

土壤粘粒吸附脲酶特征的研究^{*}

冯贵颖¹, 朱铭莪², 陈会明¹

(1 西北农林科技大学 生命科学学院; 2 资源环境学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 研究了 8 种土壤粘粒对脲酶的吸附情况, 结果显示, 土壤粘粒对脲酶吸附 120 min 可达平衡。土壤粘粒对脲酶的吸附等温线为 L 型, 可用双表面 Langmuir 方程较好描述。初步认为土壤粘粒对脲酶吸附为化学吸附和物理吸附, 且以化学吸附为主。

[关键词] 土壤粘粒; 脲酶; 吸附速率; 吸附等温线

[中图分类号] S154.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2001)05-084-04

土壤酶以各种方式与土壤固相组分相结合, 其活性是各种胶体固定态酶活性的综合反映。尽管已有报道^[1,2]指出, 土壤酶主要以复合体形式存在于土壤中。但要深入了解酶与不同土壤组分的结合方式以及固定于不同土壤胶体组分上的酶特征, 土壤体系的复杂性为研究工作带来了困难。因而在实验室条件下进行酶的吸附、固定等模拟试验研究, 便显得十分必要。以往的研究多侧重用品质层状硅酸盐矿物探讨对酶的吸附作用, 较少用土壤粘粒——有机胶体复合物进行研究。土壤脲酶是水解尿素的唯一酶类, 研究它无疑在调控土壤氮素转化速率和循环

过程、提高氮肥利用率等方面有着重要的理论和实践意义。本研究主要讨论陕西省 4 种土壤 8 种粘粒吸附脲酶的特征, 并寻找其最佳的数学模拟模型。

1 材料与方法

1.1 材料

供试土壤样品为陕西省几种主要土壤: 塿土、黑垆土、黄绵土和黄褐土, 采样深度 0~20 cm。土样经超声波分散, 沉淀法提取 < 1 μm 胶体, 其中部分用 H₂O₂ 去除有机质, 烘干、磨细, 过 65 目尼龙筛备用。土壤粘粒的基本性质见表 1。

表 1 土壤粘粒的基本性质

Table 1 Basic property of soil clay

样品 Sample	pH	有机质/ (g · kg ⁻¹) Organic matter	阳离子 交换量/ (mol · kg ⁻¹) Cation exchange count	比表面/ (m ² · g ⁻¹) Specific	样品 Sample	pH	有机质/ (g · kg ⁻¹) Organic matter	阳离子 交换量/ (mol · kg ⁻¹) Cation exchange count	比表面/ (m ² · g ⁻¹) Specific
A ₁	8.24	22.0	45.24	280.12	C ₁	8.29	14.8	35.82	225.45
A ₂	8.13	5.2	38.67	294.26	C ₂	8.16	8.7	30.72	250.96
B ₁	8.04	18.5	44.48	236.15	D ₁	6.98	8.1	44.00	356.41
B ₂	8.00	10.3	30.41	298.68	D ₂	7.02	3.3	46.04	362.05

注: 表中 A₁, B₁, C₁, D₁ 分别代表原样塿土、黑垆土、黄绵土、黄褐土粘粒; A₂, B₂, C₂, D₂ 分别代表去有机质塿土、黑垆土、黄绵土、黄褐土粘粒, 下同。

Note: In this table A₁, B₁, C₁, D₁ respectively represent undisturbed sample of clay particle of loessal soil, dark cultivated loessal soil, yellow loessal soil and yellow cinamon soil. A₂, B₂, C₂, D₂ respectively represent clay particle of non-organic of loessal soil, non-organic of dark cultivated loessal soil, non-organic of yellow loessal soil and non-organic of yellow cinamon soil, the followings are the same.

脲酶(E, C, 3.5.1.5): U rease-active meal from Jack beans BDH chemicals Ltd poole England。称取一定质量的脲酶溶于 pH 为 7.5 的 Tris-HCl 缓冲溶液中, 质量浓度分别为 80, 100, 200, 400, 600,

700 和 800 mg/L。

所用化学试剂均为分析纯, 用去离子水配制溶液。

^{*} [收稿日期] 2001-01-04

[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, 河南沁阳人, 硕士, 副教授。主要从事环境生物工程研究。

1.2 方法

1.2.1 吸附速率测定 称取一系列 0.100 0 g 土壤粘粒于带塞离心管中, 分别加入不同浓度的脲酶溶液, 于摇床上恒温振荡, 间隔 20 min 取样, 在离心机上离心, 分析上清液脲酶活性^[3]。直至活性不再发生变化, 绘制吸附速率曲线, 确定平衡时间。

1.2.2 吸附等温线测定 分别称取不同土壤样品的粘粒 0.100 0 g, 加入不同浓度的脲酶溶液, 恒温振荡至吸附平衡, 离心分离, 测定上清液及沉淀的酶

活^[4], 并设无土、无酶及无底物对照。脲酶吸附量以 3 h 后 1 g 土壤中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的微克数表示。

1.2.3 土壤粘粒的基本性质 采用土壤农业化学常规分析方法进行测定。

2 结果与讨论

2.1 土壤粘粒对脲酶的吸附速率

8 种土壤粘粒对脲酶吸附速率曲线见图 1。

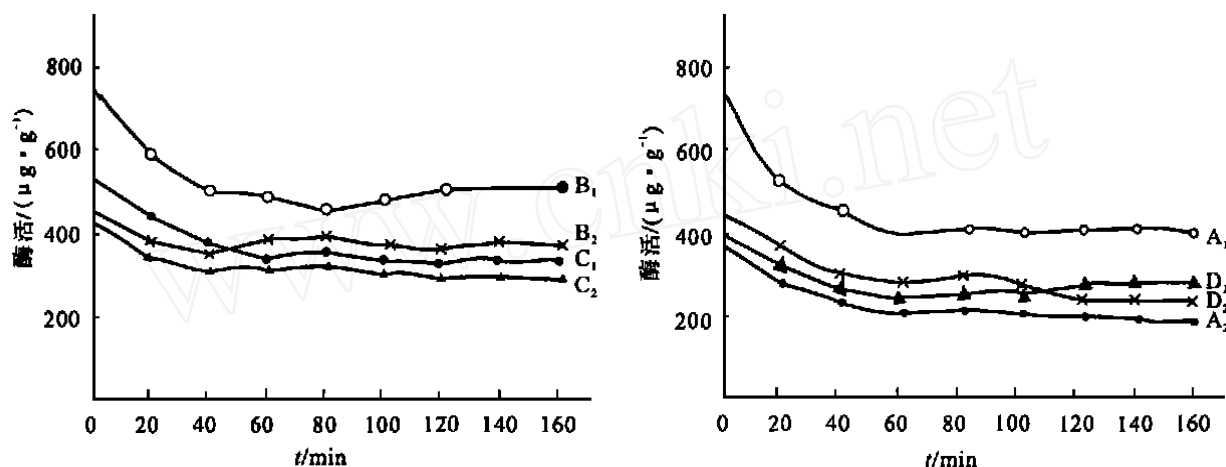


图 1 土壤粘粒对脲酶的吸附速率曲线

A₁ 原样塬土; B₁ 原样黑垆土; C₁ 原样黄绵土; D₁ 原样黄褐土;

A₂ 去有机质塬土; B₂ 去有机质黑垆土; C₂ 去有机质黄绵土; D₂ 去有机质黄褐土

Fig. 1 Urease adsorption velocity curve by soil clay

A₁ Loessal soil; B₁ Dark cultivated loessal soil; C₁ Yellow loessal soil; D₁ Yellow cinamon soil

A₂ Non-organic of loessal soil; B₂ Non-organic of dark cultivated loessal soil; C₂ Non-organic of yellow loessal soil; D₂ Non-organic of yellow cinamon soil

图 1 显示, 最初吸附的 60 min 内, 上清液中酶活平均每 10 min 下降 0.070 $\mu\text{g/g}$, 10~60 min 酶活下降率占 10~120 min 总酶活下降量的 83% 以上。60~90 min 平均每 10 min 下降 0.057 $\mu\text{g/g}$, 酶活波动较明显, 尔后趋于稳定, 120 min 基本达平衡。溶液中脲酶活性的迅速下降, 表明酶分子被大量吸附于具有快速吸附特征的粘粒外表面^[5]。由于吸附和解吸交替出现, 曲线波动, 随时间延长, 土壤粘粒内外表面吸附位点达饱和, 上清液酶活稳定。

2.2 土壤粘粒的吸附等温线与模型拟合

8 种土壤粘粒对脲酶的吸附等温线如(图 2)表明, 各土壤粘粒对脲酶的吸附量随脲酶浓度的增大而增加, 并呈现 L 型等温线特征^[6]。各等温线上均有

3 个折点, 与 Syers^[7]将吸附等温线分为能级不同的 3 个区域相吻合。图 2 依脲酶平衡质量浓度大体可划分为 0~10, 10~40, 40~60 mg/L 3 个区域, 说明各土壤粘粒对脲酶的吸附为多能级。当脲酶与粘粒、腐殖质形成复合体时, 是以氢键、范德华力、离子键及共价键等方式结合^[8]。

采用 Freundlich, Langmuir 和双表面 Langmuir 方程对试验数据进行拟合, 结果表明, 双表面 Langmuir 方程的拟合程度最好(表 2), 脲酶最大吸附量的计量值与实测值最为接近(表 3), 这进一步佐证了试验条件下, 土壤粘粒对脲酶以双分子层吸附; 且初步认为有化学吸附与物理吸附两种。

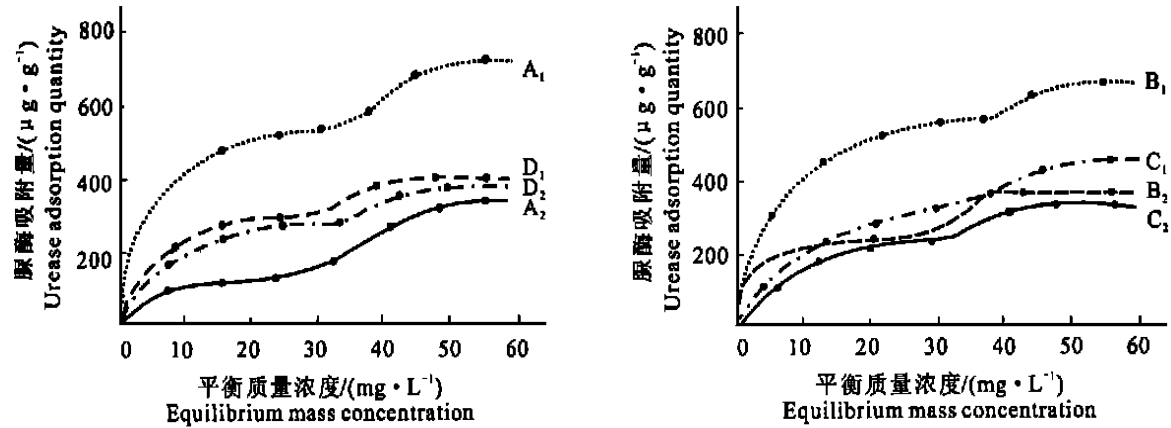


图 2 土壤粘粒的脲酶吸附等温线
A₁ 原样塋土;B₁ 原样黑塋土;C₁ 原样黄塋土;D₁ 原样黄褐土;
A₂ 去有机质塋土;B₂ 去有机质黑塋土;C₂ 去有机质黄塋土;D₂ 去有机质黄褐土
Fig 2 Urease adsorption isotherm of soil clay
A₁ Loessal soil;B₁ Dark cultivated loessal soil;C₁ Yellow loessal soil;D₁ Yellow cinamon soil
A₂ Non-organic of loessal soil;B₂ Non-organic of dark cultivated loessal soil;C₂ Non-organic of yellow loessal soil;D₂ Non-organic of yellow cinamon soil

表 2 各吸附等温线参数及数学拟合

Table 2 Urease adsorption isotherm parameters and regressive equation

土壤粘粒 Soil caly	Freundlich 方程 Freundlich adsorption equation				Langmuri 方程 Langmuir adsorption equation			双表面Langmuri 方程 Double-surface langmuir adsorption equation				
	$K/$ ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	$1/n$	$Q_m/$	r	$K/$ ($\text{L} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$X_m/$ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	r	$K_1/$ ($\text{L} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$K_2/$ ($\text{L} \cdot \text{mg}^{-1}$)	$X_{m1}/$ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	$X_{m2}/$ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	$X_m/$ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
A ₁	512.9	0.1852	13289		1.218	900.2		2.883	0.2305	506.2	240.1	746.3
A ₂	134.9	0.4762	5168		0.2654	483.2		0.6894	0.0986	278.3	103.4	381.7
B ₁	398.1	0.1939	12692		1.333	703.6		2.866	0.2450	545.0	193.8	738.8
B ₂	112.0	0.2900	8485	0.7861	0.3486	485.6	0.8965	1.817	0.1535	307.2	115.8	423.0
C ₁	269.2	0.3056	8053		1.080	653.0		0.6630	0.2599	340.5	173.9	514.4
C ₂	151.4	0.5560	4426		0.5638	465.8		0.4400	0.1152	264.6	157.7	422.3
D ₁	288.4	0.2083	11815		3.571	538.0		1.099	0.2085	287.0	129.9	416.9
D ₂	263.0	0.2273	10828		1.412	485.8		0.8436	0.1041	283.2	124.8	408.0

注: X_m , X_{m1} 和 X_{m2} 分别为最大吸附量和高低能结合位的最大吸附量; K_1 , K_2 分别为高低能结合位的结合能。
Note: X_m , X_{m1} and X_{m2} respectively stand for maximum absorptivity and maximum absorptivity of binding site of high-low energy, K_1 and K_2 respectively stand for binding energy of binding site of high-low energy.

表 3 脲酶最大吸附量计算值与实测值的偏差

Table 3 The difference between calculation and practical values of urease maximum adsorption quantity $\mu\text{g/g}$

模型 Model	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	C ₁	C ₂	D ₁	D ₂
Langmuri 方程 Langmuir adsorption equation	190.2	119.2	35.6	104.6	195.0	86.8	160.0	148.8
双表面Langmuri 方程 Double-surface adsorption equation	36.3	17.7	70.8	42.0	56.4	43.3	38.9	71.0
试验测定值 Experimental numerical value	710.0	364.0	668.0	381.0	458.0	379.0	378.0	337.0

2.3 土壤粘粒对脲酶的吸附特征

由双表面Langmuir 方程计算的脲酶最大吸附量,原样土壤粘粒为塋土> 黑塋土> 黄塋土> 黄褐土;去有机质土壤粘粒呈黑塋土> 黄塋土> 黄褐土> 塋土的变化。脲酶最大吸附量与土壤粘粒有机质

含量之间的相关系数为 0.931 1($r_{0.001}=0.925$),达极显著正相关。土壤粘粒去除有机质后,脲酶最大吸附量下降,塋土、黑塋土、黄塋土、黄褐土分别下降 346.6, 315.8, 92.1, 89.9 $\mu\text{g/g}$,这与土壤粘粒有机质含量的下降趋势(16.8, 8.2, 6.1, 4.8 g/kg)相一致,

表现出有机质对脲酶吸附的贡献,即有机质提高了脲酶的吸附数量。其原因可能是粘粒-有机质复合物中的疏水表面与酶中的疏水基团疏水性键合,而且有机阳离子的疏水性越强,对酶的吸附量越大^[9]。

8种土壤粘粒样品的双表面Langmuir方程参数 K_1 和 K_2 ,均为原样土壤粘粒大于去有机质土壤粘粒,表现出土壤粘粒有机质对结合能也有影响。高能位结合能(K_1),主要是价键结合的化学吸附,对

原样土壤粘粒, K_1 值依塋土>黑垆土>黄褐土>黄绵土;低能位结合能(K_2),主要以物理吸附为主^[5],对原样土壤粘粒 K_2 值黄绵土>黑垆土>塋土>黄褐土,显示出不同土壤粘粒吸附脲酶其结合位点上的能量差异。同一土壤粘粒 $K_1/K_2>1$,即高结合能位的结合能大于低结合能位的结合能,表明土壤粘粒对脲酶的吸附以化学吸附为主,物理吸附为附。

[参考文献]

- [1] Zantaa M, L Durnenil L C, Br  nner J M. Relationship between urease activity and other properties[J]. Soil Soc Amer J, 1977, 41: 350-358
- [2] 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
- [3] 施特马赫 B. 酶的测定方法[M]. 钱嘉渊, 译. 北京: 中国轻工业出版社, 1992 333-335
- [4] 周礼凯. 土壤酶学[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [5] 熊毅, 陈家坊, 赵美芝, 等. 土壤胶体(第3册)[M]. 北京: 科学出版社, 1990 298-428
- [6] 蒋以超, 张一平. 土壤化学过程的物理化学[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993 312-385
- [7] Syers J K, Lakander I K. Soil phosphorus chemistry[M]. New York: E and F. N. Spon Ltd, 1981. 571-599
- [8] Boyed S A, Mortland M M. Soil Biochemistry[M]. New York: Marcel Dekker, 1990 1-90
- [9] Marzadori C, Clavatta D. Effect of lead pollution on different soil enzyme activities[J]. Biol Fertil Soil, 1996, 23(6): 581-587.

Study on characters of clay granule absorbing urease

FENG Gui-y  n¹, ZHUM   ng 'e², CHENG Hu  m   ng¹

(1 College of Life Sciences; 2 College of Resources and Environment, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The characters of 8 kinds of clay granule absorbing urease are studied in this paper. It shows: the absorption of clay granule to urease gets to a balance after 120mins and the absorption isotherm takes on 'L' type. This can be well described by two-surface Langmuir equation. The primary result is: the absorption of clay granule to urease can be divided into two types: chemical absorption and physical absorption, and the former is superior to the latter.

Key words: clay granule; urease; absorption isotherm