

绿茶饮料浓缩物缓解体力疲劳实验研究

喻颖杰¹, 丁彩翠¹, 李旭¹, 时光一郎², 林哲史³, 邹圣山⁴, 陈世忠⁵

(1. 北京大学医学部公共卫生学院营养与食品卫生学系, 北京 100191)(2. 花王株式会社 HHC 本部 健康食品研究所, 东京 1038210)(3. 花王株式会社 HHC 本部食品与饮料事业部, 东京 1038210)(4. 润都科罗生物科技(北京)有限公司, 北京 100039)(5. 北京大学医学部药学院天然药物系, 北京 100191)

摘要: 目的: 探讨绿茶饮料浓缩物缓解小鼠体力疲劳的作用。方法: 240 只清洁级雄性昆明小白鼠随机分为 4 组, 分别以经口灌胃方式给予蒸馏水(对照组)、不同剂量绿茶饮料浓缩物[133 mg/(kg·bw), 665 mg/(kg·bw), 1995 mg/(kg·bw)], 每日 1 次, 连续 45 d, 进行负重游泳实验, 测定血乳酸、血清尿素及肝糖原含量。结果: 与对照组比, 低、中剂量能够增加小鼠负重游泳时间 ($p<0.01$); 低剂量组可降低游泳后即刻的血乳酸水平 ($p<0.05$), 各剂量组均能降低游泳后 20 min 的血乳酸水平 ($p<0.05$); 中剂量组能够增加小鼠肝糖原储备 ($p<0.05$); 各剂量组血清尿素水平没有明显变化 ($p>0.05$)。结论: 绿茶饮料浓缩物具有缓解小鼠体力疲劳的作用, 以中剂量作用最强。

关键词: 绿茶饮料浓缩物; 负重游泳时间; 乳酸; 尿素; 肝糖原

文章编号: 1673-9078(2010)1-52-3

Anti-fatigue Effects of Green Tea Beverage Concentrate in Mice

YU Ying-jie¹, DING Cai-cui¹, LI Xu¹, Ichiro Tokimitsu², Satoshi Hayashi³, ZOU Sheng-shan⁴, CHEN Shi-zhong⁵

(1. Department of nutrition & food hygiene, Health Science Center, Peking University, Beijing 100191, China)(2. Health Care Food Research Laboratories, Global R&D, Kao Corporation, Tokyo, 1038210, Japan)(3. Global Food and Beverage group, Kao Corporation, Tokyo 1038210, Japan)(4. Rundo CRO Biotech Beijing Co., Ltd. Beijing 100039, China)(5. School of pharmaceutical sciences, Peking University, Beijing, 100191, China)

Abstract: The anti-fatigue effects of green tea beverage concentrate in mice was studied by randomizing 240 Kunming mice to 4 groups, and oral gavage of distilled water (control group) or various doses of green tea beverage concentrate[133 mg/(kg·bw), 665 mg/(kg·bw), 1995 mg/(kg·bw)] respectively, for consecutive 45 days. The loading swimming time, levels of lactate acid, serum urea, and liver glycogen were determined before and after swimming tests. Results showed that, compared with control group, administration of green tea beverage concentrate can significantly lengthen the swimming time (for low and medium dose groups, $p<0.01$), reduce the lactate acid level (immediately after swimming for the low dose group ($p<0.05$), 20 minutes after swimming for all dose groups ($p<0.05$), and increased the content of liver glycogen (for medium dose group, $p<0.05$), while no significant difference was found in serum urea level ($p>0.05$). It was concluded that green tea beverage concentrate may have anti-fatigue effects in mice, with strongest effects seen in medium dose group.

Key words: green tea beverage concentrate; loading swimming time; lactate acid; urea; liver glycogen

绿茶在中国已有几千年的饮用史, 业已发现它具有抗氧化、调节血压、血脂、血糖等生物活性功能^[1], 但对于其抗疲劳作用的研究却较少。因此, 本研究采用清洁级雄性昆明小白鼠, 以绿茶饮料浓缩物为受试物, 探讨绿茶是否具有缓解体力疲劳功能。

1 材料与方法

1.1 动物

收稿日期: 2009-09-06

作者简介: 喻颖杰 (1982-), 硕士研究生

通讯作者: 陈世忠教授

清洁级雄性昆明小白鼠 240 只, 体重 18~22 g, 购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心。

1.2 受试物

为绿茶饮料经冷冻干燥后的粉末 (1 g 相当于原液 87.2 mL), 由日本花王株式会社提供, 主要成分为绿茶和绿茶提取物, 粉末含儿茶素 134.5 mg/g, 咖啡因 19.9 mg/g。将该粉末以蒸馏水溶解调制成合适浓度, 以经口灌胃方式给予动物。

1.3 仪器和试剂

乳酸测定用的溶血剂、酶膜、5 mmol/L 乳酸标准液、缓冲液为美国 YSI 公司产品, 血乳酸含量采用

YSI-1500 乳酸分析仪测定。

血清尿素按北京中生生物工程技术有限公司的尿素试剂盒操作方法,由日立 7060 全自动生化分析仪测定。

肝糖原含量测定采用蒽酮法,需用到:5%三氯醋酸、葡萄糖标准液(1 mg/mL),72%硫酸,蒽酮试剂(0.05%蒽酮和 1%硫酸,用 72%硫酸配制),721 分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

1.4 实验方法

由 4 个实验组成:小鼠负重游泳实验、血清尿素测定、血乳酸测定、肝糖原测定。

各项实验中小鼠在动物房中适应 2 d 后,随机分为 4 组,15 只/组,包括正常对照组、低、中、高剂量组。对照组给予蒸馏水,低、中、高剂量组分别按 133 mg/(kg·bw)、665 mg/(kg·bw)、1995 mg/(kg·bw)给予受试物,经口灌胃,每日 1 次,灌胃体积 20 mL/(kg·bw),连续灌胃 45 d 后进行下列 4 项实验。

小鼠负重游泳实验:末次灌胃 0.5 h 后,小鼠尾部负重 5%体重的铅皮,置水深 30 cm,温度 25 °C 的游泳桶中游泳。记录小鼠入水至力竭身亡时的时间,作为小鼠的游泳时间。

血乳酸测定:末次灌胃 0.5 h 后,将小鼠置水深 30 cm、30 °C 的游泳桶中不负重游泳 10 min,分别在游泳前、游泳后即刻、游泳后 20 min 由眼眶用 20 μL 定量采血管采血,采集的血样定量转移至含 40 μL 溶血剂的离心管中,混匀,分别测得各时间点的血乳酸含量。乳酸曲线下面积=5×(游泳前血乳酸值+3×游泳后 0 min 的血乳酸值+2×游泳后休息 20 min 的血乳酸值)。

血清尿素测定:末次灌胃 0.5 h 后,小鼠置水深 30 cm、30 °C 的游泳桶中不负重游泳 90 min,取出小鼠。1 h 后,麻醉小鼠,摘眼球取血,离心制备血清,

测定尿素含量。

肝糖原测定-蒽酮法:末次灌胃 0.5 h 后,处死小鼠,取肝脏,经生理盐水漂洗后用滤纸吸干,精确称取肝脏 200 mg,用蒽酮法进行肝糖原含量测定。

1.5 统计分析

实验结果以均数±标准差表示,采用单因素方差分析,若数据不符合正态性或方差齐性的要求则进行数据变换。统计软件 SPSS 13.0, $p < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 负重游泳实验

由表 1 可见,给药 45 d 后,与对照组相比,各剂量组小鼠负重游泳时间均有所增加,且低、中剂量组有统计学意义 ($p < 0.01$),但高剂量组没有统计学意义 ($p > 0.05$)。

表 1 绿茶饮料浓缩物对小鼠负重游泳时间的影响

Table 1 Effect of green tea beverage concentrate on the loading swimming time of mice

剂量[(mg/(kg·bw))]	动物只数	游泳时间 (s)
0	15	226±115
133	15	438±275**
665	15	570±454**
1995	15	270±224

注:与对照组比较,** $p < 0.01$ (数据经自然对数转换)

2.2 绿茶饮料浓缩物对小鼠运动前后血乳酸的影响

如表 2 所示,与对照组比,游泳前各剂量组小鼠的血乳酸水平无显著性差异,游泳后即刻,低剂量组小鼠的血乳酸水平显著性降低 ($p < 0.05$),游泳后 20 min,各剂量组小鼠的血乳酸水平均显著性降低 ($p < 0.05$)。低、中剂量组小鼠血乳酸曲线下面积显著性减小 ($p < 0.05$)。

表 2 绿茶饮料浓缩物对小鼠游泳前后血乳酸及乳酸曲线下面积的影响

Table 2 Effect of green tea beverage concentrate on levels of lactate acid of the mice before and after swimming tests

剂量[mg/(kg·bw)]	动物只数	游泳前(mmol/L)	游泳后即刻(mmol/L)	游泳后 20 min (mmol/L)	乳酸曲线下面积(mmol/L)
0	15	2.35±0.67	5.09±0.97	3.09±1.18	119.00±19.75
133	15	2.16±0.79	4.32±0.87*	2.31±0.82*	98.67±23.23*
665	15	2.60±0.82	4.50±0.78	2.05±0.72**	100.92±18.77*
1995	15	2.40±0.95	4.87±1.38	2.42±0.69*	109.17±24.78

注:与对照组比较,* $p < 0.05$,** $p < 0.01$

2.3 绿茶饮料浓缩物对小鼠运动后血清尿素的影响

由表 3 可见,与对照组比,以 133~1995 mg/(kg·bw) 的受试物灌胃 45 d,不影响小鼠运动后血清尿素水平 ($p > 0.05$)。

2.4 绿茶饮料浓缩物对小鼠肝糖原含量的影响

由表 4 可见,各剂量组小鼠肝糖原的含量均有所增加,在中剂量组有统计学意义 ($p < 0.05$),低剂量组接近统计学意义 ($p = 0.059$)。

表3 绿茶饮料浓缩物对小鼠血清尿素的影响

Table 3 Effect of green tea beverage concentrate on serum urea of the mice before and after swimming tests

剂量[mg/(kg·bw)]	动物只数	尿素 (mmol/L)
0	15	7.2±1.0
133	15	7.8±1.7
665	15	8.0±1.4
1995	15	7.5±1.3

表4 绿茶饮料浓缩物对小鼠肝糖原含量的影响

Table 4 Effect of green tea beverage concentrate on liver glycogen of mice before and after swimming tests

剂量[mg/(kg·bw)]	动物只数	肝糖原含量(mg/g)
0	15	18.136±9.807
133	15	24.473±9.674
665	15	25.729±8.449*
1995	15	20.788±7.872

注: 与对照组比, * $p < 0.05$

3 讨论

一些文献表明, 运动时的疲劳与氧自由基增多有关^[2], 而绿茶中的儿茶素类具有较强的抗氧化作用, 可发挥抗疲劳作用。此外, 绿茶具有一定的增强心肌收缩力, 改善心肌血液循环的作用, 也有利于提高运动能力。

运动耐力的提高是抗疲劳能力加强的最有力的表现^[3], 再结合其它生化指标可以对抗疲劳作用进行综合评价。本实验中, 低、中剂量的绿茶饮料浓缩物能够明显延长小鼠的负重游泳时间, 提示该饮料浓缩物能够改善运动耐力。

糖原是生物体内能源的一种贮存方式, 肝糖原对运动能力的重要性反应在耐力运动中, 运动时肝糖原分解加快, 肝脏释放葡萄糖入血以维持血糖平衡^[4]。本研究中, 中剂量组的绿茶饮料浓缩物可以显著增加肝糖原的储备, 提示有增加运动耐力的潜在功能。

血乳酸和尿素是与疲劳相关的重要的生化指标^[5,6]。乳酸是糖无氧酵解的产物, 一般认为乳酸的堆积是导致运动疲劳的重要原因。本实验中低剂量绿茶饮料浓缩物能够显著降低运动后即刻血乳酸水平, 提示该受试物有减少乳酸产生的潜在作用。而各剂量组在运动后 20 min 的血乳酸水平均显著低于对照组, 提示受试物可加速乳酸的清除, 从而减少运动疲劳。血清尿素可反映蛋白质的降解程度和身体机能的恢复情

况, 与运动负荷量和强度有关, 一般对运动量更敏感^[7]。本研究显示绿茶饮料浓缩物不影响小鼠运动后血清尿素水平, 有可能运动时升高的血清尿素在运动后 1 h 已有所恢复, 或者由于肝糖原储备增多, 运动中蛋白质分解代谢并无显著加强, 因而血清尿素水平无明显变化。

综合看来, 绿茶饮料浓缩物具有缓解体力疲劳的作用, 且中剂量[665 mg/(kg·bw)]作用最强, 高剂量组作用反而最弱。先前有研究认为 16 mg/(kg·bw)的咖啡因注射可以增加鼠类体力活动, 高于这个水平, 体力活动反而下降^[8]。本研究高剂量组的咖啡因含量为 39.8 mg/(kg·bw), 是否因为过量导致抗疲劳作用减弱, 还需要进一步研究。

4 结论

本实验结果表明, 以 133 mg/(kg·bw)及 665 mg/(kg·bw)的绿茶饮料浓缩物连续经口灌胃小鼠 45 d 具有缓解体力疲劳功能, 高剂量[1995 mg/(kg·bw)]是否具有此功能有待进一步明确。

(致谢: 感谢日本花王株式会社提供的受试物样品。)

参考文献

- [1] 方芳, 崔志清, 韩永晶. 茶儿茶素的药效研究概况[J]. 中草药, 2000, 31(5): 396-398
- [2] Michael B.Reid. Free radicals and muscle fatigue: of ROS, canaries, and the IOC [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2008, 44: 169-179
- [3] 宁鸿珍, 关维俊, 阎红. 茶多酚复合饮料的抗疲劳作用研究[J]. 营养学报, 2002, 24(3): 313-315
- [4] 雄正英, 刘社琴. 蒺藜提取物对训练大鼠糖原、血睾酮和运动能力的影响[J]. 体育科学, 2004, 24(8): 37
- [5] Ma Li, Cai Donglian, Li Huaixing, et al. Anti-fatigue effects of salidroside in mice[J]. Journal of medical colleges of PLA, 2008, 23: 88-93
- [6] 王丽霞, 刘安军, 朱晓萍, 韩雪. 羊肉中 L-肉碱抗疲劳作用的研究. 现代食品科技, 2008, 24(6): 509-512
- [7] 屈萍, 屈胜国, 郑俊. 绿茶活性提取物对有氧性运动疲劳恢复的作用[J]. 武汉体育学院学报, 2007, 41(12): 48-52
- [8] Giovanni Corsetti, Evasio Pasini, Deodato Assanelli, et al. Effects of acute caffeine administration on NOS and Bax/Bcl2 expression in the myocardium of rat [J]. Pharmacological Research, 2008, 57(1): 19-25