

牡蛎复合提取物缓解体力疲劳的作用研究

欧慧瑜, 李瑞鹏, 郭秋平*

(广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心, 广州 510240)

摘要: **目的** 考察牡蛎复合提取物缓解体力疲劳的作用。**方法** 将160只ICR(institute of cancer research)雄性小鼠随机分为阴性对照组、牡蛎复合提取物低(0.30 g/kg)、中(0.60 g/kg)、高剂量(1.80 g/kg)组, 每组40只, 连续灌胃给药30 d后, 测定小鼠负重游泳时间、游泳后血清尿素、血乳酸含量和肝糖原含量。**结果** 与阴性对照组相比, 牡蛎复合提取物高剂量组(1.80 g/kg)能显著延长负重小鼠的游泳时间($P<0.05$), 降低游泳后血清尿素含量($P<0.05$), 增加小鼠肝糖原含量($P<0.05$), 但不能显著减少小鼠血乳酸含量($P>0.05$)。**结论** 高剂量牡蛎复合提取物具有缓解体力疲劳的功效。

关键词: 牡蛎; 复合提取物; 缓解体力疲劳

Anti-fatigue effects of composite extraction of *Ostrea gigas* Thunberg in mice

OU Hui-Yu, LI Rui-Peng, GUO Qiu-Ping*

(Drug Nonclinical Evaluation and Research Center of Guangzhou Pharmaceutical Research Institute, Guangzhou 510240, China)

ABSTRACT: Objective To investigate anti-fatigue effects of composite extraction of *Ostrea gigas* Thunberg in mice. **Methods** A total of 160 male mice were randomly divided into 4 groups: the negative control group, and composite extraction at different doses of low (0.30 g/kg), medium (0.60 g/kg), and high (1.80 g/kg) dosage groups, with 40 mice in each group. The extractions were consistently administered intragastrically for 30 days. Subsequently, indicators including the loaded swimming time, lactic acid content in the whole blood, urea nitrogen in the serum and hepatic glycogen content were determined. **Results** Compared to the negative control group, the loaded swimming time was significantly prolonged ($P<0.05$), the content of urea nitrogen was decreased ($P<0.05$) and the content of hepatic glycogen was increased ($P<0.05$) in high dosage (1.80 g/kg) of composite extraction group. But the lactic acid in the whole blood was not significantly decreased ($P>0.05$). **Conclusion** It is suggested that high-dose composite extraction of *Ostrea gigas* Thunberg could alleviate physical fatigue in mice.

KEY WORDS: *Ostrea gigas* Thunberg; composite extraction; anti-fatigue

1 引言

牡蛎含有丰富的蛋白质、氨基酸、活性多糖以及微量元素等成分, 具有缓解疲劳、抑制脂肪生成、抗炎等功效^[1,2]。牛磺酸具有减少脂质过氧化产物、稳定细胞膜、提高

抗氧化能力等作用^[3,4]。研究证实牡蛎中含有丰富的牛磺酸, 每100 g牡蛎中可提取牛磺酸219.42 mg^[5]。牡蛎中还含有锌、钙、铁和硒等矿物质, 特别是锌的含量丰富。近江牡蛎中锌的含量可达447.50 mg/kg, 是优质的生物锌来源之一^[6]。研究表明锌具有催化、维持体内氧化还原平衡、清

*通讯作者: 郭秋平, 高级工程师, 主要研究方向为功能性评价和毒理学评价。E-mail: vipvivenguoguo@163.com

*Corresponding author: GUO Qiu-Ping, Senior Engineer, Drug Nonclinical Evaluation and Research Center of Guangzhou Pharmaceutical Research Institute, Guangzhou 510240, China. E-mail: vipvivenguoguo@163.com

除自由基、增强免疫功能、防止衰老等方面的重要作用^[7,8]。本研究考察主要成分为蛋白质、牛磺酸和锌的牡蛎复合提取物缓解疲劳的功效,为具有抗疲劳作用的功能食品的开发提供理论支持。

2 材料与方法

2.1 药品及试剂

牡蛎复合提取物(每100 g含:蛋白质10.8 g、牛磺酸1.4 g、锌0.15 g,每日推荐摄入量3.6 g),由广州医药研究总院有限公司研制。取新鲜牡蛎肉经清洗、匀浆、调pH后,加酶水解,然后酶解液经过喷雾干燥得到牡蛎复合提取物干粉。血清尿素氮试剂盒,由上海复星长征医学科学有限公司提供;肝糖原试剂盒,由南京建成生物工程研究所提供。

2.2 动物

SPF (specific pathogen free, 无特定病原体)级 ICR (institute of cancer research, 癌症研究学会)小鼠(体重18~22 g),雄性,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(湘)2013-0004。动物饲养于屏障级动物房,温度20~22℃,相对湿度50%~70%,12 h照明/12 h黑暗交替,动物自由摄食和饮水,适应性喂养1周后进行试验。

2.3 仪器

电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);3-18k高速冷冻离心机(德国Sigma公司);Elx800酶标仪(美国Bio Tek公司);日立7100型全自动生化分析仪(日本日立高新技术公司)。

2.4 方法

实验方法参照《保健食品检验与评价技术规范》中缓解体力疲劳功能检验方法进行。

2.4.1 动物分组

将160只ICR小鼠随机分为阴性对照组、牡蛎复合提取物低、中、高剂量组,每组40只。牡蛎复合提取物的剂量分别为0.30、0.60和1.80 g/kg,相当于牡蛎复合提取物人日推荐剂量的5倍、10倍和30倍。试验时,牡蛎复合提取物用食用植物油溶解,按10 mL/kg体积给小鼠灌胃,每天一次,连续灌胃给药30 d。阴性对照组灌胃给予等体积的食用植物油。分别于试验开始前和试验末期称量小鼠的体重。

2.4.2 负重游泳试验

末次给药30 min后,将小鼠置于游泳箱(50 cm×50 cm×40 cm)中,水深约35 cm,水温保持在(25±1)℃,小鼠尾巴根部负荷5%体重的铅丝。记录小鼠开始游泳至死亡的时间,作为小鼠负重游泳时间。

2.4.3 小鼠血清尿素含量测定

末次给药30 min后,小鼠在温度为30℃的水中不负重游泳90 min,休息60 min后立即眼眶采血,2000 r/min离心15 min后,吸取20 μL血清,根据试剂盒说明书进行尿素氮测定。

2.5 小鼠肝糖原测定

末次给药30 min后,立即处死小鼠,取肝脏组织经生理盐水漂洗后用滤纸吸干,称取肝脏组织100 mg,制备肝脏组织匀浆,按照试剂盒说明书进行肝糖原检测。

2.6 全血乳酸含量测定

末次给药30 min后,从眼眶静脉丛采血,然后不负重在温度为30℃的水中游泳10 min后停止,立即眼眶采血,休息20 min后再眼眶采血,按照试剂盒说明书测定小鼠血乳酸含量。

血乳酸曲线下面积=1/2×(游泳前血乳酸值+游泳后0 min的血乳酸值)×10+1/2×(游泳后0 min的血乳酸值+游泳后休息20 min的血乳酸值)×20

2.7 数据处理

试验数据用SPSS 19.0软件进行统计分析。分析时,先对数据进行方差齐性检验,若方差齐,采用单因素方差分析进行总体比较,发现差异再用Dunnett法进行多个剂量组与对照组均数间的两两比较。

3 结果与分析

3.1 对小鼠体重的影响

牡蛎复合提取物各剂量组与阴性对照组相比,小鼠初始体重和终末体重差异无显著性($P>0.05$),结果见表1。

3.2 对小鼠负重游泳时间的影响

与阴性对照组相比,牡蛎复合提取物高剂量组可显著延长小鼠的负重游泳时间($P<0.05$),中剂量和低剂量组不能显著延长小鼠的负重游泳时间($P>0.05$)。表明高剂量的牡蛎复合提取物能明显提高小鼠的运动耐力,缓解小鼠的体力疲劳。结果见表2。

3.3 对小鼠血清尿素的影响

血清尿素含量可评价机体对运动负荷的承受能力。运动情况下,血清尿素氮含量越低,表明机体对负荷的承受力越强。与阴性对照组相比,牡蛎复合提取物高剂量组可显著降低血清尿素氮含量($P<0.05$),中剂量和低剂量组不能显著降低尿素氮含量($P>0.05$)。表明,牡蛎复合提取物可加速小鼠运动后血清内尿素的清除。结果见表3。

3.4 对运动后小鼠血乳酸变化的影响

长时间的剧烈运动后,肌肉会进行无氧糖酵解产生

大量的乳酸, 乳酸堆积会使机体产生疲劳感。在游泳前安静状态下, 牡蛎复合提取物对血乳酸含量无显著性影响。游泳后, 与阴性对照组相比, 各剂量组血乳酸曲线下面积随着剂量增加呈下降趋势, 但差异无显著性($P>0.05$), 表明牡蛎复合提取物对运动后小鼠血乳酸的含量无影响。结果见表 4。

3.5 对小鼠肝糖原储备量的影响

肝糖原是能量的主要来源, 糖原的储备量越多, 在运动时就可为机体提供更多的能量, 提高机体的运动能力。与阴性对照组相比, 牡蛎复合提取物高剂量组可显著提高小鼠肝糖原的含量($P<0.05$), 增加小鼠运动的能量来源, 从而增强小鼠的运动能力; 而牡蛎复合提取物中剂量和低剂量组不能提高小鼠肝糖原的含量($P>0.05$)。结果见表 5。

表 1 牡蛎复合提取物对小鼠体重的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Effects of composite extraction of *Ostrea gigas* Thunberg on the body weight of mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	动物数(只)	负重游泳		血清尿素氮测定	
			初始体重(g)	终末体重(g)	初始体重(g)	终末体重(g)
阴性对照组	--	10	18.82±1.20	35.29±1.03	18.61±0.94	35.80±1.82
低剂量组	0.30	10	18.81±1.12	36.01±1.46	18.72±0.91	35.80±1.94
中剂量组	0.60	10	18.84±0.96	35.34±1.84	18.73±0.73	35.47±1.33
高剂量组	1.80	10	18.84±1.06	35.91±1.49	18.85±0.95	36.10±2.26

组别	剂量(g/kg)	动物数(只)	肝糖原测定		血乳酸测定	
			初始体重(g)	终末体重(g)	初始体重(g)	终末体重(g)
阴性对照组	--	10	18.30±0.95	34.92±1.58	18.40±0.80	34.55±1.67
低剂量组	0.30	10	18.24±0.85	35.22±1.57	18.39±0.78	35.54±1.62
中剂量组	0.60	10	18.24±0.81	34.88±2.01	18.41±0.62	35.33±1.37
高剂量组	1.80	10	18.35±0.93	35.20±1.59	18.50±0.89	34.52±1.80

表 2 牡蛎复合提取物对小鼠负重游泳时间的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Effects of composite extraction of *Ostrea gigas* Thunberg on the loaded swimming time in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	动物数(只)	负重游泳时间(s)
阴性对照组	--	10	367.1±110.5
低剂量组	0.30	10	418.2±108.9
中剂量组	0.60	10	498.1±118.1
高剂量组	1.80	10	542.5±150.9*

注: *与阴性对照组比较, $P<0.05$ 。

表 3 牡蛎复合提取物对小鼠血清尿素的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Effects of composite extraction of *Ostrea gigas* Thunberg on the serum urea in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	动物数(只)	血清尿素(mmol/L)
阴性对照组	--	10	9.36±1.56
低剂量组	0.30	10	8.81±1.31
中剂量组	0.60	10	8.17±1.30
高剂量组	1.80	10	7.35±1.24*

注: *与阴性对照组比较, $P<0.05$ 。

表 4 牡蛎复合提取物对小鼠血乳酸的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 4 Effects of composite extraction of *Ostrea gigas* Thunberg on blood lactic acid in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	动物数(只)	运动前乳酸值(mmol/L)	运动后 0 min 乳酸值(mmol/L)	运动后休息 20 min 乳酸值(mmol/L)	血乳酸曲线下面积
阴性对照组	--	10	3.94±0.71	7.27±0.70	5.56±0.62	175.44±18.62
低剂量组	0.30	10	3.89±0.33	7.11±0.70	5.28±0.26	170.20±14.85
中剂量组	0.60	10	3.91±0.79	6.86±0.30	5.00±0.58	164.10±12.20
高剂量组	1.80	10	3.86±0.76	6.51±0.54	4.91±0.65	158.14±13.83

表 5 牡蛎复合提取物对小鼠肝糖原储备量的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effects of composite extraction of *Ostrea gigas* Thunberg on the content of hepatic glycogen in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	动物数(只)	肝糖原量(mg/g 组织)
阴性对照组	--	10	18.84±4.30
低剂量组	0.30	10	20.40±3.03
中剂量组	0.60	10	22.16±4.02
高剂量组	1.80	10	24.94±4.45*

注: *与阴性对照组比较, $P<0.05$ 。

4 结论与讨论

负重游泳试验是观察药物缓解体力疲劳能力的常用方法, 负重游泳时间可直接反映动物的运动耐力。而运动耐力下降是动物疲劳出现最直观的表现^[9,10]。在本试验中, 牡蛎复合提取物高剂量能显著延长小鼠的负重游泳时间, 提高小鼠的运动耐力。糖原是肌肉主要的能量来源, 糖原含量也可影响动物的运动能力^[11,12]。在本试验中, 高剂量牡蛎复合提取物能够增加小鼠肝糖原的储备量, 抵抗疲劳的产生, 增加小鼠肌肉的能量来源。

长时间剧烈运动后, 肌肉处于缺氧状态, 发生糖酵解反应, 释放大量乳酸。乳酸堆积可导致肌肉酸痛, 机体出现疲劳^[13,14]。因此, 在剧烈运动后, 血乳酸的清除越快, 疲劳感觉出现的越慢^[15,16]。在本试验中, 牡蛎复合提取物各剂量与阴性对照组相比, 血乳酸曲线下面积呈现降低趋势, 但是无显著性差异。血清尿素氮含量反映机体内肌肉蛋白的代谢情况, 可用于评价机体对运动的负荷能力^[17,18]。在运动情况下, 血清尿素氮含量越低, 说明机体负荷能力越强。本试验中, 牡蛎复合提取物高剂量可显著降低血清尿素氮含量, 提高机体对运动负荷的承受能力。

在本试验条件下, 灌胃给予小鼠牡蛎复合提取物各剂量 30 d, 对小鼠体重无影响, 高剂量(1.80 g/kg)能显著延长小鼠的负重游泳时间, 增加小鼠肝糖原的储备量, 降低运动后小鼠血清内的尿素氮水平, 与阴性对照组相比差异具有显著性($P<0.05$)。但各剂量对小鼠血乳酸曲线下面积未见显著性差异。根据《保健食品检验与评价技术规范》中缓解体力疲劳功能检验规定, 牡蛎复合提取物具有缓解体力疲劳的功效。

参考文献

[1] Tran NK, Kwon JE, Kang SC, *et al.* Crassaostrea gigas oyster shell extract inhibits lipogenesis via suppression of serine palmitoyltransferase [J]. Nat Prod Commun, 2015, 10(2): 349–352.

[2] Lee SY, Kim HJ, Han JS. Anti-inflammatory effect of Oyster shell extract in LPS-stimulated raw 264.7 cells [J]. Prev Nutr Food Sci, 2013, 18(1): 23–29.

[3] Ra SG, Choi Y, Akazawa N, *et al.* Taurine supplementation attenuates delayed increase in exercise-induced arterial stiffness [J]. Appl Physiol Nutr Metab, 2016, 41(6): 618–623.

[4] Ra SG, Akazawa N, Choi Y, *et al.* Taurine supplementation reduces eccentric exercise-induced delayed onset muscle soreness in young men [J]. Adv Exp Med Biol, 2015, 803: 765–772.

[5] 陈申如, 胡阳, 倪辉, 等. 高效液相色谱法测定牡蛎中牛磺酸含量[J]. 中国食品学报, 2013, 13(2): 193–198.

Chen SR, Hu Y, Ni H, *et al.* Development of high performance liquid chromatography method for determination of taurine in Oyster (*Ostrea plicatula*) [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2013, 13(2): 193–198.

[6] 柯珂, 王俊, 王一兵, 等. 近江牡蛎中生物锌的提取制备方法研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(14): 11–14.

Ke K, Wang J, Wang YB, *et al.* Study on the preparation of Zinc extracted from *Ostrea rivularis* Gould [J]. Food Res Dev, 2015, 36(14): 11–14.

[7] Livingstone C. Zinc: physiology, deficiency, and parenteral nutrition [J]. Nutr Clin Pract, 2015, 30(3): 371–382.

[8] Xu M, Liang R, Li Y, *et al.* Anti-fatigue effects of dietary nucleotides in mice [J]. Food Nutr Res, 2017, 61(1): 1334485.

[9] Prasad AS. Discovery of human zinc deficiency: its impact on human health and disease [J]. Adv Nutr, 2013, 4(2): 176–190.

[10] Duan FF, Guo Y, Li JW, *et al.* Antifatigue effect of luteolin-6-C-neohesperidoside on oxidative stress injury induced by forced swimming of rats through modulation of Nrf2/ARE signaling pathways [J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017(2): 3159358.

[11] Irimia JM, Tagliabracci VS, Meyer CM, *et al.* Muscle glycogen remodeling and glycogen phosphate metabolism following exhaustive exercise of wild type and laforin knockout mice [J]. J Biol Chem, 2015, 290(37): 22686–22698.

[12] Gonzalez JT, Fuchs CJ, Betts JA, *et al.* Liver glycogen metabolism during and after prolonged endurance-type exercise [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2016, 311(3): 543–553.

[13] Do D, Orrego S, Majd H, *et al.* Accelerated fatigue of dentin with exposure to lactic acid [J]. Biomaterials, 2013 34(34): 8650–8659.

[14] Surenkok O, Kin-Isler A, Aytar A, *et al.* Effect of trunk-muscle fatigue and lactic acid accumulation on balance in healthy subjects [J]. J Sport Rehabil, 2008, 17(4): 380–386.

[15] Huang WC, Lin CI, Chiu CC, *et al.* Chicken essence improves exercise performance and ameliorates physical fatigue [J]. Nutrients, 2014, 6(7): 2681–2696.

[16] Alghadir AH, Gabr SA. Efficacy of *Rhus coriaria* (Sumac) juice in reducing muscle pain during aerobic exercise [J]. Physiol Int, 2016, 103(2): 231–242.

[17] Kim JH, Pan JH, Lee ES, *et al.* L-Carnitine enhances exercise endurance capacity by promoting muscle oxidative metabolism in mice [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 464(2): 568–573.

[18] Houltham SD, Rowlands DS. A snapshot of nitrogen balance in endurance-trained women [J]. Appl Physiol Nutr Metab, 2014, 39(2): 219–225.

(责任编辑: 武英华)

作者简介

欧慧瑜, 高级工程师, 研究方向为药
效学评价和毒理学研究。
E-mail: Ohy76@126.com

郭秋平, 高级工程师, 主要研究方向
为功能性评价和毒理学评价。
E-mail: vipvivenguoguo@163.com

“农兽药残留研究与检测”专题征稿函

食用农产品中农药、兽药残留问题引发社会关注。食药监总局将进一步加大食品中农药、兽药残留治理, 健全农产品质量和食品安全保障体系。农兽药残留问题已刻不容缓。

鉴于此, 本刊特组织“农兽药残留研究与检测”专题, 由**中国农业大学潘灿平教授**担任专题主编, 主要围绕**农药兽药残留现代分析技术、农兽药残留检测方法、农兽药残留标准检测与制定、各地农兽药残留风险监控与评估、农兽药残留样品前处理方式等等**或者您认为与本专题相关有意义的领域展开论述和研究。本专题计划在 2017 年 12 月出版。

本刊主编**吴永宁研究员**与专题主编**潘灿平教授**特别邀请您为本专题撰写稿件, 综述、研究论文、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。请在 **2017 年 11 月 30 日**前通过网站或 Email 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

Email: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部