

快速测定植物中可溶性糖含量的方法改良

刘隽永, 郝文瑞, 齐昕, 许建飞, 赵风云, 韩秀丽*

山东理工大学生命科学院, 山东 淄博

收稿日期: 2023年11月10日; 录用日期: 2024年1月10日; 发布日期: 2024年1月22日

摘要

可溶性糖含量变化是植物响应逆境胁迫环境的重要指标之一, 快速准确检测植物中可溶性糖含量的变化为植物抗逆性能研究提供了技术基础。传统分光光度法测定可溶性糖含量基于以前的实验室配置条件开展, 存在测定繁琐和耗时长等问题。本研究基于目前实验室配置条件, 分别从植物材料收集、破碎、测定等环节对传统测定方法进行改进, 在保证实验严谨性的前提下, 有效提高了实验效率。方法验证结果显示, 改进后方法的线性回归方程式为 $y = 1.2411x + 0.2236$, 线性相关系数为0.9993, 检出限为7.1306 $\mu\text{g/mL}$, 测定下限为28.5224 $\mu\text{g/mL}$, 精密度RSD值小于2%, 样品加标回收率为97%~103%之间, 验证了改进后方法的可行性。方法应用结果显示, 拟南芥和水稻幼苗在冷胁迫下可溶性糖含量均显著升高。改进后的分光光度法测定可溶性糖含量的方法快速准确, 适合多个样品的同时测定, 可作为可溶性糖含量测定的快速分析方法。

关键词

可溶性糖含量, 分光光度法, 方法验证, 方法应用

Improved Method for Rapid Determination and Method Validation of Soluble Sugar Content in Plants

Juanyong Liu, Wenrui Hao, Xin Qi, Jianfei Xu, Fengyun Zhao, Xiuli Han*

College of Life Sciences, Shandong University of Technology, Zibo Shandong

Received: Nov. 10th, 2023; accepted: Jan. 10th, 2024; published: Jan. 22nd, 2024

Abstract

The change of soluble sugar content is one of the important indicators for evaluating plant resis-

*通讯作者。

文章引用: 刘隽永, 郝文瑞, 齐昕, 许建飞, 赵风云, 韩秀丽. 快速测定植物中可溶性糖含量的方法改良[J]. 植物学研究, 2024, 13(1): 93-102. DOI: 10.12677/br.2024.131011

tance in respond to stress environments, and the rapid and accurate detection of soluble sugar content in plants provides a technical basis for studying plant resistance to stress. The traditional method based on the previous laboratory condition is cumbersome and time-consuming. Based on the current laboratory condition, improvements have been made from the aspects of plant material collection, crushing, and detection, which effectively improve the experimental efficiency under the premise of ensuring the rigor of the experiment. The validation results showed a linear regression equation of $y = 1.2411x + 0.2236$, a linear correlation coefficient of 0.9993, a detection limit of 7.1306 $\mu\text{g/mL}$, a determination limit of 28.5224 $\mu\text{g/mL}$, a precision RSD value of less than 2%, and a sample recovery rate of 97%~103%, which proved the feasibility of the improved method. The application results showed that the soluble sugar content in the seedlings of Arabidopsis and rice seedlings are both significantly increased under cold stress. The improved spectrophotometric method for determining soluble sugar content is fast and accurate, suitable for simultaneous determination of multiple samples, and can be used for rapid determination of soluble sugar content.

Keywords

Soluble Sugar Content, Spectrophotometry, Method Validation, Method Application

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

可溶性糖是植物体内重要的渗透调节物质, 在冷、干旱、盐等多种逆境胁迫下含量发生变化, 参与植物的逆境胁迫响应过程[1]。例如, 假俭草随温度的降低, 可溶性糖含量快速增加[2]; 榛子枝条中可溶性糖含量随温度降低呈现递增的趋势, 并且含量的增幅与不同品种的抗寒性呈正相关关系[3]。红叶碧桃休眠枝条随低温的逐渐处理, 可溶性糖含量逐渐增加[4]。大叶女贞不同品种间进行低温处理, 发现低温胁迫下可溶性糖含量上升趋势越早、上升幅度越大的植株, 其抗寒性越差[5]; 大叶黄杨在干旱胁迫下可溶性糖含量显著增加, 但随处理时间和程度的不同, 增幅呈现不同趋势[6]; 低氮胁迫时, 苹果根部蔗糖积累, 可溶性糖的代谢和含量的积累参与了苹果的低氮胁迫响应过程[7]。

目前, 测定可溶性糖含量的仪器方法有高效液相色谱法, 气相色谱法, 以及分光光度计等多种方法[8] [9] [10] [11] [12]。高效液相色谱法, 气相色谱法, 以及其串联的质谱等检测器可准确测定可溶性糖的种类及含量, 但对实验室设备要求条件较高, 测试成本较高, 分光光度法在生理生化实验室即可完成测定, 因此使用较普遍。而传统分光光度法测定可溶性糖含量方法存在步骤较繁琐、需要清洗玻璃试管、实验耗时较长, 并且样品越多耗时越长等问题, 我们结合当下实验室设备配置条件, 对传统分光光度法测定可溶性糖含量的方法步骤进行了改进, 主要包括植物材料的收集、破碎、提取、测定等几个步骤, 并进一步对改进方法进行了方法验证和应用, 验证了方法的可行性。

快速准确在普通生理生化实验室进行植物中可溶性糖含量的测定, 在提高了实验效率的前提下, 对于可溶性糖在植物中功能的进一步揭示, 以及机制探究提供了技术基础。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料与冷冻胁迫处理

采用种子消毒液(6.4% NaClO, 0.2% Triton X-100)对拟南芥野生型种子 Col-0 消毒 15 min, 无菌 ddH₂O

清洗后, 在 MS 培养基 22℃光照培养中培养。对生长 14 d 的拟南芥幼苗进行冷冻胁迫处理[13], 首先放置在 4℃培养箱中进行冷胁迫适应处理, 分别收取处理 1 d, 2 d, 3 d 的幼苗材料, 接着进行-9.5℃冻胁迫处理 5 h, 移至 4℃放置一晚后收取材料。

采用种子消毒液对水稻种子(*Oryza sativa* L. cv Nipponbare)消毒处理后, 用无菌水浸种 48 h 后, 进行催芽处理, 待水稻种子胚根长至约 0.5 cm 时, 移至含有 Hoagland 营养液的水稻培养盒中进行培养。水稻冷胁迫处理参照文献进行[14]。对生长 10 d 的水稻幼苗分别放置在 6℃和 28℃进行培养, 按处理时间的不同收取水稻材料。

2.2. 实验试剂

(1) 蒽酮-硫酸试剂: 首先配置 74%的稀释硫酸, 按照 98%浓硫酸(密度为 1.84 g/mL): ddH₂O 38:12 (v:v)的比例进行酸入水的稀释即可得到。然后在棕色试剂瓶中按照 1 mg/mL (w/v)的比例用 74%的硫酸配置蒽酮-硫酸试剂。

(2) 葡萄糖储液(10 mg/mL): 分析天平称量葡萄糖后, 按照重量用 ddH₂O 配置 10 mg/mL 的储液。

2.3. 可溶性糖含量测定步骤

采用蒽酮硫酸法测定可溶性糖含量, 对传统植物生理学参考书中方法进行了改进[15]。

2.3.1. 收样

(1) 小量样品的收取

材料收取时需要小心快速准确, 以避免材料收取环节对苗子的损伤。培养皿上植物幼苗收取时称重环节包括两步: 预估重量和实际重量。预估重量: 先取同一培养皿上 3~5 株苗子进行称重, 计算每株苗子的预估重量, 重复验证。实际重量: 1.5 mL Eppendorf 离心管中放入一粒钢珠(直径 2.8 mm), 称重并做好记录。培养基上预收取的苗子(总重量约 0.06~0.1 g 之间, 处理组和对照组重量保持一致)用镊子轻柔的聚在一起, 接着快速一次性放入已称重的离心管中, 迅速置于已清零的天平上称重, 并迅速投入液氮中。计算苗子实际重量并做好记录。

(2) 大量样品的收取

单子叶植物叶片, 以及需要多个同样品重复实验时, 进行大量收取。苗子快速收集后, 放入已称重过的锡箔纸中, 再次称重后迅速投入液氮中, 计算收取材料的总重量。

2.3.2. 破碎

(1) 小量样品破碎

采用钢珠液氮研磨法进行破碎。在带盖小盒(例如 biowest 琼脂糖用后的空盒子等)中倒入液氮, 样品从-80℃冰箱或液氮中取出后迅速投入小盒中, 将盒子中多余液氮倾斜倒出后, 快速剧烈晃动盒子约四五十下对样品进行破碎(注意盒子盖不要密封, 需留有透气口)。再次倒入液氮对样品进行持续冷却后, 去除多余液氮后继续破碎, 反复 2~3 次后, 离心管中样品呈现粉末状, 完成破碎。

(2) 大量样品破碎

采用研钵液氮研磨法进行破碎。在研钵中倒入液氮预冷研钵和钵杵后, 倒入样品, 进行研磨, 研磨一段时间后需要再次加入液氮对样品持续冷却。小勺和称重过的 1.5 mL Eppendorf 离心管进行液氮预冷却, 快速将研磨好的样品迅速转移至离心管中, 快速置于已清零的天平上称重, 并迅速投入液氮中。计算并记录每管中实际样品重量。

2.3.3. 提取

离心管中加入 800 μL ddH₂O, 水浴锅 95℃水浴提取 5 min 后, 超声继续提取 10 min, 获得植物总提

取液。进一步室温 10,000 rcf 离心 10 min，得到去除植物残渣的提取液。

2.3.4. 反应和测定

取空 1.5 mL Eppendorf 离心管若干，每个离心管中加入 50 μL 提取液(或者葡萄糖系列标准品溶液)、450 μL 蒽酮 - 硫酸试剂，95 $^{\circ}\text{C}$ 反应 10 min 后，采用酶标仪 630 nm 统一测定。注意样品溶液与标准品溶液同时进行显色反应和测定。

2.3.5. 结果计算

根据葡萄糖系列标准品溶液酶标仪 630 nm 测定值绘制标准曲线，进一步根据标准曲线计算得到 50 μL 提取液中葡萄糖浓度 C_s 。

按下方公式计算植物中可溶性糖含量：

$$\text{可溶性糖含量 (mg/g)} = \frac{C_s \times V}{m}$$

C_s : 由标准曲线计算所得，单位为 mg/mL

V : 总提取液体积，单位为 μL ，依据 2.3.4 描述为 800 μL

m : 样品鲜重，单位为 mg

2.4. 数据处理

采用 graphpad prism 软件对实验数据进行整理；采用 SPSS 软件对实验数据进行显著性差异分析，采用至少三次独立生物学重复的实验结果进行平均值和误差分析， $p < 0.05$ 代表差异显著。

3. 实验结果

3.1. 改进方法与原来方法的比较

分光光度法适合在普通生理生化实验室展开，但是传统的分光光度法依赖于以前的实验室设备配置条件，因此步骤较繁琐，并且不够严谨。依据目前实验室的设备条件对传统方法进行了改进(图 1)，具体阐述见下：

(1) 样品收集和破碎

传统方法采用剪刀破碎，植物受到机械和干旱胁迫，存在过程中可溶性糖含量增加的可能，并且破碎不完全。改进方法采用低温液氮钢珠破碎或低温液氮研磨的方法，避免了破碎过程中引起的操作误差，并且保证了材料的充分破碎。

(2) 提取

传统方法采用玻璃试管操作，实验过程复杂，两次沸水浴过程、过滤和定容过程，以及试管清洗等均增加了实验操作的时间和复杂性，并且随测试样品数量的增加消耗时间更长。改进方法采用 1.5 mL Eppendorf 离心管进行小量操作，提取过程采用加热合并超声法进行提取，离心机的离心步骤显著简化了实验过程，并且可同时操作多个对照组样品和处理组样品，在保证实验严谨性的前提下，节约了实验时间。

(3) 反应和测定

传统方法采用试管进行显色反应，采用比色皿分光光度计法进行逐个测定，步骤繁琐，消耗时间长。改进方法采用 1.5 mL Eppendorf 离心管进行小量操作，采用酶标仪统一测定，简化了实验步骤，节约了实验时间。

测定4个样品为例:

	破碎	提取	测定
原来方法	0.3 g植物材料, 剪刀剪碎, 不研磨。 4个样品约耗时5 min。	(1) 10 mL ddH ₂ O, 沸水浴30 min; (2) 过滤至25 mL容量瓶; (3) 重复提取一次并合并转移至25 mL容量瓶; (4) 清洗试管、去除残渣及定容。 4个样品约耗时1h20 min。	(1) 1 mL提取液 + 5 mL葱酮试剂, 沸水浴10 min; (2) 分光光度计625 nm逐个测定。 4个样品约耗时25 min。
改进方法	0.1 g植物材料, 钢珠统一破碎, 约耗时3 min。 4个样品约耗时5 min。	(1) 800 μ L ddH ₂ O, 95°C 5 min, 超声提取10 min; (2) 室温10000 rcf离心10 min。 4个样品约耗时20 min。	(1) 50 μ L提取液 + 450 μ L葱酮试剂, 95°C 10 min; (2) 酶标仪统一测定。 4个样品约耗时15 min。

Figure 1. Linear regression fitting diagram of soluble sugar detection

图 1. 葡萄糖测定原有方法和改进方法比较

3.2. 方法验证

3.2.1. 线性与范围

10 mg/mL 的葡萄糖储液用 ddH₂O 梯度稀释为系列葡萄糖标准品溶液(表 1), 采用改进方法进行显色反应、测定吸光度值并绘制标准曲线, 测定数据见表 1, 标准曲线见图 2, 得出葡萄糖测定浓度在 0~4 mg/mL 之间的回归方程式为 $y = 1.2411x + 0.2236$, 线性相关系数为 0.9993, 线性关系良好, 可满足葡萄糖含量的测定要求。

3.2.2. 检出限与测定下限

参照文献[16], 采用吸光度 0.01 变差所对应的浓度差计算, 即扣除空白值后, 吸光度 0.01 所对应的浓度为检出限, 公式为: 检出限 = $0.01 * c(\text{mg/mL}) / (b - a)$, c 为测定的两个样品之间的浓度差, $b - a$ 为测定的两个样品之间的吸光度值差。我们的实验结果显示(表 2), 空白样品 5 次平行测定的吸光度值的平均值为 0.1736, 0.5 mg/mL 葡萄糖标准品 5 次平行测定的吸光度值的平均值为 0.8748, 计算检出限为 7.1306 μ g/mL, 测定下限为检出限的四倍, 测定下限为 28.5224 μ g/mL。改进方法的检出限和测定下限满足实验室内葡萄糖含量的测定分析。

Table 1. Standard curve drawing of glucose

表 1. 葡萄糖标准曲线的绘制

葡萄糖浓度(mg/mL)	吸光度值(630 nm)
0	0.172
0.1	0.312
0.2	0.460
0.5	0.879
1	1.539
2	2.759
3	3.887
4	5.185

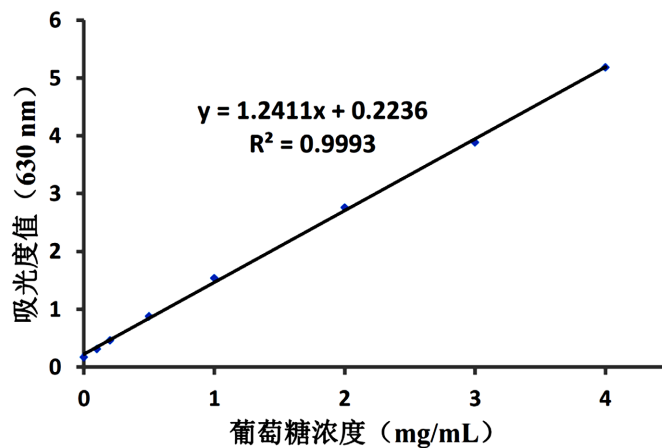


Figure 2. Linear regression fitting diagram of glucose
图 2. 葡萄糖线性回归拟合图

Table 2. Detection limit and determination limit of the method

表 2. 方法检出限与测定下限

葡萄糖浓度(mg/mL)	序号	吸光度值(525 nm)
0	1	0.172
	2	0.175
	3	0.173
	4	0.172
	5	0.176
	平均值	0.1736
0.5	1	0.869
	2	0.871
	3	0.875
	4	0.881
	5	0.878
	平均值	0.8748

3.2.3. 精密度

10 mg/mL 的葡萄糖储液用 ddH₂O 梯度稀释为 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL 以及 1.5 mg/mL 三个浓度进行重复显色反应和酶标仪吸光度值的测定。六次重复实验的结果见表 3。通过计算平均值、标准偏差, 以及进一步计算相对标准偏差, 可得出三个浓度下相对标准偏差(RSD)值均小于 2%, 满足葡萄糖含量测定需要的精密度。

3.2.4. 准确度

为了测定方法改进后的准确度, 我们采用加样回收法进行了测定实验。我们首先测定了未加葡萄糖标准品的拟南芥幼苗中的可溶性糖含量, 6 组平行测定实验结果如表 4 所示, 0.06 g 样品中含有 0.694 mg 可溶性糖。进一步在 0.06 g 样品中分别加入 0.3 mg、0.6 mg、0.9 mg 葡萄糖, 每个加标量进行 6 组平行

测定, 实验结果显示, 0.3 mg 加标样品中葡萄糖回收率为 97.3%, 0.6 mg 加标样品中葡萄糖回收率为 102.3%, 0.9 mg 加标样品中葡萄糖回收率为 101.4%。由此说明, 改进后的方法准确度较高, 满足葡萄糖含量的测定。

Table 3. Precision of the method

表 3. 方法精密度

序号	标液 1 (mg/mL)	标液 2 (mg/mL)	标液 3 (mg/mL)
1	0.5028	1.0546	1.5434
2	0.5078	1.0709	1.5428
3	0.5216	1.0242	1.5353
4	0.5205	1.051	1.5114
5	0.5160	1.0295	1.5196
6	0.5249	1.0756	1.5145
平均值	0.5156	1.051	1.5278
理论值	0.5	1	1.5
SD	0.0086	0.021	0.0144
RSD	1.6680	1.9981	0.9425

Table 4. Accuracy of the method

表 4. 方法准确度

	序号	加标量(mg)	测定结果(mg/mL)	测定结果(mg)	平均值(mg)	回收率(%)	
未加标样品	1	0	0.861	0.689	0.694	0	
	2	0	0.855	0.684			
	3	0	0.865	0.692			
	4	0	0.878	0.702			
	5	0	0.890	0.712			
	6	0	0.852	0.682			
加标样品	第一组	1	0.3	1.231	0.986	97.3	
		2	0.3	1.239			0.991
		3	0.3	1.238			0.99
		4	0.3	1.232			0.986
		5	0.3	1.229			0.983
		6	0.3	1.226			0.981
第二组	1	0.6	1.631	1.305	1.308	102.3	
	2	0.6	1.646	1.317			
	3	0.6	1.645	1.316			

续表

加 标 样 品	第 二 组	4	0.6	1.627	1.302		
		5	0.6	1.628	1.302		
		6	0.6	1.631	1.305		
	第 三 组	1	0.9	2.015	1.612		
		2	0.9	2.024	1.619		
		3	0.9	1.992	1.594	1.607	101.4
		4	0.9	2.021	1.617		
		5	0.9	1.978	1.582		
		6	0.9	2.021	1.617		

3.3. 方法应用

3.3.1. 拟南芥冷胁迫处理

采用改进方法测定了拟南芥幼苗在冷胁迫适应过程中可溶性糖含量的变化, 实验结果显示, 4℃冷胁迫适应处理过程中, 可溶性糖含量无显著变化(图 3)。进一步的-9.5℃冻胁迫处理结果显示, 冻胁迫处理后, 拟南芥幼苗中可溶性糖含量显著增加(图 3)。

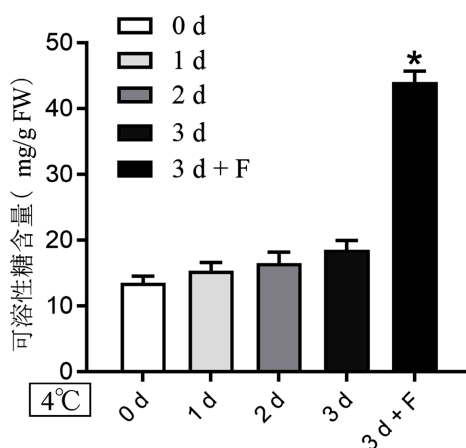


Figure 3. Changes of soluble sugar content under cold (4°C) and freezing (-9.5°C, F) stress in Arabidopsis
图 3. 冷冻胁迫处理下拟南芥可溶性糖含量变化

3.3.2. 水稻冷胁迫处理

采用改进方法分析了水稻幼苗在冷胁迫处理过程中可溶性糖含量的变化趋势, 实验结果显示, 相对于 28℃正常培养下的水稻幼苗, 6℃冷胁迫处理下的水稻幼苗中可溶性糖含量显著增加(图 4)。

4. 结论与讨论

可溶性糖含量测定的改良方法基于目前生理生化实验室基本配置开展, 在保证实验准确度的前提下, 有效提高了实验效率, 缩短了实验时间和成本, 尤其针对对照组和处理组等多样品的同时测定。改良方法分别从方法的线性分析、检出限、测定下限、精密度, 以及准确度等多个方面验证了方法的可行性。进一步拟南芥和水稻幼苗冷胁迫下可溶性糖含量的测定验证了改良方法的准确性和可行性。

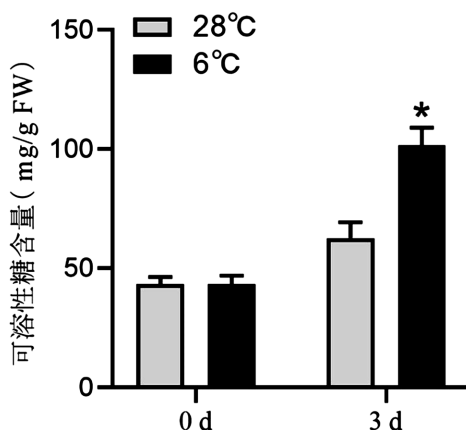


Figure 4. Changes of soluble sugar content under cold stress in rice
图 4. 冷胁迫下水稻可溶性糖含量变化

改进方法主要参照本实验室的实验设备配置条件对传统方法进行了改进，各实验室在具体实施过程中，可依据本实验室条件对各步骤进行调整。材料收取和破碎环节，建议低温提取，避免此过程中糖苷酶活性引起的多糖降解过程，从而导致实验误差。提取过程，建议首先高温水浴提取，以使酶变性失活；同时为了避免水浴锅 100°C 水沸腾现象，以及 1.5 mL Eppendorf 离心管上部冷却回流空间不够的问题，建议 95°C 水浴提取；提取过程中如果没有配置超声提取设备，可调整为重复水浴提取。反应和测定环节中，由于反应时间不同，反应程度不同，测定数据会有所不同，因此对于标准曲线、对照组、处理组建议同时进行，此可避免实验误差。

致 谢

感谢国家自然科学基金青年项目(32000219)和山东省自然科学基金面上项目(ZR2020MC021)的鼓励和支持。

参考文献

- [1] Sami, F., Yusuf, M., Faizan, M., Faraz, A. and Hayat, S. (2016) Role of Sugars under Abiotic Stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, **109**, 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.005>
- [2] 刘瑞峰, 刘卫东, 舒必超, 等. 低温胁迫对假俭草 SOD 酶、MDA 及可溶性糖含量的影响[J]. 湖南林业科技, 2012, 39(6): 8-10.
- [3] 梁锁兴, 孟庆仙, 石美娟, 等. 平欧榛枝条可溶性蛋白及可溶性糖含量与抗寒性关系的研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(13): 14-18.
- [4] 张立磊, 毛达, 郑树景, 等. 红叶碧桃抗寒性指标的测定分析[J]. 资源开发与市场, 2015, 31(5): 515-517.
- [5] 林艳, 郭伟珍, 徐振华, 等. 大叶女贞抗寒性及冬季叶片丙二醛和可溶性糖含量的变化[J]. 中国农学通报, 2012, 28(25): 68-72.
- [6] 田宝. 干旱胁迫对大叶黄杨保护酶及渗透物质含量的影响[J]. 山东林业科技, 2019(4): 64-67.
- [7] Zhao, H.Y., Sun, S.M., Zhang, L.H., et al. (2020) Carbohydrate Metabolism and Transport in Apple Roots under Nitrogen Deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, **155**, 455-463. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.07.037>
- [8] Maness, N. (2010) Extraction and Analysis of Soluble Carbohydrates. In: Sunkar, R. Ed., *Plant Stress Tolerance. Methods in Molecular Biology*, Humana Press, **639**, 341-370. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-702-0_22
- [9] Wang, H., Gong, M., Xin, H., et al. (2018) Effects of Chilling Stress on the Accumulation of Soluble Sugars and Their Key Enzymes in *Jatropha curcas* Seedlings. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, **24**, 857-865. <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0568-6>
- [10] 刘松, 赵振宇, 赵尚碧, 等. UPLC-Q/OrbitrapHRMS 测定大曲中 5 种糖和甘露糖醇[J]. 中国酿造, 2020(39):

- 197-200.
- [11] 刘兴禄, 王红平, 孙文泰, 等. 5 个砧木苹果枝条的抗寒性评价[J]. 果树学报, 2021, 38(8): 1264-1274.
- [12] 由继红, 董春光, 史晓昆. 小麦叶片可溶性糖含量测定方法的研究[J]. 实验室科学, 2021, 24(2): 27-29.
- [13] Sun, C., Zhu, L., Cao, L., Qi, H., Liu, H., Zhao, F. and Han, X. (2022) PKS5 Confers Cold Tolerance by Controlling Stomatal Movement and Regulating Cold-Responsive Genes in Arabidopsis. *Life*, **12**, Article 1633. <https://doi.org/10.3390/life12101633>
- [14] Wu, Z., Guo, Z., Wang, K., *et al.* (2023) Comparative Metabolomic Analysis Reveals the Role of OsHPL1 in the Cold-Induced Metabolic Changes in Rice. *Plants*, **12**, Article 2032. <https://doi.org/10.3390/plants12102032>
- [15] 邹琪. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017.
- [16] 邢书才, 李风华, 赵彦辉, 等. 分光光度法测定水中铝的比对分析及方法评价[J]. 应用化工, 2018, 47(1): 199-202.