

## 酒石酸对黏粒矿物上酸性磷酸酶吸附及活性的影响\*

赵振华<sup>1</sup> 黄巧云<sup>2†</sup> 廖丽霞<sup>3</sup> 夏立玲<sup>4</sup> 李学垣<sup>2</sup>

(1 河海大学水文水资源与水利工程科学国家重点实验室, 南京 210098)

(2 华中农业大学资源与环境学院, 武汉 430070)

(3 华南理工大学资源科学与造纸工程学院, 广州 510641)

(4 南京工业职业技术学院, 南京 210016)

**摘要** 采用平衡批处理法, 研究了模拟根系分泌物——酒石酸溶液的浓度(0~80 mmol L<sup>-1</sup>)、pH(2.5~7.0)对酸性磷酸酶在针铁矿、高岭石及黄棕壤和砖红壤胶体(<2 μm)上的吸附及比活性影响。结果表明, 当酒石酸浓度由0 mmol L<sup>-1</sup>(作为对照)升高至80 mmol L<sup>-1</sup>时, 酸性磷酸酶在供试土壤胶体和矿物表面的吸附量先急剧降低(0~5 mmol L<sup>-1</sup>之间), 后逐渐达到平衡; 以羟基化表面为主的针铁矿对酸性磷酸酶的吸附百分率受酒石酸浓度的影响最大, 吸附百分率从对照的96.2%降至80 mmol L<sup>-1</sup>酒石酸浓度时的33.7%, 其他以层状铝硅酸盐矿物为主的供试土壤胶体和高岭石则受影响较小, 吸附百分率从对照的76.3%~60.6%降至80 mmol L<sup>-1</sup>酒石酸浓度时的56.2%~41.6%。酸性磷酸酶在酒石酸体系中的最大吸附pH点均在该酶的等电点酸侧, 这可能与酒石酸对矿物表面的电荷性质改变有关; 酒石酸体系中, 针铁矿上酸性磷酸酶的比活性远高于其它供试土壤胶体, 该酶的最适比活性点随胶体类型的不同而无变化或有所高移。

**关键词** 酒石酸; 磷酸酶; 土壤胶体; 矿物; 吸附; 活性

**中图分类号** S153.3 **文献标识码** A

根际土壤中的低分子量有机酸在土壤矿物风化与形成、根圈环境变化、有毒及营养物质转化、土壤生物活性等一系列物质循环中起着重要作用。而酒石酸是根际土壤中常见的根系分泌物之一, 这类有机酸在土壤中的积累对水稻根系生长及养分吸收具有明显抑制作用<sup>[1]</sup>。酶是生活细胞产生的, 具有生化催化作用的一类蛋白质。土壤中动植物、微生物分泌及其残体分解来源的酶类种类繁多、数量丰富, 其活性反应了土壤中进行的各种生化过程的强度和方向, 是土壤本质属性之一<sup>[2]</sup>。土壤酶因其来源、存在状态的不同, 会与共存于土壤中的各种有机、无机阴阳离子包括存在于根际土壤中数量丰富, 种类较多的根系分泌物——各种低分子量有机酸<sup>[3]</sup>发生相互作用, 这种相互作用可能导致酶的存在状态及活性发生变化<sup>[2, 4~6]</sup>, 然而, 到目前为止, 有关的报道还很少见。以前关于酶在土壤胶体或矿物表面的吸附及活性研究考虑较多的是酶及矿物表面的性质<sup>[2, 4~7]</sup>, 很少涉及体系中共存的阴离子的影响, 黄巧云等<sup>[8]</sup>和赵振华等<sup>[9]</sup>的研究结果表明, 根际土壤

中常见的低分子量有机酸均对酸性磷酸酶的存在状态产生较大影响。这方面的研究对于深入探讨土壤成分相互作用机理, 阐明影响土壤酶活性的有关因素, 提高土壤肥力水平和环境质量等具有重要的理论和实际意义。本研究目的在于探讨酒石酸存在时, 两种可变电荷土壤及其常见的几种黏粒矿物胶体对在土壤磷的转化、循环中起着重要作用的酸性磷酸酶的吸附及活性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 酶试剂

酸性磷酸酶(EC 3.1.3.2, Type II, 0.8 units ng<sup>-1</sup>, 获得自马铃薯, 分子量约100 kDa<sup>[7]</sup>, 最适比活性点为pH4.8), 购于Sigma公司。

### 1.2 土壤胶体和矿物制备

黄棕壤采自湖北孝感第四纪晚更新世母质发育的水稻土(0~20 cm); 砖红壤采于海南东山峙花岗岩发育的荒地(17~35 cm); 高岭石为化学试剂(上

\* 国家自然科学基金项目(40271064)、国际科学基金项目(C/25272)和河海大学科技创新基金项目(2084/40401128)资助

† 通讯作者, E-mail: qhuang@mail.hzau.edu.cn

作者简介: 赵振华(1973~), 男, 山西运城人, 博士, 副教授, 主要从事土壤环境生物化学及有机污染物的迁移转化行为研究

收稿日期: 2006-06-06; 收到修改稿日期: 2006-10-18

海三浦化工有限公司)。以上土壤和矿物制成悬浊液后以  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  NaOH 调 pH 至中性, 超声波分散  $0.5 \text{ h}$  ( $40 \text{ kHz}$ ,  $150 \text{ W}$ ), 沉降法分离小于  $2 \mu\text{m}$  的黏粒, 用  $0.5 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{CaCl}_2$  絮凝, 去离子水和酒精洗至无  $\text{Cl}^-$  离子,  $45^\circ\text{C}$  烘约  $48 \text{ h}$  至干, 研磨过  $100$  目筛, 得

到供试小于  $2 \mu\text{m}$  的土壤胶体及黏粒矿物。

针铁矿按 Atkinson 方法<sup>[10]</sup>合成, 电渗析除去游离的离子,  $45^\circ\text{C}$  下干燥  $24 \text{ h}$ , 过  $100$  目筛备用。制备的土壤胶体和黏粒矿物的主要性状列于表 1。

表 1 土壤胶体和黏土矿物基本性质

Table 1 Basic properties of the soil colloid and clay minerals in test soils

黏粒矿物 Clay minerals	有机质 Organic matter ( $\text{g kg}^{-1}$ )	比表面 Special surface ( $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ )	电荷零点 PZC	矿物组成 Mineral composition (%)
高岭石 Kaolinite		20	3.61	高岭石 Kaolinite
针铁矿 Geothite		83	8.27	针铁矿 Geothite
黄棕壤 Yellow brown soil	10.9	245	2.90	伊利石 $\text{Illite}$ (6) <sup>1)</sup> , $1.4 \text{ nm}$ 矿物 Minerals (19), 高岭石 Kaolinite (14), 游离氧化铁 Free iron oxide (4)
砖红壤 Latosol	5.86	84	3.85	高岭石 Kaolinite (86), 伊利石 $\text{Illite}$ 和三水铝石 Gibbsite (微量), 游离氧化铁 Free iron oxide (9)

1) 括号中的数字表示各矿物成分所占的百分含量 The number in brackets is percentage a mineral accounts for

### 1.3 土壤胶体和黏粒矿物悬浊液制备

称取  $2.5 \text{ g}$  土壤胶体于锥形瓶中, 加适量去离子水, 以  $0.1 \text{ mmol L}^{-1}$  盐酸或氢氧化钠每隔  $2 \text{ h}$  调悬浊液的 pH, 直至稳定在  $5.5$  (约需  $1$  周), 定容至  $250 \text{ ml}$ <sup>[6]</sup>。

### 1.4 酶含量测定 (Folir 酚试剂法<sup>[11]</sup>)

吸取  $0.2 \text{ ml}$  含  $0\sim 600 \mu\text{g ml}^{-1}$  的酶溶液于玻璃试管中, 加入  $1 \text{ ml}$  的福林试剂甲, 摇匀, 室温下放置  $10 \text{ min}$ , 加入  $0.1 \text{ ml}$  的福林试剂乙, 立即混匀, 于  $40^\circ\text{C}$  水浴中恒温  $30 \text{ min}$ , 以不含酶的试剂空白做对照, 在 VIS-7220 型分光光度计上  $650 \text{ nm}$  比色测定。

### 1.5 土壤胶体和黏粒矿物对酸性磷酸酶的吸附

参见文献[4], 在磁力搅拌下吸取土壤胶体或黏粒矿物悬浊液  $1 \text{ ml}$  于  $10 \text{ ml}$  的离心管中, 加  $0\sim 2000 \mu\text{g ml}^{-1}$ 、 $\text{pH}5.5$  的酶溶液  $1 \text{ ml}$ , 然后加入  $1 \text{ ml}$   $\text{pH}5.5$ 、 $0\sim 240 \text{ mmol L}^{-1}$  以  $0.15 \text{ mol L}^{-1}$  NaCl 作支持电解质的酒石酸溶液。  $25^\circ\text{C}$  下振荡  $3 \text{ h}$ , 静置  $1 \text{ h}$ ,  $12000 \text{ r min}^{-1}$  下离心, 用 Folir 酚试剂法测定上清液中酶的含量。各体系中加入酶的总量扣除上清液中的酶量, 即为土壤胶体或矿物对酶的吸附量。

### 1.6 土壤胶体和黏粒矿物在不同 pH 酒石酸体系中对酶的吸附及活性试验

分别配制  $\text{pH}2.5\sim 7.0$ ,  $100 \text{ mmol L}^{-1}$  的系列酒石酸溶液, 酶的加入量为  $1500 \mu\text{g}$ 。其他试验步骤和操作方法与本文 1.4 节和 1.5 节所述相同, 但土壤胶体或高岭石的水: 土 =  $100:1$ , 水: 针铁矿 =  $125:1$ 。离心后得到的固体残留物加  $3 \text{ ml}$  去离子水, 涡旋振荡仪和超声波充分分散后, 立即吸取  $0.03 \text{ ml}$  该悬

液于玻璃试管中, 加  $\text{pH}5.5$  的对硝基苯磷酸二钠-乙酸溶液  $1 \text{ ml}$ , 于  $37^\circ\text{C}$  水浴中恒温  $30 \text{ min}$ , 立即加入  $1 \text{ mol L}^{-1}$  NaOH  $1 \text{ ml}$  终止酶反应。稍微静置, 离心, 生成产物对硝基苯酚的浓度直接在分光光度计上  $405 \text{ nm}$  处测定<sup>[7]</sup>。所测酶活性与待测酶量的比值即为此时固定化酶的比活性。

以上试验均设置 3 次重复, 文中数据均为 3 次重复的平均值。

## 2 结果与讨论

### 2.1 等温吸附曲线

在供试的酒石酸浓度范围, 土壤胶体和黏粒矿物对酸性磷酸酶的等温吸附曲线均符合 Langmuir 方程 ( $R^2 > 0.95$ ,  $p < 0.05$ , 表 2):  $X = B_{\text{max}} C / (K + C)$ 。其中,  $X$  表示单位吸附载体对溶质的吸附量,  $\mu\text{g mg}^{-1}$ ;  $B_{\text{max}}$  为溶质的最大吸附量,  $\mu\text{g mg}^{-1}$ ;  $K$  为与吸附结合能有关的常数, 它与吸附亲和力常数是倒数关系,  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ;  $C$  为溶液中溶质的平衡浓度,  $\mu\text{g ml}^{-1}$ 。但当酒石酸浓度为  $50\sim 80 \text{ mmol L}^{-1}$  时, 等温吸附数据似乎更符合线性方程。

由图 1 可见, 根据 Giles 等<sup>[12]</sup>对等温吸附曲线的分类, 酶在各供试土壤胶体和黏粒矿物上的吸附曲线类型随酒石酸浓度的升高, 均由亲和力较高的 H 型或 L1 型 ( $0\sim 5 \text{ mmol L}^{-1}$  酒石酸体系) 向 L2 型 ( $50 \text{ mmol L}^{-1}$  酒石酸体系), 再向亲和力较低的 C 型转化 ( $80 \text{ mmol L}^{-1}$  酒石酸体系), 所谓 H 型或 L 型是指酶在矿物表面的吸附量随着平衡液中酶浓度的升

高而上升(L型缓慢,H型快速),L1型和L2型的差异就在于后者中酶的吸附量上升速度较前者更缓慢,而C型曲线则表明酶在固液两相中按恒定比例分配。表2中的数据也表明,随着酒石酸浓度的升高,吸附结合能常数K值也逐渐升高,表明酒石酸浓度的升高,一定程度上降低了酶在供试土壤胶体和矿物上的吸附亲和力,增加了酶的吸附难度,也说明酒石酸对酶的吸附产生了非常有效的竞争。

## 2.2 酒石酸浓度的影响

图2的结果表明:(1)当酒石酸浓度由0增至80 mmol L<sup>-1</sup>时,针铁矿对磷酸酶的吸附受到了显著影响,酶的吸附百分率从96.2%下降至33.7%。(2)其他供试土壤胶体和矿物对酶的吸附率在酒石酸浓度升高初期(0~5 mmol L<sup>-1</sup>)的变化规律与针铁矿的基本相同,但酶吸附率的变化幅度没有针铁矿的大。(3)当酒石酸浓度小于20 mmol L<sup>-1</sup>时,针铁矿上酶的吸附率远高于其他供试土壤胶体和矿物;当酒石酸浓度大于20 mmol L<sup>-1</sup>后,针铁矿对酶的吸附率迅速减少,直至酒石酸浓度为50 mmol L<sup>-1</sup>后其对酶的吸附率较供试其他土壤胶体和矿物均低,而其它供试土壤胶体和矿物对酶的吸附在20~

80 mmol L<sup>-1</sup>酒石酸浓度范围内基本保持不变。

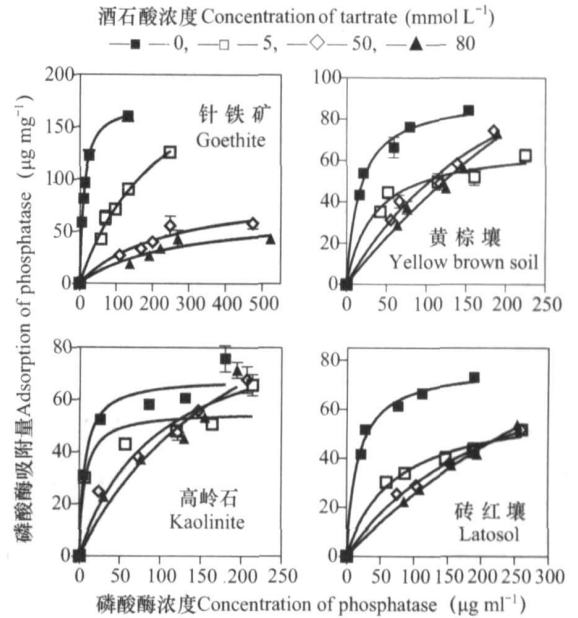


图1 酒石酸体系中,土壤胶体矿物对酶的吸附等温线

Fig.1 Adsorption isotherms of enzyme on soil colloidal and clay minerals in tartarate systems

表2 土壤胶体、矿物等温吸附磷酸酶对 Langmuir 方程的拟合参数

Table 2 Langmuir parameters for adsorption of phosphatase on soil colloidal and clay minerals

黏粒矿物 Clay mineral	参数 Parameter	酒石酸浓度 Concentration of tartarate (mmol L <sup>-1</sup> )				
		0	5	10	50	80
针铁矿 Goethite	$B_{max}$	173.4	243.8	154	91.0	69.4
	$K$	10.5	229.1	141.8	237.1	261.1
	$R^2$	0.995	0.991	0.995	0.949	0.922
黄棕壤 Yellow brown soil	$B_{max}$	91.1	67.5	69.6	159.2	286.5
	$K$	16.5	33.9	28.8	226.9	576.5
	$R^2$	0.990	0.978	0.994	0.982	0.987
高岭石 Kaolinite	$B_{max}$	68.4	55.5	56.6	93.9	137.5
	$K$	6.8	6.9	10.4	97.8	217.4
	$R^2$	0.958	0.914	0.974	0.974	0.956
砖红壤 Latosol	$B_{max}$	77.5	62.2	53.1	95.7	184.5
	$K$	16.6	70.4	38.8	226.7	633
	$R^2$	0.993	0.987	0.978	0.997	0.997

酒石酸对供试土壤胶体和矿物吸附酶的影响程度由大到小表现为:针铁矿>砖红壤>高岭石>黄棕壤,这可能与各土壤胶体和矿物所含矿物的种类和含量有关。

一般认为,低分子量有机酸主要通过羟基配位交换和静电作用等吸附在土壤胶体、矿物表面<sup>[13]</sup>,而酶则可通过专性吸附(即羟基配位交换)、疏水力、

静电力、范德华力和氢键等多种作用吸附在土壤胶体、矿物表面<sup>[2,14]</sup>,酒石酸对针铁矿表面酶的吸附影响显著大于土壤胶体,说明酒石酸主要通过针铁矿表面羟基发生羟基配位交换作用而减少酶的吸附。

以层状铝硅酸盐矿物为主的黄棕壤、砖红壤和高岭石对酶的吸附受酒石酸的影响相对较小,酶在

这类矿物表面的吸附,主要借助于这类矿物中占很大比例的疏水性硅氧烷表面进行疏水性吸附,羟基化表面对酶吸附的贡献仅占很小比例<sup>[8]</sup>,即使酒石酸占据了绝大部分的羟基点位,对蛋白的吸附并不能产生很大影响。此外,土壤胶体中氧化铁的含量也决定着它们受酒石酸影响的程度,砖红壤中由于9%左右的游离氧化铁的存在(见表1),导致其对酶的吸附百分率较高岭石的降低10%左右,黄棕壤中4%的游离氧化铁使其对酶的吸附量有所降低,但63%的伊利石可提供大量的硅氧烷表面,酶可借助疏水性吸附保持较高吸附量,从而使高浓度酒石酸体系中,酶在土壤胶体和矿物表面的吸附量顺序表现为:黄棕壤>高岭石>砖红壤>针铁矿。

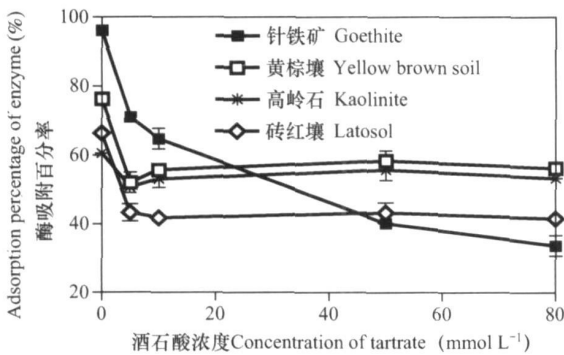


图2 酒石酸浓度对酶吸附的影响

Fig. 2 Effect of tartrate concentration on adsorption of enzyme

### 2.3 不同 pH 下酒石酸对酶吸附的影响

图3显示的是当酶加入量为1500 μg、最终浓度为33.3 mmol L<sup>-1</sup>的酒石酸体系中,酶随着体系pH的变化在供试胶体上的吸附曲线。图3的结果表明,针铁矿对酶的吸附百分率-pH曲线类似于“钟形”,最大吸附点位为pH3.8;黄棕壤、高岭石和砖红壤对酶的吸附百分率-pH曲线为典型的“坡形”,它们对酶的最大吸附pH点位分别为4.0、3.6和3.5,均在酶等电点的酸侧(酶的等电点IEP为5.0<sup>[7]</sup>)。

当体系pH较低时,酒石酸对针铁矿吸附酶的影响远远高于供试的土壤胶体和高岭石(见图3),原因可能是前者主要以羟基化表面为主,羟基配位交换是酒石酸、酶与矿物表面共同的作用机理(专性吸附)<sup>[13,14]</sup>,酒石酸与酶对针铁矿表面羟基的强烈竞争导致酶的吸附量大量减少,此外静电排斥也可减少针铁矿表面酶的吸附量(此时酶与针铁矿均带正电荷);而以层状铝硅酸盐矿物为主的土壤胶体或高岭石对酶的吸附主要通过疏水力、库仑力或范德华力等起作

用,羟基配位交换不是这类矿物对酶吸附的主要机理<sup>[8]</sup>,因此,这类胶体矿物对酶的吸附受酒石酸体系pH的影响较小。当体系pH>5.0后,酶分子与土壤胶体、高岭石均带负电荷,静电排斥导致其对酶的吸附大量减少;而针铁矿此时仍带正电荷,因而此时针铁矿对酶的吸附量较其他供试胶体矿物高。

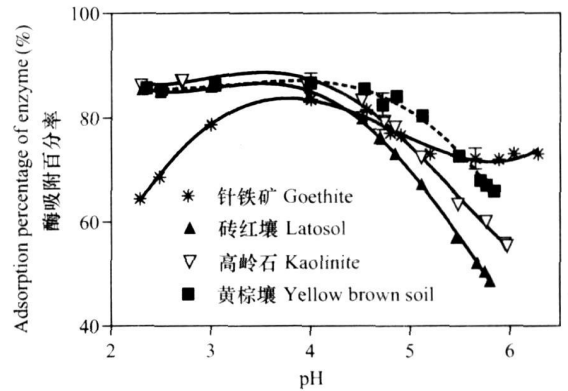


图3 酒石酸体系 pH 对酶吸附的影响

Fig. 3 Effect of pH of tartrate solution on adsorption of enzyme

### 2.4 不同 pH 下酒石酸对固定化酶比活性的影响

酶的比活性计算公式为:  $S = A_{sum} / XT$ , 其中  $S$  为酶的比活性,以单位时间单位质量酶所产生的对硝基苯酚的量表示,  $A_{sum}$  为样品中酶的总活性,  $X$  为酶在矿物表面的吸附量,  $T$  为反应的时间。由图4可见,酒石酸体系中,针铁矿上固定化酶的比活性明显较其他胶体矿物上的高。Quiquampoix 等<sup>[2]</sup>在比较固定在针铁矿、蒙脱石和滑石表面的葡糖苷酶比活性试验(以不同pH的柠檬酸溶液作为缓冲体系)中也得到了类似结果,针铁矿的羟基化表面由于与有机配体(如酒石酸或柠檬酸)的络合,降低了其表面电荷,表面电荷的降低可能有利于酶原有构型的保持即酶活性的保留<sup>[2]</sup>;而黄棕壤、高岭石和砖红壤在低pH时通过疏水力和静电力虽仍能保持对酶较高的吸附量(见图3),但这两种作用力特别是静电力对酶构型的改变即酶活性的损失影响较大<sup>[2]</sup>,因此针铁矿上固定化酶的比活性明显较其他胶体矿物上的高。砖红壤上酶的比活性稍高于高岭石的,这可能与砖红壤中较高比例(9%)的游离氧化铁有关;而黄棕壤上酶的残留比活性最低,其组成中较高含量的伊利石及有机质可能是其上固定化酶活性较低的原因,因为 Dick 等<sup>[15]</sup>的结果表明,伊利石较高岭石具有更高的抑制酸性磷酸酶活性的能力。

随体系pH升高,黄棕壤、高岭石和砖红壤上固

定化酶的比活性, 分别在 pH 5.5、4.8 和 5.4 左右达到最大。针铁矿上的固定化酶比活性 pH 曲线似乎有两个较大起伏, 第一个起伏点在 pH 4.0 左右, 第二个最大起伏点在 pH 5.9 左右。

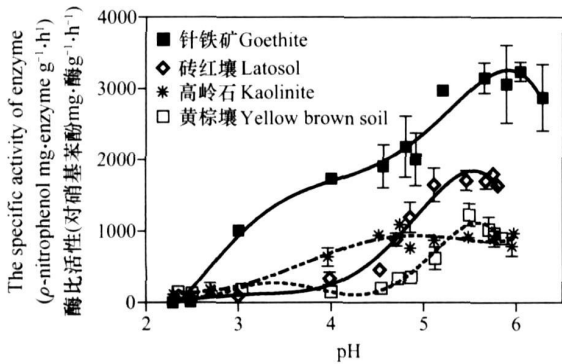


图 4 不同 pH 酒石酸体系中, 不同矿物表面固定化酶的比活性曲线

Fig. 4 Specific activity curves of the enzyme immobilized on minerals in different pH tartrate solutions

相对于游离酶的最适比活性, 吸附在土壤胶体表面的酶, 除高岭石上无变化外, 其他土壤胶体上酶的最适比活性点均向高 pH 点位漂移。说明酒石酸体系中, 固定化酶周围的微域环境发生了改变。根据 Goldstein<sup>[16]</sup> 研究结果, 在酸性溶液和负电荷载体体系中, 固定化酶周围的质子浓度由于静电相互作用将高于周围本体溶液浓度, 导致固定化酶的最适比活性点相对于游离酶向碱性 pH 移动; 当酶固定在正电荷载体上时, 最适比活性点将向更酸 pH 移动。但当体系中有酒石酸存在时, 固定化酶周围的微环境将更加复杂, 廖丽霞<sup>(1)</sup> 的结果表明, 黄棕壤吸附酒石酸后, 其电荷零点 (PZC) 可由原土的 2.82 升至 3.20, 酒石酸对黄棕壤的正电荷无影响, 但可使其负电荷降低 3.0 cmol (5 mmol L<sup>-1</sup> 酒石酸浓度时); 酒石酸可使砖红壤的 PZC 降低 1.1 个 pH 单位, 正电荷减少 1.0 cmol, 使其负电荷量增加 0~1.3 cmol。国内外研究者对其它低分子量有机酸的研究也得到了相似的结果<sup>[17]</sup>。可见, 酒石酸的存在, 很可能作为决定电位离子, 使得供试土壤胶体和矿物的表面电荷特性及动电特征都发生了改变。因此, 吸附在土壤胶体和矿物表面的酒石酸对载体表面微域环境的改变导致了固定化酶最适比活性点的迁移。

### 3 结 论

酒石酸对以羟基化表面为主的针铁矿吸附酶的影响远远高于其它以层状铝硅酸盐矿物为主的供试土壤胶体和高岭石; 酶在供试土壤胶体和矿物表面的吸附量, 在 0~5 mmol·L<sup>-1</sup> 酒石酸浓度范围内先急剧降低, 后随酒石酸浓度升高而逐渐达到平衡。酶在酒石酸体系中的最大吸附 pH 点均在酶的等电点酸侧; 酒石酸体系中, 针铁矿上酶的比活性远高于其他供试土壤胶体, 酶的最适比活性点随胶体类型的不同而无变化或有所高移。

### 参 考 文 献

- [1] 沈阿林, 李学垣, 吴受容. 土壤中低分子量有机酸在物质循环中的作用. 植物营养和肥料学报, 1997, 3(4): 364~371. Shen A L, Li X Y, Wu S R. The composition characteristics of low-molecular weight organic acids in soils and their roles on soil material cycling (In Chinese). Plant Nutrition and Fertilizer Science, 1997, 3(4): 364~371
- [2] Quiquampoix H, Abadie J, Baron M H, *et al.* Mechanisms and consequences of protein adsorption on soil mineral surfaces. In: Hobert T A, Brash J L, eds. Protein at Interfaces II, ACS Symposium Series No. 602. Washington, D. C.: American Chemical Society, 1995. 321~333
- [3] Grierson P F. Organic acids in the rhizosphere of *Banksia Integrifolia* L. F. Plant and Soil, 1992, 144(2): 259~265
- [4] Naidja A, Huang P M, Bollag J M. Enzyme day interactions and their impact on transformations of natural and anthropogenic organic compounds in soil. Journal of Environmental Quality, 2000, 29(3): 677~691
- [5] Naidja A, Huang P M. Activity of tyrosinase immobilized on hydroxyaluminum montmorillonite complexes. J. Mol. Catal., 1997, 115(2): 305~316
- [6] Rao M A, Gianfreda L, Palmiero F. Interactions of acid phosphatase with clays, organic molecules and organomineral complexes. Soil Sci., 1996, 161(11): 751~760
- [7] Gianfreda L, Bollag J. Effect of soils on the behavior of immobilized enzymes. Soil Sci. Soc. Am. J., 1994, 58(6): 1672~1681
- [8] Huang Q, Zhao Z H, Chen W L, *et al.* Effect of several low-molecular-weight organic acids and phosphate on the adsorption of acid phosphatase on soil colloids and minerals. Chemosphere, 2003, 52(3): 571~579
- [9] 赵振华, 黄巧云, 李学垣, 等. 低分子量有机酸对胶体矿物吸附酸性磷酸酶和牛血清白蛋白的影响 I. 乙酸的影响. 土壤学报, 2003, 40(2): 224~231. Zhao Z H, Huang Q Y, Li X Y, *et al.* Effects of Low-molecular organic acids on adsorption of BSA and acid phosphatase by soil colloid & clay minerals I. Effects of acetic acid (In

(1) 廖丽霞. 有机酸对土壤表面电荷性质及次级吸附 Cd<sup>2+</sup> 的影响. 华中农业大学硕士学位论文, 2001

- Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(2): 224~ 231
- [10] Atkinson R J, Posner A M, Quirk J P. Adsorption of potential determining ion at ferri-oxide aqueous electrolyte interface. *J. Phys. Chem.*, 1967, 71(3): 551~ 560
- [11] Lowery O H, Rosenbrough N J, Farr A L, *et al.* Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193(1): 265~ 278
- [12] Giles C H, MacEwan T H, Naklwa S N. Studies in adsorption Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface area of solids. *J. Chem. Soc.*, 1960, 111(10): 3973~ 3993
- [13] Evanko C R, Dzombak D A. Surface complexation modeling of organic acid sorption to goethite. *J. Colloid and Interface Sci.*, 1999, 214(2): 189~ 206
- [14] Sepelyak R J, Feldkamp J R, Moody T E. Adsorption of pepsin by aluminum hydroxide I: Adsorption mechanism. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1984, 73(11): 1514~ 1517
- [15] Dick M A, Tabatabaie M A. Kinetics and activities of phosphatase clay complexes. *Soil Sci.*, 1987, 143(1): 5~ 14
- [16] Goldstein L. Guidelines for the characterization of immobilised biocatalysts. In: Mosbak K. ed. *Methods in Enzymology*. Vol. 44. New York: Academic Press, 1976. 397~ 408
- [17] 徐仁扣. 低分子量有机酸对可变电荷土壤和矿物表面化学性质的影响. *土壤*, 2006, 38(3): 233~ 241. Xu R K. Effect of low-molecular-weight organic acids on surface chemical properties of variable charge soils and minerals (In Chinese). *Soils*, 2006, 38(3): 233~ 241

## EFFECT OF TARTRATE ON ADSORPTION AND ACTIVITY OF ACID PHOSPHATASE BY SELECTED SOIL COLLOIDS AND MINERALS

Zhao Zhenhua<sup>1</sup> Huang Qiaoyun<sup>2†</sup> Liao Lixia<sup>3</sup> Xia Liling<sup>4</sup> Li Xueyuan<sup>2</sup>

(1 State Key Laboratory of Hydrology Water Resources and Hydraulic Engineering, Hohai University, Nanjing 210098, China)

(2 College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

(3 College of Paper and Environment Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

(4 Nanjing Institute of Industry Technology, Nanjing 210016, China)

**Abstract** Effects of concentration (0~ 80 mmol L<sup>-1</sup>) and pH (2.5~ 7.0) of the solution of tartrate, a simulative rhizospheric exudate on adsorption and specific activity of acid phosphatase on goethite, kaolinite, and colloids in yellow brown soil and latosol were studied. Results suggest that the adsorption of enzyme on soil colloids and minerals exhibited a sharp downfall (0~ 5 mmol L<sup>-1</sup>), which was soon leveled off with rising tartrate concentration from 0 to 80 mmol L<sup>-1</sup>. The effect of tartrate concentration on enzyme adsorption was the most remarkable (the adsorption percentage reduced from 96.2% in referenced system to 33.7% in 80 mmol L<sup>-1</sup> tartrate system) on goethite, but much lower (the adsorption percentage reduced from 76.3%~ 60.6% to 56.2%~ 41.6% in 80 mmol L<sup>-1</sup> tartrate system) on soil colloids composed of phyllosilicate mineral and kaolinite. The pH value triggering the maximum adsorption of enzyme was on the acid side of the IEP of the enzyme, which may probably be related to the change induced by tartrate in electric charge property of the minerals. In the tartrate system, specific activity of the enzyme was much higher on goethite than on the colloids. The most proper specific activity point of the enzyme did not vary much with the type of colloid.

**Key words** Tartrate; Phosphatase; Colloid; Mineral; Adsorption; Activity