

两种检测 SOD 酶活性方法的比较

曲 敏*, 秦丽楠, 刘羽佳, 范宏臣, 朱 姝, 王金凤

(哈尔滨商业大学食品科学与工程省级重点实验室, 哈尔滨 150076)

摘 要: **目的** 比较邻苯三酚自氧化法和氮蓝四唑(NBT)光还原法分别测定超氧化物歧化酶(SOD)酶活力的差异。**方法** 采用两种方法分别测定 SOD 标准品、苜蓿和番茄两种植物提取物的不同来源 SOD 酶活性, 比较其精确性和灵敏度。**结果** 在标准品 SOD 酶活的测定中, 邻苯三酚自氧化法和 NBT 光还原法测酶活性的变异系数分别为 0.84、2.03, 而进样量后者是前者的 2.6 倍, 稀释倍数是前者的 6 倍, 邻苯三酚自氧化法的精确度高于 NBT 光还原法, 但灵敏度远不及后者。在测定两种植物 SOD 时, 邻苯三酚自氧化法测得酶活性变异系数是 NBT 光还原反应测得酶活性变异系数的 1.30~1.47 倍, NBT 光还原法具有稳定性、重现性好的特点, 优于邻苯三酚自氧化法。**结论** NBT 光还原法是测定植物 SOD 及 SOD 标准品酶活的理想检测方法。

关键词: 超氧化物歧化酶; 酶活力; 邻苯三酚自氧化法; 氮蓝四唑光还原法

The comparison of two methods of testing superoxide dismutase activity

QU Min*, QIN Li-Nan, LIU Yu-Jia, FAN Hong-Chen, ZHU Shu, WANG Jin-Feng

(Key Laboratory of Food Science and Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

ABSTRACT: Objective To compare the pyrogallol autoxidation and nitroblue tetrazolium (NBT) photoreduction methods for determination of superoxide dismutase (SOD) enzyme activity. **Methods** The paper based on the different methods to determine the SOD activity of standard, alfalfa and tomato, respectively, also compare the accuracy and sensitivity. **Results** The results showed that pyrogallol autoxidation and NBT photoreduction method of enzyme activity coefficient of variation were 0.84, 2.03, and the sample quantity which was 2.6 times of the former, dilution ratio was 6 times of the former, and the accuracy of pyrogallol autoxidation was higher than NBT photoreduction method but the sensitivity was poor, in detecting the SOD activity of standard. However, Pyrogallol autoxidation activity coefficient of variation was measured by NBT photoreduction reaction between 1.30 to 1.47 times the activities was measured by the coefficient of variation, the NBT photoreduction method has preferable stability and reproducibility than pyrogallol autoxidation in determining the SOD activity. **Conclusion** NBT photoreduction is an ideal testing method to determine the SOD activity of standard and plants.

KEY WORDS: superoxide dismutase; pyrogallol autoxidation; NBT photoreduction method

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(C2011-24)、黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12511128)及黑龙江省博士后科研启动基金项目(LBH-Q13098)

Fund: Supported by Natural Science Foundation of Heilongjiang Province of China (C2011-24), Science and Technology Research Project of Heilongjiang Province Department of Education (12511128) and Postdoctoral Scientific Research Start-up Fund Project of Heilongjiang Province (LBH-Q13098)

*通讯作者: 曲敏, 教授, 主要研究方向为新型植物蛋白及食品添加剂。E-mail: qumin777@126.com

*Corresponding author: QU Min, Professor, Harbin University of Commerce, Tongda Street 138, Daoli District, Harbin 150076, China. E-mail: qumin777@126.com

1 引 言

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD), 别名肝蛋白, 是一种广泛存在于需氧生物体内的金属酶。能够清除生物氧化过程中产生的超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$), 具有极强的抗氧化性^[1], 是重要的氧自由基消除剂。具有抑制心脑血管疾病、抗老化、防止自身免疫性疾病及抗氧化等作用^[2]。动物来源的 SOD 价格昂贵。1997 年, 欧盟为避免发生交叉感染, 禁止使用动物源 SOD。植物和微生物成为提取、制备 SOD 的重要来源, 具有广阔的开拓前景^[3]。SOD 的测定方法分为直接法和间接法, 由于直接法所需的仪器设备价格昂贵以及 SOD 基质- $O_2^{\cdot-}$ 的不稳定性, 一般多数采用间接法^[4]。间接法分为邻苯三酚自氧化法、细胞色素 C 还原法、氮蓝四唑(NBT)光还原法、黄嘌呤氧化酶-NBT 法等多种方法^[5-7]。目前国内外还没有统一的检测方法。由于不同检测方法的反应原理和酶活力单位定义不同, 灵敏度和差异性较大, 检测结果也有很大的不同。本文采用普遍使用的邻苯三酚自氧化法和氮蓝四唑(NBT)光还原法两种方法分别测定 SOD 酶活, 通过比较测定 SOD 标准品和二种植物源 SOD 的酶活力, 以探索植物源 SOD 的最适测定方法。近年来在 SOD 被广泛应用于药品、食品、化妆品的同时, 如何对其中的 SOD 进行快速准确的检测也成为广泛关注的问题。

2 材料与仪器

2.1 材料与试剂

材料: 紫花苜蓿草, 黑龙江省农业科学院草业研究所惠赠; 番茄, 市售。

药品与试剂: 牛血红细胞 SOD 为电泳纯, 上海博奥生物科技有限公司; 核黄素, 北京奥博星生物技术有限责任公司; 甲硫氨酸, 中国惠世生化试剂有限责任公司上海; 磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、邻苯三酚、Tris、氮蓝四唑、EDTA-2Na 均为国产分析纯, 天津市耀华化学试剂有限责任公司。

2.2 仪器与设备

HWS 24 型电热恒温水浴锅, 上海一恒科技有限公司; 722 型可见分光光度计, 上海菁华科技仪器有限公司; TGL-16 型高速台式离心机, 上海医疗器械六厂; DHP-9162 型电热恒温培养箱, 上海一恒科技有限公司; PHS-3 C 精密 pH 计, 上海雷磁仪器厂。

3 实验方法

3.1 样品的处理

3.1.1 苜蓿 SOD 的制备

取苜蓿嫩叶, 粉碎、过 80 目筛, 得苜蓿干草粉。称取 10 g 草粉, 加入适量 50 mmol/L pH 7.5 磷酸缓冲溶液, 搅拌均匀后置于 4 °C 下浸提 24 h, 用 320 目滤布过滤。将滤液于 8000 r/min 离心 20 min, 上清液即为 SOD 粗酶液。

热变性处理: 将粗酶液置于水浴锅, 65 °C 下水浴 20 min, 于 8000 r/min 下离心 20 min, 上清液即为待测液^[8]。

等电点沉淀处理: 将经热处理的滤液用 0.5 mol/L HCl 调 pH 3.6 去除杂蛋白, 搅拌均匀后置 4 °C 下沉淀 1 h, 离心去除沉淀, 上清液即为待测液。

透析: 将沉淀后的溶液装入透析袋(截留分子量为 1000 KDa)中, 置于装有磷酸缓冲溶液的 1000 mL 烧杯中, 4 °C 密封保存 24 h(注: 及时更换烧杯中的缓冲溶液, 以便透析完全)。

3.1.2 番茄 SOD 的制备

参考文献^[9], 称取 29.55 g 新鲜番茄用蒸馏水洗净至研钵中研磨至泥状, 加入 2 倍体积 50 mmol/L pH 7.5 磷酸缓冲溶液, 以下同 3.1.1 得粗酶液。

热变性处理: 同 3.1.1。

丙酮沉淀处理: 将酶液加入-20 °C 预冷的丙酮, 搅拌 15 min, 置 4 °C 下沉淀 2 h, 8000 r/min 下离心 20 min, 弃上清液, 用少量磷酸缓冲液溶解沉淀, 透析磷酸缓冲液, 4 °C 过夜, 8000 r/min 下离心 20 min, 测定上清液的酶活力。再进行透析处理, 透析步骤同 2.1.1。

3.2 邻苯三酚自氧化法

参考文献^[10,11], 稍作改良, 方法如下。

自氧化的测定: 在 25 °C, 将 4.5 mL 50 mmol/L, pH 8.2 的 Tris-HCl 缓冲溶液中加入 10 μ L 50 mmol/L 的邻苯三酚, 迅速摇匀, 倒入比色皿, 以 Tris-HCl 缓冲溶液为空白对照, 在 325 nm 波长下每隔 30 s 测一次 A 值, 共测 6 次, 要求自氧化速率控制在 0.070 OD/min 左右。

酶活的测定: 在 25 °C, 将 4.5 mL 50 mmol/L, pH 8.2 的 Tris-HCl 缓冲溶液中加入一定量的待测酶液, 预热 20 min, 加入 10 μ L 50 mmol/L 的邻苯三酚, 迅速摇匀, 倒入比色皿, 以 Tris-HCl 缓冲溶液为空白对

照, 在 325 nm 波长下每隔 30 s 测一次 A 值, 共测 6 次。在此条件下, 每分钟抑制邻苯三酚自氧化率 50% 的酶量定为 1 个活力单位。

$$\text{抑制率}/\% = (A_0 - A_S) / A_S \times 100$$

$$\text{SOD 单位活力}(U/ml) = (A_0 - A_S) / (A_S \times 50\%) \times 4.5 / V \times N$$

式中: A_0 为自氧化速率; A_S 为加入样液后氧化速率; V 为加样体积; N 为样品稀释倍数

3.3 NBT 光还原法

根据文献报导^[12], 在 3 mL 反应液中含有 130 mmol/L 甲硫氨酸; 750 μ mol/L NBT; 20 μ mol/L 核黄素; 100 μ mol/L EDTA-2 Na; 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.5), 待测酶液(空白以缓冲溶液代替, 以不对照光的管作调零), 在 4000 lx 光下照射 20 min 后, NBT 光化还原产物蓝色甲腈在 560 nm 有最大吸收, 在此条件下, 反应被抑制 50% 所需酶量为 1 个活力单位。

4 结果与分析

4.1 两种方法测定 SOD 标准品酶活的比较

4.1.1 两种测试方法的精确性

将 1 mg 标准牛红细胞 SOD 溶于 1 ml 50 mmol/L,

pH 7.5 的磷酸盐缓冲溶液中。以 SOD 标准品为材料, 分别用邻苯三酚自氧化法和 NBT 法各测 3 次后比较变异系数来确定方法的精确性。

通过对表 1、表 2 的数据结果进行比较, 可以得出邻苯三酚自氧化法的标准偏差(SD=28.95)和变异系数(CV=0.84)明显小于 NBT 光还原法的标准差(SD=74.28)和变异系数(CV=2.03), 即邻苯三酚自氧化法测定结果的精确度高于 NBT 光还原法。另外, 从表 1、表 2 来看, 虽然两种方法不同, 原理不同, 但其酶活力值很相近。

4.1.2 测试方法的灵敏度

用邻苯三酚自氧化法和 NBT 光还原法分别测定 SOD 标准品样液, 根据邻苯三酚自氧化法和 NBT 光还原法的酶活力单位, 即达到抑制率为 50% 时所加酶液的稀释倍数, 来比较最低稀释倍数的大小, 确定出测定方法的灵敏度。

由表 3 比较待测液进样量, 邻苯三酚法是 NBT 还原法的 2.6 倍; 而测定时的最低稀释倍数, NBT 光还原法是邻苯三酚法的 6 倍。可见, NBT 光还原法的灵敏度远远高于邻苯三酚法。

表 1 邻苯三酚自氧化法测定 SOD 标准品数据结果

Table 1 The results of pure SOD measurement data of the assay pyrogallol autoxidation

项目	空白	平行样 SOD 酶活测试 1	平行样 SOD 酶活测试 2	平行样 SOD 酶活测试 3
自氧化速率(A_{325}/min)	0.0704	0.0355	0.0357	0.0350
酶活力(U/mL)		3432.04	3412.37	3481.21
平均酶活(U/mL)			3441.87	
标准差 SD			28.95	
变异系数 CV			0.84	

表 2 NBT 光还原法测 SOD 标准品数据结果

Table 2 The results of pure SOD measurement data of the assay NBT photoreduction

项目	空白	平行样 SOD 酶活测试 1	平行样 SOD 酶活测试 2	平行样 SOD 酶活测试 3
50%抑制率的酶液量(A_{560}/min)	0.755	0.376	0.377	0.360
酶活力(U/mL)		3614.30	3604.77	3766.89
平均酶活(U/mL)			3661.99	
标准差 SD			74.28	
变异系数 CV			2.03	

表 3 两种方法测定 SOD 标准品的比较

Table 3 Comparison of two methods of SOD measurement standards

项目	邻苯三酚自氧化法	NBT 光还原法
测定酶液进样量/mL	0.013	0.050
最低稀释倍数	10	60

4.2 两种方法测定植物 SOD 酶活的效果比较

以植物中具代表的苜蓿和番茄为例, 分别制备苜蓿 SOD、番茄 SOD 粗酶液, 并根据两种植物材料的不同, 对两种 SOD 粗酶液分别采用热变性、等电点沉淀、丙酮沉淀和透析等方法进行纯化, 分别用邻苯三酚自氧化法和 NBT 光还原法测定其酶活, 3 次平行试验结果见表 4、表 5、表 6。

张文军等^[13]也曾用邻苯三酚自氧化法对不同纯度玉米 SOD 的测定中出现类似报道, 即在 325 nm 波长下, 每分钟抑制邻苯三酚自氧化率 50% 的酶量定为 1 个活力单位, 而透析液仍达不到 50% 的抑制率。在本实验中, 采用邻苯三酚自氧化法测苜蓿草粉中提取的 SOD 酶液的酶活性, 非但不抑制邻苯三酚自氧化, 反而比加快了自氧化速率, 即出现了负抑制现象, 而用 NBT 光还原法可以测定出苜蓿 SOD 酶活性, 见表 4。苜蓿 SOD 粗酶液进行热处理后的酶液, 对邻苯三酚自氧化有一定抑制作用, 但抑制率仅为 24% 左右, 经过等电点沉淀后的酶液对邻苯三酚自氧化抑制率略高于热处理后的酶液为 35% 左右, 而经过透析处理后的苜蓿 SOD 透析液对邻苯三酚自氧化抑制率相对最高为 42% 左右。抑制率不能达到 50%,

表 4 NBT 法测苜蓿 SOD 酶活结果

Table 4 The results of Alfalfa SOD enzyme activity test sensitivity with the assay NBT photoreduction

样品处理方法	3 次平行测定 SOD 活性(U/mL)				标准差 SD	变异系数 CV
	1	2	3	平均值		
粗酶液	145.42	150.56	173.12	156.37	12.04	7.70
热变性处理	121.13	133.83	132.49	129.15	5.70	4.41
等电点沉淀	125.96	131.07	121.24	126.09	4.01	3.18
透析	120.36	129.48	126.15	125.33	3.77	3.01

表 5 邻苯三酚自氧化法测番茄 SOD 酶活结果

Table 5 The results of tomato SOD enzyme activity results with the assay pyrogallol autoxidation

样品处理方法	3 次平行测定 SOD 活性(U/mL)				标准差 SD	变异系数 CV
	1	2	3	平均值		
粗酶液	6.71	7.35	5.94	6.67	0.5765	8.24
热变性处理	13.5	14.79	12.96	13.75	0.7677	5.58
丙酮沉淀	15.91	14.93	14.25	15.03	0.6814	4.53
透析法	26.65	28.50	26.12	27.09	1.0202	3.76

表 6 NBT 法测番茄 SOD 酶活结果

Table 6 The results of tomato SOD enzyme activity results with the assay NBT photoreduction

样品处理方法	3 次平行测定 SOD 活性(U/mL)				标准差 SD	变异系数 CV
	1	2	3	平均值		
粗酶液	54.30	58.38	50.55	54.41	3.20	5.88
热变性处理	48.94	49.57	53.29	50.60	1.92	3.79
丙酮沉淀	41.17	42.89	44.84	42.97	1.50	3.49
透析	38.78	38.24	40.84	39.29	1.12	2.85

进而不能准确测定 SOD 酶活。因此,本实验中邻苯三酚法不适用于测定苜蓿 SOD 的酶活力。而从表 4 可以看出,采用 NBT 还原法测定苜蓿的粗酶液、热变性、等电点沉淀及透析等纯化过程中的 SOD 酶活,虽然反应体系中蛋白质含量达到一定值时也会影响 NBT 光还原法的准确性,但四组实验平行测定数据逐渐稳定,检测的重现性得到体现。可见,虽然许多文献中常常采用简单、快速的邻苯三酚自氧化法测定提取物的 SOD 酶活,但该法的应用受限制于不同的检测材料。

从表 5、表 6 可以看出,分别采用邻苯三酚法和 NBT 还原法测定对番茄的粗酶液、热变性、丙酮沉淀及透析处理等纯化过程中的 SOD 酶活检测,通过比较其标准差和变异系数,可以看出,邻苯三酚自氧化法测得的酶活性的变异系数是 NBT 光还原反应测得酶活性变异系数在 1.30~1.47 倍之间,呈发散趋势。因此,采用 NBT 光还原法测酶活性的稳定性以及重现性高于邻苯三酚自氧化法。

另外,由于不同检测方法的反应原理和酶活力单位定义不同,灵敏度差异也较大,相同的植物 SOD 样液,不同的方法处理,测得的结果也有很大的不同。从番茄中提取的 SOD 酶液,经过多次测得可以测得其酶活性,但在进行测定时发现也会经常出现酶液对邻苯三酚自氧化速度的负抑制现象。我们分析这可能是由于植物中存在着氧化酶类,它们会促进邻苯三酚的氧化以及未经纯化的粗提液中含有的蛋白质、金属离子、色素等干扰成分较多,不利于准确测定,也进一步说明了 NBT 光还原法的灵敏度要高于邻苯三酚自氧化法。

杨磊等^[14]在荧光动力学法测定超氧化物歧化酶的活性中写到,大多数金属离子有对邻苯三酚自氧化法有促进的作用,尽管实验所用水二次去离子水,也仍存在少量的金属离子;色素含量较高的植物,使邻苯三酚自氧化法的特异性降低,同时比色时有很大的影响,根本无法测出 SOD 酶活力。廖展如等^[15]对出现负抑制的内在根源进行了探讨,鉴于邻苯三酚自氧化的反应机理和 Fenton 反应催化活性,以及 MSOD 中金属离子的 Lewis 酸性,不宜采用邻苯三酚自氧化法测定 SOD 活性。而相对于苜蓿草粉,色素干扰相对较少的番茄 SOD 的活性用邻苯三酚自氧化法和 NBT 光还原法都可测得;且通过对表 5、表 6 的数据结果进行比较,在相同处理方法下,两种不同

测定方法可以得出邻苯三酚自氧化法的变异系数明显高于 NBT 光还原法的变异系数,即 NBT 光还原法测定结果的精确度高于邻苯三酚自氧化法。在表 1 和表 2 中虽然检测方法不同、酶活力单位定义不同,但结果很接近,但在表 5 和表 6 的数据中,粗酶液、热变性处理、丙酮沉淀、透析四种样品处理方法的 SOD 活性数据相差较大,这可能是由于标准品干扰较少,而植物中提取的 SOD 不纯,干扰大,结果有很大不同。

5 结 论

本文通过邻苯三酚自氧化法与 NBT 光还原法两种方法,分别对标准品 SOD 和二种植物 SOD 进行酶活力的测定对比,在标准品 SOD 测定时,邻苯三酚自氧化和 NBT 光还原法都可采用,两种方法检测结果很相近,但从操作简单、迅速、精确度高的角度考虑可选择邻苯三酚自氧化法,而从灵敏度来考虑,邻苯三酚自氧化法远不如 NBT 光还原法。在对植物 SOD(以苜蓿 SOD、番茄 SOD 为例)活力测定时,对色素干扰较大、比色有较大影响的植物,尤其对测定植物成分复杂的粗提 SOD 酶液活力测定时,用邻苯三酚自氧化法无法测出酶活力,即邻苯三酚自氧化法测定提取物的 SOD 酶活的应用受限制于不同的检测材料,而 NBT 光还原法检测范围相对广泛,且从变异系数和标准差来看,NBT 光还原法的反应特异性强。因此,从检测的稳定性和重现性考虑,NBT 光还原法优于邻苯三酚自氧化法。综上所述,测定植物 SOD 及 SOD 标准品酶活时,应采用反应特异性强、灵敏度高、操作方便等优点的 NBT 光还原法,是较为理想的检测方法。

参考文献

- [1] 徐靖,赵兰华,宋功武.化学发光法测定 SOD 活性的干扰因素及消除方法[J].分析科学学报,2002,18(4):321-323.
Xu J, Zhao LH, Song GW. Chemiluminescence method for determination of SOD activity of interference factors and eliminating methods [J]. J Anal Sci, 2002, 18(4): 321-323.
- [2] 龚俊辉,喻树迅,范木丽,等. SOD 与植物胁迫抗性[J].分子植物育种,2010,8(2):359-364.
Dou JH, Yu SX, Fan SL, et al. SOD and plant stress resistance [J]. Mol Plant Breeding, 2010, 8(2): 359-364.
- [3] Wang, SY Shao B, Liu ST, et al. Purification and characterization

- of Cu, Zn-superoxide dismutase from black soybean [J]. Food Res Int, 2012, 47(2): 374-379.
- [4] 邵从本, 罗光华, 王爱国, 等. 几种检测超氧化物歧化酶活性反应的比较[J]. 植物生理学通讯, 1983, (5): 46-49.
- Shao CB, Luo GH, Wang AG, *et al.* Several kinds of detecting superoxide dismutase (sod) reaction of comparison [J]. Plant Phy Commun, 1983, (5): 46-49.
- [5] 徐东, 赵健, 黄汉昌, 等. 改良的黄嘌呤氧化酶法测定动植物组织中 SOD 比活力[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 237-241.
- Xu D, Zhao J, Huang HC, *et al.* Determination of SOD specific activity in animal and plant tissues by improved xanthine oxidase method[J]. Food Sci, 2011, 32(6): 237-241.
- [6] 徐滢波, 赵树进, 郭勇. 超氧化物歧化酶检测方法评述[J]. 广东药学, 2002, 12(1): 9-12.
- Xu YB, Zhao SJ, Guo Y. The commentary of some measure methods for superoxide dismutase [J]. Guangdong Pharm, 2002, 12(1): 9-12.
- [7] 姜云, 茅力, 蔡云清. 果蔬中超氧化物歧化酶的提纯与测活技术研究进展[J]. 食品科学, 2008, 29(12): 780-785.
- Jiang Y, Mao L, Cai YQ. Advance of study on extraction and purification techniques and activity assay methods of superoxide dismutase in fruits and vegetables [J]. Food Sci, 2008, 29(12): 780-785.
- [8] 贺阳. 越橘叶超氧化物歧化酶的提取纯化及应用研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2012.
- He Y. Blueberry leaves superoxide dismutase extraction and purification and application[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2012.
- [9] 李珺, 马力通, 高书良. 番茄中超氧化物歧化酶提取工艺的优化[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(7): 3997-3998.
- Li J, Ma LT, Gao SL. Optimization of the extraction process of superoxide dismutase from tomatoes[J]. J Anhui Agric Sci, 2012, 40(7): 3997-3998.
- [10] 孙永君. 大蒜中 SOD 的提取研究[J]. 化学与生物工程, 2005, (10): 23-25.
- Sun YJ. Garlic extraction of SOD[J]. Chem Biol Eng, 2005, (10): 23-25.
- [11] 李永乐, 张焱. 邻苯三酚自氧化法测定 SOD 活性[J]. 中国卫生检验杂志, 2000, 10(6): 673.
- Li YL, Zhang Y. The development of pyrogallol autoxidation method of SOD activity[J]. Chin J Health Laboratory Technol, 2000, 10(6): 673.
- [12] 宋小青. 玉米 SOD 的分离与纯化[D]. 保定: 河北农业大学, 2007.
- Song XQ. Isolation and Purification of SOD from Maize[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2007.
- [13] 张文军, 葛超. NBT 光还原法、邻苯三酚自氧化法测定 SOD 酶活性的比较(简报)[J]. 河北职业技术师范学院学报, 2000, 14(2): 68-70.
- Zhang WJ, Ge C. NBT reduction method, the development of three light oxidation method was developed for the determination of SOD enzyme activity comparison (brief) [J]. J Hebei Vocational Tech Teachers Coll, 2000, 14(2): 68-70
- [14] 杨磊, 陈冠华, 崔建超, 等. 荧光动力学法测定超氧化物歧化酶的活性[J]. 分析化学研究报告, 2008, 36(4): 489-493.
- Yang L, Chen GH, Cui JC, *et al.* Fluorescence dynamic research method to determine the activity of superoxide dismutase[J]. Chin J Anal Chem, 2008, 36(4): 489-493.
- [15] 廖展如, 陈文学, 艾常春, 等. 邻苯三酚自氧化法适于测定 SOD 活性吗?[J]. 华中师范大学学报, 2003, 37(1): 59-63.
- Liao ZR, Chen WX, Ai CC, *et al.* The development of three phenol autoxidation method suitable for determination of SOD activity? [J]. J cent Chin Norm Univ, 2003, 37(1): 59-63.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



曲 敏, 教授, 主要研究方向为新型植物蛋白及食品添加剂。

E-mail: qumin777@126.com