

第一页为封面页

参赛学生姓名： 李谦雅

中学： 山东省实验中学国际部

省份： 山东省

国家/地区： 中国

指导老师姓名： 范正伟、马朝

指导老师单位： 山东省实验中学国际部、山东大学

论文题目： 奶茶中主要成分对斑马鱼神经行为的影响和机制研究

第二页此处开始为论文的主体部分……

奶茶中主要成分对斑马鱼神经行为的影响和机制研究

李谦雅

论文摘要：本研究通过斑马鱼动物实验等方式，探究奶茶中主要成分果糖、咖啡因、茶碱等对神经行为的影响，设置了空白对照组、果糖组、咖啡因组、茶碱组和果糖+咖啡因+茶碱混合组，对成年斑马鱼进行了新型潜水和黑白箱实验等神经行为实验，并检测了实验各组斑马鱼大脑中的神经递质含量。结果发现，奶茶中主要成分（果糖、茶碱、咖啡因）的长期摄入不会诱发斑马鱼的成瘾行为，但会对神经行为产生负面影响，这一现象也被斑马鱼大脑中的神经递质的含量变化测定结果证实。本研究提示了低频次的奶茶摄入可能有助于缓解紧张、低落的心情，但长期摄入大量奶茶可能会导致焦虑和抑郁样行为，因此青少年在喝奶茶时要做到低次少量饮用最佳。

关键词：奶茶；神经行为；斑马鱼；神经递质；茶碱；咖啡因；果糖

目录

1. 引言

2. 文献综述

3. 研究方法

4. 实验结果分析

5. 讨论结论

2024 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2024丘成桐中学科学奖论文公示

1. 引言

奶茶原本是蒙古高原游牧民族的日常饮品，是目前比较流行的一种休闲饮品，从元代开始逐渐蔓延到世界各地，历经印度、荷兰、英国、香港、台湾等国家和地区的不断演变和改进，最终成为现在的奶茶饮品，兼具牛奶和茶的双重营养，因其独特的风味，是一种集营养、保健一体的网红休闲饮品(赵轶诚 et al., 2021)。截至2022年，奶茶店总数达46.12万家，奶茶产业消费总额达1798.8亿元(曾夏敏 & 杨敬泽, 2023)。奶茶主要成分的果糖含量、咖啡因含量、茶碱含量差异相对较大，市面上的奶茶种类繁多，受监管程度较低，因此，奶茶的营养成分与营养成分的含量存在较大差异。但是，有些奶茶产品中含有的高糖、高咖啡因等物质，可能会对身体健康造成一定的不良影响，特别是青少年作为奶茶的重要消费群体正处于生长发育期，这些物质摄入过多，可能会对身体造成伤害。目前关于奶茶主要成分对神经行为影响的研究较少，本研究拟通过成年斑马鱼模式动物实验、神经递质含量测定等方式，探究奶茶中主要成分果糖、咖啡因、茶碱等主要成分对成年斑马鱼神经行为的影响，为长期食用奶茶对人体健康影响提供一定的实验依据。

2. 文献综述

2.1 奶茶营养成份研究

上海市曾对市场上销售的80种奶茶主要营养成分之间的差异进行比较，并提供了一定的实验参考资料。此次研究采用国标检测方法测定奶茶中的脂肪、果糖、咖啡因、茶碱等营养成分，并采用统计学方法对比各类奶茶的主要成分差异，根据不同营养成分的差异进行了综合分析，发现不同种类奶茶的主要成分含量差异较大，成分指标差异明显，从而得出奶茶需要根据健康状况选择饮用的结论(柴平海, 2023)。

上海市消保委曾发布“奶茶比较试验”情况通报，揭开了网红奶茶的种种“神秘面纱”。在本次检测中，上海市消保委在上海27家奶茶店购买了51款奶茶样品，选取规则主要是每个店询问购买包括正常甜度1款、无糖或糖最少1款在内的畅销1款奶茶，且均不含冰。对于奶茶中的糖分、脂肪、反式脂肪酸、咖啡因、茶碱等成分，进行检测后得出结论：奶茶成分中含有咖啡因，而无糖奶茶其实含有糖分，所用牛奶并非“真材实料”(李颖, 2017)。

2018、2021年，在“美团”、“饿了么”订餐平台搜索“奶茶”，共抽取上海市分店数量 ≥ 3 家的现制奶茶品牌13个，共收集到3类奶茶(包括其销售的所有甜度等级)、奶盖茶、水果茶，共计122款。发现市售现制奶茶营养成分不均衡，能量、蛋白质、脂肪、糖类、反式脂肪酸、钙、咖啡因、茶碱等采用国标方法检测，具

有高能量、高添加糖分、高脂肪、低蛋白质等特点。因此，规范加糖、甜度标识，加强奶茶营养宣传教育，引导居民适当限制其摄入等，都是非常有必要的(史泽环 et al., 2023)。

值得注意的是，每杯奶茶（以500 mL计）总糖含量为10~66 g，咖啡因含量为40~480 mg。因此，500 mL奶茶中，青少年每日摄入糖量是《中国膳食指南》建议摄入量的4.7~12.5倍，而有可能导致青少年健康问题的糖类和咖啡的摄入量更高(李冬梅 et al., 2023)。

2.2 奶茶对青少年的健康影响

市场上出售的奶茶种类繁多，奶茶饮料是以茶叶的水浸出液、茶粉等为原料，加入牛奶或奶制品、果糖等甜味剂等调制而成的液体饮料。很多研究表明这些原料，特别是咖啡因、茶碱、果糖都可能会对健康产生影响(黄晓, 2021)。

有研究表明，在中国年轻人中，饮用奶茶与出现抑郁和焦虑症状的风险增加有关，但需要额外的研究来阐明饮用奶茶对抑郁和焦虑症状的可能反向因果关系(Wu et al., 2022)；此外，对在中国11个省份的大学新生中进行调查研究发现，高糖饮料的消费与中国大学生的抑郁症状相关，而身体亚健康在这一关联中起着完全的中介作用(Honglv et al., 2023)；对中国北京5281名大学生进行了一项大规模的研究发现，饮用奶茶可能会导致成瘾，并与抑郁、焦虑和自杀意念有关(Qu et al., 2023)；一项中国7至12年級的青少年中进行的多中心人群调查结果发现，在青少年中，食用奶茶等高糖饮料与心理健康问题存在相关性(Xu et al., 2020)；一项动物研究结果还显示，长期服用奶茶不会诱导小鼠的成瘾行为，然而长期饮用奶茶会导致小鼠出现焦虑和抑郁样行为，并损害其认知功能(Yao et al., 2022)。

但是，一项对重庆市686名男大学生生活方式信息与心理健康状况调查研究发现，饮用奶茶不会引起焦虑和抑郁样行为(Yang et al., 2022)；马来西亚的一项类似调查研究表明，饮用奶茶也不会引起心理健康问题(Kiew Jiet Ping et al., 2021)。

因此，值得我们研究的是，奶茶究竟会不会影响我们青少年的健康？如何影响我们的健康？少量喝奶茶和长期大量喝奶茶对健康的影响是否相同？为了探明这个问题，我们通过成年斑马鱼模式动物实验、神经递质性物质含量测定等方式，探究了奶茶中主要成分果糖、咖啡因、茶碱等对成年斑马鱼神经行为的影响及其可能产生的机制。

3. 研究方法

3.1 斑马鱼神经行为实验

斑马鱼是一种因体形似斑马，背部至尾部有多条平行横条状蓝色条纹而得名的热带淡水鱼。其体形梭形，体长约5cm，头小而略尖，胸腹圆，尾侧扁，为浅

滩鲤科小型动物，体型较小，整体色调为黄色，背部为橄榄色，多条深蓝色条纹直通尾鳍，分布于背部至腹部和臀鳍之间。尾鳍在背鳍和臀鳍发生偏移后，呈现深叉状。斑马鱼正迅速成为神经行为学、药理学和毒理学研究的热门模式生物 (Cachat et al., 2010; Egan et al., 2009; Maximino et al., 2010; Wong et al., 2010)。

在斑马鱼中，新型潜水实验和黑白箱实验是衡量类似焦虑和抑郁行为的两种重要模型(Mrinalini et al., 2023)。新型潜水实验测试评估了斑马鱼的探索型轮廓，当被引入新环境时，斑马鱼自然倾向于在底部花费更多时间，并逐渐进入鱼缸的顶部区域。此外，一些行为的变化（例如，在顶部花费的时间和上部区域的条目数量）可能反映了焦虑和抑郁状态的减少；黑白箱实验测试评估了斑马鱼对黑暗环境的自然偏好，这被称为趋暗性，焦虑和抑郁行为增加的鱼通常会花更多的时间在黑暗的隔间里。因此在本实验中，我们采取新型潜水实验和黑白箱实验以评价奶茶中主要成分对斑马鱼神经行为的影响。

3.2 实验仪器

斑马鱼的饲养繁殖使用的北京爱生生物科技有限公司的斑马鱼自主养殖全自动循环系统，包括5层单排独立养殖缸，斑马鱼交配盒，幼鱼培养箱以及丰年虫卵孵化箱等；斑马鱼交配及幼鱼的培养需要光照恒温节律培养箱（型号为GZX-150A；光周期：8:30-22:30 光照强度200 lux, 22:30-次日8:30 光照强度 0 lux；控温范围：0~50℃；控湿范围：50~95% RH），该设备购自上海予卓仪器有限公司。

在斑马鱼行为神经行为学实验中，使用中国维视图像公司的定制摄像机（MV-EM120M，40帧/秒）采集斑马鱼的行为及运动轨迹，并使用上海欣软信息科技有限公司开发的动物行为视频分析软件（VisuTrack）对视频图像进行分析。

3.3 给药剂量的计算

计算方法为查阅文献获得不同奶茶品牌（包括不同品牌和同一品牌不同甜度）中所含主要成分——果糖、咖啡因、茶碱的区间范围，然后选择数据区间的中位数，根据专利中的换算公式进行换算(戴明珠 et al.):

$$\text{斑马鱼 (mg/L)} = [\text{人 (g/天)} * 1000] / 6$$

果糖区间中位数为40 g/人/天，换算剂量约为3 g/500 mL，但在第一次实验时出现斑马鱼死亡，可能为果糖浓度过高导致，因此实验时果糖浓度减半，为1.5 g/500 mL。

咖啡因取240 mg/人/天，根据专利里的换算公式斑马鱼给药量为20 mg/500 mL。

茶碱和咖啡因的给药剂量一致，均为20 mg/500 mL。

3.4 实验分组

成年斑马鱼依次分为果糖组(1.5 g/500 mL)、咖啡因组(20 mg/500 mL)、茶碱组(20 mg/500 mL)、空白对照组、混合组(果糖1.5 g/500 mL+咖啡因20 mg/500 mL+茶碱20 mg/500 mL), 每组5尾雄性斑马鱼, 分别进行单次给药, 其中混合组再进行一周每天连续给药后, 再进行后期神经行为实验。

3.5 斑马鱼神经行为学实验

3.5.1 新型潜水实验

实验时间为10 min。测试盒是一个1.5 L透明盒(15.2×27.9×22.5×7.1 cm, 高×顶部×底部×宽), 通过在盒的外部标记一条分界线, 为两个相等的水平区域。采用视频跟踪系统获得斑马鱼在测试盒中运动行为的侧视图。一旦斑马鱼被转移到新的水箱中, 每个个体的游泳行为将被视频跟踪系统记录10 min。在10分钟的记录期结束时, 斑马鱼被送回了房屋水箱。记录各区域时间(s)、各区域距离(cm)、各区域冻结时间、跨越中线次数等行为参数, 并进行统计分析。

3.5.2 黑白箱实验

实验时间为5 min。测试盒(20厘米×10厘米×10厘米, 长度×宽度×深度)被分为两部分: 一部分有透明的墙壁让光(光区), 而另一部分由不透明的黑色圆柱形墙(暗区), 分别模拟明亮和黑暗的环境。将视频跟踪系统固定在盒子上方, 用于奶茶中的不同成分暴露后的斑马鱼的垂直观察和运动行为记录。经过2分钟的适应期后, 将鱼转移到光/暗测试装置中, 对每个个体进行5分钟的记录期, 在5分钟的记录期结束时, 将斑马鱼送回饲养箱。记录每个区域的时间(s)、每个区域的距离(cm)、每个区域的冻结时间(s)、遍历次数并进行统计分析。

3.6 斑马鱼神经递质性物质含量的测定

神经行为学实验结束之后, 斑马鱼切取头部称重, 加超纯水调整样本浓度至1 mg/ μ L, 匀浆后加超纯水稀释至浓度为0.5 mg/mL, 再向其中加入三倍体积的蛋白沉淀剂(乙腈), 充分旋涡震荡, 13200转下冷冻离心4分钟, 取上清50 μ L待测。将各实验组样品经高效液相/质谱联用(HPLC-MS)逐个分析, 比对标准对照品, 确定各实验组斑马鱼脑部多巴胺、五羟色胺、乙酰胆碱、谷氨酰胺、去甲肾上腺素、 γ -氨基丁酸和皮质醇的峰谱信息, 并根据标准对照品的峰面积-浓度标准曲线确定含量。

3.7 数据分析

本实验中的所有实验数据均使用软件Microsoft Excel 2016和Sigmaplot 13进行

分析整理，实验数据的处理采用单因素方差分析（One-way ANOVA）检验，或者用双因素方差分析（Two-way ANOVA）进行多重比较；本实验所有实验图表中的数据均以均值加减标准误差（Mean±SEM）的形式表示。

4. 实验结果分析

4.1 斑马鱼神经行为学实验结果

4.1.1 空白对照组结果

空白对照组实验结果如图1所示。

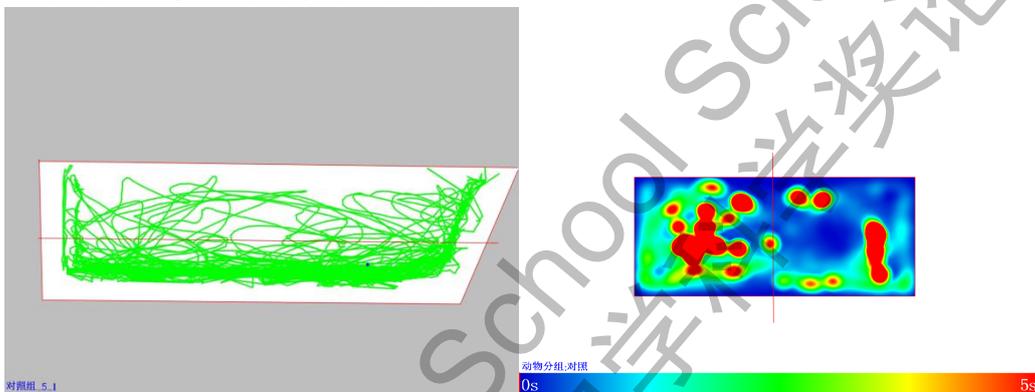


图1. 空白对照组的新型潜水实验(左)和黑白箱实验(右)结果

4.1.2 咖啡因组结果

咖啡因组实验结果如图2所示。

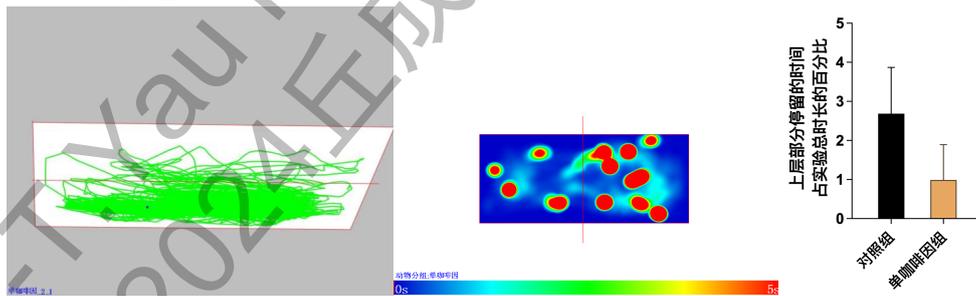


图2. 咖啡因组的新型潜水实验(左)、黑白箱实验(中)结果和斑马鱼行为表型的评估(右)

在新型潜水实验中，咖啡因组的斑马鱼在上层部分的游动轨迹显著减少，通过分析实验鱼在上层部分停留的时间占实验总时长的百分比，如图3所示，也可以得到相同的实验结果。

在黑白箱实验中，低剂量的咖啡因相对来说静止时间减少，且更有向照明区域运动的趋势（向照明区域运动的趋势增加）但值得一提的是，高剂量的咖啡因可能会表现出该物质的副作用：焦虑和抑郁样状态增加，我们在实验前期查阅的文献中也指出了咖啡因对斑马鱼行为的双向效应即高剂量抵消了其有益作用，导

致学习障碍和焦虑、抑郁增加，因此我们的研究结果也旨在提醒大家喝奶茶要适量。

4.1.3 果糖组结果

果糖组实验结果如图3所示。

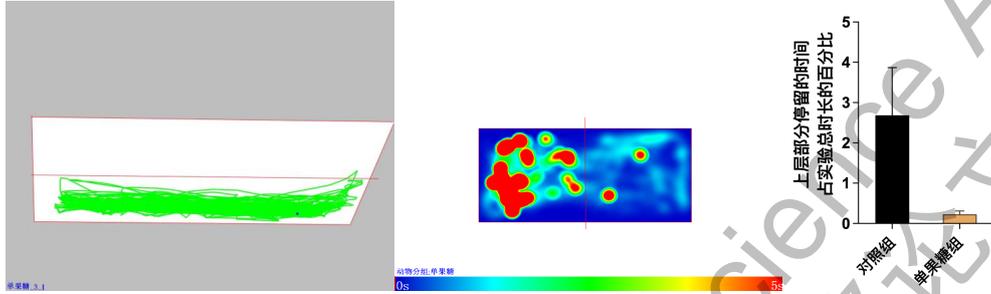


图3. 果糖组的新型潜水实验(左)、黑白箱实验(中)结果和斑马鱼行为表型的评估(右)

可以观察到在实验后期（第5-7天），与对照组相比，果糖组斑马鱼表现出“自我保护性”的潜水反应，同时伴随着在新缸底部的静止时间增加，以及由于身处新奇环境导致的“不稳定运动”如图4。

果糖给药组的鱼相对于对照组来说，在顶部花费的时间更少，向顶部的过渡减少。在黑白箱测试中，斑马鱼减少了穿越次数，在照明区域花费的时间更少。

4.1.4 茶碱组结果

茶碱组实验结果如图4所示。

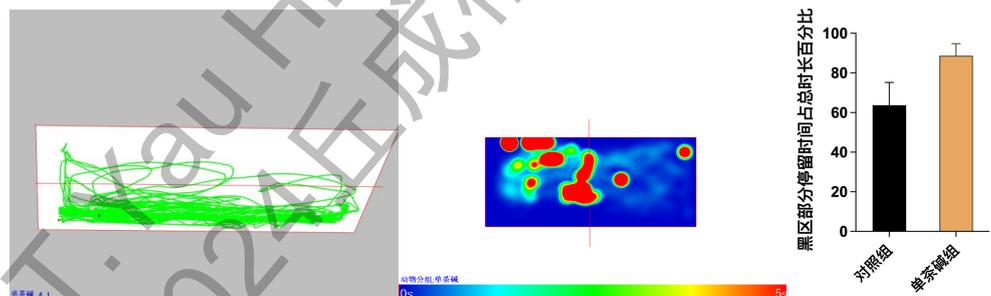


图4. 茶碱组的新型潜水实验(左)、黑白箱实验(中)结果和斑马鱼行为表型的评估(右)

由于斑马鱼对黑暗环境具有一定的自然偏好，利用动物回避（趋向黑暗）和探索（趋向光亮）的特性，我们能观察到在这种实验模型下，茶碱给药组的斑马鱼在黑区的游动轨迹相对较多，在白区的游动轨迹相对较少，和空白对照组相比，区别不是很明显。

4.1.5 7天内单次混合给药组结果

7天内单次混合给药组实验结果如图5所示。

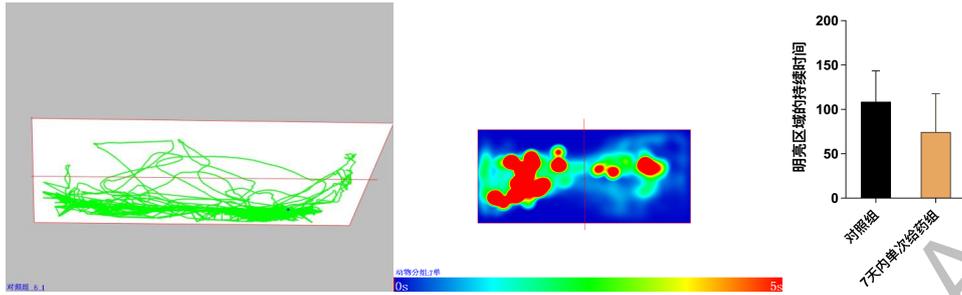


图5. 7天内单次混合给药组的新型潜水实验(左)、黑白箱实验(中)结果和斑马鱼行为表型的评估(右)

此组是7天单次15分钟内给药，用斑马鱼模拟了低频次的单人单次摄入奶茶时可能会出现的行为学变化，与对照组相比，7天内单次混合成分给药后的斑马鱼在新型潜水实验中，静止运动的持续时间略微有所增加，且垂直游泳运动减少，在新缸顶部运动的时间略有减少。

在黑白箱实验中，通过量化斑马鱼在明亮区域停留的时间和游动的距离等，我们可以得到单次给药对斑马鱼的整体运动影响不大，风险小于混合给药组。

4.1.6 7天内连续混合给药组结果

7天内连续混合给药组实验结果如图6所示。

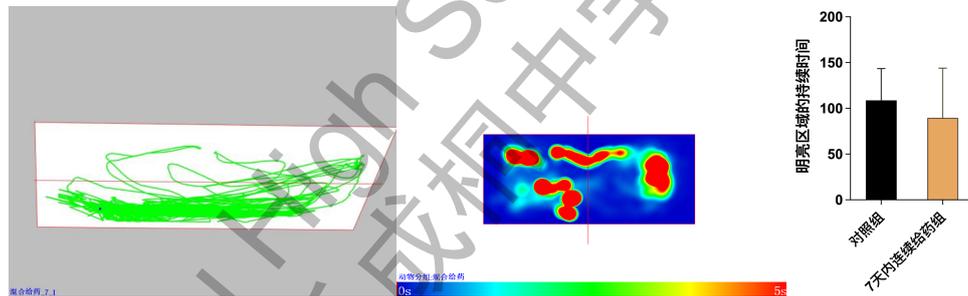


图6. 7天内连续混合给药组的新型潜水实验(左)、黑白箱实验(中)结果和斑马鱼行为表型的评估(右)

相对于空白对照组来说，7天内连续混合给药组的斑马鱼表现出总路程减少、平均速度更慢、向明亮区域运动的趋势减少、在明亮区域运动的距离减少；在新型潜水实验中，在顶部区域的平均速度减慢、静止次数增加，并表现出更多的风险评估事件。这几组实验模型共同反映了焦虑和抑郁样行为的增加。

4.2 斑马鱼神经递质性物质含量的影响

我们利用高效液相/质谱联用（HPLC-MS）方法检测了实验各组斑马鱼大脑中的神经递质性物质的含量，并将各组斑马鱼样本中的各神经递质成分含量数据标准化，绘制了雷达图，如图7所示。

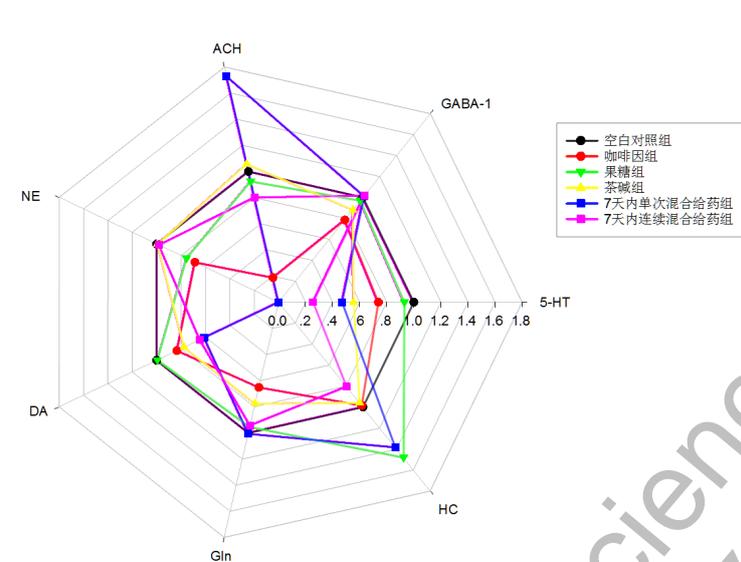


图 7. 各实验组斑马鱼体内神经递质性物质的含量检测分析：逆时针依次为五羟色胺(5-HT)、 γ -氨基丁酸(GABA-1)、乙酰胆碱(ACH)、去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、谷氨酰胺(Gln)和皮质醇(HC)

经图7显示，咖啡因组、茶碱组、7天内单次给药混合组、7天内连续给药混合组斑马鱼的神经递质水平与空白对照组相比，均有不同程度的变化，其中7天内单次给药混合组和7天内连续给药混合组斑马鱼变化最为明显，5-HT和NE水平显著下调，其他神经递质水平均有不同变化，因此我们推测，7天内单次混合给药和7天内连续混合给药处理影响了斑马鱼脑内神经递质的含量，从而干扰了其神经行为，最终导致焦虑和抑郁样行为的增加。

5. 讨论结论

随着人们生活质量的提高，奶茶已经成为了众多年轻人手中的“时尚单品”。奶茶中的主要成分包括果糖、咖啡因和茶碱，对于生物神经行为的影响不尽相同。我们通过前期文献调研发现，部分人群在饮用奶茶后，会出现失眠、焦虑、抑郁、心跳加速等症状。因此，我们研究了奶茶中主要成分对成年斑马鱼生物神经行为的影响。

我们以斑马鱼为实验对象，设立了1.5 g/500 mL果糖组、20 mg/500 mL咖啡因组、20 mg/500 mL茶碱组、1.5 g/500 mL果糖+ 20 mg/500 mL咖啡因+ 20 mg/500 mL茶碱混合给药组和空白对照组，分别进行单次给药，其中混合组再进行一周每天连续给药后，再进行神经行为评价。

实验结果表明，在混合给药时，与空白对照组相比，奶茶的主要成分果糖、咖啡因和茶碱确实对斑马鱼的神经行为有一定的影响，例如减少了在白色区域的探索时间和平均速度，增加了在白色测试区域的延迟等。然而，更高的剂量和/或更长的混合给药时间，可能会对混合给药诱导的新型潜水试验中的异常行为产生更加显著的影响。

我们还发现，奶茶中主要成分如果糖、咖啡因、茶碱的长期和急性给药不会诱发斑马鱼的成瘾行为；然而，长期给药会对情绪产生负面影响，与对照组斑马鱼相比，混合给药组的斑马鱼出现焦虑和抑郁样行为。结果表明，低频次的奶茶摄入可能有助于缓解紧张、低落的心情，但长期摄入大量奶茶可能会导致相反的效果。

我们还利用高效液相/质谱联用（HPLC-MS）方法，检测了实验各组斑马鱼大脑中的神经递质的含量，并以此探明其神经行为变化的可能机制，发现实验各组斑马鱼的神经递质水平与空白对照组相比，均有不同程度的变化，这也证实了斑马鱼神经行为改变的可能原因。

本项目研究了奶茶中的主要成分对斑马鱼神经行为的影响，并初步得到奶茶中的主要成分会使斑马鱼产生焦虑和抑郁样行为，表明了长期饮用奶茶会对生物的神经行为造成不良影响，因此希望青少年能够意识到奶茶中的主要成分（即茶碱、咖啡因、果糖）对身体的影响，从而健康、科学地进行低次少量饮用奶茶。

2024 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2024丘成桐中学科学奖

此页开始为参考文献部分

参考文献

- 曾夏敏, & 杨敬泽. (2023). 新兴奶茶行业的发展现状与经营策略分析. *商展经济*(23), 126-130.
- 柴平海. (2023). 上海市售奶茶营养成分分析. *食品安全导刊*(01), 97-100.
- 戴明珠, 郭胜亚, 徐懿乔, 朱晓宇, & 李春启. 用于功效评价的斑马鱼转换人用剂量的换算方法 CN113496071A.
- 黄晓. (2021). 即制型奶茶饮料成分研究及其对人体健康的影响. *广东化工*, 48(05), 78-79.
- 李冬梅, 陆演婷, 刘滨剑, 甘裕灵, 冯婷婷, & 张倩勉. (2023). 现制奶茶对青少年健康的影响分析. *食品安全导刊*(06), 119-122.
- 李颖. (2017). 网红奶茶成分大揭秘. *中国质量万里行*(09), 54-55.
- 史泽环, 孙卓, 宋琪, 曲梦影, 汪正园, & 臧嘉捷. (2023). 上海 122 种市售现制奶茶中的营养成分. *环境与职业医学*, 40(07), 756-760+768.
- 赵轶诚, 冯思远, 史梦菲, 柏雨岑, & 屈凯娜. (2021). 奶茶成为年轻人主流饮品原因探析. *食品安全导刊*(14), 64-66.
- Cachat, J., Canavello, P., Elegante, M., Bartels, B., Hart, P., Bergner, C., Egan, R., Duncan, A., Tien, D., Chung, A., Wong, K., Goodspeed, J., Tan, J., Grimes, C., Elkhayat, S., Suci, C., Rosenberg, M., Chung, K. M., Kadri, F., Roy, S., Gaikwad, S., Stewart, A., Zapolsky, I., Gilder, T., Mohnot, S., Beeson, E., Amri, H., Zukowska, Z., Soignier, R. D., & Kalueff, A. V. (2010). Modeling withdrawal syndrome in zebrafish. *Behavioural Brain Research*, 208(2), 371-376.
- Egan, R. J., Bergner, C. L., Hart, P. C., Cachat, J. M., Canavello, P. R., Elegante, M. F., Elkhayat, S. I., Bartels, B. K., Tien, A. K., Tien, D. H., Mohnot, S., Beeson, E., Glasgow, E., Amri, H., Zukowska, Z., & Kalueff, A. V. (2009). Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. *Behavioural Brain Research*, 205(1), 38-44.
- Honglv, X., Zhaoyu, Y., Dehui, L., Chunjie, Y., Yun, Z., Jiaying, Y., Yingzhen, S., Yinghong, J., & Qian, L. (2023). Mediating effect of physical sub-health in the association of sugar-sweetened beverages consumption with depressive symptoms in Chinese college students: A structural equation model. *Journal of Affective Disorders*, 342, 157-165.
- Kiew Jiet Ping, M., Evelyn Toh Ting Ling, M., & Michelle Eu Hui Sing, M. (2021). Milk Tea Purchasing Behaviour among the Youth: A Study in Sibuluan Town. *Borneo Journal of Social Sciences & Humanities*, 54-68.
- Maximino, C., Marques de Brito, T., Dias, C. A. G. d. M., Gouveia, A., & Morato, S. (2010). Scototaxis as anxiety-like behavior in fish. *Nature Protocols*, 5(2), 209-216.
- Mrinalini, R., Tamilanban, T., Naveen Kumar, V., & Manasa, K. (2023). Zebrafish - The Neurobehavioural Model in Trend. *Neuroscience*, 520, 95-118.
- Qu, D., Zhang, X., Wang, J., Liu, B., Wen, X., Feng, Y., & Chen, R. (2023). New form of addiction: An emerging hazardous addiction problem of milk tea among youths. *Journal of Affective Disorders*, 341, 26-34.
- Wong, K., Elegante, M., Bartels, B., Elkhayat, S., Tien, D., Roy, S., Goodspeed, J., Suci, C., Tan, J., Grimes, C., Chung, A., Rosenberg, M., Gaikwad, S., Denmark, A., Jackson, A., Kadri, F., Chung, K. M., Stewart, A., Gilder, T., Beeson, E., Zapolsky, I., Wu, N., Cachat, J., & Kalueff, A. V. (2010). Analyzing habituation responses to novelty in zebrafish (*Danio rerio*). *Behavioural Brain Research*, 208(2), 450-457.

Wu, Y., Lu, Y., & Xie, G. (2022). Bubble tea consumption and its association with mental health symptoms: An observational cross-sectional study on Chinese young adults. *Journal of Affective Disorders*, 299, 620-627.

Xu, H., Wu, X., Wan, Y., Zhang, S., Yang, R., Wang, W., Zeng, H., Geng, M., Dou, L., Zhang, G., Xu, H., & Tao, F. (2020). Interaction effects of co-consumption of fast food and sugar-sweetened beverages on psychological symptoms: Evidence from a nationwide survey among Chinese adolescents. *Journal of Affective Disorders*, 276, 104-111.

Yang, B. W., Zou, P., Chen, Q., Sun, L., Ling, X., Yang, H., Zhou, N. Y., Wang, L. H., Huang, L. P., Liu, J. Y., Yang, H. F., Cao, J., & Ao, L. (2022). Lifestyle-related risk factors correlated with mental health problems: A longitudinal observational study among 686 male college students in Chongqing, China. *Front Public Health*, 10, 1040410.

Yao, Y., Shi, S., Yang, Y., Luo, B., Li, M., Zhang, L., Yuan, X., Liu, H., & Zhang, K. (2022). Effects of chronic bubble tea administration on behavior and cognition in C57BL/6 mice. *Front Psychiatry*, 13, 1044052.

2024 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2024丘成桐中学科学奖公示

此页开始为致谢页

- 1、 必须对研究背景，指导老师与参赛学生的关系，在论文写作过程中所起的作用，指导是否有偿；以及他人协助完成的研究成果等进行详细说明。如有必要，可附上参赛学生和指导老师的简历。

本研究起源于平时喝的奶茶，偶尔的一次作者和同学交谈中得知，有些同学饮用奶茶后，会出现失眠、焦虑、抑郁等一系列神经行为症状，因此引起了作者的浓厚研究兴趣。

在经过与山东省实验中学国际部生物授课老师范正伟交流后，范老师鼓励李谦雅同学采用斑马鱼模式动物来研究奶茶主要成分对神经行为的影响，并推荐李谦雅同学前往山东大学药学院马朝研究员实验室进行选题交流，在马朝研究员指导下采用斑马鱼模式动物进行试验，并取得了山东大学药学院的实验许可，所有的原始实验数据也已上传（见上传的其他文件），最终完成了此项研究并撰写了研究报告。两位指导老师均无偿指导了此项研究。

因为参赛学生无法取得高效液相/质谱联用（HPLC-MS）仪器的操作使用权限，实验各组斑马鱼大脑中神经递质含量的测定仪器操作由马朝研究员完成。

- 2、 必须对整体研究过程：从选题来源、数据获取、分析数据及计算、实验设计及实施，到撰写论文等方面，进行详细的分工说明；详细列举指导老师和参赛学生的具体分工及每一个队员在研究报告撰写中承担的工作以及贡献；并说明不同环节遇到的困难及解决问题的经过。此部分要求 1-2 页 word 文档（500-1000 字）

此项研究参与人员包括山东省实验中学国际部李谦雅同学、山东省实验中学国际部范正伟老师和山东大学药学院马朝研究员，详细分工如下：

参赛学生山东省实验中学国际部李谦雅同学，主要负责

责选题来源、数据获取、分析数据和计算、实验设计及实施、撰写论文；

指导老师山东省实验中学国际部范正伟老师，主要负责选题指导、理论指导和计算指导；

指导老师山东大学药学院马朝研究员，主要负责选题指导、数据分析指导、实验指导和论文写作指导。

该论文的斑马鱼神经行为实验部分曾以“奶茶中的主要成分对斑马鱼神经行为的影响”为题，参加CTB全球青年研究创新论坛，并获得前50%会议期刊论文集收录奖励（论文见上传的其他文件）。这篇论文由李谦雅、李欣瑶和李欣桐同学共同参加，指导老师为山东大学药学院马朝研究员，其中李欣瑶和李欣桐同学在此部分中负责问卷调查研究，这两位同学已退出了后继研究，她们的相应研究内容和结果已被此项研究报告剔除。这部分研究发现，奶茶中主要成分如果糖、咖啡因、茶碱的长期和急性给药不会诱发斑马鱼的成瘾行为；然而，长期给药会对情绪产生负面影响，与对照组斑马鱼相比，混合给药组的斑马鱼出现焦虑和抑郁样行为。结果表明，低频次的奶茶摄入可能有助于缓解紧张、低落的心情，但长期摄入大量奶茶可能会导致相反的效果。

本论文在此前神经行为实验基础上，采用高效液相/质谱联用（HPLC-MS）方法检测了实验各组斑马鱼大脑中的神经递质性物质的含量，并以此探明其神经行为变化的可能机制。结果发现咖啡因组、茶碱组、7天内单次给药混合组、7天内连续给药混合组斑马鱼的神经递质水平与空白对照组相比，均有不同程度的变化，其中7天内单次给药混合组和7天内连续给药混合组斑马鱼变化最为明显，5-HT和NE水平显著下调，其他神经递质水平均有不同变化，因此我们推测，7天内单次混合给药和7天内连续混合给药处理影响了斑马鱼脑内神经递质的含量，从而干扰了其神经行为，最终导致焦虑和抑郁样行为的增加。

本研究遇到的困难及解决问题的经过：

1) 为什么要选用斑马鱼做为模式动物研究奶茶中的主要成分对斑马鱼神经行为的影响?

经过与指导老师交流,我们得知作为一种新兴的模式动物,从20世纪80年代到90年代中期开始,斑马鱼成为药物筛选、评价和遗传研究的主要脊椎动物模型,已经成为继小鼠和大鼠之后的第三大脊椎类模式生物。目前与斑马鱼行为和行为神经科学相关的研究数量与日俱增,以及视频追踪和神经内分泌检测技术的进步,加上其实验的方便性,我们最终采用了斑马鱼做为模式动物,研究奶茶中的主要成分对斑马鱼神经行为的影响。

2) 为什么选用新型潜水实验和黑白箱实验来研究斑马鱼的神经行为?

我们经过查阅文献后得知,新型潜水实验是基于斑马鱼在感到焦虑时更倾向于待在靠近鱼缸底部的地方,因此此实验可以评估斑马鱼产生焦虑性行为的程度;黑白箱实验是基于斑马鱼对黑暗环境具有一定的自然偏好,利用动物回避(趋向黑暗)和探索(驱向光亮)的特性而设计的用于观察和测试实验动物是否焦虑和抑郁的一种实验动物模型。因此,在马朝研究员的指导下,我们同时采用这两个实验,观察斑马鱼的焦虑和抑郁状态。

3) 如何进行斑马鱼神经行为干扰的机制研究?

这也是困惑我们很久的一个问题,在长期文献调研、思考和与指导老师交流后,我们得知可以利用高效液相/质谱联用(HPLC-MS)方法检测实验各组斑马鱼大脑中的神经递质性物质的含量,进而推断含量变化与神经行为改变的关系。因此,在马朝研究员的指导下,我们完成了此项实验。