

参考文献

- [1] 章荣华, 祝一虹. 中老年人营养状况与骨质疏松症发生的调查分析 [J]. 中国慢性病预防与控制, 2004, 11 (4): 186-187.
- [2] 李万里, 田玉慧, 宋笑飞, 等. 老年人膳食营养及头发矿物质含量与 BMD 的关系 [J]. 中国老年学杂志, 2006, 26 (1): 3-5.
- [3] 王洪复. 骨质疏松症的诊断 [J]. 国际内分泌代谢杂志, 2006, 26 (4): 285-288.
- [4] Zhang C X, Ho S C. Validity and reproducibility of a food frequency Questionnaire among Chinese women in Guangdong province [J]. Asia Pac J Clin Nutr, 2009, 18 (2): 240-250.
- [5] 李万里, 田玉慧, 卜勇军, 等. 老年妇女膳食营养素与骨密度相关因素研究 [J]. 实用预防医学, 2002, 9 (6): 586-587.
- [6] Hall J C, Riley R E. Nutritional strategies to reduce the risk of osteoporosis [J]. Medsurg Nurs, 1999, 8 (5): 281-293; quiz 294-285.
- [7] 劳山, 蒋凤艳, 莫凤媚. 牛奶及运动对中老年妇女骨密度影响的研究 [J]. 广西医学, 2005, 27 (7): 991-993.
- [8] Promislow J H, Goodman-Gruen D, Slymen D J, et al. Protein consumption and bone mineral density in the elderly: the Rancho Bernardo Study [J]. Am J Epidemiol, 2002, 155 (7): 636-644.
- [9] New S A. Intake of fruit and vegetables: implications for bone health [J]. Proc Nutr Soc, 2003, 62 (4): 889-899.

不同抗氧化活性的蔬菜对老年人群抗氧化防御体系功能的影响

吉琳琳 吴健全 高蔚娜 韦京豫 杨继军 郭长江

(卫生学环境医学研究所, 天津 300050)

摘要:目的 观察不同抗氧化活性蔬菜对老年志愿者抗氧化功能的干预作用, 为进一步研究蔬菜抗衰老有效成分提供理论依据。方法 选用抗氧化活性较强的藕及抗氧化活性较弱的黄瓜新鲜榨汁, 采用冷冻真空干燥法制作蔬菜粉; 将 25 名老年志愿者随机分为 2 组, 每天食用指定蔬菜粉, 冲水服用, 剂量为 250ml, 试验周期 30 天, 试验前后测定血浆抗氧化物质含量、抗氧化酶活性、血清及尿中自由基氧化产物、外周淋巴细胞 DNA 损伤等相关指标。结果 两组志愿者血浆 FRAP 值试验前后变化不明显, GSH-PX 活性、VC、多酚含量显著性升高, 红细胞溶血敏感性显著性降低, 但两组之间没有统计学差异; 试验末, 藕组志愿者 SOD 活性显著高于黄瓜粉组; 彗星实验结果显示藕组外周淋巴细胞 DNA 损伤率及黄瓜粉组尾长/总长显著性降低。结论 两种蔬菜均对老年志愿者机体抗氧化防御体系均有一定的改善作用, 但未能证明体外抗氧化活性较强的藕改善作用显著优于抗氧化活性较弱的黄瓜。蔬菜中所含的多酚物质可能是发挥保护作用的主要功能成分, 但不排除多种抗氧化物质协同发挥作用的可能性。

关键词: 蔬菜; 老年人; 抗氧化功能

随着城市化和工业化进程, 我国老年人口数量稳步上升, 2005 年 60 岁以上的老年人口占总人口 15%, 2050 年将上升到 28% 以上。老年人的健康水平及其生活质量关系到国家的稳定和发展。而衰老

是机体不可避免的生理过程, 有关衰老的机制目前尚不清楚^[1,2]。其中, 英国的 Harman 于 1956 年提出的衰老自由基学说已经得到许多研究结果的支持^[3]。他认为在衰老的过程中, 机体的抗氧化防御体系功

能下降,产生大量自由基,而自由基能攻击生物大分子,导致酶失活、膜脂质过氧化、蛋白质和核酸损伤,引起各种疾病的出现。据报道,自由基所引起的疾病已超过100余种,如动脉粥样硬化、肿瘤、心脏疾病、消化道疾病等^[4]。

日常生活中,蔬菜不仅提供人体所需要的多种维生素、矿物质等营养成分,更为重要的是其中含有多重抗氧化物质,如VC、VE、类胡萝卜素、酚类化合物,它们可通过清除活性氧自由基、增强抗氧化酶活性、减少脂质过氧化及DNA损伤发挥抗氧化作用。大量流行病学研究发现,新鲜果蔬的摄入量与心脑血管、肿瘤等发病率及死亡率呈负相关^[5,6]。Lampe推测果蔬保护作用主要与其抗氧化作用相关。一些体外研究也证实果蔬对多种自由基均有显著的清除作用^[7]。

本课题在研究蔬菜抗氧化活性的基础,通过老年人体试验,探讨每天食用不同抗氧化活性的蔬菜制品对衰老机体抗氧化防御体系功能的影响,旨在从改善衰老机体抗氧化防御体系功能的角度说明特定蔬菜对于老年人群健康的重要性,同时为衰老的营养干预和天然抗氧化物质的研究开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 干预物质

人体试验中选用了抗氧化活性、VC、总多酚含量有较大差异的两种蔬菜粉—藕粉和黄瓜粉。两种蔬菜粉均是将新鲜蔬菜榨汁,委托天津市东江有限公司采用冷冻真空干燥法进行制备。我国居民膳食指南推荐每人每天蔬菜摄入量最低300g,根据蔬菜粉干燥率确定藕粉、黄瓜粉每天的摄入量分别为25g、12.5g。

1.2 干预方案

选择天津市某居民区退休干部25名,年龄在60~70岁,不吸烟,无严重高血压、心、肝、肾、肺疾病。志愿者在试验期间不服用任何抗氧化剂,试验前按中国营养学会颁布的“中国居民膳食指南”对受试老年人群进行膳食指导,规定不食用试验指定的蔬菜。由于蔬菜是人类膳食中不可缺少的食物,因此本试验未设立空白对照组,只设有抗氧化活性较强的藕粉组及抗氧化活性较弱的黄瓜粉组。根据随机抽签的结果,将志愿者随机分入藕粉组及黄瓜粉组,每人每天食用指定的蔬菜粉一袋,采用温开水冲泡,剂量为250ml,试验周期为30天。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 血浆总抗氧化活性:FRAP法^[8]。

1.3.2 血浆抗氧化物质VC、VE、GSH、多酚、尿酸含量

VC:2,4-二硝基苯肼法^[9];VE:荧光比色法^[10];GSH:比色法,参见南京建成公司提供试剂盒;多酚:比色法^[11];尿酸:尿酸酶法,参见北京北化康泰临床试剂盒。

1.3.3 血浆抗氧化酶活性的测定

SOD活性:黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)法;CAT活性:钼酸铵比色法;GSH-Px活性:5,5,-二硫代双,2-硝基苯甲酸(5,5,-dithio-2,2,-dinitro benzoic acid, DTNB)显色法。操作步骤参见南京建成公司提供试剂盒。

1.3.4 丙二醛(MDA):硫代巴比妥酸法^[12]。

1.3.5 蛋白质羰基化合物:DNPH比色法^[13]。

1.3.6 氧化型低密度脂蛋白:酶联免疫分析试剂盒。具体操作按说明书进行。

1.3.7 尿8-羟基鸟苷:日本衰老控制研究所提供的试剂盒,酶联免疫吸附法。用苦味酸法检测尿中的肌酐水平来校正8-OH-dG浓度,具体操作按说明书进行。

1.3.8 红细胞溶血敏感性:H₂O₂诱导法^[14]。

1.3.9 外周血淋巴细胞DNA损伤:单细胞凝胶电泳法^[15]。

1.4 统计分析

采用SPSS13.0统计软件,分析两组之间和试验前后差异。t检验(正常分布数据)或秩和检验(非正态分布数据)。

2 结果

2.1 两组老年志愿者基本情况

表1 两组老年志愿者基本情况

项目	藕组	黄瓜组
年龄(岁)	66.70 ± 4.89	66.80 ± 5.02
性别(男/女)	8/4	8/5
身高(m)	1.68 ± 0.06	1.64 ± 0.08
体重(kg)	66.75 ± 7.79	65.96 ± 14.38
BMI(kg/m ²)	23.74 ± 2.23	24.36 ± 3.67

由表1结果可知,两组老年志愿者一般情况基本相似,体重、身高、BMI无显著差别。

2.2 血浆抗氧化活性和抗氧化酶活性

表2 血浆总抗氧化活力及抗氧化酶活性比较

组别	FRAP (mmol/L FeSO ₄)		SOD (U/ml)		CAT (U/ml)		GSH - Px (U)	
	起点	终点	起点	终点	起点	终点	起点	终点
藕组	1.24 ± 0.21	1.18 ± 0.12	81.36 ± 7.93	85.92 ± 5.20	0.94 ± 0.44	1.08 ± 0.83	300.69 ± 31.59	417.18 ± 34.65 *
黄瓜组	1.25 ± 0.24	1.24 ± 0.25	85.52 ± 3.51	79.27 ± 8.85 [#]	0.77 ± 0.23	1.05 ± 0.63	302.60 ± 35.45	401.84 ± 43.51 *

*: $P < 0.05$, 试验起点与终点相比; #: $P < 0.05$, 两组间比较。

表2结果显示, 试验开始两组 FRAP 值、SOD、CAT、GSH - Px 活性无显著差别; 试验结束时, 黄瓜组 SOD 活性有所下降, 两组 GSH - Px 活性均显著升高, 藕组升高更为明显。

2.3 血浆中抗氧化物质含量

表3结果显示, 试验开始两组血浆中各种抗氧化物质含量均无显著差别; 试验结束时, 两组 VC、多酚

含量均显著升高, 黄瓜组尿素含量显著下降。

2.4 血浆中氧化产物含量

表4结果显示, 试验前后两组 MDA 含量无显著变化。试验开始时, 黄瓜组 Ox-LDL 和羰基含量均高于藕组; 试验结束时, 黄瓜组上述指标无显著变化, 藕组羰基含量略有升高。

表3 血浆中抗氧化物质含量比较

组别	VC (mg/100ml)		VE (ug/ml)		GSH (mg/L)		总多酚 (ug/ml)		尿酸 (mg/dL)	
	起点	终点	起点	终点	起点	终点	起点	终点	起点	终点
藕组	0.92 ± 0.27	1.44 ± 0.87 *	15.76 ± 3.58	15.40 ± 4.45	21.25 ± 13.71	40.08 ± 14.55	53.80 ± 10.67	61.81 ± 8.58 *	4.82 ± 1.57	4.43 ± 1.27
黄瓜组	0.85 ± 0.18	1.42 ± 0.79 *	14.27 ± 4.44	14.57 ± 4.47	23.15 ± 21.58	35.42 ± 12.34	58.13 ± 11.66	69.10 ± 7.69 *	5.06 ± 1.11	4.36 ± 1.26 *

*: $P < 0.05$, 试验起点与终点相比。

表4 血浆中氧化产物的含量比较

组别	MDA (nmol/ml)		Ox-LDL (μg/L)		Carbonyl (nmol/mg protein)	
	起点	终点	起点	终点	起点	终点
藕组	7.60 ± 1.43	7.57 ± 3.05	97.88 ± 171.94	77.45 ± 105.34	0.97 ± 0.32	1.24 ± 0.24 *
黄瓜组	7.33 ± 1.38	8.47 ± 3.37	133.48 ± 258.16	141.20 ± 291.65	1.33 ± 0.22 [#]	1.25 ± 0.33

*: $P < 0.05$, 试验起点与终点相比; #: $P < 0.05$, 两组间比较。

2.5 红细胞溶血敏感性

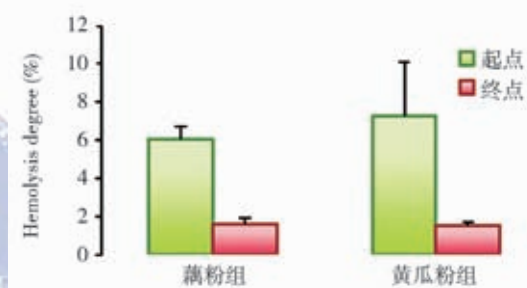


图1 试验前后红细胞溶血敏感性变化比较

*: $P < 0.05$, 试验起点与终点相比。

由图1可见, 试验开始时两组红细胞溶血敏感性无显著差异; 试验结束时均显著下降。

2.6 尿8-OH-dG排出量与外周淋巴细胞DNA损伤

由表5结果可见, 黄瓜干预后尿8-OH-dG含量显著下降, 但采用肌酐校正后差异统计学无显著性。藕组试验前后尿8-OH-dG含量无显著性差异。

表6结果显示, 藕组试验结束时外周淋巴细胞损伤率显著下降, 但尾长/总长无显著变化; 黄瓜组外周淋巴细胞损伤率试验前后无显著变化, 但尾长/总长显著下降。

表 5 尿 8-OH-dG 含量分析结果

组别	8-OH-dG (ng/ml)		肌酐 (mg/ml)		8-OH-dG 校正值 (ng/mg 肌酐)	
	起点	终点	起点	终点	起点	终点
藕组	5.02 ± 3.84	5.99 ± 10.00 *	0.07 ± 0.05	0.06 ± 0.05	83.15 ± 69.00	80.50 ± 32.81
黄瓜组	7.97 ± 7.51	2.88 ± 2.61 *	0.07 ± 0.05	0.04 ± 0.02 *	131.39 ± 175.39	95.51 ± 55.31

*: $P < 0.05$, 试验起点与终点指标相比。

表 6 外周淋巴细胞损伤率及尾长/总长分析结果

组别	损伤率 (%)		尾长/总长	
	起点	终点	起点	终点
藕组	33.66 ± 21.66	25.52 ± 19.92 *	0.49 ± 0.07	0.46 ± 0.08
黄瓜组	37.10 ± 18.34	34.10 ± 21.03	0.57 ± 0.04	0.51 ± 0.05 *

*: $P < 0.05$, 试验起点与终点相比。

3 讨论

本次试验中我们选择了抗氧化活性、VC、总多酚含量有较大差异的两种蔬菜粉—藕粉和黄瓜粉对老年志愿者进行干预研究。经过 30 天的干预后,老年志愿者血浆总抗氧化活力变化不显著;血浆中抗氧化酶活性变化不一致,CAT 活性变化不明显;GSH-Px 活性显著升高;藕粉组的 SOD 活性显著高于黄瓜粉组。干预后血浆中抗氧化物质 VC、总多酚的含量显著性升高;VE 含量变化不明显;GSH 含量也升高,但不具有显著性。有研究证实 VC、VE 和 Se 与 GSH-Px 活性有关,Zn、Cu、Mn 与 SOD 活性相关^[16,17]。另外,大量研究表明,蔬菜可通过增强抗氧化酶活性及抗氧化物质的含量从而发挥机体免受氧化损伤的作用^[18-23]。

尿酸是嘌呤代谢的终产物,是人体内特有的一种生理性的天然水溶性抗氧化剂、铁螯合剂,可以通过自身消耗使脂溶性维生素 E 的抗氧化效能得以节约或循环再生。藕粉和黄瓜粉干预后,两组老年志愿者血浆尿酸均下降,黄瓜粉组尿酸含量显著性降低,其意义有待深入研究。

藕粉、黄瓜粉的干预均未能降低老年志愿者血浆中 MDA 含量,可能是由于蔬菜粉中多酚类物质多为水溶性,因此对脂类的保护作用可能不太明显。

低密度脂蛋白 (LDL) 富含饱和和脂肪酸,易受自由基攻击生成 Ox-LDL, Ox-LDL 可致内皮细胞功能损害,参与泡沫细胞的形成^[24],与动脉粥样硬化形成密切相关。大量研究显示酚类物质在抑制 LDL 氧化及清除自由基方面发挥着重大作用^[25-28]。刘瑞等发现槲皮素、芦丁及葛根素均可抑制 Cu^{2+} 诱

导的 LDL 的氧化修饰^[29]。Hininger 及 Sanchaz 等研究显示蔬菜中多酚类物质可以抑制 LDL 的氧化^[30,31]。本试验中,藕粉干预后 Ox-LDL 有降低趋势,黄瓜粉组变化不明显,提示可能是藕粉中多酚类物质发挥了一定作用。

红细胞膜富含不饱和脂肪酸,易受自由基引发脂质过氧化,引发红细胞脆性增加,并最终导致溶血,所以红细胞溶血程度能较好的反映细胞膜受自由基攻击的情况^[32]。Tedesco 等在体外实验中向反应体系中加入 20 $\mu\text{mol/L}$ 槲皮素,结果显示溶血程度有所减轻。马兰萍等发现绿茶多酚及 α -生育酚对自由基引起的红细胞溶血具有抑制作用^[33]。本试验两组蔬菜粉均显著改善红细胞溶血敏感性,但两组之间没有统计学差异,提示两种蔬菜粉中均含有抑制红细胞溶血敏感性的物质。

羰基是蛋白质大分子受自由基攻击后的产物。研究发现多酚类物质如槲皮素能特异性与血清蛋白质共价结合^[34],保护蛋白质免受自由基的攻击。试验起点时,藕组蛋白质羰基化合物含量显著低于黄瓜粉组;终点时,藕组蛋白质羰基化合物含量升高,黄瓜组则降低,但两组之间差异没有统计学意义。

DNA 的氧化损伤有多种类型,其中最常见的是碱基损伤和单链断裂。8-OH-dG 是活性氧自由基攻击鸟嘌呤碱基第 8 位碳原子后形成的一种氧化型加合物,后者被 DNA 修复酶剪切清除而经肾脏排出体外,因而尿的 8-OH-dG 含量可以反映机体 DNA 氧化损伤程度,并用来估计氧化应激相关癌症发生的危险性^[35]。蔬菜粉干预后,两组老年志愿者尿中 8-OH-dG 都有下降趋势,但不具有显著性。彗星试验又被称为单细胞凝胶电泳^[36],是检测单个细胞 DNA 断裂的一种快速、简便、灵敏的技术。藕粉干预组

淋巴细胞损伤率显著性降低,而黄瓜粉干预组淋巴细胞尾长/总长显著性降低。由于DNA的氧化损伤与癌变、衰老等密切相关^[37],因此,蔬菜粉的这种保护DNA损伤作用有利于预防癌症的发生,延缓衰老。

综上所述,本研究证实了两种蔬菜对老年志愿者机体抗氧化防御体系均有一定的改善作用,但未发现蔬菜体外抗氧化活性强弱会显著影响其干预效果;蔬菜的干预作用可能来源于多种抗氧化物质协同作用。

致谢:本项目得到了达能营养中心膳食营养研究与宣教基金(DIC2009-09)的资助。

参考文献

- [1] 童坦君, 张宗玉. 医学老年学 [M]. 北京人民卫生出版社, 2006, 1~13.
- [2] Frisard M, Ravussin E. Energy metabolism and oxidative stress: impact on the metabolic syndrome and the aging process [J]. *Endocrine*, 2006, 29: 27~32.
- [3] Harman D. Aging: overview [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, 928: 1~21.
- [4] 凌关庭. 抗氧化食品与健康 [M]. 北京化学工业出版社, 2004, 5: 22~51.
- [5] Dauchet L, Amouyel P, Hercberg S, et al. Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies [J]. *Nutr*, 2006, 136: 2588~2593.
- [6] He FJ, Nowson CA, Lucas M, et al. Increased consumption of fruits and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies [J]. *Human Hypertension*, 2007, 21: 717~728.
- [7] Lampe JW. Health effects of vegetables and fruits: assessing mechanism of action in human experimental studies [J]. *Clin Nutr*, 1999, 70 (3): 475s~490s.
- [8] 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.
- [9] 王喜生, 殷太安, 刘继鹏等. 人体营养状况的评价方法 [M]. 天津科学技术出版社, 1985: 183~186.
- [10] 王喜生, 殷太安, 刘继鹏等. 人体营养状况的评价方法 [M]. 天津科学技术出版社, 1985: 173~174.
- [11] Singleton, V. L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent [J]. *Methods Enzymol*, 1999, 299: 152~178.
- [12] Smith CV, Anderson RE. Methods for determination of lipid peroxidation in biological samples [J]. *Free Radic Biol Med*, 1987, 3 (5): 341~344.
- [13] Premila N., Sundari, Wilfred G, Banumathi R. Does oxidative protein damage play a role in the pathogenesis of carbon tetrachloride-induced liver injury in the rat [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1997, 1362: 169~176.
- [14] Grinberg LN, Newmark H, Kitrossky N, et al. Protective effects of tea polyphenols against oxidative damage to red blood cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 1997, 54: 973~978.
- [15] Singh NP, McCoy MT, Tice RR, et al. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells [J]. *Exp Cell Res*, 1988, 175: 184~189.
- [16] Takahashi K, Newburger PE, Cohen HJ. Glutathione peroxidase protein: absence in selenium deficiency status and correlation with enzymatic activity [J]. *Clin Invest*, 1986, 77 (4): 1402.
- [17] Farser D R. Trace elements and vitamins in membrane function [J]. *Proc Nutr Soc*, 1985, 44 (2): 173~179.
- [18] Stohs SJ, Law son TA, Anderson L. et al. Effects of oyltipraz, BHA, BDT and cabbage on glutathionemetabolism, DNA damage and lipid peroxidation in old mice [J]. *Mech Ageing Dev*, 1986, 37: 37~145.
- [19] Gudi VA, Singh CV. Effect of diallyl sulfide, a naturally occurring anticarcinogen, on glutathione-dependent detoxification enzymes of female CD-1 mouse tissues [J]. *Biochemiphar*, 1991, 42: 1261~1265.
- [20] 林忠宁, 于竞, 汪家梨等. 新鲜蔬菜对实验性肝损伤小鼠的抗氧化作用探讨 [J]. *中国公共卫生学报*, 1994, 13 (6): 355.
- [21] 杨莉, 梁钢, 林秀月等. 西番莲果汁抗衰老作用的实验研究 [J]. *营养学报*, 1995, 17

(4): 438-441.

[22] 刘中申, 李廷利, 王厚德等. 刺玫果抗衰老实验研究 [J]. 中医药学报, 1990, (1): 46.

[23] 侯开卫, 刘凤书, 李绍家. 余甘果抗衰老作用的研究. 食品科学, 1990, 4: 2-5.

[24] Witztum J L, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis [J]. Clin Invest, 1991, 88: 1785.

[25] Terao J, Piskuli M, Yao Q. Protective effect of epicatechin, epicatechin, gallate and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers [J]. Arch Biochem Biophys, 1994, 308: 278-284.

[26] Miura S, Watanabe J, Sano M, Tomita T, Osawa T, Hara Y, Tomita I [J]. Effects of various natural antioxidants on the Cu^{2+} -mediated oxidative modification of low density lipoprotein [J]. Biol Pharm Bull, 1995, 18: 1-4.

[27] Wang W, Goodman MT. Antioxidant property of dietary phenolic agents in a human LDL-oxidation ex-vivo model: interaction of protein binding activity [J]. Nutr Res, 1999, 19: 191-202.

[28] Salah N, Miller NJ, Paganga G, Tijburg L, Bolwell GP, Rice-Evans CA. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants [J]. Arch Biochem Biophys, 1995, 322: 339-346.

[29] 刘瑞, 孟芳, 白怀, 刘宇, 唐承薇, 刘秉文. 槲皮素、芦丁及葛根素抑制 LDL 氧化修饰作用的研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32 (19): 2058-2061.

[30] Hininger I, Chopra M, Thurnham DI, et

al. Effect of increased fruit and vegetable intake on the susceptibility of lipoprotein to oxidation in smokers. Eur J Clin Nutr, 1997, 51: 601-606.

[31] Sanchez MC, Jimenez EA, Saura CF. Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols [J]. Nutr Res, 2000, 20: 941-953.

[32] Sengupta B, Sengupta PK. Binding of quercetin with human serum albumin: a critical spectroscopic study [J]. Biopolymers (Biospectroscopy), 2003, 72: 427-434.

[33] Halder J, Bhaduri AN. Protective role of black tea against oxidative damage of human red blood cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 244: 903-907.

[34] Jia Z S, Zhou B. Antioxidant synergism of tea polyphenols and α -tocopherol against free radical induced peroxidation of linoleic acid in solution [J]. Chem Soc Perkin Trans 2, 1998, (4), 911-915.

[35] Kasai H. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis [J]. Mutat Res, 1997, 387: 147-163.

[36] Mecocci P, MacGarvey U, Kaufman AE, et al. Oxidative damage to mitochondrial DNA shows marked age-dependent increases in human brain [J]. Ann Neurol, 1993, 34 (4): 609-616.

[37] Mecocci P, Fano G, Fulle S, et al. Age-dependent increases in oxidative damage to DNA, lipids, and proteins in human skeletal muscle [J]. Free Radic Biol Med, 1999, 26: 303-308.