin, může napomáhat pozastavení rozvoje již zmiňované Alzheimerovy choroby v jejím počátečním stadiu. Má také vliv na paměť, především u seniorů. Také pomáhá lidem trpícím neurologickými onemocněními a přispívá ke snížení rizika Anginy pectoris. [17,18]

Užívání L-karnitinu, resp. jeho větších dávek, je doporučováno sportovcům v tréninku vytrvalosti či síly a rekreačním sportovcům, lidem na redukční dietě, těhotným a kojícím ženám, starším lidem, vegetariánům, diabetikům a lidem, kteří si chtějí zlepšit zdraví.

L-karnitin je obzvláště důležitý při udržování výkonnosti sportovců. Může zabránit zužování cév, čímž podporuje krevní oběh a zásobování svalů kyslíkem. Díky L-karnitinu se výkonnost a vytrvalost sportovců zlepší a svaly jsou lépe chráněny před zraněním. Oddaluje také únavu při fyzickém výkonu, urychluje pozátěžovou regeneraci a zkracuje její čas. L-karnitin zamezuje akumulaci koenzymů destabilizujících membrány svalů (to způsobuje únavu) a brání hromadění kyseliny mléčné ve svalech. L-karnitin zvyšuje aerobní kapacitu a během dlouhých cvičení pomáhá spořit glykogen, což je pro sportovce velmi důležité.

Nároky těla na L-karnitin se v těhotenství a během kojení prudce zvyšují a není snadné je pokrýt z normální stravy. Výrazné snížení koncentrace L-karnitinu v těle lze zaznamenat již ve 12.týdnu těhotenství. Potravinové doplňky obsahující L-karnitin jsou tedy v těhotenství velice užitečné, snižuje se tak opět obsah lipidů v krvi a podporuje vývoj nenarozeného plodu. Také pro kojence je L-karnitin v jeho prvních dnech života velmi důležitý. [9,12]

Schopnost těla vytvářet L-karnitin se s věkem snižuje. Kromě toho nemají starší lidé moc chuť k jídlu a jedí méně, často jedí méně masa a tím se snižuje množství L-karnitinu přijaté potravou. Dalším faktorem je, že je metabolismus tuků v pokročilejším věku pomalejší. Starší lidé ztrácejí více bílkovin ze svalů a ubývá jim drahocenná svalová hmota. Současně se jim ukládá více tuku, čímž je tělo vystavováno větší zátěži. L-karnitin může znovu metabolismus oživit, aby spaloval více tuků. Proto je L-karnitin důležitou látkou pro seniory, která jim pomáhá udržovat zdraví, vitalitu a sílu.

Jak již bylo řečeno, nejvíce L-karnitinu je v tmavém mase. Vegetariáni tudíž konzumují ve své stravě velice málo L-karnitinu a jeho hladina v krvi je velmi nízká. Omezená dávka této živiny z vnějšku nutí tělo, aby si samo vytvářelo více L-karnitinu, avšak k tomu jsou nutné minerály, vitamíny a aminokyseliny, které se vyskytují pouze v mase. Proto je pro vegetariány velmi důležitý L-karnitin jako doplněk stravy. [10]

Deficience L-karnitinu

Při nedostatku L-karnitinu se může objevit snadná svalová unavitelnost a slabost. Při běžné pestrosti stravy však nedochází k jeho nedostatku ani při náročných fyzických výkonech.

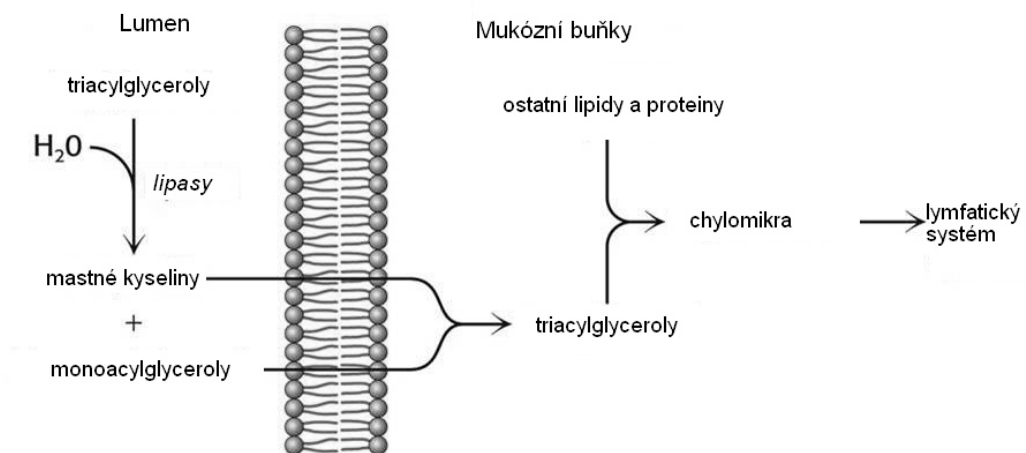
[16]

3 FYZIOLOGIE L-KARNITINU

Princip účinku L-karnitinu spočívá v přenášení molekul mastných kyselin do mitochondrií, kde dochází k jejich oxidaci. Úlohou L-karnitinu je stimulovat transport mastných kyselin s dlouhým řetězcem přes membránu mitochondrií. [19]

3.1 Odbourávání lipidů

Lipidy představují velkou skupinu látek pestrého složení, jejichž společným znakem je rozpustnost v organických rozpouštědlech. Mají schopnost se hydrolyticky štěpit v zažívacím traktu člověka pomocí lipolytických enzymů. Dochází tak k jejich rozkladu na mastné kyseliny a alkohol, nejčastěji glycerol. Mastné kyseliny s kratším řetězcem obsahujícím 10 až 12 atomů uhlíku procházejí z buněk střevní sliznice přímo do krve, kterou jsou přenášeny v neesterifikované formě. Mastné kyseliny s delším řetězcem jsou v buňkách střevní sliznice reesterifikovány na triacylglyceroly, které jsou obalovány vrstvou lipoproteinů, cholesterolu a fosfolipidů za vzniku kulových částic chylomikronů (0,1-1 μ m). Ty se následně dostávají do krve a lymfy. Krví se dostávají do jater, kde se dále rozkládají nebo resyntetizují. [20,21]



Obr. 4 Vstřebávání lipidů (TAG)

3.1.1 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou nejdůležitější a z hlediska výživy nejvýznamnější složkou lipidů. V přírodě se vyskytují jako estery v přírodních tucích a olejích, ale i volně. Liší se délkou a charakterem řetězce, stupněm nasycenosti i dalšími substituenty.

Mastné kyseliny můžeme rozdělit na

- Nasycené mastné kyseliny
- Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou (monoenové)
- Nenasycené mastné kyseliny s několika dvojnými vazbami (polyenové)
- Mastné kyseliny s trojnými vazbami a různými substituenty (rozvětvené, cyklické, s O-, N- nebo S- funkčními skupinami)

Nasycené mastné kyseliny patří mezi karboxylové kyseliny s dlouhými alifatickými uhlovodíkovými řetězci. Ve většině případech obsahují ve své molekule sudý počet atomů s rovným nerozvětveným řetězcem. Volné nasycené mastné kyseliny jsou tuhé, snadno tající, jsou krystalické a bezbarvé. Kromě kyseliny máselné a kapronové jsou volné mastné kyseliny ve vodě nerozpustné, dobře se však rozpouštějí v organických rozpouštědlech. S vodní parou těkají jen nižší mastné kyseliny. Nasycené mastné kyseliny jsou chemicky stálé, jsou dobře stravitelné, pokud se vyskytují s nenasycenými mastnými kyselinami.

Obecný vzorec nasycené mastné kyseliny: $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-COOH}$

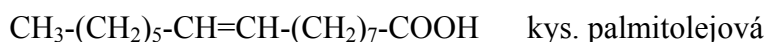
Tab. 3 Přehled důležitých nasycených mastných kyselin

Triviální název	Počet atomů uhlíku	Mastná kyselina
máselná	4	butanová
kapronová	6	hexanová
kaprylová	8	oktanová
kaprinová	10	dekanová
laurová	12	dodekanová
myristová	14	tetradekanová
palmitová	16	hexadekanová
stearová	18	oktadekanová
arachová	20	eikosanová

Nasyčené mastné kyseliny se syntetizují z acetyl-CoA. Při každém cyklu se prodlouží řetězec mastné kyseliny vždy o dva atomy uhlíku, proto se mastné kyseliny se sudým počtem atomů uhlíku vyskytují v lipidech daleko častěji než mastné kyseliny s lichým počtem atomů uhlíku. [2]

Monoenové mastné kyseliny se liší mezi sebou počtem uhlíků, polohou dvojné vazby a její konfigurací. Tato vazba má v přírodních lipidech téměř vždy konfiguraci *cis*. Do skupiny monoenových mastných kyselin patří kyselina olejová či palmitolejová. Kyselina olejová se vyskytuje hojně vyskytuje v rostlinných olejích a je nezbytnou složkou lipidů, které vytváří biologické membrány.[3]

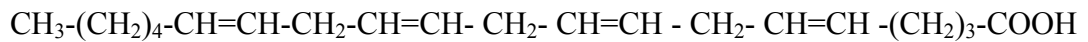
Chemická struktura vybraných monoenových kyselin:



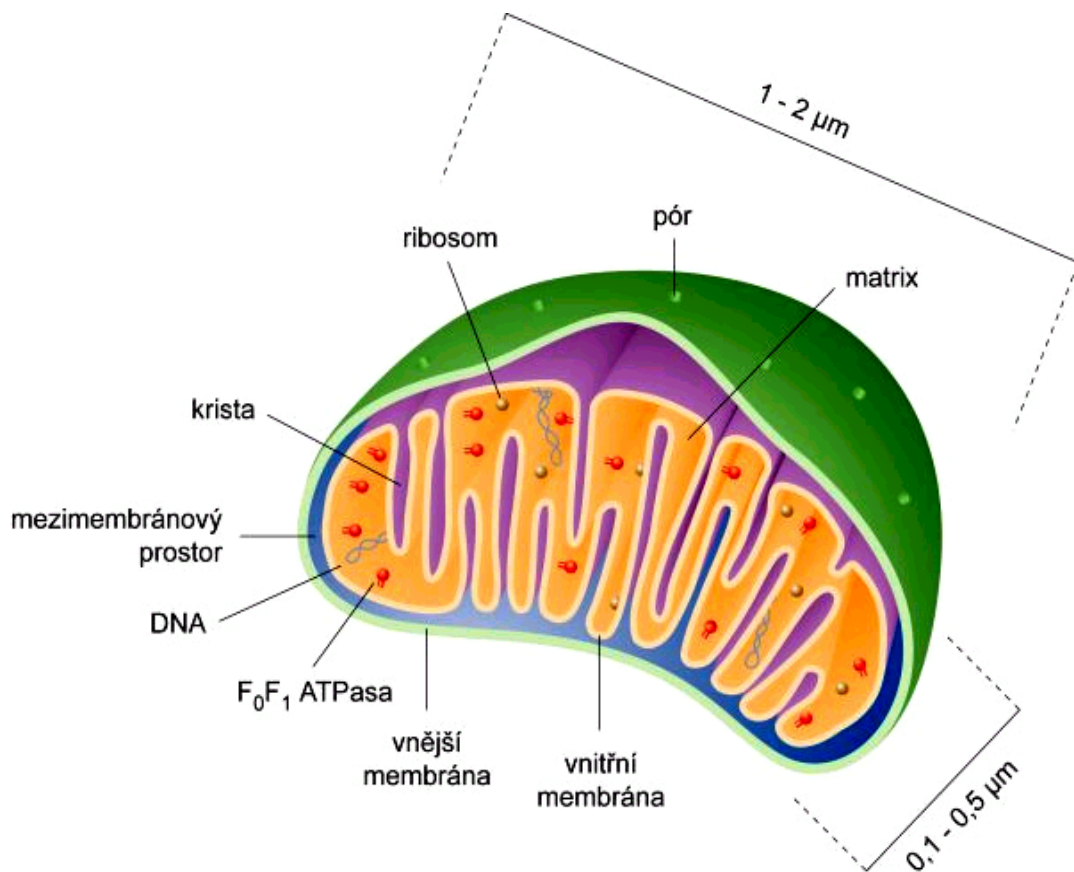
Významnou skupinou polyenových mastných kyselin jsou tzv. esenciální mastné kyseliny. Tato skupina mastných kyselin je významná tím, že obsahuje na C_6 a C_9 atomu uhlíku dvě dvojné vazby s *cis*- konfigurací. Jejich úlohou je účast na výstavbě buněčných membrán a jsou prekurzory prostaglandinů.

Mezi nejvýznamnější dienové mastné kyseliny patří kyselina linolová, která se v organismu přeměňuje na kyselinu arachidonovou. Vyskytuje se hojně v rostlinných olejích, v menším množství v živočišných tucích. Mezi trienové mastné kyseliny patří kyselina α -linolenová a γ -linolenová. Linolenová kyselina s třemi dvojnými vazbami často doprovází kyselinu linolovou v rostlinných lipidech. Vzácně se vyskytují také mastné kyseliny se čtyřmi až šesti dvojnými vazbami. Kyselinou se 4 dvojnými vazbami je kyselina arachidonová.[1]





kys. arachidonová



[22]

Obr. 5 Mitochondrie

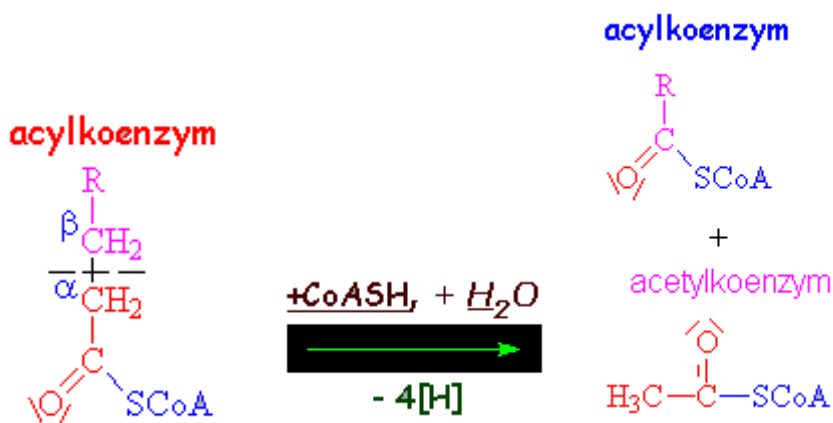
3.2 β -oxidace mastných kyselin

V eukaryotních buňkách probíhá β -oxidace mastných kyselin v matrix mitochondrií, v rostlinných buňkách probíhá téměř výhradně v glyoxyzomech. V těchto organelách jsou uloženy enzymy glyoxylátového cyklu, umožňujícího přeměnu acetyl-CoA na prekurzory sacharidů.

Mitochondrie jsou orgány vyskytující se u eukaryotních buněk v cytoplazmě. Mohou mít tvar vláknitý, kulovitý nebo válcovitý. V jedné buňce se jejich počet pohybuje od několika set až do mnoha tisíc, podle množství energie, kterou buňka

potřebuje. Mitochondrie obsahují dvě lipoproteinové membrány; vnější membrána se vyznačuje hladkým povrchem, určuje celkový tvar organely a je v ní mnoho pórů. Vnitřní membrána se do prostoru mitochondriální matrix různě vychlipuje, vytváří tak neúplné listovité přepážky, tzv. krysty. Každá mitochondrie obsahuje dva oddíly: mezimembránový prostor a vnitřní prostor. Vnitřní prostor mitochondrie je vyplněn gelovitou mitochondriální matrix. Enzymy katalyzující reakce spojené s respirací jsou zabudovány do vnitřní mitochondriální membrány. Po chemické stránce jsou mitochondrie složeny z bílkovin, lipidů a fosfolipidů. Rovněž obsahují DNA. V mitochondriích se také realizuje syntéza určitých mitochondriálních proteinů a proto jsou zde rovněž přítomné ribosomy s transferovou a informační RNA. Uvnitř mitochondrie probíhá β -oxidace mastných kyselin, oxidační dekarboxylace pyruvátu, citrátový cyklus a některé reakce močovinného cyklu. [22,23,24,25]

β -oxidace mastných kyselin je cyklický pochod a dochází při něm ke zkracování řetězců mastných kyselin a to vždy o dva atomy uhlíku. K odbourávání tedy dochází po spirále, tzv. **Lynenově spirále**. β -oxidace probíhá tak dlouho, dokud nedojde k úplnému rozložení mastné kyseliny na acetylové zbytky vázané na CoA. Vždy tedy dochází k oxidaci na třetím atomu uhlíku a následuje odštěpení dvouuhlíkového zbytku ve formě acetyl-CoA. [26]



Obr. 6 Lynenova spirála

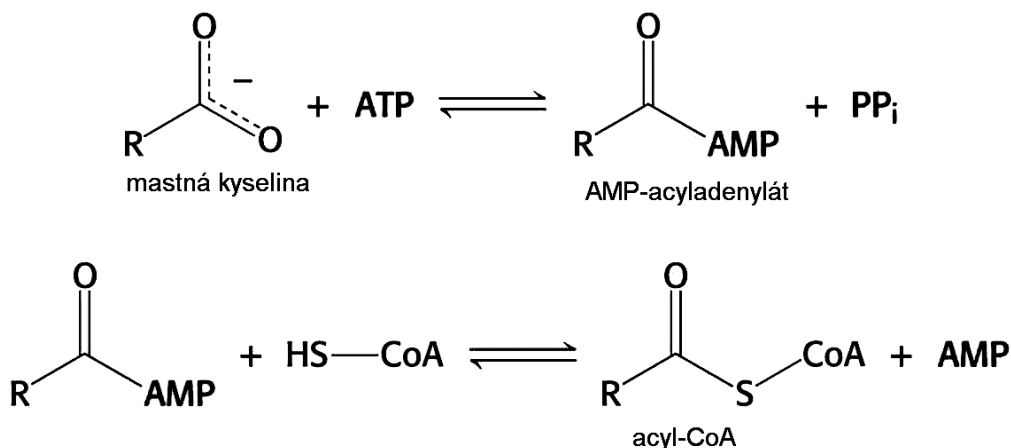
Této oxidaci na třetím uhlíku předchází aktivace mastné kyseliny, vznik acyl-CoA. Nakonec dochází k thioltyckému štěpení, při kterém produkt β -oxidace β -oxoacyl-CoA se za přítomnosti CoA rozpadá na acetyl-CoA a na o dva atomy uhlíku kratší acyl-CoA.

β -oxidace mastných kyselin probíhá ve třech po sobě následujících fázích:

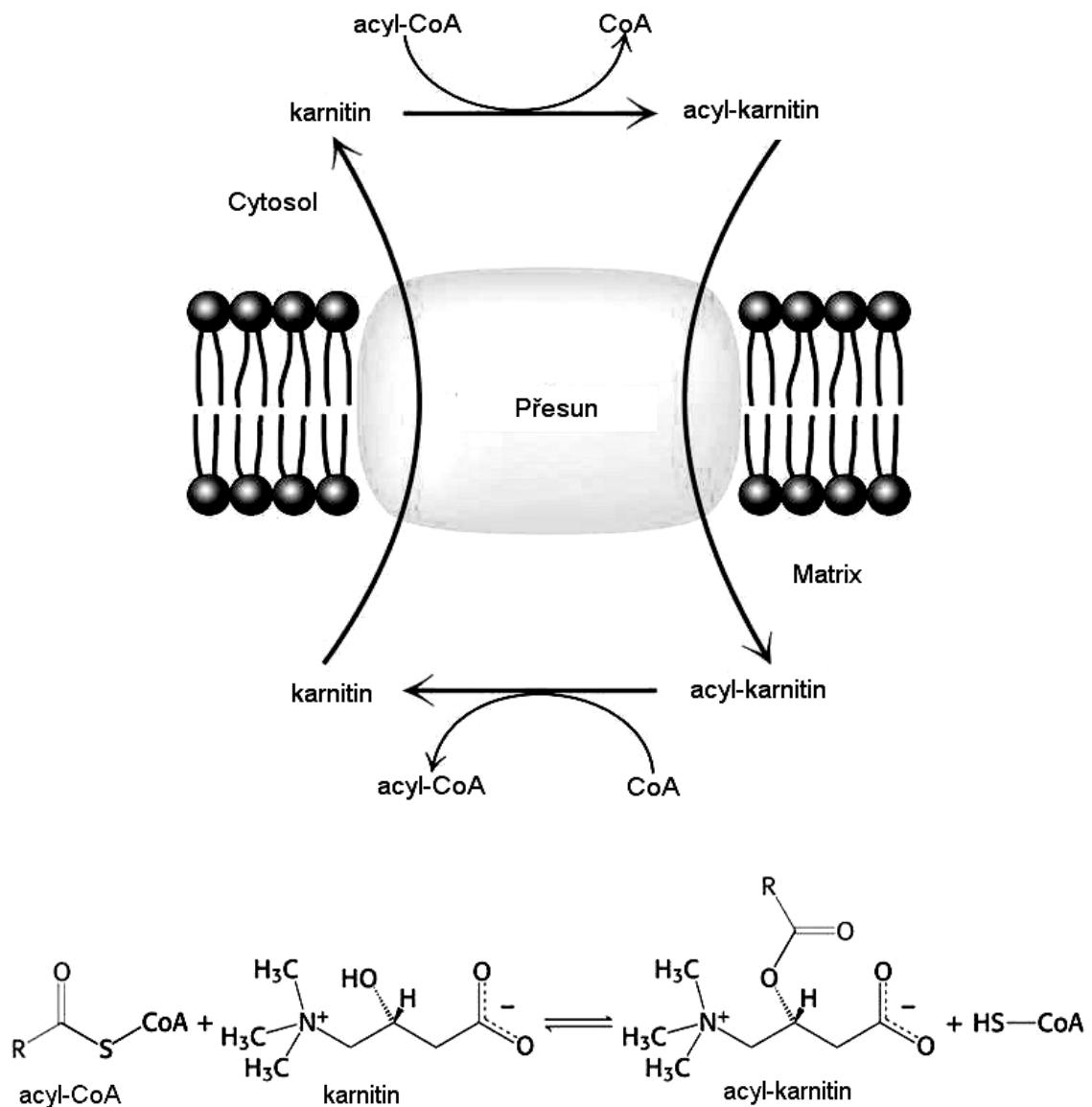
- 1) Aktivace mastné kyseliny
- 2) Vlastní β -oxidace
- 3) Thiolýza

1) Aktivace mastné kyseliny

Aktivace je prováděna *ligasou (acyl-CoA-syntetasou)* za součinnosti CoA a ATP. Volné mastné kyseliny nemají schopnost procházet přes mitochondriální membránu, proto k jejich aktivaci dochází v cytosolu, na vnější mitochondriální membráně a vzniklý acyl-CoA je převeden do matrix po vazbě na zvláštní přenašeč, derivát máselné kyseliny zvaný **L-karnitin** (Obr. 8). V matrix se acyl přesune na mitochondriální CoA a vstupuje do reakcí Lynenovy spirály. Uvolněný přenašeč L-karnitin se vrací zpět do cytosolu. Aktivace je dvoustepňový děj, kdy reakcí s ATP vzniká přenosem AMP-acyladenylát, z něhož se pak acyl přenáší na CoA za vzniku makroergického thioesteru acyl-CoA a uvolní se AMP. K zahájení β -oxidace je tedy zapotřebí jedné molekuly ATP a to bez ohledu na délku řetězce mastné kyseliny. Z molekuly ATP je čerpáno dvojnásobné množství energie, než při častější přeměně na ADP. [27]



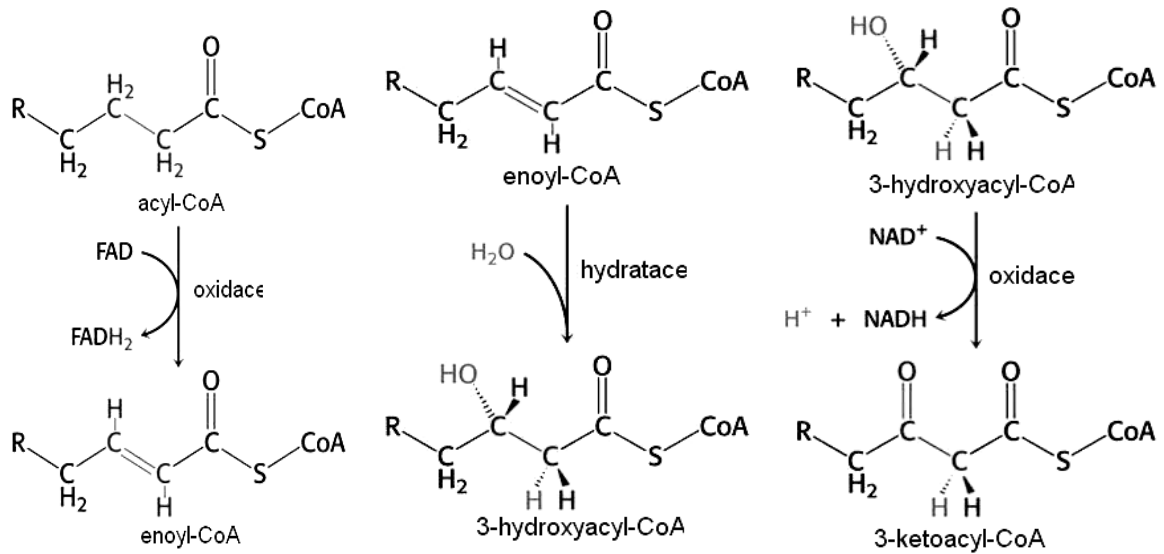
Obr. 7 Aktivace mastné kyseliny



Obr. 8 Přenos aktivovaných mastných kyselin do matrix mitochondrie

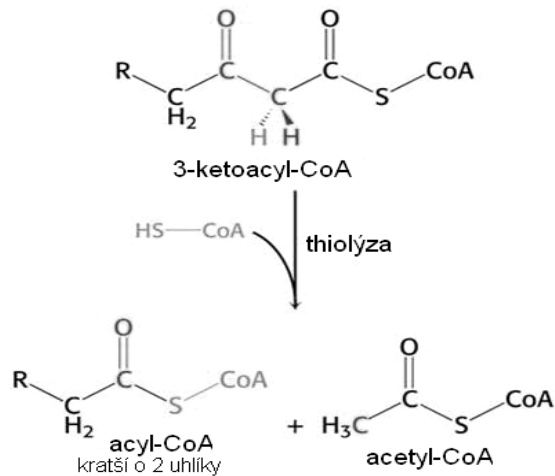
2) Vlastní β -oxidace

Vlastní β -oxidace je složena ze dvou za sebou následujících dehydrogenací s vloženou hydratací. První dehydrogenaci za vzniku dvojně vazby mezi $C\alpha$ a $C\beta$ provádí *flavinová dehydrogenasa* (*acyl-CoA-dehydrogenasa*), adici molekuly vody na tuto dvojnou vazbu za tvorby **β -hydroxyacyl-CoA** katalyzuje *lyasa* (*enoyl-CoA-hydratasa*). Druhou dehydrogenaci katalyzuje *pyridinová dehydrogenasa* (*3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenasa*) a vzniká při ní **ketoacyl-CoA** jako konečný produkt.

Obr. 9 Vlastní β -oxidace

3) Thiolýza

Vzniklý **3-ketoacyl-CoA** se může štěpit, přičemž mezi C_α a C_β původní mastné kyseliny vstoupí nová molekula CoA a z řetězce se uvolní C_2 jednotka ve formě acetyl-CoA. Tuto reakci katalyzuje *acyltransferasa* (β -oxothiolasa neboli *thiolasa*).



Obr. 10 Thiolýza

Při jednom proběhnutí Lynenovy spirály se získá jedna molekula $FADH_2$ a jedna molekula $NADH$, po jejich reoxidaci v dýchacím řetězci lze získat 5 molekul ATP . Dalších 12 molekul ATP se vytvoří při aerobním odbourávání odštěpené molekuly acetyl-CoA.
[21]

4 STANOVENÍ L-KARNITINU CHROMATOGRAFICKY

Základním principem všech chromatografických metod je opakované ustalování rovnováhy rozpuštěné látky mezi dvěma fázemi, z nichž jedna je pohyblivá (mobilní) a druhá zakotvená (stacionární). Společným rysem těchto metod je také to, že k dělení dochází na styku těchto dvou fází (tuhé, kapalné nebo plynné, prakticky v jakékoli kombinaci). Pro stanovení peptidů a aminokyselin se používá kapalinová chromatografie. Rovnovážné stavy se vytvářejí na základě různých fyzikálně–chemických interakcí mezi složkou a mobilní fází, složkou a stacionární fází a také mobilní a stacionární fází. [28,29]

Chromatografických metod je velké množství, proto je nutné rozdělit je do několika skupin. Vzhledem ke značné různorodosti se dělí podle několika hledisek:

1. Podle povahy mobilní fáze

- Kapalinová chromatografie – kdy mobilní fází je kapalina.
- Plynová chromatografie – kdy mobilní fází je plyn.

2. Podle uspořádání stacionární fáze

- Kolonová chromatografie – kdy stacionární fáze je umístěna v trubici (koloně).
- Plošné techniky – Papírová chromatografie - kdy stacionární fáze je součástí chromatografického papíru.
 - Tenkovrstvá chromatografie – kdy stacionární fáze je umístěna na skleněné desce, hliníkové folii nebo plochem podkladu z jiného materiálu.

3. Podle povahy děje, který převládá při separaci

- Rozdělovací chromatografie – o separaci rozhoduje různá rozpustnost složek vzorku ve stacionární fází a mobilní fází.
- Adsorbční chromatografie – o separaci rozhoduje různá schopnost složek poutat se na povrch stacionární fáze.
- Ionově výměnná chromatografie – o separaci rozhodují různě velké elektrostatické přitažlivé síly mezi funkčními skupinami stacionární fáze a ionty vzorku.

- Gelová chromatografie – složky se separují podle velikosti na pórovité stacionární fázi – gelu (menší molekuly vzorku se v pórech gelu zdržují déle).
- Afinity chromatografie – stacionární fáze je schopna vázat ze vzorku právě určité složky, ke kterým má úzce selektivní vztah – afinitu. [30]

Iontově výměnná chromatografie se úspěšně používá od 40. let 19. století. Využívá se pro dělení složitějších aniontů a kationtů. Dělení je založeno na principu iontové výměny na aniontoměničích a kationtoměničích na bázi porézního silikagelu omezené kapacity nebo styrendivynylbenzenového kopolymeru. Při separaci dochází k soutěži mezi zadrženými ionty mobilní fáze a separovanými ionty na základě heterogenních rovnováh na povrchu iontoměniče. Ionty jsou postupně detekovány při východu z kolony na základě změn v iontové vodivosti (vodivostní detektor) nebo spektrofotometricky, po postkolonové reakci s vhodným činidlem. Chromatografii na měničích iontů můžeme definovat jako vratnou výměnu iontů mezi mobilní a stacionární fází. Ionty, které jsou elektrostaticky vázané ke stacionární fázi se reverzibilně vyměňují s ionty v roztoku. Dělení látek je způsobeno rozdílem ve velikosti náboje. Ionty se stejným nábojem se hromadí na stejném místě a jsou eluovány současně. Peptidové fragmenty jsou detekovány UV detektorem. Dnes je tato metoda stále častěji nahrazována **vysoce účinnou kapalinovou chromatografií na reverzní fázi (HPLC)**. [28,31]

Současné sestavy pro kapalinovou chromatografii jsou nejčastěji vybaveny optickými a elektrochemickými detektory. Fotometrické a spektrofotometrické detektory pracují v ultrafialové a viditelné části spektra. Výhodou je vysoká univerzálnost a citlivost. Fluorimetrický detektor využívá k detekci látek vykazujících fluorescenci nebo látek, jejíž deriváty fluoreskují. Patří mezi jeden z nejcitlivějších. Refraktometrické detektory pracují jako diferenciální měřiče změny indexu lomu mobilní fáze tím, že měří rozdíl indexu lomu mobilní fáze uzavřené v referenční cele a eluentu. Voltamperické detektory se používají k detekci látek podléhajících redoxní reakci. Měří se proud mezi polarizovanou pracovní elektrodou a pomocnou elektrodou, v závislosti na vloženém napětí nebo při konstantním napětí. Podmínkou je dobrá vodivost mobilní fáze. Hmotnostní detektor má v kapalinové i plynové chromatografii specifické postavení jako detektor umožňující nejen detekci separovaných látek s vysokou citlivostí, ale především jako dominantní způsob identifikace jednotlivých složek. [28]

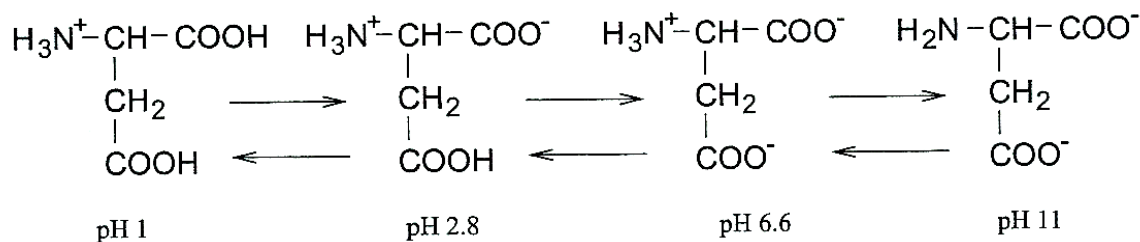
4.1 Vysoce účinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography - HPLC)

Jde o separační metodu používající kolony s vhodnou stacionární fází, jejíž vlastnosti umožňují dosáhnout rychlé separace složitých směsí látek s vysokým rozlišením zón. Vysoce účinná kapalinová chromatografie na reverzní fázi se stává nejrozšířenější metodou používanou k peptidovému mapování. Dělí látky na základě různě silných hydrofobních interakcí s chromatografickým nosičem obsahujícím hydrofobní skupiny. Jako stacionární fáze je zde používán modifikovaný silikagel. Jako mobilní fáze se zde využívá methanol, acetonitril, ethanol nebo vodné roztoky rozpouštědel. Citlivost metody je ovlivněna čistotou mobilní fáze. Dnes se již běžně vyrábějí automatické vysokotlaké chromatografy s krátkými kolonami, plněnými speciálními jemnými sorbenty s chemicky upraveným povrchem. [32,33]

4.2 Iontoměničová chromatografie aminokyselin - IEC

Aminokyseliny lze oddělovat chromatografií založenou na výměně iontů. Chromatografická kolona je naplněna pryskyřicí s negativním nábojem a aminokyseliny jsou na kolonu zaváděny při nízkém pH. Tím jsou všechny kladně nabity. Za těchto podmínek nenastane chromatografické dělení. Aminokyseliny čekají na počátku kolony na změnu podmínek. Při zvýšeném pH, zvýšené teplotě nebo vyšší iontové síle elučního roztoku dojde k dosažení izoelektrického bodu aminokyseliny. Tehdy ztrácí přitažlivost svých iontů k pryskyřici a aminokyselina je eluována z kolony.

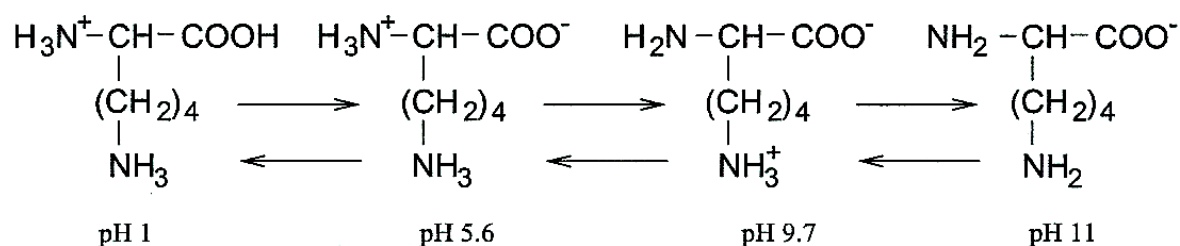
Podmínky jsou upraveny tak, že izoelektrické body pro všechny aminokyseliny se dosahují v různých časech. To umožňuje provést chromatografické dělení.



Obr. 11 Disociace kyseliny asparagové

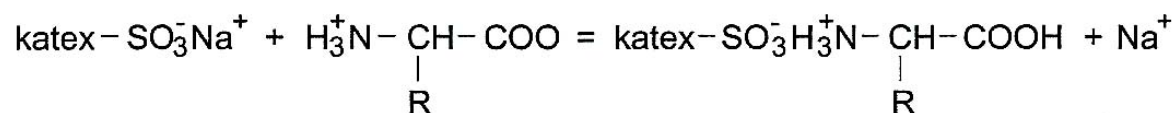
Výše uvedené schéma kyseliny asparagové ukazuje, že při pH 1 mají v zásadě všechny molekuly jeden kladný náboj. S rostoucím pH narůstá na α -karboxylové skupině počet molekul s negativním nábojem a při pH 2,8 jej mají všechny.

Jiným příkladem může být molekula lysinu. Ten má aminoskupinu i na postraním řetězci. Jeho izoelektrický bod je při pH 9,7.



Obr. 12 Disociace lysinu

Proces výměny iontů je možno znázornit následujícím schématem:



Obr. 13 Princip výměny iontů (IEC)

Separace je ovlivňována změnou pH, teploty nebo koncentrací opačně nabitých iontů. Tím se posunuje rovnováha jedním nebo druhým směrem. [28]

4.2.1 Iontoměniče

Iontoměničové náplně klasických analyzátorů aminokyselin mají sférický kulový tvar. Jejich syntéza se provádí kopolymerací styrenu a divinylbenzenu. Kopolymerace je polymerace, které se účastní dva různé monomery. Divinylbenzen tvoří v řetězcích styrenu příčné vazby, což zajišťuje kulovitý tvar a také významně ovlivňuje vlastnosti ionexu. Příčně svázaná pryskyřičná struktura se nazývá pryskyřičná matice. Je-li tato matice sulfonována, potom získáme silně kyselý katex. Úseky uvnitř skeletu se nazývají póry a pro nabité ionty SO_3^- se užívá termínu vázané ionty. Opačně nabité ionty jsou vyměnitelné

ionty. Při iontové výměně pronikají opačně nabitě ionty v pufru do pórů matrice a vyměňují si místa s opačně nabitými ionty, které jsou tam vázané. U pryskyřic, používaných pro analýzu aminokyselin, jsou proměnnými parametry rozměry částic, stupeň sulfonace a stupeň zesíťení. Chromatografickou činnost analyzátoru aminokyselin ovlivňují ještě jiné parametry jako rozměry kolony, rychlost toku eluentu, teplota a přítomnost organických rozpouštědel. [28]

4.2.2 Příprava vzorků

Správná příprava vzorku je velmi důležitá pro správný a reprodukovatelný výsledek. Je výhodné znát přibližný obsah aminokyselin ve zkoumaném materiálu pro zvolení optimální navážky. Pro analýzu se mohou použít pouze čiré roztoky, zbavené pevných fází a koloidních příměsí.

Příprava vzorků může být rozdělena na uvolňování vázaných aminokyselin hydrolyzou a na přípravu vzorků obsahujících volné aminokyseliny. V komplexních biologických materiálech obvykle stanovujeme volné i vázané aminokyseliny.

Odolnost peptidových vazeb vůči hydrolyze se liší v závislosti na druhu aminokyselin a struktuře bílkoviny. Aminokyseliny uvolněné z peptidové vazby mohou podléhat různým rozkladným změnám účinkem hydrolyzačního činidla nebo jiných složek reakční směsi. Proto není možné provést jen jednu hydrolyzu při jediných podmínkách pro získání absolutních údajů o obsazích aminokyselin. [28]

4.2.2.1 Hydrolyza kyselinou chlorovodíkovou

Jde o nejběžnější metodu, při které se používá 6N HCl při 110°C po 24 hodin. Postup může být obměňován s ohledem na počet parametrů – kyselost, teplota, čas, použití plynného či tekutého skupenství. [34] Hydrolyza se provádí ve zkumavce ze Sialu nebo Pyrexu, která je postupně vypláchnuta chromsírovou směsí, destilovanou vodou a 1N HCl. Zbytky HCl se odstraní v sušárně při 100°C. Zkumavky se pak uchovávají v polyetylenových sáčkách, aby na nich nevznikly nálety NH₄Cl. Vzorek se naváží na dno zkumavky, přidá se 6N HCl ve dvěstěnásobném přebytku. Ke kapalným vzorkům přidáváme 12N HCl v poměru 1:1. Obecně při určení navážek vycházíme z předpokladu, že 1 mg bílkoviny obsahuje 0,3 až 1 mol jednotlivých aminokyselin. [28]

Nejprve se hrdlo zkumavky zúží, pak zmrazíme roztok v mrazící lázni (aceton a suchý led) nebo v podchlazeném alkoholu. Nakonec vzorek evakuujeme přes kohout a uzavřeme zkumavku a v krčku zatavíme.

Zkumavku vložíme do hydrolyzačního bloku nebo do vzdušného termostatu a ponecháme při teplotě $110 \pm 1^\circ\text{C}$ po dobu 20 hodin. Další, stejným způsobem připravený vzorek, hydrolyzujeme 70 hodin. Po hydrolyze zkumavky ochladíme, nařizneme a odpukneme přiložením na konci rozžhavené tyčinky. Kyselinu odpaříme ve vakuovém rotačním odpařováku. Vzorky, které nemůžeme ihned po hydrolyze zpracovat, uchováváme v chladu či mrazu. Pokud analyzovaný vzorek obsahuje cystein, je potřeba ho převést na cystin.

Odparek se nechá rozpustit v destilované vodě a po úpravě fosforečnanovým pufrem na pH 6,5 se nechá 4 hodiny při laboratorní teplotě. Po této oxidaci se vzorek okyselí 1N HCl a doplní potřebným pufrem o pH 2,2. Neprovádíme-li oxidaci cysteinu, rozpouštíme odparek přímo v tomto pufru.

Pro stanovení přesných obsahů isoleucinu a valinu, jež jsou obtížně uvolňovány z peptidických vazeb, provádíme hydrolyzu po dobu až 70 hodin.

U threoninu a serinu dochází při 20 až 24 hodinách hydrolyzy ke ztrátám ve výši 3 až 15 %. Ztráty tyrosinu pro tytéž časy hydrolyzy se pohybují mezi 1–14 %. Tryptofan je během kyselé hydrolyzy HCl ničen téměř úplně. Ostatní aminokyseliny jsou při 20 až 24 hodinové hydrolyze považovány za stabilní.

Nejjednodušší postup pro získání údajů o skutečném obsahu labilních aminokyselin předpokládá reakční kinetiku I.řádu, provedení dvou hydrolyz při čase $t_1 = 20$ hodin a $t_2 = 70$ hodin a výpočet původního obsahu A_0 podle vzorce:

$$\log A_0 = \frac{t_2}{t_2 - t_1} \log A_1 - \frac{t_1}{t_2 - t_1} \log A_2,$$

kde A_1, A_2 jsou zjištěné obsahy aminokyselin A v časech t_1, t_2 .

Po hydrolyze je potřeba vzorek zfiltrovat přes černou pásku do odměrné baňky 200 nebo 250 ml. Filtr promyjeme teplou vodou a doplníme po vychladnutí. K odpařování použijeme alikvot (20 nebo 25 ml), který spláchneme do 10 ml odměrné baňky a doplníme ředícím pufrem pH 2,2. Tímto postupem si značně urychlíme odpařování vzorku, jelikož

odpařování objemu cca 150 ml vzorku je značně zdlouhavé. Odpaření 20 ml trvá několik minut. [28]

4.2.2.2 *Bazická hydrolyza*

Pro bazickou hydrolyzu je potřeba mít předem připravený, částečně hydrolyzovaný škrob. K jeho přípravě je potřeba 50 g bramborového škrobu, 99 ml acetonu a 1 ml koncentrované HCl. Tuto směs zahříváme 2 hodiny při 50°C. Po přidání 25 ml 1M octanu sodného se směs převede na fritu a promyje postupně 2 l destilované vody a 2 l acetonu. Takto získaný produkt se vysuší v exikátoru.

Pro hydrolyzu nejprve připravíme roztok bílkoviny v 0,005N HCl nebo NaOH. 0,1 ml tohoto roztoku se pipetuje do polypropylenové odstředivkové kyvety, přidá se 25 mg částečně hydrolyzovaného škrobu a 0,5 ml 5N NaOH, čerstvě připraveného z 50% NaOH. Kyveta se pak umístí do tenkostěnné zkumavky a přidá se 5 µl 1% roztoku oktanolu v toluenu pro zamezení pění.

Zkumavka se asi v polovině zatáhne nad kyslíkovým plamenem do průměru asi 2 mm. Pak se spodek zkumavky vychladí ve směsi acetonu a suchého ledu, a to tak, aby obsah nezmrzl. Poté se evakuuje olejovou vývěvou, přičemž se spojení se zdrojem vakua několikrát přeruší a v případě, že vzorek příliš pění, se zkumavka opět ponoří do chladicí lázně. Po dosažení evakuace se zkumavka zataví. Takto zatavená se hydrolyzuje při $110 \pm 1^\circ\text{C}$. Po dokonalém ochlazení se pak zkumavka otevře nařiznutím a přiložením horké skleněné tyčinky.

Ke vzorku se přidá 0,5 ml sodnocičratového pufru o pH 4,25 a směs se promíchá. Pak se roztok kvantitativně převede tímto pufrům do 5ml odměrky obsahující 420 µl 6N HCl a umístěné v suchém ledu. Pak se obsah baňky doplní po značku a případný zákal odstraníme odstředěním po dobu 30 minut při 40,0 g. [28]

4.2.2.3 *Příprava tkáňových extraktů pomocí kyseliny pikrové*

Tkáně, určené pro tuto analýzu, musí být co nejdříve zpracovány. Pokud není možné podrobit tkáň analýze ihned, musí být zmrazena suchým ledem na -45°C . Tkáň se pro rozbor musí zbavit tukové části a spojovacího vaziva a poté se v mixéru přelije desetinásobkem váhového množství 1% vodného roztoku kyseliny pikrové. Pro mozkové tkáně je nutno použít pětinasobného přebytku.

Po homogenizaci v mixéru dojde k rychlému odstředění vyloučených bílkovin a takto získaný kapalný podíl se nanese na kolonu, která je naplněna bazickým anexem. Stěny kolony se 3x promyjí 5 ml 0,02N HCl. Veškerá kapalina vycházející z kolony při nanášení vzorku a vyplachování kolony se jímá. Pro větší množství extraktu použijeme dvojnásobného množství měniče iontů. Eluát z kolony lyofilizujeme nebo vakuově odpaříme na objem asi 1 ml. Objeví-li se sraženina, přidáme asi 4 ml vody a několik mg Cellisitu a suspenzi přefiltrujeme na filtru promytém 1N HCl a vodou. Filtrát opět odpaříme, koncentrát vymyjeme do 5 ml odměrky tak, aby objem nepřekročil 3 ml. V této fázi lze vzorek uskladnit ve zmrazeném stavu přes noc. Následující den se pH roztoku upraví na 7 až 8 pomocí 1N NaOH a objemem destilovanou vodou na 5 ml.

Ze vzorku odebereme alikvot pro stanovení a další 2 ml alikvotu smísíme s 0,5N siřičitanem sodným, který přidáme v poměru 0,2 ml na každých 2,5 g tkáně v alikvotu extraktu. Oba podíly vzorku nepodrobeného hydrolyze ponecháme 4 hodiny při laboratorní teplotě. Konečnou fází přípravy vzorku je úprava pH 1M HCl na 2,2 tak, aby konečná koncentrace vzorků odpovídala 0,5 g původní tkáně na 1ml. [28]

4.2.3 Stanovení L-karnitinu

Pro analýzu L-karnitinu byly navrženy již mnohé analytické metody, např. na principu enzymatickém, radioenzymatickém, HPLC s UV nebo fluorimetrickou detekcí s předkolonovou derivatizací či hmotnostní spektrometrie. Vzhledem k tomu, že L-karnitin je polární látka, je jeho analýza náročná. United States Pharmacopeia navrhla HPLC metody vhodné pro kvantitativní stanovení L-karnitinu v tabletách a v roztocích. Metoda, kterou bylo stanoveno množství L-karnitinu v roztoku, využila kolonu s C₁₈ reverzní fází. Mobilní fáze s heptasulfonátem byla stabilizovaná fosfátovým pufr (pH 2,5-methanol). Při této metodě byla použita detekce při 225 nm a před kolonou byla řazena mikrokolona, taktéž C₁₈.

Metoda, kdy byl L-karnitin stanovován v tabletách, byla provedena s použitím kolony, kde stacionární fází byl aminopropylsilan napojený na silikagel a jako mobilní fáze byl použit acetonitrilfosfátový pufr o pH 4,7. Detekce byla prováděna při 205 nm. Tato metoda je velmi náročná a v případě, že preparát obsahuje organické kyseliny se zvyšuje retenční čas a mění se HPLC podmínky. Takto je vhodné stanovovat L-karnitin v množství 2-3mg.ml⁻¹. Pro zlepšení podmínek HPLC metody byla testována kolona C₈. Mobilní fází

byl fosfátový pufr (pH 2-acetonitril) obsahující octansulfonát a detekce byla provedena při 215 nm. Kalibrační křivka byla v tomto případě sestrojena v rozmezí 0,4-4 mg.ml⁻¹. Tato metoda umožnila dobré rozlišení L-karnitinu od ostatních organických kyselin.

Další analytické metody pro stanovení L-karnitinu byly HPLC s fluorimetrickým detektorem po derivatizaci s 9-anthryldiazometanem, enzymatické metody využily L-karnitinacetyltransferasu, D-karnitindehydrogenasu a L-karnitindehydrogenasu a kapilární elektroforézou byly separovány enantiomery L-karnitinu.

Kakou využil IEC systém-Dionex DX-10, který se skládal z vysokotlakého pístového čerpadla DX-100, dávkovací smyčky s objemem 25μl, kolony Waters Nova Pak C-18 (3,9.150mm; 4μm) a konduktometrického detektoru, který byl vybaven termistorem pro kompenzaci teploty. Píky byly integrovány díky softwaru HP 3395 integrátor a softwaru firmy Shimadzu, Japonsko. [35]

Standartní roztok L-karnitinu o koncentraci 10 mg.ml⁻¹ byl rozpuštěn ve vodě a skladován v chladničce. Mobilní fáze byla připravena jako vodný roztok 0,64nM octansulfonátu a 5,2 nM kyseliny trifluoroctové. Vzorky byly zředěny vodou a posléze mobilní fází tak, aby jejich výsledná koncentrace byla v rozmezí 100-700 μg.ml⁻¹. Tablety s L-karnitinem byly navíc protřepávány. Vzorky byly přefiltrovány přes filtr o velikosti pórů 0,45 μm a byly zředěny mobilní fází, ale tak, aby jejich koncentrace byla stále v rozmezí 100 až 700 μg.ml⁻¹. Chromatografická eluce vzorků byla provedena při laboratorní teplotě 25°C a izokratickém modu 1,2 ml.min⁻¹. Kolona byla před vlastním nástřikem vzorku promývána mobilní fází. Tlak, který byl používán při této analýze byl 68947,6 Pa a rozsah vodivosti byl 1000 μS. [35]

ZÁVĚR

Žijeme v 21. století, a to na nás klade velké nároky. Naše životní tempo je rychlé a snažíme se žít na sto procent. K tomu, abychom si život správně užívali potřebujeme být v dobré kondici. Kromě pohybu je také nutná vyvážená a plnohodnotná strava bohatá na vitamíny, minerály a některé další esenciální látky. Jedním z velkých zdravotních problémů dneška je obezita. Právě z těchto důvodů je L-karnitin v dnešní době tak vyhledávaný.

Cílem této práce bylo představit tuto látku, která je pro člověka důležitá a jejíž příjem prospívá lidskému zdraví.

L-karnitin je látkou, jejíž fyziologické funkce se zkoumají od roku 1935, avšak až dnes se začíná využívat jako potravinový doplněk. L-karnitin se považuje za méně obvyklou aminokyselinu, která se přirozeně tvoří v játrech a ledvinách z esenciálních aminokyselin lysinu a methioninu. Z toho také plyne, že největší množství L-karnitinu se vyskytuje ve svalovině. Jeho množství v lidském těle se pohybuje v závislosti na objemu svalové hmoty, přibližně od 20 do 30 gramů.

Pro zdravého jedince není vyšší příjem L-karnitinu až tak důležitý. Skupiny, pro které je jeho vyšší množství přínosné jsou např. lidé trpící nadváhou, kterým pomáhá snižovat tukové zásoby. Užívání L-karnitinu, resp. jeho vyšších dávek, je doporučováno vytrvalostním sportovcům pro jeho schopnost zabránit zužování cév, čímž podporuje krevní oběh a zásobování svalů kyslíkem. Další skupina osob, která má vyšší nároky na příjem L-karnitinu jsou těhotné a kojící ženy, pro které není snadné pokrýt potřebné množství L-karnitinu z normální stravy. Výrazné snížení koncentrace L-karnitinu v těle lze zaznamenat již ve dvanáctém týdnu těhotenství.

Schopnost těla vytvářet L-karnitin se s věkem snižuje. U starších lidí se také vyskytuje snížená chuť k jídlu. Často jedí méně masa a tím se snižuje množství L-karnitinu přijaté potravou pro tuto věkovou skupinu. Jak již bylo řečeno, L-karnitin se vyskytuje hlavně v mase a proto dalšími osobami, které potřebují přijímat L-karnitin ve formě potravinových doplňků jsou vegetariáni.

To ale nejsou jeho jediné pozitivní vlivy na lidské zdraví. Jeho tzv. vedlejším účinkem je prevence aterosklerózy, ochrana srdečního svalu, zlepšená obranyschopnost proti nemocím. Pomáhá lidem se špatnou funkcí ledvin a jater, a také je u něj dokázán pozitivní vliv na mužskou plodnost. U jedinců, kteří prodělali srdeční infarkt, se při použití doplň-

kového L-karnitinu snížilo riziko opětovného srdečního selhání či dokonce úmrtí na nemoci srdce. L-karnitin, respektive jeho účinná forma L-acetylkarnitin, může napomáhat pozastavení rozvoje Alzheimerovy choroby v jejím počátečním stavu. Má také vliv na paměť především u starších lidí. Taktéž pomáhá lidem trpícím neurologickým onemocněním a přispívá ke snížení rizika Anginy pectoris.

L-karnitin se stanovuje pomocí metody HPLC - IEC. Pro analýzu L-karnitinu byly navrženy již mnohé analytické metody, např. na principu enzymatickém, radioenzymatickém, HPLC s UV nebo fluorimetrickou detekcí s předkolumnovou derivatizací či hmotnostní spektrometrie. Metoda, kterou bylo stanoveno množství L-karnitinu v roztoku, využila kolonu s C₁₈ reverzní fází. Mobilní fáze s heptasulfonátem byla stabilizovaná fosfátovým pufrům (pH 2,5-methanol). Při této metodě byla použita detekce při 225 nm a před kolonou byla řazena mikrokolona, taktéž C₁₈. Také byla publikována metoda, kdy byl L-karnitin stanovován v tabletách. Analýza byla provedena s použitím kolony, kde stacionární fází byl aminopropylsilan napojený na silikagel a jako mobilní fáze byl použit acetonitrilfosfátový pufr o pH 4,7. Detekce byla prováděna při 205 nm. Pro zlepšení podmínek HPLC metody byla testována i kolona C₈. Mobilní fází byl fosfátový pufr (pH 2-acetonitril) obsahující octansulfonát a detekce byla provedena při 215 nm. Tato metoda umožnila dobré rozlišení L-karnitinu od ostatních organických kyselin.

Další analytické metody pro stanovení L-karnitinu byly HPLC s fluorimetrickým detektorem po derivatizaci s 9-anthryldiazometanem, enzymatické metody využily L-karnitinacetyltransferasu, D-karnitindehydrogenasu a L-karnitindehydrogenasu a kapilární elektroforézou byly separovány enantiomery L-karnitinu. Byl taktéž popsán IEC systém-Dionex DX-10, který se skládal z vysokotlakého pístového čerpadla DX-100, dávkovací smyčky s objemem 25μl, kolony Waters Nova Pak C-18 (3,9.150mm; 4μm) a konduktometrického detektoru, který byl vybaven termistorem pro kompenzaci teploty.

Bakalářská práce bude sloužit jako výchozí materiál pro potencionální stanovení aminokyselin a L-karnitinu na aminokyselinovém analyzátoru AAA 400.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Velíšek, J. *Chemie potravin I*. Osis Tábor, 1999. 328 s. ISBN 80-902391-3-7
- [2] Karlson, P. *Základy biochemie*. 3. přepracované vydání, Academia Praha, 1981. 504 s.
- [3] Hoza, I.; Kramářová D. *Potravinářská biochemie I*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005. ISBN 80-7318-295-5
- [4] Davídek, J.; Janíček, G.; Pokorný, J. *Chemie potravin*. SNTL PRAHA, 1983. 632 s
- [5] Dostupné na: <<http://www.carnipure.com/carnipure/en/what/historical.html>>
[cit. 2006-01-12 SEČ]
- [6] Dostupné na:
<<http://www.umm.edu/altmed/ConsSupplements/CarnitineLCarnitinecs.html#Overview>> [cit. 2006-04-15 SEČ]
- [7] Dostupné na: <www.britney.cz> [cit. 2005-10-12 SEČ]
- [8] Prokorátová, V.; Kvasnička, F.; Ševčík, R.; Voldřich, M. *Capillary electrophoresis determination of carnitine in food supplements*. Institute of Chemical Technology, Praha, duben 2005. 60-64.
- [9] Dostupné na: <www.carnipure.com> [cit. 2005-12-06 SEČ]
- [10] Loster, H. *Effect of L-carnitine and its derivatives*. Monatshefte für chemie, srpen 2005. 136
- [11] Dostupné na: <<http://www.pharmanord.cz/>> [cit. 2006-01-12 SEČ]
- [12] Dostupné na: <<http://www.celostnimediceina.cz/karnitin-odstranjuje-tuk.htm>>
[cit. 2006-02-21 SEČ]
- [13] Dostupné na: <www.ICMARKET.wz.cz> [cit. 2005-11-25 SEČ]
- [14] Dostupné na: <http://www.biocen.cz/l_carnitin_letak.php> [cit. 2005-11-06 SEČ]
- [15] Dostupné na: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002/ebook.obsah.htm>
[cit. 2006-03-14 SEČ]
- [16] Dostupné na : <www.stob.cz/view.php?cislocianku=2004032601> [cit. 2006-05-15 SEČ]

[17] Dostupné na:

<<http://www.umm.edu/altmed/ConsSupplements/CarnitineLcarnitinecs.html>>

[cit. 2006-03-16 SEČ]

[18] Dostupné na: <http://www.biocen.cz/l_carnitin_letak.php> [cit. 2005-11-06]

[19] Dostupné na: <<http://www.f-sport.cz/print.php?id=71>> [cit. 2006-02-16 SEČ]

[20] Marounek, M.; Březina, P.; Šimůnek, J. *Fyziologie a hygiena výživy*. VVŠ PV Vyškov, 2000. ISBN 80-7231-057-7

[21] Hoza, I.; Kramářová D. *Potravinářská biochemie III*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006. ISBN

[22] Dostupné na: <http://www.vscht.cz/eds/knihy/uid_es-002/hesla/mitochondrie.html>

[cit. 2006-21-04 SEČ]

[23] Klaban, V. *Svět mikrobů*. Gaudeamus Hradec Králové, 1999. ISBN 80-7041-639-4

[24] Trojan, S. a kol. *Lékařská fyziologie*. Grada Publishing, a.s. Praha, 2003. 772 s. ISBN 80-247-0512-5

[25] Berger, J. *Buněčná a molekulární biologie*. Tobiáš, Havlíčkův Brod, 1996. ISBN 80-85808-42-0

[26] Šicho, V.; Vodrážka, Z.; Králová, B. *Potravinářská biochemie*. SNTL PRAHA, 1981. 360 s.

[27] Šípal, Z. a kol. *Biochemie*, SPN PRAHA, 1992

[28] *Analyzátor aminokyselin AAA 400 návod k obsluze*. INGOS s.r.o., 2002

[29] Michal, J. *Chromatografie v anorganické analýze*. SNTL PRAHA, 1970. 260 s.

[30] Klouda, P. *Moderní analytické metody*. Ostrava, 1996

[31] Jason, J.; Rydén, L. *Protein purification*. Wiley-VCH, USA, 1997

[32] Vaňková, H. *Chemické listy 93*. VŠCHT PRAHA, s.120-127, 1999

[33] Zýka, J. a kolektiv. *Analytická příručka*. 4. upravené vydání, SNTL PRAHA, s.680, 1988

- [34] Kellner R.; Meyer H.E; Lottspeich F. *Microcharacterization of proteins*. Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 1997
- [35] Kakou A.; Megoulas N.C.; Koupparis M.A. *Determination of L-carnitine in food supplement formulations using ion-pair chromatography with indirect conductimetric detection*. Laboratory of Analytical Chemistry, Athens 15771, Greece, říjen 2004. 209-213
- [36] Dostupné na: <<http://www.sportwave.cz/produkt/spalovani-tuku> > [cit. 2006-21-04]
- [37] Dostupné na: <www.kulturistika.net/view.php?cisloclanku=200...> [cit. 2006-21-04]
- [38] Dostupné na: <<http://www.sportnutrition.cz/item.asp?iditem=141>> [cit. 2006-21-04]
- [39] Dostupné na: <<http://www.izhubnu.cz/images/new/fortuna.jpg>> [cit. 2006-21-04]

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

FAD	Food and Drug Administration
HDL	High Density Lipoprotein, lipoprotein s vysokou hustotou
AMP	Adenosinmonofosfát
ATP	Adenosintrifosfát
CoA	Koenzym A
Acyl-CoA	Acyl-koenzym A
NAD ⁺	Nikotinamidadenindinukleotid
NADH	Redukovaná forma nikotinamidadenindinukleotidu
IEC	Ion-exchange chromatography, Iontoměničová chromatografie
HPLC	High Performance Liquid Chromatography, Vysoce účinná kapalinová chromatografie
LC	L-karnitin
LAC	L-acetylkarnitin
LPC	L-propyonylkarnitin
TAG	Triacylglycerol
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
RNA	Ribonukleová kyselina
HAC	Kyselina hydroxycitronová

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Amfiont.....	13
Obr. 2 L- a D-isomery aminokyselin.....	15
Obr. 3 Peptidová vazba.....	15
Obr. 4 Vstřebávání lipidů (TAG).....	24
Obr. 5 Mitochondrie	27
Obr. 6 Lynenova spirála.....	28
Obr. 7 Aktivace mastné kyseliny.....	29
Obr. 8 Přenos aktivovaných mastných kyselin do matrix mitochondrie.....	30
Obr. 9 Vlastní β -oxidace.....	31
Obr. 10 Thiolýza.....	31
Obr. 11 Disociace kyseliny asparagové.....	35
Obr. 12 Disociace lysinu.....	36
Obr. 13 Princip výměny iontů (IEC)	36

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Názvy a symboly základních kódovaných aminokyselin.....	12
Tab. 2 Množství L-karnitinu v potravinách.....	19
Tab. 3 Přehled důležitých nasycených mastných kyselin.....	25

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Preparáty

Příloha P II: Preparáty

Příloha P III: Potraviny s přídavkem L-karnitinu

PŘÍLOHA P I: PREPARÁTY

L-Carnitin + Chrom

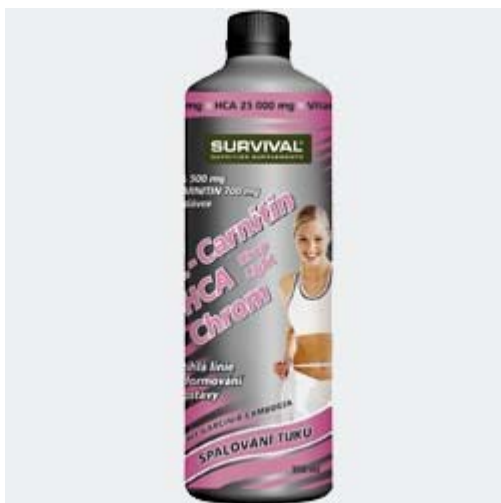


Účinně napomáhá redukci tukové tkáně, snižuje koncentraci kyseliny mléčné ve svalech, zlepšuje vytrvalost, působí jako prevence srdečních chorob, urychluje regeneraci po fyzickém výkonu.

Obsah účinných látek v 1 litru :

L-carnitin 50 000 mg

L-Carnitin + HCA + Chrom



Omezuje ukládání tuků a výrazně podporuje jejich spalování, snižuje pocit hladu a chuť na sladké, snižuje hladinu cholesterolu v krvi. Urychluje regeneraci a zvyšuje fyzický výkon.

Obsah účinných látek v 1 litru :

L-carnitin 35 000 mg,

Příloha P II: Preparáty

L-Carnitin + Taurin



Rychlé a vysoce účinné povzbuzení fyzického a psychického výkonu, podpora schopnosti koncentrace, obnova energetických zásob stimulací přeměny tuku na energii a podpora procesu redukce nadváhy, regulace hladiny krevního cukru.

Obsah účinných látek v 1 litru :

L-carnitin 40 000 mg,

[36]

L-Carnitine-L-Tartrát

L-carnitin-L-tartrát je sloučeninou karnitinu a kyseliny vinné (tartrát = vinnan, sůl kyseliny vinné), obsahující 68 % karnitinu a 32 % kyseliny vinné.

[37]



Příloha P III: Potraviny s přídavkem L-karnitinu

L - carnitin drink 500ml



Neslazený osvěžující nápoj obohacený o L-karnitin. Ideální na doplnění tekutin během sportovní a tělesné aktivity. 500 ml obsahuje 1000 mg L-karnitinu.

[38]

Fortuna Silueta



Jde o nápoj obohacený vlákninou, L-karnitinem, chromem, hořčíkem a vitamíny. Na 100 ml připadá 20 mg L-karnitinu, 1 balení o velikosti 500 ml je tedy zdrojem jen 100 mg L-karnitinu. K dosažení účinné dávky 500 mg by bylo nutno vypít 2,5 l mléka, což není příliš reálné.

[39]