



评述

植物激素电化学传感技术研究进展

苏招红^{①②}, 徐孝林^①, 李朝荣^①, 王辉宪^①, 马艳^①, 肖浪涛^{③*}^① 湖南农业大学理学院, 长沙 410128^② 湖南农业大学细胞力学与生物传感研究所, 长沙 410128^③ 湖南农业大学生物科学技术学院植物激素与生长发育湖南省重点实验室, 长沙 410128

*通讯作者, E-mail: langtaoxiao@163.com

收稿日期: 2015-11-30; 接受日期: 2016-03-29; 网络版发表日期: 2016-05-26

国家自然科学基金(编号: 21305039, 31570372, 90817101)资助项目

摘要 植物激素是植物自身合成的微量小分子有机物, 作为信号分子, 在极低浓度就能对植物生长发育产生显著调控作用. 植物激素的超微量及原位测定技术是该研究领域的重要研究课题. 在众多的检测手段中, 电化学方法因其高灵敏和可动态监测等特点而备受青睐. 本文综述了近年来植物激素电化学传感技术的最新研究进展, 内容涵盖植物激素电化学生物传感、植物激素直接电化学传感、植物激素光电化学传感、植物激素分子印迹电化学传感等研究领域, 并对植物激素电化学传感技术的发展趋势进行了展望.

关键词 植物激素, 电化学传感, 研究进展

1 引言

植物激素是植物自身合成的微量小分子有机物, 作为信号分子, 在极低浓度就能对植物生长发育产生显著调控作用. 已知的植物激素主要包括生长素、脱落酸、赤霉素、细胞分裂素、乙烯、芸薹素、茉莉素、水杨酸和独脚金内酯等类型^[1]. 当前基于植物激素原理开发的各种植物生长调节剂被广泛使用, 成为现代集约化农业实现作物高产优质的重要措施. 对植物激素作用机理的深入研究, 为作物遗传改良提供了有力的理论支撑, 在推动“绿色革命”和保障国家粮食安全等方面发挥了不可替代的作用^[2]. 由于植物激素在组织中的含量极低, 鲜样中的含量为

ng/g, 甚至 pg/g 水平, 对光、温度、氧化剂等外界条件敏感, 加上植物组织中复杂代谢物背景的干扰, 故其测定方法必须高敏特异^[3-7]. 为此, 国家自然科学基金委员会于 2007 年启动了“植物激素作用的分子机理”重大研究计划, 其中植物激素的超微量及原位测定成为该重大研究计划中的核心科学问题之一^[8].

对植物激素有关合成、运输、代谢和分子机理的深入研究都需要以精准的定量分析为必要的前提和基础. 目前已经建立的植物激素测定方法主要有生物测定法^[9]、比色法^[10]、气相色谱法^[11]、高效液相色谱法^[12]、气相色谱-质谱联用法^[13]、液相色谱-质谱联用法^[14]、毛细管电泳法^[15]、荧光法^[16]、化学发光法^[17]、表面等离子共振光谱法^[18]、分子印迹压电传感法^[19]、

引用格式: 苏招红, 徐孝林, 李朝荣, 王辉宪, 马艳, 肖浪涛. 植物激素电化学传感技术研究进展. 中国科学: 化学, 2016, 46: 759-767
Su ZH, Xu XL, Li CR, Wang HX, Ma Y, Xiao LT. Recent advances in electrochemical sensing of phytohormones. *Sci Sin Chim*, 2016, 46: 759-767, doi: 10.1360/N032015-00238

酶联免疫吸附法^[20]、放射免疫法^[21]、电化学传感法^[22-63]等。此外,近年还出现了基于植物激素信号途径等原理对植物激素进行定量分析的新方法^[64]。在众多的检测手段中,电化学方法因其具有操作方便、所需仪器价廉、响应迅速、灵敏度高、选择性好、可连续动态监测、无需复杂的样品前处理过程等优点而备受青睐。近年来,伴随纳米技术、仪器联用技术和信号放大技术的发展,超微电极的应用及学科交叉的深入,电化学传感技术得到了迅速发展。表1列出了近年来电化学传感检测植物激素的概况。随着植物激素调控机理和相互作用研究的深入,在植物激素超微量、原位、动态检测和多种植物激素同时检测方面的需求日益迫切^[65],电化学传感技术有望成为这些问题较好的解决方案之一,从而推动植物激素研究领域的技术进步。

2 植物激素电化学传感技术

目前,植物激素电化学传感技术主要有植物激素电化学生物传感(酶电极法和免疫电极法)、植物激素直接电化学传感、植物激素光电化学传感、植物激

素分子印迹电化学传感等。目前用于植物激素电化学传感的工作电极主要有玻碳电极、金电极、钼锡氧化物(ITO)电极、碳糊电极、微电极等;主要涉及的电化学检测方法,包括差分脉冲伏安法、方波伏安法、循环伏安法、电化学交流阻抗法和光电化学检测法等。

2.1 植物激素电化学生物传感

植物激素电化学生物传感器主要以一些生物活性物质(酶、抗体、植物激素结合蛋白等)作为识别元件,通过直接或间接地针对植物激素的分子识别作用来实现对植物激素的检测。植物激素识别分子的有效固定是关键步骤。植物激素识别分子在电极表面的固定,大体与常规酶固定和免疫固定化技术类似,涉及物理和化学固定等方法,按类型可分为酶电极法和免疫电极法。

植物激素酶电极法主要采用电极上固定的、能特异识别被测植物激素的氧化还原型的酶作为敏感元件。当酶催化生物活性物质在电极基体上发生反应时,基体电极将化学信号转变为可检测的电信号。由于存在于绿豆芽叶片组织内的吲哚乙酸(IAA)氧化酶

表1 电化学传感检测植物激素典例^{a)}

电化学检测方法	检测对象	方法特点	检测下限	线性范围	文献
电化学生物传感-酶电极法	IAA	氧化还原型酶反应	4.2 μg/mL	8~160 μg/mL	[22]
电化学生物传感-免疫电极法	IAA	静电吸附/竞争免疫反应	—	5~500 μM	[23]
	iPA	酶标记型免疫竞争反应	—	0.568~28 μg/mL	[27]
	GA ₃	静电吸附/竞争免疫反应	—	5~300 μg/mL	[41]
	脱落酸	电化学阻抗法	0.1 ng/mL	0.5~5000 ng/mL	[24]
	脱落酸	戊二醛交联/电化学阻抗法	1 ng/mL	10~5000 ng/mL	[43]
	IAA	双信号放大免疫法	0.018 ng/mL	0.02~500 ng/mL	[25]
直接电化学传感法	IAA	酰胺交联固定/免疫反应	0.55 nM	1~500 μM	[45]
	IAA	多壁碳纳米管修饰玻碳电极直接检测法	0.02 μM	0.1~50 μM	[50]
	IAA	纳米金/碳纳米管/壳聚糖修饰玻碳电极直接检测法	8.33 μM	5~200 μM	[51]
	JA-Me	氧化石墨烯修饰的石墨电极直接检测法	0.2 μM	0.5~80 μM	[26]
	IAA	聚碱红/还原氧化石墨烯修饰石墨电极直接检测法	0.05 μM	0.7~1000 μM	[53]
	茉莉酮	电沉积 Nafion-十六烷基三甲基溴化铵修饰玻碳电极直接检测法	0.4 μM	0.6~100 μM	[54]
	茉莉酮	多壁碳纳米管/Nafion 修饰玻碳电极直接检测法	0.2 μM	0.4~14 μM	[55]
光电化学传感法	水杨酸	铜纳米粒子修饰的金电极直接检测法	0.1 μM	—	[56]
	IAA	生物抗体识别/光电化学传感法	0.05 ng/mL	0.1~1000 ng/mL	[28]
分子印迹电化学传感法	IAA	聚甲基丙烯酸分子印迹敏感膜印迹法	5 μM	5~200 μM	[58]
	IAA	聚吡咯分子印迹敏感膜分子印迹法	2 μM	5~240 μM	[59]
	GA ₃	聚邻苯二胺分子印迹膜分子印迹法	3.45 pM	0.01~1 nM	[29]
	GA ₃	分子印迹竞争结合反应	0.93 nM	2~100 nM	[61]
	GA ₃	分子印迹竞争结合反应	2.6 pM	0.01~10 nM	[60]

a) 吲哚乙酸(IAA), 异戊烯基腺嘌呤(iPA), 茉莉酸甲酯(JA-Me), 赤霉素(GA₃)

具有较为稳定的生物活性,李春香等^[22]将含有生长素吲哚乙酸氧化酶的绿豆芽叶片组织与石墨粉及二茂铁等混合调制成糊状制成碳糊电极,基于二茂铁的电子媒介作用和该酶对底物的特异性酶反应,研制了植物激素吲哚乙酸(IAA)电化学生物传感器,采用循环伏安法测得 IAA 的线性范围为 8~160 $\mu\text{g/mL}$,检测下限为 4.2 $\mu\text{g/mL}$,稳定性和重现性好.然而,因为植物激素酶提纯困难,且经分离提纯后活性降低,使用中存在一定的限制,制约了酶电极法的研究,有关植物激素降解酶的提取工艺改进及其活性的保持是酶电极法的突破点.

植物激素免疫电极法主要是采用抗体作为识别元件,待形成抗体-待测物结合后,由转换器将生物、化学信号转换成电信号,通过适当的方法进行直接或间接定量的方法.植物激素免疫电极一般可分为酶标记型、金属元素(金属或金属化合物纳米粒子、金属离子、金属配合物、有机金属化合物)标记型、酶标记-金属元素复合标记型.抗体-抗原间的高亲和性使免疫电极法能对植物激素进行快速、特异、灵敏的分析. Li 等^[23]基于竞争免疫原理(图 1),将 IAA 抗体通过静电吸附结合到褐藻酸钠-石墨粉碳糊电极表面,用辣根过氧化物酶(HRP)标记的 IAA 与未进行标记的待测物 IAA 竞争结合到固定在电极表面的 IAA 抗体上,于测定液中加入底物 H_2O_2 和 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB),HRP 催化 H_2O_2 氧化 TMB 进行显色反应. TMB 的氧化产物在电极上被还原,通过循环伏安法测定得到还原电流值,还原电流值的大小与电极上结合的酶标 IAA 量成正比而与待测的 IAA 量成反比.此法可测定 5~500 $\mu\text{g/mL}$ 的 IAA 样品,并对杂交水稻样品进行了测定,其结果与 HPLC 法测定结果相近.李春香等^[40]采用类似的酶标记型竞争免疫法,改用酰胺化共价法将 IAA 抗体固定于电极表面,测定了 0.568~28.3 μM 的 IAA 样品.由于过氧化物酶标记的免疫电极,其反应底物容易受溶解氧及样品中其他杂质等外界因素的影响,测定时会产生较大系统误差,于是, Li 等^[41]进行了方法改进.他们首先采用电聚合法合成聚吡咯/聚间苯二胺多层膜,据此固定 HRP 和电子媒介体亚铁氰化钾,然后通过静电吸附作用固定上细胞分裂素异戊烯基腺嘌呤(iPA)抗体,葡萄糖氧化酶(GOD)标记的 iPA 与未进行标记的待测物 iPA 竞争结合到固定在电极表面的 iPA 抗体上,在检测液中加入底物葡萄糖,电极表面的 GOD 催化

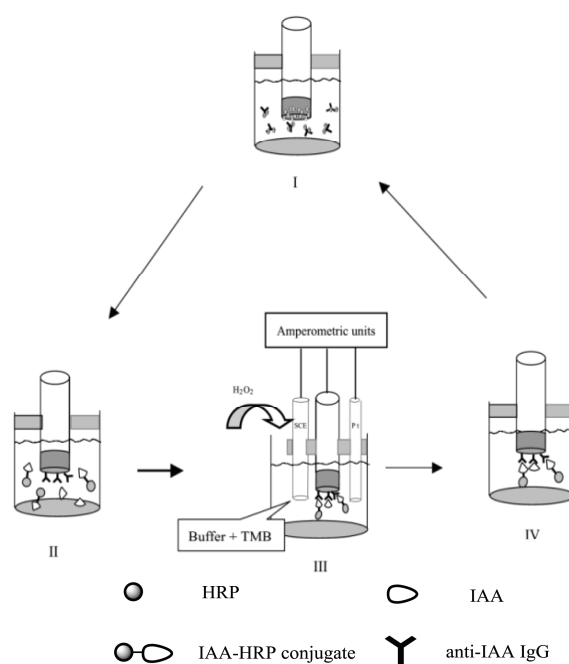


图 1 褐藻酸钠-碳复合电极(ASCE)上固定抗体示意图^[23]. (I) ASCE 上自组装抗 IAA 免疫球蛋白 G (Anti-IAA IgG); (II) 竞争免疫过程; (III) 安培检测; (IV) ASCE 更新

葡萄糖氧化并伴随氧气还原生成 H_2O_2 , HRP 催化 H_2O_2 氧化亚铁氰化钾生成铁氰化钾,通过循环伏安法测得的铁氰化钾还原电流与电极上结合的酶标 iPA 量成正比而与待测的 iPA 成反比.此法可测定 5~300 $\mu\text{g/mL}$ 的 iPA 样品.由于温度、溶液 pH、溶液离子强度等外界因素影响酶的活性,因此酶标记型免疫电极的测定受外界条件的影响较大,金属元素(金属或金属化合物纳米粒子、金属离子、金属配合物、有机金属化合物)标记型免疫电极的出现正好能克服这些缺陷.在赤霉素免疫电极法检测方面, Li 等^[42]在竞争免疫反应中添加铜离子标记的赤霉素,采用方波溶出伏安技术实现了 1~150 $\mu\text{g/mL}$ 的赤霉素样品检测.

近年来,随着纳米材料和传感信号放大技术的发展,植物激素免疫电极法在超微量检测方面获得了新的进步. Li 等^[24]制备了一种无标记型免疫电极,他们将脱落酸抗体吸附固定于多孔纳米金膜修饰的玻碳电极上,采用电化学阻抗法和铁氰化钾/亚铁氰化钾探针,实现了 0.5~5000 ng/mL 脱落酸的检测,检测下限达 0.1 ng/mL.类似地, Li 等^[43]也制备了一种电化学阻抗免疫电极,他们改用戊二醛交联法将脱

脱落酸抗体固定于电聚合邻苯二胺膜修饰的金电极上, 对 10~5000 ng/mL 脱落酸进行了检测, 检测下限为 1 ng/mL. 另外, Wang 等^[44]采用原位化学还原得到的纳米金修饰电极实现了脱落酸的免疫电极法测定, 检测下限为 5 ng/mL. 最近, 一些新的信号放大技术^[25]和复合新材料(金纳米颗粒功能化的石墨烯)^[45]被引入到植物激素免疫电极法中, 实现了植物激素的高灵敏检测. 例如, Yin 等^[25]提出的双信号放大免疫法, 如图 2 所示, 他们先将 HRP-IgG 标记的抗体功能化的磁性纳米颗粒通过硼羟基-醇羟基交联共价修饰到 4-氨基苯硼酸修饰的玻碳电极上, 然后亲和固定 IAA 抗体功能化的金纳米颗粒, 在铁氰化钾/亚铁氰化钾探针溶液中采用差分脉冲伏安法检测 IAA, 检测线性范围为 0.02~500 ng/mL IAA, 检测下限达 0.018 ng/mL. 他们同时也将金纳米颗粒功能化的石墨烯作为信号放大基底^[45]先修饰到玻碳电极上, 然后通过酰胺交联共价修饰 4-氨基苯硼酸, 最后通过硼羟基-醇羟基交联共价固定 HRP 标记的抗体功能化的金纳米颗粒, 亲和 IAA 抗体后, 采用差分脉冲伏安法在铁氰化钾/亚铁氰化钾探针溶液中检测了 1 nM~500 μ M 范围的 IAA, 检测下限为 0.55 nM.

植物激素电化学生物传感器具有能在复杂溶液中操作、灵敏度高、选择性好等优势, 已在植物激素

检测应用中表现出良好的发展潜力. 免疫电极法中, 抗体-抗原间的特异性高亲和性使免疫电极法有较好的选择性和较高的灵敏度, 以及比酶电极检测法更好的精确度, 且样品前处理步骤也得到了简化, 在植物激素检测中的应用前景广阔. 然而, 免疫电极法中的抗体制备较复杂, 且类似物、降解物质以及其他化合物会干扰抗原抗体亲和反应, 采用单克隆抗体可较好地排除这些干扰. 尽管目前植物激素单克隆抗体已有商品试剂, 但其特异性瓶颈难以进一步突破. 可以利用原核表达得到的高度特异的植物激素结合蛋白/受体蛋白替代抗体, 来实现检测性能优化提升.

2.2 植物激素直接电化学传感

植物激素直接电化学传感器利用一些植物激素分子(如吲哚乙酸、脱落酸、茉莉酸及其甲酯或茉莉酮、水杨酸、6-苄基氨基嘌呤等)本身具有电化学活性的特性, 通过直接电化学检测来实现其快速测定. 早在 1996 年, Hernández 等^[46]在碳纤维超微电极上就实现了 1.0 μ g/mL IAA 的直接电化学检测, 随后他们又在汞电极表面通过阳极溶出伏安法实现了 58 ng/mL 脱落酸的直接电化学检测^[47]. 迄今, 已有很多的直接电化学法检测 IAA 的研究工作报道. 例如, Yardum 等^[48]和 Toledo 等^[49]采用方波伏安法分别在硼掺杂的

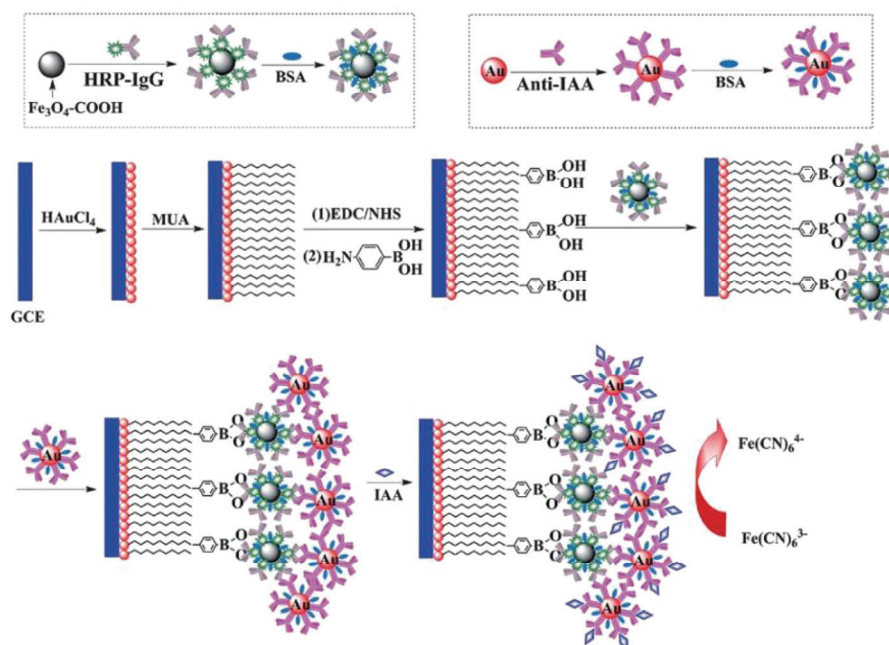


图 2 电化学免疫传感器制作和检测过程示意图^[25](网络版彩图)

金刚石电极和石墨-聚氨酯碳糊电极上直接电化学检测了 IAA, 检测下限分别为 $1.22\ \mu\text{M}$ 和 $26\ \mu\text{g/L}$. 张学钰等^[51]在纳米金/碳纳米管/壳聚糖修饰的玻碳电极上采用直接电化学法检测了 $5\sim 200\ \mu\text{M}$ IAA, 检测下限为 $8.33\ \mu\text{M}$.

然而, 由于大部分植物激素电化学活性较低, 故目前建立的基于电化学直接测定法的植物激素传感器较少, 主要集中于吲哚乙酸、茉莉酸及其甲酯或茉莉酮、水杨酸等, 且检测灵敏度有待提高. 随着纳米材料和纳米技术的发展, 一些具有大比表面积和强催化效果的新型纳米材料已用于电极的修饰, 改善了植物激素电化学传感的灵敏度和检测下限, 实现了对植物激素灵敏和快速的检测. 例如, Wu 等^[50]将多壁碳纳米管修饰的玻碳电极用于 IAA 的直接电化学检测, 检测线性范围为 $0.1\sim 50\ \mu\text{M}$, 检测下限为 $0.02\ \mu\text{M}$. Gan 等在茉莉酸甲酯^[26,52]和 IAA^[53]的直接电化学检测方面也取得了一系列进展. 他们将氧化石墨烯用于构建植物激素直接电化学传感器^[26], 如图 3 所示, 通过层层组装技术构建了磷钨酸(PTA)/氧化石墨烯纳米杂化物($\text{C}_2\text{N}_2\text{-GO}$)修饰的石墨电极, 实现了 $0.5\sim 80\ \mu\text{M}$ 茉莉酸甲酯检测, 检测下限为 $0.2\ \mu\text{M}$. 在聚碱红/还原氧化石墨烯修饰的阳极预氧化石墨电极上, 他们采用直接电化学法检测了 $0.7\sim 1000\ \mu\text{M}$ 的 IAA, 检测下限达 $0.05\ \mu\text{M}$ ^[53]. Dang 等在电沉积 Nafion-十六烷基三甲基溴化铵修饰的玻碳电极^[55]和多壁碳纳米管/Nafion 修饰的玻碳电极^[27]上, 分别采用阳极溶出伏安法直接电化学检测了 $0.6\sim 100\ \mu\text{M}$ 和 $0.4\sim 14\ \mu\text{M}$ 的顺式茉莉酮, 检测下限分别为 0.4 和 $0.2\ \mu\text{M}$. 基于纳米材料的嘌呤类细胞分裂素直接电化学检测最近也有报道, Lu 等^[31]在多壁碳纳米管修饰电极上实现了 6-苄基氨基嘌呤的直接电化学检测.

纳米材料用于直接电化学法修饰电极对植物激素灵敏快速检测取得了良好的效果. 最近, 直接电化学法对植物激素的原位检测和两种激素同时检测也取得了一些进展. 例如, Sun 等^[33]和 Wang 等^[56]分别在 Nafion-多壁碳纳米管修饰的纸质电极上和铜纳米粒子修饰的金电极上实现了鲜活番茄叶中水杨酸的原位直接电化学检测, 检测下限为 $0.1\ \mu\text{M}$. 另外, 植物激素同时直接电化学检测也有报道, Sun 等^[30]和 Lu 等^[32]分别在壳聚糖-多壁碳纳米管修饰电极和单壁碳纳米管复合膜修饰电极上实现了 IAA 和水杨酸的同时直接电化学检测, 两个研究组得到的检测下限分

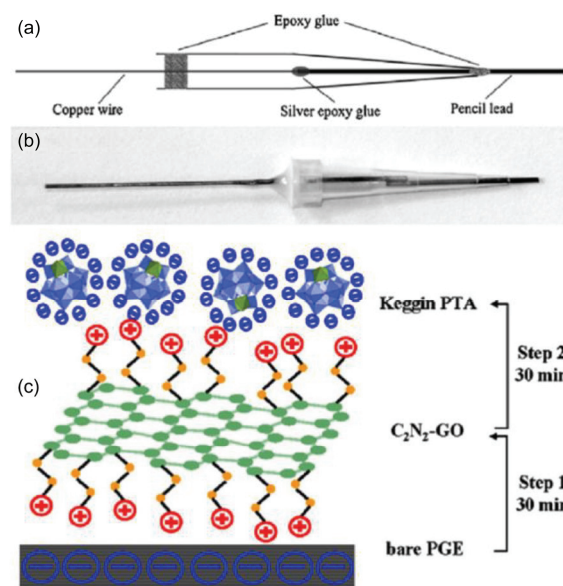


图 3 (a) 石墨电极(GE)结构模型; (b) GE 照片; (c) PTA/ $\text{C}_2\text{N}_2\text{-GO}$ 纳米杂化物修饰的 AGE 的制作过程示意图. 步骤 1: 在带负电的 AGE 上组装带正电的 $\text{C}_2\text{N}_2\text{-GO}$; 步骤 2: 在 $\text{C}_2\text{N}_2\text{-GO}$ 修饰的 AGE 上组装带负电的 PTA^[26](网络版彩图)

别为 0.1 和 $0.1\ \mu\text{M}$, 0.002 和 $0.0063\ \mu\text{M}$.

整体而言, 纳米材料构建的直接电化学传感虽然在一定程度上能实现植物激素灵敏和快速检测的效果, 但却受制于植物激素检测下限的影响. 在原有技术之上, 引入新的比表面积大、强催化效果的纳米材料用于修饰电极以改善其灵敏度, 以及将其应用于实现多种植物激素同时快速原位检测是未来的发展方向.

2.3 植物激素光电化学传感

光电化学分析是结合光电化学过程和分子识别过程而建立起来的一种比较新的分析方法. 在电化学(电子传递和界面反应)和光电转换(能量转换)两个过程的基础上, 主要利用植物激素对分子识别过程的影响所产生的光电流的变化, 可建立起光电流信号与植物激素浓度之间的定量关系^[63]. 该检测方法使用光作为激发信号, 检测的是电信号, 激发信号和检测信号互不干扰, 可获得较低的信号背景和较高的灵敏度. 在植物激素检测领域, 光电化学传感是新兴的一种检测方法. 最近, Sun 等^[28]提出的一种高灵敏的植物激素光电化学传感检测方法, 检测下限达 $0.05\ \text{ng/mL}$, 如图 4 所示. 他们通过溶剂热法在还原

的氧化石墨烯(RGO)表面原位生长 CdS 纳米晶, 并以巯基丙酸(MPA)为稳定剂和表面修饰剂对 CdS 纳米晶进行表面调控和修饰, 制备了金字塔状 CdS 纳米晶负载 RGO 片层的 MPA-CdS/RGO 纳米复合材料. 然后通过壳聚糖(CS)固定在 ITO 电极上, 随后加入 EDC/NHS 通过酰胺化反应将 IAA 抗体固定在修饰电极上, 采用光电化学传感法检测了 0.1~1000 ng/mL 的 IAA, 检测下限为 0.05 ng/mL. 光电化学传感法往往对被测植物激素的电活性要求较高, 对于某些电活性不强的植物激素, 可以选择分子印迹聚合物(MIP)与光电化学分析相结合的方法来实现高敏选择性的检测目的. 例如, Shi 等^[62]在 TiO₂ 纳米管上负载吡咯基聚合物作为增强光吸收层和 MIP 识别单元, 以信号增敏的方式实现了对植物生长调节剂 2,4-二氯酚的灵敏检测. 这种利用不同方法互补来达到灵

敏检测的方法值得关注和研究.

总的来说, 光电化学传感器用于植物激素检测仍处于起步阶段, 目前的相关研究工作很少, 还停留在方法学探索的阶段, 尚缺乏较为系统完备的理论研究, 也需要进一步拓展可用于植物激素光电化学分析的高活性和高稳定性的材料^[63], 以及引入和开发新的信号识别模式. 因为光电化学分析技术具有独特优势, 其在植物激素检测方面的研究和应用将是一个充满机遇的新领域.

2.4 植物激素分子印迹电化学传感

分子印迹(MIP)型植物激素电化学传感器, 主要是基于特制 MIP 材料的孔穴中, 具有特异性结合目标植物激素分子的位点, 使得电极上固定的 MIP 材料可识别该植物激素分子, 引起相应的电化学信号变化. 这种信号变化可直接或间接地用于该植物激素的定量分析^[29,57-59], 其核心是 MIP 材料的合成. MIP 材料可选择性地亲和或吸附印迹分子, 以完成对待测物的分离检测, 有较高的选择性. 因此, 植物激素分子印迹技术不需要植物激素抗体的参与, 也能对植物激素进行灵敏特异检测^[29,57-59]. 根据这一特点, 宫倩倩等采用 IAA 为模板分子, 分别以聚甲基丙烯酸^[58]和聚吡咯^[59]为单体, 在玻碳电极表面制备分子印迹敏感膜, 用方波伏安法对 IAA 在该印迹电极上进行电化学检测, 检测下限分别为 5 和 2 μ M. Li 等提出了赤霉素(GA₃)的高敏分子印迹电化学发光(MIP-ECL)^[29]和分子印迹电化学^[60,61]传感方法, 如图 5 所示. 他们采用电化学聚合方法将 GA₃ 印迹到聚邻苯二胺分子印迹膜上, 然后用甲醇/乙酸溶液洗脱 GA₃, 将 GA₃ 和罗丹明 B 标记的 GA₃ 通过竞争反应结合到

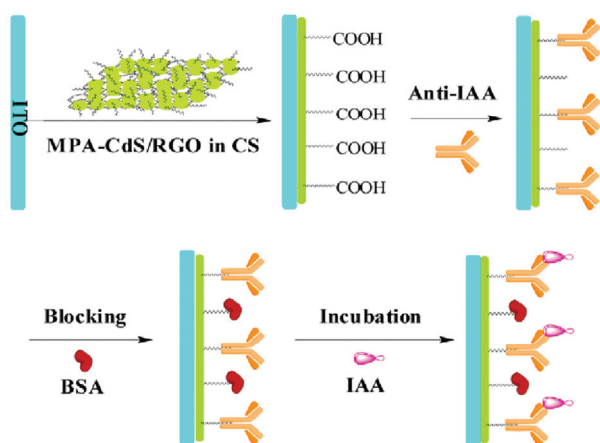


图4 基于 MPA-CdS/RGO 纳米复合材料构建光电化学免疫传感器的原理图^[28](网络版彩图)

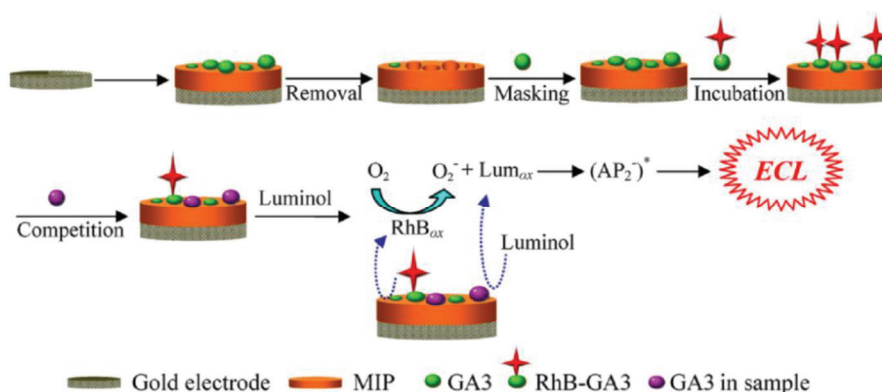


图5 构建 MIP-ECL 传感器和检测 GA₃ 过程示意图^[29](网络版彩图)

分子印迹聚合膜上, 由于电氧化的罗丹明 B 能催化放大发光物质鲁米诺输出电致发光信号, 随样品中 GA_3 浓度的增大, 鲁米诺发光电信号逐渐猝灭, 从而实现 GA_3 的高灵敏检测, 此法可检测 0.01~1 nM 的 GA_3 , 检测下限达 3.45 pM^[29]. 此外, 他们通过 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Au}$ 纳米粒子亲和放大 L-Cys 标记的 GA_3 ^[60] 和聚二乙烯三胺酸乙二醇酯-二茂铁酸标记的 GA_3 ^[61] 分别和 GA_3 进行分子印迹竞争结合反应, 采用分子印迹电化学法分别检测了 0.01~10 nM 和 2~100 nM 的 GA_3 , 检测下限分别为 2.6 pM 和 0.93 nM. 分子印迹电化学传感器具备了灵敏度高、选择性好的特点, 在植物激素检测应用中表现出了良好的发展潜力.

3 展望

植物激素电化学传感技术具有检测速度快、灵敏度高、操作简便、可进行连续动态监测等优点, 近年来发展迅速. 尽管如此, 植物激素电化学传感技术目前整体上仍处于方法学研究阶段, 有待更深入地研究和探索, 加速相关仪器的研发定型, 以期早日将此技术全面推向实际应用, 为解决植物激素研究领域的重要科学问题提供新的方法和手段.

随着植物激素基础和应用研究的深入, 对于植物激素电化学传感技术的发展趋势, 我们总结后认

为应包括以下几方面: (1) 植物激素信号转导途径分子机制特别是植物激素间的互作网络^[66]的解析已成为近年生物学领域的研究热点^[67], 植物的特定生长发育过程都是多种植物激素协同调控的结果, 因此, 需要用代谢组学手段对不同种类激素或特定激素及其各种结合态进行同时检测. (2) 植物激素在不同的生长时期、不同组织和不同器官的分布水平不同, 其分布存在明显的特异性时空分布. 特定细胞群中植物激素的积累或亏缺都是决定器官发生的重要因素^[68]. 同时, 由植物激素运输产生的植物激素流流量及流向也是调控植物生长发育的重要因素, 但上述领域目前还缺乏对应的测定技术支持. 因此, 迫切需要建立从单细胞水平以及活体原位的超微量、高灵敏、原位动态的植物激素监测技术. 由于对前处理纯化要求极高的串联质谱等方法通常只能测定组织中植物激素含量的平均值, 具有动态监测能力的电化学传感技术具有广阔的发展前景. (3) 对于大田作物, 取样返回实验室进行植物激素分析所得结果与田间状态会存在一定差异. 因此, 适合于野外实时测样的便携式高通量植物激素电化学传感仪器及联用仪器的开发, 将在大田作物植物激素的田间定量监测中发挥重要作用. (4) 随着越来越多的新型植物激素的发现, 也需要针对性地建立与之匹配的电化学传感技术, 为深入的作用分子机理等相关研究服务.

参考文献

- 1 许智宏, 薛红卫. 植物激素作用的分子机理. 上海: 上海科学技术出版社, 2012
- 2 温明章, 陈越, 谷瑞升, 罗晶, 杜生明. 植物学通报, 2008, 25: 633-637
- 3 Du FY, Ruan GH, Liu HW. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 403: 55-74
- 4 Gan T, Hu SS. *Microchim Acta*, 2011, 175: 1-19
- 5 Bai Y, Du FY, Bai Y, Liu HW. *Anal Method*, 2010, 2: 1867-1873
- 6 李雨薇, 肖浪涛. 生命科学仪器, 2007, 5: 10-14
- 7 白玉, 杜甫佑, 白玉, 刘虎威. 生命科学, 2010, 22: 36-43
- 8 谷瑞升, 杜生明. 生命科学, 2007, 19: 251-253
- 9 Frits WW, Kenneth VT. *Phytohormones*. New York: Macmillan Company, 1937
- 10 Wout B, Chris G, Marc M, Dirk I. *Plant Physiol*, 1992, 99: 1090-1098
- 11 Giannarellia S, Muscatelloa B, Boganib P, Spiritib MM, Buiattib M, Fuocoa R. *Anal Biochem*, 2010, 1: 60-68
- 12 童建华, 李雨薇, 黄志刚, 田梅, 丁君辉. 现代生物医学进展, 2009, 13: 2476-2479
- 13 Meyer R, Rautenbach GF, Dubery IA. *Phytochem Anal*, 2003, 14: 155-159
- 14 Fletcher AT, Mader JC. *J Plant Growth Regul*, 2007, 26: 351-361
- 15 Chen H, Guo XF, Zhang HS, Wang H. *J Chromatogr A*, 2011, 879: 1802-1808
- 16 Li YN, Wu HL, Zhu SH, Nie JH, Yu YJ, Wang XM, Yu RQ. *Anal Sci*, 2009, 25: 83-88
- 17 Xu H, Mei ZH, Wang ZP, He YH. *Spectrochim Acta A*, 2012, 95: 114-119

- 18 Wei CH, Zhou HP, Chen CG, Li ZC, Zhou J. *Anal Lett*, 2011, 44: 2911–2921
- 19 Akimitsu K, Toshifumi T. *Electroanalysis*, 1999, 11: 1158–1160
- 20 Sergeeva E, Liaimer A, Bergman B. *Planta*, 2002, 2: 229–238
- 21 William P, Frederick M. *Planta*, 1977, 136: 173–180
- 22 李春香, 李劲, 萧浪涛, 沈国励, 俞汝勤. 分析科学学报, 2003, 19: 205–208
- 23 Li J, Xiao LT, Zeng GM, Huang GH, Shen GL, Yu RQ. *Anal Chim Acta*, 2003, 494: 177–185
- 24 Li YW, Xia K, Wang RZ, Jiang JH, Xiao LT. *Anal Bioanal Chem*, 2008, 391: 2869–2874
- 25 Yin HS, Xu ZN, Zhou YL, Wang M, Ai SY. *Analyst*, 2013, 138: 1851–1857
- 26 Gan T, Hu CG, Chen ZL, Hu SS. *Sensor Actuat B*, 2011, 151: 8–14
- 27 Dang XP, Hu CG, Chen ZL, Wang SF, Hu SS. *Electrochim Acta*, 2012, 81: 239–245
- 28 Sun B, Chen LJ, Xu Y, Liu M, Yin HS, Ai SY. *Biosens Bioelectron*, 2014, 51: 164–169
- 29 Li JP, Li SH, Wei XP, Tao HL, Pan HC. *Anal Chem*, 2012, 84: 9951–9955
- 30 Sun LJ, Liu XJ, Gao L, Lu YN Li, YB, Pan ZQ, Bao N, Gu HY. *Anal Lett*, 2015, 48: 1578–1592
- 31 Lu SS, Wen YP, Bai L, Liu GB, Chen YX, Du H, Wang XQ. *J Electroanal Chem*, 2015, 750: 89–99
- 32 Lu SS, Bai L, Wen YP, Li MF, Yan DD, Zhang R, Chen KJ. *J Solid State Electr*, 2015, 19: 2023–2037
- 33 Sun LJ, Feng QM, Yan YF, Pan ZQ, Li XH, Song FM, Yang HB, Xu JJ, Bao N, Gu HY. *Biosens Bioelectron*, 2014, 60: 154–160
- 34 Shen Y, Li XG, Chen WJ, Cheng FF, Song F. *J Plant Biochem Biot*, 2013, 22: 319–322
- 35 Sun LJ, Pan ZQ, Xie J, Liu XJ, Sun FT, Song FM, Bao N, Gu HY. *J Electroanal Chem*, 2013, 706: 127–132
- 36 Subraya KK, Diggs A, Porterfield DM. *Commun Soil Sci Plan*, 2013, 44: 1749–1763
- 37 Bulickova J, Sokolova R, Giannarelli S, Muscatello B. *Electroanal*, 2013, 25: 303–307
- 38 Yardim Y, Senturk Z. *Turk J Chem*, 2011, 3: 413–426
- 39 Kowalska M, Tian F, Smehilova M, Galuszka P, Frebort I, Napier R, Dale N. *Anal Chim Acta*, 2011, 701: 218–223
- 40 Li CX, Li J, Xiao LT, Shen GL, Yu RQ. *Acta Chim Sinica*, 2003, 61: 790–794
- 41 Li J, Xiao LT, Zeng GM, Huang GF, Shen GL, Yu RQ. *Anal Biochem*, 2003, 32: 89–95
- 42 Li J, Xiao LT, Zeng GM, Huang GF, Shen GL, Yu RQ. *J Agric Food Chem*, 2005, 53: 1348–1353
- 43 Li Q, Wang RZ, Huang ZG, Li HS, Xiao LT. *Chinese Chem Lett*, 2010, 21: 472–475
- 44 Wang RZ, Li YW, Li Q, Shen GL, Xiao LT. *Anal Lett*, 2009, 42: 2893–2904
- 45 Zhou YL, Xu ZN, Wang M, Meng XM, Yin HS. *Electrochim Acta*, 2013, 96: 66–73
- 46 Hernández L, Hernández P, Patón F. *Anal Chim Acta*, 1996, 327: 117–123
- 47 Hernández P, Dabrio-Ramos M, Patón F, Ballesteros Y, Hernández L. *Talanta*, 1997, 44: 1783–1792
- 48 Yardim Y, Erez ME. *Electroanalysis*, 2011, 23: 667–673
- 49 Toledo RAD, Vaz CMP. *Microchem J*, 2007, 86: 161–165
- 50 Wu KB, Sun YY, Hu SS. *Sensor Actuat B*, 2003, 96: 658–662
- 51 张学钰, 刘兴梅, 刘伟禄, 杨明, 张志权. 高等学校化学学报, 2010, 31: 33–37
- 52 Gan T, Hu CG, Chen ZL, Hu SS. *Food Chem*, 2010, 58: 8942–8947
- 53 Gan T, Hu CG, Chen ZL, Hu SS. *Talanta*, 2011, 85: 310–316
- 54 Gan T, Hu CG, Chen ZL, Hu SS. *Electrochimica Acta*, 2011, 56: 4512–4517
- 55 Dang XP, Hua CG, Shen D, Chen ZL, Hua SS. *J Electroanal Chem*, 2011, 657: 39–45
- 56 Wang Z, Wei F, Liu SY, Xu Q, Huang JY, Dong XY, Yu JH, Yang Q, Zhao YD, Chen H. *Talanta*, 2010, 80: 1277–1281
- 57 Chen CB, Chen YJ, Zhou J, Wu CH. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 569: 58–65
- 58 宫倩倩, 曹玉华, 王阳, 朱丽丽. 分析科学学报, 2011, 27: 556–560
- 59 宫倩倩, 朱丽丽, 杨徐, 曹玉华. 江南大学学报, 2011, 10: 731–736
- 60 Zhang LM, Wei XP, Wei YX, Li JP, Zeng Y. *Chin J Anal Chem*, 2014, 42: 1580–1585
- 61 Fu C, Li JP. *Chin J Anal Chem*, 2014, 42: 315–319
- 62 Shi H, Zhao G, Liu M, Zhu Z. *Electrochem Commun*, 2011, 13: 1404–1407
- 63 孙兵, 艾仕云. 化学进展, 2014, 5: 834–845
- 64 Géraldine B, Darren W, Marina O, Antoine L, Vincent M, Amy B, Tom B, Stefan K, Jan T, Malcolm B, Teva V. *Nature*, 2012, 482: 103–106
- 65 符继红, 孙晓红, 王吉德, 褚金芳, 闫存玉. 科学通报, 2010, 33: 3163–3176

- 66 Lin QB, Wu FQ, Sheng PK, Zhang Z, Zhang X, Guo XP, Wang JL, Cheng ZJ, Wang J, Wang HY, Wa JM. *Nat Nanotechnol*, 2015, 6: 7981–7991
- 67 2014 年度中国科学十大进展评选结果发布. http://www.most.gov.cn/kjbgz/201502/t20150215_118229.htm, 2015-02-16
- 68 Valentina C, Maria MA, Patrizia B, Valentina P, Giuseppina F, Karin L, Paolo C, Maura C. *Plant J*, 2013, 74: 411–422

Recent advances in electrochemical sensing of phytohormones

Zhaohong Su^{1,2}, Xiaolin Xu¹, Chaorong Li¹, Huixian Wang¹, Yan Ma¹, Langtao Xiao^{3*}

¹ College of Science, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

² Cell Mechanics and Biosensing Institute, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

³ Hunan Provincial Key Laboratory of Phytohormones and Growth Development; College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

*Corresponding author (email: langtaoxiao@163.com)

Abstract: Phytohormones, being a series of trace organic compounds synthesized in plants and playing important roles in plant growth at their low concentration, have been extensively studied in recent years. The ultrasensitive and *in-situ* detection of phytohormones remains an important scientific field in the plant research. In many existed detection methods, the electrochemical method has been acclaimed as a result of its excellent performance of high sensitivity and dynamic monitoring. In this review, we briefly introduce the recent advances in electrochemical sensing of phytohormones, including electrochemical biosensing, direct electrochemical sensing, photoelectron-chemical sensing, and molecularly imprinted electrochemical sensing. Finally, the trends in electrochemical sensing of phytohormones are discussed.

Keywords: phytohormones, electrochemical sensing, recent advances

doi: 10.1360/N032015-00238