

重金属复合污染下土壤微生物群落功能多样性动力学特征*

滕 应^{1,2,3} 黄昌勇¹ 骆永明^{2,3} 龙 健¹ 姚槐应¹ 李振高^{2,3}

(1 浙江大学环境与资源学院, 杭州 310029)

(2 中国科学院南京土壤研究所土壤与环境生物修复研究中心, 南京 210008)

(3 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

摘 要 用碳素利用法对浙江省天台铅锌银尾矿区重金属复合污染土壤微生物群落功能多样性动力学特征进行了初步探讨。研究表明, 矿区重金属复合污染降低了供试土壤的微生物群落代谢剖面, 且群落代谢剖面值与培养时间之间呈非线性关系, 其变化过程符合微生物种群生长动态模型(S形)。随着重金属复合污染程度的加剧, 土壤微生物群落功能多样性动力学参数 K 和 r 值越低, 参数 s 值所需的时间则越长。上述动力学参数与群落代谢剖面各自的主成分分析结果显示, 微生物群落功能多样性的动力学参数 K 值和 s 值能够很好地区分矿区土壤重金属污染程度, 并且其区分效果比微生物群落代谢剖面值好。土壤微生物群落功能多样性动力学特征的变化可以较好地显示矿区重金属复合污染土壤微生物群落对碳源利用模式的差异, 反映矿区特定生境土壤微生物群落功能多样性的变化, 在一定程度上揭示重金属胁迫下环境微生物种群作用机理。

关键词 重金属复合污染; 土壤微生物群落功能多样性; 动力学参数

中图分类号 S154.36 文献标识码 A

目前, 用来定量描述土壤微生物群落功能多样性的方法多数是碳素利用法(BIOLOG 测试系统), 即根据不同微生物类群对 BIOLOG 盘 95 个孔中不同碳源底物的代谢差异, 引起孔中颜色变化, 测定其吸光度平均值(AVERAGE WELL COLOR DEVELOPMENT, AWCD)来指示微生物群落功能代谢能力。然而, 这里获得的 AWCD 值是指某一特定时间的颜色变化程度, 只能反映某一指定时间土壤微生物群落功能多样性的代谢程度。实际上, 这种指示存在着一定的局限性, 随培养时间和接种浓度的大小而变化^[1]。Lindstrom 等曾试图通过建立 BIOLOG 盘 95 孔颜色变化动态方程, 来反映连续时段内微生物群落功能多样性的整体变化, 以克服接种密度和培养时间对结果的影响^[2]。近 3 年来, 我们对中国南方有色金属矿区, 重金属复合污染红壤的微生物生态效应, 包括微生物生物量、呼吸作用、酶活性和微生物生理类群及群落功能多样性等作了一些研究, 其结果表明土壤微生物群落功能多样性能较好地反映矿区红壤微生物生态系统的稳定性^[3-4]。在矿区红壤环境微生物生态修复中, 曾采用不同的修复措施,

如添加有机物料和种植植物等, 改善了红壤微生物群落结构功能多样性, 也有利于提高矿区生境土壤微生物生态系统的稳定性, 结果未发表, 但是对这些修复措施的微生物学过程和微生物群落功能多样性动力学特征目前知之甚少。据此, 本文拟选择矿区几个重金属污染程度不同的红壤作为研究对象, 对重金属复合污染条件下土壤微生物群落功能多样性的动力学特征进行初步探讨, 以期通过动力学方法来揭示重金属复合污染对土壤微生物生态学过程及其群落结构的影响机制, 为重金属污染土壤环境质量评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 土壤采集及样品处理

在浙江省天台县铅锌尾矿区设置 8 个样块。其取样点分别位于: 尾矿库中心区; 老尾矿堆放区; 尾矿库坝梯级区; 尾矿库坝边缘区; 尾矿库角冲积土覆盖区; 离尾矿库 300 m 远荒草区; 离尾矿库 500 m 远人工林区; 无污染区(即对照区, 依当地土壤重金属元素的背

* 国家自然科学基金项目(40171054)、国家重点基础研究发展规划项目(2002CB410810)资助

作者简介: 滕 应(1975~), 男, 贵州江口人, 博士, 主要从事土壤生物与生物化学方面的研究

收稿日期: 2003-12-03; 收到修改稿日期: 2004-02-24

景值而定)。每样块随机取 8 个样点样品组成混合代表样。土样装入无菌封口塑料袋内,带回实验室。将一部分新鲜土样研磨过 2 mm 尼龙网筛,调节土壤水分至田间持水量的 45%,装入无菌塑料袋,置于 4℃ 冰箱内保存,以供土壤微生物群落功能多样性分析。另一部分土样于室内自然风干,研磨、分别过 1 mm 和 0.25

mm 尼龙网筛,供土样基本理化性质和重金属含量测定。同时将所采集的 8 个土样通过因子分析,根据其重金属污染程度分成 3 大类,从中选择 3 个土样,即无污染土壤(即对照 1 号土样)、中度污染土壤(2 号土样)及重度污染土壤(3 号土样)。供试土样基本理化性质和重金属含量测定结果分别见表 1 和表 2。

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Some physical and chemical properties of soil samples tested

土样 编号 Soil No.	污染程度 Pollution degree	pH (H ₂ O)	有机碳 Organic C (g kg ⁻¹)	碱解氮 Alkali hydr olysable N (mg kg ⁻¹)	阳离子交换量 CEC (cmol kg ⁻¹)	颗粒组成 Particle composition (%)		
						2~ 0.02 mm	0.02~ 0.002 mm	< 0.002 mm
1	对照 Control	5.02	11.3	86.21	10.51	35.12	36.85	28.03
2	中度 Medium pollution	5.38	5.79	67.87	6.01	54.45	33.20	12.35
3	重度 Heavy pollution	7.84	4.52	8.25	1.51	58.35	32.53	9.12

表 2 供试土壤重金属含量

Table 2 Heavy metal contents of soil samples collected in the Pb, Zn mine area(mg kg⁻¹)

土壤编号 Soil No.	重金属全量 Total heavy metal				有效态重金属含量 Available heavy metal			
	Pb	Zn	Cu	Cd	Pb	Zn	Cu	Cd
1	28.6	121	6.64	0.22	1.03	23.7	0.43	0.02
2	715	923	19.8	5.10	22.7	163	1.09	0.59
3	1604	1836	50.9	15.21	53.6	230	16.2	1.96

注:表 2 中数据均为 3 次重复的平均值 Note: Average values of three replications data in the table

1.2 土壤微生物群落功能多样性测定

在试验之前,将供试土壤置于 25℃ 条件下的生化培养箱中活化 3 d。土壤微生物群落功能多样性采用 BIOLOG 测试方法^[5]。每个样品重复 3 次。操作简述如下:将 BIOLOG GN 微平板从冰箱内取出,25℃ 条件下预热。用 200μl 自动多头移液器取合乎 BIOLOG GN 系统要求浓度的土壤提取液(10⁻³) 加到 BIOLOG GN 微平板孔中,每孔加 150 μl,25℃ 培养 7 d,每隔 12 h 用 BIOLOG 自动读数装置在 590 nm 下测定其吸光值。土壤微生物群落 BIOLOG 代谢剖面的表达:BI-OLOG GN 微平板中多底物酶联(ELISA)反应采用每孔的平均吸光值(AWCD)来描述^[6],计算表达式为: {AWCD 值= [Σ(C- R)]/95},其中 C 是所测得 95 个反应孔的吸光值,R 是对照孔的吸光值。

1.3 土壤底物诱导呼吸作用动力学参数测定

称取相当于 20.0 g 干重的新鲜土壤样品,置于

500 ml 三角瓶中,调节土壤含水量至田间最大持水量的 45%,并将土壤均匀地平铺于瓶底部,然后吸取 0.25 mol L⁻¹ KOH 10 ml 于特制吸收容量瓶中,将其小心置于培养瓶内,再加盖密封培养瓶,于 25℃ 生化培养箱中培养。每隔 12 h 测定其土壤基础呼吸。于第 3 天在每个土壤样品中加入由 75 mg 葡萄糖、14.1 mg (NH₄)₂SO₄、4.4 mg KH₂PO₄ 和 1 000 mg 滑石粉组成的葡萄糖混合物。将土样充分混合后测定土壤底物诱导呼吸速率(SIR)。根据 Jonhasson 等修订的方法^[7],通过测定二氧化碳产生量来衡量土壤呼吸作用。二氧化碳由氢氧化钾吸收。呼吸速率通过溶液电导率的变化值来计算。二氧化碳产生速率数据代入方程,并利用非线性回归计算 SIR: dp/dt = re^{μt} + K 式中, p 代表 t 时间二氧化碳的量, r 和 K 分别代表生长和非生长微生物的呼吸速率, μ 是比生长速率(即单位时间内微生物的生长量)。当加入

葡萄糖混合物的时间作为反应开始时间($t=0$), 此时, r 与 K 之和等于 SIR 。反应前 72 h 的二氧化碳产生速率的平均值用于计算土壤基础呼吸 (B_{resp})。对二氧化碳的累积数据进行离散化, 得到二氧化碳的产生速率, 对这些速率数据进行非线性回归, 算出上述方程中各参数的值。

1.4 土壤重金属含量及理化性质分析

土壤理化性质按常规方法测定; 土壤 Cu、Zn、Pb、Cd 全量采用王水-高氯酸消化, 原子吸收分光光度法测定; 土壤中相应重金属元素的有效态含量采用 0.1 mol L^{-1} HCl 溶液提取(液:土=5:1), 待测液用原子吸收分光光度法测定^[8]。

1.5 统计分析

实验数据用 Microsoft[®] Excel 2000 处理, 微生物群落动力学模型参数估算与分析采用 SAS 6.12、SPSS 10.0 以及国产数据处理 DPS 统计平台实现^[9]。

2 结果与分析

2.1 重金属复合污染下土壤微生物群落功能多样性动力学参数特征

从图 1 可看出, 供试土壤的微生物群落代谢剖面(AWCD)与培养时间之间呈非线性关系, 其变化过程符合微生物种群生长动态模型(S形)。因此, 我们采用逻辑斯蒂方程: $N(t) = K / (1 + b \cdot e^{-rt})$ 来拟合土壤微生物群落功能多样性的动态变化。为了较为直观地描述土壤微生物群落功能多样性的变化, Lindstrom 等^[2] 建议将上述方程进行修正转换成: $Y = OD_{590} = K / (1 + b \cdot e^{-r(t-s)})$, 其中 K 表示在培养过程中土壤微生物群落的最大平均吸光值, r 表示其平均吸光值的变化指数, 即影响其生长曲线圆滑度的参数, t 是指测定微生物群落功能代谢的培养时间, s 是指当达到最大平均吸光值一半时所需时间。供试土壤微生物群落功能代谢剖面的动态变化曲线分别如图 1 所示。从图 1 可知, 供试土壤微生物群落功能代谢剖面与时间的拟合结果良好($R_A^2 = 0.9998$; $R_B^2 = 0.9960$; $R_C^2 = 0.9975$), 其模型均达极显著水平。从供试土壤微生物群落功能多样性的动力学参数来看, 与对照土壤相比, 中度污染、重度污染土壤的 K 值分别下降了 43.1%、60.0%; 其 r 值分别下降了 4.8%、14.5%; 而参数 s 值所需的时间却比对照土壤分别推迟了 6.9 h、21.8 h。统计分析显示, 各供试土壤间的 K 、 s 参数均达显著性差异($p < 0.05$)。这一结果表明矿区重金属复合污染使土壤

微生物群落功能生理代谢下降, 代谢过程变得缓慢, 群落生长也明显降低, 导致微生物群落功能多样性存在较大的差异, 从而影响了微生物群落结构的演变过程。值得一提的是, 从反映曲线圆滑程度的 r 参数来看(见图 1), 重金属污染虽然一定程度上影响了矿区土壤微生物群落结构的变化, 但是土壤样品之间的差异并不明显, 这可能是矿区重金属污染土壤的土著性微生物类群向发酵性微生物类群发生转移、过渡所致。其具体原因有待于进一步研究。

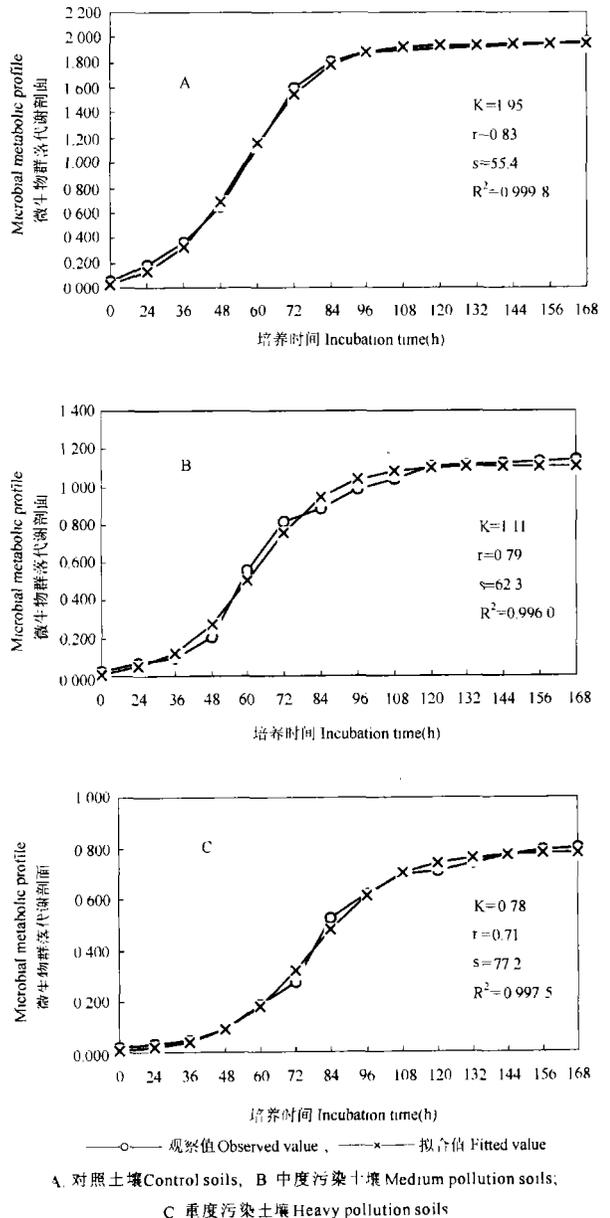


图 1 供试土壤微生物群落功能代谢剖面的动态变化

Fig. 1 Kinetics of microbial metabolic profiles for soil samples test

为了进一步评价以上模型参数在矿区重金属复合污染土壤环境微生物群落功能多样性上的识别作

用,对上述动力学参数作主成分分析,其结果如图2所示。从图2中可知,动力学参数K和s能够很好的区分矿区供试土壤样品,而且其分辨效果较AWCD值更理想。可见,动力学参数可以较好地显示矿区土壤微生物对碳源利用的差异,表明矿区重金属复合污染土壤微生物群落功能多样性发生了相应的变化。

2.2 重金属复合污染下土壤底物诱导呼吸作用的动力学特征

底物诱导呼吸速率(SIR)是一种广泛用于测定土壤微生物量的生理方法。方程 $dp/dt = re^{\mu t} + K$, 基于下列假设:在SIR方法中添加底物后,呼吸速率 dp/dt

的增加是生长微生物($re^{\mu t}$)和非生长微生物(K)的呼吸速率增长之和,当添加底物或基质时, $SIR = r + K$,其中r表示生长微生物的初始呼吸速率。于是,建议采用这个方程将土壤微生物定性分成固有性(或土著性)和发酵性两大类群,用于陆地生态系统中自然和人为影响对微生物作用及机理研究,以便评价土壤微生物种群及其不同部分的功能变化^[7]。为此,本研究采用外加葡萄糖测定矿区重金属复合污染土壤微生物底物诱导呼吸的变化情况,来判断供试土壤微生物群落是否发生转移和过渡,以便解释微生物群落功能多样性动力学参数r在供试土壤之间出现的非显著性差异现象。

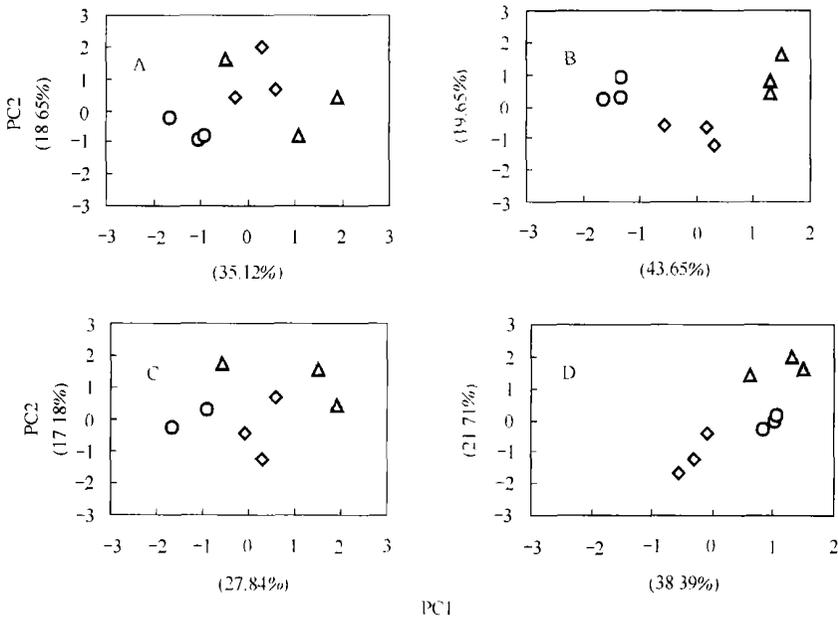


图2 供试土壤微生物群落代谢剖面(AWCD)及其动力学拟合参数(K、r和s)的主成分分析(○:对照土样;◇:中度污染;△:重度污染;图A、B、C、D分别代表AWCD、K、r和s值主成分分析结果)

Fig. 2 Principal component analysis of AWCD values or kinetic parameters from time course OD values fit to the logistic model in soil samples (○: Control; ◇: Medium pollution; △: Heavy pollution; A: Component scores for 72h AWCD-normalized data; B: Scores calculated from logistic model K parameter values; C: Scores calculated from model r parameter values; D: Scores calculated from model s parameter values

从图3可知,3个供试土壤呼吸变化曲线具有相似性,但变化程度与土壤的重金属污染水平有关。在加入葡萄糖之前,对照土壤、中度污染土壤、重度污染土壤的平均基础呼吸速率分别是 CO_2/C $0.57 \mu g g^{-1} h^{-1}$ 、 $0.28 \mu g g^{-1} h^{-1}$ 、 $0.11 \mu g g^{-1} h^{-1}$ 。加入基质后,其底物诱导呼吸速率(SIR)急剧增加,其变化情况采用方程: $dp/dt = re^{\mu t} + K$ 来拟合和定量描述。经方程拟合后供试土壤的K、r、 μ 参数变化如图4A、4B所示。

从图4A、4B可知,随着重金属污染程度的增加,供试土壤的SIR、K和 μ 参数逐渐下降,与对照相比,中度污染土壤的SIR、K和 μ 参数分别下降了26.1%、37.2%、18.8%;重度污染土壤的上述参数分别下降了59.3%、82.5%、31.3%。然而,供试土壤的r参数以及r值与总诱导呼吸速率(SIR)的百分比($r/SIR \times 100$)则随着重金属污染程度的增加呈上升趋势(见图4A),与对照相比,中度污染和重度污染土壤的r值分

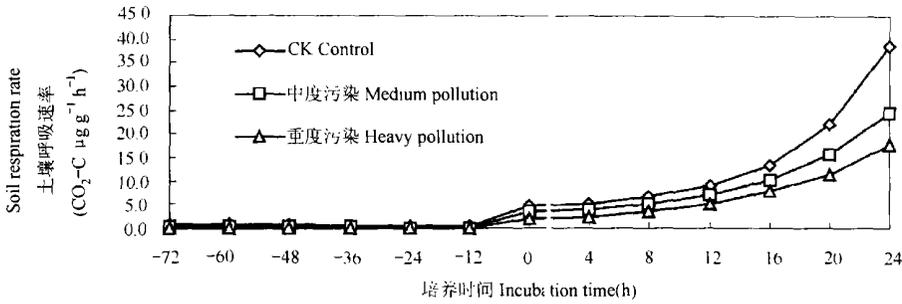


图 3 添加基质前后供试土壤的呼吸速率变化
Fig. 3 Change in respiration rate of soils after adding with glucose

别增加了 30.7%、61.3%；而对照土壤、中度污染土壤、重度污染土壤的 r 值与总诱导呼吸速率(SIR) 的百分比($r / SIR \times 100$) 分别为 16.2%、28.6%、64.0%。统计分析显示, 上述底物诱导呼吸动力学参数在 3 个供试土壤间的差异均达显著水平 ($P < 0.05$)。可见, 重金属复合污染影响矿区供试土壤底物诱导呼吸速率(SIR) 及其各组成部分的同时, 还会导致土壤中微生物类群发生转变和过渡, 即在外源基质供给条件下重金属污染环境中土著性微生物种群会更多地向发酵性微生物类群发展。产生这一结果的原因可能在于, 在没有易降解碳源条件下, 发酵性微生物的活性很低。当加入葡萄糖之后, 发酵性微生物开始生长并合成新的酶, 重金属污染耐性微生物种群被迫转入生长状态, 导致重金属污染土壤发酵性微生物的生理代谢功能加强, 从而使生长性微生物初始呼吸速率占总诱导呼吸速率的百分比越来越高, 但总体上重金属污染严重土壤的微生物生长速率 μ 仍然较低(如图 4B 所示)。这与前人将土壤呼吸定性描述为迅速生长的发酵微生物和非生长的土著微生物种群的做法相符^[10, 11]。他们认为无论何时添加营养物质, 土壤中发酵性的(或获得性的)细菌都会大量增加, 这一过程结束后, 缓慢降低到最小值, 直到有可能发生另一次活跃生长为止。相反, 固有性的(或土著性)微生物在土壤中总是大量存在的, 数量波动不大, 它们的活动只需要土壤中一般的营养或能量即可, 这是因为添加基质前, 固有性微生物利用其他的碳源如土壤腐殖质, 而在基础呼吸作用中占有优势。添加速效易降解基质(例如葡萄糖后), 固有性微生物数量可能稍有变化, 但它们的呼吸活性则增加了。另一方面, 在基础呼吸阶段, 活跃的获得性(发酵性)微生物的数量很少, 可能大部分以孢子形式或其他的休眠结构存在^[7],

但是添加基质后, 它们的数量和活性可能会出现指数增加。添加基质后底物诱导呼吸速率(SIR), 即是这两类土壤微生物呼吸作用之和: 固有性微生物的恒定速率及获得性微生物的指数增长速率。因此, 由 Winogradsky 在 1924 年及后来他人所提出的将土壤微生物定性分为两类的提法现在似乎可以定量, 并且被定量的各类微生物可由不同的基质来确定。目前选择葡萄糖用于测定 SIR, 是由于它可以被大部分土壤微生物利用^[12]。通过改变所使用的基质, 可以对微生物的其他生理亚类进行定量描述。

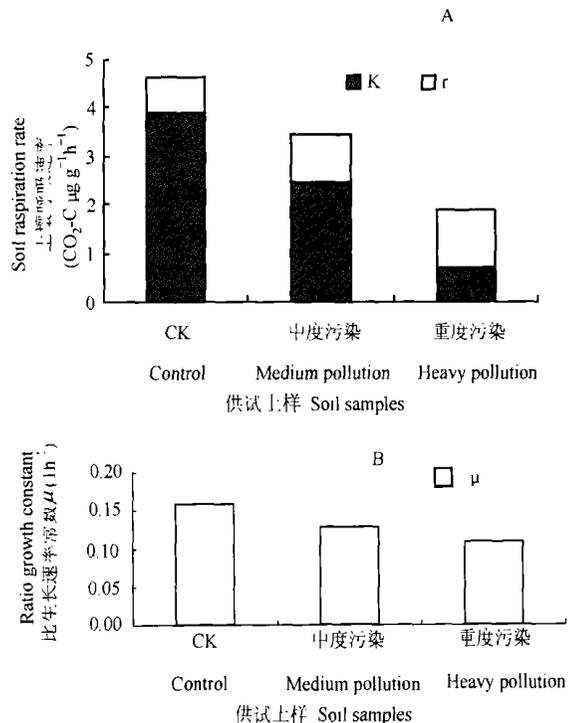


图 4 供试土壤底物诱导呼吸速率及其组分 K, r 和 μ 的变化
Fig. 4 Change in the SIR and its components K, r and μ of soils tested

3 结 论

1) 矿区重金属复合污染降低了土壤微生物群落代谢剖面(AWCD), 其动力学变化过程符合微生物种群生长动态模型(S形)。矿区重金属复合污染土壤的微生物群落功能生理代谢下降, 代谢过程变得缓慢, 群落生长也越显降低, 进而影响了微生物群落结构的演变过程。微生物群落功能多样性的动力学参数K值和s值能够很好地区分矿区重金属污染供试土壤样品, 并且其分辨效果较AWCD值更理想。土壤微生物群落功能多样性动力学特征的变化可以较好地显示矿区重金属复合污染红壤微生物群落对碳源利用模式的差异, 反映矿区特定生境红壤微生物群落功能多样性的变化, 在一定程度上揭示了重金属胁迫下环境微生物种群作用机理。

2) 随着重金属复合污染程度的增加, 铅锌尾矿区供试土壤的SIR、K和 μ 参数逐渐下降。矿区重金属复合污染影响到土壤底物诱导呼吸SIR及其各组成部分的同时, 还会导致土壤中微生物类群发生转变和过渡, 即在外源基质供给条件下, 重金属胁迫环境中土著性微生物种群可能会向发酵性微生物种群发展。

参 考 文 献

- [1] Garland J L. Analysis and interpretation of community level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 1997, 24: 289~ 300
- [2] Lindstrom J E, *et al.* Microbial community analysis: A kinetic approach to constructing potential C source utilization patterns. *Soil Biology & Biochemistry*, 1997, 30(2): 231~ 239
- [3] 滕应, 黄昌勇, 骆永明等. 铅锌尾矿区土壤微生物活性及其群落功能多样性研究. *土壤学报*, 2004, 41(1): 113~ 119
- [4] Teng Y, Huang C Y, Luo Y M, *et al.* Microbial activities and community functional diversity in soils polluted with Pb-Zn-Ag mine tailings(In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(1): 113~ 119
- [5] 滕应, 黄昌勇, 龙健等. 矿区侵蚀土壤的微生物活性及其群落功能多样性研究. *水土保持学报*, 2003, 17(1): 115~ 118.
- [6] Teng Y, Huang C Y, Long J, *et al.* Study on microbial activities and community functional diversity in eroded soils abandoned Pb-Zn-Ag mine (In Chinese). *Journal of Water and Soil Conservation*, 2003, 17(1): 115~ 118
- [7] Zak J C, Willing M R, Moorhead D L, *et al.* Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994, 26: 1101~ 1108
- [8] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on basis of patterns of community level sole carbon source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57:2 351~ 2 359
- [9] Johansson M, *et al.* Kinetics of substrate induced respiration and denitrification: Application to a soil amended with silver. *Ambio*, 1998, 27: 40~ 44
- [10] 鲁如坤主编. 土壤农业化学分析法. 北京: 中国农业科技出版社. 1999. 107 ~ 240
- [11] Lu R K, ed. Analytical Methods of Soil and Agricultural Chemistry(In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999. 107~ 240
- [12] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其计算机处理平台. 北京: 中国农业出版社. 1997. 56~ 108
- [13] Tang Q Y, Feng M G. Practical Statistical Analysis and Its Computer Processing Plate(In Chinese). Beijing: China Agricultural Press, 1997. 56~ 108
- [14] Stenstrom J, Stenberg B, Johansson M. Kinetics of substrate induced respiration(SIR): Theory. *Ambio*, 1998, 27: 35~ 39
- [15] Stenstrom J, Svensson K, Johansson M. Reversible transition between active and dormant microbial states in soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 2001, 36: 93~ 104
- [16] Anderson J P, Domsch K H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 1978, 10: 215~ 221

KINETICAL CHARACTERISTICS FOR FUNCTIONAL DIVERSITY OF MICROBIAL COMMUNITIES IN SOILS POLLUTED WITH MIXED HEAVY METALS

Teng Ying^{1,2,3} Huang Changyong¹ Luo Yongming^{2,3} Long Jian¹ Yao Huaiying¹ Li Zhengao^{2,3}

(1 College of Natural Resources and Environmental Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

(2 Soil and Environment Bioremediation Research Centre, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(3 State Key Laboratory of Soil and Agricultural Sustainable Development (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences) Nanjing 210008, China)

Abstract A kinetic method is presented for characterizing the physiological state of microorganisms capable of carrying out specific metabolic function in red soils taken from a lead-zinc mining area. The results showed that soil microbial community metabolic profiles were inhibited by mixed heavy metals pollution, exhibiting non-linear correlation with the incubation time, and the shape of the color development curve was generally sigmoidal. Test well OD values over time suggested a kinetic model based on the density-dependent logistic growth equation. The kinetic parameters generated by the model can be used as surrogates for single-time point data in constructing carbon source utilization patterns. The kinetic parameter K and r values decreased significantly with level of mixed heavy metals pollution. The higher pollution degree, the lower microbial community profiles, the lower microbial metabolic processes and the microbial growth rate. Principal component analysis (PCA) single-time point microplate data and parameters of the kinetic model showed that parameters K and s could be effectively used to differentiate degrees of heavy metal pollution in the mining zone with efficiency higher than AWCD. Change in dynamic characteristics of the microbial community functional diversity well reflects differences in model of microbial communities utilizing C sources in the soils polluted with mixed heavy metals, and change in soil microbial community functional diversity in particular eco-environment like mining zones, thus revealing to some extent functional mechanism of microbial communities in environment under heavy metal stress.

Key words Mixed heavy metal pollution; Functional diversities of soil microbial communities; Kinetics parameters