

24 种食用植物酵素功能成分分析与生物活性初步研究

靳素媛¹, 耿燕^{*1}, 周琦¹, 吕琪琪¹, 曹刚刚², 贾友彬², 李宣衡², 史劲松¹

(1. 江南大学药学院, 江苏 无锡 214122; 2. 安徽养生天下生物科技有限公司, 安徽 亳州 236831)

摘要: 为探究 24 种食用植物酵素的功能成分及生物活性, 作者采用分光光度法对不同药材果蔬复合发酵产品的总黄酮和总多酚质量浓度进行了测定, 利用超高效液相色谱检测了酵素产品中的 6 种有机酸。通过测定菌液 OD 值评价酵素对金黄色葡萄球菌生长的影响, 并比较了不同酵素产品对人肝癌细胞 Hep G2 的生长抑制作用。结果表明, 24 种酵素产品中枸杞酵素的总黄酮质量浓度最高, 玫瑰酵素和丁香酵素的总多酚质量浓度显著高于其他酵素产品的质量浓度。不同酵素产品所含的有机酸种类大致相同, 但不同有机酸的质量浓度差异比较大, 其中余甘子酵素的总酸质量浓度最高。24 种酵素对金黄色葡萄球菌的生长均有较强的抑制作用, 对人肝癌细胞 Hep G2 的生长也表现出一定的抑制作用。作者比较了 24 种酵素产品中多酚、黄酮和有机酸的质量浓度以及其生物活性, 为功能性酵素产品的后续研发提供理论依据。

关键词: 酵素; 超高效液相色谱; 有机酸; 抑菌; 抗肿瘤

中图分类号: TS 252 文章编号: 1673-1689(2023)08-0062-06 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2023.08.008

Analysis of Functional Components of 24 Fermented Juice of Edible Plant and Preliminary Study on Their Biological Activities

JIN Suyuan¹, GENG Yan^{*1}, ZHOU Qi¹, LYU Qiqi¹,
CAO Ganggang², JIA Youbin², LI Xuanheng², SHI Jinsong¹

(1. School of Pharmacy, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Anhui Yangsheng Tianxia Biotechnology Co., Ltd., Bozhou 236831, China)

Abstract: To investigate the functional components and biological activities of 24 fermented juice of edible plants, the contents of total flavonoids and total polyphenols were determined by UV/Vis spectrophotometry, and 6 organic acids in the fermented juice were determined by Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC). The optical density(OD) value was measured to evaluate the effect of fermented juice on the growth of *Staphylococcus aureus*, and compared the inhibitory effects of the fermented juice on the cell growth of human liver cancer cell line Hep G2. The results showed that the total flavonoid content in *Lycium barbarum* fermented juice was the highest among the 24 fermented juice. The total polyphenol content of *Rosa rugosa* fermented juice and *Syzygium aromaticum* fermented juice was significantly higher than that of others. The types of organic acids

收稿日期: 2021-08-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(31970746); 江苏高校“青蓝工程”资助项目。

* 通信作者: 耿燕(1984—), 女, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事分子营养研究。E-mail: gengyan@jiangnan.edu.cn

contained in different fermented juice were similar, but their content was quite different. Among them, the total acid content of *Phyllanthus emblica* fermented juice was the highest. All the 24 fermented juice had strong inhibitory effects on the growth of *Staphylococcus aureus*, and had an inhibitory effect on the growth of Hep G2 cells. In conclusion, the contents of polyphenols, flavonoids, organic acids and biological activities of the 24 kinds of fermented juice were compared, which provided direction for further research and development of functional fermented juice products.

Keywords: fermented juice, ultra performance liquid chromatography, organic acids, bacteriostatic, anti-tumor

酵素是一种通过微生物发酵动、植物或菌类而成的功能型发酵产品。我国标准《酵素产品分类导则》(QB/T 5324)界定的食用植物酵素是“以可用于食品加工的植物为主要原料,添加或不添加辅料,经微生物发酵制得的含有特定生物活性成分可供人类食用的酵素产品”^[1]。酵素起源于日本,始于20世纪初,现流行于日本、中国台湾、欧洲等地,一般以乳酸菌、酵母菌、醋酸菌等益生菌协同作用于果蔬、食用菌、药食同源植物^[2]。现代药理学研究表明其具有抗氧化^[3]、调节免疫^[4]、润肠通便^[5-6]、保健护肝^[7]等功能。

果蔬和药材经过微生物发酵后含有丰富的生物活性物质,其中多酚和黄酮这类天然的抗氧化活性物质是酵素产品发挥抗氧化作用的关键物质^[8-9]。众多研究表明,酵素产品含有丰富的多酚类和黄酮类化合物。发酵过程中经醋酸菌和乳酸菌等的代谢产生的有机酸,能够增加发酵产品浓厚的风味和酸爽的口感,因此发酵液中的有机酸种类和相对含量是决定产品风味和品质的重要因素^[10]。微生物发酵产生的某些的抑菌成分,在抑制有害微生物防止腐败等方面具有重要作用。研究显示酵素对一些常见有害微生物如金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌具有较好的抑制作用^[11-12]。此外,研究发现果蔬中药发酵液能够降低癌症的患病率,抑制癌细胞的生长。吴胜莲等和刘阿文的研究结果均表明发酵液对某些癌细胞表现出了较好抑制效果^[13-14]。

作者对24种酵素产品中的部分功能成分及其生物活性进行了探究,测定了酵素产品总黄酮和总多酚的质量浓度,然后利用超高效液相色谱进行检测,确定了产品中的草酸、乳酸、琥珀酸、苹果酸、乙酸、丙酸6种有机酸的质量浓度。作者选择常见的

食源性致病菌金黄色葡萄球菌对酵素产品的抑菌活性进行了初步研究,并采用CCK-8法测定细胞活性,通过比较酵素产品对人肝癌细胞Hep G2生长抑制作用探究其抗肿瘤活性。本研究结果为后续产品开发提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

发酵原料:枸杞、黄精、槐花、荷叶、金银花、蒲公英、鱼腥草、玫瑰、小茴香、广藿香、紫苏、马齿苋、余甘子、桑叶、红枣、乌梅、丁香、桔梗、花椒、佛手、白扁豆、白芷、砂仁共24种。

亚硝酸钠、硝酸铝、氯化钠、磷酸氢二钾、磷酸二氢钠、氯化钾、氢氧化钠、硫酸亚铁、酒石酸钾钠:购于国药集团化学试剂有限公司;儿茶酚标准品:购于美国sigma公司;芦丁标准品:购于生工生物工程(上海)股份有限公司;无水草酸、琥珀酸(丁二酸)、DL-苹果酸、DL-乳酸、冰乙酸、丙酸:购于上海麦克林生化科技有限公司;DMEM高糖培养基、胎牛血清:购于美国Gibco Invitrogen公司;胰蛋白酶、青霉素-链霉素、CCK-8(Cell Counting Kit)试剂盒:购于上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

酶标仪:Tecan公司产品;电子天秤、FE20 pH计:梅特勒-托利多国际有限公司产品;AQ-C18色谱柱(1.9 μm , 2.1 mm $\times$ 150 mm):沃特世科技(上海)有限公司产品;超高效液相色谱仪Nexera UHPLC LC-30A:日本岛津株式会社产品;电热恒温培养箱:上海精宏实验设备有限公司产品;DK-8D三温三控水槽:上海博迅实业有限公司医疗设备厂产品;二氧化碳恒温细胞培养箱:美国Thermo Fisher公司产品。

1.3 酵素产品制备方法

将原料进行预处理(浆果类直接进行打浆处理,根茎类等药材按质量比1:2加水浸泡后打浆)后配料装罐,每立方米发酵罐加入原料(以干制计)120 kg,加入质量分数10%的红糖,然后接种体积分数5%酵母菌液后密闭常温发酵150 d,然后过滤除渣制得酵素初液;向所述蔬菜、水果酵素初液中添加质量分数10%醋酸菌液,打开密闭容器,常温发酵50~70 d,每周搅拌1次,至乙醇体积分数低于0.5%,然后过滤除渣制得酵素。

1.4 实验方法

1.4.1 总黄酮质量浓度的测定 采用 NaNO_2 - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ - NaOH 比色法^[15]测定总黄酮质量浓度。黄酮类化合物是一类具有苯并吡喃环结构的天然化合物的总称,能在碱性条件下与铝离子反应生成红色络合物,该物质在510 nm波长处有最大吸收。利用硝酸铝作为测定黄酮类化合物的显色剂,通过在510 nm波长处测定样品的吸光度,与芦丁标准品比较,对样品中总黄酮质量浓度进行测定。以芦丁标准液的质量浓度(mg/mL)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标,得到的标准曲线方程为: $y=1.496\ 2x+0.001\ 4$,标准曲线的相关系数 $R^2=0.999$ 。在96孔板中加入200 μL 待测样品溶液,用酶标仪在510 nm波长处测定吸光度,每组样品做3次平行,然后根据芦丁标准曲线得出酵素样品中总黄酮的质量浓度(mg/mL)。

1.4.2 总多酚质量浓度的测定 采用酒石酸亚铁法^[16]测定总多酚质量浓度。多酚是一类结构中带有多个酚羟基的化合物的总称,能与酒石酸亚铁产生络合反应,生成稳定的深紫色络合物,该物质在540 nm波长处有最大吸收。通过在540 nm波长处测定样品的吸光度,并与儿茶酚标准品比较,对样品中总多酚质量浓度进行定量测定。以儿茶酚标准液的质量浓度(mg/mL)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标,通过测定得到的标准曲线方程为: $y=0.196\ 6x+0.007\ 3$,标准曲线的相关系数 $R^2=0.997$ 。每组样品做3次平行,根据儿茶酚标准曲线计算出样品中总多酚的质量浓度(mg/mL)。

1.4.3 有机酸质量浓度的测定 取酵素样品1.5 mL,经0.22 μm 滤膜过滤处理后,装入标记好的进样瓶备用。色谱分离柱:沃特世公司AQ-C18色谱柱(1.9 μm ,2.1 mm $\times$ 150 mm);流动相A:乙腈;流动相B:20 mmol/L pH 2.2的磷酸盐缓冲液;柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;

流量0.5 mL/min;进样量为10 μL ;检测波长:210 nm。根据相应标准品标准曲线计算有机酸的质量浓度(mg/mL)。

1.4.4 体外抑菌活性分析 取酵素样品,经无菌0.22 μm 微孔滤膜过滤处理后,装入标记好的灭菌管中,按5%的接种体积分数将金黄色葡萄球菌液接种于酵素样品中,每个样品设置3组平行实验作为实验组;按同样比例将金黄色葡萄球菌液接种于LB培养基中作为对照组。37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养,分别测定实验组和对照组的0 h和24 h的 OD_{600} ,以对照组的抑制率为0,通过计算对比实验组对金黄色葡萄球菌的生长的抑制率,对不同药材果蔬发酵产品的抑菌活性做出初步评价。

1.4.5 体外抗肿瘤活性分析 采用CCK-8法检测细胞存活率^[17]。用胰酶消化贴壁生长的人肝癌细胞(Hep G2),细胞计数调整其浓度为 5×10^4 个/mL的细胞悬液。取96孔板,每孔加入100 μL 细胞悬液,即按5 000个细胞/孔铺板,边缘孔用无菌DPBS填充,然后置于含体积分数5% CO_2 的37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养。细胞铺板培养12 h后,弃去细胞培养液,空白组加入200 μL 细胞培养液,实验组加入200 μL 按照1:1 000比例稀释的含药(酵素样品)培养液,每组设6个副孔。加药培养24 h后,每孔加入10 μL CCK-8试剂,在避光条件下将孔板置于含体积分数5% CO_2 的37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育2 h,用酶标仪检测450 nm波长处的吸光度。

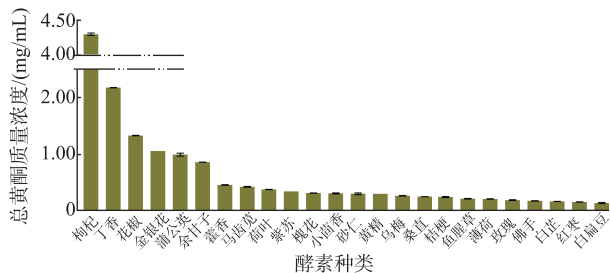
1.5 数据统计分析

使用Graph Pad Prism软件进行单因素方差分析(ANOVA)和Duncan's多重比较差异显著性检验,数据表示为平均值 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SD),* $P<0.05$ 为具有显著差异。

2 结果与分析

2.1 总多酚和总黄酮的质量浓度测定

如图1,总黄酮质量浓度较高的几种酵素产品是:枸杞酵素、丁香酵素、花椒酵素、金银花酵素、蒲公英酵素、余甘子酵素,其中枸杞酵素的总黄酮质量浓度最高,相当于4.28 mg/mL的芦丁标准液。玫瑰酵素和丁香酵素的总多酚质量浓度显著高于其他酵素产品的质量浓度,以儿茶酚作为标准对照品,二者的总多酚质量浓度均大于5 mg/mL,其他酵素均小于1 mg/mL,见图2。



总黄酮质量浓度以芦丁质量计。

图1 24种酵素的总黄酮质量浓度

Fig. 1 Total flavonoid content of 24 fermented juice



总多酚质量浓度以儿茶酚质量计。

图2 24种酵素的总多酚质量浓度

Fig. 2 Total polyphenol content of 24 fermented juice

人体与外界接触的过程中,环境污染、射线照射、不良的生活习惯等因素等都会导致体内产生的自由基增加。研究表明,过量的活性自由基会使机体的抗氧化平衡体系被破坏,这种氧化剂和抗氧化剂之间的不平衡被称为氧化应激^[18]。活性自由基会损伤生物活性分子,导致机体的正常生理生化反应受到干扰。此外,氧化应激是人类慢性疾病,如糖尿病、动脉粥样硬化、神经退行性疾病和癌症等形成和发展的关键因素^[19]。膳食来源的抗氧化化合物对人体具有重要意义,因为它们可以中和或消除活性自由基,避免自由基积累而产生的不良影响。酵素产品中多酚类和黄酮类化合物的还原能力是发酵产品发挥抗氧化作用的关键物质,其含量的高低与发酵产品的抗氧化活性强弱有一定关系^[20]。枸杞酵素、玫瑰酵素、丁香酵素等产品含有较多的多酚黄酮类物质,具有抗氧化活性,可以清除自由基,有助于减少氧化应激,为抗衰老保健品和护肤品的研发提供新的思路。

2.2 有机酸质量浓度的测定

利用精密 pH 计测定酵素产品的酸碱度,然后采用超高效液相色谱检测了 24 酵素产品中草酸、

乳酸、乙酸、琥珀酸、苹果酸和丙酸的质量浓度。实验结果表明,酵素产品呈酸性,pH 值均在 2.8~3.4。6 种酸中余甘子酵素所含的总酸质量浓度最高。从有机酸的组成和质量浓度方面来看,几乎所有酵素产品都含有草酸、乳酸、乙酸和丙酸,且乳酸和乙酸的质量浓度相对较多,2 种酸在总酸中的占比与酵素种类有关,例如红枣酵素中的乳酸质量浓度占被检测的总酸质量浓度的 90.98%,黄精酵素中的乙酸质量浓度占被检测的总酸质量浓度的 79.48%;草酸和丙酸的质量浓度相对较少,但其中玫瑰酵素中丙酸质量浓度高达 70.83 mg/mL,明显高于其他酵素产品;仅有少数酵素产品未检出苹果酸,但是产品所含的苹果酸质量浓度不高,在被检测的总酸质量浓度中的占比均小于 15%;大多数酵素产品中均未检出或者不含有琥珀酸,能检出的琥珀酸质量浓度极微,琥珀酸质量浓度最高的酵素是花椒酵素,质量浓度为 3.83 mg/mL。

紫苏酵素和薄荷酵素相较于其他产品所含的草酸较多,而草酸被人体摄入后不易被氧化分解,过量摄入草酸不但会影响钙和锌的吸收,甚至会造成结石严重影响人体健康^[21]。对于人体来说从外界摄入适量的乳酸能够刺激胃液分泌,促进肠道蠕动,避免体内毒素堆积,抑制有害菌生长^[22]。苹果酸能够参与人体新陈代谢和能量转化^[23],可以促进营养物质在人体内吸收与代谢^[24]。包括乙酸、丙酸在内的短链脂肪酸,在人体肠黏膜屏障的维持、肠道动力的调节及免疫调节等方面都发挥着重要作用,对肠道疾病的预防与治疗有十分重要的研究价值^[25]。在口感和风味方面,乳酸的酸味温和适中,柔和爽快,可以增强酸味和清爽口感^[26];琥珀酸的钠盐是一种良好调味剂,具有鲜香的风味^[27];乙酸是一种挥发性的弱酸;丙酸带有刺激性的气味。其中乙酸作为挥发性酸是产生醇厚感的主要物质,而以琥珀酸为主的非挥发性酸是产生回味的主要物质^[28],只有在一定量的各种酸的共同作用下才能产生酸甜爽口,回味醇厚的口感^[29]。实验结果表明,24 种酵素含有多种有机酸,适量摄入此类产品有助于人体代谢的正常运行,对维持肠道菌群的平衡具有重要意义。

2.3 体外抑菌活性分析

由于微生物发酵产品含有一定的抑菌成分,所以本身具有抑菌活性,能够抑制肠道内有害微生物的生长,同时促进益生菌生长和繁殖,维持肠道菌

群的平衡^[30]。金黄色葡萄球菌是一种常见的食源性致病菌,是典型的革兰氏阳性菌,广泛存在于自然环境中。金黄色葡萄球菌在一定条件下会产生肠毒素,而肠毒素在体内的积累则会引起食物中毒^[31]。我国国标规定了食品中金黄色葡萄球菌含量的限量标准,其合格与否是食品安全检测的一项重要指标,因此选择金黄色葡萄球菌对酵素产品的抑菌活性进行初步研究。

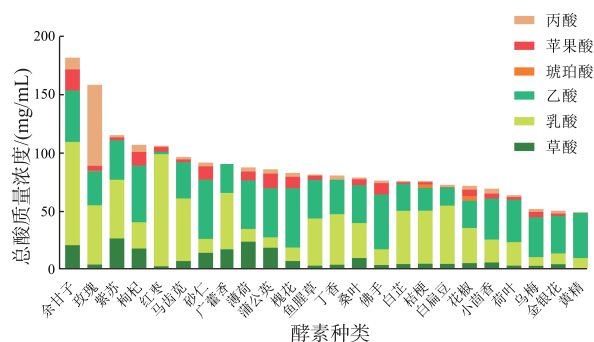


图3 不同酵素产品的总酸质量浓度

Fig. 3 Total acid content of 24 different fermented juice

由图4可知,24种酵素产品对金黄色葡萄球菌生长有显著的抑制作用,但不能完全抑制其生长。经过24 h培养后,以对照组的抑制率为0,各样品对金黄色葡萄球菌的抑制率在85.0%~97.0%,其中黄精酵素和白扁豆酵素对金黄色葡萄球菌生长抑制作用最大,抑制率分别为94.5%和96.3%,而余甘子酵素对金黄色葡萄球菌生长的抑制作用最小,其抑制率仅为80.0%。酵素产品对金黄色葡萄球菌生长的良好抑制作用,能够为新型防腐剂的研发开辟新途径,对于延长发酵产品的保质期也具有一定指导意义。

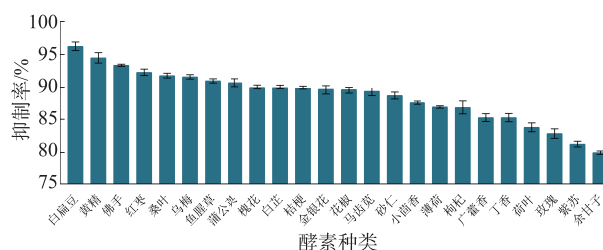


图4 24种酵素产品对金黄色葡萄球菌的生长抑制情况

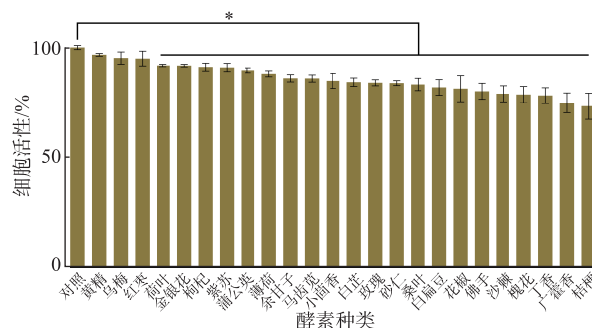
Fig. 4 Growth inhibition rate of 24 different fermented juice to *Staphylococcus aureus*

2.4 体外抗肿瘤活性分析

根据世界卫生组织最新的有关癌症的统计数

据,癌症是世界第二大死亡疾病。癌症的发生与发展与多种因素有关。近年来的研究表明,水果、蔬菜及中药发酵液可以在一定程度上降低癌症的发病率,提高机体免疫调节功能,从而显著提高抗肿瘤作用,具有良好的应用前景^[32]。

考虑到酵素样品具体浓度难以确定和统一,作者采用不含药的DMEM培养基稀释1000倍后对Hep G2细胞进行处理。由图5可以看出,在所有实验组中,人肝癌细胞的细胞存活率均低于对照组,说明这24种中药材果蔬发酵产品对人肝癌细胞的生长具有一定的抑制作用。除了黄精酵素、乌梅酵素和红枣酵素对人肝癌细胞的生长影响较小之外,其他21种酵素产品与对照组之间都存在显著差异,其中沙棘酵素、槐花酵素、丁香酵素、广藿香酵素和桔梗酵素对人肝癌细胞的生长抑制作用最明显,细胞存活率均低于80%。在发酵过程中,微生物可以分解和转化原料中蛋白质、糖类等成分,生成一些小分子活性物质,同时植物的细胞壁被破坏,使细胞里水溶性成分溶解出来,从而产生相应的药理作用。抗癌作用的发挥可能依赖于酵素产品多种物质成分的共同作用,具体作用机理还有待深入研究。



* 代表存在差异性显著 ($P > 0.05$)。

图5 24种酵素的抗肿瘤活性评价

Fig. 5 Anti-tumor activity of 24 different fermented juice

3 结语

实验结果表明,在24种酵素产品中含有生物活性物质种类众多,成分复杂,除了含有黄酮类化合物和多酚类化合物,还含有多种有机酸类。这些活性成分的种类和含量与酵素产品的功效密切相关。枸杞酵素和玫瑰酵素分别是总黄酮和总多酚质量分数最高的酵素产品。不同酵素产品所含的有机

酸种类大致相同,但不同有机酸的质量分数差异比较大,余甘子酵素的质量分数是24种酵素产品中最高的。由于发酵起始原料的物质成分和质量分数不同,所得酵素产品在生物活性物质质量分数和种类上也存在不少区别。这24种酵素产品对金黄色葡萄球菌生长均有显著的抑制作用,其中黄精酵素和白扁豆酵素对金黄色葡萄球菌生长抑制作用的

最大,抑制率分别为94.5%和96.3%。体外抗肿瘤活性评价结果显示,沙棘酵素、槐花酵素、丁香酵素、广藿香酵素和桔梗酵素这5种酵素产品对人肝癌细胞的生长影响较大,其抑制率高于20.0%。本研究结果为新型功能性酵素产品的研发提供了一定的理论依据,能够为抗衰老和抗癌保健品的研发提供新思路。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国工业和信息化部. 酵素产品分类导则:QB/T5324-2018[S]. 北京:中国轻工业出版社,2018.
- [2] 许蓬娟,李悠悠,孙梓翔. 酵素在生物作用中的研究进展[J]. 食品与发酵科技,2017,53(1):83-85+97.
- [3] 樊秋元,朱丹,牛广财,等. 黑加仑酵素有机酸分析及其体外抗氧化性能研究[J]. 中国酿造,2019,38(5):159-163.
- [4] 张瑞雪,方磊,刘艳,等. 三种果蔬发酵液抗氧化和免疫调节功能研究[J]. 粮油食品科技,2019,27(2):39-44.
- [5] 张艾青. 苹果酵素复合型羊乳的制备及抗氧化活性研究[J]. 食品与生物技术学报,2021,40(6):106-111.
- [6] 赵菲,佟长青,李伟,等. 羊栖菜酵素对小鼠肠道菌群和粪便代谢物影响的研究[J]. 大连海洋大学学报,2021,36(5):767-774.
- [7] 杨志鹏,周宝琳,刘新利,等. 一种具有潜在解酒护肝功能酵素的开发及其生物活性评价[J]. 食品科技,2019,44(1):154-159.
- [8] 张海燕,康三江,袁品,等. 苹果酵素自然发酵过程中生物活性物质的变化[J]. 中国酿造,2021,40(3):111-114.
- [9] 魏雪琴,武燕蓉,丁瑞,等. 7种果蔬酵素理化成分及抗氧化活性研究[J]. 食品科技,2021,46(2):85-90.
- [10] 李希羽,高洁,李云姣,等. 水果酵素自然发酵过程中优势菌群与有机酸变化规律分析[J]. 食品科学,2020,41(24):61-68.
- [11] 王辉,马秀敏,张鹰. 青梅酵素的生物活性及体外抑菌作用[J]. 食品工业科技,2018,39(12):39-43.
- [12] 董延江,陈稼,杨小萍,等. 发酵中草药(本草酵素)的体外抑菌试验评估[J]. 现代畜牧兽医,2020(11):6-8.
- [13] 吴胜莲,邵晨霞,唐少军,等. 茯苓发酵液的抑菌和抗肿瘤活性[J]. 食用菌学报,2016,23(1):63-66.
- [14] 刘阿文. 桑葚果酒发酵工艺条件及生理活性研究[D]. 延边:延边大学,2019.
- [15] 孙莹莹. 葡萄醋抗氧化活性比较研究[D]. 咸阳:西北农林科技大学,2012.
- [16] 邓祥,韩伟. 酒石酸亚铁-标准曲线法检测绿茶提取物中茶多酚含量[J]. 南京工业大学学报(自然科学版),2020,42(5):677-682.
- [17] 刘云鹤,蔡金保,王红丽. 党参多糖抑制PI3K/AKT通路对人肝癌HepG2细胞生长和运动能力的影响[J]. 中国免疫学杂志,2020,36(9):1108-1113.
- [18] 云博,吴景东. 氧化应激与相关疾病及其作用机制[J]. 沈阳医学院学报,2018,20(3):272-276.
- [19] BAYANI U, V S A, PAOLO Z, et al. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options[J]. *Current Neuropharmacology*, 2009, 7(1): 65-74.
- [20] 高洁,栾倩,侯丽真,等. 酵素食品研究进展[J]. 食品工业,2021,42(2):227-231.
- [21] 崔智,陈洪波. 草酸钙肾结石形成机理的研究进展[J]. 临床医学研究与实践,2021,6(21):196-198.
- [22] 王美舒. 有机酸的生理功能及其在运动中的应用[J]. 食品安全质量检测学报,2019,10(15):5029-5033.
- [23] 吴军林,吴清平,张菊梅. L-苹果酸的生理功能研究进展[J]. 食品科学,2008,29(11):692-695.
- [24] 陈敏. 山楂酒中主要有机酸类物质的功效成分及功能研究[J]. 食品工程,2018(2):50-51.
- [25] 唐文浩,张养东,郑楠,等. 短链脂肪酸的生理功能及其在奶牛生产中的研究进展[J]. 饲料工业,2021,42(15):43-48.
- [26] 景瑞超,李娟,门靖,等. 食品与药品中苹果酸的检测方法研究进展[J]. 精细与专用化学品,2021,29(10):39-44.
- [27] 苗乘源. 东北传统蔬菜发酵食品的微生物及品质分析[D]. 延边:延边大学,2018.
- [28] 郑永丽,张军翔. 低(无)醇葡萄酒研发进展[J]. 中国酿造,2021,40(7):12-16.
- [29] 丁艳如. 红茶菌发酵液的活性成分分析及活性研究[D]. 郑州:河南大学,2016.
- [30] 索婧怡,朱雨婕,陈磊,等. 食用酵素的研究及发展前景分析[J]. 食品与发酵工业,2020,46(19):271-283.
- [31] 吴任之,胡欣洁,韩国全,等. 食源性金黄色葡萄球菌快速检测方法的研究进展[J]. 食品与发酵工业,2021,47(10):291-296.
- [32] 陆雨,江石平,孙冬雪,等. 诺丽酵素化学成分及其抗肿瘤活性研究[J]. 中国药理学杂志,2018,53(18):1552-1556.