

铱针电极原位测定绿萝植物组织 pH 值

周正文^{1,2}, 潘大为^{*1,2}, 魏红^{1,2}, 潘飞^{1,2}

(1.中国科学院烟台海岸带研究所,中国科学院海岸带环境过程与生态修复重点实验室,山东烟台 264003;
2.中国科学院大学海洋学院,山东青岛 266400)

摘要:构建能稳定检测 pH 的新型微电极,并用于植物组织的原位测定。在碱性条件下采用循环伏安法对 Ir 针进行电化学修饰,得到 Ir/Ir(OH)_x 型 pH 电极,并对该修饰电极的形貌及电化学性质进行了研究。裸 Ir 电极和 Ir/Ir(OH)_x 电极的对比扫描电镜 (SEM) 图显示,电化学修饰的 Ir 丝表面增加了一层白色 Ir(OH)_x 膜。Ir/Ir(OH)_x 型电极对 pH 响应敏感,在 pH=4~10 范围内其电势与 pH 呈能斯特线性响应。电极的响应时间为 60 s 左右,多次间隔测定,电极具有较好稳定性。利用该电极对植物培养过程的生长状况进行原位分析测定,发现在弱酸盐溶液水培下的绿萝 (*Epipremnum Aureum*),随水培缓冲溶液的 pH 值微弱降低,且植物茎干较根茎表现出迟滞的变化趋势。将该 Ir 针电极应用于植物组织 pH 值原位测量,尤其对耐盐植物选育和根茎 pH 变化监测具有潜在应用价值。

关键词:铱针电极;pH 值;植物组织;原位测定

中图分类号:O657.1 文献标识码:A 文章编号:1006-6144(2019)05-538-05

植物体内 pH 值对植物细胞生长具有重要作用。一方面 pH 可以调节植物组织细胞的胞内酶、蛋白质以及其它生理活性^[1];另一方面,植物体内 pH 值及生长发育状况也可以反映当地土壤 pH 变化情况,为当地水土水文监测提供一个新的方向^[2]。植物组织细胞 pH 值测定主要有弱酸弱碱分布法、核磁共振法、微电极法、荧光染料法等方法^[3]。Walker 等^[4]采用三电极体系的微电极对植物组织细胞 pH 进行测定,但是过程复杂,技术操作难度大。金属氧化物电极在 pH 测量过程中展现出制作方法简单,易于控制,易于小型化测量的优势^[5-7]。在钛、钨、铅、铂、铱等制备的金属氧化物电极中,铱及其金属氧化物电极在待测溶液中较为稳定,不易溶解^[5,8]。此外,铱氧化物电极还具有测量范围宽、耐高温和抗腐蚀等优点^[9-10]。Bause 等^[11]已经证明含氧化铱薄膜的 pH 电极具有生物相容性,可以在生物介质中进行 pH 的测定。在诸多报道构建的金属氧化物 pH 电极中,以铱及其金属氧化物 pH 电极表现出较好的稳定性和较短的响应时间^[12-13]。

本实验通过循环伏安法制备了 Ir/Ir(OH)_x 针型 pH 电极,并将该电极应用在实时活体植物组织 pH 值的测量中。该电极制作简单,可以直接插在活体植物上原位测量块茎较大的植物组织的 pH 值,对植物生长影响较小,且对活体植物进行实时监测,具有响应快速、稳定性高的特点。

1 实验部分

1.1 仪器及试剂

所有电化学实验在 CHI660D 型电化学工作站(上海辰华仪器有限公司)上进行;参比电极为 Ag/AgCl

收稿日期:2018-11-10 修回日期:2018-11-23

基金项目:中国科学院青年创新促进会项目(No.2011170);中国科学院 STS 项目子课题(No.KFJ-STZ-ZDTP-023);山东省重点研发计划(No.2017GHY215002)

* 通讯作者:潘大为,男,博士,研究员,研究方向:海洋环境检测/监测.E-mail:dwpan@yic.ac.cn

(3 mol/L KCl, 武汉高仕睿联科技有限公司); Pt 电极(天津兰力科有限公司); E-201-C 型 pH 计(上海雷磁仪器有限公司); S-4800 扫描电子显微镜(日本, 日立公司); KQ-250TDB 超声波清洗机(昆山超声仪器有限公司); Cascade-Bio 超纯水仪(美国, Pall Cascada 公司)。

铱丝, 0.25 mm, 纯度 99.99% (贵研铂业公司); pH 缓冲液采用 0.1 mol/L NaH_2PO_4 和 0.1 mol/L Na_2HPO_4 配制; pH 标准缓冲溶液: 4.00, 6.86, 9.18; NaOH、NaCl、无水乙醇和 HCl 均为分析纯(上海国药集团化学试剂有限公司)。所有溶液均使用去离子水(18.2 M Ω ·cm)配制。实验所用的玻璃器皿均在 5% 的 HNO_3 中浸泡 24 h 以上, 用去离子水洗净后, 烘干备用。

1.2 电极制备

铱丝的处理: 截取 2~3 cm 铱丝用细砂纸轻微打磨后, 置于 5 mol/L 的 HCl 和去离子水中各超声清洗 30 min, 室温下晾干后, 将铱丝组装成电极进行电化学修饰。

$\text{Ir}(\text{OH})_x$ 膜层制备: 三电极系统中工作电极为铱丝, 参比电极为 Ag/AgCl 电极, 辅助电极为 Pt 电极^[14]。使用电化学工作站, 在 3% 的 NaOH 溶液中, 采用循环伏安法(CV), 以 50 mV/s 速率扫描 4 圈。然后用无水乙醇和去离子水冲洗电极, 室温下晾干。最后将电极浸泡在 3.5% 的 NaCl 溶液中 4 h 以上, 以活化电极。电极活化完成后, 使用绝缘隔膜组装电极系统。

电极实物图和检测系统示意图见图 1。

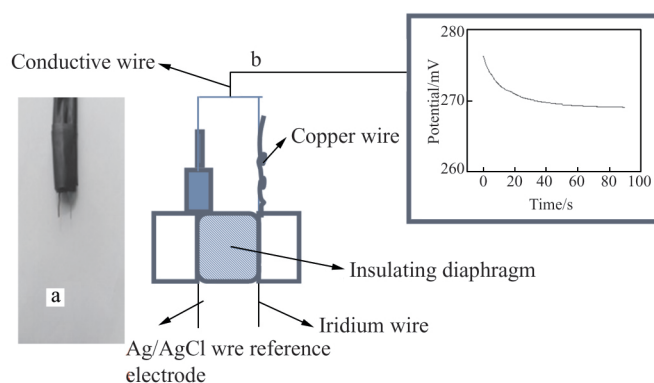


图 1 电极实物图(a)和检测系统示意图(b)

Fig.1 Assembly completed electrode showing photo(a) and plant tissue electrode monitoring system schematic(b)

2 结果与分析

2.1 $\text{Ir}/\text{Ir}(\text{OH})_x$ 型 pH 电极性质

2.1.1 电极的扫描电镜(SEM)图 本文通过 SEM 表征了电化学沉积的 $\text{Ir}(\text{OH})_x$ 膜层和纯净铱丝表面的形貌。从图 2 中可以看出, 经过电化学修饰使得光滑的铱丝表面生成了一层白色的氧化膜。修饰电极表面的 $\text{Ir}(\text{OH})_x$ 膜的颗粒尺寸通常在 50~200 nm 之间^[13-14]。这些纳米尺度的微粒紧密且厚实, 为后续测试中电极所表现优异的电化学性质提供了结构依据。

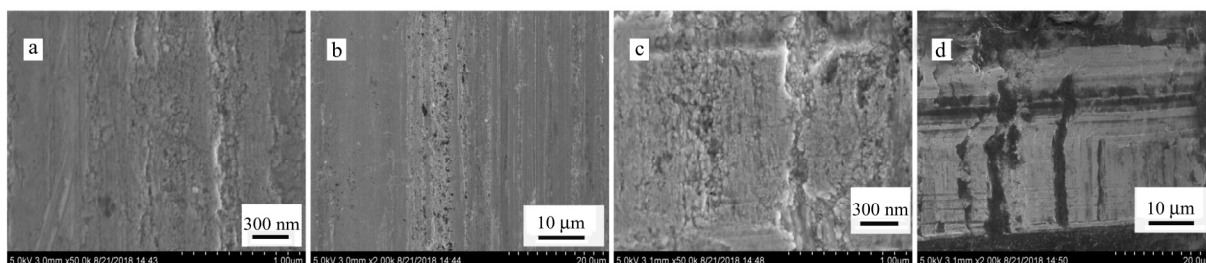


图 2 纯净铱丝表面(a,b)和电化学修饰后电极(c,d)的 SEM 图

Fig.2 SEM image of surface of pure iridium wire(a,b) and electrochemically modified electrodes(c,d)

2.1.2 $\text{Ir}/\text{Ir}(\text{OH})_x$ 电极的电化学性质 采用 CV 法对 $\text{Ir}/\text{Ir}(\text{OH})_x$ 电极的电化学性质进行分析。在 0.1 mol/L H_2SO_4 中, 在 0.0~0.7 V 电位区间, 于 50 mV/s 扫速下得到 CV 曲线见图 3。将 $\text{Ir}/\text{Ir}(\text{OH})_x$

电极和裸 Ir 电极进行对比,可以看出经过电化学修饰之后的 Ir/Ir(OH)_x 电极比裸 Ir 电极具有更大的背景电流,因为 Ir(OH)_x 膜增大了电极的比表面积,提高了电极的响应能力。结合 SEM 图中铱丝表面的膜层变化和 Ir/Ir(OH)_x 电极的 CV 曲线,表明 Ir 丝表面成功修饰上 Ir(OH)_x 膜。

2.1.3 pH 电极的响应性能 采用 CV 法,分别在酸性条件和碱性条件下制备铱氧化物电极。其中,碱性条件下 CV 法制备的电极只要能斯特斜率在 50~65 之间即认为线性较好^[15]。使用 pH 由 4~10 之间的一系列 pH 缓冲溶液来校正电极的能斯特曲线。其中,制备的三根 pH 电极的能斯特曲线线性斜率分别为 -56.45、-57.83 和 -61.17,线性相关系数 R 在 0.9993~0.9999 之间。由图 4 可知三根电极之间仍存在一定误差,通过计算过程中测算多根电极的平均值以减小校正过程的误差。三根电极的平均能斯特斜率 E_n 为 59.67,接近能斯特标准值^[16],线性相关系数 R 为 0.9985。

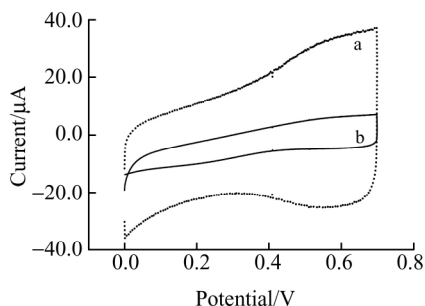


图 3 Ir/Ir(OH)_x 电极 (a) 以及裸 Ir 电极 (b) 在 0.5 mol/L H₂SO₄ 中的 CV 曲线
Fig.3 CV curves of Ir/Ir(OH)_x electrode (a) and bare Ir electrode (b) in 0.5 mol/L H₂SO₄

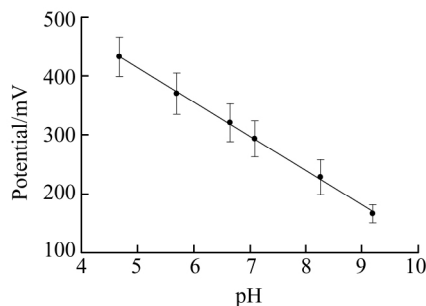


图 4 三根 Ir/Ir(OH)_x 电极在 pH 缓冲溶液中的电势响应
Fig.4 Potential response of three Ir/Ir(OH)_x electrodes to a series of pH buffer solutions

2.1.4 响应时间和稳定性 响应时间是指工作电极和参比电极一起浸入被测溶液时算起到电池电动势达到平衡电势的某一给定电势之内所需要的时间^[17]。IUPAC 规定电势在 60 s 内变化范围在 1 mV 之内算达到稳定^[18]。由图 5 可以看出 Ir/Ir(OH)_x pH 电极在酸性溶液中 50 s 左右即可达到平衡;在中性溶液中 60 s 即可达到平衡;在碱性溶液中 40 s 左右也可达到平衡。整体而言,电极在 pH 范围 4~10 之间 60 s 左右即可达到平衡。

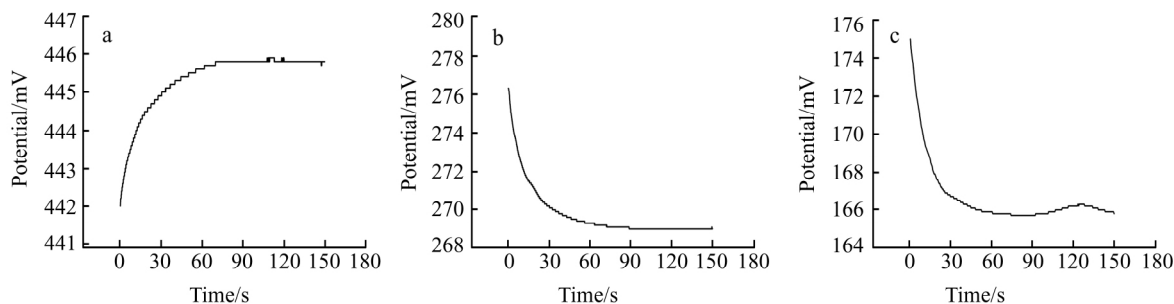


图 5 电极在 pH=6.86(a)、4.00(b)和 9.18(c) 的标准缓冲溶液中的响应时间图
Fig.5 Response time diagram of the electrode in 6.86(a), 4.00(b) and 9.18(c) standard pH buffer solutions

将 Ir/Ir(OH)_x 型 pH 电极在三种 pH 标准缓冲溶液 (pH=4.00、6.86、9.18) 中每间隔一天进行一次测量,测量其稳定性。如图 6 所示, Ir/Ir(OH)_x 电极测量过程中电位对应的 pH 值都较为稳定,无明显波动。另外测定过程中电极在不同标准 pH 缓冲溶液之间切换,电极仍然保持相当的稳定性,总体电位漂移在 ±5 mV 之间,无明显漂移。

2.2 pH 电极的实际测定

绿萝是一种气根发达,适宜水培种植的植物^[19]。绿萝不仅可以吸收空气中的甲苯和甲醛等空气污染物,净化水体中低浓度的铅、铬等重金属,而且还具有吸收水体中总磷,净化水体富营养化的作用^[20-22]。从图 7 可以看出绿萝的组织 pH 整体在 7.5 左右,在 0.1 mol/L NaH₂PO₄ 溶液培养过程中,绿萝 pH 随时间略有降低。主要原因是绿萝在高浓度盐溶液中,由于植物的运输作用吸收部分弱酸根离子导致培养过

程植株整体 pH 略有下降。测定过程中绿萝的根茎的变化速度总是先于其茎干部分,推测是绿萝的根部吸收将盐离子向上运输导致此现象。但到达一定时间,图中约 50 h 左右,绿萝茎干和根茎 pH 下降速率明显降低,推测可能是由于植物根系对盐离子具有调控作用,减少盐溶液离子通过,从而防止植物由于体内 pH 变化较大而导致自身死亡。

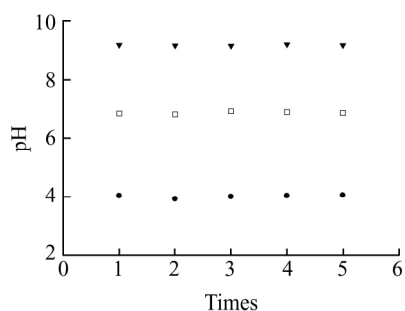


图 6 Ir/Ir(OH)_x 电极在 pH=4.00、6.86 和 9.18 的标准缓冲溶液中多次测量响应图

Fig.6 The response of Ir/Ir(OH)_x electrode measured multiple times in 4.00, 6.86 and 9.18 standard pH buffer solutions

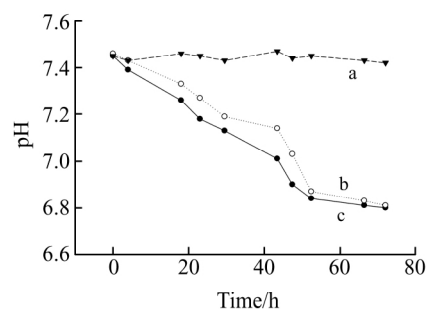


图 7 (a) 绿萝在自来水培养下对根茎的测定; (b) 绿萝在 0.1 mol/L NaH₂PO₄ 培养下对茎干的测定; (c) 绿萝在 0.1 mol/L NaH₂PO₄ 培养下对根茎的测定

Fig.7 (a) Determination of the rhizome of Epipremnum aureum in tap water culture; (b) Determination of stems of Epipremnum aureum in 0.1 mol/L NaH₂PO₄ culture; (c) Determination of rhizome of Epipremnum aureum in 0.1 mol/L NaH₂PO₄ culture

3 结论

本文在碱性条件下采用循环伏安法,将进行电化学修饰的铱丝制备组装成 Ir/Ir(OH)_x 型 pH 电极。校正电极的能斯特曲线斜率在 55~61 之间,电极平均能斯特曲线斜率接近能斯特方程标准值。电极对测定 pH=4~10 之间的溶液具有快速的响应时间、较好的稳定性和准确性。以绿萝植株为例,利用本实验制备的 Ir 针 pH 电极原位测定了绿萝植株在 0.1 mol/L NaH₂PO₄ 溶液水培过程中,绿萝根茎和叶茎组织 pH 的变化情况。未来有望将此 Ir 针电极应用在活体植株生理生长过程监测,或者新型耐盐碱性植物的开发过程中。

参考文献:

- [1] Scott A C, Allen N S. Plant Physiology, 1999, **121**(4): 1291.
- [2] TANG K, ZHU W W, ZHOU W X, et al. Crop Research (唐琨, 朱伟文, 周文新, 等. 作物研究), 2013, **27**(2): 207.
- [3] ZHOU W B, QIU B S. Plant Physiology Communications (周文彬, 邱保胜. 植物生理学通讯), 2004, **40**(6): 724.
- [4] Walker D J, Smith S J, Miller A J. Plant Physiology, 1995, **108**(2): 743.
- [5] Fog A, Buck R P. Sensors and Actuators, 1984, **5**(2): 137.
- [6] Elsen H A, Monson C F, Majda M. Journal of The Electrochemical Society, 2009, **156**(1): F1.
- [7] Wang M, Yao S, Madou M. Sensors and Actuators B: Chemical, 2002, **81**(2-3): 313.
- [8] Kim J Y, Lee Y H. Biotechnology and Bioengineering, 1989, **34**(1): 131.
- [9] Yao S, Wang M, Madou M. Journal of the Electrochemical Society, 2001, **148**(4): H29.
- [10] Lauks I, Yuen M F, Dietz T. Sensors and Actuators, 1983, **4**: 375.
- [11] Bause S, Decker M, Gerlach F, et al. Journal of Solid State Electrochemistry, 2018, **22**(1): 51.
- [12] Huang W D, Cao H, Deb S, et al. Sensors and Actuators A: Physical, 2011, **169**(1): 1.
- [13] Khalil M, Wang S, Yu J, et al. Journal of The Electrochemical Society, 2016, **163**(9): B485.
- [14] Zhang X, Ye Y, Kan Y, et al. Acta Oceanologica Sinica, 2017, **36**(5): 99.
- [15] Kakooei S, Ismail M C, Wahjoedi B A. Int J Electrochem Sci, 2013, **8**(3): 3290.
- [16] Huang Y, Li J, Yin T, et al. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2015, **741**: 87.
- [17] LI X Y. Study on Preparation Super-micro pH Sensors by Electro-chemistry Modification Iridium and Carbon Fiber. Xi'an University of Technology (李向阳. 电化学修饰铱和碳纤维制备超微 pH 传感器的研究. 西安: 西安理工大学), 2007.

- [18] CHEN D C, FU C Y, ZHEN J S, et al. Rare Metal Materials and Engineering(陈东初,付朝阳,郑家燊,等.稀有金属材料与工程), 2007, **36**(4): 636.
- [19] QUAN H J. China Science and Technology Information(全宏军.中国科技信息), 2013, **24**: 181.
- [20] HOU H P, XUN Z J. Chinese Journal of Environmental Engineering(侯海萍,徐仲均.环境工程学报), 2013, **7**(2): 679.
- [21] PAN F Z, XU C Y, WANG J. Chinese Science Bulletin(潘方珍,徐传云,王杰.科技通报), 2014, **30**(3): 215.
- [22] YANG Y K, WANG W K, DENG H Z, et al. Chinese Agricultural Science Bulletin(杨银科,王文科,邓红章,等.中国农学通报), 2012, **28**(27): 209.

In-Situ Determination of pH Value of Epipremnum Aureum's Tissue by Iridium Needle Electrodes

ZHOU Zheng-wen^{1,2}, PAN Da-wei^{*1,2}, WEI Hong^{1,2}, PAN Fei^{1,2}

(1. Key Laboratory of Coastal Environmental Processes and Ecological Remediation, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003;

2. University of Chinese Academy of Science, School of Ocean, Qingdao 266400)

Abstract: In this work, we constructed a novel microelectrode for stable pH monitoring for in-situ determination of plant tissues. The Ir was electrochemically modified by cyclic voltammetry under alkaline conditions to obtain a pH-type electrode of Ir/Ir(OH)_x. The morphology and electrochemical properties of electrodes were studied. The results show that a layer of white Ir(OH)_x film is formed on the surface of the electrochemically modified silk. The electrode is sensitive to pH and the potential and pH are Nernst linear response in the range of pH=4-10. The response time of the electrode is about 60 s, and the electrode has good stability by many times interval measuring. The in-situ measurement of the growth condition of the plant culture process was carried out by using the electrode. It was found that the pH of the Epipremnum aureum had slight decrease under cultivating in the hydroponic solution of the weak acid salt, and the stem of the plant showed a hysteresis trend compared with the rhizome. Therefore, the iridium needle electrode can be used to measure the in situ pH value of plant tissues.

Keywords: Iridium needle electrodes; pH value; Plant tissue; In-situ determination