

陕西土壤脲酶热力学特征研究*

和文祥^{1,2} 朱铭莪¹ 张一平¹ 孙铁珩²

(1 西北农林科技大学资源与环境学院, 陕西杨凌 712100)

(2 沈阳环境工程重点实验室, 沈阳 110044)

摘要 根据土壤脲酶动力学参数与温度的关系,借助于经典酶学理论,较为系统地研究了陕西水稻土、褐土、塋土脲酶的热力学特征。结果表明,将整个酶促反应划分为酶-底物复合物形成和分解两个阶段分别计算其热力学函数是可行的,得到了更多酶促反应机理方面的信息;不同土样脲酶复合物形成和分解阶段的温度系数 Q_{10} 、活化能 E_a 、活化焓 H 、活化熵 S 和活化自由能 G 有明显差异;土壤脲酶的 Q_{10} 范围为 0.82~2.48;两阶段土壤脲酶除个别处理外 E_a 、 H_1 、 H_2 、 S 均大于零,揭示出形成和分解阶段酶促反应的有序性较差,混乱度较大,需要外界提供更多能量来完成酶活性部位与反应物的互补契合以及解离,最终完成酶促反应;形成阶段 G_1 和整个反应的 G 、 H 均小于零,表明形成阶段和整个酶促反应为一可自发进行的放热反应,总体上不需要外界能量即可完成;各土样分解阶段的 G_2 均大于零,表明土壤类型、肥力状况等对酶促反应的复合物分解过程的可能性无显著影响,复合物分解是酶促反应的限速步骤。可见得到的热力学参数从多方面共同表征了各土样酶促反应机理上的细微差异。

关键词 热力学特征;土壤脲酶;陕西土壤

中图分类号 S154.2 **文献标识码** A

由于热力学原理不受体系结构和过程机理的局限,因而对研究土壤这一复杂生物体系中的酶促反应是非常有利的^[1,2],作为一种手段,它为土壤酶作用机理、过程的研究提供了新的途径。国内外许多学者采用经典热力学方法对土壤酶热力学特性进行了研究^[2~4],大多数结果显示:酶促反应的活化焓变 $H > 0$,活化自由能变 $G > 0$ 。尽管此为酶促反应机理的了解提供了一些信息,但在判据反应可能性等时,结果仍不够理想。为此我们借助将酶促反应划分为酶-底物复合物形成和分解两个阶段的思路,

对陕西主要类型土样脲酶的热力学特征进行研究,以探讨各土壤脲酶酶促反应机理上的差异。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

采自陕西省的水稻土(安康市)、褐土(黄龙县)和塋土(杨陵区)共 4 个土样。采样时,先去除 0~5 cm 表层,五点法采取 5~20 cm 土样,混匀,风干,过 1 mm 尼龙筛后备用。其基本性质见表 1。

表 1 供试土壤理化性质

Table 1 Physical-chemical properties of tested soils

土样编号 Soil sample No.	土壤名称 ¹⁾ Soil name	物理性黏粒 Physical clay (%)	有机质 O.M. (g kg ⁻¹)	全氮 TN (g kg ⁻¹)	碱解氮 AN (mg kg ⁻¹)	全磷 TP (P ₂ O ₅ g kg ⁻¹)	阳离子代 换量 CEC (cmol kg ⁻¹)	pH	CaCO ₃ (g kg ⁻¹)
1	水稻土	59.25	29.3	1.92	149.1	1.12	35.10	6.17	0.0
2	水稻土	52.43	28.7	1.79	122.8	1.05	34.08	6.76	0.0
3	褐土	37.64	16.5	1.09	76.30	1.33	28.13	8.30	12.13
4	<u>塋</u> 土	46.19	13.9	0.81	54.60	1.15	30.03	8.18	5.18

1) 水稻土: 筒育水耕人为土 Hap-stagnic Anthrosols; 褐土: 钙积干润淋溶土 Cal-Ustic Luvisols; 塋土: 土垫旱耕人为土 Eum-Orthic Anthrosols

* 国家自然科学基金项目(40301022)、沈阳环境工程重点实验室项目和国家教委博士点基金资助

作者简介: 和文祥(1968~),男,陕西黄龙人,副教授,博士,主要从事土壤生物化学和生态毒理研究。E-mail: wxhe1968@163.com

收稿日期: 2006-07-27; 收到修改稿日期: 2006-10-12

1.2 分析测定方法

常规方法^[5]测定土壤理化性质,靛酚蓝比色法^[6,7]分析土壤脲酶活性,动力学参数测定参考文献^[8]。

1.3 理论依据

根据过渡态理论^[3,9,10],酶促反应可划分为酶-底物复合物(下简称为复合物)形成与分解两个阶段,对其热力学参数分别计算。

1) 对土壤脲酶动力学参数 K_m (米氏常数)、酶促反应最大反应速度 V_{max} 与温度 T 的关系采用下列模型进行拟合: $K_m = B \times T + C$ 或 $K_m = A \times T^2 + B \times T + C$, $V_{max} = a \times T^b e^{c/T}$ 或 $V_{max} = a \times T^b e^{c \times T}$,式中 A 、 B 、 C 、 a 、 b 、 c 对某种土壤的脲酶来讲,是特定值。

2) 参照文献^[4,9,11]计算温度系数 Q_{10} 值

复合物分解阶段是整个酶促反应的限速步骤,从而可得到: $V_{max} = K_{cat} \times [E_0]$,式中 $[E_0]$ 为土壤总酶量, K_{cat} 为酶-底物复合物分解为酶和产物的解离催化速度常数。不同温度 T 下的 $K_{cat(T)}$ 为: 10 11 124; 20 20 514; 30 31 594; 40 44 413。

复合物分解阶段($[S] \gg K_m$)时, $Q_{10} = K_{cat(T_2)} / K_{cat(T_1)} = V_{max(T_2)} / V_{max(T_1)}$ 。

复合物形成阶段($[S] \ll K_m$),以后采用了 K_{cat} / K_m 比值, $Q_{10} = K_{cat(T_2)} / K_{cat(T_1)} \times K_m(T_1) / K_m(T_2) = Q_{10} \times K_m(T_1) / K_m(T_2)$ 。式中 $T_2 = T_1 + 10$, $[S]$ 为酶促反应的底物浓度。

3) 计算酶促反应的活化能 E_a 。由 Arrhenius 方程的微分式:

$$d \ln k / d T = E_a / (R T^2)$$

经数学变换,可得到以下方程:

复合物分解阶段,在 $V_{max} = a \times T^b e^{c/T}$ 时:

$$E_{a2} = R T^2 (b / T - c / T^2) = R (b \times T - c)$$

当 $V_{max} = a \times T^b e^{c \times T}$ 时:

$$E_{a2} = R (b \times T + c \times T^2)$$

复合物形成阶段, $K_m = B \times T + C$ 时:

$$E_{a1} = E_{a2} - R B T^2 / (B \times T + C)$$

$K_m = A \times T^2 + B \times T + C$ 时:

$$E_{a1} = E_{a2} - R T^2 \times (B + 2A T) / (A T^2 + B \times T + C)$$

式中 R 为气体常数, $8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ 。

4) 计算酶-基质复合物形成($i=1$)和分解($i=2$)阶段,复合物的活化焓变 H_i 、活化熵变 S_i 和活化自由能变 G_i :

$$H_1 = E_{a1} - R T$$

$$H_2 = E_{a2} - R T$$

$$S_1 = -47.21 + H_1 / T + R \ln [K_{cat} / (T \times K_m)]$$

$$S_2 = -47.21 + H_2 / T + R \ln [K_{cat} / T]$$

$$G_i = H_i - T \times S_i$$

5) 整个酶促反应过程,酶热力学参数的变化值

$$H = H_1 - H_2, S = S_1 - S_2, G = G_1 - G_2$$

2 结果与讨论

2.1 土壤脲酶活性动力学参数与温度关系

采用多种数学模型对供试土壤脲酶动力学参数(表2) K_m 、 V_{max} 与 T 关系进行拟合,并据相关系数大小取舍,结果(表3)显示各土样拟合效果较好,相关系数均大于 0.95,其中 1 号土样脲酶 V_{max} 与温度间呈极显著相关($p=0.001$)。表明采用数理方程可定量揭示土壤脲酶动力学参数随温度变化的规律,为下一步热力学参数的计算奠定了基础。

2.2 土壤脲酶温度系数 Q_{10} 的变化

Q_{10} 是温度上升 10 时,反应速度常数增加的倍数,通常化学反应的 Q_{10} 为 2~4^[9,12]。对土壤酶促反应而言,由于酶必须先与基质形成复合物后,才能进一步解离形成酶和产物,同时相对化学溶液,土壤中存在有较多阻碍酶促反应的因素,因而土壤酶促反应 Q_{10} 值较化学反应的要低。

表 2 供试土壤脲酶的动力学参数

Table 2 Kinetic parameters of urease in tested soils

土样编号 Soil sample No.	脲酶活性 Urease activity ($\text{NH}_3\text{-N } \mu\text{g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	$K_m(\text{mmol L}^{-1})$				$V_{max}(\text{mmol L}^{-1})$			
		10	20	30	40	10	20	30	40
1	373	0.585	0.969	1.02	1.56	0.024	0.028	0.039	0.078
2	350	1.783	1.316	1.51	2.18	0.025	0.032	0.057	0.108
3	1100	1.78	8.47	10.25	6.32	0.051	0.061	0.115	0.200
4	891	1.35	2.00	7.94	13.25	0.048	0.050	0.117	0.244

表 3 供试土壤脲酶动力学参数与温度的拟合结果

Table 3 Fitting of urease kinetic parameters with temperatures

土样编号 Soil sample No.	拟合方程 Regression equations	相关系数 Correlation coefficient
1	$K_m = 7.835 \times 10^{-3} + 2.976 \times 10^{-5} \times T$	0.958 *
	$\ln V_{\max} = -179.783 \times \ln T + 0.645 \times T + 821.838$	0.999 **
2	$K_m = 2.84 \times 10^{-6} \times T^2 - 0.00168 \times T + 0.24984$	0.957 *
	$\ln V_{\max} = 205.0046 \times \ln T + 56592.2 / T - 1367.93$	0.953 *
3	$K_m = -3 \times 10^{-5} \times T^2 + 0.01598 \times T - 2.3936$	0.972 *
	$\ln V_{\max} = 207.202 \times \ln T + 57270.3 / T - 1382$	0.985 *
4	$K_m = 1.141 \times 10^{-5} \times T^2 - 0.0064 \times T + 0.89047$	0.981 *
	$\ln V_{\max} = 345.661 \times \ln T + 97804.6 / T - 2307$	0.983 *

复合物形成 (Q_{10}) 和分解 (Q_{10}) 两阶段酶促反应 Q_{10} 值见表 4, 显示不同土样脲酶 Q_{10} 值差异明显, 如 20~30 区段, 1 和 4 号土样 Q_{10} 分别为 1.14 和

1.73, 二者相差 51.75%, Q_{10} 二土样仅相差 17.76%; 总的 Q_{10} 值的范围为 0.82~2.48, 小于化学反应的。

表 4 供试土壤脲酶的 Q_{10} 值Table 4 Q_{10} values of urease in tested soils

土样编号 Soil sample No.	10~20		20~30		30~40	
	Q_{10}	Q_{10}	Q_{10}	Q_{10}	Q_{10}	Q_{10}
1	0.82	1.23	1.14	1.52	1.47	1.84
2	1.83	1.34	1.50	1.66	1.31	1.99
3	1.27	1.33	1.55	1.65	1.84	1.99
4	1.16	1.23	1.73	1.79	2.43	2.48

除 2 号土样的 10~20 处理外, 其余处理土样脲酶的 $Q_{10} < Q_{10}$, 揭示出分解较形成阶段的反应速率受温度的影响大, 这可能主要是由于分解时的限制因素较少的缘故。

随温度升高, 供试土样的 Q_{10} 除 2 号土样降低外, 其余均升高, 反映出 2 号土样脲酶尽管在复合物形成阶段速度增加, 但增幅减缓, 其余土样则增幅加快; 研究表明^[13,14] 土壤脲酶最适温度为 60~70, 因而在 10~40 范围内 Q_{10} 的增幅较快, 如 30~40 时, 4 号土样的 Q_{10} 和 Q_{10} 达到 2.43 和 2.48, 分别为 10~20 的 2.09 倍和 2.02 倍。

1 号土样在 10~20 时的 $Q_{10} < 1.0$, 原因有待进一步研究。

2.3 土壤脲酶酶促反应的活化能 E_a 变化

复合物形成和分解两个阶段活化能见表 5, 显示不同土样 E_a 差异较大, 如 10 时 E_{a1} 最低的是 4 号土样为 $-35.47 \text{ kJ mol}^{-1}$, 反映出在形成复合物时不需要逾越能障, 反应最容易; 其与最高的 1 号的

41.0 kJ mol^{-1} 相差达 $76.47 \text{ kJ mol}^{-1}$, 表明其酶促反应较困难; 随温度升高, E_{a1} 呈现出增大的趋势; 对土样 E_{a1} 排序得到: 3 号 > 2 号 > 4 号。

分解阶段 E_{a2} 均大于零, 且随温度升高, 均呈直线增加, 增幅随土样有所差异, 40 时 4 号土样较 10 时要高 604 倍, 2 号土样 40 较 10 时仅差 5.3 倍。 $E_{a2} > E_{a1}$, 反映出土壤酶促反应的分解更困难。

2.4 土壤脲酶酶促反应的活化焓 H 变化

表 5 显示, 复合物形成阶段的活化焓 H_1 , 除 4 号土样 10~30 处理和 2 号土样 10、20 处理外, 其余处理的活化焓均大于零, 表明在复合物形成阶段需要外界供给较高的能量来完成酶活性部位与反应物的互补契合; 不同土样的活化焓差异较大, 如 30 时, 1 号至 4 号供试土样的活化焓值依次为 17.70 、 19.28 、 37.82 和 $-2.56 \text{ kJ mol}^{-1}$, 最大相差 $40.38 \text{ kJ mol}^{-1}$, 揭示出由于各土样黏粒、有机质和阳离子代换量不同 (表 1), 使存在于黏粒和有机质上酶的构型有所区别, 最终使在形成活化络合物时与外界环境的能量需求有明显差异。

随温度变化,土壤脲酶活化焓 H_1 的变幅差异较大,如 4 号土样,10 和 40 处理相比相差 $75.39 \text{ kJ mol}^{-1}$,1 号土样相差也达到 $68.16 \text{ kJ mol}^{-1}$,而 2 号土样仅相差 $17.57 \text{ kJ mol}^{-1}$ 。

分解阶段活化焓 H_2 ,10 处理时除 4 号土样外,其余土样均大于零,揭示出分解阶段均为吸能过

程,且随温度的升高,吸收的能量也愈多;在同一温度(10 除外),将 H_2 排序得到:4 号 > 3 号 > 2 号 > 1 号,表明 1 号土样酶—基质复合物分解较容易,因而其酶活性较高,而 2 号土样则较难分解。且不同土样两温度下 H_2 的变幅小于 H_1 ,表明形成阶段受温度的影响较小。

表 5 供试土壤脲酶形成和分解阶段的热力学参数

Table 5 Thermodynamic parameters of urease in tested soils

土样编号 Soil sample No.	温度 Temperature	形成阶段 ¹⁾ Formation stage				分解阶段 ²⁾ Dissociation stage			
		E_{a1} (kJ mol^{-1})	H_1 (kJ mol^{-1})	S_1 (kJ mol^{-1})	G_1 (kJ mol^{-1})	E_{a2} (kJ mol^{-1})	H_2 (kJ mol^{-1})	S_2 (kJ mol^{-1})	G_2 (kJ mol^{-1})
1	10	-27.2	-29.63	-59.5	-12.79	6.48	4.13	-2.10	4.72
	20	-1.3	-3.76	33.0	-13.42	22.42	19.98	56.30	3.48
	30	20.2	17.70	107.1	-14.75	37.43	36.91	113.24	2.60
	40	41.1	38.54	170.9	-14.94	57.52	54.92	169.45	1.88
2	10	41.0	38.73	172.8	-10.17	11.84	9.49	16.84	4.72
	20	38.1	35.74	165.2	-12.68	28.88	26.44	78.37	3.48
	30	21.7	19.28	109.0	-13.77	45.93	43.41	134.69	2.60
	40	23.7	21.16	112.5	-14.07	62.97	60.37	186.86	1.88
3	10	0.9	6.59	59.2	-10.10	11.37	9.02	15.10	4.72
	20	24.6	22.18	103.5	-8.14	18.60	26.16	77.40	3.48
	30	40.3	37.82	154.3	-8.94	45.83	43.31	134.35	2.60
	40	56.1	53.57	207.2	-11.30	63.05	60.45	187.12	1.88
4	10	-35.7	-37.82	-95.4	-10.83	0.14	-2.21	-24.49	4.72
	20	-43.9	-46.34	-118.6	-11.66	28.88	26.44	78.37	3.48
	30	-0.04	-2.56	23.2	-9.59	57.62	55.10	173.27	2.60
	40	40.2	37.57	150.0	-9.37	86.36	83.76	261.59	1.88

1) $[S] \ll K_m$; 2) $[S] \gg K_m$

从整个酶促反应活化焓变(表 6)看出,除 2 号土样 10 和 20 处理外,其余土样脲酶 $H < 0$,表明酶促反应是一放热反应,揭示出土壤酶促反应不需要外界能量介入即可完成;在同一温度下,4 号土样 H 最小,放能最多,20 时甚至达到 $-72.79 \text{ kJ mol}^{-1}$,而 3 号土样仅放能 3.98 kJ mol^{-1} ,二者相差约 18 倍;随温度升高,1 号和 3 号土样的 H 降低,而其余土样基本呈上升趋势,其线性拟合相关系数分别为 -0.990^{**} 、 -0.9997^{**} 、 0.997^{**} 和 0.960^* 。反映出 4 号土样由于有机质含量较低,使得存在于其上脲酶不需要克服较大能障,便可与底物结合并解离,而 3 号土样则相反。

2.5 土壤脲酶酶促反应的活化熵 S 变化

由表 5 可看出除 4 号土样外,其余土样脲酶的 S_1 和 S_2 均大于零,反映出其脲酶在复合物形成和

分解阶段时有序性较差,混乱度大;不同土样脲酶 S_1 有明显差别,如 30 时 3 号土样为 154.3 J mol^{-1} 、4 号土样 23.2 J mol^{-1} ,二者相差 6.65 倍;同一土样的活化熵随温度升高除 1 号土样外,其余均增加,表明温度的升高使得 1 号土样形成脲酶—基质复合物时,酶的构型向着更有利于反应进行的方向变化,其余向着更困难的方向转化,为使反应得以进行,则需提供较多的能量。

整个反应活化焓变(表 6)4 号土样的 $S < 0$,3 号的 $S > 0$,显示出 4 号土样由于有机质较低,酶与底物较易契合互补,而 3 号则相反;2 号土样在 10 和 20 时的 $S > 0$,30 和 40 时的 $S < 0$,即随着温度的升高,构型发生变化,使得反应更易进行;供试土样中 4 号土样的熵值最低,2 号的变幅最大;随温度上升,1 号和 3 号土样的 S 降低,其余升高。可见尽管

1号、3号土样的 S_1 、 S_2 均随温度升高,但 S 却降低,表明对形成与分解两个阶段来讲,其有序性减弱,

酶促反应减缓,而整个反应的有序性却增强,利于反应的进行,所需消耗的能量降低。

表 6 整个酶促反应的热力学参数

Table 6 Thermodynamic parameters of enzyme-catalyzed reaction

土样编号 Soil sample No.	参数 Parameters	温度 Temperature			
		10	20	30	40
1	H (kJ mol ⁻¹)	- 33.75	- 23.74	- 19.21	- 16.38
	S (J mol ⁻¹)	- 57.37	- 23.33	- 6.4	1.4
	G (kJ mol ⁻¹)	- 17.51	- 16.90	- 17.35	- 16.82
2	H (kJ mol ⁻¹)	29.23	9.29	- 24.14	- 39.22
	S (J mol ⁻¹)	155.92	86.85	- 25.67	- 74.36
	G (kJ mol ⁻¹)	- 14.89	- 16.16	- 16.36	- 15.95
3	H (kJ mol ⁻¹)	- 2.43	- 3.98	- 5.49	- 6.89
	S (J mol ⁻¹)	44.05	26.08	19.98	20.09
	G (kJ mol ⁻¹)	- 14.90	- 11.62	- 11.54	- 13.18
4	H (kJ mol ⁻¹)	- 35.61	- 72.78	- 57.66	- 46.19
	S (J mol ⁻¹)	- 70.91	- 179.0	- 150.1	- 111.6
	G (kJ mol ⁻¹)	- 15.55	- 15.14	- 12.19	- 11.25

2.6 土壤脲酶活化自由能 G 变化

各土样脲酶的 $G_1 < 0$, $G_2 > 0$ (表 5), 反映出脲酶酶促反应中活化络合物的形成阶段是可自发进行的, 而分解阶段则相反, 佐证了过渡态理论中的“复合物解离过程是整个酶促反应的限速步骤”的结论^[9,10]。不同土样的 G_1 值有明显差异, 相同温度条件下, 各土样脲酶的 G_1 排序为 1 号 < 2 号 < 3 号 < 4 号。随温度的升高, 水稻土脲酶的活化自由能 G_1 降低, 表明反应的可能性进一步增加, 而另外两个供试土样呈无规律变化。

各土样脲酶的 G_2 均大于零, 显示出土壤类型、肥力水平等对酶促反应的复合物分解过程的可能性无显著影响, 且随温度升高而降低, 显示出反应进行的可能性增加。

整个反应的 G (表 6) 变化不大, 范围为 - 11.25 ~ - 17.51 kJ mol⁻¹, 均小于阿里耶夫得到的 - 4.64 ~ - 6.80 kJ mol⁻¹, 揭示酶促反应是自发进行的反应。在相同温度条件下, 2 号土样的 G 值最低, 表明其发生反应的可能性最大, 最容易; 10 ~ 30 时 3 号和 40 时 4 号土样的 G 最大。

综上所述, 不同土壤脲酶的热力学参数 Q_{10} 、 E_a 、 H 、 S 和 G 在复合物形成与分解阶段有明显差别, 两阶段土壤脲酶除个别处理外 E_a 、 H_1 、 H_2 、 S 均大于零, 揭示出形成和分解阶段酶促反

应的有序性较差, 混乱度较大, 需要外界提供更多能量来完成酶活性部位与反应物的互补契合以及解离; 酶促反应的复合物形成阶段各土样的 G_1 和整个反应的 G 、 H 均小于零, 表明形成阶段和整个酶促反应为一可自发进行的放热反应; 酶促反应的复合物分解阶段各土样的 G_2 均大于零, 表明土壤类型、肥力状况等对酶促反应的复合物分解过程的可能性无显著影响。可见将酶促反应复合物分为形成与分解阶段来分别计算热力学特征参数是可行的, 获得了更多的能够表征土壤酶促反应机理的信息。

参考文献

- [1] Dalal R C. Distribution, salinity, kinetic and thermodynamic characteristics of urease activity in vertisol profile. *Aust. J. Soil. Res.*, 1985, 23: 49 ~ 60
- [2] 朱铭毅, 白红英, 代伟. 陕西几种土壤过氧化氢酶的动力学和热力学特征. *西北农业大学学报*, 1989, 17(1): 20 ~ 25. Zhu M E, Bai H Y, Dai W. Study on soil peroxidase kinetic and thermodynamic characteristics in Shaanxi soils (In Chinese). *Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalis*, 1989, 17(1): 20 ~ 25
- [3] Aliyov S A, Gadjiyov D A. Kinetic and thermodynamic characteristics of Azerbaijan soils. *Soil Science*, 1984(11): 55 ~ 66
- [4] 和文祥, 朱铭毅, 周玲, 等. 有机肥对土壤脲酶活性特征的影响. *西北农业学报*, 1997, 6(2): 73 ~ 75. He W X, Zhu M E, Zhou L, et al. The soil urease activity characteristic affected by organic fertilizer (In Chinese). *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis*,

- 1997,6(2):73~75
- [5] 南京农学院主编. 土壤农化分析. 北京: 科学出版社, 1980. 33~139. Nanjing Agricultural College. ed. Method for Soil and Agrochemistry Analysis (In Chinese). Beijing: Science Press, 1980. 33~139
- [6] 关松荫编著. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986. Guan S Y. ed. Soil Enzyme and Its Research Methods (In Chinese). Beijing: Agriculture Press, 1986
- [7] 和文祥, 朱铭莪. 陕西土壤脲酶与土壤肥力关系研究. 土壤学报, 1997, 34(4): 392~398. He W X, Zhu M E. Study on the relationship between urease activity and soil fertility in Shaanxi (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 1997, 34(4): 392~398
- [8] 和文祥, 朱铭莪. 陕西土壤脲酶与土壤肥力关系研究. 土壤脲酶的动力学特征. 土壤学报, 1997, 34(1): 42~52. He W X, Zhu M E. Study on the relationship between urease activity and soil fertility in Shaanxi Urease kinetic characteristics (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 1997, 34(1): 42~52
- [9] 董元彦, 李宝华, 路福绥主编. 物理化学. 北京: 科学出版社, 2000. Dong Y Y, Li B H, Lu F S. eds. Physical-chemistry (In Chinese). Beijing: Science Press, 2000
- [10] Garely Morris J. 著. 王荻, 译. 生物学工作者的物理化学. 北京: 科学出版社, 1981. Garely Morris J. ed. Wang D, trans. Physical Chemistry for Biological Researcher (In Chinese). Beijing: Science Press, 1981
- [11] Acosta-Martinez V, Tabatabai M A. Inhibition of arylamidase activity in soils by toluene. Soil Biol. Biochem., 2002, 34: 229~237
- [12] Frankenberger Jr W T, Johanson J B. Factors affecting invertase activity in soils. Plant and Soil, 1983, 74(3): 313~323
- [13] Moyo C C, Kissek D E, Cabrera M L. Temperature effects on soil urease activity. Soil Biol. Biochem., 1989, 21: 935~938
- [14] 和文祥, 朱铭莪. 温度和底物对陕西土壤脲酶活性的影响. 西北农业大学学报, 1998, 26(5): 15~19. He W X, Zhu M E. Effect of temperature and substrate on soil urease activity (In Chinese). Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalis, 1998, 26(5): 15~19

THERMODYNAMIC CHARACTERISTICS OF UREASE IN SOILS OF SHAANXI PROVINCE

He Wenxiang^{1,2} Zhu Ming'e¹ Zhang Yiping¹ Sun Tieheng²

(1 College of Resource and Environment, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

(2 Shenyang Key Laboratory of Environmental Engineer, Shenyang 110044, China)

Abstract Thermodynamic characteristics of urease in four Shaanxi soils (Hap-stagnic Anthrosols, Cal-Ustic Luvisols and Eum-Orthic Anthrosols) were systematically studied based on the relationship between kinetic parameters of soil urease and temperature, and classical enzymological theory. Results show that enzyme-catalyzed reaction could be divided into two steps, namely, formation of enzyme-substance complex (ES) and dissociation of the ES, of which the thermodynamic functions could thus be calculated, separately, and more information obtained of the mechanism of the enzyme-catalyzed reaction. The four soil samples differed significantly in temperature coefficient Q_{10} , activation energy E_a , enthalpy of activation H , activation entropy S and activation free energy G , in the two steps. Q_{10} of the soil urease ranged between 0.83 to 2.48, lower than the Q_{10} in normal chemical reactions. The values of E_a , H_1 , H_2 and S of the soil urease in both steps were all positive except for in some individual treatments, suggesting more confusion and less ordering of the reaction, which means that more external energy is needed to complete the enzyme catalyzed reaction. The G_1 in the step of ES formation and the G and H of the enzyme reaction were all negative, indicating that ES formation and the entire enzyme catalyzed reaction is a spontaneous, heat-releasing process. The G_2 of ES dissociation was positive with no difference between samples, which means that type and fertility of the soils had minor influence on this reaction. It was also verified that the ES dissociation was a rate-limiting step of the reaction. This work provides a better understanding of the subtle differences in mechanisms of the enzyme-catalyzed reactions between different soils.

Key words Thermodynamic characteristics; Soil urease; Shaanxi soils