

doi:10.3969/j.issn.1001-4616.2019.04.012

姬菇多糖对免疫低下型小鼠肝脏和肾脏 抗氧化作用的影响

唐娅秋,朱亚男,王美菊,徐菘阳,李 强,陶明煊

(南京师范大学食品与制药工程学院,江苏 南京 210097)

[摘要] 以姬菇的酸性多糖成分(APPC)为试验材料,建立环磷酰胺诱导的免疫抑制小鼠模型,测定相关抗氧化指标,探究 APPC 对小鼠肝脏、肾脏免疫活性作用的影响. 将 72 只小鼠随机分为空白组、阳性组、模型组以及 APPC 高、中、低不同剂量组. 通过检测各组肝脏和肾脏中超氧化物歧化酶(SOD)活性、谷胱甘肽氧化物酶(GSH-Px)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、谷胱甘肽(GSH)含量和丙二醛(MDA)含量 5 项抗氧化指标,考察肝脏、肾脏功能免疫特性的变化. 与模型对照组相比,APPC 可以显著提高肝脏和肾脏的 SOD 活性、GSH-Px 活性、CAT 活性和 GSH 含量($P<0.01$),降低肝脏和肾脏的 MDA 含量($P<0.01$). APPC 能提高免疫低下型小鼠肝脏免疫能力,改善肾脏的免疫调节能力.

[关键词] 姬菇多糖,肝脏,肾脏,抗氧化,免疫

[中图分类号]TS201.4 [文献标志码]A [文章编号]1001-4616(2019)04-0085-06

Effects of Acid Polysaccharides from *Pleurotus cornucopiae* on the Antioxidation in Mice with Immunosuppression

Tang Yaqui, Zhu Yanan, Wang Meiju, Xu Songyang, Li Qiang, Tao Mingxuan

(School of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract: By using acid polysaccharides from *Pleurotus cornucopiae* (APPC) as a test material, we established a cyclophosphamide-induced immunosuppressive mouse model and determine the relevant antioxidant index to explore the effect of APPC on the immune activity of liver and kidney in mice. The 72 mice were randomly divided into normal control group, model group, positive control group, as well as high, medium and low APPC dosage group. And by detecting the following antioxidant indexes, including superoxide dismutase (SOD) activity, glutathione (GSH) content, glutathione peroxidase (GSH-Px) activity, catalase (CAT) activity and malondialdehyde (MDA) content, the results could investigate the changes of liver and kidney function characteristics. Compared with the model group, APPC significantly increased SOD activity, GSH-Px activity, CAT activity and GSH content in liver and kidney ($P<0.01$), and decreased MDA content in liver and kidney ($P<0.01$). This implies that APPC has a certain improving effect on the immune function of the immune-inhibited mice liver, while betters the immune regulation ability of kidney.

Key words: APPC, liver, kidney, antioxidant, immune

由于工作压力的增大和人们日常生活的不规律,免疫相关疾病的发病率日益提高^[1]. 肝脏和肾脏在免疫调节中有至关重要的作用^[2-3]. 肝脏是免疫器官^[4-5],形态学结构特殊,具有独特的免疫微环境^[6-7]和强大的天然免疫系统,在维持机体免疫系统平衡等方面发挥着重要作用^[8]. 肾脏既是人体重要排泄器官,又具有免疫调节功能,有维持机体内环境稳定等作用,并与机体其他组织器官有着密切联系^[9]. 肾脏免疫性疾病与肾脏免疫区室化的局部调控有关,涉及到专职免疫细胞以及具有免疫特性肾小管上皮细胞的共同作用^[10]. 人们某些不健康的生活方式,会产生大量的自由基,破坏机体的抗氧化系统的平衡,损伤肝脏和肾脏,引起免疫性疾病^[11].

收稿日期:2018-12-19.

基金项目:宁波市公益类科技计划项目(2019C10096).

通讯联系人:陶明煊,硕士,副教授,研究方向:生物活性物质与保健功能因子. E-mail:45017@njnu.com

姬菇(*Pleurotus cornucopiae*)为担子菌纲侧耳科侧耳属,其味道鲜美,营养丰富,其子实体可入药,有滋补强壮作用^[12],而食用菌多糖有较好的抑制肿瘤生长、清除自由基及调节机体免疫等功能^[13-14]. 本文选取姬菇的酸性多糖成分(APPC)为试验材料,通过检测抗氧化指标,探究 APPC 对免疫抑制小鼠肝脏、肾脏免疫功能的影响,为这一有较高营养价值的食用菌在免疫方面的应用提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 主要材料

1.1.1 试验材料

姬菇子实体干品,购于云南纳西田野食品公司. 去除明显杂质,在 60 °C 进行低温烘干至恒重,经粉碎机粉碎后过 80 目筛,置于干燥器中保存备用.

1.1.2 试验动物

试验选用 6 周龄左右的 ICR 雄性小鼠,体重为 18 g~22 g,购于江苏省中医院药理实验室,试验动物许可证号(SYXK(苏)2012-0047). 试验室饲养条件:每日 12 h 光照;12 h 黑暗,环境温度为(23±2)°C,相对湿度 55%~70%.

1.1.3 主要试剂与仪器

表 1 主要试剂与仪器

Table 1 Main reagents and instruments

项目	生产厂家
754 紫外可见分光光度计	上海光谱仪器有限公司制造
GL-22M 高速冷冻离心机	湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司
JY92—亚超声波细胞破碎机	宁波新芝生物科技有限公司
RE-52A 旋转蒸发器	上海亚荣生化仪器厂
SHB-III 水循环真空泵	武汉常仪实业有限公司
KQ-300B 型超声波清洗仪	昆山市超声仪器有限公司
FM100 高速万能粉碎机	天津市泰斯特仪器有限公司
核黄素(RFV)	上海久亿化学试剂公司南京分公司
甲硫铵酸(MET)	上海久亿化学试剂公司南京分公司
氯化硝基四氮唑蓝(NBT)	上海恒星应用化学研究所
5,5'-二硫对硝基苯甲酸(DTNB)	南京卓尔有限公司
乙二胺四乙酸(EDTA)	南京宁试化学试剂有限公司
考马斯亮蓝 G250	FLUKA 公司
谷胱甘肽(GSH)	SIGMA 公司
磺基水杨酸	上海久亿化学试剂公司南京分公司
硫代巴比妥酸(TBA)	上海久亿化学试剂公司南京分公司
吡啶	上海久亿化学试剂公司南京分公司

1.2 试验方法

1.2.1 姬菇多糖的提取

参考周斌^[15]的方法. 精确称取姬菇子实体粉末 30 g,按照液料比 20:1 加入蒸馏水,在 90 °C 恒温水浴浸提 3 h,冷却至室温后,6 000 rpm 离心 10 min,收集上清液,残渣重复以上步骤,浸提 2 次. 合并上清液,旋转蒸发,浓缩至原体积的 1/4,加入 4 倍体积 95%乙醇充分混匀,4 °C 静置过夜后,6 000 rpm 离心 10 min,收集沉淀,60 °C 低温干燥得姬菇粗多糖. 经 Sevage 法脱蛋白、透析、冷冻干燥获得姬菇精多糖后,过 DEAE-Cellulose 52 阴离子交换柱和 Sepharose 4B 柱^[16],得到姬菇酸性多糖成分(APPC).

1.2.2 建立免疫抑制小鼠模型

通过腹腔注射环磷酰胺建立免疫抑制小鼠模型. 将 72 只小鼠随机分为空白组、阳性组、模型组以及 APPC 高、中、低不同剂量组. 除空白对照组外,其余 5 组进行腹腔注射环磷酰胺 70 mg/kg bw/d,空白对照组腹腔注射等量生理盐水,连续注射 3 d. 从第 4 d 开始,按照 APPC 低剂量组 30 mg/kg bw/d、中剂量组 60 mg/kg bw/d、高剂量组 120 mg/kg bw/d 的剂量进行灌胃;阳性组按照 60mg/kg bw/d 的剂量灌胃香菇多糖. 空白组和模型组予以等量蒸馏水进行灌胃,连续灌胃至第 14 d. 第 15 d 断食不断水 12 h 后,剔除死亡小鼠,将剩余小鼠脱臼处死,迅速解剖试验小鼠取出肝脏及肾脏,用冰生理盐水进行冲洗,-20 °C 冰箱中冷冻储存.

1.2.3 制备 10% 脏器匀浆及脏器粗酶液

将处于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的肝脏移置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱解冻过夜之后,精确称取 0.2 g 肝脏,放置在处于冰水浴的表面皿中,用手术刀将肝脏尽可能切碎,移入 2 mL 离心管中,加入 1.8 mL 生理盐水,冰水浴超声波处理(功率 400 W ,转速 5 s/次 ,每次间隔 10 s , $3\sim 5$ 次),可制备 10% 的肝脏悬浮液。 $10\ 000\text{ g}$ 离心 10 min ,取上清液,即得 10% 肝脏匀浆液。

将饱和硫酸铵与所得 10% 肝脏匀浆液按 $1:3$ 的体积比均匀混合,再次 $10\ 000\text{ g}$ 离心 10 min 后,取其上清液,即可得肝脏粗酶液。

10% 肾脏匀浆及肾脏粗酶液制取方法同上。

1.2.4 各项氧化指标的测定

采用 Bradford 法^[17]测定蛋白质含量,以 BSA 为标准蛋白。SOD 活性的测定采用 NBT 法测定^[18]。GSH 含量参考陆文蔚^[19]等人的方法测定。GSH-Px 活性测定参考张中林^[20]等人的方法测定。CAT 活性根据刘砚韬等人^[21]的紫外吸收法测定。MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸(TBA)法^[22]。

1.3 数据统计分析

采用 DPS 13.5 统计软件对实验数据进行分析,单因素方差分析检验组间数据是否存在显著性差异,数据用($\pm s$)表示,差异在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 时,具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 SOD 活性测定

机体内 SOD 不足时,其抗氧化作用减弱,细胞遭受氧自由基攻击,导致细胞损伤^[23],测定其活性可间接反映机体抗氧化能力。如表 2 所示,与空白组相比,各脏器模型组 SOD 酶活性明显低于空白组,存在显著性差异($P<0.01$),说明造模成功。在给予 APPC 喂养后,随着 APPC 剂量的增加,肝脏和肾脏中 SOD 酶的活力均逐渐提高,并且符合一定量效关系。结果表明,APPC 能有效地提高免疫低下型小鼠肝脏及肾脏细胞的 SOD 活性,减缓其氧化进程,在一定程度上能减轻免疫低下带来的危害。

表 2 APPC 对小鼠肝脏、肾脏 SOD 活性的影响($n=8$)

Table 2 Effects of APPC on SOD activity in liver and kidney of mice($n=8$)

组别	肝脏 SOD(U/mg prot)	肾脏 SOD(U/mg prot)
空白组	$65.48\pm 0.45^{\text{aA}}$	$83.80\pm 1.25^{\text{aA}}$
模型组	$59.98\pm 0.22^{\text{eE}}$	$56.81\pm 1.20^{\text{dC}}$
阳性对照组	$63.66\pm 0.18^{\text{bB}}$	$82.03\pm 2.63^{\text{abA}}$
APPC 低剂量组	$61.16\pm 0.03^{\text{dD}}$	$70.67\pm 0.04^{\text{cB}}$
APPC 中剂量组	$61.28\pm 0.05^{\text{dD}}$	$76.95\pm 2.92^{\text{bAB}}$
APPC 高剂量组	$62.48\pm 0.19^{\text{cC}}$	$77.46\pm 2.60^{\text{bAB}}$

注:同列数据尾标相同字母表示差异不显著($P>0.05$ 或 $P>0.01$);不同小写字母表示在 5% 水平差异显著($P<0.05$);不同大写字母表示在 1% 水平差异显著($P<0.01$)。下同。

2.2 GSH 含量测定

还原型谷胱甘肽可保护细胞膜中含巯基的蛋白质和含巯基酶,具有提高机体免疫力、清除氧自由基等作用^[24]。由表 3 可知,模型组小鼠各脏器 GSH 含量明显低于空白组($P<0.01$),建模成功。在给予 APPC 喂养后,各剂量组 GSH 含量均高于模型组,并随 APPC 剂量的增加而提高。相对模型组,高剂量组肝脏 GSH 含量提高了 70.41% ($P<0.01$),肾脏 GSH 含量提高了 75.93% ($P<0.01$)。表明 APPC 能有效地增强机体清除自由基的能力,提高免疫低下型小鼠肝脏和肾脏细胞的 GSH 含量,对维持机体正常免疫力有积极作用。

表 3 APPC 对小鼠肝脏、肾脏 GSH 含量的影响($n=8$)

Table 3 Effects of APPC on the content of GSH in liver and kidney of mice($n=8$)

组别	肝脏 GSH($\mu\text{mol/g prot}$)	肾脏 GSH($\mu\text{mol/g prot}$)
空白组	$7.24\pm 0.10^{\text{aA}}$	$4.51\pm 0.24^{\text{aA}}$
模型组	$2.67\pm 0.05^{\text{fF}}$	$1.08\pm 0.10^{\text{dD}}$
阳性对照组	$7.00\pm 0.02^{\text{bB}}$	$2.81\pm 0.06^{\text{bB}}$
APPC 低剂量组	$2.93\pm 0.03^{\text{eE}}$	$1.54\pm 0.12^{\text{cCD}}$
APPC 中剂量组	$3.66\pm 0.05^{\text{dD}}$	$1.63\pm 0.13^{\text{cC}}$
APPC 高剂量组	$4.55\pm 0.01^{\text{cC}}$	$1.90\pm 0.11^{\text{cC}}$

2.3 GSH-Px 活性的测定

GSH-Px 能清除机体细胞代谢活动产生的羟自由基和过氧化物,与细胞损伤、衰老等多种疾病的发生有关^[25-26]. 如表 4 所示,模型组各脏器 GSH-Px 活性明显低于空白组 ($P<0.01$),说明造模成功. 在给予小鼠 APPC 喂养后,相对模型组而言,多糖各剂量组小鼠各脏器 GSH-Px 活性均明显提高 ($P<0.01$),存在量效关系;其中高剂量组肝脏 GSH-Px 活性提高了 207.89%,肾脏 GSH-Px 活性提高了 37.82%. 当 APPC 剂量达到中剂量时,肝脏 GSH-Px 活性已高于阳性对照组 ($P<0.01$);而对肾脏,APPC 剂量达到高剂量时,其 GSH-Px 活性高于阳性对照组 ($P<0.01$). 由此可见,APPC 能有效提高免疫低下型小鼠肝脏及肾脏细胞的 GSH-Px 活性,提高其清除自由基的能力,增强肝脏的免疫能力,在一定程度上保护肾脏免疫力.

表 4 APPC 对小鼠肝脏、肾脏 GSH-Px 活性的影响 ($n=8$)

Table 4 Effects of APPC on GSH-Px activity in liver and kidney of mice ($n=8$)

组别	肝脏 GSH-Px (U/mg prot)	肾脏 GSH-Px (U/mg prot)
空白组	17.27±0.12 ^{aA}	22.36±0.33 ^{aA}
模型组	4.56±0.37 ^{fE}	15.44±0.16 ^{fE}
阳性对照组	9.82±0.19 ^{dC}	19.73±0.12 ^{cC}
APPC 低剂量组	6.53±0.26 ^{eD}	16.12±0.11 ^{eE}
APPC 中剂量组	10.61±0.42 ^{cC}	18.82±0.09 ^{dD}
APPC 高剂量组	14.04±0.08 ^{bB}	21.28±0.07 ^{bB}

2.4 CAT 活性的测定

CAT 不仅可以催化过氧化氢,降低机体内过量的过氧化氢含量,还能氧化细胞内某些毒性物质,保护机体,减轻损害^[27]. 如表 5 所示,模型组小鼠肝脏、肾脏 CAT 活性明显低于空白组 ($P<0.01$),表明造模成功. 在给予 APPC 喂养后,APPC 各剂量组 CAT 活性均提升;相对模型组而言,高剂量组肝脏中 CAT 的活性提高了 89.06% ($P<0.01$),肾脏提高了 24.76% ($P<0.01$). 试验结果表明 APPC 能有效提高免疫低下型小鼠肝脏及肾脏的 CAT 活性,增强小鼠机体的抗氧化能力.

表 5 APPC 对小鼠肝脏、肾脏 CAT 活性的影响 ($n=8$)

Table 5 Effects of APPC on CAT activity in liver and kidney of mice ($n=8$)

组别	肝脏 CAT 活性 (U/mg prot)	肾脏 CAT 活性 (U/mg prot)
空白组	73.01±0.47 ^{aA}	57.58±1.62 ^{aA}
模型组	35.19±1.67 ^{fE}	41.32±0.74 ^{eD}
阳性对照组	61.72±0.99 ^{cC}	54.89±0.39 ^{aAB}
APPC 低剂量组	47.09±1.23 ^{eE}	48.58±1.74 ^{bC}
APPC 中剂量组	57.35±0.20 ^{dD}	50.93±1.35 ^{bBC}
APPC 高剂量组	66.53±0.49 ^{bB}	51.55±0.36 ^{bBC}

2.5 MDA 含量测定

丙二醛(MDA)会严重损害细胞功能,是氧自由基造成机体损伤的主要原因,MDA 含量越高,机体受损也就越严重^[28]. 如表 6 所示,与空白组相比,模型组各脏器 MDA 含量均显著升高 ($P<0.01$),说明造模成功. 在给予 APPC 喂养后,随着 APPC 浓度提高,小鼠肝脏及肾脏的 MDA 含量不断降低,两者之间存在一定的剂量-效应关系. 各剂量组中各脏器 MDA 含量均低于模型组 ($P<0.01$);其中高剂量组相对模型组而言,肝脏、肾脏 MDA 含量分别降低了 27.69%、31.37%. 结果表明,APPC 能有效降低免疫低下型小鼠肝脏及肾脏细胞的 MDA 含量水平,提高脏器抗氧化水平,减少脂质过氧化,对免疫低下型小鼠肝脏及肾脏有一定的保护作用.

表 6 APPC 对小鼠肝脏、肾脏 MDA 含量的影响 ($n=8$)

Table 6 Effects of APPC on the content of MDA in liver and kidney of mice ($n=8$)

组别	肝脏 MDA (nmol/mg prot)	肾脏 MDA (nmol/mg prot)
空白组	1.18±0.01 ^{dD}	1.11±0.04 ^{fE}
模型组	1.95±0.04 ^{aA}	3.73±0.04 ^{aA}
阳性对照组	1.16±0.01 ^{dD}	1.58±0.01 ^{eD}
APPC 低剂量组	1.66±0.01 ^{bB}	3.31±0.02 ^{bB}
APPC 中剂量组	1.43±0.01 ^{cC}	2.66±0.02 ^{cC}
APPC 高剂量组	1.41±0.01 ^{cC}	2.56±0.03 ^{dC}

3 结论

机体在代谢过程中产生大量具有高度活性的自由基. 体内活性氧自由基在参与生命功能的调节过程中有一定积极作用,但是过量的自由基可通过自身的强氧化作用参与到生理或病理过程,对机体产生不同程度上的损害,从而引起各类疾病^[29]. 而肝脏作为机体免疫应答的重要场所,在抗病原体感染以及对全身免疫系统的调节上有着重要作用;肾脏是人体具有免疫调节功能的排泄器官,具有维持机体内环境稳定等作用^[30]. 机体内环境中自由基增多会导致细胞发生脂质过氧化,进而导致细胞膜通透性提升,细胞膜表面受体将受到损伤,肝脏免疫功能受损,肾脏免疫功能紊乱,所以提高肝脏、肾脏抗氧化和免疫能力对降低免疫低下带来的危害极为重要. 相关研究表明^[31],姬菇多糖具有清除自由基等功能.

本研究以姬菇为原材料提取 APPC,并通过建立环磷酰胺诱导的免疫低下小鼠模型,测定各组小鼠脏器 SOD、GSH-Px、CAT 活性及 MDA、GSH 含量,研究 APPC 对免疫低下型小鼠的肝脏、肾脏保护作用. 在注射试验剂量的环磷酰胺后,导致机体 SOD、GSH、GSH-Px、CAT 耗竭,机体抗氧化防御机能降低,细胞膜脂质过氧化,最终导致其产物 MDA 含量升高. 而 APPC 对环磷酰胺的细胞毒性具有显著拮抗作用,与模型组相比,APPC 各剂量组均可显著提高免疫低下型小鼠肝脏、肾脏中 GSH-Px、CAT、SOD 的活性和 GSH 含量,降低 MDA 含量;并且随着 APPC 浓度增加,其抗氧化效果越明显;其中,肝脏 APPC 中、高剂量组和肾脏 APPC 高剂量组 GSH-Px 活性强于阳性组,肝脏 APPC 高剂量组 CAT 活性强于阳性组. 说明 APPC 能通过增强机体肝脏及肾脏的抗氧化能力来保护肝脏和肾脏细胞,降低自由基对二者的伤害,从而在一定程度上能提高或保护免疫低下型小鼠免疫能力. 其机制可能是 APPC 具有一定的抗氧化作用,可有效提高抗氧化酶或抗氧化因子的活性,清除 ROS,抑制体内有害反应,增强肝脏和肾脏脂质代谢能力,从而减轻二者的受损程度.

免疫低下引发的一系列健康问题不容忽视. 本研究结果表明,APPC 在一定程度上能提高或保护免疫低下型小鼠肝脏和肾脏的免疫能力,机制与其较强的抗氧化作用有关,因此 APPC 有望被开发成提高或改善免疫调节能力的保健食品.

[参考文献]

- [1] 夏金金,汪涛. 自身免疫性疾病发病机制新进展[J]. 国际免疫学杂志,2016,39(2):193-198.
- [2] TAKAHASHI H, SHIGEFUKU R, YOSHIDA Y, et al. Correlation between hepatic blood flow and liver function in alcoholic liver cirrhosis[J]. World journal of gastroenterology, 2014, 20(45): 17065-17074.
- [3] 杨鹏. 补体 C3、C3a 受体在三氯乙烯致敏小鼠免疫性肾损伤中的作用研究[D]. 合肥:安徽医科大学,2017.
- [4] DOHERTY D G. Immunity, tolerance and autoimmunity in the liver: a comprehensive review[J]. Journal of autoimmunity, 2016, 66: 60-75.
- [5] 林巧雅,黄松林,骆清铭,等. 肝脏免疫的活体显微光学成像研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展,2017,44(12): 1056-1065.
- [6] SEKI E, SCHNABL B. Role of innate immunity and the microbiota in liver fibrosis: crosstalk between the liver and gut[J]. Journal of physiology, 2012, 590(3): 447-458.
- [7] 李凤磊. 肝脏抗病毒免疫应答及其调控机制[D]. 合肥:中国科学技术大学,2013.
- [8] PALM N W, MEDZHITOV R. Pattern recognition receptors and control of adaptive immunity[J]. Immunological reviews, 2009, 227(1): 221-233.
- [9] 陈静,周同,蔡敏超,等. 肾脏免疫区室化与肾小管间质损伤[J]. 生命科学,2010,22(3): 278-283.
- [10] KURTS C, PANZER U, ANDERS H J, et al. The immune system and kidney disease: basic concepts and clinical implications[J]. Nature reviews immunology, 2013, 13(10): 738-753.
- [11] IANNAcone M, SITIA G, ISOGAWA M, et al. Platelets mediate cytotoxic T lymphocyte-induced liver damage[J]. Nature medicine, 2005, 11(11): 1167-1169.
- [12] 袁菁艺. 利用甘草渣栽培秀珍菇和姬菇的研究[D]. 广州:华南农业大学,2016.
- [13] 田敏. 珊瑚状猴头菌成分分析及其多糖对小鼠抗氧化及免疫功能的影响[D]. 晋中:山西农业大学,2013.
- [14] 初洋,倪新江,杨桂文,等. 姬菇和鲍鱼菇生长期8种胞外酶活性变化比较[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程

- 版),2008,21(2):138-142.
- [15] 周斌. 姬菇多糖纯化及其对小鼠急性肝损伤保护作用研究[D]. 南京:南京师范大学,2012.
- [16] 邵淑宏. 乌龙茶多糖理化性质及抗氧化,降血糖活性研究[D]. 杭州:浙江大学,2015.
- [17] NICOLAS P, LASSALLE V L, FERREIRA M L. Quantification of immobilized *Candida antarctica* lipase B(CALB) using ICP-AES combined with Bradford method[J]. *Enzyme and microbial technology*, 2017, 97:97-103.
- [18] 林素英, 吴新建. 四氮唑蓝(NBT)法检测SOD条件的探讨[J]. *海峡药学*, 2009, 21(5):43-45.
- [19] 陆文蔚, 闫军, 唐立伟. 保健品中谷胱甘肽的快速测定[J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(2):186-189.
- [20] 张中林, 郑剑玲, 李岩, 等. DTNB法对食用真菌谷胱甘肽过氧化物酶的检测[J]. *辽宁医学院学报*, 2011, 32(2):117-118.
- [21] 刘砚韬, 王振伟, 张伶俐. 过氧化氢酶活性测定的新方法[J]. *华西药学杂志*, 2013, 28(4):403-405.
- [22] 许长成, 邹琦, 程炳嵩. 硫代巴比妥酸(TBA)法检测脂质过氧化水平的探讨[J]. *植物生理学通讯*, 1989, 6:58-60.
- [23] 张笑天, 郑晓瑛. 氧化自由基清除剂超氧化物歧化酶与疾病[J]. *中国公共卫生*, 2014, 30(10):1349-1352.
- [24] 谢雅清, 梁晓美, 叶伟霞. 还原型谷胱甘肽的药理作用与临床应用研究进展[J]. *中国药业*, 2013, 22(7):124-127.
- [25] 蔡晓波, 陆伦根. 谷胱甘肽过氧化物酶与肝脏疾病[J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 17(32):3279-3282.
- [26] 马森. 谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽转硫酶研究进展[J]. *动物医学进展*, 2008, 29(10):53-56.
- [27] 刘灵芝, 钟广蓉, 熊莲, 等. 过氧化氢酶的研究与应用新进展[J]. *化学与生物工程*, 2009, 26(3):15-18.
- [28] 张秋萍, 吴霞红, 郑剑恒, 等. 生物样本中丙二醛测定方法的研究进展[J]. *理化检验-化学分册*, 2016, 52(8):979-985.
- [29] 李向荣. 抗氧化剂和自由基与血清白蛋白相互作用的微量热和谱学研究[D]. 新乡:河南师范大学,2014.
- [30] 张智. 间充质干细胞对脑死亡大鼠肾脏免疫调节及移植后功能改善的研究[D]. 广州:暨南大学,2014.
- [31] 张建军. 姬菇 SS-01 胞外多糖及胞内锌多糖的提取和抗氧化活性[D]. 泰安:山东农业大学,2012.

[责任编辑:黄 敏]