

果蔬总抗氧化能力间接测定法及其影响因素

付陈梅^{1,3}, 焦必宁^{1,2,3,*}, 阚建全¹

(1. 西南大学食品学院, 重庆 400716 2. 中国农业科学院柑桔研究所, 重庆 400712

3. 农业部柑桔及苗木质量监督检验测试中心, 重庆 400712)

摘 要: 果蔬抗氧化能力是衡量果蔬抗氧化成分作用强弱的主要参数, 评价总抗氧化能力的方法有直接法和间接法, 其中, 间接法是最为快捷、简便的分析方法。ABTS 法和 DPPH 法是目前应用最为普遍的间接测定方法; 间接测定的影响因素有底物及其相互之间的作用、体系中的干扰物质、pH 值、反应时间、自由基产生体系等。研究人员试图用 HPLC 等方法与间接法联用以减少外界因素对检测结果的影响。

关键词: 间接测定法; ABTS; DPPH; 抗氧化能力

Indirect Methods and Influence Factors to Determine Total Antioxidant Activity of Fruit and Vegetable

FU Chen-mei^{1,3}, JIAO Bi-ning^{1,2,3,*}, KAN Jian-quan¹

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China 2. Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400712, China 3. Unality Supervision, Inspection and Testing Center for Citrus and Seedlings, Ministry of Agriculture, Chongqing 400712, China)

Abstract: The total activity is the main parameter to value the antioxidant ability of objects. Methods to measure total antioxidant activity can be divided into indirect and direct methods according to principle, and indirect methods were fast and simple ways to determine the total antioxidant activity. At present, ABTS and DPPH were applied widely. The results of indirect methods were influenced by factors such as antioxidants and interactions, interference materials, pH, action time, producing system for free radicals and so on. Researchers tried to use the other advanced methods such as HPLC to decrease the environmental influence on the indirect method.

Key words: indirect method; ABTS; DPPH; antioxidant activity

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)04-0457-04

流行病学研究表明, 摄食水果蔬菜不仅能获得人体所需的矿物质、维生素、膳食纤维等营养素, 还因其含有丰富的具有抗氧化能力的生物活性成分如维生素类、多酚类、黄酮类等, 能预防退行性疾病尤其是心血管疾病、癌症等发生^[1]。果蔬中含有众多的抗氧化物质, 如柑桔中有几十种类黄酮、上百种类胡萝卜素以及酚酸等抗氧化成分, 不可能逐一测定其含量^[2]; 另外由于抗氧化成分间可能存在的相互协同或拮抗作用使得样品中抗氧化物质的含量并不能完全反应样品的抗氧化能力。因此, 研究人员更为关注果蔬制品的总抗氧化能力, 果蔬中的抗氧化物质的组成、性质及生物活力决定其总抗氧化能力。

评价果蔬总抗氧化能力的方法因其作用机理的差异

可分为直接法和间接法。直接法^[3]是研究含有抗氧化物质的样品对整个测试系统的氧化降解性, 氧化的对象可能为单一脂类、脂混合物, 蛋白质、DNA, 或者是含脂的混合物如血浆、低密度脂蛋白和生物膜等, 作为参照物的有藻红蛋白(R-phycoerythrin)、藏花素(crocin)及 β -胡萝卜素(β -carotene)等。间接法^[4]所研究的是抗氧化物捕捉自由基的能力, 即通过稳定的带颜色的自由基与抗氧化物反应, 用颜色的变化来反映物质的抗氧化能力, 并通过标准对照体系如 Trolox、抗坏血酸等作为参照物量化样品的抗氧化能力, 但这种方法与真正的氧化降解无关。一般而言, 直接法研究抗氧化物质在自由基的引发、传递、清除等过程中所取的作用, 在理论上更为充分; 但实验过程长, 需要化学动力学的

收稿日期: 2007-03-22

基金项目: 科技部科研院所社会公益基金项目(2004DIB4J147); 国家科技支撑资助项目(2006BAD22B03-04; 2007BAD47B07); 重庆市自然科学基金资助项目(CSTC2007BB1377)

作者简介: 付陈梅(1974-), 女, 博士研究生, 研究方向为食品化学与营养学。E-mail: citrus05@163.com

* 通讯作者: 焦必宁(1964-), 男, 研究员, 研究方向为果蔬贮藏加工技术与质量安全。E-mail: bljiao@tom.com

专业知识,不适用于天然样品的检测。间接法测定天然样品消除稳定自由基的能力,是初步判断样品抗氧化能力的快捷的手段;但所得数据不是天然样品阻断氧化过程的定量信息,而且对试剂的浓度、反应的时间等因素依赖性强,重复性较差^[5]。虽然间接法有其不可回避的缺陷,但由于间接法有简单、快捷等直接法无法比拟的优点,研究人员更青睐于间接法,并试图通过规范试验条件、减少影响因素等提高检测结果的可比性。

1 总抗氧化能力的间接分析法

目前,应用较为普遍的间接法有2,2'-联氮-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)法[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid),ABTS]、DPPH法(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)、FRAP法(ferric reducing-antioxidant power)等。

1.1 ABTS 法

ABTS 法^[6-7]又称为TEAC 法,是使用最广泛的间接检测方法,可用于亲水性和亲脂性物质抗氧化能力测定。ABTS 经氧化后生成稳定的蓝绿色阳离子自由基ABTS⁺·,能溶于水相或酸性乙醇介质中,在414、645、734和815nm处有最大吸收。被测物质加入ABTS⁺·溶液后,所含抗氧化成分能与ABTS⁺·发生反应而使反应体系褪色。在ABTS⁺·的最大吸收波长(一般选择734nm)检测吸光度的变化,并与6-羟基-2,5,7,8-四甲基苯并二氢吡喃-2-羧酸[类似于VE的水溶性物质,Trolox(6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid Trolox)],标准对照体系比较就能换算出被测物质总的抗氧化能力(TEAC值,即每分子抗氧化物质捕捉ABTS⁺·的数目)。

1.2 DPPH 法

DPPH 法^[8]是最古老的间接测定方法,在上世纪五十年代开始用于天然物质的H-供体的测定,后用于单一抗氧化物或天然物质的抗氧化能力测试。DPPH·为稳定的自由基,溶于甲醇、乙醇等极性溶剂中,在515nm处有最大吸收。向DPPH·溶液中加入抗氧化剂时,会发生脱色反应,因此可用吸光度的变化并以Trolox等作为对照体系量化抗氧化物质的抗氧化能力,也可用顺磁共振光谱仪(ESR)检测DPPH信号强度的变化来反应被测物质的抗氧化能力。DPPH比ABTS有更强的选择性,它不和B-环上无羟基的黄酮类物质发生反应,也不与芳香酸(aromatic acid)反应;另外,由于血浆中的蛋白质在醇溶液中发生沉淀,该方法也不适用于检测血浆的抗氧化能力。

1.3 FRAP 法

FRAP 法^[9]的基本原理是酚类物质能将Fe³⁺还原成Fe²⁺。在2,4,6-trypridyl-s-triazine(TPTZ)的乙酸钠溶液

(pH3.6)中,抗氧化物质能将Fe³⁺还原成Fe²⁺,并生成蓝色含Fe²⁺的复杂化合物,该物质在593nm处有最大吸收。以抗坏血酸作为基准物质,能采用此方法对不同样品的抗氧化能力进行比较。

1.4 其它方法

体外抗氧化能力的检测方法中还有Fremy's 自由基还原法、光化学法、电化学法等。Fremy's 自由基还原法^[4]的原理是利用Fremy's 稳定自由基与H-供体反应,用ESR检测Fremy's 自由基浓度变化,从而反应样品的抗氧化能力。光化学法^[10]是由于氨或其它物质所产生的自由基与活化的自由基作用时能发光,当溶液中添加抗氧化物质时,可通过化学发光的减少来判断物质的抗氧化能力。电化学法是通过测定物质提供阴离子的能力来反应其抗氧化能力的。Kohen等^[11]将待测样品放入置有工作电极、参比电极和辅助电极,以恒定速率向工作电极提供电压,测定电位环状曲线,峰电位越低,则检测物质对工作电极提供阴离子的能力越强。

在抗氧化能力的体外检测方法中,国内外研究的重点是ABTS法和DDPH法。

2 间接法的影响因素

在不同种类、品种、成熟度、栽培条件的水果蔬菜中筛选具有高抗氧化能力的果蔬时,间接法是一种非常有力的工具。研究人员曾采用间接法对柑桔、草莓、黑醋栗、西番莲、苹果、洋葱等抗氧化能力进行研究,但由于间接法受外界因素影响较大,不同研究人员之间研究结果可比性不强,因此试图通过研究检测的影响因素以增强结果的可比性。影响间接法的主要因素有底物及其相互作用、干扰物质、pH、反应时间、自由基产生体系等。

2.1 底物及相互作用的影响

底物直接决定样品的抗氧化能力。Paola^[12]等研究不同结构黄酮醇的抗氧化能力,结果表明栲精(quercetin)衍生物的TEAC值高于茨非醇(kaempferol)衍生物和杨梅黄酮(myricetin)衍生物的TEAC值;栲精C-3上的羟基被糖基化或是被甲基化,其TEAC值低于栲精,而C-7上的羟基糖基化后会进一步降低其抗氧化能力;另外,还发现C-5上的羟基对自由基的捕捉能力没有影响,B-环上邻二苯酚结构的缺少会导致能力的下降。

在天然反应体系中,由于抗氧化物质往往与其它物质结合在一起,因此体系中物质的相互作用就会对总的抗氧化能力产生影响。Mariken等^[13]研究了酪蛋白和清蛋白对茶中多酚类物质的作用,结果发现不同物质间的作用对酚类物质抗氧化能力的掩蔽程度不同,其中以β-酪蛋白对五倍子酸的掩蔽能力最强。Arts等^[14]研究了分别测定了血浆、α-生育酚(α-tocopherol)和栲精的

抗氧化能力, 再将 α -生育酚和栲精分别与血浆混合, 测定其 TEAC, 并与混合体的理论 TEAC 进行比较, 发现血浆对 α -生育酚的掩蔽作用不强, 而对栲精有较大的掩蔽作用; 经脱蛋白质处理的血浆对 α -生育酚和栲精的掩蔽作用均减小。这表明蛋白质与抗氧化物质存在相互作用并会对抗氧化能力产生影响。

2.2 干扰物质的影响

由于天然产品中含有各种物质, 在特殊波长下可能会产生不同程度的干扰。Marino 等^[15]以 Trolox 为标准抗氧化物, 用 ABTS 法(414nm 和 730nm)和 DPPH(515nm)检测果汁的抗氧化能力。对同一样品(橘汁)用 ABTS 法在不同的波长下检测抗氧化能力其最大差异可达 15.7%, 而用不同方法检测的最大差异可达 22%。这种差异并不是由于不同剂量作用而产生的结果, 而是由于干扰物质导致的。在可见光范围内, 选用波长越低, 干扰问题越严重。因此要针对不同的样品选择适宜的分析方法及波长, 以减少其他物质的干扰, 确实反应物质的抗氧化能力。

2.3 pH 的影响

抗氧化物在不同的 pH 条件下, 其 TEAC 值也不相同。Robin 等^[16]研究表明 3-羟基黄酮和 5-羟基黄酮随着介质 pH 的升高, 其对 TEAC 的捕获能力也明显提高, 这是由于 3-羟基黄酮在 pH 5~7.5、5-羟基黄酮在 pH 6~9 范围有更高的溶解能力导致的, 从而表明单羟基黄酮的作用机制可能是电子的作用而不是氢离子的作用; 7-羟基黄酮和 4'-羟基黄酮在 pH 4.5~9.5 范围内, 对 TEAC 阳离子的捕获都不活跃。Katarzyna 等^[17]还发现不同的抗氧化物质其最大 TEAC 值所处的 pH 值也不尽相同, 如 L-抗坏血酸(L-ascorbic acid)、尿酸(uric acid)、咖啡酸(caffcic acid)等在 pH 4.6 时其 TEAC 值最大, 对香豆酸(p-coumaric acid)、谷胱甘肽(glutathione)、BHT、清蛋白(albumin)等在 pH 7.4 时 TEAC 值最大, 没食子酸(gallic acid)、儿茶酸(catechin)、表儿茶酸(epicatechin)、BHA 和 t-BHQ 在 pH 5.4 处 TEAC 值最大, 但作为参照物的 Trolox 的抗氧化能力不受 pH 的影响。研究还发现具有类似结构的物质, 即便其 TEAC 值有很大差异, pH 对 TEAC 值有相同的影响趋势^[18]。

采用 ABTS 法分析抗氧化能力, 平衡状态下 $[ABTS]/[ABTS^+ \cdot]$ 值受 pH 影响较大。当 pH 为 7.4 和 5.4 时, 比值至少为 50, 而在 pH 4.6 时, 比值仅为 1。因此在不同的 pH 条件下, 体系所提供的 $ABTS^+ \cdot$ 数量有很大区别^[19]。

2.4 反应时间的影响

抗氧化物质对自由基的作用类型有快速反应型和慢速反应型^[20]。因此, 向 $ABTS^+ \cdot$ 或 DPPH $\cdot$ 溶液中加入抗氧化物质到测定该体系吸光度所用的显色时间长短会对检测结果产生较大的影响。L-抗坏血酸、咖啡酸、

Trolox 等在反应 10s 和 10min 所得的 TEAC 值一致, 而表儿茶酸等物质在 10s 所得的 TEAC 值与 10min 所得的结果相差近 50%^[21]。因此如果反应时间较短, 慢速反应物质未发生作用, 则造成测定结果偏低。Ubando-Rivera J 等^[22]对柠檬皮的抗氧化能力进行了比较研究, 用 DPPH 法检测膳食纤维的抗氧化能力时, 吸光度的变化趋势平缓, 反应 16min 后稳定; 用 ABTS 法检测时, 在前 4min 反应体系的吸光度值迅速下降, 在后期(4~15min), 反应速率降低。

2.5 自由基产生体系的影响

采用 ABTS 法测定样品的抗氧化能力时, 自由基产生体系会对检测结果产生影响。二氧化锰(MnO_2), AAPH[2,2'-azobis(2-amidinopropane)hydrochloride], 过氧化焦硫酸盐(peroxodisulfate, PDS)等常用于生成自由基。Carola 等^[23]研究发现 MnO_2 与 ABTS 反应速度很快, 能在混合后极短时间内作用, 难以观察实验的初速度; 而 AAPH 和 PDS 的反应速度较慢, 当 ABTS 为 $150 \mu mol/L$ 时, AAPH 为 $5 mmol/L$, $45^\circ C$ 条件下反应的初速度为 $0.96 \pm 0.05 \mu mol/min$; PDS 为 $75 \mu mol/L$, $25^\circ C$ 条件下, 反应的初速度为 $0.5 \pm 0.1 \mu mol/min$, $50^\circ C$ 时, 反应的初速度增加至 $2.0 \pm 0.1 \mu mol/min$ 。结果表明 ABTS 与 AAPH 发生氧化反应, 需要较高的活化能, 而与 PDS 反应所需活化能较低。

另外, 所形成自由基的稳定性依赖于制备步骤及实验条件。 MnO_2 作为氧化剂时, 锰离子会增加 $ABTS^+ \cdot$ 自动褪色的速率, 故需除去锰离子对 $ABTS^+ \cdot$ 溶液的影响。用 AAPH 制备的 $ABTS^+ \cdot$ 溶液在 $25^\circ C$ 条件下吸光值发生衰退, 这可能是由于少量含氮化合物在此温度下降解导致的, 因此, 用 AAPH 制备的 $ABTS^+ \cdot$ 溶液要贮藏在较低的温度(低于 $20^\circ C$)。而以 HRP(horseradish peroxidase enzyme)/ABTS/ H_2O_2 为自由基发生体系时, $ABTS^+ \cdot$ 的形成速率会随着 HRP 浓度增加而增大, 但 HRP 浓度过大会影响吸光度, 并影响 TEAC 值^[24]。

3 展望

由于自由基存在时间短, 天然的抗氧化物质在分离、纯化过程中能力下降等原因导致的抗氧化能力的定量比较困难, 研究人员试图通过多种先进方法的联用来提高检测的效率和准确性。Donata B 等^[25]将 HPLC 和 DPPH 法结合起来研究苹果汁的抗氧化能力。研究者用 HPLC 分离苹果汁中的抗氧化成分, 并在色谱柱后泵入 DPPH, 使分离的抗氧化单体与 DPPH 混合并反应 0.6min 后, 用紫外检测器检测因抗氧化成分的作用而使 DPPH 在 515nm 吸光度的降低程度。这种方法除了能检测出单个物质的自由基清除能力, 还能计算出其在混合抗氧化物中所起的贡献。但由于反应时间较短, 可能未完全检测出慢速反应物质的抗氧化能力。测试结果表明: 该

方法能较好的反应表儿茶素鞣酸盐(epicatechin gallate), 咖啡酸, 表儿茶素等的抗氧化能力, 而儿茶素(catechin), 绿原酸(chlorogenic acid), 阿魏酸(ferulic acid)的结果偏低; 根皮苷(phloridzin)与DPPH无反应, 这可能与苹果汁中根皮苷浓度(0.027mmol/kg)偏低, 且根皮苷单体的TEAC值(1.10)较低有关。

为了适应高通量高效筛选抗氧化能力强的物质, 提高分析速度、降低分析成本, Cristina等^[26]将酶标仪首次与ABTS法联用, 建立了快速、简单的抗氧化能力的检测方法。韩光亮等^[27]在酶标板上以Trolox为标准对照, 测定抗氧化物质对预先制备的自由基ABTS^{•+}的清除能力。用不同浓度的乙醇和重亚硫酸钠为提取液, 在不同的温度和溶剂/水果比条件下, 提取黑醋栗中的抗氧化活性物质, 发现在17℃上下、每克水果用20ml、67%左右浓度的乙醇; 在30℃上下、每克水果用20ml、300mg/L左右浓度的重亚硫酸钠能较好地提取出黑醋栗中抗氧化活性物质。

Geletii等^[28]将抗氧化能力的检测与电化学分析方法结合起来, 不仅能检测到样品的抗氧化能力, 同时还能得出样品中抗氧化物质的含量。

由于分析技术、方法的不断发展, 抗氧化能力的检测与其它分析方法联用将成为一种趋势, 以提高间接检测方法的可靠性和检测效率。

4 结 论

间接检测抗氧化能力的方法虽然不能直接反应被测物质的活力, 而且因体外条件与体内环境存在差异, 间接法也不能完全反应被测物质的生理活性, 这是间接法存在的缺陷。但由于间接法迅速、简捷, 一直受到研究人员的青睐, 而且随着间接法与其它先进分析方法如HPLC等的联用, 结果的可靠性会得到加强, 应用范围也将进一步拓宽。

参考文献:

- [1] RICE-EVANS C, MILLER N. Measurement of the antioxidant status of dietary constituents, low density lipoproteins and plasma[J]. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 1997, 57: 499-505.
- [2] TOPUZ A, TOPAKCI M, CANAKCI M, et al. Physical and nutritional properties of four orange varieties [J]. J Food Engin, 2005, 66: 519-523.
- [3] SANCHEZ-MOREN. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems[J]. Food Sci Tech Int, 2002, 8(3): 121-137.
- [4] ROGINSKY V, LISSI E A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food[J]. Food Chemistry, 2004.
- [5] PRIOR R L, CAO G H. In Vivo total antioxidant capacity: comparison of different Analytical methods[J]. Free Radical Biology & Medicine. 1999, 27(11/12): 1173-1181.
- [6] MILLER N J, RICE-EVANS C A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates[J]. Clinical Science, 1993, 84:407-412.
- [7] RICE-EVANS C, MILLER N. Measurement of the antioxidant status of dietary constituents, low density lipoproteins and plasma[J]. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 1997, 57: 499-505.
- [8] ARUOMA O I. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods[J]. Mutation Research. 2003, 523-524: 9-20.
- [9] SHIVASHANKARA K S, ISOBE S, AI-HAQ M I. Fruit antioxidant activity, ascorbic acid, total phenol, quercetin, and carotene of irwin mango fruits stored at low temperature after high electric field pretreatment [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52: 281-286.
- [10] ALHO H L. Total antioxidant activity measured by chemiluminescence methods [J]. Meth Enzymol, 1999, 299A: 3-15.
- [11] KOHEN R, BEIT-YANNAI, BERRY E M. Overall low molecular weight antioxidant activity of biological fluids and tissues by cyclic voltammetry [J]. Meth Enzymol, 1999, 300: 285-296.
- [12] MONTORO P, BRACA A, COSIMO P, et al. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species [J]. Food Chemistry, 2004, 82:349-355.
- [13] ARTS M J T J, HAENEN G R M M, WILMS L C, et al. Interactions between Flavonoids and Proteins: effect on the total antioxidant capacity [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50: 1184-1187.
- [14] ARTS M J T J, HAENEN G R M M, VOSS H P, et al. Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein [J]. Food and Chemical Toxicology, 2001, 39:787-791.
- [15] ARNAO M B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case [J]. Trends in Food Science & Technology, 2000, 11: 419-421.
- [16] BERG R, HAENEN G R M M, b, BERG H, et al. The predictive value of the antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay [J]. Food Chemistry, 2000, 70: 391-395.
- [17] LEMANSKA K, SZYMUSIAK H, TYRAKOWSKA B, et al. The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2001, 31(7): 869-881.
- [18] LABRINEA E P, GEORGIU C A. Stopped-flow method for assessment of pH and timing effect on the ABTS total antioxidant capacity assay [J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 526:63-68.
- [19] NENADIS N, WANG L, TSIMIDOU M, et al. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS^{•+} assay [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52: 4669-4674.
- [20] RE R, PELLEGRINI R. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. Free Rad Biol Med, 1999, 26: 1231-1237.
- [21] VILLANO D, FERMÁ NDEZ-PACHÓ N M S, A M, et al. The antioxidant activity of wines determined by the ABTS^{•+} method: influence of sample dilution and time [J]. Talanta, 2004, 64:501-509.
- [22] UBANDO-RIVERA J, NAVARRO-OCANA A, VALDIVIA-LOPEZ M A. Mexican lime peel: comparative study on contents of dietary fibre and associated antioxidant activity [J]. Food Chemistry, 2005, 89: 57-61.
- [23] HENRIOUEZ C, ALIAGA C, LISSI E. Formation and decay of the ABTS derived radical cation: a comparison of different preparation procedures [J]. international Journal of Chemical Kinetics, Wiley Periodicals Inc, 2002, 34(12): 659-665.
- [24] ARTS M J T J. Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay [J]. Food and Chemical Toxicology, 2004, 42: 45-49.
- [25] MURKOVIC D B M. On-Line HPLC-DPPH screening method for evaluation of radical scavenging phenols extracted from apples (*Malus domestica* L.) [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50, 2482-2487.
- [26] SOLER-RIVAS C, ESPIN J C, WICHERS H J. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs [J]. Phytochem Anal, 2000, 11: 330-338.
- [27] 韩光亮, 李翠梅, CACACE E 等. 改良的 ABTS^{•+}法及其在优化抗氧化活性物质提取中的应用[J]. 卫生研究, 2003, 33: 620-622.
- [28] GELETII Y V, BALAVOINE G G A, EFIMOV O N., et al. The determination of total concentration and activity of antioxidants in foodstuffs [J]. Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 2002, 28(6): 501-514.