

木质素降解酶在不同堆肥基质中的吸附传输特性研究

赵美花, 曾光明*, 黄丹莲, 冯冲凌, 黄超, 胡霜, 苏峰峰, 赖萃, 危臻

(湖南大学环境科学与工程学院, 长沙 410082)

摘要:为了深入探究木质素降解酶在不同堆肥基质中的吸附传输特性,通过批量实验对比了土壤、菜叶、稻草和米糠对木质素降解酶的吸附性能,并进行了动力学分析和等温吸附模型拟合,同时通过柱淋洗实验考察了木质素降解酶在 4 种堆肥基质中的迁移传输特性.结果表明,堆肥基质对木质素降解酶的吸附与基质种类有关,土壤、菜叶、稻草和米糠对木质素过氧化物酶(LiP)和锰过氧化物酶(MnP)的吸附量分别为 1.22、1.27、1.13、1.22 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 5.09、4.88、4.43、3.95 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$.比较 LiP 和 MnP 吸附的动力学模型,准二级动力学方程为表征木质素降解酶吸附的最佳模型,其 R^2 值为 0.973 2~0.999 7, Elovich 方程拟合较差,准一级动力学方程拟合最差;Langmuir 模型对等温吸附数据进行拟合效果最好,而实验数据不适合用 Freundlich 方程表征.土壤、菜叶、稻草和米糠对 LiP 和 MnP 饱和吸附容量分别为 1.23、1.30、1.17、1.14 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 5.70、5.19、4.73、4.14 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$.LiP 和 MnP 在稻草和米糠基质中传输效果较好,可传输到最深层 10 mL 处,而在土壤和菜叶基质中则被滞留在浅层.

关键词:木质素降解酶;堆肥基质;吸附动力学;等温吸附线;传输

中图分类号:X705 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2010)06-1647-08

Research on Sorption and Transport Characteristics of Ligninolytic Enzymes in Different Compost Substances

ZHAO Mei-hua, ZENG Guang-ming, HUANG Dan-lian, FENG Chong-ling, HUANG Chao, HU Shuang, SU Feng-feng, LAI Cui, WEI Zhen

(College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China)

Abstract:To understand the characteristics of ligninolytic enzymes sorption and transport in different compost substances, ligninolytic enzymes adsorption on soil, vegetable leaf, rice straw and chaff was comparatively studied through batch jar tests and relevant kinetics and isotherm equilibrium were discussed as well as a column experiment was performed to study the process of transport. The results showed that the sorption efficiency was depended on the sorts of substances. The adsorptive capacities of soil, vegetable leaf, rice straw and chaff to lignin peroxidase (LiP) were 1.22 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 1.27 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 1.13 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 1.22 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ and to manganese peroxidase (MnP) were 5.09 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 4.88 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 4.43 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 3.95 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively. Comparing the kinetic models of LiP and MnP adsorption, the pseudo-second-order reaction model (R^2 0.973-0.999 7) was the best of the models. Elovich equation was a bit better than pseudo-first-order kinetic which was the worst. The equilibrium data could be fitted well with Langmuir model while it could not satisfied with Freundlich model. The adsorptive saturation of soil, vegetable leaf, rice straw and chaff to LiP were 1.23 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 1.30 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 1.17 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 1.14 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ and to MnP were 5.70 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 5.19 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 4.73 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 4.14 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$. LiP and MnP had good transport capability in straw and chaff to move to the deepest layer of 10 mL while remained in the superficial layers in soil and vegetable leaf.

Key words:ligninolytic enzymes; compost substance; kinetic adsorption; adsorption isotherm; transport

堆肥作为一种保持良好环境效应的产物,具有生物处理的可持续性和废弃资源的可循环利用等特点,已被许多国家和地区接受,成为处理有机固体废物的有效方法之一^[1-3].垃圾堆肥资源化实质是微生物反应过程,而微生物反应依赖于其分泌的相关降解酶作用.黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)产生的木质素过氧化物酶(LiP)、锰过氧化物酶(MnP)是2种被国内外学者重点关注的木质素降解酶,可催化木质素及其他芳香族化合物等限速有机物的降解,决定着木质素降解的途径、速度和程度^[4,5],是关系着堆肥进程的关键功能酶^[6].而堆肥系统是一个非常复杂的系统,高效降解酶传输到

堆体深层的过程中必然受堆肥系统的物化、生物等因素的影响,如果酶被滞留在堆肥物料的浅层,不能到达更深更广的堆肥层面,就会阻碍堆肥深层木质素的原位降解.因此,木质素关键降解酶在堆肥基质中的吸附、传输和分散对整个堆肥反应进程尤为重要,故研究 LiP 和 MnP 在堆肥基质中的吸附传输特性

收稿日期:2009-08-24;修订日期:2009-12-28

基金项目:教育部长江学者和创新团队发展计划项目(IRT0719);国家自然科学基金青年科学基金项目(50808073);国家重点基础研究发展规划(973)项目(2005CB724203);湖南省研究生创新项目

作者简介:赵美花(1984~),女,硕士研究生,主要研究方向为堆肥环境微生物技术, E-mail: bflower1221@163.com

* 通讯联系人, E-mail: zgming@hnu.cn

意义重大. 相对于一些多孔介质中细菌的吸附传输^[7], 尤其是土壤中细菌的吸附和迁移^[8], 木质素降解酶在堆肥基质中的吸附传输特性, 包括影响因素、酶与基质的相互作用机制方面还缺乏研究. 本实验研究了反应时间、酶液初始浓度等因素对不同基质吸附木质素降解酶的影响, 讨论了相关动力学、等温吸附特性, 并考察了酶在不同堆肥基质中的迁移传输情况, 以为推进堆肥工艺技术的发展提供参考.

1 材料与方法

1.1 堆肥基质准备和酶液制备

堆肥基质取自湖南长沙近郊. 将取回的基质破

碎磨细, 并干燥过筛, 选择粒径为 0.15 ~ 0.18 mm 的样品备用. 样品的基本物理性质见表 1.

实验所用的木质素降解酶由白腐菌的典型种黄孢原毛平革菌(BKMF-1767)发酵产生, 该菌购于武汉大学中国典型培养物中心(CCTCC). 将黄孢原毛平革菌孢子悬液接种于优化后的 Tien&Kirk 液态培养基^[9], 于空气恒温摇床中, 30℃ 下, 以 120 r·min⁻¹ 振荡培养 7 d, 培养液经离心(10 000 r·min⁻¹, 15 min)所得上清液, 滤膜过滤, 即制得实验所需酶液(具有较高木素过氧化物酶和锰过氧化物酶酶活, 其酶活分别为 62.02 U·L⁻¹ 和 250.15 U·L⁻¹)^[10,11].

1.2 基质吸附试验方法

表 1 堆肥基质样品的物理性质参数

Table 1 Physical parameters of compost substances

基质	堆密度/g·mL ⁻¹	真密度/g·mL ⁻¹	孔隙率/%	有机质质量分数/%	pH 值	含水率/%
米糠	0.35	1.486 9	76.74	60.90	6.17	9.90
菜叶	0.31	1.581 9	80.58	82.23	6.56	11.58
稻草	0.30	1.763 3	82.93	76.36	7.46	11.02
土壤	0.80	2.349 1	66.13	6.34	7.05	2.79

在动力学实验中(时间系列), 准确称取 4 种吸附剂(即土壤、菜叶、稻草和米糠)各 1 g 分装于三角瓶中, 先分别添加 20 mL 酒石酸缓冲液和 10 mL 去离子水, 于 4℃ 冰箱静置 12 h, 每个瓶中添加 20 mL 酶液, 在 30℃, 转速为 150 r·min⁻¹ 下进行吸附, 取样时间点设置为 5、10、20、30、40、60、120、180 min, 离心过滤, 取上清液测定酶活. 吸附剂上的吸附量是指不加吸附剂的相同酶液酶活减去相应的滤液酶活.

在等温吸附实验中(酶液初始浓度系列), 准确称取上述 4 种吸附剂各 1 g 分装于三角瓶中, 分别加入 20 mL 酒石酸缓冲液和一系列 30 mL 组合液(去离子水 + 酶液), 吸附反应 60 min(通过前述吸附动力学分析, 确定了酶与 4 种基质分别吸附反应 60 min 后都基本达到吸附平衡)后取样分析.

1.3 柱淋洗实验

实验装置由支架、淋洗柱、布液装置、硅胶管、多通、抽滤瓶和真空泵组合而成, 如图 1. 实验所用柱子是容积为 10 mL 的标准医用注射器, 注射器底部垫 1 mm 的滤纸作为过滤层. 准确称取 8 份基质样品装入注射器, 在自然压实状态下, 样品装柱至 10 mL 刻度处, 105℃ 下灭菌 30 min. 淋洗时先后用 3 倍孔隙体积的无菌去离子水和 3 倍孔隙体积的酶液, 淋洗速度控制在 0.3 m³·h⁻¹.

淋洗完毕后取柱中不同深度位置的样品, 用无菌水浸提 30 min 后, 离心过滤, 滤液用于酶活测定.

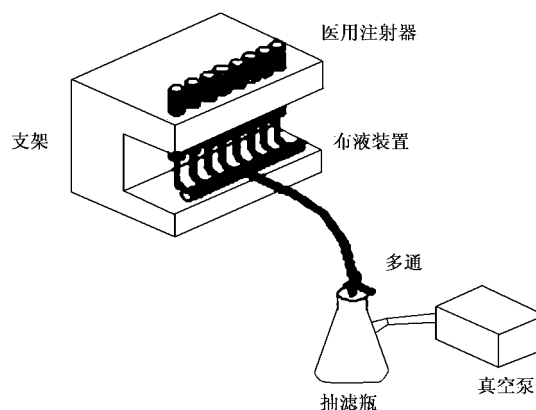


图 1 实验装置示意

Fig. 1 Schematic diagram of the experimental system

1.4 分析方法

FE20/EL20 数显型酸度计(METTLER TOLEDO)测定 pH 值, 红外光谱对吸附酶液前后基质进行结构分析, UV-2550 紫外可见分光光度计(SHIMADZU CORPORATION)测定酶活.

木素过氧化物酶(LiP)测定^[12]: 取 0.6 mL 藜芦醇溶液(10 mmol·L⁻¹)、1.2 mL 酒石酸缓冲液(250 mmol·L⁻¹, pH = 3.0)与 1.2 mL 粗酶液混匀, 即得 3 mL 反应液. 在 30℃ 下, 于反应液中加 60 μL H₂O₂ 溶液(20 mmol·L⁻¹)启动酶促反应, 以未加启动因子的反应液为参比, 用紫外分光光度计测定 310 nm 处

2 min 前后反应液吸光度的变化. 一个酶活力单位 (U) 定义为每 min 氧化藜芦醇产生 1 μmol 藜芦醛所需的酶量.

锰过氧化物酶 (MnP) 测定^[13]: 将 0.2113 g MnSO_4 溶解于 1 L 酒石酸缓冲液 ($50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH} = 4.5$) 中, 取 2.4 mL 该溶液同 0.6 mL 粗酶液混匀, 即得 3 mL 反应液. 在 30°C 下, 于反应液中加 $60 \mu\text{L}$ H_2O_2 溶液 ($20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 启动酶促反应, 以未加启动因子的反应液为参比, 用紫外分光光度计测定 290 nm 处 2 min 前后反应液吸光度的变化. 一个酶活力单位 (U) 定义为每 min 氧化 Mn^{2+} 产生 1 μmol Mn^{3+} 所需的酶量.

1.5 计算方法

平衡吸附量:

$$Q_e = \frac{(c_0 - c_e)V}{W} \quad (1)$$

时刻 t 的吸附量:

$$Q_t = \frac{(c_0 - c_t)V}{W} \quad (2)$$

吸附率:

$$\eta = \frac{c_0 - c_t}{c_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中, Q_e 、 Q_t 分别为平衡状态和 t 时刻吸附剂吸附吸

附质的量, $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$; c_0 、 c_t 和 c_e 分别为溶液吸附质初始浓度、 t 时刻吸附质浓度和吸附后平衡浓度, $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$; V 为溶液体系体积, L; W 为吸附剂质量, g.

考察某一参数对实验的影响时固定其它参数不变. 所有实验均重复 3 次, 实验结果值取其平均值, 最大实验误差限 $< 4\%$.

2 结果与讨论

2.1 LiP 与 MnP 在堆肥基质中的吸附特性及其动力学分析

2.1.1 时间对基质吸附 LiP 和 MnP 的影响

在酒石酸缓冲液体系中 ($\text{pH} = 4.5$), $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的堆肥基质对初始浓度分别为 $25 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 LiP 和 $100 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MnP 的吸附量随时间的变化如图 2 所示. 可以看出土壤、菜叶、稻草和米糠对 LiP 和 MnP 的吸附具有相同的趋势, 均在 0 ~ 20 min 阶段吸附很快, LiP 和 MnP 的吸附量最高分别达到 95% 和 98% 以上, 此后经历慢速吸附过程, 40 min 时达到吸附平衡. 这 3 个吸附过程可分别缘于吸附剂的表面吸附、吸附剂内扩散和吸附平衡. 第 1 阶段的表面吸附主要取决于溶液本体与吸附剂表面吸附质的浓度差, 第 2 阶段的内扩散吸附则由粒子内扩散速率控制.

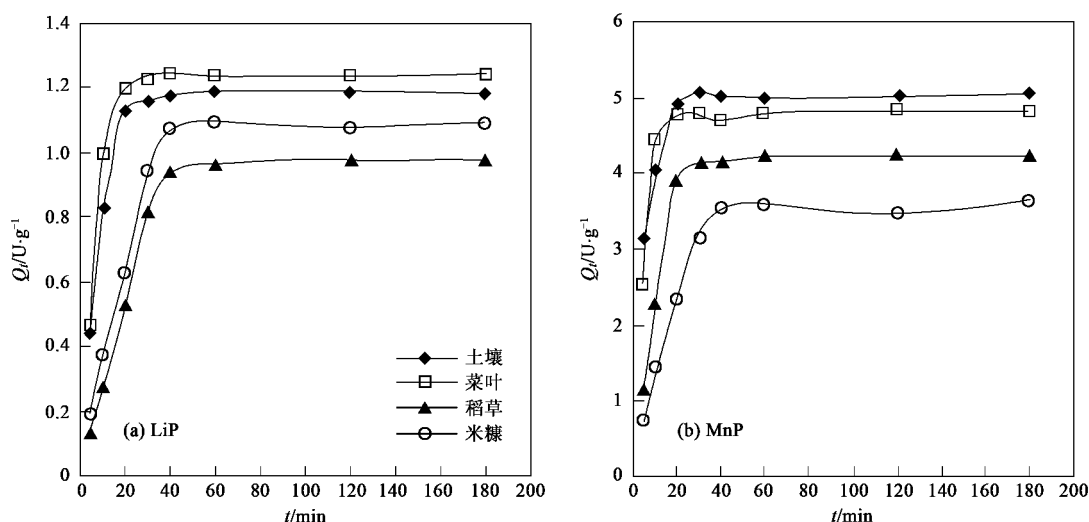


图 2 时间对基质吸附酶液的影响

Fig.2 Influence of time on enzymes uptake

2.1.2 动力学方程研究

为了定量描述 4 种基质对木质素降解酶的吸附特征, 用准一级动力学方程、准二级动力学方程以及

Elovich 方程^[14~16]对试验数据进行拟合, 拟合结果见图 3 和表 2.

准一级动力学方程:

$$\ln(Q_e - Q_t) = \ln Q_e - k_1 t \quad (4)$$

准二级动力学方程:

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{k_2 Q_e^2} + \frac{t}{Q_e} \quad (5)$$

Elovich 方程:

$$Q_t = \frac{\ln(\alpha\beta)}{\beta} + \frac{\ln t}{\beta} \quad (6)$$

式中, k_1 为准一级动力学模型的速率常数, min^{-1} ; k_2 为准二级动力学模型的速率常数, $\text{U} \cdot \text{min} \cdot \text{g}^{-1}$; α 为 Elovich 方程常数初始吸附速率, $\text{U} \cdot (\text{min} \cdot \text{g})^{-1}$; β 为表征表面覆盖度和化学吸附活化能的参数, $\text{g} \cdot \text{U}^{-1}$; Q_e 、 Q_t 同式(1)和式(2)。

通常认为蛋白质在固体表面吸附过程中蛋白质

与蛋白质之间、蛋白质与水分子之间、蛋白质与界面之间都存在着相互作用, 这些作用包括疏水相互作用、静电作用和范德华力等^[17]。从图3和表2可以看出, LiP 和 MnP 在基质中的吸附动力学都较好地满足准二级动力学 ($R^2 > 0.9732$), Elovich 方程的相关系数次之, 准一级动力学方程的相关性最差。这说明液相的2种吸附质 (LiP 和 MnP) 均进行有效地吸附, 并产生竞争机制, 而溶液溶剂无强烈竞争吸附能力。土壤和菜叶对两酶的吸附速率明显高于稻草和米糠, 而对 LiP 的吸附速率又高于对 MnP 的吸附速率, 这说明在吸附初始过程当中, LiP 能够与更多的吸附位点进行结合。

2.2 LiP 与 MnP 等温吸附过程及模型拟合

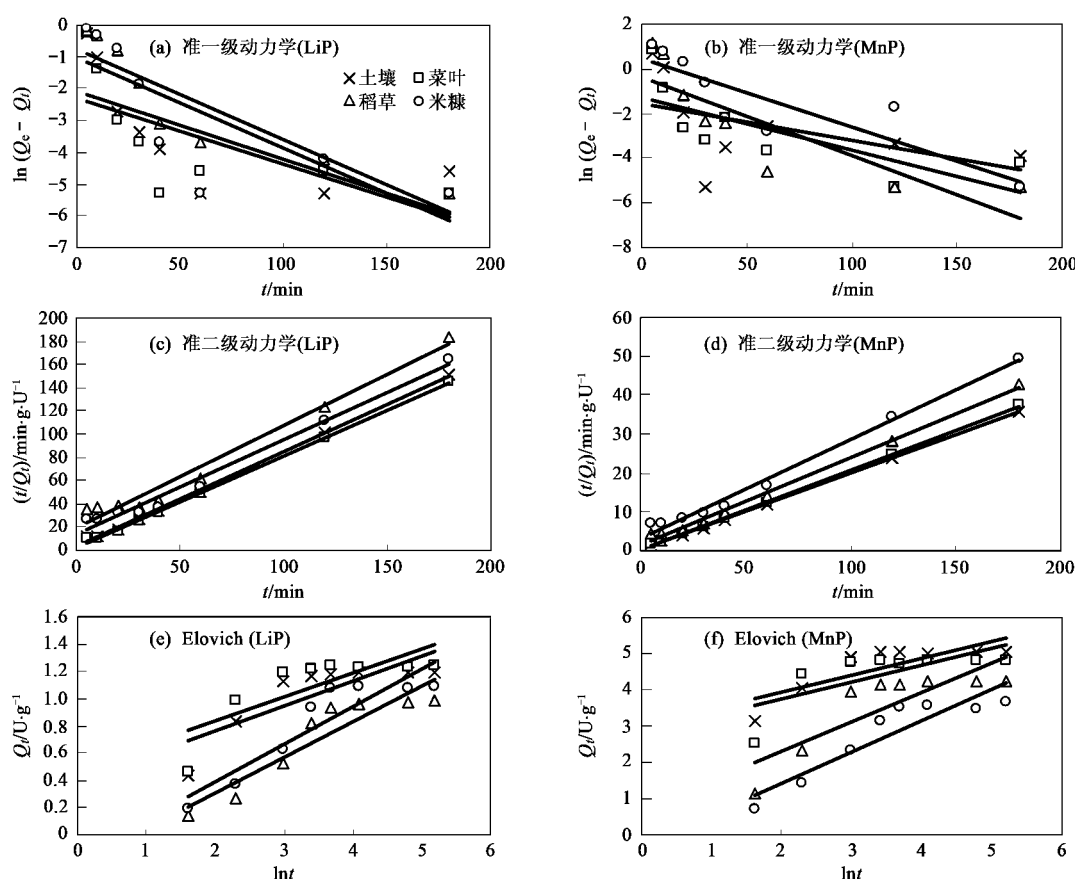


图3 动力学方程拟合曲线

Fig. 3 Adsorption kinetics of enzymes in various substances

本实验在 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的基质溶液中投加酶液 (LiP 浓度为 $6.25 \sim 37.5 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$; MnP 浓度为 $25 \sim 150 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$), 在 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 吸附 60 min 后取样测定, 实验结果如图4。可以看出, 土壤和菜叶对 LiP 和 MnP 的吸附性能要略优于稻草和米糠, 这可能是由于土壤的孔隙率较小, 在一定程度上增加了比表面积, 从

而增加了吸附位点; 基质对蛋白质的吸附中, 疏水作用是主要驱动力, 静电作用次之^[18], 增大疏水程度可增大吸附量, 而且有机阳离子的疏水性越强, 对酶的吸附量越大^[19]。图5是未吸附酶液的土壤以及菜叶吸附酶液前后的红外光谱图。可以看出, 菜叶基质吸附酶液后在 2922 cm^{-1} 附近的亚甲基非对称伸

表 2 动力学方程各参数									
Table 2 Results from linear regression of the adsorption rate experiment									
基质	降解酶	准一级动力学		准二级动力学			Elovich 方程		
		k_1	R^2	k_2	$Q_e/U \cdot g^{-1}$	R^2	α	β	R^2
土壤	LiP	0.021 4	0.490 6	0.234 8	1.219 7	0.998 1	1.516 6	5.411 3	0.682 9
	MnP	0.016 6	0.258 5	0.130 6	5.094 2	0.999 7	170.315 7	2.109 3	0.666 7
菜叶	LiP	0.020 7	0.464 7	0.265 2	1.268 1	0.998 2	2.701 8	5.659 3	0.610 5
	MnP	0.023 3	0.548 1	0.133 0	4.875 7	0.999 5	172.266 7	2.109 3	0.526 0
稻草	LiP	0.028 4	0.829 3	0.041 8	1.134 3	0.973 2	0.114 6	3.824 1	0.855 4
	MnP	0.034 8	0.713 5	0.037 3	4.428 7	0.994 9	1.866 7	1.224 9	0.712 0
米糠	LiP	0.028 3	0.628 1	0.051 0	1.221 4	0.983 3	0.153 0	3.615 3	0.841 1
	MnP	0.030 5	0.764 4	0.019 6	3.947 9	0.990 0	0.633 4	1.175 1	0.839 3

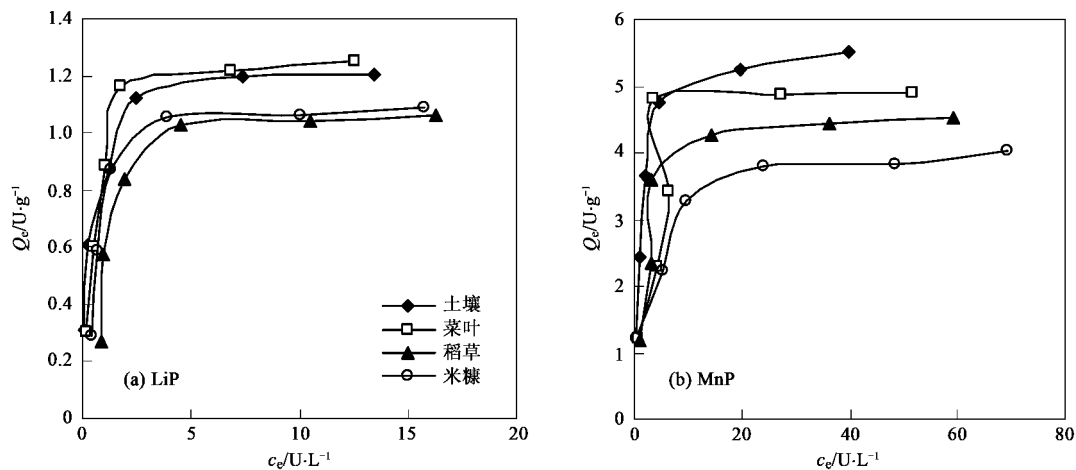


图 4 LiP 和 MnP 等温吸附线

Fig. 4 Isotherm of adsorption LiP and MnP in various substances

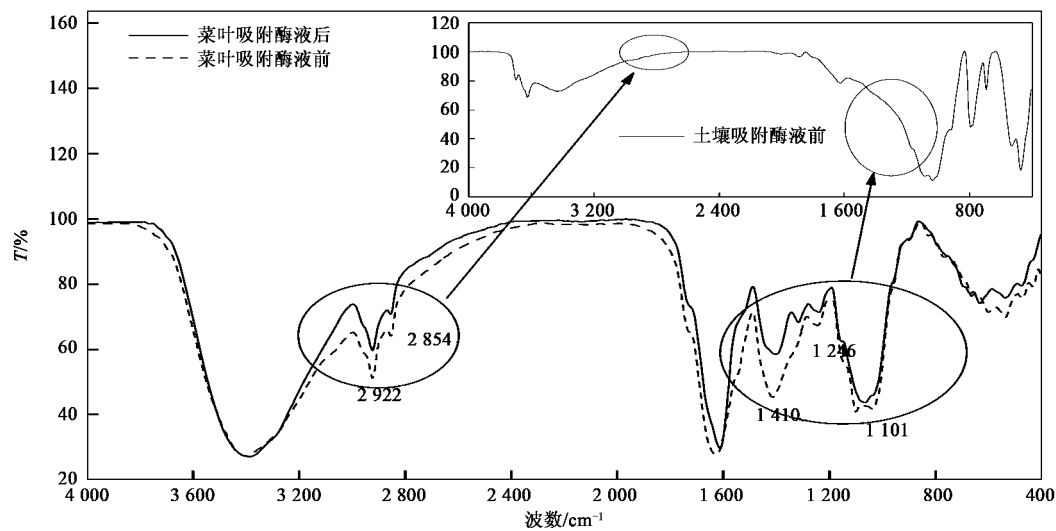


图 5 未吸附酶液的土壤以及菜叶吸附酶液前后的红外光谱图

Fig. 5 Infrared spectroscopy of soil and vegetable leaf without adsorption enzymes and vegetable leaf with adsorption enzymes

缩振动和 $2\,854\text{ cm}^{-1}$ 附近的亚甲基对称伸缩振动均 在一定程度上有所减弱; $1\,246\sim1\,100\text{ cm}^{-1}$ 附近的烷 基团的吸收减弱; $1\,410\text{ cm}^{-1}$ 的 $-\text{CH}_2-\text{CO}-$ 或 $-\text{CH}_2-\text{NH}-$ 的吸收大大减弱;而有机质含量低的

土壤基质基本不含有疏水基团(亚甲基和烷烃等)和易形成氢键的活性基团(羰基和氨基).这说明由于菜叶的有机质复合物中的疏水基团与酶中的疏水基团选择性键合以及活性位点与蛋白质—NH—和C=O形成氢键,从而提高了菜叶基质对酶的吸附.

图4中的等温线在开始阶段都有较大的斜率,表明堆肥基质对LiP和MnP有很强的吸附亲和力,尤其是对LiP.由图4还可以看出,单位基质的吸附量随着溶液初始浓度的增加而增加,表明此阶段内基质上的吸附位点未达到饱和状态,酶蛋白分子易占据吸附位点.当溶液浓度增加到一定程度后吸附量的增加越来越小,直至曲线斜率基本趋于0,分析原因可能有二:①溶液蛋白质分子之间存在多种效应,包括位阻效应、静电效应、水动力学效应,这些效应随着酶浓度增大而提高,对吸附产生负影响;②随着酶初始浓度增大吸附密度逐渐增大,引起空间阻滞作用增大,从而引起吸附剂表面结构的变化,有效的吸附位点趋于饱和^[20].图4中MnP等温吸附线中菜叶吸附结果出现了不符合一般规律的偏离点,这可能是在此酶蛋白浓度下,菜叶表面各憎水基团间的协同作用远大于竞争作用而造成吸附量大幅增加,具体原因将在后续实验中进一步研究确定.

图4中的LiP和MnP初始浓度对吸附影响的曲线均呈现L2型,为典型的单分子层吸附特征,可用

Langmuir 吸附模型对此单分子层吸附进行拟合.

根据 Langmuir 吸附等温式^[21,22]:

$$Q_e = \frac{Q_{\max} \cdot K_L \cdot c_e}{1 + K_L \cdot c_e} \quad (7)$$

Langmuir 模型是一个理论吸附公式,它假定吸附过程为单层吸附;被吸附物质的颗粒与水分子等大且占据相同大小的吸附剂的表面;当吸附剂表面被吸附物质占满后,达到最大吸附量;吸附过程中能量不变.由 Langmuir 方程转化可得:

$$\frac{c_e}{Q_e} = \frac{1}{Q_{\max} \cdot K_L} + \frac{1}{Q_{\max}} c_e \quad (8)$$

Freundlich 方程适用于固体表面不均匀,在低浓度时等温线为曲线,在高浓度时为无极限值,从根本上说,此式仍为经验公式,但为了进行对比,本实验同时运用此方程进行数据拟合.

Freundlich 方程^[21,22]:

$$\ln Q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln c_e \quad (9)$$

式中, Q_e 、 c_e 同式(1); $Q_{\max}$ 为饱和吸附量, $U \cdot g^{-1}$; K_L , K_F , n 为常数.

吸附等温线方程参数如表3所示,结果显示 Langmuir 吸附等温模型能够比较准确地描述 LiP 和 MnP 在不同堆肥基质中的吸附相平衡,其计算出来的理论吸附量与实验所得的最大吸附量基本相同.

表3 Langmuir and Freundlich 模型参数

Table 3 Parameters for Langmuir and Freundlich equations

基质	降解酶	Langmuir 方程			Freundlich 方程		
		$Q_{\max}/U \cdot g^{-1}$	K_L	R^2	K_F	n	R^2
土壤	LiP	1.233 2	3.415 8	0.999 5	0.753 8	4.038 8	0.930 4
	MnP	5.704 5	0.693 4	0.999 5	2.186 9	3.233 1	0.794 0
菜叶	LiP	1.297 9	2.230 7	0.999 4	0.714 2	3.242 5	0.833 7
	MnP	5.192 1	2.672 4	0.992 0	1.830 7	3.858 0	0.691 6
稻草	LiP	1.166 2	0.739 5	0.983 7	0.476 1	2.816 9	0.655 6
	MnP	4.728 1	0.427 7	0.998 6	1.658 1	3.443 5	0.738 4
米糠	LiP	1.143 8	1.393 8	0.996 8	0.568 2	3.303 6	0.704 9
	MnP	4.135 6	0.373 3	0.997 5	1.603 4	4.182 4	0.944 7

Langmuir 方程可表示为无量纲的参数 R_L ^[23]:

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L c_0} \quad (10)$$

式中, R_L 表示吸附性能, $0 < R_L < 1$ 表示有利于吸附; $R_L > 1$ 、 $R_L = 0$ 和 $R_L = 1$ 分别表示不利于吸附、线性吸附和不可逆吸附.将表3中的数据代入式(10),算得 R_L 都大于1,说明4种基质对LiP和MnP都属于有利吸附.

3 LiP 与 MnP 在不同堆肥基质中迁移传输分析

图6反映LiP与MnP在不同堆肥基质的淋洗过程中LiP与MnP在堆肥样品柱中的迁移传输分布情况.可以看出,淋洗液向样品柱深层的传输过程中, LiP在不同样品柱中呈现不同的变化趋势, MnP的检测也呈现类似结果. LiP与MnP在稻草和米糠柱中传输效果较好,而在土壤和菜叶柱中其被

吸附滞留在浅层,这与上述吸附实验所得结果相吻合.分析原因可能是稻草的孔隙率较大,相应的比表面积越小,吸附位点少,从而有利于酶的扩散;米糠中的有机质含量相对较小,能与酶液中发生键合的吸附活性官能团(如亚甲基、烷烃、羰基和氨基等)也就较少,其对酶分子的吸附能力相对较弱;王玉军等^[24]在研究中指出,土壤中存在大量的铁锰氧化物和黏土物质,其表面包含大量带有随 pH 值变化的可变电荷的基团,酶分子在非等电点溶液中,也带有

一定的电荷,异性电荷之间产生吸引作用,能够与基质表面的各基团形成稳定的配合物吸附在土壤表面;菜叶含有大量的疏水性纤维^[25],其憎水部位与酶分子的憎水部位相接触,能够提高基质表面对酶的亲和力. MnP 的迁移趋势和 LiP 大致相同,但土壤和菜叶对其传输的阻碍作用相对 LiP 而言较小,在 6 mL 处有最大的截留量,分别为 $235.23 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $193.23 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$,这同 LiP 与 MnP 在竞争吸附过程当中, LiP 略占优势是一致的.

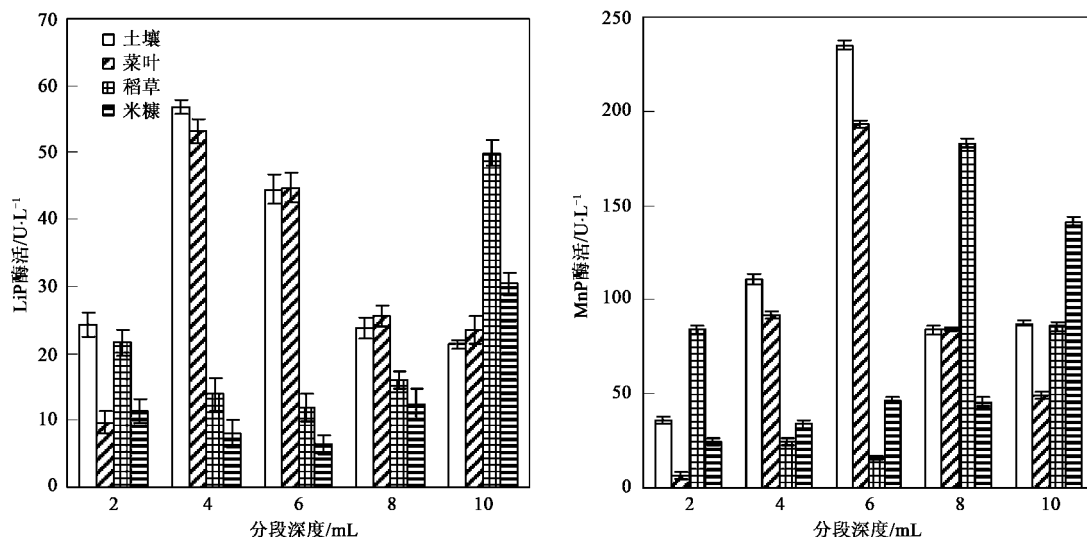


图 6 不同堆肥基质各深度 LiP 和 MnP 浓度的变化趋势

Fig. 6 Changes of LiP and MnP concentrations of different layers in various compost substances

4 结论

(1) 考察了不同堆肥基质对 LiP 与 MnP 的吸附动力学,得到的吸附动力学曲线具有相同的趋势,其吸附行为最符合准二级动力学方程,不符合准一级动力学方程和 Elovich 方程, LiP 与 MnP 之间存在竞争吸附.

(2) 土壤、菜叶、稻草和米糠对 LiP 与 MnP 吸附是个快速的过程,40 min 即能达到吸附平衡.4 种基质对 LiP 与 MnP 的等温吸附均适于用 Langmuir 方程来表征,而不适合 Freundlich 方程来拟合.对 LiP 的吸附性能和亲和力依次是菜叶 > 土壤 > 稻草 > 米糠,土壤对 MnP 的最大吸附量是 $5.7045 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,高于米糠的 $4.1356 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$.

(3) 不同堆肥基质由于其物理和化学性质不同, LiP 与 MnP 在各柱中的迁移传输趋势也不同,基质的孔隙率和有机质含量对传输的影响占主导地位.孔隙率大小在一定程度上决定了比表面积的大

小,从而控制了有效吸附位点的数目;基质表面的特征基团与酶分子表面的憎水部位接触,形成稳定配合物;有机质中含有大量的吸附活性官能团(如亚甲基、烷烃、羰基和氨基等),可增加基质与酶之间的键合作用,对吸附产生正效应,阻碍酶向基质更深层传输.

参考文献:

- [1] Smidt E, Meissl K, Schmutzer M, et al. CO-composting of lignin to build up humic substances—Strategies in waste management to improve compost quality[J]. Ind Crop Prod, 2008, 27(2):196-201.
- [2] Jiang X Y, Zeng G M, Huang D L, et al. Degradation of pentachlorophenol in soil by composting with immobilized *Phanerochaete chrysosporium*[J]. World J Microb Biot, 2009, 22(9):909-913.
- [3] Huang D L, Zeng G M, Feng Ch L, et al. Degradation of lead-contaminated lignocellulosic waste by *Phanerochaete chrysosporium* and the reduction of lead toxicity [J]. Environ Sci Technol, 2008, 42(13):4946-4951.
- [4] Zeng G M, Huang D L, Huang G H, et al. Composting of lead-contaminated waste with inocula of white-rot fungus [J].

- Bioresource Technol,2007,**98**(2): 320-326.
- [5] 池玉杰, 鲍甫成. 木质素生物降解与生物制浆的研究现状分析[J]. 林业科学,2004,**40**(3):167-174.
- [6] 曾光明,黄国和,袁兴中,等. 堆肥环境生物与控制[M]. 北京:科学出版社,2006. 103-104.
- [7] Jordan F L, Sandrin S K, Frye R J, *et al.* The influence of system complexity on bacterial transport in saturated porous media [J]. J Contam Hydrol,2004,**74**(1-4):19-38.
- [8] Vinther F P, Eiland F, Land A M, *et al.* Microbial biomass and numbers of denitrifiers related to macropore channels in agricultural and forest soils [J]. Soil Biol Biochem, 1999, **31**(4):603-611.
- [9] Tien M, Kirk T K. Lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Method Enzymol,1988,**161**(2): 238-249.
- [10] 高大文,文湘华,钱易. 白腐真菌木质素降解酶的反应器发酵[J]. 环境科学,2006,**27**(2):333-337.
- [11] 张朝晖. 应用黄孢原毛平革菌合成木素过氧化物酶及对染料和印染废水降解脱色的研究[D]. 杭州:浙江大学,1999.
- [12] 黄丹莲,曾光明,黄国和,等. 白腐菌固态发酵条件最优化及其降解植物生物质的研究[J]. 环境科学学报,2005,**25**(2): 232-237.
- [13] 丁佐龙. 接种物对黄孢原毛平革菌产木质素过氧化物酶能力的影响[J]. 林产化学与工业,2000,**20**(3): 40-45.
- [14] Yang X, Al-Duri B. Kinetic modeling of liquid-phase adsorption of reactive dyes on activated carbon[J]. Colloid Interface Sci, 2005, **287**(1):25-34.
- [15] Chang C Y, Ing C H, Chang C F, *et al.* Adsorption of polyethylene glycol (PEG) from aqueous solution onto hydrophobic zeolite[J]. Colloid Interface Sci,2003,**60**(2):273-279.
- [16] Zou W H, Han R P, Chen Z Z, *et al.* Kinetic study of adsorption of Cu(II) and Pb(II) from aqueous solutions using manganese oxide coated zeolite in batch mode[J]. Colloids Surf A: Physicochem Eng Aspects,2006,**279**(1-3):238-246.
- [17] 钟成,韩振为. 分子动力学模拟蛋白质溶液吸附过程构象的变化[J]. 计算机与应用化学,2003,**20**(6):741-744.
- [18] 杨吉,倪忠斌,沈红燕,等. 功能化 PVA-g-PS 微球对牛血清蛋白的吸附研究[J]. 离子交换与吸附,2007,**23**(6): 489-497.
- [19] Marzadori C, Clavatta D. Effect of lead pollution on different soil enzyme activities[J]. Biol Fertil Soil,1996,**23**(6): 581-587.
- [20] 周笑鹏,白姝,孙彦. 离子强度和溶质浓度对蛋白质在 Q Sepharose FF 中吸附动力学的影响[J]. 化工学报,2005,**56**(1):130-134.
- [21] Liu Y, Liu Y J. Biosorption otherms, kinetics and thermodynamics [J]. Sep Purif Technol,2008,**61**(3):229-242.
- [22] Hameed B H, Tan I A W, Ahmad A L. Adsorptionisotherm, kinetic modeling and mechanism of 2,4,6-trichlorophenol on coconut husk-based activated carbon[J]. Chem Eng J,2008,**144**(2): 235-244.
- [23] Rocha C G, Zaia D A M, Da Silva Alfaya R V, *et al.* Use of rice straw as biosorbent for removal of Cu(II), Zn(II), Cd(II) and Hg(II) ions in industrial effluents[J]. J Hazard Mater, 2009,**166**(1): 383-388.
- [24] 王玉军,周东美,孙瑞娟,等. 土壤中铜、铅离子的竞争吸附动力学[J]. 中国环境科学,2006,**26**(5):555-559.
- [25] Annunciado T R, Sydenstricker T H D, Amico S C. Experimental investigation of various vegetable fibers as sorbent materials for oil spills[J]. Mar Pollut Bull,2005,**50**(11):1340-1346.