



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102495115 B  
 (45) 授权公告日 2014.07.23

(21) 申请号 201110439111.9

(22) 申请日 2011.12.23

(73) 专利权人 中国科学院地球化学研究所  
 地址 550002 贵州省贵阳市观水路46号  
 专利权人 江苏大学

镇江梧之现代农业有限公司

(72) 发明人 吴沿友 牛慧祥 王坤 刘倩  
 董晓娅 赵宽 朱咏莉

(74) 专利代理机构 贵阳中新专利商标事务所  
 52100

代理人 吴无惧

(51) Int. Cl.

G01N 27/26(2006.01)

G01N 27/327(2006.01)

## (56) 对比文件

Kun Wang, et al.. A highly sensitive and rapid organophosphate biosensor based on enhancement of CdS - decorated graphene nanocomposite. 《Analytica Chimica Acta》. 2011, 第 695 卷

审查员 徐妍妍

权利要求书1页 说明书5页 附图3页

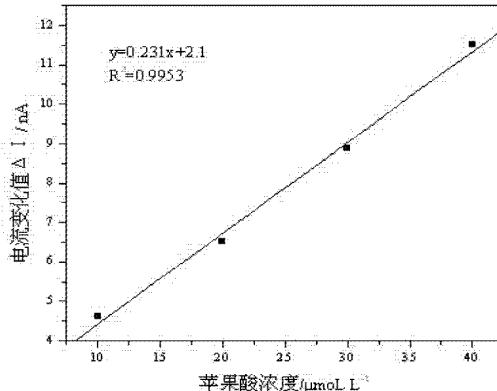
## (54) 发明名称

利用生物酶电极法检测根系分泌物中苹果酸的电化学方法

## (57) 摘要

本发明公开了一种利用生物酶电极法检测根系分泌物中苹果酸的电化学方法,它包括以下过程:第一,制作苹果酸脱氢酶电极;第二,苹果酸脱氢酶电极、饱和甘汞电极和铂丝电极与电化学工作站连接,在焦磷酸钠缓冲体系下研究该电极反应的优化条件;第三,在恒温电磁搅拌下,设置操作电压,待背景电流稳定后,连续加入一定浓度的苹果酸溶液到电解池中,测定不同苹果酸浓度下相应的电流变化值,得到催化电流与苹果酸浓度的线性范围;第四,加入根系分泌物样品到电解池中,在恒温电磁搅拌下,将电流的增加值作为y轴,纯苹果酸标准溶液加入量作为x轴,绘制标准曲线,依据标准曲线求y=0时的x值,此时x的绝对值就是稀释后样品中的苹果酸的浓度。

CN 102495115 B



1. 一种利用生物酶电极法检测根系分泌物中苹果酸的电化学方法,其特征在于:它包括以下过程:第一,制作检测根系分泌物中苹果酸的苹果酸脱氢酶电极;第二,检测根系分泌物中苹果酸的苹果酸脱氢酶电极、饱和甘汞电极和铂丝电极与电化学工作站连接,在焦磷酸钠缓冲体系下研究电极反应的条件;第三,在恒温30℃电磁搅拌下,焦磷酸钠缓冲液的pH值9.0,氧化电位是0.7V,氧化态辅酶NAD<sup>+</sup>浓度为 $5\times10^{-3}$ mol·L<sup>-1</sup>,待背景电流稳定后,连续加入一定浓度的苹果酸溶液到电解池中,利用恒电位计时电流法,测定不同苹果酸浓度下相应的电流变化值,得到催化电流与苹果酸浓度的线性范围图,要求实际检测过程中的结果在这个线性范围内;第四,将根系分泌物样品加入到电解池中,利用恒电位计时电流法,在恒温电磁搅拌下,将电流的增加值作为y轴,纯苹果酸标准溶液加入量作为x轴,绘制标准曲线,依据标准曲线求y=0时的x值,此时x的绝对值就是稀释一定倍数后样品中的苹果酸的浓度;

在所述的第一过程中包含有以下步骤:(1)制作硫化镉-石墨烯复合材料;(2)以硫化镉-石墨烯复合材料制备修饰电极;(3)制作检测根系分泌物中苹果酸的苹果酸脱氢酶电极;

在所述的第一过程的步骤(1)中,首先合成富含羧基、羟基官能团的氧化石墨片,然后以氧化石墨片为初始材料进一步合成硫化镉-石墨烯纳米复合物,其制备方法如下:称取17mg氧化石墨片超声分散于10mL二次蒸馏水中,通过超声将氧化石墨片剥离为单层氧化石墨烯,30分钟后得到均相棕色溶液,即氧化石墨烯的水溶液;在搅拌情况下向氧化石墨烯的水溶液逐滴加入50mL 0.035mol/L Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>溶液,并在常温下搅拌3小时使混合液中的Cd<sup>2+</sup>与氧化石墨烯的水溶液中的羧基、羟基官能团充分发生离子交换;然后向混合液中通入H<sub>2</sub>S气体,一小时后得到绿色沉淀,所得的固体经离心分离,分别用二次蒸馏水,丙酮各洗涤3次,最后在45℃下真空干燥24小时即得到石墨烯掺杂量为4.6%的硫化镉-石墨烯纳米复合物;

在所述的第一过程的步骤(2)中,玻碳电极使用前,首先在金相砂纸上打磨,然后依次用1.0??m,0.3??m Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抛光粉在抛光布上抛光成镜面,用二次蒸馏水冲洗干净后依次在0.1mol/L HCl、1.0mol/L NaOH和无水乙醇中超声清洗一分钟,再用二次蒸馏水超声清洗两分钟,晾干备用;称取1.0mg 硫化镉-石墨烯纳米复合物分散在1.0mL 0.5%壳聚糖溶液中,超声分散后得到硫化镉-石墨烯纳米复合物的均匀悬浮液;再取6??L该悬浮液滴涂在预先处理好的玻碳电极表面,室温下晾干,制得硫化镉-石墨烯纳米复合物修饰电极;

在所述的第一过程的步骤(3)中,取5??L 10mg/mL的苹果酸脱氢酶溶液滴在硫化镉-石墨烯纳米复合物修饰电极表面,室温晾干,待电极表面晾干之后放入4℃冰箱保存待用,这样获得了检测根系分泌物中苹果酸的苹果酸脱氢酶电极;

在所述的第二过程中,电解池中的反应条件为:焦磷酸钠缓冲液的pH值9.0,氧化电位是0.7V,氧化态辅酶NAD<sup>+</sup>浓度为 $5\times10^{-3}$ mol·L<sup>-1</sup>,选择30℃作为反应温度。

## 利用生物酶电极法检测根系分泌物中苹果酸的电化学方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种利用酶电极检测根系分泌物中苹果酸的方法，属于生化分析领域。

### 背景技术

[0002] 根系分泌物是植物生长过程中向根际释放的一类物质。广义的根系分泌物是植物根系释放到根际环境中各种物质的总称，而狭义的根系分泌物是指植物根系通过溢泌作用释放到根际环境中各种可溶性有机物的总称。根系分泌物的种类繁多，目前已鉴定出来的有机化合物有 200 多种，主要包括有机酸、糖类、氨基酸和酚酸(化感物质)等低分子量的有机物，还包括类似于黏胶和酶之类的高分子量有机物质。在根系分泌物的众多物质中，低分子量有机酸是研究最为广泛也是最为重要的一类物质。根系分泌物中低分子量有机酸主要包括诸如甲酸，乙酸，草酸，苹果酸，丁二酸，马来酸，柠檬酸，富马酸等等。其中苹果酸是根系分泌物中的重要有机酸，在特定的植物中，根系分泌的苹果酸量不仅与根系分泌的有机酸总量有显著的正相关，而且还与草酸、柠檬酸等呈现显著的正相关，因此，测定根系分泌的苹果酸量可以评价某一物种在特定条件下的有机酸分泌情况。

[0003] 根系分泌物的成分复杂，目前，常见的测定根系分泌物中的苹果酸的气相色谱法(GC)、离子色谱法(IC) 和高效液相色谱法(HPLC) 等方法，都需要繁杂的前处理过程，而且常常出现灵敏度低、效果不理想的情况。同时这些方法还存在单个样品分析时间长，色谱柱易污染，分析价格昂贵的缺陷。

[0004] 生物传感器是一个非常活跃的研究和工程技术领域，它与生物信息学、生物芯片、生物控制论、仿生学、生物计算机等学科一起，处在生命科学和信息科学的交叉区域。生物传感器研究起源于 20 世纪的 60 年代，1967 年 Updike 和 Hicks 把葡萄糖氧化酶(GOD) 固定化膜和氧电极组装在一起，首先制成了第一种生物传感器，即葡萄糖酶电极。到 80 年代生物传感器研究领域已基本形成。其标志性事件是：1985 年“生物传感器”国际刊物在英国创刊；1987 年生物传感器经典著作在牛津出版社出版；1990 年首届世界生物传感器学术大会在新加坡召开，并且确定以后每隔二年召开一次。此后包括酶传感器的生物传感器研究逐渐兴旺起来，从用一种或多种酶作为分子识别元件的传感器，逐渐发展设计出用其他的生物分子作识别元件的传感器。酶传感器的优点有稳定性好，分析精度高、分析成本最低、品种多，应用范围广、分析速度快。要在众多成分共存的根系分泌物中测定苹果酸，利用苹果酸及其苹果酸脱氢酶的专一性，制作生物传感器进行检测，将提高检测的特异性，同时能达到简便、快速、灵敏的效果。

[0005] 石墨烯(Graphene)，它是 2004 年由曼彻斯特大学的科斯提亚 ?? 诺沃谢夫和安德烈 ?? 盖姆小组首先发现的。自发现以来，石墨烯受到了全世界科学家的广泛关注。纯石墨烯是一种只有一个原子厚的结晶体，具有超坚固、超强导电性、优异的电学、热学和力学性能等特性。石墨烯纳米复合物作为一种新型的高性能材料，不仅保持了石墨烯的一系列优良性能，还具有纯石墨烯材料不具有的其它优良性能如催化活性和易分散性等，从而为石

墨烯的广泛应用提供了前提条件。由于石墨烯纳米复合物良好的导电性,将其应用于生物传感可提高装置的灵敏度、响应速度和抗干扰能力等一系列性能,这是目前许多材料制作的生物传感器无法比拟的。应用石墨烯纳米复合物作材料制作苹果酸脱氢酶电极,建立酶电极传感器检测根系分泌物中的苹果酸,可达到灵敏度高、检测限低、特异性好、仪器简单便宜、操作简便快速的效果。

## 发明内容

[0006] 本发明要解决的技术问题是,提供一种利用生物酶电极法检测根系分泌物中苹果酸的电化学方法,该方法用石墨烯纳米复合物作为一种新型的高性能材料,修饰电极制备苹果酸脱氢酶电极,直接测定根系分泌物中的苹果酸,以克服其它方法中样品的处理较为复杂,单个样品分析时间长,色谱柱易污染,干扰因素多的缺点。

[0007] 本发明采取以下技术方案,它包括以下过程:第一,制作苹果酸脱氢酶(MDH)电极;第二,苹果酸脱氢酶电极、饱和甘汞电极和铂丝电极与电化学工作站连接,在焦磷酸钠缓冲体系下研究该电极反应的优化条件;第三,在恒温电磁搅拌下,设置操作电压,待背景电流稳定后,连续加入一定浓度的苹果酸溶液到电解池中,利用恒电位计时电流法,测定不同苹果酸浓度下相应的电流变化值,得到一个催化电流与苹果酸浓度的线性范围,要求在实际检测过程中结果必须在这个线性范围内;第四,加入根系分泌物样品到电解池中,利用恒电位计时电流法,在恒温电磁搅拌下,将电流的增加值作为y轴,纯苹果酸标准溶液加入量作为x轴,绘制标准曲线,依据标准曲线求y=0时的x值,此时x的绝对值就是稀释一定倍数后样品中的苹果酸的浓度。

[0008] 在第一过程中包含有以下步骤:(1)制作硫化镉-石墨烯复合材料;(2)以硫化镉-石墨烯复合材料制备修饰电极;(3)制作苹果酸脱氢酶电极。

[0009] 在所述的第一过程的步骤(1)中,首先合成富含羧基、羟基等官能团的氧化石墨片。然后以氧化石墨片为初始材料进一步合成CdS/G纳米复合物,其制备方法如下,称取17mg氧化石墨片(GO)超声分散于10mL二次蒸馏水中,通过超声将氧化石墨片剥离为单层氧化石墨烯,30分钟后得到均相棕色溶液,即氧化石墨烯的水溶液。在搅拌情况下向该溶液逐滴加入50mL0.035mol/L Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>溶液,并在常温下搅拌3小时使混合液中的Cd<sup>2+</sup>与氧化石墨的-COOH、-OH等官能团充分发生离子交换。然后向混合液中通入H<sub>2</sub>S气体,一小时后得到绿色沉淀,所得的固体经离心分离,分别用二次蒸馏水,丙酮各洗涤3次,最后在45℃下真空干燥24小时即得到石墨烯掺杂量为4.6%的CdS/G纳米复合物。

[0010] 在所述的第一过程的步骤(2)中,玻碳电极(GCE,Φ=3.0mm)使用前,首先在金相砂纸上打磨,然后依次用1.0??m,0.3??m Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抛光粉在抛光布上抛光成镜面,用二次蒸馏水冲洗干净后依次在0.1mol/L HCl、1.0mol/L NaOH和无水乙醇中超声清洗一分钟,再用二次蒸馏水超声清洗两分钟,晾干备用。

[0011] 称取1.0mg CdS/G纳米复合物分散在1.0mL 0.5%壳聚糖溶液中,超声分散后得到CdS-G纳米复合物的均匀悬浮液。取6??L该悬浮液滴涂在预先处理好的玻碳电极表面,室温下晾干,制得CdS-G纳米复合物修饰电极(记为CdS/G/CHIT/GCE)。

[0012] 在所述的第一过程的步骤(3)中,取5??L 10mg/mL的苹果酸脱氢酶(MDH)溶液滴在CdS-G纳米复合物修饰电极表面,室温晾干,待电极表面晾干之后放入4℃冰箱保存待

用。这样获得了苹果酸脱氢酶电极。

[0013] 在所述的第二过程中,电解池中的反应条件为:焦磷酸钠缓冲液的 pH 值 9.0, 氧化电位是 0.7 V, 氧化态辅酶 NAD<sup>+</sup> 浓度为  $5 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>, 选择 30℃ 作为反应温度。

[0014] 在所述的第三过程中,在恒温 30℃ 电磁搅拌下,焦磷酸钠缓冲液的 pH 值 9.0, 氧化电位是 0.7 V, 氧化态辅酶 NAD<sup>+</sup> 浓度为  $5 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>, 待背景电流稳定后, 连续加入一定浓度的苹果酸溶液到电解池中, 利用恒电位计时电流法, 测定不同苹果酸浓度下相应的电流变化值, 得到一个催化电流与苹果酸浓度的线性范围图。

[0015] 在所述的第四过程中, 温度控制为 30℃, 操作电压控制为 0.7V, 取 1 mL 待测样品加入到 4 mL 的 pH=9.0、辅酶 NAD<sup>+</sup> 浓度为  $5 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> 的焦磷酸钠缓冲液中, 电磁搅拌下, 待背景电流稳定后, 每 50 s 进样一次, 每次加入 5??L 浓度为 0.01 mol L<sup>-1</sup> 标准苹果酸溶液到电解池中, 共 4 次, 测定相应的电流变化值, 将电流的增加值作为 y 轴, 纯苹果酸标准溶液加入量作为 x 轴, 绘制标准曲线, 令 y=0, 求出 x 的值, x 的绝对值就是稀释了 5 倍后样品的苹果酸的浓度。

[0016] 本发明的优点如下:

[0017] (1) 苹果酸脱氢酶电极稳定性好, 分析精度高。

[0018] (2) 本发明可以直接测定组成成分复杂的根系分泌物中苹果酸, 而无需繁杂的前处理过程。

[0019] (3) 本发明操作简便快速, 检测限低、专一性强、灵敏度高、仪器简单便宜。

## 附图说明

[0020] 图 1a 为全磷处理的油菜根系分泌物中苹果酸恒电位计时电流曲线图;

[0021] 图 1b 为全磷处理的油菜根系分泌物中苹果酸 - 电流线性关系图;

[0022] 附图 2a 为无磷处理的油菜根系分泌物中苹果酸恒电位计时电流曲线图;

[0023] 附图 2b 为无磷处理的油菜根系分泌物中苹果酸 - 电流线性关系图;

[0024] 附图 3a 为聚乙二醇处理的油菜根系分泌物中苹果酸恒电位计时电流曲线图;

[0025] 附图 3b 为聚乙二醇处理的油菜根系分泌物中苹果酸 - 电流线性关系图。

[0026] 具体实施方式:

[0027] 本发明的实施例: 它包括以下过程: 第一, 制作苹果酸脱氢酶(MDH) 电极; 第二, 苹果酸脱氢酶电极、饱和甘汞电极和铂丝电极与电化学工作站连接, 在焦磷酸钠缓冲体系下研究该电极反应的优化条件; 第三, 在恒温电磁搅拌下, 设置操作电压, 待背景电流稳定后, 连续加入一定浓度的苹果酸溶液到电解池中, 利用恒电位计时电流法, 测定不同苹果酸浓度下相应的电流变化值, 得到一个催化电流与苹果酸浓度的线性范围, 要求在实际检测过程中结果必须在这个线性范围内; 第四, 加入根系分泌物样品到电解池中, 利用恒电位计时电流法, 在恒温电磁搅拌下, 将电流的增加值作为 y 轴, 纯苹果酸标准溶液加入量作为 x 轴, 绘制标准曲线, 依据标准曲线求 y=0 时的 x 值, 此时 x 的绝对值就是稀释一定倍数后样品中的苹果酸的浓度。

[0028] 在第一过程中包含有以下步骤:(1) 制作硫化镉 - 石墨烯复合材料;(2) 以硫化镉 - 石墨烯复合材料制备修饰电极;(3) 制作苹果酸脱氢酶电极。

[0029] 在所述的第一过程的步骤(1) 中, 首先合成富含羧基、羟基等官能团的氧化石墨

片。然后以氧化石墨片为初始材料进一步合成 CdS/G 纳米复合物, 其制备方法如下, 称取 17 mg 氧化石墨片(GO)超声分散于 10 mL 二次蒸馏水中, 通过超声将氧化石墨片剥离为单层氧化石墨烯, 30 分钟后得到均相棕色溶液, 即氧化石墨烯的水溶液。在搅拌情况下向该溶液逐滴加入 50 mL 0.035 mol/L Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 溶液, 并在常温下搅拌 3 小时使混合液中的 Cd<sup>2+</sup> 与氧化石墨的-COOH、-OH 等官能团充分发生离子交换。然后向混合液中通入 H<sub>2</sub>S 气体, 一小时后得到绿色沉淀, 所得的固体经离心分离, 分别用二次蒸馏水, 丙酮各洗涤 3 次, 最后在 45 °C 下真空干燥 24 小时即得到石墨烯掺杂量为 4.6% 的 CdS/G 纳米复合物。

[0030] 在所述的第一过程的步骤(2)中, 玻碳电极(GCE, Φ=3.0 mm) 使用前, 首先在金相砂纸上打磨, 然后依次用 1.0 ??m, 0.3 ??m Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 抛光粉在抛光布上抛光成镜面, 用二次蒸馏水冲洗干净后依次在 0.1 mol/L HCl、1.0 mol/L NaOH 和无水乙醇中超声清洗一分钟, 再用二次蒸馏水超声清洗两分钟, 晾干备用。

[0031] 称取 1.0mg CdS/G 纳米复合物分散在 1.0mL 0.5% 壳聚糖溶液中, 超声分散后得到 CdS-G 纳米复合物的均匀悬浮液。取 6 ??L 该悬浮液滴涂在预先处理好的玻碳电极表面, 室温下晾干, 制得 CdS-G 纳米复合物修饰电极(记为 CdS/G/CHIT/GCE)。

[0032] 在所述的第一过程的步骤(3)中, 取 5 ??L 10mg/mL 的苹果酸脱氢酶(MDH) 溶液滴在 CdS-G 纳米复合物修饰电极表面, 室温晾干, 待电极表面晾干之后放入 4°C 冰箱保存待用。这样获得了苹果酸脱氢酶电极。

[0033] 在所述的第二过程中, 电解池中的反应条件为: 焦磷酸钠缓冲液的 pH 值 9.0, 氧化电位是 0.7 V, 氧化态辅酶 NAD<sup>+</sup> 浓度为 5×10<sup>-3</sup>mol L<sup>-1</sup>, 选择 30°C 作为反应温度。

[0034] 在所述的第三过程中, 在恒温 30°C 电磁搅拌下, 焦磷酸钠缓冲液的 pH 值 9.0, 氧化电位是 0.7 V, 氧化态辅酶 NAD<sup>+</sup> 浓度为 5×10<sup>-3</sup>mol L<sup>-1</sup>, 待背景电流稳定后, 连续加入一定浓度的苹果酸溶液到电解池中, 利用恒电位计时电流法, 测定不同苹果酸浓度下相应的电流变化值, 得到一个催化电流与苹果酸浓度的线性范围图。

[0035] 在所述的第四过程中, 温度控制为 30°C, 操作电压控制为 0.7V, 取 1 mL 待测样品加入到 4 mL 的 pH=9.0、辅酶 NAD<sup>+</sup> 浓度为 5×10<sup>-3</sup>mol L<sup>-1</sup> 的焦磷酸钠缓冲液中, 电磁搅拌下, 待背景电流稳定后, 每 50 s 进样一次, 每次加入 5??L 浓度为 0.01 mol L<sup>-1</sup> 标准苹果酸溶液到电解池中, 共 4 次, 测定相应的电流变化值, 将电流的增加值作为 y 轴, 纯苹果酸标准溶液加入量作为 x 轴, 绘制标准曲线, 令 y=0, 求出 x 的值, x 的绝对值就是稀释了 5 倍后样品的苹果酸的浓度。

[0036] 应用实例 1: 为了证明本发明的实施效果, 将生长 30 天后的油菜, 用全磷(Hoagland 培养液) 处理, 15 天后对油菜根系分泌物进行收集并定容, 取 1mL 此根系分泌物加入到 4 mL 的 pH=9.0、辅酶 NAD<sup>+</sup> 浓度为 5×10<sup>-3</sup>mol L<sup>-1</sup> 的焦磷酸钠缓冲液, 温度控制在 30°C, 电磁搅拌且操作电压设置为 0.7 V, 当背景电流达到稳定值后, 每次加入 5??L 浓度为 0.01 mol L<sup>-1</sup> 标准苹果酸溶液到电解池中, 每 50 s 进样一次, 共 4 次, 测定相应的电流变化值, 将电流的增加值作为 y 轴, 纯苹果酸标准溶液加入量作为 x 轴, 绘制标准曲线, 依据标准曲线求 y=0 时的 X 值, 此时 x 的绝对值就是稀释了 5 倍的全磷油菜根系分泌物中的苹果酸浓度, 再将 X 的绝对值乘以 5 即是收集并定容后全磷油菜根系分泌物中的苹果酸浓度, 如附图 1a、附图 1b。

[0037] 应用实例 2: 为了证明本发明的实施效果, 将生长 30 天后的油菜, 用无磷培养液

处理,15 天后对油菜根系分泌物进行收集并定容,取 1mL 此根系分泌物加入到 4 mL 的 pH=9.0、辅酶 NAD<sup>+</sup> 浓度为  $5 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> 的焦磷酸钠缓冲液,温度控制在 30℃,电磁搅拌且操作电压设置为 0.7 V,当背景电流达到稳定值后,每次加入 5??L 浓度为 0.01 mol L<sup>-1</sup> 标准苹果酸溶液到电解池中,每 50 s 进样一次,共 4 次,测定相应的电流变化值,将电流的增加值作为 y 轴,纯苹果酸标准溶液加入量作为 x 轴,绘制标准曲线,依据标准曲线求 y=0 时的 x 值,此时 x 的绝对值就是稀释了 5 倍的无磷油菜根系分泌物中的苹果酸浓度,再将 x 的绝对值乘以 5 即是收集并定容后无磷油菜根系分泌物中的苹果酸浓度,如附图 2 a、附图 2b。

[0038] 应用实例 3 :

[0039] 为了证明本发明的实施效果,将生长 30 天后的油菜,用聚乙二醇模拟干旱处理,15 天后对油菜根系分泌物进行收集并定容,取 1mL 此根系分泌物加入到 4 mL 的 pH=9.0、辅酶 NAD<sup>+</sup> 浓度为  $5 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> 的焦磷酸钠缓冲液,温度控制在 30℃,电磁搅拌且操作电压设置为 0.7 V,当背景电流达到稳定值后,每次加入 5??L 浓度为 0.01 mol L<sup>-1</sup> 标准苹果酸溶液到电解池中,每 50 s 进样一次,共 4 次,测定相应的电流变化值,将电流的增加值作为 y 轴,纯苹果酸标准溶液加入量作为 x 轴,绘制标准曲线,依据标准曲线求 y=0 时的 x 值,此时 x 的绝对值就是稀释了 5 倍的聚乙二醇模拟干旱处理的油菜根系分泌物中的苹果酸浓度,再将 x 的绝对值乘以 5 即是收集并定容后聚乙二醇模拟干旱处理的油菜根系分泌物中的苹果酸浓度,如附图 3 a、附图 3b。

[0040] 通过以上应用实例,三个实施例的实施效果如表 1。从表 1 中可以看出,油菜未受到环境或营养胁迫时,苹果酸含量最小,磷的缺乏促进了油菜分泌苹果酸,导致无磷处理根系分泌的苹果酸最多。干旱也促进根系分泌有机酸,其中也促进了苹果酸的分泌。这与根系分泌有机酸的规律是一致的。

[0041]

表 1 油菜根系分泌物中苹果酸含量

| 油菜根系分泌物<br>( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) | 全磷         | 无磷          | 模拟干旱 (50g/L PEG<br>6000) |
|---------------------------------------|------------|-------------|--------------------------|
| 平均值±标准差                               | 48.42±3.95 | 179.32±4.79 | 94.41±3.17               |

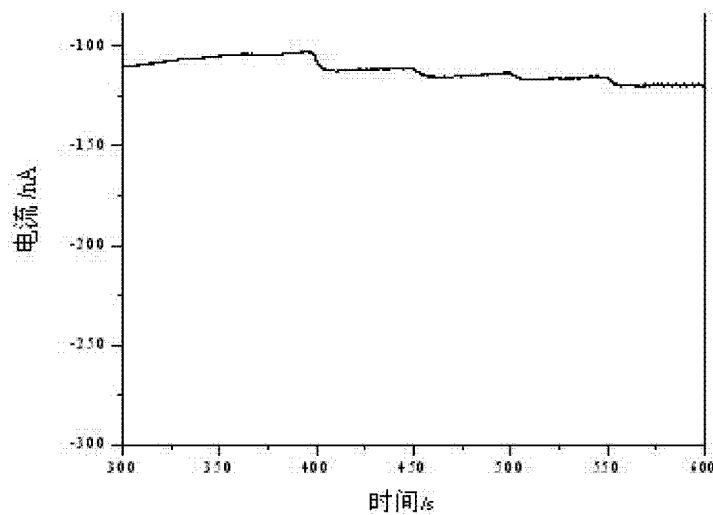


图 1a

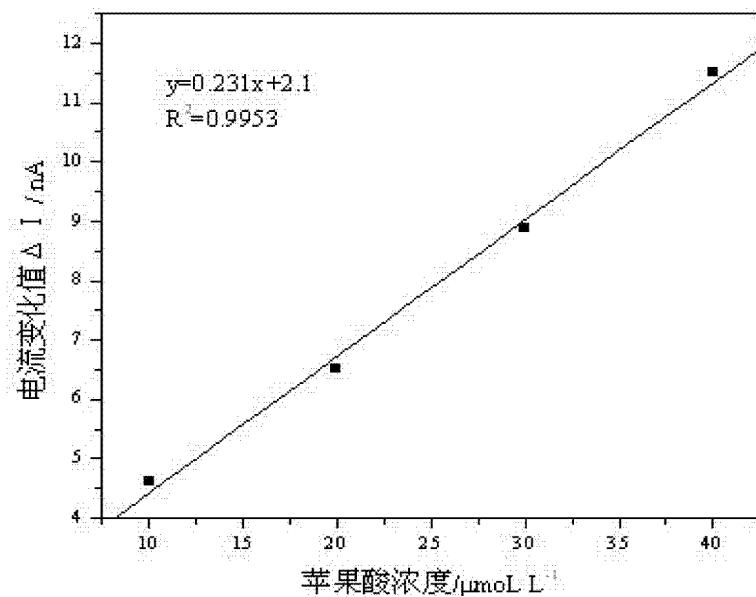


图 1b

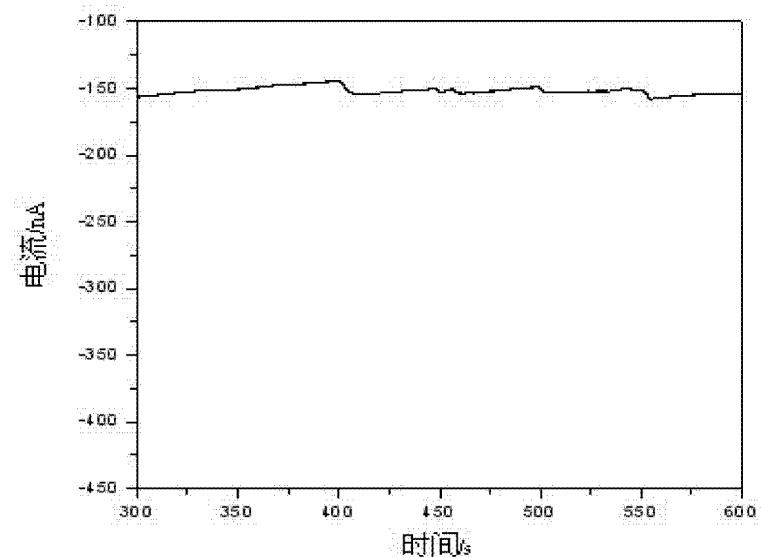


图 2a

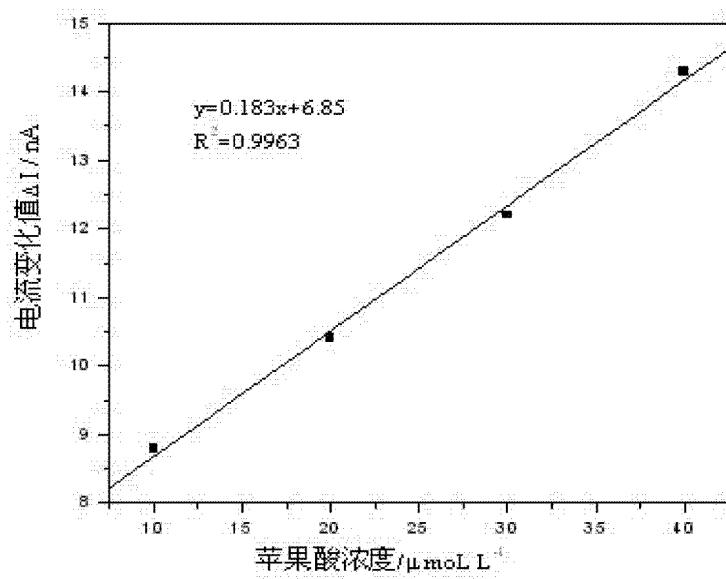


图 2b

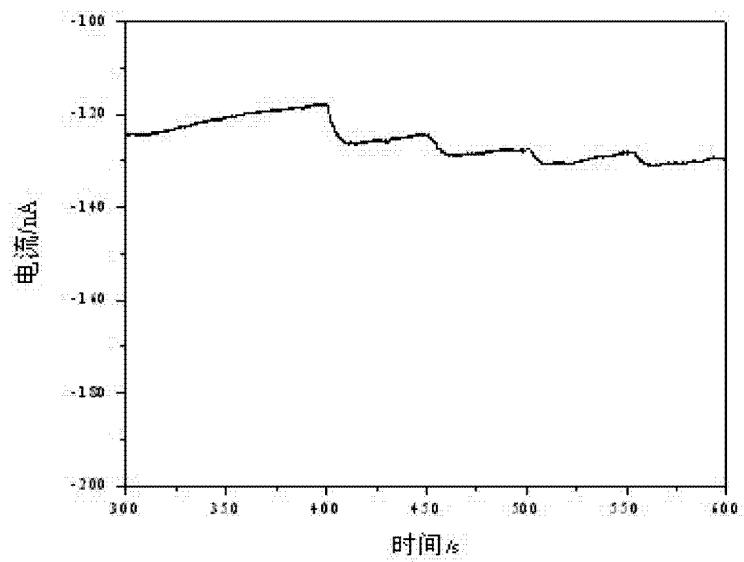


图 3a

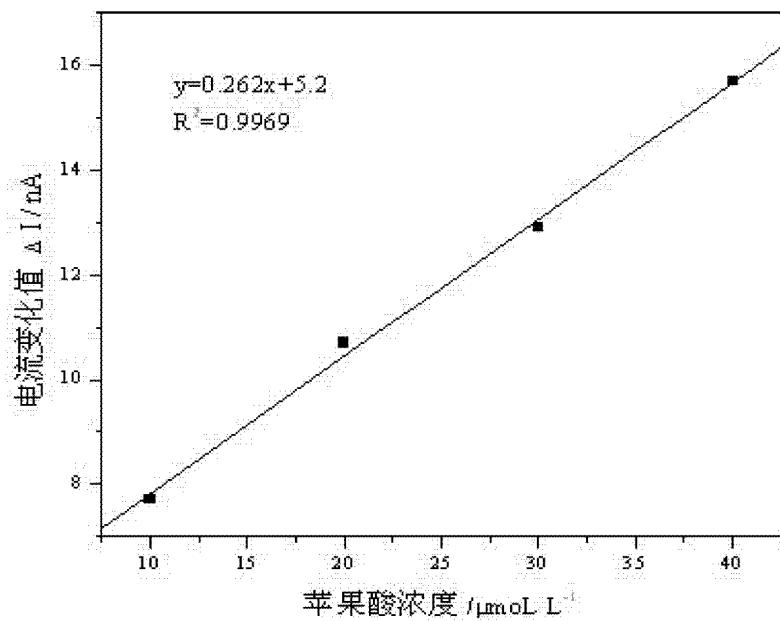


图 3b