

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第35卷 第2期

Vol.35 No.2

2014

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

我国环境空气中颗粒物达标统计要求研究	王帅,丁俊男,王瑞斌,李健军,孟晓艳,杨彬,林宏 (401)
北京城区 PM _{2.5} 中致癌重金属季节变化特征及其来源分析	陶俊,张仁健,段菁春,荆俊山,朱李华,陈忠明,赵岳,曹军骥 (411)
北京地区冬春 PM _{2.5} 和 PM ₁₀ 污染水平时空分布及其与气象条件的关系	赵晨曦,王云琦,王玉杰,张会兰,赵冰清 (418)
北京市 PM _{2.5} 可吸入颗粒物反演及其时空分布分析	王艳慧,肖瑶 (428)
杭州市春季大气超细颗粒物粒径谱分布特征	谢小芳,孙在,杨文俊 (436)
春节期间南京市大气气溶胶粒径分布特征	王红磊,朱彬,沈利娟,刘晓慧,张泽峰,杨洋 (442)
南京市大气颗粒物中有机碳和元素碳粒径分布特征	吴梦龙,郭照冰,刘凤玲,刘杰,卢霞,姜琳琳 (451)
忻州市环境空气 PM ₁₀ 中有机碳和元素碳污染特征分析	史美鲜,彭林,刘效峰,牟玲,白慧玲,刘凤娟,杨花 (458)
广州某工业区大气中 PCDD/Fs 含量水平及其季节性变化特征	青亮,苏原,苏青,张素坤,任明忠 (464)
燃煤电厂锅炉 PM _{2.5} 排放危害度评价模型建立及案例分析	史妍婷,杜谦,高建民,边昕,王知涛,董鹤鸣,韩强,曹阳 (470)
中国南海大气降水化学特征	肖红伟,龙爱民,谢露华,肖化云,刘丛强 (475)
临安本底站酸雨长期观测特征分析	李正泉,马浩,毛裕定,冯涛 (481)
北京城区大气氮湿沉降特征研究	贺成武,任玉芬,王效科,毛宇翔 (490)
烟雾箱与数值模拟研究苯和乙苯的臭氧生成潜势	贾龙,徐永福 (495)
祁连山老虎沟 12 号冰川积雪中飞灰颗粒物的特征	董志文,秦大河,秦翔,杜志恒,陈记祖,任贾文 (504)
生活垃圾填埋场作业面恶臭散发率研究	羌宁,王红玉,赵爱华,袁文祥,邵俊,陈檬 (513)
生物滴滤塔处理苯酚气体研究	何觉聪,黄倩茹,陈洲洋,叶纪宏,罗雨薇,魏在山 (520)
国 V 柴油机燃用丁醇-柴油混合燃料颗粒粒径分布特性试验研究	楼狄明,徐宁,范文佳,张涛 (526)
翻堆频率对猪粪条堆肥过程温室气体和氨气排放的影响	赵晨阳,李洪枚,魏源送,钟佳,郑嘉嘉,韩圣慧,万合峰 (533)
CuBr ₂ 分解缓释-膜催化对零价汞的氧化性能研究	胡林刚,瞿赞,晏乃强,郭永福,谢江坤,贾金平 (541)
浙闽沿海岸域总溶解态无机锡的分布及影响因素研究	张许州,任景玲,刘宗广,樊孝鹏,刘诚刚,吴莹 (547)
基于双向算法的湖库允许纳污负荷量计算及案例	贾海峰,郭羽 (555)
北京平原区第四系地下水污染风险评价	郭高轩,李宇,许亮,李志萍,杨庆,许苗娟 (562)
不同季节辽河口营养盐的河口混合行为	张晋华,于立霞,姚庆祯,田琳 (569)
太湖南运河入湖河口沉积物氮素分布特征	马久远,王国祥,李振国,张佳,周锋,魏宏农,欧媛 (577)
亚热带地区潜流人工湿地木本植物筛选与净化潜力评价	陈永华,吴晓芙,郝君,陈明利,朱光玉 (585)
潜流人工湿地基质结构与水力特性相关性研究	白少元,宋志鑫,丁彦礼,游少鸿,何珊 (592)
凤眼莲对铜绿微囊藻生长及藻毒素与营养盐释放的影响	周庆,韩士群,严少华,宋伟,刘国峰 (597)
不同预氧化剂对长江原水氯(胺)化 DBPs 生成潜能的影响	田富箱,徐斌,荣蓉,陈英英,张天阳,朱贺振 (605)
溴化十六烷基吡啶改性沸石对水中菲的吸附作用	李佳,林建伟,詹艳慧,陈祖梅,王鹏钧 (611)
四环素光催化降解特性与选择性研究	宋晨怡,尹大强 (619)
微生物电解系统生物阴极的硫酸盐还原特性研究	符诗雨,刘广立,骆海萍,张仁铎,章莹颖 (626)
市政污水 A/DAT-IAT 系统中溶解性有机物表征与生态安全	杨赛,周启星,华涛 (633)
膜-生物反应器处理高盐废水膜面污染物特性研究	李彬,王志伟,安莹,吴志超 (643)
臭氧-曝气生物滤池组合工艺处理石化二级出水的试验研究	刘明国,吴昌永,周岳溪,高祯,王佩超,杨琦,董德 (651)
厌氧生物法处理果胶废水的研究	陈兵兵,杨春平,黎想,代传花,彭蓝艳 (657)
氧氟沙星在碳纳米管上的吸附机制研究	赵兴兴,于水利,王哲 (663)
平菇菌糠对废水中铜离子的生物吸附性能	胡晓婧,戴婷婷,顾海东,金羽,曲娟娟 (669)
基于流态化作用的吸附反应动力学和穿透特征	王君,王瑶,黄星,袁益龙,陈瑞晖,周航,周丹丹 (678)
广州城市污泥中重金属形态特征及其生态风险评价	郭鹏然,雷永乾,蔡大川,张涛,吴锐,潘佳钊 (684)
中国农田土壤重金属富集状况及其空间分布研究	张小敏,张秀英,钟大洋,江洪 (692)
废旧电容器封存点土壤中的 PCBs 污染特征和健康风险评价	周玲莉,吴广龙,薛南冬,杨兵,李发生,丁琼,周丹丹,燕云仲,刘博,韩宝禄 (704)
深圳市表层土壤多环芳烃污染及空间分异研究	章迪,曹善平,孙建林,曾辉 (711)
洋河流域万全段重金属污染风险及控制对策	谭冰,王铁宇,朱朝云,李奇峰,徐笠,吕永龙 (719)
施用组配固化剂对盆栽土壤重金属交换态含量及在水稻中累积分布的影响	曾卉,周航,邱琼瑶,廖柏寒 (727)
螯合剂复配对实际重金属污染土壤洗脱效率影响及形态变化特征	尹雪,陈家军,吕策 (733)
<i>Pseudomonas</i> sp. QJX-1 的锰氧化特性研究	周娜娜,柏耀辉,梁金松,罗金明,刘锐平,胡承志,袁林江 (740)
$n(\text{NO}_3^- - \text{N})/n(\text{NO}_2^- - \text{N})$ 对混培养菌与纯培养菌同步脱氮除硫的影响	陈子爱,陈会娟,魏本平,刘刚金,邓良伟,吴力斌 (746)
杭州市空气微生物群落碳代谢特征研究	龚婵娟,许晶,方治国,楼秀芹,欧阳志云 (753)
鼠李糖脂逆胶束体系中纤维素酶的后萃研究	赵艳鸽,袁兴中,黄华军,崔凯龙,彭馨,彭子原,曾光明 (759)
黄海常见鱼类体内汞含量的种内和种间差异研究	朱艾嘉,许战洲,柳圭泽,邓丽杰,方宏达,黄良民 (764)
3 种 PAEs 对蚯蚓的毒性作用和组织酶活性影响的研究	王艳,马泽民,吴石金 (770)
新型保水剂应用于土壤-小白菜系统的环境安全评价	李希,贺纪正,郑袁明,郑明兰 (780)
黄河三角洲翅碱蓬湿地硫化氢和羧基硫排放动态研究	李新华,郭洪海,杨丽萍,朱振林,孙晓青 (786)
农田土壤 N ₂ O 产生的关键微生物过程及减排措施	朱永官,王晓辉,杨小茹,徐会娟,贾炎 (792)
《环境科学》征订启事 (691) 《环境科学》征稿简则 (800) 信息 (489,519,591,791)	

鼠李糖脂逆胶束体系中纤维素酶的后萃研究

赵艳鸽^{1,2}, 袁兴中^{1,2*}, 黄华军^{1,2}, 崔凯龙^{1,2}, 彭馨^{1,2}, 彭子原^{1,2}, 曾光明^{1,2}

(1. 湖南大学环境科学与工程学院, 长沙 410082; 2. 环境生物与控制教育部重点实验室(湖南大学), 长沙 410082)

摘要: 采用生物表面活性剂鼠李糖脂(rhamnolipid, RL)构建 RL/异辛烷/正己醇的逆胶束体系, 并研究了该体系中纤维素酶后萃过程的影响因素. 分别考察了后萃水相 pH 值、振荡时间、离子种类和强度以及添加短链醇对纤维素酶的后萃率和酶活回收率的影响. 结果表明, 后萃水相最佳 pH 值为 7.0, 振荡时间以 30 min 为最佳, 后萃水相中离子强度以 $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl 最佳, 正丁醇的最佳添加量为 2%. 在最佳实验条件下, 纤维素酶的后萃率和酶活回收率分别可以达到 76.22% 和 93.39%. 生物表面活性剂 RL 构建的逆胶束体系对纤维素酶的后萃效果较佳, 且 RL 具有高生物降解性, 低临界胶束浓度等优点, 应用前景广阔.

关键词: 逆胶束; 纤维素酶; 后萃; 生物表面活性剂; 鼠李糖脂

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2014)02-0759-05

Study on the Backward Extraction of Cellulase in Rhamnolipid Reverse Micelles

ZHAO Yan-ge^{1,2}, YUAN Xing-zhong^{1,2}, HUANG Hua-jun^{1,2}, CUI Kai-long^{1,2}, PENG Xin^{1,2}, PENG Zi-yuan^{1,2}, ZENG Guang-ming^{1,2}

(1. College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China; 2. Key Laboratory of Environmental Biology and Pollution Control (Hunan University), Ministry of Education, Changsha 410082, China)

Abstract: This paper studied the backward extraction of cellulase in RL/isooctane/n-hexanol reverse micelles system. Several key parameters influencing the backward extraction efficiency and activity recovery of cellulase were investigated, including stripping aqueous pH, stripping time, salt type and ionic strength, and addition of alcohols. The experiment results indicated that the optimal parameter values as follows: stripping aqueous pH 7.0, stripping time 30 min, $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ of KCl, dosage of *n*-butanol 2%. Under above optimum conditions, the backward extraction efficiency and activity recovery were up to 76.22% and 93.39%, respectively. The backward extraction of cellulase using reverse micelles based on biosurfactant RL performs well. Furthermore, RL has many advantages such as high biodegradability, low critical micelle concentration, etc. The application prospects of RL reverse micelles are extensive.

Key words: reverse micelles; cellulase; backward extraction; biosurfactant; rhamnolipid

纤维素酶是一类多组分酶系的总称, 它们协同作用, 分解纤维素产生寡糖和纤维二糖, 最终水解为葡萄糖^[1]. 纤维素酶的应用对环境具有重要的意义, 选择适宜的分离纯化方法是降低纤维素酶生产成本、提高纤维素酶活力的主要途径^[2].

逆胶束作为一种新型的液-液萃取技术, 具有成本低, 可以重复利用等优点, 近年来备受关注^[3]. 逆胶束是表面活性剂在非极性的有机溶剂中溶解, 超过临界胶束浓度(CMC)时自发形成的一种纳米尺寸的聚集体^[4]. 逆胶束萃取包含两个基本步骤: 前萃和后萃. 在前萃过程中, 蛋白质从水溶液转移到逆胶束有机相中, 而在后萃过程中, 蛋白质从逆胶束中释放, 被转移到新的水相, 以达到纯化的目的^[5]. 相较于前萃, 后萃过程存在很多问题, 如反应缓慢, 得率不高等, 后萃困难是逆胶束萃取技术大规模应用的主要障碍之一^[6]. 鼠李糖脂(rhamnolipid, RL)作为一种生物表面活性剂, 具有高生物降解性, 低毒性

等优点, 在环境领域得到应用, 并被用来代替化学表面活性剂用于逆胶束萃取^[7,8].

本课题组刘薇等^[9]已对纤维素酶在鼠李糖脂逆胶束体系中的前萃过程进行了研究. 在此基础上, 本研究首先用生物表面活性剂鼠李糖脂构建了逆胶束体系, 并考察水相 pH 值, 振荡时间, 离子强度和种类以及添加短链醇对后萃过程的影响, 得到最佳的后萃条件, 以提高逆胶束对纤维素酶的纯化效率.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

生物表面活性剂: 单糖鼠李糖脂 RL (本实验室

收稿日期: 2013-05-15; 修订日期: 2013-07-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(50978087)

作者简介: 赵艳鸽(1990~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为固体废物资源化, E-mail: 541539392@qq.com

* 通讯联系人, E-mail: yxz@hnu.edu.cn

自制). 油相: 溶剂异辛烷(天津市富宇精细化工有限公司); 助溶剂正己醇(天津市恒兴化学试剂制造有限公司). 其他试剂: 纤维素酶(上海贝塔生物制品有限公司); 考马斯亮蓝 G250(天津市光复精细化工研究所); 乙醇(天津市富宇精细化工有限公司); 正丙醇和异丙醇(天津市风船化学试剂科技有限公司); 正丁醇(天津市富宇精细化工有限公司).

1.1.2 仪器

紫外分光光度计(Shimadzu UV2550, Japan); 磁力搅拌器(RT 5 power IKAMAG); DK-8D 型电热恒温水槽, TG16-WS 台式高速离心机; 超声波清洗仪; pH 计.

1.2 方法

1.2.1 有机相的制备

将一定浓度的酶溶液加入到 $2.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ RL/异辛烷/正己醇体系(9:1, 体积比)中, 超声溶解, 得到澄清的含一定浓度纤维素酶的逆胶束溶液. 溶液的含水量 W_0 ($[\text{H}_2\text{O}]/[\text{RL}]$) 控制在 30.

1.2.2 后萃

将含一定离子浓度的盐溶液与等体积的有机相混合置于带塞锥形瓶中, 磁力搅拌 30 min, 后置于离心机 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分相, 留取下层水相. 采用紫外分光光度法分别测得所得水相中的纤维素酶含量和纤维素酶活.

后萃率(backward extraction efficiency, BEE)定义为: 后萃水相中的纤维素酶含量与后萃前有机相中纤维素酶含量的百分比. 酶活回收率(activity recovery, AR)定义为: 后萃水相中酶活与原酶液酶活的百分比.

1.2.3 测定方法

纤维素酶浓度的测定: 采用考马斯亮蓝染色分析法^[10].

纤维素酶活的测定: 采用 3,5-二硝基水杨酸法测定, 以羧甲基纤维素钠为底物^[11].

2 结果与讨论

2.1 水相 pH 值对后萃的影响

后萃水相的 pH 值对后萃效果具有显著的影响, pH 值决定纤维素酶分子表面可电离基团的离子化状态, 并改变纤维素酶分子和表面活性剂带点极性端之间的静电相互作用^[12]. 纤维素酶是一种两性电解质, 当水相 pH 值高于纤维素酶的等电点(pI)时, 纤维素酶分子带负电荷, 纤维素酶的等电点为

$3.5 \sim 5.0$ ^[13]. 鼠李糖脂是一种阴离子表面活性剂, 形成的阴离子型逆胶束内壁带负电荷, 纤维素酶分子与表面活性剂极性头所带电荷性质相同, 两者之间存在的静电斥力使逆胶束中的纤维素酶发生后萃^[10]. 图 1 反映了后萃水相 pH 值的变化对纤维素酶后萃率和酶活回收率的影响. 后萃条件为: $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl, 30 min, 25°C .

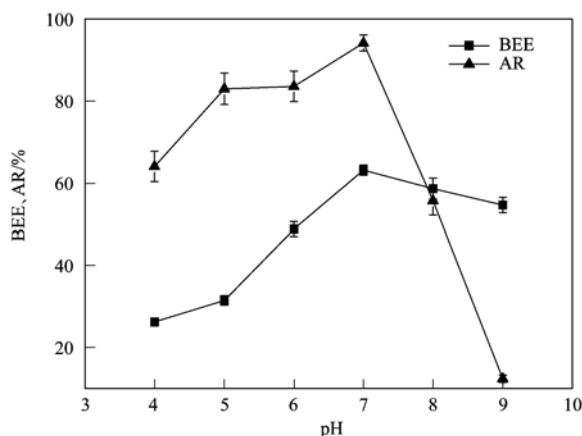


图 1 后萃水相 pH 值对后萃率和酶活回收率的影响

Fig. 1 Effects of stripping aqueous phase pH on backward extraction efficiency and activity recovery in backward extraction process

由图 1 可知, 当 pH 值为 4~7 时, 随着 pH 值的增加, 后萃率和酶活回收率逐渐提高. 当 pH = 7 时, 达到最大的后萃率 (63.15%) 和酶活回收率 (94.18%). 当 pH > 7.0 时, 后萃率有所下降. 而酶活回收率迅速下降. 这是由于在强碱条件下, 纤维素酶的结构被破坏, 造成纤维素酶的失活. 根据实验结果确定后萃过程水相最佳 pH 值为 7.

2.2 离子种类和强度对后萃的影响

水相的离子强度决定了带电荷的逆胶束的内表面以及带电荷的纤维素酶分子表面被静电屏蔽的程度^[12]. 该现象对逆胶束萃取产生两个方面的影响: 一是降低了带电荷的纤维素酶分子与逆胶束带电荷的内表面间的静电相互作用; 二是减少了表面活性剂极性端之间的静电斥力, 导致高离子强度下逆胶束内径变小, 有机相对水和生物分子的增容作用减少^[14, 15]. 高的离子强度有利于后萃的发生, 对于 RL 这种阴离子表面活性剂构建的逆胶束体系, 阳离子强度的影响较大. 除了离子强度, 离子种类对纤维素酶的行为也具有一定的影响^[16]. 由于每种纤维素酶的特异性, 离子种类和浓度的选择至关重要, 这不仅会影响纤维素酶的稳定性, 更是关系到逆胶束结构的问题^[17]. 本实验选用了 NaCl、KCl、KBr 这 3 种盐, 考察了浓度都从 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 逐步增加到 0.3

$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的过程中,后萃率和酶活回收率的变化.后萃的其它条件为:水相 pH 值 7,振荡时间 30 min, 25°C .

图 2 分别为后萃水相 NaCl、KCl、KBr 浓度的变化对后萃率和酶活回收率的影响.从中可以看出随着离子浓度的增加后萃率和酶活回收率都是先增加后降低.不同的是 NaCl、KCl 在浓度增加到 $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时后萃效果最佳,而 KBr 在浓度继续增加到 $0.20 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时后萃效果最佳.其中 NaCl 浓度为 $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,后萃率和酶活回收率分别为

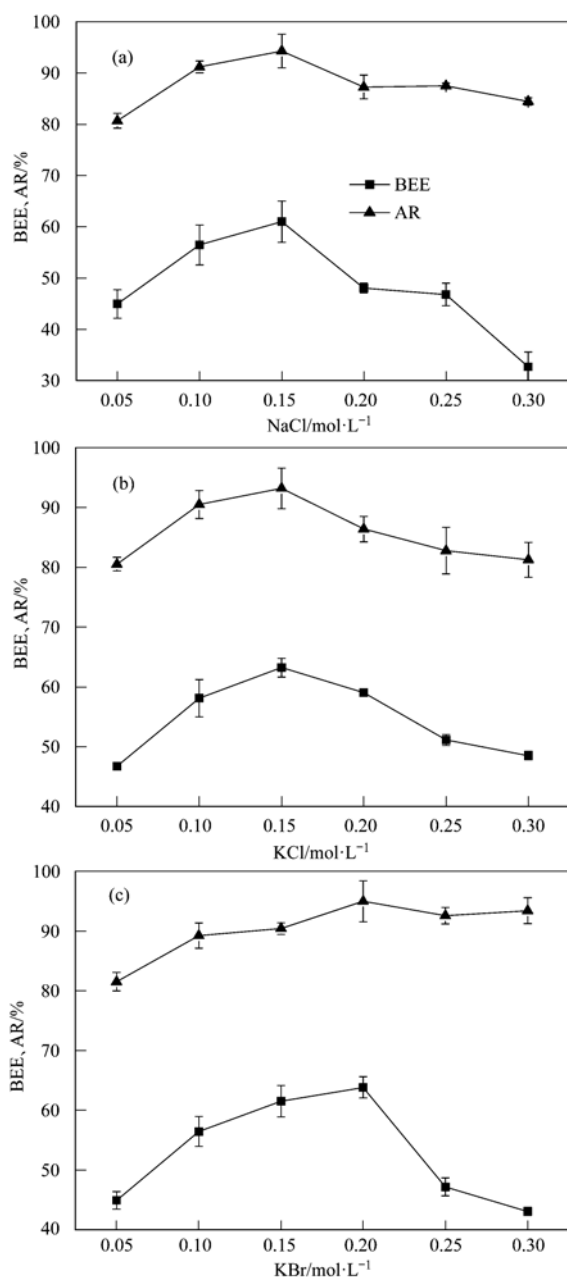


图 2 后萃水相离子种类和强度对后萃率和酶活回收率的影响

Fig. 2 Effects of salt type and ionic strength on backward extraction efficiency and activity recovery in backward extraction process

60.98% 和 94.27%. 相同浓度下,选用 KCl 的后萃率和酶活回收率分别为 63.2% 和 93.18%. KBr 浓度为 $0.20 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的后萃率和酶活回收率分别为 63.82% 和 94.98%. 对比 3 种盐, KBr 效果相对较好,但所需浓度较其它两种盐偏高, NaCl 相对最差, KCl 效果比较好,只略差于 KBr,所以实验水相中盐的种类选用 KCl.

相同浓度下,后萃效果 $\text{K}^+ > \text{Na}^+$, 与离子半径的大小规律一致.这是因为当所带电荷量相同的时,离子半径越大,水化作用就越弱,水壳对于离子和表面活性剂之间的静电相互作用的屏蔽作用就越弱,不利于表面活性剂分子和纤维素酶分子之间的相互作用,从而有利于后萃的进行^[18]. 同时进一步证明了对于阴离子型表面活性剂构建的逆胶束体系,阳离子的影响大于阴离子.

2.3 振荡时间对后萃的影响

后萃过程需要一定的时间完成,并且较前萃过程缓慢,所以振荡时间对纤维素酶的后萃有一定的影响.图 3 反映了后萃过程中后萃率和酶活回收率随振荡时间的变化.后萃其它条件是:水相 pH 值 7, $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl, 25°C .

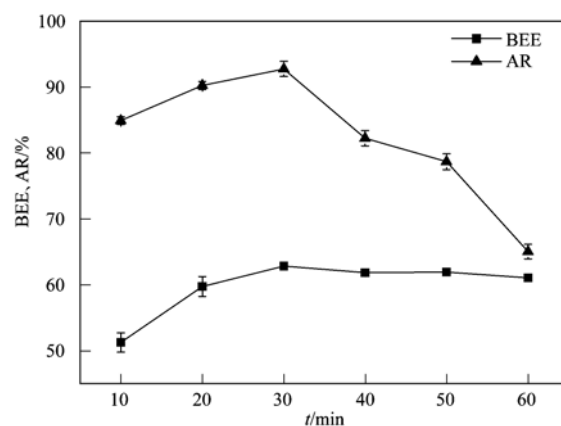


图 3 后萃振荡时间对后萃率和酶活回收率的影响

Fig. 3 Effects of extracting time on backward extraction efficiency and activity recovery in backward extraction process

图 3 表明,随着振荡时间的延长,后萃率和回收率相应提高,30 min 时达到最高的后萃率(62.8%)和酶活回收率(92.8%).继续延长时间,后萃过程达到一个平衡状态,后萃率基本保持不变,但酶活回收率逐渐减少,这可能是由于振荡时间过长导致纤维素酶受到破坏,酶活降低^[3, 10, 19]. 因此确定后萃最佳振荡时间为 30 min.

2.4 添加短链醇对后萃的影响

一般来说,通过调节后萃水相的 pH 值和离子

强度使其达到不利于纤维素酶萃取的条件,即在以等电点 pI 为基准,使用与纤维素酶前萃不同的 pH 范围和较高的离子强度条件下,可以实现纤维素酶的后萃^[20-22]. 但后萃率普遍较低,甚至有些采用这种办法难以实现后萃. 为了强化后萃过程,研究人员提出很多提高后萃率的方法,其中一种有效并广泛应用的是在后萃水相中添加短链醇^[23]. 作为一种后萃过程中常用的促进剂,醇的选用必须慎重,因为很小的结构变化就会引起纤维素酶的失活^[24]. 本实验选用了乙醇、正丙醇、异丙醇和正丁醇这 4 种短链醇,分别考察了它们对后萃率和酶活回收率的影响. 图 4 展示了这 4 种醇的添加对后萃率的影响,图 5 反映了 4 种醇的添加对酶活回收率的影响. 后萃其它条件为:水相 pH 值 7, $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl,振荡时间 30 min, 25°C .

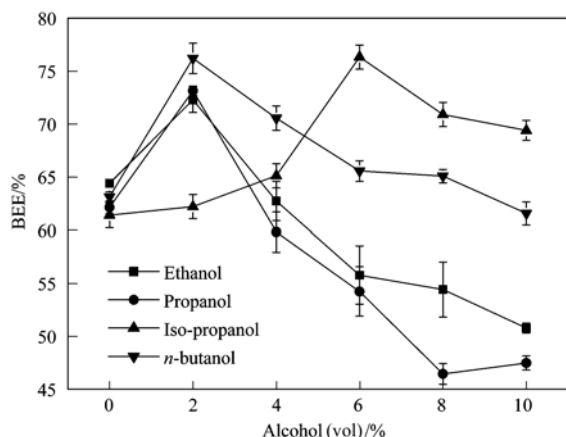


图 4 添加短链醇对后萃率的影响

Fig. 4 Effects of added alcohol on backward extraction efficiency in backward extraction process

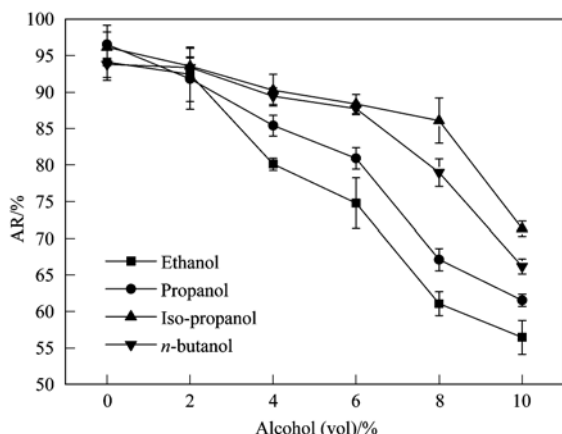


图 5 添加短链醇对酶活回收率的影响

Fig. 5 Effects of added alcohol on activity recovery in backward extraction process

从图 4 可以看出,添加少量的短链醇到后萃水相中可以提高后萃率,再继续添加后萃率则会下降,

其中除了异丙醇在添加量为 6% 时后萃率最高,为 76.33%. 其它的醇都是在添加量为 2% 时最高,分别为 72.28%、73.15% 和 76.22%. 这是因为醇是一种两亲性分子,在纤维素酶后萃过程中作为一种媒介可以屏蔽纤维素酶与表面活性剂之间的相互作用力同时还能减弱逆胶束之间的相互作用力^[17]. 另一方面,醇能促进逆胶束胶团的形成,所以过量的醇会抑制纤维素酶后萃的进行,导致后萃率下降^[25].

由图 5 可见,酶活回收率随着醇的添加量的增加而降低,相同添加量时,异丙醇 > 正丁醇 > 正丙醇 > 乙醇,只有在醇的添加量很低时才能保持酶的活性. 酶的失活可能与醇加入逆胶束体系后的位置有关,短链醇进入逆胶束胶团的水核中,与酶直接接触而支链醇和长链醇则分散到有机溶剂中^[2]. 所以醇的碳链越短醇让酶失活越严重. 根据实验结果,综合考虑后萃率,酶活回收率以及添加量,确定选用正丁醇,添加量为 2%.

3 结论

(1) 鼠李糖脂逆胶束体系中纤维素酶后萃因素的最优水平:水相 pH 值 7, $[\text{KCl}] = 0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 振荡时间 30 min, 正丁醇添加量 2%. 在此条件下,后萃率为 76.22%,酶活回收率为 93.39%.

(2) 萃入鼠李糖脂逆胶束体系中的纤维素酶可以通过控制后萃水相 pH 值和离子强度来实现后萃,并且在添加少量短链醇的条件下,能获得较高的回收率. 由此说明基于生物表面活性剂鼠李糖脂构建的逆胶束体系可以用来纯化纤维素酶.

参考文献:

- [1] 顾方媛, 陈朝银, 石家骥, 等. 纤维素酶的研究进展与发展趋势[J]. 微生物学杂志, 2008, 28(1): 83-87.
- [2] 常彦, 侯红萍. 纤维素酶分离纯化方法的研究进展[J]. 酿酒科技, 2012, (4): 102-104.
- [3] 郭灵芝, 袁兴中, 曾光明, 等. 木素过氧化物酶的逆胶束纯化研究[J]. 中国环境科学, 2012, 32(6): 1104-1109.
- [4] Mathew D S, Juang R. Improved back extraction of papain from AOT reverse micelles using alcohols and a counter-ionic surfactant[J]. Biochemical Engineering Journal, 2005, 25(3): 219-225.
- [5] Zhao X, Li Y, He X, et al. Study of the factors affecting the extraction of soybean protein by reverse micelles[J]. Molecular Biology Reports, 2010, 37(2): 669-675.
- [6] Lee S S, Lee B G, Choi J S, et al. Effect of alcohol addition on Back-Extraction of BSA and cytochrome C using AOT reverse micellar system[J]. Korean Chemical Society, 2001, 22(8): 897-902.
- [7] 王伟伟, 袁兴中, 曾光明, 等. 逆胶束体系中纤维素酶解特

- 性研究[J]. 环境科学, 2010, **31**(9): 2202-2207.
- [8] 崔凯龙, 袁兴中, 曾光明, 等. 生物表面活性剂用于逆胶束体系的构建及微水相条件优化[J]. 中国环境科学, 2011, **31**(9): 1444-1450.
- [9] 刘薇, 袁兴中, 曾光明, 等. 不同反胶束体系萃取纤维素酶的条件优化对比研究[J]. 中国环境科学, 2013, **33**(4): 728-733.
- [10] Peng X, Yuan X Z, Zeng G M, *et al.* Extraction and purification of laccase by employing a novel rhamnolipid reversed micellar system[J]. *Process Biochemistry*, 2012, **47**(5): 742-748.
- [11] 赵玉萍, 杨娟. 四种纤维素酶酶活测定方法的比较[J]. 食品研究与开发, 2006, **27**(3): 116-118.
- [12] Nandini K E, Rastogi N K. Reverse micellar extraction for downstream processing of lipase: Effect of various parameters on extraction[J]. *Process Biochemistry*, 2009, **44**(10): 1172-1178.
- [13] 孟雷, 陈冠军, 王怡, 等. 纤维素酶的多型性[J]. 纤维素科学与技术, 2002, **10**(2): 47-55.
- [14] Umesh H H, Sumana B, Raghavarao K S. Use of reverse micellar systems for the extraction and purification of bromelain from pineapple wastes[J]. *Bioresource Technology*, 2008, **99**(11): 4896-4902.
- [15] He S D, Shi J, Walid E, *et al.* Extraction and purification of a lectin from small black kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) using a reversed micellar system[J]. *Process Biochemistry*, 2013, **48**(4): 746-752.
- [16] Pires M J, Aires-Barros M R, Cabral J M S. Liquid-liquid extraction of proteins with reversed micelles[J]. *Biotechnology Progress*, 1996, **12**(3): 290-301.
- [17] Tonova K, Lazarova Z. Reversed micelle solvents as tools of enzyme purification and enzyme-catalyzed conversion [J]. *Biotechnology Advances*, 2008, **26**(6): 516-532.
- [18] Kinugasa T, Kondo A, Mouri E, *et al.* Effects of ion species in aqueous phase on protein extraction into reversed micellar solution [J]. *Separation and Purification Technology*, 2003, **31**(3): 251-259.
- [19] Andrade S M, Costa S M B. Structural changes of α -chymotrypsin in reverse micelles of AOT studied by steady state and transient state fluorescence spectroscopy [J]. *Journal of Molecular Structure*, 2001, **565-566**: 219-223.
- [20] Zhang T X, Liu H Z, Chen J Y. Selective affinity separation of yeast alcohol dehydrogenase by reverse micelles with unbound triazine dye [J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2001, **9**(3): 314-318.
- [21] Noritomi H, Ito S, Kojima N, *et al.* Forward and backward extractions of cytochrome c using reverse micellar system of sucrose fatty acid ester[J]. *Colloid and Polymer Science*, 2006, **284**(6): 604-610.
- [22] Nandini K, Rastogi N K. Separation and purification of lipase using reverse micellar extraction: Optimization of conditions by response surface methodology[J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2010, **15**(2): 349-358.
- [23] Gaikawai R P, Wagh S A, Kulkarni B D. Efficient lipase purification using reverse micellar extraction [J]. *Bioresource Technology*, 2012, **108**: 224-230.
- [24] Mathew D S, Juang R. Role of alcohols in the formation of inverse microemulsions and back extraction of proteins/enzymes in a reverse micellar system [J]. *Separation and Purification Technology*, 2007, **53**(3): 199-215.
- [25] Lee B K, Hong D P, Lee S S, *et al.* Analysis of protein back-extraction processes in alcohol- and carboxylic acid-mediated AOT reverse micellar systems based on structural changes of proteins and reverse micelles [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2004, **22**(1): 71-79.

CONTENTS

Form of the Particulate Matter Ambient Air Standards in China	WANG Shuai, DING Jun-nan, WANG Rui-bin, <i>et al.</i> (401)
Seasonal Variation of Carcinogenic Heavy Metals in PM _{2.5} and Source Analysis in Beijing	TAO Jun, ZHANG Ren-jian, DUAN Jing-chun, <i>et al.</i> (411)
Temporal and Spatial Distribution of PM _{2.5} and PM ₁₀ Pollution Status and the Correlation of Particulate Matters and Meteorological Factors During Winter and Spring in Beijing	ZHAO Chen-xi, WANG Yun-qi, WANG Yu-jie, <i>et al.</i> (418)
Inversion and Spatial-Temporal Distribution Analysis on PM _{5.0} Inhalable Particulate in Beijing	WANG Yan-hui, XIAO Yao (428)
Characterization of Ultrafine Particle Size Distribution in the Urban Atmosphere of Hangzhou in Spring	XIE Xiao-fang, SUN Zai, YANG Wen-jun (436)
Size Distributions of Aerosol During the Spring Festival in Nanjing	WANG Hong-lei, ZHU Bin, SHEN Li-juan, <i>et al.</i> (442)
Size Distributions of Organic Carbon and Elemental Carbon in Nanjing Aerosol Particles	WU Meng-long, GUO Zhao-bing, LIU Feng-ling, <i>et al.</i> (451)
Characterization of Organic and Elemental Carbon in PM ₁₀ in Xinzhou City	SHI Mei-xian, PENG Lin, LIU Xiao-feng, <i>et al.</i> (458)
Seasonal Variation of Concentrations and Distribution Characteristics of PCDD/Fs in Atmosphere of an Industrial Area, Guangzhou	QING Xian, SU Yuan, SU Qing, <i>et al.</i> (464)
Hazard Evaluation Modeling of Particulate Matters Emitted by Coal-Fired Boilers and Case Analysis	SHI Yan-ting, DU Qian, GAO Jian-min, <i>et al.</i> (470)
Chemical Characteristics of Precipitation in South China Sea	XIAO Hong-wei, LONG Ai-min, XIE Lu-hua, <i>et al.</i> (475)
Analysis of Acid Rain Characteristics of Lin'an Regional Background Station Using Long-term Observation Data	LI Zheng-quan, MA Hao, MAO Yu-ding, <i>et al.</i> (481)
Characteristics of Atmospheric Nitrogen Wet Deposition in Beijing Urban Area	HE Cheng-wu, REN Yu-fen, WANG Xiao-ke, <i>et al.</i> (490)
Studies of Ozone Formation Potentials for Benzene and Ethylbenzene Using a Smog Chamber and Model Simulation	JIA Long, XU Yong-fu (495)
Characteristics of Fly Ash Particles Deposition in the Snowpack of Laohugou Glacier No. 12 in Western Qilian Mountains, China	DONG Zhi-wen, QIN Da-he, QIN Xiang, <i>et al.</i> (504)
Odor Emission Rate of Municipal Solid Waste from Landfill Working Area	QIANG Ning, WANG Hong-yu, ZHAO Ai-hua, <i>et al.</i> (513)
Gaseous Phenol Removal in a Bio-Trickling Filter	HE Jue-cong, HUANG Qian-ru, CHEN Zhou-yang, <i>et al.</i> (520)
Particulate Distribution Characteristics of Chinese Phrase V Diesel Engine Based on Butanol-Diesel Blends	LOU Di-ming, XU Ning, FAN Wen-jia, <i>et al.</i> (526)
Effects of Turning Frequency on Emission of Greenhouse Gas and Ammonia During Swine Manure Windrow Composting	ZHAO Chen-yang, LI Hong-mei, WEI Yuan-song, <i>et al.</i> (533)
Oxidation of Mercury by CuBr ₂ Decomposition Under Controlled-Release Membrane Catalysis Condition	HU Lin-gang, QU Zan, YAN Nai-qiang, <i>et al.</i> (541)
Distributions and Influencing Factors of Total Dissolved Inorganic Antimony in the Coastal Area of Zhejiang and Fujian	ZHANG Xu-zhou, REN Jing-ling, LIU Zong-guang, <i>et al.</i> (547)
Calculation of Allowable Pollution Loads for Lake and Reservoir Based on Bi-direction Algorithm and Its Case Study	JIA Hai-feng, GUO Yu (555)
Risk Assessment of Quaternary Groundwater Contamination in Beijing Plain	GUO Gao-xuan, LI Yu, XU Liang, <i>et al.</i> (562)
Mixing Behavior of Nutrients in Different Seasons at Liaohe Estuary	ZHANG Jin-hua, YU Li-xia, YAO Qing-zhen, <i>et al.</i> (569)
Distribution of Nitrogen in the Sediment of Taige South River Estuary	MA Jiu-yuan, WANG Guo-xiang, LI Zhen-guo, <i>et al.</i> (577)
Selection and Purification Potential Evaluation of Woody Plant in Vertical Flow Constructed Wetlands in the Subtropical Area	CHEN Yong-hua, WU Xiao-fu, HAO Jun, <i>et al.</i> (585)
Correlation of Substrate Structure and Hydraulic Characteristics in Subsurface Flow Constructed Wetlands	BAI Shao-yuan, SONG Zhi-xin, DING Yan-li, <i>et al.</i> (592)
Impacts of <i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms Stress on the Growth Characteristics, Microcystins and Nutrients Release of <i>Microcystis aeruginosa</i>	ZHOU Qing, HAN Shi-qun, YAN Shao-hua, <i>et al.</i> (597)
Effects of Different Pre-oxidants on DBPs Formation Potential by Chlorination and Chloramination of Yangtze River Raw Water	TIAN Fu-xiang, XU Bin, RONG Rong, <i>et al.</i> (605)
Adsorption of Phenanthrene from Aqueous Solution on Cetylpyridinium Bromide (CPB)-Modified Zeolite	LI Jia, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (611)
Characteristics and Selectivity of Photocatalytic-Degradation of Tetracycline Hydrochloride	SONG Chen-yi, YIN Da-qiang (619)
Characterization of Biocatalysed Sulfate Reduction in a Cathode of Microbial Electrolysis System	FU Shi-yu, LIU Guang-li, LUO Hai-ping, <i>et al.</i> (626)
Characteristics of Dissolved Organic Matter in A/DAT-IAT System for Municipal Wastewater Treatment Based on Ecological Safety	YANG Sai, ZHOU Qi-xing, HUA Tao (633)
Membrane Surface Fouling Properties in MBRs for High-Salinity Wastewater Treatment	LI Bin, WANG Zhi-wei, AN Ying, <i>et al.</i> (643)
Treatment of Petrochemical Secondary Effluent by Ozone-biological Aerated Filter	LIU Ming-guo, WU Chang-yong, ZHOU Yue-xi, <i>et al.</i> (651)
Treatment of Pectin Wastewater by Anaerobic Biological Process	CHEN Bing-bing, YANG Chun-ping, LI Xiang, <i>et al.</i> (657)
Sorption Mechanism of Ofloxacin by Carbon Nanotubes	ZHAO Xing-xing, YU Shui-li, WANG Zhe (663)
Biosorption Characteristics of Cu ²⁺ by Spent Substrate of <i>Pleurotus</i> Oyster	HU Xiao-jing, ZANG Ting-ting, GU Hai-dong, <i>et al.</i> (669)
Adsorption Dynamics and Breakthrough Characteristics Based on the Fluidization Condition	WANG Jun, WANG Yao, HUANG Xing, <i>et al.</i> (678)
Characteristics of Speciation and Evaluation of Ecological Risk of Heavy Metals in Sewage Sludge of Guangzhou	GUO Peng-ran, LEI Yong-qian, CAI Da-chuan, <i>et al.</i> (684)
Spatial Distribution and Accumulation of Heavy Metal in Arable Land Soil of China	ZHANG Xiao-min, ZHANG Xiu-ying, ZHONG Tai-yang, <i>et al.</i> (692)
Pollution Patterns and Health Risk Assessment for Polychlorinated Biphenyls in Soils from a Capacitor Storage Site	ZHOU Ling-li, WU Guang-long, XUE Nan-dong, <i>et al.</i> (704)
Occurrence and Spatial Differentiation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Soils from Shenzhen, China	ZHANG Di, CAO Shan-ping, SUN Jian-lin, <i>et al.</i> (711)
Risk Assessment and Countermeasures of Heavy Metals Pollution in Wanquan Segment of Yanghe River	TAN Bing, WANG Tie-yu, ZHU Zhao-yun, <i>et al.</i> (719)
Effects of Group Matching Curing Agent on Exchangeable Pb, Cd, Zn Contents in the Potted Soils and their Accumulation in Rice Plants	ZENG Hui, ZHOU Hang, QIU Qiong-yao, <i>et al.</i> (727)
Impact of Compound Chelants on Removal of Heavy Metals and Characteristics of Morphologic Change in Soil from Heavy Metals Contaminated Sites	YIN Xue, CHEN Jia-jun, LÜ Ce (733)
Characterization of Manganese Oxidation by <i>Pseudomonas</i> sp. QJX-1	ZHOU Na-na, BAI Yao-hui, LIANG Jin-song, <i>et al.</i> (740)
Effects of the Ratio of NO ₃ ⁻ -N to NO ₂ ⁻ -N on the Removal of Sulfide and Nitrogen by Mixed Culture and Pure Culture	CHEN Zi-ai, CHEN Hui-juan, WEI Ben-ping, <i>et al.</i> (746)
Carbon Metabolic Characteristics of Airborne Microbes in Hangzhou	GONG Chan-juan, XU Jing, FANG Zhi-guo, <i>et al.</i> (753)
Study on the Backward Extraction of Cellulase in Rhammolid Reverse Micelles	ZHAO Yan-ge, YUAN Xing-zhong, HUANG Hua-jun, <i>et al.</i> (759)
Inner- and Inter-Species Differences of Mercury Concentration in Common Fishes from the Yellow Sea	ZHU Ai-jia, XU Zhan-zhou, LIU Gui-ze, <i>et al.</i> (764)
Study on the Effect of Enzymatic Activity and Acute Toxicity of Three PAEs on <i>Eisenia foetida</i>	WANG Yan, MA Ze-min, WU Shi-jin (770)
Environmental Safety Assessment on the New Super Absorbent Polymers Applied into a Soil-Chinese Cabbage System	LI Xi, HE Ji-zheng, ZHENG Yuan-ming, <i>et al.</i> (780)
Study on Dynamics of Hydrogen Sulfide and Carbonyl Sulfide Emission Fluxes from <i>Suaeda salsa</i> Marsh in the Yellow River Estuary	LI Xin-hua, GUO Hong-hai, YANG Li-ping, <i>et al.</i> (786)
Key Microbial Processes in Nitrous Oxide Emissions of Agricultural Soil and Mitigation Strategies	ZHU Yong-guan, WANG Xiao-hui, YANG Xiao-ru, <i>et al.</i> (792)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2014年2月15日 35卷 第2期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 35 No. 2 Feb. 15, 2014

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行