

METODOLOGIAS ANALÍTICAS ATUAIS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE PRODUTOS NATURAIS

Rafael Rodrigues Tomei¹, Marcos José Salvador^{1}.*

¹Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), Av. Shishima Hifumi, 2911, Urbanova, 12244-000, São José dos Campos - SP, e-mail: rafael tomei@yahoo.com.br
mjsalvador1531@yahoo.com.br.

Resumo- A geração de radicais livres está diretamente relacionada a processos oxidativos, porém, se a produção destes radicais supera a capacidade antioxidante em um sistema vivo, estes podem reagir com lipídios, proteínas e com o DNA conduzindo a danos estruturais/funcionais nas células, enzimas e material genético levando a inúmeras patologias. Assim, tem-se observado um aumento significativo no uso e na busca de agentes antioxidantes. Da mesma forma, observa-se que é crescente a busca de metodologias analíticas sensíveis, baratas e que apresentem especificidade, linearidade, precisão e robustez para avaliar o *status* antioxidante *in vitro* e *in vivo* de diferentes amostras. Nesta revisão de literatura são apresentadas as principais metodologias utilizadas para a avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais *in natura* ou em fluidos biológicos (plasma, soro, urina). Os resultados permitiram acompanhar o progresso metodológico dos principais ensaios antioxidantes atualmente em uso.

Palavras-chave: Metodologias analíticas, Ensaios antioxidantes, Produtos naturais.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde - Farmácia

Introdução

A vida em aerobiose se caracteriza pela contínua produção de radicais livres que é contrabalançada pelo consumo de defesas antioxidantes não enzimáticas e pela atividade das enzimas antioxidantes. Assim, em condições fisiológicas, o balanço entre agentes pró-oxidantes e as defesas antioxidantes se mantém equilibrado. Porém, se a produção de radicais livres supera a capacidade antioxidante em um sistema vivo, espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio podem reagir com lipídios, proteínas e com o DNA, conduzindo a dano estrutural e/ou funcional nas células, enzimas e material genético (BARREIROS, et al., 2006). Desta maneira, várias patologias incluindo o câncer, doenças cardiovasculares, doença de Alzheimer e de Parkinson, seguidas de doenças inflamatórias e imunológicas como artrite, asma, alergia e outras relacionadas com o processo de envelhecimento apresentam em sua etiologia, pelo menos em parte, os efeitos danosos da produção de radicais livres em consequência do estresse oxidativo.

Atualmente têm-se evidenciado um aumento significativo no uso e na avaliação da capacidade antioxidante, tanto em fármacos e cosméticos quanto em alimentos e produtos naturais. Este interesse começou a se expandir em meados da década de 90 quando começou a ser amplamente conhecido a influência benéfica de muitos produtos naturais na saúde humana, associados ao decréscimo da atividade oxidante. Huang et al. (2005) descreveram que em pesquisa de literatura revelou-se que o número de publicações com antioxidantes e estresse oxidativo quase quadruplicou na última década (1.684 em 1993;

6.510 em 2003). Da mesma forma, tornou-se crescente também a busca e a validação de metodologias para a avaliação da atividade antioxidante em matrizes complexas como alimentos, produtos naturais e fluidos biológicos (SANCHEZ-MORENO, 2002; ROGINSKI, et al., 2005). Assim, o presente trabalho teve por objetivo realizar uma revisão de literatura sobre as metodologias atualmente mais empregadas na avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais.

Revisão de literatura

Os ensaios antioxidantes hoje disponíveis podem ser classificados em duas categorias: ensaios baseados em estudos de cinética química, também denominados de métodos diretos e ensaios mediados pela transferência de elétrons, também denominados de métodos indiretos (HUANG et al., 2005).

Métodos Diretos

Este sistema caracteriza-se pela presença de uma competição entre uma sonda oxidável e o antioxidante pelos radicais gerados por uma fonte de radicais livres (ROGINSKI, et al., 2005). Como substrato para oxidação podem ser utilizados lipídios individuais, misturas lipídicas, proteínas, DNA, ou lipídios contendo espécies biológicas relevantes como plasma sanguíneo, membranas biológicas, etc. A peroxidação lipídica apresenta-se como sendo mais conveniente neste propósito sendo um dos motivos a cinética da lipoperoxidação já estar bem estudada teórica e experimentalmente (BARCLAY, et al., 2003).

a) Ensaio ORAC

O método ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) foi originalmente desenvolvido por Cao et al. (1993). Este método, relativamente simples e sensível, mede a capacidade do antioxidante em seqüestrar radicais peróxido que são gerados por uma fonte radicalar, AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropano) dihidroclorado), a 37°C. Neste ensaio, B-ficoeritrina (B-PE), uma proteína isolada de *Porphyridium cruentum*, foi escolhida como a sonda fluorescente. Porém, devido a algumas limitações encontradas na utilização desta sonda (fotosensibilidade, alta variabilidade, entre outras), Ou et al. (2001) resolveram utilizar em substituição à B-PE, a Fluoresceína (FL), uma sonda sintética que cobriu as limitações da B-PE, tornando o ensaio mais barato, reprodutivo e robusto (ORAC_{FL}). A queda na fluorescência da FL indica a extensão do dano causado pela sua reação com os radicais gerados. O efeito protetor de uma amostra contendo antioxidante é mensurado pelo cálculo da área sob a curva de decaimento da fluorescência da amostra comparando-se com a de uma amostra "branco", sem antioxidante presente. O ensaio ORAC permite o monitoramento do tempo e do grau de inibição durante o andamento da reação (CAO, et. al 1993; OU et al., 2001).

O método, em sua versão atual, permite fornecer informações substanciais sobre a capacidade antioxidante de alimentos, frutas, extratos vegetais e substâncias isoladas (WANG, et al., 1996; WU, et al., 2004; WANG, et al., 1997; SALVADOR, et al., 2006; AABY, et al., 2004).

b) Ensaio de redução do β -caroteno

Este ensaio está baseado na capacidade de uma amostra contendo substâncias antioxidantes em retardar a oxidação do β -caroteno na presença de luz. A solução de β -caroteno em CH_2Cl_2 , de coloração amarelada, atua como um revelador em cromatografia em camada delgada sendo que quando aplicada em uma corrida cromatográfica e exposta à luz inicia-se o processo de oxidação do β -caroteno ocasionando a descoloração da placa. Substâncias antioxidantes serão evidenciadas através de manchas amareladas demonstrando o efeito antioxidante da amostra (PRATT, et al., 1984).

O ensaio é muito utilizado no intuito de monitorar a separação ou fracionamento de uma determinada amostra a fim de verificar a presença ou não de substâncias antioxidantes nesta. Estudos científicos com produtos naturais e atividade antioxidante geralmente lançam mão deste recurso (RIBEIRO, et al., 2002; CARDOSO, et al., 2005; SILVA, et al., 2001).

Outra variante deste método utiliza-se da análise da absorvância do β -caroteno. A auto-oxidação do ácido linoleico atua como gerador de

radicais livres, os quais interagirão com o β -caroteno ocasionando decaimento de sua absorvância. Substâncias antioxidantes impedirão ou retardarão este decaimento (JAYAPRAKASHA, et al., 2007).

c) Quimioluminescência do luminol

O princípio geral deste método está baseado na habilidade do luminol e de compostos relacionados em gerar luminescência sob um fluxo de radicais livres (quimioluminescência, QL). A produção de espécies reativas de oxigênio gera certa luminescência, a qual pode ser aumentada através da inserção do luminol no sistema.

A adição de um antioxidante no sistema, como um "seqüestrador" de radicais, resulta numa extinção da QL, comumente num pronunciado período de indução. Outras versões do método diferem no tipo de radical livre ativo produzido e no modo como este é produzido (ROGINSKI, et al., 2005).

Foi possível observar um grande número de trabalhos utilizando desta metodologia, entre eles pode-se citar alguns relacionados a produtos naturais, tais como em alimentos, extratos vegetais, chás e infusões, substâncias isoladas, entre outros. (ANAGNOSTOPOULOU, et al., 2006; TERMENTZI, et al., 2006; PICCINELLI, et al., 2004; ATOUI, et al., 2005).

Uma das variantes do método consiste em mensurar a QL de radicais gerados em um meio celular, ou seja, através do processo de fagocitose por neutrófilos estimulados, os quais sofrem alterações metabólicas imediatas durante o processo liberando espécies reativas de oxigênio (EROs).

Este método, utiliza-se como estímulo para ativação dos neutrófilos o Zimosan (preparação de células de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*)) opsonizado com soro normal de coelho. Estas partículas então são reconhecidas por receptores de membrana dos neutrófilos, iniciando o processo fagocítico e a liberação das EROs. Este processo é acompanhado da geração de luz (QL), a qual é intensificada na presença de luminol, substância capaz de ampliar o efeito da QL. Amostras contendo antioxidantes são avaliadas neste sistema frente à capacidade de neutralizar estas EROs inibindo então a QL gerada (KABEYA, et al. 2002; KANASHIRO, et al., 2004).

O método pode também ser avaliado frente a um sistema enzimático. Nesta variante utiliza-se para a geração das EROs a oxidação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) catalisada por uma enzima, a "Horseradish peroxidase" (HRP). As EROs geradas através da oxidação do H_2O_2 na presença do luminol são também capazes de gerar QL, e amostras contendo antioxidantes serão avaliadas frente a estes radicais através da inibição da QL (KROL, et al., 1994).

Métodos Indiretos

Em ensaios indiretos o processo é caracterizado por uma reação de oxidação-redução entre o oxidante (geralmente uma sonda para monitorar a reação) e o antioxidante. Estão baseados na seguinte reação de transferência de elétrons:

Sonda (oxidante) + e⁻ (do antioxidante) → sonda reduzida + antioxidante oxidado

A sonda ao ser reduzida pelo antioxidante sofre mudanças colorimétricas. A intensidade da mudança de cor é proporcional à atividade deste antioxidante ou à concentração do mesmo (BENZIE, et al., 1999).

a) Ensaio com reagente Folin-Ciocalteu

O ensaio Folin-Ciocalteu (FCR) é um dos mais antigos métodos de quantificação de fenóis em uma amostra, portanto também conhecido como ensaio de fenóis total. Foi desenvolvido inicialmente por Singleton e colaboradores em 1965 e em 1999 o ensaio foi delineado e padronizado para quantificação de fenóis totais (SINGLETON et al. 1999), a partir daí o ensaio encontrou outras aplicações. O ensaio FCR atualmente é utilizado para mensurar a capacidade antioxidante de uma amostra o que aparentemente pode não estar refletido na sua característica de “ensaio de fenóis total”. Porém, um crescente número de publicações está aplicando o ensaio de fenóis total e um ensaio baseado na transferência de elétrons (e.g. TEAC, FRAP, etc.) encontrando entre estes excelentes correlações lineares entre o perfil de fenóis total e a atividade antioxidante. Esta correlação está presente devido às similaridades químicas presentes entre estes ensaios.

O sistema caracteriza-se por uma mistura de ácidos fosfotungstíco e fosfomolibdico (coloração amarelada) em um meio básico. Os fenóis contidos nas amostras são energeticamente oxidados em meio básico, resultando na formação do O₂⁻, o qual reage com os ácidos formando compostos (coloração verde) com uma intensa absorção perto de 750nm. Os fenólicos determinados por FCR são frequentemente expressos em ácido gálico equivalente.

Apesar da química do FCR ainda não estar bem definida, o ensaio de fenóis total por FCR é conveniente, simples e reprodutivo. Como resultado, uma grande massa de dados estão sendo acumulados através deste e está se tornando um ensaio rotineiro no estudo de antioxidantes fenólicos, uma vez que se estabeleceu uma correlação entre o conteúdo fenólico e a capacidade antioxidante de produtos naturais (JAYAPRAKASHA, et al., 2007; ATOUI, et al., 2005; PICINNELI, et al., 2004;

ANAGNOSTOPOULOU, et al., 2006; SURVESWARAN, et al., 2007; STRATIL, et al., 2006; SALVADOR, et al., 2006; TERMENTZI, et al., 2006).

b) Redução do radical DPPH

O teste de redução do radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) foi primeiramente sugerido em meados de 1950. Tempo depois o método foi utilizado para determinar a atividade antioxidante de fenóis, alimentos e amostras biológicas. O radical DPPH é estável, de coloração púrpura, porém quando reduzido passa a ter coloração amarela.

O método está baseado na capacidade do DPPH em reagir com doadores de hidrogênio. Na presença de substâncias antioxidantes o mesmo recebe H⁺ sendo então reduzido. Pode ser facilmente detectado por espectroscopia devido a sua intensa absorção na região visível. O ensaio é iniciado pela adição do DPPH e a amostra, em solução. A capacidade da amostra de reduzir o DPPH, ou seja, evitar sua oxidação, é evidenciada pela porcentagem de DPPH restante no sistema. Então a porcentagem de DPPH restante é proporcional a concentração de antioxidante (SANCHEZ-MORENO, 2002; BONDET et al. 1997).

Alguns autores recomendam a utilização do método DPPH por ser um recurso fácil e preciso para a avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais (ANAGNOSTOPOULOU, et al., 2006; ATOUI, et al., 2005; RIBEIRO, et al., 2002; CARDOSO, et al., 2005; STRATIL, et al., 2006; SURVESWARAN, et al., 2007; JAYAPRAKASHA, et al., 2007; TERMENTZI, et al., 2006; AABY, et al., 2004).

c) Ensaio TEAC

O ensaio TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*) foi relatado primeiramente por Miller e Rice-Evans em 1993 (MILLER et al., 1993) e foi mais tarde melhorado (RE, et al., 1999). A idéia do método é monitorar o decaimento do cátion-radical ABTS⁺, produzido pela oxidação do ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazilina-6-sulfonate), gerado pela adição de uma amostra contendo antioxidantes. Na ausência de fenóis, ABTS⁺ é estável, mas reage energeticamente com um doador de átomo de hidrogênio, como fenóis, sendo convertido em uma forma não colorimétrica do ABTS. Os autores determinam a quantidade de ABTS⁺ consumida devido à reação deste com a amostra contendo fenóis, sendo expressa em Trolox equivalente.

A vantagem do método está na sua relativa simplicidade o que permite sua aplicação em rotinas de laboratório (STRATIL, et al., 2006; SURVESWARAN, et al., 2007; PICINNELI, et al., 2004).

d) Ensaio FRAP

O ensaio FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) (BENZIE, et. al, 1996) está baseado na capacidade dos fenóis em reduzir o Fe^{3+} em Fe^{2+} . Quando isto ocorre, na presença de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), a redução é acompanhada pela formação de um complexo corado com o Fe^{2+} . O ensaio é expresso em ácido ascórbico equivalente. Apesar de ser um método relativamente simples, também é muito utilizado (STRATIL, et al., 2006; SURVESWARAN, et al., 2007; AABY, et. al, 2004).

Considerações finais

Através destas informações pode-se inferir que os métodos indiretos são mais freqüentemente utilizados do que os métodos diretos, porém, a questão é: Qual dos métodos é o mais adequado?

Cada tipo de metodologia analisada apresenta suas vantagens e desvantagens. Os métodos diretos mostram-se mais adequados para avaliação da atividade antioxidante, especialmente aqueles baseados no modelo de reação em cadeia controlada, pois em geral são mais sensíveis. A desvantagem apresentada por estes métodos é que muitos deles são tempo-dependente, o que sugere que suas aplicações requerem experiência em reações de cinética química.

Métodos indiretos bem-desenvolvidos como, por exemplo, o DPPH e o FCR, são adequados e de mais fácil manipulação e apesar de não apresentarem a mesma especificidade, também permitem uma adequada avaliação da atividade antioxidante. Porém é um pouco questionável até que ponto os dados obtidos por estes ensaios podem fornecer informação quantitativa da capacidade de inibição da amostra no processo oxidativo biológico. Outro impasse na aplicação dos métodos indiretos é a sua baixa reprodutibilidade. A razão principal disto é que os resultados são altamente dependentes da concentração de reagentes e do tempo de incubação.

Huang et al. (2005) e Ou et al., 2001 compararam alguns métodos diretos e indiretos sob o ponto de vista do mecanismo de reações envolvidas no protocolo experimental e sugerem que o ORAC e o FCR são ensaios adequados para se avaliar a atividade antioxidante de alimentos, produtos naturais e fluidos biológicos, apresentando vantagens uma vez que minimizam a possibilidade de ocorrência de reações falso positivas e outras limitações presentes em ensaios como TEAC e FRAP.

Por fim pode-se dizer que é sempre prudente que os dados obtidos com o método indireto sejam correlacionados com os dados obtidos por métodos diretos a fim de se obter uma maior

segurança analítica dos resultados obtidos em ensaios antioxidantes empregando modelos *in vitro* e *in vivo*.

Agradecimentos

À FAPESP pelo apoio financeiro

Referências

AABY, K., HVATTUM, E., SKREDE, G. Analysis of flavonoids and other phenolic compounds using high-performance liquid chromatography with coulometric array detection: Relationship to antioxidant activity **J. Agric. Food Chem.** V.52, p.4595-4603, 2004.

ANAGNOSTOPOULOU, M.A., KEFALAS, P., PAPAGEROGIOU, V.P., ASSIMOPOULOU, A.N., BOSKOU, D. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). **Food Chemistry** V.94, p.19–25, 2006.

ATOUI, A.K., MANSOURI, A., BOSKOU, G., KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry** V.89 p.27–36, 2005.

BARCLAY, L.R.S; VINQUIST, M.R. Phenols as antioxidants. In: Rappoport, Z. **The chemistry of phenols** Ed Wiley: New York. P. 839-908. 2003.

BARREIROS. A.L.B.S; DAVID, J.M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, V.29, p.113-123, 2006.

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. **Methods Enzymol.** V.299, p.15-27, 1999.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. **Food Sci. Technol.-Leb.** V.30, p.609-615, 1997.

CAO, G.H.; ALESSIO, H.M.; CUTLER, R.G. Oxygen-radical absorbency capacity assay for antioxidants. **Free Radical Biol. Med.** V.14, p.303-311, 1993.

CARDOSO, C.L., SILVA, D.H.S., CASTRO-GAMBOA, I., BOLZANI, V.S. New Biflavonoid and Other Flavonoids from the Leaves of *Chimarrhis turbinata* and their Antioxidant Activities. **J. Braz. Chem. Soc.**, V.16, 2005.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem.** V.53, p.1841-1856, 2005.

- JAYAPRAKASHA, G.K., NEGI, P.S., JENA, B.S., RAO, J.M. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. **J. Food Comp. and Analysis** V.20, p.330–336, 2007.
- KABEYA, L.M.; KANASHIRO, A.; AZZOLINI, A.E.C.S.; SORIANI, F.M.; LOPES, J.L.C.; LUCISANO VALIM, Y.M. Inhibitory effect of eight simple coumarins on the lucigenin enhanced chemiluminescence of rabbit neutrophils. **Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology** V.111, p.103-113, 2002.
- KANASHIRO, A.; KABEYA, L.M.; POLIZELLO, A.C.M.; LOPES, N.P.; LOPES, J.L.C.; LUCISANO-VALIM, Y.M. Inhibitory activity of flavonoids from *Lychnophora* sp. on generation of reactive oxygen species by neutrophils upon stimulation by immune complexes **Phytother. Res.** V.18, p.61-65, 2004.
- KROL, W.; CZUBA, Z.; SCHELLER, Z.; SHANI, J. Structure-activity relationship in the ability of flavonols to inhibit chemiluminescence. **J. Ethnopharmacol.** V.41, p.121-126, 1994
- MILLER, N.J.; RICE-EVANS, C.A.; DAVIES, M.J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. A Novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring antioxidant status in premature neonates. **Clin. Sci.** V.84, p.407-412, 1993.
- OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R.L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **J. Agric. Food Chem.** V.49, p.4619-4626, 2001.
- PICCINELLI, A.L.; DE SIMONE, F.; PASSI, S.; RASTRELLI, L. Phenolic constituents and antioxidant activity of *Wendita calysina* leaves (burrito), a folk Paraguayan tea. **J. Agric. Food Chem.** V.52, p.5863-5868, 2004.
- PRATT, D.E.; MILLER, E.E. A flavonoid antioxidant in spanish peanuts (*Arachia hypogoea*). **Journal of American Oil Chemical Society** V.61, p.1064-1067, 1984.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biol. Med.** V.26, p.1231-1237, 1999.
- RIBEIRO, A.B.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V.S. Flavonóis glicosilados antioxidantes de *Nectandra grandiflora* (Lauraceae) **Eclét. Quím.** V.27, 2002.
- ROGINSKI, V; LISSI, E.A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry.** V.92, p.235-254, 2005.
- SALVADOR, M.J.; FERREIRA, E.O.; MERTENS-TALCOTT, S.U.; CASTRO, W.V.; BUTTERWECK, V.; DERENDORF, H.; DIAS, D.A. Isolation and HPLC quantitative analysis of antioxidant flavonoids from *Alternanthera tenella* Colla. **Z. Naturforschung.** V.61, p.19-25, 2006.
- SANCHEZ-MORENO, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Sci. Technol. Int.** V.8 p.121-137, 2002.
- SILVA, D.H.S., PEREIRA, F.C., ZANONI, M.V.B., YOSHIDA, M. Lipophyllic antioxidants of *Iryanthera juruensis* fruits. **Phytochemistry**, v.57, p.437-442, 2001.
- 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. **Methods Enzymol.** V.299, p.152-178, 1999.
- STRATIL, P., KLEJDUS, B., KUBAN, V. Determination of Total Content of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Vegetables Evaluation of Spectrophotometric Methods. **J. Agric. Food Chem.**, V.54, p.607-616, 2006.
- SURVESWARAN, S., CAI, Y.Z., CORKE, H., SUN, M. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. **Food Chemistry** V.102, p.938–953, 2007.
- TERMENTZI, A., KEFALAS, P., KOKKALOU, E. Antioxidant activities of various extracts and fractions of *Sorbus domestica* fruits at different maturity stages. **Food Chemistry** V.98, p.599–608, 2006.
- WANG, H., CAO, G., PRIOR, R.L. Total antioxidant capacity of fruits. **J. Agric. Food Chem.** V.44, p.701 -705, 1996
- WANG, H., CAO, G., PRIOR, R.L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **J. Agric. Food Chem.** V.45, p.304 -309, 1997
- WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Lipophilic and hydrophilic capacities of common foods in the United States. **J. Agric. Food Chem.**, V.52, p.4026-4037, 2004.