

基于 DTNB 法的还原型谷胱甘肽检测试剂优化研究

孙鑫, 夏云豪, 臧荣斌, 王永旗, 吕明, 卢洪庆*

(太仓沪试试剂有限公司, 江苏 苏州 215421)

摘要: 谷胱甘肽 (GSH) 是一种含活性巯基的内源性三肽, 在机体抗氧化防御与细胞代谢调控中具有关键作用, 其含量可通过 Ellman 试剂与巯基的特异性反应进行测定。在适宜条件下, 该反应生成黄色产物 2-硝基-5-巯基苯甲酸 (TNB⁻), 其在 412 nm 波长处具有特征吸收峰, 吸光度值与样品中 GSH 的浓度呈正比关系。本研究利用 GSH 与 DTNB 的特异性反应, 在优化实验条件的基础上, 测定反应产物在 412 nm 波长处的吸光度值, 并通过标准曲线法对样品中的 GSH 含量进行定量分析。在优化的实验条件下, GSH 浓度在 3.125~800 µg/mL 范围内与吸光度值呈现良好的线性关系 ($R^2 = 0.9999$), 方法的检出限 (LOD) 为 2.400 µg/mL; 相对标准偏差 (RSD) $\leq 5\%$, 加标回收率在 95%~105% 之间。所建立的还原型谷胱甘肽检测试剂灵敏度高、重复性好、准确度高, 基于该方法研制的谷胱甘肽检测试剂操作简便快捷, 为相关样本中还原型谷胱甘肽的定量分析提供了可靠的检测手段。

关键词: 谷胱甘肽; DTNB 法; 分光光度法; 检测限; 回收率

中图分类号: O65 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283 (2026) --

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2026.0030

Reagent Optimization for Reduced Glutathione Determination Based on the DTNB Method

SUN Xin, XIA Yun-hao, ZANG Rong-bin, WANG Yong-qi, LV Ming, LU Hong-qing* (Taicang Hushi Reagent Co., Ltd., Suzhou 215421, China)

Abstract: Glutathione (GSH) is an endogenous tripeptide containing an active sulfhydryl group, playing a crucial role in the body's antioxidant defense and cellular metabolism regulation. Its content can be determined through the specific reaction between Ellman's reagent and thiol groups. Under appropriate conditions, this reaction yields a yellow product, 2-nitro-5-mercaptobenzoic acid (TNB⁻), which exhibits a characteristic absorption peak at 412 nm, and the absorbance value is proportional to the concentration of GSH in the sample. Based on the specific reaction between glutathione and DTNB, the absorbance of the reaction product was measured at a wavelength of 412 nm under optimized experimental conditions. The GSH content in the samples was quantitatively analyzed using the standard curve method. Under the optimized experimental conditions, the GSH concentration exhibited a good linear relationship with the absorbance value within the range of 3.125 to 800 µg/mL ($R^2 = 0.9999$). The limit of detection (LOD) of the method was 2.400 µg/mL. The relative standard deviation (RSD) was $\leq 5\%$, and the spiked recovery rates ranged from 95% to 105%. The established DTNB method demonstrates high sensitivity, good reproducibility, and high accuracy. The glutathione detection reagent developed based on this method is simple and rapid to operate, providing a reliable means for the quantitative analysis of reduced glutathione in relevant samples.

Key words: glutathione; DTNB method; spectrophotometry; limit of detection; recovery

谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 是一种广泛存在于真核细胞中的内源性三肽化合物, 由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸通过肽键连接而成。其分子结构中的 γ -谷氨酰键赋予该分子一定的代谢稳定性, 不易被普通肽酶水解。GSH 的核心特征是其活性巯基 (—SH), 该基团使其成为细胞抗氧化防御系统的关键组分。其在清除自由基、维持细胞内

氧化还原稳态、调节细胞信号转导及参与 II 相解毒代谢等方面发挥着不可或缺的作用。GSH 的巯基具有高反应性, 易于发生氧化还原反应, 可保护蛋白质巯基、核酸及其他重要生物分子免受氧化损伤^[1-3], 因而其含量与活性常被视为反映细胞氧化应激状态的重要指标^[4]。

基于 GSH 巯基特有的化学反应性, 多

收稿日期: 2026-02-06

作者简介: 孙鑫 (1988-), 男, 浙江慈溪人, 硕士, 工程师, 主要研究方向为高纯化学试剂、检测试剂盒等精细化工产品的开发和生产。

通讯作者: 卢洪庆, E-mail: luhongqing@sinopharm.com。

种分析方法已被开发并应用于其含量的定量分析,包括高效液相色谱法(HPLC)、液相色谱-质谱联用(LC-MS)以及酶循环法等^[5-8]。其中,基于5,5'-二硫代-双-(2-硝基苯甲酸)(DTNB, Ellman 试剂)的比色分析方法,因其操作简便、成本低廉、重现性好且反应机制清晰明了,已成为实验室中的常用手段之一(图1)^[9]。在该反应中,DTNB分子中的二硫键被GSH的巯基亲核攻击还原,断裂生成1分子谷胱甘肽二硫化物(GSSG)和1分子2-硝基-5-巯基苯甲酸(TNB⁻)。TNB⁻在碱性条件下呈黄色,并在412 nm波长处具有显著的最大光吸收峰,其吸光度值与样品中GSH的浓度成正比^[10-12]。通过分光光度法测定该黄色产物的生成量,利用预先建立的标准曲线,即可定量计算样品中还原型谷胱甘肽的含量。

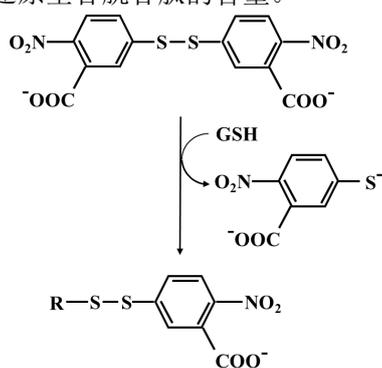


图1 DTNB法测定GSH含量的反应原理示意图

Fig.1 Schematic representation of the reaction mechanism for the determination of GSH using the DTNB method

然而,DTNB法在实际样本(如组织匀浆、血浆、植物提取物等)检测中的应用易受多种因素干扰,进而影响分析结果的准确性与可靠性。例如,样本中存在的多酚类、色素及血红蛋白等内源性物质在412 nm波长附近有显著吸收^[13],会对吸光度读数产生严重光谱干扰,可能导致GSH含量被高估;样品前处理过程(如匀浆、离心、脱蛋白等)若未在低温及避光条件下进行,或未添加适当的螯合剂与蛋白酶抑制剂,可能因氧化或降解导致GSH损失;此外,反应条件如pH、反应时间、DTNB浓度等若未经充分优化与验证,可能导致方法灵敏度不足、线性范围狭窄,使其难以准确定量低浓度样本,或在

测定高浓度样品时因响应值饱和而超出检测限。针对上述问题,本研究通过对DTNB法的样品前处理步骤、反应体系配比及检测条件进行了系统优化,显著提升了该技术在实际复杂生物样本体系中的分析性能、准确度与稳健性。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

HTX型酶标仪(美国安捷伦科技有限公司);XP205型电子天平(感量为0.01 g,瑞士梅特勒-托利多有限公司);Milli-Q A10型超纯水系统(美国密理博公司);Sorvall legend micro 17r型低温离心机(美国赛默飞世尔科技公司)。

还原型谷胱甘肽(GSH)、5,5-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、三氯乙酸(TCA)(北京伊塔生物科技有限公司);乙二胺四乙酸三钾盐二水合物(EDTA-3K·2H₂O,北京沃凯生物科技有限公司);三羟甲基氨基甲烷(Tris,国药集团化学试剂有限公司);实验用水为超纯水;其它试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液配制

标准品配制:10 mg GSH存放于1 mL的试剂管中,加入1 mL超纯水溶解标准品。

提取液配制:首先,称取50 mg EDTA-3K·2H₂O加入25 mL纯水中混匀,配制成2 mg/mL溶液。之后,称取2.5 g TCA,溶解于25 mL超纯水中,与25 mL(2 mg/mL) EDTA-3K·2H₂O混匀,配制成5% TCA和1 mg/mL EDTA-3K溶液。

三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)缓冲溶液配制:称取121.1 g Tris,置于1 L烧杯中,加入约800 mL去离子水,充分搅拌使其完全溶解。随后,在持续搅拌下,缓慢向溶液中滴加浓盐酸,用量约为40~50 mL,同时使用pH计在室温条件下监测并调节溶液pH值,直至精确稳定至pH 8.5。最后,用去离子水将溶液总体积定容至1 L。配制完成的缓冲液需经高温高压灭菌(条件通常为121 °C, 15~20 min),灭菌后可在室温环境下保存备用。

磷酸盐缓冲盐水(PBS)缓冲液配制方

法: 准确称取 0.06 g 磷酸二氢钾、1.80 g 无水磷酸氢二钠、8.00 g 氯化钠和 0.20 g 氯化钾, 加入约 800 mL 去离子水中搅拌溶解, 调节溶液至 pH 8.5。用去离子水将溶液总体积定容至 1 L, 高压灭菌后保存备用。

反应液配制: 称取 11.892 mg DTNB, 溶解在 12 mL 60%乙醇溶液中, 配制成 2.5 mmol/L DTNB 溶液, 并避光保存。

1.2.2 样品处理

供试小番茄 (樱桃番茄, *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) 样本购自本地农贸市场。样本经去蒂、去离子水清洗、匀浆后备用。取 0.1~0.2 g 本实验选用樱桃番茄, 精确称量后置于预冷的离心管中, 加入 1 mL 提取液 (如 RIPA 裂解液或根据实验需求选用特定提取缓冲液), 使用经冰浴预冷的匀浆器在低温条件下进行充分匀浆, 确保组织完全破碎、细胞充分裂解。随后将匀浆液转移至离心管, 于 4 °C、8000 r/min 条件下离心 10 min, 小心吸取上清液, 避免触及沉淀, 收集于新的预冷 EP 管中保存待用。

1.2.3 样品测定

首先, 使用超纯水将浓度为 10 mg/mL GSH 标准溶液进行系列稀释, 制备出 800、400、200、100、50、25 和 12.5 µg/mL 的标准溶液系列。稀释过程中, 应使用精确的移液器和洁净的试管, 确保每个浓度的准确性, 避免交叉污染。

接下来, 配制反应体系。取 100 µL 样本或上述标准溶液, 加入 700 µL 缓冲液和 200 µL 反应液, 使用涡旋混合器或移液器轻轻吸打混合均匀, 以确保试剂充分反应。然后将混合物于室温条件下静置 2 min, 使反应完全进行, 期间避免光照或振动干扰。

最后, 使用酶标仪进行吸光度测定。先将酶标仪的波长调节至 412 nm, 并进行空白管调零以校准仪器。然后分别分析测定管、标准管和空白管的吸光度值, 每个样品重复测定 3 次取平均值, 以确保数据的可靠性和准确性。记录所有吸光度数据, 用于后续标准曲线的绘制和浓度计算。

1.2.4 加标回收率测定

按照 1.2.2 样品处理的方法, 获得样品提取液, 并将同一份样品提取液分为两部分,

即未加标组和加标组。未加标组, 取一份提取液直接按照优化后的方法测定其 GSH 本底含量。加标组, 取另一份提取液, 在样品前处理阶段 (即提取后、测定前) 加入一定量的 GSH 标准品, 然后按照相同步骤进行测定。加标回收量由加标组测定值 减去未加标组测定值得到。

2 结果与讨论

2.1 显色反应的条件优化

测定谷胱甘肽 (GSH) 的含量通常采用 DTNB (5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)) 比色法, 该方法依赖于 DTNB 与 GSH 之间的定量硫醇-二硫键交换反应, 生成等物质的量的黄色产物 5-硫代-2-硝基苯甲酸阴离子 (TNB²⁻)。该产物在 412 nm 波长处具有特征吸收峰, 其吸光度值与 GSH 浓度成正比, 因此反应效率与体系的稳定性直接决定了分析方法的灵敏度与可靠性。为全面评估该测定方法的操作条件, 确保实验结果的准确性与重复性, 系统考察了包括溶液 pH 值、反应时间及反应温度在内的多个关键因素对最终吸光度信号强度的影响, 实验结果汇总于图 2。

从图 2a 可以看出, 溶液 pH 值对反应信号影响尤为显著。当低于 pH 7.0 时, 吸光度信号出现大幅下降。其原因主要在于两方面: 一是在酸性条件下 DTNB 本身易发生水解反应, 导致其有效浓度降低; 二是反应所生成的 TNB²⁻在酸性环境中会发生质子化, 转化为无色的 TNBH 形式, 从而使显色强度减弱、吸光度值降低。

相比之下, 反应温度与反应时间在实验所考察的范围内 (温度 20~50 °C, 时间 5~40 min) 对信号影响较小。在该区间内, 吸光度变化幅度不超过 10%, 说明反应体系对时间与温度具有一定耐受性, 表现出较好的稳健性。因此, 在实际测定过程中, 溶液 pH 值是控制 DTNB 与 GSH 反应完全程度、影响方法灵敏度的最关键参数。pH 不仅决定了试剂的稳定性和产物的显色状态, 也是实验误差的一个主要潜在来源。考虑到提取液为酸性, 建议采用弱碱性缓冲体系 (如 pH 8.0) 进行反应。

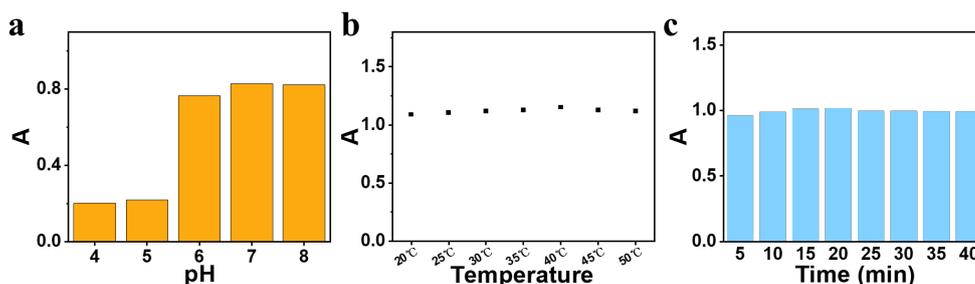


图2 (a) 溶液 pH 值 (25 °C, 40 min) ; (b) 反应温度 (pH 8.0, 40 min) 与 (c) 反应时间 (pH 8.0, 25 °C) 对信号值的影响

Fig.2 Effects of (a) solution pH (25 °C, 40 min); (b) reaction temperature (pH 8, 40 min), and (c) reaction time (pH 8, 25 °C) on the signal value

2.2 缓冲溶液及稀释比的优化

为了消除样本中可能存在的蛋白质干扰, 以及避免酶对谷胱甘肽 (GSH) 的催化降解作用, 本研究采用了酸提取法以实现快速沉淀蛋白质。该提取液约为 pH 1, 若直接将其加入显色体系, 将导致整体 pH 偏酸性, 从而影响显色反应和测定准确性。针对该问题, 引入缓冲溶液以调节反应体系的酸碱度, 并系统比较了不同浓度的 PBS 以及 Tris-HCl 缓冲溶液对吸光度值的影响, 结果如图 3a 所示。从图中可以看出, 使用 1/2 浓度稀释的 Tris-HCl 与未稀释的 Tris-HCl 作为缓冲溶液时, 所获得的检测灵敏度较高, 且两者之间差异不显著, 表现基本一致。

进一步研究了提取液不同稀释比例对

分析方法性能的影响, 并采用标准加入法进行验证。结果如图 3b 所示, 当稀释比例为 1:1 时, 加入的 GSH 标准浓度与实测值之间存在较大偏差, 回收率低于 90%; 而在 1:9 稀释条件下, 加标回收率与加标量基本吻合, 回收率达到 95%及以上。造成该现象的主要原因是提取液中酸性成分浓度较高, 在较低稀释比条件下, 其酸性强度超出了缓冲溶液的缓冲能力, 导致反应体系 pH 值偏低。结合图 2 中所示 pH 对实验结果的影响可知, 酸性环境会引起信号值下降, 从而导致 GSH 浓度的测量值被低估。因此, 选择适当的稀释比例并结合合适的缓冲体系, 对保证 GSH 定量分析的准确性与可靠性具有重要意义。

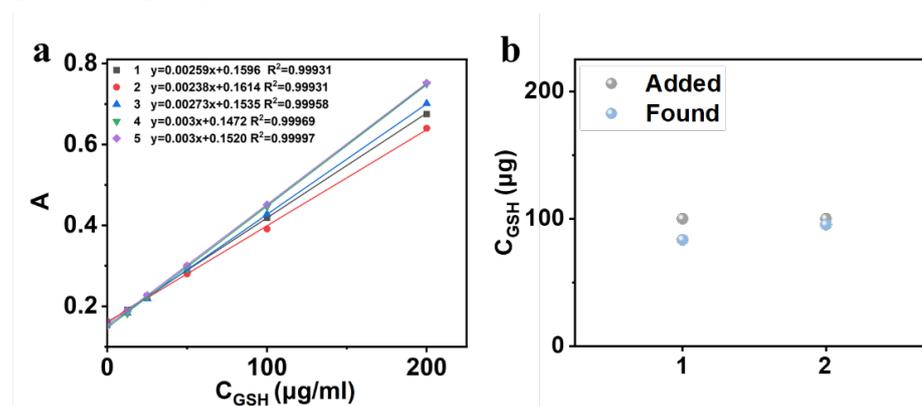


图3 (a) 缓冲溶液对信号响应的影响, 1. PBS; 2. 1/2 PBS; 3. 1/4-Tris-HCl; 4. 1/2-Tris-HCl; 5. Tris-HCl (b) 提取液的稀释比对信号响应的影响: 1. 提取液与缓冲液体积比为 1:1; 2. 提取液与缓冲液体积比为 1:9

Fig.3 (a) Effects of buffer solutions on the signal response, 1. PBS; 2. 1/2 PBS; 3. 1/4 Tris-HCl; 4. 1/2 Tris-HCl; 5. Tris-HCl; (b) Effects of dilution ratios of the extract on the signal response, 1. extraction solution-to-buffer volume ratio of 1:1; 2. extraction solution-to-buffer volume ratio of 1:9

2.3 性能分析

在前述优化条件的基础上, 成功制备了

一套用于准确测定还原型谷胱甘肽含量的检测试剂。

首先系统性地对其稳定性和测定结果的重现性进行了全面评估。在评估过程中,采用了多次平行测定的实验设计,针对低、中、高不同浓度水平的还原型谷胱甘肽标准品进行了多轮重复检测(表1)。

表1 本检测试剂的精密度^注

Tab.1 Precision of the GSH detection kit

GSH 浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	#1	#2	#3	平均 值	相对标准 偏差/%
200	0.6	0.7	0.7	0.70	2.15
	88	17	10	5	
100	0.4	0.4	0.3	0.39	3.37
	03	10	84	9	
50	0.2	0.2	0.2	0.26	4.30
	68	68	70	9	
25	0.2	0.2	0.2	0.20	2.82
	05	05	04	5	
12.5	0.1	0.1	0.1	0.17	1.72
	74	71	77	4	
0	0.1	0.1	0.1	0.13	4.33
	33	4	45	9	

注: #1、#2、#3 分别代表 3 次平行测定的结果;“平均值”为 3 次测定的算术平均数。

从表 1 所示结果可以看出,在设定的浓度范围内,所有浓度下测定结果的相对

标准偏差均不超过 5%,表明无论在较低还是较高浓度下,该套试剂均表现出良好的测定稳定性。这一结果充分说明,该套试剂在重复测量条件下随机误差较小,重复性与精密度较高,能够满足实际样本检测中对结果可靠性和一致性的要求,为后续大规模应用提供了坚实的方法学基础。

为确保分析方法的可靠性,本研究随后评估了其线性范围与灵敏度。采用 GSH 标准品溶液,建立标准曲线进行定量分析。以不同浓度的 GSH 标准品溶液的浓度为横坐标,以 412 nm 波长处的特征吸光度值为纵坐标,作图并进行线性回归。如图 4a 所示,该方法在 3.125~800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度区间内表现出优异的线性响应,所得相关系数 R^2 高达 0.9999,证实了浓度与信号间的高度线性关联,确保了后续定量的准确度。关于灵敏度,本研究采用信噪比(S/N)法计算了方法的检出限。具体而言,检测限(LOD)的计算公式为 $\text{LOD} = 3\sigma/S$,其中 σ 为空白样品(不含 GSH)重复测定 10 次的标准偏差,S 为上述标准曲线的斜率。经计算,本方法的 LOD 低至 2.400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。该数值显著低于常规样品中 GSH 的预期浓度,表明方法具有优异的灵敏度,能够有效区分由低浓度分析物产生的微弱信号与仪器背景噪声,为生物样本(如细胞裂解液、组织匀浆)中痕量 GSH 的准确定量提供了可靠保障。

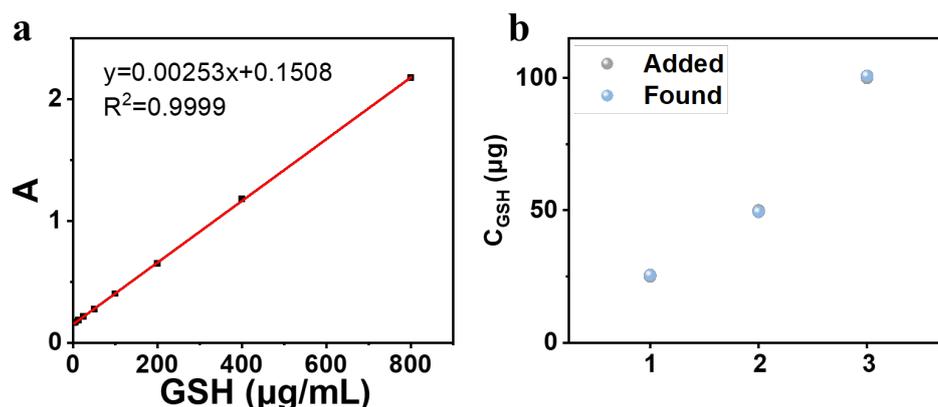


图4 (a) 标准曲线; (b) 基于标准添加法的 GSH 检测试剂性能评估(25、50、100 μg GSH)

Fig.4 (a) Standard calibration curve; (b) The performance of this GSH detection kit for different amounts of GSH (25、50、100 μg) by using standard addition method

采用标准加入法对本方法的准确度与抗干扰能力进行了综合评估。通过在小番茄

样本提取液中,精确加入不同已知量的 GSH 标准品,然后使用本检测试剂进行测定,通

过计算回收率来验证方法的准确性。具体实验中,在 200 μL 的标准反应体系中,分别精确加入了 25、50 及 100 μg 3 个梯度浓度的 GSH 标准品进行加标回收实验。结果如图 4b 所示,3 个浓度水平下,加标回收量与加标量基本重合,回收率在 95%~105%的理想区间之内。回收率实验结果表明,本检测试剂在具备较好的实际应用前景。利用本检测试剂对小番茄中 GSH 进行测定,结果为 43.69 $\mu\text{g/g}$ 。由于植物样本中 GSH 含量受多种因素影响,该结果的普适性尚需进一步验证^[14-16]。

为确保本检测方法在实际应用中的可靠性与耐用性,评估了其长期储存稳定性。模拟常规试剂的储存条件,将制备的检测试剂,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 环境中保存。随后,在初始及储存第 1、2、3 个月的预设时间点,取出一组独立分装的试剂,使用同一浓度的 GSH 标准品溶液进行平行测定。通过比较各时间点如 412 nm 处吸光度值与其初始值的相对变化来量化试剂的性能衰减情况。如图 5 所示,在为期 3 个月的观察期内,测定信号值始终维持在初始信号值的 95%~106%之间,波动范围小,未观察到明显的衰减趋势。该结果表明,本检测试剂活性至少可保持 3 个月而无显著损失,有力地支撑了其商业化应用前景。

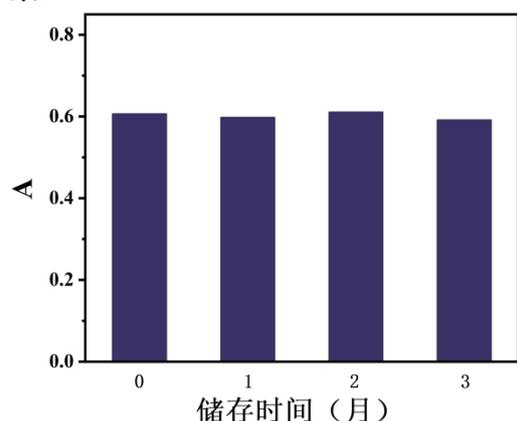


图 5 GSH 检测试剂在储存 1、2、3 个月后的稳定性评估 (GSH 浓度: 200 $\mu\text{g/g}$)

Fig.5 Stability of the GSH detection kit following 1, 2, and 3 month storage (GSH concentration: 200 $\mu\text{g/g}$)

3 结论

针对 DTNB 法的实际应用场景,从反应

体系的 pH 值、温育时间及显色稳定性等多个关键参数入手,系统优化了实验条件,在此基础上成功制备了还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量检测试剂。该检测试剂在 3.125~800 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内呈现优良的线性关系 ($R^2 = 0.9999$),检出限 (LOD) 低至 2.400 $\mu\text{g/mL}$,定量准确度高;批内和批间相对标准偏差 (RSD) 均控制在 5% 以内,加标回收率稳定在 95%~105% 之间,这些结果充分表明该检测试剂具有较高的精密度和良好的准确性。同时,本检测试剂放置 3 个月后,信号值基本没有衰减,说明本检测试剂具备较好的物理化学稳定性。此外,本检测试剂操作简便、稳定性强,具有较好的应用前景。

参考文献:

- [1] Su J C, Nie Y, Li L N, Shen W B. *Prog. Biochem. Biophys.*, 2019, **46(1)**: 32-42.
苏久厂, 聂阳, 李龙娜, 沈文飏. 生物化学与生物物理进展, 2019, **46(1)**:32-42.
- [2] Deng J. Molecular Mechanism of GRX1 Regulating AMPK Protein S-Glutathionylation Modification to Promote Autophagy and Alleviate Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury, and Intervention Study with Brain-Tai Formula. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2024.
邓竣. GRX1 调控 AMPK 蛋白 S-谷胱甘肽化修饰促进自噬减轻脑缺血再灌注损伤的分子机制及脑泰方干预研究. 长沙: 湖南中医药大学, 2024.
- [3] Song R D. Construction and Application of Protein-Capsule-Driven Active Regulatory Drug Assembly. Hefei: University of Science and Technology of China, 2024.
宋润迪. 蛋白质冠主动调节型药物组装体构筑与应用. 合肥: 中国科学技术大学, 2024.
- [4] Noctor G, Mhamdi A, Chaouch S, Han Y, Neukermans J, Marquez-garcia B, Queval G, Foyer C H. *Plant Cell Environ.*, 2012, **35**: 454-484.
- [5] Wei B, Li P, Cui S Y. *Food Res. Dev.*, 2015, **36(8)**: 68-72.
魏斌, 李鹏, 崔胜云. 食品研究与开发, 2015, **36(8)**, 68-72.
- [6] Jin J S, Shen L, Cui S Y. *J. Food Saf. Qual. Test.*, 2013, **4(4)**:1155-1160.

金京石, 沈丽, 崔胜云. 食品安全质量检测学报, 2013, **4(4)**:1155-1160.

[7] Cao S X, Chen B Y, Guo Z B, Zheng B D. *Chin. J. Trop. Crops*, 2012, **33(11)**:2110-2114.

曹绍校, 陈秉彦, 郭泽. 郑宝东热带生物学报, 2012, **33(11)**:2110-2114.

[8] CN202310021482.8. Zhang Z S, Su X P, Fu Y W, Li F S, Wu Y F. 2023-06-30.

CN202310021482.8. 张兆顺, 苏学明, 符运文, 黎风顺, 吴育芳. 2023-06-30.

[9] Riener C K, Kada G, Gruber H J. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, **373**: 266-276.

[10] Giustarini D, Dalle-donne I, Milzani A, Fanti P, Rossi R. *Nat. Protoc.*, 2013, **8**: 1660-1669.

[11] Xia X W, Zhou H Y, Zhang R X, Zhang X Y, Xu B J, Wong I N, Huang R M. *Food Sci. Human Wellness*, 2025, **14(12)**: 9250300.

[12] Saputra E, Kase Z R, Timur I A, Frisky A Z K, Wicaksono N D A, Jatmiko W A, Munawwaroh Z A, Pambudi F I, Santosa S J. *Sensors Int.*, 2025, **6**: 100327.

[13] Li Z Z, Xie Y F, Tao J, Wei X B, Li L L, Li Y J, Tang J M, Niu H W, Chen X J, Gao H L, Li F, Yu H C, Yuan Y X, Gu S B, Kang H B, Sun X F, Ren G Y, Wu Y. *Chin. J. Org. Chem.*, 2025, **45(7)**: 2335-2349.

李兆周, 谢亚芳, 陶健, 魏雪冰, 黎乐乐, 李亚娟, 唐嘉敏, 牛华伟, 陈秀金, 高红丽, 李芳, 于慧春, 袁云霞, 古绍彬, 康怀彬, 孙晓菲, 任国艳, 吴影. 有机化学, 2025, **45(7)**: 2335-2349.

[14] Martínez J P, Fuentes R, Fariás K, Lizana C, Alfaro J F, Fuentes L, Calabrese N, Bigot S, Quinet M, Lutts S. *Agronomy*, 2020, **10(10)**:1481.

[15] 杨天怡, 刘岳飞, 李彩媛, 谭宏伟. 西南农业学报, 2016, **29(09)**: 2100-2105.

[16] 李琿, 王雨霜, 俞杰, 林玉泉, 陆必勇, 陆鸿英, 叶红霞, 施星仁. 浙江农业科学, 2020, **61(11)**: 2366-2370.