

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2019.02.008

三种果蔬发酵液抗氧化和免疫调节功能研究

张瑞雪^{1,2}, 方磊^{1,2}, 刘艳^{1,2}, 欧阳道福³, 刘洪霞³, 谷瑞增^{1,2}, 魏颖^{1,2}

(1. 中国食品发酵工业研究院有限公司, 北京 100015; 2. 北京市蛋白功能肽工程技术研究中心, 北京 100015; 3. 完美(中国)有限公司, 广东 中山 528402)

摘要: 对比研究 A、B、C 三种果蔬发酵液产品的抗氧化能力和免疫调节能力。采用偶氮二异丁脒盐酸盐 (AAPH) 诱导的 HepG2 细胞氧化应激模型评价三种发酵液产品对细胞内活性氧簇 (ROS) 的影响, 应用刀豆蛋白 A (ConA) 和脂多糖 (LPS) 诱导小鼠 T/B 淋巴细胞, 检测其增殖能力, 应用 LPS 诱导小鼠腹腔巨噬细胞, 检测其吞噬能力和 NO 释放量。结果表明: 三种果蔬发酵液具有较强的降低细胞内 ROS 含量的能力, 果蔬发酵液 A 可使胞内 ROS 含量降低至 55%; 三种果蔬发酵液可提高淋巴细胞的增殖能力和腹腔巨噬细胞的吞噬能力, 促进 NO 释放, 在稀释倍数为 10^4 时果蔬发酵液 A 处理组 NO 释放量最高 (4.06 $\mu\text{mol/L}$)。三种果蔬发酵液具有较好的抗氧化活性和增强免疫的功能。

关键词: 果蔬发酵液; 抗氧化; 免疫调节

中图分类号: TS201.3 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2019)02-0039-06

Research on antioxidant and immunity regulation function of three kinds of fruit and vegetable zymotic fluid

ZHANG Rui-xue^{1,2}, FANG Lei^{1,2}, LIU Yan^{1,2}, OUYANG Dao-fu³,
LIU Hong-xia³, GU Rui-zeng^{1,2}, WEI Ying^{1,2}(1. China National Research Institute of Food and Fermentation Industries Co., Ltd., Beijing 100015;
2. Beijing Engineering Research Center of Protein & Functional Peptide Corporation Limited, Beijing 100015; 3. Perfect (China) Co., Ltd., Zhongshan Guangdong 528402)

Abstract: The antioxidant activity and immunoregulation of three kinds of fruit and vegetable zymotic fluid, which were named A, B and C, were researched. The effect of the three kinds of fruit and vegetable zymotic fluid on ROS level in cell was evaluated by AAPH-induced in HepG2 cells model. To study the immunomodulatory ability, concanavalin A and lipopolysaccharide were used to induce the proliferation of mouse T/B lymphocytes, and lipopolysaccharide was used to induce mouse peritoneal macrophages, detecting phagocytic ability and NO release. The results showed that the three kinds of fruit and vegetable zymotic fluid had strong ability to eliminate ROS in cells, A fruit and vegetable zymotic fluid can make intracellular ROS content as low as 55%. They can improve lymphocyte proliferation ability, phagocytic ability of peritoneal macrophages and promote NO release, A fruit and vegetable zymotic fluid has a maximum NO release of 4.06 $\mu\text{mol/L}$ at dilution ratio of 10^4 . These results indicated that the three kinds of fruit and vegetable zymotic fluid have good antioxidant activity and enhance immune function.

Key words: fruit and vegetable zymotic fluid; antioxidant; immunity regulation

收稿日期: 2018-10-12

基金项目: 首都食品质量安全保障专项 (Z171100001317006)

作者简介: 张瑞雪, 1994 年出生, 女, 硕士研究生。

通讯作者: 魏颖, 1981 年出生, 女, 博士, 高级工程师。

酵素(发酵液)发酵主要是利用酵母菌、乳酸菌和霉菌对原料(水果、蔬菜、糙米、菇类、药食同源中药等)进行微生物代谢活动,实现糖类、蛋白质、脂质三大物质之间的转化^[1]。酵素是一种混合物,富含多种维生素、矿物质、低聚糖、多酚、有机酸、功能性酶类等,具有美白抗衰老^[2]、解酒护肝^[3]、调节肠道菌^[4]等功能。果蔬酵素是从植物原材料中提取出来的一种植物综合发酵液,原料包括西蓝花、柠檬、西番莲、苦瓜、黑木耳、甜椒、橙子、番茄、菠萝等多达几十种甚至上百种水果和蔬菜,经过多次发酵后研制而成。

酵素起源于日本,在日本已有上百年的历史,且日本发明了独有的氨基酸、核酸发酵技术,至今为止在此方面日本位居世界前列^[5]。天然果蔬发酵液系列产品在发达地区和国家已经非常流行,而国内发酵液属于新型产品,主要用于美容院,口服果蔬发酵液类产品较为稀缺,质量参差不齐,相关报道较少,因此对果蔬发酵液的研究显得十分重要。抗氧化是指抵抗氧化的作用,使细胞免受自由基的损伤,果蔬原料中含有丰富的V_C、V_E、类胡萝卜素、酚类等化合物,它们所具有的抗氧化活性对于促进人体健康有重要作用^[6]。免疫系统是机体执行免疫应答及免疫功能的重要系统,包含免疫器官、免疫细胞以及免疫分子^[7]。有实验表明双歧杆菌发酵的果蔬发酵液能够显著增强巨噬细胞吞噬功能,增加血清溶血素抗体水平^[8]。本文主要对三种果蔬发酵液产品的抗氧化性和免疫调节方面进行研究,为后续相关产品的开发奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

果蔬发酵液 A:完美(中国)有限公司(中试车间生产样品 批号 20170831);果蔬发酵液 B: B 公司生产样品;果蔬发酵液 C: C 公司生产样品。小鼠(Balb/c, 6~8 周龄):北京维通利华实验动物技术有限公司。RPMI-1640 培养基: Hyclone 公司;胎牛血清、青霉素链霉素溶液(双抗):四季青公司;胰蛋白酶、红细胞裂解液、Hepes、CCK-8、缓冲液 PBS:碧云天生物技术研究 所;HepG2 细胞株:北京协和细胞资源中心;

刀豆蛋白 A(ConA)、脂多糖(LPS)、2',7'-二氯二氧荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)、偶氮二异丁脒盐酸盐(AAPH):美国 Sigma 公司;中性红: Amresco 公司。

1.2 仪器与设备

BD C6 流式细胞仪、240i 直热式二氧化碳培养箱:美国 Thermofisher 公司;Spectra MR 多功能酶标仪:美国 Dynex 公司;恒温水浴锅:苏州珀西瓦尔实验设备有限公司;ESCO AC2-6S1 生物安全柜:新加坡艺思高科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 三种果蔬发酵液对 HepG2 氧化应激的影响

将生长状态良好的 HepG2 细胞密度调整为 10⁵ cfu/mL, 2 mL/孔加入到 6 孔板中,于 37 ℃、5% CO₂ 恒温培养箱中培养 24 h,待细胞单层贴壁后换上含样的 DMEM 不完全培养基 2 mL,设置空白对照组、模型组和样品组,空白对照组和模型组只加不完全培养基。3.5 h 后弃掉培养液,用 PBS 清洗两次,每孔加入终浓度为 10 μmol/L 的 DCFH-DA 荧光染料,孵育 30 min。对照组加不完全培养基,模型组和样品组加入终浓度为 600 μmol/L 的 AAPH 孵育 30 min,流式细胞仪检测细胞内的荧光值,以细胞内活性氧簇(ROS)含量表示发酵液对氧化应激的影响,计算公式^[9]为:

$$\text{ROS 含量} = \frac{\text{实验组荧光值}}{\text{模型组荧光值}} \times 100\%$$

1.3.2 三种果蔬发酵液对小鼠淋巴细胞增殖的影响

1.3.2.1 小鼠脾细胞悬液的制备

小鼠脾细胞悬液的制备方法参照文献^[10],操作过程及要点如图 1 所示。

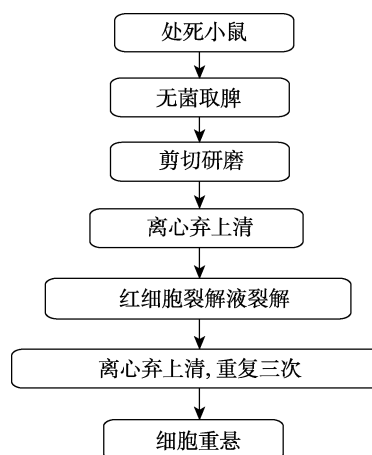


图 1 小鼠脾细胞悬液制备方法

1.3.2.2 果蔬发酵液对脾淋巴细胞增殖的影响

将所得重悬细胞加入 RPMI-1640 完全培养基,调整细胞浓度为 2×10^6 cfu/mL, $90 \mu\text{L}$ /孔接入到 96 孔板中。将细胞分为空白对照组和样品组,空白组加入不完全培养基,样品组加入不同浓度的果蔬发酵液样品 $10 \mu\text{L}$ /孔,每组 5 个复孔。于 CO_2 培养箱内培养 72 h,用 CCK-8 试剂盒测定样品对脾细胞增殖能力的影响,结果用增殖率表示,计算公式为:

$$\text{增殖率} = \frac{\text{OD}_{\text{细胞+样品}}}{\text{OD}_{\text{细胞}}} \times 100\%$$

1.3.2.3 果蔬发酵液对 T/B 淋巴细胞增殖的影响

将调整好细胞浓度的脾细胞悬液按 $90 \mu\text{L}$ /孔加入到 96 孔板中,设置空白对照组、模型组、样品组,其中空白对照组:每孔添加 $20 \mu\text{L}$ PBS;模型组:每孔添加 $10 \mu\text{L}$ ConA/LPS (终浓度为 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$), $10 \mu\text{L}$ PBS;样品组:每孔添加 $10 \mu\text{L}$ ConA/LPS (终浓度为 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$), 和 $10 \mu\text{L}$ 不同浓度的果蔬发酵液样品溶液。每个处理 5 个复孔,于 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 恒温培养箱中培养 72 h。CCK-8 法测定细胞增殖率,结果用刺激指数 (SI) 表示,计算公式为:

$$\text{SI}_{\text{ConA}} = \frac{\text{OD}_{\text{细胞+样品+ConA}}}{\text{OD}_{\text{细胞}}} \times 100\%$$

$$\text{SI}_{\text{LPS}} = \frac{\text{OD}_{\text{细胞+样品+LPS}}}{\text{OD}_{\text{细胞}}} \times 100\%$$

1.3.3 三种果蔬发酵液对小鼠腹腔巨噬细胞的影响

1.3.3.1 小鼠腹腔巨噬细胞的制备

小鼠腹腔巨噬细胞制备方法参考文献^[11],操作步骤及要点如图 2 所示。

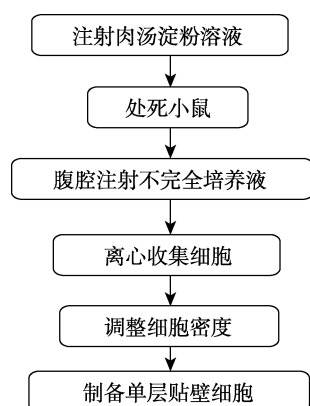


图 2 小鼠腹腔巨噬细胞制备方法

1.3.3.2 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬活性的测定^[10]

将细胞分为空白对照组、模型组和实验组,空白对照组每孔加入 $20 \mu\text{L}$ PBS,模型组加入 LPS (终浓度 $30 \mu\text{g}/\text{mL}$) 和 PBS 各 $10 \mu\text{L}$ /孔,实验组加入 LPS (终浓度 $30 \mu\text{g}/\text{mL}$) 与不同浓度的果蔬发酵液各 $10 \mu\text{L}$ /孔。每组各设 5 个复孔,于 CO_2 培养箱内培养 24 h。收集上清液,洗涤细胞 2 次,每孔加入 $100 \mu\text{L}$ 预温的 0.1% 中性红溶液,于 CO_2 培养箱内继续培养 1 h,弃掉上清液并洗涤细胞 3 次,每孔加入 $200 \mu\text{L}$ 细胞溶解液 [含 1% (v/v) 乙酸的 50% (v/v) 乙醇溶液],室温放置 2 h,待细胞溶解后,酶标仪测定 OD_{550} 值。结果用吞噬指数 (PI) 表示,计算公式为:

$$\text{PI}_{\text{LPS}} = \frac{\text{OD}_{\text{细胞+样品+LPS}}}{\text{OD}_{\text{细胞}}} \times 100\%$$

1.3.3.3 果蔬发酵液对小鼠腹腔巨噬细胞 NO 生成量的影响

小鼠腹腔巨噬细胞经果蔬发酵液干预 24 h 后,收集上清液,用 NO 试剂盒测定样品对小鼠腹腔巨噬细胞 NO 生成量的影响。

1.4 统计学处理

采用 Origin 8.5 统计软件对数据进行处理,实验结果以均值 \pm 标准偏差表示。采用组间 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 果蔬发酵液对 HepG2 氧化应激的影响

ROS 是需氧生物在代谢过程中产生的比氧活泼的含氧活性物质,过量的 ROS 会引起机体组织细胞氧化应激反应,造成生物大分子物质损伤,甚至引起疾病和死亡,而机体为保持活性氧自由基平衡,就必须通过抗氧化防御体系及时清除过量的活性氧自由基^[12]。超氧化物歧化酶 (SOD) 是活性氧清除反应过程中第一个发挥作用的抗氧化酶,可催化 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 转化为 H_2O_2 和 O_2 ,从而清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 。发酵液主要的功效酶类包括超氧化物歧化酶、蛋白酶、脂肪酶等^[13],其中也含有多酚、维生素、有机酸等多种抗氧化功效成分,能有效地清除自由基,实现抗氧化功能。本实验中 AAPH 是自由基产生剂,DCFH-DA 是一个自由基捕捉剂。HepG2 细胞加入 DCFH-DA 后,被细胞膜中

脂酶水解形成 DCFH, DCFH 被细胞内的自由基 ROS 氧化生成具有荧光的 DCF-, 荧光强度直接反应了细胞内的 ROS 含量和氧化应激的水平^[14]。ROS 含量越低, 抗氧化活性越强。

三种果蔬发酵液对 HepG2 细胞内 ROS 含量的影响见图 3。由图可知, 三种发酵液能降低 HepG2 细胞内 ROS 含量。在果蔬发酵液 A 中, 各浓度均能显著降低 ROS 含量 ($P<0.05$), 在稀释倍数为 10^2 的浓度下, ROS 含量最低, 为 55%。在 B 发酵液中, 稀释倍数为 10^2 、 10^3 、 10^4 时能显著降低 ROS 含量 ($P<0.05$), 在稀释倍数为 10^3 的浓度下, ROS 含量最低, 为 61%。在发酵液 C 中, 稀释倍数为 10、 10^2 、 10^3 、 10^4 浓度能显著降低 ROS 含量 ($P<0.05$), 在稀释倍数为 10^3 浓度下, ROS 含量最低, 为 71%。相较于其他两种发酵液, 发酵液 A 更能明显降低 ROS 含量, 具有更好的抗氧化能力。

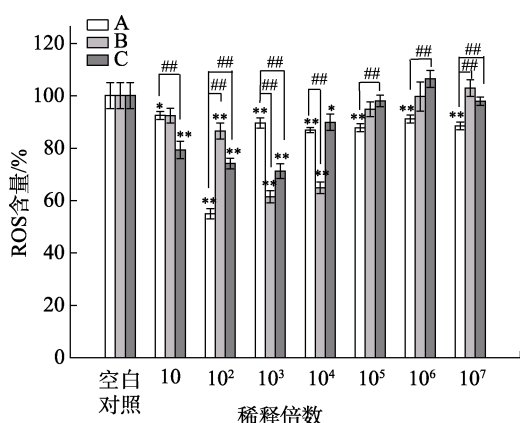


图 3 三种果蔬发酵液对 HepG2 细胞内 ROS 产生量的影响
注: *表示与对照组相比差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$) #表示与 A 发酵液处理组比较差异显著 ($P<0.05$), ##表示差异极显著 ($P<0.01$)

2.2 免疫调节

2.2.1 果蔬发酵液对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响

由图 4 可看出, 三种果蔬发酵液的 7 个浓度均能促进正常脾淋巴细胞的增殖。果蔬发酵液 A 在稀释倍数为 10 和 10^2 时增殖率很高, 脾细胞增殖能力强; 发酵液 B 和 C 分别在稀释倍数为 10^5 、 10^4 时增殖率最高, 脾细胞增殖能力强。在三种发酵液中, 增殖率最高的为稀释倍数为 10 的 A 发酵液, 其值为 127%, 其他两种发酵液增殖率分别

为 107%、112%, 发酵液 A 促进脾淋巴细胞增殖的能力明显高于其他两种发酵液。

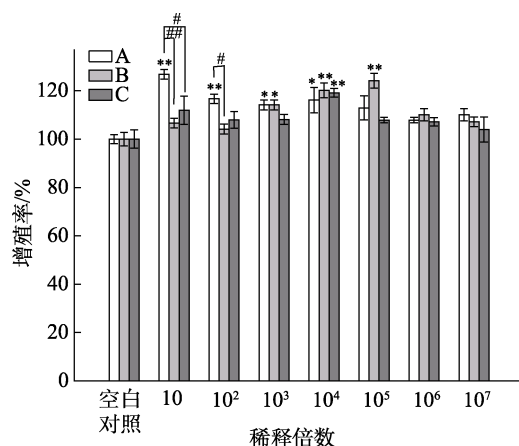


图 4 三种果蔬发酵液对小鼠脾淋巴细胞增殖能力的影响
注: *表示与对照组相比差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$); #表示与 A 发酵液处理组比较差异显著 ($P<0.05$), ##表示差异极显著 ($P<0.01$)

2.2.2 果蔬发酵液对小鼠 T/B 淋巴细胞增殖的影响

脾脏在特异性免疫反应中具有重要的作用, 淋巴细胞是生物体内执行免疫功能的主要细胞, 淋巴细胞的激活是产生免疫应答的关键环节之一^[15]。ConA 可以通过促进 T 淋巴细胞活化过程中重要信号分子的表达来刺激 T 淋巴细胞, 使其增殖活化^[16]; LPS 可以通过促进 Toll 样受体和样受体蛋白的表达直接促进 B 淋巴细胞的分化成熟^[17]。本实验采用 ConA 和 LPS 对提取的脾淋巴细胞进行刺激诱导, 刺激指数是评价细胞增殖活性的一个指标, 它的高低反映了 T/B 淋巴细胞增殖率的高低, 后者的高低又体现了 T/B 淋巴细胞功能的强弱, 故可以 T/B 淋巴细胞刺激指数的变化来评估 T/B 淋巴细胞功能的变化, 而后者是机体细胞免疫功能变化的重要标志^[18]。

三种果蔬发酵液对 Con A 诱导的 T 淋巴细胞增殖的影响结果见图 5, 由图 5 可看出三种果蔬发酵液均能促进 Con A 诱导的 T 淋巴细胞的增殖。发酵液 A 在稀释倍数为 10^2 时, SI 值最高, 为 130%, 对比于 B 和 C 果蔬发酵液的 SI 值, 分别提高了 19%、18%, 更好地促进 T 淋巴细胞的增殖, 提高细胞免疫功能。

三种果蔬发酵液对 LPS 诱导的 B 淋巴细胞增殖的影响结果见图 6, 由图 6 可看出三种果蔬发

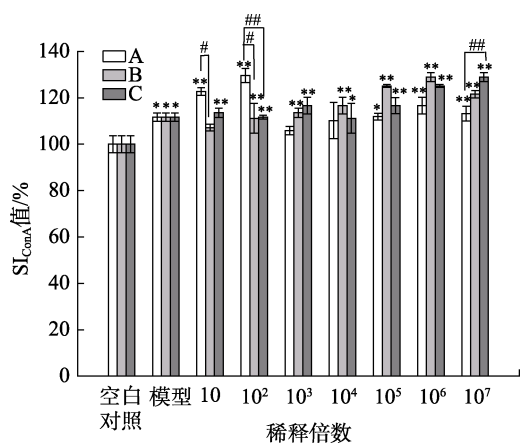


图 5 三种果蔬发酵液对 ConA 诱导的 T 淋巴细胞增殖的影响
注：*表示与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)，**表示差异极显著 ($P < 0.01$)；#表示与 A 发酵液处理组比较差异显著 ($P < 0.05$)，##表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

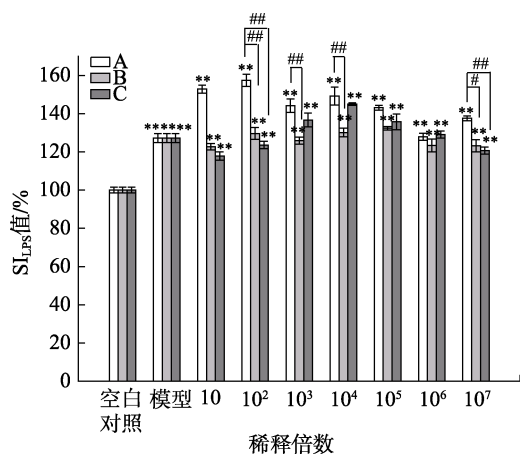


图 6 三种果蔬发酵液对 LPS 诱导的 B 淋巴细胞增殖的影响
注：*表示与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)，**表示差异极显著 ($P < 0.01$)；#表示与 A 发酵液处理组比较差异显著 ($P < 0.05$)，##表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

酵液对 LPS 诱导的 B 淋巴细胞增殖具有明显的促进作用。A 发酵液在稀释倍数为 10 和 10^2 时，SI 值很高，B 淋巴细胞增殖效果极显著。在稀释倍数为 10^2 浓度时，B 和 C 果蔬发酵液的 SI 值分别为 130%、126%，A 果蔬发酵液的 SI 值为 157%，相较于其他两种发酵液，A 发酵液分别提高了 27%、31%，更好地促进 B 淋巴细胞的增殖，提高体液免疫功能。

综合三种果蔬发酵液对脾淋巴细胞增殖能力的影响结果，A 发酵液在稀释倍数为 10^2 时既能极显著促进 T 淋巴细胞增殖，又能极显著促进 B 淋巴细胞增殖，且效果优于其他两种发酵液。

2.2.3 果蔬发酵液对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬能力的影响

巨噬细胞属于机体固有免疫细胞，在非特异

免疫反应和特异性免疫反应中起着关键作用，巨噬细胞受到不同抗原刺激会分化为不同类型的巨噬细胞，进而促进或抑制炎症反应的发生。巨噬细胞经典激活方式是受 LPS、干扰素- ($IFN-$) 及肿瘤坏死因子 (TNF) 激活，释放细胞毒性物质 NO 和活性氧中间体，清除细胞内的病原体^[19]。在 LPS 的刺激下，巨噬细胞从静息状态转向活化状态，细胞增大，代谢增强，溶酶体增多，细胞的变形运动及吞噬能力均增强^[20]。

三种果蔬发酵液对 LPS 诱导的腹腔巨噬细胞吞噬能力的影响如图 7 所示，对于 LPS 诱导的腹腔巨噬细胞，三种果蔬发酵液均能提高其吞噬中性红的能力，在稀释倍数为 10^2 时，B 发酵液处理组的吞噬指数高于其他两种发酵液；稀释倍数大于 10^3 后，其吞噬指数均小于其他两种发酵液，且相对于对照组而言，没有统计学意义上的差异。在 A 发酵液中，稀释倍数为 10^2 时的 PI 值相较于其他浓度的 PI 值高，综合考虑， 10^2 的稀释倍数有借鉴意义。

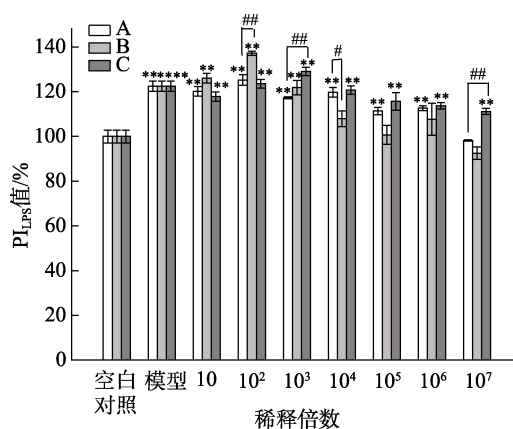


图 7 三种果蔬发酵液对 LPS 诱导的腹腔巨噬细胞吞噬能力的影响

注：*表示与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)，**表示差异极显著 ($P < 0.01$)；#表示与 A 发酵液处理组比较差异显著 ($P < 0.05$)，##表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

2.2.4 果蔬发酵液对小鼠腹腔巨噬细胞 NO 释放量的影响

三种果蔬发酵液对 LPS 诱导的腹腔巨噬细胞 NO 释放量的影响结果见图 8，在 7 个浓度下三种果蔬发酵液均能极显著促进 NO 的释放。稀释倍数为 10^4 的 A 发酵液处理组 NO 释放量最高，为 $4.06 \mu\text{mol/L}$ 。在稀释倍数为 10^4 、 10^5 时，三种果

蔬发酵液促进吞噬细胞释放 NO 的能力明显高于其他浓度的释放能力。

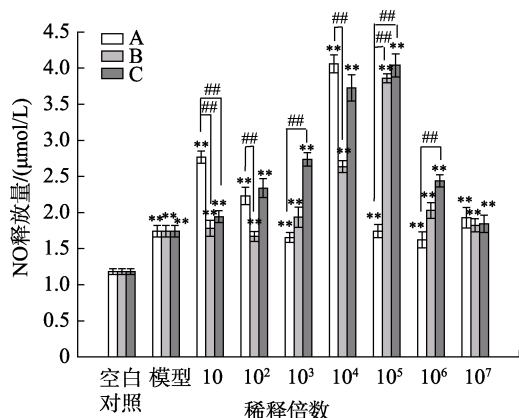


图 8 三种果蔬发酵液对 LPS 诱导的腹腔巨噬细胞 NO 释放量的影响

注：*表示与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)，**表示差异极显著 ($P < 0.01$)；#表示与 A 发酵液处理组比较差异显著 ($P < 0.05$)，##表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

3 结论

本实验对果蔬发酵液的抗氧化和免疫功能进行研究，结果表明 A、B、C 三种果蔬发酵液均能提高其抗氧化能力，果蔬发酵液 A 在稀释倍数为 10^2 时，可使胞内 ROS 含量达最低，为 55%。三种果蔬发酵液可促进小鼠淋巴细胞的增殖，尤以 B 淋巴细胞明显，刺激指数最高达 157%；且能提高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力并促进 NO 的释放，稀释倍数为 10^4 的 A 发酵液处理组 NO 释放量最高，为 $4.06 \mu\text{mol/L}$ ，从而加强免疫调节作用。A 果蔬发酵液在稀释倍数为 10^2 时，实验范围内 SI 值和 PI 值均最高，为后续免疫调节相关产品的研发提供理论依据。

参考文献：

[1] 刘加友, 王振斌. 微生物发酵液食品研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(1): 273-276.
 [2] 任清, 于晓艳, 潘妍, 等. 微生物酵素美白抗衰老功效研究[J]. 香料香精化妆品, 2008(3): 28-32.
 [3] 曲佳乐, 赵金凤, 皮子凤, 等. 植物发酵液解酒护肝保健功能

研究[J]. 食品科技, 2013, 38(9): 51-55.
 [4] 赵金凤, 曲佳乐, 皮子凤, 等. 植物发酵液润肠通便保健功能研究[J]. 食品与发酵科技, 2012, 48(3): 54-56.
 [5] 潘宣如, 毛昞昊. 浙江果蔬发酵液新兴产业现状分析及对策[J]. 北方经贸, 2015(11): 103-105.
 [6] 陈守江, 姜松. 果蔬中的酚类化合物及其抗氧化作用(综述)[J]. 安徽技术师范学院学报, 2003, 17(2): 144-148.
 [7] 李婧文, 周长林. 多糖的免疫调节作用及多糖药物的研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(4): 24-28.
 [8] 管晓冉, 张德纯, 李金玲, 等. 双歧杆菌发酵果蔬汁对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2010, 22(2): 110-113.
 [9] 尹曼, 魏颖, 马勇, 等. 胶原肽和大米肽对黑色素生成的影响[J]. 食品科技, 2017(10): 244-247.
 [10] 魏颖, 刘艳, 林峰, 等. 刺玫果免疫调节和体外抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2014, 14(8): 41-46.
 [11] 魏颖, 谷瑞增, 林峰, 等. 乌鸡肽免疫调节作用的研究[J]. 食品研究与开发, 2014(16): 1-4.
 [12] 洪美玲, 陈立侨. 水产动物养殖胁迫评价及预防[M]. 北京: 中国林业出版社, 2012.
 [13] 于晓艳, 任清, 卢舒娴, 等. 微生物发酵液主要功效酶活力的测定[J]. 食品科技, 2008, 33(7): 193-196.
 [14] 贾刚, 谢丽阳, 张迪, 等. 黄酮对 AAPH 诱导的 HepG2 细胞氧化应激的作用[J]. 食品科技, 2011(9): 23-26.
 [15] 曾丛梅, 蔡树涛, 周凤兰, 等. ConA 激活小鼠胸腺 T 淋巴细胞增殖过程中 c-myc 与核骨架蛋白的结合[J]. 中国科学, 1996, 39(4): 511-516.
 [16] 周灵, 彭代智, 陈博, 等. PHA、ConA 及 CD3 ϵ 单克隆抗体对小鼠淋巴细胞迁移及分泌趋化因子的影响[J]. 免疫学杂志, 2012, 28(4): 295-299.
 [17] HIROTAKA O, SU I H, KENSUKE M, et al. The toll-like receptor protein Rp105 regulates lipopolysaccharide signaling in B cells:[J]. Journal of Experimental Medicine, 2000, 192(1): 23.
 [18] 复方中药对感染 NIB 鸡淋巴细胞刺激指数的影响[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2009, 29(6): 575-578.
 [19] MANTOVANI A, SICA A, SOZZANI S, et al. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization[J]. Trends in Immunology, 2004, 25(12): 677-686.
 [20] PENGAL R A, GANESAN L P, WEI G, et al. Lipopolysaccharide-induced production of interleukin-10 is promoted by the serine/threonine kinase Akt[J]. Molecular Immunology, 2006, 43(10): 1557-1564.