

综述

氧自由基吸收能力分析法的发展和应用

殷健,李万芳,王爱平,魏金锋

(中国医学科学院药物研究所,北京 100050)

摘要: 自由基与多种人类疾病的发生都有着密切的关系。在清除自由基的过程中,抗氧化剂发挥着重要作用。因此,了解抗氧化剂的作用及其能力就显得至关重要。氧自由基吸收能力(oxygen radical absorbance capacity, ORAC)分析法是目前被普遍接受的一个检测抗氧化能力的标准评价方法。该法具有接近机体生理条件、操作简单、认可度和灵敏度高、准确性和重现性好、高通量、不易受人为因素干扰等优点,被广泛用于食品、保健品、药品及医学领域。本文主要对ORAC分析法的发展状况及应用进行综述。

关键词: ORAC; 抗氧化剂; 抗氧化能力; 自由基; 荧光素; β -藻红蛋白

中图分类号: O657 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2013)01-0097-05

Development and application of oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

Yin Jian, Li Wanfang, Wang Aiping, Wei Jinfeng

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences Beijing 100050, China)

Abstract: Free radicals have close relationship with various human diseases. In the course of free radicals scavenging, antioxidants play an important role. So it is critical to understand the role and capacity of the antioxidants. ORAC (oxygen radical absorbance capacity) assay is the generally accepted standard method for antioxidant capacity assessment. It has the advantages of being similar to physiological condition, simple, good acceptability, high sensitivity, good accuracy and repeatability, high throughput and not easily interfered by human factors. The assay of ORAC has been widely applied in the field of food, health food, pharmacy and medical science. This paper mainly reviewed the development and application of the ORAC analysis.

Key words: ORAC; antioxidants; antioxidant capacity; free radical; fluorescein; β -phycoerythrin

自由基与多种人类疾病的发生发展都有着密切关系。在清除自由基的过程中,抗氧化剂发挥着重要作用。因此,了解抗氧化剂的作用及能力就显得至关重要^[1-2]。在评价抗氧化剂能力的诸多方法中,氧自由基吸收能力(oxygen radical absorbance capacity, ORAC)分析法,被认定为检测抗氧化剂抗氧化能力的标准方法,是目前普遍被接受的一个标准评价手段。本文主要针对ORAC分析法的研究进展进行综述。

1 ORAC 分析法的基本原理和测定方法

ORAC 是氧自由基吸收能力(oxygen radical absorbance capacity)的缩写,也被称为抗氧化能力指数,是目前普遍被接受的一个抗氧化能力评价手

段。ORAC 分析法中的自由基主要来源于偶氮化合物 2,2'-偶氮-双-(2-脒基丙烷)氯化二氢[2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride, AAPH]热分解产生的过氧化氢自由基,也可以是芬顿(Fenton)反应过程中产生的羟自由基,以荧光素钠(sodium fluorescein, FL)为荧光探针,观察自由基与荧光探针作用后,探针荧光强度的衰退过程,以水溶性维生素 E 类似物(6-hydro-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Trolox)作为抗氧化标准物质^[3-5],检测体系中各种抗氧化剂延缓探针荧光强度衰退的能力,以此评价抗氧化剂的抗氧化能力。ORAC 试验条件下探针荧光强度的衰退不依赖于探针的浓度,而取决于 AAPH 的浓度^[6]。大多数样品不影响 AAPH 的热分解率,而 AAPH 本身也不直接与样品反应。ORAC 分析法可以动态地对抗氧化剂抑制自由基链反应的过程进行监测,并测定其抑制自由基氧化荧光探针的抗氧化活性。

此法的独特之处在于化学反应彻底,并采用抗氧化剂作用下的荧光衰退曲线下面积与无抗氧化剂作用时自由基的荧光衰退曲线下面积之差,即荧

收稿日期:2012-08-31

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81172709)

作者简介:殷健 女 博士 研究方向为药理学

E-mail: yinjian@imm. ac. cn

通信作者:魏金锋 男 副研究员 研究方向为毒理学

E-mail: weijin@imm. ac. cn

光衰退曲线的延迟部分面积(AUC),作为抗氧化剂的保护面积,以此保护面积与抗氧化标准物质(Trolox)的保护面积的比值作为抗氧化剂的ORAC值。此外,实验需要设定两种对照,即不添加自由基的荧光探针荧光自然衰减对照(-AAPH)和没有抗氧化剂存在时的自由基对照(+AAPH)。整个反应体系应恒定保持37℃,采用动力学方式监测反应体系荧光强度的变化,直至荧光强度衰减至基线为止。ORAC值以Trolox为当量进行表达,其计算公式为:ORAC值 = $[(AUC_{\text{Sample}} - AUC_{+AAPH}) / (AUC_{\text{Trolox}} - AUC_{+AAPH})] \times (\text{molarity of Trolox} / \text{molarity of sample})$

2 ORAC 分析法的影响因素

2.1 温度的影响

ORAC反应对温度敏感,需恒定保持在37℃,需要严格控制温度。整个反应的启动是由AAPH的热分解引起,温度对ORAC结果具有很大的影响。为了减少温度的影响,需在加入AAPH之前将微板在37℃下进行预热,且加入AAPH的时间最好少于1min,这样可以降低温度的影响。

2.2 pH值的影响

荧光探针FL是pH敏感型探针:在pH>7.0的环境下具有高荧光量子产量和长波长(492/515nm,激发/发射);pH<7.0时,它的荧光强度会迅速下降。因此,反应体系中要加入磷酸盐缓冲液,以保证pH值的稳定。

2.3 化学物质及表面活性剂的影响

在ORAC样品处理的过程中,不宜使用含有聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)、乙基苯基聚乙二醇(Nonidet P 40, NP-40)以及十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)等表面活性剂的溶液进行处理。表面活性剂会与抗氧化剂相互竞争,影响荧光探针荧光强度的衰减,使得最后的测定结果不准确。FL的荧光强度可被某些化学物质淬灭,如氨基酸^[7]和过渡金属离子^[8]。金属离子(如EDTA)影响抗氧化剂的稳定性,造成抗氧化值偏低^[9]。

3 ORAC 分析法的发展

3.1 仪器的发展

ORAC分析法最早由Cao等人^[4]提出,随后进入使用COBAS FARA II分析仪的半自动化ORAC分析法^[5]。但由于较低的样品输出效率使得早期的ORAC分析法局限性较大,其中也包括荧光探针与脂类抗氧化剂的不相容性等问题。随后,形成了使用多通道液体处理系统和微板分析仪的全自动

ORAC高通量仪器平台^[10],此平台大大提高了分析效率,检测方法极其灵敏,彻底地减少了样品准备过程中诸多步骤的人为误差,并缩短了分析时间,提高了研究效率。

3.2 探针的发展

ORAC方法中涉及到多种探针^[4],包括β-藻红蛋白(β-PE)^[4]、荧光素钠(FL)^[11]、荧光黄(pyranine)、BODIPY^[12]、邻苯三酚红(PGR, pyrogallol red)^[13]以及N,N-二苯基-p-苯二胺。目前,FL是ORAC分析法中最常用的探针。

3.2.1 β-藻红蛋白(β-PE)

β-藻红蛋白(β-PE)是ORAC分析法最早使用的荧光探针,它具有不同的激发和发射波长、高荧光产量以及对氧自由基灵敏度高和水溶性好等优点。然而β-PE作为探针有一定局限性:①β-PE是一组大分子蛋白,各种PE具有不同的荧光强度,对自由基的反应性也不同。②β-PE不耐光,当暴露在激发光下会发生光学漂白。在没有自由基存在的情况下,由于光学漂白作用,β-PE会损失30%~50%的荧光强度。在没有AAPH的情况下,β-PE在短时间内就会发生显著的荧光强度下降。③β-PE可与多酚(天然产物中一类主要的抗氧化剂)发生反应,这会造成错误性的低ORAC值,其原因是蛋白质的非特异性结合造成的。④β-PE价格昂贵,严重影响到方法验证的标准和成本效益。⑤分离得到的PE的纯度有限制,很难保证不同结果之间的可比性。由此可见β-PE并不是一个理想的探针。

3.2.2 荧光素钠(sodium fluorescein, FL)

FL是目前ORAC分析法中最常用的荧光探针,它结构简单,易被多种自由基氧化成非荧光性的产物,FL的这种性质非常适用于ORAC分析法。FL与抗氧化剂样品以及其他化合物不发生相互作用,不会干扰样品的测定结果,表现出极其出色的耐光性,不发生光学漂白。FL不仅在耐光性和重现性方面都优于β-PE^[6],而且对抗氧化剂的分析具有特异性强、灵敏度高和准确的特点,使得ORAC分析法得到了快速发展和广泛应用,它是一个非常理想的ORAC探针。

3.2.3 其他探针

除了FL和β-PE以外,荧光黄(pyranine)、BODIPY、邻苯三酚红(pyrogallol red, PGR)以及N,N-二苯基-p-苯二胺也可以作为ORAC探针。其中,荧光素、荧光黄和邻苯三酚红均属于亲水性探针,而BODIPY和N,N-二苯基-p-苯二胺属于亲脂性探针。

4 ORAC 分析法的优缺点

4.1 ORAC 分析法的优点

ORAC 分析法的优点在于可以测定具有显著滞后期以及无滞后期抗氧化剂的抗氧化活性。进一步说明,ORAC 对滞后时间和滞后率二者都进行测定,也可用于多成分样品的检测。ORAC 分析法是一个很好的测定纯抗氧化剂和含有多抗氧化剂样品氧自由基清除总量和效率的方法。它的另一个潜在优势是采用过氧化氢自由基作为反应底物,具有与那些生理氧化剂相类似的氧化还原电势和反应机制(如氢原子/电子转移),而且采用生理 pH 值,使得抗氧化剂可以在一个类似于机体总体电荷和质子化状态的环境中反应。ORAC 法对抗氧化性能的评价具有较高的特异性。与其他方法相比,ORAC 方法可以提供稳定可控、并与生命现象具有高度一致性的自由基。

4.2 ORAC 分析法的缺点

ORAC 法简单方便,但还存在内在的缺点:ORAC 数值无法区分抗氧化剂清除自由基的数量和效率。近些年,随着计算机技术和脉冲辐射分解技术的发展,ORAC 法已经具备了通过停滞阶段曲线形状,不仅可以从“量”上报告目前使用的抗氧化剂的曲线下面积,而且还可以根据氧化还原电势对抗氧化剂进行“质”的说明。

ORAC 数值与探针的选择关系密切。以荧光素和 β -藻红蛋白作为探针,Trolox、尿酸和抗坏血酸在低浓度下会得出相同的 ORAC 值;而使用 PGR 作为探针则会产生完全不同的 ORAC 值。一般情况下,ORAC 法中如果使用反应性低的探针往往会高估具有低反应性的抗氧化剂的能力。这个问题也会出现在测定血浆以及其他生物样品的总抗氧化能力的过程中。值得注意的是仅使用一个探针很难分别测定自由基清除的速率和数量^[13-15]。而且,此法没有考虑到抗氧化剂的种类以及抗氧化物与过渡金属离子之间的平衡。

5 ORAC 分析法的改进及扩展

5.1 ORAC 分析法的改进

5.1.1 ORAC-ESR

Kohri 等人^[16-17]提出了 ORAC-ESR(电子自旋共振)分析法。此法采用自旋捕集技术来检测 AAPH 引发的自由基。原理主要基于 AAPH 所引发自由基的自旋捕集反应与由某种化合物造成的自由基消除之间的竞争性反应。自旋捕集反应取决于自旋捕集剂(ST)的种类以及 ST 和目标自由基的浓度,而目标自由基的浓度则取决于自由基引发剂

的浓度和辐照时间,二者是重要的影响因素。ORAC-ESR 分析法可以对竞争性清除烷氧基自由基的抗氧化剂的抗氧化能力进行评价。此法具有以下特点^[18]:①AAPH 引发的自由基种类主要是烷氧基自由基($RO\cdot$),R 代表 $H_2N(HN)C-C(CH_3)_2$ 基团。②在自由基分析反应基础上比较理想的试验条件是 1mmol AAPH、10mmol ST 和 5s 的 UV-辐照时间。③重现性好。④在化学计量试验条件下进行。⑤获得的 ORAC 数值准确。

5.1.2 ORAC-PGR

López-Alarcón 和 Lissi^[19]提出了 ORAC-PGR(pyrogallol red, 邻苯三酚红)分析法,此法采用邻苯三酚红作为探针分子,所得的 ORAC 值受到所检测化合物反应性的影响,且 PGR 不存在诱导时间,广泛用于各种茶类、饮料(如葡萄酒)、血浆和尿液抗氧化能力的检测。ORAC-PGR 分析法对多酚类抗氧化剂的检测相关性优于 ORAC-FL^[20]。

5.1.3 环糊精的使用

ORAC-FL 和 ORAC-ESR 都是以水为介质的方法,而大部分抗氧化剂都被划分为亲脂性化合物,如黄酮类。抗氧化剂的低溶解性和分散性大大限制了 ORAC 方法的应用^[21-22]。Huang 等人^[23]使用 β -环糊精来增加亲脂性抗氧化剂的溶解度,如羟丙基- β -环糊精^[24]和 2,6-di-O-甲基化 β -环糊精^[25]等。但是,Folch-Cano 等人^[26]研究表明环糊精-包容物对某些儿茶酸的 ORAC 分析结果有影响。

5.2 ORAC 分析法的扩展

通过使用不同的荧光探针、自由基引发剂以及抗氧化标准物质,ORAC 分析法可以对不同的自由基进行检测,使得 ORAC 分析法得到了很大程度上的扩展。①羟基自由基的清除:羟自由基可以通过 $Co(II)$ 介导的 Fenton 样反应产生,试验条件下羟自由基的形成可以间接地通过羟基化对羟基苯甲酸来确定。Ou 等人^[27]使用 FL 作为探针,五倍子酸(Gallic acid)作为抗氧化标准物质,测定抗氧化剂对羟自由基的清除能力。②氧亚硝基阴离子的清除:Schauss 等人^[28]使用二氢罗丹明 123(DHR123)作为荧光探针,3-Morpholinopyridone(SIN-1)作为自由基引发剂,Trolox 作为抗氧化标准物质,测定抗氧化剂对氧亚硝基阴离子的清除能力。③超氧阴离子的清除:Chung 等人^[29]使用 Hydroethidine(HE)为荧光探针,黄嘌呤氧化酶为超氧阴离子引发剂,超氧化物歧化酶为抗氧化标准物质,测定抗氧化剂对超氧阴离子的清除能力。

6 ORAC 分析法的应用

ORAC 分析法广泛用于检测多种物质的抗氧化能力,如化合物、食品、生物液体、精油、营养补充品、香料、水果、蔬菜、果汁以及化妆品^[3,6,30-33]。Etsuo 等^[34]使用荧光黄(pyranine)作为荧光探针,对 BO-653 和尿酸的抗氧化活性进行检测,又将二者对人类血浆的脂质过氧化抑制能力进行对比。结果表明,ORAC 分析法适用于评价自由基清除能力,但不适合于评价抑制脂质过氧化的抗氧化能力。Wang 和 Lin 等人^[35]使用 ORAC 法发现红草莓、黑色覆盆子和蓝莓都具有很高的抗氧化水平。Davalos 等人^[35]采用 ORAC 法同时对葡萄酒和膳食中抗氧化剂进行检测,发现葡萄酒的抗氧化能力取决于葡萄的种类和酿造程序。而膳食中抗氧化剂的抗氧化能力低于纯黄酮化合物。ORAC 法也可用于蔬菜和草药的筛选。ORAC 法还可以用来检测人乳的抗氧化能力^[36-37]。ORAC 法在检测人血浆、蛋白质、DNA、纯抗氧化物质和植物/食品提取物中抗氧化剂的自由基清除能力方面应用非常广泛^[38]。Ishimoto^[39]等人使用 ORAC 法对鞣花单宁、绿原酸和没食子酸代谢物的抗氧化能力进行了评价,结果表明,这些代谢物作为生物抗氧化剂均发挥着重要的作用。

随着 ORAC 抗氧化能力评价方法的不断完善,人工造模、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。ORAC 是目前被普遍接受的一个标准的抗氧化能力评价方法,具有接近机体生理反应、认可度和灵敏度高、准确性和重现性好等优点,广泛应用于抗氧化剂和氧化应激及化妆品、天然食品和医学领域,以及农产品的生产、抗氧化物的质量控制、抗氧化物的临床研究及抗衰老的临床评估。ORAC 分析法的发展对抗氧化能力的测定、氧化应激以及多种疾病发病机制的研究都具有重大意义,更有助于人类生活水平和健康水平的提高。

参考文献

- [1] Halliwell B, Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine [M]. fourth ed. Clarendon, Oxford, UK, 2007.
- [2] Papas A M. Antioxidant status, diet, nutrition and health [M]. CRC Press, 1999, Boca Laton, USA.
- [3] Prior R L, Wu X L, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53: 4290-4302.
- [4] Cao G, Alessio H M, Cutler R G. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants [J]. Free Radic Biol Med, 1993, 14 (3): 303-311.
- [5] Cao G, Verdon C P, Wu A H, et al. Automated assay of oxygen radical absorbance capacity with the COBAS FARA II [J]. Clin Chem, 1995, 41 (12 Pt 1): 1738-1744.
- [6] Ou B X, Hampsch-Woodill M, Prior R L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49: 4619-4626.
- [7] Togashi D M, Szczupak B, Ryder A G, et al. Investigating tryptophan quenching of fluorescein fluorescence under protolytic equilibrium [J]. J Phys Chem A, 2009, 113: 2757-2767.
- [8] Posokhov Y O, Kyrychenko A, Ladokhin A S. Steady-state and time-resolved fluorescence quenching with transition metal ions as short-distance probes for protein conformation [J]. Anal Biochem, 2010, 407: 284-286.
- [9] Nkhili E, Brat P. Reexamination of the ORAC assay: effect of metal ions [J]. Anal Bioanal Chem, 2011, 400: 1451-1458.
- [10] Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, et al. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(16): 4437-4444.
- [11] Naguib Y M. A fluorometric method for measurement of oxygen radical-scavenging activity of water-soluble antioxidants [J]. Anal Biochem, 2000, 284: 93-98.
- [12] Naguib Y M. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids [J]. J Agric Food Chem, 2000, 48: 1150-1154.
- [13] Niki E. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo [J]. Free Radic Biol Med, 2010, 49: 503-515.
- [14] Niki E, Omata Y, Fukuhara A, et al. Assessment of radical scavenging capacity and lipid peroxidation inhibiting capacity of antioxidant [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56: 8255-8260.
- [15] Litescu S C, Eremia S, Radu G L. Methods for the determination of antioxidant capacity in food and raw materials [J]. Adv Exp Med Biol, 2011, 698: 241-249.
- [16] Kohri S, Fujii H, Oowada S, et al. An oxygen radical absorbance capacity-like assay that directly quantifies the antioxidant's scavenging capacity against AAPH-derived free radicals [J]. Anal Biochem, 2009, 386: 167-171.
- [17] Endo N, Oowada S, Sueishi Y, et al. Serum hydroxyl radical scavenging capacity as quantified with iron-free hydroxyl radical source [J]. J Clin Biochem Nutr, 2009, 45: 193-201.
- [18] Nakajima A, Matsuda E, Masuda Y, et al. Characteristics of the spin-trapping reaction of a free radical derived from AAPH: further development of the ORA-ESR assay [J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 403: 1961-1970.
- [19] López-Alarcón C, Lissi E. A novel and simple ORAC methodology based on the interaction of pyrogallol red with peroxy radicals [J]. Free Radical Research, 2006, 40 (9): 979-985.
- [20] Atala E, Vásquez L, Speisky H, et al. Ascorbic acid contribution to ORAC values in berry extracts: An evaluation by the ORAC-pyrogallol red methodology [J]. Food Chemistry, 2009, 113: 331-335.
- [21] Bangaore D V, McGlynn W, Scott DD. Effect of β -cyclodextrin in improving the correlation between lycopene concentration and ORAC values [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53: 1878-1883.

- [22] Mercader-Ros M T, Lucas-Abellón C, Fortea M I, et al. Effect of HP- β -cyclodextrins complexation on the antioxidant activity of flavonols [J]. Food Chem, 2010, 118: 769-773.
- [23] Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, et al. Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated beta-cyclodextrin as the solubility enhancer [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50: 1815-1821.
- [24] Kim H, Choi J, Jung S. Inclusion complexes of modified cyclodextrins with some flavonols [J]. J Incl Phenom Macrocycl Chem, 2009, 64: 43-47.
- [25] Sueishi Y, Ishikawa M, Yoshioka D, et al. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of cyclodextrin-solubilized flavonoids, resveratrol and astaxanthin as measured with the ORAC-EPR method [J]. J Clin Biochem Nutr, 2012, 50: 127-132.
- [26] Folch-Cano C, Jullian C, Speisky H, et al. Antioxidant activity of inclusion complexes of tea catechins with β -cyclodextrins by ORAC assays [J]. Food Res Int, 2010, 43: 2039-2044.
- [27] Ou B, Hampsch-Woodill M, Flanagan J, et al. Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50 (10): 2772-2777.
- [28] Schauss AG, Wu X, Prior RL, et al. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm berry, Euterpe oleracea mart. (acai) [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(22): 8604-8610.
- [29] Zhang L, Huang D, Kondo M, et al. Novel high-throughput assay for Antioxidant Capacity against Superoxide Anion [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(7):2661-2667.
- [30] Prior R L, Hoang H, Gu L, et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC_{FL})) of plasma and other biological and food samples [J]. J Agric Food Chem, 2003, 51 (11): 3273-3279.
- [31] Fernández-Pachón M S, Villaño D, Troncoso AM. Antioxidant capacity of plasma after red wine intake in human volunteers [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53 (12):5024-5029.
- [32] Bank G, Schauss A. Antioxidant testing: an ORAC update; Evaluating antioxidant capacity is challenging beot ORAC and other associated methods may be the best sdution amidst all of the confusion [J/OL]. USA: Nutraceuticals World, 2004. [2012 - 08 - 30]. [http://www.thefreelibrary.com/Antioxidanb + testing% 3A + an + ORAC + update% 3B + Evaluating + antioxidant + cafacility...-a0114704238](http://www.thefreelibrary.com/Antioxidanb+testing%3A+an+ORAC+update%3B+Evaluating+antioxidant+cafacility...-a0114704238).
- [33] Nerin C, Tovar L, Djenane D, et al. Stabilization of beef meat by a new active packaging containing natural antioxidants [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(20):7840-7846.
- [34] Niki E, Fukuhara A, Omata Y, et al. Antioxidant capacity of BO-653, 2, 3-dihydro-5-hydroxy-4, 6-di-tert-butyl-2, 2-dipentylbenzofuran, and uric acid as evaluated by ORAC method and inhibition of lipid peroxidation [J]. Bioorg Med Chem Let, 2008, 18: 2464-2466.
- [35] Bentayeb K, Vera P, Rubio C, et al. Adaptation of the ORAC assay to the common laboratory equipment and subsequent application to antioxidant plastic films [J]. Anal Bioanal Chem, 2009, 394 (3): 903-910.
- [36] Alberti-Fidanza A, Burini G, Perriello G. Total antioxidant capacity of colostrum, and transitional and mature human milk [J]. The Journal of Maternal Fetal and Neonatal Medicine, 2002, 11(4): 275-279.
- [37] Sténoz A T, Elisia I, Innis S M, et al. Use of ORAC to assess antioxidant capacity of human milk [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2009, 22(7-8): 694-698.
- [38] Prior R L, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods [J]. Free Rad Biol Med, 1999, 27(11-12): 1173-1181.
- [39] Ishimoto H, Tai A, Yoshimura M, et al. Antioxidative properties of functional polyphenols and their metabolites assessed by an ORAC Assay [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2012, 76: 395-399.

公告栏

关于批准焦磷酸一氢三钠等5种食品添加剂新品种的公告

2012年 第15号

根据《中华人民共和国食品安全法》和《食品添加剂新品种管理办法》的规定,经审核,现批准焦磷酸一氢三钠等5种食品添加剂新品种,批准乳酸钙等13种食品添加剂、白油(液体石蜡)等5种食品用加工助剂和铁等8种食品营养强化剂扩大使用范围及用量,增补已批准食品添加剂葡萄糖酸- δ -内酯的质量规格要求,增补食品用酶制剂蛋白酶的原料来源。

特此公告。

添加剂公告附件.pdf(略)

卫生部

二〇一二年八月十七日