

# 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\*

赵振华 黄巧云 李学垣 郭学军

(华中农业大学资源与环境学院, 武汉 430070)

**摘要** 研究了不同 pH 和乙酸浓度下, 乙酸对酸性磷酸酶和牛血清白蛋白(BSA)在土壤胶体、矿物表面吸附的影响。结果表明, 在 pH 2~ 8 的乙酸体系中, 酸性磷酸酶和 BSA 在胶体矿物表面的最大吸附 pH 值一般出现在蛋白的等电点和矿物的电荷零点(PZC)之间。各土壤胶体和粘粒矿物对酶和 BSA 的吸附量大小顺序为: 针铁矿 > 黄棕壤 > 砖红壤 > 高岭石 > 二氧化锰。乙酸浓度对蛋白分子在胶体矿物表面的吸附量和吸附结合能具有较显著影响, 在 0~ 200 mmol L<sup>-1</sup> 范围, 随着乙酸浓度的增加, 蛋白吸附量呈现出先升高, 后降低, 再稳定的趋势, 而吸附结合能的变化与此相反。本文还就乙酸对酶和 BSA 吸附影响的可能机理进行了初步探讨。

**关键词** 胶体矿物, 吸附, 乙酸, BSA, 酸性磷酸酶

**中图分类号** S154.2

土壤酶是推动土壤新陈代谢的重要有机物质, 其中磷酸酶在土壤磷的转化、循环中起着重要作用。酶在土壤中的存在状态(如游离、被土壤胶体、矿物固定等)直接影响到其活性<sup>[1]</sup>。酶在土壤固相表面的吸附固定既决定于酶本身的性质<sup>[2,3]</sup>和胶体表面特性<sup>[4]</sup>, 还受到一系列环境条件及体系中共存的各种无机、有机离子的影响。土壤体系中特别是根际土壤中, 各种低分子量有机酸数量丰富, 种类较多<sup>[5,6]</sup>, 它们的存在对蛋白质、酶分子的存在状况及其与胶体的相互作用势必产生影响。然而, 到目前为止, 有关这方面的报道还很少见。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。本研究以可变电荷土壤中常见的几种矿物和两种土壤胶体为对象, 探讨根系分泌物中常见的乙酸对牛血清白蛋白和酸性磷酸酶在矿物、胶体表面吸附的影响。

### 1 材料和方法

#### 1.1 酶和牛血清白蛋白

酸性磷酸酶(EC3.13.2, Type II, 0.8 units mg<sup>-1</sup>, from potato, 分子量约 100 kDa)和牛血清白蛋白(BSA, 分子量约 67 kDa<sup>[7]</sup>)分别购于 Sigma 公司和 B. M. 公司。

#### 1.2 土壤胶体和粘粒矿物制备

供试土壤为湖北孝感第四纪 Q3(晚更新世)母质发育的黄棕壤(0~ 20 cm)和海南东山峙花岗岩母质发育的砖红壤(17~ 35 cm); 高岭土为化学试剂。以上土壤和矿物制成悬浊液后以 0.1 mol L<sup>-1</sup> 的 NaOH 调 pH 至中性, 超声波分散, 沉降法分离小于 2 μm 的粘粒, 用 0.5 mol L<sup>-1</sup> 的 CaCl<sub>2</sub> 絮凝, 去离子水和酒精洗至无 Cl<sup>-</sup> 离子, 45℃ 烘干, 研磨, 过 100 目筛备用。针铁矿和 δ-MnO<sub>2</sub>, 分别按 Atkinson 和 Paridu<sup>[8,9]</sup> 的方法合成, 电渗析除去游离的离子, 过滤, 45℃ 烘干, 研磨后过 100 目筛备用。制备的土壤胶体和矿物的主

\* 国家自然科学基金项目(49601011)

收稿日期: 2001-04-08; 收到修改稿日期: 2001-12-11

要性状列于表 1。

表 1 土壤胶体和粘土矿物某些基本性质  
Table 1 Selected properties of soil colloid and clay minerals

粘粒矿物 Clay minerals	有机质 Organic matter (g kg <sup>-1</sup> )	比表面 Specific surface area (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	电荷零点 PZC	矿物组成 Mineral composition
高岭土		20	3.61	高岭石
针铁矿		83	8.27	针铁矿
δ-MnO <sub>2</sub>		277	2.5	δ-MnO <sub>2</sub>
黄棕壤	10.9	245	2.9	伊利石(63) <sup>1)</sup> , 1.4 nm 矿物(19), 高岭石(14), 游离氧化铁(4)
砖红壤	5.86	84	3.85	高岭石(86), 伊利石和三水铝 石(微量), 游离氧化铁(9)

1) 括号中的数字表示各矿物的百分含量。The number in bracket is percentage of minerals

### 1.3 土壤胶体和粘土矿物悬浊液制备

称取 2.5 g 土壤胶体于锥形瓶中, 加适量去离子水, 以 0.1 mmol L<sup>-1</sup> 盐酸或氢氧化钠每隔 2h 调悬浊液的 pH, 直至稳定在 5.5(约需一周)。

### 1.4 土壤胶体矿物对酸性磷酸酶和白蛋白的等温吸附试验

在磁力搅拌下吸取土壤悬浊液 1ml 于 10 ml 的贝克曼离心管中, 加入浓度为 0~2 000 μg ml<sup>-1</sup>、pH5.5 的酶或 BSA 溶液 1ml, 然后加入 1ml pH5.5 的乙酸钠溶液(0~200 mmol L<sup>-1</sup>, 以 0.15 mol L<sup>-1</sup> NaCl 作支持电解质)。25℃ 下振荡 3h, 静置 1h, 12 000 r min<sup>-1</sup> 离心, 用 Folin-酚试剂法测定上清液中蛋白质的含量。各体系中加入蛋白质的总量扣除上清液中的蛋白量, 即为土壤胶体和粘粒矿物对酶和白蛋白的吸附量。

### 1.5 不同 pH 值下土壤胶体和粘粒矿物对 BSA 和磷酸酶的吸附

分别称取 14 份 1.021 g 的乙酸钠, 加入 0.219 g 的 NaCl, 加适量水溶解后, 以 HCl 或 NaOH 调溶液到以下 pH 值: 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 4.7, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 和 8.0, 将各溶液定容至 25 ml, 此系列 pH 的乙酸钠溶液浓度为 300 mmol L<sup>-1</sup>。按 1.4 的步骤测定不同 pH 乙酸体系中黄棕壤、砖红壤、高岭石、针铁矿和 δ-MnO<sub>2</sub> 对 BSA 和磷酸酶(1 500 μg ml<sup>-1</sup>) 的吸附量及离心后上清液的 pH 值。

### 1.6 不同乙酸浓度体系中, 土壤胶体和粘粒矿物对酸性磷酸酶和 BSA 的吸附

分别配制 pH5.5 的 0、3、9、15、30、60、105、150、300、600 mmol L<sup>-1</sup> 的乙酸钠溶液(含 0.15 mol L<sup>-1</sup> NaCl)。试验时, 分别吸取 pH5.5 的土壤悬浊液、1 000 μg ml<sup>-1</sup> 的蛋白溶液和上述乙酸钠溶液各 1 ml 于离心管中, 其它步骤和 1.4 相同。

### 1.7 酶和牛血清白蛋白的测定: Folin-酚试剂法

吸取 0.2 ml 含 0~600 μg ml<sup>-1</sup> 的酶或牛血清白蛋白溶液于玻璃试管中, 加入 1 ml 的福林试剂甲, 摇匀, 室温下放置 10 分钟, 加入 0.1 ml 的福林试剂乙, 立即混匀, 于 40℃ 水浴中恒温 30 分钟, 以不含蛋白质的试剂空白做对照, 在 VIS-7220 型分光光度计上比色测定, 测定波长为 650 nm。以上试验均设置三次重复。

## 2 结果和分析

### 2.1 乙酸体系中土壤胶体和矿物对 BSA 和酸性磷酸酶的等温吸附曲线

供试土壤胶体、矿物在乙酸体系中对 BSA 和酸性磷酸酶的等温吸附曲线绘于图 1, 根据 Giles 的等温吸附曲线分类, 供试土壤胶体和矿物对酸性磷酸酶的等温吸附曲线均属于 L 型<sup>[10]</sup>, 即随着体系中酶浓度的增加, 土壤胶体、矿物对酶的吸附量缓慢上升, 最后达到平衡。乙酸浓度的变化对酶的吸附等温线形状没有显著影响。针铁矿、黄棕壤和砖红壤对牛血清白蛋白的等温吸附曲线属于 H 型(高亲和力和型), 或者随乙酸浓度的升高, 逐渐由 L 型向 H 型, 再向 L 型转变, 这似乎说明供试的几种胶体、矿物对

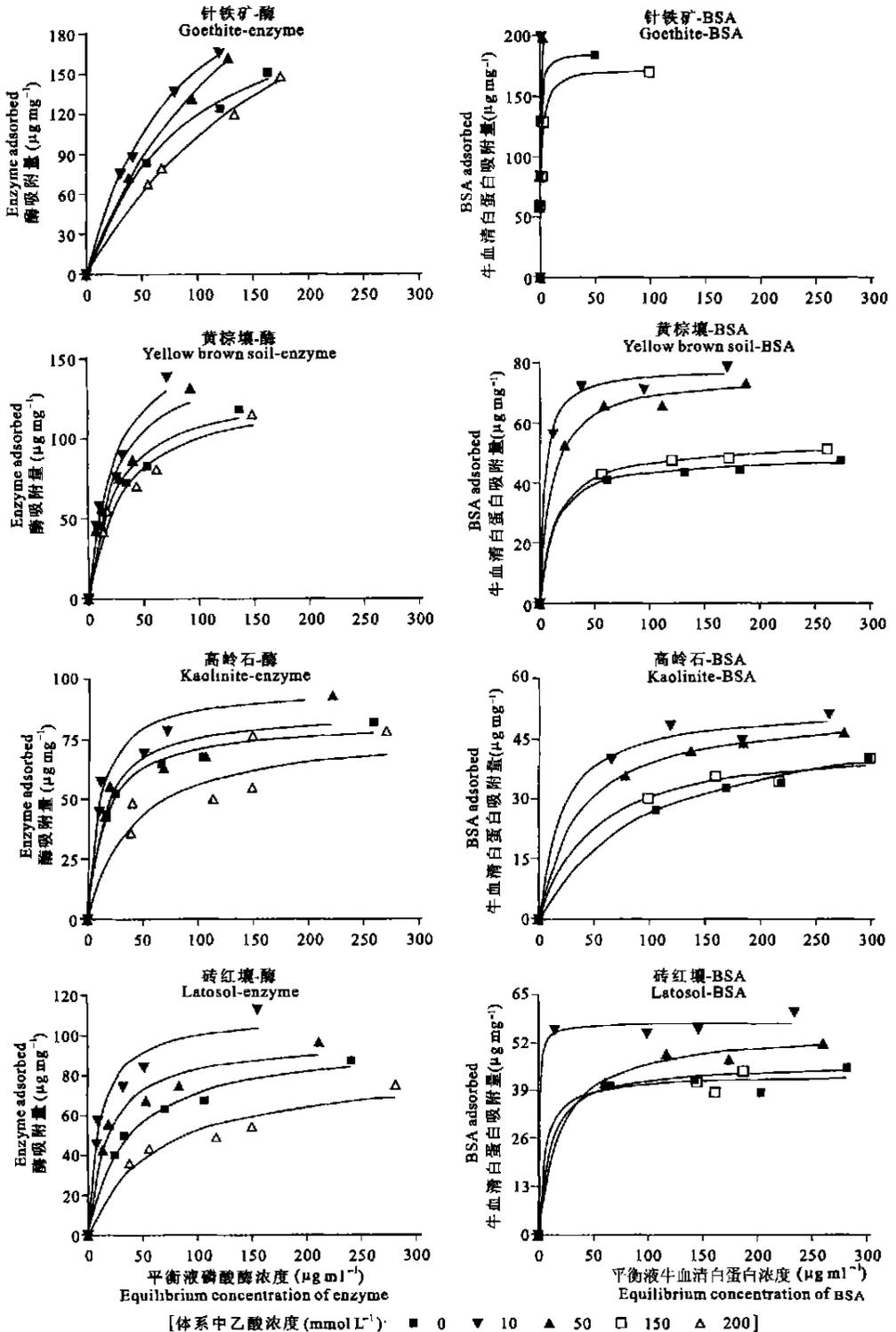


图1 乙酸体系中,土壤胶体、矿物对BSA和磷酸酶的吸附等温曲线

Fig. 1 Adsorption isotherms of BSA and acid phosphatase on soil colloids and clay minerals in acetate systems

小分子蛋白质具有更高的亲和力。

在供试的乙酸浓度范围,除针铁矿对 BSA 的吸附外,其它粘粒矿物对 BSA 和酸性磷酸酶的等温吸附曲线均符合 Langmuir 方程(表 2),  $X = B_{\max}KC/(1+KC)$ , ( $R^2 > 0.95$ ), 其中  $X$  表示单位吸附载体对溶质的吸附量,  $B_{\max}$  是溶质的最大吸附量,  $K$  是与吸附结合能有关的常数,  $C$  是溶液中溶质的平衡浓度。在所有体系中,随着乙酸浓度的升高,  $K$  值均经历先下降(乙酸浓度小于  $10 \text{ mmol L}^{-1}$ )后升高(乙酸浓度为  $10 \sim 200 \text{ mmol L}^{-1}$ )的过程,而最大吸附量  $B_{\max}$  的变化则相反。例如高岭石对酸性磷酸酶的吸附,当乙酸的浓度为  $0, 10, 50$  和  $200 \text{ mmol L}^{-1}$  时,对应的  $K$  值分别为  $15, 10, 13$  和  $39$ , 相应的  $B_{\max}$  值则为  $82, 95, 86$  和  $79$ 。说明体系中乙酸浓度的变化,会明显影响蛋白分子在粘土矿物表面的吸附量和吸附结合能。另外,两种土壤胶体对 BSA 的吸附结合能( $K$ )均小于对磷酸酶的,而针铁矿和高岭石则正好相反,这可能与土壤胶体和矿物之间的物质组成(如有机质)及表面性质等的不同有关。

表 2 土壤胶体、矿物等温吸附 BSA 和磷酸酶拟合 Langmuir 方程的有关参数

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

样品 Sample	土壤胶体和矿物 Soil colloid and mineral	参数 Parameter	乙酸浓度 Concentration of acetate ( $\text{mmol L}^{-1}$ )				
			0	10	50	150	200
酸性磷酸酶 Acid phosphatase	针铁矿 Goethite	$B_{\max}$	230	284	363		322
		$K$	92.5	86.5	161.2		212.9
		$R^2$	0.995	0.998	0.998		0.998
	黄棕壤 Yellow brown soil	$B_{\max}$	134	173	155		132
		$K$	24.3	23.2	23.7		30.6
		$R^2$	0.982	0.956	0.951		0.974
	高岭石 Kaolinite	$B_{\max}$	82.2	95.9	86.3		78.8
		$K$	14.8	9.9	13.4		39.1
		$R^2$	0.988	0.954	0.931		0.908
		$B_{\max}$	96.5	111	97.6		83.8
		$K$	35.6	11.1	17.6		60.5
		$R^2$	0.990	0.961	0.971		0.957
牛血清白蛋白 BSA	针铁矿 Goethite	$B_{\max}$	—	—	—		—
		$K$	—	—	—		—
		$R^2$	—	—	—		—
	黄棕壤 Yellow brown soil	$B_{\max}$	49.1	76.2	76.2		53.8
		$K$	12.4	3.6	10.4		14.4
		$R^2$	0.999	0.983	0.995		0.999
	高岭石 Kaolinite	$B_{\max}$	52.1	53.5	52.9		45.1
		$K$	97.0	19.8	35.7		47.7
		$R^2$	0.995	0.988	0.999		0.992
		$B_{\max}$	43.4	57.4	55.2		46.1
		$K$	6.2	0.7	19.2		10.6
		$R^2$	0.985	0.994	0.996		0.996

## 2.2 乙酸浓度对土壤胶体、矿物吸附酸性磷酸酶和 BSA 的影响

由图 2 可见,当加入的酶或 BSA 浓度为  $1000 \mu\text{g ml}^{-1}$  时,乙酸浓度的变化对针铁矿吸附 BSA 和酶的影响比较小,这与针铁矿对两种蛋白的吸附量较高有关。但对其它粘粒矿物和土壤胶体而言,当乙酸浓度从  $0$  增加到  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  时,BSA 和磷酸酶的吸附量呈上升的趋势,乙酸浓度增加到  $10 \sim 50 \text{ mmol L}^{-1}$

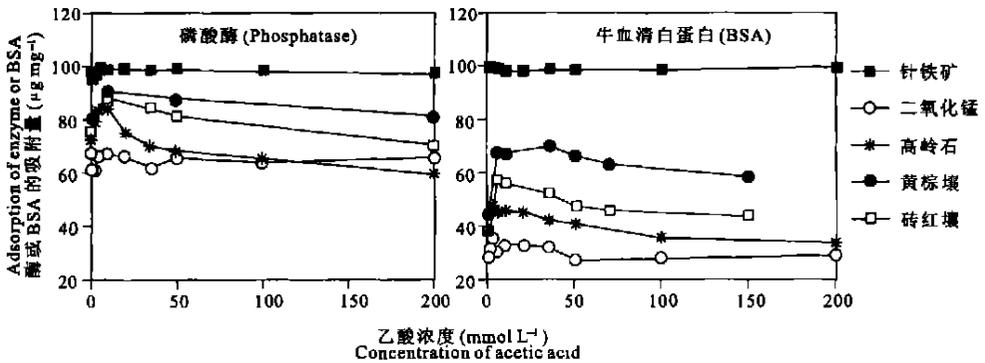


图2 不同浓度乙酸体系中, BSA 和酸性磷酸酶的吸附

Fig. 2 Adsorption of BSA and acid phosphatase in systems with different acetate concentrations

时, 吸附量逐渐下降但仍高于对照。在 50~200 mmol L<sup>-1</sup> 乙酸体系中, 蛋白的吸附量逐渐稳定在与对照相当或略低的水平。乙酸浓度变化对酶和蛋白质吸附影响的趋势因土壤胶体、矿物的不同而有所差异, 在砖红壤、高岭石和黄棕壤体系中, 这种趋势比较明显。

图2的结果还表明, 在 0~200 mmol L<sup>-1</sup> 的乙酸浓度范围, 供试土壤胶体和矿物对牛血清白蛋白和酸性磷酸酶的吸附量大小顺序为: 针铁矿 >> 黄棕壤 > 砖红壤 > 高岭石 > 二氧化锰。可见针铁矿对 BSA 和酶的吸附量均远远大于其它胶体矿物。由表1可知, 供试的黄棕壤胶体主要由伊利石、1.4 nm 矿物和高岭石组成; 而砖红壤胶体成分以高岭石为主, 结合吸附试验的结果来看, 在这些土壤胶体中, 虽然铁氧化物的含量较低, 但其对酶及蛋白质的吸附贡献却不容忽视。值得注意的是, 供试的二氧化锰虽同属氧化物且具有较高的比表面, 但它的蛋白吸附量却很低, 这可能与其组成中含有一定比例的非晶形物质有关, 非晶形物质虽然比表面较大, 但其表面主要由微孔组成, 这些众多的微孔可能并不是吸附蛋白质的有效表面。Huang 等的结果也证实, 非晶形铁、铝氧化物对脲酶和蔗糖酶的吸附低于相应的晶形氧化物<sup>[1]</sup>。

### 2.3 体系 pH 值对土壤胶体、矿物吸附 BSA 和酸性磷酸酶的影响

由图3可见, BSA 和酸性磷酸酶在供试的土壤胶体和矿物上的吸附百分率是随 pH 变化而变化的。当加入的蛋白浓度为 1 500 μg ml<sup>-1</sup> 时, 针铁矿、黄棕壤、高岭石、砖红壤和二氧化锰对 BSA 的吸附分别在 pH 6.04 (100%)、4.18 (73%)、4.01 (43%)、3.98 (36%) 和 4.04 (47%) 达到最大吸附; 而酸性磷酸酶在对应的土壤胶体和矿物上的吸附分别在 pH 6.8 (86%)、3.34 (92%)、3.9 (84%)、3.88 (71%) 和 5.0 (66%) 时达到最大。

由表1可知, 除针铁矿的 PZC 为 8.27 外, 其它矿物和土壤胶体的 PZC 均处于 2.5~4.0 之间, 而 BSA 和酸性磷酸酶的等电数值 (IEP) 分别为 4.7 和 5.0<sup>[6]</sup>, 结合图3的结果可以发现: 供试各胶体矿物对蛋白质分子的最大吸附 pH 值均处于胶体矿物的 PZC 和蛋白质分子的 IEP 之间。对两种土壤胶体、高岭石和 δ-MnO<sub>2</sub> 而言, 在不同 pH 的乙酸体系中, 蛋白与粘粒矿物的相互作用可用图4来描述: III区位于胶体矿物的 PZC 和蛋白质的 IEP 之间, 蛋白与粘粒矿物带异号电荷, 且由于靠近蛋白质的等电点, 在胶体矿物表面的蛋白分子间的静电排斥力也较小, 这样, 在静电引力和非静电力的共同作用下蛋白达到最大吸附; 在图中的 II (pH 值=胶体矿物 PZC 数值) 和 IV (pH 值=蛋白分子的 IEP) 处, 蛋白质和粘粒矿物间的静电作用较小, 虽有非静电力的作用, 但它们的蛋白吸附量仍低于 III区; I 区 (pH 值 < 胶体矿物 PZC 数值) 与 V 区 (pH > 蛋白分子的 IEP) 中蛋白和胶体矿物带同号电荷, 且吸附在粘粒矿物表面的蛋白分子间的静电排斥力也比较大, 蛋白主要依靠非静电力如疏水力、氢键等吸附在胶体矿物表面, 因此这两个区的蛋白吸附量比较低。针铁矿由于较高 PZC, 在本试验条件下均带正电荷, 因此它的最大吸附 pH 出现在 6.0 以上。

乙酸浓度的变化对 pH-吸附率曲线的形状并没有显著的影响, 但使吸附曲线产生一定的位移。以黄棕壤对 BSA (1 000 μg ml<sup>-1</sup>) 吸附为例 (图5), 当乙酸的浓度为 100、20、5 mmol L<sup>-1</sup> 时, 对应的最大吸附量 pH 分别为: 3.48、3.62、4.18, 可见乙酸浓度的降低使 BSA 吸附曲线整体向高 pH 值移动约一个单位。在

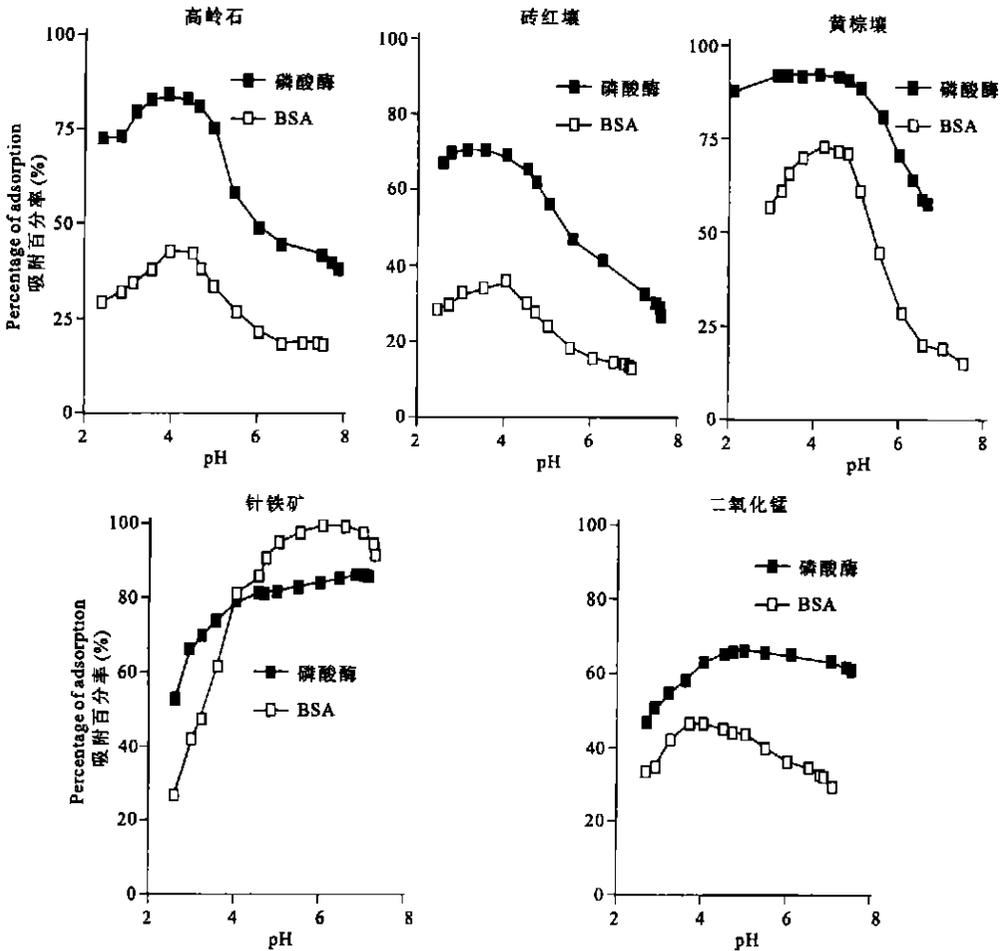


图3 不同 pH 下土壤胶体、矿物对 BSA 和磷酸酶的吸附曲线

Fig. 3 Percentage of BSA and acid phosphatase adsorption by soil colloids &amp; minerals at different pH

pH 4.0~ 6.5 之间, 乙酸浓度变化对蛋白吸附量的影响与等温吸附和乙酸系列浓度的结果相一致。

### 3 讨论

在供试的不同浓度乙酸体系中, 土壤胶体、矿物对蛋白质和酸性磷酸酶吸附等温线及吸附量的结果表明, 针铁矿对酶和 BSA 的吸附受乙酸浓度变化的影响较小, 其它矿物及两种土壤胶体基本上符合以下趋势: 低浓度乙酸促进酶和蛋白的吸附, 中等浓度乙酸使酶和蛋白的吸附出现轻微抑制但仍高于对照, 高浓度乙酸则使酶和蛋白的吸附稳定在与对照相当或略低的水平。而吸附结合能的变化则与上述趋势相反。乙酸对供试胶体矿物吸附酶和蛋白质分子的上述影响规律可能主要有以下两方面的原因: (1) 乙酸和蛋白形成复合物使蛋白的动电性质发生变化。Str<sup>2+</sup>ter 用 X- 射线衍射研究菜豆紫色酸性磷酸酶的晶体结构时发现在离活性中心 Zn 原子 0.9 nm 处有一个小的、极性的空穴可能被  $\text{SO}_4^{2-}$  或乙酸根占据, 说明乙酸能和酸性磷酸酶形成复合物<sup>[12]</sup>。在无缓冲液情况下, 呼吸道肠道三型病毒的最佳团聚 pH 在 3~ 4 之间, 但 Floyd 和 Sharp 发现, 病毒在 pH5~ 6 的乙酸缓冲液中比其它缓冲液(如磷酸)更容易团聚<sup>[13]</sup>。Taylor 与 Bosmann 则用电泳的方法确证了乙酸可使该病毒的等电点由 3.8 升高到 4.8, 并能减少病毒表面的负电荷, 说明乙酸与病毒的蛋白质外壳发生了相互作用<sup>[14]</sup>。因此, 在乙酸体系中, BSA 和磷酸酶分子与乙酸形成的复合物可能由于其等电点等动电性质与游离 BSA 或酶的差异, 而对其在胶体矿

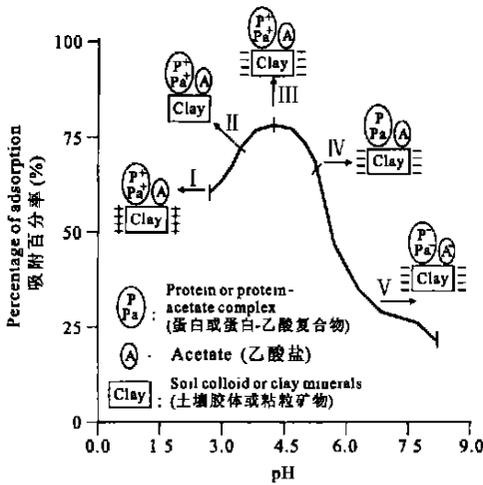


图4 不同 pH 下蛋白质和粘粒矿物相互作用示意图

Fig.4 Interaction between proteins and clay minerals at different pH

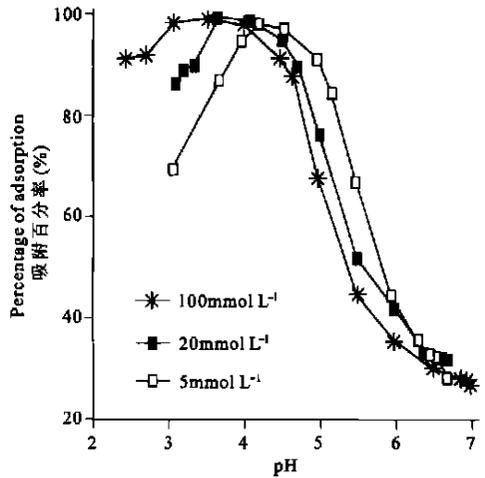


图5 乙酸浓度变化对黄棕壤胶体表面 BSA 的 pH- 吸附率曲线的影响

Fig.5 Effect of acetate concentration on the pH-adsorption profiles of BSA on yellow brown soil colloid

物表面的吸附行为产生影响。如图 5 所示,当体系 pH 为 5.5 时,低浓度乙酸时蛋白的吸附量明显高于高浓度乙酸时的蛋白吸附量。(2) 乙酸的桥接和竞争作用。在乙酸、蛋白质和胶体矿物体系中,蛋白质分子在胶体矿物表面的吸附可能存在两种情况,一种是蛋白质分子直接和胶体矿物表面发生作用,另一种是以蛋白-乙酸复合物的形式固定在矿物的表面,即乙酸在蛋白质分子与矿物之间起着桥接作用。当乙酸浓度较低( $< 10 \text{ mmol L}^{-1}$ )时,大部分乙酸可能与蛋白质分子形成复合物,溶液中与蛋白-乙酸复合物竞争胶体矿物表面吸附点位的游离乙酸比较少,蛋白分子除了占据它正常的吸附点位之外,还可借助乙酸的桥接作用以蛋白-乙酸复合物的形式被胶体矿物吸附,此时乙酸表现为一种促进蛋白分子吸附的作用。当乙酸浓度进一步增加时( $10 \sim 50 \text{ mmol L}^{-1}$ ),乙酸除了和蛋白分子形成复合物外,溶液中还会有一定的游离乙酸与蛋白-乙酸复合物竞争粘粒矿物表面的吸附点位,这时乙酸开始在一定程度上对蛋白分子的吸附表现出抑制作用。当乙酸浓度升高到  $200 \text{ mmol L}^{-1}$  时,大量游离乙酸与蛋白或蛋白-乙酸复合物竞争粘粒矿物的表面点位,结果导致蛋白的吸附量进一步降低。

#### 4 结论

体系中乙酸的存在,使酶和蛋白质在土壤胶体和矿物表面的吸附量和吸附结合能发生了显著的变化,乙酸浓度由低到高,蛋白的最大吸附量相应经历先增后减再稳定的过程,而吸附结合能的变化与此相反。在乙酸体系中,各粘粒矿物对蛋白的吸附量均符合以下顺序:针铁矿  $>$  黄棕壤  $>$  砖红壤  $>$  高岭石  $>$  二氧化锰。蛋白分子在胶体矿物表面的最大吸附 pH 值一般出现在蛋白分子的等电点和矿物的 PZC 数值之间。鉴于乙酸对供试土壤胶体、矿物吸附酶和 BSA 的影响,在进行酶、蛋白质等有机物与土壤组分相互作用以及有关的土壤酶学研究工作中,应注意乙酸本身对试验结果的影响。

#### 参考文献

1. Rao M A, Violante A, Gianfreda L. Interaction of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes: kinetics and stability. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32: 1 007- 1 014
2. Quiquampoix H, Abadie J, Baron M H, *et al.* Mechanisms and consequences of protein adsorption on soil mineral surfaces. In: Hobert T A, and Brash J L. eds. *Protein at Interfaces II*, ACS Symposium Series No. 602. Washington, D.C.: American Chemical Society, 1995. 321- 333
3. Servagent-Noynville S, Revault M, Quiquampoix H, *et al.* Conformational changes of Bovine Serum Albumin induced by ad-

- sorption on different clay surfaces: FTIR analysis. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2000, 221: 273~ 283
4. Naidja A, Huang P M, Bollag J M. Enzyme-clay interactions and their impact on transformations of natural and anthropogenic organic compounds in soil. *Journal of Environmental Quality*, 2000, 29(3): 677~ 691
  5. Shen Yin, Lena Ståm, Jan-AKE Jönsson *et al.* Low-molecular organic acids in the rhizosphere soil solution of beech forest (*Fagus sylvatica* L.) cambisols determined by ion chromatography using supported liquid membrane enrichment technique. *Soil Biology & Biochemistry*, 1996, 28(9): 1 163~ 1 169
  6. Grienson P F. Organic acids in the rhizosphere of *Banksia Integrifolia* L. F. *Plant and soil*, 1992, 144: 259~ 265
  7. Rao M A, Gianfreda L, Palmiero F, *et al.* Interactions of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes. *Soil Science*, 1996, 161(11): 751~ 760
  8. Atkinson R J, Posnel A M, Quisk J P. Adsorption of potential-determining ion at ferrous aqueous electrolyte interface. *J. Phys. Chem.*, 1967, 71(3): 551~ 560
  9. Paridul K M. Studies on MnO<sub>2</sub> I. Chemical composition microstructure and other characteristics of some synthetic MnO<sub>2</sub> of various crystalline modifications. *Electrochim. Acta*, 1981, 26(3): 435~ 443
  10. Giles C H, MacEwan T H, Nakhwa S N, *et al.* 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. *Journal of the Chemical Society*, 1960, 56: 3 973~ 3 993
  11. Huang Q Y, Jiang M H, Li X Y. Effects of iron and aluminum oxides and kaolinite on adsorption and activity of invertase. *Pedosphere*, 1998, 8: 251~ 260
  12. Sträter N, Klabunde T, Tucker P, *et al.* Crystal structure of a purple acid phosphatase containing a dinuclear Fe ( III)-Zn( II ) active site. *Science*, 1995, 268: 1 489~ 1 492
  13. Floyd R, Sharp G. Viral aggregation: Effects of salt on the aggregation of poliovirus and reovirus at low pH. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1978, 35: 1 084~ 1 094
  14. Taylor D H, Bosmann H B. The electrokinetic properties of reovirus type 3: electrophoretic mobility and zeta potential in dilute electrolytes. *J. Colloids & Interface Sci.*, 1981, 83(1): 153~ 162

## EFFECTS OF LOW-MOLECULAR ORGANIC ACIDS ON ADSORPTION OF ACID PHOSPHATASE AND BSA BY SOIL COLLOID AND CLAY MINERALS

### I. EFFECTS OF ACETIC ACID

Zhao Zhen-hua Huang Qiao-yun Li Xue-yuan Guo Xue-jun  
(College of Resource & Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

#### Summary

Effects of pH and acetate concentration on the adsorption of acid phosphatase and BSA by soil colloid and clay minerals (SCCM) were studied. The results showed that the pH for the maximum adsorption of enzyme and BSA were between the IEP of protein and the PZC of SCCM. In the acetate systems, the amount of enzyme and BSA adsorbed by SCCM increased in the order goethite >> yellow brown soil > latosol > kaolinite > δ-MnO<sub>2</sub>. Remarkable influences of acetate concentration on the amount of adsorption and the binding energy of enzyme and BSA were observed. With the increase in acetic acid concentration from 0 to 200 mmol L<sup>-1</sup> in the system, acetic acid exhibited an initial enhancing effect followed by an inhibiting action on the adsorption of enzyme and BSA on SCCM. The changes in binding energy (K value) for enzyme and BSA by SCCM were contrary to the trend for maximum adsorption. The possible mechanisms for the influence of acetate on the adsorption of enzyme and BSA by SCCM were discussed.

**Key words** Colloid minerals, Adsorption, Acetic acid, BSA, Acid phosphatase