

[文章编号] 1000-2782(1999)04-0048-06

土壤粘粒吸附脲酶量的影响因子研究

冯贵颖¹, 朱铭莪², 呼世斌¹

(1. 西北农业大学基础科学系; 2. 西北农业大学资源与环境科学系, 陕西杨陵 712100)

[摘 要] 研究了 8 种土壤粘粒对脲酶的吸附量, 以及不同 pH, 温度和 Zn(Ⅱ)、As(V)、Hg(Ⅱ) 质量浓度对脲酶吸附量的影响。结果表明, 8 种土壤粘粒对脲酶均有吸附, 但吸附数量不尽相同。非最适 pH 时, 脲酶吸附量在弱碱性介质中的下降率大于弱酸性介质; 温度升高, 脲酶吸附量下降, 且去有机质土壤粘粒的下降率大于原样土壤粘粒; Zn(Ⅱ)、As(V)、Hg(Ⅱ) 抑制相同比率的脲酶吸附量时, 所需 3 种离子的质量浓度为 As(V) > Zn(Ⅱ) > Hg(Ⅱ), 表现为 Hg(Ⅱ) 的抑制作用最强。

[关键词] 土壤粘粒; 脲酶吸附量; 影响因子

[中图分类号] S154.2 [文献标识码] A

土壤脲酶是惟一对尿素水解起作用的土壤酶。土壤中的脲酶除一小部分存在于土壤溶液中外, 大部分被土壤粘粒、腐殖质等物质所吸附, 呈吸附态酶, 其活性、稳定性及动力学性质等都有所变化^[1]。

土壤粘粒是土壤固相的重要组成部分, 它与土壤腐殖质共同组成复合胶体, 对土壤的性质与肥力产生巨大影响。迄今为止, 从土壤中提取粘粒进行脲酶吸附量的研究未见报道^[1,2], 尤其土壤是一个开放体系, 环境条件波动较大, 酸碱度、温度、外源物质的投入^[3]等对酶的性质有着重要的影响。本试验是在人工模拟条件下, 研究了陕西省 4 种主要土壤粘粒吸附具有活性脲酶的数量, 及脲酶吸附量因 pH, 温度和 Zn(Ⅱ)、As(V)、Hg(Ⅱ) 质量浓度而变化的特征。为深入了解脲酶与这一地区主要土壤粘粒的固定机制, 探讨环境因子, 特别是 Zn(Ⅱ)、As(V) 和 Hg(Ⅱ) 影响脲酶吸附的机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

供试土壤为土娄土、黑垆土、黄绵土、黄褐土的表层土(0~20 cm)。提取土壤粘粒及去除粘粒有机质的方法参考文献^[4]进行。土壤及其粘粒的基本性质见表 1。

脲酶, U rease-active meal from Jack beans. BDH Chemicals Ltd poole England.

ZnCl₂, Na₃AsO₄, HgCl₂ 等均为分析纯试剂。

[收稿日期] 1999-03-09

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(39370148)

[作者简介] 冯贵颖(1954—), 女, 硕士, 副教授

表 1 土壤及其粘粒的基本性质

土 壤					土壤粘粒				
样品	CaCO ₃ / (g · kg ⁻¹)	全氮/ (g · kg ⁻¹)	全磷/ (g · kg ⁻¹)	粘粒含量/ (g · kg ⁻¹)	样品	pH	有机质/ (g · kg ⁻¹)	阳离子 交换量/ (cmol · kg ⁻¹)	比表面/ (m ² · g ⁻¹)
娄 土	50.6	1.08	1.16	219	A ₁	8.24	22.0	45.24	280.12
黑垆土	29.7	0.63	1.05	138	A ₂	8.13	5.2	38.67	294.26
					B ₁	8.04	18.5	44.48	236.15
					B ₂	8.00	10.3	30.41	298.68
黄绵土	86.5	0.62	1.09	106	C ₁	8.29	14.8	35.82	225.45
黄褐土	0.0	0.70	0.75	415	C ₂	8.16	8.7	30.72	250.96
					D ₁	6.98	8.1	44.00	356.41
					D ₂	7.02	3.3	46.04	362.05

注: A₁, B₁, C₁, D₁ 分别代表原样的 娄土、黑垆土、黄绵土、黄褐土粘粒; A₂, B₂, C₂, D₂ 分别代表去除有机质的 娄土、黑垆土、黄绵土、黄褐土粘粒(下表同)。

1.2 方 法

1.2.1 脲酶吸附量测定^[2] 称取 0.1000 g 土壤粘粒 7 份,分别加入 80, 100, 200, 400, 600, 700 和 800 mg · L⁻¹脲酶溶液 5 mL, pH 为 7.5 的 Tris-HCl 缓冲液 15 mL, 并设无土、无酶、无底物为对照。将此混合液分别于(20±1) °C下振荡至吸附平衡, 离心分离。平衡液和沉淀的酶活测定方法参考文献^[2]进行。脲酶吸附量以 3 h 后 1 g 土壤中 NH₃-N 的微克数表示。

1.2.2 影响脲酶吸附量的因子试验 恒定温度(20°C), pH 分别设为 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5 和 9.0, 研究 pH 对脲酶吸附量的影响。恒定 pH(7.5), 温度分别为 20, 30, 40, 50 和 60°C, 以研究温度对脲酶吸附量的影响。恒定 pH(7.5) 和温度(20°C), 样品中分别添加 10.0, 20.0, 40.0, 60.0, 80.0 和 100.0 mg · L⁻¹Zn(Ⅱ); 10.0, 25.0, 50.0, 100.0, 150.0 和 200.0 mg · L⁻¹As(Ⅴ) 以及 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 50.0 和 100.0 mg · L⁻¹Hg(Ⅱ), 以研究不同质量浓度的 Zn(Ⅱ)、As(Ⅴ) 和 Hg(Ⅱ) 对脲酶吸附量的影响。

1.2.3 土壤及其粘粒基本性质测定 参考文献^[4]的方法进行。

2 结果与讨论

2.1 不同土壤粘粒的脲酶吸附量

4 种土壤的 8 种粘粒对脲酶均有吸附, 但吸附量有所差异。 娄土、黑垆土、黄绵土、黄褐土的原样粘粒, 脲酶吸附量分别为 710, 668, 458, 378 μg/g; 去有机质的上述粘粒, 脲酶吸附量依次为 364, 381, 379, 338 μg/g。结果显示, 同一土壤的粘粒, 脲酶吸附量为原样土壤粘粒大于去有机质土壤粘粒; 不同土壤的粘粒, 脲酶吸附量大小为: 原样 娄土> 原样黑垆土> 原样黄绵土> 去有机质黑垆土> 去有机质黄绵土> 原样黄褐土> 去有机质 娄土> 去有机质黄褐土。土壤粘粒脲酶吸附量的大小与土壤粘粒有机质含量的高低(表 1) 排序一致, 说明土壤粘粒有机质的存在, 可增加脲酶的吸附数量。

2.2 影响脲酶吸附量的因子

2.2.1 pH 在吸附反应的 pH 为 6.0~9.0 时, 土壤粘粒的脲酶吸附量呈现低—高—低的变化(表 2)。由表 2 可知, 同一土壤粘粒, 当介质的 pH 降低或升高同样的单位时, 脲酶

吸附量在弱酸性介质中下降较弱碱性介质少。这是因为酶与粘粒结合的方式有阳离子交换、范德华力、氢键及离子偶极作用等⁵⁾。酶若以阳离子交换反应的方式被吸附,其电荷符号和数量随介质的 pH 而变化,当介质的 pH 接近酶的等电点时,酶分子所带电荷为中性,这样吸附在粘粒表面的酶分子间斥力较小,排列紧凑,结构较稳定,而且单个酶分子在粘粒表面占据的位点较少,相对增加了粘粒表面的吸附点位。由于脲酶为一弱酸性酶⁵⁾,所以,脲酶在弱酸性介质中的吸附量大于弱碱性介质。

表 2 不同 pH 和温度时脲酶吸附量的下降率 %

样 品	pH								温度/℃				
	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0		20	30	40	50	60
A ₁	16.38	15.69	9.39	0.00	29.80	36.18	45.92	0.00	8.85	27.53	34.24	49.83	
A ₂	15.66	12.54	6.80	0.00	12.00	15.71	22.04	0.00	27.97	46.71	52.91	60.97	
B ₁	16.12	14.30	7.46	0.00	21.50	37.60	61.17	0.00	6.10	33.13	52.76	63.66	
B ₂	27.73	13.76	6.16	0.00	18.04	34.87	59.44	0.00	7.56	38.29	70.53	85.88	
C ₁	26.14	16.73	13.34	0.00	32.26	49.65	58.31	0.00	10.53	20.39	43.29	59.31	
C ₂	25.46	23.54	12.65	0.00	42.86	48.48	58.27	0.00	20.10	20.63	49.73	59.67	
D ₁	30.24	26.64	11.97	0.00	29.24	52.38	57.27	0.00	8.13	44.21	48.98	68.66	
D ₂	31.32	25.76	20.33	0.00	30.60	47.39	60.55	0.00	9.34	44.93	50.55	69.78	

注:下降率% = $\frac{A-B}{A} \times 100$, A 为 20℃, pH 7.5 时的脲酶吸附量, B 为其他温度及 pH 时的脲酶吸附量。

不同粘粒的脲酶吸附量因 pH 而变化的情况,可用抛物线方程(表 3)来描述。

表 3 pH 与脲酶吸附量拟合方程参数

样 品	pH				温 度		
	$Y = a + bX + cX^2$				$Y = a + bX$		
	a	b	c	R	a	b	P
A ₁	- 2 526.455	917.796	- 66.316	0.808**	903.500	- 8.970	0.001**
A ₂	- 878.783	328.386	- 22.266	0.805**	419.100	- 5.052	0.011*
B ₁	- 4 005.194	1 331.054	- 95.295	0.967**	993.960	- 15.018	0.001**
B ₂	- 2 872.553	890.739	- 61.749	0.965**	540.780	- 8.240	0.003**
C ₁	- 2 369.219	791.750	- 56.424	0.824**	615.560	- 7.190	0.003**
C ₂	- 1 933.472	646.400	- 46.343	0.740*	488.180	- 4.978	0.001**
D ₁	- 2 591.454	820.95	- 57.521	0.791**	542.040	- 8.047	0.001**
D ₂	- 2 468.849	776.397	- 54.173	0.825**	468.980	- 5.641	0.003**

注: n = 7, * 极显著水平, * 显著水平。

2.2.2 温度 在 20~60℃时,各土壤粘粒的脲酶吸附量随温度升高而降低(表 2),根据吸附平衡原理,可知土壤粘粒吸附脲酶是放热过程,该结论由温度影响的一元线性方程得到佐证。

温度升高,土壤粘粒的脲酶吸附量下降,但下降的幅度不同(表 2),且去有机质粘粒的下降率大于原样粘粒,如 娄土、黑垆土、黄绵土、黄褐土,前者分别是后者的 1.91, 1.27, 1.27 和 1.06 倍(平均值)。由于土壤粘粒有机质的保护作用,脲酶的热稳定性增加⁶⁾。试验结果也说明,土壤粘粒有机质的保护,只有在其含量较高时保护作用才明显。

2.2.3 Zn(Ⅱ)、As(V)和 Hg(Ⅱ)含量 供试的 3 种离子均对脲酶吸附有抑制作用,同种离子随质量浓度的增大抑制作用增强(表 4)。究其原因,可能是这些离子与脲酶分子的活性部位——巯基和含咪唑的配位体等发生结合,对底物产生了抑制⁷⁾,从而降低了脲酶

的吸附量。当3种离子的质量浓度相同时, Hg(II)的抑制作用最为明显(表4)。根据Pearson[®]的分类, Hg(II)属‘软’受体, 巯基等属‘软’供体, ‘软’受体与‘软’供体结合, 可形成非常稳定的化学键; As(V)和Zn(II)分别属于‘硬’受体和‘中间型’受体, 它们与巯基等键合的稳定程度降低, 这可能是Hg(II) 具有较强抑制作用的主要原因。

表4 Zn(II)、As(V)和Hg(II)对脲酶吸附量的抑制率 %

离 子	质量浓度/ (mg · L ⁻¹)	壤 土		黑 垆 土		黄 绵 土		黄 褐 土	
		A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	C ₁	C ₂	D ₁	D ₂
Zn(II)	10. 0	10. 80	3. 54	18. 47	1. 96	20. 43	19. 57	43. 60	38. 93
	20. 0	17. 93	14. 17	22. 83	6. 16	23. 30	27. 25	46. 89	46. 15
	40. 0	42. 69	17. 31	47. 56	11. 20	25. 03	36. 51	46. 36	46. 62
	60. 0	51. 16	34. 26	60. 06	24. 37	39. 60	53. 70	63. 63	56. 57
	80. 0	54. 51	38. 57	82. 34	46. 78	94. 25	73. 54	94. 50	98. 56
	100. 0	63. 76	63. 37	97. 85	59. 38	95. 62	80. 15	94. 50	98. 88
As(V)	10. 0	17. 43	18. 25	14. 23	18. 45	16. 83	19. 37	30. 90	40. 83
	25. 0	26. 56	21. 31	20. 31	21. 53	24. 36	26. 62	42. 62	45. 36
	50. 0	36. 01	38. 24	31. 00	38. 32	40. 62	39. 83	44. 53	48. 75
	100. 0	52. 60	61. 30	34. 63	39. 67	41. 51	42. 64	62. 30	70. 24
	150. 0	54. 03	61. 53	60. 91	70. 71	67. 40	61. 36	72. 54	86. 18
	200. 0	65. 81	67. 90	80. 10	80. 54	89. 43	65. 47	90. 10	90. 53
Hg(II)	1. 0	4. 85	5. 74	3. 96	4. 23	5. 76	7. 32	6. 92	8. 56
	2. 0	6. 33	7. 78	5. 84	8. 04	10. 08	10. 85	15. 41	16. 03
	5. 0	22. 41	21. 33	24. 69	30. 62	41. 33	30. 23	59. 56	41. 50
	10. 0	22. 89	23. 04	25. 30	31. 57	76. 43	79. 48	60. 34	43. 24
	50. 0	73. 04	50. 40	62. 45	71. 23	80. 72	82. 52	90. 12	93. 76
	100. 0	90. 11	95. 62	81. 71	92. 30	89. 90	84. 63	96. 77	96. 23

注: 抑制率% = $\frac{C-D}{C} \times 100$, C 为不添加离子时的脲酶吸附量, D 为添加离子后的脲酶吸附量。

一元线性方程拟合 Zn(II)、As(V)和Hg(II)影响脲酶吸附量的情况见表5。

表5 Zn(II)、As(V)和Hg(II)质量浓度与脲酶吸附量的拟合方程

样品 代号	Zn(II)		As(V)		Hg(II)	
	$Y = a + bX$	P	$Y = a + bX$	P	$Y = a + bX$	P
壤 土	A ₁ $Y = 673.088 - 4.588X$	0	$Y = 614.147 - 2.033X$	0.002	$Y = 636.420 - 6.323X$	0.001
	A ₂ $Y = 364.963 - 2.174X$	0	$Y = 313.492 - 1.468X$	0	$Y = 323.773 - 3.032X$	0
黑垆土	B ₁ $Y = 634.678 - 6.339X$	0	$Y = 619.378 - 2.375X$	0	$Y = 599.997 - 5.276X$	0.002
	B ₂ $Y = 376.836 - 2.174X$	0	$Y = 319.516 - 1.366X$	0	$Y = 311.052 - 3.143X$	0.002
黄绵土	C ₁ $Y = 460.887 - 4.293X$	0.002	$Y = 411.244 - 1.783X$	0	$Y = 345.260 - 3.584X$	0.047
	C ₂ $Y = 335.098 - 2.788X$	0	$Y = 322.252 - 1.074X$	0.002	$Y = 287.104 - 2.850X$	0.057
黄褐土	D ₁ $Y = 310.092 - 3.127X$	0.002	$Y = 298.167 - 1.365X$	0.002	$Y = 277.949 - 3.192X$	0.031
	D ₂ $Y = 303.262 - 3.157X$	0.002	$Y = 268.035 - 1.343X$	0.005	$Y = 287.685 - 3.306X$	0.009

注: Y 为脲酶吸附量(μg/g); X 为 Zn(II), As(V)和Hg(II)质量浓度(mg · L⁻¹)。

随着 Hg(II) 质量浓度逐渐增加, 脲酶吸附量的抑制率上升较快, 尤其在 1. 0~45. 0 mg · L⁻¹时, 表现更为明显。Zn(II) 对脲酶吸附量的抑制率呈‘阶梯’式变化, 在 10. 0~48. 0 mg · L⁻¹时, 抑制率增加较慢, 由 48. 0 增至 74. 0 mg · L⁻¹时, 增加幅度加快, 此后又缓慢上升。As(V) 质量浓度在试验范围内, 脲酶吸附量的抑制率缓慢上升。3 种离子抑制土壤粘粒脲酶吸附量的总方程为:

Hg(II) $Y = 384.911 - 3.863X$ ($n = 8, r = 0.9074$)

Zn(II) $Y = 432.670 - 3.584X$ ($n = 8, r = 0.9899$)

$As(V) \quad Y = 394.153 - 1.549X \quad (n = 8, r = 0.9628)$

3 种离子均抑制 30%、50% 和 75% 的脲酶吸附量时, 所需 $Hg(II)$ 的质量浓度分别为 7.01、15.8 和 61.6 $mg \cdot L^{-1}$; $Zn(II)$ 的质量浓度分别为 35.4、58.3、82.6 $mg \cdot L^{-1}$; $As(V)$ 的质量浓度依次为 36.2、109.4 和 179.8 $mg \cdot L^{-1}$ 。结果显示, 达到相同的抑制率, 所需 3 种离子的质量浓度按 $As(V) > Zn(II) > Hg(II)$ 排序。由于 $Hg(II)$ 较强的抑制作用, 以及随着质量浓度的增加脲酶吸附量直线下降, 故土壤粘粒的脲酶吸附量可以作为土壤 Hg 污染的一个重要指标。

3 结 论

1) 土壤粘粒对脲酶均有吸附, 且吸附数量不尽相同。同一土壤粘粒, 表现为原样土壤粘粒大于去有机质土壤粘粒; 不同土壤粘粒, 表现为原样_{娄土}> 原样黑垆土> 原样黄绵土> 去有机质黑垆土> 去有机质黄绵土> 原样黄褐土> 去有机质_{娄土}> 去有机质黄褐土。土壤粘粒的脲酶吸附量与其自身有机质含量有正比关系, 反映出土壤粘粒有机质在脲酶吸附中的协同作用。

2) 不同的 pH 介质中, 土壤粘粒的脲酶吸附量不同, 在所研究的范围内, 其值呈现低—高—低的变化趋势, 且弱酸性介质和弱碱性介质都使脲酶的吸附量降低, 但后者降低的幅度更大。

3) 土壤粘粒对脲酶的吸附属于放热反应, 这一结论通过温度的影响得到证实。虽然土壤粘粒有机质对脲酶有保护作用, 然而, 试验证明这种保护作用是有限的。

4) $Zn(II)$ 、 $As(V)$ 和 $Hg(II)$ 对土壤粘粒的脲酶吸附量均有抑制, 3 种离子的质量浓度相同时, $Hg(II)$ 的抑制作用最强; 3 种离子抑制同样比率的脲酶吸附量时, 其所需质量浓度依次为 $As(V) > Zn(II) > Hg(II)$ 。由于 $Hg(II)$ 对脲酶吸附量的较大抑制率及正比例关系, 因而土壤粘粒的脲酶吸附量可以作为土壤 Hg 污染的一个重要指标。

致谢: 本研究得到张一平教授、白锦麟教授的帮助, 在此特表谢意。

[参考文献]

- [1] 黄巧云, 李学恒. 粘粒矿物、有机质对酶活性的影响[J]. 土壤学进展, 1995, 23(4): 12~18.
- [2] Louis A P, Franklin E A. Adsorption and release of urease by and from clay minerals[R]. United States Department of Agriculture, 1960.
- [3] 朱铭哉, 王淑芝, 张成娥. 锌对土壤生物活性的影响[J]. 农业环境保护, 1990, 9(2): 6~9.
- [4] 中国土壤学会农业化学专业委员会. 土壤农业化学常规分析方法[M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [5] Boyd S A, Mortland M M. Soil Biochemistry[M]. Marcel Dekker: New York, 1990. 1~28.
- [6] 美]麦克拉伦 A D, 彼德森 G H, 斯库金斯 J, 等. 土壤生物化学[M]. 闵九康, 关松荫, 王维敏, 等译. 北京: 农业出版社, 1984.
- [7] 周礼恺, 张志明, 曹承锦, 等. 土壤的重金属污染与土壤酶活性[J]. 环境科学学报, 1985, 5(2): 176~183.
- [8] Duward F S, Atkins P W, Cooper H L. Inorganic Chemistry[M]. New York: Freeman W H and Company, 1990. 169~190.

Studies on the Factors Which Affect Urease Adsorption Amount on Soil Clay

FENG Gui-ying¹, ZHU Ming-e², HU Shi-bing¹

(1. *Department of Basic Science*; 2. *Department of Resources and Environmental Science*,
Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The urease adsorption amount on eight kinds of soil clay and that under different pH and temperature and Zn(II), As(V), Hg(II) concentration conditions were studied. The results indicated that urease adsorption amount on eight kinds of soil clay was different. The urease adsorption amount decreased if pH didn't equal. The reduction rate under the weak alkaline medium was greater than that under the weak acidic medium. The results that temperature affected urease adsorption amount were as follows: the higher the temperature, the less the urease adsorption amount. The urease adsorption amount on soil clay from which organic matter was removed was greater than that on the original soil clay. Zn(II), As(V) and Hg(II) could reduce the urease adsorption amount on soil clay. If the same urease adsorption amount was reduced, the order of the three element's concentration was: As(V) > Zn(II) > Hg(II), which indicated that Hg(II) could restrain urease the greatest in the three elements.

Key words: soil clay; urease adsorption amount; affecting factors