



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20160061

## 生物抗氧化剂电化学检测技术进展

刘继锋, 张 强, 屠青霞, 韩爱玲

(食品营养与安全教育部重点实验室, 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

**摘 要:** 生物体内的氧化与抗氧化机制是生命科学研究较广泛的课题. 在氧化代谢过程中, 活性氧物质或自由基 (ROS) 逐渐积累, 当 ROS 相对于生物抗氧化剂 (AO) 过量时, 会破坏生物大分子和细胞, 并导致人体组织的功能损伤. 因此, 对 AO 的研究在生物化学、医学、食品科学等领域具有重要的意义. 传统的 AO 检测一般采用自由基反应检测, 热引发的 ROS 与 AO 进行氧化还原竞争反应, 或者使用具有光学吸收或荧光特性的氧化剂, 根据体系的光学吸收或荧光信号可以对 AO 进行定量分析. 我们发展了几种 ROS 淬灭型电化学检测 AO 的方法, 并且给出了相应的动力学模型. AO 电化学检测技术的主要优点是采用了电化学原位产生的 ROS ( $H_2O_2$ 、 $\cdot OH$  等) 作为 AO 分析的氧化性物质, 这些 AO 接近于人体内源型 ROS, 因此得到的氧化还原动力学数据更加接近于人体实际发生的状态.

**关键词:** 生物抗氧化剂; 活性氧物质; 电化学检测; 光电化学检测

中图分类号: O657.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2016)05-0001-07

## Research Progress in Electrochemical Detection Technology of Biological Antioxidant

LIU Jifeng, ZHANG Qiang, TU Qingxia, HAN Ailing

(Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Ministry of Education, College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** Bio-oxidation process and the role of antioxidants (AO) in life sciences are widely recognized as a central issue of modern biology. During the oxidative metabolic process, free radicals and other reactive oxygen species (ROS) are generated and may cause oxidative damages. When excess free radicals or ROS overwhelm AO, destructive and lethal cellular effects occur. Therefore, it is of fundamental importance to understand the role of AO and control the oxidative stress. Different methods have been proposed to study the antioxidant properties of molecules acting through the radical reaction pathway, whereby the AO and the substrate compete for thermally generated peroxy radicals. These methods using absorbance or fluorescent indicators yield different parameters for evaluating the antioxidant properties. Recently, we have developed the OH radical ( $\cdot OH$ ) quenching,  $H_2O_2$  quenching, and  $H_2O_2$  plus  $\cdot OH$  quenching electrochemical methods for AO tests, and a different kinetic model was developed to compare the antioxidant activities, which is reviewed in this paper. Using these electrochemical AO detection techniques, ROS generated in situ at the electrode surface can be analyzed, and the redox would be similar to the oxidative metabolic process in vivo.

**Key words:** biological antioxidants; reactive oxygen species; electrochemical detection; photoelectrochemical detection

在生物化学、医学领域, 生物抗氧化剂 (AO) 包括酶或其他有机物, 如维生素 E、胡萝卜素以及其他能够抑制和减少动物组织氧化损伤的物质. 在食品领域 AO 包括自由基链反应抑制剂、金属螯合剂、氧化酶抑制剂和抗氧化辅酶<sup>[1]</sup>. 相对生物分子而言, AO

在较低的浓度条件下可保护、防止或减少生物分子的氧化损伤<sup>[2]</sup>.

与 AO 相对应的一个概念就是活性氧物质 (ROS), ROS 通常是由气态的氧直接或者间接转化过来的, 是比分子态氧反应活性更高的分子或者含氧

收稿日期: 2016-03-01; 修回日期: 2016-05-31

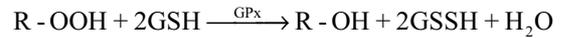
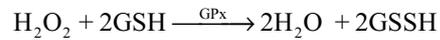
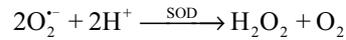
基金项目: 国家自然科学基金科学仪器专项资助项目 (21127006)

作者简介: 刘继锋 (1971—), 男, 山东泰安人, 教授, jfliu@tust.edu.cn.

的自由基等具有活性基团的总称<sup>[3]</sup>。根据人体衰老与疾病发生的自由基理论<sup>[4]</sup>,人体衰老和疾病发生是一个氧化自由基不断损伤核酸、蛋白质、细胞、机体组织的过程,也是一个 ROS 氧化产物不断积累的过程;AO 能够保护人体较少受到损伤,延缓衰老和抑制疾病的发生。氧化应激是基于人体衰老与疾病的自由基理论提出的概念,是指破坏了 ROS 和 AO 水平的平衡导致的潜在伤害状态,意味着 AO 水平低下或生物体的氧化损伤修复机能低下。人体内的 ROS 主要是在呼吸链的能量传递过程(氧化磷酸化反应为机体提供 ATP)中产生的,摄入的氧分子在酶催化下,不是同时传递 4 个电子生成水,而是得到 1 个电子生成超氧阴离子自由基( $O_2^-$ ),未参加呼吸链电子传递。人体呼吸的 1% ~ 3% 的氧气转化成  $O_2^-$ , 占氧自由基来源约 90%。 $O_2^-$  是生成其他 ROS、氮自由基的前躯体,通过系列反应,生成更多的强氧化性的氧、氮自由基,例如:过氧化氢( $H_2O_2$ )、一氧化氮(NO)、过氧亚硝基( $ONOO^-$ )、次卤酸以及氧化破坏能力更强的羟基自由基( $\cdot OH$ )等。在人体代谢过程中不断产生这些 ROS,这些氧化性物质在人体中的含量非常可观,例如人体内每年大概生成 2 kg  $H_2O_2$ <sup>[2]</sup>。另外,ROS 和其他活性衍生物(如  $O_2$ )<sup>[1]</sup>以及脂类分子(LH)过氧化的产物(如  $LO\cdot$ 、 $LOO\cdot$  及  $LOOH$ )不断地通过非酶反应与酶反应产生,这些自由基与生物体的代谢活动有着密切的联系<sup>[5]</sup>。它们在生物代谢过程中扮演着双重角色,对人体既有有利的一面,也有不利的一面。ROS 含量较低或适度时能帮助人体调节细胞应对缺氧、易感染的状态,并起到细胞间信息传导的作用,引发细胞有丝分裂过程。但是当含量过高,ROS 损害脂类、蛋白质、DNA,并抑制生物大分子的功能。例如一个细胞中的 DNA 每天遭到 500 000 次氧、氮自由基,以及辐射、有毒药物、突变引发剂的攻击。正常情况下损伤的分子可以得到修复、置换、降解代谢和重新合成,因此不会造成 ROS 对机体的损伤。但当人体长时间处于氧化应激状态时,ROS 和 AO 的失衡导致活性氧产生增多或机体清除能力减弱,最终导致组织损伤并引发疾病。例如 DNA 氧化损伤后功能改变,导致基因的过表达或产物蛋白活性增强,使细胞过度增殖形成肿瘤。所以人体长时间处于氧化应激状态时,ROS 和 AO 的失衡导致一系列的生物氧化反应,引发人体衰老和一系列疾病,例如神经退行性疾病(帕金森症、阿兹海默氏症等)、心脑血管疾病、糖尿病等。

人体内的抗氧化机制分为酶和非酶两大类。前

者包括一些分解氧化物种的酶,例如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等,催化分解 ROS 的过程如下:



后者包括转铁蛋白、血红蛋白、血清白蛋白等,这类 AO 结合金属离子,降低 Fenton 反应( $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \cdot OH$ )生成羟基自由基( $\cdot OH$ )的几率。非酶 AO 还包括维生素 E、尿酸、谷胱甘肽等小分子,其作用机理主要是清除自由基<sup>[2]</sup>。

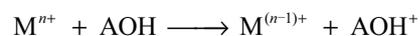
尽管人体中存在上述的抗氧化保护机制,但是仍然会有一些 ROS 逃过这个保护体系,造成氧化损伤。这时通过食物获取的 AO 可以起到额外的保护作用。AO 目前大多是从植物中提取出来的抗氧化剂,开发和利用天然 AO 已经成为当今食品科学的发展趋势。大多数植物食品中都含有丰富的具有天然生物活性的 AO,如蔬菜、水果和谷物,它们能够降低人体的癌症和慢性疾病的发生几率<sup>[6,9-14]</sup>。

人们通常很关注所消费食物的组成和抗氧化能力。由于食物构成的复杂性,分离每一种抗氧化成分并对其进行分别检测成本较高且效率很低,而且食品中的 AO 可能具有协同作用,因此发展快速、定量分析 AO 总容量的技术,提高检测食品以及人体组织中的 AO 水平有助于民众选择健康的饮食,及时了解身体的健康状态,并可以有效预防疾病的发生。

目前常用的 AO 检测方法主要有紫外-可见吸收光谱和荧光光谱方法,其中基于化学反应一般分为两种分析方法<sup>[1]</sup>:(1)基于氢原子转移(HAT)机理(图 1),AO 作为 H 原子给体,与光学性质的分子探针竞争与 ROS 的反应,反应式如下:



其中代表性检测方法包括过氧自由基吸收能力方法(ORAC)<sup>[15]</sup>和自由基捕获抗氧化综合参数(TRAP)<sup>[16]</sup>。(2)基于电子转移(ET)的反应,即利用氧化还原反应,氧化剂同时作为反应进行过程的颜色指示剂,反应式如下:



代表性检测方法包括:二苯代苦味酰肼自由基淬灭法(DPPH)<sup>[17]</sup>,主要应用于植物药物的分析;Trolox 当量抗氧化容量法(TEAC)<sup>[18]</sup>,用于非生物活性 AO 的

分析,区分抗氧化添加或协同效应;还原铁离子(Fe(III))的方法(FRAP)等<sup>[19]</sup>. 这些方法主要侧重于食品中总体AO、AO混合物以及协同效应的检测,无法很好地作到在线、活体、原位检测生物体内AO水平,也无法区别不同AO的抗氧化能力. 在需氧生物体内,导致AO水平变化的因素很多,目前还尚未开发出有效的针对具体组分的活体在线检测技术. 针对目前分析方法中存在的问题,如果能在已有研究工作的基础上,开发使用简单、能够产生人体内源型ROS、选择性好、线性工作范围宽、便于实现活体在线AO检测技术对于维护人体健康和疾病的早期预警具有很好的理论研究和应用价值.

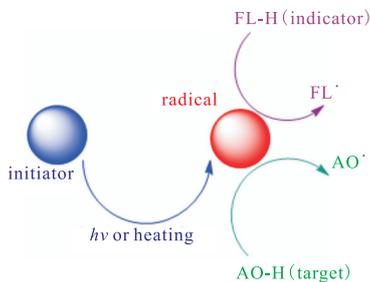


图1 基于氢原子转移(HAT)抗氧化机理

Fig. 1 Schema of antioxidant mechanism of hydrogen atom transfer (HAT)

电化学方法检测AO是近期发展起来的新技术,较有代表性的是Campanella小组开展过电化学检测AO的研究工作,采用过氧化物歧化酶修饰电极的方法,依据的原理是AO存在时降低 $O_2^-$ 的浓度,因此检测 $O_2^-$ 生成 $H_2O_2$ 的电流信号大小,从而定量AO的抗氧化活性<sup>[20-21]</sup>.

本课题组已经开展了AO检测新技术的研究,先后设计了多种基于电化学的AO传感器检测方法,都是利用AO与其他可被氧化的物种竞争与体系中产生的ROS氧化反应,但是不同的方法采用的ROS以及产生方式各有差别. AO的检测线性范围一般介于 $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-2}$  mol/L,以下对相关方法逐一评述.

## 1 DNA/TiO<sub>2</sub>/ITO 导电玻璃修饰电极检测AO<sup>[22]</sup>——·OH淬灭型检测

DNA/TiO<sub>2</sub>/ITO导电玻璃修饰电极的制备方法和工作原理如图2所示<sup>[22]</sup>. 这是利用DNA修饰电极作为AO电化学传感器的方法,该方法的关键是光催化TiO<sub>2</sub>生成·OH. TiCl<sub>4</sub>水解在ITO表面形成一层TiO<sub>2</sub>纳米薄膜,作为吸附DNA的基底. 在UV(365 nm)照射下,TiO<sub>2</sub>产生·OH氧化损伤DNA. 使

用具有电化学活性的DNA嵌入染料(亚甲基蓝,MB)作为DNA氧化损伤的电化学探针. 显然,DNA骨架或者碱基序列损坏程度越大,染料嵌入量越少,电化学信号就越低. 因此使用电化学信号作为DNA损伤的定量依据.

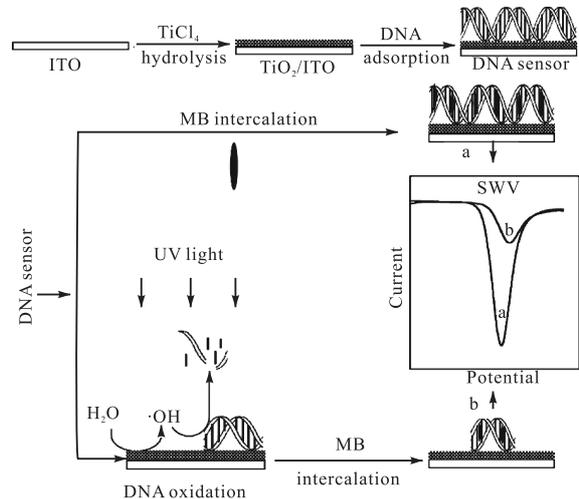
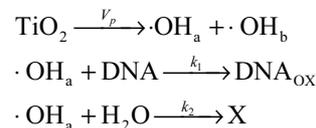


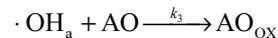
图2 DNA/TiO<sub>2</sub>/ITO导电玻璃修饰电极的制备方法和工作原理

Fig. 2 Preparation and working principle of DNA/TiO<sub>2</sub>/ITO conductive glass modified electrode

电极表面的反应过程如下:



当体系中存在待检测AO时,AO对·OH的淬灭反应如下:



根据AO存在与否电极电流的差别定量分析AO. 这种传感器检测AO的优点是利用了人体内源型的ROS和DNA作为与AO的竞争反应条件,因此得到的AO抗氧化活性数据可以很好模拟人体内的实际情况. 缺点是传感器的制备较为复杂,尤其是TiO<sub>2</sub>纳米涂层制备和DNA吸附层需要专业人员操作,还需要一定UV照射时间(30 min),增加了检测时长.

## 2 金属纳米颗粒修饰电极检测AO<sup>[23]</sup>——·OH淬灭型检测

该方法是利用氧分子在金属纳米颗粒催化下,在电极表面还原生成的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>中间体解离生成·OH(图3)<sup>[23]</sup>,反应机理如下:

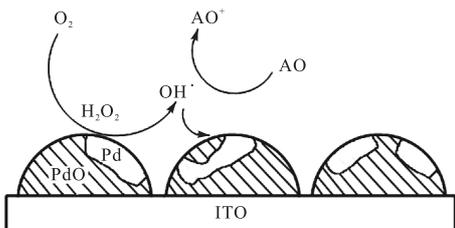
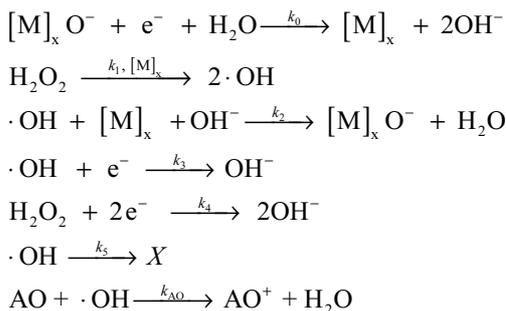
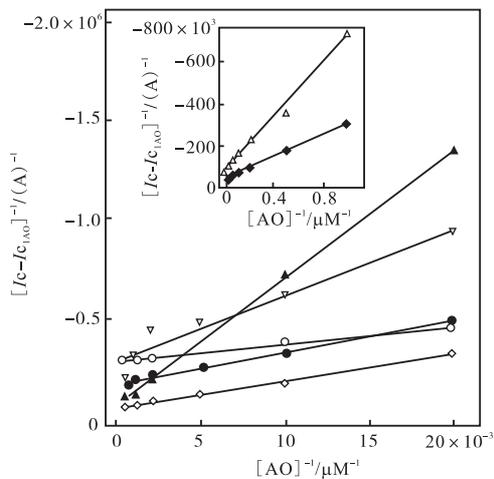


图3 金属纳米颗粒修饰电极检测 AO 工作原理  
Fig. 3 Working principle of AO detected by metal nanoparticle modified electrode

电极表面沉积的纳米 Pd 颗粒与 AO 竞争反应过程产生的·OH, 显然 AO 存在时, Pd 的还原电流降低, 根据 AO 存在与否的电化学电流的差异对 AO 浓度关系定量分析 AO 的抗氧化活性, 即方法的定量分析依据是  $[I_C - I_{C,AO}]^{-1}$  对  $[AO]^{-1}$  的线性关系斜率 (图 4<sup>[23]</sup>).

这种金属纳米颗粒修饰电极检测 AO 的优点是利用了人体内源型的 ROS 作为与 AO 的竞争反应条件, 使用简便, 放入待测溶液后, 施加扫描电位, 1 min 内即可得到检测结果. 缺点是不适用于在金属纳米颗粒表面发生吸附的体系, 例如含有蛋白质的体系. 因为纳米颗粒吸附之后难以进行氧化还原反应.



◆ liponic acid; ● vitamin C; △ glutathione; ○ gallic acid; ▽ uric acid; ◇ vitamin E; ▲ trolox

图4 由方程(5)得到的线性关系

Fig. 4 Linear relationship obtained by equation (5)

### 3 Fe 配合物含铁蛋白修饰电极检测 AO<sup>[24]</sup> ——H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>淬灭型检测

这种方法 (图 5<sup>[24]</sup>) 中使用 Fe 配合物、含铁蛋白作为电极表面修饰剂, 催化氧分子还原产生 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化还原态 Fe<sup>II</sup> 从而形成 Fe<sup>II/III</sup> 的催化还原电流, 同时 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化体系中的 AO, 即 AO 与还原态 Fe<sup>II</sup> 竞争与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的反应, 反应过程如下:

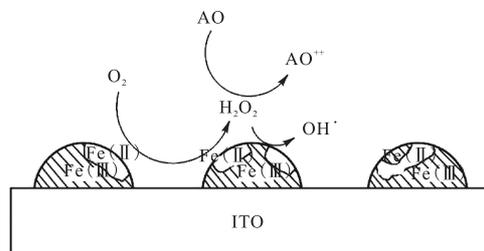
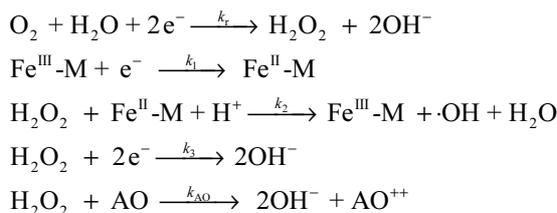


图5 Fe 配合物、含铁蛋白修饰电极检测 AO 工作原理  
Fig. 5 Working principle schema of AO detected by Fe complexes and iron-containing protein modified electrode

该方法的定量分析依据是  $[I_{C,O_2} - I_{C,AO}]^{-1}$  对  $[AO]^{-1}$  的线性关系斜率 (图 6<sup>[24]</sup>).

这种 AO 检测方法的优点是利用人体内源型的 ROS 作为与 AO 的竞争反应条件, 而且可以用于实际样本 (例如唾液) 的检测. 由于氧化还原的位点是吸附在 TiO<sub>2</sub> 纳米涂层上的含 Fe 配合物以及蛋白, 因此被分析样本中的蛋白质等大分子吸附遮盖的几率较小. 另外这种传感器可批量制作, 推广使用的价值较好. 缺点是 TiO<sub>2</sub> 纳米涂层的制备以及传感器制作的批量重现性需要专业人员操作才可以保证.

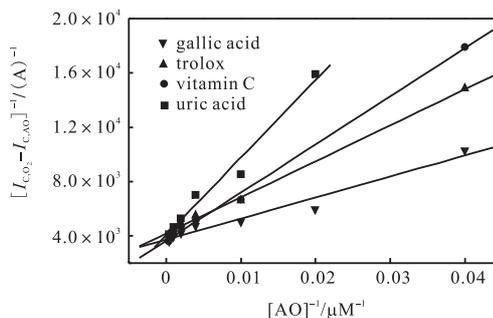


图6 AO 活性比较

Fig. 6 Activity comparison of AO

#### 4 磁性纳米材料与鸟嘌呤/石墨烯复合材料修饰电极检测 AO<sup>[25]</sup>—·OH 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 复合淬灭型检测

鸟嘌呤分子作为氧化探针, 键合在纳米四氧化三铁/石墨烯复合材料上, 从而能够被外加磁场所吸附, 固定于电极表面. 首先, 在生理条件的缓冲溶液中, 电极表面施加一个负电位, 使得氧还原反应可以在原位发生, 产生活性氧基团, 损伤抗氧化剂以及键合的鸟嘌呤分子, 即 AO 与鸟嘌呤竞争与 ROS 的氧化还原反应. 然后, 修饰电极向正电位方向扫描, 记录鸟嘌呤分子的电化学氧化信号, 用以定量检测抗氧化剂. 图 7<sup>[25]</sup>是传感器的工作原理示意图. 当检测结束后, 移去磁场, 磁性纳米粒子就可以被冲洗掉, 进而获得连续操作的可能, 免去了置换以及打磨电极的繁琐步骤.

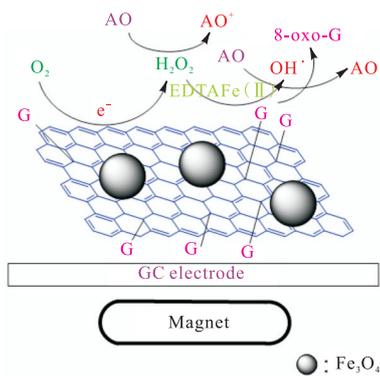
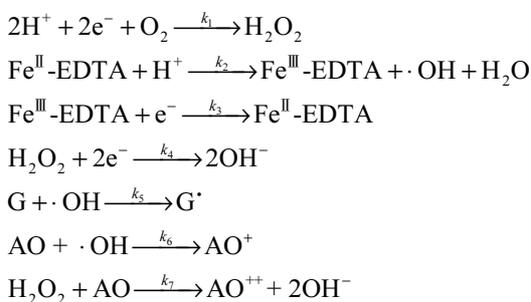


图 7 磁性纳米材料与鸟嘌呤/石墨烯复合材料修饰电极检测 AO 传感器的工作原理

Fig. 7 Working principle of AO sensor detected by magnetic nano-materials and guanine/graphene composites modified electrode

电极表面发生的反应过程包括:



鸟嘌呤的氧化电流是与 Fe<sup>III</sup> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的还原有关的, 因此可以给出鸟嘌呤电流值 I<sub>G</sub>. 当溶液中存在抗氧化剂和溶解氧时, 鸟嘌呤-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/石墨烯磁性修饰电极的催化电流可以表示为 I<sub>G</sub><sup>AO</sup>. 当存在 AO 时, 得到 [I<sub>G</sub><sup>AO</sup> - I<sub>G</sub>]<sup>-1</sup> 对 [AO]<sup>-1</sup> 的线性关系. 其斜率值能用

来比较 AO 的抗氧化活性, 直线的斜率越小, 表明该 AO 的抗氧化能力越强<sup>[25]</sup>. 从图 8<sup>[25]</sup>中可以观察到, 对·OH 及 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的清除能力依次为鞣酸、维生素 C、水溶性维生素 E、谷胱甘肽.

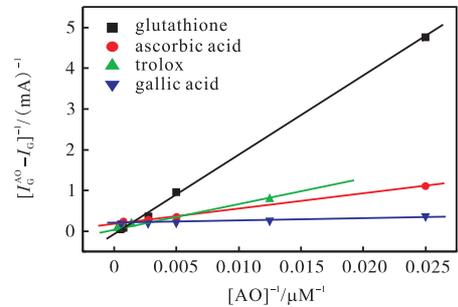


图 8 抗氧化剂能力的比较

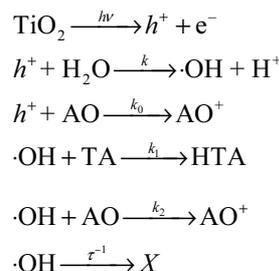
Fig. 8 Comparison of the antioxidant capacity

这种 AO 检测方法是针对流动体系连续检测 AO 提高检测通量设计的, 具有第 2、3 种检测方法的优点, 但存在的缺点是电化学原位产生 ROS 过程时间较长 (15 min), 因此, 进一步开发电化学原位产生 ROS 的材料, 提高检测通量是该方法改进的方向.

#### 5 光电化学检测 AO<sup>[26]</sup>—·OH 与阳离子空穴淬灭型检测

以 TiO<sub>2</sub> 纳米颗粒光催化反应为模型, 研究了反应过程中的活性氧 (ROS) 产生以及活性氧淬灭的反应动力学模型 (图 9<sup>[26]</sup>). 对苯二甲酸分子与体系中的光催化反应产生的·OH 反应生成具有荧光性质的 2-羟基对苯二甲酸 (λ<sub>ex</sub> = 315 nm, λ<sub>em</sub> = 425 nm), 因此对苯二甲酸作为氧化探针分子与体系中的生物抗氧化剂 (AO) 分子竞争与 ROS 的反应, 根据体系的荧光、反应时间以及 AO 的浓度建立了 AO 淬灭 ROS 的反应动力学模型, 根据该模型推导 AO 清除 ROS 的动力学常数.

该体系中的反应机理包括:



光电转化效率 (IPCE) 是溶液吸光度 A、空穴-电子产生效率、入射光强度的函数, 在短的时间内, [AO] 也可以被视为一个常数, 所获得的线性方程参数可以用

来描述不同的分子的抗氧化能力,斜率越大显示抗氧化能力越高。所以,参数  $k_2\tau$  可以量化 AO 的抗氧化能力。

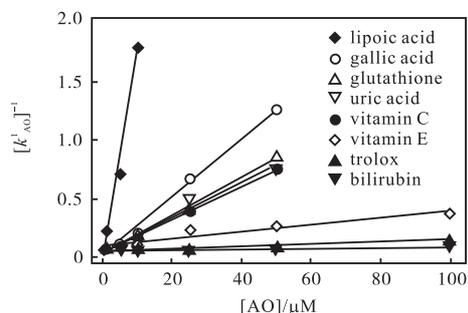


图9 光电化学检测 AO 的动力学

Fig.9 Assay of antioxidant capacity with photoelectrochemical method

在这种新方法中,光催化活性材料,  $\text{TiO}_2$  纳米颗粒结合适当的光催化氧化探针分子,例如对苯二甲酸的光催化氧化反应非常适合于测定在水溶液中的小分子的抗氧化性能。相比脉冲辐射技术或者 Fenton 反应,该方法提供了一种简单的方法产生  $\cdot\text{OH}$ 。本方法也适合结合微量滴定板和荧光阵列检测器对 AO 进行高通量分析,是目前 AO 分析中较有推广价值的一种检测技术。

## 6 结论

AO 的检测方法基于氧化还原反应机理。传统的检测方法中使用化学氧化剂,同时作为体系氧化还原反应进行程度的指示剂,其中存在的问题是不同的氧化剂反应动力学不同,所以对于同一种 AO,不同的氧化剂会给出不同的氧化还原动力学数据。我们研究的这些 AO 检测方法中采用的氧化剂一般都是  $\cdot\text{OH}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 每种方法得到的抗氧化能力的变化顺序具有可比性。而且,  $\cdot\text{OH}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  也是人体内源性 ROS, 有的方法中竞争分子采用 DNA 和鸟嘌呤分子,所以这样的检测方法设计得到的 AO 抗氧化活性也更好地模拟了人体实际情况。对于不同的检测方法相比较而言,光电化学检测方法有望成为一种推广使用的 AO 检测新技术。

### 参考文献:

- [1] Huang D, Ou B, Prior R L. The chemistry behind antioxidant capacity assays[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2005, 53 (6) : 1841-1856.
- [2] Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: Curiosity, cause, or consequence?[J]. Lancet, 1994, 344(8924) : 721-724.
- [3] Cheng J, Dai F, Zhou B, et al. Antioxidant activity of hydroxycinnamic acid derivatives in human low density lipoprotein: Mechanism and structure-activity relationship[J]. Food Chemistry, 2007, 104(1) : 132-139.
- [4] Harman D. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry[J]. Journal of Gerontology, 1956, 11(3) : 298-300.
- [5] Evans M D, Cooke M S. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids[J]. Bioessays News & Reviews in Molecular Cellular & Developmental Biology, 2004, 26(5) : 533-542.
- [6] He Y, Wang Y, Tang L, et al. Binding of puerarin to human serum albumin: A spectroscopic analysis and molecular docking[J]. Journal of Fluorescence, 2008, 18(2) : 433-442.
- [7] 彭博, 严拯宇, 邵秀芬, 等. 荧光光谱法研究头孢呋辛酯与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 光谱实验室, 2005, 22(5) : 913-916.
- [8] Shaikh S M T, Seetharamappa J, Kandagal P B, et al. In vitro study on the binding of anti-coagulant vitamin to bovine serum albumin and the influence of toxic ions and common ions on binding[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2007, 41(1) : 81-86.
- [9] Russo G L. Russo GLIns and outs of dietary phytochemicals in cancer chemoprevention[J]. Biochemical Pharmacology, 2007, 74(4) : 533-544.
- [10] Chen Qi, Espey M G, Sun A Y, et al. Ascorbate in pharmacologic concentrations selectively generates ascorbate radical and hydrogen peroxide in extracellular fluid in vivo[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(21) : 8749-8754.
- [11] Arjun G, Li L, Komberg T B. Organ renewal and cell divisions by differentiated cells in *Drosophila*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(31) : 10832-10836.
- [12] Robbins R J. Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2003, 51(10) : 2866-2887.
- [13] Radtke J, Linseisen J, Wolfram G. Phenolsäurezufuhr Erwachsener in einem bayerischen Teilkollektiv der Nationalen Verzehrsstudie[J]. Zeitschrift Für Ernährungswissenschaft, 1998, 37(2) : 190-197.

- [ 14 ] Pan M H, Ghai G, Ho C T. Food bioactives, apoptosis, and cancer[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2008, 52(1): 43–52.
- [ 15 ] Cao G H, Alessio H M, Cutler R G. Oxygen-radical absorbance capacity assays for antioxidants[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 1993, 14(3): 303–311.
- [ 16 ] Wayner D D M, Burton G W, Ingold K U, et al. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation: The important contribution made by plasma proteins[J]. *FEBS Letters*, 1985, 187(1): 33–37.
- [ 17 ] Blois M S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical[J]. *Nature*, 1958, 181(4617): 1199–1200.
- [ 18 ] Miller N J, Rice-Evans C A, Davies M J, et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates[J]. *Clinical Science*, 1993, 84(4): 407–412.
- [ 19 ] 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(1): 70–76.
- [ 20 ] Campanella L, Bonanni A, Bellantoni D, et al. Comparison of fluorimetric, voltammetric and biosensor methods for the determination of total antioxidant capacity of drug products containing acetylsalicylic acid[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2004, 36(1): 91–99.
- [ 21 ] Campanella L, Bonanni A, Bellantoni D, et al. Biosensors for determination of total antioxidant capacity of phytotherapeutic integrators: Comparison with other spectrophotometric, fluorimetric and voltammetric methods[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2004, 35(2): 303–320.
- [ 22 ] Liu J, Roussel C, Lagger G, et al. Antioxidant sensors based on DNA-modified electrodes[J]. *Analytical Chemistry*, 2006, 77(23): 7687–7694.
- [ 23 ] Liu J, Lagger G, Tacchini P, et al. Generation of OH radicals at palladium oxide nanoparticle modified electrodes, and scavenging by fluorescent probes and antioxidants[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2008, 619(1): 131–136.
- [ 24 ] Guo Q, Ji S, Yue Q, et al. Antioxidant sensors based on iron diethylenetriaminepentaacetic acid, hematin, and hemoglobin modified TiO<sub>2</sub> nanoparticle printed electrodes[J]. *Analytical Chemistry*, 2009, 81(13): 5381–5389.
- [ 25 ] Li P, Zhang W, Zhao J, et al. Electrochemical antioxidant detection technique based on guanine-bonded graphene and magnetic nanoparticles composite materials[J]. *Analyst*, 2012, 137(18): 4318–4326.
- [ 26 ] 贾瑞杰, 张强, 刘继锋, 等. 光致活性氧淬灭方法检测生物抗氧化剂动力学模型分析[J]. *分析化学*, 2016, 44(8): 1257–1262.

责任编辑: 郎婧