

红茶菌对寒冷诱导的小鼠 SOD 和 LDH 酶活力及丙二醛和谷胱甘肽含量的影响

张虎成¹, 张征田^{2,*}, 辛秀兰¹

(1.北京电子科技职业学院生物工程学院, 北京 100029; 2.南阳师范学院生命科学与技术学院, 河南 南阳 473061)

摘要:目的: 通过研究超氧化物歧化酶(SOD)和乳酸脱氢酶(LDH)酶活力及丙二醛(MDA)和谷胱甘肽(GSH)含量来探究红茶菌发酵液是否能提高机体的抗寒能力。方法: 以4组CD-1(ICR)小鼠, 每组5只, 分别连续30d灌注生理盐水(对照组)、糖水(糖水组)、红茶菌发酵液(实验组1)和合成培养基发酵液(实验组2), 每天灌胃1mL。以血液中的SOD和LDH酶活力及MDA和GSH含量为指标来研究小鼠抗寒能力。结果: 与对照组相比, 实验组1和实验组2受冻前后的SOD酶活力极显著升高($P < 0.01$), MDA含量极显著降低($P < 0.01$); 实验组1受冻前后GSH含量极显著升高($P < 0.01$), 实验组2受冻后GSH含量极显著升高($P < 0.01$); 实验组1和实验组2受冻后LDH酶活力显著降低($P < 0.01$)。结论: 对照组和糖水组不能提高小鼠抗寒能力, 而实验组1和实验组2能提高小鼠抗寒能力, 并且实验组1效果好于实验组2效果。

关键词: 红茶菌; 抗寒能力; 超氧化物歧化酶; 乳酸脱氢酶; 丙二醛; 谷胱甘肽

Effect of Kombucha on Serum SOD, LDH, MDA and GSH Levels in Cold-Stressed Mice

ZHANG Hu-cheng¹, ZHANG Zheng-tian^{2,*}, XIN Xiu-lan¹

(1.College of Biology Engineering, Beijing Polytechnic, Beijing 100029, China;

2.School of Life Science and Technology, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China)

Abstract: Objective: The serum levels of superoxide dismutase (SOD), lactate dehydrogenase (LDH), malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) in cold-stressed mice were measured to discover whether kombucha enhances cold tolerance in mice. Methods: Twenty male CD-1(ICR) mice were randomly divided into 4 groups of 5 mice each: control group, sugary green tea infusion group, kombucha group I and kombucha group II, which were administered intragastrically with normal saline, sugary green tea infusion, culture supernatant from fermented sugary green tea infusion, and culture supernatant from fermented synthetic medium for 30 consecutive days at the dosage of 1 mL once a day, respectively. After the last administration, 0.2 mL of blood from the mice of each group were collected for the determination of serum SOD, LDH, MDA and GSH levels before and after the mice were kept in a cold chamber at 10 °C for 3 h. Results: The SOD levels of the two kombucha groups before and after the cold stress increased highly significantly compared with the control group ($P < 0.01$), whereas the MDA levels showed a highly significant downward trend ($P < 0.01$). GSH level revealed a highly significant increase ($P < 0.01$) in the kombucha group I both before and after the cold stress and in the kombucha group II only after the cold stress. Both the groups showed a significant decrease in LDH level ($P < 0.01$) after the cold stress. Conclusions: Both the kombucha groups rather than the control group or sugary green tea infusion group can enhance cold tolerance in mice. The kombucha group I is superior to the kombucha group II.

Key words: kombucha; cold tolerance; superoxide dismutase (SOD); lactate dehydrogenase (LDH); malondialdehyde (MDA); glutathione (GSH)

中图分类号: R151.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)03-0256-05

红茶菌是一种有着悠久历史的民间传统酸性饮料^[1], 目前仍然非常流行。红茶菌是利用蔗糖和茶叶水发酵而

来, 实际上是酵母菌、醋酸菌和乳酸菌的共生体^[2-3]。酵母菌主要有酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、不

收稿日期: 2011-03-31

基金项目: 北京市教委科研基地项目(PXM2010-014306-109857);

北京市属市管高等学校人才强教深化计划项目(PHR201107151)

作者简介: 张虎成(1977—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为微生物次生代谢物。E-mail: huchengzh@yahoo.com.cn

* 通信作者: 张征田(1978—), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为次生代谢物功能及应用。E-mail: ztz0105@yahoo.com.cn

显酵母(*S. inconspicus*)、路德类酵母(*S. ludwigii*)、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、醋酸菌主要有木醋杆菌(*Acetobacter xylinum*)、拟木醋杆菌(*A. xylinoides*)、葡萄糖酸杆菌(*Bacterium gluconicum*)等,乳酸菌主要有保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulagricum*)、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)、植物乳杆菌(*L. plantarum*)等^[2-3,5,8-10]。共生体中的酵母菌将糖转化成乙醇,醋酸菌将乙醇转变成乙酸,最终导致培养基的pH值降低。发酵液含糖、有机酸、咖啡因、VC、VB族及矿物质^[1-2,11-12]。培养基中的茶叶为微生物提供必要的氮源,研究发现绿茶更有利于红茶菌^[13-14],主要是因为绿茶含有较高的咖啡因。

近些年国内外医学界应用红茶菌的实践表明,红茶菌能调节生理机能,促进新陈代谢,帮助消化,并能治疗多种慢性疾病^[1-6],红茶菌能提高免疫力^[7],具有明显的抑制肿瘤作用^[6]。最近红茶菌的抗衰老作用日益成为国内外学者研究的重点^[14],但是关于红茶菌发酵液提高机体耐受力的研究报道较少^[15]。研究表明,SOD^[16]、LDH^[17]、MDA^[15]和GSH^[18]与小鼠耐寒能力有一定的关系。为了寻找红茶菌发酵液提高机体对寒冷耐受力更有力的证据,本研究采用优化工艺培养红茶菌^[14]和用合成培养基培养红茶菌,通过测定SOD和LDH活力及MDA和GSH含量来检验红茶菌发酵液对小鼠抗寒能力的影响,以期红茶菌保健作用提供一定的理论参考,从而推进红茶菌产业的健康发展。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

SPF级CD-1(ICR)雄性小鼠20只,体质量18~22g,4~5周龄左右,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证编号:SCXK(京)2006-0008,合格证号:0208550。根据标准程序喂养小鼠。

红茶菌购买于黑龙江,经鉴定为酵母菌、醋酸菌和乳酸菌的共生体;蔗糖(食品级)、绿茶(一级品)市售。

SOD、LDH、MDA和GSH测定试剂盒 上海研生生化试剂有限公司;胱氨酸、 K_2HPO_4 、 KH_2PO_4 、 $(NH_4)_2SO_4$ 、 $CaCl_2$ 、 $FeSO_4$ 、酵母提取物等均为化学纯。

AR2140电子分析天平 美国奥豪斯公司;LDZX-50KA高压灭菌锅 上海申安医疗器械厂;DTY-1360超净工作台 广州市正一科技有限公司;CIMO 205恒温培养箱 上海新苗医疗器械制造有限公司;PHS-3C型精密酸度计 上海精密科学仪器有限公司;HH-S水浴锅 郑州长城科工贸有限公司;RT-6000酶标仪 深圳市雷杜生命科学股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 培养基的制备

实验组1培养基:采用传统培养基培养红茶菌,红茶菌培养液采用蔗糖、绿茶、蒸馏水为原料,按绿茶:蔗糖:水质量比1:100:1000配制。配制方法是:将沸水冷却至85~90℃时,加入绿茶,保持20min,滤去茶渣,然后加入蔗糖混匀,分装至500mL三角瓶中,每瓶装液量200mL^[14]。牛皮纸包扎后,进行巴氏消毒,冷却至室温备用。此培养基即为糖茶水。

实验组2培养基:采用合成培养基培养红茶菌,称取 K_2HPO_4 3.0g、 KH_2PO_4 2.0g、蔗糖 100g、 $(NH_4)_2SO_4$ 1.0g、 $CaCl_2$ 0.15g、 $FeSO_4$ 0.1g、酵母提取物 1.0g,加蒸馏水至1L,pH值为6.5,115℃高压灭菌30mins,冷却至室温备用。

1.2.2 红茶菌发酵液的制备

无菌条件下用传统培养基(实验组1培养基)和合成培养基(实验组2培养基)培养红茶菌,红茶菌菌膜接种量为10g/100mL,(28±1)℃恒温静置培养,培养8~10d。每试样3次重复。7000r/min离心30min,收集培养液上清,保存于-20℃,备用。

1.2.3 实验分组

随机把CD-1(ICR)小鼠分成4组,即对照组、糖茶组、实验组1和实验组2,每组5只CD-1(ICR)小鼠。对照组以生理盐水,糖茶组以糖茶水,实验1组以传统培养基培养的红茶菌发酵液,实验2组以合成培养基培养后的发酵液,分别按1.0mL/只,每天小鼠灌胃1次,连续灌胃30d。

1.2.4 寒冷诱导小鼠

灌胃30d结束后,每只CD-1(ICR)小鼠尾静脉取血0.2mL。收集血液后,1000×g离心10min将血清和红细胞迅速小心地分离,收集上清。立即用试剂盒分析血清中的SOD和LDH酶活及MDA和GSH含量。然后将小鼠置于10℃保持3h,立即取出室温放置1h。每只CD-1(ICR)小鼠尾静脉取血0.2mL,处理方法如前所述。每个数据重复3次。

SOD酶活力定义为25℃时1min内转化1μmol底物的酶量定义为1个酶活力单位,亦即国际单位(IU)。LDH酶活力定义为在25℃、pH7.5条件下,1mL酶液中1min内能够转化1μmol丙酮酸至乳酸所需的酶量作为一个活性单位,亦即国际单位(IU)。

1.3 数据处理

采用SPSS13.0统计软件进行处理,所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 血液中SOD酶活力变化

表1 寒冷对4组小鼠血液SOD酶活力的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 1 Effect of kombucha on serum SOD level in cold-stressed mice		
	($\bar{x} \pm s, n=5$)	IU/100mL
组别	寒冷诱导前	寒冷诱导后
对照组	56.91 \pm 3.82	43.67 \pm 2.56**
糖茶组	57.23 \pm 2.44	44.58 \pm 3.12**
实验组 1	65.26 \pm 2.72 ^{##}	62.48 \pm 1.36 ^{##}
实验组 2	64.19 \pm 3.83 ^{##}	60.26 \pm 1.95 ^{##}

注: **与寒冷诱导前比较, 有极显著性差异($P < 0.01$); ##与对照组比较, 有极显著性差异($P < 0.01$)。下同。

如表1所示, 对照组受冻后SOD酶活力较受冻前SOD酶活力有显著性降低($P < 0.01$); 糖茶组具有类似的结果。说明无论是对照组还是糖茶组小鼠在寒冷状态下体内消除自由基能力下降。糖茶组受冻前后SOD酶活力分别与对照组受冻前后相应数据相比, 基本一致, 无显著性差异($P > 0.05$), 说明单纯饮用糖茶水不能提高机体血液中SOD的酶活力。

实验组1受冻前的SOD酶活力与对照组相应数据相比, 酶活力明显提高($P < 0.01$), 说明长时间饮用红茶菌发酵液能够增加机体SOD酶活力, 有利于体内自由基的去除; 同时, 可以看出实验组1受冻前后的SOD酶活力变化不大($P > 0.05$), 说明长期饮用红茶菌发酵液能够提高机体在寒冷状态下对体内自由基清除的能力。实验组2亦然。

2.2 血液中LDH酶活力变化

表2 寒冷对4组小鼠血液LDH酶活力的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 2 Effect of kombucha on serum LDH level in cold-stressed mice		
	($\bar{x} \pm s, n=5$)	IU/mL
组别	寒冷诱导前	寒冷诱导后
对照组	0.082 \pm 0.002	0.122 \pm 0.003**
糖茶组	0.079 \pm 0.001	0.120 \pm 0.002**
实验组 1	0.080 \pm 0.001	0.092 \pm 0.002##
实验组 2	0.078 \pm 0.003	0.090 \pm 0.001##

如表2所示, 对照组受冻后LDH酶活力较受冻前LDH酶活力有极显著升高($P < 0.01$); 糖茶组具有类似的结果。说明无论是对照组还是糖茶组小鼠在寒冷状态下体内糖酵解加剧, 丙酮酸转化成乳酸的速度加快, 反映了体内能量和氧气供应不足。糖茶组受冻前后LDH酶活力与对照组受冻前后相应数据相比, 基本一致, 无显著性差异($P > 0.05$), 说明单纯饮用糖茶水不能有效降低血液中LDH酶活力。

实验组1受冻后LDH酶活力远低于对照组相应数据($P < 0.01$), 说明小鼠即使在寒冷状态下也没有大量动用糖酵解来获取能量, 可能原因是体内储存有足够的ATP以供小鼠度过寒冷; 实验组1受冻前后LDH酶活力变化

不明显($P > 0.05$), 说明长期饮用红茶菌使机体能够为寒冷状态下的机体提供一定的能量, 而不需要立即借助于糖酵解这种短效产生ATP的生能方式。实验组2亦然。

2.3 血液中MDA含量的变化

表3 寒冷对4组小鼠血液MDA含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 3 Effect of kombucha on serum MDA level in cold-stressed mice		
	($\bar{x} \pm s$, $n=5$)	$\mu\text{mol/L}$
组别	寒冷诱导前	寒冷诱导后
对照组	1.51 \pm 0.35	3.48 \pm 0.71**
糖茶组	1.43 \pm 0.56	3.25 \pm 0.53**
实验组 1	1.08 \pm 0.24##	1.22 \pm 0.63###
实验组 2	1.18 \pm 0.37##	1.68 \pm 0.37##

注: ++与实验组2比较, 有极显著性差异($P < 0.01$)。

如表3所示, 对照组受冻后MDA含量较受冻前MDA含量有极显著提高($P < 0.01$); 糖茶组具有类似的结果。说明无论是对照组还是糖茶组小鼠在寒冷状态下动用并分解了脂肪, 产生了大量的MDA, 进而损伤三羧酸循环和呼吸链中相关的酶, 从而影响到ATP的供应。糖茶组受冻前后MDA含量与对照组受冻前后相应数据相比, 基本一致, 无显著性差异($P > 0.05$), 说明长期单纯饮用糖茶水不能使机体储存足够的ATP以度过寒冷, 仍然需要动用脂肪以产生ATP。

实验组1受冻前后的MDA含量均低于对照组相应数据($P < 0.01$), 特别是受冻后的MDA含量更远远低于对照组相应数据($P < 0.01$), 说明体内即使分解了脂肪, 并没有产生过多的MDA或者MDA被及时清除掉。实验组1受冻后的MDA含量比受冻前MDA含量有稍微上升, 但无统计学差异($P > 0.05$), 说明长期饮用红茶菌发酵液能够有效减低体内MDA含量, 从而保护机体正常的代谢功能。实验组2受冻前后的MDA含量均低于对照组相应数据($P < 0.01$), 又高于实验组1相应数据($P < 0.01$), 说明红茶菌发酵液中有未知成分比实验组2更能够降低MDA含量。

2.4 血液中GSH含量的变化

表4 寒冷对4组小鼠血液GSH含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 4 Effect of kombucha on serum GSH level in cold-stressed mice		
($\bar{x} \pm s$, $n=5$)		mg/100mL
组别	寒冷诱导前	寒冷诱导后
对照组	34.51 \pm 1.33	22.51 \pm 2.87**
糖茶组	35.26 \pm 2.45	25.59 \pm 0.79**
实验组 1	36.59 \pm 1.33 ^{##}	34.81 \pm 2.87 ^{##}
实验组 2	35.92 \pm 0.73	33.54 \pm 1.48 ^{##}

如表4所示, 对照组受冻后GSH含量较受冻前GSH含量有极显著降低($P < 0.01$); 糖茶组具有类似的结果。说明无论是对照组还是糖茶组的小鼠在寒冷状态下均产

生了大量的自由基,导致了GSH含量降低,进而不能有效的清除体内自由基致使机体毒害加剧。糖茶组受冻前后GSH含量与对照组受冻前后相应数据相比,稍高,但无显著性差异($P > 0.05$),可能是由于糖茶水中有生物碱可以增加体内GSH的含量。

实验组1受冻前后的GSH含量波动不大($P > 0.05$),说明小鼠在寒冷状态下产生的自由基不多,没有明显的使GSH含量降低,或者体内产生了足够多的GSH及时清除了自由基。更重要的是,实验组1受冻前后的GSH含量均高于对照组相应数据($P < 0.01$),特别是受冻后的GSH含量远高于对照组相应数据($P < 0.01$),说明长期饮用红茶菌发酵液能有效的清除体内的自由基,并能够维持较高且稳定含量的GSH。实验组2具有类似结果。

从上数据分析可知,长期饮用糖茶水,而非饮用红茶菌发酵液,对于提高机体对寒冷的抵抗力,没有明显的作用。实验组1和实验组2两组实验数据得到同样的结果,红茶菌发酵液能显著提高机体对寒冷的抵抗力。无论是实验组1还是实验组2在受冻前后的各种数据变化不大($P > 0.05$),说明红茶菌发酵液能维持机体稳定的内环境;而对照组和糖茶组在受冻前后各种数据变化很大($P < 0.01$),说明单纯饮用糖茶水不能维持机体稳定的内环境。由于SOD是清除体内自由基最主要的酶,体内SOD含量越高,清除体内自由基越快,自由基的含量就越低,对机体的伤害就越小,从而延长机体寿命。LDH是糖酵解时在氧气不足情况下催化丙酮酸产生乳酸,乳酸的过量堆积对机体有一定的毒害作用。无论是实验组1还是实验组2与对照组和糖茶组相比,均说明经过红茶菌中共生的微生物发酵后,培养液中产生了一些未知的物质,而不仅仅是生物碱,能够显著提高机体的免疫力、排毒能力及抗衰老能力。

3 讨 论

寒冷对机体是一种有害的刺激因素,机体在寒冷状态下为了维持正常的生命,通过神经内分泌系统等一系列应激反应导致肾上腺素和甲状腺素分泌,引起机体采取与正常情况下不同的代谢方式,从而加速细胞氧化还原反应,促进体内糖、脂肪的分解以产生足够的热量来维持体温正常。这些代谢方式主要以氧化还原为主,反应过程中产生了大量的自由基,包括 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 、 $NO^{\cdot-}$ 和 $HOCI^{\cdot-}$ 等。这些自由基会损伤细胞膜,侵袭大分子,诱发肿瘤生成或动脉粥样硬化等疾病^[19-20],从而减缓能量的供给。

SOD是体内重要的金属酶抗氧化剂,催化自由基发生歧化作用,生成过 H_2O_2 和 O_2 ,防止细胞毒害。MDA反应了体内自由基累积水平^[21],SOD催化活力及MDA的含量间接反应细胞衰老程度^[21],与机体抗寒能力的强

弱有关。红茶菌发酵液能够增加机体SOD酶活力,降低机体内MDA含量,增强机体抗寒能力。GSH是细胞内解毒剂,主要生理功能是清除自由基。红茶菌发酵液能诱导体内产生大量的GSH,提高机体对自由基清除能力和对铅、三氯乙烯等有毒物质的抵抗力^[19],对机体起到强有力的保护作用。葡萄糖醛酸是红茶菌发酵过程中产生的,具有解毒作用^[21],能和体内的有毒物质结合并排除体外。本实验没有对发酵液中葡萄糖醛酸含量进行测量,发酵液中的葡萄糖醛酸含量是否与小鼠体内MDA呈负相关,有待进一步考察。LDH是一种糖酵解酶,存在于机体所有组织细胞的胞质内,检测机体血清LDH可以诊断心脏休克、贫血及肝脏损伤等疾病^[20]。本研究发现对照组小鼠寒冷诱导后LDH酶活力明显高于实验组1和实验组2,说明小鼠在寒冷状态下为了维持正常体温,调动了大量的分解代谢,加快血液流动,可能引发心脏休克等短暂性行为;而实验组1和实验组2没有明显的变化。

本研究证实了小鼠长期灌注红茶菌发酵液有助于体内自由基的清除,提高免疫力,这与相关文献报道一致^[19,22-23],也证实了长期灌注红茶菌发酵液有助于提高小鼠对寒冷的抵抗力,同时也证明了传统方法制备的红茶菌发酵液的主要功能与茶叶中的生物碱没有直接关系。目前,我们还不确定,红茶菌发酵液能提高小鼠的免疫力及对寒冷的抵抗力是由红茶菌发酵液产生的某种物质引起的,还是由较低的pH值引起的,这也是以后研究的一个方向。

红茶菌是一种传统的酸性饮料,通过本研究证明,经用饮用红茶菌发酵液能提高机体对寒冷的抵抗力。红茶菌的这种作用可能是由多种微生物发酵后产生的多种成分导致机体机能的提高引起的。对于红茶菌发酵液中哪些确切的成分以及其相应成分的确切功能和机制,还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 段葆兰. 红茶菌: 健康之友[M]. 北京: 科学普及出版社, 1982.
- [2] 方心芳. 海宝是什么[J]. 黄海, 1951, 12(5): 113-120.
- [3] LIU C H, HSU S H, LEE F L, et al. The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, Haipao, and their interactions during Haipao fermentation[J]. Food Microbiology, 1996, 13(6): 407-415.
- [4] 顾学华. 健康长寿饮料: 红茶菌[M]. 福州: 健康科技出版社, 1981.
- [5] BILJANA B P, LIDIJA P T. Mineral and water soluble vitamin content in the Kombucha drink[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2000, 35: 201-205.
- [6] DUFRESNE C, FARNWORTH E. Tea, Kombucha, and health: a review [J]. Food Research International, 2000, 33(6): 409-421.
- [7] 李波清, 孟玮, 王志强, 等. 红茶菌调节小鼠免疫功能的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18 (2): 378-379.
- [8] 吴薇, 盖宝川, 籍保平. 红茶菌混合菌的分离和鉴定[J]. 食品科学,

- 2004, 25(4): 55-58.
- [9] 吴薇, 籍保平. 红茶菌国内外研究应用概况[J]. 食品科技, 2003(12): 9-11.
- [10] 吕爱军, 尹建美, 胡秀彩, 等. 红茶菌形态及抑菌作用的研究[J]. 徐州师范大学报, 2004, 22(1): 73-75.
- [11] BLANC P J. Characterization of the tea fungus metabolites[J]. Biotechnology Letters, 1996, 18(2): 139-142.
- [12] KAUFMANN K. Kombucha: rediscovered[M]. Canada: Alive Books, 1996: 45-46.
- [13] GREENWALT C J, LEDFORD R A, STEINKRAUS K H. Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea Kombuch[J]. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 1998, 31: 291-296.
- [14] 余琼, 朱淼, 于研, 等. 红茶菌的制备工艺优化及抗衰老的实验研究[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2009, 25(2): 140-143.
- [15] PAULINE T, DIPTI P, ANJU B, et al. Studies on toxicity, anti-stress and hepato-protective properties of Kombucha tea[J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2001, 14: 207-213.
- [16] OURY T D, PIANTADOSI C A, CRAPO J D. Cold-induced brain edema in mice. Involvement of extracellular superoxide dismutase and nitric oxide[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1993, 268: 15394-15398.
- [17] KOLATAJ A, RYSINSKA J, FLAK P. The influence of selection on reaction to stress in mice. III. Influence of fasting, immobilization and exposure to cold on lactate dehydrogenase and aldolase activity in the liver and kidney[J]. Journal of Animal Breeding and Genetics, 1995, 112: 224-233.
- [18] SIMMONS H F, JAMES R C, HARBISON R D, et al. Depression of glutathione by cold-restraint in mice[J]. Toxicology, 1990, 61(1): 59-71.
- [19] GHARIB O A. Does kombucha tea attenuate the hepato-nephrotoxicity induced by a certain environmental pollutant[J]. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, 2010, 2(2): 11-18.
- [20] ABRAHAM N, CARTY R, DUFOUR D, et al. Clinical enzymology [M]. 21st ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2006.
- [21] ADEEL A B, STEPHANIE M, PATRICIA K. The association of serum lactate dehydrogenase level with selected opportunistic infections and HIV progression[J]. International Journal of Infectious Diseases, 2002, 6 (3): 178-181.
- [22] 俸毅, 蒋盛军, 王超, 等. 红茶菌菌液对亚硝酸盐降解及 NO 生成的影响[J]. 茶叶科学, 2009, 29(2): 89-94.
- [23] DIPTI P, YOGESH B, KAIN A K, et al. Lead induced oxidative stress: beneficial effects of Kombucha tea[J]. Biomedical and Environmental sciences, 2003, 16: 276-282.