ارزیابی دو روش TRAP و FRAP جهت تعیین پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش صحرایی

حسین طایفی نصرآبادی[1]، رضا خدارحمی[2]

1- استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز

2- استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

یافته / دوره نهم / شماره 3 / پاییز 86 / مسلسل 33

چکیده

دریافت مقاله: 86/3/23، **پذیرش مقاله**: 86/7/29

Ø مقدمه : با توجه به اینکه مواد آنتی اکسیدان موجود در سرم یا پلاسما متعدد بوده و همچنین میانکنش های بین هر آنتی اکسیدان و شناساگر مربوطه متفاوت می باشد، لذا روشهای مختلفی برای تعیین پتانسیل آنتی اکسیدانی تام، بوجود آمده است. در این تحقیق، دو روش **TRAP** و **FRAP** جهت اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش، مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت.

Ø مواد و روش‌ها: جهت تهیه نمونه خون، تعداد 10 موش صحرایی (جنس نر، نژاد ویستار) با میانگین وزنی 5 ± 190 گرم و سن 8 هفته به طور تصادفی انتخاب گردیدند. برای اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش از روش **TRAP**، میزان کاهش جذب ماده فلورسانت **R**-فیکواریترین در حضور رادیکال **AAPH** و سرم خون بوسیله اسپکتروفلوریمتر اندازه گیری شد. در روش **FRAP**، افزایش جذب کمپلکس **TPTZ**-کلریدآهن (**III**) توسط آنتی اکسیدان موجود در سرم در طول موج 593 نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر اندازه گیری گردید. نتایج بدست آمده از هر دو روش با استفاده از استاندارد **Trolox** به واحد **mmol Trolox equivalent/L** تبدیل گردید.

Ø یافته‌ها: نتایج این بررسی نشان داد که زمان نمونه گیری تاثیری بر میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش ها ندارد. همچنین مقایسه نتایج بدست آمده از دو روش **TRAP** و **FRAP** نشان داد که مقدار پتانسیل آنتی اکسیدانی تام بدست آمده از روش **TRAP** تقریبا 3 مرتبه از روش **FRAP** بالاتر است. بیشترین درصد پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم بدست آمده از روش**TRAP** مربوط به آلبومین (30/33%) و در روش **FRAP** مربوط به آنتی اکسیدان اسید اوریک (57/13%) بود. علاوه بر این، میزان سهم آنتی اکسیدان **β**-کاروتن در روش **TRAP** برابر با 7/22% درحالیکه در روش **FRAP** برابر با صفر درصد بود.

Ø بحث و نتیجه گیری: پتانسیل آنتی اکسیدانی یک ماده آنتی اکسیدان برعلیه رادیکالهای آزاد، ضرورتا با توانایی آن ماده در احیاء آهن فریک به آهن فروس برابر نمی باشد.

Ø کلید واژه‌ها: رادیکال آزاد، روش **TRAP**، روش **FRAP**، آنتی اکسیدان

آدرس مکاتبه: تبریز - بلوار 29 بهمن، دانشگاه تبریز، دانشکده دامپزشکی

پست الکترونیک: tayefi@tabrizu.ac.ir

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]

مقدمه

تولید رادیکال آزاد و گونه های واکنشگر اکسیژن یکی از مسائل غیر قابل اجتناب در فرایند متابولیسم محسوب می شود. این ترکیبات به علت پتانسیل بالا در تخریب درشت ملکول های زیستی مانند DNA، پروتئین ها و چربی ها یکی از عوامل اصلی پدیده پیری و بیش از یکصد نوع بیماری مختلف در بدن محسوب می شوند (2-1).

موجودات زنده نیز جهت مقابله و خنثی نمودن اثر این گونه مواد واکنشگر، دارای سازوکارهای مختلفی از جمله سیستم های دفاعی آنتی اکسیدان می باشند. این سیستم ها شامل آنزیمهای سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و درشت ملکول هایی از قبیل آلبومین، سرولوپلاسمین، فریتین و ملکولهای کوچکی از جمله اسیدآسکوربیک، α-توکوفرول، β-کاروتن، یو بیکوئینول، گلوتاتیون احیاء (GSH)، متیونین، اسید اوریک و بیلی روبین می باشند (3). به طور کلی آنتی اکسیدانها، رادیکالهای آزاد را با دو مکانیسم اصلی غیر فعال می نمایند (4). اولین مکانیسم، روش وابسته به انتقال هیدروژن یا HAT[1] نامیده می شود که در آن ماده آنتی اکسیدان با انتقال اتم هیدروژن به رادیکال آزاد باعث غیرفعال شدن آن در محیط می شود (واکنش 1).

(1) $X^0 + AH \rightarrow XH + A^0$

مکانیسم دوم، روش وابسته با انتقال تک الکترون یا SET[2] نامیده می شود. در این روش آنتی اکسیدان با انتقال تک الکترون به رادیکال آزاد، فلزات و یا گروههای کربونیل در محیط واکنش، عملکرد خود را انجام می دهد (واکنش های 2 تا 5).

(2) $X^0 + AH \rightarrow X^- + AH^+$

(3) $AH^{0+} + H_2O \rightarrow A^0 + H_3O^+$

(4) $X^- + H_3O^+ \rightarrow XH + H_2O$

(5) $M(III) + AH \rightarrow AH^+ + M(II)$

با توجه به اینکه مواد آنتی اکسیدان موجود در سرم یا پلاسما متعدد بوده و همچنین میانکنش های بین هر آنتی اکسیدان و شناساگر مربوطه متفاوت می باشد، لذا اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم کاری پیچیده و دشوار است.

با توجه به اینکه اغلب در نمونه های بیولوژیکی هم آنتی اکسیدانهای نوع اول (HAT) و هم آنتی اکسیدانهای نوع دوم (SET) به طور همزمان یافت می شوند لذا روشهای گوناگونی جهت تعیین پتانسیل آنتی اکسیدانی تام نمونه ها بوجود آمده است (9-5). معروفترین این متدها عبارتند از : ORAC[3]، TRAP[4]، FRAP[5] و TEAC[6]. بعضی از این متدها جهت اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدان تام به مکانیسم HAT وابسته بوده (برای مثال ORAC و TRAP)، بعضی دیگر به مکانیسم SET (مانند FRAP) و بعضی دیگر به هر دو مکانیسم HAT و SET وابسته می باشند (مانند TEAC).

هدف از این تحقیق، ارزیابی و مقایسه دو روش TRAP و FRAP جهت اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش صحرایی می باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه یک مطاله تجربی است. ماده AAPH -2,2'] azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride] و TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) از شرکت سیگما-آلدریچ (Sigma-Aldrich) تهیه شد، دیگر مواد شیمیایی به کار رفته در این تحقیق از شرکت مرک (Merck) تهیه شدند.

برای تهیه نمونه خونی، تعداد 10 موش صحرایی (جنس نر و نژاد ویستار) با میانگین وزنی 5 ± 190 گرم و سن 8 هفته به طور راندوم انتخاب گردید. موش ها به مدت 30 روز در شرایط کاملا استاندارد از لحاظ آب، غذا و میزان نور نگهداری شدند. جهت بررسی اثر "مدت زمان" بر میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش، به مدت چهار هفته، هفته ای یکبار و در3200310

1. Hydrogen Atom Transfer
2. Single Electron Transfer
3. Oxygen Radical Absorbance Capacity
4. Total Radical-trapping Antioxidant Potential
5. Ferric Reducing Antioxidant Power
6. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]

یک روز و ساعت مشخص (پس از 8 ساعت گرسنگی) از موش های صحرایی خون گیری به عمل آمد. برای تهیه سرم، نمونه خون به مدت 10 دقیقه با سرعت 3000 دور در دقیقه، سانتریفیوژ گردید.

به منظور اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش از روش TRAP از روش تغییر یافته گیسلی استفاده گردید (10). در این روش (2 ml) محلول واکنش شامل: 7/5 µl ماده R- فیکواریترین (غلظت نهایی 8- 10× 1/5 mol/l)، 8 µl سرم موش، بافر فسفات (75 mmol/l) با pH=7، تهیه گردید. سپس کوت حاوی محلول فوق به مدت 5 دقیقه در دمای 37 درجه سانتی گراد در دستگاه اسپکتروفلوریمتر مدل RF-540 (Shimadzu) انکوبه گردید. جهت شروع واکنش، ماده AAPH با غلظت نهایی 4 mmol/l به محلول واکنش فوق اضافه گردید، آنگاه کاهش جذب ماده فلورسانت R – فیکواریترین در طول موج 575 نانومتر (excitation در 495 نانومتر) تا مدت 120 دقیقه اندازه گیری شد. در این مدت دمای کوت توسط دستگاه فلوریمتر در 37 درجه سانتی گراد ثابت نگه داشته شد. نتایج بدست آمده توسط ماده استاندارد Trolox (آنالوگ محلول در آب α-توکوفرول) با غلظت 120 µmol/l به واحد µmol Trolox equivalent/L تبدیل شد.

برای اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش از طریق FRAP، از روش بنزی و استرین استفاده شد (11). به همین منظور ابتدا محلول کار FRAP به قرار زیر تهیه گردید. میزان 10 ml بافر استات (300 mmol/l، pH= 3/6) با 1 ml از ماده TPTZ محلول در اسید کلریدریک (40mmol/l) مخلوط شد، سپس به محلول فوق 1 ml محلول کلریدفریک (20 mmol/l) اضافه گردید. پس از تهیه محلول کار، 1/5 ml از محلول فوق در کوت به دمای 37 درجه سانتی گراد رسانده شد و جذب آن در طول موج 593 نانومتر اندازه گیری گردید. سپس میزان 50 µl از سرم موش صحرایی به محلول فوق اضافه شد تا واکنش آغاز گردد. تغییرات جذب در طول موج 593 نانومتر و دمای 37 درجه سانتی گراد به مدت 4 دقیقه اندازه گیری شد. پس از کسر جذب بلانک، مقدار FRAP بدست آمده با استفاده از استاندارد Trolox به واحد µmol Trolox equivalent/L تبدیل گردید.

اندازه گیری اختصاصی آنتی اکسیدانهای سرم به شرح زیر انجام گردید مقادیر هریک از آنتی اکسیدانهای آلبومین، بیلی روبین، ویتامین C و اسید اوریک در سرم، به طور جداگانه بوسیله کیت های تجاری زیست- شیمی اندازه گیری شد. همچنین میزان ماده β-کاروتن و رتینول سرم پس از واکنش سرم با اتانول و هگزان بترتیب با نسبت 3:1:1، از طریق اسپکتروفتومتری در طول موج 425 نانومتر (β-کاروتن) و در طول موج 325 نانومتر (رتینول) اندازه گیری گردید (12). میزان سرولوپلاسمین سرم نیز پس از واکنش سرم با ماده پارافنیلن دی آمین در pH=5/4، بوسیله اسپکتروفتومتر در طول موج 550 نانومتر اندازه گیری شد (13). جهت اندازه گیری میزان α-توکوفرول در سرم از روش مارتینک استفاده شد (14). در این روش پس از در معرض قرار گیری سرم با اتانول و گزیلن، محلول رویی بدست آمده در حضور ماده TPTZ و FeCl3 تولید رنگ می نماید که شدت رنگ حاصله با غلظت α-توکوفرول متناسب بوده و در طول موج 600 نانومتر قابل اندازه گیری است. پس از جمع آوری داده ها، داده ها با استفاده از برنامه SPSS و استفاده از آزمون Student t-test آنالیز گردید و اختلاف میانگین ها در سطح P<0/05 معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

جدول 1 مقادیر پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش صحرایی را که در زمان های مختلف از دو روش TRAP و FRAP اندازه گیری شده است را نشان می دهد. بررسی نتایج بدست آمده از هر روش به طور جداگانه نشان می دهد که زمان نمونه گیری (از هفته 1 تا هفته4) تاثیری بر میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش ها ندارد. همچنین با مقایسه نتایج بدست آمده از دو روش TRAP و FRAP مشاهده می شود که مقدار

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]

پتانسیل آنتی اکسیدانی تام بدست آمده از روش TRAP تقریبا 3 مرتبه از روش FRAP بالاتر است.

جدول 2 غلظت تعدادی از آنتی اکسیدانهای اختصاصی سرم موش صحرایی و میزان سهم هر یک از آنها را در پتانسیل آنتی اکسیدانی تام بدست آمده از روش های TRAP و FRAP را نشان می دهد. آنتی اکسیدانهای اختصاصی اندازه گیری شده در سرم موش صحرایی شامل: اسید اوریک، α- توکوفرول، ویتامین C، بیلی روبین، آلبومین، رتینول، سرلوپلاسمین و β-کاروتن می باشند. با مقایسه نتایج بدست آمده در این جدول، مشاهده می شود که از بین آنتی اکسیدانهای موجود، آلبومین بیشترین سهم را در روش TRAP به خود اختصاص داده (30/33 %) درحالیکه بیشترین سهم در روش FRAP مربوط به آنتی اکسیدان اسید اوریک (57/13 %) می باشد. علاوه بر این، میزان سهم آنتی اکسیدان β-کاروتن درTRAP برابر با 7/22 % درحالیکه در روش FRAP برابر با صفر درصد می باشد.

شکل (1) مقایسه دو روشTRAP و FRAP را در اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف گلوتاتیون احیاء (GSH) را نشان می دهد. گلوتاتیون، یک آنتی اکسیدان آمینواسیدی است که عامل فعال آن گروه HS (تیول) می باشد. این ترکیب هم در خون و هم در بافت ها یافت می شود و یکی از نقش های آن، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها در غشاء های بیولوژیکی می باشد. با بررسی پتانسیل آنتی اکسیدانی این ماده توسط دو روش TRAP و FRAP مشاهده شد تا غلظت 50 mg/dl گلوتاتیون، میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی بدست آمده از روش FRAP تقریبا برابر با صفر است، درحالیکه در روش TRAP، بتدریج به افزایش غلظت گلوتاتیون احیاء میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی بدست آمده نیز افزایش می یابد.

جدول شماره 1- پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش صحرایی که با فاصله زمانی هر هفته یکبار توسط روشهای TRAP و FRAP اندازه گیری شده است

روش	هفته1	هفته2	هفته3	هفته4
		μmol Trolox equivalent/L*		
TRAP	45±988/7	55±985/9	28±990/1	35±989/3
FRAP	16 ±329/2	23 ±327/6	12 ±335/1	17±330/7

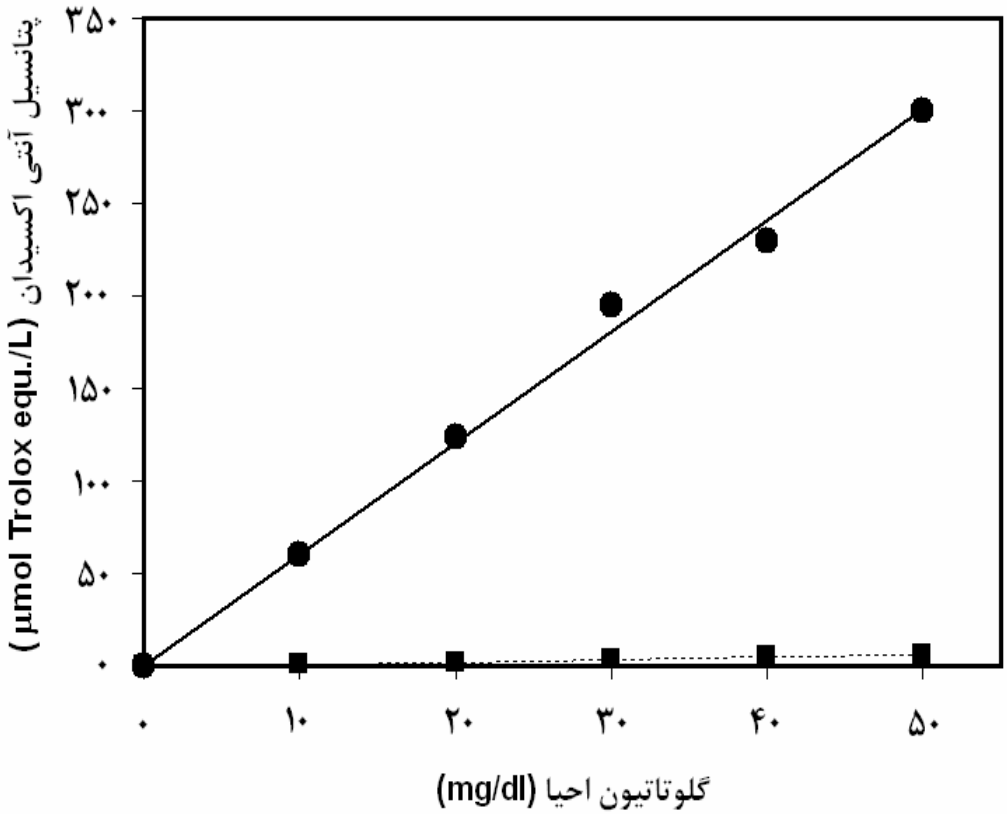
*داده ها به صورت SD ± نمایش داده شده است. تعداد موشهای صحرایی انتخاب شده در این آزمایش 10 عدد با میانگین وزنی 5 ± 190 گرم می باشد.

جدول شماره 2- غلظت آنتی اکسیدانهای اختصاصی سرم موش صحرایی و میزان سهم هر کدام از آنها در پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم از روشهای TRAP و FRAP

نام آنتی اکسیدان	غلظت آنتی اکسیدان در سرم موش صحرایی (mg/dl)	میزان سهم (%) آنتی اکسیدان در روش TRAP	میزان سهم (%) آنتی اکسیدان در روش FRAP
α-توکوفرول	0/02 ±0/19	2/13	6/21
Cویتامین	0/02 ±0/55	3/51	12/31
آلبومین	25 ±3730	30/33	3/12
اسید اوریک	0/45 ±1/3	10/53	57/13
بیلی روبین	0/05 ±0/43	1/01	3
سرولوپلاسمین	0/23 ±18/5	7/1	3
رتینول	0/33 ±51/42	5/2	2/1
β- کاروتن	0/95 ±23/2	7/32	صفر
آنتی اکسیدانهای دیگر	.....	32/87	13/13

* تمام پارامترهای آنتی اکسیدانی سرم از تعداد10موش صحرایی که با فاصله زمانی هر هفته یکبار خونگیری شده اند در طول یک دوره 4 هفته ای بدست آمده است. جهت محاسبه سهم هر یک از آنتی اکسیدانها در پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم حاصل از روشهای TRAP و FRAP، غلظت خاصی (غلظتهای موجود در ستون اول) از آنتی اکسیدانهای فوق تهیه گردید. سپس میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی هر آنتی اکسیدان بطور جداگانه توسط روش TRAP و FRAP اندازه گیری گردید آنگاه نتایج بدست آمده با پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش صحرایی مقایسه و بصورت درصد بیان گردید.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]



شکل شماره 1- بررسی پتانسیل آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف گلوتاتیون احیاء از طریق روش های TRAP (۰) و FRAP (■). افزایش غلظت گلوتاتیون احیاء تا mg/dl 50 تاثیری بر پتانسیل آنتی اکسیدانی بدست آمده از روش FRAP ندارد درحالیکه پتانسیل آنتی اکسیدانی بدست آمده از روش TRAP رابطه خطی با غلظت گلوتاتیون احیاء نشان می دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه در بررسی پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش صحرایی از دو روش TRAP و FRAP نشان داد که زمان نمونه گیری (هفته 1 تا هفته 4) تاثیری بر میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی تام بدست آمده از دو روش فوق ندارد. این نتیجه بیانگر این نکته است که سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی بدن، یک مکانیسم هوموستاتیک تنظیم شده دارد که بدن را برای مقابله با استرس اکسیداتیو ناشی از اثر رادیکالهای آزاد و گونه های واکنشگری که به طور ممتد در بدن تولید می شوند، در حال آماده باش نگه می دارد. این نتیجه نیز منطقی بنظر می رسد، زیرا تولید رادیکال های آزاد و گونه های واکنشگر اکسیژن یکی از مسائل غیر قابل اجتناب در فرایند متابولیسم در بدن محسوب می شود. اگر چنین آمادگی در بدن در جهت خنثی نمودن رادیکالهای آزاد وجود نداشته باشد، با توجه به پتانسیل بالای این ترکیبات در تخریب درشت ملکول های زیستی از جمله DNA، پروتئین ها و چربی ها، بقای موجودات زنده با خطر مواجه خواهد بود. همچنین بررسی نتایج بدست آمده از روش TRAP و FRAP نشان داد که میزان پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش صحرایی بدست آمده از روش TRAP، تقریبا سه برابر روش FRAP می باشد (بترتیب 988/7±45/3 و 56/6 ± 329/2 µmol Trolox equivalent/L). علت این امر را می توان به تکنولوژی مختلف و جداگانه ای که هر روش جهت سنجش مقادیر پتانسیل آنتی اکسیدانی تام به کار می برد نسبت داد. روش

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]

TRAP، یک روش مهاری است که در آن نمونه حاوی آنتی اکسیدان به یک سیستم تولید کننده رادیکال آزاد اضافه شده و در نتیجه میزان مهار رادیکالهای آزاد بوسیله آنتی اکسیدان در محلول واکنش، اندازه گیری می شود (10). درحالیکه در روش FRAP از رادیکالهای آزاد جهت تعیین پتانسیل آنتی اکسیدانها استفاده نمی شود بلکه فقط توانایی احیاء شدن آهن فریک (Fe^{3+}) به آهن فروس (Fe^{2+}) توسط آنتی اکسیدان در نمونه، اندازه گیری می شود (11)، لذا پتانسیل آنتی اکسیدانی یک ماده آنتی اکسیدان برعلیه رادیکالهای آزاد، ضرورتا با توانایی آن ماده در احیاء آهن فریک به آهن فروس با هم برابر نمی باشد. جهت تایید این نتیجه، آزمایش دیگری در بررسی پتانسیل آنتی اکسیدانی هر یک از آنتی اکسیدانهای سرم بطور جداگانه و همچنین بررسی میزان سهم هر یک از آنها در پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم از دو روش TRAP و FRAP، انجام گرفت. نتایج نشان داد که، سهم آنتی اکسیدانی آلبومین در پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش در روش TRAP از بقیه آنتی اکسیدانهای سرم بیشتر بوده (30/33%)، درحالیکه در روش FRAP این سهم بسیار کم می باشد (3/12%). علاوه بر این، میزان سهم آنتی اکسیدان β-کاروتن در روش FRAP صفر درصد، درحالیکه در روش TRAP برابر با 7/32% بدست آمد. این نتایج بیانگر این نکته است که روش FRAP روش مناسبی جهت اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانهای پروتئینی منجمله آلبومین و همچنین روش مناسبی جهت اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی ماده β-کاروتن نمی باشد. علاوه بر این با بررسی دو روش TRAP و FRAP در اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی ماده گلوتاتیون (GSH) در غلظت های مختلف، نشان داده شد که روش FRAP برخلاف روش TRAP قادر به سنجش پتانسیل آنتی اکسیدانی گروههای تیول (SH) نمی باشد. با توجه به اینکه روش FRAP یک روش وابسته به مکانیسم انتقال تک الکترون (SET) محسوب شده و روش TRAP نیز یک روش وابسته به انتقال هیدروژن (HET) می باشد، درنتیجه عدم توانایی سنجش پتانسیل آنتی اکسیدانی ترکیبات آلبومین، گلوتاتیون و β-کاروتن توسط روش FRAP را به این پدیده می توان نسبت داد که احتمالاً آنتی اکسیدانهای آلبومین، β-کاروتن و گلوتاتیون فقط از طریق مکانیسم HET، باعث غیرفعال کردن رادیکالهای آزاد در سرم خون می شوند.

با مقایسه دو روش TRAP و FRAP جهت اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی تام سرم موش نتیجه گیری شد که پتانسیل آنتی اکسیدانی یک ماده آنتی اکسیدان برعلیه رادیکالهای آزاد، ضرورتا با توانایی آن ماده در احیاء آهن فریک به آهن فروس با هم برابر نمی باشد. اگرچه روش FRAP نسبت به روش TRAP روشی ساده و ارزان قیمت تر محسوب می شود ولی به علت عدم توانایی این روش در اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی بعضی از مواد از جمله آلبومین، β-کاروتن و مواد حاوی گروه تیول، این روش متد مناسبی جهت اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی تام محسوب نمی شود.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]

References

1. Nagy IZ. On the true role of oxygen free radicals in the living state, aging, and degenerative disorders, Ann N Y Acad Sci. 2001; 928: 187-199
2. Ames BN, Shigensaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci U S A 1993; 90: 7915-7922
3. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev. 1994; 74: 139-162
4. Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. J Agric Food Chem. 2005; 53(6): 1841-1856
5. Wayner DDM. et al. Quantitative measurement of the total, peroxyl radical-trapping antioxidant capacity of human blood plasma by controlled peroxidation. FEBS Lett 1985; 187: 33-37
6. Glazer AN. Phycoerythrin fluorescence-based assay for reactive oxygen species. Methods Enzymol 1990; 186: 161-168
7. Miller NJ, et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clin Sci 1993; 84: 407-412
8. Whitehead TP, Thorpe GHG, Maxwell SRJ. Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids. Anal Chim Acta 1992; 266: 265-277
9. Cao G, Alessio HM, Cutler RG. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. Free Rad Biol Med 1993; 14: 303-311
10. Ghiselli A. et al. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. Free Radic Biol Med. 1995; 18(1): 29-36
11. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem 1996; 239: 70-76
12. Suzuki J, Katoh N. A simple and cheap methods for measuring serum vitamin A in cattle using only a spectrophotometer. Nippon Juigaku Zasshi 1990; 52: 1281-1283
13. Sunderman FW Jr, Nomoto S. Measurement of human serum ceruloplasmin by its p-phenylenediamine oxidase activity. Clin Chem 1970; 16: 903-910
14. Martinek RG. Method for the determination of vitamin E (total tocopherols) in serum. Clin Chem 1964; 10: 1078-1086

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]