

综述

生物活性物质的抗氧化能力评价方法及其研究进展

刘小兵 综述 朴建华 审校

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100050)

摘要:准确评价生物活性物质的抗氧化能力已经成了氧化与抗氧化研究领域的热点问题,综述了国际上当前比较流行的几种体外抗氧化能力评价方法,如:2,2-连氮-双-(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)-二铵盐法、1,1-二苯代苦基苯肼法、铁离子还原/抗氧化能力测定法、氧自由基吸收能力测定法、化学发光法,以及体内抗氧化能力评价方法的关键点。

关键词:活性氧;抗氧化剂;氧化性应激;脂质过氧化作用

Progress in Evaluation Methods of Antioxidant Capacity of Bioactive Substances

LIU Xiao-bing, PIAO Jian-hua

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100050, China)

Abstract: Evaluating exactly the antioxidant capacity of bioactive substances has become a hot topic in relating field. Several methods about antioxidant capacity of bioactive substances in vitro, such as: 2, 2 - azinobis - (3 - ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid) - diammonium salt assay (ABTS), 2, 2 - diphenyl - 1 - picrylhydrazyl assay (DPPH), ferric reducing antioxidant power assay (FRAP), oxygen radical absorption capacity assay (ORAC), photochemiluminescence assay (FLC), and some key points of antioxidant capacity evaluation in vivo were reviewed.

Key word: Reactive Oxygen Species; Antioxidants; Oxidative Stress; Lipid Peroxidation

活性氧是需氧生物在自身的新陈代谢过程中,由于受到内外环境的刺激而在其机体内持续产生的活性产物^[1]。它们通常是以氧或氮为中心的自由基和非自由基,如:超氧阴离子、羟自由基、烷过氧化自由基等;以及过氧化氢、单线态氧、臭氧等^[2]。活性氧极不稳定,容易与其邻近分子反应,并可诱发产生新的自由基,继续危害其邻近的靶分子^[3]。一般情况下,生物体内活性氧的产生会受到体内抗氧化防御系统的调节,生物则会在抗氧化防御系统的调节下,长久保持在平衡的健康状态^[4]。但是,在某些特殊情况下,如感染、疾病或精神紧张,体内的氧化与抗氧化平衡会被打破,使机体处于氧化应激状态,造成蛋白质损伤、脂质过氧化、DNA改变、酶失活等,发生包括癌症、心血管疾病、风湿性关节炎、感染等多种疾患^[5]。

目前,大量的临床与流行病学研究显示,消费富含生物活性物质的水果、蔬菜既可以有效降低癌症、心血管疾病和其他一些慢性疾病的发病率,又可以适度改善身体健康状况^[6]。为此,全世界越来越多

的科学家把研究目光投向了这一领域,并在过去的几十年里已经取得了卓越的成绩。由此多种体外抗氧化能力的评价方法得以建立,包括^[7-9]:2,2-连氮-双-(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐法(2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)-diammonium salt, ABTS)、1,1-二苯代苦基苯肼法(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)、铁离子还原/抗氧化能力测定法(ferric reducing antioxidant power, FRAP)、氧自由基吸收能力测定法(oxygen radical absorption capacity, ORAC)、化学发光法(photochemiluminescence assay, FLC)。同时,体内抗氧化能力的评价方法也逐渐得到完善,其中人造模、氧化应激生物标志物的筛选和测定等都得到了很好的发展。

本文针对当前该领域的发展状况,在总结前人科研成果的基础上,分别对现有生物活性物质的抗氧化能力评价方法进行综述,即从体外生物活性物质的抗氧化能力评价方法,到体内抗氧化能力评价方法。

1 体外抗氧化能力评价方法

目前,国内外大多数评价生物活性物质抗氧化能力的方法往往是针对某一种自由基而言的,而实

基金项目:国家科技支撑计划项目(2006BAD27B01)

作者简介:刘小兵 男 硕士研究生

通讯作者:朴建华 男 研究员

际上,待测生物活性物质对一种自由基的清除能力并不能代表其对于另一种自由基的清除能力,为此,许多学者已经对“总抗氧化力”提出了不同看法,而且找到了一些体外“总抗氧化能力”的评价方法^[10]。

1.1 ABTS 法

ABTS 法是由 Miller^[11] 于 1996 年基于脱色反应原理而建立起来的一种以 ABTS \cdot^+ 为基础的分光光度计测量法。该法在建立初的几年里经历了多位学者的反复改进,但仅是 ABTS \cdot^+ 生成方式的不同^[12,13]。1999 年,Roberta Re 等^[14] 对该法再次加以改进。在改进后的方法中,ABTS 与过硫酸钾($K_2S_2O_8$) 反应生成评价体系的基础——ABTS \cdot^+ 。当生物活性物质存在时,预先形成的蓝绿色 ABTS \cdot^+ 被还原为无色的 ABTS 分子形式,其被还原程度和反应时间取决于生物活性物质的抗氧化能力以及浓度。抗氧化能力强弱采用 Trolox 当量表示,即以相同条件下测得的生物活性物质的抗氧化活性与 Trolox 的抗氧化活性作对比,由此得到的比值反映待测生物活性物质的抗氧化能力。目前,该方法由于快速、简便、易行,以及灵敏度、特异性较高等特点,已经被广泛应用于亲水、亲脂性物质、纯物质以及蔬菜、水果、饮料的总抗氧化能力的评价。

1.2 DPPH 法

DPPH 法^[15] 是 20 世纪 50 年代提出的,最初用于发现食物中的供氢体,后来被广泛用于定量评价生物制品、酚类和食品的抗氧化能力。该法是一种以粉红色、稳定的 DPPH \cdot 为基础而构建的评价体系。即当抗氧化物质被加入到反应体系时,DPPH \cdot 被还原,颜色由粉红色转变为黄色。反应进程中,反应液的吸光度值不断变小,这种变小的程度主要取决于所评价生物活性物质的抗氧化能力。具体操作^[16]:在溶于甲醇的 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 DPPH 溶液中加入一定量待评价的生物活性物质,10 min 后,在 515 nm 处读取该反应溶液的吸光度值。最后,用反应溶液吸光度的变化值与对照组的吸光度值进行比较,从而计算待测生物活性物质的抗氧化能力。该方法由于具有很好的重复性以及简便易行,所以被频繁地用于生物活性物质的体外抗氧化能力评价。

1.3 FRAP 法

FRAP 法^[17,18] 是一种简便、快捷的评价生物活性物质抗氧化能力的方法,其结果重复性较好。在低 pH 值的环境下,生物活性物质能够将一种叫三吡啶三嗪三价铁 [$\text{Fe}(\text{---}) - 2,4,6 - \text{Tri}(2\text{-pyridyl})\text{-s-triazine}$, TPTZ - Fe^{3+}] 的物质还原为蓝色的三吡啶三嗪二价铁 [$\text{Fe}(\text{---}) - \text{TPTZ}$, TPTZ - Fe^{2+}]。反应的结果常以 Fe^{2+} 当量或标准物质的抗氧化能力表示。

该法实际测定的是待测生物活性物质将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 的能力,因而,有研究者将其归类为直接测定抗氧化能力的方法。同样,该法也存在着其自身的缺陷,即不能用于检测含有巯基(-SH)的有机物质,因为类似谷胱甘肽等含有巯基的有机物质不能与三价铁离子发生反应。该法最初用于测量血浆中的抗氧化能力,后来也用于其他生物体液、食品、植物提取物、果汁等物质的抗氧化能力的检测。

1.4 ORAC 法

ORAC 法^[19] 是建立在 Glazer 实验^[20] 基础上的一种检测抗氧化能力的方法。检测过程中,使用藻红蛋白作为氧化底物,2,2'-偶氮二(2-脒基丙烷)二盐酸盐(2,2'-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride, AAPH) 或者 $\text{Cu}^{2+} - \text{H}_2\text{O}_2$ 作为羟基自由基发生物。反应中藻红蛋白在 540 nm 光波激发下可发射 565 nm 的荧光,当有自由基或氧化剂被加入时,荧光逐渐减弱;而当有抗氧化性物质加入时,荧光减弱被抑制。ORAC 法测量的是抗氧化物质的直接清除自由基能力,结果采用曲线下面积定量技术得到测量物质的总抗氧化活性,该法可以自动化、标准化,但需要使用价格昂贵的全自动系列化分析仪^[21]。目前 ORAC 法已经在多个实验室使用,并且广泛用于各种生物制品的检测,从纯物质到复杂物质再到动物组织,如:维生素 C、生育酚、胡萝卜素、茶叶、蔬菜、水果以及血液等。

1.5 PCL 法

PCL 法^[22] 是评价自由基清除能力的重要方法,与前面几种方法不同的是,它从另外一个角度进行抗氧化能力评价。它以快捷性、高敏感度为特点,目前在抗氧化能力的评价中被广泛使用。其中,以辣根过氧化物酶-鲁米诺-氢过氧化物酶体系为基础的方法是最重要的测定方法。在该法中,鲁米诺被氢过氧化物酶氧化,导致鲁米诺自由基的生成;同时由于自由基进一步反应会使其发光,而当生物活性物质存在并发生反应的时候,光的强度将被减弱,由此根据光强度被减弱的程度来评价生物活性物质的抗氧化能力。

体外抗氧化能力评价方法很多,分别基于不同的反应原理,但是由于各自存在自身缺陷,使得在评价过程中仅选用一种方法显得不足。虽然电子顺磁共振法被认为是评价生物活性物质抗氧化能力最直接、最可靠的方法,但是使用的仪器价格昂贵,在实际工作中很难应用。因此,在进行体外抗氧化能力评价的时候,众多学者一致推荐至少同时采用两种基于不同原理的体外评价方法。

2 体内抗氧化能力评价方法

体外抗氧化能力的评价方法简便、快捷,是进行大批量物质抗氧化能力评价的有效手段,但是,仅仅凭体外研究结果就直接推到体内状况是不可取的,因为体内新陈代谢过程的作用大大增加了生物活性物质抗氧化能力的不确定性。评价生物活性物质抗氧化能力最好的方法,是针对特殊生物体补充生物活性物质,以此观察其结局。同时,体内氧化应激生物标志物不是唯一的,因此建立一套完备而有效的评价程序,以用来准确评价生物活性物质在体内的抗氧化能力变得异常重要^[21]。

2.1 抗氧化研究的特殊生物体——人造动物模型

抗氧化研究的人体实验是评价生物活性物质抗氧化能力的“金标准”,但是,在实际操作中,却存在着种种伦理学的限制。目前,在评价过程中采用有代表性的氧化应激动物模型已经得到了全世界大多数学者的广泛认可,并且成功获得了多个氧化应激模型。我们根据这些模型的状况,将其划分为全身性与局部器官性两种。

2.1.1 人工造模的策略及途径

首先,处于氧化应激状态的动物模型可以通过将其暴露于毒性试剂或给予大剂量还原性受试物来获得。其次,膳食诱导氧化应激模型,即通过给予抗氧化物质(维生素E)缺乏或铁过量的膳食。再次,通过辐射、转基因技术而获得氧化应激模型动物。最后,就是人工培育的快速衰老模型(SAM系)^[23]。同时,氧化应激常与多种疾病的动物模型相联系,如:糖尿病大鼠模型、动脉粥样硬化兔模型。

2.1.2 全身性的氧化应激模型

全身性的氧化应激模型,也称作非特异性的氧化应激模型,即通过对动物的全身组织器官进行氧化损伤,使得受试动物整体性地处于氧化应激状态。如:*d*-半乳糖模型^[24]、臭氧模型^[25]、去胸腺模型^[26]、 γ -辐射模型^[27]以及转基因的动物模型^[28]、人工培育的快速老化小鼠模型^[23]等,就是已经得到的典型的氧化应激动物模型。

2.1.3 局部器官性的氧化应激模型

局部器官性的氧化应激模型,也称为特异性的氧化应激模型,即针对实验动物个体的某些特定组织器官进行特异性的氧化损伤,而使其处于氧化应激状态。在实验中,溴代苯、乙醇、四氯化碳^[29]等对肝脏具有特异性的损伤,因而常用作诱导氧化应激的药剂。除草剂百草枯等^[30]对肺脏、肝脏等均具有特异的侵蚀毒性,可与体内的各种酶发生氧化还原反应,从而诱发损伤组织器官产生氧化应激。

2.2 氧化应激生物标志物的选择与测定

体内抗氧化能力评价主要是借助氧化应激生物标志物的测定来判断生物活性物质对DNA氧化损伤、脂质过氧化、蛋白质氧化损伤的保护程度,以及直接测定抗氧化防御系统抗氧化水平。

2.2.1 脂质氧化损伤

硫代巴比妥酸法^[31](TBARS),是最早用于人类与动物抗氧化研究,反映脂质氧化损伤的方法。最初的TBARS法相对简单,缺乏特异性,相对陈旧。而改进后的TBARS法由于使用了高效液相色谱法(HPLC),敏感度、特异度和重复性都明显提高了。呼吸烃类的测定^[32],也是一种被广泛使用的、非侵入性的体内评价脂质过氧化的方法。只是由于在呼气收集、处理和分析中缺乏标准化方法,导致了结果的不稳定性。氧化型的低密度脂蛋白(LDL),已被公认是氧化应激防御的生物标志物;F-异前列烷^[33]是由自由基诱发花生四烯酸反应,之后在磷脂中生成的又一新的氧化应激生物标志物。

2.2.2 DNA氧化损伤

DNA被氧化时,鸟苷酸的C-8是最易发生损伤的位点。因而,由此形成的8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)是评价DNA氧化损伤最常使用的生物标志物。氧化DNA的自身抗体^[34]也是一种被推荐使用的生物标志物,它的检测主要是通过自身抗体识别胸腺嘧啶的氧化产物5-羟甲基-2'-脱氧尿苷而完成。同样,彗星试验也是公认的、成熟的DNA检测方法,它可以检测DNA链断裂,从而反映损伤情况。

2.2.3 蛋白质氧化损伤^[35,36]

蛋白质的氧化损伤不仅包括对酶、受体和载体蛋白的损伤,而且还包括一些二次损伤,如:DNA修复酶的损伤。目前,蛋白质氧化使用最广的生物标志物是蛋白质羰基含量(Protein Carbonyl Content, PCC),其传统的检测技术是使用二硝基苯肼的比色法,使用分光光度法或者酶联免疫吸附法(ELISA)测定2,4-二硝基苯肼与蛋白质羰基反应生成的腙,来衡量蛋白质的损伤情况。PCC法是快速的检测方法,不需要特殊、昂贵的设备。然而,蛋白质羰基含量并不是氧化应激的特异性生物标志物,而只是总体的粗略衡量。蛋白质特异性的氧化应激标志物是3-硝基酪氨酸,但是,3-硝基酪氨酸的测定方法耗费时间,而且与PCC相比它需要比较精密的分析设备。

2.2.4 抗氧化防御系统的评价

2.2.4.1 总抗氧化能力(TAC) 体外抗氧化能力评价方法,如:ABTS法、DPPH法、FRAP法、ORAC法、PCL法等,均可以用来评价生物活性物质作用于

生物体后体内抗氧化防御系统的状况。但是,由于生物活性物质评价结果在很大程度上取决于实验条件^[37],如:消耗一定量的具有抗氧化活性的物质后,所检测到的结果必然会高些。然而,总抗氧化能力的升高并不意味着就是预期的结局,因为这仅是机体对氧化应激的早期适应。

2.2.4.2 抗氧化酶类的评价 需氧生物的抗氧化防御体系的重要组成部分是抗氧化酶系,即超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等。尽管这些酶的测定相比总抗氧化能力测定要复杂得多,但是它们能够提供更加特异性的信息,更能反映出机体的氧化应激水平,所以这些酶的测定构成了当前抗氧化能力评价体系中重要的组成部分。

2.2.4.3 其他非酶系抗氧化物质 尿酸、谷胱甘肽、维生素C、类胡萝卜素、生育酚和辅酶Q10等机体抗氧化防御体系的另一重要组成部分,同样在对抗体内活性氧的过程中发挥着巨大的抗氧化作用。它们的抗氧化作用机理不断被深入研究,相应的检测技术也在不断地发展与完善,尤其是高效液相色谱、质谱、气质联机和液质联机等仪器的引入,使得检测结果更加可信与精确。

3 展望

在过去的几十年里,评价生物活性物质抗氧化能力的研究已经在全世界范围内得到开展,并且建立了大量的体内外抗氧化能力的评价方法,但是各种方法都有其自身的局限性。体外抗氧化能力评价方法比较简单,而且便于实施,适合于大批量样本的粗略评价。但是,由于在机体新陈代谢的过程中,从物质吸收、分配到代谢、再到排泄,干扰因素众多,使得由体外评价结果直接外推到体内的状况是不足取的。因此,在进行生物活性物质抗氧化能力评价的时候,为了保证评价结果的真实性与可靠性,应该遵从由体外到体内,由化学环境到生物环境逐级深入的原则。在保证体外评价结果可靠的基础上,进行体内评价的动物实验,并在保证动物实验从设计到干预、最后结果科学性的基础上,再进一步人群实验,这是评价的最终阶段。但是,在开展体内评价的时候,一定要注意所评价物质的毒性和剂量反应关系。

参考文献

[1] LICHTENTHALER R, MARX F, KIND O M. Determination of antioxidative capacities using an enhanced total oxidant scavenging capacity (TOSC) assay [J]. Eur Food Res Technol, 2003, 216: 166-173.

[2] HERMANS N, COS P, MAES L, et al. Challenges and pitfalls in antioxidant research [J]. Curr Med Chem, 2007, 14(4): 417-30.

[3] GUTTERIDGE J M, HALLIWELL B. Annals of New York Academy of Sciences [J], 2000, 899: 136.

[4] CAO G H, PRIOR R L. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum [J]. Clinical Chemistry, 1998, 44(6): 1309-1315.

[5] WINSTON G W, REGOLI F, DUGAS A J, et al. A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids [J]. Free Radical Biology & Medicine, 1998, 24(3): 480-493.

[6] STANNER S, HUGHES J, KELLY C, et al. A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis' [J]. Public Health Nutrition, 2004, 7(3): 407-422.

[7] THAIPOONGA K, BOONPRAKOPA U, CROSBY K, et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19: 669-675.

[8] SERAFINI N P M, COLOMBI B, RIO D D, et al. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays [J]. J Nutr, 2003, 133: 2812-2819.

[9] NCHEZ-MORENO C SA. 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.

[10] 郭长江, 杨继军, 韦京豫, 等. 两种方法测定坚果类食物抗氧化活性的比较 [J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(2): 135-136.

[11] MILLER A L. Antioxidant flavonoids: structure, function and clinical usage [J]. Alt Med Rev, 1996, 1(2): 103-111.

[12] MILLER N J, RICE-EVANS C A, DAVIES M J, et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates [J]. Clin Sci, 1993, 84: 407-412.

[13] MILLER N J, SAMPSON J, CANDEIAS L P, et al. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls [J]. Fed Eur Biochem Soc Lett, 1996, 384: 240-242.

[14] ROBERTA RE, NICOLETTA PHELLGRINI, ANNA PROTEGGENTE, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 26(9/10): 1231-1237.

[15] BLOIS M S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical [J]. NATURE, 1958, 181: 1199-1200.

[16] SCHINELLA G R, TROIANI G, DÁVILA V, et al. Antioxidant effects of an aqueous extract of *ilex paraguariensis* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2000, 269(2): 357-360.

[17] BENZIE I F F, STRAIN J J. The Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay [J]. Analytical Biochemistry, 1996, 239: 70-76.

[18] BENZIE I F F, STRAIN J J. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration [J]. Methods Enzymology, 1999, 299: 15-27.

[19] CAO G H, ALESSIO H M, CUTLER R G. Oxygeradical

absorbance capacity assay for antioxidants [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1993, 14(13): 303-311.

[20] GLAZER A N. Phycoerythrin fluorescence-based assay for reactive oxygen species [J]. *Meth Enzymol*, 1990, 186: 161-168.

[21] PRIOR R L, CAO G H. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 1996, 27(11/12): 1173-1181.

[22] MARQUELE F D, MAMBRO V M D I, GEORGETTI S R. Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2005, 39(3-4): 455-462.

[23] TAKEDA T. Senescence-accelerated mouse (SAM): a biogerontological resource in aging research [J]. *Neurobiology of Aging*, 1999, 20: 105-110.

[24] SONG X, BAO M M, LI D D, et al. Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model [J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 1999, 108: 239-251.

[25] FENG RE T, A W H, OCHI H. A new murine oxidative stress model associated with senescence [J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2001, 122: 547-559.

[26] STRAU RH, CUTOLO M, ZIETZ B, et al. The process of aging changes the interplay of the immune, endocrine and nervous systems [J]. *Mech Ageing Dev*, 2001, 122(14): 1591-1611.

[27] 李云, 杨素青. 急性致衰老模型的探讨 [J]. *卫生研究*, 2002, 31(4): 290-291.

[28] SUKRUTHA V Y, COOKE CL M, BAKER P N, et al. Gender differences in myogenic tone in superoxide dismutase knockout mouse: animal model of oxidative stress [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, 287: 40-45.

[29] NOMURA T, YAMAOKA K. Low-dose γ -ray irradiation reduces oxidative damage induced by CCL4 in mouse liver [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 1999, 27(11/12): 1324-1333.

[30] BUS J S, GIBSON J E. Paraquat: model for oxidant-initiated toxicity [J]. *Environmental Health Perspectives*, 1984, 55: 37-46.

[31] TAKEUCHI N, MATSUMIYA K, TAKAHASHI Y, et al. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and lipid metabolism in α -tocopherol deficient rats [J]. *Experimental Gerontology*, 1977, 12(1-2): 63-68.

[32] KNUTSON M D, HANDELMAN G J, VITERI F E. Methods for measuring ethane and pentane in expired air from rats and humans [J]. *Free Radic Biol Med*, 2000, 28: 514-519.

[33] HANDELMAN G J, PRYOR W A. Evaluation of antioxidant status in humans. In: *Antioxidant status, diet, nutrition, and health* [M]. CRC Press, Boca Raton, FL, 1999, 37-62.

[34] FRENKEL K, KARKOSZKA J, GLASSMAN T, et al. Serum autoantibodies recognizing 5-hydroxymethyl-2'-deoxyuridine, an oxidized DNA base, as biomarkers of cancer risk in women [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1998, 7: 49-57.

[35] CHEVION M, BERENSHTEIN E, STADTMAN E R. Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage [J]. *Free Radic Res*, 2000, 33 (Suppl): 99-108.

[36] GREENACRE S A, ISCHIROPOULOS H. Biological tyrosine nitration: a pathological function of nitric oxide and reactive oxygen species [J]. *Free Rad Res*, 2001, 34, 541.

[37] CAO G, SHUKITT-HALE B, BICKFORD P C, et al. Hyperoxia-induced changes in antioxidant capacity and the effect of dietary antioxidants [J]. *J Appl Physiol*, 1999, 86, 1817.

[收稿日期:2008-03-04]

中图分类号:R15;Q505 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2008)05-0440-05

卫生部关于撤销“阳光塑身牌减肥胶囊”保健食品批准证书的通知

卫监督函〔2008〕311号

云南天恒药业有限公司:

根据我部卫生监督局的监督检查结果,你单位生产的“阳光塑身牌减肥胶囊”(生产批号:20060220/060201A-0120)中含有“西布曲明”成分,已经有关单位检验证实。

根据《保健食品管理办法》第二十七条规定,我部对你单位生产的“阳光塑身牌减肥胶囊”进行重新审查。经审查,确认“阳光塑身牌减肥胶囊”中含有“西布曲明”等《中华人民共和国食品卫生法》规定禁止在食品中添加的化学合成药物。我认为,你单位的行为违反了《中华人民共和国食品卫生法》第九条、第十条、《保健食品管理办法》第四条的规定。现依据《保健食品管理办法》第二十七条规定,决定撤销“阳光塑身牌减肥胶囊”的保健食品批准证书(批准文号:国食健字 G20041378)。

如不服本决定,可以依照有关法律申请行政复议或提起行政诉讼。

卫生部
二〇〇八年八月六日